

ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΑΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ ΣΕ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ ΕΠΙΜΟΛΥΣΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΥΣΙΜΩΝ ΝΤΗΖΕΛ/ΒΙΟΝΤΗΖΕΛ**Χ. Ε. Τσεσμελή^{1*}, Μ. Πέππας¹, Γ. Σ. Ντόντος¹, Φ. Ζαννίκος¹**¹Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα(*ctsesmeli@central.ntua.gr)**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της υποβάθμισης του βιοντήζελ λόγω ανάπτυξης μικροοργανισμών μέσω της εξέλιξης και καταμέτρησης των στερεών που δημιουργούνται από τη μεταβολική δράση των μικροοργανισμών κατά την παραμονή του καυσίμου σε στατικές συνθήκες αποθήκευσης για μακρό χρονικό διάστημα. Με αυτή τη διεργασία επιχειρείται μια ποσοτική αξιολόγηση της επίδρασης της μικροβιακής δραστηριότητας στο σχηματισμό μη επιθυμητών αδιάλυτων στερεών ενώ δύναται, επίσης, να αναπτυχθεί μεθοδολογία η οποία να επιτρέπει μια αρχική αξιολόγηση του ενδεχόμενου μικροβιακού φορτίου στο καύσιμο προτού εφαρμοστούν εξειδικευμένες μικροβιολογικές τεχνικές. Για το σκοπό αυτό προετοιμάστηκαν ένα δείγμα βιοντήζελ (FAME) και το αντίστοιχο μείγμα του με συμβατικό ντήζελ κίνησης (B7) και εν συνεχεία δημιουργήθηκαν διπλότυποι μικρόκοσμοι των εξεταζόμενων καυσίμων αποτελούμενοι από οργανική και υδατική φάση σε αναλογία (5:1). Οι μικρόκοσμοι επιμολύνθηκαν με μη- χαρακτηρισμένη ενεργή βιομάζα γνωστής μικροβιακής δραστηριότητας και αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας και υγρασίας για διάστημα 6 μηνών. Παράλληλα δημιουργήθηκαν και μη επιμολυσμένοι μικρόκοσμοι αναφοράς. Το φορτίο των αδιάλυτων σωματιδίων των υπό μελέτη μικρόκοσμων προσδιορίστηκε με μία μέθοδο που αναπτύχθηκε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, η οποία βασίζεται στην καταμέτρηση των συνολικών στερεών (αβιοτικών και μη) της υδατικής φάσης και της φάσης καυσίμων μέσω τεχνικών διήθησης. Στόχο της τελευταίας αποτελεί η ποσοτικοποίηση των ολικών στερεών των μικρόκοσμων, καθώς θεωρείται ότι οι καταστροφές μηχανολογικού εξοπλισμού έχουν συνδεθεί με την ύπαρξη αυτών εντός της κύριας μάζας του καυσίμου. Επιπλέον έγινε εφαρμογή ενός εμπορικού βιοκτόνου ώστε να μελετηθεί η επίδραση στην εξέλιξη των στερεών σωματιδίων. Παράλληλα εφαρμόστηκε η μέθοδος της βιοφωταύγειας του ATP στην υδατική φάση με σκοπό την ποσοτική αντιστοίχιση του επιπέδου της μικροβιακής δραστηριότητας με τη δημιουργία των στερεών. Ταυτόχρονα με τις μετρήσεις που αφορούν στο μικροβιακό φορτίο προσδιορίστηκε και η εξέλιξη της οξειδωτικής σταθερότητας κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης η οποία δύναται να υποβαθμίζεται από την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στους μικρόκοσμούς. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν αύξηση του φορτίου των αδιάλυτων σωματιδίων στην υδατική φάση όλων των εξεταζόμενων μικρόκοσμων με την μεγαλύτερη αύξηση να καταγράφεται στην περίπτωση αυτών που δεν περιείχαν βιοκτόνο ουσία. Η μικροβιακή επιμόλυνση οδηγεί στη ραγδαία αύξηση της συγκέντρωσης των αδιάλυτων στερεών της φάσης καυσίμου, η οποία μάλιστα καταγράφεται από τις πρώτες κίολας ημέρες αποθήκευσης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τις σύγχρονες περιβαλλοντικές τάσεις στον τομέα των οδικών μεταφορών, τις ευρωπαϊκές οδηγίες και τα πρότυπα ποιότητας καυσίμων, εφαρμόζεται η προσθήκη βιοκαυσίμων στα καύσιμα των επίγειων μεταφορών. Ειδικότερα, βάσει του ευρωπαϊκού προτύπου EN 590 προβλέπεται η προσθήκη βιοντήζελ (FAME – Fatty Acid Methyl Esters) στο ντήζελ κίνησης σε ποσοστό έως 7% κ.ό. Παρά τα περιβαλλοντικά του οφέλη, το βιοντήζελ λόγω της χημικής του δομής είναι ιδιαίτερα επιρρεπές τόσο στην οξειδωτική όσο και στην μικροβιακή υποβάθμιση. Η

μικροβιακή επιμόλυνση των συστημάτων καυσίμων ντίζελ/βιοντίζελ κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους αποτελεί ένα ιδιαίτερα επίκαιρο ζήτημα^[1-3]. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, είναι πιθανή η εμφάνιση αλλαγών στις φυσικοχημικές ιδιότητες τόσο του βιοντίζελ όσο και των δυαδικών μιγμάτων του με ντίζελ κίνησης που οδηγούν σε αύξηση της οξύτητας, διάβρωση και σχηματισμό επικαθίσεων^[4].

Πολλοί παράγοντες, όπως η παρουσία νερού στους πυθμένες των δεξαμενών αποθήκευσης, συντελούν στην ενίσχυση του φαινομένου της μικροβιακής επιμόλυνσης και οδηγούν σε φραγή σωληνώσεων και φίλτρων, διάβρωση των δεξαμενών και ποιοτική υποβάθμιση των καυσίμων^[1-3]. Ακόμη και η ύπαρξη μιας μικρής συγκέντρωσης νερού της τάξης του 0,1% είναι επαρκής για τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών, βακτηρίων και μυκήτων, καθώς επίσης και για την ανάπτυξη βιομάζας στη διεπιφάνεια του καυσίμου και νερού (βιοφίλμ)^[5,6]. Οι δύο κύριες μέθοδοι αντιμετώπισης της μικροβιακής επιμόλυνσης είναι η πρόληψη και η αποκατάσταση. Η πιο κοινή πρακτική είναι η χρήση διαφόρων βιοκτόνων ουσιών παρόλο που, βέβαια, πολλοί ερευνητές^[7,6] έχουν προτείνει ότι σε έντονα μικροβιακά επιβαρυμένα συστήματα, ο καθαρισμός με φυσικές μεθόδους πρέπει να προηγείται πριν τη χρήση βιοκτόνου. Σύμφωνα με τον Passman^[8] επειδή οι μικροβιακοί πληθυσμοί που συναντώνται στα συστήματα καυσίμων χαρακτηρίζονται από ποικιλομορφία, ένα βιοκτόνο θα πρέπει να παρουσιάζει ευρύ πεδίο εφαρμογής, ώστε να δύναται είτε να αποτρέψει την επιμόλυνση του συστήματος είτε και να την αντιμετωπίσει αποτελεσματικά σε ήδη επιβαρυμένα συστήματα. Βάσει των παραπάνω, στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης εξετάστηκε η δράση του MBO στην εξέλιξη του μικροβιακού φορτίου, εκφρασμένου σε φορτίο αιωρούμενων αδιάλυτων σωματιδίων, σε συνθήκες μακράς αποθήκευσης των έξι μηνών. Για την διεξαγωγή της μελέτης, ο αντι-μικροβιακός παράγοντας εφαρμόστηκε σε δείγματα βιοντίζελ και B7 σε δύο συγκεντρώσεις σε διαφορετικές χρονικές στιγμές του χρόνου αποθήκευσης.

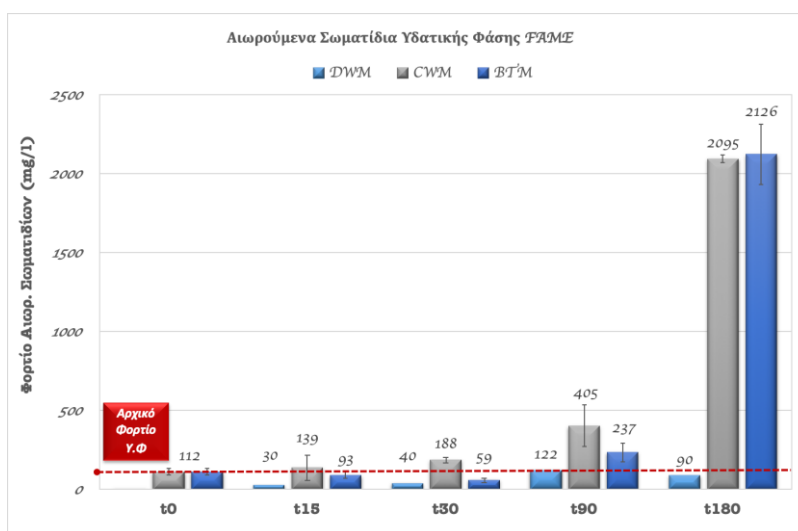
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα μελέτη, εξετάζεται η εξέλιξη των αδιάλυτων στερεών και του μικροβιακού φορτίου σε καύσιμα βιοντίζελ (FAME) και μείγματος B7 (ντίζελ κίνησης/ βιοντίζελ) κατά τη διάρκεια μακράς αποθήκευσης (έξι μήνες). Συγκεκριμένα, προετοιμάστηκαν τέσσερις διαφορετικές σειρές δειγμάτων ανά τύπο καυσίμου (B7 και FAME). Οι δύο πρώτες σειρές αποτελούν ουσιαστικά τις σειρές αναφοράς. Η πρώτη σειρά δειγμάτων - RM (Reference Microcosms) - αποτελείται από καθαρό μη επιμολυσμένο καύσιμο. Η δεύτερη σειρά - DWM (Distilled Water Microcosms) - αποτελείται από οργανική (καύσιμο) και μη επιμολυσμένη υδατική φάση (αναλογία νερού-καυσίμου 1:5). Η τρίτη σειρά - CWM (Contaminated Water Microcosms) – είναι ανάλογη της δεύτερης με τη διαφορά ότι η υδατική φάση είναι επιμολυσμένη. Τέλος η τέταρτη σειρά - BTM (Biocide Treated Microcosms) – είναι ταυτόσημη της τρίτης με τη διαφορά ότι στο καύσιμο έχει προστεθεί εμπορικό βιοκτόνο (MBO) σε συγκέντρωση 200 ppm. Τα παραπάνω δείγματα αποθηκεύτηκαν σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας. Κατά τη διάρκεια του χρόνου αποθήκευσης, προσδιορίστηκε το φορτίο των αιωρούμενων αδιάλυτων στερεών σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα, μέσω τεχνικών διήθησης, καθώς και στο πέρας της αποθήκευσης, εξετάστηκε το ενεργό μικροβιακό φορτίο βάσει της μεθόδου ASTM D7687 και η οξειδωτική σταθερότητα των υπό εξέταση καυσίμων με τη μέθοδο Rancimat.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Προσδιορισμός του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων

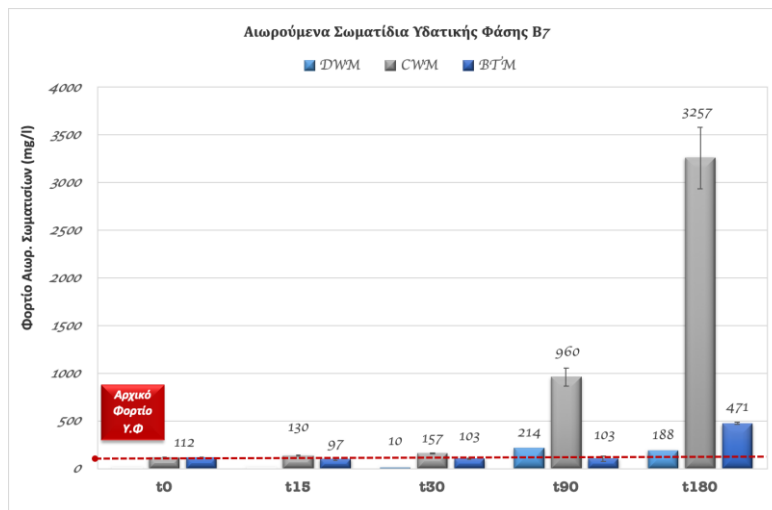
Η υδατική φάση - επιμολυσμένη (CWM, BTM) και μη (DWM) – των εξεταζόμενων μικρόκοσμων διαχωρίζεται από την αντίστοιχη οργανική φάση (καύσιμο) και προσδιορίζεται το φορτίο των αιωρούμενων σωματιδίων της εκάστοτε φάσης που κατακρατούνται στο μικροφίλτρο (0.8 μm).



Σχήμα 1. Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην υδατική φάση των μικρόκοσμων με FAME μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

Σύμφωνα με το Σχήμα 1, παρατηρείται ότι παρουσιάζεται αύξηση του φορτίου των αιωρούμενων αδιάλυτων στερεών σχεδόν σε όλους του μικρόκοσμους FAME με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης. Ο μεγαλύτερος ρυθμός αύξησης καταγράφεται στην περίπτωση των επιμολυσμένων μικρόκοσμων χωρίς παρουσία βιοκτόνου (CWM), με μία ραγδαία αύξηση να σημειώνεται μετά τις ενενήντα (90) ημέρες αποθήκευσης. Όσον αφορά στους μικρόκοσμους με την προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM), η αύξηση λαμβάνει χώρα με μικρότερους ρυθμούς σε σχέση με αυτή των CWM κατά τις πρώτες χρονικές περιόδους, ενώ στις εκατόν ογδόντα ημέρες (t180) το φορτίο έχει αυξηθεί δραματικά. Με βάση το παραπάνω, υποδηλώνεται ότι πιθανόν η παρουσία του βιοκτόνου σε συγκέντρωση των 200 ppm αναστέλλει τη μικροβιακή δραστηριότητα για περίπου έναν μήνα διατηρώντας το φορτίο σχεδόν στο ίδιο επίπεδο με το αρχικό αλλά πέραν του ενός μηνός, η παρουσία του βιοκτόνου τουλάχιστον στην συγκεκριμένη συγκέντρωση δεν είναι ικανή να εμποδίσει περαιτέρω την ανάπτυξη. Από την άλλη μεριά, μικρή αλλά σταδιακή αύξηση του φορτίου παρατηρείται και στη μη επιμολυσμένη υδατική φάση των DWM που μετά τις 90 ημέρες εμφανίζεται σχεδόν ίσο με το αρχικό φορτίο της επιμολυσμένης υδατικής φάσης, η οποία χρησιμοποιήθηκε για την επιμόλυνση των CWM και BTM. Αυτό πρακτικά επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι η παρουσία μη επιμολυσμένης υδατικής φάσης σε σύστημα καυσίμου δύναται να οδηγήσει στην πιθανή ανάπτυξη μικροβιακού φορτίου.

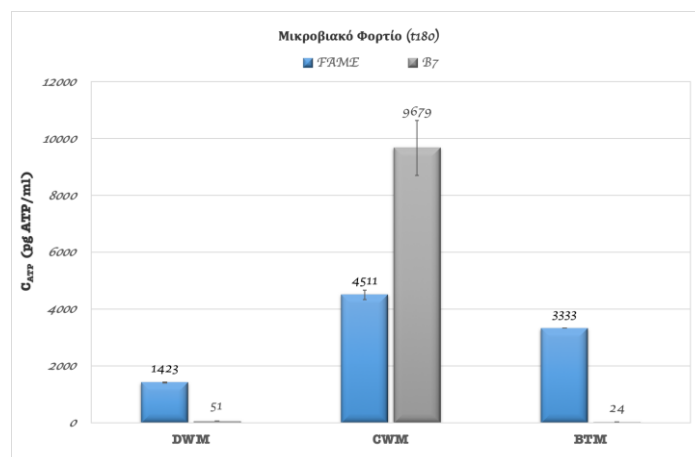
Παρόμοια με παραπάνω, ανάλογη μελέτη έγινε και στο μίγμα B7. Σύμφωνα με το Σχήμα 2, ο μεγαλύτερος ρυθμός ανάπτυξης του φορτίου καταγράφεται στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους χωρίς βιοκτόνο ειδικά μετά από τις 90 ημέρες, όπως και στην περίπτωση του FAME. Ειδικότερα, στην t90 το φορτίο εμφανίζεται να είναι σχεδόν διπλάσιο από το αντίστοιχο στους CWM του FAME και στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης η συγκέντρωση των σωματιδίων στην υδατική φάση παρουσιάζεται κατά 183% αυξημένη σε σχέση με αυτή του FAME. Από την άλλη μεριά, οι μικρόκοσμοι που περιέχουν την προληπτική δόση βιοκτόνου (BTM) παρουσίασαν χαμηλή σχετικά συγκέντρωση στερεών μέχρι τις ενενήντα (90) ημέρες, ενώ κατά το τέλος της αποθήκευσης το μικροβιακό φορτίο είναι κατά 75% χαμηλότερο από το αντίστοιχο των μικρόκοσμων FAME. Η προληπτική δόση του βιοκτόνου σε συστήματα καυσίμων B7 φαίνεται να είναι δραστικότερη από ότι στο αμιγές βιοντήζελ. Τέλος, όπως και στην περίπτωση του FAME, στις t90 και t180 εμφανίστηκε ανάπτυξη του φορτίου και στις υδατικές φάσεις των μικρόκοσμων με μη επιμολυσμένο νερό (DWM).



Σχήμα 2: Εξέλιξη του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην υδατική φάση των μικρόκοσμων με B7 μετά από 15, 30, 90 και 180 ημέρες αποθήκευσης.

Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP)

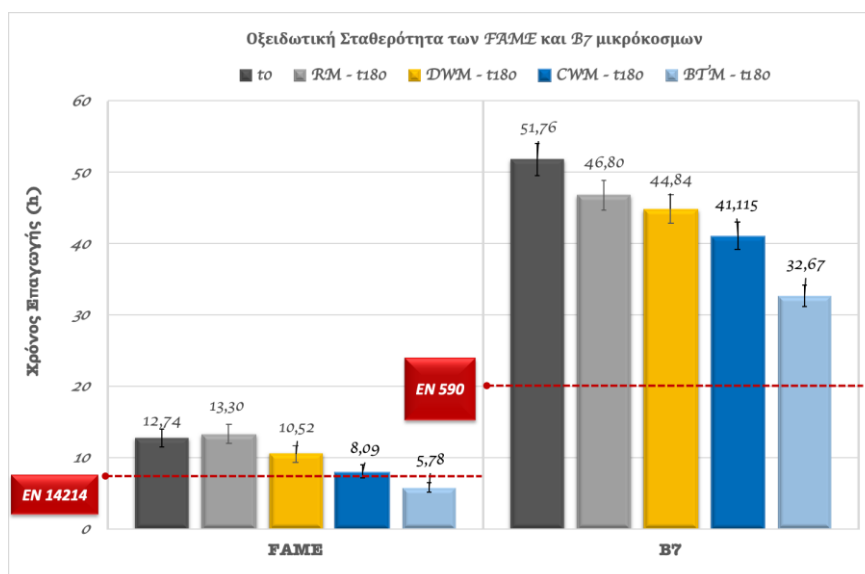
Παράλληλα με τη μέθοδο διήθησης, πραγματοποιήθηκε και ο προσδιορισμός της ενεργής βιομάζας στην υδατική φάση των μικροκόσμων, στο τέλος της περιόδου αποθήκευσης (180 ημέρες) βάση της μεθόδου βιοφωταύγειας της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ASTM D7687). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης ATP στην υδατική φάση των μικροκόσμων που απεικονίζονται στο Σχήμα 3, εμφανίζεται μια σχετικά καλή συσχέτιση με τη μέθοδο διηθήσεως. Συγκεκριμένα, στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους χωρίς παρουσία βιοκτόνου (CWM) η μεγαλύτερη συγκέντρωση ενεργής μικροβιακής δραστηριότητας καταγράφεται στην περίπτωση του B7 έναντι του FAME, το οποίο συνάδει και με το φορτίο που καταγράφηκε από τη διήθηση στις 180 ημέρες αποθήκευσης. Ανάλογη τάση παρατηρείται και στην περίπτωση των BTM μικροκόσμων, όπου στο FAME η παρουσία του βιοκτόνου δεν κατάφερε να εμποδίσει τη μικροβιακή δραστηριότητα, και ως εκ τούτου ούτε τα παράγωγα αυτής, ενώ η προληπτική δόση του βιοκτόνου στο μίγμα B7 οδήγησε στον περιορισμό της μικροβιακής δραστηριότητας και στη διατήρηση του φορτίου σε χαμηλά επίπεδα. Αξιόλογο μικροβιακό φορτίο προσδιορίστηκε δε στην περίπτωση της μη επιμολυσμένης υδατικής φάσης του FAME (DWM) παρόλο που το φορτίο ήταν μικρότερο από αυτό του B7. Αυτό πιθανό να οφείλεται στο γεγονός ότι το FAME στα αρχικά στάδια της μικροβιακής ανάπτυξης αποτελεί ιδανικότερο υπόστρωμα έναντι του B7.



Σχήμα 3. Προσδιορισμός της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) της υδατικής φάσης των μικρόκοσμων κατά το πέρας του χρόνου αποθήκευσης.

Οξειδωτική Σταθερότητα

Η οξειδωτική σταθερότητα των μικρόκοσμων προσδιορίστηκε με τη μέθοδο Rancimat (EN 15751 – EN 14112) στην αρχή και στο τέλος του χρόνου αποθήκευσης. Σύμφωνα με το Σχήμα 4, η οξειδωτική υποβάθμιση του FAME στους CWM μικρόκοσμους είναι έντονη, καθώς μειώθηκε κατά 36% σε σχέση με την αρχική. Η παρουσία του βιοκτόνου στους BTM μικρόκοσμους για μεγάλο χρονικό διάστημα φαίνεται πως υποβαθμίζει την οξειδωτική σταθερότητα του καυσίμου, θέτοντας το καύσιμο σαφώς εκτός της αντίστοιχης προδιαγραφής (8h). Παρόμοια τάση με αυτή του FAME φαίνεται να παρουσιάζει και το B7. Ειδικότερα, η οξειδωτική σταθερότητα όλων των μικρόκοσμων με B7 μειώθηκε μεν εμφανώς κατά την αποθήκευση, χωρίς δε να βρίσκεται κάτω από το απαιτούμενο όριο των 20 h που ορίζει το EN 590. Σημαντική μείωση του χρόνου επαγωγής (20%) καταγράφεται στην περίπτωση των CWM ενώ μεγαλύτερη (37%) σημειώνεται στην περίπτωση των μικρόκοσμων που περιέχεται το βιοκτόνο (BTM).



Σχήμα 4. Προσδιορισμός της οξειδωτικής σταθερότητας των αποθηκευμένων μικρόκοσμων με FAME και B7 μετά από 180 ημέρες αποθήκευσης βάσει τις μεθόδους EN14112 και EN15751, αντίστοιχα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η εξέλιξη του σχηματισμού αδιάλυτων στερεών σε επιμολυσμένα και μη συστήματα καυσίμων βιοντίζελ και μείγματος B7 κατά τη διάρκεια μακράς αποθήκευσης, ήτοι έξι μηνών. Μελετήθηκε, επίσης, η ταυτόχρονη επίδραση ενός εμπορικού βιοκτόνου (MBO). Σταδιακή αύξηση των αδιάλυτων στερεών παρουσιάστηκε στους επιμολυσμένους μικρόκοσμους και των δύο τύπων καυσίμου με την μεγαλύτερη να καταγράφεται στην περίπτωση του B7. Η παρουσία του βιοκτόνου συντέλεσε στην μείωση του φορτίου των αιωρούμενων σωματιδίων στην περίπτωση του B7 ενώ αποδείχθηκε αναποτελεσματική μέθοδος αντιμετώπισης για το καύσιμο βιοντίζελ τουλάχιστον στην εξεταζόμενη συγκέντρωση και περίοδο αποθήκευσης. Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της μικροβιακής ανάπτυξης σε καύσιμο βιοντίζελ, ειδικά σε εκτεταμένους χρόνους αποθήκευσης, πιθανότατα να απαιτείται συγκέντρωση μεγαλύτερη των 200 ppm. Επίσης, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εξέταση της βιοφωτάυγειας του ATP, φαίνεται να βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά της μεθόδου διήθησης, γεγονός που υποδεικνύει ότι η διήθηση μπορεί να αποτελέσει ένα πρωταρχικό εργαλείο αξιολόγησης για επιμολυσμένα συστήματα καυσίμων προτού εφαρμοστούν εξειδικευμένες

μικροβιολογικές τεχνικές. Τέλος, η παρουσία βιοκτόνου φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στην οξειδωτική σταθερότητα των υπό εξέταση καυσίμων, ειδικά στην περίπτωση του FAME, καθώς το αντίστοιχο καύσιμο βρέθηκε να είναι εκτός προδιαγραφής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] F. M. Bento, I. B. Beech, C. C. Gaylarde, G. E. Englert I. L. Muller, «Degradation and corrosive activities of fungi in a diesel-mild-steel aqueous system» *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 2, 135-142, 2005.
- [2] F. M. Bento & C. C. Gaylarde, «Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil.,» *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47(2), 107-112, 2001.
- [3] F. M. Bento & C. C. Gaylarde, «The production of interfacial emulsions by bacterial isolates from diesel fuels» *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38, 31-33, 1996.
- [4] F. J. Passman & J. Dobranic, «Relative biodegradability of B-100 biodiesel and conventional low sulfur diesel fuels» *Proceedings of the Ninth International Conference on the Stability and Handling of Liquid Fuels*, 2005.
- [5] C. C. Gaylarde, F. M. Bento J. Kelle, «Microbial Contamination of Stored Hydrocarbon Fuels and its Control, » *Revista de Microbiologia*, 1999.
- [6] H. L. Chesneau, «Remediation techniques. In: Passman, F.J. (Ed.), *Manual 47- Fuel and Fuel System Microbiology: Fundamentals, Diagnosis and Contamination Control*», 24-31, 2003.
- [7] E. C. Hill, «Safe, acceptable anti-microbial strategies for distillate fuels» *Proceedings of the Fifth International Conference on Stability and Handling of Liquid Fuels*, Rotterdam, The Netherlands, 1995.
- [8] F. J. Passman, «Microbial contamination and its control in fuels and fuel systems since 1980 - a review» *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013.