



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

**ΔΙΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ – ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ
ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ»**

**ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΒΙΟΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΓΙΑ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ 2^{ης} ΓΕΝΙΑΣ**

Ζωή Παππά

Αθήνα, Οκτώβριος 2017

**«ΕΠΙΣΤΗΜΗ &
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ
ΥΔΑΤΙΚΩΝ
ΠΟΡΩΝ»**

Επιβλέπουσα: Καθηγήτρια Μ. Λοϊζίδου

Πρόλογος

Το παρόν σύγγραμμα αποτελεί τη διπλωματική μου εργασία που καθιστά αναγκαία προς ολοκλήρωση του κύκλου σπουδών μου για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης (Μ.Δ.Ε.) του ΔΠΜΣ «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων» του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Η διπλωματική εργασία έλαβε χώρα στον Τομέα Χημικών Επιστημών στο Τμήμα Περιβαλλοντική Επιστήμη και Τεχνολογία (Unit of Environmental Science and Technology-UEST) της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την υπεύθυνο της διπλωματικής εργασίας, κα. Μαρία Λοϊζίδου (Καθηγήτρια ΕΜΠ) για την δυνατότητα που μου έδωσε να ασχοληθώ ερευνητικά με αυτή την ενδιαφέρουσα επιστημονική περιοχή, όσο και για την πολύτιμη βοήθειά της, την οργάνωση και την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας και των πειραμάτων που ήταν απαραίτητα για την ολοκλήρωσή της.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις Δρ. Έλλη Μπαραμπούτη και Δρ. Σοφία Μάη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν, για την αμέριστη βοήθειά τους, την οργάνωση, την υποστήριξη που μου προσέφεραν και την άψογη συνεργασία μας καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας και των πειραμάτων που ήταν απαραίτητα για την ολοκλήρωσή της.

Επίσης, ευχαριστώ ιδιαίτερα το προσωπικό του Εργαστηρίου Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας και ιδιαίτερα την Δρ. Jelica Novakovic, για την βοήθεια, την ευγένεια και το άριστο κλίμα συνεργασίας.

Τέλος, ευχαριστώ τους συμφοιτητές και φίλους συνοδοιπόρους κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου στο μεταπτυχιακό καθώς και τους γονείς μου, Θανάση και Ευαγγελία και τον αδερφό μου, Αχιλλέα, για την ψυχολογική υποστήριξη ώστε να βγάλω εις πέρας την παρούσα εργασία.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	i
Abstract	iii
Εισαγωγή.....	1

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Διαχείριση βιοαποβλήτων.....	4
1.1 Γενικές πληροφορίες, αναγκαιότητα ορθής διαχείρισης.....	4
1.2 Θεσμικό πλαίσιο διαχείρισης βιοαποβλήτων.....	5
1.3 Κατηγοριοποίηση βιοαποβλήτων.....	9
1.4 Συστήματα διαχείρισης βιοαποβλήτων.....	11
1.4.1 Μέθοδοι διαχείρισης.....	12
1.4.2 Μέθοδοι συλλογής.....	14
1.4.3 Τεχνικές επεξεργασίας οικιακών αποβλήτων.....	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Βιοκαύσιμα.....	18
2.1 Εισαγωγή.....	18
2.2 Θετικά και αρνητικά της χρήσης τους.....	26
2.3 Χώρες παραγωγής - οικονομικά στοιχεία.....	27
2.4 Βιοαιθανόλη.....	30
2.4.1 Η αιθανόλη ως καύσιμο.....	33
2.4.2 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης ως καύσιμο.....	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Παραγωγή βιοαιθανόλης 2^{ης} γενιάς.....	35
3.1 Προκατεργασία.....	36
3.2 Υδρόλυση.....	44
3.3 Αλκοολική ζύμωση.....	51
3.3.1 Αναστολείς της αλκοολικής ζύμωσης.....	54

3.3.2 Παραπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης	55
3.4 Διεργασίες παραγωγής βιοαιθανόλης.....	56

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Σκοπός	62
---------------------------------	-----------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματική μεθοδολογία.....	62
---	-----------

5.1 Εισαγωγή	62
--------------------	----

5.2 Πρώτη ύλη	63
---------------------	----

5.3 Προκατεργασία.....	65
------------------------	----

5.3.1 Υδροθερμική προκατεργασία (υδροθερμόλυση) των διατροφικών απορριμμάτων.....	66
---	----

5.3.2 Κοσκίνιση	67
-----------------------	----

5.3.3 Προκατεργασία ελαιο-εξαγωγής (Oil-extraction pretreatment).....	67
---	----

5.4 Ενζυμική υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένων και μη διατροφικών απορριμμάτων.....	67
---	----

5.5 Ζύμωση	69
------------------	----

5.6 Μέθοδοι ανάλυσης.....	70
---------------------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικό πρωτόκολλο	93
---	-----------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματικά αποτελέσματα	96
---	-----------

7.1 Σύσταση προξηραμένων οικιακών αποβλήτων	96
---	----

7.2 Θεωρητική Μέγιστη Απόδοση Βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς	97
--	----

7.3 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου	98
--	----

7.4 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου.....	101
---	-----

7.5 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του μίγματος των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου	104
---	-----

7.6 Επίδραση της προεπεξεργασίας στην ενζυμική υδρόλυση του βιοαποβλήτου.....	107
---	-----

7.7 Παραγωγή αιθανόλης από προξηραμένο βιοαπόβλητο με εφαρμογή μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης.....	111
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Συμπεράσματα	113
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	115

Περίληψη

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βιβλιογραφική διερεύνηση της διαχείρισης των βιοαποβλήτων και η βελτιστοποίηση της ενζυμικής υδρόλυσης οικιακών βιοαποβλήτων, σε εργαστηριακή κλίμακα, για την παραγωγή βιοαιθανόλης 2^{ης} γενιάς. Η διεργασία παραγωγής βιοαιθανόλης από οικιακά απορρίμματα περιλαμβάνει δύο κύρια στάδια, την υδρόλυση και την ζύμωση. Από τα δύο αυτά στάδια, η υδρόλυση του βιοαποβλήτου σε ζυμώσιμα σάκχαρα αποτελεί το στάδιο που καθορίζει την απόδοση της διεργασίας, δηλαδή την παραγωγή της αιθανόλης 2^{ης} γενιάς. Για τον λόγο αυτό, η βελτιστοποίηση της ενζυμικής υδρόλυσης σε εργαστηριακή κλίμακα είναι απαραίτητη προκειμένου να αριστοποιηθεί η διεργασία παραγωγής βιοαιθανόλης.

Ως πρώτη ύλη για την ενζυμική υδρόλυση χρησιμοποιήθηκαν προξηραμένα οικιακά ΒΑ, αφού πρώτα αλέστηκαν και στην συνέχεια χαρακτηρίστηκαν με βάση τις φυσικοχημικές τους παραμέτρους, όπως το pH, την υγρασία, τα ολικά πτητικά στερεά, τον ολικό άνθρακα, το ολικό άζωτο, τις πρωτεΐνες, τα λίπη και έλαια, τα ολικά διαλυτά στερεά (ολικά αναγωγικά σάκχαρα, γλυκόζη) και τους υδατάνθρακες (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, ολικό άμυλο). Τα προξηραμένα οικιακά ΒΑ παρουσιάζουν pH $4,88 \pm 0,10$, υγρασία $9,1 \pm 0,3$ % w/w, ολικά πτητικά στερεά $86,83 \pm 2,60$ % w/w, ολικό άνθρακα $53,36 \pm 1,20$ % w/w, ολικό άζωτο $2,16 \pm 0,03$ % w/w, πρωτεΐνες $13,50 \pm 0,18$ % w/w, λίπη και έλαια $11,65 \pm 1,50$ % w/w, ολικά διαλυτά στερεά με μέση σύσταση $35,01 \pm 3,30$ % w/w, εκ των οποίων, $7,83 \pm 0,90$ % w/w σε ολικά αναγωγικά σάκχαρα, $1,40 \pm 0,08$ % w/w σε ελεύθερη γλυκόζη, υδατάνθρακες με μέση σύσταση $39,84 \pm 3,30$ % w/w, εκ των οποίων, $7,82 \pm 0,20$ % w/w σε κυτταρίνη, $11,91 \pm 0,65$ % w/w σε ημικυτταρίνη και $8,06 \pm 0,30$ % w/w σε όλοιο άμυλο.

Εν συνεχεία, έλαβαν χώρα τρεις κύκλοι πειραμάτων ενζυμικής υδρόλυσης, μελετήθηκαν τρεις μέθοδοι προεπεξεργασίας και στη συνέχεια στις βέλτιστες συνθήκες πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης για την παραγωγή βιοαιθανόλης από οικιακά απορρίμματα.

Μελετήθηκαν ενζυμικά σκευάσματα με κυτταρινολυτική και αμυλολυτική δράση. Τα συγκεκριμένα ενζυμικά σκευάσματα αναπτύχθηκαν στα πλαίσια της συνεργασίας της

εταιρείας Novozymes και της Μονάδας Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας, της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ για το συγκεκριμένο υπόστρωμα. Μελετήθηκαν δύο κυτταρινολυτικά σκευάσματα με τα κωδικά ονόματα NS22177 και NS22233 και ένα αμυλολυτικό σκεύασμα με το κωδικό όνομα NS22109. Ως προς τις μεθόδους προεπεξεργασίας μελετήθηκαν η υδροθερμική επεξεργασία, η κοσκίνιση και η ελαιο-εξαγωγή με τη μέθοδο Soxhlet.

Προέκυψε ότι η βέλτιστη δόση αμυλολυτικού σκευάσματος είναι 2,50 μL ενζύμου NS22109/g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται υδρόλυση του αμύλου 55,92 % και ταυτόχρονη παραγωγή ελεύθερης γλυκόζης 93,89%, ενώ το κυτταρινολυτικό ενζυμικό σκεύασμα NS22177 επιτυγχάνει την υψηλότερη απόδοση στην υδρόλυση της κυτταρίνης (51,39%) όταν προστίθενται 20 μL /g προξηραμένου υλικού.

Όσον αφορά τη μελέτη της επίδρασης της προεπεξεργασίας, προέκυψε ότι η εφαρμογή προεπεξεργασίας δεν συνεισφέρει θετικό αποτέλεσμα στην ενζυμική υδρόλυση των προξηραμένων οικιακών απορριμμάτων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η διαδικασία της προξήρανσης και άλεσης των νωπών οικιακών απορριμμάτων συνιστά από μόνη της ικανοποιητική προεπεξεργασία.

Λαμβάνοντας υπόψη τα πειραματικά αποτελέσματα μελέτης της επίδρασης τόσο της προεπεξεργασίας, όσο και του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση προξηραμένων οικιακών απορριμμάτων, εξήχθη το συμπέρασμα ότι οι βέλτιστες συνθήκες σακχαροποίησης των δομικών σακχάρων (αμύλου και κυτταρίνης) είναι οι ακόλουθες:

- Καμία προεπεξεργασία
- 2,50 μL ενζύμου NS22109 / g προξηραμένου υλικού στους 65°C για 1h
- 20 μL ενζύμου NS22177 / g προξηραμένου υλικού στους 50°C για 5h

Με εφαρμογή της μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης στις ανωτέρω βέλτιστες συνθήκες προέκυψε απόδοση υδρόλυσης αμύλου 91,96 % και υδρόλυσης κυτταρίνης 49,66 %. Ως προς την παραγωγή αιθανόλης προέκυψαν 6,21 g αιθανόλης / 100g ξηρού βιοαποβλήτου, που αντιστοιχεί σε 51 % της θεωρητικής απόδοσης σε αιθανόλη του συγκεκριμένου υποστρώματος.

Abstract

The aim of this diploma thesis was to perform a literature review on biowaste management and to optimize the enzymatic hydrolysis of household biowaste, on a laboratory scale, for the production of 2nd generation bioethanol.

The bioethanol production process from household biowaste involves two main stages, hydrolysis and fermentation. From these two stages, the hydrolysis of biowaste in fermentable sugars is the stage determining the yield of the process that is the production of 2nd generation ethanol. For this reason, the optimization of enzymatic hydrolysis on a laboratory scale is essential in order to optimize the bioethanol production process.

Pre-dried household biowaste was as a feedstock to enzymatic hydrolysis after grinding and characterization based on their physicochemical parameters such as pH, humidity, total volatile solids, total carbon, total nitrogen, proteins, fats and oils, total soluble solids (total reducing sugars, glucose) and carbohydrates (cellulose, hemicellulose, total starch). The pre-dried household biowaste had the following characteristics: pH $4,88 \pm 0,10$, humidity $9,1 \pm 0,3\%$ w/w, total volatile solids $86,83 \pm 2,60\%$ w/w, total carbon $53,36 \pm 1,20\%$ w/w, total nitrogen $2,16 \pm 0,03\%$ w/w, proteins $13,50 \pm 0,18\%$ w/w, fats and oils $11,65 \pm 1,50\%$ w/w, total soluble solids with an average composition of $35,01 \pm 3,30\%$ w/w, of which; $7,83 \pm 0,90\%$ w/w were total reducing sugars; and $1,40 \pm 0,08\%$ w/w was free glucose, carbohydrates with an average composition of $39,84 \pm 3,30\%$ w/w, of which $7,82 \pm 0,20\%$ w/w was cellulose, $11,91 \pm 0,65\%$ w/w was hemicellulose and $8,06 \pm 0,30\%$ w/w was total starch.

Three sets of experiments of enzymatic hydrolysis were carried out, three pretreatment methods were studied, and then non-isothermal simultaneous saccharification and fermentation was carried out to optimize the conditions for the production of bioethanol from household biowaste.

Enzyme preparations with cellulolytic and amylolytic activity were studied. These enzyme formulations were developed, for this specific substrate, in the framework of the collaboration of Novozymes company with the Unit of Environmental Science and Technology (UEST) which is an educational and research unit at the School of

Chemical Engineering of the NTUA. Two cellulolytic formulations, coded NS22177 and NS22233, and an amylolytic formulation coded NS22109 were studied. Hydrothermal pretreatment, sieving and oil extraction using the Soxhlet method were studied as the pretreatment methods.

The optimal dose of amylolytic formulation was found to be 2,50 μL of enzyme NS22109 / g of pre-dried material, achieving 55,92% starch hydrolysis and 93,89% glucose production at the same time, while the cellulolytic enzyme NS22177 achieves the highest yield on hydrolysis of cellulose (51,39%) when 20 μL / g of pre-dried material are added.

With regard to the study of the effect of pre-treatment, it became clear that the pre-treatment application does not contribute a positive effect to the enzymatic hydrolysis of pre-dried household biowaste. This may be due to the fact that the process of pre-drying and grinding of fresh household biowaste is itself a sufficient pre-treatment.

Considering the experimental results of the effect of both pre-treatment and the enzyme loading on the hydrolysis of pre-dried household biowaste, it was concluded that the optimal conditions for the saccharification of structural sugars (starch and cellulose) are as follows:

- No pretreatment
- 2,50 μL of enzyme NS22109 / g of pre-dried material at 65°C for 1h
- 20 μL of enzyme NS22177 / g of pre-dried material at 50°C for 5h

Applying non-isothermal simultaneous saccharification and fermentation to the above optimal conditions resulted in 91,96% hydrolysis of starch and 49,66% hydrolysis of cellulose. Ethanol production resulted in 6,21 g of ethanol /100 g of dry bio-waste, corresponding to 51% of the theoretical ethanol yield for the particular substrate.

Εισαγωγή

Η βιώσιμη διαχείριση των αποβλήτων αποτελεί θέμα αυξημένης σημαντικότητας παγκοσμίως. Η οδηγία πλαίσιο για τα απόβλητα της ΕΕ απαιτεί τη μείωση και την επεξεργασία των οικιακών στερεών αποβλήτων (MSW: Municipal Solid Waste) πριν από τη διάθεσή τους. Το οργανικό κλάσμα των οικιακών στερεών αποβλήτων μπορεί να αποτελεί πηγή προβλημάτων στη διαχείριση. Λόγω της βιοαποικοδόμησής του, μολύνει τα ανακυκλώσιμα υλικά στα συστήματα συνδυασμένης συλλογής αποβλήτων σε χώρους υγειονομικής ταφής. Έχουν υιοθετηθεί διαφορετικές στρατηγικές με την πάροδο του χρόνου για τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων αυτού του κλάσματος. Μια από τις στρατηγικές διαχείρισης είναι η παραγωγή βιοκαυσίμων. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει διπλό όφελος καθώς μειώνει τη ζήτηση για νέο χώρο υγειονομικής ταφής και ταυτόχρονα συμβάλλει στην κάλυψη των αστικών ενεργειακών αναγκών (Ripa et al., 2017).

Για τον λόγο αυτό, η παγκόσμια παραγωγή βιοκαυσίμων έχει αυξηθεί δραματικά τα τελευταία χρόνια από 18,2 δισεκατομμύρια λίτρα το 2000 σε 60,6 δισεκατομμύρια λίτρα το 2007, με το 85% περίπου να οφείλεται στη βιοαιθανόλη (Saini et al., 2015).

Στις μέρες μας, η βιοαιθανόλη ως ένα ανανεώσιμο, αειφόρο και οικονομικά βιώσιμο καύσιμο, κερδίζει συνεχώς σημασία (Mood et al., 2013).

Η βιοαιθανόλη παράγεται κυρίως από υλικά πλούσια σε σάκχαρα και άμυλο (πρώτης γενιάς βιοαιθανόλη), με τις ΗΠΑ και τη Βραζιλία να είναι οι μεγαλύτεροι παραγωγοί στον κόσμο (από καλαμπόκι και ζαχαροκάλαμο αντίστοιχα) καλύπτοντας το 89% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής (Morales et al., 2015). Ωστόσο, τα βιοκαύσιμα που παράγονται με τη χρήση καλλιεργειών τροφίμων έχουν το κύριο μειονέκτημα ότι ανταγωνίζονται την παραγωγή τροφίμων από την καλλιεργήσιμη γη (Gupta & Verma, 2015).

Τα τελευταία χρόνια, πολλές πρώτες ύλες έχουν χρησιμοποιηθεί στις διεργασίες παραγωγής βιοκαυσίμων, μερικές εκ των οποίων είναι η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα, τα φύκη, η σόγια, το καλαμπόκι και το ζαχαροκάλαμο. Κάθε είδος πρέπει να υποστεί διαφορετική επεξεργασία προκειμένου να παραχθεί βιοκαύσιμο (Trumbo and Tonn, 2015).

Πιο συγκεκριμένα για τη λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα, πολλοί διαφορετικοί τύποι έχουν χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για τη βιομηχανική παραγωγή βιοαιθανόλης, η οποία καλείται βιοαιθανόλη δεύτερης γενιάς. Παρά τα πολλά πλεονεκτήματα της, όπως είναι η διαθεσιμότητα, η χαμηλή τιμή εάν δεν μεταφέρεται σε μεγάλες αποστάσεις, η μη ανταγωνιστικότητα με την τροφική αλυσίδα, η αξιοποίηση των αποβλήτων (Paulova et al., 2015), η παραγωγή βιοκαυσίμων που χρησιμοποιούν λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα ως πρώτη ύλη παρουσιάζει διάφορα τεχνικά ζητήματα. Η λιγνοκυτταρινούχα δομή έχει εξελιχθεί κατά τη διάρκεια των ετών για να αντιστέκεται στη φυσική υποβάθμιση, οπότε είναι εγγενώς ανθεκτική στη χημική ή ενζυμική αποικοδόμηση (Isikgor & Becer, 2015). Τα κύρια συστατικά της λιγνοκυτταρικής βιομάζας είναι η κυτταρίνη (μια β(1-4) συνδεδεμένη D-γλυκόζη, πολυμερές υψηλού μοριακού βάρους), η ημικυτταρίνη (στην πλειονότητα των περιπτώσεων πολυμερές ξυλόζης και μαννόζης), η λιγνίνη (ένα σύνθετο φαινολικό πολυμερές) και τα εκχυλίσματα (Saini et al., 2015).

Συνεπώς, η διαδικασία που περιλαμβάνει τη μετατροπή της πρώτης ύλης σε βιοαιθανόλη είναι πιο δύσκολη για τις πρώτες ύλες δεύτερης- παρά για της πρώτης-γενιάς. Αν και υπάρχουν διάφοροι τρόποι παραγωγής βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς, η τυπική διαδικασία περιλαμβάνει τρία διαδοχικά βήματα.

Πρώτα από όλα, η φυσικοχημική προεπεξεργασία αυξάνει την προσβασιμότητα και την ενεργή επιφάνεια της πρώτης ύλης. Οι πλέον σημαντικές μέθοδοι σήμερα είναι η έκρηξη με ατμό, η αραίωση με αραιό οξύ και η αλκαλική προεπεξεργασία (Mood et al., 2013, Singh et al., 2015). Δεύτερον, η βιομάζα πρέπει να υποστεί ενζυμική υδρόλυση, ώστε να ληφθούν υψηλές συγκεντρώσεις ζυμώσιμων σακχάρων (Khare et al., 2015). Τέλος, το προϊόν υδρόλυσης ζυμώνεται για τη μετατροπή της γλυκόζης σε αιθανόλη (Fava et al., 2015).

Μία από τις βασικές πτυχές της παραγωγής βιοαιθανόλης είναι ο τελικός διαχωρισμός της βιοαιθανόλης. Για να μειωθεί το κόστος της διαδικασίας καθαρισμού, είναι απαραίτητο να επιτευχθεί υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης (Ramachandriya et al., 2013). Για το σκοπό αυτό, η συγκέντρωση που λαμβάνεται από την ενζυμική υδρόλυση πρέπει να είναι όσο το δυνατόν υψηλότερη (Wojtusik et al., 2016).

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση της ενζυμικής υδρόλυσης των οικιακών βιοαποβλήτων, σε εργαστηριακή κλίμακα, προκειμένου να αριστοποιηθεί η διεργασία παραγωγής βιοαιθανόλης. Η αριστοποίηση πραγματοποιήθηκε με κριτήριο την μεγιστοποίηση της παραγόμενης ποσότητας ελεύθερης γλυκόζης, η οποία στη συνέχεια στο στάδιο της ζύμωσης μετατρέπεται σε βιοαιθανόλη. Διερευνήθηκε η επίδραση του είδους και του ενζυμικού φορτίου αμυλολυτικών όσο και κυτταρινολυτικών ενζύμων, καθώς και της ενδεχόμενης προεπεξεργασίας (υδροθερμικής ή απομάκρυνσης λιπών).

Στο πρώτο Κεφάλαιο δίνονται γενικές πληροφορίες σχετικά με την διαχείριση των βιοαποβλήτων, την αναγκαιότητα ορθής διαχείρισης, το θεσμικό πλαίσιο, την κατηγοριοποίηση των βιοαποβλήτων και τα διαθέσιμα συστήματα διαχείρισης των βιοαποβλήτων.

Στο δεύτερο Κεφάλαιο γίνεται μια εισαγωγή στα βιοκαύσιμα, παρουσιάζονται τα θετικά και τα αρνητικά της χρήσης τους, οι κύριες χώρες παραγωγής και σχετικά οικονομικά στοιχεία. Στο τέλος, παρουσιάζεται η βιοαιθανόλη ως καύσιμο καθώς και τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της χρήσης της.

Στο τρίτο Κεφάλαιο παρουσιάζεται η παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς και αναλύονται οι επιμέρους διαδικασίες, η προκατεργασία, η υδρόλυση και η αλκοολική ζύμωση. Το κεφάλαιο ολοκληρώνεται με τις κύριες διεργασίες παραγωγής της βιοαιθανόλης.

Η βιβλιογραφική παρουσίαση των σημαντικότερων στοιχείων της υπάρχουσας σχετικής γνώσης διεθνώς ολοκληρώνεται και στην συνέχεια παρουσιάζεται το πειραματικό μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Αρχικά, περιγράφεται η πειραματική μεθοδολογία που ακολουθήθηκε, η πρώτη ύλη, η προκατεργασία που εφαρμόστηκε, η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση καθώς και οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν.

Έπειτα, ακολουθεί το πειραματικό πρωτόκολλο και στη συνέχεια παρατίθενται τα πειραματικά αποτελέσματα.

Τέλος, αναλύονται τα συμπεράσματα που προέκυψαν και δίνονται προτάσεις για περαιτέρω έρευνα στο παρόν επιστημονικό πεδίο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Διαχείριση βιοαποβλήτων

1.1 Γενικές πληροφορίες, αναγκαιότητα ορθής διαχείρισης

Με τον όρο βιοαπόβλητα ή βιολογικά απόβλητα (BA) εννοούνται όλα τα σχετικά υλικά που καθορίζονται στον κατάλογο αποβλήτων της Ε.Ε σχετικά με "Δημοτικά απόβλητα", όπως αναφέρεται στην απόφαση της Επιτροπής αριθ. 2000/532/ΕΚ και τροποποιήθηκε με τις αποφάσεις 2001/118/ΕΚ και 2001/119/ΕΚ και την απόφαση 2001/573/ΕΚ του Συμβουλίου.

Σύμφωνα με την Οδηγία 98/2008 για τα απόβλητα και την Πράσινη Βίβλο (3.12.2008 COM-2008 811), τα βιοαπόβλητα ή βιολογικά απόβλητα (BA) αποτελούν υποσύνολο των βιοαποδομήσιμων αποβλήτων (BAA) και ορίζονται ως:

Τα βιοαποδομήσιμα απόβλητα κήπων και πάρκων, τα απόβλητα τροφών μαγειρειών και νοικοκυριών, εστιατορίων, μονάδων εστίασης και καταστημάτων λιανικής πώλησης και παρεμφερή απόβλητα εγκαταστάσεων επεξεργασίας τροφίμων.

Στον ορισμό δεν περιλαμβάνονται τα δασικά ή γεωργικά κατάλοιπα, η κοπριά, η ιλύς επεξεργασίας λυμάτων ή άλλα βιοαποδομήσιμα απόβλητα όπως οι φυσικές ίνες, το χαρτί ή το κατεργασμένο ξύλο. Εξαιρούνται επίσης τα παραπροϊόντα του τομέα παραγωγής τροφίμων που δεν μετατρέπονται ποτέ σε απόβλητα (Καλαφάτης Στ., 2012).

Η θεματική στρατηγική, που αφορά στη μείωση και την ανακύκλωση των αποβλήτων θέτει κατευθύνσεις και περιγράφει τρόπους με τους οποίους η διαχείριση των απορριμμάτων μπορεί να βελτιωθεί. Ο στόχος της στρατηγικής είναι η μείωση των αρνητικών επιπτώσεων της διαχείρισης των αποβλήτων στο περιβάλλον, κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής τους από την παραγωγή ως την τελική διάθεση.

Η στρατηγική εστιάζει κυρίως στη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων των αποβλήτων και των προϊόντων που θα γίνουν απόβλητα και δίνει έμφαση στα βιολογικά απόβλητα, τα 2/3 των οποίων πρέπει να μεταφέρονται για διάθεση χρησιμοποιώντας άλλες μεθόδους αντί για υγειονομική ταφή, όπως απαιτείται από την οδηγία 1999/31/ΕΚ (Technical Report, COM(2010) 054 final).

1.2 Θεσμικό πλαίσιο διαχείρισης βιοαποβλήτων

Για την επίτευξη των κοινών στόχων η Ε.Ε. εκδίδει οδηγίες προς τα κράτη μέλη, αφήνοντας ωστόσο στις εθνικές αρχές την αρμοδιότητα ως προς τον τόπο και τα μέσα που θα διαθέσουν για να το επιτύχουν. Όσον αφορά στην αντιμετώπιση των βιοαποβλήτων η Ε.Ε. έχει εκδώσει μια σειρά οδηγιών.

Αρχικά με την κοινοτική οδηγία 1999/31/ΕΚ τα κράτη μέλη της Ε.Ε. υποχρεώνονται να μειώσουν μέχρι το 2016 την ποσότητα των βιοαποδομήσιμων αστικών αποβλήτων που προορίζονται για διάθεση σε χώρους υγειονομικής ταφής στο 35% της συνολικής κατά βάρος ποσότητας των βιοαποδομήσιμων αστικών αποβλήτων που είχαν παραχθεί το 1995 ή το τελευταίο προ του 1995 έτος για το οποίο υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία της Eurostat. Τα κράτη μέλη τα οποία είχαν πραγματοποιήσει διάθεση άνω του 80% των αστικών τους αποβλήτων σε χώρους υγειονομικής ταφής την προαναφερθείσα περίοδο μπορούν να αναβάλουν την επίτευξη του ανωτέρου στόχου για περίοδο τεσσάρων ετών το πολύ (μεταξύ αυτών και η Ελλάδα).

Ταυτόχρονα με την κοινοτική οδηγία 2008/98/ΕΚ τα κράτη μέλη οφείλουν να λάβουν μέτρα με σκοπό την ενθάρρυνση:

- ✓ Της χωριστής συλλογής βιολογικών αποβλήτων, ενόψει της λιπασματοποίησης και της ζύμωσης των βιοαποβλήτων.
- ✓ Της επεξεργασίας των βιολογικών αποβλήτων κατά τρόπο που να διασφαλίζεται υψηλό επίπεδο περιβαλλοντικής προστασίας.
- ✓ Της χρήσης περιβαλλοντικά ασφαλών υλικών παραγόμενων από βιολογικά απόβλητα (eur-lex.europa., 2017).

Η μεταφορά του νομοθετικού πλαισίου στην ελληνική νομοθεσία υλοποιήθηκε με το νόμο Ν. 4042/2012 και την ΚΥΑ 29407/3508/2002 σε αντιστοιχία με τις Οδηγίες που αναφέρθηκαν. Σύμφωνα με τα ελληνικά νομοθετήματα, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί:

- Διαλογή στην πηγή ανακυκλώσιμων υλικών (τουλάχιστον για γυαλί, χαρτί, πλαστικό και μέταλλο) μέχρι το 2015
- Προετοιμασία για επαναχρησιμοποίηση και ανακύκλωση των στερεών αποβλήτων (τουλάχιστον για χαρτί, μέταλλο, πλαστικό και γυαλί) από τα νοικοκυριά και ενδεχομένως άλλης προέλευσης στο βαθμό που τα απόβλητα

αυτά είναι παρόμοια με τα απόβλητα των νοικοκυριών, πρέπει να αυξηθεί κατ' ελάχιστον στο 50% ως προς το συνολικό βάρος μέχρι το 2020, μείωση της ποσότητας των βιοαποδομήσιμων αστικών αποβλήτων που οδηγούνται προς την τελική διάθεση κατά 50% έως το 2013 και κατά 35% έως το 2020 σε σχέση με τα επίπεδα του 1995 (waste2bio, 2017).

Στον **Πίνακα 1.1** που ακολουθεί παρουσιάζεται συνοπτικά το υφιστάμενο θεσμικό πλαίσιο που σχετίζεται με τη διαχείριση των βιοαποβλήτων σε Ευρωπαϊκό και Εθνικό επίπεδο, για τα βιοαποδομήσιμα και τα αστικά απόβλητα εν γένει.

Πίνακας 1.1. Συγκριτική παρουσίαση εθνικού και ευρωπαϊκού θεσμικού πλαισίου σχετικά με τα βιοαποδομήσιμα απόβλητα (Καλαφάτης Στ., 2012)

Ευρωπαϊκή Νομοθεσία	Εθνική Νομοθεσία	Επισημάνσεις
Οδηγία 98/2008/ΕΚ για τα απόβλητα Οδηγία 2008/99/ΕΚ σχετικά με την προστασία του περιβάλλοντος μέσω του ποινικού δικαίου.	ΝΟΜΟΣ 4042 (ΦΕΚ Α' 24/13-02-2012) Ποινική προστασία του περιβάλλοντος- Πλαίσιο παραγωγής και διαχείρισης αποβλήτων	(Εναρμόνιση με την Οδηγία 2008/99/ΕΚ και την Οδηγία 2008/98/ΕΚ). Σύμφωνα με το άρθρο 41: Έως το 2015, το ποσοστό χωριστής συλλογής των βιολογικών αποβλήτων πρέπει να ανέλθει, κατ'ελάχιστον, στο 5% του συνολικού βάρους των βιολογικών αποβλήτων και έως το 2020, κατ'ελάχιστον, στο 10% του συνολικού βάρους των βιολογικών αποβλήτων.
Οδηγία 91/156/ΕΚ περί στερεών αποβλήτων.	ΚΥΑ 114218/1997 (ΦΕΚ 1016Β/17.11.97), Κατάρτιση πλαισίου Προδιαγραφών και γενικών προγραμμάτων διαχείρισης στερεών αποβλήτων	Ενσωμάτωση των γενικών κατευθύνσεων και προδιαγραφών της 75/442/ΕΚ περί στερεών αποβλήτων, όπως τροποποιήθηκε από την 91/156/ΕΚ.
Οδηγία 1999/31/ΕΚ περί υγειονομικής ταφής αποβλήτων.	ΚΥΑ 29407/3508/2002 (ΦΕΚ 1572Β/16.12.02), Μέτρα και όροι για την υγειονομική ταφή των	Θέσπιση στόχων για επεξεργασία πριν την ταφή και μείωση της ποσότητας των ΒΑΑ που οδηγείται για ταφή.

	αποβλήτων	
Οδηγία 75/442/ΕΚ , όπως τροποποιήθηκε με την 91/156/ΕΚ.	ΚΥΑ 50910/2727/2003 (ΦΕΚ 1909Β/22.12.2003), Μέτρα και Όροι για την Διαχείριση Στερεών Αποβλήτων. Εθνικός και Περιφερειακός Σχεδιασμός Διαχείρισης.	Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο Σε εθνικό επίπεδο με την εν λόγω ΚΥΑ ενσωματώθηκε η 75/442/ΕΚ, όπως τροποποιήθηκε με την 91/156/ΕΚ θέτοντας αυστηρότερες κατευθύνσεις, μέτρα, όρους και διαδικασίες για την διαχείριση στερεών αποβλήτων και εισήγαγε τους ευρωπαϊκούς στόχους και αρχές στην εθνική στρατηγική διαχείρισης.
Οδηγία 2008/1/ΕΚ , σχετικά με την ολοκληρωμένη πρόληψη και έλεγχο ρύπανσης.	ΚΥΑ 22912/1117 (ΦΕΚ 759Β/06.06.05) Μέτρα και όροι για την πρόληψη και τον περιορισμό της ρύπανσης του περιβάλλοντος από την αποτέφρωση των αποβλήτων.	Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο.
Κανονισμός 1774/2002/ΕΚ , για τον καθαρισμό υγειονομικών κανόνων σχετικά με τα ζωικά υποπροϊόντα που δεν προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο	ΠΔ 211/2006 (ΦΕΚ 211 ^Α /05.05.06), Συμπληρωματικά μέτρα εκτέλεσης του Κανονισμού 1774/2002/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 3 ^{ης} Οκτωβρίου 2002 για τον καθορισμό υγειονομικών κανόνων σχετικά με τα ζωικά υποπροϊόντα που	Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο. Το ΠΔ συμπληρώνεται με τις εγκυκλίους όπως παρουσιάστηκαν ανωτέρω. Δίνονται προδιαγραφές για εγκαταστάσεις λιπασματοποίησης και αναερόβιας χώνευσης (παρασκευής βιοαερίου), αδειοδότηση και ορθή λειτουργία. Επίσης, γίνεται και προσέγγιση για θέσπιση κριτηρίων οργανικών λιπασμάτων από υλικά αυτών των κατηγοριών.

	δεν προορίζονται για την κατανάλωση από τον άνθρωπο.	
Κανονισμός 1062/2009/ΕΚ , περί υγειονομικών κανόνων για ζωικά υποπροϊόντα και παράγωγα προϊόντα που δεν προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο-κατάργηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 177/2002 (κανονισμός για τα ζωικά υποπροϊόντα).		Νέο συνεκτικό και συνολικό πλαίσιο κοινοτικών υγειονομικών κανόνων για την συλλογή, τη μεταφορά, τον χειρισμό, τον μετασχηματισμό, τη μεταποίηση, την αποθήκευση, τη διάθεση στην αγορά, τη διανομή, τη χρήση ή την απόρριψη των ζωικών υποπροϊόντων.
Κανονισμός 142/2011/ΕΚ , για την εφαρμογή του κανονισμού (ΕΚ) αριθμ. 1062/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου περί υγειονομικών κανόνων για ζωικά υποπροϊόντα και παράγωγα προϊόντα που δεν προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο.		Θέσπιση κανόνων για τη διαχείριση ζωικών υποπροϊόντων, την επίτευξη των στόχων του Κανονισμού 1069/2009/ΕΚ και τη βιώσιμη χρήση ζωικών υλικών, αλλά και τη διατήρηση υψηλού επιπέδου προστασίας της δημόσιας υγείας και υγείας των ζώων στην ΕΕ.
Οδηγία 2000/76/ΕΚ , για την αποτέφρωση των αποβλήτων	ΚΥΑ 22912/1117 (ΦΕΚ 759B/06.06.05) Μέτρα και όροι για την πρόληψη και τον περιορισμό της ρύπανσης του περιβάλλοντος από την αποτέφρωση των αποβλήτων.	Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο.
Οδηγία 2006/799/ΕΚ , περί καθορισμού αναθεωρημένων οικολογικών κριτηρίων και των σχετικών απαιτήσεων αξιολόγησης και εξακρίβωσης για την απονομή κοινοτικού οικολογικού σήματος σε		Με τις οδηγίες αυτές είναι σαφής η προώθηση της χρήσης ανανεώσιμων υλικών ή /και η ανακύκλωση οργανικής ύλης προερχόμενης από συγκέντρωση ή/ και επεξεργασία αποβλήτων, ως συμβολή στην ελαχιστοποίηση των προς

βελτιωτικά εδάφους.		τελική διάθεση στερεών αποβλήτων σε εθνικό επίπεδο ακόμη δεν έχουν εναρμονιστεί.
Οδηγία 2007/64/ΕΚ , περί καθορισμού αναθεωρημένων οικολογικών κριτηρίων και σχετικών απαιτήσεων αξιολόγησης και εξακρίβωσης για την απονομή κοινοτικού οικολογικού σήματος σε καλλιεργητικά μέσα.		
Οδηγία 28/2009/ΕΚ , σχετικά με την προώθηση της χρήσης ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές.	Νόμος 3468/2006 (ΦΕΚ 129Α/27.06.06) Παραγωγή Ηλεκτρικής Ενέργειας από Ανανεώσιμες Πηγές & Συμπαράγωγή Ηλεκτρισμού και Θερμότητας Υψηλής Απόδοσης (τροποποιήθηκε από τους Ν.3734/2009, Ν.3851/20120, Ν.3889/2010).	Ενσωμάτωση της ευρωπαϊκής στην εθνική νομοθεσία. Τίθενται στόχοι σε εθνικό επίπεδο συμπεριλαμβάνοντας και τα βιοαπόβλητα ως ανανεώσιμη πηγή ενέργειας, στο ευρύτερο πλαίσιο της βιομάζας.

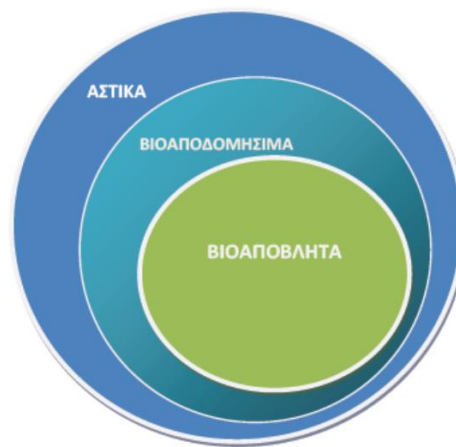
1.3 Κατηγοριοποίηση βιοαποβλήτων

Με βάση τον ορισμό, τα βιοαπόβλητα περιλαμβάνουν τα απόβλητα τροφών, τροφίμων, κήπων και παρεμφερή απόβλητα που προκύπτουν από:

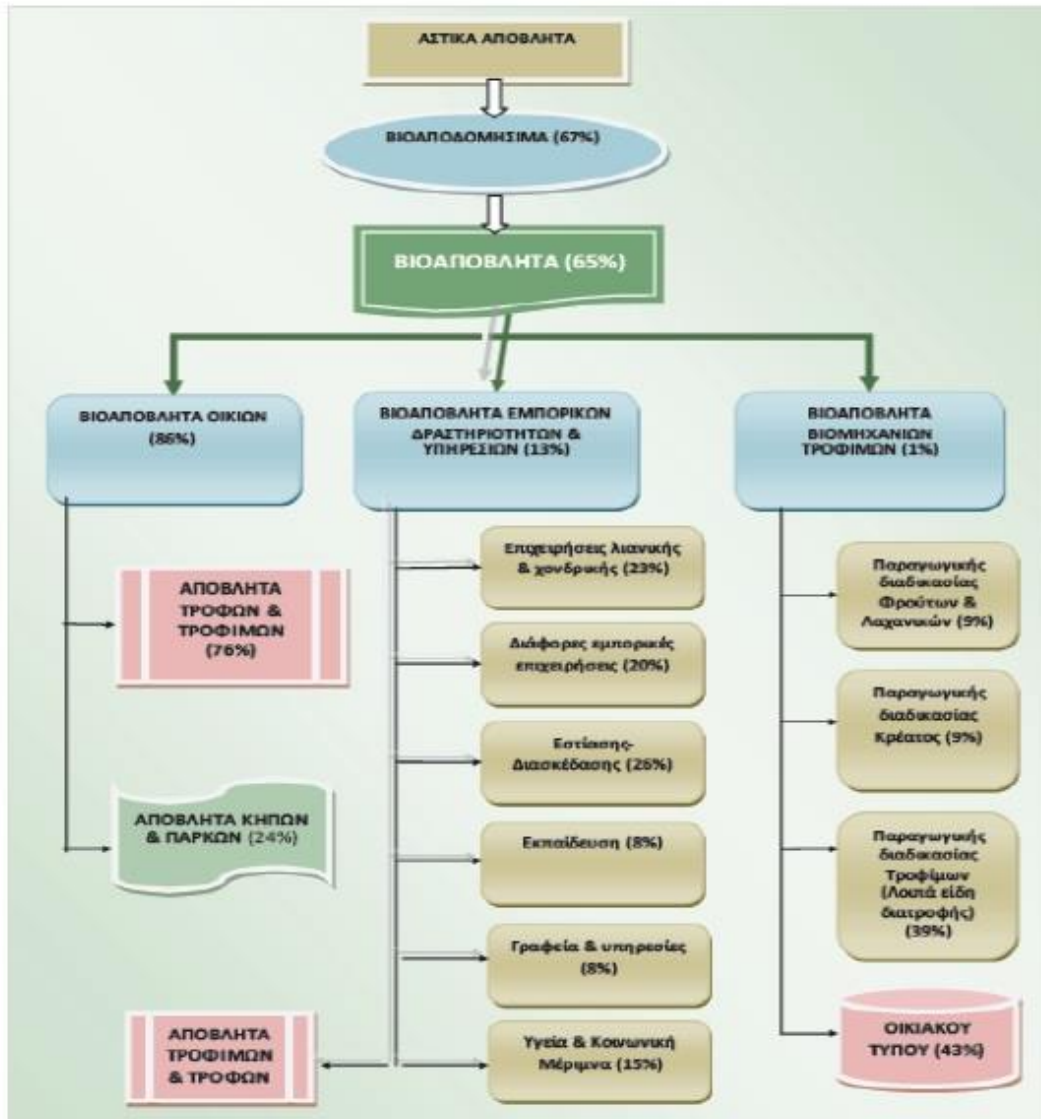
- Οικίες
- Εμπορικές δραστηριότητες και υπηρεσίες
- Εγκαταστάσεις παραγωγής και επεξεργασίας τροφίμων

Οι τρεις παραπάνω βασικές κατηγορίες προέλευσης των βιοαποβλήτων χωρίζονται σε αντίστοιχες υποκατηγορίες, εφόσον προκύπτει διακριτό ρεύμα και σημαντική ποσότητα βιοαποβλήτων που απαιτεί ξεχωριστή στόχευση και αντιμετώπιση κατά τη φάση σχεδιασμού των προγραμμάτων Διαλογής στην Πηγή (ΔσΠ) (Καλαφάτης Στ., 2012).

Η κατηγοριοποίηση των βιοαποβλήτων και τα διακριτά ρεύματα κάθε υποκατηγορίας τους απεικονίζονται στα σχήματα που ακολουθούν.



Εικόνα 1.1. Κατανομή των Αστικών Στερεών Αποβλήτων, Βιοαποδομήσιμων Αποβλήτων και Βιοαποβλήτων σε μορφή συνόλου (Καλαφάτης Στ., 2012)



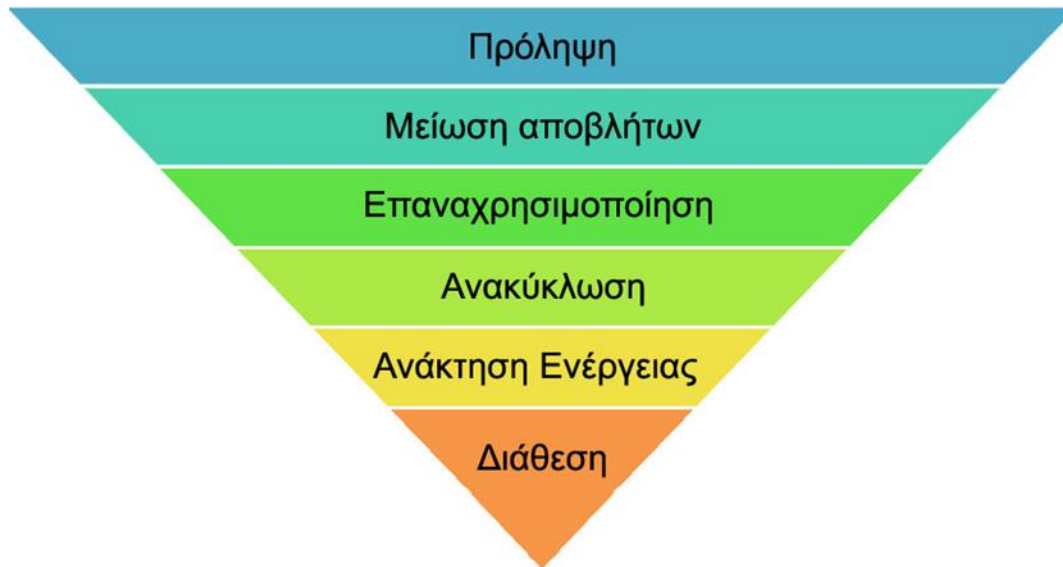
Εικόνα 1.2. Κατηγορίες προέλευσης και διακριτά ρεύματα παραγωγής των βιοαποβλήτων (ΥΠΕΚΑ, 2012)

1.4 Συστήματα διαχείρισης βιοαποβλήτων

Αναφορικά με την ολοκληρωμένη διαχείριση των στερεών αποβλήτων, συμπεριλαμβανομένης της ροής των βιοαποβλήτων, η πολιτική που ακολουθεί η Ε.Ε., και κατ' επέκταση τα Κράτη Μέλη, βασίζεται στην ιεράρχηση των επιλογών διαχείρισης κατά σειρά προτεραιότητας:

- ❖ την πρόληψη και μείωση της ποσότητας των παραγόμενων αποβλήτων
- ❖ την ανάκτηση υλικών με σκοπό την επαναχρησιμοποίηση και αν αυτό δεν είναι δυνατόν την ανακύκλωσή τους
- ❖ την ανάκτηση ενέργειας και

- ❖ την ασφαλή διάθεση των υπολειμμάτων σε Χώρους Υγειονομικής Ταφής Υπολειμμάτων(ΧΥΤΥ).



Εικόνα 1.3. Σχηματική απεικόνιση της ιεράρχησης των επιλογών διαχείρισης των στερεών αποβλήτων, σύμφωνα με την Ε.Ε. (Waste2bio, 2015)

Στην Ευρώπη και παγκοσμίως χρησιμοποιούνται διαφορετικές μεταξύ τους τεχνικές διαχείρισης των οικιακών ΒΑ οι οποίες χαρακτηρίζονται από ελάχιστες δράσεις σε ορισμένα κράτη ως διευρυμένες δράσεις οι οποίες αποσκοπούν στην αειφόρο διαχείρισή τους. Στη δεύτερη περίπτωση, κύριος στόχος είναι η δραστική μείωση της ποσότητας των ΒΑ που οδηγείται στους ΧΥΤΑ και η παραγωγή προϊόντων προστιθέμενης αξίας, τα οποία δημιουργούν καινούργιες πλουτοπαραγωγικές πηγές με ανεξάντλητα αποθέματα προς εκμετάλλευση.

1.4.1 Μέθοδοι διαχείρισης

- Διαχείριση βιοαποβλήτων με διαλογή στην πηγή

«Διαλογή στην Πηγή» ορίζεται η διαδικασία/τεχνική της ανακύκλωσης με την οποία επιτυγχάνεται ανάκτηση χρήσιμων υλικών πριν αυτά αναμειχθούν με την υπόλοιπη μάζα των απορριμμάτων. Η διαλογή στην πηγή μπορεί να θεωρηθεί ως ολοκληρωμένη, εναλλακτική λύση έναντι των τεχνικών διάθεσης και κεντρικής ανάκτησης των αστικών στερεών απορριμμάτων. Πρέπει, όμως, να σημειωθεί ότι με την εφαρμογή της διαλογής στην πηγή δε λύνεται οριστικά το πρόβλημα της διαχείρισης των αστικών στερεών αποβλήτων, αλλά απαιτείται κατάλληλος σχεδιασμός για την ολοκληρωμένη αντιμετώπιση του προβλήματος, ο οποίος θα

περιλαμβάνει την εφαρμογή και ενσωμάτωση άλλων μεθόδων και τεχνικών διαχείρισης παράλληλα με τη διαλογή στην πηγή.

Οι βασικές παράμετροι από τις οποίες εξαρτάται η βιωσιμότητα, η αποτελεσματικότητα και η λειτουργικότητα ενός προγράμματος διαλογής υλικών στην πηγή είναι:

- Το είδος και η διαθεσιμότητα των προς ανάκτηση υλικών
- Η δυνητικά ανακτήσιμη ποσότητα υλικών προς ανακύκλωση ή επαναχρησιμοποίηση
- Ο σωστός σχεδιασμός του συστήματος συλλογής, μεταφοράς και αξιοποίησης των δυνητικά ανακτήσιμων υλικών και η πλήρης ενσωμάτωσή του στο συνολικό σύστημα διαχείρισης των απορριμμάτων
- Η δυνατότητα απρόσκοπτης προώθησης των ανακτηθέντων υλικών στις αντίστοιχες αγορές
- Η ποιότητα των ανακτηθέντων υλικών
- Η πρόληψη και έγκαιρη αντιμετώπιση πιθανών οργανωτικών δυσκολιών και λειτουργικών προβλημάτων
- Η ενημέρωση και ευαισθητοποίηση του κοινού (ανάπτυξη περιβαλλοντικής συνείδησης) έτσι, ώστε να επιτευχθεί αυξημένη συμμετοχή του στα προγράμματα ανακύκλωσης υλικών.

Βασική προϋπόθεση για την επιτυχία κάθε προγράμματος διαλογής στην πηγή (ανεξάρτητα από την πρακτική που εφαρμόζεται για την ανάκτηση υλικών) είναι η αυξημένη συμμετοχή των πολιτών. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη συμμετοχή είναι:

- το είδος της περιοχής (αστική, ημιαστική, αγροτική),
- το βιοτικό και μορφωτικό επίπεδο του πληθυσμού
- η σωστή, συνεχής και πλήρης ενημέρωση του κοινού
- το είδος της κατοικίας (μονοκατοικία, πολυκατοικία) και γενικότερα τα οικιστικά και πολεοδομικά χαρακτηριστικά της περιοχής
- η ελαχιστοποίηση του χρόνου που απαιτείται από τους κατοίκους για τη συλλογή των υλικών
- το είδος των προγραμμάτων (υποχρεωτικά, εθελοντικά κ.λπ.)

- ο τρόπος συλλογής των υλικών (καθορισμένη συλλογή)

Η ενημέρωση του κοινού σχετικά με την ανάκτηση και ανακύκλωση υλικών πρέπει να αρχίζει πριν την έναρξη του προγράμματος και να συνεχίζεται καθ' όλη τη διάρκειά του. Επιπλέον, απαιτείται συνεχής επαφή και συνεργασία των υπευθύνων του προγράμματος με τους κατοίκους έτσι, ώστε να προλαμβάνονται πιθανά λειτουργικά και άλλα προβλήματα ή στην περίπτωση εμφάνισης προβλημάτων να αντιμετωπίζονται άμεσα και αποτελεσματικά. Η επιλογή της πιο κατάλληλης πρακτικής για διαλογή υλικών στην πηγή πρέπει να γίνεται με στόχο την επίτευξη καλύτερων αποτελεσμάτων με το χαμηλότερο δυνατό κόστος. Για το λόγο αυτό, ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη των αντίστοιχων προγραμμάτων πρέπει να προσαρμόζεται στην κάθε περιοχή και η τελική επιλογή να βασίζεται στα τοπικά χαρακτηριστικά, τα οικονομικά δεδομένα και τις απαιτήσεις που η κάθε μέθοδος παρουσιάζει (biowaste, 2017).

1.4.2 Μέθοδοι συλλογής

Οι τεχνικές που μπορούν να εφαρμοσθούν για την ανάκτηση των βιοαποβλήτων μέσω προγραμμάτων διαλογής στην πηγή είναι οι εξής:

- Συλλογή με ειδικούς κάδους ανά ομάδες νοικοκυριών (curbside collection)

Στην περίπτωση της μεθόδου αυτής, οι κάτοικοι καλούνται να εφαρμόσουν τη διαλογή των βιοαποβλήτων σε ειδικά διαμορφωμένους κάδους οι οποίοι τοποθετούνται σε κατάλληλες θέσεις του οικιστικού ιστού. Η συλλογή του βιοαποβλήτων γίνεται με παρόμοιο τρόπο όπως ήδη εφαρμόζεται με τα απορριμματοφόρα για τη συλλογή των αστικών στερεών αποβλήτων.

- Συλλογή πόρτα-πόρτα (Door to door collection)

Η συγκεκριμένη μέθοδος αφορά στην τοποθέτηση των βιοαποβλήτων σε ειδικούς σάκους με κατάλληλη σήμανση, ή σε τελάρα, ή σε κάδους μηχανικής αποκομιδής, ή σε δέματα ανά νοικοκυριό ή ανά πολυκατοικία: Οι συγκεκριμένες ενέργειες πρέπει να γίνονται από τους πολίτες εθελοντικά και να έχουν ως στόχο τη διευκόλυνση του προσωπικού συλλογής το οποίο εκφορτώνει μηχανικά ή χειρονακτικά τα βιοαπόβλητα στα φορτηγά συλλογής (biowaste, 2017).

- Κέντρα συλλογής

Στη μέθοδο που εξετάζεται, όλα τα κλάσματα των απορριμμάτων -ανακυκλώσιμα, σύμμεικτα ή υπολειπόμενα- απορρίπτονται σε κέντρα συλλογής.

Η κατασκευή τους είναι τέτοια ώστε να αποτρέπεται ο κίνδυνος διασποράς στερεών ρύπων στο περιβάλλον, ενώ δύναται να πραγματοποιηθεί συμπληρωματική λειτουργία της εν λόγω μεθόδου με εκείνη της συλλογής «πόρτα-πόρτα».

Η αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης μεθόδου ενισχύεται από το γεγονός ότι είναι κατάλληλη να προσεγγιστεί σε δύσβατες περιοχές από τα απορριμματοφόρα, ιδιαίτερα όταν υπάρχει δυσκολία στην τοποθέτηση κάδων ή σε σημεία όπου η παραγωγή ανακυκλώσιμων υλικών λόγω μεγάλης βιοτεχνικής λειτουργίας είναι αυξημένη (Municipalities, U.o.C., 2014).

➤ Τράπεζες ανακύκλωσης

Η συγκεκριμένη μέθοδος έχει αρκετές ομοιότητες με εκείνη των κέντρων συλλογής με εξαίρεση ότι δέχεται μόνο ανακυκλώσιμα υλικά. Με ταυτόχρονο συνυπολογισμό της πυκνότητας του πληθυσμού, μια τράπεζα ανακύκλωσης δύναται να εξυπηρετήσει περίπου 300-800 κατοίκους. Αναλυτικότερα, η απόδοση της μεθόδου αυξάνεται όσο μειώνεται ο αριθμός των νοικοκυριών που εξυπηρετεί (Municipalities, U.o.C., 2014).

➤ Κέντρα αγοράς υλικών

Η μέθοδος που εξετάζεται αποτελεί ουσιαστικά ένα είδος επέκτασης των κέντρων συλλογής, ούτως ώστε να υπάρχει και κάποιο οικονομικό κίνητρο στη διαχείριση.

Αρχικά γίνεται μεταφορά των απορριμμάτων από τους κατοίκους στα κέντρα αγοράς υλικών και εν συνεχεία τους δίνεται αμοιβή για τα μεταφερόμενα υλικά, σε μικρότερη τιμή από αυτήν που το κέντρο θα εισπράξει από τον τελικό αποδέκτη (Municipalities, U.o.C., 2014).

➤ Κέντρα συλλογής υλικών

Σκοπός της κατασκευής των κέντρων αυτών είναι η συγκέντρωση ανακυκλώσιμων υλικών, ογκωδών απορριμμάτων, αποβλήτων κήπου κι επικίνδυνων αποβλήτων.

Υπάρχει υπάλληλος επιστασίας στα κέντρα για να ελέγχει τα εισερχόμενα υλικά καθώς υπάρχουν αυστηροί όροι αποδοχής και διάθεσης (Municipalities, U.o.C., 2014).

1.4.3 Τεχνικές επεξεργασίας οικιακών αποβλήτων

Τα οικιακά ΒΑ δύναται να επεξεργαστούν με ποικιλία μεθόδων τόσο σε οικιακό όσο και σε αποκεντρωμένο και κεντρικό επίπεδο. Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναπτυχθεί νέες μέθοδοι επεξεργασίας, ενώ οι ήδη υπάρχουσες μέθοδοι έχουν βελτιστοποιηθεί σημαντικά, δίδοντας καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά, το ποσοστό ανάκτησης και το τελικό παραγόμενο υλικό. Ωστόσο, υπάρχουν σημαντικά περιθώρια βελτίωσης των υπάρχοντων μεθόδων προκειμένου, αυτές να τελειοποιηθούν.

Χώρες όπως η Σουηδία, χρησιμοποιούν τη μέθοδο της αναερόβιας χώνευσης για την επεξεργασία του συγκεκριμένου κλάσματος, για παραγωγή βιοαερίου. Στην Ελλάδα χρησιμοποιείται η μέθοδος της υγειονομικής ταφής των ΒΑ ως μέρος του κλάσματος των ΑΣΑ, ενώ στην Αγγλία τα οικιακά ΒΑ επεξεργάζονται με τη μέθοδο της θερμικής επεξεργασίας και την κομποστοποίηση για την παραγωγή ενέργειας και compost αντίστοιχα. Σε χώρες, όπως ο Καναδάς, χρησιμοποιούνται μέθοδοι παραγωγής αιθανόλης από βιοαπόβλητα προκειμένου το παραγόμενο προϊόν να χρησιμοποιηθεί κυρίως για την κίνηση οχημάτων ως υποκατάστατο της βενζίνης (Waste2bio, 2015).

➤ Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

Οι βιολογικές μέθοδοι μπορούν να εφαρμοστούν σε οργανικά ή βιοαποδομήσιμα απόβλητα. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται τα γεωργικά απόβλητα και υπολείμματα (φυτικά υπολείμματα καλλιεργειών, κοπριές, απόβλητα εκκοκιστηρίων βάμβακος, ελαιοπυρήνας κ.α.), τα στερεά απόβλητα και ιλύς από βιομηχανίες τροφίμων, η ιλύς από τον βιολογικό καθαρισμό αστικών λυμάτων καθώς και το βιοαποδομήσιμο κλάσμα των ΑΣΑ (Waste2bio, 2015).

Στις βιολογικές μεθόδους επεξεργασίας συμπεριλαμβάνονται:

- ✓ Αερόβια Βιολογική Επεξεργασία (Κομποστοποίηση)
- ✓ Αναερόβια βιολογική επεξεργασία (Αναερόβια Χώνευση)
- ✓ Μηχανική – Βιολογική επεξεργασία ΑΣΑ

Σε αυτή την περίπτωση πρόκειται για συνδυασμένες μονάδες βιολογικής και μηχανικής επεξεργασίας (εφεξής Μ.Β.Ε.) σύμμεικτων ΑΣΑ ή ακόμη και επιλεγμένων ρευμάτων αποβλήτων με στόχο την παραγωγή ανακυκλώσιμων υλικών που μπορούν

να δώσουν ως τελικά προϊόντα SRF (Solid Recovered Fuel), RDF (Refused Derived Fuel) και κόμποστ (compost) (Νταρακάς, 2014).

➤ **Θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας**

Βασικές μέθοδοι – τεχνικές επεξεργασίας στερεών αποβλήτων είναι οι εξής:

- ✓ Αποτέφρωση - καύση (Incineration – Combustion)
- ✓ Πυρόλυση (Pyrolysis)
- ✓ Αεριοποίηση (Gasification)
- ✓ Τεχνολογία πλάσματος

➤ **Υγειονομική ταφή**

Με τη μέθοδο της υγειονομικής ταφής τα απορρίμματα συλλέγονται με τις υπόλοιπες ροές και οδηγούνται σε χώρους όπου απορρίπτονται με ελεγχόμενο τρόπο. Τα προϊόντα που παράγονται σε ένα ΧΥΤΑ είναι το βιοαέριο του οποίου η σύνθεση ποικίλει και εξαρτάται από τη σύνθεση του υποστρώματος. Επιπλέον, παράγονται στραγγίσματα τα οποία θα πρέπει να αποφεύγεται η απορροή τους στον υδροφόρο ορίζοντα.

Σε ένα ΧΥΤΑ θα πρέπει να υπάρχουν τα εξής: τα όριά του, συμπληρωματική περιοχή για χρήση γύρω από το χώρο, έργα ελέγχου των επιφανειακών υδάτων, δρόμοι και έργα υποδομής γύρω από την εγκατάσταση, σχεδιασμός του τρόπου επικάλυψης των απορριμμάτων, σύστημα συλλογής των στραγγισμάτων και σύστημα ελέγχου του διαφυγόντος βιοαερίου. Σε ορισμένους ΧΥΤΑ, γίνεται εκμετάλλευση του παραγόμενου βιοαερίου για την παραγωγή θερμικής ή ηλεκτρικής ενέργειας. Το βιοαέριο συλλέγεται μέσω σωληνώσεων συλλογής και μεταφοράς βιοαερίου, που υπάρχουν στο εσωτερικό του εδάφους.

Κατά το σχεδιασμό ενός ΧΥΤΑ, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ακόλουθες παράμετροι:

- ✓ Η γεωλογία της περιοχής
- ✓ Η υδρολογία της περιοχής
- ✓ Η τοπογραφία
- ✓ Η αποστράγγιση
- ✓ Οι εγκαταστάσεις μεταφοράς

Βασικό στοιχείο σχεδιασμού ενός χώρου υγειονομικής ταφής αποτελεί ο προσδιορισμός της μεθόδου που θα ακολουθηθεί για τη διάστρωση των απορριμμάτων. Δεν υπάρχει μέθοδος κατάλληλη για όλους τους χώρους. Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται κάθε φορά από τη μορφολογία του εδάφους και το είδος των απορριμμάτων που θα διατεθούν.

Υπάρχουν τρεις βασικές μέθοδοι: η επιφανειακή μέθοδος, η μέθοδος των διαδοχικών τάφρων και η μέθοδος πλήρωσης λάκκων (Waste2bio, 2015).

Οι κυριότερες μέθοδοι επεξεργασίας και διάθεσης των βιοαποβλήτων συνοψίζονται στον Πίνακα 1.2 που ακολουθεί.

Πίνακας 1.2. Μέθοδοι επεξεργασίας και διάθεσης των βιοαποβλήτων
(ΥΠΕΚΑ, 2012)

ΑΕΡΟΒΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ (ΚΟΜΠΟΣΤΟΠΟΙΗΣΗ)	ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ (ΧΩΝΕΥΣΗ)	ΑΕΡΙΟΠΟΙΗΣΗ
<p>Η Αερόβια Επεξεργασία (Κομποστοποίηση) αποτελεί μία από τις κύριες μεθόδους επεξεργασίας των βιοαποβλήτων. Οι τεχνολογίες κομποστοποίησης μπορούν να καταταχθούν σε δύο κύριες κατηγορίες τις τεχνολογίες ανοικτού τύπου και τις τεχνολογίες κλειστού τύπου. Οι τεχνολογίες ανοικτού τύπου παρουσιάζουν διαφυγές μεθανίου σε μεγάλες ποσότητες, το οποίο χαρακτηρίζεται ως αέριο του θερμοκηπίου, ενώ οι τεχνολογίες κλειστού τύπου καθιστούν εφικτή τη συλλογή του μεθανίου για καύση. Το προκύπτον προϊόν μπορεί να είναι ώριμο (σταθερό) ή ανώριμο (φρέσκο) κόμποστ, ανάλογα με τη διάρκεια της διεργασίας. Σε αντίθεση με το φρέσκο κόμποστ, το ώριμο κόμποστ δεν είναι πλέον «ενεργό» και δεν παράγει μεγάλες ποσότητες CO₂ ή μεθανίου.</p> <p>Σημειώνεται, ότι και οι δύο τύποι κομποστοποίησης παρουσιάζουν χρήσιμες εφαρμογές στη γεωργία, ενώ πρόβλημα με συσσώρευση βαρέων μετάλλων από εφαρμογές στη γεωργία μπορεί να προκύψει μόνο υπό προϋποθέσεις. Τα βαρέα μέταλλα που μπορεί να εντοπιστούν στο κόμποστ, είναι πιθανό να προέρχονται από το έδαφος που αναπτύχθηκε η βιομάζα, με το περιεχόμενο να ποικίλει ανάλογα με την τοποθεσία. Για την περίπτωση της κομποστοποίησης, είναι πολύ σημαντικό τα προς επεξεργασία βιοαπόβλητα να προέρχονται από διαλογή στην πηγή, προκειμένου το παραγόμενο κόμποστ να είναι υψηλής ποιότητας. Κύριοι στόχοι στο πλάνο διαχείρισης ενός συστήματος κομποστοποίησης στερεών οργανικών αποβλήτων είναι η μείωση του βάρους και του όγκου των αρχικών υλικών, ο έλεγχος της θερμοκρασίας και της υγρασίας, η εξουδετέρωση των παθογόνων μικροοργανισμών, η ελαχιστοποίηση των περιβαλλοντικών οχλήσεων (π.χ. εκπομπές αερίων που συμβάλλουν στο Φαινόμενο του Θερμοκηπίου, οσμές και αιωρούμενα σωματίδια). Οι τρόποι διαχείρισης και κατά συνέπεια η επιλογή του συστήματος κομποστοποίησης διαμορφώνονται ανάλογα με τις επιδιωκόμενες χρήσεις του τελικού προϊόντος (Miller, 1996).</p>	<p>Η Αναερόβια Χώνευση (ΑΧ) αποτελεί εξίσου σημαντική μέθοδο επεξεργασίας των βιοαποβλήτων με την προαναφερθείσα αερόβια επεξεργασία.</p> <p>Βασικός της στόχος είναι η παραγωγή μεθανίου, με σκοπό την καύση του για παραγωγή ηλεκτρισμού και θερμότητας ή η εκμετάλλευσή του για παραγωγή αερίου σύνθεσης. Η ΑΧ παρουσιάζεται ως ιδιαίτερα κατάλληλη μέθοδος για οργανική ύλη με υψηλά ποσοστά υγρασίας, όπως τα απόβλητα τροφών.</p> <p>Βασικό προϊόν της ΑΧ αποτελεί ένα χωνεμένο υπόλειμμα (λύμα), το οποίο μπορεί και συχνά εναποτίθεται ως κόμποστ, εάν διαπιστωθεί ότι τα περιεχόμενα βαρέα μέταλλα καλύπτουν τις απαιτήσεις του κόμποστ. Σε αντίθετη περίπτωση και εφόσον δεν επεξεργαστεί περαιτέρω για βελτίωση της ποιότητας του, το υπόλειμμα αυτό πρέπει να αποτεφρωθεί ή να οδηγηθεί για ταφή.</p> <p>Ρεύμα εισόδου για την ΑΧ μπορούν να αποτελέσουν τόσο βιοαπόβλητα που έχουν προέλθει από διαλογή στην πηγή όσο και βιοαπόβλητα που προέρχονται από σύμμικτη συλλογή ΑΣΑ. Ωστόσο, τα βιοαπόβλητα που προέρχονται από σύμμικτη συλλογή έχουν το μειονέκτημα ότι εμφανίζουν χαμηλότερη ποιότητα εξαιτίας του γεγονότος ότι έχουν «μολυνθεί» από άλλα οικιακά απορρίμματα.</p> <p>Ανάλογα με τον τύπο και την αποδοτικότητα, η αποτέφρωση των βιοαποβλήτων μπορεί να αποδώσει ηλεκτρισμό και/ή θερμότητα, οι οποίες θα αποτρέψουν την παραγωγή ενέργειας από φυσικές πηγές. Η αποτέφρωση οδηγεί στην παραγωγή CO₂, καυσαερίων και ενός επικίνδυνου υπολείμματος, το οποίο χρειάζεται να αδρανοποιηθεί ή να οδηγηθεί για ταφή σε Χ.Υ.Τ.Ε.Α. Η αποτέφρωση πραγματοποιείται συνήθως σε αποτεφρωτήρα για σύμμικτα οικιακά απορρίμματα, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί και αποτέφρωση πράσινων αποβλήτων κήπου σε λιγνιτικές μονάδες ηλεκτροπαραγωγής, ως ένα επιπλέον μικρό κλάσμα ανανεώσιμης πηγής ενέργειας. Για αποτέφρωση με ενεργειακή ανάκτηση δεν είναι απαραίτητο τα βιοαπόβλητα να προέρχονται από διαλογή στην πηγή.</p>	<p>Η αεριοποίηση των βιοαποβλήτων αποτελεί θερμική μέθοδο επεξεργασίας και έχει ως σκοπό την παραγωγή ενέργειας καθώς και την παραγωγή αερίου σύνθεσης, μέσω της παραγωγής CO. Τα ηθρότερα υλικά, όπως το ξυλώδες μέρος των αποβλήτων κήπου, εμφανίζονται ως τα πιο κατάλληλα για αυτού του είδους την επεξεργασία. Ανάλογα με την ποιότητά της, η εναπομένουσα τέφρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λίπασμα ή σε αντίθετη περίπτωση, και ανάλογα με το φορτίο της, να οδηγηθεί για υγειονομική ταφή σε κατάλληλο χώρο.</p>
ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΤΑΦΗ		
ΑΠΟΤΕΦΡΩΣΗ		

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Βιοκαύσιμα

2.1 Εισαγωγή

- Ανάπτυξη βιοκαυσίμων

Κατά τη διάρκεια του 20ου αιώνα, η ανάπτυξη της βιολογίας, σε συνδυασμό με την ήδη υπάρχουσα ανθρώπινη εμπειρία, επέκτεινε ακόμη περισσότερο τη γνώση που αφορά τα βιολογικά φαινόμενα. Φυσικό επακόλουθο ήταν η εφαρμογή τεχνικών, που παλιότερα είχαν περιορισμένους σκοπούς, σε διαφορετικά πεδία. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα των ζυμώσεων. Εδώ και περίπου πέντε δεκαετίες λοιπόν, έχει ξεκινήσει η έρευνα που στοχεύει στη βιομετατροπή της βιομάζας σε καύσιμο, με τη χρήση βιοτεχνολογικών μεθόδων. Λίγες δεκαετίες αργότερα μάλιστα, κάποιες από τις μεθόδους αυτές, έτυχαν εφαρμογής σε βιομηχανική κλίμακα, με κύριο εκφραστή των προσπαθειών αυτών τη Βραζιλία. Η πορεία, που ξεκίνησε στα μέσα περίπου του προηγούμενου αιώνα, οδήγησε στη σημερινή εποχή, όπου η έρευνα στο συγκεκριμένο κλάδο συνεχίζεται με ακόμα μεγαλύτερη ένταση. Έτσι, η συζήτηση περί βιοκαυσίμων δεν οφείλεται τόσο στην καινοτομία του θέματος, αλλά κυρίως στα οικονομικά και περιβαλλοντικά θέματα, με τα οποία η παραγωγή βιοκαυσίμων είναι άρρηκτα και αναπόφευκτα συνδεδεμένα.

Αναφορικά με το περιβάλλον, διατυπώνονται συγκεκριμένοι προβληματισμοί. Είναι γνωστό πως από το 18ο αιώνα, η ραγδαία ανάπτυξη της τεχνολογίας επηρέασε ριζικά τη σχέση του ανθρώπου με το περιβάλλον γύρω του. Η αλόγιστη χρήση μη ανανεώσιμων πηγών ενέργειας καθώς και τα απόβλητα που συσσωρεύονται από αυτή, είχαν ως συνέπεια το σχηματισμό διαφόρων μορφών ρύπανσης. Παρά τα εμφανή σημάδια της περιβαλλοντικής καταστροφής, κατά τη διάρκεια του 20^{ου} αιώνα, το περιβάλλον συνεχίζει να θεωρείται ανεξάντλητος πόρος για την ικανοποίηση ανθρωπίνων αναγκών, με αποτέλεσμα την εμφάνιση της οικολογικής κρίσης. Κύριες αιτίες της συγκεκριμένης κρίσης είναι (Αθανασάκης και Κουσούρης, 1999)

- I. Οι μέθοδοι της βιομηχανικής παραγωγής
- II. Ο υπερκαταναλωτισμός
- III. Η συσσώρευση πληθυσμού στα μεγάλα αστικά κέντρα
- IV. Η τεχνοκρατική αντίληψη για την ανάπτυξη στο βαθμό που εξαντλεί βάνουσα και αλόγιστα τους φυσικούς πόρους της γης στο όνομα της βιομηχανικής, οικονομικής και τουριστικής ανάπτυξης.

Ακόμα, τα σημαντικότερα οικολογικά προβλήματα που ερευνώνται και σχολιάζονται είναι (Αθανασάκης και Κουσούρης, 1999) :

- ✓ Η τρύπα του όζοντος
- ✓ Το φαινόμενο του θερμοκηπίου
- ✓ Η όξινη βροχή
- ✓ Η καταστροφή στη ζούγκλα του Αμαζονίου
- ✓ Η ατμοσφαιρική ρύπανση
- ✓ Η ηχορύπανση
- ✓ Η καταστροφή του εδάφους
- ✓ Τα οικιακά απορρίμματα
- ✓ Τα ραδιενεργά κατάλοιπα
- ✓ Τα φυτοφάρμακα
- ✓ Η ποικιλότητα του οργανικού κόσμου στην ελληνική φύση

Επιπλέον, ο προβληματισμός που διατυπώνεται επί οικονομικών θεμάτων περιλαμβάνει τόσο την ενσωμάτωση των βιοκαυσίμων στην αγορά και τον τρόπο ανάπτυξης της σχετικής επιχειρηματικότητας, όσο και ζητήματα που προκύπτουν σε σχέση με τον κλάδο των τροφίμων για τον προσανατολισμό και την εκμετάλλευση της αγροτικής παραγωγής. Η παραγωγή βιοκαυσίμων σε βιομηχανική κλίμακα, στηρίζεται στην εκμετάλλευση καλλιεργειών μεγάλης οικονομικής και διατροφικής αξίας, όπως τα τεύτλα, το ζαχαροκάλαμο και το καλαμπόκι. Το γεγονός αυτό, δημιούργησε αμφιβολίες για το κατά πόσο είναι εφικτό να εναρμονιστεί η πρόοδος των βιοκαυσίμων με την παγκόσμια οικονομία και με τον τομέα των τροφίμων. Η λύση δόθηκε από τη στροφή της επιστημονικής κοινότητας στη χρήση φυτικών υπολειμμάτων και παραπροϊόντων διαφόρων διεργασιών σαν πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων (βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς).

Για όλους αυτούς τους λόγους, το ενδιαφέρον των επιστημόνων, των κυβερνήσεων και των ιδιωτών έχει στραφεί στην ανάπτυξη και υιοθέτηση εφαρμογών και καινοτομιών που ενσωματώνουν πιο «φιλικές προς το περιβάλλον» πηγές ενέργειας. Καθώς οι προκλήσεις οι οποίες πρέπει να αντιμετωπιστούν αυξάνονται καθημερινά, έχει διαμορφωθεί ένα πλαίσιο πρωτοβουλιών και πολιτικών θέτοντας συγκεκριμένες προτεραιότητες προκειμένου να διασφαλιστεί η βιωσιμότητα των ενεργειακών πόρων για τους πολίτες όλου του κόσμου (Ress, 1998).

Στο πλαίσιο αυτό, η αξιοποίηση των Ανανεώσιμων και Εναλλακτικών Βιώσιμων Πηγών Ενέργειας (ηλιακή, αιολική, θαλάσσια, υδραυλική, βιομάζα, γεωθερμία) σε

συνδυασμό με την προσπάθεια για την εξοικονόμηση ενέργειας, είναι κοινά αποδεκτό, ότι συνδέονται άμεσα με θετικά αποτελέσματα για το περιβάλλον, την οικονομία, τον τουρισμό, τον πολιτισμό και την ποιότητα ζωής των κατοίκων. Οι Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας και οι πρακτικές Εξοικονόμησης Ενέργειας πρέπει να συμμετέχουν σήμερα περισσότερο από ποτέ στον ενεργειακό σχεδιασμό όλων των χωρών και των αναπτυγμένων και των αναπτυσσόμενων αλλά και του Τρίτου Κόσμου, ενώ η ανάπτυξη Βιώσιμων Ενεργειακών Σχεδίων και Μέτρων πρέπει να αποτελούν βασικό στόχο όλων των εμπλεκόμενων φορέων, σε τοπικό, περιφερειακό, ευρωπαϊκό και παγκόσμιο επίπεδο. Και τα μέτρα αυτά δε μπορεί να είναι άλλα από την απεξάρτηση από τα ορυκτά καύσιμα τη χρήση ανανεώσιμων μορφών ενέργειας (κυρίως της αιολικής και της ηλιακής) όπως επίσης και την εξοικονόμηση ενέργειας (Φλογαίτη, 1993).

➤ Ορισμός - Κατηγορίες - Παραδείγματα

Τα γνωστά αποθέματα πετρελαίου έχουν περιορισμένους πόρους. Διάφορες μελέτες θέτουν την ημερομηνία της παγκόσμιας αιχμής της παραγωγής πετρελαίου ανάμεσα από το 1996 και το 2035. Οι τεχνολογίες ενέργειας από βιομάζα χρησιμοποιούν απόβλητα ή φυτική ύλη για την παραγωγή ενέργειας με χαμηλότερο επίπεδο εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου από τις πηγές ορυκτών καυσίμων. Στις ανεπτυγμένες χώρες, υπάρχει μια αυξανόμενη τάση προς τη χρησιμοποίηση σύγχρονων τεχνολογιών και αποδοτικής μετατροπής σε βιο-ενέργεια χρησιμοποιώντας μια σειρά βιοκαυσίμων, τα οποία καθίστανται ανταγωνιστικά προς τα ορυκτά καύσιμα.

Ο όρος βιοκαύσιμα αναφέρεται σε υγρά ή αέρια καύσιμα για τον τομέα των μεταφορών, που κατά κύριο λόγο παράγεται από βιομάζα. Μια ποικιλία καυσίμων μπορεί να παραχθεί από βιομάζα, συμπεριλαμβανομένων υγρών καυσίμων, όπως αιθανόλη, μεθανόλη, βιοντίζελ, Fischer-Tropsch ντίζελ και αέρια καύσιμα, όπως υδρογόνο και μεθάνιο. Τα υγρά βιοκαύσιμα χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο για να τροφοδοτούν οχήματα, αλλά μπορούν, επίσης, να τροφοδοτούν μηχανές ή κυψέλες καυσίμου για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Υπάρχουν αρκετοί λόγοι για να θεωρηθούν τα βιοκαύσιμα ως σχετικές τεχνολογίες τόσο από τις αναπτυσσόμενες όσο και από τις βιομηχανικές χώρες.

Τα βιοκαύσιμα περιλαμβάνουν ενεργειακούς λόγους ασφαλείας, περιβαλλοντικές ανησυχίες, εξοικονόμηση συναλλάγματος, και κοινωνικοοικονομικά ζητήματα που σχετίζονται με τον αγροτικό τομέα. Εξαιτίας των περιβαλλοντικών πλεονεκτημάτων τους, το μερίδιο των βιοκαυσίμων στην αγορά των καυσίμων στην αυτοκινητοβιομηχανία θα αυξηθεί γρήγορα κατά την επόμενη δεκαετία. Τα πλεονεκτήματα των βιοκαυσίμων είναι τα ακόλουθα: (α) είναι εύκολα διαθέσιμα από κοινές πηγές βιομάζας, (β) παρουσιάζουν τον κύκλο του διοξειδίου του άνθρακα στην καύση, (γ) παρουσιάζουν μια σημαντικά φιλική προς το περιβάλλον φύση, (δ) υπάρχουν πολλά οφέλη για το περιβάλλον, την οικονομία και τους καταναλωτές από τη χρήση τους, και (ε) είναι βιοδιασπώμενα και συμβάλλουν στην αειφορία.

Η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ των βιοκαυσίμων και του πετρελαίου είναι η περιεκτικότητα σε οξυγόνο. Τα βιοκαύσιμα έχουν επίπεδα οξυγόνου από 10% έως 45%, ενώ το πετρέλαιο δεν έχει ουσιαστικά κανένα καθιστώντας τις χημικές ιδιότητες των βιοκαυσίμων πολύ διαφορετικές από του πετρελαίου. Όλα τα βιοκαύσιμα έχουν πολύ χαμηλά επίπεδα θείου και πολλά από αυτά έχουν και χαμηλά επίπεδα αζώτου. Η βιομάζα μπορεί να μετατραπεί σε υγρά και αέρια καύσιμα, μέσω θερμοχημικών και βιολογικών οδών. Το βιοκαύσιμο είναι ένα μη ρυπογόνο, προσβάσιμο σε τοπικό επίπεδο, βιώσιμο και αξιόπιστο καύσιμο που παράγεται από ανανεώσιμες πηγές.

Τα υγρά βιοκαύσιμα που εξετάζονται σε όλο τον κόσμο εμπίπτουν στις ακόλουθες κατηγορίες: (α) βιο-αλκοόλες (B) φυτικά έλαια και βιοντίζελ, και (γ) βιο-ακατέργαστα και βιο-συνθετικά έλαια.

Η βιομάζα φαίνεται να είναι μία ελκυστική πρώτη ύλη για τρεις κύριους λόγους. Πρώτον, είναι ένας ανανεώσιμος πόρος που θα μπορούσε να είναι βιώσιμα ανεπτυγμένος στο μέλλον. Δεύτερον, φαίνεται να έχει αξιοσημείωτα θετικές περιβαλλοντικές ιδιότητες που καταλήγουν σε όχι νέα απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα και σε πολύ χαμηλή περιεκτικότητα σε θείο. Τρίτον, φαίνεται να έχει σημαντικό οικονομικό δυναμικό υπό την προϋπόθεση ότι οι τιμές των ορυκτών καυσίμων θα αυξηθούν στο μέλλον (Demirbas et al., 2008).

Τα βιοκαύσιμα κατηγοριοποιούνται με βάση την πηγή από την οποία προέρχονται. Με τον τρόπο αυτό, προκύπτουν οι παρακάτω τρεις κατηγορίες βιοκαυσίμων (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2013):

- Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς που προέρχονται, για παράδειγμα, από καλλιέργειες όπως σακχαροκάλαμο, καλαμπόκι και σόγια. Τα βιοκαύσιμα αυτής της γενιάς δεν κρίνονται ικανοποιητικά, καθώς συμβάλλουν στη λειψυδρία και στην αποψίλωση των δασών, ενώ μπορεί να αυξήσουν τις τιμές των τροφίμων εξαιτίας του ανταγωνισμού.
- Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς, τα οποία είναι πολλά υποσχόμενα και προέρχονται από λιγνινοκυτταρινούχα βιομάζα αγροτικών και δασικών υπολειμμάτων. Ωστόσο, η αναγκαιότητα εκμετάλλευσης μεγάλων εκτάσεων γης, οι οποίες θα μπορούσαν κάλλιστα να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή τροφίμων, αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για την ανάπτυξή τους.
- Τα βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς, προέρχονται από μικροφύκη και θεωρούνται μια εναλλακτική πηγή ενέργειας, δίχως τα μειονεκτήματα της πρώτης και δεύτερης γενιάς βιοκαυσίμων ενώ αποτελούν μια εναλλακτική λύση που μπορεί να διατηρήσει την ανάπτυξη της ανθρώπινης δραστηριότητας σε αρμονία με το περιβάλλον.

Στον **Πίνακα 2.1** που ακολουθεί συνοψίζονται οι κατηγορίες των βιοκαυσίμων με βάση την πρώτη ύλη από την οποία προέρχονται (agroenergy, 2017):

Πίνακας 2.1. Κατηγοριοποίηση βιοκαυσίμων

	Στόχος	Προέλευση	Πρώτες ύλες	Βιοκαύσιμα
Βιοκαύσιμα 1ης γενιάς	Παραγωγή βιοκαυσίμων από διαθέσιμες πρώτες ύλες	Φυτικά έλαια, Ζωϊκά λίπη Σάκχαρα, Άμυλο Απόβλητη και υπολειμματική βιομάζα Στερεή βιομάζα	Ελαιούχοι σπόροι Σπόροι δημητριακών, Σακχαρότευτλα, Σακχαροκάλαμο Αγροβιομηχανικά και άλλα οργανικά απόβλητα και υπολείμματα, Ενεργειακές καλλιέργειες Γεωργικά και Δασικά	Βιοντίζελ Βιοαιθανόλη Βιοαέριο Πέλλετς και Μπρικέττες

			υπολείμματα	
Βιοκαύσιμα 2ης γενιάς	Χρήση πρώτων υλών που δεν χρησιμοποιούνται για τροφές	Απόβλητα και υπολειμματικά φυτικά έλαια και ζωϊκά λίπη Κυτταρινούχα φυτά και πρώτες ύλες που δεν χρησιμοποιούνται ως τροφές Απόβλητη και υπολειμματική βιομάζα	Απόβλητες και υπολειμματικές ελαιούχες ύλες (χρησιμοποιημένα όξινα έλαια και λίπη, απόβλητα ραφινεριών, λιπαρά οξέα, ολεΐνες, απόβλητα σφαγείων κ.α.) Φυτά πλούσια σε κυτταρίνη Γεωργικά παραπροϊόντα Αγροτοβιομηχανικά και άλλα οργανικά απόβλητα, υπολείμματα και παραπροϊόντα, ληγμένα τρόφιμα κ.α. Αστικά απόβλητα και απορρίμματα	Βιοντίζελ Βιοαιθανόλη Βιομεθανόλη Βιοϋδρογόνο Βιοαέριο Αέριο σύνθεσης Συνθετικό (FT) ντίζελ Πράσινο ντίζελ Συνθετική κηροζίνη
Βιοκαύσιμα 3ης γενιάς	Αύξηση της απόδοσης παραγωγής των πρώτων υλών	Μεγάλης στρεμματικής απόδοσης βιομάζα	Μικροφύκη (Αλγη)	Βιοντίζελ Συνθετικό ή πράσινο ντίζελ Βιοαιθανόλη Βιοαέριο κ.α.
Βιοκαύσιμα 4ης γενιάς	Ανάπτυξη βιομάζας με αυξημένη δέσμευση CO ₂ και διεργασιών παραγωγής			Βιοϋδρογόνο Βιομεθάνιο Συνθετικά βιοκαύσιμα κ.α.

	βιοκαυσίμων αρνητικού άνθρακα με γεω- αποθήκευση CO ₂			
--	---	--	--	--

Ενδεικτικά παραδείγματα προϊόντων τα οποία θεωρούνται βιοκαύσιμα είναι τα παρακάτω (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2003):

- i. «βιοαιθανόλη»: αιθανόλη η οποία παράγεται από βιομάζα ή/και από το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα αποβλήτων, για χρήση ως βιοκαύσιμο.
- ii. «βιοντίζελ βιολογικής προέλευσης»: μεθυλεστέρας ο οποίος παράγεται από φυτικά ή ζωικά έλαια, ποιότητας ντίζελ για χρήση ως βιοκαύσιμο.
- iii. «βιοαέριο»: καύσιμο αέριο το οποίο παράγεται από βιομάζα ή/και από το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα αποβλήτων, το οποίο μπορεί να καθαριστεί φτάνοντας ποιότητα φυσικού αερίου, για χρήση ως βιοκαύσιμο ή ξυλαέριο.
- iv. «βιομεθανόλη»: μεθανόλη η οποία παράγεται από βιομάζα, για χρήση ως βιοκαύσιμο.
- v. «βιοδιμεθυλεστέρας»: διμεθυλεστέρας ο οποίος παράγεται από βιομάζα, για χρήση ως βιοκαύσιμο.
- vi. «βιο-ETBE (αιθυλοτριτοβουτυλαιθέρας)»: ETBE ο οποίος παράγεται από βιοαιθανόλη.
- vii. «βιο-MTBE (μεθυλοτριτοβουτυλαιθέρας)»: καύσιμο το οποίο παράγεται από βιομεθανόλη.
- viii. «συνθετικά βιοκαύσιμα»: συνθετικοί υδρογονάνθρακες ή μείγματα συνθετικών υδρογονανθρακών που έχουν παραχθεί από βιομάζα.
- ix. «βιοϋδρογόνο»: υδρογόνο το οποίο παράγεται από βιομάζα ή/και από το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα αποβλήτων για χρήση ως βιοκαύσιμο.
- x. «καθαρά φυτικά έλαια»: έλαια από ελαιούχα φυτά, παραγόμενα με συμπίεση, έκθλιψη ή ανάλογες μεθόδους, φυσικά ή εξευγενισμένα αλλά μη χημικώς τροποποιημένα, όταν είναι συμβατά με τον τύπο του οικείου κινητήρα και τις αντίστοιχες προϋποθέσεις όσον αφορά τις εκπομπές.

Τα σημαντικότερα από αυτά είναι η βιοαιθανόλη, που αποτελεί αντικείμενο της συγκεκριμένης εργασίας, καθώς και το βιοντίζελ.

2.2 Θετικά και αρνητικά της χρήσης τους

Η χρήση της βιομάζας για ενέργεια έχει θετικές και αρνητικές επιπτώσεις.

Η βιομάζα ως πηγή ενέργειας είναι μια εναλλακτική λύση για τα ορυκτά καύσιμα (άνθρακας, πετρέλαιο και φυσικό αέριο). Η καύση είτε ορυκτών καυσίμων είτε βιομάζας απελευθερώνει διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), ένα αέριο του θερμοκηπίου. Ωστόσο, τα φυτά που είναι η πηγή της βιομάζας συλλέγει μια σχεδόν ισοδύναμη ποσότητα CO₂ μέσω της φωτοσύνθεσης, κατά την ανάπτυξη, πράγμα που μπορεί να κάνει τη βιομάζα μια πηγή ενέργειας με ουδέτερο ισοζύγιο άνθρακα (eia, 2017).

Τα βιοκαύσιμα παρέχουν πολλά πλεονεκτήματα και μπορούν να συμβάλλουν καταρχήν στη μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος, ενώ επιπλέον μειώνουν την εξάρτηση από το πετρέλαιο. Πιο συγκεκριμένα, η ελάττωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης πραγματοποιείται με διάφορους τρόπους. Αρχικά, μειώνονται οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου που σχετίζονται με την ενέργεια που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του καυσίμου. Ακόμα, παρατηρείται περιστολή της εκπομπής διοξειδίου του άνθρακα με τη χρήση βιοκαυσίμων σαν καύσιμα μεταφοράς καθώς και μείωση των τοξικών καυσαερίων εκπομπής των οχημάτων μεταφοράς. Τέλος, αναφορικά με την εξάρτηση από το πετρέλαιο, με τη χρήση των βιοκαυσίμων, επιτυγχάνεται μείωση της ενεργειακής εξάρτησης, ασφάλεια στον ενεργειακό εφοδιασμό και ταυτόχρονα παρέχεται μια εναλλακτική πηγή εισοδήματος στους αγρότες (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2013).

➤ Υγρά βιοκαύσιμα: αιθανόλη και βιοντίζελ

Η ομοσπονδιακή κυβέρνηση των ΗΠΑ προωθεί τη χρήση αιθανόλης ως καύσιμο για τις μεταφορές για να βοηθήσει στη μείωση των εισαγωγών πετρελαίου και των εκπομπών CO₂. Το 2007, η κυβέρνηση έθεσε ως στόχο να χρησιμοποιήσει 36 δισεκατομμύρια γαλόνια βιοκαυσίμων μέχρι το 2022. Ως αποτέλεσμα, σχεδόν όλη η βενζίνη που πωλείται σήμερα στις Ηνωμένες Πολιτείες περιέχει κάποια ποσότητα αιθανόλης.

Τα βιοκαύσιμα μπορούν να δίνουν ουδέτερο ισοζύγιο άνθρακα, επειδή τα φυτά που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων (όπως το καλαμπόκι και το

ζαχαροκάλαμο για την αιθανόλη και τα φασόλια σόγιας και τα δέντρα φοινικέλαιου για βιοντίζελ) απορροφούν CO₂ καθώς μεγαλώνουν, γεγονός που μπορεί να αντισταθμίσει τις εκπομπές CO₂ όταν τα βιοκαύσιμα παράγονται και καίγονται.

Η καλλιέργεια φυτών για βιοκαύσιμα είναι αμφιλεγόμενη, διότι η γη, τα λιπάσματα και η ενέργεια για τις καλλιέργειες βιοκαυσίμων, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να αυξηθούν οι καλλιέργειες τροφίμων αντ'αυτού. Σε ορισμένα μέρη του κόσμου, έχουν κοπεί μεγάλες περιοχές φυσικής βλάστησης και δασών για να καλλιεργηθεί ζαχαροκάλαμο για την παραγωγή αιθανόλης και σόγια και δέντρα φοινικέλαιου για την παραγωγή βιοντίζελ. Η κυβέρνηση των ΗΠΑ υποστηρίζει τις προσπάθειες για την ανάπτυξη εναλλακτικών πηγών βιομάζας που δεν ανταγωνίζονται τις καλλιέργειες τροφίμων και χρησιμοποιούν λιγότερα λιπάσματα και φυτοφάρμακα από το καλαμπόκι και το ζαχαροκάλαμο. Η κυβέρνηση των ΗΠΑ υποστηρίζει, επίσης, μεθόδους για την παραγωγή αιθανόλης που απαιτούν λιγότερη ενέργεια από τη συμβατική διαδικασία της ζύμωσης. Η αιθανόλη μπορεί επίσης να παραχθεί από απορρίμματα χαρτιού, και το βιοντίζελ από το λίπος των αποβλήτων, από έλαια, ακόμα και από φύκια.

Μίγματα αιθανόλης και βενζίνης-αιθανόλης καίγονται καθαρότερα και έχουν μεγαλύτερο αριθμό οκτανίων από την καθαρή βενζίνη, αλλά έχουν υψηλότερα επίπεδα εκπομπών αναθυμιάσεων από τις δεξαμενές καυσίμων και τον εξοπλισμό διανομής. Αυτές οι εκπομπές αναθυμιάσεων συμβάλλουν στο σχηματισμό των επιβλαβών, τροποσφαιρικού όζοντος και νέφους. Η βενζίνη απαιτεί επιπλέον επεξεργασία για τη μείωση των εκπομπών των αναθυμιάσεων πριν να αναμειχθεί με την αιθανόλη. Η καύση του βιοντίζελ παράγει λιγότερα οξείδια του θείου, λιγότερα σωματίδια, λιγότερο μονοξείδιο του άνθρακα, και λιγότερους άκαυστους και άλλους υδρογονάνθρακες, αλλά παράγει περισσότερα οξείδια του αζώτου από το πετρέλαιο ντίζελ (eia, 2017).

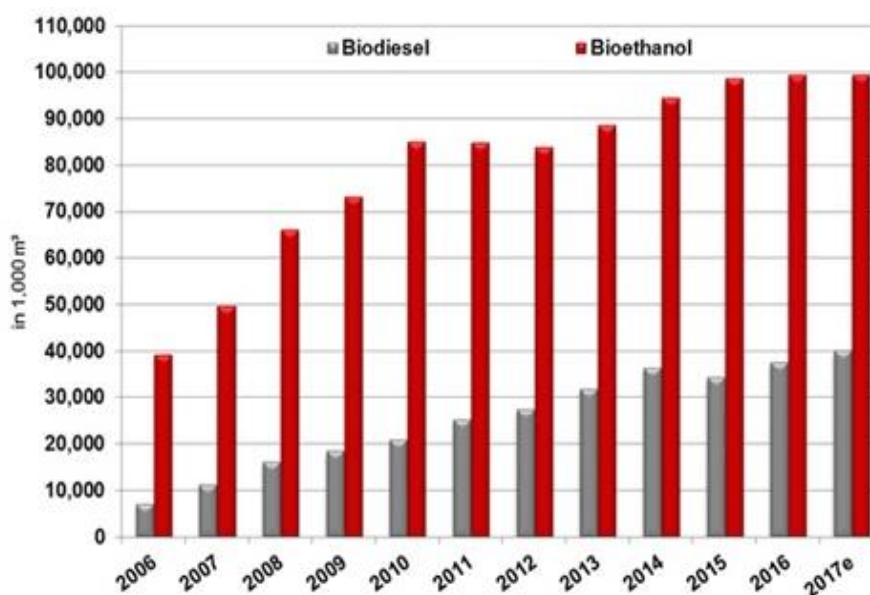
2.3 Χώρες παραγωγής - οικονομικά στοιχεία

- Η βιοαιθανόλη ως αναπτυσσόμενη αγορά

Η βιοαιθανόλη έχει καθιερωθεί εδώ και πολύ καιρό ως το νούμερο ένα παγκόσμιο βιοκαύσιμο και η αγορά της βιοαιθανόλης συνεχίζει να αυξάνεται με γρήγορους ρυθμούς τα τελευταία χρόνια. Η αυξανόμενη χρήση της βιοαιθανόλης ως

αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων έχει ήδη ωθηθεί από χρόνια στη Βραζιλία και τις ΗΠΑ.

Στο πλαίσιο των ισχυρότων κανονισμών για τα βιοκαύσιμα στην ΕΕ και των στόχων που τέθηκαν από τη Συμφωνία του Παρισιού για το κλίμα (Paris Climate Agreement), οι ερευνητές της αγοράς προβλέπουν μια δυναμική ανάπτυξη της ευρωπαϊκής αγοράς βιοαιθανόλης (cropenergies, 2017).



Σχήμα 2.1. Παραγωγή βιοαιθανόλης σε σύγκριση με την παραγωγή βιοντίζελ (cropenergies, 2017)

Χάρη στην εξαιρετική θέση της, η CropEnergies είναι καλά προετοιμασμένη για την ισχυρή ανάπτυξη της αγοράς βιοαιθανόλης στην Ευρώπη και θα είναι μία από τις εταιρείες που θα παίρνει μεγάλο μερίδιο σε αυτήν. Μαζί με τις θυγατρικές της στη Γερμανία, το Βέλγιο, τη Γαλλία και τη Μεγάλη Βρετανία, η CropEnergiesAG επέκτεινε τις ετήσιες παραγωγικές της ικανότητες σε περίπου 1,3 εκατομμύρια m³ βιοαιθανόλης (cropenergies, 2017).

➤ Παγκόσμια ανάπτυξη

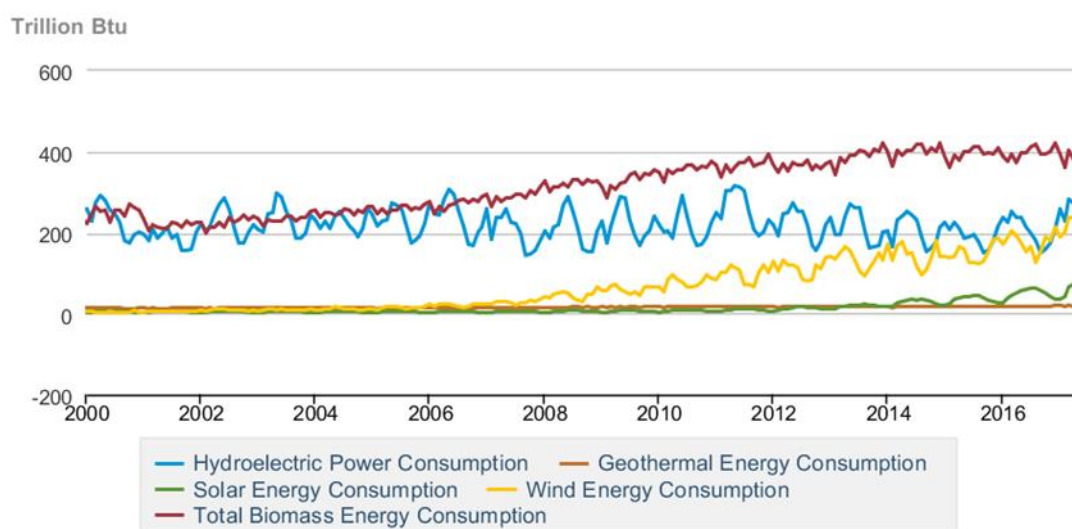
Το 2016, η παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης παρέμεινε στο επίπεδο του προηγούμενου έτους, δηλαδή στα 117,7 εκατομμύρια m³. Ο τομέας των καυσίμων συνέχισε να αντιπροσωπεύει το 84%. Ο παγκόσμιος ηγέτης στην παραγωγή βιοαιθανόλης είναι οι ΗΠΑ με 59,5 εκατομμύρια m³, ακολουθούμενη από τη Βραζιλία με 27,8 εκατομμύρια m³.

Για το 2017, η παγκόσμια παραγωγή αναμένεται να παραμείνει σταθερή με 117,6 εκατομμύρια m³.

Στις ΗΠΑ, η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται κυρίως ως πρόσθετο βενζίνης 10%. Το E10 είναι το πρότυπο καύσιμο βενζίνης εκεί. Το E15 είναι διαθέσιμο στα πρατήρια βενζίνης από το 2011.

Στη Βραζιλία, προσφέρεται τόσο ως καθαρό καύσιμο (E100) όσο και με συμβατική βενζίνη με περιεκτικότητα 20 έως 25% vol. Περίπου το 90% των νέων οχημάτων στη Βραζιλία είναι οχήματα ευέλικτων καυσίμων (FFVs) τα οποία μπορούν να κυκλοφορούν με κανονική βενζίνη, με βιοαιθανόλη ή με μείγμα και των δύο (cropenergies, 2017).

Στο **Σχήμα 2.2** που ακολουθεί φανερώνεται η υπεροχή της συνολικής κατανάλωσης ενέργειας από βιομάζα καθώς και η αναπτυσσόμενη πορεία της από το 2000 μέχρι σήμερα.



Σχήμα 2.2. Παραγωγή και κατανάλωση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας ανάλογα με την πηγή προέλευσης (eia, 2017)

➤ Ανάπτυξη στην ΕΕ

Ως αποτέλεσμα της οδηγίας για τα βιοκαύσιμα του 2003, τόσο η χρήση όσο και η παραγωγή βιοαιθανόλης αυξήθηκαν σταθερά για μεγάλο χρονικό διάστημα στην ΕΕ. Λόγω της μείωσης ζήτησης βενζίνης στην ΕΕ και του γεγονότος ότι υπήρξαν ελάχιστες ή καθόλου αλλαγές στις σε περιπτώσεις ανάμειξης, η κατανάλωση αιθανόλης καυσίμου στην ΕΕ μειώθηκε και πάλι κατά 1,7% σε 5,2 εκατ. m³ το 2016.

Η συνολική παραγωγή η ΕΕ υποχώρησε ελαφρώς και στα 6,8 εκατομμύρια m³ το 2016. Ως εκ τούτου, το δυναμικό της βιοαιθανόλης για τη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου με γρήγορο και οικονομικό τρόπο εξακολουθεί να μην χρησιμοποιείται πλήρως.

Με την εφαρμογή της οδηγίας για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, η οποία προβλέπει υποχρεωτικό ποσοστό 10% ανανεώσιμων πηγών ενέργειας στον τομέα των μεταφορών μέχρι το 2020, αναμένεται αύξηση της κατανάλωσης βιοαιθανόλης στην ΕΕ. Ένα παράδειγμα είναι η διαθεσιμότητα του E10 στο Βέλγιο από την 1η Ιανουαρίου 2017.

➤ Ανάπτυξη στη Γερμανία

Στη Γερμανία, η οποία εξακολουθεί να αντιπροσωπεύει τη μεγαλύτερη αγορά βιοαιθανόλης στην ΕΕ, η κατανάλωση αιθανόλης καυσίμου παρέμεινε στα επίπεδα του προηγούμενου έτους στα 1,5 εκατομμύρια m³ το 2016. Αυτό αντιπροσωπεύει εξοικονόμηση περίπου 1 δισεκατομμυρίου λίτρων βενζίνης.

Παρόλο που οι πωλήσεις του E10 μειώθηκαν ελαφρά, με το μερίδιο αγοράς να μειώνεται σε 13 % το 2016, εξακολουθεί να είναι το δεύτερο σημαντικότερο καύσιμο βενζινοκινητήρα στη Γερμανία (cropenergies, 2017).

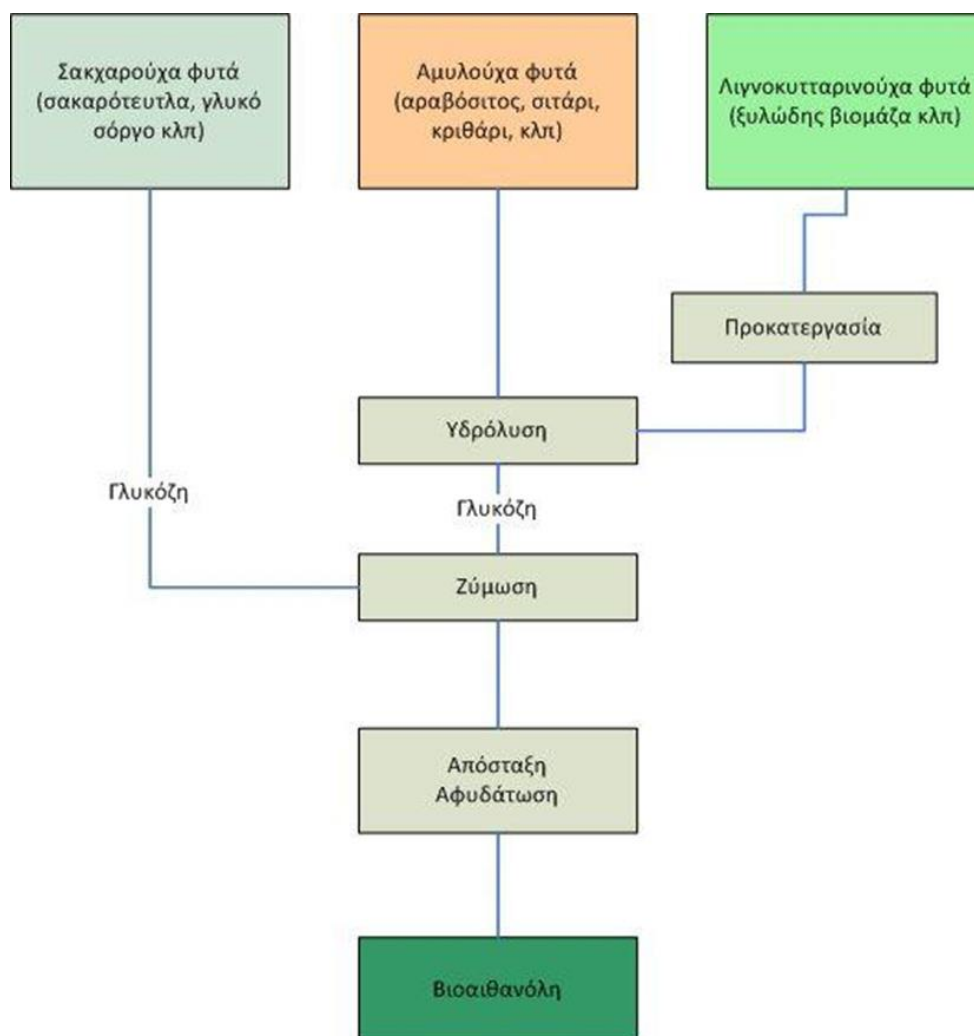
2.4 Βιοαιθανόλη

➤ Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης

Η βιοαιθανόλη παράγεται από τη ζύμωση της ζάχαρης με τη μέθοδο της αλκοολικής ζύμωσης. Είναι ένα άχρωμο, διαυγές υγρό, υψηλής ενεργειακής περιεκτικότητας και καθαρότερο περιβαλλοντικά από τη βενζίνη (Bastos, 2007). Τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της είναι είτε σακχαρούχα (σακχαρότευτλα, γλυκό σόργο κ.α.), είτε αμυλούχα (αραβόσιτος, κρίθη κ.α.), είτε λιγνινοκυτταρινούχα (ξυλώδης βιομάζα, άχυρα κ.α.). Η παραγωγή της χωρίζεται συνήθως σε τρία στάδια:

- 1) Δημιουργία διαλύματος σακχάρων που μπορούν να ζυμωθούν
- 2) Ζύμωση των σακχάρων για την παραγωγή αιθανόλης
- 3) Διαχωρισμός της αιθανόλης και καθαρισμός (Alvira et al., 2010).

Το στάδιο πριν τη ζύμωση, δηλαδή αυτό της δημιουργίας ζυμώσιμων σακχάρων, είναι η βασική διαφορά ανάμεσα στις διεργασίες παραγωγής βιοαιθανόλης από απλά σάκχαρα, από αμυλούχες πηγές και από λιγνινοκυτταρινούχες πηγές. Όταν η πρώτη ύλη είναι φυτά με σύσταση πλούσια σε σουκρόζη δε χρειάζεται καποια ιδιαίτερη προκατεργασία και υπόκεινται άμεσα σε ζύμωση, μιας και οι ζύμες που χρησιμοποιούνται έχουν τη δυνατότητα από μόνες τους να υδρολύσουν τη σουκρόζη μέσω του ενζύμου ιμπερτάση που παράγουν και στη συνέχεια να ζυμώσουν τη σακχαρόζη και τη φρουκτόζη (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012). Στην περίπτωση που η πρώτη ύλη είναι φυτά αμυλούχου σύστασης πριν τη ζύμωση πρόστιθεται ένα ακόμα στάδιο υδρόλυσης με τη χρήση αμυλασών. Τέλος, όταν η πρώτη ύλη είναι βιομάζα λιγνινοκυτταρινούχου σύστασης, απαιτείται και ένα επιπλέον στάδιο ενζυμικής και φυσικοχημικής προκατεργασίας.



Σχήμα 2.3. Σχηματική απεικόνιση της παραγωγής βιοαιθανόλης ανάλογα με την πρώτη ύλη (ΥΠΕΚΑ, 2012)

➤ Σακχαρούχα και αμυλούχα φυτά

Τα σακχαρούχα φυτά περιέχουν κατά βάση πεντόζες και εξόζες, δηλαδή υδατάνθρακες με πέντε και έξη μόρια άνθρακα αντίστοιχα. Τα κυριότερα σακχαρούχα φυτά που καλλιεργούνται για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι το σακχαροκάλαμο, το σακχαρότευτλο και το γλυκό σόργο.

Τα σακχαρούχα φυτά απαιτούν μόνο ένα στάδιο άλεσης για την εξαγωγή των σακχάρων που πρόκειται να ζυμωθούν και για αυτό το λόγο η διαδικασία παραγωγής από αυτά θεωρείται μία απλή, οικονομική και τελειοποιημένη διαδικασία. Συγκεκριμένα, η αιθανόλη παράγεται απευθείας από τη ζύμωση εκχυλισμάτων σακχάρων των φυτών ή από τη ζύμωση της βιολογικής που προκύπτει ως παραπροϊόν μετά την εξαγωγή των σακχάρων από τα φυτά. Η διαδικασία της ζύμωσης λαμβάνει χώρα σε αντιδραστήρες ημιδιαλείποντος έργου με ανακύκλωση των κυττάρων της ζύμης ή σε συνεχείς αντιδραστήρες σε σειρά με ανακύκλωση των κυττάρων της ζύμης (Balat et al., 2008).



Σακχαροκάλαμο



Σακχαρότευτλο



Γλυκό σόργο

Εικόνα 2.1. Σακχαρούχα φυτά (Waste2bio, 2015)

Εκτός από τα προαναφερόμενα σακχαρούχα φυτά, μία επίσης δημοφιλής πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι και τα φυτά που περιέχουν σε μεγάλο ποσοστό άμυλο, έναν πολυσακχαρίτη που είναι πολυμερές της γλυκόζης όπου τα μόρια της γλυκόζης συνδέονται μεταξύ τους με γλυκοζιτικό δεσμό. Αμυλούχα φυτά που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι ο αραβόσιτος και το σιτάρι. Είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη ύλη σε Η.Π.Α και Ευρώπη για την παραγωγή βιοαιθανόλης (Balat et al., 2008).

➤ Λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα

Η λιγνινοκυτταρίνη είναι ένας γενικός όρος με τον οποίο περιγράφονται σαν σύνολο τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των φυτών, δηλαδή η λιγνίνη, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη. Η λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα αποτελεί μία ελκυστική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω της αφθονίας της στη φύση, αποτελώντας το 50% της παγκόσμιας βιομάζας (Sun and Cheng, 2002). Οι πηγές λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας είναι υπολείμματα και παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής, και μη εδώδιμες ενεργειακές καλλιέργειες (Balat et al., 2008).

2.4.1 Η αιθανόλη ως καύσιμο

Η αιθανόλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο με τρεις τρόπους (vogelbusch-bioethanol, 2017):

- 1) Ως μίγμα με την βενζίνη σε ποσοστά 5-85%. Τα μίγματα που περιέχουν μικρές συγκεντρώσεις αιθανόλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε όλα τα αυτοκίνητα, χωρίς καμία τροποποίηση στις μηχανές. Αντίθετα, τα δείγματα με υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης χρησιμοποιούνται σε οχήματα με τροποποιημένες μηχανές που ονομάζονται flexible fuel vehicles (FFV). Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται άνυδρη αιθανόλη. Στα μίγματα αυτά η αιθανόλη δρα σαν ενισχυτής του αριθμού των οκτανίων και αντικαθιστά διάφορα άλλα πρόσθετα όπως τον μόλυβδο. Τα πιο γνωστά μίγματα είναι το E85 (με 85% αιθανόλη και 15% βενζίνη), το E20 (με 20% αιθανόλη και 80% βενζίνη) και το E10 (με 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη).
- 2) Μόνη της σε καθαρή μορφή, σε ειδικά σχεδιασμένες μηχανές. Σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιείται ένυδρη αιθανόλη.
- 3) Εμμέσως, με την τροποποίηση της σε τριτοταγή βουτυλαιθέρα (ethyl tertio butyl ether – ETBE), ο οποίος χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στα συμβατικά καύσιμα.

2.4.2 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης ως καύσιμο

Η αιθανόλη ως καύσιμο έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών καυσίμων, με ένα από τα σημαντικότερα την μείωση της ατμοσφαιρικής ρύπανσης. Πιο συγκεκριμένα, τα πλεονεκτήματα είναι (journeytoforever, 2017):

- ✓ Είναι μια ανανεώσιμη πηγή ενέργειας που παράγεται από απόβλητα
- ✓ Είναι βιοαποικοδομήσιμη, μη τοξική και διαλυτή στο νερό, με αποτέλεσμα να μην προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον σε περίπτωση διαρροής

- ✓ Είναι μη ορυκτό καύσιμο, συνεπώς η παρασκευή και η καύση του δεν αυξάνουν το φαινόμενο του θερμοκηπίου
- ✓ Παρέχει υψηλό αριθμό οκτανίων με χαμηλό κόστος ως εναλλακτική λύση στα επιβλαβή πρόσθετα καυσίμων
- ✓ Ορισμένα μείγματα αιθανόλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε όλους τους βενζινοκινητήρες χωρίς τροποποιήσεις
- ✓ Μειώνει σημαντικά τις επιβλαβείς εκπομπές καυσαερίων
- ✓ Η υψηλή περιεκτικότητά της σε οξυγόνο, μειώνει τα επίπεδα μονοξειδίου του άνθρακα περισσότερο από οποιονδήποτε άλλο οξυγονοποιητή. Εκτιμάται πως η μείωση είναι της τάξης του 25-30%, σύμφωνα με την USEPA.
- ✓ Τα μείγματα αιθανόλης μειώνουν δραματικά τις εκπομπές υδρογονανθράκων, που συμβάλλουν σημαντικά στην εξάντληση του στρώματος του όζοντος
- ✓ Τα μείγματα αιθανόλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε όλους τους βενζινοκινητήρες
- ✓ Τα μίγματα αιθανόλης υψηλής συγκέντρωσης μειώνουν τις εκπομπές μονοξειδίου του αζώτου σε ποσοστό μεγαλύτερο από 20%
- ✓ Η αιθανόλη μπορεί να μειώσει σημαντικά τις εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα σε μία ανάλυση κύκλου ζωής
- ✓ Τα μείγματα υψηλής συγκέντρωσης αιθανόλης μπορούν να μειώσουν τις εκπομπές πτητικών οργανικών ενώσεων (VOC) κατά 30% ή περισσότερο (οι πτητικές οργανικές ενώσεις είναι σημαντικές πηγές ρύπανσης στο έδαφος)
- ✓ Ως ενισχυτής οκτανίων, η αιθανόλη μπορεί να μειώσει τις εκπομπές βενζολίου και βουταδιενίου, τα οποία είναι καρκινογόνα, κατά περισσότερο από 50%
- ✓ Οι εκπομπές διοξειδίου του θείου και σωματιδίων (PM) μειώνονται σημαντικά με την αιθανόλη.

Συνοψίζοντας, η βιοαιθανόλη έχει μεγαλύτερο αριθμό οκτανίων, ευρύτερα όρια αναφλεξιμότητας, υψηλότερες ταχύτητες μετάδοσης του μετώπου της φλόγας και υψηλότερες ενθαλπίες εξάτμισης από τη βενζίνη. Οι ιδιότητές της αυτές επιτρέπουν υψηλότερη αναλογία συμπίεσης και μικρότερο χρόνο καύσης, που οδηγούν σε καλύτερη θεωρητική απόδοση έναντι της βενζίνης σε έναν κινητήρα εσωτερικής καύσης. Ο αριθμός οκτανίων είναι ένα μέτρο της ποιότητας των καυσίμων, και ιδιαίτερα της βενζίνης, για μηχανές εσωτερικής καύσης και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη της πρόωρης ανάφλεξης, η οποία οδηγεί σε “χτυπήματα” της

μηχανής. Στις μηχανές εσωτερικής καύσης προτιμάται μεγάλος αριθμός οκτανίων. Ένα οξυγονούχο καύσιμο, όπως η βιοαιθανόλη, παρέχει καλή αντικροτική ικανότητα. Επιπλέον, λόγω του ότι περιέχει οξυγόνο, η καύση της είναι πιο αποτελεσματική και, συνεπώς, μειώνει τους υδρογονάνθρακες, το μονοξείδιο του άνθρακα (CO) και τις εκπομπές σωματιδίων στα καυσαέρια (Balat et al., 2008). Η συνεισφορά της στο σχηματισμό οξειδίων του αζώτου (NOx) είναι ασήμαντη (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2013). Τα μειονεκτήματα της βιοαιθανόλης περιλαμβάνουν τη χαμηλότερη ενεργειακή πυκνότητα από τη βενζίνη (η βιοαιθανόλη παρέχει το 66% της ενέργειας που παρέχει η βενζίνη), τη δυνατότητα διάβρωσής της, τη χαμηλή φωτεινότητα της φλόγας της, τη χαμηλότερη τάση ατμών (καθιστώντας, έτσι, δύσκολη την εκκίνηση με ψυχρό κινητήρα), την αναμειξιμότητά της με το νερό και την τοξικότητά της για τα οικοσυστήματα (Balat et al., 2008).

Παρόλες τις νομοθετικές πρωτοβουλίες που έχουν αναλάβει η Ε.Ε. και το Ελληνικό Κράτος, η χρήση βιομάζας και υγρών βιοκαυσίμων δεν είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη στην Ελλάδα. Ο λόγος που συμβαίνει αυτό είναι ότι πρέπει πρώτα να αναπτυχθούν οι κατάλληλες τεχνικές και πρακτικές φύτευσης και συγκομιδής ενεργειακών καλλιεργειών καθώς και κατάλληλα σχήματα διανομής προκειμένου η όλη διαδικασία να χαρακτηρίζεται ενεργειακά βιώσιμη. Αυτή τη στιγμή, το μοναδικό βιοκαύσιμο κίνησης που διατίθεται στην ελληνική αγορά είναι το βιοντίζελ. Το πρότυπο EN15376 για τα «Καύσιμα Κίνησης – αιθανόλη βιολογικής προέλευσης (βιοαιθανόλη) ως συστατικό ανάμειξης στη βενζίνη – Απαιτήσεις και Μεθοδολογία Ελέγχου» δεν έχει εφαρμοστεί ακόμα στην Ελλάδα, με αποτέλεσμα να μην έχουν εγκατασταθεί ακόμα μονάδες παραγωγής βιοαιθανόλης (Vouitsis et al., 2014).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Παραγωγή βιοαιθανόλης 2^{ης} γενιάς

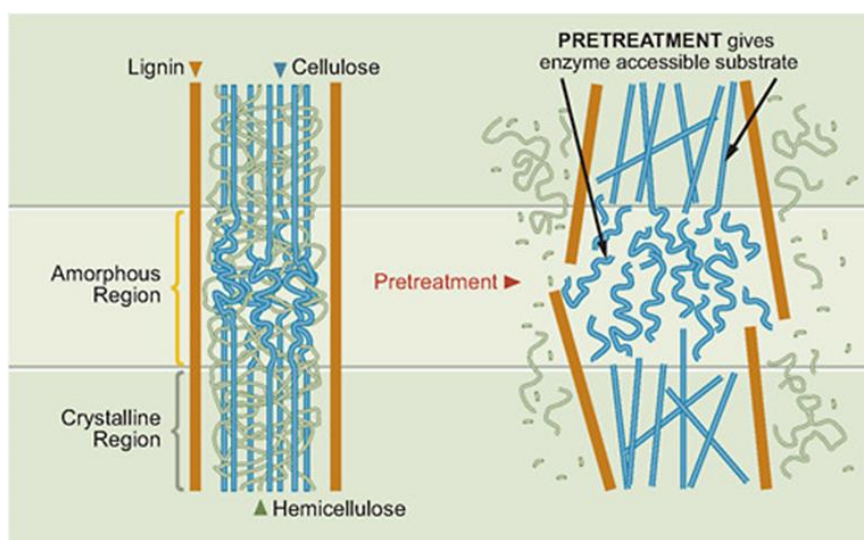
Η χρήση βιοκαυσίμων αντί των συμβατικών ορυκτών καυσίμων δεν είναι μία καινούρια ιδέα, ο άνθρωπος είχε οραματιστεί τη χρήση τους σχεδόν από τη στιγμή που δημιουργήθηκε η πρώτη μηχανή εσωτερικής καύσης. Το ενδιαφέρον για τα βιοκαύσιμα έχει μείνει ζωντανό μέχρι σήμερα έχοντας αναζωπυρωθεί ιδιαίτερα τελευταία, κυρίως λόγω διάφορων προκλήσεων που σχετίζονται με τις τεράστιες και ολοένα αυξανόμενες ενεργειακές ανάγκες, αλλά και με την περιβαλλοντική βιώσιμότητα του μοντέλου κατανάλωσης καυσίμων. Με τη βιοαιθανόλη και το

βιοντίζελ να είναι τα πλέον παραγώμενα βιοκαύσιμα, η επιστημονική έρευνα έχει στραφεί έντονα στη δημιουργία αποτελεσματικών και οικονομικών μεθόδων για την παραγωγή των δύο αυτών βιοκαυσίμων.

3.1 Προκατεργασία

➤ Μέθοδοι προκατεργασίας

Η κύρια πρόκληση αυτή τη στιγμή για την παραγωγή βιοαιθανόλης από λιγνινοκυτταρινούχο βιομάζα είναι η προκατεργασία της πρώτης ύλης. Στο σύμπλεγμα αυτό της βιομάζας η κυτταρίνη προσδίδει την ακαμψία στους φυτικούς ιστούς, η ημικυτταρίνη παρέχει το υλικό επικόλλησης ενώ η λιγνίνη λειτουργεί σαν κόλλα. Κατά διάρκεια της προκατεργασίας, το σύμπλεγμα αυτό πρέπει να διασπαστεί έτσι ώστε να μειωθεί ο βαθμός κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης και να αυξηθεί το ποσοστό των άμορφων περιοχών (Wyman et al., 2005). **(Εικόνα 3.1)**



Εικόνα 3.1. Προεπεξεργασία πρώτης ύλης (Mosier et al., 2005)

Επιπρόσθετα, μεγάλο μέρος της ημικυτταρίνης πρέπει να υδρολυθεί και έτσι να απελευθερωθεί η λιγνίνη ή ακόμα και να αποικοδομηθεί (Wyman et al., 2005). Πρέπει επίσης να ληφθεί υπόψη ότι η επακόλουθη υδρόλυση της κυτταρίνης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το πορώδες της λιγνινοκυτταρινούχας πρώτης ύλης. Το ποσοστό υδρόλυσης χωρίς να έχει προηγηθεί προκατεργασία είναι 20% μικρότερο από το θεωρητικό, ενώ αν προηγηθεί προκατεργασία είναι 90% μεγαλύτερο από το θεωρητικό (Lynd et al., 2002). Συγκεντρωτικά, λοιπόν, οι λόγοι για τους οποίους γίνεται προκατεργασία είναι οι εξής (Alvira et al., 2010):

- Η απομάκρυνση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης
- Η μείωση του βαθμού κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης
- Η αύξηση του πορώδους της πρώτης ύλης

Επιπλέον, η προκατεργασία θα βελτιώσει το σχηματισμό σακχάρων ή τουλάχιστον θα βελτιώσει την ικανότητα παραγωγής τους κατά το στάδιο της υδρόλυσης και θα περιορίσει το σχηματισμό παρεμποδιστών τόσο στο στάδιο της υδρόλυσης όσο και στο στάδιο της τελικής ζύμωσης (Zhuang et al., 2016). Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί μία σειρά φυσικών, φυσικοχημικών, χημικών και βιολογικών μεθόδων προκατεργασίας της λιγνινοκυτταρινούχας πρώτης ύλης.

I. Φυσικές μέθοδοι

1) Μηχανικός κατακερματισμός

Η πρώτη ύλη μπορεί να κονιορτοποιηθεί με ένα συνδυασμό θρυμματισμού, λείανσης και άλεσης. Το μέγεθος των υλικών καταλήγει να είναι 10-30mm μετά το θρυμματισμό και 0,2-2mm με την άλεση (Sun and Cheng, 2002). Η δονούμενη μπάλα άλεσης έχει βρεθεί πως είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος για τη διάσπαση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης (Sun and Cheng, 2002). Η απαιτούμενη ισχύς για το μηχανικό κατακερματισμό της πρώτης ύλης εξαρτάται από το τελικό επιθυμητό μέγεθος των σωματιδίων και από τα χαρακτηριστικά της πρώτης ύλης.

2) Πυρόλυση

Η πυρόλυση έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την προκατεργασία λιγνινοκυτταρινούχας πρώτης ύλης. Τα υλικά θερμαίνονται σε υψηλή θερμοκρασία (300°C) και η κυτταρίνη αποσυντίθεται παράγοντας αέρια προϊόντα και κάρβουνο (Sun and Cheng, 2002). Η αποσύνθεση είναι αρκετά πιο αργή και σχηματίζονται λιγότερο πτητικές ενώσεις σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Ήπια όξινη υδρόλυση έχει ως αποτέλεσμα 80-85% μετατροπή της κυτταρίνης σε αναγωγικά σάκχαρα με περισσότερο από 50% γλυκόζη. Η διαδικασία μπορεί να βελτιωθεί με την παρουσία οξυγόνου (Sanchez and Cardona, 2008).

II. Φυσικοχημικές μέθοδοι

1) Έκρηξη ατμού (αυτοϋδρόλυση)

Η έκρηξη ατμού είναι μία από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους προκατεργασίας λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας. Σε αυτή τη μέθοδο, θρυμματισμένη

βιομάζα υπόκειται σε κορεσμένο ατμό υψηλής πίεσης και στη συνέχεια η πίεση μειώνεται απότομα, πράγμα που κάνει τα υλικά να υφίστανται μία εκρηκτική αποσυμπίεση. Η προκατεργασία με έκρηξη ατμού λαμβάνει χώρα σε πίεση 160-260°C και πίεση 0.69-4.83 MPa για μερικά δευτερόλεπτα ή και λεπτά πρώτου τα υλικά εκτεθούν σε ατμοσφαιρική πίεση (Alvira et al., 2010). Η όλη διαδικασία προκαλεί την αποσύνθεση της ημικυτταρίνης και την μερική απομάκρυνση της λιγνίνης, διευκολύνοντας την μετέπειτα υδρόλυση της κυτταρίνης.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν την προκατεργασία με έκρηξη ατμού είναι, ο χρόνος παραμονής, η θερμοκρασία, το μέγεθος των αλεσμένων σωματιδίων και η περιεχόμενη υγρασία. Η βέλτιστη διαλυτοποίηση και υδρόλυση της ημικυτταρίνης μπορεί να επιτευχθεί είτε με υψηλή θερμοκρασία και χαμηλό χρόνο παραμονής, είτε με χαμηλότερη θερμοκρασία και μεγαλύτερο χρόνο παραμονής. Προσθήκη H₂SO₄ ή SO₂ μπορεί να βελτιώσει σημαντικά το στάδιο της υδρόλυσης περιορίζοντας την παραγωγή παρεμποδιστών και να οδηγήσει σε απομάκρυνση μεγαλύτερο ποσοστό ημικυτταρίνης (Alvira et al., 2010).

Τα κύρια πλεονεκτήματα της προκατεργασίας με έκρηξη ατμού είναι οι χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις, το χαμηλότερο κεφάλαιο επένδυσης, η πλήρης ανάκτηση των σακχάρων και η απουσία κόστους ανακύκλωσης. Οι συμβατικές μηχανικές μέθοδοι έχουν έως και 70% μεγαλύτερες ενεργειακές απαιτήσεις σε σύγκριση με την προκατεργασία με έκρηξη ατμού για να πετύχουν τα ίδια αποτελέσματα (Wyman et al., 2005). Αναγνωρίζεται ως μία από τις πιο οικονομικές μεθόδους προκατεργασίας πρώτης ύλης από φυλλοβόλα δέντρα και αγροτικά υπολείμματα, όχι όμως και από κωνοφόρα δέντρα (Wyman et al., 2005). Οι περιορισμοί της συγκεκριμένης μεθόδου περιλαμβάνουν: την καταστροφή ενός ποσοστού του περιεχόμενου κλάσματος ξυλάνης, την ημιτελή αποδιοργάνωση του λιγνινο-υδατανθρακικού πλέγματος και τη δημιουργία παρεμποδιστών των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται στη συνέχεια (Alvira et al., 2010). Οι κυριότεροι παρεμποδιστές που παράγονται είναι παράγωγα φουρανίου, φαινολικές ενώσεις και ασθενή οξέα. Λόγω αυτής της παραγωγής παρεμποδιστών της μικροβιακής ανάπτυξης, της ενζυμικής υδρόλυσης και της ζύμωσης, η προκατεργασμένη με έκρηξη ατμού βιομάζα πρέπει να εκπλυθεί με νερό προκειμένου να απομακρυνθούν οι παρεμποδιστές αυτοί καθώς και η διαλυτή στο νερό ημικυτταρίνη (Vohra et al., 2014).

2) Υδροθερμόλυση

Πρόκειται για μία κατεργασία που δεν απαιτεί ραγδαία αποσυμπίεση της πρώτης ύλης και δεν απαιτεί τη χρήση χημικών ουσιών. Η βιομάζα αναμιγνύεται με νερό, το οποίο διατηρείται σε υψηλές θερμοκρασίες (160-240°C) με την εφαρμογή υψηλής πίεσης για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, στη συνέχεια ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου όπου το μίγμα που προκύπτει μπορεί να διαχωριστεί σε ένα στερεό και ένα υγρό κλάσμα (Zhuang et al., 2016). Το αποτέλεσμα είναι να προκαλούνται αλλαγές στη δομή της βιομάζας. Πιο συγκεκριμένα, η ημικυτταρίνη αποπολυμερίζεται και τα προϊόντα διάσπασής της διαλύονται στο υγρό κλάσμα, ενώ η κυτταρίνη διατηρείται ολόκληρη στο στερεό κλάσμα. Η λιγνίνη αποπολυμερίζεται και διαλυτοποιείται μερικώς αλλά δεν είναι δυνατή η πλήρης απολιγνοποίηση εξαιτίας της αποσυμπύκνωσης διαλυτών ενώσεων που προέρχονται από τη λιγνίνη (Zhuang et al., 2016). Η εναπομείνουσα λιγνίνη στο στερεό κλάσμα έχει αρνητική επίδραση στην επακόλουθη ενζυμική υδρόλυση, καθώς εμποδίζει τις κυτταρινάσες να φτάσουν σε ολόκληρη την επιφάνεια της κυτταρίνης. Συνολικά, απομακρύνεται το 80% της ημικυτταρίνης και το 20-30% της λιγνίνης (Vohra et al., 2014). Για το λόγο αυτό έχουν προταθεί διάφορες τροποποιήσεις της υδροθερμόλυσης, όπως για παράδειγμα η διαδοχική θέρμανση σε δύο στάδια, με το δεύτερο να γίνεται σε υψηλότερη θερμοκρασία, μία διεργασία με συνεχή ροή νερού σε υψηλή θερμοκρασία, σε αντίθεση με την κλασσική υδροθερμόλυση που είναι ασυνεχής διαδικασία και στο τέλος η γίνεται η προσθήκη υγρής αμμωνίας (Zhuang et al., 2016).

Γενικά, η προκατεργασία με θερμό νερό είναι ελκυστική εξαιτίας του χαμηλού κόστους της. Δεν απαιτείται καταλύτης και το κόστος κατασκευής και συντήρησης είναι χαμηλό αφού δεν υπάρχει κίνδυνος χημικής διάβρωσης του εξοπλισμού. Ωστόσο απαιτεί υψηλές ποσότητες νερού και περισσότερη ενέργεια σε σύγκριση με διεργασίες όπως η προκατεργασία με εκτόνωση ατμού (Zhuang et al., 2016).

3) Εκτόνωση ίνας με αμμωνία (έκρηξη αμμωνίας/AFEX)

Η εκτόνωση με ίνα αμμωνίας είναι άλλη μία φυσικοχημική μέθοδος προκατεργασίας, κατά την οποία η λιγνινοκυτταρινούχος πρώτη ύλη εκτείνεται σε υγρή αμμωνία σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση για ένα χρονικό διάστημα. Στη συνέχεια η πίεση μειώνεται απότομα πράγμα που κάνει τα υλικά να υφίστανται μία εκρηκτική αποσυμπίεση. Ειδικότερα, η βιομάζα υποβάλλεται σε επεξεργασία με υγρή άνυδρη

αμμωνία, περίπου 2 kg αμμωνίας ανά kg ξηρής βιομάζας, σε θερμοκρασίες 60-100°C και υψηλή πίεση για 10-60 λεπτά και στη συνέχεια υποβάλλεται σε εκτονωτική αποσυμπίεση με αποτέλεσμα τη διόγκωση και τη φυσική αποδιοργάνωση της δομής της βιομάζας και την μερική μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012). Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μόνο ένα μικρό μέρος του στερεού υλικού διαλυτοποιείται, κυρίως λίγη ημικυτταρίνη και λίγη λιγνίνη (Vohra et al., 2014). Η συλλογή της χρησιμοποιημένης αμμωνίας και η ανακύκλωσή της είναι δυνατή, παρά την υψηλή πτητικότητα της τελευταίας, αλλά το κόστος της διαδικασίας είναι πολύ μεγάλο σχετικά με την αξιοποίηση της μεθόδου για βιομηχανική χρήση (Wyman et al., 2005). Η εκτόνωση ίνας αμμωνίας μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τα ποσοστά σακχαροποίησης των διάφορων υλικών που πρόκειται να υποστούν προκατεργασία. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα όμως αυτής της μεθόδου προκατεργασίας είναι ότι δεν παρατηρείται σχηματισμός παρεμποδιστών. Ωστόσο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί με καλά αποτελέσματα μόνο για πρώτες ύλες που δεν περιέχουν υψηλά ποσοστά λιγνίνης, όπως σε υπολείμματα αγροτικής παραγωγής ή ποώδη φυτά, ενώ έχει περιορισμένη αποτελεσματικότητα με πρώτες ύλες όπως ξυλώδης βιομάζα (Wyman et al., 2005).

4) Έκρηξη CO₂

Παρόμοια με την προκατεργασία έκρηξης ατμού και αμμωνίας, η έκρηξη CO₂ χρησιμοποιείται επίσης για την προκατεργασία λιγνινοκυτταρινούχων πρώτων υλών. Αυτή η μέθοδος βασίζεται στη χρήση του CO₂ ως υπερκρίσιμου ρευστού, το οποίο είναι ένα ρευστό σε αέρια μορφή που έχει όμως συμπιεστεί σε θερμοκρασίες πάνω από το κρίσιμο σημείο του με αποτέλεσμα η πυκνότητά του να είναι σαν υγρού ρευστού. Το μέγεθος των μορίων του CO₂ είναι παρόμοιο με αυτό του νερού και της αμμωνίας που αναλύθηκαν παραπάνω και έτσι τα μόρια μπορούν να εισχωρήσουν με τον ίδιο τρόπο στους πόρους της βιομάζας (Sun and Cheng, 2002). Με την εκρηκτική αποσυμπίεση του CO₂ επέρχεται διαταραχή στη δομή της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης με αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργής επιφάνειας που μπορεί να προσβληθεί κατά τη διάρκεια του στάδιου της υδρόλυσης. Συγκριτικά με άλλες φυσικοχημικές μεθόδους προκατεργασίας έχει διαπιστωθεί ότι η έκρηξη CO₂ είναι πιο αποδοτική οικονομικά από την έκρηξη αμμωνίας και δεν προκαλεί τη δημιουργία παρεμποδιστών όπως παρατηρείται στην προκατεργασία με έκρηξη ατμού. Άλλα

πλεονεκτήματα της προκατεργασίας με έκρηξη CO₂ είναι ότι είναι μία μη τοξική μέθοδος, μη εύφλεκτη και με εύκολη ανάκτηση του CO₂ (Wyman et al., 2005).

III. Χημικές μέθοδοι προκατεργασίας

1) Αλκαλική προκατεργασία

Η επίδραση που έχουν ορισμένες βάσεις στη λιγνινοκυτταρινούχα βιομάζα είναι η βάση της αλκαλικής προκατεργασίας που είναι αποτελεσματική ανάλογα με το ποσοστό περιεχόμενης λιγνίνης στη βιομάζα. Η προκατεργασία με αλκάλια αυξάνει την ικανότητα διάσπασης της κυτταρίνης και είναι πιο αποτελεσματική στη διαλυτοποίηση της λιγνίνης, εμφανίζοντας μικρότερη διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης και της κυτταρίνης από τις αντίστοιχες υδροθερμικές και οξειδωτικές μεθόδους (Wyman et al., 2005). Όλη η λιγνίνη και ένα μέρος της ημικυτταρίνης αφαιρούνται, ενώ τα υδροξείδια του νατρίου, ασβεστίου, αμμωνίου και θείου που χρησιμοποιούνται διογκώνουν τη βιομάζα, αυξάνουν την εσωτερική ενεργή επιφάνεια της κυτταρίνης και προκαλούν μείωση του βαθμού πολυμερισμού και της κρυσταλλικότητάς της (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012). Η αλκαλική προκατεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί σε θερμοκρασία δωματίου και σε χρόνους που ποικίλουν από δευτερόλεπτα έως και μερικές μέρες. Είναι πιο αποτελεσματική σε βιομάζα από αγροτικά υπολείμματα από ότι σε ξυλώδη βιομάζα. Παρόλα αυτά, προκαλεί απώλεια ζυμώσιμων σακχάρων και δημιουργία παρεμποδιστών. Οι μέθοδοι που βασίζονται στην προκατεργασία με αλκάλια είναι γενικά αποτελεσματικότερες στην διαλυτοποίηση ενός μεγαλύτερου μέρους της λιγνίνης ενώ διατηρούν σχεδόν ανέπαφο και αδιαλυτοποιήτο το μεγαλύτερο μέρος της ημικυτταρίνης (Alvira et al., 2010).

2) Όξινη προκατεργασία

Ο κύριος στόχος της προκατεργασίας με οξέα είναι η διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης που περιέχεται στη βιομάζα προκειμένου να γίνει η κυτταρίνη περισσότερο προσβάσιμη στα ένζυμα που θα την υδρολύσουν. Πυκνά διαλύματα οξέων, όπως H₂SO₄ και HCl, έχουν χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας, αλλά παρότι είναι ισχυροί παράγοντες, είναι ταυτόχρονα ιδιαίτερα τοξικοί, διαβρωτικοί και επικίνδυνοι και απαιτούν τη χρήση εξοπλισμού που να είναι ανθεκτικός στη διάβρωση (Wyman et al., 2005). Το υψηλό

κόστος που προκύπτει από τη χρήση πυκνών διαλυμάτων οξέων έχει μειώσει το ενδιαφέρον για τη βιομηχανική τους χρήση. Καταλληλότερες για βιομηχανική εφαρμογή κρίνονται οι μέθοδοι στις οποίες χρησιμοποιούνται αραιά οξέα, όπως τοθειικό οξύ. Η προκατεργασία αυτή γίνεται σε συγκεντρώσεις 0.5-1.2% β/β και θερμοκρασίες 170-190°C για μικρό χρονικό διάστημα ή χαμηλότερες θερμοκρασίες (120°C) για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Zhuang et al., 2016). Εκτός από τη διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης, η μέθοδος αυτή έχει το επιπλέον πλεονέκτημα της μετατροπής της ημικυτταρίνης σε ζυμώσιμα σάκχαρα. Ωστόσο, ανιχνεύονται ενώσεις από την αποικοδόμηση των σακχάρων, όπως η φουρφοουράλη, οι οποίες στο στάδιο της ζύμωσης επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη μικροβιακή ανάπτυξη (Alvira et al., 2010).

3) Προκατεργασία με οργανικούς διαλύτες (organosolvents)

Σε αυτή τη μέθοδο προκατεργασίας ένας οργανικός ή ένα υδατικό διάλυμα οργανικού διαλύτη χρησιμοποιείται με ανόργανα οξέα που δρουν ως καταλύτες για τη διάσπαση των εσωτερικών δεσμών λιγνίνης και ημικυτταρίνης και την παραγωγή προκατεργασμένης κυτταρίνης, καταλληλότερης για ενζυμική υδρόλυση. Οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι μεθανόλη, αιθανόλη, ακετόνη, αιθυλενογλυκόλη κ.α. (Wyman et al., 2005). Οργανικά οξέα όπως το οξαλικό, το ακετυλοσαλικυλικό και το σαλικυλικό χρησιμοποιούνται επίσης ως καταλύτες της διαδικασίας και επιτυγχάνουν μάλιστα υψηλή απόδοση ανάκτησης της ξυλόζης. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην προκατεργασία πρέπει να διαχωρίζονται γιατί δρουν παρεμποδιστικά στη μικροβιακή ανάπτυξη, την ενζυμική υδρόλυση και τη ζύμωση των σακχάρων. Η απομάκρυνση των διαλυτών γίνεται με μεθόδους διαχωρισμού όπως η εξάτμιση και η συμπύκνωση (Alvira et al., 2010).

IV. Βιολογική προκατεργασία

Η βιολογική προκατεργασία έχει εξερευνηθεί παλαιότερα στη χρήση λιγνινοκυτταρινούχων υλικών ως πρώτη ύλη για την παραγωγή χαρτιού (Wyman et al., 2005). Πρόσφατα αυτή η περιβαλλοντικά φιλική μέθοδος έχει γνωρίσει ανανεωμένο ενδιαφέρον ως μέθοδος προκατεργασίας για τη βελτίωση της ενζυμικής σακχαροποίησης της βιομάζας για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Στις βιολογικές μεθόδους προκατεργασίας, μύκητες που προκαλούν καστανή, λευκή και μαλακή σήψη χρησιμοποιούνται για τη διάσπαση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης καθώς

και για τη μείωση του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης. Η αποικοδόμηση της λιγνίνης από μύκητες που προκαλούν λευκή σήψη, ο πιο αποτελεσματικός για την βιολογική προκατεργασία βιομάζας, συμβαίνει μέσω της δράσης ενζύμων που διασπούν τη λιγνίνη, όπως περοξειδάσες και λακκάσες (Alvira et al., 2010). Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η φιλικότητα προς το περιβάλλον, οι χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις, το χαμηλό απαιτούμενο κεφάλαιο και το γεγονός ότι δε χρησιμοποιούνται άλλοι χημικοί παράγοντες (Fangui and Milford, 1999). Παρόλα αυτά, ο πολύ χαμηλός βαθμός υδρόλυσης εμποδίζει την εφαρμογή της σε βιομηχανικές διεργασίες. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται πολλές φορές σε συνδυασμό με χημικές μεθόδους προκατεργασίας (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012). Άλλα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου προκατεργασίας είναι η παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών στο στάδιο της ζύμωσης λόγω του σχηματισμού παραγώγων από τη λιγνίνη και η σημαντική απώλεια ξυλάνης και μαννάνης (Fangui and Milford, 1999).

Η σύγκριση των προκατεργασιών ως προς την αλλαγή στη δομή της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας παρατίθεται στον **Πίνακα 3.1** που ακολουθεί:

Πίνακας 3.1. Σύγκριση προκατεργασιών ως προς την αλλαγή στη δομή της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας (Alvira et al., 2010; Haghghi Mood et al., 2013)

Προκατεργασία	Αύξηση ειδικής επιφάνειας	Αποκρυστάλλωση κυτταρίνης	Απομάκρυνση και διαλυτοποίηση ημικυτταρίνης	Απομάκρυνση λιγνίνης	Παραγωγή παρεμποδιστών
Οξύ	++	-	++	+	++
Βάση	++	-	+	++	+/-
Ιοντικά υγρά	++	++	+	+	-
Οργανικοί διαλύτες	++	ΔΑ	++	++	-
Οξονόλυση	++	ΔΑ	-	++	-
Έκρηξη ατμών	++	-	++	+/-	++
Έκρηξη αμμωνίας	++	++	+	++	+/-
Έκρηξη CO ₂	++	-	++	-	-
Υγρή οξείδωση	++	+	++	++	+/-
Υδροθερμική	++	ΔΑ	++	+/-	+/-
Βιολογική	++	+	+/-	++	-
Άλεση	++	++	-	-	-

++: μεγάλη επίδραση, +: μεσαία επίδραση, +/-: μικρή επίδραση, -: καθόλου επίδραση, ΔΑ: δεν έχει αποφασιστεί

Επιπρόσθετα, βασικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των διαφόρων προκατεργασιών δίνονται στον **Πίνακα 3.2** που ακολουθεί.

Πίνακας 3.2. Βασικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των διαφόρων προκατεργασιών (Alvira et al., 2010; Haghghi Mood et al., 2013; Sudiyani et al., 2014)

Προκατεργασία	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Οξύ	Υψηλές αποδόσεις γλυκόζης, θερμοκρασία περιβάλλοντος	Διάβρωση εξοπλισμού, αποικοδόμηση σακχάρων, εξουδετέρωση μετά την προκατεργασία
Βάση	Απομάκρυνση λιγνίνης ημικυτταρίνης, χαμηλό κόστος	Χρονοβόρα, εξουδετέρωση μετά την προκατεργασία
Ιοντικά υγρά	Μείωση κρυσταλλικότητας κυτταρίνης	Υψηλό κόστος των υγρών
Οργανικοί διαλύτες	Υδρόλυση ημικυτταρίνης	Ανάκτηση και ανακύκλωση των διαλυτών, υψηλό κόστος
Οξονόλυση	Μείωση λιγνίνης, δεν παράγει τοξικές ουσίες	Απαιτούνται μεγάλες ποσότητες όζοντος, ακριβή διεργασία
Έκρηξη ατμών	Οικονομικά αποδοτική, αποικοδόμηση λιγνίνης και διαλυτοποίηση ημικυτταρίνης	Ατελής αποικοδόμηση της λιγνινοκυτταρινούχου δομής, παραγωγή τοξικών ουσιών
Έκρηξη αμμωνίας	Παραγωγή μικρής ποσότητας παρεμποδιστών	Απαιτήσεις υψηλών πιέσεων, μικρή αποδοτικότητα σε βιομάζες με μεγάλη περιεκτικότητα λιγνίνης, υψηλό κόστος αμμωνίας
Έκρηξη CO₂	Οικονομικά αποδοτική, δεν παράγει τοξικές ουσίες	Απαιτήσεις υψηλών πιέσεων, δεν επηρεάζει την λιγνίνη και την ημικυτταρίνη
Υγρή οξείδωση	Ελαχιστοποίηση ενεργειακής απαίτησης (εξώθερμη), αποτελεσματική αποβολή λιγνίνης, λίγοι παρεμποδιστές	Υψηλό κόστος οξυγόνου και καταλυτών
Υδροθερμική	Υδρόλυση ημικυτταρίνη, αποδόμηση λιγνίνης, όχι παρεμποδιστές	Υψηλές θερμοκρασίες, προσθήκη βάσεως για έλεγχο pH
Βιολογική	Αποικοδόμηση ημικυτταρίνης και λιγνίνης, χαμηλή κατανάλωση ενέργειας	Μικρή απόδοση στην υδρόλυση, απαίτηση μεγάλου όγκου και πολύ χρόνου, συνεχής έλεγχος ανάπτυξης των μυκήτων
Άλεση	Μείωση κρυσταλλικότητας κυτταρίνης	Υψηλή κατανάλωση ενέργειας

3.2 Υδρόλυση

Μετά την προκατεργασία, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη είναι έτοιμες για υδρόλυση, δηλαδή τη διάσπασή τους με την προσθήκη νερού:

Κυτταρίνη-Εξοζάνη σε εξόζη: $(C_6H_{10}O_5)_n + n H_2O \rightarrow n C_6H_{12}O_6$

Ημικυτταρίνη-Πεντοζάνη σε πεντόζη: $(C_5H_8O_4)_n + n H_2O \rightarrow n C_5H_{10}O_5$
(Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2013).

Οι παραπάνω αντιδράσεις καταλύονται από αραιό οξύ, πυκνό οξύ ή ένζυμα. Η ενζυμική υδρόλυση παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, καθώς, λόγω των πολύ ήπιων συνθηκών, στις οποίες πραγματοποιείται, ($pH \approx 4,8$ και θερμοκρασία $45-50^\circ C$) δίνει υψηλές αποδόσεις. Επιπλέον, το κόστος συντήρησης είναι χαμηλό σε σχέση με την αλκαλική και την όξινη υδρόλυση, αφού δεν αντιμετωπίζονται προβλήματα διάβρωσης. Υδρόλυση υλικού, το οποίο δεν έχει υποστεί προκατεργασία, δίνει, συνήθως, αποδόσεις μικρότερες από 20%, ενώ υδρόλυση υλικού, που έχει υποστεί προκατεργασία, μπορεί να δώσει αποδόσεις μεγαλύτερες από 90%. Με την πάροδο των χρόνων, έχουν αναπτυχθεί πολλές διεργασίες υδρόλυσης της κυτταρίνης προς σχηματισμό γλυκόζης. Η συντριπτική πλειοψηφία αυτών χρησιμοποιεί είτε κυτταρινολυτικά ένζυμα είτε θειικό οξύ σε διάφορες συγκεντρώσεις. Ανέκαθεν, τα ένζυμα ήταν πάρα πολύ ακριβά για μία οικονομικά αποδοτική διεργασία παραγωγής βιοαιθανόλης. Όμως, ένα πολύ σημαντικό μειονέκτημα της χρήσης θειικού οξέος είναι ότι, στις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για την υδρόλυση της κυτταρίνης, διασπά εύκολα και τη γλυκόζη. Η πλούσια σε λιγνινοκυτταρινούχα υλικά βιομάζα μπορεί να υδρολυθεί με τη βοήθεια ακτίνων γάμμα, δέσμης ηλεκτρονίων ή μικροκυμάτων. Πρόκειται, όμως, για μία πιο πολύπλοκη διαδικασία, λόγω της παρουσίας λιγνίνης και ημικυτταρίνης (Balat et al., 2008).

1. Όξινη υδρόλυση

Έρευνες έχουν δείξει ότι η όξινη υδρόλυση, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, παράγει κυρίως ξυλόζη από ξυλάνη, που είναι το βασικό πολυμερές της ημικυτταρίνης, ενώ τα κλάσματα της κυτταρίνης και της λιγνίνης παραμένουν αναλλοίωτα. Η ξυλάνη είναι επιδεκτική στην υδρόλυση με ήπια κατεργασία με οξύ, λόγω της άμορφης δομής της. Αντίθετα, η κυτταρίνη, λόγω της κρυσταλλικής της φύσης, απαιτεί έντονες συνθήκες κατεργασίας. Κατά τη διάρκεια της όξινης υδρόλυσης, η ξυλόζη διασπάται γρήγορα σε φουρφουράλη και άλλα παραπροϊόντα, τα οποία αναστέλλουν τη δράση των μικροοργανισμών. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι υδρόλυσης είναι η υδρόλυση με αραιό οξύ και η υδρόλυση με πυκνό οξύ (Balat et al. , 2008).

2. Υδρόλυση με αραιό οξύ

Πρόκειται για την πιο παλαιά μέθοδο μετατροπής βιομάζας σε αιθανόλη. Η μέθοδος πραγματοποιείται σε δύο στάδια, καθώς το κλάσμα της ημικυτταρίνης αποπολυμερίζεται σε χαμηλότερη θερμοκρασία από το κλάσμα της κυτταρίνης. Το πρώτο στάδιο γίνεται σε χαμηλή θερμοκρασία, ώστε να μεγιστοποιηθεί η απόδοση από την ημικυτταρίνη, ενώ το δεύτερο σε υψηλότερη θερμοκρασία, ώστε να βελτιστοποιηθεί η υδρόλυση της κυτταρίνης. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της υδρόλυσης με αραιό οξύ είναι ο γρήγορος ρυθμός αντίδρασης, ενώ το μεγαλύτερο μειονέκτημά της είναι η χαμηλή απόδοση σε σάκχαρα (Balat et al. , 2008).

3. Υδρόλυση με πυκνό οξύ

Η υδρόλυση με πυκνό οξύ παρέχει ολοκληρωμένη και ταχεία μετατροπή της κυτταρίνης σε γλυκόζη και της ημικυτταρίνης σε πεντόζες. Για να είναι η διαδικασία οικονομικά βιώσιμη, απαραίτητη είναι η βελτιστοποίηση της ανάκτησης σακχάρων και η ανάκτηση του οξέος για επαναχρησιμοποίηση. Οι χαμηλές θερμοκρασίες και πιέσεις οδηγούν στην ελαχιστοποίηση της αποικοδόμησης των σακχάρων. Το κύριο πλεονέκτημα της υδρόλυσης με πυκνό οξύ είναι το υψηλό ποσοστό ανάκτησης προϊόντος. Όμως, το πυκνό θειικό ή υδροχλωρικό οξύ είναι δύσκολα στη χρήση, καθώς όλη η ποσότητα οξέος πρέπει να ανακτηθεί και να συμπυκνωθεί για να είναι η διεργασία οικονομικά αποδοτική (Balat et al. , 2008).

4. Ενζυμική υδρόλυση

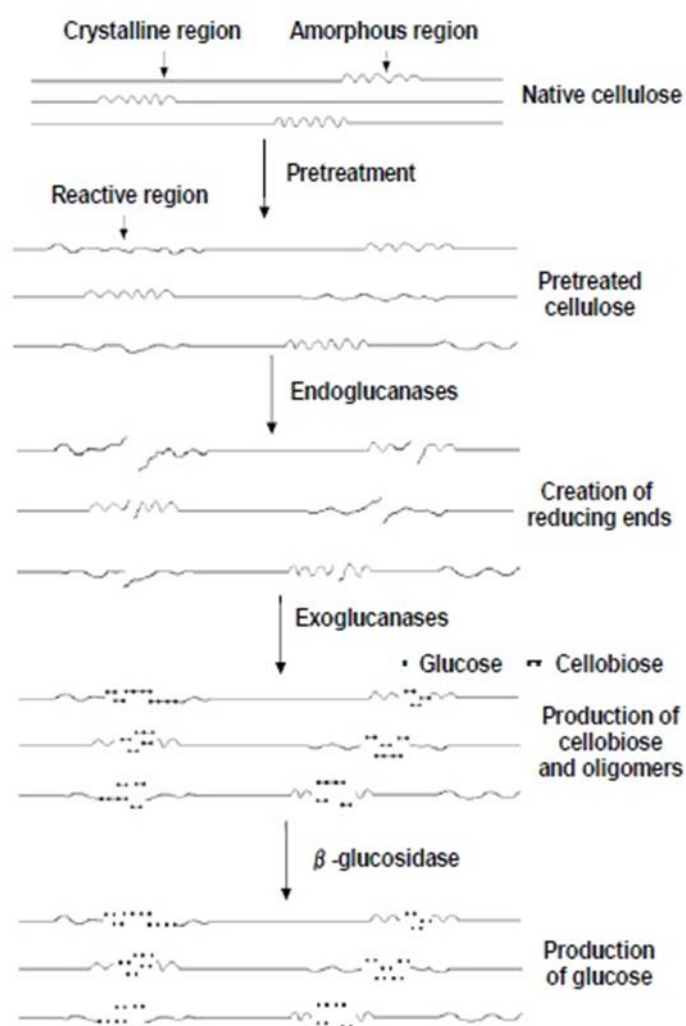
Η ενζυμική υδρόλυση των διατροφικών απορριμμάτων είναι μία πολύ αργή διαδικασία γιατί η υδρόλυση της κυτταρίνης παρεμποδίζεται από δομικές παραμέτρους του υποστρώματος, όπως το περιεχόμενό του σε λιγνίνη και ημικυτταρίνη, η επιφάνεια επαφής και η κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης. Είναι μία ελκυστική διεργασία, διότι δίνει καλύτερες αποδόσεις σε σχέση με την καταλυόμενη από οξύ υδρόλυση. Επιπλέον, οι κατασκευαστές ενζύμων έχουν μειώσει σημαντικά το κόστος τους, χρησιμοποιώντας σύγχρονες μεθόδους βιοτεχνολογίας. Κατά την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης, η καταλυτική δράση του μείγματος κυτταρινασών περιορίζεται από πολλούς παράγοντες. Θεωρείται ότι οι περιορισμοί αυτοί αφείλονται σε παράγοντες, οι οποίοι σχετίζονται τόσο με το υπόστρωμα όσο και με τα ένζυμα. Ο ρυθμός της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης μειώνεται σχετικά γρήγορα. Γενικά, η ενζυμική αποικοδόμηση της κυτταρίνης χαρακτηρίζεται από μία ταχεία αρχική φάση, η οποία ακολουθείται από μία βραδεία δευτερεύουσα φάση, που μπορεί να

διαρκέσει έως ότου καταναλωθεί όλο το υπόστρωμα. Αυτό οφείλεται συνήθως στη γρήγορη υδρόλυση του εύκολα προσβάσιμου κλάσματος της κυτταρίνης, στην αναστολή του προϊόντος και στην αργή απενεργοποίηση των μορίων του ενζύμου που απορροφώνται (Balat et al. , 2008).

Ο ευρέως αποδεκτός μηχανισμός της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης περιλαμβάνει τρεις συνεργιστικές ενζυμικές δράσεις:

1. Υδρόλυση εσωτερικών 1,4-β-D-γλυκοζιτικών δεσμών των αλυσίδων κυτταρίνης με ένδο-1,4-β-D-γλουκανάσες (EG).
2. Απελευθέρωση διαλυτών μορίων κελλοβιόζης από τα άκρα της κυτταρίνης με έξω-1,4-β-D-γλουκανάσες (CBH).
3. Απελευθέρωση D-γλυκόζης από την κελλοβιόζη με β-γλυκοζιδάσες (BGL)

Η απλοποιημένη σχηματική παρουσίαση της υδρόλυσης της κυτταρίνης σε γλυκόζη από κυτταρινολυτικά ένζυμα παρατίθεται στην **Εικόνα 3.2** που ακολουθεί:



Εικόνα 3.2. Σχηματική παρουσίαση της υδρόλυσης της κυτταρίνης σε γλυκόζη από κυτταρινολυτικά ένζυμα (Taherzadeh and Karimi, 2007)

Αρχικά, η ενδογλουκανάση δρα τυχαία στις άμορφες περιοχές της κυτταρινικής αλυσίδας, δημιουργώντας νέα «ελεύθερα άκρα», όπου μπορεί να δράσει η εξωγλουκανάση, απελευθερώνοντας μόρια κελλοβιόζης. Η κελλοβιόζη, τελικά, υδρολύεται σε γλυκόζη με τη δράση της β-γλυκοζιδάσης. Η δράση της β γλυκοζιδάσης είναι πολύ σημαντική, καθώς η κελλοβιόζη είναι πολύ ισχυρότερος παρεμποδιστής της εξωγλουκανάσης από την γλυκόζη. Η συσσώρευση της κελλοβιόζης μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη συνολική υδρολυτική απόδοση του συστήματος των κυτταρινασών (Balat et al. , 2008 και Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2013). Για την αποτελεσματική αξιοποίηση του υλικού, όμως, απαιτείται η αποικοδόμηση τόσο της κυτταρίνης όσο και της ημικυτταρίνης. Η ξυλάνη, υδρολύεται σε ξυλο-ολιγοσακχαρίτες από ενδο-β-1,4-ξυλανάσες και στη συνέχεια οι β-ξυλοζιδάσες υδρολύουν τους ξυλο-ολιγοσακχαρίτες (κυρίως την ξυλοβιόζη) σε μόρια ξυλόζης. Άλλα ένζυμα που συνεισφέρουν στην αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης είναι οι α-γλυκουρονοζιδάσες, οι α-L-αραβινοφουρανοζιδάσες, οι ακετυλ-εστεράσες και οι εστεράσες του φερουλικού οξέος. Η αποικοδόμηση των γλυκομαννάνων γίνεται από β-μαννανάσες και β-μαννοζιδάσες (Δόγαρης, 2009).

Με την προσθήκη αμυλολυτικών ενζύμων επιτυγχάνεται και υδρόλυση του περιεχόμενου στο υπόστρωμα αμύλου . Η υδρόλυση του αμύλου αυξάνει την περιεκτικότητα σε ζυμώσιμα σάκχαρα και ως εκ τούτου και την τελική παραγωγή αιθανόλης. Τα αμυλολυτικά ένζυμα λειτουργούν με δύο διαφορετικούς τρόπους. Οι α- αμυλάση χαρακτηρίζεται ως ενδο-υδρολάση επειδή δρα επί το πλείστον στους εσωτερικούς γλυκοζιτικούς δεσμούς παρά στα άκρα του υποστρώματος. Καθώς το σημείο του δεσμού δεν είναι καθορισμένο, από την υδρολυτική της δράση παράγεται μίγμα προϊόντων. Όλες οι άλλες αμυλάσες (β-αμυλάση, γλυκοαμυλάση κ.α.) χαρακτηρίζονται ως εξω-υδρολάσες εφόσον αντιδρούν με τα άκρα του υποστρώματος, σε συγκεκριμένο σημείο, παράγοντας καθορισμένο προϊόν. Η διαφορά που παρατηρείται στα παραγόμενα προϊόντα είναι συνάρτηση της δομής του ενεργού κέντρου του κάθε ενζύμου. Στα ενδοένζυμα, το άμυλο τοποθετείται σε διάφορες θέσεις και έτσι κόβονται δεσμοί σε διάφορες θέσεις. Η αντίδραση όμως ακολουθεί συγκεκριμένα μοτίβα (Chang Rupp and Schwartz, 1988). Αντιθέτως, στα εξωένζυμα το υπόστρωμα τοποθετείται με ορισμένη διεύθυνση με αποτέλεσμα την

παραγωγή ενός προϊόντος . Πέρα από τη σημαντική διαφορά του τρόπου λειτουργίας, όλες οι αμυλάσες αντιμετωπίζονται σαν μία ενότητα λόγω του ότι δρουν στα ίδια υποστρώματα και συνήθως χρησιμοποιούνται στις ίδιες βιομηχανικές διεργασίες (Schomburg and Salzmann, 1991).

A-αμυλάση

Η α-αμυλάση αποτελεί ενδοένζυμο και παράγει ολιγοσακχαρίτες με α- διαμόρφωση υδρολύοντας τον α-(1,4) γλυκοζιτικό δεσμό σε αμυλόζη, αμυλοπηκτίνη και γλυκογόνο. Αν και δεν δύναται να διασπάσει α-(1,6) γλυκοζιτικού δεσμού, μπορεί να τους προσπεράσει με αποτέλεσμα την παραγωγή διακλαδισμένων δεξτρινών. Δρα σε εσωτερικούς δεσμούς του υποστρώματος με προτίμηση αυτούς που βρίσκονται κοντά στα άκρα και είναι πιο δραστική σε μακριές παρά σε κοντές αλυσίδες (Dordick, 1991). Η δράση της όμως δεν είναι αποκλειστικά επιφανειακή. Με το που σχηματίζονται μεγάλοι πόροι στην επιφάνεια του κόκκου η υδρόλυση συνεχίζεται και στο εσωτερικό. Μελέτες με α-αμυλάση από *B. licheniformis* έδειξαν ότι η υδρόλυση αρχίζει με την προσρόφηση της αμυλάσης στον αμυλόκοκκο (Helbert et al. , 1996). Στα σημεία αυτά ξεκινά η υδρόλυση και συνεχίζεται ακτινικά σχηματίζοντας πόρους. Οι πόροι αυτοί εμποδίζουν την ελεύθερη διάχυση του ενζύμου έξω από τον κόκκο και σχηματίζονται κανάλια τα οποία καταλήγουν στο κέντρο του κόκκου. Τα ένζυμα βρίσκονται πλέον παγιδευμένα στο εσωτερικό του κόκκου όπου και συνεχίζουν την υδρόλυση με φυγόκεντρη κατεύθυνση έχοντας ως αποτέλεσμα την πλήρη αποικοδόμηση του ευπρόσβλητου από το ένζυμο πυρήνα (Helbert et al. , 1996 , Textor et al. , 1998).

Γλυκοαμυλάση

Η γλυκοαμυλάση [α -(1,4)-glucan glucanohydrolase) σαν ενδοένζυμο υδρολύει κατ'αρχή α-(1,4) γλυκοζιτικούς δεσμούς στο μη ανάγον άκρο αμυλόζης και αμυλοπηκτίνης, παράγοντας β-D-γλυκόζη (Schomburg and Salzmann, 1991). Σε αντίθεση με την α- αμυλάση αντιστρέφει την διαμόρφωση του δεσμού από α σε β και έχει τη δυνατότητα υδρόλυσης των α-(1,6), α-(1,3), α-(1,2) και α,β-(1,1) γλυκοζιτικών δεσμών, σε αργότερους όμως ρυθμούς από του α-(1,4) (Dordick, 1991). Η ιδιότητά της να υδρολύει α-(1,6) γλυκοζιτικούς δεσμούς, έστω και σε πολύ μικρότερη ταχύτητα, καθώς και υψηλή της εξειδίκευση, την καθιστούν πολύτιμη στη βιομηχανική παραγωγή γλυκόζης από άμυλο. Η ταχύτητα υδρόλυσης 1,6 δεσμών

είναι συνάρτηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος καθώς η παρουσία διακλαδώσεων παρέχει επιπλέον σημεία υδρόλυσης στο ένζυμο αυξανόμενης όμως της συγκέντρωσης του υποστρώματος περιορίζεται η μεταφορά μάζας με αποτέλεσμα τη μείωση της ταχύτητας (Miranda et al., 1991 , Sanroman et al., 1996). Από τα τρία στάδια της αντίδρασης υδρόλυσης (προσρόφιση υποστρώματος, υδρόλυση, αποδέσμευση προϊόντων) το στάδιο της αποδέσμευσης των προϊόντων είναι αυτό που επηρεάζει περισσότερο την ταχύτητα της αντίδρασης (Natarajan and Sierks, 1996). Μια άλλη σημαντική ιδιότητα της γλυκοαμυλάσης είναι η δυνατότητα σύνθεσης προϊόντων συμπύκνωσης, τα λεγόμενα προϊόντα αναστροφής. Ως αποτέλεσμα όταν υδρολύονται από γλυκοαμυλάση υψηλές συγκεντρώσεις δεξτρινών δεν επιτυγχάνεται ολοκληρωτική μετατροπή σε γλυκόζη (Meagher and Reilly, 1989). Η παραγωγή αυτών των προϊόντων μειώνει το βαθμό μετατροπής του αμύλου σε γλυκόζη σε 95% της θεωρητικής τιμής (Schomburg and Salzmann, 1991). Η εμφάνιση των προϊόντων αναστροφής είναι συνάρτηση κυρίως της συγκέντρωσης της γλυκόζης αλλά και της συγκέντρωσης της γλυκοαμυλάσης (Hamad et al. , 1996). Η γλυκόζη είναι παρεμποδιστής του ενζύμου σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 3% (Matsumura et al., 1988, Zanin and Demoraes, 1996). Η παραγωγή σακχάρων, από την υδρόλυση αμύλου, με το συνδυασμό των δύο ενζύμων είναι μεγαλύτερη από το άθροισμα της παραγωγής της α-αμυλάσης και της γλυκοαμυλάσης, όταν χρησιμοποιούνται μόνες , δηλαδή τα ένζυμα λειτουργούν συνεργιστικά . Κατά τη συνεργιστική δράση, η α-αμυλάση υδρολύει τυχαία τα μόρια του υποστρώματος παρέχοντας υπόστρωμα για τη γλυκοαμυλάση (Shevelkova and Sinitsyn, 1993). Οι παραγόμενες όμως δεξτρίνες παραμένουν στην επιφάνεια του αμυλόκοκκου. Η γλυκοαμυλάση υδρολύει τις παραγόμενες δεξτρίνες σε διαλυτά σάκχαρα, τα οποία απομακρύνονται από την επιφάνεια του κόκκου, αποκαλύπτοντας νέους γλυκοζιτικούς δεσμούς στους οποίους δρα η α-αμυλάση και συνεχίζεται το φαινόμενο . Οι παράγοντες που ενισχύουν τη συνεργιστική δράση είναι : 1) η υδρόλυση της μαλτόζης (η οποία παρεμποδίζει την α-αμυλάση) από τη γλυκοαμυλάση, 2) η υδρόλυση των 1,2 και 1,3 δεσμών και 3) η γρήγορη υδρόλυση των θραυσμάτων που παράγονται (Sun and Henson, 1991). Η ταυτόχρονη χρησιμοποίηση α-αμυλάσης και γλυκοαμυλάσης εκτός από την αυξημένη υδρολυτική δράση προσφέρει και έλεγχο του παραγόμενου προϊόντος. Μεταβάλλοντας την αναλογία των δύο ενζύμων μπορούμε να πάρουμε μια ποικιλία προϊόντων, των οποίων η σύσταση μπορεί να είναι μόνο γλυκόζη όταν ο λόγος των ενζύμων βαραίνει από την πλευρά της γλυκοαμυλάσης έως προϊόντα πλούσια σε

μαλτοσακχαρίτες καθώς χρησιμοποιείται περισσότερη α-αμυλάση (Franco et al., 1989).

3.3 Αλκοολική ζύμωση

Η αλκοολική ζύμωση είναι μία βιολογική διαδικασία κατά την οποία σάκχαρα όπως η γλυκόζη, η φρουκτόζη και η σουκρόζη, μετατρέπονται σε ενέργεια παράγοντας αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα υπό αναερόβιες συνθήκες σύμφωνα με τις αντιδράσεις:

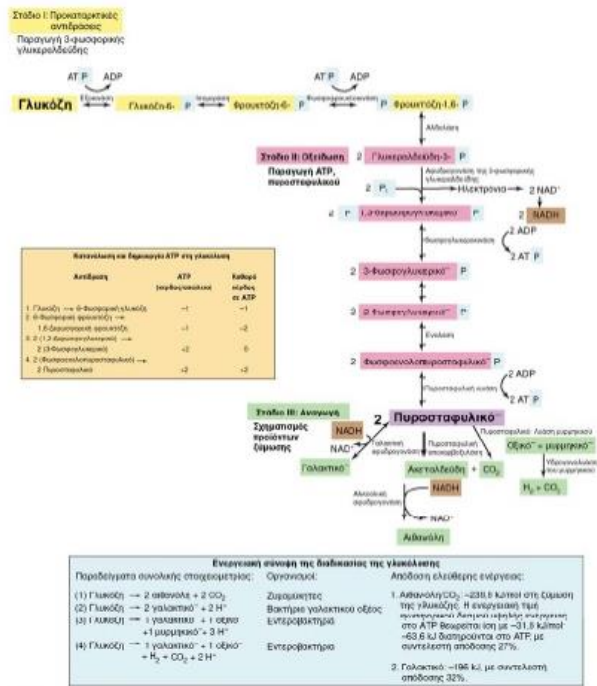


Όπως σε κάθε παρόμοια αντίδραση, η ζύμωση δεν είναι 100% επιλεκτική και η παραγωγή παραπροϊόντων είναι αναπόφευκτη. Προϊόντα όπως το οξικό οξύ κ.α. σχηματίζονται σε ποσότητες που απαιτούν την απομάκρυνσή τους κατά τη διαδικασία καθαρισμού του τελικού προϊόντος. Η ζύμωση λαμβάνει χώρα σε υδατικό περιβάλλον και μετά το πέρας της ζύμωσης η περιεκτικότητα σε αιθανόλη φτάνει περίπου το 15%.

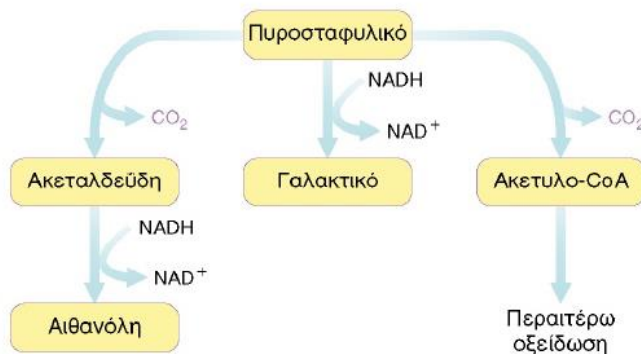
Για τη μετατροπή των σακχάρων σε ενέργεια υπό αναερόβιες συνθήκες οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν τρία μεταβολικά μονοπάτια: τη γλυκόλυση, το μονοπάτι των φωσφορυλιωμένων πεντοζών και το μονοπάτι Entner-Doudoroff. Η γλυκόλυση, ή αλλιώς μονοπάτι EMP, οδηγεί στη διάσπαση ενός μορίου γλυκόζης σε δύο μόρια πυροσταφιλικού οξέος. Η ενέργεια που απελευθερώνεται κατά τη διαδικασία χρησιμοποιείται για το σχηματισμό των μορίων υψηλού ενεργειακού περιεχομένου ATP και NADH. Σε αντίθεση με την αερόβια αναπνοή, όπου κύρια πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς είναι τα ATP που δημιουργούνται από την οξείδωση του πυροσταφιλικού προς CO₂ και H₂O κατά το στάδιο της αναπνοής, σε αναερόβιες συνθήκες, όπως στη ζύμωση, η κύρια πηγή ενέργειας των μικροοργανισμών είναι τα ATP που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της γλυκόλυσης. Το πυροσταφιλικό στη συνέχεια μετατρέπεται σε αιθανόλη και αποβάλλεται από το κύτταρο, βοηθώντας στο σχηματισμό μορίων NAD⁺ που χρησιμοποιούνται για τη συνεχή εξέλιξη των αντιδράσεων της γλυκόλυσης (Alberts et al., 1997). Ένα δεύτερο μεταβολικό μονοπάτι είναι αυτό των φωσφορυλιωμένων πεντοζών, το οποίο συμβαίνει παράλληλα με αυτό της γλυκόλυσης. Είναι το βασικό

μεταβολικό μονοπάτι που χρησιμοποιείται από τα βακτήρια και της ζύμες για την αφομοίωση των πεντοζών. Η αναγωγή της ξυλόζης μετατρέπει την ξυλόζη σε ξυλιτόλη, η οποία μετά μετατρέπεται σε ξυλουλόζη από την αφυδρογονάση της ξυλιτόλης και μεταβολίζεται από το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών (Δήμου, 2015). Το τρίτο μεταβολικό μονοπάτι που χρησιμοποιείται για το μεταβολισμό εξοζών από κάποιους μικροοργανισμούς, πολύ λιγότερους σε σχέση με αυτούς που χρησιμοποιούν τη γλυκόλυση, είναι το Entner-Douboff, κατά το οποίο χρησιμοποιούνται ένζυμα διαφορετικά από τα δύο προηγούμενα μονοπάτια. Ο μεταβολισμός των σακχάρων συμβαίνει μέσω του 6-φωσφογλυκονικού οξέος το οποίο διασπάται σε πυροσταφυλικό και 3-φωσφορική γλυκεραλδεύδη η οποία μεταβολίζεται και αποδίδει και αυτή ένα ακόμα μόριο πυροσταφυλικού (Alberts et al., 1997). Σε αντίθεση με τη γλυκόλυση, το μονοπάτι ED αποδίδει μόνο ένα μόριο ATP, με αποτέλεσμα τα βακτήρια που μεταβολίζουν τη γλυκόζη μέσω αυτού του μονοπατιού να παράγουν λιγότερη κυτταρική βιομάζα και να διοχετεύουν μεγαλύτερο ποσοστό της πηγής άνθρακα προς μεταβολικά προϊόντα, όπως η αιθανόλη (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012).

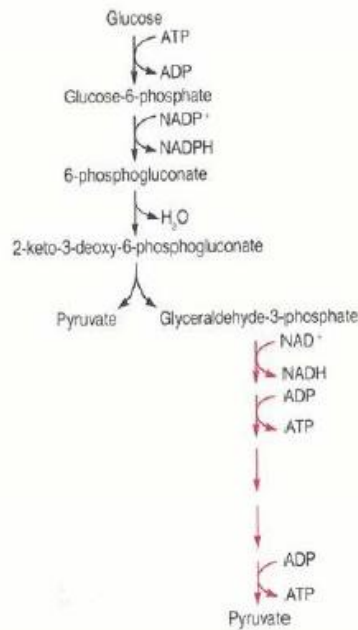
Τέλος, πρέπει να τονιστεί η επίδραση του οξυγόνου στη διαδικασία της ζύμωσης σε σχέση με τα μεταβολικά μονοπάτια. Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου έχει μεγάλη επίδραση στο ρυθμό μικροβιακής ανάπτυξης και της παραγωγής προϊόντων. Οι αερόβιες συνθήκες γενικά, ευνοούν την αερόβια αναπνόη, τη μικροβιακή ανάπτυξη και το σχηματισμό προϊόντων μέσω έντονων οξειδωτικών καταβολικών αντιδράσεων, ενώ οι αναερόβιες συνθήκες ευνοούν το σχηματισμό προϊόντων μέσω αντιδράσεων αναβολισμού, όπως συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ζύμωσης με την παραγωγή αιθανόλης (Δήμου, 2015). Παρόλα αυτά ακόμα και σε αναερόβιες συνθήκες, μικρές συγκεντρώσεις οξυγόνου είναι απαραίτητες για άλλες λειτουργίες των μικροοργανισμών (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012).



Εικόνα 3.3. Μεταβολικό μονοπάτι Embden – Meyerhof (Madigan et al., 2005)



Εικόνα 3.4. Μεταβολική τύχη του πυροσταφυλικού οξέος σύμφωνα με το μονοπάτι Embden – Meyerhof (Madigan et al., 2005)



Εικόνα 3.5. Μεταβολική οδός Enter-Doudoroff (Pescott et al., 2007)

3.3.1 Αναστολείς της αλκοολικής ζύμωσης

Η παραγωγή αιθανόλης από βιομάζα έχει αποδειχτεί μία δύσκολη διαδικασία σε πολλά επίπεδα. Λόγω του γεγονότος ότι η βιομάζα δύσκολα προσβάλεται από ένζυμα και μικροοργανισμούς χρειάζονται ένα στάδιο προκατεργασίας και ένα υδρόλυσης, όπως εξηγήθηκε παραπάνω. Δυστυχώς όμως κατά τη διάρκεια των δύο αυτών σταδίων σχηματίζονται αναστολείς της μικροβιακής ανάπτυξης που επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη διαδικασία της ζύμωσης. Υπάρχουν τέσσερις κύριες ομάδες ενώσεων που παρεμποδίζουν τη ζύμωση (Palmqvist and Hahn-Hagerdal, 2000; Klinke et al., 2004):

- ❖ Φουρφουράλη και 5-υδροξυμεθυλοφουρφουράλη. Προκύπτουν από την καταστροφή εξοζών και πεντοζών, όταν οι συνθήκες προκατεργασίας είναι πολύ έντονες. Προκαλούν μία παρατεταμένη φάση υστέρησης τόσο κατά την αερόβια όσο και κατά την αναερόβια μικροβιακή ανάπτυξη και επηρεάζουν αρνητικά την παραγωγή αιθανόλης
- ❖ Ασθενή οξέα. Προκύπτουν από την απο-ακετυλίωση της ημικυτταρίνης ή από την αποικοδόμηση σακχάρων και λιγνίνης κατά τη διάρκεια της προκατεργασίας. Επιδρούν αρνητικά στα κύτταρα, καθώς μειώνουν σημαντικά το εσωκυτταρικό pH, μειώνουν την ικανότητα των

μικροοργανισμών να παράξουν αρκετά μόρια ATP και αποτρέπουν τη δημιουργία ενζύμων που χρησιμοποιούνται για το μεταβολισμό σακχάρων.

- ❖ Φαινολικές ενώσεις. Είναι συστατικές ενώσεις της λιγνίνης. Με την προκατεργασία της βιομάζας απελευθερώνονται και ενσωματώνονται στο εσωτερικό των κυττάρων επηρεάζοντας τη δομική τους ακεραιότητα και το εσωκυτταρικό pH με τρόπο παρόμοιο με τα ασθενή οξέα.
- ❖ Άλλες ενώσεις. Υψηλές συγκεντρώσεις σακχάρων και αλάτων προκαλούν ισχυρές οσμωτικές πιέσεις στα κύτταρα, με αποτέλεσμα να υπάρχει μία παρατεταμένη φάση υστέρησης κατά τα πρώτα στάδια της ζύμωσης. Η αιθανόλη είναι αναστολέας της μικροβιακής ανάπτυξης καθώς σε υψηλές συγκεντρώσεις επηρεάζει τη δομή της κυτταρικής μεμβράνης.

3.3.2 Παραπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης

Τα παραπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης είναι χημικές ενώσεις που προέρχονται είτε από τον μηχανισμό της, είτε από άλλες παράλληλες χημικές, είτε τέλος κατά την ωρίμανση των προϊόντων της ζύμωσης. Τα κυριότερα παραπροϊόντα είναι:

Μεθανόλη: Δεν προέρχεται από τον μηχανισμό της αλκοολικής ζύμωσης, αλλά παράγεται από την απομεθυλίωση των πηκτινών που περιέχονται στο υπόστρωμα.

Ανώτερες αλκοόλες: Οι κυριότερες ανώτερες αλκοόλες είναι οι προπανόλη-1, βουτανόλη-1, βουτανόλη-2, 2-μέθυλοπροπανόλη-1, 2-μέθυλοβουτανόλη-1, πεντανόλη-1 και εξανόλη-1. Παράγονται κατά την απαμίνωση των ελεύθερων αμινοξέων (Webb and Ingraham, 1963), αλλά και των αμινοξέων που προκύπτουν από την πρωτεολυτική διάσπαση των πρωτεϊνών της ζύμης και του υποστρώματος (Hawtmann and Duplessis, 1986).

Γλυκερίνη: Είναι ενδιάμεσο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης. Ο σχηματισμός της ευνοείται από χαμηλές θερμοκρασίες, υψηλή περιεκτικότητα σε τρυγικό οξύ και από την προσθήκη SO₂.

Ακεταλδεΐδη: Είναι ενδιάμεσο προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης που προκύπτει, από την αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού οξέος. Αν προστεθεί NaHSO₃ και SO₂ στο σακχαρούχο υπόστρωμα πριν τη ζύμωση ή κατά την διάρκεια της, η παραγόμενη ακεταλδεΐδη σχηματίζει προϊόν προσθήκης και έτσι δεν ανάγεται περαιτέρω προς αιθανόλη.

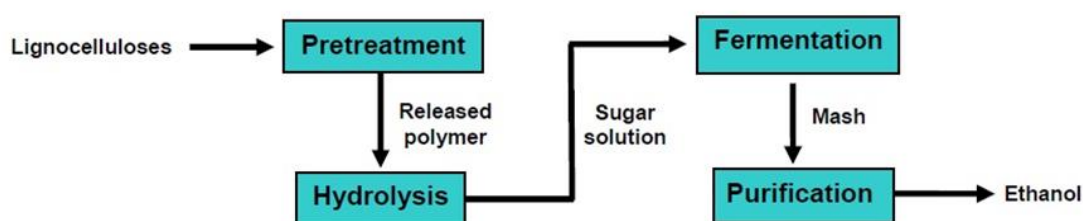
Εστέρες: Σπουδαιότερος είναι ο οξικός αιθυλεστέρας $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$, ο οποίος σχηματίζεται από την αντίδραση του οξικού οξέος με την αιθανόλη (Yoshioka and Hashimoto, 1984).

Οξέα: Κυριότερο είναι το οξικό οξύ, το οποίο παράγεται ως κανονικό προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης σε ποσότητες μικρότερες από 300 mg/l. Υψηλά επίπεδα οξικού οξέος, συνήθως σχετίζονται με παρουσία στο εκχύλισμα βακτηρίων του οξικού και του γαλακτικού οξέος.

Ακετάλες: Σχηματίζονται από την αντίδραση της ακεταλδεΐδης με την αιθανόλη.

3.4 Διεργασίες παραγωγής βιοαιθανόλης

Η κύρια γραμμή παραγωγής αιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα παρουσιάζεται στο απλοποιημένο διάγραμμα ροής:



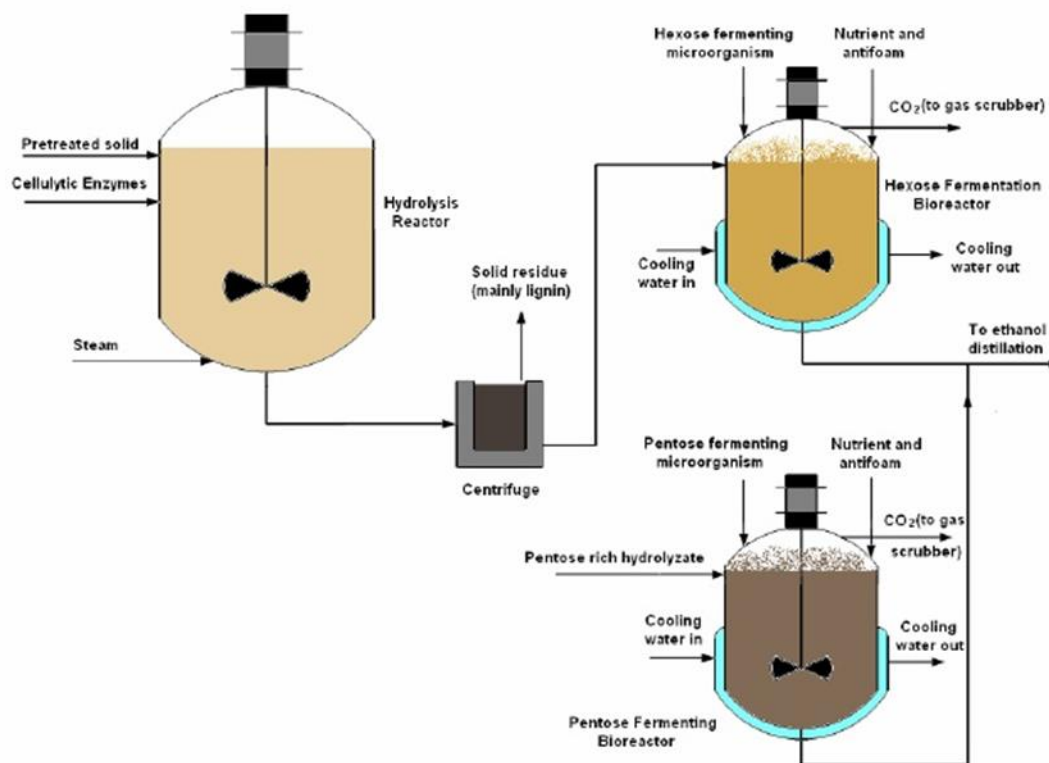
Σχήμα 3.1. Διαφορετικά τμήματα στην κύρια γραμμή παραγωγής της αιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα (Taherzadeh and Karimi, 2007)

Πιο συγκεκριμένα, κατά την διεργασία παραγωγής αιθανόλης από λιγνινοκυτταρινούχα ή αμυλούχα υλικά, η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση της γλυκόζης μπορούν να διεξαχθούν ξεχωριστά σε διαφορετικούς αντιδραστήρες, μία μέθοδος που ονομάζεται SHF (Separate Hydrolysis and Fermentation: διακριτή υδρόλυση και ζύμωση) ή ταυτόχρονα στον ίδιο αντιδραστήρα, με τη μέθοδο που ονομάζεται SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation: ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση) ή με τη μέθοδο CBP (Consolidated Bioprocess: ενοποιημένη διεργασία) (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012).

1) Διακριτή υδρόλυση και ζύμωση

Όταν η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση εκτελούνται σε δύο διακριτά διαδοχικά στάδια τότε η διεργασία ονομάζεται «Διακριτή υδρόλυση και ζύμωση» ή συντομογραφικά SHF. Η πρώτη ύλη, είτε προκατεργασμένη λιγνινοκυτταρινούχος

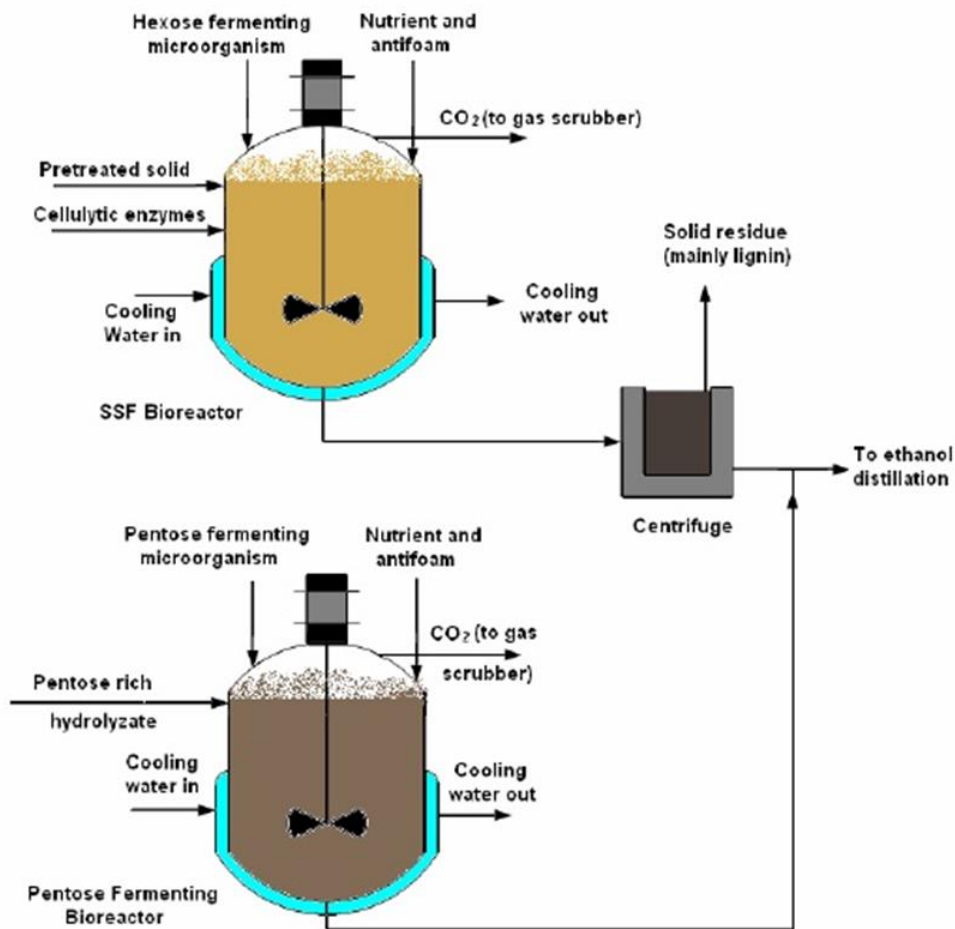
βιομάζα είτε αμυλούχος βιομάζα, τοποθετείται σε έναν πρώτο αντιδραστήρα, όπου υδρολύεται ενζυμικά σε μονομερή σάκχαρα. Στη συνέχεια η υδρολυμένη βιομάζα μεταφέρεται σε έναν βιοαντιδραστήρα, όπου μικροοργανισμός που χρησιμοποιείται για ζύμωση εξοζών μετατρέπει τη γλυκόζη σε αιθανόλη. Η ζύμωση των πεντοζών, όταν πραγματοποιείται, γίνεται σε ξεχωριστή μονάδα, γιατί οι μικροοργανισμοί που έχουν τη δυνατότητα να ζυμώνουν τόσο τις εξόζες όσο και τις πεντόζες το κάνουν με ρυθμούς πολύ χαμηλότερους σε σχέση με εκείνους που έχουν τη δυνατότητα να ζυμώνουν μόνο εξόζες. Όταν ολοκληρωθεί η ζύμωση της γλυκόζης, το μίγμα μπαίνει σε αποστακτική στήλη προκειμένου να αφαιρεθεί η αιθανόλη και να παραμείνει η ξυλόζη. Σε έναν δεύτερο βιοαντιδραστήρα η ξυλόζη μετατρέπεται και αυτή σε αιθανόλη και το τελικό προϊόν αποστάζεται για την ανάκτηση της αιθανόλης. Το κύριο πλεονέκτημα της SHF είναι ότι το κάθε στάδιο πραγματοποιείται στις βέλτιστες συνθήκες, δηλαδή η υδρόλυση στους 45-50°C και η ζύμωση στους 28-37°C (Hamelinck et al., 2005). Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι το υψηλό κόστος πραγματοποίησης διακριτών διεργασιών, καθώς και το γεγονός ότι τα υδρολυτικά ένζυμα παρεμποδίζονται από τα προϊόντα της υδρόλυσης που συσσωρεύονται λόγω της ασυνεχούς φύσης της διεργασίας, με αποτέλεσμα να μειώνεται σταδιακά ο ρυθμός της υδρόλυσης (Hamelinck et al., 2005).



Σχήμα 3.2. Απλοποιημένο διάγραμμα ροής της διεργασίας της ξεχωριστής ενζυμικής υδρόλυσης και ζύμωσης (SHF) (Taherzadeh and Karimi, 2007)

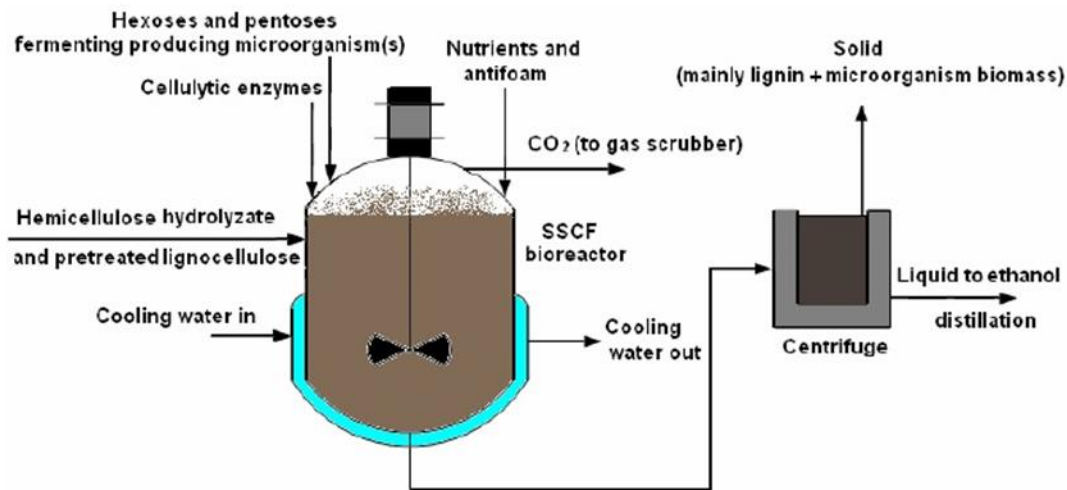
2) Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση

Ένας τρόπος μείωσης του κόστους και της εμφάνισης παρεμποδιστών στο στάδιο της υδρόλυσης είναι η «Ταυτόχρονη Σακχαροποίηση και Ζύμωση» ή συντομογραφικά SSF. Η SSF πραγματοποιείται σε έναν αντιδραστήρα υπό συνθήκες όσο το δυνατόν άριστες τόσο για τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για την υδρόλυση, όσο και για το μικροοργανισμό που χρησιμοποιείται για τη ζύμωση, παράγοντας πολύ κρίσιμος για την αποτελεσματικότητα της διεργασίας. Το κλειδί της διεργασίας είναι η ικανότητα ταχείας μετατροπής των σακχάρων σε αιθανόλη με το που αυτά σχηματίζονται, μειώνοντας έτσι τη συσσώρευση τους στον αντιδραστήρα. Έχοντας υπόψη ότι τα σάκχαρα εμφανίζουν μεγαλύτερη παρεμπόδιση από την αιθανόλη, η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση μπορεί να φτάσει υψηλότερους ρυθμούς, αποδόσεις και συγκεντρώσεις αιθανόλης από ότι η Διακριτή Υδρόλυση και Ζύμωση. Επίσης, η SSF προσφέρει έναν πιο εύκολο χειρισμό και λιγότερο μηχανολογικό εξοπλισμό, καθώς δεν χρησιμοποιούνται ξεχωριστοί αντιδραστήρες υδρόλυσης. Ωστόσο, το μεγαλύτερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι οι άριστες συνθήκες ζύμωσης και υδρόλυσης είναι πολύ διαφορετικές κάνοντας τη βελτιστοποίηση των διαφορετικών παραμέτρων της διεργασίας να είναι ένα πολύ δύσκολο έργο (Olsson and Hahn-Hagerdal, 1996). Η υδρόλυση με κυτταρινάσες πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες περίπου 50°C, ενώ οι περισσότεροι μικροοργανισμοί έχουν μία βέλτιστη, αναφορικά με την παραγωγή αιθανόλης, θερμοκρασία 28-37°C (Chen and Fu, 2016). Για το λόγο αυτό αναζητούνται θερμοανθεκτικοί μικροοργανισμοί που να έχουν τη δυνατότητα ζύμωσης σακχάρων ή χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί ανασυνυασμένου DNA. (Cardona and Sanchez, 2007).



Σχήμα 3.3. Απλοποιημένο διάγραμμα ροής της διεργασίας της ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF) (Taherzadeh and Karimi, 2007)

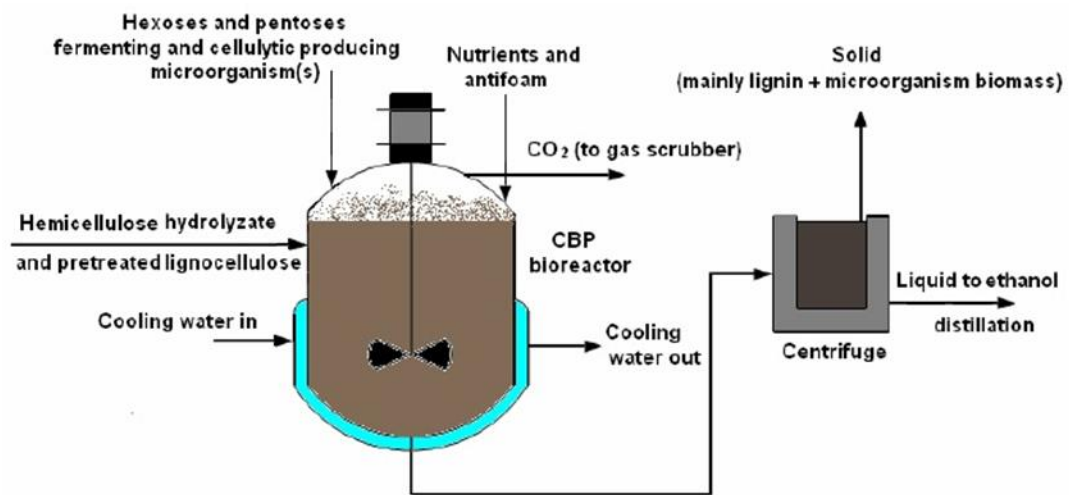
Μία παραλλαγή της συγκεκριμένης μεθόδου είναι η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση εξόζων και πεντοζών (SSCF: Simultaneous Saccharification and Co-Fermentation). Η μέθοδος αυτή προσανατολίζεται στην πλήρη αφομοίωση τόσο των εξοζών όσο και των πεντοζών που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης. Η χρήση μικτών καλλιιεργειών από ζύμες που αποικοδομούν μόνο εξόζες με ζύμες που αποικοδομούν και εξόζες και πεντόζες έχει προταθεί, αλλά υπάρχουν προβλήματα που σχετίζονται με το γεγονός ότι οι πρώτοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται πιο γρήγορα από τους τελευταίους (Vohra, 2014).



Σχήμα 3.4. Απλοποιημένο διάγραμμα ροής της διεργασίας της ταυτόχρονης σακχαροποίησης και συν-ζύμωσης (SSCF) (Taherzadeh and Karimi, 2007)

3) Ενοποιημένη διεργασία

Μία εναλλακτική στρατηγική στην παραγωγή βιοαιθανόλης από λυγνινοκυτταρινούχα βιομάζα είναι η «Ενοποιημένη Διεργασία» συντομογραφικά γνωστή ως CBP (Consolidated Bioprocess), η οποία αποτελείται από ένα μόνο στάδιο κατά το οποίο ένα μικροβιακό σύστημα εκτελεί τόσο την παραγωγή κυτταρινασών για την υδρόλυση της πρώτης ύλης όσο και τη ζύμωση των σακχάρων που προκύπτουν, τόσο των εξοζών όσο και των πεντοζών. Αυτή η διαφορά δίνει το πλεονέκτημα στη διεργασία ότι δεν απαιτούνται δαπάνες λειτουργικές ή κεφαλαιουχικές που να σχετίζονται με την παραγωγή ενζύμων (Δόγαρης, 2009). Επιπλέον, δεν εκτρέπεται μέρος του υποστρώματος για την παραγωγή ενζύμων, ενώ τα βιοσυστήματα παραγωγής ενζύμων και ζύμωσης είναι απόλυτα συμβατά. Το μειονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι οι μικροοργανισμοί που μπορούν να αφομοιώσουν και εξόζες και πεντόζες παράγουν αιθανόλη με σχετικά χαμηλούς ρυθμούς και σε μικρές συγκεντρώσεις για να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν βιομηχανικά. (Χριστακόπουλος και Τόπακας, 2012). Ωστόσο, τεχνικές μεταβολικής μηχανικής ίσως μπορέσουν στο μέλλον να μετατρέψουν μικροοργανισμούς σε κατάλληλους βιοκαταλύτες με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά για την παραγωγή αιθανόλης.



Σχήμα 3.5. Απλοποιημένο διάγραμμα ροής της διεργασίας της ενοποιημένης βιοεπεξεργασίας (CBP) (Taherzadeh and Karimi, 2007)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Σκοπός

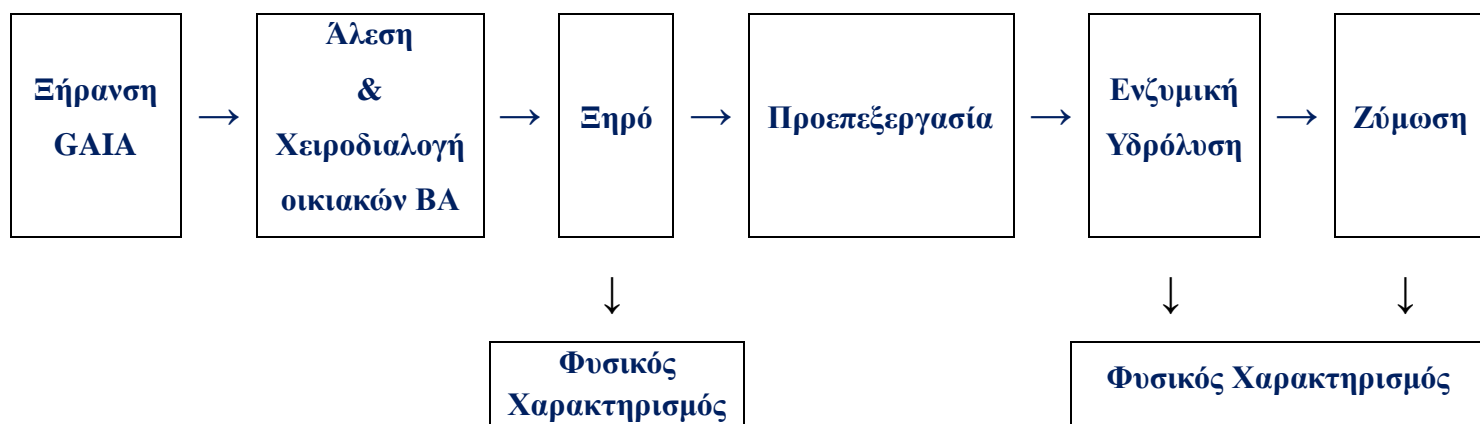
Σκοπός των πειραμάτων που διεξήχθησαν κατά την πραγματοποίηση αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση των συνθηκών υδρόλυσης των οικιακών βιοαποβλήτων. Η αριστοποίηση πραγματοποιήθηκε με κριτήριο την μεγιστοποίηση της παραγόμενης ποσότητας ελεύθερης γλυκόζης, η οποία στη συνέχεια στο στάδιο της ζύμωσης μετατρέπεται σε βιοαιθανόλη. Διερευνήθηκε η επίδραση του ενζυμικού φορτίου τόσο αμυλολυτικών όσο και κυτταρινολυτικών ενζύμων, καθώς και της ενδεχόμενης προεπεξεργασίας (υδροθερμικής ή απομάκρυνσης λιπών).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματική μεθοδολογία

5.1 Εισαγωγή

Στο Κεφάλαιο αυτό περιγράφονται αναλυτικά η πρώτη ύλη, οι πειραματικές διατάξεις που χρησιμοποιήθηκαν και οι πειραματικές διαδικασίες που ακολουθήθηκαν σε κάθε πείραμα που πραγματοποιήθηκε. Πιο συγκεκριμένα:

1. Ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των προξηραμένων οικιακών βιοαποβλήτων
2. Η προεπεξεργασία των ξηραμένων βιοαποβλήτων
3. Η βιομετατροπή των ξηραμένων βιοαποβλήτων σε ζυμώσιμα μονομερή σάκχαρα
4. Η ζύμωση.



Διάγραμμα 1. Διάγραμμα ροής της πειραματικής διαδικασίας

Τα επιμέρους στάδια της πειραματικής διαδικασίας περιγράφονται αναλυτικά στο παρόν Κεφάλαιο.

5.2 Πρώτη ύλη

Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι διατροφικά απορρίμματα που συλλέχθηκαν και οδηγήθηκαν στις εγκαταστάσεις του Ε.Μ.Π, προερχόμενα από τους Δήμους Ασπροπύργου και Παπάγου-Χολαργού ενώ η μεθοδολογία αποκομιδής και προεπεξεργασίας έχει περιγραφεί από τους (Sotiropoulos, et al, 2016).

Μετά τη μεταφορά τους στις εγκαταστάσεις του Ε.Μ.Π. τα νοπιά οικιακά βιοαπόβλητα τοποθετήθηκαν στο εμπορικό σύστημα αποκεντρωμένης ξήρανσης Gaia GC-100 (**Εικόνα 5.1**), όπου ξηράνθηκαν προς σκόνη με διάμετρο $d \approx 1-5$ mm.

Όσον αφορά στον ξηραντήρα Gaia είναι ένα συστήματα μείωσης του όγκου των οργανικών απορριμμάτων και απορριμμάτων φαγητού σε ποσοστό που φτάνει μέχρι και το 90%.

Γενικά, τα ξηραντήρια GAIA είναι απλά αυτόματα συστήματα ξήρανσης που στηρίζονται στη θέρμανση και τη μηχανική ανάδευση. Εξαιτίας του γεγονότος ότι τα ποσοστά υγρασίας στα οργανικά απορρίμματα και τα απορρίμματα φαγητού είναι πολύ υψηλά (έως και 98%), η μείωση του όγκου και του βάρους επιτυγχάνεται με την εξάτμιση του νερού. Τα ξηραντήρια GAIA διαφοροποιούνται από άλλες τεχνολογίες ξήρανσης λόγω του συστήματος closed loop (Βέκκος, 2016; Δουφεξή, 2016).

Οι υδρατμοί που παράγονται από την θέρμανση αφού περάσουν από σύστημα δύο φίλτρων οδηγούνται προς υγροποίηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην υπάρχουν εκπομπές και οσμές παρά μόνο νερό το οποίο και απομακρύνεται στο αποχετευτικό σύστημα, ενώ το τελικό προϊόν είναι άοσμη, ξερή αποστειρωμένη βιομάζα που μπορεί να αποθηκευτεί για αρκετές εβδομάδες. Το σύστημα τροφοδοτείται με ηλεκτρική ενέργεια ενώ η θέρμανση είναι δυνατόν να προέρχεται από φυσικό αέριο, πετρέλαιο, ηλεκτρικό ρεύμα ή ακόμα και από ατμό. Οι χρόνοι κατεργασίας όπως επίσης και το κόστος χρήσης ποικίλουν και εξαρτώνται από τον τύπο των απορριμμάτων και την περιεκτικότητα αυτών σε υγρασία. Οι συνήθεις χρόνοι κατεργασίας κυμαίνονται από 7 έως 9 ώρες και η κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας από 0,28 έως 0,9 kW/kg.

Πολύ σημαντικό λειτουργικό στοιχείο των ξηραντηρίων Gaia είναι το γεγονός ότι είναι μοναδικά σε ανοχή συσκευασμένων απορριμμάτων. Κατά τη διάρκεια της ξήρανσης, οποιοδήποτε μη οργανικό απόρριμμα (π.χ. πλαστικό ή αλουμίνιο) θρυμματίζεται επιτρέποντας στα οργανικά απορρίμματα να ξηραθούν, ενώ οι συσκευασίες παραμένουν διαθέσιμες για ανάκτηση μέσω μιας απλής μεθόδου διαλογής (Βέκκος, 2016; Δουφεξή, 2016).



Εικόνα 5.1. Το ξηραντήριο GAIA GC-100 (gaia21, 2017)

Τα προξηραμένα οικιακά βιοαπόβλητα που μελετήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία επιλέχθηκαν τυχαία. Στη συνέχεια, δείγμα από παρτίδες ομογενοποιήθηκε σε μύλο άλεσης (**Εικόνα 5.2**), της ιταλικής εταιρείας AMA, ο οποίος διαθέτει κόσκινο διαμέτρου 1,5mm με ταυτόχρονη επιπλέον χειρωνακτική διαλογή, προς αφαίρεση τυχόν προσμίξεων.



Εικόνα 5.2. Μύλος άλεσης AMA

Η εύρεση της σύστασης των προξηραμένων βιοαποβλήτων που αποτελούν την πρώτη ύλη της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί μία κρίσιμη παράμετρο σχεδιασμού της διεργασίας βιομετατροπής τους. Με εφαρμογή των μεθόδων που περιγράφονται στη συνέχεια ποσοτικοποιήθηκαν τα βασικά συστατικά των διατροφικών απορριμμάτων.

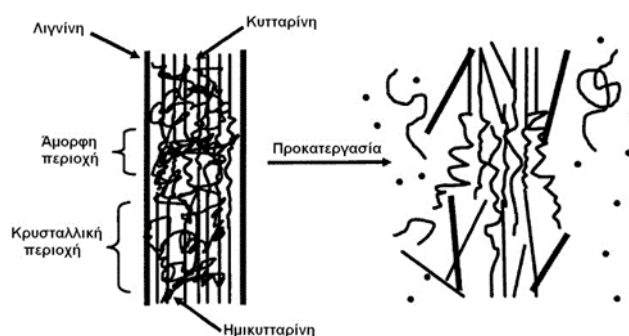
Οι φυσικοχημικές παράμετροι που προσδιορίστηκαν είναι οι εξής:

- Το pH,
- Η υγρασία (% κ.β.),
- Τα ολικά πτητικά στερεά (% κ.β.),
- Ο ολικός άνθρακας (% κ.β.),
- Το ολικό άζωτο (% κ.β.),
- Οι πρωτεΐνες (% κ.β.),
- Τα λίπη και έλαια (% κ.β.),
- Τα ολικά διαλυτά στερεά (% κ.β.),
 - Τα ολικά αναγωγικά σάκχαρα (% κ.β.),
 - Η γλυκόζη (% κ.β.),
- Οι υδατάνθρακες (% κ.β.),
 - Η κυτταρίνη (% κ.β.),
 - Η ημικυτταρίνη (% κ.β.) και
 - Το ολικό άμυλο (% κ.β.)

5.3 Προκατεργασία

Ο σκοπός της προκατεργασίας είναι να μεταβάλλει τη δομή ή να απομακρύνει συστατικά που εμποδίζουν την υδρόλυση, ώστε να βελτιωθεί ο ρυθμός της ενζυμικής υδρόλυσης και να αυξηθεί η απελευθέρωση ζυμώσιμων σακχάρων από την κυτταρίνη ή την ημικυτταρίνη (Wyman et al., 2005, Balat et al., 2008, Lee et al., 2008, Sánchez & Cardona, 2008, Tomás-Pejó et al., 2008, Kumar et al., 2008, Hayes, 2009). Συγκεκριμένα, με την προκατεργασία προκαλούνται ρωγμές και θραύση του υλικού, υδρολύεται η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη υπόκειται σε δομικές αλλαγές που την αποδεσμεύουν από την κυτταρίνη (**Σχήμα 5.1**), με αποτέλεσμα τη μείωση της κρυσταλλικότητας και του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης και την αύξηση της

ενεργής επιφάνειας του υλικού (Wyman et al., 2005, Lee et al., 2008, Sánchez & Cardona, 2008, Hayes, 2009).



Σχήμα 5.1. Επίδραση της προκατεργασίας στη φυτική βιομάζα (Mosier et al., 2005)

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναφερθεί ένα ευρύ φάσμα μεθόδων προκατεργασίας οι οποίες διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες: (1) φυσικές (άλεση, κονιορτοποιήση, ακτινοβόληση), (2) χημικές (αλκαλική, αραιό οξύ, οξειδωτικές ενώσεις και οργανικοί διαλύτες), (3) φυσικοχημικές (προκατεργασία με ατμό, υδροθερμόλυση και υγρή οξείδωση) και (4) βιολογικές, ή ακόμα και συνδυασμός των παραπάνω (Galbe & Zacchi, 2007, Sánchez & Cardona, 2008, Lee et al., 2008, Tomás-Pejó et al., 2008, Taherzadeh & Karimi, 2008, Hayes, 2009).

Επιλέχθηκε η δοθείσα πρώτη ύλη να προκατεργαστεί με δύο φυσικοχημικές μεθόδους: την υδροθερμική προκατεργασία και την απομάκρυνση των λιπών και ελαίων με τη μέθοδο Soxhlet.

5.3.1 Υδροθερμική προκατεργασία (υδροθερμόλυση) των διατροφικών απορριμμάτων

Η υδροθερμόλυση (hydrothermolysis, liquid hot-water treatment) περιλαμβάνει την κατεργασία σε νερό σε υψηλές θερμοκρασίες και μπορεί ενισχυθεί με την προσθήκη ενός καταλύτη, συνήθως οξέος (Galbe & Zacchi, 2007).

Για την προκατεργασία των διατροφικών απορριμμάτων χρησιμοποιήθηκε αυτόκλειστη συσκευή της εταιρείας ISOLAB, Lamborgerate GmbH. Ποσότητα διατροφικών απορριμμάτων ίση με 12,5 g προκατεργάστηκε στους 100°C για 60 min. Η συγκέντρωση του στερεού ήταν 20% (β/ο). Στο τέλος κάθε πειράματος, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση. Το στερεό υπόλειμμα αναλύθηκε ως προς ολικά και πτητικά στερεά καθώς και τον ολικό

άνθρακα. Το υγρό αναλύθηκε ως προς τον ολικό οργανικό άνθρακα και το ολικό άζωτο.

5.3.2 Κοσκίνιση

Οι φυσικές μέθοδοι προκατεργασίας μπορούν να αυξήσουν την ενεργή επιφάνεια και τους πόρους του υλικού, και να μειώσουν την κρυσταλλικότητα και το βαθμό πολυμερισμού της κυτταρίνης. Διαφορετικού τύπου φυσικές διεργασίες, όπως η κοσκίνιση, η άλεση (π.χ. με σφαίρα ή με δύο κυλίνδρους) και η ακτινοβόληση (π.χ. με ακτίνες γάμμα, με δέσμη ηλεκτρονίων ή με μικροκύματα) μπορούν να διευκολύνουν την ενζυμική υδρόλυση της πρώτης ύλης.

Προξηραμένο βιοαπόβλητο υποβλήθηκε σε κοσκίνιση με κόσκινο 1mm διακένων και το κλάσμα που συλλέχθηκε οδηγήθηκε σε ενζυμική υδρόλυση.

5.3.3 Προκατεργασία ελαιο-εξαγωγής (Oil-extraction pretreatment)

Τα οικιακά απορρίμματα περιέχουν σημαντικές ποσότητες λιπών και ελαίων, ειδικά στην Ελλάδα όπου η κατανάλωση ελαιολάδου και άλλων λιπαρών ουσιών αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της μεσογειακής διατροφής. Η παρουσία όμως των λιπαρών ουσιών στα απορρίμματα μπορεί να δράσει παρεμποδιστικά κατά τη διεργασία της ενζυμικής υδρόλυσης.

Ως εκ τούτου αποφασίστηκε να μελετηθεί η επίδραση της προκατεργασίας ελαιο-εξαγωγής στην ενζυμική υδρόλυση των οικιακών βιοαποβλήτων. Προξηραμένο βιοαπόβλητο υποβλήθηκε σε απομάκρυνση των λιπαρών και ελαίων με τη μέθοδο Soxhlet και με χρήση εξανίου. Στο τέλος κάθε πειράματος, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκε η στερεή και η υγρή φάση.

5.4 Ενζυμική υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένων και μη διατροφικών απορριμμάτων

Η επιλογή των κατάλληλων ενζυμικών συστημάτων για την υδρόλυση των προκατεργασμένων ή μη διατροφικών απορριμμάτων είναι εξαιρετικά σημαντική καθώς η αποτελεσματικότητα της υδρόλυσης επηρεάζει τα μετέπειτα στάδια βιομετατροπής. Μελετήθηκαν ενζυμικά σκευάσματα με κυτταρινολυτική και αμυλολυτική δράση. Τα συγκεκριμένα ενζυμικά σκευάσματα αναπτύχθηκαν στα πλαίσια της συνεργασίας της εταιρείας Novozymes και της Μονάδα Περιβαλλοντικής

Επιστήμης και Τεχνολογίας, της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ για το συγκεκριμένο υπόστρωμα. Μελετήθηκαν 2 κυτταρινολυτικά σκευάσματα με τα κωδικά ονόματα NS22177 και NS22233 και 1 αμυλολυτικό με το κωδικό όνομα NS22109. Το τμήμα έρευνας και ανάπτυξης της εταιρείας Novozymes πρότεινε τις βέλτιστες θερμοκρασίες, χρόνους δράσης, αλλά και δοσολογίες των εν λόγω σκευασμάτων σύμφωνα με τον ακόλουθο **Πίνακα 5.1**.

Πίνακας 5.1. Προτεινόμενες συνθήκες δράσης των ενζυμικών σκευασμάτων από την εταιρεία Novozymes

Ένζυμο Κυτταρινάση	Ποσότητα υποστρώματος (gr)	Θερμοκρασία (°C)	Δοκιμές_Ποσότητα ενζύμου σε ml/30gr	Ώρες ενζυμικής υδρόλυσης
NS22177	30	50	0.6,0.45,0.3	5
EMZYME MIX 1 (4.4:1 v/v) (NS22177+NS22233)	30	50	0.699,0.524,0.35	5
Αμυλάση	Ποσότητα υποστρώματος (gr)	Θερμοκρασία (°C)	Δοκιμές_Ποσότητα ενζύμου σε ml/30gr	Ώρες ενζυμικής υδρόλυσης
NS22109	30	65	0.1,0.075,0.05,0.025	1

Τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης του **προκατεργασμένου και ακατέργαστου υλικού** πραγματοποιήθηκαν σε αποστειρωμένες κωνικές φιάλες τύπου Erlenmeyer, όγκου 250ml στις οποίες τοποθετήθηκε η ποσότητα του υλικού που αντιστοιχεί σε συγκέντρωση υποστρώματος 20% (β/ο) και ανά περίπτωση κυτταρινολυτικά και αμυλολυτικά ένζυμα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν προστίθενται επιπλέον θρεπτικά συστατικά και ότι δεν πραγματοποιήθηκε ρύθμιση του pH δεδομένου ότι το pH του μίγματος (4,8) βρισκόταν εντός του εύρους λειτουργίας των ενζύμων. Οι φιάλες τοποθετούνται σε ανακινούμενο υδατόλουτρο (40 ± 2 rpm) Unitronic-Orbital της εταιρείας PSelecta (**Εικόνες 5.3, 5.4**).

Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνται εις τριπλούν. Στο τέλος κάθε πειράματος, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση.



Εικόνα 5.3. Ανακινούμενο υδατόλουτρο Unitronic-Orbital



Εικόνα 5.4. Ανακινούμενο υδατόλουτρο Unitronic-Orbital

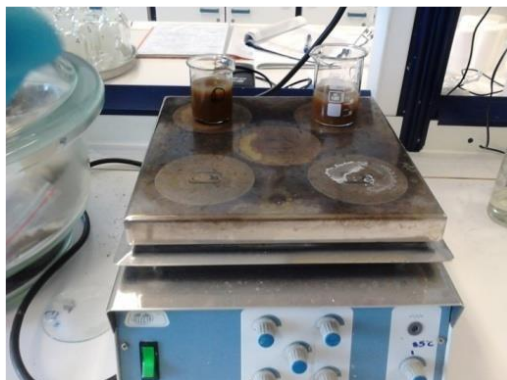
5.5 Ζύμωση

Τα προξηραμένα διατροφικά απορρίμματα υπέστησαν ζύμωση, μέσω διεργασιών μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης διαλείποντος έργου (NSSF). Η ζύμωση των δειγμάτων διεξήχθη σε ανακινούμενο υδατόλουτρο (40 ± 2 rpm) Unitronic-Orbital της εταιρείας PSelecta, στους 30°C . Όλα τα δείγματα είχαν υποστεί ενζυμική σακχαροποίηση με κατάλληλη προσθήκη ενζυμικών σκευασμάτων και ρύθμιση της θερμοκρασίας. Στη συνέχεια προστέθηκε ξηρή μαγιά αρτοποιίας (Yiotis, Athens, Greece) 3%. Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνται εις τριπλούν. Στο τέλος κάθε πειράματος, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση. Η υγρή φάση αναλύθηκε ως προς συγκέντρωση αιθανόλης και ελεύθερης γλυκόζης, ενώ η στερεή φάση ως προς την περιεκτικότητά της σε άμυλο και κυτταρίνη.

5.6 Μέθοδοι ανάλυσης

Προσδιορισμός pH

Για τον προσδιορισμό του pH ζυγίστηκε ποσότητα 2 g για κάθε δείγμα προξηραμένων οικιακών ΒΑ και εν συνεχεία τα δείγματα αναμίχθηκαν με 40 ml απιονισμένου νερού. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στη συσκευή ανάδευσης **Εικόνα 5.5** και αναδεύτηκαν για 30 λεπτά, ώστε να επιτευχθεί η πλήρης ομογενοποίηση τους.



Εικόνα 5.5. Συσκευή ανάδευσης προς μέτρηση του pH

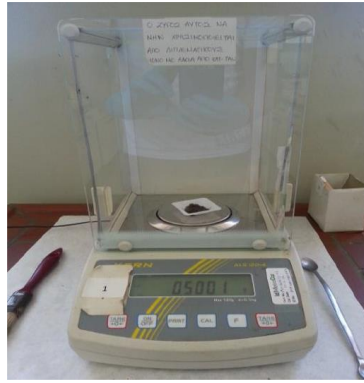
Μετά την ανάδευση τους τα δείγματα αφέθηκαν να ηρεμήσουν για άλλα 30 λεπτά και ακολούθησε η μέτρηση του pH τους με χρήση του πεχαμέτρου Mettler Toledo MPC227 (EPA, 2004) (**Εικόνα 5.6**)



Εικόνα 5.6. Πεχάμετρο Mettler Toledo MPC227

Προσδιορισμός υγρασίας

Για τον προσδιορισμό της περιεχόμενης υγρασίας των προξηραμένων οικιακών ΒΑ ζυγίστηκε ποσότητα 2g για κάθε δείγμα προξηραμένων οικιακών ΒΑ σε ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (**Εικόνα 5.7**)



Εικόνα 5.7. Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων

Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε δοχεία ζέσεως και εισήχθησαν σε φούρνο ξήρανσης (**Εικόνα 5.8**) με ρεύμα αέρα στους 80°C, όπου και παρέμειναν για χρονικό διάστημα περίπου 16 ωρών (Pomeranz & Meloan, 1994 (a)).



Εικόνα 5.8. Φούρνος ξήρανσης με ρεύμα αέρα

Μετά το πέρας των 16 ωρών τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα για χρονικό διάστημα 20-30 λεπτών, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου και ζυγίστηκαν ξανά.

Η % κ.β. υγρασία υπολογίστηκε από τη διαφορά μάζας πριν και μετά την ξήρανση στους 80 °C, σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Υγρασία (\% w/w)} = \frac{\text{initial solid} - \text{final solid}}{\text{initial solid}} * 100$$

όπου:

initial solid = η αρχική μάζα του δείγματος και

final solid = η τελική μάζα του δείγματος.

Προσδιορισμός ολικών πτητικών στερεών (VS)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του περιεχόμενου οργανικού φορτίου ενός στερεού δείγματος μέσω της καύσης του σε υψηλή θερμοκρασία για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Η πειραματική διαδικασία που πραγματοποιείται αναλύεται παρακάτω.

Αρχικά, ρυθμίστηκε ο φούρνος στους 250°C. Στη συνέχεια, ζυγίστηκαν 2g ξηρού δείγματος, το οποίο βγήκε από το φούρνο των 80°C και τοποθετήθηκαν σε 2 κάψες πορσελάνης, οι οποίες είχαν ζυγιστεί αρχικά χωρίς το δείγμα (**Εικόνα 5.9**).



Εικόνα 5.9. Ζύγιση ξηρού υλικού σε κάψες πορσελάνης

Αμέσως μετά και αφού ο φούρνος είχε πιάσει τη θερμοκρασία των 250°C οι 2 κάψες εισήχθησαν στο φούρνο για 4h και ο φούρνος ρυθμίστηκε στους 550°C (**Εικόνα 5.10**).



Εικόνα 5.10. Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών

Αμέσως μετά το πέρας των 4h παρελήφθησαν οι κάψες από το φούρνο και εισήχθησαν στο ξηραντήρα για 40min έτσι ώστε να πιάσουν θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, οι 2 κάψες ζυγίστηκαν ξανά μαζί με το υλικό και καταγράφηκε η τελική μάζα.

Η εκτίμηση του περιεχόμενου οργανικού φορτίου έγινε με τον υπολογισμό της απώλειας βάρους πριν και μετά την εισαγωγή του δείγματος στο φούρνο. Κατά την

καύση πραγματοποιείται οξείδωση των οργανικών ουσιών για αυτό και η απώλεια βάρους που υπολογίζεται αποτελεί στην ουσία μέτρο των οργανικών ουσιών που περιέχονται στα στερεά, παρόλο που κατά την καύση απομακρύνονται μερικές φορές και ορισμένα ανόργανα πτητικά συστατικά του δείγματος.

Ο υπολογισμός των πτητικών στερεών προκύπτει με βάση την αρχική και την τελική μάζα του ξηρού δείγματος και υπολογίζεται για όλα τα δείγματα όπως ακριβώς και με την υγρασία με βάση τη σχέση:

$$\% \kappa. \beta \text{ VS} = ((m_i - m_f) / m_i) * 100$$

όπου

m_i = αρχική μάζα ξηρού δείγματος

m_f = τελική μάζα μετά από 4h στους 550°C

Προσδιορισμός ολικού οργανικού άνθρακα (TOC)

Για τον προσδιορισμό της επί της εκατό κατά βάρος περιεκτικότητας ολικού οργανικού άνθρακα TOC χρησιμοποιήθηκε η συσκευή TOC της εταιρείας Shimadzu (**Εικόνα 5.11**).



Εικόνα 5.11. Συσκευή μέτρησης TOC

Η πειραματική διαδικασία προσδιορισμού TOC ξεκίνησε αρχικά με ζύγιση 40mgf δείγματος, το οποίο είχε υποστεί λειοτρίβηση σε μέγεθος 1 mm και ξήρανση στους 80°C. Τα 40 mg που ζυγίστηκαν, τοποθετήθηκαν σε κάψες πορσελάνης (**Εικόνα 5.12**).



Εικόνα 5.12. Πορσελάνινη κάμα

Στη συνέχεια, οι κάψες τοποθετήθηκαν στον ειδικό φούρνο του οργάνου όπου το δείγμα θερμάνθηκε στους 900°C (**Εικόνα 5.13**).



Εικόνα 5.13. Φούρνος (Solid Sample Module SSM 5000A)

Στη θερμοκρασία αυτή έγινε καύση του οργανικού άνθρακα και τα καυσαέρια αυτής οδηγήθηκαν στην κεντρική μονάδα TOCVCSH (**Εικόνα 5.14**).



Εικόνα 5.14. Κεντρική μονάδα TOCVCSH

Στη μονάδα αυτή υπολογίστηκε η μάζα του οργανικού άνθρακα (mg) από το CO₂ που παράχθηκε κατά την καύση. Το (%) ποσοστό του οργανικού άνθρακα δίνεται από τον εξής τύπο:

$$TOC (\%) = \left(\frac{\frac{m_1}{M_1} + \frac{m_2}{M_2}}{2} \right) * 100$$

Όπου:

m_1 : η μετρούμενη μάζα του οργανικού άνθρακα του πρώτου δείγματος (mg)

m_2 : η μετρούμενη μάζα του οργανικού άνθρακα του δεύτερου δείγματος (mg)

M_1 : η αρχική μάζα του πρώτου δείγματος (mg)

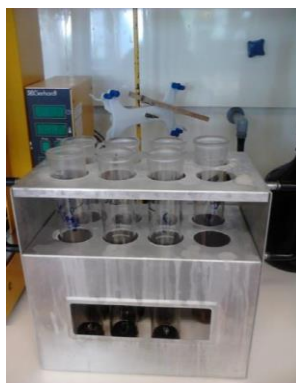
M_2 : η αρχική μάζα του δεύτερου δείγματος (mg)

Προσδιορισμός ολικού αζώτου (TN)

Η μέθοδος προσδιορισμού του ολικού αζώτου χωρίζεται σε 3 μέρη: την χώνευση, την απόσταξη και την τιτλοδότηση. Η συγκεκριμένη μέθοδος που εφαρμόστηκε βασίζεται στην τροποποιημένη κατά Kjeldahl μέθοδο προσδιορισμού αζώτου η οποία περιγράφεται συνοπτικά ως εξής: Αρχικά, πραγματοποιείται μετατροπή του οργανικού αζώτου και ελεύθερου αμμωνίου σε άλας θειικού αμμωνίου (χώνευση) παρουσία θειικού οξέος και καταλυτών (διοξειδίου του τιτανίου). Τα νιτρικά και νιτρώδη ανάγονται σε αμμωνιακά με τη χρήση σαλικυλικού οξέος και θειοθειικού νατρίου.

Χώνευση

Αρχικά, κατά τη χώνευση, ελήφθησαν 0,50g ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε μια φιάλη χώνευσης των 400ml (φιάλη Gerhardt). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 20ml H_2SO_4 με 25g/l σαλικυλικό οξύ, έγινε ανάδευση και αφέθηκε το μίγμα για 1 μέρα σε ηρεμία ώστε να πραγματοποιηθεί η χώνευση (**Εικόνα 5.15**).



Εικόνα 5.15. Διάλυμα ξηρού υλικού και θειικού οξέος σε ηρεμία

Η συσκευή έχει οκτώ θέσεις για τα δείγματα, η μια από τις οποίες θα αποτελεί το τυφλό δείγμα. Επομένως, αυτή η θέση συμπληρώθηκε μόνο με τα 20ml θειικού και σαλικυλικού οξέος χωρίς προσθήκη των 0,5g δείγματος.

Την επόμενη μέρα εισήχθησαν στη φιάλη 2,5g θειοθειικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως καταλύτης. Αφού τοποθετήθηκε ο καταλύτης και έγινε ανάδευση το μίγμα εισήχθη στον χωνευτήρα στον οποίο άνοιξε πρώτα το νερό ώστε να απορροφηθούν οι ατμοί που βγαίνουν από το δείγμα κατά τη θέρμανση και οφείλονται κυρίως στη παρουσία H_2SO_4 . Ρυθμίστηκε ο χωνευτήρας στο PROGRAM 5 για μισή ώρα και ψύξη 15min και στη συνέχεια προστέθηκαν 5,5g μίγματος καταλυτών. Μετά την προσθήκη του μίγματος έγινε ανάδευση και τοποθετήθηκε το δείγμα για χώνευση στους 400°C για 2,5h και 10min ψύξη (Εικόνα 5.16).



Εικόνα 5.16. Συσκευή χώνευσης Gerhardt

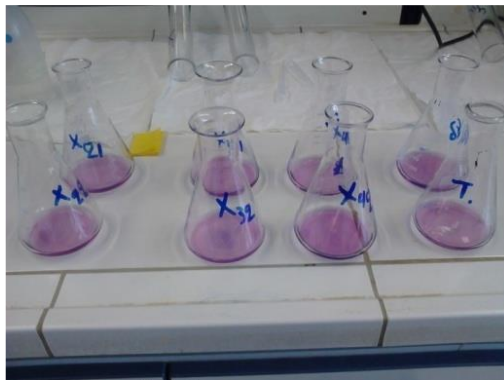
Στη συνέχεια, αφού οι φιάλες ήρθαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος τοποθετήθηκαν στη συσκευή απόσταξης όπου και πραγματοποιήθηκε απόσταξη σε κάθε δείγμα (Εικόνα 5.17).



Εικόνα 5.17. Συσκευή απόσταξης Vapodest

Τιτλοδότηση

Κατά την τιτλοδότηση προστέθηκαν 25ml βορικού οξέος (H_3BO_4) καθώς και 2-3 σταγόνες δείκτη mixed indicator σε οκτώ κωνικές φιάλες (**Εικόνα 5.18**).



Εικόνα 5.18. Προετοιμασία δείγματος βορικού και δείκτη

Στις φιάλες αυτές αρχικά πραγματοποιήθηκε απόσταξη με NaOH 10mol/l. Ακολούθως πραγματοποιήθηκε τιτλοδότηση με πυκνό θειικό οξύ 0,1M ώστε να εξουδετερωθεί το NaOH που αποστάχθηκε (**Εικόνα 5.19**).



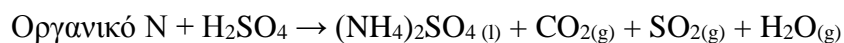
Εικόνα 5.19. Μετά την απόσταξη και πριν την τιτλοδότηση (αριστερά) και μετά την τιτλοδότηση (δεξιά)

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

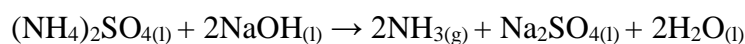
Τα τυφλά δείγματα τιτλοδοτούνται με αραιό H_2SO_4 0,01M.

Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε κάθε στάδιο παρατίθενται αναλυτικά παρακάτω:

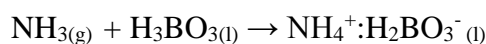
Κατά τη χώνευση



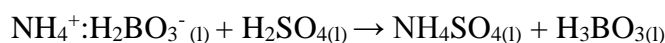
Κατά την απόσταξη



Κατά τη συλλογή του αποστάγματος



Κατά την τιτλοδότηση



Η περιεκτικότητα του δείγματος σε ολικό άζωτο σε mg/g υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$TN(\%) = \frac{(VD - VT) * C(H+) * MN}{m} * \frac{100 + \%YEB}{100}$$

Όπου:

VD: ο όγκος (mL) του θεικού οξέος που χρησιμοποιείται για την τιτλοδότηση του δείγματος

VT: ο όγκος (mL) του θεικού οξέος που χρησιμοποιείται για την τιτλοδότηση του τυφλού

C(H+): η συγκέντρωση (mol/L) των H+ σε θεικό οξύ ίση με 0,1

MN: το μοριακό βάρος (g/mol) του αζώτου ίσο με 14,0067

m: η μάζα (g) του ξηραμένου στερεού δείγματος

% Y.E.B.: η υγρασία δείγματος (%) σε ξηρή βάση.

Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Εφόσον έχει προηγηθεί η μέτρηση και ο προσδιορισμός του ολικού αζώτου, προσδιορίζονται οι πρωτεΐνες, σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Πρωτεΐνες} = 6,25 * TN \quad (\text{Mariotti et al., 2008}).$$

Προσδιορισμός λιπαρών

Ο προσδιορισμός των λιπαρών πραγματοποιείται σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο AOAC Method 920.39C.

Τα όργανα και τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για τον προσδιορισμό των λιπαρών του δείγματος είναι: συσκευή Soxhlet, αναλυτικός ζυγός με ακρίβεια 0.1 mg, περιστροφικός εξατμιστήρας το υδατόλουτρο του οποίου τίθεται σε θερμοκρασία 45°C, ξηραντήρας (με silica gel), πυρήνες βρασμού, γυάλινοι ηθμοί, οργανικός διαλύτης (n-εξάνιο).

Η συσκευή Soxhlet αποτελείται από (α) τον υποδοχέα, (β) τον εκχυλιστήρα και (γ) το συμπυκνωτήρα/ψυκτήρα.

Πειραματική διαδικασία

Η ειδική φύσιγγα (καρτούσα), ο υποδοχέας της συσκευής Soxhlet και οι γυάλινοι ηθμοί τοποθετούνται σε φούρνο ξήρανσης στους $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ για 16 ώρες και ακολούθως μεταφέρονται στο ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά προκειμένου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβουν επιπλέον υγρασία. Ακολουθεί ζύγιση στον αναλυτικό ζυγό και καταγραφή του βάρους τους με ακρίβεια. Η διαδικασία ξήρανσης επαναλαμβάνεται μέχρι τη λήψη σταθερού βάρους (ο όρος σταθερό βάρος ορίζεται ως ± 0.3 mg μεταβολή στο βάρος της καρτούσας, του υποδοχέα ή του γυάλινου ηθμού μετά την πάροδο μίας ώρας στον φούρνο ξήρανσης).

Τοποθετείται το δείγμα στην καρτούσα (η στάθμη του δείγματος μέσα στην καρτούσα δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το ύψος του βραχίονα-σιφώνι στον εκχυλιστήρα) και ακολουθεί ζύγιση στον αναλυτικό ζυγό και καταγραφή του βάρους.

Τοποθετούνται πυρήνες βρασμού στον υποδοχέα και ο οργανικός διαλύτης για την εκχύλιση των λιπαρών (n-εξάνιο) (500 mL οργανικού διαλύτη για υποδοχέα 1000 mL).

Συναρμολογείται η συσκευή Soxhlet και τίθεται σε λειτουργία, δηλ. διαβιβάζεται νερό στον ψυκτήρα και θερμαίνεται ο υποδοχέας.

Η εκχύλιση των λιπαρών διαρκεί 6 ώρες οι οποίες μετρώνται μετά τον πρώτο σιφονισμό του διαλύτη.

Μετά το πέρας των 6 ωρών απομακρύνεται η καρτούσα από τη συσκευή και ακολουθεί ποσοτική παραλαβή του στερεού υπολείμματος με διήθηση υπό κενό και χρήση των προζυγισμένων ξηρών γυάλινων ηθμών.

Ακολουθεί διεξοδική έκπλυση του στερεού υπολείμματος στον γυάλινο ηθμό με χρήση n-εξάνιου.

Ο γυάλινος ηθμός με το στερεό υπόλειμμα τοποθετούνται στον φούρνο ξήρανσης για 16 ώρες. Ακολούθως μεταφέρεται στο ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά προκειμένου να έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβει επιπλέον υγρασία, ζυγίζεται σε αναλυτικό ζυγό και καταγράφεται το βάρος του. Η διαδικασία ξήρανσης επαναλαμβάνεται μέχρι τη λήψη σταθερού βάρους (ο όρος σταθερό βάρος ορίζεται ως $\pm 0.1\%$ μεταβολή στο ποσοστό των στερεών μετά από μία επιπλέον ώρα παραμονή στον φούρνο ξήρανσης).

Ο οργανικός διαλύτης με τα εκχυλισθέντα λιπαρά που βρίσκονται στον υποδοχέα αναμιγνύεται με το διήθημα. Ακολουθεί εξάτμιση του διαλύτη στον περιστροφικό εξάτμιστήρα.

Ο υποδοχέας με το ελαιώδες υπόλειμμα μετά την εξάτμιση του διαλύτη τοποθετούνται στον φούρνο ξήρανσης για τουλάχιστον 16 ώρες. Ακολούθως μεταφέρεται στο ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά προκειμένου να έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβει επιπλέον υγρασία,

ζυγίζεται σε αναλυτικό ζυγό και καταγράφεται το βάρος του. Η διαδικασία ξήρανσης επαναλαμβάνεται μέχρι τη λήψη σταθερού βάρους (ο όρος σταθερό βάρος ορίζεται ως ± 0.3 mg μεταβολή στο συνολικό βάρος του υποδοχέα μετά από μία επιπλέον ώρα παραμονή στον φούρνο ξήρανσης).

Πραγματοποιούνται τουλάχιστον τρεις επαναλήψεις του εν λόγω προσδιορισμού ανά δείγμα και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι των τριών αυτών επαναλήψεων.

Αρχικά υπολογίζεται το βάρος του δείγματος απο το οποίο πρόκειται να εκχυλιστούν τα λιπαρά σύμφωνα με την εξίσωση 1.

$$\text{Weight}_{\text{δείγματος}} = \text{Weight}_{\xi, \kappa, \delta} - \text{Weight}_{\xi, \kappa} \quad \text{Εξ.1}$$

Όπου:

$\text{Weight}_{\text{δείγματος}}$: το βάρος του δείγματος που θα εκχυλιστεί (g)

$\text{Weight}_{\xi, \kappa, \delta}$: το συνολικό βάρος της ξηρής καρτούσας-δείγματος (g)

$\text{Weight}_{\xi, \kappa}$: το βάρος της ξηρής καρτούσας (g)

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε λιπαρά υπολογίζεται από την εξίσωση 2.

$$\% \text{Λιπαρά} = \frac{\text{Weight}_{\xi, \nu, \epsilon\lambda} - \text{Weight}_{\xi, \nu}}{\text{ODW}} \times 100 \quad \text{Εξ.2}$$

Όπου:

$\text{Weight}_{\xi, \nu, \epsilon\lambda}$: το συνολικό βάρος του ξηρού υποδοχέα-ελαιώδους υπολείμματος (g)

$\text{Weight}_{\xi, \nu}$: το βάρος του ξηρού υποδοχέα (g)

ODW: το ξηρό βάρος του δείγματος (g)

Το ξηρό βάρος του στερεού υπολείμματος μετά την απομάκρυνση των λιπαρών υπολογίζεται από την εξίσωση 3.

$$\Sigma.Y.1. = \text{Weight}_{\gamma, \eta, \delta} - \text{Weight}_{\gamma, \eta} \quad \text{Εξ.3}$$

όπου,

$\Sigma.Y.1.$: το στερεό υπόλειμμα μετά την εκχύλιση των λιπαρών (g)

$\text{Weight}_{\gamma, \eta}$: το ξηρό βάρος του γυάλινου ηθμού (g)

$\text{Weight}_{\gamma, \eta, \delta}$: το ξηρό βάρος του γυάλινου ηθμού-στερεού υπολείμματος (g).

Προσδιορισμός ολικών υδατοδιαλυτών στερεών

Ο προσδιορισμός των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών λαμβάνει χώρα με βάση την ακόλουθη πειραματική διαδικασία (Ruiz et al., 2005; Pomeranz & Meloan, 1994 (b); CCSP, 2011):

- 1) Αρχικά. ζυγίστηκαν 2,5 g ξηραμένου βιοαποβλήτου για κάθε επανάληψη τα οποία τοποθετήθηκαν σε κωνικές φιάλες και στις οποίες προστέθηκαν 100 ml απιονισμένου νερού.
- 2) Εν συνεχεία οι φιάλες σφραγίστηκαν με τη χρήση αλουμινόχαρτου προκειμένου να μην υπάρξει απώλεια σακχάρων και τοποθετήθηκαν σε

υδατόλουτρο της εταιρείας Polyscience (**Εικόνα 5.20**) σε θερμοκρασία 50°C. Οι κωνικές φιάλες αναδεύονταν κάθε οχτώ λεπτά για την πλήρη διαλυτοποίηση των σακχάρων και μετά την παραμονή τους για μία ώρα στο υδατόλουτρο αφαιρέθηκαν από αυτό.



Εικόνα 5.20. Υδατόλουτρο της εταιρείας Polyscience

- 3) Για την κάθε επανάληψη ζυγίστηκαν ένα διηθητικό χαρτί για την εκχύλιση του διαλύματος και μία ύαλος για την υποδοχή του εκχυλισμένου δείγματος και την ακολουθούμενη ξήρανση. Το διηθητικό χαρτί αφυδατώθηκε προηγουμένως μέσω ξήρανσης σε φούρνο με ρεύμα αέρα στους 105°C για περίπου 24 ώρες.
- 4) Το δείγμα έπειτα τοποθετήθηκε στη διάταξη εκχύλισης υπό κενό (**Εικόνα 5.21**) και το διήθημα συλλέχθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο με ταυτόχρονη καταγραφή του όγκου του. Το εναπομείναν στην κωνική φιάλη στερεό υλικό επανεκχυλίστηκε με την προσθήκη επιπλέον 100 ml απιονισμένου νερού και αντίστοιχα το έκπλυμα συλλέχθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο με ταυτόχρονη καταγραφή του όγκου του.



Εικόνα 5.21. Συσκευή διάταξης διήθησης υπό κενό

- 5) Τα διηθήματα και εκπλύματα αποθηκεύτηκαν σε πλαστικά falcon tubes και τοποθετήθηκαν στην κατάψυξη για περαιτέρω αναλύσεις, ενώ το προκύπτον, από την εκχύλιση, στερεό υπόλειμμα μεταφέρθηκε στην αντίστοιχη ύαλο (Εικόνα 5.22) και τοποθετήθηκε σε φούρνο ξήρανσης με ρεύμα αέρα στους 80°C για περίπου 24 ώρες.



Εικόνα 5.22. Στερεό υπόλειμμα προς ξήρανση

- 6) Μετά το πέρας των 24 ωρών τα στερεά υπολείμματα αφαιρέθηκαν από το φούρνο και τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα με silica gel για περίπου 30 λεπτά, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. Εν συνέχεια ζυγίστηκαν και τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίστηκαν σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Ολικά υδατοδιαλυτά στερεά } \left(\% \frac{w}{w} \right) = \frac{\text{initialsolid} - \text{finalsolid}}{\text{initialsolid}} * 100$$

όπου:

initial solid = η αρχική μάζα του δείγματος και

final solid = η τελική μάζα του δείγματος.

Προσδιορισμός ολικών αναγωγικών σακχάρων (TRS)

Η μέτρηση αναγωγικών σακχάρων πραγματοποιήθηκε με τη φωτομετρική μέθοδο του δινιτροσαλικυλικού οξέος (DNS) (Miller, 1959).

Οι υδατάνθρακες ταξινομούνται σε 3 κατηγορίες, που αναλύονται παρακάτω:

- 1) **Μονοσακχαρίτες:** Είναι οι υδατάνθρακες που δεν μπορούν να υδρολυθούν περαιτέρω προκειμένου να δώσουν μια απλούστερη μονάδα πολύ-υδρόξυ αλδεΐδης ή κετόνης. Οι μονοσακχαρίτες μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τον αριθμό των ατόμων άνθρακα και τη δραστική ομάδα του μορίου τους σε τριόζες (με 3 άτομα

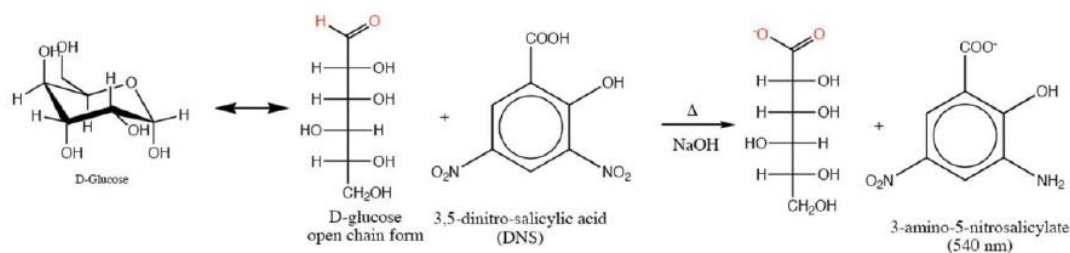
άνθρακα), τετρόζες (με 4 άτομα άνθρακα), πεντόζες (με 5 άτομα άνθρακα), εξόζες (με 6 άτομα άνθρακα) κλπ. Επίσης, αν ο μονοσακχαρίτης έχει αλδεϋδομάδα στο μόριο ανήκει στην κατηγορία των αλδοζών και αν έχει κετονομάδα ανήκει στην ομάδα των κετοζών. Περίπου 20 μονοσακχαρίτες υπάρχουν στην φύση και οι πλέον κοινοί περιέχουν 5 (πεντόζες) ή 6 (εξόζες) άτομα άνθρακα: γλυκόζη, φρουκτόζη, ριβόζη, αραβινόζη, ξυλόζη κλπ.

2) **Ολιγοσακχαρίτες:** είναι οι υδατάνθρακες που κατά την υδρόλυσή τους μπορούν να αποδώσουν 2 έως 10 μονάδες μονοσακχαριτών. Ανάλογα με τον αριθμό των μονοσακχαριτών που αποδίδουν κατά την υδρόλυση διακρίνονται σε δι-σακχαρίτες, τρι-σακχαρίτες, τετρα-σακχαρίτες κλπ. Παραδείγματα δι-σακχαριτών είναι η σακχαρόζη η οποία υδρολυόμενη δίνει ένα ισομοριακό μίγμα γλυκόζης και φρουκτόζης και η μαλτόζη η οποία υδρολυόμενη δίνει 2 μόρια γλυκόζης.

3) **Πολυσακχαρίτες:** είναι οι υδατάνθρακες που κατά την υδρόλυσή τους παράγουν μεγάλο αριθμό μονοσακχαριτών. Παραδείγματα πολυσακχαριτών είναι το άμυλο, η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη, το γλυκογόνο κλπ.

Επιπλέον οι υδατάνθρακες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως αναγωγικοί ή μη-αναγωγικοί. Αναγωγικοί υδατάνθρακες είναι αυτοί που μπορούν να λειτουργήσουν ως αναγωγικοί παράγοντες γεγονός που οφείλεται στην παρουσία ελεύθερης αλδεϋδομάδας ή κετονομάδας στο μόριό τους.

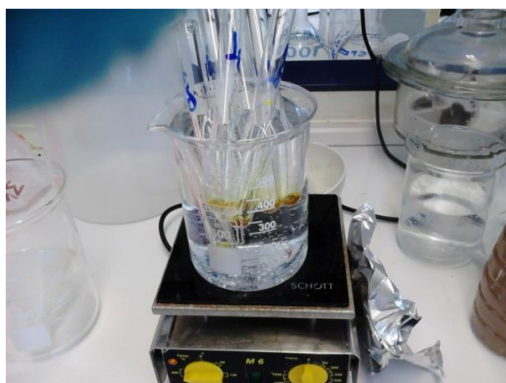
Την συγκεκριμένη ιδιότητα χρησιμοποιεί η μέθοδος DNS για την ποσοτικοποίηση των σακχάρων σε κάποιο διάλυμα. Η αναγωγή του 3,5-δινιτροσαλικυλικού οξέος (κίτρινο χρώμα) οδηγεί στη δημιουργία ενός προϊόντος του 3-άμινο-5-νιτροσαλικυλικού οξέος (πορτοκαλί-κίτρινο) το οποίο εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης σε μήκος κύματος 540 nm. (Εικόνα 5.23)



Εικόνα 5.23. Αντίδραση προσδιορισμού αναγωγικών σακχάρων με τη μέθοδο DNS (Σωτηρόπουλος, 2016)

Κατά τον προσδιορισμό των αναγωγικών σακχάρων χρησιμοποιήθηκαν τα εκπλύματα και τα διηθήματα που ελήφθησαν από την εκχύλιση.

Τα εκπλύματα χρησιμοποιήθηκαν αναραίωτα ενώ τα εκχυλίσματα αραιώθηκαν με αραιώση 1:5 (800ml νερού και 200ml εκχυλίσματος). Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν 250μL του εκάστοτε διαλύματος (διήθημα ή έκπλυμα) και 250μL DNS. Οι δοκιμαστικοί τοποθετήθηκαν για βρασμό για 15min ώστε να γίνει επώαση και να καταστραφούν τυχόν μικροοργανισμοί που αναπτύχθηκαν και κατανάλωσαν ορισμένη ποσότητα σακχάρων (**Εικόνα 5.24**).



Εικόνα 5.24. Επώαση μίγματος

Μετά το πέρας του βρασμού προστίθενται 2 ml απιονισμένου νερού σε κάθε ένα δοκιμαστικό σωλήνα και μετά από ανάδευση στη συσκευή Vortex-Genie 2 (**Εικόνα 5.25**) έλαβε χώρα η φωτομέτρηση, σε φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck (**Εικόνα 5.26**), σε μήκος κύματος 540 nm. Το φωτόμετρο πριν την έναρξη της φωτομέτρησης των δειγμάτων μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό.



Εικόνα 5.25. Συσκευή ανάδευσης Vortex-Genie 2



Εικόνα 5.26. Φωτόμετρο SpectroquantPharo 300 Merck

Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται σε συγκεκριμένες καμπύλες προσδιορισμού συγκέντρωσης ολικών αναγωγικών σακχάρων. Πιο συγκεκριμένα:

$$\text{TRS (\% w/w)} = [(1,3988 * \text{ABS}_{\text{mean}} * D * (V_{\delta} + V_{\text{εκ}})) * 10^{-3}] / \text{initial solid} * 100$$

Όπου:

ABS_{mean} : ο μέσος όρος απορρόφησης (μετρούμενος σε ειδικό φωτόμετρο).

D : Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα ($D=1$ όταν το διάλυμα δεν υφίσταται αραίωση, $D=5$ όταν η αραίωση είναι 1:5)

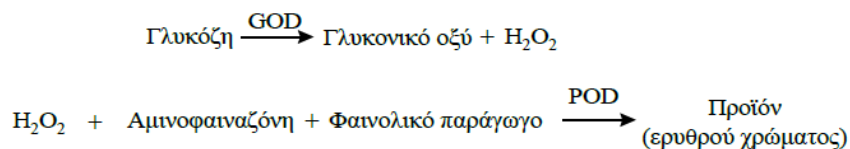
V_{δ} : ο όγκος του διηθήματος

$V_{\text{εκ}}$: ο όγκος του εκπλύματος

initial solid: η αρχική μάζα του δείγματος

Προσδιορισμός Ελεύθερης Γλυκόζης

Η μέθοδος προσδιορισμού της γλυκόζης βασίζεται στη μετατροπή της γλυκόζης σε ένα προϊόν ερυθρού χρώματος, που είναι αποτέλεσμα της διαδοχικής δράσης των ενζύμων οξειδάση και υπεροξειδάση της γλυκόζης. Αρχικά, η γλυκόζη με τη δράση της οξειδάσης μετατρέπεται σε γλυκονικό οξύ με ταυτόχρονη παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου. Στη συνέχεια, το υπεροξείδιο του υδρογόνου παρουσία αμινοφαιναζόνης και κάποιου φαινολικού παραγώγου με τη δράση της υπεροξειδάσης μετατρέπεται σε κάποιο προϊόν ερυθρού χρώματος το οποίο παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση στα 510nm. Οι 2 αντιδράσεις που αναφέρθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω (GOD=οξειδάση, POD=υπεροξειδάση). (Biosis, 2011):



Εικόνα 5.27. Ενζυμική αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP (Biosis, 2011)

Το διάλυμα εργασίας παρασκευάζεται μεταφέροντας ποσοτικά ένα φιαλίδιο ενζύμων σε ένα φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος και είναι σταθερό 45 ημέρες στους 4°C.

Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP

Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP κατασκευάζεται πρώτα η καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με την εν λόγω μέθοδο.

Τα βήματα κατασκευής της καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο DNS είναι τα ακόλουθα:

- 1) Χρησιμοποιείται πρότυπο διάλυμα γλυκόζης 10 mg/ml. Πραγματοποιούνται αραιώσεις του παραπάνω διαλύματος με απιονισμένο νερό, έτσι ώστε να προκύψουν διαλύματα γλυκόζης 0.1, 0.2, 0.4, και 0.6 mg/ml.
- 2) Σε οχτώ δοκιμαστικούς σωλήνες (δύο για κάθε συγκέντρωση γλυκόζης) προστίθενται 2,4 ml διαλύματος εργασίας και 0,1 ml από το κάθε διάλυμα γλυκόζης.
- 3) Στη συνέχεια σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 2,4 ml διαλύματος εργασίας και 0,1 ml απιονισμένου νερού (τυφλό).
- 4) Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες επωάζονται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C για 15 min.
- 5) Επιλέγεται στο φωτόμετρο το μήκος κύματος των 510 nm. Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αναδεύονται στη συσκευή Vortex-Genie 2, της εταιρείας Scientific Industries, και μετρώνται οι απορροφήσεις των διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης.

Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης στα μελετούμενα υλικά άγνωστης συγκέντρωσης, χρησιμοποιήθηκαν τα διηθήματα και τα εκπλύματα που προέκυψαν από την εκχύλιση κατά τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών σακχάρων.

Τα εκπλύματα χρησιμοποιήθηκαν αναραιώτα, ενώ τα διηθήματα αραιώθηκαν άλλοτε με λόγο αραιώσης 1:5 και άλλοτε 1:10. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες (**Εικόνα 5.28**), αντίστοιχα πλέον με τα βήματα της μεθόδου για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, προστέθηκαν 2,4 ml του διαλύματος εργασίας και 0,1 ml του εκάστοτε διαλύματος (διήθημα ή έκπλυμα) και απιονισμένου νερού, για την περίπτωση του τυφλού, και εν συνεχεία οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν για επώαση στο υδατόλουτρο Polyscience για 15 min.



Εικόνα 5.28. Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP

Μετά το πέρας της επώασης κάθε ένας δοκιμαστικός σωλήνας αναδεύεται στη συσκευή Vortex-Genie 2 και ακολουθεί η φωτομέτρηση, σε φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck, σε μήκος κύματος 510 nm. Το φωτόμετρο πριν την έναρξη της φωτομέτρησης των δειγμάτων μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό.

Τέλος, η ελεύθερη γλυκόζη υπολογίζεται με βάση τη σχέση που ακολουθεί:

$$\text{Ελεύθερη γλυκόζη (\% w/w)} = [(0,6507 * \text{ABSmean} * D * (V\delta + V\epsilon\kappa)) * 10^{-3}] / \text{initial solid}] * 100$$

όπου:

ABSmean: ο μέσος όρος απορρόφησης

D: η αραιώση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα (D=1 όταν το διάλυμα παραμένει αναραιώτο, D=5 όταν η αραιώση είναι 1:5 και D=10 όταν η αραιώση είναι 1:10)

Vδ: ο όγκος του διηθήματος

Vεκ: ο όγκος του εκπλύματος

initial solid: η αρχική μάζα του δείγματος.

Προσδιορισμός των υδατανθράκων

Προσδιορισμός κυτταρίνης

Η διαδικασία προσδιορισμού της κυτταρίνης συνίσταται στην όξινη υδρόλυση του στερεού υπολείμματος που προέκυψε κατά τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών σακχάρων και περιλαμβάνει τα εξής βήματα (Sluiter, et al, 2008):

1) Μάζα στερεού υπολείμματος 300 mg τοποθετείται σε κωνικές φιάλες των 100 ml και σε αυτές προστίθενται 3 ml H₂SO₄ (72% v/v).

2) Οι κωνικές φιάλες σφραγίζονται με αλουμινόχαρτο και τοποθετούνται σε επωαστήρα της εταιρείας Zhicheng (Incubator Shaker ZHWY-211C), ο οποίος φαίνεται στην **Εικόνα 5.29**, σε θερμοκρασία 30°C, για μία ώρα και με ταχύτητα ανακίνησης 180 rpm.



Εικόνα 5.29. Επωαστήρας Incubator Shaker ZHWY-211C

3) Μετά το τέλος της επώασης προστίθενται σε κάθε κωνική φιάλη 84 ml απιονισμένου νερού και τα δείγματα τοποθετούνται στον αποστειρωτή Sanyo Labo Autoclave MLS 3020 (**Εικόνα 5.30**) για μία ώρα και σε θερμοκρασία 121°C.



Εικόνα 5.30. Κλίβανος αποστείρωσης Sanyo Labo Autoclave MLS 3020

4) Μετά την αποστείρωση τα δείγματα μεταφέρονται σε ψυγείο για περίπου μισή ώρα μέχρι να κρυώσουν.

5) Τα δείγματα εξουδετερώνονται, υπό ανάδευση, με χρήση CaCO_3 , έως ότου η τιμή του pH να κυμαίνεται μεταξύ 5 και 5,5.

6) Μετά την εξουδετέρωση τα δείγματα αφήνονται να ηρεμήσουν και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό.

7) Το συλλεχθέν υπερκείμενο υγρό αραιώνεται με λόγο αραιώσης 1:5 και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP.

Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται στη κατασκευασθείσα καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με τη μέθοδο GOD/PAP και στη συνέχεια με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν προσδιορίζεται η συγκέντρωση κυτταρίνης.

Πιο συγκεκριμένα:

$$\text{Total gluc (\% w/w)} = \left[\frac{(0,6507 * \text{ABSmean} * D * 86,73 * 10^{-3})}{\text{initial solid}} \right] * (100/0,897)$$

όπου:

ABSmean: ο μέσος όρος απορρόφησης

D: Η αραιώση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα (D=1 όταν το διάλυμα δεν υφίσταται αραιώση, D=5 όταν η αραιώση είναι 1:5 και D=10 όταν η αραιώση είναι 1:10)

86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

initial solid: η μάζα του δείγματος, η οποία προκύπτει μετά από αναγωγή, στο δείγμα πριν την εκχύλιση, της μάζας του στερεού υπολείμματος (μετά την εκχύλιση)

0,897: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης.

Στη συνέχεια αφαιρείται από την ποσότητα της υπολογιζόμενης γλυκόζης η ποσότητα της γλυκόζης του αμύλου:

$$\text{Net gluc (\% w/w)} = \text{total gluc (\% w/w)} - \text{starch gluc (\% w/w)}$$

Η ποσότητα, τέλος, της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Κυτταρίνη (\% w/w)} = [\text{Net gluc (\% w/w)}] * 0,9$$

όπου:

0,9=162/180= συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης.

Προσδιορισμός ημικυτταρίνης

Ο προσδιορισμός της ημικυτταρίνης γίνεται με την πειραματική διαδικασία προσδιορισμού της κυτταρίνης (Sluiter, et al, 2008), με τη διαφορά ότι για τον προσδιορισμό της στο συλλεχθέν υπερκείμενο υγρό εφαρμόζεται η μέθοδος DNS.

Για τον προσδιορισμό της ημικυτταρίνης κατασκευάζεται πρώτα η καμπύλη αναφοράς της ξυλόζης, με τη μέθοδο DNS. Η ξυλόζη είναι αναγωγικό σάκχαρο και μπορεί να μετρηθεί με τη μέθοδο αυτή.

Τα βήματα κατασκευής της καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο DNS είναι τα ακόλουθα:

- 1) Πρότυπο διάλυμα ξυλόζης 10 mg/ml αραιώνεται με απιονισμένο νερό, έτσι ώστε να προκύψουν διαλύματα γλυκόζης τελικής συγκέντρωσης 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 και 2 mg/ml.
- 2) Σε δοκιμαστικούς σωλήνες (δύο για κάθε συγκέντρωση ξυλόζης) προστίθενται 0,25 ml διαλύματος δινιτροσαλικυλικού οξέος και 0,25 ml από το κάθε διάλυμα γλυκόζης.
- 3) Στη συνέχεια σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 0,25 ml διαλύματος δινιτροσαλικυλικού οξέος και 0,25 ml απιονισμένου νερού (τυφλό).
- 4) Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετούνται σε νερό που βράζει, έτσι ώστε να σχηματιστεί το σύμπλοκο μεταξύ της ξυλόζης και του δινιτροσαλικυλικού οξέος. Μετά από ακριβώς 5 min οι δοκιμαστικοί σωλήνες απομακρύνονται από το νερό και προστίθενται σε κάθε έναν από αυτούς 2 ml απιονισμένου νερού.
- 5) Επιλέγεται στο φωτόμετρο το μήκος κύματος των 540 nm. Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αναδεύονται στη συσκευή Vortex-Genie 2, της εταιρείας Scientific Industries, και μετρώνται οι απορροφήσεις των διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης.

Για τον προσδιορισμό της ημικυτταρίνης στα δείγματα άγνωστης συγκέντρωσης εφαρμόζεται η μέθοδος DNS στο ίδιο υπερκείμενο συλλεχθέν υγρό, το οποίο προέκυψε από τη διαδικασία προσδιορισμού της κυτταρίνης.

Ο προσδιορισμός της ημικυτταρίνης βασίζεται στη συγκέντρωση της ξυλόζης και υπολογίζεται από τη σχέση (Sluiter, et al, 2008):

Ημικυτταρίνη (% w/w) = $[(C_{\text{ξυλόζης}} * 132/150) * (86,73 * 10^{-3}) * 100]/\text{initial solid}$,

όπου:

$C_{\text{ξυλόζης}}$: η συγκέντρωση ξυλόζης η οποία προκύπτει από υπολογισμούς με βάση την κατασκευασθείσα καμπύλη αναφοράς της

132/150: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της ξυλόζης

86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

initial solid: η μάζα του δείγματος, η οποία προκύπτει μετά από αναγωγή, στο δείγμα πριν την εκχύλιση, της μάζας του στερεού υπολείμματος (μετά την εκχύλιση).

Προσδιορισμός ολικού αμύλου

Η διαδικασία προσδιορισμού του ολικού αμύλου βασίζεται στην ενζυμική μέθοδο η οποία κάνει χρήση των ενζύμων αμυλογλυκοζοξειδάση και α-αμυλάση. Τα εν λόγω χρησιμοποιούμενα ένζυμα περιλαμβάνονται στο σετ αντιδραστηρίων που παρέχει η εταιρεία Megazyme προκειμένου για τον προσδιορισμό του ολικού αμύλου.

Τα βήματα της διαδικασίας που ακολουθήθηκε είναι τα εξής (Megazyme, 2016):

- 1) Από τα στερεά υπολείμματα τα οποία προέκυψαν από τη διαδικασία προσδιορισμού των ολικών υδατοδιαλυτών σακχάρων λαμβάνεται μάζα ίση με 100 mg και τοποθετείται σε γυάλινα φιαλίδια.
- 2) Εκτός από τα ανωτέρω γυάλινα φιαλίδια ετοιμάζονται και δύο ακόμα με την πρόσθεση 100 mg απιονισμένου νερού (τυφλό).
- 3) Στα γυάλινα φιαλίδια προστίθενται 0,2 ml αιθανόλης (80% v/v) και τα φιαλίδια αναδεύονται στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2.
- 4) Στα γυάλινα φιαλίδια προστίθενται 2ml KOH 2M και τα φιαλίδια τοποθετούνται σε παγόλουτρο (**Εικόνα 5.31**) για 20 min, με παράλληλη ανάδευση κάθε 5 min.



Εικόνα 5.31. Τα δείγματα στο παγόλουτρο κατά τον προσδιορισμό του αμύλου

5) Μετά την αφαίρεση τους από το παγόλουτρο ακολουθεί η προσθήκη 8 ml ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (sodium acetate buffer) με $\text{pH} = 3,8$, 0,1 ml α-αμυλάσης (α -amylase) και 0,1 ml αμυλογλυκοσιδάσης (AMG: amyloglucosidase).

6) Τα δείγματα αναδεύονται και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 50°C για 30 min με παράλληλη ανάδευση τους κάθε 10 min.

7) Μετά το πέρας των 30 min τα δείγματα τοποθετούνται για φυγοκέντρηση για 10 min, με ταχύτητα φυγοκέντρησης 3000 rpm, στη συσκευή φυγοκέντρησης IEC/CENTRA CL2 (Εικόνα 5.32).

8) Μετά τη φυγοκέντρηση ακολουθείται η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP στο υπερκείμενο υγρό:

Το υπερκείμενο υγρό αραιώνεται με λόγο αραιώσης 1:5 και στη συνέχεια για κάθε δείγμα συμπεριλαμβανομένων και των τυφλών, ετοιμάζονται δύο δοκιμαστικοί σωλήνες στους οποίους προστίθενται 0,1 ml αραιωμένου διαλύματος και 2,4 ml διαλύματος εργασίας. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες επωάζονται για 15 min σε υδατόλουτρο και τέλος φωτομετρώνται σε μήκος κύματος 510 nm, μετά από ανάδευση στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2 και μηδενισμό του φωτομέτρου με απιονισμένο νερό.



Εικόνα 5.32. Φυγόκεντρος IEC/ Centra CL2

Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται στην κατασκευασθείσα καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με τη μέθοδο GOD/PAP, και στη συνέχεια υπολογίζεται η συγκέντρωση του αμύλου, με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν.

$$C_{\text{γλυκόζης}} (\% \text{ w/w}) = [[(0,6507 * \text{ABSmean} * D * 10,4) * 10^{-3}] / \text{initial solid}] * 100$$

$$\text{Ολικόάμυλο} (\% \text{ w/w}) = C_{\text{γλυκόζης}} * 0,9$$

όπου:

ABSmean: ο μέσος όρος απορρόφησης.

D: Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα (D=1 όταν το διάλυμα δεν υφίσταται αραίωση, D=5 όταν η αραίωση είναι 1:5 και D=10 όταν η αραίωση είναι 1:10)

10,4 (ml): προκαθορισμένη τιμή

initial solid: η μάζα του δείγματος, η οποία προκύπτει μετά από αναγωγή, στο δείγμα πριν την εκχύλιση, της μάζας του στερεού υπολείμματος (μετά την εκχύλιση)

0,9: $M_{\text{r glucose}} / M_{\text{r starch}}$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικό πρωτόκολλο

Με βάση τα παραπάνω σχεδιάστηκε το πειραματικό πρωτόκολλο όπως παρουσιάζεται στους Πίνακες που ακολουθούν.

Πίνακας 6.1. Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)
A1	0
A2	0,8
A3	1,7
A4	2,5
A5	3,3

Πίνακας 6.2. Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)
C1	0
C2	10
C3	15
C4	20

Πίνακας 6.3. Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **μίγματος των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233 (4.4:1 v/v)**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 και NS22233 (4.4:1 v/v) (μL/g προξηραμένου υλικού)
CM1	0
CM2	11.7
CM3	17.5
CM4	23.0

Πίνακας 6.4. Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης της προεπεξεργασίας στην ενζυμική υδρόλυση οικιακού ΒΑ. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h με προσθήκη NS22109

A/A	Προεπεξεργασία	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)
PR1	Υδροθερμική 100°C 1h	0
PR2	Υδροθερμική 100°C 1h	2,5
PR3	Κοσκίνιση	0
PR4	Κοσκίνιση	2,5
PR5	Ελαιο-εξαγωγή	0
PR6	Ελαιο-εξαγωγή	2,5

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματικά αποτελέσματα

7.1 Σύσταση προξηραμένων οικιακών αποβλήτων

Το δείγμα προξηραμένων οικιακών βιοαποβλήτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργαστηριακή έρευνα αναλύθηκε με βάση τα φυσικοχημικά του χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα, το pH, η υγρασία, τα πτητικά στερεά, ο ολικός άνθρακας, το ολικό άζωτο, οι πρωτεΐνες, τα λίπη και έλαια, τα ολικά διαλυτά στερεά και οι υδατάνθρακες αποτέλεσαν τις παραμέτρους ενδιαφέροντος για την εκπόνηση της εν λόγω έρευνας.

Η σύσταση των προξηραμένων οικιακών βιοαποβλήτων, τα οποία αποτέλεσαν δείγμα των εργαστηριακών πειραμάτων της παρούσας έρευνας παρουσιάζονται στον **Πίνακα 7.1** που ακολουθεί.

Πίνακας 7.1. Φυσικά χαρακτηριστικά ξηραμένων βιοαποβλήτων

Παράμετρος	% w/w (ξηρής βάσης)
pH	4,88±0,10
Υγρασία	9,1±0,3
VS	86,83± 2,60
TOC	53,36± 1,20
TN	2,16±0,03
Διατροφική Αξία	
Πρωτεΐνες	13,50±0,18
Λίπη και έλαια	11,65± 1,50
Ολικά Διαλυτά Στερεά	35,01± 3,30
TRS	7,83± 0,90
Γλυκόζη	1,40± 0,08
Υδατάνθρακες	39,84± 3,30
Κυτταρίνη	7,82±0,20
Ημικυτταρίνη	11,91± 0,65
Άμυλο	8,06±0,30

Τα οικιακά βιοαπόβλητα παρουσιάζουν μεγάλες διαφοροποιήσεις όσον αφορά στη σύστασή τους. Οι Alamanou et al. (2015) και Matsakas et al. (2014) χρησιμοποίησαν στις έρευνές τους οικιακά διατροφικά απορρίμματα με πολύ μικρότερη περιεκτικότητα σε ημικυτταρίνη, $7,55 \pm 0,39$ % w/w και καθόλου άμυλο σε σχέση με τη μέση σύσταση των οικιακών ΒΑ της παρούσας έρευνας $11,91 \pm 0,65$ % w/w και

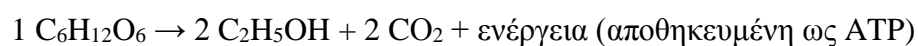
8,06 ±0,30 % w/w αντίστοιχα,. Οι Yan et al. (2011) χρησιμοποίησαν διατροφικά απορρίματα με εξαιρετικά υψηλή περικετικότητα σε άμυλο και πολύ μικρή σε κυτταρίνη, 63,87 ±2,03 % w/w και 1,98 ±0,36 % w/w αντίστοιχα.

7.2 Θεωρητική Μέγιστη Απόδοση Βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς

Η σύσταση του βιολογικού αποβλήτου, που δίνεται στον **Πίνακα 7.1**, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της μέγιστης επιτεύξιμης απόδοσης βιοαιθανόλης.

Αυτό απαιτεί τις παραδοχές ότι τα συστατικά είναι κλασματικά, σακχαροποιημένα σε μονοσακχαρίτες, έχουν υποστεί ζύμωση με απόδοση 100% και ότι η D-γλυκόζη και όλες οι άλλες εξόζες είναι ζυμώσιμες σε αιθανόλη, ενώ οι D-ξυλόζη και D-αραβινόζη δεν είναι.

Η θεωρητική απόδοση της αιθανόλης υπολογίζεται, σύμφωνα με την σχέση:



Αντίδραση	1 C ₆ H ₁₂ O ₆	→	2 C ₂ H ₅ OH	+	2 CO ₂
mole	x		2x		2x
g	1				
Mr	180		46		44

Από τη στοιχειομετρία της αντίδρασης προκύπτει ότι 1g γλυκόζης μπορεί να αποδώσει (2*46)/180= 0,511 g αιθανόλης.

Πίνακας 7.2. Θεωρητική απόδοση βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα

Παράμετρος	% w/w (ξηρής βάσης)	Γλυκόζη (g/100g ξηρού βιοαποβλήτου)	Βιοαιθανόλη (g/100g ξηρού βιοαποβλήτου)
Πρωτεΐνες	13,50		
Λίπη και έλαια	11,65		
TSS	35,01		
TRS	7,83	6,26	3,19
Γλυκόζη	1,4		
Υδατάνθρακες	39,84		
Κυτταρίνη	7,82	8,69	4,43
Ημικυτταρίνη	11,91		
Άμυλο	8,06	8,95	4,56
	Σύνολο	23,90	12,18

Έχοντας υπολογίσει την απόδοση βιοαιθανόλης σε μονάδες μάζας και δεδομένης της πυκνότητας της αιθανόλης, η οποία ισούται με 0,789 g/mL, 0,511 g αιθανόλης ή 0,648 mL αιθανόλης παράγονται από 1 g γλυκόζης.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η θεωρητική μέγιστη απόδοση βιοαιθανόλης υπολογίζεται ίση με 15,44 mL βιοαιθανόλης/100 g ξηρού βιοαποβλήτου ή 0,15 L βιοαιθανόλης/ kg ξηρού βιοαποβλήτου.

7.3 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος

NS22109 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου

Στον ακόλουθο Πίνακα 7.3 παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109. Στο τέλος κάθε πειράματος, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση. Συγκεκριμένα, το στερεό υπόλειμμα αναλύθηκε ως προς τα ολικά και πηκτικά στερεά, την περιεκτικότητα σε άνθρακα και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) (Πίνακας 7.3). Το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση οργανικού άνθρακα, αζώτου και ελεύθερης γλυκόζης (Πίνακας 7.4).

Πίνακας 7.3. Ανάλυση στερεού υπολείμματος κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	TSαρχ (g)	TStελ (g)	C (% w/w)	VS (% w/w)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)
A1	0	12,55±0,18	7,77±0,60	54,90±0,40	90,30±0,70	11,70±0,10	12,90±0,30
A2	0,8	12,57±0,30	6,91±0,05	53,13±0,30	91,70±0,40	8,29±0,03	12,31±0,50
A3	1,7	12,57±0,20	6,81±0,90	56,66±0,20	89,80±0,54	7,82±0,30	11,96±0,70
A4	2,5	12,51±0,20	6,57±0,05	55,03±0,30	91,90±0,18	6,20±0,80	11,50±0,90
A5	3,3	12,56±0,50	6,63±0,05	55,89±0,20	92,90±0,30	6,87±0,30	12,64±0,60

TSαρχ: Αρχική ποσότητα προξηραμένου βιοαποβλήτου

TSτελ: Ξηρό υπόλειμμα

Πίνακας 7.4. Ανάλυση υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	TOC (g/L)	TN (mg/L)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
A1	11,45±0,03	543±0,20	1,43±0,22
A2	11,75±0,70	543±0,20	9,80±0,87
A3	13,18±0,40	583±0,30	11,42±0,94
A4	15,99±0,12	600±0,22	16,37±0,36
A5	14,25±0,20	601±0,30	10,76±0,80

Το υπερκείμενο αραιώθηκε στα 100mL και υπολογίστηκε η συγκέντρωσή του

Από τις συγκεντρώσεις του αζώτου στην υγρή φάση μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η υδρόλυση των αζωτούχων ενώσεων (κυρίως πρωτεϊνικών συστατικών) είναι περιορισμένη και ανεξάρτητη από την προσθήκη του αμυλολυτικού ενζύμου.

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας λήφθηκε η ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{υδρόλυση} = \frac{\text{Αρχικό } A \text{ (g)} - \text{Τελικό } A \text{ (g)}}{\text{Αρχικό } A \text{ (g)}} * 100\%$$

Όπου A:

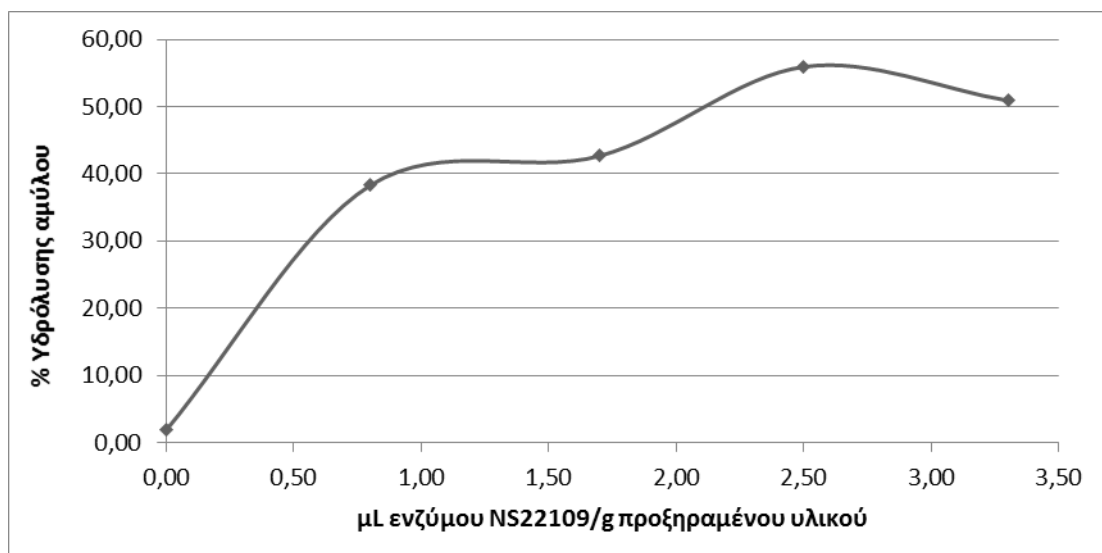
- TS
- VS
- άνθρακας στη στερεή φάση
- άμυλο

Επίσης, υπολογίστηκε η % απόδοση σε γλυκόζη με βάση τη μέγιστη θεωρητική απόδοση γλυκόζης από τη βιομετατροπή των μη δομικών σακχάρων και του αμύλου (6,26+8,95=15,21g γλυκόζης/100g προξηραμένου βιοαποβλήτου).

Πίνακας 7.5. Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 ($\mu\text{L/g}$ προξηραμένου υλικού)	% υδρόλυσης TS	% υδρόλυσης VS	% υδρόλυσης Cs	% υδρόλυσης αμύλου	% απόδοση σε γλυκόζη
A1	0	32,37	29,67	30,42	1,88	8,21
A2	0,8	39,96	36,60	40,22	38,28	55,98
A3	1,7	40,88	38,85	37,22	42,67	65,21
A4	2,5	42,67	39,32	40,87	55,92	93,89
A5	3,3	42,36	38,33	39,63	50,89	61,49

Τα ποσοστά υδρόλυσης των στερεών είτε εκφρασμένα σε ολικά ή πτητικά στερεά είτε σε όρους οργανικού άνθρακα στο στερεό μεταβάλλονται με ανάλογο τρόπο. Μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι σε όλες τις πειραματικές δοκιμές λαμβάνει χώρα υδρόλυση του υδατοδιαλυτού κλάσματος του βιοαποβλήτου (όπως καταδεικνύει το πείραμα A1), αλλά και του οργανικού κλάσματος του βιοαποβλήτου. Αν λάβει κανείς υπόψη του και τα ποσοστά υδρόλυσης του αμύλου, που κυμαίνονται από 38,28-55,92%, μπορεί να πει με ασφάλεια ότι υδρολύεται ο βασικός δομικός πολυσακχαρίτης, το άμυλο. Ως εκ τούτου, η προσθήκη του αμυλολυτικού ενζυμικού σκευάσματος NS22109 αποτελεσματικά συνέβαλε στην υδρόλυση του αμύλου. Από το **Σχήμα 7.1** φαίνεται παραστατικά η επίδραση του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση του αμύλου του βιοαποβλήτου.



Σχήμα 7.1. Επίδραση της δόσης του ενζύμου NS22109 (αμυλάσης) στο ποσοστό της υδρόλυσης του αμύλου

Από το **Σχήμα 7.1** είναι προφανές ότι η βέλτιστη δόση αμυλολυτικού σκευάσματος είναι 2,50 μL ενζύμου NS22109/g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται

υδρόλυση του αμύλου 55,92% και ταυτόχρονη παραγωγή ελευθερης γλυκόζης 93,89%.

7.4 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου

Στον ακόλουθο Πίνακα παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177. Στο τέλος κάθε πειράματος, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση. Συγκεκριμένα, το στερεό υπόλειμμα αναλύθηκε ως προς τα ολικά και πτητικά στερεά, την περιεκτικότητα σε άνθρακα και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) (Πίνακας 7.6). Το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση οργανικού άνθρακα, αζώτου και ελεύθερης γλυκόζης (Πίνακας 7.7).

Πίνακας 7.6. Ανάλυση στερεού υπολείμματος κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 (μL/γπροξηρα μένου υλικού)	TSαρχ (g)	TΣτελ (g)	C (%w/w)	VS (%w/w)	Άμυλο (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)
C1	0	12,52±0,20	7,28±0,60	55,08±0,40	91,40±0,40	11,65±0,03	12,31±0,50
C2	10	12,58±0,18	5,59±0,05	54,50±0,20	83,00±0,30	12,43±0,10	11,34±0,30
C3	15	12,52±0,30	5,29±0,20	53,70±0,30	79,60±0,54	12,01±0,30	10,34±0,60
C4	20	12,61±0,20	5,09±0,30	55,24±0,18	82,80±0,20	11,55±0,70	8,62±0,50

TΣαρχ: Αρχική ποσότητα προξηραμένου βιοαποβλήτου

TΣτελ: Ξηρό υπόλειμμα

Πίνακας 7.7. Ανάλυση υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	TOC (g/L)	TN (mg/L)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
-----	-----------	--------------	------------------------------

C1	11,34±0,20	564±0,20	1,78±0,20
C2	17,66±0,03	660±0,18	5,73±0,30
C3	18,20±0,40	687±0,30	6,96±0,70
C4	19,61±0,12	726±0,22	11,09±0,30

Το υπερκείμενο αραιώθηκε στα 100mL και υπολογίστηκε η συγκέντρωσή του

Από τις συγκεντρώσεις του αζώτου στην υγρή φάση μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η υδρόλυση των αζωτούχων ενώσεων (κυρίως πρωτεϊνικών συστατικών) είναι περιορισμένη και ανεξάρτητη από την προσθήκη του αμυλολυτικού ενζύμου.

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας λήφθηκε η ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{υδρόλυση} = \frac{\text{Αρχικό } A (g) - \text{Τελικό } A (g)}{\text{Αρχικό } A (g)} * 100\%$$

Όπου A:

- TS
- VS
- άνθρακας στη στερεή φάση
- άμυλο
- κυτταρίνη.

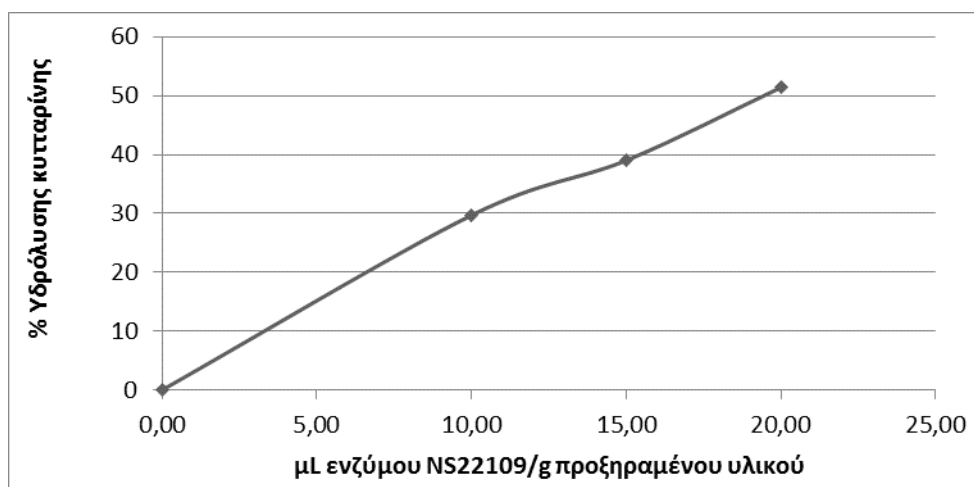
Επίσης, υπολογίστηκε η % απόδοση σε γλυκόζη με βάση τη μέγιστη θεωρητική απόδοση γλυκόζης από τη βιομετατροπή των μη δομικών σακχάρων και της κυτταρίνης (6,26+8,69=14,95 γλυκόζης/100gπροξηραμένου βιοαποβλήτου).

Πίνακας 7.8. Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του **κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°Cγια 5h

A/A	NS22177(μL/ g προξηραμένο υ υλικού)	% υδρόλυσης TS	% υδρόλυσης VS	% υδρόλυσης Cs	% υδρόλυσης αμύλου	% απόδοση σε γλυκόζη	% υδρόλυσης κυτταρίνης
C1	0	36,49	33,14	34,44	8,24	10,38	0,02
C2	10	51,51	53,65	50,48	25,26	33,25	29,69
C3	15	53,87	57,71	53,57	31,29	40,60	39,00
C4	20	55,90	57,95	54,35	36,84	64,24	51,39

Τα ποσοστά υδρόλυσης των στερεών είτε εκφρασμένα σε ολικά ή πτητικά στερεά είτε σε όρους οργανικού άνθρακα στο στερεό μεταβάλλονται με ανάλογο τρόπο. Μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι σε όλες τις πειραματικές δοκιμές λαμβάνει χώρα υδρόλυση του υδατοδιαλυτού κλάσματος του βιοαποβλήτου (όπως καταδεικνύει το πείραμα C1), αλλά και του οργανικού κλάσματος του βιοαποβλήτου. Αν λάβει κανείς υπόψη του και τα ποσοστά υδρόλυσης του αμύλου, που κυμαίνονται από 25,26-36,84%, μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι το κυτταρυνολυτικό σκεύασμα περιέχει και αμυλολυτικά ένζυμα, γεγονός το οποίο αναφέρεται και στη βιβλιογραφία. Ως προς τη υδρόλυση της κυτταρίνης τα ποσοστά υδρόλυσης κυμάνθηκαν από 29,69 έως 51,39% με την εφαρμογή του κυτταρυνολυτικού σκευάσματος NS22177. Από τα αποτελέσματα του τυφλού πειράματος (πείραμα χωρίς προσθήκη ενζύμου C1) διαπιστώνεται ότι η υδρόλυση της κυτταρίνης είναι αμελητέα, ενώ του αμύλου ανέρχεται σε 8,24%, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι μέρος του αμύλου είναι υδατοδιαλυτό.

Από το **Σχήμα 7.2** φαίνεται παραστατικά η επίδραση του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση της κυτταρίνης του βιοαποβλήτου.



Σχήμα 7.2. Επίδραση της δόσης του ενζύμου NS22177(κυτταρινάση) στο ποσοστό της υδρόλυσης κυτταρίνης

Από το **Σχήμα 7.2** είναι προφανές ότι η βέλτιστη δόση κυτταρυνολυτικού σκευάσματος από τις δόσεις που εξετάστηκαν είναι 20μL ενζύμου NS22177/g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται υδρόλυση κυτταρίνης 51,39% και ταυτόχρονη παραγωγή ελεύθερης γλυκόζης 64,24%. Είναι επίσης εμφανές ότι η απόδοση υδρόλυσης της κυτταρίνης αυξάνεται σχεδόν γραμμικά με τη δόση του

κυτταρινολυτικού σκευάσματος για το εύρος τιμών που εξετάστηκε. Για το λόγο αυτό πρόταση για μελλοντική έρευνα θα ήταν η μελέτη μεγαλύτερων δόσεων NS22177. Όμως, δεν πρέπει να παραγνωρίζει κανείς τη συνεισφορά του κόστους των ενζύμων στη συνολική οικονομική βιωσιμότητα της βιοδιεργασίας.

7.5 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του μίγματος των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου

Στον ακόλουθο Πίνακα 7.9 παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του μίγματος των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233. Στο τέλος κάθε πειράματος, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση. Συγκεκριμένα, το στερεό υπόλειμμα αναλύθηκε ως προς τα ολικά και πτητικά στερεά, την περιεκτικότητα σε άνθρακα και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) (Πίνακας 7.9). Το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση οργανικού άνθρακα, αζώτου και ελεύθερης γλυκόζης (Πίνακας 7.10).

Πίνακας 7.9. Ανάλυση στερεού υπολείμματος κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του μίγματος των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 - NS22233 (4.4:1 v/v) (μL/g προξηραμένου υλικού)	TSαρχ (g)	TΣτελ (g)	C (%w/w)	VS (%w/w)	Άμυλο (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)
CM1	0	12,52±0,20	7,28±0,30	55,08±0,20	91,40±0,20	11,97±0,20	12,23±0,50
CM2	11.7	12,50±0,30	5,64±0,20	55,58±0,20	88,40±0,40	12,29±0,10	11,88±0,60
CM3	17.5	12,53±0,30	5,53±0,40	55,66±0,30	84,60±0,30	12,35±0,50	11,24±0,50
CM4	23.0	12,58±0,20	5,78±0,30	54,77±0,40	90,20±0,20	11,78±0,03	11,19±0,30

TSαρχ: Αρχική ποσότητα προξηραμένου βιοαποβλήτου

TΣτελ: Ξηρό υπόλειμμα

Πίνακας 7.10. Ανάλυση υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του μίγματος των **κυτταριολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233**. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	TOC (g/L)	TN (mg/L)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
CM1	11,34±0,30	564±0,30	1,67±0,30
CM2	18,82±0,20	778±0,20	4,87±0,20
CM3	19,91±0,40	796±0,22	9,23±0,60
CM4	18,20±0,20	728±0,40	5,54±0,30

Το υπερκείμενο αραιώθηκε στα 100mL και υπολογίστηκε η συγκέντρωσή του

Από τις συγκεντρώσεις του αζώτου στην υγρή φάση μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η υδρόλυση των αζωτούχων ενώσεων (κυρίως πρωτεϊνικών συστατικών) είναι περιορισμένη και ανεξάρτητη από την προσθήκη του αμυλολυτικού ενζύμου.

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας λήφθηκε η ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{υδρόλυση} = \frac{\text{Αρχικό } A \text{ (g)} - \text{Τελικό } A \text{ (g)}}{\text{Αρχικό } A \text{ (g)}} * 100\%$$

Όπου A:

- TS
- VS
- άνθρακας στη στερεή φάση
- άμυλο
- κυτταρίνη

Επίσης, υπολογίστηκε η % απόδοση σε γλυκόζη με βάση τη μέγιστη θεωρητική απόδοση γλυκόζης από τη βιομετατροπή των μη δομικών σακχάρων και της κυτταρίνης (6,26+8,69=14,95 gγλυκόζης/100gπροξηραμένου βιοαποβλήτου).

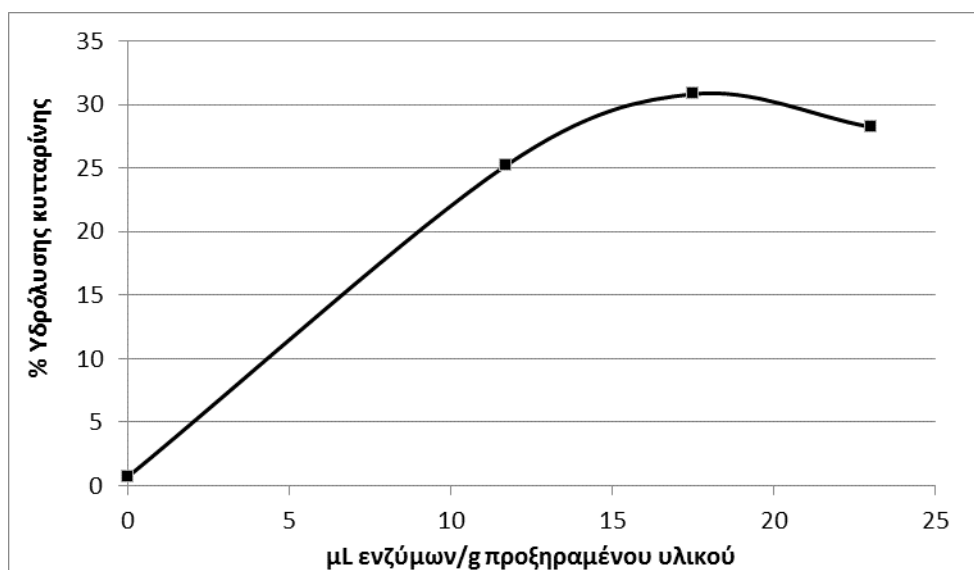
Πίνακας 7.11. Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του μίγματος των **κυτταριολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233**. Συνθήκες:

20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 - NS22233 (4.4:1 v/v) (μL/g προξηραμέ νου υλικού)	% υδρόλυσης TS	% υδρόλυσης VS	% υδρόλυσης Cs	% υδρόλυσης αμύλου	% απόδοση σε γλυκόζη	% υδρόλυσης κυτταρίνης
CM1	0	36,49	33,14	34,44	5,72	9,74	0,67
CM2	11.7	50,76	49,86	48,71	24,95	28,45	25,19
CM3	17.5	51,88	53,11	49,80	26,30	53,77	30,83
CM4	23.0	49,84	47,89	48,52	26,73	32,16	28,22

Τα ποσοστά υδρόλυσης των στερεών είτε εκφρασμένα σε ολικά ή πτητικά στερεά είτε σε όρους οργανικού άνθρακα στο στερεό μεταβάλλονται με ανάλογο τρόπο. Μπορεί να συμπεράνει κανείς και σε αυτή την περίπτωση ότι σε όλες τις πειραματικές δοκιμές λαμβάνει χώρα υδρόλυση του υδατοδιαλυτού κλάσματος του βιοαποβλήτου (όπως καταδεικνύει το πείραμα CM1), αλλά και του οργανικού κλάσματος του βιοαποβλήτου. Αν λάβει κανείς υπόψη του και τα ποσοστά υδρόλυσης του αμύλου, που κυμαίνονται από 24,95-26,73%, μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι το κυτταρολυτικό σκεύασμα NS22177 περιέχει και αμυλολυτικά ένζυμα, γεγονός το οποίο παρατηρήθηκε και στα προηγούμενα πειράματα (C2-C4). Ως προς τη υδρόλυση της κυτταρίνης τα ποσοστά υδρόλυσης κυμάνθηκαν από 25,19-30,83% με την εφαρμογή του μίγματος των κυτταρολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233.

Από το **Σχήμα 7.3** φαίνεται παραστατικά η επίδραση του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση της κυτταρίνης του βιοαποβλήτου.



Σχήμα 7.3. Επίδραση της δόσης του μίγματος των **κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233** στο ποσοστό της υδρόλυσης κυτταρίνης

Από το **Σχήμα 3** είναι προφανές ότι η βέλτιστη δόση του μίγματος (4.4:1 v/v) των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων *NS22177* και *NS22233* είναι 17,5 μL/g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται υδρόλυση κυτταρίνης 30,83% και ταυτόχρονη παραγωγή ελευθερης γλυκόζης 53,77%.

Από τη σύγκριση των βέλτιστων αποδόσεων των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων προκύπτει ότι το ενζυμικό σκεύασμα *NS22177* επιτυγχάνει την υψηλότερη απόδοση στην υδρόλυση της κυτταρίνης (51,39%) όταν προστίθενται 20μL/g προξηραμένου υλικού.

7.6 Επίδραση της προεπεξεργασίας στην ενζυμική υδρόλυση του βιοαποβλήτου

Στον ακόλουθο **Πίνακα 7.12** παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της επίδρασης της προεπεξεργασίας στην ενζυμική υδρόλυση οικιακού ΒΑ με την προσθήκη του αμυλολυτικού σκευάσματος *NS22109*. Στο τέλος κάθε πειράματος, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και αναλύθηκαν η στερεή και η υγρή φάση. Συγκεκριμένα, το στερεό υπόλειμμα αναλύθηκε ως προς τα ολικά και πτητικά στερεά, την περιεκτικότητα σε άνθρακα και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) (**Πίνακας 7.12**). Το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση οργανικού άνθρακα, αζώτου και ελεύθερης γλυκόζης (**Πίνακας 7.13**).

Πίνακας 7.12. Ανάλυση στερεού υπολείμματος κατά τη μελέτη της επίδρασης της **προεπεξεργασίας** στην ενζυμική υδρόλυση οικιακού ΒΑ. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h με προσθήκη *NS22109*

A/A	Προεπεξεργασία	NS22109 (μL/g προξηραμέ νου υλικού)	TSαρχ (g)	TΣτελ (g)	%C	%VS	Άμυλο (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)
PR1	Υδροθερμική 100°C 1h	0	12,55	6,95	52,94	92,00	10,24	12,70
PR2	Υδροθερμική 100°C 1h	2,5	12,51	6,68	56,20	92,30	7,37	12,78
PR3	Κοσκίνιση	0	9,13	5,29	54,69	92,20	11,62	12,32

PR4	Κοσκίνιση	2,5	9,12	5,00	55,70	89,90	6,15	11,98
PR5	Ελαιο-εξαγωγή	0	7,97	5,12	49,05	84,90	11,14	12,03
PR6	Ελαιο-εξαγωγή	2,5	8,12	4,28	48,53	86,50	5,85	13,50

TSαρχ: Αρχική ποσότητα προξηραμένου βιοαποβλήτου

TΣτελ: Ξηρό υπόλειμμα

Πίνακας 7.13. Ανάλυση υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της προεπεξεργασίας στην ενζυμική υδρόλυση οικιακού ΒΑ. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h με προσθήκη NS22109

A/A	Προεπεξεργασία	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	TOC (g/L)	TN (mg/L)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
PR1	Υδροθερμική 100°C 1h	0	11,53	677	1,50
PR2	Υδροθερμική 100°C 1h	2,5	16,85	595	8,36
PR3	Κοσκίνιση	0	11,29	516	1,68
PR4	Κοσκίνιση	2,5	12,73	535	9,81
PR5	Ελαιο-εξαγωγή	0	10,40	524	1,40
PR6	Ελαιο-εξαγωγή	2,5	14,19	579	11,02

Το υπερκείμενο αραιώθηκε στα 100mL και υπολογίστηκε η συγκέντρωσή του

Από τις συγκεντρώσεις του αζώτου στην υγρή φάση μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η υδρόλυση των αζωτούχων ενώσεων (κυρίως πρωτεϊνικών συστατικών) είναι περιορισμένη και ανεξάρτητη από την προσθήκη του αμυλολυτικού ενζύμου.

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας λήφθηκε η ακόλουθη εξίσωση:

$$\% \text{υδρόλυση} = \frac{\text{Αρχικό } A \text{ (g)} - \text{Τελικό } A \text{ (g)}}{\text{Αρχικό } A \text{ (g)}} * 100\%$$

Όπου A:

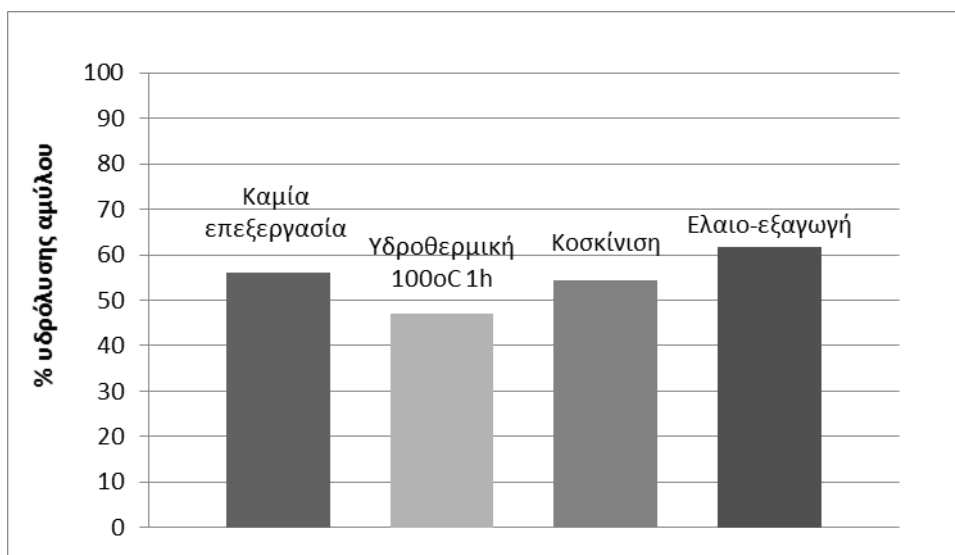
- TS
- VS
- άνθρακας στη στερεή φάση
- άμυλο

Επίσης, υπολογίστηκε η % απόδοση σε γλυκόζη με βάση τη μέγιστη θεωρητική απόδοση γλυκόζης από τη βιομετατροπή των μη δομικών σακχάρων και του αμύλου ($6,26+8,95=15,21$ gγλυκόζης/100gπροξηραμένου βιοαποβλήτου).

Πίνακας 7.14. Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης της **προεπεξεργασίας** στην ενζυμική υδρόλυση οικιακού ΒΑ. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h με προσθήκη NS22109

A/A	Προεπεξεργασία	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	% υδρόλυσης TS	% υδρόλυσης VS	% υδρόλυσης Cs	% υδρόλυσης αμύλου	% απόδοση σε γλυκόζη
A1	-	0	32,37	29,67	30,42	1,88	8,21
A4	-	2,5	42,67	39,32	40,87	55,92	93,89
PR1	Υδροθερμική 100°C 1h	0	39,54	36,06	40,01	23,22	8,56
PR2	Υδροθερμική 100°C 1h	2,5	41,89	38,35	38,80	46,90	47,79
PR3	Κοσκίνιση	0	36,79	32,88	35,22	8,91	13,17
PR4	Κοσκίνιση	2,5	40,18	38,06	37,55	54,38	77,19
PR5	Ελαιο-εξαγωγή	0	35,82	37,24	41,00	11,33	11,57
PR6	Ελαιο-εξαγωγή	2,5	47,31	47,51	52,09	61,78	89,28

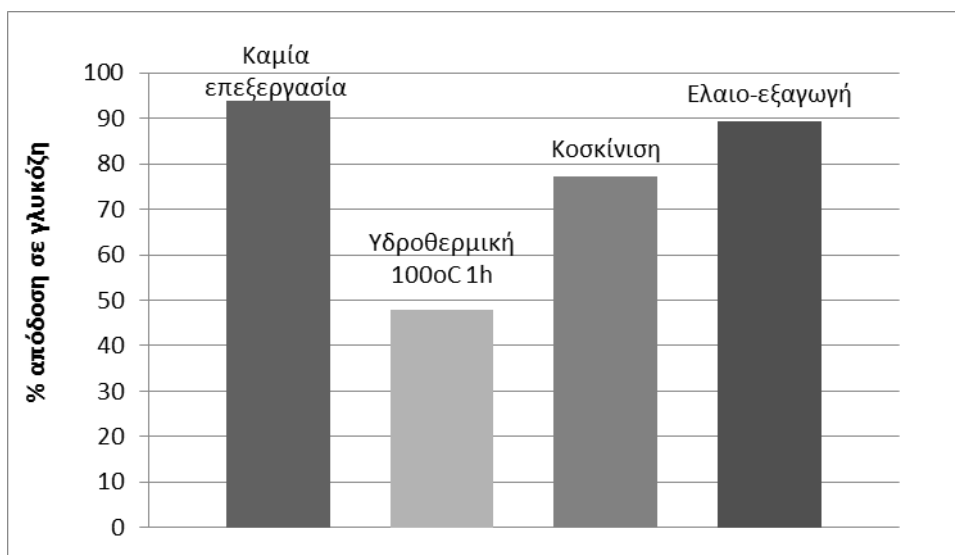
Από τη σύγκριση των «τυφλών» πειραμάτων χωρίς προσθήκη ενζυμικού σκευάσματος (A1, PR1, PR3, PR5) παρατηρείται ότι η υδροθερμική προεπεξεργασία επιτυγχάνει πολύ υψηλή υδρόλυση των στερεών 41,89% με ταυτόχρονη υψηλή υδρόλυση αμύλου 23,22%, γεγονός που υποδηλώνει τη διαλυτοποίηση του αμύλου στις συνθήκες της εν λόγω προεπεξεργασίας. Στο **Σχήμα 7.4** φαίνεται παραστατικά η επίδραση της προεπεξεργασίας στην υδρόλυση του αμύλου όταν γίνεται προσθήκη αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 2,5 μL/g προξηραμένου υλικού.



Σχήμα 7.4. Επίδραση της προεπεξεργασίας στο ποσοστό υδρόλυσης του αμύλου Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h με προσθήκη NS22109 2,5 μL/g προξηραμένου υλικού

Από το **Σχήμα 7.4** είναι προφανές ότι η υψηλότερη απόδοση ως προς την υδρόλυση του αμύλου με εφαρμογή της βέλτιστης δόσης αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 2,50μL /g προξηραμένου υλικού είναι 61,78% και επιτεύχθηκε όταν εφαρμόστηκε προεπεξεργασία ελαιο-εξαγωγής. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι απουσία προεπεξεργασίας το αντίστοιχο ποσοστό ανήλθε σε 55,92%. Η διαφορά αυτή δεν είναι ικανή ώστε να προκρίνει κανείς την προεπεξεργασία της ελαιο-εξαγωγής ως δόκιμη λύση, ειδικά αν αναλογιστεί κανείς την παράμετρο του κόστους.

Πέρα του ποσοστού υδρόλυσης του αμύλου, κρίσιμη παράμετρος αριστοποίησης είναι το ποσοστό απόδοσης σε γλυκόζη, δεδομένου ότι ο τελικός στόχος είναι η παραγωγή βιοαιθανόλης. Στο **Σχήμα 7.5** φαίνεται παραστατικά η επίδραση της προεπεξεργασίας στη % απόδοση σε γλυκόζη όταν γίνεται προσθήκη αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 2,5 μL/g προξηραμένου υλικού.



Σχήμα 7.5. Επίδραση της προεπεξεργασίας στην % απόδοση γλυκόζης. Συνθήκες: 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h με προσθήκη NS22109 2,5 μL/g προξηραμένου υλικού

Από το **Σχήμα 7.5** παρατηρείται ότι η μέγιστη απόδοση σε γλυκόζη είναι ίση με 93,89% απουσία προεπεξεργασίας, ενώ όταν εφαρμόζεται η προεπεξεργασία της ελαιοεξαγωγής στα οικιακά απορρίμματα επιτυγχάνεται ένα ποσοστό της τάξης του 89%.

Συμπερασματικά, η εφαρμογή προεπεξεργασίας δεν συνεισφέρει θετικό αποτέλεσμα στην ενζυμική υδρόλυση των προξηραμένων οικιακών απορριμμάτων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η διαδικασία της προξήρανσης και άλεσης των νωπών οικιακών απορριμμάτων συνιστά από μόνη της ικανοποιητική προεπεξεργασία.

7.7 Παραγωγή αιθανόλης από προξηραμένο βιοαπόβλητο με εφαρμογή μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης

Λαμβάνοντας υπόψη τα πειραματικά αποτελέσματα μελέτης της επίδρασης τόσο της προεπεξεργασίας, όσο και του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση προξηραμένων οικιακών απορριμμάτων, εξήχθη το συμπέρασμα ότι οι βέλτιστες συνθήκες σακχαροποίησης των δομικών σακχάρων (αμύλου και κυτταρίνης) είναι οι ακόλουθες:

- Καμία προεπεξεργασία

- 2,50μL ενζύμου NS22109/g προξηραμένου υλικού στους 65°C για 1h
- 20μL ενζύμου NS22177/g προξηραμένου υλικού στους 50°C για 5h

Έτσι, αποφασίστηκε να διεξαχθεί σειρά πειραμάτων ζύμωσης 20% β/ο ξηρού βιοαποβλήτου υπό τις ανωτέρω συνθήκες.

Από τα πειράματα αυτά προέκυψε στερεό υπόλειμμα ($5,14 \pm 0,12\text{g}$) περιεκτικότητας $1,45 \pm 0,07\%$ άμυλο και $8,79 \pm 0,7\%$ κυτταρίνη, ενώ το υπερκείμενο υγρό αραιωμένο σε όγκο 100mL είχε συγκέντρωση σε ελεύθερη γλυκόζη 670mg/L και σε αιθανόλη 7,14g/L. Υπολογίζοντας τις επιτευχθείσες αποδόσεις, προέκυψε απόδοση υδρόλυσης στερεών 55,26%, υδρόλυσης αμύλου 91,96% και υδρόλυσης κυτταρίνης 49,66%. Ως προς την παραγωγή αιθανόλης προέκυψε 6,21g αιθανόλης/100g ξηρού βιοαποβλήτου, που αντιστοιχεί σε 51% της θεωρητικής απόδοσης σε αιθανόλη του συγκεκριμένου υποστρώματος.

Συμπερασματικά, όσον αφορά την υδρόλυση του αμύλου προέκυψε ότι η σακχαροποίηση του αμύλου λαμβάνει χώρα καθ'όλη τη διάρκεια της μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης. Αντίθετα, κρίνοντας από την απόδοση της υδρόλυσης της κυτταρίνης, προκύπτει ότι αυτή εντοπίζεται μόνο στο στάδιο της προσθήκης του κυτταρινολυτικού σκευάσματος. Επιπλέον η παραγωγή αιθανόλης θα μπορούσε να αυξηθεί τόσο βελτιώνοντας τις συνθήκες ζύμωσης όσο και αυξάνοντας την απόδοση της υδρόλυσης της κυτταρίνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Συμπεράσματα

Τα προξηραμένα οικιακά βιοαπόβλητα, τα οποία αποτέλεσαν δείγμα των εργαστηριακών πειραμάτων της παρούσας έρευνας, περιείχαν ως προς τους βασικούς δομικούς πολυσακχαρίτες $7,82 \pm 0,2\%$ κυτταρίνη και $8,06 \pm 0,3\%$ άμυλο. Για το υπόστρωμα, λοιπόν, αυτό υπολογίστηκε η θεωρητική μέγιστη απόδοση σε ζυμώσιμα σάκχαρα ίση με **23,90g Γλυκόζη /100g ξηρού βιοαποβλήτου** και η θεωρητική μέγιστη απόδοση βιοαιθανόλης ίση με 15,44 mL βιοαιθανόλης/100 g ξηρού βιοαποβλήτου ή 0,15 L βιοαιθανόλης/ kg ξηρού βιοαποβλήτου.

Προέκυψε ότι η βέλτιστη δόση αμυλολυτικού σκευάσματος είναι 2,50μL ενζύμου NS22109/g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται υδρόλυση του αμύλου 55,92% και ταυτόχρονη παραγωγή ελευθερης γλυκόζης 93,89%.

Η βέλτιστη δόση κυτταρινολυτικού σκευάσματος από τις δόσεις που εξετάστηκαν ήταν 20μL ενζύμου NS22177/g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται υδρόλυση κυτταρίνης 51,39% και ταυτόχρονη παραγωγή ελευθερης γλυκόζης 64,24%. Η απόδοση υδρόλυσης της κυτταρίνης αυξάνεται σχεδόν γραμμικά με τη δόση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος για το εύρος τιμών που εξετάστηκε. Για το λόγο αυτό πρόταση για μελλοντική έρευνα θα ήταν η μελέτη μεγαλύτερων δόσεων NS22177. Όμως, δεν πρέπει να παραγνωρίζει κανείς τη συνεισφορά του κόστους των ενζύμων στη συνολική οικονομική βιωσιμότητα της βιοδιεργασίας. Κατά τη μελέτη του μίγματος (4.4:1 v/v) των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων NS22177 και NS22233 εξήχθη το συμπέρασμα ότι η βέλτιστη δόση ήταν 17,5 μL /g προξηραμένου υλικού, όπου επιτυγχάνεται υδρόλυση κυτταρίνης 30,83% και ταυτόχρονη παραγωγή ελευθερης γλυκόζης 53,77%. Επιπλέον, από τη σύγκριση των βέλτιστων αποδόσεων των κυτταρινολυτικών σκευασμάτων προκύπτει ότι το ενζυμικό σκεύασμα NS22177 επιτυγχάνει την υψηλότερη απόδοση στην υδρόλυση της κυτταρίνης (51,39%) όταν προστίθενται 20 μL/g προξηραμένου υλικού.

Όσον αφορά τη μελέτη της επίδρασης της προεπεξεργασίας, η υψηλότερη απόδοση ως προς την υδρόλυση του αμύλου με εφαρμογή της βέλτιστης δόσης αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 2,50μL/g προξηραμένου υλικού προέκυψε ίση με 61,78% και επιτεύχθηκε όταν εφαρμόστηκε προεπεξεργασία ελαιο-εξαγωγής. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι απουσία προεπεξεργασίας το αντίστοιχο ποσοστό ανήλθε σε 55,92%. Η διαφορά αυτή δεν είναι ικανή ώστε να προκρίνει κανείς την

προεπεξεργασία της ελαιο-εξαγωγής ως δόκιμη λύση, ειδικά αν αναλογιστεί κανείς την παράμετρο του κόστους. Πέρα του ποσοστού υδρόλυσης του αμύλου, κρίσιμη παράμετρος αριστοποίησης είναι το ποσοστό απόδοσης σε γλυκόζη, δεδομένου ότι ο τελικός στόχος είναι η παραγωγή βιοαιθανόλης. Η μέγιστη απόδοση σε ζυμώσιμα σάκχαρα (ελεύθερη γλυκόζη) είναι ίση με 93,89% απουσία προεπεξεργασίας, ενώ όταν εφαρμόζεται η προεπεξεργασία της ελαιοεξαγωγής στα οικιακά απορρίμματα επιτυγχάνεται ένα ποσοστό της τάξης του 89%. Συμπερασματικά, η εφαρμογή προεπεξεργασίας δεν συνεισφέρει θετικό αποτέλεσμα στην ενζυμική υδρόλυση των προξηραμένων οικιακών απορριμμάτων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η διαδικασία της προξήρανσης και άλεσης των νωπών οικιακών απορριμμάτων συνιστά από μόνη της ικανοποιητική προεπεξεργασία.

Λαμβάνοντας υπόψη τα πειραματικά αποτελέσματα μελέτης της επίδρασης τόσο της προεπεξεργασίας, όσο και του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση προξηραμένων οικιακών απορριμμάτων, εξήχθη το συμπέρασμα ότι οι βέλτιστες συνθήκες σακχαροποίησης των δομικών σακχάρων (αμύλου και κυτταρίνης) είναι οι ακόλουθες:

- Καμία προεπεξεργασία
- 2,50μL ενζύμου NS22109/g προξηραμένου υλικού στους 65°C για 1h
- 20μL ενζύμου NS22177/g προξηραμένου υλικού στους 50°C για 5h

Με εφαρμογή της μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης στις ανωτέρω βέλτιστες συνθήκες προέκυψε απόδοση υδρόλυσης αμύλου 91,96% και υδρόλυσης κυτταρίνης 49,66%. Ως προς την παραγωγή αιθανόλης προέκυψε 6,21g αιθανόλης/100g ξηρού βιοαποβλήτου, που αντιστοιχεί σε 51% της θεωρητικής απόδοσης σε αιθανόλη του συγκεκριμένου υποστρώματος. Καταδεικνύεται, λοιπόν, ότι η σακχαροποίηση του αμύλου λαμβάνει χώρα καθ'όλη τη διάρκεια της μη ισοθερμοκρασιακής ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης. Αντίθετα, κρίνοντας από την απόδοση της υδρόλυσης της κυτταρίνης, προκύπτει ότι αυτή εντοπίζεται μόνο στο στάδιο της προσθήκης του κυτταρινολυτικού σκευάσματος. Επιπλέον η παραγωγή αιθανόλης θα μπορούσε να αυξηθεί τόσο βελτιώνοντας τις συνθήκες ζύμωσης όσο και αυξάνοντας την απόδοση της υδρόλυσης της κυτταρίνης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Βιβλιογραφικές Αναφορές

Alamanou, D. G., Malamis, D., Mamma, D., & Kekos, D., Bioethanol from Dried Household Food Waste Applying Non-isothermal Simultaneous Saccharification and Fermentation at High Substrate Concentration. *Waste and Biomass Valorization*, 6(3), (2015), 353-361.

Alberts B., D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Essential cell biology 2*, (1997), 528-553.

Alvira P., E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, M.J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process base on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresource technology* 101 (2010), 4851-4861.

Balat Mustafa, Havva Balat, Cahide Oz, Progress in bioethanol processing, *Progress in Energy and Combustion Science* 34 (2008), 551-273.

Bastos VD., Ethanol, alcohol chemistry and bio-refinery, *BNDES Sectorial* 25 (2007), 5-38.

Biosis, (2011) Προϊόντα – Βιοχημικά – Σάκχαρο GOD – PAP – Οδηγίες χρήσης, http://www.biosis.com.gr/uploads/files/insert_glu.pdf

Cardona Carlos A., Oscar J. Sanchez, Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities, *Bioresource technology* 98 (2007), 2415-2457.

Carlo N Hamelinck, Geertje van Hooijdonk, Andre PC Faaj, Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term, *Biomass and bioenergy* 228 (2005), 384-410.

CCSP. (2011), Corn Refiners Association-Analytical methods-Table of contents-Number SOLUB.02 <https://crachecksample.org/analytical-methods-table-of-contents/>

Chang Rupp P.L., Schwartz S.J. Characterization of the Action of Bacillus-Subtilis Alpha-Amylase on Sweet-Potato Starch, Amylose and Amylopectin. *J. Food Biochem.*, 12, (1988), 191-203.

Demirbas Ayhan, SilaMah, Mekan Sok, Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections, *University of Science and Energy* No. 24, Trabzon, Turkey *Energy Conversion and Management*, 49, (2008), 2106–2116.

- Dordick J.S. Biocatalysis for industry. Plenum Press, NY, (1991).
- EPA.,(2004)Method9045D-SoilandwastepH.
<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/9045d.pdf>
- Fangrui Ma, Milford A. Hanna, Biodiesel production: A review, *Bioresource technology* 70, (1999), 1-15.
- Franco J.M., Murado M.A., Siso M., Miron J., Gonzalez M.P. A HPLC Method for specific Determination of α -amylase and glucoamylase in complex Enzymatic preparations. *Chromatogr.* 27, (1989), 328-332.
- Galbe M. and Zacchi G., Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production, *Advances in Biochemical Engineering, Biotechnology*, 108, (2007), 41-65.
- Haghighi Mood, S., Hossein Golfeshan, A., Tabatabaei, M., Salehi Jouzani, G., Najafi, G. H., Gholami, M., & Ardjmand, M., Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, (2013), 77–93.
- Hamad E.Z., Ijaz W., Ali S.A., Hastaoglu M.A. Influence of polymer structure on protein partitioning in two-phase aqueous systems. *Biotechnol. Prog.*, 12, (1996), 173-177.
- Hawtman, A.C., Duplessis, C.S. The effect of grape cultivar and yeast strain on fermentation rate and concentrations of volatile components in wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 7, (1986),14-20.
- Hayes D.J, An examination of biorefining processes, catalysts and challenges, *Catalysis Today*, 145(1-2), (2009) 138-151.
- Helbert W., Schulein M., Henrissat B. Electron-Microscopic Investigation of the Diffusion of *Bacillus-Licheniformis* α -Amylase into Corn Starch Granules. *Int. J. Biol. Macromol.*, 19,(1996),165-169.
- Hongzhang Chen, Xiaoguo Fu, Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass, *Renewable and sustainable energy reviews* 57 (2016), 468-478.

Klinke HE, Thomsen AB, Ahring BK, Inhibition of ethanol producing yeast and bacteria by degradation products produced by pre-treatment of biomass, *Applied microbiological biotechnology* 66 (2004), 10-26.

Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P., Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & engineering chemistry research*, 48(8), (2008) 3713-3729.

Lee S.K., Chou H., Ham T.S., Lee T.S., Keasling J.D., Metabolic engineering of microorganisms for biofuels production: from bugs to synthetic biology to fuels, *Current Opinion in Biotechnology*, 19(6), (2008), 556-563.

Lisbeth Olsson, Barbel Hahn-Hagerdal, Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production, *Enzyme and Microbial Technology* 18 (1996), 312-331.

Lynd L.R., Weimer P.J., van Zyl W.H., Pretorius I.S., Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology, *Microbiology and Molecular Biology Review* 66 (2002), 506-577.

Madigan M. T., J. M. Marinko, J. Parker, Brock. Βιολογία των Μικροοργανισμών, Τόμος 1, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2005.

Mariotti F. et al., Converting nitrogen into protein beyond 6.25 and Jones' factors 48(2), (2008), 177-84.

Matsakas, L., Kekos, D., Loizidou, M., & Christakopoulos, P., Utilization of household food waste for the production of ethanol at high dry material content. *Biotechnology for biofuels*, 7(1), (2014), 1.

Matsumura M., Kobayashi J., Ishii S., Hirata J. Kinetics of Saccharification of Raw Starch by Glucoamylase. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 42, (1988), 51-67.

Meagher M.M., Reilly P.J. Kinetics of the hydrolysis of Di- and trisaccharides with *Aspergillus niger* glucoamylases I and II. *Biotechnol Bioeng.*, 34, (1989), 689-693.

Megazyme (2016), Total Starch Assay Kit (AA/AMG) - Data booklet-Determination of total starch content of samples containing resistant starch, but no D-glucose and/or maltodextrins. https://secure.megazyme.com/files/Booklet/K-TSTA_DATA.pdf

- Miller, G. L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), (1959) 426-428.
- Miranda M., Murado M.A., Sanroman A., Lema J.M. Mass transfer control of enzymatic hydrolysis of polysaccharides by glucoamylase. *Enzyme Microb. Technol.*, 13, (1991),142-147.
- Mohammad J. Taherzadeh, Keihostro Karimi, Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A Review, *Enzyme-based ethanol*, *BioResources*, 2(4), (2007), 707-738.
- Mosier, Nathan et al., Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass, *Bioresource Technology* 96(6), (2005) 673–86.
- Municipalities, U.o.C. (2014), Τεχνικές διαχείρισης στερεών αποβλήτων, Union of Cyprus Municipalities: ucm.org.cy/DocumentStream.aspx?ObjectID=551.
- Natarajan S., Sierks M.R. Identification of Enzyme-Substrate and Enzyme-Product Complexes in the Catalytic Mechanism of Glucoamylase from *Aspergillus awamori*. *Biochemistry*, 35, (1996).
- Nathan Mosier, Charles Wyman, Bruce Dale, Richard Elander, Y.Y. Lee, Mark Holtzapple, Michael Ladisch, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology*, 96, (2005), 673-686.
- Oscar J. Sanchez, Carlos A. Cardona, Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks, *Bioresource Technology* 99 (2008), 5270-5295.
- Palmqvist E, Hahn-Hagerdal B., Fermentation of lignocellulosic hydrolysates II: Inhibitors and mechanisms of inhibition, *Bioresource technology* 74 (2000), 25-33.
- Pescott, Harley, Klein, *Microbiology*, McGraw-Hill Education, 2007.
- Pomeranz & Meloan (1994 (a)). *Food analysis: theory and practice* (3rd ed.). New York: Chapman & Hall.
- Pomeranz, Y., & Meloan, C. (1994 (b)). *Food analysis: theory and practice* (3rd ed.). New York: Chapman & Hall.
- Preparatory Study on Food Waste Across EU 27 (2010) Technical Report-2010-054 European Commission.

Ress W., Sustainable Development: Economic Myths and Ecological Realities, Trumpeter, 5 (1998).

Ripa M., G. Fiorentino, H. Giani, A. Clausen, S. Ulgiati, Refuse recovered biomass fuel from municipal solid waste. A life cycle assessment, Applied Energy 186 (2017) 211–225.

Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2005), Determination of extractives in biomass. NREL Laboratory Analytical Procedure. National Renewable Energy Laboratory Golden, CO.

Sánchez O.J., Cardona C.A., Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks, Bioresource Technology, 99 (13), (2008) 5270-5295.

Sanroman A., Murado M.A., Lema J.M. The Influence of Substrate Structure on the Kinetics of the Hydrolysis of Starch by Glucoamylase. Appl. Biochem. Biotechnol., 59, (1996) 329-336.

Schomburg D. and Salzmann M. (Eds). Enzyme Handbook. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, (1991).

Shevelkova A.N., Sinitsyn A.P., A Study of the Synergistic Action Alpha-Amylase and Glucoamylase on Soluble and Insoluble Amylose, Biochem.Moscow, 58, (1993), 1134- 1138.

Sluiter, A., (2008) Determination of structural carbohydrates and lignin biomass. Laboratory Analytical Protocol, National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO.

Sotiropoulos, A., Vourka, I., Erotokritou, A., Novakovic, J., Panaretou, V., Vakalis, S., Thanos, T., Moustakas, K., & Malamis, D. Combination of decentralized waste drying and SSF techniques for household biowaste minimization and ethanol production. Waste Management, 52, (2016) 353-359.

Sudiyani, Y., Corneliasari, S., & Adilina, I. B., Bioethanol G2: Production Process and Recent Studies In Environmental Protection (2014), 345–362.

Sun Z.T., Henson C.A. A Quantitative Assessment of the Importance of Barley Seed Alpha-Amylase, Beta-Amylase, Debranching Enzyme, and Alpha-Glucosidase in Starch Degradation. Arch. Biochem. Biophys., 284, (1991), 298-305.

Sun Ye, Jiayang Cheng, Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review, *Bioresource Technology* 83 (2002), 1-11.

Textor S.D., Hill G.A., Macdonald D.G., Stdenis E. Cold Enzyme Hydrolysis of Wheat Starch Granules. *Can. J. Chem. Eng.*, 76, (1998), 87-93.

Tomás-Pejó E., Oliva J.M., Ballesteros M., Realistic approach for full-scale bioethanol production from lignocellulose: A review, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67(11), (2008), 874-84.

Vohra Mustafa, Jagdish Manwar, Rahul Manmode, Satish Padgilwar, Sanjay Patil, Bioethanol production: Feedstock and current technologies, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2 (2014), 573-584.

Vouitsis Ilias, Savvas Geivanidis, Zissis Samaras, Liquid biofuels in Greece – Current status in production and research, *Journal of Renewable and Sustainable Energy* 6 (2014).

Waste2bio project (2015), Τεχνική Έκθεση Καταγραφής των Τεχνικών Διαχείρισης και Επεξεργασίας των Βιοαποβλήτων.

Webb, A. D., Ingraham, J. L. Fusel oil. *Advances in applied microbiology*, 5, (1963), 317-353.

Wojtusik, M., Zurita, M., Villar, J.C., Ladero, M., Garcia-Ochoa, F., Influence of fluid dynamic conditions on enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: effect of mass transfer rate, *Bioresource Technology* (2016).

Wyman C.E., Dale B.E., Elander R.T., Holtzapple M., Ladisch M.R., Lee Y.Y., Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies, *Bioresource Technology* 96 (2005), 1959-1966.

Yan, S., Li, J., Chen, X., Wu, J., Wang, P., Ye, J., & Yao, J., Enzymatical hydrolysis of food waste and ethanol production from the hydrolysate. *Renewable Energy*, 36(4), (2011), 1259-1265.

Yoshioka, K., Hashimoto, N. Ester formation by brewer's yeast during sugar fermentation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 48 (2) (1984), 333-340.

Zanin G.M., Demoraes F.F. Modeling Cassava Starch Saccharification with Amyloglucosidase. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 57-8, (1996), 617-625.

Zhuang Xinshu, Wen Wang, Qiang Yu, Wei Qi, Qiong Wang, Xuesong Tan, Guixiong Zhou, Zhenhing Yuan, Liquid hot water pretreatment of lignocellulosic biomass for bioethanol production accompanying with high valuable products, *Bioresource Technology* 199, (2016), 68-75.

Αθανασάκης Α. και Κουσούρης Θ.(1999), Περιβάλλον και οικολογία στην εκπαίδευση, Εκδόσεις Δαρδάνος, Αθήνα.

Δήμου Κ. (2015), Παραγωγή βιοαιθανόλης από στελέχη βαμβακιού, Διπλωματική εργασία, Ε.Μ.Π.

Δόγαρης Ι. (2009) Σχεδιασμός ολοκληρωμένης διεργασίας παραγωγής βιοαιθανόλης από λιγνινοκυτταρινούχα υλικά, Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα, Ε.Μ.Π.

Δουφεξή Μ. (2016), Διερεύνηση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών οικιακών βιοαποβλήτων για την παραγωγή αιθανόλης (Διπλωματική εργασία). Αθήνα, Ε.Μ.Π.

Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2003, Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, Οδηγία 2003/30/ΕΚ, L123/42.

Καλαφάτης Στ. (2012), Οδηγός εφαρμογής προγραμμάτων, Διαλογή στη Πηγή & Συστημάτων διαχείρισης των βιοαποβλήτων, ΥΠΕΚΑ.

Νταρακάς Ευθ. (2014), Διαχείριση στερεών αποβλήτων. Θεσσαλονίκη: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Τομέας Υδραυλικής & Τεχνικής Περιβάλλοντος.

Φλογαίτη Ε. (1993), Περιβαλλοντική Εκπαίδευση, Ελληνικές Πανεπιστημιακές Εκδόσεις, Αθήνα.

Χριστακόπουλος Π. και Τόπακας Ε.(2013), Βιοτεχνολογία Παραγωγής Βιοκαυσίμων, Αθήνα, Ε.Μ.Π.

Χριστακόπουλος Π., Τόπακας Ε.(2012), Βιοτεχνολογία Παραγωγής Βιοκαυσίμων, Αθήνα, Ε.Μ.Π.

Βέκκος (2016) Recycling Solutions-Gaia Food Waste Dryers.
<http://www.ecovrs.com/products/volume-reduction/food-waste-volume-reductio/gaia-food-waste-dryers/> (τελευταία πρόσβαση Αύγουστος 2017)

Δίκαιο και εκδόσεις της Ε.Ε.
<http://eur-lex.europa.eu/collection/eu-law.html>
(τελευταία πρόσβαση Σεπτέμβριος 2017)

Περιβαλλοντική Πολιτική, Νομοθεσία
<http://www.waste2bio.eu/> (τελευταία πρόσβαση Σεπτέμβριος 2017)

http://gaia21.co.kr/en/data/file/sub0301/30711963_HatfQmcy_GC-100.jpg (τελευταία πρόσβαση Σεπτέμβριος 2017)

<http://www.vogelbusch-bioethanol.com/en/index.php> (τελευταία πρόσβαση Αύγουστος 2017)

<http://journeytoforever.org/ethanol.html#benefit> (τελευταία πρόσβαση Αύγουστος 2017)

<https://www.agroenergy.gr/categories/%CE%B2%CE%B9%CE%BF%CE%BA%CE%B1%CF%8D%CF%83%CE%B9%CE%BC%CE%B1> (τελευταία πρόσβαση Αύγουστος 2017)

http://www.cropenergies.com/en/Bioethanol/Markt/Dynamisches_Wachstum/ (τελευταία πρόσβαση Σεπτέμβριος 2017)

<https://www.eia.gov/todayinenergy/index.php?tg=renewables> (τελευταία πρόσβαση Οκτώβριος 2017)

http://www.eia.gov/energyexplained/index.cfm/data/index.cfm?page=biomass_environment (τελευταία πρόσβαση Οκτώβριος 2017)

<http://www.biowaste.gr/site/general/collection-methods/> (τελευταία πρόσβαση Σεπτέμβριος 2017)

<http://www.biowaste.gr/site/general/collecting-at-source/> (τελευταία πρόσβαση Σεπτέμβριος 2017)