

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας Ι

Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας



**Βελτιστοποίηση ενζυμικής σακχαροποίησης
και ζύμωσης προξηραμένων διατροφικών
απορριμμάτων για παραγωγή αιθανόλης 2ης
γενιάς**

Διπλωματική Εργασία

Σαραγός Κωνσταντίνος

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Λοϊζίδου Μαρία

Αθήνα

Ιούνιος 2018

Πρόλογος

Το παρόν σύγγραμμα αποτελεί τη διπλωματική μου εργασία που είναι απαραίτητη για την ολοκλήρωση των σπουδών μου και εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2017-2018.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη της διπλωματικής μου εργασίας, Καθηγήτρια του Ε.Μ.Π., κα Λοϊζίδου Μαρία για την ανάθεση του θέματος και της δυνατότητας που μου έδωσε να ασχοληθώ με αυτό το πολύ ενδιαφέρον θέμα.

Η επιτυχής ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την συνεισφορά των Δρ. Σοφία Μάη και Δρ. Έλλη Μπαραμπούτη. Θα ήθελα να τις ευχαριστήσω θερμά για τη συνεχή και πολύτιμη καθοδήγησή τους, τη βοήθεια και την υποστήριξη που μου προσέφεραν σε οποιοδήποτε πρόβλημα εμφανίστηκε, καθώς και για την άριστη συνεργασία μας καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας που ήταν καταλυτική στην ολοκλήρωσή της.

Επιπροσθέτως, ευχαριστώ το προσωπικό του εργαστηρίου και κυρίως την Δρ Jelica Novakovic και τους υποψήφιους διδάκτορες Edris Taheri και Erfaneh Salimi για τη σημαντική βοήθειά τους σε ό,τι κι αν ζήτησα κατά τη διάρκεια των πειραματικών αναλύσεων.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένειά μου και σε ορισμένους πολύ σημαντικούς ανθρώπους της ζωής μου που με στήριζαν και συνέβαλλαν τα μέγιστα ώστε να παραμείνω προσηλωμένος στους στόχους μου και να ολοκληρώσω τις σπουδές μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	i
ABSTRACT	iii
Εισαγωγή	1

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Διαχείριση βιολογικών αποβλήτων	2
1.1 Εισαγωγή	2
1.2 Νομοθετικό πλαίσιο διαχείρισης βιοαποβλήτων	3
1.3 Κατηγοριοποίηση-συστήματα διαχείρισης βιοαποβλήτων.....	7
1.4 Βιοδιυλιστήρια (Biorefineries)	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Βιοκαύσιμα.....	14
2.1 Εισαγωγή	14
2.2 Ορισμός - Κατηγορίες.....	15
2.3 Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα χρήσης βιοκαυσίμων.....	21
2.4 Σημερινή χρήση και μελλοντικές προοπτικές	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Παραγωγή βιοαιθανόλης 2^{ης} γενιάς απο βιοαπόβλητα	27
3.1 Βιοαιθανόλη.....	27
3.2 Πηγές βιομάζας για παραγωγή βιοαιθανόλης	30
3.3 Πλεονεκτήματα - Μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης	34
3.4 Μέθοδοι προκατεργασίας.....	35
3.5 Υδρόλυση.....	45
3.6 Ζύμωση	49
3.7 Διαχωρισμός - απόσταξη	51
3.8 Διεργασίες παραγωγής αιθανόλης.....	51

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Σκοπός	56
---------------------------------	-----------

<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματική μεθοδολογία.....</u>	<u>56</u>
5.1 Εισαγωγή.....	56
5.2 Πρώτη ύλη.....	57
5.3 Προκατεργασία.....	60
5.4 Ενζυμική υδρόλυση προκατεργασμένων και μη διατροφικών απορριμμάτων	60
5.5 Μελέτη κινητικής ενζυμικής υδρόλυσης	62
5.6 Μέθοδοι ανάλυσης	62
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικό πρωτόκολλο.....</u>	<u>85</u>
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματικά αποτελέσματα</u>	<u>88</u>
7.1 Σύσταση προξηραμένων οικιακών αποβλήτων.....	88
7.2 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου.....	89
7.3 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου.....	94
7.4 Κινητική της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109	98
7.5 Κινητική της υδρόλυσης της κυτταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177	103
7.6 Εκτίμηση των κινητικών σταθερών της ενζυμικής υδρόλυσης	108
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Ισοζύγια μάζας.....</u>	<u>116</u>
8.1 Εισαγωγή.....	116
8.2 Οικονομική προσέγγιση	119
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Συμπεράσματα</u>	<u>126</u>
<u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Βιβλιογραφικές αναφορές.....</u>	<u>128</u>
<u>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</u>	<u>134</u>

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τη σημερινή εποχή κρίνεται αναγκαία η εύρεση τρόπων αξιοποίησης των απορριμάτων δεδομένης της συνεχόμενης αύξησής τους. Σκοπός, λοιπόν, της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η βελτιστοποίηση της ενζυμικής σακχαροποίησης και ζύμωσης προξηραμένων διατροφικών απορριμάτων, σε εργαστηριακή κλίμακα, προκειμένου να αριστοποιηθεί η διεργασία παραγωγής αιθανόλης 2^{ης} γενιάς. Αυτή πραγματοποιήθηκε με κριτήριο τη 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 τόσο αμυλολυτικών όσο και κυτταρινολυτικών ενζύμων, καθώς και της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου και της κυτταρίνης με χρήση των παραπάνω ενζύμων.

Ως πρώτη ύλη για τις πειραματικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν προξηραμένα οικιακά βιοαπόβλητα, αφού πρώτα αλέστηκαν και στη 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 και τους υδατάνθρακες (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, ολικό άμυλο). Τα προξηραμένα οικιακά βιοαπόβλητα που χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη στην παρούσα εργασία είχαν την ακόλουθη σύσταση: pH $4,88 \pm 0,10$, υγρασία $8,4 \pm 0,3$ % 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 $35,01 \pm 3,30$ % w/w, υδατάνθρακες με μέση σύσταση $39,84 \pm 3,30$ % w/w, εκ των οποίων, $9,45 \pm 0,20$ % w/w σε κυτταρίνη, $11,91 \pm 0,65$ % w/w σε ημικυτταρίνη και $6,09 \pm 0,30$ % w/w σε ολικό άμυλο.

Έπειτα, πραγματοποιήθηκε μελέτη για την διερεύνηση της επίδρασης του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 και του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 στην υδρόλυση του αμύλου και της κυτταρίνης αντίστοιχα, καθώς και μελέτη των κινητικών των υδρολύσεων αυτών. Από τη διεξαγωγή των πειραματικών αυτών αναλύσεων βρέθηκε πως η βέλτιστη δόση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 είναι τα 31 μL/g αμύλου που αντιστοιχούν σε 2,71 μL/g προξηραμένου υλικού και η αντίστοιχη του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 είναι τα 280 μL/g κυτταρίνης που αντιστοιχούν σε 21,7 μL/g

προξηραμένου υλικού. Ακόμα, στο πλαίσιο της μελέτης των κινητικών των υδρολύσεων παρατηρήθηκε πως ο βέλτιστος χρόνος για την υδρόλυση του αμύλου και τη χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 είναι ίσος με 1h, ενώ ο αντίστοιχος για την υδρόλυση της κυτταρίνης με τη χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 είναι ίσος με 5h.

Τέλος, επιλέχθηκαν ορισμένα σενάρια για τα οποία εφαρμόστηκαν κατάλληλα ισοζύγια μάζας και διερευνήθηκε η οικονομική αποδοτικότητά τους. Η εφαρμογή των ισοζυγίων μάζας έδειξε πως η παραγωγή αιθανόλης είναι υψηλότερη στην περίπτωση των βιοαποβλήτων απαλλαγμένων από λιπαρά, ενώ η μετατροπή των σεναρίων σε οικονομικούς όρους φανέρωσε πως η κερδοφορία του εκάστοτε σεναρίου εξαρτάται άμεσα από το είδος και τη σύσταση του βιοαποβλήτου και από τη χρησιμοποιούμενη ποσότητα ενζύμων.

ABSTRACT

Taking into consideration the continuous increase of waste at the present time, finding ways of exploiting them and producing added value products is a matter of immense importance. The purpose of this diploma thesis was to optimize the enzymatic saccharification and fermentation of pre-dried food waste on a laboratory scale in order to optimize the 2nd generation ethanol production process. The latter was performed with the criterion of maximizing the amount of free glucose produced, which is then converted into bioethanol at the fermentation stage. The effect of the species and enzyme load of both amylolytic and cellulolytic enzymes, as well as the kinetics of the hydrolysis of starch and cellulose, was investigated using the above enzymes.

Pre-dried household biowaste was used 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 and carbohydrates (cellulose, hemicellulose, total starch). The pre-dried household biowaste had the following characteristics: pH $4,88 \pm 0,10$, humidity $8,4 \pm 0,3\%$ 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 $35,01 \pm 3,30\%$ w/w, carbohydrates with an average composition of $39,84 \pm 3,30\%$ w/w, of which $9,45 \pm 0,20\%$ w/w was cellulose, $11,91 \pm 0,65\%$ w/w was hemicellulose and $6,09 \pm 0,30\%$ w/w was total starch.

Then, a study was conducted to investigate the effect of the NS22109 amylolytic formulation and the NS22177 cellulolytic formulation on the hydrolysis of starch and cellulose respectively. A kinetic study of the enzymatic hydrolysis was also conducted. From this experimental analysis, it was found that the optimal dose of the NS22109 amylolytic formulation was $31 \mu\text{L} / \text{g}$ of starch corresponding to $2.71 \mu\text{L} / \text{g}$ of pre-dried material and the corresponding NS22177 cellulolytic formulation was $280 \mu\text{L} / \text{g}$ of cellulose corresponding to $21.7 \mu\text{L} / \text{g}$ of pre-dried material. Furthermore, from the hydrolysis kinetics study, it was observed that the optimal time for the starch hydrolysis with the use of the NS22109 amylolytic formulation is equal to 1h while the corresponding value for the hydrolysis of the cellulose using the cellulolytic formulation NS22177 is equal to 5h.

Finally, some scenarios were selected for which appropriate mass balances were applied and their cost-effectiveness was investigated. It was shown that ethanol production is higher in the case of non-fatty biowaste. Furthermore, from the conversion of scenarios into economic terms, it was evident that the profitability of a scenario depends directly on the nature and composition of the bio-waste and the amount of enzyme used.

Εισαγωγή

Η βιώσιμη διαχείριση των αποβλήτων αποτελεί θέμα παγκόσμιας σημασίας. Οι πρόσφατες οικονομικές εξελίξεις σε πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο έχουν αυξήσει την ανάγκη για εναλλακτικούς ενεργειακούς πόρους λόγω των καλά τεκμηριωμένων μειονεκτημάτων των ορυκτών καυσίμων: (1) την πεπερασμένη προσφορά τους (2) την εκπομπή αερίων θερμοκηπίου και την υπερθέρμανση του πλανήτη και (3) τις αυξανόμενες τιμές. Όλες αυτές οι αδυναμίες έχουν ενισχύσει το ενδιαφέρον για εναλλακτικά, ανανεώσιμα και βιώσιμα καύσιμα όπως η βιοαιθανόλη.

Η οδηγία πλαίσιο για τα απόβλητα της ΕΕ απαιτεί τη μείωση και την επεξεργασία των αστικών στερεών αποβλήτων πριν από τη διάθεση τους. Συγκεκριμένα, το οργανικό κλάσμα των αστικών στερεών αποβλήτων μπορεί να αποτελέσει πηγή προβλημάτων στη διαχείριση, καθώς λόγω του καταστροφικού χαρακτήρα του, μολύνει το ανακυκλώσιμο υλικό σε συστήματα συνδυασμένης συλλογής αποβλήτων και απελευθερώνει μεθάνιο στην ατμόσφαιρα όταν κατατίθεται σε χώρους υγειονομικής ταφής. Διαφορετικές στρατηγικές έχουν ληφθεί με την πάροδο του χρόνου για τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων αυτού του τμήματος με την κυριότερη να είναι η αποσύνθεση του οργανικού υλικού πριν από την επαναχρησιμοποίηση ή την τελική διάθεσή του.

Η ΕΕ ενέκρινε μέχρι το 2020 ως υποχρεωτικό στόχο για όλα τα κράτη μέλη της την αύξηση σε 20% του μεριδίου της ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές στη συνολική κατανάλωση ενέργειας και έναν υποχρεωτικό ελάχιστο στόχο 10% για το μερίδιο των βιοκαυσίμων στην κατανάλωση βενζίνης και ντίζελ στις μεταφορές.

Η παραγωγή της βιοαιθανόλης γίνεται από υλικά που είναι πλούσια σε άμυλο και σάκχαρα όπως το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο, η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και τα φύκη. Κάθε υλικό απαιτεί διαφορετικού είδους επεξεργασία ώστε να παραχθεί βιοκαύσιμο.

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση της ενζυμικής σακχαροποίησης και ζύμωσης προξηραμένων διατροφικών απορριμάτων, σε εργαστηριακή κλίμακα, προκειμένου να αριστοποιηθεί η διεργασία παραγωγής αιθανόλης 2^{ης} γενιάς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Διαχείριση βιολογικών αποβλήτων

1.1 Εισαγωγή

Η διαχείριση αστικών αποβλήτων αποτελεί προτεραιότητα περιβαλλοντικής πολιτικής σε κοινοτικό και εθνικό επίπεδο. Η επίτευξη των στόχων που απορρέουν από τη νέα νομοθεσία για τα απόβλητα προϋποθέτει σημαντικές αλλαγές στη διαχείριση των αποβλήτων, έτσι ώστε να γίνεται όλο και μεγαλύτερη αξιοποίηση των πόρων που εμπεριέχονται στα απόβλητα και να επιτυγχάνεται βελτίωση της περιβαλλοντικής προστασίας και της ποιότητας ζωής.

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

Η διαχείριση αποβλήτων προσεγγίζει όλο και περισσότερο τη διαχείριση πόρων και στοχεύει στην όσο γίνεται μεγαλύτερη αξιοποίηση των πόρων που βρίσκονται συμπυκνωμένα στα απόβλητα. Έτσι απαιτούνται [1]:

- Μείωση της ποσότητας των παραγόμενων αποβλήτων,
- Αύξηση της επαναχρησιμοποίησης, ανακύκλωσης και ανάκτησης υλικών ή/και ενέργειας,
- Δραστική μείωση των βιοαποβλήτων που οδηγούνται σε ταφή.

Τα βιοαπόβλητα αντιπροσωπεύουν μόνο το 10% περίπου των συνολικών αποβλήτων που παράγονται, ωστόσο είναι ιδιαίτερα σημαντικά λόγω του σύνθετου χαρακτήρα τους, της σύνθεσής τους, της κατανομής τους μεταξύ πολλών πηγών αποβλήτων και της σχέσης τους με τα καταναλωτικά πρότυπα. Σύμφωνα με το Εθνικό Σχέδιο Διαχείρισης Αποβλήτων, το 2011 στην Ελλάδα υπήρξε παραγωγή 2470 χιλ. τόνων βιοαποβλήτων [2]. Για το 2016, η παραγωγή αστικών αποβλήτων ποικίλλει σημαντικά και κυμαίνεται από 777 kg κατά κεφαλή στη Δανία έως 261 kg κατά κεφαλή στη Ρουμανία. Οι μεταβολές αυτές οφείλονται στις διαφορές στα καταναλωτικά πρότυπα και τον οικονομικό πλούτο, αλλά εξαρτώνται επίσης και από τον τρόπο συλλογής και διαχείρισης των αστικών αποβλήτων. Στο διάστημα 1995-2016 ο υψηλότερος μέσος ετήσιος ρυθμός αύξησης βιοαποβλήτων σημειώθηκε στην Ελλάδα (2,4%) (ετήσια παραγωγή: 498 kg βιοαποβλήτων κατά κεφαλή το 2016), στη Μάλτα (2,3%), στη Λετονία (2,1%) και στη Δανία (1,9%), ενώ αντίθετα η Βουλγαρία παρουσίασε τη μεγαλύτερη μείωση, με ετήσια μέση μείωση -2,5%, ακολουθούμενη από τη Ρουμανία με -1,3% και τη Σλοβενία με -1,2% [3].

1.2 Νομοθετικό πλαίσιο διαχείρισης βιοαποβλήτων

Η διαχείριση των βιολογικών αποβλήτων περιλαμβάνει ένα μεγάλο εύρος στρατηγικών, όπως τη βιώσιμη διαχείριση των πόρων, την κλιματική αλλαγή, την ενέργεια, τη βιοποικιλότητα, την προστασία των βιοτόπων, τη γεωργία και την προστασία του εδάφους. Οι στρατηγικές αυτές εστιάζουν 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/Ε. [4] Στον **Πίνακα 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: Συγκριτική παρουσίαση εθνικού και ευρωπαϊκού θεσμικού πλαισίου σχετικά με τα βιοαποδομήσιμα απόβλητα [1]

Ευρωπαϊκή Νομοθεσία	Εθνική Νομοθεσία	Επισημάνσεις
<p>Οδηγία 98/2008/ΕΚ για τα απόβλητα Οδηγία 2008/99/ΕΚ σχετικά με την προστασία του περιβάλλοντος μέσω του ποινικού δικαίου</p>	<p>ΝΟΜΟΣ 4042 (ΦΕΚ Α' 24/13-02-2012) Ποινική προστασία του περιβάλλοντος- Πλαίσιο παραγωγής και διαχείρισης αποβλήτων</p>	<p>(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.</p>
<p>Οδηγία 91/156/ΕΚ περί στερεών αποβλήτων</p>	<p>ΚΥΑ 114218/1997 (ΦΕΚ 1016Β/17.11.97), Κατάρτιση πλαισίου Προδιαγραφών και γενικών προγραμμάτων διαχείρισης στερεών αποβλήτων</p>	<p>Ενσωμάτωση των γενικών κατευθύνσεων και προδιαγραφών της 75/442/ΕΚ περί στερεών αποβλήτων, όπως τροποποιήθηκε από την 91/156/ΕΚ</p>
<p>Οδηγία 1999/31/ΕΚ περί υγειονομικής ταφής αποβλήτων</p>	<p>ΚΥΑ 29407/3508/2002 (ΦΕΚ 1572Β/16.12.02), Μέτρα και όροι για την υγειονομική ταφή των αποβλήτων</p>	<p>Θέσπιση στόχων για επεξεργασία πριν την ταφή και μείωση της ποσότητας των ΒΑΑ που οδηγείται για ταφή.</p>

<p>Οδηγία 75/442/ΕΚ, όπως τροποποιήθηκε με την 91/156/ΕΚ</p>	<p>ΚΥΑ 50910/2727/2003 (ΦΕΚ 1909Β/22.12.2003), Μέτρα και Όροι για τη Διαχείριση Στερεών Αποβλήτων. Εθνικός και Περιφερειακός Σχεδιασμός Διαχείρισης.</p>	<p>Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο</p> <p>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 τη διαχείριση στερεών αποβλήτων και εισήγαγε τους ευρωπαϊκούς στόχους και αρχές στην εθνική στρατηγική διαχείρισης.</p>
<p>Οδηγία 2008/1/ΕΚ, σχετικά με την ολοκληρωμένη πρόληψη και έλεγχο ρύπανσης</p>	<p>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</p>	<p>Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο</p>
<p>Κανονισμός 1774/2002/ΕΚ, για τον καθορισμό υγειονομικών κανόνων σχετικά με τα ζωικά υποπροϊόντα που δεν προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο</p>	<p>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 δεν προορίζονται για την κατανάλωση από τον άνθρωπο</p>	<p>Εναρμόνιση εθνικού με ευρωπαϊκό δίκαιο.</p> <p>Το ΠΔ συμπληρώνεται με τις εγκυκλίους όπως παρουσιάστηκαν ανωτέρω. Δίνονται προδιαγραφές για εγκαταστάσεις λιπασματοποίησης και αναερόβιας χώνευσης (παραγωγής βιοαερίου), αδειοδότηση και ορθή λειτουργία. Επίσης, γίνεται και προσέγγιση για θέσπιση κριτηρίων οργανικών λιπασμάτων από υλικά αυτών</p>

		των κατηγοριών.
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 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

<p>Οδηγία 2006/799/ΕΚ, περί καθορισμού αναθεωρημένων οικολογικών κριτηρίων και των σχετικών απαιτήσεων αξιολόγησης και εξακρίβωσης για την απονομή κοινοτικού οικολογικού σήματος σε βελτιωτικά εδάφους</p>	-	
<p>Οδηγία 2007/64/ΕΚ, περί καθορισμού αναθεωρημένων οικολογικών κριτηρίων και σχετικών απαιτήσεων αξιολόγησης και εξακρίβωσης για την απονομή κοινοτικού οικολογικού σήματος σε καλλιεργητικά μέσα</p>	-	<p>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 τελική διάθεση στερεών αποβλήτων σε εθνικό επίπεδο ακόμη δεν έχουν εναρμονιστεί.</p>
<p>Οδηγία 28/2009/ΕΚ, σχετικά με την προώθηση της χρήσης ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές</p>	<p>Νόμος 3468/2006 (ΦΕΚ 129Α/27.06.06) Παραγωγή Ηλεκτρικής Ενέργειας από Ανανεώσιμες Πηγές & Συμπαραγωγή Ηλεκτρισμού και Θερμότητας Υψηλής Απόδοσης (τροποποιήθηκε από τους Ν.3734/2009, Ν.3851/20120,Ν.3889/2010)</p>	<p>Ενσωμάτωση της ευρωπαϊκής στην εθνική νομοθεσία. Τίθενται στόχοι σε εθνικό επίπεδο συμπεριλαμβάνοντας και τα βιοαπόβλητα ως ανανεώσιμη πηγή ενέργειας, στο ευρύτερο πλαίσιο της βιομάζας.</p>

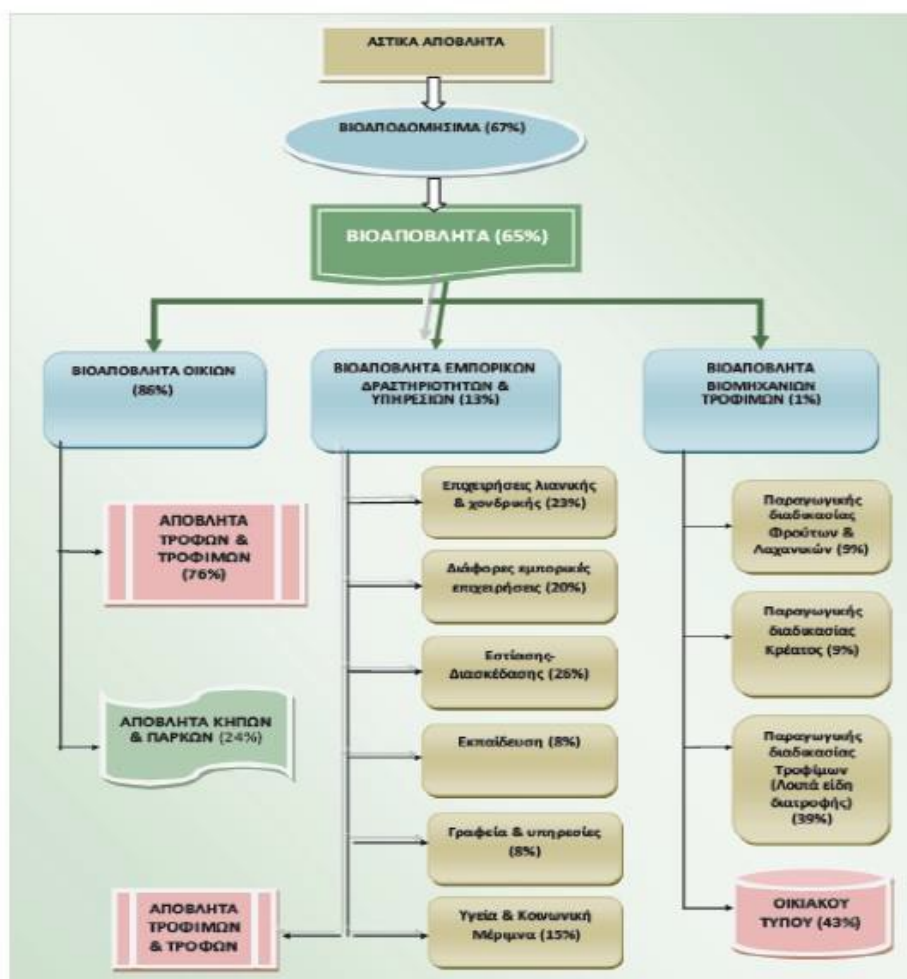
1.3 Κατηγοριοποίηση-συστήματα διαχείρισης βιοαποβλήτων

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

- Οικίες (οικιακά βιοαπόβλητα)

- Εμπορικές δραστηριότητες και Υπηρεσίες (εμπορικά βιοαπόβλητα)
- Εγκαταστάσεις παραγωγής και επεξεργασίας τροφίμων (βιομηχανικά βιοαπόβλητα)

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 και παρουσιάζονται στο **Σχήμα 1** [1].



Σχήμα 1: Κατηγορίες προέλευσης και ρεύματα παραγωγής βιοαποβλήτων [1]

Όπως αναφέρεται ρητά στο Έκτο Πρόγραμμα Δράσης για το Περιβάλλον της Ε.Ε., κύριο στόχο αποτελεί η μείωση της παραγωγής των αποβλήτων και συγκεκριμένα η μείωση κατά 20% μέχρι το 2010 και κατά 50 % από σήμερα μέχρι το 2050. Ακόλουθα, τίθενται στόχοι

όπως ο ορισμός της χωριστής συλλογής τουλάχιστον για χαρτί, μέταλλο, πλαστικό και γυαλί μέχρι το 2015, και η αύξηση των οικιακών απορριμμάτων κατά 50% κ.β. ως προς την προετοιμασία για επαναχρησιμοποίηση και ανακύκλωση μέχρι το 2020.

Το νομοθετικό πλαίσιο που ορίζεται για τη διαχείριση των Αστικών Στερεών Αποβλήτων από την περιβαλλοντική πολιτική της Ε.Ε. και ισχύει στα κράτη-μέλη της, βασίζεται στην ιεράρχηση ορισμένων επιλογών διαχείρισης. Αυτές, με σειρά προτεραιότητας είναι οι εξής:

- η πρόληψη και μείωση της ποσότητας των παραγόμενων αποβλήτων
- η ανάκτηση υλικών με σκοπό την επαναχρησιμοποίηση και αν αυτό δεν είναι δυνατόν η ανακύκλωσή τους
- η ανάκτηση ενέργειας και
- η ασφαλή διάθεση των υπολειμμάτων σε Χώρους Υγειονομικής Ταφής Υπολειμμάτων (Χ.Υ.Τ.Υ.).

Συνοπτικά, τα συστήματα συλλογής και οι μέθοδοι επεξεργασίας των βιοαποβλήτων που χρησιμοποιούνται είναι τα εξής: [1]

- Επεξεργασία των βιοαποβλήτων στην πηγή
 - Οικιακή κομποστοποίηση
 - Δημοτική ή κοινοτική κομποστοποίηση
 - Συστήματα Διαλογής στην Πηγή
- Επεξεργασία των βιοαποβλήτων σε κεντρικά συστήματα διαχείρισης
 - Αερόβια επεξεργασία (κομποστοποίηση)
 - Αναερόβια χώνευση
 - Αποτέφρωση
 - Αεριοποίηση
 - Υγειονομική ταφή

1.4 Βιοδυλιστήρια (Biorefineries)

Η διατήρηση και διαχείριση των πόρων είναι οι θεμελιώδεις πολιτικοί τομείς της

βιώσιμης ανάπτυξης. Αυτό απαιτεί πρώτα απ' όλα την αναζήτηση νέων λύσεων για τη μείωση της σημερινής ταχείας κατανάλωσης ορυκτών, μη ανανεώσιμων πόρων. Με τις αναδυόμενες ερευνητικές τάσεις για την παραγωγή βιο-προϊόντων, η έννοια του βιοδιυλιστηρίου αρχίζει να κερδίζει δυναμική.

Οι πηγές ορυκτών, όπως το πετρέλαιο και το φυσικό αέριο, θα πρέπει να αντικατασταθούν από ανανεώσιμη πρώτη ύλη: βιομάζα, ιδίως φυτική βιομάζα. Τότε, τα αντίστοιχα προϊόντα θα ονομάζονται προϊόντα βιολογικής προέλευσης και βιοενέργεια, ενώ τα βιοδιυλιστήρια ως νέες μονάδες παραγωγής θα αντικαταστήσουν τα διυλιστήρια πετρελαίου κι έτσι θα χρησιμοποιηθεί ο όρος βιοοικονομία [6]. Σήμερα πολλά πετροχημικά προϊόντα παράγονται από διυλιστήρια που έχουν ως πρώτη ύλη το αργό πετρέλαιο, ενώ στο μέλλον αναμένεται ότι θα αυξηθεί η παραγωγή προϊόντων βιολογικής προέλευσης από βιοδιυλιστήρια που χρησιμοποιούν ως πρώτη ύλη τη βιομάζα [7].

Μεταξύ των διαφόρων ορισμών του βιοδιυλιστηρίου, ο πιο διεξοδικός είναι αυτός της Διεθνούς Συνεργασίας Βιοενέργειας που αναφέρει ότι η βιοδιύλιση είναι η βιώσιμη επεξεργασία βιομάζας σε ένα φάσμα εμπορεύσιμων προϊόντων και ενέργειας [8]. Ο ορισμός του βιοδιυλιστηρίου, επομένως, αποτελεί αντικείμενο συζήτησης, αλλά ο γενικός στόχος του είναι η παραγωγή μιας ποικιλίας αγαθών από διαφορετικές πρώτες ύλες βιομάζας, μέσω συγκεκριμένων βιοκατεργασιών κι ενός συνδυασμού τεχνολογιών. Στην ιδανική περίπτωση, ένα βιοδιυλιστήριο θα πρέπει να ενσωματώσει διαδικασίες μετατροπής της βιομάζας έτσι ώστε να παράγει μια σειρά από καύσιμα, ενέργεια, υλικά και χημικά από αυτή [7]. Εννοιολογικά, ένα βιοδιυλιστήριο εφαρμόζει υβριδικές τεχνολογίες από διάφορους τομείς, συμπεριλαμβανομένης της χημείας των πολυμερών, της βιοτεχνολογίας και της γεωργίας [6]. Ο όρος βιοδιυλιστήριο προέρχεται τόσο από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται και είναι ανανεώσιμη βιομάζα, όσο και από τις διαδικασίες βιολογικής επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται συχνά στην προκατεργασία και την επεξεργασία των πρώτων υλών [9].

Οι ανανεώσιμες πρώτες ύλες με βάση τον άνθρακα που χρησιμοποιούνται στα βιοδιυλιστήρια, προέρχονται από τέσσερις διαφορετικούς τομείς [8]:

- 1) Γεωργία (καλλιέργειες και υπολείμματα)
- 2) Δασοκομία

- 3) Βιομηχανίες (υπολείμματα διεργασιών και υπολείμματα επεξεργασίας) και νοικοκυριά (αστικά στερεά απόβλητα και λύματα)
- 4) Υδατοκαλλιέργεια (άλγη και φύκια)

Ένα βιοδιυλιστήριο περιλαμβάνει διεργασίες πολλαπλών σταδίων, στις οποίες το πρώτο βήμα, μετά την επιλογή πρώτων υλών, συνήθως περιλαμβάνει την επεξεργασία της βιομάζας για να καταστεί περισσότερο επιδεκτική σε περαιτέρω επεξεργασία. Αυτό το βήμα συμβατικά αναφέρεται ως προκατεργασία. Μετά την προκατεργασία, τα συστατικά της βιομάζας υπόκεινται σε συνδυασμό βιολογικών ή/και χημικών επεξεργασιών. Τα προϊόντα από αυτό το στάδιο (ειδικά χημικά ή αναγωγικά σάκχαρα) θα μπορούσαν να μετατραπούν σε χημικά δομικά στοιχεία για περαιτέρω χρήσεις επεξεργασίας. Επιπροσθέτως, η μετατροπή σε ειδικά πολυμερή έτοιμα για χρήση στην αγορά, σε πηγή καυσίμου-ενέργειας ή σε σύνθετα υλικά είναι πιθανές επιλογές επεξεργασίας [7].

Τα βιοδιυλιστήρια ταξινομούνται με διάφορους τρόπους όπως για παράδειγμα με βάση [10]:

- την κατάσταση της τεχνολογικής εφαρμογής: συμβατικά και προηγμένα βιοδιυλιστήρια πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς
- το είδος των χρησιμοποιούμενων πρώτων υλών: βιοδιυλιστήρια ολόκληρων καλλιεργειών, λιγνοκυτταρινούχων πρώτων υλών, (πράσινη) και θαλάσσια βιομάζα
- τον τύπο των κύριων ενδιάμεσων προϊόντων που παράγονται: βιοδιυλιστήρια πλατφόρμας syngas και σακχάρων
- τον κύριο τύπο διεργασιών μετατροπής που εφαρμόστηκαν: θερμοχημικά και βιοχημικά βιοδιυλιστήρια.

Τα προϊόντα αυτών μπορούν να ομαδοποιηθούν σε δύο ευρείες κατηγορίες: υλικά και ενεργειακά προϊόντα. Τα ενεργειακά προϊόντα είναι εκείνα τα προϊόντα που χρησιμοποιούνται λόγω του ενεργειακού τους περιεχομένου, παρέχοντας ηλεκτρική, θερμική ή μεταφορική υπηρεσία. Από την άλλη πλευρά, τα υλικά προϊόντα δεν χρησιμοποιούνται για σκοπούς παραγωγής ενέργειας αλλά αξιοποιούνται για τις χημικές ή

φυσικές τους ιδιότητες. Τα προϊόντα ενός βιοδιυλιστηρίου πρέπει να είναι σε θέση να αντικαταστήσουν τα προϊόντα με βάση τα ορυκτά καύσιμα που προέρχονται από διυλιστήρια πετρελαίου, τόσο χημικά όσο και ενεργειακά. Τα πιο σημαντικά ενεργειακά προϊόντα που μπορούν να παραχθούν σε βιοτεχνίες είναι [8]:

- αέρια βιοκαύσιμα (βιοαέριο, syngas, υδρογόνο, βιομεθάνιο)
- στερεά βιοκαύσιμα (πέλλετ, λιγνίνη, κάρβουνο)
- τα υγρά βιοκαύσιμα για μεταφορά (βιοαιθανόλη, βιοντίζελ).

Τα πιο σημαντικά χημικά και υλικά προϊόντα είναι τα ακόλουθα:

- χημικά (δομικά υλικά)
- οργανικά οξέα (ηλεκτρικά, γαλακτικά, παράγωγα σακχάρων)
- πολυμερή και ρητίνες (πλαστικά με βάση το άμυλο, ρητίνες φαινόλης, ρητίνες φουρανίου)
- βιοϋλικά (ξύλινα πλαίσια, χαρτοπολτός, χαρτί, κυτταρίνη)
- τρόφιμα και ζωοτροφές
- λιπάσματα.

Συγκριτικά, τα διυλιστήρια και τα βιοδιυλιστήρια έχουν αρκετές διαφορές, οι οποίες παρουσιάζονται παρακάτω στον **Πίνακα 2**.

Πίνακας 2: Σύγκριση διυλιστηρίου-βιοδιυλιστηρίου[10]

	Διυλιστήριο	Βιοδιυλιστήριο
Τροφοδοσία	Σχετικά ομοιογενής	Ετερογενής όσον αφορά συστατικά, όπως οι υδατάνθρακες, η λιγνίνη, οι πρωτεΐνες, τα έλαια, ή / και η τέφρα Το μεγαλύτερο μέρος της πρώτης ύλης που υπάρχει βρίσκεται σε πολυμερική μορφή (κυτταρίνη, άμυλο, πρωτεΐνες, λιγνίνη)
	Χαμηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο	Υψηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο
	Το βάρος του προϊόντος αυξάνεται με την	Το βάρος του προϊόντος μειώνεται με την

	επεξεργασία	επεξεργασία
	Συχνά υψηλή περιεκτικότητα σε θείο	Συχνά υψηλή περιεκτικότητα σε ανόργανα
Σύνθεση δομικού στοιχείου	Κύρια δομικά στοιχεία: Αιθυλένιο, προπυλένιο, μεθάνιο, βενζόλιο, τολουόλιο, ισομερή ξυλολίου	Κύρια δομικά στοιχεία: Γλυκόζη, ξυλόζη, λιπαρά οξέα
(Βιο)χημικές διεργασίες	Σχεδόν αποκλειστικά χημικές διεργασίες	Συνδυασμός χημικών και βιοτεχνολογικών διεργασιών
	Ομοιογενείς	Ετερογενείς
	Ευρύ φάσμα χημικών μετατροπών	Μικρότερο φάσμα χημικών μετατροπών: Αφυδάτωση, υδρογόνωση, ζύμωση
Χημικά ενδιάμεσα προϊόντα που παράγονται σε εμπορική κλίμακα	Αρκετά	Λίγα αλλά αυξανόμενα (π.χ. αιθανόλη, φουρφουράλη, βιοντίζελ, μονο-αιθανόλη, γλυκόλη, γαλακτικό οξύ, ηλεκτρικό οξύ, ...)

Έτσι, μπορούν να αναπτυχθούν ορισμένες τελικές κατευθυντήριες γραμμές για την ανάπτυξη βιοδιυλιστηρίων. Ένα βιοδιυλιστήριο, όπως συμβαίνει και στα διυλιστήρια πετρελαίου, πρέπει να βασίζεται σε διαδικασίες αναβάθμισης των πρώτων υλών, όπου οι πρώτες ύλες αναβαθμίζονται συνεχώς και εξευγενίζονται. Αυτό σημαίνει ότι ένα βιοδιυλιστήριο θα πρέπει να διαχωρίζει όλα τα συστατικά της πρώτης ύλης βιομάζας και να οδηγεί, μέσω μιας αλυσίδας διαφόρων διεργασιών, σε υψηλή συγκέντρωση καθαρών χημικών ειδών (π.χ. αιθανόλη). Ως εκ τούτου, μια πρώτη ύλη δεν μπορεί να καεί αμέσως χωρίς προηγούμενη επεξεργασία, αφού ο στόχος ενός βιοδιυλιστηρίου είναι η αύξηση της αξίας των διαφόρων συστατικών της βιομάζας ως υλικό και πηγή ενέργειας [8].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Βιοκαύσιμα

2.1 Εισαγωγή

Η ενέργεια αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους πόρους για την ανθρωπότητα και την αειφόρο ανάπτυξή της. Σήμερα, η ενεργειακή κρίση κρίνεται ως ένα από τα παγκόσμια ζητήματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν. Τα καύσιμα έχουν μεγάλη αξία επειδή μπορούν να καούν για να παράγουν σημαντικά ποσά ενέργειας ενώ πολλές πτυχές της καθημερινής ζωής βασίζονται σε αυτά, ιδίως στη μεταφορά αγαθών και ανθρώπων. Οι κύριοι ενεργειακοί πόροι προέρχονται από ορυκτά καύσιμα όπως το πετρέλαιο, ο άνθρακας και το φυσικό αέριο και συμβάλλουν στο 80% των παγκόσμιων ενεργειακών αναγκών. Στον τομέα των μεταφορών, ιδιωτικά οχήματα, λεωφορεία, φορτηγά και πλοία καταναλώνουν επίσης σημαντικές ποσότητες ντίζελ και βενζίνης. Η κατάσταση αυτή οδηγεί σε ισχυρή εξάρτηση της καθημερινής ζωής από τα ορυκτά καύσιμα.

Καθώς ο ανθρώπινος πληθυσμός αυξάνεται, το ίδιο συμβαίνει και με την κατανάλωση ορυκτής ενέργειας. Αν η τάση αυτή συνεχιστεί, οι άνθρωποι θα καταναλώσουν τους περισσότερους από αυτούς τους πολύτιμους πόρους μέσα στις επόμενες εκατοντάδες χρόνια [11]. Ο σχηματισμός ορυκτών καυσίμων απαιτεί εκατομμύρια χρόνια κι έτσι, τα ορυκτά ανήκουν σε μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Επιπλέον, οι εκπομπές που παράγονται από την καύση ορυκτών καυσίμων συμβάλλουν και στην ατμοσφαιρική ρύπανση και την υπερθέρμανση του πλανήτη ενώ παράλληλα οι περισσότερες χώρες αντιμετωπίζουν όλο και περισσότερη διεθνή πίεση στα ζητήματα της υπερθέρμανσης του πλανήτη [12].

Αναφορικά με το περιβάλλον, είναι γνωστό πως από το 18ο αιώνα, η ραγδαία ανάπτυξη της τεχνολογίας επηρέασε τη σχέση του ανθρώπου με το περιβάλλον γύρω του. Έτσι, το περιβάλλον συνεχίζει να θεωρείται ανεξάντλητος πόρος για την ικανοποίηση ανθρώπινων αναγκών, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μιας οικολογικής κρίσης που οφείλεται κυρίως σε αιτίες όπως οι μέθοδοι της βιομηχανικής παραγωγής, ο υπερκαταναλωτισμός και η συσσώρευση του πληθυσμού στα μεγάλα αστικά κέντρα. Παρά τα εμφανή σημάδια της περιβαλλοντικής καταστροφής, κατά τη διάρκεια του 20^{ου} αιώνα, η αλόγιστη χρήση μη ανανεώσιμων πηγών ενέργειας καθώς και τα απόβλητα που συσσωρεύονται από αυτή, είχαν ως συνέπεια την εμφάνιση διαφόρων μορφών ρύπανσης [13].

Τέτοιες είναι:

- Η τρύπα του όζοντος
- Το φαινόμενο του θερμοκηπίου
- Η όξινη βροχή
- Η ατμοσφαιρική ρύπανση
- Η ηχορρύπανση
- Η καταστροφή του εδάφους
- Τα οικιακά απορρίμματα
- Τα ραδιενεργά κατάλοιπα
- Τα φυτοφάρμακα κ.α.

Ως εκ τούτου, η αναζήτηση για τα ανανεώσιμα και καθαρά εναλλακτικά καύσιμα τα οποία υπόσχονται μια αρμονική συσχέτιση με την αειφόρο ανάπτυξη, τη διατήρηση της ενέργειας, την αποδοτικότητα και τη διασφάλιση του περιβάλλοντος έχει ενταθεί [12]. Τα καύσιμα βιολογικής προέλευσης μπορούν να αποτελέσουν μια πιθανή και βιώσιμη λύση σε αυτή την παγκόσμια πετρελαϊκή κρίση. Οι επιστήμονες σε όλο τον κόσμο έχουν διερευνήσει αρκετούς εναλλακτικούς ενεργειακούς πόρους, οι οποίοι έχουν τη δυνατότητα να εξουδετερώνουν την ολοένα αυξανόμενη δίψα για ενέργεια του σημερινού πληθυσμού. Οι διάφοροι ενεργειακοί πόροι των βιοκαυσίμων που διερευνήθηκαν περιλαμβάνουν τη βιομάζα, το βιοαέριο, τις πρωτογενείς αλκοόλες, τα φυτικά έλαια, το βιοντίζελ κλπ. Οι εναλλακτικές πηγές ενέργειας είναι σε μεγάλο βαθμό φιλικές προς το περιβάλλον, αλλά πρέπει να αξιολογούνται κατά περίπτωση για τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματά τους αλλά και για ειδικές εφαρμογές. Ορισμένα από αυτά τα καύσιμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας, ενώ άλλα πρέπει να επεξεργαστούν για να φέρουν ιδιότητες ανάλογες με τα συμβατικά καύσιμα [14].

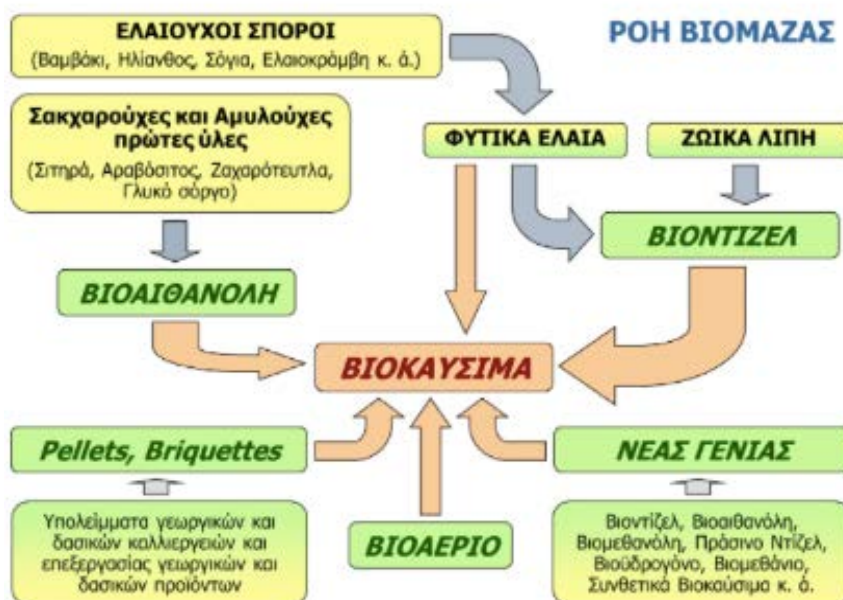
2.2 Ορισμός – Κατηγορίες

Πολλά ερευνητικά προγράμματα επικεντρώθηκαν πρόσφατα στην ανάπτυξη εννοιών όπως οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, η αειφόρος ανάπτυξη, η πράσινη ενέργεια, οι φιλικές προς το περιβάλλον διαδικασίες στον τομέα των μεταφορών κ.α. Η κατανάλωση ενέργειας παγκοσμίως έχει αυξηθεί 17 φορές τον περασμένο αιώνα και οι εκπομπές CO₂, SO₂ και NO_x

από την καύση ορυκτών καυσίμων είναι οι πρωταρχικές αιτίες ατμοσφαιρικής ρύπανσης. Τα γνωστά αποθέματα πετρελαίου εκτιμώνται ότι εξαντλούνται σε λιγότερο από 50 χρόνια στο σημερινό ποσοστό κατανάλωσης [15].

Οι ενεργειακές τεχνολογίες της βιομάζας χρησιμοποιούν απόβλητα ή φυτικά υλικά για την παραγωγή ενέργειας με χαμηλότερο επίπεδο εκπομπών αερίων θερμοκηπίου από ότι οι πηγές ορυκτών καυσίμων. Στις ανεπτυγμένες χώρες παρατηρείται μια αυξανόμενη τάση για την υιοθέτηση σύγχρονων τεχνολογιών και αποδοτική μετατροπή βιοενέργειας με τη χρήση μιας σειράς βιοκαυσίμων, τα οποία καθίστανται ανταγωνιστικά με τα ορυκτά καύσιμα από πλευράς κόστους [16].

Ο όρος βιοκαύσιμο ή βιοανανεώσιμο καύσιμο (refuel) αναφέρεται σε ένα στερεό, υγρό ή αέριο καύσιμο που παράγεται κατά κύριο λόγο από βιομάζα. Τα υγρά βιοκαύσιμα εμπίπτουν στις ακόλουθες κατηγορίες: α) βιο-αλκοόλες, β) ορυκτέλαια και βιοντίζελ και (γ) βιοκαύσιμα και βιο-συνθετικά έλαια. Τα βιοκαύσιμα είναι σημαντικά επειδή μπορούν να αντικαταστήσουν τα καύσιμα πετρελαίου κι αναμένεται ότι η ζήτησή τους θα αυξηθεί στο μέλλον. Οι διάφορες κατηγορίες βιοκαυσίμων παρουσιάζονται παρακάτω στο **Σχήμα 2**.



Σχήμα 2: Κατηγορίες βιοκαυσίμων [17]

Τα υγρά βιοκαύσιμα, όπως η βιοαιθανόλη και το βιοντίζελ, μπορούν να προσφέρουν μια ελπιδοφόρα εναλλακτική λύση. Λόγω της αύξησης των τιμών του πετρελαίου, ιδίως μετά

την πετρελαϊκή κρίση του 1973 και στη συνέχεια τον πόλεμο του Κόλπου το 1991, της γεωγραφικής μείωσης της διαθεσιμότητας πετρελαίου και των αυστηρότερων κυβερνητικών ρυθμίσεων για τις εκπομπές καυσαερίων, οι ερευνητές άρχισαν να μελετούν τα εναλλακτικά καύσιμα και τις εναλλακτικές λύσεις. Τα υγρά βιοκαύσιμα χρησιμοποιούνται κυρίως για την τροφοδοσία οχημάτων, αλλά μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν και για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Τα υγρά βιοκαύσιμα για τις μεταφορές έχουν προσελκύσει πρόσφατα μεγάλη προσοχή σε διάφορες χώρες σε όλο τον κόσμο λόγω της ανανεωσιμότητάς τους, της βιωσιμότητάς τους, της κοινής διαθεσιμότητάς τους, της περιφερειακής ανάπτυξης, των θέσεων απασχόλησης στην αγροτική παραγωγή, της μείωσης των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και της βιοαποδομησιμότητας [18].

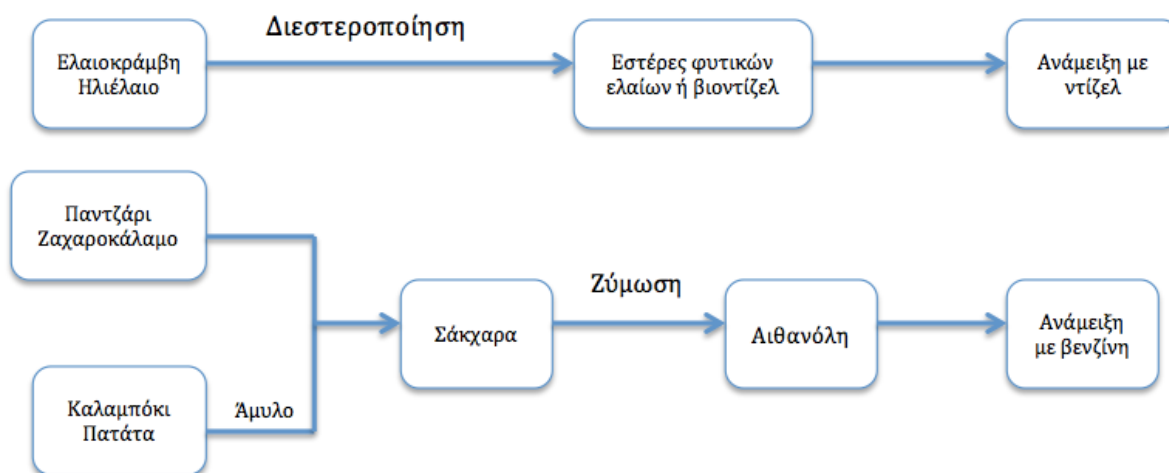
Η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ βιοκαυσίμων και πετρελαϊκών αποθεμάτων είναι η περιεκτικότητα σε οξυγόνο. Τα βιοκαύσιμα έχουν επίπεδα οξυγόνου από 10% έως 45%, ενώ το πετρέλαιο έχει ουσιαστικά μηδενικά επίπεδα οξυγόνου καθιστώντας τις χημικές ιδιότητες των βιοκαυσίμων πολύ διαφορετικές από αυτές του πετρελαίου. 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. Τα βιοκαύσιμα είναι μη ρυπογόνα, διαθέσιμα σε τοπικό επίπεδο, προσβάσιμα, βιώσιμα και αξιόπιστα καύσιμα από ανανεώσιμες πηγές. Η βιωσιμότητα των συστημάτων ανανεώσιμης ενέργειας πρέπει να υποστηρίζει μακροπρόθεσμα την υγεία του ανθρώπου και των οικοσυστημάτων [18,19].

Η βιομάζα αναφέρεται σε όλες τις μορφές φυτικού υλικού που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ενεργειακό δυναμικό: ξύλο, ποώδη φυτά, υπολείμματα καλλιεργειών και δασών, ζωικά απόβλητα κλπ. Τα φυτά αποτελούν τη συνηθέστερη πηγή βιομάζας [15]. Το ενεργειακό δυναμικό της βιομάζας αντιμετωπίζεται ως το πιο ελπιδοφόρο από τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, λόγω της εξάπλωσής του και της διαθεσιμότητάς του παγκοσμίως. Εκτός αυτού, η βιομάζα έχει το μοναδικό πλεονέκτημα μεταξύ των υπόλοιπων ανανεώσιμων πηγών ενέργειας ότι είναι σε θέση να παράγει στερεά, υγρά και αέρια καύσιμα που μπορούν να αποθηκευτούν, να μεταφερθούν και να χρησιμοποιηθούν μακριά από το σημείο προέλευσης. Λόγω των αμελητέων ποσοτήτων θείου και αζώτου που περιέχει η βιομάζα, η ενέργεια αυτή δε συμβάλλει στη ρύπανση του περιβάλλοντος, ενώ ακόμα φαίνεται να έχει σημαντικό οικονομικό δυναμικό υπό την προϋπόθεση ότι οι τιμές των

ορυκτών καυσίμων θα αυξηθούν στο μέλλον [16].

Με βάση την πηγή από την οποία προέρχονται γίνεται η κατηγοριοποίηση των βιοκαυσίμων

- 1) Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς παράγονται απευθείας από καλλιέργειες τροφίμων με την απόσπαση των ελαίων για χρήση στο βιοντίζελ ή την παραγωγή βιοαιθανόλης μέσω ζύμωσης. Οι καλλιέργειες όπως το σιτάρι, το καλαμπόκι και το ζαχαροκάλαμο είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες πρώτες ύλες ωστόσο, τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς έχουν πολλά προβλήματα. Υπάρχει μεγάλη συζήτηση για το πραγματικό τους όφελος στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και του CO₂ λόγω του γεγονότος ότι απαιτούν ακόμη μεγάλες ποσότητες ενέργειας για ανάπτυξη, συλλογή και επεξεργασία. Ωστόσο, το πιο αμφιλεγόμενο ζήτημα με τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς είναι το ζήτημα «καύσιμο εναντίον τροφίμων». Δεδομένου ότι η πλειοψηφία των βιοκαυσίμων παράγεται απευθείας από καλλιέργειες τροφίμων αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παγκόσμια αύξηση των τιμών των τροφίμων. Η παραγωγική διαδικασία των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς φαίνεται συνοπτικά στο **Σχήμα 3** [21,22].



Σχήμα 3: Παραγωγική διαδικασία βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς [22]

- 2) Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς έχουν αναπτυχθεί για να ξεπεράσουν τους περιορισμούς των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς. Προέρχονται από

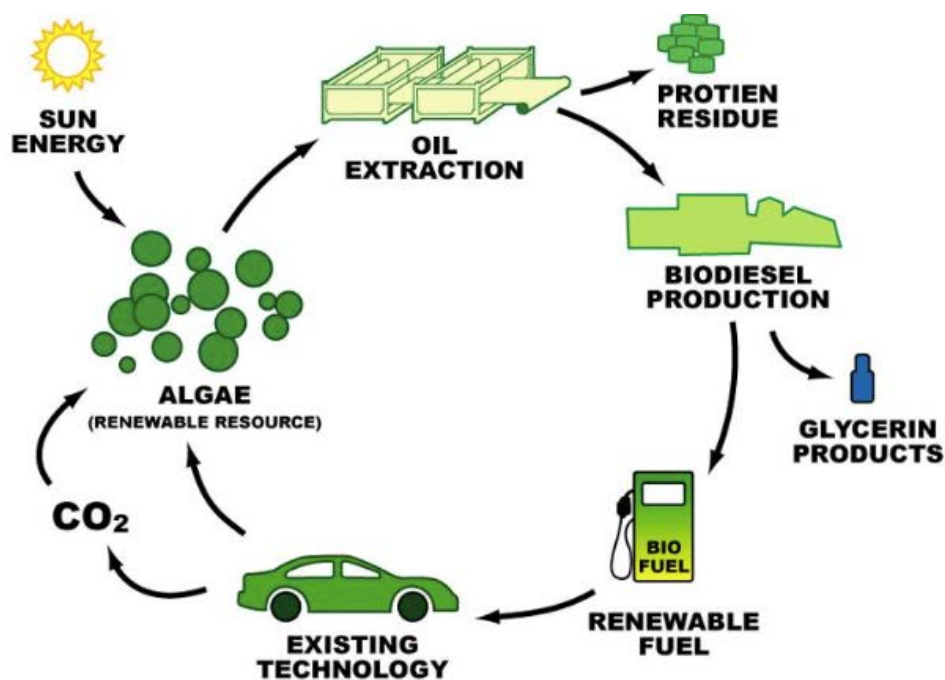
λιγνινοκυτταρινούχα βιομάζα αγροτικών και δασικών υπολειμμάτων όπως το ξύλο, τα οργανικά απόβλητα, τα απόβλητα φυτικών τροφίμων και συγκεκριμένες καλλιέργειες βιομάζας, εξαλείφοντας έτσι το κυριότερο πρόβλημα των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς. Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς στοχεύουν επίσης στο να είναι πιο ανταγωνιστικά από πλευράς κόστους σε σχέση με τα υπάρχοντα ορυκτά καύσιμα. Ωστόσο η αναγκαιότητα εκμετάλλευσης μεγάλων εκτάσεων γης, οι οποίες θα μπορούσαν κάλλιστα να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή τροφίμων, καθώς και το γεγονός ότι η διαδικασία παραγωγής τους είναι πιο περίπλοκη από τα βιοκαύσιμα της 1ης γενιάς, επειδή απαιτεί προεπεξεργασία της βιομάζας για την απελευθέρωση των παγιδευμένων σακχάρων, αποτελούν ανασταλτικούς παράγοντες για την ανάπτυξή τους. Στο **Σχήμα 3** παρουσιάζεται η παραγωγική διαδικασία των βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς [21,22].



Σχήμα 4: Παραγωγική διαδικασία βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς [22]

- 3) Η τρίτη γενιά βιοκαυσίμων βασίζεται σε βελτιώσεις στην παραγωγή βιομάζας. Αξιοποιεί ειδικά σχεδιασμένες ενεργειακές καλλιέργειες όπως τα μικροφύκη ως ενεργειακή πηγή. Τα μικροφύκη καλλιεργούνται για να λειτουργούν ως χαμηλού

κόστους, υψηλής ενέργειας και πλήρως ανανεώσιμες πρώτες ύλες. Προβλέπεται ότι τα μικροφύκη θα έχουν τη δυνατότητα να παράγουν περισσότερη ενέργεια ανά στρέμμα από τις συμβατικές καλλιέργειες. Τα μικροφύκη είναι επωφελή επειδή μπορούν να αναπτυχθούν σε περιοχές ακατάλληλες για καλλιέργειες 1ης και 2ης γενιάς βιοκαυσίμων κι έτσι αμβλύνουν το άγχος για το νερό και την καλλιεργήσιμη γη που χρησιμοποιείται. Μπορούν να καλλιεργηθούν χρησιμοποιώντας λύματα, απόβλητα και αλμυρό νερό. Εξαιτίας αυτού, δε χρειάζεται να χρησιμοποιείται νερό που διαφορετικά θα χρησιμοποιηθεί για κατανάλωση από τον άνθρωπο. Ο κύκλος ζωής των βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς φαίνεται στο **Σχήμα 5** [21,22].



Σχήμα 5: Κύκλος ζωής βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς [22]

- 4) Τα βιοκαύσιμα της τέταρτης γενιάς αποσκοπούν όχι μόνο στην παραγωγή βιώσιμης ενέργειας αλλά και στη συλλογή και αποθήκευση του CO₂. Η βιομάζα, η οποία έχει απορροφήσει CO₂ κατά την ανάπτυξή της, μετατρέπεται σε καύσιμα χρησιμοποιώντας τις ίδιες διαδικασίες με τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς. Η διαδικασία αυτή διαφέρει από την παραγωγή δεύτερης και τρίτης γενιάς καθώς σε όλα τα στάδια της παραγωγής, το διοξείδιο του άνθρακα λαμβάνεται με διαδικασίες όπως η καύση με οξυγόνο. Αυτή η δέσμευση άνθρακα καθιστά την παραγωγή βιοκαυσίμων τέταρτης γενιάς αρνητική ως προς τον άνθρακα, καθώς δεσμεύει

περισσότερο άνθρακα από ότι παράγει. Το σύστημα αυτό όχι μόνο συλλέγει και αποθηκεύει διοξείδιο του άνθρακα από την ατμόσφαιρα αλλά επίσης μειώνει τις εκπομπές CO₂ αντικαθιστώντας τα ορυκτά καύσιμα [21,22].

2.3 Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα χρήσης βιοκαυσίμων

Υπάρχουν αρκετοί λόγοι για να θεωρηθούν τα βιοκαύσιμα ως αναπτυσσόμενη εναλλακτική πηγή ενέργειας τόσο από τις αναπτυσσόμενες όσο και από τις βιομηχανικές χώρες. Περιλαμβάνουν λόγους ενεργειακής ασφάλειας, περιβαλλοντικές ανησυχίες, εξοικονόμηση συναλλάγματος και κοινωνικοοικονομικά θέματα που σχετίζονται με τον αγροτικό τομέα. Λόγω των περιβαλλοντικών πλεονεκτημάτων τους, το μερίδιο των βιοκαυσίμων στην αγορά καυσίμων στη βιομηχανία αυτοκινήτων αναμένεται να αυξηθεί ραγδαία [17].

Από τη μία πλευρά, η χρήση των βιοκαυσίμων έχει πολλά οφέλη. Αρχικά, ενώ τα βιοκαύσιμα κοστίζουν το ίδιο στην αγορά με τη βενζίνη, το συνολικό όφελος από τη χρήση τους είναι πολύ υψηλότερο. Είναι καθαρότερα καύσιμα, πράγμα που σημαίνει ότι παράγουν λιγότερες εκπομπές καύσης και προσαρμόζονται στις τρέχουσες σχεδιαστικές μηχανές, λειτουργώντας πολύ καλά στις περισσότερες συνθήκες. Αυτό διατηρεί τον κινητήρα σε λειτουργία για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, απαιτεί λιγότερη συντήρηση και μειώνει το συνολικό κόστος ελέγχου της ρύπανσης. Έπειτα, τα βιοκαύσιμα είναι ανανεώσιμα καθώς οι πηγές τους όπως η κοπριά, το καλαμπόκι, οι σπόροι σόγιας, τα απόβλητα από τις καλλιέργειες και τα φυτά, είναι ανανεώσιμες και δεν είναι πιθανό να εξαντληθούν σύντομα, ενώ παράλληλα ως προϊόντα ανανεώσιμων πηγών ενέργειας είναι καθαρά, βιοαποικοδομήσιμα και μη τοξικά καύσιμα, δεν περιέχουν αρωματικές ενώσεις και οι εκπομπές των ρυπαντών οξειδίων του θείου, μονοξειδίου του άνθρακα, άκαυστων υδρογονανθράκων και αιθάλης, που προέρχονται από την καύση τους, είναι πολύ χαμηλές [23].

Επίσης, η καύση τους δεν αυξάνει το διοξείδιο του άνθρακα στην ατμόσφαιρα αφού η ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της καύσης αφομοιώνεται στη συνέχεια από το φυτό κατά τη φωτοσύνθεση και οι ενεργειακές καλλιέργειες απαιτούν χαμηλότερα επίπεδα λίπανσης και μειωμένη χρήση φυτοφαρμάκων, με συνέπεια την προστασία του περιβάλλοντος και της υγείας των αγροτών. Τέλος, καθότι

όπως είναι γνωστό δεν έχει κάθε χώρα μεγάλη ποσότητα αργού πετρελαίου, η χρήση βιοκαυσίμων βοηθάει στη μείωση εξάρτησης από τα ορυκτά καύσιμα και το ξένο πετρέλαιο με την ταυτόχρονη δημιουργία περισσότερων θέσεων εργασίας σε μια αυξανόμενη βιομηχανία βιοκαυσίμων, η οποία θα διατηρήσει ασφαλή την οικονομία [24].

Από την άλλη πλευρά, η εξάπλωση της χρήσης βιοκαυσίμων επιδρά και αρνητικά με διάφορους τρόπους. Ακόμη και με όλα τα οφέλη που συνδέονται με τα βιοκαύσιμα, η παραγωγή τους είναι αρκετά ακριβή. Μέχρι τώρα, οι επενδύσεις σε κεφάλαια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων είναι αρκετά χαμηλές, όπως και η ζήτηση. Εάν η ζήτηση αυξηθεί, τότε η αύξηση της προσφοράς θα είναι μια μακροπρόθεσμη επιχείρηση, η οποία θα είναι αρκετά ακριβή. Στη συνέχεια, η πρακτική της παραγωγής ίδιων καλλιεργειών ανά έτος και όχι στην παραγωγή διαφόρων καλλιεργειών μέσω των αγροτικών περιοχών με την πάροδο του χρόνου μπορεί να στερήσει από το έδαφος θρεπτικά συστατικά, ενώ παράλληλα η χρήση λιπασμάτων που χρειάζονται οι καλλιέργειες για την παραγωγή βιοκαυσίμων, μπορεί να έχει επιβλαβείς επιδράσεις στο περιβάλλον καθώς μπορεί να προκαλέσουν ρύπανση των υδάτων [17].

Επιπροσθέτως, 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, ενώ ταυτόχρονα για την άρδευση των καλλιεργειών βιοκαυσίμων απαιτούνται μεγάλες ποσότητες νερού γεγονός που μπορεί να επιδεινώσει τους τοπικούς και περιφερειακούς υδάτινους πόρους, εάν δεν διαχειριστούν την κατάσταση με σύνεση [24]. Τέλος, ενώ η καύση βιοκαυσίμων παράγει λιγότερο άνθρακα και τοξίνες, για την παραγωγή τους δεν ισχύει το ίδιο. Λόγω των νιτρικών λιπασμάτων και των μηχανημάτων που είναι αναγκαία για την καλλιέργεια των φυτών, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι μερικές φορές δημιουργούνται ίσα ή και περισσότερα αέρια θερμοκηπίου από ότι από τα ορυκτά καύσιμα [23].

Συνοπτικά, τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των βιοκαυσίμων παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3** [16]:

Πίνακας 3: Πλεονεκτήματα-μειονεκτήματα χρήσης βιοκαυσίμων [16]

Πτυχές	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Οικονομία	Βιωσιμότητα	Αυξημένες επενδύσεις σε εγκαταστάσεις και εξοπλισμό
	Ποικιλία καυσίμων	Μονοκαλλιέργεια
	Αυξημένος αριθμός θέσεων εργασίας αγροτικής παραγωγής	Ακριβή παραγωγική διαδικασία
	Αγροτική ανάπτυξη	Αύξηση τιμών τροφίμων
	Μείωση της εξάρτησης από το εισαγόμενο πετρέλαιο	
Περιβάλλον	Μειώσεις αερίων θερμοκηπίου κατά την καύση	Αύξηση αερίων θερμοκηπίου κατά την παραγωγή
	Βιοδιασπασιμότητα	Απομάκρυνση θρεπτικών συστατικών από το έδαφος
	Υψηλότερη απόδοση καύσης	Μείωση εξοικονόμησης καυσίμου
	Βελτιωμένη χρήση γης και νερού	Μεγάλες ποσότητες νερού
	Απομόνωση άνθρακα	Ρύπανση υδάτων
Ενεργειακή ασφάλεια	Αξιοπιστία εφοδιασμού	Λιγότερο κατάλληλο για χρήση σε χαμηλές θερμοκρασίες
	Μείωση της χρήσης ορυκτών καυσίμων	Πιθανότερο να ροφήσει υγρασία

	Διαθεσιμότητα	Συγκρούσεις με παροχή τροφίμων
	Ανανεώσιμες πηγές ενέργειας	

2.4 Σημερινή χρήση και μελλοντικές προοπτικές

Το κόστος παραγωγής βιοκαυσίμων μπορεί να ποικίλει σημαντικά ανάλογα με την πρώτη ύλη, τη διαδικασία μετατροπής, την κλίμακα παραγωγής και την περιοχή. Σε ενεργειακή βάση, η αιθανόλη σήμερα είναι πιο ακριβή απ' ό,τι η βενζίνη σε όλες τις εξεταζόμενες περιοχές. Μόνο η αιθανόλη που παράγεται στη Βραζιλία έχει συναγωνίσιμη τιμή με τη βενζίνη. Η αιθανόλη που παράγεται από καλαμπόκι στις ΗΠΑ είναι πολύ πιο ακριβή απ' αυτή που παράγεται από ζαχαροκάλαμο στη Βραζιλία και η αιθανόλη από σιτηρά και ζαχαρότευτλα στην Ευρώπη είναι ακόμη πιο δαπανηρή. Οι διαφορές αυτές αντικατοπτρίζουν πολλούς παράγοντες, όπως η κλίμακα, η αποδοτικότητα της διαδικασίας, το κόστος πρώτης ύλης, το κόστος κεφαλαίου και εργασίας και η φύση των εκτιμήσεων [15].

Το κόστος της μεγάλης κλίμακας παραγωγής βιοκαυσίμων είναι σήμερα υψηλό στις ανεπτυγμένες χώρες. Για παράδειγμα, το κόστος παραγωγής των βιοκαυσίμων μπορεί να είναι τριπλάσιο από το κόστος των καυσίμων πετρελαίου. Αντιθέτως, στις αναπτυσσόμενες χώρες, το κόστος παραγωγής βιοκαυσίμων είναι πολύ χαμηλότερο από ό,τι στις χώρες του Ο.Ο.Σ.Α. (Οργανισμός Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης) και πολύ κοντά στην τιμή του πετρελαίου στην παγκόσμια αγορά [16].

Επί του παρόντος δεν υπάρχει παγκόσμια αγορά αιθανόλης. Οι τύποι καλλιεργειών, οι γεωργικές πρακτικές, το κόστος γης και εργασίας, τα μεγέθη των εγκαταστάσεων, οι τεχνολογίες επεξεργασίας και οι κυβερνητικές πολιτικές σε διάφορες περιφέρειες οδηγούν σε σημαντικές διαφοροποιήσεις όσον αφορά το κόστος παραγωγής και τις τιμές αιθανόλης ανά περιοχή. Η αιθανόλη από ζαχαροκάλαμο, που παράγεται κυρίως σε αναπτυσσόμενες χώρες με θερμά κλίματα, γενικά είναι πολύ φθηνότερη από ό,τι η αιθανόλη από σιτηρά ή ζαχαρότευτλα στις χώρες του IEA (Διεθνής Οργανισμός Ενέργειας). Για το λόγο αυτό, σε χώρες όπως η Βραζιλία και η Ινδία, όπου το ζαχαροκάλαμο παράγεται σε σημαντικούς όγκους, η

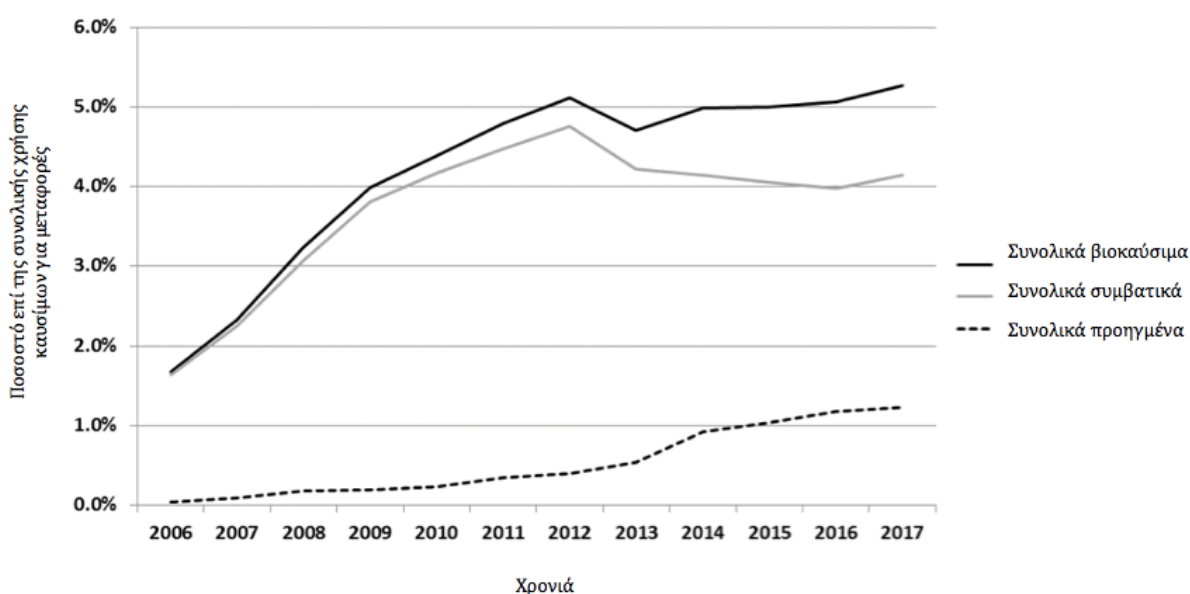
αιθανόλη με βάση τη ζάχαρη από ζαχαροκάλαμο γίνεται μια εναλλακτική λύση που είναι όλο και πιο οικονομικά αποδοτική από τα καύσιμα πετρελαίου. Οι εκτιμήσεις δείχνουν ότι η βιοαιθανόλη στην ΕΕ καθίσταται ανταγωνιστική όταν η τιμή του πετρελαίου φτάνει τα 70 δολ. το βαρέλι, στις ΗΠΑ γίνεται ανταγωνιστική στα 50-60 δολάρια το βαρέλι ενώ για τη Βραζιλία το κατώτατο όριο είναι πολύ χαμηλότερο - μεταξύ 25 και 30 δολαρίων το βαρέλι. Άλλες αποτελεσματικές χώρες παραγωγής ζάχαρης όπως το Πακιστάν, η Σουαζιλάνδη και η Ζιμπάμπουε έχουν κόστος παραγωγής παρόμοιο με αυτό της Βραζιλίας, ενώ οι τιμές στην Ινδία έχουν μειωθεί και πλησιάζουν την τιμή της βενζίνης [16,18].

Όσον αφορά τα βιοκαύσιμα, το κόστος των πρώτων υλών (καλλιέργειες) αποτελεί μείζον στοιχείο του συνολικού κόστους. Ειδικότερα, το κόστος παραγωγής βιοντίζελ που παράγεται από ελαιούχο σπόρο εξαρτάται από το κόστος του πετρελαίου και από τον ανταγωνισμό από χρήσεις υψηλής αξίας όπως το μαγείρεμα. Το μεγαλύτερο μερίδιο κόστους αιθανόλης είναι η φυτική πρώτη ύλη. Οι λειτουργικές δαπάνες, όπως το κόστος των αποθεμάτων, η συμπαραγωγή προϊόντων, οι χημικές ουσίες, η εργασία, η συντήρηση, και οι φόροι, αντιπροσωπεύουν περίπου το ένα τρίτο του συνολικού κόστους ανά λίτρο, εκ των οποίων η ενέργεια που απαιτείται για τη λειτουργία της μονάδας μετατροπής είναι σημαντική (και σε ορισμένες περιπτώσεις αρκετά μεταβλητή) συνιστώσα. Η ανάκτηση του κόστους κεφαλαίου αντιπροσωπεύει περίπου το ένα έκτο του συνολικού κόστους ανά λίτρο. Έχει αποδειχθεί ότι το μέγεθος των φυτών έχει σημαντικό αντίκτυπο στο κόστος, ενώ το μέγεθος της εγκατάστασης μπορεί να μειώσει το λειτουργικό κόστος κατά 15-20%, εξοικονομώντας άλλα \$ 0,02 - \$ 0,03 ανά λίτρο. Έτσι, ένα μεγάλο εργοστάσιο με κόστος παραγωγής 0,29 \$ ανά λίτρο μπορεί να εξοικονομεί \$ 0,05 - \$ 0,06 ανά λίτρο σε σχέση με ένα μικρότερο εργοστάσιο [18].

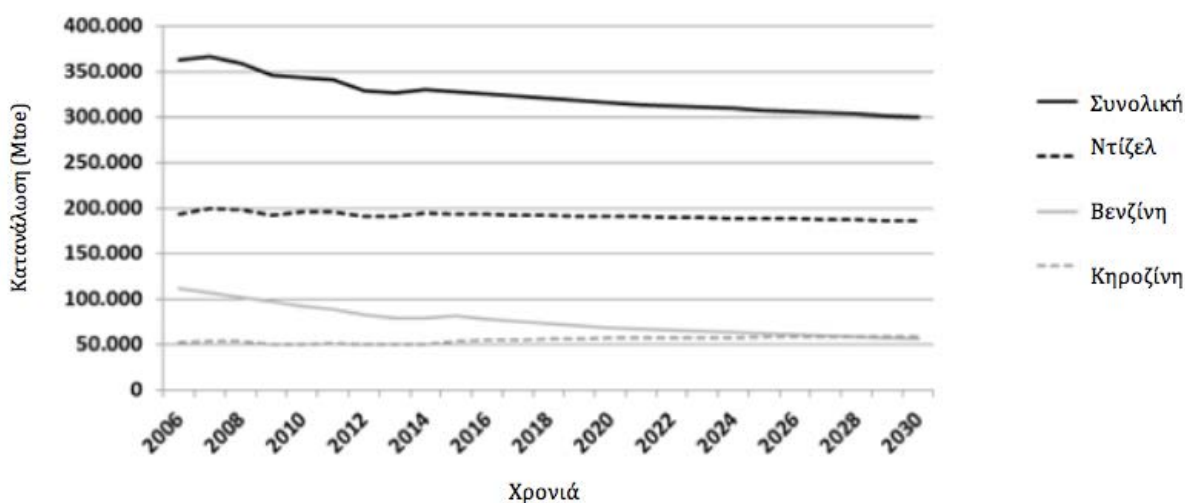
Συμπερασματικά, η αύξηση της ζήτησης ενέργειας, η αλλαγή του κλίματος και οι εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) από τα ορυκτά καύσιμα καθιστούν ως υψηλή προτεραιότητα την αναζήτηση ενεργειακών πηγών χαμηλών εκπομπών άνθρακα. Τα βιοκαύσιμα αποτελούν βασικό στόχο για τη μελλοντική αγορά ενέργειας που μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ενεργειακής ασφάλειας, καθώς θεωρούνται πρωτίστως ως φθηνή πηγή ενέργειας χαμηλής περιεκτικότητας σε άνθρακα.

Σύμφωνα με την Οδηγία 2009/28/EC του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και Συμβουλίου,

η χρήση των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας ως εναλλακτική μορφή καυσίμων αναμένεται να αυξηθεί μέχρι το 2020 περίπου μέχρι 10% σε όλες τις ευρωπαϊκές χώρες. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά την Ελλάδα θεωρείται πως από 6,9% ως προς τη συνολική κατανάλωση ενέργειας το 2005 η χρήση των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας θα φτάσει μέχρι το 18% [25]. Η εκτίμηση αυτή αντικατοπτρίζεται και από τα παρακάτω σχήματα (**Σχήμα 6**, **Σχήμα 7**) που δείχνουν την αύξηση της χρήσης των βιοκαυσίμων για τις μεταφορές και την πτωτική πορεία που έχουν αντίστοιχα τα ορυκτά καύσιμα.

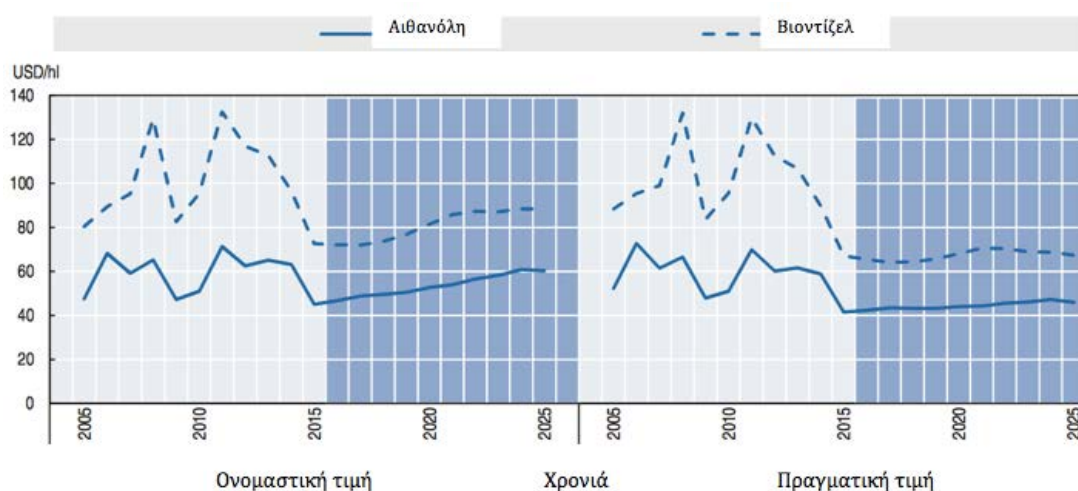


Σχήμα 6: Χρήση βιοκαυσίμων στις μετακινήσεις [26]



Σχήμα 7: Κατανάλωση ορυκτών καυσίμων [26]

Οι διεθνείς τιμές αιθανόλης και βιοντίζελ αναμένεται να ανακάμψουν σε ονομαστικές τιμές μελλοντικά, δεδομένης της εξέλιξης των αγορών αργού πετρελαίου και της ανάκαμψης των τιμών των πρώτων υλών των βιοκαυσίμων (Σχήμα 8). Η παγκόσμια παραγωγή αιθανόλης αναμένεται να αυξηθεί ελαφρά από 116 δις L το 2015 σε 128,4 δις L μέχρι το 2025 και το ήμισυ αυτής της ανάπτυξης θα προέλθει από τη Βραζιλία. Παράλληλα, η επέκταση της παγκόσμιας παραγωγής βιοντίζελ, που θα πραγματοποιηθεί κυρίως στις Ηνωμένες Πολιτείες, την Αργεντινή, τη Βραζιλία και την Ινδονησία και σε μικρότερο βαθμό στην Ευρωπαϊκή Ένωση, αναμένεται να αυξηθεί από 31 δις L το 2015 σε 41,4 δις L έως το 2025 [27].



Σχήμα 8: Παγκόσμιες τιμές βιοκαυσίμων [27]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Παραγωγή βιοαιθανόλης 2^{ης} γενιάς απο βιοαπόβλητα

3.1 Βιοαιθανόλη

Με την αναπόφευκτη εξάντληση του παγκόσμιου πετρελαϊκού εφοδιασμού, παρατηρείται αυξανόμενο παγκόσμιο ενδιαφέρον για εναλλακτικές πηγές ενέργειας που δεν βασίζονται στο πετρέλαιο. Ως προσπάθεια προώθησης της βιωσιμότητας και της ανεξαρτησίας από τα ορυκτά καύσιμα, η βιοαιθανόλη, δηλαδή η αιθανόλη που προέρχεται από ζύμωση, είναι ένα εναλλακτικό καύσιμο μεταφοράς και είναι ένα από τα σημαντικότερα

ανανεώσιμα καύσιμα που συμβάλλει στη μείωση των αρνητικών περιβαλλοντικών επιπτώσεων, όπως η μείωση του αποθέματος αργού πετρελαίου, η μείωση της ποιότητας του αέρα, η αύξηση της παγκόσμιας θερμοκρασίας, η απρόβλεπτη αλλαγή καιρού που προκαλούνται από την εκπομπή ενέργειας με βάση το πετρέλαιο. Αντίθετα με τα ορυκτά καύσιμα που προέρχονται από φυτά που αναπτύχθηκαν πριν από εκατομμύρια χρόνια, τα βιοκαύσιμα παράγονται από φυτά που καλλιεργούνται σήμερα. Είναι καθαρότερα από τα ορυκτά καύσιμα και ο σύντομος κύκλος των αναπτυσσόμενων φυτών και των καυσίμων που παράγονται από αυτά δεν προσθέτουν CO₂ στην ατμόσφαιρα [28].

Ωστόσο, η λειτουργικότητα τροφοδοσίας πρώτης γενιάς βιοαιθανόλης είναι περιορισμένη εξαιτίας της βρωσιμότητάς της, δεδομένου ότι θα έρχεται σε σύγκρουση με το σκοπό της σίτισης. Η παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς εκπληρώνει το μη πρακτικό κενό της πρώτης γενιάς, δεδομένου ότι χρησιμοποιεί μη βρώσιμες πρώτες ύλες προερχόμενες από γεωργικά και δασικά απόβλητα, όπως άχυρο σίτου, ζάχαρη από ζαχαροκάλαμο, σπόρους καλαμποκιού, σκληρό και μαλακό ξύλο. Αυτές οι πρώτες ύλες είναι επαρκώς άφθονες και παράγουν πολύ χαμηλές εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου. Περίπου το 90% του ξηρού βάρους των περισσότερων φυτικών υλικών αποθηκεύεται με τη μορφή κυτταρίνης, ημικυτταρίνης, λιγνίνης και πηκτίνης. Η παρουσία λιγνίνης στις λιγνοκυτταρίνες οδηγεί σε προστατευτικό φραγμό που εμποδίζει την καταστροφή των φυτικών κυττάρων από μύκητες και βακτήρια για μετατροπή σε καύσιμα. Τα λιγνοκυτταρινικά και τα αμυλούχα υλικά, σε αυτά μετατρέπονται σε ζυμώσιμα σάκχαρα που μπορούν να υποστούν περαιτέρω επεξεργασία, με αποτέλεσμα την άνυδρη βιοαιθανόλη ως τελικό προϊόν [29,30].

Η αιθανόλη (CH₃CH₂OH), ένα διαυγές άχρωμο υγρό, βιοαποικοδομήσιμο, χαμηλής τοξικότητας, υψηλής ενεργειακής περιεκτικότητας και καθαρότερο περιβαλλοντικά από τη βενζίνη, είναι το πιο δημοφιλές αλκοολικό βιοκαύσιμο που διατίθεται στην τρέχουσα παγκόσμια αγορά. Η βιοαιθανόλη μπορεί να παραχθεί από πολλές διαφορετικές πρώτες ύλες βιομάζας και τεχνολογίες μετατροπής. Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι κυρίως το ζαχαροκάλαμο σε τροπικές περιοχές όπως η Ινδία, η Βραζιλία και η Κολομβία, ενώ σε άλλες περιοχές όπως οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Ευρωπαϊκή Ένωση και η Κίνα παράγεται από καλαμπόκι. Υπάρχουν διάφοροι λόγοι για τους οποίους χρησιμοποιείται ως εναλλακτικό καύσιμο όπως [31]:

- 1) Παράγεται από ανανεώσιμα γεωργικά προϊόντα όπως το καλαμπόκι, η ζάχαρη, η μελάσα, συμπεριλαμβανομένων άλλων προϊόντων σε αντίθεση με τα πετρελαϊκά προϊόντα.
- 2) Είναι λιγότερο τοξική από άλλα αλκοολούχα καύσιμα.
- 3) Τα υποπροϊόντα ατελούς οξείδωσης της αιθανόλης (π.χ. οξικό οξύ και ακεταλδεΐδη) είναι λιγότερο τοξικά από τα υποπροϊόντα που σχηματίζονται από άλλα καύσιμων αλκοολών.

Η διαδικασία παραγωγής βιοαιθανόλης εξαρτάται από τις χρησιμοποιούμενες πρώτες ύλες. Η παραγωγή της πραγματοποιείται συνήθως σε τρία κύρια στάδια [32]:

- 1) Υδρόλυση κυτταρίνης και ημικυτταρίνης για να ληφθεί το διάλυμα που περιέχει ζυμώσιμα σάκχαρα
- 2) Μετατροπή σακχάρων σε αιθανόλη με ζύμωση
- 3) Διαχωρισμός και καθαρισμός αιθανόλης.

Η βιοαιθανόλη παράγεται συνήθως από τις γεωργικές πρώτες ύλες που περιέχουν ζάχαρη. Το υλικό αυτό μπορεί να ταξινομηθεί ως υλικό πρώτης γενιάς (περιλαμβάνει ζάχαρη και άμυλο) και υλικό δεύτερης γενιάς (περιλαμβάνει λιγνοκυτταρινική ζάχαρη). Τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της βιοαιθανόλης είναι είτε σακχαρούχα (σακχαρότευτλα, γλυκό σόργο κ.α.), είτε αμυλούχα (αραβόσιτος, κρίθη κ.α.), είτε λιγνινοκυτταρινούχα (ξυλώδης βιομάζα, άχυρα κ.α.). Ανάλογα με την πηγή της βιομάζας διαφοροποιείται και η ακολουθούμενη διεργασία για την παραγωγή αιθανόλης. Έτσι, όταν η πρώτη ύλη είναι ενεργειακά φυτά σακχαρούχου σύστασης, όπως το σακχαροκάλαμο, το σακχαρότευτλο ή το γλυκό σόργο, αυτά υπόκεινται, μετά από κατάλληλη φυσική προκατεργασία, σε άμεση ζύμωση για την παραγωγή αιθανόλης μιας και ο κύριος βιομηχανικός αιθανολοπαραγωγός μικροοργανισμός που είναι η ζύμη *Saccharomyces cerevisiae*, έχει τη δυνατότητα να παράγει το ένζυμο που υδρολύει την σακχαρόζη (ιμπερτάση) και έτσι ζυμώνει άμεσα την σακχαρόζη σε αιθανόλη [33]. Πρέπει να σημειωθεί ότι εάν χρησιμοποιούνται ζυμώσιμα υλικά όπως μελάσα και χυμός ζαχαροκάλαμου, τότε δεν είναι απαραίτητες διαδικασίες όπως άλεση, προεπεξεργασία, υδρολύση και αποτοξικοποίηση [31].

Όταν η πρώτη ύλη είναι ενεργειακά φυτά αμυλούχου σύστασης όπως οι σπόροι σιτηρών (καλαμπόκι, σιτάρι), απαιτείται πριν τη ζύμωση για την παραγωγή αιθανόλης ένα στάδιο υδρόλυσης με τη χρήση αμυλασών μιας και η ζύμη *S. cerevisiae* δεν έχει την δυνατότητα παραγωγής των ενζύμων αυτών. Τέλος, όταν η πηγή της βιομάζας είναι διάφορα δασικά κατάλοιπα λιγνινοκυτταρινούχου σύστασης, απαιτείται ένα στάδιο φυσικοχημικής και ενζυμικής προκατεργασίας το οποίο κρίνεται απαραίτητο για τη μετατροπή της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας σε γλυκόζη που ζυμώνεται άμεσα από την ζύμη *S. cerevisiae* σε αιθανόλη [33].



Σχήμα 9: Διεργασίες παραγωγής αιθανόλης από διάφορα υποστρώματα [33]

3.2 Πηγές βιομάζας για παραγωγή βιοαιθανόλης

Σακχαρούχα φυτά

Το ζαχαροκάλαμο, τα ζαχαρότευτλα και ο γλυκός σόργος είναι σακχαρούχα φυτά που χρησιμοποιούνται ως πρώτες ύλες για την παραγωγή αιθανόλης. Τα κύρια πλεονεκτήματά τους είναι η υψηλή απόδοση ζάχαρης ανά στρέμμα και το χαμηλό κόστος μετατροπής ενώ το κύριο μειονέκτημα της χρήσης αυτών των καλλιεργειών είναι η φυσική εποχική διαθεσιμότητά τους [31]. Τα δύο τρίτα της παγκόσμιας παραγωγής ζάχαρης προέρχονται από ζαχαροκάλαμο και το ένα τρίτο προέρχεται από ζαχαρότευτλα. Αυτά τα δύο παράγονται σε γεωγραφικά διακριτές περιοχές. Το ζαχαροκάλαμο καλλιεργείται σε τροπικές και υποτροπικές χώρες, ενώ τα ζαχαρότευτλα καλλιεργούνται μόνο σε χώρες με εύκρατο κλίμα.

Η Βραζιλία είναι ο μεγαλύτερος μεμονωμένος παραγωγός ζαχαροκάλαμου με περίπου 27% της παγκόσμιας παραγωγής [34]. Σήμερα σχεδόν το 85% των αυτοκινήτων που

πωλούνται στη Βραζιλία χρησιμοποιούν αιθανόλη. Κάθε λίτρο αλκοόλης που χρησιμοποιείται κοστίζει κατά μέσο όρο 38 λεπτά φτηνότερα από τη βενζίνη, ενώ παράλληλα η παραγωγή και η καύση αιθανόλης από σακχαροκάλαμο προκαλεί 55-90% λιγότερες εκπομπές CO₂ ότι η βενζίνη. Το κλειδί για τη ραγδαία αύξηση της ζήτησης αιθανόλης στη Βραζιλία είναι το σακχαροκάλαμο, όχι η τεχνολογία των κινητήρων.

Τα σακχαρότευτλα είναι ένας διετής τύπος τεύτλου που καλλιεργείται εμπορικά λόγω της υψηλής περιεκτικότητας των ριζών του σε σάκχαρο. Στην Ελλάδα η καλλιέργεια των σακχαρότευτλων είναι διάσπαρτη σε όλη τη χώρα [33]. Τα ζαχαρότευτλα αποτελούν σημαντική πηγή ζάχαρης στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική και χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων στη Γαλλία. Έχουν καλές αποδόσεις παραγωγής και αναπτύσσονται σε εύκρατο κλίμα με μικρότερη βροχόπτωση από ότι απαιτείται για το ζαχαροκάλαμο. Τα πλεονεκτήματά τους είναι ο χαμηλότερος κύκλος της καλλιέργειας, η υψηλή ανοχή σε ένα ευρύ φάσμα κλιματικών μεταβολών, η χαμηλή ζήτηση νερού και λιπάσματος [34]. Ωστόσο, η παραγωγή αιθανόλης από ζαχαρότευτλα απαιτεί μεγαλύτερη εισροή χημικών και ενέργειας και κατά συνέπεια είναι ακριβότερη από τη διαδικασία που χρησιμοποιεί ζαχαροκάλαμο [31].

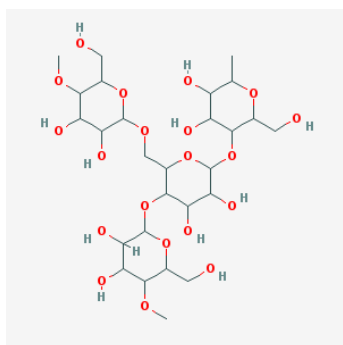
Το γλυκό σόργο είναι ένα μονοετές φυτό με μεγάλη φωτοσυνθετική ικανότητα και υψηλές αποδόσεις σε βιομάζα. Προσαρμόζεται εύκολα σε διάφορα είδη εδαφών και σε ποικίλες κλιματικές συνθήκες. Το γλυκό σόργο μπορεί να καλλιεργηθεί από τις βορειότερες έως τις νοτιότερες περιοχές της Ελλάδας, σε εύφορα αλλά και υποβαθμισμένα εδάφη [33]. Αποτελεί μια από τις πλέον ανθεκτικές στην ξηρασία γεωργικές καλλιέργειες, καθώς έχει την ικανότητα να παραμένει αδρανής κατά τη διάρκεια των πιο ξηρών περιόδων [34].

Αμυλούχα φυτά

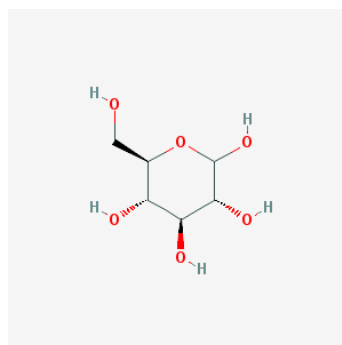
Ένας άλλος τύπος πρώτης ύλης, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοαιθανόλης, είναι τα υλικά με βάση το άμυλο (**Σχήμα 10**). Το άμυλο είναι ένα βιοπολυμερές και ορίζεται ως ομοπολυμερές που αποτελείται μόνο από ένα μονομερές, την D-γλυκόζη (**Σχήμα 11**). Για την παραγωγή βιοαιθανόλης από άμυλο είναι απαραίτητο να διασπαστούν οι αλυσίδες αυτού του υδατάνθρακα για να ληφθεί το σιρόπι γλυκόζης, το οποίο μπορεί να μετατραπεί σε βιοαιθανόλη από ζυμομύκητες. Στο άμυλο, τα πολυμερή της γλυκόζης διασπώνται σε γλυκόζη μέσω υδρολυτικής αντίδρασης που καταλύεται από ένζυμο

γλυκοαμυλάσης. Το προκύπτον σάκχαρο είναι γνωστό ως δεξτρόζη ή α -γλυκόζη που είναι ισομερές γλυκόζης. Η ενζυματική υδρόλυση ακολουθείται από ζύμωση, απόσταξη και αφυδάτωση για να παραχθεί τελικά η άνυδρη αιθανόλη [31]. Αυτός ο τύπος πρώτης ύλης είναι ο πλέον χρησιμοποιούμενος για την παραγωγή βιοαιθανόλης στη Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη. Ο αραβόσιτος, το σιτάρι και το κριθάρι χρησιμοποιούνται κυρίως για τους σκοπούς αυτούς [34].

Το μεγαλύτερο ποσό της αιθανόλης που παράγεται στις ΗΠΑ προέρχεται από αραβόσιτο ενώ στην Ελλάδα η συνολική καλλιεργούμενη έκταση είναι περίπου 2 εκ. στρέμματα με ετήσια παραγωγή περίπου 2 εκ. τόνους. Η χρήση αιθανόλης από καλαμπόκι αντί για τη βενζίνη ως καύσιμο μεταφοράς μειώνει τις εκπομπές των αερίων του θερμοκηπίου κατά 21%.



Σχήμα 10: Δομή αμύλου [35]



Σχήμα 11: Δομή D-γλυκόζης [36]

Λιγνοκυτταρινούχες πηγές βιομάζας

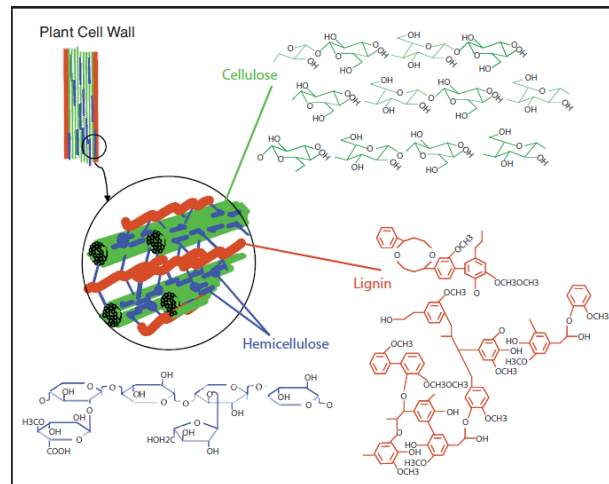
Ο μόνος τρόπος ώστε ο πλανήτης να εκμεταλλευτεί τα πλεονεκτήματα των βιοκαυσίμων χωρίς να τεθούν σε κίνδυνο τα αποθέματα τροφίμων είναι να σταματήσει η χρήση των εδώδιμων κλασμάτων της φυτικής βιομάζας, όπως είναι το άμυλο και η ζάχαρη για την παραγωγή τους και να γίνει μια στροφή στο μη εδώδιμο κλάσμα της φυτικής βιομάζας που είναι η λιγνινοκυτταρίνη. Τα βιοκαύσιμα αυτά που προέρχονται από την αξιοποίηση της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας, ονομάζονται βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς.

Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα, όπως τα γεωργικά υπολείμματα, το ξύλο και οι ενεργειακές καλλιέργειες, είναι ένα ελκυστικό υλικό για την παραγωγή καυσίμου

βιοαιθανόλης, καθώς είναι ο πιο άφθονος αναπαραγωγίμος πόρος στη γη. Τα βασικά υλικά που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία και μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή βιοαιθανόλης είναι [33]:

- 1) Τα αγροτικά παραπροϊόντα, όπως το άχυρο σίτου
- 2) Τα λιγνινοκυτταρινούχα φυτά
 - i. Ετήσια γεωργικά (πχ κυτταρινούχο σόργο, κενάφ)
 - ii. Πολυετή γεωργικά (πχ αγριαγκινάρα, μίσχανθος, καλάμι)
 - iii. Πολυετή δασικά (πχ ευκάλυπτος, ψευδακακία).

Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα θα μπορούσε να παράγει έως και 442 δισεκατομμύρια λίτρα ανά έτος βιοαιθανόλης [37]. Οι καλλιέργειες λιγνοκυτταρίνης είναι πολλά υποσχόμενες για την παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω των υψηλών αποδόσεων, του χαμηλού κόστους, της καταλληλότητας σε σχέση με τη γη χαμηλής ποιότητας και των χαμηλών περιβαλλοντικών επιπτώσεων [34]. Η λιγνινοκυτταρίνη είναι ένας γενικός όρος που περιγράφει σαν σύνολο τα κύρια συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών που είναι: η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη. Η κυτταρίνη είναι ένας πολυσακχαρίτης της γλυκόζης, οι ημικυτταρίνες είναι πολυσακχαρίτες που ο σκελετός τους αποτελείται από διαφορετικές εξόζες (γλυκόζη, μαννόζη, γαλακτόζη) και πεντόζες (ξυλόζη, αραβινόζη) και η λιγνίνη ένα πολύπλοκο δίκτυο από διαφορετικές μονάδες φαινυλ-προπανίου [38]. Η λιγνίνη λειτουργεί ως υλικό συγκόλλησης που δεσμεύει όλα τα άλλα συστατικά μαζί και είναι επίσης υπεύθυνη για την παροχή δομικής ακαμψίας σε μια κυτταρινική τροφοδοσία, ενώ η κυτταρίνη είναι ένα πολυμερές επαναλαμβανόμενων μονάδων β-D-γλυκοκυρανόζης και αποτελεί κύριο συστατικό της λιγνοκυτταρινικής τροφοδοσίας (**Σχήμα 12**) [31]. Τέλος, το κόστος της παραγωγής βιοαιθανόλης από τα λιγνοκυτταρινικά υλικά είναι σχετικά υψηλό όταν βασίζεται στις σημερινές τεχνολογίες, ενώ οι κύριες προκλήσεις είναι η χαμηλή απόδοση που έχει και το υψηλό κόστος της διαδικασίας της υδρόλυσης [34].



Σχήμα 12: Δομή λιγνοκυτταρίνης

3.3 Πλεονεκτήματα - Μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης

Πλεονεκτήματα [39,40,41]

- 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.
- Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε φυτό για την παραγωγή βιοαιθανόλης, αρκεί να περιέχει ζάχαρη και άμυλο.
- Είναι ουδέτερη σε άνθρακα, δηλαδή το διοξείδιο του άνθρακα που απελευθερώνεται στη διεργασία παραγωγής βιοαιθανόλης είναι ίσο με εκείνο των καλλιεργειών που είχαν προηγουμένως απορροφηθεί κατά τη διάρκεια φωτοσύνθεσης.
- 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.
- Τα καυσάερα αιθανόλης είναι πολύ καθαρότερα, καθώς υφίσταται πλήρης καύση.
- Ορισμένα μείγματα αιθανόλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε όλους τους βενζινοκινητήρες χωρίς τροποποιήσεις.
- Η υψηλή περιεκτικότητά της σε οξυγόνο, μειώνει τα επίπεδα μονοξειδίου του άνθρακα περισσότερο από οποιονδήποτε άλλο οξυγονοποιητή.
- Τα μείγματα αιθανόλης μειώνουν δραματικά τις εκπομπές υδρογονανθράκων, [SEP] που

συμβάλλουν σημαντικά στην εξάντληση του στρώματος του όζοντος.

Μειονεκτήματα [39,40,41]

- Οδηγεί σε βιοποικιλότητα καθώς απαιτείται μεγάλη ποσότητα καλλιεργήσιμης γης για την ανάπτυξη των καλλιεργειών. Αυτό θα μπορούσε να καταστρέψει κάποια φυσικά ενδιαίτηματα, συμπεριλαμβανομένων των τροπικών δασών.
- Λόγω των κερδοφόρων τιμών της βιοαιθανόλης, ορισμένοι γεωργοί ενδέχεται να θυσιάσουν καλλιέργειες τροφίμων για παραγωγή βιοκαυσίμων, γεγονός που θα αυξήσει τις τιμές των τροφίμων σε ολόκληρο τον κόσμο.
- Είναι ακριβή η εγκατάσταση μονάδας παραγωγής βιοαιθανόλης.
- Το ενεργειακό περιεχόμενο της βενζίνης είναι πολύ υψηλότερο από αυτό της βιοαιθανόλης.
- Μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τις ηλεκτρικές αντλίες καυσίμου αυξάνοντας την εσωτερική φθορά και την ανεπιθύμητη παραγωγή σπινθήρων.
- Η καθαρή αιθανόλη είναι δύσκολο να εξατμιστεί, γεγονός που καθιστά δύσκολη την εκκίνηση ενός αυτοκινήτου σε χαμηλές θερμοκρασίες και γι' αυτό τα περισσότερα καύσιμα διατηρούν τουλάχιστον μια μικρή ποσότητα βενζίνης.

3.4 Μέθοδοι προκατεργασίας

Η μετατροπή της βιομάζας σε βιοαιθανόλη όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, συνίσταται σε τέσσερις βασικές διαδικασίες: προκατεργασία, υδρόλυση, ζύμωση και διαχωρισμός / απόσταξη προϊόντων [34]. Η βιοαιθανόλη που παράγεται από διάφορα λιγνοκυτταρινικά υλικά, όπως ξύλα, γεωργικά ή δασικά υπολείμματα, έχει τη δυνατότητα να αποτελέσει πολύτιμο υποκατάστατο ή συμπλήρωμα της βενζίνης. Πολλοί φυσικοχημικοί δομικοί και συνθετικοί παράγοντες εμποδίζουν την υδρόλυση της κυτταρίνης που υπάρχει στη βιομάζα σε σάκχαρα και άλλες οργανικές ενώσεις που αργότερα μπορούν να μετατραπούν σε καύσιμα [28]. Το ποσοστό υδρόλυσης χωρίς να έχει προηγηθεί

προκατεργασία είναι 20% μικρότερο από το θεωρητικό, ενώ αν προηγηθεί προκατεργασία είναι 90% μεγαλύτερο από το θεωρητικό [42].

Οι λόγοι για τους οποίους γίνεται προκατεργασία είναι οι εξής [32]:

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

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 [43]. Ακόμα, μια επιτυχημένη προεπεξεργασία πρέπει να πληροί τις ακόλουθες προδιαγραφές [34] :

- 1) Να βελτιώνει τον σχηματισμό σακχάρων ή την ικανότητα να σχηματίσει στη συνέχεια σάκχαρα με υδρόλυση
- 2) Να αποφεύγει την αποικοδόμηση ή την απώλεια υδατανθράκων
- 3) Να αποφεύγει τον σχηματισμό παραπροϊόντων αναστολής σε μεταγενέστερες διαδικασίες υδρόλυσης και ζύμωσης
- 4) Να είναι οικονομικά αποδοτική.

Διάφορες τεχνικές προεπεξεργασίας μεταβάλλουν τη φυσική και χημική δομή της λιγνοκυτταρινικής βιομάζας και βελτιώνουν τα ποσοστά υδρόλυσης. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών αναπτύχθηκε μεγάλος αριθμός μεθόδων προεπεξεργασίας [28]. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί μία σειρά φυσικών, φυσικοχημικών, χημικών και βιολογικών μεθόδων προκατεργασίας της λιγνινοκυτταρινούχας πρώτης ύλης. [SEP]

1) Φυσικές μέθοδοι

a) Μηχανικός κατακερματισμός

Ο στόχος του μηχανικού κατακερματισμού είναι η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και της κρυσταλλικότητας της βιομάζας προκειμένου να αυξηθεί η ειδική επιφάνεια και να μειωθεί ο βαθμός πολυμερισμού [32]. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με

συνδυασμό θρυμματισμού, λείανσης ή άλεσης ανάλογα με το τελικό μέγεθος σωματιδίων του υλικού. Το μέγεθος των υλικών είναι συνήθως 10-30 mm μετά τη θραύση και 0,2-2 mm μετά την άλεση [44]. Για τη βελτίωση της ενζυμικής υδρόλυσης των λιγνοκυτταρινικών υλικών μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές διεργασίες άλεσης (άλεση με σφαίρα, άλεση δύο κυλίνδρων, κολλοειδής άλεση και άλεση δονητικής ενέργειας). Η απαίτηση ισχύος αυτής της προεπεξεργασίας είναι σχετικά υψηλή, κι εξαρτάται από το τελικό μέγεθος των σωματιδίων και τα χαρακτηριστικά της βιομάζας. Λαμβάνοντας υπόψη τις υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις της άλεσης και τη συνεχή άνοδο των τιμών ενέργειας, είναι πιθανό αυτή η διαδικασία να μην είναι οικονομικά εφικτή [32].

b) Πυρόλυση

Η πυρόλυση έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την προεπεξεργασία της βιομάζας. Η κυτταρίνη αποσυντίθεται ταχέως σε αέρια προϊόντα και υπολειμματικό άνθρακα όταν η βιομάζα υφίσταται κατεργασία σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 300 °C. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες, η αποσύνθεση είναι πολύ βραδύτερη και τα προϊόντα που σχηματίζονται είναι λιγότερο πτητικά [28]. Η ελαφρά όξινη υδρόλυση (1 N H₂SO₄, 97 °C, 2,5 ώρες) των υπολειμμάτων από την προκατεργασία πυρόλυσης οδηγεί σε 80-85% μετατροπή της κυτταρίνης σε αναγωγικά σάκχαρα με περισσότερο από 50% γλυκόζη. Η διαδικασία μπορεί να ενισχυθεί με την παρουσία οξυγόνου. Όταν προστίθεται ως καταλύτης χλωριούχος ψευδάργυρος ή ανθρακικό νάτριο, η αποικοδόμηση της καθαρής κυτταρίνης μπορεί να λάβει χώρα σε χαμηλότερη θερμοκρασία [44].

2) Χημικές μέθοδοι

a) Αλκαλική προκατεργασία

Η επίδραση που έχουν ορισμένες βάσεις στη βιομάζα είναι η βάση των αλκαλικών προεπεξεργασιών, οι οποίες είναι αποτελεσματικές ανάλογα με την περιεκτικότητα της βιομάζας σε λιγνίνη [32]. Στην αλκαλική προκατεργασία χρησιμοποιούνται βάσεις όπως

το υδροξείδιο νατρίου ή το υδροξείδιο ασβεστίου. Όλη η λιγνίνη και ένα μέρος της ημικυτταρίνης αφαιρούνται, και έτσι η ικανότητα της κυτταρίνης για την ακολουθούμενη υδρόλυση αυξάνεται σημαντικά. Οι μέθοδοι που βασίζονται στην προκατεργασία με αλκάλια είναι γενικά αποτελεσματικότερες στη διαλυτοποίηση ενός μεγαλύτερου μέρους λιγνίνης ενώ διατηρούν σχεδόν ανέπαφο και αδιάλυτο το μεγαλύτερο μέρος της ημικυτταρίνης [33].

Οι διεργασίες προεπεξεργασίας αλκαλίων χρησιμοποιούν χαμηλότερες θερμοκρασίες και πιέσεις από άλλες τεχνολογίες προκατεργασίας και αποδείχθηκε ότι είναι πιο αποτελεσματική στα γεωργικά υπολείμματα παρά σε ξύλινα υλικά [32]. Μπορούν να διεξαχθούν σε συνθήκες περιβάλλοντος, αλλά ο χρόνος προεπεξεργασίας μετριέται σε ώρες ή ημέρες αντί για λεπτά ή δευτερόλεπτα [34]. Σε σύγκριση με τις μεθόδους με οξύ, οι αλκαλικές μέθοδοι προκαλούν λιγότερη αποικοδόμηση ζάχαρης και πολλά από τα καυστικά άλατα μπορούν να ανακτηθούν ή/και να αναγεννηθούν. Τα υδροξείδια νατρίου, καλίου, ασβεστίου και αμμωνίου είναι κατάλληλοι αλκαλικοί παράγοντες προκατεργασίας [28]. Οι αλκαλικές προκατεργασίες μπορούν να χωριστούν σε δύο ομάδες με βάση τη χρησιμοποιούμενη χημική ουσία: (1) προκατεργασία που χρησιμοποιεί υδροξείδιο νατρίου ή ασβεστίου και (2) προκατεργασία που χρησιμοποιεί αμμωνία. Ένα σημαντικό μειονέκτημα, όμως, της αλκαλικής προεπεξεργασίας είναι η μετατροπή του αλκαλίου σε μη ανακτήσιμα άλατα και η ενσωμάτωση αλάτων στη βιομάζα κατά τη διάρκεια των αντιδράσεων προεπεξεργασίας έτσι ώστε η επεξεργασία μιας μεγάλης ποσότητας αλάτων να γίνει ένα προκλητικό ζήτημα για την αλκαλική προκατεργασία [45].

b) Όξινη προκατεργασία

Ο κύριος στόχος της όξινης προκατεργασίας είναι η διαλυτοποίηση του ημικυτταρικού κλάσματος της βιομάζας και η αύξηση της πρόσβασης της κυτταρίνης στα ένζυμα. Παρουσιάζει το πλεονέκτημα της διαλυτοποίησης της ημικυτταρίνης, κυρίως της ξυλάνης, αλλά επίσης τη μετατροπή της διαλυτοποιημένης ημικυτταρίνης σε ζυμώσιμα σάκχαρα. Παρόλα αυτά, ανάλογα με τη θερμοκρασία της διαδικασίας, ανιχνεύονται κάποιες ενώσεις αποικοδόμησης ζάχαρης όπως ενώσεις φουρφουράλης και αρωματικές ενώσεις αποικοδόμησης λιγνίνης που επηρεάζουν τον μεταβολισμό των

μικροοργανισμών στο στάδιο της ζύμωσης. Αυτός ο τύπος προκατεργασίας μπορεί να γίνει με συμπυκνωμένο ή αραιωμένο οξύ, αλλά η χρησιμοποίηση συμπυκνωμένου οξέος είναι λιγότερο ελκυστική για την παραγωγή αιθανόλης λόγω του σχηματισμού ανασταλτικών ενώσεων. Επιπλέον, τα προβλήματα διάβρωσης του εξοπλισμού και η ανάκτηση οξέων είναι σημαντικά μειονεκτήματα όταν χρησιμοποιείται αυτή η μέθοδος, ενώ τα υψηλά κόστη λειτουργίας και συντήρησης μειώνουν το ενδιαφέρον της εφαρμογής της σε εμπορική κλίμακα [32]. Καταλληλότερες για βιομηχανική εφαρμογή κρίνονται οι μέθοδοι στις οποίες χρησιμοποιούνται αραιά οξέα, όπως το θειϊκό 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 [43].

c) Προκατεργασία με οργανικούς διαλύτες

Στην προεπεξεργασία με οργανικό διαλύτη μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολυάριθμα μίγματα οργανικών ή υδατικών διαλυτών, συμπεριλαμβανομένης της μεθανόλης, της αιθανόλης, της ακετόνης, της αιθυλενογλυκόλης και της τετραϋδροφουρφυρουλικής αλκοόλης, προκειμένου να διαλυτοποιηθεί η λιγνίνη και η ημικυτταρίνη, παρέχοντας επεξεργασμένη κυτταρίνη κατάλληλη για ενζυμική υδρόλυση. Αν και μπορούν να εφαρμοσθούν αρκετοί οργανικοί διαλύτες στις προκατεργασίες αυτές, οι αλκοόλες χαμηλού μοριακού βάρους όπως η αιθανόλη και η μεθανόλη ευνοούνται κυρίως λόγω των κατώτερων σημείων βρασμού τους [45]. Σε σύγκριση με άλλες χημικές προεπεξεργασίες, το κύριο πλεονέκτημα της διεργασίας αυτής είναι η ανάκτηση σχετικά καθαρής λιγνίνης ως παραπροϊόν και το γεγονός πως οι οργανικοί διαλύτες είναι πάντα εύκολο να ανακτηθούν με απόσταξη και να ανακυκλωθούν για προκατεργασία, ενώ το βασικό μειονέκτημά της είναι το υψηλό κόστος των οργανικών διαλυτών.

d) Οζονόλυση

Η επεξεργασία με το όζον είναι ένας τρόπος μείωσης της περιεκτικότητας σε λιγνίνη

των αποβλήτων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της πεπτικότητας του κατεργασμένου υλικού *in vitro* και, σε αντίθεση με άλλες χημικές επεξεργασίες, δεν παράγει τοξικά κατάλοιπα [45]. Η προεπεξεργασία πραγματοποιείται συνήθως σε θερμοκρασία δωματίου και κανονική πίεση και δεν οδηγεί στον σχηματισμό ανασταλτικών ενώσεων που μπορούν να επηρεάσουν την επακόλουθη υδρόλυση και ζύμωση. Ένα μειονέκτημα της οζονόλυσης είναι ότι απαιτείται μεγάλη ποσότητα όζοντος, γεγονός που μπορεί να καταστήσει τη διαδικασία δαπανηρή και λιγότερο εφαρμόσιμη [32].

3) Φυσικοχημικές μέθοδοι

a) Προκατεργασία με ατμό/έκρηξη ατμού συνδυαζόμενη με αυτοϋδρόλυση

Η προκατεργασία με ατμό είναι μία από τις συνηθέστερες προεπεξεργασίες που εφαρμόζονται σε κλασματικά συστατικά βιομάζας και αυξάνεται έτσι η χημική και βιολογική δραστηριότητά της. Στην παρούσα διεργασία το λιγνινοκυτταρινούχο υλικό θερμαίνεται με ατμό υψηλής πίεσης σε θερμοκρασίες 160-240 °C για μια χρονική περίοδο μερικών δευτερολέπτων έως και μερικών λεπτών [45]. Μετά, το υλικό υφίσταται μια εκτονωτική αποσυμπίεση, που σε συνδυασμό με την αυτοϋδρόλυση που προκαλείται από τον σχηματισμό διάφορων οργανικών οξέων από τα προϋπάρχοντα οξικά οξέα του υλικού λόγω της θερμοκρασίας, προκαλείται μερική υδρόλυση και διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης, με ταυτόχρονη βελτίωση του δυναμικού αποικοδόμησης της κυτταρίνης [33]. Η διαφορά μεταξύ των προκατεργασιών ατμού και έκρηξης ατμού είναι η γρήγορη ελάττωση της πίεσης και η ψύξη της βιομάζας στο τέλος της προκατεργασίας της έκρηξης ατμού που αναγκάζει το νερό που περιέχεται στη βιομάζα να εκραγεί [46].

Συνοπτικά, οι επιδράσεις της επεξεργασίας έκρηξης ατμού στις ενώσεις αυτές είναι: (i) αυξάνεται η κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης προάγοντας την κρυστάλλωση των άμορφων τμημάτων, (ii) η ημικυτταρίνη υδρολύεται εύκολα και (iii) υπάρχουν ενδείξεις ότι η έκρηξη ατμού προάγει την απομάκρυνση της λιγνίνης. Η προεπεξεργασία αυτή είναι μια ελκυστική διαδικασία επειδή κάνει περιορισμένη χρήση χημικών ουσιών και δεν

οδηγεί σε υπερβολική αραίωση των προκύπτοντων σακχάρων [45]. Τα πλεονεκτήματα της έκρηξης ατμού είναι η χαμηλή απαιτούμενη ενέργεια σε σύγκριση με τη μηχανική κατεργασία και ότι δε συνεπάγεται ανακύκλωση ή περιβαλλοντικό κόστος. Θεωρείται η πλέον αποδοτική από πλευράς κόστους λύση για υπολείμματα σκληρού ξύλου και γεωργικής προέλευσης, αλλά είναι λιγότερο αποτελεσματική για μαλακό ξύλο [34]. Μειονέκτημα αυτής της διεργασίας αποτελεί η αποικοδόμηση των σακχάρων λόγω της υψηλής θερμοκρασίας και του μεγάλου χρόνου κατεργασίας [33].

b) Υδροθερμόλυση

Η υδροθερμόλυση είναι μια επεξεργασία που δεν απαιτεί ταχεία αποσυμπίεση και δεν χρησιμοποιεί κανέναν καταλύτη ή χημικά. Εφαρμόζεται πίεση για τη διατήρηση του νερού σε υγρή κατάσταση σε υψηλές θερμοκρασίες (160-240 °C) και προκαλεί αλλοιώσεις στη δομή της βιομάζας [32]. Η μέθοδος είναι παρόμοια με εκείνη της προεπεξεργασίας ατμού, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιούνται συνήθως χαμηλότερες θερμοκρασίες καθώς επίσης και μικρότερες συγκεντρώσεις της προκατεργασμένης βιομάζας. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη ανάκτηση των σχηματιζόμενων πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών. Ένας καταλύτης, όπως ένα οξύ, μπορεί να προστεθεί, καθιστώντας τη μέθοδο παρόμοια με την προκατεργασία αραιού οξέος. Δεδομένου ότι η περιεκτικότητα σε νερό είναι πολύ υψηλότερη απ' ό τι στην προκατεργασία ατμού, το προκύπτον, από την προκατεργασία, σακχαροδιάλυμα είναι αραιωμένο, καθιστώντας τις περαιτέρω διεργασίες περισσότερο ενεργοβόρες [33]. Γενικά, η προκατεργασία με θερμό νερό είναι ελκυστική εξαιτίας του χαμηλού κόστους της. Το κόστος κατασκευής και συντήρησης είναι χαμηλό αφού δεν υπάρχει κίνδυνος χημικής διάβρωσης του εξοπλισμού αλλά απαιτεί υψηλές ποσότητες νερού και περισσότερη ενέργεια σε σύγκριση με διεργασίες όπως η προκατεργασία με εκτόνωση ατμού [43].

c) Έκρηξη αμμωνίας (εκτόνωση ίνας με αμμωνία)

Η έκρηξη αμμωνίας είναι επίσης μια αλκαλική μέθοδος προκατεργασίας βιομάζας η οποία όπως και η προκατεργασία ατμού, λειτουργεί σε καθεστώς υψηλών πιέσεων (πάνω από 3 MPa) [33]. Αυτή η προεπεξεργασία εφαρμόζεται συνήθως σε υγρή βιομάζα (0,1-2 g H₂O / g ξηρής βιομάζας) με υγρή αμμωνία (0,3-2 g NH₃ / g ξηρής βιομάζας) ενώ το μίγμα βιομάζας-νερού-αμμωνίας θερμαίνεται (60-100 °C) για μια χρονική περίοδο (5-60 λεπτά) πριν από την ταχεία απελευθέρωση της πίεσης [44]. Η αμμωνία ανακυκλώνεται μετά από την προκατεργασία και μείωση της πίεσης, δεδομένου ότι είναι πολύ πτητική όταν βρίσκεται στα επίπεδα της ατμοσφαιρικής πίεσης. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι κατά τη διάρκεια της προκατεργασίας, μόνο ένα μικρό ποσοστό της στερεάς βιομάζας διαλυτοποιείται, υπάρχει σχεδόν πλήρης ανάκτηση στερεού υλικού, υψηλή χωνευσιμότητα κυτταρίνης στην επακόλουθη ενζυματική υδρόλυση και πρακτικά η ημικυτταρίνη και λιγνίνη μένουν ανέπαφες. Επίσης, σημαντικό πλεονέκτημα αποτελεί η απουσία δημιουργίας παρεμποδιστών, ενώ μια ανησυχία για 'αυτή τη διαδικασία είναι το κόστος της αμμωνίας και η ανάγκη για τεχνολογίες ανακύκλωσης. Η μέθοδος αυτή προκατεργασίας είναι αποτελεσματική για υλικά που περιέχουν μικρό ποσοστό λιγνίνης [45].

d) Έκρηξη CO₂

Σε προσπάθεια ανάπτυξης βελτιωμένων τεχνικών προεπεξεργασίας βιομάζας, αναπτύχθηκε η ιδέα της χρήσης υπερκρίσιμης έκρηξης CO₂, η οποία θα είχε χαμηλότερη θερμοκρασία από την έκρηξη ατμού και ενδεχομένως μειωμένο κόστος σε σύγκριση με την έκρηξη αμμωνίας [28]. Παρόμοια με την προκατεργασία έκρηξης ατμού και αμμωνίας, η έκρηξη CO₂ χρησιμοποιείται επίσης για την προκατεργασία λιγνινοκυτταρινούχων πρώτων υλών. Το CO₂ μεγιστοποιεί την πίεση, ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες αντιδρά με το συμπύκνωμα ατμού προς παραγωγή ανθρακικού οξέος (H₂CO₃), το οποίο ενισχύει την αυτοϋδρόλυση [47]. Έχει διαπιστωθεί ότι η έκρηξη του CO₂ είναι οικονομικώς πιο αποδοτική από την έκρηξη αμμωνίας και αποτρέπει το σχηματισμό παρεμποδιστικών ενώσεων, ενώ παράλληλα επειδή λειτουργεί σε χαμηλές θερμοκρασίες, δεν προκαλεί αποικοδόμηση των σακχάρων λόγω της υψηλής θερμοκρασίας [28].

e) Προκατεργασία υπερήχων (ultrasound)

Η επίδραση των υπερήχων στη βιομάζα έχει χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση των ημικυτταρινών, της κυτταρίνης και της λιγνίνης, αλλά έχει εξεταστεί και η ευαισθησία των συνδετικών κυττάρων στην υδρόλυση [48]. Η υψηλότερη απόδοση ενζυμικής υδρόλυσης μετά από προκατεργασία υπερήχων μπορεί να εξηγηθεί λόγω των φαινομένων σπηλαίωσης, που προκαλούνται από την εισαγωγή πεδίου υπερήχων στο διάλυμα επεξεργασίας ενζύμου και ενισχύουν σημαντικά τη μεταφορά μακρομορίων ενζύμου προς την επιφάνεια του υποστρώματος. Επιπλέον, οι μηχανικές κρούσεις, που παράγονται από την κατάρρευση των φυσαλίδων σπηλαίωσης, παρέχουν ένα σημαντικό πλεονέκτημα καθώς ανοίγουν την επιφάνεια των στερεών υποστρωμάτων για τη δράση των ενζύμων [32].

4) Βιολογική προκατεργασία

Οι περισσότερες τεχνολογίες προεπεξεργασίας απαιτούν ακριβά όργανα ή εξοπλισμό που έχουν υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις, ανάλογα με τη διαδικασία. Ειδικότερα, οι φυσικές και θερμοχημικές διεργασίες απαιτούν άφθονη ενέργεια για τη μετατροπή της βιομάζας. Η βιολογική επεξεργασία χρησιμοποιεί διάφορους τύπους μικροοργανισμών, είναι μια ασφαλή και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος και θεωρείται όλο και περισσότερο ως μια διαδικασία που δεν απαιτεί υψηλή ενέργεια για την αφαίρεση της λιγνίνης από μια λιγνοκυτταρινική βιομάζα, παρά την εκτεταμένη αποικοδόμηση της λιγνίνης [28].

Οι βιολογικές μέθοδοι προκατεργασίας, λοιπόν, χρησιμοποιούν μικροοργανισμούς για την αποικοδόμηση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης καθώς και τη μείωση του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης. Στα πλεονεκτήματα των βιολογικών μεθόδων προκατεργασίας συγκαταλλέγονται η φιλικότητα τους προς το περιβάλλον καθώς και οι μικρές ενεργειακές απαιτήσεις [33]. Στα μειονεκτήματα συγκαταλλέγονται ο πολύ αργός ρυθμός υδρόλυσης από τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται, η παρεμπόδιση ανάπτυξης των μικροοργανισμών από παράγωγα της λιγνίνης και η σημαντική απώλεια ξυλάνης και

μαννάνης (πολυμερές της μαννόζης) [49]. Οι βιολογικές μέθοδοι μπορούν να θεωρηθούν αποδοτικές ως προς το κόστος εάν συνδυαστούν με άλλες φυσικές ή χημικές μεθόδους. Αυτές οι τεχνολογίες θα μπορούσαν να απλουστεύσουν σε μεγάλο βαθμό την προεπεξεργασία, αλλά τα ποσοστά είναι αργά, οι αποδόσεις είναι χαμηλές και υπάρχει ελάχιστη εμπειρία γι' αυτές τις προσεγγίσεις [50].

Στον **Πίνακα 4** παρουσιάζονται συνοπτικά τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των διαφόρων μεθόδων προκατεργασίας.

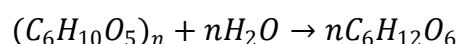
Πίνακας 4: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μεθόδων προκατεργασίας [32,51]

Μέθοδος προκατεργασίας	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Άλεση	Μείωση κρυσταλλικότητας κυτταρίνης	Υψηλή κατανάλωση ενέργειας
Έκρηξη ατμού	Οικονομικά αποδοτική, αποικοδόμηση λιγνίνης και διαλυτοποίηση ημικυτταρίνης	Ατελής αποικοδόμηση λιγνοκυτταρινούχου δομής, παραγωγή παρεμποδιστών
Έκρηξη αμμωνίας	Απομάκρυνση λιγνίνης και ημικυτταρίνης ως ένα βαθμό, όχι παρεμποδιστές για τις επακόλουθες διεργασίες	όχι αποδοτική για βιομάζα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη
Έκρηξη CO₂	Οικονομικά αποδοτική, αύξηση της διαθέσιμης επιφάνειας, όχι παρεμποδιστές	Δεν επηρεάζει τη λιγνίνη και την ημικυτταρίνη
Οζονόλυση	Μείωση λιγνίνης, όχι τοξικές ουσίες	Ακριβή, απαίτηση για μεγάλες ποσότητες όζοντος
Όξινη	Διαλυτοποίηση ημικυτταρίνης, αλλαγή στη δομή της λιγνίνης	Υψηλό κόστος, διάβρωση εξοπλισμού, σχηματισμός τοξικών ουσιών
Αλκαλική	Απομάκρυνση ημικυτταρίνης και λιγνίνης	Απαίτηση για μεγάλους χρόνους παραμονής,

		παραγωγή παρεμποδιστών
Οργανικοί διαλύτες	Υδρόλυση λιγνίνης και ημικυτταρίνης	Υψηλό κόστος, ανάκτηση και ανακύκλωση διαλυτών
Πυρόλυση	Παραγωγή υγρών και αέριων προϊόντων	Υψηλές θερμοκρασίες, παραγωγή στάχτης
Βιολογική	Αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης, μικρές ενεργειακές απαιτήσεις	Μικρή απόδοση υδρόλυσης, απαίτηση μεγάλου όγκου
Υδροθερμόλυση	Υδρόλυση ημικυτταρίνης, αποδόμηση λιγνίνης, όχι παρεμποδιστές	Υψηλές θερμοκρασίες, προσθήκη βάσεως για έλεγχο pH

3.5 Υδρόλυση

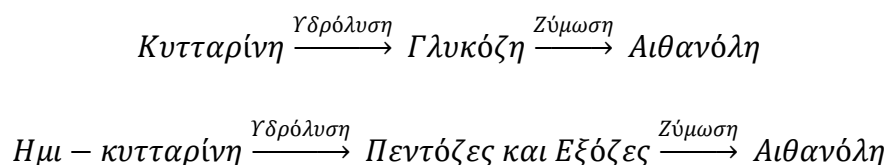
Μετά την ολοκλήρωση της προκατεργασίας, η κυτταρίνη προετοιμάζεται για υδρόλυση, δηλαδή τη διάσπαση ενός μορίου με την προσθήκη ενός μορίου νερού.



Αυτή η αντίδραση καταλύεται με αραιό οξύ, συμπυκνωμένο οξύ ή ένζυμα κυτταρινασών (cellulase). Οι κυτταρινάσες έχουν πολλά πλεονεκτήματα καθώς οι πολύ ήπιες συνθήκες (pH=4,8 και θερμοκρασία 318-323K) δίνουν υψηλές αποδόσεις και το κόστος συντήρησης είναι χαμηλό σε σύγκριση με την αλκαλική και όξινη υδρόλυση εξαιτίας προβλημάτων διάβρωσης. Η υδρόλυση χωρίς προκατεργασία αποδίδει συνήθως το 20%, ενώ οι αποδόσεις μετά την προκατεργασία συχνά υπερβαίνουν το 90%. Ένας αριθμός διαδικασιών για την υδρόλυση κυτταρίνης σε γλυκόζη έχουν αναπτυχθεί με την πάροδο των ετών. Η συντριπτική πλειονότητα των σχημάτων επεξεργασίας χρησιμοποιεί είτε ένζυμα είτε θειικό οξύ ποικίλων συγκεντρώσεων. Ιστορικά, τα ένζυμα ήταν πολύ ακριβά για την οικονομική παραγωγή αιθανόλης καυσίμου από βιομάζα, ενώ το θειικό οξύ είναι λιγότερο δαπανηρό από τα ένζυμα, αν και το κόστος διάθεσης που συνδέεται με τη χρήση θειικού οξέος αυξάνει σημαντικά το συνολικό του κόστος. Ωστόσο, το μεγαλύτερο μειονέκτημα στη χρήση θειικού

οξέος είναι ότι υποβαθμίζει τη γλυκόζη στις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για την υδρόλυση της κυτταρίνης [34].

Κατά τη διαδικασία της υδρόλυσης, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη μπορούν να μετατραπούν σε αιθανόλη, ενώ η λιγνίνη παραμένει ως παραπροϊόν:



Παράλληλα, υπάρχουν μερικές άλλες μέθοδοι υδρόλυσης στις οποίες δεν εφαρμόζονται χημικά ή ένζυμα. Για παράδειγμα, οι λιγνοκυτταρίνες μπορούν να υδρολυθούν με ακτινοβολία ακτίνων γάμμα ή δέσμης ηλεκτρονίων ή ακτινοβολία μικροκυμάτων. Ωστόσο, αυτές οι διαδικασίες απέχουν πολύ από την εμπορική εφαρμογή τους [52].

Όξινη υδρόλυση

Η όξινη υδρόλυση περιλαμβάνει την έκθεση των λιγνοκυτταρινικών υλικών σε μια χημική ουσία για μια χρονική περίοδο σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία και οδηγεί σε μονομερή ζάχαρης από πολυμερή κυτταρίνης και ημικυτταρίνης [52]. Το κύριο πλεονέκτημα της όξινης υδρόλυσης είναι ότι τα οξέα μπορούν να διεισδύσουν στην λιγνίνη χωρίς οποιαδήποτε προκατεργασία της βιομάζας, διαλύοντας έτσι τα πολυμερή κυτταρίνης και ημικυτταρίνης για να σχηματίσουν μεμονωμένα μόρια σακχάρου. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τύποι οξέων, συμπυκνωμένοι ή αραιωμένοι, όπως θειικό, υδροχλωρικό, υδροφθορικό, φωσφορικό, νιτρικό και μυρμηκικό οξύ. Τα θειικά και τα υδροχλωρικά οξέα είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι καταλύτες για την όξινη υδρόλυση της λιγνοκυτταρικής βιομάζας. Οι υδρολύσεις οξέος μπορούν να διαιρεθούν σε δύο ομάδες: (1) με συμπυκνωμένο οξύ και (2) με αραιό οξύ [53].

1) Υδρόλυση με πυκνό οξύ

Η διαδικασία συμπυκνωμένου οξέος παρέχει πλήρη 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. Οι χρόνοι αντίδρασης είναι συνήθως πολύ μεγαλύτεροι από ό,τι για τη διαδικασία αραιού οξέος [34]. Για την υδρόλυση της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας χρησιμοποιείται 30-40% (w/w) θειικό οξύ σε ήπιες θερμοκρασίες (30-35 °C), και κανονικές πιέσεις για μερικές ώρες. Η διεργασία αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την ανάκτηση του 85-90% του συνόλου των εξοζών και πεντοζών με την ταυτόχρονη παραγωγή ελάχιστων παρεμποδιστών. Το μεγάλο μειονέκτημα αυτής της διεργασίας αποτελεί το γεγονός ότι για να θεωρηθεί οικονομικώς βιώσιμη πρέπει να ανακυκλωθεί το μεγαλύτερο μέρος του χρησιμοποιούμενου οξέος [33]. Επίσης απαιτείται κατάλληλος υψηλός κόστους εξοπλισμός για την αποφυγή της διάβρωσης που προκαλείται από τη χρησιμοποίηση τόσο υψηλών συγκεντρώσεων οξέων, ενώ παράλληλα οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις περιορίζουν σημαντικά την εφαρμογή του υδροχλωρικού οξέος [52].

2) Υδρόλυση με αραιό οξύ

Η υδρόλυση της βιομάζας με αραιό οξύ αποτελεί την παλαιότερη τεχνολογία μετατροπής βιομάζας σε αιθανόλη. Η χρησιμοποίηση χαμηλών συγκεντρώσεων οξέων (<1%) απαιτεί τη χρησιμοποίηση υψηλών θερμοκρασιών (180-230 °C) και πιέσεων που εφαρμόζονται για ένα σύντομο χρονικό διάστημα μερικών δευτερολέπτων έως ολίγων λεπτών, γεγονός που επιτρέπει και τη συνεχή λειτουργία της διεργασίας. Το οξύ που χρησιμοποιείται συνήθως είναι το θειικό οξύ, λόγω της χαμηλότερης τιμής και των λιγότερων προβλημάτων διάβρωσης που παρουσιάζει το συγκρινόμενο με άλλα οξέα όπως π.χ. το υδροχλωρικό οξύ [33]. Προκειμένου να αποφευχθεί η αποικοδόμηση των μονοσακχαριτών σε υψηλές θερμοκρασίες και ο σχηματισμός των αναστολέων, η υδρόλυση αραιού οξέος διεξάγεται σε δύο (ή περισσότερα) στάδια. Στο πρώτο στάδιο, το οποίο πρέπει να διεξαχθεί υπό σχετικά ήπιες συνθήκες, η ημικυτταρίνη μετατρέπεται σε μονομερή ζάχαρης, το οποίο θεωρείται ισοδύναμο με ένα στάδιο προκατεργασίας με αραιό οξύ, ενώ στο δεύτερο στάδιο, το υπολειμματικό στερεό υδρολύεται υπό πιο έντονες συνθήκες, επιτρέποντας την υδρόλυση της κυτταρίνης [52]. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της υδρόλυσης με αραιό οξύ είναι ο γρήγορος ρυθμός αντίδρασης, ενώ από

την άλλη μειονεκτικότητα της μεθόδου αποτελούν η καταστροφή του μεγαλύτερου μέρους των πεντοζών που προέρχονται από την ημικυτταρίνη καθώς και ενός μέρους των εξοζών που προέρχονται από την κυτταρίνη λόγω της εφαρμογής υψηλών θερμοκρασιών και οι παρεμποδιστές που παράγονται και αναστέλλουν τη μικροβιακή ανάπτυξη των ζυμωτικών μικροοργανισμών και τη δράση των ενζύμων που μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως μέρος της προκατεργασίας [34].

Ενζυμική υδρόλυση

Το αδιάλυτο κλάσμα που απομένει μετά την προκατεργασία των λιγνινοκυτταρινούχων υλικών, αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη και λιγνίνη, καθώς το μεγαλύτερο μέρος του κλάσματος των ημικυτταρινών έχει διαλυτοποιηθεί. Έτσι, η πιο σημαντική ενζυμική δράση που είναι αναγκαία για την υδρόλυση της προκατεργασμένης βιομάζας είναι εκείνη των κυτταρινασών [33]. Η ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης διεξάγεται από ένζυμα κυτταρινασών τα οποία είναι ιδιαίτερα εξειδικευμένα. Τα προϊόντα της υδρόλυσης είναι συνήθως αναγωγικά σάκχαρα συμπεριλαμβανομένης της γλυκόζης. Το κόστος της ενζυμικής υδρόλυσης είναι χαμηλό σε σύγκριση με την όξινη υδρόλυση, επειδή η ενζυμική υδρόλυση συνήθως διεξάγεται σε ήπιες συνθήκες και δεν παρουσιάζει προβλήματα διάβρωσης [53]. Το ένζυμο με την ονομασία "κυτταρινάση" είναι στην ουσία ένα σύνθετο σύστημα ενζύμων που δρουν συνεργιστικά για να αποικοδομήσουν την κυτταρίνη. Υπάρχουν τρεις διαφορετικές ενζυμικές δράσεις συμμετέχουν στην υδρόλυση της κυτταρίνης [33]:

- 1) Οι ένδο-1,4-β-γλουκανάσες, οι οποίες υδρολύουν τυχαία εσωτερικούς 1,4-β-D-γλυκοζιτικούς δεσμούς της κυτταρίνης. [L]SEP
- 2) Οι έξω-1,4-β-D-γλουκανάσες, που απελευθερώνουν μόρια κελλοβιόζης από τα άκρα της κυτταρίνης. [L]SEP
- 3) Οι β-γλυκοζιδάσες, οι οποίες δρουν απελευθερώνοντας D-γλυκόζη από την κελλοβιόζη. [L]SEP

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 την

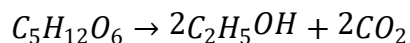
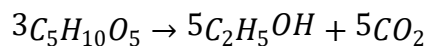
δράση της β-γλυκοζιδάσης. Η δράση της β-γλυκοζιδάσης είναι πολύ σημαντική, καθώς η κελλοβιόζη είναι πολύ ισχυρότερος παρεμποδιστής της εξωγλουκανάσης από την γλυκόζη. Η συσσώρευση της κελλοβιόζης μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη συνολική υδρολυτική απόδοση του συστήματος των κυτταρινασών [54].

Εκτός από τις τρεις κύριες ομάδες ενζύμων κυτταρινάσης, υπάρχουν επίσης ορισμένα βοηθητικά ένζυμα που προσβάλλουν την ημικυτταρίνη, όπως η γλυκουρονιδάση, η ακετυλεστεράση, η ξυλανάση, η β-ξυλοσιδάση, η γαλακτομαννανάση και η γλυκομαννάση [53]. Ο ρυθμός υδρόλυσης κυτταρίνης από ένζυμα μειώνεται ταχέως με τη μετατροπή, οδηγώντας σε μειωμένες αποδόσεις, μεγάλους χρόνους επεξεργασίας και υψηλή χρήση ενζύμων. Κατά τη διάρκεια της ενζυμικής υδρόλυσης ενός προκατεργασμένου λιγνοκυτταρινικού υποστρώματος, μετά από μια αρχική ταχεία φάση, ο ρυθμός υδρόλυσης μειώνεται ταχέως καθώς αυξάνει το ποσοστό μετατροπής της κυτταρίνης και στις περισσότερες περιπτώσεις, ως αποτέλεσμα μιας ελλιπούς υδρόλυσης, παραμένει ένα ανθεκτικό κυτταρινικό υπόλειμμα. Αν και η δομή και η λειτουργία των κυτταρινασών έχουν γίνει αντικείμενο εντατικής έρευνας τα τελευταία 30 χρόνια, η επίτευξη αποτελεσματικής ενζυμικής υδρόλυσης κυτταρίνης παραμένει ένας δύσκολος στόχος, καθώς η ετερογενής και αδιάλυτη φύση της βιομάζας λιγνοκυτταρίνης αποτελεί πρόκληση για τα συστήματα κυτταρινάσης [55]. Ο στόχος είναι οι κυτταρινάσες να βελτιωθούν καταλυτικά ώστε να υδρολύουν την ίδια ποσότητα κυτταρίνης χρησιμοποιώντας το 1/10 του ενζυμικού φορτίου [33].

3.6 Ζύμωση

Οι διαδικασίες προκατεργασίας και υδρόλυσης έχουν σχεδιαστεί για τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας της ζύμωσης. Αυτή η φυσική βιολογική οδός ανάλογα με τις συνθήκες και την πρώτη ύλη που απαιτείται απαιτεί την παρουσία μικροοργανισμών για να μετατρέψει τη ζάχαρη σε αλκοόλη, γαλακτικό οξύ ή άλλα τελικά προϊόντα. Επιπλέον, οι βιομηχανικές ζυμομύκητες όπως ο *S. cerevisiae* έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή αλκοόλης κυρίως στις βιομηχανίες ζυθοποιίας και οινοποιίας για χιλιάδες χρόνια. Το *S. cerevisiae* έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για βιομηχανίες βιοκαυσίμων με βάση το καλαμπόκι και τη ζάχαρη ως το κύριο ζυμωτικό στέλεχος [56].

Κατά τη ζύμωση, 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 [34]:



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 ζύμη *S. cerevisiae* μεταβολίζει την γλυκόζη σε αιθανόλη μέσω γλυκόλυσης, ή αλλιώς μέσω του μονοπατιού Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Με αυτή τη διαδικασία ένα μόριο γλυκόζης διασπάται σε δύο μόρια πυροσταφυλικού οξέος, ενώ για το σχηματισμό των μορίων υψηλού ενεργειακού περιεχομένου ATP και NADH χρησιμοποιείται η ενέργεια που απελευθερώνεται κατά τη διαδικασία. Σε αναερόβιες συνθήκες, όπως στη ζύμωση, τα ATP που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της γλυκόλυσης αποτελούν την κύρια πηγή ενέργειας των μικροοργανισμών. Έπειτα, το πυροσταφυλικό μετατρέπεται σε αιθανόλη και αποβάλλεται από το κύτταρο, βοηθώντας στο σχηματισμό μορίων NAD⁺ που χρησιμοποιούνται για τη συνεχή εξέλιξη των αντιδράσεων της γλυκόλυσης [57].

Ένα διαφορετικό μονοπάτι αφομοίωσης της γλυκόζης είναι το Entner-Doudoroff (ED), που αξιοποιείται συνοδευτικά με το EMP από πολλά βακτήρια, όπως του γένους *Zygomonas*. Ο μεταβολισμός γίνεται κυρίως μέσω του 6-φωσφογλυκονικού (6-PG) και της διάσπασης του σε πυροσταφυλικό και 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη που μεταβολίζεται ακολούθως από τα ένζυμα της γλυκόλυσης ώστε να αποδώσει ακόμα ένα μόριο πυροσταφυλικού. Η ενεργειακή απόδοση αυτού του μονοπατιού είναι ένα μόριο ATP και δύο μόρια NADPH ανά μόριο γλυκόζης. Αυτή η χαμηλή παραγωγή ενέργειας οδηγεί σε περισσότερη γλυκόζη στην παραγωγή αιθανόλης και λιγότερη στην παραγωγή μάζας κυττάρων, απ' ό,τι στη γλυκόλυση, η οποία αποδίδει 2 μόρια ATP ανά μόριο γλυκόζης και διοχετεύει μεγαλύτερο ποσοστό της πηγής άνθρακα προς μεταβολικά προϊόντα [33].

Το μονοπάτι φωσφορυλιωμένων πεντοζών που εμπλέκεται στον μεταβολισμό των

υδατανθράκων είναι, σε αντίθεση με τη γλυκόλυση, ένα οξειδωτικό μονοπάτι. Σε αυτό το μονοπάτι η 6-φωσφορική γλυκόζη, η οποία προέρχεται από τη φωσφορυλίωση της γλυκόζης, μπορεί να αποικοδομηθεί σε διοξείδιο του άνθρακα, συνοδευόμενη από αναγωγή του NADP^+ σε NADPH [33]. Είναι το βασικό μεταβολικό μονοπάτι που χρησιμοποιείται από τα βακτήρια και της ζύμες για την αφομοίωση των πεντοζών. Στους μύκητες και τις ζύμες μέσω αντιδράσεων που καταλύονται από την αναγωγή της ξυλόζης και την αφυδρογονάση της ξυλιτόλης, η ξυλόζη μετατρέπεται σε ξυλιτόλη και έπειτα σε ξυλουλόζη [58].

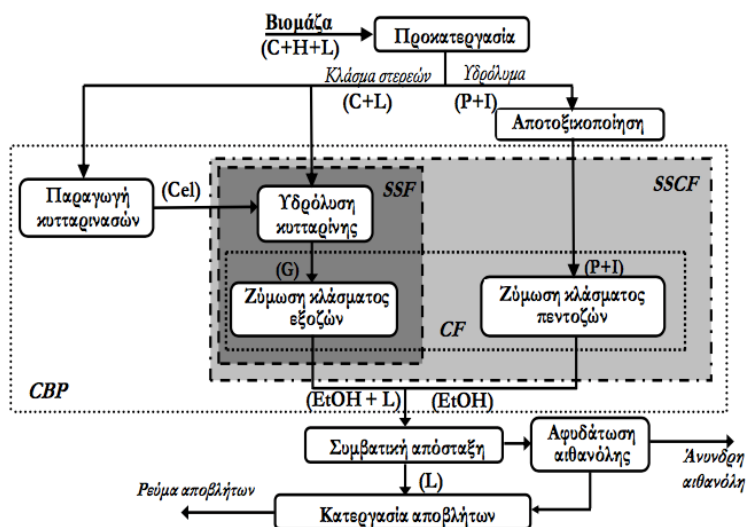
3.7 Διαχωρισμός – απόσταξη

Η βιοαιθανόλη που λαμβάνεται από μετατροπή ζύμωσης απαιτεί περαιτέρω διαχωρισμό και καθαρισμό της αιθανόλης από το νερό, μέσω της διεργασίας απόσταξης. Η κλασματική απόσταξη είναι μια διαδικασία που εφαρμόζεται για τη διαχωρισμό της αιθανόλης από το νερό με βάση την πτητικότητα τους. Αυτή η διαδικασία συνίσταται απλώς στο βρασμό του μείγματος αιθανόλης-νερού. Επειδή το σημείο βρασμού του νερού ($100\text{ }^\circ\text{C}$) είναι υψηλότερο από το σημείο βρασμού αιθανόλης ($78,3\text{ }^\circ\text{C}$), η αιθανόλη θα μετατραπεί σε ατμό πριν από το νερό. Έτσι, το νερό μπορεί να διαχωριστεί μέσω μιας διαδικασίας συμπύκνωσης και το απόσταγμα αιθανόλης να ανακτηθεί σε συγκέντρωση 95% [59]. Τυπικά, οι περισσότερες βιομηχανίες μεγάλης κλίμακας και οι βιοτεχνίες χρησιμοποιούν ένα σύστημα συνεχούς απόσταξης. Τα υγρά μείγματα θερμαίνονται και αφήνονται να ρέουν συνεχώς καθ' όλη τη στήλη. Στην κορυφή της στήλης, τα πτητικά διαχωρίζονται ως απόσταγμα, ενώ το υπόλειμμα ανακτάται στον πυθμένα της στήλης [56].

3.8 Διεργασίες παραγωγής αιθανόλης

Κατά τη διεργασία παραγωγής αιθανόλης από λιγνινοκυτταρινούχα υλικά (**Σχήμα 13**), η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση της γλυκόζης μπορεί να διεξαχθούν ξεχωριστά σε διαφορετικούς αντιδραστήρες (SHF, Separate Hydrolysis and Fermentation: διακριτή υδρόλυση και ζύμωση) ή ταυτόχρονα στον ίδιο αντιδραστήρα (SSF, Simultaneous Saccharification and Fermentation: ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση) ή με ενοποιημένη

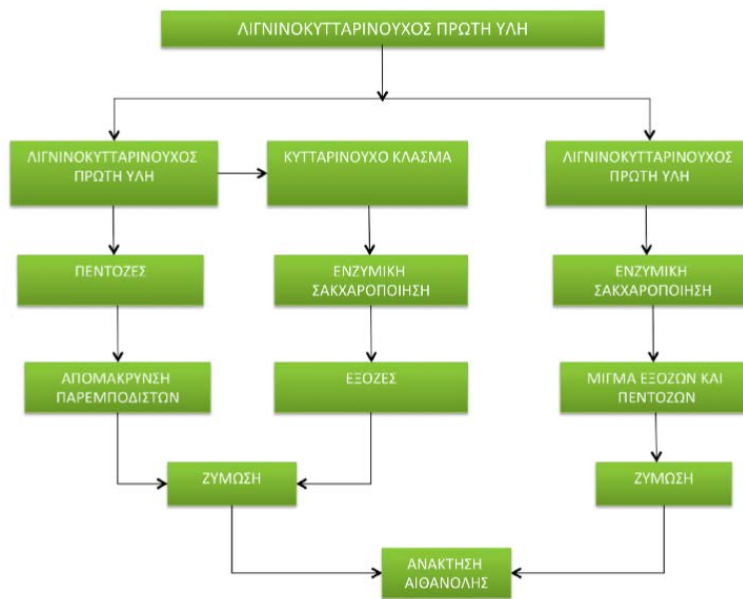
διεργασία (CBP, consolidated bioprocess: ενοποιημένη βιοδιεργασία) [33].



Σχήμα 13: Διεργασία παραγωγής αιθανόλης από βιομάζα [59]

1) Διακριτή υδρόλυση και ζύμωση (SHF)

Στη διαμόρφωση SHF (Σχήμα 14), η ροή του υγρού από αμφοτέρους τους αντιδραστήρες υδρόλυσης εισέρχεται πρώτα στον αντιδραστήρα ζύμωσης γλυκόζης. Το μίγμα στη συνέχεια αποστάζεται για να απομακρυνθεί η βιοαιθανόλη αφήνοντας πίσω την αμετάβλητη ξυλόζη. Σε έναν δεύτερο αντιδραστήρα, η ξυλόζη ζυμώνεται σε βιοαιθανόλη και η βιοαιθανόλη αφαιρείται ξανά [34]. Στην διεργασία διακριτής υδρόλυσης και ζύμωσης, εφαρμόζονται οι άριστες συνθήκες και για τις δύο διεργασίες, δηλαδή αυτές της ενζυμικής υδρόλυσης και της ζύμωσης. Έτσι, τα ένζυμα είναι δυνατόν να δρουν σε υψηλές θερμοκρασίες, εμφανίζοντας μάλιστα αυξημένη καταλυτική δραστηριότητα, ενώ οι μικροοργανισμοί ζυμώνουν τα σάκχαρα ευχερέστερα σε ήπιες θερμοκρασίες, αυξάνοντας το δυναμικό χρησιμοποίησής τους [33]. Το μειονέκτημα αυτής της διεργασίας είναι ο ρυθμός της υδρόλυσης μειώνεται προοδευτικά όταν συσσωρεύονται γλυκόζη και κελλοβιόζη [34].



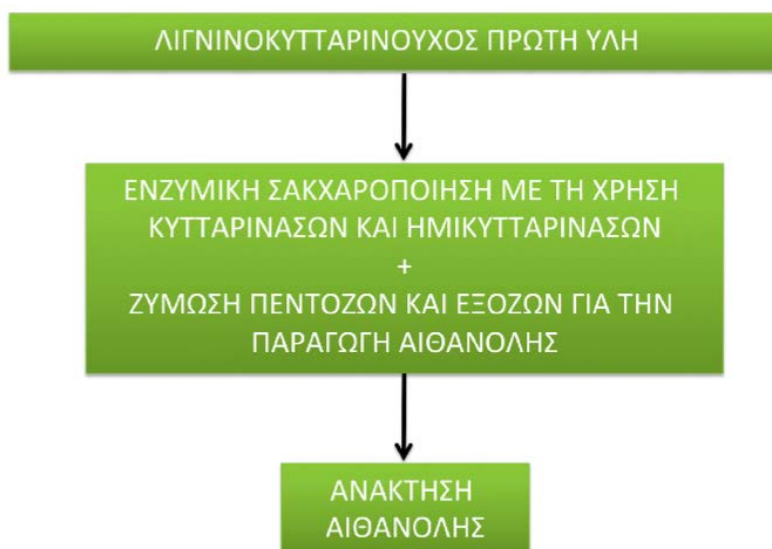
Σχήμα 14: Διεργασία δικριτής υδρόλυσης και ζύμωσης (SHF) [33]

2) Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF)

Τα σάκχαρα από τα στάδια προεπεξεργασίας και ενζυμικής υδρόλυσης ζυμώνονται από βακτηρίδια, ζυμομύκητες ή νηματώδεις μύκητες, αν και η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση μπορούν επίσης να πραγματοποιηθούν σε ένα συνδυασμένο στάδιο το λεγόμενο ταυτόχρονο SSF (**Σχήμα 15**) [34]. Η σακχαροποίηση και η ζύμωση διεξάγονται ταυτόχρονα σε έναν μόνο αντιδραστήρα, επιτρέποντας έτσι την εξοικονόμηση κόστους και τη μείωση των παρεμποδίσεων, αυξάνοντας έτσι την ταχύτητα υδρόλυσης [31]. Οι συνθήκες σε αυτή την περίπτωση διατηρούνται όσο το δυνατόν άριστες τόσο για τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για την υδρόλυση, όσο και για τον μικροοργανισμό που χρησιμοποιείται για τη ζύμωση. Τα σάκχαρα που υδρολύονται από τα ένζυμα, μετατρέπονται άμεσα σε αιθανόλη από τον μικροοργανισμό της ζύμωσης, διατηρώντας τη συγκέντρωση των σακχάρων στον αντιδραστήρα σε χαμηλά επίπεδα [33].

Τα κύρια πλεονεκτήματα του SSF είναι: (i) η αύξηση του ρυθμού υδρόλυσης με μετατροπή σακχάρων που αναστέλλουν την δραστηριότητα της κυτταρινάσης, (ii) οι χαμηλότερες απαιτήσεις ενζύμου, (iii) οι χαμηλότερες απαιτήσεις για αποστειρωμένες συνθήκες, δεδομένου ότι η γλυκόζη απομακρύνεται αμέσως και παράγεται βιοαιθανόλη,

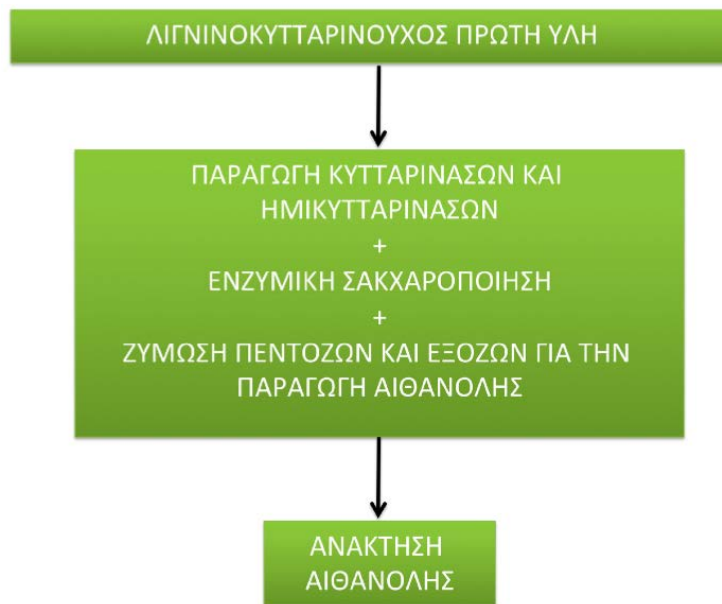
(v) ο μικρότερος χρόνος επεξεργασίας, και (vi) ο μικρότερος όγκος αντιδραστήρα. Το μεγαλύτερο μειονέκτημα της διεργασίας ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης είναι οι διαφορετικές άριστες συνθήκες (κυρίως το pH και η θερμοκρασία) που απαιτούνται για την υδρόλυση της κυτταρίνης και τη ζύμωση [34]. Για το λόγο αυτό αναζητούνται θερμοανθεκτικοί μικροοργανισμοί που να έχουν τη δυνατότητα ζύμωσης σακχάρων ή χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί ανασυνδυασμένου DNA [59].



Σχήμα 15: Διεργασία ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF) [33]

3) Ενοποιημένη βιοδιεργασία (CBP)

Μια ιδανική βιοδιεργασία παραγωγής αιθανόλης από λιγνινοκυτταρινούχα υλικά, είναι αυτή της ενοποιημένης διεργασίας (Consolidated Bioprocess, CBP, Σχήμα 16), που αποτελείται από ένα στάδιο στο οποίο ένας μικροοργανισμός σε έναν αντιδραστήρα έχει την ικανότητα να παράγει ταυτόχρονα τα απαραίτητα ένζυμα για την υδρόλυση της λιγνινοκυτταρινούχου πρώτης ύλης, καθώς και να ζυμώνει όλα τα παραγόμενα σάκχαρα (πεντόζες και εξόζες). Το κύριο πλεονέκτημα της τεχνολογίας CBP είναι η αποφυγή του κόστους της παραγωγής κυτταρινάσης που συνδέεται με σημαντική εξοικονόμηση ενέργειας [54]. Δυστυχώς οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται παράγουν αιθανόλη με σχετικά χαμηλούς ρυθμούς και σε μικρές συγκεντρώσεις ώστε να μην είναι ικανοί να χρησιμοποιηθούν σε βιομηχανικές διεργασίες [33].



Σχήμα 16: Ενοποιημένη διεργασία (CBP) [33]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Σκοπός

Σκοπός της πειραματικής αυτής διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση των συνθηκών υδρόλυσης των οικιακών βιοαποβλήτων. Η αριστοποίηση πραγματοποιήθηκε με κριτήριο τη μεγιστοποίηση της παραγόμενης ποσότητας ελεύθερης γλυκόζης, η οποία στη συνέχεια στο στάδιο της ζύμωσης μετατρέπεται σε βιοαιθανόλη. Διερευνήθηκε η επίδραση του ενζυμικού φορτίου τόσο των αμυλολυτικών όσο και των κυτταρινολυτικών ενζύμων, της ενδεχόμενης προεπεξεργασίας απομάκρυνσης λιπών καθώς και του άριστου χρόνου ενζυμικής υδρόλυσης.

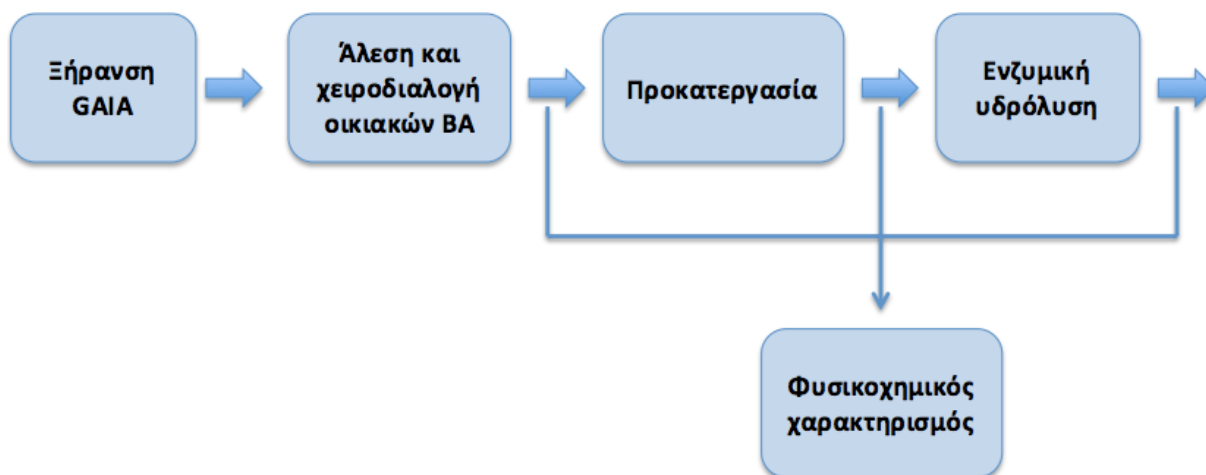
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματική μεθοδολογία

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 περιγράφονται:

- 1) Ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των προξηραμένων οικιακών βιοαποβλήτων
- 2) Η προεπεξεργασία των ξηραμένων βιοαποβλήτων και
- 3) Η βιομετατροπή των ξηραμένων βιοαποβλήτων σε ζυμώσιμα μονομερή σάκχαρα.

Τα επιμέρους στάδια της πειραματικής διαδικασίας, που παρουσιάζονται συνοπτικά στο **Σχήμα 17**, περιγράφονται αναλυτικά στο παρόν Κεφάλαιο.



Σχήμα 17: Στάδια της πειραματικής διαδικασίας

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, στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών, προερχόμενα από τους Δήμους Ασπροπύργου και Παπάγου-Χολαργού ενώ η μεθοδολογία αποκομιδής και προεπεξεργασίας έχει περιγραφεί από τους Sotiropoulos et al [60].

Μετά τη μεταφορά τους στις εγκαταστάσεις του Ε.Μ.Π. τα νωπά οικιακά βιοαπόβλητα τοποθετήθηκαν στο εμπορικό σύστημα αποκεντρωμένης ξήρανσης Gaia GC-100 (Σχήμα 18), όπου ξηράθηκαν.

Ο ξηραντήρας Gaia είναι ένα σύστημα 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 [61].

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 [61].



Σχήμα 18: Το ξηραντήριο GAIA GC-100 [62]

Τα προξηραμένα οικιακά βιοαπόβλητα που μελετήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία επιλέχθηκαν τυχαία. Στη συνέχεια, δείγμα από παρτίδες ομογενοποιήθηκε σε μύλο άλεσης (**Σχήμα 19**), της ιταλικής εταιρείας AMA, ο οποίος διαθέτει κόσκινο διαμέτρου 1,5mm με ταυτόχρονη επιπλέον χειρωνακτική διαλογή, προς αφαίρεση τυχόν προσμίξεων.



Σχήμα 19: Μύλος άλεσης AMA

Ο καθορισμός 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.),
 - 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 [34, 50, 59, 63, 64, 65].

Επιλέχθηκε η δοθείσα πρώτη ύλη να προκατεργαστεί με την απομάκρυνση των λιπών και ελαίων με τη μέθοδο Soxhlet.

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 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 1 κυτταρινολυτικό σκεύασμα με το κωδικό ονόμα NS22177 και 1 αμυλολυτικό με το κωδικό ονόμα 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.

Πίνακας 5: 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
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 (Σχήμα 20).

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



Σχήμα 20: Ανακινούμενο υδατόλουτρο Unitronic-Orbital

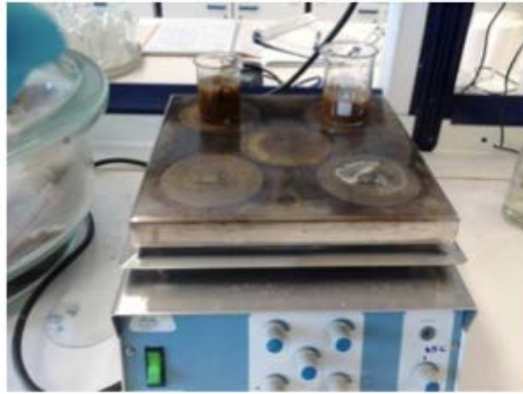
5.5 Μελέτη κινητικής ενζυμικής υδρόλυσης

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης της επίδρασης της δόσης του αμυλολυτικού και του κυτταρινολυτικού σκευάσματος για την υδρόλυση του αμύλου για το προξηραμένο και τη απαλλαγμένο από λίπη βιοαπόβλητο, αποφασίστηκε να γίνει και μελέτη της κινητικής της ενζυμικής υδρόλυσης, προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος χρόνος υδρόλυσης του αμύλου και της κυτταρίνης. Χρησιμοποιώντας τις βέλτιστες δόσεις των δύο σκευασμάτων οι οποίες προσδιορίστηκαν κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου στην υδρόλυση του αμύλου και της κυτταρίνης, μελετήθηκε η κινητική των αντιδράσεων. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν σειρές πειραμάτων υδρόλυσης σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω (5.4) τα οποία διακόπτονταν στους επιλεγμένους χρόνους επεξεργασίας: 0h, 0,5h, 1h, 1,5h, 2h, 4h, 6h, 12h και 24h.

5.6 Μέθοδοι ανάλυσης

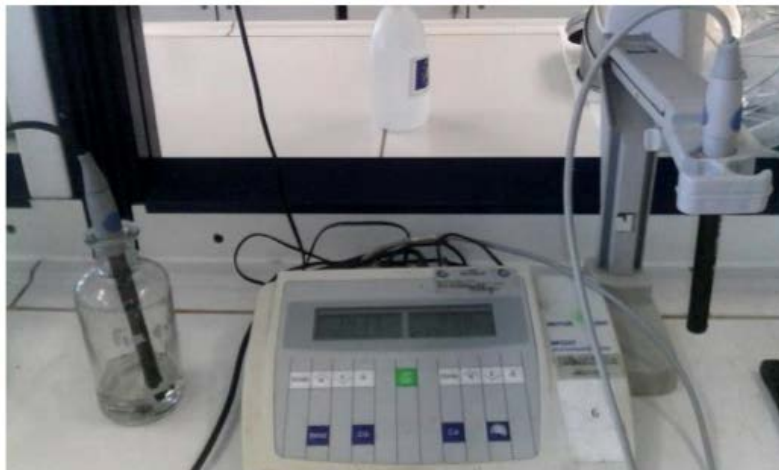
Προσδιορισμός pH

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 **Σχήμα 21** και αναδεύτηκαν για 30 λεπτά, ώστε να επιτευχθεί η πλήρης ομογενοποίηση τους.



Σχήμα 21: 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 [66] (Σχήμα 22).



Σχήμα 22: Πεχαμέτρο 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 (Σχήμα 23).



Σχήμα 23: Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων

Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε δοχεία ζέσεως και εισήχθησαν σε φούρνο ξήρανσης (Σχήμα 24) με ρεύμα αέρα στους 80°C, όπου και παρέμειναν για χρονικό διάστημα περίπου 16 ωρών [67].



Σχήμα 24: 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:

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

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**).



Σχήμα 25: 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 (**Σχήμα 26**).



Σχήμα 26: 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:

$$\%κ. β. VS = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \cdot 100$$

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 (**Σχήμα 27**).



Σχήμα 27: Συσκευή μέτρησης TOC

Η πειραματική διαδικασία προσδιορισμού TOC ξεκίνησε αρχικά με ζύγιση 40mg δείγματος, το οποίο είχε υποστεί λειοτρίβηση σε μέγεθος 1 mm και ξήρανση στους 80°C. Τα 40 mg που ζυγίστηκαν, τοποθετήθηκαν σε κάψες πορσελάνης (**Σχήμα 28**).



Σχήμα 28: Πορσελάνινη κάψα

Στη συνέχεια, οι κάψες τοποθετήθηκαν στον ειδικό φούρνο του οργάνου όπου το δείγμα θερμάνθηκε στους 900°C (**Σχήμα 29**).



Σχήμα 29: Φούρνος (Solid Sample Module SSM 5000A)

Στη θερμοκρασία αυτή έγινε καύση του οργανικού άνθρακα και τα καυσαέρια αυτής οδηγήθηκαν στην κεντρική μονάδα TOCVCSH (**Σχήμα 30**).



Σχήμα 30: 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:

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

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 (**Σχήμα 31**).



Σχήμα 31: 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 ($Na_2S_2O_3 \cdot 2H_2O$) 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 (**Σχήμα 32**)



Σχήμα 32: Συσσκευή χώνευσης Gerhardt

Απόσταξη

Στη συνέχεια, αφού οι φιάλες ήρθαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος τοποθετήθηκαν στη συσκευή απόσταξης όπου και πραγματοποιήθηκε απόσταξη σε κάθε δείγμα (**Σχήμα 33**).



Σχήμα 33: Συσσκευή 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 (**Σχήμα 34**).



Σχήμα 34: 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 (Σχήμα 35).

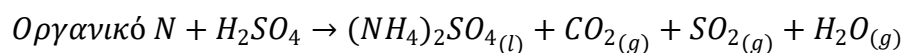


Σχήμα 35: Μετά την απόσταξη και πριν την τιτλοδότηση (αριστερά) και μετά την τιτλοδότηση (δεξιά)

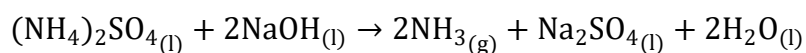
Σημείωση: Τα τυφλά δείγματα τιτλοδοτούνται με αραιό H₂SO₄ 0,01M.

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

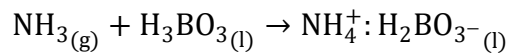
Κατά τη χώνευση:



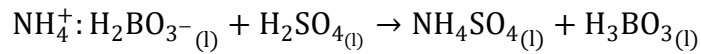
Κατά την απόσταξη:



Κατά τη συλλογή του αποστάγματος:



Κατά την τιτλοδότηση:



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

$$\text{TN}(\%) = \frac{(\text{V}\Delta - \text{V}\text{T}) \cdot \text{C}(\text{H}+) \cdot \text{MN}}{m} \cdot \frac{100 + \% \text{Υ}\Xi\text{B}}{100}$$

όπου:

VΔ: ο όγκος (mL) του θειικού οξέος που χρησιμοποιείται για την τιτλοδότηση του δείγματος

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

C(H+): η συγκέντρωση (mol/L) των H+ σε θειικό 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

%ΥΞΒ.: 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 (Mariotti et al., 2008):

Πρωτεΐνες = 6,25 * TN.

$$\text{Πρωτεΐνες} = 6,25 \cdot \text{TN}$$

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

1. 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.
2. 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).

3. Τοποθετούνται 100 gr δείγματος στην καρτούσα (η στάθμη του δείγματος μέσα στην καρτούσα δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το ύψος του βραχίονα-σιφώνι στον εκχυλιστήρα).
4. Τοποθετούνται πυρήνες βρασμού στον υποδοχέα και ο οργανικός διαλύτης για την εκχύλιση των λιπαρών (n-εξάνιο) (500 mL οργανικού διαλύτη για υποδοχέα 1000 mL).
5. Συναρμολογείται η συσκευή Soxhlet και τίθεται σε λειτουργία διαβιβάζοντας νερό στον ψυκτήρα και θερμαίνοντας τον υποδοχέα.
6. Η εκχύλιση των λιπαρών διαρκεί 6 ώρες οι οποίες μετρώνται μετά τον πρώτο σιφονισμό του διαλύτη.
7. 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.
8. Ακολουθεί διεξοδική έκπλυση του στερεού υπολείμματος στον γυάλινο ηθμό με χρήση n-εξανίου.
9. 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 εξατμιστήρα.

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 από το οποίο πρόκειται να εκχυλιστούν τα λιπαρά σύμφωνα με την εξίσωση 1.

$$\text{Weight}_{\text{δείγματος}} = \text{Weight}_{\text{ξ.κ.δ.}} - \text{Weight}_{\text{ξ.κ.}} \quad \text{Εξ. 1}$$

όπου:

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

$\text{Weight}_{\text{ξ.κ.δ.}}$: το συνολικό βάρος της ξηρής καρτούσας-δείγματος (g)

$\text{Weight}_{\text{ξ.κ.}}$: το βάρος της ξηρής καρτούσας (g)

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

$$\% \text{Λιπαρά} = \frac{\text{Weight}_{\text{ξ.υ.ελ.}} - \text{Weight}_{\text{ξ.υ.}}}{\text{ODW}} \cdot 100 \quad \text{Εξ. 2}$$

όπου:

Weight_{ξ.υ.ελ.}: το συνολικό βάρος του ξηρού υποδοχέα-ελαιώδους υπολείμματος (g)

Weight_{ξ.υ.}: 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.

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

όπου:

Σ.Υ.1: το στερεό υπόλειμμα μετά την εκχύλιση των λιπαρών (g)

Weight_{γ.η.}: το ξηρό βάρος του γυάλινου ηθμού (g)

Weight_{γ.η.δ.}: 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 [67,68,69] :

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 (**Σχήμα 36**) 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.



Σχήμα 36: 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 διήθησης υπό κενό (**Σχήμα 37**) 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.



Σχήμα 37: 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 (**Σχήμα 38**) και τοποθετήθηκε σε φούρνο ξήρανσης με ρεύμα αέρα στους 80 °C για περίπου 24 ώρες.



Σχήμα 38: 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:

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

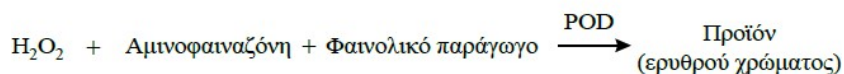
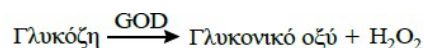
όπου:

initialsolid = η αρχική μάζα του δείγματος και

finalsolid = η τελική 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) [70] :



Σχήμα 39: Ενζυμική αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP [70]

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 επάζονται 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 αναλόγως του εκάστοτε σταδίου. Για τη μέτρηση της γλυκόζης μετά την αρχική προετοιμασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε αραιώση 1:100, ενώ μετά την επεξεργασία για τον προσδιορισμό της κυτταρίνης και του αμύλου επιλέχθηκε αραιώση 1:5. 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.



Σχήμα 40: 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.

Σημείωση: Η παρουσία γλυκόζης στο δείγμα φαίνεται στον χρωματισμό του σακχάρου από άχρωμο σε ελαφρύ ροζ κατά την προσθήκη δείγματος. Στην περίπτωση που το δείγμα δε χρωματιζόταν αυτό θα σήμαινε ή ότι το δείγμα δεν περιείχε γλυκόζη ή ότι η γλυκόζη έχει καταναλωθεί από μικροοργανισμούς αν τυχόν το διήθημα είχε μείνει αρκετή ώρα εκτός κατάψυξης.

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

$$\text{Ελεύθερη γλυκόζη} \left(\% \frac{w}{w} \right) = \frac{0,6507 \cdot \text{ABSmean} \cdot D \cdot (V_{\delta} + V_{\text{εκ}}) \cdot 10^{-3}}{\text{initialsolid}} \cdot 100$$

όπου:

ABSmean: ο μέσος όρος απορρόφησης

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

V_δ: ο όγκος του διηθήματος V_{εκ}: 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 [68] :

1. Μάζα 300 mg εκχυλισμένου ξηρού υλικού τοποθετείται σε κωνικές φιάλες των 100 ml και προστίθεται 3 ml H₂SO₄ (72% v/v)
2. Οι κωνικές φιάλες σφραγίζονται με αλουμινόχαρτο και τοποθετούνται σε ανακινούμενο υδατόλουτρο της εταιρίας Unitronic-Orbital, σε θερμοκρασία 30 °C, για μία ώρα και με ταχύτητα ανακίνησης 180 rpm.
3. Μετά το τέλος της ανάδευσης προστίθενται σε κάθε κωνική φιάλη 84 ml απιονισμένου νερού και τα δείγματα τοποθετούνται στον αποστειρωτή ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave (**Σχήμα 41**) για μία ώρα και σε θερμοκρασία 120 °C.



Σχήμα 41: Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave

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 1,5 ml από 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:

$$\text{Total gluc} \left(\% \frac{w}{w} \right) = \frac{0,6507 \cdot \text{ABS}_{\text{mean}} \cdot D \cdot 86,73 \cdot 10^{-3}}{\text{initialsolid}} \cdot \frac{100}{0,897}$$

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

initialsolid: 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:

$$\text{Net gluc} \left(\% \frac{W}{W} \right) = \text{total gluc} \left(\% \frac{W}{W} \right) - \text{starch gluc} \left(\% \frac{W}{W} \right)$$

Τέλος, η ποσότητα της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Κυτταρίνη} \left(\% \frac{W}{W} \right) = \text{Net gluc} \left(\% \frac{W}{W} \right) \cdot 0,9$$

όπου:

$$0,9 = \frac{162}{180} = \text{συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης.}$$

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 για τον προσδιορισμό του ολικού αμύλου.

Τα βήματα της διαδικασίας που ακολουθήθηκε είναι τα εξής [71] :

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 προσθήκη 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 (Σχήμα 42) για 20 min, με παράλληλη ανάδευση κάθε 5 min.



Σχήμα 42: 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 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 της εταιρείας Polyscience 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 15 min, με ταχύτητα φυγοκέντρησης 3000 rpm, στη συσκευή φυγοκέντρησης IEC/ CENTRA CL2 (Σχήμα 43).
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.



Σχήμα 43: 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.

$$C_{\text{γλυκόζης}} \left(\% \frac{W}{W} \right) = \frac{(0,6507 \cdot \text{ABSmean} \cdot D \cdot 10,4) \cdot 10^{-3}}{\text{initialsolid}} \cdot 100$$
$$\text{Ολικό άμυλο} \left(\% \frac{W}{W} \right) = C_{\text{γλυκόζης}} \left(\% \frac{W}{W} \right) \cdot 0,9$$

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)

10,4 (ml): προκαθορισμένη τιμή

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

$$0,9: \frac{Mr_{glucose}}{Mr_{starch}}$$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικό πρωτόκολλο

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

Πίνακας 6: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)
AN1	0
AN2	0,87
AN3	1,75
AN4	2,71
AN5	3,49

Πίνακας 7: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)
AD1	0
AD2	1,00
AD3	2,00
AD4	3,10
AD5	4,00

Πίνακας 8: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)
CN1	0

CN2	8,73
CN3	13,1
CN4	17,5
CN5	21,7
CN6	43,5
CN7	65,2
CN8	87,1

Πίνακας 9: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)
CD1	0
CD2	10
CD3	15
CD4	20

Πίνακας 10: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109** (2,71 μL/g προξηραμένου υλικού) . Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C

A/A	Χρόνος (h)
KAN1	0
KAN2	0,5
KAN3	1
KAN4	2
KAN5	4
KAN6	6
KAN7	12
KAN8	24

Πίνακας 11: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109** (2,71 μL/g προξηραμένου υλικού) . Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 65°C

A/A	Χρόνος (h)
KAD1	0
KAD2	0,5
KAD3	1
KAD4	2
KAD5	4
KAD6	6
KAD7	12
KAD8	24

Πίνακας 12: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης της κυταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177** (21,7 μL/g προξηραμένου υλικού) . Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C

A/A	Χρόνος (h)
KCN1	0
KCN2	0
KCN3	0,5
KCN4	1
KCN5	1,5
KCN6	2
KCN7	4
KCN8	6
KCN9	12
KCN10	24

Πίνακας 13: Πειραματικές δοκιμές μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης της κυταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177** (21,7 μL/g προξηραμένου υλικού) . Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 50°C

A/A	Χρόνος (h)
-----	------------

KCD1	0
KCD2	0
KCD3	0,5
KCD4	1
KCD5	1,5
KCD6	2
KCD7	4
KCD8	6
KCD9	12
KCD10	24

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 14** που ακολουθεί.

Πίνακας 14: Φυσικά χαρακτηριστικά ξηραμένων βιοαποβλήτων

Παράμετρος	%w/w (ξηρής βάσης)
pH	4,88 ± 0,10
Υγρασία	8,4 ± 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		35,01 ± 3,30
Στερεά		
	TRS	7,83 ± 0,90
	Γλυκόζη	1,40 ± 0,08
Υδατάνθρακες		39,84 ± 3,30
	Κυτταρίνη	9,45 ± 2,20
	Ημικυτταρίνη	11,91 ± 0,65
	Άμυλο	6,09 ± 0,30

Τα οικιακά βιοαπόβλητα παρουσιάζουν μεγάλες διαφοροποιήσεις όσον αφορά στη σύστασή τους. Οι Alamanou et al. (2015) [72] και Matsakas et al. (2014) [73] 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 $8,06 \pm 0,30$ % w/w αντίστοιχα,. Οι Yan et al. (2011) [74] χρησιμοποίησαν διατροφικά απορρίμματα με εξαιρετικά υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο και πολύ μικρή σε κυτταρίνη, $63,87 \pm 2,03$ % w/w και $1,98 \pm 0,36$ % w/w αντίστοιχα.

7.2 Επίδραση του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 στην υδρόλυση ξηρού βιοαποβλήτου (**Πίνακας 15**) και στην υδρόλυση βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά (**Πίνακας 16**). 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 στερεά και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) και το υπερκείμενο υγρό

αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης .

Πίνακας 15: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22109 (μL/g αμύλου)	Στερεό υπόλειμμα			Υπερκείμενο υγρό
			TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
AN1	0	0	7,45±0,08	8,56±0,10	12,44±0,39	1,67±0,06
AN2	0,87	14,35	6,84±0,19	2,22±0,09	13,41±0,41	8,17±0,24
AN3	1,75	28,71	6,61±0,03	1,98±0,12	13,53±0,36	8,63±0,13
AN4	2,71	44,49	6,60±0,05	2,04±0,09	14,01±0,47	10,57±0,19
AN5	3,49	57,4	6,56±0,09	1,99±0,11	13,65±0,50	12,28±0,18

Πίνακας 16: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22109 (μL/g αμύλου)	Στερεό υπόλειμμα			Υπερκείμενο υγρό
			TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
AD1	0	0	6,43±0,10	14,29±0,09	14,08±0,42	5,34±0,07
AD2	1	11,39	5,71±0,11	5,72±0,15	15,36±0,32	8,41±0,36
AD3	2	22,78	5,59±0,08	4,60±0,12	15,28±0,27	9,76±0,17

AD4	3,1	35,31	5,58±0,09	1,77±0,09	14,36±0,19	13,44±0,19
AD5	4	45,57	5,51±0,03	1,73±0,12	14,22±0,33	13,71±0,18

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας κατασκευάστηκαν οι **Πίνακες 17,18** με βάση την ακόλουθη εξίσωση:

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

όπου A:

- TS
- Άμυλο
- Κυτταρίνη.

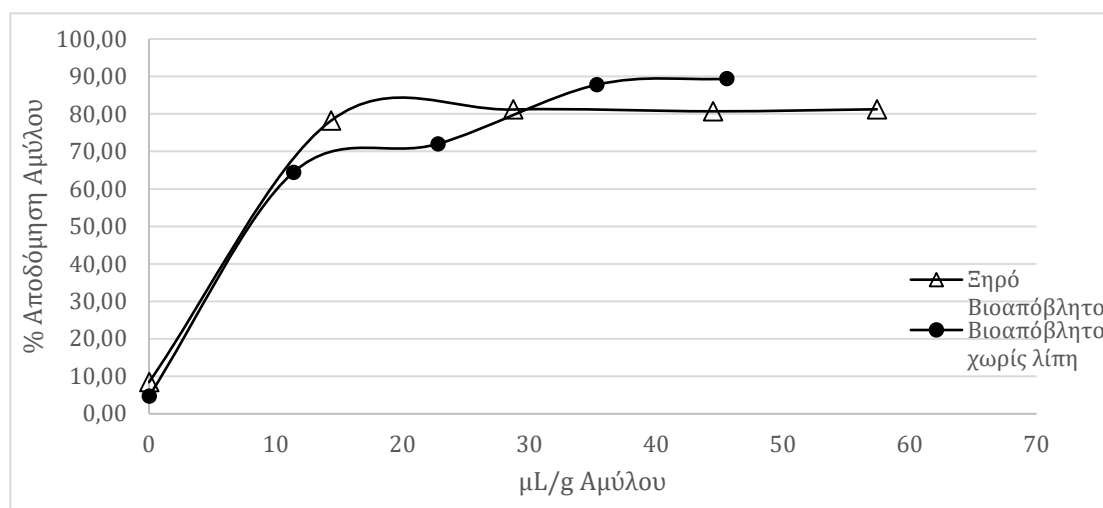
Πίνακας 17: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22109 (μL/g αμύλου)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου	% Υδρόλυσης κυτταρίνης
AN1	0	0	34,94±0,80	8,43±0,80	4,86±1,10
AN2	0,87	14,35	40,23±1,64	78,20±1,56	5,73±1,67
AN3	1,75	28,71	42,30±0,29	81,18±2,13	8,20±1,33
AN4	2,71	44,49	42,41±0,70	80,70±2,21	5,09±1,50
AN5	3,49	57,4	42,71±0,78	81,24±3,47	8,06±2,61

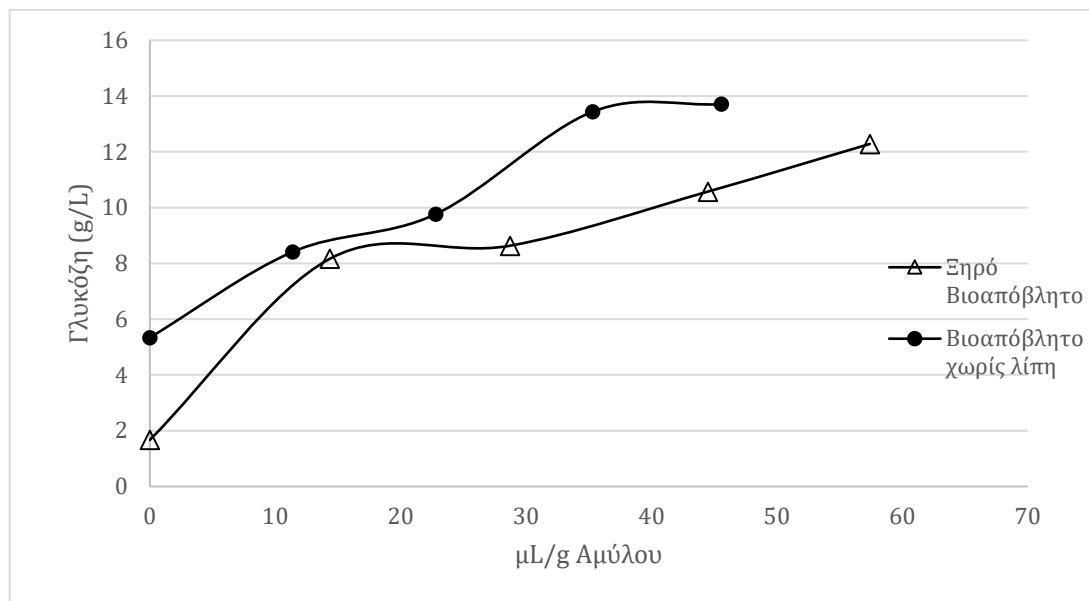
Πίνακας 18: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 65⁰C για 1h

A/A	NS22109 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22109 (μL/g αμύλου)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου	% Υδρόλυσης κυτταρίνης
AD1	0	0	35,71±0,70	4,69±0,90	0,00±0,50
AD2	0,87	11,39	42,89±1,09	64,44±1,85	3,01±0,89
AD3	1,75	22,78	44,12±0,83	72,01±3,24	5,60±2,64
AD4	2,71	35,31	44,20±0,50	87,79±1,80	2,42±3,47
AD5	3,49	45,57	44,96±0,29	89,39±0,42	2,86±3,49

Από τους παραπάνω πίνακες, κατασκευάζονται τα ακόλουθα διαγράμματα (**Σχήματα 44,45**) τα οποία απεικονίζουν τη μεταβολή της αποδόμησης του αμύλου καθώς και την παραγωγή της γλυκόζης σε συνάρτηση με τις ποσότητες του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 τόσο για το ξηρό απόβλητο όσο και για το απόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά.



Σχήμα 44: Αποδόμηση αμύλου συναρτήσει της δόσης αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**



Σχήμα 45: Συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης συναρτήσει της δόσης αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**

Από το **Σχήμα 44** προκύπτει ότι σε μικρές ποσότητες αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 η αποδόμηση του αμύλου είναι μεγαλύτερη για το ξηρό βιοαπόβλητο, ενώ σε μεγαλύτερες ποσότητες για το βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά επιτυγχάνεται μεγαλύτερη αποδόμηση. Για τις ποσότητες αυτές και για το ξηρό βιοαπόβλητο όπως φαίνεται η αποδόμηση σταθεροποιείται. Όσον αφορά το **Σχήμα 45** παρατηρείται ότι όσο μεγαλύτερη είναι η χρησιμοποιούμενη ποσότητα αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 τόσο μεγαλύτερη είναι και η παραγόμενη ποσότητα γλυκόζης και για τα δύο χρησιμοποιούμενα υποστρώματα. Μάλιστα, η χρήση βιοαποβλήτου απαλλαγμένου από λιπαρά οδηγεί σε μεγαλύτερη παραγωγή γλυκόζης συγκριτικά με το ξηρό βιοαπόβλητο.

Απ' όσα παρουσιάστηκαν παραπάνω, η βέλτιστη δόση αμυλολυτικού σκευάσματος είναι τα 31 μL/g αμύλου που αντιστοιχούν σε 2,71 μL/g προξηραμένου υλικού. Η δόση αυτή εφαρμόστηκε και στη συνέχεια τόσο στο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης του αμύλου που προηγείται της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης (Πειράματα CN1-CN8, CD1-CD4), όσο και στα πειράματα της κινητικής (Πειράματα KAN1-KAN8, KAD1-KAD8, KCN1-KCN10, KSD1-KCD10).

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

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 στην υδρόλυση ξηρού βιοαποβλήτου (**Πίνακας 19**) και στην υδρόλυση βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά (**Πίνακας 20**). 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 στερεά και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) και το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης.

Πίνακας 19: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Στερεό υπόλειμμα			Υπερκείμενο υγρό
			TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
CN1	0	0	6,60±0,09	2,04±0,12	14,01±0,05	10,57±0,45
CN2	8,73	87,72	5,71±0,08	0,88±0,71	13,31±0,79	10,56±0,84
CN3	13,1	131,58	5,45±0,73	0,70±0,69	13,59±0,94	16,77±1,69
CN4	17,5	175,44	5,66±0,31	0,65±0,60	13,34±0,69	20,10±1,12
CN5	21,7	278,01	5,84±0,11	1,31±0,74	10,23±0,87	19,33±1,34
CN6	43,5	556,55	5,34±0,09	1,43±0,88	13,10±1,05	20,50±0,33
CN7	65,2	834,43	5,35±0,21	1,46±0,09	9,30±0,42	21,57±1,02
CN8	87,1	1115,14	5,30±0,33	1,31±0,25	8,53±0,27	23,36±1,70

Πίνακας 20: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 50°C για 5h

A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Στερεό υπόλειμμα			Υπερκείμενο υγρό
			TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
CD1	0	0	5,58±0,00	1,77±0,1	14,36±0,2	13,44±0,1
CD2	10	79,41	4,75±0,01	3,05±0,15	15,15±0,34	18,89±0,29
CD3	15	119,1	4,57±0,09	4,01±0,54	14,33±0,94	18,96±0,72
CD4	20	158,82	4,72±0,03	1,13±0,22	13,33±0,82	24,34±0,13

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας κατασκευάστηκαν οι **Πίνακες 21,22** με βάση την ακόλουθη εξίσωση:

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

όπου A:

- TS
- Άμυλο
- Κυτταρίνη.

Πίνακας 21: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

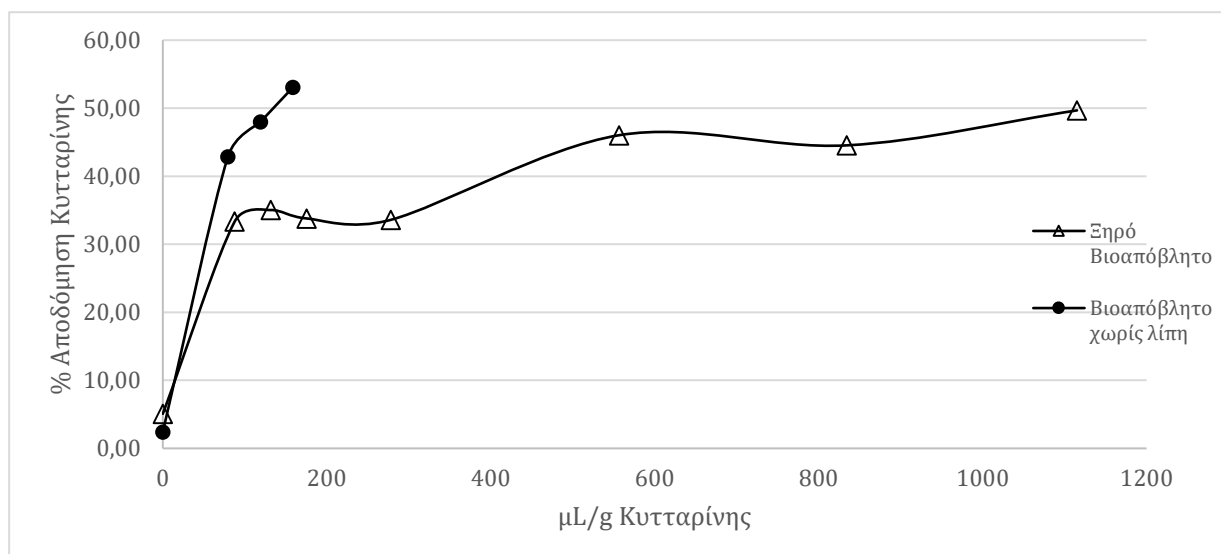
A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου	% Υδρόλυσης κυτταρίνης
CN1	0	0	42,41±0,50	80,70±0,95	5,09±0,30
CN2	8,73	87,72	50,17±0,72	92,79±1,51	33,36±1,27
CN3	13,1	131,58	52,39±3,38	94,55±1,78	35,03±1,99
CN4	17,5	175,44	50,59±2,70	94,70±1,60	33,80±2,09
CN5	21,7	278,01	49,29±1,23	91,76±1,20	33,59±1,14
CN6	43,5	556,55	53,40±0,77	89,02±0,28	46,03±2,07
CN7	65,2	834,43	53,42±1,93	91,57±0,65	44,54±1,81
CN8	87,1	1115,14	53,90±2,72	92,51±0,77	49,68±2,48

Πίνακας 22: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της επίδρασης του ενζυμικού φορτίου του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 50°C για 5h

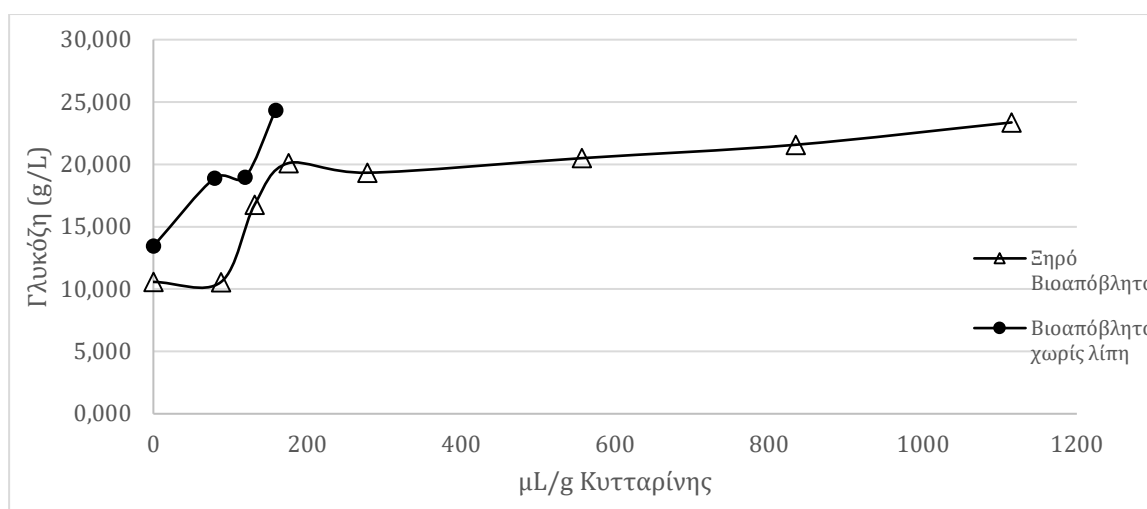
A/A	NS22177 (μL/g προξηραμένου υλικού)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου	% Υδρόλυσης κυτταρίνης
CD1	0	0	44,20±0,10	87,79±0,8	2,42±0,08
CD2	10	79,41	52,51±0,08	83,50±2,52	42,86±1,34
CD3	15	119,1	54,29±0,87	79,12±3,12	47,99±2,02
CD4	20	158,82	52,83±0,26	92,79±2,32	53,08±1,44

Από τους παραπάνω πίνακες, κατασκευάζονται τα ακόλουθα διαγράμματα (**Σχήματα 46,47**) τα οποία απεικονίζουν τη μεταβολή της αποδόμησης της κυτταρίνης καθώς και την

παραγωγή της γλυκόζης σε συνάρτηση με τις ποσότητες του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 τόσο για το ξηρό απόβλητο όσο και για το απόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά.



Σχήμα 46: Αποδόμηση κυτταρίνης συναρτήσει της δόσης κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177



Σχήμα 47: Συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης συναρτήσει της δόσης κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177

Από τα παραπάνω διαγράμματα γίνεται εμφανές πως τόσο η αποδόμηση της κυτταρίνης όσο και η παραγωγή γλυκόζης αυξάνεται όσο αυξάνεται η χρησιμοποιούμενη ποσότητα του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177. Επίσης, τόσο η απόδοση σε γλυκόζη όσο και η αποδόμηση της κυτταρίνης είναι μεγαλύτερη για το βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από τα λίπη για όλες τις δόσεις που εξετάστηκαν. Ακόμα, παρατηρείται πως η ενζυμική δόση των 280 μL/g κυτταρίνης είναι η πρώτη που σχεδόν φτάνει τη μέγιστη απόδοση παραγωγής

γλυκόζης και πως περαιτέρω αύξηση της δόσης επιφέρει ελάχιστη αύξηση της απόδοσης αυτής, καθώς όπως φαίνεται αυξάνοντας τη δόση κατά 300% η απόδοση αυξάνεται μόλις κατά 4%.

Απ' όσα παρουσιάστηκαν παραπάνω, προκύπτει ότι η βέλτιστη δόση κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 είναι τα 280 $\mu\text{L/g}$ κυτταρίνης που αντιστοιχούν σε 21,7 $\mu\text{L/g}$ προξηραμένου υλικού η οποία εφαρμόστηκε και στη συνέχεια στα πειράματα της κινητικής (Πειράματα KAN1-KAN8, KAD1-KAD8, KCN1-KCN10, KSD1-KCD10).

7.4 Κινητική της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης της επίδρασης της δόσης του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 για την υδρόλυση του αμύλου για προξηραμένο και απαλλαγμένο από λίπη βιοαπόβλητο, αποφασίστηκε η πραγματοποίηση σειράς πειραμάτων προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος χρόνος υδρόλυσης αμύλου. Έτσι, για τα πειράματα της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 χρησιμοποιήθηκε η βέλτιστη δόση που προέκυψε από τα πειράματα (AN1-AN5, AD1-AD5) που βρέθηκε ίση με 2,7 $\mu\text{L/g}$ προξηραμένου υλικού.

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 στην υδρόλυση ξηρού βιοαποβλήτου (**Πίνακας 23**) και στην υδρόλυση βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά (**Πίνακας 24**). 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 στερεά και το άμυλο και το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης .

Πίνακας 23: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 65^oC για 1h

		Στερό υπόλειμμα		Υπερκείμενο υγρό
A/A	t (h)	TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
KAN1	0	8,27±0,52	11,57±1,12	0,99±0,01
KAN2	0,5	7,74±0,35	5,16±0,62	9,63±1,11
KAN3	1	6,60±0,41	2,04±0,45	10,57±0,68
KAN4	2	7,44±0,39	2,67±0,32	12,95±0,52
KAN5	4	7,05±0,05	2,69±0,53	10,93±0,36
KAN6	6	6,84±0,18	2,54±0,12	11,78±0,78
KAN7	12	6,40±0,54	2,35±0,06	16,40±1,15
KAN8	24	6,15±0,33	1,58±0,10	17,76±0,87

Πίνακας 24: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 65^oC για 1h

		Στερό υπόλειμμα		Υπερκείμενο υγρό
A/A	t (h)	TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
KAD1	0	6,60±0,02	13,42±0,62	0,45±0,00
KAD2	0,5	5,56±0,25	1,94±0,02	13,60±1,10

KAD3	1	5,58±0,32	1,77±0,02	13,44±0,68
KAD4	2	5,43±0,16	1,35±0,01	14,58±0,25
KAD5	4	5,27±0,26	0,59±0,01	14,58±0,34
KAD6	6	5,29±0,36	0,58±0,06	17,89±0,30
KAD7	12	5,25±0,24	0,42±0,03	16,72±0,65
KAD8	24	5,11±0,11	0,58±0,02	20,63±0,54

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας κατασκευάστηκαν οι **Πίνακες 25,26** με βάση την ακόλουθη εξίσωση:

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

όπου A:

- TS
- Άμυλο.

Πίνακας 25: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 65°C για 1h

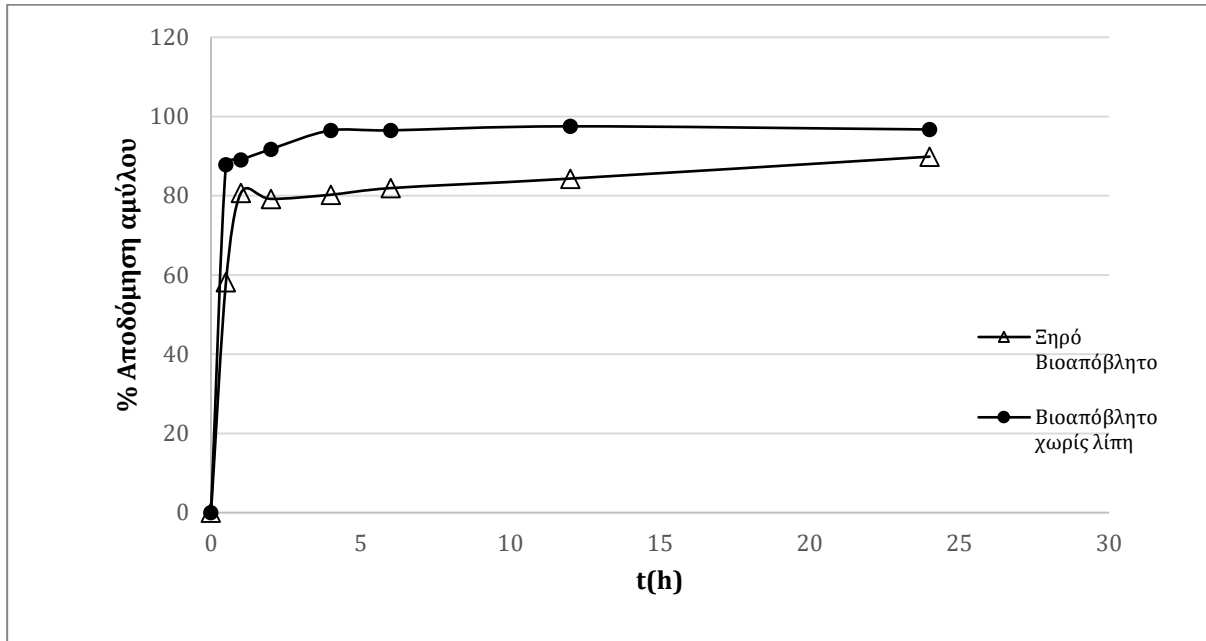
A/A	t (h)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου
KAN1	0	27,77±0,25	0,00±0,10
KAN2	0,5	32,42±0,07	58,20±1,01
KAN3	1	42,41±0,35	80,70±1,21
KAN4	2	35,06±0,24	79,21±1,32
KAN5	4	38,44±0,32	80,25±0,98
KAN6	6	40,26±0,12	81,92±0,87

KAN7	12	44,11±0,03	84,33±1,52
KAN8	24	46,32±0,25	89,86±1,32

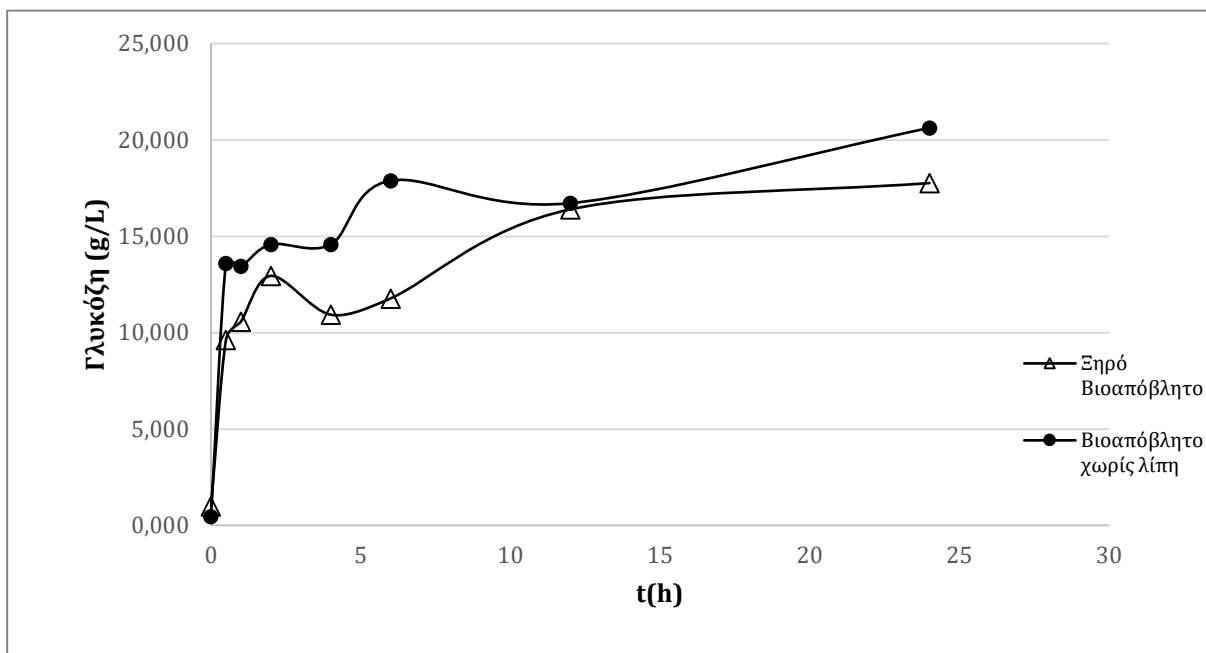
Πίνακας 26: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 65°C για 1h

A/A	t (h)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου
KAD1	0	33,98±0,15	0,00±0,02
KAD2	0,5	44,44±0,25	87,81±1,52
KAD3	1	44,20±0,32	87,79±1,21
KAD4	2	45,70±0,14	91,76±0,97
KAD5	4	47,26±0,05	96,50±0,90
KAD6	6	47,12±0,08	96,50±1,25
KAD7	12	47,55±0,17	97,52±0,65
KAD8	24	48,96±0,30	96,73±1,64

Από τους παραπάνω πίνακες, κατασκευάστηκαν τα ακόλουθα διαγράμματα (**Σχήματα 48,49**) τα οποία απεικονίζουν τη μεταβολή της αποδόμησης του αμύλου καθώς και την παραγωγή της γλυκόζης σε συνάρτηση με τους χρόνους επεξεργασίας τόσο για το ξηρό απόβλητο όσο και για το απόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά.



Σχήμα 48: Αποδόμηση αμύλου συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**



Σχήμα 49: Συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος **NS22109**

Όπως φαίνεται από το **Σχήμα 48** η αποδόμηση του αμύλου αυξάνει ραγδαία την 1h και για τα δύο είδη βιοαποβλήτου, ενώ η περαιτέρω αύξηση του χρόνου επεξεργασίας δεν επιφέρει κάποια σημαντική αλλαγή. Ταυτόχρονα, για κάθε επιλεγμένο χρόνο προκύπτει

περίπου $10 \pm 1,5\%$ μεγαλύτερη αποδόμηση αμύλου για το βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά, σε σχέση με το ξηρό βιοαπόβλητο. Όσον αφορά τη συγκέντρωση της ελεύθερης γλυκόζης (**Σχήμα 49**) παρατηρείται πως για μεγαλύτερους χρόνους (και πέραν της μίας ώρας) επιτυγχάνονται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, αλλά δεδομένου ότι επακολουθεί η υδρόλυση της κυτταρίνης θεωρείται πως η δράση του αμυλολυτικού σκευάσματος είναι πιθανό να συνεχιστεί και στο επόμενο στάδιο.

Επομένως, απ' όσα παρουσιάστηκαν παραπάνω προκύπτει ότι ο βέλτιστος χρόνος για την υδρόλυση του αμύλου με τη χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 είναι ίσος με 1h, ενώ παράλληλα παρατηρούνται τα βέλτιστα αποτελέσματα για το βιοαπόβλητο που είναι απαλλαγμένο από λιπαρά.

7.5 Κινητική της υδρόλυσης της κυτταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177

Μετά την ολοκλήρωση της μελέτης της επίδρασης των δόσεων του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 και του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 για την υδρόλυση του αμύλου και της κυτταρίνης αντίστοιχα για προξηραμένο και απαλλαγμένο από λίπη βιοαπόβλητο αλλά και της μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου, αποφασίστηκε η πραγματοποίηση σειράς πειραμάτων προκειμένου να βρεθεί ο βέλτιστος χρόνος υδρόλυσης της κυτταρίνης. Για τα πειράματα της μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης της κυτταρίνης, για το πρώτο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης του αμύλου εφαρμόστηκε δόση ίση με 2,7 $\mu\text{L/g}$ προξηραμένου υλικού και χρόνος υδρόλυσης αμύλου μία ώρα. Για το δεύτερο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης, για το κυτταρινολυτικό σκεύασμα NS22177 χρησιμοποιήθηκε η βέλτιστη δόση που προέκυψε από τα πειράματα (CN1-CN8, CD1-CD4) που βρέθηκε ίση με 21,7 $\mu\text{L/g}$ προξηραμένου υλικού.

Στούς παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα πρωτογενή αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών μελέτης της κινητικής της υδρόλυσης της κυτταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 στην υδρόλυση ξηρού βιοαποβλήτου (**Πίνακας 27**) και στην υδρόλυση βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά (**Πίνακας 28**). 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 στερεά και τα βασικά δομικά σάκχαρα (άμυλο και κυτταρίνη) και το υπερκείμενο υγρό αραιώθηκε στα 100mL και αναλύθηκε ως προς τη συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης.

Πίνακας 27: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης της κυταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

A/A	t (h)	Στερεό υπόλειμμα			Υπερκείμενο υγρό
		TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
KCN1	0	7,29±0,12	10,65±1,25	18,38±0,34	1,37±0,01
KCN2	0	6,60±0,21	2,04±0,12	14,01±0,58	10,57±1,13
KCN3	0,5	6,01±0,15	3,28±0,15	12,68±0,47	16,53±0,54
KCN4	1	6,18±0,05	2,91±0,34	12,90±0,96	16,92±0,06
KCN5	1,5	5,76±0,08	4,36±0,33	11,54±0,08	18,22±0,09
KCN6	2	5,29±1,12	2,23±0,24	13,62±1,61	18,81±0,15
KCN7	4	5,48±0,52	1,33±0,07	13,14±1,17	19,59±0,24
KCN8	6	5,34±0,36	1,43±0,01	13,10±1,36	20,50±0,65
KCN9	12	4,98±0,25	1,01±0,03	13,33±1,25	22,12±1,11
KCN10	24	4,80±0,24	0,58±0,00	11,15±0,12	24,01±0,87

Πίνακας 28: Ανάλυση στερεού υπολείμματος και υπερκείμενου υγρού κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης της κυταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 50°C για 5h.

A/A	t (h)	Στερεό υπόλειμμα			Υπερκείμενο υγρό
		TΣτελ (g)	Άμυλο (% w/w)	Κυτταρίνη (% w/w)	Ελεύθερη γλυκόζη (g/L)
KCD1	0	6,65±0,02	11,11±0,58	19,68±1,10	0,46±0,01
KCD2	0	5,58±0,32	1,77±0,01	14,36±1,21	13,44±0,02
KCD3	0,5	5,23±0,04	1,66±0,01	14,83±1,51	16,07±0,06
KCD4	1	5,25±0,65	1,72±0,05	14,93±1,32	17,18±0,18
KCD5	1,5	5,06±0,25	2,07±0,06	14,42±1,68	18,87±0,19
KCD6	2	4,99±0,37	1,69±0,03	18,66±0,68	19,59±0,05
KCD7	4	4,91±0,21	1,66±0,03	15,03±0,78	23,23±0,10
KCD8	6	4,72±0,10	1,13±0,00	13,33±0,48	24,34±0,20
KCD9	12	4,42±0,69	0,74±0,01	13,33±0,37	25,38±0,84
KCD10	24	4,36±0,03	0,55±0,04	11,18±0,49	27,72±0,75

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αποτελεσματικότητα της πειραματικής διαδικασίας κατασκευάστηκαν οι **Πίνακες 29,30** με βάση την ακόλουθη εξίσωση:

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

όπου A:

- TS
- Άμυλο
- Κυτταρίνη.

Πίνακας 29: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης της κυταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 20% β/β ξηρού βιοαποβλήτου στους 50°C για 5h

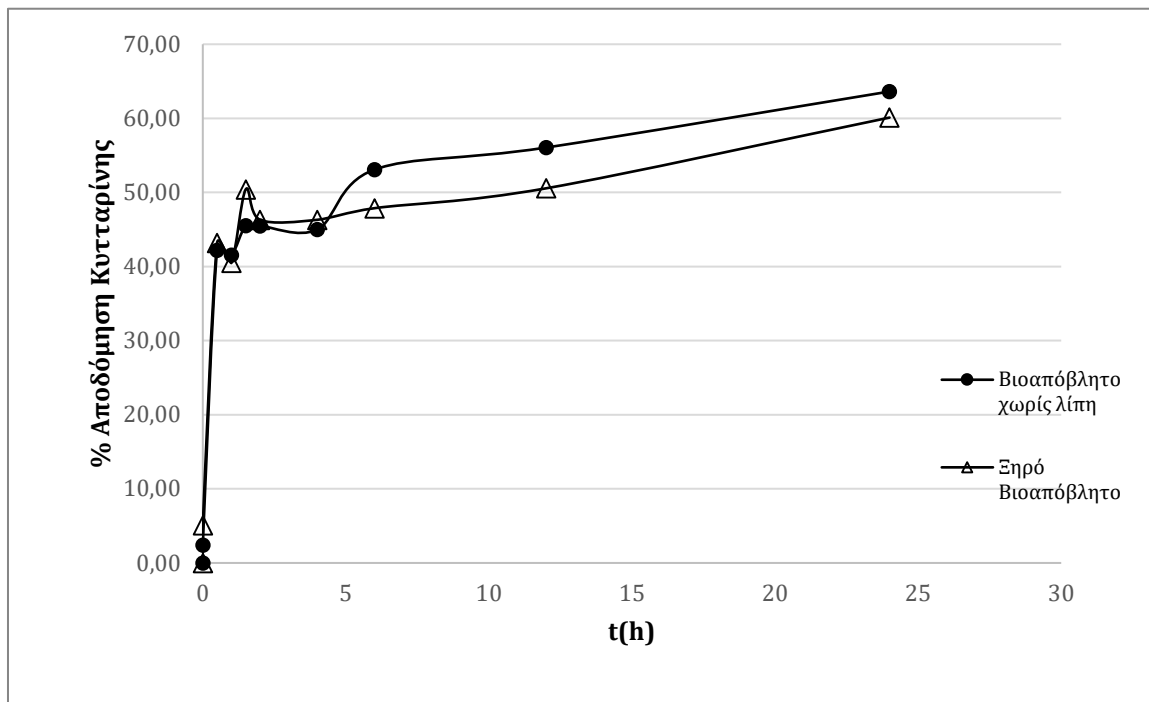
A/A	t (h)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου	% Υδρόλυσης κυταρίνης
KCN1	0	36,30±0,57	0,00±0,01	0,00±0,01
KCN2	0	42,41±0,25	80,70±1,12	5,09±0,02
KCN3	0,5	47,50±0,68	83,68±1,21	43,18±1,12
KCN4	1	46,02±0,95	85,09±0,98	40,49±1,13
KCN5	1,5	49,69±1,12	79,21±1,52	50,41±1,32
KCN6	2	53,80±0,68	90,23±1,46	46,31±0,98
KCN7	4	52,13±0,75	93,95±1,32	46,31±0,68
KCN8	6	53,40±0,95	93,70±0,87	47,87±0,58
KCN9	12	56,53±0,83	95,86±0,64	50,56±0,74
KCN10	24	58,12±0,51	97,68±0,54	60,10±0,96

Πίνακας 30: Αποδόσεις κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης της κυταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**. Συνθήκες: 17% β/β ξηρού βιοαποβλήτου απαλλαγμένο από λιπαρά στους 50°C για 5h

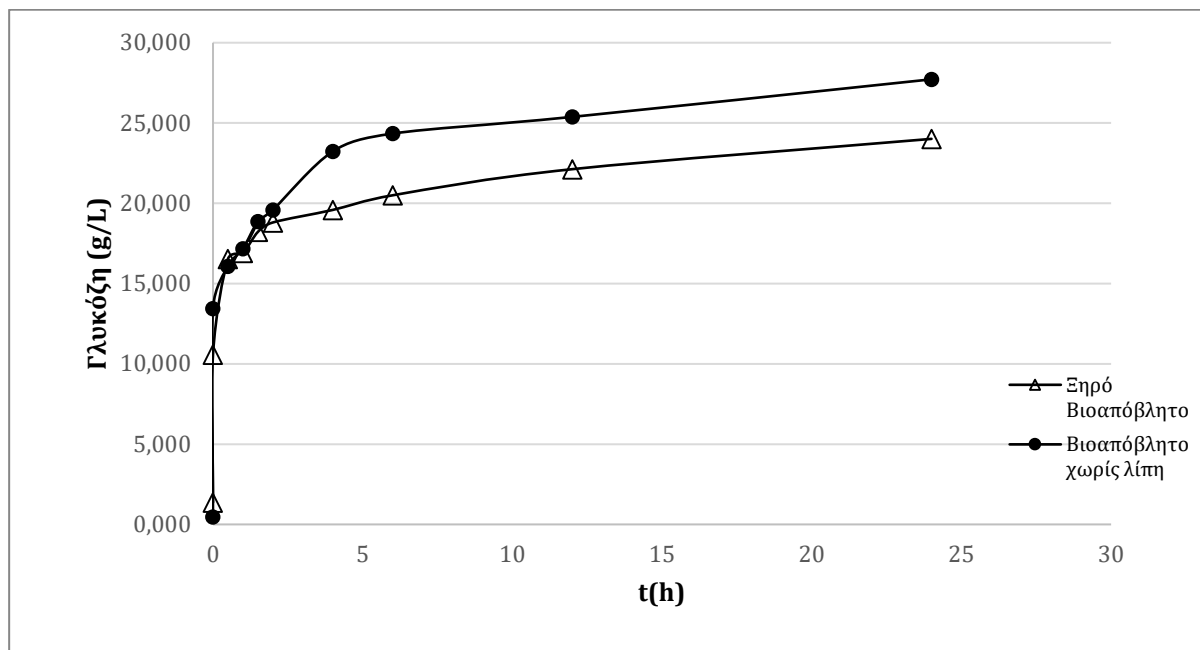
A/A	t (h)	% Υδρόλυσης TS	% Υδρόλυσης αμύλου	% Υδρόλυσης κυταρίνης
KDN1	0	33,55±0,11	15,91±0,05	0,00±0,00
KDN2	0	44,20±0,22	87,79±0,57	2,42±0,01
KDN3	0,5	47,77±0,35	88,25±1,35	42,20±0,45
KDN4	1	47,54±0,65	87,74±0,15	41,55±0,68
KDN5	1,5	49,38±0,48	85,80±1,24	45,53±1,68

KDN6	2	50,13±0,98	83,92±1,68	45,50±2,10
KDN7	4	50,95±0,75	88,94±1,26	45,01±0,08
KDN8	6	52,83±1,24	92,79±0,54	53,08±0,97
KDN9	12	55,83±0,25	95,56±0,68	56,06±0,86
KDN10	24	56,40±0,26	96,76±0,74	63,62±0,58

Από τους παραπάνω πίνακες, κατασκευάζονται τα ακόλουθα διαγράμματα (Σχήματα 50,51) τα οποία απεικονίζουν τη μεταβολή της αποδόμησης της κυτταρίνης καθώς και την παραγωγή της γλυκόζης σε συνάρτηση με τους χρόνους επεξεργασίας τόσο για το ξηρό απόβλητο όσο και για το απόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά.



Σχήμα 50: Αποδόμηση κυτταρίνης συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του κυτταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**



Σχήμα 51: Συγκέντρωση ελεύθερης γλυκόζης συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας κατά τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του κυτταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος **NS22177**

Όπως φαίνεται από το **Σχήμα 50**, η αποδόμηση της κυτταρίνης διακυμάνθηκε από 43-63% ακολουθώντας εκθετική πορεία, ενώ παράλληλα, στο **Σχήμα 51** που παρουσιάζεται η παραγωγή της γλυκόζης συναρτήσει του χρόνου, φαίνεται πως υπάρχει αρχικά ραγδαία αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης γλυκόζης και έφτασε σε περίπου σταθερές τιμές της τάξεως των 20 g/L μετά από 5h επώασης.

Επομένως, απ' όσα παρουσιάστηκαν παραπάνω προκύπτει ότι ο βέλτιστος χρόνος για την υδρόλυση της κυτταρίνης με τη χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 είναι ίσος με 5h, ενώ παράλληλα παρατηρούνται τα βέλτιστα αποτελέσματα με τη χρήση του βιοαποβλήτου που είναι απαλλαγμένο από λιπαρά.

7.6 Εκτίμηση των κινητικών σταθερών της ενζυμικής υδρόλυσης

Τα ένζυμα, ως καταλύτες, ελαττώνουν δραστικά τον απαιτούμενο χρόνο για την επίτευξη του σημείου ισορροπίας της αντιδράσεως, χωρίς να μεταβάλλουν τη θέση της και χωρίς να τροποποιούνται τα ίδια κατά τρόπο μη αντιστρέψιμο. Αυτό επιτυγχάνεται, αφενός με το να δεσμεύουν το υπόστρωμα σε μία καταλυτικά κρίσιμη για κάθε ένζυμο κοιλότητα που ονομάζεται ενεργός περιοχή (active site) ή ενεργό κέντρο (active centre), και αφετέρου,

συνήθως, να μειώνουν την ελεύθερη ενέργεια που αντιστοιχεί στη μεταβατική κατάσταση του συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος (ES), γεγονός που οδηγεί σε μείωση και την αντίστοιχη ενέργεια ενεργοποίησης (ΔG^{++}), συγκριτικά με την απαιτούμενη ενέργεια απουσία ενζύμου.

Για τη μελέτη και κατανόηση της ενζυμικής αντιδράσεως, βοηθάει η γνώση των κατωτέρω κριτηρίων (τα αντίστοιχα μέτρα των οποίων εμφανίζονται σε παρένθεση), η σημασία των οποίων εξαρτάται από τη συγκεκριμένη ενζυμική εφαρμογή:

- ταχύτητα αντιδράσεως (δραστικότητα και ποσότητα ενζύμου),
- έκταση αντιδράσεως (σταθερά ισορροπίας),
- διάρκεια ενζυμικής δραστηριότητας (σταθερότητα ενζύμου).

Η διάρκεια βιομηχανικών βιοκαταλυτικών αντιδράσεων κυμαίνεται από μερικά λεπτά έως μερικές ημέρες. Ενώ θεωρητικά ως κύριος στόχος θεωρείται η μεγιστοποίηση της ποσότητας του προϊόντος εις βάρος του παράγοντα χρόνου αντιδράσεως, στην πράξη η βιομηχανία ενδιαφέρεται ο συνολικός χρόνος της ενζυμικής αντιδράσεως να είναι ρεαλιστικός και η διεργασία να ολοκληρώνεται γρήγορα. Αυτό, αναγκαστικά, συνεπάγεται τον σχεδιασμό ταχύτερης ολικής αντιδράσεως.

Η συνολική ενζυμική αντίδραση, γενικά, διακρίνεται σε τρεις φάσεις:

Φάση I: φάση ενάρξεως (initiation phase), η οποία διαρκεί από δέκατα του δευτερολέπτου έως λίγα δευτερόλεπτα.

Φάση II: φάση σταθεροποιημένης καταστάσεως (steady-state), στην οποία αντιστοιχεί η αρχική ταχύτητα ενζυμικής αντιδράσεως u_0 (initial reaction rate).

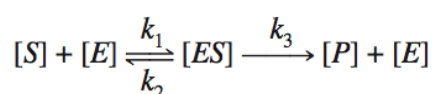
Φάση III: Μη γραμμική φάση (non-linear phase), η οποία αποτελεί το κύριο τμήμα της ενζυμικής αντιδράσεως και διαρκεί μέχρι τη λήξη της, τυπικά, την επίτευξη του σημείου ισορροπίας.

Στη βιομηχανική ενζυμική τεχνολογία, οι φάσεις I και II θεωρούνται ως μία φάση, απλούστευση η οποία προφανώς δεν ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα. Η φάση II είναι

χρήσιμη για τη μέτρηση της ενζυμικής δραστηριότητας, καθώς και για τον σχεδιασμό νέων ενζυμικών διεργασιών, ενώ η φάση III συγκεντρώνει το ενδιαφέρον των ενζυμικών βιομηχανικών εφαρμογών.

Φάση I : έναρξη της ενζυμικής αντιδράσεως

Η έναρξη κάθε ενζυμικής αντιδράσεως σηματοδοτεί τον σχηματισμό του συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος, το οποίο ακολούθως διασπάται σε προϊόν και σε αρχικό ένζυμο, σύμφωνα με το πρότυπο ισορροπίας:



όπου:

[S] η συγκέντρωση υποστρώματος

[E] η συγκέντρωση ελεύθερου ενζύμου

[ES] η συγκέντρωση συμπλόκου ενζύμου-υποστρώματος

[P] η συγκέντρωση προϊόντος

k_1, k_2, k_3 οι σταθερές ταχύτητας των αντίστοιχων αντιδράσεων.

Ο σχηματισμός του συμπλόκου ES, χαρακτηριστικό της φάσης I, θεωρείται ως αντιστρεπτή διαδικασία, επειδή αυτό βρίσκεται σε παρόμοιο ενεργειακό επίπεδο με τα συστατικά S και E. Αργότερα, το σύμπλοκο ES διασπάται σε προϊόν P και σε ελεύθερο ένζυμο E, διαδικασία εξώθερμη και, γενικά, μη αντιστρεπτή. Το στάδιο διασπάσεως του ES σε P και E θεωρείται ότι ελέγχει την ταχύτητα της ολικής αντιδράσεως (αποτελεί δηλαδή το λεγόμενο rate-limiting step). Κατά την έναρξη της αντιδράσεως (φάση I), η συγκέντρωση του ελεύθερου ενζύμου [E], που συνήθως είναι πολύ μικρότερη από τη συγκέντρωση του υποστρώματος [S], ελαττώνεται γρήγορα και προσεγγίζει το μηδέν, ενώ παράλληλα παρατηρείται αύξηση και σταθεροποίηση της συγκεντρώσεως του συμπλόκου [ES]. Το τελευταίο γεγονός οφείλεται στο ότι σταδιακά αποκαθίσταται δυναμική ισορροπία, γεγονός που σηματοδοτεί την έναρξη της φάσης II (σταθεροποιημένη κατάσταση).

Φάση II : σταθεροποιημένη κατάσταση

Αρχική ταχύτητα αντιδράσεως (u_0). Τα αντιδρώντα συστατικά βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία και το σύστημα λειτουργεί σε σταθεροποιημένη μορφή. Αυτή θεωρείται η απλούστερη περίπτωση με βάση την οποία είναι δυνατόν να κατασκευαστεί ένα πρότυπο (μοντέλο) ενζυμικής κινητικής. Αυτό, ακολούθως, μπορεί να τροποποιείται κατάλληλα, ώστε να εφαρμοσθεί και στη φάση III. Το εν λόγω κινητικό πρότυπο θα περιγράφει την ολική ενζυμική αντίδραση και θα επιτρέπει, σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή, τον ποσοτικό υπολογισμό του παραγόμενου προϊόντος ή του καταναλισκόμενου υποστρώματος.

Η ταχύτητα (u) της αντιδράσεως, σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή, ισούται με την κλίση της εφαπτομένης της καμπύλης κατά την αντίστοιχη χρονική στιγμή, δηλαδή:

$$u = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

Χαρακτηριστικό της φάσης II είναι η γραμμική σχέση μεταξύ συγκεντρώσεως υποστρώματος και χρόνου, γεγονός που οδηγεί στη μέγιστη κλίση της καμπύλης. Η κλίση αυτή ισούται με την αρχική ταχύτητα αντιδράσεως u_0 (initial reaction rate), η οποία παραμένει σταθερή ως προς το χρόνο, για σταθερή συγκέντρωση ενζύμου. Καθώς η αντίδραση εξελίσσεται και το υπόστρωμα μετατρέπεται σε προϊόν, η μείωση της συγκεντρώσεως του υποστρώματος και η αντίστοιχη αύξηση της συγκεντρώσεως του προϊόντος, τελικά, περιορίζει την ταχύτητα αντιδράσεως, με αποτέλεσμα την είσοδο του συστήματος στη φάση III. Η ταχύτητα της ενζυμικής αντιδράσεως εκφράζεται ποσοτικά τόσο με απόλυτες χημικές μονάδες (π.χ. $\mu\text{mol min}^{-1}$) όσο και με φυσικές μονάδες (π.χ. μεταβολή οπτικής απορρόφησης ανά μονάδα χρόνου).

Φάση III : μη γραμμικό και κύριο τμήμα της ενζυμικής αντιδράσεως

Γενικευμένη εξίσωση της ταχύτητας αντιδράσεως και κλάσμα μετατροπής. Κατά τη φάση III, η αρχική ταχύτητα ελαττώνεται σταδιακά, άρα και ο λόγος $d[S]/dt$ λαμβάνει συνεχώς μικρότερες τιμές. Αυτό συμβαίνει ακόμη και όταν διατηρείται πλήρως η ενζυμική δραστηριότητα, είναι δε ενδεικτικό της μείωσης της συγκεντρώσεως του υποστρώματος, της προσέγγισης του σημείου ισορροπίας και της έναρξης λειτουργίας της αντίστροφης αντιδράσεως. Όπως έχει ήδη επισημανθεί, τα ένζυμα, ως καταλύτες, αδυνατούν να επέμβουν

και να μετατοπίσουν το σημείο ισορροπίας της αντιδράσεως. Μπορούν όμως να επιταχύνουν την διαδικασία επιτεύξεως της ισορροπίας.

Στη βιομηχανία, συνήθως, η ενζυμική αντίδραση οδηγείται σε μέγιστη μετατροπή, ώστε να μεγιστοποιείται η απόδοση σε προϊόν, ή γενικότερα να ελέγχεται και να εξασφαλίζεται το εκάστοτε επιθυμητό ποσοστό μετατροπής. Προς τούτο πρέπει να είναι γνωστά η συγκέντρωση του ενζύμου και ο απαιτούμενος χρόνος προκειμένου υπόστρωμα γνωστής αρχικής συγκεντρώσεως $[S_0]$, να μετατραπεί κατά συγκεκριμένη ποσότητα. Ας υποθεθεί ότι η $[S_0]$ μεταβάλλεται μετά χρόνο t σε $[S]$. Έτσι, έπεται η σχέση:

$$k_3[E_t] = \left(1 + \frac{K_m}{[S]}\right) \cdot d[S]$$

και ολοκληρώνοντας τη σχέση

$$k_3[E_t] = K_m \int \left(\frac{1}{S}\right) d[S] + \int d[S]$$

στα διαστήματα t_0, t και $[S_0], [S]$ λαμβάνονται διαδοχικά οι σχέσεις

$$k_3[E_t]t = K_m \ln\left(\frac{[S_0]}{[S]}\right) + ([S_0] - [S])$$

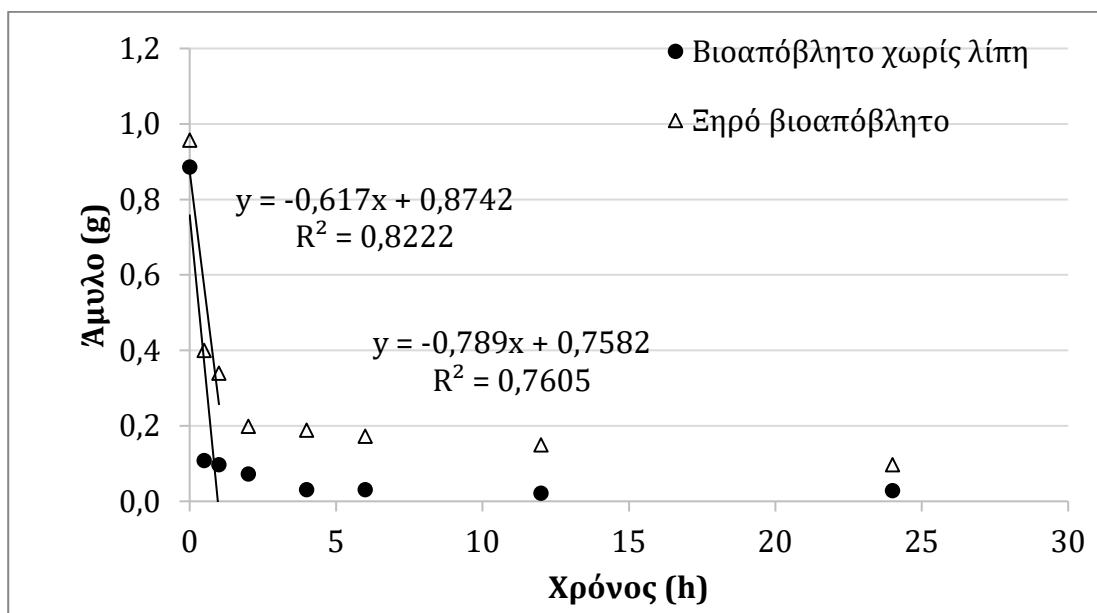
$$t = \frac{([S_0] - [S]) + K_m \ln\left(\frac{[S_0]}{[S]}\right)}{k_3[E_t]}$$

Από την τελευταία σχέση φαίνεται ότι ο χρόνος που απαιτείται για να μετατραπεί ένα υπόστρωμα συγκεντρώσεως $[S_0]$ σε $[S]$, για δεδομένη και σταθερή ολική συγκέντρωση ενζύμου $[E_t]$, εξαρτάται από τις σταθερές k_m και k_3 .

Προσδιορισμός κινητικών σταθερών υδρόλυσης αμύλου

Σύμφωνα με τη θεωρία που περιγράφηκε παραπάνω η ταχύτητα έναρξης της αντίδρασης μπορεί να προσδιοριστεί από τη γραμμική προσαρμογή της χρονικής μεταβολής των συγκεντρώσεων του αντιδρώντος δηλαδή του αμύλου κατά την εκκίνηση της

αντίδρασης. Στο **Σχήμα 52** παρουσιάζεται η χρονική μεταβολή του αμύλου, καθώς και οι προσαρμογές για ξηρό και απαλλαγμένο από λιπαρά βιοαπόβλητο. Οι ταχύτητες έναρξης εκτιμήθηκαν ίσες με 0,617 και 0,789 g/h για ξηρό και απαλλαγμένο από λιπαρά βιοαπόβλητο αντίστοιχα. Παρατηρείται αύξηση 28% της ταχύτητας έναρξης, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην απομάκρυνση των λιπών. Τα υπόλοιπα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν στη σχέση... με μη γραμμική παρεμβολή (χρήση εργαλείου solver του excel) και εκτιμήθηκαν οι κινητικές σταθερές που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 31**. Παρατηρείται ότι το μέγεθος της κινητικής σταθεράς $K_3[E_t]$ σχεδόν τριπλασιάστηκε γεγονός που υποδηλώνει επιτάχυνση της ημιαντίδρασης παραγωγής τελικού προϊόντος δηλαδή της γλυκόζης. Το τελευταίο επιβεβαιώνεται και από τις πειραματικές μετρήσεις.



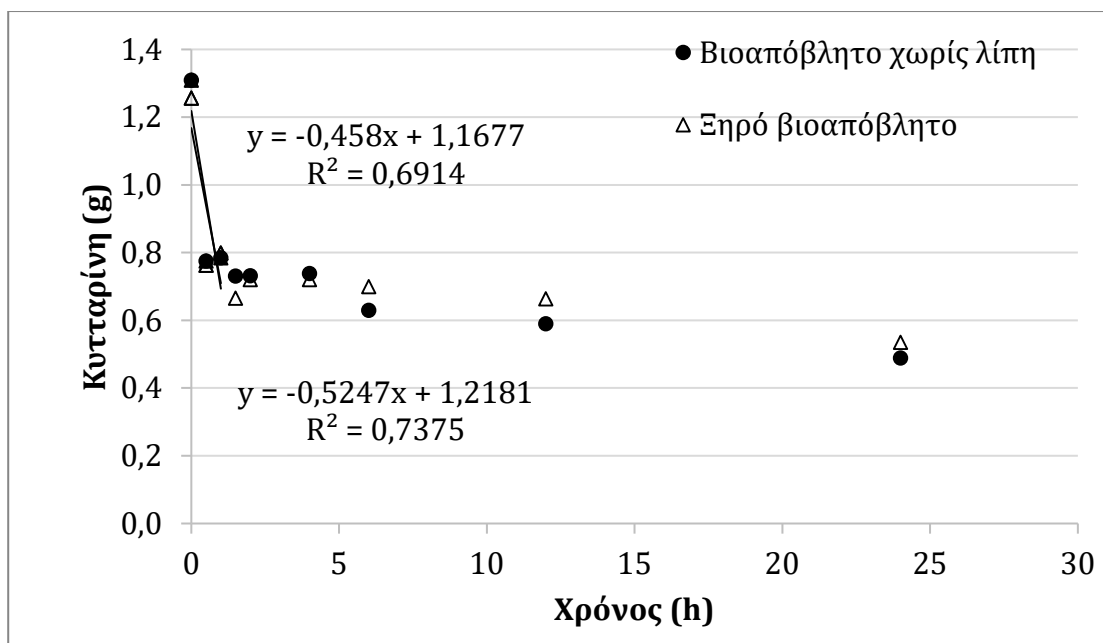
Σχήμα 52: Χρονική μεταβολή ποσότητας αμύλου κατά την ενζυμική υδρόλυση ξηρού και απαλλαγμένου από λιπαρά βιοαπόβλητου

Πίνακας 31: Κινητικές σταθερές ενζυμικής υδρόλυσης αμύλου σε ξηρό και απαλλαγμένο από λιπαρά βιοαπόβλητο

	u_0 (g/h)	K_m	$k_3[E_t]$ (g/h)
Ξηρό Βιοαπόβλητο	0,617	0,503	0,012
Βιοαπόβλητο χωρίς λίπη	0,789	0,348	0,030

Προσδιορισμός κινητικών σταθερών υδρόλυσης κυτταρίνης

Ακολουθώντας ακριβώς την ίδια μεθοδολογία η ταχύτητα έναρξης της αντίδρασης μπορεί να προσδιοριστεί από τη γραμμική προσαρμογή της χρονικής μεταβολής των συγκεντρώσεων του αντιδρώντος δηλαδή της κυτταρίνης κατά την εκκίνηση της αντίδρασης. Στο **Σχήμα 53** παρουσιάζεται η χρονική μεταβολή της κυτταρίνης, καθώς και οι προσαρμογές για ξηρό και απαλλαγμένο από λιπαρά βιοαπόβλητο. Οι ταχύτητες έναρξης εκτιμήθηκαν ίσες με 0,458 και 0,525 g/h για ξηρό και απαλλαγμένο από λιπαρά βιοαπόβλητο αντίστοιχα. Παρατηρείται αύξηση 14% της ταχύτητας έναρξης, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στην απομάκρυνση των λιπών. Τα υπόλοιπα πειραματικά δεδομένα προσαρμόστηκαν στη σχέση... με μη γραμμική παρεμβολή (χρήση εργαλείου solver του excel) και εκτιμήθηκαν οι κινητικές σταθερές που παρουσιάζονται στον **Πίνακα 32**. Παρατηρείται ότι οι εν λόγω κινητικές σταθερές παρέμειναν αμετάβλητες και για τα δύο εξεταζόμενα υποστρώματα.



Σχήμα 53: Χρονική μεταβολή ποσότητας κυτταρίνης κατά την ενζυμική υδρόλυση ξηρού και απαλλαγμένου από λιπαρά βιοαπόβλητου

Πίνακας 32: Κινητικές σταθερές ενζυμικής υδρόλυσης κυτταρίνης σε ξηρό και απαλλαγμένο από λιπαρά βιοαπόβλητο

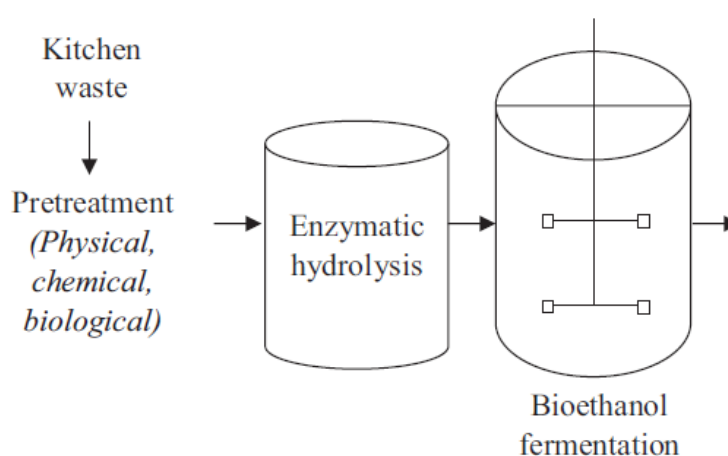
	u_0 (g/h)	K_m	$k_3[E_t]$ (g/h)
--	-------------	-------	------------------

Ξηρό Βιοαπόβλητο	0,458	0,999	0,006
Βιοαπόβλητο χωρίς λίπη	0,525	0,926	0,006

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Ισοζύγια μάζας

8.1 Εισαγωγή

Αξιοποιώντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το σύνολο των πειραματικών δοκιμών, έγινε στη συνέχεια μια προσπάθεια προσομοίωσης της συνολικής διεργασίας (Σχήμα 54).



Σχήμα 54: Προσομοίωση της συνολικής διεργασίας

Θεωρήθηκε η ακόλουθη σύσταση προξηραμένου βιοαποβλήτου (Πίνακας 33):

Πίνακας 33: Σύσταση προξηραμένου βιοαποβλήτου

Σύσταση	%
pH	4,88
Υγρασία	8,4
VS	86,83
TOC	53,36
TN	2,16
Πρωτεΐνες	13,5
Λίπη και έλαια	11,65

Ολικά Διαλυτά Στερεά	35,01
TRS	7,83
Γλυκόζη	1,4
Κυτταρίνη	11,35
Ημικυτταρίνη	11,91
Άμυλο	6,1

Με βάση αυτή τη σύσταση βιοαποβλήτου μελετήθηκαν τα σενάρια που παρουσιάζονται αναλυτικά στους πίνακες του **Παραρτήματος** θεωρώντας ως βάση τα 100kg προξηραμένου αποβλήτου.

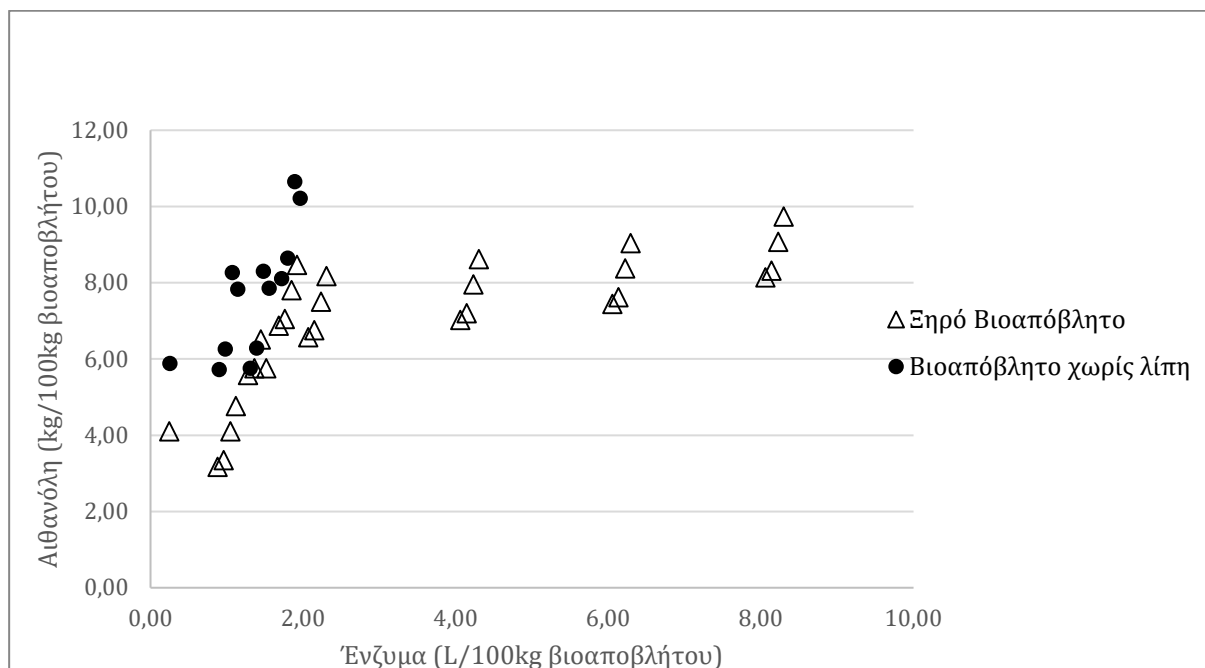
Από τα αποτελέσματα των πινάκων αυτών, προέκυψε ο παρακάτω συγκεντρωτικός **Πίνακας 34** για όλα τα σενάρια που μελετήθηκαν:

Πίνακας 34: Αποτελέσματα σεναρίων

A/A	Σενάριο	Αμυλάση (mL)	Κυτταρινάση (mL)	Ένζυμα (L)	Αιθανόλη (kg)	Λίπη (kg)
1	AN2-CN2	79,69	799,67	0,88	3,17	-
2	AN2-CN3	79,69	1199,96	1,28	5,58	-
3	AN2-CN4	79,69	1600,25	1,68	6,87	-
4	AN2-CN5	79,69	1989,55	2,07	6,57	-
5	AN2-CN6	79,69	3982,77	4,06	7,03	-
6	AN2-CN7	79,69	5972,32	6,05	7,44	-
7	AN2-CN8	79,69	7978,36	8,06	8,14	-
8	AN3-CN2	160,30	799,67	0,96	3,35	-
9	AN3-CN3	160,30	1199,96	1,36	5,76	-
10	AN3-CN4	160,30	1600,25	1,76	7,06	-
11	AN3-CN5	160,30	1987,72	2,15	6,76	-
12	AN3-CN6	160,30	3982,77	4,14	7,21	-
13	AN3-CN7	160,30	5972,32	6,13	7,63	-
14	AN3-CN8	160,30	7978,36	8,14	8,32	-

15	AN4-CN1	248,24	0	0,25	4,11	-
16	AN4-CN2	248,24	799,67	1,05	4,10	-
17	AN4-CN3	248,24	1199,96	1,45	6,51	-
18	AN4-CN4	248,24	1600,25	1,85	7,81	-
19	AN4-CN5	248,24	1987,72	2,24	7,51	-
20	AN4-CN6	248,24	3982,77	4,23	7,96	-
21	AN4-CN7	248,24	5972,32	6,22	8,38	-
22	AN4-CN8	248,24	7978,36	8,23	9,07	-
23	AN5-CN2	319,68	799,67	1,12	4,77	-
24	AN5-CN3	319,68	1199,96	1,52	5,76	-
25	AN5-CN4	319,68	1600,25	1,92	8,47	-
26	AN5-CN5	319,68	1987,72	2,31	8,17	-
27	AN5-CN6	319,68	3982,77	4,30	8,62	-
28	AN5-CN7	319,68	5972,32	6,29	9,04	-
29	AN5-CN8	319,68	7978,36	8,30	9,74	-
30	AD2-CD2	81,78	817,81	0,90	5,73	9,82
31	AD2-CD3	81,78	1226,72	1,31	5,76	9,82
32	AD2-CD4	81,78	1635,63	1,72	8,11	9,82
33	AD3-CD2	163,56	817,81	0,98	6,26	9,82
34	AD3-CD3	163,56	1226,72	1,39	6,29	9,82
35	AD3-CD4	163,56	1635,63	1,80	8,65	9,82
36	AD4-CD1	253,52	0,00	0,25	5,89	9,82
37	AD4-CD2	253,52	817,81	1,07	8,27	9,82
38	AD4-CD3	253,52	1226,72	1,48	8,30	9,82
39	AD4-CD4	253,52	1635,63	1,89	10,66	9,82
40	AD5-CD2	327,13	817,81	1,14	7,83	9,82
41	AD5-CD3	327,13	1226,72	1,55	7,86	9,82
42	AD5-CD4	327,13	1635,63	1,96	10,22	9,82

Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζεται το ακόλουθο διάγραμμα (**Σχήμα 55**) της αιθανόλης συναρτήσει των ποσοτήτων των ενζύμων.



Σχήμα 55: Παραγόμενη αιθανόλη συναρτήσει της ποσότητας ενζύμων

Από το διάγραμμα αυτό προκύπτει ότι σε κάθε περίπτωση η παραγωγή αιθανόλης είναι υψηλότερη στην περίπτωση των βιοαποβλήτων απαλλαγμένων από λιπαρά σε αντίθεση με τα προξηραμένα βιοαπόβλητα για την ίδια ποσότητα ενζύμων.

8.2 Οικονομική προσέγγιση

Σε μια προσπάθεια να συγκριθούν τα διαφορετικά σενάρια, που παρουσιάζονται στο **Παράρτημα**, σε οικονομικούς όρους, έγιναν οι ακόλουθες παραδοχές [75]:

- Η τιμή αγοράς των ενζύμων θεωρήθηκε ίση με 4€/ L σύμφωνα με την προμηθεύτρια εταιρεία Novozymes.
- Η τιμή πώλησης της παραγόμενης αιθανόλης θεωρήθηκε ίση με 0,6 €/ L.
- Η τιμή πώλησης των παραγόμενων λιπών θεωρήθηκε ίση με 258 €/ tn.
- Η τιμή αγοράς του εξανίου θεωρήθηκε ίση με 860 €/ tn
- Η αναλογία εξανίου:βιοαποβλήτου για την ελαιοεξαγωγή θεωρήθηκε ίση με 9:1

- Το ποσοστό ανάκτησης εξανίου μετά από κάθε διαδικασία ελαιοεξαγωγής θεωρήθηκε ίσο με 95%.

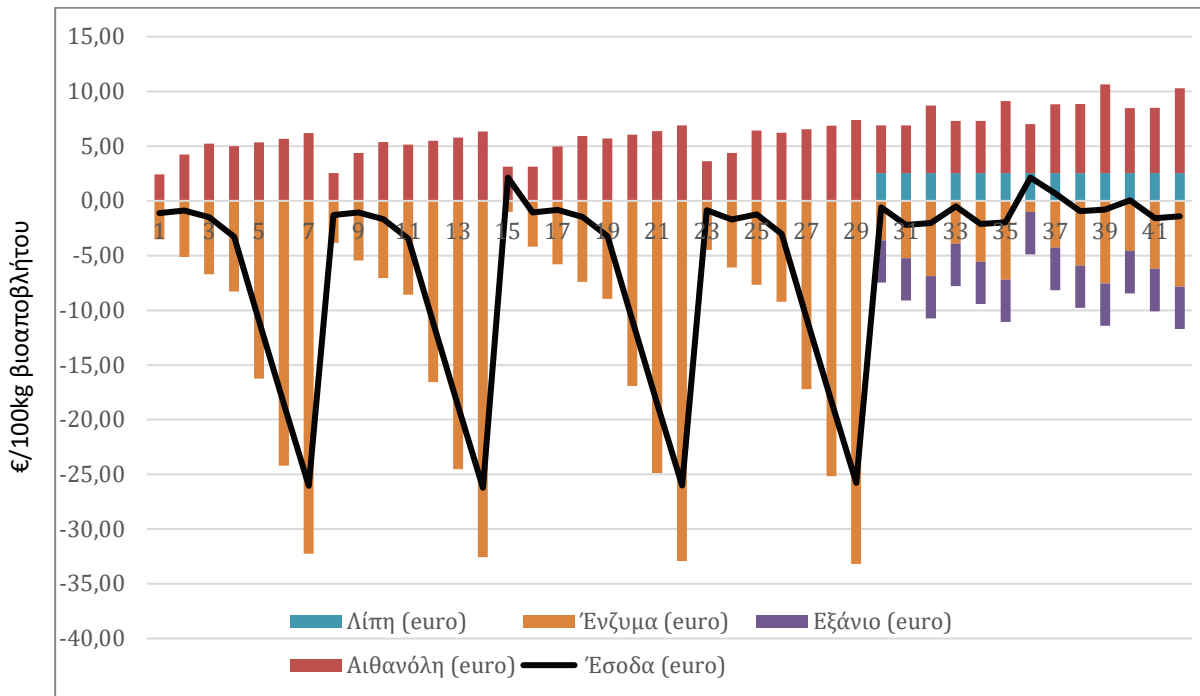
Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω καταστρώθηκε ο **Πίνακας 35**:

Πίνακας 35: Οικονομική προσέγγιση σεναρίων για 100kg βιοαποβλήτου

A/A	Σενάριο	Ένζυμα (€)	Αιθανόλη (€)	Λίπη (€)	Εξάνιο (€)	Έσοδα (€)
1	AN2-CN2	3,52	2,41	0,00	0,00	-1,11
2	AN2-CN3	5,12	4,24	0,00	0,00	-0,87
3	AN2-CN4	6,72	5,23	0,00	0,00	-1,49
4	AN2-CN5	8,28	5,00	0,00	0,00	-3,28
5	AN2-CN6	16,25	5,34	0,00	0,00	-10,91
6	AN2-CN7	24,21	5,66	0,00	0,00	-18,55
7	AN2-CN8	32,23	6,19	0,00	0,00	-26,04
8	AN3-CN2	3,84	2,55	0,00	0,00	-1,29
9	AN3-CN3	5,44	4,38	0,00	0,00	-1,06
10	AN3-CN4	7,04	5,37	0,00	0,00	-1,68
11	AN3-CN5	8,59	5,14	0,00	0,00	-3,45
12	AN3-CN6	16,57	5,48	0,00	0,00	-11,09
13	AN3-CN7	24,53	5,80	0,00	0,00	-18,73
14	AN3-CN8	32,55	6,33	0,00	0,00	-26,23
15	AN4-CN1	0,99	3,12	0,00	0,00	2,13
16	AN4-CN2	4,19	3,12	0,00	0,00	-1,07
17	AN4-CN3	5,79	4,95	0,00	0,00	-0,84
18	AN4-CN4	7,39	5,94	0,00	0,00	-1,46
19	AN4-CN5	8,94	5,71	0,00	0,00	-3,23
20	AN4-CN6	16,92	6,05	0,00	0,00	-10,87
21	AN4-CN7	24,88	6,37	0,00	0,00	-18,51
22	AN4-CN8	32,91	6,90	0,00	0,00	-26,01
23	AN5-CN2	4,48	3,63	0,00	0,00	-0,85

24	AN5-CN3	6,08	4,38	0,00	0,00	-1,70
25	AN5-CN4	7,68	6,44	0,00	0,00	-1,24
26	AN5-CN5	9,23	6,22	0,00	0,00	-3,01
27	AN5-CN6	17,21	6,56	0,00	0,00	-10,65
28	AN5-CN7	25,17	6,88	0,00	0,00	-18,29
29	AN5-CN8	33,19	7,41	0,00	0,00	-25,79
30	AD2-CD2	3,60	4,35	2,53	3,87	-0,58
31	AD2-CD3	5,23	4,38	2,53	3,87	-2,19
32	AD2-CD4	6,87	6,17	2,53	3,87	-2,04
33	AD3-CD2	3,93	4,76	2,53	3,87	-0,50
34	AD3-CD3	5,56	4,79	2,53	3,87	-2,11
35	AD3-CD4	7,20	6,58	2,53	3,87	-1,96
36	AD4-CD1	1,01	4,48	2,53	3,87	2,12
37	AD4-CD2	4,29	6,29	2,53	3,87	0,67
38	AD4-CD3	5,92	6,31	2,53	3,87	-0,94
39	AD4-CD4	7,56	8,10	2,53	3,87	-0,79
40	AD5-CD2	4,58	5,95	2,53	3,87	0,04
41	AD5-CD3	6,22	5,98	2,53	3,87	-1,57
42	AD5-CD4	7,85	7,77	2,53	3,87	-1,42

Οπτικοποιώντας τα αποτελέσματα του πίνακα αυτού, προκύπτει το **Σχήμα 56**.

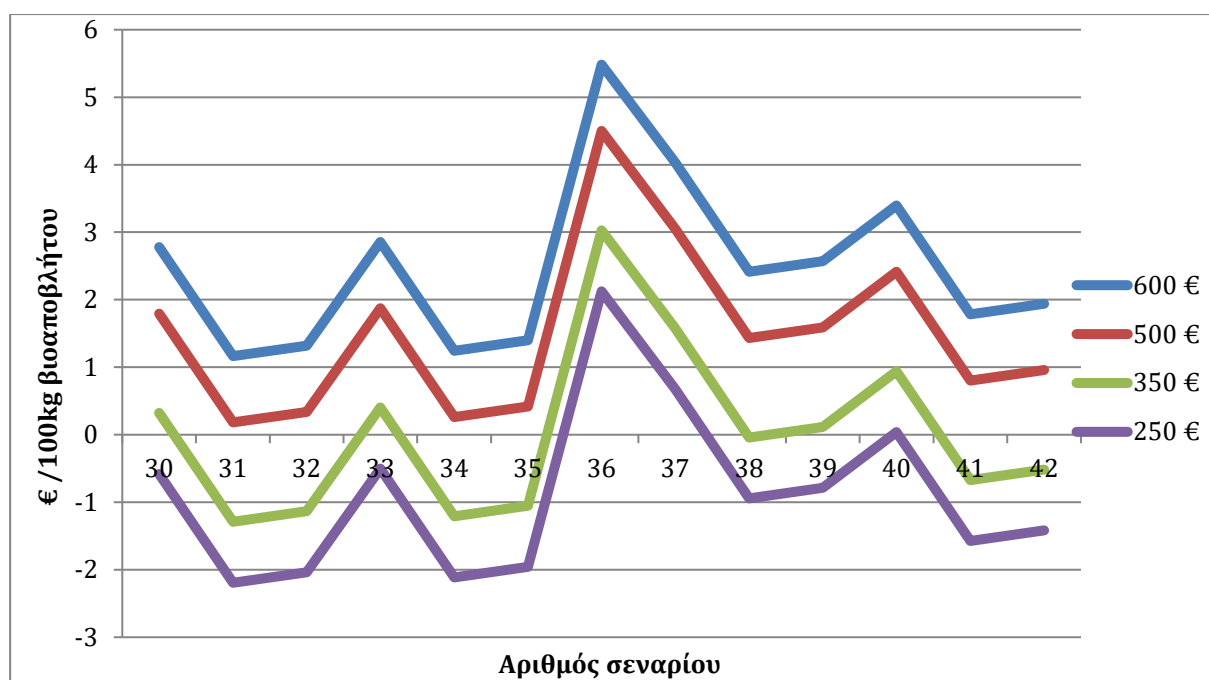


Σχήμα 56: Σύγκριση εσόδων μεταξύ σεναρίων

Από τα παραπάνω δεδομένα φαίνεται πως μόνο 4 από τα συνολικά σενάρια που εξετάστηκαν είναι κερδοφόρα. Πιο συγκεκριμένα, τα σενάρια AN4-CN1 (2,13€ κέρδος) και AD4-CD1 (2,12€ κέρδος) παρουσιάζουν τα υψηλότερα και πολύ κοντινά μεταξύ τους κέρδη γεγονός που είναι φυσιολογικό καθώς και στα δύο σενάρια δε χρησιμοποιείται δόση κυτταρινολυτικού σκευάσματος μειώνοντας έτσι και το συνολικό κόστος των ενζύμων. Παράλληλα, όμως, πρέπει να τονιστεί πως τα υπόλοιπα 2 κερδοφόρα σενάρια είναι τα AD4-CD2 (0,67€ κέρδος) και AD5-CD2 (0,04€ κέρδος) τα οποία είχαν ως βάση βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά, παρά το γεγονός πως είχαν ως επιπλέον κόστος το κόστος του κυτταρινολυτικού σκευάσματος αλλά και αυτό του απαιτούμενου εξανίου για την απομάκρυνση των λιπών. Όπως γίνεται, λοιπόν, εύκολα αντιληπτό η κερδοφορία του εκάστοτε σεναρίου εξαρτάται άμεσα από το είδος και τη σύσταση του βιοαποβλήτου και από τη χρησιμοποιούμενη ποσότητα ενζύμων. Πιθανώς για ένα βιοαπόβλητο με μεγάλη περιεκτικότητα σε κυτταρίνη και αρκετά μικρότερη σε άμυλο να προέκυπταν τελείως διαφορετικά αποτελέσματα ως προς τα βιώσιμα σενάρια.

Έπειτα, έγινε προσπάθεια ελέγχου της ευαισθησίας της κερδοφορίας του εκάστοτε σεναρίου ως προς την τιμή πώλησης των λιπών και την τιμή αγοράς των ενζύμων. Έτσι, για την πρώτη περίπτωση επιλέχθηκαν διαφορετικές τιμές πώλησης των λιπών (250€, 350€, 500€, 600€) και ακολουθώντας την ίδια επεξεργασία με προηγουμένως κατασκευάστηκε το

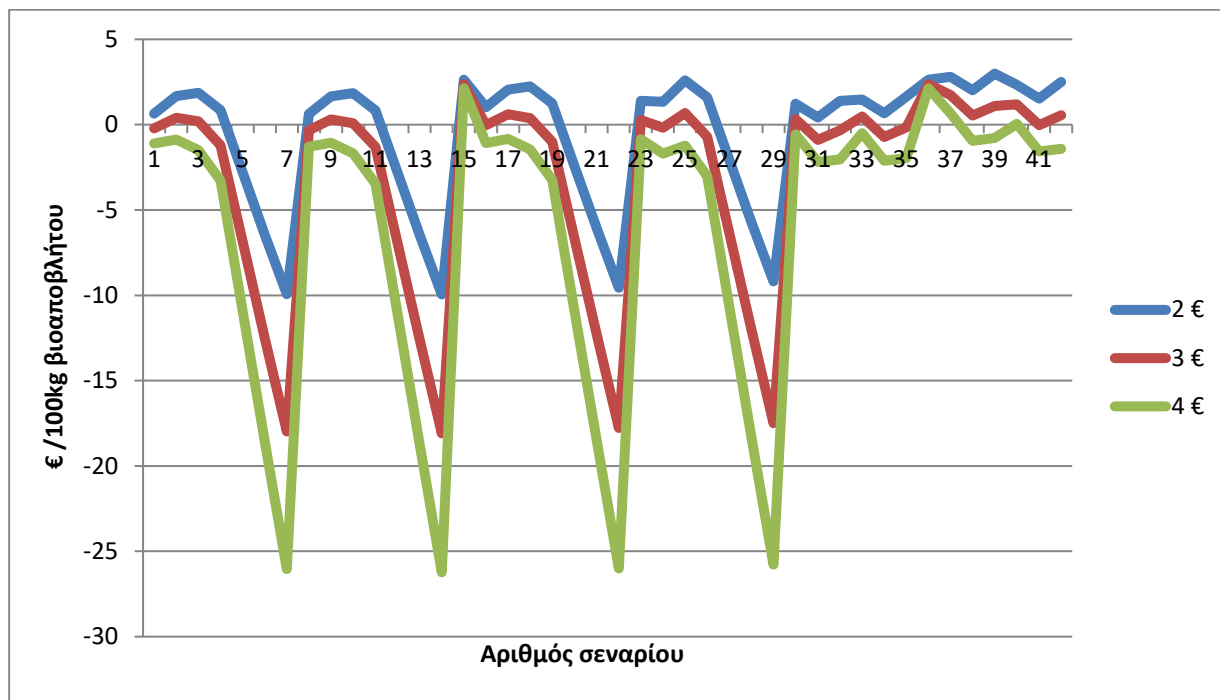
ακόλουθο διάγραμμα (Σχήμα 57).



Σχήμα 57: Συσχέτιση τιμής πώλησης λιπών με έσοδα

Όπως φαίνεται ο αριθμός των κερδοφόρων σεναρίων αυξάνεται όσο αυξάνεται και η τιμή πώλησης των λιπών καθώς ενώ με την αρχικά επιλεγμένη τιμή (250€) υπήρχαν μόνο 4 κερδοφόρα σενάρια όταν αυτή αυξήθηκε σε 600€ τα κερδοφόρα σενάρια αυξηθηκαν σε 14.

Τέλος, με τον ίδιο ακριβώς τρόπο και με διαφορετικές αυτή τη φορά τιμές αγοράς ενζύμων (2€, 3€, 4€) δημιουργήθηκε το ακόλουθο διάγραμμα (Σχήμα 58).



Σχήμα 58: Συσχέτιση τιμής αγοράς ενζύμων με έσοδα

Σε αυτή την περίπτωση, η μείωση της τιμής αγοράς των ενζύμων επιδρά σημαντικά στην κερδοφορία των σεναρίων καθώς όπως φαίνεται από το διάγραμμα ο υποδιπλασιασμός της τιμής των ενζύμων αυξάνει τα κερδοφόρα σενάρια από 4 σε 30.

Αναερόβια χώνευση υπολείμματος ζύμωσης

Από το σύνολο της διεργασίας πέρα από τα χρήσιμα προϊόντα προκύπτει και υπόλειμμα οργανικής φύσης το οποίο δεν μπορεί να απορριφθεί ως έχει αλλά θα πρέπει να σταθεροποιηθεί. Μία δυνατότητα αξιοποίησης αυτού είναι μέσω της αναερόβιας χώνευσης με την οποία επιτυγχάνεται τόσο σταθεροποίηση του υπολείμματος όσο και παραγωγή ενέργειας. Για την εξαγωγή αποτελεσμάτων ήταν απαραίτητο να γίνουν οι ακόλουθες παραδοχές [76] :

- Απόδοση αναερόβιας χώνευσης: 50%
- Ποσοστό μεθανίου στο βιοαέριο: 60%

- Ποσοστό παραγωγής κυτταρικής μάζας: 5%
- Θερμογόνος δύναμη μεθανίου: 11,06 kWh/m³
- Απόδοση συστήματος συμπαραγωγής ηλεκτρικής-θερμικής ενέργειας: 20-80%
- Κόστος πώλησης ηλεκτρικής ενέργειας: 0,1€/kWh.

Έτσι, εκτιμήθηκε μαθηματικά η παραγωγή μεθανίου για το ξηρό βιοαπόβλητο ίση με $25,50 \pm 0,72 \text{ m}^3/100 \text{ kg}$ ξηρού βιοαποβλήτου, ενώ για το βιοαπόβλητο που είναι απαλλαγμένο από λιπαρά είναι $22,58 \pm 0,68 \text{ m}^3/100 \text{ kg}$ ξηρού βιοαποβλήτου.

Τέλος, το κέρδος από την ενδεχόμενη πώληση του μεθανίου εκτιμήθηκε ίσο με $5,64 \pm 0,16 \text{ €/100 kg}$ ξηρού βιοαποβλήτου για το ξηρό βιοαπόβλητο και $4,99 \pm 0,15 \text{ €/100 kg}$ ξηρού βιοαποβλήτου για το βιοαπόβλητο που είναι απαλλαγμένο από λιπαρά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Συμπεράσματα

Μετά το πέρας των πειραματικών αναλύσεων προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα. Αρχικά, όσον αφορά την επίδραση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 στην υδρόλυση του βιοαποβλήτου παρατηρήθηκε πως σε μεγαλύτερες ποσότητες ενζύμου επιτυγχάνεται μεγαλύτερη αποδόμηση αμύλου για το βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά και μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ελεύθερης γλυκόζης. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε πως η βέλτιστη δόση αμυλάσης είναι τα 31 μL/g αμύλου που αντιστοιχούν σε **2,71 μL/g προξηραμένου υλικού**. Έπειτα, από τα πειράματα για τον καθορισμό της επίδρασης του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 φάνηκε πως η αποδόμηση της κυτταρίνης όσο και η παραγωγή γλυκόζης αυξάνεται όσο αυξάνεται η χρησιμοποιούμενη ποσότητα του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 με καλύτερη εφαρμογή για το βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από τα λίπη. Έτσι, αποφασίσθηκε πως η βέλτιστη δόση κυτταρινάσης είναι τα 280 μL/g κυτταρίνης που αντιστοιχούν σε **21,7 μL/g προξηραμένου υλικού** καθώς περαιτέρω αύξηση της δόσης επιφέρει ελάχιστη αύξηση της απόδοσης αυτής.

Επιπροσθέτως, από τις πειραματικές αναλύσεις για τη μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης του αμύλου με χρήση του αμυλολυτικού σκευάσματος NS22109 με εφαρμογή της βέλτιστης δόσης παρατηρήθηκε πως η αποδόμηση του αμύλου αυξάνει ραγδαία την 1h και για τα δύο είδη βιοαποβλήτου, ενώ η περαιτέρω αύξηση του χρόνου επεξεργασίας δεν επιφέρει κάποια σημαντική αλλαγή. Για μεγαλύτερους χρόνους υδρόλυσης επιτυγχάνονται μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ελεύθερης γλυκόζης, αλλά δεδομένου ότι επακολουθεί η υδρόλυση της κυτταρίνης θεωρήθηκε πως η δράση του αμυλολυτικού σκευάσματος είναι πιθανό να συνεχιστεί και στο επόμενο στάδιο. Επομένως, καθορίστηκε πως ο βέλτιστος χρόνος για την υδρόλυση του αμύλου με τη χρήση της αμυλάσης είναι ίσος με **1h**. Παράλληλα, η μελέτη της κινητικής της υδρόλυσης της κυτταρίνης με χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 έδειξε πως ο βέλτιστος χρόνος για την υδρόλυση της κυτταρίνης με τη χρήση του κυτταρινολυτικού σκευάσματος NS22177 είναι ίσος με **5h**, όπου η συγκέντρωση της ελεύθερης γλυκόζης έφτασε σε περίπου σταθερές τιμές της τάξεως των 20 g/L και η αποδόμηση της κυτταρίνης 60%.

Ταυτόχρονα, από την εφαρμογή κατάλληλων ισοζυγίων μάζας για επιλεγμένα σενάρια προέκυψε ότι σε κάθε περίπτωση η παραγωγή αιθανόλης είναι υψηλότερη στην

περίπτωση των βιοαποβλήτων απαλλαγμένων από λιπαρά σε αντίθεση με τα προξηραμένα βιοαπόβλητα για την ίδια ποσότητα ενζύμων. Τέλος, η μετατροπή των επιλεγμένων σεναρίων σε οικονομικούς όρους έδειξε πως η κερδοφορία του εκάστοτε σεναρίου εξαρτάται άμεσα από το είδος και τη σύσταση του βιοαποβλήτου, καθώς και από τη χρησιμοποιούμενη ποσότητα ενζύμων. Πιο συγκεκριμένα, τα σενάρια AN4-CN1 (2,13€ κέρδος) και AD4-CD1 (2,12€ κέρδος) παρουσιάζουν τα υψηλότερα και πολύ κοντινά μεταξύ τους κέρδη γεγονός που είναι φυσιολογικό καθώς και στα δύο σενάρια δε χρησιμοποιείται δόση κυτταρινολυτικού σκευάσματος μειώνοντας έτσι και το συνολικό κόστος των ενζύμων. Παράλληλα, όμως, πρέπει να τονιστεί πως τα υπόλοιπα 2 κερδοφόρα σενάρια είναι τα AD4-CD2 (0,67€ κέρδος) και AD5-CD2 (0,04€ κέρδος) τα οποία είχαν ως βάση βιοαπόβλητο απαλλαγμένο από λιπαρά, παρά το γεγονός πως είχαν ως επιπλέον κόστος το κόστος του κυτταρινολυτικού σκευάσματος αλλά και αυτό του απαιτούμενου εξανίου για την απομάκρυνση των λιπών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Βιβλιογραφικές αναφορές

[1] Καλαφάτης Στ. (2012), οδηγός εφαρμογής προγραμμάτων, Διαλογή στην Πηγή & Συστημάτων διαχείρισης των βιοαποβλήτων, ΥΠΕΚΑ.

[2] Εθνικό Σχέδιο Διαχείρισης Αποβλήτων, 2015 <http://www.opengov.gr/minenv/wp-content/uploads/downloads/2015/06/paragogikhsanasygkrothsh.pdf>

[3] Eurostat. (2015). 'Municipal Waste Statistics'. (2015). Ανάκτηση Αύγουστος 2015, από http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Municipal_waste_statistics

[4] Preparatory Study on Food Waste Across EU 27 (2010) Technical Report-2010-054 European Commission.

[5] Waste2bio project. (2015) <http://www.waste2bio.eu/index.php/el/eulife/nomothetiko-plaisio>

[6] Ohara H., Biorefinery, Appl Microbiol Biotechnol (2003), 62:474–477

[7] FitzPatrick M., Champagne P., Cunningham M. F., Whitney R. A., A biorefinery processing perspective: Treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products, Bioresource Technology 101 (2010), 8915–8922

[8] Cherubini F., The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals, Energy Conversion and Management 51 (2010), 1412–1421

[9] Kamm B., Kamm M., Principles of biorefineries, Appl Microbiol Biotechnol (2004), 64: 137–145

[10] Ed de Jong, Jungmeier G., Biorefinery Concepts in Comparison to Petrochemical Refineries (pp 3-30). In Pandey A., Höfer R., Taherzadeh M., Nampoothiri K. M., Larroche C., Industrial Biorefineries & White Biotechnology,,(2015), Elsevier

[11] Beardsley T. M., Organisms from Molecules to the Environment, *BioScience*, November 2006 / Vol. 56 No. 11, p.875

[12] D. Huang, H. Zhou, Lin Lin, Biodiesel: an Alternative to Conventional Fuel, Energy Procedia 16 (2012), pp. 1874-1885

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

[14] Agarwal A. K., Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal

combustion engines ,Progress in Energy and Combustion Science 33 (2007), pp.233–271

[15] Demirbas A., The Importance of Bioethanol and Biodiesel from Biomass, Energy Sources, Part B, (2008), 3:177–185

[16] Demirbas A., 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

[17] Βιοκαύσιμα, 2011 <http://www.agroenergy.gr/categories/βιοκαύσιμα>

[18] Demirbas A., Biofuels securing the planet’s future energy needs, Energy Conversion and Management 50 (2009), pp. 2239–2249

[19] Vasudevan P., Sharma S., Kumar A., Liquid fuel from biomass: An overview, Journal of Scientific & Industrial Research Vol. 64, November 2005, pp. 822-831

[20] Aro E., From first generation biofuels to advanced solar biofuels, Ambio 2016, 45(Suppl. 1):S24-S31

[21] Generations of Biofuels, <http://energyfromwasteandwood.weebly.com/generations-of-biofuels.html>

[22] Generations of Biofuels
<https://agsci.oregonstate.edu/sites/agsci.oregonstate.edu/files/bioenergy/generations-of-biofuels-v1.3.pdf>

[23] What are biofuels, <https://www.conserve-energy-future.com/advantages-and-disadvantages-of-biofuels.php>

[24] Using biomass for energy has positive and negative effects, U.S. Energy Information Administration, 2018,
https://www.eia.gov/energyexplained/index.php?page=biomass_environment

[25] Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council, Official Journal of the European Union, 2009
http://www.cropenergies.com/en/Bioethanol/Markt/Dynamisches_Wachstum/Renewable-Energies-Directive.pdf

[26] Biofuels annual, Global Agricultural Information Network,
https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Biofuels%20Annual_The%20Hag

[ue EU-28 6-19-2017.pdf](#)

[27] OECD/FAO (2016), "Biofuels", in OECD-FAO Agricultural Outlook 2016-2015
<http://www.fao.org/3/a-BO103e.pdf>

[28] 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), pp. 3713-3729

[29] Aditiya H.B., Mahlia T.M.I., Chong W.T., Hadi Nur, Sebayang A.H., Second generation bioethanol production: A critical review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 66 (2016), pp. 631–653

[30] Kim J. H., Lee J. C., Pak D., Feasibility of producing ethanol from food waste, *Waste Management* 31 (2011), pp. 2121–2125

[31] Vohra M., Manwar J., Manmode R., Padgilwar S., Patil S., Bioethanol production: Feedstock and current technologies, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2 (2014), pp. 573-584.

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

[33] Χριστακόπουλος . και Τόπακας Ε.(2015), Βιοτεχνολογία αραγωγής Βιοκαυσίμων, Αθήνα, Ε.Μ.Π.

[34] Balat M., Balat H., Oz C., Progress in bioethanol processing, *Progress in Energy and Combustion Science* 34 (2008), pp. 551-273.

[35] Starch, 2018, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24836924#section=Top>

[36] D-Glucose, 2018, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/D-glucose#section=Top>

[37] Bohlmann G. M., Process economic considerations for production of ethanol from biomass feedstocks, *Industrial Biotechnology* Vol.2, No.1 (2016)

[38] Rubin E. M., Genomics of cellulosic biofuels, *Nature*, volume 454, (2008), pp. 841–845

[39] Ethanol fuel, <http://journeytoforever.org/ethanol.html#benefit>

[40] Advantages & Disadvantages of Bioethanol, 2011, <http://bioethanol->

np.blogspot.com/p/advantages-of-bioethanol.html

[41] Bioethanol: Production, advantages, disadvantages and environmental impacts, 2011, [https://www.biotecharticles.com/Environmental-Biotechnology-Article/Bioethanol-](https://www.biotecharticles.com/Environmental-Biotechnology-Article/Bioethanol-Production-Advantages-Disadvantages-And-Environmental-Impacts-3816.html)

[Production-Advantages-Disadvantages-And-Environmental-Impacts-3816.html](https://www.biotecharticles.com/Environmental-Biotechnology-Article/Bioethanol-Production-Advantages-Disadvantages-And-Environmental-Impacts-3816.html)

[42] 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), pp. 506-577.

[43] 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), pp. 68-75.

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

[45] Xu Z., Huang F., Pretreatment methods for bioethanol production, *Appl Biochem Biotechnol* 2014, pp. 43-62.

[46] Zahoor, Tu Y., Pretreatments to enhance the digestibility of wheat straw, *International Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 2014, 3, pp. 26-34

[47] Zheng Y., Lin H., Pretreatment for Cellulose Hydrolysis by Carbon Dioxide Explosion, *Biotechnol. Prog.* 1998, 14, pp. 890-896.

[48] Run Cang Sun, Jeremy Tomkinson, Characterization of hemicelluloses obtained by classical and ultrasonically assisted extractions from wheat straw, *Carbohydrate Polymers*, Volume 50, Issue 3, 15 November 2002 , pp. 263-271.

[49] Fangrui Ma, Milford A. Hanna, Biodiesel production: A review, *Bioresource technology* 70, (1999), pp. 1-15.

[50] Wyman C.E., Biomass Ethanol: Technical Progress, Opportunities, and Commercial Challenges, *Annual Review of Energy and the Environment*, Vol.24, pp. 189-226.

[51] Conde-Mejia C., Jimenez-Gutierrez A., El-Halwagi M., A comparison of pretreatment methods for bioethanol production from lignocellulosic materials, *Process Safety and Environmental Protection*, Vol.90, Issue 3, May 2012 , pp. 189-202

[52] Mohammad J. Taherzadeh, Keikhosro Karimi, Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review, *Bioresources*, Vol 2, 2007, pp. 472-499.

- [53] Verardi A., Isabella De Bari, Ricca E., Calabrò V., Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass: Current Status of Processes and Technologies and Future Perspectives, InTech, 2012
- [54] Xiros C., Topakas E., Christakopoulos P., Hydrolysis and fermentation^[11] for cellulosic ethanol production, *WIREs Energy Environ*, 2012
- [55] Waldron K., Bioalcohol Production Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass, 2010
- [56] Limayem A., Ricke^[11] S. C., Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects, *Progress in Energy and Combustion Science* 38, 2012, pp. 449-467.
- [57] Dien B. S., Cotta M. A., Jeffries T. W., Bacteria engineered for fuel ethanol production: current status *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 63: pp. 258 -266.
- [58] Zaldivar J., Nielsen J., Olsson L. Fuel ethanol production from lignocellulose: ^[11] a challenge for metabolic engineering and process integration, *Adv Biochem Bioeng.*, 2001, 56, pp. 17-34.
- [59] Cardona Carlos A., Oscar J. Sanchez, Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities, *Bioresource technology* 98, 2007, pp. 2415-2457.
- [60] 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, pp. 353-359.
- [61] Βέκκος (2016) Recycling Solutions-Gaia Food Waste Dryers
<http://www.ecovrs.com/products/volume-reduction/food-waste-volume-reductio/gaia-food-waste-dryers/>
- [62] http://gaia21.co.kr/en/data/file/sub0301/30711963_HatfQmcy_GC-100.jpg
- [63] 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, pp. 556-563.
- [64] 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, pp. 874-84.

[65] Hayes D.J, An examination of biorefining processes, catalysts and challenges, *Catalysis Today*, 145(1-2), 2009, pp. 138-151.

[66] EPA,,(2004)Method9045D-SoilandwastepH.

<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/9045d.pdf>

[67] Pomeranz & Meloan (1994 (a)). *Food analysis: theory and practice* (3rd ed.). New York: Chapman & Hall.

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

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

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

[71] 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

[72] 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, pp. 353-361.

[73] 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.

[74] 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, pp. 1259-1265.

[75] Roque T.V., Correia M.J.N., Carvalho R., Analysis of the Hexane Loss in a Vegetable Oil Extraction Unit.

[76] Ιδιότητες του βιοαερίου, <http://www.agroenergy.gr/content/ιδιότητες-του-βιοαερίου>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

AN2-CN2

Vreactor

0,6 L

	€	€
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00
Νερό	400,00	400,00
TS	91,60	91,60
Γλυκόζη	1,28	1,28
Κυτταρίνη	10,40	10,40
Άμυλο	5,59	5,59
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91
Αθάνολη		

Προεπεξεργασία

HRT 1 h

NS22109

0,87 μl αμιλάση/ε ξ.βιοαποβλήτου
14,26 μl αμιλάση/ε αμόλου
79,69 μl αμιλάση

	€
Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00
Απομακρύνσεις %	
TS	40,23
Κυτταρίνη	5,73
Άμυλο	78,20
Παραγωγή γλυκόζης	8,166 g/L
Παραγωγή γλυκόζης	0,07 g/ε βιοαποβλήτου

HRT 5 h

NS22177

8,73 μl κυτταρινάση/ε ξ.βιοαποβλήτου
76,92 μl κυτταρινάση/ε κυτταρίνης
799,668 μl κυτταρινάση

	€
Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00
Απομακρύνσεις %	
TS	13,48
Κυτταρίνη	17,81
Άμυλο	62,68
Παραγωγή γλυκόζης	0,00 g/L
Παραγωγή γλυκόζης	0,00 g/ε βιοαποβλήτου

HRT 18 h

Μαγιά

1 %

0,916 g μαγιά

	€	ml
Ζύμωση (18h, 30oC)	396,83	
Απομακρύνσεις %		
TS	6	
Κυτταρίνη	5	
Άμυλο	3	3,17
Γλυκόζη	95	4,02

AN2-CN3

Vreactor

0,6 L

	€	€
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00
Νερό	400,00	400,00
TS	91,60	91,60
Γλυκόζη	1,28	1,28
Κυτταρίνη	10,40	10,40
Άμυλο	5,59	5,59
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91
Αθάνολη		

Προεπεξεργασία

HRT 1 h

NS22109

0,87 μl αμιλάση/ε ξ.βιοαποβλήτου
14,26 μl αμιλάση/ε αμόλου
79,69 μl αμιλάση

	€
Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00
Απομακρύνσεις %	
TS	40,23
Κυτταρίνη	5,73
Άμυλο	78,20
Παραγωγή γλυκόζης	8,166 g/L
Παραγωγή γλυκόζης	0,07 g/ε βιοαποβλήτου

HRT 5 h

NS22177

13,1 μl κυτταρινάση/ε ξ.βιοαποβλήτου
115,42 μl κυτταρινάση/ε κυτταρίνης
1199,96 μl κυτταρινάση

	€
Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00
Απομακρύνσεις %	
TS	17,42
Κυτταρίνη	19,90
Άμυλο	71,67
Παραγωγή γλυκόζης	6,20 g/L
Παραγωγή γλυκόζης	0,05 g/ε βιοαποβλήτου

HRT 18 h

Μαγιά

1 %

0,916 g μαγιά

	€	ml
Ζύμωση (18h, 30oC)	394,42	
Απομακρύνσεις %		
TS	6	
Κυτταρίνη	5	
Άμυλο	3	5,58
Γλυκόζη	95	7,07

Σχήμα 59: Σενάρια AN2-CN2 και AN2-CN3

AN2-CN4

Vreactor	0,6 l	HRT 1 h NS22109 0,87 μl αμυλάση/ε ξβιοαποβλήτου 14,26 μl αμυλάση/ε αμύλου 79,69 μl αμυλάση		HRT 5 h NS22177 17,47 μl κυτταρίναση/ε ξβιοαποβλήτου 153,92 μl κυτταρίναση/ε κυτταρίνης 1600,252 μl κυτταρίναση		HRT 18 h Μαγιά 1 % 0,916 g μαγιά	
		€	€	€	€	g	ml
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	100,00	400,00	400,00	393,13	
Νερό	400,00	400,00	400,00	46,95	46,95	44,14	
TS	91,60	91,60	91,60	14,16	14,16	0,71	
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	8,00	8,00	7,60	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	0,33	0,33	0,32	
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	18,34	18,34	5	
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	72,68	72,68	3	6,87
Αιθανόλη				9,53 g/l	9,53 g/l	95	8,71
				0,08 g/ε βιοαποβλήτου	0,08 g/ε βιοαποβλήτου		

AN2-CN5

Vreactor	0,6 l	HRT 1 h NS22109 0,87 μl αμυλάση/ε ξβιοαποβλήτου 14,26 μl αμυλάση/ε αμύλου 79,69 μl αμυλάση		HRT 5 h NS22177 21,72 μl κυτταρίναση/ε ξβιοαποβλήτου 191,37 μl κυτταρίναση/ε κυτταρίνης 1989,552 μl κυτταρίναση		HRT 18 h Μαγιά 1 % 0,916 g μαγιά	
		€	€	€	€	g	ml
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	100,00	400,00	400,00	393,43	
Νερό	400,00	400,00	400,00	48,44	48,44	45,54	
TS	91,60	91,60	91,60	13,54	13,54	0,68	
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	6,33	6,33	6,02	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	0,69	0,69	0,67	
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	35,39	35,39	5	
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	43,18	43,18	3	6,57
Αιθανόλη				8,76 g/l	8,76 g/l	95	8,33
				0,07 g/ε βιοαποβλήτου	0,07 g/ε βιοαποβλήτου		

Σχήμα 60: Σενάρια AN2-CN4 και AN2-CN5

AN2-CN6

Vreactor		0,6 L		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h		
				NS22109		NS22177		Μαγιά			
				0,87 μL αμυλάση/εξ βιοαποβλήτου		43,48 μL κυτταρινάση/εξ βιοαποβλήτου		1 %			
				14,26 μL αμυλάση/εξ αμύλου		383,08 μL κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης		0,916 g μαγιά			
				79,69 μL αμυλάση		3982,768 μL κυτταρινάση					
	€		€		€		€		€		mL
Βιοαπόβλητο	100,00	Προεπεξεργασία	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)	400,00	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	Ζύμωση (18h, 30oC)	392,97		
Νερό	400,00		400,00		54,75		44,26		41,61		
TS	91,60		91,60		6,53		14,47		0,72		
Γλυκόζη	1,28		1,28		9,80		7,41		7,04		
Κυτταρίνη	10,40		10,40		40,23		19,15		0,67		
Άμυλο	5,59		5,59		5,73		24,40		5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	78,20	43,33	7,03	8,90					
Αιθανόλη			Παραγωγή γλυκόζης	8,166 g/L	9,92 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95				
			Παραγωγή γλυκόζης	0,07 g/εξ βιοαποβλήτου	0,08 g/εξ βιοαποβλήτου						

AN2-CN7

Vreactor		0,6 L		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h		
				NS22109		NS22177		Μαγιά			
				0,87 μL αμυλάση/εξ βιοαποβλήτου		65,2 μL κυτταρινάση/εξ βιοαποβλήτου		1 %			
				14,26 μL αμυλάση/εξ αμύλου		574,45 μL κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης		0,916 g μαγιά			
				79,69 μL αμυλάση		5972,32 μL κυτταρινάση					
	€		€		€		€		€		mL
Βιοαπόβλητο	100,00	Προεπεξεργασία	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)	400,00	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	Ζύμωση (18h, 30oC)	392,56		
Νερό	400,00		400,00		54,75		44,38		41,72		
TS	91,60		91,60		6,53		15,33		0,77		
Γλυκόζη	1,28		1,28		9,80		5,27		5,01		
Κυτταρίνη	10,40		10,40		40,23		18,94		0,69		
Άμυλο	5,59		5,59		5,73		46,19		5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	78,20	41,99	7,44	9,44					
Αιθανόλη			Παραγωγή γλυκόζης	8,166 g/L	11,00 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95				
			Παραγωγή γλυκόζης	0,07 g/εξ βιοαποβλήτου	0,09 g/εξ βιοαποβλήτου						

Σχήμα 61: Σενάρια AN2-CN6 και AN2-CN7

AN2-CN8

Vreactor	0,6 L		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h		
			NS22109		NS22177		Μαγιά			
			0,87 μL αμυλάση/γξ βιοαποβλήτου 14,26 μL αμυλάση/γξ αμόλου 79,69 μL αμυλάση		87,1 μL κυτταρίναση/γξ βιοαποβλήτου 767,40 μL κυτταρίναση/γξ κυτταρίνης 7978,36 μL κυτταρίναση		1 %		0,916 g μαγιά	
	€	€		€		€		€	€	mL
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	Προεπεξεργασία	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	Ζύμωση (18h, 30oC)				
Νερό	400,00	400,00					400,00	400,00	391,86	
TS	91,60	91,60					54,75	43,96	41,33	
Γλυκόζη	1,28	1,28					6,53	16,76	0,84	
Κυτταρίνη	10,40	10,40					9,80	4,79	4,55	
Άμυλο	5,59	5,59					1,22	0,63	0,61	
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91								
Αιθανόλη										
							Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %	
			TS 40,23	TS 19,70	TS 6					
			Κυτταρίνη 5,73	Κυτταρίνη 51,11	Κυτταρίνη 5					
			Άμυλο 78,20	Άμυλο 48,43	Άμυλο 3					
			Παραγωγή γλυκόζης 8,166 g/L	Παραγωγή γλυκόζης 12,79 g/L	Γλυκόζη 95					
			Παραγωγή γλυκόζης 0,07 g/g βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης 0,10 g/g βιοαποβλήτου						

AN3-CN2

Vreactor	0,6 L		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h		
			NS22109		NS22177		Μαγιά			
			1,75 μL αμυλάση/γξ βιοαποβλήτου 28,69 μL αμυλάση/γξ αμόλου 160,30 μL αμυλάση		8,73 μL κυτταρίναση/γξ βιοαποβλήτου 76,92 μL κυτταρίναση/γξ κυτταρίνης 799,668 μL κυτταρίναση		1 %		0,916 g μαγιά	
	€	€		€		€		€	€	mL
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	Προεπεξεργασία	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	Ζύμωση (18h, 30oC)				
Νερό	400,00	400,00					400,00	400,00	396,65	
TS	91,60	91,60					52,85	45,73	42,98	
Γλυκόζη	1,28	1,28					6,91	6,91	0,35	
Κυτταρίνη	10,40	10,40					9,54	7,84	7,45	
Άμυλο	5,59	5,59					1,05	0,39	0,38	
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91								
Αιθανόλη										
							Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %	
			TS 42,30	TS 13,48	TS 6					
			Κυτταρίνη 8,20	Κυτταρίνη 17,81	Κυτταρίνη 5					
			Άμυλο 81,18	Άμυλο 62,68	Άμυλο 3					
			Παραγωγή γλυκόζης 8,633 g/L	Παραγωγή γλυκόζης 0,00 g/L	Γλυκόζη 95					
			Παραγωγή γλυκόζης 0,07 g/g βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης 0,00 g/g βιοαποβλήτου						

Σχήμα 62: Σενάρια AN2-CN8 και AN3-CN2

AN3-CN3

Vreactor 0,6 L

	€	€
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00
Νερό	400,00	400,00
TS	91,60	91,60
Γλυκόζη	1,28	1,28
Κυτταρίνη	10,40	10,40
Άμυλο	5,59	5,59
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91
Αιθανόλη		

Προεπεξεργασία

HRT 1 h
NS22109
 1,75 μλ αμυλάση/ε ξ.βιοσποβλήτου
 28,69 μλ αμυλάση/ε αμόλου
 160,30 μλ αμυλάση

	€	€
Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00	52,85
Απομακρύνσεις %		9,54
TS	42,30	1,05
Κυτταρίνη	8,20	
Άμυλο	81,18	
Παραγωγή γλυκόζης	8,633 g/L	
Παραγωγή γλυκόζης	0,07 g/ε βιοσποβλήτου	

HRT 5 h
NS22177
 13,1 μλ κυτταρινάση/ε ξ.βιοσποβλήτου
 115,42 μλ κυτταρινάση/ε κυτταρίνης
 1199,96 μλ κυτταρινάση

	€	€
Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	43,65
Απομακρύνσεις %		7,64
TS	17,42	0,30
Κυτταρίνη	19,90	
Άμυλο	71,67	
Παραγωγή γλυκόζης	6,20 g/L	
Παραγωγή γλυκόζης	0,05 g/ε βιοσποβλήτου	

HRT 18 h
Μαγιά 1 %
 0,916 g μαγιά

	€	ml
Ζύμωση (18h, 30oC)	394,24	
Απομακρύνσεις %		7,26
TS	6	0,29
Κυτταρίνη	5	
Άμυλο	3	5,76
Γλυκόζη	95	7,30

AN3-CN4

Vreactor 0,6 L

	€	€
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00
Νερό	400,00	400,00
TS	91,60	91,60
Γλυκόζη	1,28	1,28
Κυτταρίνη	10,40	10,40
Άμυλο	5,59	5,59
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91
Αιθανόλη		

Προεπεξεργασία

HRT 1 h
NS22109
 1,75 μλ αμυλάση/ε ξ.βιοσποβλήτου
 28,69 μλ αμυλάση/ε αμόλου
 160,30 μλ αμυλάση

	€	€
Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00	52,85
Απομακρύνσεις %		9,54
TS	42,30	1,05
Κυτταρίνη	8,20	
Άμυλο	81,18	
Παραγωγή γλυκόζης	8,633 g/L	
Παραγωγή γλυκόζης	0,07 g/ε βιοσποβλήτου	

HRT 5 h
NS22177
 17,47 μλ κυτταρινάση/ε ξ.βιοσποβλήτου
 153,92 μλ κυτταρινάση/ε κυτταρίνης
 1600,252 μλ κυτταρινάση

	€	€
Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	45,33
Απομακρύνσεις %		7,79
TS	14,24	0,29
Κυτταρίνη	18,34	
Άμυλο	72,68	
Παραγωγή γλυκόζης	9,53 g/L	
Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/ε βιοσποβλήτου	

HRT 18 h
Μαγιά 1 %
 0,916 g μαγιά

	€	ml
Ζύμωση (18h, 30oC)	392,94	
Απομακρύνσεις %		7,40
TS	6	0,28
Κυτταρίνη	5	
Άμυλο	3	7,06
Γλυκόζη	95	8,94

Σχήμα 63: Σενάρια AN3-CN3 και AN3-CN4

AN3-CN5

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h	
		NS22109		NS22177		Μαγιά	
		1,75 μL αμυλάση/εξ βιοσποβλήτου 28,69 μL αμυλάση/εξ αμόλου 160,30 μL αμυλάση		21,72 μL κυτταρινάση/εξ βιοσποβλήτου 191,37 μL κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης 1989,552 μL κυτταρινάση		1 % 0,916 g μαγιά	
		Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)	
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	393,24	
Νερό	400,00	400,00	52,85	46,76	43,96		
TS	91,60	91,60	6,91	13,91	0,70		
Γλυκόζη	1,28	1,28	9,54	6,17	5,86		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	42,30	35,39	0,58		
Άμυλο	5,59	5,59	8,20	43,18	6,76		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	81,18	8,76	8,56		
Αιθανόλη			0,07 g/εξ βιοσποβλήτου	0,07 g/εξ βιοσποβλήτου			
			Παραγωγή γλυκόζης	Παραγωγή γλυκόζης			
			8,633 g/L	8,76 g/L			
			Παραγωγή γλυκόζης	Παραγωγή γλυκόζης			
			0,07 g/εξ βιοσποβλήτου	0,07 g/εξ βιοσποβλήτου			

AN3-CN6

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h	
		NS22109		NS22177		Μαγιά	
		1,75 μL αμυλάση/εξ βιοσποβλήτου 28,69 μL αμυλάση/εξ αμόλου 160,30 μL αμυλάση		43,48 μL κυτταρινάση/εξ βιοσποβλήτου 383,08 μL κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης 3982,768 μL κυτταρινάση		1 % 0,916 g μαγιά	
		Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)	
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	392,79		
Νερό	400,00	400,00	52,85	42,73	40,17		
TS	91,60	91,60	6,91	14,84	0,74		
Γλυκόζη	1,28	1,28	9,54	7,22	6,85		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	42,30	19,15	0,58		
Άμυλο	5,59	5,59	8,20	24,40	7,21		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	81,18	43,33	9,13		
Αιθανόλη			0,07 g/εξ βιοσποβλήτου	0,08 g/εξ βιοσποβλήτου			
			Παραγωγή γλυκόζης	Παραγωγή γλυκόζης			
			8,633 g/L	9,92 g/L			
			Παραγωγή γλυκόζης	Παραγωγή γλυκόζης			
			0,07 g/εξ βιοσποβλήτου	0,08 g/εξ βιοσποβλήτου			

Σχήμα 64: Σενάρια AN3-CN5 και AN3-CN6

AN3-CN7

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL
		NS22109	NS22177	Μαγιά 1 %					
		1,75 μl αμυλάση/εξ βιοαποβλήτου 28,69 μl αμυλάση/εξ αμύλου 160,30 μl αμυλάση		65,2 μl κυτταρινάση/εξ βιοαποβλήτου 574,45 μl κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης 5972,32 μl κυτταρινάση		0,916 g μαγιά			
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	392,37			
Νερό	400,00	400,00	400,00	400,00	400,00	40,27			
TS	91,60	91,60	52,85	42,84	15,71	0,79			
Γλυκόζη	1,28	1,28	6,91	15,71	5,14	4,88			
Κυτταρίνη	10,40	10,40	9,54	5,14	5,14	0,59			
Άμυλο	5,59	5,59	1,05	0,61	0,61	7,63			
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91							
Αιθανόλη									
			Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	Ζύμωση (18h, 30oC)				
			Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %				
			TS 42,30	TS 18,94	TS 6				
			Κυτταρίνη 8,20	Κυτταρίνη 46,19	Κυτταρίνη 5				
			Άμυλο 81,18	Άμυλο 41,99	Άμυλο 3				
			Παραγωγή γλυκόζης 8,633 g/L	Παραγωγή γλυκόζης 11,00 g/L	Γλυκόζη 95				
			Παραγωγή γλυκόζης 0,07 g/εξ βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης 0,09 g/εξ βιοαποβλήτου					

AN3-CN8

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL
		NS22109	NS22177	Μαγιά 1 %					
		1,75 μl αμυλάση/εξ βιοαποβλήτου 28,69 μl αμυλάση/εξ αμύλου 160,30 μl αμυλάση		87,1 μl κυτταρινάση/εξ βιοαποβλήτου 767,40 μl κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης 7978,36 μl κυτταρινάση		0,916 g μαγιά			
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	391,68			
Νερό	400,00	400,00	400,00	400,00	400,00	39,89			
TS	91,60	91,60	52,85	42,44	17,14	0,86			
Γλυκόζη	1,28	1,28	6,91	17,14	4,67	4,43			
Κυτταρίνη	10,40	10,40	9,54	4,67	4,67	0,53			
Άμυλο	5,59	5,59	1,05	0,54	0,54	8,32			
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91							
Αιθανόλη									
			Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	Ζύμωση (18h, 30oC)				
			Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %	Απομακρύνσεις %				
			TS 42,30	TS 19,70	TS 6				
			Κυτταρίνη 8,20	Κυτταρίνη 51,11	Κυτταρίνη 5				
			Άμυλο 81,18	Άμυλο 48,43	Άμυλο 3				
			Παραγωγή γλυκόζης 8,633 g/L	Παραγωγή γλυκόζης 12,79 g/L	Γλυκόζη 95				
			Παραγωγή γλυκόζης 0,07 g/εξ βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης 0,10 g/εξ βιοαποβλήτου					

Σχήμα 65: Σενάρια AN3-CN7 και AN3-CN8

AN4-CN1

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL				
		NS22109		NS22177		Μαγιά							
		2,71 μL αμυλάση/g ξ.βιοσποβλήτου 44,43 μL αμυλάση/g αμόλου 248,24 μL αμυλάση		0,00 μL κυτταρίνη/g ξ.βιοσποβλήτου 0,00 μL κυτταρίνη/g κυτταρίνης 0 μL κυτταρίναση		1 % 0,916 g μαγιά							
		€	€	€	€	€	€						
Βιοσπόβλητο	100,00	Προεπεξεργασία	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	Ζύμωση (18h, 30oC)	395,89				
Νερό	400,00		400,00		52,75		52,75		49,59				
TS	91,60		91,60		8,46		8,46		0,42				
Γλυκόζη	1,28		1,28		Απομακρύνσεις %		9,87		Απομακρύνσεις %	9,37			
Κυτταρίνη	10,40		10,40		TS		42,41		1,08	TS	6	1,05	
Άμυλο	5,59		5,59		Κυτταρίνη		5,09		Κυτταρίνη	5	Κυτταρίνη	5	4,11
Ημικυτταρίνη	10,91		10,91		Άμυλο		80,7		Άμυλο	80,7	Άμυλο	3	5,21
Αιθανόλη					Παραγωγή γλυκόζης		10,57 g/L		Παραγωγή γλυκόζης	10,574 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95	
			Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/g βιοσποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/g βιοσποβλήτου							

AN4-CN2

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL						
		NS22109		NS22177		Μαγιά									
		2,71 μL αμυλάση/g ξ.βιοσποβλήτου 44,43 μL αμυλάση/g αμόλου 248,24 μL αμυλάση		8,73 μL κυτταρίνη/g ξ.βιοσποβλήτου 76,92 μL κυτταρίνη/g κυτταρίνης 799,668 μL κυτταρίναση		1 % 0,916 g μαγιά									
		€	€	€	€	€	€								
Βιοσπόβλητο	100,00	Προεπεξεργασία	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	Ζύμωση (18h, 30oC)	395,90						
Νερό	400,00		400,00		52,75		45,64		42,91						
TS	91,60		91,60		8,46		8,45		0,42						
Γλυκόζη	1,28		1,28		Απομακρύνσεις %		9,87		Απομακρύνσεις %	6,93	Απομακρύνσεις %	6,58			
Κυτταρίνη	10,40		10,40		TS		42,41		1,08	TS	50,17	0,40	6	0,39	
Άμυλο	5,59		5,59		Κυτταρίνη		5,09		Κυτταρίνη	33,36	Κυτταρίνη	5	Κυτταρίνη	5	4,10
Ημικυτταρίνη	10,91		10,91		Άμυλο		80,7		Άμυλο	92,79	Άμυλο	3	Άμυλο	3	5,20
Αιθανόλη					Παραγωγή γλυκόζης		10,57 g/L		Παραγωγή γλυκόζης	10,56 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95			
			Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/g βιοσποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/g βιοσποβλήτου									

Σχήμα 66: Σενάρια AN4-CN1 και AN4-CN2

AN4-CN3

Vreactor		0,6 L		HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h	
				NS22109		NS22177		Μαγιά	
				2,71 μL αμύλαση/g ξ.βιοσποβλήτου		13,10 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοσποβλήτου		1 %	
				44,43 μL αμύλαση/g αμύλου		115,42 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης		0,916 g μαγιά	
				248,24 μL αμύλαση		1199,96 μL κυτταρινάση			
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	400,00	393,49	
Νερό	400,00	400,00	400,00	52,75	52,75	43,61	43,61	40,99	
TS	91,60	91,60	91,60	8,46	8,46	13,42	13,42	0,67	
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	9,87	9,87	6,75	6,75	6,42	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	42,41	42,41	52,39	52,39	6	
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	5,09	5,09	35,03	35,03	5	
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	80,7	80,7	94,55	94,55	3	6,51
Αιθανόλη				10,57	10,57 g/L	16,77	16,77 g/L	95	8,26
				0,08	0,08 g/g βιοσποβλήτου	0,13	0,13 g/g βιοσποβλήτου		

AN4-CN4

Vreactor		0,6 L		HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h	
				NS22109		NS22177		Μαγιά	
				2,71 μL αμύλαση/g ξ.βιοσποβλήτου		17,47 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοσποβλήτου		1 %	
				44,43 μL αμύλαση/g αμύλου		153,92 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης		0,916 g μαγιά	
				248,24 μL αμύλαση		1600,252 μL κυτταρινάση			
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	400,00	392,19	
Νερό	400,00	400,00	400,00	52,75	52,75	45,26	45,26	42,54	
TS	91,60	91,60	91,60	8,46	8,46	16,08	16,08	0,80	
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	9,87	9,87	6,88	6,88	6,54	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	42,41	42,41	50,59	50,59	6	
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	5,09	5,09	33,8	33,8	5	
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	80,7	80,7	94,7	94,7	3	7,81
Αιθανόλη				10,57	10,57 g/L	20,1	20,1 g/L	95	9,90
				0,08	0,08 g/g βιοσποβλήτου	0,16	0,16 g/g βιοσποβλήτου		

Σχήμα 67: Σενάρια AN4-CN3 και AN4-CN4

AN4-CN5

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL
		NS22109	NS22177	Μαγιά					
		2,71 μL αμύλαση/g ξ.βιοσποβλήτου	21,70 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοσποβλήτου	1%					
		44,43 μL αμύλαση/g αμύλου	191,19 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης			0,916 g μαγιά			
		248,24 μL αμύλαση	1987,72 μL κυτταρινάση						
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	392,49			
Νερό	400,00	400,00	52,75	46,45	43,66				
TS	91,60	91,60	8,46	15,46	0,77				
Γλυκόζη	1,28	1,28	Απομακρύνσεις %	6,90	6,56				
Κυτταρίνη	10,40	10,40	TS	49,29	0,45				
Άμυλο	5,59	5,59	Κυτταρίνη	33,59					
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	Άμυλο	91,76					
Αιθανόλη			Παραγωγή						
			γλυκόζης	10,57 g/L	19,33 g/L				
			Παραγωγή		0,15 g/g βιοσποβλήτου				
			γλυκόζης	0,08 g/g βιοσποβλήτου					

AN4-CN6

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL
		NS22109	NS22177	Μαγιά					
		2,71 μL αμύλαση/g ξ.βιοσποβλήτου	43,48 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοσποβλήτου	1%					
		44,43 μL αμύλαση/g αμύλου	383,08 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης			0,916 g μαγιά			
		248,24 μL αμύλαση	3982,768 μL κυτταρινάση						
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	392,04				
Νερό	400,00	400,00	52,75	42,69	40,12				
TS	91,60	91,60	8,46	16,40	0,82				
Γλυκόζη	1,28	1,28	Απομακρύνσεις %	5,61	5,33				
Κυτταρίνη	10,40	10,40	TS	53,4	0,60				
Άμυλο	5,59	5,59	Κυτταρίνη	46,03					
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	Άμυλο	89,02					
Αιθανόλη			Παραγωγή						
			γλυκόζης	10,57 g/L	20,497 g/L				
			Παραγωγή		0,16 g/g βιοσποβλήτου				
			γλυκόζης	0,08 g/g βιοσποβλήτου					

Σχήμα 68: Σενάρια AN4-CN5 και AN4-CN6

AN4-CN7

Vreactor		0,6 L		HRT 1 h NS22109 2,71 μL αμυλάση/εξ. βιοαποβλήτου 44,43 μL αμυλάση/εξ. αμόλου 248,24 μL αμυλάση		HRT 5 h NS22177 65,20 μL κυτταρινάση/εξ. βιοαποβλήτου 574,45 μL κυτταρινάση/εξ. κυτταρίνης 5972,32 μL κυτταρινάση		HRT 18 h Μαγιά 1 % 0,916 g μαγιά			
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	400,00	400,00	391,62		
Νερό	400,00	400,00	400,00	52,75	52,75	42,67	42,67	40,11	40,11		
TS	91,60	91,60	91,60	8,46	8,46	17,26	17,26	0,86	0,86		
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	9,87	9,87	5,77	5,77	5,48	5,48		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	42,41	42,41	53,42	53,42	6	6		
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	5,09	5,09	44,54	44,54	5	5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	80,7	80,7	91,57	91,57	3	3	8,38	10,62
Αιθανόλη				Παραγωγή γλυκόζης	10,57 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	21,57 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95		
				Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/εξ. βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης	0,17 g/εξ. βιοαποβλήτου				

AN4-CN8

Vreactor		0,6 L		HRT 1 h NS22109 2,71 μL αμυλάση/εξ. βιοαποβλήτου 44,43 μL αμυλάση/εξ. αμόλου 248,24 μL αμυλάση		HRT 5 h NS22177 87,10 μL κυτταρινάση/εξ. βιοαποβλήτου 767,40 μL κυτταρινάση/εξ. κυτταρίνης 7978,36 μL κυτταρινάση		HRT 18 h Μαγιά 1 % 0,916 g μαγιά			
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	400,00	400,00	390,93		
Νερό	400,00	400,00	400,00	52,75	52,75	42,23	42,23	39,69	39,69		
TS	91,60	91,60	91,60	8,46	8,46	18,69	18,69	0,93	0,93		
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	9,87	9,87	5,23	5,23	4,97	4,97		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	42,41	42,41	53,9	53,9	6	6		
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	5,09	5,09	49,68	49,68	5	5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	80,7	80,7	92,51	92,51	3	3	9,07	11,50
Αιθανόλη				Παραγωγή γλυκόζης	10,57 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	23,36 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95		
				Παραγωγή γλυκόζης	0,08 g/εξ. βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης	0,19 g/εξ. βιοαποβλήτου				

Σχήμα 69: Σενάρια AN4-CN7 και AN4-CN8

AN5-CN2

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h NS22109		HRT 5 h NS22177		HRT 18 h Μαγιά 1 %	
		3,49 μl αμύλαση/ε ξ.βιοσποβλήτου 57,21 μl αμύλαση/ε αμόλου 319,68 μl αμύλαση		8,73 μl κυτταρίναση/ε ξ.βιοσποβλήτου 76,92 μl κυτταρίναση/ε κυτταρίνης 799,668 μl κυτταρίναση		0,916 g μαγιά	
	€	€	€	€	€	€	ml
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	400,00	400,00	400,00	395,23	
Νερό	400,00	400,00	52,48	45,40	42,68		
TS	91,60	91,60	9,83	9,83	0,49		
Γλυκόζη	1,28	1,28	Απομακρύνσεις %	7,86	7,46		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	TS	13,48	0,38		
Άμυλο	5,59	5,59	Κυτταρίνη	17,81	5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	Άμυλο	62,68	4,77	6,05	
Αιθανόλη			Παραγωγή γλυκόζης	0,00 g/L	95		
			Παραγωγή γλυκόζης	0,10 g/ε βιοσποβλήτου			

AN5-CN3

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h NS22109		HRT 5 h NS22177		HRT 18 h Μαγιά 1 %	
		3,49 μl αμύλαση/ε ξ.βιοσποβλήτου 57,21 μl αμύλαση/ε αμόλου 319,68 μl αμύλαση		13,1 μl κυτταρίναση/ε ξ.βιοσποβλήτου 115,42 μl κυτταρίναση/ε κυτταρίνης 149,995 μl κυτταρίναση		0,916 g μαγιά	
	€	€	€	€	€	€	ml
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00	400,00	50,00	49,28		
Νερό	400,00	400,00	52,48	5,46	5,13		
TS	91,60	91,60	9,83	1,48	0,07		
Γλυκόζη	1,28	1,28	Απομακρύνσεις %	0,96	0,91		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	TS	17,42	0,04		
Άμυλο	5,59	5,59	Κυτταρίνη	19,90	5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	Άμυλο	71,67	0,72	0,91	
Αιθανόλη			Παραγωγή γλυκόζης	6,20 g/L	95		
			Παραγωγή γλυκόζης	0,05 g/ε βιοσποβλήτου			

Σχήμα 70: Σενάρια AN5-CN2 και AN5-CN3

AN5-CN4

Vreactor		0,6 L		HRT 1 h NS22109 3,49 μL αμύλαση/β βιοαποβλήτου 57,21 μL αμύλαση/β αμόλου 319,68 μL αμύλαση		HRT 5 h NS22177 17,47 μL κυτταρινάση/β βιοαποβλήτου 153,92 μL κυτταρινάση/β κυτταρίνης 1600,252 μL κυτταρινάση		HRT 18 h Μαγιά 1 % 0,916 g μαγιά			
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	Ζύμωση (18h, 30oC)	391,53		
Νερό	400,00	400,00	400,00	Απομακρύνσεις %	52,48	45,00	45,00	42,30	42,30		
TS	91,60	91,60	91,60	TS	9,83	17,45	17,45	0,87	0,87		
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	Κυτταρίνη	9,56	7,81	7,81	7,42	7,42		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	Κυτταρίνη	42,71	14,24	0,29	0,28	0,28		
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	Άμυλο	8,06	18,34	0,29	5	5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	Άμυλο	81,24	72,68	72,68	8,47	8,47	10,74	
Αιθανόλη				Παραγωγή γλυκόζης	12,282 g/l	9,53 g/l	9,53 g/l	95	95		
				Παραγωγή γλυκόζης	0,10 g/β βιοαποβλήτου	0,08 g/β βιοαποβλήτου	0,08 g/β βιοαποβλήτου				

AN5-CN5

Vreactor		0,6 L		HRT 1 h NS22109 3,49 μL αμύλαση/β βιοαποβλήτου 57,21 μL αμύλαση/β αμόλου 319,68 μL αμύλαση		HRT 5 h NS22177 21,72 μL κυτταρινάση/β βιοαποβλήτου 191,37 μL κυτταρινάση/β κυτταρίνης 1989,552 μL κυτταρινάση		HRT 18 h Μαγιά 1 % 0,916 g μαγιά			
Βιοαπόβλητο	100,00	100,00	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)	400,00	Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)	400,00	Ζύμωση (18h, 30oC)	391,83		
Νερό	400,00	400,00	400,00	Απομακρύνσεις %	52,48	46,43	46,43	43,65	43,65		
TS	91,60	91,60	91,60	TS	9,83	16,83	16,83	0,84	0,84		
Γλυκόζη	1,28	1,28	1,28	Κυτταρίνη	9,56	6,18	6,18	5,87	5,87		
Κυτταρίνη	10,40	10,40	10,40	Κυτταρίνη	42,71	11,52	0,60	0,58	0,58		
Άμυλο	5,59	5,59	5,59	Άμυλο	8,06	35,39	0,60	5	5		
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91	10,91	Άμυλο	81,24	43,18	43,18	8,17	8,17	10,36	
Αιθανόλη				Παραγωγή γλυκόζης	12,282 g/l	8,76 g/l	8,76 g/l	95	95		
				Παραγωγή γλυκόζης	0,10 g/β βιοαποβλήτου	0,07 g/β βιοαποβλήτου	0,07 g/β βιοαποβλήτου				

Σχήμα 71: Σενάρια AN5-CN4 και AN5-CN5

AN5-CN6

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL
		NS22109		NS22177		Μαγιά			
		3,49 μL αμυλάση/β.ξ.βιοσποβλήτου 57,21 μL αμυλάση/β.αμόλου 319,68 μL αμυλάση		43,48 μL κυτταρίναση/β.ξ.βιοσποβλήτου 383,08 μL κυτταρίναση/β.κυτταρίνης 3982,768 μL κυτταρίναση		0,916 g μαγιά			
Βιοσπόβλητο	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)			
Νερό	400,00	400,00		400,00		391,38			
TS	91,60	52,48		42,43		39,88			
Γλυκόζη	1,28	9,83		17,76		0,89			
Κυτταρίνη	10,40	9,56		7,23		6,87			
Άμυλο	5,59	1,05		0,59		0,58			
Ημικυτταρίνη	10,91	42,71		19,15		6			
Αιθανόλη		8,06		24,40		5			
		81,24		43,33		3		8,62	10,93
		Παραγωγή γλυκόζης 12,282 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 9,92 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 95			
		Παραγωγή γλυκόζης 0,10 g/β.βιοσποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης 0,08 g/β.βιοσποβλήτου					

AN5-CN7

Vreactor	0,6 L	HRT 1 h		HRT 5 h		HRT 18 h		g	mL
		NS22109		NS22177		Μαγιά			
		3,49 μL αμυλάση/β.ξ.βιοσποβλήτου 57,21 μL αμυλάση/β.αμόλου 319,68 μL αμυλάση		65,2 μL κυτταρίναση/β.ξ.βιοσποβλήτου 574,45 μL κυτταρίναση/β.κυτταρίνης 5972,32 μL κυτταρίναση		0,916 g μαγιά			
Βιοσπόβλητο	100,00	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)			
Νερό	400,00	400,00		400,00		390,96			
TS	91,60	52,48		42,54		39,99			
Γλυκόζη	1,28	9,83		18,63		0,93			
Κυτταρίνη	10,40	9,56		5,14		4,89			
Άμυλο	5,59	1,05		0,61		0,59			
Ημικυτταρίνη	10,91	42,71		18,94		6			
Αιθανόλη		8,06		46,19		5			
		81,24		41,99		3		9,04	11,46
		Παραγωγή γλυκόζης 12,282 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 11,00 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 95			
		Παραγωγή γλυκόζης 0,10 g/β.βιοσποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης 0,09 g/β.βιοσποβλήτου					

Σχήμα 72: Σενάρια AN5-CN6 και AN5-CN7

AN5-CN8

Vreactor

0,6 L

	€	€
Βιοσπόβλητο	100,00	100,00
Νερό	400,00	400,00
TS	91,60	91,60
Γλυκόζη	1,28	1,28
Κυτταρίνη	10,40	10,40
Άμυλο	5,59	5,59
Ημικυτταρίνη	10,91	10,91
Αιθανόλη		

Προεπεξεργασία

HRT 1 h
NS22109
 3,49 μl αμυλάση/εξ βιοσποβλήτου
 57,21 μl αμυλάση/εξ αμύλου
 319,68 μl αμυλάση

Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)

	€	€
Απομακρύνσεις %		9,56
TS	42,71	1,05
Κυτταρίνη	8,06	
Άμυλο	81,24	
Παραγωγή γλυκόζης	12,282 g/l	
Παραγωγή γλυκόζης	0,10 g/εξ βιοσποβλήτου	

HRT 5 h
NS22177
 87,1 μl κυτταρινάση/εξ βιοσποβλήτου
 767,40 μl κυτταρινάση/εξ κυτταρίνης
 7978,36 μl κυτταρινάση

Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)

	€	€
Απομακρύνσεις %		4,67
TS	19,70	0,54
Κυτταρίνη	51,11	
Άμυλο	48,43	
Παραγωγή γλυκόζης	12,79 g/l	
Παραγωγή γλυκόζης	0,10 g/εξ βιοσποβλήτου	

HRT 18 h
Μαγιά
 1 %

0,916 g μαγιά

Ζύμωση (18h, 30oC)

	€	ml
Απομακρύνσεις %		4,44
TS	6	0,52
Κυτταρίνη	5	
Άμυλο	3	9,74
Γλυκόζη	95	12,34

Σχήμα 73: Σενάριο AN5-CN8

AD2-CD2

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL
	0,18 L	0,005 l/g βιοσποβλήτου 0,5 L	NS22109	1,00 μL αμυλάση/g ξ.βιοσποβλήτου 16,39 μL αμυλάση/g αμόλου 81,78 μL αμυλάση	NS22177	10,00 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοσποβλήτου 78,66 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης 817,81 μL κυτταρινάση	Μαγιά 1 %			
Βιοσπόβλητο	100,00	90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)		44,27	
Νερό		50,00	Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		37,36	
TS	91,60	81,78	TS 42,89		TS 14,9		TS 6		0,59	
Γλυκόζη	1,28	1,28	Κυτταρίνη 3,01		Κυτταρίνη 10,22		Κυτταρίνη 5		8,60	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	Άμυλο 64,44		Άμυλο 0		Άμυλο 3		1,93	7,26
Άμυλο	5,59	5,59	Παραγωγή γλυκόζης 8,41 g/l		Παραγωγή γλυκόζης 5,45 g/l		Παραγωγή γλυκόζης 95			
Λίπη και έλαια	10,91	1,09	Παραγωγή γλυκόζης 0,08 g/g βιοσποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης 0,05 g/g βιοσποβλήτου					
Λιθάνολη										
			Λίπη 9,8186 g							
			Εξάνιο 0,45 L							

AD2-CD3

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL
	0,18 L	0,005 l/g βιοσποβλήτου 0,5 L	NS22109	1,00 μL αμυλάση/g ξ.βιοσποβλήτου 16,39 μL αμυλάση/g αμόλου 81,78 μL αμυλάση	NS22177	15,00 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοσποβλήτου 117,99 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης 1226,72 μL κυτταρινάση	Μαγιά 1 %			
Βιοσπόβλητο	100,00	90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμόλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)		44,24	
Νερό		50,00	Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		35,95	
TS	91,60	81,78	TS 42,89		TS 18,12		TS 6		0,59	
Γλυκόζη	1,28	1,28	Κυτταρίνη 3,01		Κυτταρίνη 18,29		Κυτταρίνη 5		7,83	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	Άμυλο 64,44		Άμυλο 0		Άμυλο 3		1,93	7,30
Άμυλο	5,59	5,59	Παραγωγή γλυκόζης 8,41 g/l		Παραγωγή γλυκόζης 5,52 g/l		Παραγωγή γλυκόζης 95			
Λίπη και έλαια	10,91	1,09	Παραγωγή γλυκόζης 0,08 g/g βιοσποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης 0,06 g/g βιοσποβλήτου					
Λιθάνολη										
			Λίπη 9,8186 g							
			Εξάνιο 0,45 L							

Σχήμα 74: Σενάρια AD2-CD2 και AD2-CD3

AD2-CD4

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL
	0,18 L	0,005 l/g βιοαποβλήτου 0,5 L	NS22109	1,00 μl αμυλάση/g ξ.βιοαποβλήτου 16,39 μl αμυλάση/g αμύλου 81,78 μl αμυλάση	NS22177	20,00 μl κυτταρίνη/g ξ.βιοαποβλήτου 157,32 μl κυτταρίνη/g κυτταρίνης 1635,63 μl κυτταρίνη	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά		
Βιοαπόβλητο	100,00	90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)			
Νερό	91,60	50,00								
TS	91,60	81,78	Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %			
Γλυκόζη	1,28	1,28	TS		TS		TS			
Κυτταρίνη	10,40	10,40	Κυτταρίνη		Κυτταρίνη		Κυτταρίνη			
Άμυλο	5,59	5,59	Άμυλο		Άμυλο		Άμυλο			
Λίπη και έλαια	10,91	1,09	Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης			
Λιθανόλη			Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης			
			Λίπη		Λίπη		Λίπη			
			Εξάνιο		Εξάνιο		Εξάνιο			

AD3-CD2

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL
	0,18 L	0,005 l/g βιοαποβλήτου 0,5 L	NS22109	2,00 μl αμυλάση/g ξ.βιοαποβλήτου 32,79 μl αμυλάση/g αμύλου 163,56 μl αμυλάση	NS22177	10,00 μl κυτταρίνη/g ξ.βιοαποβλήτου 78,66 μl κυτταρίνη/g κυτταρίνης 817,81 μl κυτταρίνη	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά		
Βιοαπόβλητο	100,00	90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)			
Νερό	91,60	50,00								
TS	91,60	81,78	Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %			
Γλυκόζη	1,28	1,28	TS		TS		TS			
Κυτταρίνη	10,40	10,40	Κυτταρίνη		Κυτταρίνη		Κυτταρίνη			
Άμυλο	5,59	5,59	Άμυλο		Άμυλο		Άμυλο			
Λίπη και έλαια	10,91	1,09	Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης			
Λιθανόλη			Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης		Παραγωγή γλυκόζης			
			Λίπη		Λίπη		Λίπη			
			Εξάνιο		Εξάνιο		Εξάνιο			

Σχήμα 75: Σενάρια AD2-CD4 και AD3-CD2

AD3-CD3

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL
	0,18 L	0,005 l/g βιοαποβλήτου 0,5 L	NS22109	2,00 μL αμυλάση/g ξ.βιοαποβλήτου 32,79 μL αμυλάση/g αμύλου 163,56 μL αμυλάση	NS22177	15,00 μL κυτταρίνη/g ξ.βιοαποβλήτου 117,99 μL κυτταρίνη/g κυτταρίνης 1226,72 μL κυτταρίνη	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά		
Βιοαπόβλητο	100,00	90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)			
Νερό		50,00	Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %			
TS	91,60	81,78	TS 44,12		TS 18,12		TS 6		43,71	
Γλυκόζη	1,28	1,28	Κυτταρίνη 5,6		Κυτταρίνη 18,29		Κυτταρίνη 5		35,17	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	Άμυλο 72,01		Άμυλο 0		Άμυλο 3		0,65	
Άμυλο	5,59	5,59	Παραγωγή γλυκόζης 9,76 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 5,52 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 95		7,62	
Λίπη και έλαια	10,91	1,09	Παραγωγή γλυκόζης 0,10 g/g βιοαποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης 0,06 g/g βιοαποβλήτου				1,52	
Λίπη		9,8186 g								
Εξάνιο		0,45 L								7,98

AD3-CD4

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL
	0,18 L	0,005 l/g βιοαποβλήτου 0,5 L	NS22109	2,00 μL αμυλάση/g ξ.βιοαποβλήτου 32,79 μL αμυλάση/g αμύλου 163,56 μL αμυλάση	NS22177	20,00 μL κυτταρίνη/g ξ.βιοαποβλήτου 157,32 μL κυτταρίνη/g κυτταρίνης 1635,63 μL κυτταρίνη	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά		
Βιοαπόβλητο	100,00	90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)			
Νερό		50,00	Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %		Απομακρύνσεις %			
TS	91,60	81,78	TS 44,12		TS 15,43		TS 6		41,35	
Γλυκόζη	1,28	1,28	Κυτταρίνη 5,6		Κυτταρίνη 21,5		Κυτταρίνη 5		36,33	
Κυτταρίνη	10,40	10,40	Άμυλο 72,01		Άμυλο 45,86		Άμυλο 3		0,89	
Άμυλο	5,59	5,59	Παραγωγή γλυκόζης 9,76 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 10,9 g/L		Παραγωγή γλυκόζης 95		7,32	
Λίπη και έλαια	10,91	1,09	Παραγωγή γλυκόζης 0,10 g/g βιοαποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης 0,11 g/g βιοαποβλήτου				0,82	
Λίπη		9,8186 g								
Εξάνιο		0,45 L								0,99

Σχήμα 76: Σενάρια AD3-CD3 και AD3-CD4

AD4-CD1

Vreactor	0,18 L	Εξάνιο		HRT	1 h	NS22109	3,10 μL αμύλαση/g ξ.βιοαποβλήτου 50,82 μL αμύλαση/g αμύλου 253,52 μL αμύλαση	HRT	5 h	NS22177	0,00 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοαποβλήτου 0,00 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης 0,00 μL κυτταρινάση	HRT	18 h	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά			
		0,005 L/g βιοαποβλήτου 0,5 L																g
Βιοαπόβλητο Νερό TS Γλυκόζη Κυτταρίνη Άμυλο Λίπη και έλαια Αιθανόλη		€	90,18		€		50,00		€		50,00		€		44,11			
			50,00				45,63				45,63				42,90			
			81,78				10,99				12,12				0,61			
			1,28				10,15				10,15				9,64			
			10,40				TS	44,2			44,2				6		0,66	
			5,59				Κυτταρίνη	2,42			2,42				5			
			10,91				Άμυλο	87,79			87,78596				3	5,89	7,46	
							Παραγωγή γλυκόζης	13,44	g/L		Παραγωγή γλυκόζης	13,44	g/L		Γλυκόζη	95		
							Παραγωγή γλυκόζης	0,13	g/g βιοαποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης	0,13	g/g βιοαποβλήτου					
							Απομακρύνσεις %				Απομακρύνσεις %							
							Λίπη	90										
							Εξάνιο	0,45 L										

AD4-CD2

Vreactor	0,18 L	Εξάνιο		HRT	1 h	NS22109	3,10 μL αμύλαση/g ξ.βιοαποβλήτου 50,82 μL αμύλαση/g αμύλου 253,52 μL αμύλαση	HRT	5 h	NS22177	10,00 μL κυτταρινάση/g ξ.βιοαποβλήτου 78,66 μL κυτταρινάση/g κυτταρίνης 817,81 μL κυτταρινάση	HRT	18 h	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά			
		0,005 L/g βιοαποβλήτου 0,5 L																g
Βιοαπόβλητο Νερό TS Γλυκόζη Κυτταρίνη Άμυλο Λίπη και έλαια Αιθανόλη		€	90,18		€		50,00		€		50,00		€		41,73			
			50,00				45,63				38,84				36,51			
			81,78				10,99				17,04				0,85			
			1,28				10,15				5,94				5,64			
			10,40				TS	44,2			52,51				6		0,89	
			5,59				Κυτταρίνη	2,42			42,86				5			
			10,91				Άμυλο	87,79			83,5				3	8,27	10,48	
							Παραγωγή γλυκόζης	13,44	g/L		Παραγωγή γλυκόζης	18,89	g/L		Γλυκόζη	95		
							Παραγωγή γλυκόζης	0,13	g/g βιοαποβλήτου		Παραγωγή γλυκόζης	0,19	g/g βιοαποβλήτου					
							Απομακρύνσεις %				Απομακρύνσεις %							
							Λίπη	90										
							Εξάνιο	0,45 L										

Σχήμα 77: Σενάρια AD4-CD1 και AD4-CD2

AD5-CD2

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL					
	0,18 L	0,005 l/g βιοαποβλήτου 0,5 L	NS22109	4,00 μl. αμυλάση/g ξ.βιοαποβλήτου 65,57 μl. αμυλάση/g αμύλου 327,13 μl. αμυλάση	NS22177	10,00 μl. κυτταρινάση/g ξ.βιοαποβλήτου 78,66 μl. κυτταρινάση/g κυτταρίνης 817,81 μl. κυτταρινάση	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά							
Βιοαπόβλητο	Ε 100,00	Ε 90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)								
Νερό		50,00							50,00	50,00	42,17				
TS	91,60	81,78							45,01	38,31	36,01				
Γλυκόζη	1,28	1,28							11,21	16,13	0,81				
Κυτταρίνη	10,40	10,40							Απομακρύνσεις %	9,07	Απομακρύνσεις %	8,61			
Άμυλο	5,59	5,59							TS	14,9	TS	6			
Λίπη και έλαια	10,91	1,09							Κυτταρίνη	10,22	Κυτταρίνη	5			
Αιθανόλη									Άμυλο	0	Άμυλο	3	7,83	9,92	
									Παραγωγή γλυκόζης	13,71 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	5,45 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95	
									Παραγωγή γλυκόζης	0,14 g/g βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης	0,05 g/g βιοαποβλήτου			
	Λίπη 9,8186 g Εξάνιο 0,45 L														

AD5-CD3

Vreactor	Εξάνιο		HRT	1 h	HRT	5 h	HRT	18 h	g	mL					
	0,18 L	0,005 l/g βιοαποβλήτου 0,5 L	NS22109	4,00 μl. αμυλάση/g ξ.βιοαποβλήτου 65,57 μl. αμυλάση/g αμύλου 327,13 μl. αμυλάση	NS22177	15,00 μl. κυτταρινάση/g ξ.βιοαποβλήτου 117,99 μl. κυτταρινάση/g κυτταρίνης 1226,72 μl. κυτταρινάση	Μαγιά 1 %	0,90181396 g μαγιά							
Βιοαπόβλητο	Ε 100,00	Ε 90,18	Ενζυμική υδρόλυση αμύλου (1h, 65oC)		Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης (5h, 50oC)		Ζύμωση (18h, 30oC)								
Νερό		50,00							50,00	50,00	42,14				
TS	91,60	81,78							45,01	36,86	34,64				
Γλυκόζη	1,28	1,28							11,21	16,19	0,81				
Κυτταρίνη	10,40	10,40							Απομακρύνσεις %	8,25	Απομακρύνσεις %	7,84			
Άμυλο	5,59	5,59							TS	18,12	TS	6			
Λίπη και έλαια	10,91	1,09							Κυτταρίνη	18,29	Κυτταρίνη	5			
Αιθανόλη									Άμυλο	0	Άμυλο	3	7,86	9,96	
									Παραγωγή γλυκόζης	13,71 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	5,52 g/L	Παραγωγή γλυκόζης	95	
									Παραγωγή γλυκόζης	0,14 g/g βιοαποβλήτου	Παραγωγή γλυκόζης	0,06 g/g βιοαποβλήτου			
	Λίπη 9,8186 g Εξάνιο 0,45 L														

Σχήμα 79: Σενάρια AD5-CD2 και AD5-CD3

