



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
Τομέας Ι: Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας

—  
ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ  
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ  
ΑΠΟ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΒΙΟΑΠΟΒΛΗΤΩΝ  
ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
**Βασιλεία Στούμπου**

—  
Επιβλέπουσα καθηγήτρια:  
Αικατερίνη Χαραλάμπους

ΑΘΗΝΑ  
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2019

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019.

Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη της διπλωματικής μου εργασίας, Καθηγήτρια του Ε.Μ.Π., κα. Αικατερίνη Χαραλάμπους, για την πολύτιμη καθοδήγησή της και την υποστήριξη που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στην καθηγήτρια του Ε.Μ.Π. κα. Μαρία Λοϊζίδου, για την ανάθεση του θέματος της ερευνητικής μου εργασίας.

Η επιτυχής ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής θα ήταν αδύνατη χωρίς τη 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 στην υποστήριξη που μου προσέφεραν, καθώς και για την άριστη συνεργασία μας κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας, που ήταν καταλυτική για την ολοκλήρωσή της.

Κλείνοντας, ευχαριστώ το προσωπικό του εργαστηρίου και κυρίως τη Νικολέττα Κοντογιάννη για την καθοδήγηση και την υπομονή της, από την πρώτη κιόλας ημέρα της συνεργασίας μας, καθώς επίσης τη Δρ Jelica Novakovic και τον υποψήφιο διδάκτορα Edris Taheri, για όλη τη βοήθεια που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια των πειραματικών αναλύσεων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η βιοαιθανόλη αποτελεί ένα πολύ ελκυστικό βιοκαύσιμο με πολλές προοπτικές και περιβαλλοντικά οφέλη, απέναντι στην όλο εντεινόμενη εξάντληση των συμβατικών ορυκτών καυσίμων και των προβλημάτων που συνδέονται με τη χρήση τους. Μέχρι σήμερα έχει εξετασθεί μια ποικιλία υποστρωμάτων προς αυτήν την κατεύθυνση, μεταξύ των οποίων και η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα. Από την άλλη πλευρά, μια ευρέως χρησιμοποιούμενη βιολογική διεργασία μετατροπής των οργανικών υπολειμμάτων σε ανανεώσιμη ενέργεια, είναι και η αναερόβια χώνευση.

Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα εργασία εξέτασε την αξιοποίηση του στερεού υπολείμματος αναερόβιας χώνευσης αγροτικών υπολειμμάτων, ως μία εναλλακτική πηγή βιομάζας για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς από χωνευτήρα που επεξεργαζόταν άχυρο σίτου στις εγκαταστάσεις του ΕΜΠ. Η υγρασία της ήταν 90,37% και η σύστασή της σε ξηρή βάση ήταν 18,68% σε κυτταρίνη, 16,06% σε ημικυτταρίνη και 20,21% σε λιγνίνη (διαλυτή και μη διαλυτή). Εφαρμόστηκαν δύο διαφορετικές μέθοδοι προεπεξεργασίας, αραιού NaOH και αραιού H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, για κάθε μία από τις οποίες σχεδιάστηκε ένα παραγοντικό πείραμα 2<sup>3</sup>. Στόχος της πειραματικής διαδικασίας ήταν ο προσδιορισμός της επίδρασης συγκεκριμένων παραμέτρων στην απόδοση σακχαροποίησης. Οι παράμετροι που εξετάστηκαν ήταν ο χρόνος αποστείρωσης (60, 75 και 90 λεπτά), η συγκέντρωση του αντιδραστήριου (2,3,4% για το NaOH και 1,2,3% για το H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) και η δοσολογία του κυτταρινολυτικού ενζύμου CellicCTec2 (100, 250, 400 μl/gξ.στ) που εφαρμόστηκε στην υδρόλυση.

Η όξινη προεπεξεργασία οδήγησε σε αισθητά χαμηλότερες αποδόσεις σακχαροποίησης και συνεπώς δεν εξετάστηκε ως προς το παραγωγικό δυναμικό της σε αιθανόλη. Οι βέλτιστες αποδόσεις εξασφαλίστηκαν για την περίπτωση της αλκαλικής προεπεξεργασίας με 2% NaOH, αποστείρωση στους 120°C για 90 λεπτά και ποσότητα ενζύμου 400μL/g υποστρώματος. Υπό αυτές τις συνθήκες η κυτταρίνη αποικοδομήθηκε πλήρως και η ημικυτταρίνη κατά 89,26%, ενώ η απόδοση της σακχαροποίησης ήταν 75,79%. Τέλος, η αλκοολική ζύμωση που εφαρμόστηκε βάσει των βέλτιστων αποκρίσεων του σχεδιασμού, επέφερε απόδοση σε αιθανόλη μεγαλύτερη από 80%.

Συμπερασματικά, η αξιοποίηση της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος αγροτικών υπολειμμάτων προς την κατεύθυνση της παραγωγής βιοαιθανόλης είναι τεχνικά εφικτή με ικανοποιητικές αποδόσεις.

—

Λέξεις κλειδιά: αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, αγροτικά υπολείμματα σακχαροποίηση CellicCTec2, προεπεξεργασία με αραιό οξύ, προεπεξεργασία με αραιή βάση

## ABSTRACT

Bioethanol is an attractive biofuel having great potential for environmental benefits, against the rapid depletion of conventional fossil fuels and the dangers arising from their use. Nowadays, a variety of different substrates have been investigated as alternative sources, among which stands the lignocellulosic biomass. At the same time, anaerobic digestion is a biological conversion process that has been widely used to convert agricultural residues into renewable energy.

In this context, the exploitation of the anaerobic digestate of an agricultural residue (straw) was investigated, as an alternative substrate for efficient ethanol production. The substrate used for the experimental purposes of this study was digestate from a pilot scale anaerobic digester that treats straw in the NTUA premises. Its composition was 9,63% total solids, 18,68% cellulose, 16,06% hemicellulose and 20,21% lignin (soluble and non soluble). Two different pretreatment methods were investigated, dilute NaOH and dilute H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and a 2<sup>3</sup> factorial design was set and executed for each one of them. The aim of the experimental procedure was to determine the influence of some basic process parameters on the saccharification efficiency. The controlling parameters examined were the time of autoclave pretreatment (60, 75 and 90 min), the concentration of the chemical used in each case (2,3,4% NaOH and 1,2,3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> respectively) and the enzyme CellicCTec2 dosage for enzymatic hydrolysis (100, 250, 400 μL/g cellulose).

The acidic pretreatment resulted to significantly lower saccharification yields and thus was not further studied as far as its potential for ethanol production. Best response was attained when straw digestate was pretreated in autoclave with 2% NaOH for 90 min at 120°C and enzymatically hydrolyzed with 400 μL CellicCTec2/ g cellulose. Under these conditions, cellulose was fully degraded. Hemicellulose was also degraded up to 89,26% and the overall saccharification yield achieved was 75,79%. A last step of alcoholic fermentation was subsequently executed, according to the optimal conditions of the experimental design, and this yielded ethanol production over 80%.

Conclusively, through this diploma thesis, the valorization of digestate coming from agricultural residues towards ethanol production proved to be technically feasible with satisfactory efficiencies.

—

Key words: anaerobic digestate, agricultural residues, CellicCTec2 saccharification, dilute-acid pretreatment, dilute alkaline pretreatment

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ABSTRACT	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1   ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ</b>	<b>11</b>
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.2 ΒΙΟΜΑΖΑ	12
1.2.1 ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΟΥΧΑ ΒΙΟΜΑΖΑ	13
— ΑΓΡΟΤΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ	13
— ΔΑΣΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ	14
1.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΟΥ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ	15
1.3.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ	15
— ΔΑΣΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ	16
1.4. ΣΥΣΤΑΣΗ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ	17
1.4.1 ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ	18
1.4.2 ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗ	18
1.4.3 ΛΙΓΝΙΝΗ	19
1.5 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΟΥ ΒΙΟΜΑΖΑΣ	20
1.5.1 ΦΥΣΙΚΕΣ	20
1.5.2 ΧΗΜΙΚΕΣ	21
— ΟΞΙΝΗ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	21
— ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	22
— ΥΓΡΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗ	24
— ORGANOSOLV	24
— ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ	24
— ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΠΟΛΙΓΝΙΝΩΣΗ	25
1.5.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ	25
1.5.4 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΗ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	25
— ΕΚΡΗΞΗ ΜΕ ΑΤΜΟ	25
— ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	26
1.5.5 ΥΔΡΟΘΕΡΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ	26
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2   ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ</b>	<b>27</b>
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	28
2.2. ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ	28
2.2.1. ΣΤΑΔΙΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ	29
2.2.2 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ	30

— ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ	31
— pH	31
— ΡΥΘΜΟΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΦΟΡΤΙΣΗΣ (OLR) ΚΑΙ ΥΔΡΑΥΛΙΚΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ (HRT)	32
— ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ	32
— ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΔΕΥΣΗΣ/ΑΝΑΜΙΞΗΣ	32
— ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ	33
<b>2.2.3 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ</b>	<b>34</b>
<b>2.2.4 ΤΥΠΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ</b>	<b>35</b>
— ΣΥΜΒΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	36
— ΤΑΧΥΡΡΥΘΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ	36
<b>2.3 ΜΟΝΑΔΕΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ</b>	<b>38</b>
<b>2.3.1. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ</b>	<b>38</b>
<b>2.3.2 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ (biogas market)</b>	<b>39</b>
<b>2.3.3 ΤΡΟΦΟΔΟΣΙΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ</b>	<b>40</b>
<b>2.3.4 ΒΙΟΑΕΡΙΟ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ</b>	<b>41</b>
<b>2.4 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΙΛΥΣ</b>	<b>42</b>
<b>2.4.1 ΤΙ ΕΙΝΑΙ Η ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΙΛΥΣ</b>	<b>42</b>
<b>2.4.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ</b>	<b>42</b>
— ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ	42
— ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ	44
<b>2.4.3 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ</b>	<b>44</b>
— ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ	44
— ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ	45
— ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΕΡΕΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ	48
— ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	49
<b>2.4.4 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΙΛΥΣ – ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ</b>	<b>51</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3   ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ – ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	<b>53</b>
<b>3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΙΑ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ ΚΑΙ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	<b>54</b>
— ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ	55
<b>3.2 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ</b>	<b>56</b>
<b>3.3 Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ ΚΑΙ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ</b>	<b>59</b>
— ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ	61
<b>3.4 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ</b>	<b>63</b>
<b>3.4.1 ΒΙΟΜΑΖΑ 1ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	<b>63</b>
<b>3.4.2 ΒΙΟΜΑΖΑ 2ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	<b>63</b>
<b>3.4.3 ΒΙΟΜΑΖΑ 3ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	<b>65</b>
<b>3.5 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ</b>	<b>65</b>
<b>3.5.1 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ</b>	<b>66</b>
<b>3.5.2 ΥΔΡΟΛΥΣΗ</b>	<b>66</b>
<b>3.5.3 ΖΥΜΩΣΗ</b>	<b>68</b>

3.5.4 ΑΠΟΣΤΑΞΗ	68
3.5.5 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ	69
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4   ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ</b>	<b>71</b>
4.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ & ΕΝΝΟΙΕΣ ΣΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ	72
4.1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	72
4.1.2 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΡΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	73
4.1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ	74
4.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΡΕΣΗ ΑΡΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ	74
4.2.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ	75
– ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	76
– ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ	77
– ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ	78
– ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΩΝ	79
– ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ	80
– ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ	81
– ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	82
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5   ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b>	<b>84</b>
5.0 ΣΚΟΠΟΣ	85
5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	85
5.2 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ	85
5.3 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	87
5.4 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ	89
5.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	92
5.5.1 ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ	92
5.5.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΥΓΡΟΥ	93
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ	93
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ	94
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ	95
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΩΝ	96
5.5.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ	96
– ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ (Total Solids TS)	96
– ΜΕΤΡΗΣΗ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ	97
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ	98
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΓΝΙΝΗΣ (ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΔΙΑΛΥΤΗΣ)	99
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ	101
– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ	102
– ΑΝΑΛΥΣΗ XRD	104
5.5.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ	105

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6   ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ</b>	<b>108</b>
6.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΡΟΠΟΥ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ	109
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7   ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	<b>113</b>
7.1 ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ	114
7.2 ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	114
7.2.1 ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH	115
7.2.2 ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	117
7.2.3 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH	118
7.2.4 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	120
7.3 ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	122
7.3.1 ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH	123
7.3.2 ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	126
7.3.3 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΥΣΤΕΡΑ ΑΠΟ ΠΡΟΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH	130
7.3.4 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	133
7.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ XRD	137
7.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ	140
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8   ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ</b>	<b>143</b>
8.1. ΤΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ 23	144
8.2 ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΛΚΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ NaOH	145
8.2.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΥ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ	146
8.2.2 ΚΡΙΤΗΡΙΟ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΣΠΟΡΩΝ	148
8.2.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ	149
8.2.4 ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ	152
8.2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	154
8.3 ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΟΞΙΝΗΣ ΠΡΟΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	156
8.3.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΥ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ	157
8.3.2 ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΣΠΟΡΩΝ	158
8.3.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ	158
8.3.4 ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ	159
8.3.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ	160
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9   ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>162</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>165</b>



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αντιμέτωποι με το σύγχρονο πρόβλημα της εξάντλησης των συμβατικών ορυκτών καυσίμων και των περιβαλλοντικών προβλημάτων που είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με τη χρήση τους, έχουμε στραφεί στην αναζήτηση εναλλακτικών, ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, που όχι μόνο θα υποκαταστήσουν τα πρώτα, αλλά θα το πραγματοποιήσουν με έναν πιο βιώσιμο και φιλικό, προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον, τρόπο.

Οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας έχουν διερευνηθεί εδώ και αρκετές δεκαετίες και ήδη καταλαμβάνουν ένα σημαντικό κομμάτι της σύγχρονης ενεργειακής αγοράς. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται και τα βιοκαύσιμα, όπως η βιοαιθανόλη, δηλαδή καύσιμα που προκύπτουν από την αξιοποίηση της βιομάζας και δύνανται να συνεισφέρουν σημαντικά στην κάλυψη των ενεργειακών αναγκών. Ανάλογα με την προέλευσή της, η βιομάζα κατηγοριοποιείται σε βιομάζα 1ης, 2ης και 3ης γενιάς, μία κατηγοριοποίηση που λαμβάνει υπόψιν τη φύση της πρώτης ύλης από την οποία προέρχεται και το κατά πόσο αυτή ανταγωνίζεται τα τρόφιμα. Μέχρι σήμερα, σε μεγάλη κλίμακα, αξιοποιούνται μόνο τύποι βιομάζας που εμπίπτουν στην πρώτη κατηγορία, δηλαδή βιομάζα που προέρχεται από εδώδιμες καλλιέργειες. Η τάση, ωστόσο στρέφεται προς την σταδιακή εγκατάλειψη αυτών και την ουσιαστική ενσωμάτωση άλλων τύπων υποστρωμάτων, που μέχρι σήμερα απορρίπτονται ή αποτελούν

φυσικά υπολείμματα διεργασιών. Στην κατηγορία αυτή συγκαταλέγονται και τα λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα, τα οποία θα διερευνηθούν εκτενέστερα στο Κεφάλαιο 1.

Το μεγαλύτερο κομμάτι της παγκόσμιας παραγωγής βιοαιθανόλης σήμερα πραγματοποιείται κυρίως από αμυλούχα υποστρώματα, όπως ο αραβόσιτος και το ζαχαροκάλαμο.

Σύμφωνα με την οδηγία πλαίσιο για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας και τα βιοκαύσιμα της ΕΕ υποδεικνύεται η απαίτηση για υποκατάσταση, μέχρι το 2030, έως και κατά 32% των συμβατικών καυσίμων με βιοκαύσιμα. Κάθε κράτος μέλος υποχρεούται να διαχειριστεί αναλόγως τους πόρους του ώστε να συμβάλλει στην επίτευξη του κοινού αυτού στόχου.

Στο πλαίσιο αυτό και λαμβάνοντας στα υπόψη τη μεγάλη διαθεσιμότητα λιγνοκυτταρινούχων υποστρωμάτων που σήμερα παραμένουν αναξιοποίητα, συστήνεται η μέγιστη δυνατή αξιοποίησή τους, προς τις διάφορες πιθανές ενεργειακές οδούς.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, μελετήθηκε μία πιθανή οδός αξιοποίησης της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος από αγροτικά λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα και συγκεκριμένα από άχυρο σίτου, ως εναλλακτικό υπόστρωμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς.

Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στα λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα, την προέλευση και τη σύστασή τους. Ακολουθεί διερεύνηση της παραγωγής τους στην Ευρώπη και τον υπόλοιπο κόσμο και αναλύονται οι τρέχουσες τεχνικές επεξεργασίας τους.

Στο δεύτερο κεφάλαιο αναλύεται η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης, με τα κύρια προϊόντα της και τους παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητά της. Γίνεται αναφορά στη σύγχρονη εικόνα της παραγωγής βιοαερίου στον κόσμο, από τις υπάρχουσες μονάδες αναερόβιας χώνευσης και γίνεται μία σύντομη τοποθέτησή της αγοράς του στο χάρτη. Ακολουθώς ορίζεται η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς ως το δεύτερο κύριο προϊόν της αναερόβιας χώνευσης, αναλύεται η σύστασή της καθώς επίσης και οι τρόποι επεξεργασίας της.

Στο επόμενο κεφάλαιο 3 γίνεται αναφορά στα βιοκαύσιμα και πιο ειδικά στην αιθανόλη. Επισημαίνεται το νομοθετικό πλαίσιο που ρυθμίζει την παραγωγή και τη διάθεσή της, τις πρώτες ύλες από τις οποίες παράγεται, αλλά και τις επιμέρους τεχνολογίες που περιλαμβάνει η συνολική διεργασία μέχρι την παραλαβή του βιοκαυσίμου.

Στο κεφάλαιο 4 αναλύεται ο παραγοντικός σχεδιασμός πειραμάτων ως μέθοδος στατιστικής επεξεργασίας για την αριστοποίηση πειραματικών και βιομηχανικών διαδικασιών. Στις αρχές του παραγοντικού σχεδιασμού βασίστηκε η εξαγωγή των μοντέλων περιγραφής των αποκρίσεων των πειραματικών δοκιμών που εκτελέστηκαν και για το λόγο αυτό δίνεται ξεχωριστή βαρύτητα στο συγκεκριμένο κεφάλαιο.

Η εργασία συνεχίζεται με την περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας, των μεθόδων ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν, του πειραματικού πρωτοκόλλου, καθώς επίσης και των αποτελεσμάτων που εξήχθησαν.

Τέλος, στο Κεφάλαιο 9 παρουσιάζονται τα συμπεράσματα που εξήχθησαν από τις επιμέρους πειραματικές δοκιμές και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων τους.



# 1

ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΑ  
ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ



## 1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα αντιπροσωπεύει μία πολύ ελκυστική και ευρέως διαθέσιμη μορφή βιομάζας για την παραγωγή βιοκαυσίμων και χημικών. Θεωρείται μία αξιόλογη εναλλακτική πηγή ενέργειας, έναντι των συμβατικών ορυκτών καυσίμων, καθώς προσφέρεται προς μετατροπή σε διαφορετικούς τύπους ενέργειας, όπως θερμότητα, ηλεκτρισμό, ατμό, βιοαέριο, υδρογόνο και υγρά καύσιμα μεταφορών [3].

Η λιγνοκυτταρίνη είναι το κύριο συστατικό της φυτικής βιομάζας και αποτελείται από τους δομικούς πολυσακχαρίτες της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και τη λιγνίνη, που συνδέονται μεταξύ τους, συνιστώντας ένα πολύπλοκο και ανθεκτικό δίκτυο. Ανάλογα με τη σύστασή τους, τα δομικά αυτά στοιχεία επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά και την ανθεκτικότητα του φυτικού υλικού.

Η μετατροπή της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας σε βιοαιθανόλη περιλαμβάνει τρία κύρια στάδια, την προεπεξεργασία της βιομάζας, την ενζυμική της υδρόλυση προς απελευθέρωση ζυμώσιμων σακχάρων και τη ζύμωση προς παραγωγή αιθανόλης. Ωστόσο, η λιγνοκυτταρινική σύσταση των χρησιμοποιούμενων υποστρωμάτων καθορίζει την ανθεκτικότητα της βιομάζας, επηρεάζοντας τελικά και τη συνολική διεργασία βιομετατροπής της.

Τα υπολείμματα των αγροτικών καλλιεργειών, όπως τα άχυρα, δεν έχουν αξιοποιηθεί ακόμα για την παραγωγή βιοενέργειας, καθώς η τεχνολογίες μετατροπής τους είναι ακόμη υπό ανάπτυξη. Μεγάλες ποσότητες παράγονται ετησίως σε όλο τον κόσμο και σήμερα, συνήθως, οδηγούνται προς καύση ή απευθείας εναπόθεση στα εδάφη, δραστηριότητες, οι οποίες, συσσωρευτικά, συνδέονται με περιβαλλοντικά προβλήματα, όπως η επιμόλυνση και η διάβρωση των εδαφών. Για το λόγο αυτό, κρίνεται σημαντική η ανάπτυξη νέων και αποτελεσματικών τεχνολογιών για τη διαχείρισή τους [3][89].

## 1.2 ΒΙΟΜΑΖΑ

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Οδηγία 2001/77/EK βιομάζα καλείται το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα των προϊόντων, αποβλήτων και υπολειμμάτων που προέρχονται από τη γεωργία, την κτηνοτροφία (συμπεριλαμβανομένων φυτικών και ζωικών ουσιών), τη δασοκομία και τις συναφείς βιομηχανίες, καθώς και το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα των βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων. Αποτελεί την παλαιότερη πηγή ενέργειας που χρησιμοποιείται από τον άνθρωπο [1].

Σχηματίζεται με τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης στα φυτά, καθώς το διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας, αντιδρά με το νερό και την ηλιακή ενέργεια προς σχηματισμό υδρογονανθράκων, που αποτελούν τη δομική μονάδα της βιομάζας. Η διεργασία τυπικά μετατρέπει λιγότερο από 1% της διαθέσιμης ηλιακής ακτινοβολίας σε χημική ενέργεια, που αποθηκεύεται στους χημικούς δεσμούς των συστατικών στοιχείων της βιομάζας. Αν η βιομάζα επεξεργαστεί καταλλήλως, χημικά ή βιολογικά, με την αποδέσμευση της αποθηκευμένης ενέργειας, και όταν το επακόλουθο ενεργειακό προϊόν αντιδράσει με οξυγόνο, ο άνθρακας θα οξειδωθεί προς διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Η διεργασία είναι κυκλική, καθώς το διοξείδιο επανέρχεται στην ατμόσφαιρα προκειμένου να δεσμευθεί εκ νέου για την παραγωγή νέας βιομάζας [1].

Μια πληθώρα πρώτων υλών έχουν κατηγοριοποιηθεί βάσει της προέλευσης, της σύστασης και της δομής τους ως πηγές βιομάζας [3]. Γενικά, η βιομάζα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί με δύο τρόπους: βάσει των τύπων

βιομάζας που υπάρχουν στη φύση (π.χ. τύπος βλάστησης) και και βάσει των χρήσεων για τις οποίες προσφέρεται. Σύμφωνα με την πρώτη, η βιομάζα μπορεί να κατηγοριοποιηθεί στα εξής [2][3]:

- Ξυλώδης βιομάζα (συστατικά κυρίως με υδρογονάνθρακες και λιγνίνη, όπως δασικά υπολείμματα και απόβλητα βιομηχανίας ξύλου, όπως κορμοί δένδρων, πριονίδια, κλαδέματα, φυλλώματα κ.α.)
- Μη ξυλώδης βιομάζα (φυτά χωρίς σκληρή δομή-ξυλώδη κορμό, όπως αγροτικά υπολείμματα, ενεργειακά φυτά, φρούτα, ζωοτροφές, στελέχη, άχυρο, σπόροι, πυρήνες φρούτων κ.α.)
- Θαλάσσια βιομάζα (μικρο και μακροάλγη)
- Βιομάζα από ανθρώπινα και ζωικά απόβλητα (κόκαλα, κόπρανα ζωικά και ανθρώπινα, κοπριά)
- Μίγματα βιομάζας – μίγματα των παραπάνω συστατικών

### 1.2.1 ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΟΥΧΑ ΒΙΟΜΑΖΑ

Η λιγνοκυτταρίνη είναι το κύριο συστατικό της βιομάζας, περιλαμβάνοντας περίπου τη μισή από την φυτική ύλη που παράγεται από τη φωτοσύνθεση (φωτομάζα) και αντιπροσωπεύει την μεγαλύτερη ανανεώσιμη οργανική ύλη στο έδαφος. Αποτελείται από τρία είδη πολυμερών, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη που συνδέονται μεταξύ τους με ισχυρούς διασταυρωμένους χημικούς μη ομοιοπολικούς δεσμούς και ομοιοπολικά διασταυρωμένα πλέγματα. Μόνο ένα μικρό ποσοστό της κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης που παράγεται ως παραπροϊόντα των αγροτικών και δασικών καλλιεργειών χρησιμοποιείται, ενώ το υπόλοιπο θεωρείται απόβλητο. Πολλοί μικροοργανισμοί δύνανται να αποικοδομήσουν την ύλη αυτή και να χρησιμοποιήσουν την κυτταρίνη και ημικυτταρίνη ως πηγή άνθρακα και ενέργειας. [3]

Η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα αποτελεί την μεγαλύτερη ανανεώσιμη πηγή για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Πρόκειται για την υπολειμματική μορφή της βιομάζας που προέρχεται από δασικές και αγροτικές καλλιέργειες. Τα κύρια πλεονεκτήματα που σχετίζονται με τη χρήση τους είναι η εύκολη, άμεση διαθεσιμότητα και το χαμηλό τους κόστος ως πρώτη ύλη τροφοδοσιών. Επίσης διατηρούν τη λιγνοκυτταρινική τους σύσταση η οποία ουσιαστικά αξιοποιείται για τη βιοενέργεια, αλλά απαιτούν πιο σύνθετες διαδικασίες επεξεργασίας για τη διάσπαση της δομής αυτής, που συνδέονται με υψηλότερο κόστος και πολυπλοκότητα. . Χαρακτηριστικές κατηγορίες υλικών που διαχωρίζονται βάσει της προέλευσης, της σύστασης και της δομής τους είναι τα αγροτικά και τα δασικά υπολείμματα που αναλύονται ακολούθως.

#### – ΑΓΡΟΤΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ

Τα αγροτικά υπολείμματα ως πηγή λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας περιλαμβάνουν τις εξής δύο ομάδες υλικών [4][5]:

- Υπολείμματα γεωργικών καλλιεργειών, όπως στελέχη, μίσχους, φύλλα και λοβούς σπόρων, που παραμένουν στο χώρο της καλλιέργειας μετά τη συγκομιδή και
- Υπολείμματα επεξεργασίας γεωργικών προϊόντων, όπως φλοιούς, σπόρους, βαγάση, ρίζες, πυρήνδυλο, πυρήνες φρούτων, όπως παραμένουν αφού το υλικό έχει αξιοποιηθεί για την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος.

Τα πιο κυρίαρχα είδη υπολειμματικής αγροτικής βιομάζας είναι [5][6]:

- Άχυρο δημητριακών: πρόκειται για τον ξηρό μίσχο των δημητριακών που μένει μετά τη συγκομιδή ή για το σπόρο που έχει αφαιρεθεί. Μία συνήθης καλλιέργεια (π.χ. σιτάρι) παράγει περίπου 2.5-5 τόνους ανά εκτάριο άχυρο με λόγο άχυρο/σπόρο περίπου 1.5. Μετά τη συγκομιδή μικρή ποσότητα του άχυρου χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή, κομπόστ, λίπασμα και μεγαλύτερο ποσοστό καίγεται ή αφήνεται κι ενσωματώνεται στο έδαφος.
- Κότσανα καλαμποκιού (Corn stover): το τμήμα του φυτού του καλαμποκιού που βρίσκεται πάνω από την επιφάνεια του εδάφους, χωρίς το σπόρο και περιλαμβάνει το μίσχο, τα φύλλα, το κοτσάνι και το φλοιό.
- Φλοιός ρυζιού: αποτελεί το πιο σύνηθες αγροτικό υπόλειμμα. Υπολογίζεται ότι παράγεται 1 τόνος υπολείμματος ανά 4 τόνους ρυζιού. Παγκοσμίως, παράγονται 100 εκ. τόνοι φλοιού ρυζιού ετησίως, με τη μεγαλύτερη παραγωγή να εντοπίζεται στην ανατολική και δυτική Ασία (Ινδία, Κίνα, Ιαπωνία, Ινδονησία, Ταϊλάνδη και Μπαγκλαντές)
- Βαγάσση ζαχαροκάλαμου (Sugarcane bagasse): 1 τόνος παράγει 135 κιλά ζάχαρης και 130 κιλά ξηρής βαγάσσης bagasse. Η παγκόσμια παραγωγή βαγάσσης ανέρχεται στους 200 εκ. τόνους το χρόνο με κυρίαρχους παραγωγούς τη Βραζιλία, την Ινδία, την Κίνα και την Ταϊλάνδη.

#### – ΔΑΣΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ

Ιστορικά, τα υπολείμματα ξύλου αποτελούν την πιο σημαντική πηγή ενέργειας για περίπου 2000 εκ. ανθρώπους σε όλον τον κόσμο. Περιλαμβάνουν τμήματα ξύλου, ρίζες, κλαδιά, και φυλλώματα, τη δασική δηλαδή βιομάζα που συσσωρεύεται φυσιολογικά στο έδαφος, αλλά και κλαδέματα και υπολείμματα υλοτομίας όπως πριονίδια και φλοιούς [5]. Κατά τη συγκομιδή, μόνο ένα κομμάτι της βιομάζας από τα δέντρα απομακρύνεται, ενώ το υπόλοιπο παραμένει στο έδαφος ως πρωτογενές φορτίο για να επιτελέσει φυσιολογικές δράσεις στο έδαφος διατηρώντας το μικροκλίμα του εδάφους [4]. Πρόσθετες κοπές για την αφαίρεση τμημάτων που έχουν προσβληθεί από έντομα, ασθένειες, ή και πυρκαγιές, παράγουν επίσης ποσότητες δασικών υπολειμμάτων. Τυπικά οι διεργασίες αυτές αφαιρούν το 25-50% του όγκου τους, αφήνοντας το υπόλοιπο ως βιομάζα για ενεργειακή αξιοποίηση. Μέτρα δασικής προστασίας για την αποφυγή πυρκαγιών συντελούν επίσης στην παραγωγή υπολειμματικής δασικής βιομάζας. Στη δασοκομία το κλάδεμα των δένδρων (thinning) αποτελεί βασικό εργαλείο, κατά το οποίο αφαιρούνται δένδρα τα οποία αναπτύσσονται πολύ κοντά μεταξύ τους [6]. Στην κατηγορία των δασικών υπολειμμάτων μπορούν να συμπεριληφθούν και τα απόβλητα της βιομηχανίας ξύλου-όπως πριονίδια, φλοιοί και πλάκες, που προκύπτουν από τις κοπές, προσαρμογές μεγέθους, λειάνσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την παραγωγική διαδικασία. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι η επεξεργασία 1000 κιλών ξύλου στις βιομηχανίες επίπλων οδηγεί στην παραγωγή 45% (450 κιλά) απόβλητου ξύλου [2]. Τα δασικά υπολείμματα είναι ογκώδη και η μεταφορά του δύσκολη και ακριβή, και σήμερα έχουν χαμηλή εμπορική αξία. Ωστόσο, αν οι συνθήκες ήταν ευνοϊκές θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν πολύ αποτελεσματικά για βιοενεργειακούς σκοπούς [5].

### 1.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΟΥ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ

Η αύξηση της αγρο-βιομηχανικής δραστηριότητας έχει οδηγήσει στη συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων λιγνοκυτταρινούχων υπολειμμάτων από ξυλεία, βότανα, αγροτικά και αστικά στερεά υπολείμματα και διάφορα βιομηχανικά απόβλητα, σε όλον τον κόσμο. Η παγκόσμια παραγωγή φυτικής βιομάζας, το 90% της οποίας είναι λιγνοκυτταρινικής προέλευσης, ανέρχεται περίπου στους 200 δισεκ. τόνους ετησίως [4]. Από αυτήν την ποσότητα πρωτογενούς βιομάζας περίπου 8-20 δισεκ. τόνοι παραμένουν δυνητικά διαθέσιμοι για άλλες χρήσεις. Τα λιγνοκυτταρινικά υλικά αντιπροσωπεύουν μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική υποστρώματος για την παραγωγή αιθανόλης, δεδομένης της μεγάλης διαθεσιμότητάς τους, το χαμηλό κόστος τους και το υψηλό ενεργειακό τους περιεχόμενο. Η ανανεώσιμη φυτική βιομάζα αναφέρεται ειδικά σε χαμηλού κόστους, ευρέως διαθέσιμα μη εδώδιμα και πλούσια σε λιγνοκυτταρίνη υλικά, που προέρχονται από φυτά [12]. Ο αραβόσιτος, το σιτάρι, το ρύζι και το ζαχαροκάλαμο αποτελούν τέσσερις τύπους αγροτικών καλλιεργειών, που καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο κομμάτι της παραγωγής, αλλά και των καλλιεργήσιμων εκτάσεων [14]. Αυτά ευθύνονται για την παραγωγή του μεγαλύτερου ποσοστού της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας στον αγροτικό τομέα. Η παγκόσμια παραγωγή των τεσσάρων αυτών κυρίαρχων λιγνοκυτταρινούχων υλικών στον κόσμο, παρουσιάζεται στον Πίνακα 1-1. Οι μεγαλύτερες ποσότητες αχύρου σίτου και αχύρου ρυζιού παράγονται στην Ασία, ενώ αραβόσιτου και βαγάσσης ζαχαροκάλαμου στην Αμερική. Με μία προσέγγιση, η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή περίπου 442 δισεκ. λίτρων βιοαιθανόλης σε ετήσια βάση, και στην περίπτωση που όλες οι ποσότητες αγροτικών υπολειμμάτων και υπολειμμάτων καλλιεργειών συμπεριληφθούν, η ποσότητα αυτή δύναται να προσεγγίσει τα 491 δισεκ. λίτρα. [12] ποσότητα περίπου 4 φορές μεγαλύτερη από την παγκόσμια που υπολογίστηκε για το 2017 και ανερχόταν στα 120 δισεκ. λίτρα.

Πίνακας 1-1: Ποσότητες αγροτικών υπολειμμάτων (σε εκ. τόνους) διαθέσιμοι παγκοσμίως για την παραγωγή βιοαιθανόλης. (Δεδομένα 2011) [6].

Τύπος υπολείμματος (εκ. τόνοι)	Ευρώπη	Αμερική	Αφρική	Ασία	Ωκεανία
Άχυρο ρυζιού	3,9	37,2	20,9	667,6	1,7
Άχυρο σίτου	132,59	62,64	5,34	145,2	8,57
Άχυρο αραβόσιτου	28,61	140,86	-	33,9	0,24
Βαγάσση ζαχαροκάλαμου	0,01	87,62	11,73	74,88	6,49

#### 1.3.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ

Η μέση παραγωγή βιομάζας στην Ευρώπη ανέρχεται στους 1500 εκ. τόνοι (περίπου 1000 εκ. τόνοι αντιστοιχούν στον αγροτικό τομέα και 500 εκ. τόνοι στο δασικό) [4]. Ωστόσο όλη η ποσότητα της βιομάζας που παράγεται δεν μπορεί να αξιοποιηθεί, καθώς ποσοστό της παραμένει στο έδαφος για να επιτελέσει άλλες λειτουργίες του οικοσυστήματος. Κάθε χρόνο περίπου 800 εκ. τόνοι βιομάζας σε ξηρή βάση χρησιμοποιούνται και συλλέγονται στην Ευρωπαϊκή Ένωση, εκ των οποίων 578 εκ. τόνοι προέρχονται από τον αγροτικό τομέα, 227 εκ. τόνοι από

το δασικό, 1.5 εκ. τόνοι από αλιεύματα και υδατοκαλλιέργειες και περίπου 0.03 εκ. τόνοι από άλγη (2013) [4]. Από τις ποσότητες αυτές μόνο ορισμένες είναι εκείνες που σήμερα συλλέγονται και αξιοποιούνται για ενεργειακούς σκοπούς.

#### – ΑΓΡΟΤΙΚΗ

Σύμφωνα με τη συλλογή δεδομένων για τη συνολική παραγωγή λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας στην Ευρώπη μεταξύ των ετών 2005- 2015 (Eurostat), η συνολική παραγωγή της ανέρχεται στους 956 εκ. τόνους επί ξηρής βάσης, το 54% της οποίας αντιπροσωπεύει ποσότητα που έχει οικονομική σημασία, δηλαδή πρωτογενή αγροτικά προϊόντα όπως κόκκοι, φρούτα και ρίζες, το λόγο για τον οποίο καλλιεργήθηκε [4]. Το υπόλοιπο 46% (419 εκ. τόνοι) αποτελεί υπολειμματική βιομάζα, παραπροϊόντα και υπολείμματα της αγροτικής παραγωγικής διαδικασίας. Η ποσότητα αυτή αφορά καλλιέργειες δημητριακών, ελαιόσπορων, σακχαρώδων και αμυλούχων φυτών. Αυτές οι κατηγορίες καταλαμβάνουν περίπου το 95% της συνολικής παραγωγής αγροτικών υπολειμμάτων στην Ευρώπη. Από αυτά, το 79% [4] αντιστοιχεί σε δημητριακά, όπως σιτάρι, βρώμη, αραβόσιτος, σόργος και ρύζι, το 18% αντιπροσωπεύουν ελαιώδεις σπόροι (σόγια, ηλιόσποροι) και μόνο 3% αντιπροσωπεύουν οι σακχαρώδεις ή αμυλούχες καλλιέργειες [14]. Μία εκτίμηση για τη συνολική ετήσια παραγωγή λιγνοκυτταρινούχων υπολειμμάτων από τα κυρίαρχα είδη καλλιέργειας από τα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης παρουσιάζεται στον Πίνακα 1-2. Ωστόσο, όλες οι προκύπτουσες ποσότητες υπολειμμάτων δεν μπορούν να αξιοποιηθούν εξολοκλήρου για βιοενεργειακούς σκοπούς. Πρέπει να ληφθεί στα υπόψη ότι από τα υπολείμματα αυτά περίπου το 1/3 παραμένει στο χώρο της καλλιέργειας, το άλλο 1/3 απορροφάται σε άλλες αγροτικές δραστηριότητες, την κηπουρική, ή χρησιμοποιείται ως ζωοτροφές, αφήνοντας μια μειωμένη ποσότητα διαθέσιμη [14]. Έτσι, περίπου 122 εκ. τόνοι αγροτικών υπολειμμάτων μπορούν να είναι διαθέσιμοι σε ετήσια βάση για απορρόφηση στον βιοενεργειακό τομέα. Αν όλα αξιοποιηθούν μπορούν να δώσου 10 εκ. βαρέλια ισοδύναμου πετρελαίου την ημέρα [15]. Οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή οικονομικής και υπολειμματικής αγροτικής βιομάζας είναι η Γαλλία, η Γερμανία, η Ιταλία, η Ισπανία, η Μ. Βρετανία και η Ρουμανία, που αθροιστικά αντιπροσωπεύουν το 75% της οικονομικής και υπολειμματικής παραγωγής. Η Γαλλία και η Γερμανία, οι δύο μεγαλύτεροι παραγωγοί αγροτικής υπολειμματικής Βιομάζας στην Ευρώπη, υπολογίζεται να παράγουν ποσότητες 84 εκ τόνους και 60 εκ. τόνους το χρόνο, αντίστοιχα [4][13].

#### – ΔΑΣΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ

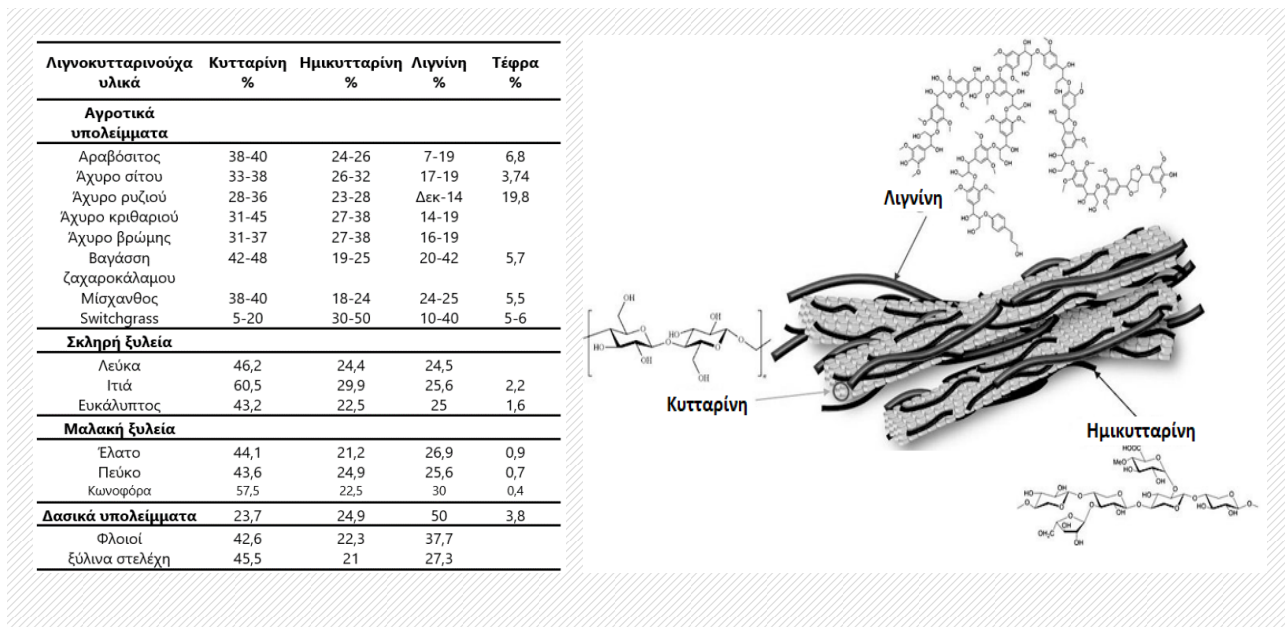
Για τις 28 χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωση το 2013, η συνολική δασική βιομάζα ανέρχεται στους 18600 εκ. τόνους, εκ των οποίων 68% είναι στελέχη ξύλου, και το υπόλοιπο 32% αποτελεί κλαδιά, κορυφές και ρίζες, που ονομάζονται «άλλα συστατικά ξύλου (other wood components OWC) [4]. Κατά τη συγκομιδή, μόνο ένα κομμάτι της βιομάζας από τα δέντρα απομακρύνεται, ενώ το υπόλοιπο παραμένει στο έδαφος ως πρωτογενές φορτίο για να επιτελέσει φυσιολογικές δράσεις στο έδαφος διατηρώντας το μικροκλίμα του [5]]. Για τα έτη 2004-2013 υπολογίστηκαν οι συνολικές ποσότητες κλαδεμάτων στους 281 εκ. τόνους, εκ των οποίων το 80% απομακρύνθηκε από τα δάση, ενώ το υπόλοιπο 20% αποτελούσε ξυλώδη υπολείμματα. Υπολογίζεται ότι, σήμερα, μόνο 8% των συνολικών δασικών υπολειμμάτων συλλέγεται στην Ευρώπη και αξιοποιείται για ενεργειακούς σκοπούς, με τις σκανδιναβικές χώρες να πρωτοτυπούν στον τομέα. Η Φινλανδία αποτελεί πρωτεργάτη στη χρήση βιοενέργειας, με το 20% της ενέργειας που καταναλώνεται εντός τη χώρας να προέρχεται από βιοκαύσιμα και από δασική βιομάζα. Ωστόσο από τα συνολικά 45 εκ. m<sup>3</sup> δασικά υπολείμματα που είναι διαθέσιμα στη χώρα, συλλέγονται μόνο τα 1,3 εκ. καθώς η διαδικασία είναι αρκετά χρονοβόρα και κοστοβόρα [15]. Αυτό αιτιολογεί και τη μεγάλη διαφορά μεταξύ των συνολικών παραγόμενων ποσοτήτων



δασικής βιομάζας και εκείνης που ουσιαστικά αξιοποιείται, σε όλη την Ευρώπη. Στη Σουηδία χρησιμοποιούνται τσιπ καυσίμων από δασικά υπολείμματα εδώ και πάνω από 30 χρόνια. Το 2011 μεταξύ όλων των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης, υπολογίζονται ότι παράχθηκαν συνολικά 81 εκ. τόνοι δασικών υπολειμμάτων, εκ των οποίων υπολογίζεται ότι περίπου τα μισά μπορούν αν αποτελέσουν δυνητικά αξιοποιήσιμες ποσότητες για ενεργειακούς σκοπούς [15].

### 1.4. ΣΥΣΤΑΣΗ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

Η λιγνοκυτταρίνη είναι ένα σύνθετο δομικό υλικό που εντοπίζεται στο κυτταρικό τοίχωμα φυτών και απαρτίζεται από τους δομικούς πολυσακχαρίτες της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης καθώς και το αρωματικό πολυμερές της λιγνίνης [7]. Πρωτεΐνες, ρητίνες, έλαια και τέφρα απαρτίζουν το υπόλοιπο κλάσμα αλλά σε μικρότερες συγκεντρώσεις [12]. Η ακριβής αναλογία κάθε συστατικού ποικίλει ανάλογα με το είδος, τους ιστούς και την ωριμότητα του κυτταρικού τοιχώματος. Γενικά η λιγνοκυτταρική βιομάζα περιέχει 35-50% κυτταρίνη, 20-30% ημικυτταρίνη και 10-25% λιγνίνη. Τυπικές συστάσεις διαφόρων τύπων λιγνοκυτταρινικών υλικών παρουσιάζονται στον Πίνακα 1-3. Ανάλογα με τον τύπο της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας, τα πολυμερή αυτά οργανώνονται σε σύνθετες, ανομοιομορφες τρισδιάστατες δομές, σε διαφορετικό βαθμό και διαφορετική σύσταση. Η λιγνοκυτταρινική δομή αποκτά μία ανθεκτικότητα και σκληρότητα, που πηγάζει από την κρυσταλλικότητα τη κυτταρίνης την υδροφοβικότητα της λιγνίνης και την ενθυλάκωση της κυτταρίνης από το πλέγμα λιγνίνης- ημικυτταρίνης που απαρτίζει το κυτταρικό τοίχωμα των φυτών. Ακολούθως εξετάζονται πιο διεξοδικά τα επιμέρους πολυμερή της λιγνοκυτταρίνης [7][12].

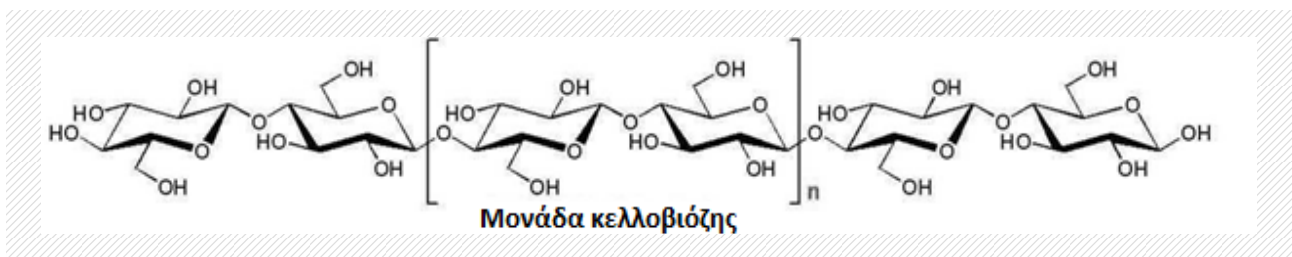


Πίνακας 1-3: Τυπική σύσταση λιγνοκυτταρινούχων

Εικόνα 1-1: Δομή λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας. [22]

### 1.4.1 ΚΥΤΤΑΡΙΝΗ

Η κυτταρίνη αποτελεί το πιο άφθονο φυσικό πολυμερές στον πλανήτη και το βασικότερο συστατικό των φυτών. Αντιπροσωπεύοντας πάνω από το 50% του άνθρακα των φυτών, καταλαμβάνει το μεγαλύτερο ποσοστό της δομής τους [12]. Είναι ένα γραμμικό πολυμερές που αποτελείται από μονάδες d-γλυκόζης συνδεδεμένες με β 1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς. Δύο μονάδες γλυκόζης συνδεδεμένες μεταξύ τους σχηματίζουν το διμερές κελλοβιόζη, που αποτελεί την επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα της αλυσίδας της κυτταρίνης. Τα μονομερή της κυτταρίνης συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου, σχηματίζοντας επιμήκεις αλυσίδες χωρίς πλευρικές διακλαδώσεις. Ο βαθμός πολυμερισμού της κυτταρίνης κυμαίνεται από 7000 έως 15000 μονάδες γλυκόζης. Οι πολυσακχαρικές αλυσίδες διατάσσονται παράλληλα μεταξύ τους σχηματίζοντας διατεταγμένες δομές, τα μικροϊνίδια κυτταρίνης, τα οποία έλκονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου και έχουν μεγάλο βαθμό προσανατολισμού. Το μεγαλύτερο μέρος της κυτταρίνης είναι κρυσταλλικό λόγω των ενδομοριακών και διαμοριακών δεσμών υδρογόνου που αναπτύσσονται εντός και μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων. Μεταξύ των κρυσταλλικών περιοχών παρεμβάλλονται μικρότερες άμορφες περιοχές. Η άμορφη κυτταρίνη είναι πιο επιρρεπής στην ενζυμική αποικοδόμηση. Η κυτταρίνη εντοπίζεται στη φύση συνδεδεμένη με άλλα συστατικά των φυτών, κάτι που επηρεάζει τη βιοαποικοδόμησή της. [7][17][19]



Εικόνα 1-2: Δομή του πολυμερούς της κυτταρίνης, εντός της παρένθεσης η μονάδα της κελλοβιόζης.

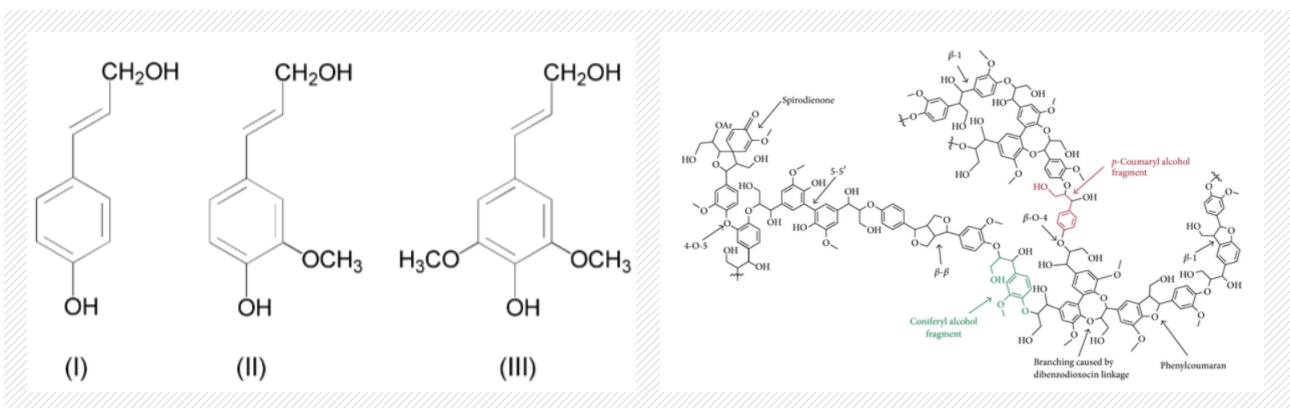
### 1.4.2 ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗ

Σε αντίθεση με την κυτταρίνη, υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι ημικυτταρινών. Είναι άμορφα πολυμερή, που αποτελούνται από διακλαδωμένες πολυσακχαρικές αλυσίδες μικρού μήκους [19]. Σε συνδυασμό με το πολυμερές της κυτταρίνης και της λιγνίνης, συγκροτούν το κυτταρικό τοίχωμα των φυτικών ιστών. Πρόκειται για πολυσακχαρίτη με χαμηλότερο μοριακό βάρος από την κυτταρίνη. Σχηματίζεται από μονάδες πεντόζης, όπως d-ξυλόζης, l-αραβινόζης, l-φουκτόζης και εξόζης, όπως d-μανόζης, d-γαλακτόζης, d-γλυκόζης αντίστοιχα, αλλά και ουρανικών οξέων d-4-0-μεθυλ γλυκουρονικό οξύ, d-γαλακτουρονικό και d-γλυκουρονικού οξύ. Τα επιμέρους σάκχαρα συνδέονται μεταξύ τους με β-1,4 και σπανιότερα με β-1,3 γλυκοζιτικούς δεσμούς [3][19]. Η κατηγοριοποίηση των ημικυτταρινών γίνεται βάσει του μονομερούς σακχάρου που εντοπίζεται συχνότερα στη δομή τους, συνιστώντας αντιστοίχως γλυκάνες, μαννάνες, γαλακτάνες, αραβινάνες και ξυλάνες. Η βασική διαφορά μεταξύ κυτταρίνης και ημικυτταρίνης είναι ότι η ημικυτταρίνη αποτελείται από κλάδους με μικρές πλευρικές αλυσίδες, αποτελούμενες από διαφορετικά σάκχαρα, ενώ η κυτταρίνη από ολιγομερή που υδρολύονται ευκολότερα. Η ξυλάνη είναι το κυριότερο συστατικό της ημικυτταρίνης και αποτελεί το δεύτερο αφθονότερο φυσικό πολυσακχαρίτη στον πλανήτη, μετά την κυτταρίνη. Εντοπίζεται στα δευτεροταγή

κυτταρικά τοιχώματα, στην ενδιάμεση περιοχή μεταξύ κυτταρίνης και λιγνίνης, αλλά και στα πρωτογενή κυτταρικά τους τοιχώματα [17]. Αλληλεπιδρά με μικροϊνίδια κυτταρίνης, με πρωτεΐνες, άλλα και με μη κυτταρινικά πολυμερή και κυρίως με τη λιγνίνη. Η δομή της περιλαμβάνει μια κεντρική αλυσίδα μορίων D-ξυλοπροπανόζης που ενώνονται με β-1,4 γλυκοζιτικούς δεσμούς. Δρα συνδετικά μεταξύ κυτταρίνης και λιγνίνης, εξασφαλίζοντας συνεκτικότητα και ακεραιότητα στο κυτταρικό τοίχωμα. Παρουσιάζει μεγάλη ποικιλομορφία που εξαρτάται από την προέλευσή της [3][7][17].

### 1.4.3 ΛΙΓΝΙΝΗ

Η λιγνίνη αποτελεί ένα από τα σπουδαιότερα και πιο άφθονα συστατικά της φυτικής βιομάζας. Αποτελεί ένα άμορφο ετερογενές πολυμερές, αδιάλυτο στο νερό, οπτικά αδρανές που σχηματίζεται από φαινολοπροπανοϊκές μονάδες (τρία διαφορετικά φαινολοπροπάνια) συνδεδεμένες μεταξύ τους [7]. Συνδέεται με χημικούς δεσμούς με την ημικυτταρίνη και την κυτταρίνη, σχηματίζοντας ένα φυσικό προστατευτικό στρώμα στο κυτταρικό τοίχωμα των φυτών, που τους παρέχει στήριξη, υψηλή αντοχή, μη διαπερατότητα, προστασία από εξωτερικούς μικροβιακούς παράγοντες και οξειδωτικές δράσεις [3]. Οι δεσμοί στο πολυμερές της λιγνίνης είναι δεσμοί άνθρακα- άνθρακα και αιθερικοί δεσμοί. Η δομή που προκύπτει από την ομοιοπολική της σύνδεση με μόρια κυρίως ημικυτταρίνης αλλά και κυτταρίνης παρεμποδίζει την διεύθυνση ενζύμων, που υδρολύουν πολυσακχαρίτες και αποτρέπει την εκχύλιση υδατανθράκων σε υδατικούς διαλύτες. Υδρολύεται δύσκολα κυρίως με αλκαλικά διαλύματα σε υψηλές θερμοκρασίες 150-180oC [17][19].



Εικόνα 1-3: Τα φαινολοπροπάνια της λιγνίνης: από αριστερά προς τα δεξιά: p Coumaryl alcohol, coniferyl alcohol, sinapyl

Εικόνα 1-4: Δομή ενός μορίου λιγνίνης μαλακής ξυλείας, όπου φαίνονται οι κυριότεροι δεσμοί [20].

## 1.5 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΟΥ ΒΙΟΜΑΖΑΣ

Ο βασικός στόχος της διεργασίας εξευγενισμού της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας είναι ο διαχωρισμός της λιγνοκυτταρίνης στα τρία κύρια συστατικά της την κυτταρίνη, την ημικυτταρίνη και τη λιγνίνη. Μέθοδοι επεξεργασίας ενός σταδίου, όπως η πυρόλυση, δεν είναι αποτελεσματικές, καθώς η βιομάζα αποτελεί ένα μίγμα πολλών διαφορετικών συστατικών. Προκειμένου ο διαχωρισμός να είναι αποτελεσματικός, απαιτείται ένα στάδιο προεπεξεργασίας της βιομάζας, το οποίο θα αλλάξει τα χαρακτηριστικά της φυσικής σύνδεσης των λιγνοκυτταρινικών υλικών, τροποποιώντας τη δομή του πλέγματος κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης [23].

Γενικά, η μετατροπή της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας σε καύσιμο περιλαμβάνει τρία κρίσιμα βήματα [8]:

- Την προεπεξεργασία (pretreatment),
- Την υδρόλυση (hydrolysis)
- Τη ζύμωση (fermentation).

Η προεπεξεργασία είναι το πρώτο και πιο σημαντικό στάδιο στην επεξεργασία, καθώς μετατρέπει και απλοποιεί την πολύπλοκη λιγνοκυτταρινούχο δομή της πρώτης ύλης, ώστε αυτή να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί μετέπειτα σε άλλες διεργασίες και αντιδράσεις και να μετατραπεί τελικά σε βιοκαύσιμο ή άλλα προϊόντα [22]. Στοχεύει στη λύση των δεσμών μεταξύ των ημικυτταρινών, στην επίδραση της κρυσταλλικής δομής της κυτταρίνης και στην αλλαγή του περιεχομένου της λιγνίνης [23].

Οι περισσότερες μέθοδοι προεπεξεργασίας εμπίπτουν σε κάποια από τις ακόλουθες κατηγορίες ή το συνδυασμό τους [8]:

1. φυσικές
2. χημικές
3. βιολογικές

Στόχος αυτών είναι να μειωθεί το μέγεθος τη βιομάζας και να ανοίξει η φυσική δομή της. Κάθε μέθοδος έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα [22].

### 1.5.1 ΦΥΣΙΚΕΣ

Οι φυσικές μέθοδοι επεξεργασίας της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας περιλαμβάνουν μηχανικές τεχνικές, όπως άλεση και κονιορτοποίηση, με σκοπό τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων του υλικού της βιομάζας, προκειμένου να είναι ευκολότερη η επεξεργασία του [9]. Κρίσιμη παράμετρος αποτελεί η κατανάλωση ενέργειας, που μπορεί να είναι μεγαλύτερη από την αξία του τελικού προϊόντος. Οι μηχανικές μέθοδοι επεξεργασίας, μόνες τους, δεν είναι επαρκείς και συνήθως συνδυάζονται με χημικές μεθόδους για να βελτιώσουν το κλάσμα υδρογονανθράκων, που λαμβάνεται στο τελικό ρεύμα. Οι φυσικές επεξεργασίες διεξάγονται σε θερμοκρασιακά εύρη 180-240°C, σε συνδυασμό με μηχανική ανάδευση. Με την έξοδό τους από τη δεξαμενή επεξεργασίας, η απότομη μείωση της θερμοκρασίας και της πίεσης, προκαλεί την αποκόλληση της

λιγνίνης από τα ινίδια κυτταρίνης. Οι μέθοδοι αυτές είναι πιο αποτελεσματικές σε ορισμένα είδη σκληρής ξυλείας και ξυλώδους βιομάζας [8][23].

### 1.5.2 ΧΗΜΙΚΕΣ

Οι χημικές μέθοδοι επεξεργασίας της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας περιλαμβάνουν μια ποικιλία μεθόδων που έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματικές σε ένα ευρύ φάσμα τύπων βιομάζας. Χρησιμοποιούνται συχνότερα από τις βιολογικές ή τις φυσικές καθώς είναι πιο αποτελεσματικές στη βιοαποικοδόμηση σύνθετων υλικών. Ακολούθως αναλύονται οι κυριότερες τεχνικές χημική επεξεργασίας [9][24].

#### – ΟΞΙΝΗ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η βιομάζα αφού προηγουμένως ξηραθεί, αναμιγνύεται με νερό και αραιό ή πυκνό όξινο διάλυμα, υπό συγκεκριμένη θερμοκρασία και για συγκεκριμένο χρόνο. Το προεπεξεργασμένο περιεχόμενο διηθείται προς διαχωρισμό του υγρού από το μη υδρολυμένο στερεό υπόστρωμα, το οποίο εν συνεχεία εκπλάινεται για την απομάκρυνση σακχάρων και οξέων [23]. Η διεργασία επηρεάζεται από το μέγεθος των σωματιδίων, τη θερμοκρασία, το χρόνο αντίδρασης, τη συγκέντρωση του οξέος και το λόγο υγρού/στερεού. Τα πιο συνήθη οξέα που χρησιμοποιούνται είναι το θειικό  $H_2SO_4$ , το φωσφορικό  $H_3PO_4$ , το νιτρικό  $HNO_3$  και το υδροχλωρικό  $HCl$  [24]. Κύρια αντίδραση που λαμβάνει χώρα είναι η υδρόλυση των άμορφων ημικυτταρινών (ξυλάνη) σε ευδιάλυτα σάκχαρα και ολιγομερή και η μερική αποδόμηση της προστατευτικής δομής της λιγνίνης. Οι άμορφες περιοχές της κυτταρίνης αποδομούνται, οδηγώντας σε διόγκωση των ινών κυτταρίνης και μια αύξηση στην κρυσταλλικότητα του προεπεξεργασμένου υλικού. Μπορεί να εξασφαλίσει υψηλούς ρυθμούς αντίδρασης και να βελτιώσει σημαντικά την υδρόλυση της κυτταρίνης [23][24].

#### Αραιού οξέος

Περιλαμβάνει την προσθήκη αραιού οξέος 0.2w/w%- 2.5w/w% στη βιομάζα και ακολούθως ανάμιξη σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 130-210°C. Η υδρόλυση με αραιό οξύ πραγματοποιείται σε δύο διαφορετικές συνθήκες, υψηλή θερμοκρασία  $T > 160^\circ C$  σε συνεχή κατάσταση για χαμηλό στερεό φορτίο και χαμηλή θερμοκρασία  $T < 160^\circ C$  σε εμβολική ροή για υψηλό στερεό φορτίο. [29] Εξασφαλίζονται μικροί χρόνοι αντίδρασης (δευτερόλεπτα ή μερικά λεπτά), και για αυτό ευνοούνται οι συνεχείς διεργασίες. Χαμηλές συγκεντρώσεις μικρότερες από 1% w/w θειικού ή φωσφορικού οξέος, απελευθερώνουν σημαντικά θρεπτικά συστατικά (θείο και φώσφορο) που εμπλουτίζουν την απορροή. Εναλλακτικά, η διεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί σε δύο διαδοχικά στάδια: πρώτα την προσθήκη ενός αρκετά αραιού οξέος για τη διάλυση των περισσότερων ημικυτταρινών στη βιομάζα και ακολούθως, την προσθήκη ενός λίγο πυκνότερου οξέος για την υδρόλυση όλης της εναπομείνουσας ημικυτταρίνης αλλά και κυτταρίνης. Σαν τεχνική επεξεργασίας, εξασφαλίζει υψηλό περιεχόμενο σε κυτταρίνη και χαμηλές απαιτήσεις σε ένζυμα. Η προεπεξεργασία με αραιωμένο οξύ μπορεί να καταστήσει δυσκολότερη τη ζύμωση της προεπεξεργασμένης βιομάζας, καθώς θα παρίστανται στο μίγμα αναστολείς ζύμωσης. Τα αραιά οξέα είναι λιγότερο αποτελεσματικά στην απομάκρυνση της λιγνίνης συγκριτικά με την αλκαλική. Η μέθοδος είναι αποτελεσματική για βιομάζα με χαμηλό περιεχόμενο σε λιγνίνη, καθώς αυτή δεν αφαιρείται από τη βιομάζα σε αντίθεση με την αλκαλική και τη φυσικοχημική μέθοδο προεπεξεργασίας [30]. Η διαλυτοποιημένη ημικυτταρίνη υπόκειται σε άλλες αντιδράσεις αφυδάτωσης για την παραγωγή χημικών, όπως η 4-υδροξυμεθυλοφουρουράλη (HMF) [23].

### Πυκνού οξέος

Κατά τη υδρόλυση με ισχυρό οξύ χρησιμοποιούνται πυκνά οξέα όπως  $H_2SO_4$  65-86 w/v%,  $HCl$  41% και  $H_3PO_4$  85%, για την προεπεξεργασία ξηρής (5-10% υγρασία) βιομάζας σε χαμηλές θερμοκρασίες (30-60°C) και πιέσεις. Το προεπεξεργασμένο μίγμα αραιώνεται με απιονισμένο νερό για τη σακχαροποίηση, η οποία λαμβάνει χώρα σε μέτριες θερμοκρασίες 70-121°C [23]. Η αποτελεσματικότητα της διεργασίας επηρεάζεται από τη συγκέντρωση του οξέος, το λόγο οξέος / βιομάζας, τη θερμοκρασία και το χρόνο. Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν οργανικά άλατα. Πλεονέκτημα της μεθόδου είναι είναι η υψηλή διάλυση της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης στο οξύ, με υψηλό ποσοστό σε απόδοση γλυκόζης, χωρίς να καθίσταται απαραίτητη η ανάγκη για επακόλουθη ενζυμική υδρόλυση. Κατά τη διεργασία παράγονται αναστολείς της ζύμωσης όπως υδροξυλομεθυλοφουρουράλες σε υψηλή συγκέντρωση, επιδρώντας αρνητικά στην αποτελεσματικότητα της μεθόδου [25][27][30].

Πλεονεκτήματα της όξινης προεπεξεργασίας είναι οι υψηλές αποδόσεις σε κυτταρίνη, η υψηλή διάλυση ημικυτταρίνης και η διάλυση της λιγνίνης στο οξύ, η οποία είναι αποτελεσματικότερη κατά την προεπεξεργασία με πυκνό οξύ. Ωστόσο τα αραιά και πυκνά οξέα είναι επικίνδυνα, διαβρωτικά και τοξικά υλικά και απαιτούν ειδικό εξοπλισμό, ανθεκτικό στη διάβρωση, που συνδέεται με υψηλό κόστος αγοράς και λειτουργίας. Πρόσθετους περιορισμούς αποτελούν η μεγάλη κατανάλωση ενέργειας, το κόστος του χρησιμοποιούμενου οξέος, το μέγεθος των σωματιδίων (λίγα mm) και η συγκέντρωση σε στερεά της βιομάζας (<30%) [24]. Η μέθοδος είναι αποτελεσματική για βιομάζα με χαμηλό περιεχόμενο σε λιγνίνη, καθώς αυτή δεν αφαιρείται από τη βιομάζα. Μεταξύ των οξέων που διατίθενται για την εφαρμογή της όξινης προεπεξεργασίας, τα  $H_2SO_4$  και  $H_3PO_4$  είναι φθηνά και αποτελεσματικά στην υδρόλυση της λιγνοκυτταρίνης. Το  $HCl$  είναι πιο πηκτικό, ανακτάται ευκολότερα και επιδρά στη βιομάζα πιο αποτελεσματικά από το  $H_2SO_4$ . Το  $HNO_3$  εξασφαλίζει καλό βαθμό μετατροπής κυτταρίνη σε σάκχαρο. Ωστόσο και τα δύο τελευταία είναι πιο ακριβά από το  $H_2SO_4$  [23][24] [25].

### – ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Κατά την αλκαλική επεξεργασία λιγνοκυτταρινούχα υλικά αναμιγνύονται με βάσεις όπως  $NaOH$ ,  $KOH$  και  $Ca(OH)_2$  σε συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης, με σκοπό την αποδόμηση των εσωτερικών και γλυκοζιτικών δεσμών του υλικού [23]. Εξασφαλίζεται μείωση του βαθμού πολυμερισμού και της κρυσταλλικότητας, αποδόμηση της λιγνίνης, και διόγκωση της κυτταρίνης με αύξηση της εσωτερικής επιφάνειας. Η μέθοδος εξάγει ημικυτταρίνες από πολυσακχαρίτες και παράγει οργανικά οξέα που ελαττώνουν το pH. Έχει καλύτερα αποτελέσματα για βιομάζα με χαμηλό λιγνιτικό περιεχόμενο [24]. Σχηματίζονται δύο ρεύματα, ένα υγρό στερεό κλάσμα που περιέχει κυρίως κυτταρίνη, κι ένα υγρό κλάσμα που περιέχει τις διαλυμένες ημικυτταρίνες, τη λιγνίνη και ορισμένα μη επεξεργασμένα ανόργανα χημικά. Τα στερεά διαχωρίζονται και εκπλύνονται με ζεστό ή καυτό νερό, έως ουδέτερου Ph, πριν την επακόλουθη υδρόλυσή τους. Η έκπλυση βοηθάει στην απομάκρυνση ενζυμικών αναστολέων και εναπομεινάντων μη αντιδρώντων συστατικών και βελτιώνει την απελευθέρωση σακχάρων [24].

Η αλκαλική προεπεξεργασία απαιτεί λιγότερο απαιτητικές συνθήκες συγκριτικά με άλλες μεθόδους και βασικές της παραμέτρους αποτελούν η φόρτιση με τη βάση, ο λόγος υγρού-στερεού, η θερμοκρασία και ο χρόνος της διεργασίας. Τα πιο συνήθη χημικά που χρησιμοποιούνται είναι υδροξείδιο του καλίου  $KOH$ , υδροξείδιο του νατρίου  $NaOH$ , υδροξείδιο του ασβεστίου  $CaOH_2$  και ανθρακικό νάτριο  $Na_2CO_3$ . Προεπεξεργασία σε

ατμοσφαιρικές συνθήκες απαιτεί μεγαλύτερους χρόνους παραμονής, ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις απαιτούνται χαμηλές αλκαλικές συγκεντρώσεις <4%w/w. Μια ήπια αλκαλική προεπεξεργασία ευνοεί την ενζυμική υδρόλυση ιδιαίτερα για υλικά με χαμηλό λιγνιτικό περιεχόμενο [23].

Γενικά μειονεκτήματα της αλκαλικής τεχνικής επεξεργασίας είναι [26]:

- Είναι ακατάλληλη για ξυλώδη βιομάζα, καθώς απαιτούνται συνθήκες για την κλασμάτωση της πολύπλοκης σκληρής δομής του ξύλου.
- Σε ακραίες συνθήκες υπάρχει πιθανότητα απώλειας ημικυτταρινών και σχηματισμός αναστολέων της συνολικής διεργασίας.
- Κατά την εξουδετέρωση προεπεξεργασμένων υποστρωμάτων μπορεί να σχηματιστούν άλατα, που καθιστά δύσκολη τη διαχείρισή τους. Η παρουσία των αλάτων δυσκολεύει τον καθαρισμό του υλικού από τα υπεροξειδία που χρησιμοποιήθηκαν στην προεπεξεργασία.
- Όταν εφαρμόζεται έκπλυση στο πέρας της διεργασίας μπορεί να υπάρξει απώλεια σε σάκχαρα. Ωστόσο, σε ήπιες συνθήκες επεξεργασίας (55°C), η έκπλυση μπορεί να παραλειφθεί καθώς οι σχηματιζόμενοι αναστολείς είναι λιγότεροι.
- Απαιτεί μεγαλύτερες ποσότητες καταλύτη, κάτι που καθιστά την ανάκτηση και επαναχρησιμοποίηση πιο δύσκολη ώστε η διεργασία να είναι οικονομικά βιώσιμη σε βιομηχανική κλίμακα.

Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η αποικοδόμηση των σακχάρων και τα προβλήματα διάβρωσης που συνδέονται με την αλκαλική μέθοδο επεξεργασίας, είναι λιγότερο σημαντικά συγκριτικά με την όξινη προεπεξεργασία. Μέχρι στιγμής τα NaOH και KOH σημειώνονται ως τα πιο αποτελεσματικά αλκαλικά χημικά προεπεξεργασίας για τη βελτίωση της αποικοδόμησης της βιομάζας. Ωστόσο και τα δυο συνδέονται με προβλήματα, που αναφέρονται συνοπτικά ακολούθως [24]:

- NaOH: υψηλή περιεκτικότητα Na στο ρεύμα εκροής που καθιστά δύσκολη την ανακύκλωσή του, περιορίζει την εφαρμογή σε βιομηχανική κλίμακα, υψηλό κόστος.
- KOH: υψηλό χημικό φορτίο, τοξικότητα σε μικρόβια, υψηλό κόστος για βιομηχανική κλίμακα, μόλυνση.
- Ca(OH)<sub>2</sub> (lime pretreatment) : βελτιώνει το ρυθμό υδρόλυσης της βιομάζας αφαιρώντας τις ακετυλομάδες και ένα σημαντικό κλάσμα λιγνίνης, μειώνοντας το σχηματισμό παραπροϊόντων και παρέχει καλύτερη πρόσβαση στην κυτταρίνη. Έχει χαμηλότερο κόστος, είναι πιο ασφαλές, φιλικό προς το περιβάλλον και ανακτάται εύκολα. Ωστόσο ως ασθενής βάση δύναται να μην βελτιώνει σημαντικά την αποικοδόμηση της βιομάζας όταν δρα μόνο του.

Επεξεργασία με καυστικό νάτριο NaOH

Αν και ακριβό χρησιμοποιείται ευρέως χάρη στην υψηλή σχετική αλκαλικότητα για την κλασμάτωση διαφόρων υλικών όπως αγροτικά υπολείμματα και ξύλο. Το αραιό NaOH χαλαρώνει τη δομή της βιομάζας, διαχωρίζει τους δεσμούς μεταξύ λιγνίνης και υδρογονανθράκων, αυξάνει την εσωτερική επιφάνεια της κυτταρίνης, μειώνει το βαθμό πολυμερισμού και την κρυσταλλικότητα και καταστρέφει τη δομή της λιγνίνης. Σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις γενικά μπορεί να προκαλέσει υψηλή απολιγνίνωση της βιομάζας, ενώ συγκεντρώσεις μεταξύ 6-20% μπορούν να οδηγήσουν σε διαλυτοποίηση της κυτταρίνης και περιορισμένη απομάκρυνση λιγνίνης [24].

Συγκριτικά με την όξινη υδρόλυση, η προεπεξεργασία με NaOH βελτιώνει την ενζυμική βιοαποικοδόμηση, χάρη στην υψηλότερη ικανότητα της αλκαλικής μεθόδου για απολιγνίνωση. Έχει χαμηλές περιβαλλοντικές επιπτώσεις και δεν απαιτούνται ειδικοί αντιδραστήρες για τη χρήση του. Σαν παράγοντας προεπεξεργασίας, ένα αλκαλικό υπεροξειδίο ευνοεί την ενζυμική υδρόλυση, καθώς είναι αποτελεσματικό στην αφαίρεση της λιγνίνης και παράγει αμελητέες ποσότητες αναστολέων. Άλλο πλεονέκτημα των υπεροξειδίων είναι η δυνατότητα χρήσης τους για την ανάκτηση της λιγνίνης και άλλων συστατικών, από υποστρώματα που προεπεξεργάζονται με άλλες μεθόδους, ώστε να εξασφαλίζονται υψηλότερες αποδόσεις σε σάκχαρα [26][28].

#### – ΥΓΡΗ ΟΞΕΙΔΩΣΗ

Η βιομάζα υπόκειται σε οξειδωση σε υδατικό διάλυμα, σε όξινες, ουδέτερες ή αλκαλικές συνθήκες, μέσω αντίδρασης με οξυγόνο (εισαγωγή αέρα) σε υψηλές θερμοκρασίες (125-315°C) και πιέσεις (0.5-5MPa) [22]. Η διεργασία ξεκινάει με ξήρανση και άλεση της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας, συνεχίζει με την προσθήκη νερού και Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> για τον περιορισμό των παραπροϊόντων και ακολούθως, εισάγεται αέρας στο σύστημα για την οξειδωση των συστατικών που έχουν διαλυθεί στο νερό. Το προεπεξεργασμένο αιώρημα φιλτράρεται για το διαχωρισμό των πλούσιων σε κυτταρίνη στερεών, από το πλούσιο σε ημικυτταρίνες διήθημα και το στερεό, εν συνεχεία, εκπλαίνεται με απιονισμένο νερό πριν την ενζυμική υδρόλυση. Με τη διεργασία επέρχεται οξειδωση των κλασμάτων ημικυτταρίνης σε ενδιάμεσα προϊόντα όπως καρβοξυλικά οξέα και από τις φαινολυκές δομές της λιγνίνης, ακεταλδεΐδες και αλκοόλες τελικά σε CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O. Βασική παράμετρος είναι η θερμοκρασία και λιγότερο η ποσότητα του οξυγόνου που εισάγεται. Η οξειδωση ευνοείται για υψηλές θερμοκρασίες, πιέσεις και τιμές pH [26]. Πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί η διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης που επέρχεται, η αφαίρεση της λιγνίνης και η κλασμάτωση των λιγνοκυτταρινικών υλικών. Ο συνδυασμός υγρής οξειδωσης με χημικές και φυσικοχημικές μεθόδους μπορεί να αυξήσει την απόδοση σε σάκχαρα. Η μέθοδος αυτή είναι αποτελεσματική για ένα εύρος αγροτικών αποβλήτων όπως άχυρο σίτου, σπόρους καλαμποκιού, ζαχαροκάλαμου και ελαιοκράμβης [22]. Μειονέκτημα αποτελεί το υψηλό κόστος λειτουργίας, λόγω των απαιτήσεων σε οξυγόνο υψηλής πίεσης και χημικών, όπως το ανθρακικό νάτριο, που προστίθεται στο αρχικό στάδιο της ανάμιξης για τον περιορισμό των παραπροϊόντων της ζύμωσης [24][26].

#### – ORGANOSOLV

Η μέθοδος χρησιμοποιεί οργανικούς διαλύτες όπως αιθανόλη, ακετόνη, αιθυλενογλυκόλη, οξικό οξύ ή αιθανικό οξύ για τον αποπολυμερισμό της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης. Οι οργανικοί διαλύτες ανακυκλώνονται και επαναχρησιμοποιούνται. Ωστόσο, ο πολτός της επεξεργασμένης βιομάζας χρειάζεται να εκπλυθεί με νερό, λόγω τη τοξικότητας των χρησιμοποιούμενων διαλυτών, κυρίως για το περιβάλλον δράσης των μικροοργανισμών. Χρησιμοποιούνται μεγάλες ποσότητες οργανικών διαλυτών, που διατηρούνται σε υψηλές συνθήκες θερμοκρασίας (< 200°C) και πίεσης, καθ' όλη τη διάρκεια της διεργασίας. Ο διαλύτης που επιλέγεται για τη διεργασία επηρεάζει καθοριστικά τα αποτελέσματά της. Παράγεται λιγνίνη υψηλής ποιότητας, η οποία δύναται να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή χημικών [25].

#### – ΙΟΝΤΙΚΑ ΥΓΡΑ

Αποτελεί μια πιο καινούρια μέθοδο προεπεξεργασίας της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας, με τη χρήση ιοντικών υγρών. Τα ιοντικά υγρά έχουν χαμηλή τάση ατμών και δύναται να ανακτηθούν και επαναχρησιμοποιηθούν για επακόλουθες επεξεργασίες, χαρακτηριστικό που τα καθιστά πολύ ελκυστικά και ασφαλή στη χρήση [26]. Στη



διεργασία αυτή, η βιομάζα διαλυτοποιείται σε διαλύτη, σε θερμοκρασιακό εύρος 30-190°C και πίεση περιβάλλοντος, και ακολουθεί προσθήκη νερού, που οδηγεί στην καταβύθιση ιζήματος. Η διεργασία ολοκληρώνεται με έκπλυση του ιζήματος. Η δομή της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης παραμένουν αναλλοίωτες με το πέρας της προεπεξεργασίας με ιοντικά υγρά, επιτρέποντας την επιλεκτική εκχύλιση της μη τροποποιημένης λιγνίνης. Επεξεργασία με ιοντικά υγρά που έχει διεξαχθεί, έχει εξασφαλίσει υψηλές αποδόσεις σε σάκχαρα για μεγάλη ποικιλία τροφοδοσιών. [25]

### – ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΑΠΟΛΙΓΝΙΝΩΣΗ

Περιλαμβάνει την επεξεργασία της βιομάζας με οξειδωτικούς παράγοντες, όπως όζον, υδρογόνο, υπεροξειδίο ή οξυγόνο [25]. Οξειδωτικοί παράγοντες με αρωματικούς δακτυλίους μετατρέπουν το πολυμερές της λιγνίνης σε καρβοξυλικά οξέα, που αποτελούν αναστολείς των μικροοργανισμών. Ωστόσο, τμήμα του κλάσματος ημικυτταρίνης μπορεί να αποικοδομηθεί. Παράδειγμα οξειδωτικής απολιγνίνωσης αποτελεί η οζονόλυση, κατά την οποία αποικοδομείται μόνο η λιγνίνη, ενώ η ημικυτταρίνη και η κυτταρίνη δεν υφίσταται αποδόμηση. Ο ρυθμός της ενζυματικής υδρόλυσης της βιομάζας που έχει προεπεξεργαστεί με όζον αυξάνεται, λόγω της απομάκρυνσης λιγνίνης κατά την προεπεξεργασία [26].

## 1.5.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ

Ως βιολογική προεπεξεργασία καλείται η αποδόμηση της δομής της λιγνίνης στο κυτταρικό τοίχωμα των φυτών με τη χρήση μικροβίων ή/και ενζύμων ως καταλύτες και πραγματοποιείται στο πρώτο στάδιο της υδρόλυσης. Είναι συνήθως μη τοξικές και φιλικές προς το περιβάλλον μέθοδοι, έχουν χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις και δεν παράγουν αναστολείς στα εκρέοντα ρεύματα της διεργασίας. Οι συνθήκες μιας βιολογικής μεθόδου επεξεργασίας εξαρτώνται από φυσικές, χημικές και βιολογικές παραμέτρους, όπως η θερμοκρασία και το μέγεθος των σωματιδίων, το pH και το είδος των μικροοργανισμών αντίστοιχα [23]. Οι βιολογικές μέθοδοι απαιτούν μεγαλύτερους χρόνους αντίδρασης, και είναι απαραίτητος ο συνδυασμός τους με άλλες με φυσικές ή χημικές διεργασίες για την εξολοκλήρου επεξεργασία τη λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας σε βιομηχανική κλίμακα [19]

## 1.5.4 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΗ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

### – ΕΚΡΗΞΗ ΜΕ ΑΤΜΟ

Η λιγνοκυτταρινική ύλη εκτίθεται σε κορεσμένο ατμό υψηλής πίεσης σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 16-200°C για ορισμένα λεπτά [23]. Η πίεση σταδιακά εκτονώνεται και ο ατμός διαχέεται εντός του λιγνοκυτταρινικού πλέγματος, προκαλώντας το διαχωρισμό μεμονωμένων ινών και την προσβολή της δομής του κυτταρικού τοιχώματος. Προαιρετικά μπορεί να προστεθεί οξύ ως καταλύτης [23]. Χωρίς την προσθήκη

εξωγενούς όξινου καταλύτη στην βιομάζα η διεργασία καλείται auto-hydrolysis. Ωστόσο, ο αποπολυμερισμός της λιγνίνης μπορεί να είναι πιο έντονος και αποτελεσματικός με προσθήκη 1% όξινης επεξεργασίας. Παράμετροι που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της διεργασίας είναι η περιεχόμενη υγρασία, το μέγεθος των μορίων, ο χρόνος παραμονής και η θερμοκρασία. Το κόστος της διεργασίας μπορεί να μειωθεί σημαντικά, με τη χρήση μεγαλύτερων σωματιδίων. Η υδρόλυση και η διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης μπορούν να επιτευχθούν είτε με χαμηλές θερμοκρασίες και μεγάλο χρόνο παραμονής (190°C, 10 λεπτά), είτε με υψηλές θερμοκρασίες και μικρότερο χρόνο (270°C, 1 λεπτό). Η τελική επιλογή των δύο παραμέτρων, επηρεάζεται από τη μέθοδο προεπεξεργασίας και τον τύπο της πρώτης ύλης [23]. Η μέθοδος είναι αποτελεσματική για την προεπεξεργασία αγροτικών υπολειμμάτων και σκληρής ξυλείας (hardwood), και λιγότερο για μαλακή ξυλεία (softwood), όπου είναι απαραίτητη η χρήση καταλύτη. Μειονέκτημα της τεχνικής αποτελεί η ατελής καταστροφή του πλέγματος της λιγνίνης, που οδηγεί σε καταβύθιση και συμπύκνωση διαλυτών συστατικών λιγνίνης. Αυτό καταστρέφει ένα κλάσμα ξυλάνης στην ημικυτταρίνη και σχηματίζει αναστολές ζύμωσης σε υψηλότερες θερμοκρασίες, με αποτέλεσμα η βιομάζα να αποικοδομείται δυσκολότερα [6][23]

#### – ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ

Τα συστατικά του ηλεκτρικού και του μαγνητικού πεδίου των μικροκυμάτων εφαρμόζουν δυνάμεις που αλλάζουν σε προσανατολισμό ταχύτητα, με ρυθμό  $2,4 \cdot 10^9$  φορές το δευτερόλεπτο. Η MWR επιταχύνει τις βιολογικές, χημικές και φυσικές διεργασίες λόγω της θερμότητας και των αυξημένων συγκρούσεων που προκαλεί η δόνηση των πολικών μορίων και η ιοντική κίνηση. Η αποτελεσματικότητά της επηρεάζεται από τις διηλεκτρικές ιδιότητες της λιγνοκυτταρινούχου ύλης. Η ικανότητα ενός υλικού να αποθηκεύει ηλεκτρομαγνητική ενέργεια μετράται με τη διηλεκτρική του σταθερά, ενώ η ικανότητά του να μετατρέπει ηλεκτρομαγνητική ενέργεια σε θερμότητα από το συντελεστή διηλεκτρικής απώλειας. Ο λόγος του συντελεστή διηλεκτρικής απώλειας προς τη διηλεκτρική σταθερά υπολογίζεται για τον καθορισμό της απόδοσης της μεθόδου. Διεξάγεται ακόμη σε εργαστηριακή κλίμακα, καθώς ο εξοπλισμός είναι αρκετά μικρός και υπάρχει ακόμα δυσκολία στην ενδεχόμενη βιομηχανική εφαρμογή της [23].

#### 1.5.5 ΥΔΡΟΘΕΡΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η διεργασία περιλαμβάνει τη χρήση νερού σε υψηλή πίεση (μεγαλύτερη της πίεσης κορεσμού), ώστε να παραμείνει στην υγρή φάση [27]. Το νερό λειτουργεί ταυτόχρονα ως διαλύτης και αντιδρών, η διηλεκτρική του σταθερά μειώνεται με τη θερμοκρασία, και λειτουργεί σαν μη πολικός διαλύτης. Δρα διασπώντας τους εσωτερικούς και αιθερικούς δεσμούς της ημικυτταρίνης καθιστώντας ευκολότερη την υδρόλυση [9]. Οι ασταθείς ακετυλομάδες της ημικυτταρίνης σχηματίζουν οξέα που ελαττώνουν το pH του συστήματος. Με τη μέθοδο μπορεί να εξασφαλιστεί ανάκτηση ξυλόζης από 88% έως και 98%. Μεταξύ των μεθόδων επεξεργασίας η υδροθερμική μέθοδος είναι φιλική προς το περιβάλλον, συγκριτικά με τη χημική μέθοδο, καθώς κάνει χρήση μόνο νερού ως μέσου αντίδρασης, χωρίς πρόσθετα χημικά. Η ημικυτταρίνη απομακρύνεται αποτελεσματικά από τη λιγνοκυτταρική βιομάζα και στο προκύπτον υδρόλυμα, κυρίαρχα σάκχαρα είναι η ξυλόζη και διάφορα ξυλο-ολιγοσακχαρίδια. Τα ολιγοσακχαρίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοχημικών, βιοκαυσίμων και βιοϋλικών [27].

# 2

ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ  
ΧΩΝΕΥΣΗ



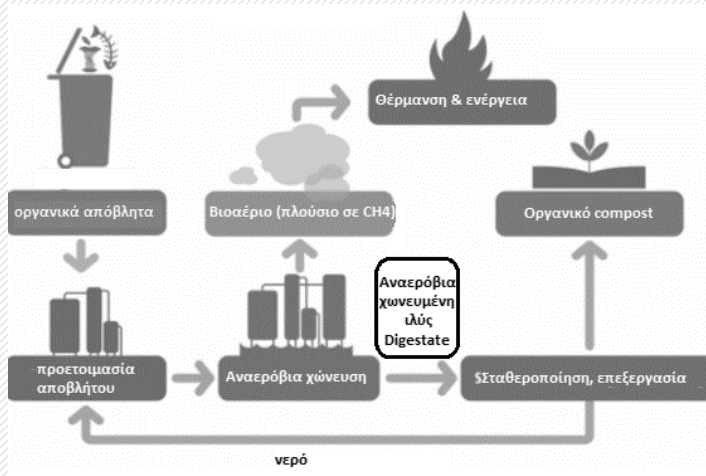
## 2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αναερόβια χώνευση, είναι μια τεχνολογία που χρησιμοποιείται από τον άνθρωπο εδώ και αιώνες, με τα πρώτα δείγματά της να εντοπίζονται ήδη από τον 10ο αιώνα Π.Χ. Ωστόσο, η βιομηχανοποίηση της αναερόβιας χώνευσης ξεκίνησε το 1859 με την πρώτη εγκατάσταση στη Βομβάη [31]. Σταδιακά και με την κατανόηση των οφελών από τη χρήση της, άρχισε να εξαπλώνεται, ώστε σήμερα να αποτελεί μία ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική διαχείρισης αποβλήτων και άλλων ροών. Ως μία τεχνολογία ανανεώσιμης ενέργειας, αξιοποιεί μία φυσικά βιολογική διεργασία, χρησιμοποιώντας διαθέσιμες πηγές βιομάζας, όπως απόβλητα τροφίμων, ζωική βιομάζα και ενεργειακές καλλιέργειες, για την παραγωγή βιοαερίου. Το βιοαέριο, με κύρια συστατικά το μεθάνιο και το διοξείδιο του άνθρακα, μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή ενέργειας και θερμότητας, ή να αναβαθμιστεί για άλλες χρήσεις όπως καύσιμο για μεταφορές. Πρόκειται για μία τεχνικά απλή και σχετικά οικονομική τεχνολογία, που καταναλώνει λιγότερη ενέργεια και χώρο και παράγει μικρότερες ποσότητες αποβλήτων συγκριτικά με τις συμβατικές αερόβιες τεχνολογίες [30]. Η αυξημένη βιομηχανοποίηση στον κόσμο έχει οδηγήσει στο σχηματισμό μεγάλων ποσοτήτων βιομηχανικών απορροών με υψηλό οργανικό περιεχόμενο, το οποίο εφόσον επεξεργαστεί καταλλήλως, δύναται να αποτελέσει μία αξιόλογη πηγή ενέργειας. Η αναερόβια χώνευση μοιάζει να είναι η πιο κατάλληλη εναλλακτική για τη διαχείρισή τους.

## 2.2. ΔΙΕΡΓΑΣΙΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

Η αναερόβια χώνευση (ΑΧ) είναι μια διεργασία, κατά την οποία οργανική ύλη αποσυντίθεται υπό την επίδραση μικροοργανισμών, απουσία οξυγόνου. Προκύπτει φυσικά στο έδαφος και τις λίμνες [9]. Η ίδια διεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε ειδικούς χωνευτήρες που χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία απόβλητων υλικών. Ιδιαίτερα η αναερόβια χώνευση λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας έχει αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια για την αποικοδόμηση αγροτικών υπολειμμάτων, όπως αχύρου σίτου, ρυζιού αλλά και λοιπών υπολειμμάτων. Σε κάθε περίπτωση, το προϊόν της διεργασίας είναι ένα μίγμα αερίων, που καλείται βιοαέριο, με κύριο συστατικό κατά 45-60% το μεθάνιο, διοξείδιο του άνθρακα κατά 30-40% και μικρότερες ποσότητες άλλων αερίων και υγρασίας. Το αέριο αυτό μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή ηλεκτρικής ή θερμικής ενέργειας. Μία τυπική σύσταση του βιοαερίου που παράγεται από διεργασίες αναερόβιας χώνευσης παρατίθεται στον Πίνακα 1-4. Συν προϊόν της αναερόβιας χώνευσης αποτελεί το υλικό που παραμένει στον αντιδραστήρα μετά την απομάκρυνση του βιοαερίου, το οποίο καλείται 'αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς' ή digestate και αποτελεί ένα οργανικό μίγμα που είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά. Μπορεί να αξιοποιηθεί ως εδαφοβελτιωτικό ή λίπασμα για τον αγροτικό τομέα, την παραγωγή τροφίμων ή να κομποστοποιηθεί με άλλα απόβλητα [48]. Εκτός της παραγωγής των χρήσιμων αυτών προϊόντων, η διεργασία συμβάλλει στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, τον ευτροφισμό και την εξάντληση του διαλελυμένου οξυγόνου. Επηρεάζεται από πληθώρα παραμέτρων, όπως η θερμοκρασία, το pH, τα θρεπτικά υλικά του υποστρώματος και το χρόνο υδραυλικής παραμονής. Η σύσταση και η θερμογόνος αξία του παραγόμενου μεθανίου εξαρτάται από το χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα και τις συνθήκες της χώνευσης [32].

Συστατικό	Σύσταση (%)
Μεθάνιο CH <sub>4</sub>	45-65%
Διοξείδιο του άνθρακα CO <sub>2</sub>	30-40%
Υδροθείο H <sub>2</sub> S	0,3-3%
Αμμωνία NH <sub>3</sub>	0-1%
Υγρασία H <sub>2</sub> O	0-10%
Άζωτο N <sub>2</sub>	0-5%
Οξυγόνο O <sub>2</sub>	0-2%
Υδρογόνο	0-1%



Πίνακας 2-1: Τυπική σύσταση βιοαερίου

Εικόνα 2-1: Σχηματική απεικόνιση της διεργασίας της αναερόβιας

### 2.2.1. ΣΤΑΔΙΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

Η αναερόβια χώνευση είναι μία σύνθετη βιοχημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα σε συγκεκριμένα στάδια από διάφορους μικροοργανισμούς, οι οποίοι χρειάζονται οξυγόνο για να ζήσουν [29]. Σε ένα αναερόβιο περιβάλλον, εξειδικευμένοι μικροοργανισμοί αποσυνθέτουν την πολύπλοκη οργανική ύλη (υδρογονάνθρακες, πρωτεΐνες, λίπη) σε μόρια με μικρότερη ατομική μάζα, που είναι ευδιάλυτα στο νερό (σάκχαρα, αμινοξέα, λιπαρά οξέα). Η συνολική διεργασία μετατροπής πραγματοποιείται σε τέσσερα στάδια, την υδρόλυση, την οξεογένεση, την ακετογένεση και τη μεθανογένεση, κάθε μία από τις οποίες επιτελείται από μια διαφορετική ομάδα μικροοργανισμών. Ορισμένοι μελετητές συμπίπτουν τα στάδια της οξεογένεσης και ακετογένεσης σε ένα, τροποποιώντας το συνολικό αριθμό σταδίων σε τρία. Σε έναν αναερόβιο χωνευτήρα οι 4 διεργασίες πραγματοποιούνται παράλληλα. Όταν αυτός λειτουργεί καλά, η μετατροπή των προϊόντων των τριών πρώτων σταδίων σε βιοαέριο είναι σχεδόν πλήρης, ώστε η συγκέντρωση των προϊόντων αυτών να είναι χαμηλή κάθε χρονική στιγμή. Τα επιμέρους στάδια πιο αναλυτικά είναι [30]:

1<sup>ο</sup> στάδιο - Υδρόλυση: Η υδρόλυση είναι το πρώτο στάδιο της ΑΧ κατά την οποία τα πολύπλοκα οργανικά πολυμερή που συστήνουν τη βιομάζα, όπως λιπίδια, υδρογονάνθρακες, και πρωτεΐνες, διασπώνται σε μικρότερα ευδιάλυτα μονομερή συστατικά, όπως λιπαρά οξέα, σάκχαρα και αμινοξέα. Χωρίς αυτό το στάδιο η πολύπλοκη χημική σύσταση της βιομάζας θα ήταν απροσπέλαστη από τους μικροοργανισμούς. Πραγματοποιείται από τα υδρολυτικά βακτήρια. Ένα βέλτιστο θερμοκρασιακό εύρος για τη διεκπεραίωση του σταδίου αυτού κυμαίνεται μεταξύ 30- 50°C και το βέλτιστο pH από 5 έως 7.

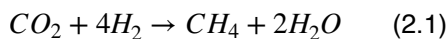
2<sup>ο</sup> στάδιο - Χώνευση ή οξεογένεση: αποτελεί το αμέσως επόμενο στάδιο της ΑΧ, κατά το οποίο πραγματοποιείται η περαιτέρω αποδόμηση των προϊόντων της υδρόλυσης, υπό τη δράση οξεογενών βακτηρίων. Τα βακτήρια αυτά παράγουν ενδιάμεσα πτητικά λιπαρά οξέα (VFAs) και άλλα προϊόντα. Οι συγκεντρώσεις σε πτητικά οργανικά οξέα υφίστανται διακυμάνσεις ανάλογα με το pH λειτουργίας του χωνευτήρα. Δημιουργούν

ένα όξινο περιβάλλον εντός του χωνευτήρα καθώς σχηματίζουν αμμωνία, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S μικρότερα πτητικά λιπαρά οξέα, καρβοξυλικά οξέα, αλκοόλες αλλά και ίχνη άλλων παραπροϊόντων. Αν και τα βακτήρια αυτά είναι αποτελεσματικά στην αποδόμηση της οργανικής ύλης, αυτή πρέπει να διασπαστεί περαιτέρω, σε ακόμη μικρότερα μόρια για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος παραγωγής μεθανίου, και για αυτό η βιομάζα υπόκειται σε ένα νέο στάδιο, εκείνο της ακετογένεσης. Σε αντίθεση με τα άλλα στάδια, αυτό της οξεογένεσης εξελίσσεται γρηγορότερα, με τα οξεογενή βακτήρια να έχουν ρυθμό αναγέννησης μικρότερο από 36 ώρες.

3<sup>ο</sup> στάδιο- Οξικογένεση: είναι η διεργασία μετατροπής ενός προϊόντος της οξεογένεσης σε οξικό άλας, που αποτελεί παράγωγο του οξικού οξέος, υπό τη δράση οξικογενών βακτηρίων (acetogens). Αυτά καταβολίζουν πολλά από τα προϊόντα της οξεογένεσης σε οξικό οξύ, CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>, που αξιοποιούνται εν συνεχεία από τα μεθανογενή βακτήρια για την παραγωγή μεθανίου.

4<sup>ο</sup> στάδιο- Μεθανογένεση: αποτελεί το τελικό στάδιο της ΑΧ, κατά το οποίο μεθανογόνα βακτήρια παράγουν μεθάνιο, από τα τελικά προϊόντα της οξικογένεσης και από ορισμένα άλλα, ενδιάμεσα προϊόντα της υδρόλυσης και της οξεογένεσης. Η διεργασία επιτελείται από δύο ομάδες μεθανογενών βακτηρίων τα acetoclastic (acetate consumers) και hydrogen utilizing methanogens (carbon dioxide reducing methanogens). Τα πρώτα μετατρέπουν το οξικό οξύ σε μεθάνιο, αξιοποιώντας το διοξείδιο του άνθρακα και το υδρογόνο, σαν δέκτες και δότες ηλεκτρονίων αντίστοιχα. Οι διάφορες μικροβιακές αλληλεπιδράσεις είναι πολύπλοκες και επηρεάζουν το ρυθμό αντίδρασης και προκαλούν συσσωρεύσεις ανασταλτικών ουσιών. Μεταξύ όλων των μικροβιακών ομάδων, τα μεθανογενή έχουν το μικρότερο χρόνο ανάπτυξης, και συνεπώς η ανάπτυξή τους αποτελεί το ρυθμιστικό στάδιο της διεργασίας της ΑΧ.

Η μεθανογένεση πραγματοποιείται με δύο πιθανές χημικές οδούς, που περιλαμβάνουν τη χρήση οξικού οξέος και διοξειδίου του άνθρακα, τα δύο κύρια προϊόντα των τριών πρώτων σταδίων της ΑΧ. Έτσι, σχηματίζεται μεθάνιο, σύμφωνα με τις αντιδράσεις:



Αν και το διοξείδιο μετατρέπεται σε μεθάνιο και νερό σύμφωνα με την αντίδραση, ο κύριος μηχανισμός σχηματισμού του κατά το στάδιο της μεθανογένεσης είναι σύμφωνα με τη δεύτερη οδό. Το στάδιο αυτό παράγει μεθάνιο και διοξείδιο, τα δύο κύρια προϊόντα της αναερόβιας χώνευσης [66].

### 2.2.2 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ

Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης είναι πολύπλοκη στη φύση, αποικοδομώντας κάθε τύπου οργανική ύλη, απουσία οξυγόνου. Οι μικροοργανισμοί, που είναι απαραίτητοι για την εξέλιξη της αναερόβιας χώνευσης, παρουσιάζουν ευαισθησία σε ορισμένες παραμέτρους, επηρεάζοντας τη συνολική απόδοση της διεργασίας. Τέτοιες παραμέτρους αποτελούν η θερμοκρασία, το pH, ο λόγος άνθρακα/αζώτου, η αλκαλικότητα, ο ρυθμός της οργανικής φόρτισης, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής και η συγκέντρωση των πτητικών λιπαρών οξέων. Αυτές πρέπει να ελέγχονται και να διατηρούνται σε συγκεκριμένα επίπεδα, ώστε να εξασφαλίζεται η αποτελεσματική διεργασία [30][32][33].

## – ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ

Αποτελεί μία από τις σημαντικότερες παραμέτρους για την επιβίωση των μικροοργανισμών στο περιβάλλον της αναερόβιας χώνευσης. Τα αναερόβια βακτήρια είναι πολύ ευαίσθητα στη θερμοκρασία και γενικά, μείωσή της οδηγεί σε μείωση στο σχηματισμό των πτητικών λιπαρών οξέων, μεταβολισμό μικροβίων και περιορισμένη απόδοση σε βιοαέριο. Για διαφορετικές διεργασίες χώνευσης χρησιμοποιείται ένα διαφορετικό εύρος θερμοκρασιών. Υπάρχουν τρία θερμοκρασιακά εύρη για την διεργασία της ΑΧ που σχετίζονται με τα θερμοκρασιακά όρια της μικροβιακής δραστηριότητας [31]:

- Ψυχρόφιλο, κάτω από 20°C
- Μεσόφιλο 20-45°C
- Θερμόφιλο 55-70°C

Η μεσοφιλική ΑΧ λειτουργεί σε χαμηλότερη θερμοκρασία, όπου η χώνευση είναι πιο αργή και αποδίδει σε λιγότερο βιοαέριο. Ωστόσο, είναι ελκυστική λόγω του χαμηλότερου ενεργειακού της κόστους. Η θερμοφιλική λαμβάνει χώρα σε υψηλότερη θερμοκρασία, με αποτέλεσμα να συνδέεται με αυξημένο ρυθμό αντίδρασης, μεγαλύτερο ποσοστό αποδόμησης οργανικών στερεών, καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών και αυξημένη παραγωγή βιοαερίου. Όμως, παρουσιάζει ευαισθησία στις τοξικές ουσίες και έχει υψηλότερες ενεργειακές απαιτήσεις. Έτσι, οι βέλτιστες συνθήκες για την ΑΧ θα ήταν υδρόλυση στην θερμοφιλική περιοχή και μεθανογενεση στη μεσοφιλική [64]. Ακόμη σημειώνεται χώνευση σε συνήθεις θερμοκρασίες, που χρησιμοποιείται για οργανικά υποστρώματα. Αυτό δεν απαιτεί πρόσθετα ποσά θερμότητας αλλά εξασφαλίζει χαμηλότερη απόδοση σε βιοαέριο και μικρότερη σταθερότητα από ότι θερμοφιλή και μεσόφιλη αναερόβια χώνευση [31][33].

## – pH

Το pH επηρεάζει άμεσα τη διεργασία της ΑΧ και τα ενδιάμεσα προϊόντα της. Το κατάλληλο εύρος pH είναι 6.8-7.4 και καθορίζεται από την ευαισθησία που παρουσιάζουν τα διάφορα είδη μικροοργανισμών, που φέρουν εις πέρας τη διεργασία. Μεταξύ αυτών, τα μεθανογόνα βακτήρια είναι πολύ ευαίσθητα σε απότομες αλλαγές του pH. Κατά τη διεργασία της αναερόβιας χώνευσης παράγονται οργανικά οξέα και αμμωνία, είτε από τις μεταβολικές διεργασίες των μικροοργανισμών, είτε επειδή περιέχονταν εξαρχής στο ρεύμα της τροφοδοσίας. Σε φυσιολογικές συνθήκες, το σύστημα μπορεί και αυτορυθμίζεται από τα ανθρακικά ανιόντα  $\text{HCO}_3^-$  που παράγονται από τα οξικογόνα και μεθανογόνα βακτήρια [32]. Όταν όμως η αλκαλικότητα είναι χαμηλή, το σύστημα απορυθμίζεται, τα οργανικά οξέα συσσωρεύονται, μειώνοντας το pH του αντιδραστήρα. Επίσης, με την πρόοδο της διεργασίας, αυξάνεται και το ποσό της παραγόμενης αμμωνίας, οδηγώντας και σε αύξηση της τιμής pH σε 7-7.1. Όταν φτάσει σε pH 7.2-8.2 παραγωγή μεθανίου στο σύστημα σταθεροποιείται. [63] Κατά την αποδόμηση αγροτικών υπολειμμάτων, το στάδιο της οξικογένεσης είναι πολύ γρήγορο, κάτι που αναστέλλει τη διεργασία λόγω του μειωμένου pH. Σε αυτήν την περίπτωση η πτώση του pH αποφεύγεται με τη χρήση lime. Γενικά, πτώση του pH υποδεικνύει μεγαλύτερο ποσοστό παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα. Τα βακτήρια οξεογένεσης και μεθανογένεσης έχουν βέλτιστο εύρος pH για λειτουργία σε τιμές pH 5.5-6.5 και pH 6.5-8.2 αντίστοιχα. Για το λόγο αυτό, σε ορισμένες περιπτώσεις, στον αναερόβια χωνευτήρα τα στάδια της υδρόλυσης και μεθανογένεσης δύναται να διαχωρίζονται [31][33].

#### – ΡΥΘΜΟΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΦΟΡΤΙΣΗΣ (OLR) ΚΑΙ ΥΔΡΑΥΛΙΚΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΠΑΡΑΜΟΝΗΣ (HRT)

Ο ρυθμός παροχής του οργανικού υλικού σε ένα σύστημα αναερόβιας χώνευσης είναι πολύ καθοριστικός για τη σταθερότητα της συνολικής διεργασίας. Ως ρυθμός οργανικής φόρτισης (OLR) ορίζεται το ποσό της πτητικής ύλης που τροφοδοτείται στον αναερόβιο χωνευτήρα ανά ημέρα, υπό συνθήκες συνεχούς λειτουργίας. Υψηλή συγκέντρωση τροφοδοσίας οδηγεί σε αλλαγή του περιβάλλοντος του αντιδραστήρα και προσωρινά αναστέλλει τη μικροβιακή δραστηριότητα, κατά την πρώτη φάση της χώνευσης. Υψηλή τιμή του OLR αυξάνει την υδρολυτική και χωνευτική δράση των βακτηρίων, συγκριτικά με εκείνη του σταδίου της μεθανογένεσης, οδηγώντας έτσι στη συσσώρευση οξέων. Ο ρυθμός παραγωγής βιοαερίου είναι ανάλογος του OLR και αυξάνεται με τη μείωση του. Αναλόγως επηρεάζεται και ο πληθυσμός των βακτηρίων [30][32].

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής είναι ο μέσος χρόνος παραμονής του προς χώνευση υλικού, στον αντιδραστήρα και δίνεται από τη σχέση  $HRT = VR/Q_w$ , όπου VR ο όγκος και  $Q_w$  η ημερήσια ογκομετρική παροχή του απόβλητου. Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής ενός χωνευτήρα πρέπει να είναι αρκετά μεγάλος ώστε να ολοκληρώνεται ο κυτταρικός κύκλος των αναερόβιων μικροοργανισμών. Μικρότερος χρόνος παραμονής ενδέχεται να οδηγήσει στην έξοδο από το σύστημα ενεργού βιομάζας, ενώ πολύ μεγάλοι χρόνοι απαιτούν μεγαλύτερο όγκο αντιδραστήρα και κατ' επέκταση υψηλότερα κόστη. Σε θερμοφιλικά και μεσοφιλικά εύρη λειτουργίας του χωνευτήρα, προκύπτουν χαμηλοί υδραυλικοί χρόνοι παραμονής, χωρίς να επηρεάζονται οι υπόλοιπες διεργασίες [30].

#### – ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ

Αποτελεί σημαντικό παράγοντα που διαμορφώνει τα χαρακτηριστικά του πληθυσμού των μικροοργανισμών, που αναπτύσσονται εντός του αναερόβιου χωνευτήρα. Εκτός από τα απαραίτητα θρεπτικά, όπως ο άνθρακας και το άζωτο, τα οποία καλύπτονται σε μεγάλο βαθμό από την τροφοδοσία, είναι απαραίτητη η προσθήκη, στο μέσο, συγκεκριμένων ιχνοστοιχείων, για την ανάπτυξη και το μεταβολισμό μικροοργανισμών, καθώς πολλοί από αυτούς δεν μπορούν να συνθέσουν όλες τις απαραίτητες βιταμίνες και τα αμινοξέα. Αν το υλικό δεν περιέχει τις αναγκαίες ποσότητες, γίνεται εξισορρόπηση με την προσθήκη θρεπτικών. Ιχνοστοιχεία που είναι απαραίτητα αποτελούν ο σίδηρος Fe, το νικέλιο Ni, το μαγνήσιο Mg, το κοβάλτιο Co, το μολυβδαίνιο Mo, το νάτριο Na το ασβέστιο Ca, ο χαλκός Cu, το βάριο Ba, το σελήνιο Se και ο ψευδάργυρος Zn και σχετίζονται με τη σωστή ενζυμική λειτουργία και τη μετατροπή του οξικού οξέος σε μεθάνιο [32]. Με το λόγο C/N προσδιορίζεται η σύσταση σε άνθρακα και άζωτο του οργανικού υποστρώματος, αποτελεί μια ευαίσθητη παράμετρο που καθορίζει το σύστημα. Προκειμένου η διεργασία της χώνευσης να είναι αποτελεσματική, η τιμή του λόγου πρέπει να διατηρείται σε ένα επιθυμητό εύρος: βέλτιστα εύρη αποτελούν 16-25 ή 20-30 ή 20-35. Υψηλή τιμή του λόγου υποδεικνύει περιορισμένη διάλυση πρωτεϊνών, μικρή διαθεσιμότητα σε άζωτο, που απαιτείται για τη διατήρηση της επιθυμητής ροής μικροοργανισμών στον αντιδραστήρα, και τελικά οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή βιοαερίου και αντίστροφα. Χαμηλή τιμή του λόγου υποδεικνύει περίσσεια αζώτου στο σύστημα, που συνδέεται με αυξημένη παραγωγή αμμωνίας, η συσσώρευση της οποίας είναι τοξική για τα μεθανογενή βακτήρια και δρα ανασταλτικά στην παραγωγή του βιοαερίου. Μελέτες υποδεικνύουν ότι ο λόγος C/N διαφοροποιείται με τη θερμοκρασία [32][30].

#### – ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΝΑΔΕΥΣΗΣ/ΑΝΑΜΙΞΗΣ

Ανάμιξη είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση της ομοιογένειας του μίγματος, την αποτελεσματική αλληλεπίδραση μεταξύ μικροβίων και οργανικής ύλης και την αποφυγή κατακάθισης υλικού. Η ανάμιξη



πραγματοποιείται σε συνεχή ή διαλείπουσα λειτουργία. Γρήγοροι ρυθμοί ανάμιξης μειώνουν την παραγωγή βιοαερίου. Ο βαθμός της ανάδευσης εξαρτάται επίσης από τη συγκέντρωση σε στερεά στον αντιδραστήρα. Η αποτελεσματικότητα της ανάμιξης μετράται με υδροδυναμικά τεστ, που υπολογίζουν αν ο αντιδραστήρας λειτουργεί στη μέγιστη χωρητικότητά του. Ανακυκλοφορία αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος ή βιοαερίου μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για αναδευτικούς σκοπούς [33].

#### – ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Τοξικές ουσίες, είτε προϋπάρχουν στο σύστημα, είτε δημιουργούνται κατά την αποσύνθεση του υποστρώματος. Οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ευαισθησία σε αρκετές ουσίες, η οποία αυξάνεται για τους διάφορους τύπους βακτηρίων με την εξής σειρά: οξεογενής < οξικογενής < μεθανογενής βακτήρια [34]. Η αναστολή της δράσης των μικροοργανισμών αυτών, στα διάφορα στάδια της χώνευσης, μπορεί να δράσει ανασταλτικά στην παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος του βιοαερίου και για το λόγο αυτό πρέπει να ελέγχονται οι συνθήκες της συνολικής διεργασίας. Μεταξύ των τοξικών ουσιών που δρουν ως παρεμποδιστές βρίσκονται [32][34][35]:

Οργανικά τοξικά:

- Χλωροφαινόλες: αν και βιοαποικοδομήσιμες δρουν ανασταλτικά στα αναερόβια συστήματα. Η τοξικότητά τους εξαρτάται από το βαθμό χλωρίωσής του υποστρώματος, τη θέση του χλωρίου και την καθαρότητα του δείγματος. Η τοξικότητά τους αυξάνεται με την αύξηση του αριθμού χλωριόντων.
- Αλογονούχες αλειφατικές ενώσεις: οι περισσότερες δρουν ανασταλτικά για τα μεθανογόνα βακτήρια, όπως οι πολυχλωριωμένοι αλειφατικοί υδρογονάνθρακες, το διχλωρομεθάνιο  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , το χλωροφόρμιο  $\text{CHCl}_3$ , το τριχλωροαιθυλένιο  $\text{C}_2\text{HCl}_3$  και το υπερχλωροαιθυλένιο  $\text{C}_2\text{Cl}_4$ . Το χλωροφόρμιο είναι πολύ τοξικό για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 1mg/L.
- Ανώτερα λιπαρά οξέα: αν και αποδίδουν υψηλές ποσότητες μεθανίου, τα ενδιάμεσα της διάσπασής τους μπορούν να δράσουν ανασταλτικά για τα μεθανογόνα βακτήρια (λαουρικό, ολεϊκό οξύ) [35].

Ανόργανα τοξικά:

- Αμμωνία: αν και αποτελεί βασικό θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, σε υψηλές συγκεντρώσεις δρα ανασταλτικά. Η ζύμωση αζωτούχων υλικών, όπως η ουρία και οι πρωτεΐνες, απελευθερώνουν αμμωνία-άζωτο σε ιονισμένη μορφή  $\text{NH}_4^+$  κάτι που εξαρτάται από το pH (έτσι η τοξική ιονισμένη μορφή  $\text{NH}_4$  αυξάνεται με την αύξηση του pH). Η αναερόβια χώνευση των ζωικών αποβλήτων απελευθερώνει υψηλά επίπεδα αμμωνίας, που αυξάνουν το pH, και σχηματίζει υψηλές ποσότητες ελεύθερης αμμωνίας (free ammonia) που δρα ανασταλτικά στα μεθανογόνα βακτήρια [35]. Η ελεύθερη αμμωνία είναι πιο τοξική από την ιονισμένη μορφή της, καθώς διαχέεται γρηγορότερα από την κυτταρική μεμβράνη, προκαλώντας αστάθεια πρωτονίων και έλλειψη καλίου. Δρα παρεμποδιστικά σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται μεταξύ 1500 mg/l και 3000mg/l και για pH μεγαλύτερο του 7.4, ενώ για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 3000 mg/l, δρα παρεμποδιστικά για κάθε τιμή pH [34][32].
- Το οξυγόνο: οι μικροοργανισμοί είναι αυστηρά αναερόβιοι και η οποιαδήποτε ποσότητα οξυγόνου μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη διεργασία. Απαιτείται η χρήση ερμητικά κλειστών δοχείων.
- Θειούχες ενώσεις: Sulfate reducing βακτήρια, ανάγουν το θειικό ανιόν σε σουλφίδια, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην AX. Ωστόσο, αυτά δύνανται να παράγουν σουλφίδια που μπορεί να είναι τοξικά ή

ανασταλτικά για τα ίδια και τα μεθανογόνα βακτήρια, οδηγώντας έτσι στη μείωση του ρυθμού της μεθανογένεσης, στη μειωμένη παραγωγή μεθανίου. Ακόμη, ποσότητα υδρόθειου  $H_2S$  που δεν απομακρύνεται, μπορεί να είναι θανατηφόρα για τα μεθανογόνα βακτήρια. Αυτή η χημική δομή είναι πολύ τοξική, καθώς διαχέεται εύκολα μέσα από τις κυτταρικές μεμβράνες. Προκαλεί μετουσίωση πρωτεϊνών και παρεμβαίνει στον μεταβολισμό των βακτηρίων. Συγκεντρώσεις μικρότερες του 0.003 mol/l θείου και 0.002 mol/l υδρόθειου θεωρούνται ανασταλτικές.

- Βαρέα μέταλλα: περιέχονται στα αστικά και βιομηχανικά απόβλητα σε σημαντικές ποσότητες. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν τα Cu, Zn, Pb, Hg, Cr, Cd, Fe, Ni, Co, Mo. Ορισμένα είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση ενζύμων κατά την ΑΧ και χρειάζονται σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις (Ni, Co, Mo). Η τοξικότητά τους ως προς την παρεμπόδιση που προκαλούν αυξάνεται με την εξής σειρά  $Pb < Cr < Cd < Cu < Ni$ . Η απομάκρυνσή τους ή η μείωση της συγκέντρωσής τους, μπορεί να πραγματοποιηθεί με μηχανισμούς όπως η αντίδραση με υδρόθειο  $H_2S$  προς καταβύθιση αδιάλυτων θειούχων ιζημάτων. Μεταλλικά ιόντα βαρέων μετάλλων αποτελούν επίσης τοξικές ουσίες, που αναστέλλουν την ανάπτυξη των μικροβίων εντός του αντιδραστήρα. Μικρότερες συγκεντρώσεις αυτών των ουσιών ενδέχεται να τονώσουν την ανάπτυξη αλλά υψηλές συγκεντρώσεις είναι πολύ ανασταλτικές [35].

### 2.2.3 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

Όταν η αναερόβια χώνευση πραγματοποιείται σε μεγάλη κλίμακα, υπάρχει μια σειρά παραμέτρων που πρέπει να λαμβάνεται στα υπόψη, ώστε η διεργασία να προσαρμοστεί κατάλληλα, για τους διάφορους τύπους τροφοδοσίας, εξασφαλίζοντας τη μεγαλύτερη δυνατή απόδοση. Τα συστήματα που χρησιμοποιούνται ποικίλουν και συνοπτικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής [36][37]:

Μεσοφιλικά ή θερμοφιλικά συστήματα: βάσει των θερμοκρασιών ευρών λειτουργίας τους, που κυμαίνονται σε 25-45°C για τα μεσοφιλικά και σε 50-60°C ή παραπάνω για τα θερμοφιλικά συστήματα. Τα θερμοφιλικά εξασφαλίζουν πιο γρήγορο ρυθμό αντίδρασης, με γρηγορότερη παραγωγή βιοαερίου και καλύτερη θανάτωση παθογόνων. Ωστόσο, έχουν υψηλότερο κόστος και απαιτούν περισσότερη ενέργεια για να λειτουργήσουν. Τα περισσότερα συστήματα ΑΧ λειτουργούν σε μεσοφιλικό εύρος [36].

Συστήματα στερεής ή υγρής κατάστασης: διαχωρίζονται βάσει της περιεκτικότητας της τροφοδοσίας σε στερεά, που κυμαίνεται μεταξύ 20-40% για την περίπτωση της στερεής και σε τιμές μικρότερες του 12% για την αναερόβια χώνευση υγρής κατάστασης [36]. Η ΑΧ στερεής κατάστασης είναι κατάλληλη για την επεξεργασία οργανικών αποβλήτων με υψηλότερη περιεκτικότητα σε στερεά, όπως υπολείμματα καλλιεργειών, οικιακά απόβλητα και κοπριά ζωικής προέλευσης, που δεν μπορεί να επεξεργαστεί η ΑΧ υγρής κατάστασης [36]. Τα συστήματα αυτά είναι συνήθως πιο απλά, με μικρή χωρητικότητα του αντιδραστήρα (λόγω του μεγαλύτερου όγκου του υποστρώματος) κι έχουν μικρότερες ενεργειακές απαιτήσεις. Η ΑΧ υγρής κατάστασης παρουσιάζει, γενικά γρηγορότερο ρυθμό αντίδρασης, μικρότερους χρόνους παραμονής και πιο μεγάλη ευελιξία στη χρήση υποστρωμάτων. Ωστόσο συνδέεται με υψηλότερα κόστη για τη χρήση εξοπλισμού ανάδευσης και ανάγκης σε νερό. Σημειώνεται και ένα τρίτος τύπος, η αναερόβια χώνευση «ημι στερεής κατάστασης, που αφορά επεξεργασία υποστρωμάτων ενδιάμεσης περιεκτικότητας σε στερεά, με που κυμαίνονται μεταξύ 12-20% [29].

Συγχώνευση υποστρωμάτων (Co-digestion): Πρόκειται για συστήματα όπου πραγματοποιείται ταυτόχρονη χώνευση δύο ή περισσότερων διαφορετικών υποστρωμάτων [48]. Κύριος στόχος είναι η αύξηση της παραγωγής βιοαερίου. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές τροφοδοσίες με κατάλληλη αναλογία, όπως, ζωική κοπριά, αστικά στερεά απόβλητα, θαλάσσια άλγη, δασικά υπολείμματα και φυτά, αγροτικά υπολείμματα και

καλλιέργειες, βιοαποικοδομήσιμα βιομηχανικά απόβλητα. Η αναλογία προσαρμόζεται ώστε μεταξύ των υποστρωμάτων να εξισορροπούνται οι περιεκτικότητες σε θρεπτικά, οι τοξικές ουσίες και η συνεργατική δράση των περιεχομένων σε αυτά μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, τροφοδοσίες με υψηλή αναλογία C/N (κυρίως αγροτικές καλλιέργειες και υπολείμματα ή άλγη) αναμιγνύονται με άλλες χαμηλότερου περιεχομένου (κοπριά χοίρων, πουλερικών, απόβλητα τροφίμων) ώστε να εξασφαλιστεί ισορροπία θρεπτικών και να αποφευχθούν ανασταλτικά φαινόμενα που θα αποσταθεροποιήσουν το σύστημα και θα περιορίσουν την παραγωγή βιοαερίου [37].

Συνεχούς ή ασυνεχούς λειτουργίας: Στα συνεχή συστήματα AX το υπόστρωμα τροφοδοτείται ανά τακτά χρονικά διαστήματα στον αντιδραστήρα, ενώ η απορροή συνεχώς απομακρύνεται. Σε τέτοια συστήματα, συνήθως όλα τα στάδια της AX προκύπτουν παράλληλα, εξασφαλίζουν υψηλότερες αποδόσεις σε βιοαέριο και έχουν χαμηλότερο λειτουργικό κόστος. Στα δεύτερα, όλο το υπόστρωμα εισέρχεται στο σύστημα με τη μία και χωνεύεται για προκαθορισμένο χρονικό διάστημα. Με το πέρας της διεργασίας το χωνευμένο προϊόν απομακρύνεται και η διεργασία ξεκινάει εκ νέου με νέο υπόστρωμα. Με κάθε νέα φόρτωση, η χώνευση και η παραγωγή μεθανίου προκύπτουν από την αρχή, έτσι και η παροχή βιοαερίου δεν είναι συνεχής. Ωστόσο, ασυνεχή συστήματα μπορούν να λειτουργούν σε σειρά, με εναλλασσόμενους χρόνους [29][36].

Χωνευτήρες ενός, δύο ή πολλαπλών σταδίων: όταν διεργασίες της AX πραγματοποιούνται διαδοχικά, σε πολλαπλούς αντιδραστήρες. Αυτό προτιμάται ώστε σε κάθε δοχείο να προσαρμόζονται ανάλογα οι βελτιστες συνθήκες για κάθε στάδιο της χώνευσης (π.χ. το pH δράσης των μικροοργανισμών), και να εξασφαλίζεται η μεγαλύτερη δυνατή απόδοση. Περισσότεροι και μικρότερου μεγέθους χωνευτήρες, σε σειρά, εξασφαλίζουν μεγαλύτερη παραγωγή βιοαερίου, αλλά έχουν υψηλότερο κόστος λειτουργίας [36].

Μεταφορά υλικού/ομογενοποίηση εντός του αντιδραστήρα: Ανάλογα με την παρουσία ή όχι ανάδευσης εντός του χωνευτήρα διακρίνονται δύο περιπτώσεις αντιδραστήρων, οι αντιδραστήρες συνεχούς ανάδευσης CSTR (continuous stirred tank reactor) και οι αντιδραστήρες εμβολικής ροής PFR (plug flow reactor). Ένας αντιδραστήρας CSTR διαθέτει εξοπλισμό για ανάδευση του περιεχομένου (συνεχώς ή ημισυνεχώς), παρέχοντας ομογενοποίηση και αποτελεί τον πιο κοινό τύπο αντιδραστήρα. Αυτό διαφοροποιεί και τους χρόνους παραμονής για διαφορετικού μεγέθους σωματίδια [29]. Οι αντιδραστήρες PFR, μπορούν να είναι κάθετης ή οριζόντιας εμβολικής ροής. Πρόκειται για μακρείς και στενούς αντιδραστήρες, στους οποίους η τροφοδοσία εισέρχεται ημισυνεχώς, και συνήθως χρησιμοποιείται υπόστρωμα 15% περιεκτικότητας κατά βάρος σε στερεά. Δεν περιλαμβάνουν μηχανική ανάδευση και το υλικό προχωράει κατά μήκος τους, καθώς νέα τροφοδοσία εισέρχεται (κάποια τμήματα προχωρούν ταχύτερα από άλλα). Τα συστήματα είναι πιο αποτελεσματικά από τα CSTR, καθώς οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα υπό συνθήκες, πλησιέστερα στις βέλτιστες συνθήκες, ενώ ταυτόχρονα μειώνονται οι πιθανότητες να εξέλθει από το σύστημα μη επεξεργασμένη ύλη [36].

#### 2.2.4 ΤΥΠΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΩΝ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

Για την αποτελεσματική λειτουργία της αναερόβιας χώνευσης πολύ σημαντική είναι η επιλογή του κατάλληλου συστήματος που θα χρησιμοποιηθεί, η οποία πραγματοποιείται βάσει συγκεκριμένων χαρακτηριστικών τόσο του συστήματος όσο και του απόβλητου. Τα τεχνικά χαρακτηριστικά που πρέπει να έχει ένα αναερόβιο σύστημα για να είναι αποδοτικό είναι:

- Υψηλή κατακράτηση ενεργού βιομάζας στον αντιδραστήρα

- Επαρκής επαφή μεταξύ βιομάζας και προς χώνευση απόβλητου
- Υψηλοί ρυθμοί αντίδρασης, χωρίς περιορισμούς φαινομένων μεταφοράς
- Ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες για όλα τα είδη μικροοργανισμών στις επιβαλλόμενες συνθήκες λειτουργίας

Τα υπάρχοντα συστήματα αναερόβιας χώνευσης διαχωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα συμβατικά και τα ταχύρρυθμα συστήματα.

#### – ΣΥΜΒΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Συμβατική αναερόβια χώνευση ενός σταδίου:

Αποτελεί την απλούστερη μορφή αναερόβιας χώνευσης. Περιλαμβάνει μια κυλινδρική θερμαινόμενη δεξαμενή χώνευσης, στην οποία διοχετεύονται τα απόβλητα και η οποία λειτουργεί σε πλήρη ή μερική ανάμιξη για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Η ανάδευση πραγματοποιείται με μηχανικό αναδευτήρα, είτε με την ανακυκλοφορία του παραγόμενου βιοαερίου ή υγρού. Πλεονεκτήματα της διεργασίας αποτελεί η καλή επαφή που εξασφαλίζεται μεταξύ μικροοργανισμών και υποστρώματος, η δυνατότητα επεξεργασίας αποβλήτων με υψηλή συγκέντρωση οργανικού φορτίου και αιωρούμενων στερεών, η ελαχιστοποίηση των νεκρών όγκων που εξασφαλίζεται με την ανάδευση και η απλή λειτουργία και παρακολούθησή της. Ωστόσο παρουσιάζει και μειονεκτήματα όπως η απαίτηση μεγάλων όγκων αντιδραστήρων, η δυσκολία ανάμιξης για απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών, η ευαισθησία σε τοξικές ουσίες και χαμηλή απόδοση μετατροπής της βιομάζας σε βιοαέριο [37].

Συμβατική αναερόβια χώνευση δύο σταδίων:

Πραγματοποιείται σε δύο χωνευτήρες, ο πρώτος θερμαίνεται και σε αυτόν λαμβάνει χώρα το κύριο μέρος της βιολογικής επεξεργασίας. Στον δεύτερο πραγματοποιείται ο διαχωρισμός στερεών και υγρών, δηλαδή απομακρύνονται από τη βιομάζα τα αιωρούμενα στερεά, που δεν υδρολύθηκαν κατά τη χώνευση. Η εκρέουσα λάσπη επιστρέφει στον πρώτο αντιδραστήρα, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών και μεθανογόνων βακτηρίων. Τα χαρακτηριστικά αυτά την καθιστούν κατάλληλη για την επεξεργασία ισχυρών υγρών αποβλήτων, με απλή λειτουργία, πλήρη ανάδευση που ελαχιστοποιεί τους νεκρούς όγκους, μικρή απαίτηση όγκου αντιδραστήρων και αποδίδει υψηλές μετατροπές οργανικού υλικού. Ωστόσο, η καθίζηση μπορεί να επηρεάσει την απόδοση, η μέθοδος δε συνίσταται για απόβλητα με υψηλή συγκέντρωση στερεών και συνήθως απαιτείται προγενέστερο στάδιο προεπεξεργασίας για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών καθίζησης της βιομάζας [37].

#### – ΤΑΧΥΡΡΥΘΜΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

Αντιδραστήρας στήλης με πληρωτικό υλικό- αναερόβιο φίλτρο – Anaerobic Filter -Packed Bed Reactor:

Στα συστήματα αυτά, η είσοδος του απόβλητου πραγματοποιείται κατακόρυφα, ανοδικά ή καθοδικά, σε κατακόρυφη στήλη που είναι πληρωμένη με αδρανές υλικό. Οι μικροοργανισμοί προσκολλώνται στο ακινητοποιημένο πλέγμα του πληρωτικού υλικού σχηματίζοντας ένα λεπτό υδαρές στρώμα (βιοφίλμ). Η επεξεργασία πραγματοποιείται καθώς οι ρύποι που περιέχονται διαλυμένοι στο απόβλητο απορροφώνται από το βιοφίλμ. Τύποι πληρωτικών υλικών που χρησιμοποιούνται είναι πλαστικό, άμμος, γρανίτης, χαλαζίας, πέτρα και κόκκοι ενεργού άνθρακα. Πλεονέκτημα του συστήματος ΑΧ με αναερόβια φίλτρα είναι η μεγάλη αντοχή του σε

φόρτιση με υψηλό οργανικό φορτίο. Ωστόσο παρουσιάζει μειονεκτήματα όπως η σταδιακή συσσώρευση μη βιοδιασπώμενων στερεών και το υψηλό κόστος λόγω των πληρωτικών υλικών. Στην περίπτωση των πρώτων, αυτά φράσσουν τους πόρους του πληρωτικού, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα του συστήματος για λύματα με μεγάλη περιεκτικότητα σε στερεά. OLR για το συγκεκριμένο σύστημα κυμαίνεται μεταξύ 8-16kg COD/m<sup>3</sup> day, περίπου 10 φορές υψηλότερο από την οργανική φόρτιση για αερόβιες διεργασίες [37]

Αντιδραστήρας διαστελλόμενης και ρευστοποιημένης κλίνης:

Πρόκειται για βιολογικό αντιδραστήρα που περιέχει πληρωτικό υλικό μικρής διαμέτρου σωματιδίων, ώστε να μεγιστοποιείται η ειδική επιφάνεια και να ελαχιστοποιείται ο όγκος που καταλαμβάνει το πληρωτικό υλικό. Άμμος ή κόκκοι ενεργού άνθρακα με διαμέτρους 0.2-0.5mm αποτελούν συνήθη πληρωτικά υλικά. Η διαφορά μεταξύ διαστελλόμενης και ρευστοποιημένης κλίνης έγκειται στο βαθμό διαστολής της κλίνης (15-30% για τις διαστελλόμενες και 25-30% για τις ρευστοποιημένες) και την ταχύτητα ροής που εφαρμόζεται. Η αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου συστήματος αποδίδεται στην καλή μεταφορά μάζας που εξασφαλίζεται λόγω της υψηλής ροής γύρω από τα σωματίδια, τη μικρότερη φραγή λόγω μεγάλων πόρων που σχηματίζονται με τη διαστολή της κλίνης και της μεγάλης ειδικής επιφάνειας που εξασφαλίζει μεγαλύτερη επιφάνεια επαφής μικροοργανισμών απόβλητου. Ωστόσο, έχει υψηλότερο κόστος, λόγω του υψηλού ρυθμού ανακύκλωσης που απαιτείται για τη διατήρηση της αιώρησης των σωματιδίων. Διαχειρίζεται απόβλητα με οργανική φόρτιση 10-50 COD/m<sup>3</sup> day [37]

Αντιδραστήρας ανοδικής ροής διαμέσου στρώματος ιλύος Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor UASBR:

Αποτελεί τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο τύπο αναερόβιου χωνευτήρα που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία αστικών και βιομηχανικών λυμάτων. Στο σύστημα αυτό η τροφοδοσία του απόβλητου γίνεται από τον πυθμένα και ρέει ανοδικά προς τα πάνω, μέσω ενός αιωρούμενου στρώματος βιολογικά ενεργοποιημένου. Το στρώμα αυτό φιλτράρει και επεξεργάζεται το λύμα καθώς αυτό ρέει διαμέσου του. Τα αέρια προϊόντα της διεργασίας μεθάνιο και διοξείδιο προκαλούν εσωτερική ανάμιξη, που βοηθάει στο σχηματισμό και τη διατήρηση των βιολογικών κόκκων. Στην ανάδευση συμβάλλει επίσης η ίση κατανομή της ροής ιλύος και η υψηλή ταχύτητα ανόδου [38][39].

Ο αντιδραστήρας μπορεί να διαχωριστεί σε τέσσερα διαμερίσματα, από τον πυθμένα προς τα πάνω: τη στρώση ιλύος, τη ζώνη ρευστοποίησης, το διαχωριστή υγρής/αέριας απορροής και τη ζώνη κατακάθησης. Στη στρώση ιλύος πραγματοποιείται το στάδιο της υδρόλυσης. Η βιομάζα διατηρείται ως στρώση ιλύος ή μήτρα κροκιδών (granule matrix) και διατηρείται σε αιώρηση με τον έλεγχο της ταχύτητας ανόδου. Είναι πολύ σταθερή και δεν παρασύρεται υπό τις συνθήκες της διεργασίας. Πλεονεκτήματα του συστήματος αποτελούν οι χαμηλοί χρόνοι παραμονής, οι υψηλές συγκεντρώσεις βιομάζας (30000-80000 mg/L), ο καλός διαχωρισμός στερεών/υγρών, η λειτουργία σε υψηλή οργανική φόρτιση και το χαμηλό κόστος λόγω απουσίας πληρωτικού υλικού. Περιορισμό αποτελεί η περιεκτικότητα σε στερεά του αποβλήτου που αποτρέπει την ανάπτυξη πυκνών σωματιδίων ιλύος. Εύρος οργανικής φόρτισης που δέχεται και διαχειρίζεται αποτελεσματικά ένα σύστημα είναι 4-15kg COD/m<sup>3</sup> ημέρα [39].

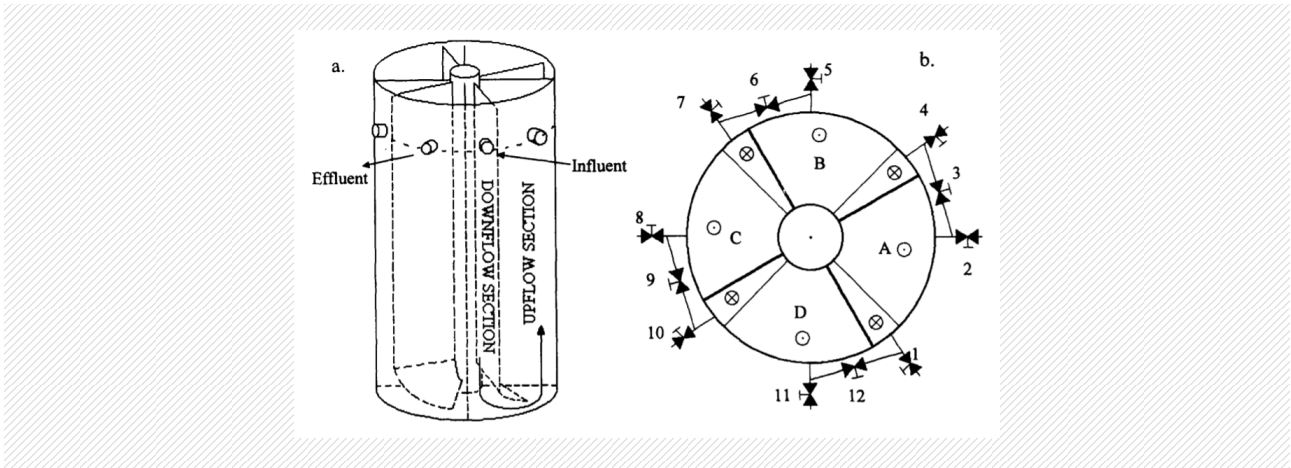
Αντιδραστήρας με ανακλαστήρες Anaerobic Baffled Reactor ABR:

Αποτελείται από μια σειρά από κατακόρυφους ανακλαστήρες που εξωθούν τη ροή του απόβλητου πάνω και κάτω από αυτούς, καθώς αυτό κινείται από την είσοδο προς την έξοδο. Η ροή μειώνει την έκπλυση των βακτηρίων επιτρέποντας στον ABR να διατηρήσει ενεργή βιολογική λάσπη, χωρίς τη χρήση σταθεροποιητικών μέσων (fixed media). Σε κάθε διαμέρισμα, οι μικροοργανισμοί αυξάνονται και καθιζάνουν ανάλογα με τις συνθήκες της ροής και την παραγωγή του βιοαερίου και κινούνται οριζόντια προς την έξοδο του αντιδραστήρα

με αργό ρυθμό. Έτσι συχνά ο αντιδραστήρας παρουσιάζει SRT 100 ημέρες με HRT 20 ώρες. Η οριζόντια κίνηση του απόβλητου του επιτρέπει να έρθει σε επαφή με ενεργή βιομάζα καθώς διέρχεται μέσα από τους αντιδραστήρες, με σύντομο υδραυλικό χρόνο παραμονής, που κυμαίνεται μεταξύ 6-20 ώρες [40].

Περιοδικός αναερόβιος αντιδραστήρας με ανακλαστήρες PABR [Periodic Anaerobic Baffled Reactor]:

Πρόκειται για έναν ταχύρρυθμο, ευέλικτο αντιδραστήρα, που μπορεί να επεξεργάζεται υψηλά οργανικά φορτία με μικρούς χρόνους παραμονής. Αποτελείται από δύο ομόκεντρα κυλινδρικά τμήματα. Η περιοχή μεταξύ τους χωρίζεται σε τέσσερα διαμερίσματα (compartments) με τρόπο παρόμοιο με τους ABR αντιδραστήρες, με τα διαμερίσματα να διατάσσονται κυκλικά [40]. Κάθε διαμέρισμα, σύμφωνα και με τη δομή του ABR αντιδραστήρα αποτελείται από δύο τμήματα: το τμήμα ανοδικής ροής (up flow section) και το τμήμα καθοδικής ροής (downflow section) Η τροφοδοσία εισέρχεται σε κάθε διαμέρισμα μέσω οπής στο άνω μέρος του καθοδικού τμήματος, ανέρχεται στο ανοδικό τμήμα του ίδιου και εξέρχεται από αυτό. Στη συνέχεια εισέρχεται στο επόμενο διαμέρισμα μέσω εξωτερικών σωληνώσεων. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρι το διαμέρισμα από όπου γίνεται απορροή. Το χαρακτηριστικό του αντιδραστήρα είναι η κυκλική εναλλαγή της τροφοδοσίας των διαμερισμάτων, η οποία γίνεται σύμφωνα με τη φορά των δεικτών του ρολογιού, με τη βοήθεια ηλεκτροβανών. [40]



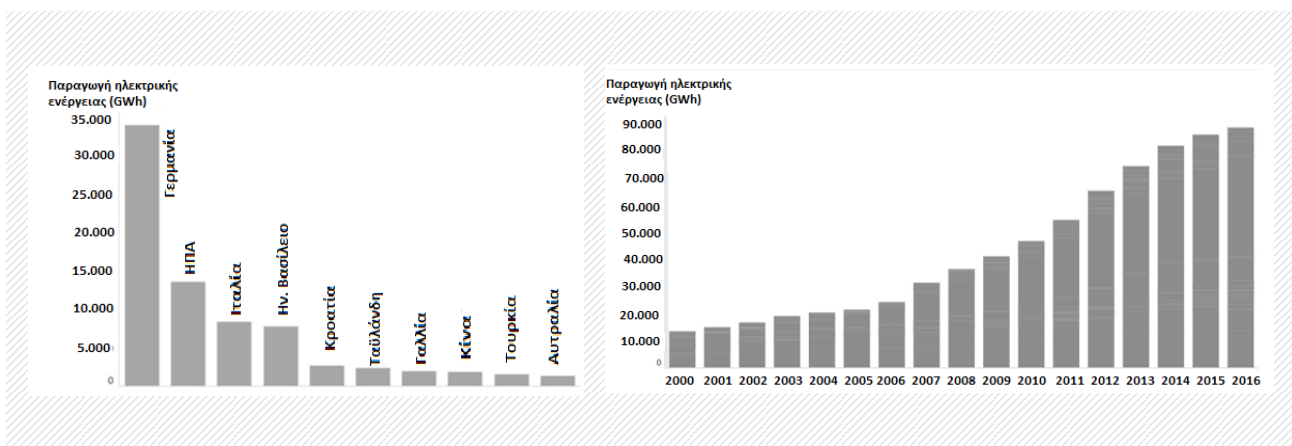
Εικόνα 2-2: Διάταξη ενός αντιδραστήρα PABR (α) όψη αντιδραστήρα με ανοδικό και καθοδικό τμήμα και (β) κάτοψη των τεσσάρων διαμερισμάτων με βάνες και σήμανση ανοδικής και καθοδικής ροής [40]

## 2.3 ΜΟΝΑΔΕΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΧΩΝΕΥΣΗΣ

### 2.3.1. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΣΤΟΝ ΚΟΣΜΟ

Η βιομηχανία του βιοαερίου περιλαμβάνει προϊόντα από τρεις κατηγορίες αντιδραστήρων: τους μικροχωνευτήρες, τους χωνευτήρες που παρέχουν ηλεκτρική ενέργεια και τους χωνευτήρες παραγωγής βιομεθανίου. Οι μικρο-χωνυτήρες (microdigester) αποτελούν μια απλοποιημένη μορφή, μικρής κλίμακας, αναερόβιου χωνευτήρα, που λειτουργεί με τα χέρια, σχεδιασμένος να παράγει βιοαέριο για οικιακή χρήση, σε απομακρυσμένες περιοχές και αναπτυσσόμενες χώρες [45]. Υπάρχουν συνολικά περίπου 50εκ.

μικροχωνευτήρες σε όλον τον κόσμο, εκ των οποίων 42 εκ. βρίσκονται στην Κίνα, 4.9 εκ. στην Ινδία και περίπου άλλες 700,000 εγκαταστάσεις βιοαερίου στην υπόλοιπη Ασία, την Αφρική και τη Νότια Αμερική. Το βιοαέριο που παράγεται από αυτούς χρησιμοποιείται συνήθως στους ειδικούς φούρνους για μαγείρεμα ή θέρμανση, αντικαθιστώντας στερεά καύσιμα όπως τα κάρβουνα ή τα καυσόξυλα. Σχετικές εγκαταστάσεις παρήγαγαν το 2016, περίπου 13 εκ. m<sup>3</sup> βιοαερίου στην Κίνα και 2 m<sup>3</sup> βιοαερίου στην Ινδία. Οι βιομηχανικοί χωνευτήρες μικρής κλίμακας χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας [41]. Στην Κίνα εντοπίζονται 110,448 εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαερίου, εκ των οποίων οι 6,972 είναι μεγάλης κλίμακας (2015). Η Ευρώπη αριθμεί 17,783 εγκαταστάσεις, με συνολική ισχύ 10,5GW (2017), ενώ οι ΗΠΑ 2,200 αναερόβιους χωνευτήρες, με συνολική ισχύ 977 MW. Αθροιστικά στην υφήλιο υπολογίζονται περίπου 700 εγκαταστάσεις αναβάθμισης του βιοαερίου σε βιομεθάνιο. Στην Ευρώπη αριθμούνται συνολικά 540 χωνευτήρες, εκ των οποίων 195 βρίσκονται στη Γερμανία, 92 στο Ηνωμένο Βασίλειο, 70 στη Σουηδία, 44 στη Γαλλία και 34 στην Ολλανδία. Στις ΗΠΑ λειτουργούν περίπου 50 χωνευτήρες, στην Κίνα 25, στον Καναδά 20 και λιγότεροι στην Ιαπωνία, τη Νότια Κορέα, τη Βραζιλία και την Ινδία [41]. Στην Εικόνα 2-3 και την Εικόνα 2-4 αποτυπώνονται οι μεγαλύτεροι παραγωγοί ηλεκτρικής ενέργειας από βιοαέριο, σε παγκόσμιο επίπεδο, για το 2016.



Εικόνα 2-3: Οι μεγαλύτεροι παραγωγοί ηλεκτρικής ενέργειας από βιοαέριο, σε παγκόσμιο επίπεδο το 2016 [43].

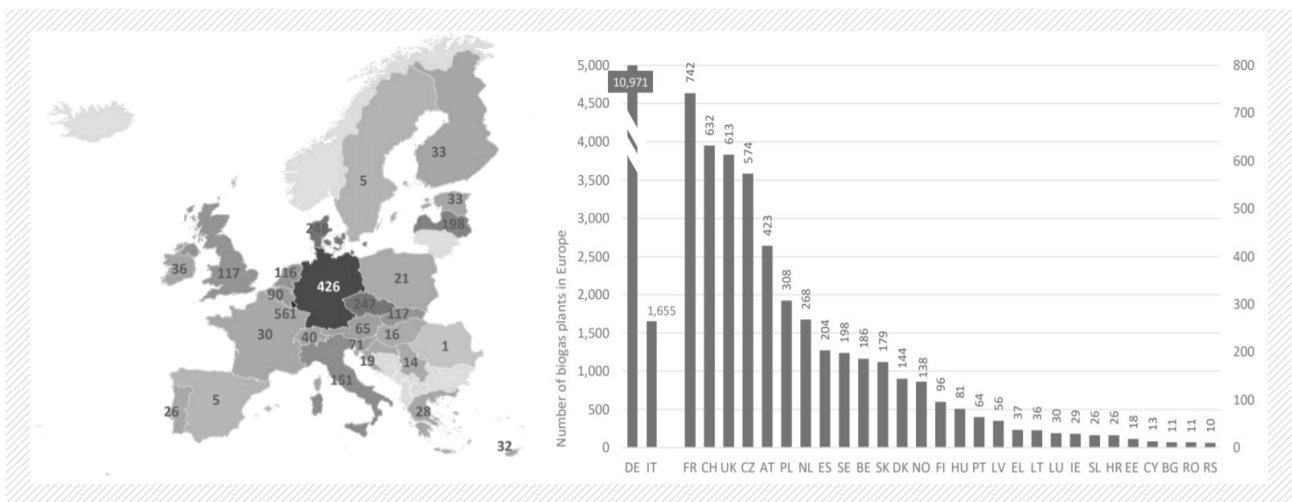
Εικόνα 2-4: Εξέλιξη της παγκόσμιας παραγωγής βιοαερίου για τα έτη 2000- 2016.. [43]

### 2.3.2 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ (biogas market)

Η παραγωγή βιοαερίου στην Ευρώπη έχει αυξηθεί σημαντικά την τελευταία εικοσαετία, υποκινούμενη από την αναθεωρημένη πολιτική για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, αλλά και τα οικονομικά, περιβαλλοντικά και κλιματικά οφέλη της διεργασίας [42]. Μέχρι τα τέλη του 2017 λειτουργούσαν εντός της ευρωπαϊκής ζώνης 17.783 εγκαταστάσεις βιοαερίου και 540 εγκαταστάσεις παραγωγής βιομεθανίου. Η συνολική ισχύς των εγκαταστάσεων βιοαερίου (Installed Electric Capacity IEC) για τον ίδιο χρόνο ανέρχεται στις 10,532 MW. Η ηλεκτρική ενέργεια που παράχθηκε από βιοαέριο στην Ευρώπη το 2017 ήταν συνολικά 65,179 GWh, ενώ η παραγωγή βιομεθανίου 19,352 GWh. Τα τελευταία 5 χρόνια έχουν τεθεί σε λειτουργία 3,122 νέες εγκαταστάσεις. Το 2015 η παραγωγή μεθανίου έφτασε τα 18 δις m<sup>3</sup>, που αντιστοιχεί στο μισό της παγκόσμιας παραγωγής. Η Ευρώπη συμβάλλει με μεγαλύτερο ποσοστό στην παγκόσμια παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, που είναι 15 GW για το 2015, με περισσότερες από 10 GW να προκύπτουν από 17.400 εργοστάσια παραγωγής βιοαερίου την ίδια χρονιά. Περίπου το 50% της συνολικής κατανάλωσης βιοαερίου στην Ευρώπη χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή θερμότητας [4][44].

Η παραγωγή βιοαερίου από στερεά απόβλητα αυξάνεται, αλλά με σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των χωρών. Η Γερμανία αποτελεί τη χώρα με τη μεγαλύτερη βιομηχανία βιοαερίου, απαριθμώντας 10.971 λειτουργικές μονάδες, που αντιστοιχούν στο 62% των συνολικών εγκαταστάσεων. Η Ιταλία έρχεται δεύτερη με 1.655 εγκαταστάσεις και ακολουθεί η Γαλλία, η οποία άρχισε να δραστηριοποιείται στον τομέα στα τέλη του 2000. Σήμερα κατατάσσεται τρίτη, σε ευρωπαϊκό επίπεδο, ακολουθούμενη από την Ελβετία, το Ηνωμένο Βασίλειο και την Τσεχία, κάθε μία εκ των οποίων απαριθμούν περισσότερες από 500 εγκαταστάσεις. Στην εικόνα παρουσιάζεται ο συνολικός αριθμός εγκαταστάσεων παραγωγής βιοαερίου ανά κράτος μέλος της Ευρωπαϊκής Ένωσης, που είναι σε λειτουργία, σύμφωνα με δεδομένα της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Βιοαερίου για το 2018 [42]. Η συνολική ηλεκτρική ισχύς των εγκαταστάσεων βιοαερίου στην Ευρώπη για το 2017 ανέρχεται στις 10,532 MW, παρουσιάζοντας σημαντική αύξηση σε σχέση με το 2014 όπου ανέρχεται στις 8,355 MW. Η σχετική αύξηση είναι μεγαλύτερη συγκριτικά με την αύξηση στον αριθμό των εγκαταστάσεων, λόγω της ενσωμάτωσης, στις διεργασίες της χώνευσης, άλλων υποστρωμάτων, με μεγαλύτερο ενεργειακό περιεχόμενο, όπως αγροτικά υπολείμματα από φυτική ύλη, ζωικά κόπρωνα και ενεργειακές καλλιέργειες. Η μέση τιμή ισχύος για μια μονάδα παραγωγής βιοαερίου στην Ευρώπη ανέρχεται στις 0,59 MW. Τη μεγαλύτερη ηλεκτρική ισχύ ανά μονάδα εγκατάστασης παρουσιάζει το Ηνωμένο Βασίλειο με 2,7 MW [42][44].

Η παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από βιοαέριο ξεκίνησε με αργούς ρυθμούς ήδη από τις αρχές του 1990. Μέχρι το 2017, η παραγωγή αυξήθηκε σημαντικά, ώστε η συνολική ηλεκτρική ενέργεια που παράγεται σήμερα να είναι 65 GWh, όπως διαμορφώνεται από τις επιμέρους συμβολές των ευρωπαϊκών χωρών [4]. Ακολούθως αποτυπώνεται γεωγραφικά η κατά κεφαλήν παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας σε KWh, για κάθε χώρα ξεχωριστά, σύμφωνα με δεδομένα του 2017. Τη μεγαλύτερη παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από βιοαέριο 561 KWh/capita έχει το Λουξεμβούργο [42].



Εικόνα 2-5: Παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από βιοαέριο per capita KWh/capita για τις χώρες της ΕΕ [42].

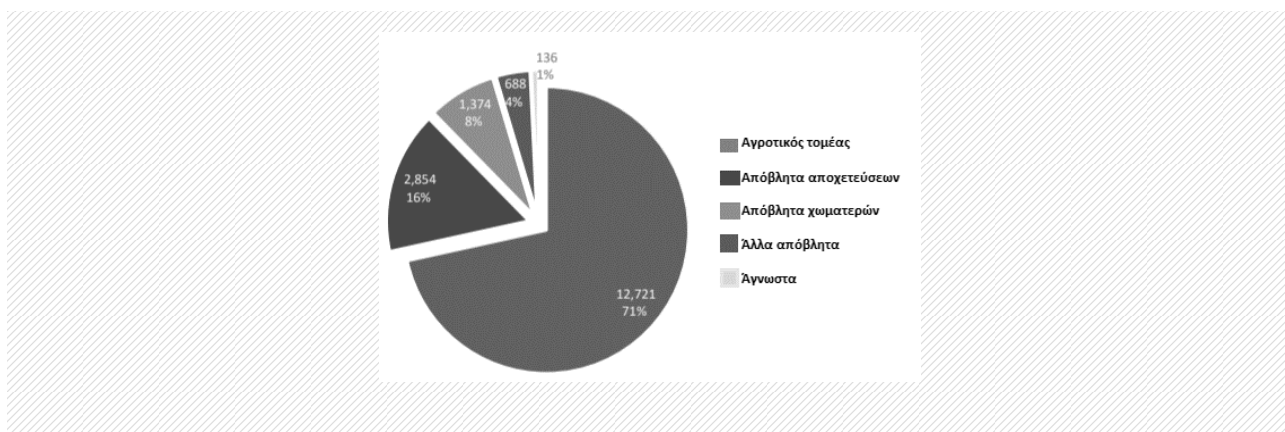
### 2.3.3 ΤΡΟΦΟΔΟΣΙΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ

Οι τροφοδοσίες που χρησιμοποιούνται στις εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαερίου τροποποιούνται ανά τις χώρες, σε ποσότητα και ποιότητα. Αυτές μπορούν να περιλαμβάνουν, ενεργειακές καλλιέργειες, αγροτικά υπολείμματα, αστικά αλλά και βιομηχανικά απόβλητα, όπως βιομηχανιών τροφίμων και ποτών, λύματα



αποχετεύσεων και άλλα κλάσματα αποβλήτων. Στις περισσότερες χώρες καταναλώνεται, σε μεγαλύτερο βαθμό, ένας τύπος υποστρώματος και μικρότερες ποσότητες από συμπληρωματικά. Σύμφωνα με την έκθεση του 2017, τα υποστρώματα, που χρησιμοποιούνται ευρύτερα, στις υπάρχουσες εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαερίου στην Ευρώπη, προέρχονται από τον αγροτικό τομέα. Αυτά περιλαμβάνουν ζωική κοπριά, υπολείμματα από φάρμες, φυτικά υπολείμματα και ενεργειακές καλλιέργειες, και αντιπροσωπεύουν το 60-70% στο μερίδιο αγοράς βιοαερίου στην Ευρώπη [4][44].

Πιο αναλυτικά, για τις επιμέρους χώρες με τα μεγαλύτερα ποσοστά παραγωγής: στη Γερμανία, την Αυστρία, τη Λιθουανία, την Ουγγαρία και την Ιταλία χρησιμοποιούνται κυρίως ενεργειακές καλλιέργειες και αγροτικά υπολείμματα, σε ποσοστό πάνω από 70%. Στο μερίδιο της Ιταλίας σημαντικό κομμάτι καταλαμβάνουν και οι ενεργειακές καλλιέργειες. Στη Δανία, την Ελβετία και την Πολωνία κυρίαρχα υποστρώματα αποτελούν τα οργανικά απόβλητα από βιομηχανίες τροφίμων και ποτών. Η Σουηδία και το Ηνωμένο Βασίλειο χρησιμοποιούν κυρίως απόβλητα από εγκαταστάσεις επεξεργασίας υδατικών λυμάτων [4].



Εικόνα 2-6: Κατανομή χρησιμοποιούμενων υποστρωμάτων σε σχέση με τον αριθμό των εγκαταστάσεων βιοαερίου στην Ευρώπη για το 2017 [42].

### 2.3.4 ΒΙΟΑΕΡΙΟ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Ως προς τον αριθμό των μονάδων παραγωγής βιοαερίου για το έτος 2017, η Ελλάδα κατατάσσεται εικοστή μεταξύ των τριάντα εξεταζόμενων χωρών της Ευρώπης, απ αριθμώντας 37 μονάδες σε όλη την Ελληνική περιφέρεια [4]. Κάθε μία με μέση ηλεκτρική ισχύ 1,6 MW, μεγαλύτερη από την μέση ευρωπαϊκή τιμή που ανέρχεται στις 0,59 MW[42]. Για το 2016, η κυρίαρχη τροφοδοσία προερχόταν από αγροτικά φυτά και ακολουθούν τα απόβλητα αποχετεύσεων. Στην Ελλάδα οι εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαερίου είναι πολύ δυναμικές, με τη μεγαλύτερη που λειτουργεί Άνω Λιόσια να διαθέτει ισχύ 24.5MW και τη δεύτερη μεγαλύτερη στην περιοχή Τανάγρα με ισχύ 5MW. Η πρώτη εγκατάσταση, που λειτούργησε στην Ψυττάλεια, έχει σήμερα ισχύ 11.4 MW. Κυρίαρχο υπόστρωμα αποτελούν τα landfill φυτά, με παραγωγή βιοαερίου 729 GWh (65% του συνολικού) και παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από βιοαέριο 209GWh (83%του συνολικού) [4][42].

## 2.4 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΙΛΥΣ

### 2.4.1 ΤΙ ΕΙΝΑΙ Η ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΙΛΥΣ

Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς αποτελεί, μαζί με το βιοαέριο, προϊόν της αναερόβιας χώνευσης και συνιστά το υπόλειμμα του υλικού της τροφοδοσίας του χωνευτήρα, μετά από την ανάκτηση του βιοαερίου. Είναι πλούσιο σε οργανική ύλη και θρεπτικά συστατικά, όπως άζωτο, φώσφορο και κάλιο. Είναι συνήθως υγρό, αλλά μπορεί να είναι και στερεό, όταν προκύπτει από αναερόβια χώνευση στερεής κατάστασης [47]. Κατά τη διάρκεια της χώνευσης, το υπόστρωμα παραμένει στο χωνευτήρα για ορισμένες εβδομάδες. Στο διάστημα αυτό αποσυντίθεται υπό τη δράση μικροοργανισμών, μέσω σύνθετων βιοχημικών διεργασιών, απουσία οξυγόνου. Η χωνευμένη ύλη απομακρύνεται από το χωνευτήρα με τη μορφή αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος και αποθηκεύεται σε ειδικά δοχεία [46][47].

Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς αποτελεί υλικό σημαντικού ενδιαφέροντος λόγω της πλούσιας περιεκτικότητάς της σε μακροθρεπτικά συστατικά, όπως άζωτο, φώσφορο, κάλλιο, θείο, διάφορα μικροθρεπτικά αλλά και οργανική ύλη. Μετά το πέρας της αναερόβιας χώνευσης, είναι πολύ σταθεροποιημένη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λίπασμα υψηλής αξίας (βιολίπασμα) και σαν βελτιωτικό εδάφους στον αγροτικό τομέα. Μπορεί να διατεθεί είτε απευθείας στο έδαφος ως έχει ή να κομποστοποιηθεί, ή να διαχωριστεί σε υγρό και στερεό κλάσμα πριν την εναπόθεσή της. Αυτά θα συζητηθούν εκτενέστερα παρακάτω [48]. Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος εξαρτώνται από τη φύση και τη σύσταση των υποστρωμάτων που χρησιμοποιούνται και τις λειτουργικές παραμέτρους της αναερόβιας χώνευσης. Στην Ευρώπη, παραδοσιακά υποστρώματα, που χρησιμοποιούνται, είναι αγροτικά και ζωικά υπολείμματα (κοπριά), απόβλητα τροφίμων, αστικά οργανικά απόβλητα, ενεργειακές καλλιέργειες (αραβόσιτος, ζαχαρότευτλα, χόρτα), παραπροϊόντα βιομηχανιών τροφίμων και αγρο-βιομηχανιών [46][47].

### 2.4.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ

#### - ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ

Κατά την αναερόβια χώνευση της οργανικής ύλης, τα περισσότερα θρεπτικά συστατικά που περιέχονται στην τροφοδοσία, διατηρούνται στη διεργασία και καταλήγουν στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ. Αυτά περιλαμβάνουν μακροθρεπτικά συστατικά, όπως N, P, K, Ca, S και Mg και ορισμένα μικροθρεπτικά, όπως B, Cl, Mn, Fe, Zn, Cu, Mo, Ni [47]. Ο όγκος της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος που παράγεται είναι περίπου ίσος με εκείνος της τροφοδοσίας, ενώ η μάζα της είναι μειωμένη περίπου κατά 15%. Καθώς οι χωνευτήρες δύνανται να λειτουργήσουν με διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων και ορισμένες φορές λαμβάνουν και πρόσθετα, όπως μέταλλα, η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς που προκύπτει έχει μια ευρεία χημική σύσταση. Η συγχώνευση διαφορετικών οργανικών υποστρωμάτων οδηγεί επίσης σε μεγάλες διακυμάνσεις στη σύσταση του τελικού προϊόντος της χώνευσης [46].

Η περιεκτικότητα σε άνθρακα είναι συνήθως χαμηλότερη από εκείνη του υποστρώματος της τροφοδοσίας, λόγω της διεργασίας παραγωγής βιοαερίου, που απελευθερώνει άνθρακα με τη μορφή CO<sub>2</sub> και CH<sub>4</sub> [47].

Ολικά στερεά: Η περιεκτικότητα σε ολικά στερεά του αρχικού υποστρώματος, επηρεάζει κι εκείνο της τελικής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς με υψηλή περιεκτικότητα σε στερεά θα περιέχει περισσότερη οργανική ύλη. Η περιεκτικότητα σε ολικά στερεά μειώνεται κατά την ΑΧ, και η ιλύς περιέχει από 50% έως 80% λιγότερα στερεά από την εισερχόμενη τροφοδοσία. Η περιεκτικότητά της εξαρτάται τόσο από την αρχική περιεκτικότητα της τροφοδοσίας (3-15% για ΑΧ υγρής κατάστασης, 30% για ΑΧ στερεής κατάστασης) αλλά και από την περιεκτικότητα σε εύκολα χωνεύσιμη οργανική ύλη [46]. Γενικά, ξυλώδη υλικά που περιέχουν μεγαλύτερα ποσά λιγνίνης, χωνεύονται δυσκολότερα, ενώ υποστρώματα που περιέχουν λίπη, σάκχαρα και αλκοόλες χωνεύονται ευκολότερα. Περίπου το 70% των ολικών στερεών της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος μπορεί να είναι οργανικό, με τη μορφή πηκτικών στερεών. Αυτό υπονοεί ότι όταν χρησιμοποιείται στο έδαφος μπορεί να δράσει βελτιωτικά στη δομή μέσω της προσθήκης αδρανούς οργανικής ύλης και ινών (κυρίως λιγνοκυτταρίνης).

pH: Το pH της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος κυμαίνεται από pH 7.5 έως 8.0 [46]. Η τιμή του επηρεάζεται από τη φυσικοχημεία της διεργασίας της ΑΧ και τα χαρακτηριστικά του υποστρώματος που χωνεύεται. Χαρακτηριστικά, ο σχηματισμός  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  και η απομάκρυνση  $\text{CO}_2$ , ως αποτέλεσμα του μετασχηματισμού  $\text{CO}_2$  και  $2\text{H}_3\text{O}^+$  σε  $\text{CO}_2$  και  $\text{H}_2\text{O}$ , οδηγούν σε αύξηση του pH. Η κατανάλωση πηκτικών λιπαρών οξέων (VFA) κατά την ΑΧ αυξάνει το pH. Το ίδιο αποτέλεσμα προκύπτει και από τις συγκεντρώσεις βασικών κατιόντων όπως  $\text{Ca}^{2+}$  και  $\text{K}^+$ . Η καθίζηση ανθρακικού ασβεστίου  $\text{CaCO}_3$  και φωσφορικών ιόντων συμβάλλουν στη μείωση του pH [46][47].

Περιεκτικότητα σε άζωτο: υποστρώματα πλούσια σε πρωτεΐνες, όπως απόβλητα σφαγείων, τροφίμων και κοπριά, παράγουν μία πλούσια σε άζωτο αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ. Το συνολικό άζωτο (TN) σημειώνεται να διατηρείται στα ίδια επίπεδα κατά τη χώνευση (ίδια τιμή με τροφοδοσία) [46]. Η αναλογία συνολικού N-NH<sub>4</sub>N αυξάνεται κατά τη χώνευση. Υψηλές συγκεντρώσεις, ωστόσο, του τελευταίου εγκυμονεί κινδύνους για τη σταθερότητα της αναερόβιας χώνευσης λόγω αναστολής των μεθανογενών βακτηρίων. Κατά την ΑΧ χωνεύονται συστατικά που περιέχουν οργανικό άζωτο, απελευθερώνοντας NH<sub>4</sub>-N το οποίο είναι άμεσα διαθέσιμο για την ανάπτυξη φυτών [47]. Η περιεκτικότητα σε αμμώνιο της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος είναι άμεσα συνυφασμένη με το περιεχόμενο σε ολικό άζωτο του υποστρώματος. Οι συνολικές συγκεντρώσεις τροποποιούνται με την ποσότητα φρέσκου νερού που χρησιμοποιείται και το ρυθμό ανακυκλοφορίας στον αντιδραστήρα. Τυπική περιεκτικότητα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος σε άζωτο είναι 2.3- 4.2 kg/τόνο. Το άζωτο προκύπτει από τους αζωτούχους δεσμούς των πρωτεϊνών των υποστρωμάτων, και αντιπροσωπεύουν το 55-95% του συνολικού χωνεύσιμου αζώτου. Με το πέρας της αναερόβιας υδρόλυσης και ζύμωσης, περίπου το 70% του συνολικού αζώτου της αρχικής ύλης μετατρέπεται σε αμμώνιο NH<sub>4</sub><sup>+</sup> και ελεύθερη αμμωνία NH<sub>3</sub>. Η συγκέντρωση του πρώτου στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ κυμαίνεται, φυσιολογικά, σε ένα εύρος 0.8-5.0 g/L [49].

Φώσφορος: το περιεχόμενο σε φώσφορο αποδίδεται είτε ως ολικός φώσφορος είτε ως φωσφορικά ισοδύναμα. Η ΑΧ δεν επηρεάζει σημαντικά την ποσότητα του φωσφόρου στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ, η οποία εξαρτάται εξολοκλήρου από τη σύσταση του αρχικού υποστρώματος. Κατά την αναερόβια χώνευση, χάνεται μόνο μια μικρή ποσότητα φωσφόρου (<10%). Τυπική περιεκτικότητα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος σε φώσφορο είναι 0.2-1.5 kg/τόνο [46].

Το περιεχόμενο σε κάλλιο παραμένει σταθερό. Τυπική περιεκτικότητα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος σε κάλλιο είναι 1.3- 5.25 kg/τόνο. Για τα Ca, και Mg σημειώνεται μια μείωση στο περιεχόμενο συγκριτικά με την τροφοδοσία.

Εκτός των θρεπτικών, η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς δύναται να περιέχει ποσότητες ορισμένων βαρέων μετάλλων και οργανικών ρύπων [48]. Οργανικοί ρύποι και παρασιτοκτόνα εντοπίζονται στην αναερόβια

σταθεροποιημένη ιλύ από χωνευτήρες που επεξεργάζονται απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων και οικιακών αποβλήτων. Η παρουσία ακαθαρσιών, φυσικής και χημικής προέλευσης, εξαρτάται κυρίως από την παρουσία τους στο αρχικό υπόστρωμα και συνήθως διατηρούνται απρόσβλητα σε όλη τη διάρκεια της διεργασίας [47].

### – ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ

Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς είναι ένα ζωντανό υλικό, που περιέχει ποικιλία διαφορετικών μικροοργανισμών, οι οποίοι προέρχονται από τον χωνεύτρα της αναερόβιας διεργασίας που προηγήθηκε. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι ακόμα ενεργοί κατά την αποθήκευση της ιλύος (έχει σημειωθεί αργότερη παραγωγή μεθανίου). Υπάρχει περίπτωση να περιέχονται μικροοργανισμοί που δε συμβάλλουν στην παραγωγή βιοαερίου, όπως παθογόνα βακτήρια και μύκητες. Η παρουσία τέτοιων μικροοργανισμών μπορεί να εγκυμονεί κινδύνους τόσο για τον άνθρωπο που χειρίζεται την αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ, όσο και για το έδαφος στο οποίο θα εναποτεθεί (κίνδυνος για φυτοσύστημα και ζώα που βοσκούν). Παθογόνα βακτήρια που έχουν εντοπισθεί σε διαφορετικά υποστρώματα, όπως απόβλητα σφαγείων και βιομηχανιών τροφίμων αποτελούν τα εξής: *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Yersinia*. Για τον περιορισμό του παθογόνου φορτίου και για τη μείωση της παρουσίας τους στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ μπορεί να πραγματοποιηθεί παστερίωση του υποστρώματος στους 70°C για 1 ώρα. Η προέλευση του υποστρώματος υποδεικνύει ανάλογα την ανάγκη για παστερίωση [49].

Η παρουσία οποιουδήποτε τύπου ακαθαρσίας στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ αποτελεί ενδεχόμενο περιβαλλοντικό ρύπο και έχει αρνητική επίδραση στην ποιότητα και την καταλληλότητά της ως προϊόν για την εκάστοτε χρήση (π.χ. λίπασμα). Ο πιο αποτελεσματικός τρόπος αποφυγής συγκέντρωσης ρυπαντών, στην τελική αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ, είναι η επιλογή καθαρών υποστρωμάτων ή η εναλλακτική προετοιμασία των υποστρωμάτων, πριν την εφαρμογή της ΑΧ. Υπάρχουν συγκεκριμένες προδιαγραφές ποιότητας, εθνικά συστήματα πιστοποίησης και λίστες υποστρωμάτων, που χρησιμοποιούνται με στόχο τη διασφάλιση παραγωγής μόνο καλής ποιότητας αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος [49].

### 2.4.3 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ

Αν και η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς προκύπτει από διαφορετικού τύπου υποστρώματα, όπως κοπριές ζώων, απόβλητα τροφίμων και αγροτικών αχύρων ή συγχωνεύσεις αυτών, η σύσταση του τελικού προϊόντος της χώνευσης είναι παρόμοια και πλούσια σε θρεπτικά συστατικά. Η επεξεργασία της πραγματοποιείται με τη χρήση διαφορετικών τεχνολογιών που στόχο έχουν τη μείωση του όγκου (μερική επεξεργασία) ή τον εξευγενισμό της (πλήρης επεξεργασία). Στη δεύτερη περίπτωση επιδιώκεται η ανάκτηση των θρεπτικών συστατικών που περιέχονται στο στερεό και το υγρό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, με ταυτόχρονη παραγωγή καθαρού νερού και θρεπτικών συμπυκνωμάτων [50][51].

### – ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ

Το πρώτο στάδιο στην επεξεργασία της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος είναι ο μηχανικός διαχωρισμός της σε δύο κλάσματα, ένα στερεό και ένα υγρό κλάσμα [50]. Δεν εξασφαλίζει μείωση του όγκου, αλλά μειώνει

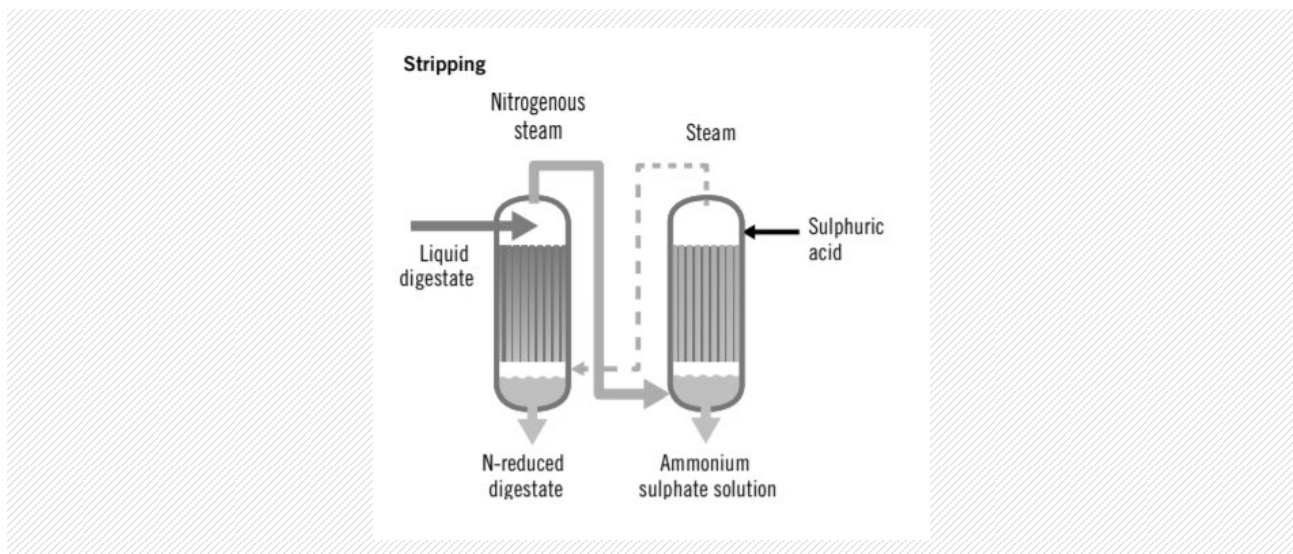
τις ανάγκες αποθήκευσης του υγρού υπολείμματος κατά 10-20%. Ο διαχωρισμός συνήθως προηγείται επόμενων διεργασιών επεξεργασίας. Το στερεό κλάσμα που συσσωρεύεται με περιεχόμενο σε ξηρή μάζα 20-40% μεταφέρεται εύκολα, έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε άζωτο και  $K_2O$  αλλά είναι πλούσιο σε  $P_2O_5$  και άνθρακα. Η σύσταση αυτή καθιστά την ιλύ κατάλληλη για απευθείας χρήση ως λίπασμα και σχηματισμό χούμου. Εναλλακτικά μπορεί να κομποστοποιηθεί ή ξηρανθεί και ακολούθως να αποθηκευτεί για άλλες χρήσεις. Το υγρό κλάσμα με περιεκτικότητα σε ξηρή μάζα 1-8% είναι πολύ ρευστό, κι έτσι μπορεί εύκολα να απομακρυνθεί από την εγκατάσταση και να εισέλθει στο έδαφος. Έχει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε  $NH_4$ , κι έτσι μπορεί να δράσει ταχύτατα ως αζωτούχο λίπασμα, άμεσα διαθέσιμο για τα φυτά. Για την ενίσχυση του διαχωρισμού των δύο κλασμάτων μπορούν να προστεθούν στο σύστημα παράγοντες κροκίδωσης ή καθίζησης [50]. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές διαχωρισμού είναι η κοχλιωτή πρέσα (screw press) και η φυγόκεντρος (centrifuge). Λιγότερο διαδεδομένες τεχνικές είναι η πρέσα φίλτρου ιμάντα και οι δεξαμενές επίπλευσης [46][51].

#### – ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΥΓΡΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ

Στόχος είναι μια σημαντική μείωση στον όγκο του υγρού κλάσματος της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, της τάξης του 50%, με την απομάκρυνση του νερού και την ανάκτηση των θρεπτικών της συστατικών [46]. Τα στερεά ή θρεπτικά συμπυκνώνονται σε ένα ιξώδες διάλυμα με περιεχόμενο σε ξηρή μάζα περίπου 15%. Αποτέλεσμα της διεργασίας είναι ένα συμπυκνωμένο διάλυμα θρεπτικών (συμπύκνωμα-concentrate) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας ως υγρή αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς και ένα αραιωμένο διήθημα (permeate) μπορεί να αποβληθεί στον υδροφόρο ορίζοντα ή στα αποχετευτικά συστήματα ή να διαβρέξει αγροτικές εκτάσεις, ανάλογα με τις απαιτήσεις [46].

#### Ammonia stripping – Απογύμνωση αμμωνίας

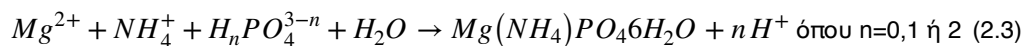
Σκοπός της διεργασίας είναι η απομάκρυνση της αμμωνίας από το υγρό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Το υλικό της τροφοδοσίας εισέρχεται σε στήλη εκρόφησης με τη μορφή μικρών διασπαρμένων σταγονιδίων και τροφοδοτείται αέριο (αέρας ή ατμός) με αντίθετη ροή [50]. Η διεργασία αυτή οδηγεί στην εκπομπή  $NH_3$  από την υγρή στην αέρια φάση. Ακολούθως, το αμμώνιο ανακτάται υπό τη μορφή  $(NH_4)_2SO_4$  σε επόμενο δοχείο, με την προσθήκη θειικού οξέος  $H_2SO_4$ . Μία σχηματική απεικόνιση της διεργασίας αποδίδεται στην Εικόνα 2-8. Το υλικό αυτό έχει μεγάλη εμπορική σημασία, καθώς αποτελεί συστατικό πολλών λιπασμάτων και χημικών προϊόντων. Η αποτελεσματικότητα της απογύμνωσης εξαρτάται από παραμέτρους όπως η συγκέντρωση του  $NH_4^+$ , η θερμοκρασία, το pH, ο χρόνος παραμονής, καθώς επίσης και οι ρυθμοί του αερίου και υγρού ρεύματος εντός των πύργων. Υψηλές τιμές pH, θερμοκρασίας, ρυθμού ροής αερίου και συγκέντρωσης  $NH_4^+$  ευνοούν την ισορροπία  $NH_4^+/NH_3$  προς όφελος της  $NH_3$ . Πιο καθοριστική παράμετρο αποτελεί το pH, που υποδεικνύει βέλτιστες αποδόσεις σε αλκαλικό περιβάλλον (pH 10.8- 11.5). Αυτό εξασφαλίζεται συνήθως με χρήση lime, που όμως έχει υψηλό κόστος. Η αύξηση pH συνδέεται με καταβύθιση μετάλλων στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ. Μπορεί να εφαρμοστεί απευθείας σε αναερόβιους χωνευτήρες με την πλευρική εγκατάσταση του συστήματος απομάκρυνσης. Διατηρεί τα επίπεδα της αμμωνίας στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ κάτω από τις συγκεντρώσεις που δρουν ανασταλτικά για τα μεθανογόνα βακτήρια [46][49][50][51].



Εικόνα 2-8: Απογύμνωση αμμωνίας [50]

#### Χημική καταβύθιση:

Εναλλακτική τεχνική για την ανακτηση N και P από την αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ είναι ο σχηματισμός στουρβίτη  $Mg(NH_4)PO_4 \cdot 6H_2O$  (magnesium ammonium phosphate MAP). Η διεργασία πραγματοποιείται με την προσθήκη αλάτων του μαγνησίου και αποδίδεται ακολούθως ως [46]:



Ο στουρβίτης που σχηματίζεται είναι μη διαλυτός και καταβυθίζεται. Μπορεί να διαχωριστεί από το νερό και να αξιοποιηθεί ως βιολογικό λίπασμα με στοιχειομετρική αναλογία Mg: N: P ίση με 1:1:1, αντικαθιστώντας άλλα εμπορικά λιπάσματα. Μέχρι σήμερα έχουν εγκατασταθεί αντιδραστήρες παραγωγής στουρβίτη σε εργαστηριακή και πιλοτική κλίμακα, για την ανάκτηση λιπάσματος για καλλιέργειες φρούτων και λαχανικών σε ορισμένες χώρες, όπως η Ιαπωνία, η Ολλανδία και η Ιταλία. Ο σχηματισμός στουρβίτη επηρεάζεται από την τιμή pH, τη συγκέντρωση των ιόντων, τη θερμοκρασία και τα αιωρούμενα στερεά. Η καταβύθιση  $PO_4^{3-}$  προκύπτει όταν το pH αυξάνεται από 5.0 σε 7.5, ενώ η βέλτιστη τιμή του ορίζεται στο εύρος pH 8.5-9.5. Καθώς ο σχηματισμός στουρβίτη συνοδεύεται από παραγωγή  $H^+$ , η διατήρηση του pH στο βέλτιστο εύρος πραγματοποιείται με τη συνεχή προσθήκη αλκαλικών. Η αντίδραση ευνοείται με αύξηση της συγκέντρωσης των ιόντων, και ο λόγος των mol των θρεπτικών πρέπει να είναι  $N/P > 3/1$  και  $Mg/P > 1/1$ . Στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ υπάρχει μεγαλύτερη διαθεσιμότητα σε  $NH_4^+$  από ότι  $Mg^{+2}$  και για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η προσθήκη χημικών όπως  $MgOH$ ,  $MgCl_2$  και  $MgSO_4$  για την προαγωγή του σχηματισμού στουρβίτη. Μία υψηλή συγκέντρωση  $Mg^{+2}$  μετριάζει την συνκαταβύθιση  $Ca^{2+}$ , που μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανάκτηση του επιθυμητού προϊόντος [51]. Ακόμη, μόνο το 10% του φωσφόρου είναι διαθέσιμο στο υγρό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, λόγω του υψηλού pH. Για το λόγο αυτό, πρέπει να αυξηθεί η συγκέντρωση του  $PO_4^{3-}$  στο υγρό κλάσμα, ώστε να βελτιωθεί η απόδοση σε στουρβίτη. Αυτό επιτυγχάνεται με ειδικές μεθόδους προεπεξεργασίας της ιλύος που θα την εμπλουτίσουν σε φώσφορο, όπως οξειδωση,

μικροκύματα, θέρμανση ή υπέρυθη επεξεργασία. Τελικά, το προϊόν που παραλαμβάνεται, ο στουρβίτης, αποτελεί ένα σύνθετο μίγμα ιζημάτων και στερεών [46][49].

Τεχνολογίες διαχωρισμού με μεμβράνες:

Ο διαχωρισμός με μεμβράνες διαχωρίζει αποτελεσματικά την αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ σε δύο κλάσματα, ένα πλούσιο σε στερεά (συμπύκνωμα) και ένα υδατικό διάλυμα που διαπερνά τη μεμβράνη (διήθημα, permeate). Και τα δύο ρεύματα περιέχουν χρήσιμα χημικά συστατικά που μπορούν να ανακτηθούν και να αξιοποιηθούν σε άλλους βιομηχανικούς τομείς [51]. Ο διαχωρισμός με μεμβράνες αποτελεί μια απλή φυσική διεργασία που δε χρειάζεται την προσθήκη χημικών, και το κόστος που συνδέεται με τη συντήρηση και τη λειτουργία της, είναι χαμηλότερο συγκριτικά με άλλες τεχνολογίες. Η χρήση μεμβρανών δίνει τη δυνατότητα παραλαβής καθαρού διηθήματος, χωρίς σωματίδια και παθογόνα συστατικά. Μειονέκτημα της διεργασίας αποτελεί το φαινόμενο «fouling» που υπονοεί την πλήρωση των πόρων των μεμβρανών με μεγαλύτερα σωματίδια, τα οποία προοδευτικά συσσωρεύονται, κατακρατούνται και δύνανται να μολύνουν τις μεμβράνες. Για τη διατήρηση της καλής λειτουργίας των μεμβρανών, αυτές πρέπει να καθαρίζονται και να εκπλαίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα. Για την επεξεργασία της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος έχουν εξετασθεί σχεδόν όλοι οι τύποι διαχωρισμού με μεμβράνες, που διαφοροποιούνται βάσει του μεγέθους των πόρων αυτής. Ανάλογα με το είδος της τροφοδοσίας και την περιεκτικότητά της σε στερεά, επιλέγεται το κατάλληλο σύστημα διαχωρισμού ή/και ο συνδυασμός αυτών, όπως η μικροδιήθηση και η υπερδιήθηση για την απομάκρυνση αιωρούμενων στερεών, μικροοργανισμών και μακρομορίων, η νανοδιήθηση, η αντίστροφη ώσμωση, η ευθεία ώσμωση και η ηλεκτροδιάλυση, για μικρά οργανικά μόρια και ιόντα, όπως η αμμωνία [49]. Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, όπως προκύπτει από τη διεργασία παραγωγής μεθανίου, δεν μπορεί να επεξεργαστεί απευθείας με νανοδιήθηση ή αντίστροφη ώσμωση. Περιέχει μεγάλη περιεκτικότητα σε στερεά, μικρότερα και μεγαλύτερα σωματίδια που κατά το διαχωρισμό θα φράξουν τις μεμβράνες. Στην περίπτωση αυτή, απαιτείται προεπεξεργασία με μία από τις μεθόδους μικροδιήθησης ή υπερδιήθησης [46]. Πιθανός είναι και ο φραγμός των άλλων μεμβρανών (επιφανειακός σχηματισμός gel). Η πλήρωση των πόρων είναι αναπόφευκτη, ωστόσο πρέπει να αποφεύγεται η υπερπλήρωση και μόλυνση αυτών, από τα κατακρατούμενα στερεά. Τέτοια φαινόμενα μπορούν να περιοριστούν με έκπλυση με νερό ή αέρα, ή και με τη χρήση υπερήχων (για την περίπτωση της υπερδιήθησης). Για την αναγέννηση των μεμβρανών είναι απαραίτητος χημικός καθαρισμός, που πραγματοποιείται με χρήση χημικών, όπως οξέα, βάσεις, οξειδωτικά, ένζυμα ή μίγματα αυτών [46][49][51].

Προχωρημένες διεργασίες:

Η πλειοψηφία των μεθόδων που έχουν εξετασθεί για την ανάκτηση των θρεπτικών από το υγρό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, έχουν εφαρμοστεί μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα. Είναι κυρίως φυσικοχημικές ή υβριδικές διεργασίες, που συνδυάζουν φυσικοχημικές, βιολογικές και μηχανικές αρχές. Μεταξύ αυτών, εφαρμόζονται και ορισμένες οξειδωτικές διεργασίες, που μετατρέπουν την αμμωνία και το οργανικό άζωτο (N), σε αέριο άζωτο ή νιτρικό άλας. Σε αυτές περιλαμβάνονται [51]:

Οζόνωση και χημική οξειδωση: ισχυρά οξειδωτικά μέσα, όπως το όζον και το υπεροξείδιο του υδρογόνου χρησιμοποιούνται για την οξείδωση της οργανικής ύλης σε απλούστερα μόρια. Με τον τρόπο αυτό μειώνεται η παραγωγή λάσπης, αυξάνοντας τη βιοαποικοδομησιμότητά της αλλά και τις δυσάρεστες οσμές της. Η οζόνωση εφαρμόζεται για τη μετατροπή της αμμωνίας σε νιτρικό άλας, όταν η συγκέντρωση της αμμωνίας στο

αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς είναι χαμηλή. Με τη χρήση μιγμάτων οξειδωτικών, όπως όζον και υπεροξειδίο (peroxone oxidation) αυξάνεται η οξείδωση της αμμωνίας. Άλλη τεχνική είναι η χρήση ατμοσφαιρικού αέρα εμπλουτισμένου με οξυγόνο υπό πίεση 5-200 bar και θερμοκρασίες 125-320°C, με τη χρήση ευγενών μετάλλων ως καταλύτες (catalytic wet oxidation) και εφαρμόζεται για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων πλούσιων σε σύνθετα οργανικά συστατικά.

Ηλεκτροχημική οξείδωση: μετατρέπει την αμμωνία σε άλλες νιτρώδεις δομές με άμεση ή έμμεση οξείδωση. Στην περίπτωση έμμεσης οξείδωσης ισχυρά οξειδωτικά όπως HClO και -OH πρέπει πρώτα να παραχθούν μέσω ηλεκτροχημικών αντιδράσεων πριν τη χρήση τους στην οξείδωση. Οι ηλεκτροχημικές διεργασίες περιορίζονται από απώλειες στην απόδοση, όταν πάνε να προσαρμοστούν σε μεγαλύτερης κλίμακας συστήματα, και λόγω του υψηλού κόστους των απαιτούμενων ηλεκτροδίων. Υβριδικές διεργασίες που συνδυάζουν ηλεκτρόδια και μικροοργανισμούς (βιοηλεκτρικά συστήματα) μπορούν να εξασφαλίσουν απομάκρυνση και ανάκτηση αζώτου, μέσω αντιδράσεων οξειδοαναγωγής συνδυασμένες με μονάδες διαχωρισμού με μεμβράνες ιοντοεναλλαγής.

Διεργασίες με μικροκύματα/υβριδικές διεργασίες: χρήση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο εύρος των μικροκυμάτων προκαλώντας την περιστροφή πολικών μορίων και την παραγωγή θερμότητας. Τα μικροκύματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απομάκρυνση αμμωνίας από υγρά, καθώς με τη θερμότητα προκαλείται εξάτμιση αυτής. Η μέθοδος με μικροκύματα μπορεί να εφαρμοστεί για απορροές με υψηλή συγκέντρωση σε αμμωνία (>1000mg/L) με υψηλό βαθμό απόδοσης απομάκρυνσης, και καθαρότητας προϊόντων. Μέχρι σήμερα εκτελείται μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα [51].

Υβριδική διεργασία που συνδυάζει ευθεία ώσμωση και απόσταξη με μεμβράνες δύναται να παράγει υψηλής ποιότητα προϊόντα: ένα συμπυκνωμένο ρεύμα, πλούσιο σε θρεπτικά και ένα υδατώδες ρεύμα απορροής που μπορεί εύκολα να ανακυκλωθεί σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών λυμάτων. Σε ένα τέτοιο σύστημα μπορούν να εξασφαλιστούν υψηλές απομακρύνσεις σε phosphate, και το αμμώνιο μπορεί να παραληφθεί με ευθεία ώσμωση και να συγκεντρωθεί με απόσταξη με μεμβράνες [51].

## – ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΣΤΕΡΕΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ

Σταθεροποίηση:

Το στερεό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά και ίνες, κάτι που το καθιστά κατάλληλο για χρήση στον αγροτικό τομέα (λίπασμα) ή για θερμοχημική μετατροπή προς παραγωγή ενέργειας ή χημικών προϊόντων. Ανάλογα με τη διεργασία μετατροπής, το πρώτο στάδιο είναι η χημική ή θερμική σταθεροποίησή του. Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, ή τμήματά της, επεξεργάζονται με την προσθήκη οξέος για τη μείωση του pH και τον περιορισμό των απωλειών σε αμμωνία κατά την αποθήκευση, ή την εναπόθεσή της στο έδαφος. Εναλλακτικά, το pH αυξάνεται με την προσθήκη βάσης (κυρίως lime), οδηγώντας στη θανάτωση των παθογόνων μικροοργανισμών, την εξουδετέρωση των δυσάρεστων οσμών που δημιουργούνται κατά την αποθήκευση [51].

Υδρόλυση:

Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μορφή χημικής υδρόλυσης είναι ο οζόνωση (ozonization). Το όζον είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό που χρησιμοποιείται για την απολύμανση του πόσιμου νερού και στην επεξεργασία των λυμάτων (wastewater treatment). Με την αντίδραση τμήμα της οργανικής ύλης διασπάται σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό, και το υπόλοιπο σε μικρά ευδιάλυτα συστατικά. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται υδροξείδιο του



νατρίου που μπορεί να επιφέρει διάσπαση της τάξης του 37%. Ωστόσο, αυτή η διαδικασία απαιτεί ένα περίπλοκο σύστημα ελέγχου, ενώ ταυτόχρονα είναι διαβρωτική, γεγονός που περιορίζει την εφαρμογή της σε συστήματα μεγάλης κλίμακας. Η υδρόλυση αυξάνει το κόστος ολόκληρης της διαδικασίας, λόγω του επιπρόσθετου εξοπλισμού που απαιτεί καθώς και της κατανάλωσης αντιδραστηρίων. Αυτό μπορεί να αντισταθμιστεί σε ένα βαθμό με τη μείωση του όγκου του στερεού κλάσματος και των ενεργειακών απαιτήσεων [51].

Θερμική ξήρανση και καύση:

Πρόκειται για εξάτμιση του περιεχόμενου νερού στο υπόστρωμα με θερμότητα. Η θερμική ξήρανση μειώνει την περιεκτικότητα της αφυδατωμένης λάσπης σε νερό προς παραλαβή ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος που περιέχει έως και 98% ξηρά στερεά. Ο όγκος της αποξηραμένης ιλύος που προκύπτει είναι μικρότερος, ενώ ταυτόχρονα παστεριώνονται τα περιεχόμενα στερεά, περιορίζοντας τις οσμές και την περιεχόμενη αμμωνία. Προκύπτει αποξηραμένο και σταθεροποιημένο προϊόν, μικρότερου συνολικού όγκου, που είναι εύκολο στον χειρισμό, την αποθήκευση, τη μεταφορά και τη γεωργική ή θερμοχημική αξιοποίηση. Έχει υψηλές απαιτήσεις σε ενέργεια. Σε περίπτωση που χρησιμοποιηθούν αναερόβιοι χωνευτές, η θερμική ξήρανση του υπολείμματος μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρήση τμήματος του παραγόμενου βιοαερίου. Ακολούθως, η ξηραμένη αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς μπορεί να επεξεργαστεί σε κατάλληλες μήτρες προς σχηματισμό pellets. Αυτά έχουν υψηλή θερμογόνο δύναμη 14 MJ/kg και μπορούν να αξιοποιηθούν ως οργανικό λίπασμα [46][51].

Πυρόλυση:

Η πυρόλυση είναι η χημική διάσπαση των οργανικών με θέρμανση στους 350-700°C, απουσία οξυγόνου. Η διαδικασία επηρεάζεται από την υγρασία του υποστρώματος και τα προϊόντα από την περιεκτικότητά του νερό, τη θερμοκρασία και τη διάρκεια της πυρόλυσης. Παράγονται τρία προϊόντα, ένα αέριο (που περιέχει H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO, CO<sub>2</sub> και N<sub>2</sub>), ένα υγρό (bio oil, tar) και ένα στερεό (biochar, περίπου 90% άνθρακας). Σε μη όξινες συνθήκες το μεγαλύτερο μέρος της οργανικής ύλης (κυτταρίνη, άμυλο, λιγνίνη και γλυκόζη) υδρολύεται και μετατρέπεται σε biochar. Το bio-oil που παράγεται έχει φυσικοχημικές ιδιότητες, σύνθεση και θερμογόνο δύναμη παρόμοιες με του ντήζελ [49][51].

Αεριοποίηση:

Η αεριοποίηση μετατρέπει τα οργανικά στερεά σε ένα καύσιμο αέριο, το οποίο περιορίζεται στην τοπική κατανάλωση επειδή η συμπίεση, η αποθήκευση και η μεταφορά του είναι οικονομικά ασύμφορη. Η αρχή της αεριοποίησης είναι παρόμοια με την πυρόλυση και απαιτεί την προσθήκη ενέργειας για την εκκίνηση των θερμοχημικών αντιδράσεων και αύξηση της θερμοκρασίας σε 800-1400°C. Σε αυτό το επίπεδο, διασπώνται οι ανώτεροι υδρογονάνθρακες και σχηματίζουν ένα αέριο μίγμα που περιέχει κυρίως μονοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο και μικρότερες ποσότητες μεθανίου, αιθανίου, νερό, άζωτο και μολυσματικές ουσίες (σωματίδια άνθρακα, τέφρα, έλαια). Με την αεριοποίηση το μεγαλύτερο μέρος του αζώτου της βιομάζας μετατρέπεται σε αέριο άζωτο. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο σχηματισμός αζωτούχων παραπροϊόντων (NH<sub>3</sub>, HCN και NOx, συμπεριλαμβανομένου του N<sub>2</sub>O - ένα ισχυρό αέριο του θερμοκηπίου [51].

## – ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Οι βιολογικές διεργασίες μπορούν να χειριστούν και το υγρό και το στερεό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Οι βιολογικές μέθοδοι είναι συνήθως ένας αποτελεσματικός, απλός και οικονομικός

τρόπος για να ανακτηθούν τα θρεπτικά συστατικά, να αφαιρεθούν ανεπιθύμητες ενώσεις και να αναβαθμιστεί η ποιότητα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Οι βιολογικές μέθοδοι για το στερεό κλάσμα περιλαμβάνουν την κομποστοποίηση, την ενζυμική υδρόλυση και τη βιοξήρανση. Τα θρεπτικά συστατικά στο υγρό κλάσμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος μπορούν να ανακτηθούν με βιολογικές διεργασίες, όπως η παραγωγή βιομάζας από φύκη, η προηγμένη βιολογική απομάκρυνση αζώτου και οι τεχνητοί υγρότοποι [51]. Ακολούθως αναλύονται οι τρεις τεχνικές επεξεργασίας του στερεού κλάσματος.

**Κομποστοποίηση:** όταν στόχος της αναερόβιας χώνευσης είναι η παραγωγή βιομεθανίου, η αναερόβια χωνευμένη ιλύς που παράγεται αξιοποιείται κυρίως ως εδαφοβελτιωτικό ή λίπασμα. Η απευθείας, ωστόσο, διάθεσή της δεν είναι πάντα κατάλληλη και ασφαλής, καθώς πρέπει να εξασφαλιστεί η βιολογική σταθεροποίηση του υλικού. Τα χαρακτηριστικά της προκύπτουσας ιλύος θα καθορίσουν και την καταλληλότητα της μετέπειτα χρήσης της. Με την κομποστοποίηση μπορεί να εξασφαλιστεί αποικοδόμηση (αερόβια) της εναπομένουσας οργανικής ύλης, συνδράμοντας στη μείωση της δυνητικής φυτοτοξικότητας του προϊόντος και μειώνοντας τα παθογενή που περιέχονται σε αυτό. Ωστόσο η διεργασία εγκυμονεί και κινδύνους που συνδέονται με την παρουσία βαρέων μετάλλων και ανόργανων μολυσματικών [51].

**Ενζυμική υδρόλυση:** Η διεργασία διασπά τα μακρομόρια, που περιέχονται στην ιλύ, όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες, σε απλούστερα μονομερή, όπως αμινοξέα και σάκχαρα, με τη χρήση συγκεκριμένων ενζύμων (πρωτεάσες, κυτταρινάσες). Οι ίνες που περιέχονται στο απόβλητο περιέχουν λιγνίνη, ημικυτταρίνη και κυτταρίνη. Κατά τη χώνευση καταναλώνονται μόνο η ημικυτταρίνη και σε μικρότερο βαθμό η κυτταρίνη. Αυτό οδηγεί σε μερική ή εξολοκλήρου διάσπαση της ινώδους δομής, αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της υδρόλυσης. Η χωνευμένη ιλύς μπορεί να επεξεργαστεί με χημικά, όπως το διοξειδίο του νατρίου, για την αύξηση της απόδοσης σε σάκχαρα κατά την ενζυμική υδρόλυση. Περιέχει ακόμη θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για τη διεκπεραίωση της ζύμωσης από τα τους μικροοργανισμούς [51]. Η περίπτωση της ενζυμικής υδρόλυσης ως μέθοδος επεξεργασίας της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, θα εξεταστεί εκτενέστερα στο Κεφάλαιο 3.5.2 «Τεχνολογίες παραγωγής βιοαιθανόλης- Υδρόλυση» και θα αποτελεί και τη βάση του πειραματικού μέρους της παρούσας εργασίας.

**Βιοξήρανση:** είναι μια εναλλακτική μέθοδος ξήρανσης και σταθεροποίησης των στερεών οργανικών αποβλήτων, η οποία πραγματοποιείται γρήγορα σε διάστημα από 7 έως 10 ημέρες. Πρόκειται για μία αερόβια μέθοδο εξάτμισης που μειώνει την υγρασία του αποβλήτου, με ελάχιστη αερόβια αποικοδόμηση. Η διαφορά της από την κομποστοποίηση είναι ο στόχος της διεργασίας, που στη συγκεκριμένη περίπτωση, δεν είναι η μεγιστοποίηση της αποικοδόμησης της οργανικής ύλης, αλλά η αποικοδόμηση μέχρι το βαθμό εκείνο που θα παραχθεί βιολογική θερμότητα για να ξηράνει το απόβλητο. Το προκύπτον υλικό της κομποστοποίησης είναι αρκετά σταθεροποιημένο, ενώ στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι μερικώς σταθεροποιημένο [55].

Συνοπτικά από τις μεθόδους που αναλύθηκαν παραπάνω:

Σύμφωνα με τις διαθέσιμες τεχνολογίες που αναπτύχθηκαν για την ανάκτηση θρεπτικών συστατικών από αναερόβια χωνευμένη βιομάζα: Ammonia stripping και στουρβικό αποτελούν εύκολες και λειτουργικές τεχνολογίες, που ήδη εφαρμόζονται σε βιομηχανική κλίμακα και έχουν χαμηλό ενεργειακό κόστος συγκριτικά με τις τεχνολογίες διαχωρισμού με μεμβράνες. Μεταξύ αυτών, η μικροδιήθηση και η υπερδιήθηση χρησιμοποιούνται ως μέθοδοι προεπεξεργασίας για την απομάκρυνση μεγαλύτερων σωματιδίων από την προς επεξεργασία αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, ενώ η νανοδιήθηση και η αντίστροφη ώσμωση, ηλεκτροδιάλυση ED και MD, εξασφαλίζουν αποτελεσματική ανάκτηση θρεπτικών. Ωστόσο, όλες οι τεχνολογίες με μεμβράνες

συνδέονται με φραγμό των μεμβρανών από ενδεχόμενα ρυπογόνα στερεά συστατικά, όπως συσσωρεύονται κατά τη μεταφορά διαμέσου αυτών στην επιφάνειά τους, περιορίζοντας με αυτόν τον τρόπο χρονικά την αποτελεσματικότητα και λειτουργία τους. Ανά την περίπτωση απαιτείται διακοπή της διεργασίας και καθαρισμός με κατάλληλες διεργασίες. Τεχνολογίες αντίστροφης ηλεκτροδιάλυσης (EDR) και ευθείας ώσμωσης (FO) είναι καλές τεχνολογίες για την επεξεργασία της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος με υψηλή περιεκτικότητα σε αιωρούμενα στερεά [46].

#### 2.4.4 ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΙΛΥΣ - ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

Με το πέρας της αναερόβιας χώνευσης και την απελευθέρωση του βιοαερίου, η υπολειμματική ύλη που παραμένει καλείται αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς ή βιολογικό λίπασμα (biofertilizer). Είναι πλούσια σε μικροοργανισμούς, άνθρακα, μικροθρεπτικά και άλλα (N, Ph, K, Ca, Mg, S). Σε ασυνεχείς αναερόβιους χωνευτήρες στερεής κατάστασης, κλάσμα της παραγόμενης αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος επιστρέφει στο χωνευτήρα, παρέχοντας τους απαραίτητους μικροοργανισμούς για την ΑΧ στη νέα τροφοδοσία. Όταν χρησιμοποιείται στο έδαφος ως βελτιωτικό, βελτιώνει τα χαρακτηριστικά του εδάφους, ενώ τα θρεπτικά που απορροφήθηκαν κατά την καλλιέργεια διατίθενται προς περαιτέρω επεξεργασία. Σε πολλές χώρες, ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία, η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς διατίθεται προς χρήση σε αγροτικές εκτάσεις, ή ως υλικό για τοπιακούς αστικούς σχεδιασμούς, κήπους, κηπουρική ή δασοκομία. Ένας τόνος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος μπορεί να έχει αξία έως και 6\$, και ύστερα από κομποστοποίηση με διαπιστωμένο κομπόστ η αξία της μπορεί να φτάσει τα 20\$ [48]. Από υγρή χώνευση, η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως έχει, χωρίς προηγούμενη επεξεργασία, διαχωρισμό ινών ή υγρών κλασμάτων. Τα περιεχόμενα θρεπτικά και η αξία της ποικίλουν ανάλογα με τον τύπο της τροφοδοσίας και τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο [46].

Με την αξιοποίηση της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος σε αγροτικές εκτάσεις εξασφαλίζεται [48]:

- μείωση στη χρήση χημικών λιπασμάτων- η θρεπτική αξία του αναερόβια σταθεροποιημένης ιλύς μειώνει την ανάγκη αγοράς τεχνητών λιπασμάτων καθώς λειτουργεί ως υποκατάστατο.
- Αυξημένη απόδοση καλλιεργειών: η ίδια ποσότητα αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, υποκαθιστώντας τα χρησιμοποιούμενα χημικά, δύναται να εμπλουτίσει και να αυξήσει τις αποδόσεις, καθώς παρέχει μικροθρεπτικά και ιχνοστοιχεία, επιδρώντας στη βιολογία του εδάφους. Και αυτά τα αποτελέσματα μπορούν να ποικίλουν με τον τύπο της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, τον τύπο της καλλιέργειας, τα γεωγραφικά και κλιματικά χαρακτηριστικά του τόπου όπου χρησιμοποιείται.
- Περιορίζει την υποβάθμιση του εδάφους που προκύπτει με την εξάντληση των θρεπτικών ουσιών και του άνθρακα- ιδιαίτερα σε άνυδρες περιοχές (Μάλι, Ομάν) Η προσθήκη της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος αυξάνει την περιεκτικότητα άνθρακα του εδάφους όπου εναποτίθεται, αυξάνοντας την ικανότητα συγκράτησης νερού, αλλά και την περιεκτικότητά του σε θρεπτικά.
- Τα πλούσια σε θρεπτικά βιολιπάσματα από απόβλητα, συμφέρουν αγρότες που εξαρτώνται από ακριβά ανόργανα λιπάσματα, περιορίζοντας το κόστος της αγοράς τους

- Μείωση CO<sub>2</sub>: καθώς η χώνευση, κυρίως υπολειμμάτων αγροτικών ή τροφίμων που περιέχουν μεγάλη ποσότητα σε άνθρακα (που παράχθηκε με φωτοσυνθετικές διεργασίες από τα νεκρά φυτά των βιοαποβλήτων), μεταφέρει την ποσότητα αυτή του άνθρακα στο παραγόμενο βιοαέριο και την αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ. Ο άνθρακας του βιοαερίου επιστρέφει στην ατμόσφαιρα, ενώ της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος καταλήγει στο έδαφος, κι έτσι περιορίζονται οι εκπομπές του.
- Περιορισμένη κατανάλωση ενέργειας, σε αντίθεση με τη διαδικασία παραγωγής ανόργανων λιπασμάτων. Η αντικατάστασή τους από αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ μειώνει τις απαιτήσεις σε ενέργεια για τον αγροτικό τομέα και τις σχετιζόμενες με αυτόν εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου.
- Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς αποτελεί ένα υγρό υλικό στη φυσική της κατάσταση, με την πρόσθετη αυτή υγρασία να επιδρά θετικά σε άνυδρα εδάφη [48].

Εκτός των θρεπτικών, το αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς μπορεί να περιέχει ακαθαρσίες, όπως τμήματα αδρανών υλικών ή μεγαλύτερα και χωνεύσιμα αυτών, βιολογικά μολυσματικά όπως παθογόνα και σπόρους αγριόχορτων. Άλλα μολυσματικά αποτελούν βαρέα μέταλλα και οργανικά, η παρουσία των οποίων σχετίζεται άμεσα με την παρουσία τους και στη χρησιμοποιούμενη τροφοδοσία. Η θερμοφιλική ΑΧ ή η παστερίωση αφαιρεί τη βιολογική μόλυνση, αλλά δεν επιδρά αδρανή υλικά και τμήματα χωνεύσιμων υλικών. Αυτά μπορούν να αντιμετωπιστούν με στάδια προ ή μετα- επεξεργασίας. Τα βαρέα μέταλλα και επίμονα οργανικά μολυσματικά μπορούν να αποφευχθούν μόνο με προσεγμένη επιλογή της τροφοδοσίας.

Ο περιορισμός των παθογόνων στην αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ ρυθμίζεται με κανονισμούς για αυτήν, που ισχύουν σε κάθε χώρα. Συγκεκριμένες απαιτήσεις ποιότητας και σταθερότητας οι οποίες ποικίλουν μεταξύ των χωρών. Άλλες συστήνουν παστερίωση του αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, ενώ άλλες κομποστοποίηση και αποθήκευση [48].

Η φύλαξη της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος πρέπει να γίνεται σε ειδικές δεξαμενές με αεροστεγή καλύμματα, ώστε να εξασφαλιστεί ο περιορισμός απελευθέρωσης αερίων όπως μεθάνιο, αμμωνία, υδρόθειο, στην ατμόσφαιρα. Πρόσθετος εξοπλισμός ασφαλείας όπως ανιχνευτές διαρροών, είναι επίσης απαραίτητος. Η δεξαμενή της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος μπορεί να βρίσκεται είτε πλησίον της δεξαμενής της ΑΧ είτε στο χώρο όπου αυτή πρόκειται να χρησιμοποιηθεί. Κατά τη φύλαξή της, είναι απαραίτητη η ανάδευση ώστε να εξασφαλίζεται η ομοιογένειά της ιλύος πριν από κάθε χρήση ή μεταφορά [52].

Ο σχεδιασμός μιας εγκατάστασης παραγωγής βιοαερίου είναι φρόνιμο να γίνεται σε συνδυασμό με τη αξιολόγηση των πιθανών χρήσεων της παραγόμενης αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος (επεξεργασία, μεταφορά, κόστη εφαρμογής και πλεονεκτήματα). Πρέπει να λαμβάνονται στα υπόψη οι απαιτήσεις για τη μεταφορά της, η μορφή που πρέπει να έχει η ιλύς ως προϊόν πριν διατεθεί (ολόκληρη όπως προκύπτει ή διαχωρισμένη σε υγρό και στερεό), η τροποποίησή της (π.χ. με ξήρανση) πριν ή μετά τη μεταφορά, ο αριθμός των απαιτούμενων οχημάτων, η απόσταση μεταξύ της εγκατάστασης βιοαερίου και τον προορισμό που θα χρησιμοποιηθεί, καθώς επίσης και η παροχή του στον εκάστοτε χρήστη. Όλα συνδέονται με κόστη για την εφαρμογή τους και είναι χρήσιμο τα επιμέρους στάδια, να προβλέπονται καταλλήλως. Ακόμη πρέπει να λαμβάνεται στα υπόψη η διαθεσιμότητα της γης και του εδάφους, ανάλογα με εποχικές και άλλες απαιτήσεις που σχετίζονται με τις καλλιέργειες [48][46][52]. Υπολογίζεται ότι μία μέση εγκατάσταση παραγωγής βιοαερίου με ηλεκτρική ισχύ 500 KW παράγει περίπου 10000 τόνους αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος το χρόνο [67].

# 3

ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ –  
ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ



### 3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΙΑ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ ΚΑΙ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Με την εξάντληση των αποθεμάτων των ορυκτών καυσίμων και τις περιβαλλοντικές ανησυχίες που εγείρονται, το ενδιαφέρον έχει στραφεί σε εναλλακτικές πηγές. Υπολογίζεται ότι τα αποθέματα των ορυκτών καυσίμων θα έχουν εξαντληθεί εντός των επόμενων 40-50 ετών, λόγω των αυξημένων ρυθμών κατανάλωσής τους. Οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου που συνδέονται με τη χρήση και την καύση τους, επιβαρύνουν την ατμόσφαιρα, και είναι συνυπεύθυνες για την αστική ρύπανση, και την κλιματική αλλαγή. Στο πλαίσιο αυτό, η χρήση οικολογικών, βιοαποικοδομήσιμων και οικονομικών εναλλακτικών, όπως τα βιοκαύσιμα και η βιοαιθανόλη, μπορούν να αποτελέσουν μια ιδανική εναλλακτική [52].

Τα βιοκαύσιμα αποτελούν καύσιμα που προέρχονται από βιομάζα ή βιοαπόβλητα. Χρησιμοποιούνται για πολλούς σκοπούς, αλλά κυρίως ως πηγή ενέργειας που αξιοποιούνται στις μεταφορές (υγρά ή αέρια καύσιμα μεταφοράς). όπως το βιοντήζελ και η βιοαιθανόλη. Χρησιμοποιούνται ως ανανεώσιμη εναλλακτική πηγή ενέργειας από τα ορυκτά καύσιμα για τον τομέα των μεταφορών, βοηθώντας στον περιορισμό των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου. Μέχρι το 2020 η ΕΕ στοχεύει στην υποκατάσταση 10% των καυσίμων μεταφορών για κάθε χώρα μέλος από ανανεώσιμες πηγές, όπως τα βιοκαύσιμα [53]. Η παραγωγή και χρήση των βιοκαυσίμων ωστόσο πρέπει να γίνεται με βιώσιμο τρόπο, ώστε να περιοριστούν οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου αλλά χωρίς αρνητική επίδραση στην περιβαλλοντική και κοινωνική βιωσιμότητα. Στον Πίνακα 3-1 φαίνεται μία τυπική συνεισφορά στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου από τα βιοκαύσιμα, όταν παράγονται από συγκεκριμένους τύπους αγροτικών υποστρωμάτων.

Αν και τα βιοκαύσιμα είναι απαραίτητα ώστε να επιτευχθούν οι στόχοι για τον περιορισμό των αερίων του θερμοκηπίου, η παραγωγή τους λαμβάνει συνήθως χώρα σε καλλιεργήσιμες εκτάσεις που χρησιμοποιούνταν για άλλου τύπου αγροτική δραστηριότητα, όπως η καλλιέργεια εδώδιμων σιτηρών και χορταρικών. Καθώς αυτή η αγροτική παραγωγή παραμένει απαραίτητη, υπάρχει πιθανότητα επέκτασής τους σε εκτάσεις που δεν προβλέπονταν εξαρχής για τέτοια χρήση (non cropland), ενδεχομένως εκτάσεις με υψηλό απόθεμα άνθρακα, όπως δάση, υγράτοποι ή τύρφες. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως έμμεση αλλαγή χρήσης γης (indirect land use change ILU).

Μπορεί να οδηγήσει στην απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα, που είναι αποθηκευμένο στα δέντρα και το έδαφος, μηδενίζοντας το πλεονέκτημα που παρέχει τελικά η χρήση των βιοκαυσίμων [54]. Πολλές οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες όπως οι ΗΠΑ, η Βραζιλία, η Κίνα, ο Καναδάς και μέλη της ΕΕ έχουν επιχειρήσει μια αύξηση της ανεξαρτησίας τους σε σχέση με την παραγωγή βιοαιθανόλης, με τις τρεις πρώτες να το έχουν επιτύχει αποτελεσματικά. Οι κύριες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό περιλαμβάνουν ενεργειακές καλλιέργειες και άλλες καλλιέργειες σιτηρών. Ωστόσο, η βιομηχανικής κλίμακας εμπορευματοποίηση της βιομηχανίας παραγωγής βιοαιθανόλης από τέτοιες πρώτες ύλες έχει περιοριστεί, καθώς συναγωνίζεται τη χρήση των πηγών αυτών για διατροφικούς σκοπούς. Στο πλαίσιο αυτό, προάγεται η παραγωγή βιοαιθανόλης και άλλων βιοκαυσίμων, από άλλες ανανεώσιμες πηγές, που δεν επηρεάζουν την τροφική βιομηχανία.

Η επιλογή του κατάλληλου τύπου τροφοδοσίας αποτελεί αντικείμενο συνεχούς έρευνας, καθώς τα συστατικά της χρησιμοποιούμενης βιομάζας επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση σε βιοαιθανόλη, της εκάστοτε διεργασίας. Για το σκοπό αυτό εξετάζονται διαφορετικά σενάρια από ποικιλία τροφοδοσιών, με διαφορετική χημική σύσταση, διαθεσιμότητα, μεταφορικά και κόστη επεξεργασίας, αλλά και αποτελεσματικότητα. Ανάλογα με την προέλευση της βιομάζας, τη σύσταση και τη τεχνολογία που χρησιμοποιείται, τα βιοκαύσιμα χωρίζονται στις εξής κατηγορίες [52]:

- 1<sup>ης</sup> γενιάς ή συμβατικά βιοκαύσιμα: προέρχονται από βιομάζα με υψηλό περιεχόμενο σε σάκχαρα και άμυλο, και κυρίως εδώδιμες καλλιέργειες, όπως σιτηρά, καλαμπόκι, ζαχαροκάλαμο και κονδυλώδεις ρίζες (πατάτα, παντζάρι κ.α.) ή φυτικά έλαια. Παραδείγματα βιοκαυσίμων 1<sup>ης</sup> γενιάς αποτελούν η βιοαιθανόλη και το βιοντήζελ. Η βιοαιθανόλη παράγεται με ζύμωση των σακχάρων και του αμύλου της βιομάζας, ενώ το βιοντήζελ παράγεται με τη χρήση ελαιωδών καλλιεργειών (rape seed, sunflower, soybean, palm oil), θέρμανση ελαίων προς μείωση του ιξώδους και απευθείας χρήση τους στις μηχανές καύσης. Η βιοαιθανόλη παράγεται σήμερα κυρίως από ζαχαροκάλαμο (Βραζιλία) και καλαμπόκι (ΗΠΑ) και λιγότερο από σιτάρι (Καναδάς), ζαχαρότευτλα και σόργο (χώρες τις ΕΕ) [52][59].
- 2<sup>ης</sup> γενιάς: προέρχονται από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα, από μη εδώδιμους καρπούς, όπως αγροτικά και δασικά υπολείμματα. Κύριο συστατικό τους είναι η κυτταρίνη και χαμηλότερα ποσά σακχάρων πεντόζης με τη μορφή ημικυτταρίνης. [52]
- 3<sup>ης</sup> γενιάς: προέρχονται από εναλλακτικά υποστρώματα όπως άλγη, μικροάλγη, μακροάλγη και κυανοβακτήρια, που χρησιμοποιούνται πλέον περισσότερο για την παραγωγή βιοντήζελ. Εξασφαλίζουν μεγαλύτερες αποδόσεις με μικρότερο όγκο τροφοδοσίας. Η παραγωγή βιοαιθανόλης από άλγη βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο, κι εφαρμόζεται μόνο σε εργαστηριακή κλίμακα. [52]

Αν και έχει προχωρήσει σημαντικά η έρευνα στον τομέα της οικονομικής παραγωγής βιοκαυσίμων, η βιοαιθανόλη, μέχρι σήμερα, παράγεται αποτελεσματικά σε βιομηχανική κλίμακα μόνο από βιομάζα 1<sup>ης</sup> γενιάς. Ωστόσο, αυτό έχει ημερομηνία λήξης καθώς τέτοιοι τύποι βιομάζας ανταγωνίζονται την τροφική βιομηχανία, καθώς καταναλώνονται καλλιέργειες που προορίζονται για τροφική κατανάλωση, οδηγώντας σε κρίση ιδιαίτερα με την αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού [58].

## – ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Η βιοαιθανόλη (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) αποτελεί ένα ανανεώσιμο υγρό καύσιμο, που προέρχεται από βιομάζα και προβλέπεται να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη διαχείριση της σημερινής παγκόσμιας ενεργειακής κρίσης και την επιβάρυνση της ποιότητας του περιβάλλοντος [58].

Πρόκειται για ένα πηκτικό, εύφλεκτο και άχρωμο υγρό, με αλκοολικό περιεχόμενο που κυμαίνεται μεταξύ 80% και 99.9%. Η ανανεώσιμη αιθανόλη, παράγεται από αγροτικές πρώτες ύλες, όπως δημητριακά, ζαχαροκάλαμο και άλλα απόβλητα ή υπολείμματα όπως το άχυρο. Η συνθετική αιθανόλη παράγεται κατά τη διεργασία παραγωγής αιθυλενίου με τη χρήση ορυκτών πρώτων υλών. Όπως για όλα τα βιοκαύσιμα, έτσι και η αιθανόλη μπορεί να είναι συμβατική (1ης γενιάς), όταν προέρχεται από υποστρώματα εδώδιμων καλλιεργειών, είτε προηγμένη (2ης γενιάς), όταν παράγεται από υποστρώματα μη εδώδιμης κυτταρινούχας βιομάζας [52]. Τα πιο συνήθη υποστρώματα για την παραγωγή της αποτελούν τα σιτηρά (αραβόσιτος, πυρήνες σιταριού) και το ζαχαροκάλαμο. Μπορεί να αξιοποιηθεί για ένα εύρος εφαρμογών σε βιοχημικά, φαρμακευτικά και βιομηχανικά προϊόντα, αλλά και ως βιοκαύσιμο με πολλά οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη. Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο θα δοθεί έμφαση στην αξιοποίηση της βιοαιθανόλης ως βιοκαύσιμο.

Το 2011 η παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης ήταν περίπου 100 δισεκ. λίτρα και το 2017 έφτασε τα 120 δισεκ. λίτρα, υποδεικνύοντας την αναγνώρισή της ως μια προτιμώμενη εναλλακτική πηγή ενέργειας για την υποκατάσταση των ορυκτών καυσίμων. Η βιοαιθανόλη δεν αποτελεί μια καινούρια πηγή ενέργειας, καθώς χρησιμοποιούταν στη Ευρώπη και τις ΗΠΑ ήδη από τις αρχές του 1900. Στην πορεία, ωστόσο, αγνοήθηκε, λόγω

του υψηλού κόστους που συνδεόταν με την παραγωγή της, σε σύγκριση με εκείνο του πετρελαίου. Επανήλθε στο προσκήνιο το 1970 με την κρίση του πετρελαίου και την όλο αυξανόμενη τάση για διαφύλαξη των ορυκτών πόρων και εύρεση νέων εναλλακτικών πηγών πιο φιλικών προς το περιβάλλον [58].

Ως βιοκαύσιμο, αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη πηγή ενέργειας, έναντι της βενζίνης (C<sub>7</sub>H<sub>17</sub>). Μπορεί να την υποκαταστήσει σε ένα ποσοστό στις σύγχρονες μηχανές καύσης ή να αναμιχθεί σε υψηλότερα ποσοστά έως και 85%, σε ελαφρώς τροποποιημένες μηχανές, (flex-fuel vehicles). Αν και 1 λίτρο αιθανόλης αντιστοιχεί στο 66% της ενέργειας που παρέχει η ίδια ποσότητα βενζίνης, έχει υψηλότερο αριθμό οκτανίου (106-110) έναντι (91-96) της βενζίνης, κάτι που ενισχύει και εμπλουτίζει την απόδοση του τελικού καυσίμου, όταν αναμιγνύονται. Ο υψηλότερος αριθμός οκτανίου της αιθανόλης τη επιτρέπει να αναφλέγεται σε υψηλότερο λόγο συμπίεσης με μικρότερο χρόνο, οδηγώντας σε χαμηλότερο χτύπημα του κινητήρα. Έχει επίσης υψηλότερη ενθαλπία εξάτμισης 1177 kJ/kg στους 60°C σε σχέση με τη βενζίνη (348°C) και υψηλότερη θερμότητα εξάτμισης που ανέρχεται στα 840 kJ/kg έναντι 305 kJ/kg για τη συμβατική βενζίνη. Αυτό εξασφαλίζει ότι το αιθανολικό μίγμα θα έχει υψηλότερη αποτελεσματικότητα από ότι η καθαρή βενζίνη. Είναι ένα φιλικό προς το περιβάλλον και οικολογικό καύσιμο, λόγω της περιεκτικότητάς της σε οξυγόνο. Όταν προστίθεται στα συμβατικά καύσιμα κίνησης, αυξάνει τον αριθμό οκτανίου τους, μειώνει το μονοξειδίο του άνθρακα και τις πτητικές ενώσεις των καυσαερίων τους. Σε αντίθεση με τη βενζίνη που δεν περιέχει οξυγόνο, η βιοαιθανόλη περιέχει 34.7% οξυγόνο, που βοηθάει στην αποτελεσματικότητα της καύσης (αύξηση 15%), περιορίζοντας ταυτόχρονα τις εκπομπές οξειδίων του αζώτου [52]. Διαθέτει επίσης πολύ χαμηλές ποσότητες θείου, με αποτέλεσμα η μίξη των δύο τύπων καύσιμου να οδηγεί σε καύσιμο με μειωμένο περιεχόμενο σε θείο, καθώς επίσης και μικρότερες εκπομπές οξειδίων του θείου που αποτελεί καρκινογόνα ουσία, συνυπεύθυνη για το φαινόμενο της όξινης βροχής [56].

Η διεργασία παραγωγής του καυσίμου της βιοαιθανόλης εμπλέκει συγκεκριμένα επιμέρους στάδια τα οποία θα αναλυθούν εκτενώς στην παράγραφο 3.5 «Τεχνολογίες παραγωγής Βιοαιθανόλης». Ενδεικτικά αναφέρονται ονομαστικά τα στάδια τα οποία περιλαμβάνουν την προεπεξεργασία του υποψήφιου κατάλληλου υποστρώματος, την υδρόλυσή του με τη βοήθεια συγκεκριμένων ενζύμων, ακολούθως τη ζύμωση από μικροοργανισμούς και το τελικό στάδιο της απόσταξης, από το οποίο παραλαμβάνεται το άnuδpo επιθυμητό προϊόν.

## 3.2 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Η χρήση των βιοκαυσίμων και της βιοαιθανόλης στην Ευρωπαϊκή Ένωση ρυθμίζεται σύμφωνα με την Οδηγία RED (2009) για τις Ανανεώσιμες πηγές ενέργειας (Renewable Energy Directive, τις οδηγίες για την ποιότητα των καυσίμων Fuel Quality Directives, την οδηγία 2015 ILUC, καθώς επίσης και εθνικές, ανά τις χώρες μέλη, νομοθεσίες.

Ως Ενέργεια από ανανεώσιμες πηγές ή ανανεώσιμη ενέργεια, είναι η ενέργεια που παράγεται από μη ορυκτές πηγές, όπως η αιολική, η ηλιακή, η γεωθερμική, η ενέργεια από τα κύματα και τους ωκεανούς, η υδροηλεκτρική, η ενέργεια από βιομάζα, αέριο από εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων και το βιοαέριο [60].

Ως βιοκαύσιμο ορίζεται το υγρό καύσιμο που χρησιμοποιείται στον μεταφορικό τομέα και παράγεται από βιομάζα (EE 2018/2001) [60]. Συμβατά βιοκαύσιμα ή βιοκαύσιμα 1<sup>ης</sup> γενιάς καλούνται τα βιοκαύσιμα που



προέρχονται από εδώδιμες καλλιέργειες και προηγμένα ή βιοκαύσιμα 2<sup>ης</sup> γενιάς, καλούνται εκείνα που προέρχονται από μη εδώδιμη βιομάζα [60].

Από το 2009 και μέχρι το Δεκέμβριο του 2020 είναι σε ισχύ η οδηγία για την ενέργεια από ανανεώσιμες πηγές RED (The Renewable Energy Directive), στο πλαίσιο του ευρωπαϊκού πακέτου αλλαγής για την ενέργεια και το κλίμα CCP (EU energy and Climate Change Package). Σύμφωνα με αυτήν ορίζεται ότι το 20% της παραγόμενης ενέργειας εντός ΕΕ πρέπει να προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές. Πρόσθετα, ορίζει ότι στον τομέα των μεταφορών η υποκατάσταση πρέπει να φτάσει το 10%, με το 7% να προέρχεται από συμβατικά βιοκαύσιμα και το 0.5% από προηγμένα βιοκαύσιμα.

Για την περίοδο 2021-2030, τη RED I διαδέχεται η οδηγία RED II σύμφωνα με την οποία [61]:

- Ο στόχος για την παραγωγή ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές ορίζεται στο 32%
- Για τον μεταφορικό τομέα ορίζεται 14% υποκατάσταση των συμβατικών καυσίμων με βιοκαύσιμα
- Η χρήση προηγμένων βιοκαυσίμων, που δεν προέρχονται από εδώδιμες καλλιέργειες, να ανέλθει στο 3.5%

Πίνακας 3-1: Τυπική συνεισφορά στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, όταν τα βιοκαύσιμα παράγονται από αγροτικά υποστρώματα [61].

Είδος καλλιέργειας	Τυπική μείωση αερίων του θερμοκηπίου
Αιθανόλη	
Άχυρο σίτου	85%
Αραβόσιτος	56%
Ζαχαρότευτλο	61%
Ζαχαροκάλαμο	71%
Βιοντήζελ	
Σπόροι κράμβης	45%
Σπόροι σόγιας	40%
Ηλιάνθοι	58%
Φοινικέλαιο	36%

Τα κράτη μέλη πρέπει να δρουν συνεργατικά για την επίτευξη του συλλογικού ευρωπαϊκού στόχου. Κάθε χώρα είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη της κατάλληλης αναπτυξιακής πολιτικής και των εργαλείων, για την εφαρμογή των όρων της οδηγίας RED. Η πρόοδος και το μερίδιο συνεισφοράς κάθε χώρας μέλους, ελέγχεται από την ΕΕ, ανά δύο χρόνια με την έκδοση συνολικής έκθεσης, βάσει των εθνικών επιμέρους αναφορών και πληροφοριών που συλλέγονται, παρέχοντας μια συνολική εικόνα των εξελίξεων στον τομέα. Σύμφωνα με την έκθεση του 2017 (δεδομένα του 2015), η ΕΕ θα προσεγγίσει το στόχο του 20% για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, αλλά πιθανότητα όχι το 10% για τον μεταφορικό τομέα. Μέχρι το 2015, είχε εξασφαλιστεί υποκατάσταση 16.7% στο συνολικό μερίδιο του 20% και 6.7% στον τομέα των μεταφορών [61].

Support scheme: καλείται κάθε εργαλείο μέσο, σχήμα ή μηχανισμός που εφαρμόζεται από ένα κράτος μέλος, που προωθεί τη χρήση ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές. Αυτό εξασφαλίζεται με μείωση του κόστους της ενέργειας, αύξηση της τιμής πώλησής της, ή αύξηση του όγκου της ενέργειας που αγοράζεται [61].

Προκειμένου να επιτευχθεί ο ευρωπαϊκός στόχος που προβλέπεται για το 2030 και η συμβολή κάθε κράτους μέλους σε αυτόν, οι χώρες τις ΕΕ πρέπει να εφαρμόζουν support schemes [60].

Υποχρέωση για την ανανεώσιμη ενέργεια (Renewable energy obligation): καλείται ο μηχανισμός που απαιτεί από τους παραγωγούς ενέργειας να συμπεριλάβουν στη συνολική παραγωγή ή την κατανάλωση, ένα μερίδιο από ανανεώσιμες πηγές [60].

Οι προδιαγραφές βιωσιμότητας των βιοκαυσίμων ορίζονται ποιοτικά από την οδηγία RED και την Οδηγία για την ποιότητα των καυσίμων (Fuel Quality Directive FQD). Σύμφωνα με αυτές, τα βιοκαύσιμα πρέπει να τηρούν αυστηρές ποιοτικές προδιαγραφές για την προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος. Περιλαμβάνουν αυστηρές απαιτήσεις για το ελάχιστο επίπεδο εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, την ανάλογη χρήση γης για την παραγωγή και τον έλεγχο των επιπτώσεων.

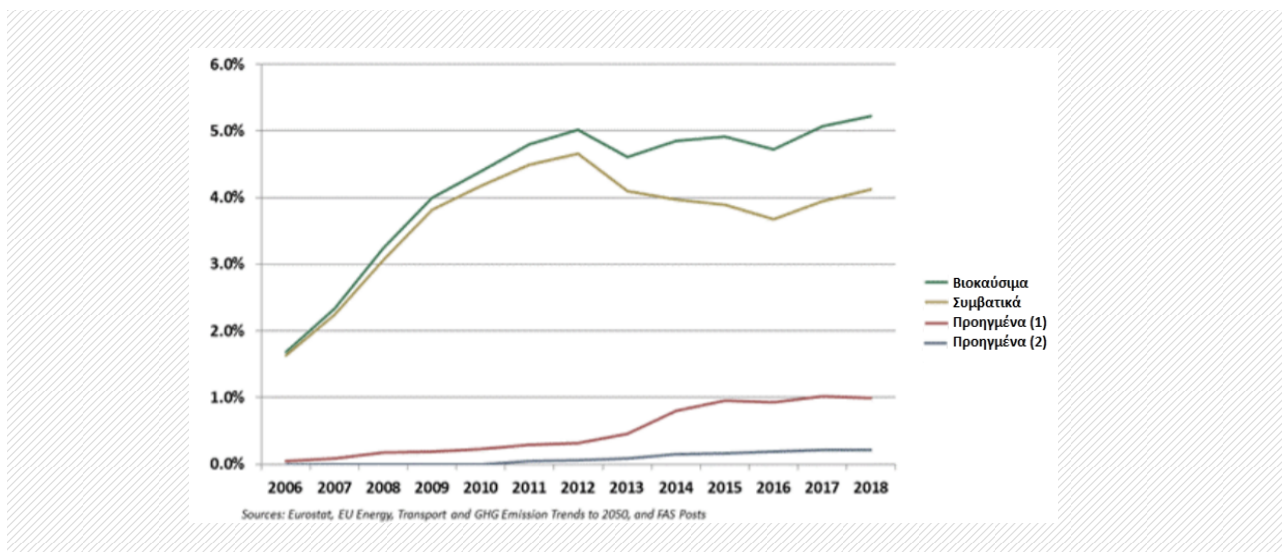
Για να χαρακτηριστεί βιώσιμο ένα βιοκαύσιμο, πρέπει:

1. Οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου που σχετίζονται με τη χρήση τους, να είναι χαμηλότερες από τις αντίστοιχες των ορυκτών καυσίμων που αντικαθιστούν. Η οδηγία αυτή αφορά εκπομπές από βιοκαύσιμα που χρησιμοποιούνται στον τομέα των μεταφορών μέχρι το 2020, τις καλλιέργειες και τις βιομηχανίες. Για τις νέες εγκαταστάσεις ελάχιστο ποσοστό ορίζεται το 60%. Για τα βιοκαύσιμα που αξιοποιούνται για ηλεκτρική ενέργεια, θέρμανση και ψύξη, η μείωση πρέπει να φτάνει το 70% για το διάστημα 2021 έως 2025 και 80% από το 2026 και μετά [60]. Στον Πίνακα 3-1, παρουσιάζεται η τυπική συνεισφορά στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου ορισμένων πρώτων υλών παραγωγής βιοκαυσίμων [61].
2. Οι πάροχοι καυσίμων να εξασφαλίσουν 6% μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου μέχρι το 2020, για όλες τις κατηγορίες καυσίμων που διατίθενται στην αγορά. Αυτό σχεδιάζεται να επιτευχθεί με 10% υποκατάσταση των ορυκτών καυσίμων με βιοκαύσιμα.
3. Να είναι περιβαλλοντικά βιώσιμο: τα βιοκαύσιμα δεν πρέπει να παράγονται από πρώτες ύλες που παραλαμβάνονται από εδάφη με μεγάλη βιοποικιλότητα και αξία. Τέτοια παραδείγματα αποτελούν δάση, ξυλώδεις εκτάσεις ή λιβάδια, όπου οι διεργασίες του οικοσυστήματος εξελίσσονται φυσιολογικά χωρίς να έχουν διαταραχθεί από την ανθρώπινη δραστηριότητα. Άλλο παράδειγμα αποτελούν τμήματα γης που προορίζονται για την προστασία της φύσης και την προστασία απειλούμενων οικοσυστημάτων [60]. Αποκλείεται, επίσης, η χρήση πρώτων υλών, που παράγονται από εκτάσεις με υψηλό αποθηκευμένο περιεχόμενο σε άνθρακα, όπως υγρότοποι, τύρφες (ελώδεις περιοχές με μεγάλη περιεκτικότητα σε νεκρούς μικροοργανισμούς, που συσσωρεύονται με τα χρόνια σε συνθήκες υψηλής υγρασίας και έλλειψη αέρα), εκτός κι αν αποδεικνύεται ότι η αγροτική δραστηριότητα δεν προκαλεί διαταραχή ή αποστράγγιση της.
4. Όταν επιλέγεται ως πρώτη ύλη προϊόν του αγροτικού τομέα, η παραγωγή του πρέπει να τηρεί συγκεκριμένες περιβαλλοντικές προδιαγραφές και συνθήκες καλλιέργειας, όπως ορίζονται από την οδηγία για τη συνήθη αγροτική δραστηριότητα (Common Agricultural Policy) [61].
5. Μείωση της χρήσης εδώδιμων καλλιεργειών για την παραγωγή βιοκαυσίμων και στροφή σε άλλες πηγές μη εδώδιμης βιομάζας (βιοκαύσιμα 2ης και 3ης γενιάς).

Όταν υπάρχουσες καλλιεργήσιμες εκτάσεις χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων, η ζήτηση για τις εδώδιμες καλλιέργειες παραμένει, και μπορεί να οδηγήσει στην αποψίλωση δασών, λιβαδιών ή άλλων εκτάσεων (που προβλέπονταν για άλλη χρήση), για την υποκατάσταση των απαιτούμενων αναγκών. Η διαδικασία αυτή καλείται Indirect land use change (ILUC) και οδηγεί σε αυξημένες εκπομπές CO<sub>2</sub> στην ατμόσφαιρα. Από τον Ιούνιο του 2018, έχει τεθεί σε περιορισμό η καλλιέργεια εκτάσεων φοινικόδεντρων, με σκοπό να απαγορευτεί τελείως μέχρι το 2030. Στόχος είναι να δοθούν κίνητρα για τη μεγαλύτερη παραγωγή βιοκαυσίμων από υποστρώματα που δεν απαιτούν πρόσθετες εκτάσεις γης, όπως αγροτικά υπολείμματα, άχυρα, άλη και τύποι αποβλήτων [61].

Για το 2018, η ολική ανάμιξη ορυκτών καυσίμων με βιοκαύσιμα ανερχόταν στο 5.2%, 3.6% για τη βιοαιθανόλη και 5.8% για το βιοντίζελ, αρκετά χαμηλότερα από το στόχο 10% που ορίστηκε για το 2020. Η ανάμιξη ορυκτών καυσίμων και συμβατικών βιοκαυσίμων εκτιμάται στο 4.2%, που είναι επίσης χαμηλότερο του 7% που ορίζεται από την ευρωπαϊκή οδηγία RED και REDII. Η ανάμιξη των προηγμένων βιοκαυσίμων εκτιμάται στο 1.2%. Το μεγαλύτερο ποσοστό των προηγμένων βιοκαυσίμων (1%) προέρχεται από απόβλητα λίπη και έλαια και ένα μικρότερο ποσοστό της τάξης

του 0.2% από αγροτικά παραπροϊόντα όπως το φοινικέλαιο και έλαια από κυτταρινούχα υποστρώματα.



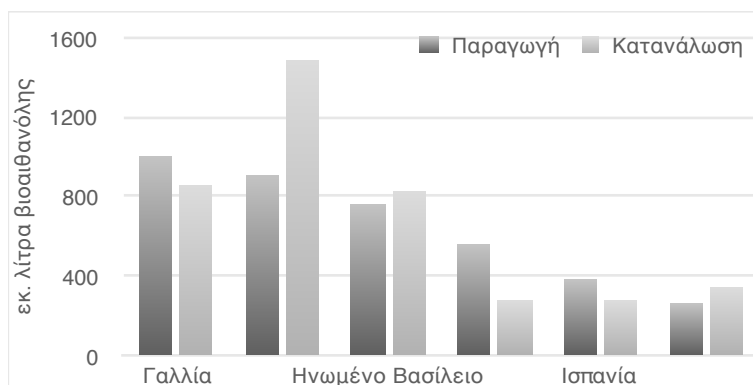
Σχήμα 3-1: Συμβατικά και προηγμένα βιοκαύσιμα, εκφρασμένα ως ποσοστό στη συνολική χρήση καυσίμων στον τομέα των μεταφορών. Προηγμένα βιοκαύσιμα (1)-2ης γενιάς περιλαμβάνουν φοινικέλαιο, βαγάσση, υπολείμματα στεμφύλων, κελύφη καρπών, άχυρο, ενεργειακές καλλιέργειες, δασικά υπολείμματα και δασική βιομάζα (εκτός κορμών, πριονίδια). Προηγμένα (2) περιλαμβάνουν χρησιμοποιημένα μαγειρικά λάδια, ζωικά λίπη μη βρώσιμα και μολάσες [61].

### 3.3 Η ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ ΚΑΙ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ

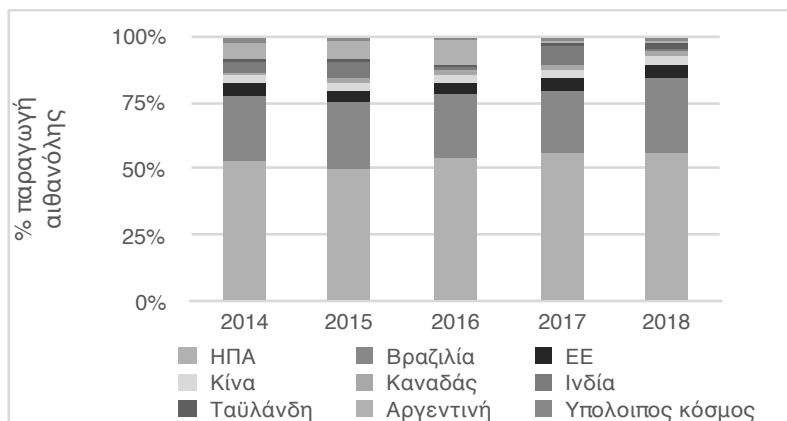
Η βιομηχανία παραγωγής βιοαιθανόλης συμβάλλει σημαντικά στις εγχώριες οικονομίες και τις στρατηγικές ενεργειακής ασφαλείας τους, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο σε ότι αφορά θέματα κλιματικής αλλαγής. Το μερίδιο της στην παγκόσμια αγορά από βιολογικές πρώτες ύλες ξεπερνάει τα \$55 δισεκ., με την παγκόσμια να ανέρχεται στα \$65 δισεκ. Εκτός από τις ήδη εγκατεστημένες βιομηχανίες παραγωγής βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς από σπόρους, ζαχαρότευτλα και ζαχαροκάλαμα, γίνονται προσπάθειες για την παραγωγή βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς (κυτταρινική αιθανόλη), η οποία προβλέπεται να συνδράμει σημαντικά στην αύξηση της παγκόσμιας παραγωγής αιθανόλης [67]. Οι εξελίξεις στη βιοτεχνολογία και η μεγάλη διαθεσιμότητα σε τροφοδοσίες από βιολογικές πρώτες ύλες, όπως αγροτικά υπολείμματα, ενεργειακές καλλιέργειες και άγλη δύνανται να ενισχύσουν την ανάπτυξη της σχετικής βιομηχανίας, συνδράμοντας, ταυτόχρονα, στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου.

Η παγκόσμια παραγωγή της βιοαιθανόλης για το 2017 ανέρχεται στα 120 δισ. L. Στόχος για το 2027 να φτάσει τους 131 δισ. L [59]. Στην αύξηση αυτή σημαντικό μερίδιο (50%) αναμένεται να έχει η Βραζιλία, προκειμένου να καλύψει τις εγχώριες ανάγκες της. Μετά τη Βραζιλία, έρχονται η Ταϊλάνδη, η Κίνα, η Ινδία και οι Φιλιππίνες, οι οποίες αναμένεται να συνδράμουν στην παγκόσμια αύξηση παραγωγής βιοαιθανόλης κατά 12%, 10%, 9% και 5% αντίστοιχα.

Σήμερα, μεγαλύτερος παραγωγός βιοαιθανόλης παγκοσμίως είναι οι ΗΠΑ, και ακολουθούν η Βραζιλία, η Κίνα και η Ευρωπαϊκή Ένωση. Μαζί με τη Βραζιλία αντιπροσωπεύουν το 84% της παγκόσμιας παραγωγής βιοαιθανόλης [57]. Στο Σχήμα 3-2 απεικονίζεται η συνεισφορά των κυριότερων χωρών στην παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης, για τα τελευταία 5 χρόνια. Η Βραζιλία εφαρμόζει το πιο επιτυχημένο πρόγραμμα βιοκαυσίμων, με παραγωγή βιοαιθανόλης από ζαχαροκάλαμο και θεωρείται πως έχει τη πιο βιώσιμη οικονομία βιοκαυσίμων [57]. Στις ΗΠΑ απαριθμούνται συνολικά 210 εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαιθανόλης, εκ των οποίων οι 199 είναι λειτουργικές. Το 2018 παρήγαγε συνολικά 60.79 δισ. λίτρα βιοαιθανόλης, εκ των οποίων μεγάλο ποσοστό εξαγεται προ χώρες του κόσμου: το 30% προορίζεται για τη Βραζιλία, το 21% για τον Καναδά, το 7% την Ινδία, το 5% την Ολλανδία και μικρότερα ποσοστά την Κίνα, τη Νότιο Κορέα, τις Φιλιππίνες, την Κολομβία, το Περού κα. Το βασικό υπόστρωμα που χρησιμοποιείται είναι ο αμυλούχος αραβόσιτος σε ποσοστό πάνω από 90% και ακολουθούν μικρότερες ποσότητες σόργου, κутταρινούχας βιομάζας και αποβλήτων τροφίμων [63]. Η συνολική παραγωγή βιοαιθανόλης στη Βραζιλία για το 2018 ανέρχεται στα 30.75 δισ. λίτρα, αυξημένη κατά 9% συγκριτικά με το 2017. Η εγχώριες απαιτήσεις (καύσιμο και άλλες χρήσεις) ανέρχονται σε 28.72 δισ. λίτρα για την ίδια χρονιά, ενώ οι εξαγωγές σε 1.12 δισ. λίτρα. Το μεγαλύτερο ποσοστό της παραγόμενης αιθανόλης στη Βραζιλία αξιοποιείται ως βιοκαύσιμο και προέρχεται από την καλλιέργεια ζαχαροκάλαμου [64]. Οι επόμενες σε σειρά χώρες ανά τον κόσμο που συμβάλλουν σημαντικά στην παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης παρήγαγαν εντός του 2018 τις εξής ποσότητες: η ΕΕ 5,5 δισ. λίτρα, η Κίνα 3,97 δισ. λίτρα, ο Καναδάς 1,82 δισ. λίτρα, η Ινδία 1,51 δισ. λίτρα, η Ταϊλάνδη 1,47 δισ. λίτρα, η Αργεντινή 1,09 δισ. λίτρα και ο υπόλοιπος κόσμος 2,08 δισ. λίτρα βιοαιθανόλης [59].



Σχήμα 3-2: Ποσοστά επί της παγκόσμιας παραγωγής βιοαιθανόλης, για τους κυριότερους παραγωγούς βιοαιθανόλης στον κόσμο, για την τελευταία 5ετία [59].

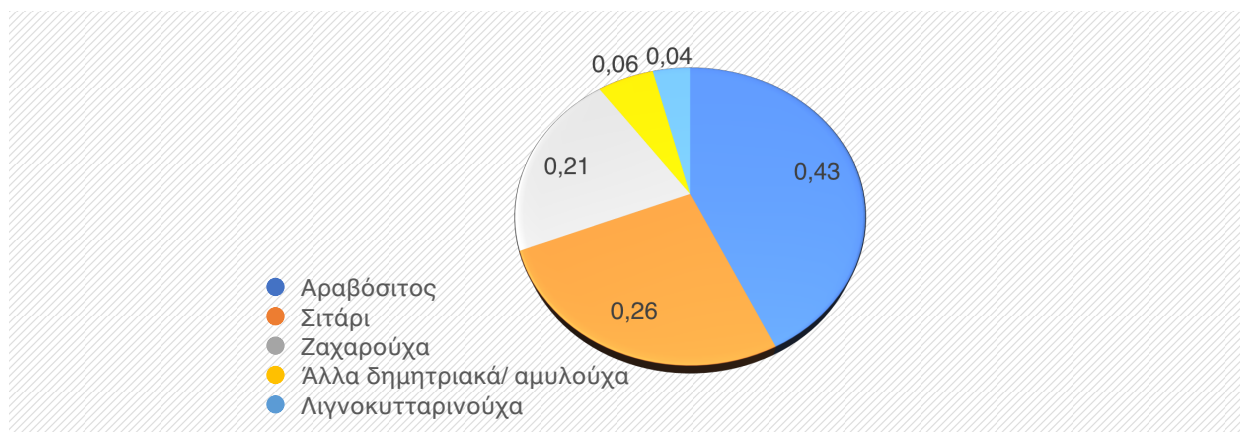


Σχήμα 3-3: Παραγωγή και κατανάλωση βιοαιθανόλης στην Ευρώπη από τις χώρες με τη μεγαλύτερη συμβολή (εκ. λίτρα) [61].

#### – ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ

Η παραγωγή βιοαιθανόλης στην ΕΕ για το 2018 ανέρχεται στα περίπου 5.5 δισ. λίτρα, με τη χώρα με τη μεγαλύτερη παραγωγή να είναι η Γαλλία. Στο Σχήμα 3-3 αποτυπώνεται η παραγωγή και κατανάλωση βιοαιθανόλης για το 2018, από τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης με τη μεγαλύτερη συμβολή. Πρόσθετα συμπληρώνεται η Ουγγαρία με ετήσια παραγωγή 595 εκ. λίτρα, το Βέλγιο με 570 εκ. λίτρα και η Αυστρία με 230 εκ. λίτρα παραγόμενης βιοαιθανόλης την ίδια χρονιά [61]. Οι συνολικές απαιτήσεις και παραγωγές για τα δύο τελευταία έτη 2017 και 2018 ήταν σε σχετική ισορροπία, σε αντίθεση με παλαιότερα έτη, κάτι που υποδεικνύει μία τάση για πλήρη αυτονομία της ΕΕ στον τομέα [61].

Οι διακυμάνσεις που εντοπίζονται μεταξύ των χωρών ανά τα έτη, αποδίδονται στην αυξομείωση της ζήτησης σε βιοαιθανόλη σε συνδυασμό με τον περιορισμό των εισαγωγών βιοκαυσίμου και την άμεσα σχετιζόμενη τιμή των χρησιμοποιούμενων υποστρωμάτων. Πολλές χώρες δεν δύναται να παράγουν εγχώρια τον απαραίτητο όγκο βιοαιθανόλης, ώστε τελικά να διαμορφώνεται ένα ευρύτερο εμπορικό δίκτυο συναλλαγών, που επηρεάζεται από τις τρέχουσες τιμές και απαιτήσεις. Η συνολική ποσότητα υποστρωμάτων που χρησιμοποιήθηκε στην ΕΕ το 2018 για την παραγωγή 5.5 δισ. λίτρων βιοαιθανόλης, ανέρχεται στους 11.7 MMT και προέρχεται κύριως από δημητριακά. Από την ποσότητα αυτή, το 82% αξιοποιήθηκε σε καύσιμες χρήσεις [66]. Τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται, διαφοροποιούνται μεταξύ των κρατών μελών της ΕΕ: η Γερμανία, η Γαλλία και το Ηνωμένο Βασίλειο χρησιμοποιούν κυρίως σιτάρι και ζαχαρότευτλα, ενώ στην Κεντρική Ευρώπη καταναλώνεται αραβόσιτος. Τα ζαχαρότευτλα επεξεργάζονται αποκλειστικά σε εγκαταστάσεις που βρίσκονται στη Γαλλία, με επί τόπου εγκατεστημένο εξοπλισμό απόσταξης για παραγωγή αιθανόλης. Το 2018, το 43% της βιοαιθανόλης που παράχθηκε ήταν από αραβόσιτο, ενώ μικρότερες ποσότητες από σιτάρι 26% και ζαχαρούχα φυτά (21%) [61].



Σχήμα 3-4: Συνεισφορά διαφορετικών υποστρωμάτων στην παραγωγή βιοαιθανόλης στην ΕΕ για το 2018 [66].

## 3.4 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

### 3.4.1 ΒΙΟΜΑΖΑ 1ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Σακχαρώδης βιομάζα: αυτοί οι τύποι βιομάζας αναπτύσσονται κυρίως στη Βραζιλία, τη Γερμανία, τη Γαλλία και την Ινδία. Περιλαμβάνουν ζαχαροκάλαμο, ζαχαρότευτλο, γλυκό σόργο και η μελάσα ζαχαροκάλαμου. Έχουν υψηλές συγκεντρώσεις σε ζαχαρόζη (31%) κάτι που καθιστά απαραίτητη την αραίωσή τους πριν τη διεργασία της αλκοολικής ζύμωσης. Η διάλυση αυτή επιτρέπει τη βέλτιστη ανάπτυξη των μικροοργανισμών, εξασφαλίζοντας ταυτόχρονα υψηλότερες αποδόσεις ζύμωσης. Η κύρια μέθοδος παραγωγής βιοαιθανόλης από ζαχαροκάλαμα είναι η αναερόβια χώνευση.

Αμυλούχα βιομάζα: κύριες πηγές είναι το καλαμπόκι, το σιτάρι, η κασάβα και η γλυκοπατάτα. Μεταξύ αυτών, το καλαμπόκι είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο. Η παραγωγή της βιοαιθανόλης εξαρτάται από την ποικιλία και την ποιότητα του καλαμποκιού που χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα (περίπου 258 ποικιλίες έχουν χρησιμοποιηθεί με επιμέρους διαφοροποιήσεις). Η ποικιλία του επηρεάζεται από παραμέτρους όπως η σύσταση του φυτικού πυρήνα, η σκληρότητα του ενδοσπέρματος, η ποιότητα του εδάφους καλλιέργειάς τους, η παρουσία ή όχι μικροτοξινών. Η απόδοση σε βιοαιθανόλη από σχετικά υποστρώματα μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 3-23% με τις μεγαλύτερες αποδόσεις να αποδίδουν πυρήνες με μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ζάχαρη. Οι ρίζες που αποτελούν επίσης κατάλληλη τροφοδοσία για βιομάζα 1ης γενιάς, όπως η κασάβα, η γλυκοπατάτα και η αγκινάρα, αντιπροσωπεύουν το υπόγειο τμήμα ριζωδών φυτών με υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο που ανέρχεται σε 25-35% καθαρό βάρος. Αυτές οι καλλιέργειες μπορούν να εξασφαλίσουν υψηλότερη απόδοση σε βιοαιθανόλη, σε σχέση με το καλαμπόκι, σε συνδυασμό με οικονομικότερη και πιο απλή επεξεργασία στον αγρό, συγκομιδή, και απλούστερες τεχνικές μετατροπής του αμύλου. Η παραγωγή βιοαιθανόλης από εδωδιμες καλλιέργειες έχει ορισμένους περιορισμούς που έχουν επίδραση στην ασφάλεια και την τιμή των τροφίμων, καθώς επεμβαίνει στην τροφική αλυσίδα [52]. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το στοιχείο ότι 200 εκ. άνθρωποι μπορούν να τραφούν από καλλιέργεια 1ης γενιάς που χρησιμοποιείται για την κάλυψη της ζήτησης βιοαιθανόλης σε χώρες όπως οι ΗΠΑ, η Βραζιλία, ο Καναδάς, η Ινδία και η Ολλανδία. Οι καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή 1TJ βιοαιθανόλης δύνανται να ταΐσουν 110 ανθρώπους. Ακόμη το νερό που καταναλώνεται από τέτοιες καλλιέργειες αντιστοιχεί στο 3% των συνολικών παγκόσμιων απαιτήσεων για την παραγωγή τροφίμων. Τέτοια στατιστικά στοιχεία υποδεικνύουν την αναγκαιότητα επαναξιολόγησης της καταλληλότητας χρήσης τέτοιων πρώτων υλών και τη μελλοντική παραγωγή βιοαιθανόλης. Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον στρέφεται περισσότερο στην εξέλιξη μεθόδων παραγωγής βιοαιθανόλης κυτταρινικής προέλευσης (βιοαιθανόλη 2ης γενιάς) [51].

### 3.4.2 ΒΙΟΜΑΖΑ 2ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Λόγω του διατροφικού ζητήματος που εγείρεται και τις επιβλαβείς επιπτώσεις στο περιβάλλον, που σχετίζονται με την μεγάλης κλίμακας παραγωγής καλλιεργειών 1ης γενιάς, όπως καλαμποκιού και σιταριού, οι καλλιέργειες 2ης γενιάς αποκτούν περισσότερο ενδιαφέρον. Τέτοιες πρώτες ύλες περιλαμβάνουν ξυλώδη βιομάζα και άλλα είδη μη εδωδιμης βιομάζας όπως βαγάσση, άχυρο, ζαχαρότευτλο, φύλλα, υπολείμματα σπόρων χωρίς τα έλαια

τους, χόρτα και άλλη φυτική βιομάζα. Μόνο το 2016, λειτούργησαν 67 νέες εγκαταστάσεις παραγωγής βιοαιθανόλης 2ης γενιάς από τέτοιες καλλιέργειες σε όλον τον κόσμο, εκ των οποίων πάνω από το 1/3 δύναται να παράγουν τόνους προϊόντος. Οι ΗΠΑ παραμένουν ο κύριος παραγωγός βιοαιθανόλης 2ης γενιάς, αντιπροσωπεύοντας το 35% της συνολικής εγκατεστημένης βιομηχανικής ισχύος της. Η βιομάζα που εμπίπτει στην κατηγορία αυτή μπορεί να είναι ξυλώδης και μη ξυλώδης βιομάζα.

Ξυλώδης βιομάζα: περιλαμβάνει είδη μαλακής και σκληρής ξυλείας που χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα και διαφέρουν ως προς τις φυσικές τους ιδιότητες και τη χημική τους σύσταση. Γενικά, η ξυλώδης βιομάζα αποτελείται από νανοκλίμακας μικροϊνίδια κυτταρίνης που συγκρατούνται μεταξύ τους με ημικυτταρίνες και λιγνίνη. Βασικό στάδιο προεπεξεργασίας αυτού του τύπου βιομάζας είναι η μείωση του μεγέθους, που έχει υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις, κάτι που αποτελεί μεγάλη οικονομική πρόκληση για την παραγωγή βιοαιθανόλης από σχετικές πηγές [52][56].

Μη ξυλώδης βιομάζα: σε αντίθεση με την ξυλώδη είναι διαθέσιμη και περιέχει πιο ανοικτές δομές, είναι πιο φθηνή και εύκολη στην επεξεργασία και απαιτεί λιγότερη ενέργεια για την τελική παραγωγή βιοαιθανόλης. Περιλαμβάνει αγροτικά υπολείμματα, φυτά και μη ξυλώδεις φυτικές ίνες. Τα πιο κοινά αγροτικά υπολείμματα που έχουν εξεταστεί είναι:

- Αραβόσιτος: τα υπολείμματα από το φυτό του καλαμποκιού (φύλλα, κοτσάνια, φλούδες) που παραμένουν στον αγρό μετά τη συγκομιδή, και υπολογίζεται ότι παράγουν 300 εκ. λίτρα αιθανόλης ετησίως. Είναι μη εδώδιμο και παραπροϊόν της παραγωγής καλαμποκιού, έχει χαμηλότερο κόστος παραγωγής κι έχει τον σημαντικό ρόλο στον εμπλουτισμό του εδάφους με οργανική ύλη. Με κατάλληλες ρυθμίσεις μπορεί να χρησιμοποιούνται βιώσιμες ποσότητες για την παραγωγή βιοαιθανόλης [52].
- Βαγάσση κασάβας: η κασάβα (μανιόκα) είναι ξυλώδης θάμνος που ευδοκίμει στη Ν. Αμερική, την Ασία και την Αφρική και καλλιεργείται για την αμυλούχα κονδυλώδη ρίζα της που είναι σημαντική πηγή υδατανθράκων. Η βαγάσση κασάβας που αποτελεί το κύριο υπόλειμμα (μετά την ανάκτηση του αμύλου) της κονδυλώδους καλλιέργειας είναι πλούσια πηγή υδατανθράκων, που αποτελεί περίπου το 30-35% της αρχικής ρίζας. Υπολογίζεται ότι 1 τόνος υλικού παράγει 114 λίτρα βιοαιθανόλης.
- Άχυρο δημητριακών: οι καλλιέργειες δημητριακών είναι πλούσιες σε ενέργεια για τον άνθρωπο με περιεκτικότητα σε άμυλο 60-70% και παράγουν μεγάλες ποσότητες παραπροϊόντων με τη μορφή αχύρου. Αυτό αποτελείται κυρίως από ξηρά κοτσάνια, που παραμένουν στους αγρούς μετά την απομάκρυνση των θρεπτικών σιτηρών ή καρπών. Τέτοιες σημαντικές καλλιέργειες είναι καλλιέργειες σιταριού, κριθαριού, ρυζιού, βρώμης, καλαμποκιού και σόργου. Η υπολογιζόμενη ετήσια παραγωγή αχύρου από αγροτικές καλλιέργειες δημητριακών ανέρχεται στους 1580.2 εκ. τόνους από κριθάρι και βρώμη στην Ευρώπη, σόργου και καλαμποκιού στις ΗΠΑ και ρύζι με σιτάρι στην Ινδία και την Κίνα. Τα άχυρα αυτά περιέχουν περίπου 33-47% κυτταρίνη και αποτελούν τις λιγνοκυτταρινούχες πηγές που μπορούν να αξιοποιηθούν για την παραγωγή βιοαιθανόλης 2ης γενιάς.
- Βαγάσση ζαχαροκάλαμου: αποτελείται κυρίως από λιγνίνη (20-30%), κυτταρίνη (40-45%) και ημικυτταρίνη (30-35%). Έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε τέφρα σε σχέση με άλλες βαγάσσες, όπως του ρυζιού (14.5%) και του αχύρου σιταριού (9.2%). Πλεονέκτημά της είναι η άμεση διαθεσιμότητα στην περιοχή της καλλιέργειας ή της βιομηχανίας επεξεργασίας του ζαχαροκάλαμου.
- Υπολείμματα γλυκοπατάτας (SPRs): βιομάζα που διαχωρίζεται ύστερα από την ανάκτηση του αμύλου, που αντιστοιχεί σε πάνω από 10% της ξηρής μάζας της γλυκοπατάτας. Η Κίνα είναι η χώρα με τη



μεγαλύτερη παραγωγή και εξαγωγή γλυκοπατάτας. Τα υπολείμματα γλυκοπατάτας δεν έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλη κλίμακα και ενδέχεται να ρυπάνουν το περιβάλλον λόγω περιεκτικότητάς τους σε τοξικές ουσίες. Ωστόσο, αναπτύσσονται ενζυμικές μέθοδοι επεξεργασίας τους για την παραγωγή βιοαιθανόλης [52].

- Βιομάζα από φοινικέλαιο: το δέντρο ελαιοφοίνικας παράγει τσαμπιά φρούτων/καρπούς που είναι πλούσια πηγή φοινικέλαιου. Το 2013 η συνολική παραγωγή φοινικέλαιου ήταν περίπου 58.3 εκ. λίτρα με κυριότερο παραγωγό την Ινδονησία (53.2%) και τη Μαλαισία (32.9%). Ωστόσο, η απομείνουσα ύλη, όπως τα τσαμπιά επεξεργασμένων φρούτων, τα φύλλα και οι κορμοί, μπορούν να αποτελέσουν υποστρώματα για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Έχουν όλα υψηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη που κυμαίνεται από 31-41% [52][56].

### 3.4.3 ΒΙΟΜΑΖΑ 3ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ ΓΙΑ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Τα άλγη είναι μεγάλες ομάδες φωτοσυνθετικών υδατικών οργανισμών, περιλαμβάνουν μικροάλγη και μακροάλγη, που αποτελούν μονοκύτταρους και πολυκύτταρους μικροοργανισμούς αντίστοιχα. Αποτελούν υποψήφια υποστρώματα για την παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω πλεονεκτημάτων που σχετίζονται με την καλλιέργειά τους, όπως η γρήγορη ανάπτυξη σε σύγκριση με τα χερσαία φυτά, η υψηλή διαθεσιμότητά τους, η ικανότητα να επιβιώνουν υπό αντίξοες συνθήκες και να αναπτύσσονται σε διαφορετικά υδάτινα περιβάλλοντα, να απορροφούν υψηλά ποσοστά διοξειδίου του άνθρακα και τέλος η υψηλή περιεκτικότητά τους σε λιπίδια και υδρογονάνθρακες. Η μεγαλύτερη θεωρητική απόδοση της παραγωγής από άλγη ανέρχεται στους 365 τόνους ξήρης βιομάζας το χρόνο. Η χρήση τους μπορεί να περιορίσει τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου. Μικροάλγη που χρησιμοποιούνται και διαφοροποιούνται βάσει του πρωτεϊνικού, υδατανθρακικού και λιπιδικού περιεχομένου τους αποτελούν: πράσινα άλγη Chlorophyceae, χρυσά άλγη chrysophyceae, διατομικά Bacillariophyceae. Τα μακροάλγη ή θαλάσσια φύκη διακρίνονται σε καφέ rhaeophyceae, κόκκινα Rhodophyceae και πράσινα Chlorophyceae. Το κυτταρικό τους τοίχωμα έχει υψηλό περιεχόμενο σε υδρογονάνθρακες, πάνω από 50% επί ξηρής βάσης. Η δομή τους δεν περιέχει λιγνίνη κάτι που καθιστά ευκολότερη την επεξεργασία τους σε σχέση με τα χερσαία φυτά, επιτρέποντας την ευκολότερη μετατροπή των σακχάρων σε βιοαιθανόλη μέσω ζύμωσης με κατάλληλους μικροοργανισμούς. Τα μακροάλγη έχουν υψηλότερο περιεχόμενο σε σάκχαρα, είναι εύκολο να καλλιεργηθούν και να συλλεχθούν. Η απόδοση σε αιθανόλη των μικροαλγών είναι μεγαλύτερη λόγω της απλούστερης δομής τους, που αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη. Ωστόσο, η εφαρμογή καλλιεργειών αλγών ως υποστρώματα για την παραγωγή βιοαιθανόλης βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο, αλλά έχει πολλές προοπτικές για το άμεσο μέλλον [56].

## 3.5 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Η παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς δεν είναι τόσο εξελιγμένη όσο η παραγωγή πρώτης γενιάς. Ωστόσο ανάλογα με τη διαθεσιμότητα των πρώτων υλών έχει δυνητικά υψηλό δυναμικό αν εφαρμοστεί σε παγκόσμιο επίπεδο, ιδιαίτερα με την πιο αποτελεσματική αξιοποίηση των μεγάλων όγκων υπολειμμάτων βιομάζας που σήμερα απλά απορρίπτονται.

Η ποιότητα της βιοαιθανόλης εξαρτάται από τις επιμέρους οδούς για την παραγωγή της. Τα στάδια παραγωγής της περιλαμβάνουν ονομαστικά την προεπεξεργασία, την υδρόλυση, τη ζύμωση και την απόσταξη, κάθε ένα από τα οποία έχει επιμέρους παρακλάδια και κάθε ένα από αυτά μπορεί να τροποποιήσει σημαντικά τα αποτελέσματα στην ποιότητα της αιθανόλης και στο συνολικό κόστος παραγωγής της. Τελικό προϊόν αποτελεί άνυδρη αιθανόλη. Τα επιμέρους στάδια αναλύονται διεξοδικά ακολούθως.

### 3.5.1 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Το στάδιο της προεπεξεργασίας αποτελεί το πιο κρίσιμο για τη συνολική διεργασία βιομετατροπής της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας σε βιοαιθανόλη. Είναι υπεύθυνο για την πρωτογενή διάσπαση της πολύπλοκης λιγνοκυτταρινικής δομής της βιομάζας, βελτιώνοντας την προσβασιμότητα των ενζύμων στο επόμενο στάδιο της υδρόλυσης. Περιλαμβάνει τεχνικές που μεταβάλλουν τη φυσική και χημική δομή της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας, όπως φυσικές, φυσικοχημικές, χημικές και βιολογικές μεθόδους προεπεξεργασίας. Οι επιμέρους τεχνικές αναλύονται διεξοδικά στο Κεφάλαιο 1 «Τεχνικές επεξεργασίας λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας».

### 3.5.2 ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Η διεργασία της υδρόλυσης διαχωρίζει τις μακρίες αλυσίδες των υδρογονανθράκων από την κυτταρίνη και το άμυλο, με την προσθήκη μορίων νερού και συνήθως καταλύεται από κάποιο ένζυμο ή οξύ. Το στάδιο αυτό είναι καθοριστικό για την παραγωγή βιοαιθανόλης, καθώς η ποιότητα του υδρολύτη θα επηρεάσει την ακόλουθη διεργασία ζύμωσης, η οποία με τη σειρά της επιδρά σημαντικά στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Η υδρόλυση είναι απαραίτητη καθώς οι μικροοργανισμοί (που δρουν κατά τη ζύμωση) μπορούν να χωνεύσουν και να αποικοδομήσουν μόνο απλούστερες δομές σακχάρων, που προκύπτουν από τα σύνθετα συμπλέγματα υδρογονανθράκων της αρχικής βιομάζας. Η ενζυμική υδρόλυση συνδέεται με υψηλά κόστη για την εξασφάλιση των απαραίτητων ενζύμων και δεν είναι πρακτική για εφαρμογή για εμπορικούς σκοπούς. Ωστόσο, σε αντίθεση με την όξινη υδρόλυση, τα ένζυμα δρουν σε πιο ήπιο περιβάλλον, δεν απαιτούνται υψηλά κόστη συντήρησης εξοπλισμού, ούτε ειδικό σύστημα επεξεργασίας της απορροής που πρέπει να προσαρτηθεί στη εγκατάσταση. Ακόμη, τα μονομερή σάκχαρα σταδιακά αποδομούνται στο όξινο περιβάλλον με υψηλή θερμοκρασία, που δημιουργεί πρόβλημα στο στάδιο της ζύμωσης.

Ενζυμική υδρόλυση: η λιγνοκυτταρινική βιομάζα είναι αποικοδομήσιμη ως προς τα επιμέρους συστατικά της, δηλαδή την κυτταρίνη, την ημικυτταρίνη και τη λιγνίνη. Η κυτταρίνη που αποτελείται από αλυσίδες γλυκόζης έχει φυσικά ένα βαθμό κρυσταλλικότητας που σχηματίζεται από τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των αλυσίδων. Ο βαθμός της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης επιδρά στη διεργασία της υδρόλυσης, καθώς όταν αυτή είναι υψηλή, ο ρυθμός της υδρόλυσης και η προσρόφηση του ενζύμου θα είναι χαμηλότερη. Σε αντίθεση με τις κρυσταλλικές περιοχές, η άμορφη κυτταρίνη είναι πιο εύκολο να αποικοδομηθεί. Ωστόσο, είναι απαραίτητη μια μείωση της κρυσταλλικότητας της βιομάζας που χρησιμοποιείται, το οποίο συνήθως πραγματοποιείται με μηχανική προεπεξεργασία. Η κυτταρινάση είναι το ένζυμο που καταλύει τα κυτταρινικά συστατικά. Ανάλογα με τη δραστηριότητα του ενζύμου και το ρόλο που επιτελεί οι κυτταρινάσες διακρίνονται σε [58]:

- ενδογλουκανάση (endoglucanase EC 3.2.1.4)
- εξωγλουκανάση (exoglucanase EC 3.2.1.91)
- β-γλυκοζιδάση (β-glucosidase EC 3.2.1.21)

Η ενδογλουκανάση στοχεύει στις άμορφες περιοχές της κυτταρίνης. Αρχίζει την υδρόλυση συνδέοντας μόριο νερού με τον β-1,4,δεσμό της κυτταρίνης, σχηματίζοντας 1,4-β-D-γλυκανουδρολάση (glucanohydrolase). Έτσι σχηματίζονται ελεύθερα άκρα αλυσίδων. Στη συνέχεια η 1,4-β-D γλυκάνη κυτταρινοβιουδρολάση της εξωγλουκανάσης δρα αποικοδομώντας τις πλέον πιο μικρές κυτταρινικές δομές, αλλάζοντας τα δύο άκρα των αλυσίδων. Καθώς για το επικείμενο στάδιο της ζύμωσης χρειάζονται απλούστερα μονομερή, οι κελλοβιόζες επεξεργάζονται περαιτέρω με β-γλυκοζιδάσες οι οποίες χτυπάνε την κελλοβιόζη και παράγουν γλυκόζη ως μονομερή σάκχαρα [58].

Τα ένζυμα για την επίδραση στις δομές των ημικυτταρινών είναι πιο σύνθετα, αλλά πιο εξειδικευμένα. Σε αντίθεση με την κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη είναι πιο εύκολο να υδρολυθεί λόγω της άμορφης δομής της. Η ξυλάνη, που αποτελεί το κυριότερο συστατικό της ημικυτταρίνης, είναι ένας πολυσακχαρίτης ξυλόζης. Το ένζυμο ξυλανάση είναι εξειδικευμένο για τις δομές της ξυλόζης, επιδρώντας στις κύριες αλλά και τις εξωτερικές αλυσίδες. Για την αποικοδόμηση της κύριας αλυσίδας της ξυλάνης, χρησιμοποιούνται τα ένζυμα ενδο-β-1,4,ξυλανάση και β-ξυλοζιδάση. Η πρώτη μετατρέπει τις μακριές αλυσίδες ξυλάνης σε μικρότερου μήκους αλυσίδες και ακολούθως η δεύτερη επιδρά για την αναγωγή των ολογοσακχαριτών προς ξυροπυρανόζη, μια πυρανοζική μορφή ξυλόζης. Οι εξωτερικές αλυσίδες ημικυτταρίνης προσβάλλονται από ειδικά ξυλανολυτικά ένζυμα (accessory xylanolytic enzymes)[58].

Η λιγνίνη σταθεροποιεί τους δεσμούς μεταξύ των κυτταρινικών ινών και μειώνει την προσβασιμότητα των κυτταρινασών στην κυτταρίνη. Σε υδατικό διάλυμα η λιγνίνη απορροφά πρωτεΐνες και τείνει να συνδέεται και να καταβυθίζεται με αυτές. Αντιστέκεται στη δράση των κυτταρινασών, μειώνοντας την απόδοση της υδρόλυσης. Η παρουσία της λιγνίνης κατά την υδρόλυση δρα ανασταλτικά στην παραλαβή της κυτταρίνης, και για το λόγο αυτό θα πρέπει να απομακρύνεται όσο το δυνατόν περισσότερο ώστε να εξασφαλισθεί η μέγιστη υδρόλυση από την κυτταρινάση. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί με μηχανική προεπεξεργασία της βιομάζας (π.χ milling) [58].

Να σημειωθεί ότι η δράση των ημικυτταρινών για την αποικοδόμηση των ημικυτταρινικών δομών σε μονομερή σάκχαρα δεν είναι τόσο ευνοϊκή για την υδρόλυση της κυτταρίνης, καθώς προϊόντα της ημικυτταρινικής υδρόλυσης όπως η ξυλόζη, ξυλοολιγοσακχαρίτες, γαλακτόζη, μανόζη δρουν ως ισχυροί αναστολείς στην κυτταρινάση και τη β-γλυκοζιδάση. Για το λόγο αυτό οι κυτταρινάσες θα πρέπει να δρουν μόνο σε υλικά πλούσια σε κυτταρίνη, ώστε να είναι οικονομικά ωφέλιμη η χρήση τους. Με τον ίδιο τρόπο η χρήση ημικυτταρινολυτικών ενζύμων προτιμάται μόνο για υλικά πλούσια σε ημικυτταρίνες. Ανάλογα, λοιπόν με τη φύση των υλικών μπορεί να προσδιοριστεί το κόστος της διεργασίας της υδρόλυσης, καθώς επίσης και να επιλεγεί το κατάλληλο είδος μικροοργανισμών που θα χρησιμοποιηθούν ως παράγοντας ζύμωσης, καθώς συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί δύνανται να αποικοδομήσουν κατάλληλα συγκεκριμένα σάκχαρα [58][69].

### 3.5.3 ΖΥΜΩΣΗ

Το στάδιο της ζύμωσης αποτελεί κρίσιμο στάδιο στη διεργασία παραγωγής βιοαιθανόλης, όπου η αιθανόλη παράγεται απευθείας από τη μεταβολική δραστηριότητα του παράγοντα της ζύμωσης. Στο υδρόλυμα που προέκυψε από το προηγούμενο στάδιο, προστίθεται ένας συγκεκριμένος παράγοντας ζύμωσης (fermentation agent), όπως μύκητες ή βακτήρια, βάσει της καταλληλότητάς τους να αποικοδομούν τα επιμέρους σάκχαρα που περιέχονται σε αυτό. Για παράδειγμα, ένας τύπος βακτηρίων που χρησιμοποιούνται για τη ζύμωση, ο *Zygomonas mobilis* προτιμάει υδρόλυμα πλούσιο σε κυτταρίνη για τροφή, ώστε να παράγει αιθανόλη. Είναι δύσκολο το υδρόλυμα που παράγεται να έχει μια ομοιογενή σύσταση σε μονομερή, συνήθως περιέχει κλάσματα επιμέρους διαφορετικών μονομερών και ορισμένων ολιγοσακχαριτών, με πιθανούς αναστολείς ή μη χωνεύσιμα συστατικά. Θεωρητικά κάθε κιλό γλυκόζης και ξυλόζης μπορεί να παράγει 0.49 κιλά CO<sub>2</sub> και 0.51 κιλά αιθανόλης αντίστοιχα [69].

Η διεργασία της ζύμωσης απαιτεί ορισμένες συνθήκες θερμοκρασίας και pH για τη διατήρηση των μικροβίων. Οι περισσότεροι παράγοντες ζύμωσης είναι μεσοφιλικοί και για το λόγο αυτό συνιστώνται θερμοκρασίες μεταξύ 30-40°C. Όταν χρησιμοποιούνται βακτήρια ως παράγοντες ζύμωσης το βέλτιστο εύρος pH που θα εξασφαλίσει την ανάπτυξή τους είναι pH 6.5-7.5, ενώ οι μύκητες αντέχουν σε πιο όξινο περιβάλλον pH 3.5-5.0. Πρόσθετοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διεργασία της ζύμωσης είναι ο ρυθμός ανάπτυξης και η γενετική σταθερότητα των μικροβίων και η ανθεκτικότητα των αναστολέων [58].

Υπάρχει μια μεγάλη πληθώρα βακτηρίων κατάλληλων για τη ζύμωση. Τα πιο γνωστά είναι *Zygomonas mobilis*, που μετατρέπουν τη γλυκόζη, σακχαρόζη και φρουκτόζη σε αιθανόλη. Με τον ίδιο τρόπο, ο τύπος μύκητα που περιέχεται στην κανονική μαγιά, ο *Saccharomyces cerevisiae* είναι επίσης ικανός να καταναλώσει τα σάκχαρα της εξόζης (γλυκόζη, φρουκτόζη). Αν και τα δυο αποτελούν μιροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται ευρέως, και οι δύο αποδεικνύονται ανίκανοι να ζυμώσουν τις πεντόζες (π.χ. ξυλόζη). Μικροοργανισμοί πιο αποτελεσματικοί για αυτά είναι *Candida shehatae*, *Pichia stipites*, *Pachysolen tannophilus*. Ωστόσο αυτά τα βακτήρια δεν έχουν υψηλή αποτελεσματικότητα, είναι ευάλωτα σε όξινο περιβάλλον, σε αναστολείς αλλά και την αιθανόλη σε υψηλή συγκέντρωση [69].

### 3.5.4 ΑΠΟΣΤΑΞΗ

Το διάλυμα αιθανόλης που προκύπτει από τη διεργασία της ζύμωσης χρειάζεται περαιτέρω επεξεργασία, ώστε να απομακρυνθεί το περιεχόμενο νερό και να παραληφθεί ξηρή, υψηλής ποιότητας αιθανόλη, που καλείται άνυδρη αιθανόλη. Η απομάκρυνση του νερού πραγματοποιείται με απόσταξη, αξιοποιώντας τα διαφορετικά σημεία ζέσεως των επιμέρους συστατικών του μίγματος. Όταν το μίγμα θερμαίνεται στη θερμοκρασία βρασμού της αιθανόλης (78.2 °C), η αιθανόλη που περιέχεται στο μίγμα ατμοποιείται και διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα συστατικά, και κυρίως το νερό (T<sub>βρασμού</sub>= 10 °C). Η άνυδρη αιθανόλη αποτελείται από τουλάχιστον 99.5% κατ' όγκο αιθανόλη, ενώ το περιεχόμενο νερό δεν πρέπει να υπερβαίνει αυστηρά το 0.5%. Το προϊόν αυτό μπορεί να αξιοποιηθεί σε φαρμακευτικές βιομηχανίες, καλλυντικών κ.α αλλά εξετάζεται και ως ενδεχόμενη υποκατάσταση ορυκτών καυσίμων. Η άνυδρη αιθανόλη μπορεί να παραχθεί με τις εξής διεργασίες απόσταξης [58][68]:

- Απόσταξη προσρόφησης: αξιοποιεί τη διαφορά μεγέθους των μορίων αιθανόλης/νερού για να εγκλωβίσει την περίσσεια νερού, με τη χρήση ενός μοριακού κόσκινου. Μίγμα ατμού εισέρχεται, μόρια νερού συγκατατούνται στο κόσκινο και απορροφώνται, διαχωρίζοντας τα μόρια αιθανόλης.
- Αζεοτροπική απόσταξη: με προσθήκη τρίτης χημικής ουσίας (π.χ. κυκλοεξάνιο, βενζένιο) στο αζεοτροπικό δυαδικό μίγμα (αζεοτροπικό είναι μίγμα που έχει σταθερό σημείο βρασμού και συμπεριφέρεται σαν χημική ένωση στην κλασματική απόσταξη). Η προσθήκη τροποποιεί τις σχετικές πητικότητες του μίγματος και στη συνέχεια ανακτάται με απόσταξη ή άλλη μέθοδο ανάκτησης. Εισέρχεται από την κορυφή της στήλης, ενώ η άνυδρη αιθανόλη συλλέγεται στον πυθμένα.
- Χημική αφυδάτωση: αφυδάτωση με τη χρήση υγροσκοπικών χημικών ουσιών (σε εργαστηριακή κλίμακα συνήθως CaOH, quicklime), οι οποίες εισάγονται στο μίγμα αιθανόλης-νερού, σε υγρή ή αέρια φάση, αναγκάζοντας τις ουσίες να ενυδατωθούν με μόρια νερού.
- Απόσταξη διάχυσης: διαχωρισμός με διάχυση μέσω των κενών του αερίου που περιέχεται και στη συνέχεια συμπυκνώνεται. Το μίγμα ατμοποιείται σε θερμοκρασία πριν τη θερμοκρασία βρασμού και η διάχυση επιδρά στην πητικότητα του μίγματος.
- Εκχυλιστική απόσταξη: προσθήκη μη πητικού διαλύτη, που θα διαχωρίσει τα συστατικά. Το συστατικό με μεγαλύτερη πητικότητα βρίσκεται στην κορυφή της στήλης ενώ ο διαλύτης στον πυθμένα μαζί με το άλλο συστατικό χαμηλότερης πητικότητας. Το ελαφρύ συστατικό παραλαμβάνεται από την κορυφή της στήλης ενώ το μίγμα διαλύτη/βαρέος συστατικού προωθείται σε δεύτερη στήλη απόσταξης, από τον οποίο θα διαχωριστεί σε αυτό το στάδιο. Ο διαλύτης ανακυκλώνεται.
- Απόσταξη με μεμβράνες: μεταφορά μάζας συγκεκριμένου συστατικού του μίγματος μέσω ημιδιαπερατής μεμβράνης (συνήθως από πολυμερικό υλικό). Η επιφανειακή τάση της μεμβράνης εμποδίζει την τροφοδοσία καθώς τα πητικά συστατικά τη διαπερνούν [68][58].

### 3.5.5 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Η διαχωρισμένη υδρόλυση και ζύμωση (separated hydrolysis and fermentation SHF)

Τα δύο στάδια διαχωρίζονται ώστε να εξασφαλιστεί το βέλτιστο αποτέλεσμα και από τα δύο. Το υδρόλυμα εισέρχεται πρώτα σε έναν αντιδραστήρα όπου πραγματοποιείται η ζύμωση της γλυκόζης. Ακολούθως η αιθανόλη απομακρύνεται με απόσταξη και το υπολειπόμενο υδρόλυμα προωθείται σε δεύτερο αντιδραστήρα όπου πραγματοποιείται η ζύμωση των σακχάρων της ξυλόζης. Με τον ίδιο τρόπο η αιθανόλη παραλαμβάνεται με απόσταξη. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί ο σχηματισμός αναστολέων μετά την υδρόλυση, που περιορίζουν το ρυθμό τη υδρόλυσης και συνεπώς την παραγωγή αιθανόλης [58].

Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (simultaneous saccharification and fermentation SSF)

Η διεργασία αυτή επιτρέπει στα ένζυμα να πραγματοποιήσουν την υδρόλυση προς απελευθέρωση των σακχάρων και αμέσως μετά να πραγματοποιηθεί η ζύμωσή τους προς αιθανόλη χωρίς ενδιάμεσο διαχωρισμό. Με τον τρόπο αυτό αποτρέπεται η αναγωγή/μείωση των μονομερών που παράγονται από τη υδρόλυση.

Εξασφαλίζει συνήθως υψηλότερη απόδοση σε αιθανόλη καθώς μέσω της ζύμωσης περιορίζονται οι αναστολές της υδρόλυσης. Άλλα πλεονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν οι μικρότερες απαιτήσεις σε ένζυμα, η πιο γρήγορη παραγωγή, ο μικρότερος απαραίτητος αριθμός και όγκος αντιδραστήρα και το μικρότερο κόστος της συνολικής διεργασίας, λόγω του ταυτόχρονου της διεξαγωγής απελευθέρωσης και ζύμωσης σακχάρων.

Η ανάμιξη διαφορετικών τύπων μικροοργανισμών αποτελεί επίσης εναλλακτική μέθοδο στην παραγωγή αιθανόλης (simultaneous saccharification and co-fermentation SSC)F. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει, στη μικτή καλλιέργεια μικροβίων, να ξεκινήσει τη συνεχή διεργασία χωρίς διαχωρισμό των σακχάρων, να χρησιμοποιήσει διαφορετικά υλικά ως υπόστρωμα, χωρίς απαιτήσεις για αποστείρωση. Η τεχνική αυτή έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για την παραγωγή αιθανόλης από υπολείμματα καλαμποκιού, αστικά στερεά απόβλητα και βαγιάση ζαχαροκάλαμου. [58]

#### Ενωποιημένη βιοδεργασία (Consolidated bioprocessing CPB)

Η διεργασία αυτή εξασφαλίζει την αυτόνομη παραγωγή του απαραίτητου ενζύμου για την υδρόλυση (κυτταρινάσης), την υδρόλυση των υποστρωμάτων και τη ζύμωση των εξοζών και πεντοζών του λιγνοκυτταρινικού υποστρώματος, εντός του ίδιου αντιδραστήρα, σε ένα στάδιο, από μια ομάδα μικροοργανισμών που δύναται να επιτελεί όλες τις επιμέρους δράσεις. Πλεονεκτήματα της τεχνικής αποτελούν το χαμηλότερο κόστος παραγωγής λόγω μειωμένων σταδίων διεργασίας και όχι εξόδων από την αγορά ενζύμων, και οι χαμηλότερες απαιτήσεις σε ενέργεια. Ωστόσο, η διεργασία συνδέεται με χαμηλούς ρυθμούς μετατροπής και μικρότερη απόδοση σε αιθανόλη [52].

# 4

ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ  
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ



## 4.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ & ΕΝΝΟΙΕΣ ΣΤΟ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

### 4.1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο στατιστικός σχεδιασμός πειραμάτων είναι μια επιβεβαιωμένη τεχνική που βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανική αριστοποίηση των διεργασιών και σε ερευνητικές πειραματικές εργασίες. Παρέχει σημαντική βοήθεια, ιδιαίτερα όταν απαιτείται μεγάλη ακρίβεια στα πειραματικά αποτελέσματα. Τα τελευταία χρόνια βρίσκει ευρεία εφαρμογή, λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων του σε σχέση με άλλες ανάλογες μεθόδους. Τα κυριότερα πλεονεκτήματά της τεχνικής είναι ότι [70]:

- Παρέχει περισσότερες πληροφορίες ανά πείραμα, ελαχιστοποιώντας το χρόνο της έρευνας, ενώ είναι πολύ αποτελεσματική για συστήματα που επηρεάζονται από πολλές μεταβλητές
- Εξασφαλίζει οργανωμένη συλλογή και ανάλυση πληροφοριών, παρέχοντας σαφή και αξιόπιστα συμπεράσματα
- Κάνει εκτίμηση της αξιοπιστίας των πληροφοριών από άποψη πειραματικών και αναλυτικών διακυμάνσεων
- Δίνει τη δυνατότητα ποσοτικής εκτίμησης των αλληλεπιδράσεων των πειραματικών μεταβλητών
- Οδηγεί στον εντοπισμό του άριστου σημείου για το σχεδιασμό του πειράματος.

Σχεδιασμός ενός στατιστικού πειράματος είναι η μέθοδος επιλογής του αριθμού των μετρήσεων (επί μέρους πειραμάτων) και των συνθηκών εκτέλεσής τους, που είναι αναγκαία και ικανά για τη λύση του προβλήματος που έχει τεθεί με την απαιτούμενη ακρίβεια. Η βασική ιδέα του σχεδιασμού των πειραμάτων στηρίζεται στη δυνατότητα αντικατάστασης οποιουδήποτε φαινομένου με ένα μαθηματικό μοντέλο, το οποίο είναι πιο εύκολο να μελετηθεί και να διερευνηθεί. Το πρόβλημα παρουσιάζεται στην εκλογή του κατάλληλου αυτού μοντέλου, ώστε η προσέγγιση της πραγματικότητας στην πράξη, να γίνεται με ικανοποιητικό τρόπο.

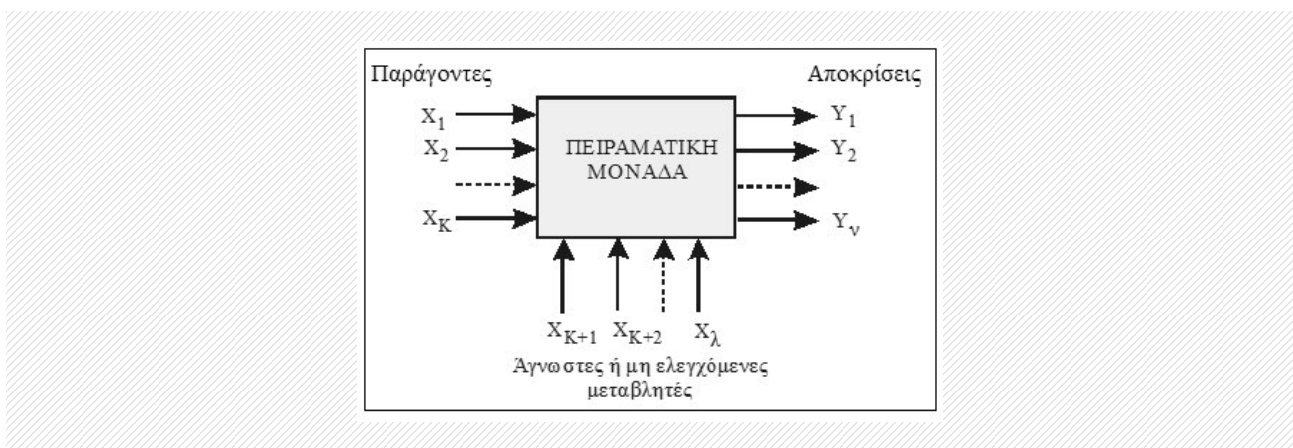
Κάθε πείραμα είναι μία δοκιμή. Αποτελείται από μία πειραματική μονάδα, μία σειρά μεταβλητών εισόδου και μία σειρά μεταβλητών εξόδου. Οι μεταβλητές εισόδου είναι παράμετροι, που η μεταβολή των τιμών τους, επηρεάζει την έκβαση του αποτελέσματος. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις παραμέτρους που μπορούν να προσδιοριστούν και να ελεγχθούν (παράγοντες) και τις παραμέτρους που είναι άγνωστες ή μη ελεγχόμενες.

Οι παράγοντες παίρνουν καθορισμένες τιμές και μπορούν να παραμείνουν σταθερές, με κάποια διαδικασία ελέγχου, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Το σύνολο των διαφορετικών τιμών που μπορούν να πάρουν ονομάζεται πειραματική περιοχή. Η διεξαγωγή ενός πειράματος απαιτεί όλοι οι παράγοντες να λάβουν μία καθορισμένη τιμή.

Οι άγνωστες μεταβλητές αποτελούν πηγή τυχαιών και συστηματικών σφαλμάτων που τείνουν να καλύψουν τις πραγματικές επιδράσεις των παραγόντων στο αποτέλεσμα. Παραδείγματα συστηματικών σφαλμάτων αποτελούν τα διαφορετικά όργανα μέτρησης της ίδιας παραμέτρου, οι μεταβολές στην πρώτη ύλη, οι αλλαγές των συνθηκών λειτουργίας, ενώ τυχαία σφάλματα μπορεί να είναι τα σφάλματα μέτρησης του βάρους και ανάγνωσης του ίδιου οργάνου. Ένας καλός σχεδιασμός πρέπει να πάρει υπόψη του τέτοιες επιδράσεις, ώστε να εκτιμηθεί η ικανότητα των συμπερασμάτων να μας οδηγήσουν στο επιθυμητό πειραματικό αποτέλεσμα.



Οι μεταβλητές εξόδου είναι μία σειρά αποτελεσμάτων (απαντήσεων) που προκύπτουν από την διεξαγωγή του πειράματος. Η μεταβλητή εξόδου που μας ενδιαφέρει να αριστοποιήσουμε προσδιορίζοντας τις κατάλληλες τιμές των παραγόντων, ονομάζεται παράμετρος αριστοποίησης (ή μεταβλητή απόκρισης). Η πειραματική μονάδα μπορεί να παρομοιαστεί με ένα «μαύρο κουτί», όπως στην Εικόνα 4-1, στο οποίο δεν μπορούμε να αναγνωρίσουμε τις άμεσες σχέσεις μεταξύ των επιδράσεων και των ανταποκρίσεων, αλλά μπορούμε να τις μετρήσουμε και να τις συσχετίσουμε με μαθηματικά μοντέλα. Ο πειραματικός σχεδιασμός αποτελείται από έναν αριθμό δοκιμών (πειραμάτων), που πραγματοποιούνται με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση των παραγόντων, σε μία πειραματική περιοχή τιμών, στις μεταβλητές εξόδου.



Εικόνα 4-1: Η ανατομία ενός πειράματος [70]

Τα αποτελέσματα ενός πειράματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατάλληλα ώστε να προκύψει ένα μαθηματικό μοντέλο που εκφράζεται με μία εξίσωση συσχετισμού των παραμέτρων αριστοποίησης με τους παράγοντες. Μία τέτοια εξίσωση ονομάζεται συνάρτηση ανταπόκρισης

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_K) \quad (4.1)$$

#### 4.1.2 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΡΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Σε κάθε σχεδιασμό αριστοποίησης, είναι σημαντικός ο προσδιορισμός του τελικού σκοπού της έρευνας. Οι παράμετροι αριστοποίησης (μεταβλητή εξόδου) αποτελούν την ποσοτική έκφραση των χαρακτηριστικών του τελικού πειραματικού σκοπού και την αντίδραση της συμπεριφοράς του συστήματος στη δράση των παραγόντων. Η αντίδραση αυτή είναι, συνήθως, πολύπλευρη και μπορεί να εκφραστεί με πλήθος μορφών. Η εκλογή εκείνης της μορφής που παρουσιάζει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι μία κρίσιμη φάση του σχεδιασμού και καλείται έκφραση του τελικού σκοπού. Οι παράμετροι αριστοποίησης πρέπει να εκπληρώνουν συγκεκριμένες προϋποθέσεις [70]:

- Να είναι αποτελεσματικές ως προς τον χαρακτηρισμό του τελικού σκοπού

- Να εκφράζονται σε διεθνώς αποδεκτές μονάδες
- Να έχουν ποσοτική και απλή έκφραση
- Να έχουν στατιστική αποτελεσματικότητα, δηλαδή να εκλέγεται μία παράμετρος αριστοποίησης που να προσδιορίζεται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια
- Να έχουν φυσική οντότητα που εκφράζεται απλά και υπολογίζεται εύκολα
- Να υπάρχουν σε όλα τα στάδια του σχεδιασμού

#### 4.1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ

Μετά την επιλογή των παραγόντων αριστοποίησης πρέπει να επιλεγούν όλοι εκείνοι οι παράγοντες που γνωρίζουμε ότι ενδέχεται να επηρεάσουν τη λύση του προβλήματος. Η παράλειψη ενός σημαντικού παράγοντα μπορεί να οδηγήσει σε τελειώς λανθασμένα αποτελέσματα, καθώς αυτός λαμβάνει τυχαίες τιμές, αυξάνοντας το σφάλμα του πειράματος. Η επιτυχία της αριστοποίησης εξαρτάται από την επιτυχημένη επιλογή των παραγόντων. Ανάλογα με τον τρόπο μέτρησης διαχωρίζονται σε ποσοτικούς (θερμοκρασία, χρόνος, συγκέντρωση καταλύτη, πίεση κ.α.) και ποιοτικούς (τύπος καταλύτη, παρουσία ή μη καταλύτη κ.α.). Είναι οι παράγοντες που γνωρίζουμε ότι επηρεάζουν τη λύση του προβλήματος και τους οποίους πρέπει προσεκτικά να επιλέξουμε. Απαιτήσεις για τους παράγοντες, πρέπει να είναι [70]:

- Ελέγξιμοι (σταθεροί κατά τη διάρκεια του πειράματος)
- Αναμφίβολοι (άμεση επίδραση στο αντικείμενο, και όχι συνάρτηση άλλων παραγόντων)
- Συμβιβαστοί (συνδυασμοί των επιπέδων τους στο πείραμα είναι κατορθωτοί και ασφαλείς).
- Ανεξάρτητοι (θέση ενός παράγοντα στο επίπεδο ανεξάρτητα των επιπέδων των άλλων, π.χ. σε ένα θερμοδυναμικό σύστημα δεν μπορούν να αποτελούν ταυτόχρονα παράγοντες η πίεση, η θερμοκρασία και ο όγκος, καθώς το ένα είναι συνάρτηση των άλλων δύο)

## 4.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΥΡΕΣΗ ΑΡΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Ο σχεδιασμός ενός πειράματος εφαρμόζεται σε μια συγκεκριμένη περιοχή, η επιλογή και ο χαρακτηρισμός των διαστάσεων της οποίας πρέπει να πραγματοποιηθεί σε προγενέστερο στάδιο. Η διαδικασία της αριστοποίησης ξεκινάει μόνο εφόσον το αντικείμενο της μελέτης έχει εξετασθεί σε κάποιον βαθμό. Η εξέταση αυτή περιλαμβάνει τη συλλογή συγκεκριμένων πληροφοριών, που είναι απαραίτητες για την θεωρητική προσέγγιση της φύσης του παράγοντα αριστοποίησης. Στο πλαίσιο αυτό προσδιορίζονται [70]:

- Το σημείο έναρξης: το σημείο του πολυδιάστατου χώρου που μπορεί να θεωρηθεί σαν το αρχικό σημείο από το οποίο ξεκινάμε για την εύρεση του άριστου σημείου, γύρω από το οποίο θα εφαρμοστεί ο σχεδιασμός. Καλείται βασικό επίπεδο ή επίπεδο μηδέν.
- Η περιοχή τιμών των παραγόντων: η συμμετρική περιοχή γύρω από το βασικό επίπεδο, ώστε η επιφάνεια της παραμέτρου αριστοποίησης που κινείται εντός αυτής, να μπορεί να αντικατασταθεί με ένα γραμμικό

μοντέλο. Πιθανή αστοχία στην σωστή επιλογή της υποπεριοχής αυτής, μπορεί να μας ωθήσει σε αναγκαστικό, εκ νέου σχεδιασμό του πειράματος.

Η υποπεριοχή έχει, για κάθε περίπτωση, ένα ανώτερο και ένα κατώτερο επίπεδο. Η κωδικοποίηση των τιμών που περιλαμβάνονται σε αυτή είναι απαραίτητη, ώστε να απλοποιηθούν οι πράξεις επίλυσης του μοντέλου. Το βασικό επίπεδο αντιστοιχίζεται με 0, το ανώτερο επίπεδο με +1 και το κατώτερο με -1. Τα δύο τελευταία είναι συμμετρικά ως προς το μηδενικό επίπεδο. Έτσι, κάθε τιμή της υποπεριοχής ενός παράγοντα κωδικοποιείται σύμφωνα με τη σχέση:

$$(4.2) \quad x_j = \frac{\bar{x}_j - x_{j0}}{J_j}$$

όπου  $x_j$  η κωδικοποιημένη τιμή του παράγοντα

$\bar{x}_j$  η φυσική τιμή του βασικού επιπέδου

$J_j$  το μέγεθος της υποπεριοχής

$j$  ο αύξων αριθμός του παράγοντα

#### 4.2.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ

Παραγοντικό καλείται ένα πείραμα στο οποίο πραγματοποιούνται όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί. Αν ο αριθμός των παραγόντων είναι  $k$  και ο αριθμός των επιπέδων  $p$ , τότε το πλήθος των μετρήσεων θα είναι:

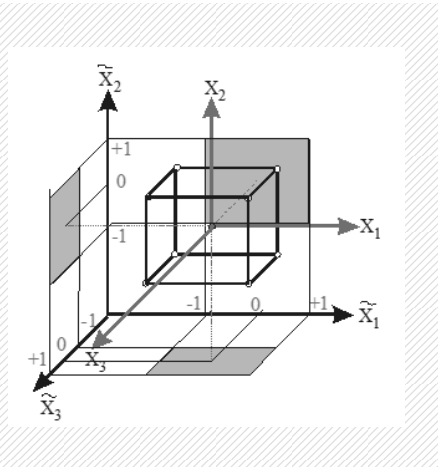
$$N = p^k \quad (4.3)$$

Ανάλογα με την επιλογή του  $p$  μιλάμε για  $(p-1)$  τάξεως σχεδιασμό. Αν για παράδειγμα  $p=2$  μιλάμε για σχεδιασμό ή για παραγοντικό πείραμα 1ης τάξης. Η τάξη του σχεδιασμού υπονοεί και τον βαθμό της εξίσωσης που μπορούμε να προσαρμόσουμε στα πειραματικά δεδομένα (1ης τάξης, 1ο βήθια εξίσωση). Στην πράξη χρησιμοποιούνται σχεδιασμοί με δύο ή τρία επίπεδα για κάθε μία από τις μεταβλητές  $k$ , που καλούνται αντίστοιχα  $2k$  και  $3k$  παραγοντικοί σχεδιασμοί. Σε ένα παραγοντικό πείραμα μελετάται η επίδραση της ταυτόχρονης μεταβολής δύο ή περισσότερων παραγόντων σε ένα παρατηρούμενο μέγεθος, που καλείται μεταβλητή απόκρισης. Με τον όρο παράγοντας καλείται κάποιο χαρακτηριστικό των πειραματικών συνθηκών, το οποίο μεταβάλλεται από δοκιμή σε δοκιμή. Οι τιμές που λαμβάνει ένας παράγοντας ονομάζονται επίπεδα. Οι συνθήκες ενός πειράματος μπορούν να γραφούν στη μορφή πίνακα, του οποίου οι γραμμές να αντιστοιχούν σε διαφορετικές μετρήσεις και οι στήλες στις τιμές των παραγόντων. Τέτοιοι πίνακας καλούνται «μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων». Η μήτρα σχεδιασμού ενός  $2^3$  παραγοντικού πειράματος καθώς και η γεωμετρική του αναπαράσταση παρουσιάζονται στον Πίνακα 4-1 και την Εικόνα 4-2.

Πίνακας 4-1: Μήτρα σχεδιασμού για ένα 2<sup>3</sup> πείραμα

	X1	X2	X3	X1X2	X1X3	X2X3	X1X2X3	Y
1	+	+	+	+	+	+	+	Y1
2	+	+	-	+	-	-	-	Y2
3	+	-	+	-	+	-	-	Y3
4	+	-	-	-	+	+	+	Y4
5	-	+	+	-	-	+	+	Y5
6	-	+	-	-	+	-	+	Y6
7	-	-	+	+	-	-	+	Y7
8	-	-	-	+	+	+	-	Y8

Εικόνα 4-2: Γεωμετρική εικόνα ενός 2<sup>3</sup> πειράματος



Οι τιμές + και - είναι οι κωδικοποιημένες τιμές των παραγόντων και οι συνδυασμοί αυτών των επιπέδων καθορίζουν τις συνθήκες εκτέλεσης κάθε μέτρησης. Για παραγοντικό σχεδιασμό 2<sup>3</sup> οι 4 τελευταίες στήλες της μήτρας σχεδιασμού χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της αλληλεπίδρασης των 3 παραγόντων και προκύπτει σαν αλγεβρικό γινόμενο των αντίστοιχων στοιχείων των στηλών των παραγόντων. Η τελευταία στήλη αντιπροσωπεύει τη μεταβλητή απόκρισης.

– ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Ένα πείραμα σχεδιάζεται προσεκτικά πριν την έναρξη των δοκιμών προκειμένου να εξασφαλιστούν οι άριστες ιδιότητες. Οι εκτιμήσεις των συντελεστών του μοντέλου πρέπει να είναι οι άριστες και η ακρίβεια πρόβλεψης της παραμέτρου αριστοποίησης δεν πρέπει να εξαρτάται από την κατεύθυνση στο χώρο των παραγόντων, εφόσον δεν είναι γνωστή από πριν η κατεύθυνση για την εύρεση του αρίστου. Οι προϋποθέσεις για να επιτευχθούν αυτά εξαρτώνται από τις ιδιότητες του σχεδιασμού. Οι ιδιότητες ενός παραγοντικού σχεδιασμού είναι:

A. Συμμετρία (ως προς το κέντρο του σχεδιασμού) 
$$\sum_{i=1}^N x_{ji} = 0 \quad (4.4)$$

B. κανονικότητα 
$$\sum_{i=1}^N x_{ji}^2 = N \quad (4.5)$$

Γ. ορθογωνικότητα 
$$\sum_{i=1}^N x_{ji}x_{ui} = 0 \quad (4.6)$$

Δ. περιστροφικότητα

όπου j=ο αριθμός του παράγοντα (1,2,...,k)

i= ο αριθμός της μέτρησης (1,2,...,N) και j/=u= (1,2,...,k)

– ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

Για τον υπολογισμό των συντελεστών μια συνάρτησης απόκρισης με k παράγοντες χρησιμοποιείται ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης (regression analysis) με το γραμμικό μοντέλο:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_kx_k \tag{4.7}$$

Οι συντελεστές της υπολογίζονται σύμφωνα με τη σχέση:

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N x_{ji}Y_i}{N} \quad \text{όπου } j=0,1,2,\dots,K \text{ ο αριθμός του παράγοντα} \tag{4.8}$$

Οι συντελεστές των αλληλεπιδράσεων υπολογίζονται με όμοιο τρόπο από τη σχέση:

$$b_{uj} = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad \text{όπου } u,j= 1,2,\dots \text{ οι αριθμοί των παραγόντων (u≠j)} \tag{4.9}$$

Οι συντελεστές των ανεξάρτητων μεταβλητών υπονοούν τη σημαντικότητα των παραγόντων. Όσο μεγαλύτερη αριθμητικά είναι η τιμή του συντελεστή τόσο μεγαλύτερη είναι η επιρροή του παράγοντα στο συνολικό σχεδιασμό. Θετικό πρόσημο του παράγοντα, υπονοεί ότι με αύξηση της τιμής του αυξάνεται και η παράμετρος αριστοποίησης, ενώ το αντίθετο συμβαίνει για αρνητικό πρόσημο. Η τιμή του συντελεστή υποδηλώνει τη συνεισφορά του στην τιμή που παίρνει η παράμετρος αριστοποίησης, καθώς μεταβαίνει μέσω του μηδενικού επιπέδου στο -1 ή στο +1 επίπεδο.

Κατά το σχεδιασμό επιδιώκεται αρχικά ο σχηματισμός ενός γραμμικού μοντέλου, ο οποίος ωστόσο πρέπει να ελέγχεται ως προς την αποτελεσματικότητά του. Αιτία μη γραμμικότητας μπορεί να αποτελεί η αλληλεπίδραση πολλαπλών παραγόντων μεταξύ τους, κι έτσι η δράση ενός παράγοντα να εξαρτάται από το επίπεδο όπου βρίσκεται ένας άλλος παράγοντας. Στην περίπτωση αυτή λαμβάνει χώρα μια εσωτερική ενδοδράση, μεταξύ των εμπλεκόμενων παραγόντων. Ένα παραγοντικό πείραμα μπορεί να εκτιμήσει ποσοτικά μία τέτοια εσωτερική ενδοδράση. Ο συντελεστής μιας ενδοδράσης προσδιορίζεται σύμφωνα με τη σχέση (4.9).

Έστω παραγοντικό πείραμα 2<sup>2</sup>. Το γραμμικό μαθηματικό μοντέλο είναι:

$$Y = b_0x_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 \tag{4.10}$$

Ο πίνακας σχεδιασμού φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 4-2: Πίνακ σχεδιασμού παραγοντικού πειράματος 2<sup>2</sup>

NO δοκιμής	x0	x1	x2	x1 x2	Y
1	+	-	-	+	Y1
2	+	+	-	-	Y2
3	+	-	+	-	Y3
4	+	+	+	+	Y4

Ο σχεδιασμός βασίζεται στις στήλες  $x_1$  και  $x_2$  ενώ οι στήλες  $x_0$  και  $x_{1x2}$  προσφέρονται μόνο για τον υπολογισμό.

Οι συντελεστές υπολογίζονται:

$$b_0 = \frac{(+Y_1(+Y_2(+Y_3(+Y_4)))))}{4} \quad (4.11)$$

$$b_1 = \frac{(-Y_1(+Y_2(-Y_3(+Y_4))))}{4}$$

$$b_2 = \frac{(-Y_1(-Y_2(+Y_3(+Y_4))))}{4}$$

$$b_{12} = \frac{(+Y_1(-Y_2(-Y_3(+Y_4))))}{4}$$

Κατά την αριστοποίηση επιχειρείται η ελαχιστοποίηση των εσωτερικών δράσεων, προκειμένου να ληφθεί ένα γραμμικό μοντέλο.

#### — ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ

Μετά το σχεδιασμό ενός στατιστικού πειράματος ακολουθεί η εκτέλεση των επί μέρους πειραμάτων, των οποίων τα αποτελέσματα, υποδεικνύουν, από τα πρώτα κίβλας στάδια της επεξεργασίας τους, την ορθότητα ή όχι των επιλογών του πειραματιστή κατά το σχεδιασμό.

Το σφάλμα μιας μέτρησης είναι το άθροισμα μιας σειράς μερικών σφαλμάτων, όπως στη σταθεροποίηση των παραγόντων, στη μέτρηση της παραμέτρου αριστοποίησης, σφάλματα που οφείλονται στη γήρανση της συσκευής ή μιας από τις πρώτες ύλες κ.α. Κάθε ένα σφάλμα, μπορεί επίσης να διαιρεθεί στα συστατικά του.

Χωρίζονται, γενικά σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα συστηματικά και τα τυχαία σφάλματα.

Τα συστηματικά σφάλματα οφείλονται σε αιτίες που επενεργούν συνήθως προς μια ορισμένη κατεύθυνση. Πολύ συχνά αυτά τα σφάλματα μπορούν να μελετηθούν και να προσδιορισθούν ποσοτικά. Εάν τα συστηματικά σφάλματα οφείλονται σε εξωτερικές συνθήκες (μεταβολές της θερμοκρασίας, στην ποιότητα της πρώτης ύλης κ.α) είναι απαραίτητο να αντισταθμιστεί η επίδραση.

Τα τυχαία σφάλματα είναι αυτά που εμφανίζονται ακανόνιστα, με άγνωστες αιτίες και τα οποία είναι αδύνατο να εκτιμηθούν από πριν. Δεν επιτρέπεται να γίνονται αυθαίρετες διορθώσεις στις επαναλήψεις κάθε μέτρησης. Για την απαλλαγή των μετρήσεων από εσφαλμένες παρατηρήσεις χρησιμοποιείται το κριτήριο  $t$  του Student.

Σύμφωνα με αυτό το κριτήριο μια ύποπτη για μεγάλη απόκλιση επανάληψη συγκρίνεται με τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση των υπόλοιπων τιμών, σύμφωνα με τη παρακάτω εξίσωση:

$$t_{exp} = \frac{y_i - \bar{y}}{s_i} \quad (4.12)$$

Μία παρατήρηση απορρίπτεται, εάν η απόλυτη πειραματική τιμή  $t_{exp}$  είναι μεγαλύτερη από την τιμή του πίνακα Student  $t_{tab}$  για τον ίδιο βαθμό ελευθερίας και με στατιστική σημαντικότητα 95%.

Με τους ίδιους βαθμούς ελευθερίας εκτιμάται και η διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης σύμφωνα με

τη σχέση:

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1} \quad (4.13)$$

Αυτή η σχέση είναι αρκετή για την περίπτωση της εκτίμησης του σφάλματος προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης από ένα μόνο σημείο του χώρου των παραγόντων, π.χ από το κέντρο του σχεδιασμού. Στην περίπτωση όμως, που υπάρχουν επαναλήψεις και στις μετρήσεις του σχεδιασμού, περίπτωση που είναι και προτιμότερη γιατί επισημαίνει έγκαιρα μεγάλα σφάλματα, η διακύμανση πρέπει να υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^{nm} f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (4.14)$$

όπου  $s_i^2$  κάθε μία από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού που χρησιμοποιείται στον υπολογισμό της  $S_y^2$

$f_i$  οι αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας.

#### – ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΩΝ

Ο έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων γίνεται με τη βοήθεια διαφόρων στατιστικών κριτηρίων. Το απλούστερο απ'αυτά είναι ο λόγος F (λόγος του Fisher) που έχει σχεδιασθεί για τη σύγκριση δύο διακυμάνσεων. Ο λόγος F είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης προς τη μικρότερη. Η τιμή που προκύπτει συγκρίνεται με την αντίστοιχη τιμή του πίνακα των λόγων Fisher. Εάν ο λόγος F που υπολογίζεται είναι μεγαλύτερος από την τιμή του πίνακα (για τους αντίστοιχους βαθμούς ελευθερίας και την επιθυμητή στατιστική σημαντικότητα), τότε οι διακυμάνσεις διαφέρουν σημαντικά, και δεν είναι ομοιογενείς.

Για την περίπτωση που ο αριθμός των διακυμάνσεων προς σύγκριση είναι μεγαλύτερος από δύο και μια διακύμανση είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τις άλλες μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κριτήριο του Cochran. Αυτό είναι χρήσιμο σε περιπτώσεις που υπάρχει ο ίδιος αριθμός επαναλήψεων σε όλα τα σημεία. Το κριτήριο του Cochran είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης προς το άθροισμα όλων των διακυμάνσεων. Κριτήριο ομοιογένειας είναι η πειραματική του G να είναι μικρότερη της αντίστοιχης τιμής του πίνακα:

$$G = \frac{s_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad (4.15)$$

όπου  $s_{max}^2$  η μεγαλύτερη διακύμανση

$s_i^2$  η τιμή κάθε επιμέρους διακύμανσης

## – ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ

Για τον υπολογισμό των συντελεστών μιας συνάρτησης απόκρισης χρησιμοποιείται ανάλυση παλινδρόμησης. Εξετάζεται πρώτα η απλή περίπτωση ενός γραμμικού μοντέλου με ένα παράγοντα :

$$Y=b_0 +b_1x_1 \quad (4.16)$$

Σκοπός είναι ο προσδιορισμός των αγνώστων συντελεστών  $b_0$  και  $b_1$ . Πρέπει να οργανωθεί ένας αριθμός πειραμάτων για τη χρήση των αποτελεσμάτων στους υπολογισμούς. Αν όλα τα πειραματικά σημεία βρίσκονται πάνω σε ευθεία της μορφής (4.16) τότε κάθε ένα από τα σημεία αυτά περιγράφεται με την εξίσωση:

$$y_i - b_0 - b_1x_{1i} = 0 \quad (4.17)$$

όπου,  $i=1,2,\dots,N$  ο αριθμός της μέτρησης.

Στην πράξη, όμως, αυτό δεν συμβαίνει και η εξίσωση παίρνει τη μορφή:

$$y_i - b_0 - b_1x_{1i} = \xi_i \quad (4.18)$$

όπου  $\xi_i = y_i - y_i^*$  η διαφορά μεταξύ πειραματικής ( $y_i$ ), και υπολογισμένης με την αρχική εξίσωση τιμής ( $y_i^*$ ).

Για ελαχιστοποίηση των αποκλίσεων  $\xi$  χρησιμοποιείται η μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων, σύμφωνα με την οποία:

Επιδιώκεται αρχικά η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των αποκλίσεων, δηλαδή η εύρεση του ελαχίστου της συνάρτησης:

$$\sum_i^N \xi_i^2 = \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 * x_{1i})^2 \quad (4.19)$$

Αυτό υπολογίζεται από τις μερικές παραγώγους ως εξής:

$$\frac{\partial(\xi_i^2)}{\partial b_0} = \frac{\partial(\xi_i^2)}{\partial b_1} = 0 \quad (4.20)$$

Προκύπτει το σύστημα

$$-2 \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) = 0 \quad (4.21)$$

$$-2 \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) x_{1i} = 0$$

Η ιδιότητα της συμμετρίας της μήτρας σχεδιασμού δίνει:

$$\sum_i^N x_{1i} = 0 \quad (4.22)$$

Και οι εξισώσεις τροποποιούνται στις

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad (4.23)$$



$$b_1 = \frac{\sum_i^N y_i x_{1i}}{\sum_i^N x_{1i}^2} \quad (4.24)$$

Ο προσδιορισμός των συντελεστών μιας γραμμικής συνάρτησης απόκρισης με k παράγοντες γίνεται με όμοιο τρόπο με την εφαρμογή πολλαπλής παλινδρόμησης:

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_k x_k \quad (4.25)$$

Με την ίδια λογική όπως και για την γραμμική περίπτωση επιδιώκεται η εύρεση του ελαχίστου της συνάρτησης

$$\sum_i^N \xi_i^2 = \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i} - \dots - b_k x_{ki})^2 \quad (4.26)$$

Με k+1 μερικές παραγώγους ως προς τους αγνώστους  $b_0, b_1, b_2, \dots, b_k$ , οι εξισώσεις 4.23 και 4.24 τροποποιούνται στις:

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad (4.27)$$

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{\sum_i^N x_{ji}^2} \quad (4.28)$$

όπου  $j=1,2,\dots,k$  ο αριθμός του παράγοντα. Στο σχεδιασμό πρώτης τάξης ισχύει επίσης ή ιδιότητα της κανονικότητας της μήτρας σχεδιασμού, οπότε η εξίσωση (5.9) μετασχηματίζεται σε:

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{N} \quad (4.29)$$

Οι συντελεστές των αλληλεπιδράσεων υπολογίζονται με όμοιο τρόπο από τη σχέση:

$$b_{uj} = \frac{\sum_i^N y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad (4.30)$$

όπου  $u, j=1,2,\dots$ , είναι οι αριθμοί των παραγόντων ( $u \neq j$ ).

#### – ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ

Για τον έλεγχο σημαντικότητας των συντελεστών του μαθηματικού μοντέλου, υπολογίζονται πρώτα οι διακυμάνσεις των συντελεστών από τη σχέση:

$$s_{bj}^2 = \frac{s_y^2}{N} \quad (4.31)$$

όπου N ο αριθμός των δοκιμών

Η σημαντικότητα ενός γραμμικού συντελεστή  $b_j$  δίνεται από τη σχέση

$$t = \frac{|b_j|}{\sqrt{s_b^2}} \quad (4.32)$$

όπου  $s_b^2$  η διασπορά των συντελεστών που υπολογίστηκε παραπάνω

$t$  η τιμή του πίνακα student με κατανομή σημαντότητας 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της  $S_y$ .

Για να είναι σημαντικός ένας συντελεστής πρέπει η τιμή  $t$  που αντιστοιχεί σε αυτόν να είναι, κατά απόλυτη τιμή, μεγαλύτερη από την αντίστοιχη του πίνακα t-student, με βαθμούς ελευθερίας τους βαθμούς της διασποράς  $s_y^2$ .

#### – ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Ο έλεγχος της επάρκειας ενός μαθηματικού μοντέλου, ελέγχεται σύμφωνα με το κριτήριο Fischer. Σύμφωνα με αυτό, ο λόγος πρέπει να ακολουθεί κατανομή F με επίπεδο σημαντικότητας 5% και η τιμή του να είναι μικρότερη της τιμής  $F_{tab}$  που προκύπτει από τον πίνακα τιμών λόγου Fischer:

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2} \quad (4.33)$$

Όπου  $s_y^2$  η τυπική απόκλιση

$s_{ad}^2$  η απόκλιση επάρκειας που δίνεται από τη σχέση

Η διακύμανση επάρκειας εκφράζεται από τη σχέση:

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - \hat{Y})^2}{f} \quad (4.34)$$

όπου  $Y_i$  η πειραματική τιμή της  $i$  δοκιμής

$\hat{Y}$  η εκτιμώμενη τιμή  $i$  από το προσδιοριζόμενο μοντέλο

$f$  βαθμός ελευθερίας του συστήματος

$N$  ο αριθμός των δοκιμών

Αν το μοντέλο είναι επαρκές:

Δίνονται τρεις πιθανές λύσεις

- 1) Όλες οι παλινδρομήσεις των συντελεστών είναι σημαντικές: στην περίπτωση αυτή οδηγούμαστε είτε σε λήξη της έρευνας, είτε σε επόμενο σχεδιασμό 2ης τάξης, είτε μετακινούμαστε κατά μήκος της παραγώγου του πολυωνύμου.

- 2) Μέρος αυτών είναι σημαντικές και μέρος μη σημαντικές: στην περίπτωση αυτή πρέπει να εξηγηθεί η ασημαντότητα των συντελεστών και αν δεν εξηγείται θεωρητικά μπορεί να οφείλεται σε λανθασμένη εκλογή του επιπέδου των τιμών γύρω από τη βασική τιμή. Πρέπει να γίνουν σημαντικοί και να προχωρήσουμε. Αυτό μπορεί να συμβεί με επιλογή νέου διαστήματος τιμών, ή με αύξηση του αριθμού των επαναλαμβανόμενων πειραμάτων ώστε να μειωθεί η διασπορά ή με επέμβαση στον αρχικό σχεδιασμό. Κάθε τέτοια παρέμβαση απαιτεί σημαντικές πειραματικές προσπάθειες. Για το λόγο αυτό μπορούμε να κινηθούμε κατά μήκος της παραγώγου, λαμβάνοντας υπόψιν μόνο τους σημαντικούς παράγοντες.
- 3) Καμία από τις παλινδρομήσεις των συντελεστών δεν είναι σημαντική: αυτό αποδίδεται είτε σε μεγάλο πειραματικό σφάλμα, είτε σε λήψη μικρού διαστήματος των τιμών των παραγόντων. Στην περίπτωση αυτή μπορούμε να συνεχίσουμε αυξάνοντας την ακρίβεια των πειραμάτων (περισσότερες επαναλήψεις ή/και βελτίωση της πειραματικής διαδικασίας) και μεγαλώνοντας το διάστημα των τιμών.

Αν το μοντέλο είναι ανεπαρκές:

Αυτό σημαίνει ότι η πειραματική επιφάνεια δεν μπορεί να αντιπροσωπευτεί από το γραμμικό μοντέλο που προσδιορίστηκε. Αυτό αποτυπώνεται με τη σημαντικότητα των μικρότερων συντελεστών των ενδοδράσεων αλλά και τη μεγαλύτερη διαφορά της απόκρισης  $Y$  στο κέντρο και του σταθερού συντελεστή  $b_0$  του γραμμικού μοντέλου. Σε ένα ανεπαρκές μοντέλο πρέπει να ληφθούν συγκεκριμένες αποφάσεις ώστε να γίνει επαρκές, όπως:

- Αλλαγή των τιμών του επιπέδου των παραγόντων (πιο συνήθης)
- Μεταφορά του κέντρου σχεδιασμού
- Συμπλήρωση του σχεδιασμού

Αυτό απαιτεί την εκτέλεση νέας σειρά πειραμάτων.

# 5

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ



## 5.0 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της δυνατότητας παραγωγής βιοαιθανόλης από αναερόβια σταθεροποιημένη ίλυ που προέρχεται από αναερόβιο χωνευτήρα επεξεργασίας αγροτικών υπολειμμάτων. Υπό αυτό το πρίσμα, μελετήθηκε η μεγιστοποίηση της παραγωγής των ζυμώσιμων σακχάρων με εφαρμογή συνδυασμού χημικής προεπεξεργασίας (αλκαλική ή όξινη) με ενζυμική υδρόλυση. Η ποσοτικοποίηση των εν λόγω επιδράσεων προσεγγίστηκε μέσω παραγοντικού σχεδιασμού των πειραματικών δοκιμών.

## 5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

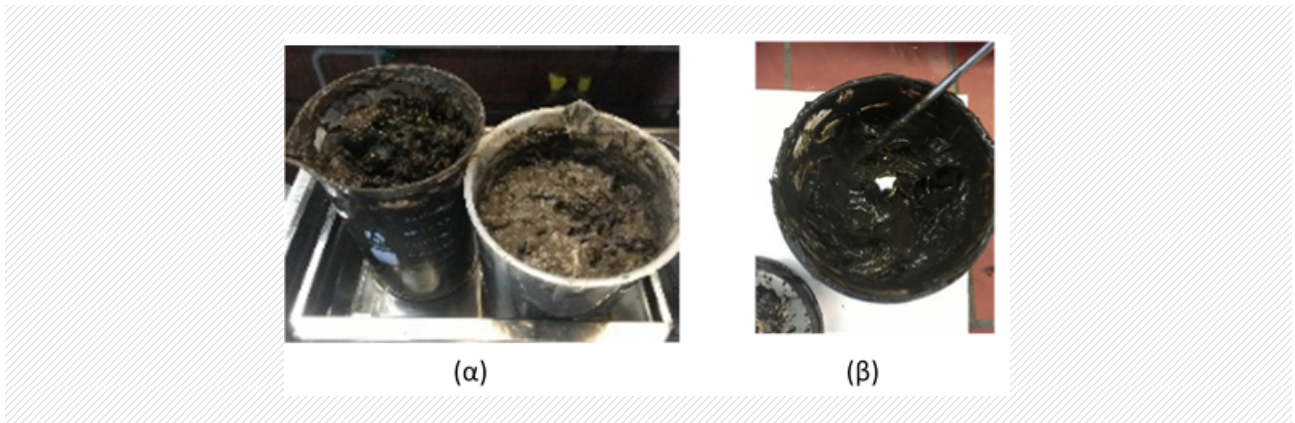
Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε, οι πειραματικές διατάξεις με τις οποίες εκτελέστηκαν οι επιμέρους πειραματικές δοκιμές και χαρακτηρισμοί, καθώς επίσης και οι πειραματικές διαδικασίες που ακολουθήθηκαν σε κάθε στάδιο. Πιο συγκεκριμένα, περιγράφονται:

1. Ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός της αναερόβιας σταθεροποιημένης ίλυος (digestate) που αποτέλεσε την πρώτη ύλη για την εκτέλεση των πειραμάτων.
2. Η διαδικασία προετοιμασίας των δειγμάτων
3. Οι τεχνικές προεπεξεργασίας που εφαρμόστηκαν
4. Η διεργασία της ενζυμικής υδρόλυσης της αναερόβιας ίλυος σε ζυμώσιμα μονομερή σάκχαρα
5. Οι μέθοδοι ανάλυσης που εφαρμόστηκαν για όλα τα επιμέρους στάδια.

## 5.2 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ

Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη είναι αναερόβια σταθεροποιημένη ίλυς από χωνευτήρα που επεξεργαζόταν άχυρο σίτου. Η μαγιά αναερόβιας ίλυος, που χρησιμοποιήθηκε, προερχόταν από τον αναερόβιο χωνευτήρα πρωτοβάθμιας ίλυος και περίσσειας βιολογικής ίλυος που λειτουργεί στο κέντρο επεξεργασίας λυμάτων της Ψυτάλλειας. Η αναερόβια σταθεροποιημένη ίλυς λαμβάνεται ως προϊόν από έναν αναερόβιο χωνευτήρα CSTR μικρής κλίμακας που λειτουργεί στο εργαστήριο του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Ο χωνευτήρας επεξεργάζεται άχυρο σίτου (wheat straw) από τον Ασπρόπυργο Αττικής, λειτουργεί σε θερμοκρασία 35oC και έχει υδραυλικό χρόνο παραμονής 20 ημέρες.

Η σύστασή του άχυρου που χρησιμοποιήθηκε είναι 33.8% κутταρίνη, 45.1% ημικυτταρίνη, 16.4% λιγνίνη (15.4% λιγνίνη Klason και 1.0% οξεοδιαλυτή λιγνίνη) και 4.7% τέφρα.



Εικόνα 5-1: (α) μίγμα μαγιάς αναερόβιας ιλύος και αχύρου, (β) σταθεροποιημένη αναερόβια ιλύς (πρώτη ύλη πειραμάτων)



Εικόνα 5-2: (α) Άχυρο προ επεξεργασίας, (β) Άχυρο έπειτα από μηχανική επεξεργασία, (γ) Συσκευή mixer, Commercial Heavy Duty Blender, (δ)

Προετοιμασία χωνευτήρα

Επεξεργασία αχύρου: Το άχυρο υπόκειται σε μηχανική επεξεργασία προς μείωση του όγκου του. Το προκύπτον στερεό απαρτίζεται από μικρότερα τμήματα αχύρου τροφοδοτείται σε αναερόβιο χωνευτήρα σταθερής θερμοκρασίας 37°C με χρόνο παραμονής 20 ημερών.

Η μέθοδος προσομοιάζει ένα χωνευτήρα πλήρους ανάδευσης μικρής κλίμακας διαλείποντος έργου. Οι μικροοργανισμοί που περιέχονται στην αναερόβια ιλύ, αποικοδομούν προσδευτικά το άχυρο παράγοντας βιοαέριο και αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς η οποία στο τέλος του πειράματος συλλέγεται και ακολούθως ομογενοποιείται περαιτέρω με τη χρήση μίξερ. Το τελικό αυτό ομογενοποιημένο προϊόν, αποτελεί την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Ο καθορισμός της σύστασής του, αποτελεί κρίσιμη παράμετρο σχεδιασμού της διεργασίας βιομετατροπής, που εφαρμόζεται σε επόμενο στάδιο, και η οποία περιλαμβάνει την προεπεξεργασία, την ενζυμική υδρόλυση και το τελικό στάδιο της ζύμωσης προς παραγωγή αιθανόλης.

Στο πλαίσιο της πειραματικής διαδικασίας, προσδιορίζονται συγκεκριμένες παράμετροι, για τον συνολικό χαρακτηρισμό τόσο της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, όσο και των στερεών και υγρών κλασμάτων, που παραλαμβάνονται μετά την προεπεξεργασία και την ενζυμική υδρόλυση. Οι παράμετροι αυτές περιλαμβάνουν:

- Τα ολικά στερεά (total solids TS)
- Τα ολικά πτητικά στερεά (volatile solids VS)
- Την κυτταρίνη
- Την ημικυτταρίνη
- Τη λιγνίνη
- Τη γλυκόζη
- Τον ολικό άνθρακα (total organic carbon TOC)
- Τα πτητικά λιπαρά οξέα (volatile fatty lipids VFAs)
- Τις φαινόλες

### 5.3 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Το στάδιο της προεπεξεργασίας (pretreatment) αποτελεί το πιο κρίσιμο στάδιο στη συνολική διεργασία επεξεργασίας. Σκοπός του είναι η αποδόμηση της πολύπλοκης λιγνοκυτταρινικής δομής του εξεταζόμενου υλικού, ώστε να βελτιωθεί ο ρυθμός της ενζυμικής υδρόλυσης του επόμενου σταδίου.

Για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας, εξετάζονται δύο διαφορετικές μέθοδοι:

- Η αλκαλική μέθοδος προεπεξεργασίας, με αραιό NaOH, στους 120 °C
- Η όξινη μέθοδος προεπεξεργασίας, με αραιό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, στους 120 °C.

Η προεπεξεργασία σε κάθε περίπτωση πραγματοποιείται σε αποστειρωτή στους 120 °C, με σκοπό τη θανάτωση των περιεχομένων μικροοργανισμών. Η συσκευή που χρησιμοποιείται είναι η Autoclave vertical της ISOLAB Laborgeräte GmbH, που βρίσκεται στη «Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας» του ΕΜΠ.

Η συσκευή Autoclave vertical ISOLAB Laborgeräte GmbH

Ο αποστειρωτής χρησιμοποιεί ατμό κορεσμού υπό πίεση για τη θανάτωση των βακτηρίων. Τα δείγματα τοποθετούνται εντός του αποστειρωτή, ο οποίος σφραγίζεται αεροστεγώς και ακολουθεί θέρμανση μέχρι τους 120°C. Σε αυτή τη θερμοκρασία το νερό μετατρέπεται σε ατμό, στην πίεση κορεσμού, ο οποίος θερμαίνει τα δείγματα. Μετά το πέρας συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος, κατά το οποίο η θερμοκρασία και η πίεση του συστήματος διατηρείται σταθερή, τα βακτήρια θανατώνονται σε ικανοποιητικό βαθμό.

Είναι κατασκευασμένος από ανοξείδωτο ατσάλι 0C18Ni9 και προηγμένη τεχνολογία. Στην κεφαλή της συσκευής (κάλυμμα) υπάρχουν η βαλβίδα ασφαλείας, η βαλβίδα απελευθέρωσης αέρα και το πιεσόμετρο. Ρόλος τους είναι η διατήρηση της θερμοκρασίας και της πίεσης σε σταθερή τιμή, η απελευθέρωση αέρα και η ένδειξη της πίεσης που επικρατεί εντός του δοχείου. Η βαλβίδα ασφαλείας είναι ευαίσθητη και ακριβείας. Στον πυθμένα της συσκευής βρίσκεται ο σωλήνας θέρμανσης και ένας δακτύλιος στήριξης, πάνω από τον οποίο τοποθετείται ένας δίσκος. Ο χώρος από πάνω καταλαμβάνεται από ένα μικρότερο κυλινδρικό δοχείο, με διάτρητη βάση εντός του οποίου τοποθετούνται τα προς αποστείρωση δείγματα. Η στεγανότητα του συστήματος εξασφαλίζεται με ειδικό δακτύλιο που είναι προσαρμοσμένος στην εσωτερική επιφάνεια του καλύμματος.



Εικόνα 5-3: Η συσκευή- κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgeräte GmbH Autoclave

Πριν από κάθε χρήση ελέγχεται η στάθμη του νερού στον πυθμένα της συσκευής, η οποία συμπληρώνεται με ανάλογη ποσότητα όποτε κρίνεται κατάλληλο. Με την έναρξη της θέρμανσης η βαλβίδα απελευθέρωσης στρέφεται σε κάθετη θέση ώστε να απομακρύνεται ο αέρας και το συμπυκνωμένο νερό. Με την απότομη έκρηξη του ατμού, η βαλβίδα στρέφεται σε οριζόντια θέση και αρχίζει η αύξηση της εσωτερικής πίεσης του δοχείου. Με το πέρας της αποστείρωσης, η πίεση δεν πρέπει να εκτονωθεί αμέσως, καθώς υπάρχει πιθανότητα διάχυσης του υγρού δείγματος που βρίσκεται ακόμα υπό συνθήκες βρασμού ή ακόμα και έκρηξης του δοχείου. Το σύστημα πρέπει να αφήνεται σε ηρεμία, ώστε να ψυχθεί προοδευτικά με φυσιολογικό τρόπο. Όταν η ένδειξη



της πίεσης είναι μηδενική, ανοίγεται η βαλβίδα για την πλήρη εκτόνωση του δοχείου και ακολούθως αφαιρείται το κάλυμμα [72].

Αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 1%, 2%, 4%

Σε γυάλινα μπουκάλια των 250ml ζυγίζεται 1g, 2g και 4g NaOH, αντίστοιχα για κάθε περιεκτικότητα, και αραιώνεται με νερό έως τα 10g, με ταυτόχρονη ανάδευση για ομογενοποίηση. Ακολουθεί ζύγιση και προσθήκη 90g της πρώτης ύλης (αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς και άχυρο), έως τελικής μάζας συνολικού υλικού 100g. Τα μπουκάλια σφραγίζονται, αναδεύονται χειροκίνητα για πλήρη διασπορά του χημικού αντιδραστηρίου στον όγκο της λάσπης και ακολούθως τοποθετούνται στη συσκευή αποστείρωσης. Εκεί θα παραμείνουν για χρονικά διαστήματα 1, 1.25 και 1.5 ώρας, υπό θέρμανση στους 120°C, ανάλογα με τη σειρά του πειράματος που ορίζεται από το σχεδιασμό.

Όξινη προεπεξεργασία με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, 2%, 3%

Σε γυάλινα μπουκάλια των 250ml ζυγίζονται 90g λάσπης. Η προετοιμασία των αραιών διαλυμάτων H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> λαμβάνει χώρα ως εξής: σε ποτήρια ζέσης των 50ml προστίθενται 10ml απιονισμένου νερού και ακολούθως με πιπέτα προστίθενται 0.6ml, 1.2ml ή 1.8ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% v/v, αντίστοιχα για τις απαιτήσεις θειικού 1%, 2% και 3%. Τα διαλύματα αφήνονται προς ανάδευση σε μαγνητικούς αναδευτήρες για περίπου 5 λεπτά. Ακολούθως, το διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> που παρασκευάστηκε, προστίθεται στη λάσπη εντός των μπουκαλιών και αναδεύεται χειροκίνητα για πλήρη ανάμιξη των συστατικών. Τα μπουκάλια σφραγίζονται και τοποθετούνται στη συσκευή αποστείρωσης, όπου θα παραμείνουν για χρονικά διαστήματα 1, 1.25 και 1.5 ώρας, υπό θέρμανση στους 120°C, ανάλογα με τη σειρά του πειράματος που ορίζεται από το σχεδιασμό.

Μετά το πέρας της αποστείρωσης, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθως διαχωρίζονται μηχανικά σε δύο κλάσματα, ένα στερεό και ένα υγρό, κάθε ένα από τα οποία θα χαρακτηριστεί ποιοτικά και ποσοτικά με μεθόδους που θα αναλυθούν παρακάτω. Ο μηχανικός διαχωρισμός πραγματοποιείται σε φυγοκεντρική. Όσα από τα δείγματα πρόκειται να χρησιμοποιηθούν στο επόμενο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης δεν διαχωρίζονται. Σε αυτά θα ακολουθήσει ρύθμιση του pH και προσθήκη ενζύμου βάσει του κυτταρινικού περιεχομένου τους.

## 5.4 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Μετά το στάδιο της προεπεξεργασίας, για τα επιλεγμένα δείγματα πραγματοποιείται ενζυμική υδρόλυση. Το στάδιο της προεπεξεργασίας, έχοντας επιδράσει στην πολύπλοκη λιγνουτταρινούχα δομή των υποστρωμάτων, διευκολύνει την προσβασιμότητα των ενζύμων στους δομικούς πολυσακχαρίτες.

Ο πρωταρχικός στόχος της ενζυμικής υδρόλυσης είναι η μετατροπή του μεγαλύτερου ποσοστού της κυτταρίνης του λιγνοκυτταρινούχου υποστρώματος σε μονομερή σάκχαρα. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσθήκη κυταρινασών. Καλό μέτρο της αποτελεσματικότητας ενός ενζύμου είναι η % μετατροπή της κυτταρίνης, η οποία ορίζεται ως το ποσό της κυτταρίνης που μετατρέπεται σε γλυκόζη, διαιρεμένη με το

αρχικό ποσό της κυτταρίνης. Υψηλότερα ποσοστά μετατροπής κυτταρίνης μπορούν να εξασφαλιστούν είτε με αύξηση της δόσης του ενζύμου ή του χρόνου της υδρόλυσης.

Η ποσότητα του ενζύμου που απαιτείται για την υδρόλυση συστήνεται να προσδιορίζεται και να προστίθεται, βάσει των επιπέδων της κυτταρίνης που περιέχεται στο εκάστοτε υπόστρωμα. Με τον τρόπο αυτό, καθίσταται εφικτή η άμεση σύγκριση της αποτελεσματικότητας του ενζύμου, για τα διαφορετικά υποστρώματα βιομάζας [73].

Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται ευρέως για τη διεργασία της ενζυμικής υδρόλυσης είναι το CellicCTec2 και το HTec2 (Novozymes, Denmark). Και τα δύο έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά, σε ένα μεγάλο εύρος λιγνοκυτταρινούχων υλικών, για τη μετατροπή των υδρογονανθράκων σε απλούστερα σάκχαρα πριν τη ζύμωση [73]. Στην παρούσα μελέτη, η ενζυμική σακχαροποίηση μη προεπεξεργασμένων και προεπεξεργασμένων στερεών δειγμάτων έγινε με χρήση του ενζύμου Cellic CTec2 και η ενζυμική υδρόλυση διαρκεί 72 ώρες. Η βέλτιστη θερμοκρασία και τιμή pH για τη δράση του ενζύμου είναι 45-50°C και pH 5.0-5.5. Η ρύθμιση του pH πραγματοποιήθηκε με ρυθμιστικά διαλύματα  $H_2SO_4$  ή  $NaOH$ .

Το ένζυμο Cellic CTec2 (Novozymes, Denmark) αποτελεί ένα σύμπλεγμα επιθετικών κυτταρινασών, με β-γλυκοζιδάσες και ημικυτταρινάση. Η χρήση του εξασφαλίζει υψηλά ποσοστά μετατροπής, είναι αποτελεσματικό σε υποστρώματα με υψηλό περιεχόμενο σε στερεά, είναι ανθεκτικό σε αναστολές και συμβατό με μια ποικιλία υποστρωμάτων. Λόγω της υψηλής του συγκέντρωσης δίνει τη δυνατότητα χαμηλότερης δόσης ενζύμου έως και 50%.

#### Διεργασία ενζυμικής υδρόλυσης

Μετά το στάδιο της προεπεξεργασίας, για κάθε κύκλο πειραμάτων, προκύπτουν 15 δείγματα, εκ των οποίων μόνο τα 10 θα υποστούν ενζυμική υδρόλυση και είναι εκείνα τα οποία δεν διαχωρίζονται σε στερεό και υγρό κλάσμα. Όπως παραλαμβάνονται μετά την αποστείρωση, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και ακολούθως γίνεται ρύθμιση του pH τους σε pH 5.0-5.5, ώστε να βρίσκεται εντός του εύρους δράσης του ενζύμου Cellic CTec2 (Novozymes), που θα χρησιμοποιηθεί για την υδρόλυση.

- Τα δείγματα που προέρχονται από τον κύκλο  $NaOH$  έχουν pH στην αλκαλική περιοχή, που κυμαίνεται μεταξύ pH 13.5-13.9. Η ρύθμιση γίνεται με χρήση διαλύματος  $H_2SO_4$  72% v/v που προστίθεται με τη χρήση πιπέτας, σε ποσότητα περίπου 4ml.
- Τα δείγματα που προέρχονται από τον κύκλο  $H_2SO_4$ , έχουν pH στην όξινη περιοχή που κυμαίνεται μεταξύ 1.2-1.5 και η ρύθμιση γίνεται με την προσθήκη περίπου 3ml διαλύματος  $NaOH$  0,5M. Μετά τη ρύθμιση του pH στα δείγματα προστίθεται η ανάλογη ποσότητα ενζύμου, όπως έχει υπολογιστεί από το κυτταρινικό τους περιεχόμενο.



Εικόνα 5-4: Συσκευή δόνησης - Shaker

Ακολούθως τα δείγματα τοποθετούνται στο Shaker, υπό ανάδευση στα 150rpm και θέρμανση στους 50°C, όπου παραμένουν για 72 ώρες.

Με το πέρας του χρονικού αυτού διαστήματος, τα δείγματα αποσύρθηκαν, αφέθηκαν, να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και ακολούθησαν τα επόμενα στάδια επεξεργασίας που περιλάμβαναν διαχωρισμό υγρού-στερεού και επιμέρους χαρακτηρισμούς των δύο κλασμάτων. Οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν αναλύονται στο Κεφάλαιο 6-4.

Τα πειράματα που διεξήχθησαν, για κάθε μέθοδο προεπεξεργασίας, με όλους τους επιμέρους συνδυασμούς των μεταβλητών παραμέτρων, δηλαδή της συγκέντρωσης του χημικού αντιδραστηρίου προεπεξεργασίας (αραιού NaOH ή αραιού H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), του χρόνου της αποστείρωσης και της συγκέντρωσης του ενζύμου υδρόλυσης CellicCTec2 (μg/g cellulose) παρουσιάζονται ακολούθως στους Πίνακες 6-1 και 6-2.

Πίνακας 6-1: Πειράματα που διεξήχθησαν με αλκαλική προεπεξεργασία και ακόλουθη

Αριθμός πειράματος	Χρόνος αποστείρωσης (h)	NaOH (%)	CellicCTec2 (μL/ g)
B1	1	2	100
B2	1.5	4	100
B3	1	4	100
B4	1.5	2	100
B5	1	2	400
B6	1.5	4	400
B7	1	4	400
B8	1.5	2	400
B9	1.25	3	250

Πίνακας 6-2: Πειράματα που διεξήχθησαν με όξινη προεπεξεργασία και ακόλουθη ενζυμική

Αριθμός πειράματος	Χρόνος αποστείρωσης(h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	CellicCTec2 (μL/ g)
A1	1	1	100
A2	1.5	3	100
A3	1	3	100
A4	1.5	1	100
A5	1	1	400
A6	1.5	3	400
A7	1	3	400

A8	1.5	1	400
A9	1.25	2	250

## 5.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Στο κεφάλαιο αυτό θα προσδιοριστούν οι μέθοδοι ανάλυσης που εφαρμόστηκαν για τα εξεταζόμενα δείγματα, στα διάφορα στάδια της πειραματικής διαδικασίας. Μετά το πέρας της προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης, κάθε δείγμα διαχωρίζεται σε ένα στερεό και ένα υγρό κλάσμα. Οι μέθοδοι ανάλυσης που περιγράφονται εμπίπτουν στο χαρακτηρισμό και των δύο κλασμάτων, καθώς επίσης και της αρχικής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Πρόσθετα θα αναφερθεί και η διαδικασία προσδιορισμού της αιθανόλης, που εκτελέστηκε στο τελικό στάδιο των πειραματικών δοκιμών. Οι ανάλυση πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους.

### 5.5.1 ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ

Ο μηχανικός διαχωρισμός πραγματοποιείται σε φυγοκεντρητή. Το περιεχόμενο των μπουκαλιών που παραλήφθηκαν από τον αποστειρωτή αδειάζεται σε πλαστικά falcon tubes των 50ml, τα οποία φυγοκεντρώνται για 5 λεπτά στα 4000rpm. Τα μεγαλύτερα σωματίδια του περιεχόμενου στερεού κατακάθονται στον πυθμένα σχηματίζοντας ένα ίζημα, ενώ το υγρό στο άνω τμήμα του falcon. Το υπερκείμενο υγρό συλλέγεται σε δοκιμαστικό σωλήνα και αραιώνεται σε τελικό όγκο 200ml. Το στερεό παραλαμβάνεται με σπαθίδα και μεταφέρεται σε προζυγισμένες κάψες. Ακολουθεί χαρακτηρισμός και των δύο κλασμάτων.



Εικόνα 5-5: Φυγόκεντρος IEC/ Centra CL2

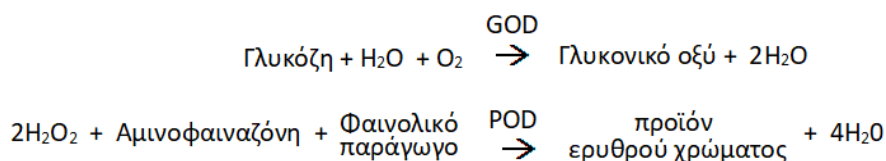
### 5.5.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΥΓΡΟΥ

Στο υγρό κλάσμα που συλλέγεται από το διαχωρισμό γίνονται συγκεκριμένοι χαρακτηρισμοί, ώστε να προσδιοριστούν τα περιεχόμενα σάκχαρα, η γλυκόζη, ο ολικός οργανικός άνθρακας, τα πηκτικά οργανικά οξέα και οι φαινόλες. Ως βάση για τις μετρήσεις χρησιμοποιείται το αρχικό διάλυμα, αραιωμένο 10 φορές (γλυκόζη, TOC, VFA) ή 100 φορές (phenol test).

#### — ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Η μέτρησή αυτή γίνεται στο υγρό κλάσμα που συλλέχθηκε μετά το διαχωρισμό και πραγματοποιείται με την πρότυπη μέθοδο GOD/PAP [74].

Η μέθοδος GOD/PAP βασίζεται στη μετατροπή της γλυκόζης σε ένα προϊόν ερυθρού χρώματος, ως αποτέλεσμα της δράσης των ενζύμων γλυκόζο οξειδάση (GOD) και υπεροξειδάση (POD). Παρουσία του ενζύμου γλυκόζο οξειδάση, η γλυκόζη οξειδώνεται και παράγει  $H_2O_2$  και γλυκονικό οξύ. Όταν το  $H_2O_2$  αντιδρά με φαινολικό παράγωγο και 4-αμινοφαιναζόνη, αντίδραση καταλυόμενη από το ένζυμο υπεροξειδάση, παράγεται ένα έγχρωμο προϊόν, ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο δείγμα [77].



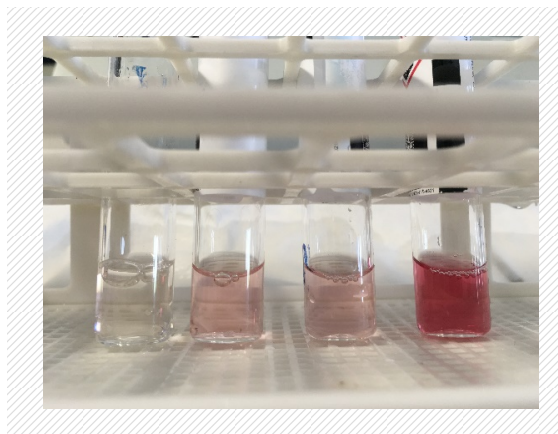
Σχήμα 5-1: Ενζυμική αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP. [http://www.biosis.com.gr/uploads/files/insert\\_glu.pdf](http://www.biosis.com.gr/uploads/files/insert_glu.pdf)

Πιο συγκεκριμένα τα βήματα που ακολουθήθηκαν είναι τα εξής:

- Σε γυάλινα φιαλίδια προστίθεται 2ml αντιδραστηρίου σακχάρου GOD/PAP και 100μl υγρού δείγματος (αραιωμένο 10 φορές).
- Συμπληρωματικά παρασκευάζεται και ένα τυφλό δείγμα που περιέχει 2ml ενζύμου και 100μl νερού αντί για υγρό δείγμα.
- Τα φιαλίδια σφραγίζονται και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο Polyscience στους 37°C για 15 λεπτά.
- Η μέτρηση της γλυκόζης λαμβάνει χώρα σε φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck, σε μήκος κύματος 510nm, όπου μετρείται η απορρόφηση του κάθε διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης.
- Το όργανο μηδενίζεται πρώτα με απιονισμένο νερό. Τα φιαλίδια αναδεύονται στη συσκευή Vortex-Genie 2 (Scientific Industries) και κάθε δείγμα εισέρχεται, διαδοχικά, στην ειδική κυψελίδα (πρώτα το τυφλό δείγμα). Η κυψελίδα εκπλαίνεται με απιονισμένο νερό κάθε φορά που αλλάζει το μετρούμενο διάλυμα και σκουπίζεται περιμετρικά από τυχόν σταγονίδια.

Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP

Η παρουσία της γλυκόζης σε κάθε δείγμα αποτυπώνεται με το χρωματισμό του διαλύματος. Το σάκχαρο είναι κανονικά άχρωμο, αλλά με την προσθήκη δείγματος, μικρότερης ή μεγαλύτερης περιεκτικότητας σε γλυκόζη, αυτό χρωματίζεται από απαλό έως και πολύ έντονο ροζ. Μη χρωματισμός του δείγματος, ύστερα από την επώαση, υποδεικνύει είτε πλήρη απουσία γλυκόζης στο εξεταζόμενο δείγμα, είτε ενδεχόμενη κατανάλωση της περιεχόμενης γλυκόζης από μικροοργανισμούς του διαλύματος, σε περίπτωση που το υγρό παρέμεινε αρκετή ώρα εκτός ψυγείου.



Εικόνα 5-6: Μέτρηση ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP.

#### – ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ

Πραγματοποιείται για τον προσδιορισμό της επί της εκατό κατά βάρος περιεκτικότητας του οργανικού άνθρακα, κάθε εξεταζόμενου δείγματος. Το προς εξέταση δείγμα είναι το υγρό κλάσμα που προκύπτει από το διαχωρισμό μετά το στάδιο της προεπεξεργασίας ή της ενζυμικής υδόλυσης. Η συσκευή που χρησιμοποιείται είναι το όργανο TOC της εταιρείας Shimadzu. Με τη μέτρηση της τιμής του ολικού οργανικού άνθρακα προσδιορίζεται η ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα που παράγεται από την οξείδωση των ανθρακούχων ουσιών που περιέχονται στο δείγμα. Η πειραματική διαδικασία προσδιορισμού TOC πραγματοποιείται στο υγρό κλάσμα τελικού όγκου 200 ml, που παραλαμβάνεται μετά την φυγοκέντρηση της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, μετά το στάδιο της προεπεξεργασίας ή της ενζυμικής υδρόλυσης. Από το κλάσμα αυτό λαμβάνεται ποσότητα 5 ml και αραιώνεται 10 φορές σε τελικό όγκο 50 ml.

Αρχή της μεθόδου: Η μέτρηση λαμβάνει χώρα στο αραιωμένο διάλυμα. Το δείγμα εισάγεται απ' ευθείας στο σωλήνα καύσης που περιέχει τον καταλύτη. Ο συνολικός άνθρακας του δείγματος οξειδώνεται (καίγεται στους 720) στο σωλήνα καύσης και σχηματίζεται διοξείδιο του άνθρακα. Το φέρον αέριο (υπερκάθαρος αέρας) ρέει μέσα από το σωλήνα καύσης και παραλαμβάνει το διοξείδιο και τα υπόλοιπα προϊόντα καύσης, τα οποία μεταφέρει σε έναν αφυγραντή όπου απομακρύνεται η υγρασία, με ταυτόχρονη ψύξη των αερίων της καύσης. Ακολούθως, το φέρον αέριο διέρχεται μέσα από μια παγίδα αλογόνων, και καταλήγει στην κυψελίδα ανιχνευτή NDIR (Non Dispersive Infra Red gas analyzer), όπου ανιχνεύεται το διοξείδιο του άνθρακα.



Εικόνα 5-7: Total Organic Analyzer, TOC-V, της εταιρείας Shimadzu

– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΗΗΤΙΚΩΝ ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ

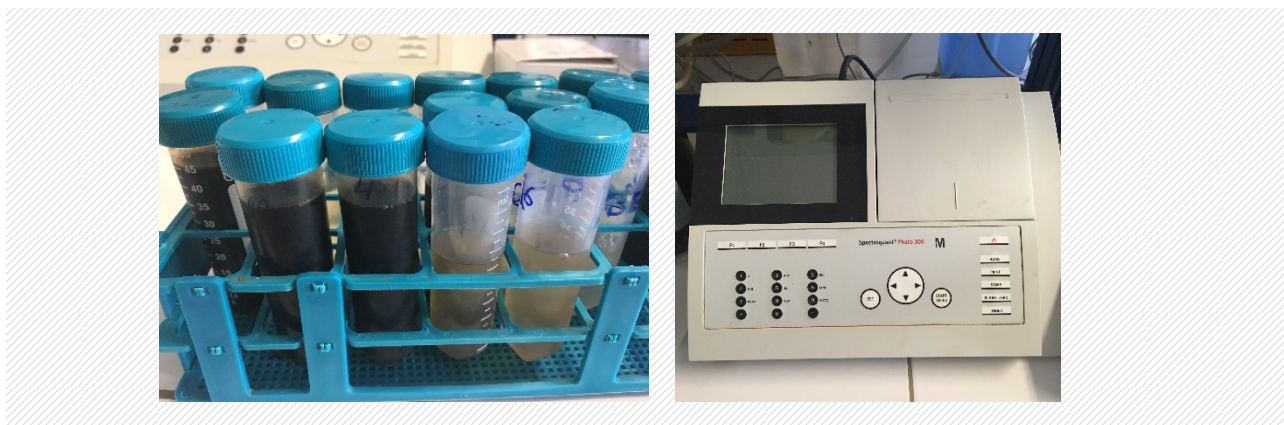
Η μέτρηση αυτή πραγματοποιείται στο φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck όπου μετριέται η συγκέντρωση των VFAs με χρήση του κατάλληλου πακέτου αντιδραστηρίων του εργαστηρίου Spectroquant Volatile Organic Acids Test 1018909 (Merck KGaA, Mellipore, Germany (Merck KGaA, Mellipore, Germany)). Κάθε δείγμα είναι αραιωμένο 10 φορές.

Αρχή της μεθόδου: η μέθοδος βασίζεται στην αντίδραση των πηητικών οργανικών οξέων που περιέχονται στο δείγμα με διόλη, σε όξινο μέσο, προς σχηματισμό εστέρων λιπαρών οξέων. Αυτοί στη συνέχεια μετατρέπονται σε υδροξυμικά οξέα, αντιδρώντας με υδροξυλαμίνη. Ακολούθως αντιδρούν με ιόντα σιδήρου (III) προς σχηματισμό κοκκινόχρωμων συμπλεγμάτων, τα οποία προσδιορίζονται φωτομετρικά. Η περιοχή μέτρησης κυμαίνεται στα 50- 3000mg/L VFAs, υπολογισμένα ως οξικό οξύ.

Τα βήματα της μεθόδου περιλαμβάνουν:

- Έλεγχο του pH του δείγματος, ώστε να είναι pH 2-12.
- Προσθήκη με πιπέτα σε μια καθαρή κυλινδρική κυψελίδα 0,75ml αντιδραστηρίου OA-1.
- Προσθήκη με πιπέτα στην κυψελίδα 0,5ml αντιδραστηρίου OA-2.
- Προσθήκη με πιπέτα στην κυψελίδα 0,5ml δείγματος. Βιδώνεται το καπάκι και αναμιγνύεται.
- Η κυψελίδα τοποθετείται σε θερμοαντιδραστήρα στους 100 για 15 λεπτά. Κατόπιν, ψύχεται κάτω από τρεχούμενο νερό στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος χώρου.
- Προσθήκη με πιπέτα στην κυψελίδα από 1 ml αντιδραστηρίου OA-3, OA-4 και OA-5.
- Χρόνος αντίδρασης 1 λεπτό.

Η κυψελίδα εισάγεται στον υποδοχέα του φωτομέτρου και μετράται βάσει της καταχωρημένης μεθόδου με αριθμό 223.



Εικόνα 5-8: Αριστερά: Υγρό κλάσμα (αραιωμένο και μη) μετά τη φυγοκέντρωση, σε πλαστικά falcon tubes.. Δεξιά: Το φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck

– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΑΙΝΟΛΩΝ

Η μέτρηση αυτή πραγματοποιείται στο φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck όπου μετριέται η συγκέντρωση των VFAs με χρήση του κατάλληλου πακέτου αντιδραστηρίων του εργαστηρίου Spectroquant Phenol Test 100856 (Merck KGaA, Mellipore, Germany). Κάθε δείγμα αραιώνεται 100 φορές.

Σε ρυθμισμένο διάλυμα, παρουσία οξειδωτικού παράγοντα, η φαινόλες και τα ορθο ή μετ- συστατικά της, αντιδρούν με 4-αμινο-αντιπυρίνη προς σχηματισμό κοκκινόχρωμου συστατικού, το οποίο προσδιορίζεται φωτομετρικά. Περιοχή μέτρησης 0,025- 5,000 mg/l C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH. Τα βήματα της μεθόδου περιλαμβάνουν:

- Έλεγχο της τιμής pH του δείγματος, ώστε να είναι pH 2-11. Εάν χρειάζεται, η τιμή διορθώνεται με αραιό υδροξείδιο του νατρίου ή αραιό θειικό οξύ σταγόνα σταγόνα.
- Εισαγωγή 10 ml δείγματος με μια πιπέτα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα.
- Προσθήκη με πιπέτα 1 ml αντιδραστηρίου Ph-1, και ακόλουθη ανάμιξη..
- Προσθήκη 1 κοφτό κουταλάκι του αντιδραστηρίου Ph-2.
- Καλή ανακίνηση για τη διάλυση της στερεάς ουσίας
- Προσθήκη 1 κοφτό μικροκουταλάκι του αντιδραστηρίου Ph-3 και καλή ανακίνηση για διάλυση της στερεάς ουσίας.
- Αντίδραση των δειγμάτων για 10 λεπτά.
- Μεταφορά του δείγματος στην ειδική κυψελίδα.
- Επιλέγεται η μέθοδος 0,025-5,00mg/l με τον AutoSelector του φωτομέτρου, η κυψελίδα τοποθετείται στον υποδοχέα και ακολουθεί φωτομέτρηση.

5.5.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ

– ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΛΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ (Total Solids TS)

Το στερεό που συλλέχθηκε από τη φυγοκέντρωση, τοποθετείται σε προζυγισμένες κάψες και τοποθετείται σε φούρνο ξήρανσης με ρεύμα αέρα στους 105°C για 24 ώρες. Μετά το πέρας του χρονικού διαστήματος, τα δείγματα τοποθετούνται σε ξηραντήρα για διάστημα 20-30 λεπτών, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθως ζυγίζονται ξανά. Τα ολικά στερεά υπολογίζονται από τη συσχέτιση των δύο τιμών ζυγίσεων σύμφωνα με την εξίσωση:

$$TS(\%) = \frac{\text{αρχικό στερεό} - \text{τελικό στερεό}}{\text{αρχικό στερεό}} * 100 \quad (5.1)$$





Εικόνα 5-9: Αριστερά: Φούρνος ξήρανσης με ρεύμα αέρα 105°C. — Δεξιά: Ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων.

#### – ΜΕΤΡΗΣΗ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των υδατοδιαλυτών στερεών (Water Soluble Solids WSS) ενός δείγματος, μέσω αραιώσής του με νερό και ακόλουθη θέρμανση υπό ανάδευση. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε έχει ως εξής: Από το ξηραμένο στερεό της προηγούμενης διαδικασίας, ζυγίζεται ποσότητα 1,25g σε γυάλινα μπουκάλια των 100ml και αραιώνεται με 50ml απιονισμένου νερού. Τα μπουκάλια σφραγίζονται και τοποθετούνται σε μηχανικό θερμαινόμενο αναδευτήρα-shaker του εργαστηρίου για 1 ώρα, στους 50°C και 150rpm. Μετά το πέρας του χρονικού αυτού διαστήματος, κάθε δείγμα διηθείται υπό κενό, με προ ζυγισμένους ηθμούς διήθησης. Οι ηθμοί έχουν ξηραθεί σε φούρνο με ρεύμα αέρα στους 105°C για την απομάκρυνση υγρασίας. Το υγρό διήθημα συλλέγεται σε ογκομετρικό κύλινδρο και καταγράφεται ο όγκος του. Τα μπουκάλια εκπλαίνονται με απιονισμένο νερό (2 φορές από 50ml), ώστε να παρασυρθεί όλη η ποσότητα στερεού από το εσωτερικό τους. Το στερεό υπόλειμμα που κατακρατείται, μεταφέρεται μαζί με τον ηθμό διήθησης σε προ ζυγισμένα ποτήρια ζέσεως και ακολούθως τοποθετείται σε φούρνο ξήρανσης με ρεύμα αέρα στους 105°C για περίπου 24 ώρες. Μετά το πέρας του χρονικού διαστήματος, τα δείγματα απομακρύνονται και τοποθετούνται σε ξηραντήρα με silica gel, για περίπου 30 λεπτά, έως ότου αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, ζυγίζονται εκ νέου και καταγράφεται η μάζα τους.

Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με τη σχέση:

$$WSS(\%) = \frac{m_i - m_t}{m_i} * 100 \quad (5.2)$$

όπου  $m_i$  η μάζα του αρχικού δείγματος

$m_t$  η τελική μάζα μετά από 24 ώρες στους 105°C

– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΠΗΗΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του οργανικού φορτίου ενός δείγματος, μέσω καύσης του σε υψηλή θερμοκρασία και για ορισμένο χρόνο. Η διαδικασία έχει ως εξής: αρχικά ρυθμίζεται ο φούρνος στους 550 °C. Από το ξηραμένο στερεό δείγμα που συλλέγεται από τη μέτρηση των υδατοδιαλυτών στερεών, ζυγίζεται ποσότητα 0,5g σε προζυγισμένες κεραμικές κάψες. Εφόσον ο φούρνος έχει φτάσει την επιθυμητή θερμοκρασία, τα δείγματα με τις κάψες τοποθετούνται στο εσωτερικό του και αφήνονται για περίπου 24 ώρες, όπου θερμαίνονται στους 550 °C. Την επόμενη μέρα τα δείγματα απομακρύνονται προσεκτικά από το φούρνο, αφήνονται στον ξηραντήρα για περίπου 30-45 λεπτά, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος και ακολούθως ζυγίζονται εκ νέου.

Η εκτίμηση του περιεχομένου του οργανικού φορτίου πραγματοποιείται με τον υπολογισμό της απώλειας μάζας πριν και μετά τη θέρμανση του δείγματος στους 550 °C. Η απώλεια αυτή αποδίδεται στην οξειδωση των οργανικών ουσιών που περιέχεται στο στερεό, και σε μικρότερο βαθμό στην απομάκρυνση ορισμένων ανόργανων πηητικών. Ο υπολογισμός των πηητικών στερεών υπολογίζεται βάσει της αρχικής και της τελικής μάζας του ξηρού δείγματος που ζυγίζεται, σύμφωνα με τη σχέση:

$$VS(\%) = \frac{m_i - m_t}{m_i} * 100 \quad (5.3)$$

όπου  $m_i$  η μάζα του αρχικού δείγματος

$m_t$  η τελική μάζα μετά από 24 ώρες στους 550°C

Το ξηραμένο στερεό που προκύπτει, συλλέγεται σε πλαστικά falcon tubes και αποθηκεύεται προκειμένου να χρησιμοποιηθεί για επόμενες μετρήσεις και χαρακτηρισμούς.



Εικόνα 5-10: Αριστερά: Φούρνος μέτρησης πηητικών στερεών — Δεξιά: Πεχάμετρο Mettler Toledo MPC227

– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΙΓΝΙΝΗΣ (ΔΙΑΛΥΤΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΔΙΑΛΥΤΗΣ)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί το συνολικό περιεχόμενο σε λιγνίνη των εξεταζόμενων δειγμάτων, προ και μετά την ενζυμική υδρόλυση, ώστε να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της προεπεξεργασίας που πραγματοποιήθηκε. Τα βήματα της μεθόδου περιλαμβάνουν [74]:

1. Από το ξηραμένο στερεό, από τη μέτρηση των υδατοδιαλυτών στερεών, ζυγίζεται ποσότητα 300mg, σε γυάλινα μπουκάλια των 100ml.
2. Προστίθενται, ακολούθως 3ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (72% v/v),
3. Τα μπουκάλια σφραγίζονται και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο στους 30°C για 1 ώρα. Ανά 5-10 λεπτά τα δείγματα αναδεύονται χειροκίνητα, χωρίς να απομακρύνονται από το υδατόλουτρο, ώστε να εξασφαλίζεται η άμεση επαφή του οξέος με τα σωματίδια για την υδρόλυση.
4. Με το πέρας της ανάδευσης, γίνεται αραιώση του οξίνου διαλύματος σε 4%, με προσθήκη 84ml απιονισμένου νερού, με τελικό όγκο του οξίνου διαλύματος 86.73ml. Δείγματα ανακινούνται καλά, ώστε να μη διαχωριστούν οι φάσεις με υψηλότερη/μικρότερη συγκέντρωση οξέος, σφραγίζονται.
5. Τα δείγματα τοποθετούνται στον αποστειρωτή Isolab για 1 ώρα, στους 121°C.
6. Μετά το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος και προτού ανοιχτούν, τα υδρολύματα αφήνονται να ηρεμήσουν φυσιολογικά και να αποκτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος.
7. Ακολουθεί διήθηση υπό κενό με μικρά φίλτρα (...). Το πρώτο κλάσμα υγρού που λαμβάνεται από τη διήθηση συλλέγεται σε πλαστικά falcon των 50ml και θα χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της διαλυτής λιγνίνης.
8. Τα μπουκάλια εκπλαίνονται με ζεστό απιονισμένο νερό (2 φορές από 25ml), προκειμένου να συλλεχθεί όλο το στερεό, που περιέχεται εντός και έχει κατακρατηθεί στα τοιχώματα. Το ζεστό νερό βοηθάει, ώστε η διήθηση να πραγματοποιηθεί γρηγορότερα. Από το στερεό, που συλλέγεται με το πέρας της διήθησης, θα γίνει η μέτρηση της μη διαλυτής λιγνίνης.

Μη διαλυτή λιγνίνη: Το κατακρατημένο στερεό μαζί με τον ηθμό διήθησης που χρησιμοποιήθηκε, συλλέγεται προσεκτικά και τοποθετείται σε μικρές κεραμικές κάψες. Οι κάψες με το στερεό τοποθετούνται σε φούρνο με ρεύμα αέρα στους 105 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος, και αφού έλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ζυγίζονται και ακολούθως τοποθετούνται στο φούρνο VS όπου θερμαίνονται στους 575 °C για άλλες 24 ώρες. Με την ολοκλήρωση και αυτού του σταδίου, και αφού έλθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, οι κάψες ζυγίζονται εκ νέου. Από τη διαφορά των δύο ζυγίσεων μεταξύ 105 °C και 575 °C υπολογίζεται η ποσότητα της μη διαλυτής λιγνίνης.

Ο υπολογισμός της μη διαλυτής λιγνίνης γίνεται μέσω της σχέσης:

$$\%AIL = \frac{M_{105} - M_{575}}{m_{\text{δείγματος}}} \quad (5.4)$$

όπου M105 η συνολική μάζα κάψας και δείγματος όπως καταγράφεται μετά την ξήρανση στους 105 M575 η συνολική μάζα κάψας και δείγματος μετά την καύση στους 575 μδείγματος η αρχική μάζα ξηρού στερεού που χρησιμοποιήθηκε για τη διεργασία (περίπου 300mg)

Διαλυτή λιγνίνη: Εντός 6 ωρών από την ώρα της όξινης υδρόλυσης, πρέπει να μετρηθεί η διαλυτή λιγνίνη. Η μέτρησή αυτή γίνεται στο υγρό κλάσμα που συλλέχθηκε στα falcon tubes μετά τη διήθηση και πραγματοποιείται με φωτομέτρηση σε φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck, σε μήκος κύματος 320nm, όπου μετριέται η απορρόφηση του κάθε διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης. Το διάλυμα χρησιμοποιείται ως έχει, χωρίς αραίωση.

Υπολογισμός διαλυτής λιγνίνης Acid Soluble Lignin ASL γίνεται μέσω της σχέσης:

$$\%ASL = \frac{UVabs * V * Dilution}{\epsilon * M * pathlength} \quad (5.5)$$

όπου UVabs η απορρόφηση του δείγματος που μετρήθηκε στο φωτόμετρο για συγκεκριμένο μήκος κύματος (320nm)

V ο όγκος του διηθήματος που παραλαμβάνεται και είναι ίσος με 86.73ml

Dilution η αραίωση του διηθήματος. Εδώ το διήθημα χρησιμοποιείται ως έχει χωρίς αραίωση και συνεπώς Dilution=1.

E η απορροφητικότητα της βιομάζας που χρησιμοποιείται για το συγκεκριμένο μήκος κύματος. Για υπόστρωμα CORN Stover – NREL και σε μήκος κύματος 320nm, η απορροφητικότητα υπολογίζεται  $\epsilon=30L/g*cm$

M η μάζα του στερεού ξηρού δείγματος που ζυγίζεται στο αρχικό στάδιο (~300mg)

Pathlength το βήμα του φωτομέτρου σε cm. Εδώ χρησιμοποιείται ίσο με 1cm.

Η συνολική ποσότητα της ελεύθερης λιγνίνης υπολογίζεται ως:

$$\%Lignin_{free} = \%AIL + \%ASL \quad (5.6)$$

– ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ

Ο προσδιορισμός της κυτταρίνης πραγματοποιείται με όξινη υδρόλυση του ξηρού στερεού υπολείμματος, που προέκυψε από τον προσδιορισμό των υδατοδιαλυτών στερεών. Η μέθοδος, μέχρι ένα σημείο, είναι κοινή και για τους τρεις υδρογονάνθρακες που προσδιορίζονται (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, λιγνίνη) [74].

Ο προσδιορισμός της κυτταρίνης συνεχίζεται από το βήμα (7) της ακολουθίας που αναλύεται στη διεργασία προσδιορισμού της λιγνίνης (3.4), με αξιοποίηση του υγρού διηθήματος που συλλέγεται μετά την όξινη υδρόλυση. Έπονται τα εξής στάδια:

- Για κάθε εξεταζόμενο δείγμα, ποσότητα 20ml διηθήματος τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως, με μαγνητικό αναδευτήρα.
- Ακολουθεί εξουδετέρωση με CaCO<sub>3</sub> έως pH 5-5.5, υπό συνεχή ανάδευση και με τη χρήση πεχάμετρου Mettler Toledo MPC227.
- Το εξουδετερωμένο διάλυμα συλλέγεται σε πλαστικά falcon tubes των 50ml και τοποθετείται στο φυγοκεντρική για 5 λεπτά, ώστε να καθιζάνει το ίζημα που σχηματίζεται και να παραληφθεί διαυγές υγρό, στο οποίο θα ακολουθήσει η μέτρηση της περιεχόμενης κυτταρίνης.
- Από το υπερκείμενο διαυγές υγρό που παραλαμβάνεται, συλλέγεται ποσότητα 5ml και αραιώνεται 4 φορές, σε τελικό όγκο 20ml (αραίωση 1:4). Το αραιωμένο διάλυμα αποθηκεύεται σε falcon tube των 50 ml.
- Τα αραιωμένα δείγματα χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP και φωτομέτρηση στα 510 nm. Η υπόλοιπη ποσότητα φυλάσσεται σε ψυγείο και αξιοποιείται για τη μέτρηση της ημικυτταρίνης.

Οι μετρούμενες απορροφήσεις, για κάθε δείγμα, εισάγονται στην καμπύλη αναφοράς, που έχει κατασκευαστεί για τη μέθοδο GOD/PAP. Αρχικά, προσδιορίζεται η συγκέντρωση της γλυκόζης σε κάθε δείγμα, μέσω της σχέσης:

$$\text{Γλυκόζη}(\% \frac{w}{w}) = \frac{0.71 * \text{ABSmean} * D * V * 100}{\text{initialsolid} * 0.897} \quad (5.7)$$

όπου	ABSmean	ο μέσος όρος της απορρόφησης που μετριέται
	D (Dilution)	η αραίωση που υφίσταται το διάλυμα (D=1 όταν δεν πραγματοποιείται αραίωση, D=4, όταν η αραίωση είναι 1:4)
	V	ο όγκος του υδρολύματος που είναι καθορισμένος στα 86.73ml (0.08673L)
όξινη	Initial solid	η αρχική μάζα του ξηρού στερεού δείγματος που χρησιμοποιήθηκε για την υδρόλυση (περίπου 300mg)
	0.897	ο συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης

Η ποσότητα της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Κυτταρίνη} \left( \% \frac{\text{w}}{\text{w}} \right) = \text{Γλυκόζη} \left( \% \frac{\text{w}}{\text{w}} \right) * 0.9 \quad (5.8)$$

όπου  $0.9$  είναι ο συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης  $\frac{\text{Μγλυκόζης}}{\text{Μγαμύλου}} = \frac{162}{180}$

#### – ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ

Ο προσδιορισμός της ημικυτταρίνης γίνεται από το ίδιο αραιωμένο διάλυμα (1:4), με το οποίο γίνεται η μέτρηση της κυτταρίνης σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο [74].

- Από κάθε αποθηκευμένο διάλυμα, παραλαμβάνεται ποσότητα 0.5ml και εισάγεται σε γυάλινα φιαλίδια μαζί με 0.5ml δείκτη DNS.
- Τα φιαλίδια σφραγίζονται και τοποθετούνται σε δοχείο με νερό που βράζει για 5 λεπτά.
- Προστίθεται 4ml απιονισμένου νερού, τα δείγματα αναδεύονται καλά και αφήνονται σε ηρεμία για 5-10 λεπτά.
- Ακολουθεί προσδιορισμός της ελεύθερης γλυκόζης στο δείγμα σύμφωνα με τη μέθοδο GOD/PAP και φωτομέτρηση στα 540 nm. Η ποσότητα της γλυκόζης συσχετίζεται με την ποσότητα της ξυλόζης στο δείγμα (κύριο σάκχαρο που εντοπίζεται στη δομή των ημικυτταρινών) και ανάγεται, μέσω των κατάλληλων σχέσεων, σε συγκέντρωση ημικυτταρίνης.

Το DNS ή 3,5-δινιτροσαλικυλικό οξύ, χρησιμοποιείται εκτενώς για τον προσδιορισμό αναγωγικών σακχάρων, όπως η γλυκόζη, εντοπίζοντας τις ελεύθερες αλδεϋδομάδες στις δομές τους. Όταν έρχονται σε επαφή αντιδρούν, η αλδεϋδομάδα οξειδώνεται προς την αντίστοιχη καρβοξυλομάδα και το DNS ανάγεται σε 3-αμινο-5-νιτροσαλικυλικό οξύ (ANSA). Υπό αλκαλικές συνθήκες το ANSA μετατρέπεται σε ένα έγχρωμο σύμπλοκο σκούρου κόκκινου χρώματος, το οποίο έχει μεγαλύτερη απορρόφηση στα 540nm.



Εικόνα 5-12: Μέτρηση κυτταρίνης με αντιδραστήριο DNS

Η συγκέντρωση της Ξυλόζης στο διάλυμα υπολογίζεται σύμφωνα με την καμπύλη αναφοράς για την Ξυλόζη, σύμφωνα με τη σχέση:

$$\text{Ξυλόζη} \frac{\text{mg}}{\text{ml}} = \text{ABS}_{\text{Ξυλόζης}} * 1,3861 \quad (5.9)$$

Η συγκέντρωση της Ξυλόζης στο δείγμα υπολογίζεται σύμφωνα με τη σχέση:

$$\text{Ξυλόζη} \left( \% \frac{w}{w} \right) = \frac{1.3861 * \text{ABS}_{\text{Ξυλόζης}} * V * 100}{\text{initialsolid} * 0.86} \quad (5.10)$$

όπου  $\text{ABS}_{\text{Ξυλόζης}}$ , η απορρόφηση της Ξυλόζης που υπολογίζεται σύμφωνα με τις καμπύλες αναφοράς που έχουν κατασκευαστεί για τη μέθοδο GOD/PAP. Πιο συγκεκριμένα:

- Η απορρόφηση μου μετρήθηκε κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης (γλυκόζη στα 510nm), ανάγεται σε απορρόφηση στα 540nm από γλυκόζη  $\text{ABS}_{\text{gluc}(540)}$ , σύμφωνα με την εξίσωση γλυκόζης-DNS.
- Η συνολική απορρόφηση στα 540nm,  $\text{ABS}_{\text{tot}(540)}$ , υπολογίζεται από τη μέση απορρόφηση που μετριέται από τα διαλύματα που ετοιμάζονται για τη μέτρηση της ημικυτταρίνης επί την αραίωση του κάθε διαλύματος ( $D=4$ )
- Η απορρόφηση από την Ξυλόζη υπολογίζεται με αφαίρεση των δύο παραπάνω τιμών, δηλαδή:  $\text{ABS}_{\text{Ξυλόζης}} = \text{ABS}_{\text{tot}(540)} - \text{ABS}_{\text{gluc}(540)}$

$V$ , ο όγκος του υδρολύματος που είναι καθορισμένος στα 86.73ml (0.08673L)

Initial solid, η αρχική μάζα του ξηρού στερεού δείγματος που χρησιμοποιήθηκε για την όξινη υδρόλυση (περίπου 300mg)

0.86, ο συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης

Η ημικυτταρίνη υπολογίζεται τελικά από τη σχέση:

$$\text{Ημικυτταρίνη} \left( \% \frac{w}{w} \right) = \text{Ξυλόζη} \left( \% \frac{w}{w} \right) * 0.88 \quad (5.11)$$

όπου 0.88 είναι ο συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της Ξυλόζης  $\left( \frac{Mr_{\text{Ξυλόζης}}}{Mr_{\text{αμόλυο}} = \frac{132}{180}} \right)$

– ΑΝΑΛΥΣΗ XRD

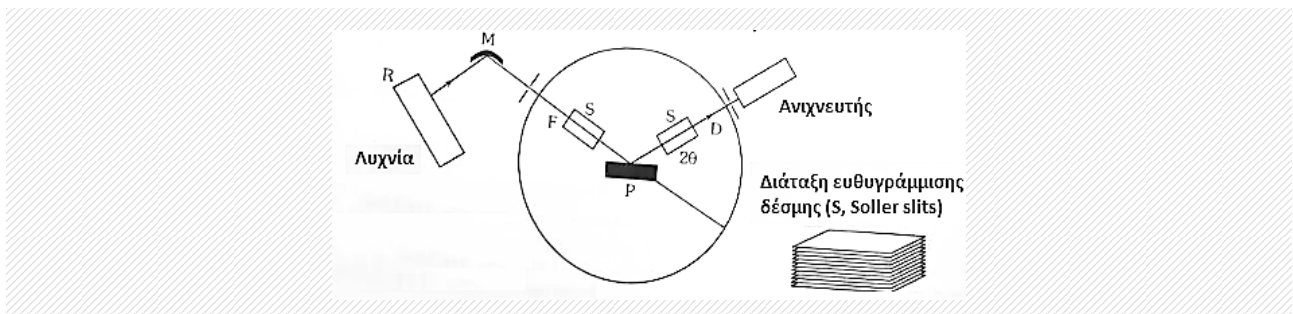
Η ανάλυση με περίθλαση ακτίνων X δίνει πληροφορίες για την τρισδιάστατη διάταξη των ατόμων ή μορίων σε ένα κρυσταλλικό υλικό. Με τη μέθοδο προκύπτει η κρυσταλλική δομή των υλικών, η οποία συμπληρώνει τη στοιχειακή ανάλυση στην ταυτοποίηση μιας ουσίας. Η μέθοδος βασίζεται στο φαινόμενο της περίθλασης μονοχρωματικής ακτινοβολίας ακτίνων X γνωστού μήκους κύματος  $\lambda$ , επάνω στα επίπεδα του κρυσταλλικού πλέγματος των εξεταζόμενων ενώσεων και στον προσδιορισμό των διαστημάτων  $d$  των κρυσταλλικών επιπέδων, μέσω του προσδιορισμού της περιθλώμενης γωνίας  $\theta$  της ακτινοβολίας X, σύμφωνα με το νόμο του Bragg [80]:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (6.11)$$

Μέσω του προσδιορισμού των κρυσταλλικών επιπέδων  $d$ , που είναι χαρακτηρισικά για κάθε κρυσταλλική ένωση, γίνεται η ποιοτική ανάλυση της εξεταζόμενης ουσίας, ενώ από τη μέτρηση της έντασης της περιθλώμενης ακτινοβολίας σε μια επιλεγμένη γωνία  $\theta$ , γίνεται η ποσοτική ανάλυση μιας κρυσταλλικής ένωσης.

Η τεχνική της ανάλυσης εφαρμόστηκε σε σκόνη δείγματος (Powder diffraction or Polycrystalline Diffraction).

Η πηγή R είναι ένας σωλήνας ακτίνων X (λυχνία Cu) και με τη βοήθεια ενός μονοχρωμάτωρα προκύπτει μονοχρωματική ακτινοβολία η οποία διέρχεται από διάφορες διατάξεις εστιασμού και ευθυγράμμισης της δέσμης πριν πέσει στο δείγμα. Το δείγμα είναι κονιοποιημένο σε λεπτή και ομοιογενή σκόνη και ο υποδοχέας μπορεί να περιστρέφεται με σκοπό τη δημιουργία τυχαίων προσανατολισμών των κρυστάλλων. Έτσι, όταν η δέσμη ακτίνων X διέλθει μέσω του δείγματος, αναμένεται ότι ένας σημαντικός αριθμός των κρυσταλλιτών θα είναι προσανατολισμένος, έτσι ώστε να ικανοποιούν τη συνθήκη Bragg, για ανάκλαση από κάθε δυνατή απόσταση μεταξύ των κρυσταλλικών επιπέδων. Η περιθλώμενη ακτινοβολία μετά την ευθυγράμμισή της πέφτει πάνω στον ανιχνευτή ID, ο οποίος περιστρέφεται σε σχέση με το δείγμα με τη διπλή γωνιακή ταχύτητα  $2\theta$  [80]. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το περιθλασίμετρο ακτίνων X της Bruker, που απεικονίζεται στο σχήμα 5-13.



Εικόνα 5-13 (πάνω): Το περιθλασίμετρο με γεωμετρία Bragg- Brentano.



Εικόνα 5-14 (αριστερά): Το περιθλασίμετρο X-ray diffraction)η XRD D8 Advance της Bruker [80].



Τα βήματα που ακολουθήθηκαν για την ανάλυση περιλάμβαναν:

- Κονιορτοποίηση του στερεού δείγματος
- Ομοιόμορφη εισαγωγή του δείγματος στο δειγματοφόρο και τον υποδοχέα του διαθλασίμετρου.
- Έναρξη ανάλυσης για προκαθορισμένο βήμα

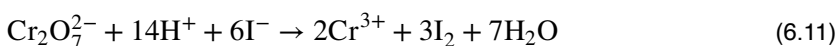
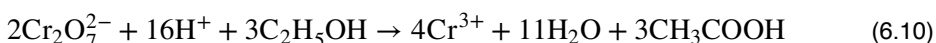
Το ακτινογράφημα που λαβάνεται έχει τεταγμένη την ένταση των κορυφών σε παλμούς ανά δευτερόλεπτο Cps και τετμημένη τη γωνία  $2\theta$  του γωνιόμετρου, και σε κάθε κορυφή αναγράφεται η κρυσταλλική απόσταση  $d$ . Η ένταση των κορυφών κανονικοποιείται ως προς την ένταση της μεγαλύτερης κορυφής στο φάσμα.

Η ποιοτική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια ειδικών λογισμικών του οργάνου, όπου συγκρίνονται οι πειραματικές κορυφές με αποθηκευμένα φάσματα κόνεων PDF (Powder Diffraction Files) της επιτροπής για Πρότυπα Περίθλασης Ακτίνων Χ (JCPDS) [80].

#### 5.5.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Η μεθοδολογία που εφαρμόστηκε περιλαμβάνει οξειδωαναγωγική τιτλοδότηση ώστε να προσδιοριστεί η αιθανόλη σε υδατικό διάλυμα. Η αιθανόλη οξειδώνεται προς αιθανικό οξύ αντιδρώντας με περίσσεια διχρωμικού καλίου  $K_2Cr_2O_7$ , παρουσία οξέος. Η οξείδωση αυτή προκαλεί χρωματισμό του αρχικά κίτρινου διαλύματος διχρωμικού, σε μία χαρακτηριστική πρασινωπή απόχρωση, που υποδεικνύει αποτελεσματική αντίδραση [78].

Η ποσότητα του μη αντιδρώντος διχρωμικού προσδιορίζεται με προσθήκη διαλύματος ιωδιούχου καλίου KI, το οποίο με τη σειρά του οξειδώνεται από το διχρωμικό κάλιο σχηματίζοντας ιώδιο. Το ιώδιο στη συνέχεια, τιτλοδοτείται με διάλυμα  $Na_2S_2O_3$  (sodium thiosulfate) και από τα αποτελέσματα της τιτλοδότησης, υπολογίζεται η περιεχόμενη αιθανόλη στο αρχικό διάλυμα.

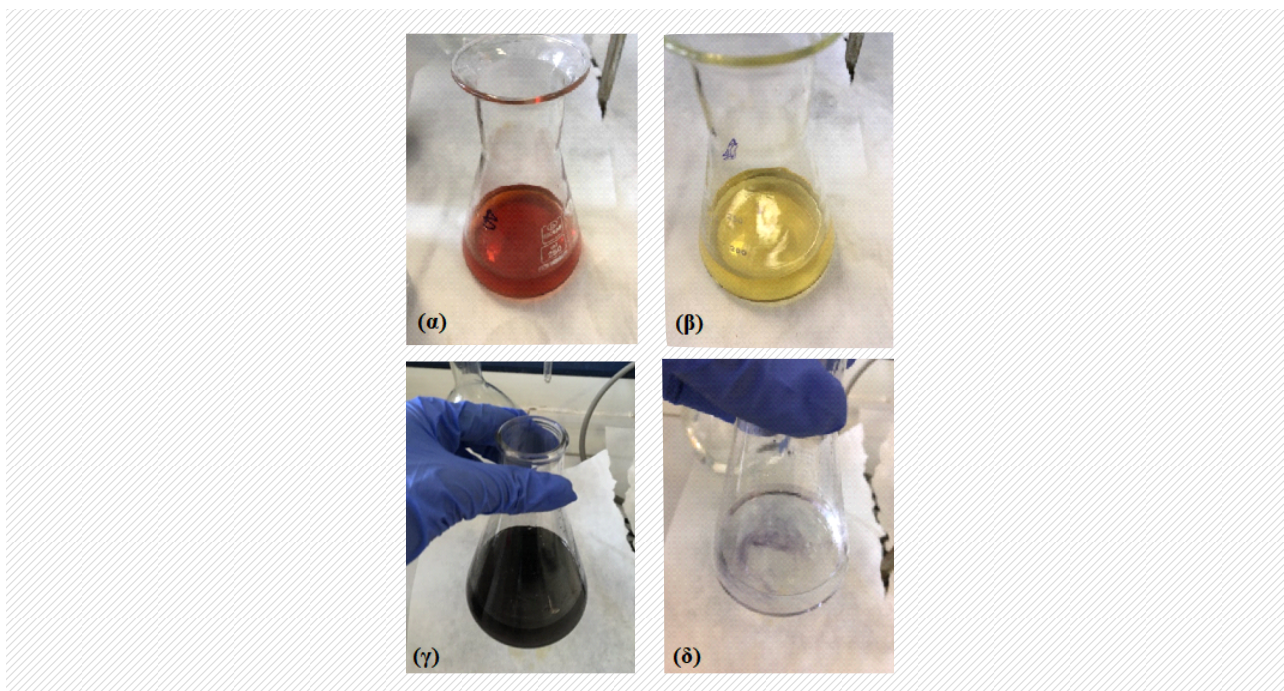


Διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν:

- Διάλυμα όξινου διχρωμικού  $Cr_2O_7^{2-}$  (0.01 mol/L σε 5.0mol/L θειικό οξύ)
- Διάλυμα αμύλου (1.0%) που θα χρησιμοποιηθεί ως δείκτης
- Διάλυμα sodium thiosulfate  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$
- Διάλυμα ιωδιούχου καλίου KI (1.2mol/L)

Βήματα δοκιμής:

1. 10ml διαλύματος όξινου διχρωμικού (κίτρινο χρώμα) μεταφέρθηκαν σε ποτήρι ζέσεως των 250ml
2. Από το μίγμα digestate βέλτιστης απόδοσης σακχαροποίησης, παραλήφθηκε με πιπέτα 0.5 ml και τοποθετήθηκε στο καπάκι (δειγματοφορέα για μέτρηση αιθανόλης). Σε αυτό προστέθηκαν άλλα 0.5 ml απιονισμένου νερού, ώστε τελικά να προκύπτει αραιωμένο δείγμα 1:2. Το αραιωμένο υγρό δείγμα, αποτέλεσε τη βάση της πειραματικής δοκιμής.
3. Ο δειγματοφορέας τοποθετήθηκε με τσιμπίδα στο εσωτερικό του ποτηριού ζέσεως, στην επιφάνεια του υγρού, προσεκτικά ώστε να μην έρθει σε επαφή το δείγμα με το διαλύτη.
4. Τα ποτήρια ζέσεως σφραγίστηκαν καλά με parafilm και αφέθηκαν για 24h υπό ήπια θέρμανση στους 25-30.
5. Με το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος, τα δείγματα αφέθηκαν να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου, και ακολούθως αφαιρέθηκε προσεκτικά το parafilm
6. Ο δειγματοφορέας-καπάκι αφαιρέθηκε με ειδική λαβίδα, αφού πρώτα τα τοιχώματά του εκπλύθηκαν εντός του ποτηριού ζέσεως, με 10ml απιονισμένου νερού.
7. Στη συνέχεια εκπλύθηκαν και τα εσωτερικά τοιχώματα του ποτηριού ζέσεως, διαδοχικά, με συνολική ποσότητα 90ml. Συνολικά προστέθηκαν 100ml απιονισμένου νερού
8. Στο αραιωμένο διάλυμα διχρωμικού προστέθηκε 1ml KI, το δοχείο ανακινήθηκε καλά για ανάμιξη. Με την προσθήκη του KI το διάλυμα πήρε ένα χαρακτηριστικό κοκκινοκαφέ χρώμα, που αποδίδεται στο σχηματισμό ιωδίου.
9. Προετοιμάστηκαν πρόσθετα τυφλά δείγματα για τιτλοδότηση, με ανάμιξη 10ml όξινου διχρωμικού, 100ml απιονισμένου νερού και 1ml KI.
10. Ακολούθησε τιτλοδότηση των τυφλών κι ύστερα των προς εξέταση δειγμάτων, με διάλυμα thiosulfate: πρώτα τιτλοδοτήθηκε το ιωδιούχο μίγμα με thiosulfate μέχρι τον αποχρωματισμό του από σκούρο καφέ σε απαλό κίτρινο. Ακολούθως προστέθηκε ποσότητα διαλύματος αμύλου, που χρωμάτισε εκ νέου το προηγούμενο διάλυμα σε σκούρο μπλε. Η τιτλοδότηση συνεχίστηκε, έως αποχρωματισμό του μπλε διαλύματος. Το σημείο αυτό αντιστοιχεί στο πέρας της τιτλοδότησης. Καταγράφηκε ο συνολικός όγκος τιτλοδότη που χρησιμοποιήθηκε. Ο όγκος αυτός αποτέλεσε τη βάση για τον υπολογισμό της αιθανόλης που παράχθηκε.



Εικόνα 6-21: Διάλυμα προς τιτλοδότηση μετά την προσθήκη 1ml KI, παίρνει μια χαρακτηριστική κοκκινοκαφέ απόχρωση που οφείλεται στο σχηματισμό ιωδίου. (β) Διάλυμα μετά από τιτλοδότηση με thiosulfate, αποχρωματίζεται προς ανοιχτό κίτρινο. (γ) Το ίδιο διάλυμα ύστερα από προσθήκη διαλύματος αμύλου, παίρνει χαρακτηριστική σκούρα μπλε απόχρωση. (δ) Τέλος τιτλοδότησης με thiosulfate, το μπλε διάλυμα αποχρωματίζεται.

Επισημαίνεται ότι το δείγμα του βιοαποβλήτου με το πλαστικό καπάκι αφέθηκε προσεκτικά στην επιφάνεια του υγρού, στον πυθμένα του δοχείου. Αυτό συμβαίνει καθώς τα αλκοολούχα διαλύματα περιέχουν και άλλες ουσίες που μπορούν να οξειδωθούν και οι οποίες ενδέχεται να επηρεάσουν την τιτλοδότηση.

Το νερό και η αιθανόλη σταδιακά εξατμίζονται. Καθώς η αιθανόλη έρχεται σε επαφή με το διχρωμικό, διαλύεται σε αυτό και ακολούθως οξειδώνεται. Η εξάτμιση της αιθανόλης συνεχίζει έως ότου όλη η περιεχόμενη στο δείγμα αιθανόλη έχει εξατμιστεί και αντιδράσει με το διχρωμικό. Η διεργασία αυτή απαιτεί ένα χρονικό διάστημα για τη διεξαγωγή της και για αυτό τα δείγματα προετοιμάζονται και αφήνονται σε θερμαινόμενο περιβάλλον 30°C για περίπου 24 ώρες [78].

Εικόνα: Διάλυμα προς τιτλοδότηση μετά την προσθήκη 1ml KI, παίρνει μια χαρακτηριστική κοκκινοκαφέ απόχρωση που οφείλεται στο σχηματισμό ιωδίου. (β) Διάλυμα μετά από τιτλοδότηση με thiosulfate, αποχρωματίζεται προς ανοιχτό κίτρινο. (γ) Το ίδιο διάλυμα ύστερα από προσθήκη διαλύματος αμύλου, παίρνει χαρακτηριστική σκούρα μπλε απόχρωση. (δ) Τέλος τιτλοδότησης με thiosulfate, το μπλε διάλυμα αποχρωματίζεται.

# 6

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ



## 6.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΡΟΠΟΥ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

Συνολικά διεξάγονται 2 σειρές πειραμάτων, μία για κάθε εξεταζόμενη τεχνική προεπεξεργασίας. Πιο συγκεκριμένα:

- Αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH: 15 πειράματα με δύο επαναλήψεις το κάθε ένα, συνολικά 30 πειράματα.
- Όξινη προεπεξεργασία με αραιό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 15 πειράματα, από δύο επαναλήψεις το κάθε ένα, συνολικά 30 πειράματα.

Σε κάθε περίπτωση, τα 5 πρώτα πειράματα διεξάγονται για το χαρακτηρισμό της προεπεξεργασμένης αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, με το κάθε αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για την προεπεξεργασία. Τα δείγματα μετά το στάδιο της προεπεξεργασίας, διαχωρίζονται σε ένα στερεό και ένα υγρό κλάσμα, με τη μέθοδο της φυγοκέντρησης, και ακολουθεί χαρακτηρισμός των δύο κλασμάτων. Στόχος είναι ο προσδιορισμός, με συγκεκριμένα βήματα που θα αναλυθούν παρακάτω, της περιεχόμενης κυτταρίνης. Βάσει του προσδιορισμού αυτού, θα υπολογιστεί η αναγκαία ποσότητα ενζύμου για την ενζυμική υδρόλυση.

Τα επόμενα 10 σε σειρά πειράματα, διεξάγονται σύμφωνα με τις αρχές του παραγοντικού σχεδιασμού. Για κάθε εξεταζόμενη τεχνική εξετάζονται τρεις διαφορετικές παράμετροι: ο χρόνος της αποστείρωσης, η περιεκτικότητα % στο χημικό αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται στο στάδιο της προεπεξεργασίας και η δοσολογία του ενζύμου Cellic Tec2 (mL/g cellulose) που προστίθεται στο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης. Κάθε δείγμα που πάει για ενζυμική υδρόλυση και ακολούθως χαρακτηρίζεται, συγκρίνεται με το αντίστοιχο δείγμα της σειράς του, χωρίς ένζυμο (1 από τα 5 πρώτα), για τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας της υδρόλυσης.

Τα επίπεδα των παραγόντων επιλέχθηκαν βάσει προκαταρκτικών πειραμάτων και σχετικής βιβλιογραφίας, τα οποία δεν παρουσιάζονται αναλυτικά στην παρούσα μελέτη.

Στους Πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζεται το πειραματικό πρωτόκολλο που σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε.

Πίνακας 6-1: Προκαταρκτικά πειράματα

Παράμετρος	A	B
Χρόνος αποστείρωσης (h)	1,5	1,5
NaOH (%)	3	3
Ποσότητα ενζύμου CellicCTec2 (μL/g cellulose)	1700	250

Πίνακας 6-2: Παραγοντικό πείραμα αλκαλικής προεπεξεργασίας

Παράμετρος	Χαμηλό επίπεδο (-1)	Κέντρο (0)	Υψηλό επίπεδο (+1)
Χρόνος αποστείρωσης (h)	1	1,25	1,5
NaOH (%)	2	3	4
Ποσότητα ενζύμου CellicCTec2 (μL/g cellulose)	100	250	400

Πίνακας 6-3: Παραγοντικό πείραμα όξινης προεπεξεργασίας με

Παράμετρος	Χαμηλό επίπεδο (-1)	Κέντρο (0)	Υψηλό επίπεδο (+1)
Χρόνος αποστείρωσης (h)	1	1,25	1,5
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	1	3	2
Ποσότητα ενζύμου CellicCTec2 (μL/g cellulose)	100	250	400

Ακολούθως, στους Πίνακες 6-4 και 6-5, παρατίθενται οι κύκλοι πειραμάτων που συντάχθηκαν βάσει του παραγοντικού σχεδιασμού για κάθε περίπτωση προεπεξεργασίας.

Πίνακας 6-4: Σειρά πειραματικών δοκιμών για τροφοδοσία προεπεξεργασμένη με αραιό NaOH, σύμφωνα με το παραγοντικό μοντέλο του Πίνακα 6-2.

A/A	Χρόνος αποστείρωσης (h)	NaOH %	CellicCTec2 (μL/g)
1	1	2	
2	1	2	
3	1,5	4	
4	1,5	4	
5	1,25	3	
6	1,25	3	
7	1	4	
8	1	4	
9	1,5	2	
10	1,5	2	
11	1	2	100
12	1	2	100
13	1,5	4	100
14	1,5	4	100
15	1	4	100
16	1	4	100
17	1,5	2	100
18	1,5	2	100
19	1	2	400
20	1	2	400
21	1,5	4	400
22	1,5	4	400
23	1	4	400
24	1	4	400
25	1,5	2	400
26	1,5	2	400
27	1,25	3	250
28	1,25	3	250
29	1,25	3	250
30	1,25	3	250

Πίνακας 6-5: Σειρά πειραματικών δοκιμών για τροφοδοσία προεπεξεργασμένη με αραιό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, σύμφωνα με το παραγοντικό μοντέλο του Πίνακα 6-3.

A/A	Χρόνος αποστείρωσης (h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> %	CellicCTec2 (μL/g)
1	1	1	
2	1	1	
3	1,5	3	
4	1,5	3	
5	1,25	2	
6	1,25	2	
7	1	3	
8	1	3	
9	1,5	1	
10	1,5	1	
11	1	1	100
12	1	1	100
13	1,5	3	100
14	1,5	3	100
15	1	3	100
16	1	3	100
17	1,5	1	100
18	1,5	1	100
19	1	1	400
20	1	1	400
21	1,5	3	400
22	1,5	3	400
23	1	3	400
24	1	3	400
25	1,5	1	400
26	1,5	1	400
27	1,25	2	250
28	1,25	2	250
29	1,25	2	250
30	1,25	2	250



# 7

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



## 7.1 ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑΣ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΙΛΥΟΣ

Σε πρώτο στάδιο γίνεται χαρακτηρισμός της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, που αποτέλεσε την πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για τις πειραματικές δοκιμές. Ο χαρακτηρισμός αυτός περιλαμβάνει μετρήσεις ολικών στερεών (TS), υδατοδιαλυτών στερεών (WSS), πτητικών στερεών (VS) καθώς επίσης και κυτταρίνης, ημικυτταρίνης, διαλυτής και μη διαλυτής λιγνίνης. Η σύστασή της παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα 7-1:

Πίνακας 7-1: Σύσταση αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος

	%w/w ξηρής βάσης
Ολικά στερεά (TS)	9.63 ± 1.25
Υδατοδιαλυτά στερεά (WSS)	12.69 ± 0.94
Πτητικά στερεά (VS)	74.38 ± 2.61
Κυτταρίνη	18.68 ± 4.42
Διαλυτή λιγνίνη (ASL)	1.53 ± 0.11
Μη διαλυτή λιγνίνη (AIL)	23.67 ± 1.26
Ημικυτταρίνη	16.06 ± 3.33

Παρόμοιες έρευνες έχουν χρησιμοποιήσει υποστρώματα με διαφοροποιημένη σύσταση. Οι Teater et al. [89] έκαναν χρήση στερεού κλάσματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, από αναερόβιο χωνευτήρα κοπριάς βοοειδών, με αρκετά μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε στερεά  $28,1 \pm 0.0$  % w/w, μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κυτταρίνη  $33,9 \pm 0.5$  % w/w, αλλά περίπου παρόμοιες περιεκτικότητες σε λιγνίνη και ημικυτταρίνη,  $21,1 \pm 1.0$  % w/w και  $15,9 \pm 1.9$  % w/w αντίστοιχα. Οι Wang et al. [79], αξιοποίησαν την αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ από χώνευση αχύρου ρυζιού, με σύσταση 12,95% σε ολικά στερεά, με το χρησιμοποιούμενο υπόστρωμα να περιέχει 38,29 % w/w κυτταρίνη, 27,23 % w/w ημικυτταρίνη, 2,42% w/w λιγνίνη και 3.93% w/w τέφρα.

## 7.2 ΠΡΩΤΟΓΕΝΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Με τη διαθέσιμη πρώτη ύλη, η οποία χαρακτηρίστηκε ως προς τη σύστασή της, πραγματοποιούνται οι επιμέρους πειραματικές δοκιμές, για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται οι πρωτογενείς πειραματικές μετρήσεις, για τις εξεταζόμενες συνθήκες αλκαλικής και όξινης προεπεξεργασίας και της επακόλουθης ενζυμικής σακχαροποίησης με το ένζυμο CellicTec2, προεπεξεργασμένων και μη προεπεξεργασμένων δειγμάτων.

Με την ολοκλήρωση κάθε πειράματος, τα δείγματα διαχωρίστηκαν σε στερεό και υγρό κλάσμα, με φυγοκέντρηση, όπως περιγράφηκε πιο αναλυτικά στην παράγραφο 6.4.1. Ακολούθησε χαρακτηρισμός και ανάλυση και των δύο κλασμάτων, με το στερεό κλάσμα να χαρακτηρίζεται ως προς τα ολικά στερεά (TS % w/w), τα υδατοδιαλυτά στερεά (WSS % w/w), τα πηκτικά στερεά (VS % w/w) και τους δομικούς πολυσακχαρίτες της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης (διαλυτής και μη διαλυτής) σε % w/w. Το υγρό κλάσμα χαρακτηρίστηκε ως προς την περιεχόμενη γλυκόζη (mg/L), τον ολικό οργανικό άνθρακα (TOC σε mg/L), τις φαινόλες (mg/L) και τα πηκτικά λιπαρά οξέα (VFAs σε mg/L). Τα επιμέρους αποτελέσματα που προέκυψαν από την αλκαλική προεπεξεργασία παρουσιάζονται στους Πίνακες 7-2 και 7-3, ενώ της όξινης προεπεξεργασίας στους Πίνακες 7-4 και 7-5. Τα αποτελέσματα της ενζυμικής υδρόλυσης παρουσιάζονται αντίστοιχα για την αλκαλική προεπεξεργασία στους Πίνακες 7-6 και 7-7, ενώ για την όξινη στους Πίνακες 7-8 και 7-9. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων και για τους δύο κύκλους προεπεξεργασίας, παρουσιάζεται στην επόμενη παράγραφο 7.3 «Δευτερογενή Πειραματικά Αποτελέσματα».

### 7.2.1 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH

Πίνακας 7-2: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος αλκαλικό διάλυμα NaOH και αποστείρωση στους 120°C.

A/A	Αποστείρωση (h)	NaOH %	TS <sub>αρχικό</sub> (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (g/100g στερεού)	AIL (% w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτ. (g/100g στερεού)
1	1	2	7,73	5,24	20,94	59,4	30,83	50,83	0,88	24,49
2	1	2	7,97	5,65	20,80	58,7	30,81	37,29	0,91	25,53
3	1,5	4	7,70	5,99	50,76	53,3	17,08	9,67	0,79	6,17
4	1,5	4	7,70	5,76	36,96	57,4	20,09	10,33	0,69	5,88
5	1,25	3	7,75	5,94	38,61	16,9	20,70	11,26	0,79	10,42
6	1,25	3	7,72	5,82	32,61	59,6	24,09	8,61	0,88	16,20
7	1	4	7,70	5,21	37,57	52,4	31,84	9,00	0,72	12,38
8	1	4	7,70	5,73	38,24	53,3	26,55	11,04	0,75	15,77
9	1,5	2	7,70	5,44	25,98	56,3	24,69	11,00	0,89	14,47
10	1,5	2	7,70	6,89	43,49	56,8	19,01	9,93	0,87	10,74

Πίνακας 7-3: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος με αλκαλικό διάλυμα NaOH και αποστείρωση στους 120°C.

A/A	Αποστείρωση (h)	NaOH %	Γλυκόζη (g/L)	TOC (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)
1	1	2	0,06	8474	6170	234,5
2	1	2	0,08	10110	4540	200,5
3	1,5	4	0,11	8459	6020	257
4	1,5	4	0,07	9250	6090	250,5
5	1,25	3	0,18	7828	6520	279
6	1,25	3	0,19	8897	6050	337
7	1	4	0,04	9035	5850	275
8	1	4	0,05	7790	4850	355
9	1,5	2	0,11	7840	5510	226
10	1,5	2	0,12	8194	6040	192,5

### 7.2.2 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Πίνακας 7-4: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος με όξινο διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση στους 120°C

A/A	Αποστ είρωση (h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> %	TS <sub>αρχικό</sub> (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (g/100g στερεού)	AIL (% w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτ. (g/100g στερεο ύ)
1	1	1	9,69	7,73	9,06	77,2	19,56	26,91	1,53%	18,91
2	1	1	9,73	7,73	10,52	74,7	17,49	27,24	1,61%	17,33
3	1,5	3	9,70	6,44	20,13	78,4	21,81	38,36	1,39%	10,72
4	1,5	3	9,74	6,78	21,08	78,8	26,31	37,21	1,40%	15,45
5	1,25	2	9,81	8,38	20,27	91,7	11,85	33,01	1,47%	8,27
6	1,25	2	9,81	8,44	21,46	70,3	9,14	30,72	1,38%	7,27
7	1	3	9,81	7,82	18,96	75,2	16,89	34,00	1,34%	11,96
8	1	3	9,79	7,68	17,68	76,1	14,62	36,42	1,45%	11,46
9	1,5	1	9,78	8,43	7,66	72,5	15,26	27,48	1,53%	17,72
10	1,5	1	9,79	8,56	9,10	70,4	9,86	27,06	1,45%	13,62

Πίνακας 7-5: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, με όξινο διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση στους 120°C (n.d: δεν ανιχνεύτηκε)

A/A	Αποστείρωση (h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> %	Γλυκόζη (g/L)	TOC (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/ L)
1	1	1	n.d	1447	1040	43
2	1	1	n.d	1315	1390	44
3	1,5	3	n.d	4097	2170	46
4	1,5	3	n.d	4160	2020	49
5	1,25	2	n.d	2903	1270	42
6	1,25	2	n.d	2982	1240	38
7	1	3	n.d	4176	2540	53
8	1	3	n.d	4006	2190	49
9	1,5	1	n.d	1782	970	34
10	1,5	1	n.d	1799	1150	29

### 7.2.3 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH

Πίνακας 7-6: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος με αλκαλικό διάλυμα NaOH και αποστείρωση στους 120°C και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 σύμφωνα με τις πειραματικές

A/A	TS <sub>αρχικό</sub> (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/ w)	Κυτταρίνη (g/100g στερεού)	AIL (% w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτ. (g/ 100g στερεού)
11	7,73	6,534	37,58	57,3	0,46	23,33	1,46	1,66
12	7,97	6,531	38,01	55,2	1,12	37,87	1,68	0,47
13	7,70	5,569	37,02	53,2	0,05	31,91	1,63	1,18
14	7,70	5,594	36,39	47,6	1,40	30,79	1,57	1,08
15	7,70	7,158	43,60	61,1	9,60	34,75	1,31	5,22
16	7,70	7,241	44,80	53,5	2,95	38,33	1,37	1,47
17	7,70	4,696	26,06	50,1	0,00	30,67	1,58	1,09
18	7,70	5,531	33,97	57,6	0,00	38,53	2,05	2,38
19	7,727	6,333	38,43	56,7	0,00	39,47	1,55	0,10
20	7,972	6,378	41,89	56,8	0,00	42,95	1,52	0,09
21	7,695	6,146	44,68	48,4	0,05	30,20	1,46	0,68
22	7,695	6,386	42,48	49,5	0,09	33,39	1,67	0,95
23	7,70	6,175	43,15	50,1	0,00	38,11	1,56	0,27
24	7,70	6,5	44,08	50,7	0,00	38,00	1,73	0,83
25	7,70	5,858	48,72	57,9	0,00	39,90	1,87	1,17
26	7,70	6,129	40,75	58,8	0,00	37,78	1,92	1,54
27	7,75	5,73	39,65	52,3	0,05	43,71	1,60	1,83
28	7,72	5,605	41,29	65,0	0,00	38,94	1,42	0,00
29	7,75	5,775	37,06	52,5	0,00	43,79	1,55	0,00
30	7,72	5,6	31,55	53,3	0,0000	38,41	1,54	-0,22305

Πίνακας 7-7: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος με αλκαλικό διάλυμα NaOH και αποστείρωση στους 120°C και ενζυμική υδρόλυση με CelliC Tec2 σύμφωνα με τις πειραματικές

A/A	Γλυκόζη (g/L)	TOC (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)
11	3,63	7049	3350	77
12	2,93	7032	3490	71
13	4,24	8097	4960	174
14	4,30	8082	4940	134
15	1,50	4983	3820	95
16	3,26	7998	4060	136
17	4,88	9150	5460	183
18	4,45	6698	3130	102
19	4,49	8632	4250	101
20	5,09	8670	4400	109
21	4,92	8409	4820	163
22	5,03	8382	4540	144
23	4,20	10020	4840	135
24	4,12	8635	4470	110
25	5,77	7692	4110	111
26	5,07	6468	3130	78
27	4,47	7913	3800	137
28	4,88	8405	4150	158
29	4,78	7690	3680	130
30	4,24	8397	3480	139

#### 7.2.4 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Πίνακας 7-8: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος (10% w/w), με όξινο διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση στους 120°C, ύστερα από ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 σύμφωνα με τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα 6.5.

A/A	TS <sub>αρχικό</sub> (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (g/100g στερεού)	AIL (% w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτ. (g/100g στερεού)
11	9,86	8,04	11,98	84,3	23,05	27,39	1,38	24,02
12	9,82	8,03	11,54	83,5	20,85	27,15	1,40	24,23
13	9,69	6,87	28,81	73,7	11,77	41,31	1,37	4,93
14	9,77	7,27	26,99	74,9	12,57	38,61	1,37	4,26
15	9,84	7,22	26,24	73,1	15,99	37,09	1,34	7,32
16	9,83	7,54	24,86	74,0	14,33	34,77	1,08	14,15
17	9,71	7,87	12,04	82,4	20,37	28,90	1,39	19,51
18	9,71	7,89	13,11	81,4	21,05	27,57	1,43	21,18
19	9,80	7,29	14,17	82,6	23,66	26,07	1,23	20,74
20	9,79	18,00	13,81	80,6	23,14	25,58	1,23	24,16
21	9,76	6,96	29,94	72,2	13,48	36,63	1,17	6,63
22	9,67	6,66	25,32	74,3	14,45	38,49	1,06	5,86
23	9,85	7,35	26,93	76,7	15,12	37,21	1,31	6,98
24	9,82	7,23	25,96	77,4	14,85	37,75	1,15	6,81
25	9,67	7,77	13,57	92,4	20,22	26,00	1,22	19,96
26	9,67	5,92	17,64	77,0	18,26	24,92	1,20	20,84
27	9,71	8,56	24,06	68,7	9,48	35,88	1,52	11,69
28	9,70	8,59	23,82	67,8	10,47	34,44	1,46	13,69
29	9,76	8,55	22,20	69,2	8,88	35,64	1,53	127,94
30	9,73	8,49	21,83	14,4	7,63	34,87	1,54	12,37



Πίνακας 7-9: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος με όξινο διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση στους 120°C, ύστερα από ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 σύμφωνα με τις πειραματικές συνθήκες του Πίνακα 6.5.

A/A	Γλυκόζη (g/L)	TOC (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)
11	0,03	2113	1860	61
12	0,83	2862	1810	51
13	4,21	7146	2260	62
14	2,70	6022	2710	49
15	3,13	6249	2950	60
16	2,64	6054	2550	48
17	1,21	3119	1290	47
18	0,88	2924	1290	42
19	1,73	3536	1500	46
20	1,92	3312	1570	47
21	4,89	7343	2620	55
22	5,34	8197	2230	64
23	4,40	6955	2200	46
24	4,55	7569	2390	47
25	1,92	3242	1100	43
26	0,21	3619	2480	118
27	1,67	3865	2420	50
28	1,56	3614	1590	52
29	1,49	3435	1630	68
30	1,41	3360	2600	55

### 7.3 ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης σε κάθε στάδιο, υπολογίστηκε το ποσοστό της υδρόλυσης και το ποσοστό της αποικοδόμησης των επιμέρους πολυσακχαριτών της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης. Οι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν για κάθε μέθοδο προεπεξεργασίας (NaOH και H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) χωριστά και τα αποτελέσματα ομαδοποιούνται στους παρακάτω πίνακες.

Ο βαθμός της υδρόλυσης υπολογίζεται βάσει της διαφοράς συγκέντρωσης, των προς εξέταση συστατικών, πριν και μετά την προεπεξεργασία ή τη ενζυμική υδρόλυση, βάσει της εξίσωσης:

$$\%Υδρόλυση = \frac{Mi_{αρχικό} - Mi_{τελικό}}{Mi_{αρχικό}} * 100\% \quad (7.1)$$

όπου  $Mi$  η μάζα σε (g) κάθε εξεταζόμενου συστατικού, πριν και μετά την προεπεξεργασία ή την ενζυμική υδρόλυση: των ολικών στερεών (TS), της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης, της διαλυτής λιγνίνης (ASL) και της μη διαλυτής λιγνίνης (AIL).

Πρόσθετα υπολογίστηκε η απόδοση της σακχαροποίησης ύστερα από την ενζυμική υδρόλυση και για τις δύο περιπτώσεις αλκαλικής και όξινης προεπεξεργασίας. Η απόδοση της σακχαροποίησης εκφράζεται ως απελευθέρωση γλυκόζης και υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση:

$$\%SG = \frac{C_{glu}}{C_{cel} \cdot f} \cdot 100(\%) \quad (7.2)$$

όπου SG η απόδοση της σακχαροποίησης  
 $C_{glu}$  η συγκέντρωση της γλυκόζης μετά την ενζυμική σακχαροποίηση  
 $C_{cel}$  η αρχική συγκέντρωση της κυτταρίνης  
 $f$  ο συντελεστής διόρθωσης για την προσθήκη νερού ανά μονάδα εξόζης, κατά την ενζυμική σακχαροποίηση και είναι  $f = \frac{180}{162} = 1.11$  [91].

Για την καλύτερη ομαδοποίηση και τον σχολιασμό των αποτελεσμάτων κάθε τεχνική προεπεξεργασίας και ενζυμικής υδρόλυσης παρατίθεται χωριστά. Στις παραγράφους 7.3.1 και 7.3.2 αναλύεται η προεπεξεργασία με NaOH και H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> αντίστοιχα, ενώ στις παραγράφους 7.3.3 και 7.3.4. παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα ύστερα από την ενζυμική υδρόλυση για την αλκαλική και την όξινη περίπτωση, αντίστοιχα.

### 7.3.1 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH

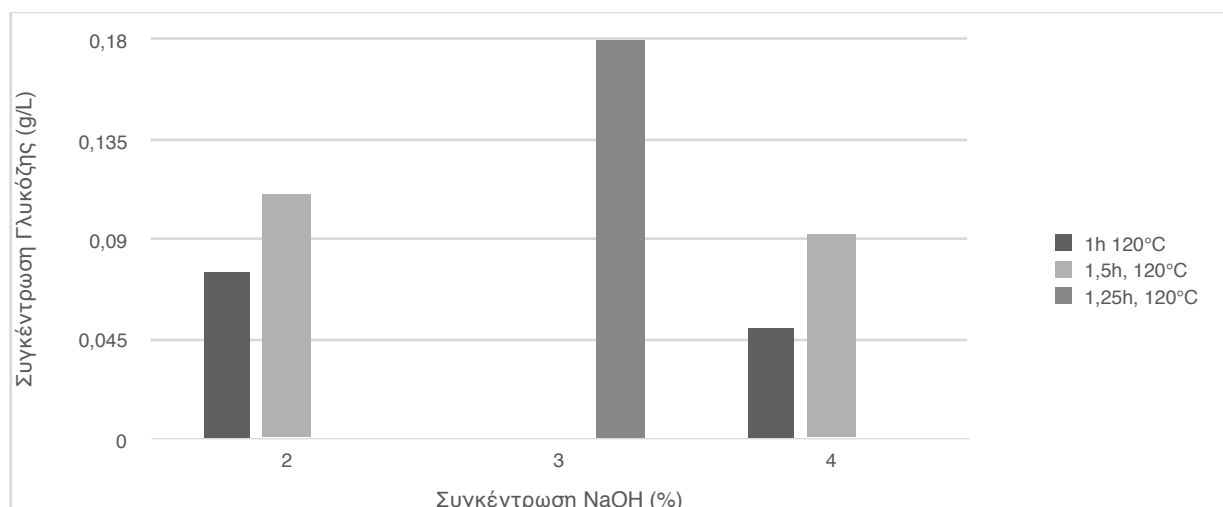
Πίνακας 7-10: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία και αποστείρωση με

Χρόνος αποστείρωσης (h)	NaOH (%)	%TS υδρόλυση		% Κυτταρίνη αποικοδόμηση		% AIL αποικοδόμηση		% ASL αποικοδόμηση		% Ημικυτταρίνη αποικοδόμηση	
1	2	30,67	± 2,18	1,76	± 3,68	8,23	± 3,75	62,28	± 2,11	3,45	± 5,92
1,5	4	23,59	± 2,17	2,20	± 6,83	77,14	± 4,39	75,82	± 1,27	74,36	± 1,59
1,25	3	24,01	± 0,89	5,48	± 9,04	74,27	± 3,48	68,62	± 4,16	43,78	± 16,62
1	4	29,02	± 4,76	1,64	± 7,04	76,40	± 4,77	75,16	± 2,41	44,07	± 13,20
1,5	2	19,84	± 3,33	4,14	± 1,73	71,28	± 2,75	65,15	± 1,42	44,71	± 2,42

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 7-10, προκύπτει ότι η προεπεξεργασία με αραιό αλκαλικό διάλυμα NaOH, προκάλεσε μία σημαντική μείωση του λιγνινικού περιεχομένου έως και 77%, ενώ η μείωση της κυτταρίνης επήλθε σε αρκετά μικρότερο βαθμό. Η αποτελεσματικότητα της αποικοδόμησης της ημικυτταρίνης κυμάνθηκε από 3.45 έως 74.36%. Στο υγρό κλάσμα, προσδιορίστηκαν προϊόντα αποικοδόμησης όπως γλυκόζη σε συγκεντρώσεις 0,05-0,18 g/l (1.11-4.78 mg/g αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος), πηθικά λιπαρά οξέα 4,54- 6,17g/l (56.96-84.17 mg/g αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος) και φαινολικά συστατικά 0,19-0,36 g/l (2.50- 4.61 mg/g αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος). Είναι εμφανής η καταλυτική επίδραση της αλκαλικής προεπεξεργασίας στη δομή της λιγνίνης και η χαμηλή της επίδραση σε εκείνη της ημικυτταρίνης.

Οι Teater et al. [89], εξετάζοντας αναερόβια χωνευμένη ιλύ, από αναερόβιο χωνευτήρα, που επεξεργαζόταν ζωικά απόβλητα, με σύσταση 28,1% ολικά στερεά, 33,9% κυτταρίνη, 15,9% ημικυτταρίνη και 21,1% λιγνίνη ήταν οι πρώτοι που ασχολήθηκαν με την εξέταση του συγκεκριμένου υποστρώματος για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Εφάρμοσαν αλκαλική προεπεξεργασία με αραιό NaOH σε συγκεντρώσεις 2% και 3% w/w και αποστείρωση δυο διαφορετικές θερμοκρασίες 120 °C και 130 °C για 2 και 3 ώρες. Τα αποτελέσματα της προεπεξεργασίας οδήγησαν σε αυξημένη συγκέντρωση κυτταρίνης και μικρή επίδραση στην ημικυτταρίνη. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH παρατήρησαν μεγαλύτερη αποικοδόμηση της περιεχόμενης λιγνίνης. Οι συνθήκες που εξασφάλισαν τη μεγαλύτερη συγκέντρωση κυτταρίνης (53,6% επί ξηρής βάσης), ήταν προεπεξεργασία στους 130°C για 3 ώρες και συγκέντρωση 3% NaOH. Σύμφωνα με τα πειράματά τους, η μέγιστη μετατροπή γλυκόζης εξασφαλίστηκε σε δύο διαφορετικούς συνδυασμούς συνθηκών προεπεξεργασίας, μία στους 130°C για 3 ώρες με συγκέντρωση 2% NaOH και μία στους 130 °C για 3 ώρες, με 3% NaOH, με αντίστοιχες συγκεντρώσεις γλυκόζης 29,7g/L και 29,8g/L. Υπό τις συνθήκες που εξέτασαν, συμπέραναν ότι τη μεγαλύτερη επίδραση στη μετατροπή της γλυκόζης, είχε ο χρόνος παραμονής στον αποστειρωτή κατά την προεπεξεργασία. Στην περίπτωση της παρούσας έρευνας, η μεγαλύτερη περιεκτικότητα κυτταρίνης από τα προεπεξεργασμένα δείγματα αρχικής μέσης περιεκτικότητας σε κυτταρίνη 18,86%, προέκυψε ίση με 30,83% για προεπεξεργασία στους 120°C για 1 ώρα με 2% NaOH. Στο ακόλουθο σχήμα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις

γλυκόζης που ανιχνεύτηκαν για τις διαφορετικές συνθήκες προεπεξεργασίας. Η υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης εξασφαλίστηκε με προεπεξεργασία στους 120 °C για 1,25 ώρες (75 λεπτά) και 3% NaOH.



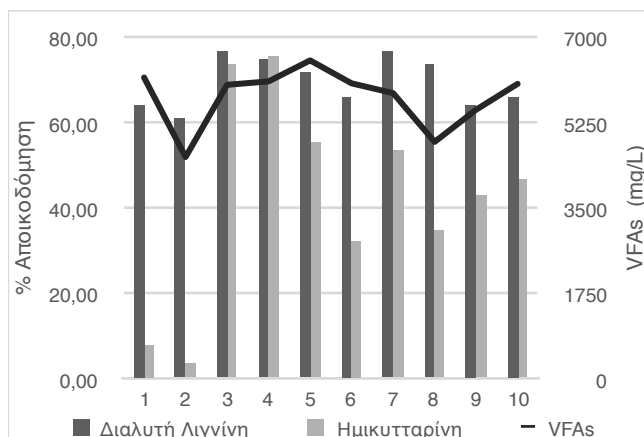
Σχήμα 7-1: Συγκέντρωση γλυκόζης ύστερα από προεπεξεργασία με NaOH σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και χρόνους αποστείρωσης.

Σε έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε άλλου τύπου υποστρώματα, αγροτικής προέλευσης, όπως άχυρα δημητριακών και υπολείμματα αραβόσιτου υπάρχει μια συνέπεια ως προς τα ποσοστά αποικοδόμησης των περιεχόμενων πολυσακχαριτών. Οι Zheng et al. [87], χρησιμοποιώντας άχυρο σίτου με σχετικά παρόμοια σύσταση (33,7% κυτταρίνη, 19,8% λιγνίνη, 19,1% ημικυτταρίνη, συγκριτικά με την αναερόβια ιλύ με σύσταση 18,68% κυτταρίνη, 16% ημικυτταρίνη και 23% λιγνίνη) και προεπεξεργασία με 2% και 4% NaOH αποστείρωση στους 121°C για 60 λεπτά, πέτυχαν επίσης πολύ ψηλά ποσοστά απομάκρυνσης λιγνίνης της τάξης του 80% και αποικοδόμηση ημικυτταρίνης που κυμάνθηκε μεταξύ 31,5% και 41,8%. Ωστόσο παρατήρησαν μία μεγαλύτερη αποικοδόμηση κυτταρίνης που στα πειράματά τους έφτασε το 19%, έναντι μέγιστου 9,07% για την περίπτωση της παρούσας έρευνας.

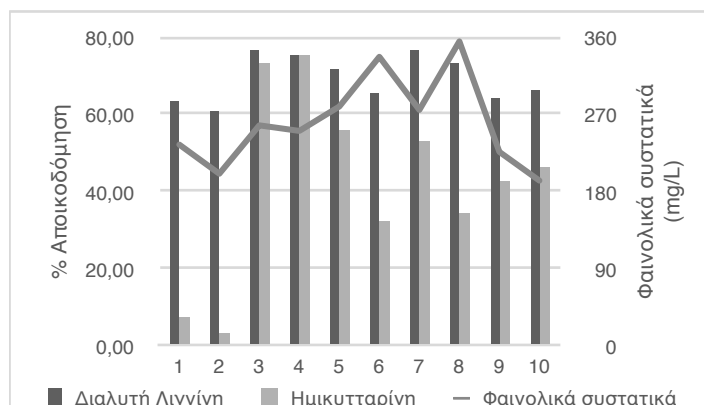
Παρατήρησαν ακόμη ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH επιδρούσε αυξητικά στην αποικοδόμηση της κυτταρίνης, όπως, άλλωστε παρατήρησαν και οι Teater et al. [89], για την περίπτωση της σταθεροποιημένης ιλύος από ζωικά απόβλητα. Η αύξηση μάλιστα της συγκέντρωσης του NaOH οδηγούσε σε αυξημένη αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης και στις δύο περιπτώσεις.

Όσον αφορά στην περιεκτικότητα σε παραπροϊόντα όπως φαινολικά συστατικά και πηκτικά οξέα, από τα αποτελέσματα των πειραμάτων της παρούσας έρευνας παρατηρήθηκε μία αύξηση ανάλογα με το ποσό της αποικοδόμησης της λιγνίνης. Καθώς οι φαινόλες αποτελούν προϊόντα αποικοδόμησης της λιγνίνης αναμένεται μία αναλογική αυξομείωση της συγκέντρωσής τους. Το ίδιο και για τα πηκτικά οξέα των οποίων η αυξημένη συγκέντρωση, σχετίζεται με την αύξηση της αποικοδόμησης και των δύο συστατικών. Η σχέση αυτή, της αποικοδόμησης λιγνίνης και ημικυτταρίνης με τη συγκέντρωση των πηκτικών οξέων και των φαινολικών συστατικών αποδίδεται στα ακόλουθα σχήματα (Σχήμα 7-2 και Σχήμα 7-3), όπου φαίνεται να ακολουθούν το ίδιο μοτίβο. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Song, Yang et al. [82]. Οι Haque et al. [86], σε άχυρο από κριθάρι με σύσταση 40,2% κυτταρίνη, 26,5% ημικυτταρίνη και 19,5% K-λιγνίνη παρατήρησαν επίσης αυξημένη αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης με αυξημένη συγκέντρωση NaOH. Για προεπεξεργασία με

2% NaOH και αποστείρωση στους 105°C για 10 λεπτά, πέτυχαν απομάκρυνση λιγνίνης κατά 84,8% και ημικυτταρίνης έως και 79,5%, με μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης 86,5%.



Σχήμα 7-2: Αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε σχέση με το σχηματισμό πτητικών λιπαρών οξέων ύστερα από



Σχήμα 7-3: Αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε σχέση με το σχηματισμό φαινολικών συστατικών ύστερα από

Οι Vancov et al. [88], εκτελώντας πειράματα με άχυρου σίτου (σύσταση: 36% κυτταρίνη, 26% ημικυτταρίνη, 7,6% μη διαλυτή λιγνίνη), με προεπεξεργασία με 2% NaOH και αποστείρωση στους 121°C για 60 λεπτά, εξασφάλισαν απομάκρυνση λιγνίνης κατά 72% και ημικυτταρίνης 20%. Με διαφορετικές συγκεντρώσεις NaOH και χρόνους αποστείρωσης, σε δύο θερμοκρασίες 60 °C και 120 °C, κατέληξαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα, μόνο στις υψηλές θερμοκρασίες προεπεξεργασίας, Ο χρόνος φάνηκε να επιδρά καθοριστικά μόνο για χαμηλότερες αλκαλικές συγκεντρώσεις.

### 7.3.2 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων για την περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας παρουσιάζεται στον Πίνακα 7-11.

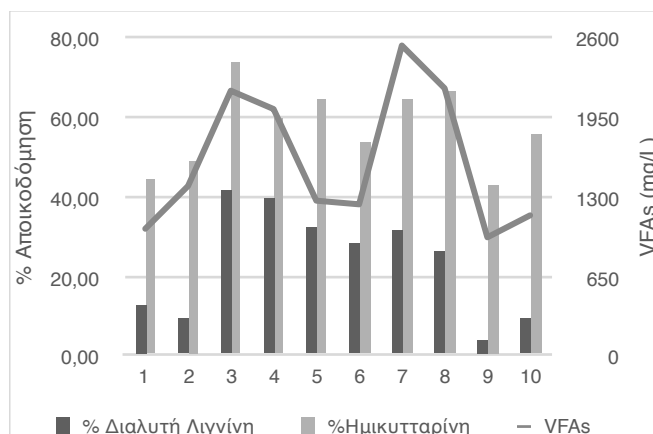
Πίνακας 7-11: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακαχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, ύστερα από όξινη προεπεξεργασία και αποστείρωση με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Χρόνος αποστείρωσης (h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	%TS υδρόλυση		% Κυτταρίνη αποικοδόμηση		% AIL αποικοδόμηση		% ASL αποικοδόμηση		% Ημικυτταρίνη αποικοδόμηση	
1	1	20.37	± 0.22	23.79	± 6.25	9.73	± 0.49	11.11	± 1.97	46.47	± 3.45
1.5	3	32.02	± 2.32	15.32	± 14.04	5.38	± 0.38	40.68	± 1.81	66.85	± 9.56
1.25	2	25.12	± 1.15	19.85	± 5.32	7.52	± 0.29	29.98	± 2.01	59.17	± 5.21
1	3	20.88	± 0.89	35.58	± 7.29	5.61	± 5.12	28.83	± 3.87	65.62	± 1.45
1.5	1	13.18	± 0.87	43.75	± 16.57	0.69	± 1.21	6.64	± 3.63	49.57	± 8.85

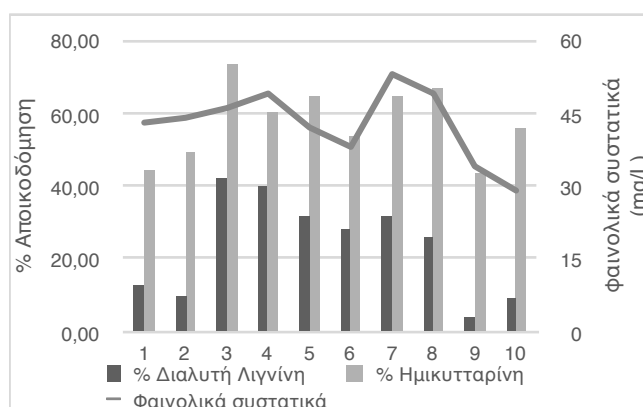
Από τα αποτελέσματα του παραπάνω Πίνακα 7-11 είναι εμφανές ότι η προεπεξεργασία με αραιό όξινο διάλυμα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> δεν έδρασε σε ικανοποιητικό βαθμό στην αποικοδόμηση της λιγνίνης, και ιδίως της μη διαλυτής, που αποτελεί το κρίσιμο προς υδρόλυση συστατικό του υποστρώματος. Η υδρόλυση της μη διαλυτής λιγνίνης που επιτεύχθηκε, κυμάνθηκε σε ένα εύρος από 0.69% έως 9.73%, που είναι σημαντικά χαμηλότερο του αντίστοιχου εύρους 8.23% έως 77.14%, που επιτεύχθηκε με την αλκαλική προεπεξεργασία. Η αποτελεσματικότητα της αποικοδόμησης της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης, στην περίπτωση της προεπεξεργασίας με αραιό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> διακυμάνθηκε από 15.32 έως 43.75% για την κυτταρίνη και από 46.75 έως 66.85% για την ημικυτταρίνη, αντίστοιχα. Είναι εμφανής μία μεγαλύτερη επίδραση στις ημικυτταρινικές δομές, υπό τις όξινες συνθήκες επεξεργασίας σε σύγκριση με τα αντίστοιχα αποτελέσματα της αλκαλικής. Συγκριτικά, η αλκαλική μέθοδος επιδρά πιο καταλυτικά στη δομή της λιγνίνης και λιγότερο στην ημικυτταρίνη, ενώ η όξινη προεπεξεργασία είναι πιο αποτελεσματική στην απομάκρυνση της ημικυτταρίνης.

Οι Zheng et al. (2018) [87], εκτελώντας συγκριτικά πειράματα αλκαλικής και όξινης προεπεξεργασίας σε άχυρο σίτου κατέληξαν σε παρόμοια αποτελέσματα (για άχυρο σίτου με 33,7% κυτταρίνη, 19,8% λιγνίνη, 19,1% ημικυτταρίνη). Προεπεξεργασία με 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση στους 121 °C για 60 λεπτά, οδήγησε σε αποικοδόμηση ημικυτταρίνης 78,53%, και κυτταρίνης 42,7%. Στην περίπτωση της παρούσας έρευνας, οι αντίστοιχες τιμές κυμάνθηκαν από 49,57% έως 66,85% για την ημικυτταρίνη και από 15,32 έως 43,75% για την κυτταρίνη. Συνολικά, η όξινη προεπεξεργασία οδήγησε σε μεγαλύτερα ποσοστά αποικοδόμησης κυτταρίνης από την αλκαλική και συνεπώς, τα αλκαλικά προεπεξεργασμένα δείγματα, θα μπορούσαν να παράγουν περισσότερη γλυκόζη με την ενζυμική υδρόλυση, όπως άλλωστε προκύπτει και από τα πειραματικά αποτελέσματα.

Στο υγρό κλάσμα, εντοπίστηκαν προϊόντα αποικοδόμησης όπως φαινολικά συστατικά 0,029- 0,053 g/l (0.3-0.54mg/g αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος) και πηκτικά λιπαρά οξέα VFAs 0,97-2,54 g/l (9.92-25.89 mg/g αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος), ενώ δεν εντοπίστηκε γλυκόζη. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της αντίστοιχης αλκαλικής προεπεξεργασίας, όπου τα τρία συστατικά εντοπίζονται σε μεγαλύτερη ποσότητα, στην περίπτωση της όξινης, οι τιμές τους ήταν αρκετά χαμηλότερες. Ωστόσο, και στις δύο περιπτώσεις, οι συγκεντρώσεις τόσο των φαινολικών συστατικών όσο και των πηκτικών λιπαρών οξέων, που μετρήθηκαν ήταν ανάλογες των ποσοστών αποικοδόμησης της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 7-3 και Σχήμα 7-4, όπου φαίνεται να ακολουθούν το ίδιο μοτίβο. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με τους Song, Yang et al. (2014) [82], οι οποίοι συσχέτισαν την αποικοδόμηση των πολυσακχαριτών με την εμφάνιση σχετικών παραπροϊόντων, εξετάζοντας άχυρο αραβόσιτου.

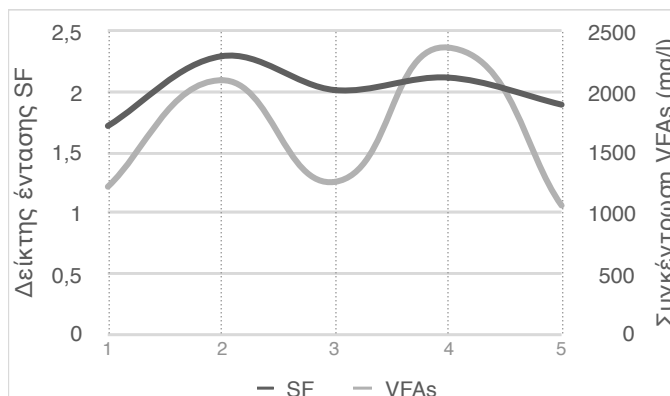


Σχήμα 7-4: Αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε σχέση με τη συγκέντρωση των πηκτικών λιπαρών οξέων VFAs που σχηματίζονται κατά την προεπεξεργασία με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

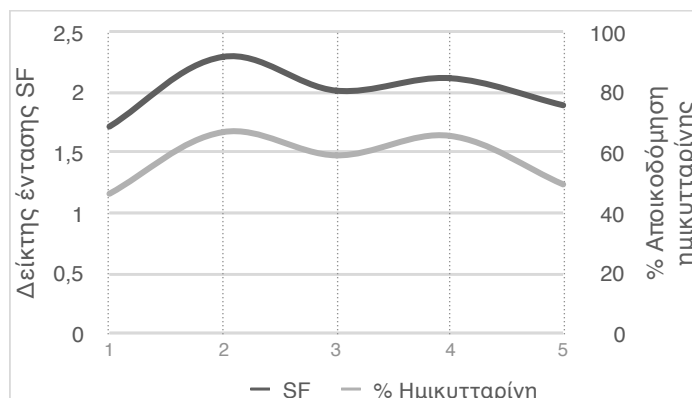


Σχήμα 7-5: Αποικοδόμηση Λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε σχέση με τη συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών που σχηματίζονται κατά την προεπεξεργασία με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Σύμφωνα με τους Hsu et al. (2010) [85], οι οποίοι μελέτησαν την προεπεξεργασία και ενζυμική υδρόλυση αχύρου ρυζιού σε διαφορετικές όξινες συνθήκες, ο βαθμός αποικοδόμησης των πολυσακχαριτών ήταν ανάλογος του δείκτη σοβαρότητας (severity factor SF) της προεπεξεργασίας. Η επεξεργασία των πειραματικών αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας οδήγησε σε παρόμοια συμπεράσματα, και η συσχέτιση της έντασης της προεπεξεργασίας με την αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης αποδίδεται στο Σχήμα 7-5. Το ίδιο συμβαίνει και με το σχηματισμό των πτητικών λιπαρών οξέων, που επίσης ακολουθούν το ίδιο μοτίβο, όπως απεικονίζεται στο Σχήμα 7-6. Η απελευθέρωση γλυκόζης φάνηκε να αυξάνει, επίσης με την αύξηση του δείκτη SF.



Σχήμα 7-6: Συγκέντρωση πτητικών λιπαρών οξέων VFAs σε σχέση με το δείκτη έντασης της προεπεξεργασίας με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



Σχήμα 7-7: Αποικοδόμηση ημικυτταρίνης σε σχέση με το δείκτη έντασης της προεπεξεργασίας με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ο δείκτης έντασης της προεπεξεργασίας SF (severity factor) υπολογίστηκε σύμφωνα με τους Loyd and Wyman (2005) [92], και τον συνδυαστικό δείκτη σοβαρότητας (combined severity factor), που συνδυάζει το χρόνο και τη θερμοκρασία της προεπεξεργασίας, με τη συγκέντρωση του θειικού οξέος που χρησιμοποιήθηκε, σε μία μεταβλητή, το δείκτη SF.



Ο δείκτης αυτός εκφράζει την ένταση των συνθηκών της προεπεξεργασίας και ορίζεται σύμφωνα με τη σχέση:

$$SF = \log \left( t \cdot \exp \left( \frac{T_H - T_R}{14,75} \right) \right) - pH \quad (7.3)$$

- όπου  $t$  ο χρόνος προεπεξεργασίας στον αποστειρωτή,  
 $T_H$  η θερμοκρασία της προεπεξεργασίας σε °C,  
 $T_R$  η θερμοκρασία αναφοράς, συνήθως 100 °C, και το  
 $pH$  είναι το pH του όξινου διαλύματος, που προσδιορίζεται από τη συγκέντρωση του χρησιμοποιούμενου οξέος.

Ο δείκτης SF για τις συνθήκες της όξινης προεπεξεργασίας υπολογίστηκε και οι τιμές συνοψίζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 7-12: Δείκτες SF για τα πειράματα προεπεξεργασίας με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

A/A	Χρόνος αποστείρωσης (min)	% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Δείκτης SF
1	60	1%	1,7
2	90	3%	2,3
3	75	2%	2,0
4	60	3%	2,1
5	90	1%	1,9

### 7.3.3 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΥΣΤΕΡΑ ΑΠΟ ΠΡΟΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ NaOH

Πίνακας 7-13: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία και αποστείρωση με NaOH και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 (n.d: δεν ανιχνεύτηκε).

A/A	%TS υδρόλυση			% Κυτταρίνη αποικοδόμηση			% AIL αποικοδόμηση			% ASL αποικοδόμηση	% Ημικυτταρίνη αποικοδόμηση			%SG σακχαροποίηση		
		±			±			±				±			±	
B1	n.d.			96,96	±	1,65	31,45	±	3,30	n.d.	94,72	±	4,47	42,31	±	7,33
B2	5,03	±	3,00	96,48	±	4,59	n.d.			n.d.	82,18	±	0,08	56,03	±	0,53
B3	n.d.			72,24	±	6,34	n.d.			n.d.	65,09	±	3,66	31,24	±	16,38
B4	16,75	±	4,28	100,00	±	0,10	n.d.			n.d.	87,85	±	7,98	61,3	±	4,02
B5	n.d.			100,00	±	0,10	15,74	±	5,74	n.d.	99,55	±	0,06	61,65	±	4,16
B6	n.d.			99,60	±	0,18	n.d.			n.d.	85,36	±	4,72	65,31	±	0,99
B7	n.d.			100,00	±	0,10	n.d.			n.d.	95,72	±	2,35	54,57	±	0,69
B8	1,74	±	0,24	100,00	±	0,10	n.d.			n.d.	89,26	±	2,89	71,18	±	6,53
B9	3,41	±	0,50	99,94	±	0,20	n.d.			n.d.	98,04	±	1,29	59,98	±	3,84

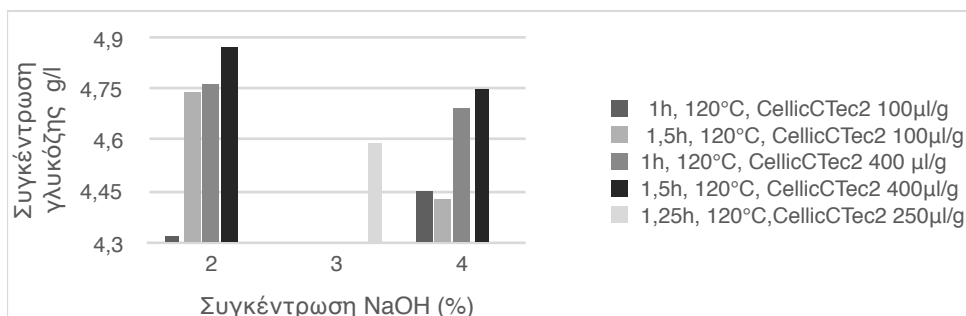
Πίνακας 7-14: Υπολογισμός απόδοσης σακχαροποίησης για κάθε πείραμα του κύκλου ενζυμικής υδρόλυσης και προεπεξεργασίας H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

A/A	Γλυκόζη (mg)	Κυτταρίνη θεωρητική (mg)	SG%
11	726	139	47,49
12	586	143	37,12
13	848	138	55,65
14	859	138	56,40
15	299	138	19,65
16	653	138	42,82
17	977	138	64,14
18	890	138	58,45
19	898	139	58,70
20	1019	144	64,58

A/A	Γλυκόζη (mg)	Κυτταρίνη θεωρητική (mg)	SG%
21	984	138	64,60
22	1005	138	66,01
23	839	139	55,05
24	824	139	54,07
25	1154	138	75,79
26	1014	138	66,56
27	893	139	58,25
28	977	139	63,89
29	956	139	62,32
30	848	139	55,44

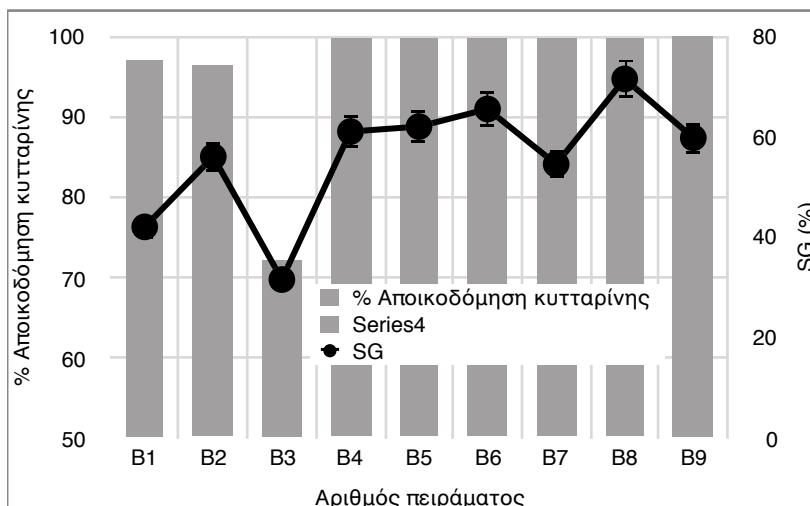
Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τον υπολογισμό των ποσοστών αποικοδόμησης των επιμέρους πολυσακχαριτών του υποστρώματος, κατά τη διάρκεια της ενζυμικής υδρόλυσης μετά από αλκαλική προεπεξεργασία, παρατηρείται μία πολύ υψηλή αποικοδόμηση της κυτταρίνης που αγγίζει και το μέγιστο 100%, καθώς επίσης και μια εξίσου υψηλή αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης που κυμαίνεται από 65,09% έως 99,55%. Η διεργασία φαίνεται να εξελίχθηκε αποτελεσματικά, με το ένζυμο CellicCTec2 να επιτελεί το στόχο του, που είναι η υδρόλυση των πολυσακχαριτικών δομών προς τα μονομερή τους σάκχαρα. Καθώς το μεγαλύτερο ποσοστό της λιγνίνης και ιδιαίτερως της μη διαλυτής είχε ήδη αποικοδομηθεί κατά την προεπεξεργασία, όπως αποτυπώνεται από τα αποτελέσματα του Πίνακα 8-10, το ένζυμο μπόρεσε να διεισδύσει ικανοποιητικά στο κυτταρινικό δίκτυο και να το διασπάσει. Περαιτέρω αποικοδόμηση λιγνίνης δεν μετρήθηκε καθώς αυτή είχε διασπαστεί σε ένα βαθμό της τάξης του 74- 77% ήδη από το στάδιο της προεπεξεργασίας. Η λιγνίνη γενικά αντιστέκεται στη δράση των κυτταρινασών του ενζύμου και αναστέλλει τη δράση τους, και για το λόγο αυτό αναμέναμε να μην επέλθει περαιτέρω διάσπασή της [58].

Στο υγρό κλάσμα μετρήθηκαν συγκεντρώσεις παραπροϊόντων όπως πηκτικά οργανικά οξέα από 3,13 έως 5,46g/l ( 65,04- 141,91mg/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος) και φαινολικά συστατικά από 0,07 έως 1,63 g/l (1,34- 4,77mg/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος). Οι συγκεντρώσεις αυτές είναι μειωμένες συγκριτικά με τις αντίστοιχες που ανιχνεύτηκαν μετά την προεπεξεργασία. Η παρουσία φαινολικών συστατικών, στο υπό εξέταση υδρόλυμα, αποδίδεται στη αποικοδόμηση της λιγνοκυτταρίνης. Τα περισσότερα φαινολικά σχηματίζονται κατά την αποικοδόμηση της λιγνίνης, και σε μικρότερο βαθμό από τις φαινολικές εστερικές ομάδες της ημικυτταρίνης, Αν και η μη διαλυτή λιγνίνη παραμένει στο στερεό κλάσμα, οι απλούστερες oligομερείς φαινόλες μεταφέροντα στο υγρό κλάσμα. Όσο χαμηλότερο μοριακό βάρος έχουν τόσο πιο ανασταλτική δράση μπορούν να έχουν σε ένζυμα όπως οι κυτταρινάσες και οι β-γλυκοζιδάσες. Ο βαθμός σχηματισμού τους εξαρτάται από τη σύσταση της βιομάζας, αλλά και τη φύση της μεθόδου προεπεξεργασίας που εφαρμόστηκε [81]. Παρατηρείται ότι η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών είναι ανάλογη του ποσοστού αποικοδόμησης της λιγνίνης, καθώς οι σειρές μετρήσεων που απέδωσαν μεγαλύτερα ποσοστά αποικοδόμησης λιγνίνης, παρουσιάζουν και τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών συστατικών που κυμαίνονται από 77 έως 183 mg/l, με τη μέγιστη συγκέντρωση να προκύπτει για το δείγμα που εξασφάλισε 64,14% απόδοση σακχαροποίησης. Με την προεπεξεργασία και την ενζυμική υδρόλυση εξασφαλίστηκε αυξημένο περιεχόμενο σε γλυκόζη, η οποία ανιχνεύτηκε σε όρια μεταξύ 38,91 και 150,04 mg/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, εμφανώς αυξημένη συγκριτικά με τα αντίστοιχα ποσά προ της επεξεργασίας (1,11 – 4,58 mg/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος). Αυτό είναι λογικό, καθώς κατά την προεπεξεργασία δεν αναμενόταν υψηλή επίδραση στις εσωτερικές λιγνοκυτταρινικές δομές, παρά μόνο στην εξωτερική και ανθεκτική λιγνίνη. Η υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης εξασφαλίστηκε με προεπεξεργασία στους 120°C για 1,5 ώρες και με 2% NaOH. Τα αποτελέσματα αυτά συνοψίζονται στο σχήμα για όλες τις διαφορετικές συνθήκες προεπεξεργασίας και δοσολογίας ενζύμου.



Σχήμα 7-8: Συγκέντρωση γλυκόζης ύστερα από ενζυμική υδρόλυση για τις διάφορες συνθήκες προεπεξεργασίας.

Στην παρούσα έρευνα, η σακχαροποίηση, της αλκαλικά επεξεργασμένης αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, μελετήθηκε με την προσθήκη του ενζύμου CellicTec2, ένα πυκνό μίγμα κυτταρινασών. Για όλες τις σειρές των ενζυμικών μετρήσεων υπολογίστηκε η απόδοση της σακχαροποίησης και τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 7-14. Εξασφαλίστηκαν αποδόσεις από 37,12% έως 75,79%,. Σε συνδυασμό με τον βαθμό αποικοδόμησης της κυτταρίνης που προσδιορίστηκε, κατασκευάστηκε το Σχήμα 7-9 που συσχετίζει τα δύο μεγέθη, ανά πείραμα που διεξήχθη.



Σχήμα 7-9: Αποικοδόμηση κυτταρίνης και αποτελεσματικότητα σακχαροποίησης της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία και ενζυμική υδρόλυση, για τα πειράματα B1-B9.

Η αποικοδόμηση της κυτταρίνης και η αποτελεσματικότητα της σακχαροποίησης ακολούθησαν το ίδιο μοτίβο, κάτι που σημαίνει ότι το ένζυμο CellicTec2 υδρόλυσε αποτελεσματικά την κυτταρίνη σε μονομερή σάκχαρα, που διατίθενται για το επόμενο στάδιο, της ζύμωσης προς παραγωγή αιθανόλης. Τα δύο μεγέθη είναι άμεσα σχετιζόμενα, καθώς η αποικοδόμηση της κυτταρίνης προς μόρια γλυκόζης που καταλύεται από τις κυτταρινάσες του ενζύμου είναι εκείνη, η συγκέντρωση της οποίας ερμηνεύεται ως απόδοση σακχαροποίησης. Η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης που εξασφαλίστηκε υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες της παρούσας έρευνας ήταν 75,79% για προεπεξεργασία στους 120oC για 1,5 ώρες, με 2% NaOH και δοσολογία ενζύμου 400 µg CellicTec2/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος.

Οι Teater et al. (2011) [89] εκτελώντας πειράματα σε αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύ με σύσταση 33,9% κυτταρίνη, 15,9% ημικυτταρίνη και 21,1% λιγνίνη, κατέληξαν σε παρόμοια αποτελέσματα. Εξασφάλισαν μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης, δηλαδή μετατροπή γλυκόζης ίση με 68,2%, υπό συνθήκες προεπεξεργασίας στους 130°C για 3 ώρες και 2% NaOH, αλλά και 68,1% με προεπεξεργασία στους 130°C για 3 ώρες και 3% NaOH. Χρησιμοποίησαν ένζυμο Accellerase 1500 (Genencor, Rochester, NY) με φόρτιση 26 FPU/g ξηρής βάσης και παραμονή στους 50oC για 72 ώρες.

Τα αποτελέσματα αυτά, τόσο ως προς τα ποσοστά αποικοδόμησης των περιεχόμενων πολυσακχαριτών του υποστρώματος, όσο και ως προς τη σακχαροποίηση, συναγωνίζονται αντίστοιχες δοκιμές που έχουν πραγματοποιηθεί σε πιο κοινά υποστρώματα αγροτικής προέλευσης, όπως άχυρα και υπολείμματα καλλιέργειας αραβόσιτου, που έχουν μελετηθεί εκτενέστερα. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι οι Zheng et al. (2012) [87], εκτελώντας πειράματα σε άχυρο σίτου (33,7% κυτταρίνη, 19,8% λιγνίνη, 19,1% ημικυτταρίνη) με προεπεξεργασία με 2% και 4% NaOH και αποστείρωση στους 121oC για 60 λεπτά, εξασφάλισαν αποικοδόμηση

κυτταρίνης 75% και 87,2% αντίστοιχα. Από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, εξασφαλίστηκε πολύ υψηλότερη αποικοδόμηση κυτταρίνης, έως και 100%. Το υψηλότερο αυτό ποσοστό εξηγείται από την υψηλή αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης, που προέκυψε από την προεπεξεργασία (Πίνακας 8-10). Εξίσου υψηλά ποσοστά αποικοδόμησης κυτταρίνης έως και 100% βρήκαν οι Shengli et al. (2015) [81], σε δείγμα miscanthus με προεπεξεργασία με 4% NaOH, και αποστείρωση στους 121°C για 20 λεπτά, ενώ στην περίπτωση όξινης προεπεξεργασίας με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> η αποικοδόμηση της κυτταρίνης ήταν αρκετά χαμηλότερη. Το δείγμα τους περιείχε 31% κυτταρίνη και 29-35% ημικυτταρίνη. Σχετικά με την απόδοση της σακχαροποίησης, οι Momayez et al. (2018) με προεπεξεργασία αχύρου ρυζιού σημείωσαν εξίσου υψηλές αποδόσεις της τάξης του 76% (προεπεξεργασία σε λουτρό λαδιού στους 130°C, 160°C, 190°C, για 30 και 60 λεπτά, και υδρόλυση με CellicTec2 για 48 ώρες). Με αύξηση της θερμοκρασίας και του χρόνου προεπεξεργασίας, σημειώθηκε αύξηση της σακχαροποίησης. Σχετικά με τα παραπροϊόντα που ανιχνεύθηκαν, οι Vancon et al (2011) [88] επιβεβαιώνουν ότι οι συγκεντρώσεις σε φαινολικά συστατικά και πηκτικά οξέα είναι χαμηλότερη στα ενζυμικά υδρολύματα από ότι στα προεπεξεργασμένα.

Ακόμη, οι Wang et al. (2016) [79], εκτελώντας πειράματα στο στερεό κλάσμα αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος από αναερόβιο χωνευτήρα αχύρου ρυζιού, με προεπεξεργασία με όζον και αμμωνία, παρατήρησαν αύξηση της συγκέντρωσης της κυτταρίνης, αλλά μικρότερη επίδραση στην περιεχόμενη λιγνίνη και ημικυτταρίνη. Πέτυχαν παραγωγή αιθανόλης με ζύμωση έως και 75,2% για υπόστρωμα με 7% σε στερεά και 74,8% για υπόστρωμα με 17% σε στερεά.

#### 7.3.4 ENZYMIKH ΥΔΡΟΛΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης και σε αυτό το στάδιο, υπολογίστηκε το ποσοστό της υδρόλυσης και το ποσοστό της αποικοδόμησης των επιμέρους πολυσακχαριτών της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης. Τα αποτελέσματα ομαδοποιούνται στους πίνακες που παρατίθενται παρακάτω.

Ο βαθμός της υδρόλυσης υπολογίζεται βάσει της διαφοράς συγκέντρωσης, των προς εξέταση συστατικών, πριν και μετά την προεπεξεργασία ή τη ενζυμική υδρόλυση, βάσει της εξίσωσης:

$$\% \text{Υδρόλυση} = \frac{M_{i\alpha\rho\chi\iota\kappa\acute{o}} - M_{i\tau\epsilon\lambda\iota\kappa\acute{o}}}{M_{i\alpha\rho\chi\iota\kappa\acute{o}}} * 100\% \quad (7.4)$$

όπου  $M_i$  η μάζα σε (g) κάθε εξεταζόμενου συστατικού, πριν και μετά την προεπεξεργασία ή την ενζυμική υδρόλυση

Πίνακας 7-15: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, ύστερα από όξινη προεπεξεργασία και αποστείρωση με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και ενζυμική υδρόλυση με CellicTec2.

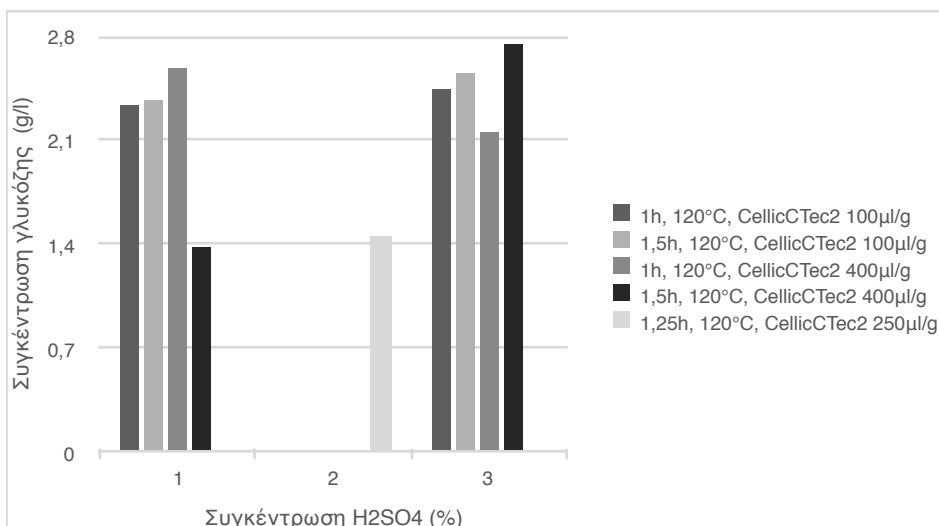
Αριθμός πειράματος	% TS υδρόλυση			% Κυτταρίνη αποικοδόμηση			% AIL αποικοδόμηση			% ASL αποικοδόμηση			% Ημικυτταρίνη αποικοδόμηση			%SG σακχαροποίηση		
A1	n.d.			n.d.			n.d.			9,81	±	1,21	n.d.			3,11	±	4,18
A2	n.d.			45,64	±	4,52	n.d.			4,92	±	2,38	60,67	±	3,80	25,07	±	7,79
A3	4,84	±	1,71	8,25	±	2,24	11,48	±	2,29	24,69	±	2,04	11,20	±	5,80	20,75	±	2,45
A4	7,17	±	0,79	n.d.			8,28	±	2,61	16,04	±	4,68	n.d.			7,57	±	1,67
A5	n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			n.d.			13,26	±	0,95
A6	n.d.			39,58	±	9,18	6,63	±	3,86	25,03	±	6,89	47,92	±	2,02	37,08	±	2,14
A7	5,73	±	0,48	9,92	±	8,49	9,56	±	3,17	25,28	±	1,62	44,47	±	1,02	32,16	±	0,85
A8	19,34	±	5,27	n.d.			30,34	±	6,92	39,62	±	2,15	n.d.			7,69	±	1,72
A9	n.d.			34,38	±	2,02	n.d.			n.d.			n.d.			11,17	±	0,82

Πίνακας 7-16: Υπολογισμός απόδοσης σακχαροποίησης για κάθε πείραμα του κύκλου ενζυμικής υδρόλυσης και προεπεξεργασίας με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

A/A	Γλυκόζη (mg)	Κυτταρίνη θεωρητική (mg)	SG%	A/A	Γλυκόζη (mg)	Κυτταρίνη θεωρητική (mg)	SG%
11	4	187	0,21	21	735	187	35,57
12	125	188	6,02	22	801	188	38,60
13	632	188	30,57	23	659	189	31,56
14	406	189	19,56	24	683	189	32,76
15	469	190	22,48	25	289	189	13,86
16	396	189	19,01	26	32	189	1,53
17	182	189	8,75	27	250	187	12,11
18	133	189	6,39	28	234	187	11,34
19	259	187	12,59	29	225	189	10,81
20	288	188	13,94	30	211	188	10,17

Η ενζυμική υδρόλυση στην περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας πέτυχε πολύ μικρότερα ποσοστά αποικοδόμησης της κυτταρίνης από 8,25% έως το μέγιστο 45,64%, που αντιστοιχεί περίπου στο μισό της αντίστοιχης μέγιστης αποικοδόμησης της κυτταρίνης από την αλκαλική προεπεξεργασία και υδρόλυση. Τα ποσοστά αποικοδόμησης της ημικυτταρίνης κυμάνθηκαν σε λίγο υψηλότερα επίπεδα από εκείνα της κυτταρίνης, από 11,20% έως 60,67%, ενώ παρατηρήθηκε και μια μικρή επίδραση στη λιγνίνη του υποστρώματος.

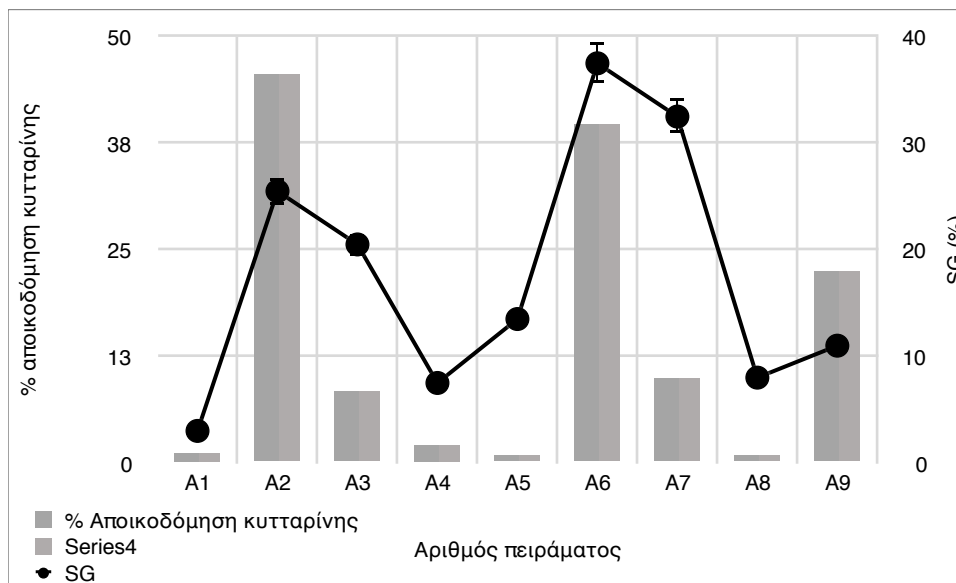
Στο υγρό κλάσμα μετρήθηκαν συγκεντρώσεις παραπροϊόντων όπως πηκτικά οργανικά οξέα (VFAs) από 1,10 έως 2,95 g/l (16,88- 45,10 mg/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος) και φαινολικά συστατικά από 0,04 έως 1,18g/l (0,44 έως 1,81 mg/g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος). Στα υδρολύματα υπολογίστηκε συγκέντρωση γλυκόζης από 0,03 έως 5,34 g/l (0,44-82,19 mg γλυκόζης ανά g ξηρής αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος), που είναι επίσης μικρότερη συγκριτικά με τα αντίστοιχα αποτελέσματα της αλκαλικής προεπεξεργασίας. Ωστόσο, η συγκέντρωση της γλυκόζης είναι εκείνη που αξιολογήθηκε για την απόδοση και της όξινης διεργασίας. Τα αποτελέσματα, για τις διαφορετικές συνθήκες προεπεξεργασίας και τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις γλυκόζης που ανιχνεύτηκαν παρουσιάζονται στο Σχήμα 7-10, όπου είναι εμφανής η μέγιστη συγκέντρωση που μετρήθηκε για πορεπεξεργασία στους 120°C για 1,5 ώρες, 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και φόρτιση ενζύμου 400μl/g κυτταρίνης.



Σχήμα 7-10: Συγκέντρωση γλυκόζης μετά από ενζυμική υδρόλυση για τις διάφορες συνθήκες προεπεξεργασίας με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Η απόδοση της σακχαροποίησης (SG%) υπολογίζεται από την ίδια σχέση 7-2 όπως και για την αλκαλική μέθοδο και τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 7-16. Στην περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας εξασφαλίστηκαν αποδόσεις σακχαροποίησης από 1,53% έως 38,60%, με τη μέγιστη να καταγράφεται για προεπεξεργασία στους 120°C για 90 λεπτά, με 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και δοσολογία ενζύμου 400 μL/g κυτταρίνης αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Οι αποδόσεις αυτές είναι εμφανώς χαμηλότερες από εκείνες που σημειώθηκαν με την αλκαλική προεπεξεργασία, με τη μέγιστη να αντιστοιχεί περίπου στο μισό της μέγιστης απόδοσης της αλκαλικής. Στο Σχήμα 7-11 παρουσιάζεται η απελευθέρωση της γλυκόζης, εκφρασμένη ως απόδοση σακχαροποίησης, σε συνδυασμό με τον βαθμό αποικοδόμησης της κυτταρίνης που εξασφαλίστηκε. Αν

και συνολικά φαίνεται να ακολουθούν κοινή πορεία, για ορισμένες σειρές πειραμάτων η μέγιστη αποικοδόμηση κυτταρίνης δεν εξασφάλισε και αντίστοιχη μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης (σειρά A2)

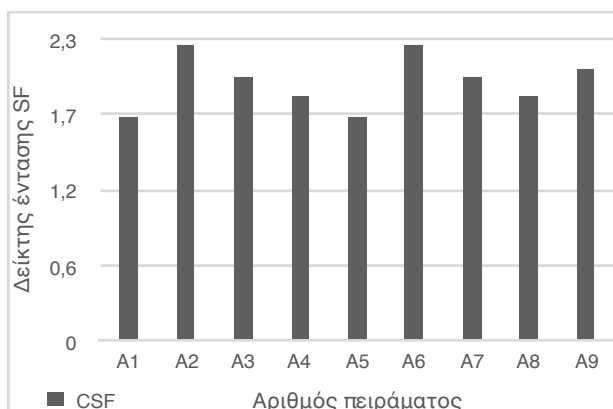


Σχήμα 7-11: Αποικοδόμηση κυτταρίνης και αποτελεσματικότητα σακχαροποίησης της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, ύστερα από όξινη προεπεξεργασία και ενζυμική υδρόλυση, για τα πειράματα A1-A9.

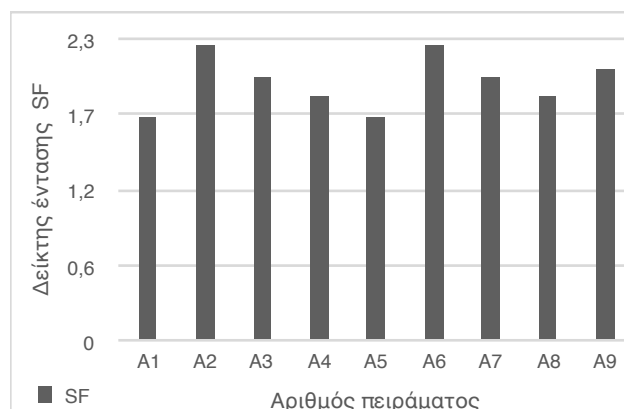
Η περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος δεν καλύπτεται επαρκώς από την υπάρχουσα βιβλιογραφία. Λίγα πειράματα καταγράφονται για την εξέταση του συγκεκριμένου υποστρώματος ως προς την καταλληλότητά του για την παραγωγή σακχάρων και την παραγωγή αιθανόλης. Οι Teater et al. (2011) [89] μελέτησαν την περίπτωση της αλκαλικής προεπεξεργασίας σχετικού υποστρώματος και κατέδειξαν υψηλά ποσοστά σακχαροποίησης που είναι δυνατόν να επιτευχθούν. Το ίδιο προέκυψε και από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της αλκαλικής προεπεξεργασίας και για το υπόστρωμα που εξετάστηκε στην παρούσα έρευνα. Για το σχολιασμό των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την όξινη προεπεξεργασία και ενζυμική υδρόλυση, πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη με άλλα υποστρώματα αγροτικής προέλευσης και επιχειρήθηκε ένας σχολιασμός των ευρημάτων, ανάλογα με τα φαινόμενα αποικοδόμησης που καταγράφονται σε αυτές τις περιπτώσεις υποστρωμάτων.

Χαρακτηριστικά, οι Si S., Chen et al. (2015) [81], οι οποίοι μελέτησαν υπόστρωμα *miscanthus*, με προεπεξεργασία με 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση στους 121°C για 60 λεπτά, βρήκαν χαμηλά ποσοστά αποικοδόμησης λιγνίνης από 17-31% και μεγαλύτερη αποικοδόμηση ημικυτταρίνης 78-87%. Επιβεβαιώνουν, δηλαδή, ότι η αλκαλική προεπεξεργασία είναι πιο αποτελεσματική στην αποικοδόμηση της λιγνίνης και η όξινη στην αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης. Οι Hsu et al. (2010) [85], εκτελώντας πειράματα σε άχυρο ρυζιού (σύσταση: 36,6% γλυκόζη, 16,1% ξυλόζη, 13,0% μη διαλυτή και 1,9% διαλυτή λιγνίνη, 14,5% τέφρα), με προεπεξεργασία με 1% w/w H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> για 1-5 λεπτά στους 160°C και 180°C, εξασφάλισαν μέγιστο ποσοστό σακχαροποίησης έως 70%, ενώ απέδειξαν ότι η απόδοση της σακχαροποίησης ήταν ανάλογη του δείκτη σοβαρότητας της προεπεξεργασίας, δηλαδή των συνθηκών της διεργασίας. Το υψηλότερο ποσοστό σακχαροποίησης που επιτεύχθηκε στην περίπτωση της παρούσας έρευνας ήταν 37,08%, αρκετά χαμηλότερη, αλλά παρουσιάζει μία αναλογική σχέση με το δείκτη έντασης της προεπεξεργασίας. Το ίδιο συμβαίνει και για το σχηματισμό αναστολέων VFAs που παρουσιάζουν ανάλογο μοτίβο με την αύξηση του δείκτη SF. Οι συσχετίσεις απεικονίζονται στα ακόλουθα σχήματα 7-12.





Σχήμα 7-12α: Απόδοση σακχαροποίησης σε σχέση με το δείκτη οξέων σε σχέση με το έντασης (SF) της προεπεξεργασίας με  $H_2SO_4$ .



Σχήμα 7-12β: Συγκέντρωση πηκτικών λιπαρών δείκτη έντασης (SF) της προεπεξεργασίας με  $H_2SO_4$ .

Η συσσώρευση ανασταλτικών ουσιών δύναται να αναστείλει τη σακχαροποίηση κατά την ενζυμική υδρόλυση. Οι συγκεντρώσεις των παραπροϊόντων που ανιχνεύτηκαν κατά την ενζυμική υδρόλυση, ύστερα από την όξινη προεπεξεργασία ήταν αρκετά χαμηλότερες από τις αντίστοιχες στην περίπτωση της αλκαλικής προεπεξεργασίας. Η χαμηλή απόδοση της σακχαροποίησης στην συγκεκριμένη περίπτωση δεν αποδίδεται στη συγκέντρωση των ανασταλτικών αυτών ουσιών, αλλά στην αποικοδόμηση του δομικού πολυσακχαρίτη της κυτταρίνης, που συνέβη κατά την προεπεξεργασία. Όπως παρουσιάζεται στα αποτελέσματα του Πίνακα 8-11, η περιεχόμενη κυτταρίνη προσβλήθηκε ήδη από την όξινη προεπεξεργασία, κάτι που δεν σημειώθηκε στην περίπτωση της αλκαλικής. Σε συνδυασμό, μάλιστα με τα πολύ χαμηλά ποσοστά επίδρασης στη λιγνίνη, που παρουσιάζονται στον ίδιο πίνακα, συμπεραίνεται ότι η λιγνίνη παρεμπόδισε την προσβασιμότητα του ενζύμου στην κυτταρίνη κατά την υδρόλυση, καθιστώντας τη συνολική διεργασία λιγότερο αποτελεσματική.

## 7.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ XRD

Ύστερα από τη διεξαγωγή των πειραμάτων για τις δύο εξεταζόμενες περιπτώσεις προεπεξεργασίας ( $NaOH$  και  $H_2SO_4$ ) και ενζυμικής υδρόλυσης, σε επιλεγμένα στερεά δείγματα πραγματοποιήθηκε ανάλυση με περίθλαση ακτίνων X για την παρακολούθηση της δομικής τροποποίησης, που επέφερε κάθε στάδιο επεξεργασίας.

Μεταξύ των δειγμάτων επιλέχθηκαν εκείνα που οδήγησαν σε υψηλότερο ποσοστό σακχαροποίησης και μεγαλύτερο περιεχόμενο σε γλυκόζη (2%  $NaOH$ , αποστείρωση για 90 λεπτά και ενζυμική υδρόλυση με 400  $\mu g$  CellicTec2/g κυτταρίνης). Επιδιώχθηκε ένας ποιοτικός χαρακτηρισμός των στερεών που παραλήφθηκαν και σύγκρισή τους με το στερεό του ίδιου υλικού, πριν και μετά την προεπεξεργασία. Συνολικά μελετήθηκαν τρία δείγματα:

- Ξηραμένη αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς
- Ξηραμένη αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, προεπεξεργασμένη με 2%  $NaOH$  για 90 λεπτά
- Ξηραμένη αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς προεπεξεργασμένη με 2%  $NaOH$  για 90 λεπτά και ενζυμική υδρόλυση με 400  $\mu g/g$  κυτταρίνης).

Για τον προσδιορισμό αυτό χρησιμοποιήθηκε περίθλαση με ακτίνες Χ, ώστε να προσεγγιστεί ποιοτικά η επίδραση της προεπεξεργασίας που εφαρμόστηκε στα εξεταζόμενα στερεά δείγματα. Η μέτρηση κρυσταλλικότητας μπορεί να παρέχει μια ποιοτική εκτίμηση των κρυσταλλικών και άμορφων περιοχών της, υπό εξαετηση, βιομάζας. Λόγω της κρυσταλλικής φύσης της κυτταρίνης, η προεπεξεργασία μπορεί να ενισχύσει τη διάχυση της κυτταρινάσης διαμέσου των άμορφων περιοχών της κυτταρίνης και κατά συνέπεια να επηρεάσει την προσβασιμότητα του ενζύμου στη λιγνοκυτταρινική βιομάζα. Η ενζυμική υδρόλυση, σε επόμενο στάδιο αναμένεται να επιδρά καταλυτικά στα εναπομείναντα δομικά συστατικά της βιομάζας, οδηγώντας σε αυξημένη περιεκτικότητα σε μονομερή σάκχαρα.

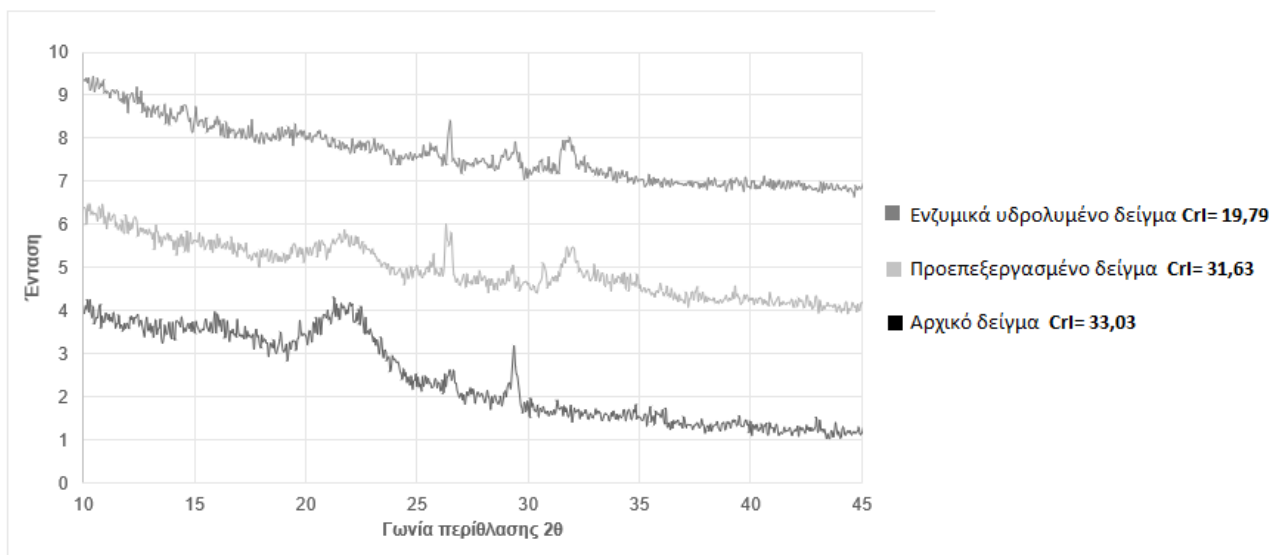
Πρόσθετα, υπολογίστηκε και ο δείκτης κρυσταλλικότητας κάθε δείγματος. Ο δείκτης αυτός είναι πολύ σημαντικός και σχετίζεται άμεσα με την ενζυμική αποικοδόμηση καθώς αποτυπώνει το συνολικό βαθμό κρυσταλλικότητας της βιομάζας. Επηρεάζεται από τη δομική πολυπλοκότητά της, στην οποία η λιγνίνη και η ημικυτταρίνη είναι άμορφες, ενώ η κυτταρίνη κρυσταλλική και, έμμεσα, θα μπορούσε να δώσει μια εικόνα και για την άμορφη φάση της.

Ο δείκτης κρυσταλλικότητας υπολογίστηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που συστήνεται από τους Segal et al. [93], η οποία είναι γνωστή ως μέθοδος κορυφής ή μέθοδος Segal. Σύμφωνα με αυτή ο δείκτης υπολογίζεται από τη διαφορά μεταξύ του μέγιστου ύψους (το ύψος της κορυφής 200,  $I_{200}$ ) και του ελάχιστου ύψους που αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη περιοχή μεταξύ της κορυφής 110 και της 200 ( $I_{am}$  είναι η ένταση της κορυφής για  $2\theta=18$ ) και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$CrI (\%) = (I_{200} - I_{am}) / I_{200} * 100\%.$$

Σήμερα η μέθοδος κορυφής είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη για την αξιολόγηση του δείκτη σε λιγνοκυτταρινούχα υλικά, είτε έχει προηγηθεί προεπεξεργασία, είτε όχι, που προορίζονται για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

Στο παρακάτω σχήμα αποτυπώνονται τα XRD διαγράμματα που προέκυψαν από τη περίθλαση ακτίνων Χ για τα τρία δείγματα.



Σχήμα 7-13: Διαγράμματα XRD αρχικού, προεπεξεργασμένου και ενζυμικά υδρολυμένου δείγματος αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος.

Από τη μορφή των διαγραμμάτων παρατηρείται μία φαρδιά κορυφή γύρω από τις 22 μοίρες, η οποία εντοπίζεται τόσο στο αρχικό όσο και στο προεπεξεργασμένο με NaOH δείγμα, αλλά με μικρότερη ένταση. Στην περίπτωση του διαγράμματος που αντιστοιχεί στο ενζυμικά υδρολυμένο δείγμα, η κορυφή αυτή φαίνεται να έχει σχεδόν εξαφανιστεί. Όπως επιβεβαιώνεται από σχετικές μελέτες, η κορυφή αυτή αντιστοιχεί στην κρυσταλλική κυτταρίνη, η οποία δίνει μια έντονη κορυφή στη θέση  $2\theta=22$  [90].

Το αρχικό δείγμα της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος παρουσιάζει την εντονότερη κορυφή, καθώς σε αυτό η κρυσταλλική κυτταρίνη περιέχεται αυτούσια. Στο προεπεξεργασμένο δείγμα με 2% NaOH, εντοπίζεται η ίδια φαρδιά κορυφή αλλά με μικρότερη ένταση. Αυτό δικαιολογείται από το γεγονός ότι η προεπεξεργασία με NaOH, εκτός του ότι αποικοδόμησε το μεγαλύτερο ποσό της άμορφης λιγνίνης και ημικυτταρίνης που περιέχεται στο δείγμα, επέδρασε σε ένα βαθμό και στην κρυσταλλική κυτταρίνη. Στο διάγραμμα που αντιστοιχεί στο ενζυμικά υδρολυμένο δείγμα, η κορυφή αυτή έχει σχεδόν εξαφανιστεί, κάτι που επιβεβαιώνει την καταλυτική επίδραση του ενζύμου στην κυτταρινική δομή και υδρόλυσή της. Η προεπεξεργασία, επιδρώντας στην πολύπλοκη δομή της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης, κατέστησε την κυτταρίνη πιο προσβάσιμη ώστε τελικά αυτή να υδρολυθεί σε υψηλό ποσοστό στο τελικό στάδιο, προς μονομερή σάκχαρα. Έτσι δεν εντοπίζεται κρυσταλλική κυτταρίνη στο τελευταίο δείγμα.

Η διαφοροποίηση αυτή μεταξύ των στερεών αποτυπώνεται και στην Εικόνα 7-1, όπου παρουσιάζονται τα τρία στερεά που εξετάστηκαν, όπως παραλήφθηκαν από τα στάδια προεπεξεργασίας, ενζυμικής υδρόλυσης και αρχικής ξήρασης. Για την ανάλυση XRD τα στερεά αυτά κονιοροποιήθηκαν και ύστερα τοποθετήθηκαν στο δειγματοφορέα. Παρατηρήθηκε μια αισθητή διαφοροποίηση στη μορφή του στερεού που παραλήφθηκε από τα επιμέρους στάδια. Το στερεό της αρχικής ιλύος είχε ένα σκούρο καφέ χρώμα και χωματώδη μορφή, εκείνο που παραλήφθηκε μετά από την



Εικόνα 7-1: Τα τρία στερεά που χαρακτηρίστηκαν με περίθλαση ακτίνωνΧ, από αριστερά προς τα δεξιά ξηραμένη αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς, ξηραμένη ιλύς μετά από προεπεξεργασία με NaOH, ξηραμένη ιλύς μετά από ενζυμική υδρόλυση.

προεπεξεργασία είχε πιο ανοιχτό καφέ χρώμα, και τα περιεχόμενα θρύμματα αχύρου ήταν πιο εμφανή και τέλος, το στερεό ύστερα από την ενζυμική υδρόλυση είχε αλλάξει τελείως όψη. Είχε ένα σκούρο μαύρο χρώμα και πετρώδη μορφή. Η όψη του αχύρου, που ήταν εμφανής στα δύο προηγούμενα στερεά, μετά τη ενζυμική υδρόλυση φαίνεται να έχει εξαφανιστεί, δίνοντας μια εικόνα για την επίδραση που είχε το στάδιο της προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης στην αποικοδόμηση της κυτταρίνης. Η κρυσταλλική κυτταρίνη υδρόλύθηκε σε μεγάλο βαθμό, ώστε το μη κρυσταλλικό στερεό που παραλήφθηκε τελικά να διαφέρει και οπτικά από την αρχική και την προεπεξεργασμένη ιλύ, όπου ποσότητες κρυσταλλικής κυτταρίνης περιέχονταν ακόμη.

Οι δείκτες κρυσταλλικότητας που υπολογίστηκαν για κάθε δείγμα προέκυψαν 33,03% για το αρχικό δείγμα ιλύος, 31,63% για το προεπεξεργασμένο και 19,79% για το ενζυμικά υδρολυμένο δείγμα αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος. Ενώ σχηματικά παρατηρείται μία σημαντική επίδραση στην κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης, ήδη από το στάδιο της προεπεξεργασίας, αυτό δεν αποτυπώνεται στον υπολογισμένο βαθμό κρυσταλλικότητας. Αυτό αιτιολογείται από το γεγονός ότι η προεπεξεργασία, αφαίρεσε τις άμορφες δομές της λιγνίνης, της ημικυτταρίνης, και των ορισμένων άμορφων περιοχών της κυτταρίνης, αφήνοντας τελικά πιο εκτεθειμένη την κρυσταλλική κυτταρινική δομή. Αυτή αναλογικά με το συνολικό όγκο του υπό εξέταση υλικού είναι πιο εμφανής, ώστε να αντικατοπτρίζεται σε μία υψηλότερη τιμή δείκτη κρυσταλλικότητας. Αυτό επαληθεύεται από σχετική βιβλιογραφία [87]. Στις περισσότερες εξεταζόμενες περιπτώσεις, αρχικό δείγμα ξηρού αχύρου, που μελετήθηκε με περίθλαση ακτίνων Χ συγκριτικά με προεπεξεργασμένο, παρουσίαζε χαμηλότερο δείκτη κρυσταλλικότητας. Μετά την ενζυμική υδρόλυση ο δείκτης κρυσταλλικότητας φαίνεται να μειώνεται κατά ένα ποσοστό της τάξης του 10%, κάτι που επιβεβαιώνει την επίδραση της ενζυμικής υδρόλυσης στη διάσπαση των ινών κυτταρίνης και την αποικοδόμησή της προς σχηματισμό σακχάρων γλυκόζης.

Μελέτες XRD σε δείγματα ξηραμένου προεπεξεργασμένου και υδρολυμένου αχύρου επιβεβαιώνουν τις αντίστοιχες μετρήσεις. Οι Zheng et al. [87], εκτελώντας πειράματα σε άχυρο σίτου προ και μετά από προεπεξεργασία με NaOH 4% και ενζυμική υδρόλυση, κατέληξαν σε αντίστοιχους δείκτες κρυσταλλικότητας 61,84% για το προεπεξεργασμένο και 51,90% για το δείγμα ύστερα από ενζυμική υδρόλυση. Το αρχικό δείγμα είχε αρκετά χαμηλότερο δείκτη CrI (48,27%), αλλά αυτό οφείλεται στη διαφορετική μορφή που έχει το υπό εξέταση δείγμα. Στην περίπτωση της παρούσας έρευνας, η αναερόβια ιλύς επιδρά στη δομή του αχύρου, ώστε η προεπεξεργασία να μην εκθέτει το άχυρο στον ίδιο βαθμό.

## 7.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Το στάδιο της ζύμωσης προς παραγωγή αιθανόλης πραγματοποιήθηκε σε τελικό στάδιο, βάσει των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τις πειραματικές δοκιμές για τις διαφορετικές συνθήκες προεπεξεργασίας και ενζυμικής υδρόλυσης. Αποπειράθηκε ο προσδιορισμός της απόδοσης σε αιθανόλη, με χρήση των δειγμάτων, που βάσει της ανάλυσης που έγινε, παρουσίασαν τη μεγαλύτερη απόδοση σακχαροποίησης. Το πείραμα που παρείχε τη μέγιστη απελευθέρωση σακχάρων και συνεπώς επιλέχθηκε ως βάση για την παραγωγή αιθανόλης, ήταν το πείραμα B8, δηλαδή για αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 2%, αποστείρωση για 1.5h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 400 μL/g. Η ζύμωση για την παραγωγή αιθανόλης πραγματοποιήθηκε με προσθήκη 1% μαγιάς *Saccharomyces cerevisiae*.

Προετοιμάστηκαν 4 δείγματα, σύμφωνα με τη μεθοδολογία που αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 5 (5.3), τα οποία προεπεξεργάστηκαν αλκαλικά και υδρολύθηκαν με το ένζυμο CellicCTec2. Μετά την ενζυμική υδρόλυση, προστέθηκε η μαγιά και τα δείγματα αφήθηκαν για 24h υπό ήπια ανάδευση (175rpm) στους 32.5°C:

- 2 δείγματα της σειράς B8, στα οποία προστέθηκε η μαγιά αμέσως μετά την ενζυμική υδρόλυση.
- 2 δείγματα, τα οποία, μετά την ενζυμική υδρόλυση διαχωρίστηκαν σε ένα υγρό και ένα στερεό κλάσμα με διήθηση. Το υγρό που συλλέχθηκε είχε όγκο 7mL και αραιώθηκε σε τελικό όγκο 150mL με απιονισμένο νερό. Η μαγιά προστέθηκε στο υγρό αραιωμένο κλάσμα όγκου 150mL.

Η μέθοδος ανάλυσης της αιθανόλης που εφαρμόστηκε αναλύεται διεξοδικά στην παράγραφο 5.5.4 του Κεφαλαίου 6. Ακολούθως παρατίθενται τα αποτελέσματα της ανάλυσης.

Οι όγκοι των τιτλοδοτήσεων για κάθε δείγμα καταγράφηκαν και ανάχθηκαν σε mol τιτλοδοτή  $S_2O_3^{2-}$  συγκέντρωσης 0.03 mol/L. Η ποσότητα αυτή χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό των mol αιθανόλης βάσει της στοιχειομετρίας των αντιδράσεων της μεθόδου, η οποία υποδεικνύει ότι:

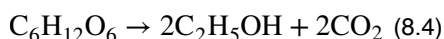
6mol  $S_2O_3^{2-}$  αντιστοιχούν σε 1 mol  $Cr_2O_7^{2-}$

2 mol  $Cr_2O_7^{2-}$  αντιστοιχούν σε 3 mol  $CH_3CH_2OH$

1 mol  $S_2O_3^{2-}$  αντιστοιχεί σε 1/4mol  $CH_3CH_2OH$

Η μάζα της αιθανόλης υπολογίστηκε για κάθε δείγμα σύμφωνα με τη σχέση  $n=m/Mr$  όπου n τα mol της αιθανόλης που υπολογίστηκαν και  $Mr=46$  το μοριακό βάρος της αιθανόλης. Η ποσότητα της αιθανόλης στα αρχικά δείγματα βιοαποβλήτου ήταν διπλάσια αυτής, καθώς τα δείγματα αραιώθηκαν με λόγο 1:2 (αραίωση  $D=2$ ).

Η τιμή αυτή συγκρίθηκε με την θεωρητικά αναμενόμενη παραγωγή αιθανόλης, σύμφωνα με την περιεκτικότητα σε γλυκόζη των υπό εξέταση δειγμάτων, σύμφωνα με την αντίδραση μετατροπής της γλυκόζης σε αιθανόλη:



Η απόδοση υπολογίζεται σύμφωνα με τη σχέση:

$$\%Απόδοση = \frac{M_{πειρ}}{M_{θεωρ}} * 100\% \quad (7.3)$$

Όπου  $M_{πειρ}$  η πειραματικά υπολογισμένη μάζα της αιθανόλης στο δείγμα

$M_{θεωρ}$  η θεωρητική υπολογισμένη μάζα της αιθανόλης στο δείγμα

Τα συνολικά αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 7-17 και τα δείγματα που λήφθηκαν μετά το πέρας των 24 ωρών προς ανάλυση της περιεχόμενης αιθανόλης απεικονίζονται στην Εικόνα 7-1.

Πίνακας 7-17: Αποτελέσματα πειραμάτων για τον προσδιορισμό της απόδοσης αιθανόλης.

A/A	Γλυκόζη (mg)	$CH_3CH_2OH$ πειραματική (mg)	Απόδοση %
1	953	393,3	82,5%
2	1056	424,4	80,8%
3	1041	545,1	89,3%
4	1012	614,1	93,5%



Εικόνα 7-2: Δείγματα που προετοιμάστηκαν για τον προσδιορισμό της αιθανόλης: αριστερά το τυφλό δείγμα και δεξιά δύο δείγματα με υδρολυμένο βιοαπόβλητο ύστερα από ζύμωση. Παρατηρείται ο χαρακτηριστικός πρασινωπός χρωματισμός του όξινου διχρωμικού διαλύματος στον πυθμένα του δοχείου, που αποδίδεται στην απορρόφηση της αιθανόλης και οξειδωσή

Αποδόσεις σε αιθανόλη υψηλότερες του θεωρητικού υποδηλώνουν ότι κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης προωθήθηκε περαιτέρω η σακχαροποίηση του στερεού υπολείμματος.

Οι Teater et al. [89], στη μελέτη τους, κατέληξαν σε επίσης υψηλές αποδόσεις σε αιθανόλη, ύστερα από την προεπεξεργασία αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος, από αναερόβιο χωνευτήρα που επεξεργαζόταν ζωικά απόβλητα. Πέτυχαν αποδόσεις της τάξης του 80,3%, με αντίστοιχη μετατροπή γλυκόζης 61,1%, που ήταν ανάλογα υψηλές, με αποδόσεις που προέκυψαν από την προεπεξεργασία και ενζυμική υδρόλυση κοινών υποστρωμάτων αγροτικής προέλευσης, που επίσης εξέτασαν συγκριτικά. Χαρακτηριστικά, τα υδρολύματα από υπολείμματα αραβόσιτου εξασφάλισαν απόδοση 83%, ενώ από switchgrass εξασφάλισαν απόδοση 78%. Ακόμη, οι Wang et al. [79], εκτελώντας πειράματα στο στερεό κλάσμα αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος από αναερόβιο χωνευτήρα αχύρου ρυζιού, με προεπεξεργασία με όζον και αμμωνία, εξασφάλισαν παραγωγή αιθανόλης με ζύμωση έως και 75,2% για υπόστρωμα με 7% σε στερεά και 74,8% για υπόστρωμα με 17% σε στερεά.

Λαμβάνοντας, λοιπόν, στα υπόψη, τόσο τα αποτελέσματα των σχετικών ερευνών που εξασφάλισαν υψηλές αποδόσεις συγκριτικά με τα κοινά χρησιμοποιούμενα υποστρώματα, όσο και τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, σύμφωνα με τα οποία εξασφαλίστηκε, για τις βέλτιστες συνθήκες προεπεξεργασίας, εξίσου υψηλή μετατροπή γλυκόζης 75,79% και απόδοση αιθανόλης 80,9%, μπορεί να επιβεβαιωθεί η καταλληλότητα του υποστρώματος για τη βιομετατροπή και παραγωγή αιθανόλης. Η αναερόβια σταθεροποιημένη ιλύς από την χώνευση αγροτικών υπολειμμάτων μπορεί να αποτελέσει ένα κατάλληλο υπόστρωμα για βιομετατροπή, με υψηλές αποδόσεις, που χρήζει εκτενέστερης έρευνας.

# 8

## ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ



## 8.1. ΤΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ 2<sup>3</sup>

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί παραγοντικός σχεδιασμός τριών επιπέδων.

Μελετήθηκε η επίδραση της ταυτόχρονης μεταβολής τριών παραγόντων σε ένα παρατηρούμενο μέγεθος, μέσω ενός γραμμικού μοντέλου. Οι παράγοντες που εξετάστηκαν ήταν:

- Ο χρόνος αποστείρωσης (ώρες)
- Η συγκέντρωση του NaOH (%) για την περίπτωση αλκαλικής προεπεξεργασίας και τη συγκέντρωση του H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%) για την περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας
- Η ποσότητα του ενζύμου (μL/g)

Ως μεταβλητή αριστοποίησης ορίστηκε η απόδοση της σακχαροποίησης SG%. Τα επίπεδα των παραγόντων επιλέχθηκαν βάσει προκαταρκτικών πειραμάτων και σχετικής βιβλιογραφίας, τα οποία δεν παρουσιάζονται. Στους παρακάτω πίνακες συνοψίζονται οι παράγοντες σχεδιασμού και τα επίπεδα αυτών, που επιλέχθηκαν για τα δύο πειράματα που διεξήχθησαν. Οι συγκεκριμένες συνθήκες για κάθε πείραμα και ο συνδυασμός των παραμέτρων προσδιορίζεται στο Κεφάλαιο 7 «πειραματικό πρωτόκολλο». Η επίδραση των τριών παραγόντων σχεδιασμού στις μεταβλητές απόκρισης προσδιορίστηκε με παραγοντικό πείραμα 2<sup>3</sup>. Με όλους τους δυνατούς συνδυασμούς πορέκυψαν 11 πειράματα, μεταξύ των 2 επιλεγμένων επιπέδων. Εκτελέστηκαν πρόσθετα 3 πειράματα στο κέντρο των παραγόντων, για τον υπολογισμό του πειραματικού σφάλματος κάθε σειράς πειραμάτων.

Πίνακας 8-1: Μήτρα σχεδιασμού πειράματος

α/α πειράμα τος	παράγοντας σχεδιασμού		
	Χρόνος αποστείρωσης (h)	NaOH	CellicCT ec2
1	1	1	1
2	-1	1	1
3	1	-1	1
4	-1	-1	1
5	1	1	-1
6	-1	1	-1
7	1	-1	-1
8	-1	-1	-1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0



## 8.2 ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΛΚΑΛΙΚΗΣ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ NaOH

Για να εξαχθεί, με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια, το μοντέλο της πειραματικής διαδικασίας, πρέπει προηγουμένως να γίνουν επιμέρους υπολογισμοί και να εξεταστεί η τήρηση ορισμένων κριτηρίων ομοιογένειας. Τα βήματα που ακολουθούνται για το σκοπό αυτό αναλύονται διαδοχικά ακολούθως. Στον Πίνακα 8.2 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα της πρώτης σειράς πειραμάτων για την αλκαλική προεπεξεργασία με τα ποσοστά σακχαροποίησης που εξασφάλισαν. Τα αποτελέσματα αυτά θα ομαδοποιηθούν και επεξεργαστούν καταλλήλως, ώστε να περιγραφεί ικανοποιητικά το μοντέλο.

Πίνακας 8-2: Δευτερογενή αποτελέσματα αλκαλικής προεπεξεργασίας αναερόβιας

Πείραμα	Χρόνος αποστείρωσης (h)	NaOH (%)	CellicCTec2 (μL/g)	% απόδοση σακχαροποίησης
11	1	2	100	47,49
12	1	2	100	37,12
13	1,5	4	100	55,65
14	1,5	4	100	56,4
15	1	4	100	19,65
16	1	4	100	42,82
17	1,5	2	100	64,14
18	1,5	2	100	58,45
19	1	2	400	58,7
20	1	2	400	64,58
21	1,5	4	400	64,6
22	1,5	4	400	66,01
23	1	4	400	55,05
24	1	4	400	54,07
25	1,5	2	400	75,79
26	1,5	2	400	66,56
27	1,25	3	250	58,25
28	1,25	3	250	63,89
29	1,25	3	250	62,32
30	1,25	3	250	55,44

Ήδη από μία πρώτη επισκόπηση των αποτελεσμάτων, εντοπίζεται μία ικανοποιητική απόδοση σακχαροποίησης, με το βέλτιστο συνδυασμό συνθηκών να περιγράφεται από το πείραμα 25, δηλαδή για χρόνο αποστείρωσης 1,5h, συγκέντρωση NaOH 2% και ποσότητα ενζύμου 400 μL/g.

### 8.2.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΥ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ

Από την επεξεργασία των πρωτογενών μετρήσεων προέκυψαν, οι αποδόσεις της σακχαροποίησης για τους διάφορους συνδυασμούς των παραμέτρων που εξετάστηκαν, για τα δύο διαφορετικά σενάρια, της αλκαλικής και της όξινης προεπεξεργασίας, με ακόλουθη ενζυμική υδρόλυση. Για τον ακριβή προσδιορισμό του μοντέλου, που περιγράφει την πειραματική διαδικασία είναι απαραίτητη η εκτίμηση του τυπικού σφάλματος των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν καθώς επίσης και ο έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων αυτών.

Αρχικά από το σύνολο των πειραματικών μετρήσεων που λήφθηκαν, για το χαμηλό, το υψηλό επίπεδο και το κέντρο, υπολογίζεται η μέση τιμή και η διακύμανση.

Η μέση τιμή για κάθε πείραμα δίνεται από τη σχέση:

$$\bar{Y} = \frac{\sum_i^N Y_i}{n} \quad (8.1)$$

όπου  $Y_i$  η απόδοση κάθε δοκιμής

$N$  ο αριθμός των επαναλήψεων σε κάθε πείραμα

Η διακύμανση της κάθε παραμέτρου αριστοποίησης δίνεται από τη σχέση:

$$s_i^2 = \frac{\sum_1^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n - 1} \quad (8.2)$$

όπου  $n$  ο αριθμός των επαναλήψεων κάθε πειράματος

( $n=2$  για τα άκρα και  $n=4$  για το κέντρο)

Η συνολική διακύμανση, για όλες τις μετρήσεις του σχεδιασμού που έχουν επιμέρους επαναλήψεις, και είναι πιο έγκυρη επισημαίνοντας και τα μεγάλα σφάλματα, θα δίνεται από τη σχέση:

$$s_Y^2 = \frac{\sum_i^m f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (8.3)$$

όπου  $S_i^2$  κάθε μια από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού

$f_i$  οι αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας κάθε πειράματος

Οι βαθμοί ελευθερίας του συστήματος θα δίνονται από τη σχέση

$$f = N - (k + 1) \quad (8.4)$$

όπου  $N$  ο αριθμός των δοκιμών του παραγοντικού σχεδιασμού (εδώ  $N=8$ ) και  $k$  ο αριθμός των ρυθμιστικών παραμέτρων (εδώ  $k=3$ ).

Έτσι, για το δεδομένο σύστημα οι βαθμοί ελευθερίας υπολογίζονται  $f = 8 - (3 + 1)$ , δηλαδή  $f=4$ .

Οι βαθμοί ελευθερίας των επαναλήψεων μιας μέτρησης ισούται με το πλήθος των επαναλήψεων μείον ένα. Στην υπό μελέτη περίπτωση, για κάθε πείραμα πραγματοποιούνται δύο επαναλήψεις και συνεπώς  $f=1$ , εκτός του κέντρου όπου πραγματοποιούνται τέσσερις και συνεπώς  $f=3$ .

Από τους επιμέρους υπολογισμούς για κάθε πείραμα, κατασκευάζεται ο Πίνακας 8.2 στον οποίο αναγράφονται, ο αριθμός της επανάληψης (1<sup>η</sup> στήλη), η μετρούμενη απόκριση αυτής (2<sup>η</sup> στήλη), η μέση τιμή των αποκρίσεων για κάθε πείραμα (3<sup>η</sup> στήλη) και οι διακυμάνσεις αυτών (4<sup>η</sup> στήλη). Στην τελευταία στήλη επισημαίνονται οι επιμέρους βαθμοί ελευθερίας κάθε επανάληψης.

Πίνακας 8-3: Επεξεργασία αποτελεσμάτων παραγοντικού σχεδιασμού για τον υπολογισμό του στατιστικού σφάλματος των μετρήσεων.

Αριθμός επανάληψης	% απόδοση σακχαροποίησης	$\bar{Y}_i$	$s_i^2$	$f_i$
11	47,49	42,305	53,76845	1
12	37,12			
13	55,65	56,025	0,28125	1
14	56,4			
15	19,65	31,235	268,4245	1
16	42,82			
17	64,14	61,295	16,18805	1
18	58,45			
19	58,7	61,64	17,2872	1
20	64,58			
21	64,6	65,305	0,99405	1
22	66,01			
23	55,05	54,56	0,4802	1
24	54,07			
25	75,79	71,175	42,59645	1
26	66,56			
27	58,25	59,975	14,78937	3
28	63,89			
29	62,32			
30	55,44			
Συνολικά				11

Από όπου, προκύπτει  $s_Y^2 = 40,4$  για συνολικά 11 βαθμούς ελευθερίας.

Η τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα, υπολογίζεται σύμφωνα με τη σχέση:

$$s = \sqrt{s_Y^2} = \sqrt{40,4} = 6,36 \quad (8.5)$$

### 8.2.2 ΚΡΙΤΗΡΙΟ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΣΠΟΡΩΝ

Στη συνέχεια εξετάζεται η ομοιογένεια των διασπορών, με το κριτήριο Cochran. Αν οι διασπορές δεν είναι ομοιογενείς υπάρχει κίνδυνος εξαγωγή εσφαλμένων συμπερασμάτων. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται και το κριτήριο Fischer, το οποίο ωστόσο ενδείκνυται για τη σύγκριση δύο διακυμάνσεων. Στην εξεταζόμενη περίπτωση, όπου τίθενται προς σύγκριση περισσότερες διακυμάνσεις, με ίδιο αριθμό επαναλήψεων, μεταξύ των οποίων υπάρχει και διαφορά μεγέθους, το κριτήριο Cochran κρίνεται ως καταλληλότερο. Στον υπολογισμό που ακολουθεί δεν λαμβάνονται στα υπόψη οι τιμές του κέντρου.

Το κριτήριο του Cochran είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης, προς το άθροισμα των υπόλοιπων διακυμάνσεων και δίνεται από την σχέση:

$$G = \frac{s_{\max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad (8.6)$$

όπου  $s_{\max}^2$  η μεγαλύτερη διακύμανση  
 $s_i^2$  η τιμή κάθε επιμέρους διακύμανσης

Έτσι, προκύπτει  $G = 0,67$ .

Η ομοιογένεια εξασφαλίζεται όταν η τιμή  $G$  που υπολογίστηκε, είναι μικρότερη από την τιμή  $G_{\text{tab}}$  του πίνακα Cochran (παράτιθεται ακολούθως στον Πίνακα 8.3), η οποία βρίσκεται από τον βαθμό ελευθεριών του συστήματος και τον αριθμό των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν.

Πίνακας 8-4: Τιμές Corhan Gtab με 95% στατιστική σημαντικότητα

N	f=ni-1							
	1	2	3	4	5	6	7	8
2	0,999	0,975	0,939	0,906	0,877	0,853	0,833	0,816
3	0,967	0,871	0,798	0,746	0,707	0,677	0,653	0,633
4	0,907	0,768	0,684	0,629	0,590	0,560	0,637	0,518
5	0,841	0,684	0,598	0,544	0,507	0,478	0,456	0,439
6	0,781	0,616	0,532	0,480	0,445	0,418	0,398	0,383
7	0,727	0,561	0,480	0,431	0,397	0,373	0,354	0,338
8	0,680	0,516	0,438	0,391	0,360	0,336	0,319	0,304

Στη συγκεκριμένη περίπτωση, για f=1 βαθμό ελευθερίας κάθε μέτρησης και για συνολικά N=8 δοκιμές, προκύπτει η τιμή Gtab=0,68. Επαληθεύεται το κριτήριο Corhan  $G < G_{tab}$  και συνεπώς, οι διασπορές είναι ομοιογενείς και μπορούμε να προχωρήσουμε στην επεξεργασία των δεδομένων για την εξαγωγή του μοντέλου.

### 8.2.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού ενός πειράματος  $2^3$  είναι η εκτίμηση των συντελεστών του γραμμικού μοντέλου που έχει τη μορφή:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 \quad (8.7)$$

Όπου  $X_1, X_2, X_3$  οι παράγοντες σχεδιασμού  $b_1, b_2, b_3$  οι αντίστοιχοι συντελεστές τους και  $b_0$  ένας σταθερός όρος που εκφράζει το μέσο όρο των πειραματικών μετρήσεων.

Οι συντελεστές υπολογίζονται βάσει του τύπου:

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N X_{ij} X_i}{N} \quad (8.8)$$

όπου  $j$  ο αριθμός των παραγόντων (1,2,3)

$i$  ο αριθμός των πειραμάτων (1,2,3,...,8)

$N$  οι δοκιμές (εδώ  $N=8$ )

$X_j$  ο παράγοντας

Οι συντελεστές των ενδοδράσεων προσδιορίζονται μέσω της σχέσης:

$$b_{uj} = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i X_{ui} X_{ji}}{N} \quad (8.9)$$

όπου  $u$  ο αριθμός παράγοντα (1,2,3)

$j$  ο αριθμός παράγοντα 1,2,3, ( $u \neq j$ )

$i$  ο αριθμός των πειραμάτων (1,2,3,...,8)

$Y_i$  η παράμετρος αριστοποίησης (% απόδοση σακχαροποίησης)

Στον πίνακα 8.5 παρουσιάζεται ο αναλυτικός σχεδιασμός των πειραμάτων, μαζί με τις ενδοδράσεις που αναπτύσσονται από την αλληλεπίδραση των επιμέρους παραγόντων μεταξύ τους. Οι παράμετροι είναι κωδικοποιημένες με τιμές -1 και 1 που αντιπροσωπεύουν το χαμηλό και το υψηλό επίπεδο, αντίστοιχα, των τιμών που λαμβάνουν. Στον Πίνακα 8.6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα επεξεργασίας του παραγοντικού σχεδιασμού για την ίδια περίπτωση, και η αναλυτική μεθοδολογία εύρεσης της τιμής των συντελεστών.

Πίνακας 8.-5: Επεξεργασία των αποτελεσμάτων παραγοντικού σχεδιασμού για την αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH

πείραμα					Στήλες ενδοδράσεων				% απόδοση σακχαροποίησης
	$X_0$	Χρόνος αποστείρωσης (h)	NaOH %	CellicCTEc 2 (μL/g)	$X_1X_2$	$X_1X_3$	$X_2X_3$	$X_1X_2X_3$	
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	42,31
2	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	56,03
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	31,24
4	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	61,30
5	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	61,65
6	1	1	1	1	1	1	1	1	65,31
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	54,57
8	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	71,18

Πίνακας 8-6:: Επεξεργασία των αποτελεσμάτων παραγοντικού σχεδιασμού για την αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH, εύρεση παραγόντων γραμμικών και μη γραμμικών.

Πείραμα	Y (exp)	Y*X1	Y*X2	Y*X3	Y*X1*X2	Y*X1*X3	Y*X2*X3	Y*X1*X2*X3
1	42,31	-42	42	-42	42	42	42	-42
2	56,03	56	56	-56	56	-56	-56	-56
3	31,24	-31,5	-31,5	-31,5	-31,5	31,5	-31,5	31,5
4	61,30	61	-61	-61	-61	-61	61	61
5	61,65	-62	62	62	62	-62	-62	62
6	65,31	65,5	65,5	65,5	65,5	65,5	65,5	65,5
7	54,57	-54,5	-54,5	54,5	-54,5	-54,5	54,5	-54,5
8	71,18	71,5	-71,5	71,5	-71,5	71,5	-71,5	-71,5
bi	55,45	8,01	-3,5	7,73	0,75	-2,75	0,25	-0,5

Οι συντελεστές όπως προέκυψαν από την παραπάνω διαδικασία συνοψίζονται στον Πίνακα 8.6. Όσο μεγαλύτερος αριθμητικά είναι ένας συντελεστής, τόσο περισσότερο επηρεάζει τον παράγοντα. Το πρόσημό τους υποδεικνύει την επίδραση που θα έχουν στη μεταβολή της τιμής του παράγοντα και κατά συνέπεια της παραμέτρου αριστοποίησης. Θετικό πρόσημο υποδεικνύει αύξηση στην τιμή του παράγοντα και αύξηση της παραμέτρου αριστοποίησης, ενώ το αντίθετο συμβαίνει όταν ο παράγοντας έχει αρνητικό πρόσημο. Η τιμή του συντελεστή αντιστοιχεί στη συνεισφορά που έχει ο παράγοντας στην τιμή της παραμέτρου αριστοποίησης, καθώς αυτός περνά από το επίπεδο μηδέν, στο -1 ή στο +1 επίπεδο. Θα ακολουθήσει λεπτομερής έλεγχος της σημαντικότητας των συντελεστών, ώστε να προσδιορισθεί επαρκώς το μοντέλο του συστήματος.

Πίνακας 8.7: Υπολογισμένοι συντελεστές μοντέλου παραγοντικού σχεδιασμού για την αλκαλική προεπεξεργασία

Συντελεστές	
bo	55,45
b1	8,01
b2	-3,5
b3	7,73
b12	0,75
b13	-2,75
b23	0,25
b123	-0,5

## 8.2.4 ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ

Στο σημείο αυτό υπολογίζεται η σημαντικότητα των συντελεστών, γραμμικών και μη γραμμικών. Η σημαντικότητα καθενός από αυτούς ελέγχεται χωριστά, με χρήση του κριτηρίου student-t με τη μέθοδο που αναλύεται ακολούθως.

Υπολογίζεται πρώτα η διασπορά των γραμμικών συντελεστών σύμφωνα με τη σχέση:

$$S_b^2 = \frac{S_Y^2}{N} \quad (8.10)$$

όπου  $sy^2 = 40,4$

$N=8$ , ο αριθμός των δοκιμών.

Υπολογίζεται  $S_b^2 = 5,05$ .

Η σημαντικότητά τους θα ελεγχθεί βάσει ενός διαστήματος εμπιστοσύνης, με το οποίο θα συγκριθούν. Το διάστημα αυτό υπολογίζεται με τη βοήθεια του Πίνακα t-student (Πίνακας 9.7) με στατιστική σημαντικότητα 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας του συστήματος. Για να είναι ένας συντελεστής σημαντικός, θα πρέπει η τιμή του, κατά απόλυτη τιμή, να είναι μεγαλύτερη του διαστήματος εμπιστοσύνης  $\Delta b$ , δηλαδή να ισχύει  $|b| > \Delta b$ . Το  $\Delta b$  υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\Delta b = t * S_b^{1/2} \quad (8.11)$$

όπου  $S_b^2$  η διασπορά των συντελεστών που υπολογίστηκε παραπάνω

$t$  η τιμή του πίνακα student με κατανομή σημαντότητας 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της  $S_y$ , εδώ  $f=11$ .



Πίνακας 8-8: Τιμές κατανομής t-student για επίπεδο σημαντικότητας 95%.

f	t.95
1	6,31
2	2,92
3	2,35
4	2,13
5	2,02
6	1,94
7	1,90
8	1,86
9	1,83
10	1,81
11	1,80

Έτσι υπολογίζονται:

$t=1,80$  και  $s_b^2=5,05$  και τελικά το διάστημα  $\Delta b= 4,04$ .

Εξετάζεται η συμφωνία με την προϋπόθεση  $|b| > \Delta b$  για σημαντικότητα των συντελεστών, σύμφωνα με την οποία κάθε συντελεστής για τον οποίο ισχύει  $|b| > 4,04$ , είναι σημαντικός και πρέπει να συμπεριληφθεί στην περιγραφή του μοντέλου του πειράματος. Έτσι, για τις τιμές των συντελεστών που παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.5, προκύπτουν σημαντικοί οι συντελεστές  $b_0$ ,  $b_1$  και  $b_3$ , με τους δύο τελευταίους να αντιπροσωπεύουν το χρόνο της αποστείρωσης και την συγκέντρωση του ενζύμου υδρόλυσης, αντίστοιχα. Με τα δεδομένα αυτά, το γραμμικό μοντέλο αριστοποίησης εκφράζεται από τη γραμμική σχέση:

$$Y= 55,45+8,01 \cdot X_1+7,73 \cdot X_3 \quad (8.12)$$

## 8.2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΓΡΑΜΜΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Για τον έλεγχο της επάρκειας του μοντέλου εφαρμόζεται το κριτήριο Fischer, σύμφωνα με το οποίο υπολογίζεται ο λόγος:

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2} \quad (8.13)$$

Για να είναι ένα σύστημα επαρκές θα πρέπει ο λόγος αυτός να είναι μικρότερος της αντίστοιχης τιμής που προκύπτει από τον πίνακα τιμών λόγου Fisher, για 95% στατιστική σημαντικότητα. Ο λόγος αυτός πρέπει να ακολουθεί την κατανομή -F με επίπεδο σημαντικότητας 5%.

Ως  $s_{ad}^2$  ορίζεται η διασπορά της επάρκειας, σύμφωνα με τη σχέση:

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - \hat{Y})^2}{f} \quad (8.14)$$

όπου $Y_i$	η πειραματική τιμή της $i$ δοκιμής
$\hat{Y}$	η τιμή της $i$ δοκιμής που υπολογίζεται από την γραμμική σχέση που προσδιορίστηκε με χρήση μόνο των γραμμικών δράσεων (οι ενδοδράσεις αποκλείονται)
$f$	βαθμός ελευθερίας του συστήματος $f=4$ .

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα που συλλέχθηκαν, η διασπορά αυτή υπολογίζεται από τα δεδομένα του Πίνακα 8-9 που παρατίθεται ακολούθως και για  $f=4$  ίση με  $s_{ad}^2 = 16,47$ .

Πίνακας 8-9: Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού για τον προσδιορισμό της διασποράς της επάρκειας του μοντέλου.

	Y	Y <sup>^</sup>	(Y-Y <sup>^</sup> ) <sup>2</sup>
1	42,31	43,375	1,134225
2	56,03	52,065	15,72123
3	31,24	36,0525	23,16016
4	61,3	59,3875	3,657656
5	61,65	58,8325	7,938306
6	65,31	67,5225	4,895156
7	54,57	51,51	9,3636
8	71,18	74,845	13,43223
Σύνολο			65,87

Οι δύο όροι του κλάσματος  $F$  έχουν διαφορετικούς βαθμούς ελευθερίας, που είναι αντίστοιχα  $f=4$  για τον αριθμητή και  $f=11$  για τον παρονομαστή. Υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες, ο πειραματικός λόγος υπολογίζεται  $F=0,41$ . Από τον πίνακα τιμών λόγου Fischer (με 95% στατιστική σημαντικότητα), λαμβάνεται η αντίστοιχη τιμή του  $F_{tab}=3,36$ .

Σύμφωνα με το κριτήριο επάρκειας Fischer, και καθώς προκύπτει:

$$F(0,41) < F_{tab}(=3,36)$$

το γραμμικό μοντέλο που εξήχθη  $Y=55,45+8,01 \cdot X_1+7,73 \cdot X_3$  (εξ. 9.12) κρίνεται επαρκές.

Το πλήρες μοντέλο, με ενσωματωμένες τις τιμές των παραγόντων που εξετάστηκαν και κρίθηκαν σημαντικοί, δηλαδή του χρόνου αποστείρωσης ( $X_1$ ) και της συγκέντρωσης του ενζύμου ( $X_3$ ) παίρνει τη μορφή:

$$SG_{NaOH} = 2,517 + 32,04 \cdot t_{autoclave} + 0,052 \cdot C_{enz} \quad (8.15)$$

Στον παρακάτω πίνακα αποτυπώνεται η διαδικασία υπολογισμού των καινούριων μεταβλητών των παραγόντων για την τελική έκφραση του μοντέλου που παρουσιάζεται με την εξίσωση 9.15. Αυτή πραγματοποιήθηκε βάσει των τιμών του κέντρου που παίρνουν οι δύο σημαντικοί παράγοντες, ο χρόνος της αποστείρωσης  $X_1$  και η συγκέντρωση του ενζύμου  $X_3$ , και του βήματος που απέχουν από τις δύο ακραίες τιμές του υψηλού και του χαμηλού επιπέδου.

Από τη μορφή που έχει η σχέση 8.15 συμπεραίνουμε ότι η απόκριση του συστήματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διάρκεια του χρόνου αποστείρωσης. Η ποσότητα του ενζύμου συμβάλλει επίσης στην τελική τιμή, ενώ η συγκέντρωση του αντιδραστηρίου NaOH, που χρησιμοποιήθηκε δε φαίνεται να επηρεάζει την τελική απόδοση της σακχαροποίησης. Μία αύξηση και των δύο παραμέτρων θα επιφέρει αύξηση της απόδοσης της σακχαροποίησης, η οποία ωστόσο είναι αισθητά πιο σημαντική για την μεταβολή της πρώτης παραμέτρου που εξετάστηκε, δηλαδή του χρόνου αποστείρωσης.

Πίνακας 8-10: Διαδικασία υπολογισμού συντελεστών των παραμέτρων του τελικού μοντέλου που περιγράφει το πείραμα της αλκαλικής προεπεξεργασίας.

	b0	b1	b3
$b_i$ υπολογισμένο	55,45	8,01	7,73
Παράγοντας X		Χρόνος αποστείρωσης ( $t_{autoclave}, h$ )	$C_{enz}$ ( $\mu L/g$ )
Τιμή κέντρου		1,25	250
Βήμα		0,25	150
$b_i' = -b_i \cdot (T_{κέντρο} / T_{βήμα})$		-40,05	-12,83
$b_{tel}$	$B_0+B'_1+B'_3$	$B_1/\beta_{ήμα}$	$B_3/\beta_{ήμα}$
	2,517	32,04	0,052

### 8.3 ΜΟΝΤΕΛΑ ΠΡΟΒΛΕΨΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ ΓΙΑ ΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΟΞΙΝΗΣ ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΜΕ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Από την επεξεργασία των πρωτογενών πειραματικών αποτελεσμάτων, κατασκευάζεται ο Πίνακας 9.9 που παρέχει μια συγκεντρωτική εικόνα της αποτελεσματικότητας του πειράματος, για τα διάφορα επίπεδα των παραμέτρων που εξετάστηκαν και τους επιμέρους συνδυασμούς τους.

Πίνακας 8-11: Δευτερογενή αποτελέσματα παραγοντικού πειράματος όξινης προεπεξεργασίας αναερόβας χωνευμένης ιλύος

Πείραμα	Χρόνος αποστείρωσης (h)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	CellicCTe c2 (μL/g)	% απόδοση σακχαροποίησης
11	1	1	100	0,21
12	1	1	100	6,02
13	1,5	3	100	30,57
14	1,5	3	100	19,56
15	1	3	100	22,48
16	1	3	100	19,01
17	1,5	1	100	8,75
18	1,5	1	100	6,39
19	1	1	400	12,59
20	1	1	400	13,94
21	1,5	3	400	35,57
22	1,5	3	400	38,60
23	1	3	400	31,56
24	1	3	400	32,76
25	1,5	1	400	13,86
26	1,5	1	400	1,53
27	1,25	2	250	12,11
28	1,25	2	250	11,34
29	1,25	2	250	10,81
30	1,25	2	250	10,17

Η διεργασία όξινης προεπεξεργασίας φαίνεται να παρουσιάζει αρκετά χαμηλότερες αποδόσεις σακχαροποίησης συγκριτικά με εκείνη της αλακτικής προεπεξεργασίας. Χαρακτηριστικά επισημαίνεται ο συνδυασμός των

συνθηκών που παρέχει το μέγιστο ποσοστό απόδοσης σακχαροποίησης, και το οποίο ανέρχεται στο 38,60% αισθητά χαμηλότερο από το αντίστοιχο μέγιστο της αλκαλικής μεθόδου που είναι 75,79%.

Στις επόμενες παραγράφους θα εξηγηθεί η διαδικασία προσδιορισμού του μοντέλου της συγκεκριμένης πειραματικής διαδικασίας, και θα αξιολογηθεί ως προς την επάρκειά του. Τα βήματα της επεξεργασίας των αποτελεσμάτων είναι παρόμοια με εκείνα που αναλύθηκαν στο υποκεφάλαιο 8.1, της αλκαλικής προεπεξεργασίας.

### 8.3.1 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΥ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ

Υπολογίζονται οι μέσες τιμές των παραμέτρων αριστοποίησης  $\bar{Y}_i$  που λήφθηκαν από τις πειραματικές μετρήσεις, οι διακυμάνσεις αυτών  $s_i^2$  και η συνολική διακύμανσή τους  $s_Y^2$  σύμφωνα με τις σχέσεις 8.1, 8.2 και 8.3 αντίστοιχα, που περιγράφονται στο υποκεφάλαιο 8.1.1. Οι βαθμός ελευθερίας κάθε επανάληψης ισούται με τον αριθμό των επαναλήψεων μείον 1, και ισούται με  $f=2-1=1$  για τις μετρήσεις του υψηλού και του χαμηλού επιπέδου και με  $f=4-1=3$  για τα πειράματα του κέντρου. Για τον υπολογισμό της συνολικής διακύμανσης χρησιμοποιείται ο το άθροισμα των βαθμών ελευθερίας των πειραμάτων, που ισούται με  $f=11$ . Έτσι συντάσσεται ο πίνακας και υπολογίζεται η τιμή του τυπικού σφάλματος.

Πίνακας 8-12: Επεξεργασία αποτελεσμάτων παραγοντικού σχεδιασμού για τον υπολογισμό του στατιστικού σφάλματος των μετρήσεων (όξινη προεπεξεργασία).

Αριθμός επανάληψης	% απόδοση σακχαροποίησης	$\bar{Y}_i$	$s_i^2$	$f_i$
11	0,21	3,11	16,88	1
12	6,02			
13	30,57	25,06	60,61	1
14	19,56			
15	22,48	20,75	6,02	1
16	19,01			
17	8,75	7,75	2,78	1
18	6,39			
19	12,59	13,26	0,91	1
20	13,94			
21	35,57	37,09	4,59	1
22	38,60			
23	31,56	32,16	0,72	1
24	32,76			
25	13,86	7,7	76,01	1
26	1,53			
27	12,11	11,11	0,68	3
28	11,34			
29	10,81			
30	10,17			
Συνολικά				11

Από όπου, προκύπτει  $s_Y^2 = 15,51$  για συνολικά 11 βαθμούς ελευθερίας.

Η τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα, υπολογίζεται σύμφωνα με τη σχέση (8.5)  $s = \sqrt{s_Y^2} = \sqrt{15,51} = 3,9$

### 8.3.2 ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΩΝ ΔΙΑΣΠΟΡΩΝ

Όμοια με τη μεθοδολογία που περιγράφηκε στο υποκεφάλαιο 8.1.1 ελέγχεται η ομοιογένεια των διασπορών,

σύμφωνα με το κριτήριο Cochran. Από τη σχέση 8.6 υπολογίζεται ο λόγος  $G = \frac{s_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} = \frac{60,61}{168,53} = 0,36$

Η τιμή του  $G_{tab}$  λαμβάνεται με όμοιο τρόπο από τον Πίνακα 8.3 για  $f=1$  κάθε δοκιμής και συνολικό  $N=8$ , χωρίς να συνυπολογίζει τις μετρήσεις του κέντρου. Έτσι  $G_{tab}=0,68$  και συνεπώς ικανοποιείται το κριτήριο Cochran για ομοιογένεια των διακυμάνσεων εφόσον  $G=0,36 < G_{tab}0,68$ .

### 8.3.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού και του συγκεκριμένου παραγοντικού πειράματος  $2^3$  είναι ο προσδιορισμός του γραμμικού μοντέλου  $Y=b_0+ b_1x_1+ b_2x_2+ b_3x_3$  με την εύρεση των συντελεστών του. Με τη χρήση των σχέσεων 8.8 και 8.9 υπολογίζονται τα επιμέρους αθροίσματα και γινόμενα των παραγόντων, και τελικά προσδιορίζονται όλοι οι συντελεστές, συμπεριλαμβανομένων και των ενδοδράσεων. Ο αναλυτικός σχεδιασμός του πειράματος, με τις κωδικοποιημένες τιμές των παραγόντων και τις επιμέρους αλληλεπιδράσεις, παρουσιάζεται στον Πίνακα 8-13.

Πίνακας 8.13: Επεξεργασία των αποτελεσμάτων παραγοντικού σχεδιασμού για την όξινη προεπεξεργασία με  $H_2SO_4$

πειράμα	Χρόνος αποστείρωσης (h)				H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> %	CellicCTEc 2 (μL/g)	Στήλες ενδοράσεων				% απόδοση σακχαροποίησης
	X0	X1	X2	X3			X1X2	X1X3	X2X3	X1X2X3	
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	3,11		
2	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	25,06		
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	20,75		
4	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	7,75		
5	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	13,26		
6	1	1	1	1	1	1	1	1	37,09		
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	32,16		
8	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	7,7		

Πίνακας 8.14: Επεξεργασία των αποτελεσμάτων παραγοντικού σχεδιασμού για την όξινη προεπεξεργασία με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, εύρεση παραγόντων γραμμικών και μη γραμμικών.

Πείραμα	Y (exp)	Y*X1	Y*X2	Y*X3	Y*X1*X2	Y*X1*X3	Y*X2*X3	Y*X1*X2*X3
1	3,11	-3,11	-3,11	-3,11	3,11	3,11	3,11	-3,11
2	25,06	25,06	25,06	-25,06	25,06	-25,06	-25,06	-25,06
3	20,75	-20,75	20,75	-20,75	-20,75	20,75	-20,75	20,75
4	7,75	7,75	-7,75	-7,75	-7,75	-7,75	7,75	7,75
5	13,26	-13,26	-13,26	13,26	13,26	-13,26	-13,26	13,26
6	37,09	37,09	37,09	37,09	37,09	37,09	37,09	37,09
7	32,16	-32,16	32,16	32,16	-32,16	-32,16	32,16	-32,16
8	7,7	7,7	-7,7	7,7	-7,7	7,7	-7,7	-7,7
bi	18,36	1,04	10,41	4,19	1,27	-1,19	1,67	1,35

### 8.3.4 ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ

Ελέγχεται η σημαντικότητα των συντελεστών με τη βοήθεια του Πίνακα t-student (Πίνακας 8.7) και στατιστική σημαντικότητα 95%, για f=11 βαθμούς ελευθερίας (ίδιοι βαθμοί ελευθερίας με την SY). Από τον Πίνακα 8.7 λαμβάνεται η τιμή t=1,80 και υπολογίζεται το διάστημα εμπιστοσύνης  $\Delta b = t * S_b^{1/2}$  σύμφωνα με τη σχέση 8.11.

Η διασπορά των συντελεστών υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση 8.10 ίση με  $S_b^2 = 1,94$ .

Τελικά προκύπτει  $\Delta b = 4,05$ .

Για να είναι ένα συντελεστής σημαντικός πρέπει να ικανοποιείται η συνθήκη  $|b_{il}| > \Delta b$ . Στον Πίνακα συνοψίζονται οι τιμές των συντελεστών που υπολογίστηκαν και επισημαίνεται η σημαντικότητά τους.

Πίνακας 8-15: Υπολογισμένοι συντελεστές μοντέλου για την όξινη προεπεξεργασία και η σημαντικότητά τους.

Συντελεστής	Τιμή	
b <sub>0</sub>	18,36	Σημαντικός
b <sub>1</sub>	1,04	Μη σημαντικός
b <sub>2</sub>	10,41	Σημαντικός
b <sub>3</sub>	4,19	Σημαντικός
b <sub>12</sub>	1,27	Μη σημαντικοί
b <sub>13</sub>	-1,19	
b <sub>23</sub>	1,67	
b <sub>123</sub>	1,35	Μη σημαντικοί

Με τα δεδομένα αυτά, το γραμμικό μοντέλο αριστοποίησης εκφράζεται από τη γραμμική σχέση:

$$Y = 18,36 + 10,41 \cdot X_2 + 4,19 \cdot X_3 \quad (8.16)$$

### 8.3.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Ακολουθεί έλεγχος της επάρκειας του γραμμικού μοντέλου που προσδιορίστηκε, σύμφωνα με το κριτήριο Fischer. Έτσι, με την ίδια μεθοδολογία όπως και στην παράγραφο 8.2 υπολογίζεται ο λόγος Fischer  $F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2}$  σύμφωνα με τις τιμές  $s_{ad}^2$  και  $s_y^2$ . Για τον υπολογισμό της διασποράς επάρκειας  $s_{ad}^2$  κατασκευάστηκε ο ακόλουθος πίνακας 8-16. Η τιμή της προκύπτει από τη σχέση 8.14 και για βαθμούς ελευθερίας του συστήματος  $f=4$ , ίση με 15,31.

Πίνακας 8-16: Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού για τον προσδιορισμό της διασποράς της επάρκειας του μοντέλου.

Y	Y <sup>^</sup>	(Y-Y <sup>^</sup> ) <sup>2</sup>
3,11	2,72	0,15
25,06	25,61	0,30
20,75	23,53	7,74
7,75	4,80	8,69
13,26	11,11	4,63
37,09	33,99	9,56
32,16	31,92	0,06
7,70	13,19	30,11
Συνολικά		61,25

Η τιμή της συνολικής διακύμανσης  $s_y^2$  προσδιορίστηκε παραπάνω ίση με 15,51 και  $f=11$  βαθμούς ελευθερίας.

Ο λόγος Fischer προκύπτει  $F=0,98$ , ενώ η τιμή που λαμβάνεται από τον πίνακα του λόγου fischer για 95% στατική σημαντικότητα για λόγο βαθμών ελευθεριών αριθμητή προς παρονομαστή 4/11 είναι ίσος με  $F_{tab}=3,36$ .

Προκύπτει δηλαδή  $F < F_{tab}$  και συνπώς το μοντέλο κρίνεται επαρκές.

Με προσαρμογή των τιμών των επιπέδων και του κέντρου η εξίσωση 8.16 παίρνει τελικά τη μορφή

$$SG_{H_2SO_4} = -9,44 + 10,41 \cdot C_{H_2SO_4} + 0,03 \cdot C_{enz} \quad (8.17)$$



Από τη μορφή της εξίσωσης αυτής συμπεραίνουμε ότι στην απόκριση του συστήματος για την περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας, πιο σημαντική παράμετρος σχεδιασμού είναι η συγκέντρωση του αντιδραστηρίου  $H_2SO_4$  που χρησιμοποιήθηκε. Η συγκέντρωση του ενζύμου φαίνεται επίσης να είναι μία, αλλά λιγότερη σημαντική παράμετρος, ενώ ο χρόνος της αποστείρωσης δε φαίνεται να επηρεάζει τα αποτελέσματα. Αύξηση τόσο της συγκέντρωσης του  $H_2SO_4$  και της συγκέντρωσης του ενζύμου θα έχει ως αποτέλεσμα αύξηση της απόδοσης σακχαροποίησης, αλλά με αισθητά μεγαλύτερη βαρύτητα στην περίπτωση του οξέος.

# 9

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Δύο διαφορετικές μέθοδοι προεπεξεργασίας μπορούν να συγκριθούν μόνο ως προς το ίδιο υπόστρωμα βιομάζας και για συγκεκριμένο μίγμα ενζύμων. Για την σταθεροποιημένη αναερόβια ιλύ που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία, εξετάστηκαν δύο μέθοδοι προεπεξεργασίας, με αραιό NaOH και με αραιό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα και τους υπολογισμούς που συγκεντρώνονται στο κεφάλαιο 8, η αλκαλική προεπεξεργασία επέφερε υψηλότερες αποδόσεις σακχαροποίησης (απελευθέρωση γλυκόζης), σε σύγκριση με την όξινη προεπεξεργασία με αραιό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, όταν χρησιμοποιήθηκε το ένζυμο CellicCTec2 (Novozymes, Denmark), που κυμάνθηκαν από 37,12% έως 75,79%. Ο βαθμός της σακχαροποίησης σχετίζεται άμεσα με την αποτελεσματικότητα της μεθόδου προεπεξεργασίας, στο εξεταζόμενο υπόστρωμα, και στο βαθμό που αυτή κατάφερε να αποδομήσει την πολύπλοκη λιγνοκυτταρινική του σύσταση.

Η αλκαλική προεπεξεργασία επέφερε υδρόλυση των στερεών από 19,84% έως 30% και η όξινη υδρόλυσε τη βιομάζα σε ένα περίπου αντίστοιχο επίπεδο από 13,2% έως 32%. Το ποσοστό της απώλειας της βιομάζας σχετίζεται άμεσα με την ένταση της συγκεκριμένης μεθόδου προεπεξεργασίας που εφαρμόστηκε και επηρεάζει την απόδοση της σακχαροποίησης. Έδρασε ικανοποιητικά στην αποδόμηση της λιγνίνης φτάνοντας σε αποδόσεις έως και 77%, διευκολύνοντας την ακόλουθη ενζυμική υδρόλυση. Συνολικά, η διεργασία είχε μικρότερη επίδραση στην αποδόμηση της κυτταρίνης, η οποία κυμάνθηκε από 1,76% έως 5,48%, ενώ η αποδόμηση της ημικυτταρίνης κυμάνθηκε από 3,45% έως και 74,36%. Όσον αφορά στα ολικά στερεά, επήλθε μείωση από 19,84 έως 30%. Κατά τη διεργασία σχηματίστηκαν, επίσης προϊόντα αποικοδόμησης όπως γλυκόζη με συγκεντρώσεις που 0,05-0,2 g/L, πηκτικά λιπαρά οξέα 4,85-6,17 g/L και φαινολικά συστατικά 0,19- 0,34 g/L.

Για την όξινη προεπεξεργασία τα αποτελέσματα αποδόμησης της λιγνίνης ήταν εμφανώς χαμηλότερα. Η μη διαλυτή λιγνίνη αποικοδομήθηκε στην καλύτερη περίπτωση μόνο κατά 10%. Αυτό έρχεται να επιβεβαιώσει σχετική βιβλιογραφία, σύμφωνα με την οποία η προεπεξεργασία με αραιό οξύ είναι λιγότερο αποτελεσματική στην απομάκρυνση της λιγνίνης. Η αποικοδόμηση της κυτταρίνης κυμάνθηκε από 15,32% έως 43,75% (μεγαλύτερη από την αλκαλική), ενώ παρατηρήθηκε μία παρόμοια επίδραση στις ημικυτταρινικές δομές, με ποσοστό αποικοδόμησης από 46% έως και 67%. Η υδρόλυση των στερεών κυμάνθηκε από 13,2% έως 32%. Στην περίπτωση της όξινης προεπεξεργασίας, δεν ανιχνεύτηκαν ποσότητες γλυκόζης ενώ εντοπίστηκαν άλλα παραπροϊόντα όπως πηκτικά λιπαρά οξέα 0,97- 1,04g/L και φαινολικά συστατικά σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις 0,028- 0,053 g/L.

Οι αποδόσεις σακχαροποίησης υπό τις συνθήκες που εξετάστηκαν κυμάνθηκαν από 19,65% έως 75,79%, με μέγιστη (75,79%) να λαμβάνεται υπό προεπεξεργασία με 2% NaOH και αποστείρωση για 90 λεπτά στους 120°C και ακόλουθη ενζυμική υδρόλυση με 400 μL ενζύμου CellicCTec2 ανά g κυτταρίνης. Ανάλογα, η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης που προέκυψε για προεπεξεργασία με 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> και αποστείρωση για 90 λεπτά στους 120°C και ενζυμική υδρόλυση με 400 μL CellicCTec2 ανά g κυτταρίνης ήταν 38,60%. Η απόδοση αυτή αντιστοιχεί περίπου στο μισό της μέγιστης απόδοσης που προέκυψε για τις αλκαλικές συνθήκες.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παραγοντικού σχεδιασμού αλκαλικής προεπεξεργασίας και της επεξεργασίας τους, λήφθηκε το ακόλουθο γραμμικό μοντέλο, συσχέτισης της απόδοσης σακχαροποίησης με τις στατιστικές σημαντικά ρυθμιστικές παραμέτρους:

$$SG_{NaOH} = 2,517 + 32,04 \cdot t_{\text{autoclave}} + 0,052 \cdot C_{\text{enz}}$$

Η επάρκεια του μαθηματικού μοντέλου του παραγοντικού σχεδιασμού ελέγχθηκε σύμφωνα με το κριτήριο Fischer και το μοντέλο αποδείχθηκε επαρκές. Υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες προεπεξεργασίας και ενζυμικής υδρόλυσης, οι παράγοντες εκείνοι που επηρεάζουν καθοριστικά τη σακχαροποίηση είναι ο χρόνος της αποστείρωσης ( $t_{\text{autoclave}}$ ) και η συγκέντρωση (δόση) του ενζύμου CelliCTec2 ( $\mu\text{L/g}$  κυτταρίνης), που χρησιμοποιήθηκε. Μεταξύ των δύο, πιο καθοριστικός παράγοντας προκύπτει ο χρόνος της αποστείρωσης, με μεγάλο και θετικό συντελεστή, με αποτέλεσμα μια αυξομείωση του χρόνου να οδηγεί σε αισθητή ανάλογη αυξομείωση της απόδοσης σακχαροποίησης. Η συγκέντρωση του αντιδραστήριου από 2% έως 4% NaOH δεν προέκυψε ως στατιστικά σημαντική παράμετρος και η μεταβολή της τιμής της δεν επηρεάζει την απόδοση της σακχαροποίησης. Το ίδιο αμελητέες αποδείχθηκαν και αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραμέτρων.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παραγοντικού πειράματος όξινης προεπεξεργασίας, λήφθηκε το ακόλουθο γραμμικό μοντέλο, που συσχετίζει την απόδοση της σακχαροποίησης με τις στατιστικά σημαντικές παραμέτρους, για τις συγκεκριμένες συνθήκες:

$$SG_{H_2SO_4} = -9,44 + 10,41 \cdot C_{H_2SO_4} + 0,03 \cdot C_{enz}$$

Η επάρκεια του μοντέλου ελέγχθηκε επίσης με το κριτήριο Fischer, και το μοντέλο κρίθηκε επαρκές.

Σύμφωνα με αυτό, ως στατιστικά σημαντικές παράμετροι προέκυψαν η συγκέντρωση του αντιδραστήριου προεπεξεργασίας  $H_2SO_4$  και λιγότερο σημαντική η συγκέντρωση (δόση) του ενζύμου. Ο χρόνος της αποστείρωσης, υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες, δεν επηρεάζει την απόκριση του συστήματος. Μεγαλύτερο συντελεστή βαρύτητας έχει η συγκέντρωση του  $H_2SO_4$ , αυξομείωση της οποίας θα επιφέρει αισθητή αυξομείωση της απόδοσης σακχαροποίησης. Η συγκέντρωση του ενζύμου έχει μικρότερο συντελεστή βαρύτητας και η αυξομείωση της τιμής του, επηρεάζει τη σακχαροποίηση, αλλά όχι στον ίδιο βαθμό.

Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι ακόμα και αν το γραμμικό μοντέλο προέκυψε επαρκές, η απόκριση του συστήματος που περιγράφει δεν είναι ικανοποιητική. Η συνολική διεργασία υπό όξινες συνθήκες, επέφερε αισθητά χαμηλότερες αποδόσεις σακχαροποίησης σε σύγκριση με τις αλκαλικές, με τα εύρη των αποδόσεων να κυμαίνονται από 0,21% έως 38,60%.

Με στόχο τη διερεύνηση του δυναμικού παραγωγής αιθανόλης, πραγματοποιήθηκε αλκοολική ζύμωση για τα δείγματα που εξασφάλισαν τη μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης, σύμφωνα με τα πορίσματα του παραγοντικού σχεδιασμού. Τα δείγματα που επιλέχθηκαν, λήφθηκαν από προεπεξεργασία με 2% NaOH και αποστείρωση για 90 λεπτά στους  $120^\circ\text{C}$  και ακόλουθη ενζυμική υδρόλυση με 400  $\mu\text{L}$  ενζύμου CelliCTec2 ανά g κυτταρίνης, Η αλκοολική ζύμωση με 1% *S. Cerevisiae* ( $32,5^\circ\text{C}$ , 24h) εξασφάλισε απόδοση σε αιθανόλη μεγαλύτερη από 80%.

Η εξέταση της αναερόβιας σταθεροποιημένης ιλύος ως εναλλακτικό υπόστρωμα για την παραγωγή αιθανόλης εξασφάλισε σημαντικά υψηλές αποδόσεις, οι οποίες συναγωνίζονται τις αντίστοιχες που προκύπτουν από τα συνήθη υποστρώματα βιομάζας πρώτης γενιάς. Υπό τις συνθήκες που μελετήθηκαν, η διεργασία είναι τεχνικά εφικτή και με ικανοποιητικά αποτελέσματα.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ



1. "BIOMAZA." ΥΠΕΚΑ - Υπουργείο Περιβάλλοντος και Ενέργειας. Accessed September 14, 2019. <http://www.ypeka.gr/Default.aspx?tabid=288&language=el-GR>.
2. Tursi, Antonio. "A Review on Biomass: Importance, Chemistry, Classification, and Conversion." *Biofuel Research Journal*, 962-979, no. 22 (2019). <https://doi.org/10.18331/BRJ2019.6.2.3>.
3. Sánchez, Carmen. "Lignocellulosic Residues: Biodegradation and Bioconversion by Fungi." *Biotechnology Advances* 27, no. 2 (March 1, 2009): 185–94. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.001>.
4. Camia, A, N Robert, R Jonsson, R Pilli, S García-Condado, R López-Lozano, M van der Velde, et al. "Biomass Production, Supply, Uses and Flows in the European Union. First Results from an Integrated Assessment." EUR 28993 EN. Luxembourg: Joint Research Centre, European Commission, 2018.
5. Fatma, Shabih, Amir Hameed, Muhammad Noman, Temoor Ahmed, Imran Sohail, Muhammad Shahid, Mohsin Tariq, and Romana Tabassum. "Lignocellulosic Biomass: A Sustainable Bioenergy Source for Future." *Protein and Peptide Letters* 25, no. 2 (Spring 2018). <https://doi.org/10.2174/0929866525666180122144504>.
6. Gupta, Ram B., Ayhan Demirbas. *Gasoline, Diesel and Ethanol Biofuels from Grasses and Plants*. Cambridge: Cambridge University Press, 2010. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511779152>
7. Byrt, Caitlin, Natalie Betts, Naser Farrokhi, and Rachel Burton. "Deconstructing Plant Biomass: Cell Wall Structure and Novel Manipulation Strategies." In *Biofuel Crops: Production, Physiology and Genetics*, 1st ed., 135–50. Cabi, 2013.
8. Bajpai, Pratima. "Summary of Biomass Pretreatment Methods." In *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production*, 71–75, 2016. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-0687-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-10-0687-6_5).
9. Meegoda, Jay, Brian Li, Kush Patel, and Lily Wang. "A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15 (October 11, 2018): 2224. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>.
10. "Plant Structure & Function." University. The University of Waikato. Accessed September 15, 2019. <https://sci.waikato.ac.nz/farm/content/plantstructure.html>.
11. Starch and Cellulose." *Chemistry LibreTexts*, June 5, 2019. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic\\_Chemistry/Map%253A\\_Organic\\_Chemistry\\_\(Smith\)/Chapter\\_05%253A\\_Stereochemistry/5.01\\_Starch\\_and\\_Cellulose](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map%253A_Organic_Chemistry_(Smith)/Chapter_05%253A_Stereochemistry/5.01_Starch_and_Cellulose).
12. Tumuluru, Jaya Shankar, Christopher Wright, Richard Boardman, Neal Yancey, and Shahab Sokhansanj. "A Review on Biomass Classification and Composition, Co-Firing Issues and Pretreatment Methods," Vol. 3, 2011. <https://doi.org/10.13031/2013.37191>
13. Saini, Jitendra Kumar, Reetu Saini, και Lakshmi Tewari. 'Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments'. *3 Biotech* 5 (4), (August 2015): 337–53. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0246-5>.
14. <https://sci-hub.tw/10.1016/j.renene.2011.06.045> Sarkar, Nibedita, Sumanta Kumar Ghosh, Starupa Bannerjee, Kaustav Aikat, "Bioethanol production from agricultural wastes: An overview". *Renewable Energy* 37, Issue 1 (1 Januray 2012): 19-27. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.06.045>

15. Mansfield, Betty, Anita Alton, Shirley Andrews, Jennifer Bownas, Denise Casey, Sheryl Martin, Marissa Mills, Kim Nylander, and Judy Wyrick. "Breaking the Biological Barriers to Cellulosic Ethanol: A Joint Research Agenda." *Biofuels Joint Roadmap*, U.S. DOE Office of Science and Office of Energy Efficiency and Renewable Energy DOE/SC-0095 (June 2006): 39–56.
16. Searle Stephanie and Malins Chris, "Availability of Cellulosic Residues and Wastes in the EU. International Council on Clean Transportation (September 18, 2019). <https://theicct.org/publications/availability-cellulosic-residues-and-wastes-eu>
17. Jensen, Claus, Julie Rodriguez Guerrero, Sergios Karatzos, Göran Olofsson, and Steen Iversen. "Fundamentals of Hydrofaction™: Renewable Crude Oil from Woody Biomass." *Biomass Conversion and Biorefinery*, February 23, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13399-017-0248-8>.
18. Plant Structure and Function, Accessed September 18, 2019. <https://sci.waikato.ac.nz/farm/content/plantstructure.html>
19. Isikgor, Furkan H., and C. Remzi Becer. "Lignocellulosic Biomass: A Sustainable Platform for the Production of Bio-Based Chemicals and Polymers." *Polymer Chemistry*, no. 25 (2015): 4497–4559. <https://doi.org/10.1039/C5PY00263J>.
20. Zakzeski Joseph, Pieter C.A. Bruijninx, Anna L. Jongerius and Bert M. Weckhuysen. "The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals". *Chemical Reviews* 110, No 6 (June 9, 2010): 3552-99. <https://doi.org/10.1021/cr900354u>
21. Ahvazi, Behzad and Tri-Dung go. "Application of Lignins in Formulation and Manufacturing Bio- Based Polyurethanes by 31P NMR Spectroscopy". *Lignin- Trends and Applications*.(2018). <https://doi.org/10.5772/intechopen.73287>.
22. Pandey, Ashok, and Parameswaran Binod, eds. "Introduction." In *Pretreatment of Biomass. Processes and Technologies*, 3–6. Amsterdam: Elsevier, 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800080-9.18001-6>.
23. Amin, Farrukh Raza, Habiba Khalid, Han Zhang, Sajid u. Rahman, Ruihong Zhang, Guangqing Liu, and Chang Chen. "Pretreatment Methods of Lignocellulosic Biomass for Anaerobic Digestion." *AMB Express* 7, no. 1 (March 28, 2017): 72. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0375-4>.
24. Bensah, Edem Cudjoe, and Moses Mensah. "Chemical Pretreatment Methods for the Production of Cellulosic Ethanol: Technologies and Innovations." *International Journal of Chemical Engineering* 2013 (2013). <https://doi.org/10.1155/2013/719607>.
25. Badiei, Marzieh, Nilofar Asim, Jamilah M. Jahim, and Kamaruzzaman Sopian. "Comparison of Chemical Pretreatment Methods for Cellulosic Biomass." *5th International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering - ICBEE 2013 & 2nd International Conference on Civil Engineering - ICCEN 2013* 9 (January 1, 2014): 170–74. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2014.01.030>.
26. Bjerre, Anne Belinda, and Anette Skammelsen Schmidt. "Development of Chemical and Biological Processes for Production of Bioethanol: Optimization of the Wet Oxidation Process and Characterization of Products." Roskilde, Denmark: Risø National Laboratory, February 1997.
27. Jeong, So-Yeon, and Jae-Won Lee, eds. "Hydrothermal Treatment." In *Pretreatment of Biomass. Processes and Technologies*, 61–74. Amsterdam: Elsevier, 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800080-9.00005-0>.

28. "Anaerobic Digestion". Indiamart.com. Assessed September 18, 2019. <https://www.indiamart.com/proddetail/anaerobic-digestion-6890937088.html>
29. Gould, M. "Chapter 18. Bioenergy and Anaerobic Digestion." In *Bioenergy. Biomass to Biofuels*, 1st ed., 297–317. Amsterdam: Elsevier, 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407909-0.00018-3>.
30. Meegoda, Jay, Brian Li, Kush Patel, and Lily Wang. "A Review of the Processes, Parameters, and Optimization of Anaerobic Digestion." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15 (October 11, 2018): 2224. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>.
31. Monnet Fabien, "An Introduction to Anaerobic Digestion of Organic Wastes", Final Report, (November, 2003). <https://www.cti2000.it/Bionett/BioG-2003-002%20IntroAnaerobicDigestion.pdf>
32. Kainthola, Jyoti, Ajay S. Kalamdhad, and Vaibhav V. Goud. "A Review on Enhanced Biogas Production from Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass by Different Enhancement Techniques." *Process Biochemistry* 84 (September 1, 2019): 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.023>.
33. Samani, Saeed, M. Abdoli, A. R. Karbassi, Hamidreza Pourzamani, and Masood Rezaee. "Effect of Physical and Chemical Operating Parameters on Anaerobic Digestion of Manure and Biogas Production: A Review." *Journal of Environmental Health and Sustainable Development* 2 (March 1, 2017): 231–44.
34. Kainthola, Jyoti, Ajay S. Kalamdhad, and Vaibhav V. Goud. "A Review on Enhanced Biogas Production from Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass by Different Enhancement Techniques." *Process Biochemistry* 84 (September 1, 2019): 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.023>
35. Chen, Jian Lin, Raphael Ortiz, Terry W.J. Steele, and David C. Stuckey. "Toxicants Inhibiting Anaerobic Digestion: A Review." *Biotechnology Advances* 32, no. 8 (December 1, 2014): 1523–34. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.005>.
36. Kusch-Brandt, Sigrid, Winfried Schäfer, and Martin Kranert. "Dry Digestion of Organic Residues." In *Integrated Waste Management*, 1:115–34. London, UK: InTech, 2011. <https://doi.org/10.5772/16398>.
37. Ersahin, Mustafa Evren, Hale Ozgun, Recep Dereli, and Izzet Ozturk. "Anaerobic Treatment of Industrial Effluents: An Overview of Applications." In *Waste Water - Treatment and Reutilization*, 2011. <https://doi.org/10.5772/16032>.
38. "Up Flow - Anaerobic Sludge Blanket Reactor (UASB)." IWA. The international Water Association. Accessed September 15, 2019. <https://www.iwapublishing.com/news/flow-anaerobic-sludge-blanket-reactor-uasb>.
39. Vashi, Anand, Jeroen Lubbe, Barry Heffernan, and Jules B. van Lier. "Anaerobic Sewage Treatment Using UASB Reactors: Engineering and Operational Aspects." In *Environmental Anaerobic Technology: Applications and New Developments*, 59–89. Imperial College Press, 2010. [https://doi.org/10.1142/9781848165434\\_0004](https://doi.org/10.1142/9781848165434_0004).
40. Skiadas, I.V., and G. Lyberatos. "The Periodic Anaerobic Baffled Reactor." *Water Quality International '98 Part 7. Wastewater: Biological Processes* 38, no. 8 (January 1, 1998): 401–8. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(98\)00717-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00717-3).
41. Jain, Sarika. "Global Potential of Biogas." World Biogas Association, June 2019.
42. "Statistical Report of the European Biogas Association 2018." Statistical. Brussels, Belgium: EBA: European Biogas Association, December 2018. [http://biogas.org.rs/wp-content/uploads/2018/12/EBA\\_Statistical-Report-2018\\_European-Overview-Chapter.pdf](http://biogas.org.rs/wp-content/uploads/2018/12/EBA_Statistical-Report-2018_European-Overview-Chapter.pdf).



43. "Trends in Renewable Energy." IRENA: International Renewable Energy Agency. Accessed September 15, 2019.
44. Torrijos, Michel. "State of Development of Biogas Production in Europe." *Procedia Environmental Sciences* 35 (December 31, 2016): 881–89. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.043>.
45. IRENA: International Renewable Energy Agency. "Biogas for Domestic Cooking: Technology Brief." IRENA, December 2017.
46. Drosig, Bernhard, Werner Fuchs, Teodorita Al Seadi, Michael Madsen, and Bernd Linke. "Nutrient Recovery by Biogas Digestate Processing." IEA Bioenergy, August 2015.
47. Makádi, Marianna, Attila Tomócsik, and Viktória Orosz. "Digestate: A New Nutrient Source - Review." In *Biogas*, 295–310. In Tech, 2012. <https://doi.org/10.5772/31355>.
48. Jain, Sarika, David Newman, Ricardo Cepeda-Márquez, and Kathrin Zeller. "Global Food Waste Management: An Implementation Guide for Cities." London, UK: World Biogas Association, C40 Cities - Food, Water and Waste Program, 2018. <http://www.worldbiogasassociation.org/wp-content/uploads/2018/05/Global-Food-Waste-Management-Full-report-pdf.pdf>.
49. Shi, Lin, Walquiria Silva Simplicio, Guangxue Wu, Zhenhu Hu, Hongying Hu, and Xinmin Zhan. "Nutrient Recovery from Digestate of Anaerobic Digestion of Livestock Manure: A Review." *Current Pollution Reports* 4, no. 2 (2018): 74–83. <https://doi.org/10.1007/s40726-018-0082-z>.
50. Wilken, David, Stefan Rauh, Ramona Fruhner-Weiß, Florian Strippel, Giannina Bontempo, and Antje Kramer. "Digestate as Fertilizer." Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ), German Biogas Association), n.d.
51. Monfet, Evelynne, Geneviève Aubry, and Antonio Avalos Ramirez. "Nutrient Removal and Recovery from Digestate: A Review of the Technology." *Biofuels* 9 (June 15, 2017): 1–16. <https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1336348>.
52. Mohapatra, Sonali, Ramesh C. Ray, and S. Ramachandran. "Chapter 1 - Bioethanol From Biorenewable Feedstocks: Technology, Economics, and Challenges." In *Bioethanol Production from Food Crops*, edited by Ramesh C. Ray and S. Ramachandran, 3–27. Academic Press, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813766-6.00001-1>.
53. European Committee for Standardisation (CEN) Technical Committee 19. "Biofuels." European Commission, August 22, 2019. <https://ec.europa.eu/energy/en/topics/renewable-energy/biofuels/overview>.
54. "Sustainability Criteria." European Commission, August 20, 2019. <https://ec.europa.eu/energy/en/topics/renewable-energy/biofuels/sustainability-criteria>.
55. Tursi, Antonio. "A Review on Biomass: Importance, Chemistry, Classification, and Conversion." *Biofuel Research Journal*, 962-979, no. 22 (2019). <https://doi.org/10.18331/BRJ2019.6.2.3>.
56. Zabed, H., J.N. Sahu, A. Suely, A.N. Boyce, and G. Faruq. "Bioethanol Production from Renewable Sources: Current Perspectives and Technological Progress." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 71 (May 1, 2017): 475–501. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.076>.
57. IAE International Energy Agency. "Global Ethanol Production in 2017." *Planete-Energies*, April 20, 2019. <https://www.planete-energies.com/en/medias/figures/global-ethanol-production-2017>.

58. Aditiya, H.B., T.M.I. Mahlia, W.T. Chong, Hadi Nur, and A.H. Sebayang. "Second Generation Bioethanol Production: A Critical Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 66 (December 1, 2016): 631–53. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.015>.
59. U.S. Energy Information Administration. "Annual Fuel Ethanol Production U.S. and World Ethanol Production." RFA Renewable Fuels Association. Accessed September 15, 2019. <https://ethanolrfa.org/statistics/annual-ethanol-production/>.
60. EUR-Lex-32018L2001, 2018 Directives, Official Journal of the European Union. Accessed September 2019. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2018/2001/oj>.
61. Flach Bob, Liebers Sbine, Lappin Jennifer, Bolla Sophie, EU-28 Biofuels Annual 2018, Gobal Agricultural Information Network, The Hague (March 3, 2018).
62. Global Ethanol Production in 2017, <https://www.planete-energies.com/en/medias/figures/global-ethanol-production-2017>
63. Ethanol Industry Outlook, RFA Renewable Fuels Association, 2019. <https://ethanolrfa.org/wp-content/uploads/2019/02/RFA2019Outlook.pdf>
64. Brazil Biofuels Annual 2018, Global Agricultural Information Network, GAIN Report Number BR18017 (October 8, 2018). Accessed September 2019. [https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Biofuels%20Annual\\_Sao%20Paulo%20ATO\\_Brazil\\_8-10-2018.pdf](https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Biofuels%20Annual_Sao%20Paulo%20ATO_Brazil_8-10-2018.pdf)
65. U.S. Department of Energy, Alternative Fuels Data Center, Globa; Ethanol Production- Maps and Data. Accessed September 2019. <https://afdc.energy.gov/data/10331>
66. European Renewable Ethanol, Data ePure Statistics 2017. Accessed September 2019. Available at: <https://epure.org/media/1763/180905-def-data-epure-statistics-2017-designed-version.pdf>
67. Plana P. Vilanova, Noche B., "A review of the current digestate distribution models: storage and transport", *WIT Transactions on Ecology and The Environment*, 202 (Valencia, 2016): 345-57. <https://doi.org/10.2495/WM160311>.
68. Kumar, Santosh, Neetu Singh and Ram Prasad. "Anhydrous Ethanol: A Renewable Source of Energy". *Renewable and Sustainable Enrgy Reviews* 14, No 7 (September 1, 2010): 1830-44. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.03.015>
69. Robak Katarzyna, Balcerek Maria. "Review of Second- Generaion Biomethanol Production from Residual Biomass". *Food Technology and Biotechnology* 56, No 2 (June, 2018): 174-187. Lodz University of Technology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Institue of Fermentation Technology and Microbiology, Poland. <http://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5428>.
70. Ρήγας Φώτης, «Στατιστικός Σχεδιασμός Πειραμάτων και Αριστοποίηση Βιομηχανικών Διαδικασιών», Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 1988.
71. Κομιλής Δημήτριος, «Πειραματικός Σχεδιασμός και Στατιστική Ανάλυση», Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Ξάνθη, 2006. (Τελευταία επίσκεψη Σεπτέμβριος 2019). Διαθέσιμο: <https://repository.edulll.gr/edulll/retrieve/4371/1265.pdf>
72. Autoclave Vertical User Manual, Isolab Laborgerate GmbH.[www.isolab.de](http://www.isolab.de)
73. Novozymes Application Sheet, "Cellic CTec2 and HTec2 Enzymes for hydrolysis of lignocellulosic materials".
74. <http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/engineering/chair/chem010/manual/Ctec2.pdf>

75. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Sluiter J., Templeton D., Crocker D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass, Nat Renew Energy Lab 2008;1617:1–16. Laboratory Analytical Procedure LAP (April, 2008), Technical Report. Available at: <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>
76. HiPer Carbohydrates Estimation Teaching Kit (Quantitative), HiGenoMB Himedia. Available at: <http://himedialabs.com/TD/HTBC003.pdf>.
77. Saqib A., “Differential behaviour of the dinitrosalicylic acid (DNS) reagent towards mono- and di- saccharide sugars. Biomass and Bioenergy 35, no 11 (November, 2011) <http://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.09.013>
78. Biosis, Σάκχαρο GOD/PAP. Τελευταία επίσκεψη 14 Σεπτεμβρίου 2019. Διαθέσιμο στο: [http://www.biosis.com.gr/uploads/files/insert\\_glu.pdf](http://www.biosis.com.gr/uploads/files/insert_glu.pdf)
79. Determination of Ethanol Concentration in Aqueous Solutions, College of Science, University of Canterbury
80. Wang, D., Xi, J., Ai, P., Yu, L., Zhai, H., Yan, S., & Zhang, Y. (2016). Enhancing ethanol production from thermophilic and mesophilic solid digestate using ozone combined with aqueous ammonia pretreatment. *Bioresource Technology*, 207, 52–58. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.119>
81. Όξενκιουν- Πετροπούλου Μ. «Φυσικές Μέθοδοι Ανάλυσης- Φασματομετρικές μέθοδοι», Γ έκδοση, σελ. 269-275. Αθήνα 2012.
82. Si. S., Chen Y., Fan C., Hu H, Li Y., Huang J., Tu Y.. “Lignin Extraction Distinctively Enhances Biomass Enzymatic Saccharification in Hemicelluloses-Rich Miscanthus Species Under Various Alkali and Acid pretreatments. *Bioresource Technology*, 183 (May 2015): 248- 54. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.031>.
83. Song, Z., Yang G., Liu X., Yan Z., Yuan Y., Liao Y. “Comparison of Seven Chemical Pretreatments of Corn Straw for Improving Methane Yield by Anaerobic Digestion”. *PLoS ONE* 9, no 4 (April 2, 2014). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093801>.
84. Xin, L., Zhaohui Guo, Xiyuaan Xiao, Chi Peng, Peng Zeng, Wenli Feng, Wenxuan Xu. “Feasibility of Anaerobic Digestion on the Release of Biogas and Heavy Metals from Rice Straw Pretreated with Sodium Hydroxide”. *Environmental Science and Pollution Research* 26, no 19 (July, 2019): 19434-44. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05195-x>.
85. Momayez, F., Karimi K., Horvath I.S.”Enhancing Ethanol and Methane Production from Rice Starw by Pretreatment with Liquid Waste from Biogas Plant”. *Energy Conversion and Management* 178 (December 2018): 290-98. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.10.023>.
86. Hsu, T-C, Guo G-L., Chen W-H., Hwang, W-S. “Effect of Dilute Acid Pretreatment of Rice Straw on Structural Properties and Enzymatic Hydrolysis”. *Bioresource Technology* 101, no 13 (July 2010):4907-13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.009>.
87. Haque Md. A., Barman D.N, Kang T.H., Kim M.K., Kim J., Kim, H., Yun H.D. “ Effect of Dilute Alkali on Structural Features and Enzymatic Hydrolysis of Barley Straw (*Hordeum vulgare*) at Boiling Temperature with Low Residence Time”. *J. Microbiol. Biotechnology* 22, no 12 (2012): 1681-1691. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1206.06058>.
88. Zheng, Q., Zhou T., Wang Y., Cao X., Wu S., Zhao M., Wnag H. et al. “Pretreatment of Wheat Starw Leads to Structural Changes and Improved Enzymatic Hydrolysis”. *Scientific Reports* 8, no 1 (December 2018):1321. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19516-5>.

89. Vancov, T., McIntosh S.. "Alkali Pretreatment of Cereal Crop Residues for Second Generation Biofuels". *Energy & Fuels* 25, no 7 (July 21, 2011): 2754-63. <https://doi.org/10.1021/ef200241s>.
90. Teater C., Yue Z., MacLellan J., Liu Y., Liao W. "Assessing Solid Digestate from Anaerobic Digestion as Feedstock for Ethanol Production". *Bioresource Technology* 102, no 2 (January 2011): 1856-62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.099>.
91. Garvey C., Parker, I.H., Simon, G.P. "On the Interpretation of X-Ray Diffraction Powder Patterns in Terms of the Nanostructure of Cellulose I Fibres". *Macromolecular Chemistry and Physics* 206, no 15 (2005): 1568-75. <https://doi.org/10.1002/macp.200500008>.
92. Jaisamut K., Paulova L., Patakova P., Kotucova S., Rychtera M. "Effect of Dodium Sulfite on Acid Pretreatment of Wheat Straw with Respect to its Final Conversion to Ethanol". *Biomass and Bioenergy* 95 (December 2016): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.08.022>.
93. Loyd T., Wyman C.E. "Combined Sugar Yields for Dilute Sulfuric Acid Pretreatment of Corn Stover Followed by Enzymatic Hydrolysis of the Remaining Solids". *Bioresource Technology* 96, no 18 (December 2005): 1967-77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.011>.
94. Segal L., Creely JJ., Martin AE., Conrad CM, "An Empirical Mehtod for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. *Text Res J* 29, no 10: 786-794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>.

