

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας Ι

Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΑΠΟ  
ΕΞΑΝΤΛΗΜΕΝΟΥΣ ΚΟΚΚΟΥΣ ΚΑΦΕ ΚΑΙ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ  
ΚΗΠΩΝ-ΚΛΑΔΕΜΑΤΑ**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Χαραλάμπους Αικατερίνη

Σεπτέμβριος 2019

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το παρόν σύγγραμμα αποτελεί τη διπλωματική μου εργασία που είναι απαραίτητη για την ολοκλήρωση των σπουδών μου και εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις υπεύθυνες της διπλωματικής μου εργασίας, καθηγήτριες του Ε.Μ.Π., κυρία Λοϊζίδου Μαρία και κυρία Αικατερίνη Χαραλάμπους για την ανάθεση του θέματος και της δυνατότητας που μου έδωσαν να ασχοληθώ με αυτό το πολύ ενδιαφέρον και επίκαιρο θέμα.

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

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου και κυρίως την Δρ. Jelica Novaković για την καθοριστική βοήθειά τους σε ό,τι κι αν ζήτησα κατά τη διάρκεια των πειραματικών αναλύσεων.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7

### ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Βιοαιθανόλη

1.1 Εισαγωγή για βιοκαύσιμα και βιοαιθανόλη	8
1.2 Η παραγωγή βιοαιθανόλης σε Ευρώπη και παγκοσμίως	18
1.3 Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης	31
1.4 Τεχνολογίες παραγωγής βιοαιθανόλης	38

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Εξαντλημένοι κόκκοι καφέ

2.1 Εισαγωγή	45
2.2 Σύσταση	45
2.3 Δυναμικό παραγωγής και υφιστάμενοι τρόποι διαχείρισης	46
2.4 Παραγωγή βιοαιθανόλης	49

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Κλαδέματα

3.1 Εισαγωγή	50
3.2 Σύσταση	50
3.3 Δυναμικό παραγωγής και υφιστάμενοι τρόποι διαχείρισης	50
3.4 Παραγωγή βιοαιθανόλης	52

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών μετρήσεων

4.1 Εισαγωγή	53
4.1.1 Βασικές Αρχές και Έννοιες για τον σχεδιασμό πειραμάτων	53
4.1.2 Παράμετροι Αριστοποίησης	55
4.1.3 Παράγοντες Σχεδιασμού	56
4.1.4 Μαθηματικά Μοντέλα	58
4.2 Σχεδιασμοί Πρώτης Τάξης	60
4.2.1 Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός	60
4.2.2 Μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων	60
4.2.3 Ιδιότητες ενός παραγοντικού πειράματος	61
4.2.4 Βαθμοί ελευθερίας και αλληλεπιδράσεις	62
4.3 Εκτέλεση του πειράματος	62
4.3.1 Σφάλματα επαναλήψεων και διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης	62
4.3.2 Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων	64
4.3.3 Αντιμετώπιση σφαλμάτων	65
4.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων ενός πειράματος	65
4.4.1 Προϋποθέσεις	65
4.4.2 Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης	66
4.4.3 Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών	68
4.4.4 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου	68

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματική μεθοδολογία

5.1 Εισαγωγή	69
5.2 Πρώτη ύλη	70
5.3 Προκατεργασία	70
5.4 Ενζυμική υδρόλυση προκατεργασμένων απορριμμάτων	71

5.5 Μέθοδοι ανάλυσης	72
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικό πρωτόκολλο</b>	
6.1 Αλκαλική προεπεξεργασία	83
6.2 Ενζυμική υδρόλυση	83
6.3 Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών	83
6.3.1 Παραγοντικός σχεδιασμός για εξαντλημένους κόκκους καφέ	84
6.3.2 Παραγοντικός σχεδιασμός για υπολείμματα κήπων-κλαδέματα	85
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματικά αποτελέσματα</b>	
7.1 Εξαντλημένοι κόκκοι καφέ	87
7.1.1 Σύσταση τροφοδοσίας	87
7.1.2 Πειραματικά πρωτογενή αποτελέσματα	87
7.1.3 Επεξεργασία αποτελεσμάτων	91
7.1.4 Μοντέλο πρόβλεψης παραγοντικού σχεδιασμού	95
7.2 Κλαδέματα	103
7.2.1 Σύσταση τροφοδοσίας	103
7.2.2 Πειραματικά πρωτογενή αποτελέσματα	103
7.2.3 Επεξεργασία αποτελεσμάτων	107
7.2.4 Μοντέλο πρόβλεψης παραγοντικού σχεδιασμού	111
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Αξιοποίηση δυναμικού παραγωγής βιοαιθανόλης</b>	116
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Συμπεράσματα</b>	119
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Βιβλιογραφικές αναφορές</b>	121

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τη σημερινή εποχή κρίνεται αναγκαία η εύρεση τρόπων αξιοποίησης των αποβλήτων προς την κατεύθυνση της παραγωγής βιοκαυσίμων. Στόχος, λοιπόν, της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας ήταν να διερευνηθεί το δυναμικό παραγωγής βιοαιθανόλης δυο διαφορετικών ειδών αποβλήτων σε εργαστηριακή κλίμακα μέσω παραγοντικού σχεδιασμού. Ως πρώτες ύλες χρησιμοποιήθηκαν οι εξαντλημένοι κόκκοι καφέ και τα υπολείμματα κήπων-κλαδέματα. Σύμφωνα με τον προσδιορισμό της σύστασής τους η περιεχόμενη κυτταρίνη ήταν 9,87% και 11,79% αντίστοιχα. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η μέθοδος προκατεργασίας σε αλκαλικό περιβάλλον, με χρήση καυστικού νατρίου, η οποία αποσκοπούσε στην αποδόμηση της λιγνίνης, ώστε να ευνοηθεί το ακόλουθο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης. Αποδείχθηκε ότι το στάδιο της αλκαλικής προεπεξεργασίας βελτιώνει σημαντικά την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης και για τα δύο υποστρώματα. Η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ ήταν 47,17% και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,3M και ενζυμική υδρόλυση με 75 μL/g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CellicCTec2, ενώ η αντίστοιχη για τα υπολείμματα κήπου-κλαδέματα ήταν 83,12% και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,7M και ενζυμική υδρόλυση με 60 μL/g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CellicCTec2. Συνοψίζοντας στην παρούσα εργασία αποδείχθηκε ότι η σακχαροποίηση των εξεταζόμενων απόβλητων είναι τεχνικά εφικτή. Όμως για την αξιοποίηση τους προς παραγωγή αιθανόλης, θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και οικονομοτεχνικοί παράγοντες όπως κόστος ενζύμων, χημικών, ενέργειας κλπ.

## **ABSTRACT**

Nowadays, it is necessary to deal with waste utilization towards biofuel production. The aim of this thesis was to investigate the bioethanol production volume of two different types of waste in the laboratory through factorial design. Spent coffee grounds and garden waste were used as raw materials. As for their composition, cellulose content was 9.87% and 11.79%, respectively. The alkaline pretreatment method was then applied with the use of caustic sodium, which aimed to degrade lignin in order to enhance the following step, enzymatic hydrolysis. It was shown that the alkaline pretreatment step significantly improves the yield of enzymatic hydrolysis for both substrates. The maximum saccharification yield for spent coffee grounds was 47.17% which was achieved under these conditions: 0.3 M NaOH (alkaline pretreatment) and 75  $\mu\text{L}$  / g cellulose cellulolytic enzyme CellicCTec2 (enzymatic hydrolysis). As for garden waste, the maximum saccharification yield was 83,12% which was achieved under these conditions: 0.7M NaOH and 60  $\mu\text{L}$  / g cellulose cellulolytic enzyme CellicCTec2. In conclusion, this thesis has shown that the saccharification of the waste examined is technically feasible. However, it is necessary to take into account some extra parameters, such as enzymes, chemicals, energy costs, in order to utilize the waste concerned for bioethanol production.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλόγιστη εκμετάλλευση των ορυκτών καυσίμων έχει προβληματίσει έντονα τη σημερινή κοινωνία. Τα ορυκτά καύσιμα εκπέμπουν μεγάλες ποσότητες επικίνδυνων αερίων επιδεινώνοντας το φαινόμενο του θερμοκηπίου και την υπερθέρμανση του πλανήτη. Ως επακόλουθο, η αειφόρος ανάπτυξη απειλείται και για αυτό είναι επιτακτική ανάγκη να γίνει στροφή σε ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, όπως τα βιοκαύσιμα.

Ένας φορέας που έχει δραστηριοποιηθεί άμεσα είναι η Ευρωπαϊκή Ένωση, η οποία έχει ξεκινήσει μια προσπάθεια ένταξης ενός πλαισίου αξιοποίησης των αποβλήτων προς παραγωγή βιοκαυσίμων. Το οργανικό κλάσμα των αποβλήτων είτε μολύνει το ανακυκλώσιμο υλικό σε συστήματα συνδυασμένης συλλογής αποβλήτων, είτε απελευθερώνει μεθάνιο στην περίπτωση που τα απόβλητα καταλήγουν σε χώρους υγειονομικής ταφής. Για αυτό, η Ευρωπαϊκή Ένωση επιδιώκει την επεξεργασία των στερεών αποβλήτων πριν από τη διάθεσή τους. Μια λύση που έχει εφαρμοστεί είναι η αποσύνθεση του οργανικού κλάσματος των αποβλήτων.

Σε αυτό το πλαίσιο, λοιπόν, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θέσει ως δεσμευτικό στόχο για όλα τα κράτη-μέλη μέχρι το 2020 το 20% της συνολικής ενέργειας που καταναλώνεται στα κράτη-μέλη της να προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας και το 10% της ενέργειας που απαιτείται για μεταφορές να προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας σε ανάμιξη με τα συμβατικά καύσιμα. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η ανάμιξη της βιοαιθανόλης με τη βενζίνη.

Η παραγωγή της βιοαιθανόλης γίνεται από πρώτες ύλες που είναι πλούσιες σε άμυλο και σάκχαρα όπως το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο, η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και τα φύκη. Για κάθε πρώτη ύλη απαιτείται διαφορετικού είδους επεξεργασία ώστε να παραχθεί η βιοαιθανόλη.

Στόχος, λοιπόν, της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας είναι βελτιστοποίηση, σε εργαστηριακή κλίμακα, των σταδίων επεξεργασίας (απολιγνίνωση, ενζυμική υδρόλυση) διαφορετικών τύπων αποβλήτων, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων με απώτερο σκοπό την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς.

## **ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ**

#### **1.1 Εισαγωγή στα βιοκαύσιμα και στη βιοαιθανόλη**

Οι σημαντικότεροι ενεργειακοί πόροι προέρχονται από ορυκτά καύσιμα, όπως το πετρέλαιο, ο άνθρακας και το φυσικό αέριο, καλύπτοντας το 80% των παγκόσμιων ενεργειακών αναγκών. Επιπλέον, η καθημερινότητά μας εξαρτάται άμεσα από τα ορυκτά καύσιμα με χαρακτηριστικά παραδείγματα τη βενζίνη, το ντίζελ και την κηροζίνη τα οποία είναι πετροχημικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται στον τομέα των μεταφορών ανθρώπων και αγαθών.

Λόγω της συνεχούς αύξησης του ανθρώπινου πληθυσμού, η κατανάλωση των ορυκτών καυσίμων αυξάνεται. Ωστόσο, τα ορυκτά καύσιμα είναι μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, αφού χρειάζονται εκατομμύρια χρόνια για να σχηματισθούν. Έχει επιβεβαιωθεί ότι αν συνεχιστεί αυτός ο ρυθμός κατανάλωσης των ορυκτών καυσίμων, θα έχουν εξαντληθεί σε μερικές εκατοντάδες χρόνια [1]. Ακόμα, οι εκπομπές αερίων που παράγονται κατά την καύση των ορυκτών καυσίμων, όπως CO<sub>2</sub>, SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub>, συμβάλλουν στην ατμοσφαιρική ρύπανση, στην υπερθέρμανση του πλανήτη, στο φαινόμενο του θερμοκηπίου, στην τρύπα του όζοντος καταστρέφοντας έτσι το περιβάλλον [2].

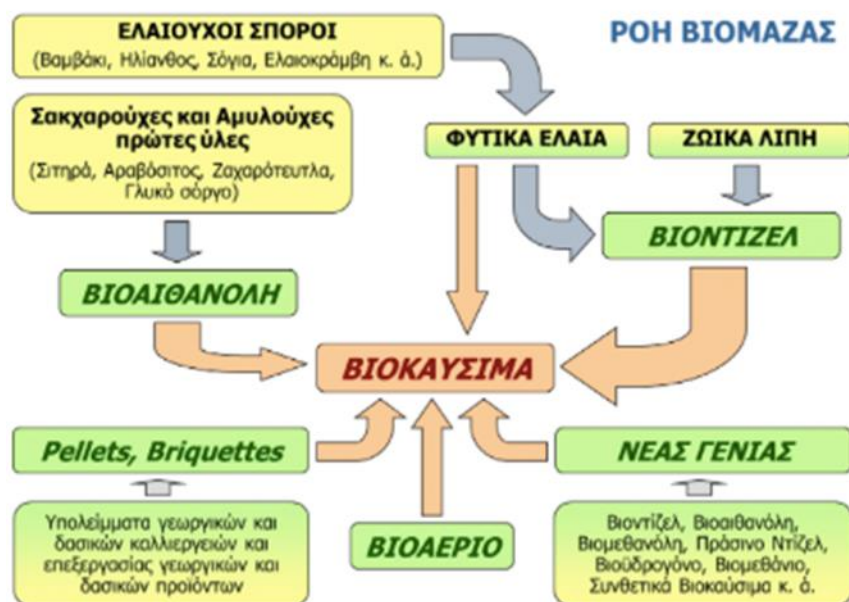
Επίσης, ο εμπορικός πόλεμος Η.Π.Α και Κίνας κορυφώνεται με τους Κινέζους να επιβάλλουν επιπλέον δασμούς στις αμερικανικές εισαγωγές ως αντίποινα στην απειλή του Αμερικανού προέδρου για αύξηση των δασμών κατά 10% σε κινεζικές εισαγωγές. Στις αμερικανικές εισαγωγές ανήκει και το αργό πετρέλαιο. Ως επακόλουθο, υπάρχει μεγάλη αβεβαιότητα όσον αφορά τη ζήτηση του αργού πετρελαίου στο άμεσο μέλλον.

Για τους λόγους που προαναφέρθηκαν, η χρήση εναλλακτικών και ανανεώσιμων καυσίμων έναντι των ορυκτών καυσίμων και των προϊόντων τους με σκοπό την προστασία του περιβάλλοντος και την προώθηση της αειφόρου ανάπτυξης, αλλά και την οικονομική ευημερία είναι πλέον επιτακτική ανάγκη [2].

Με τον όρο βιοκαύσιμα χαρακτηρίζονται όλα τα στερεά, υγρά ή αέρια καύσιμα που προέρχονται από τη βιομάζα, δηλαδή το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα προϊόντων ή αποβλήτων από τις αγροτικές, δασοκομικές και βιομηχανικές δραστηριότητες. Πιο συγκεκριμένα η βιομάζα αποτελεί πηγή ενέργειας που ανανεώνεται συνεχώς λόγω της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φυτικών οργανισμών. Τα φυτά δεσμεύουν διοξείδιο του άνθρακα, νερό και ηλιακή ενέργεια την οποία μετατρέπουν σε χημική. Όταν τα φυτά και τα προϊόντα τους καίγονται, η περιεχόμενη σε αυτά χημική



ενέργεια μετατρέπεται σε θερμική, ενώ μπορεί να μετατραπεί και σε άλλες μορφές, όπως ηλεκτρική, κινητική. Στο Σχήμα 1.1 απεικονίζονται τα σπουδαιότερα βιοκαύσιμα και οι πρώτες ύλες από τις οποίες προέρχονται [3].



Σχήμα 1.1: Σπουδαιότερα βιοκαύσιμα

Τα σπουδαιότερα βιοκαύσιμα είναι:

- Βιοντίζελ

Προέρχεται από φυτικά έλαια και ζωικά λίπη. Παράγεται μέσω της μετεστεροποίησης των τριγλυκεριδίων και της εστεροποίησης ελεύθερων λιπαρών οξέων με αλκοόλες μικρού μοριακού βάρους, όπως η μεθανόλη. Αποτελεί ένα άριστο υποκατάστατο του συμβατικού ντίζελ και μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσιο ή σε συγκεκριμένες αναλογίες με αυτό στους ήδη υπάρχοντες πετρελαιοκινητήρες [3].

- Βιοαιθανόλη

Προέρχεται από σακχαρούχες και αμυλούχες πρώτες ύλες, καθώς και από απόβλητα που περιέχουν κυτταρίνη. Παράγεται μέσω της αντίδρασης της αλκοολικής ζύμωσης κατά την οποία η γλυκόζη μετατρέπεται σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Χρησιμοποιείται και αυτή σε συγκεκριμένες αναλογίες με τη βενζίνη [3].

- Βιοαέριο

Παράγεται κατά την αναερόβια χώνευση διαφόρων ειδών βιομάζας, όπως απόβλητα κτηνοτροφικών μονάδων και οργανικά απόβλητα αγροτοβιομηχανικών και άλλων

μονάδων. Το βιοαέριο αποτελείται κυρίως από μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα, ενώ περιέχει και μικρές ποσότητες αζώτου, υδρογόνου, αμμωνίας και υδρόθειου [3].

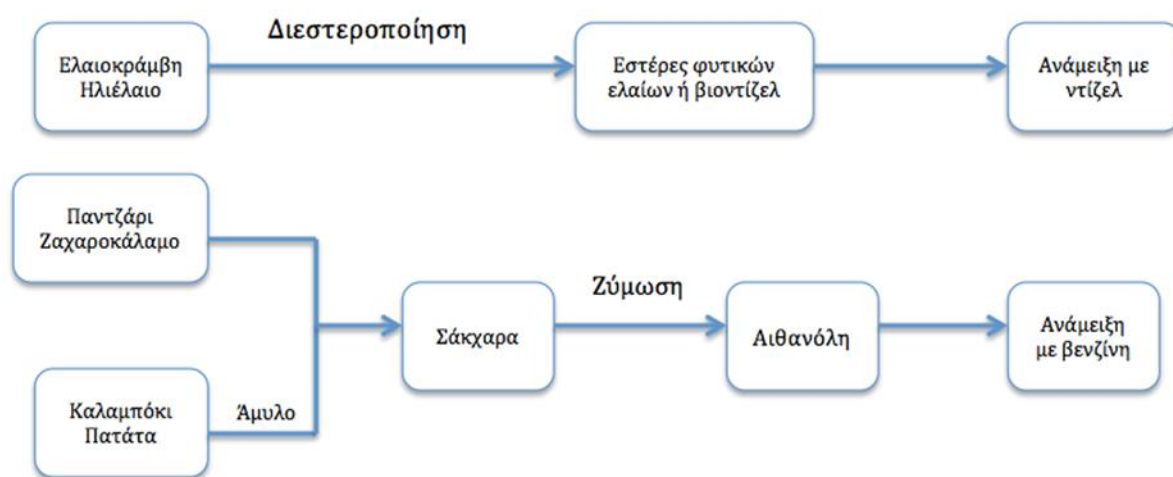
- Αέριο σύνθεσης (syngas)

Παράγεται κατά την αεριοποίηση της υπολειμματικής βιομάζας (κυρίως στερεής), όπως δασικά και αστικά απόβλητα. Αποτελείται κυρίως από μονοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο, ενώ περιέχει και μικρές ποσότητες διοξειδίου του άνθρακα, μεθανίου και υδρατμών. Στην περίπτωση που η τελική διεργασία γίνεται με τη χρήση αέρα το syngas έχει καθαρή θερμογόνο δύναμη περίπου το 1/7 από αυτήν του φυσικού αερίου, ενώ όταν χρησιμοποιείται καθαρό οξυγόνο η θερμογόνος δύναμη μπορεί και να τριπλασιασθεί. Το syngas μπορεί να τροφοδοτήσει μηχανές εσωτερικής καύσης για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας και θερμότητας [3].

Ανάλογα με την πρώτη ύλη από την οποία προέρχονται, τα βιοκαύσιμα χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες:

- Βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς

Είναι αυτά τα οποία προέρχονται από διαθέσιμες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται ως τροφή, όπως ελαιούχοι σπόροι, σπόροι δημητριακών, ζαχαροκάλαμο, ζαχαρότευτλο. Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς παρουσιάζουν πολλά προβλήματα. Ένα από τα κυριότερα είναι ότι απαιτούν μεγάλες ποσότητες ενέργειας για ανάπτυξη, συλλογή και επεξεργασία με αποτέλεσμα να είναι αμφιλεγόμενο το κατά πόσο βοηθούν στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, και κυρίως του CO<sub>2</sub>. Επιπρόσθετα, η πλειοψηφία των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς παράγεται απευθείας από καλλιέργειες τροφίμων με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι τιμές των τροφίμων και η πρόσβαση στα τρόφιμα να δυσχεραίνεται. Στο σχήμα 1.2 απεικονίζεται η παραγωγική διαδικασία δυο βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς [3,4].



Σχήμα 1.2: Παραγωγική διαδικασία βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς [3]

- Βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς

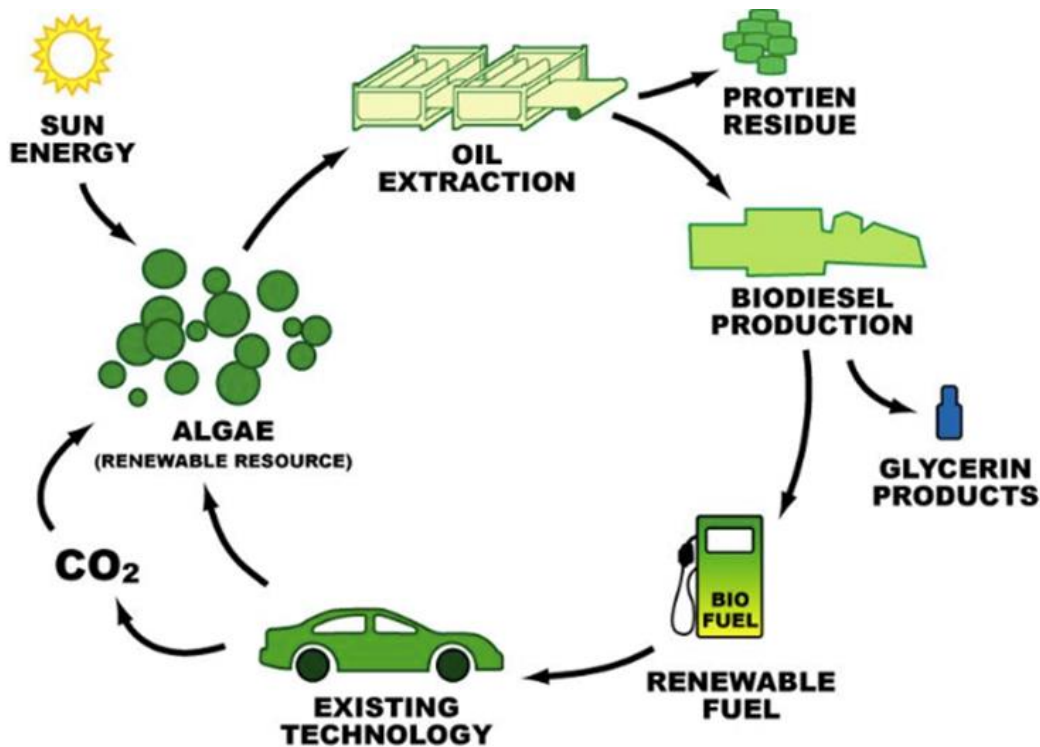
Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς έχουν αναπτυχθεί για να ξεπεράσουν τους περιορισμούς των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς. Προέρχονται από καλλιέργειες που δε χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τροφίμων, όπως το ξύλο, τα οργανικά απόβλητα, τα απόβλητα φυτικών τροφίμων και συγκεκριμένες καλλιέργειες βιομάζας. Ένα σημαντικό πρόβλημα που παρουσιάζουν τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς είναι ότι απαιτούν μεγάλες εκτάσεις γης, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή τροφίμων. Επίσης η διαδικασία παραγωγής τους είναι πιο περίπλοκη και πιο δαπανηρή σε σύγκριση με αυτήν των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς, αφού απαιτείται προκατεργασία της βιομάζας για να απελευθερωθούν τα σάκχαρα. Στο σχήμα 1.3 απεικονίζεται η παραγωγική διαδικασία δυο βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς [3,4].



Σχήμα 1.3: Παραγωγική διαδικασία βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς [3]

- Βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς

Είναι αυτά που προέρχονται από μικροφύκη (άλγη) και κυανοβακτήρια. Τα μικροφύκη καλλιεργούνται για να λειτουργούν ως χαμηλού κόστους, υψηλής ενέργειας και πλήρως ανανεώσιμες πρώτες ύλες. Πιο συγκεκριμένα, εκτιμάται ότι μπορούν να αποδώσουν περίπου 30 φορές περισσότερη ενέργεια ανά μονάδα καλλιεργούμενης έκτασης σε σύγκριση με τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς. Τα μικροφύκη έχουν τη δυνατότητα να μπορούν να αναπτυχθούν σε περιοχές ακατάλληλες για καλλιέργεια πρώτων υλών βιοκαυσίμων πρώτης και δεύτερης γενιάς. Το μεγαλύτερό τους πλεονέκτημα είναι ότι μπορούν να καλλιεργηθούν χρησιμοποιώντας λύματα, απόβλητα και αλμυρό νερό, με αποτέλεσμα να μη στερούν το νερό από τον άνθρωπο. Η χρήση των βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς είναι ακόμα υπό μελέτη με κύριο πρόβλημα το μεγάλο κόστος επεξεργασίας τους. Στο σχήμα 1.4 απεικονίζεται ο κύκλος ζωής των βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς [3,4].



Σχήμα 1.4: Κύκλος ζωής βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς [4]

- Βιοκαύσιμα τέταρτης γενιάς

Τα βιοκαύσιμα τέταρτης γενιάς αποσκοπούν όχι μόνο στην παραγωγή βιώσιμης ενέργειας, αλλά και στη συλλογή CO<sub>2</sub>. Η βιομάζα, η οποία έχει απορροφήσει CO<sub>2</sub> κατά την ανάπτυξή της, μετατρέπεται σε καύσιμα μέσω των ίδιων διεργασιών με τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς. Η διαφορά έγκειται στο γεγονός ότι σε όλα τα στάδια παραγωγής το διοξείδιο του άνθρακα δεσμεύεται με διάφορες διαδικασίες, όπως η καύση με το οξυγόνο. Το γεγονός αυτό καθιστά την παραγωγή βιοκαυσίμων τέταρτης γενιάς αρνητική ως προς τον άνθρακα, καθώς δεσμεύει περισσότερο άνθρακα από όσο παράγει [3,4].

#### Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα βιοκαυσίμων

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τα βιοκαύσιμα βοηθούν στην προστασία του περιβάλλοντος, αφού συμβάλλουν στην ελάττωση των εκπομπών επικίνδυνων αερίων που επηρεάζουν σημαντικά την υγεία και ευθύνονται για το φαινόμενο του θερμοκηπίου και πολλά άλλα φαινόμενα που επιδεινώνουν το περιβάλλον. Επιπλέον, μειώνουν την εξάρτηση από τις εισαγωγές συμβατικών ορυκτών καυσίμων και δημιουργούν νέες ευκαιρίες για τους αγρότες με επακόλουθο την ανάπτυξη του πρωτογενούς τομέα. Ακόμα, ως προϊόντα ανανεώσιμων πηγών ενέργειας τα βιοκαύσιμα είναι μη τοξικά, δεν περιέχουν αρωματικές ενώσεις και έχουν πολύ χαμηλές εκπομπές οξειδίων του θείου, μονοξειδίου του άνθρακα, άκαυστων υδρογονανθράκων και αιθάλης. Τέλος, η καύση τους δεν αυξάνει το διοξείδιο του

άνθρακα στην ατμόσφαιρα, αφού η ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της καύσης δεσμεύεται από τα φυτά κατά τη φωτοσύνθεση [3].

Από την άλλη πλευρά, η εξάπλωση της χρήσης των βιοκαυσίμων έχει και αρνητικά αποτελέσματα. Ένα από αυτά είναι η αρκετά ακριβή παραγωγή τους. Ξεκινώντας από τις καλλιεργήσιμες εκτάσεις και την συντήρησή τους, συνεχίζοντας με τη συγκομιδή των πρώτων υλών και την προκατεργασία που απαιτείται για κάποιες από αυτές και καταλήγοντας στη «βιοδιύλιση» τους προς παραγωγή βιοκαυσίμων, καθίσταται σαφές ότι πρόκειται για μια αρκετά ακριβή επένδυση. Κατόπιν, αν αυξηθεί η ζήτηση των βιοκαυσίμων, η καλλιέργεια μεγάλων εκτάσεων που θα απαιτείται θα στερήσει από το έδαφος θρεπτικά συστατικά, ενώ η χρήση λιπασμάτων θα προκαλέσει ρύπανση των υδάτων. Παράλληλα, αυτές οι εκτάσεις θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να αυξηθούν οι καλλιέργειες τροφίμων. Συνεπώς αναμένεται να αυξηθούν και οι τιμές των τροφίμων για τους καταναλωτές. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι παρόλο που η καύση των βιοκαυσίμων παράγει λιγότερο άνθρακα, δεν ισχύει το ίδιο και για τη διαδικασία παραγωγής τους. Πιο συγκεκριμένα, η χρήση νιτρικών λιπασμάτων και μηχανημάτων που είναι αναγκαία για την καλλιέργεια των εκτάσεων οδηγεί στη δημιουργία ίσων ή και περισσότερων ποσοτήτων αερίων του θερμοκηπίου [3].

#### Πολιτική της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με τα βιοκαύσιμα για το 2018

Σύμφωνα με την ετήσια αναφορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης σχετικά με τα βιοκαύσιμα για το έτος 2018, ένας από τους επιτακτικούς σκοπούς για το 2020 είναι το 20% της συνολικής ενέργειας που καταναλώνεται στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης να προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας (δεσμευτικό ποσοστό) και το 10% της ενέργειας που απαιτείται για μεταφορές να προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας σε ανάμιξη με τα συμβατικά καύσιμα. Σύμφωνα με πρόσφατες εκτιμήσεις, η Ευρωπαϊκή Ένωση πλησιάζει στο ποσοστό του 20%, αλλά είναι μακριά από το 10% που τέθηκε ως στόχος στον τομέα των μεταφορών [5].

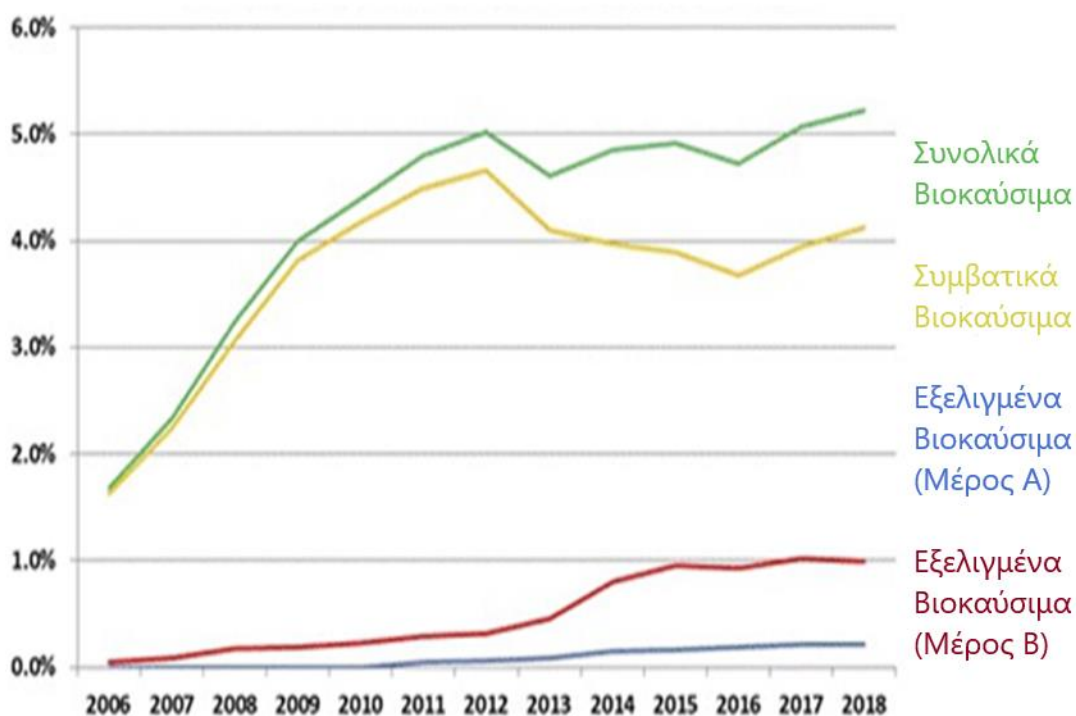
Η Διεύθυνση της Ανανεώσιμης Ενέργειας (ΔΑΕ), η οποία είναι υπεύθυνη και για το θέμα της κλιματικής αλλαγής, όρισε συγκεκριμένες απαιτήσεις βιωσιμότητας για τα συμβατικά υγρά βιοκαύσιμα. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή τροποποίησε αυτές τις απαιτήσεις, θέτοντας όριο χρήσης των συμβατικών βιοκαυσίμων (προερχόμενα από τρόφιμα) το 7% και μη δεσμευτικό όριο για τα εξελιγμένα βιοκαύσιμα (μη προερχόμενα από τρόφιμα) για κάθε χώρα το 0,5% της συνολικής ενέργειας που καταναλώνεται [5].

#### Συμβατικά και εξελιγμένα βιοκαύσιμα

Η κατανάλωση βιοαιθανόλης και βιοντίζελ συνέχισε να αυξάνεται το 2018, κυρίως λόγω εντολών της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Λόγω των δασμών που επιβλήθηκαν σε αμερικανικές εισαγωγές αιθανόλης, η εγχώρια παραγωγή βιοαιθανόλης επωφελήθηκε από αυτήν την αυξημένη ζήτηση. Αντιθέτως, η εγχώρια παραγωγή συμβατικού βιοντίζελ επηρεάστηκε σημαντικά από τις αυξημένες εισαγωγές

βιοντίζελ προερχόμενου από σογιέλαιο από την Αργεντινή. Ως αποτέλεσμα, η παραγωγή βιοντίζελ από κραμβέλαιο περιορίστηκε και η χρήση κραμβελαίου μειώθηκε περίπου κατά ένα εκατομμύριο μετρικούς τόνους (Μ.Τ.) το 2018. Η παραγωγή βιοντίζελ από απόβλητα λίπους και λαδιών και η παραγωγή υδρογονωμένων φυτικών ελαίων επηρεάστηκε λιγότερο από τις ανταγωνιστικές εισαγωγές που προαναφέρθηκαν [5].

Το 2018, τα συνολικά βιοκαύσιμα που αναμιγνύονταν με ορυκτά καύσιμα έφτασαν στο 5,2% και πιο συγκεκριμένα στο 3,6% για τη βιοαιθανόλη και στο 5,8% για το βιοντίζελ και τα υδρογονωμένα φυτικά έλαια (σχετικά κοντά στο 10% που έχει τεθεί ως όριο για το 2020). Τα συμβατικά βιοκαύσιμα (προερχόμενα από τρόφιμα) που αναμιγνύονται με τα ορυκτά καύσιμα εκτιμήθηκαν στο 4,1% (σχετικά κοντά στο 7% που έχει τεθεί ως όριο). Τα εξελιγμένα βιοκαύσιμα (μη προερχόμενα από τρόφιμα) που αναμιγνύονται με τα ορυκτά καύσιμα εκτιμήθηκαν στο 1,2%. Από αυτό το ποσοστό το 1% παράγεται από απόβλητα λιπών και ελαίων (Μέρος Β) και μόνο το 0,2% παράγεται από αγροτικά και δασικά παραπροϊόντα, όπως το έλαιο του πεύκου και τα κυτταρινούχα έλαια (Μέρος Α). Στο Σχήμα 1.5 απεικονίζονται τα ποσοστά των συνολικών βιοκαυσίμων και κάθε κατηγορίας ξεχωριστά με την πάροδο των ετών, όσον αφορά τη χρήση τους ως καύσιμα στον τομέα των μεταφορών [5].



Σχήμα 1.5: Χρήση συμβατικών και εξελιγμένων βιοκαυσίμων στον τομέα των μεταφορών τα τελευταία 13 χρόνια [5]

### Χρήση βιομάζας για παραγωγή θερμότητας και ηλεκτρικής ενέργειας

Με ετήσια κατανάλωση 21,7 εκατομμυρίων M.T. pellets το 2016, η ευρωπαϊκή αγορά πρωταγωνιστεί στα pellets από ξύλο. Λόγω των εντολών της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και των κινήτρων των κρατών-μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης, η ζήτηση έφτασε περίπου 24 εκατομμύρια M.T. το 2018 σημειώνοντας μια σημαντική αύξηση. Η οικιακή χρήση των pellets για θέρμανση, που αντιστοιχεί στο 45% της συνολικής παραγωγής pellets, αποτελεί μια σχετικά σταθερή αγορά σε σύγκριση με τη βιομηχανική χρήση για παραγωγή θερμότητας και ηλεκτρικής ενέργειας. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε κάποια κράτη-μέλη, οι κατοικίες που χρησιμοποιούν βιομάζα για θέρμανση λαμβάνουν επιχορηγήσεις ή έχουν μείωση των φόρων τους. Γενικά, η Ιταλία και η Γερμανία έχουν πρωταγωνιστικό ρόλο στην οικιακή χρήση των pellets [5].

### Γενικά για την αιθανόλη

Η αιθανόλη ή αιθυλική αλκοόλη ή οινόπνευμα είναι ένα πτητικό, εύφλεκτο και άχρωμο υγρό. Οι βασικές ιδιότητες της αιθανόλης δίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1.1).

Πίνακας 1.1 Βασικές ιδιότητες αιθανόλης [6]

Μοριακός τύπος	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Σημείο τήξης	-114 °C
Σημείο βρασμού	78 °C
Σημείο πήξης	-112 °C
Διαλυτότητα στο νερό	Σε κάθε αναλογία
Ελάχιστη θερμοκρασία ανάφλεξης	13 °C
Σημείο αυτανάφλεξης	362 °C
Μοριακό βάρος	46,07 amu
Πυκνότητα	0,789 g/mL

Όσον αφορά την ανάμιξη της αιθανόλης με το νερό αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την ανάμιξή τους παρατηρείται ελάττωση του όγκου, ενώ παράλληλα εκλύεται θερμότητα στο περιβάλλον. Μίγμα 95% αιθανόλης και 5% νερού χαρακτηρίζεται ως αζεοτροπικό, δηλαδή κατά την απόσταξή τους δε διαχωρίζονται τα συστατικά τους, αφού ζέουν στην ίδια θερμοκρασία [6].

Η αιθανόλη χρησιμοποιείται ευρύτατα ως διαλύτης ουσιών που προορίζονται για ανθρώπινη επαφή ή κατανάλωση, όπως αρώματα, φάρμακα. Στη χημεία χρησιμοποιείται τόσο ως διαλύτης όσο και ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση άλλων προϊόντων. Στην ιατρική χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό. Επιπλέον χρησιμοποιείται ως διαλύτης σε πολλές εφαρμογές της καθημερινής ζωής, όπως



μαρκαδόροι, κόλλες. Ακόμα μπορούμε να τη συναντήσουμε και σε θερμομέτρα που προορίζονται για πολύ χαμηλές θερμοκρασίες λόγω του χαμηλού σημείου πήξης της αιθανόλης. Αξίζει να αναφερθεί και η ευρύτατη χρήση της για την παρασκευή οينوπνευματωδών ποτών. Όσον αφορά την οικιακή χρήση, για να αποφευχθεί η καταβολή υψηλής φορολογίας υφίσταται μετουσίωση, δηλαδή αναμιγνύεται με μικρή ποσότητα πετρελαίου που την καθιστά ακατάλληλη προς πόση. Τέλος, η αιθανόλη έχει μια μεγάλη ιστορία ως καύσιμο παραγωγής θερμότητας, φωτός και πρόσφατα και ως καύσιμο κινητήρων εσωτερικής καύσης [6].

Υπάρχουν δύο τρόποι παραγωγής αιθανόλης [6]:

1. Πετροχημική μέθοδος: μέσω της ενυδάτωσης του αιθυλενίου σε υψηλή θερμοκρασία από την οποία προκύπτει η συνθετική αλκοόλη που προορίζεται μόνο για βιομηχανική χρήση.



2. Βιοχημική μέθοδος: μέσω της αλκοολικής ζύμωσης σακχαρούχων, αμυλούχων και κυτταρινούχων πρώτων υλών με την παρουσία μικροοργανισμών (βιοαιθανόλη).



Η παρούσα εργασία εστιάζει στη βιοχημική μέθοδο. Γενικά, η παραγωγή της βιοαιθανόλης πραγματοποιείται σε τέσσερα στάδια, ωστόσο η διαδικασία παραγωγής επηρεάζεται από τις πρώτες ύλες. Τα τέσσερα στάδια είναι τα εξής [7]:

- Προκατεργασία πρώτης ύλης
- Υδρόλυση αμύλου, κυτταρίνης και ημικυτταρίνης για να ληφθεί το σακχαρούχο διάλυμα
- Μετατροπή σακχάρων σε αιθανόλη με ζύμωση, όπως προαναφέρθηκε
- Διαχωρισμός και καθαρισμός αιθανόλης.

### Χρήσεις βιοαιθανόλης

Τα προηγούμενα χρόνια, το υψηλό κόστος των πρώτων υλών σε συνδυασμό με το χαμηλό κόστος παραγωγής συμβατικών καυσίμων δεν επέτρεψαν την ανάπτυξη ανταγωνιστικότητας και περαιτέρω ανάπτυξη της βιομηχανίας για την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς. Λόγω των ανωτέρω, σε συνδυασμό με τα όρια που έχει θέσει η Ευρωπαϊκή Ένωση, απαιτείται η αύξηση της παραγωγής βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς. Το κυριότερο ζήτημα για την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς είναι το κόστος παραγωγής, αφού απαιτείται προκατεργασία των πρώτων υλών. Βέβαια, το κόστος αυτό μειώνεται σταδιακά με την εξέλιξη του επιστημονικού κλάδου της βιοτεχνολογίας [5].



Οι χρήσεις της βιοαιθανόλης εστιάζονται σε τρεις κύριους τομείς οι οποίοι είναι οι εξής:

- Καύσιμα (μίγμα με βενζίνη) και πρόσθετα καυσίμων (ETBE)
- Χημική βιομηχανία
- Βιομηχανία τροφίμων και ποτών

#### Η βιοαιθανόλη ως καύσιμο Μηχανών Εσωτερικής Καύσης (ΜΕΚ)

Η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται ως καύσιμο αντί της βενζίνης ή συνηθέστερα σε διάφορες αναλογίες με τη βενζίνη. Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται οι ιδιότητες της βιοαιθανόλης σε σύγκριση με αυτές της βενζίνης:

*Πίνακας 1.2 Ιδιότητες βιοαιθανόλης και βενζίνης [8]*

<b>Ιδιότητα</b>	<b>Βενζίνη</b>	<b>Βιοαιθανόλη</b>
Πυκνότητα (kg/L)	0,76	0,79
Ιξώδες (mm <sup>2</sup> /s)	0,6	1,5
Σημείο ανάφλεξης (°C)	-45	13
Θερμογόνος δύναμη στους 20 °C (MJ/kg)	42,7	26,8
Αριθμός οκτανίου RON	92	129
Δείκτης αντικροτικότητας AKI	87	116

Όπως παρατηρείται, η βιοαιθανόλη έχει πολλές ευνοϊκές ιδιότητες σε σχέση με τη βενζίνη. Πιο συγκεκριμένα, ο δείκτης αντικροτικότητας και ο αριθμός οκτανίου RON της βιοαιθανόλης είναι μεγαλύτεροι από αυτούς της βενζίνης. Αυτό σημαίνει ότι τα ποσοστά αυτανάφλεξης στο θάλαμο καύσης είναι μικρότερα και άρα και το «χτύπημα» στον κινητήρα εμφανίζεται σε μικρότερο βαθμό. Ως αποτέλεσμα, η λειτουργία του κινητήρα είναι ομαλότερη. Αντιθέτως, η ενεργειακή απόδοση της βιοαιθανόλης είναι κατά 1/3 μικρότερη από αυτή της βενζίνης, γεγονός που δικαιολογείται από τη μικρότερη τιμή της θερμογόνου δύναμης που έχει η βιοαιθανόλη. Κατόπιν, η βιοαιθανόλη έχει και χαμηλότερη θερμοκρασία εξάτμισης με αποτέλεσμα να δημιουργούνται προβλήματα στην εκκίνηση της μηχανής κατά τις κρύες μέρες. Για αυτό το λόγο, στις περιοχές που έχουν χαμηλές θερμοκρασίες πρέπει να χρησιμοποιούνται μίγματα βενζίνης-βιοαιθανόλης. Το πλέον σύνηθες μίγμα αποτελείται από 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη (E10) και η καύση του μπορεί να υποστηριχθεί από τα συμβατικά οχήματα που κυκλοφορούν στην αγορά. Σε κάποιες χώρες, όπως οι Η.Π.Α., γίνεται προώθηση καυσίμου με αναλογίες 15% αιθανόλης και 85% βενζίνης (E15). Μίγματα που περιέχουν 85% αιθανόλη και 15% βενζίνη (E85) χρησιμοποιούνται σε ειδικά «ευέλικτα» οχήματα (Flexible Fuel Vehicles- FFVs), τα οποία περιέχουν ειδικά διαμορφωμένους κινητήρες εσωτερικής

καύσης που αντέχουν στη φθορά η οποία μπορεί να προκληθεί από την καύση καθαρής αιθανόλης [8].

### Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης

#### Πλεονεκτήματα

- Ανήκει στα βιοκαύσιμα 2<sup>ης</sup> γενιάς, αφού μπορεί να παραχθεί και από απόβλητα.
- Είναι διαλυτή στο νερό σε κάθε αναλογία και έτσι δεν προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον σε περίπτωση διαρροής.
- Υπάρχει μεγάλη ποικιλία στις πρώτες ύλες από τις οποίες μπορεί να παραχθεί.
- Παρέχει υψηλό αριθμό οκτανίων με χαμηλό κόστος.
- Ορισμένα μίγματα βιοαιθανόλης-βενζίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε όλους τους βενζινοκινητήρες χωρίς τροποποιήσεις.
- Η υψηλή περιεκτικότητά της σε οξυγόνο μειώνει τα επίπεδα μονοξειδίου του άνθρακα περισσότερο από οποιονδήποτε άλλο οξυγονοποιητή [9,10,11].

#### Μειονεκτήματα

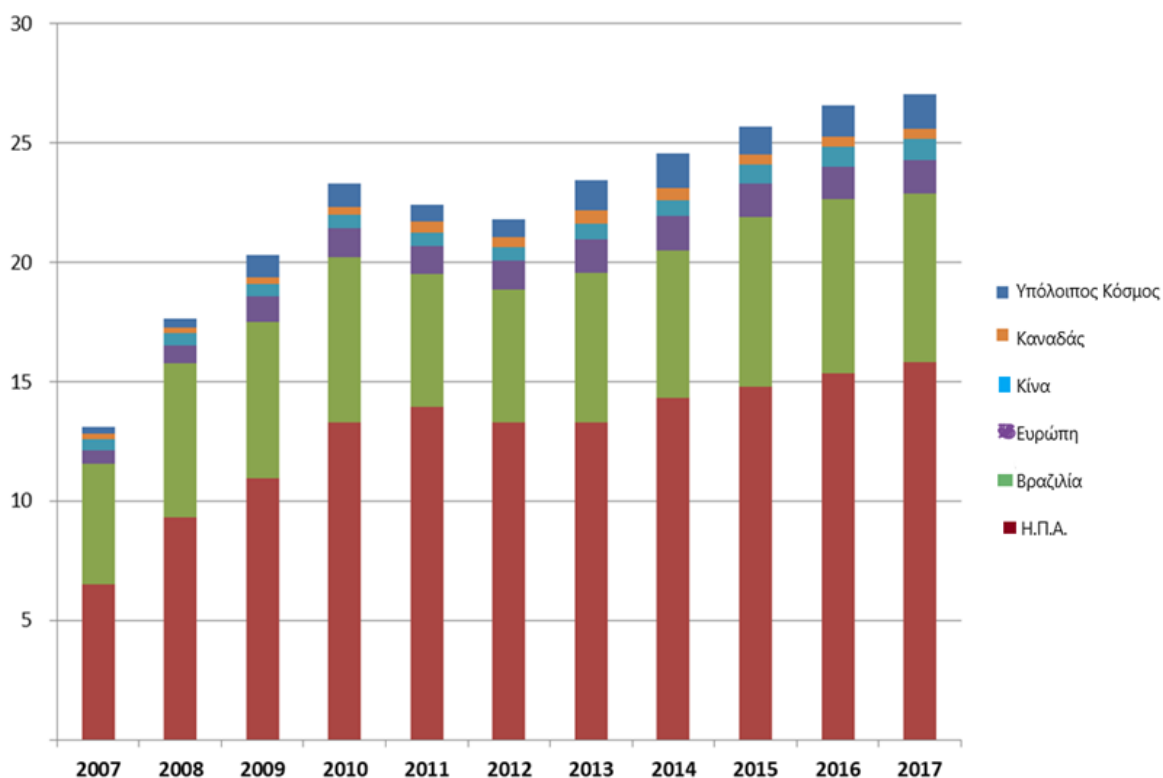
- Λόγω των ενδεχόμενων κερδοφόρων τιμών της βιοαιθανόλης, ορισμένοι γεωργοί μπορεί να θυσιάσουν τις καλλιέργειες τροφίμων τους, γεγονός που θα οδηγήσει σε αύξηση των τιμών των τροφίμων σε όλο τον κόσμο.
- Η εγκατάσταση μονάδας παραγωγής βιοαιθανόλης είναι ακριβή.
- Το ενεργειακό περιεχόμενο της βιοαιθανόλης είναι αρκετά χαμηλότερο από αυτό της βενζίνης [9, 10, 11].

## **1.2 Η παραγωγή της βιοαιθανόλης στην Ευρώπη και παγκοσμίως**

Στο πλαίσιο της αειφόρου ανάπτυξης σε παγκόσμια και κατ' επέκταση σε ευρωπαϊκή κλίμακα γίνονται προσπάθειες αντικατάστασης των ρυπογόνων συμβατικών καυσίμων με βιοκαύσιμα. Σε αυτήν την προσπάθεια αναπτύχθηκε η βιομηχανία παραγωγής βιοαιθανόλης (πρώτης και δεύτερης γενιάς) με τις Η.Π.Α και την Κίνα να πρωταγωνιστούν. Η Ευρωπαϊκή Ένωση ακολούθησε το δρόμο της βιώσιμης ανάπτυξης και υιοθέτησε τις ανάλογες πολιτικές που προαναφέρθηκαν, τις οποίες τα κράτη-μέλη οφείλουν να ενσωματώσουν στο εθνικό τους δίκαιο και να εφαρμόσουν άμεσα.

Σήμερα οι τρεις μεγαλύτεροι παραγωγοί βιοαιθανόλης παγκοσμίως είναι οι Η.Π.Α., η Κίνα και η Βραζιλία με τις εν λόγω βιομηχανίες να γνωρίζουν ραγδαία ανάπτυξη. Μέχρι το 2004, ο μεγαλύτερος παραγωγός βιοαιθανόλης παγκοσμίως ήταν η

Βραζιλία. Το 2005 ήταν η πρώτη φορά που η παραγωγή βιοαιθανόλης των Η.Π.Α. ξεπέρασε αυτήν της Βραζιλίας κατά 140 εκατομμύρια λίτρα. Από τότε μέχρι και σήμερα, η παραγωγή βιοαιθανόλης των Η.Π.Α. παρουσιάζει συνεχή αύξηση και έτσι σήμερα είναι η μεγαλύτερη δύναμη στην παραγωγή βιοαιθανόλης σε όλο τον κόσμο. Παράλληλα, μεγάλη άνοδο τα τελευταία χρόνια παρουσιάζει και η Κίνα, ενώ ακολουθούν ο Καναδάς και η Ινδία. Επίσης, η Ρωσία ξεκίνησε πρόγραμμα ανάπτυξης της βιομηχανίας αιθανόλης το 2012 κατασκευάζοντας 30 νέα εργοστάσια δυναμικότητας 2 εκατομμυρίων τόνων. Ιστορικά, όσον αφορά την Ευρώπη, οι πρώτες χώρες που ασχολήθηκαν με το αντικείμενο είναι η Γαλλία και η Αυστρία και ακολούθησαν η Γερμανία, η Ισπανία και η Σουηδία. Στο Σχήμα 1.6 παρουσιάζεται η παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης σε δισεκατομμύρια γαλόνια κατά το διάστημα 2007-2017 [8,12].



Σχήμα 1.6: Παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης ανά χώρα κατά το διάστημα 2007-2017 [12]

Στον Πίνακα 1.3 απεικονίζεται λεπτομερώς η συνολική παραγωγή κάθε χώρας σε εκατομμύρια γαλόνια κατά το διάστημα 2007-2017.

Πίνακας 1.3: Παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης 2007-2017 [12]

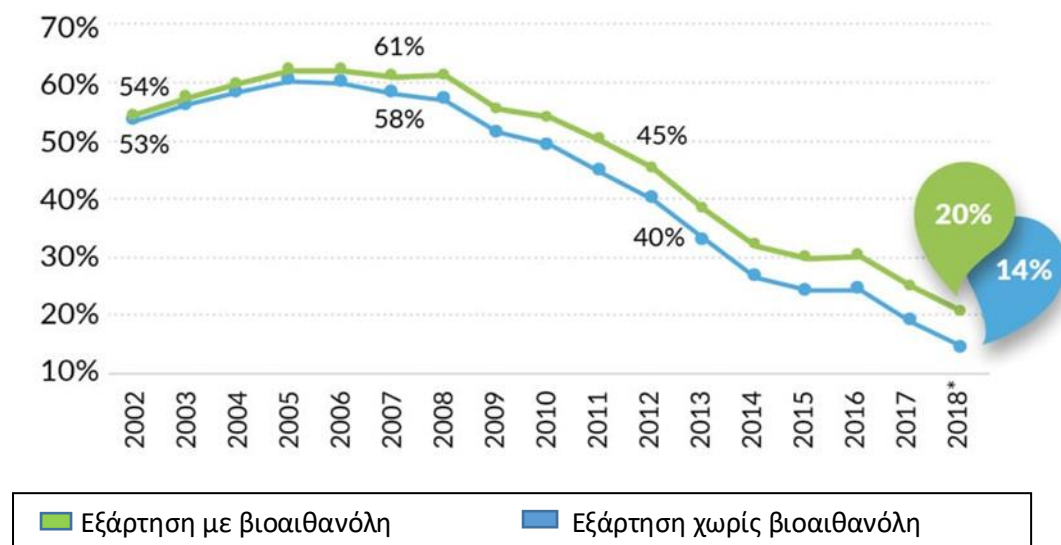
Χώρα	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Η.Π.Α.	6.521	9.309	10.938	13.298	13.948	13.300
Βραζιλία	5.019	6.472	6.578	6.922	5.573	5.577
Ευρώπη	570	734	1.040	1.209	1.168	1.179

Κίνα	486	502	542	542	555	555
Καναδάς	211	238	291	357	462	449
Υπόλοιποι	315	389	914	985	698	752
<b>Συνολικά</b>	<b>13.123</b>	<b>17.644</b>	<b>20.303</b>	<b>23.311</b>	<b>22.404</b>	<b>21.812</b>
<b>Χώρα</b>	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
Η.Π.Α.	13.300	14.313	14.807	15.329	15.800	16.061
Βραζιλία	6.267	6.190	7.093	7.295	7.060	7.920
Ευρώπη	1.371	1.445	1.387	1.377	1.415	1.430
Κίνα	696	635	813	845	875	1.050
Καναδάς	523	510	436	436	450	480
Υπόλοιποι	1.272	1.490	1.147	1.301	1.450	1.629
<b>Συνολικά</b>	<b>23.429</b>	<b>24.583</b>	<b>25.683</b>	<b>26.583</b>	<b>27.050</b>	<b>28.570</b>

Σύμφωνα με τον πίνακα, παρατηρείται ότι η συνολική παραγωγή βιοαιθανόλης σε όλο τον κόσμο έχει διαρκώς αυξανόμενο ρυθμό από το 2012 και μετά. Ακόμα, αξιοσημείωτη κρίνεται τόσο η προσπάθεια της Ευρωπαϊκής ένωσης όσο και της Κίνας οι οποίες συνεισφέρουν πλέον σε σημαντικό βαθμό στη παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης. Παρακάτω ακολουθεί ανάλυση για κάθε χώρα ξεχωριστά.

#### Παραγωγή βιοαιθανόλης στις Η.Π.Α.

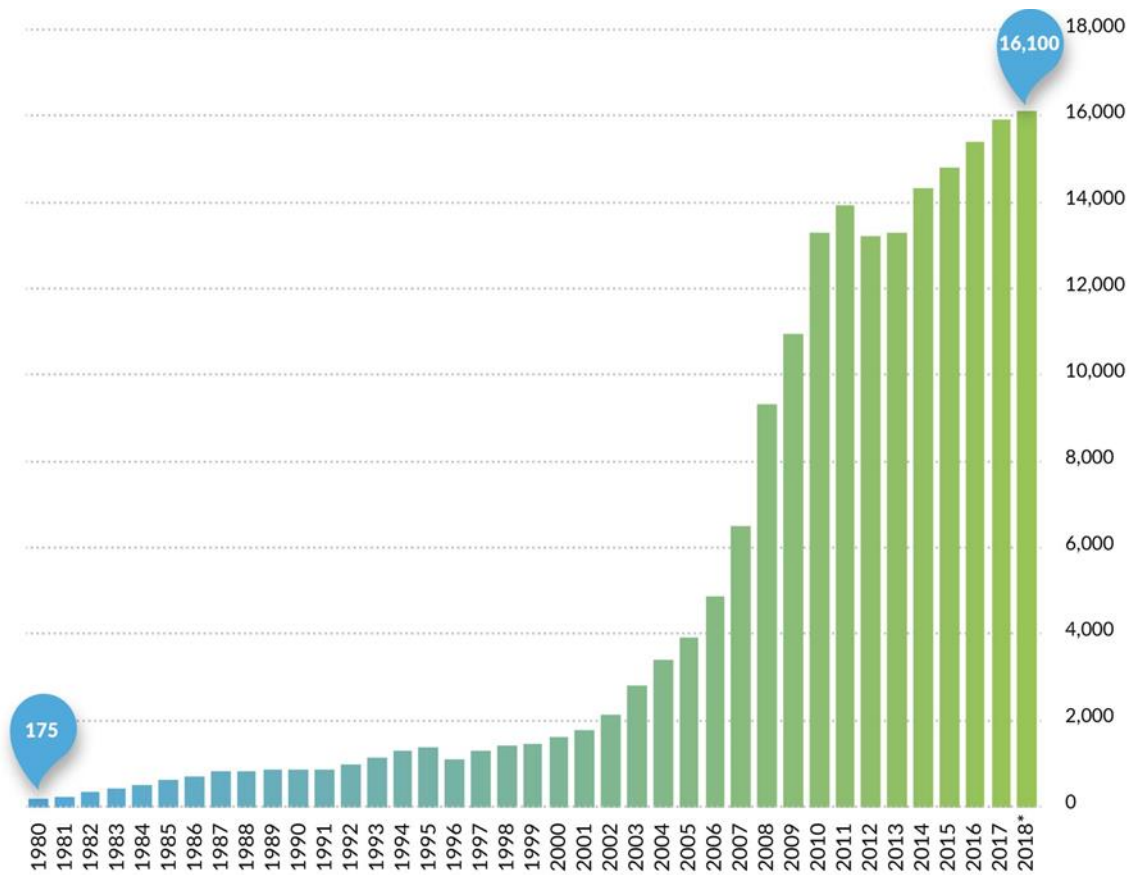
Η ενεργειακή ανεξαρτησία παραμένει ένα σημαντικό ζήτημα για τις Η.Π.Α. Χάρη στην αύξηση της εγχώριας παραγωγής βιοαιθανόλης, οι Αμερικάνοι εισάγουν λιγότερο πετρέλαιο. Πιο συγκεκριμένα, η εξάρτηση των Η.Π.Α. σε εισαγόμενο αργό πετρέλαιο και πετροχημικά προϊόντα έπεσε στο 14% το 2018 λόγω των 16 δισεκατομμυρίων γαλονιών βιοαιθανόλης που παράχθηκαν. Διαφορετικά, η εξάρτηση των Η.Π.Α. σε εισαγόμενο πετρέλαιο και πετροχημικά προϊόντα θα ήταν στο 20%. Με άλλα λόγια, χωρίς τη συνεισφορά της βιοαιθανόλης, οι Η.Π.Α. θα εισήγαγαν επιπλέον 594 εκατομμύρια βαρέλια αργού πετρελαίου για να ικανοποιήσουν της ανάγκες του έθνους τους. Στο Σχήμα 1.7 απεικονίζεται η εξάρτηση των Η.Π.Α. από τις εισαγωγές με και χωρίς τη βιοαιθανόλη [13].



Σχήμα 1.7: Εξάρτηση Η.Π.Α. από εισαγωγές με και χωρίς τη βιοαιθανόλη [13]

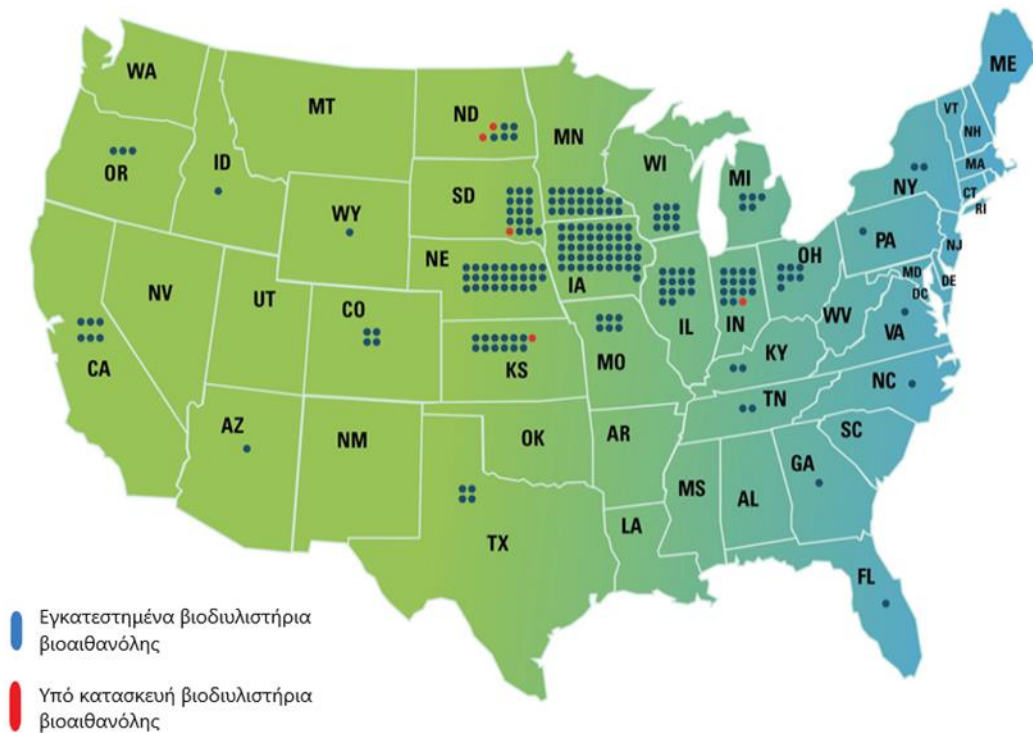
Παρόλο ότι σημειώνεται πρόοδος για να ενισχυθεί η ενεργειακή αυτονομία, πρέπει να γίνουν και άλλα πράγματα. Οι Η.Π.Α. μεταφέρουν ακόμα ένα πολύ μεγάλο ποσό στο καρτέλ του ΟΠΕΚ (Οργανισμός Πετρελαιοπηγών Κρατών). Το 2018, οι Η.Π.Α. έστειλαν 54 δισεκατομμύρια δολάρια, ή αλλιώς 425 δολάρια ανά οικία, σε χώρες όπως η Σαουδική Αραβία, το Ιράκ, η Βενεζουέλα και η Νιγηρία για να πληρώσουν για τις εισαγωγές αργού πετρελαίου. Η ενεργειακή αυτονομία είναι από τους κύριους κινητήριους μοχλούς του προγράμματος του Προτύπου Ανανεώσιμων Καυσίμων και το συγκεκριμένο πρόγραμμα βελτιώνεται συνεχώς παρέχοντας στους καταναλωτές περισσότερες επιλογές στην «αντλία» τους και ενισχύοντας την οικιακή κατανάλωση ενέργειας [13].

Όπως προαναφέρθηκε, οι Η.Π.Α. παραμένουν η κυρίαρχη δύναμη στην παραγωγή βιοαιθανόλης και αυτό επιβεβαιώνεται από το ιστορικό ρεκόρ των 16,1 δισεκατομμυρίων γαλονιών που καταγράφηκε το 2018. Στο Σχήμα 1.8 φαίνεται η αλματώδης αύξηση της παραγωγής βιοαιθανόλης, ειδικά από το 2007 και μετά [13].



Σχήμα 1.8: Παραγωγή βιοαιθανόλης στις Η.Π.Α. από το 1980 και μετά [13]

Το ρεκόρ βέβαια που σημειώθηκε είναι αποτέλεσμα 210 βιοδιυλιστηρίων που λειτουργούν σε 27 πολιτείες των Η.Π.Α. Επίσης, κατασκευάζονται και καινούργια εργοστάσια, όπως αντικατοπτρίζεται στο Σχήμα 1.9 [13].



Σχήμα 1.9: Εγκατεστημένα και υπό κατασκευή βιοδιυλιστήρια ανά πολιτεία των Η.Π.Α. [13]

Όσον αφορά τις πρώτες ύλες, οι Η.Π.Α. κατέχουν την πρώτη θέση στην παραγωγή βιοαιθανόλης από καλαμπόκι. Περίπου το 90% της βιοαιθανόλης προέρχεται από καλαμπόκι και το υπόλοιπο από γλυκό σόργο. Αξίζει να επισημανθεί ότι η καλλιέργεια καλαμποκιού λαμβάνει από την κυβέρνηση των Η.Π.Α. τη μεγαλύτερη αγροτική επιδότηση. Έτσι μεγάλες αγροτικές εταιρείες που συμμετέχουν στην παραγωγή βιοαιθανόλης επωφελούνται από επιχορηγήσεις καλλιέργειας καλαμποκιού [14].

Επιπρόσθετα, τα βιοδιυλιστήρια των Η.Π.Α. χρησιμοποιούν τις πιο εξελιγμένες τεχνολογίες για την μετατροπή των τροφοδοσιών τους σε βιοαιθανόλη. Πιο συγκεκριμένα, το 90% της βιοαιθανόλης που παράγεται από σιτηρά υφίσταται ξηρή άλεση, ενώ το 10% υφίσταται υγρή άλεση. Η διαφορά τους εστιάζεται στην αρχική επεξεργασία των σιτηρών, όπως θα αναλυθεί παρακάτω [14].

Στον τομέα των μεταφορών, οι καταναλωτές θα επωφεληθούν και θα εξοικονομούν χρήματα, αφού το καύσιμο E10 αντικαθίσταται από το E15 το οποίο περιέχει μεγαλύτερο ποσοστό βιοαιθανόλης. Οι κατασκευαστές αυτοκινήτων έχουν ήδη εγκρίνει τη χρήση αυτοκινήτων E15 και όπως αναφέρουν τα 9 στα 10 αυτοκίνητα στους δρόμους των Η.Π.Α. θα είναι E15 [15].

Τέλος, σχετικά με τα παραπροϊόντα της διαδικασίας παραγωγής βιοαιθανόλης, οι Η.Π.Α. παράγουν ζωοτροφές και καλαμποκέλαιο το οποίο χρησιμοποιείται για την

παραγωγή βιοντίζελ. Πιο αναλυτικά, 25,4 κιλά καλαμποκιού σε ένα βιοδιυλιστήριο ξηρής άλεσης μπορούν να παράγουν [15]:

- 10,84 λίτρα μετουσιωμένης βιοαιθανόλης
- 7,16 κιλά ζωοτροφής με 10% υγρασία
- 0,34 κιλά καλαμποκέλαιο το οποίο προορίζεται είτε για ζωοτροφή είτε για παραγωγή βιοντίζελ
- 7,43 κιλά βιογενούς διοξειδίου του άνθρακα για τροφή, ποτό και βιομηχανική χρήση συνολικά.

### Παραγωγή βιοαιθανόλης στη Βραζιλία

Η Βραζιλία είναι η δεύτερη μεγαλύτερη δύναμη στην παραγωγή βιοαιθανόλης παγκοσμίως πετυχαίνοντας σε μεγάλη κλίμακα τη χρήση της βιοαιθανόλης στον τομέα των μεταφορών από τα παλαιά χρόνια μέχρι και σήμερα. Η προσπάθεια αυτή ξεκίνησε πριν από περίπου 90 χρόνια. Το 1931 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά βενζίνη αναμιγμένη με 5% άνυδρη βιοαιθανόλη, πρακτική που έγινε υποχρεωτική το 1938. Από τότε έγιναν σημαντικά βήματα στην προσπάθεια εισαγωγής βιοαιθανόλης και των μιγμάτων βενζίνης-βιοαιθανόλης στον τομέα των μεταφορών στη Βραζιλία. Η πρώτη πετρελαϊκή κρίση στις αρχές της δεκαετίας του 1970 οδήγησε την κυβέρνηση στην προώθηση της χρήσης και παραγωγής βιοαιθανόλης δημιουργώντας το πρόγραμμα Proalcool. Ωστόσο, το ενεργειακό θαύμα για τη χώρα πραγματοποιήθηκε το 1973 όταν ο τότε δικτάτορας Γκάζελ, λόγω της εκτόξευσης των τιμών του πετρελαίου παγκοσμίως, δημιούργησε το 30ετές πρόγραμμα υποκατάστασης της βενζίνης από βιοαιθανόλη. Μάλιστα έδωσε γενναίες επιδοτήσεις και χρηματοδότησε την κατασκευή αρκετών εργοστασίων παραγωγής βιοαιθανόλης. Παράλληλα εγκατέστησε αντλίες βιοαιθανόλης σε όλα τα πρατήρια καυσίμων της χώρας και έδωσε φορολογικά κίνητρα στα αλκοολοκίνητα αυτοκίνητα [16].

Σήμερα, η συνολική παραγωγή βιοαιθανόλης για το 2018 εκτιμήθηκε στα 30,755 δισεκατομμύρια λίτρα σημειώνοντας αύξηση κατά 9% συγκριτικά με τα 28,254 δισεκατομμύρια λίτρα του 2017. Το 90% της συνολικής παραγωγής βιοαιθανόλης χρησιμοποιήθηκε στα καύσιμα σημειώνοντας αύξηση κατά 9% σε σύγκριση με το 2017. Το ζαχαροκάλαμο που αξιοποιήθηκε για τη συνολική παραγωγή της βιοαιθανόλης αποτέλεσε το 61% της συνολικής καλλιέργειας σημειώνοντας αύξηση σε σχέση με το 53,6% που καταγράφηκε το 2017. Αυτή η διαφορά οφείλεται στο πλεόνασμα της ζάχαρης που αναμένεται συνεχώς στη παγκόσμια αγορά κατά το διάστημα 2018-2019, γεγονός που έκανε τη παγκόσμια αγορά ζάχαρης λιγότερο ελκυστική. Επιπλέον, η αυξημένη εγχώρια ζήτηση βιοαιθανόλης που επηρεάστηκε από τις συνεχώς αυξανόμενες τιμές της βενζίνης παρακίνησε τα βιοδιυλιστήρια να επεξεργαστούν μεγαλύτερη ποσότητα ζαχαροκάλαμου. Σε μικρότερο ποσοστό συγκριτικά με το ζαχαροκάλαμο χρησιμοποιήθηκε το καλαμπόκι το οποίο εκτιμήθηκε στα 830 εκατομμύρια λίτρα σημειώνοντας αύξηση κατά 305 εκατομμύρια λίτρα σε



σχέση με το 2017. Παρά τη σημαντική αυτή αύξηση, το ποσοστό βιοαιθανόλης που προέρχεται από καλαμπόκι αντιστοιχεί μόλις στο 2% της συνολικής παραγωγής. Η ποσότητα βιοαιθανόλης που προέρχεται από λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες εκτιμήθηκε στα 25 εκατομμύρια λίτρα αντικατοπτρίζοντας ένα επίσης πολύ μικρό ποσοστό της συνολικής παραγωγής βιοαιθανόλης στη Βραζιλία. Γενικότερα, δεν έχει εξελιχθεί η μελέτη και η ανάπτυξη των βιοκαυσίμων 2<sup>ης</sup> γενιάς στη Βραζιλία [17].

Οι συνολικές εξαγωγές της βιοαιθανόλης για το 2018 εκτιμήθηκαν στα 1,12 δισεκατομμύρια λίτρα, 18% λιγότερες σε σχέση με αυτές του 2017. Οι συνολικές εισαγωγές βιοαιθανόλης για το 2018 εκτιμήθηκαν στα 2 δισεκατομμύρια λίτρα, μια αύξηση κατά 255 εκατομμύρια λίτρα σε σχέση με αυτά του 2017. Η αυξανόμενη, αλλά περιορισμένη, εγχώρια παροχή βιοαιθανόλης δε θα είναι αρκετή για να εξισορροπηθεί με τη ζήτηση, γεγονός που θα οδηγήσει σε αύξηση των εισαγωγών βιοαιθανόλης. Οι εισαγωγές βιοαιθανόλης προορίζονται για χρήση μόνο ως καύσιμα και προέρχονται σχεδόν εξ ολοκλήρου από τις Η.Π.Α. [17].

#### Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Κίνα

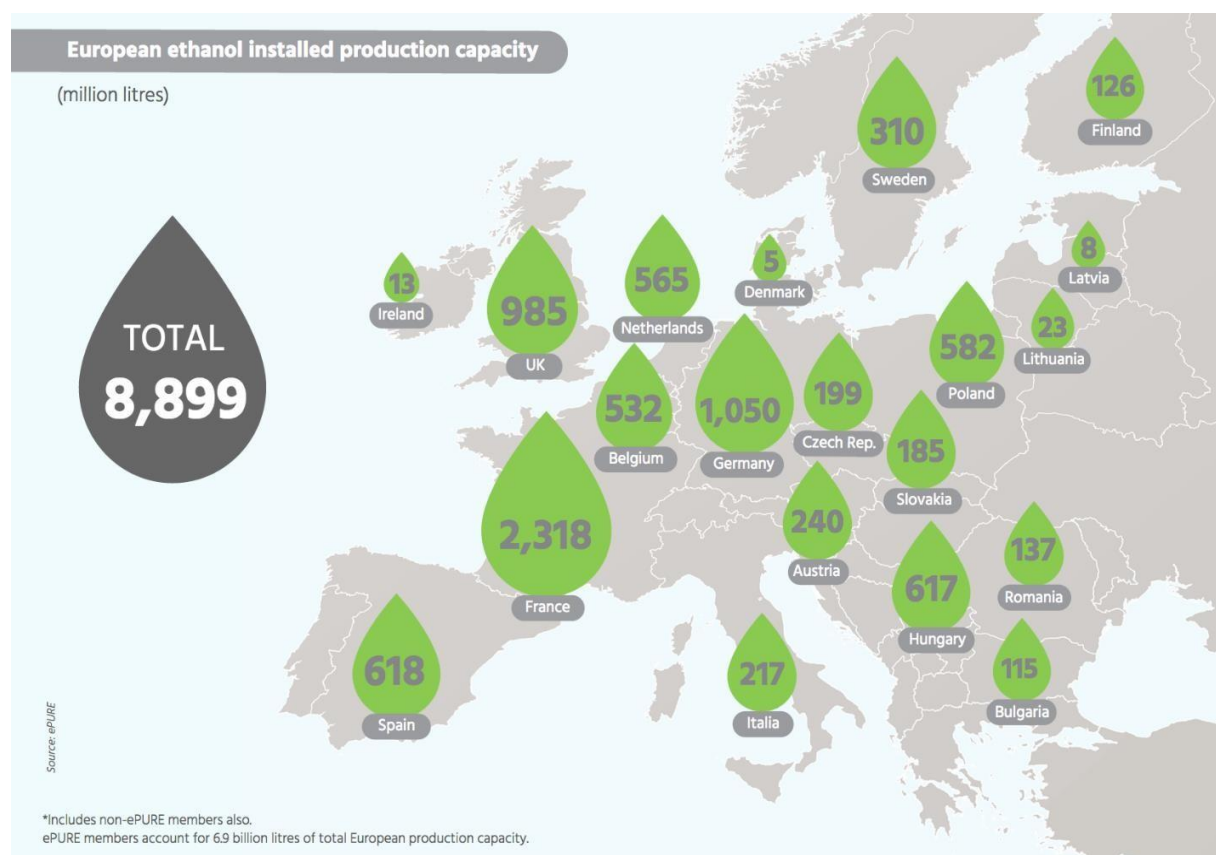
Η Κίνα είναι η τρίτη χώρα με τη μεγαλύτερη δυναμικότητα παραγωγής βιοαιθανόλης σημειώνοντας αλματώδη άνοδο μέσα στην τελευταία δεκαετία. Φιλοδοξεί να τριπλασιάσει την παραγωγή βιοαιθανόλης μέχρι το 2020, ώστε να μπορεί να ακολουθήσει το μοτίβο της συνεχώς αυξανόμενης ζήτησης για καθαρότερα καύσιμα. Σε ένα πρόσφατο συνέδριο βιομηχανιών, ο επικεφαλής του εθνικού κέντρου ανανεώσιμης ενέργειας εξήγησε ότι η Κίνα προσπαθεί να πάρει άδεια για την κατασκευή καινούργιων εργοστασίων παραγωγής βιοαιθανόλης με στόχο την παραγωγή 8,37 δισεκατομμυρίων λίτρων βιοαιθανόλης ανά έτος [18].

Η συνολική παραγωγή βιοαιθανόλης της Κίνας για το έτος 2018 εκτιμήθηκε στα 3,55 δισεκατομμύρια λίτρα. Παράλληλα, η Κίνα ανακοίνωσε ότι η βενζίνη που παρέχεται κατά μήκος της χώρας πρέπει να αναμιγνύεται με βιοαιθανόλη από το 2020 και μετά. Για να γίνει αυτό, θα πρέπει η Κίνα να παράγει περίπου 19 δισεκατομμύρια λίτρα ανά έτος. Αυτή η ποσότητα ξεπερνάει την εκτιμώμενη εγχώρια παραγωγή βιοαιθανόλης, οπότε η Κίνα θα αναγκαστεί να εισάγει αρκετά μεγάλες ποσότητες βιοαιθανόλης από τις Η.Π.Α. και τη Βραζιλία [18].

#### Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Ευρώπη

Η κατάσταση στην Ευρώπη ποικίλλει σημαντικά καθώς λίγα κράτη συμβάλλουν πραγματικά στη συνολική ευρωπαϊκή παραγωγή βιοκαυσίμων. Αξιοσημείωτη αύξηση της τάξης του 93% καταγράφηκε στην παραγωγή βιοκαυσίμων κατά τα διαστήματα 1997-1999 και 2008-2010, ενώ ουσιαστικό θεσμικό πλαίσιο αναπτύχθηκε από το 2003 και μετά [16].

Οι μεγαλύτεροι παραγωγοί βιοαιθανόλης στην Ευρώπη είναι η Γαλλία, η Αγγλία και η Γερμανία, ενώ ακολουθούν η Ισπανία, η Ουγγαρία και το Βέλγιο. Στο Σχήμα 1.10 φαίνεται η δυναμικότητα παραγωγής της κάθε χώρας το έτος 2016.



Σχήμα 1.10: Δυναμικότητα παραγωγής βιοαιθανόλης των ευρωπαϊκών χωρών το 2016 [19]

Από τη συνολική παραγωγή βιοαιθανόλης το μεγαλύτερο ποσοστό προορίζεται για χρήση ως καύσιμο. Το μερίδιο που έχουν οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας στην κατανάλωση καυσίμων στον τομέα των μεταφορών παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα 1.4.

Πίνακας 1.4: Μερίδιο συμμετοχής ανανεώσιμων πηγών ενέργειας στην κατανάλωση καυσίμων στον τομέα των μεταφορών [19]

ΕΤΟΣ	2011	2012	2013	2014
Ε.Ε. (28 ΧΩΡΕΣ)	3,4	5	5,4	5,9
ΒΕΛΓΙΟ	4	4,4	4,3	4,9
ΒΟΥΛΓΑΡΙΑ	0,4	0,3	5,6	5,3
ΤΣΕΧΙΑ	0,5	5,5	5,6	6,1

ΔΑΝΙΑ	3,3	5,5	5,7	5,8
ΓΕΡΜΑΝΙΑ	5,9	6,9	6,4	6,6
ΕΣΘΟΝΙΑ	0,2	0,3	0,2	0,2
ΙΡΛΑΝΔΙΑ	3,8	4	4,9	5,2
ΕΛΛΑΔΑ	0,7	1	1	1,4
ΙΣΠΑΝΙΑ	0,4	0,4	0,5	0,5
ΓΑΛΛΙΑ	0,5	7	7,2	7,8
ΚΡΟΑΤΙΑ	0,4	0,4	2,2	2,1
ΙΤΑΛΙΑ	4,7	5,7	4,9	4,5
ΚΥΠΡΟΣ	0	0	1,1	2,7
ΛΕΤΟΝΙΑ	3,2	3,1	3,1	3,2
ΛΙΘΟΥΑΝΙΑ	3,7	4,8	4,6	4,2
ΛΟΥΞΕΜΒΟΥΡΓΟ	2,1	2,2	3,8	5,2
ΟΥΓΓΑΡΙΑ	5,4	5,2	5,6	6,9
ΜΑΛΤΑ	2,1	3,2	3,5	4,7
ΟΛΛΑΝΔΙΑ	4,5	4,5	4,6	5,7
ΑΥΣΤΡΙΑ	7,7	7,8	7,8	8,9
ΠΟΛΩΝΙΑ	6,4	6	6	5,7
ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΑ	0,4	0,4	0,7	3,4
ΡΟΥΜΑΝΙΑ	2,1	4	4,6	3,8
ΣΛΟΒΕΝΙΑ	2,1	2,9	3,5	2,6
ΣΛΟΒΑΚΙΑ	5	4,8	5,3	6,9
ΦΙΝΛΑΝΔΙΑ	0,4	0,4	9,6	21,6
ΣΟΥΗΔΙΑ	10	12,6	17	19,2
ΗΝΩΜΕΝΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ	2,9	3,6	4,4	4,9

Για το χρονικό διάστημα από 2011 έως 2014 παρατηρείται εν γένει αυξητική τάση για το σύνολο των χωρών της Ε.Ε.

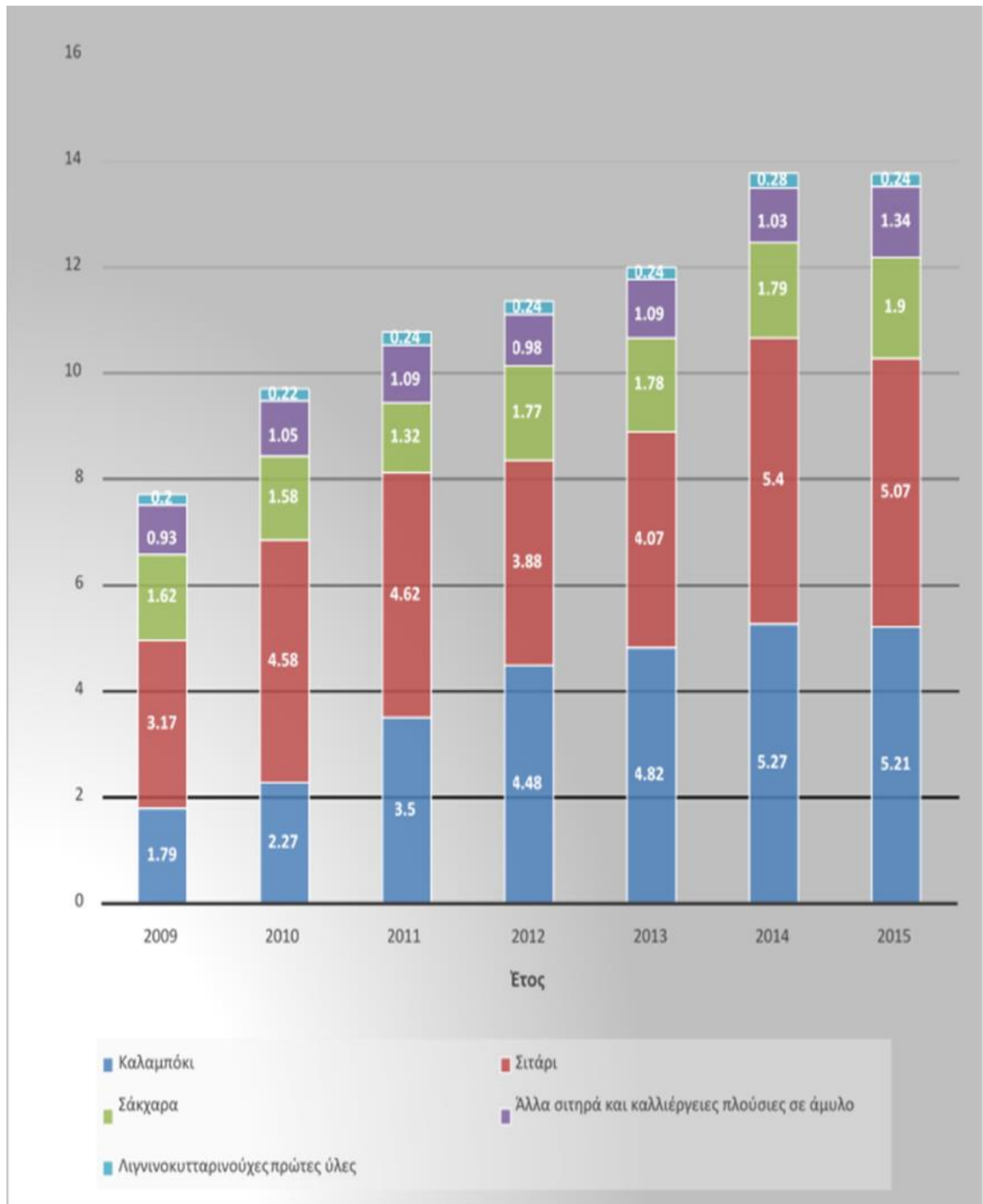
Σύμφωνα με τον Πίνακα 1.4 για το έτος 2014, το μερίδιο που έχουν οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας στην κατανάλωση καυσίμων στον τομέα των μεταφορών αγγίζει κατά μέσο όρο το 5,9% στο σύνολο των χωρών της Ε.Ε. Τον μέσο όρο φαίνεται να ανεβάζουν οι χώρες Φιλανδία και Σουηδία οι οποίες όπως φαίνεται και από τον

πίνακα έχουν ήδη φτάσει το 21,6% και 19,2% της χρήσης βιοκαυσίμων στον τομέα αυτό.

Όλες οι υπόλοιπες χώρες δεν ξεπερνούν το ποσοστό του 7% στο σύνολό τους με εξαίρεση τη Γαλλία και την Αυστρία που καταγράφουν ποσοστά 8,9% και 7,8% αντίστοιχα. Αυτό δείχνει την αναγκαιότητα αύξησης του μεριδίου που έχουν τα βιοκαύσιμα στον τομέα των μεταφορών ώστε οι στόχοι που έχουν τεθεί να επιτευχθούν.

Παρόλα αυτά, παραπάνω από το 80% της συνολικής ενέργειας που καταναλώνεται στην Ευρωπαϊκή Ένωση προέρχεται από ορυκτά καύσιμα. Ως επακόλουθο, η Ευρώπη εισάγει μεγάλες ποσότητες ορυκτών καυσίμων και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις ξένες χώρες. Αν συνεχιστεί αυτό, η εξάρτηση από το εισαγόμενο πετρέλαιο και φυσικό αέριο θα φτάσει πάνω από το 80% το 2030 και έτσι η Ευρώπη θα είναι πιο ευάλωτη σε περίπτωση περιορισμών του εφοδιασμού ή αυξήσεων των τιμών [19].

Το μεγαλύτερο μέρος της βιοαιθανόλης στην Ευρώπη προέρχεται από πρωτογενή παραγωγή, ενώ ένα πολύ μικρό μέρος προέρχεται από δευτερογενή παραγωγή. Πιο συγκεκριμένα οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται σε μεγαλύτερο ποσοστό είναι το σιτάρι και το καλαμπόκι, ενώ σε πιο μικρό ποσοστό χρησιμοποιούνται άλλες καλλιέργειες πλούσιες σε άμυλο, το ζαχαρότευτλο καθώς και λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες. Γενικότερα, η επιλογή της πρώτης ύλης εξαρτάται από το κόστος, την τεχνολογία και τα οικονομικά μεγέθη. Επίσης, καταβάλλονται σημαντικές προσπάθειες για την ανάπτυξη ενεργειακών καλλιεργειών και τη διασύνδεση του ενεργειακού κλάδου με τον αγροτικό και τη νέα αγροτική πολιτική της Ευρωπαϊκής Ένωσης, καθώς και με τις υποχρεώσεις της Ευρωπαϊκής Ένωσης που απορρέουν από την τήρηση των δεσμεύσεων του Πρωτοκόλλου του Κιότο για τον περιορισμό των εκπομπών του διοξειδίου του άνθρακα στο περιβάλλον. Στο Σχήμα 1.11 φαίνεται αναλυτικά η κατανομή των πρώτων υλών (σε εκατομμύρια τόνους) στην Ευρώπη τα τελευταία χρόνια [19].



Σχήμα 1.11: Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοαιθανόλης στην Ευρώπη [19]

Όπως φαίνεται και από το Σχήμα 1.11, η παραγωγή βιοαιθανόλης έχει σημειώσει σημαντική αύξηση μέσα στην τελευταία δεκαετία. Από τις ποσότητες αυτές, η βιοαιθανόλη δεύτερης γενιάς αποτελεί μικρό ποσοστό, αφού μόνο το 2% του συνόλου των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της είναι λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες. Σημαντική πρόοδο στην παραγωγή βιοαιθανόλης

δεύτερης γενιάς έχουν κάνει η Δανία και η Σουηδία. Χαρακτηριστικό στην τεχνολογία αυτή είναι ο συνδυασμός παραγωγής βιοαιθανόλης με μονάδες παραγωγής ηλεκτρικού ρεύματος. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί και η πρόοδος που γίνεται στον κλάδο της βιοτεχνολογίας με σκοπό την παρασκευή φθηνών ενζύμων που θα ενισχύσουν την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς.

Η Γαλλία, η Γερμανία, η Αγγλία και το Βέλγιο χρησιμοποιούν κυρίως σιτάρι, ενώ η Κεντρική Ευρώπη (Ουγγαρία) και η Ισπανία χρησιμοποιούν κυρίως καλαμπόκι.

Στη συνέχεια θα αναλυθούν οι πρώτες ύλες αλλά και οι μεθόδους παραγωγής των χωρών με τη μεγαλύτερη δυναμικότητα.

### Γαλλία

Η Γαλλία είναι η μεγαλύτερη παραγωγός βιοαιθανόλης σε όλη την Ευρώπη παράγοντας το 25% της συνολικής παραγωγής. Από τη συνολική ποσότητα βιοαιθανόλης που παράγεται στη Γαλλία τα 2/3 χρησιμοποιούνται σαν βιοκαύσιμο και το υπόλοιπο 1/3 χρησιμοποιείται στα φαγητά, στα φάρμακα και στα αρώματα.

Οι Γάλλοι χρησιμοποιούν ως πρώτες ύλες τόσο το ζαχαρότευτλο όσο και δημητριακά, όπως το σιτάρι και το καλαμπόκι, αλλά και πατάτες και κασάβα. Αξίζει να αναφερθεί ότι η Γαλλία επεξεργάζεται τη μεγαλύτερη ποσότητα ζαχαρότευτλου σε όλη την Ευρώπη. Πιο συγκεκριμένα το διυλιστήριο Tereos επεξεργάζεται 19,8 εκατομμύρια τόνους ζαχαρότευτλου παράγοντας 675.000 m<sup>3</sup> βιοαιθανόλης.

Όσον αφορά τις μεθόδους επεξεργασίας, η γαλλική βιομηχανία εφαρμόζει τις συμβατικές μεθόδους. Στο ζαχαρότευτλο, τα καλάμια θρυμματίζονται και στο αλεσμένο προϊόν γίνεται αποχύμωση (υπό πίεση) και με την προσθήκη ζεστού νερού διαχωρίζεται το σακχαρούχο διάλυμα. Στα δημητριακά αλέθονται οι σπόροι και στη συνέχεια γίνεται ενζυματική υδρόλυση με τη βοήθεια ζεστού νερού και αμύλασης για να σπάσει το άμυλο σε γλυκόζη [20].

### Γερμανία

Η Γερμανία είναι η δεύτερη μεγαλύτερη παραγωγός βιοαιθανόλης. Το 78% της παραγωγής της είναι από καλλιέργειες τροφίμων (κυρίως σιτάρι), το 21% από σακχαρούχες πρώτες ύλες και το υπόλοιπο από απόβλητα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το 2017 μειώθηκε τόσο η συνολική παραγόμενη ποσότητα βιοαιθανόλης κατά 8,8% όσο και η δευτερογενής παραγωγή βιοαιθανόλης κατά 27,8% [21].

### Αγγλία

Η Αγγλία είναι η τρίτη μεγαλύτερη παραγωγός. Όλα τα διυλιστήρια της χρησιμοποιούν ως πρώτη ύλη το σιτάρι, ενώ μόνο ένα (το British Sugar) χρησιμοποιεί

ζαχαρότευτλο. Τα δυο μεγαλύτερα διυλιστήριά της είναι το Vivergo και το Ensus. Χρησιμοποιούν περίπου 1,1 εκατομμύρια τόνους σιταριού και παράγουν 400 εκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης το χρόνο το καθένα. Εκτός από βιοαιθανόλη παράγουν και ζωοτροφή, όπως και τα περισσότερα βιοδιυλιστήρια [22].

### Ισπανία

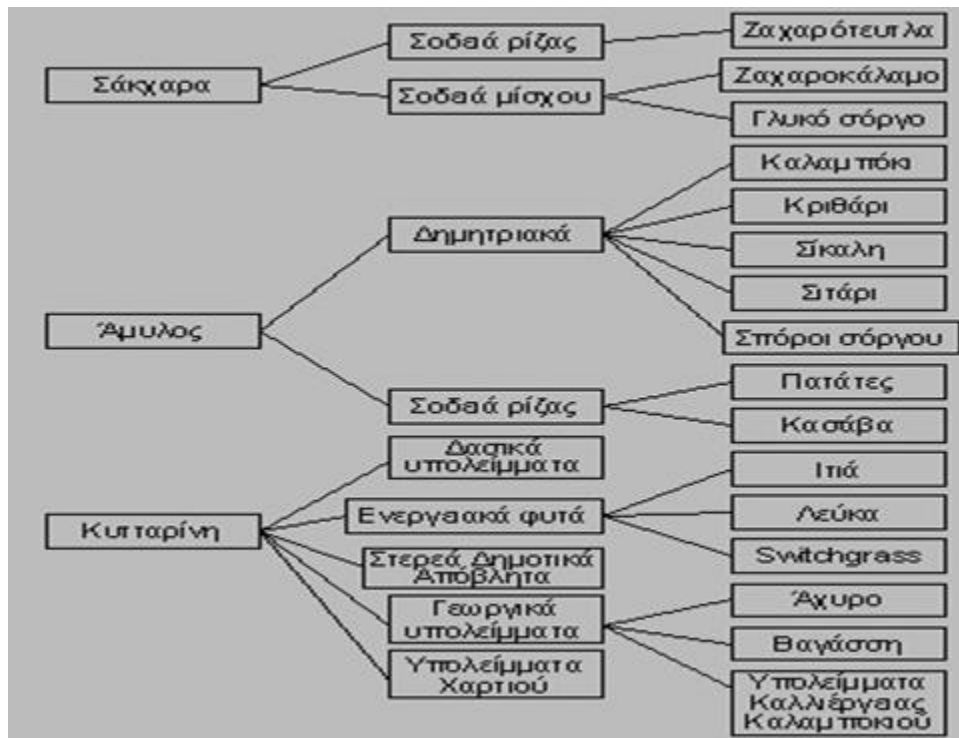
Στην Ισπανία χρησιμοποιούν 85% καλαμπόκι, 12% σιτάρι και 3% άλλες πρώτες ύλες [23].

### Βέλγιο

Στο Βέλγιο χρησιμοποιείται ευρύτατα το σιτάρι ως πρώτη ύλη. Πιο συγκεκριμένα οι Βέλγοι καλλιεργούν σχεδόν την τριπλάσια ποσότητα σιταριού από αυτή που καλλιεργεί όλη η Ευρώπη. Για την καλλιέργεια του σιταριού χρησιμοποιούν φυτοφάρμακα και λιπάσματα. Ακόμα αξίζει να σημειωθεί ότι η βελγική βιομηχανία χρησιμοποιεί το σιτάρι ως καύσιμο για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Με αυτόν τον τρόπο «γλιτώνουν» μια ποσότητα φυσικού αερίου που πρέπει να προμηθευτούν για να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες [24].

## **1.3 Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης**

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοαιθανόλης περιλαμβάνουν ενεργειακές καλλιέργειες και λιγνοκυτταρινούχα υλικά και κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το είδος των υδατανθράκων που περιέχουν (σάκχαρα, άμυλο ή κυτταρίνη). Το μεγαλύτερο ποσοστό της παγκόσμιας παραγωγής βιοαιθανόλης προέρχεται από το άμυλο του καλαμποκιού και ακολουθούν το σιτάρι και τα σάκχαρα και το μικρότερο ποσοστό καταλαμβάνουν τα λιγνοκυτταρινούχα υλικά. Με τον όρο λιγνοκυτταρινούχα υλικά αναφέρονται οι υπολειμματικές μορφές βιομάζας, όπως είναι τα υπολείμματα γεωργικών καλλιεργειών (κλαδιά, φύλλα, άχυρο), τα υπολείμματα επεξεργασίας γεωργικών προϊόντων (υπολείμματα βαμβακιού) και η βιομάζα δασικής προέλευσης (υπολείμματα επεξεργασίας ξύλου). Με τη χρήση αυτής της πρώτης ύλης γίνεται και ανακύκλωση, το οποίο είναι μεγάλο πλεονέκτημα. Στο Σχήμα 1.12 συνοψίζονται οι πιο ευρέως διαδεδομένες πρώτες ύλες σε συνδυασμό με το είδος υδατανθράκων που αποδίδουν:



Σχήμα 1.12: Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης [8]

Καθίσταται επομένως σαφές ότι για την παραγωγή βιοαιθανόλης μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλές διαφορετικές πρώτες ύλες, οι οποίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

#### 1. Σακχαρούχα φυτά

Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι άμεσα ζυμώσιμες σακχαρούχες ουσίες, όπως ο χυμός του γλυκού σόργου ή του ζαχαροκάλαμου. Παρακάτω αναφέρονται τρία βασικά παραδείγματα σακχαρούχων φυτών:

- Γλυκό σόργο

Το γλυκό σόργο είναι ένα μονοετές φυτό με μεγάλη φωτοσυνθετική ικανότητα, υψηλό ποσοστό σε διαλυτά σάκχαρα και κυτταρίνη και σχετικά χαμηλές απαιτήσεις σε άρδευση και λίπανση. Η αναλογία σε σάκχαρα κυμαίνεται 9-13% επί του χλωρού βάρους των στελεχών. Ένα στρέμμα καλλιέργειας επιτρέπει την εξαγωγή 1,2 τόνων γλυκού σόργου από τα οποία μπορούν να παραχθούν 700-900 λίτρα βιοαιθανόλης. Το γλυκό σόργο προσαρμόζεται εύκολα σε διάφορα είδη εδαφών και σε ποικίλες κλιματικές συνθήκες [16].





Σχήμα 1.13: Γλυκό σόργο [16]

- Ζαχαρότευτλο

Το ζαχαρότευτλο είναι ένα διετούς τύπου τεύτλο, το οποίο καλλιεργείται εμπορικά λόγω της υψηλής περιεκτικότητας των ριζών του σε σάκχαρα. Πιο συγκεκριμένα, οι ρίζες του περιέχουν μέχρι και 20% σάκχαρα καθιστώντας το τη δεύτερη μεγαλύτερη πηγή σακχάρων μετά από το ζαχαροκάλαμο. Η Γαλλία είναι ο μεγαλύτερος παραγωγός βιοαιθανόλης από ζαχαρότευτλα στον κόσμο. Ακολουθούν και άλλες χώρες της Ευρώπης, αλλά και η Βόρεια Αμερική. Στην Ελλάδα, η καλλιέργεια των ζαχαρότευτλων είναι διάσπαρτη σε όλη τη χώρα. Όσον αφορά τις ενεργειακές εκτιμήσεις, από ένα στρέμμα ζαχαρότευτλων παράγονται 550-700 λίτρα βιοαιθανόλης [16].



Σχήμα 1.14: Ζαχαρότευτλο [40]

- Ζαχαροκάλαμο

Το ζαχαροκάλαμο ανήκει στην τάξη Λεπυράνθη και στην οικογένεια αγρωστώδη. Πρωτοεμφανίστηκε και καλλιεργήθηκε για πρώτη φορά στα νησιά του Νότιου Ειρηνικού, ενώ πολλοί θεωρούν ότι η πατρίδα του είναι η νήσος Νέα Γουινέα. Το φυτό αναπτύσσεται κατά συστάδες και παράγει έναν

αριθμό καλαμιών που το ύψος τους είναι από 2 έως 7 μέτρα. Η καλλιέργεια του ζαχαροκάλαμου γίνεται κυρίως για την εξαγωγή ζάχαρης. Τα υπολείμματα της καλλιέργειας και της επεξεργασίας του ζαχαροκάλαμου χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Καλλιεργείται σε τροπικές περιοχές, όπως η Βραζιλία που είναι ο κορυφαίος παραγωγός βιοαιθανόλης από ζαχαροκάλαμο σε όλο τον κόσμο. Ο χυμός που λαμβάνεται με τη συμπίεση του ζαχαροκάλαμου περιέχει περίπου 44% σακχαρόζη και 7% άλλα σάκχαρα, ως ξηρό βάρος. Το υπόλοιπο μέρος αποτελείται από ίνες, όπως η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη. Ένα στρέμμα καλλιέργειας επιτρέπει την εξαγωγή 1,1 τόνων σακχάρων από τα οποία μπορούν να ληφθούν περίπου 570 λίτρα βιοαιθανόλης. Η καλλιέργεια ενός στρέμματος ζαχαροκάλαμου απαιτεί ενέργεια μεγαλύτερη από 1,67 GJ [16].



Σχήμα 1.15: Ζαχαροκάλαμο [16]

## 2. Αμυλούχα φυτά

Ένας άλλος τύπος πρώτης ύλης, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοαιθανόλης, είναι τα υλικά με βάση το άμυλο. Το άμυλο είναι ένα βιοπολυμερές που αποτελείται μόνο από ένα μονομερές, την D-γλυκόζη. Για την παραγωγή βιοαιθανόλης από άμυλο είναι απαραίτητο να διασπαστούν οι αλυσίδες αυτού του υδατάνθρακα για να ληφθεί το σιρόπι γλυκόζης, το οποίο μπορεί να μετατραπεί σε βιοαιθανόλη από ζυμομύκητες. Στο άμυλο, τα πολυμερή της γλυκόζης διασπώνται σε γλυκόζη μέσω υδρολυτικής αντίδρασης που καταλύεται από ένζυμο γλυκοαμυλάσης. Το σάκχαρο που προκύπτει είναι γνωστό ως δεξτρόζη ή  $\alpha$ -γλυκόζη που είναι ισομερές γλυκόζης. Η ενζυματική υδρόλυση ακολουθείται από ζύμωση, απόσταξη και αφυδάτωση για να παραχθεί τελικά η άνυδρη αιθανόλη. Αυτός ο τύπος πρώτης ύλης είναι ο πλέον χρησιμοποιούμενος για την παραγωγή βιοαιθανόλης στη Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη. Παρακάτω αναφέρονται τα δυο βασικότερα παραδείγματα αμυλούχων φυτών [25]:

- Σιτάρι-κριθάρι

Το σιτάρι και το κριθάρι είναι ετήσια φυτά, τα οποία ανήκουν στην οικογένεια των δημητριακών. Το σιτάρι θεωρείται το σημαντικότερο φυτό μεταξύ των άλλων δημητριακών παγκοσμίως. Το κριθάρι χρησιμοποιείται κυρίως σε ζωοτροφές και στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών. Ο δείκτης συγκομιδής και των δυο αυτών πρώτων υλών κυμαίνεται από 30 έως 56 %. Από ένα στρέμμα σιτάρι παράγονται κατά μέσο όρο 150-800 κιλά σπόροι που αντιστοιχούν σε 45-240 λίτρα βιοαιθανόλης [16].



Σχήμα 1.16: Σιτάρι (αριστερά), Κριθάρι (δεξιά) [16]

- Καλαμπόκι

Το καλαμπόκι αποτελεί σιτηρό της οικογένειας των αγραστωδών και κατάγεται από την ήπειρο της Αμερικής. Η μεγαλύτερη παραγωγός βιοαιθανόλης από καλαμπόκι παγκοσμίως είναι οι Η.Π.Α. Ο δείκτης συγκομιδής του κυμαίνεται 35-50%. Από ένα στρέμμα καλαμποκιού παράγονται 240-360 λίτρα βιοαιθανόλης. Στην Ελλάδα η συνολική καλλιεργούμενη έκταση καλαμποκιού είναι περίπου 2 εκ. στρέμματα με ετήσια παραγωγή περίπου 2 εκατομμύρια τόνους. Η χρήση βιοαιθανόλης που προέρχεται από καλαμπόκι αντί για τη βενζίνη ως καύσιμο μεταφοράς μειώνει τις εκπομπές των αερίων του θερμοκηπίου κατά 21% [16].



Σχήμα 1.17: Καλαμπόκι [16]

### 3. Λιγνοκυτταρινούχες πηγές βιομάζας

Ο μόνος τρόπος ώστε ο πλανήτης να εκμεταλλευτεί τα πλεονεκτήματα των βιοκαυσίμων χωρίς να τεθούν σε κίνδυνο τα αποθέματα τροφίμων είναι να σταματήσει η χρήση των εδώδιμων κλασμάτων της φυτικής βιομάζας, όπως είναι το άμυλο και η ζάχαρη για την παραγωγή τους και να γίνει μια στροφή στο μη εδώδιμο κλάσμα της φυτικής βιομάζας που είναι η λιγνινοκυτταρίνη. Η λιγνινοκυτταρίνη είναι ένας γενικός όρος που περιγράφει σαν σύνολο τα κύρια συστατικά των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών που είναι: η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη. Η κυτταρίνη είναι ένας πολυσακχαρίτης της γλυκόζης, η ημικυτταρίνη είναι πολυσακχαρίτης που ο σκελετός του αποτελείται από διαφορετικές εξόζες (γλυκόζη, μαννόζη, γαλακτόζη) και πεντόζες (ξυλόζη, αραβινόζη) και η λιγνίνη ένα πολύπλοκο δίκτυο από διαφορετικές μονάδες φαινυλοπροπανίου. Η σύσταση των λιγνοκυτταρινούχων υλικών διαφοροποιείται ανάλογα με την προέλευσή τους. Σε γενικές γραμμές όμως η σύστασή τους είναι: 45% κυτταρίνη, 30% ημικυτταρίνη και 25% λιγνίνη [26].

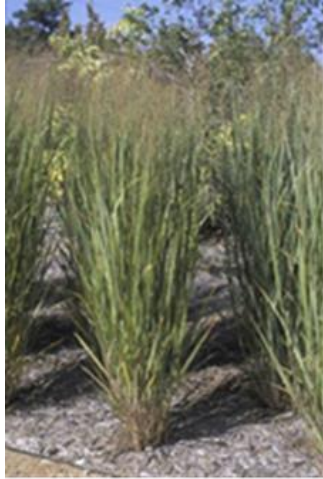
Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα, όπως τα γεωργικά υπολείμματα, το ξύλο και οι ενεργειακές καλλιέργειες, είναι ένα ελκυστικό υλικό για την παραγωγή καυσίμου βιοαιθανόλης, καθώς είναι ο πιο άφθονος πόρος αναπαράγεται στη γη. Οι καλλιέργειες λιγνοκυτταρίνης είναι πολλά υποσχόμενες για την παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω των υψηλών αποδόσεων, του χαμηλού κόστους και των χαμηλών περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Οι λιγνοκυτταρινούχες πηγές βιομάζας θα μπορούσαν να παράγουν μέχρι και 442 δισεκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης ετησίως [27,28].

Οι λιγνοκυτταρινούχες πηγές βιομάζας που μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή βιοαιθανόλης χωρίζονται σε δυο κατηγορίες:

α) Στα λιγνινοκυτταρινούχα φυτά, όπως το κυτταρινούχο σόργο, η αγριαγκινάρα, ο μίσχανθος, το καλάμι. Κάποια από αυτά αναλύονται παρακάτω.

- Καλάμι

Το καλάμι ανήκει στα αγρωστώδη πολυετή φυτά. Συναντάται κυρίως κοντά σε ποτάμια και λίμνες και γενικότερα σε αγρούς με υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία. Έχει επιβεβαιωθεί ότι το συγκεκριμένο φυτό έχει τη δυνατότητα να παράγει αξιόλογες ποσότητες βιομάζας. Σε ελληνικές εδαφοκλιματικές συνθήκες, οι αποδόσεις κυμαίνονται 0,5-3 τόνους ανά στρέμμα σε ξηρή ουσία [16].



Σχήμα 1.18: Καλάμι [16]

- Switchgrass  
Αποτελεί ένα πολυετές αγρωστώδες φυτό. Υπό κατάλληλες συνθήκες μπορεί να φτάσει σε ύψος 2,5 μέτρων. Η εγκατάσταση του φυτού γίνεται με σπόρο και στην Ελλάδα, όπου λαμβάνει χώρα το Μάιο, όταν η θερμοκρασία εδάφους ξεπεράσει τους 15 βαθμούς κελσίου. Το συγκεκριμένο φυτό μπορεί να παράγει σημαντικές ποσότητες βιομάζας ακόμα και σε συνθήκες μειωμένων εισροών [16].



Σχήμα 1.19: Switchgrass [16]

- Κυτταρινούχο σόργο  
Το κυτταρινούχο σόργο είναι ετήσιο φυτό με υψηλές αποδόσεις σε βιομάζα. Αντιθέτως με το γλυκό σόργο, έχει σχετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε διαλυτά σάκχαρα και υψηλή περιεκτικότητα σε λιγνοκυτταρινούχα συστατικά. Στην Ελλάδα οι αποδόσεις σε ξηρό βάρος φτάνουν τους 2,8 τόνους ανά στρέμμα. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι το κυτταρινούχο σόργο παρουσιάζει μεγάλη αντοχή στο πλάγιασμα, ένα φαινόμενο που δημιουργεί σημαντικά προβλήματα στην καλλιέργεια του γλυκού σόργου [16].

## β) Λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα

Ανάμεσα στα διάφορα υπολείμματα των γεωργικών καλλιεργειών είναι το άχυρο σιτηρών. Αποτελεί ένα λιγνοκυτταρινούχο υλικό, πλούσιο σε κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Συνεπώς, η υδρόλυσή του θα οδηγήσει στην απελευθέρωση σημαντικών ποσοτήτων σακχάρων από τα οποία θα γίνει η τελική παραγωγή βιοαιθανόλης [16].

Τέλος, συνοψίζονται στον Πίνακα 1.5 τα εκτιμώμενα κόστη παραγωγής βιοαιθανόλης των πρώτων υλών που προαναφέρθηκαν [16].

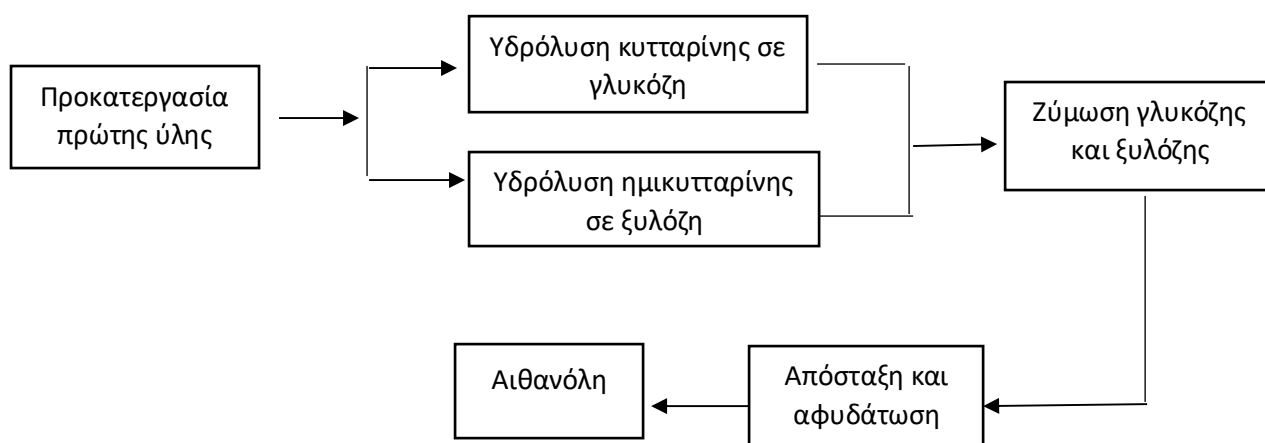
Πίνακας 1.5: Κόστος παραγωγής βιοαιθανόλης ανά πρώτη ύλη [16]

Πρώτη ύλη	Κόστος Βιοαιθανόλης (€/m <sup>3</sup> )
Ζαχαρότευτλα	230-530
Ζαχαροκάλαμο	170-200
Γλυκό σόργο	155-230
Καλαμπόκι	210-320
Σιτάρι	600
Λιγνοκυτταρινούχες	140-350
Πατάτα	760

### 1.4 Τεχνολογίες παραγωγής βιοαιθανόλης

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η μετατροπή της βιομάζας σε βιοαιθανόλη συνίσταται σε τέσσερις βασικές διαδικασίες: προκατεργασία, υδρόλυση, ζύμωση και διαχωρισμός προϊόντων [27]. Ωστόσο, τα στάδια της προκατεργασίας και της υδρόλυσης τροποποιούνται αρκετές φορές ανάλογα με την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται. Στην περίπτωση που πρώτη ύλη είναι το ζαχαροκάλαμο ή το γλυκό σόργο, τα καλάμια τους θρυμματίζονται και στο αλεσμένο προϊόν γίνεται αποχύμωση, μια διαδικασία που πραγματοποιείται με την άσκηση πίεσης. Στη συνέχεια, με την προσθήκη ζεστού νερού γίνεται εκχύλιση και συλλογή του υδατικού σακχαρούχου διαλύματος. Σε αντίθεση με το ζαχαροκάλαμο και το γλυκό σόργο, στα σιτηρά, όπως το σιτάρι, το κριθάρι και το καλαμπόκι, απαιτείται προσθήκη ενζύμων (αμυλάσες στην προκειμένη περίπτωση) για τη διάσπαση του αμύλου σε σάκχαρα.

Η ζύμωση του σακχαρούχου διαλύματος γίνεται σταδιακά σε τεράστιες δεξαμενές (ζυμωτήρες) με την προσθήκη κατάλληλων μυκήτων, όπως ο *Saccharomyces cerevisiae*. Στο τελικό προϊόν της ζύμωσης γίνεται καθαρισμός με φυγοκέντρηση ή διήθηση και το υγρό οδηγείται στην τελική δεξαμενή, όπου γίνεται διαχωρισμός και ανάκτηση καθαρής βιοαιθανόλης. Η διαδικασία παραλαβής της βιοαιθανόλης είναι το τελευταίο στάδιο της παραγωγής και περιλαμβάνει απόσταξη και αφυδάτωση. Τα απόβλητα της βιομηχανίας παραγωγής βιοαιθανόλης έχουν υψηλό ρυπαντικό φορτίο και είναι δύσκολο να επεξεργαστούν. Στη Βραζιλία έχουν υιοθετηθεί δυο τακτικές επεξεργασίας τους. Η πρώτη μέθοδος αφορά τη συλλογή των αποβλήτων σε δεξαμενές και εξάτμιση του περιεχόμενου νερού. Η δεύτερη μέθοδος αφορά τη διασπορά τους με ψεκασμό σε καλλιέργειες ζαχαροκάλαμου ως αζωτούχα λιπάσματα [40]. Στο Σχήμα 1.20 απεικονίζονται τα στάδια παραγωγής βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς από λιγνοκυτταρινούχα υλικά.



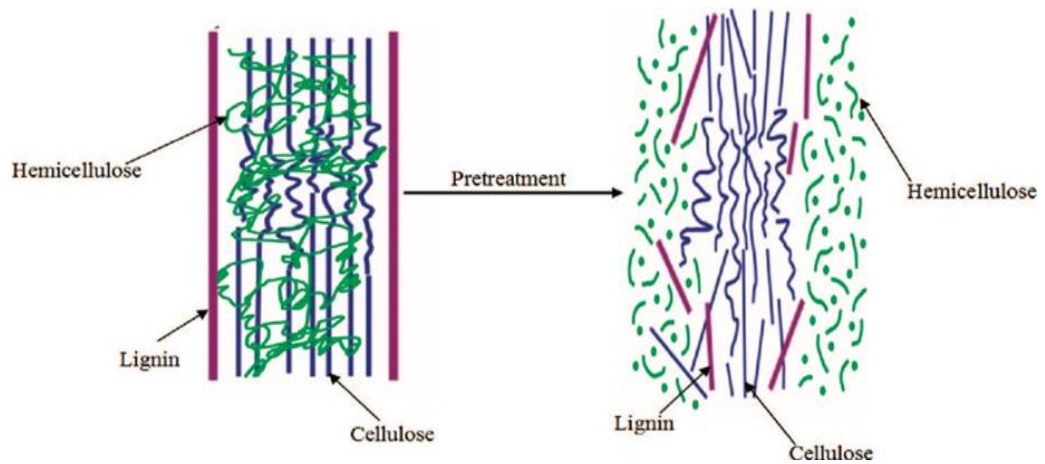
Σχήμα 1.20: Στάδια παραγωγής βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς από λιγνοκυτταρινούχα υλικά

Παρακάτω αναλύονται τα τέσσερα βασικά στάδια προς την παραγωγή της βιοαιθανόλης:

#### 1. Προκατεργασία

Όλες οι μέθοδοι προκατεργασίας αφορούν τις λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες και αποσκοπούν στην απομάκρυνση της λιγνίνης, ώστε να αποδεσμευτούν η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη, οι οποίες θα αξιοποιηθούν για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Αυτή η διαδικασία αναπαρίσταται στο Σχήμα 1.21 [29].





Σχήμα 1.21: Απελευθέρωση κυτταρίνης και ημικυτταρίνης από λιγνίνη [29]

Επιπλέον, το στάδιο της προκατεργασίας μειώνει το βαθμό κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης και αυξάνει το πορώδες της πρώτης ύλης [7]. Αξίζει να σημειωθεί ότι το ποσοστό της υδρόλυσης χωρίς να έχει προηγηθεί προκατεργασία είναι 20% μικρότερο από το θεωρητικό, ενώ αν έχει προηγηθεί προκατεργασία είναι 90% μεγαλύτερο από το θεωρητικό [30]. Οι μέθοδοι προκατεργασίας πρέπει να ικανοποιούν κάποιες προϋποθέσεις, όπως [27]:

- Να βελτιώνουν το σχηματισμό των σακχάρων
- Να μη σχηματίζουν παραπροϊόντα τα οποία αναστέλλουν την υδρόλυση ή τη ζύμωση που θα ακολουθήσουν
- Να είναι οικονομικά αποδοτικές

Επιπρόσθετα, οι μέθοδοι προκατεργασίας χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες. Παρακάτω θα αναφερθούν αυτές οι κατηγορίες και κάποια παραδείγματα για την κάθε μία [29]:

- Φυσικές: μηχανική καταπόνηση, πυρόλυση
- Φυσικοχημικές: έκρηξη με ατμό, έκρηξη με αμμώνια, έκρηξη με διοξείδιο του άνθρακα
- Χημικές: οζονόλυση, υδρόλυση σε όξινο περιβάλλον, υδρόλυση σε αλκαλικό περιβάλλον, μέθοδος οργανικών διαλυτών και βιολογική μέθοδος

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των μεθόδων:



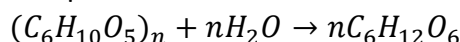
Πίνακας 1.6: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μεθόδων προκατεργασίας [29]

<b>Μέθοδος</b>	<b>Πλεονεκτήματα</b>	<b>Μειονεκτήματα</b>
Μηχανική καταπόνηση	Μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης	Κατανάλωση μεγάλης ποσότητας ενέργειας
Έκρηξη με ατμό	Οικονομικά αποδοτική	Υποβιβασμός ποιότητας λιγνίνης και ημικυτταρίνης
Έκρηξη με αμμώνια	Απομόνωση λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε ένα βαθμό, αύξηση επιφάνειας που θα αντιδράσει	Μη αποτελεσματική για βιομάζα με υψηλό ποσοστό σε λιγνίνη
Έκρηξη με διοξείδιο του άνθρακα	Οικονομικά αποδοτική, αύξηση επιφάνειας που θα αντιδράσει	Δεν απομονώνει καλά τη λιγνίνη και την ημικυτταρίνη
Οζονόλυση	Δεν εκπέμπει τοξικές ουσίες	Υψηλό κόστος, λόγω της μεγάλης ποσότητας όζοντος που απαιτείται
Όξινη υδρόλυση	Υδρολύει ημικυτταρίνη σε ξυλόζη και άλλα σάκχαρα	Εκπομπή τοξικών ουσιών, διάβρωση εξοπλισμού, υψηλό κόστος
Αλκαλική υδρόλυση	Απομονώνει λιγνίνη και κυτταρίνη	Σχηματισμός αλάτων που ενσωματώνονται στη βιομάζα
Οργανικοί διαλύτες	Υδρόλυση λιγνίνης και ημικυτταρίνης	Ανεβαίνει το κόστος λόγω της ανακύκλωσης που απαιτείται να γίνει στο διαλύτη
Πυρόλυση	Απλός εξοπλισμός	Απαιτούνται υψηλές θερμοκρασίες
Βιολογική μέθοδος	Χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις	Χαμηλός βαθμός υδρόλυσης

Στην περίπτωση που πρώτη ύλη είναι το καλαμπόκι, χρησιμοποιούνται και η μέθοδος της ξηρής ή της υγρής άλεσης. Κατά την υγρή άλεση, ο πυρήνας του καλαμποκιού γεμίζει με ζεστό νερό και έτσι διασπώνται οι πρωτεΐνες και απελευθερώνεται το άμυλο. Αντιθέτως, η διαδικασία της ξηρής άλεσης περιλαμβάνει την κατάρριψη του πυρήνα του καλαμποκιού σε λεπτά σωματίδια με τη χρήση του στροφόμυλου. Αυτό δημιουργεί μια μορφή σκόνης, η οποία περιέχει άμυλο και φυτικές ίνες [13].

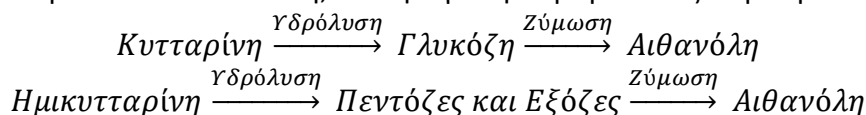
## 2. Υδρόλυση

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η διαδικασία της υδρόλυσης εφαρμόζεται όταν οι πρώτες ύλες δεν περιέχουν άμεσα ζυμώσιμα σάκχαρα, αλλά πολυσακχαρίτες, όπως το άμυλο, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη. Το συγκεκριμένο στάδιο εξαρτάται από το είδος των πολυσακχαριτών που υδρολύονται, αλλά και από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται. Στη συγκεκριμένη διπλωματική μας ενδιαφέρει η υδρόλυση της κυτταρίνης σε γλυκόζη και η υδρόλυση της ημικυτταρίνης σε πεντόζες και εξόζες. Μετά την ολοκλήρωση, λοιπόν, της προκατεργασίας η κυτταρίνη προετοιμάζεται για υδρόλυση, δηλαδή ένα μόριο διασπάται με την προσθήκη ενός μορίου νερού.



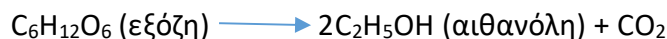
Αυτή η αντίδραση καταλύεται με αραιό οξύ, συμπυκνωμένο οξύ ή ένζυμα κυτταρινασών. Οι κυτταρινάσες έχουν πολλά πλεονεκτήματα, καθώς οι πολύ ήπιες συνθήκες (pH=5 και θερμοκρασία 318-323K) δίνουν υψηλές αποδόσεις και το κόστος συντήρησης είναι χαμηλό σε σύγκριση με την αλκαλική και όξινη υδρόλυση εξαιτίας προβλημάτων διάβρωσης. Ένας αριθμός διαδικασιών για την υδρόλυση κυτταρίνης σε γλυκόζη έχουν αναπτυχθεί με την πάροδο των ετών. Η συντριπτική πλειονότητα των σχημάτων επεξεργασίας χρησιμοποιεί είτε ένζυμα είτε θειικό οξύ ποικίλων συγκεντρώσεων. Ιστορικά, τα ένζυμα ήταν πολύ ακριβά για την οικονομική παραγωγή αιθανόλης καυσίμου από βιομάζα, ενώ το θειικό οξύ είναι λιγότερο δαπανηρό από τα ένζυμα, αν και το κόστος διάθεσης που συνδέεται με τη χρήση θειικού οξέος αυξάνει σημαντικά το συνολικό του κόστος. Ωστόσο, το μεγαλύτερο μειονέκτημα στη χρήση θειικού οξέος είναι ότι υποβαθμίζει τη γλυκόζη στις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για την υδρόλυση της κυτταρίνης [27].

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



### 3. Ζύμωση

Οι διαδικασίες της προκατεργασίας και της υδρόλυσης έχουν σχεδιαστεί για τη βελτιστοποίηση του σταδίου της ζύμωσης. Στη διαδικασία της ζύμωσης χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί, έτσι ώστε να μετατραπεί το υπόστρωμα σε προϊόν. Στην προκειμένη περίπτωση, χρησιμοποιείται ο μικροοργανισμός *Saccharomyces cerevisiae* για τη μετατροπή της γλυκόζης σε αιθανόλη [27]. Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος ζύμωσης σε εμπορική κλίμακα για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι η ζύμωση σε υγρό θρεπτικό μέσο, όπου οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε ένα διαλυμένο στο νερό υπόστρωμα (σακχαρούχο διάλυμα) ή σε ένα αραιωμένο σε νερό υπόστρωμα που σχηματίζει πολτό. Η ζύμωση συντελείται σε βιοαντιδραστήρες (ζυμωτές) που αποτελούν την κύρια μονάδα των βιοδιυλιστηρίων. Για να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή παραγωγικότητα μέσα σε έναν ζυμωτή θα πρέπει να εξασφαλιστούν για τους μικροοργανισμούς οι βέλτιστες συνθήκες περιβάλλοντος, όπως καλή αποστείρωση, καλή ανάμιξη του περιεχομένου, κατάλληλη θερμοκρασία και pH. Η εισαγωγή του μικροοργανισμού στο βιοαντιδραστήρα γίνεται συνήθως με εμβολιασμό, αφού έχει προηγηθεί η αποστείρωση τόσο του βιοαντιδραστήρα όσο και του θρεπτικού μέσου που έχει ήδη τοποθετηθεί στο βιοαντιδραστήρα [8]. Έτσι λοιπόν ξεκινούν και λαμβάνουν χώρα οι παρακάτω αντιδράσεις:



Οι μέθοδοι ζύμωσης που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοαιθανόλης διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με τον τρόπο λειτουργίας του ζυμωτήρα.

- Ζύμωση παρτίδας (batch fermentation)  
Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη μη συνεχή λειτουργία του βιοαντιδραστήρα και είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη στην παραγωγή βιοαιθανόλης. Κατά τη μέθοδο αυτή, η συνολική μάζα του αποστειρωμένου θρεπτικού μέσου τοποθετείται από πριν στον αποστειρωμένο βιοαντιδραστήρα. Ακολουθεί ο εμβολιασμός του μικροοργανισμού και μετά ξεκινάει η παραγωγή. Μέχρι τη συγκομιδή του παραγόμενου προϊόντος, δεν προστίθεται αλλά ούτε αφαιρείται κάτι στο βιοαντιδραστήρα [8].
- Συνεχής ζύμωση (continuous fermentation)  
Κατά τη μέθοδο αυτή, η οποία μπορεί να διαρκέσει μέχρι και αρκετές εβδομάδες, δε μεταβάλλεται στο εσωτερικό του βιοαντιδραστήρα ο αριθμός των μικροοργανισμών, η σύνθεση και το ποσοστό του θρεπτικού

μέσου, αλλά ούτε και η ποσότητα παραγωγής βιοαιθανόλης. Η μέθοδος αυτή μεγιστοποιεί την παραγωγική διαδικασία, αφού δεν υπάρχουν νεκρά διαστήματα [8].

- Ημισυνεχής ζύμωση (fed-batch fermentation)  
Η ημισυνεχής ζύμωση είναι συνδυασμός των δυο παραπάνω μεθόδων. Στη μέθοδο αυτή, τροφοδοτείται περιοδικά το αποστειρωμένο θρεπτικό μέσο στον εμβολιασμένο βιοαντιδραστήρα. Η συγκομιδή του ζυμωμένου προϊόντος γίνεται μετά από την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου ζύμωσης. Εναλλακτικά, κάποιες φορές το προϊόν της βιοαιθανόλης εξάγεται και αυτό περιοδικά από το βιοαντιδραστήρα [8].

#### 4. Κλασματική απόσταξη και αφυδάτωση

Η αιθανόλη που παράγεται από τη διαδικασία της ζύμωσης περιέχει μια σημαντική ποσότητα νερού η οποία πρέπει να αφαιρεθεί. Μάλιστα, για να χρησιμοποιηθεί σε μίγματα με τη βενζίνη πρέπει να έχει καθαρότητα τουλάχιστον 99,5%. Αυτό επιτυγχάνεται με την κλασματική απόσταξη, κατά την οποία γίνεται διαχωρισμός συστατικών με βάση το σημείο βρασμού τους. Η αιθανόλη, επειδή έχει χαμηλότερο σημείο βρασμού από το νερό, θα εξατμιστεί πρώτη. Συνήθως χρησιμοποιούνται δυο αποστακτικές στήλες. Η πρώτη θα δώσει αιθανόλη (απόσταγμα) με καθαρότητα 50%. Στη συνέχεια το απόσταγμα θα συμπυκνωθεί και θα περάσει σε δεύτερη αποστακτική στήλη, από την οποία θα προκύψει αιθανόλη με καθαρότητα 95%. Με τη λειτουργία της δεύτερης στήλης αφαιρούνται και τα ζυμέλαια. Ακολούθως πρέπει να γίνει αφυδάτωση, ώστε να παραχθεί αιθανόλη με καθαρότητα 99,8%. Αυτός ο τύπος αιθανόλης μπορεί να συνδυαστεί άμεσα με βενζίνη. Κατά τη διαδικασία της αφυδάτωσης, η αιθανόλη που εξέρχεται από τη δεύτερη αποστακτική στήλη φιλτράρεται σε ένα μοριακό κόσκινο από ζεόλιθους. Αυτός ο τύπος μοριακού φίλτρου συγκρατεί επιλεκτικά τα μόρια νερού, αυξάνοντας το ποσοστό της αιθανόλης πέρα από το αζεοτροπικό σημείο [31].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΞΑΝΤΛΗΜΕΝΟΙ ΚΟΚΚΟΙ ΚΑΦΕ

### 2.1 Εισαγωγή

Σύμφωνα με πρόσφατες εκτιμήσεις από τον Εθνικό Οργανισμό Καφέ (ΕΟΚ), η παγκόσμια κατανάλωση καφέ το 2016 ξεπέρασε τα 9,3 δισεκατομμύρια κιλά παραμένοντας ένα από τα πιο εμπορικά προϊόντα σε όλο τον κόσμο. Ακόμα, συνεχίζουν να δημοσιεύονται μελέτες που υποστηρίζουν ότι η κατανάλωση καφέ δεν εμπεριέχει μεγάλο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου και καρδιακών νοσημάτων. Σύμφωνα με αυτό η παγκόσμια κατανάλωση καφέ αναμένεται να αυξηθεί. Το γεγονός αυτό είναι αρκετά ανησυχητικό αν αναλογιστεί κανείς τις μεγάλες ποσότητες των αποβλήτων που προκύπτουν από τη βιομηχανία του καφέ, οι οποίες δεν αξιοποιούνται. Πιο αναλυτικά, κατά τη διαδικασία παρασκευής ενός ροφήματος καφέ γίνεται εκχύλιση. Το εκχύλισμα που προκύπτει περιλαμβάνει έναν πολύ μικρό αριθμό επιλεγμένων συστατικών, με αποτέλεσμα όλα τα υπόλοιπα να μένουν ανεκμετάλλευτα (υπολείμματα καφέ). Συνεπώς διαπιστώνεται ότι η βιομηχανία καφέ παράγει τεράστιες ποσότητες υπολειμμάτων καφέ. Σε αντίθεση με άλλα οργανικά απόβλητα, τα υπολείμματα καφέ περιέχουν συστατικά επιβλαβή για το περιβάλλον με αποτέλεσμα να καταλήγουν σε χώρους υγειονομικής ταφής (ΧΥΤΑ) αντί να χρησιμοποιούνται ως κομπόστ [32].

Επομένως, για περιβαλλοντικούς και οικονομικούς λόγους, απαιτείται η αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων. Τα υπολείμματα καφέ περιέχουν μεγάλες ποσότητες σακχάρων, ελαίων, αντιοξειδωτικών και άλλων συστατικών υψηλής αξίας, με αποτέλεσμα να αποτελούν πιθανή πηγή ενέργειας. Ερευνητές έχουν εξετάσει μερικούς τρόπους αξιοποίησης των υπολειμμάτων καφέ, ώστε να μειωθεί η ανεκμετάλλευτη ποσότητα που καταλήγει στους ΧΥΤΑ. Αρχικά, τα εκχυλίσματα σακχάρων και λαδιών μπορούν να οδηγήσουν στην παραγωγή ανανεώσιμων βιοκαυσίμων. Επιπλέον, ο διαχωρισμός των φαινολικών και των αντιοξειδωτικών ουσιών μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής [32].

### 2.2 Σύσταση

Όπως συμβαίνει και με τις περισσότερες βιολογικές τροφοδοσίες, η σύσταση των υπολειμμάτων καφέ ποικίλλει αρκετά και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η μέθοδος εκχύλισης, αλλά και ο τύπος του καφέ και οι συνθήκες που αναπτύσσεται. Το συστατικό με τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα είναι οι πολυσακχαρίτες, κυρίως η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη, οι οποίοι συνολικά αποτελούν το 50% της ξηρής μάζας των υπολειμμάτων καφέ. Η μαννόζη, η γαλακτόζη και η αραβινόζη είναι τα βασικά σάκχαρα της ημικυτταρίνης, ενώ η γλυκόζη είναι το βασικό σάκχαρο της κυτταρίνης. Μετά τους πολυσακχαρίτες ακολουθούν η λιγνίνη και οι πρωτεΐνες, τα οποία αποτελούν το 20% της ξηρής μάζας το καθένα. Επίσης, τα υπολείμματα καφέ περιέχουν σημαντική ποσότητα

ελαίων (περίπου 15%), και μικρές ποσότητες φαινολικών συστατικών, ορυκτών, καφεΐνης και τανίνης [32].

### 2.3 Δυναμικό παραγωγής και τρόποι διαχείρισης

Ο καφές αποτελεί το δεύτερο πιο εμπορικό προϊόν παγκοσμίως μετά το πετρέλαιο. Αυτό γίνεται εύκολα αντιληπτό, αν σκεφτεί κανείς ότι καταναλώνονται περίπου μισό τρισεκατομμύριο κούπες καφέ ετησίως. Οι κόκκοι καφέ δε χρησιμοποιούνται μόνο για την παρασκευή του γνωστού σε όλους ροφήματος. Μπορούν να αξιοποιηθούν και σε αναψυκτικά όπως η κόκα-κόλα, σε φαρμακευτικά προϊόντα και σε κοσμήματα, λόγω της περιεχόμενης καφεΐνης. Η μεγαλύτερη δύναμη στην παραγωγή καφέ είναι η Βραζιλία, ενώ ακολουθούν το Βιετνάμ και η Κολομβία. Πιο αναλυτικά, το 2018 η Βραζιλία παρήγαγε 3,75 δισεκατομμύρια κιλά καφέ, το Βιετνάμ 1,8 δισεκατομμύρια κιλά καφέ και η Κολομβία 837 εκατομμύρια κιλά καφέ [33].

Όσον αφορά την κατανάλωση του καφέ, μέσω της οποίας προκύπτουν και τα υπολείμματα του καφέ, η Ευρώπη πρωταγωνιστεί, ενώ ακολουθούν η Ασία-Ωκεανία και η Βόρεια Αμερική. Αναλυτικότερα, στον παρακάτω πίνακα 2.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την παγκόσμια κατανάλωση καφέ τα τελευταία χρόνια.

Πίνακας 2.1: Παγκόσμια κατανάλωση καφέ (σε δισεκατομμύρια κιλά) [34]

	<b>2014-2015</b>	<b>2015-2016</b>	<b>2016-2017</b>	<b>2017-2018</b>
Αφρική	0,643	0,657	0,646	0,654
Ασία-Ωκεανία	1,92	1,97	2,05	2,12
Κεντρική Αμερική και Μεξικό	0,314	0,318	0,31	0,315
Ευρώπη	3,06	3,13	3,12	3,18
Βόρεια Αμερική	1,66	1,74	1,77	1,8
Νότια Αμερική	1,5	1,52	1,57	1,62
Συνολικά	9,09	9,33	9,47	9,68

Από τον παραπάνω πίνακα διαπιστώνουμε ότι η παγκόσμια κατανάλωση καφέ ανεβαίνει τα τελευταία χρόνια και οι ποσότητες που καταναλώνονται είναι πολύ μεγάλες. Για αυτό είναι αναγκαίο να αρχίσουν να εφαρμόζονται άμεσα οι τρόποι διαχείρισης των υπολειμμάτων καφέ και να εφευρεθούν και νέες μέθοδοι.

Παρακάτω αναφέρονται μερικοί τρόποι αξιοποίησης των υπολειμμάτων καφέ [32]:

- Ενέργεια

Από τα έλαια των υπολειμμάτων καφέ μπορεί να παραχθεί βιοντίζελ. Η παραγωγή βιοντίζελ κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό της συνολικής ενεργειακής αξιοποίησης των υπολειμμάτων καφέ. Αυτή η διαδικασία αποτελείται από δυο στάδια: αρχικά εκχύλιση των ελαίων και στη συνέχεια μετεστεροποίηση των ελαίων, όπου τα τριγλυκερίδια μετατρέπονται σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων, δηλαδή βιοντίζελ.

Εκτός από έλαια, τα υπολείμματα καφέ περιέχουν και μεγάλες ποσότητες πολυσακχαριτών, από τους οποίους παράγεται η βιοαιθανόλη. Οι πολυσακχαρίτες μετατρέπονται σε σάκχαρα μέσω όξινης ή ενζυμικής υδρόλυσης, αφού έχει προηγηθεί μια από τις μεθόδους προακτεργασίας. Ακολούθως, τα σάκχαρα μετατρέπονται σε βιοαιθανόλη μέσω της ζύμωσης. Η συγκεκριμένη διαδικασία θα αναλυθεί και παρακάτω.

Τα υπολείμματα καφέ μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως στερεά καύσιμα, και κυρίως σε συνδυασμό με άλλες βιομάζες. Σε έρευνες που έχουν γίνει σχετικά με τη χρήση των υπολειμμάτων καφέ για ατμοπαραγωγή, βρέθηκε ότι τα ξηρά υπολείμματα καφέ έχουν μεγαλύτερη θερμική ενέργεια από τα pellets ξύλου. Ωστόσο, το μεγαλύτερο πρόβλημα είναι ότι εκπέμπουν υψηλές ποσότητες επικίνδυνων αερίων, και ειδικά οξειδίων του αζώτου. Η καλύτερη λύση είναι ο συνδυασμός των υπολειμμάτων καφέ με ένα είδος κάρβουνου από την Κίνα, ο οποίος δίνει εξαιρετικά ενεργειακά αποτελέσματα και δεν έχει υψηλές εκπομπές επικίνδυνων αερίων.

Δυο άλλες μέθοδοι παραγωγής ενέργειας από τα υπολείμματα καφέ είναι η υδροθερμική υγροποίηση και η πυρόλυση. Κατά την υδροθερμική υγροποίηση σπάνε οι αλυσίδες της δομής των βιοπολυμερών, που περιέχονται στα υπολείμματα καφέ, μέσω έκθεσης σε κάποιο διαλύτη και σε πολύ υψηλή θερμοκρασία και πίεση. Με αυτόν τον τρόπο η βιομάζα μετατρέπεται σε «αργό βιοέλαιο» χωρίς ξήρανση των υπολειμμάτων καφέ. Η πυρόλυση είναι μια άλλη μέθοδος παραγωγής «αργού βιοελαίου» μέσω θερμικής αποικοδόμησης της δομής διαφόρων υλικών που περιέχονται στα υπολείμματα καφέ.

Επιπλέον, είναι δυνατή η παραγωγή βιοαερίου και αερίου σύνθεσης από τα υπολείμματα καφέ. Η παραγωγή αυτών των δυο προϊόντων πραγματοποιείται είτε με χώνευση είτε με θερμική πυρόλυση. Μια μελέτη που έχει γίνει αφορά την παραγωγή βιοαερίου μέσω αναερόβιας χώνευσης υπολειμμάτων καφέ σε συνδυασμό με απορρίμματα τροφίμων.

- **Τρόφιμα και υγεία**  
 Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, τα υπολείμματα καφέ περιέχουν υψηλές ποσότητες αντιοξειδωτικών και φαινολικών συστατικών, όπως το χλωρογενικό οξύ, η καφεΐνη και τα φλαβονοειδή. Εξαιρετικά σημαντικό στάδιο για την αξιοποίηση αυτών των συστατικών αποτελεί ο διαχωρισμός τους, ο οποίος γίνεται μέσω εκχύλισης με τη βοήθεια αλκοολών, κυρίως μεθανόλης και αιθανόλης. Αφού, λοιπόν, διαχωριστούν οι αντιοξειδωτικές και οι φαινολικές ουσίες, έχουν μεγάλο εύρος εφαρμογών τόσο στον τομέα της υγείας όσο και σε αυτόν των τροφίμων. Καταρχάς, χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του καρκίνου των κυττάρων. Ακόμα, η προσθήκη τους στο κρέας και σε άλλα τρόφιμα προσδίδει εξαιρετικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ενώ παράλληλα μειώνει την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών και κατ'επέκταση τη φθορά των τροφίμων. Επίσης, τα υπολείμματα καφέ είναι πλούσια σε ίνες και σε σημαντικά αμινοξέα, τα οποία είναι απαραίτητα για την υγεία του ανθρώπινου οργανισμού. Κατόπιν, βοηθούν στην αντιμετώπιση των φλεγμονών από τον οργανισμό.  
 Παρόλο ότι πολλά οργανικά απόβλητα χρησιμοποιούνται σαν κομπόστ ή σαν λίπασμα, τα υπολείμματα καφέ δε μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας στο έδαφος, επειδή είναι επιβλαβή για το περιβάλλον. Αυτό συμβαίνει λόγω του υψηλού λόγου άνθρακα/αζώτου, των φαινολικών συστατικών και της οξύτητας των υπολειμμάτων καφέ. Έτσι, τα υπολείμματα καφέ αναμιγνύονται με άλλες ουσίες, όπως η τύρφη, και το μίγμα που προκύπτει έχει ανάλογες ιδιότητες με αυτές των συμβατικών λιπασμάτων.
- **Υλικά**  
 Μια άλλη εφαρμογή των υπολειμμάτων καφέ αποτελεί η χρήση τους ως υποβαθμισμένο πληρωτικό υλικό στις κατασκευαστικές εταιρείες. Πιο συγκεκριμένα, τα υπολείμματα καφέ αναμιγνύονται με απορρίμματα άλλων υλικών, όπως το ανακυκλώσιμο γυαλί, και έτσι παράγονται υλικά με υψηλή αντοχή στην πίεση, κατάλληλα για χρήση ως υποβαθμισμένα υλικά.  
 Επιπρόσθετα, έχουν γίνει έρευνες για την ενσωμάτωση των υπολειμμάτων καφέ σε σύνθετα υλικά, σε πολύ-υδροξυαλκανοικούς εστέρες και στην παραγωγή τούβλων. Τα υπολείμματα καφέ σε συνδυασμό με υλικά όπως το πολυπροπυλένιο ή το πολυγαλακτικό οξύ δημιουργούν σύνθετα υλικά με βελτιωμένες ιδιότητες. Μια από αυτές είναι ότι τα σύνθετα υλικά που προκύπτουν δε διαπερνώνται εύκολα από το νερό. Ακόμα, με αφαίρεση των ελαίων από τα σύνθετα υλικά που προκύπτουν, βελτιώνεται η διεπιφανειακή συγκόλληση, αλλά και η θερμική και η μηχανική αντοχή τους. Ακόμα, τα έλαια και τα σάκχαρα των υπολειμμάτων καφέ χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα και με τη



βοήθεια συγκεκριμένων μικροοργανισμών δημιουργούν τους πολύτιμους πολύ-υδροξυαλκανοικούς εστέρες. Αυτά τα υλικά είναι βιοδιασπώμενα και βοηθούν στην παραγωγή χρήσιμων βιοπολυμερών. Όσον αφορά την παρασκευή τούβλων, τα υπολείμματα καφέ χρησιμοποιούνται ως πρόσθετο, με σκοπό να βελτιώσουν την αντοχή στην πίεση των τούβλων. Παράλληλα, τα τούβλα που περιέχουν ως πρόσθετο υπολείμματα καφέ έχουν χαμηλότερη θερμική αγωγιμότητα και έτσι είναι καλύτερα θερμομονωτικά υλικά από ότι τα κανονικά τούβλα.

Τέλος, τα υπολείμματα καφέ μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως προσροφητικά υλικά ρυπογόνων ουσιών. Για παράδειγμα, προσροφητικά υλικά που προέρχονται από υπολείμματα καφέ αφαιρούν από το νερό μέταλλα όπως το αρσενικό, το χαλκό, το νικέλιο και το κάδμιο.

#### **2.4 Παραγωγή βιοαιθανόλης**

Για την παραγωγή βιοαιθανόλης από υπολείμματα καφέ, το πρώτο στάδιο, συνήθως, είναι η εκχύλιση των λιπών. Αυτό γίνεται διότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα τριγλυκερίδια επιβραδύνουν την υδρόλυση των πολυσακχαριτών. Ωστόσο, κάποιιοι ερευνητές έχουν επιχειρήσει να κάνουν υδρόλυση πριν από την εκχύλιση των λιπών και το αποτέλεσμα ήταν η υψηλή απόδοση σε σάκχαρα και λίπη. Συνεπώς, το πρώτο στάδιο είναι λίγο αμφιλεγόμενο [32].

Το δεύτερο στάδιο είναι αυτό της προκατεργασίας της πρώτης ύλης. Συνήθως, για την παραγωγή βιοαιθανόλης, χρησιμοποιείται το καυστικό νάτριο, αφού σε αλκαλικό περιβάλλον διασπάται καλύτερα η λιγνίνη απελευθερώνοντας την κутταρίνη και την ημικυτταρίνη [32].

Αφού ολοκληρωθεί το στάδιο της προκατεργασίας, ακολουθεί η υδρόλυση των πολυσακχαριτών, ώστε να απελευθερωθούν τα σάκχαρα. Μια μέθοδος υδρόλυσης είναι η υδρόλυση με αραιωμένο οξύ, μια διαδικασία που συνήθως λαμβάνει χώρα παρουσία αραιωμένου θειικού οξέος σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από 100 °C και σε διάστημα που κυμαίνεται από 45 λεπτά έως 2 ώρες. Μια άλλη μέθοδος υδρόλυσης είναι η ενζυμική υδρόλυση, μια διαδικασία που πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενζύμων, όπως η μαννανάση, η κутταρινάση και η ημικυτταρινάση. Έχει αποδειχθεί ότι και οι δυο μέθοδοι οδηγούν σε απόδοση 80% σε σάκχαρα, εφόσον έχει προηγηθεί και η κατάλληλη μέθοδος προκατεργασίας [32].

Κάποια από τα σάκχαρα που απελευθερώνονται από την υδρόλυση μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα τρόφιμα. Για παράδειγμα, η μαννάνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπλήρωμα διατροφής. Τα υπόλοιπα σάκχαρα υφίστανται ζύμωση προς παραγωγή βιοαιθανόλης, μια διαδικασία που γίνεται με τη βοήθεια του μικροοργανισμού *Saccharomyces cerevisiae* [32].

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Κλαδέματα**

### **3.1 Εισαγωγή**

Τα κλαδέματα μαζί με τα αποκόμματα γρασιδιού, τα φύλλα των δέντρων και τα κλαδιά των δέντρων ανήκουν σε μια ευρύτερη κατηγορία των υπολειμμάτων από κήπους. Τα υπολείμματα κήπων συνεχίζουν να αυξάνονται συνεχώς, γεγονός που οφείλεται στην επέκταση των αστικών χώρων και των χώρων που περικλείονται από πράσινο σε χώρες όπως η Κίνα. Πιο συγκεκριμένα, στην Κίνα παράγονται ετησίως 14 εκατομμύρια τόνοι υπολειμμάτων κήπων. Επίσης, μεγάλες ποσότητες παράγονται τόσο στις Η.Π.Α. όσο και στο Ηνωμένο Βασίλειο. Τα υπολείμματα κήπων αποτελούν μια τυπική λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα, οπότε η ενεργειακή αξιοποίηση των συγκεκριμένων αποβλήτων επιβάλλεται, και μάλιστα κυρίως στα μεγάλα αστικά κέντρα. Με αυτόν τον τρόπο, θα μειωθούν οι τεράστιες ποσότητες απορριμμάτων που παραμένουν ανεκμετάλλευτες και παράλληλα θα συρρικνωθεί το πρόβλημα της ενεργειακής κρίσης, το οποίο μαστίζει στις μέρες μας [35].

### **3.2 Σύσταση**

Η χημική σύσταση των υπολειμμάτων κήπων είναι σύνθετη και ποικίλλει ανάλογα με την εποχή και την τοποθεσία. Το γεγονός αυτό δημιουργεί ένα πρόβλημα, αφού τα ποσοστά της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την ποσότητα παραγωγής βιοαιθανόλης. Σύμφωνα με μια έρευνα στην οποία εξετάστηκαν 8 διαφορετικά είδη υπολειμμάτων κήπων προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα όσον αφορά τη σύστασή τους: 23% λιγνίνη, 16% ημικυτταρίνη, 25% κυτταρίνη [35].

### **3.3 Δυναμικό παραγωγής και τρόποι διαχείρισης**

Σύμφωνα με μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε στη Δανία, διαπιστώθηκε ότι παράγονται κατά μέσο όρο 122-155 κιλά υπολειμμάτων από κήπους ανά άτομο ετησίως[36]. Από αυτό λοιπόν και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι ο πληθυσμός της γης αυξάνεται, γίνεται αντιληπτό ότι δημιουργούνται πολύ μεγάλες ποσότητες υπολειμμάτων από κήπους με συνεχώς αυξανόμενο ρυθμό. Ως επακόλουθο, απαιτείται να δραστηριοποιηθούν άμεσα οι φορείς που σχετίζονται με τη διαχείριση των συγκεκριμένων αποβλήτων. Παρακάτω αναφέρονται μερικοί τρόποι αξιοποίησής τους [37]:

- **Ενέργεια**

Ένας τομέας που αξιοποιούνται σε μεγάλο βαθμό τα κλαδέματα είναι αυτός της παραγωγής βιοαερίου. Τα κλαδέματα χρησιμοποιούνται ως υπόστρωμα και με τη βοήθεια αναερόβιων μικροοργανισμών πραγματοποιείται αναερόβια χώνευση προς παραγωγή βιοαερίου. Το βιοαέριο έχει ευρύ πεδίο εφαρμογών, αφού μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μηχανές εσωτερικής καύσης, σε αεριοστρόβιλους για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, αλλά και ως καύσιμο στον τομέα των μεταφορών, αφού προηγηθεί ένα στάδιο αναβάθμισής του.

Τα κλαδέματα περιέχουν σημαντικές ποσότητες κυτταρίνης και ημικυτταρίνης, οπότε μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη μετατρέπονται σε σάκχαρα μέσω όξινης ή ενζυμικής υδρόλυσης, αφού έχει προηγηθεί μια από τις μεθόδους προακτεργασίας. Ακολούθως, τα σάκχαρα μετατρέπονται σε βιοαιθανόλη μέσω της ζύμωσης. Η συγκεκριμένη διαδικασία θα αναλυθεί και παρακάτω.

- **Τεχνητό έδαφος**

Μια ακόμα αξιοσημείωτη χρήση των κλαδεμάτων είναι η ανάπτυξη τεχνητού εδάφους. Τα κλαδέματα αναμιγνύονται με βιομηχανικά απόβλητα, όπως η ιπτάμενη τέφρα και η σκόνη άνθρακα, παράγοντας τεχνητό έδαφος. Το τεχνητό έδαφος χρησιμοποιείται για να αυξηθεί η κατακράτηση του νερού από το έδαφος προσδίδοντας έτσι σημαντικά μέταλλα σε αυτό. Όταν τα κλαδέματα αποσυντεθούν, παράγονται θρεπτικά συστατικά, όπως το ξύλο, τα οποία είναι απαραίτητα για τις καλλιέργειες.

- **Κομπόστ**

Ο πιο συνηθισμένος τρόπος αξιοποίησης των κλαδεμάτων είναι η κομποστοποίησή τους. Κατά τη διαδικασία αυτή, το οργανικό κλάσμα των κλαδεμάτων αποσυντίθεται μέσω της αναερόβιας χώνευσης. Το κομπόστ που παράγεται μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λίπασμα.

Επίσης, τα κλαδέματα μπορούν να αναμιχθούν με απόβλητα λυμάτων και σε επόμενο στάδιο να παραχθεί κομπόστ με τον ίδιο τρόπο που προαναφέρθηκε. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα αυτής της διαδικασίας είναι ότι μέσω αυτής απομακρύνονται οι ρύποι και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, που υπάρχουν στα λύματα. Επιπλέον, μειώνεται η ποσότητα των λυμάτων που παραμένουν ανεκμετάλλευτα καταλήγοντας στους ΧΥΤΑ.

### 3.4 Παραγωγή βιοαιθανόλης

Για την παραγωγή βιοαιθανόλης από κλαδέματα, το πρώτο στάδιο είναι η προκατεργασία της πρώτης ύλης. Συνήθως, για την παραγωγή βιοαιθανόλης, χρησιμοποιείται το καυστικό νάτριο, αφού σε αλκαλικό περιβάλλον διασπάται καλύτερα η λιγνίνη απελευθερώνοντας την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη.

Αφού ολοκληρωθεί το στάδιο της προκατεργασίας, ακολουθεί η υδρόλυση των πολυσακχαριτών, ώστε να απελευθερωθούν τα σάκχαρα. Μια μέθοδος υδρόλυσης είναι η υδρόλυση με αραιωμένο οξύ, ενώ μια άλλη είναι η ενζυμική υδρόλυση, μια διαδικασία που πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενζύμων, όπως η κυτταρινάση και η ημικυτταρινάση. Και οι δυο μέθοδοι μπορούν να οδηγήσουν σε καλές αποδόσεις σε σάκχαρα, με την προϋπόθεση να έχει προηγηθεί και η κατάλληλη μέθοδος προκατεργασίας.

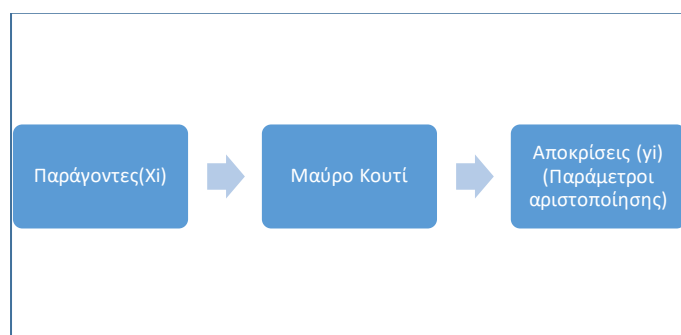
Τα σάκχαρα που προκύπτουν από την υδρόλυση είναι εξόζες και πεντόζες, με κυριότερες τη γλυκόζη και την ξυλόζη. Αυτά τα σάκχαρα υφίστανται ζύμωση προς παραγωγή βιοαιθανόλης, μια διαδικασία που γίνεται με τη βοήθεια του μικροοργανισμού *Saccharomyces cerevisiae*.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

### 4.1 Εισαγωγή

Σχεδιασμός ενός στατιστικού πειράματος, είναι η μέθοδος επιλογής του αριθμού των μετρήσεων, δηλαδή των επί μέρους πειραμάτων, και των συνθηκών εκτέλεσης τους που είναι αναγκαία και ικανά για τη λύση του προβλήματος που έχει τεθεί με την απαιτούμενη ακρίβεια.

Το αντικείμενο της έρευνας απαιτεί ακριβή προσδιορισμό και γι' αυτό έχει υιοθετηθεί η αρχή του "μαύρου κουτιού" της Κυβερνητικής (Σχήμα 4.1). Ένας πειραματιστής προκειμένου να χρησιμοποιήσει μεθόδους σχεδιασμού πειραμάτων πρέπει να μπορεί να διαμορφώσει το πρόβλημα του σύμφωνα με αυτή την αρχή.



Σχήμα 4.1 Διάγραμμα μαύρου κουτιού της κυβερνητικής

#### 4.1.1 Βασικές Αρχές και Έννοιες για τον σχεδιασμό πειραμάτων

Ο στατιστικός σχεδιασμός πειραμάτων είναι μία επιβεβαιωμένη πλέον τεχνική που βρίσκει συνεχώς και μεγαλύτερη εφαρμογή τόσο στη βιομηχανική αριστοποίηση των διεργασιών όσο και σε κάθε ερευνητική πειραματική εργασία. Καθώς οι σημερινές ανάγκες της εφαρμοσμένης έρευνας πιέζουν για ολοένα και μεγαλύτερη ακρίβεια στα πειραματικά αποτελέσματα, όλο και περισσότεροι ερευνητές αναγνωρίζουν την βοήθεια που προσφέρει ένας πειραματικός σχεδιασμός.

Τα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής είναι:

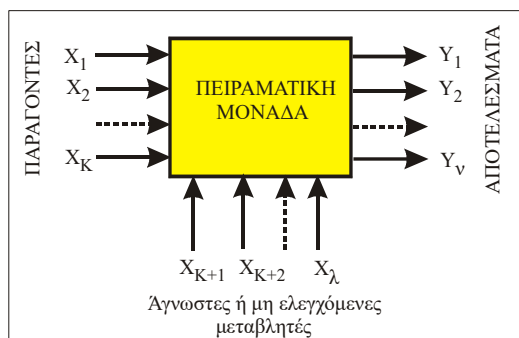
- Πρώτον ότι δίνει τις περισσότερες πληροφορίες, ανά πείραμα, από οποιαδήποτε μη σχεδιασμένη προσέγγιση. Όλοι οι ερευνητές που ασχολήθηκαν με τον στατιστικό σχεδιασμό ισχυρίζονται ότι αυτός ελαχιστοποιεί τον χρόνο της έρευνας και έχει μεγάλη αποτελεσματικότητα σε συστήματα που επηρεάζονται από πολλές μεταβλητές.

- Ένα δεύτερο όφελος είναι ότι η συλλογή και η ανάλυση των πληροφοριών που προκύπτουν από ένα στατιστικό σχεδιασμό πειραμάτων γίνεται με την πλέον οργανωμένη προσέγγιση και γι' αυτό τα συμπεράσματα είναι σαφή και αξιόπιστα χωρίς να απαιτείται εκτενής στατιστική ανάλυση. Από την άλλη πλευρά, τα αποτελέσματα από μία τυχαία πειραματική προσέγγιση, δύσκολα μπορούν να ερμηνευτούν, πολλές φορές ακόμα και από ειδικευμένους στατιστικούς.
- Ένα άλλο πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ότι από τα αποτελέσματα ενός σχεδιασμού μπορεί εύκολα ένας αναγνώστης να ελέγξει την αξιοπιστία τους εφαρμόζοντας κοινώς παραδεκτά κριτήρια ελέγχου.
- Μία τέταρτη ωφελιμότητα του σχεδιασμού είναι η δυνατότητα που μας παρέχει να υπολογίζουμε ποσοτικά τις αλληλοεπιδράσεις των πειραματικών μεταβλητών ώστε να οδηγήσει τον ερευνητή, με μεγαλύτερη ασφάλεια, σε προβλέψεις εκτός της περιοχής σχεδιασμού, δηλαδή σε περιοχές που δεν καλύπτονται απευθείας από τα πειράματα.
- Τέλος το πιο σημαντικό κέρδος από την τεχνική του σχεδιασμού είναι η δυνατότητα της απ' ευθείας εύρεσης της διεύθυνσης που πρέπει να ακολουθήσει ο ερευνητής στον πολυδιάστατο χώρο των πειραματικών μεταβλητών ώστε να προσεγγίσει το άριστο σημείο (μέγιστο ή ελάχιστο).

Η βασική ιδέα του σχεδιασμού των πειραμάτων στηρίζεται στο γεγονός ότι μπορούμε να αντικαταστήσουμε οποιοδήποτε φαινόμενο με ένα μαθηματικό μοντέλο, οπότε είναι πολύ πιο εύκολο να μελετηθεί και να διερευνηθεί το μοντέλο αυτό παρά απευθείας το φαινόμενο. Στην πραγματικότητα ποτέ δεν μπορεί να ταυτίζεται ένα φαινόμενο με το μοντέλο του, το οποίο αποτελεί μία αφαίρεση ή απλοποίηση της πραγματικότητας. Το πρόβλημα όμως είναι να επιλέξουμε το κατάλληλο μοντέλο με τον κατάλληλο τρόπο, ώστε η προσέγγιση της πραγματικότητας, στην πράξη, να γίνεται με ικανοποιητικό τρόπο

Ένα πείραμα αποτελεί μία δοκιμή. Ένα πείραμα 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 επηρεάζουν την έκβαση του αποτελέσματος και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: τις παραμέτρους που μπορούν να προσδιοριστούν και να ελεγχθούν και ονομάζονται παράγοντες και τις παραμέτρους που είναι είτε άγνωστες είτε 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 οι παράγοντες ονομάζεται πειραματική περιοχή. Η ανατομία ενός πειράματος φαίνεται στο σχήμα 1.1. Η διεξαγωγή ενός πειράματος απαιτεί όλοι οι παράγοντες να λάβουν μία καθορισμένη τιμή. Οι μεταβλητές εξόδου ενός πειράματος 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. Η πειραματική μονάδα μπορεί να παρομοιαστεί μ' ένα «μαύρο κουτί» στο οποίο δεν μπορούμε να αναγνωρίσουμε τις άμεσες πραγματικές σχέσεις μεταξύ των επιδράσεων και των ανταποκρίσεων, αλλά μπορούμε να τις μετρήσουμε και να τις συσχετίσουμε με κάποια 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.



Σχήμα 4.2 Η ανατομία ενός πειράματος

Δυστυχώς για τους ερευνητές, ένα πείραμα συμπεριλαμβάνει επίσης και μία σειρά αγνώστων ή μη ελεγχόμενων μεταβλητών που επίσης επιδρούν στο αποτέλεσμα. Αυτή η επίδραση είναι μία πηγή συστηματικών και τυχαίων σφαλμάτων και οι οποίες τείνουν να καλύψουν τις πραγματικές επιδράσεις των παραγόντων στο αποτέλεσμα. Παράδειγμα συστηματικών σφαλμάτων μπορεί να είναι: τα διαφορετικά όργανα μέτρησης της ίδιας παραμέτρου, οι μεταβολές στην πρώτη ύλη, οι αλλαγές των συνθηκών λειτουργίας, ενώ μερικά τυχαία σφάλματα μπορεί να είναι τα σφάλματα μέτρησης του βάρους και ανάγνωσης του ίδιου οργάνου. Ένας καλός σχεδιασμός πρέπει να πάρει υπ' όψη του τέτοιες επιδράσεις ώστε να εκτιμηθεί η ικανότητα των συμπερασμάτων να μας οδηγήσουν στο επιθυμητό πειραματικό αποτέλεσμα.

#### 4.1.2 Παράμετροι Αριστοποίησης

Σε ένα σχεδιασμό αριστοποίησης, είναι πολύ σπουδαίο να προσδιορίσουμε τις μεταβλητές εξόδου που πρέπει να αριστοποιήσουμε. Ο τελικός σκοπός της έρευνας πρέπει να προσδιοριστεί πολύ καθαρά και σαν παραμέτρους αριστοποίησης καθορίζουμε τα χαρακτηριστικά του τελικού σκοπού εκφρασμένα ποσοτικά. Είναι η αντίδραση της συμπεριφοράς του συστήματος στην δράση των παραγόντων. Η αντίδραση αυτή είναι συνήθως πολύπλευρη και μπορεί να εκφραστεί με πλήθος μορφών. Η επιλογή της μορφής που έχει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι μία πολύ δύσκολη και κρίσιμη φάση του σχεδιασμού και αποτελεί αυτό που λέμε έκφραση του τελικού σκοπού.

Χαρακτηρίζοντας μία μεταβλητή εξαγωγής σαν παράμετρο αριστοποίησης πρέπει να προσέξουμε ώστε να εκπληρώνει τις παρακάτω προϋποθέσεις:

1. Να είναι αποτελεσματική ως προς τον χαρακτηρισμό του επιδιωκόμενου τελικού σκοπού. Αυτή η αναγκαιότητα ταυτίζεται με την σαφήνεια προσδιορισμού του προβλήματος. Σύμφωνα με την ανάγκη αποτελεσματικότητας, μία παράμετρος αριστοποίησης μπορεί να μεταβάλλεται ανάλογα με την πορεία της έρευνας. Για παράδειγμα, ενώ ξεκινώντας μία έρευνα μπορεί να χρησιμοποιεί την παραγωγή του προϊόντος σαν παράμετρο αριστοποίησης, από κάποιο σημείο και πέρα πιθανώς το ενδιαφέρον της αριστοποίησης μπορεί να μετατοπιστεί στην ποιότητα του προϊόντος. Δηλαδή υπάρχει μία δυναμική σχέση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν με τον επιδιωκόμενο σκοπό κατά την διάρκεια ενός πειραματικού σχεδιασμού.
2. Να έχει μία διεθνή υπόσταση, δηλαδή να εκφράζεται σε μονάδες ή να μετριέται με μεθόδους διεθνώς αποδεκτές.
3. Να έχει ποσοτική έκφραση και μάλιστα να παρουσιάζεται με ένα απλό νούμερο. Όταν είναι δύσκολο να εκφραστεί ποσοτικά, τότε πρέπει να χρησιμοποιήσουμε μία μέθοδο προσεγγιστικής κλίμακας.
4. Πρέπει να έχει «στατιστική αποτελεσματικότητα», δηλαδή πρέπει να επιλέξουμε μία παράμετρο αριστοποίησης που να προσδιορίζεται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.
5. Πρέπει να έχει μία φυσική οντότητα που να εκφράζεται απλά και να υπολογίζεται εύκολα. Πολλές φορές όταν μία παράμετρος αριστοποίησης έχει απλή φυσική σημασία, αλλά δεν έχει στατιστική αποτελεσματικότητα, τότε καταφεύγουμε σε τεχνικές μαθηματικού μετασχηματισμού της παραμέτρου, όπως  $\eta\mu(Y)$  ή  $\sqrt{Y}$  όπου πλέον η διασπορά των τιμών της αποκτά μεγαλύτερη ομοιογένεια.
6. Να υπάρχει σε όλα τα στάδια του σχεδιασμού.

#### 4.1.3 Παράγοντες Σχεδιασμού

Μετά την επιλογή των παραγόντων αριστοποίησης, πρέπει να επιλέξουμε και όλους τους παράγοντες που γνωρίζουμε ότι επηρεάζουν την λύση του προβλήματος. Η παράλειψη ενός σημαντικού παράγοντα μπορεί να οδηγήσει σε τελείως λανθασμένα αποτελέσματα. Ένας παραλειπόμενος παράγοντας παίρνει τυχαίες τιμές, ώστε να αυξάνει το σφάλμα του πειράματος.

Αν όμως ο αριθμός των παραγόντων είναι πολύ μεγάλος, τότε είναι απαραίτητο να καταφύγουμε σε μεθόδους εξάλειψης των μη σπουδαίων παραγόντων. Γενικά η επιτυχία της αριστοποίησης εξαρτάται από την επιτυχημένη επιλογή των παραγόντων.



Το πεδίο τιμών ενός παράγοντα μπορεί να είναι συνεχές ή ασυνεχές. Στα προβλήματα όμως του σχεδιασμού των πειραμάτων χρησιμοποιούμε πάντοτε ασυνεχές πεδίο τιμών. Έτσι για μερικούς παράγοντες που έχουν συνεχή περιοχή προσδιορισμού, όπως είναι η θερμοκρασία, ο χρόνος, η ποσότητα, επιλέγουμε, με μεγάλη προσοχή, ασυνεχή υποσύνολα επιπέδων. Στη πράξη το πεδίο τιμών των παραγόντων είναι περιορισμένο.

Οι παράγοντες διαχωρίζονται σε ποιοτικούς και ποσοτικούς. Αν και με την έννοια της ποιοτικής αντίληψης, στους ποιοτικούς παράγοντες δεν αντιστοιχεί μία αριθμητική κλίμακα, όμως είναι δυνατόν να δημιουργηθεί μία βολική κλίμακα αριθμητικής προτεραιότητας των ποιοτικών χαρακτηριστικών. Πολλές φορές τα όρια μεταξύ ποιοτικών και ποσοτικών παραγόντων είναι αρκετά συγκεχυμένα.

Χαρακτηρίζοντας μία μεταβλητή εισαγωγής σαν παράγοντα πρέπει να προσέξουμε ώστε να εκπληρώνει τις παρακάτω προϋποθέσεις:

1. Πρέπει να μπορεί να ρυθμιστεί ώστε η τιμή του να διατηρείται σταθερή, καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος στο επιθυμητό επίπεδο.
2. Πρέπει να είναι σαφής η μέθοδος μέτρησής του, το όργανο που θα χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση του, καθώς επίσης και οι μονάδες που θα εκφράζεται. Όταν είναι δυνατόν να διευκρινιστούν όλα τα παραπάνω, τότε ο παράγοντας αυτός λέγεται λειτουργικός.
3. Η μέτρηση του παράγοντα πρέπει να γίνεται με την μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια. Βέβαια αυτή η ακρίβεια εξαρτάται από την κάθε περίπτωση. Για παράδειγμα, δεν έχει νόημα σε εποχιακά πειράματα η μέτρηση του χρόνου με ακρίβεια δευτερολέπτου ασχέτως αν μπορεί αυτό να επιτευχθεί. Αν είναι δύσκολο να διατηρήσουμε τον παράγοντα σε σταθερό επίπεδο, κατά την διάρκεια του πειράματος, τότε πρέπει να καταφύγουμε σε ειδική ανάλυση που ονομάζεται συμβολική ανάλυση.
4. Ένας παράγοντας πρέπει να δρα απ' ευθείας στο αποτέλεσμα, δηλαδή πρέπει να είναι σαφής. Είναι δύσκολο να ελέγξεις έναν παράγοντα που είναι συνάρτηση άλλου. Μερικές φορές όμως επιβάλλεται κάτι τέτοιο. Για παράδειγμα, αν η θερμοκρασία μέσα σ' έναν αντιδραστήρα μεταβάλλεται γραμμικά, τότε σαν παράγοντα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την κλίση ή την παράγωγο της ευθείας.
5. Η αρμονία των παραγόντων είναι μία άλλη αναγκαιότητα. Για παράδειγμα, δεν μπορούμε να δώσουμε τέτοιες τιμές σ' ένα πείραμα ώστε να γίνει έκρηξη στα όργανα και τις πειραματικές συσκευές. Η αρμονία επιτυγχάνεται με τον ξεκάθαρο προσδιορισμό του πεδίου τιμών των παραγόντων.
6. Επίσης πρέπει να εξασφαλίζεται η ανεξαρτησία των παραγόντων. Για παράδειγμα, σε ένα κλειστό θερμοδυναμικό σύστημα δεν μπορεί ταυτόχρονα να

αποτελούν παράγοντες η πίεση, η θερμοκρασία και ο όγκος, εφ' όσον το ένα είναι συνάρτηση των άλλων δύο.

#### 4.1.4 Μαθηματικά Μοντέλα

Τα μαθηματικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται συνήθως σε στατιστικές προσομοιώσεις διαφόρων φαινομένων είναι πολυώνυμα μέχρι δευτέρου βαθμού για λόγους απλότητας των εξισώσεων και ικανοποιητικής προσέγγισης. Τα μοντέλα αυτά είναι:

- Μηδενικού Βαθμού:  $y=b_0$
- Πρώτου Βαθμού:  $y=b_0+\sum_i^K b_i x_i$
- Δευτέρου Βαθμού:  $y=b_0+\sum_i^K b_i x_i+\sum_i^K \sum_i^K b_{ij} x_i x_j$

Οι συντελεστές των μοντέλων που πρέπει να προσδιορισθούν (άγνωστοι) είναι 1 στο μοντέλο μηδενικής τάξης ( $b_0$ ) και  $k+1$  στο πρώτης τάξης. Στο μοντέλο δεύτερης τάξης οι συντελεστές για προσδιορισμό είναι το άθροισμα αυτών του μοντέλου πρώτης τάξης, των αλληλεπιδράσεων και των τετραγωνικών όρων:

$$k + 1 + \frac{k!}{2!(k-2)!} + k = \frac{(k+1)(k+2)}{2} \quad (4.1)$$

##### 4.1.4.1 Δυνατότητες

Το μοντέλο μηδενικού βαθμού δείχνει ότι οι παράγοντες δεν επηρεάζουν την παράμετρο αριστοποίησης, μια κατάσταση που δεν έχει νόημα, αφού σκοπός της έρευνας είναι να βρεθεί και να καθορισθεί ποσοτικά αυτή η επίδραση. Το μοντέλο αυτό είναι αποτέλεσμα συνήθως ενός κακού σχεδιασμού ή μιας κακής εκτέλεσης του πειράματος.

Το μοντέλο πρώτου βαθμού είναι χρήσιμο και εύχρηστο. Έχει μεγάλη αξιοπιστία μέσα στα όρια σχεδιασμού του, και γι' αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μοντέλο παρεμβολής, δεν μπορεί να δώσει καμία πρόβλεψη έξω απ' αυτά τα όρια. Χρησιμοποιείται για εντοπισμό του αρίστου με κίνηση κατά την παράγωγο.

Στη περίπτωση αδυναμίας αυτού του μοντέλου να περιγράψει το αντικείμενο της έρευνας, γίνεται νέος σχεδιασμός δεύτερης τάξης για την επίτευξη μοντέλου δεύτερου βαθμού. Οι προβλέψεις των σχεδιασμών δεύτερης τάξης συνήθως είναι αναξιόπιστες έξω από τα όρια σχεδιασμού, επειδή όμως είναι εξαιρετικά καλές μέσα σε αυτά τα όρια, σπάνια είναι απαραίτητο να εξετασθούν πολυώνυμα τρίτου ή ανωτέρου βαθμού.

#### 4.1.4.2 Αποφάσεις πριν τον σχεδιασμό

Της πρώτης σειράς μετρήσεων προηγείται η φάση της λήψης ορισμένων μη τυποποιημένων αποφάσεων για την επιλογή της τοπικής περιοχής μεταβολής κάθε παράγοντα. Τα όρια των πεδίων ορισμού του συνόλου των παραγόντων προσδιορίζονται, είτε με αξιωματικούς περιορισμούς, είτε με τεchnικοοικονομικές θεωρήσεις. Ο καθορισμός των περιοχών αυτών σχετίζεται με την προσεκτική ανάλυση γνωστών πληροφοριών από τη βιβλιογραφία, ή από προκαταρκτικά πειράματα για τις μεταβολές των παραγόντων και για την καμπυλότητα της επιφάνειας απόκρισης.

Η τοπική περιοχή εκτέλεσης ενός πειράματος επιλέγεται με τους προσδιορισμούς του βασικού επιπέδου και των διαστημάτων μεταβολής. Το βασικό (μηδενικό) επίπεδο είναι ένα πολυδιάστατο σημείο του χώρου των παραγόντων. Ο σχεδιασμός ενός πειράματος συνίσταται στην επιλογή πειραματικών σημείων που να είναι συμμετρικά ως προς το βασικό επίπεδο. Σαν βασικό επίπεδο επιλέγεται γενικά το καλύτερο σημείο της βιβλιογραφίας ή των προκαταρκτικών πειραμάτων.

Αφού έχουμε επιλέξει ένα σημείο σαν βασικό επίπεδο πρέπει να ορίσουμε μια υποπεριοχή γύρω από το βασικό επίπεδο και μάλιστα συμμετρικά, κατάλληλη ώστε η επιφάνεια του  $Y$  που περικλείεται στην υποπεριοχή αυτή να μπορεί να αντικατασταθεί με ένα γραμμικό μοντέλο. Η αποτυχία της σωστής επιλογής της υποπεριοχής αυτής μπορεί να μας αναγκάσει να ξαναγυρίσουμε μετά από τον σχεδιασμό ξανά από την αρχή.

Η υποπεριοχή αυτή έχει για κάθε περίπτωση ένα ανώτερο και ένα κατώτερο επίπεδο. Είναι απαραίτητο να κωδικοποιήσουμε τις τιμές που περικλείονται μέσα στην υποπεριοχή αυτή έτσι ώστε να απλοποιηθούν οι πράξεις μας. Το βασικό επίπεδο το αντιστοιχούμε με 0, το ανώτερο επίπεδο με +1 και το κατώτερο με -1. Επομένως κάθε τιμή της υποπεριοχής ενός παράγοντα κωδικοποιείται με τον παρακάτω τύπο:

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

όπου  $x_j$  = η κωδικοποιημένη τιμή του  
: παράγοντα

$\bar{x}_j$  = η φυσική τιμή του παράγοντα

$x_{j0}$  = η φυσική τιμή του βασικού επιπέδου

$J_j$  = το μέγεθος υποπεριοχής

$j$  = ο αύξων αριθμός του παράγοντα.

## 4.2 Σχεδιασμοί Πρώτης Τάξης

### 4.2.1 Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός

Ένα πείραμα στο οποίο πραγματοποιούνται όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί λέγεται παραγοντικό πείραμα (ή πλήρες παραγοντικό πείραμα). Εάν ο αριθμός των παραγόντων είναι  $k$  και ο αριθμός των επιπέδων  $2$ , τότε το πλήθος των μετρήσεων θα είναι :

$$N=2^k$$

με συντεταγμένες, σε γεωμετρική παράσταση, τις κορυφές ενός υπερκύβου στο χώρο των  $k$ -διαστάσεων.

### 4.2.2 Μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων

Οι συνθήκες ενός πειράματος μπορούν να γραφούν στη μορφή ενός πίνακα , του οποίου οι γραμμές να αντιστοιχούν σε διαφορετικές μετρήσεις και οι στήλες στις τιμές των παραγόντων. Τέτοιοι πίνακες ονομάζονται μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων. Η μήτρα σχεδιασμού ενός  $2^2$  παραγοντικού πειράματος φαίνεται στο πίνακα 4.1.

*Πίνακας 4.1 Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα  $2^2$  παραγοντικό πείραμα*

No Μέτρησης	X1	X2	X1X2
1	+1	+1	+1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	-1	-1	+1

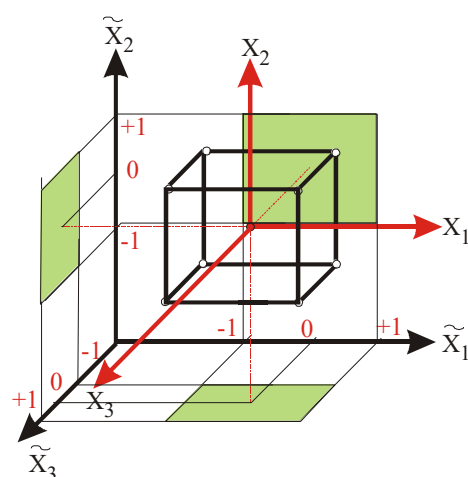
Στο πίνακα 4.1 οι τιμές +1 και -1 είναι οι κωδικοποιημένες τιμές των παραγόντων και οι συνδυασμοί αυτών των επιπέδων καθορίζουν τις συνθήκες εκτέλεσης κάθε πειράματος. Στο εξής, στους σχεδιασμούς πρώτης τάξης, οι τιμές αυτές αντικαθίστανται με + και – αντίστοιχα.

Η τελευταία στήλη του πίνακα 4.1 χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αλληλεπίδρασης των δύο παραγόντων και προκύπτει σαν αλγεβρικό γινόμενο των αντίστοιχων στοιχείων των στηλών των παραγόντων.

Αντίστοιχα, η μήτρα και η γραφική παράσταση ενός παραγοντικού πειράματος  $2^3$  απεικονίζονται στο πίνακα 4.2 και στο σχήμα 4.3 αντίστοιχα.

Πίνακας 4.2 Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα  $2^3$  πείραμα

No	X1	X2	X3	X1X2	X1X3	X2X3	X1X2X3
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	-	+	-	-	-
3	+	-	+	-	+	-	-
4	+	-	-	-	-	+	+
5	-	+	+	-	-	+	-
6	-	+	-	-	+	-	+
7	-	-	+	+	-	-	+
8	-	-	-	+	+	+	-



Σχήμα 4.3 Γεωμετρική εικόνα ενός  $2^3$  πειράματος

Σαν στήλη υπολογισμού του όρου μηδενικού βαθμού (bo) θεωρείται γενικά μια στήλη με στοιχεία μόνο +1.

#### 4.2.3 Ιδιότητες ενός παραγοντικού πειράματος

Οι ιδιότητες ενός παραγοντικού σχεδιασμού είναι :

- Συμμετρία ως προς το κέντρο του σχεδιασμού :  $\sum_i^N x_{ji} = 0$

Όπου:  $j$  = αριθμός του παράγοντα (1,2...,k) και

$i$  = αριθμός μέτρησης (1,2...,N)

- Κανονικότητα της μήτρας σχεδιασμού που εκφράζεται από τη σχέση :  $\sum_i^N x_{ji}^2 = N$

Αυτό είναι το αποτέλεσμα της χρησιμοποίησης κωδικοποιημένων τιμών (+1,-1) στη μήτρα σχεδιασμού.

- Ορθογωνικότητα της μήτρας σχεδιασμού που έχει σχέση με σύνθετες στήλες και πληρούνται με την ισχύ της εξίσωσης:  $\sum_i^N x_{ji}x_{ui} = 0$

Όπου:  $j \neq u$  και  $j,u=0,1,2...,k$

- Περιστροφικότητα που προϋποθέτει ότι η ακρίβεια πρόβλεψης των τιμών της παραμέτρου αριστοποίησης είναι ίδια σε ίσες αποστάσεις από το κέντρο του σχεδιασμού και δεν εξαρτάται από την κατεύθυνση.

#### 4.2.4 Βαθμοί ελευθερίας και αλληλεπιδράσεις.

Ο αριθμός των συντελεστών μηδενικού και πρώτου βαθμού που πρέπει να προσδιορισθούν σε ένα παραγοντικό μοντέλο πρώτης τάξης είναι  $k+1$ .

Η διαφορά μεταξύ του αριθμού των μετρήσεων και του αριθμού των συντελεστών (σταθερών) ενός μοντέλου ονομάζεται αριθμός των βαθμών ελευθερίας στη στατιστική,  $f$ :

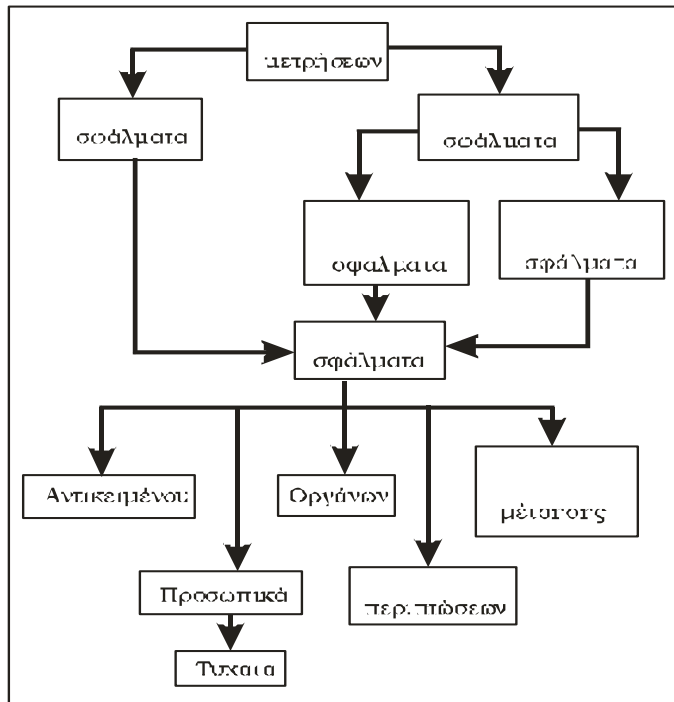
$$f = N - (k+1)$$

Οι βαθμοί ελευθερίας ενός παραγοντικού πειράματος ισούται με το πλήθος των αλληλεπιδράσεων του πειράματος.

### 4.3 Εκτέλεση του πειράματος

#### 4.3.1 Σφάλματα επαναλήψεων και διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης

Το σφάλμα μιας μέτρησης είναι το άθροισμα μιας σειράς μερικών σφαλμάτων, όπως είναι τα σφάλματα στη σταθεροποίηση των παραγόντων, στη μέτρηση της παραμέτρου αριστοποίησης, σφάλματα που οφείλονται στη γήρανση της συσκευής ή μιας από τις πρώτες ύλες. Κάθε ένα από τα σφάλματα αυτά, επίσης, μπορεί να διαιρεθεί στα συστατικά του. Μια κατάταξη των σφαλμάτων δίνεται στο σχήμα 4.4.



Σχήμα 4.4 Ανάλυση σφαλμάτων ενός πειράματος

Τα σφάλματα διαιρούνται 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) είναι απαραίτητο να αντισταθμιστεί αυτή η επίδοση.

Τα τυχαία σφάλματα είναι αυτά που εμφανίζονται ακανόνιστα, των οποίων οι αιτίες είναι άγνωστες και τα οποία είναι αδύνατο να εκτιμηθούν από πριν.

Τα συστηματικά και τα τυχαία σφάλματα αποτελούνται από άλλα στοιχειώδη. Από αυτά, όσα οφείλονται σε σφάλματα συσκευών μπορούν να μειωθούν σημαντικά με έλεγχο των συσκευών πριν την παρατήρηση, μερικές φορές κατά την παρατήρηση και χωρίς αμφιβολία μετά την παρατήρηση. Εμφανίζονται και σφάλματα κατά την εκτέλεση της παρατήρησης που μπορεί να οφείλονται σε μη ομοιόμορφη θέρμανση του συστήματος, σε διαφορετικούς τρόπους θέρμανσης κ.α. Σε επαναλήψεις των μετρήσεων, τέτοια σφάλματα μπορεί να έχουν σαν αποτέλεσμα μεγάλη διασπορά των πειραματικών σφαλμάτων.

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:

$$t_{exp} = \frac{y_i - \gamma_{μέσο}}{s_i} \quad (4.3)$$

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%. Αυτή η στατιστική σημαντικότητα είναι γενικά αποδεκτή για εργαστηριακά και βιομηχανικά χημικά πειράματα και με αυτή τη βάση γίνονται όλες οι στατιστικές εκτιμήσεις που ακολουθούν. Οι βαθμοί ελευθερίας των επαναλήψεων, όπως σημειώθηκε και προηγουμένως, ισούνται με το πλήθος των επαναλήψεων μείον ένα.

Με τους ίδιους βαθμούς ελευθερίας εκτιμάται και η διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης, σύμφωνα με τη σχέση:

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^n (y_i - \gamma_{μέσο})^2}{n - 1} \quad (4.4)$$

Αυτή η σχέση είναι αρκετή για την περίπτωση της εκτίμησης του σφάλματος προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης από ένα μόνο σημείο του χώρου των παραγόντων, όπως 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:

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^{nm} f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (4.5)$$

Όπου  $s_i^2$  είναι κάθε μία από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού που χρησιμοποιείται στον υπολογισμό της  $S_y^2$  και  $f_i$  οι αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας.

#### 4.3.2 Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων

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 που δίνεται στον πίνακα για τους αντίστοιχους βαθμούς ελευθερίας και την επιθυμητή στατιστική σημαντικότητα, αυτό σημαίνει ότι οι διακυμάνσεις διαφέρουν σημαντικά, δηλαδή δεν είναι ομοιογενείς.



Εάν ο αριθμός των διακυμάνσεων που συγκρίνονται 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:

$$G = \frac{S_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad (4.6)$$

Η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων επιβεβαιώνεται, όταν η πειραματική τιμή του G δεν ξεπερνά την αντίστοιχη τιμή του πίνακα.

### 4.3.3 Αντιμετώπιση σφαλμάτων

Για την αντιμετώπιση των τυχαίων σφαλμάτων το κριτήριο του Student βοηθάει στην απόρριψη των πιο απίθανων (εσφαλμένων) τιμών. Αυτό σε συνδυασμό με την εκτέλεση νέων επαναλήψεων μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των τυχαίων σφαλμάτων.

Για τη μείωση της επίδρασης των συστηματικών σφαλμάτων που οφείλονται σε εξωτερικές συνθήκες, συνίσταται η τυχαία σειρά εκτέλεσης των μετρήσεων της μήτρας σχεδιασμού.

Η αντιμετώπιση λοιπόν των σφαλμάτων προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης γίνεται κατά το σχήμα 4.5:

Σφάλματα	Αντιμετώπιση
Τυχαία →	Επαναλήψεις μετρήσεων
Συστηματικά →	Τυχαιοποίηση μετρήσεων

Σχήμα 4.5: Αντιμετώπιση σφαλμάτων

## 4.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων ενός πειράματος

### 4.4.1 Προϋποθέσεις

Οι προϋποθέσεις για να γίνει η επεξεργασία των αποτελεσμάτων είναι οι ακόλουθες:

- α) Η παράμετρος αριστοποίησης είναι μια τυχαία ποσότητα που υπακούει στο νόμο της κανονικής κατανομής.
- β) Η διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης δεν εξαρτάται από την τιμή της (υπάρχει ομοιογένεια διακυμάνσεων)

γ) Οι τιμές των παραγόντων δεν είναι τυχαίες ποσότητες, δηλαδή η τοποθέτηση και σταθεροποίηση κάθε παράγοντα στο προκαθορισμένο επίπεδο είναι πιο ακριβείς από το σφάλμα αναπαραγωγής.

#### 4.4.2 Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης

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

$$y = b_0 + b_1 x_1$$

Στόχος εδώ είναι ο προσδιορισμός των αγνώστων συντελεστών  $b_0$  και  $b_1$  μετά την εκτέλεση ενός στατιστικού πειράματος και με τη χρησιμοποίηση των αποτελεσμάτων του.

Εάν όλα τα πειραματικά σημεία βρισκόντουσαν πάνω στην ευθεία που εκφράζεται με την παραπάνω εξίσωση, τότε θα ίσχυε η ακόλουθη εξίσωση για κάθε ένα από αυτά:

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = 0$$

όπου,  $i=1,2,\dots,N$  ο αριθμός κάθε μέτρησης. Σε αυτή την περίπτωση δεν θα υπήρχε πρόβλημα. Στην πράξη όμως αυτή η εξίσωση δεν ισχύει αλλά παίρνει τη μορφή:

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = \xi_i$$

όπου  $\xi_i$  είναι η διαφορά μεταξύ πειραματικής  $y_i$ , και υπολογισμένης με την αρχική εξίσωση τιμής του  $y_i^*$ .

$$\xi_i = y_i - y_i^*$$

Η ποσότητα  $\xi$  αναφέρεται συχνά σαν υπόλοιπο.

Για ελαχιστοποίηση των αποκλίσεων (υπολοίπων) η πιο διαδεδομένη, ευρείας εφαρμογής μέθοδος είναι αυτή των ελάχιστων τετραγώνων, όπως αναπτύχθηκε πριν από περισσότερα από 150 χρόνια από τους A. Legendre και K.Gauss, και αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται στη συνέχεια. Σύμφωνα με τη μέθοδο των ελάχιστων τετραγώνων επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των υπολοίπων, δηλαδή:

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

Το ελάχιστο μιας συνάρτησης, εάν υπάρχει, βρίσκεται με το σύγχρονο μηδενισμό των μερικών παραγώγων ως προς κάθε άγνωστο, όπως είναι γνωστό. Στη περίπτωση μας:

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

Από αυτές τις εξισώσεις προκύπτουν:

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

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

Η ιδιότητα της συμμετρίας της μήτρας σχεδιασμού δίνει όμως:

$$\sum_i^N x_{1i} = 0$$

Οπότε οι προηγούμενες εξισώσεις γίνονται:

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad (4.7)$$

$$b_1 = \frac{\sum_i^N y_i x_{1i}}{\sum_i^N x_{1i}^2} \quad (4.8)$$

Ο προσδιορισμός των συντελεστών μιας γραμμικής συνάρτησης απόκρισης με  $k$  παράγοντες :

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_k x_k$$

Γίνεται με όμοιο τρόπο με την εφαρμογή πολλαπλής παλινδρόμησης.

Επομένως ακολουθώντας πάλι την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων , επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των υπολοίπων:

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

Παίρνοντας  $k+1$  μερικές παραγώγους ως προς τους αγνώστους  $b_0, b_1, b_2, \dots, b_k$ , εξισώνοντάς τις με μηδέν και ανακατατάσσοντας, προκύπτουν οι  $k+1$  εξισώσεις πολλαπλής παλινδρόμησης από τις οποίες τελικά προκύπτει:

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad (4.7)$$

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{\sum_i^N x_{ji}^2} \quad (4.9)$$

Όπου  $j=1,2,\dots,k$  ο αριθμός του παράγοντα. Στο σχεδιασμό πρώτης τάξης ισχύει επίσης η ιδιότητα της κανονικότητας της μήτρας σχεδιασμού , οπότε η εξίσωση (4.9) μετασχηματίζεται σε:

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{N} \quad (4.9)$$

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

$$b_{uj} = \frac{\sum_i^N y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad (4.10)$$

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

#### 4.4.3 Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών

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

$$s_{bj}^2 = \frac{s_y^2}{\sum_i^N x_{ji}^2} = \frac{s_y^2}{N} \quad (4.11)$$

Από την εξίσωση αυτή φαίνεται ότι σε μοντέλα πρώτης τάξης οι διακυμάνσεις όλων των συντελεστών είναι ίσες μεταξύ τους.

Το διάστημα εμπιστοσύνης με το οποίο θα συγκριθούν οι συντελεστές ώστε να ελεγχθεί η σημαντικότητα τους υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\Delta b_j = \pm t \cdot s_{bj} = \frac{t \cdot s_y}{\sqrt{N}} \quad (4.12)$$

Όπου  $t$  είναι η τιμή του πίνακα Student με στατιστική σημαντικότητα 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της  $s_y$ .

Ένας συντελεστής είναι σημαντικός, εάν η απόλυτη τιμή του είναι μεγαλύτερη από το διάστημα εμπιστοσύνης του.

#### 4.4.4 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου

Το άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών των μέσων πειραματικών τιμών της παραμέτρου αριστοποίησης ( $y_{i, μέσο}$ ) από τις αντίστοιχες υπολογισμένες τιμές με βάση το μαθηματικό μοντέλο που κατασκευάστηκε ( $y^*$ ) δίνει το υπόλοιπο άθροισμα των τετραγώνων.

Ο λόγος του υπολοίπου του αθροίσματος τετραγώνων με τους βαθμούς ελευθερίας ενός πειράματος δίνει την διακύμανση υπολοίπων, ή διακύμανση επάρκειας ( $s_{ad}^2$ ):

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N n_i (y_{i, μέσο} - y^*)^2}{f} \quad (4.13)$$

Όπου:  $n_i$  = ο αριθμός επαναλήψεων στην  $i$ -στη σειρά της μήτρας σχεδιασμού πειραμάτων

$f$  = βαθμοί ελευθερίας του σχεδιασμού

Για τον έλεγχο της επάρκειας ενός γραμμικού μαθηματικού μοντέλου χρησιμοποιείται το γνωστό κριτήριο του Fisher, όπου ο λόγος  $F$  στην περίπτωση αυτή είναι [38]:

$$F = \frac{S_{ad}^2}{S_y^2} (4.14)$$

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση, σε εργαστηριακή κλίμακα, των σταδίων επεξεργασίας (απολιγνίνωση, ενζυμική υδρόλυση) διαφορετικών τύπων αποβλήτων, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων με απώτερο σκοπό την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς. Τα απόβλητα που θα μελετηθούν περιλαμβάνουν εξαντλημένους κόκκους καφέ και υπολείμματα κήπων - κλαδέματα. Διερευνήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του καυστικού νατρίου (στάδιο απολιγνίνωσης) καθώς και η επίδραση του ενζυμικού φορτίου της κυτταρινάσης (στάδιο ενζυμικής υδρόλυσης).

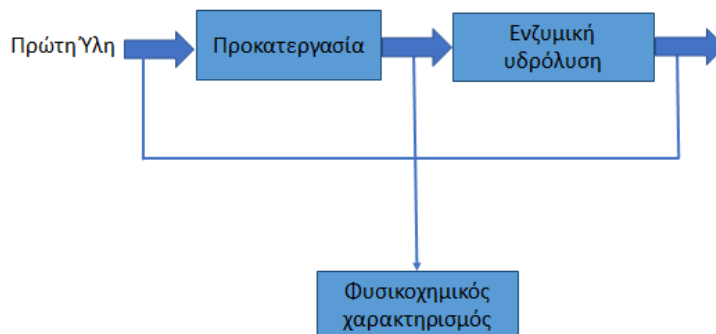
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματική μεθοδολογία

### 5.1 Εισαγωγή

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

- 1) Ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των αποβλήτων
- 2) Η προκατεργασία των αποβλήτων και
- 3) Η βιομετατροπή των προεπεξεργασμένων αποβλήτων σε ζυμώσιμα μονομερή σάκχαρα.

Τα επιμέρους στάδια της πειραματικής διαδικασίας απεικονίζονται στο παρακάτω σχήμα 5.1:



Σχήμα 5.1: Στάδια πειραματικής διαδικασίας

## 5.2 Πρώτη ύλη

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι εξαντλημένοι κόκκοι καφέ και υπολείμματα κήπου- κλαδέματα.

Οι εξαντλημένοι κόκκοι καφέ συλλέχθηκαν από το κυλικείο της Σχολής Χημικών Μηχανικών του του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου (ΕΜΠ), ενώ τα κλαδέματα συλλέχθηκαν από το Εργοστάσιο Μηχανικής Ανακύκλωσης και Κομποστοποίησης (ΕΜΑΚ) απορριμμάτων που βρίσκεται στην Ολοκληρωμένη Εγκατάσταση Διαχείρισης Απορριμμάτων (ΟΕΔΑ) Δυτικής Αττικής και λειτουργεί υπό την επίβλεψη του Ειδικού Διαβαθμιδικού Σύνδεσμου Νομού Αττικής. Στη συνέχεια τα κλαδέματα οδηγήθηκαν στις εγκαταστάσεις του Ε.Μ.Π., στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π..

Μετά τη μεταφορά τους στις εγκαταστάσεις του Ε.Μ.Π., τα απόβλητα ξηράθηκαν σε φούρνο Carbolite στους 105 °C. Τα δείγματα των κλαδεμάτων ομογενοποιήθηκαν σε μύλο άλεσης μετά από μια προκαταρκτική χειρωνακτική διαλογή.

Ο καθορισμός της σύστασης των αποβλήτων αποτελεί ένα κρίσιμο στάδιο για το σχεδιασμό των σταδίων της προκατεργασίας τους και της βιομετατροπής τους. Οι φυσικοχημικές παράμετροι που προσδιορίστηκαν και στα δύο είδη αποβλήτων είναι οι εξής:

- Τα ολικά στερεά (% κ.β.)
- Τα ολικά πτητικά στερεά (% κ.β.)
- Η κυτταρίνη
- Η ημικυτταρίνη
- Η λιγνίνη.

## 5.3 Προκατεργασία

Ο σκοπός της προκατεργασίας είναι η μεταβολή της δομής ή η απομάκρυνση των συστατικών που εμποδίζουν την υδρόλυση, έτσι ώστε να βελτιωθεί η απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης. Στην προκειμένη περίπτωση θέλουμε να απομακρυνθεί η λιγνίνη, ώστε να μπορέσει μετά το ένζυμο να δράσει διασπώντας την κυτταρίνη και παράγοντας ζυμώσιμα σάκχαρα. Για την απομάκρυνση, λοιπόν, της λιγνίνης και βασιζόμενοι σε βιβλιογραφικές αναφορές [29], επιλέχθηκε η υδρόλυση σε αλκαλικό περιβάλλον και μάλιστα με καυστικό νάτριο. Εξετάστηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις καυστικού νατρίου (0.3, 0.5 και 0.7M) στους 50°C για 6h με συγκέντρωση στερεού 10% κ.β., ώστε να επιτευχθεί η πιο αποτελεσματική ενζυμική υδρόλυση. Στο τέλος κάθε πειράματος τα δείγματα φυγοκεντρώνταν στο IEC Centra CL2 και αναλυόταν η στερεή και η υγρή φάση. Στη στερεή φάση μετρούνταν τα ακόλουθα:

- Τα ολικά στερεά (% κ.β.)
- Τα ολικά πτητικά στερεά (% κ.β.)
- Η κυτταρίνη

- Η ημικυτταρίνη
- Η λιγνίνη

ενώ στην υγρή φάση προσδιορίζονταν οι συγκεντρώσεις:

- Γλυκόζης
- Ολικού οργανικού άνθρακα
- Πτητικών λιπαρών οξέων
- Φαινολικών ενώσεων.

Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνταν δυο φορές.

#### **5.4 Ενζυμική υδρόλυση προκατεργασμένων απορριμμάτων**

Μετά το τέλος της προκατεργασίας, ακολουθούσε διαχωρισμός της στερεής και της υγρής φάσης και η στερεή φάση οδηγούνταν στα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης. Η επιλογή των κατάλληλων ενζυμικών συστημάτων για την υδρόλυση των προκατεργασμένων απορριμμάτων αποτελεί εξαιρετικά σημαντικό στάδιο, καθώς η αποτελεσματικότητα της υδρόλυσης επηρεάζει το επόμενο στάδιο της ζύμωσης προς παραγωγή βιοαιθανόλης. Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό ένζυμο της κυτταρινάσης, CellicTec2 της εταιρείας Novozymes. Τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης του προκατεργασμένου και ακατέργαστου στερεού υλικού πραγματοποιήθηκαν σε αποστειρωμένες φιάλες όγκου 50 mL στις οποίες τοποθετήθηκαν δείγματα αποτελούμενα από 10% w/w στερεό και από την κατάλληλη ποσότητα του ενζύμου της κυτταρινάσης. Να σημειωθεί ότι πριν την προσθήκη του ενζύμου είχε ρυθμιστεί το pH στα δείγματα, αφού για να δράσουν τα συγκεκριμένα ένζυμα απαιτείται το pH του δείγματος να είναι κοντά στο 5. Ακολούθως, οι φιάλες τοποθετούνταν στο ανακινούμενο υδατόλουτρο IKA KS 30001 control σε θερμοκρασία 50 °C και ταχύτητα ανάδευσης 130 rpm για 72 ώρες. Μετά ακολουθούσε φυγοκέντρηση και αναλυόταν η στερεή και η υγρή φάση. Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνταν δυο φορές.

Στη στερεή φάση μετρούνταν τα ακόλουθα:

- Τα ολικά στερεά (% κ.β.)
- Τα ολικά πτητικά στερεά (% κ.β.)
- Η κυτταρίνη
- Η ημικυτταρίνη
- Η λιγνίνη

ενώ στην υγρή φάση προσδιορίζονταν οι συγκεντρώσεις:

- Γλυκόζης
- Ολικού οργανικού άνθρακα.

Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνταν δυο φορές.

## 5.5 Μέθοδοι ανάλυσης

### Προσδιορισμός ολικών στερεών TS

Για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών TS ζυγίστηκε ποσότητα 10 g για κάθε δείγμα βιοαποβλήτου σε ζυγό ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες κάψες πορσελάνης και μπήκαν σε φούρνο ξήρανσης Carbolite στους 105°C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου, και ζυγίστηκαν ξανά. Στο παρακάτω σχήμα 5.2 απεικονίζονται οι κάψες πορσελάνης με τα περιεχόμενα δείγματα:



*Σχήμα 5.2: Κάψες πορσελάνης που περιέχουν δείγματα εξαντλημένου καφέ*

Το ποσοστό των ολικών στερεών υπολογίζεται από το λόγο της τελικής μάζας προς την αρχική σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\%TS = (\text{τελική μάζα δείγματος} / \text{αρχική μάζα δείγματος}) * 100$$

### Προσδιορισμός πτητικών στερεών VS

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

Αρχικά, ζυγίστηκε περίπου 0,5-1 g για κάθε δείγμα TS και αυτά τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες κάψες. Μετά, τα δείγματα μπήκαν στο φούρνο Barnstead Thermolyne στους 550 °C για 4 ώρες. Ο φούρνος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των πτητικών στερεών απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα 5.3:





Σχήμα 5.3: Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών

Μετά το πέρας των 4 ωρών, οι κάψες αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά, ώστε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος ζυγίζονται ξανά οι κάψες μαζί με τα περιεχόμενα δείγματα.

Η εκτίμηση του περιεχόμενου οργανικού φορτίου έγινε με τον υπολογισμό της απώλειας βάρους πριν και μετά την εισαγωγή του δείγματος στο φούρνο. Κατά την καύση πραγματοποιείται οξείδωση των οργανικών ουσιών για αυτό και η απώλεια βάρους που υπολογίζεται αποτελεί στην ουσία μέτρο των οργανικών ουσιών που περιέχονται στα στερεά, παρόλο που κατά την καύση απομακρύνονται μερικές φορές και ορισμένα ανόργανα πτητικά συστατικά του δείγματος.

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

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

όπου:

$m_i$ = αρχική μάζα ξηρού δείγματος

$m_f$ = τελική μάζα μετά από 4 ώρες στους 550°C

#### Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών WS

Για τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών αρχικά λαμβάνονται 1,25 g από κάθε δείγμα TS. Αυτά τοποθετούνται μαζί με 50 ml απιονισμένου νερού σε γυάλινα μπουκαλάκια τα οποία σφραγίζονται. Στη συνέχεια, τα γυάλινα μπουκαλάκια τοποθετούνται στο ανακινούμενο υδατόλουτρο IKA KS 30001 control σε θερμοκρασία 50 °C και ταχύτητα ανάδευσης 130 rpm για 1 ώρα. Μετά το πέρας της 1 ώρας, τα δείγματα φυγοκεντρούνται για να συλλεχθεί η στερεή φάση. Η στερεή φάση των δειγμάτων ζυγίζεται και τοποθετείται σε προζυγισμένες κάψες οι οποίες

μπαίνουν στον φούρνο ξήρανσης στους 105°C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, τα δείγματα τοποθετούνται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ακολούθως ζυγίζονται.

Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\%WS = ((\text{αρχική μάζα δείγματος} - \text{τελική μάζα δείγματος}) / (\text{αρχική μάζα δείγματος})) * 100$$

### Προσδιορισμός κυτταρίνης

Η διαδικασία προσδιορισμού κυτταρίνης συνίσταται στην όξινη υδρόλυση του στερεού υπολείμματος που προέκυψε από τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών. Περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

- Λαμβάνονται 300 mg από το κάθε δείγμα στερεού υπολείμματος που προέκυψε κατά τον προσδιορισμό WS και τοποθετούνται σε γυάλινα μπουκαλάκια. Εκεί προστίθενται 3 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% w/w.
- Τα γυάλινα μπουκαλάκια σφραγίζονται και τοποθετούνται σε ανακινούμενο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 30°C και ταχύτητα ανάδευσης 150 rpm για 1 ώρα.
- Μετά το πέρας 1 ώρας προστίθενται σε κάθε μπουκαλάκι 84 ml απιονισμένου νερού και τα δείγματα τοποθετούνται στον αποστειρωτή ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave για μία ώρα και σε θερμοκρασία 121 °C. Στο παρακάτω σχήμα 5.4 φαίνεται ο αποστειρωτής:



Σχήμα 5.4: Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave

- Μετά την αποστείρωση, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία διηθούνται. Τα διηθήματα αποθηκεύονται σε falcon tubes των 50 ml, ενώ τα στερεά υπολείμματα σε πορσελάνινες κάψες.
- Από τα διηθήματα που προκύπτουν λαμβάνονται 20 ml από το καθένα και εξουδετερώνονται, υπό ανάδευση, με χρήση  $\text{CaCO}_3$  έως ότου το pH να κυμαίνεται μεταξύ 5 και 5,5.
- Μετά την εξουδετέρωση τα δείγματα αφήνονται να ηρεμήσουν και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό μέσω φυγοκέντρησης.
- Το συλλεχθέν υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος αραιώνεται κατάλληλα και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP. Από το υπερκείμενο υγρό λαμβάνονται 100 μl τα οποία τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια στα οποία προστίθενται και 2 ml αντιδραστηρίου σακχάρου. Ακολούθως, τα φιαλίδια τοποθετούνται στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 °C για 15 λεπτά. Τέλος, λαμβάνει χώρα φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm.

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

Πιο συγκεκριμένα:

$$Total\ gluc\ \left(\% \frac{w}{w}\right) = \frac{0,71 \cdot ABS_{mean} \cdot D \cdot 86,73 \cdot 10^{-3}}{initial\ solid} \cdot \frac{100}{0,897}$$

όπου:

$ABS_{mean}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης

D: Η αραιώση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα

86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

Initial solid: η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

0,897: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης

Τέλος, η ποσότητα της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$Κυτταρίνη\ \left(\% \frac{w}{w}\right) = Total\ gluc\ \left(\% \frac{w}{w}\right) \cdot 0,9$$

όπου:

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

#### Προσδιορισμός ημικυτταρίνης

Από το υπερκείμενο υγρό που προέκυψε μετά την εξουδετέρωση κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης λαμβάνονται 0,5 ml από κάθε δείγμα και τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια. Σε αυτά προστίθενται 0,5 ml αντιδραστηρίου DNS και τα δείγματα αφήνονται σε βραστό νερό για 5 λεπτά. Μετά, προστίθενται 4 ml νερού στο καθένα και ακολουθεί φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 540 nm.

Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται στη κατασκευασμένη καμπύλη αναφοράς της ημικυτταρίνης και στη συνέχεια με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν προσδιορίζεται η συγκέντρωση ημικυτταρίνης.

Αρχικά υπολογίζεται η απορρόφηση της ξυλόζης στα 540 nm:

$$ABS_{\chi\gamma\iota} = ABS_{\eta\mu\kappa\upsilon\tau} - ((0,71 * ABS_{\kappa\upsilon\tau}) / 1,664), \text{ όπου:}$$

$ABS_{\chi\gamma\iota}$ : η απορρόφηση της ξυλόζης σε μήκος κύματος 540 nm

$ABS_{\eta\mu\kappa\upsilon\tau}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης της ημικυτταρίνης (η απορρόφηση που μετρήθηκε στο συγκεκριμένο στάδιο)

$ABS_{\kappa\upsilon\tau}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης της κυτταρίνης (όπως βρέθηκε κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης)

Κατόπιν, υπολογίζεται η συνολική περιεκτικότητα κατά βάρος ξυλόζης:

$$\text{Total xylose (\% w/w)} = (1,3861 * ABS_{\chi\gamma\iota}) / 0,86, \text{ όπου:}$$

$ABS_{\chi\gamma\iota}$ : η απορρόφηση της ξυλόζης σε μήκος κύματος 540 nm

0,86: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της ξυλόζης

Τέλος, η ποσότητα της ημικυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Ημικυτταρίνη (\% w/w)} = ((\text{total xylose}) * (132/150) * 0,08673 * (1/1000) * 100) / (\text{initial solid}), \text{ όπου:}$$

132/150: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της ξυλόζης

86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

Initial solid: η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

### Προσδιορισμός λιγνίνης

- *Διαλυτή λιγνίνη*

Από το υπερκείμενο υγρό που προέκυψε μετά την εξουδετέρωση κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης λαμβάνονται 5 ml από κάθε δείγμα και στη συνέχεια τα δείγματα υφίστανται φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 320 nm.

Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται στη κατασκευασμένη καμπύλη αναφοράς της λιγνίνης και στη συνέχεια με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν προσδιορίζεται η συγκέντρωση λιγνίνης:

Λιγνίνη (% w/w) =  $((ABS_{mean} * D * 0,08673) / (\epsilon * initial\ solid)) * 100$ , όπου:

$ABS_{mean}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης

D: Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα

86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

initial solid: η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

$\epsilon$ : σταθερά που εξαρτάται από το είδος της πρώτης ύλης ( $\epsilon=30$  l/(g\*cm) για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ και  $\epsilon=12$  l/(g\*cm) για τα κλαδέματα

- *Μη διαλυτή λιγνίνη*

Οι πορσελάνινες κάψες με τα στερεά υπολείμματα που έχουν προκύψει κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης τοποθετούνται στο φούρνο ξήρανσης στους 105 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και κατόπιν ζυγίζονται. Στη συνέχεια, τοποθετούνται στο φούρνο στους 575 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ξαναζυγίζονται. Από τη διαφορά των δυο μαζών που μετρήθηκαν προκύπτει το ποσοστό της μη διαλυτής λιγνίνης, όπως φαίνεται και στην παρακάτω εξίσωση:

% μη διαλυτής λιγνίνης =  $((m_{575} - m_{105}) / initial\ solid) * 100$ , όπου:

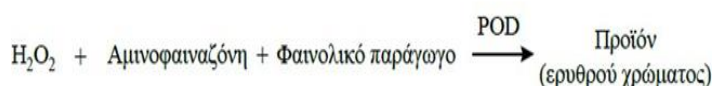
$m_{575}$ : η μάζα του δείγματος που βγήκε από το φούρνο στους 575 °C

$m_{105}$ : η μάζα του δείγματος που βγήκε από το φούρνο στους 105 °C

initial solid: η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

### Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης

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



Σχήμα: Ενζυμική αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP

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

### Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP

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

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

1. Χρησιμοποιείται πρότυπο διάλυμα γλυκόζης 10 mg/ml. Πραγματοποιούνται αραιώσεις του παραπάνω διαλύματος με απιονισμένο νερό, έτσι ώστε να προκύψουν διαλύματα γλυκόζης 0,1 , 0,2 , 0,4 , και 0,6 mg/ml.
2. Σε οχτώ δοκιμαστικούς σωλήνες (δύο για κάθε συγκέντρωση γλυκόζης) προστίθενται 2 ml διαλύματος εργασίας και 0,1 ml από το κάθε διάλυμα γλυκόζης.

3. Στη συνέχεια σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 2 ml διαλύματος εργασίας και 0,1 ml απιονισμένου νερού (τυφλό).
4. Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες επάζονται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C για 15 min.
5. Επιλέγεται στο φωτόμετρο το μήκος κύματος των 510 nm. Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αναδεύονται στη συσκευή Vortex- Genie 2, της εταιρείας Scientific Industries, και μετρούνται οι απορροφήσεις των διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης.

Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης στα προς μελέτη υλικά άγνωστης συγκέντρωσης, χρησιμοποιήθηκαν τα διηθήματα που προέκυψαν μετά από την ενζυμική υδρόλυση των δειγμάτων. Στα διηθήματα αυτά, αρχικά πραγματοποιήθηκε αραιώση 1:10. Στη συνέχεια, προστέθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2 ml διαλύματος εργασίας και 0,1 ml διηθήματος από κάθε αραιωμένο διάλυμα. Για την παρασκευή του τυφλού, προστέθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 2 ml διαλύματος εργασίας και 0,1 ml απιονισμένου νερού. Ακολούθως, οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν για επώαση στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 °C για 15 λεπτά. Στο παρακάτω σχήμα 5.4 απεικονίζονται τα διαλύματα μετά το πέρας των 15 λεπτών στο υδατόλουτρο.



Σχήμα 5.4: Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP

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

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

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

$$\text{Ελεύθερη γλυκόζη} \left( \% \frac{w}{w} \right) = \frac{0,71 \cdot \text{ABS}_{\text{mean}} \cdot D \cdot (V_{\text{tot}}) \cdot 10^{-3}}{\text{initial solid}} \cdot 100$$

όπου:

$\text{ABS}_{\text{mean}}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης

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

$V_{\text{tot}}$ : ο συνολικός όγκος του διηθήματος

initial solid: η αρχική μάζα του δείγματος.

#### Προσδιορισμός ολικού οργανικού άνθρακα TOC

Για τον προσδιορισμό της επί της εκατό κατά όγκο περιεκτικότητας ολικού οργανικού άνθρακα TOC χρησιμοποιήθηκε η συσκευή TOC της εταιρείας Shimadzu η οποία απεικονίζεται στο παρακάτω σχήμα 5.5:



Σχήμα 5.5: Συσκευή μέτρησης TOC

Η πειραματική διαδικασία προσδιορισμού TOC ξεκίνησε με την αραίωση των διηθημάτων που προέκυψαν τόσο μετά την απολιγνίνωση όσο και μετά την ενζυμική υδρόλυση. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:50 στα διαλύματα που προέκυψαν μετά την απολιγνίνωση, ενώ πραγματοποιήθηκε αραίωση 1:10 στα διαλύματα που προέκυψαν μετά την ενζυμική υδρόλυση. Μετά τα διαλύματα



τοποθετήθηκαν στη συσκευή μέτρησης TOC από την οποία υπολογίστηκε η περιεκτικότητα κατά όγκο ολικού οργανικού άνθρακα σε mg/l.

#### Προσδιορισμός πτητικών λιπαρών οξέων

Η μέτρηση αυτή πραγματοποιείται στο φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck όπου μετρείται 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 50 φορές.

Αρχή της μεθόδου: η μέθοδος βασίζεται στην αντίδραση των πτητικών οργανικών οξέων που περιέχονται στο δείγμα με διόλη, σε όξινο μέσο, προς σχηματισμό εστέρων λιπαρών οξέων. Αυτοί στη συνέχεια μετατρέπονται σε υδροξαμικά οξέα, αντιδρώντας με υδροξυλαμίνη. Ακολούθως αντιδρούν με ιόντα σιδήρου 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°C 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.

### Προσδιορισμός φαινολών

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 50 ή 250 φορές, ανάλογα με το δείγμα.

Σε ρυθμισμένο διάλυμα, παρουσία οξειδωτικού παράγοντα, οι φαινόλες και τα 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.
- 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 μικρό κουταλάκι 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.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικό πρωτόκολλο

### 6.1 Αλκαλική προεπεξεργασία

Για την μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος στη σύσταση των προς μελέτη αποβλήτων, πραγματοποιήθηκαν πειραματικές δοκιμές με συγκέντρωση στο διάλυμα NaOH 0,3, 0,5 και 0,7 M. Κάθε πειραματική δοκιμή πραγματοποιήθηκε σε 2 επαναλήψεις τουλάχιστον.

### 6.2 Ενζυμική υδρόλυση

Με την ολοκλήρωση της αλκαλικής προεπεξεργασίας, το στερεό υπόλειμμα διαχωρίστηκε από το υγρό και υποβλήθηκε σε ενζυμική υδρόλυση. Για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ εκτός από τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης που ορίζονται από τον παραγοντικό σχεδιασμό (Πίνακας 6.2), πραγματοποιήθηκαν και πειράματα σε εξαντλημένους κόκκους καφέ που δεν είχαν υποστεί αλκαλική προεπεξεργασία. Επίπλέον, μελετήθηκε και το ενζυμικό φορτίο των 385 μL CellicTec2 /g κυτταρίνης. Για τα υπολείμματα κήπου πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα που ορίζονται από τον παραγοντικό σχεδιασμό (Πίνακας 6.4).

### 6.3 Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών

Όπως προαναφέρθηκε στόχος της διπλωματικής αυτής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση της παραγωγής ζυμώσιμων σακχάρων από εξαντλημένους κόκκους καφέ και από υπολείμματα κήπων-κλαδέματα μετά από αλκαλική χημική προεπεξεργασία και ενζυμική υδρόλυση. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκε να σχεδιαστούν παραγοντικά πειράματα για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων. Ο στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού ήταν να προσδιοριστεί η επίδραση κάποιων βασικών παραμέτρων στην απόδοση της σακχαροποίησης («παραμέτρος αριστοποίησης») για τις δύο διαφορετικές πρώτες ύλες που μελετήθηκαν. Η απόδοση της σακχαροποίησης (saccharification yield) SG, υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση:

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

όπου SG η απόδοση της σακχαροποίησης

$C_{glu}$  η ποσότητα της γλυκόζης μετά την ενζυμική σακχαροποίηση

$C_{cel}$  η αρχική ποσότητα της κυτταρίνης του εξεταζόμενου υποστρώματος

f ο συντελεστής διόρθωσης για την προσθήκη νερού ανά μονάδα εξόζης, κατά την ενζυμική σακχαροποίηση και είναι  $f = \frac{180}{162} = 1.11$  (Jaisamut et al. 2016).

Η συγκέντρωση του αλκαλικού μέσου (NaOH) καθώς και η ποσότητα του ενζύμου τη κυτταρινάσης (CellicTec2) επιλέχθηκαν ως «ρυθμιστικές παράμετροι». Η επίδραση

των ρυθμιστικών παραμέτρων στην παράμετρο αριστοποίησης εκτιμήθηκε μέσω ενός  $2^2$  παραγοντικού πειράματος. Γενικά, μέσω ενός  $2^n$  παραγοντικού σχεδιασμού, οι ρυθμιστικές παράμετροι συσχετίζονται με την παράμετρο αριστοποίησης μέσω ενός κατάλληλου γραμμικού μοντέλου. Η σημαντικότητα των παραμέτρων αυτών μπορεί επίσης να εκτιμηθεί και να αξιολογηθεί [39,40].

### 6.3.1 Παραγοντικός Σχεδιασμός για εξαντλημένους κόκκους καφέ (SCG)

Το παραγοντικό πείραμα, λοιπόν, που πραγματοποιήθηκε ήταν ένα πείραμα της μορφής  $2^k$ , όπου  $k=2$  οι ρυθμιστικές παράμετροι. Ως ρυθμιστικές παράμετροι ορίστηκαν η συγκέντρωση του NaOH καθώς και η ποσότητα του ενζύμου CellicCTec2. Για τον παραγοντικό σχεδιασμό, όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 4, χρειάζεται να οριστεί το χαμηλότερο και το υψηλότερο επίπεδο καθώς και το κέντρο του πειράματος. Έτσι, τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων που ορίστηκαν παρουσιάζονται στον ακόλουθο Πίνακα 6.1. Η πειραματική περιοχή του παραγοντικού σχεδιασμού είχε προκαθοριστεί με βάση προκαταρκτικά πειράματα.

Πίνακας 6.1 Ρυθμιστικές παράμετροι και τα επίπεδά τους κατά τον παραγοντικό σχεδιασμό των εξαντλημένων κόκκων καφέ (SCG)

Ρυθμιστική παράμετρος	Διαστήματα μεταβολής		
	Χαμηλό επίπεδο (-1)	Υψηλό επίπεδο (+1)	Κέντρο (0)
NaOH (M)	0,3	0,7	0,5
CellicCTec2 (μL/ g. κυτταρίνης)	25	75	50

Στον  $2^2$  παραγοντικό σχεδιασμό, πραγματοποιήθηκαν 4 δοκιμές με 2 επαναλήψεις για τη κάθε μια. Τέσσερις επιπλέον επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν στο κέντρο του σχεδιασμού (επίπεδο 0) για στατιστικούς λόγους. Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 6.2).

Πίνακας 6.2 Πειραματικός σχεδιασμός για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ (SCG)

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/ g κυτταρίνης)
SCG1	0,3	25
SCG2	0,3	25
SCG3	0,3	75

SCG4	0,3	75
SCG5	0,5	50
SCG6	0,5	50
SCG7	0,7	75
SCG8	0,7	75
SCG9	0,7	25
SCG10	0,7	25

### 6.3.2 Παραγοντικός σχεδιασμός για τα υπολείμματα κήπου – κλαδέματα

Ο σχεδιασμός είναι ανάλογος με αυτόν που έγινε για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ (SCG). Έτσι, πιο συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε πείραμα της μορφής  $2^k$ , όπου  $k=2$  οι ρυθμιστικές παράμετροι. Ως ρυθμιστικές παράμετροι ορίστηκαν και πάλι η συγκέντρωση του NaOH καθώς και η ποσότητα του ενζύμου CellicCTec2. Τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 6.3). Η πειραματική περιοχή του παραγοντικού σχεδιασμού είχε προκαθοριστεί με βάση προκαταρκτικά πειράματα.

*Πίνακας 6.3 Βασικά στοιχεία παραγοντικού σχεδιασμού για τα υπολείμματα κήπου – κλαδέματα*

Ρυθμιστική παράμετρος	Διαστήματα μεταβολής		
	Χαμηλό επίπεδο (-1)	Υψηλό επίπεδο (+1)	Κέντρο (0)
NaOH (M)	0,3	0,7	0,5
CellicCTec2 (μL/g κυτταρίνης)	20	60	40

Πραγματοποιήθηκαν λοιπόν 4 δοκιμές με 2 επαναλήψεις για τη κάθε μια. Τέσσερις επιπλέον επαναλήψεις πραγματοποιήθηκαν στο κέντρο του σχεδιασμού (επίπεδο 0) για στατιστικούς λόγους.

Τα πειράματα που έλαβαν μέρος παρουσιάζονται για τα υπολείμματα κήπου – κλαδέματα στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6.4):

Πίνακας 6.4 Πειραματικός Σχεδιασμός για τα υπολείμματα κήπου – κλαδέματα

<b>A/A</b>	<b>NaOH (M)</b>	<b>CellicTec2 (μL/ g κυτταρίνης)</b>
P1	0,5	50
P2	0,5	50
P3	0,5	50
P4	0,5	50
P5	0,3	25
P6	0,3	25
P7	0,3	75
P8	0,3	75
P9	0,7	75
P10	0,7	75
P11	0,7	25
P12	0,7	25

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματικά αποτελέσματα

### 7.1 Εξαντλημένοι κόκκοι καφέ

#### 7.1.1 Χαρακτηρισμός τροφοδοσίας

Σε πρώτο στάδιο γίνεται χαρακτηρισμός της πρώτης ύλης. 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 του παρουσιάζεται στον ακόλουθο Πίνακα 7.1:

Πίνακας 7.1: Σύσταση εξαντλημένων κόκκων καφέ

Παράμετρος	%w/w (d.b)
Υδατοδιαλυτά στερεά (WSS)	19,96 ± 2,54
Πτητικά στερεά (VS)	98,99 ± 0,90
Κυτταρίνη	9,87 ± 0,15
Διαλυτή λιγνίνη (ASL)	0,02 ± 0,00
Μη διαλυτή λιγνίνη (AIL)	23,46 ± 0,31
Ημικυτταρίνη	8,4 ± 0,50
Λίπη και έλαια	12,89± 0,35

#### 7.1.2 Πειραματικά πρωτογενή αποτελέσματα

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 των εξαντλημένων κόκκων καφέ. Στους πίνακες 7.1.1, 7.1.2 που ακολουθούν παρουσιάζονται οι πρωτογενείς πειραματικές μετρήσεις, για τις εξεταζόμενες συνθήκες αλκαλικής προεπεξεργασίας και της επακόλουθης ενζυμικής σακχαροποίησης με το ένζυμο CellicCTec2, προεπεξεργασμένων και μη προεπεξεργασμένων δειγμάτων.

ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ NaOH

Πίνακας 7.1.1: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος εξαντλημένων κόκκων καφέ-SCG (10% w/w), με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h

A/A	NaOH (M)	SCG (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)	AIL (%w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτταρίνη (%w/w)
1	0,5	20,01	8,93	30,20	98,6	14,26	13,73	0,01	0,00
2	0,5	40,01	27,27	8,92	97,83	14,94	19,36	0,02	4,90
3	0,3	10,08	4,93	22,04	93,23	13,72	15,01	0,01	9,07
4	0,3	10,01	4,15	17,93	93,65	15,46	17,21	0,01	6,72
5	0,3	39,97	24,69	12,22	96,83	13,44	18,71	0,02	4,35
6	0,7	10,07	4,253	27,2	82,35	13,12	9,24	0,01	9,53
7	0,7	10,00	3,92	22,75	82,77	15,18	14,89	0,01	7,68
8	0,7	40,06	27,41	14,58	79,44	15,36	15,14	0,02	2,93



Πίνακας 7.1.2: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος εξαντλημένων κόκκων καφέ, (10% w/w) με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h

A/A	NaOH (M)	Γλυκόζη (mg/L)	TOC (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)	TN (mg/L)
1	0,5		7805	7000	204	
2	0,5	355	12038	13688	344	
3	0,3		34950	28350	218	2388
4	0,3		38500	32950	273	2597
5	0,3	178	11531	12438	341	
6	0,7		19650	28800	148	1417
7	0,7		28860	22550	135	1999
8	0,7	488	16175	17000	422	

## ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Πίνακας 7.1.3: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος εξαντλημένων κόκκων καφέ - SCG, (10% w/w), με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 για 72h

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/g κυτ.)	SCG (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)	AIL (%w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτταρίνη (%w/w)
9	-	75	5,01	4,52	7,67	99,60	10,80	29,04	0,02	2,84
10	0,5	385	0,98	0,51	11,74	99,19	13,33	18,30	0,01	6,23
11	0,3	385	0,98	0,59	8,67	99,18	12,93	20,33	0,01	5,42
12	0,3	385	0,98	0,48	6,24	99,35	14,91	20,63	0,01	4,31
13	0,7	385	0,98	0,59	6,08	99,23	16,09	22,70	0,01	0,62
14	0,7	385	0,98	0,56	7,55	99,06	14,74	18,00	0,01	7,50
15	0,3	25	5,00	4,56	9,66	95,99	13,82	19,88	0,02	0,12
16	0,3	25	5,01	4,73	9,50	96,82	14,01	19,48	0,02	0,11
17	0,3	75	5,00	4,59	7,94	96,79	11,94	20,19	0,02	28,19
18	0,3	75	5,00	4,87	10,08	95,85	13,30	20,84	0,02	30,49
19	0,5	50	5,00	4,19	12,58	94,57	13,80	20,76	0,01	25,93
20	0,5	50	5,00	4,24	12,83	94,27	12,92	18,95	0,01	29,98
21	0,7	75	5,02	4,29	18,55	86,67	10,77	14,07	0,01	25,74
22	0,7	75	5,02	4,08	14,33	92,86	15,61	14,61	0,01	31,46
23	0,7	25	5,00	3,73	10,40	94,53	15,11	16,43	0,01	34,15
24	0,7	25	5,00	3,56	10,20	95,63	13,56	15,62	0,01	27,01

Πίνακας 7.1.4: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος εξαντλημένων κόκκων καφέ (10% w/w), με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 για 72h

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/g κυτ.)	Γλυκόζη (mg/L)	TOC (mg/L)
9	-	75		4264
10	0,5	385	369	4104
11	0,3	385	1278	2372
12	0,3	385	1931	2506
13	0,7	385	1377	2960
14	0,7	385	1803	3188
15	0,3	25	1406	8390
16	0,3	25	1988	11634
17	0,3	75	3167	15650
18	0,3	75	2286	10836
19	0,5	50	2002	12956
20	0,5	50	2258	12468
21	0,7	75	2627	7482
22	0,7	75	753	7110
23	0,7	25	1619	7880
24	0,7	25	2102	7680

### 7.1.3 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης σε κάθε στάδιο, υπολογίστηκε το ποσοστό της υδρόλυσης και το ποσοστό της αποικοδόμησης της λιγνίνης και των επιμέρους πολυσακχαριτών της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης. Τα αποτελέσματα ομαδοποιούνται στους παρακάτω πίνακες 7.1.5 και 7.1.6.

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:

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

όπου  $M_i$  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).

## ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ NaOH

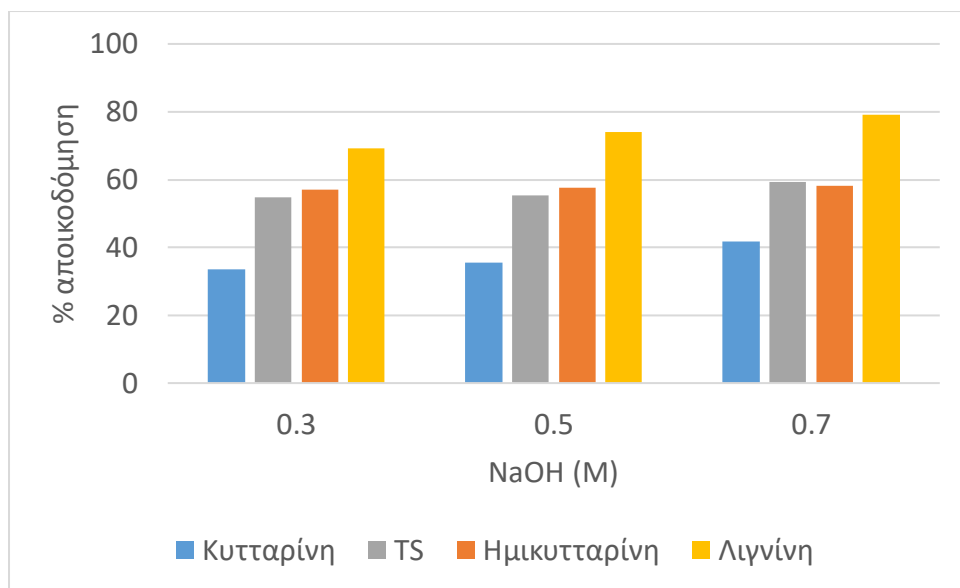
Από τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών της αλκαλικής προεπεξεργασίας (Πίνακας 7.1.1) υπολογίζονται οι αντίστοιχες αποδόσεις υδρόλυσης και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.1.5

*Πίνακας 7.1.5: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος εξαντλημένων κόκκων καφέ, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία για 6h*

A/A	NaOH (M)	% TS	% VS	% Κυτταρίνη	% AIL	% ASL	% Ημικυτταρίνη
1	0,5	55,40	55,58	35,58	73,90	71,78	
2	0,5	31,84	32,65	-	43,75	22,74	60,28
3	0,3	51,09	53,94	32,05	68,70	63,92	47,24
4	0,3	58,54	60,78	35,10	69,60	67,64	66,86
5	0,3	38,23	39,58	15,91	50,75	28,61	68,01
6	0,7	57,77	64,87	43,87	83,36	70,38	52,09
7	0,7	60,76	67,19	39,69	75,10	70,96	64,15
8	0,7	31,57	45,08	-	55,84	32,31	76,17

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.1.5, προκύπτει ότι η αλλαγή της κλίμακας των πειραματικών δοκιμών επηρεάζει σημαντικά τις αποδόσεις της διεργασίας. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η ανάδευση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο.

Στο ακόλουθο σχήμα 7.1 απεικονίζεται η επίδραση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος στην υδρόλυση των στερεών συνολικά, αλλά και των επιμέρους δομικών συστατικών (λιγνίνη, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη), παρουσιάζοντας τις μέσες τιμές των πειραματικών δοκιμών ίδιας κλίμακας. Παρατηρείται ότι με αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος η απόδοση απολιγνίνωσης αυξάνεται κατά 10%. Ως μειονέκτημα της διεργασίας μπορεί όμως να θεωρηθεί η αποικοδόμηση και των πολυσακχαριτών, δεδομένης της απώλειας πολύτιμων σακχάρων.



Σχήμα 7.1: Επίδραση συγκέντρωσης αλκαλικού διαλύματος NaOH στη απόδοση υδρόλυσης των εξαντλημένων κόκκων καφέ και στην αποικοδόμηση των δομικών συστατικών τους (κυτταρίνη, λιγνίνη, ημικυτταρίνη)

Στο υγρό κλάσμα, προσδιορίστηκαν προϊόντα αποικοδόμησης όπως γλυκόζη (1,77-4,87 mg/g προεπεξεργασμένου), πτητικά λιπαρά οξέα (69,96-329,17mg/g προεπεξεργασμένου) και φαινολικά συστατικά (1,35- 4,21 mg/g προεπεξεργασμένου). Επίσης, η συγκέντρωση του αζώτου κυμάνθηκε από 14,07 έως 25,9 mg/g προεπεξεργασμένου, υποδηλώνοντας ότι άζωτούχες ενώσεις απελευθερώνονται στην υδατική φάση. Στην περίπτωση αυτή η πιο πιθανή αζωτούχο ένωση είναι η καφεΐνη  $C_8H_{10}N_4O_2$ .

#### ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Από τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών της ενζυμικής υδρόλυσης του αλκαλικά προεπεξεργασμένου στερεού (Πίνακας 7.1.3) υπολογίζονται οι αντίστοιχες αποδόσεις υδρόλυσης και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.1.6

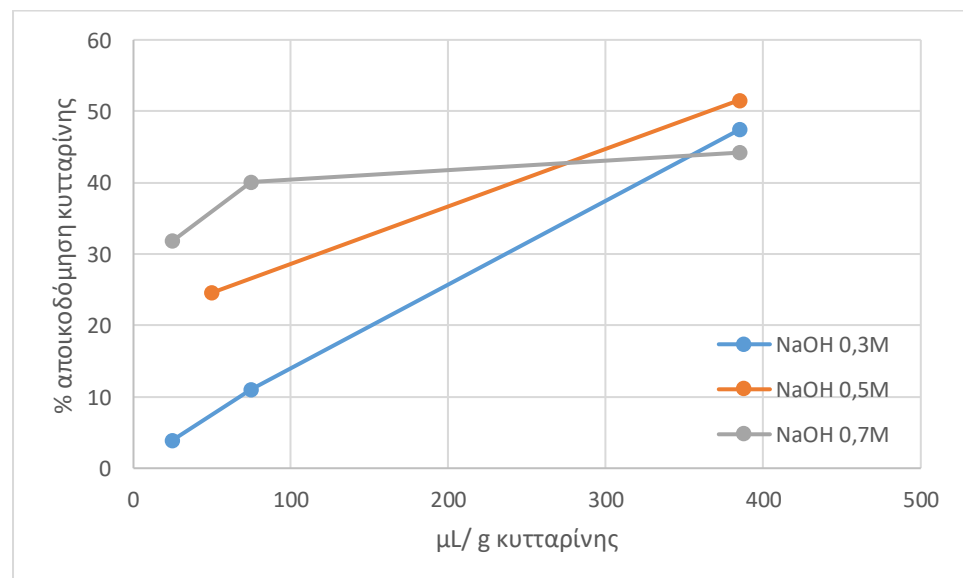
Πίνακας 7.1.6: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος εξαντλημένων κόκκων καφέ, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH για 6h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 για 72h

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/g κυτ.)	% TS	% VS	% Κυτταρίνη	% Ημικυτταρίνη	% AIL	% ASL
9	-	75	9,72	9,17	1,22	69,53	1,75	2,21
10	0,5	385	48,21	47,90	51,58	34,10	30,95	43,00
11	0,3	385	39,18	40,12	42,66	63,67	17,65	32,64
12	0,3	385	50,46	47,10	52,22	68,22	40,61	50,36
13	0,7	385	38,97	39,97	25,18	96,01	39,86	34,55
14	0,7	385	42,56	31,26	44,21	43,89	30,54	53,94
15	0,3	25	8,93	9,72	6,34	1,94	3,24	16,31

16	0,3	25	5,58	5,60	1,57	2,16	1,70	9,26
17	0,3	75	8,26	8,30	18,50	4,29	1,01	17,17
18	0,3	75	2,63	3,61	3,66	2,25	-8,49	10,44
19	0,5	50	16,14	18,94	22,52	4,01	10,11	36,93
20	0,5	50	15,19	18,28	26,67	9,23	17,01	40,01
21	0,7	75	14,62	6,86	40,13	5,84	20,65	45,83
22	0,7	75	18,72	5,00	17,36	3,70	21,56	42,86
23	0,7	25	25,46	11,31	26,64	9,70	19,14	47,32
24	0,7	25	28,77	14,26	37,08	7,37	26,53	48,60

Παρατηρείται ότι το στάδιο της προεπεξεργασίας βελτιώνει σημαντικά την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης, δεδομένου ότι στο πείραμα ελέγχου (Πείραμα 9) όπου πραγματοποιείται ενζυμική υδρόλυση σε εξαντλημένους κόκκους καφέ χωρίς την εφαρμογή του σταδίου της προεπεξεργασίας η αποικοδόμηση της κυτταρίνης ήταν μόλις 1,22%.

Κύριως στόχος της ενζυμικής υδρόλυσης είναι η διάσπαση της κυτταρίνης σε μονομερή σάκχαρα. Στο ακόλουθο σχήμα 7.2 απεικονίζεται η επίδραση του ενζυμικού φορτίου στην αποικοδόμηση της κυτταρίνης. Παρατηρείται ότι όσο αυξάνεται η ένταση της αλκαλικής προεπεξεργασίας, τόσο βελτιώνονται οι απόδοσεις της ενζυμικής υδρόλυσης. Για αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH (0,3 και 0,5M) η απόδοση αποικοδόμησης της κυτταρίνης αυξάνεται ανάλογα με το ενζυμικό φορτίο, ενώ όταν η χημική προεπεξεργασία πραγματοποιείται με NaOH 0,7M, αύξηση του ενζυμικού φορτίου πάνω από 75μL/g κυτταρίνη δεν βελτιώνει την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης.



Σχήμα 7.2: Αποικοδόμηση κυτταρίνης συναρτήσει της συγκέντρωσης του ενζύμου

#### 7.1.4 Μοντέλο πρόβλεψης παραγοντικού σχεδιασμού

Με επεξεργασία όλων των αποτελεσμάτων που λήφθηκαν υπολογίστηκε η απόδοση της σακχαροποίησης η οποία ορίζει το ποσοστό της κυτταρίνης (σε όρους γλυκόζης) της αρχικής πρώτης ύλης που μετατράπηκε σε γλυκόζη κατά την ενζυμική υδρόλυση. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7.1.7).

*Πίνακας 7.1.7 Απόδοση σακχαροποίησης των εξαντλημένων κόκκων καφέ, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2.*

<b>A/A</b>	<b>NaOH (M)</b>	<b>CellicCTec2 (μL/ g κυτταρίνης)</b>	<b>SG %</b>
SCG1	0,3	25	20,94
SCG2	0,3	25	29,56
SCG3	0,3	75	47,17
SCG4	0,3	75	34,07
SCG5	0,5	50	27,04
SCG6	0,5	50	30,50
SCG7	0,7	75	35,18
SCG8	0,7	75	10,08
SCG9	0,7	25	21,77
SCG10	0,7	25	28,26

Από τον Πίνακα 7.1.7 παρατηρείται ότι η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ είναι 47,17% και επιτευχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,3M και ενζυμική υδρόλυση με 75 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CellicCTec2.

##### 7.1.4.1 Υπολογισμός του στατιστικού σφάλματος

Προτού αρχίσει η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου της πειραματικής διαδικασίας πρέπει πρώτα να εκτιμηθεί το τυπικό σφάλμα των μετρήσεων καθώς επίσης και η ομοιογένεια των διακυμάνσεων των πειραματικών μετρήσεων.

Για να υπολογιστεί το τυπικό σφάλμα (s) πρέπει πρώτα να υπολογιστεί η διασπορά ( $s_y^2$ ) των πειραματικών μας μετρήσεων. Η διασπορά υπολογίστηκε ποσοτικά βάση του πίνακα 7.1.8. Οι σχέσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τον πίνακα 7.1.8 και τον

υπολογισμό της μέσης τιμής κάθε δοκιμής, της διασποράς κάθε δοκιμής και της ολικής διασποράς των αποτελεσμάτων είναι οι εξής:

$$\text{➤ } \bar{Y}_{\text{μέσο}} = \frac{\sum_i^N Y_i}{N} \quad (7.1)$$

όπου  $Y_i$ : απόδοση κάθε επανάληψης

$N$ : οι επαναλήψεις για κάθε δοκιμή

$$\text{➤ } s_i^2 = \frac{\sum_i^n (Y_i - \bar{Y}_{\text{μέσο}})^2}{n-1} \quad (7.2)$$

όπου  $\bar{Y}_{\text{μέσο}}$ : μέση τιμή κάθε δοκιμής

$n$ : πλήθος επαναλήψεων ( $n=2$ )

$$\text{➤ } s_Y^2 = \frac{\sum_i^m f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (7.3)$$

όπου  $s_i^2$ : καθεμιά από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού

$f_i$ : αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας.

Οι βαθμοί ελευθερίας του συστήματος υπολογίζονται από τον τύπο  $f=N-(k+1)$  όπου  $N$  οι δοκιμές του παραγοντικού σχεδιασμού και  $k$  οι ρυθμιστικές παράμετροι. Άρα για το μοντέλο της παρούσας εργασίας, όπου  $N=4$  και  $k=2$  προκύπτει ότι οι βαθμοί ελευθερίας είναι  $f=1$ .

Πίνακας 7.1.8 Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος.

A/A	SG	SG <sub>μέσο</sub>	s <sub>i</sub> <sup>2</sup>	f <sub>i</sub>
SCG1	20,94	25,25	37,18	1
SCG2	29,56			
SCG3	47,17	40,62	85,72	1
SCG4	34,07			
SCG5	27,04	28,77	5,99	1
SCG6	30,50			
SCG7	35,18	22,63	314,94	1
SCG8	10,08			
SCG9	21,77	25,01	21,11	1
SCG10	28,26			
		S <sub>γ</sub> <sup>2</sup> =92,99		



Με τον υπολογισμό της διασποράς  $S_y^2$  υπολογίζεται εύκολα η τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα σύμφωνα με την εξίσωση 7.4:

$$s = \sqrt{s_y^2} \quad (7.4)$$

Άρα τελικά  $s=9,64$ .

Στη συνέχεια πρέπει να εξεταστεί η ομοιογένεια των διασπορών μας καθώς αν δεν είναι ομοιογενείς υπάρχει κίνδυνος να οδηγηθούμε σε εσφαλμένα συμπεράσματα. Το κριτήριο που χρησιμοποιήθηκε είναι το κριτήριο Cochran.

⇒ Στο κριτήριο Cochran, υπολογίζεται το πηλίκο της μεγαλύτερης διασποράς με το άθροισμα όλων των διασπορών ( $G_{exp}$ ). Στην περίπτωση μας, ο λόγος αυτός είναι:

$$G = \frac{s_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad (7.5) \rightarrow G = \frac{314,94}{37,18+85,72+5,99+314,94+21,11} = 0,68$$

Για να υπάρχει ομοιογένεια πρέπει η τιμή αυτή να είναι μικρότερη από την αντίστοιχη ( $G_{tab}$ ) του πίνακα Cochran (Πίνακας 7.1.9). Για το  $G_{tab}$  λαμβάνουμε υπόψη την τιμή του πίνακα για  $N=4$  (δοκιμές) και  $f=1$  (βαθμοί ελευθερίας).

Πίνακας 7.1.9 Τιμές Cochran G με 95% στατιστική σημαντικότητα

N	f=n <sub>i</sub> -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

\*N=δοκιμές του σχεδιασμού, f=βαθμοί ελευθερίας

Στο πίνακα 7.1.10 παρατίθενται τα αποτελέσματα από το κριτήριο του Cochran. Όπως φυσικά μπορεί να δει κανείς, υπάρχει ομοιογένεια στις τιμές των διασπορών και συνεπώς η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου μπορεί να συνεχιστεί.

Πίνακας 7.1.10 Έλεγχος ομοιογένειας διασπορών.

<b>Κριτήριο Cochran</b>
Ομοιογένεια → $G_{exp} < G_{tab}$

$G_{exp}$	0,68
$G_{tab}$	0,907
Ομοιογένεια	NAI

#### 7.1.4.2 Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων

Βασικός στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού  $2^2$  είναι ο προσδιορισμός των συντελεστών του γραμμικού μοντέλου:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 \quad (7.6)$$

Όπου:  $x_1, x_2$ : οι παράγοντες σχεδιασμού

$b_1, b_2$ : οι αντίστοιχοι συντελεστές τους

$Y$ : η παράμετρος αριστοποίησης.

Στο δικό μας σχεδιασμό η παράμετρος αριστοποίησης είναι η απόδοση της σακχαροποίησης.

Να σημειωθεί ότι στη συνέχεια θα υπολογιστεί και ο συντελεστής  $b_{12}$  ο οποίος δείχνει κατά πόσο επηρεάζει η αλληλεπίδραση  $x_1x_2$ .

Με τη πραγματοποίηση των 8 πειραμάτων, δύο για κάθε δοκιμή, του  $2^2$  παραγοντικού πειράματος υπολογίζεται η μέση τιμή της παραμέτρου αριστοποίησης για κάθε δοκιμή ώστε να υπολογιστούν στη συνέχεια οι αντίστοιχοι συντελεστές  $b_1, b_2, b_{12}$ .

Στο πίνακα 7.1.11 φαίνονται οι κωδικοποιημένες τιμές των παραμέτρων καθώς και οι τιμές  $Y$  (αποδόσεις σακχαροποίησης) που χρειάστηκαν για τον υπολογισμό τους.

*Πίνακας 7.1.11 Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών  $b$ .*

A/A	$SG_{μέσο}$	$x_0$	$x_1$	$x_2$	$x_1x_2$
1	25,25	1	-1	-1	1
2	40,62	1	1	1	1
3	22,63	1	-1	1	-1
4	25,01	1	1	-1	-1

Στο πίνακα 7.1.12 καταγράφονται οι τιμές των συντελεστών  $b$  που προέκυψαν σύμφωνα με τις εξισώσεις (7.7) και τα δεδομένα του πίνακα 7.1.11.

Πίνακας 7.1.12 Συντελεστές  $b$  της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.

Συντελεστές b	
b <sub>0</sub>	28,38
b <sub>1</sub>	-4,56
b <sub>2</sub>	3,25
b <sub>12</sub>	-4,44

Επομένως το μοντέλο που προκύπτει είναι:

$$SG=28,38-4,56*x_1+3,25*x_2-4,44*x_1*x_2$$

Το μέγεθος των συντελεστών δείχνει πόση σημασία έχουν στο τελικό αποτέλεσμα της παραμέτρου αριστοποίησης, δηλαδή της απόδοσης σακχαροποίησης. Το πρόσημό τους δείχνει πώς θα μεταβληθεί η απόδοση σε πιθανή αύξηση ή μείωση κάποιας ρυθμιστικής παραμέτρου. Πιο συγκεκριμένα, οι δύο ρυθμιστικές παράμετροι καθώς και η αλληλεπίδρασή τους έχουν ανάλογη σχέση με την απόδοση σακχαροποίησης με αποτέλεσμα όσο αυξάνονται να αυξάνει και η απόδοση. Το αρνητικό πρόσημο σημαίνει ότι όσο αυξάνεται η ρυθμιστική παράμετρος τόσο μειώνεται η απόδοση σακχαροποίησης. Όσον αφορά το μέγεθος τους, οι επιδράσεις του  $x_1$ ,  $x_2$  και η ενδοδράση  $x_1x_2$  φαίνεται να είναι ανάλογης σημασίας.

#### 7.1.4.3 Έλεγχος σημαντικότητας των συντελεστών

Μετά την εύρεση των συντελεστών των  $x_1$ ,  $x_2$  και  $x_1x_2$  ακολουθεί ο έλεγχος για το αν είναι σημαντικός καθένας από αυτούς τους συντελεστές. Η σημαντικότητα κάθε συντελεστή ελέγχεται χωριστά χρησιμοποιώντας το κριτήριο κατανομής student-t με τη παρακάτω μέθοδο.

Αρχικά υπολογίζεται από τη σχέση (10.8) η διασπορά των συντελεστών  $s_b^2$ :

$$s_b^2 = \frac{s_Y^2}{N} \quad (7.8)$$

όπου N ο αριθμός των δοκιμών  $N=4$

$s_b^2$ : διασπορά των πειραματικών μετρήσεων.

Έπειτα υπολογίζεται από τη σχέση (10.9) το διάστημα  $\Delta b$  :

$$\Delta b = t * S_b^{1/2} \quad (7.9)$$

Όπου t: η τιμή από τον πίνακα κατανομής student-t για επίπεδο σημαντικότητας 95% και βαθμούς ελευθερίας 5 (όσους έχει η διασπορά  $s_Y^2$ )

Η τιμή του  $t_{95,7}$  βρίσκεται από τον πίνακα 7.1.13 με τις τιμές της κατανομής student-t και ισούται με:

$$\rightarrow t_{95,5}=2,02$$

Πίνακας 7.1.13 Τιμές πίνακα student-t

f	t.95	t.975	t.99	t.995
1	6,31	12,71	31,82	63,66
2	2,92	4,30	6,96	9,92
3	2,35	3,18	4,54	5,84
4	2,13	2,78	3,75	4,60
5	2,02	2,57	3,36	4,03
6	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,90	2,36	3,00	3,50

Η τιμή του  $S_b^{1/2}$  υπολογίζεται από τη σχέση (7.8) και ισούται με:

$$\rightarrow S_b^2=23,24$$

Συνεπώς από τη σχέση (7.9) μπορεί να υπολογιστεί το διάστημα  $\Delta b$  και ισούται με:

$$\rightarrow \Delta b =4,43$$

Για να είναι ένας συντελεστής σημαντικός πρέπει η απόλυτη τιμή του να είναι μεγαλύτερη από το  $\Delta b$ . Στον Πίνακα 7.1.14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

Πίνακας 7.1.14 Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων

Συντελεστές		$\Delta b$	Αποτέλεσμα
b0	28,38	Συνθήκη σημαντικότητας:  $ b_i  > 4,43$	Σημαντικός
b1	-4,56		Σημαντικός
b2	3,25		Μη σημαντικός
b12	-4,44		Σημαντικός

Όπως προκύπτει από τον πίνακα 7.14 ο παράγοντας  $x_2$ , δηλαδή η συγκέντρωση του ενζύμου CellicCTec2, κρίνεται μη σημαντικός.

Επομένως, το μοντέλο αριστοποίησης της πειραματικής διαδικασίας είναι:

$$Y=28,38-4,56*x_1-4,44*x_1*x_2 \quad (7.10)$$

Όπως αναφέρεται και στο Κεφάλαιο 6, όσο μεγαλύτερη είναι η απόλυτη τιμή ενός συντελεστή τόσο πιο μεγάλη η σημασία της παραμέτρου του στην απόδοση της σακχαροποίησης.

#### 7.1.4.4 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου

Προκειμένου να εκτιμηθεί η επάρκεια του μαθηματικού μοντέλου που προσδιορίστηκε, αρχικά πρέπει να υπολογιστεί διασπορά της επάρκειας  $S_{ad}^2$ , σύμφωνα με τη σχέση 10.11:

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - Y_{\theta\epsilon\omega\rho})^2}{f} \quad (7.11)$$

Όπου  $Y_i$ : Η μέση πειραματική τιμή για κάθε δοκιμή  $i$

$Y_{\theta\epsilon\omega\rho}$ : Η θεωρητική τιμή της  $i$  δοκιμής που υπολογίζεται από τη σχέση (7.10)

$f$ : βαθμοί ελευθερίας του συστήματος που υπολογίζεται από τη σχέση  $f=N-(k+1)$  όπου  $N$  ο αριθμός των δοκιμών και  $k$  ο αριθμός των παραγόντων. Συνεπώς  $f=1$ .

Στον πίνακα 7.1.15 παρουσιάζονται τα δεδομένα από τα οποία υπολογίστηκε το  $S_{ad}^2$  μέσω σχέσης (7.11)

Πίνακας 7.1.15 Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας

A/A	$SG_i$	$SG_{\theta\epsilon\omega\rho}$	$(SG_i - SG_{\theta\epsilon\omega\rho})^2$
1	25,25	28,50	10,56
2	40,62	37,38	10,50
3	22,63	19,38	10,56
4	25,01	28,26	10,56
$S_{ad}^2=42,18$			

Από την εξίσωση (7.11) προκύπτει ότι:  $S_{ad}^2=42,18$

Για τον έλεγχο της επάρκειας του μοντέλου (7.10) εφαρμόζεται το κριτήριο του Fisher κατά το οποίο υπολογίζεται ο λόγος του Fisher σύμφωνα με τη σχέση:

$$F= S_{ad}^2 / s_y^2 \quad (7.12)$$

Η τιμή που θα προκύψει από τη σχέση (7.12) πρέπει να ακολουθεί την κατανομή-F με επίπεδο σημαντικότητας 95% οι πινακοποιημένες τιμές της οποίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.16. Επισημαίνεται ότι το  $S_{ad}^2$  έχει ένα βαθμό ελευθερίας ενώ για το  $s_y^2$  όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως οι βαθμοί ελευθερίας είναι τρεις.

Πίνακας 7.1.16 Τιμές λόγου Fisher (95% στατιστικής σημαντικότητας)

f2 \ f1	1	2	3	4
1	161	200	216	225
2	18,5	19,0	19,2	19,2
3	10,1	9,55	9,28	9,12
4	7,71	6,59	5,59	6,339
5	6,61	5,79	5,41	5,19
6	5,99	5,14	4,76	4,53
7	5,59	4,74	4,35	3,12

\*f1:βαθμοί ελευθερίας του αριθμητή, f2:βαθμοί ελευθερίας του παρονομαστή

Στον πίνακα 7.1.17 απεικονίζονται τα αποτελέσματα του κριτηρίου Fisher.

Πίνακας 7.1.17 Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του μοντέλου

<b>Κριτήριο Fisher</b>	
Επάρκεια μοντέλου → $F < F_{tab}$	
F	0,91
$F_{tab}$	6,61
Επαρκές	ΝΑΙ

Όπως φαίνεται η τιμή του λόγου του Fisher που προέκυψε από την πειραματική διαδικασία είναι μικρότερη από την αντίστοιχη του πίνακα 7.1.16 και συνεπώς το μαθηματικό μας μοντέλο είναι επαρκές.

Αφού το γραμμικό μαθηματικό μοντέλο είναι επαρκές, εάν μετασχηματίσουμε τις κωδικοποιημένες τιμές σε φυσικές τιμές προκύπτει το ακόλουθο μοντέλο για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ:

$\%SG = 17,58 + 21,62 * \text{Συγκέντρωση NaOH (M)} + 0,444 * \text{Συγκέντρωση ενζύμου CellicCTec2 (}\mu\text{L/g κυτταρίνης)} - 0,888 * \text{Συγκέντρωση NaOH (M)} * \text{Συγκέντρωση ενζύμου CellicCTec2}$

## 7.2 Κλαδέματα

### 7.2.1 Χαρακτηρισμός τροφοδοσίας

Σε πρώτο στάδιο γίνεται χαρακτηρισμός της πρώτης ύλης. 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 του παρουσιάζεται στον ακόλουθο Πίνακα 7.2:

Πίνακας 7.2: Σύσταση κλαδεμάτων

Παράμετρος	%w/w (d.b.)
Υδατοδιαλυτά στερεά (WSS)	15,77 ± 1,23
Κυτταρίνη	11,79 ± 2,38
Διαλυτή λιγνίνη (ASL)	2,07 ± 0,19
Μη διαλυτή λιγνίνη (AIL)	30,26 ± 4,45
Ημικυτταρίνη	11,96 ± 1,29

### 7.2.2 Πειραματικά πρωτογενή αποτελέσματα

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 των κλαδεμάτων. Στους πίνακες 7.2.1, 7.2.2, 7.2.3, 7.2.4 που ακολουθούν παρουσιάζονται οι πρωτογενείς πειραματικές μετρήσεις, για τις εξεταζόμενες συνθήκες αλκαλικής προεπεξεργασίας και της επακόλουθης ενζυμικής σακχαροποίησης με το ένζυμο CellicCTec2 των προεπεξεργασμένων δειγμάτων.

ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ NaOH

Πίνακας 7.2.1: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος κλαδεμάτων (10% w/w), με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h

A/A	NaOH (M)	Κλαδέματα (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)	AIL (%w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτταρίνη (%w/w)
1	0,3	10,00	9,16	13,64	47,51	19,87	25,00	2,00	22,02
2	0,3	9,99	9,24	16,99	56,21	19,25	23,75	1,90	17,47
3	0,5	10,00	9,39	24,34	39,63	19,01	16,19	1,70	18,59
4	0,5	9,99	9,36	24,82	46,92	20,27	19,84	1,72	14,68
5	0,7	10,03	8,41	18,74	20,43	19,01	23,26	1,73	17,19
6	0,7	10,01	9,43	33,49	50,14	16,99	17,56	1,52	13,78



Πίνακας 7.2.2: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος κλαδεμάτων, (10% w/w) με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h

A/A	NaOH (M)	Γλυκόζη (mg/L)	TOC (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)
1	0,3	n.d.	1908	3700	48
2	0,3	n.d.	1766	4750	90
3	0,5	n.d.	2116	3600	55
4	0,5	n.d.	2190	4300	55
5	0,7	n.d.	3285	5175	70
6	0,7	n.d.	1908	3700	48

## ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Πίνακας 7.2.3: Ανάλυση στερεού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος κλαδεμάτων, (10% w/w), με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 για 72h

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/g κυτ.)	Κλαδέματα (g)	TS <sub>τελικό</sub> (g)	WSS (%w/w)	VS (%w/w)	Κυτταρίνη (%w/w)	AIL (%w/w)	ASL (% w/w)	Ημικυτταρίνη (%w/w)
7	0,5	40	4,99	3,893	8,08	39,63	17,89	31,36	2,44	29,12
8	0,5	40	4,99	4,129	10,25	46,92	13,88	26,15	1,83	18,00
9	0,5	40	5,01	4,25	11,43	40,74	17,66	32,15	2,32	27,68
10	0,5	40	5,02	4,298	11,76	42,45	18,07	29,22	2,20	24,33
11	0,3	20	5,03	4,314	7,90	47,51	17,96	32,85	2,43	22,69
12	0,3	20	5,01	4,144	8,32	56,21	18,87	31,88	2,49	25,24
13	0,3	60	4,99	3,432	5,92	49,29	17,87	37,25	2,24	24,24
14	0,3	60	5,05	2,302	8,89	20,57	14,99	31,58	2,32	21,67
15	0,7	60	5,00	2,139	8,23	20,43	17,11	27,01	1,99	22,13
16	0,7	60	5,03	4,471	7,13	50,14	18,76	24,46	1,96	23,28
17	0,7	20	5,01	2,043	4,57	-	16,86	29,10	2,10	23,01
18	0,7	20	4,99	1,951	8,49	-	13,89	24,09	1,76	17,51

Πίνακας 7.2.4: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος εξαντλημένων κόκκων καφέ (10% w/w), με αλκαλικό διάλυμα NaOH για 6h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 για 72h

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/g κυτ.)	Γλυκόζη (mg/L)	TOC (mg/L)
7	0,5	40	5540	2444
8	0,5	40	6200	2482
9	0,5	40	4440	2791
10	0,5	40	3900	1984
11	0,3	20	4240	1714
12	0,3	20	4000	2410
13	0,3	60	7620	3300
14	0,3	60	9800	4040
15	0,7	60	12860	5580
16	0,7	60	11400	5080
17	0,7	20	9000	3940
18	0,7	20	7500	3720

### 7.2.3 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

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. Τα αποτελέσματα ομαδοποιούνται στους παρακάτω πίνακες 7.2.5 και 7.2.6.

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

$$\% \text{ Υδρόλυση} = \frac{M_{i\alpha\rho\chi\iota\kappa\omicron} - M_{i\tau\epsilon\lambda\iota\kappa\omicron}}{M_{i\alpha\rho\chi\iota\kappa\omicron}} * 100\%$$

όπου  $M_i$  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).

Από τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών της αλκαλικής προεπεξεργασίας (Πίνακας 7.2.1) υπολογίζονται οι αντίστοιχες αποδόσεις υδρόλυσης και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.2.5

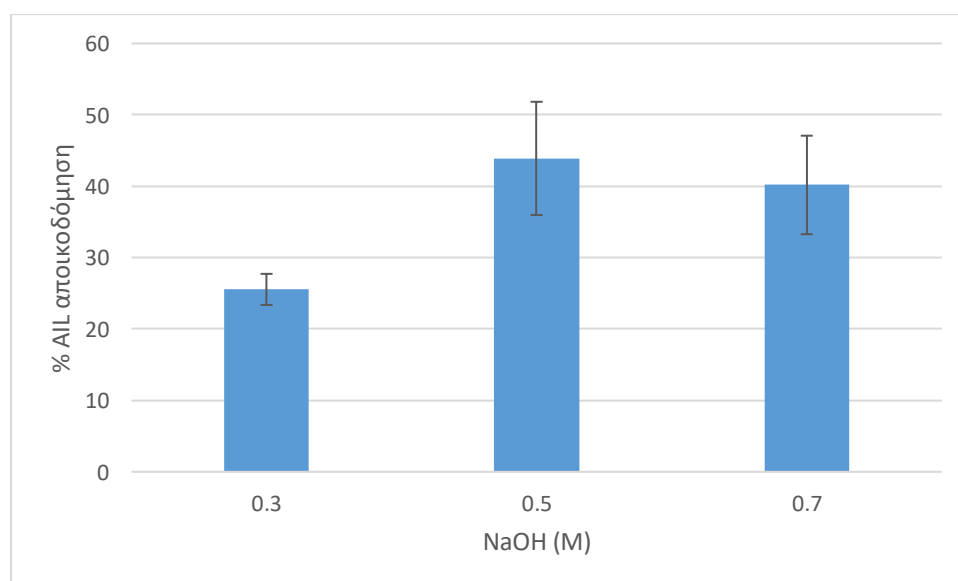
Πίνακας 7.2.5: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος κλαδεμάτων, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία για 6h

A/A	NaOH (M)	%TS υδρόλυση	% AIL αποικοδόμηση	% ASL αποικοδόμηση
1	0,3	8,44	24,01	11,46
2	0,3	7,54	27,09	15,03
3	0,5	6,09	49,51	22,76
4	0,5	6,28	38,29	22,19
5	0,7	16,19	35,30	29,77
6	0,7	5,75	45,06	30,59

Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.2.5, προκύπτει ότι η προεπεξεργασία με αλκαλικό διάλυμα NaOH, προκάλεσε μείωση στη λιγνίνη, ενώ οι δομικοί πολυσακχαρίτες παρέμειναν σχεδόν ανέπαφοι, αφού σε όλες τις περιπτώσεις οι αποδόσεις υδρόλυσης ήταν <5%.

Στο υγρό κλάσμα, προσδιορίστηκαν προϊόντα αποικοδόμησης ως οργανικός άνθρακας (35,35-65,50 mg/g προεπεξεργασμένου), πτητικά λιπαρά οξέα (72-115,38mg/g προεπεξεργασμένου) και φαινολικά συστατικά (0,72- 1,8 mg/g προεπεξεργασμένου).

Η επίδραση της έντασης της αλκαλική προεπεξεργασίας στην απόδοση της απολιγνίνωσης παρουσιάζεται στο ακόλουθο σχήμα 7.3.



*Σχήμα 7.3: Επίδραση συγκέντρωσης αλκαλικού διακλύματος NaOH στην αποικοδόμηση της λιγνίνης κατά την προεπεξεργασία των υπολειμμάτων κήπου-κλαδέματων*

Από το Σχήμα 7.3 είναι φανερό ότι αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH από 0,3 σε 0,5M η απόδοση της απολιγνίνωσης αυξάνεται κατά 70%, ενώ περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος (0,7M) δεν επιφέρει αύξηση της αποδόμησης της λιγνίνης. Σε όλες όμως τις περιπτώσεις η αποικοδόμηση της λιγνίνης ήταν κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα μικρότερη από 43%. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί στη δομή της λιγνίνης που υπάρχει στα κλαδέματα.

#### ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Από τα αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών της αλκαλικής προεπεξεργασίας (Πίνακας 7.2.3) υπολογίζονται οι αντίστοιχες αποδόσεις υδρόλυσης και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.2.6

Πίνακας 7.2.6: Αποικοδόμηση των ολικών στερεών, της λιγνίνης και των δομικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη) του στερεού κλάσματος κλαδεμάτων, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH για 6h και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2 για 72h

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/g κυτ.)	% TS	% Κυτταρίνη	% AIL	% ASL	% Ημικυτταρίνη
7	0,5	40	21,97	26,56	1,09	1,03	4,82
8	0,5	40	17,22	39,55	3,69	1,93	2,53
9	0,5	40	15,16	21,17	2,45	1,92	5,98
10	0,5	40	14,31	18,55	4,60	1,65	4,03
11	0,3	20	14,21	19,94	4,01	2,89	1,44
12	0,3	20	17,25	18,88	2,88	1,35	1,53
13	0,3	60	31,18	36,11	8,31	18,77	24,51
14	0,3	60	54,45	64,52	11,17	44,44	43,50
15	0,7	60	57,20	61,49	28,61	50,91	44,91
16	0,7	60	11,13	54,19	29,91	47,39	37,15
17	0,7	20	59,21	56,01	10,86	39,79	33,60
18	0,7	20	60,91	71,44	41,85	60,37	60,21

#### 7.2.4 Μοντέλο πρόβλεψης παραγοντικού σχεδιασμού

Με ανάλογο τρόπο εργασίας όπως και για την περίπτωση των εξαντλημένων κόκκων καφέ, υπολογίστηκε η απόδοση της σακχαροποίησης για τα υπολείμματα κήπου - κλαδέματα και τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7.2.7).

*Πίνακας 7.2.7 Απόδοση σακχαροποίησης των υπολειμμάτων κήπου-κλαδεμάτων, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH και ενζυμική υδρόλυση με CellicCTec2.*

A/A	NaOH (M)	CellicCTec2 (μL/ g κυτταρίνης)	SG %
P1	0,3	20	29,75
P2	0,3	20	28,47
P3	0,7	60	83,12
P4	0,7	60	73,19
P5	0,3	60	53,92
P6	0,3	60	69,10
P7	0,7	20	65,27
P8	0,7	20	54,58
P9	0,5	40	40,19
P10	0,5	40	44,99
P11	0,5	40	32,08
P12	0,5	40	28,16

Από τον Πίνακα 7.2.7 παρατηρείται ότι η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης για τα υπολείμματα κήπου-κλαδέματα, είναι 83,12% και επιτευχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,7M και ενζυμική υδρόλυση με 60 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CellicCTec2.

#### 7.1.4.1 Υπολογισμός του στατιστικού σφάλματος

Για την εκτίμηση του στατιστικού σφάλματος, κατασκευάστηκε ο Πίνακας 7.2.8.

*Πίνακας 7.2.8 Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος.*

A/A	SG	SG <sub>μέσο</sub>	s <sub>i</sub> <sup>2</sup>	f <sub>i</sub>
P1	29,75	29,11	0,82	1
P2	28,47			
P3	83,12	78,16	49,30	1
P4	73,19			

P5	53,92	61,51	115,22	1
P6	69,10			
P7	65,27	59,93	57,14	1
P8	54,58			
P9	40,19	36,36	58,23	3
P10	44,99			
P11	32,08			
P12	28,16			
$S_y^2=40,10$				

Και άρα τελικά  $s=6,33$ .

Σχετικά με την ομοιογένεια των διασπορών μας, υπολογίστηκε και πάλι ο λόγος Cochran, που βρέθηκε ίσος με:

$$G = \frac{115,22}{0,82 + 49,30 + 115,22 + 57,14 + 58,23} = 0,41$$

Στο πίνακα 7.2.10 παρατίθενται τα αποτελέσματα από το κριτήριο του Cochran. Όπως φυσικά μπορεί να δει κανείς, υπάρχει ομοιογένεια στις τιμές των διασπορών και συνεπώς η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου μπορεί να συνεχιστεί.

*Πίνακας 7.2.10 Έλεγχος ομοιογένειας διασπορών.*

<b>Κριτήριο Cochran</b>	
Ομοιογένεια $\rightarrow G_{exp} < G_{tab}$	
$G_{exp}$	0,41
$G_{tab}$	0,907
Ομοιογένεια	ΝΑΙ

#### 7.2.4.2 Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων

Στο πίνακα 7.2.11 φαίνονται οι κωδικοποιημένες τιμές των παραμέτρων καθώς και οι τιμές Y (αποδόσεις σακχαροποίησης) που χρειάστηκαν για τον υπολογισμό τους.



Πίνακας 7.1.11 Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b.

A/A	SG <sub>μέσο</sub>	x <sub>0</sub>	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>1</sub> x <sub>2</sub>
1	29,11	1	-1	-1	1
2	78,16	1	1	1	1
3	61,51	1	-1	1	-1
4	59,93	1	1	-1	-1

Στο πίνακα 7.2.12 καταγράφονται οι τιμές των συντελεστών b που προέκυψαν.

Πίνακας 7.2.12 Συντελεστές b της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.

Συντελεστές b	
b <sub>0</sub>	57,18
b <sub>1</sub>	11,87
b <sub>2</sub>	12,66
b <sub>12</sub>	-3,54

Επομένως το μοντέλο που προκύπτει είναι:

$$SG=57,18+11,87*x_1+12,66*x_2-3,54*x_1*x_2$$

Πιο συγκεκριμένα, οι δύο ρυθμιστικές παράμετροι έχουν ανάλογη σχέση με την απόδοση σακχαροποίησης με αποτέλεσμα όσο αυξάνονται να αυξάνει και η απόδοση. Όσον αφορά το μέγεθος τους, οι επιδράσεις του x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub> φαίνεται να είναι ανάλογης σημασίας. Αντίθετα η αλληλεπίδραση των παραμέτρων φαίνεται να έχει αρνητική επίδραση στη συνολική απόδοση σακχαροποίησης.

#### 7.2.4.3 Έλεγχος σημαντικότητας των συντελεστών

Η τιμή του  $S_b^{1/2}$  υπολογίζεται από τη σχέση (7.8) και ισούται με:

$$\rightarrow S_b^2=10,03$$

Συνεπώς από τη σχέση (7.9) μπορεί να υπολογιστεί το διάστημα Δb και ισούται με:

$$\rightarrow \Delta b =7,53$$

Στον Πίνακα 7.2.14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

Πίνακας 7.2.14 Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων

Συντελεστές		$\Delta b$	Αποτέλεσμα
b0	57,18	Συνθήκη σημαντικότητας:  $ b_i  > 7,53$	Σημαντικός
b1	11,87		Σημαντικός
b2	12,66		Σημαντικός
b12	-3,54		Μη σημαντικός

Όπως προκύπτει από τον πίνακα 7.14 η ενδοδράση  $x_1 \times x_2$ , δηλαδή το γινόμενο της συγκέντρωση του ενζύμου CellicCTec2 επί τη συγκέντρωση του αλκαλικού μέσου, κρίνεται στατιστικά μη σημαντική.

Επομένως, το μοντέλο αριστοποίησης της πειραματικής διαδικασίας είναι:

$$SG = 57,18 + 11,87 \cdot x_1 + 12,66 \cdot x_2 \quad (7.10)$$

#### 7.2.4.4 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου

Στον πίνακα 7.2.15 παρουσιάζονται τα δεδομένα από τα οποία υπολογίστηκε το  $S_{ad}^2$  μέσω σχέσης (7.11).

Πίνακας 7.2.15 Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας

A/A	$SG_i$	$SG_{\theta_{εωρ}}$	$(SG_i - SG_{\theta_{εωρ}})^2$
1	29,11	32,65	12,55
2	78,16	81,70	12,55
3	61,51	57,97	12,55
4	59,93	56,38	12,55
$S_{ad}^2 = 100,39$			

Από την εξίσωση (7.11) προκύπτει ότι:  $S_{ad}^2 = 100,39$

Για τον έλεγχο της επάρκειας του μοντέλου (7.10) εφαρμόζεται το κριτήριο του Fisher σύμφωνα με τον Πίνακα 7.1.17.

Πίνακας 7.1.17 Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του μοντέλου

Κριτήριο Fisher	
Επάρκεια μοντέλου $\rightarrow F < F_{tab}$	
F	2,50
$F_{tab}$	6,61
Επαρκές	ΝΑΙ

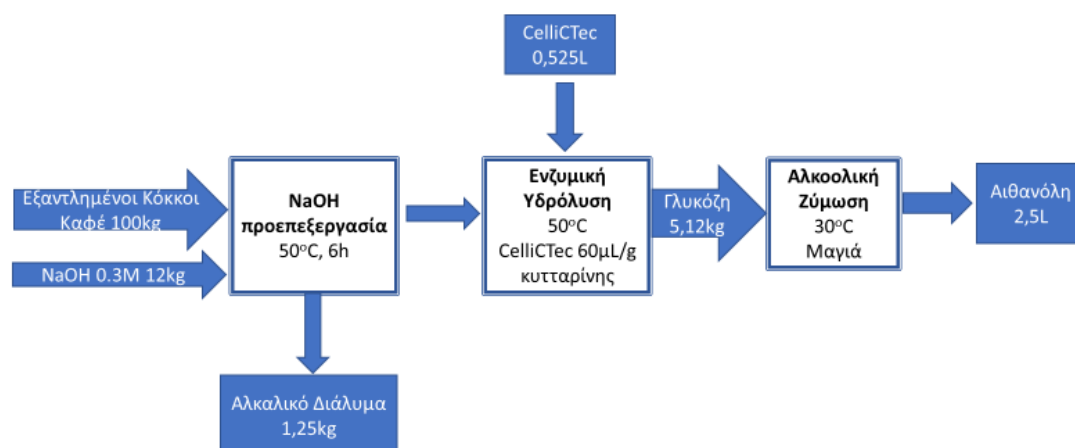
Όπως φαίνεται η τιμή του λόγου του Fisher που προέκυψε από την πειραματική διαδικασία είναι μικρότερη από την αντίστοιχη του πίνακα 7.1.16 και συνεπώς το μαθηματικό μας μοντέλο είναι επαρκές.

Αφού το γραμμικό μαθηματικό μοντέλο είναι επαρκές, εάν μετασχηματίσουμε τις κωδικοποιημένες τιμές σε φυσικές τιμές προκύπτουν το ακόλουθο μοντέλο για τα κλαδέματα:

$\%SG = 2,18 + 59,33 * \text{Συγκέντρωση NaOH (M)} + 0,63 * \text{Συγκέντρωση ενζύμου CellicCTec2 (}\mu\text{L/g κутταρίνης)}$

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Αξιοποίηση δυναμικού παραγωγής βιοαιθανόλης

Αξιοποιώντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το σύνολο των πειραματικών δοκιμών, έγινε στη συνέχεια μια προσπάθεια προσομοίωσης της συνολικής διεργασίας για την παραγωγή βιοαιθανόλης τόσο για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ (Σχήμα 8.1), όσο και για τα υπολείμματα κήπου -κλαδέματα (Σχήμα 8.2).

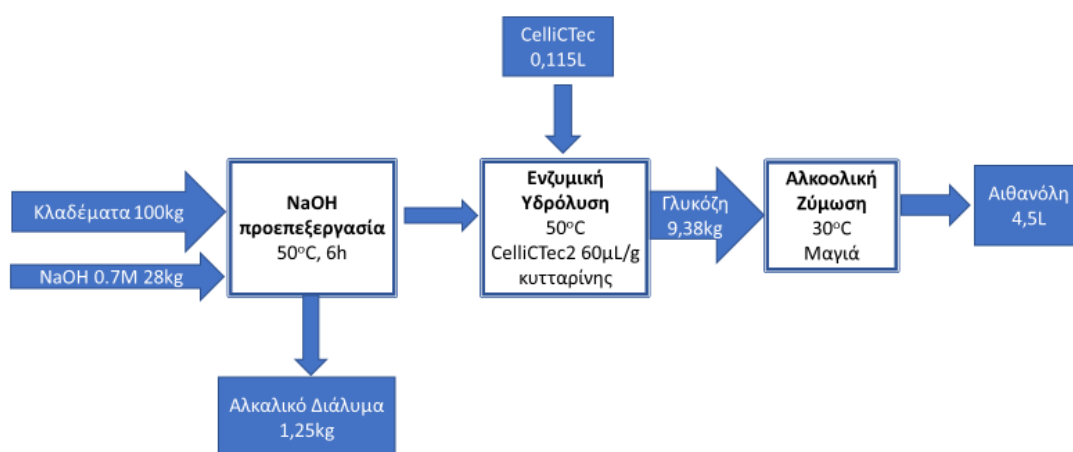


Σχήμα 8.1: Προσομοίωση της συνολικής διεργασίας παραγωγής βιοαιθανόλης από εξαντλημένους κόκκους καφέ

Θεωρήθηκε η σύσταση των εξαντλημένων κόκκων καφέ του Πίνακα 7.1 όπου η περιεκτικότητά τους σε κυτταρίνη ανέρχεται στα  $9,87 \pm 0,15$  g ανά 100 g ξηρής πρώτης ύλης. Από τις πειραματικές δοκιμές του παραγοντικού σχεδιασμού (Πίνακα 7.1.7) παρατηρήθηκε ότι η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ είναι 47,17% και επιτευχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,3M και ενζυμική υδρόλυση με 75 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CelliCTec2. Το υδρόλυμα στη συνέχεια τροφοδοτείται σε μονάδα αλκοολικής ζύμωσης. Για τη διεργασία της ζύμωσης θεωρείται ότι η ζύμωση πραγματοποιείται στους 30 °C για 24 h με εμβολιασμό της μαγιάς *Saccharomyces cerevisiae* (2%) και απόδοση αλκόλης 76% Baramprouti et al. [δικό μας παπερ]. Σύμφωνα με το σύνολο των υπολογισμών είναι δυνατό να παραχθούν 2,5L αιθανόλης από 100 kg εξαντλημένων κόκκων καφέ.

Συνεπώς, από τους 6 εκατομμύρια τόνους περίπου εξαντλημένων κόκκων καφέ που παράγονται παγκοσμίως το χρόνο, είναι δυνατό να παραχθούν 150.000 m<sup>3</sup> αιθανόλης ή εάν εστιάσουμε στην Ευρώπη από τα 2 εκατομμύρια τόνους αποβλήτου μπορούν να παραχθούν περίπου 50.000 m<sup>3</sup> αιθανόλης. Τα τελευταία διαθέσιμα στοιχεία για την Ελλάδα που αφορούν στην κατανάλωση καφέ έχουν έτος αναφοράς το 2007, με κατανάλωση 60.876 tn/y [39]. Επομένως η αντίστοιχη παραγωγή εξαντλημένων κόκκων καφέ θα ανέρχεται στους 40.000 τόνους ετησίως περίπου (Kamil, Mohammed, et al. “Environmental Impacts of Biodiesel Production from Waste Spent Coffee Grounds and Its Implementation in a Compression Ignition Engine.” Science of The Total Environment, vol. 675, July 2019, pp. 13–30.), από τους οποίους μπορούν να παραχθούν 1.000 m<sup>3</sup> αιθανόλης. Καθίσταται λοιπόν σαφές ότι οι εξαντλημένοι κόκκοι καφέ μπορούν να αποτελέσουν ένα υπόστρωμα ικανό να συνεισφέρει στην παραγωγή υγρών βιοκαυσίμων, όπως είναι η αιθανόλη.

Ανάλογα για την περίπτωση των κλαδεμάτων και αξιοποιώντας το βέλτιστο πειραματικό σενάριο (0,7M NaOH και 60μL CelliCTec2/g κυτταρίνης), είναι δυνατό να αξιοποιηθεί κανείς από 100 g πρώτης ύλης 11,79±2,38 g κυτταρίνης (Πίνακας 7.2). Με αντίστοιχες υποθέσεις, όπως και για τη περίπτωση των εξαντλημένων κόκκων καφέ, είναι δυνατό να παραχθούν 4,5 L βιοαιθανόλης από 100 kg κλαδεμάτων.



Σχήμα 8.2: Προσομοίωση της συνολικής διεργασίας παραγωγής βιοαιθανόλης για τα υπολείμματα κήπου - κλαδέματα

Στην Ελλάδα δεν υπάρχει εγκατεστημένη μονάδα για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Ως εκ τούτου, καθίσταται σαφές πως είναι δυνατό να αξιοποιηθούν τα εξεταζόμενα απόβλητα των εξαντλημένων κόκκων καφέ αλλά και των κλαδεμάτων προς την κατεύθυνση αυτή. Αν και είναι τεχνικά εφικτή η παραγωγή αιθανόλης από τα εν λόγω υποστρώματα, θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και οικονομοτεχνικοί παράγοντες όπως κόστος ενζύμων, χημικών, ενέργειας κλπ.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνοψίζοντας, κατά τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της αλκαλικής προεπεξεργασίας και της ενζυμικής υδρόλυσης των εξαντλημένων κόκκων καφέ προέκυψε ότι με αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος η απόδοση απολιγνίνωσης αυξάνεται κατά 10%. Όμως ταυτόχρονα παρατηρήθηκε και αποικοδόμηση πολυσακχαριτών, η οποία είναι ανεπιθύμητη δεδομένης της απώλειας πολύτιμων σακχάρων.

Αποδείχθηκε επίσης ότι το στάδιο της αλκαλικής προεπεξεργασίας βελτιώνει σημαντικά την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης, δεδομένου ότι στο πείραμα ελέγχου όπου πραγματοποιείται ενζυμική υδρόλυση σε εξαντλημένους κόκκους καφέ χωρίς την εφαρμογή του σταδίου της προεπεξεργασίας η αποικοδόμηση της κυτταρίνης ήταν μόλις 1,22%. Μάλιστα, για αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH (0,3 και 0,5M) η απόδοση αποικοδόμησης της κυτταρίνης αυξάνεται ανάλογα με το ενζυμικό φορτίο, ενώ όταν η χημική προεπεξεργασία πραγματοποιείται με NaOH 0,7M, αύξηση του ενζυμικού φορτίου πάνω από 75μL/g κυτταρίνη δεν βελτιώνει σημαντικά την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης.

Η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης για τους εξαντλημένους κόκκους καφέ ήταν 47,17% και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,3M και ενζυμική υδρόλυση με 75 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CellicCTec2.

Από τη μαθηματική μοντελοποίηση προέκυψε ότι η συγκέντρωση του αλκαλικού μέσου και η αλληλεπίδρασή της με το ενζυμικό φορτίο επηρεάζουν την απόδοση σακχαροποίησης. Όσον αφορά το μέγεθος τους, οι επιδράσεις τους φαίνεται να είναι ανάλογης σημασίας.

Σχετικά με τη μελέτη των υπολειμμάτων κήπου-κλαδέματα, προέκυψε ότι η προεπεξεργασία με αλκαλικό διάλυμα NaOH, προκάλεσε μείωση στη λιγνίνη, ενώ οι δομικοί πολυσακχαρίτες παρέμειναν σχεδόν ανέπαφοι, αφού σε όλες τις περιπτώσεις οι αποδόσεις υδρόλυσης ήταν <5%. Αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH από 0,3 σε 0,5M οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης της απολιγνίνωσης κατά 70%, ενώ περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος (0,7M) δεν επεφέρει αύξηση της αποδόμησης της λιγνίνης. Σε όλες όμως τις περιπτώσεις η αποικοδόμηση της λιγνίνης κυμάνθηκε σε σχετικά χαμηλά επίπεδα (μικρότερη από

43%). Το γεγονός αυτό μπορεί να αποδοθεί στη δομή της λιγνίνης που υπάρχει στη συγκεκριμένη πρώτη ύλη.

Η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης που σημειώθηκε για τα υπολείμματα κήπου-κλαδέματα ήταν 83,12% και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH 0,7M και ενζυμική υδρόλυση με 60 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο CellicCTec2.

Από τη στατιστική ανάλυση του παραγοντικού σχεδιασμού, προέκυψε στατιστικά επαρκές γραμμικό μαθηματικό μοντέλο, όπου και οι δύο ρυθμιστικές παράμετροι αποδείχθηκαν σημαντικές ενώ και επηρεάζουν θετικά και με την ίδια βαρύτητα τη συνολική απόδοση.

Συμπερασματικά, με την παρούσα εργασία αποδείχθηκε ότι η σακχαροποίηση των εξεταζόμενων απόβλητων εξαντλημένων κόκκων καφέ, αλλά και κλαδεμάτων είναι τεχνικά εφικτή. Όμως για την αξιοποίηση τους προς παραγωγή αιθανόλης, θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και οικονομοτεχνικοί παράγοντες όπως κόστος ενζύμων, χημικών, ενέργειας κλπ.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] Beardsley, Timothy M. 'Organisms from Molecules to the Environment'. *BioScience*, vol. 56(8), 2006, pp. 635. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1641/0006-3568(2006)56[635:OFMTTE]2.0.CO;2
- [2] Huang, Daming, κ.ά. 'Biodiesel: An Alternative to Conventional Fuel'. *Energy Procedia*, vol.16, 2012, pp. 1874–85. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.egypro.2012.01.287
- [3] 'Βιοκαύσιμα' *Agroenergy.gr*, <http://www.agroenergy.gr/categories/%CE%B2%CE%B9%CE%BF%CE%BA%CE%B1%CF%8D%CF%83%CE%B9%CE%BC%CE%B1>
- [4] Yaser Dhaman, Pallavi Roy. 'Challenges and Generations of Biofuels: Will Algae Fuel the World?' *Fermentation Technology*, vol.1(5), 2012. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.4172/2167-7972.1000e119
- [5] Bob Flach, Sabine Liebertz, Jennifer Lappin, Sophie Bolla, 'EU-28, Biofuels Annual, EU Biofuels Annual 2018', 7 March 2018
- [6] 'Αιθανόλη'. Βικιπαίδεια, 7 December 2018. Wikipedia, <https://el.wikipedia.org/w/index.php?title=%CE%91%CE%B9%CE%B8%CE%B1%CE%BD%CF%8C%CE%BB%CE%B7&oldid=7322607>
- [7] Alvira P., Tomas-Pejo E., Ballesteros M., Negro M.J., Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process base on enzymatic hydrolysis: A review, *Bioresource technology* 101 (2010), pp. 4851-4861
- [8] Ιωαννίδης Χρήστος, 2008, 'Η βιοαιθανόλη στην Ελλάδα. Παρόν και προοπτικές', Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καβάλας, Σχολή Τεχνολογικών Εφαρμογών, Τμήμα Μηχανολογίας, Τομέας: Ενέργεια και Περιβάλλον
- [9] *Ethanol fuel: Journey to Forever*. <http://journeytoforever.org/ethanol.html#benefit>
- [10] 'Bioethanol: Advantages & Disadvantages of Bioethanol'. *Bioethanol*, <http://bioethanol-np.blogspot.com/p/advantages-of-bioethanol.html>
- [11] *Bioethanol: Production, Advantages, Disadvantages And Environmental Impacts*. <https://www.biotecharticles.com/Environmental-Biotechnology-Article/Bioethanol-Production-Advantages-Disadvantages-And-Environmental-Impacts-3816.html>
- [12] 'Markets and Statistics'. *Renewable Fuels Association*, <https://ethanolrfa.org/statistics/>
- [13] 'Energy Independence'. *Renewable Fuels Association*, <https://ethanolrfa.org/energy-independence/>

[14] 'How Is Ethanol Made?' *Renewable Fuels Association*, <https://ethanolrfa.org/how-ethanol-is-made/>

[15] 'Ethanol Co-Products'. *Renewable Fuels Association*, <https://ethanolrfa.org/co-products/>

[16] Αικατερίνη Δ. Ποϊκλή, Μαρίνα Σ. Μαύρου, 2012, 'Παραγωγή βιοαιθανόλης από βιομάζα', Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καβάλας, Σχολή Τεχνολογικών Εφαρμογών, Τμήμα Τεχνολογίας Πετρελαίου και Φυσικού Αερίου

[17] Sergio Barros, 'Brazil, Biofuels Annual, 2018', 8 Οκτωβρίου 2018

[18] *China to Triple Ethanol Production by 2020 | Biofuels International Magazine*. <https://biofuels-news.com/news/china-to-triple-ethanol-production-by-2020/>

[19] *Statistics | ePURE - European Renewable Ethanol*. <https://epure.org/resources/statistics/>

[20] *SNPAA: Les Industriels de l'Alcool et du Bioéthanol*. <https://www.alcool-bioethanol.net/en/?fbclid=IwAR1XrfcCMqALponfvVkZnHr4OPuA3JlqzWMQovYCCb9BzNrGTv3Wqadn-sQ>

[21] 'Germany's Production, Sales of Bioethanol down in 2017'. *Renewablesnow.Com*, [/news/germanys-production-sales-of-bioethanol-down-in-2017-606012/](https://news/renewablesnow.com/news/germanys-production-sales-of-bioethanol-down-in-2017-606012/)

[22] Sacha Alberici, Gemma Toop, 'Overview of UK Biofuel Producers', 27 March 2014

[23] Blog, Biorefineries. 'The Spanish bioethanol sector according to the USDA FAS | BioRefineries Blog'. *The Spanish bioethanol sector according to the USDA FAS | BioRefineries Blog*, 5 September 2017, <https://biorrefineria.blogspot.com/2017/09/spanish-bioethanol-sector-overview-according-USDA-FAS.html>

[24] Belboom, Sandra, 'Does the production of Belgian bioethanol fit with European requirements on GHG emissions? Case of wheat'. *Biomass and Bioenergy*, vol. 74, March 2015, pp. 58–65. ScienceDirect, doi:10.1016/j.biombioe.2015.01.005

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

[26] Rubin, Edward M. 'Genomics of Cellulosic Biofuels'. *Nature*, vol. 454(7206), August 2008, pp. 841–45. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1038/nature07190.

[27] Balat, Mustafa, κ.ά. 'Progress in Bioethanol Processing'. *Progress in Energy and Combustion Science*, vol. 34(5), October 2008, pp. 551–73. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.pecs.2007.11.001.

[28] Choi, Da-Hye, κ.ά. 'Isolation and Characterization of *Saccharomyces Cerevisiae* from Nuruk for Production of Ethanol from Maltose'. *Microbiology and Biotechnology Letters*, vol. 44(1), March 2016, pp. 34–39. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.4014/mbl.1510.10008.

[29] Kumar, Parveen, κ.ά. 'Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production'. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol.48(8), April 2009, pp. 3713–29. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1021/ie801542g

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

[31] Cardona, Carlos A., και Óscar J. Sánchez. 'Fuel Ethanol Production: Process Design Trends and Integration Opportunities'. *Bioresource Technology*, vol.98(12), September 2007, pp. 2415–57. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.biortech.2007.01.002.

[32] McNutt, Josiah, και Quan (Sophia) He. 'Spent Coffee Grounds: A Review on Current Utilization'. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 71, March 2019, pp. 78–88. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.jiec.2018.11.054.

[33] 'Top Coffee Producing Countries'. *WorldAtlas*, <https://www.worldatlas.com/articles/top-coffee-producing-countries.html>.

[34] *Current Worldwide Annual Coffee Consumption per capita*. 15 March 2015, <http://web.archive.org/web/20150315091312/http://chartsbin.com/view/581>.

[35] Yu, Qiang, κ.ά. 'Impact of Blending on Hydrolysis and Ethanol Fermentation of Garden Wastes'. *Journal of Cleaner Production*, vol. 190, July 2018, pp. 36–43. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.jclepro.2018.04.164.

[36] Garden Waste Dumping'. *Wikipedia*, [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Garden\\_waste\\_dumping&oldid=916310683](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Garden_waste_dumping&oldid=916310683)

[37] 'What Is Green Waste?' *WorldAtlas*, <https://www.worldatlas.com/articles/what-is-green-waste.html>.

[38] Ρήγας Φ. (1988). Στατιστικός σχεδιασμός πειραμάτων και αριστοποίησης βιομηχανικών διαδικασιών, Ε.Μ.Π., Αθήνα

[39] Y.P. Alder, E.V. Markova and Y.V. Granovsky, 'The Design of Experiments to find Optimal Conditions' (Mir Publishers, Moscow, 1995), pp. 25–50.

[40] W.C. Cochran and G.M. Cox, 'Experimental Designs', 2nd edn (John Wiley & Sons Inc., New York, 1957), pp. 23–54.