

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας Ι

Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

του

Φανουρίου – Αργύρη Βύνιου

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗΣ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΛΚΟΟΛΗΣ**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Χαραλάμπους Αικατερίνη 2020

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2019-2020.

Πρώτα απ' όλα θέλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα της διπλωματικής εργασίας, καθηγήτρια του Ε.Μ.Π. κυρία Αικατερίνη Χαραλάμπους που μου πρότεινε και εμπιστεύτηκε το παρόν σύγχρονο θέμα καθώς και για το ενδιαφέρον της καθ'όλη τη διάρκεια της εκπόνησης.

Ακόμη, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τις Δρ. Σοφία Μάη και Δρ. Έλλη Μπαραμπούτη για την άψογη συνεργασία, καθώς και για όλες τις βοηθητικές υποδείξεις που μου έδιναν παρά τον μεγάλο φόρτο εργασίας τους, δείχνοντας προθυμία και επαγγελματισμό μιας και χωρίς την καθοριστική συμβολή τους η εργασία αυτή δε θα ήταν εφικτή.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω πολύ το προσωπικό του εργαστηρίου της μονάδας για όλη τη διάρκεια αυτής της πρωτόγνωρης χρονιάς, και ιδιαίτερα την Δρ. Jelica Novakovic και την Νικολέττα Κοντογιάννη για την καθημερινή, συνεχή και ακούραστη καθοδήγηση τους για την πρακτική κατανόηση του θέματος της εργασίας και τη σωστή εκτέλεση των πειραμάτων.

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ /ABSTRACT	6/7
<b>Εισαγωγή</b>	<b>8</b>
<b>ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Βιοαιθανόλη</b>	<b>9</b>
1.1 Εισαγωγή για βιοκαύσιμα και βιοαιθανόλη	9
1.2 Η παραγωγή βιοαιθανόλης σε Ευρώπη και παγκοσμίως – Νομοθεσία	18
1.3 Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης	36
1.4 Τεχνολογίες παραγωγής βιοαιθανόλης	43
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Αποβλήτα επεξεργασίας πατάτας</b>	<b>51</b>
2.1 Εισαγωγή	51
2.2 Δυναμικό παραγωγής και υφιστάμενοι τρόποι διαχείρισης	51
2.3 Σύσταση	54
2.4 Πιθανοί δρομοί αξιοποίησης	57
2.5 Παραγωγή βιοαιθανόλης	60
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών μετρήσεων</b>	<b>64</b>
3.1.1 Εισαγωγή	64
3.1.2 Παράμετροι αριστοποίησης	66
3.1.3 Παράγοντες σχεδιασμού	66
3.2 Παραγοντικός σχεδιασμός για την εύρεση αρίστων συνθηκών	67
3.2.1 Παραγοντικό πείραμα	68
- Ιδιότητες παραγοντικού πειράματος	69
- Μαθηματικό μοντέλο	70
- Ανάλυση σφαλμάτων	72
- Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων	73

- Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης	74
- Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών	77
- Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου	78
<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Πειραματική μεθοδολογία</b>	80
4.1 Σκοπός	80
4.2 Πρώτη ύλη	80
4.3 Αλκαλική προεπεξεργασία	81
4.4 Ενζυμική υδρόλυση αμύλου	82
4.5 Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης	82
4.6 Ζύμωση	83
4.7 Μέθοδοι ανάλυσης	84
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Πειραματικό πρωτόκολλο</b>	96
5.1 Αλκαλική προεπεξεργασία	96
5.2 Ενζυμική υδρόλυση	96
5.3 Αλκοολική ζύμωση	96
5.4 Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών	96
Α: Πρώτο παραγοντικό πείραμα	97
Β: Δεύτερο παραγοντικό πείραμα	98
Γ: Τρίτο παραγοντικό πείραμα	101
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματικά αποτελέσματα</b>	104
6.1 Σύσταση πρώτης ύλης	104
6.2 Πρωτογενή αποτελέσματα πρώτου παραγοντικού πειράματος	105
6.3 Πρωτογενή αποτελέσματα δεύτερου παραγοντικού πειράματος	106
6.4 Πρωτογενή αποτελέσματα τρίτου παραγοντικού πειράματος	107

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Επεξεργασία πειραματικών αποτελεσμάτων</b>	109
7.1 Απόδοση σακχαροποίησης και παραγωγής αιθανόλης	109
7.2 Μοντέλα πρόβλεψης παραγοντικού σχεδιασμού	112
7.2.1 Πρώτο παραγοντικό πείραμα	112
- Υπολογισμός στατιστικού σφάλματος	112
- Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων	116
- Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου	119
7.2.2 Δεύτερο παραγοντικό πείραμα	122
7.2.3 Τρίτο παραγοντικό πείραμα	126
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: Αξιοποίηση δυναμικού παραγωγής βιοαιθανόλης</b>	131
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: Συμπεράσματα</b>	133
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10: Βιβλιογραφία</b>	135

## 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 των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας μέσω παραγοντικού σχεδιασμού. Σύμφωνα με τον προσδιορισμό της σύστασής τους το περιεχόμενο άμυλο και κυτταρίνη ήταν 7,59% και 45,31% 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 των δομικών υδατανθράκων, αμύλου και κυτταρίνης. Η απόδοση σακχαροποίησης αμύλου και των συνολικών υδατανθράκων έφτασε το 67,41% και 82,15% αντίστοιχα ενώ η μέγιστη απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης ήταν 71,37% έπειτα από προεπεξεργασία με 1% NaOH και ενζυμική υδρόλυση με 50 μL/ g αμύλου NS22109 και 300 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο NS22177. Συμπερασματικά, η αλκοολική ζύμωση των απόβλητων επεξεργασίας πατάτας αποδείχθηκε 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 find ways of utilizing waste in the direction of biofuel production. The aim of this dissertation was to investigate the bioethanol production potential of potato processing waste through factorial design. According to the definition of their composition, the starch and cellulose content was 7.59% and 45.31% respectively. The pretreatment method was then applied in an alkaline environment, using sodium hydroxide, which aimed to degrade lignin, in order to favor the next step of enzymatic hydrolysis of structural carbohydrates, starch and cellulose. The saccharification yield of starch and total carbohydrates reached 67.41% and 82.15% respectively while the maximum yield of bioethanol production was 71.37% after pretreatment with 1% NaOH and enzymatic hydrolysis with 50  $\mu\text{L}$  / g of starch NS22109 and 300  $\mu\text{L}$  / g cellulose cellulosic enzyme NS22177. In conclusion, the alcoholic fermentation of potato processing waste proved to be technically feasible. However, for their utilization for ethanol production, economic and technical factors such as the cost of enzymes, chemicals, energy, etc. must be taken into account.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εκτεταμένη χρήση ορυκτών καυσίμων στις ανεπτυγμένες κοινωνίες αποτελεί άμεση απειλή της δημόσιας υγείας και ρύπανσης του περιβάλλοντος με αέρια που εντείνουν το φαινόμενο του θερμοκηπίου και ως επακόλουθο την κλιματική αλλαγή. Για τον περιορισμό αυτών των αρνητικών επιπτώσεων, εκδηλώνεται σταθερό ερευνητικό και νομοθετικό ενδιαφέρον γύρω από την πράσινη – αειφόρα ανάπτυξη. Η πράσινη ανάπτυξη έχει ως κύριο σκοπό τη μείωση και κατ' επέκταση εξάλειψη του περιβαλλοντικού αποτυπώματος των ανθρωπίνων δραστηριοτήτων στο οικοσύστημα. Αυτό επιτυγχάνεται με την αξιοποίηση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, βασική εκ των οποίων είναι τα βιοκαύσιμα.

Μια σημαντική πολιτική οντότητα που έχει προβεί σε θέσπιση συγκεκριμένου νομοθετικού πλαισίου για την ενίσχυση παραγωγής βιοκαυσίμων, από απόβλητα βιομηχανικής επεξεργασίας, είναι η Ευρωπαϊκή Ένωση. Τα απόβλητα αυτά δύνανται να είναι είτε επιβαρυντικά για το περιβάλλον είτε μηδενικής αξίας, δηλαδή οργανική ύλη που μένει αναξιοποίητη χωρίς περαιτέρω επεξεργασία. Χαρακτηριστικό εκπρόσωπο της τελευταίας κατηγορίας αποτελούν τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (Potato Processing Waste), ένα αρκετά υποσχόμενο λιγνοκυτταρινούχο απόβλητο με συνεχώς αυξανόμενο ερευνητικό ενδιαφέρον.

Η τρέχουσα νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης προβλέπει όλα τα κράτη-μέλη της έως το τέλος του 2020 να καλύπτουν το 20% των συνολικών ετήσιων ενεργειακών τους αναγκών από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζεται στον τομέα των μεταφορών όπου κρίνεται αναγκαία η εξασφάλιση του 10% των ενεργειακών απαιτήσεων από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, όπως μέσω ανάμειξης συμβατικών καυσίμων με ορυκτά. Ενδεικτικό παράδειγμα της τεχνικής αυτής είναι η ανάμειξη βενζίνης με βιοαιθανόλη και ντίζελ με βιοντίζελ σε ειδικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας οργανικών αποβλήτων που λειτουργούν και στην Ελλάδα.

Η βιοαιθανόλη παράγεται κυρίως από υποστρώματα που είναι πλούσια σε άμυλο και σε μη αμυλούχους πολυσακχαρίτες (κυταρίνη και ημικυτταρίνη), όπως ο αραβόσιτος, το ζαχαροκάλαμο, το καλαμπόκι, η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και τα φύκη, αφού δεχθούν την κατάλληλη επεξεργασία η οποία διαφέρει για κάθε υπόστρωμα ανάλογα με τη φυσική δομή του.

Τέλος, σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση, σε εργαστηριακή κλίμακα, των σταδίων της απολιγνίνωσης, ενζυμικής υδρόλυσης (αμύλου και κυτταρίνης) και αλκοολικής ζύμωσης προκειμένου να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες που μεγιστοποιούν τα ζυμώσιμα σάκχαρα και την απόδοση παραγωγής αιθανόλης.



## ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Βιοαιθανόλη

#### 1.1 Εισαγωγή για βιοκαύσιμα και βιοαιθανόλη

Οι κυριότεροι ενεργειακοί πόροι σχετίζονται με τα ορυκτά καύσιμα, όπως το φυσικό αέριο, ο άνθρακας και το πετρέλαιο, ικανοποιώντας το 80% των παγκόσμιων ενεργειακών απαιτήσεων. Ακόμη, σε καθημερινή βάση υπάρχει ισχυρή εξάρτηση από μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας όπως το ντίζελ, η βενζίνη και η κηροζίνη τα οποία αποτελούν βασικά παράγωγα της πετροχημικής βιομηχανίας και βρίσκουν εφαρμογή στις μεταφορές επιβατών και εμπορευμάτων.

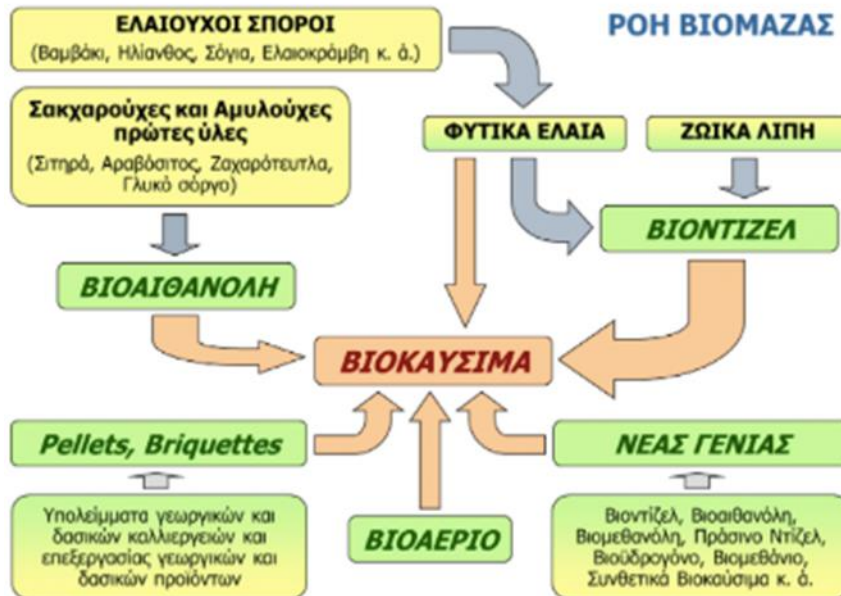
Φαινόμενα όπως ο υπερπληθυσμός και η χρήση ορυκτών καυσίμων συνεχώς εντείνονται. Επιπλέον ο όρος ορυκτά καύσιμα ταυτίζεται με την κατηγορία των μη ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, μιας και απαιτούνται εκατομμύρια χρόνια για να αναγεννηθούν. Σε περίπτωση που ο ρυθμός κατανάλωσης ορυκτών καυσίμων παραμείνει σταθερός στα σημερινά επίπεδα, εκτιμάται ότι εντός των επόμενων εκατοντάδων ετών θα εξαντληθούν ολοκληρωτικά [1]. Επιπρόσθετα, περιβαλλοντικά προβλήματα όπως το φαινόμενο του θερμοκηπίου, η μείωση της στιβάδας του όζοντος και η παγκόσμια αύξηση της μέσης θερμοκρασίας επιδεινώνονται από τη ραγδαία απελευθέρωση CO<sub>2</sub>, SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> ως αέρια προϊόντα καύσης από μηχανές [2].

Το τελευταίο διάστημα έχει προκληθεί μεγάλη αναταραχή στην προμήθεια αργού πετρελαίου, από την εκατέρωθεν επιβολή δασμών σε εισαγωγές μεταξύ Ηνωμένων Πολιτειών και Κίνας, με τις πρώτες να εφαρμόζουν δασμό 10% στα κινεζικά εμπορεύματα ενώ η τελευταία σχεδιάζει να απαντήσει με ακόμη ισχυρότερες κυρώσεις.

Ως εκ τούτου, πολιτικές όπως η βιώσιμη ανάπτυξη γίνονται αναπόσπαστες στην οικονομική πρόοδο, αξιοποιώντας ανανεώσιμες πηγές ενέργειας έναντι μη ανανεώσιμων πόρων προφυλάσσοντας παράλληλα το οικοσύστημα [2].

Η βιομάζα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας αφού ανανεώνεται διαρκώς μέσω φωτοσυνθετικών διεργασιών της χλωρίδας. Ενδεικτικά, η βιομάζα αποτελεί την πρόδρομη μορφή ποικίλων βιοκαυσίμων (υγρά, αέρια, στερεά) που με τη σειρά της λαμβάνεται από το οργανικό κλάσμα αποβλήτων δασοκομικών, βιομηχανικών και αγροτικών/γεωπονικών υπολειμμάτων. Κατά κανόνα, όταν φυτική βιομάζα καίγεται, η περιεχόμενη σε αυτά χημική ενέργεια απελευθερώνεται σε μορφή θερμότητας η οποία δύναται να μετατραπεί και σε άλλες, όπως ηλεκτρική, κινητική κτλ. Κύριος μηχανισμός για τη συσσώρευση χημικής ενέργειας στα φυτά είναι η φωτοσύνθεση, η οποία πετυχαίνει να αποθηκεύσει την ηλιακή ενέργεια στους

φυτικούς ιστούς με παράλληλη πρόσληψη νερού και διοξειδίου του άνθρακα. Στο Σχήμα 1.1 φαίνονται τα πιο σημαντικά βιοκαύσιμα καθώς και οι πρώτες ύλες απ' όπου προέρχονται [3]:



Σχήμα 1.1: Σπουδαιότερα βιοκαύσιμα

Τα σπουδαιότερα βιοκαύσιμα είναι:

- Βιοντίζελ

Αποτελεί εξαιρετικό υποκατάστατο του πετροχημικού ντίζελ το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσιο ή σε μίγματα με ντίζελ στους υπάρχοντες ντιζελοκινητήρες. Προκύπτει από τη μετεστεροποίηση ελεύθερων λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων με τη βοήθεια της μεθανόλης (αλκοόλης μικρού μοριακού βάρους) [3].

- Βιοαιθανόλη

Παράγεται έπειτα από αλκοολική ζύμωση κατά τη βιομετατροπή γλυκόζης σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Οι πηγές από τις οποίες προκύπτει είναι πλούσιες σε υδατάθρακες όπως σάκχαρα, άμυλο και κυτταρίνη [3].

- Βιοαέριο

Η σύσταση του βιοαερίου περιέχει υψηλά ποσοστά μεθανίου, διοξειδίου του άνθρακα και χαμηλά ποσοστά αζώτου, αμμωνίας, υδρογόνου και υδροθείου. Προκύπτει από αναερόβια χώνευση βιομάζας όπως απόβλητα αγροτικών και κτηνοτροφικών δραστηριοτήτων [3].

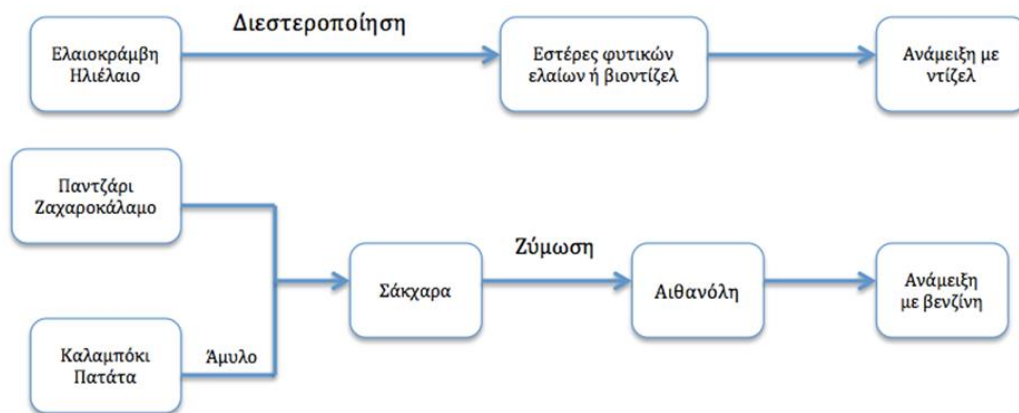
- Αέριο σύνθεσης (syngas)

Το syngas χρησιμοποιείται ως καύσιμο σε γεννήτριες για παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας ή και σε άλλες μηχανές εσωτερικής καύσης για παραγωγή θερμότητας. Περιέχει κυρίως μονοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο όπως και μικρά ποσοστά υδρατμών, μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα. Προκύπτει από διεργασίες αεριοποίησης στερεών υπολειμμάτων βιομάζας από δασικά και αστικά απόβλητα. Σε περίπτωση χρήσης αέρα κατά τη διεργασία αεριοποίησης, το syngas αποδίδει περίπου το 1/7 της θερμογόνου δύναμης του φυσικού αερίου [3].

Τα βιοκαύσιμα ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες με βάση την πηγή προέλευσής τους:

- Βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς

Η πλειονότητα των καυσίμων πρώτης γενιάς εξαρτάται άμεσα από τις καλλιέργειες τροφίμων αυξάνοντας έτσι έμμεσα τις τιμές τους και στερώντας αξιόλογες ποσότητες από καταναλωτές. Τέτοιες καλλιέργειες είναι οι ελαιούχοι σπόροι, τα ζαχαροκάλαμα, τα ζαχαρότευτλα, οι σπόροι δημητριακών κ.α. Χαρακτηριστικό μειονέκτημα των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς είναι ότι τα στάδια καλλιέργειας, συγκομιδής και επεξεργασίας (βιοδιύλιση) απαιτούν μέσα που έχουν έντονο περιβαλλοντικό αποτύπωμα (υψηλές εκπομπές CO<sub>2</sub>) με αποτέλεσμα να μην επιτυγχάνεται ο συνολικός περιορισμός αερίων που εντείνουν το φαινόμενο του θερμοκηπίου. Στο σχήμα 1.2 απεικονίζεται η διαδικασία παραγωγής δυο βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς [3,4].



Σχήμα 1.2: Παραγωγική διαδικασία βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς [3]

- Βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς

Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς προκύπτουν από πιο πολύπλοκες και κοστοβόρες διεργασίες σε σύγκριση με τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς μιας και υπεισέρχονται επιπλέον βήματα επεξεργασίας, όπως η απολιγνίνωση και η απελευθέρωση σακχάρων από υπολείμματα βιομάζας. Γενικά, εξελίχθηκαν έτσι ώστε να υπερνικήσουν τα εμπόδια των βιοκαυσίμων της πρώτης γενιάς. Η σημαντική διαφορά είναι ότι δε χρησιμοποιούν καλλιέργειες τροφίμων αλλά κυρίως απόβλητα αγροτοβιομηχανικών δραστηριοτήτων όπως κατάλοιπα φυτικής βιομάζας, ξύλου αλλά και διάφορα οργανικά απόβλητα. Τέλος, σημαντικό μειονέκτημα συνιστά το γεγονός ότι απαιτούν μεγάλες εκτάσεις εδάφους οι οποίες θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν για την παραγωγή τροφίμων. Στο Σχήμα 1.3 φαίνεται η διαδικασία παραγωγής δυο βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς [3,4].

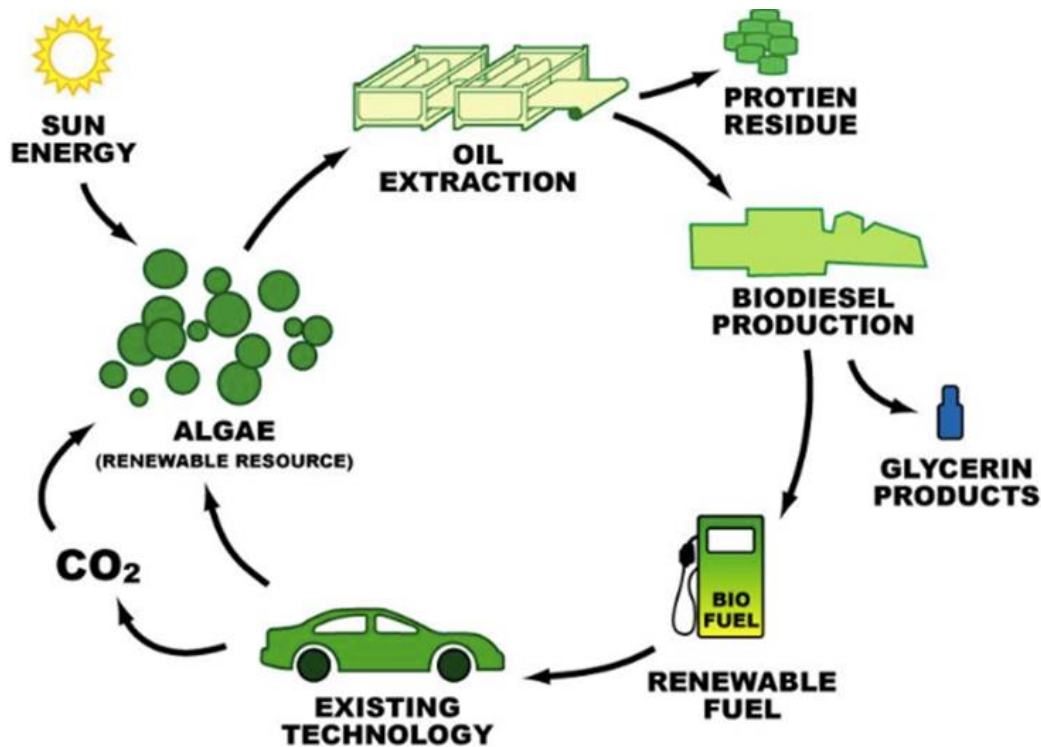


Σχήμα 1.3: Παραγωγική διαδικασία βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς [3]

- Βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς

Σημαντικό προτέρημα των βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς είναι ότι αξιοποιούν αλμυρό νερό και λύματα διαφόρων δραστηριοτήτων χωρίς έτσι να δεσμεύουν χρήσιμους πόρους για τον άνθρωπο. Πιο αναλυτικά, υπολογίζεται ότι η ενεργειακή τους απόδοση ανα μονάδα καλλιεργούμενης επιφάνειας είναι έως και 30 φορές μεγαλύτερη συγκριτικά με τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς. Αρκετά ελκυστικό είναι το γεγονός ότι μπορούν να αναπτυχθούν σε περιβάλλοντα απαγορευτικά για τα βιοκαύσιμα πρώτης και δεύτερης γενιάς. Ως τροφοδοσία πρώτης ύλης, χρησιμοποιούνται τα μικροφύκη (άλγη) και κυανοβακτήρια, λόγω του υψηλού ενεργειακού φορτίου τους, τα χαμηλά έξοδα ανάπτυξης και της συνεχούς ανανέωσής τους. Τα συγκεκριμένα βιοκαύσιμα βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό στάδιο μιας και τα έξοδα επεξεργασίας τους

παραμένουν ακόμη απαγορευτικά για τη γενική υιοθέτησή τους. Στο σχήμα 1.4 φαίνεται ο κύκλος παραγωγής και μετατροπής των βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς [3,4].



Σχήμα 1.4: Κύκλος παραγωγής και μετατροπής βιοκαυσίμων τρίτης γενιάς [4]

- Βιοκαύσιμα τέταρτης γενιάς

Ο βασικός μηχανισμός πίσω από τα βιοκαύσιμα τέταρτης γενιάς είναι η συλλογή ποσοτήτων CO<sub>2</sub> σε κάθε στάδιο επεξεργασίας με ταυτόχρονη παραγωγή βιοκαυσίμων, δεσμεύοντας μεγαλύτερη ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα από όση συνολικά απελευθερώνεται. Αυτό υλοποιείται μέσα από διεργασίες ανάπτυξης βιομάζας παρόμοιες με τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς, με μόνη διαφοροποίηση ότι η έκλυση αερίων του θερμοκηπίου συνοδεύεται από άμεση πρόσληψή τους από το επόμενο βήμα επεξεργασίας[3,4].

#### Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα βιοκαυσίμων

Με τις ανωτέρω παραθέσεις, κατέστη σαφές ότι η εισαγωγή βιοκαυσίμων στο μετασχηματισμό της βιώσιμης ανάπτυξης, προσφέρει νέες ευκαιρίες εξέλιξης σε επαγγελματίες του πρωτογενή τομέα και ταυτόχρονα τη δυνατότητα μετρίασης της εξάρτησης από τις μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Ακόμη, τα βιοκαύσιμα έχουν μηδενικό περιβαλλοντικό αποτύπωμα ως προς το διοξείδιο του άνθρακα, αφού η ποσότητα που εκλύεται κατά την καύση είχε προσληφθεί σε προγενέστερο στάδιο της

φωτοσύνθεσης των καλλιεργειών. Επιπλέον θετικό γνώρισμά τους, είναι ότι τείνουν να απελευθερώνουν αρκετά λιγότερους ρύπους (αιθάλη, οξείδια θείου, άκαυστοι υδρογονάνθρακες, μονοξείδιο του άνθρακα) σε σχέση με τα ορυκτά καύσιμα, αφού δεν περιλαμβάνουν αρωματικές ενώσεις και είναι μη τοξικά. Με αυτόν τον τρόπο, τα βιοκαύσιμα προστατεύουν το περιβάλλον, αντιμετωπίζουν το φαινόμενο του θερμοκηπίου και αναβαθμίζουν την ποιότητα της ατμόσφαιρας [3].

Παρά ωστόσο τα θετικά γνωρίσματα, υπάρχουν και αρνητικές επιπτώσεις. Ενδεικτικά, για την ανάπτυξη της βιομάζας που χρειάζεται για την παραγωγή βιοκαυσίμων, απαιτούνται νιτρικά λιπάσματα και βαρέα οχήματα τα οποία ρυπαίνουν τις καλλιεργήσιμες εκτάσεις και απελευθερώνουν ίσες ή ακόμη και μεγαλύτερες ποσότητες ρύπων και διοξειδίου του άνθρακα από αυτές που προσελήφθησαν από τα φυτά κατά τη φωτοσύνθεση. Ακόμη, μειονέκτημα αποτελεί η κοστοβόρα παραγωγή τους αφού πρόκειται για πολυέξοδη επένδυση που περιλαμβάνει τη συντήρηση των καλλιεργήσιμων εκτάσεων, τη συγκομιδή, την προκατεργασία (ανάλογα με την πρώτη ύλη της βιομάζας) και τέλος τις απαραίτητες διεργασίες της βιοδιύλισης. Επιπλέον, πρέπει να συνεκτιμάται το γεγονός ότι σε περίπτωση που εμφανιστεί αυξητική τάση στη ζήτηση βιοκαυσίμων, θα δεσμευτούν σημαντικές εκτάσεις που προορίζονταν για καλλιέργειες τροφίμων επιφέροντας έτσι αύξηση στην τιμή τους και στερώντας από μερίδα του πληθυσμού την πρόσβαση σε αυτά[3].

### Γενικά για την αιθανόλη

Η αιθανόλη ή αιθυλική αλκοόλη ή οινόπνευμα είναι ένα πτητικό, εύφλεκτο και άχρωμο υγρό. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι βασικές ιδιότητες της αιθανόλης:

*Πίνακας 1.1 Βασικές ιδιότητες αιθανόλης [6]*

Μοριακός τύπος	$C_2H_5OH$
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

Αξίζει να αναφερθεί ότι η ανάμιξη της αιθανόλης με το νερό συνοδεύεται από έκλυση θερμότητας και μείωση όγκου. Μίγμα αιθανόλης-νερού με αναλογία 95% και 5% αντίστοιχα θεωρείται αζεοτροπικό και δεν μπορεί να επιτευχθεί περαιτέρω διαχωρισμός, αφού στην ίδια θερμοκρασία ζέουν και τα δύο συστατικά [6].

Η αιθανόλη διαχρονικά έχει πολλές εφαρμογές όπως καύσιμο φωτός, καύσιμο παραγωγής θερμότητας και ως βιοκαύσιμο (σε αναλογίες με συμβατικά καύσιμα) σε κινητήρες εσωτερικής καύσης. Χρησιμοποιείται σε ιατρικές εφαρμογές ως αντισηπτικό ενώ ως διαλύτης σε κόλλες και χρώματα βαφής. Χρησιμοποιείται ευρέως ως διαλύτης ουσιών στα αρώματα και σε φαρμακευτικά σκευάσματα που πρόκειται να καταναλωθούν ή να έρθουν σε επαφή με ανθρώπινους ιστούς. Στα εργαστήρια χημείας αποτελεί ισχυρό οργανικό διαλύτη όπως και συνθετική ουσία άλλων προϊόντων. Η αιθανόλη συναντάται ακόμη και σε αναλογικά όργανα, όπως τα θερμομέτρα μέτρησης χαμηλών θερμοκρασιών εξαιτίας του χαμηλού της σημείου πήξης. Επιπλέον δεν μπορεί να παραλειφθεί η ισχυρή παρουσία της αιθανόλης στις βιομηχανίες οινοπνευματωδών ποτών [6].

Υπάρχουν δύο τρόποι σύνθεσης αιθανόλης [6]:

1. Πετροχημική μέθοδος: με ενυδάτωση αιθυλενίου σε υψηλή θερμοκρασία από την οποία προκύπτει η συνθετική αλκοόλη που προορίζεται αποκλειστικά για βιομηχανική χρήση.



2. Βιοχημική μέθοδος: μέσω της αλκοολικής ζύμωσης υποστρωμάτων που περιέχουν σάκχαρα, άμυλο, κυτταρίνη με την παρουσία μικροοργανισμών (βιοαιθανόλη).



Η συγκεκριμένη εργασία επικεντρώνεται αποκλειστικά στη βιοχημική μέθοδο. Η μέθοδος παραγωγής αιθανόλης εξαρτάται από το εξεταζόμενο υπόστρωμα και εκτυλίσσεται σε τέσσερα κυρίως στάδια. Τα τέσσερα στάδια είναι τα εξής [7]:

- Προκατεργασία πρώτης ύλης
- Υδρόλυση αμύλου, κυτταρίνης και ημικυτταρίνης για να ληφθεί το διάλυμα με τα σάκχαρα που απελευθερώθηκαν
- Μετατροπή σακχάρων σε αιθανόλη με αλκοολική ζύμωση
- Διαχωρισμός και καθαρισμός αιθανόλης

### Χρήσεις βιοαιθανόλης

Οι νέοι περιβαλλοντικοί στόχοι που έχει θέσει η Ευρωπαϊκή Ένωση παροτρύνουν την παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς. Στις παλαιότερες εποχές, τα φθηνά συμβατικά καύσιμα και το μεγάλο κόστος προμήθειας και επεξεργασίας πρώτων υλών δεν ενίσχυε την καινοτομία και τον ανταγωνισμό των βιομηχανιών βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς. Βασικότεροι παράγοντες που πρέπει να συνεκτιμηθούν στην παραγωγή βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς είναι τα κόστη των επιμέρους διεργασιών, ενέργειας και χημικών, τα οποία συνεχώς μειώνονται με την ανάπτυξη βιοτεχνολογικών καινοτομιών [5].

Η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται κυρίως σε τρεις τομείς:

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

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

Η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο της βενζίνης ή πιο συχνά σε μίγματα με τη βενζίνη. Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται οι ιδιότητες της βιοαιθανόλης συγκριτικά με αυτές της βενζίνης:



Πίνακας 1.2 Ιδιότητες βιοαιθανόλης και βενζίνης [8]

Ιδιότητα	Βενζίνη	Βιοαιθανόλη
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

Η βιοαιθανόλη έχει λιγότερη θερμογόνο δύναμη από την πετροχημική βενζίνη κάτι που εκδηλώνεται και στη μικρότερη ενεργειακή της απόδοση (2/3 της βενζίνης). Συνήθως η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται σε μίγματα με βενζίνη σε ποσοστά 10% και 90% αντίστοιχα (E10) και το καύσιμο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσιο στους υπάρχοντες κινητήρες. Ωστόσο, η βιοαιθανόλη έχοντας πιο χαμηλή θερμοκρασία εξάτμισης από αυτή της βενζίνης, μπορεί να εμφανίσει δυσκολία στην εκκίνηση της μηχανής σε κρύο περιβάλλον. Παρ' όλα αυτά εμφανίζει και σημαντικά προτερήματα, όπως υψηλότερο αριθμό οκτανίου RON και υψηλότερο δείκτη αντικροτικότητας έναντι της βενζίνης, εξασφαλίζοντας έτσι ομαλότερη λειτουργία του κινητήρα αφού μειώνει τα ποσοστά αυτανάφλεξης στο θάλαμο καύσης και περιορίζει το «χτύπημα». Ορισμένες χώρες προωθούν διαφορετικές αναλογίες αιθανόλης και βενζίνης (85% αιθανόλη και 15% βενζίνη), στα ειδικά ευέλικτα οχήματα "Flexible Fuel Vehicles-FFVs", τα οποία έχουν εξελιχθεί με κατάλληλο τρόπο έτσι ώστε να προστατεύουν τους κινητήρες εσωτερικής καύσης από την καύση αιθανόλης υψηλής συγκέντρωσης. Τέλος οι Η.Π.Α. προωθούν καύσιμο με αναλογία 85% βενζίνη και 15% αιθανόλη (E15)[8].

## Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης

### Πλεονεκτήματα

- Βιοκαύσιμο 2<sup>ης</sup> γενιάς, αφού μπορεί να παραχθεί και από απόβλητα διεργασιών.
- Ευδιάλυτη στο νερό και έτσι δεν προκαλεί ρυπαντικά προβλήματα σε περίπτωση διαρροής.
- Πληθώρα πρώτων υλών από τις οποίες μπορεί να παραχθεί.
- Υψηλός αριθμός οκατανίου με χαμηλό κόστος.
- Ορισμένα μίγματα βιοαιθανόλης-βενζίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν αυτούσια σε όλους τους βενζινοκινητήρες.
- Η υψηλή περιεκτικότητά της σε οξυγόνο μειώνει τα επίπεδα μονοξειδίου του άνθρακα στους αέριους ρύπους περισσότερο από οποιονδήποτε άλλο οξυγονοποιητή [9,10,11].

### Μειονεκτήματα

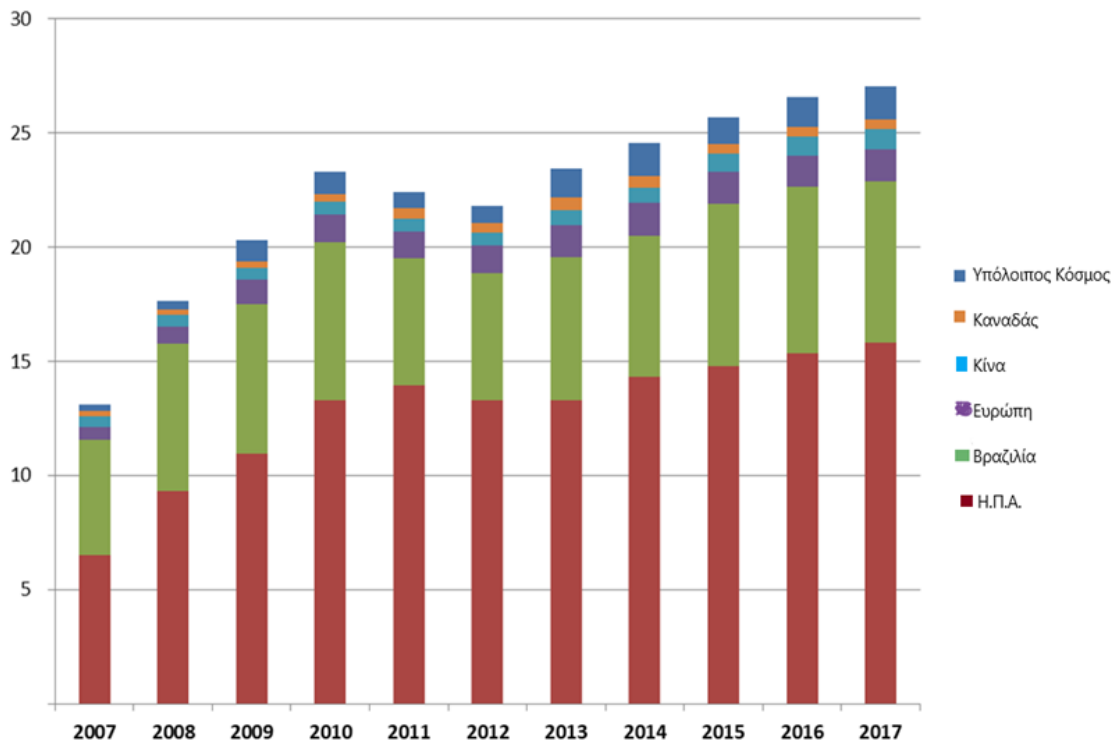
- Η προοπτική αύξησης της τιμής της βιοαιθανόλης μπορεί να στρέψει τον πρωτογενή τομέα στην καλλιέργεια πρώτων υλών βιοκαυσίμων και να οδηγήσει σε παγκόσμια αύξηση των τιμών των τροφίμων.
- Η εγκατάσταση μονάδας επεξεργασίας και παραγωγής βιοαιθανόλης είναι δαπανηρή.
- Το ενεργειακό περιεχόμενο της βιοαιθανόλης είναι χαμηλότερο από το αντίστοιχο της βενζίνης [9, 10, 11].

## **1.2 Η παραγωγή βιοαιθανόλης σε Ευρώπη και παγκοσμίως - Νομοθεσία**

Η πολιτική της βιώσιμης ανάπτυξης σε παγκόσμιο αλλά και ευρωπαϊκό επίπεδο προβλέπει την σταδιακή αντικατάσταση των συμβατικών ορυκτών καυσίμων από τα βιοκαύσιμα, με στόχο τη μείωση των περιβαλλοντικών ρύπων. Χώρες όπως η Κίνα και οι Η.Π.Α. εξελίσσουν συνεχώς τον βιομηχανικό τομέα της παραγωγής βιοαιθανόλης πρώτης και δεύτερης γενιάς, καθιστώντας έτσι αυτή την ενεργειακή μετάβαση εφικτή. Η Ευρωπαϊκή Ένωση μέσα από τη ψήφιση υποχρεωτικών διατάξεων για τα κράτη-μέλη της, υιοθετεί παρόμοιες πολιτικές που προβλέπουν την άμεση εφαρμογή τους στα πλαίσια της οικονομικής αειφορίας.

Οι κυριότερες χώρες με τις μεγαλύτερες παραγωγικές δυνατότητες βιοαιθανόλης, είναι οι Η.Π.Α., η Κίνα και η Βραζιλία, αναπτύσσοντας τις σχετικές βιομηχανίες με γρήγορο

ρυθμό. Το έτος 2005, οι Η.Π.Α. ξεπέρασαν σε παραγωγή βιοαιθανόλης τη Βραζιλία κατά 140 εκατομμύρια λίτρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι μέχρι το προηγούμενο έτος η Βραζιλία διατηρούσε την πρώτη θέση στον κόσμο. Από το 2005 έως και σήμερα, η σύνθεση αμερικανικής βιοαιθανόλης σημειώνει συνεχόμενη αύξηση, καταλαμβάνοντας έτσι την πρώτη θέση σε δυναμική παραγωγής στον πλανήτη. Σε ανερχόμενη δύναμη στην παραγωγή βιοαιθανόλης κατατάσσεται η Κίνα, ενώ παρόμοιες τάσεις δείχνουν ο Καναδάς και η Ινδία. Στην ευρωπαϊκή ήπειρο, οι χώρες που κυρίως ανέπτυξαν και υιοθέτησαν τα εργοστάσια βιοαιθανόλης ήταν η Γαλλία και η Αυστρία και έπειτα άλλες χώρες όπως η Γερμανία, η Σουηδία και η Ισπανία. Από το 2012, στο χώρο της πράσινης ανάπτυξης προσπάθησε να μπει και η Ρωσία, με συνολική παραγωγικότητα 2 εκατομμύριους τόνους βιοαιθανόλης από 30 νέες μονάδες επεξεργασίας. Στο Σχήμα 1.6 φαίνεται 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 τμηματικά η συνολική παραγωγή κάθε χώρας σε εκατομμύρια γαλόνια κατά τη δεκαετία 2007-2017.

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

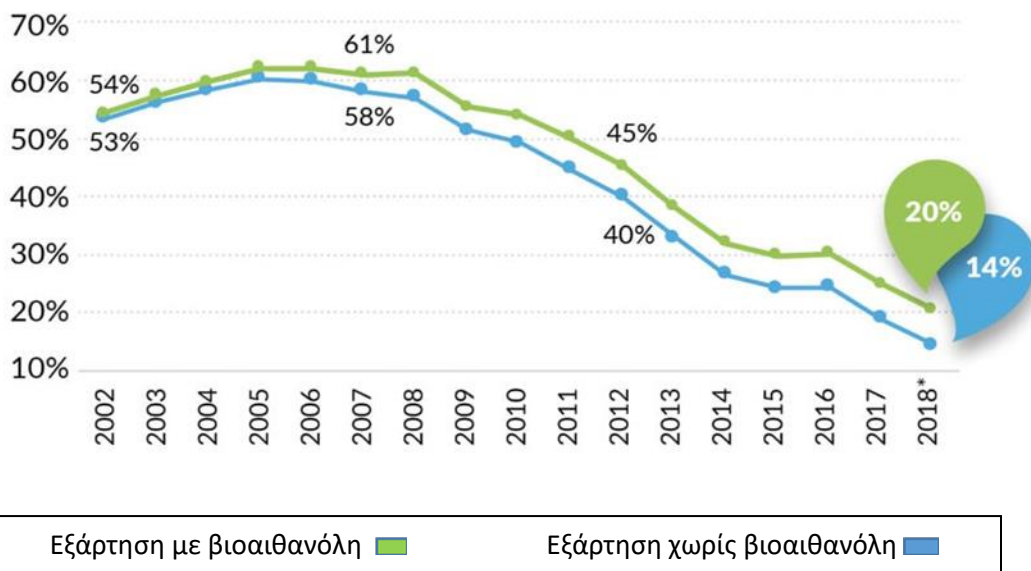
Χώρα	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Η.Π.Α.	6.521	9.309	10.938	13.298	13.948	13.300
Βραζιλία	5.019	6.472	6.578	6.922	5.573	5.577
Ευρώπη	570	734	1.040	1.209	1.168	1.179
Κίνα	486	502	542	542	555	555
Καναδάς	211	238	291	357	462	449
Υπόλοιποι	315	389	914	985	698	752
<b>Συνολικά</b>	<b>13.123</b>	<b>17.644</b>	<b>20.303</b>	<b>23.311</b>	<b>22.404</b>	<b>21.812</b>
Χώρα	2013	2014	2015	2016	2017	2018
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>

Από τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα, είναι εμφανές ότι από το 2012 και έπειτα υπάρχει αυξητική τάση στην παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης. Επιπλέον, αξιοπρόσεχτη είναι η παραγωγή της Κίνας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης, η συνεισφορά των οποίων θα συγκριθεί μαζί με άλλες χώρες στη συνέχεια.

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

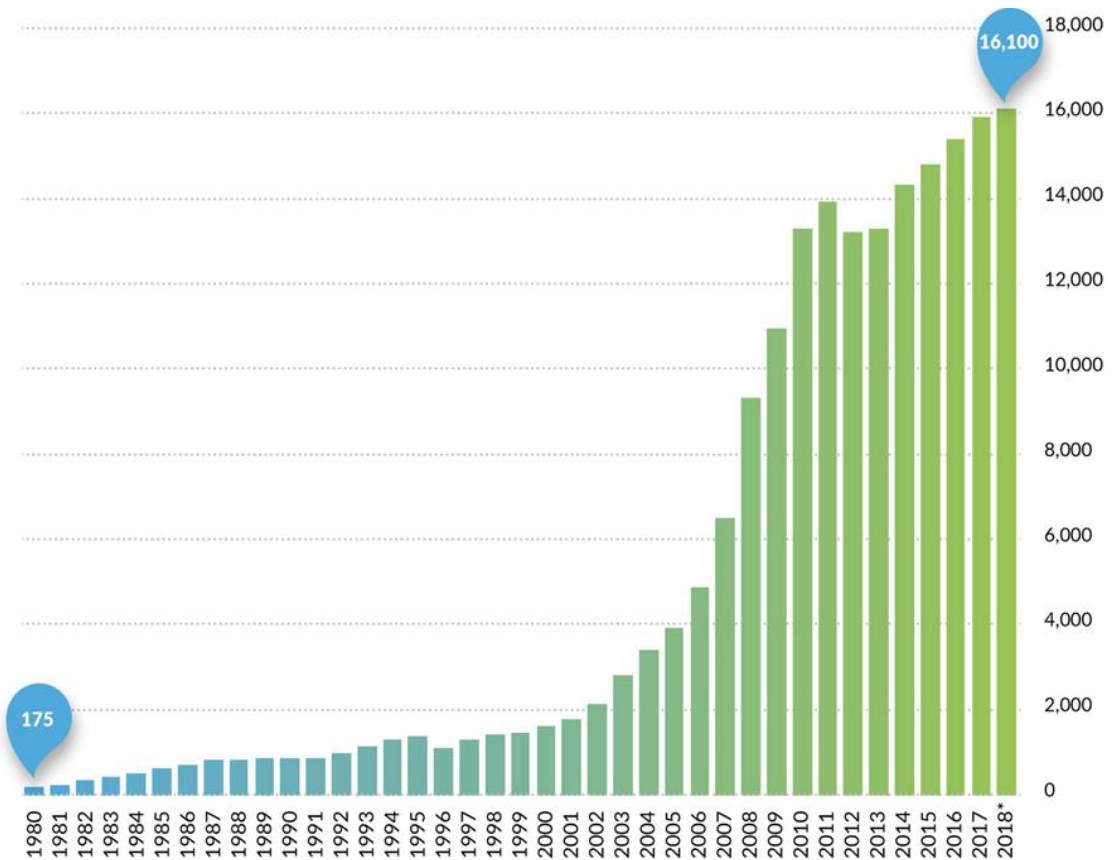
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η ολοένα και αυξανόμενη αμερικανική παραγωγή βιοαιθανόλης, βοήθησε σημαντικά τις Η.Π.Α. να περιορίσουν τις εισαγωγές πετρελαιοειδών ενισχύοντας την ενεργειακή αυτονομία τους. Τυπικά, το 2018 οι Η.Π.Α. εισήγαγαν το 14% των ετήσιων ενεργειακών τους αναγκών, εξοικονομώντας 594 εκατομμύρια βαρέλια αργού πετρελαίου λόγω της συμβολής της εγχώριας σύνθεσης βιοαιθανόλης (16 δισεκατομμύρια γαλόνια). Χωρίς τα εργοστάσια βιοκαυσίμων, η αμερικανική ενεργειακή εξάρτηση από άλλες χώρες, αναφορικά με τα ορυκτά καύσιμα, θα έφτανε το 20%. Στη συνέχεια το Σχήμα 1.7 παρουσιάζει την 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]

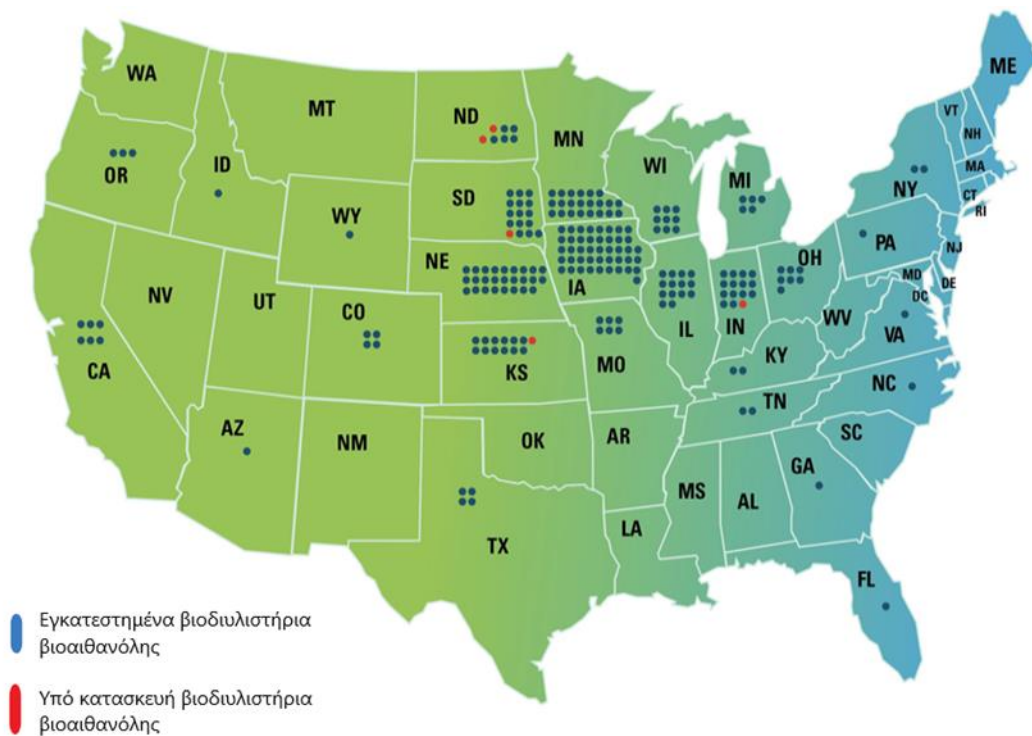
Ωστόσο, η ενεργειακή ανεξαρτησία παραμένει στους βασικότερους στόχους του προγράμματος του εθνικού μοντέλου για τα Ανανεώσιμα Καύσιμα. Το πρόγραμμα αυτό προωθεί την οικιακή ενεργειακή κατανάλωση όπως και δυνατότητα ευέλικτων επιλογών στα πρατήρια καυσίμων για το καταναλωτικό κοινό. Κύρια αιτία αυτών των μεταρρυθμίσεων, είναι τα μεγάλα ποσά που πληρώνουν οι Η.Π.Α. στα κράτη που συμμετέχουν στον ΟΠΕΚ (Οργανισμός Εξαγωγών Πετρελαιοπαραγωγών Κρατών). Συγκεκριμένα, για το έτος 2018 η αξία των εισαγωγών αργού πετρελαίου που έγινε από χώρες όπως η Νιγηρία, η Βενεζουέλα, το Ιράν, η Σ. Αραβία κ.α. ανήλθε στα 54 δισεκατομμύρια δολάρια ή αλλιώς 425 δολάρια ανά νοικοκυριό των χωρών αυτών [13].

Το πρωτοφανές επίπεδο παραγωγής των 16,1 δισεκατομμυρίων γαλονιών το 2018 στις Η.Π.Α. τις κατέταξε στην κορυφή των κρατών που δραστηριοποιούνται στην παραγωγή βιοαιθανόλης. Στο Σχήμα 1.8 αποτυπώνεται το παραγωγικό άλμα των αμερικανικών βιοδιυλιστηρίων την περίοδο 2007-2018 [13].



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

Καταλυτικός παράγοντας για το νέο ρεκόρ παραγωγικότητας αποτέλεσαν τα 210 εν ενεργεία βιοδιυλιστήρια σε 27 αμερικανικές πολιτείες. Στο Σχήμα 1.9 φαίνονται τα υπό κατασκευή εργοστάσια [13].



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

Οι Η.Π.Α. αποτελούν τον μεγαλύτερο παραγωγό βιοαιθανόλης προερχόμενη από καλαμπόκι, το οποίο συγκεκριμένα ευθύνεται για το 90% της συνολικής παραγωγής ενώ το υπόλοιπο 10% καλύπτεται από το γλυκό σόργο. Μεγάλη διευκόλυνση, παρέχεται από την αμερικανική κυβέρνηση η οποία προσφέρει τις μέγιστες επιχορηγήσεις για τις καλλιέργειες καλαμποκιού, στηρίζοντας έτσι ταυτόχρονα και τις σχετικές αγροτικές εταιρείες[14].

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το 10% της βιοαιθανόλης που προέρχεται από σιτηρά υπόκειται σε υγρή άλεση ενώ το υπόλοιπο 90% σε ξηρή άλεση, μέθοδοι οι διαφορές των οποίων θα αποσαφηνιστούν στη συνέχεια. Επιπλέον, τα εργοστάσια παραγωγής αιθανόλης από βιομάζα στις Η.Π.Α. χαρακτηρίζονται για τις προηγμένες τεχνολογικά μεθόδους που εφαρμόζουν [14].



Στα μίγματα βιοκαυσίμων με ορυκτά καύσιμα, υπάρχει τόσο περιβαλλοντικό όσο και οικονομικό όφελος, αφού το καταναλωτικό κοινό μεταβαίνει από τη χρήση του E10 στη χρήση του E15 το οποίο περιέχει ακόμη μεγαλύτερη αναλογία βιοαιθανόλης. Ταυτόχρονα, η αυτοκινητοβιομηχανία προσαρμόζει τα μοντέλα της στο νέο καύσιμο E15, εκτιμώντας ότι το 90% των αυτοκινήτων στις Η.Π.Α. θα κινείται με E15 [15].

Τα απόβλητα επεξεργασίας της παραγωγής βιοαιθανόλης από διάφορες πρώτες ύλες, αξιοποιούνται στις Η.Π.Α. ως ζωοτροφές και καλαμποκέλαιο. Το τελευταίο μπορεί μάλιστα να τροφοδοτήσει τη διαδικασία παραγωγής ενός ακόμη βιοκαυσίμου, του βιοντίζελ. Χαρακτηριστικά, 25,4 κιλά καλαμποκιού σε ένα βιοδιυλιστήριο ξηρής άλεσης αποφέρουν [15]:

- 10,84 λίτρα μετουσιωμένης βιοαιθανόλης
- 7,16 κιλά ζωοτροφής με 10% υγρασία
- 0,34 κιλά καλαμποκέλαιο (για ζωοτροφή ή τροφοδοσία παραγωγής βιοντίζελ)
- 7,43 κιλά βιογενούς διοξειδίου του άνθρακα για χρήση στις βιομηχανίες τροφών, ποτών κ.α.

#### Παραγωγή βιοαιθανόλης στη Βραζιλία

- Η Βραζιλία εδώ και 90 χρόνια, πρωτοστατεί στη γενικευμένη υιοθέτηση της βιοαιθανόλης ως καύσιμο οχημάτων. Οι πρώτοι πειραματισμοί χρησιμοποιώντας μίγματα βενζίνης με 5% άνυδρη βιοαιθανόλη ξεκίνησαν το 1931 και τελικά καθιερώθηκε ως αναλογία καυσίμων το 1938. Έκτοτε, σημαντική ευκαιρία στη χρήση βιοαιθανόλης στα συμβατικά καύσιμα μεταφορών, αποτέλεσε το πρόγραμμα Proalcool, ως απάντηση της κυβέρνησης της Βραζιλίας στην πρώτη πετρελαϊκή κρίση του 1970. Οι τιμές του πετρελαίου αυξήθηκαν ραγδαία, με αποτέλεσμα ο δικτάτορας Γκάζελ το 1973 να επιβάλλει ένα τολμηρό πρόγραμμα αντικατάστασης της πετροχημικής βενζίνης από τη βιοαιθανόλη σε ορίζοντα 30 ετών. Ο κυβερνητικός σχεδιασμός προέβλεπε τη χορήγηση υψηλών επιδοτήσεων για ανέγερση εργοστασιακών μονάδων παραγωγής βιοαιθανόλης. Επιπλέον, σε καταναλωτικό επίπεδο, η κυβέρνηση ανέπτυξε δίκτυο αντλιών βιοαιθανόλης στα υπάρχοντα πρατήρια καυσίμων, ενώ έδωσε φοροαπαλλαγές στα αυτοκίνητα κινούμενα με βιοαιθανόλη [16].

Το 2017 η Βραζιλία παρήγαγε 28,254 δισεκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης, ενώ την επόμενη χρονιά η συνολική παραγωγή έφτασε τα 30,755 δισεκατομμύρια λίτρα (αύξηση +9%) . Το 2018 τα καύσιμα απορρόφησαν το 90% της παραγωγής βιοαιθανόλης, ποσοστό αυξημένο κατά 9% συγκριτικά με το 2017. Το 2018 βασική πρώτη ύλη τροφοδοσίας των βιοδιυλιστηρίων αποτέλεσε το ζαχαροκάλαμο προσφέροντας το 61% της συνολικής του καλλιέργειας παρουσιάζοντας αύξηση συγκριτικά με το 53,6% του προηγούμενου έτος. Η μεταβολή αυτή αποδίδεται στην πλεονασματική παραγωγή ζάχαρης την περίοδο 2018-2019 η οποία οδήγησε σε πτωτική πορεία τις τιμές του εμπορεύματος. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την αυξημένη ζήτηση βιοαιθανόλης στα καύσιμα, έστρεψε τα εργοστάσια βιοκαυσίμων στην αξιοποίηση μεγαλύτερων ποσοτήτων ζάχαρης. Από την άλλη, σε μικρότερη κλίμακα, η ποσότητα βιοαιθανόλης προερχόμενη από καλαμπόκι το 2018 έφτασε τα 830 εκατομμύρια λίτρα. Το νούμερο αυτό ήταν αυξημένο κατά 305 εκατομμύρια λίτρα από την προηγούμενη χρονιά, παρά το γεγονός ότι το καλαμπόκι ευθύνεται για το μόλις 2% της παραγωγικής δυνατότητας σε βιοαιθανόλη στη Βραζιλία. Μια αναμενόμενη παρατήρηση είναι ότι λόγω της αφθονίας σακχαρούχων φυτών, η Βραζιλία δεν έχει σημαντική συνεισφορά στα βιοκαύσιμα 2<sup>ης</sup> γενιάς. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτελεί η ετήσια παραγωγή 25 εκατομμυρίων λίτρων βιοαιθανόλης προερχόμενη από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα.[17].

Οι εισαγωγές βιοαιθανόλης το 2018 ήταν αυξημένες κατά 255 εκατομμύρια λίτρα συγκριτικά με το 2017, φθάνοντας τα 2 δισεκατομμύρια λίτρα. Από την άλλη, οι εξαγωγές περιορίστηκαν στα 1,12 δισεκατομμύρια λίτρα σημειώνοντας πτώση της τάξης του 18% από το 2017. Τα παραπάνω στοιχεία αναδεικνύουν το αρνητικό εμπορικό ισοζύγιο για τη βιοαιθανόλη στη Βραζιλία παρά την αύξηση της εγχώριας παραγωγικής δυναμικότητας της χώρας. Κύριος προμηθευτής βιοαιθανόλης είναι οι Η.Π.Α. [17].

#### Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Κίνα

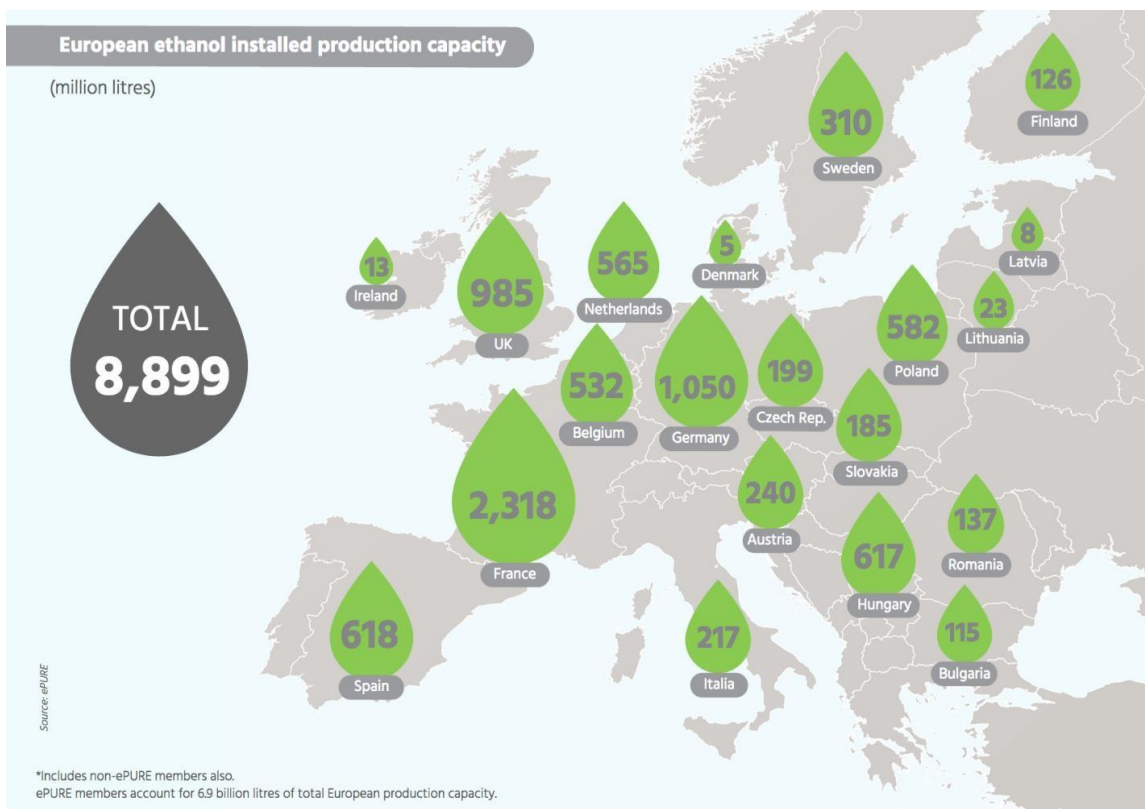
Η Κίνα αποτελεί τον τρίτο μεγαλύτερο παραγωγό βιοαιθανόλης σε παγκόσμιο επίπεδο, σημειώνοντας ραγδαία ανάπτυξη τα τελευταία 10 χρόνια. Παράλληλα, σκοπεύει να ανταποκριθεί στην ολοένα και αυξανόμενη ανάγκη κάλυψης ενεργειακών απαιτήσεων σε βιοκαύσιμα τριπλασιάζοντας την εγχώρια παραγωγή έως το 2020. Ο επικεφαλής του κινεζικού Κέντρου Ανανεώσιμης Ενέργειας, αποκάλυψε ότι η χώρα επιδιώκει την αδειοδότηση ανέγερσης εργοστασιακών μονάδων παραγωγής βιοαιθανόλης προκειμένου να φτάσουν τον παραγωγικό στόχο των 8,37 δισεκατομμυρίων λίτρων σε ετήσια βάση [18].

Η παραγωγική δυναμική της Κίνας το 2018 ανήλθε στα 3,55 δισεκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης. Ταυτόχρονα, οι μεταρρυθμίσεις της Κίνας στον τομέα των μεταφορών, προβλέπουν την υποχρεωτική χρήση της βιοαιθανόλης σε αναλογία με τη βενζίνη με αρχή το 2020. Με τις υπάρχουσες υποδομές στα βιοδιυλιστήρια της Κίνας, η χώρα θα είναι υποχρεωμένη να εισάγει βιοαιθανόλη από άλλες εξαγωγικές χώρες, όπως οι Η.Π.Α. και η Βραζιλία αφού το ύψος των μεταρρυθμίσεων αυτών μεταφράζεται στα 19 δισεκατομμύρια λίτρα [18].

#### Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Ευρώπη

Στην Ευρώπη, τα κράτη που παράγουν αξιοσημείωτες ποσότητες βιοαιθανόλης είναι ελάχιστα, με τη θέσπιση νομοθετικού παλαισίου για τα βιοκαύσιμα να γίνεται το 2003 και έπειτα. Ωστόσο η εκτόξευση παραγωγικότητας σημειώθηκε τις περιόδους 1997-1999 και 2008-2010 αγγίζοντας το ποσοστό του 93% [16].

Οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή βιοαιθανόλης στην Ευρώπη είναι η Γαλλία, η Αγγλία, η Γερμανία ακολουθούμενες από την Ισπανία, την Ουγγαρία και το Βέλγιο. Στο Σχήμα 1.10 φαίνεται η παραγωγική ικανότητα της κάθε χώρας το 2016.



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

Στην πλειονότητά της, η ευρωπαϊκή βιοαιθανόλη αξιοποιείται στα βιοκαύσιμα. Στον Πίνακα 1.4 παρουσιάζονται τα ποσοστά συμμετοχής των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας στα συμβατικά καύσιμα που χρησιμοποιούνται στις μεταφορές:

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

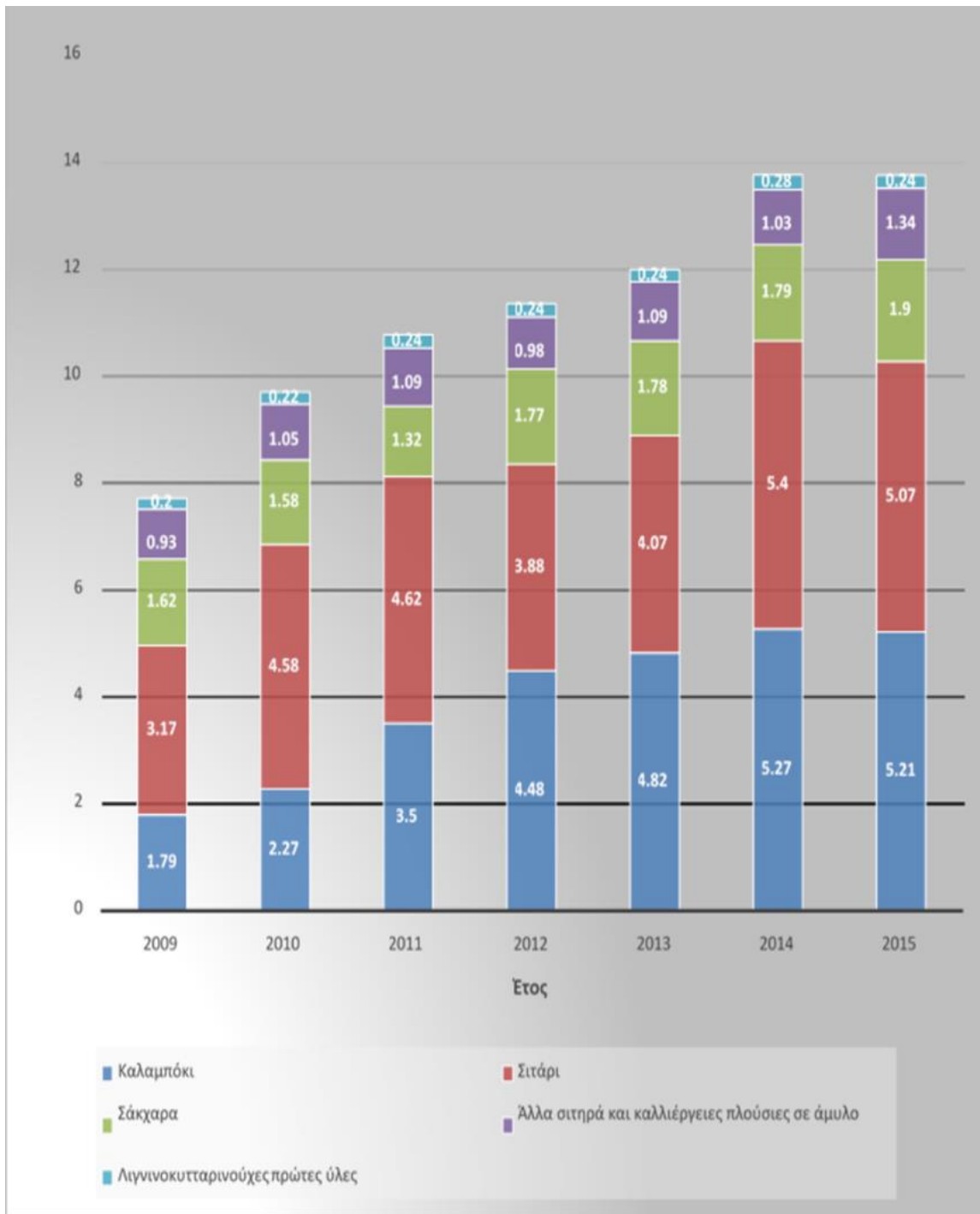
Η περίοδος 2011-2014 σημαδεύτηκε από γενική αύξηση της χρήσης βιοκαυσίμων σε όλες τις χώρες της Ευρώπης.

Όπως φαίνεται και από τον Πίνακα 1.4 για το 2014, οι Σκανδιναβικές χώρες και πιο συγκεκριμένα η Σουηδία και η Φινλανδία, σημείωσαν τα μεγαλύτερα μερίδια χρήσης βιοκαυσίμων στις μεταφορές, φτάνοντας το 19,2% και 21,6% αντίστοιχα. Η συνεισφορά τους αυτή παρέσυρε προς τα πάνω το μέσο όρο των υπόλοιπων ευρωπαϊκών χωρών, προσεγγίζοντας συνολικά το 5,9%.

Τα στοιχεία αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι χώρες της Ε.Ε. πρέπει να κατευθυνθούν περισσότερο στις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας και πιο συγκεκριμένα αυξάνοντας τη χρήση βιοκαυσίμων στις μεταφορές τους. Ενδεικτικά, ο μέσος όρος κατανάλωσης πράσινων καυσίμων, για τις υπόλοιπες χώρες πέρα των Σκανδιναβικών, παρέμεινε κάτω από το 7%, με μόνες εξαιρέσεις την Αυστρία και τη Γαλλία με 7,8% και 8,9% αντιστοίχως.

Ωστόσο, η Ευρωπαϊκή Ένωση συνεχίζει να εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας για την κάλυψη των ενεργειακών της αναγκών, αφού αναγκάζεται να εισάγει το 80% της ενέργειας που καταναλώνεται ετησίως. Εκτιμήσεις υπολογίζουν ότι αν το ενεργειακό μοντέλο της Ε.Ε. δε μετασχηματιστεί, αυτό το ποσοστό θα αυξηθεί εκ νέου μέχρι το 2030, καθιστώντας την έτσι επιρρεπή σε αναταράξεις προσφοράς και τιμών των καυσίμων από τρίτες χώρες [19].

Η Ευρώπη παράγει βιοαιθανόλη κυρίως από σιτάρι και καλαμπόκι. Άλλες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται, αν και όχι σε μεγάλο βαθμό, είναι τα ζαχαρότευτλα (πλούσια σε σάκχαρα), λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα, όπως και φυτά με μεγάλη περιεκτικότητα σε άμυλο. Η παραγωγή βιοαιθανόλης γίνεται κυρίως από πρωτογενή παραγωγή και δευτερευόντως από δευτερογενή. Γενικά, κάθε πρώτη ύλη ακολουθείται από διαφορετικές διεργασίες και επεξεργασία και για αυτό το λόγο, η δυνατότητα χρήσης της θα πρέπει να εξετάζεται με τεχνολογικά και τεχνοοικονομικά κριτήρια. Στα πλαίσια σύνδεσης του τομέα ενέργειας με τις αγροτικές ενεργειακές καλλιέργειες, οι οποίες προορίζονται για βιοκαύσιμα μέσα από τη νέα αγροτική πολιτική της Ε.Ε., επιχειρείται ο έλεγχος και η μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου (CO<sub>2</sub>). Οι αποφάσεις αυτές ευθυγραμμίζονται και με τις περιβαλλοντικές δεσμεύσεις της Ευρωπαϊκής Ένωσης όπως αυτές προβλέπονται στο Πρωτόκολλο του Κιότο. Στο Σχήμα 1.11 φαίνεται ο καταμερισμός των πρώτων υλών για βιοκαύσιμα στην Ευρώπη (σε εκατομμύρια τόνους) τα τελευταία χρόνια [19].



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

Από το παραπάνω σχήμα, παρατηρείται αυξητική τάση στην παραγωγή βιοαιθανόλης τα τελευταία δέκα χρόνια. Ακόμη, μόλις το 2% των πρώτων υλών είναι λιγνοκυτταρινούχας προέλευσης και ως εκ τούτου, η βιοαιθανόλη δεύτερης γενιάς παραμένει σε επίπεδα μικρής παραγωγικής δυναμικότητας. Ωστόσο, χώρες όπως η Σουηδία και η Δανία έχουν αναπτύξει ιδιαίτερες μεθόδους σύζευξης εγκαταστάσεων παραγωγής βιοαιθανόλης με ηλεκτροπαραγωγικά εργοστάσια. Αποτέλεσμα αυτού του συνδυασμού είναι η ενίσχυση της παραγωγής βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς, η οποία γίνεται ακόμη πιο ελκυστική όσο οι εξελίξεις στη βιοτεχνολογία επιτρέπουν μελέτη και εκμετάλλευση ενζύμων χαμηλού κόστους.

Επισημαίνεται ότι ενεργειακές καλλιέργειες σιταριού αξιοποιούνται πρωτίστως σε χώρες όπως το Βέλγιο, η Αγγλία, η Γερμανία και η Γαλλία, ενώ καλλιέργειες καλαμποκιού αναπτύσσονται κυρίως στην Ισπανία και την Ουγγαρία.

Στην πορεία παρουσιάζονται οι τεχνικές παραγωγής και οι πρώτες ύλες των μεγαλύτερων παραγωγών βιοαιθανόλης ανά την Ευρώπη.

### Γαλλία

Η Γαλλία ευθύνεται για το 25% της συνολικής ευρωπαϊκής παραγωγής βιοαιθανόλης, καθιστώντας την, την πρώτη παραγωγική δύναμη. Υπολογίζεται ότι το 1/3 της βιοαιθανόλης που παράγεται, αξιοποιείται σε διάφορες βιομηχανίες (τροφίμων, ποτών, φαρμάκων), ενώ τα υπόλοιπα 2/3 χρησιμοποιούνται ως καύσιμο.

Η φυτική βιομάζα που χρησιμοποιείται στη Γαλλία προέρχεται από σιτάρι και καλαμπόκι από την ομάδα των δημητριακών, όπως και από κασάβα, πατάτες και ζαχαρότευτλα. Χαρακτηριστική αναφορά γίνεται στο βιοδιυλιστήριο Tereos, παραγωγικότητας 675.000 m<sup>3</sup> βιοαιθανόλης, στο οποίο γίνεται επεξεργασία 19,8 εκατομμυρίων τόνων ζαχαρότευτλου, κάνοντας τη Γαλλία πρώτη σε χρήση ζαχαρότευτλου στην Ευρώπη.

Τα γαλλικά εργοστάσια, επεξεργάζονται τις πρώτες ύλες με συμβατικές τεχνικές. Οι σπόροι των δημητριακών περνούν πρώτα από την άλεση και μετά γίνεται προσθήκη αμυλασών και ζεστού νερού για να πραγματοποιηθεί η ενζυμική υδρόλυση, μετατρέποντας το άμυλο σε μόρια γλυκόζης. Αναφορικά με τα ζαχαρότευτλα, γίνεται θρυμματισμός των καλαμιών, και έπειτα ασκείται πίεση στο άλεσμα για να ολοκληρωθεί η αποχύμωση [20].



## Γερμανία

Μετά τη Γαλλία, η Γερμανία κατέχει τη δεύτερη θέση στην παραγωγή βιοαιθανόλης. Η βιομάζα που επεξεργάζεται αποτελείται κατά 21% από φυτά με υψηλή συγκέντρωση σακχάρων, κατά 78% από καλλιέργειες σιταριού και κριθαριού, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό καλύπτεται από απόβλητα διάφορων δραστηριοτήτων. Ωστόσο το έτος 2017 σημειώθηκε σημαντική πτώση στη δευτερογενή παραγωγή βιοαιθανόλης (-27,8%) όπως και στο σύνολο της παραγωγής βιοαιθανόλης (-8,8%) [21].

## Αγγλία

Η συντριπτική πλειονότητα των βιοδιυλιστηρίων στην Αγγλία επεξεργάζονται σιτάρι, πέραν ενός (British Sugar), το οποίο τροφοδοτείται με ζαχαρότευτλα. Τα μεγαλύτερα εργοστάσια έχουν ετήσια παραγωγική δυναμική 400 εκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης από 1,1 εκατομμύρια τόνους σιταριού (διυλιστήρια Vivergo και Ensus) έκαστο. Ένα ακόμη σύνθητες προϊόν που παράγουν, όπως και η πλειονότητα των βιοδιυλιστηρίων, είναι οι ζωοτροφές [22].

## Ισπανία

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

## Βέλγιο

Το Βέλγιο καλλιεργεί τρεις φορές περισσότερο σιτάρι από ότι η υπόλοιπη Ευρώπη συνδυαστικά, κάνοντας χρήση βοηθητικών παροχών όπως λιπάσματα και φυτοφάρμακα. Για το λόγο αυτό, τα βελγικά βιοδιυλιστήρια τροφοδοτούνται εκτεταμένα με βιομάζα σιταριού. Σημειώνεται ακόμη, ότι τα εργοστάσια εξοικονομούν εισαγωγές φυσικού αερίου με το να αξιοποιούν το σιτάρι ως καύσιμο ηλεκτροπαραγωγικών μονάδων, ικανοποιώντας μέρος των ενεργειακών τους απαιτήσεων [24].

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

Η στοχοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη χρήση βιοκαυσίμων το 2018 για το 2020, περιελάμβανε τη δεσμευτική κάλυψη του 20% των συνολικών ενεργειακών απαιτήσεων των χωρών της Ε.Ε. από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, ενώ προέβλεπε το 10% των ενεργειακών αναγκών σε μεταφορές να ικανοποιείται από μίγματα βιοκαυσίμων με πετροχημικά καύσιμα. Σχετικές μελέτες δείχνουν ότι η Ε.Ε. βρίσκεται κοντά στο στόχο του 20%, απέχοντας ωστόσο από το 10% των μεταφορών [5].

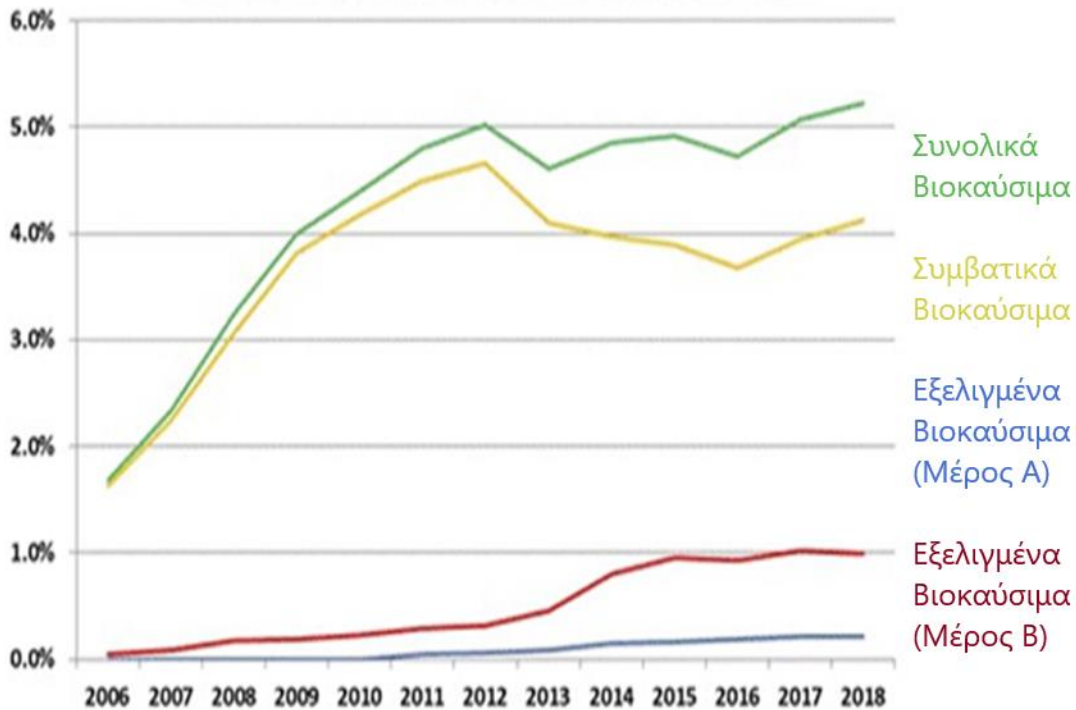
Η αρμόδια υπηρεσία για την κλιματική αλλαγή, η Διεύθυνση Ανανεώσιμης Ενέργειας (ΔΑΕ), έθεσε συγκεκριμένα όρια βιωσιμότητας αναφορικά με τα υγρά βιοκαύσιμα συμβατικής προέλευσης, τα οποία προσαρμόστηκαν από την Ευρωπαϊκή Ένωση στο

ποσοστό του 7% για τα βιοκαύσιμα που παράγονται από τρόφιμα (συμβατικά βιοκαύσιμα) ενώ σε ποσοστό 0,5% (όχι δεσμευτικό όριο) για τα βιοκαύσιμα που δεν προέρχονται από τρόφιμα (εξελιγμένα βιοκαύσιμα) για κάθε χώρα-μέλος [5].

#### Συμβατικά και εξελιγμένα βιοκαύσιμα

Κατά το έτος 2018, η κατανάλωση βιοντίζελ και βιοαιθανόλης σημείωσε άνοδο ως αποτέλεσμα των περιβαλλοντικών στόχων της Ε.Ε. Η αύξηση των εισαγωγών αργεντινικού βιοντίζελ από επεξεργασία σογιέλαιου, είχε αρνητικό αντίκτυπο στην παραγωγή του ευρωπαϊκού συμβατικού βιοντίζελ. Χαρακτηριστικό παράδειγμα, αποτέλεσε η μείωση κατά ένα εκατομμύριο μετρητικούς τόνους (Μ.Τ.) κραμβελαίου της τροφοδοσίας των εγκαταστάσεων παραγωγής βιοντίζελ μέσα στο 2018. Από την άλλη, τα απόβλητα λιπών και λαδιών για παραγωγή βιοντίζελ, όπως και η σύνθεση υδρογονωμένων φυτικών ελαίων, αποδείχθηκαν σταθερότερα απέναντι στις εισαγωγές βιοντίζελ της Νοτίου Αμερικής από φυτικά έλαια. Επιπλέον, οι εμπορικοί δασμοί που εφαρμόστηκαν στις εισαγωγές αμερικανικής βιοαιθανόλης, τόνωσε την ευρωπαϊκή βιομηχανία βιοαιθανόλης χάρη στη μεγαλύτερη ζήτηση [5].

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, τα βιοκαύσιμα αναμιγνύονται υποχρεωτικά με τα πετροχημικά καύσιμα. Για το 2018, τα ποσοστά ανάμιξης για βιοαιθανόλη και βιοντίζελ (μαζί και με υδρογονωμένα φυτικά έλαια) ήταν 3,6% και 5,8% αντίστοιχα ενώ συνδυαστικά ανήλθαν στο 5,2%. Το συγκεκριμένο νούμερο απέχει ακόμη από το στόχο του ορίου του 10% μέσα στο 2020 για τον κλάδο των μεταφορών. Επιπλέον, τα βιοκαύσιμα που δεν προέρχονταν από τρόφιμα (εξελιγμένα βιοκαύσιμα) ανήλθαν στο 1,2% σε μίξη με πετροχημικά καύσιμα, με το 1% εξ αυτών να προέρχεται από απόβλητα ελαίων και λιπών (Μέρος Β) ενώ μόλις το 0,2% να αποδίδεται σε δασικά (έλαιο πεύκου) και αγροτικά παραπροϊόντα (κυτταρινούχα έλαια) (Μέρος Α). Τέλος, τα βιοκαύσιμα που είχαν προέλευση τα τρόφιμα (συμβατικά βιοκαύσιμα) κυμάνθηκαν στο ποσοστό του 4,1% σε μίξη με ορυκτά καύσιμα, αριθμός που προσεγγίζει το 7% του στόχου της Ευρωπαϊκής Επιτροπής. Ακολούθως, στο Σχήμα 1.12 παρουσιάζεται σε διάρκεια ετών, ο καταμερισμός της κάθε κατηγορίας βιοκαυσίμων που χρησιμοποιήθηκε στον κλάδο των μεταφορών σε αναλογίες με τα ορυκτά καύσιμα [5]:



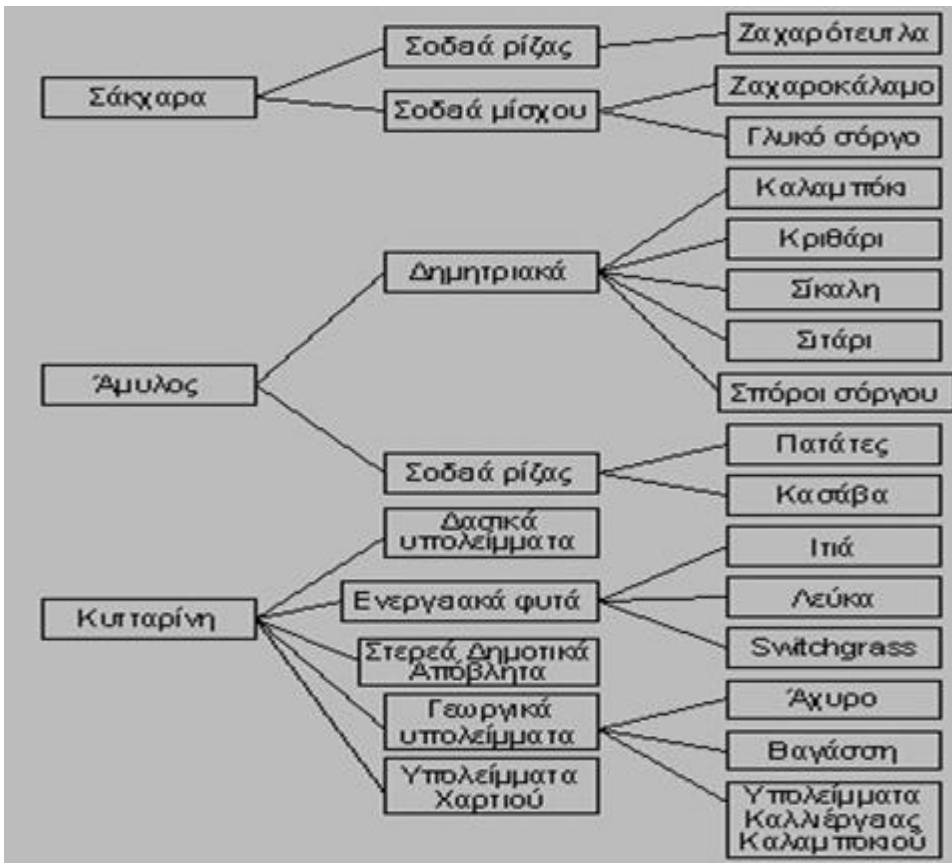
Σχήμα 1.12: Χρήση συμβατικών και εξελιγμένων βιοκαυσίμων στον τομέα των μεταφορών τα τελευταία 13 χρόνια [5]

#### Χρήση βιομάζας για παραγωγή θερμότητας και ηλεκτρικής ενέργειας

Η Ευρώπη κυριαρχεί στην αγορά pellets ξύλου ήδη από το 2016, όπου η κατανάλωση pellets ανήλθε στους 21,7 εκατομμύριους μετρητικούς τόνους (Μ.Τ.). Μέσα στα επόμενα χρόνια, οι ευνοϊκές ρυθμίσεις της Ευρωπαϊκής Ένωσης αλλά και των επιμέρους κρατών-μελών της, εκτίναξαν την κατανάλωση pellet μέσα στο 2018 στους 24 εκατομμύρια τόνους (Μ.Τ.) Τέτοιες ρυθμίσεις αφορούν φοροαπαλλαγές ή επιχορηγήσεις νοικοκυριών προκειμένου να χρησιμοποιούν τα pellet φυτικής βιομάζας ως καύσιμο για θέρμανση. Ενδεικτικό παράδειγμα τέτοιων χωρών είναι η Γερμανία και η Ιταλία, οι οποίες διατηρούν μεγάλες θέσεις στην προμήθεια pellet για οικιακά θερμαντικά σώματα. Όπως γίνεται αντιληπτό, η οικιακή χρήση των pellet αποτελεί μια ανεπτυγμένη και σταθερή αγορά, απορροφώντας το 45% της συνολικής παραγωγής τους συγκριτικά με τη βιομηχανική χρήση των pellet για παραγωγή ηλεκτρισμού και θερμότητας σε καυστήρες [5].

### 1.3 Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης

Η αγροτική και δασοκομική δραστηριότητα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή υπολειμμάτων και αποβλήτων όπως φύλλα, κλαδιά, άχυρο (γεωργικές καλλιέργειες), υπολείμματα βαμβακιού (γεωργικά προϊόντα) και επεξεργασίας ξύλου (δασική βιομάζα). Η χρήση των παραπάνω, τα οποία κατηγοριοποιούνται υπό το γενικό όρο λιγνοκυτταρινούχα υλικά, επιτυγχάνει τη βελτιστοποίηση αξιοποίησης των πρώτων υλών, περιορίζοντας έτσι τα απορρίματα. Ο κυριότερος διαχωρισμός των υλικών γίνεται με βάση το υδατανθρακικό τους περιεχόμενο (κυτταρίνη, άμυλο, σάκχαρα) το οποίο προέρχεται από καλλιέργειες είτε από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα. Η μεγαλύτερη παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης γίνεται από το άμυλο του καλαμποκιού, έπειτα ακολουθεί το σιτάρι, τα ζαχαροκάλαμα και τέλος η βιομάζα από λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες. Στο Σχήμα 1.13 φαίνονται οι διασημότερες πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης και το υδατανθρακικό τους περιεχόμενο :



Σχήμα 1.13: Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης [8]

Από το παραπάνω σχήμα, γίνεται εμφανές ότι η βιοαιθανόλη χρησιμοποιεί πρώτες ύλες που κατηγοριοποιούνται ως εξής :

#### 1. Σακχαρούχα φυτά

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει τις άμεσα ζυμώσιμες σακχαρούχες ουσίες, όπως ο χυμός του ζαχαροκάλαμου ή του γλυκού σόργου. Τα τρία κύρια παραδείγματα σακχαρούχων φυτώ είναι τα εξής:

- Γλυκό σόργο

Το γλυκό περιέχει ποσοστό σακχάρων 9-13% επί χλωρού βάρους. Υπολογίζεται ότι αποδίδει 700-900 λίτρα βιοαιθανόλης ανα στρέμμα καλλιεργήσιμης έκτασης, το οποίο αποφέρει 1,2 τόνους γλυκού σόργου. Πρόκειται για ευπροσάρμοστο φυτό σε κλιματολογικές συνθήκες και εδάφη. Καλλιεργείται σε μονοετή κύκλο και περιέχει μεγάλη ποσότητα σακχάρων και κυτταρίνης, διαθέτει μεγάλη φωτοσυνθετική δυναμικότητα και δεν έχει μεγάλες ανάγκες σε άρδευση και λιπάσματα. [16].



*Σχήμα 1.14: Γλυκό σόργο [16]*

- Ζαχαρότευτλο

Είναι το δεύτερο σε συγκέντρωση σακχάρων φυτό μετά το ζαχαρότευτλο, μιας και οι ρίζες του αποτελούνται σε ποσοστό μέχρι και 20% από σάκχαρα. Ανά τον κόσμο, η Γαλλία είναι ο ισχυρότερος παραγωγός, ακολουθούμενη από χώρες της Βορείου Αμερικής και της Ευρώπης. Η καλλιέργεια ζαχαρότευτλου στην Ελλάδα παρατηρείται σε διάφορες περιοχές της επικράτειας. Το ζαχαρότευτλο δύναται να παράξει 550-700 λίτρα βιοαιθανόλης ανα στρέμμα καλλιεργήσιμης έκτασης και είναι τεύτλο διετούς κύκλου [16].



*Σχήμα 1.15: Ζαχαρότευτλο [16]*

- Ζαχαροκάλαμο

Πρόκειται για ένα φυτό το οποίο μεγαλώνει σε συστάδες και φτάνει σε ύψος τα 2 έως 7 μέτρα. Ανήκει στην οικογένεια των αγρωστωδών και στην τάξη Λεπυράνθη. Είναι φυτό που καλλιεργείται για εμπορικούς λόγους (εξαγωγή ζάχαρης) και αποτελεί γηγενές φυτό της νήσου Νέας Γουινέας, ενώ η πρώτη μαρτυρία καλλιέργειάς του ήταν σε νησιά του Νότιου Ειρηνικού.

Σήμερα, η Βραζιλία είναι η χώρα με τη μεγαλύτερη παραγωγή βιοαιθανόλης προερχόμενη από ζαχαροκάλαμο παγκοσμίως. Το ζαχαροκάλαμο αποτελείται από ίνες ημικυτταρίνης, λιγνίνης και κυτταρίνης ενώ η εξαγωγή του χυμού του (διάλυμα σακάρων 44% σακχαρόζης και 7% λοιπών σακχάρων) γίνεται με άσκηση πίεσης. Τα υπολείμματα επεξεργασίας και καλλιέργειας ζαχαροκάλαμου ενδείκνυνται για παραγωγή βιοαιθανόλης. Υπολογίζεται ότι η ενεργειακή απόδοση ανα στρέμμα καλλιεργήσιμης έκτασης ξεπερνά τα 1,67 GJ και ότι 570 λίτρα βιοαιθανόλης μπορούν να παραχθούν από 1,1 τόνους σακχάρων ζαχαροκάλαμου [16].



Σχήμα 1.16: Ζαχαροκάλαμο [16]

## 2. Αμυλούχα φυτά

Φυτά υψηλής περιεκτικότητας σε άμυλο έχουν τη δυνατότητα να αποτελέσουν βασικό υλικό για παραγωγή βιοαιθανόλης. Τα μονομερή της D-γλυκόζης συνθέτουν το βιοπολυμερές του αμύλου. Ωστόσο, για να μπορέσει το άμυλο να χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή βιοαιθανόλης, είναι απαραίτητο να υδρολυθούν οι αλυσίδες αυτού του πολυμερούς της γλυκόζης (υδρολυτική αντίδραση καταλυόμενη από το ένζυμο της γλυκοαμυλάσης) και στην πορεία να γίνει αλκοολική ζύμωση με τη συμβολή μυκήτων. Έπειτα απελευθερώνεται ένα ισομερές της γλυκόζης, το σάκχαρο της δεξτρόζης (D-γλυκόζη). Στην πορεία σειρά έχουν οι διεργασίες της αλκοολικής ζύμωσης, απόσταξης και αφυδάτωσης για να ληφθεί στο τέλος η άνυδρη αιθανόλη (περιεκτικότητα >98%). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτού του δρόμου αξιοποίησης αμυλούχων φυτών είναι η Ευρώπη και η Βόρεια Αμερική οι οποίες τα χρησιμοποιούν ευρύτατα. Παρακάτω ακολουθούν τα είδη των σπουδαιότερων αμυλούχων φυτών [25]:

- Σιτάρι-κριθάρι

Το σιτάρι αποτελεί το σπουδαιότερο φυτό από την ομάδα των δημητριακών ανά την υφήλιο. Από την άλλη το κριθάρι έχει πρωταρχικό ρόλο στις βιομηχανίες οινοπνευματωδών και ζωοτροφών. Και τα δύο ακολουθούν ετήσιο κύκλο συγκομιδής, ταξινομούνται στα δημητριακά και παρουσιάζουν δείκτη συγκομιδής που κυμαίνεται μεταξύ 30-56%. Ακόμη, εκτιμάται ότι μπορούν να παραχθούν 45-240 λίτρα βιοαιθανόλης από 150-800 κιλά σπόρων, οι οποίοι κλιεργήθηκαν σε ένα στρέμμα γης [16].



*Σχήμα 1.17: Σιτάρι (αριστερά), Κριθάρι (δεξιά) [16]*

- Καλαμπόκι

Σε ετήσια βάση, η Ελλάδα παράγει 2 εκατομμύρια τόνους καλαμποκιού σε 2 εκατομμύρια στρέμματα. Εκτιμάται ότι ο δείκτης συγκομιδής ανέρχεται σε 35-50% και ότι ένα στρέμμα καλλιέργειας καλαμποκιού αποδίδει περίπου 240-360 λίτρα βιοαιθανόλης. Άκόμη, έχει αποδειχθεί ότι η βιοαιθανόλη του καλαμποκιού μειώνει τους αέριους ρύπους που εντείνουν το φαινόμενο του θερμοκηπίου σε ποσοστό 21%. Σε παγκόσμιο επίπεδο, ηγετική θέση στην παραγωγή βιοαιθανόλης προερχόμενη από καλαμπόκι έχουν οι Η.Π.Α. Τέλος, το καλαμπόκι ανήκει στα αγρωστωδή σιτηρά και έχει ως γεωγραφική προέλευση την ήπειρο της Αμερικής [16].



*Σχήμα 1.18: Καλαμπόκι [16]*

### 3. Λιγνοκυτταρινούχες πηγές βιομάζας

Όπως έχει παρουσιαστεί και προηγουμένως, η χρήση των καλλιεργειών τροφίμων ως πρώτη ύλη βιοκαυσίμων αντί για ανθρώπινη κατανάλωση μπορεί να προκαλέσει πολύπλοκες επιπτώσεις (αύξηση τιμών, ελλείψεις σε βασικά αγαθά) και για αυτόν τον λόγο γίνεται προσπάθεια στροφής από τα εδάφιμα



κλάσματα φυτικής βιομάζας (αμυλούχα και ζαχαρούχα φυτά) στα μη εδώδιμα, όπως η λιγνοκυτταρίνη. Η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη είναι δομικά και θρεπτικά συστατικά τα οποία συνθέτουν τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών και περιγράφονται από τον όρο λιγνοκυτταρίνη. Ανάλογα με την πρώτη ύλη, η περιεκτικότητα των λιγνοκυτταρινούχων υλικών εμφανίζει διακυμάνσεις. Ωστόσο τα τυπικά ποσοστά τους είναι: 25% λιγνίνη, 30% ημικυτταρίνη και 45% κυτταρίνη. Η λιγνίνη συντίθεται από μονάδες φαινυλοπροπανίου αποτελώντας έτσι ένα πολύπλοκο δίκτυο. Η δομή του πολυσακχαρίτη της ημικυτταρίνης αποτελείται από σάκχαρα εξοζών (γαλακτόζη, μαννόζη, γλυκόζη) και πεντοζών (αραβινόζη, ξυλόζη). Ο υδατάνθρακας της κυτταρίνης, αποτελεί τον άλλο πολυσακχαρίτη της λιγνοκυτταρίνης και δομείται από μονομερή μόρια γλυκόζης [26].

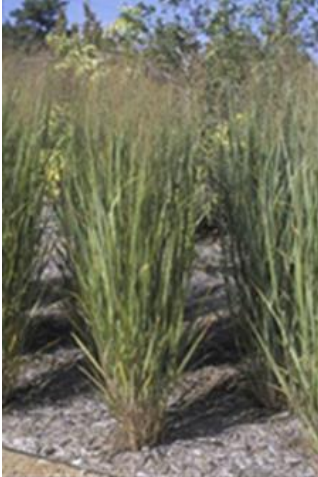
Υπολογίζεται ότι σε ετήσια βάση οι λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες θα μπορούσαν να αποδώσουν έως και 442 δισεκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης. Ως εκ τούτου, γίνεται φανερό ότι οι λιγνοκυτταρινούχες καλλιέργειες γίνονται ολοένα και πιο ελκυστικές αφού παρέχουν τη δυνατότητα παραγωγής αιθανόλης σε μεγάλη απόδοση, σε συνδυασμό με χαμηλά κόστη και περιορισμό της περιβαλλοντικής καταστροφής. Βασικότερες πηγές λιγνοκυτταρινούχων πρώτων υλών είναι τα υπολείμματα αγροτικών δραστηριοτήτων, ενεργειακές καλλιέργειες και υπολείμματα δασοκομικών δραστηριοτήτων (ξύλα) [27,28].

Η βιοαιθανόλη από τα λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα, χρησιμοποιεί κυρίως δύο είδη βιομάζας:

α) Τα λιγνοκυτταρινούχα φυτά, όπως το κυτταρινούχο σόργο, η αγριαγκινάρα, ο μίσχανθος, το καλάμι κ.α. Ακολουθεί περαιτέρω ανάλυσή ορισμένων:

- Καλάμι

Στο κλίμα της Ελλάδας, έχει εκτιμηθεί ότι από ένα στρέμμα γης οι φυτείες καλαμιών μπορούν να αποδώσουν 0,5-3 τόνους βιομάζας επί ξηρής βάσης, γεγονός που τα καθιστά αρκετά ικανά στην ανάπτυξη βιομάζας. Γενικά, το καλάμι είναι ένα φυτό που ευδοκμεί σε περιβάλλοντα αυξημένης υγρασίας όπως ποτάμια, λίμνες και σε καλλιεργήσιμες εκτάσεις κοντά σε αυτά [16].



Σχήμα 1.19: Καλάμι [16]

- Switchgrass

Αποτελεί ένα αγρωστώδες φυτό με ισχυρή ικανότητα παραγωγής βιομάζας, το οποίο δεν επηρεάζεται από περιορισμένες φυσικές παροχές και ο κύκλος ζωής του διαρκεί αρκετά χρόνια. Στην Ελλάδα, το φυτό αναπαράγεται με σπόρο και απαιτεί θερμοκρασία εδάφους μεγαλύτερη από 15 βαθμούς Κελσίου. Αναπτύσσεται ειδικά το μήνα Μάιο, ενώ το ύψος των φυτειών του είναι έως 2,5 μέτρα [16].



Σχήμα 1.20: Switchgrass [16]

- Κυτταρινούχο σόργο

Το κυτταρινούχο σόργο περιέχει μικρό ποσοστό διαλυτών σακχάρων, έναντι του γλυκού σόργου, ενώ είναι πλούσιο σε λιγνοκυτταρινούχα συστατικά. Διαθέτει ικανότητα μεγάλης παραγωγής βιομάζας. Το κυτταρινούχο σόργο παρουσιάζει αξιόλογη αντοχή στο φαινόμενο του πλαγιάσματος, γεγονός που καθιστά ανθεκτικότερη την καλλιέργειά του συγκριτικά με το γλυκό σόργο. Εκτιμάται ότι στην Ελλάδα, η απόδοση επί ξηρής βάσης είναι 2,8 τόνοι ανα στρέμμα [16].

## β) Λιγνοκυτταρινούχα υπολείμματα

Μια ακόμη λιγνοκυτταρινούχα πρώτη ύλη που περιέχει μεγάλο ποσοστό υδατανθράκων, όπως ημικυτταρίνη και κυτταρίνη, είναι το άχυρο που συλλέγεται ως υπόλειμμα γεωργικών δραστηριοτήτων. Ενδιαφέρον αποτελεί ότι με την κατάλληλη επεξεργασία (υδρόλυση), μπορεί να εκλύσει σημαντικές ποσότητες ζυμώσιμων σακχάρων και ως εκ τούτου, μεγάλης ποσότητας βιοαιθανόλης αφού υποβληθούν επιτυχώς σε αλκοολική ζύμωση [16].

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά οι πρώτες ύλες που παρουσιάστηκαν και δίπλα τα συνολικά κόστη για παραγωγή βιοαιθανόλης[16].

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

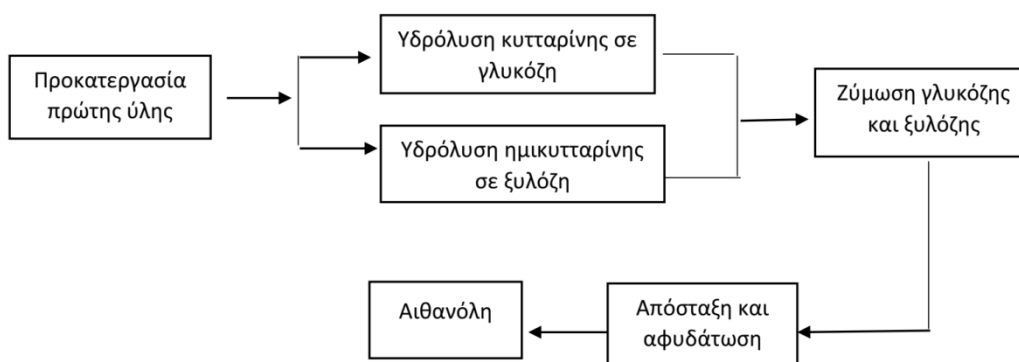
Πρώτη ύλη	Κόστος Βιοαιθανόλης (€/m <sup>3</sup> )
Ζαχαρότευτλα	230-530
Ζαχαροκάλαμο	170-200
Γλυκό σόργο	155-230
Καλαμπόκι	210-320
Σιτάρι	600
Λιγνοκυτταρινούχες	140-350
Πατάτα	760

### 1.4 Τεχνολογίες παραγωγής βιοαιθανόλης

Μέχρι τώρα έχει γίνει γνωστό ότι η παραγωγή βιοαιθανόλης από φυτική βιομάζα προϋποθέτει ορισμένες διεργασίες, όπως η προεπεξεργασία, η υδρόλυση, η ζύμωση και ο διαχωρισμός των προϊόντων [27]. Όταν χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη το γλυκό σόργο ή το ζαχαροκάλαμο, το στάδιο της προεπεξεργασίας ξεκινά με το θρυμματισμό των καλαμιών τους και στη συνέχεια ακολουθείται από άσκηση πίεσης προκειμένου να συλλεχθεί ο χυμός του αλεσμένου προϊόντος. Έπειτα, συλλέγεται το σακχαρούχο διάλυμα αφού προηγηθεί το στάδιο της εκχύλισης με ζεστό νερό. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα εκάστοτε στάδια προεπεξεργασίας και υδρόλυσης υπόκεινται συχνά σε μετατροπές ανάλογα με το είδος και τις ιδιαιτερότητες της πρώτης ύλης. Ενδεικτικό παράδειγμα είναι η περίπτωση που γίνεται επεξεργασία σιτηρών, όπως καλαμπόκι, κριθάρι και σιτάρι αφού για να απελευθερωθούν σάκχαρα, είναι αναγκαία η προσθήκη

αμυλολυτικών ενζύμων προκειμένου να διασπάσουν τα πολυμερή του αμύλου σε μονομερή σάκχαρα.

Στο επόμενο στάδιο, χρησιμοποιώντας ειδικούς μύκητες (π.χ. *Saccharomyces cerevisiae*) πραγματοποιείται βαθμιαία η αλκοολική ζύμωση του σακχαρούχου διαλύματος που προέκυψε στο προηγούμενο βήμα μέσα σε ζυμωτήρες (δεξαμενές μεγάλου όγκου). Μόλις ολοκληρωθεί η διεργασία της ζύμωσης, το τελικό προϊόν διαχωρίζει τη στερεά από την υγρή φάση με φυσική μέθοδο διαχωρισμού (φυγοκέντριση ή διήθηση) και το προκύπτον υγρό συνεχίζει την πορεία του στην τελευταία δεξαμενή όπου θα γίνει η ανάκτηση και ο διαχωρισμός της βιοαιθανόλης. Τέλος, προκειμένου να γίνει παραλαβή βιοαιθανόλης υψηλής καθαρότητας, ακολουθεί το τελικό βήμα της απόσταξης και αφυδάτωσης. Πρέπει να τονιστεί ότι τα υπολείμματα ενός εργοστασίου που παράγει βιοαιθανόλη είναι αρκετά ρυπογόνα και δεν επιδέχονται εύκολα επεξεργασία. Τυπικά, χώρες με μεγάλη παραγωγή βιοαιθανόλης από φυτική βιομάζα όπως η Βραζιλία, αντιμετωπίζουν αυτό το πρόβλημα είτε ψεκασμό αυτών στις ενεργειακές καλλιέργειες ζαχαροκάλαμου ως λίπασμα αζώτου, είτε εξατμίζουν το νερό από τα απόβλητά τους. Παρακάτω, στο Σχήμα 1.21 φαίνεται η παραγωγή βιοαιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες σε διάφορα στάδια διεργασιών:



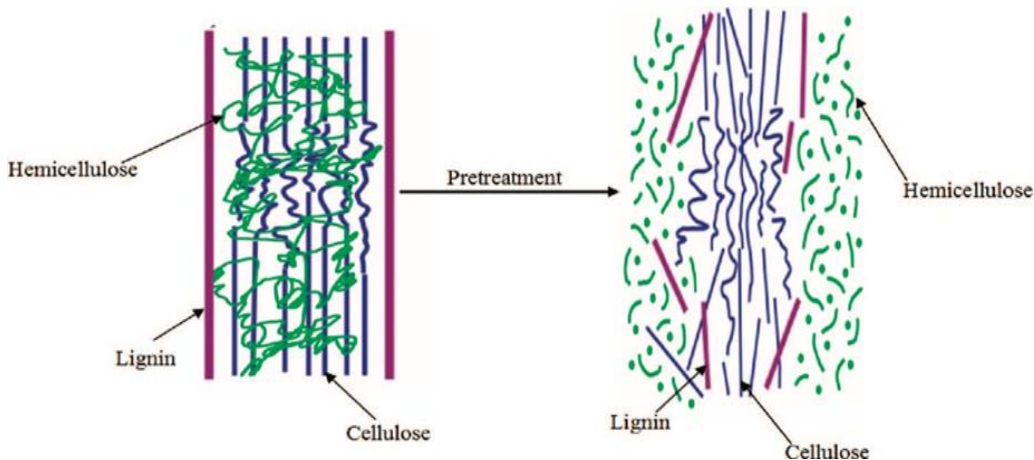
Σχήμα 1.21: Στάδια παραγωγής βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς από λιγνοκυτταρινούχα υλικά [4]

Στη συνέχεια παρατίθενται τα τέσσερα στάδια επεξεργασία για παραγωγή βιοαιθανόλης :

#### 1. Προεπεξεργασία

Στο στάδιο αυτό επιδιώκεται η διάσπαση του φαινολικού πολυμερούς της λιγνίνης, προκειμένου να απελευθερωθούν οι υδατάνθρακες της φυτικής βιομάζας (ημικυτταρίνη και κυτταρίνη) και να μπορέσουν να είναι προσβάσιμοι

στα επόμενα στάδια επεξεργασίας. Η συγκεκριμένη πορεία φαίνεται στο Σχήμα 1.22 [29].



Σχήμα 1.22: Απελευθέρωση κυτταρίνης και ημικυτταρίνης από λιγνίνη [29]

Ένα άλλο πλεονέκτημα της προεπεξεργασίας είναι η αύξηση του πορώδους της πρώτης ύλης με το να μειωθεί ο βαθμός κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης [7]. Εντυπωσιακή είναι η σύγκριση του ποσοστού της υδρόλυσης χωρίς προεπεξεργασία και με χρήση σταδίου προεπεξεργασίας. Στην πρώτη περίπτωση είναι λιγότερο κατά 20% από το θεωρητικά αναμενόμενο, ενώ στη δεύτερη περίπτωση είναι κατά 90% περισσότερο από το θεωρητικό [30].

Οι μέθοδοι προεπεξεργασίας είναι απαραίτητο να δρουν έτσι ώστε [27]:

- Να βελτιώνουν το σχηματισμό των σακχάρων
- Να μη σχηματίζουν παραπροϊόντα που παρεμποδίζουν την υδρόλυση ή τη ζύμωση στη συνέχεια
- Να είναι οικονομικά αποδοτικές

Ακόμη οι μέθοδοι προεπεξεργασίας διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες. Στη συνέχεια, παρατίθενται οι κατηγορίες αυτές μαζί με ενδεικτικά παραδείγματα εφαρμογών [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, μέθοδοι οργανικών και βιολογικών μεθόδων.

Στον πίνακα που ακολουθεί εξετάζονται τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των μεθόδων:

Πίνακας 1.6: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μεθόδων προεπεξεργασίας [29]

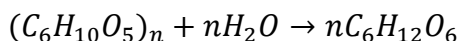
<b>Μέθοδος</b>	<b>Πλεονεκτήματα</b>	<b>Μειονεκτήματα</b>
Μηχανική καταπόνηση	Μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης	Κατανάλωση μεγάλης ποσότητας ενέργειας
Έκρηξη με ατμό	Οικονομικά αποδοτική	Υποβιβασμός ποιότητας λιγνίνης και ημικυτταρίνης
Έκρηξη με αμμώνια	Απομόνωση λιγνίνης και ημικυτταρίνης σε 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 χρησιμοποιείται βιομάζα καλαμποκιού, πρέπει να ακολουθηθεί κατάλληλη προεπεξεργασία με τις τεχνικές της υγρής ή ξηρής άλεσης. Κατά την ξηρή άλεση, χρησιμοποιείται ο στροφόμελος ο οποίος αλέθει τον πυρήνα του καλαμποκιού σε λεπτά σωματίδια, αφήνοντας έτσι μια σκόνη φυτικών ινών και αμύλου. Στην άλλη μέθοδο, η υγρή άλεση περιλαμβάνει προσθήκη ζεστού νερού, επιτρέποντας με αυτόν τον τρόπο τη διάσπαση των πρωτεϊνών που βρίσκονται στον πυρήνα του καλαμποκιού και την παράλληλη έκλυση των αλυσίδων του αμύλου [13].

## 2. Υδρόλυση

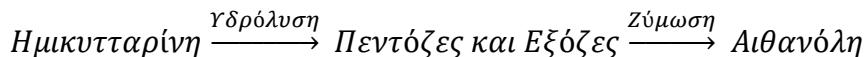
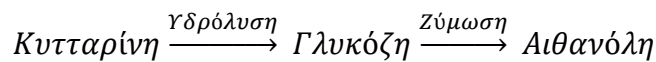
Όπως έχει παρουσιαστεί, σε περίπτωση που οι πρώτες ύλες δεν έχουν μεγάλο ποσοστό ζυμώσιμων σακχάρων, είναι απαραίτητο να προηγηθεί το στάδιο της υδρόλυσης, προκειμένου να διασπαστούν υδατάνθρακες όπως η ημικυτταρίνη, η κυτταρίνη και το άμυλο. Η υδρόλυση επηρεάζεται σημαντικά από το είδος των πολυσακχαριτών αλλά και από άλλες ιδιαιτερότητες της εκάστοτε επεξεργαζόμενης βιομάζας. Στη διπλωματική αυτή, το κύριο ενδιαφέρον εστιάζεται στην υδρόλυση της κυτταρίνης (με δομικό σάκχαρο τη γλυκόζη) και ημικυτταρίνης (δομικά σάκχαρα πεντόζες και εξόζες). Αφού περατωθεί επιτυχώς το στάδιο της προεπεξεργασίας, διασπάται ένα μόριο κυτταρίνης σε γλυκόζη με τη βοήθεια ενός μορίου νερού.



Η παραπάνω αντίδραση μπορεί να καταλυθεί με οξύ (αραιό ή πυκνό) ή με σύμπλεγμα ενζύμων κυτταρινασών. Βασικά προτερήματα των κυτταρινασών είναι ότι αποδίδουν σε υψηλό βαθμό ακόμη και σε πολύ ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας (318-323K) και οξύτητας (pH=5), ενώ παράλληλα διατηρούν τα κόστη συντήρησης του εξοπλισμού χαμηλά αφού η όξινη ή η αλκαλική υδρόλυση τείνει να είναι καταστρεπτική σε βάθος χρόνου. Η πλειοψηφία των

μεθόδων υδρόλυσης κυτταρίνης προς γλυκόζη τείνει να αξιοποιεί ένζυμα ή διάφορα διαλύματα θεικού οξέος διαφορετικών συγκεντρώσεων, ενώ παράλληλα υπάρχουν και ορισμένες άλλες τεχνικές οι οποίες έχουν εφαρμοστεί στο παρελθόν. Διαχρονικά τα ένζυμα έτειναν να είναι αρκετά κοστοβόρα μιας και αποτελούν βιοκαταλύτες υψηλής εξειδίκευσης σε σύγκριση με το θεικό οξύ. Το θεικό οξύ γίνεται λιγότερο ελκυστικό ωστόσο αν συνεκτιμηθούν η φθορά (διάβρωση) στον εξοπλισμό όπως και η αποδόμηση γλυκόζης στο περιβάλλον υψηλής θερμοκρασίας που είναι αναγκαίο για την υδρόλυση της κυτταρίνης [27].

Η υδρόλυση της κυτταρίνης αφήνει τη λιγνίνη ως παραπροϊόν, ενώ τα σάκχαρα (γλυκόζη, πεντόζες και εξόζες) που απελευθερώνονται οδηγούνται σε αλκοολική ζύμωση προς αιθανόλη με χρήση κατάλληλων ζυμομυκήτων:



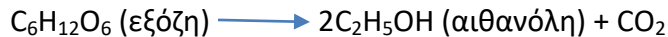
### 3. Ζύμωση

Το τελικό προϊόν της αλκοολικής ζύμωσης είναι το σπουδαιότερο και για αυτό το λόγο τα στάδια της προεπεξεργασίας και της υδρόλυσης προσαρμόζονται έτσι ώστε να διευκολύνουν τη μεγιστοποίηση της παραγωγής του. Η μέθοδος μετατροπής του υποστρώματος σε προϊόν (σάκχαρα σε αιθανόλη) γίνεται μέσα από τις μεταβολικές διεργασίες μικροοργανισμών (π.χ. *Saccharomyces cerevisiae*) κατά τη ζύμωση [27].

Σε βιομηχανική κλίμακα, η ζύμωση πραγματοποιείται σε υγρό θρεπτικό μέσο, στο οποίο οι μικροοργανισμοί πολλαπλασιάζονται καταναλώνοντας το υπόστρωμα που αιωρείται στο νερό (σακχαρούχο διάλυμα) είτε με υπόστρωμα σε μορφή πολτού το οποίο έχει αραιωθεί στο νερό. Οι βιοαντιδραστήρες στους οποίους λαμβάνει χώρα η ζύμωση ονομάζονται ζυμωτές και είναι αναπόσπαστη υποδομή στα βιοδιυλιστήρια. Τυπικά, οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν βέλτιστη μεταβολική δραστηριότητα για συγκεκριμένες παραμέτρους και για αυτόν το λόγο θα πρέπει αυτές να ελέγχονται συνεχώς. Τέτοιες παράμετροι είναι η θερμοκρασία, η ομοιογενής ανάδευση, το ασηπτικό περιβάλλον καθώς και η οξύτητα (pH). Αφού λοιπόν αποστειρωθεί το θρεπτικό υλικό και τα τοιχώματα του βιοαντιδραστήρα, ρυθμίζεται κατάλληλα το περιβάλλον του ζυμωτή και εισάγεται ο μικροοργανισμός με εμβολιασμό [8].

Ακολούθως, ξεκινούν οι παρακάτω αντιδράσεις:





Όπως φαίνεται παρακάτω, ανάλογα με τη μέθοδο λειτουργίας του ζυμωτήρα, οι τεχνικές ζύμωσης για παραγωγή βιοαιθανόλης χωρίζονται σε:

- Ζύμωση παρτίδας (batch fermentation)

Πρόκειται για διακοπτόμενη (μη συνεχή) λειτουργία και είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος ζύμωσης παραγωγής βιοαιθανόλης. Η συνολική ποσότητα του θρεπτικού μέσου εισάγεται στον βιοαντιδραστήρα, αφού προηγηθεί πρώτα η αποστείρωση του εσωτερικού του, ενώ μετά ακολουθεί ο εμβολιασμός του μικροοργανισμού για να ξεκινήσει η βιομετατροπή του υποστρώματος. Έως ότου ολοκληρωθεί η ζύμωση, δεν πραγματοποιείται εισαγωγή ή εξαγωγή άλλου συστατικού [8].

- Συνεχής ζύμωση (continuous fermentation)

Βασικό χαρακτηριστικό αυτής της μεθόδου είναι ότι η ποσότητα της παραχθείσας αιθανόλης, το ποσοστό και η μορφή του θρεπτικού μέσου αλλά και το μικροβιακό φορτίο παραμένουν αμετάβλητα. Η διεργασία αυτή πραγματοποιείται σε περίοδο αρκετών εβδομάδων. Η απουσία νεκρών διαστημάτων για φόρτωση συστατικών και λήψη προϊόντος αυξάνει την απόδοση παραγωγής [8].

- Ημισυνεχής ζύμωση (fed-batch fermentation)

Η ημισυνεχής ζύμωση αποτελεί συνδυασμό των προηγούμενων τεχνικών. Η συγκεκριμένη τεχνική χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενη προσθήκη αποστειρωμένου θρεπτικού μέσου στον βιοαντιδραστήρα που περιέχει τους μικροοργανισμούς, όπως και επαναλαμβανόμενη συλλογή προϊόντος ζύμωσης αφού παρέλθει ο ελάχιστος απαιτούμενος χρόνος βιομετατροπής του υποστρώματος [8].

#### 4. Κλασματική απόσταξη και αφυδάτωση

Για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί η αιθανόλη σε αναλογία με βενζίνη στους συμβατικούς κινητήρες, θα πρέπει να βρίσκεται σε καθαρότητα τουλάχιστον 99,5% και ως εκ τούτου θα πρέπει να αφαιρεθεί η μεγαλύτερη ποσότητα νερού που περιέχει, ως αποτέλεσμα παρακράτησης κατά τη ζύμωση. Αυτό γίνεται εκμεταλλεύοντας το διαφορετικό σημείο ζέσεως αιθανόλης και νερού μέσω της κλασματικής απόσταξης. Η αιθανόλη είναι πτητικότερη του νερού και για αυτό το λόγο θα είναι η πρώτη που θα εγκαταλείψει το μίγμα αιθανόλης-νερού. Συχνότερα χρησιμοποιούνται δυο αποστακτικές στήλες στο διαχωρισμό αυτό. Η πρώτη στήλη, αποδίδει απόσταγμα αιθανόλης καθαρότητας 50%, οδηγώντας το στη συνέχεια στη δεύτερη στήλη, στην έξοδο της οποίας συγκεντρώνεται απόσταγμα καθαρότητας 95% και παράλληλα αφαιρούνται τα ζυμέλαια της αλκοολικής ζύμωσης. Η συγκεκριμένη καθαρότητα είναι η μέγιστη που μπορεί να επιτευχθεί με απόσταξη, μιας και η αιθανόλη με το νερό σχηματίζουν αζεότροπο μίγμα που δε μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω. Τέλος, ακολουθεί αφυδάτωση του αποστάγματος της δεύτερης στήλης, όπου απομακρύνεται επιπλέον ποσοστό νερού, φθάνοντας σε τελική καθαρότητα 99,8% χρησιμοποιώντας μοριακά φίλτρα ζεόλιθου, επιτρέποντας μεγαλύτερο διαχωρισμό αιθανόλης-νερού πέραν του αζεοτροπικού σημείου. Έχοντας φτάσει την απαιτούμενη καθαρότητα, η παραχθείσα αιθανόλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσια σε μίγματα με βενζίνη [31].

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Απόβλητα επεξεργασίας πατάτας**

### **2.1 Εισαγωγή**

Οι πατάτες (*Solanum tuberosum* L.) είναι μία από τις πιο σημαντικές γεωργικές καλλιέργειες για ανθρώπινη κατανάλωση μετά το σιτάρι (*Triticum* L.), ρύζι (*Oryza* L.) και αραβόσιτο (*Zea mays* subsp. *mays* L.). Στις αναπτυγμένες χώρες έως και το 69.5% (το 2012) της συνολικής παραγωγής πατάτας υπόκειται σε περαιτέρω επεξεργασία. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας αυτής, οι πατάτες ξεφλουδίζονται με διάφορες μεθόδους, κάτι που συνεπάγεται απώλεια μάζας σε μορφή φλούδας (potato peel waste) που κυμαίνεται μεταξύ 15 έως 40%, ανάλογα με τη μέθοδο που ξεφλουδίσματος που έχει επιλεγεί. Η φλούδα πατάτας είναι απόβλητα μηδενικής αξίας από εγκαταστάσεις επεξεργασίας πατάτας [32].

Τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (potato peel waste, PPW) δεν είναι κατάλληλα για μη μηρυκαστικά χωρίς επιπλέον επεξεργασία, καθώς περιέχουν πολλές ίνες και τα καθιστούν δύσκολα για πέψη, ταυτόχρονα όμως αποτελούν ένα χαμηλού κόστους παραπροϊόν που περιέχει μεγάλες ποσότητες αμύλου, μη αμυλούχων πολυσακχαριτών, λιγνίνης, πολυφαινολών, πρωτεϊνών καθώς και μικρής ποσότητας λιπιδίων. Το γεγονός αυτό, τα καθιστά ένα φθινό και πολύτιμο βασικό υλικό, απ' όπου μπορούν να εξαχθούν πολύτιμα προϊόντα (φυσικά αντιοξειδωτικά, διαιτητικές ίνες, βιοπολυμερή κ.α.) αλλά και να υποβληθούν σε διεργασίες ζύμωσης [32].

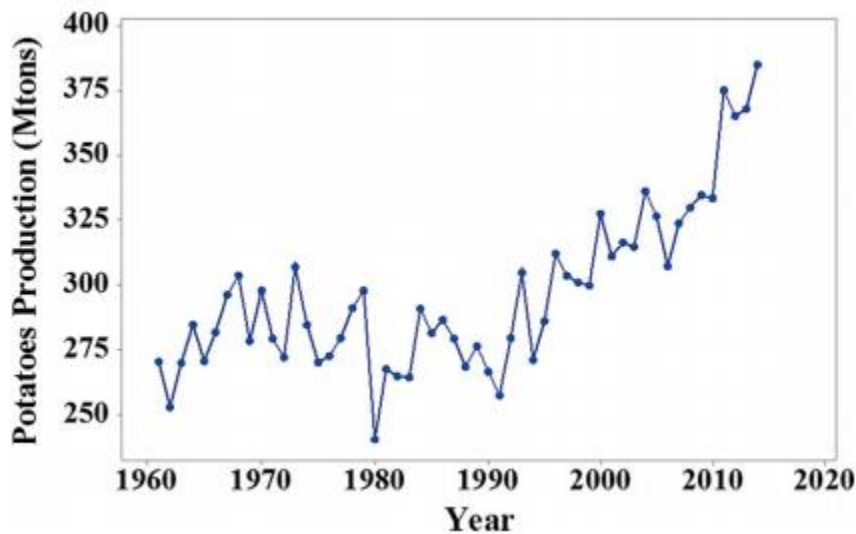
Εκτός από την κατανάλωση της φυσικής πατάτας, υπάρχει παγκοσμίως μια αυξανόμενη δημοφιλία των επεξεργασμένων προϊόντων πατάτας, όπως είναι τα πατατάκια, οι τηγανητές πατάτες και ο πουρές. Στα 90 Kg αποβλήτων πατάτας τα 50 Kg είναι φλούδια, τα 30 Kg άμυλο και τα 10 Kg αδρανές υλικό [33]. Τα απόβλητα της φλούδας της πατάτας (PPW) και πιο πρόσφατα τα κατάλοιπα της ζύμωσης των αποβλήτων (PPW-FR) αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη πηγή παραγωγής βιοκαυσίμων και βιοπροϊόντων [34].

### **2.2 Δυναμικό παραγωγής και υφιστάμενοι τρόποι διαχείρισης**

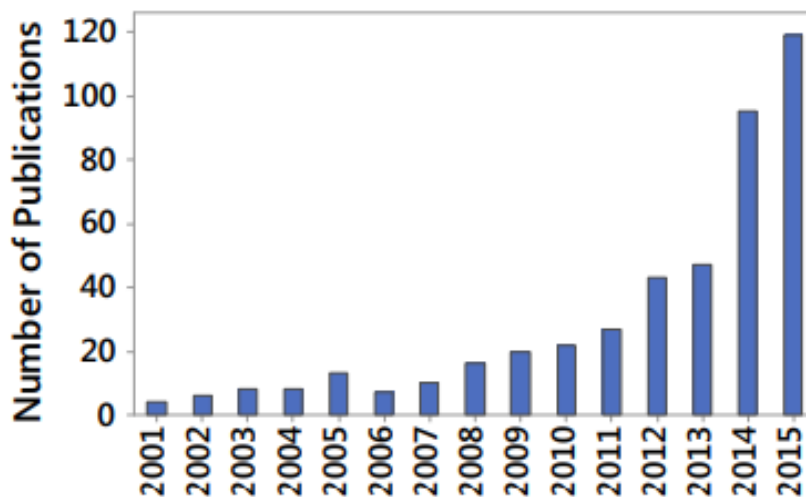
Η παγκόσμια ετήσια παραγωγή πατάτας για το 2016 ανήλθε στους 376.83 εκατομμύρια μετρικούς τόνους, εκ των οποίων 56 εκατομμύρια τόνοι παράχθηκαν στην Ευρωπαϊκή ένωση. Εκτιμάται ότι το 14% της παγκόσμιας παραγωγής, προορίζεται για τις βιομηχανίες επεξεργασίας πατάτας όπου και επεξεργάζονται με μεθόδους ξεφλουδίσματος, όπως απόξεση ή με τη χρήση ατμού [32], τη δημιουργία σκευασμάτων όπως τηγανητές πατάτες, πατατάκια ή την παραγωγή αμύλου. Κατά την αποφλοίωση της πατάτας στα εργοστάσια χάνεται περίπου το 6-10% του βάρους της σε

μορφή αποβλήτου PPW [34]. Μεταξύ του 2010 και 2013, η μέση παραγωγή αποβλήτων επεξεργασμένης πατάτας ήταν 3 εκατομμύρια τόνοι ανά έτος [35].

Τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας λόγω του αυξημένου ποσοστού υγρασίας τους είναι επιρρεπή σε μικροβιακή αλλοίωση και για αυτό τον λόγο χρησιμοποιούνται συνήθως ως ζωοτροφή [36]. Η αύξηση της παραγωγής πατάτας, και ως εκ τούτου των αποβλήτων της επεξεργασίας της, καθώς και το αυξανόμενο ενδιαφέρον σχετικά με την αξιοποίηση των αυξανόμενων αυτών αποβλήτων, μπορεί να γίνει πιο εύκολα αντιληπτή με τα παρακάτω σχήματα [36]:



Σχήμα 2.1: Παγκόσμια παραγωγή πατάτας από 1961 έως 2016 [36]



Σχήμα 2.2: Αναζητήσεις στο Google scholar με θέμα potato peel waste [36]

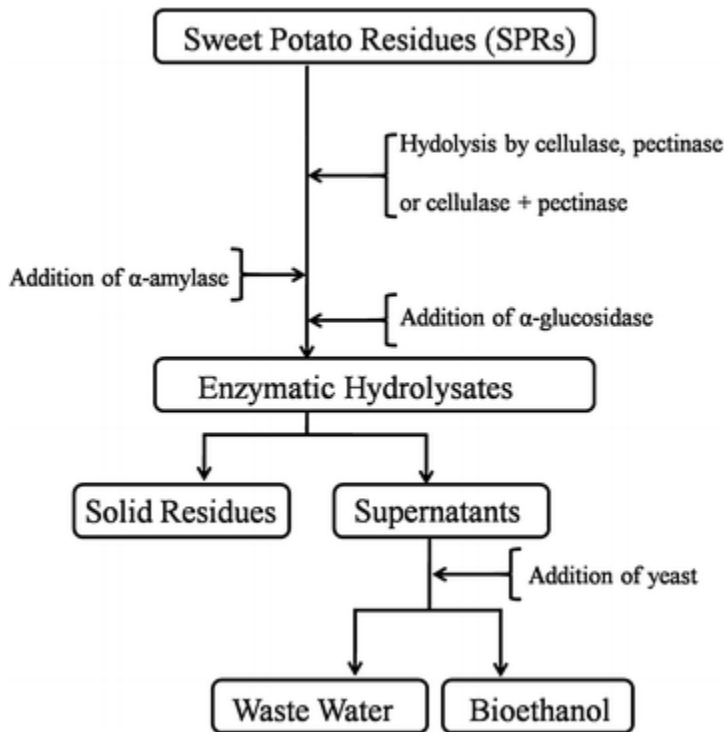
Η αποφλοίωση με απόξεση χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή chips (πατατάκια), ενώ αποφλοίωση με ατμό χρησιμοποιείται για αφυδατωμένα και κατεψυγμένα προϊόντα πατάτας. Τέλος ο χημικός καθαρισμός με NaOH θα μπορούσε να αντικαταστήσει την αποφλοίωση με τον ατμό [36]

Η αλκοολική ζύμωση των PPW οδηγεί σε σχηματισμό αιθανόλης, γαλακτικού οξέος και οξεικού οξέος. Η ζύμωση επιτυγχάνεται με ενζυματική υδρόλυση χρησιμοποιώντας *Saccharomyces cerevisiae* για να παραχθεί τελικά αιθανόλη και *Lactobacillus var.* ή *Rhizopus var.* για να παραχθεί γαλακτικό οξύ. [34].

Εκτός από την πατάτα για την παραγωγή βιοαιθανόλης, έχει χρησιμοποιηθεί και η γλυκοπατάτα. Η Κίνα είναι η μεγαλύτερη παραγωγός γλυκοπατάτας, την οποία εξάγει σε όλο τον κόσμο με περισσότερα από 71 εκατομμύρια τόννους παραγωγή ετησίως. Τα απόβλητα της γλυκοπατάτας (Sweet potato residues, SPRs) αποχωρίζονται μετά την εξαγωγή του αμύλου από το 10% του ξηρού υλικού που μένει από τις γλυκοπατάτες. Στην Κίνα πάνω από 2 εκατομμύρια τόννοι SPRs μένουν αναξιοποίητοι λόγω του υψηλού ιξώδους τους. Τα αναξιοποίητα SPRs θέτουν ένα σοβαρό πρόβλημα μόλυνσης του περιβάλλοντος. Εκτός από την μέθοδο υδρόλυσης με κατάλυση οξέος για την απελευθέρωση γλυκόζης, χρησιμοποιείται και η πιο φιλική για το περιβάλλον ενζυμική υδρόλυση και έπειτα ζύμωση με τον *S. Cerevisiae* για παραγωγή βιοαιθανόλης [37].

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι με τη μεσολάβηση της κυτταρινάσης και της πηκτινάσης για ενζυμική υδρόλυση των SPRs και ζύμωση με τον *S. Cerevisiae*, η τελική παραγωγή βιοαιθανόλης ήταν 79 g/L [37].

Στο παρακάτω σχήμα φαίνονται τα στάδια επεξεργασίας SPR προς παραγωγή βιοαιθανόλης:



Σχήμα 2.3: Διάγραμμα ροής επεξεργασίας SPR [37]

### 2.3 Σύσταση

Λόγω διακύμανσης κλιματικών συνθηκών κατά την καλλιέργεια, καθώς και των μεθόδων που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την επεξεργασία της πατάτας, είναι αναμενόμενη η διαφοροποίηση μεγεθών κατά τη διερεύνηση της σύστασης των αποβλήτων [38]. Παρακάτω, παρατίθενται διάφοροι πίνακες με τη σύσταση PPW όπως δημοσιεύτηκε σε μελέτες:

Πίνακας 2.1: Σύσταση PPW στη διεθνή βιβλιογραφία:

Δημοσίευση	Υγρασία(%)	Ολικοί υδατάνθρακες(%)	Διαλυτοί υδατάνθρακες(%)	Ολικά διαλυτά σάκχαρα(%)	Αναγωγικά σάκχαρα(%)	Κυτταρίνη(%)	Ημικυτταρίνη(%)	Άμυλο(%)	Λιπίδια(%)	Άζωτο(%)	Πρωτεΐνες(%)	Λιγνίνη(%)	Διαλυτή λιγνίνη(%)	Αδιάλυτη λιγνίνη(%)	Φυτικές ίνες (%)	Τέφρα(%)	Ολικές Φαινόλες (mg/g)
Hijosa-Valseiro et al. (2018)[35]	5,26	43,2	0,43	-	-	8,3	7,41	23,01	2,45	-	10,73	32,88	-	-	-	7,45	2,5
Arapoglou et al.(2010)[33]	85,06	68,7	-	1	0,61	-	-	52,14	2,6	1,3	8	-	-	-	-	6,34	-
Liang et al.(2015)[39]	-	63.2± 4.2	-	-	-	-	-	34.3±0.7	1.2	-	17.1± 0.3	-	6.2± 0.2	4.1	-	9.6± 0.1	-
Chintagunta et al.(2016)[38]	86.5± 0.01	-	-	-	0.073± 0.004	5.69± 1.6	-	28.52± 0.17	-	-	0.082± 0.002	-	-	-	-	-	-
Khawla et al.(2015)[40]	6.78± 0.22	-	-	-	0.32± 0.13	-	-	48.46± 1.88	0.52± 0.09	-	15.21± 0.82	-	-	-	26.52± 0.23	7.23± 0.21	-

(Τα συστατικά % υπολογίζονται επί ξηρής βάσης)

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρείται ότι τα PPW είναι πλούσια σε υδατάνθρακες (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, άμυλο) γεγονός που τα καθιστά αρκετά ελκυστική πρώτη ύλη για παραγωγή βιοαιθανόλης ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία.

Τα απόβλητα επεξεργασίας της πατάτας περιέχουν υψηλό ποσοστό λιγνίνης (περίπου 33%). Η ακατέργαστη βιομάζα, που προκύπτει από την αποφλοίωση της πατάτας ξηραίνεται κατά τη διάρκεια μιας εβδομάδας στον αέρα και εν συνεχεία σε φούρνο σε θερμοκρασία 45 °C [35].

Μια λεπτομερέστερη ανάλυση της σύνθεσης των PPW και PPW-FR (κατάλοιπα ζύμωσης PPW) και ειδικά του ποσοστού των μη αμυλούχων πολυσακχαριτών (γλυκάνης, γαλακτάνης, μαννάνης, ξυλάνης και αραβινάνης) καταγράφεται στον παρακάτω πίνακα, στον οποίο φαίνεται και η στατιστικά σημαντική διαφορά της περιεκτικότητας του αμύλου στα PPW ( $16,83 \pm 0,52$ ) και στα PPW-FR ( $2,07 \pm 0,13$ ) [34].

*Πίνακας 2.2: Σύγκριση σύστασης PPW και PPW-FR[34]*

Συστατικό	PPW(%επί ξηρού)	PPW-FR (%επί ξηρού)
Υδατάνθρακες		
άμυλο	<b><math>16,83 \pm 0,52</math></b>	<b><math>2,07 \pm 0,13</math></b>
γλυκάνη	$7,75 \pm 0,68$	$7,79 \pm 0,31$
γαλακτάνη	$6,91 \pm 0,10$	$5,31 \pm 0,14$
μαννάνη	$0,75 \pm 0,07$	$1,35 \pm 0,07$
ξυλάνη	$3,52 \pm 0,21$	$1,47 \pm 0,10$
αραβινάνη	$3,53 \pm 0,06$	$4,44 \pm 0,08$
Μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες	<b><math>22,46 \pm 0,79</math></b>	<b><math>20,36 \pm 0,08</math></b>



## 2.4 Πιθανοί δρόμοι αξιοποίησης

Τα βασικά συστατικά των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας, όπως παρουσιάστηκαν νωρίτερα είναι το νερό, το άμυλο, οι μη αμυλούχοι πολυσακχαρίτες, η λιγνίνη, οι πρωτεΐνες, οι πολυφαινόλες και τα αλκαλοειδή. Τα παρακάτω παραδείγματα αφορούν μεθόδους αξιοποίησης των αποβλήτων αυτών, έτσι όπως έχουν προταθεί από πολλές μελέτες που έχουν δημοσιευτεί τα τελευταία χρόνια [36]:

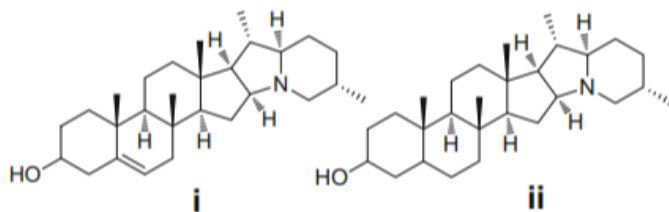
### 1) Αντιοξειδωτικά

Η αναζήτηση φυσικών πηγών αντιοξειδωτικών ως εναλλακτική αυτών που λαμβάνονται από ορυκτές πηγές, ενθαρρύνει την ανακάλυψη νέων και πιο υποσχόμενων αντιοξειδωτικών. Ανεξάρτητα από την ποικιλία της πατάτας, το φαινολικό περιεχόμενο της πατάτας στη φλούδα είναι 10 φορές μεγαλύτερο συγκριτικά με εσωτερικά της μέρη. Μόρια όπως χλωρογονικό, καφεϊκό, ρ-κουμαρικό και φουρουλικό οξύ είναι ενώσεις που έχουν ήδη ταυτοποιηθεί ότι προσδίδουν τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες στα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας [36].

### 2) Συντηρητικά τροφίμων

Το αιθανολικό εκχύλισμα από PPW, κρίθηκε πολύ αποδοτικό στην εμπόδιση οξείδωσης λιπιδίων και πρωτεϊνών φιλέτων σκουμπριού κατά την αποθήκευση του σε ψυγείο. Το αποτέλεσμα οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση φαινολών και καφεϊκού οξέος [36].

### 3) Φαρμακευτικά σκευάσματα



Σχημα 2.4 Αλκαλοειδή στα PPW, (i) σολαδίνη, (ii) δεσισοιδίνη[36]

Παρά το γεγονός ότι υψηλές δόσεις αλκαλοειδών έχουν επικίνδυνες επιπτώσεις στον άνθρωπο, σωστά ελεγμένες δόσεις έχουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Σε πρόσφατες μελέτες, επιχειρείται η βελτιστοποίηση της εκλεκτικής εκχύλισης των ενώσεων αυτών. Αρκετά υποσχόμενη μέθοδος εκχύλισης συγκριτικά με τις συμβατικές εμφανίζεται να είναι η εκχύλιση με βοήθεια υπερήχων [36].

#### 4) Χημικά

Δεδομένου ότι τα PPW περιέχουν μεγάλη ποσότητα υδατανθράκων, αποτελούν μια υποσχόμενη εναλλακτική πλατφόρμα παραγωγής χημικών, μέσα από βιοχημικές διεργασίες. Χρησιμοποιώντας μια ποικιλία μικροβίων, τα σάκχαρα μπορούν να μεταβολιστούν σε γαλακτικό και οξικό οξύ, με απουσία ελέγχου pH και συνθήκες αποστείρωσης. Το γαλακτικό οξύ είναι πολύ χρήσιμο στην παραγωγή πολυγαλακτικού οξέος το οποίο είναι ένα βιοδιασπώμενο πλαστικό υψηλής αξίας. Ακόμη, τα σάκχαρα του PPW μπορούν να μετατραπούν σε άλλα χρήσιμα χημικά μέσα από διεργασίες όπως: ενζυμική υδρόλυση, γλυκόλυση, οξεογένεση και ακετογένεση [36].

#### 5) Βιοπροσροφητικά

Τα τελευταία χρόνια, δημοσιεύσεις παρουσίασαν ότι σχεδόν με μηδενικό κόστος, μπορούν να αναπτυχθούν βιοπροσροφητικά από PPW, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σε επεξεργασία λυμάτων ή και άλλων πηγών μόλυνσης που περιέχουν βαφές, χρωστικές ουσίες και μέταλλα. Παρατίθεται πίνακας ενώσεων που προσροφώνται και δίπλα η κατεργασία που χρειάζεται στο PPW [36].

Πίνακας 2.3: Βιοπροσροφητικά από PPW και απαιτούμενη κατεργασία [36]

<b>Προσροφούμενη ένωση</b>	<b>PPW κατεργασία</b>
<b>Acid red 37</b>	Χωρίς κατ.
<b>Crystal violet</b>	Χωρίς κατ. Υδροχλωρικό οξύ/Φορμαλδεύδη
<b>Methylene blue</b>	Χωρίς κατ. Φορμαλδεύδη
<b>Malachite green</b>	Χωρίς κατ.

	Φορμαλδεύδη
<b>Cu(II)</b>	Χωρίς κατ. Χλωριούχος ψευδάργυρος
<b>Acid blue 113</b>	Υδροχλωρικό οξύ
<b>Acid black 1</b>	Υδροχλωρικό οξύ
<b>Φαρμακευτικά λύματα</b>	Υδροθερμική
<b>Co(II)</b>	Πυρόλυση και φωσφορικό οξύ
<b>Cr(IV)</b>	Υδροχλωρικό οξύ
<b>Reactive black 5</b>	Υδροχλωρικό οξύ

6) Βιοκαύσιμα

Τα PPW μπορούν να χρησιμοποιηθούν για παραγωγή μεθανίου, μετά από χημική κατεργασία τους, καθώς και για παραγωγή βιοαιθανόλης, αφού προηγηθεί κατάλληλη προκατεργασία, καθώς και όξινη ή ενζυμική υδρόλυση των αποβλήτων, προκειμένου να απελευθερωθούν τα ζυμώσιμα σάκχαρα προς σχηματισμό αιθανόλης, μέσω αναερόβιας αλκοολικής ζύμωσης [36].

7) Βιοϋδρογόνο

Η μη εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου κατά την καύση υδρογόνου, κάνει τελευταία το βιοϋδρογόνο ακόμη πιο ελκυστικό. Η βιολογική παραγωγή υδρογόνου από μικροοργανισμούς με τη χρήση PPW ως βασικό συστατικό, καταφέρνει να καταναλώσει λιγότερη ενέργεια σε σύγκριση με τις υπάρχουσες χημικές μεθόδους παραγωγής του [36].

8) Άλλες εφαρμογές

- Η υψηλή περιεκτικότητα των PPW σε ίνες βοηθά στην αυξημένη κατακράτηση νερού κατά τη δημιουργία ψωμιού.
- Φθινό και βιοδιασπώμενο κροκιδωτικό για καθαρισμό νερού
- Φιλμ πολυμερών [36].

## 2.5 Παραγωγή βιοαιθανόλης

Τα στάδια που ακολουθούνται στην παραγωγή βιοαιθανόλης από PPW είναι τα ακόλουθα [41]:

- 1) Προκατεργασία PPW
- 2) Όξινη ή ενζυμική υδρόλυση
- 3) Αναερόβια ζύμωση βιοαιθανόλης

### 1) Προκατεργασία PPW

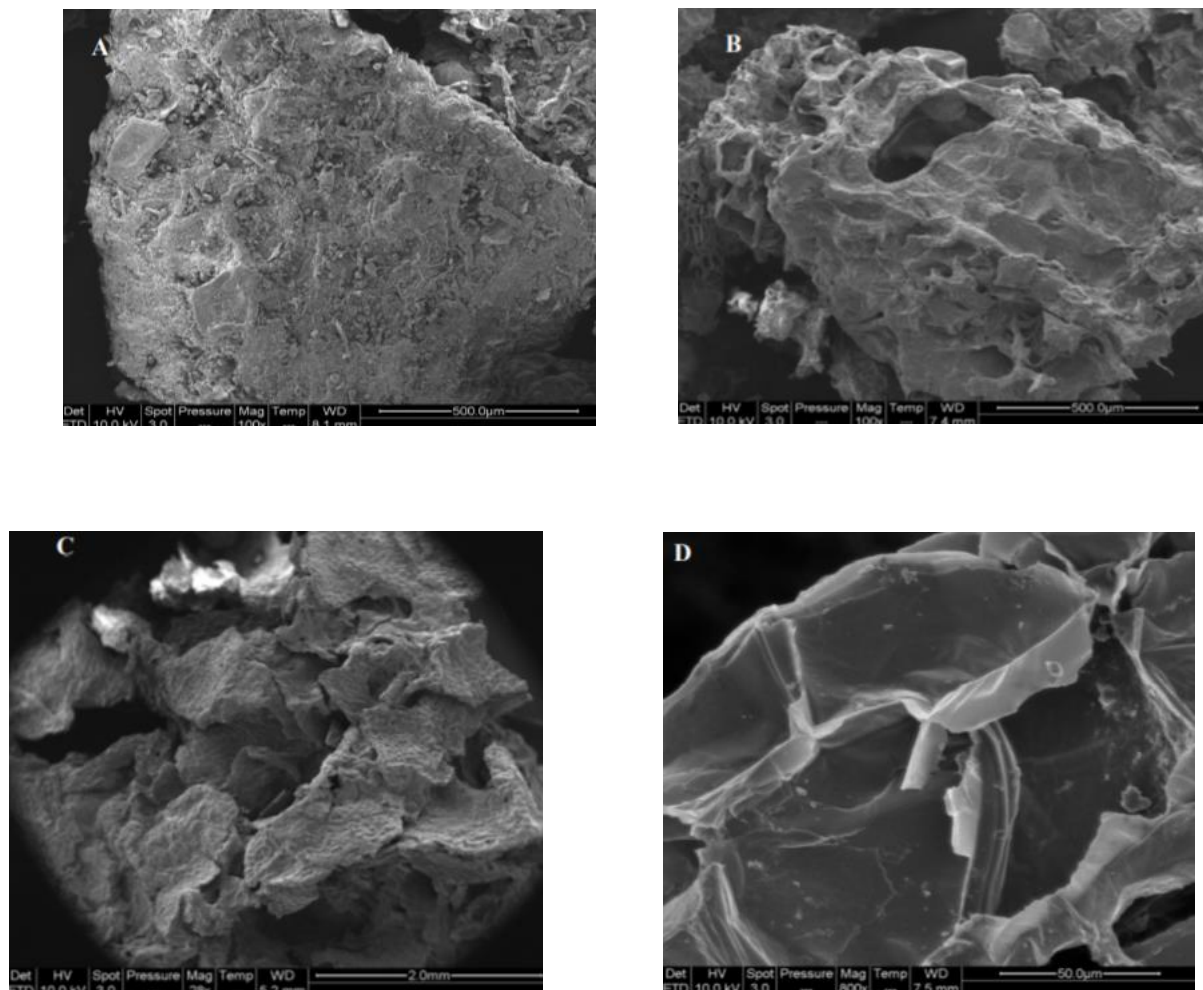
Είναι το στάδιο που προηγείται της όξινης ή ενζυμικής υδρόλυσης. Ο στόχος του είναι να κάνει την λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα του αποβλήτου πιο εύκολα προσβάσιμη στο οξύ ή τα ένζυμα που ακολουθούν. Με αυτή τη μέθοδο, επιτυγχάνεται ο αποπολυμερισμός της λιγνίνης, αυξάνεται το πορώδες της ύλης, διαλυτοποιείται η ημικυτταρίνη και το άμυλο, μειώνεται η κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης, κάνοντάς την πιο εύκολα επεξεργάσιμη. Όπως έχει αναφερθεί νωρίτερα, μερικές μέθοδοι προκατεργασίας είναι: έκρηξη ινών αμμωνίας, όξινη προκατεργασία, και έκρηξη ατμού. Σε κάθε περίπτωση, τα κριτήρια που πρέπει να πληροί η μέθοδος που θα επιλεγεί είναι [41]:

- Να αυξάνει την ενζυμική μετατροπή των υδατανθράκων σε ζυμώσιμα σάκχαρα
- Πρέπει να υπάρχει λίγη έως καθόλου αποδόμηση ή απώλεια υδατανθράκων κατά το στάδιο της προκατεργασίας
- Πρέπει να μην υπάρχει παραγωγή τοξικών ή παρεμποδιστικών ενώσεων που να μπορούν να δράσουν παρεμποδιστικά κατά την επακόλουθη ενζυμική υδρόλυση και τη ζύμωση.
- Πρέπει να είναι φθηνή.

Στη μέθοδο που προτείνεται από τον Taher et al. (2016)[41] τα υπολείμματα της πατάτας διαλύονται σε απεσταγμένο νερό, 1% σουλφουρικό οξύ ( $H_2SO_4$ ) ή 1% υδροξείδιο  $NaOH$  σε αναλογία στερεού και υγρού 1:10 προτού θερμανθεί στους  $121^\circ C$  για 30 min. περίπου. Στη συνέχεια το pH των προθερμασμένων δειγμάτων ρυθμίζεται στο 7 και ακολουθεί ξέπλυμα με απεσταγμένο νερό, ώστε να απομακρυνθούν τα

χημικά υπολείμματα. Στο τέλος, όλα τα δείγματα στεγνώνουν σε φούρνο και θερμοκρασία 40°C, ώστε να αποκτήσουν το τελικό τους βάρος [41].

Ενδεικτικά παρατίθενται οι φωτογραφίες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο που πάρθηκαν μετά από προκατεργασία PPW με διάφορες μεθόδους. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι στο μικροσκόπιο φαίνονται οι πολυσακχαρίτες να είναι προσκολλημένοι πάνω στο PPW ενώ μόλις υπάρξει επίδραση προκατεργασίας, αυξάνεται το πορώδες αφού αποσπώνται από αυτά, επιτρέποντας έτσι να γίνει πιο εύκολα η υδρόλυση στο επόμενο επίπεδο.



Σχήμα 2.5: (A) PPW χωρίς κατεργασία, (B) PPW με υδροθερμική προκατεργασία, (C) PPW με αλκαλική προκατεργασία 1%w/v NaOH, (D) PPW με όξινη προκατεργασία 1%w/v H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [41]

## 2) Όξινη ή ενζυμική υδρόλυση

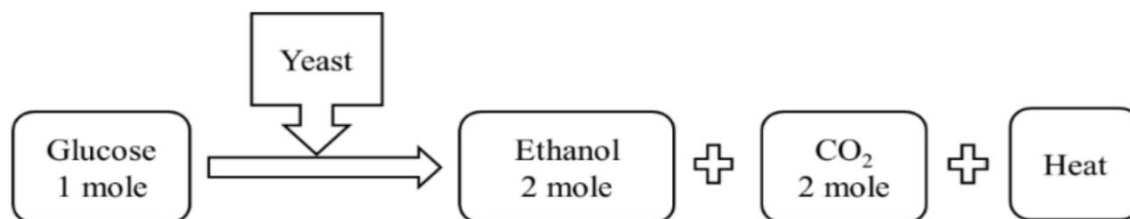
Έχει αποδειχθεί ότι η ενζυμική υδρόλυση υπερτερεί έναντι της όξινης (π.χ. με διάλυμα HCl 5%v/v), μιας και πραγματοποιείται με ήπιες αντιδράσεις πετυχαίνοντας ταυτόχρονα υψηλές αποδόσεις, χωρίς να παράγει τοξικά παραπροϊόντα. Στο στάδιο αυτό, μετατρέπονται τα πολυμερή των υδατανθράκων σε μονομερή σάκχαρα προκειμένου να υποβληθούν στη ζύμωσή τους στο επόμενο στάδιο. Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση είναι η θερμοκρασία, η ποσότητα υποστρώματος και το pH. Ένζυμα που χρησιμοποιούνται είναι αμυλάσες, κυτταρινάσες και ημικυτταρινάσες [41].

Η υδρόλυση επιτυγχάνεται σε κωνικά δοχεία των 150 ml, που περιέχουν 10 γρ. προθερμασμένου υποστρώματος, εκχύλισμα ακατέργαστου ενζύμου, 100 ml 0,1 M ρυθμιστικού διαλύματος οξεικού και φωσφορικού άλατος (pH 5,5) και 200 μl διαλύματος αντιβιοτικών (στρεπτομυκίνη-πενικιλίνη 10 μον/ml), ώστε να εμποδισθεί η μικροβιακή μόλυνση. Τα ένζυμα κυτταρινάση, ημικυτταρινάση και αμυλάση (30 U/gds, 5 U/gds και 70 U/gds αντίστοιχα) υπάρχουν στα δοχεία, τα οποία επωάζονται στους 50 °C και ανακινούνται στις 100 rpm για 48 ώρες. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρώνται στις 6000 στροφές για 10 min. και το υπερκείμενο συλλέγεται και αναλύεται για να υπολογισθεί το περιεχόμενό του σε σάκχαρα [41].

Η όξινη υδρόλυση επιτυγχάνεται με υδροχλωρικό οξύ ( HCl ). Τα PPW διαλύονται σε διάλυμα 5% HCl και σε αναλογία στερεού προς υγρό 1 : 10 πριν θερμανθούν τα δείγματα στους 100 °C για 120 min. Το pH ρυθμίζεται στο 5 με NaOH και φιλτράρεται για να απομακρυνθούν στερεά αντικείμενα [41].

## 3) Αναερόβια ζύμωση βιοαιθανόλης

Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει τη ζύμωση των μονομερών σακχάρων προς παραγωγή βιοαιθανόλης, διοξειδίου του άνθρακα και θερμότητας. Για λόγους αφθονίας και κόστους, προτιμάται η χρήση του *Saccharomyces cerevisiae* [41].



Σχήμα 2.6: Η αντίδραση της αναερόβιας ζύμωσης μονομερών σακχάρων προς βιοαιθανόλη [42]

Τρία διαφορετικά πειράματα αλκοολικής ζύμωσης περιγράφονται: χωρίς προσθήκη αζώτου, με προσθήκη θειϊκού αμμωνίου και με προσθήκη πεπτόνης. Τα εναιωρήματα ετοιμάσθηκαν ως εξής : *S. Cerevisiae* αναπτύχθηκε σε 100 ml PPW, που έχει υποστεί υδρόλυση ( όξινη ή ενζυματική ) για 16 ώρες στους 30°C και ανακίνηση σε 100 rpm. Ακολούθησε φυγοκέντρηση για 10 min. Στις 5000 στροφές και επαναδιάλυση σε 0,9% φυσιολογικό ορό [41].

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν νέες μελέτες που αυξάνουν την παραγωγή αιθανόλης κατά τη ζύμωση με *S. Cerevisiae*, χρησιμοποιώντας τις παραπάνω πηγές αζώτου όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2.4: Παραγωγή αιθανόλης και απόδοση κατά τη ζύμωση με *S.cerevisiae*, παρουσία πηγών αζώτου σε PPW που υπέστη υδροθερμική προκατεργασία και ενζυμική υδρόλυση [41]

Πηγή Αζώτου	Συγκέντρωση αιθανόλης (g/L)	Απόδοση αιθανόλης (g/g από αναγωγικά σάκχαρα)
Θειϊκό αμμώνιο	30±0.50	0.4
Πεπτόνη	20.24±0.24	0.27
Χωρίς πηγή αζώτου	20.08±0.36	0.26

Ο κυριότερος λόγος περιορισμού της χρήσης ενζύμων στην παραγωγή βιοαιθανόλης είναι το κόστος παραγωγής. Εν τούτοις είναι δυνατή η χρήση υδρολυτικών ενζύμων, που παράγονται από την καλλιέργεια μυκήτων (π.χ. *A. Niger* και *T. reesei*) χρησιμοποιώντας τα PPW σαν υπόστρωμα και φαίνεται πως αποτελεί καλύτερη λύση από την προεργασία με την όξινη υδρόλυση [41].

## Κεφάλαιο 3: Παραγοντικός σχεδιασμός

### 3.1.1 Εισαγωγή

Ο στατιστικός σχεδιασμός πειραμάτων είναι μια επιβεβαιωμένη τεχνική που βρίσκει εφαρμογή στη βιομηχανική αριστοποίηση των διεργασιών και σε ερευνητικές πειραματικές εργασίες. Παρέχει σημαντική βοήθεια, ιδιαίτερα όταν απαιτείται μεγάλη ακρίβεια στα πειραματικά αποτελέσματα. Τα τελευταία χρόνια βρίσκει ευρεία εφαρμογή, λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων του σε σχέση με άλλες ανάλογες μεθόδους. Τα κυριότερα πλεονεκτήματά της τεχνικής είναι ότι [43]:

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

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

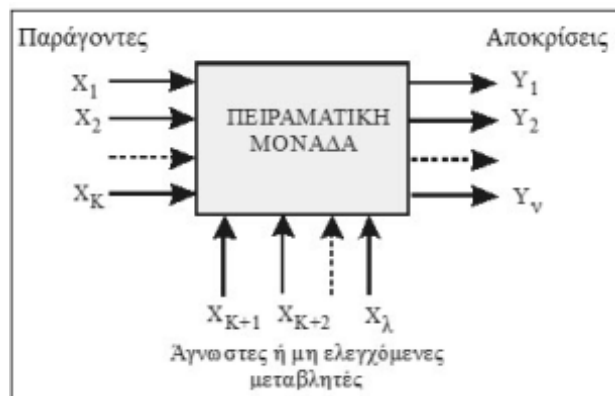
Κάθε πείραμα είναι μία δοκιμή. Αποτελείται από μία πειραματική μονάδα, μία σειρά μεταβλητών εισόδου και μία σειρά μεταβλητών εξόδου. Οι μεταβλητές εισόδου είναι παράμετροι, που η μεταβολή των τιμών τους, επηρεάζει την έκβαση του αποτελέσματος. Χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τις παραμέτρους που μπορούν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



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

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

Οι μεταβλητές εξόδου είναι μία σειρά αποτελεσμάτων (απαντήσεων) που προκύπτουν από την διεξαγωγή του πειράματος. Η μεταβλητή εξόδου που μας ενδιαφέρει να αριστοποιήσουμε προσδιορίζοντας τις κατάλληλες τιμές των παραγόντων, ονομάζεται παράμετρος αριστοποίησης (ή μεταβλητή απόκρισης). Η πειραματική μονάδα μπορεί να παρομοιαστεί με ένα «μαύρο κουτί», όπως στο σχήμα 3.1, στο οποίο δεν μπορούμε να αναγνωρίσουμε τις άμεσες σχέσεις μεταξύ των επιδράσεων και των ανταποκρίσεων, αλλά μπορούμε να τις μετρήσουμε και να τις συσχετίσουμε με μαθηματικά μοντέλα. Ο πειραματικός σχεδιασμός αποτελείται από έναν αριθμό δοκιμών (πειραμάτων), που πραγματοποιούνται με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση των παραγόντων, σε μία πειραματική περιοχή τιμών, στις μεταβλητές εξόδου.



Σχήμα 3.1: Ανατομία ενός πειράματος [43]

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

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_K) \quad (3.1)$$

### 3.1.2 Παράμετροι αριστοποίησης

Σε κάθε σχεδιασμό αριστοποίησης, είναι σημαντικός ο προσδιορισμός του τελικού σκοπού της έρευνας. Οι παράμετροι αριστοποίησης (μεταβλητή εξόδου) αποτελούν την ποσοτική έκφραση των χαρακτηριστικών του τελικού πειραματικού σκοπού και την αντίδραση της συμπεριφοράς του συστήματος στη δράση των παραγόντων. Η αντίδραση αυτή είναι, συνήθως, πολύπλευρη και μπορεί να εκφραστεί με πλήθος μορφών. Η εκλογή εκείνης της μορφής που παρουσιάζει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι μία κρίσιμη φάση του σχεδιασμού και καλείται έκφραση του τελικού σκοπού. Οι παράμετροι αριστοποίησης πρέπει να εκπληρώνουν συγκεκριμένες προϋποθέσεις [43]:

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

### 3.1.3 Παράγοντες σχεδιασμού

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

Είναι οι παράγοντες που γνωρίζουμε ότι επηρεάζουν τη λύση του προβλήματος και τους οποίους πρέπει προσεκτικά να επιλέξουμε. Απαιτήσεις για τους παράγοντες, πρέπει να είναι [43]:

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

### **3.2 Παραγοντικός σχεδιασμός για την εύρεση άριστων συνθηκών**

Ο σχεδιασμός ενός πειράματος εφαρμόζεται σε μια συγκεκριμένη περιοχή, η επιλογή και ο χαρακτηρισμός των διαστάσεων της οποίας πρέπει να πραγματοποιηθεί σε προγενέστερο στάδιο. Η διαδικασία της αριστοποίησης ξεκινάει μόνο εφόσον το αντικείμενο της μελέτης έχει εξετασθεί σε κάποιον βαθμό. Η εξέταση αυτή περιλαμβάνει τη συλλογή συγκεκριμένων πληροφοριών, που είναι απαραίτητες για την θεωρητική προσέγγιση της φύσης του παράγοντα αριστοποίησης. Στο πλαίσιο αυτό προσδιορίζονται [43]:

- Το σημείο έναρξης: το σημείο του πολυδιάστατου χώρου που μπορεί να θεωρηθεί σαν το αρχικό σημείο από το οποίο ξεκινάμε για την εύρεση του άριστου σημείο, γύρω από το οποίο θα εφαρμοστεί ο σχεδιασμός. Καλείται βασικό επίπεδο ή επίπεδο μηδέν.
- Η περιοχή τιμών των παραγόντων: η συμμετρική περιοχή γύρω από το βασικό επίπεδο, ώστε η επιφάνεια της παραμέτρου αριστοποίησης που κινείται εντός αυτής, να μπορεί να αντικατασταθεί με ένα γραμμικό μοντέλο. Πιθανή αστοχία στην σωστή επιλογή της υποπεριοχής αυτής, μπορεί να μας ωθήσει σε αναγκαστικό, εκ νέου σχεδιασμό του πειράματος.

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

$$x_j = \frac{\bar{x}_j - x_{j0}}{J_j} \quad (3.2)$$

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 της υποπεριοχής

$j$  ο αύξων αριθμός του παράγοντα

### 3.2.1 Παραγοντικό πείραμα

Παραγοντικό καλείται ένα πείραμα στο οποίο πραγματοποιούνται όλοι οι δυνατοί συνδυασμοί. Αν ο αριθμός των παραγόντων είναι  $k$  και ο αριθμός των επιπέδων  $p$ , τότε το πλήθος των μετρήσεων θα είναι:  $N=pk$  (3.3)

Ανάλογα με την επιλογή του  $p$  μιλάμε για  $(p-1)$  τάξεως σχεδιασμό. Αν για παράδειγμα  $p=2$  μιλάμε για σχεδιασμό ή για παραγοντικό πείραμα 1ης τάξης. Η τάξη του σχεδιασμού υπονοεί και τον βαθμό της εξίσωσης που μπορούμε να προσαρμόσουμε στα πειραματικά δεδομένα (1ης τάξης, 1ο βήθια εξίσωση). Στην πράξη χρησιμοποιούνται σχεδιασμοί με δύο ή τρία επίπεδα για κάθε μία από τις μεταβλητές  $k$ , που καλούνται αντίστοιχα  $2^k$  και  $3^k$  παραγοντικοί σχεδιασμοί. Σε ένα παραγοντικό πείραμα μελετάται η επίδραση της ταυτόχρονης μεταβολής δύο ή περισσότερων παραγόντων σε ένα παρατηρούμενο μέγεθος, που καλείται μεταβλητή απόκρισης. Με τον όρο παράγοντας καλείται κάποιο χαρακτηριστικό των πειραματικών συνθηκών, το οποίο μεταβάλλεται από δοκιμή σε δοκιμή. Οι τιμές που λαμβάνει ένας παράγοντας ονομάζονται επίπεδα. Οι συνθήκες ενός πειράματος μπορούν να γραφούν στη μορφή πίνακα, του οποίου οι γραμμές να αντιστοιχούν σε διαφορετικές μετρήσεις και οι στήλες στις τιμές των παραγόντων. Τέτοιοι πίνακες καλούνται «μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων». Η μήτρα σχεδιασμού ενός  $2^3$  παραγοντικού πειράματος καθώς και η γεωμετρική του αναπαράσταση παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1:

Πίνακας 3.1: Μήτρα παραγοντικού πειράματος  $2^3$  και γεωμετρική απεικόνιση [43]

	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_1X_2$	$X_1X_3$	$X_2X_3$	$X_1X_2X_3$	$Y$
1	+	+	+	+	+	+	+	$Y_1$
2	+	+	-	+	-	-	-	$Y_2$
3	+	-	+	-	+	-	-	$Y_3$
4	+	-	-	-	+	+	+	$Y_4$
5	-	+	+	-	-	+	+	$Y_5$
6	-	+	-	-	+	-	+	$Y_6$
7	-	-	+	+	-	-	+	$Y_7$
8	-	-	-	+	+	+	-	$Y_8$

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

#### — ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

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

A. Συμμετρία (ως προς το κέντρο του σχεδιασμού) 
$$\sum_{i=1}^N x_{ji} = 0 \quad (3.4)$$

B. κανονικότητα 
$$\sum_{i=1}^N x_{ji}^2 = N \quad (3.5)$$

Γ. ορθογωνικότητα 
$$\sum_{i=1}^N x_{ji} x_{ui} = 0 \quad (3.6)$$

Δ. περιστροφικότητα

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

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

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

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_kx_k \quad (3.7)$$

Οι συντελεστές της υπολογίζονται σύμφωνα με τη σχέση:

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N x_{ji}Y_i}{N} \quad (3.8) \text{ όπου } j=0,1,2,\dots,K \text{ ο αριθμός του παράγοντα}$$

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

$$b_{uj} = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad (3.9) \text{ όπου } u,j= 1,2,\dots \text{ οι αριθμοί των παραγόντων (u/=j)}$$

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

Κατά το σχεδιασμό επιδιώκεται αρχικά ο σχηματισμός ενός γραμμικού μοντέλου, ο οποίος ωστόσο πρέπει να ελέγχεται ως προς την αποτελεσματικότητά του. Αιτία μη γραμμικότητας μπορεί να αποτελεί η αλληλεπίδραση πολλαπλών παραγόντων μεταξύ τους, κι έτσι η δράση ενός παράγοντα να εξαρτάται από το επίπεδο όπου βρίσκεται ένας άλλος παράγοντας. Στην περίπτωση αυτή λαμβάνει χώρα μια εσωτερική ενδοδράση, μεταξύ των εμπλεκόμενων παραγόντων. Ένα παραγοντικό πείραμα μπορεί να εκτιμήσει ποσοτικά μία τέτοια εσωτερική ενδοδράση. Ο συντελεστής μιας ενδοδράσης προσδιορίζεται σύμφωνα με τη σχέση (3.9).

Έστω παραγοντικό πείραμα  $2^2$ . Το γραμμικό μαθηματικό μοντέλο είναι:

$$Y = b_0x_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 \quad (3.10)$$

Ο πίνακας σχεδιασμού φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3.2: Πίνακας σχεδιασμού παραγοντικού πειράματος  $2^2$ [43]:

N0 δοκιμής	x0	x1	x2	x1 x2	Y
1	+	-	-	+	Y1
2	+	+	-	-	Y2
3	+	-	+	-	Y3
4	+	+	+	+	Y4

Ο σχεδιασμός βασίζεται στις στήλες x1 και x2 ενώ οι στήλες x0 και x1x2 προσφέρονται μόνο για τον υπολογισμό.

Οι συντελεστές υπολογίζονται:

$$\begin{aligned}
 b_0 &= \frac{(+Y_1)(+Y_2)(+Y_3)(+Y_4)}{4} \\
 b_1 &= \frac{(-Y_1)(+Y_2)(-Y_3)(+Y_4)}{4} \\
 b_2 &= \frac{(-Y_1)(-Y_2)(+Y_3)(+Y_4)}{4} \\
 b_{12} &= \frac{(+Y_1)(-Y_2)(-Y_3)(+Y_4)}{4}
 \end{aligned} \quad (3.11)$$

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

#### — ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ

Μετά το σχεδιασμό ενός στατιστικού πειράματος ακολουθεί η εκτέλεση των επί μέρους πειραμάτων, των οποίων τα αποτελέσματα, υποδεικνύουν, από τα πρώτα κίολας στάδια της επεξεργασίας τους, την ορθότητα ή όχι των επιλογών του πειραματιστή κατά το σχεδιασμό. Το σφάλμα μιας μέτρησης είναι το άθροισμα μιας σειρά μερικών σφαλμάτων, όπως στη σταθεροποίηση των παραγόντων, στη μέτρηση της παραμέτρου αριστοποίησης, σφάλματα που οφείλονται στη γήρανση της συσκευής ή μιας από τις πρώτες ύλες κ.α. Κάθε ένα σφάλμα, μπορεί επίσης να διαιρεθεί στα συστατικά του.

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

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

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

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

$$t_{exp} = \frac{y_i - \bar{y}}{s_i} \quad (3.12)$$



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

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

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1} \quad (3.13)$$

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

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^{nm} f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (3.14)$$

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

$f_i$  οι αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας.

#### — ΕΛΕΓΧΟΣ ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΩΝ

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

Για την περίπτωση που ο αριθμός των διακυμάνσεων προς σύγκριση είναι μεγαλύτερος από δύο και μια διακύμανση είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τις άλλες μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κριτήριο του Cochran. Αυτό είναι χρήσιμο σε περιπτώσεις που υπάρχει ο ίδιος αριθμός επαναλήψεων σε όλα τα σημεία.

Το κριτήριο του Cochran είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης προς το άθροισμα όλων των διακυμάνσεων. Κριτήριο ομοιογένειας είναι η πειραματική του G να είναι μικρότερη της αντίστοιχης τιμής του πίνακα:

$$G = \frac{S_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad (3.15)$$

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

$s_i^2$  η τιμή της κάθε επιμέρους διακύμανσης

#### — ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ

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

$$Y = b_0 + b_1 x_1 \quad (3.16)$$

Σκοπός είναι ο προσδιορισμός των αγνώστων συντελεστών  $b_0$  και  $b_1$ . Πρέπει να οργανωθεί ένας αριθμός πειραμάτων για τη χρήση των αποτελεσμάτων στους υπολογισμούς. Αν όλα τα πειραματικά σημεία βρίσκονται πάνω σε ευθεία της μορφής (3.16) τότε κάθε ένα από τα σημεία αυτά περιγράφεται με την εξίσωση:

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = 0 \quad (3.17)$$

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

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

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = \xi_i \quad (3.18)$$

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

Για ελαχιστοποίηση των αποκλίσεων  $\xi$  χρησιμοποιείται η μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων, σύμφωνα με την οποία επιδιώκεται αρχικά η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των αποκλίσεων, δηλαδή η εύρεση του ελαχίστου της συνάρτησης:

$$\sum_i^N \xi_i^2 = \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 * x_{1i})^2 \quad (3.19)$$

Αυτό υπολογίζεται από τις μερικές παραγώγους ως εξής:

$$\frac{\partial(\xi_i^2)}{\partial b_0} = \frac{\partial(\xi_i^2)}{\partial b_1} = 0 \quad (3.20)$$

Προκύπτει το σύστημα:

$$-2 \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) = 0 \quad (3.21)$$

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

Η ιδιότητα της συμμετρίας της μήτρας σχεδιασμού δίνει:

$$\sum_i^N x_{1i} = 0 \quad (3.22)$$

Και οι εξισώσεις τροποποιούνται στις:

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad (3.23)$$

$$b_1 = \frac{\sum_i^N y_i x_{1i}}{\sum_i^N x_{1i}^2} \quad (3.24)$$

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

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_k x_k \quad (3.25)$$

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

$$\sum_i^N \xi_i^2 = \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i} - \dots - b_k x_{ki})^2 \quad (3.26)$$

Με  $k+1$  μερικές παραγώγους ως προς τους αγνώστους  $b_0, b_1, b_2, \dots, b_k$ , οι εξισώσεις 3.23 και 3.24 τροποποιούνται στις:

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad (3.27)$$

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{\sum_i^N x_{ji}^2} \quad (3.28)$$

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 (3.9) μετασχηματίζεται σε:

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{N} \quad (3.29)$$

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

$$b_{uj} = \frac{\sum_i^N y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad (3.30)$$

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

#### — ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ

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

$$s_{bj}^2 = \frac{s_y^2}{N} \quad (3.31)$$

όπου  $N$  ο αριθμός των δοκιμών

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

$$t = \frac{|b_j|}{\sqrt{s_b^2}} \quad (3.32)$$

όπου  $S_b^2$  η διασπορά των συντελεστών που υπολογίστηκε παραπάνω  $t$  η τιμή του πίνακα student με κατανομή σημαντότητας 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της  $S_y$ .

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

— ΕΛΕΓΧΟΣ ΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

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

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2} \quad (3.33)$$

Όπου  $s_y^2$  η τυπική απόκλιση

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

Η διακύμανση επάρκειας εκφράζεται από τη σχέση:

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - \hat{Y})^2}{f} \quad (3.34)$$

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

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

$f$  ο βαθμός ελευθερίας του συστήματος

$N$  ο αριθμός των δοκιμών

Αν το μοντέλο είναι επαρκές,

δίνονται τρεις πιθανές λύσεις:

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

2) Μέρος αυτών είναι σημαντικές και μέρος μη σημαντικές: στην περίπτωση αυτή πρέπει να εξηγηθεί η ασημαντότητα των συντελεστών και αν δεν εξηγείται θεωρητικά μπορεί να οφείλεται σε λανθασμένη εκλογή του επιπέδου των τιμών γύρω από τη βασική τιμή. Πρέπει να γίνουν σημαντικοί και να προχωρήσουμε. Αυτό μπορεί να συμβεί με επιλογή νέου διαστήματος τιμών, ή με αύξηση του αριθμού των

επαναλαμβανόμενων πειραμάτων ώστε να μειωθεί η διασπορά ή με επέμβαση στον αρχικό σχεδιασμό. Κάθε τέτοια παρέμβαση απαιτεί σημαντικές πειραματικές προσπάθειες. Για το λόγο αυτό μπορούμε να κινηθούμε κατά μήκος της παραγώγου, λαμβάνοντας υπόψιν μόνο τους σημαντικούς παράγοντες.

3) Καμία από τις παλινδρομήσεις των συντελεστών δεν είναι σημαντική: αυτό αποδίδεται είτε σε μεγάλο πειραματικό σφάλμα, είτε σε λήψη μικρού διαστήματος των τιμών των παραγόντων. Στην περίπτωση αυτή μπορούμε να συνεχίσουμε αυξάνοντας την ακρίβεια των πειραμάτων (περισσότερες επαναλήψεις ή/και βελτίωση της πειραματικής διαδικασίας) και μεγαλώνοντας το διάστημα των τιμών.

Αν το μοντέλο είναι ανεπαρκές:

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

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

Αυτό απαιτεί την εκτέλεση νέας σειράς πειραμάτων.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### Κεφάλαιο 4: Πειραματική μεθοδολογία

#### 4.1 Σκοπός

Ο σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η αξιοποίηση των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας προς την κατεύθυνση της παραγωγής βιοαιθανόλης δεύτερης γενιάς. Συγκεκριμένα, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή βιοαιθανόλης πραγματοποιείται μελέτη της βελτιστοποίησης των σταδίων της αλκαλικής προεπεξεργασίας (διάσπαση λιγνίνης) και της ενζυμικής υδρόλυσης (αμύλου και κυτταρίνης) στα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας, PPW. Οι παράμετροι που διερευνήθηκαν ήταν η συγκέντρωση καυστικού νατρίου και το φορτίο του αμυλολυτικού (NS22109) και κυτταρινολυτικού (NS22177) ενζύμου.

Στο κεφάλαιο αυτό θα αναπτυχθούν οι μέθοδοι και διαδικασίες που ακολουθήθηκαν στα πειράματα κατά την επεξεργασία της πρώτης ύλης. Αναλυτικότερα, περιλαμβάνονται οι ενότητες:

- Φυσικοχημικός προσδιορισμός των PPW
- Αλκαλική προεπεξεργασία
- Ενζυμική υδρόλυση αμύλου
- Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης
- Αλκοολική ζύμωση των μονομερών σακχάρων που προέκυψαν στα προηγούμενα στάδια

#### 4.2 Πρώτη ύλη

Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη διπλωματική εργασία είναι τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (PPW) τα οποία συλλέχθηκαν από τη βιομηχανία επεξεργασίας πατάτας, Τσακίρης Α.Β.Ε.Ε που βρίσκεται στην Αταλάντη, Φθιώτιδας.

Τα PPW μεταφέρθηκαν με ευθύνη της Μονάδας Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας, της Σχολής Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ από τη βιομηχανία στους χώρους του ΕΜΠ. Μετά τη μεταφορά τους στις εγκαταστάσεις του ΕΜΠ, τα νωπά PPW τοποθετήθηκαν στο εμπορικό σύστημα αποκεντρωμένης ξήρανσης Gaia GC-100 (Σχήμα 4.1) όπου ξηράθηκαν.





Σχήμα 4.1 : Ξηραντήριο Gaia GC-100

Ο ξηραντήρας Gaia είναι ένα σύστημα μείωσης του όγκου των οργανικών απορριμμάτων και απορριμμάτων φαγητού σε ποσοστό που φτάνει μέχρι και το 90%. Γενικά, τα ξηραντήρια Gaia είναι απλά αυτόματα συστήματα ξήρανσης που στηρίζονται στη θέρμανση και τη μηχανική ανάδευση. Εξαιτίας του γεγονότος ότι τα ποσοστά υγρασίας στα οργανικά απορρίμματα και τα απορρίμματα φαγητού είναι πολύ υψηλά (έως και 98%), η μείωση του όγκου και του βάρους επιτυγχάνεται με την εξάτμιση του νερού. Τα ξηραντήρια Gaia διαφοροποιούνται από άλλες τεχνολογίες ξήρανσης λόγω του συστήματος closed loop.

Τα ξηρά PPW χαρακτηρίστηκαν ως προς τις ακόλουθες παραμέτρους:

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

### 4.3 Αλκαλική προεπεξεργασία

Στο στάδιο αυτό γίνεται προσπάθεια να αλλάξει η μορφολογία της λιγνινοκυτταρινούχας πρώτης ύλης προκειμένου να διευκολυνθεί η πρόσβαση των ενζύμων σε όσο μεγαλύτερη επιφάνεια υποστρώματος είναι εφικτό. Όπως έχει επισημανθεί και σε άλλες μελέτες (Taher et al.(2016) [41]), η αλκαλική επεξεργασία αφαιρεί το στρώμα της λιγνίνης (απολιγνίνωση) και παράλληλα ο δείκτης της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης μειώνεται. Οι διαφορετικές συγκεντρώσεις του διαλύματος NaOH που εξετάστηκαν ήταν 1%, 2% και 3%. Η ποσότητα υποστρώματος PPW που χρησιμοποιήθηκε ήταν 10g υποστρώματος σε 100 mL από το εκάστοτε δ/μα

του NaOH σε γυάλινη φιάλη των 250 mL. Το δείγμα τοποθετήθηκε για 6h σε αναδευόμενο shaker στους 50 °C.

#### 4.4 Ενζυμική υδρόλυση αμύλου

Μετά την αλκαλική προεπεξεργασία, προστέθηκαν 50 mL H<sub>2</sub>O μιας και το δείγμα είχε απορροφήσει αρκετό νερό και θα δυσκόλευε τη διασπορά του ενζύμου. Έπειτα, ρυθμίστηκε το pH με θειικό οξύ στο 5 το οποίο είναι το βέλτιστο pH λειτουργίας των ενζύμων σύμφωνα με την προμηθεύτρια εταιρία Novozyme.

Στη συνέχεια προστίθεται σε δόσεις των 10, 30, 50 μL/g αμύλου, το μη εμπορικό αμυλολυτικό ένζυμο NS22109, και η γυάλινα φιάλη τοποθετήθηκε παλι στο shaker στους 65 °C για 1h.

Οι παράμετροι που μετρώνται στην υγρή φάση είναι:

- Η γλυκόζη
- TOC
- TN
- VFA
- Φαινόλες

Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνται 2 φορές.

#### 4.5 Ενζυμική υδρόλυση κυτταρίνης

Το ένζυμο που χρησιμοποιήθηκε για τη διάσπαση της κυτταρίνης σε μονομερή σάκχαρα είναι μεγάλης βαρύτητας, μιας και η απόδοση της αποδόμησης της κυτταρίνης εξαρτάται σημαντικά και από το ένζυμο που χρησιμοποιείται. Για το λόγο αυτό, πραγματοποιήθηκε προκαταρκτικό πείραμα για την αξιολόγηση του καταλληλότερου κυτταρινολυτικού ενζύμου. Μελετήθηκε, λοιπόν η χρήση 2 κυτταρινολυτικών ενζύμων, ενός εμπορικού και ενός μη εμπορικού, το CellicCTec2 και το NS22177 αντίστοιχα. Το ένζυμο CellicCTec2 (Novozymes, Denmark) αποτελεί ένα σύμπλεγμα επιθετικών κυτταρινασών, με β-γλυκοζιδάσες και ημικυτταρινάση. Η χρήση του εξασφαλίζει υψηλά ποσοστά μετατροπής, είναι αποτελεσματικό σε υποστρώματα με υψηλό περιεχόμενο σε στερεά, είναι ανθεκτικό σε αναστολείς και συμβατό με μια ποικιλία υποστρωμάτων. Λόγω της υψηλής του συγκέντρωσης δίνει τη δυνατότητα χαμηλότερης δόσης ενζύμου έως και 50%.

Παρόμοια, το NS22177 αποτελεί ένζυμο κυτταρινασών το οποίο δρα σε στερεά υποστρώματα όπως και το CellicCTec2 και το οποίο έχει αναπτυχθεί από την εταιρεία για την ενζυμική υδρόλυση διατροφικών απορριμμάτων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ένζυμο NS22177 επιδρούσε πιο αποτελεσματικά στα PPW συγκριτικά με το ένζυμο CellicTec2.

Έτσι, στις γυάλινες φιάλες με το δείγμα προστέθηκε το ένζυμο NS22177 σε δοσολογίες 100, 200, 300 μL/g κυτταρίνης. Έπειτα τοποθετήθηκε στο shaker στους 50 °C για 24h.

Μετά το πέρας του σταδίου αυτού, στην υγρή φάση προσδιορίστηκαν τα ακόλουθα:

- Γλυκόζη
- TOC
- TN
- VFA
- Φαινόλες

Όλες οι πειραματικές δοκιμές πραγματοποιούνται 2 φορές.

#### 4.6 Ζύμωση

Μετά το πέρας της ενζυμικής υδρόλυσης ακολουθεί η διεργασία της ζύμωσης σύμφωνα με τα παρακάτω βήματα:

1. Τα δείγματα ελέγχονται ξανά ως προς το pH και ρυθμίζονται με κατάλληλη ποσότητα H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ή NaOH μέχρις ότου το pH να κυμαίνεται μεταξύ 5 – 6.
2. Στα δείγματα προστίθεται η μαγιά *Saccharomyces cerevisiae* η οποία εμπεριέχεται στη συμβατική μαγιά ξηρή αρτοποιίας σε ποσοστό 2% κατά βάρος αρχικής ποσότητας πρώτης ύλης.
3. Τα δείγματα αναδεύονται σταθερά στην συσκευή ανάδευσης και σε θερμοκρασία 30 °C για χρονικό διάστημα 24 ωρών.

## 4.7 Μέθοδοι ανάλυσης

### Προσδιορισμός ολικών στερεών TS

Για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών TS ζυγίστηκε ποσότητα 10 g για κάθε δείγμα PPW 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.

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

$$\%TS = (\text{τελική μάζα δείγματος} / \text{αρχική μάζα δείγματος}) * 100 \quad (4.1)$$

### 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 4.2:



Σχήμα 4.2: 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 οξειδωση 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:

$$\% \text{κ. β. VS} = \left( \frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \cdot 100 \quad (4.2)$$

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 ξήρασης 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:

$$\%WS = ((\text{αρχική μάζα δείγματος} - \text{τελική μάζα δείγματος}) / (\text{αρχική μάζα δείγματος})) * 100 \quad (4.3)$$

### 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 4.3: 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 CaCO<sub>3</sub> 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:

$$Total\ gluc\ \left(\% \frac{w}{w}\right) = \frac{0,71 \cdot ABS_{mean} \cdot D \cdot 86,73 \cdot 10^{-3}}{initial\ solid} \cdot \frac{100}{0,897} \quad (4.4)$$

όπου:

ABS<sub>mean</sub>: 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:

$$\text{Κυτταρίνη} \left( \% \frac{w}{w} \right) = \text{Total gluc} \left( \% \frac{w}{w} \right) \cdot 0,9 \quad (4.5)$$

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:

$$ABS_{\text{xyl}} = ABS_{\text{ημικυτ}} - ((0,71 * ABS_{\text{κυτ}}) / 1,664) \quad (4.6)$$

όπου:

$ABS_{\text{xyl}}$ : η απορρόφηση της ξυλόζης σε μήκος κύματος 540 nm

$ABS_{\text{ημικυτ}}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης της ημικυτταρίνης (η απορρόφηση που μετρήθηκε στο συγκεκριμένο στάδιο)

$ABS_{\text{κυτ}}$ : ο μέσος όρος απορρόφησης της κυτταρίνης (όπως βρέθηκε κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης)

Κατόπιν, υπολογίζεται η συνολική περιεκτικότητα κατά βάρος ξυλόζης:

$$\text{Total xylose} (\% w/w) = (1,3861 * ABS_{\text{xyl}}) / 0,86 \quad (4.7)$$



όπου:

$ABS_{\chi\lambda\iota}$ : 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:

$$\text{Ημικυτταρίνη(\% w/w)} = ((\text{total xylose}) * (132/150) * 0,08673 * (1/1000) * 100) / (\text{initial solid}) \quad (4.8)$$

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:

$$\text{Λιγνίνη (\% w/w)} = ((ABS_{\text{mean}} * D * 0,08673) / (\epsilon * \text{initial solid})) * 100 \quad (4.9)$$

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

$\epsilon$ : σταθερά που εξαρτάται από το είδος της πρώτης ύλης ( $\epsilon=30 \text{ l}/(\text{g}\cdot\text{cm})$ )

- *Μη διαλυτή λιγνίνη*

Οι πορσελάνινες κάψες με τα στερεά υπολείμματα που έχουν προκύψει κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης τοποθετούνται στο φούρνο ξήρανσης στους  $105^\circ\text{C}$  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  $575^\circ\text{C}$  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:

$$\% \text{ μη διαλυτής λιγνίνης} = ((m_{575} - m_{105}) / \text{initial solid}) * 100 \quad (4.10)$$

όπου:

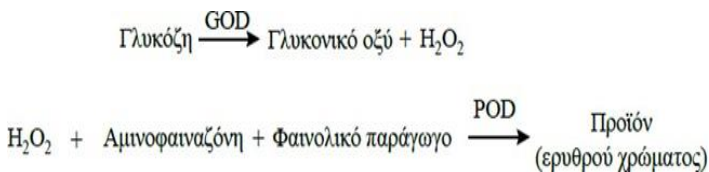
$m_{575}$ : η μάζα του δείγματος που βγήκε από το φούρνο στους  $575^\circ\text{C}$

$m_{105}$ : η μάζα του δείγματος που βγήκε από το φούρνο στους  $105^\circ\text{C}$

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 4.4: 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 επωάζονται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C για 15 min.
5. Επιλέγεται στο φωτόμετρο το μήκος κύματος των 510 nm. Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αναδεύονται στη συσκευή Vortex- Genie 2, της εταιρείας Scientific Industries, και 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 4.5 απεικονίζονται τα διαλύματα μετά το πέρας των 15 λεπτών στο υδατόλουτρο.



*Σχήμα 4.5: 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:

$$\text{Ελεύθερη γλυκόζη} \left( \% \frac{w}{w} \right) = \frac{0,71 \cdot \text{ABS}_{\text{mean}} \cdot D \cdot (V_{\text{tot}}) \cdot 10^{-3}}{\text{initial solid}} \cdot 100 \quad (4.11)$$

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 4.6:



Σχήμα 4.6: Συσκευή μέτρησης TOC

Η πειραματική διαδικασία προσδιορισμού TOC ξεκίνησε με την αραιώση των διηθημάτων που προέκυψαν τόσο μετά την απολιγνίνωση όσο και μετά την ενζυμική υδρόλυση. Πιο συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε αραιώση 1:50 στα διαλύματα που προέκυψαν μετά την απολιγνίνωση, ενώ πραγματοποιήθηκε αραιώση 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 μετριέται η συγκέντρωση των VFAs με χρήση του κατάλληλου πακέτου αντιδραστηρίων του εργαστηρίου Spectroquant Volatile Organic Acids Test 1018909 (Merck KGaA, Mellipore, Germany (Merck KGaA, Mellipore, Germany)). Κάθε δείγμα είναι αραιωμένο 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.

## **Κεφάλαιο 5: Πειραματικό πρωτόκολλο**

### **5.1 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 1%, 2%, 3% w/w. Κάθε πειραματική δοκιμή πραγματοποιήθηκε σε 2 επαναλήψεις τουλάχιστον.

### **5.2 Ενζυμική υδρόλυση**

Με την ολοκλήρωση της αλκαλικής προεπεξεργασίας, το δείγμα υποβλήθηκε σε ενζυμική υδρόλυση. Για τα PPW πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης που ορίζονται από τον παραγοντικό σχεδιασμό (Πίνακας 5.1). Εξετάστηκαν δοσολογίες αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 10, 30, 50 μL/ g αμύλου και κυταρινολυτικού NS22177 100, 200, 300 μL/g κυτταρίνης. Κάθε μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε ζεύγος 2 επαναλήψεων.

### **5.3 Αλκοολική ζύμωση**

Στο τέλος το δείγμα οδηγήθηκε σε αλκοολική ζύμωση χρησιμοποιώντας τον *S. Cerevisiae* 2% για βιομετατροπή των ελεύθερων σακχάρων που προέκυψαν στα προηγούμενα στάδια σε βιοαιθανόλη, όπου και θα αξιολογηθεί η απόδοσή της. Κάθε δοκιμή επαναλαμβάνεται 2 φορές.

### **5.4 Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών**

Όπως προαναφέρθηκε στόχος της διπλωματικής αυτής εργασίας είναι η βελτιστοποίηση της παραγωγής ζυμώσιμων σακχάρων και βιοαιθανόλης από PPW μετά από αλκαλική χημική προεπεξεργασία, ενζυμική υδρόλυση και αλκοολική ζύμωση. 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 και της αλκοολικής ζύμωσης («παραμέτροι αριστοποίησης») για την πρώτη ύλη που μελετήθηκε. Με βάση λοιπόν τα ανωτέρω σχεδιάστηκαν 3 παραγοντικά πειράματα όπως περιγράφονται παρακάτω.



## A. Πρώτο παραγοντικό πείραμα

Το πρώτο παραγοντικό πείραμα είχε ως στόχο τη μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του NaOH και της δοσολογίας του αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 στην απόδοση σακχαροποίησης αμύλου. Η απόδοση της σακχαροποίησης του αμύλου (starch saccharification yield)  $SG_s$ , υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση:

$$SG_s = \frac{C_{glu}}{C_{starch} \cdot f} \cdot 100(\%)(5.1)$$

όπου  $SG_s$  η απόδοση της σακχαροποίησης του αμύλου

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

$C_{starch}$  η αρχική ποσότητα του αμύλου 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)[44]).

Το πείραμα είναι μορφής  $2^k$ , όπου συγκεκριμένα στην περίπτωση μας θα είναι  $k=2$ . Η περιοχή των δοκιμών του παραγοντικού σχεδιασμού επιλέχθηκε με βάση προκαταρκτικά πειράματα που έγιναν στην πρώτη ύλη. Για τον παραγοντικό σχεδιασμό, όπως αναφέρθηκε, 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 5.1.

Πίνακας 5.1 Ρυθμιστικές παράμετροι και τα επίπεδά τους κατά τον παραγοντικό σχεδιασμό των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας.

Ρυθμιστική παράμετρος	Διαστήματα μεταβολής		
	Χαμηλό επίπεδο (-1)	Υψηλό επίπεδο (+1)	Κέντρο (0)
NaOH (%)	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>2</b>
NS22109 (μL/ αμύλου) g	<b>10</b>	<b>50</b>	<b>30</b>

Για κάθε πείραμα που ορίζει ο παραγοντικός σχεδιασμός έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Επιπλέον, για τις τιμές του κέντρου, αντιπροσωπεύοντας, δηλαδή το επίπεδο 0, έγιναν 4 επαναλήψεις. Οι συνδυασμοί των δοκιμών που προκύπτουν από τον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται παρακάτω:

*Πίνακας 5.2 Πειραματικός σχεδιασμός του πρώτου παραγοντικού πειράματος Α για τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (PPW)*

<b>Πείραμα</b>	<b>NaOH (%)</b>	<b>NS22109 (μL/ g αμύλου)</b>
A1.1	1	10
A1.2	1	10
A2.1	1	50
A2.2	1	50
A3.1	3	10
A3.2	3	10
A4.1	3	50
A4.2	3	50
A0.1	2	30
A0.2	2	30
A0.3	2	30
A0.4	2	30

## **B. Δεύτερο παραγοντικό πείραμα**

Το δεύτερο παραγοντικό πείραμα είχε ως στόχο τη μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του NaOH και της δοσολογίας του αμυλολυτικού NS22109 και κυτταρινολυτικού ενζύμου NS22177 στην απόδοση σακχαροποίησης των περιεχόμενων υδατανθράκων. Η απόδοση της σακχαροποίησης των υδατανθράκων (saccharification yield) SG, υπολογίστηκε σύμφωνα με τη σχέση:

$$SG = \frac{C_{glu}}{C_{total} \cdot f} \cdot 100(\%)(5.2)$$

όπου SG η απόδοση της σακχαροποίησης

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

$C_{total}$  η αρχική ποσότητα του αμύλου και 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[44]).

Το πείραμα είναι και πάλι μορφής  $2^k$ , όπου συγκεκριμένα στην περίπτωση μας θα είναι  $k=3$ . Η περιοχή των δοκιμών του παραγοντικού σχεδιασμού επιλέχθηκε με βάση προκαταρκτικά πειράματα που έγιναν στην πρώτη ύλη. Τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων που ορίστηκαν παρουσιάζονται στον ακόλουθο Πίνακα 5.3.

*Πίνακας 5.3 Πειραματικός σχεδιασμός του πρώτου παραγοντικού πειράματος Β για τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (PPW)*

Ρυθμιστική παράμετρος	Διαστήματα μεταβολής		
	Χαμηλό επίπεδο (-1)	Υψηλό επίπεδο (+1)	Κέντρο (0)
NaOH (%)	1	3	2
NS22109 (μL/ g αμύλου)	10	50	30
NS22177 (μL/ g κυτταρίνης)	100	300	200

Για κάθε πείραμα που ορίζει ο παραγοντικός σχεδιασμός έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Επιπλέον, για τις τιμές του κέντρου, αντιπροσωπεύοντας, δηλαδή το επίπεδο 0, έγιναν 4 επαναλήψεις. Οι συνδυασμοί των δοκιμών που προκύπτουν από τον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 5.4 Πειραματικός σχεδιασμός του πρώτου παραγοντικού πειράματος Β για τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (PPW)

Πείραμα	NaOH (%)	NS22109 (μL/ g αμύλου)	NS22177 (μL/ g κυτταρίνης)
B1.1	1	10	100
B1.2	1	10	100
B2.1	1	10	300
B2.2	1	10	300
B3.1	1	50	100
B3.2	1	50	100
B4.1	1	50	300
B4.2	1	50	300
B5.1	3	10	100
B5.2	3	10	100
B6.1	3	10	300
B6.2	3	10	300
B7.1	3	50	100
B7.2	3	50	100
B8.1	3	50	300
B8.2	3	50	300
B0.1	2	30	200
B0.2	2	30	200
B0.3	2	30	200
B0.4	2	30	200

### Γ. Τρίτο παραγοντικό πείραμα

Το τρίτο παραγοντικό πείραμα είχε ως στόχο τη μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του NaOH και της δοσολογίας του αμυλολυτικού NS22109 και κυτταρινολυτικού ενζύμου NS22177 στην απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης.

Η απόδοση των πειραματικών δοκιμών σε αιθανόλη μπορεί να προσδιοριστεί σύμφωνα με την παρακάτω σχέση:

$$Eth = \frac{C_{ethanol}}{C_{ethanol,theoretical}} * 100\% = \frac{C_{ethanol}}{(C_{total}*f)*0.51} * 100\% \quad (5.3)$$

Όπου,

$C_{ethanol}$  η ποσότητα αιθανόλης που παράγεται μετά το πέρας της ζύμωσης.

$C_{ethanol,theoretical}$  η θεωρητική ποσότητα αιθανόλης που παράγεται εάν μετατραπούν πλήρως το άμυλο και η κυτταρίνη σε γλυκόζη και κατ' επέκταση σε αιθανόλη

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

$C_{total}$  η αρχική ποσότητα του αμύλου και της κυτταρίνης του εξεταζόμενου υποστρώματος.

Τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων που ορίστηκαν ήταν τα ίδια με αυτά του παραγοντικού πειράματος 2 (Πίνακας 5.4).

Για κάθε πείραμα που ορίζει ο παραγοντικός σχεδιασμός έγιναν τουλάχιστον 2 επαναλήψεις. Επιπλέον, για τις τιμές του κέντρου, αντιπροσωπεύοντας, δηλαδή το επίπεδο 0, έγιναν 4 επαναλήψεις. Οι συνδυασμοί των δοκιμών που προκύπτουν από τον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται παρακάτω:

Πίνακας 5.5 Πειραματικός σχεδιασμός του πρώτου παραγοντικού πειράματος Γ για τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (PPW)

Πείραμα	NaOH (%)	NS22109 (μL/ g αμύλου)	NS22177 (μL/ g κυτταρίνης)
Γ1.1	1	10	100
Γ1.2	1	10	100
Γ2.1	1	10	300
Γ2.2	1	10	300
Γ3.1	1	50	100
Γ3.2	1	50	100
Γ4.1	1	50	300
Γ4.2	1	50	300
Γ5.1	3	10	100
Γ5.2	3	10	100
Γ6.1	3	10	300
Γ6.2	3	10	300
Γ7.1	3	50	100
Γ7.2	3	50	100
Γ8.1	3	50	300
Γ8.2	3	50	300
Γ0.1	2	30	200
Γ0.2	2	30	200
Γ0.3	2	30	200
Γ0.4	2	30	200

Τα πειράματα δηλαδή του τρίτου παραγοντικού σχεδιασμού ήταν ανάλογα με του δεύτερου με τη διαφορά ότι ακολουθούσε το στάδιο της αλκοολικής ζύμωσης με την προσθήκη της μαγιάς *S. Cerevisiae* 2% στους 30°C για 24h.

## Κεφάλαιο 6: Πειραματικά αποτελέσματα

### 6.1 Σύσταση πρώτης ύλης

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε ο χαρακτηρισμός της πρώτης ύλης, ο οποίος περιλαμβάνει μετρήσεις υδατοδιαλυτών στερεών (WSS), κυτταρίνης, ημικυτταρίνης, διαλυτής και μη διαλυτής λιγνίνης όπως και αμύλου.

Πίνακας 6.1 : Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας

Παράμετρος	%w/w
Υδατοδιαλυτά στερεά (WSS)	1,16 ± 0,07
Κυτταρίνη	45,31 ± 2,55
Μη διαλυτή λιγνίνη (AIL)	20,93 ± 1,51
Διαλυτή λιγνίνη (ASL)	1,09 ± 0,11
Ημικυτταρίνη	39,36 ± 1,99
Άμυλο	7,59 ± 2,72



## 6.2 Πρωτογενή αποτελέσματα πρώτου παραγοντικού πειράματος

Στον πίνακα 6.2 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πρωτογενείς πειραματικές μετρήσεις, για τις εξεταζόμενες συνθήκες αλκαλικής προεπεξεργασίας και της επακόλουθης ενζυμικής σακχαροποίησης με το ένζυμο NS22109 των προεπεξεργασμένων δειγμάτων.

*Πίνακας 6.2: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας (10% w/w) με αλκαλικό διάλυμα NaOH και αμυλολυτικό ένζυμο NS22019*

Πείραμα	NaOH (% w/w)	NS22109 (μL/g αμύλου)	Γλυκόζη (mg/mL)	TOC (mg/L)	TN (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)
A1.1	1	10	6,28	4552	159,15		
A1.2	1	10	7,18	4183	127,65		
A2.1	1	50	3,46				
A2.2	1	50	6,71				
A3.1	3	10	9,62	8290	406,60	2700	80,5
A3.2	3	10	9,64	7960	117,70	2240	53
A4.1	3	50	11,22	8582	383,30	2280	65
A4.2	3	50	13,16	8750	373,90	2450	63,4
A0.1	2	30	10,03	6645	262,5		
A0.2	2	30	9,4	6020	221,95		
A0.3	2	30	9,8	6241	239,15		
A0.4	2	30	10,01	6527	250,11		

Στο υγρό κλάσμα βρέθηκε λοιπόν TOC σε εύρος 4183-8750 mg/L. Το TN κυμάνθηκε μεταξύ 117,7-406,6mg/L, το οποίο ενδεχομένως οφείλεται στο φορτίο πρωτεϊνών που εντοπίζονται στο PPW (όπως φάνηκε στο Κεφάλαιο 3, τα PPW περιέχουν έως και 17,1% πρωτεϊνικό φορτίο). Τα πτητικά λιπαρά οξέα (VFA) κυμαίνονται σε 2240-2700 mg/L. Τέλος, οι φαινόλες κυμαίνονται από 53-80,5 mg/L.

Όπως φαίνεται και από τον παραπάνω πίνακα, παρατηρείται αυξανόμενη τάση στην απελευθέρωση γλυκόζης καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του NaOH. Η μέγιστη τιμή γλυκόζης σημειώνεται για μέγιστη συγκέντρωση (3%) NaOH και μέγιστο ενζυμικό φορτίο (50μL/g) του NS22109. Οι διαφορετικές δοσολογίες ενζύμου NS22109 δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά στην έκλυση γλυκόζης.

### 6.3 Πρωτογενή αποτελέσματα δεύτερου παραγοντικού πειράματος

Στον πίνακα 6.3 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πρωτογενείς πειραματικές μετρήσεις, για τις εξεταζόμενες συνθήκες αλκαλικής προεπεξεργασίας και της επακόλουθης ενζυμικής σακχαροποίησης με τα ένζυμα NS22109 και NS22177 των προεπεξεργασμένων δειγμάτων.

*Πίνακας 6.3: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας (10% w/w) με αλκαλικό διάλυμα NaOH, αμυλολυτικό ένζυμο NS22019 και κυτταρινολυτικό ένζυμο NS22177*

Πείραμα	NaOH (% w/w)	NS22109 (μL/g αμύλου)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Γλυκόζη (mg/mL)	TOC (mg/L)	TN (mg/L)	VFA (mg/L)	Φαινόλες (mg/L)
B1.1	1	10	100	20,41	9112	260,7		
B2.1	1	10	300	2,59	15805	750,4		
B3.1	1	50	100	17,3				
B4.1	1	50	300	18,24				
B5.1	3	10	100	23,06	12720	426	2370	52,6
B6.1	3	10	300	22,55	14090	560,1	2430	42,4
B7.1	3	50	100	24,79	15910	525,2	3010	73
B8.1	3	50	300	25,73	16790	700,5	3320	61,4
B0.1	2	30	200	21,33	12540	393,6		
B0.3	2	30	200	21,58	11785	360,15		

Στην ανάλυση του υγρού υπολογίστηκε το TOC σε εύρος 9112-16790 mg/L, το ολικό άζωτο στο εύρος 260,7-700,5 mg/L. Ακόμη τα εύρη στα VFA και φαινόλες ήταν 2370-3320 mg/L και 42,4-73 mg/L αντίστοιχα.

Είναι εμφανές ότι το φορτίο του άνθρακα και της γλυκόζης έχει αυξηθεί σημαντικά στην υγρή φάση, γεγονός που υποδηλώνει την έντονη δράση του κυτταρινολυτικού ενζύμου NS22177 μιας και το PPW δείγμα που εξετάζουμε υπολογίσαμε ότι είναι πλούσιο σε κυτταρίνη (45,31%).

Έπειτα από την προσθήκη του κυτταρινολυτικού ενζύμου, παρατηρείται και πάλι αυξητική τάση στην έκλυση γλυκόζης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του NaOH κατά την προεπεξεργασία. Η μέγιστη τιμή γλυκόζης παρουσιάζεται για τη δοκιμή με το υψηλότερο επίπεδο των παραμέτρων για 3% NaOH, 50μL/g NS22109 και 300 μL/g NS22177, ακολουθούμενη με μικρή διαφορά από δοκιμές με τα υπόλοιπα ενζυμικά φορτία πάλι με 3% NaOH.

#### **6.4 Πρωτογενή αποτελέσματα τρίτου παραγοντικού πειράματος**

Στον πίνακα 6.4 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι πρωτογενείς πειραματικές μετρήσεις, για τις εξεταζόμενες συνθήκες αλκαλικής προεπεξεργασίας, ενζυμικής σακχαροποίησης με τα ένζυμα NS22109 και NS22177 και αλκοολικής ζύμωσης των προεπεξεργασμένων δειγμάτων.

Πίνακας 6.4: Ανάλυση υγρού κλάσματος προεπεξεργασμένου δείγματος αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας (10% w/w) με αλκαλικό διάλυμα NaOH, αμυλολυτικό ένζυμο NS22019, κυτταρινολυτικό ένζυμο NS22177 και μαγιά *S. Cerevisiae*

Πείραμα	NaOH (%)	NS22109	NS22177	Γλυκόζη (mg/mL)	TOC (mg/L)	TN (mg/L)	Αιθανόλη (mg/L)
		(μL/ g αμύλου)	(μL/ g κυτταρίνης)				
Γ1.1	1	10	100	36,92	12070	383,70	14000
Γ1.2	1	10	100	66,03	12150	566,10	14000
Γ2.1	1	10	300	66,03	12150	566,10	14000
Γ2.2	1	10	300	43,31	12630	533,80	14000
Γ3.1	1	50	100	468,6			19000
Γ3.2	1	50	100	404,7			19000
Γ4.1	1	50	300	312,4			19000
Γ4.2	1	50	300	170,4			21000
Γ5.1	3	10	100	87,33	13450	435,80	12000
Γ5.2	3	10	100	61,77	13640	453,50	13000
Γ6.1	3	10	300	54,67	14590	612,70	14000
Γ6.2	3	10	300	65,32	16360	707,90	13000
Γ7.1	3	50	100	2733,5			11000
Γ7.2	3	50	100	12141			1000
Γ8.1	3	50	300	12439,2			1000
Γ8.2	3	50	300	681,6			12000
Γ0.1	2	30	200	119,28	14930	556,80	14000
Γ0.2	2	30	200	55,38	12930	459,30	13000
Γ0.3	2	30	200	39,76	12820	430,70	12500
Γ0.4	2	30	200	39,76	13580	480,50	14500

## Κεφάλαιο 7: Επεξεργασία πειραματικών αποτελεσμάτων

### 7.1 Απόδοση σακχαροποίησης και παραγωγής αιθανόλης

Με επεξεργασία όλων των αποτελεσμάτων που λήφθηκαν υπολογίστηκαν για κάθε παραγοντικό πείραμα οι ανάλογες αποδόσεις. Πιο συγκεκριμένα για το πρώτο παραγοντικό πείραμα υπολογίστηκε η απόδοση της σακχαροποίησης του αμύλου η οποία ορίζει το ποσοστό του αμύλου (σε όρους γλυκόζης) της αρχικής πρώτης ύλης που μετατράπηκε σε γλυκόζη κατά την ενζυμική υδρόλυση, για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα η απόδοση της σακχαροποίησης των υδατνθρακών η οποία ορίζει το ποσοστό του αμύλου και της κυτταρίνης (σε όρους γλυκόζης) της αρχικής πρώτης ύλης που μετατράπηκε σε γλυκόζη κατά την ενζυμική υδρόλυση και για το τρίτο παραγοντικό πείραμα η απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης η οποία ορίζει το ποσοστό της αιθανόλης που παρήχθη σε σχέση με τη θεωρητική αιθανόλη που θα μπορούσε να παραχθεί εάν όλο το άμυλο και η κυτταρίνη μετατρεπόταν αρχικά σε γλυκόζη και ακολούθως σε αιθανόλη. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 7.1-7.3).

*Πίνακας 7.1 Απόδοση σακχαροποίησης αμύλου των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH και ενζυμική υδρόλυση με NS22109 (Πρώτο παραγοντικό πείραμα).*

Πείραμα	NaOH (%)	NS22109 (μL/ g αμύλου)	SG <sub>s</sub> (%)		
				±	
A1	1	10	39,88	±	4,43
A2	1	50	30,62	±	13,81
A3	3	10	64,09	±	9,12
A4	3	50	67,41	±	8,97
A0	2	30	58,29	±	3,07

Πίνακας 7.2 Απόδοση σακχαροποίησης υδατανθρακών των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH και ενζυμική υδρόλυση με NS22109 και NS22177 (Δεύτερο παραγοντικό πείραμα).

Πείραμα	NaOH (%)	NS22109 (μL/ g αμύλου)	NS22177 (μL/ g κυτταρίνης)	SG (%)		
					±	
B1	1	10	100	67,15	±	7,65
B2	1	10	300	69,08	±	8,87
B3	1	50	100	59,20	±	7,44
B4	1	50	300	62,09	±	6,54
B5	3	10	100	82,15	±	13,36
B6	3	10	300	81,37	±	10,30
B7	3	50	100	69,59	±	6,16
B8	3	50	300	73,99	±	13,16
B0	2	30	200	72,98	±	0,30

Πίνακας 7.3 Απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας, ύστερα από αλκαλική προεπεξεργασία με NaOH, ενζυμική υδρόλυση με NS22109 και NS22177 και αλκοολική ζύμωση με *S. Cerevisiae* (Τρίτο παραγοντικό πείραμα).

Πείραμα	NaOH (%)	NS22109 (μL/ g αμύλου)	NS22177 (μL/ g κυτταρίνης)	Eth (%)		
					±	
Γ1	1	10	100	52,54	±	1,27
Γ2	1	10	300	51,77	±	1,45
Γ3	1	50	100	65,16	±	3,77
Γ4	1	50	300	71,37	±	7,47
Γ5	3	10	100	51,33	±	1,68
Γ6	3	10	300	56,46	±	4,79
Γ7	3	50	100	41,61	±	1,84
Γ8	3	50	300	45,48	±	3,16
Γ0	2	30	200	54,05	±	3,85

Από το παραπάνω διάγραμμα, γίνεται σαφές ότι οι 2 μεγαλύτερες αποδόσεις στη μετατροπή βιοαιθανόλης σημειώθηκαν για την ηπιότερη αλκαλική επεξεργασία (1%w/w NaOH), καθώς και για μέγιστο φορτίο του αμυλολυτικού ενζύμου NS22109, σημειώνοντας μέγιστη απόδοση 71,37% της θεωρητικής για 1% w/w NaOH, 50μL/g αμυλολυτικού και 300μL/g κυτταρινολυτικού (μέγιστα μελετούμενα ενζυμικά φορτία).

Παρατηρείται ότι ενώ η έντονη αλκαλική προεπεξεργασία (3%) σε συνδυασμό με το μέγιστο ενζυμικό φορτίο απελευθέρωνε μεγαλύτερη ποσότητα γλυκόζης, φαίνεται πως δρα ανασταλτικά κατά την αλκοολική ζύμωση των ελεύθερων σακχάρων. Σε αλκαλική προεπεξεργασία PPW των Taher et al. (2016) [43], αναφέρθηκε ότι η βέλτιστη απόδοση αιθανόλης παρατηρήθηκε με συγκέντρωση 1% NaOH, όπως ακριβώς και στην παρούσα εργασία.

## 7.2 Μοντέλα πρόβλεψης παραγοντικού σχεδιασμού

### 7.2.1 Πρώτο παραγοντικό πείραμα

#### Υπολογισμός του στατιστικού σφάλματος

Πριν 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.

Ο υπολογισμός των μέσων τιμών των δοκιμών έγινε με τον τύπο:

$$\bar{Y} = \frac{\sum_i^N Y_i}{n} \quad (7.1)$$

όπου  $Y_i$  η απόδοση κάθε δοκιμής

$N$  ο αριθμός των επαναλήψεων σε κάθε πείραμα

Η διακύμανση της κάθε παραμέτρου αριστοποίησης δίνεται από τη σχέση:

$$s_i^2 = \frac{\sum_1^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n - 1} \quad (7.2)$$

όπου  $n$  ο αριθμός των επαναλήψεων κάθε πειράματος

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

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

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

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

$f_i$  οι αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας κάθε πειράματος



Οι βαθμοί ελευθερίας του συστήματος θα δίνονται από τη σχέση:

$$f = N - (k + 1) \quad (7.4)$$

όπου  $N$  ο αριθμός των δοκιμών του παραγοντικού σχεδιασμού και  $k$  ο αριθμός των ρυθμιστικών παραμέτρων.

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

Από τους επιμέρους υπολογισμούς για κάθε πείραμα, κατασκευάζονται οι παρακάτω Πίνακες στους οποίους αναγράφονται, ο αριθμός της επανάληψης (1η στήλη), η μετρούμενη απόκριση αυτής (2η στήλη), η μέση τιμή των αποκρίσεων για κάθε δοκιμή (3η στήλη) και οι διακυμάνσεις αυτών (4η στήλη). Στην τελευταία στήλη επισημαίνονται οι επιμέρους βαθμοί ελευθερίας κάθε επανάληψης.

Πίνακας 7.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων πρώτου παραγοντικού πειράματος για την εύρεση του σφάλματος.

Πείραμα	SG <sub>s</sub>	SG <sub>s,μέσο</sub>	s <sub>i</sub> <sup>2</sup>	f <sub>i</sub>
A1.1	36,75	39,88	19,59	1
A1.2	43,01			
A2.1	20,85	30,62	90,71	1
A2.2	40,38			
A3.1	64,29	64,09	2,09	1
A3.2	64,09			
A4.1	61,07	67,41	80,39	1
A4.2	73,75			
A0.1	56,51	58,29	9,42	3
A0.2	49,81			
A0.3	51,87			
A0.4	58,01			
Σύνολο				7

$S_Y^2 = 36,48$  για τους συνολικά 7 βαθμούς ελευθερίας.

Η τυπική απόκλιση υπολογίζεται από τη σχέση

$$s = \sqrt{s_Y^2} = 6,04$$

Στη συνέχεια εξετάζεται η ομοιογένεια των διασπορών, με το κριτήριο Cochran. Αν οι διασπορές δεν είναι ομοιογενείς υπάρχει κίνδυνος εξαγωγή εσφαλμένων συμπερασμάτων. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται και το κριτήριο Fischer, το οποίο ωστόσο ενδείκνυται για τη σύγκριση δύο διακυμάνσεων.

Στην εξεταζόμενη περίπτωση, όπου τίθενται προς σύγκριση περισσότερες διακυμάνσεις, με ίδιο αριθμό επαναλήψεων, μεταξύ των οποίων υπάρχει και διαφορά μεγέθους, το κριτήριο Cochran κρίνεται ως καταλληλότερο. Στον υπολογισμό που ακολουθεί δεν λαμβάνονται στα υπόψη οι τιμές του κέντρου.

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

$$G = \frac{s_{\max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad (7.5)$$

Όπου  $s_{\max}^2$  η μεγαλύτερη διακύμανση

$s_i^2$  η τιμή κάθε επιμέρους διακύμανσης

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

Πίνακας 7.5 Τιμές Cochran G με 95% στατιστική σημαντικότητα

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

Για το πρώτο παραγοντικό πείραμα, ο λόγος αυτός υπολογίστηκε:  $G=0,906$ . Στη συγκεκριμένη περίπτωση, για  $f=1$  βαθμό ελευθερίας κάθε μέτρησης και για συνολικά  $N=4$  δοκιμές, προκύπτει η τιμή  $G_{tab}=0,907$ . Επαληθεύεται το κριτήριο Cochran  $G < G_{tab}$  και συνεπώς, οι διασπορές είναι ομοιογενείς και μπορούμε να προχωρήσουμε στην επεξεργασία των δεδομένων για την εξαγωγή του μοντέλου.

### Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων

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

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 \quad (7.6)$$

Όπου  $X_1, X_2, X_3$  οι παράγοντες σχεδιασμού

$b_1, b_2, b_3$  οι αντίστοιχοι συντελεστές τους και

$b_0$  ένας σταθερός όρος που εκφράζει το μέσο όρο των πειραματικών μετρήσεων.

Οι συντελεστές υπολογίζονται βάσει του τύπου:

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N X_{ij} X_i}{N} \quad (7.7)$$

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

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

$N$  οι δοκιμές (εδώ  $N=8$ )

$X_j$  ο παράγοντας

Οι συντελεστές των ενδοδράσεων προσδιορίζονται μέσω της σχέσης:

$$b_{uj} = \frac{\sum_{i=1}^N Y_i X_{ui} X_{ji}}{N} \quad (7.8)$$

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

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

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

$Y_i$  η παράμετρος αριστοποίησης (% σακχαροποίηση αμύλου, % σακχαροποίηση υδατανθράκων ή % απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται ο αναλυτικός σχεδιασμός των τριών παραγοντικών πειραμάτων, μαζί με τις ενδοδράσεις που αναπτύσσονται από την αλληλεπίδραση των επιμέρους παραγόντων μεταξύ τους. Οι παράμετροι είναι κωδικοποιημένες με τιμές -1 και 1 που αντιπροσωπεύουν το χαμηλό και το υψηλό επίπεδο, αντίστοιχα, των τιμών που λαμβάνουν. Στον Πίνακα 7.6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα επεξεργασίας του παραγοντικού σχεδιασμού, και η αναλυτική μεθοδολογία εύρεσης της τιμής των συντελεστών.

Πίνακας 7.6: Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών  $b$  για το πρώτο παραγοντικό πείραμα

A/A	SG <sub>s,μέσο</sub>	x <sub>0</sub>	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>1x2</sub>
A1	39,88	1	-1	-1	1
A2	30,62	1	1	1	1
A3	64,09	1	-1	1	-1
A4	67,41	1	1	-1	-1

Έτσι προκύπτουν οι ακόλουθοι συντελεστές  $b$  για το πρώτο παραγοντικό πείραμα:

Πίνακας 7.7: Συντελεστές  $b$  πρώτου παραγοντικού πειράματος

b <sub>0</sub>	50,50
b <sub>1</sub>	15,25
b <sub>2</sub>	-1,49
b <sub>12</sub>	3,15

Όσο μεγαλύτερος αριθμητικά είναι ένας συντελεστής, τόσο περισσότερο επηρεάζει τον παράγοντα. Το πρόσημό τους υποδεικνύει την επίδραση που θα έχουν στη μεταβολή της τιμής του παράγοντα και κατά συνέπεια της παραμέτρου αριστοποίησης. Θετικό πρόσημο υποδεικνύει αύξηση στην τιμή του παράγοντα και αύξηση τη παραμέτρου αριστοποίησης, ενώ το αντίθετο συμβαίνει όταν ο παράγοντας έχει αρνητικό πρόσημο. Η τιμή του συντελεστή αντιστοιχεί στη συνεισφορά που έχει ο παράγοντας στην τιμή της παραμέτρου αριστοποίησης, καθώς αυτός περνά από το επίπεδο μηδέν, στο -1 ή

στο +1 επίπεδο. Θα ακολουθήσει λεπτομερής έλεγχος της σημαντικότητας των συντελεστών, ώστε να προσδιορισθεί επαρκώς το μοντέλο του συστήματος.

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

$$s_b^2 = \frac{S_Y^2}{N} \quad (7.9)$$

όπου  $s_y^2 = 36,48$

$N=4$ , ο αριθμός των δοκιμών.

Υπολογίζεται το  $S_b^2 = 9,12$

Η σημαντικότητά τους θα ελεγχθεί βάσει ενός διαστήματος εμπιστοσύνης, με το οποίο θα συγκριθούν. Το διάστημα αυτό υπολογίζεται με τη βοήθεια του Πίνακα t-student (Πίνακας 7.8) με στατιστική σημαντικότητα 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας του συστήματος. Για να είναι ένας συντελεστής σημαντικός, θα πρέπει η τιμή του, κατά απόλυτη τιμή, να είναι μεγαλύτερη του διαστήματος εμπιστοσύνης  $\Delta b$ , δηλαδή να ισχύει  $|b| > \Delta b$ . Το  $\Delta b$  υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\Delta b = t * S_b^{1/2} \quad (7.10)$$

όπου  $S_b^{1/2}$  η διασπορά των συντελεστών που υπολογίστηκε παραπάνω

t η τιμή του πίνακα student με κατανομή σημαντικότητας 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της  $S_y$ , εδώ  $f= 6$ .

Πίνακας 7.8 Τιμές πίνακα student-t

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

Εξετάζεται η συμφωνία με την προϋπόθεση  $|b| > \Delta b$  για τη σημαντικότητα των συντελεστών, σύμφωνα με την οποία κάθε συντελεστής για τον οποίο ισχύει  $|b| > 5,86$  είναι σημαντικός και πρέπει να συμπεριληφθεί στο τελικό προβλεπτικό μοντέλο του πειράματος. Έτσι, για τις τιμές των συντελεστών που παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.7, προκύπτουν σημαντικοί οι συντελεστές  $b_0$ ,  $b_1$ , όπου ο όρος  $b_1$  εκφράζει τη συγκέντρωση του NaOH στο διάλυμα προεπεξεργασίας. Με τα δεδομένα αυτά, το γραμμικό μοντέλο αριστοποίησης εκφράζεται από τη γραμμική σχέση:

$$Y = 50,50 + 15,25X_1 \quad (7.11)$$

### Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου

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

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2} \quad (7.12)$$

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

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

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - \hat{Y})^2}{f} \quad (7.13)$$

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

$\hat{Y}$  η τιμή της  $i$  δοκιμής που υπολογίζεται από την γραμμική σχέση που προσδιορίστηκε

$f$  βαθμός ελευθερίας του συστήματος  $f = 1$

Η διασπορά αυτή υπολογίζεται από τα αποτελέσματα του παρακάτω πίνακα για τιμές  $f=1$  ίση με  $S_{ad}^2 = 1,33$  :

Πίνακας 7.9 Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας για το πρώτο παραγοντικό πείραμα

A/A	SG <sub>s</sub> (%)	SG <sub>s,θεωρ</sub> (%)	(SG <sub>s</sub> - SG <sub>s,θεωρ</sub> ) <sup>2</sup>
A1	39,88	35,25	21,46
A2	30,62	35,25	21,46
A3	64,09	65,75	2,76
A4	67,41	65,75	2,76
Σύνολο	39,88	35,25	21,46

Οι δύο όροι του κλάσματος F έχουν διαφορετικούς βαθμούς ελευθερίας, που είναι αντίστοιχα f=1 για τον αριθμητή και f=6 για τον παρονομαστή. Υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες, ο πειραματικός λόγος υπολογίζεται F= 1,33. Από τον πίνακα τιμών λόγου Fisher (με 95% στατιστική σημαντικότητα), λαμβάνεται η αντίστοιχη τιμή του F<sub>tab</sub>= 5,99.

Σύμφωνα με το κριτήριο επάρκειας Fischer, και καθώς προκύπτει πράγματι:

$$F(1,33) < F_{\text{tab}}(5,99)$$

Πίνακας 7.10 Τιμές λόγου Fisher (95% στατιστικής σημαντικότητας)

f2 \ f1	1	2	3	4
1	161	200	216	225
2	18,5	19	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

Συνεπώς το μοντέλο που εξήχθη για το πρώτο παραγοντικό πείραμα  $Y = 50,50 + 15,25X_1$  κρίνεται μαθηματικώς επαρκές.

Η πλήρης μορφή του ανωτέρω μοντέλου έπειτα από την μετατροπή των συντελεστών του μοντέλου σε φυσικές τιμές είναι:

$$SG_s (\%) = 20,0 + 15,25(\text{NaOH}\%) \quad (7.14)$$

Από τους συντελεστές της σχέσης 7.14 γίνεται φανερό ότι ο ισχυρότερος παράγοντας που επηρεάζει την σακχαροποίηση του αμύλου είναι η σύγκέντρωση του NaOH%, ενώ παράγοντας χωρίς βαρύτητα η δοσολογία του αμυλολυτικού ενζύμου στο εύρος φυσικά που εξετάστηκε. Το θετικό πρόσημο στο στατιστικά σημαντικό συντελεστή υποδηλώνει την αύξηση της απόδοσης σακχαροποίησης του αμύλου κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού μέσου προεπεξεργασίας.

### 7.2.2 Δεύτερο παραγοντικό πείραμα

Ανάλογα κινούμαστε και για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα.

Πίνακας 7.11 Επεξεργασία αποτελεσμάτων δεύτερου παραγοντικού πειράματος για την εύρεση του σφάλματος.

Πείραμα	SG (%)	SG <sub>μέσο</sub> (%)	s <sub>i</sub> <sup>2</sup>	f <sub>i</sub>
B1.1	69,40	67,15	58,56	1
B1.2	64,90			
B2.1	66,26	69,08	12,00	1
B2.2	71,90			
B3.1	60,95	59,20	55,28	1
B3.2	57,45			
B4.1	64,02	62,09	42,81	1
B4.2	60,16			
B5.1	83,50	82,15	178,55	1
B5.2	80,80			
B6.1	78,73	81,37	106,11	1
B6.2	84,02			
B7.1	72,02	69,59	38,00	1
B7.2	67,17			
B8.1	73,44	73,99	173,20	1
B8.2	74,53			
B0.1	73,20	72,98	0,09	3
B0.2	72,77			
B0.3	72,50			
B0.4	72,98			
Σύνολο				11

$S_y^2=60,43$  για τους συνολικά 11 βαθμούς ελευθερίας.

Η τυπική απόκλιση υπολογίζεται από τη σχέση

$$s = \sqrt{s_y^2} = 7,77$$

Για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα, ο λόγος Cochran υπολογίστηκε:  $G=0,37$ . Στη συγκεκριμένη περίπτωση, για  $f=1$  βαθμό ελευθερίας κάθε μέτρησης και για συνολικά  $N=8$  δοκιμές, προκύπτει η τιμή  $G_{tab}=0,680$ . Επαληθεύεται το κριτήριο Cochran  $G < G_{tab}$  και συνεπώς, οι διασπορές είναι ομοιογενείς και μπορούμε να προχωρήσουμε στην επεξεργασία των δεδομένων για την εξαγωγή του μοντέλου.

Στον Πίνακα 7.12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα επεξεργασίας του παραγοντικού σχεδιασμού, και η πορεία εύρεσης της τιμής των συντελεστών.

Πίνακας 7.12 Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών  $b$  για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα

A/A	SG <sub>μέσο</sub> (%)	X <sub>0</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>
B1	67.15	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
B2	69.08	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1
B3	59.20	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1
B4	62.09	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1
B5	82.15	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1
B6	81.37	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1
B7	69.59	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1
B8	73.99	1	1	1	1	1	1	1	1

Έτσι προέκυψαν οι ακόλουθοι συντελεστές  $b$  για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα:

Πίνακας 7.13: Συντελεστές  $b$  δεύτερου παραγοντικού πειράματος

b <sub>0</sub>	70,57
b <sub>1</sub>	6,21
b <sub>2</sub>	-0,64
b <sub>3</sub>	1,04
b <sub>12</sub>	-0,64
b <sub>13</sub>	-0,14
b <sub>23</sub>	0,78
b <sub>123</sub>	0,52

Υπολογίζεται  $Sb^2 = 7,55$  για  $N=8$  δοκιμές και  $|b| > 4,94$ . Επομένως, προκύπτουν σημαντικοί οι συντελεστές  $b_0, b_1$ , όπου ο όρος  $b_1$  εκφράζει τη συγκέντρωση του NaOH στο διάλυμα προεπεξεργασίας. Με τα δεδομένα αυτά, το γραμμικό μοντέλο αριστοποίησης εκφράζεται από τη γραμμική σχέση:

$$Y = 70,57 + 6,21X_1 \quad (7.15)$$

Από τα αποτελέσματα του παρακάτω πίνακα, η διασπορά  $S_{ad}^2$  υπολογίζεται ίση με  $S_{ad}^2=77,41$  για τιμές  $f=4$

Πίνακας 7.14 Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα

	SG (%)	SG <sub>θεωρ</sub> (%)	(SG - SG <sub>θεωρ</sub> ) <sup>2</sup>
B1	67,15	64,36	7,78
B2	69,00	65,41	12,92
B3	59,20	63,32	16,93
B4	62,09	65,41	10,98
B5	82,15	75,73	41,21
B6	81,37	77,82	12,63
B7	69,59	75,73	37,68
B8	73,99	77,82	14,70
Σύνολο			323

Οι δύο όροι του κλάσματος F έχουν διαφορετικούς βαθμούς ελευθερίας, που είναι αντίστοιχα  $f=4$  για τον αριθμητή και  $f=11$  για τον παρονομαστή. Υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες, ο πειραματικός λόγος υπολογίζεται  $F= 1,34$ . Από τον πίνακα τιμών λόγου Fisher (με 95% στατιστική σημαντικότητα), λαμβάνεται η αντίστοιχη τιμή του  $F_{tab}= 3,59$ .

Σύμφωνα με το κριτήριο επάρκειας Fischer, και καθώς προκύπτει πράγματι:

$$F(1,34) < F_{tab}(3,59)$$

Συνεπώς το μοντέλο που εξήχθη για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα

**$Y = 70,57 + 6,21X_1$**  κρίνεται μαθηματικώς επαρκές.

Η πλήρης μορφή του ανωτέρω μοντέλου έπειτα από την μετατροπή των συντελεστών του μοντέλου σε φυσικές τιμές είναι:

$$\text{SG \%} = 58,15 + 6,21(\text{NaOH\%})(7.16)$$

Από τους συντελεστές του μαθηματικού μοντέλου γίνεται φανερό ότι ο ισχυρότερος παράγοντας που επηρεάζει τη σακχαροποίηση των περιεχόμενων υδατανθράκων (κυτταρίνης και αμύλου) είναι η σύγκέντρωση του NaOH% , με άλλα λόγια η ένταση της προεπεξεργασίας. Η δοσολογία των ενζύμων για το εξεταζόμενο εύρος προέκυψε ότι δεν είναι στατιστικά σημαντική.

### 7.2.3 Τρίτο παραγοντικό πείραμα

Ανάλογα εργαζόμαστε και για το τρίτο παραγοντικό πείραμα.

Πίνακας 7.15 Επεξεργασία αποτελεσμάτων τρίτου παραγοντικού πειράματος για την εύρεση του σφάλματος.

Πείραμα	Eth (%)	Eth <sub>μέσο</sub> (%)	s <sub>i</sub> <sup>2</sup>	f <sub>i</sub>
Γ1.1	53,44	52,54	1,62	1
Γ1.2	51,64			
Γ2.1	50,75	51,77	12,00	1
Γ2.2	52,80			
Γ3.1	67,82	65,16	14,22	1
Γ3.2	62,49			
Γ4.1	66,08	71,37	55,86	1
Γ4.2	76,65			
Γ5.1	50,14	51,33	2,81	1
Γ5.2	52,51			
Γ6.1	59,84	56,46	22,94	1
Γ6.2	53,07			
Γ7.1	42,91	41,61	3,38	1
Γ7.2	40,31			
Γ8.1	43,24	45,48	9,99	1
Γ8.2	47,71			
Γ0.1	56,51	54,05	14,82	3
Γ0.2	49,81			
Γ0.3	51,87			
Γ0.4	58,01			
Σύνολο				11

$S_y^2 = 15,2$  για τους συνολικά 11 βαθμούς ελευθερίας.

Η τυπική απόκλιση υπολογίζεται από τη σχέση

$$s = \sqrt{s_y^2} = 3,89$$

Για το τρίτο παραγοντικό πείραμα, ο λόγος Cochran υπολογίστηκε:  $G=0,83$ . Στη συγκεκριμένη περίπτωση, για  $f=1$  βαθμό ελευθερίας κάθε μέτρησης και για συνολικά  $N=4$  δοκιμές, προκύπτει η τιμή  $G_{tab}=0,907$ . Επαληθεύεται το κριτήριο Cochran  $G < G_{tab}$  και συνεπώς, οι διασπορές είναι ομοιογενείς και μπορούμε να προχωρήσουμε στην επεξεργασία των δεδομένων για την εξαγωγή του μοντέλου.

Στον Πίνακα 7.16 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα επεξεργασίας του τρίτου παραγοντικού σχεδιασμού, και η πορεία εύρεσης της τιμής των συντελεστών.

*Πίνακας 7.16 Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b για το τρίτο παραγοντικό πείραμα*

Πείραμα	Eth <sub>μέσο</sub> (%)	Χ <sub>0</sub>	Χ <sub>1</sub>	Χ <sub>2</sub>	Χ <sub>3</sub>	Χ <sub>1Χ<sub>2</sub></sub>	Χ <sub>1Χ<sub>3</sub></sub>	Χ <sub>2Χ<sub>3</sub></sub>	Χ <sub>1Χ<sub>2</sub>Χ<sub>3</sub></sub>
Γ1	52,54	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1
Γ2	51,77	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1
Γ3	65,16	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1
Γ4	71,37	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1
Γ5	51,33	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1
Γ6	56,46	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1
Γ7	41,61	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1
Γ8	45,48	1	1	1	1	1	1	1	1

Έτσι προέκυψαν οι ακόλουθοι συντελεστές b για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα:



Πίνακας 7.17: Συντελεστές  $b$  τρίτου παραγοντικού πειράματος

b <sub>0</sub>	56,62
b <sub>1</sub>	-7,90
b <sub>2</sub>	-4,46
b <sub>3</sub>	3,96
b <sub>12</sub>	-4,46
b <sub>13</sub>	-1,71
b <sub>23</sub>	-1,44
b <sub>123</sub>	1,12

Υπολογίζεται  $S_b^2 = 1,90$  για  $N=8$  δοκιμές και  $|b| > 2,48$ . Επομένως, προκύπτουν σημαντικοί οι συντελεστές  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$  και  $b_{12}$ . Ο όρος  $b_1$  εκφράζει τη συγκέντρωση του NaOH στο διάλυμα προεπεξεργασίας, οι όροι  $b_2, b_3$  τη δοσολογία του αμυλολυτικού και κυτταρινολυτικού ενζύμου αντίστοιχα και ο όρος  $b_{12}$  εκφράζει τη σχέση της ενδοδράσης μεταξύ της συγκέντρωσης NaOH και της συγκέντρωσης αμυλολυτικού ενζύμου NS22109. Με τα δεδομένα αυτά, το γραμμικό μοντέλο αριστοποίησης εκφράζεται από τη γραμμική σχέση:

$$Y = 56,62 - 7,90X_1 - 4,46X_2 + 3,96X_3 - 4,46X_1X_2 \quad (7.17)$$

Από τα αποτελέσματα του παρακάτω πίνακα, η διασπορά  $S_{ad}^2$  υπολογίζεται ίση με  $S_{ad}^2 = 29,49$  για τιμές  $f=11$ .

Πίνακας 7.18 Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας για το πρώτο παραγοντικό πείραμα

	Eth (%)	Eth <sub>θεωρ</sub> (%)	(Eth - Eth <sub>θεωρ</sub> ) <sup>2</sup>
Γ1	52,54	60,56	64,27
Γ2	69,00	68,47	0,28
Γ3	65,16	60,56	21,14

Γ4	71,37	68,47	8,36
Γ5	51,33	53,68	5,53
Γ6	56,46	61,59	26,40
Γ7	41,61	35,84	33,30
Γ8	45,48	43,76	2,96
Σύνολο			324

Οι δύο όροι του κλάσματος F έχουν διαφορετικούς βαθμούς ελευθερίας, που είναι αντίστοιχα  $f=4$  για τον αριθμητή και  $f=11$  για τον παρονομαστή. Υπό τις εξεταζόμενες συνθήκες, ο πειραματικός λόγος υπολογίζεται  $F= 1,94$ . Από τον πίνακα τιμών λόγου Fisher (με 95% στατιστική σημαντικότητα), λαμβάνεται η αντίστοιχη τιμή του  $F_{tab}= 3,59$ .

Σύμφωνα με το κριτήριο επάρκειας Fischer, και καθώς προκύπτει πράγματι:

$$F(1,94) < F_{tab}(3,59)$$

Συνεπώς το μοντέλο που εξήχθη για το δεύτερο παραγοντικό πείραμα  $Y= 56,62 -7,90X1 -4,46X2+3,96X3-4,46X1X2$  κρίνεται μαθηματικώς επαρκές.

Η πλήρης μορφή του ανωτέρω μοντέλου έπειτα από την μετατροπή των συντελεστών του μοντέλου σε φυσικές τιμές είναι:

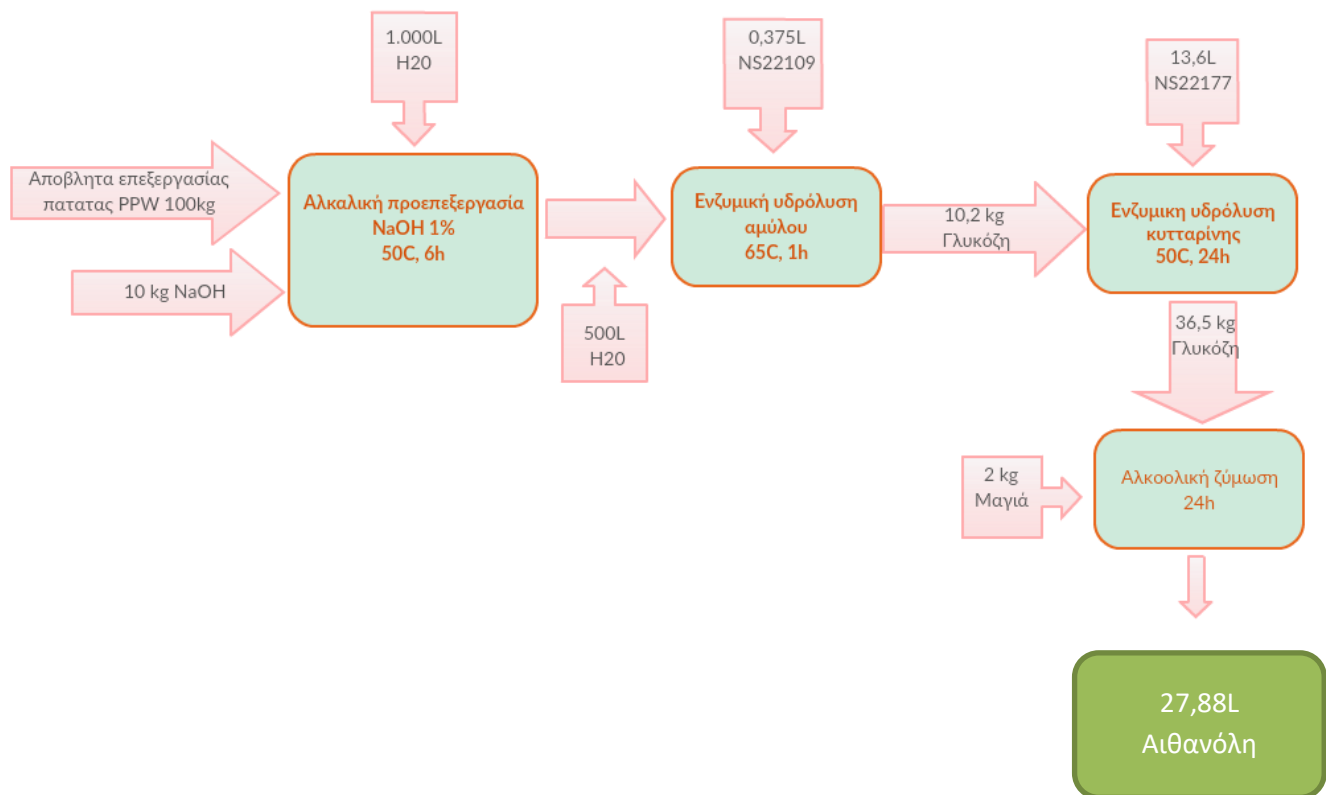
$$Eth \% = 145953 - 15131(NaOH\%) - 401,40(NS22109 \mu L/g \text{ αμύλου}) + 79,20(NS22177 \mu L/g \text{ κυτταρίνης})$$

$$-22,30 (NaOH\%)(NS22109 \mu L/g \text{ αμύλου}) \quad (7.18)$$

Από τους συντελεστές της σχέσης (7.18) γίνεται φανερό ότι ο ισχυρότερος παράγοντας που επηρεάζει την παραγωγή αιθανόλης είναι η σύγκέντρωση του NaOH% και έπειτα η δοσολογία των ενζύμων και της ενδόδρασης της συγκέντρωσης του NaOH% με το φορτίο του αμυλολυτικού ενζυμου NS22109, ενώ οι υπόλοιπες ενδοδράσεις αποδείχθηκαν στατιστικά μη σημαντικές. Τα αρνητικά πρόσημα στους συντελεστές αυτούς υποδηλώνουν τη μείωση της απόδοσης παραγωγής αιθανόλης κατά την αύξηση των τιμών τους.

## Κεφάλαιο 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 από απόβλητα επεξεργασίας πατάτας (Σχήμα 8.1):



Σχήμα 8.1: Σχεδιάγραμμα της συνολικής διαδικασίας παραγωγής βιοαιθανόλης από απόβλητα επεξεργασίας πατάτας σε βιομηχανικό περιβάλλον

Θεωρήθηκε η σύσταση των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας του Πίνακα 6.1 όπου η περιεκτικότητά τους σε άμυλο και κυτταρίνη ανέρχεται στα  $7,59 \pm 2,72\text{g}$  και  $45,31 \pm 2,55\text{g}$  ανά 100 g ξηρής πρώτης ύλης αντίστοιχα. Από τις πειραματικές δοκιμές του παραγοντικού σχεδιασμού (Πίνακας 7.3) παρατηρήθηκε ότι η μέγιστη απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης είναι  $71,37 \pm 7,47\%$  και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική

προεπεξεργασία με 1% NaOH και ενζυμική υδρόλυση με 50 μL/ g αμύλου NS22109 και 300μL/g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο NS22177. Το υδρόλυμα στη συνέχεια τροφοδοτείται σε μονάδα αλκοολικής ζύμωσης. Για τη διεργασία της ζύμωσης θεωρείται ότι η ζύμωση πραγματοποιείται στους 30°C για 24h με εμβολιασμό της μαγιάς *Saccharomyces cerevisiae* (2%). Θεωρώντας ότι εισάγουμε στη διεργασία μας 100kg αποβλήτου PPW τότε είναι δυνατό να παραχθούν 27,88L αιθανόλης από 100 kg αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας.

Από τα δεδομένα του Κεφαλαίου 3 αναφορικά με την ετήσια παγκόσμια παραγωγή PPW [32], [34], [35] υπολογίζεται ότι ανέρχεται σε 4,22 εκατομμύριους τόνους. Με βάση το παραπάνω διάγραμμα, αυτό δυνητικά ισοδυναμεί με 1.176,5 εκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης ετησίως. Καθίσταται λοιπόν σαφές ότι τα απόβλητα επεξεργασίας πατάτας μπορούν να αποτελέσουν ένα υπόστρωμα ικανό να συνεισφέρει στην παραγωγή υγρών βιοκαυσίμων, όπως είναι η αιθανόλη. Παρόλα αυτά, 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.

## Κεφάλαιο 9: Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, κατά τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της αλκαλικής προεπεξεργασίας, της ενζυμικής υδρόλυσης και της αλκοολικής ζύμωσης των αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας προέκυψε ότι με αύξηση της συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος βελτιώνεται η απόδοση σακχαροποίησης, ενώ δεν αυξάνεται η απόδοση μετατροπής αιθανόλης.

Η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης αμύλου ήταν 67,41% και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με 3% NaOH και ενζυμική υδρόλυση με 50 μL/ g αμύλου αμυλολυτικό ένζυμο NS22109. Το μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης της σακχαροποίησης αμύλου που προέκυψε ήταν το ακόλουθο:

$$SGs (\%) = 20,0 + 15,25(\text{NaOH}\%)$$

Είναι σαφές ότι ο ισχυρότερος με θετική επίδραση παράγοντας που επηρεάζει την σακχαροποίηση του αμύλου είναι η συγκέντρωση του NaOH, ενώ στατιστικά ασήμαντος παράγοντας είναι η δοσολογία του αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 στο εύρος 10-50 50 μL/ g αμύλου.

Αντίστοιχα, η μέγιστη απόδοση σακχαροποίησης των συνολικών υδατανθράκων ήταν 82,15% και επιτεύχθηκε μετά από αλκαλική προεπεξεργασία με 3% NaOH και ενζυμική υδρόλυση με 10 μL/ g αμύλου NS22109 και 100 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο NS22177. Το μαθηματικό μοντέλο πρόβλεψης της διεργασίας αυτής ήταν το ακόλουθο:

$$SG (\%) = 58,15 + 6,21(\text{NaOH}\%)$$

Από το μαθηματικό αυτό μοντέλο προκύπτει και πάλι ότι ο ισχυρότερος παράγοντας που επηρεάζει θετικά τη σακχαροποίηση των περιεχόμενων υδατανθράκων (κυτταρίνης και αμύλου) είναι η σύγκέντρωση του NaOH, με άλλα λόγια η ένταση της προεπεξεργασίας. Η δοσολογία των ενζύμων για το εξεταζόμενο εύρος προέκυψε ότι δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Ανάλογα για την αλκοολική ζύμωση, η μέγιστη απόδοση παραγωγής βιοαιθανόλης ήταν 71,37% έπειτα από προεπεξεργασία με 1% NaOH και ενζυμική υδρόλυση με 50 μL/ g αμύλου NS22109 και 300 μL/ g κυτταρίνης κυτταρινολυτικό ένζυμο NS22177. Από τη μαθηματική μοντελοποίηση προέκυψε η ακόλουθη σχέση:

$$\text{Eth}(\%) = 145953 - 15131(\text{NaOH}\%) - 401,40(\text{NS22109 } \mu\text{L/g } \alpha\mu\acute{\upsilon}\lambda\omicron\upsilon) + 79,20(\text{NS22177 } \mu\text{L/g } \kappa\upsilon\tau\tau\alpha\rho\iota\eta\eta\varsigma) - 22,30(\text{NaOH}\%)(\text{NS22109 } \mu\text{L/g } \alpha\mu\acute{\upsilon}\lambda\omicron\upsilon)$$

δηλαδή ότι ο ισχυρότερος παράγοντας που επηρεάζει την παραγωγή αιθανόλης είναι η σύγκέντρωση του NaOH και έπειτα η δοσολογία των ενζύμων και της ενδόδρασης της σύγκέντρωσης του NaOH με το φορτίο του αμυλολυτικού ενζυμου NS22109, ενώ οι υπόλοιπες ενδοδράσεις αποδείχθηκαν στατιστικά μη σημαντικές.

Αξιοποιώντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το σύνολο των πειραματικών δοκιμών και προσομοιάζοντας τη συνολική διεργασία για την παραγωγή βιοαιθανόλης από απόβλητα επεξεργασίας πατάτας προέκυψε ότι είναι δυνατό να παραχθούν είναι δυνατό να παραχθούν 27,88L αιθανόλης από 100 kg αποβλήτων επεξεργασίας πατάτας. Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψη τη συνολική παγκόσμια παραγωγή αποβλήτων, καθίσταται σαφές ότι η αξιοποίηση του εν λόγω ρεύματος θα μπορούσε να αποτελέσει μια σημαντική πηγή βιοκαυσίμων.

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

## Κεφάλαιο 10

### Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] Beardsley, Timothy M. 'Organisms from Molecules to the Environment'. *BioScience*, τ. 56, τχ. 8, 2006, σ. 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*, τ. 16, 2012, σσ. 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*, τ. 01, τχ. 05, 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 Μαρτίου 2018
- [6] 'Αιθανόλη'. Βικιπαίδεια, 7 Δεκέμβριος 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*, <https://www.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 Σεπτεμβρίου 2017, <https://biorrefineria.blogspot.com/2017/09/spanish-bioethanol-sector-overview-according-USDA-FAS.html>
- [24] Belboom, Sandra, κ.ά. 'Does the production of Belgian bioethanol fit with European requirements on GHG emissions? Case of wheat'. *Biomass and Bioenergy*, τ. 74, Μάρτιος 2015, σσ. 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*, τ. 454, τχ. 7206, Αύγουστος 2008, σσ. 841–45. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1038/nature07190.
- [27] Balat, Mustafa, κ.ά. 'Progress in Bioethanol Processing'. *Progress in Energy and Combustion Science*, τ. 34, τχ. 5, Οκτώβριος 2008, σσ. 551–73. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.peccs.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*, τ. 44, τχ. 1, Μάρτιος 2016, σσ. 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*, τ. 48, τχ. 8, Απρίλιος 2009, σσ. 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*, τ. 98, τχ. 12, Σεπτέμβριος 2007, σσ. 2415–57. *DOI.org (Crossref)*, doi:10.1016/j.biortech.2007.01.002.
- [32] Mostofa, Maruf. "An Introduction to Bioethanol and Its Prospects in Bangladesh: A Review." *Journal of Energy Research and Reviews*, April 2019, 1–12.
- [33] Arapoglou, D., Varzakas, T., Vlyssides, A. and Israilides, C., 2010. Ethanol production from potato peel waste (PPW). *Waste Management*, 30(10), pp.1898-1902.
- [34] Liang, S. and McDonald, A., 2014. Chemical and Thermal Characterization of Potato Peel Waste and Its Fermentation Residue as Potential Resources for Biofuel and Bioproducts Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(33), pp.8421-8429.
- [35] Hijosa-Valsero, María, Ana I. Paniagua-García, and Rebeca Díez-Antolínez. "Industrial Potato Peel as a Feedstock for Biobutanol Production." *New Biotechnology* 46 (2018): 54–60.

- [36] Santos, Rui Galhano Dos, Patrícia Ventura, João Carlos Bordado, and Maria Margarida Mateus. "Valorizing Potato Peel Waste: an Overview of the Latest Publications." *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 15, no. 4 (2016): 585–92.
- [37] Wang, F., Jiang, Y., Guo, W., Niu, K., Zhang, R., Hou, S., Wang, M., Yi, Y., Zhu, C., Jia, C. and Fang, X., 2016. An environmentally friendly and productive process for bioethanol production from potato waste. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1).
- [38] Chintagunta, Anjani Devi, Samuel Jacob, and Rintu Banerjee. "Integrated Bioethanol and Biomanure Production from Potato Waste." *Waste Management* 49 (2016): 320–25.
- [39] Liang, S., McDonald, A. and Coats, E., 2015. Lactic acid production from potato peel waste by anaerobic sequencing batch fermentation using undefined mixed culture. *Waste Management*, 45, pp.51-56.
- [40] Khawla, B., Sameh, M., Imen, G., Donyes, F., Dhouha, G., Raoudha, E. and Oumèma, N., 2014. Potato peel as feedstock for bioethanol production: A comparison of acidic and enzymatic hydrolysis. *Industrial Crops and Products*, 52, pp.144-149.
- [41] Taher, Imen Ben, Patrick Fickers, Sofien Chniti, and Mnasser Hassouna. "Optimization of Enzymatic Hydrolysis and Fermentation Conditions for Improved Bioethanol Production from Potato Peel Residues." *Biotechnology Progress* 33, no. 2 (October 2017): 397–406.
- [42] Sepelev, I.; Galoburda, R. Industrial potato peel waste application in food production: A review. *Proceedings of the Annual 21<sup>st</sup> International Scientific Conference: Research for Rural Development 2015; Jelgava, Latvia, May 13–15, 2015; Vol. 1, pp 130–136.*
- [43] Ρήγας Φώτης, «Στατιστικός Σχεδιασμός Πειραμάτων και Αριστοποίηση Βιομηχανικών Διαδικασιών», Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα 1988.
- [44] Jaisamut K., Paulova L., Patakova P., Kotucova S., Rychtera M. "Effect of Dodium Sulfite on Acid Pretreatment of Wheat Straw with Respect to its Final Conversion to Ethanol". *Biomass and Bioenergy* 95 (December 2016): 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.08.022>.