

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Χημικών Μηχανικών
Τομέας Ι
Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΑΠΟ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΡΟΦΩΝ ΣΕ
ΠΙΛΟΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

Χριστιανίδης Διογένης

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Χαραλάμπους Αικατερίνη

Ιούνιος 2021

Πρόλογος

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των σπουδών μου κατά το Ακαδημαϊκό Έτος 2020 - 2021, ένα έτος εξαιρετικά ιδιαίτερο και πρωτόγνωρο για όλους.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη της διπλωματικής μου εργασίας, καθηγήτρια του Ε.Μ.Π., κυρία Αικατερίνη Χαραλάμπους για την ανάθεση του θέματος και της δυνατότητας που μου έδωσε να ασχοληθώ με αυτό το πολύ ενδιαφέρον, πρακτικό και πολλά υποσχόμενο θέμα.

Η επιτυχής ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την συνεισφορά των Δρ. Σοφία Μάη και Δρ. Έλλη Μπαραμπούτη. Θα ήθελα να τις ευχαριστήσω για τη συνεχή και πολύτιμη καθοδήγησή τους, τη βοήθεια που μου προσέφεραν σε οποιοδήποτε πρόβλημα παρουσιάστηκε, καθώς και για τον άψογο τρόπο επικοινωνίας τους, ο οποίος εκμηδενίζει την υπάρχουσα απόσταση καθηγητή-φοιτητή και συνεισφέρει τα μέγιστα στην αποτελεσματικότερη επίτευξη του τελικού στόχου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου και κυρίως την Δρ. Jelica Novaković καθώς και τους φίλους Ανδρέα Χριστοφή, Κώστα Πασσάδη και Βασιλεία Στούμπου για την ουσιαστική βοήθειά τους σε ότι κι αν χρειάστηκα κατά τη διάρκεια της υλοποίησης και συγγραφής της.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	1
Abstract.....	2
Εισαγωγή.....	3
Θεωρητικό μέρος.....	4
<i>Κεφάλαιο 1: Νομοθετικό Πλαίσιο.....</i>	<i>4</i>
1.1 Εισαγωγή	4
1.2 Νομοθεσία για βιοκαύσιμα.....	5
1.3 Νομοθεσία για στερεά απόβλητα	9
<i>Κεφάλαιο 2: Βιοκαύσιμα</i>	<i>12</i>
2.1 Εισαγωγή.....	12
2.2 Είδη βιοκαυσίμων.....	12
2.3 Κατηγορίες βιοκαυσίμων.....	13
2.4 Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων.....	14
2.5 Παραγωγή βιοκαυσίμων	15
<i>Κεφάλαιο 3: Βιοαιθανόλη.....</i>	<i>17</i>
3.1 Εισαγωγή.....	17
3.2 Ιδιότητες Βιοαιθανόλης	18
3.3 Χρήσεις Βιοαιθανόλης	18
3.4 Βιοαιθανόλη σαν καύσιμο	21
3.5 Πρώτες ύλες για την παραγωγή Βιοαιθανόλης.....	22
3.6 Παραγωγή Βιοαιθανόλης	25
<i>Κεφάλαιο 4: Οικιακά Απορρίμματα – Βιοαπόβλητα.....</i>	<i>36</i>
4.1 Εισαγωγή.....	36
4.2 Τρόποι Διαχείρισης και Αξιοποίησης.....	37
Πειραματικό μέρος.....	39
<i>Κεφάλαιο 5: Σκοπός</i>	<i>39</i>
<i>Κεφάλαιο 6: Πειραματική Μεθοδολογία</i>	<i>39</i>
6.1 Πρώτη ύλη	39
6.2 Πιλοτική μονάδα.....	41
6.2.1 Ξηραντήρας Gaia	41
6.2.2 Βιοαντιδραστήρας (Μονάδα Waste2Bio).....	42

6.3 Μέθοδοι ανάλυσης.....	49
6.3.1 Προσδιορισμός ολικών στερεών (TS).....	49
6.3.2 Προσδιορισμός πτητικών στερεών (VS)	49
6.3.3 Προσδιορισμός ελαίων και λιπών	50
6.3.4 Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών (WS).....	51
6.3.5 Προσδιορισμός κυτταρίνης (Cellulose).....	51
6.3.6 Προσδιορισμός ημικυτταρίνης (Hemicellulose).....	53
6.3.7 Προσδιορισμός λιγνίνης (Lignin).....	54
6.3.8 Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης (Free Sugars).....	55
6.3.9 Προσδιορισμός ολικού αμύλου (Starch).....	56
6.3.10 Προσδιορισμός ολικού οργανικού άνθρακα (TOC) και ολικού αζώτου (TN)	58
6.3.11 Προσδιορισμός κατανομής μεγέθους σωματιδίων.....	58
6.4 Έλεγχος λειτουργίας πιλοτικής μονάδας.....	60
<i>Κεφάλαιο 7: Πειραματικό Πρωτόκολλο</i>	<i>62</i>
7.1 Διακριτή υδρόλυση και ζύμωση	62
7.2 Πειράματα σε Εργαστηριακή κλίμακα	63
7.3 Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση	65
7.4 Σύνοψη πειραμάτων σε πιλοτική κλίμακα	66
<i>Κεφάλαιο 8: Πειραματικά Αποτελέσματα.....</i>	<i>67</i>
8.1 Χαρακτηρισμός Πρώτης ύλης.....	67
8.2 Ανάλυση κοκκομετρίας.....	67
8.3 Πρωτογενή Αποτελέσματα	73
8.3.1 Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF	73
8.3.2 Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων σε εργαστηριακή κλίμακα	76
8.3.3 Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF.....	78
8.4 Δευτερογενή αποτελέσματα	82
8.4.1 Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF.....	82
8.4.2 Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF	86
<i>Κεφάλαιο 9: Συμπεράσματα</i>	<i>91</i>
Βιβλιογραφία.....	93

Περίληψη

Τα διατροφικά οικιακά απόβλητα αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο κλάσμα των αστικών στερεών αποβλήτων και είναι πράγματι ένας ανεκμετάλλευτος πόρος με σημαντική ικανότητα στη παραγωγή ενέργειας. Η αξιοποίηση των αποβλήτων αυτών προς ανάκτηση ενέργειας αποτελεί σήμερα μια πρόκληση. Η ετερογενής σύνθεση των αποβλήτων και η υψηλή περιεχόμενη υγρασία αποτελούν εμπόδιο για την ανάπτυξη μεγάλης κλίμακας και υψηλής απόδοσης διεργασιών. Στόχος, λοιπόν, της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν παραγωγή βιοαιθανόλης από διατροφικά οικιακά απόβλητα σε πιλοτική κλίμακα και η βελτιστοποίηση όλης της διεργασίας. Πιο συγκεκριμένα, οι παράγοντες που εξετάστηκαν για την βελτιστοποίηση της διεργασίας ήταν η χρήση διαφορετικών μιγμάτων ενζύμων (μίγμα 1-μίγμα 2), η φόρτιση στερεών (10-25%) και το είδος της διεργασίας ζύμωσης (ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση SHF, ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση SSF).

Στο πλαίσιο της διπλωματικής εργασίας, η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν διατροφικά οικιακά απόβλητα που συλλέγονταν από τον Δήμο Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης ανά δεκαπενθήμερο. Τα απόβλητα, μετά την παραλαβή τους, ξηραίνονταν και αλέθονταν σε ξηραντήρα Gaia GC-100. Η μέση περιεχόμενη υγρασία στα ακατέργαστα απόβλητα βρέθηκε 76.3 ± 0.92 %w/w. Οι αξιοποιήσιμοι υδατάνθρακες, όπως η κυτταρίνη και το άμυλο, ήταν 17.34 ± 0.21 %w/w και 4.28 ± 0.35 %w/w αντίστοιχα. Η φόρτιση των στερεών που εξετάστηκε σε αυτήν την μελέτη ήταν από 10 έως και 25%w/w. Η απόδοση της αιθανόλης που βρέθηκε, για ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση (SHF), κυμάνθηκε από 0.04 έως 0.08 ± 0.017 g αιθανόλης/g υποστρώματος. Όσον αφορά την ταυτόχρονη υδρόλυση και ζύμωση (SSF), η απόδοση της αιθανόλης που υπολογίστηκε ήταν από 0.03 έως 0.10 ± 0.026 g αιθανόλης/g υποστρώματος. Επίσης, οι δοκιμές που έγιναν για την σύγκριση των δύο διαφορετικών μιγμάτων ενζύμων έδειξαν ότι η απόδοση για το 1^ο μίγμα ενζύμων ήταν 0.03 g αιθανόλης/g υποστρώματος, ενώ για το 2^ο 0.08 g αιθανόλης/g υποστρώματος.

Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι για φόρτιση στερεών 10 και 15 %w/w, η απόδοση σε αιθανόλη για την SHF διεργασία ήταν υψηλότερη σε σύγκριση με την SSF διεργασία. Αντίθετα για φόρτιση στερεών 20 % w/w, παρατηρείται το αντίστροφο. Για την SHF διεργασία, προέκυψε ότι αύξηση της φόρτισης στερεών οδηγούσε σε μείωση της απόδοσης σακχαροποίησης και παραγωγής αιθανόλης. Αντίθετα, για την SSF διεργασία, με την αύξηση της φόρτισης στερεών, η απόδοση σε αιθανόλη αυξανόταν. Ωστόσο, αύξηση της φόρτισης στερεών πάνω από 20% w/w, οδηγεί σε μηχανικές δυσκολίες και αδυναμία λειτουργίας του συστήματος, κυρίως του συστήματος ανάδευσης. Παράλληλα, για τα δύο μίγματα ενζύμων, κατέστη σαφές πως το μίγμα 2 ήταν πιο αποτελεσματικό, ωστόσο αξίζει να αναφερθεί πως και τα δύο μίγματα μπόρεσαν να αποδώσουν αρκετά ικανοποιητικά σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (35°C) από τις προτεινόμενες βέλτιστες.

Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία πως η αξιοποίηση των διατροφικών οικιακών αποβλήτων προς παραγωγή βιοαιθανόλης είναι εφικτή σε πιλοτική κλίμακα. Βέβαια, θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και τεchnοοικονομικοί παράγοντες ώστε να εκτιμηθεί η βιωσιμότητα της διεργασίας.

Λέξεις κλειδιά: Υπολείμματα τροφίμων, Βιοαιθανόλη, Προεπεξεργασία, Ζύμωση, Απόσταξη, SHF, SSF, Βιοαντιδραστήρας, Ξηραντήρας, Πιλοτική κλίμακα, Απόδοση αιθανόλης.

Abstract

Household food waste represents a large fraction of municipal solid waste and is indeed an untapped resource with significant capacity in energy production. Utilizing this waste for energy recovery is a challenge today. Heterogeneous waste composition and high moisture content are an obstacle to the development of large-scale and high-efficiency processes. The aim of this dissertation was therefore to produce bioethanol from food waste on a pilot scale and to optimize the whole process. More specifically, the factors examined to optimize the process were the use of different enzyme mixtures (mixture 1-mixture 2), the charge of solids (10-25%) and the type of fermentation process (Separate Hydrolysis and Fermentation – SHF, Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF).

In the context of the dissertation, the raw material used was food waste household collected from the Municipality of Vari-Voula-Vouliagmeni every fifteen days. The waste, upon receipt, was dried and ground in a Gaia GC-100 dryer. The average moisture content of the raw waste was found to be $76.3 \pm 0.92\%$ w / w. Utilizable carbohydrates, such as cellulose and starch, were $17.34 \pm 0.21\%$ w / w and $4.28 \pm 0.35\%$ w / w, respectively. The charge of the solids examined in this study was from 10 to 25% w / w. The yield of ethanol found, for separate hydrolysis and fermentation (SHF), ranged from 0.04 to 0.08 ± 0.017 g of ethanol / g of substrate. For simultaneous hydrolysis and fermentation (SSF), the calculated ethanol yield was from 0.03 to 0.10 ± 0.026 g ethanol / g substrate. Also, the tests performed to compare the two different enzyme mixtures showed that the yield for the 1st mixture of enzymes was 0.03 g ethanol / g substrate, while for the 2nd 0.08 g ethanol / g substrate.

In addition, it is worth noting that for solid loads of 10 and 15% w / w, the ethanol yield for the SHF process was higher compared to the SSF process. Conversely for a charge of solids of 20% w/w, the opposite is observed. For the SHF process, it was found that increasing the solid charge led to a decrease in the sugaring efficiency and ethanol production. In contrast, for the SSF process, with increasing solids charge, the ethanol yield increased. However, an increase in the charge of solids above 20% w / w, leads to mechanical difficulties and inability of the system to operate, especially the agitation system. At the same time, for the two mixtures of enzymes, it became clear that mixture 2 was more effective, however it is worth mentioning that both mixtures were able to perform quite satisfactorily at lower temperatures (35°C) than the recommended optimum.

In conclusion, it was found in the present dissertation that the utilization of household food waste for bioethanol production is feasible on a pilot scale. Of course, techno-economic factors must also be taken into account in order to assess the viability of the process.

Keywords: Food waste, Bioethanol, Pre-treatment, Fermentation, Distillation, SHF, SSF, Bioreactor, Dryer, Pilot scale, Ethanol yield.

Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια η ανθρωπότητα καλείται να επαναπροσδιορίσει τους τρόπους με τους οποίους αντλεί τα ενεργειακά της αποθέματα όπως επίσης και την διαχείριση/ τελική διάθεση των αποβλήτων της στο περιβάλλον. Με τα φαινόμενα της κλιματικής αλλαγής να είναι πλέον ορατά και στατιστικά επαληθεύσιμα καλούμαστε να εντάξουμε σε Εθνικό αλλά και ατομικό επίπεδο την αρχή της ουδετερότητας του άνθρακα και γενικότερα το μοντέλο της κυκλικής οικονομίας. Εν έτη 2020 πολλές χώρες κυρίως Ευρωπαϊκές έχουν ψηλά στην ατζέντα τους την υποκατάσταση των συμβατικών καυσίμων από Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας (ΑΠΕ).

Ως ενεργειακή πηγή η βιομάζα θεωρείται μία από τις σημαντικότερες ανανεώσιμες πηγές ενέργειας εξαιτίας των πολλών πλεονεκτημάτων που παρέχει η χρήση της. Ειδικότερα, υπάρχουν πολλοί τρόποι αξιοποίησης της βιομάζας με σκοπό την μετατροπή της σε ηλεκτρική και θερμική ενέργεια ή/και στην παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας (π.χ. Βιοαέριο, Βιοκαύσιμα). Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της βιομάζας είναι η επαναχρησιμοποίηση υποπροϊόντων χαμηλής προστιθέμενης αξίας, όπως τα αστικά απορρίμματα και τα απόβλητα κυρίως βιομηχανιών τροφίμων τα οποία οδηγούνταν (κυρίως στην Ελλάδα) σε υγειονομική ταφή μειώνοντας έτσι τον όγκο των αποβλήτων αυξάνοντας παράλληλα το ποσοστό των ΑΠΕ.

Κύριος σκοπός στην παρούσα διπλωματική εργασία είναι η διερεύνηση δυνατότητας και αποτελεσματικότητας παραγωγής βιοαιθανόλης σε πιλοτική κλίμακα με πρώτη ύλη προδιαλεγμένα οικιακά οργανικά απόβλητα που συλλέχθηκαν από τον δήμο Βάρη-Βούλα-Βουλιαγμένη (BBB). Εξετάστηκαν δύο διαφορετικές πειραματικές πορείες με στόχο τη βελτιστοποίηση ολόκληρης της διαδικασίας.

Θεωρητικό μέρος

Κεφάλαιο 1: Νομοθετικό Πλαίσιο

1.1 Εισαγωγή

Η ΕΕ έθεσε ως στόχο, το 2001, την κάλυψη του 12% της κατανάλωσης ενέργειας και του 22,1% της κατανάλωσης ηλεκτρικής ενέργειας με ενέργεια από ανανεώσιμες πηγές (ΑΠΕ) έως το 2010, με ενδεικτικούς στόχους για κάθε κράτος μέλος που ορίζονται στην οδηγία 2001/77/ΕΚ. Η έλλειψη προόδου στην επίτευξη των στόχων του 2010 οδήγησε στην έγκριση πληρέστερου νομοθετικού πλαισίου.

Τον Δεκέμβριο του 2018, τέθηκε σε ισχύ η αναθεωρημένη οδηγία για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας (Οδηγία (ΕΕ) 2018/2001), στο πλαίσιο της δέσμης μέτρων «Καθαρή ενέργεια για όλους τους Ευρωπαίους», η οποία αποσκοπεί στο να παραμείνει η ΕΕ παγκόσμιος ηγέτης στον τομέα των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας και, γενικότερα, να βοηθήσει την ΕΕ να εκπληρώσει τις δεσμεύσεις της για μείωση των εκπομπών στο πλαίσιο της συμφωνίας του Παρισιού. Η νέα οδηγία θεσπίζει έναν νέο δεσμευτικό στόχο για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας για την ΕΕ για το 2030, σε τουλάχιστον 32 % της κατανάλωσης τελικής ενέργειας, με μια ρήτρα για πιθανή προς τα άνω αναθεώρηση έως το 2023.

Η αρχική οδηγία για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, (οδηγία 2009/28/ΕΚ) ορίζει ότι ένα υποχρεωτικό μερίδιο 20% της κατανάλωσης ενέργειας στην ΕΕ πρέπει, έως το 2020, να καλύπτεται από ΑΠΕ. Παράλληλα, όλα τα κράτη μέλη πρέπει να καλύπτουν το 10% των καυσίμων μεταφορών τους από ΑΠΕ έως το 2020. Η οδηγία προσδιορίζει επίσης διάφορους μηχανισμούς που μπορούν να εφαρμόσουν τα κράτη μέλη για να επιτύχουν τους στόχους τους (καθεστώς αστήριξης, εγγυήσεις προέλευσης, κοινά έργα, συνεργασία μεταξύ κρατών μελών και τρίτων χωρών), καθώς και κριτήρια βιωσιμότητας για τα βιοκαύσιμα.

Η αναθεωρημένη οδηγία όρισε δύο διαφορετικά ρυθμιστικά καθεστάτα: έως το 2020 επιβεβαίωσε τους υφιστάμενους εθνικούς στόχους για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας για κάθε χώρα, λαμβάνοντας υπόψη το σημείο εκκίνησης και το συνολικό δυναμικό για ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Οι στόχοι αυτοί κυμαίνονται από 10% στη Μάλτα έως 49% στη Σουηδία. Οι χώρες της ΕΕ καθορίζουν τον τρόπο με τον οποίο σκοπεύουν να επιτύχουν αυτούς τους στόχους και τον γενικό χάρτη πορείας για την πολιτική τους για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας στα εθνικά σχέδια δράσης για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Από το 2021, στο πλαίσιο της νέας δέσμης μέτρων «Καθαρή ενέργεια για όλους τους Ευρωπαίους», η οδηγία θέσπισε γενικό στόχο για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας της ΕΕ για το 2030. Τα κράτη μέλη της ΕΕ θα προτείνουν εθνικούς ενεργειακούς στόχους τους σε 10ετή εθνικά σχέδια για την ενέργεια και το κλίμα. Τα σχέδια αυτά θα αξιολογηθούν από την Επιτροπή, η οποία θα μπορούσε να λάβει μέτρα σε επίπεδο ΕΕ για να εξασφαλίσει ότι θα επιτευχθούν και ότι συνάδουν με τον συνολικό στόχο της ΕΕ. Η πρόοδος προς την επίτευξη των εθνικών στόχων μετράτε κάθε δύο χρόνια όταν οι χώρες της ΕΕ δημοσιεύουν τις εθνικές εκθέσεις προόδου για την ανανεώσιμη ενέργεια.

Πριν από μια 20ετία η αγορά άρχισε να γίνεται πιο ώριμη για τα βιοκαύσιμα από ό,τι για άλλες πηγές ενέργειας, χαρακτηρίζοντας αυτήν την περίοδο ανάπτυξης της βιομηχανίας ως την πιο ζωτική. Παρά την εμφάνιση του προβλήματος της κλιματικής αλλαγής, η σχέση της αγοράς με τα βιοκαύσιμα συνδέεται απόλυτα με την άνοδο της διεθνούς τιμής του αργού πετρελαίου. Ωστόσο, το γεγονός με την κλιματική αλλαγή έθεσε σε εφαρμογή μακροχρόνια αδρανείς τεχνολογίες με πληθώρα νέων προσεγγίσεων και προώθησε την ανάπτυξη της βιομάζας σε σημείο όπου η βιομηχανία βιοκαυσίμων θεωρήθηκε ως η λύση της ενεργειακής ανασφάλειας. Τα φορολογικά κίνητρα για παραγωγή από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας είναι μία από αυτές τις προσεγγίσεις και οι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται είναι ευρείς και ποικίλοι. Ορισμένες χώρες καταργούν τους ειδικούς φόρους κατανάλωσης καυσίμων, παρέχοντας πιστώσεις συμψηφισμού σε παραγωγούς εναλλακτικών καυσίμων ή απαλλάσσουν τους φόρους για οχήματα ικανά να λειτουργούν με βιοκαύσιμα. Ενώ άλλες απαλλάσσονται από τους ειδικούς φόρους κατανάλωσης των καυσίμων ή και συνδέουν τους φορολογικούς συντελεστές με τις περιβαλλοντικές επιδόσεις συγκεκριμένων καυσίμων, διαφοροποιώντας τους παραγωγούς και τις πρώτες ύλες.

Αξίζει να σημειωθεί ότι από το 1980 έως το 2005 η παραγωγή βιοκαυσίμων αυξήθηκε παγκοσμίως από 4.4 σε 50.1 δισεκατομμύρια λίτρα. Οι διάφορες χώρες έχουν υιοθετήσει διαφορετικούς τρόπους για να περάσουν στη χρήση των βιοκαυσίμων. Αυτό οφείλεται στο ότι το κόστος κάθε βιοκαυσίμου ποικίλλει ανάλογα με την τοποθεσία και την πρώτη ύλη (είδος βιομάζας) που χρησιμοποιείται. Ο πολιτικός σχεδιασμός και τα περιβαλλοντικά προβλήματα κάθε χώρας παίζουν επίσης σπουδαίο ρόλο στη λήψη των σχετικών αποφάσεων. Σε αυτά θα πρέπει να προσθέσουμε τεχνολογικούς και εμπορικούς περιορισμούς που συνδέονται με τη χρήση των υπαρχόντων βιοκαυσίμων. Οι περιορισμοί αυτοί έχουν οδηγήσει σε μεγάλες επενδύσεις για έρευνα και εφαρμογή νέων ειδών βιομάζας και τεχνολογιών παραγωγής βιοκαυσίμων.

Όσον αφορά την Ευρώπη το Μάρτιο του 2007 το Ευρωπαϊκό Συμβούλιο αποφάσισε να θέσει κάποιους στόχους για τα κράτη-μέλη στο πλαίσιο της ενεργειακής και κλιματικής αλλαγής της ΕΕ (CCP, Climate Change Package) και την οδηγία για την ποιότητα των καυσίμων (FQD, Fuel Quality Directive). Το πακέτο περιλάμβανε τους "20/20/20" υποχρεωτικούς στόχους για το 2020, ένας από τους οποίους ήταν ένας δεσμευτικός στόχος 20% για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας στο συνολικό ενεργειακό μείγμα της ΕΕ και 10% χρήση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας στο τομέα των μεταφορών. [1]

1.2 Νομοθεσία για βιοκαύσιμα

Στην Ευρώπη υπάρχουν διάφορες οδηγίες που καλύπτουν τη χρήση των βιοκαυσίμων. Μερικές από τις σημαντικότερες είναι η ILUC-Directive 2015/1513/EU, Renewable Energy Directive EU 2018/2001, Renewable Energy Directive 2009/28/EC (RED), Fuel Quality Directive 2009/30/EC (FQD) και η πιο πρόσφατη Biofuels Directive 2003/30/EC.

Σύμφωνα με την κοινοτική οδηγία 2003/30/EC ως βιοκαύσιμο θεωρείται κάθε υγρό ή αέριο καύσιμο για τις μεταφορές το οποίο παράγεται από βιομάζα, όπου βιομάζα είναι το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα προϊόντων, αποβλήτων και καταλοίπων από γεωργικές (συμπεριλαμβανομένων φυτικών και ζωικών ουσιών), δασοκομικές και συναφείς βιομηχανικές δραστηριότητες, καθώς και το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα των βιομηχανικών και αστικών

αποβλήτων. Σύμφωνα με την ίδια οδηγία στην κατηγορία των βιοκαυσίμων εμπίπτουν η βιοαιθανόλη, το βιοντίζελ (μεθυλεστέρας λιπαρών οξέων), το βιοαέριο, η βιομεθανόλη, ο βιοδιμεθυλαιθέρας, ο βιο-ΕΤΒΕ (αιθυλο-τριτο-βουτυλ-αιθέρας), ο βιο-ΜΤΒΕ (μεθυλο-τριτο-βουτυλ-αιθέρας), τα συνθετικά βιοκαύσιμα (συνθετικοί υδρογονάνθρακες ή μείγματα συνθετικών υδρογονανθράκων που έχουν παραχθεί από βιομάζα), το βιοϋδρογόνο και τα καθαρά φυτικά έλαια. Η τελευταία οδηγία είναι η Renewable Energy Directive (EU)2018/2001 (RED II) του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και Συμβουλίου για την προώθηση της χρήσης ανανεώσιμων πηγών ενέργειας η οποία εγκρίθηκε στις 11 Δεκέμβρη του 2018.

Οι σημαντικότερες οδηγίες της νομοθεσίας αυτής που σχετίζονται με τα βιοκαύσιμα είναι ότι τα βιοκαύσιμα που καταναλώνονται στις μεταφορές, που παράγονται από τρόφιμα και ζωοτροφές, οφείλουν να μην ξεπερνούν το 7% της συνολικής κατανάλωσης ενέργειας στους τομείς των οδικών και σιδηροδρομικών μεταφορών του κάθε κράτους-μέλους. Επίσης, η συνεισφορά των προηγμένων βιοκαυσίμων και του βιοαερίου που παράγονται από λάδι πεύκου (pine oil) και κутταρινούχες τροφοδοσίες (RED II), ως μερίδιο της τελικής κατανάλωσης ενέργειας στο τομέα των μεταφορών πρέπει να είναι τουλάχιστον 0.2% το 2022, τουλάχιστον 1% το 2025 και τουλάχιστον 3.5% το 2030. Και επιπλέον, κάθε κράτος-μέλος οφείλει να θέσει ως υποχρέωση στους προμηθευτές καυσίμων να εξασφαλίσουν ότι το μερίδιο της ανανεώσιμης ενέργειας στη συνολική κατανάλωση ενέργειας στο τομέα των μεταφορών θα είναι τουλάχιστον 14% το 2030 [3]. Στον πίνακα 1 φαίνονται αναλυτικά οι προτάσεις από τους εκάστοτε αρμόδιους παράγοντες προτού καταλήξουν στα τελικά ποσοστά του RED II.

Πίνακας 1: Στόχος ποσοστού ανάμιξης βιοκαυσίμων στο RED II

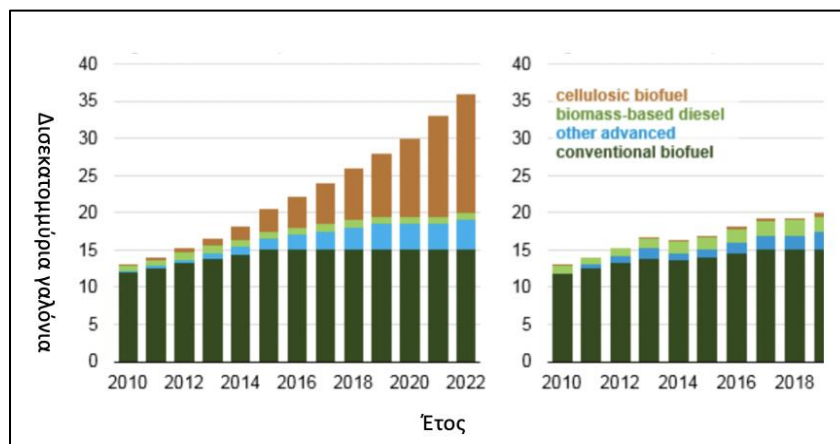
	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030
Μέγιστη ανάμιξη, Συμβατικών Βιοκαυσίμων										
Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Commission)	7.0%	6.7%	6.4%	6.1%	5.8%	5.4%	5.0%	4.6%	4.2%	3.8%
Ευρωπαϊκό Συμβούλιο (council)	7.0%									
Βουλή	2%									
Ελάχιστη ανάμιξη, Προηγμένων (ομάδα Α)										
Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Commission)	0.5%	0.7%	0.9%	1.1%	1.3%	1.8%	2.2%	2.7%	3.1%	3.6%
Ευρωπαϊκό Συμβούλιο (council)					1.0%	1.4%	1.8%	2.2%	2.6%	3.0%
Βουλή	0.5%	0.7%	0.9%	1.1%	1.3%	1.8%	2.2%	2.7%	3.1%	3.6%
Μέγιστη ανάμιξη, Προηγμένων (ομάδα Β)										
Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Commission)	1.7%									
Ευρωπαϊκό Συμβούλιο (council)	Δεν υπάρχει όριο									
Βουλή	1.7%									

Τα συμβατικά βιοκαύσιμα παράγονται από βρώσιμη πρώτη ύλη. Η παραγωγή τους γίνεται σε πολύ μεγάλη κλίμακα και οι κύριοι τρόποι παραγωγής τους είναι η ζύμωση και η μετεστεροποίηση. Δύο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η βιοαιθανόλη από σάκχαρα και το βιοντίζελ από φυτικά έλαια που παράγονται με ζύμωση και μετεστεροποίηση αντίστοιχα.

Τα προηγμένα βιοκαύσιμα παράγονται από μη βρώσιμα μέρη καρπών, από μη βρώσιμους καρπούς καθώς επίσης και από βιομηχανικά απόβλητα. Η παραγωγή τους γίνεται σε πολύ μικρή κλίμακα ενώ η παραγωγή τους γίνεται με αεριοποίηση, ζύμωση καθώς και άλλες βιολογικές και χημικές διεργασίες. Το συνθετικό καύσιμο, το βιομεθάνιο και η βιοαιθανόλη μπορούν να παραχθούν με τέτοιο τρόπο ώστε να θεωρηθούν προηγμένα βιοκαύσιμα. Τα βιοκαύσιμα αυτά χρησιμοποιούν απόβλητα ως τροφοδοσία με αποτέλεσμα να μην αποτελούν απειλή για τα τρόφιμα.

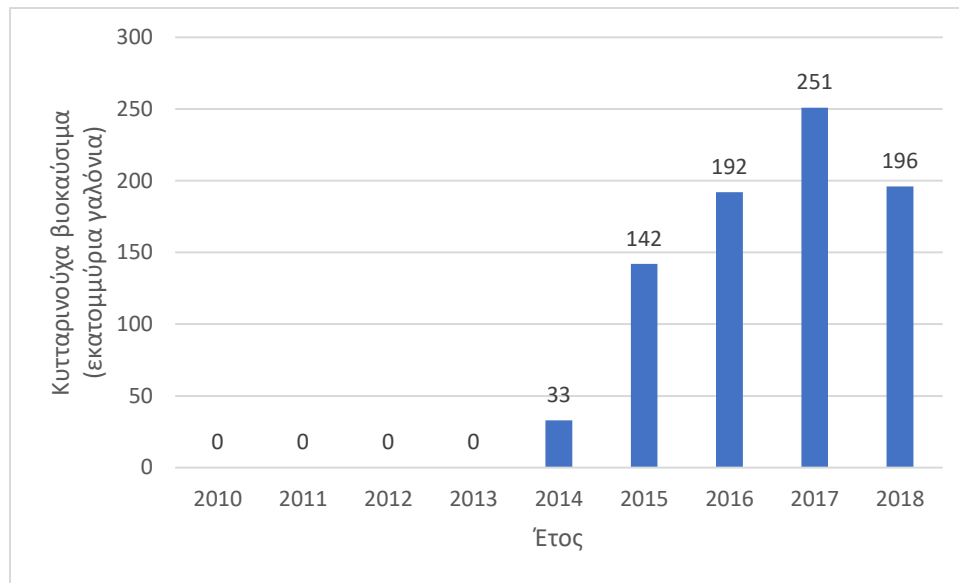
Το 2018, συνολικά τα βιοκαύσιμα αναμιγνύονταν σε ποσοστό 5.2% με τα ορυκτά καύσιμα. Η ανάμιξη συμβατικών βιοκαυσίμων (food based) εκτιμάται στο 4.1%, αρκετά πιο χαμηλά από το 7% που είναι το όριο της νομοθεσίας μέχρι και το 2030 (RED II). Η ανάμιξη προηγμένων (non-food based) βιοκαυσίμων εκτιμάται στο 1.2%. Η πλειονότητα αυτών των καυσίμων προέρχεται (1%, ομάδα Β) από απόβλητα όπως λίπη και έλαια ενώ ένα μικρό μέρος (0.2%, ομάδα Α) προέρχεται από λάδι πεύκου και κυτταρινούχες τροφοδοσίες. [2]

Τα παραπάνω, αναφέρονται στην ευρωπαϊκή νομοθεσία των βιοκαυσίμων. Όσο αφορά όμως την Αμερική, στις 30 Νοεμβρίου 2018, η Αμερικάνικη Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος (U.S EPA, Environmental Protection Agency) ανακοίνωσε τον τελικό κανονισμό για το 2019 σχετικά με τα ανανεώσιμα καύσιμα (RFS, Renewable Fuel Standards), με απαίτηση ο συνολικός όγκος βιοκαυσίμων να είναι μεγαλύτερος κατά 3% από τον αντίστοιχο του 2018, αλλά 30% μικρότερος από την πρόβλεψη που είχε θέσει το EISA (Energy Independence and Security Act) το 2007. Όμοια με τα προηγούμενα χρόνια, η EPA θα μειώσει εκ νέου τις απαιτήσεις του όγκου για καύσιμα προερχόμενα από κυτταρινούχες τροφοδοσίες καθώς η ανάπτυξή τους ήταν πολύ πιο αργή από αυτό που το Κογκρέσο είχε προβλέψει σύμφωνα με το EISA 2007, πριν από μια δεκαετία. Στο διάγραμμα 1 μπορεί να παρατηρήσει κανείς ότι η αύξηση των βιοκαυσίμων αυτών ήρθε και πολύ αργά αλλά έφτασε και πολύ χαμηλότερα από τα αναμενόμενα ποσοστά. Στο RFS για το 2019 οι απαιτήσεις είναι στα 418 εκατομμύρια γαλόνια ή αλλιώς στο 5% της αρχικής εκτίμησης των 8.5 δισεκατομμυρίων γαλονιών που προέβλεπε ο EISA 2007 [4].



Διάγραμμα 1: Προβλεπόμενες προδιαγραφές EISA 2007 και Προδιαγραφές σύμφωνα με το RFS [4]

Ο EISA προέβλεπε ότι η αύξηση στο μερίδιο των βιοκαυσίμων θα προερχόταν από βιοκαύσιμα προερχόμενα από κутταρινούχες τροφοδοσίες καθώς έχουν λιγότερες εκπομπές αερίων που σχετίζονται με το φαινόμενο του θερμοκηπίου συγκριτικά με τα συμβατικά βιοκαύσιμα. Τα βιοκαύσιμα κутταρινούχας προέλευσης υποτίθεται ότι θα άγγιζαν τα 16 δισεκατομμύρια γαλόνια μέχρι το 2022, αλλά η τεχνολογία δεν έχει ωριμάσει αρκετά ώστε να πετύχει αυτές τις προδιαγραφές. Στο διάγραμμα 2 απεικονίζεται η παραγωγή βιοκαυσίμων από κутταρινούχες τροφοδοσίες από το 2010 έως το 2018. Φυσικά, φαίνεται η διαφορά στην εκτίμηση του EISA από την πραγματική εξέλιξη των συγκεκριμένων βιοκαυσίμων.



Διάγραμμα 2: Η πορεία της παραγωγής βιοκαυσίμων προερχόμενα από κутταρινούχες τροφοδοσίες [4]

Στον πίνακα 2 φαίνονται οι τελικές απαιτήσεις για το 2019 που τέθηκαν από το RFS που ψηφίστηκε το Νοέμβρη του 2018.

Πίνακας 2: Τελικές απαιτήσεις όγκου παραγωγής βιοκαυσίμων σύμφωνα με το RFS για το 2019 [4]

	2017	2018	2019	2020
Κυτταρινούχα Βιοκαύσιμα (εκατομμύρια γαλόνια)	311	288	418	Δεν αναφέρεται
Ντίζελ από βιομάζα (δισ. γαλόνια)	2.0	2.1	2.1	2.43
Προηγμένα βιοκαύσιμα (δισ. γαλόνια)	4.28	4.29	4.92	Δεν αναφέρεται
Ανανεώσιμα βιοκαύσιμα (δισ. γαλόνια)	19.28	19.29	19.92	Δεν αναφέρεται

1.3 Νομοθεσία για στερεά απόβλητα

Οι γενικές απαιτήσεις διαχείρισης των αποβλήτων, όπως η προστασία του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας κατά την επεξεργασία αποβλήτων και η προτεραιότητα για την ανακύκλωση, καθορίζονται στην οδηγία πλαίσιο για τα απόβλητα 2008/98/ΕΚ, όπως τροποποιήθηκε και ισχύει από την Οδηγία 2018/851/ΕΚ. Η Οδηγία ορίζει ως «απόβλητο»: κάθε ουσία ή αντικείμενο το οποίο ο κάτοχός του απορρίπτει ή προτίθεται ή υποχρεούται να απορρίψει και περιέχει ειδικά στοιχεία σχετικά με τα βιολογικά απόβλητα (νέοι στόχοι ανακύκλωσης για τα οικιακά απόβλητα, βιολογικά απόβλητα). Ενσωματώνει τις έννοιες «υποπροϊόν» και «αποχαρακτηρισμός αποβλήτων» εισάγοντας τη διάκριση μεταξύ αποβλήτων και μη αποβλήτων και διευκρινίζει, ότι μια ουσία ή αντικείμενο που αναφέρεται στον ΕΚΑ (2000/532/ΕΚ) δεν συνιστά οπωσδήποτε απόβλητο, παρά μόνο εάν πληροί τα κριτήρια του ορισμού αποβλήτων. [5]

Η Οδηγία 2008/98/ΕΚ αιτιολογεί τη σημασία της χωριστής συλλογής των βιοαποβλήτων, ενώ η αναθεωρημένη οδηγία 2018/851/ΕΚ δεν αφήνει πλέον, τη χωριστή συλλογή των βιοαποβλήτων στη διακριτική ευχέρεια των κρατών - μελών, αλλά απαιτεί να εξασφαλίσουν ότι μέχρι 31-12-2023 τα βιοαπόβλητα είτε θα διαχωρίζονται και θα ανακυκλώνονται στην πηγή, είτε θα συλλέγονται χωριστά και δεν θα αναμιγνύονται με άλλα είδη αποβλήτων.

Αυτή η ποιοτική παράμετρος διαφοροποιεί την κομποστοποίηση που αναφέρεται μόνο σε διαχωρισμένα στην πηγή βιοαπορρίμματα, από τα σταθεροποιημένα βιοαπόβλητα που προέρχονται από μηχανική/βιολογική επεξεργασία σύμμεικτων ή υπολειμματικών απορριμμάτων, ακόμη και στην περίπτωση που τα τελευταία πληρούν τις ποιοτικές προδιαγραφές του κομποστ. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για την Ελλάδα, που δεν έχει προχωρήσει σε εκτεταμένα προγράμματα διαλογής στην πηγή, και οι εγκαταστάσεις μηχανικής/βιολογικής επεξεργασίας που διαθέτει εφαρμόζουν μηχανική διαλογή σε σύμμεικτα απορρίμματα.

Επιπλέον, ζητά από τους Ευρωπαϊκούς Οργανισμούς τυποποίησης (μέχρι 31-12-2018) να αναπτύξουν πρότυπα ποιότητας για τα βιολογικά απόβλητα που υποβάλλονται σε διαδικασίες οργανικής ανακύκλωσης, για το κομποστ, με βάση τις βέλτιστες διαθέσιμες τεχνικές, γεγονός που σαφώς θα επηρεάσει τις εθνικές προδιαγραφές, που έχουν θεσπιστεί με άξονα αναφοράς τα συστήματα μηχανικής διαλογής - κομποστοποίησης. Στο πίνακα 3 απεικονίζονται τα όρια σε περιεκτικότητα βαρέων μετάλλων για τα βιοαπόβλητα. [6]

Πίνακας 3: Όρια βαρέων μετάλλων στα βιοαπόβλητα [5]

Βαρέα Μέταλλα (mg/kg D.S)	Κομποστ (τάξης 1)	Κομποστ (τάξης 2)	Σταθεροποιημένο βιοαπόβλητο
Cd	0.7	1.5	5
Cu	100	150	600
Ni	50	75	150
Pb	100	150	500
Zn	200	400	1500
Hg	0.5	1	5
Cr	100	150	600

Η οδηγία για την υγειονομική ταφή 1999/31/ΕΚ, είχε θέσει στόχους ώστε να μειωθεί το ποσοστό των βιοαποδομήσιμων αστικών αποβλήτων που απορρίπτεται σε ΧΥΤΑ, στο 75%, 50% και 35% των επιπέδων του 1995, μέχρι το 2006, 2009 και 2016 αντίστοιχα, ενώ ορισμένες χώρες έχουν λάβει τετραετή περίοδο παρέκκλισης. Η κομποστοποίηση αντιπροσωπεύει μια από τις καθαρότερες τεχνολογίες διαχείρισης και εκτροπής των οργανικών αποβλήτων από την υγειονομική ταφή.

Οι βασικές αρχές για την αδειοδότηση και τον έλεγχο των εγκαταστάσεων επεξεργασίας βιολογικών αποβλήτων, χωρητικότητας άνω των 50 τόνων ημερησίως, καθορίζονται από την οδηγία για τις βιομηχανικές εκπομπές 2010/75/ΕΕ, ενώ η αποτέφρωση των βιολογικών αποβλήτων ρυθμίζεται στην οδηγία για την αποτέφρωση των αποβλήτων 2000/76/ΕΕ. [5]

Βασική αναφορά αποτελεί ο κανονισμός για τα ζωικά υποπροϊόντα ΚΑΝ (ΕΚ) 1069/2009, ο οποίος προβλέπει λεπτομερείς κανόνες υγιεινής για τις μονάδες κομποστοποίησης που επεξεργάζονται υποπροϊόντα ζωικής προέλευσης. Ο κανονισμός περιορίζει τους τύπους ζωικών προϊόντων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Οι απαιτήσεις υγιεινής καθορίζονται στον εκτελεστικό κανονισμό (ΕΕ) 142/2011, που τέθηκε σε ισχύ στις 4 Μαρτίου 2011 και τροποποιήθηκε με τον κανονισμό (ΕΕ) 294/2013. [7]

Στο Ελληνικό δίκαιο έχουν μεταφερθεί όλες οι σχετικές οδηγίες της ΕΕ, με πιο πρόσφατη την ενσωμάτωση της οδηγίας 2008/98/ΕΕ για τα απόβλητα στο ν. 4042/2012. Οι βασικές αρχές και οι στόχοι για τη διαχείριση των στερεών αποβλήτων, μαζί με τις προδιαγραφές για τον εθνικό και περιφερειακό σχεδιασμό, καθορίζονται από το Εθνικό Σχέδιο Διαχείρισης Αποβλήτων (ΕΣΔΑ) το οποίο αναθεωρείται κάθε πενταετία ή νωρίτερα, εάν είναι απαραίτητο. [8]

Παρά το γεγονός ότι τις τελευταίες δεκαετίες, η Ευρώπη θέσπισε προοδευτικά ένα συνεκτικό πολιτικό και κανονιστικό πλαίσιο για τη διαχείριση των αποβλήτων και το Ευρωπαϊκό δίκαιο παρέχει στους υπεύθυνους λήψης αποφάσεων, κατεύθυνση και στόχους, υπάρχει ένα σαφές και προφανές κενό όσον αφορά τον τομέα των βιοαποβλήτων. Μια στρατηγική Οδηγία για τα βιοαπόβλητα μπορεί να συνεισφέρει στην εκπλήρωση των στόχων της Οδηγίας για την υγειονομική ταφή και να ενισχύσει τη συμμόρφωση με τις στρατηγικές για την πρόληψη και την ανακύκλωση αποβλήτων, για την προστασία του εδάφους, για την αειφόρο χρήση των φυσικών πόρων και να συμβάλει στην επίτευξη των στόχων του Ευρωπαϊκού Προγράμματος για την Κλιματική Αλλαγή.

Επίσης, θα ήταν ένα σημαντικό εργαλείο προκειμένου να προωθήσουμε συνεπείς στρατηγικές για την εκτροπή των βιοαποβλήτων από τους χώρους υγειονομικής ταφής. Η Οδηγία είναι απαραίτητο να περιλαμβάνει κανονιστικές πτυχές (π.χ. συνθήκες για την εφαρμογή του κομπόστ κ.λπ.), αλλά κυρίως οδηγίες και στόχους που θα δημιουργήσουν ένα ασφαλές περιβάλλον που θα εξασφαλίσει μακροπρόθεσμα επιχειρηματικά σχέδια και επενδύσεις, στον τομέα των βιοαποβλήτων.

Ένα σημαντικό ζήτημα που αντιμετωπίζουν οι υπεύθυνοι για τη λήψη αποφάσεων, όταν η διαχείριση βιολογικών αποβλήτων γίνεται σε τοπικό επίπεδο, είναι η βιωσιμότητα και το κόστος των συστημάτων χωριστής συλλογής, τα οποία έχουν ρόλο κλειδί στην παραγωγή καλής ποιότητας κομπόστ, που απαιτείται ώστε να ικανοποιούνται οι αρχές των «ευεργετικών επιπτώσεων» και «πρόληψης της μόλυνσης» που αναφέρονται εκτενώς, στη στρατηγική για το

έδαφος. Υπάρχει η άποψη ότι ο υποχρεωτικός - επιτακτικός διαχωρισμός στην πηγή, δεν έχει την ευελιξία που απαιτείται για να καλυφθεί ένα ευρύ φάσμα κοινωνικών συνθηκών, διαφορετικών τύπων κατοικιών, πυκνότητας πληθυσμού, και υφιστάμενων εγκαταστάσεων, σε όλη την Ευρώπη.

Από αυτή την άποψη, ο καθορισμός στόχων για τη διαλογή στην πηγή και την κομποστοποίηση είναι μια προσέγγιση που στοχεύει στο αποτέλεσμα και παρέχει ένα βαθμό ελευθερίας στους υπεύθυνους λήψης αποφάσεων να επιλέξουν τους πιο κατάλληλους τρόπους κατά περίπτωση, για την εφαρμογή της διαλογής στην πηγή. Αντιθέτως η «γενική υποχρέωση» είναι πιθανό να οδηγήσει σε ελλιπώς σχεδιασμένα συστήματα που μεταφράζονται σε χαμηλά ποσοστά συμμετοχής και αποδοτικότητας [9].

Κεφάλαιο 2: Βιοκαύσιμα

2.1 Εισαγωγή

Η μεγάλη και διαρκώς αυξανόμενη ανάγκη σε φθηνά καύσιμα μεγάλου ενεργειακού περιεχομένου, από τη βιομηχανική επανάσταση έως και σήμερα ενίσχυσε σημαντικά τη χρήση ορυκτών καυσίμων, άνθρακα αρχικά και πετρελαϊκών παραγώγων αργότερα, σε βάρος των παραδοσιακών βιοκαυσίμων. Ωστόσο τα προβλήματα θέρμανσης του πλανήτη, τα οποία σχετίζονται άμεσα με το εκπεμπόμενο κατά την καύση διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) έχουν δημιουργήσει κατά τα τελευταία χρόνια ένα κλίμα μεταστροφής προς τα βιοκαύσιμα, τα οποία καλούνται να υποκαταστήσουν σταδιακά τα συμβατικά καύσιμα. Ιστορικά, τα πρώτα καύσιμα που χρησιμοποιήθηκαν από τον άνθρωπο, ανήκαν στην κατηγορία των βιοκαυσίμων, όπως το ξύλο, το λίπος, τα φυτικά λάδια κλπ. Βιοκαύσιμα, λοιπόν, ονομάζονται τα στερεά, υγρά ή αέρια καύσιμα εκείνα, τα οποία προέρχονται από τη βιομάζα, το βιοδιασπώμενο δηλαδή κλάσμα προϊόντων ή αποβλήτων διαφόρων ανθρώπινων δραστηριοτήτων και μη.

2.2 Είδη βιοκαυσίμων

Τα βιοκαύσιμα είναι μια μορφή ανανεώσιμης πηγής ενέργειας. Πιο συγκεκριμένα, διακρίνονται σε 3 είδη, τα στερεά, τα υγρά και τα αέρια βιοκαύσιμα. Τα βασικότερα βιοκαύσιμα που κυκλοφορούν σήμερα στο εμπόριο είναι:

- Το **βιοντίζελ** που παράγεται από φυτικά έλαια και ζωικά λίπη. Αποτελεί ένα άριστο υποκατάστατο του συμβατικού ντίζελ και μπορεί να χρησιμοποιείται αυτούσιο ή σε μίγματα με αυτό στους ήδη υπάρχοντες πετρελαιοκινητήρες.
- Η **βιοαιθανόλη** που παράγεται από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και μπορεί να χρησιμοποιείται σε μίγματα με βενζίνη.
- Το **βιοαέριο** που παράγεται από τα οργανικά αγροτοβιομηχανικά και άλλα απόβλητα και υπολείμματα, καθώς και από ενεργειακά φυτά.
- Τα **pellets** και οι **briquettes** που παράγονται από αγροτικά υπολείμματα.

Προοπτική για περαιτέρω μελέτη έχουν τα υγρά και τα αέρια, καθώς υπάρχουν εναλλακτικές μέθοδοι αξιοποίησης τους. Η παγκόσμια κοινότητα προσανατολίζεται προς την ενεργειακή κυρίως χρήση των αερίων βιοκαυσίμων και ειδικότερα προς την παραγωγή (ή συμπαραγωγή) ηλεκτρισμού και θερμότητας από το syngas (θερμοχημική αεριοποίηση Βιομάζας), το Βιοαέριο από αναερόβιους χωνευτήρες και ΧΥΤΑ, και σε μικρότερο βαθμό σήμερα από το βιοϋδρογόνο. Για το τελευταίο, που θεωρείται το καύσιμο του μέλλοντος, επιφυλάσσεται μια ευρύτερη χρήση που στο μέλλον θα περιλαμβάνει την αξιοποίησή του τόσο για ηλεκτροπαραγωγή σε μικρή κλίμακα, όσο και για την κίνηση οχημάτων μέσω των κυψελών καυσίμου (fuel cells).

Τα υγρά Βιοκαύσιμα (το Βιοντίζελ, η Βιοαιθανόλη κτλ.) προορίζονται σχεδόν αποκλειστικά για την κίνηση οχημάτων, έστω και σε ανάμιξη σε μικρά ποσοστά, στην πρώτη φάση, με συμβατικά καύσιμα αντίστοιχων ιδιοτήτων.

2.3 Κατηγορίες βιοκαυσίμων

Τα βιοκαύσιμα κατατάσσονται σε 4 κατηγορίες.

- Βιοκαύσιμα 1^{ης} γενιάς

Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς κατασκευάζονται από δύο τύπους βρώσιμων πρώτων υλών, που ταξινομούνται ως πρώτες ύλες με βάση το άμυλο και τη ζάχαρη. Παραδείγματα πρώτων υλών με βάση το άμυλο πατάτες, κριθάρι, καλαμπόκι και σιτάρι. Ενώ για τις πρώτες ύλες με βάση τη ζάχαρη περιλαμβάνει ζαχαροκάλαμο και ζαχαρότευτλα. Οι πρώτες ύλες καλλιεργούνται σε μονοκαλλιέργειες, πράγμα που σημαίνει ότι μόνο ένας τύπος πρώτης ύλης καλλιεργείται στον ίδιο χώρο ταυτόχρονα. Ωστόσο, η παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς έχει διατεθεί στο εμπόριο ευρέως και συμβάλλει σε περίπου 50 δισεκατομμύρια λίτρα της συνολικής παραγωγής βιοκαυσίμων ετησίως. Οι πιο κοινές βρώσιμες πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς είναι το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο και το σιτάρι. Η πρώτη ύλη μετατρέπεται σε βιοκαύσιμα μέσω μιας διαδικασίας ζύμωσης. Το τελικό προϊόν της διαδικασίας θα περάσει μέσω ενός θαλάμου απόσταξης για την απομάκρυνση των ακαθαρσιών από τα βιοκαύσιμα. Ωστόσο, οι πρώτες ύλες με βάση το άμυλο πρέπει να περάσουν από μια διαδικασία προκατεργασίας πριν προστεθούν στον θάλαμο ζύμωσης. Αυτό συμβαίνει επειδή οι πρώτες ύλες με βάση το άμυλο έχουν δομή πολυμερούς μακράς αλυσίδας γλυκόζης και πρέπει να αναλυθούν σε μικρότερη αλυσίδα για να διασφαλιστεί η επιτυχής μετατροπή της πρώτης ύλης σε βιοκαύσιμα. Η διαδικασία παραγωγής βιοκαυσίμων μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε την αξιολόγηση κύκλου ζωής (AKZ) της παραγωγής βιοκαυσίμων για να εκτιμήσουμε τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις.

- Βιοκαύσιμα 2^{ης} γενιάς

Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς έχουν αναπτυχθεί για να ξεπεράσουν τους περιορισμούς των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς. Παράγονται από μη εδώδιμες καλλιέργειες όπως ξύλο, οργανικά απόβλητα, απόβλητα καλλιεργειών τροφίμων και συγκεκριμένες καλλιέργειες βιομάζας, εξαλείφοντας έτσι το κύριο πρόβλημα των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς. Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς αποσκοπούν επίσης να είναι πιο ανταγωνιστικά ως προς το κόστος τους σε σχέση με τα υπάρχοντα ορυκτά καύσιμα. Οι αξιολογήσεις του κύκλου ζωής των βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς δείχνουν επίσης ότι μέσω αυτών αυξάνονται τα «καθαρά ενεργειακά κέρδη» καθώς ξεπερνούν ορισμένους από τους κύριους περιορισμούς των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς.

- Βιοκαύσιμα 3^{ης} γενιάς

Η τρίτη γενιά βιοκαυσίμων βασίζεται σε βελτιώσεις στην παραγωγή βιομάζας. Εκμεταλλεύεται τις ειδικά σχεδιασμένες ενεργειακές καλλιέργειες όπως τα φύκια ως πηγή ενέργειας. Τα φύκια καλλιεργούνται ώστε να λειτουργούν ως χαμηλού κόστους, υψηλής ενέργειας και πλήρως ανανεώσιμη πρώτη ύλη. Προβλέπεται ότι τα φύκια θα έχουν τη δυνατότητα να παράγουν περισσότερη ενέργεια ανά στρέμμα από τις συμβατικές καλλιέργειες. Τα φύκια μπορούν επίσης να καλλιεργηθούν χρησιμοποιώντας γη και νερό ακατάλληλα για παραγωγή τροφίμων, μειώνοντας έτσι την πίεση στη προσπάθεια εύρεσης καλλιεργήσιμης γης και σε ήδη εξαντλημένες πηγές νερού. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα των βιοκαυσίμων με βάση τα φύκια είναι ότι με τη δεδομένη πρώτη ύλη μπορεί να κατασκευαστεί σε ένα ευρύ φάσμα καυσίμων όπως ντίζελ, βενζίνη και καύσιμα αεριοθωμένω.

- Βιοκαύσιμα 4^{ης} γενιάς

Τα βιοκαύσιμα τέταρτης γενιάς στοχεύουν όχι μόνο στην παραγωγή βιώσιμης ενέργειας αλλά και σε έναν τρόπο σύλληψης και αποθήκευσης του CO₂. Τα υλικά βιομάζας, τα οποία έχουν απορροφήσει CO₂ ενώ μεγαλώνουν, μετατρέπονται σε καύσιμο χρησιμοποιώντας τις ίδιες διαδικασίες με τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς. Αυτή η διαδικασία διαφέρει από την παραγωγή βιοκαυσίμων δεύτερης και τρίτης γενιάς, καθώς σε όλα τα στάδια παραγωγής το διοξείδιο του άνθρακα δεσμεύεται χρησιμοποιώντας διαδικασίες όπως η καύση με καθαρό οξυγόνο (oxygen fuel combustion). Το διοξείδιο του άνθρακα μπορεί στη συνέχεια να απομακρυνθεί αποθηκευόντάς το σε εξαντλημένους θύλακες άντλησης πετρελαίου και φυσικού αερίου ή αλατούχους υδροφόρους. Αυτή η δέσμευση άνθρακα καθιστά την παραγωγή βιοκαυσίμων τέταρτης γενιάς άνθρακα αρνητική και όχι απλώς ουδέτερη, καθώς «κλειδώνει» περισσότερο άνθρακα από ό, τι παράγει. Αυτό το σύστημα όχι μόνο συλλαμβάνει και αποθηκεύει διοξείδιο του άνθρακα από την ατμόσφαιρα, αλλά μειώνει επίσης τις εκπομπές CO₂ αντικαθιστώντας έτσι με πολύ ευνοϊκούς όρους τα ορυκτά καύσιμα. [10].

2.4 Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων

Με βάση την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται στην παραγωγή, τα βιοκαύσιμα αλλά και οι ενδιάμεσοι φορείς βιοενέργειας μπορούν να αναφέρονται ως:

- Τα συμβατικά (πρώτης γενιάς) βιοκαύσιμα τα οποία παράγονται από καλλιέργειες τροφίμων (ζάχαρη, άμυλο, λάδι), όπως φοίνικες, ελαιοκράμβη, σόγια, τεύτλα και δημητριακά (καλαμπόκι, σιτάρι κ.λπ.).
- Τα προηγμένα βιοκαύσιμα (δεύτερης, τρίτης και τέταρτης γενιάς) - όπως ορίζονται από Ευρωπαϊκή Επιτροπή - παράγονται από πρώτες ύλες που "δεν ανταγωνίζονται άμεσα με καλλιέργειες τροφίμων και ζωοτροφών, όπως απόβλητα και γεωργικά υπολείμματα (δηλ. άχυρο σίτου, αστικά απόβλητα), μη διατροφικές καλλιέργειες (π.χ. miscanthus και βραχείας περιστροφής) και φύκια.

Τα βιοκαύσιμα όπως έχει ήδη αναφερθεί μπορούν να υποκαταστήσουν τα ορυκτά καύσιμα μεταφοράς, με το πλεονέκτημα ότι παρέχουν άνθρακα προερχόμενο ανανεώσιμες πηγές. Σε γενικές γραμμές, οι διάφοροι τύποι πρώτων υλών βιομάζας που ενδεχομένως διατίθενται για παραγωγή βιοενέργειας μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

Πίνακας 4 : Κατηγορίες πρώτων υλών

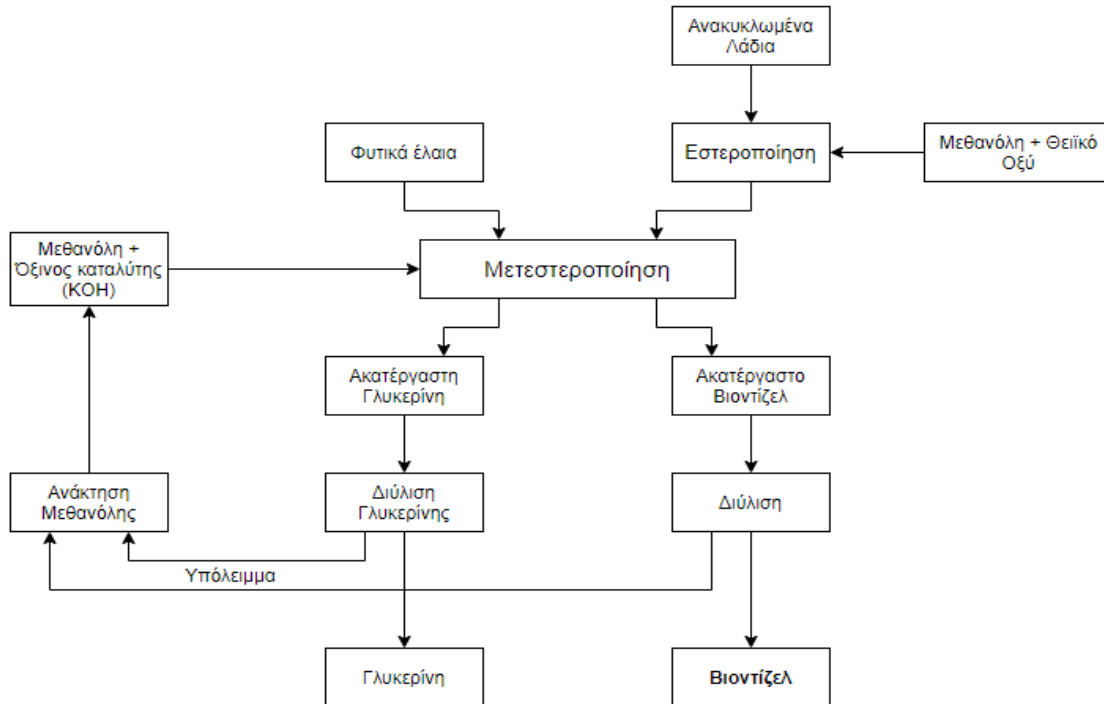
Δεσμευτικές καλλιέργειες	Απόβλητα και υπολείμματα
i. Καλλιέργειες ζάχαρης	i. Υπολείμματα με βάση το πετρέλαιο
ii. Καλλιέργειες αμύλου	ii. Λιγνοκυτταρινικά υπολείμματα
iii. Καλλιέργειες ελαίων	iii. Οργανικά υπολείμματα και άλλα
iv. Λιγνοκυτταρινικές καλλιέργειες	iv. Αέρια απόβλητα
v. Άλη και υδρόβια βιομάζα	v. Οργανικά οικιακά απορρίμματα

2.5 Παραγωγή βιοκαυσίμων

1. Παραγωγή βιοντίζελ

Από την αρχή της χρήσης των κινητήρων ντίζελ, αναγνωρίστηκε η δυνατότητα του φυτικού λαδιού ως καυσίμου. Οι ερευνητές διερεύνησαν εναλλακτικές πηγές καυσίμων και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα καύσιμα με βάση τα φυτικά έλαια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικές λύσεις. Ο Rudolph Diesel δήλωσε το 1912 στην Κοινότητα Μηχανικών του St. Louis, στο Missouri, ότι *“η χρήση φυτικών ελαίων για καύσιμα κινητήρων μπορεί να φαίνεται ασήμαντη σήμερα, αλλά τέτοια έλαια μπορεί να γίνουν με την πάροδο του χρόνου τόσο σημαντικά όσο το πετρέλαιο και τα προϊόντα πίσσας άνθρακα οι παρόντες καιροί”*.

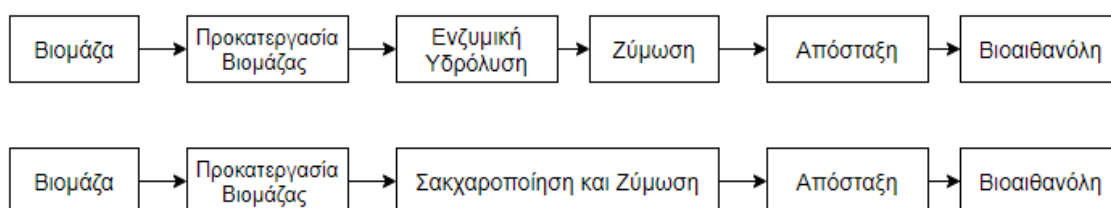
Τα φυτικά έλαια έχουν υψηλότερο ιξώδες από το εμπορικό καύσιμο ντίζελ. Το υψηλό ιξώδες του ακατέργαστου φυτικού λαδιού μειώνει την απόδοση ψεκασμού καυσίμου και αυξάνει τη γήχωση του, η οποία εν μέρει είναι υπεύθυνη για τις εναποθέσεις άνθρακα στον κινητήρα. Το πρόβλημα με το ιξώδες του λαδιού αντιμετωπίζεται κατά την επεξεργασία του για τη παραγωγή του βιοντίζελ (Σχήμα 1). Μερικές από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται είναι η διάλυση (ανάμειξη) του με πετρέλαιο, η μικρογαλακτωματοποίηση, η πυρόλυση (θερμική πυρόλυση) και η μετεστεροποίηση. [11]



Σχήμα 1: Παραγωγή βιοντίζελ [11]

2. Παραγωγή βιοαιθανόλης

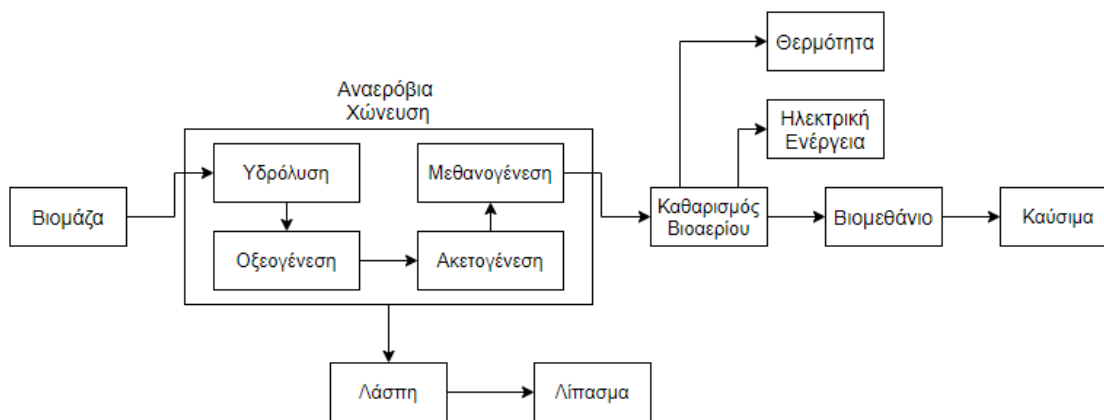
Η λιγνοκυτταρίνη βιομάζα είναι πολύ πλεονεκτική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης, ειδικά τα οργανικά οικιακά απορρίμματα. Είναι ευνοϊκότερη ως τροφοδοσία λόγω χαμηλού κόστους, άφθονου και ανανεώσιμου πόρου, που έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον για τη διερεύνηση των δυνατοτήτων του. Το υλικό αυτό απαιτεί προ κατεργασία, πριν την ενζυμική υδρόλυση των πολυσακχαριτών σε ζυμώσιμα σάκχαρα, ιδιαίτερα γλυκόζη. Τα σάκχαρα στη συνέχεια ζυμώνονται σε βιοαιθανόλη από μικροοργανισμούς. Όταν το στάδιο της διάσπασης των πολυσακχαριτών σε μονομερή (υδρόλυση, σακχαροποίηση) και της ζύμωσης γίνονται ξεχωριστά σε διαφορετικές συνθήκες, τότε η παραγωγή της βιοαιθανόλης χαρακτηρίζεται ως Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF). Διαφορετικά, όταν τα δύο στάδια γίνονται ταυτόχρονα σε ίδιες συνθήκες, λέγεται Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF).



Σχήμα 2: Παραγωγή Βιοαιθανόλης με SHF και SSF [12]

3. Παραγωγή βιοαερίου

Το βιοαέριο παράγεται από αναερόβια βακτήρια που αποικοδομούν οργανικό υλικό σε βιοαέριο σε τέσσερα στάδια την υδρόλυση, την οξεογένεση, την ακετογένεση και την μεθανογένεση. Τα βακτήρια αποικοδομούν αποτελεσματικά την πρώτη ύλη σε απουσία αέρα (αναερόβια ατμόσφαιρα), σε ομοιόμορφη θερμοκρασία, με βέλτιστη παροχή θρεπτικών ουσιών και βέλτιστο και ομοιόμορφο pH. Προτού η περιεχόμενη ενέργεια του βιοαερίου μπορεί να μετατραπεί σε ηλεκτρική ενέργεια, πρέπει να απομακρυνθεί το υδρόθειο και η περιεχόμενη υγρασία. Αυτό επιτυγχάνεται με την διαδικασία αποθείωσης και ξήρανσης του βιοαερίου.



Σχήμα 3: Παραγωγή Βιοαερίου [13]

Κεφάλαιο 3: Βιοαιθανόλη

3.1 Εισαγωγή

Το 2019, η Λατινική Αμερική συμμετείχε με το δεύτερο μεγαλύτερο μερίδιο εσόδων στην παγκόσμια αγορά βιοαιθανόλης. Τα έσοδα από την αγορά βιοαιθανόλης στη Βραζιλία, η οποία είναι και ο μεγαλύτερος παραγωγός της περιοχής, αναμένεται να επεκταθούν σημαντικά τα επόμενα χρόνια, λόγω του αυξανόμενου αριθμού βιομηχανιών που ασχολούνται με την παραγωγή αιθανόλης και της άφθονης διαθεσιμότητας ζαχαροκάλαμου στη χώρα. Σύμφωνα με την Οικονομική Επιτροπή της Λατινικής Αμερικής και της Καραϊβικής, η Βραζιλία είναι ο δεύτερος μεγαλύτερος παραγωγός βιοαιθανόλης παγκοσμίως. Τα περισσότερα οχήματα στη Βραζιλία χρησιμοποιούν καύσιμο αιθανόλης. Η βιοαιθανόλη αντιπροσωπεύει περίπου το 40% των καυσίμων που καταναλώνονται στη χώρα.

Η αγορά της Βόρειας Αμερικής αναμένεται να κυριαρχήσει στην παγκόσμια αγορά βιοαιθανόλης και ήδη αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο μέρος της αγοράς βιοαιθανόλης αξίας άνω των 26 δισεκατομμυρίων δολαρίων από το 2019. Η Βόρεια Αμερική είναι ο μεγαλύτερος παραγωγός και καταναλωτής βιοαιθανόλης. Οι κυβερνήσεις στην περιοχή έχουν καθορίσει το νομικό και περιβαλλοντικό πλαίσιο της ανάμειξης αιθανόλης με τη βενζίνη. Το πιο συνηθισμένο μείγμα που χρησιμοποιείται στην περιοχή αποτελείται από 10% βιοαιθανόλη κατ' όγκο εντός του συνόλου του όγκου της συμβατικής βενζίνης. Η ανάμειξη οξυγονώνει το μείγμα καυσίμου έτσι ώστε να καεί πλήρως και να μειώσει τις επιβλαβείς εκπομπές. Το πρόγραμμα για πρότυπα ανανεώσιμων καυσίμων που ξεκίνησε η κυβέρνηση των ΗΠΑ βάσει του νόμου ενεργειακής πολιτικής από το 2005 για τη μείωση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου αναμένεται να τροφοδοτήσει ακόμα περισσότερο στο μέλλον την ανάπτυξη της συγκεκριμένης αγοράς. Η παρουσία κορυφαίων κατασκευαστών βιοαιθανόλης, και η αύξηση των καταναλωτών βιοαιθανόλης σε αυτήν την περιοχή αναμένεται να τροφοδοτήσει την περαιτέρω ανάπτυξη του κλάδου την επόμενη δεκαετία.

Η Ασία αναμένεται να είναι η ταχύτερα αναπτυσσόμενη περιοχή στην παγκόσμια αγορά βιοαιθανόλης. Η Κίνα υπήρξε ένας από τους μεγαλύτερους εισαγωγείς βιοαιθανόλης στην περιοχή της Ασίας-Ειρηνικού και αναμένεται να συνεχίσει αυτήν την τάση κατά την επόμενη δεκαετία. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην ταχέως αναπτυσσόμενη βιομηχανία μεταφορών και στην αυξανόμενη ζήτηση βιοαιθανόλης για αλκοολούχα ποτά στη χώρα. Τέλος, στην Ευρώπη, παρά το ότι η ίδια αποτελεί ένα κύριο παίκτη στην παγκόσμιή αγορά, η χρήση της αιθανόλης ως καύσιμο αναμένεται να έχει πτώση τα προσεχή χρόνια εξαιτίας του ότι οι ευρωπαίοι πολίτες στρέφονται σε οχήματα με κινητήρα ντίζελ.

Η αιθανόλη, ή αιθυλική αλκοόλη ή καθαρή αλκοόλη ή απλά οινόπνευμα, είναι μια απλή οργανική χημική ένωση. Ο χημικός μοριακός τύπος της ένωσης είναι C_2H_6O ή C_2H_5OH , ο συντακτικός της τύπος είναι CH_3-CH_2-OH και ανήκει στην ομόλογη σειρά των κορεσμένων μονοσθενών αλκοολών (αλειφατικές ενώσεις) που έχουν γενικό μοριακό τύπο ROH ή $C_nH_{(2n+1)}OH$ ή $C_nH_{(2n+2)}O$.

Υπάρχουν κοινές παρανοήσεις σχετικά με τις διαφορές μεταξύ της βιοαιθανόλης και της αιθανόλης. Στην ουσία, η βιοαιθανόλη είναι αλκοόλη που προέρχεται από βιομάζα. Χημικά, η βιοαιθανόλη και η αιθανόλη είναι η ίδια ακριβώς ένωση με πανομοιότυπο χημικό τύπο. Η διαφορά μεταξύ των δύο έγκειται στη μέθοδο με την οποία έχουν παραχθεί. Η βιοαιθανόλη θεωρείται ότι παράγεται μέσω μιας πιο φιλικής προς το περιβάλλον διαδικασίας

χρησιμοποιώντας τη ζύμωση υλικών που προέρχονται από βιομάζα όπως ζαχαρότευτλα, καλαμπόκι, άχυρο και ξύλο. Η αιθανόλη, ή η συνθετική αιθανόλη, παράγεται από αποθέματα πετροχημικών τροφοδοσιών (παρόμοια με τα ορυκτά καύσιμα), κυρίως από την οξεοκαταλυόμενη ενυδάτωση του αιθυλενίου. Παρά τις διαφορές στα αρχικά υλικά από τα οποία προέρχονται, η βιοαιθανόλη και η αιθανόλη λειτουργούν πανομοιότυπα. Είναι δυναμικά καύσιμα τα οποία δεν περιέχουν σωματίδια και υφίστανται μια σχετικά καθαρή καύση καθώς υπάρχει πολύ οξυγόνο στη χημική τους ένωση, ανεξάρτητα από τη διαδικασία παραγωγής. Παρόλο που η βιοαιθανόλη και η αιθανόλη δεν είναι ακριβώς τέλειες, ούτε αποτελούν πλήρως ανανεώσιμες πηγές καυσίμων, ωστόσο είναι σημαντικά καθαρότερες και πιο φιλικές προς το περιβάλλον από τις παραδοσιακές πηγές καυσίμων όπως η βενζίνη. Συγκρίνοντάς τις μεταξύ τους, η βιοαιθανόλη είναι σίγουρα «πιο πράσινη» λόγω των πρώτων υλών της, αλλά εκτός από αυτό, είναι πανομοιότυποι διαλύτες. Για τους παραπάνω λόγους είτε μιλάμε για την αιθανόλη είτε για βιοαιθανόλη, ουσιαστικά, αναφερόμαστε στην ίδια ένωση.

3.2 Ιδιότητες Βιοαιθανόλης

Η αιθανόλη είναι ουσία υγρή, πτητική, διαφανής και ευδιάλυτη στο νερό, καθώς επίσης και σημαντικός διαλύτης. Αναμιγνύεται με το νερό σε κάθε αναλογία και κατά την ανάμειξη τους παρατηρείται ελάττωση όγκου, ενώ εκλύεται θερμότητα. Μίγμα 95% αλκοόλης και 5% νερού χαρακτηρίζεται ως αζεοτροπικό, επειδή κατά την απόσταξη τους δεν διαχωρίζονται τα συστατικά τους, καθώς ζέουν στην ίδια θερμοκρασία. Η καθαρή αιθανόλη έχει πυκνότητα 0.789 g/mL και σημείο βρασμού 78.5°C. Η καθαρή αιθυλική αλκοόλη έχει σημείο τήξης στους -117°C και το μοριακό της βάρος είναι 46,06844. Είναι ουσία που δεν παρουσιάζει καμία επικινδυνότητα για την ανθρώπινη υγεία. Από άποψη αναφλεξιμότητας είναι ουσία που μπορεί να αναφλεγεί κάτω από όλες τις προϋποθέσεις θερμοκρασίας περιβάλλοντος. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ουσίες με σημείο ανάφλεξης από 38°C έως 23°C.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο αντί της βενζίνης, ως προσθετικό καυσίμου ή ακόμη ως πρώτη ύλη για την παραγωγή ETBE (αιθυλο-τριτοταγής βουτυλ-αιθέρας), το οποίο αποτελεί βελτιωτικό της βενζίνης για την αύξηση του αριθμού των οκτανίων. Στην Ελλάδα η βιοαιθανόλη μπορεί να παραχθεί από σιτηρά, αραβόσιτο, ζαχαρότευτλα και γλυκό σόργο. Το σημείο ανάφλεξης της βιοαιθανόλης είναι 13°C. Η θερμογόνος δύναμη της βιοαιθανόλης διαθέτει περίπου το 67% της θερμογόνου δύναμης της βενζίνης ανά μονάδα όγκου. [14]

3.3 Χρήσεις Βιοαιθανόλης

1. Προϊόντα προσωπικής φροντίδας: Η αιθανόλη είναι ένα κοινό συστατικό σε πολλά καλλυντικά και προϊόντα ομορφιάς. Λειτουργεί ως στυπτικό για να βοηθήσει στο καθαρισμό του δέρματος, σε λοσιόν ως συντηρητικό και για να διασφαλίσει ότι τα συστατικά της λοσιόν δεν διαχωρίζονται και σε ψεκασμούς μαλλιών για να βοηθήσουν το σπρέι να κολλήσει στα μαλλιά.
2. Απολυμαντικά προϊόντα: Επειδή η αιθανόλη είναι αποτελεσματική στη θανάτωση μικροοργανισμών όπως βακτηρίων, μυκήτων και ιών, είναι ένα κοινό συστατικό σε πολλά απολυμαντικά χεριών. Τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ (CDC) προτείνουν την απολύμανση των χεριών με αιθανόλη σε περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει διαθέσιμο σαπούνι και νερό.

3. Προϊόντα οικιακής χρήσης: Η αιθανόλη αναμιγνύεται εύκολα με νερό και πολλές οργανικές ενώσεις και αποτελεί αποτελεσματικό διαλύτη για χρήση σε χρώματα και βερνίκια, καθώς και σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας και οικιακού καθαρισμού. Ως πρόσθετο στα προϊόντα καθαρισμού, η αιθανόλη χρησιμοποιείται επίσης ως συντηρητικό επειδή είναι αποτελεσματική στην εξάλειψη οργανισμών που θα μπορούσαν να αποτελέσουν κίνδυνο για τους καταναλωτές.
4. Πρόσθετα τροφίμων: Ως πρόσθετο τροφίμων, η αιθανόλη μπορεί να βοηθήσει στην ομοιόμορφη κατανομή του χρωματισμού των τροφίμων, καθώς και για να ενισχύσει τη γεύση των εκχυλισμάτων τροφίμων. Για παράδειγμα, το εκχύλισμα βανίλιας, ένα κοινό αρωματικό φαγητού, παρασκευάζεται με σκλήρυνση και επεξεργασία των φασολιών βανίλιας σε διάλυμα αιθανόλης και νερού.
5. Καύσιμα: Περισσότερο από το 97% της βενζίνης των ΗΠΑ περιέχει αιθανόλη, συνήθως σε ένα μείγμα που ονομάζεται E10, αποτελούμενο από 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη, για να οξυγονώσει το καύσιμο και να μειώσει την ατμοσφαιρική ρύπανση. Η αιθανόλη έχει υψηλότερο αριθμό οκτανίων από τη βενζίνη, παρέχοντας επίσης εξαιρετικές ιδιότητες ανάμειξης. Οι ελάχιστες απαιτήσεις αριθμού οκτανίων αποτρέπουν το χτύπημα του κινητήρα και διατηρούν την υψηλή απόδοση μηχανής.

Όπως φαίνεται υπάρχουν διάφορες χρήσεις της βιοαιθανόλης. Όταν, όμως, πρόκειται για την χρήση της σαν καύσιμο, πέραν των πλεονεκτημάτων της, συνοδεύεται και με τα μειονέκτημα της χρήσης της, που πρέπει να ληφθούν υπόψη. Στην συνέχεια, αναφέρονται τα πλεονεκτήματα αφού είναι και ο κύριος λόγος που εξετάζεται η παραγωγή της.

Αρχικά, η βιοαιθανόλη προέρχεται από ανανεώσιμες καλλιέργειες και όχι από ένα εξαντλήσιμο πόρο, και οι καλλιέργειες από όπου προέρχεται μπορούν να αυξηθούν (όπως τα δημητριακά, ζαχαρότευτλα και αραβόσιτο). Η ανάμειξη της με βενζίνη, μπορεί συμβάλλει στην παράταση της ζωής των αποθεμάτων πετρελαίου και θα εξασφαλισθεί μεγαλύτερη παγκόσμια ασφάλεια, με μείωση της εξάρτησης από τα κράτη παραγωγής πετρελαίου. Επίσης, με την ενθάρρυνση εναλλακτικών καλλιεργητικών λύσεων, όπως είναι η χρήση της βιοαιθανόλης, θα επέλθει η ενδυνάμωση του γεωργικού χώρου και συνεπώς η αύξηση του αγροτικού εισοδήματος. Επιπλέον, με τη χρήση βιοαιθανόλης στους παλαιότερους κινητήρες μπορεί να βοηθήσει στην μείωση της ποσότητας του μονοξειδίου του άνθρακα που παράγεται από το όχημα, βελτιώνοντας έτσι την ποιότητα του αέρα. Ένα άλλο πλεονέκτημα της βιοαιθανόλης είναι η ευκολία με την οποία μπορεί να ενσωματωθεί στο υπάρχον σύστημα μεταφοράς καυσίμων κίνησης. Θετικό χαρακτηριστικό, επίσης, είναι σε ποσότητες έως και 5%, το βιοκαύσιμο μπορεί να αναμιχθεί με συμβατικά καύσιμα, χωρίς την ανάγκη τροποποιήσεων του κινητήρα. Με τη χρήση της βιοαιθανόλης επιτυγχάνεται μείωση των εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα κατά 60-90% σε σχέση με τη βενζίνη. Επιπλέον, το CO₂ που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της καύσης, ανακυκλώνεται από τα φυτά μέσω της φωτοσύνθεσης.

Σημαντικό πλεονέκτημα είναι πως η βιοαιθανόλη είναι εγχώρια πηγή ενέργειας, δηλαδή η αξιοποίησή της σε ενέργεια συμβάλλει σημαντικά στη μείωση της εξάρτησης από εισαγόμενα καύσιμα και βελτίωση του εμπορικού ισοζυγίου, στην εξασφάλιση του ενεργειακού εφοδιασμού και στην εξοικονόμηση του συναλλάγματος. Η ενεργειακή αξιοποίηση της βιομάζας σε μια περιοχή, μειώνει τις περιφερειακές ανισότητες καθώς αυξάνει την απασχόληση στις αγροτικές περιοχές με τη χρήση εναλλακτικών καλλιεργειών (σόργο, καλάμι, κ.ά.) και με την αναζωογόνηση

των λιγότερο ανεπτυγμένων γεωργικών οικονομιών και συγκρατεί τον πληθυσμό στις εστίες τους, συμβάλλοντας έτσι στην κοινωνική και οικονομική ανάπτυξη μιας περιοχής. Έχει καλή απόδοση ως καύσιμο στα αυτοκίνητα, είτε σε καθαρή μορφή είτε σε μίξη με τη βενζίνη και εξαιρετικές ιδιότητες σαν καύσιμο για μηχανές εσωτερικής καύσης με ανάφλεξη σπινθήρα. Περιέχει μεγαλύτερο αριθμό οκτανίων (ικανότητα αντίστασης στη συμπίεση) από τη βενζίνη, με αποτέλεσμα οι μηχανές καύσης να λειτουργούν με υψηλότερο λόγο συμπίεσης, δίνοντας καλύτερη καθαρή απόδοση. Ο μεγαλύτερος αριθμός οκτανίων καθώς και η υψηλότερη θερμοκρασία εξάτμισης, καθιστούν την βιοαιθανόλη περισσότερο αποτελεσματική σαν καθαρό καύσιμο από την βενζίνη. Ωστόσο, η καθαρή βιοαιθανόλη έχει 33% λιγότερη ενέργεια από την βενζίνη, λόγω του οξυγόνου που περιέχει (θερμογόνος δύναμη βιοαιθανόλης 21 MJ/λίτρο).

Εν τέλει, η βιοαιθανόλη έχει χαμηλή πτητικότητα και φωτοχημική αντιδραστικότητα με την ατμόσφαιρα, με αποτέλεσμα η πιθανότητα σχηματισμός αιθαλομίχλης να είναι μικρή. Είναι λιγότερο τοξική, συγκριτικά με άλλα καύσιμα και είναι εύκολα βιοδιασπώμενη στο νερό και στο έδαφος, ελαττώνοντας τις καταστρεπτικές συνέπειες τυχόν διαρροών συγκριτικά με τα ορυκτά καύσιμα. Η μηδαμινή ύπαρξη του θείου στα βιοκαύσιμα συμβάλλει σημαντικά στον περιορισμό των εκπομπών του διοξειδίου του θείου που είναι υπεύθυνο για την όξινη βροχή.

Πέραν των πλεονεκτημάτων του βιοκαυσίμου, υπάρχουν ανησυχίες που πρέπει να σημειωθούν σχετικά με τη χρήση της βιοαιθανόλης ως μια μακροπρόθεσμη εναλλακτική λύση στην τροφοδοσία καυσίμου των αυτοκινήτων.

Σημαντικό να αναφερθεί είναι η αρνητική επίπτωση στην βιοποικιλότητα. Η βιοαιθανόλη μπορεί να απαιτήσει τη χρήση πολύ μεγάλης έκτασης καλλιεργήσιμης γης με αποτέλεσμα την καταστροφή φυσικών οικοτύπων συμπεριλαμβανομένων και των τροπικών δασών. Υπάρχει ανησυχία ότι λόγω των προσοδοφόρων τιμών της βιοαιθανόλης ορισμένοι αγρότες μπορούν να θυσιάσουν τις καλλιέργειες τροφίμων για την παραγωγή βιοαιθανόλης με αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών των τροφίμων για την παραγωγή βιοαιθανόλης με αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών των τροφίμων σε όλο τον κόσμο. Επιπλέον, η μεγάλη διασπορά και η εποχιακή παραγωγή της βιομάζας δυσκολεύουν την συνεχή τροφοδοσία με πρώτη ύλη των μονάδων ενεργειακής αξιοποίησης της βιομάζας. Βάση των παραπάνω παρουσιάζονται δυσκολίες κατά τη συλλογή, μεταφορά και αποθήκευση της βιομάζας που αυξάνουν το κόστος της ενεργειακής αξιοποίησης.

Ο αυξημένος όγκος και η μεγάλη περιεκτικότητα σε υγρασία, σε σχέση με τα ορυκτά καύσιμα δυσχεραίνουν την ενεργειακή αξιοποίηση της. Μπορεί, επίσης, να διαβρώσει μέταλλα όπως το αλουμίνιο. Η μεγάλη διασπορά και η εποχιακή παραγωγή της βιομάζας δυσκολεύουν την συνεχή τροφοδοσία με πρώτη ύλη των μονάδων ενεργειακής αξιοποίησης της βιομάζας.

Οι σύγχρονες και βελτιωμένες τεχνολογίες μετατροπής της βιομάζας απαιτούν υψηλό κόστος εξοπλισμού, συγκρινόμενες με αυτό των συμβατικών καυσίμων. Το κόστος της είναι 2 φορές υψηλότερο από αυτό της βενζίνης (παρούσα κατάσταση). Έχει μικρή ενεργειακή απόδοση σε ογκομετρικό επίπεδο, οπότε απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα καυσίμου για την ίδια ενεργειακή ανάγκη. Η ανταγωνιστικότητα της παραγωγής της σε σχέση με το κόστος εξαρτάται από την τιμή των πρώτων υλών και την πορεία των τιμών των συμβατικών καυσίμων κίνησης, που αποτελούν δύο ιδιαίτερα ασταθείς παράγοντες, δύσκολους στην πρόβλεψη.

Όσον για την εκπομπές, η εκπομπή αλδευδών, ιδιαίτερα της ακεταλδευδης, είναι 2-4 φορές μεγαλύτερη από τις εκπομπές της βενζίνης, καθώς και στις εκπομπή οξειδίων του αζώτου παρατηρείται αύξηση κατά 10%. Ωστόσο, η χρήση καταλύτη ή κάποια μικρή τροποποίηση μπορεί να περιορίσει αυτές τις εκπομπές.

3.4 Βιοαιθανόλη σαν καύσιμο

Η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται ως καύσιμο αντί της βενζίνης ή συνηθέστερα σε διάφορες αναλογίες με τη βενζίνη. Το διάλυμα βιοαιθανόλης-βενζίνης έχει ένα σχετικά αδύναμο δεσμό. Η βιοαιθανόλη για ανάμειξη με τη βενζίνη θα πρέπει να είναι άνυδρη, για να αποφευχθεί ο διαχωρισμός φάσης βενζίνης-αιθανόλης. Ο διαχωρισμός φάσης μπορεί να συμβεί σε περιεκτικότητα νερού πάνω από περίπου 0.05% στους 15°C για 1% βιοαιθανόλη ως πρόσθετο στην βενζίνη. Με την αύξηση της περιεκτικότητας του νερού σε περίπου 0.2% για ένα μείγμα το οποίο περιέχει 5% βιοαιθανόλη ως πρόσθετο βενζίνης, ο διαχωρισμός είναι μεγαλύτερος. Η ανάμειξη βιοαιθανόλης με βενζίνη είναι ενδόθερμη διεργασία, με αποτέλεσμα ο όγκος του τελικού μείγματος να είναι μεγαλύτερος από το άθροισμα των όγκων της βιοαιθανόλης και της βενζίνης. Επίσης, η ανάμειξη βιοαιθανόλης σε χαμηλά ποσοστά (κάτω από 10%) με βενζίνη ανυψώνει σημαντικά την τάση ατμών, και, επιπρόσθετα, λόγω της χαμηλής τοξικότητας της, σημαίνει ότι σε περίπτωση απόρριψης της μπορεί να βιοδιασπαστεί είτε αερόβια είτε αναερόβια, και στο νερό και στο χώμα. Τυπικά, στο έδαφος ή στα υπόγεια ύδατα, ο «χρόνος ζωής» της βιοαιθανόλης είναι μεταξύ λίγων ωρών έως λίγων ημερών.

Πίνακας 5: Σύγκριση Βενζίνης με Βιοαιθανόλη.

Ιδιότητα	Βενζίνη	Βιοαιθανόλη
Πυκνότητα (g/mL)	0.76	0.79
Ιξώδες (mm ² /s)	0.6	1.5
Σημείο ανάφλεξης (°C)	- 45	13
Θερμογόνος δύναμη στους 20 °C (MJ/kg)	42.7	26.8
Αριθμός οκτανίου (RON)	92	129
Δείκτης αντικροτικότητας (AKI)	87	116

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

περιέχουν ειδικά διαμορφωμένους κινητήρες εσωτερικής καύσης που αντέχουν στη φθορά η οποία μπορεί να προκληθεί από την καύση καθαρής αιθανόλης. Η βιοαιθανόλη έχει και άλλες εφαρμογές σαν καύσιμο μηχανών.

Οι χρήσεις της ως καύσιμο είναι :

- χρήση ως E85, 85% βιοαιθανόλη και 15% βενζίνη
- χρήση ως E100, 100% βιοαιθανόλη με ή χωρίς πρόσθετο καυσίμου
- χρήση ως oxy-diesel, ένα μείγμα από 80% ντίζελ, 10% βιοαιθανόλη και 10%

πρόσθετα και παράγοντες μίξης.

3.5 Πρώτες ύλες για την παραγωγή Βιοαιθανόλης

Οι ανανεώσιμες πηγές που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοαιθανόλης μπορούν να ταξινομηθούν σε σακχαρούχα, αμυλούχα και λιγνοκυτταρινική βιομάζα. Από την σακχαρούχα και αμυλούχα βιομάζα παράγεται η βιοαιθανόλη πρώτης γενιάς, ενώ η βιοαιθανόλη δεύτερης γενιάς παράγεται από λιγνοκυτταρίνη βιομάζα. Η διαδικασία μετατροπής των τριών αυτών κατηγοριών σε βιοαιθανόλη ποικίλλει σημαντικά, ιδίως όσον αφορά τη πρόσληψη των περιεχόμενων σακχάρων. Οι πρώτες ύλες με βάση τη ζάχαρη απαιτούν μόνο διαδικασία εκχύλισης για την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων (γλυκόζη), ενώ οι αμυλούχες καλλιέργειες πρέπει να υδρολυθούν για να δώσουν γλυκόζη. Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα, από την άλλη, πρέπει να προεξεργαστεί πριν από την υδρόλυση προκειμένου να διαμορφωθεί η δομή της κυτταρίνης και να δράσουν τα ένζυμα.

1. Σακχαρούχα πηγή

Οι Σακχαρούχες πρώτες ύλες προέρχονται από ενεργειακές καλλιέργειες όπως του ζαχαροκάλαμου, από καλλιέργειες φρούτων (π.χ. σταφυλιού, καρπουζιού και μήλου) και από απόβλητα διυλιστηρίου ζάχαρης. Τα κύρια πλεονεκτήματα των καλλιεργειών αυτών ως πρώτων υλών αιθανόλης είναι η υψηλή απόδοση σακχάρων και το χαμηλό κόστος μετατροπής τους, ενώ η εποχιακή διαθεσιμότητα αυτών των καλλιεργειών είναι ο κύριος περιοριστικός παράγοντας. Όσον αφορά την παραγωγή αιθανόλης, κάθε πρώτη ύλη έχει προοπτικές ως τροφοδοσία που συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα 6.

Πίνακας 6: Χαρακτηριστικά ζαχαρούχων πρώτων υλών για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

Βιομάζα	Χαρακτηριστικά που επηρεάζουν θετικά
Ζαχαροκάλαμο Γλυκό σόργο	<ol style="list-style-type: none"> 1. Υψηλή απόδοση βιομάζας 2. Υψηλή περιεκτικότητα σε σακχαρόζη 3. Παγκόσμια παραγωγή περίπου 360 mt/y 4. Τα υπολείμματα αποτελούν καλή πηγή παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας και βιοαιθανόλης 2ης γενιάς
Καρπούζι	<ol style="list-style-type: none"> 1. Μπορεί να αναπτυχθεί σε ξηρά γη 2. Περιέχει υψηλές ποσότητες ξεχωριστών σακχάρων (σακχαρόζη, γλυκόζη και φρουκτόζη) 3. Μεγάλος χρόνος αποθήκευσης
Απόβλητα διυλιστηρίου ζάχαρης	<ol style="list-style-type: none"> 1. Αξιοποίηση αποβλήτων 2. Δεν υπάρχει το δίλημμα παραγωγή φαγητού ή καυσίμου

2. Αμυλούχα πηγή

Οι αμυλόκαλλιέργειες χρησιμοποιούνται ευρέως για παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω της διαθεσιμότητάς τους σε όλο τον κόσμο, της ευκολίας μετατροπής, της ικανότητας αποθήκευσης για μεγάλο χρονικό διάστημα και της υψηλής απόδοσης αιθανόλης. Αυτές οι πρώτες ύλες περιλαμβάνουν δημητριακά (άμυλο 60-80%), ρίζες (άμυλο 60-90%), όσπρια (άμυλο 25-50%) και πράσινα και ανώριμα φρούτα (έως 70% άμυλο). Το καλαμπόκι, οι σπόροι σόργου, το σιτάρι, οι πατάτες και οι γλυκοπατάτες είναι μερικές από τις φημισμένες πηγές αιθανόλης καυσίμου. Οι μεμονωμένες καλλιέργειες μπορούν να ποικίλουν στην απόδοση μετατροπής και στην τελική απόδοση αιθανόλης. Στον Πίνακα 7 φαίνεται γιατί έχουν προοπτικές ορισμένες τροφοδοσίες.

Πίνακα 7: Χαρακτηριστικά αμυλούχων πρώτων υλών για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

Βιομάζα	Χαρακτηριστικά που επηρεάζουν θετικά
Καλαμπόκι	<ol style="list-style-type: none">1. Περίπου το 5% της παραγωγή πετάγεται κάθε χρόνο, που αν αξιοποιηθεί μπορεί να παράξει περίπου 9.3×10^9 L αιθανόλης αντικαθιστώντας περίπου 6.7×10^9 L βενζίνης2. Το πλούσιο σε πρωτεΐνη συν-προϊόν που παράγεται με το καλαμπόκι χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή
Σιτάρι	<ol style="list-style-type: none">1. Η απόδοση μετατροπής του σε αιθανόλη είναι περίπου στο 95%2. Η ετήσια ακαθάριστη παραγωγή ενέργειας για βιοαιθανόλη που προέρχεται από σιτάρι είναι 6.6 GJ/στρέμμα.
Πατάτα Γλυκοπατάτα	<ol style="list-style-type: none">1. Μπορεί να καλλιεργηθεί σε οριακά εδάφη2. Παράγεται παγκόσμια με δυναμικό 140 mt/y3. Πιο εύκολη επεξεργασία από άλλων ειδών σπόρων
Δημητριακά – Βρώμη	<ol style="list-style-type: none">1. παγκόσμια παραγωγή βρώμης είναι 2.67×10^7 t/y2. Αξιοποίηση των αποβλήτων παραγωγής της μπορεί να παράξει μέχρι και 225 εκατ. L αιθανόλης αντικαθιστώντας περίπου 161 εκατ. L βενζίνης

3. Λιγνοκυτταρινική πηγή

Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα μπορεί να χωριστεί σε διάφορες ομάδες, όπως οι ενεργειακές καλλιέργειες (πολυετείς χλόες και άλλες ειδικές ενεργειακές καλλιέργειες), υδρόβια φυτά (υάκινθος νερού), δασικά υπολείμματα (μαλακό ξύλο, σκληρό ξύλο, πριονίδι, κλάδεμα και υπολείμματα φλοιού), γεωργικά υπολείμματα (π.χ. φύλλα καλαμποκιού) και οργανικό τμήμα στερεών αστικών αποβλήτων. Κάθε κατηγορία που αναφέρθηκε έχει την δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή αιθανόλης όπως συνοψίζεται στον πίνακα. Σε γενικές γραμμές, η λιγνοκυτταρινή βιομάζα φαίνεται να είναι η πιο μεγάλη, πιο υποσχόμενη και άφθονη σε ολόκληρο τον κόσμο, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή αιθανόλης χωρίς να απαιτείται επιπλέον γη ή παρέμβαση στην παραγωγή τροφίμων και ζωοτροφών. Η παγκόσμια παραγωγή φυτικής βιομάζας είναι περίπου 200×10^9 t/y, όπου σχεδόν 8×10^9 - 20×10^9 τόνοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

Πίνακα 8: Χαρακτηριστικά λιγνοκυτταρινούχων πρώτων υλών για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

Βιομάζα	Χαρακτηριστικά που επηρεάζουν θετικά
Ενεργειακές καλλιέργειες	<ol style="list-style-type: none"> Υψηλή απόδοση βιομάζας Υψηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη Δυνατότητα κάλυψης του 50-70% των συνολικών πρώτων υλών βιοαιθανόλης Η πιθανή απόδοση αιθανόλης είναι 160 - 460 L/ t βιομάζας
Υδρόβια φυτά	<ol style="list-style-type: none"> Άφθονο σε ορισμένα μέρη του κόσμου Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον καθαρισμό του νερού, για την εξαγωγή θρεπτικών συστατικών και βαρέων μετάλλων
Γεωργικά υπολείμματα	<ol style="list-style-type: none"> Εύκολα διαθέσιμο Η πιθανή απόδοση αιθανόλης είναι 235 - 450 L/ t βιομάζας
Δασικά υπολείμματα	<ol style="list-style-type: none"> Χαμηλότερη περιεκτικότητα σε τέφρα σε σύγκριση με τα κατάλοιπα καλλιέργειας Υψηλή πυκνότητα της βιομάζας που προσφέρει πιο οικονομική μεταφορά Οι πιθανές αποδόσεις αιθανόλης είναι 220 - 275 L/t μαλακά ξύλα και 280 - 285 L/t σκληρά ξύλα
Οικιακά αστικά απόβλητα	<ol style="list-style-type: none"> Αξιοποίηση αστικών αποβλήτων Εκτιμάται πως για μια αστική περιοχή με 217 εκατ. πληθυσμό παράγονται 20.7 εκατ. t/y Πιθανή απόδοση αιθανόλης 154 L/t βιομάζας

Στον Πίνακα 9 συγκρίνεται η απόδοση της αιθανόλης που παράγεται για κάθε τόνο πρώτης ύλης.

Πίνακας 9: Απόδοση αιθανόλης για κάθε πρώτη ύλη

Πρώτη ύλη	Απόδοση αιθανόλης (L/t πρώτης ύλης)	Πιθανή Απόδοση (L/στρέμμα)
Ζαχαροκάλαμο	70 – 90	647 – 666
Ζαχαρότευτλο	95 – 107	160 – 550
Καλαμπόκι	370 – 470	418
Υπολείμματα Σόργου	250	179 – 659
Καρποί Σόργου	380	110
Βρώμη	264	-
Γλυκοπατάτα	125 – 170	199 – 480
Πατάτα	80 - 100	160
Σιτάρι	376 – 435	100 – 170
Κασάβα	363 – 455	490
Αραρούτι	208	249
Κριθάρι	345	-

3.6 Παραγωγή Βιοαιθανόλης

Η βιοαιθανόλη παράγεται με την μετατροπή βιομάζας σε σάκχαρα, τα οποία στη συνέχεια με ζύμωση μετατρέπονται σε αιθανόλη. Η διαδικασία της απόσταξης διαχωρίζει τη μεγαλύτερη ποσότητα του νερού από την αιθανόλη, αφήνοντας ένα τελικό προϊόν με περιεκτικότητα περίπου 95% αιθανόλη και 5% νερό. Η παραγωγή βιοαιθανόλης βασίζεται στην αλκοολική ζύμωση και ως διαδικασία πραγματοποιείται σταδιακά ως εξής:

- i. Παραγωγή πρώτης ύλης (θερισμός, συγκομιδή, αποθήκευση).
- ii. Στάδιο επεξεργασίας των πρώτων υλών έτσι ώστε να απομακρυνθεί η λιγνίνη που έχει παρεμποδιστική τάση και να αποδεσμευτεί η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη (φυσική, φυσικοχημική και βιολογική προκατεργασία).
- iii. Η φάση υδρόλυσης πολυσακχαριτών ή εξαγωγής σακχάρων.
- iv. Η ζύμωση των σακχάρων (πεντόζες, εξόζες) από τον κατάλληλο μικροοργανισμό για την παραγωγή βιοαιθανόλης.
- v. Το τελικό στάδιο είναι αυτό της ανάκτησης προϊόντος με απόσταξη και αφυδάτωση.

Στην συνέχεια αναλύεται το στάδιο της επεξεργασίας των πρώτων υλών, της υδρόλυσης των πολυσακχαριτών και της ζύμωσης των σακχάρων.

1. Προκατεργασία πρώτης ύλης

Οι μέθοδοι προ επεξεργασίας αναφέρονται στη διαλυτοποίηση και το διαχωρισμό ενός ή περισσότερων συστατικών της βιομάζας που καθιστούν την υπόλοιπη στερεή βιομάζα πιο προσιτή για περαιτέρω χημική ή βιολογική επεξεργασία [21]. Οι αποτελεσματικές στρατηγικές προ επεξεργασίας των απορριμμάτων κουζίνας θα πρέπει να βελτιώσουν το σχηματισμό σακχάρων με ενζυμική υδρόλυση για να αποφευχθεί η υποβάθμιση ή η απώλεια υδατανθράκων. Η διαθεσιμότητα της βιομάζας για την ενζυμική προσβολή του πολυσακχαρίτη είναι σημαντική για την αύξηση της απόδοσης του συνολικού παραγόμενου σακχάρου. Επιπλέον, η προ επεξεργασία πρέπει να λαμβάνει υπόψη τον σχηματισμό υποπροϊόντων αναστολής της υδρόλυσης και της ζύμωσης που μπορεί να αντιδράσουν ενάντια στη ζύμη ζύμωσης αιθανόλης που χρησιμοποιείται στην επακόλουθη διαδικασία ζύμωσης [20]. Επομένως, η φυσική, χημική, φυσικοχημική και βιολογική επεξεργασία είναι οι τέσσερις βασικοί τύποι τεχνικής προ επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή ζυμώσιμης ζάχαρης από απορρίμματα κουζίνας [15, 16].

Για την σακχαρούχα πρώτη ύλη ο απλούστερος τρόπος παραγωγής βιοαιθανόλης είναι από σακχαρούχες πρώτες ύλες. Η βιομάζα που χρησιμοποιείται περιέχει σάκχαρα με 6 άτομα άνθρακα (εξόζες) όπως η γλυκόζη ($C_6H_{12}O_6$). Χαρακτηριστικό παράδειγμα σακχαρούχων πρώτων υλών πλούσιων σε σάκχαρα είναι το ζαχαροκάλαμο και το ζαχαρότευτλο. Στην Βραζιλία και σε άλλες τροπικές χώρες που παράγουν βιοαιθανόλη, το ζαχαροκάλαμο είναι η βασική πρώτη ύλη. Το κόστος παραγωγής βιοαιθανόλης στις χώρες αυτές είναι το χαμηλότερο. Στις περισσότερες Ευρωπαϊκές χώρες το κλίμα είναι ψυχρό για την καλλιέργεια ζαχαροκάλαμου, οπότε χρησιμοποιούνται ζαχαρότευτλα για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Το πρώτο στάδιο παραγωγής

βιοαιθανόλης σε βιομηχανικό επίπεδο είναι η εξαγωγή της ζάχαρης από το φυτό (προ επεξεργασία). Στην περίπτωση του ζαχαροκάλαμου, αυτό επιτυγχάνεται συνήθως με πολτοποίηση και πίεση με σκοπό τον διαχωρισμό του σακχαρούχου διαλύματος από την βαγάσση που αποτελεί το λιγνοκυτταρινούχο τμήμα του φυτού. Η βαγάσση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο αυξάνοντας τον βαθμό απόδοσης της εγκατάστασης. Στην περίπτωση του ζαχαρότευτλου, η ζάχαρη εξάγεται με την βοήθεια ζεστού νερού μέσω διάχυσης. Ο πολτός που προκύπτει από την διεργασία της διάχυσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωτοτροφή μετά από ξήρανση. Η εξαγόμενη σακχαρόζη (από διάχυση ή πολτοποίηση) μπορεί να σταλεί προς ζύμωση, όπως και η μελάσα.

Η αμυλούχα πρώτη ύλη είναι κατάλληλη πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Στην Ε.Ε και στις ΗΠΑ μεγάλο ποσοστό της βιοαιθανόλης παράγεται από αμυλούχες πρώτες ύλες όπως σιτάρι, καλαμπόκι και κριθάρι. Στην περίπτωση των αμυλούχων πρώτων υλών, η προ επεξεργασία είναι πιο πολύπλοκη γιατί το άμυλο, πρέπει να διασπαστεί σε απλά σάκχαρα έτσι ώστε να μπορέσει να αξιοποιηθεί από τους μικροοργανισμούς και να παραχθεί αιθανόλη.

Εκτός από τις σακχαρούχες και αμυλούχες, οι κυτταρινούχες πρώτες ύλες είναι και αυτές κατάλληλες για την παραγωγή βιοαιθανόλης αλλά με την εφαρμογή πιο πολύπλοκων διεργασιών. Οι κυτταρινούχες πρώτες ύλες αποτελούνται από κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη. Για τον λόγο αυτό ονομάζονται και λιγνοκυτταρινούχες πρώτες ύλες (οικιακά απορρίμματα). Αυτά τα τρία συστατικά είναι ενωμένα σε μια κοινή δομή δυσκολεύοντας την πρόσβαση στην κυτταρίνη από την οποία κυρίως θα γίνει η εξαγωγή των σακχάρων. Είναι λοιπόν απαραίτητο να σπάσουμε αρχικά τον δεσμό μεταξύ αυτών των τριών συστατικών και εν συνεχεία να εξάγουμε τα σάκχαρα μέσω προ επεξεργασίας. Γύρω από την προ-επεξεργασία και ζύμωση των κυτταρινούχων πρώτων υλών, λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών τους, έχει αναπτυχθεί μία σειρά ειδικών μεθόδων και τεχνολογιών που θα εξεταστούν αναλυτικότερα παρακάτω.

1.1. Φυσική προ επεξεργασία

Η φυσική προ επεξεργασία συνεπάγεται τη διακοπή της δομής της βιομάζας [17], η οποία στοχεύει στη μεγιστοποίηση της προσβάσιμης επιφάνειας για χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις για την αύξηση του ρυθμού υδρόλυσης και/ή της ενζυμικής σακχαροποίησης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων χρησιμοποιώντας τεχνική θραύσης, λείανσης ή άλεσης [18]. Το μικρότερο μέγεθος σωματιδίων αυξάνει την επιφάνεια για τα ένζυμα να προσδεθούν στο υπόστρωμα, οδηγώντας σε ταχύτερη υδρόλυση. Ο Izumi et al. [19] διερεύνησε τις επιπτώσεις της μείωσης του μεγέθους των σωματιδίων και της διαλυτοποίησης στην παραγωγή βιοαερίων αποβλήτων τροφίμων. Ισχυρίστηκαν ότι η μείωση του μέσου μεγέθους σωματιδίων του υποστρώματος από 0,843 mm σε 0,391 mm, αύξησε τη διαλυτοποίηση κατά περίπου 30% και έτσι βελτίωσε την απόδοση του βιοαερίου κατά 28%.

Η βιομάζα με λεπτό μέγεθος σωματιδίων μπορεί να προκαλέσει συσσωματώσεις κατά τη διάρκεια των προ κατεργασιών και ενζυμική υδρόλυση, γεγονός που οδηγεί στις αρνητικές επιπτώσεις των παραγόμενων συνολικών σακχάρων [21]. Επιπλέον, πολύ λεπτό μέγεθος σωματιδίων μπορεί να μειώσει τον κενό χώρο μεταξύ των σωματιδίων με αποτέλεσμα τη μείωση

της μικροβιακής ανάπτυξης και στη συνέχεια μειώνει την παραγωγή πολύτιμων υποπροϊόντων. Η κατανάλωση ενέργειας από τη λειτουργία φυσικής και μηχανικής επεξεργασίας βασίζεται κυρίως στην εκτίμηση της ενεργειακής απόδοσης της προ επεξεργασίας βιομάζας (η ερμηνεία = Συνολική ανάκτηση ζάχαρης (kg)/Συνολική κατανάλωση ενέργειας (MJ)) [17]. Αν και η περίοδος προ επεξεργασίας μέσω φυσικής μεθόδου είναι χαμηλή, η απαιτούμενη τάση είναι πολύ υψηλή ειδικά σε βιομηχανική κλίμακα και η αύξηση της ζήτησης ενέργειας καθιστά την οικονομική σκοπιμότητα αυτής της μεθόδου να είναι αμφισβητήσιμη [18].

Το υγρό ζεστό νερό, επίσης γνωστό ως υδροθερμική προ επεξεργασία, είναι μια από τις μεθόδους προκατεργασίας των στερεών αποβλήτων που βελτιώνει την χώνευση των υλικών. Η υδροθερμική προ επεξεργασία στοχεύει στην αλλαγή της δομής του αδιάλυτου κλάσματος ώστε να καταστεί πιο επιδεκτική στη βιοαποικοδομησιμότητα [21, 22]. Λαμβάνοντας υπόψη τα γεγονότα ότι η υδροθερμική προ επεξεργασία δεν απαιτεί οξύ ή χημική ουσία και διεξάγεται σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 60°C έως 170°C, θεωρείται ως μια οικονομικά ενδιαφέρουσα μέθοδος για τη θεραπεία της βιομάζας και είναι επίσης φιλική προς το περιβάλλον. Οι Kuo και Cheng [23] διερεύνησαν την υδροθερμική προ επεξεργασία για την επεξεργασία απορριμμάτων κουζίνας σε διάφορες θερμοκρασίες (37°C, 50°C και 60°C) για να εξετάσουν την επίδραση της υδρόλυσης στην αναερόβια πέψη των απορριμμάτων κουζίνας. Τα αποτελέσματα από τη μελέτη τους έδειξαν ότι η πιο αποτελεσματική θερμοκρασία παρατηρήθηκε στους 60 ° C, υδρολύοντας περίπου το 27,3% των στερεών απορριμμάτων κουζίνας με 37,7% απομάκρυνσης λαδιών και λιπών. Το οργανικό κλάσμα MSW, απορρίμματα κουζίνας, υπέστη υδροθερμική προ επεξεργασία στους 160°C από 5 έως 50 λεπτά, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης γλυκόζης από 37,5% σε 43,9%, ενώ η περιεκτικότητα σε ξυλόζη παρέμεινε περίπου στο 5% για όλους δοκιμασμένους χρόνους [24]. Το υδρόλυμα απορριμμάτων κουζίνας χρησιμοποιήθηκε σε ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF) και τροφοδοτούμενη παρτίδα SSF χρησιμοποιώντας κυτταρινάσες και αμυλάσες παράγοντας τελική συγκέντρωση βιοαιθανόλης 30 g/L. Αυτό δείχνει ότι η υδροθερμική μέθοδος είναι μια πιθανή προκατεργασία στην επίτευξη υψηλής συγκέντρωσης ζυμώσιμων σακχάρων ως πρώτης ύλης για παραγωγή βιοαιθανόλης.

1.2. Φυσικοχημική προ επεξεργασία

Η χημική προκατεργασία είναι μια από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την ενίσχυση της βιοαποικοδομησιμότητας του οργανικού υποστρώματος, ιδίως των λιγνοκυτταρινικών υλικών, αυξάνοντας την ευαισθησία σε ενζυμική υδρόλυση ή σακχαροποίηση. Η επίδραση της χημικής προεπεξεργασίας εξαρτάται από τον τύπο των μεθόδων που χρησιμοποιούνται και τα χαρακτηριστικά των υποστρωμάτων. Οι χημικές προκατεργασίες εφαρμόζονται ευρέως σε λάσπη απορριμμάτων και λιγνοκυτταρινικά υποστρώματα για την απομάκρυνση της λιγνίνης και/ή των ημικυτταρινών, η οποία με τη σειρά της, μειώνει την κρυσταλλική δομή της κυτταρίνης, μειώνοντας τον βαθμό πολυμερισμού (DP), αυξάνοντας το μέγεθος των πόρων και την επιφάνεια [25,26]. Ωστόσο, υπάρχουν μόνο περιορισμένες μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε οργανικό κλάσμα οικιακών. Έχει αναφερθεί από τον Ariunbaatar et al. [27] ότι η χημική προ επεξεργασία δεν είναι κατάλληλη για εύκολα

βιοαποικοδομήσιμα υποστρώματα που περιέχουν υψηλή ποσότητα υδατανθράκων. Στη διαδικασία αναερόβιας πέψης, η χημική προ επεξεργασία μπορεί να ξεκινήσει την ταχεία αποικοδόμηση και να επιταχύνει τη συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων που οδηγεί στην αποτυχία του σταδίου μεθανογένεσης. Έτσι, η πιο επικρατούσα χημική επεξεργασία, η όξινη υδρόλυση διερευνάται σε αυτήν την ενότητα.

Η όξινη υδρόλυση θεωρείται ως μια σημαντική χημική μέθοδος προκατεργασίας λόγω της ικανότητάς της να προσαρμόζεται με μεγάλη ποικιλία πρώτων υλών [26]. Η συγκέντρωση των απελευθερωμένων σακχάρων κατά τη διάρκεια της προκατεργασίας με όξινη υδρόλυση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο της βιομάζας, τις συνθέσεις των υποστρωμάτων, τη θερμοκρασία, το χρόνο, τη συγκέντρωση οξέος, την αναλογία στερεού προς υγρό και τον αντιδραστήρα που χρησιμοποιείται στη διαδικασία [28]. Η εκμετάλλευση πλούσιων σε υδατάνθρακες οργανικών αποβλήτων και απορριμμάτων κουζίνας, τα οποία είναι σχετικά εύκολο να μετατραπούν σε πολύτιμα προϊόντα όπως αιθανόλη, γαλακτικό οξύ και υδρογόνο μέσω διαφόρων βιολογικών διεργασιών αποτελεί το επίκεντρο πολλών μελετών [29]. Ωστόσο, η αξιοποίηση απορριμμάτων κουζίνας περιορίζεται από την υδρόλυση των στερεών τους καθότι είναι σε πρωτόγνωρα στάδια και δεν έχει αναγνωριστεί ο βαθμός απόδοσης της εφαρμογής. Ως εκ τούτου, η χημική υδρόλυση στοχεύει στην τροποποίηση της δομής των στερεών για την ευκολότερη πρόσβαση των ενζύμων στην κυτταρίνη για τη μετατροπή της σε ζυμώσιμα σάκχαρα [25,30]. Επί του παρόντος, έχει αναφερθεί παραγωγή βιοαιθανόλης με όξινη υδρόλυση και ενζυμική σακχαροποίηση από ένζυμο κυτταρινάσης [31,32]. Η προκατεργασία οξέος όχι μόνο διασπά το συστατικό λιγνίνης, αλλά παρέχει επίσης μια ευνοϊκή συνθήκη για την ανάπτυξη μικροοργανισμών στην υδρόλυση βιομάζας [27]. Η συμβολή που συνέβη βοηθά στην υδρόλυση κλάσματος ημικυτταρίνης της βιομάζας σε μονοσακχαρίτες. ξυλόζη, γλυκόζη και γαλακτόζη [25,27,33].

Υψηλή απόδοση σακχάρων μπορεί να επιτευχθεί μέσω όξινης υδρόλυσης χρησιμοποιώντας ανόργανο υδροχλωρικό οξύ (HCl) και θειικό οξύ (H₂SO₄) σε αραιό ή συμπυκνωμένο οξύ [34]. Η αραιωμένη προ επεξεργασία οξέος H₂SO₄ έχει μελετηθεί εκτενώς για την εφαρμογή της στη προκατεργασία της βιομάζας λόγω της υψηλής καταβολικής δραστηριότητας και της χημικής ουσίας χαμηλού κόστους. Η όξινη υδρόλυση γίνεται σε υψηλές θερμοκρασίες (180°C) για σύντομο χρονικό διάστημα ή σε ελαφρώς χαμηλότερη θερμοκρασία (120 °C) για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (περίπου 30-90 λεπτά) [33]. Το αραιό οξύ είναι πιο οικονομικό καθώς η διαδικασία εκτελείται σε σχετικά ήπιες θερμοκρασίες και μέτριες πιέσεις με μεγαλύτερο χρόνο κατακράτησης, γεγονός που παρέχει το πλεονέκτημα της υψηλής απόδοσης ανάκτησης σακχάρου [34]. Βιομηχανικά, η προκατεργασία αραιού οξέος είναι πιο ελκυστική λόγω της φθηνής συντήρησης λειτουργίας και διεργασίας, με χαμηλότερη ποσότητα αναστολέων ζύμωσης που παράγεται καθώς και την ικανότητα ανάκτησης σακχάρων ημικυτταρίνης έως και 80% της αρχικής ποσότητας [26,34,35].

Η όξινη υδρόλυση με τη χρήση συμπυκνωμένου οξέος είναι λιγότερο ελκυστική ειδικά για την παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω του σχηματισμού μεγάλων ποσοτήτων αποικοδομημένων παραπροϊόντων και ανεπιθύμητων ανασταλτικών ενώσεων όπως υδροξυμεθυλοφουρφουράλη (HMF), φουρφουράλη και αρωματική ένωση αποικοδόμησης λιγνίνης που μπορεί να επηρεάσουν τον μεταβολισμό του μικροοργανισμού με αιθανόλη στα στάδια ζύμωσης [33,26]. Άλλα μειονεκτήματα περιλαμβάνουν την απώλεια ζυμώσιμων σακχάρων λόγω της αύξησης της αποδόμησης σακχάρου σε υψηλές θερμοκρασίες και επιπλέον κόστος για την εξουδετέρωση των όξινων συνθηκών πριν από τη ζύμωση βιοαιθανόλης [27,36]. Επιπλέον, η διαβρωτικότητα του εξοπλισμού και η ανάκτηση οξέος που αυξάνουν το κόστος λειτουργίας και συντήρησης θεωρούνται επίσης ως τα κύρια μειονεκτήματα που αποτρέπουν την εφαρμογή προκατεργασίας με τη χρήση συμπυκνωμένου οξέος [35].

Η υδρόλυση απορριμμάτων κουζίνας με προ επεξεργασία οξέος είναι να σπάσει τον γλυκοσιδικό δεσμό των πολυσακχαριτών που αναδύονται ολιγοσακχαρίτες και μαλτοδεξτρίνες για την παραγωγή μονομερών σακχάρων, τα οποία είναι επιδεκτικά να ζυμωθούν σε πολύτιμα προϊόντα [29]. Οι Sekmecelioglu και Uncu [37] ανέφεραν ότι η όξινη υδρόλυση απορριμμάτων κουζίνας ιδιαίτερα χρησιμοποιώντας HCl και H₂SO₄ μπορεί να παράγει υψηλότερη ποσότητα αιθανόλης από υδρόλυση απορριμμάτων κουζίνας. Η επίδραση της μεθόδου προεπεξεργασίας (ζεστό νερό, αραιωμένο H₂SO₄ και ένας έλεγχος) στην ενζυμική υδρόλυση απορριμμάτων κουζίνας αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας προσέγγιση κινητικού μοντέλου. Τα αποτελέσματα του κινητικού μοντέλου έδειξαν ότι η μέγιστη γλυκόζη συσσωρεύτηκε μετά από κάθε μέθοδο προεπεξεργασίας και ότι η ενζυμική σακχαροποίηση ήταν υψηλότερη για αραιό H₂SO₄ (77,52 g/L γλυκόζη), ακολουθούμενο από έλεγχο (40,54 g/L) και προκατεργασία ζεστού νερού (38,90 g/L). Η αραιωμένη προ επεξεργασία H₂SO₄ έχει βελτιώσει σημαντικά την περαιτέρω απόδοση της ενζυμικής σακχαρίωσης των απορριμμάτων κουζίνας σε ζυμώσιμα σάκχαρα. Οι Khraisheh και Li [38] ανέφεραν ότι τα απορρίμματα κουζίνας εμποτίστηκαν με 1% H₂SO₄ σε αυτόκλειστο στους 121 °C για 60 λεπτά ακολουθούμενο από ενζυμική σακχαροποίηση με β-γλυκοσιδάση που παρήγαγε γλυκόζη με απόδοση 85%. Λήφθηκε απόδοση γλυκόζης 72,8% όταν τα απορρίμματα κουζίνας υποβλήθηκαν σε 4% H₂SO₄ ακολουθούμενο από επεξεργασία ατμού στους 121 °C για 15 λεπτά και μετά ενζυμική υδρόλυση με χρήση κυτταρίνης από *Trichoderma viridae* [30]. Η ταυτόχρονη προκατεργασία αραιού H₂SO₄ και ατμού μπορεί να βελτιώσει αποτελεσματικά την ενζυμική υδρόλυση, να μειώσει την παραγωγή ανασταλτικών ενώσεων και να οδηγήσει σε μια πιο ολοκληρωμένη υδρόλυση της ημικυτταρίνης. Εκτός από αραιό H₂SO₄, υψηλή απόδοση υδρόλυσης θα μπορούσε επίσης να επιτευχθεί με την προκατεργασία απορριμμάτων κουζίνας με αραιό HCl. Η προκατεργασία με οξύ των απορριμμάτων κουζίνας χρησιμοποιώντας 1% HCl για 94 λεπτά στους 100 °C αύξησε τη συγκέντρωση των διαλυτών σακχάρων κατά 120% σε σύγκριση με εκείνη των μη επεξεργασμένων απορριμμάτων κουζίνας [39]. Η θερμοχημική προκατεργασία όχι μόνο οδηγεί σε υψηλή συνολική απόδοση διαλυτών σακχάρων, αλλά επίσης διευκολύνει την επακόλουθη βιοχημική μετατροπή με ενζυμική υδρόλυση, ενισχύοντας έτσι την ενζυμική πεπτικότητα των απορριμμάτων κουζίνας σε ζυμώσιμα σάκχαρα σε βέλτιστες συνδυασμένες θερμό χημικές ενζυμικές συνθήκες. Η άμεση μετατροπή απορριμμάτων κουζίνας σε βιοαιθανόλη σε θερμό-όξινη προκατεργασία χρησιμοποιώντας 1 M HCl με pH ρυθμισμένο

έως pH 1 απέδωσε περίπου 0,36 g EtOH/g starch, το οποίο αντιστοιχεί στο 64% της θεωρητικής τιμής [40]. Αυτά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα έδειξαν ότι η προκατεργασία αραιού οξέος έχει υψηλό δυναμικό να χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή των απορριμμάτων κουζίνας σε ζυμώσιμα σάκχαρα, για επακόλουθη χρήση στη ζύμωση βιοαιθανόλης.

1.3. Βιολογική προ επεξεργασία

Η μετατροπή των απορριμμάτων κουζίνας σε βιοαιθανόλη εξαρτάται από την υδρόλυση του υδατάνθρακα, καθώς οι μικροοργανισμοί ζύμωσης με αιθανόλη κανονικά δεν είναι σε θέση να ζυμώσουν άμεσα το άμυλο ή την κυτταρίνη σε βιοαιθανόλη [41]. Η υδρόλυση περιλαμβάνει τη διάσπαση των πολυσακχαριτών σε απλά σάκχαρα όπως η γλυκόζη, η οποία συνήθως καταλύεται από ενζυμική αντίδραση [42]. Το μέγεθος των σωματιδίων, η περιεκτικότητα σε υγρασία, ο χρόνος και η θερμοκρασία προκατεργασίας θα μπορούσαν να επηρεάσουν την αποικοδόμηση της βιομάζας και την απόδοση της ενζυμικής υδρόλυσης [35]. Άλλοι παράγοντες όπως η συγκέντρωση υποστρώματος, η φόρτωση των ενζύμων, το pH και οι ρυθμοί ανάμιξης επηρεάζουν επίσης τον ρυθμό της ενζυμικής υδρόλυσης [21]. Για πλούσια σε υδατάνθρακες οργανικά απόβλητα όπως απορρίμματα κουζίνας που περιέχουν υψηλή ποσότητα αμύλου, ένα μείγμα α-αμυλάσης μπορεί να καταλύσει συγκεκριμένα την υδρόλυση α-1,6-γλυκοσιδικών δεσμών διακλαδισμένων πολυσακχαριτών παράγοντας γραμμικούς ολιγοσακχαρίτες. Τα ζυμώσιμα σάκχαρα όπως η γλυκόζη, η σακχαρόζη, η φρουκτόζη και η μαλτόζη μπορούν να παραχθούν στη διαδικασία σακχαροποίησης χρησιμοποιώντας γλυκοαμυλάση [57]. Στη διαδικασία υδρόλυσης της βιομάζας που περιέχει υψηλή σύνθεση κυτταρίνης, εμπλέκονται τουλάχιστον τρεις ομάδες κυτταρολυτικών ενζύμων (ενδογλυκανάση που προσβάλλουν περιοχή χαμηλής κρυσταλλικότητας ινών κυτταρίνης με αποτέλεσμα ελεύθερα άκρα αλύσου, εξωγλυκανάση που αποικοδομεί και απομακρύνει τις μονάδες κυτταροβιόζης ελεύθερα άκρα αλυσίδας και β-γλυκοσιδάση που υδρολύουν την κυτταροβιόζη για να παράγουν γλυκόζη). [42]

Η ενζυμική υδρόλυση προσφέρει περισσότερα πλεονεκτήματα σε σχέση με τη φυσική ή/και χημική προκατεργασία, δίνοντας υψηλότερη απόδοση σακχάρου από την υδρόλυση που καταλύεται από οξύ. Επιπλέον, τα ένζυμα είναι ιδιαίτερα ειδικά για το υπόστρωμα και μπορούν να διεξαχθούν σε ήπια κατάσταση με θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 40 °C έως 50 °C. Επομένως, απαιτείται χαμηλή ενέργεια για να πραγματοποιηθεί υδρόλυση με λιγότερη παραγωγή τοξικών ενώσεων στο υδρόλυμα. Ωστόσο, η ενζυμική υδρόλυση αντιμετωπίζει τις τεχνοοικονομικές προκλήσεις και λιγότερο ελκυστική σε εμπορική κλίμακα λόγω των αργών ρυθμών αντίδρασης και απαιτεί προσεκτικό έλεγχο των συνθηκών αντίδρασης [42]. Επιπλέον, το υπερβολικό κόστος των ενζύμων που ενδέχεται να επηρεάσουν τη συνολική διαδικασία περιορίζει την εφαρμογή των ενζύμων ως μοναδική προκατεργασία και δεν είναι οικονομικά βιώσιμη [39]. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα ένζυμα πάσχουν από αργό ρυθμό αντίδρασης λόγω της φύσης και του ανυπόστατου βιομάζας που καθιστά δύσκολη τη διείσδυση των ενζύμων στις ενεργές θέσεις [36]. Αυτό απαιτεί προκαταρκτικές θεραπείες για να σπάσει η δομή της ανθεκτικής βιομάζας για να εκθέσει το άμυλο και την κυτταρίνη σε ενζυμική δράση. Ως εκ τούτου, ο συνδυασμός προκατεργασίας έχει θεωρηθεί ως πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την παραγωγή σακχάρων με υψηλή απόδοση, μειώνοντας τον σχηματισμό ανασταλτικού και

σύντομου χρόνου επεξεργασίας [35]. Οι διάφορες προκατεργασίες πριν από τη διαδικασία ενζυμικής υδρόλυσης συνοψίζονται στον Πίνακα 10.

Οι πιο κάτω έρευνες έδειξαν το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών να χρησιμοποιήσουν τα οικιακά απορρίμματα ως υπόστρωμα μέσω συνδυασμένης φυσικής, χημικής και βιολογικής προκατεργασίας πριν από την ενζυμική υδρόλυση. Οι Hong και Yong [51] χρησιμοποίησαν α-αμυλάση και γλυκοαμυλάση για περαιτέρω στάδια υγροποίησης και σακχαροποίησης μετά από μηχανική άλεση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συγκέντρωση γλυκόζης απελευθερώθηκε στα 600 g glucose/kg kitchen waste. Μια άλλη συμβολή της βιολογικής προκατεργασίας πραγματοποιήθηκε από τους Tang et al. [52] και Koike et al. [53] έδειξε ότι η χρήση βακτηρίων γαλακτικού οξέος ως παράγοντα προ επεξεργασίας μικροοργανισμών στα αλεσμένα απόβλητα κουζίνας είχε ως αποτέλεσμα αύξηση στην απελευθέρωση 97,5% και 86% γλυκόζης, αντίστοιχα, μετά από προσθήκη συνδυασμένης κυτταρινάσης και γλυκοαμυλάσης. Σε αυτήν την περίπτωση, η μικροβιακή προ επεξεργασία αύξησε αποτελεσματικά την προσβασιμότητα των απορριμμάτων κουζίνας στην ενζυμική υδρόλυση. Η παραγόμενη παραγωγικότητα αιθανόλης αυξάνεται σημαντικά στα 7 g/L/h και στα 24 g/L/h όπως αναφέρεται από τους Tang et al. [52] και Koike et al. [53], αντίστοιχα. Οι χρησιμοποιούμενοι μικροοργανισμοί δρουν συγκεκριμένα ως μεσολαβητής για τη διατήρηση της φρεσκάδας των απορριμμάτων κουζίνας από την αποικοδόμησή τους σε οργανικό οξύ. Η χρήση βιολογικού παράγοντα θεωρείται ως μια ελκυστική προ επεξεργασία λόγω της λιγότερο επιβλαβούς επίδρασης στο περιβάλλον, της ήπιας κατάστασης και της χαμηλής ενέργειας που απαιτείται κατά τη διάρκεια της λειτουργίας.

Πίνακας 10: Συνδυασμός φυσικής και χημικής προ κατεργασία και ενζυμική υδρόλυση με διαφορετικές πρώτες ύλες για παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων.

No.	Τροφοδοσία8	Προ κατεργασία	Ένζυμα	Συνθήκες Υδρόλυσης	Αποτελέσματα	Βιβλιογραφία
1	Αστικό Στερεό Απόβλητο (ΑΣΑ)	Θερμική (Αποστείρωση 160 °C, 30 min)	cellulose β-glucosidase	50°C, 72h	36 g/L glucose	Ballesteros et al. [43]
2	Λιγνοκυτταρινικό ΑΣΑ	Θερμική (Αποστείρωση 165,5 °C, 45 min)	Trichoderma reesei cellulose	40 °C, pH 4.8, 12h	53% μετατροπή κυτταρίνης και ημικυτταρίνης	Li et al. [58]
3	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (Κοσκίνιση, 2x2 mm)	Amyloglucosidase carbohydrase	50 °C, pH 4.5, 3h	44g/L glucose	Moon et al. [7]
4	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (ανάμιξη με νερό και άλεσμα)	α-amylase amyloglucosidase cellulase β-glucosidase	Υγροποίηση (95°C, pH 5.5, 1h), Σακχαροποίηση (55°C)	64.7g/L glucose	Uncu and Cekmecelioglu [25]
5	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (ανάμιξη με νερό και άλεσμα)	α-amylase glucoamylase	Υγροποίηση (50-60°C, pH 4-6,5) Σακχαροποίηση (55-60°C, pH 4-4.5)	164.8g/L reducing sugars	Yan et al. [8]
6	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (άλεσμα) και ψεκασμός με γαλακτικό οξύ	glucoamylase	60°C, 150 rpm, 2h	74.1g/L glucose, 97.5% glucose recovery	Tang et al. [59]
7	Οικιακά Απόβλητα	Ψεκασμός με γαλακτικό οξύ	Termamyl glucoamylase cellulase	Termamyl (85°C, 30 min) Σακχαροποίηση (60°C, 150 rpm, 2h) Κυτταρινάση (50°C, 150 rpm, 2h)	86% glucose recovery	Koike et al. [28]
8	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική	Carbohydrase glucoamylase protease cellulase	30°C, pH 5, 30 min	135g/L glucose	Kim et al. [31]
9	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (άλεσμα) και ξήρανση (105 °C)	α-amylase amyloglucosidase protease	45-50°C, pH 4,5-6, υδατόλουτρο με ανάδευση	600g glucose per kg kitchen waste	Hong and Yoon [60]
10	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (άλεσμα)	α-amylase glucoamylase	55°C, pH 4,5, 150 rpm, 2h	200g/L reducing sugars	Yan et al. [61]
11	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (άλεσμα και κοσκίνιση 0,2mm) και αποστείρωση (1% H ₂ SO ₄ , 60 °C, 180 min)	cellulose β-glucosidase	50°C, pH 4,8, 96 h	72.8% glucose yield	Li et al. [48]
12	Απόβλητο Φλούδα Πατάτας	Ανάμιξη με 120 ml HCl και αποστείρωση (121 °C, 15 min)	Termamyl (amylase) viscozyme celluclast	Termamyl (85°C, pH 6, 1h) Viscozyme (44°C, pH 4.6, 2,5h) Κυτταρινάση (50°C, pH 5, 2h)	18g/L reducing sugar	Arapoglou et al. [62]
13	Απόβλητο Φλούδα Πατάτας	Ξήρανση, Άλεσμα, Κοσκίνιση (500-1000 mm) και αποστείρωση (1% H ₂ SO ₄ , 90 °C, 90 min)	α-amylase	37°C, 14h, 200 rpm	69g/L reducing sugars	Khawla et al. [63]
14	Απόβλητα Μπανάνας	Μηχανική (Τεμαχισμός στις 2-3 ίντσες), ανάμιξη με 5% H ₂ SO ₄ και αναερόβια χώνευση (180 °C, 25 min)	cellulase	50°C, pH 4,8, 48h	36.84% reducing sugars yield	Gabhane et al. [64]
15	Οικιακά Απόβλητα	Μηχανική (Κοκκοποίηση 0,2 - 1,2mm) και αποστείρωση (1% H ₂ SO ₄ , 121 °C, 60 min)	cellulase β-glucosidase	50°C, pH 3,7-5, 24h	85% glucose yield	Khraisheh and Li [55]

2. Υδρόλυση πολυσακχαριτών

Μια αποτελεσματική διαδικασία βιομετατροπής οικιακών αποβλήτων σε βιοαιθανόλη εξαρτάται από την έκταση της σακχαροποίησης των υδατανθράκων [65]. Είναι γνωστό ότι, σε ξηρή βάση, τα απορρίμματα περιέχουν περίπου 64% υδατάνθρακες, 22% πρωτεΐνες, 13% λίπος και το υπόλοιπο 1% είναι ίνες που μπορούν να διασπαστούν σε μονομερή σάκχαρα όπως γλυκόζη και ξυλόζη [8,66]. Ωστόσο, τα απόβλητα είναι πολύπλοκα στην διαχείριση και ετερογενείς στη σύνθεσή τους, με αποτέλεσμα τη χαμηλή απόδοση της υδρόλυσης. Η διαδικασία της υδρόλυσης εφαρμόζεται, όταν οι πρώτες ύλες δεν περιέχουν άμεσα ζυμώσιμα σάκχαρα, αλλά πολυσακχαρίτες (π.χ. άμυλο, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη). Η διαδικασία της υδρόλυσης εξαρτάται από τον τύπο των πολυσακχαριτών που υδρολύονται και από την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται.

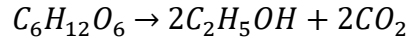
Το άμυλο δεν μπορεί να ζυμωθεί απευθείας όπως συμβαίνει με τα απλά σάκχαρα. Πρέπει να διασπαστεί σταδιακά σε γλυκόζη μέσω της διαδικασίας της υδρόλυσης. Η υδρόλυση του αμύλου μπορεί να είναι είτε όξινη, είτε ενζυμική. Η ενζυμική υδρόλυση του αμύλου εκτελείται με την προσθήκη των ενζύμων α-αμυλάση και γλυκοαμυλάση. Κατά συνέπεια, η διαδικασία διαιρείται στο στάδιο της ρευστοποίησης, όπου τα αλεσμένα οικιακά απόβλητα διαλύονται σε νερό και τα πρώτα ένζυμα προστίθενται για να μειώσουν το ιξώδες. Το δεύτερο στάδιο είναι το «μαγείρεμα», όπου ο τύπος ενζύμου που χρησιμοποιείται είναι α-αμυλάση. Το τελευταίο στάδιο είναι η σακχαροποίηση, όπου το ένζυμο που προστίθεται είναι η γλυκοαμυλάση. Σε αυτό το στάδιο, η δεξτράνη (πολυσακχαρίτης με μεγάλη μοριακή μάζα, πολυμερές της γλυκόζης), που λαμβάνεται από την πρώτη υδρόλυση διαιρείται σε μονομερή μόρια γλυκόζης. Αυτή η διαδικασία μπορεί να πραγματοποιηθεί σε μια θερμοκρασία μεταξύ 70 και 90 °C αν και σήμερα υπάρχουν ανθεκτικά στη θερμότητα ένζυμα και σε θερμοκρασίες πάνω από 125 - 130 °C.

Στην περίπτωση της υδρόλυσης των κυτταρινικών ενώσεων, υπάρχει ένα ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω κυρίως της αφθονίας στην οποία βρίσκονται αυτού του είδους οι πρώτες ύλες αλλά και του γεγονότος ότι δεν υπάρχει κάποια άλλη ανταγωνιστική χρήση τους.

3. Ζύμωση σακχάρων

Η βελτίωση της απόδοσης της ζύμωσης αιθανόλης του υδρολύματος που παράγεται από την ενζυμική υδρόλυση οικιακών απορριμμάτων είναι επίσης μια σημαντική στρατηγική για να διασφαλιστεί ότι η τεχνολογία βιομετατροπής είναι οικονομικά εφικτή. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η περίπλοκη δομή της βιομάζας στα απορρίμματα κουζίνας καθιστά δύσκολο τον αποπολυμερισμό σε απλά σάκχαρα. Η προεπεξεργασία παίζει σημαντικό ρόλο στη διάσπαση της δομής για να αυξήσει τη μετατροπή με ενζυμική σακχαροποίηση σε απλά σάκχαρα, η οποία στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για παραγωγή βιοαιθανόλης χρησιμοποιώντας τους ζυμωτικούς μικροοργανισμούς [47]. Ανάλογα με την πηγή της βιομάζας, το προϊόν υδρόλυσης απορριμμάτων κουζίνας αποτελείται συνήθως από γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη και μαλτόζη, ενώ άλλη πηγή όπως το υδρόλυση λιγνοκυτταρίνης χαρακτηρίζεται από γλυκόζη, ξυλόζη, αραβινόζη, γαλακτόζη, μαννόζη, φρουκτόζη και ραμνόζη [48,49]. Τα σάκχαρα μπορούν να

χρησιμοποιηθούν ως υποστρώματα στην παραγωγή βιοαιθανόλης από ζύμες ή βακτήρια [45], με βάση τη γραμμομοριακή μάζα όπως φαίνεται στην πιο κάτω εξίσωση.



Θεωρητικά, οι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να παράγουν, για κάθε kg γλυκόζης, 0,51 kg αιθανόλης και 0,49 kg διοξειδίου του άνθρακα [50]. Μικροοργανισμοί κατάλληλοι για παραγωγή βιοαιθανόλης σε βιομηχανική κλίμακα είναι τα στελέχη που μπορούν να παράγουν θεωρητική απόδοση βιοαιθανόλης μεγαλύτερη από 90% και συγκέντρωση μεγαλύτερη από 40 g/L. Ένας ιδανικός μικροοργανισμός για παραγωγή βιοαιθανόλης μπορεί να περιγραφεί καλύτερα ως προς την ικανότητά του να παράγει αιθανόλης με υψηλή απόδοση, ευρεία χρήση υποστρώματος, ανθεκτικός σε ανασταλτικές ενώσεις που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια των σταδίων υδρόλυσης, ανοχή υψηλών συγκεντρώσεων σακχάρου και αιθανόλης, αντοχή στους αναστολείς, αντοχή σε υψηλές θερμοκρασίες, ικανότητα ανάπτυξης σε χαμηλό pH και ελάχιστους σχηματισμούς παραπροϊόντων [42].

1. Παράγοντες που επηρεάζουν την ζύμωση

Τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά των οργανικών συστατικών, καθώς και το περιβάλλον ζύμωσης, συμπεριλαμβανομένου του pH, της θερμοκρασίας και ο χρόνος ανάπτυξης των ενζύμων, επηρεάζουν τη ζύμωση αιθανόλης από τα οικιακά απορρίμματα. Επιπλέον, επηρεάζει η παράμετρος που σχετίζεται με τη σύνθεση των απορριμμάτων, υγρασία. Επίσης, η παραγωγή της αιθανόλης καθορίζεται με βάση την ανακτημένη γλυκόζη, η οποία καθορίζεται από τον χημικό τύπο και τη βέλτιστη δοσολογία του ενζύμου που χρησιμοποιείται για την υδρόλυση των αποβλήτων [55]. Πρέπει να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με την έρευνα που δημοσιεύθηκε σχετικά με την προσαρμογή και τη βελτιστοποίησή τους, το pH και η θερμοκρασία ήταν οι πιο σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή αιθανόλης.

Το pH είναι σημαντικός παράγοντας καθώς φαίνεται να επιδρά με τις πρωτεΐνες και να προκαλεί αλλαγή στο σχήμα τους. Στην περίπτωση της ζύμωσης, οι μεταβολικές διεργασίες που συμβαίνουν ελέγχονται από μια συλλογή ενζύμων. Όταν αυξάνεται το pH, το σχήμα των πρωτεϊνών αλλάζει διαταράσσοντας τους δεσμούς τους. Όσον αφορά την επίδραση του pH στη ζύμωση αιθανόλης από οικιακά απόβλητα, η αρχική τιμή pH των απορριμμάτων πρέπει να κυμαίνεται από 4 έως 5. Η επίδραση διαφορετικού pH στην κινητική της διαδικασίας μελετήθηκε για pH από 3.5 μέχρι 6. Μια άλλη μελέτη έδειξε την επίδραση του pH στη ζύμωση χρησιμοποιώντας σακχαροποιημένο ζωμό με pH 3.5, 4 και 4.5. Έχει επιτευχθεί μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης περίπου 30 g/L σε pH 4-4.5 [52].

Όσον αφορά τις αλλαγές θερμοκρασίας, έχουν σημαντικό αντίκτυπο στις δραστηριότητες των μικροοργανισμών επηρεάζοντας την αντίδραση που καταλύεται από ένζυμα. Κατά τη διάρκεια των ετών, έχουν διεξαχθεί μελέτες για τη μείωση του συνολικού κόστους παραγωγής αιθανόλης μειώνοντας την κατανάλωση ενέργειας (θερμότητα), η οποία θεωρείται ως το δεύτερο υψηλότερο κόστος παραγωγής αιθανόλης [57]. Συνήθως, μια θερμοφιλή αμυλάση είναι η πρώτη επιλογή στη διεργασία της σακχαροποίησης για τη μετατροπή υδατανθράκων σε

ολιγοσακχαρίτες και γλυκόζη σε υψηλές θερμοκρασίες (95-105 °C) και pH 6 – 6.5. Ενώ για την μετατροπή των ολιγοσακχαρίτων σε γλυκόζη για περαιτέρω υδρόλυση γίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες (60-65 °C) και pH 4 – 4.5. Η ζήτηση θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της διαδικασίας υδρόλυσης μπορεί να μειωθεί εάν η υδρόλυση αμύλου ολοκληρώνεται σε θερμοκρασία χαμηλότερη από τη θερμοκρασία ζελατινοποίησης [58]. Ωστόσο, τα οικιακά απόβλητα περιέχουν πρωτεΐνες και κυτταρίνη που απαιτούν ένζυμα διαφορετικά από την αμυλάση για την υδρόλυση. Επιπλέον, η θερμοκρασία σακχαροποίησης επηρεάζει την ανάπτυξη βακτηρίων σε μη αποστειρωμένο σακχαροποιημένο ζυμό. Ως αποτέλεσμα, η χρήση δύο γονιδίων γλυκοαμυλάσης (Glucosimu # 20000 και Nagase N-40) για ανάκτηση γλυκόζης διερευνήθηκε σε διάφορες θερμοκρασίες (50 - 60 °C), αποκαλύπτοντας ότι η απόδοση απόδοσης γλυκόζης αυξήθηκε από 75.8 σε 85.5% όταν η σακχαροποίηση η θερμοκρασία αυξήθηκε από 50 σε 60°C. Σε αντίθεση με το Glucosimu # 20000, όπου η απόδοση γλυκόζης μειώθηκε από 72.0 σε 25.4% καθώς η θερμοκρασία αυξήθηκε από 50-60°C, η Nagase N-40 γλυκοαμυλάση ήταν προτιμότερη σε σακχαροποίηση και απόδοση αιθανόλης στους 60°C [52]. Ενώ η διαδικασία ζύμωσης λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 25 έως 30°C ανάλογα με τα χαρακτηριστικά και τη σύνθεση της πρώτης ύλης [58], η θερμοκρασία ζύμωσης για τα απόβλητα τροφίμων έως την αιθανόλη κυμαίνεται από 30 - 37°C επειδή Ο μικροοργανισμός γίνεται πιο ενεργός όταν ζεσταθεί και πεθάνει σε υψηλή θερμοκρασία.

Η περιεκτικότητα σε υγρασία των απορριμμάτων τροφίμων έχει σημαντικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Η ανώτερη αναλογία στερεού υγρού θα οδηγούσε σε υψηλή συγκέντρωση αιθανόλης, η οποία θα είχε αντίκτυπο στη δραστηριότητα μικροοργανισμών [59]. Όταν η αναλογία είναι χαμηλή, δεν επηρεάζει αρνητικά τους μικροοργανισμούς, αλλά απαιτεί πολλή ενέργεια για τη διαδικασία απόσταξης, γεγονός που αυξάνει το κόστος παραγωγής αιθανόλης. Η υψηλή αναλογία συνεπαγόταν υψηλή συγκέντρωση του υποστρώματος, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε υψηλή ωσμωτική πίεση, η οποία ευνοεί τη σύνθεση παραπροϊόντων, όπως η σακχαροσιμπτόλη και η λεβάν. [60]

Ο χρόνος επώασης στη ζύμωση αιθανόλης επηρεάζει την αποτελεσματικότητα λόγω αθροιστικών άλλων παραγόντων. Η παράταση του χρόνου ζύμωσης μπορεί να αυξήσει το κόστος παραγωγής αιθανόλης αυξάνοντας την κατανάλωση ενέργειας. Ο βέλτιστος χρόνος μπορεί να ενισχύσει την παραγωγικότητα της αιθανόλης με μετριασμό της συσσώρευσης παραπροϊόντων, όπως οργανικά οξέα και γλυκερόλη, τα οποία μπορεί να αναστέλλουν τη δραστηριότητα ζύμης. [61]

Κεφάλαιο 4: Οικιακά Απορρίμματα – Βιοαπόβλητα

4.1 Εισαγωγή

Η αύξηση του πληθυσμού, η αύξηση της αστικοποίησης και η αύξηση του βιοτικού επιπέδου συνέβαλαν στην αύξηση τόσο της ποσότητας όσο και της ποικιλίας των στερεών αποβλήτων που παράγονται από βιομηχανικές, οικιακές και γεωργικές δραστηριότητες. Το 2002, η παγκόσμια εκτίμηση της παραγωγής αποβλήτων ήταν 13 δισεκατομμύρια τόνοι εκ των οποίων 11 δισεκατομμύρια τόνοι ήταν βιομηχανικοί και 1,6 δισεκατομμύρια τόνοι στερεά απόβλητα. Μέχρι το 2025, αναμένεται να παραχθεί περίπου 90 δισεκατομμύρια τόνοι ετησίως.

Τα στερεά απόβλητα οργανικής προέλευσης περιλαμβάνουν: αστικά απόβλητα, απόβλητα κηπουρικής, γεωργικά απόβλητα και υπολείμματα. Ο κύριος στόχος της ύπαρξης ενός αποτελεσματικού συστήματος διαχείρισης αποβλήτων είναι η μεγιστοποίηση των οικονομικών οφελών και η ελαχιστοποίηση της περιβαλλοντικής ρύπανσης. Λόγω των αυξανόμενων ενεργειακών απαιτήσεων, των οικονομικών περιορισμών και των περιβαλλοντικών προβλημάτων, οργανισμοί σε όλο τον κόσμο έχουν προτείνει διάφορες κατευθυντήριες γραμμές και έχουν εργαστεί σε διάφορα έργα παραγωγής, μεταφοράς, επεξεργασίας, διάθεσης και ανακύκλωσης αποβλήτων.

Σύμφωνα με στατιστικά στοιχεία του ΟΟΣΑ (2002) που βασίζονται σε επτά χώρες από όλο τον κόσμο (Μεξικό, Ελλάδα, Ιαπωνία, ΗΠΑ, Νορβηγία, Γαλλία, Βέλγιο), τα αστικά στερεά απόβλητα περιλαμβάνουν περίπου 5% μέταλλο, 7% γυαλί, 10% πλαστικό, 28 % χαρτί και 35-40% οργανικά απόβλητα. Το οργανικό κλάσμα των αστικών στερεών αποβλήτων αποτελείται από απορρίμματα τροφίμων και μερικά είδη ξυλείας.

Τα οργανικά απόβλητα παράγονται όπου υπάρχει κατοικία, κυρίως με τη μορφή οικιακής κουζίνας και γεωργικών αποβλήτων. Στις βιομηχανικές χώρες, η ποσότητα των παραγόμενων οργανικών αποβλήτων αυξάνεται κάθε χρόνο. Αν και ορισμένα απόβλητα κουζίνας και κήπου χρησιμοποιούνται στην κομποστοποίηση, το μεγαλύτερο μέρος τους πηγαίνει σε χώρους απόρριψης και αποτελεί τα πιο επικίνδυνα απόβλητα. Λόγω της οργανικής φύσης των απορριμμάτων κουζίνας και κήπου, η εξάλειψή τους από την υγειονομική ταφή ή την καύση οδηγεί σε ανεπιθύμητες καταστάσεις. Τα απόβλητα που έχουν υποβληθεί σε υγειονομική ταφή αποικοδομούνται από μικροοργανισμούς και αποβάλλουν στραγγίδια που περιέχουν βακτήρια και χημικούς. Τα στραγγίδια προκαλούν σοβαρό κίνδυνο εάν φτάσουν σε κοίτη. Επίσης, η οργανική ύλη στους χώρους υγειονομικής ταφής σχηματίζει αέριο μεθάνιο (CH_4), το οποίο είναι επιβλαβές για την ατμόσφαιρα και το θείο υδρογόνου (H_2S).

Εφόσον, λοιπόν, τα οργανικά απόβλητα είναι αναπόφευκτο προϊόν η διαχείριση του είναι ένα σοβαρό ζήτημα. Επομένως, υπάρχει μεγάλη ανάγκη να βρεθούν εναλλακτικές λύσεις για την επεξεργασία τους.

4.2 Τρόποι Διαχείρισης και Αξιοποίησης

Τα απορρίμματα κουζίνας είναι το οργανικό κλάσμα των καθημερινών απορριμμάτων τροφίμων που αποτελούνται από ό, τι δεν καταναλώνουν τα νοικοκυριά και το υπόλοιπο μέρος των τροφίμων και ποτών που διατίθενται στους κάδους απορριμμάτων. Γενικά, στις ΗΠΑ και στις χώρες της ΕΕ τα απορρίμματα κουζίνας περιέχουν επίσης και λιγνοκυτταρινική βιομάζα (π.χ. γρασίδι, κλαδιά). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα απόβλητα κουζίνας αποτελούνται από φλούδες φρούτων και λαχανικών, μαγειρεμένα και άψητα τρόφιμα, κρέας και οστά, με περιεκτικότητα σε υγρασία ίση ή μεγαλύτερη από 75%.

Αυτήν την στιγμή, τα απόβλητα από οικιακές και βιομηχανικές κουζίνες καταλήγουν σε χώρο υγειονομικής ταφής κάθε χρόνο, εκ των οποίων τα μισά είναι οργανικά, κυρίως απορρίμματα τροφίμων κουζίνας. Τα απορρίμματα κουζίνας αποτελούν το μοναδικό μεγαλύτερο μέρος των οικιακών απορριμμάτων που καταλήγουν σε χώρους υγειονομικής ταφής, με σχεδόν το 50% να είναι απορρίμματα τροφίμων. Όταν αποστέλλονται σε χώρους υγειονομικής ταφής, τα απόβλητα τροφίμων, καθώς αποσυντίθεται, παράγουν επιβλαβή στραγγίδια και αέρια θερμοκηπίου. Ορισμένες πόλεις σε όλο τον κόσμο, συλλέγουν και κομποστοποιούν απορρίμματα τροφίμων κουζίνας για την παραγωγή προϊόντων προστιθέμενης αξίας. Σε θερμά κλίματα τα οργανικά απόβλητα τείνουν να αποσυντίθενται γρήγορα μέσα σε μια μέρα περίπου. Η αποσύνθεση των οργανικών αποβλήτων είναι συχνά υπεύθυνη για τη δυσάρεστη μυρωδιά σε κάδους, οχήματα και εγκαταστάσεις διάθεσης. Τα προϊόντα αποσύνθεσης είναι διαβρωτικά, επομένως τα δοχεία και τα οχήματα πρέπει να σχεδιαστούν λαμβάνοντας υπόψη αυτό το γεγονός.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία των αστικών στερεών αποβλήτων περιλαμβάνουν ανακύκλωση, ΧΥΤΑ, απόκτηση ενέργειας από την καύση και κομποστοποίηση. Τα απόβλητα από χαρτί, γυαλί, πλαστικό και μέταλλο οδηγούνται σε ανακύκλωση και τα οργανικά απόβλητα χρησιμοποιούνται για κομποστοποίηση και απόκτηση ενέργειας.

Η κομποστοποίηση έχει χρησιμοποιηθεί ως ισχυρή εναλλακτική μέθοδος κατά της υγειονομικής ταφής και της καύσης και είναι η βιοαποικοδόμηση της οργανικής ύλης. Η αποσύνθεση πραγματοποιείται από μικροοργανισμούς, κυρίως βακτήρια, αλλά και από μύκητες. Το οργανικό υλικό βιοαποικοδομείται ουσιαστικά υπό συγκεκριμένες συνθήκες κομποστοποίησης και μετατρέπεται σε μαυρόχωμα. Το κομπόστ είναι ένα σταθερό, σκούρο καφέ, σαν το έδαφος υλικό που μπορεί να συγκρατεί υγρασία, αέρα και θρεπτικά συστατικά. Σε αντίθεση με τη δημοφιλή πεποίθηση, το κομπόστ δεν μυρίζει, αντιθέτως συχνά μυρίζει τόσο φρέσκο όσο το χώμα του δάσους. Το κομπόστ περιέχει ορισμένα φυτικά θρεπτικά συστατικά, όπως άζωτο, φώσφορο και κάλιο, αν και όχι τόσο όσο περιέχουν τα κόπρανα των ζώων ή τα χημικά λιπάσματα. Το κομπόστ μπορεί επίσης να περιέχει μια σειρά από μέταλλα και μικροοργανισμούς που είναι ευεργετικοί για την ανάπτυξη των φυτών. Ωστόσο, το κύριο όφελος είναι η χρήση του ως εδαφοβελτιωτικό. Η προσθήκη λιπασμάτων στο έδαφος μπορεί να μειώσει την ανάγκη για χημικά λιπάσματα επειδή περιέχει θρεπτικά συστατικά στο έδαφος, μπορεί επίσης να βοηθήσει στη μείωση της διάβρωσης του εδάφους και στη βελτίωση της δομής του εδάφους. ωφελώντας έτσι την αποστράγγιση και τις ρίζες των φυτών. Άλλοι τρόποι αντιμετώπισης του οργανικού τμήματος των αστικών αποβλήτων είναι η ζωοτροφή και η χρήση τους σε αναερόβια χώνευση.

Οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε περιβάλλον χωρίς οξυγόνο. Με την απουσία αέρα αυτά θα επικρατήσουν και θα αποσυνθέσουν το οργανικό υλικό. Η αναερόβια αποσύνθεση

δημιουργεί μεθάνιο, το οποίο είναι ισχυρό αέριο θερμοκηπίου και για μια περίοδο 100 ετών θεωρείται 23 φορές πιο επιβλαβές για το περιβάλλον από το διοξείδιο του άνθρακα. Ως εκ τούτου, όταν το οργανικό απόβλητο αντιμετωπίζεται με αναερόβια χώνευση σημαντικό είναι να συλλαμβάνεται και να χρησιμοποιείται το μεθάνιο. Ένα τέτοιο παράδειγμα ενός ελεγχόμενου αναερόβιου συστήματος πέψης για οργανικά απόβλητα είναι ο χωνευτήρας βιοαερίου.

Πειραματικό μέρος

Κεφάλαιο 5: Σκοπός

Τα οικιακά απορρίμματα είναι ανανεώσιμα, φθηνά, περιέχουν σημαντική ποσότητα οργανικού φορτίου και παράγονται σε μεγάλες ποσότητες καθημερινά. Ως εκ τούτου, στην παρούσα διπλωματική εργασία διερευνάται η δυνατότητα και η αποτελεσματικότητα παραγωγής βιοαιθανόλης σε πιλοτική κλίμακα με πρώτη ύλη προδιαλεγμένα οικιακά οργανικά απόβλητα που συλλέχθηκαν από τον δήμο Βάρη-Βούλα-Βουλιαγμένη (BBB). Εξετάστηκαν δύο διαφορετικές πειραματικές πορείες με στόχο τη βελτιστοποίηση ολόκληρης της διαδικασίας. Η πρώτη πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει πρώτα σακχαροποίηση των υδατανθράκων και στη συνέχεια τη ζύμωση των σακχάρων (Separation Hydrolysis and Fermentation – SHF), ενώ στη δεύτερη πειραματική πορεία πραγματοποιείται ταυτόχρονα η σακχαροποίηση των σακχάρων και ζύμωση της αιθανόλης (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF).

Κεφάλαιο 6: Πειραματική Μεθοδολογία

6.1 Πρώτη ύλη

Στην παρούσα διπλωματική, προδιαλεγμένα οικιακά απορρίμματα θα χρησιμοποιηθούν ως πρώτη ύλη. Η Βιώσιμη Πόλη (SUST) προχώρησε σε όλες τις απαραίτητες ρυθμίσεις με τον Δήμο Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης προκειμένου να συλλέγονται τα απόβλητα αυτά. Ο Δήμος BBB τ εφαρμόζει ένα πρόγραμμα συλλογής προδιαλεγμένων οικιακών αποβλήτων από το 2016. Πολίτες με πλήρη ενημέρωση συμμετέχουν και συλλέγουν τα βιοαπόβλητα ξεχωριστά και η υπηρεσία καθαρισμού του δήμου συλλέγει τα απόβλητα σε προκαθορισμένες ημερομηνίες. Το ΕΜΠ έλαβε την πρώτη παρτίδα πρώτων υλών στις 30/6/2020. Έκτοτε, η πρώτη ύλη παρέχεται στο ΕΜΠ κάθε δεκαπενθήμερη βάση (δηλαδή, κάθε δεύτερη Τρίτη) με διαλείμματα κατά τη διάρκεια των διακοπών, των καταλήψεων ή και της καραντίνας. Πρέπει να επισημανθεί ότι λόγω του COVID-19, η Ελλάδα βρισκόταν υπό αυστηρή καραντίνα (lockdown) από τις 11 Μαρτίου 2020 έως τις 5 Μαΐου 2020 και από τις 5 Νοεμβρίου 2020 έως τις 26 Μαΐου. Αυτό το γεγονός προκάλεσε σοβαρές καθυστερήσεις καθώς στο 1^ο lockdown (11/3 - 5/5/2020) όλες οι δραστηριότητες του ΕΜΠ σταμάτησαν, ενώ για την υπόλοιπη χρονική περίοδο, υπήρχαν περιορισμοί στον αριθμό των ατόμων που εργάζονταν στο εργαστήριο. Πιο συγκεκριμένα, ο Πίνακας 11 παρουσιάζει τις ημερομηνίες παραλαβής των αποβλήτων, καθώς και τις ποσότητες που ελήφθησαν. Σε όλες τις περιπτώσεις, τα οργανικά απόβλητα μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις του ΕΜΠ μετά από ειδική άδεια που είχε χορηγηθεί από τις αρμόδιες υπηρεσίες του ιδρύματος σε δημοτικό φορτηγό τοποθετημένα σε πορτοκαλί και καφέ πλαστικές σακούλες (Σχήμα 4).

Πίνακας 11: Παραλαβή βιοαποβλήτων που διαχωρίστηκαν στην πηγή

Παραλαβή βιοαποβλήτων	Ημερομηνία Παραλαβής	Ποσότητα (kg)
A	20/06/2020	252.36
B	14/07/2020	219.06
Γ	15/09/2020	129.00
Δ	29/09/2020	153.72
E	13/10/2020	90.00
Z	27/10/2020	190.0
H	24/11/2020	183.1



Σχήμα 4: Παράδοση των βιοαποβλήτων διαχωρισμένων στην πηγή στο ΕΜΠ με το φορτηγό μεταφοράς της υπηρεσίας καθαρισμού Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης.

Στο σχήμα 5 παρουσιάζονται τα παραδοθέντα δείγματα στο εργαστήριο της μονάδας περιβαλλοντικής επιστήμης και τεχνολογίας (UEST). Όπως μπορεί να παρατηρηθεί, η εμφάνιση των δειγμάτων είναι πολύ ετερογενής, όπως αναμένεται για αυτού του είδους τα απόβλητα. Κατά την παραλαβή, τα απόβλητα τοποθετήθηκαν σε πλαστικούς κάδους 250L εντός της μονάδας περιβαλλοντικής επιστήμης και τεχνολογίας, όπου ξηράθηκαν, ομογενοποιήθηκαν και μετατράπηκαν σε σκόνη (διαμέτρου $\approx 1-5$ mm). Η ξήρανση πραγματοποιήθηκε σε ένα εμπορικό σύστημα ξήρανσης Gaia GC-100.



Σχήμα 5. Δείγματα βιοαποβλήτων που διαχωρίστηκαν στην πηγή.

Τα προξηραμένα οργανικά απόβλητα, αφού ομογενοποιήθηκαν, αποθηκεύτηκαν σε συνηθισμένους σάκους απορριμμάτων υψηλής αντοχής για περαιτέρω επεξεργασία και στη συνέχεια χαρακτηρίστηκαν ως προς τις ακόλουθες παραμέτρους, σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους ανάλυσης που περιγράφονται στο υποκεφάλαιο 6.4:

- pH
- Υπολειπόμενη υγρασία
- Συνολικά στερεά
- Τέφρα
- Συνολικά πτητικά στερεά

- Λίπη και Έλαια
- Άμυλο
- Κυτταρίνη
- Ημικυτταρίνη
- Διαλυτή σε οξύ λιγνίνη
- Μη διαλυτό σε οξύ υπόλειμμα
- Συνολικός οργανικός άνθρακας
- Ολικό άζωτο
- Πρωτεΐνες.

6.2 Πιλοτική μονάδα

6.2.1 Ξηραντήρας Gaia

Ο ξηραντήρας Gaia (Σχήμα 6) είναι ένα σύστημα μείωσης του όγκου των οργανικών απορριμμάτων και υπολειμμάτων 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 υπολείμματα φαγητού είναι πολύ υψηλά (70 – 80%), η μείωση του όγκου και του βάρους επιτυγχάνεται με την εξάτμιση του νερού. Τα ξηραντήρια Gaia διαφοροποιούνται από άλλες τεχνολογίες ξήρανσης λόγω του συστήματος κλειστού βρόγχου (closed loop). Οι υδρατμοί που παράγονται από την θέρμανση αφού περάσουν από σύστημα δύο φίλτρων οδηγούνται προς συμπύκνωση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην υπάρχουν εκπομπές και οσμές παρά μόνο νερό το οποίο και απομακρύνεται στο αποχετευτικό σύστημα, ενώ το τελικό προϊόν είναι άοσμη, ξηρή αποστειρωμένη βιομάζα που μπορεί να αποθηκευτεί για αρκετές εβδομάδες. Το σύστημα τροφοδοτείται με ηλεκτρική ενέργεια ενώ η θέρμανση είναι δυνατόν να προέρχεται από φυσικό αέριο, πετρέλαιο, ηλεκτρικό ρεύμα ή ακόμα και από ατμό. Οι χρόνοι κατεργασίας όπως επίσης και το κόστος χρήσης ποικίλουν και εξαρτώνται από τον τύπο των απορριμμάτων και την περιεκτικότητά αυτών σε υγρασία. Οι συνήθεις χρόνοι κατεργασίας κυμαίνονται από 7 έως 9 ώρες και η κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας από 0.28 έως 9 kW/kg.

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



Σχήμα 6: Μονάδα ξήρανσης βιοαποβλήτων (Ξηραντήρας Gaia).

Στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε πλήρης συντήρηση και η μονάδα λειτουργεί πλήρως, όπως αποδείχθηκε κατά την ξήρανση των βιοαποβλήτων.



Σχήμα 7: Φόρτωση ξηραντήρα GAIA GC-100

6.2.2 Βιοαντιδραστήρας (Μονάδα Waste2Bio)

Η βιοαιθανόλη θα μπορούσε να είναι το μεταβολικό προϊόν από το υδρόλυμα του οργανικού κλάσματος των αστικών αποβλήτων μέσω ζύμωσης. Τα συστήματα ζύμωσης μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τον τρόπο λειτουργίας τους ως continuous flow (συνεχής ροής), fed-batch (βιοαπόβλητο τροφοδοτείται κατά παρτίδες) ή batch (όλη η τροφοδοσία στον χρόνο μηδέν της διεργασίας). Τα χαρακτηριστικά του υδρολύματος, οι κινητικές ιδιότητες της μαγιάς και οι τεχνοοικονομικές παράμετροι είναι οι κινητήριες δυνάμεις για την επιλογή του καταλληλότερου συστήματος.

Εκτός από τον τρόπο λειτουργίας, η ζύμωση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε μετά είτε ταυτόχρονα με την υδρόλυση. Έτσι, έχουν προταθεί διάφορες διαμορφώσεις διεργασίας ζύμωσης. Ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση (SHF), ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF), μη ισοθερμική ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (NSSF) και ταυτόχρονη σακχαροποίηση και συν-ζύμωση (SSCF) έχουν αναφερθεί για παραγωγή βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα.

- Ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση (SHF)

Η ενζυμική σακχαροποίηση εκτελείται ανεξάρτητα από το στάδιο ζύμωσης υπό τις βέλτιστες συνθήκες για κάθε στάδιο. Η ενζυμική υδρόλυση είναι ένα κρίσιμο βήμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα. Το δομικό άμυλο υδατανθράκων, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη είναι τα συστατικά στόχοι, τα οποία απελευθερώνουν κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης πεντόζες και εξόζες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω στο στάδιο της ζύμωσης. Στη βιβλιογραφία, το SHF είναι η πιο συχνά αναφερόμενη διαμόρφωση που χρησιμοποιείται σε μελέτες που ασχολούνται με την παραγωγή αιθανόλης από βιοαπόβλητα παρέχοντας αποδόσεις πάνω από 52.5%. Πράγματι, οι περισσότερες από τις σχετικές δημοσιευμένες εργασίες αναφέρουν υψηλότερες αποδόσεις αιθανόλης περίπου 85%. Έτσι, είναι προφανές ότι τα βιοαπόβλητα είναι μια κατάλληλη πρώτη ύλη για παραγωγή βιοαιθανόλης, ενώ η όλη διαμόρφωση της διαδικασίας και τα ένζυμα και η επιλογή της μαγιάς είναι ζωτικής σημασίας.

- Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF)

Προκειμένου να ξεπεραστούν οι αδυναμίες του SHF, έχει προταθεί το SSF που συνδυάζει σε μια διαδικασία εντός ενός αντιδραστήρα τη ζύμωση και την ενζυμική υδρόλυση. Με αυτόν τον τρόπο, η συνολική διάρκεια της διαδικασίας, καθώς και οι λειτουργικές δαπάνες μειώνονται, και παράγονται λιγότεροι αναστολείς. Έτσι, ο ρυθμός υδρόλυσης αυξάνεται. Η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση είναι μια ενθαρρυντική εναλλακτική λύση για την παραγωγή βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα και για το λόγο αυτό εξετάζεται στην παρούσα διπλωματική εργασία.

- Μη ισοθερμική ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (NSSF)

Το σημαντικότερο μειονέκτημα του SSF είναι η υψηλή ζήτηση ενζύμων. Αν και υψηλές αποδόσεις βιομετατροπής επιτυγχάνονται από τις υψηλές δοσολογίες ενζύμων που χρησιμοποιούνται, τα οικονομικά της διαδικασίας επηρεάζονται επίσης σοβαρά. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο, οι Wu και Lee [6] πρότειναν τη διαδικασία μη ισοθερμικής σακχαροποίησης και ζύμωσης (NSSF), όπου η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση πραγματοποιούνται ταυτόχρονα στις βέλτιστες θερμοκρασίες τους, αλλά σε ξεχωριστούς βιοαντιδραστήρες [70].

Στα πλαίσια αυτής της διπλωματικής έρευνας, υλοποιήθηκε η παραγωγή αιθανόλης σε πιλοτική μονάδα που χρησιμοποιεί ξηρά οικιακά βιοαπόβλητα. Υπό το φως των αποτελεσμάτων του ευρωπαϊκού προγράμματος LIFE Waste2Bio, έχουν αναπτυχθεί νέες ενζυμικές συνθέσεις για αυτό το υπόστρωμα ως αποτέλεσμα του πλαισίου συνεργασίας μεταξύ Novozymes και ΕΜΠ. Αναπτύχθηκαν δύο είδη ενζυμικών σκευασμάτων, μια κυτταρολυτική σύνθεση, με το κωδικό όνομα NS22177 και μια αμυλολυτική σύνθεση, κωδικοποιημένη ως NS22109. Τα σκευάσματα (μη εμπορικά ένζυμα) αυτά μελετήθηκαν σε εργαστηριακή κλίμακα και τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μελέτης σε πιλοτική κλίμακα.

Σύμφωνα με τις τελευταίες μελέτες από την εργαστηριακή μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας του ΕΜΠ, η ενζυμική υδρόλυση του αμύλου και της κυτταρίνης που υπάρχει στα βιοαπόβλητα αποδείχθηκε τεχνικά αποτελεσματική παρέχοντας υψηλές αποδόσεις. Ωστόσο, η διαφορά στο οικονομικό βάρος της χρήσης αμυλολυτικών και/ή κυτταρολυτικών ενζύμων επηρεάζει έντονα τη βιωσιμότητα της αξιοποίησης βιοαποβλήτων μέσω της παραγωγής βιοαιθανόλης.

Για τα βιοαπόβλητα που διαχωρίστηκαν από την πηγή, είχε αποδειχθεί στο εργαστήριο ότι 81% υδρόλυση αμύλου επιτεύχθηκε μετά από 1 ώρα υδρόλυσης με 45 mL αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 / g αμύλου στους 65 ° C. Όσον αφορά την επίδραση της κυτταρινάσης, 175 mL NS22177 / g κυτταρίνης πέτυχαν 50% απόδοση σακχαροποίησης. Η περαιτέρω αύξηση της δοσολογίας ενζύμου αύξησε ελαφρώς την απόδοση. Πιο συγκεκριμένα, αυξάνοντας το φορτίο του ενζύμου κατά 540%, η προκύπτουσα απόδοση σακχαροποίησης αυξήθηκε κατά μόλις 16%. Τέλος, το κόστος του ενζύμου ανά απόδοση αιθανόλης ήταν σχεδόν 3.5 φορές χαμηλότερο όταν χρησιμοποιήθηκαν μόνο αμυλολυτικά ένζυμα για παρόμοιες αποδόσεις αιθανόλης [71].

Από την άλλη πλευρά, για τα απόβλητα των εστιατορίων, μια ροή με πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο ($63.92 \pm 0.86\%$), παρατηρήθηκε ότι η βέλτιστη παραγωγή γλυκόζης και η απόδοση σακχαροποίησης ήταν 66.73 ± 3.89 g γλυκόζης / 100 g αρχικού στερεού και $87.20 \pm 2.29\%$,

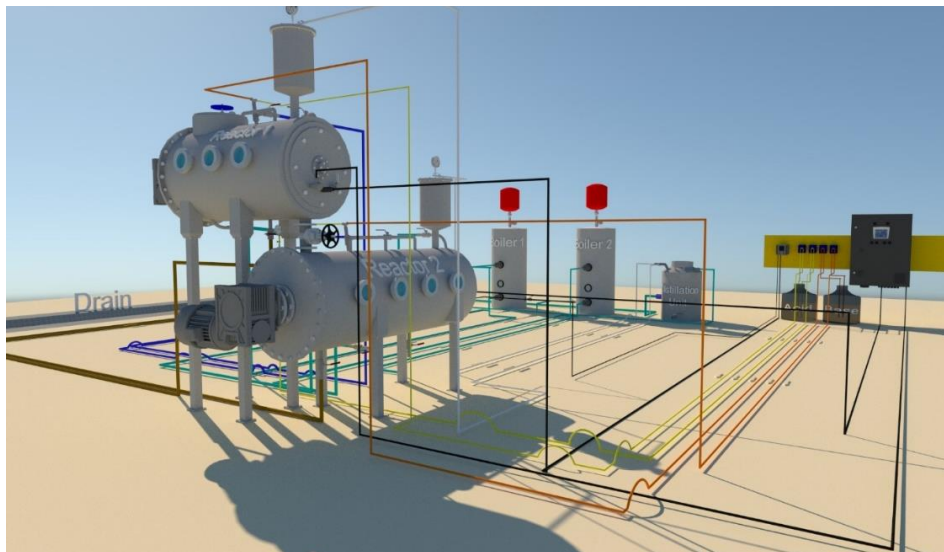
αντίστοιχα, με χρήση 5 mL / g αμύλου NS22109 σε 10% απορρίμματα τροφίμων εστιατορίου για χρόνο υδρόλυσης 1.5 ώρα. Τα μακρο- και μικρο-θρεπτικά συστατικά που περιλαμβάνονται στα απορρίμματα τροφίμων εστιατορίων παρείχαν ένα επαρκές θρεπτικό μέσο στη μαγιά για την παραγωγή αιθανόλης υψηλής απόδοσης 26.76 ± 0.75 g / 100 g στερεού, που αντιστοιχεί σε απόδοση μετατροπής αμύλου σε αιθανόλη 72.56% σε σύγκριση με τη θεωρητική απόδοση παραγωγής. Έτσι, το προϊόν υδρολύματος απορριμμάτων τροφίμων εστιατορίων μπορεί επίσης να χρησιμεύσει ως πρώτη ύλη για προηγμένη παραγωγή βιοαιθανόλης [72].

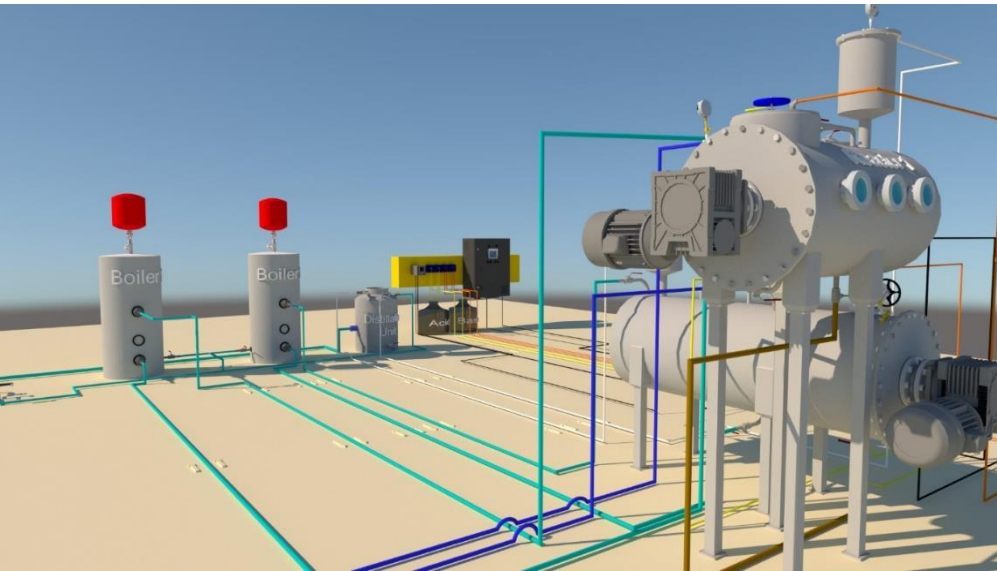
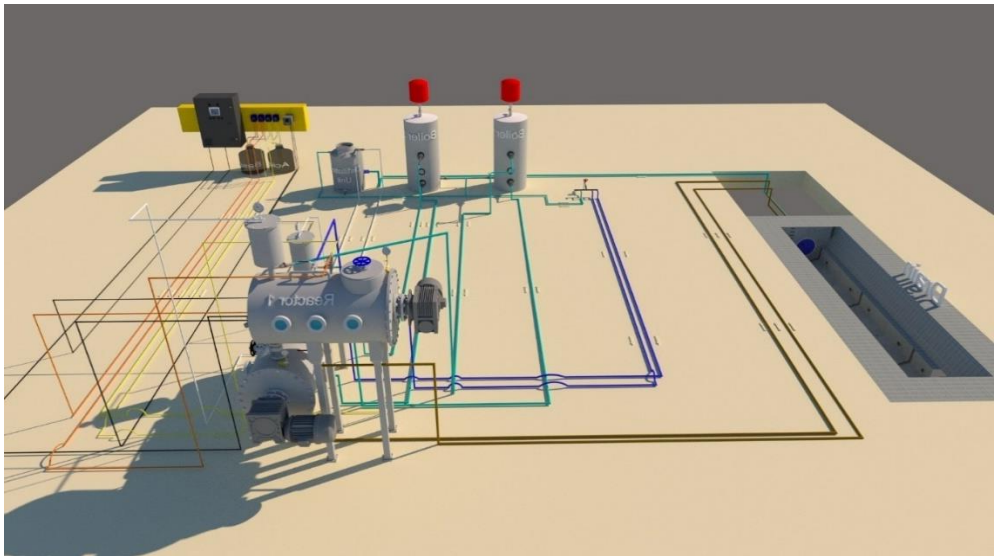
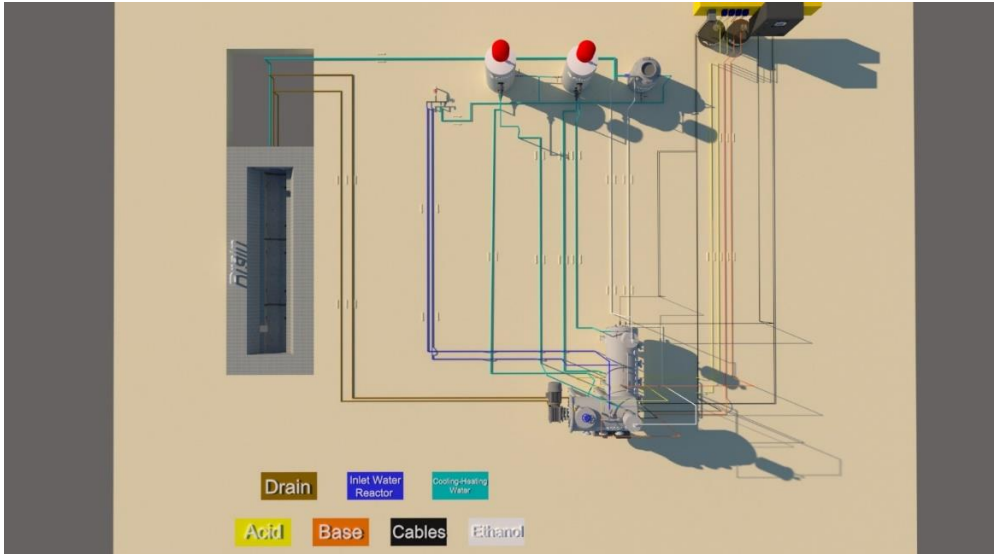
Τα μη εμπορικά σκευάσματα NS22109 και NS22177, τα οποία αρχικά χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια του προγράμματος LIFE Waste2bio δίνοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα, χρησιμοποιήθηκαν στις πρώτες δοκιμές της διπλωματικής αυτής εργασίας. Παρ' όλα αυτά, η εταιρεία Novozymes ενημέρωσε πρόσφατα την ομάδα του ΕΜΠ ότι προχώρησε σε περαιτέρω βελτίωση των σκευασμάτων αυτών και προσέφερε νέα ενζυμικά σκευάσματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν επίσης στην εργασία αυτή.

Όσον αφορά την μαγιά, αποδείχθηκε ότι το *Saccharomyces cerevisiae* (*S. Cerevisiae*) (μορφή ζύμης στιγμιαίου ξηρού αρτοποιού) σε δόση 2% και 35°C μπορεί να καλύψει τις ανάγκες παραγωγής βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα διαχωρισμένα με πηγή. Έτσι, αυτή θα είναι η μέγιστη δόση που εφαρμόζεται στην διπλωματική εργασία.

Η βιοαιθανόλη πρέπει να ανακτηθεί από το μίγμα ζύμωσης για να παραμείνει ως τελικό προϊόν προστιθέμενης αξίας. Η μέθοδος της απόσταξης θεωρείται ως η πλέον καθιερωμένη τεχνολογία. Ωστόσο, υπάρχουν περιορισμοί σχετικά με την τελική καθαρότητα της βιοαιθανόλης και την κατανάλωση ενέργειας. Συνιστώνται διάφορες μέθοδοι για την υποκατάσταση της διαδικασίας απόσταξης, όπως η αντίστροφη ώσμωση και η χρήση μεμβρανών. Εν τούτοις, σε αυτή την διπλωματική μελέτη υιοθετείται η συμβατική προσέγγιση απόσταξης, δεδομένου ότι θα καθιστούσε το όλο σύστημα πιο εύκολα εφαρμόσιμο.

Η μονάδα του βιοαντιδραστήρα που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας απεικονίζεται στο Σχήμα 8 που παρουσιάζει τα κύρια συστατικά μαζί με τις αντίστοιχες σωληνώσεις και καλωδιώσεις από διαφορετικές οπτικές γωνίες.







Σχήμα 8: Απεικόνιση βιοαντιδραστήρα, καθώς και σωληνώσεις και καλωδιώσεις από διαφορετική οπτική γωνία.

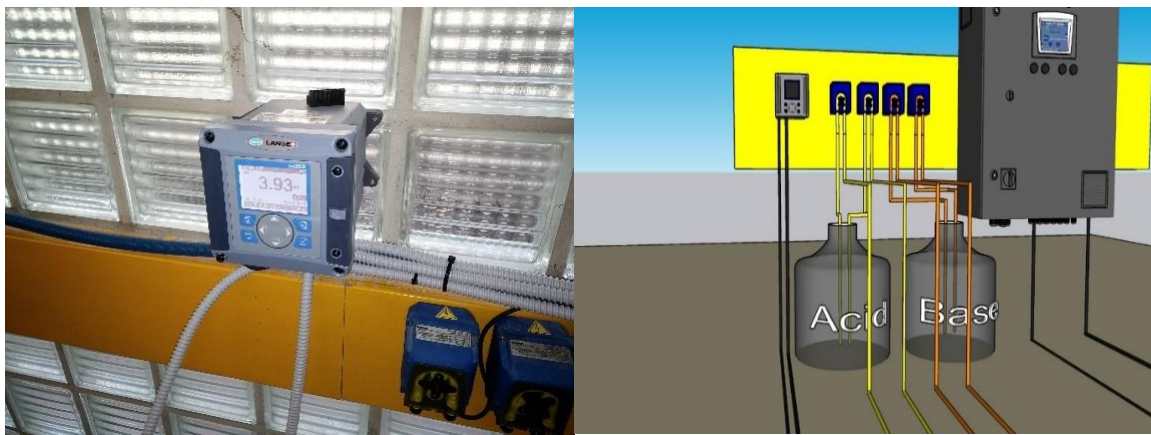
Η μονάδα βιομετατροπής αποτελείται από δύο διασυνδεδεμένους οριζόντιους κυλινδρικούς βιοαντιδραστήρες των 200 L, με έναν περιστρεφόμενο άξονα για την ανάμιξη του υλικού (Σχήμα 9). Η θερμοκρασία ελέγχεται με νερό που βρίσκεται σε εξωτερικά τοιχώματα γύρω από τον κάθε αντιδραστήρα. Κάθε βιοαντιδραστήρας έχει ανεξάρτητο κύκλωμα θέρμανσης οπότε η θερμοκρασία του μείγματος αντίδρασης ρυθμίζεται και ελέγχεται μέσω του Πίνακα ελέγχου (PLC). Τέσσερις κεντρικές οθόνες θερμοκρασίας περιλαμβάνονται στον κεντρικό πίνακα (Σχήμα 10). Ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει τόσο τη θερμοκρασία αντίδρασης όσο και τη θερμοκρασία του ανακυκλωμένου νερού. Το pH παρακολουθείται και ελέγχεται, μέσω ενός πλήρως αυτοματοποιημένου συστήματος που περιλαμβάνει ανιχνευτές pH και 4 περισταλτικές αντλίες για την προσθήκη των απαραίτητων χημικών (Σχήμα 11). Η λειτουργία του πιλοτικού σταθμού ελέγχεται πλήρως μέσω του αναβαθμισμένου πίνακα ελέγχου PLC Siemens S7-1200 (Σχήμα 12). Ο χειριστής μπορεί να ορίσει όλες τις παραμέτρους λειτουργίας (Θερμοκρασία, pH, χρόνος και κατεύθυνση ανάμιξης, συνολική διάρκεια ανάδευσης) μέσω της εγκατεστημένης οθόνης αφής 7" Siemens. Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποθηκευμένα προγράμματα.



Σχήμα 9: Οριζόντιοι κυλινδρικοί βιοαντιδραστήρες



Σχήμα 10: Σύστημα θέρμανσης των βιοαντιδραστήρων.



Σχήμα 11: Σύστημα ρύθμισης pH



Σχήμα 12: Κεντρικός πίνακας ελέγχου PLC

Εφαρμόζεται ένα μόνο στάδιο απόσταξης για την ανάκτηση της αιθανόλης. Όταν τελειώσει η ζύμωση, το μίγμα ζύμωσης θερμαίνεται στους 75°C και εφαρμόζεται αντλία κενού με χαμηλό κενό. Οι ατμοί που παράγονται μέσω μονωμένων σωλήνων διέρχονται μέσω της σπείρας του εναλλάκτη θερμότητας και του συμπυκνώματος. Το συμπύκνωμα που προκύπτει συλλέγεται στον πυθμένα του δοχείου. Το σχήμα 13 απεικονίζει τον εναλλάκτη θερμότητας της μονάδας απόσταξης.



Σχήμα 13: Εναλλάκτης θερμότητας για την συμπύκνωση της αιθανόλης.

Όσον αφορά την ικανότητα επεξεργασίας του συστήματος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι αυτό σχετίζεται στενά με κρίσιμες λειτουργικές παραμέτρους όπως τη φόρτιση των στερεών, τη διάρκεια της υδρόλυσης και τη ζύμωση. 10% φόρτιση στερεών, ενζυμική υδρόλυση 6 ωρών και ζύμωση 16 ωρών αντιστοιχεί σε δυναμικότητα συστήματος 40 kg / d ξηρών βιοαποβλήτων. Από την άλλη πλευρά, 10% φόρτιση στερεών και 12 ώρες ταυτόχρονης διαδικασίας ζύμωσης και σακχαροποίησης αντιστοιχεί σε 80 kg / d ξηρών βιοαποβλήτων. Έτσι, είναι προφανές ότι η δυναμικότητα θα μπορούσε να ρυθμιστεί μέσω των επιλογών των λειτουργικών παραμέτρων.

6.3 Μέθοδοι ανάλυσης

6.3.1 Προσδιορισμός ολικών στερεών (TS)

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

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

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

6.3.2 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 14:



Σχήμα 14: Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών.

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

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

καύση απομακρύνονται μερικές φορές και ορισμένα ανόργανα πτητικά συστατικά του δείγματος.

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

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

όπου:

m_i = αρχική μάζα ξηρού δείγματος

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

6.3.3 Προσδιορισμός ελαίων και λιπών

Η διαλυτότητα των λιπιδίων εξαρτάται από το αν είναι πολικά ή μη. Τα λιπίδια με μικρές ή καθόλου πολικές ομάδες (τριγλυκερίδια, χοληστερολική εστέρες) είναι πολύ διαλυτά σε μη πολικούς διαλύτες όπως το εξάνιο καθώς και σε πιο πολικούς διαλύτες όπως το χλωροφόρμιο αλλά μη διαλυτά σε πιο πολικούς διαλύτες όπως η μεθανόλη.

Για την απομάκρυνση των ελαίων και των λιπών επιλέγεται η διάταξη της Soxhlet, όπως φαίνεται στο σχήμα 15, με μη πολικό διαλύτη, το εξάνιο. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε αναλύεται παρακάτω.



Σχήμα 15: Συμβατική διάταξη Soxhlet

Αρχικά ζυγίζεται ποσότητα ξηρού στερεού περίπου 20-30 g και τοποθετείται σε προζυγισμένη χαρτούσα. Στην συνέχεια, η χαρτούσα μπαίνει στην Soxhlet και μαζί της ελάχιστη ποσότητα εξανίου περίπου 60 ml. Ακολούθως ζυγίζεται η φιάλη με τους πυρήνες βρασμού και προστίθενται 300 ml εξανίου.

Κατόπιν, ξεκινάει η θέρμανση του εξανίου στους 65 °C και αφήνεται για 4-5 ώρες, μέχρι την πλήρη απομάκρυνση των ελαίων. Μετά τις 4-5 ώρες, δεν υπάρχουν λάδια για να απομάκρυνση και φαίνεται στο εξάνιο όταν μετά από 2-3 συνεχόμενους κύκλους είναι διαυγές.

Μετά το πέρας των 4-5 ωρών, η χαρτούσα αφήνεται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά ώστε να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου και να ζυγιστεί. Έπειτα, η φιάλη με το εξάνιο και τα έλαια οδηγείται σε απόσταξη για τον διαχωρισμό τους. Στο τέλος της απόσταξης, ζυγίζεται ξανά η φιάλη μαζί με τα περιεχόμενα έλαια.

Ο υπολογισμός των ελαίων προκύπτει με βάση την μάζα τους και την αρχική μάζα του στερεού, όπως φαίνεται στην πιο κάτω σχέση:

$$\% \kappa. \beta. \text{Oils} = \left(\frac{m_2 - m_1}{m_{\text{solid}}} \right) \cdot 100$$

όπου:

m_1 = μάζα φιάλης με πυρήνες βρασμού

m_2 = μάζα φιάλης με πυρήνες βρασμού και έλαια

m_{solid} = αρχική μάζα στερεού στην χαρτούσα

6.3.4 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 αερόλουτρο IKA KS 30001 control σε θερμοκρασία 50 °C και ταχύτητα ανάδευσης 130 rpm για 1 ώρα.

Μετά το πέρας της 1 ώρας, τα δείγματα φυγοκεντρούνται για να συλλεχθεί η στερεή φάση. Η στερεή φάση των δειγμάτων ζυγίζεται και τοποθετείται σε προζυγισμένες κάψες οι οποίες μπαίνουν στον φούρνο ξήρανσης στους 105°C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, τα δείγματα τοποθετούνται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ακολούθως ζυγίζονται.

Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\% \text{WS} = ((m_i - m_f) / (m_i)) \cdot 100$$

όπου:

m_i = αρχική μάζα στερεού

m_f = τελική μάζα στερεού

6.3.5 Προσδιορισμός κυτταρίνης (Cellulose)

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 H₂SO₄ 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 16 φαίνεται ο αποστειρωτής:



Σχήμα 16: Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave.

- Μετά την αποστείρωση, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία διηθώνται. 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_3 έως ότου το pH να κυμαίνεται μεταξύ 5 και 5,5.
- Μετά την εξουδετέρωση τα δείγματα αφήνονται να ηρεμήσουν και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό μέσω φυγοκέντρησης.
- Το συλλεχθέν υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος αραιώνεται κατάλληλα και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP. Από το υπερκείμενο υγρό λαμβάνονται 100 μL τα οποία τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια στα οποία προστίθενται και 2 mL αντιδραστηρίου σακχάρου. Ακολούθως, τα φιαλίδια τοποθετούνται στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 °C για 15 λεπτά. Τέλος, λαμβάνει χώρα φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm.

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

Πιο συγκεκριμένα:

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

όπου:

ABS_{mean} : ο μέσος όρος απορρόφησης

D: Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα
 86,73 (mL): προκαθορισμένη τιμή
 Initial solid: η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης
 0,897: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης

Τέλος, η ποσότητα της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

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

όπου:

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

6.3.6 Προσδιορισμός ημικυτταρίνης (Hemicellulose)

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:

$$\text{ABS}_{\text{xyI}} = \text{ABS}_{\text{ημικυτ}} - ((0,71 * \text{ABS}_{\text{κυτ}}) / 1,664)$$

όπου:

ABS_{xyI} = η απορρόφηση της ξυλόζης σε μήκος κύματος 540 nm

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

$\text{ABS}_{\text{κυτ}}$ = ο μέσος όρος απορρόφησης της κυτταρίνης (όπως βρέθηκε κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης)

Κατόπιν, υπολογίζεται η συνολική περιεκτικότητα κατά βάρος ξυλόζης:

$$\text{Total xylose (\% w/w)} = (1,3861 * \text{ABS}_{\text{xyI}}) / 0,86$$

όπου:

ABS_{xyI} : 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:

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

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

6.3.7 Προσδιορισμός λιγνίνης (Lignin)

- 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:

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

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

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

- Μη διαλυτή λιγνίνη

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

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

όπου:

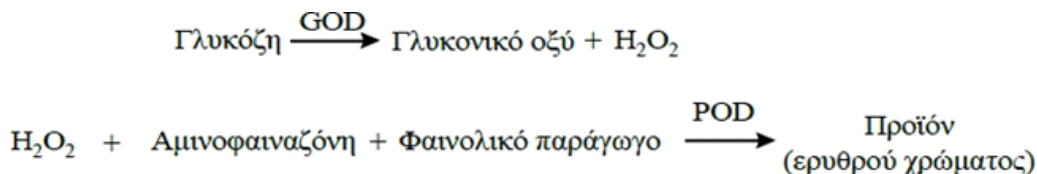
m_{575} : η μάζα του δείγματος που βγήκε από το φούρνο στους 575 °C

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

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

6.3.8 Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης (Free Sugars)

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 9: 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 4°C.

Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP

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

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

- 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.
- Σε οχτώ δοκιμαστικούς σωλήνες (δύο για κάθε συγκέντρωση γλυκόζης) προστίθενται 2 mL διαλύματος εργασίας και 0,1 mL από το κάθε διάλυμα γλυκόζης.
- Στη συνέχεια σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 2 mL διαλύματος εργασίας και 0,1 mL απιονισμένου νερού (τυφλό).
- Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες επωάζονται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C για 15 min.
- 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 17 απεικονίζονται τα διαλύματα μετά το πέρας των 15 λεπτών στο υδατόλουτρο.



Σχήμα 17: 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 ρόζ κατά την προσθήκη δείγματος. Στην περίπτωση που το δείγμα δε χρωματιζόταν αυτό θα σήμαινε ή ότι το δείγμα δεν περιείχε γλυκόζη ή ότι η γλυκόζη έχει καταναλωθεί από μικροοργανισμούς αν τυχόν το διήθημα είχε μείνει αρκετή ώρα εκτός ψυγείου.

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

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

όπου:

ABS_{mean} : ο μέσος όρος απορρόφησης

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

V_{tot} : ο συνολικός όγκος του διηθήματος

initial solid: η αρχική μάζα του δείγματος.

6.3.9 Προσδιορισμός ολικού αμύλου (Starch)

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

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

- Από τα στερεά υπολείμματα τα οποία προέκυψαν από τη διαδικασία προσδιορισμού των ολικών υδατοδιαλυτών σακχάρων λαμβάνεται μάζα ίση με 100 mg και τοποθετείται σε γυάλινα φιαλίδια.
- Εκτός από τα ανωτέρω γυάλινα φιαλίδια ετοιμάζονται και δύο ακόμα με την πρόσθεση 100 mg απιονισμένου νερού (τυφλό).
- Στα γυάλινα φιαλίδια προστίθενται 0,2 mL αιθανόλης (80% v/v) και τα φιαλίδια αναδεύονται στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2.
- Στα γυάλινα φιαλίδια προστίθενται 2mL KOH 2M και τα φιαλίδια τοποθετούνται σε παγόλουτρο για 20 min, με παράλληλη ανάδευση κάθε 5 min.
- Μετά την αφαίρεση τους από το παγόλουτρο ακολουθεί η προσθήκη 8 mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (sodium acetate buffer) με pH = 3,8, 0,1 mL α-αμυλάσης (α-amyglase) και 0,1 mL αμυλογλουκοσιδάσης (AMG: amyloglucosidase).
- Τα δείγματα αναδεύονται και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 50°C για 30 min με παράλληλη ανάδευση τους κάθε 10 min. Μετά το πέρας των 30 min τα δείγματα τοποθετούνται για φυγοκέντριση για 10 min, με ταχύτητα φυγοκέντρωσης 3000 rpm, στη συσκευή φυγοκέντρωσης IEC/ CENTRA CL2 .
- Μετά τη φυγοκέντριση ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP στο υπερκείμενο υγρό. Το υπερκείμενο υγρό αραιώνεται με λόγο αραιώσης 1:5 και στη συνέχεια για κάθε δείγμα συμπεριλαμβανομένων και των τυφλών, ετοιμάζονται
- Δύο δοκιμαστικοί σωλήνες στους οποίους προστίθενται 0,1 mL αραιωμένου διαλύματος και 2 mL διαλύματος εργασίας. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες επωάζονται για 15 min σε υδατόλουτρο και τέλος φωτομετρώνται σε μήκος κύματος 510 nm, μετά από ανάδευση στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2 και μηδενισμό του φωτομέτρου με απιονισμένο νερό.

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

$$C_{\text{γλυκόζης}} (\%w/w) = \frac{[(0,71 * \text{ABSmean} * D * 10,4) * 10^{-3}]}{\text{initial solid}} * 100$$

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

όπου:

ABSmean: ο μέσος όρος απορρόφησης.

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

10,4 (mL): προκαθορισμένη τιμή

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

0,9: Mrglucose/Mr starch

6.3.10 Προσδιορισμός ολικού οργανικού άνθρακα (TOC) και ολικού αζώτου (TN)

Για τον προσδιορισμό της επί της εκατό κατά όγκο περιεκτικότητας ολικού οργανικού άνθρακα TOC και αζώτου TN χρησιμοποιήθηκε η συσκευή TOC της εταιρείας Shimadzu η οποία απεικονίζεται στο παρακάτω Σχήμα 18:



Σχήμα 18: Συσκευή μέτρησης TOC.

6.3.11 Προσδιορισμός κατανομής μεγέθους σωματιδίων

Για την αναλυτική εύρεση της κατανομής μεγέθους των σωματιδίων χρησιμοποιείται η χρήση του οργάνου Retsch Vibratory Sieve Shaker AS200 Basic Basic (Σχήμα 19).

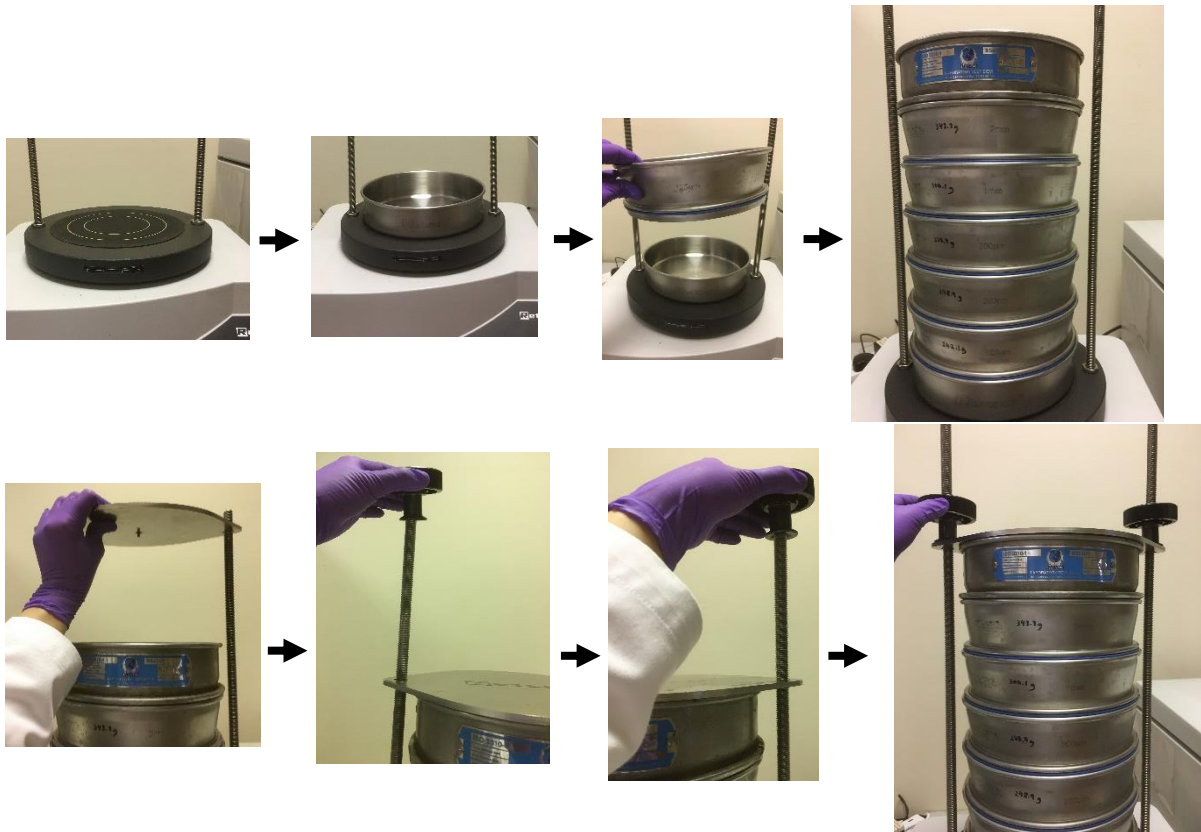


Σχήμα 19: Retsch Vibratory Sieve Shaker AS200 Basic

Στην ανάλυση της κοκκομετρίας ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

1. Αρχικά, ζυγίζεται κάθε κόσκινο ξεχωριστά.
2. Στην συνέχεια, τοποθετούνται τα κόσκινα το ένα πάνω στο άλλο, όπως φαίνεται στο Σχήμα 20, με αύξουσα διάμετρο πλέγματος.
3. Ζυγίζεται δείγμα, τουλάχιστον 100g, και προστίθεται στο κόσκινο με την μεγαλύτερη διάμετρο.
4. Κατόπιν, αφού τα κόσκινα τοποθετήθηκαν στο κέντρο της δονούμενης πλατφόρμας, σφίγγονται οι δύο ασφάλειες ώστε να σταθεροποιηθούν τα κόσκινα.

5. Ορίζεται ο χρόνος και η ισχύς δόνησης (συνήθως στα 5min και 70%) και με το START ξεκινάει η διαδικασία. Σε περίπτωση που δεν είναι ικανοποιητικές οι συνθήκες, προσαρμόζονται νέες με βάση τον οδηγό του οργάνου *Operation Manual P.30 -34*.
6. Εφόσον τελειώσει το κοσκίνισμα, ζυγίζεται το κάθε κόσκινο με το δείγμα που δεν το διαπέρασε.
7. Τέλος, γίνεται χαρακτηρισμός για κάθε κοκκομετρία και σύγκριση μεταξύ τους.



Σχήμα 20: Προετοιμασία του οργάνου πριν το κοσκίνισμα.

Εναλλακτικά, για απλό διαχωρισμό μεγάλων κόκκων γίνεται χειρωνακτική κοσκίνιση με κόσκινο 8mm. Η διαδικασία έχει ως εξής:

1. Αρχικά, ζυγίζεται το κόσκινο των 8mm (Σχήμα 21).
2. Μετέπειτα, ζυγίζεται δείγμα, τουλάχιστον 2kg, και προστίθεται στο κόσκινο.
3. Με χειροκίνητη κοσκίνιση, συλλέγονται το διαπερασμένο και μη δείγμα.
4. Το διαπερασμένο δείγμα χαρακτηρίζεται πλήρως και συγκρίνεται με το αρχικό δείγμα, πριν το κοσκίνισμα.



Σχήμα 21: Χειροκίνητο κοσκίνισμα με διάμετρο πλέγματος 8mm.

6.4 Έλεγχος λειτουργίας πιλοτικής μονάδας

Προκειμένου να διασφαλιστεί η απρόσκοπτη λειτουργία της πιλοτικής μονάδας, δοκιμάστηκε ως προς τα δομικά της μέρη σε δύο άξονες:

- Δοκιμές των δομικών τμημάτων της μονάδας ως προς τη λειτουργικότητά τους.
- Δοκιμές των δομικών τμημάτων της μονάδας σχετικά με τη διατήρηση των βέλτιστων συνθηκών για τη διαδικασία βιομετατροπής.

Οι κύριες δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν καθώς και τα αποτελέσματά τους παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 12).

Πίνακας 12: Έλεγχος λειτουργίας πιλοτικής μονάδας.

Δοκιμή ελέγχου	Περιγραφή	Αποτελέσματα	Διορθωτικές ενέργειες εάν χρειαστεί
Ξηραντήρας GAIA GC-100	Έλεγχος δυσλειτουργιών του εξοπλισμού	Ελέγχθηκε	
Βιοαντιδραστήρες που περιλαμβάνουν διπλά τοιχώματα νερού, αναδευτήρες, αισθητήρες pH και θερμοκρασίας	I. Έλεγχος δυσλειτουργιών του εξοπλισμού	Ελέγχθηκε	
	II. Δοκιμή αισθητήρων θερμοκρασίας και pH	Μετά τη σωστή βαθμονόμηση, οι αισθητήρες λειτουργούν σωστά	Συνιστάται συχνός έλεγχος και βαθμονόμηση για ανιχνευτές pH

	III. Δοκιμή ορθής λειτουργίας ανάμιξης	Μέχρι και 15% συνολικά στερεά η ανάμιξη είναι αποτελεσματική.	Τροφοδοσία σε παρτίδες
	IV. Δοκιμή θέρμανσης	Θερμοκρασία από 30 στους 75°C θα μπορούσε να επιτευχθεί και να διατηρηθεί.	Η θερμοκρασία νερού του κλειστού βρόγχου πρέπει να ρυθμιστεί 2 – 4°C υψηλότερη από το σημείο ρύθμισης του μίγματος αντίδρασης
Σύστημα θέρμανσης νερού που περιλαμβάνει λέβητες, δοχεία διαστολής, μονωμένους σωλήνες, διπλών τοιχωμάτων βιοαντιδραστήρες, αισθητήρες θερμοκρασίας	Έλεγχος δυσλειτουργιών του εξοπλισμού	Ελέγχθηκε	
PLC	Δοκιμή της απόκρισης ηλεκτρομηχανολογικού εξοπλισμού στη ρύθμιση PLC	Ελέγχθηκε	Προσθήκη παραμέτρων ελέγχου και τρόπων λειτουργίας στην επιλογή στην οθόνη αφής.
Μονάδα απόσταξης, συμπεριλαμβανομένων μονωτικών σωληνώσεων και συμπυκνωτή.	I. Δοκιμή εξοπλισμού	Ελέγχθηκε	
	II. Απόσταξη αιθανόλης από διάλυμα ελέγχου	Αρχικά, η απόσταξη δεν επιτεύχθηκε, δεδομένου ότι ένα μείγμα αιθανόλης 3-4% απαιτεί υψηλότερη θερμοκρασία.	Μια αντλία κενού προστέθηκε στο σύστημα και η απόσταξη αιθανόλης επιτεύχθηκε αποτελεσματικά.

Κεφάλαιο 7: Πειραματικό Πρωτόκολλο

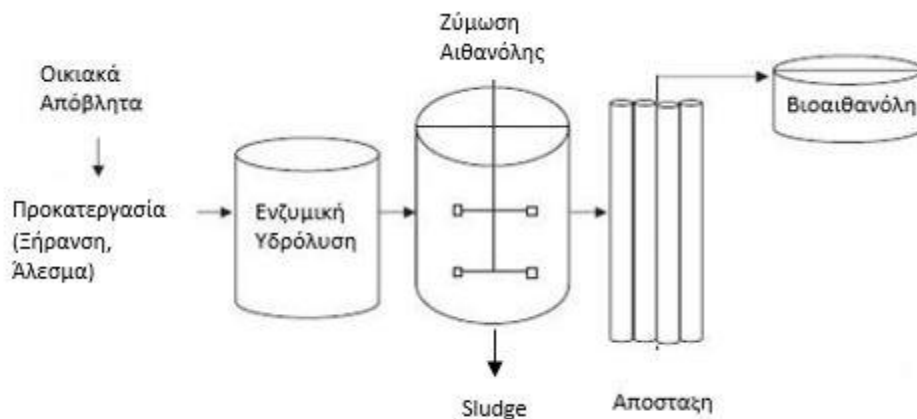
Κατά τη λειτουργία της πιλοτικής μονάδας, εξετάστηκαν δύο διαφορετικές πειραματικές πορείες με στόχο τη βελτιστοποίηση ολόκληρης της διαδικασίας και κυρίως τη μεγιστοποίηση της παραγόμενης βιοαιθανόλης. Η πρώτη πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει πρώτα σακχαροποίηση των υδατανθράκων και στη συνέχεια τη ζύμωση των σακχάρων (Separation Hydrolysis and Fermentation – SHF), ενώ στη δεύτερη πειραματική πορεία πραγματοποιείται ταυτόχρονα η σακχαροποίηση των σακχάρων και ζύμωση της αιθανόλης (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF). Τα πειράματα της ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης πραγματοποιήθηκαν τόσο σε εργαστηριακή όσο και σε πιλοτική κλίμακα.

7.1 Διακριτή υδρόλυση και ζύμωση

Στα SHF πειράματα, ακολουθήθηκε η εξής πορεία:

1. Αρχικά, ζυγίζεται το ξηρό στερεό ανάλογα με το φορτίο που ορίστηκε και αφήνεται στον αντιδραστήρα, με το αντίστοιχο φορτίο νερού, για περίπου 1 ώρα ώστε να επιτευχθεί ομοιογένεια στο μίγμα.
2. Στην συνέχεια, με αναβραστήρα, θερμαίνεται το μίγμα μέχρι τους 65 °C. Όταν φτάσει την συγκεκριμένη θερμοκρασία ο αντιδραστήρας, γίνεται προσθήκη της αμυλάσης (*ένζυμο NS22109*), η ποσότητα των ενζύμων είναι σταθερή στα 40μL ανά g αμύλου στο ξηρό στερεό. Στο σημείο αυτό, ορίζεται η αρχή του χρόνου της διαδικασίας και λαμβάνεται δείγμα για τον υπολογισμό της ελεύθερης γλυκόζης.
3. Συλλέγεται δείγμα ανά 1 ώρα για τις πρώτες 2-3 ώρες και ένα τελικό στις 18 ώρες.
4. Κατόπιν, αφήνεται ο αντιδραστήρας να κρυώσει μέχρι τους 50 °C και να ακολουθήσει η διάσπαση της κυτταρίνης.
5. Στους 50 °C γίνεται προσθήκη της κυτταρινάσης (*ένζυμο NS22177*), 175μL ανά g κυτταρίνης στο ξηρό στερεό, και συλλέγεται δείγμα ανά ώρα για τις πρώτες 5-6 ώρες και ένα τελικό στις 18 ώρες.
6. Μετά το πέρας των 18 ωρών της κυτταρινάσης, μειώνεται κι άλλο η θερμοκρασία, στους 35 °C.
7. Όταν φτάσει τους 35 °C το εσωτερικό του αντιδραστήρα, τότε προστίθεται η μαγιά, 2% της μάζας του ξηρού στερεού που τροφοδοτήθηκε, και ορίζεται ως το σημείο της έναρξης της ζύμωσης.
8. Στη ζύμωση, συλλέγονται 3 δείγματα, στις 3, 6 και 24 ώρες, για τη μελέτη της κινητικής της παραγόμενης αιθανόλης.
9. Τέλος, μετά τις 24 ώρες, το μίγμα θερμαίνεται στους 75 °C για την ανάκτηση του βιοκαυσίμου-αιθανόλης μέσω απόσταξης και με την βοήθεια αντλίας κενού.

Στο σχήμα 22 φαίνεται η πειραματική διαδικασία για την περίπτωση του SHF.



Σχήμα 22: Απεικόνιση Πειραματικής διαδικασίας SHF

7.2 Πειράματα σε Εργαστηριακή κλίμακα

Σε εργαστηριακή κλίμακα πραγματοποιήθηκαν ορισμένα πειράματα (test) με προοπτική την εφαρμογή SSF στα προδιαλεγμένα οικιακά απορρίμματα.

Τα πειράματα ενζυμικής υδρόλυσης των προξηραμένων και προδιαλεγμένων οικιακών απορριμμάτων πραγματοποιούνται σε αποστειρωμένες κωνικές φιάλες τύπου Erlenmeyer, όγκου 250mL, στις οποίες τοποθετείται η ανάλογη συγκέντρωση υποστρώματος (%w/w) και ενζύμων (μL/ g αμύλου, μL/ g κυτταρίνης) ανά περίπτωση δοκιμής. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν προστίθενται επιπλέον θρεπτικά συστατικά και ότι δεν πραγματοποιήθηκε ρύθμιση του pH δεδομένου ότι το pH του μίγματος, 4.8, βρισκόταν εντός του εύρους λειτουργίας των ενζύμων. Οι φιάλες τοποθετούνται σε ανακινούμενο υδατόλουτρο (40 ± 2 rpm) Unitronic-Orbital της εταιρείας PSelecta (Σχήμα 23). Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνται εις διπλό. Στο τέλος κάθε πειράματος, τα δείγματα φυγοκεντρώνονται και αναλύεται η στερεή και η υγρή φάση.



Σχήμα 23: Ανακινούμενο υδατόλουτρο Unitronic-Orbital, PSelecta.

Στο πρώτο πειραματικό σετ εξετάστηκε η απόδοση του ενζύμου NS22109 στους 65°C, για φόρτιση στερεών 10%, ως δείγμα αναφοράς για τις κατόπιν δοκιμές. Στον Πίνακα 13 ο σχεδιασμός του πειραματικού σετ.

Πίνακας 13: Εργαστηριακά πειράματα σακχαροποίησης στους 50 °C για φόρτιση στερεών 10% και χρόνο 2 ώρες.

Δείγμα	NS22109 (μL/g αμύλου)	Θερμοκρασία (°C)
1.1	40	65 °C
1.2	40	65 °C

Το δεύτερο πειραματικό σετ εξετάζεται πάλι η απόδοση του ενζύμου, για φορτίο στερεού 10%, αλλά στους 50 °C. Ο σχεδιασμός του πειραματικού σετ 2 φαίνεται στον πίνακα 14.

Πίνακας 14: Εργαστηριακά πειράματα σακχαροποίησης στους 50 °C για φόρτιση στερεών 10% και χρόνο 2 ώρες.

Δείγμα	NS22109 (μL/g αμύλου)	Θερμοκρασία (°C)
2.1	40	50 °C
2.2	40	50 °C

Στο τρίτο πειραματικό σετ, ελέγχθηκε η χρήση του ενζύμου NS22109 στους 50 °C, του ενζύμου NS22177 στους 35 °C και η ταυτόχρονη χρήση και των δύο στους 50 °C. Ο πίνακας 15 δείχνει το σχεδιασμό του τρίτου πειραματικού σετ.

Πίνακας 15: Υδρόλυση αμύλου και κυτταρίνης σε εργαστηριακά πειράματα, για φόρτιση στερεών 10% στους 50 °C για 5 ώρες, ξεχωριστά και ταυτόχρονα.

Δείγμα	NS22109 (μL/g αμύλου)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Θερμοκρασία (°C)
3.1	40	-	50 °C
3.2	40	-	50 °C
3.3	-	175	50 °C
3.4	-	175	50 °C
3.5	40	175	50 °C
3.6	40	175	50 °C

Στο τέταρτο πειραματικό σετ έγινε σύγκριση της χρήσης των ενζύμων στους 35 °C με το τρίτο πειραματικό σετ.

Πίνακας 16: Υδρόλυση αμύλου και κυτταρίνης σε εργαστηριακά πειράματα, για φόρτιση στερεών 10% στους 35 °C για 5 ώρες, ξεχωριστά και ταυτόχρονα.

Δείγμα	NS22109 (μL/g αμύλου)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Θερμοκρασία (°C)
4.1	40	-	35 °C
4.2	40	-	35 °C
4.3	-	175	35 °C
4.4	-	175	35 °C
4.5	40	175	35 °C
4.6	40	175	35 °C

Κατόπιν, στο πέμπτο πειραματικό σετ, εξετάστηκε η απόδοση της διεργασίας SSF στους 50 °C και στους 35 °C, για φόρτιση στερεών 10%. Όλα τα δεδομένα για τον σχεδιασμό των πειραμάτων είναι στο Πίνακα 17.

Πίνακας 17: Σχεδιασμός εργαστηριακών πειραμάτων για την μελέτη της SSF στους 50 °C και 35 °C, για φόρτιση στερεών 10% και χρόνο 5 ώρες.

Δείγμα	NS22109 (μL/g αμύλου)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Θερμοκρασία (°C)	Μαγιά (%)
5.1	40	175	35	2
5.2	40	175	35	2
5.3	40	175	50	2
5.4	40	175	50	2

Τέλος, εξετάστηκε η παραγωγή αιθανόλης για διαφορετική φόρτιση στερεών σε διεργασία SSF στους 35 °C. Στον Πίνακα 18, διακρίνεται ο σχεδιασμός του έκτου πειραματικού σετ.

Πίνακας 18: Εργαστηριακά πειράματα ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF) στους 35°C και χρόνο 18 ώρες για την μελέτη της επίδρασης της φόρτισης των στερεών.

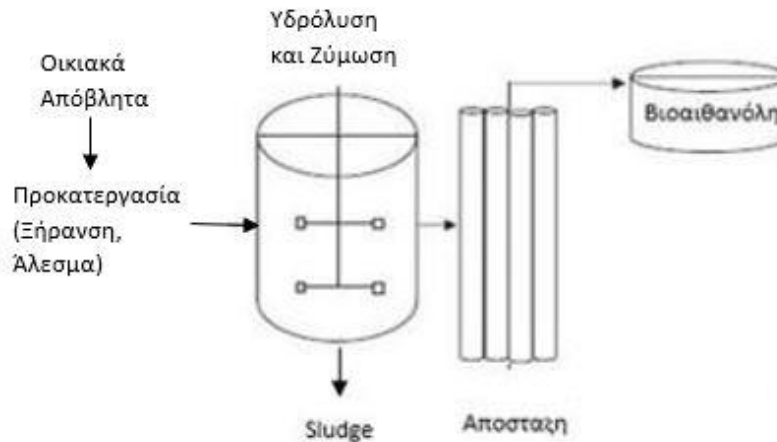
Δείγμα	Φορτίο (% w/w)	NS22109 (μL/g αμύλου)	NS22177 (μL/g κυτταρίνης)	Μαγιά (%)
6.1	10	40	175	2
6.2	10	40	175	2
6.3	10	40	175	2
6.4	10	40	175	2
6.5	15	40	175	2
6.6	15	40	175	2
6.7	15	40	175	2
6.8	15	40	175	2
6.9	20	40	175	2
6.10	20	40	175	2
6.11	20	40	175	2
6.12	20	40	175	2

7.3 Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση

Ανάλογα με τα πειράματα SHF, στα πειράματα SSF πιλοτικής κλίμακας, ακολουθήθηκε η εξής πορεία:

1. Αρχικά, ζυγίζεται το ξηρό στερεό ανάλογα με το φορτίο που ορίστηκε και αφήνεται στον αντιδραστήρα, με το αντίστοιχο φορτίο νερού, για περίπου 1 ώρα ώστε να επιτευχθεί ομοιογένεια στο μίγμα.
2. Στην συνέχεια, με αναβραστήρα, θερμαίνεται το μίγμα μέχρι τους 35 °C. Όταν φτάσει την συγκεκριμένη θερμοκρασία ο αντιδραστήρας, γίνεται προσθήκη της αμυλάσης (ένζυμο NS22109 ή NS87014 – 40μL/g starch), της κυτταρινάσης (ένζυμο NS22177 ή Spirizyme – 175μL/g cellulose) και της μαγιάς (2% της μάζας του ξηρού στερεού). Στο σημείο αυτό, ορίζεται η αρχή του χρόνου της διαδικασίας και λαμβάνεται δείγμα για τον υπολογισμό της ελεύθερης γλυκόζης.
3. Συλλέγεται δείγμα ανά 1 ώρα για 7 ώρες.
4. Τέλος, μετά τις 7 ώρες, το μίγμα θερμαίνεται στους 75 °C για την ανάκτηση του βιοκαυσίμου-αιθανόλης μέσω απόσταξης και με την βοήθεια αντλίας κενού.

Στο σχήμα 24 φαίνεται η πειραματική διαδικασία για την περίπτωση του SSF.



Σχήμα 24: Απεικόνιση Πειραματικής διαδικασίας SSF.

7.4 Σύνοψη πειραμάτων σε πιλοτική κλίμακα

Οι μεταβλητές που έπαιξαν ρυθμιστικό ρόλο είναι η θερμοκρασία στα στάδια της διαδικασίας SHF (διάσπαση αμύλου και κυτταρίνης), το φορτίο του στερεού και ο χρόνος ζύμωσης. Και στις δύο πειραματικές διαδικασίες (SHF, SSF) στην πιλοτική κλίμακα αξιολογήθηκε η επίδραση της φόρτισης των στερεών για 10%, 15% και 20% w/w. Η φόρτιση των ενζύμων ήταν 40 $\mu\text{L}/(\text{g}$ αμύλου) για την αμυλάση και 175 $\mu\text{L}/(\text{g}$ κυτταρίνης) για την κυτταρινάση και για την μαγιά, το ποσοστό ήταν πάντα ανάλογο της μάζας του στερεού, στο 2%. Στο πίνακα 19, υπάρχει η διαδικασία που έγινε καθώς και το στερεό φορτίο για κάθε δοκιμή.

Πίνακας 19: Συνθήκες και συγκέντρωση ενζύμων, για κάθε δοκιμή.

Δοκιμή	Φορτίο (%w/w)	SHF	SSF	NS22109 ($\mu\text{L}/\text{g}$ αμύλου)	NS22177 ($\mu\text{L}/\text{g}$ κυτταρίνης)	NS87014 ($\mu\text{L}/\text{g}$ κυτταρίνης)	Spirizyme ($\mu\text{L}/\text{g}$ κυτταρίνης)
SHF 1	10	✓	-	30	175	-	-
SHF 2	10	✓	-	40	175	-	-
SHF 3	15	✓	-	30	175	-	-
SHF 4	10	✓	-	30	175	-	-
SHF 5	20	✓	-	40	175	-	-
SSF 6	10	-	✓	40	175	-	-
SSF 7	15	-	✓	40	175	-	-
SSF 8	15	-	✓	-	-	40	175
SSF 9	20	-	✓	-	-	40	175
SSF 10	25	-	✓	-	-	40	175

Κεφάλαιο 8: Πειραματικά Αποτελέσματα

8.1 Χαρακτηρισμός Πρώτης ύλης

Η μέση σύνθεση των οικιακών αποβλήτων, που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική μελέτη, συνοψίζεται στον Πίνακα 20. Η συνολική ξηρή πρώτη ύλη είναι μια έμμεση ένδειξη των κύριων θρεπτικών ουσιών που διατίθενται στη μαγιά για ανάπτυξη και συντήρηση. Η συνολική περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι ο κύριος στόχος για την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων. Οι αναλύσεις των οικιακών αποβλήτων έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε υγρασία κυμαίνεται στο εύρος 75-78%w/w, γεγονός που οδηγεί σε 22-25%w/w ξηρή μάζα. Περίπου το 65% της συνολικής ξηράς ύλης προσδιορίστηκε ως κλάσμα υδατανθράκων και πρωτεϊνών, το οποίο απέδειξε ότι τα διατροφικά οικιακά απόβλητα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πολύτιμη πρώτη ύλη για την παραγωγή αιθανόλης.

Πίνακας 20: Μέση σύνθεση ξηρής μάζας διατροφικών οικιακών απορριμμάτων

	Σύσταση (%w/w)
Ολικά Στερεά - TS	94.6 ± 0.03
Υγρασία – Moisture	5.4 ± 0.48
Έλαια – Oils	12.07 ± 0.14
Υδατοδιαλυτά Στερεά – WS	35.04 ± 0.06
Πτητικά Στερεά – VS	88.41 ± 0.02
Τέφρα – ASH	11.59 ± 0.18
Κυτταρίνη – Cellulose	17.34 ± 0.21
Ημικυτταρίνη – Hemicellulose	9.39 ± 1.16
Άμυλο – Starch	4.28 ± 0.35
Διαλυτή Λιγνίνη – ASL	1.16 ± 0.15
Μη διαλυτό Υπόλειμμα- AIR	10.03 ± 0.29

Αναλυτικότερα, ο πίνακας 21, δείχνει την σύσταση του κάθε δείγματος που χρησιμοποιήθηκε ως τροφοδοσία στην παρούσα διπλωματική μελέτη.

8.2 Ανάλυση κοκκομετρίας

Στα οργανικά οικιακά απορρίμματα είναι δεδομένο πως υπάρχει ανομοιομορφία, ακόμη και μετά την ξήρανση και το άλεσμα τους. Μικρά κομμάτια που δύσκολα μετατρέπονται σε σκόνη, όπως κόκκαλα από κρέας και κουκούτσια από φρούτα, ίσως να επηρεάζουν τη σύσταση της τροφοδοσίας ή ακόμα και την απόδοση στην συνολική διεργασία για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Στην παρούσα διπλωματική μελέτη, λοιπόν, διερευνήθηκε πρώτα η σύσταση των οικιακών απορριμμάτων σε διάφορες κοκκομετρίες και στην συνέχεια η απόδοση της κοσκινισμένης τροφοδοσίας σε σχέση με την μη κοσκινισμένη. Ακολουθήθηκαν δύο πορείες κοσκινίσματος, η πρώτη περιλαμβάνει τη χρήση του οργάνου Retsch Vibratory Sieve Shaker AS200 Basic (Σχήμα 19) και η δεύτερη την χρήση κόσκινου 8 mm (Σχήμα 21).

Για την πρώτη μέθοδο, επιλέχθηκε η τροφοδοσία “Α”. Έγιναν 3 δοκιμές και από αυτές βρέθηκε η μέση κατανομή. Ο χρόνος δόνησης ήταν στα 5min και η ισχύς στο 75%. Το δείγμα για την κάθε

δοκιμή, ζυγίστηκε στα 250g, 200g και 200g αντίστοιχα. Στον Πίνακα 20 υπολογίζεται η ποσότητα στερεού στο κάθε κόσκινο για την δοκιμή 1, ακολουθούν αντίστοιχα ο Πίνακας 21 και 22.

Πίνακας 20: Ανάλυση κοκκομετρίας, δοκιμή 1.

Μέγεθος σωματιδίων (mm)	Μέγεθος (mm)	Βάρος κόσκινου (g)	Δείγμα και Κόσκινο (g)	Ποσότητα ανά κόσκινο (g)	%
> 10	10	627	630	3	1.24
10 – 5	5	582	596	14	5.78
5 – 4	4	555	565	10	4.13
4 – 2	2	528	576	48	19.81
2 – 1.4	1.4	348	391	43	17.75
1.4 – 0.18	0.18	314	429	115	47.47
< 0.18	βάση	8.74	18	9.26	3.82

Πίνακας 21: Ανάλυση κοκκομετρίας, δοκιμή 2.

Μέγεθος σωματιδίων (mm)	Μέγεθος (mm)	Βάρος κόσκινου (g)	Δείγμα και Κόσκινο (g)	Ποσότητα ανά κόσκινο (g)	%
> 10	10	627	631	4	2.01
10 – 5	5	582	596	14	7.04
5 – 4	4	555	562	7	3.52
4 – 2	2	528	571	43	21.61
2 – 1.4	1.4	348	389	41	20.60
1.4 – 0.18	0.18	314	399	85	42.71
< 0.18	βάση	8.74	22	5	2.51

Πίνακας 22: Ανάλυση κοκκομετρίας, δοκιμή 3.

Μέγεθος σωματιδίων (mm)	Μέγεθος (mm)	Βάρος κόσκινου (g)	Δείγμα και Κόσκινο (g)	Ποσότητα ανά κόσκινο (g)	%
> 10	10	627	629	2	1.01
10 – 5	5	582	600	18	9.09
5 – 4	4	555	562	7	3.54
4 – 2	2	528	569	41	20.71
2 – 1.4	1.4	348	388	40	20.20
1.4 – 0.18	0.18	314	399	85	42.93
< 0.18	βάση	8.74	23	5	2.53

Παρατηρείται και στις 3 δοκιμές, πως πάνω από το 40% της μάζας είναι σε μορφή σκόνης και διέρχεται μέχρι τα 1.4mm. Από τον μέσο όρο των δοκιμών (Πίνακας 23) και το διαχωρισμό των σωματιδίων (Σχήμα 25) φαίνεται να υπάρχει διαφορά στη μορφή της μάζας.

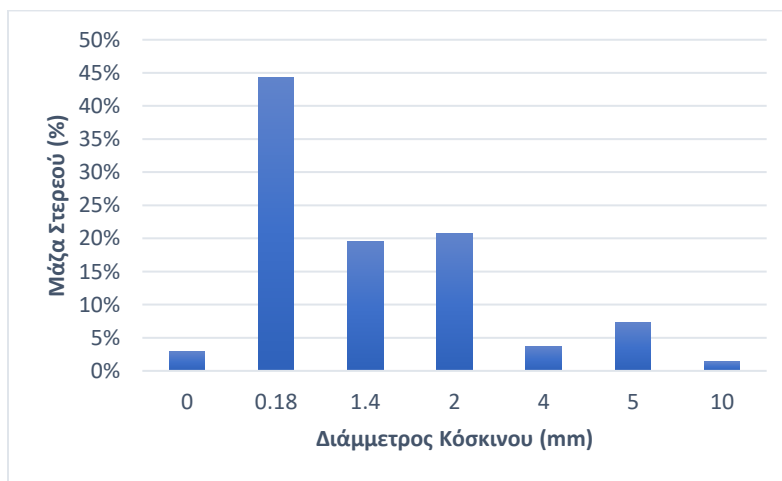
Πίνακας 23: Ανάλυση κοκκομετρίας, μέσος όρος.

Μέγεθος σωματιδίων (mm)	Μέγεθος (mm)	Δοκιμή 1 (%)	Δοκιμή 2 (%)	Δοκιμή 3 (%)	Μέσος όρος (%)	Άθροισμα (%)
> 10	10	1.24	2.01	1.01	1.42	1.42
10 – 5	5	5.78	7.04	9.09	7.3	8.72
5 – 4	4	4.13	3.52	3.54	3.73	12.45
4 – 2	2	19.81	21.61	20.71	20.71	33.16
2 – 1.4	1.4	17.75	20.60	20.20	19.52	52.68
1.4 – 0.18	0.18	47.47	42.71	42.93	44.37	97.05
< 0.18	βάση	3.82	2.51	2.53	2.95	100

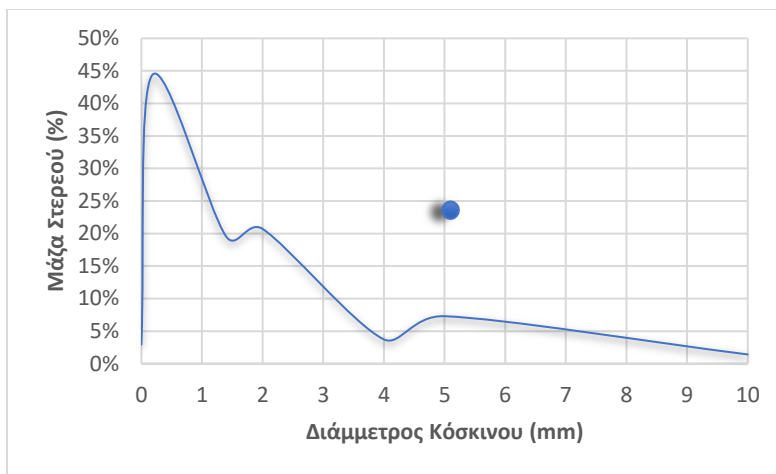


Σχήμα 25: Κόκκοι από κάθε κόσκινο, αρχίζοντας από το πρώτο αριστερά το μεγαλύτερο (10mm).

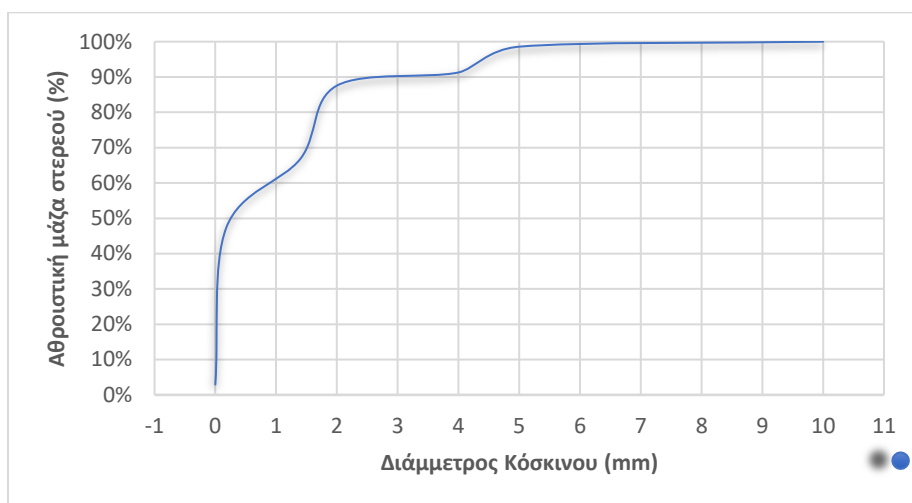
Το 33.16% της μάζας, μάζα που κατακρατήθηκε στα 2mm και πάνω, μπορεί να θεωρηθεί χοντρόκοκκο. Ακολουθούν τα διαγράμματα 3, 4 και 5, το ιστόγραμμα, η καμπύλη συχνότητας και της αθροιστικής συχνότητας αντίστοιχα.



Διάγραμμα 3: Ιστόγραμμα Κοκκομετρίας



Διάγραμμα 4: Καμπύλη συχνότητας



Διάγραμμα 5: Καμπύλη αθροιστικής συχνότητας

Από το διάγραμμα 4, μπορεί να επιβεβαιωθεί πως το 33.16% είναι χοντρόκοκκο καθότι υπάρχει αρνητική ασυμμετρία. Επίσης, από το διάγραμμα 5 και από τις στατικές παραμέτρους βρέθηκε πως η ταξιθέτηση των κόκκων είναι καλή στα 0.18mm και στην βάση, από τα 1.4mm και πάνω η ταξιθέτηση θεωρείται πτωχή. Μετά το κοσκίνισμα, έγινε άλεση στα 7 από τα 8 δείγματα κόκκων ώστε να προχωρήσουν στο στάδιο του χαρακτηρισμού. Το 8^ο δείγμα, κόκκοι μεγαλύτεροι των 10mm, δεν προχώρησε σε χαρακτηρισμό διότι θεωρήθηκε αμελητέο το ποσοστό μάζας του (1.42%) και επίσης περιείχε μεγάλα κομμάτια από κόκκαλα που δύσκολα μπορούσαν να αλεστούν.



Σχήμα 26: Αλεσμένοι κόκκοι, αρχίζοντας από το πρώτο αριστερά (5mm).

Τα αποτελέσματα του χαρακτηρισμού των δειγμάτων φαίνονται στον Πίνακα 24.

Πίνακας 24: Χαρακτηρισμός κοκκομετρίας.

	5mm	4mm	2mm	1.4mm	0.18mm	<0.18mm
Έλαια (%)	7.72	10.42	9.57	11.11	9.07	10.46
Υδατοδιαλυτά στερεά (%)	40.65	37.82	38.90	38.32	41.11	42.27
Κυτταρίνη (%)	12.68	17.66	18.84	20.24	13.85	10.25
Ημικυτταρίνη (%)	13.22	9.50	6.03	6.56	9.97	9.57
Άμυλο (%)	3.48	3.93	10.73	6.92	7.59	10.73
Διαλυτή λιγνίνη (%)	1.23	1.02	1.12	1.05	1.10	1.28
Αδιάλυτο υπόλειμμα (%)	10.65	13.19	10.87	10.19	8.95	7.71
Πτητικά στερεά (%)	90.58	88.96	91.21	90.36	90.56	91.64

Ο κύριος λόγος που έγινε ο χαρακτηρισμός είναι για την εύρεση της περιεκτικότητας του κάθε δείγματος κόκκου σε άμυλο (starch) και κυτταρίνη (cellulose), έτσι ώστε εάν υπάρχει διαφορά σε συγκεκριμένα μεγέθη κόκκων να αξιοποιηθεί. Όπως φαίνεται, δεν υπάρχει συγκεκριμένο μέγεθος κόκκων που να ξεχωρίζει, αλλά αξίζει να σημειωθεί πως η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κυτταρίνη βρέθηκε στα 1.4mm, **20.24%** και όσον αφορά το άμυλο, η υψηλότερη περιεκτικότητα βρέθηκε στα 2mm καθώς και στα <0.18mm, **10.73%**. Παρόλο που τα δείγματα φανέρωσαν μεγάλες περιεκτικότητες δεν θεωρήθηκε απαραίτητη η περαιτέρω ανάλυσή τους, διότι ο Πίνακας 24 δείχνει ότι στο κόσκινο των 1.4mm συγκρατείται μόνο το 20% της μάζας. Το γεγονός αυτό, δεν ωφελεί την παραγωγή βιοαιθανόλης σε βιομηχανική κλίμακα καθότι το κόστος εξοπλισμού ενός κόσκινου, για να μπορεί να ανταπεξέλθει σε μεγάλες ποσότητες και να κοσκινήσει στα 1.4mm, θα είναι πολύ υψηλό. Επιπλέον, πριν την κοσκίνιση το στερεό πρώτα πρέπει να περνάει από άλεση και ξήρανση, πράγμα που οδηγεί στην αύξηση του κόστους παραγωγής. Εν τέλει, μπορεί να γίνει σύγκριση με τον χαρακτηρισμό του δείγματος πριν το κοσκίνισμα (Πίνακας 25).

Πίνακας 25: Χαρακτηρισμός δείγματος, πριν το κοσκίνισμα.

Έλαια (%)	11.03
Υδατοδιαλυτά στερεά (%)	37.69
Κυτταρίνη (%)	17.63
Ημικυτταρίνη (%)	13.81
Άμυλο (%)	4.55
Διαλυτή λιγνίνη (%)	1.23
Αδιάλυτο υπόλειμμα (%)	9.16
Πτητικά στερεά (%)	88.28

Παρατηρείται, λοιπόν, πως ακόμα και χωρίς κοσκίνισμα η περιεκτικότητα του αμύλου και της κυτταρίνης ήταν κοντά στα επίπεδα των κοσκινισμένων δειγμάτων.

Στην δεύτερη περίπτωση, όπου έγινε χρήση κόσκινου 8mm, εξετάστηκε η τροφοδοσία “Δ” αλλά μόνο ως προς την διαφορά στη σύσταση του κοσκινισμένου και μη. Αφορμή για τη μελέτη της κοσκινισμένης τροφοδοσίας στάθηκε ένα μηχανικό πρόβλημα που παρατηρήθηκε όταν πέρασαν στο σύστημα των βιοαντιδραστήρων μεγάλα κουκούτσια και κόκκαλα. Αρκετή ποσότητα από την μικτή τροφοδοσία πέρασε από κοσκίνισμα και στην συνέχεια χαρακτηρίστηκε το κοσκινισμένο (< 8mm), το διαχωρισμένο (> 8mm) και το μη κοσκινισμένο στερεό. Τα αποτελέσματα από το χαρακτηρισμό των δειγμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 26.

Πίνακας 26: Χαρακτηρισμός μη κοσκινισμένου, κοσκινισμένου (< 8mm) και διαχωρισμένου

	Μη κοσκινισμένο	Διαχωρισμένο (> 8mm)	Κοσκινισμένο (< 8mm)
Έλαια (%)	11.82	2.92	7.46
Υδατοδιαλυτά στερεά (%)	34.97	38.33	33.02
Κυτταρίνη (%)	23.80	9.82	20.94
Ημικυτταρίνη (%)	4.41	28.65	12.94
Άμυλο (%)	3.78	0.43	4.73
Διαλυτή λιγνίνη (%)	1.2	1.2	1.97
Αδιάλυτο υπόλειμμα (%)	10.74	16.72	10.71
Πτητικά στερεά (%)	87.22	89.15	86.62

Γενικά, παρατηρείται μεγάλη αλλαγή στην περιεκτικότητα του κοσκινισμένου δείγματος. Συγκεκριμένα η περιεκτικότητα σε κυτταρίνη στο χοντρόκοκκο στερεό που διαχωρίστηκε (> 8mm) είναι στο 9,82%, ενώ στο κοσκινισμένο η περιεχόμενη κυτταρίνη είναι διπλάσια, στα 20,94%. Το άμυλο συνήθως είναι σε χαμηλά επίπεδα για οικιακά απόβλητα, κάτω από 10%. Όπως φαίνεται, τα κουκούτσια και τα κόκκαλα που διαχωρίστηκαν δεν περιέχουν άμυλο, 0,43%, που σημαίνει πως το περισσότερο άμυλο εντοπίζεται στην λεπτόκοκκη μάζα, 4,73%. Αξίζει να σημειωθεί επίσης η μείωση της ημικυτταρίνης (από 28,65% σε 12,94%), πράγμα που δείχνει ότι ίσως στο χοντρόκοκκο στερεό υπάρχει πράσινη βιομάζα (κλαδιά, ξύλο, φυτά κτλ.). Και στις δύο περιπτώσεις, το κοσκίνισμα, μέχρι και τα 2 mm, δείχνει να ανεβάζει το ποσοστό του αμύλου κάνοντας το πιο αξιοποιήσιμο και επιθυμητό για την διεργασία.

8.3 Πρωτογενή Αποτελέσματα

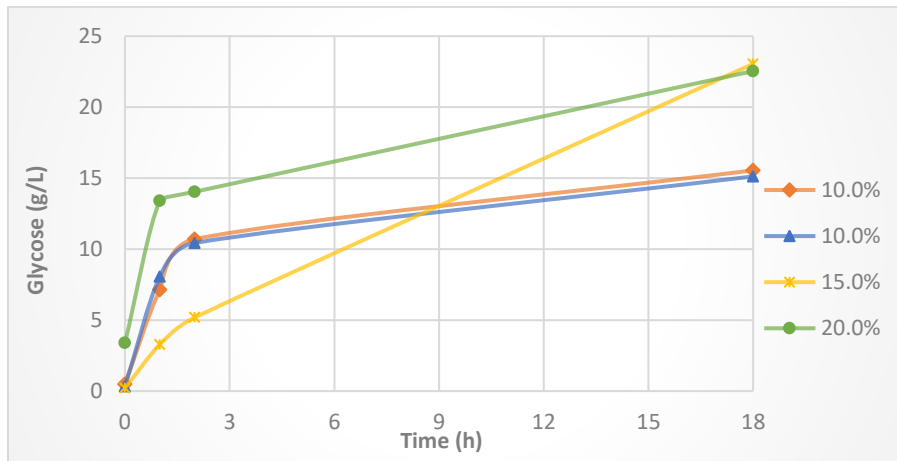
8.3.1 Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF

Αρχικά, συνοψίζεται στους Πίνακες 27 και 28 η παραγωγή γλυκόζης ανά ώρα, για τις 4 δοκιμές που έγιναν 10% (x2), 15% και 20%, από την υδρόλυση του αμύλου και της κυτταρίνης αντίστοιχα.

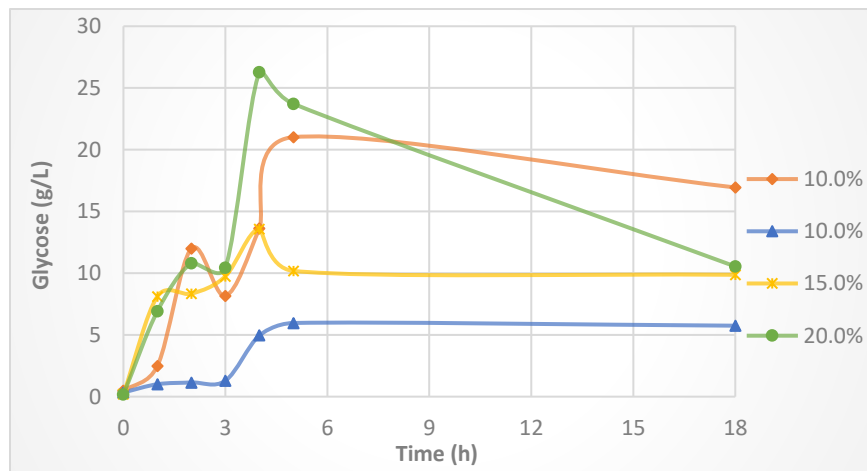
Πίνακας 27: Παραγωγή γλυκόζης από υδρόλυση αμύλου (50°C, 18h, 40μL/g NS22109)

	Τροφοδοσία	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	Γλυκόζη στην 1 ώρα (g/L)	Γλυκόζη στις 2 ώρες (g/L)	Γλυκόζη στις 18 ώρες (g/L)
Δοκιμή 1	“Α”	10%	7.13	10.71	15.55
Δοκιμή 2	“Β”	10%	8.06	10.44	15.12
Δοκιμή 3	“Γ”	15%	3.27	5.19	23.05
Δοκιμή 4	“Δ”	20%	13.39	14.04	22.54

Αντίστοιχα όπως και στους Πίνακες 27 και 28, στα διαγράμματα 6 και 7 παρουσιάζεται η παραγόμενη γλυκόζη.



Διάγραμμα 6: Παραγωγή γλυκόζης από υδρόλυση αμύλου (65°C, 18h, 40μL/g NS22109)



Διάγραμμα 7: Παραγωγή γλυκόζης από υδρόλυση κυτταρίνης (50°C, 18h, 175μL/g NS22177)

Πίνακας 21: Σύσταση %(w/w) κάθε δείγματος.

	Σύσταση Τροφοδοσίας "Α" (%w/w)	Σύσταση Τροφοδοσίας "Β" (%w/w)	Σύσταση Τροφοδοσίας "Γ" (%w/w)	Σύσταση Τροφοδοσίας "Δ" (%w/w)	Σύσταση Τροφοδοσίας "Ε" (%w/w)	Σύσταση Τροφοδοσίας "Ζ" (%w/w)	Σύσταση Τροφοδοσίας "Η" (%w/w)
Ολικά Στερεά - TS	95.73 ± 0.001	95.94 ± 0.001	94.10 ± 0.008	96.31 ± 0.007	96.39 ± 0.002	94.61 ± 0.006	89.11 ± 0.004
Υγρασία – Moisture	4.27 ± 0.04	4.05 ± 0.03	5.89 ± 0.02	3.69 ± 0.03	3.61 ± 0.03	5.39 ± 0.02	10.89 ± 0.03
Έλαια – Oils	11.03 ± 0.14	12.54 ± 0.14	12.99 ± 0.14	11.82 ± 0.14	8.84 ± 0.14	13.71 ± 0.14	13.56 ± 0.14
Υδατοδιαλυτά Στερεά – WS	42.36 ± 0.01	36.93 ± 0.09	40.53 ± 0.15	39.66 ± 0.05	37.43 ± 0.042	43.74 ± 0.03	38.44 ± 0.54
Πτητικά Στερεά – VS	88.27 ± 0.005	86.75 ± 0.019	88.41 ± 0.0051	87.22 ± 0.014	87.39 ± 0.006	87.82 ± 0.03	93.03 ± 0.01
Τέφρα – ASH	11.72 ± 0.04	13.25 ± 0.13	11.58 ± 0.04	12.78 ± 0.1	12.61 ± 0.04	12.18 ± 0.18	6.97 ± 0.16
Κυτταρίνη – Cellulose	13.63 ± 0.12	19.67 ± 0.1	18.66 ± 0.13	23.8 ± 0.14	16.21 ± 0.11	13.88 ± 0.2	15.37 ± 0.4
Ημικυτταρίνη – Hemicellulose	33.81 ± 0.03	6.75 ± 0.18	3.94 ± 0.04	4.41 ± 0.26	4.21 ± 0.48	3.93 ± 0.6	8.69 ± 0.31
Άμυλο – Starch	3.55 ± 0.12	2.86 ± 0.28	4.49 ± 0.36	3.78 ± 0.25	4.49 ± 0.08	3.42 ± 0.06	7.39 ± 0.33
Διαλυτή Λιγνίνη – ASL	1.23 ± 0.05	1.35 ± 0.14	1.38 ± 0.08	1.2 ± 0.02	0.97 ± 0.06	0.98 ± 0.08	1.01 ± 0.04
Μη διαλυτό Υπόλειμμα- AIR	9.16 ± 0.11	11.83 ± 0.09	10.96 ± 0.14	10.75 ± 0.11	16.14 ± 0.2	6.63 ± 0.09	8.89 ± 0.05

Πίνακας 28: Παραγωγή γλυκόζης από υδρόλυση κυτταρίνης (50°C, 18h, 175μL/g NS22177 και ανάδευση)

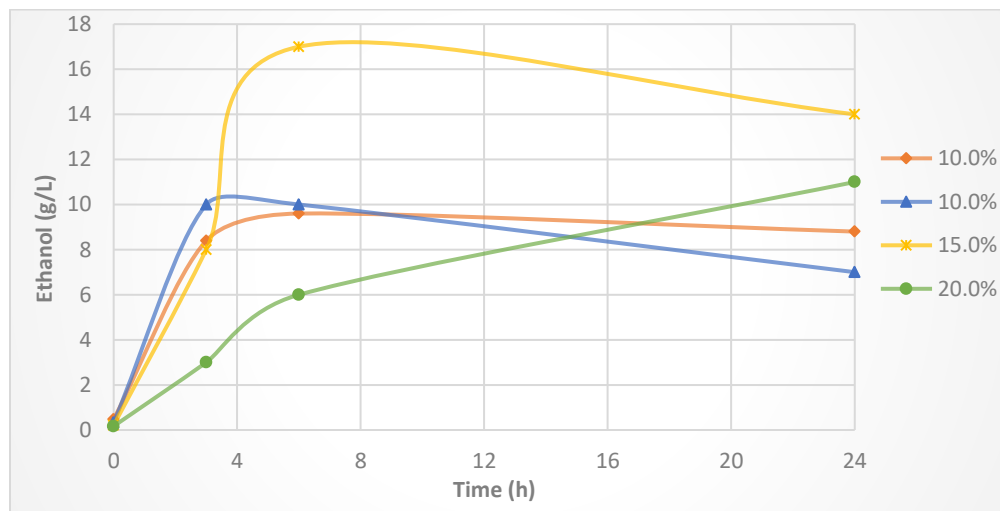
	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	Γλυκόζη στην 1 ώρα (g/L)	Γλυκόζη στις 2 ώρες (g/L)	Γλυκόζη στις 3 ώρες (g/L)	Γλυκόζη στις 4 ώρες (g/L)	Γλυκόζη στις 5 ώρες (g/L)	Γλυκόζη στις 18 ώρες (g/L)
Δοκιμή 1	10%	2.49	12.00	8.17	13.63	21.02	16.94
Δοκιμή 2	10%	1.01	1.15	1.29	4.96	5.96	5.75
Δοκιμή 3	15%	8.12	8.33	9.75	13.59	10.18	9.87
Δοκιμή 4	20%	6.92	10.80	10.45	26.28	23.72	10.54

Από το διάγραμμα 6 προκύπτει ότι κατά την υδρόλυση του αμύλου η παραγωγή της γλυκόζης αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου. Πιθανώς οι 18 ώρες να μην είναι αρκετές για την διάσπαση του πολυσακχαρίτη και η διάσπαση του να συνεχίζεται και κατά την υδρόλυση της κυτταρίνης. Η υψηλότερη συγκέντρωση παραγόμενης γλυκόζης από την υδρόλυση του αμύλου μετρήθηκε, στις 18 ώρες για φόρτιση στερεού 15% και 20% (22.75-23.05 g/L). Στο διάγραμμα 7 όμως, φαίνεται να υπάρχει μέγιστη παραγωγή γλυκόζης για όλες τις φορτίσεις μέχρι τις πρώτες 4-5 ώρες. Συγκεκριμένα, η μέγιστη συγκέντρωση παραγόμενης γλυκόζης από την υδρόλυση της κυτταρίνης μετρήθηκε, στις 4 ώρες για φόρτιση στερεού 20%, στα 26.28 g/L.

Μετά το στάδιο της υδρόλυσης ακολούθησε η ζύμωση του μίγματος. Ο Πίνακας 29 και το Διάγραμμα 8, παρουσιάζει τη χρονική παραγωγή της βιοαιθανόλης εκφρασμένη σε g/L.

Πίνακας 29: Παραγωγή αιθανόλης από ζύμωση σακχάρων (35°C, 24h)

	Τροφοδοσία	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	Αιθανόλη στις 3 ώρες (g/L)	Αιθανόλη στις 6 ώρες (g/L)	Αιθανόλη στις 24 ώρες (g/L)
Δοκιμή 1	“Α”	10%	8.4	9.6	8.8
Δοκιμή 2	“Β”	10%	10	10	7
Δοκιμή 3	“Γ”	15%	8	17	14
Δοκιμή 4	“Δ”	20%	3	6	11



Διάγραμμα 8: Παραγωγή αιθανόλης από ζύμωση σακχάρων (35°C, 24h, ανάδευση)

Στις πρώτες 5-6 ώρες της ζύμωσης (Διάγραμμα 8) παρατηρείται αύξηση στην συγκέντρωση της αιθανόλης, ενώ μετέπειτα φαίνεται να υπάρχει μια ελαφρά μείωση. Η παρατήρηση αυτή οδηγεί στο συνειρμό, πως η μαγιά στις παρούσες συνθήκες ζύμωσης δεν χρειάζεται παραπάνω από 7 ώρες για την μέγιστη παραγωγή βιοκαυσίμου. Στην δοκιμή 3, για φόρτιση στερεού 15%, στις 6 ώρες φαίνεται να είναι η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης, στα 17 g/L.

8.3.2 Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων σε εργαστηριακή κλίμακα

Στα πειράματα αυτά, σκοπός ήταν η μελέτη της απόδοσης των ενζύμων, για την διάσπαση του αμύλου, σε διαφορετικές θερμοκρασίες από αυτή που προτεινόταν από την εταιρία παρασκευής τους Novozymes (65°C). Στον Πίνακα 30 φαίνεται η παραγωγή της γλυκόζης από το ένζυμο (NS22109) στους 65°C για φόρτιση στερεού 10% στις 5 ώρες, καθότι μέχρι εκείνη την χρονική στιγμή είχε παρατηρηθεί η μέγιστη συγκέντρωση γλυκόζης.

Πίνακας30: Υδρόλυση αμύλου από ένζυμο NS22109 στους 65°C για φόρτιση στερεού 10% στις 2 ώρες.

Δοκιμή	Γλυκόζη (g/L)
1.1	6.463
1.2	6.387

Ο Πίνακας 31 δείχνει την παραγόμενη γλυκόζη από την διάσπαση του αμύλου με το ένζυμο NS22109 στους 50°C για φόρτιση στερεού 10%.

Πίνακας 31: Υδρόλυση αμύλου από ένζυμο (NS22109) στους 50°C για φόρτιση στερεού 10% στις 2 ώρες.

Δοκιμή	Γλυκόζη (g/L)
2.1	6.576
2.2	6.284

Τα αποτελέσματα του Πίνακα 32 και 33, συγκριτικά δεν έχουν μεγάλη απόκλιση. Συγκεκριμένα, ο μέσο όρο του κάθε πίνακα είναι για την πρώτη δοκιμή **6.425 g/L**, ενώ για την δεύτερη **6.430 g/L**. Όπως διαπιστώθηκε, το ένζυμο NS22109 μπορεί να αποδώσουν εξίσου στους 50°C και στους 65°C. Έτσι, σχεδιάστηκε το τρίτο πειραματικό σετ, όπου μελετήθηκε η υδρόλυση του αμύλου και της κυτταρίνης, στους 50°C, και στο 3^ο δείγμα έγινε ταυτόχρονη χρήση και των δύο ενζύμων (NS22109 & NS22177). Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 32.

Πίνακας 32: Υδρόλυση αμύλου και κυτταρίνης για φόρτιση στερεού 10% στους 50°C για 5 ώρες.

Δοκιμή	Γλυκόζη (g/L)	Ένζυμο	Θερμοκρασία (°C)
3.1	11.39	NS22109	50 °C
3.2	11.09	NS22109	50 °C
3.3	4.93	NS22177	50 °C
3.4	5.74	NS22177	50 °C
3.5	15.64	NS22109 & NS22177	50 °C
3.6	10.58	NS22109 & NS22177	50 °C

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του Πίνακα 31 και του Πίνακα 32, προκύπτει ότι η αύξηση του χρόνου υδρόλυσης οδήγησε σε σημαντική αύξηση της παραγόμενης γλυκόζης κατά 42%. Το τέταρτο πειραματικό σετ είναι επανάληψη του τρίτου, με τη διαφορά ότι η θερμοκρασία της διεργασίας ήταν στους 35°C. Στον πίνακα 33 φαίνονται τα αποτελέσματα.

Πίνακας 33: Υδρόλυση αμύλου και κυτταρίνης για φόρτιση στερεού 10% στους 35°C για 5 ώρες.

Δοκιμή	Γλυκόζη (g/L)	Ένζυμο	Θερμοκρασία (°C)
4.1	6.3	NS22109	35 °C
4.2	7.33	NS22109	35 °C
4.3	5.04	NS22177	35 °C
4.4	5.09	NS22177	35 °C
4.5	13.43	NS22109 & NS22177	35 °C
4.6	10.12	NS22109 & NS22177	35 °C

Παρατηρείται, πως η απόδοση της αμυλάσης (NS22109) μειώνεται στους 35°C. Στους 50°C, παράγονται, κατά μέσο όρο, **11.241 g/L** ενώ στους 35°C, **6.813 g/L**, παρατηρείται δηλαδή μια μείωση κατά 40%. Στην συνολική διεργασία, όπου γίνεται διαδοχική χρήση των ενζύμων, η παραγωγή της γλυκόζης στους 50°C, είναι στα **13.133 g/L**, ενώ στους 35°C, στα **11.772 g/L**, μείωση που αντιστοιχεί σε 10%. Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται πως το ένζυμο NS22109 δεν είναι τόσο αποδοτικό στους 35°C. Παρόλα αυτά, στην περίπτωση όπου μετά την υδρόλυση του αμύλου ακολούθησε η υδρόλυση της κυτταρίνης (δοκιμές 3.5, 3.6, 4.5 και 4.6), παρατηρείται πως η θερμοκρασία δεν επηρεάζει τόσο στην συνολική απόδοση.

Η πιο πάνω παρατήρηση οδήγησε στο πέμπτο πειραματικό σετ, όπου μελετήθηκε η ταυτόχρονη υδρόλυση και ζύμωση, σε δύο θερμοκρασίες, στους 50°C και στους 35°C. Στον πίνακα 34, παρουσιάζεται η παραγωγή αιθανόλης σε κάθε περίπτωση.

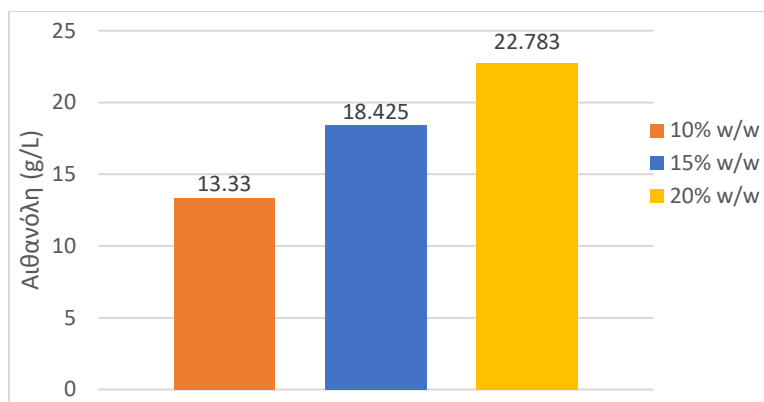
Πίνακας 34: Παραγωγή αιθανόλης με ταυτόχρονη υδρόλυση και ζύμωση, για 10% φόρτιση στερεού, στους 50°C και 35°C και 5 ώρες.

Δοκιμή	Αιθανόλη (g/L)	Θερμοκρασία (°C)
5.1	5.5	35 °C
5.2	5.3	35 °C
5.3	7.2	50 °C
5.4	4.8	50 °C

Η μέση αιθανόλη που παράγεται στους 50 °C, φαίνεται να είναι στα **6 g/L**, ενώ στους 35 °C, στα **5.4 g/L**. Οπότε, παρατηρείται ότι η θερμοκρασία στην συνολική διεργασία δεν επηρεάζει σημαντικά την απόδοση των ενζύμων, όσο επηρεάζει αν τα ένζυμα δρουν ξεχωριστά. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του Πίνακα 10 με αυτά του Πίνακα 33 προκύπτει μια πλήρης μετατροπή της παραγόμενης γλυκόζης σε αιθανόλη. Έτσι, επιλέγεται να γίνει μια τελευταία δοκιμή 6, όπου εξετάζεται η επίδραση της φόρτισης στερεού στην απόδοση της ταυτόχρονης υδρόλυσης και ζύμωσης. Ο πίνακας 35, δείχνει την παραγόμενη αιθανόλη για αυξανόμενη φόρτιση στερεού και στο διάγραμμα 9 παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της κάθε περίπτωσης.

Πίνακας 35: Παραγωγή αιθανόλης με ταυτόχρονη υδρόλυση και ζύμωση, για διαφορετικό στερεό φορτίο, στους 35°C και 18 ώρες.

Δοκιμή	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	Αιθανόλη (g/L)
6.1	10	14.42
6.2	10	12.18
6.3	10	13.86
6.4	10	12.86
6.5	15	14.47
6.6	15	20.15
6.7	15	19.79
6.8	15	19.29
6.9	20	19.45
6.10	20	27.4
6.11	20	25.83
6.12	20	18.45



Διάγραμμα 9: Μέση παραγωγή αιθανόλης, για φόρτιση στερεών 10% (SSF, 35°C).

Είναι σαφές και πάλι η επίδραση του χρόνου παραμονής, καθώς αύξηση του χρόνου από τις 5h στις 18h οδήγησε σε σημαντική αύξηση της παραγόμενης αιθανόλης. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και βιβλιογραφικά καθώς ο απαραίτητος χρόνος που απαιτείται για την υδρόλυση είναι συνήθως 12-18h για όλα τα είδη των μικροοργανισμών αλλά και για τον *S. Cerevisiae*. Είναι ξεκάθαρο επίσης πως η υψηλότερη παραγωγή αιθανόλης παρατηρείται για 20%w/w στερεού, στα **22.783 g/L**. Για 15%w/w στερεού και 10%w/w στερεού, η μέση παραγωγή αιθανόλης ήταν στα **18.425 g/L** και **13.33 g/L**, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό ήταν αναμενόμενο καθώς υψηλότερη φόρτιση στερεών μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερη διάσπαση υδατανθράκων σε όρους μάζας και άρα υψηλότερη συγκέντρωση γλυκόζης και κατ' επέκταση αιθανόλης.

8.3.3 Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF

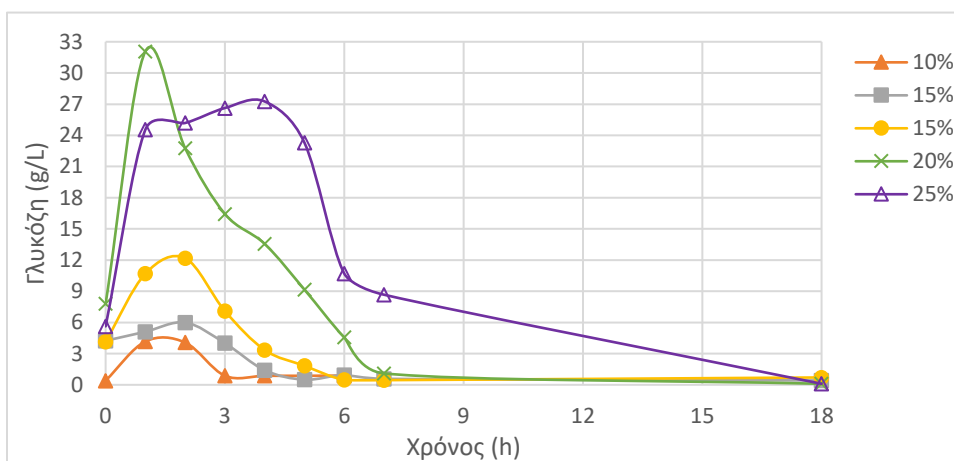
Στα πειράματα της ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF), γίνεται προσθήκη της μαγιάς και των ενζύμων την ίδια ώρα και από τότε ξεκινάει ο χρόνος της διεργασίας. Στον Πίνακα 36 και 37, φαίνεται η συγκέντρωση της γλυκόζης και της αιθανόλης, αντίστοιχα, για το παρατηρούμενο χρονικό διάστημα για την περίπτωση των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν σε πιλοτική κλίμακα. Επίσης οι συγκεντρώσεις απεικονίζονται στα διαγράμματα 10 και 11.

Πίνακας 36: Συγκέντρωση γλυκόζης κατά τα πιλοτικά πειράματα SSF στους 35°C με αυξανόμενη φόρτιση στερεού.

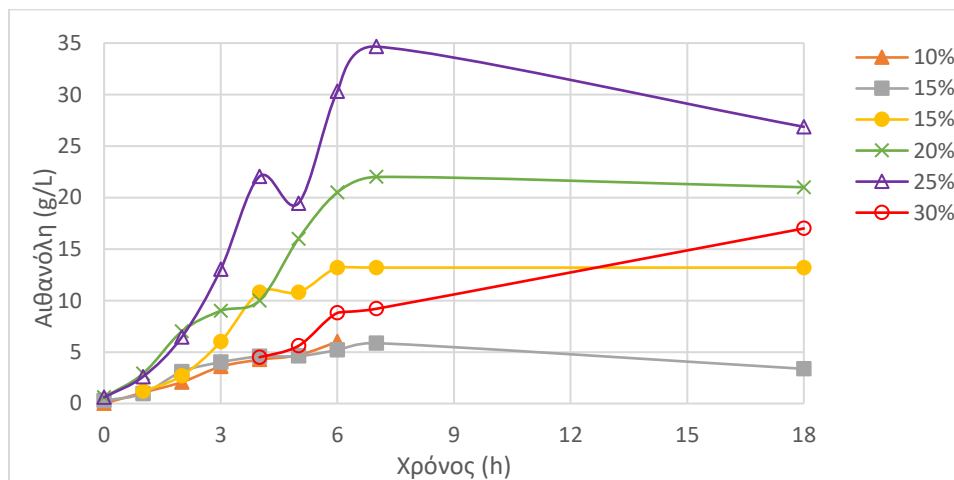
	Τροφοδοσία	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	18h
Δοκιμή 5	"Γ"	10%	0.4	4.17	4.07	0.87	0.87	0.89	0.89	-	-
Δοκιμή 6	"Β"	15%	4.24	5.10	5.9	4.01	1.41	0.50	0.95	0.58	0.42
Δοκιμή 7	"Β"	15%	4.15	10.69	12.18	7.10	3.35	1.83	0.47	0.45	0.71
Δοκιμή 8	"Α"	20%	7.80	32.08	22.76	16.44	13.56	9.16	4.56	1.1	0.1
Δοκιμή 9	"Ε"	25%	5.63	24.55	25.19	26.63	27.26	23.29	10.7	8.67	0.1

Πίνακας 37: Συγκέντρωση αιθανόλης κατά τα πιλοτικά πειράματα SSF στους 35°C με αυξανόμενη φόρτιση στερεού.

Τροφοδοσία	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	18h	
Δοκιμή 5	"Γ"	10%	0	1.06	2.08	3.58	4.26	4.7	6	-	-
Δοκιμή 6	"Β"	15%	0.28	0.96	3.1	4.01	4.57	4.6	5.19	5.87	3.37
Δοκιμή 7	"Β"	15%	0	1.2	2.7	6	10.8	10.8	13.2	13.2	13.2
Δοκιμή 8	"Α"	20%	0.6	2.9	7	9	10	16	20.5	22	21
Δοκιμή 9	"Ε"	25%	0.6	2.6	6.46	13.03	22.06	19.45	30.31	34.66	26.87
Δοκιμή 10	"Δ"	30%	-	-	-	-	4.5	5.6	8.8	9.2	17



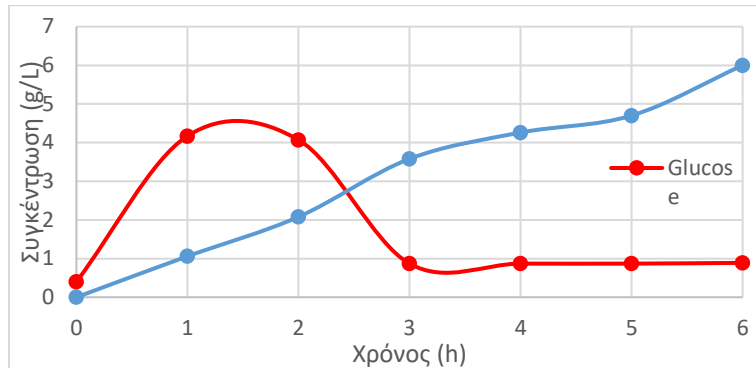
Διάγραμμα 10: Συγκέντρωση γλυκόζης κατά τα πιλοτικά πειράματα SSF στους 35°C με αυξανόμενη φόρτιση στερεού.



Διάγραμμα 11: Συγκέντρωση αιθανόλης κατά τα πιλοτικά πειράματα SSF στους 35°C με αυξανόμενη φόρτιση στερεού.

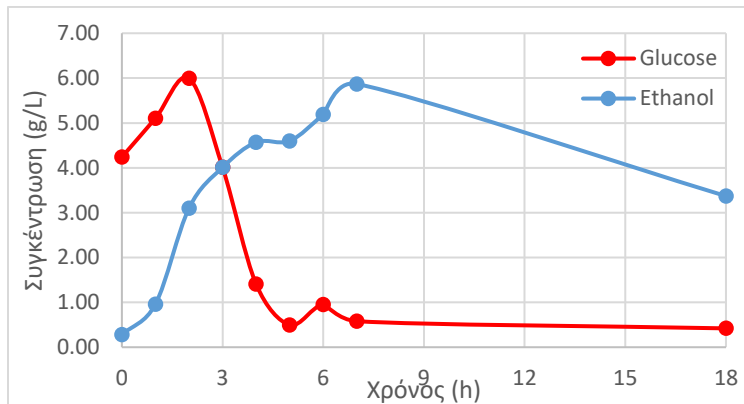
Παρατηρείται πως στις 2 ώρες παράγεται η μέγιστη γλυκόζη από τη διάσπαση των πολυσακχαριτών, ωστόσο τις επόμενες 5 ώρες (από τις 2 έως τις 7 ώρες επεξεργασίας) η παραγωγή γλυκόζης μειώνεται ή διαφορετικά αυξάνεται η κατανάλωση της από μικροοργανισμούς για την παραγωγή αιθανόλης. Μέγιστη συγκέντρωση γλυκόζης, επιτεύχθηκε για φόρτιση στερεού απόβλητου 20% και 25%, στα **32.08 g/L** και **27.26 g/L** αντίστοιχα. Η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης παρατηρείται στις 6 ώρες. Η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης

μετρήθηκε για φορτίο 20% και 25%, στα **22 g/L** και **34.66 g/L**. Μετά τις 6 ώρες η συγκέντρωση της αιθανόλης παραμένει σταθερή ή μειώνεται ελαφρώς. Στα παρακάτω διαγράμματα (12-16) φαίνεται η συγκέντρωση της γλυκόζης και της αιθανόλης για κάθε δοκιμή ξεχωριστά.

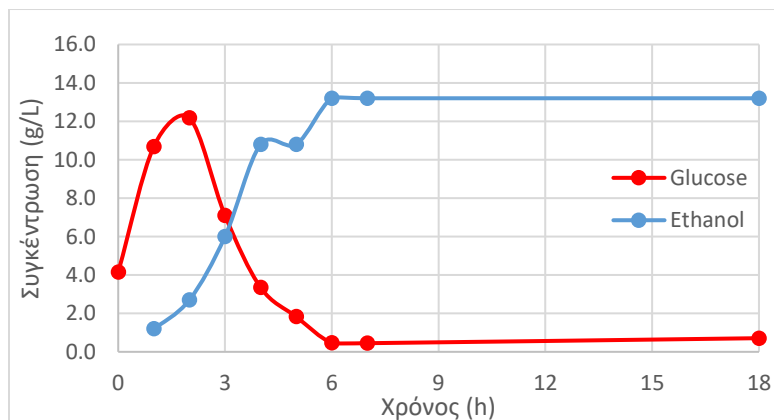


Διάγραμμα 12: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης για την Δοκιμή 5 (10% φόρτιση στερεού, SSF στους 35°C).

Στην δοκιμή 5, παρατηρείται πως η παραγωγή αιθανόλης συνεχίζει και μετά τις 6 ώρες. Ωστόσο δεν ήταν εφικτός ο υπολογισμός της, καθότι εμφανίστηκε τεχνικό πρόβλημα στον αντιδραστήρα εμποδίζοντας έτσι την ανάδευση του μίγματος. Αιτία του τεχνικού προβλήματος ήταν η ανομοιομορφία της τροφοδοσίας, αφού περιείχε κομμάτια από κόκκαλα και κουκούτσια.

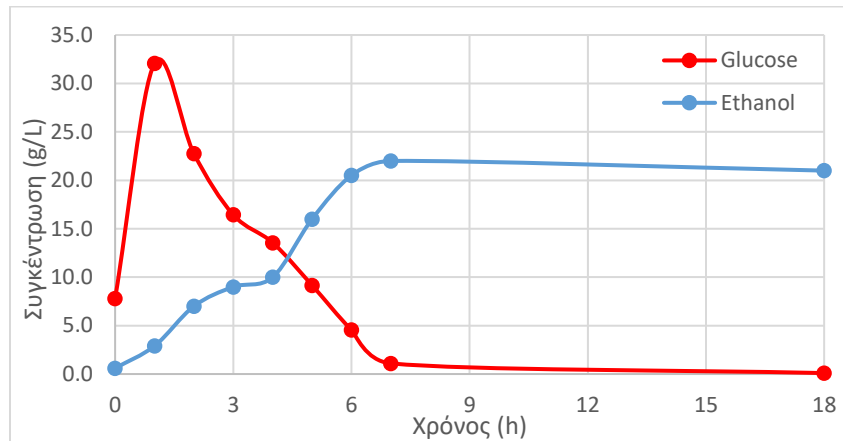


Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης για την Δοκιμή 6 (15% φόρτιση στερεού, SSF στους 35°C).

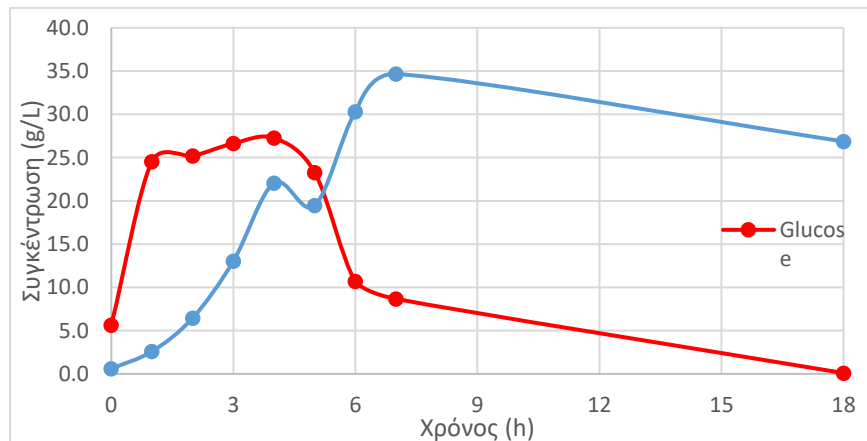


Διάγραμμα 14: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης για την Δοκιμή 7 (15% φόρτιση στερεού, SSF στους 35°C).

Στις δοκιμές 6 και 7, οι συνθήκες του πειράματος ήταν ίδιες. Οι δύο δοκιμές συγκρίνονται για την απόδοση διαφορετικών ενζύμων, το mix cocktails 1 (NS22109 & NS22177) και το mix cocktails 2 (NS22109 & NS87014). Παρατηρείται, πως η απόδοση ως προς το χρόνο της διεργασίας και στις δύο περιπτώσεις, είναι παρόμοια. Αλλά, αξίζει να σημειωθεί, πως ως προς την παραγωγή της αιθανόλης, το mix cocktails 2 είχε περίπου διπλάσια απόδοση από το mix cocktails 1.



Διάγραμμα 15: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης για την Δοκιμή 8 (20% φόρτιση στερεού στους, SSF στους 35°C).



Διάγραμμα 16: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης για την Δοκιμή 9 (25% φόρτιση στερεού στους, SSF στους 35°C).

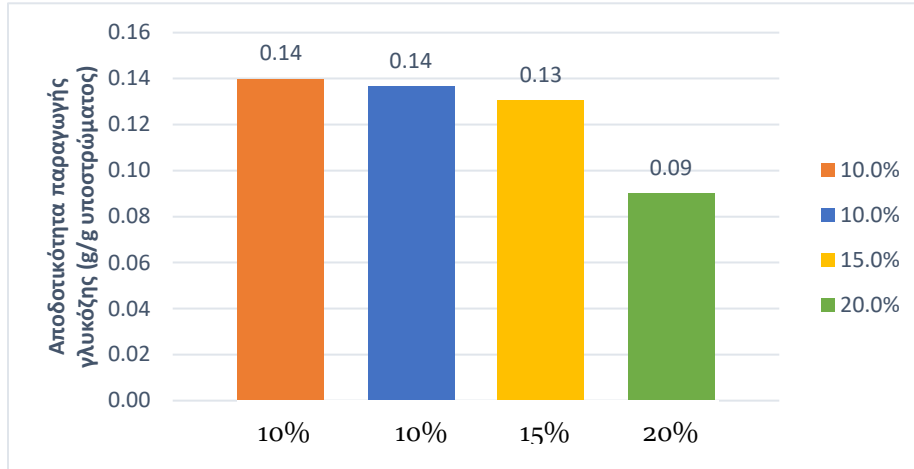
Στην δοκιμή 9 (20% φόρτιση στερεού), φαίνεται ότι η συγκέντρωση της γλυκόζης στο χρονικό διάστημα της 1 ώρας έως τις 5 ώρες παραμένει σταθερή. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ποσότητα του στερεού ήταν αρκετή και έπρεπε να γίνει η προσθήκη της τροφοδοσίας σε 2 δόσεις για να αποφευχθούν τυχόν μηχανικά προβλήματα στην ανάδευση του μίγματος.

8.4 Δευτερογενή αποτελέσματα

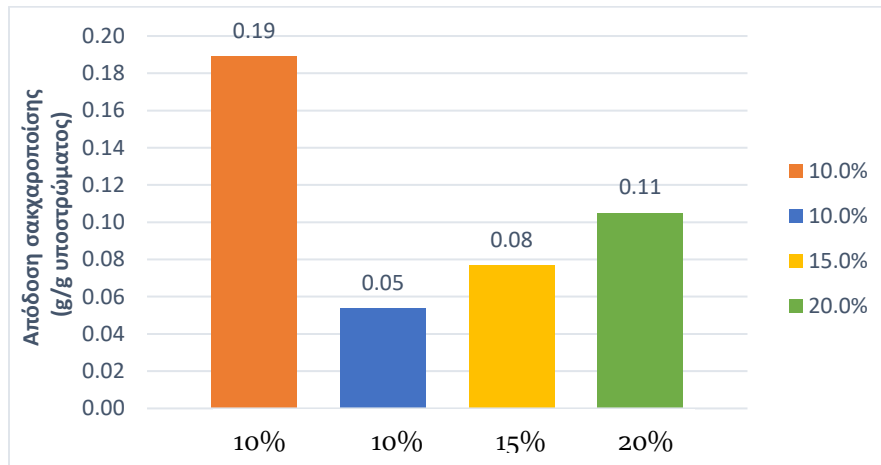
8.4.1 Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF

Στην συνέχεια, συγκρίνεται η αποδοτικότητα παραγωγής γλυκόζης για τα ένζυμα NS22109 (Διάγραμμα 17) και NS22177 (Διάγραμμα 18) για κάθε φόρτιση στερεών. Η αποδοτικότητα παραγωγής γλυκόζης υπολογίζεται διαιρώντας την συνολική μάζα της παραγόμενης γλυκόζης με τα συνολικά στερεά που τροφοδοτήθηκαν (g γλυκόζης/g TS) σύμφωνα με την εξίσωση 1:

$$\text{Αποδοτικότητα παραγωγής γλυκόζης} = \frac{\text{Μάζα γλυκόζης που παράγεται (g)}}{\text{Μάζα ξηρής πρώτης ύλης που επεξεργάζεται (g)}} \quad (\text{Εξίσωση 1})$$



Διάγραμμα 17: Αποδοτικότητα παραγωγής γλυκόζης (g/g υποστρώματος) από το ένζυμο NS22109 στους 65°C και 18h.



Διάγραμμα 18: Αποδοτικότητα παραγωγής γλυκόζης (g/g υποστρώματος) από το ένζυμο NS22177 στους 50°C και 18h.

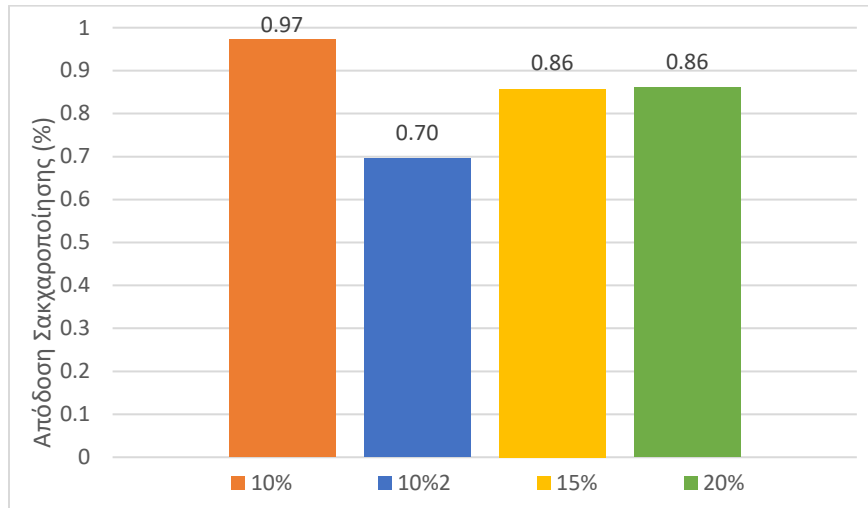
Από τα διαγράμματα 17 και 18, φαίνεται πως η υψηλότερη αποδοτικότητα παραγωγής γλυκόζης έγινε για φόρτιση στερεού 10%. Παρόλα αυτά, η δοκιμή 2, αν και είχε φόρτιση στερεού 10%, δεν απέδωσε στο στάδιο της υδρόλυσης της κυτταρίνης όπως ήταν αναμενόμενο να αποδώσει. Πιθανή αιτία, είναι το τεχνικό πρόβλημα που εμφανίστηκε στον αντιδραστήρα στην 4^η ώρα με αποτέλεσμα να είχε σταματήσει η ανάδευση. Πέραν από την αποδοτικότητα παραγωγής

γλυκόζης, για την εύρεση του βέλτιστου φορτίου στο διάγραμμα 19 απεικονίζεται η απόδοση της σακχαροποίησης η οποία υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση 2:

$$\text{Απόδοση σακχαροποίησης (\%)} = \frac{\text{Μάζα γλυκόζης που παράγεται (g)}}{\text{Μάζα γλυκόζης που μπορεί να παραχθεί από τους υδατάνθρακες του υποστρώματος (g)}}$$

(Εξίσωση 2)

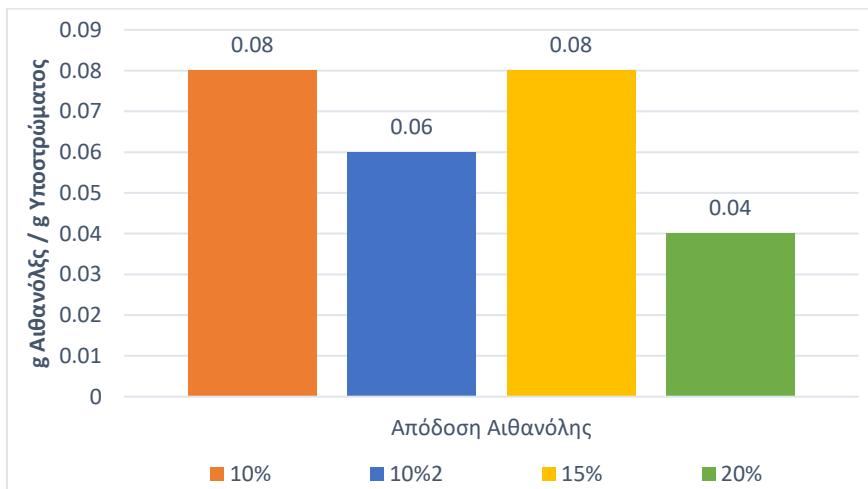
Όπου, οι υδατάνθρακες είναι κατά περίπτωση είτε το άμυλο, είτε η κυτταρίνη, είτε και τα δύο.



Διάγραμμα 19: Απόδοση σακχαροποίησης (%) στους 65°C για 24 ώρες.

Φαίνεται πως για 10% φόρτιση στερεού, η απόδοση της σακχαροποίησης φτάνει το **97.26%**. Παρόλα αυτά, για 15% και 20% η απόδοση είναι αρκετά υψηλή επίσης, **85.79%** και **86.06%**, αντίστοιχα. Από την στιγμή της προσθήκης της μαγιάς στον αντιδραστήρα ξεκινάει ο χρόνος παρακολούθησης της ζύμωσης. Το διάγραμμα 20 δείχνει την απόδοση της αιθανόλης στο παρατηρούμενο χρονικό διάστημα ως προς το υπόστρωμα, σύμφωνα με την εξίσωση 3:

$$\text{Απόδοση αιθανόλης} = \frac{\text{Μάζα αιθανόλης που παράγεται (g)}}{\text{Μάζα ξηρής πρώτης ύλης που επεξεργάζεται (g)}} \quad (\text{Εξίσωση 3})$$

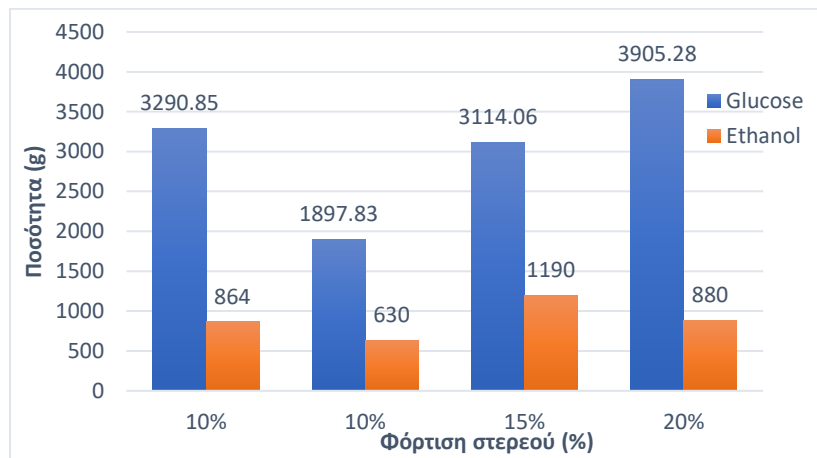


Διάγραμμα 20: Απόδοση αιθανόλης (g / g υποστρώματος) μετά τη ζύμωση για τα πειράματα SHF (NS1109 στους 65°C για 18 ώρες, NS22177 στους 50°C για 18 ώρες, S. Cerevisiae στους 35°C για 24 ώρες).

Συγκρίνοντας την κάθε φόρτιση, η μέγιστη απόδοση αιθανόλης ήταν για τα 10% και 15% στα **0.08 g αιθανόλης/ g υποστρώματος**. Ο πίνακας 38 δείχνει την συνολικά παραγόμενη γλυκόζη και αιθανόλη από όλη την διεργασία για κάθε φόρτιση στερεού. Η σύγκριση των δοκιμών μπορεί να γίνει ευκολότερα από το διάγραμμα 21, όπου απεικονίζεται η συνολική παραγωγή.

Πίνακας 38: Συνολική παραγωγή γλυκόζης και αιθανόλης για κάθε φόρτιση στερεού για τα πειράματα SHF (NS1109 στους 65°C για 18 ώρες, NS22177 στους 50°C για 18 ώρες, S. Cerevisiae στους 35°C για 24 ώρες).

	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	Παραγωγή Γλυκόζης (g)	Παραγωγή Αιθανόλης (g)
Δοκιμή 1	10%	3290.85	864
Δοκιμή 2	10%	1897.83	630
Δοκιμή 3	15%	3114.06	1190
Δοκιμή 4	20%	3905.28	880



Διάγραμμα 21: Συνολική Παραγωγή γλυκόζης και αιθανόλης για κάθε φόρτιση στερεού για τα πειράματα SHF (NS1109 στους 65°C για 18 ώρες, NS22177 στους 50°C για 18 ώρες, S. Cerevisiae στους 35°C για 24 ώρες).

Σαν συνολική παραγωγή, φαίνεται ότι οι διαφορές μεταξύ των δοκιμών είναι μικρές. Η μεγαλύτερη παραγωγή γλυκόζης έγινε στην δοκιμή 4 για φορτίο 20%, στα **3905.28g**, όπως ήταν αναμενόμενο μιας και στον αντιδραστήρα τροφοδοτήθηκε μεγαλύτερη ποσότητα πρώτης ύλης. Αντίθετα, για την αιθανόλη, η υψηλότερη παραγωγή φαίνεται να ήταν στην δοκιμή 3, στα **1190g** για φορτίο στερεού 15%. Το γεγονός ότι η υψηλότερη παραγωγή γλυκόζης δεν αντιστοιχεί στην υψηλότερη παραγωγή αιθανόλης θα μπορούσε πιθανώς να αποδοθεί σε μια παρεμπόδιση στην παραγωγή αιθανόλης λόγω της υψηλής συγκέντρωσης γλυκόζης. Στον Πίνακα 39, υπολογίζεται η απόδοση της αιθανόλης (Ethanol yield, %) και της ζύμωσης (fermentation yield, %) οι οποίες υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις ακόλουθες εξισώσεις (Εξισώσεις 4 και 5).

$$\text{Απόδοση σε αιθανόλη (\%)} = \frac{\text{Μάζα αιθανόλης που παράγεται}}{\text{Μάζα αιθανόλης που μπορεί να παραχθεί από τους υδατάνθρακες του υποστρώματος (g)}} \cdot 100\%$$

(Εξίσωση 4)

Όπου, οι υδατάνθρακες είναι το άθροισμα του αμύλου και της κυτταρίνης

$$\text{Απόδοση ζύμωσης (\%)} = \frac{\text{Μάζα αιθανόλης που παράγεται}}{\text{Μάζα αιθανόλης που θα παραγόταν εάν όλη η παράγόμενη γλυκόζη μετατρέπονταν σε αιθανόλη}} \cdot 100\%$$

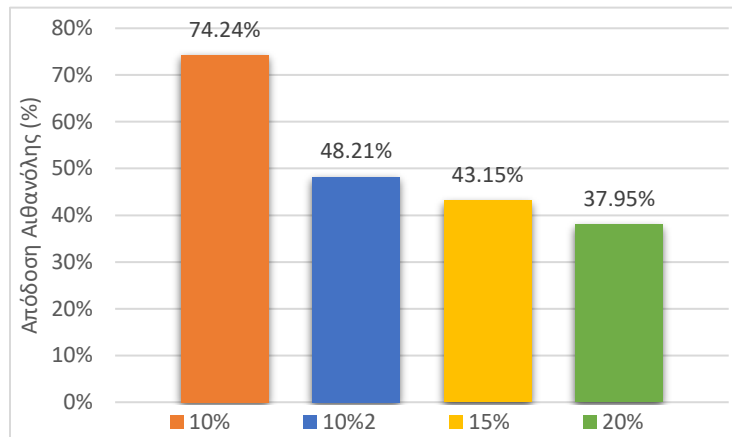
(Εξίσωση 5)

Δηλαδή, η απόδοση της αιθανόλης υπολογίζεται από την παραγόμενη αιθανόλη προς την αιθανόλη που εκτιμάται ότι μπορεί να παραχθεί βάση της σύστασης της τροφοδοσίας, ενώ η απόδοση της ζύμωσης προς την αιθανόλη που μπορεί να παραχθεί από την παραγόμενη γλυκόζη.

Πίνακας 39: Αποδόσεις για κάθε φόρτιση στερεού για τα πειράματα SHF (NS1109 στους 65°C για 18 ώρες, NS22177 στους 50°C για 18 ώρες, S. Cerevisiae στους 35°C για 24 ώρες).

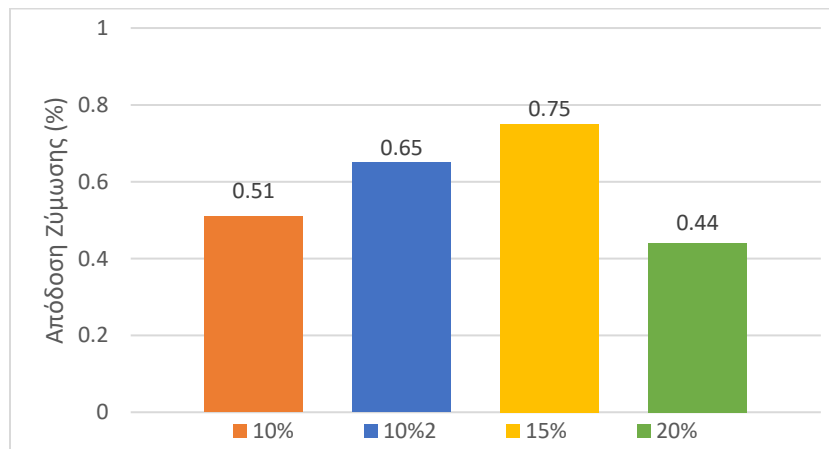
	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	Απόδοση ζύμωσης (%)	Απόδοση αιθανόλης (%)
Δοκιμή 1	10%	51.38%	74.24%
Δοκιμή 2	10%	64.96%	48.21%
Δοκιμή 3	15%	74.78%	43.15%
Δοκιμή 4	20%	44.10%	37.95%

Πιο παραστατικά, στο διάγραμμα 22 και 23 παρουσιάζονται η απόδοση σε αιθανόλη και η απόδοση της ζύμωσης αντίστοιχα, για κάθε φόρτιση στερεού.



Διάγραμμα 22: Απόδοση αιθανόλης (ethanol yield) για τα πειράματα SHF (NS1109 στους 65°C για 18 ώρες, NS22177 στους 50°C για 18 ώρες, S. Cerevisiae στους 35°C για 24 ώρες).

Η μέγιστη απόδοση αιθανόλης βρέθηκε για φορτίο στερεού 10%, στο **74.24%**. Παρακάτω, το διάγραμμα 23 δείχνει την απόδοση της ζύμωσης.



Διάγραμμα 23: Απόδοση ζύμωσης (fermentation yield), για κάθε φορτίο στερεού για τα πειράματα SHF (NS1109 στους 65°C για 18 ώρες, NS22177 στους 50°C για 18 ώρες, S. Cerevisiae στους 35°C για 24 ώρες).

Γενικά αναμένεται ότι για υψηλή απόδοση αιθανόλης, θα πρέπει να επιτευχθεί και υψηλή απόδοση ζύμωσης. Όμως όπως φαίνεται στην δοκιμή 1 αυτό δεν ισχύει καθώς παρατηρήθηκε υψηλή απόδοση αιθανόλης και χαμηλή απόδοση ζύμωσης. Το γεγονός αυτό, ίσως να οφείλεται στην άστοχη δειγματοληψία για την εύρεση της αρχικής σύστασης της τροφοδοσίας ή, επίσης, στην ανομοιόμορφη τροφοδοσία (που είναι χαρακτηριστικό των διατροφικών οικιακών αποβλήτων που μελετώνται στην παρούσα εργασία) ή ακόμα και στο γεγονός ότι μπορεί να παρατηρήθηκε πολύ υψηλή απόδοση σακχαροποίησης ικανή να δώσει αρκετά υψηλή απόδοση σε αιθανόλη ακόμα και αν η απόδοση της ζύμωσης δεν ήταν τόσο υψηλή. Η υψηλότερη απόδοση ζύμωσης παρατηρήθηκε για **15% φόρτιση στερεού** και ήταν ίση με **74.78%** ενώ η αντίστοιχη απόδοση σε αιθανόλη **64.15%**.

8.4.2 Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF

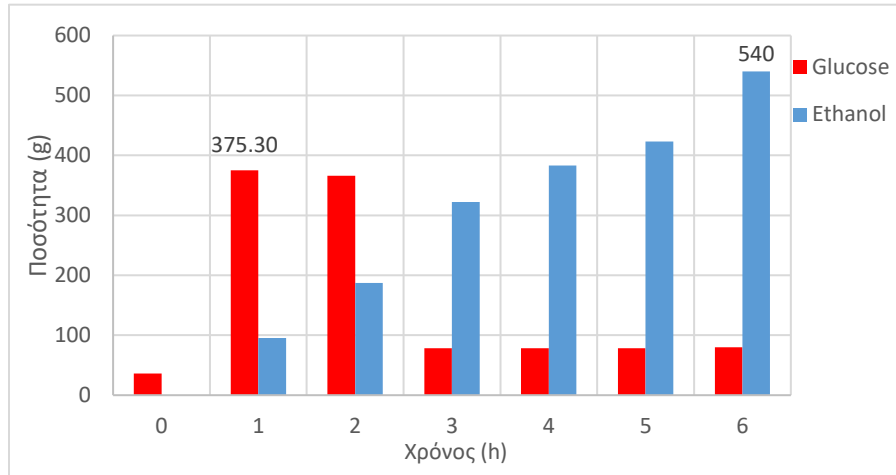
Ο Πίνακας 40 και 41 δείχνει την παραγόμενη ποσότητα γλυκόζης και αιθανόλης αντίστοιχα, που ήταν διαθέσιμη στο μίγμα, για τα πειράματα πιλοτικής κλίμακας ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF) που πραγματοποιήθηκαν στους 35°C με την προσθήκη αμυλολυτικού ενζύμου NS22109 ή Spizyme, κυτταρολυτικού ενζύμου NS22177 ή NS84017 και μαγιάς *S.Cerevisiae*. Επίσης, στα διαγράμματα που ακολουθούν (Διαγράμματα 24-28), διακρίνεται η μέγιστη παραγωγή γλυκόζης και αιθανόλης και ο χρόνος που χρειάζεται για να επιτευχθεί.

Πίνακας 40: Γλυκόζη που παράγεται κατά τα πειράματα πιλοτικής κλίμακας SSF που πραγματοποιήθηκαν στους 35°C με την προσθήκη NS22109 ή Spizzyme, NS22177 ή NS84017 και μαγιάς *S. Cerevisiae*.

	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	18h
Δοκιμή 5	10%	36	375.3	366.3	78.3	78.3	80.1	80.1	-	-
Δοκιμή 6	15%	360.4	433.92	509.35	340.98	119.49	42.25	80.75	49.3	35.7
Δοκιμή 7	15%	4.15	10.69	12.18	7.10	3.35	1.83	0.47	0.45	0.71
Δοκιμή 8	20%	7.80	32.08	22.76	16.44	13.56	9.16	4.56	1.1	0.1
Δοκιμή 9	25%	5.63	24.55	25.19	26.63	27.26	23.29	10.7	8.67	0.1

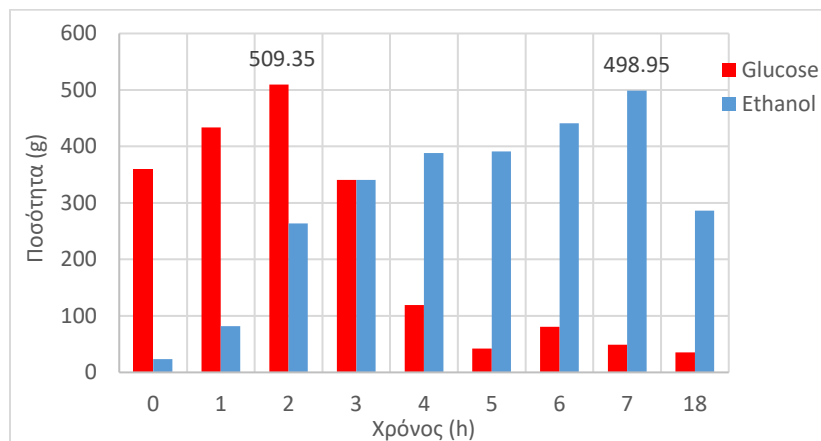
Πίνακας 41: Αιθανόλη που παράγεται κατά τα πειράματα πιλοτικής κλίμακας SSF που πραγματοποιήθηκαν στους 35°C με την προσθήκη NS22109 ή Spizzyme, NS22177 ή NS84017 και μαγιάς *S. Cerevisiae*.

	Φόρτιση Στερεού (%w/w)	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	18h
Δοκιμή 5	10%	0	95.4	187.2	322.2	383.4	423	540	-	-
Δοκιμή 6	15%	23.8	81.6	263.5	340.85	388.45	391	441.15	498.95	286.45
Δοκιμή 7	15%	0	102	229.5	510	918	918	1122	1122	1122
Δοκιμή 8	20%	48	232	560	720	800	1280	1640	1760	1680
Δοκιμή 9	25%	45	195	484.5	977.25	1654.5	1458.8	2273.3	2599.5	2015.3
Δοκιμή 10	30%	-	-	-	-	315	392	616	644	1190

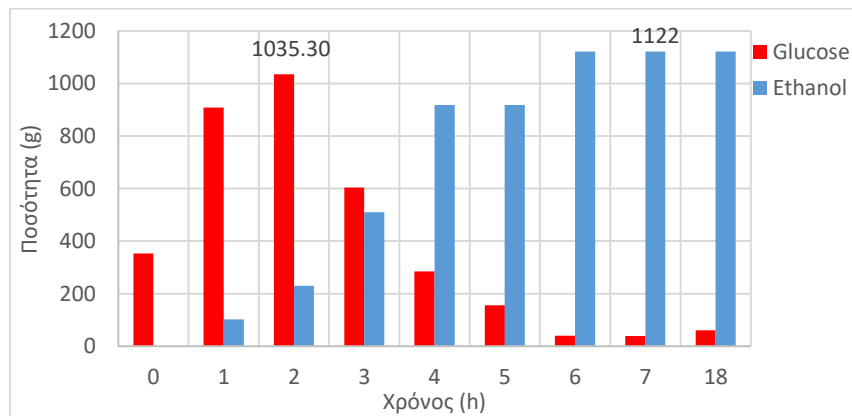


Διάγραμμα 24: Γλυκόζη και αιθανόλη για την Δοκιμή 5 (10% φορτίο στερεού, SSF στους 35°C).

Όπως προαναφέρθηκε, στο διάγραμμα 12, η μέτρηση της παραγόμενης αιθανόλης γίνεται μέχρι τις 6 ώρες της διεργασίας, λόγω τεχνικού προβλήματος στο αντιδραστήρα. Παρατηρείται, όμως, μέγιστη γλυκόζη στις 2 ώρες, όπως και σε κάθε δοκιμή SSF που ακολούθησε ίση με **375.3g**.

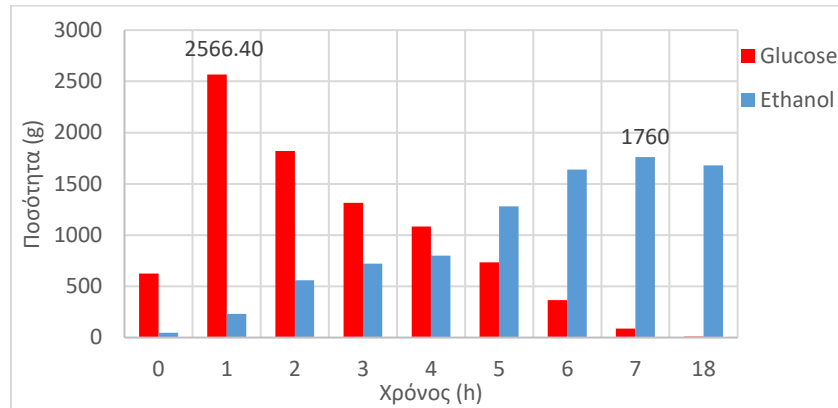


Διάγραμμα 25: Γλυκόζη και αιθανόλη για την Δοκιμή 6 (15% φορτίο στερεού, SSF στους 35°C).

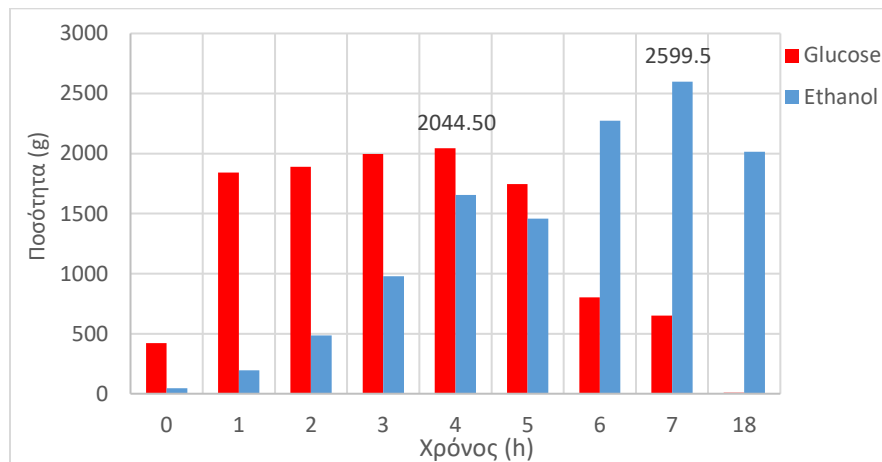


Διάγραμμα 26: Γλυκόζη και αιθανόλη για την Δοκιμή 7 (15% φορτίο στερεού, SSF στους 35°C).

Στις δοκιμές 6 και 7, όπου γίνεται σύγκριση των δύο ενζυμικών μιγμάτων, η μέγιστη παραγόμενη γλυκόζη είναι **509.36g** και **1035.3g**, αντίστοιχα, στις δύο ώρες, ενώ η παραγωγή της αιθανόλης, στις 7 ώρες που θεωρείται η μέγιστη, είναι **498.95g** και **1122g**, αντίστοιχα. Φαίνεται, λοιπόν, πως η απόδοση του mix cocktails 2 ως προς την παραγωγή αιθανόλης (αλλά και γλυκόζης) είναι διπλάσια από του mix cocktails 1.

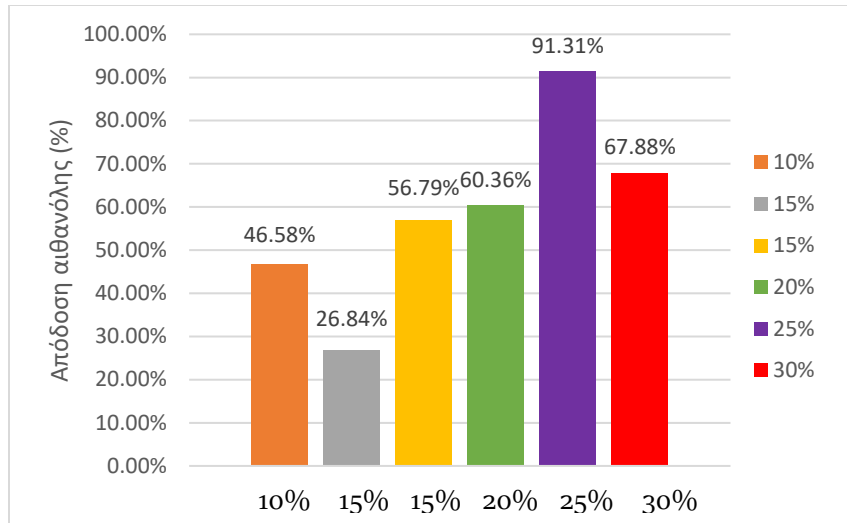


Διάγραμμα 27: Γλυκόζη και αιθανόλη για την Δοκιμή 8 (20% φορτίο στερεού, SSF της 35°C).



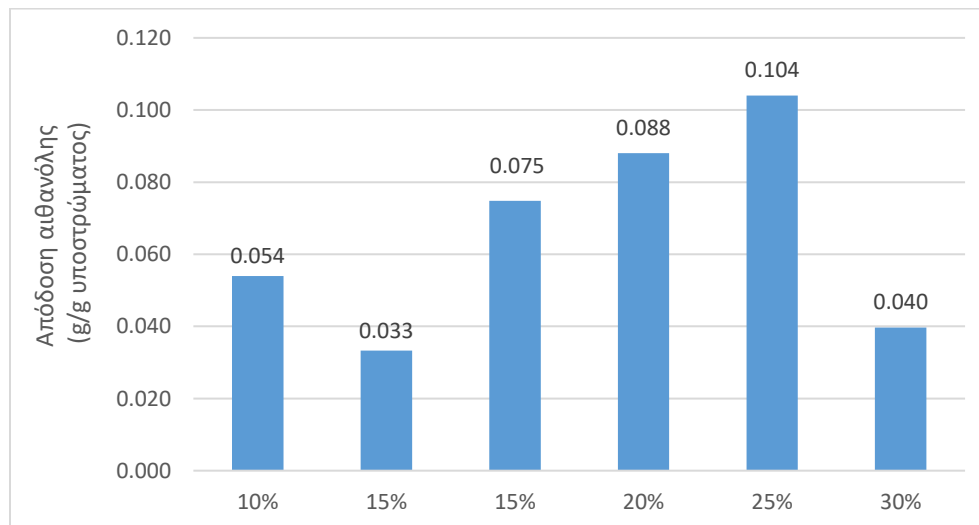
Διάγραμμα 28: Γλυκόζη και αιθανόλη για την Δοκιμή 9 (25% φορτίο στερεού, της 35°C).

Από τα πιο πάνω διαγράμματα, παρατηρείται της μέχρι τις πρώτες 2 ώρες της διεργασίας παράγεται η μέγιστη γλυκόζη με ελάχιστη αιθανόλη. Μετά τις 2 ώρες, όμως, από τα διαγράμματα φαίνεται ότι υπάρχει άμεση μείωση στην γλυκόζης και ραγδαία αύξηση της αιθανόλης. Αυτό δείχνει πως η μετατροπή της γλυκόζης σε αιθανόλη από την μαγιά, χρειάζεται 2 ώρες για να ξεκινήσει. Η υψηλότερη ποσότητα γλυκόζης καταγράφεται στην δοκιμή 8, για στερεό φορτίο 20%, στα **2566.4 g**, ενώ, η υψηλότερη ποσότητα αιθανόλης καταγράφεται στην δοκιμή 9, για στερεό φορτίο 25%, στα **2599.5 g**. Η απόδοση της διεργασίας, για κάθε φόρτιση στερεού, φαίνεται στο διάγραμμα 29.



Διάγραμμα 29: Απόδοση αιθανόλης για SSF στους 35°C.

Η μέγιστη απόδοση που επιτεύχθηκε ήταν ίση με **91.31%** για φόρτιση στερεών 25%. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί πως για φόρτιση στερεού 25%, ο βιοαντιδραστήρας αντιμετώπισε σημαντικά μηχανικά προβλήματα λόγω μεγάλης ποσότητας στερεού. Το γεγονός αυτό στην παρούσα διπλωματική έρευνα αντιμετωπίστηκε χωρίζοντας την τροφοδοσία και τα ένζυμα σε δόσεις, δηλαδή ομοιάζε ένα σύστημα με fed-batch mode. Στην πράξη, για φόρτιση στερεού 25% w/w, είναι δύσκολο να επιτευχθεί η διεργασία καθότι στα πλαίσια της SSF το στερεό πρέπει να τροφοδοτείται σε μια δόση μαζί με τα ένζυμα. Επομένως, η απόδοση για φορτίο στερεού 20%, στο **60.36%**, θεωρήθηκε η καταλληλότερη αφού ο αντιδραστήρας δεν εμφάνισε πρόβλημα στην ανάδευση. Το διάγραμμα 30, δείχνει την παραγόμενη αιθανόλη ως προς το υπόστρωμα για κάθε φορτίο στερεού.



Διάγραμμα 30: Παραγωγή αιθανόλης ως προς το υπόστρωμα (g EtOH/g Substrate) για SSF στους 35°C.

Στην δοκιμή 8, για 20% w/w στερεού αποβλήτου, παράγεται **0.088g αιθανόλης/g υποστρώματος**. Συγκρίνοντας την μετατροπή του υποστρώματος σε αιθανόλη της δοκιμής 8 με την δοκιμή 9, **0.088g αιθανόλης/g υποστρώματος** και **0.104g αιθανόλης/g υποστρώματος**, αντίστοιχα, παρατηρείται μικρή διαφορά, της τάξεως του 15%.

Κεφάλαιο 9: Συμπεράσματα

Διατροφικά Οικιακά Απορρίμματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν τα διατροφικά οικιακά απόβλητα ως υπόστρωμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης σε πιλοτική κλίμακα. Όσον αφορά την τροφοδοσία αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν μεταβολές στη σύσταση ανά παρτίδα που λαμβάνεται. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην εποχή που επηρεάζει άμεσα τις διατροφικές συνήθειες των κατοίκων του Δήμου Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης. Η κυτταρίνη και το άμυλο που ενδιαφέρουν άμεσα τους πειραματικούς μας σκοπούς κυμαίνονται από 13.63-23.80 % και 2.86 – 9.70% , αντίστοιχα. Αυτό που έχει ιδιαίτερη σημασία να σημειώσουμε είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη που επιτρέπει να επιτευχθούν ιδιαίτερα ικανοποιητικές απόδοσης σακχαροποίησης και ζύμωσης χωρίς χημική προεπεξεργασία.

Πιλοτική Μονάδα

Η πιλοτική μονάδα ανταποκρίθηκε στις απαιτήσεις της επεξεργασίας των ξηρών διατροφικών οικιακών αποβλήτων στις συνθήκες που μελετήθηκαν. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί ότι η επιβολή φόρτισης στερεών μεγαλύτερης από 20 % w/w δεν ενδείκνυται καθώς οδηγεί σε μηχανικές δυσκολίες και αδυναμία λειτουργίας του συστήματος, κυρίως του συστήματος ανάδευσης. Τέλος, κοσκίνισμα της τροφοδοσίας στα 8 mm διευκολύνει την διεργασία καθώς με αυτό τον τρόπο διαχωρίζονται τα κόκκαλα και οι πέτρες αλλά και άλλες σχετικά ογκώδεις προσμίξεις. Τέτοιου είδους προσμίξεις είναι πιθανό να κολλήσουν στα περιστρεφόμενα πτερύγια του αντιδραστήρα και να προκαλέσουν σημαντική μηχανική βλάβη.

Σύγκριση SHF και SSF

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν δύο είδη της διεργασίας ζύμωσης (ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση SHF, ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση SSF) και η σύγκρισή τους έγινε ως προς την απόδοσή τους σε αιθανόλη.

Για φόρτιση στερεών 10% και 15%, οι αποδόσεις σε αιθανόλη για τη διεργασία SHF είναι μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες για τη διεργασία SSF. Ωστόσο, αυτό δεν ισχύει για φόρτιση στερεών 20% όπου η απόδοση με τη διεργασία SSF είναι μεγαλύτερη. Η δράση της παραγόμενης γλυκόζης ως παρεμποδιστή για τα ένζυμα και συνεπώς η μείωση της απόδοσης σακχαροποίησης καθώς και η μετατροπή της παραγόμενης γλυκόζης σε παραπροϊόντα (λόγω του μεγάλου χρόνου παραμονής της στο μίγμα) είναι πιθανό να προκαλούν τη χαμηλή απόδοση αιθανόλης στην περίπτωση φόρτισης στερεών 20% με SHF. Αντίθετα κατά τη διάρκεια του SSF η γλυκόζη μετατρέπεται άμεσα σε αιθανόλη με αποτέλεσμα τα ανωτέρω φαινόμενα να περιορίζονται σημαντικά. Επομένως, για φόρτιση στερεών μεγαλύτερη από 15% η διεργασία SHF υπερτερεί ενώ για μεγαλύτερες φορτίσεις υπερτερεί η SSF. Θα πρέπει όμως να ληφθούν υπόψη και τεχνοοικονομικοί παράγοντες, όπως οι ενεργειακές απαιτήσεις του συστήματος οι οποίες διαφέρουν σημαντικά (SHF: 3 μέρες χρόνος παραμονής, 65 οC μέγιστη θερμοκρασία επεξεργασίας – SSF: 1 μέρα χρόνος παραμονής, 35 οC μέγιστη θερμοκρασία επεξεργασίας).

Επίδραση της φόρτισης στερεού στην απόδοση αιθανόλης

Όσον αφορά την επίδραση του φορτίου στη διεργασία του SSF προκύπτει ότι με την αύξηση του φορτίου η απόδοση σακχαροποίησης και παραγωγής αιθανόλης μειώνονται. Για τη διεργασία SSF παρατηρείται αντίθετη συμπεριφορά, δηλαδή παρατηρείται αύξηση της απόδοσης της αιθανόλης με την αύξηση της φόρτισης στερεού.

Σύγκριση ενζυμικών μιγμάτων

Τα δύο ενζυμικά μίγματα που εξετάστηκαν στην παρούσα διπλωματική ήταν τα ακόλουθα:

- Μίγμα 1: NS22177 (κυτταρινάση) και NS22109 (αμυλάση)
- Μίγμα 2: NS87014 (κυτταρινάση) και Spirizyme (αμυλάση)

Το μίγμα 2 φαίνεται να παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα καθώς οι αποδόσεις αιθανόλης για αυτό κυμαίνονται από 57% - 91% ενώ για το μίγμα ένα οι αποδόσεις κυμαίνονται από 27 - 47%. Το αξιοσημείωτο πάντως και για τα τέσσερα αυτά ένζυμα είναι ότι απέδωσαν ικανοποιητικά στους 35 °C, θερμοκρασία αρκετά χαμηλότερη από τη βέλτιστη προτεινόμενη.

Βέλτιστη δοκιμή

Οι υψηλότερες αποδόσεις επιτεύχθηκαν στη δοκιμή 8, όπου εφαρμόστηκε φόρτιση στερεών 20% και διεργασία SSF για 18h στους 35°C. Το pH κυμάνθηκε από 4 έως 5. Η σύσταση της τροφοδοσίας που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα δοκιμή ήταν 18.81% κυτταρίνη, 5.30% άμυλο και 1.66 % ελεύθερη γλυκόζη. Τα ένζυμα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το μίγμα 2, το NS87014 (175 μL/g κυτταρίνης) ως κυτταρολυτικό και το Spirizyme (40 μL/g αμύλου) ως αμυλολυτικό.

Σχετικά με τα αποτελέσματα, η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης επιτεύχθηκε στις 7h και ήταν 22 g/L. Αξιοσημείωτη είναι η απόδοση αιθανόλης στο 57.62% καθώς και οι αποδομήσεις της κυτταρίνης και το αμύλου που φτάνουν το 62.73% και 80.05%, αντίστοιχα. Η συνολική αποδόμηση των στερεών άγγιξε το 45.54% με τελική συγκέντρωση στερεών 11.42%. Η ενεργειακή κατανάλωση για το στάδιο της βιοδιεργασίας υπολογίστηκε στις 72 kWh. Όσον αφορά την ανάκτηση της αιθανόλης, επιτεύχθηκε σε πολύ ικανοποιητικό βαθμό, σε ποσοστό περίπου 78.9 %. Τα πρώτα αποστάγματα με όγκο περίπου 1L είχαν περιεκτικότητα αιθανόλης κοντά στο 30%. Το τελικό απόσταγμα είχε όγκο 13.73L και περιεκτικότητα αιθανόλης περίπου 13% v/v. Ύστερα από 3 κύκλους απόσταξης στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα (rotary evaporator), επιτεύχθηκε 92% v/v περιεκτικότητα αιθανόλης. Περαιτέρω αφυδάτωση της αιθανόλης ώστε το τελικό προϊόν να ικανοποιεί το πρότυπο καυσίμου θα μελετηθεί με χρήση ζεόλιθου 3A.

Βιβλιογραφία

- [1] Κορδούλης Χ. (2013). Μέθοδοι Αξιοποίησης Βιομάζας για Παραγωγή Βιοκαυσίμων, Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, Πάτρα.
- [2] Flach, B., Lieberz, S., Lappin J., Bolla, S. (2018) EU Biofuels Annual 2018, USDA Foreign Agricultural Service, Gain Report 7/3/2018, 2018.
- [3] Directive (EU) 2018/2001 of the European Parliament and of the Council of 11 December 2018 on the promotion of the use of energy from renewable sources.
- [4] Biofuels Digest. <https://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2018/01/01/biofuels-mandates-around-the-world-2018/18/>
- [5] Biodegradable Waste. <https://ec.europa.eu/environment/waste/compost/index.htm>
- [6] Gómez Palacios, J. M., Ruiz de Apodaca, A., Rebollo, C., & Azcárate, J. (2002). European policy on biodegradable waste: A management perspective. *Water Science and Technology*, 46(10), 311–318.
- [7] Saveyn, H. & Eder, P. (2014) End-of-waste criteria for biodegradable waste subjected to biological treatment (compost & digestate): Technical proposals. JRC Scientific and Policy Reports, European Commission 2014.
- [8] Environmental Indicator report 2016 In support to the monitoring of the 7th Environment Action Programme. (2016) No 30/2016, European Environmental Agency, Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- [9] Barth J. (2009). Let's talk legislation, *Waste Management World*, Nov-Dec 2009.
- [10] J. Goettemoeller; A. Goettemoeller (2007). *Sustainable Ethanol: Biofuels, Biorefineries, Cellulosic Biomass, Flex-Fuel Vehicles, and Sustainable Farming for Energy Independence* (Brief and comprehensive account of the history, evolution and future of ethanol). Prairie Oak Publishing, Maryville, Missouri.
- [11] Marchetti, J. M., Miguel, V. U., & Errazu, A. F. (2007). Possible methods for biodiesel production. *Renewable and sustainable energy reviews*, 11(6), 1300-1311.
- [12] Gamage, J., Lam, H., & Zhang, Z. (2010). Bioethanol production from lignocellulosic biomass, a review. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 4(1), 3-11.
- [13] Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(4), 849-860.
- [14] <http://el.wikipedia.org/wiki/Αιθανόλη>

- [15] Kim JH, Lee JC, Pak D. Feasibility of producing ethanol from food waste. *Waste Manag.* 2011; 31:2121–5.
- [16] Dagnino EP, Chamorro ER, Romano SD, Felissia FE, Area MC. Optimization of the acid pretreatment of rice hulls to obtain fermentable sugars for bioethanol. *Ind Crop Prod* 2013; 42:363–8.
- [17] Limayem, A., & Ricke, S. C. (2012). Lignocellulosic biomass for bioethanol production: current perspectives, potential issues and future prospects. *Progress in energy and combustion science*, 38(4), 449-467.
- [18] Cesaro, A., & Belgiorno, V. (2014). Pretreatment methods to improve anaerobic biodegradability of organic municipal solid waste fractions. *Chemical Engineering Journal*, 240, 24-37.
- [19] Izumi, K., Okishio, Y. K., Nagao, N., Niwa, C., Yamamoto, S., & Toda, T. (2010). Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste. *International biodeterioration & biodegradation*, 64(7), 601-608.
- [20] Lal B, Sarma PM. *Wealth from waste: trends and technologies*, 3rd ed. New Delhi: The Energy and Resource Institute (TERI Press); 2011. p. 60–1.
- [21] Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S., & Aikat, K. (2012). Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. *Renewable energy*, 37(1), 19-27.
- [22] Wan C, Li Y. Effect of hot water extraction and liquid hot water pretreatment on the fungal degradation of biomass feedstocks. *Bioresour Technol* 2011; 102:9788–93.
- [23] Kuo WC, Cheng KY. Use of respirometer in evaluation of process and toxicity of thermophilic anaerobic digestion for treating kitchen waste. *Bioresour Technol* 2007; 98:1805–11.
- [24] Ballesteros, M., Sáez, F., Ballesteros, I., Manzanares, P., Negro, M. J., Martínez, J. M., ... & Dominguez, J. M. O. (2010). Ethanol production from the organic fraction obtained after thermal pretreatment of municipal solid waste. *Applied biochemistry and biotechnology*, 161(1), 423-431.
- [25] Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., & Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and sustainable energy reviews*, 36, 91-106.
- [26] Kim, J. Y., Kim, D., Lee, J., Mo, S. H., & Chang, G. (2013). A study on the perception types of online games and their characteristics. *Journal of Korea Game Society*, 13(4), 91-104.

- [27] Ariunbaatar, J., Panico, A., Esposito, G., Pirozzi, F., & Lens, P. N. (2014). Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied energy*, 123, 143-156.
- [28] Chandel, A. K., Antunes, F. A., De Arruda, P. V., Milessi, T. S., Da Silva, S. S., & de Almeida Felipe, M. D. G. (2012). Dilute acid hydrolysis of agro-residues for the depolymerization of hemicellulose: state-of-the-art. *d-xylitol*, 39-61.
- [29] Vavouraki, A. I., Volioti, V., & Kornaros, M. E. (2014). Optimization of thermo-chemical pretreatment and enzymatic hydrolysis of kitchen wastes. *Waste management*, 34(1), 167-173.
- [30] Li, A., Antizar-Ladislao, B., & Khraisheh, M. (2007). Bioconversion of municipal solid waste to glucose for bio-ethanol production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 30(3), 189-196.
- [31] Singh, A., & Bishnoi, N. R. (2013). Ethanol production from pretreated wheat straw hydrolyzate by *Saccharomyces cerevisiae* via sequential statistical optimization. *Industrial Crops and Products*, 41, 221-226.
- [32] Saha, B. C., Nichols, N. N., & Cotta, M. A. (2011). Ethanol production from wheat straw by recombinant *Escherichia coli* strain FBR5 at high solid loading. *Bioresource technology*, 102(23), 10892-10897.
- [33] Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource technology*, 101(13), 4851-4861.
- [34] Guha, S. K., Kobayashi, H., & Fukuoka, A. (2010). Conversion of cellulose to sugars. In *Thermochemical conversion of biomass to liquid fuels and chemicals* (pp. 344-364). RSC Publishing Cambridge, England, UK.
- [35] Mood, S. H., Golfeshan, A. H., Tabatabaei, M., Jouzani, G. S., Najafi, G. H., Gholami, M., & Ardjmand, M. (2013). Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 77-93.
- [36] Guerra-Rodríguez, E., Portilla-Rivera, O. M., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2012). Modelling of the acid hydrolysis of potato (*Solanum tuberosum*) for fermentative purposes. *Biomass and Bioenergy*, 42, 59-68.

- [37] Cekmecelioglu, D., & Uncu, O. N. (2013). Kinetic modeling of enzymatic hydrolysis of pretreated kitchen wastes for enhancing bioethanol production. *Waste management*, 33(3), 735-739.
- [38] Khraisheh, M., & Li, A. (2010, January). Bio-ethanol from municipal solid waste (MSW): the environmental impact assessment. In *Proceedings of the 2nd Annual Gas Processing Symposium* (pp. 69-76). Elsevier.
- [39] Vavouraki, A. I., Angelis, E. M., & Kornaros, M. (2013). Optimization of thermo-chemical hydrolysis of kitchen wastes. *Waste Management*, 33(3), 740-745.
- [40] Vučurović, V. M., Razmovski, R. N., Miljić, U. D., Puškaš, V. S., Ačanski, M. M., & Pastor, K. A. (2014). Thermo-acid pretreatment of starch-based kitchen waste for ethanol production. *Analecta Technica Szegedinensia*, 8(1), 85-90.
- [41] Kiran, E. U., Trzcinski, A. P., Ng, W. J., & Liu, Y. (2014). Bioconversion of food waste to energy: a review. *Fuel*, 134, 389-399.
- [42] Vohra, M., Manwar, J., Manmode, R., Padgilwar, S., & Patil, S. (2014). Bioethanol production: Feedstock and current technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 573-584.
- [43] Kiran, E. U., Trzcinski, A. P., & Liu, Y. (2014). Glucoamylase production from food waste by solid state fermentation and its evaluation in the hydrolysis of domestic food waste. *Biofuel Research Journal*, 1(3), 98-105.
- [44] Yan, S., Yao, J., Yao, L., Zhi, Z., Chen, X., & Wu, J. (2012). Fed batch enzymatic saccharification of food waste improves the sugar concentration in the hydrolysates and eventually the ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* H058. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(2), 183-192.
- [45] Thongdumyu, P., Intrasungkha, N., & Sompong, O. (2014). Optimization of ethanol production from food waste hydrolysate by co-culture of *Zymomonas mobilis* and *Candida shehatae* under non-sterile condition. *African Journal of Biotechnology*, 13(7), 866-873.
- [46] Yan, S., Li, J., Chen, X., Wu, J., Wang, P., Ye, J., & Yao, J. (2011). Enzymatical hydrolysis of food waste and ethanol production from the hydrolysate. *Renewable Energy*, 36(4), 1259-1265.
- [47] Nigam, P. S., & Singh, A. (2011). Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in energy and combustion science*, 37(1), 52-68.

- [48] Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: a review. *Energy conversion and management*, 52(2), 858-875.
- [49] Hafid, H. S., Shah, U. K. M., & Baharudin, A. S. (2015). Enhanced fermentable sugar production from kitchen waste using various pretreatments. *Journal of environmental management*, 156, 290-298.
- [50] Balat, M., & Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. *Applied energy*, 86(11), 2273-2282.
- [51] Hong, Y. S., & Yoon, H. H. (2011). Ethanol production from food residues. *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 3271-3275.
- [52] Tang, Y. Q., Koike, Y., Liu, K., An, M. Z., Morimura, S., Wu, X. L., & Kida, K. (2008). Ethanol production from kitchen waste using the flocculating yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain KF-7. *Biomass and Bioenergy*, 32(11), 1037-1045.
- [53] Koike, Y., An, M. Z., Tang, Y. Q., Syo, T., Osaka, N., Morimura, S., & Kida, K. (2009). Production of fuel ethanol and methane from garbage by high-efficiency two-stage fermentation process. *Journal of bioscience and bioengineering*, 108(6), 508-512.
- [54] Hafid, H. S., Shah, U. K. M., Baharuddin, A. S., & Ariff, A. B. (2017). Feasibility of using kitchen waste as future substrate for bioethanol production: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74, 671-686.
- [55] Ma, K., Ruan, Z., Shui, Z., Wang, Y., Hu, G., & He, M. (2016). Open fermentative production of fuel ethanol from food waste by an acid-tolerant mutant strain of *Zymomonas mobilis*. *Bioresource technology*, 203, 295-302.
- [56] Zi, L. H., Liu, C. G., Xin, C. B., & Bai, F. W. (2013). Stillage backset and its impact on ethanol fermentation by the flocculating yeast. *Process Biochemistry*, 48(5-6), 753-758.
- [57] Robertson, G. H., Wong, D. W., Lee, C. C., Wagschal, K., Smith, M. R., & Orts, W. J. (2006). Native or raw starch digestion: a key step in energy efficient biorefining of grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 353-365.
- [58] Vohra, M., Manwar, J., Manmode, R., Padgilwar, S., & Patil, S. (2014). Bioethanol production: Feedstock and current technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 573-584.
- [59] Ma, H., Wang, Q., Zhang, W., Xu, W., & Zou, D. (2008). Optimization of the medium and process parameters for ethanol production from kitchen garbage by *Zymomonas mobilis*. *International Journal of Green Energy*, 5(6), 480-490.

- [60] Ourisson, G., & Rohmer, M. (1992). Hopanoids. 2. Bio hopanoids: a novel class of bacterial lipids. *Accounts of Chemical Research*, 25(9), 403-408.
- [61] Ma, H., Yang, J., Jia, Y., Wang, Q., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2016). Stillage reflux in food waste ethanol fermentation and its by-product accumulation. *Bioresource technology*, 209, 254-258.
- [62] Saeed, M. A., Ma, H., Yue, S., Wang, Q., & Tu, M. (2018). Concise review on ethanol production from food waste: development and sustainability. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(29), 28851-28863.
- [63] Kiran, E. U., Trzcinski, A. P., Ng, W. J., & Liu, Y. (2014). Bioconversion of food waste to energy: a review. *Fuel*, 134, 389-399.
- [64] DEMİRBAŞ, A. (2005). Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass. *Energy sources*, 27(4), 327-337.
- [65] Soccol, C. R., de Souza Vandenberghe, L. P., Medeiros, A. B. P., Karp, S. G., Buckeridge, M., Ramos, L. P., ... & Torres, F. A. G. (2010). Bioethanol from lignocelluloses: status and perspectives in Brazil. *Bioresource technology*, 101(13), 4820-4825.
- [66] Kiran, E. U., & Liu, Y. (2015). Bioethanol production from mixed food waste by an effective enzymatic pretreatment. *Fuel*, 159, 463-469.
- [67] Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(4), 849-860.
- [68] Zhang, R., El-Mashad, H. M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., & Gamble, P. (2007). Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 98(4), 929-935.
- [69] Taheri, M. E., Salimi, E., Saragas, K., Novakovic, J., Barampouti, E. M., Mai, S., ... & Loizidou, M. (2021). Effect of pretreatment techniques on enzymatic hydrolysis of food waste. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(2), 219-226.
- [70] Barampouti, E. M., Mai, S., Malamis, D., Moustakas, K., & Loizidou, M. (2019). Liquid biofuels from the organic fraction of municipal solid waste: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 110, 298-314.
- [71] Salimi, E., Saragas, K., Taheri, M. E., Novakovic, J., Barampouti, E. M., Mai, S., ... & Loizidou, M. (2019). The role of enzyme loading on starch and cellulose hydrolysis of food waste. *Waste and Biomass Valorization*, 10(12), 3753-3762.

- [72] Salimi, E., Taheri, M. E., Passadis, K., Novacovic, J., Barampouti, E. M., Mai, S., ... & Loizidou, M. (2020). Valorisation of restaurant food waste under the concept of a biorefinery. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-11.