



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (I) Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας
Εργαστήριο Γενικής Χημείας

**«Αριστοποίηση παραγωγής βιοαιθανόλης από
προδιαλεγμένα οργανικά αστικά απόβλητα»**

Διπλωματική Εργασία

Κανελλοπούλου Λήδα



Επιβλέπουσα: Αικατερίνη Χαραλάμπους
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2023

Πρόλογος

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία συνιστά μία βιβλιογραφική και πειραματική έρευνα που ολοκληρώθηκε τον Φλεβάρη του 2023 και εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Για την ευκαιρία να ασχοληθώ με ένα τόσο κοινωνικά και περιβαλλοντικά ενδιαφέρον και καινοτόμο θέμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη της διπλωματικής μου εργασίας, καθηγήτρια του ΕΜΠ, κυρία Αικατερίνη Χαραλάμπους, η οποία μου ανέθεσε το συγκεκριμένο θέμα.

Φυσικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω για την πολύτιμη συνεισφορά τους, την Δρ. Σοφία Μάη και Δρ. Έλλη Μπαραμπούτη, για την άψογη επικοινωνία και συνεργασία μας, για το οργανωμένο και καλά σχεδιασμένο πλάνο της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Κωνσταντίνο Πασσάδη για την συνεχή καθοδήγηση του, την από κοινού επίλυση κάθε καθημερινού προβληματισμού, όπως ευχαριστώ και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου για την συναδελφική στάση, το ευχάριστο κλίμα και την βοήθεια τους σε οτιδήποτε κι αν χρειάστηκα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω κάποια αγαπημένα μου πρόσωπα: την φίλη και συνάδελφο Ειρήνη Ευσταθιάδου, με την οποία αντιμετωπίσαμε από κοινού τις προκλήσεις της ακαδημαϊκής εμπειρίας και τα μέλη της οικογένειάς μου για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την υπομονή τους.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	5
Abstract.....	6
Εισαγωγή.....	7
1. Νομοθετικό πλαίσιο.....	8
1.1 Εισαγωγή.....	8
1.2 Νομοθεσία για βιοκαύσιμα	9
1.3 Νομοθεσία για στερεά απόβλητα.....	12
2. Βιοκαύσιμα.....	15
2.1 Εισαγωγή.....	15
2.2 Είδη βιοκαυσίμων.....	15
2.3 Κατηγορίες βιοκαυσίμων	16
2.4 Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων	17
2.5 Παραγωγή βιοκαυσίμων.....	19
2.5.1 Παραγωγή βιοντίζελ.....	19
2.5.2 Παραγωγή βιοαερίου.....	21
2.5.3 Παραγωγή βιοαιθανόλης.....	22
2.6 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα βιοκαυσίμων	23
3. Βιοαιθανόλη	24
3.1 Εισαγωγή.....	24
3.2 Ιδιότητες αιθανόλης.....	26
3.3 Χρήσεις Αιθανόλης-Βιοαιθανόλης.....	28
3.4 Βιοαιθανόλη ως καύσιμο	31
3.5 Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοαιθανόλης.....	32
3.5.1 Σακχαρούχες πηγές	32
3.5.2 Αμυλούχες πηγές	33
3.5.3 Λιγνοκυτταρινούχες πηγές	33
3.6 Παραγωγή βιοαιθανόλης.....	34
3.6.1 Προεπεξεργασία	35
3.6.2 Υδρόλυση/Σακχαροποίηση	39
3.6.3 Ζύμωση Σακχάρων	41
3.6.4 Ανάκτηση και αφυδάτωση.....	42
4. Οικιακά Απορρίμματα - Βιοαπόβλητα.....	43
4.1 Εισαγωγή.....	43
4.2 Μέθοδοι Διαχείρισης Στερεών Οικιακών Απορριμμάτων - Βιοαποβλήτων ..	44

4.3	Διαχείριση βιοαποβλήτων στην Ελλάδα	45
5.	Παραγοντικός σχεδιασμός.....	47
5.1	Εισαγωγή.....	47
5.1.1	Βασικές αρχές και έννοιες για τον σχεδιασμό πειραμάτων	47
5.1.2	Παράμετροι αριστοποίησης.....	49
5.1.3	Παράγοντες σχεδιασμού	50
5.1.4	Μαθηματικά μοντέλα	51
5.2	Σχεδιασμοί πρώτης τάξης	53
5.2.1	Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός.....	53
5.2.2	Μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων.....	53
5.2.3	Ιδιότητες ενός παραγοντικού πειράματος	54
5.2.4	Βαθμοί ελευθερίας και αλληλεπιδράσεις.....	55
5.3	Εκτέλεση του πειράματος.....	55
5.3.1	Σφάλματα επαναλήψεων και διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης	55
5.3.2	Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων.....	57
5.3.3	Αντιμετώπιση σφαλμάτων.....	57
5.4	Επεξεργασία αποτελεσμάτων	58
5.4.1	Προϋποθέσεις.....	58
5.4.2	Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης.....	58
5.4.3	Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών.....	60
5.4.4	Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου	60
6.	Σκοπός.....	61
7.	Πειραματική μεθοδολογία	61
7.1	Πρώτη ύλη	61
7.2	Συστήματα και μέθοδοι ζύμωσης.....	62
7.3	Μέθοδοι ανάλυσης.....	63
7.3.1	Προσδιορισμός ολικών στερεών (TS).....	63
7.3.2	Προσδιορισμός πτητικών στερεών (VS).....	63
7.3.3	Προσδιορισμός ελαίων και λιπών.....	64
7.3.4	Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών (WS - Water soluble Solids).....	66
7.3.5	Προσδιορισμός κυτταρίνης (Cellulose).....	67
7.3.6	Προσδιορισμός ημικυτταρίνης (Hemicellulose).....	69
7.3.7	Προσδιορισμός λιγνίνης (Lignin)	70
7.3.8	Προσδιορισμός Ελεύθερης Γλυκόζης (Free Sugars)	71
7.3.9	Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP.....	72
7.3.10	Προσδιορισμός Ολικού Αμύλου (Starch)	73

7.3.11	Προσδιορισμός Ολικού Οργανικού Άνθρακα (TOC)	74
7.3.12	Προσδιορισμός Αιθανόλης	75
7.3.13	Προσδιορισμός της Περιεκτικότητας του Ολικού Αζώτου σε Στερεά Δείγματα.....	75
7.4	Ορισμοί για τον υπολογισμό των θεωρητικών παραμέτρων	80
7.5	Υπολογισμός αποδομήσεων και αποδόσεων	80
8.	Πειραματικό πρωτόκολλο	81
8.1	Πειραματική διαδικασία	81
8.2	Πειραματική διαδικασία - 1 ^{ος} πειραματικός κύκλος	82
8.2.1	Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών του 1 ^{ου} πειραματικού κύκλου.....	83
8.3	Πειραματική διαδικασία - 2 ^{ος} Πειραματικός Κύκλος.....	85
9.	Πειραματικά αποτελέσματα	88
9.1	Χαρακτηρισμός πρώτης ύλης.....	88
9.2	1 ^{ος} πειραματικός κύκλος: Αριστοποίηση SSF ως προς δόσεις ενζύμων και μαγιάς.....	89
9.2.1	Πρωτογενή Αποτελέσματα	89
9.2.2	Δευτερογενή αποτελέσματα	92
9.3	Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού.....	96
9.3.1	Υπολογισμός μέσων τιμών και του στατιστικού σφάλματος.....	96
9.3.2	Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων.....	98
9.3.3	Έλεγχος σημαντικότητας των συντελεστών.....	101
9.3.4	Έλεγχος επάρκειας γραμμικού μοντέλου.....	102
9.4	2 ^{ος} πειραματικός κύκλος: Ανακλιμάκωση και αριστοποίηση φόρτισης στερεών	104
9.4.1	Πρωτογενή αποτελέσματα.....	104
10.	Συμπεράσματα	108
11.	Βιβλιογραφία.....	110
12.	Παράρτημα	116

Περίληψη

Ο τομέας της ενέργειας διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στην παγκόσμια οικονομία. Η αύξηση των τιμών των ορυκτών καυσίμων, τα ζητήματα ενεργειακής ασφάλειας και η κλιματική αλλαγή ώθησαν και ανάγκασαν την ενεργειακή ανάπτυξη προς εναλλακτικές και ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Μια τέτοια πηγή ενέργειας αποτελούν τα βιοκαύσιμα και πιο συγκεκριμένα η βιοαιθανόλη.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε πειραματικά η δυνατότητα παραγωγής βιοαιθανόλης από προδιαλεγμένα αστικά οργανικά απόβλητα, μια πρώτη ύλη άφθονη και φθηνή που χρήζει διαχείρισης και επεξεργασίας. Το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν υπολείμματα τροφίμων διαχωρισμένα από την πηγή που συλλέχθηκαν, από τον Δήμο Βάρη-Βούλα-Βουλιαγμένη στην Αττική. Η σύστασή του σε ξηρή βάση ήταν 8,46% σε κυτταρίνη, 13,64% σε ημικυτταρίνη, 12,89% σε λιγνίνη (διαλυτή και μη διαλυτή) και 16,90% σε άμυλο. Εφαρμόστηκε διαδικασία ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF) και έλαβε χώρα αριστοποίηση της παραγωγής βιοαιθανόλης ως προς τις δόσεις του αμυλολυτικού, του κυτταρινολυτικού ενζύμου και της μαγιάς. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με την μεθοδολογία του παραγοντικού σχεδιασμού, σε εργαστηριακή κλίμακα (100mL) με σταθερό φορτίο 10% από ξηρά οικιακά βιοαπόβλητα. Στο πειραματικό εύρος που μελετήθηκε, οι βέλτιστες συνθήκες για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης αιθανόλης ήταν οι εξής: 40 μ L Spirizyme /(g αμύλου), 175 μ L NS87014/(g κυτταρίνης) και 2% *S. cerevisiae*, με απόδοση που άγγιξε το 85,87%.

Κατόπιν, πραγματοποιήθηκε ανακλιμάκωση των πειραμάτων σε μεγαλύτερου όγκου αντιδραστήρα (4L), εφαρμόζοντας τις βέλτιστες δόσεις ενζύμων και μαγιάς που προέκυψαν από τα πειράματα εργαστηριακής κλίμακας, και μελετήθηκε η επίδραση της φόρτισης στερεών (10%, 15%, 20%, 25% και 30%), με απώτερο σκοπό να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες ως προς την παραγωγή βιοαιθανόλης. Αποδείχθηκε ότι η μέγιστη συγκέντρωση (27,13 g/L) και απόδοση (61,2%) σε αιθανόλη επιτυγχάνεται με φορτίο 25%.

Συμπερασματικά, η αξιοποίηση υπολειμμάτων τροφίμων προς την κατεύθυνση της παραγωγής βιοαιθανόλης είναι τεχνικά εφικτή με ικανοποιητικές αποδόσεις. Παρόλα αυτά, περαιτέρω βελτιστοποίηση της γραμμής επεξεργασίας, αλλά και μελέτη με τεχνικο-οικονομικούς όρους είναι απαραίτητα.

Abstract

The energy sector plays a vital role in the global economy. Rising fossil fuel prices, energy security issues and climate change have pushed and forced energy development towards alternative and renewable energy sources. One such source of energy is biofuels and more specifically bioethanol.

In this diploma thesis, the potential of producing bioethanol from source-separated municipal organic waste, an abundant and cheap raw material that needs to be managed and processed, was experimentally studied. The substrate used in this study was food waste separated at source from the Municipality of Vari Voula Vouliagmeni in Attica. Its composition on a dry basis was 8.46% in cellulose, 13.64% in hemicellulose, 12.89% in lignin (soluble and insoluble) and 16.90% in starch. A simultaneous saccharification and fermentation (SSF) process was applied and optimization of bioethanol production was carried out in terms of dosages of amylolytic and cellulosic enzymes and yeast. The experiments were carried out according to the methodology of factorial design, on a laboratory scale (100mL) with a constant solid load of 10% of dry household biowaste. In the experimental range studied, the optimal conditions for achieving the maximum ethanol yield were as follows: 40 μ L Spirizyme / (g starch), 175 μ L NS87014 / (g cellulose) and 2% *S. cerevisiae*, with a yield that reached 85.87%.

Afterwards, the experiments were upscaled to a larger reactor volume (4L), applying the optimal dosages of enzymes and yeast that had resulted from the laboratory-scale experiments. The effect of solid loading (10%, 15%, 20%, 25% and 30%) was studied, with the ultimate goal of defining the optimal conditions for bioethanol production. It was proved that the maximum concentration (27.13 g / L) and ethanol yield (61.2%) was achieved with a solid load of 25%.

In conclusion, the utilization of source-separated food waste towards the production of bioethanol is technically feasible with satisfactory yields. However, further techno-economic optimization of the processing treatment train is necessary.

Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια, η ολοένα και αυξανόμενη ζήτηση ενέργειας συντελεί στην εξάντληση των ορυκτών καυσίμων, που αποτελούν μια φθινή και σχετικά ασφαλή πηγής ενέργειας. Η υπερβολική χρήση ορυκτών καυσίμων έχει οδηγήσει σε αυξήσεις τιμών και σε δραματικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Είναι επιστημονικά τεκμηριωμένο πια ότι η παρατηρούμενη κλιματική αλλαγή και η υπερθέρμανση του πλανήτη προκαλούνται από την καύση ορυκτών καυσίμων και τις ανθρωπογενείς εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου (GHG), κυρίως του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) και του μεθανίου (CH₄).

Τα βιοκαύσιμα αναδεικνύονται ως μία πραγματική εναλλακτική λύση έναντι στην χρήση των ορυκτών καυσίμων, καθώς τα τελευταία χρόνια έχουν σημειώσει εκθετική αύξηση κατανάλωσης. Ωστόσο, δεν αποτελούν μία νέα πηγή ενέργειας, δεδομένου ότι στην ιστορία του ανθρώπινου είδους φαίνεται ότι τα πρώτα καύσιμα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα βιοκαύσιμα όπως το ξύλο, το λίπος, τα φυτικά λάδια κλπ. Τα βιοκαύσιμα που παράγονται από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και συγκεκριμένα από βιοαπόβλητα-αστικά οργανικά απορρίμματα είναι τα πιο ευνοϊκά, λόγω της σχετικής αφθονίας τους, χωρίς να επηρεάζουν καθόλου την παραγωγή τροφίμων, της φιλικότητας προς το περιβάλλον, της οικονομικής βιωσιμότητας και των χαμηλών εκπομπών άνθρακα.

Η βιοαιθανόλη αποτελεί ένα ανανεώσιμο και βιώσιμο υγρό καύσιμο που αναμένεται να έχει ένα πολλά υποσχόμενο μέλλον για την αντιμετώπιση της σημερινής παγκόσμιας ενεργειακής κρίσης και της καταστροφής του περιβάλλοντος. Η βιοαιθανόλη μπορεί να παραχθεί από μικροβιακή μετατροπή της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας, δηλαδή μέσω της διαδικασίας της ζύμωσης και χρησιμοποιείται κυρίως ως καύσιμο μεταφοράς σε μείγμα με βενζίνη σε βενζινοκινητήρες.

Η μετατροπή των οικιακών διατροφικών απορριμμάτων (food waste) σε βιοαιθανόλη θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια βιώσιμη διαδικασία που θα έχει το διπλό πλεονέκτημα της επίλυσης του ζητήματος της διάθεσης των αποβλήτων τροφίμων, καθώς και της κάλυψης των ενεργειακών απαιτήσεων του αυξανόμενου πληθυσμού. Η σπατάλη τροφίμων αυξάνεται με ρυθμό 1,3 δισεκατομμυρίων τόνων ετησίως, που θεωρείται το ένα τρίτο της παγκόσμιας παραγωγής τροφίμων.

Ωστόσο, το κόστος της παραγωγής βιοαιθανόλης είναι συγκριτικά μεγαλύτερο από αυτό των ορυκτών καυσίμων. Το ενεργειακό περιεχόμενο της βιοαιθανόλης είναι αρκετά μικρότερο από αυτό της βενζίνης. Επίσης, η σύνθετη και άκαμπτη δομή της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας απαιτεί πολύπλοκες χημικές διεργασίες, ενώ η σύσταση της είναι μεταβλητή, και η προμήθεια της ασταθής. Επομένως, η παραγωγή βιοαιθανόλης έχει ακόμη πολλά περιθώρια τεχνολογικής βελτίωσης, έτσι ώστε να πλεονεκτεί έναντι της βενζίνης. Παρόλα αυτά, η βιοαιθανόλη συνιστά μία περιβαλλοντικά φιλική εναλλακτική, συγκριτικά με την βενζίνη, και μία λύση ως προς την διαχείριση των οικιακών διατροφικών απορριμμάτων.

Θεωρητικό μέρος

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 (καθεστώτα στήριξης, 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 καθεστώτα: 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 υπάρχοντων 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. (Κορδούλης Χ., 2013)

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-ETBE (αιθυλο-τριτοβουτυλ-αιθέρας), ο βιο-MTBE (μεθυλο-τριτοβουτυλαιθέρας), 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

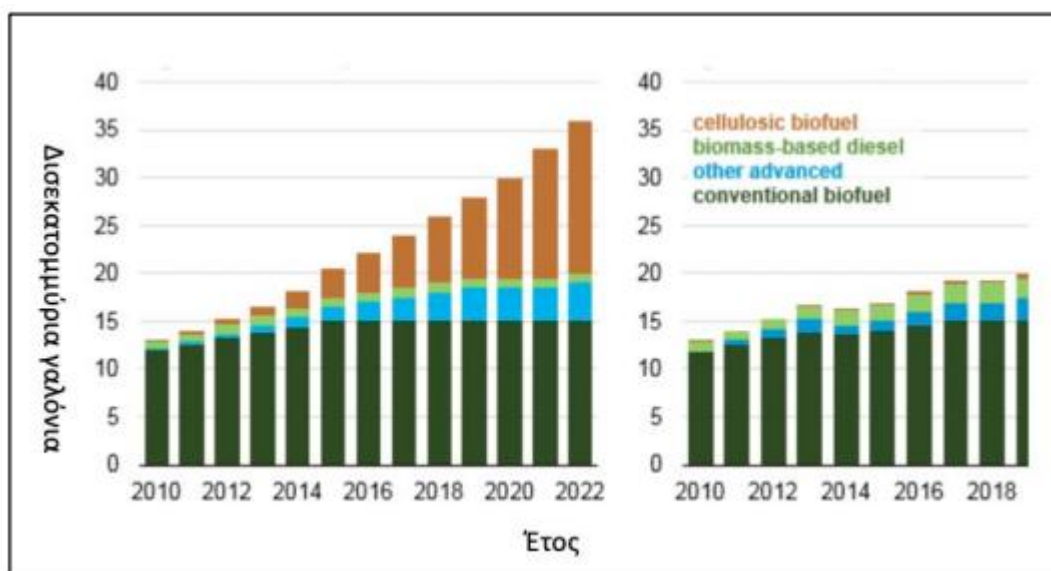
Κοινοβουλίου και Συμβουλίου για την προώθηση της χρήσης ανανεώσιμων πηγών ενέργειας η οποία εγκρίθηκε στις 11 Δεκέμβρη του 2018. Οι σημαντικότερες οδηγίες της νομοθεσίας αυτής που σχετίζονται με τα βιοκαύσιμα είναι ότι τα βιοκαύσιμα που καταναλώνονται στις μεταφορές, που παράγονται από τρόφιμα και ζωοτροφές, 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 κυτταρινούχες 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 (Directive (EU) 2018/2001). 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	2,0%									
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

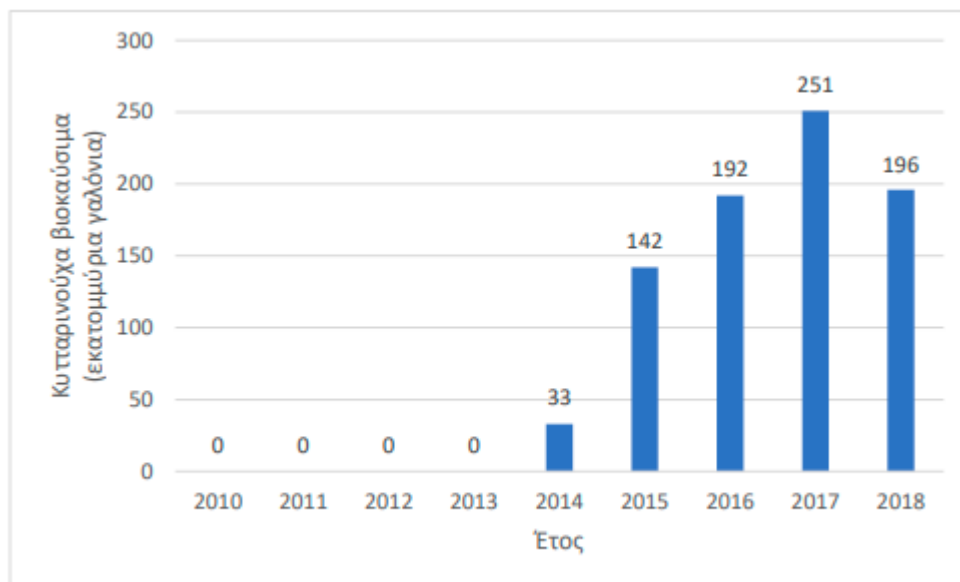
γίνεται με αεριοποίηση, ζύμωση καθώς και άλλες βιολογικές και χημικές διεργασίες. Το συνθετικό καύσιμο, το βιομεθάνιο και η βιοαιθανόλη μπορούν να παραχθούν με τέτοιο τρόπο ώστε να θεωρηθούν προηγμένα βιοκαύσιμα. Τα βιοκαύσιμα αυτά χρησιμοποιούν απόβλητα ως τροφοδοσία με αποτέλεσμα να μην αποτελούν απειλή 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 (nonfood 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 (Flach et al, 2018). 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 (Biofuels Digest).



Διάγραμμα 1: Προβλεπόμενες προδιαγραφές EISA 2007 και Προδιαγραφές σύμφωνα με το RFS (Biofuels Digest).

Ο EISA προέβλεπε ότι η αύξηση στο μερίδιο των βιοκαυσίμων θα προερχόταν από βιοκαύσιμα προερχόμενα από κυτταρινούχες τροφοδοσίες καθώς έχουν λιγότερες εκπομπές αερίων που σχετίζονται με το φαινόμενο του θερμοκηπίου συγκριτικά με τα

συμβατικά βιοκαύσιμα. Τα βιοκαύσιμα κυτταρινούχας 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 κυτταρινούχες 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 κυτταρινούχες τροφοδοσίες (Biofuels Digest).

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 (Biofuels Digest).

	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 (European commission, Biodegradable Waste). 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 κομπόστ. 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 κομπόστ, 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 (Gómez Palacios et al, 2002).

Πίνακας 3: Όρια βαρών μετάλλων στα βιοαπόβλητα (European commission, Biodegradable Waste).

Βαρέα Μέταλλα (mg/kg D.S)	Κομπόστ (τάξης 1)	Κομπόστ (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 (European commission, Biodegradable Waste). 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 (Saveyn, H. & Eder, P., 2014). 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 (Environmental Indicator report 2016). 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 κομποστ 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 κομποστ, 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 (Barth J., 2009).

2. Βιοκαύσιμα

2.1 Εισαγωγή

Τα ορυκτά καύσιμα είναι τα πιο ευρέως διαδεδομένα καύσιμα σε όλο τον πλανήτη, καθώς είναι οικονομικότερα και παράλληλα έχουν μεγαλύτερο ενεργειακό περιεχόμενο συγκριτικά με τα παραδοσιακά βιοκαύσιμα. Η καύση ορυκτών ενεργειακών πόρων με τις τεράστιες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου, έχει συμβάλλει καθοριστικά στην αλλαγή του παγκόσμιου κλίματος και στην καταστροφή του περιβάλλοντος. Έχει αποδειχθεί ότι τα βιοκαύσιμα θα μπορούσαν να αποτελέσουν υποκατάστατο των πηγών ενέργειας, αφού προσφέρουν πολλά οφέλη, συμπεριλαμβανομένης της βιωσιμότητας, της μείωσης των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και της ασφάλειας του εφοδιασμού. Επιπλέον, η αυξανόμενη ή και η περιττή χρήση των ορυκτών καυσίμων έχει οδηγήσει στην ανεπαρκή αποθήκευση τους σε υπόγειες γαίες, με αποτέλεσμα η ανθρωπότητα να εξαρτάται πια πολύ περισσότερο από τα βιοκαύσιμα.

Τα βιοκαύσιμα μπορούν να συντελέσουν στη μείωση της χρήσης των ορυκτών καυσίμων κατά συνέπεια και στη μείωση παραγωγής του διοξειδίου του άνθρακα. Αυτό συμβαίνει διότι το διοξείδιο του άνθρακα που απελευθερώνεται κατά την καύση ισοδυναμεί με το διοξείδιο του άνθρακα που δεσμεύεται από τα φυτά κατά τη φωτοσύνθεση με αποτέλεσμα να μην υπάρχει συσσώρευση στην ατμόσφαιρα. Η καύση ορυκτών καυσίμων απελευθερώνει άνθρακα που χρειάστηκαν εκατομμύρια χρόνια για να απομακρυνθεί από την ατμόσφαιρα, ενώ η καύση βιοκαυσίμων συμμετέχει σε μια διαδικασία που επιτρέπει την ταχεία ανακύκλωση του CO₂.

Στην ιστορία του ανθρώπινου είδους φαίνεται ότι τα πρώτα καύσιμα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα βιοκαύσιμα όπως το ξύλο, το λίπος, τα φυτικά λάδια κλπ.

Ως βιοκαύσιμα ορίζονται λοιπόν τα στερεά, υγρά ή αέρια καύσιμα, τα οποία προέρχονται από τη βιομάζα, δηλαδή το βιοδιασπώμενο κλάσμα προϊόντων ή αποβλήτων διαφόρων ανθρώπινων δραστηριοτήτων και μη.

Η βιομάζα αποτελείται κυρίως από ξύλο, φυτικά έλαια, δασικά προϊόντα, γεωργικές καλλιέργειες, γεωργικά κατάλοιπα ή δημοτικά απορρίμματα, κατάλοιπα οικιακών ζωικών αποβλήτων και υδρόβια φυτά. Τα δύο υγρά καύσιμα μεταφοράς με βάση τη βιομάζα που μπορεί να αντικαταστήσουν τη βενζίνη και το ντίζελ είναι η βιοαιθανόλη και το βιοντίζελ.

2.2 Είδη βιοκαυσίμων

Τα βιοκαύσιμα διακρίνονται σε τρία είδη σύμφωνα με την φυσική τους κατάσταση συγκεκριμένα σε στερεά, υγρά και αέρια. Τα βασικότερα βιοκαύσιμα που κυκλοφορούν σήμερα στο εμπόριο είναι:

• Βιοντίζελ

Το βιοντίζελ παράγεται είτε από φυτικά έλαια είτε από ζωικά λίπη. Έχει γενικά τις ίδιες ή παρόμοιες ιδιότητες με το συμβατικό ντίζελ και μπορεί να αναμειχθεί σε οποιοδήποτε ποσοστό με αυτό στους ήδη υπάρχοντες πετρελαιοκινητήρες.

• Βιοαιθανόλη

Η βιοαιθανόλη παράγεται από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και μπορεί να χρησιμοποιείται σε μίγματα με βενζίνη, σχεδόν αποκλειστικά για την κίνηση οχημάτων.

- **Βιοαέριο**

Το βιοαέριο που παράγεται από τα οργανικά αγροτοβιομηχανικά και άλλα απόβλητα και υπολείμματα, καθώς και από ενεργειακά φυτά.

- **Pellets, Briquettes**

Τα pellets και οι briquettes παράγονται από αγροτικά υπολείμματα.

Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον προσανατολίζεται προς τα υγρά και τα αέρια βιοκαύσιμα, καθώς υπάρχουν πολλές εναλλακτικές μέθοδοι αξιοποίησής τους. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον υπάρχει για το syngas (θερμοχημική αεριοποίηση Βιομάζας) προς την παραγωγή (ή συμπαραγωγή) ηλεκτρισμού και θερμότητας, ύστερα για το βιοαέριο από αναερόβιους χωνευτήρες και ΧΥΤΑ, και για το βιοϋδρογόνο που θα αξιοποιηθεί πιθανότατα στο μέλλον για ηλεκτροπαραγωγή σε μικρή κλίμακα και για την κίνηση οχημάτων μέσω των κυψελών καυσίμου (fuel cells)

2.3 Κατηγορίες βιοκαυσίμων

Τα βιοκαύσιμα κατατάσσονται σε 4 κατηγορίες.

- **Βιοκαύσιμα 1ης 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 2ης 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 αεριοθωμένων.

• 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 αποθηκεύοντας 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.

2.4 Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων

Αρχικά, όσον αφορά τους διάφορους τύπους πρώτων υλών βιομάζας που διατίθενται για παραγωγή βιοενέργειας, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

Πίνακας 4: Τύποι πρώτων υλών βιομάζας

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

Τα βιοκαύσιμα κατατάσσονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

- Τα πρωτογενή (primary biofuels) και
- Τα δευτερογενή (secondary biofuels).

Τα πρωτογενή (καυσόξυλα, ροκανίδια, πεπτιεσμένα ροκανίδια και τριονίδια-πέλετ (pellets) ή μπρικέτες- (briquettes)) χρησιμοποιούνται χωρίς προηγούμενη επεξεργασία. Αντίθετα, τα δευτερογενή βιοκαύσιμα (βιοαιθανόλη, βιοντίζελ, διμέθυλο-αιθέρας (DME) κ.ά) παράγονται μετά από χημική ή βιοχημική επεξεργασία της βιομάζας και χρησιμοποιούνται τόσο για την κίνηση των οχημάτων όσο και στη βιομηχανία.

Με βάση την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται στην παραγωγή, τα δευτερογενή βιοκαύσιμα διαχωρίζονται σε:

• **Συμβατικά (πρώτης γενιάς) βιοκαύσιμα**

Τα συμβατικά βιοκαύσιμα παράγονται από καλλιέργειες τροφίμων (ζάχαρη, άμυλο, λάδι), όπως φοίνικες, ελαιοκράμβη, σόγια, τεύτλα και δημητριακά (καλαμπόκι, σιτάρι κ.λπ.).

• **Προηγμένα βιοκαύσιμα (δεύτερης, τρίτης και τέταρτης γενιάς)**

Τα προηγμένα βιοκαύσιμα παράγονται από αστικά απόβλητα, γεωργικά υπολείμματα (δηλ. άχυρο σίτου), μη διατροφικές καλλιέργειες (π.χ. miscanthus και βραχείας περιτροπής) και φύκια.

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθεται η κατηγοριοποίηση των βιοκαυσίμων με βάση την πρώτη ύλη βιομάζας :

Πίνακας 5: Βιοκαύσιμα με βάση την πρώτη ύλη βιομάζας.

Γενιά	Πρώτη ύλη	Παράδειγμα βιοκαυσίμου
Βιοκαύσιμα 1 ^{ης} γενιάς	Ζάχαρη, άμυλο, φυτικά έλαια, ζωικά λίπη, ξύλο, άχυρο, κάρβουνο, οικιακά απορρίμματα, αποξηραμένη κοπριά	Βιοαλκοόλες, φυτικά έλαια, βιοντίζελ, βιοαέριο

Βιοκαύσιμα 2 ^{ης} γενιάς	Λιγνοκυτταρινική βιομάζα όπως γρασίδι, ξύλο, βαγάσση από ζαχαροκάλαμο, γεωργικά υπολείμματα, δασικά υπολείμματα και αστικά τροφικά απόβλητα.	Βιοαλκοόλες, βιοέλαιο, βιοϋδρογόνο, ντίζελ από ξύλο
Βιοκαύσιμα 3 ^{ης} γενιάς	Φύκη	Φυτικό έλαιο, βιοντίζελ
Βιοκαύσιμα 4 ^{ης} γενιάς	Φυτικό έλαιο, βιοντίζελ	Βιοβενζίνη

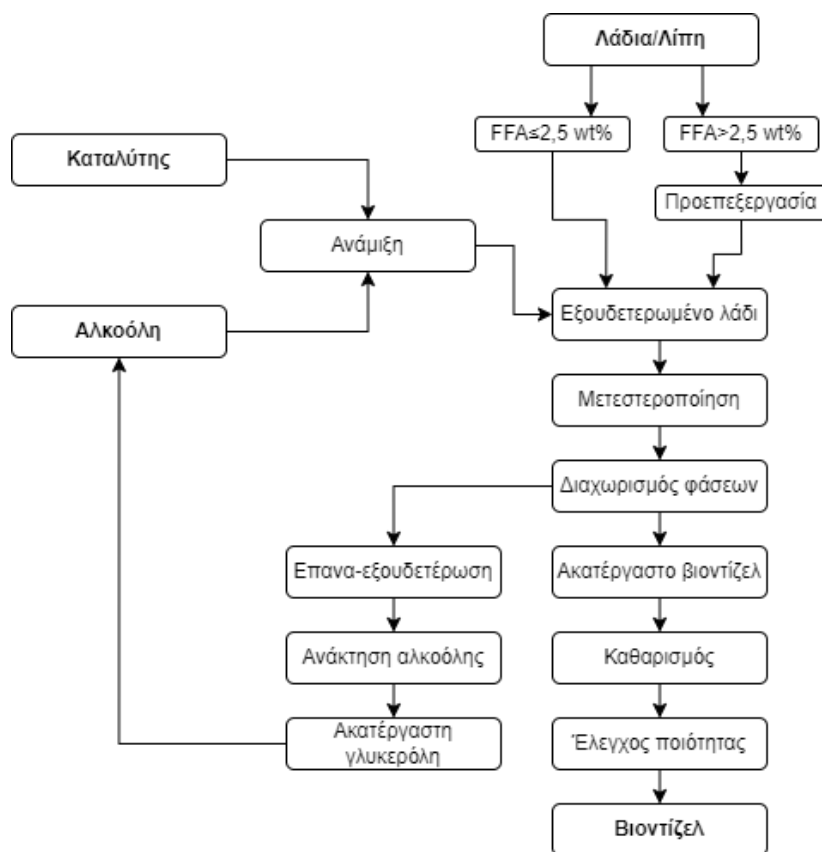
2.5 Παραγωγή βιοκαυσίμων

2.5.1 Παραγωγή βιοντίζελ

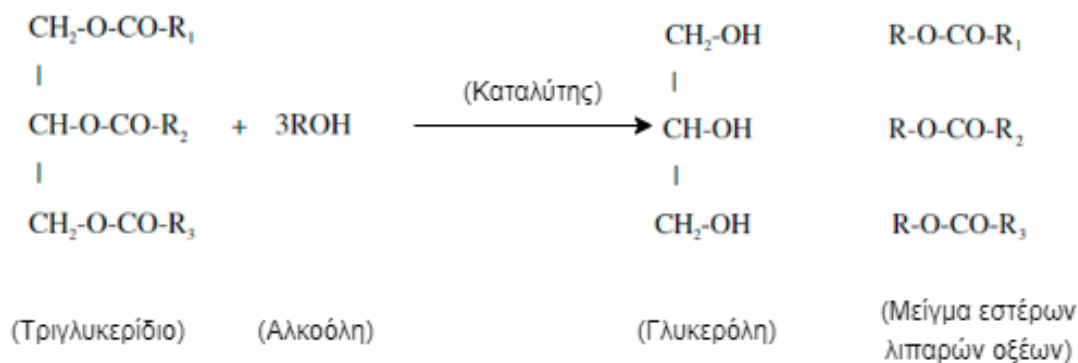
Το βιοντίζελ αποτελείται από μονοαλκυλεστέρες μακρών αλυσίδων και λιπαρών οξέων που προέρχονται από ανανεώσιμες πρώτες ύλες ζωοτροφών, όπως φυτικά έλαια και ζωικά λίπη. Αρκετές διαδικασίες έχουν καθιερωθεί για τη μετατροπή των φυτικών ελαίων σε καύσιμα που έχουν ιδιότητες συγκρίσιμες με το ντίζελ. Αυτές περιλαμβάνουν τη μετεστεροποίηση, την ανάμειξη, τη διάσπαση, τη μικρογαλακτωματοποίηση και την πυρόλυση (Sinha et al., 2008). Η μετεστεροποίηση είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την παραγωγή βιοντίζελ. Έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων διεργασιών, π.χ. εκτελείται υπό κανονικές συνθήκες και έχει καλή απόδοση βιοντίζελ, καλύτερης ποιότητας (Sinha et al., 2008).

Η μετεστεροποίηση είναι μια χημική μέθοδος κατά την οποία τα τριγλυκερίδια που αποτελούν το κύριο συστατικό (σε ποσοστό μέχρι και 98% κ.β.) των φυτικών ελαίων και των ζωικών λιπών αντιδρούν με μονοϋδρική αλκοόλη (συνήθως με μεθανόλη) παρουσία καταλύτη (υδροξείδιο του καλίου ή του νατρίου). Το βιοντίζελ (μεθυλεστέρας ή αιθυλεστέρας) που παράγεται χρησιμοποιείται σε κινητήρες ανάφλεξης με συμπίεση (κινητήρες ντίζελ) ή λέβητες θέρμανσης.

Τα βασικά βήματα της τεχνικής της μετεστεροποίησης παρουσιάζονται στο **Σχήμα 1**:



Σχήμα 1: Βασική τεχνολογία μετεστεροποίησης (Shahid et al., 2011).



Σχήμα 2: Αντίδραση μετεστεροποίησης

Όπου R_1, R_2, R_3 είναι υδρογονάνθρακες μακράς αλυσίδας, που μερικές φορές ονομάζονται αλυσίδες λιπαρών οξέων.

Σχετικά με τις πρώτες ύλες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοντίζελ έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 300. Πιο συγκεκριμένα, αυτές χωρίζονται σε συμβατικές και η μη συμβατικές πρώτες ύλες. Αυτές περιλαμβάνουν βρώσιμα έλαια, μη βρώσιμα έλαια, άγρια έλαια, χρησιμοποιημένα μαγειρικά έλαια και ζωικά λίπη (Basha et al., 2009).

Τα πλεονεκτήματα του βιοντίζελ ως καύσιμο ντίζελ είναι η βιωσιμότητα, η φορητότητα, η άμεση διαθεσιμότητα, η υψηλότερη απόδοση καύσης, η υψηλότερη

βιοαποδομησιμότητα, η μη τοξικότητα, η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε θείο, το υψηλότερο σημείο ανάφλεξης (μη εύφλεκτο) και ο υψηλότερος αριθμός κετανίων.

Μια μελέτη του κύκλου ζωής του βιοντίζελ του 1998, η οποία χρηματοδοτήθηκε από κοινού από το Υπουργείο Ενέργειας των ΗΠΑ και το Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το βιοντίζελ μειώνει τις καθαρές εκπομπές CO₂ κατά 78,45% σε σύγκριση με το πετρελαϊκό ντίζελ.

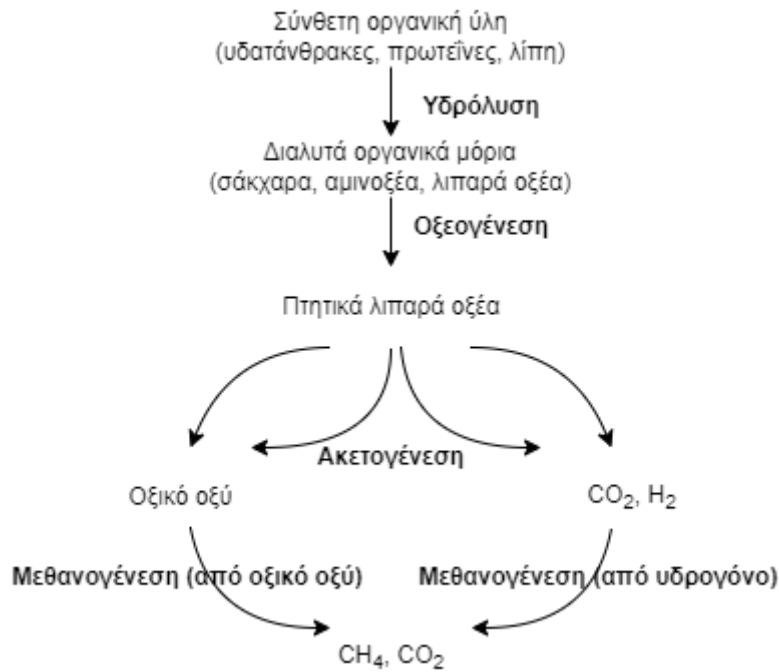
Τα κύρια μειονεκτήματα του βιοντίζελ είναι η υψηλή τιμή του, το υψηλότερο ιξώδες, το χαμηλότερο ενεργειακό περιεχόμενο, το υψηλότερο σημείο νέφωσης και το υψηλότερο σημείο ροής, οι υψηλότερες εκπομπές οξειδίων του αζώτου, οι χαμηλότερες στροφές και ισχύς του κινητήρα, η συμβατότητα του κινητήρα και η μεγαλύτερη φθορά του κινητήρα.

2.5.2 Παραγωγή βιοαερίου

Η τεχνολογία βιοαερίου, δηλαδή η αναερόβια χώνευση, είναι βιολογική μέθοδος για την αποικοδόμηση και τη σταθεροποίηση οργανικών, βιοαποικοδομήσιμων πρώτων υλών σε ειδικές μονάδες με ελεγχόμενο τρόπο. Βασίζεται στη μικροβιακή δραστηριότητα σε συνθήκες χωρίς οξυγόνο (αναερόβιες) και έχει ως αποτέλεσμα δύο τελικά προϊόντα: το ενεργειακά πλούσιο βιοαέριο και τα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά κατάλοιπα χώνευσης, δηλαδή το προϊόν χώνευσης. Το χωνεμένο υπόλειμμα είναι ένα βελτιωμένο λίπασμα όσον αφορά τη διαθεσιμότητά του σε καλλιέργειες που μπορούν να υποκαταστήσουν το ανόργανο λίπασμα (Balat, 2011). Αναερόβια αποδόμηση βιοαποικοδομήσιμων υλικών συμβαίνει επίσης στη φύση, π.χ. σε βάλτους, εδάφη, ιζήματα και στο μεταβολισμό των μηρυκαστικών.

Το βιοαέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων στην παραγωγή ενέργειας και θερμότητας, αλλά και ως αέριο καύσιμο οχημάτων. Έχει αξιολογηθεί ως μία από τις πιο ενεργειακά αποδοτικές και περιβαλλοντικά επωφελείς τεχνολογίες για την παραγωγή βιοενέργειας (Z. Karafiát et al, 2012). Μπορεί να μειώσει δραστικά τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου σε σύγκριση με τα ορυκτά καύσιμα με τη χρήση των τοπικών διαθέσιμων πόρων.

Η ζύμωση μεθανίου είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, η οποία μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις φάσεις: υδρόλυση, οξεογένεση, ακετογένεση/αφυδρογόνωση και μεθανίωση (Σχήμα 3). Τα επιμέρους στάδια αποδόμησης πραγματοποιούνται από διαφορετικές κατηγορίες μικροοργανισμών, οι οποίες εν μέρει βρίσκονται σε αλληλοσυσχέτιση και θέτουν διαφορετικές απαιτήσεις στο περιβάλλον. Οι μικροοργανισμοί που υδρολύουν και ζυμώνουν είναι υπεύθυνοι για την αρχική επίθεση σε πολυμερή και μονομερή και παράγουν κυρίως οξικό άλας και υδρογόνο και ποικίλες ποσότητες πτητικών λιπαρών οξέων, όπως το προπιονικό και το βουτυρικό. Οι υδρολυτικοί μικροοργανισμοί εκκρίνουν υδρολυτικά ένζυμα, π.χ., κυτταρινάση, σελλοβιάση, ξυλανάση, αμυλάση, λιπάση και πρωτεάση. Μια πολύπλοκη κοινοπραξία μικροοργανισμών συμμετέχει στην υδρόλυση και ζύμωση της οργανικής ύλης. Τα περισσότερα από τα βακτήρια είναι αυστηρά αναερόβια (Balat, 2011).

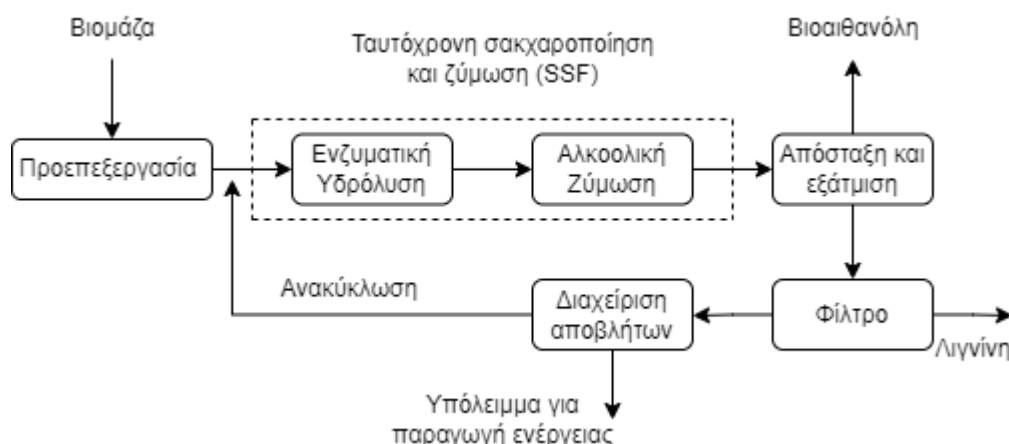


Σχήμα 3: Τα στάδια της διαδικασίας ζύμωσης μεθανίου (Tasneem Abbasi et al, 2011)

2.5.3 Παραγωγή βιοαιθανόλης

Η βιοαιθανόλη είναι ουσιαστικά αιθυλική αλκοόλη που παράγεται μέσω της διαδικασίας της σακχαροποίησης και της ζύμωσης λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας. Η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα και ιδιαίτερα τα οργανικά οικιακά απορρίμματα έχουν πολλά πλεονεκτήματα λόγω του χαμηλού κόστους της πρώτης ύλης και του άφθονου και ανανεώσιμου πόρου. Η βιομάζα αυτή απαιτεί προκατεργασία και έπειτα ενζυμική υδρόλυση των πολυσακχαριτών σε ζυμώσιμα σάκχαρα, κυρίως σε γλυκόζη. Τα σάκχαρα στη συνέχεια ζυμώνονται σε βιοαιθανόλη από μικροοργανισμούς. Στην περίπτωση που το στάδιο της διάσπασης των πολυσακχαριτών σε μονομερή (υδρόλυση, σακχαροποίηση) και το στάδιο της ζύμωσης γίνονται ξεχωριστά σε διαφορετικές συνθήκες, τότε η παραγωγή της βιοαιθανόλης χαρακτηρίζεται ως Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF). Ενώ, στην περίπτωση που τα δύο στάδια γίνονται ταυτόχρονα σε ίδιες συνθήκες, λέγεται Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF). Ωστόσο, η βιομετατροπή των λιγνοκυτταρικών πρώτων υλών σε βιοαιθανόλη συναντά πολλές δυσκολίες λόγω της ανθεκτικής φύσης της βιομάζας στη διάσπαση, της ποικιλίας των σακχάρων που απελευθερώνονται όταν η ημικυτταρίνη και τα πολυμερή κυτταρίνης θραύονται και της ανάγκης να βρεθούν ή να κατασκευαστούν γενετικά οργανισμοί για την αποτελεσματική ζύμωση αυτών των σακχάρων, τέλος λόγω του κόστους συλλογής και αποθήκευσης λιγνοκυτταρικών υλικών χαμηλής πυκνότητας.

Παρακάτω παρατίθεται το διάγραμμα παραγωγής της βιοαιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα. Τα βασικά στάδια της διαδικασίας παραγωγής είναι: προεπεξεργασία, υδρόλυση, ζύμωση και διαχωρισμός/απόσταξη προϊόντος (Balat, 2011).



Σχήμα 4: Γενικό διάγραμμα παραγωγής βιοαιθανόλης από βιομάζα λιγνοκυτταρίνης.

2.6 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα βιοκαυσίμων

Στα βασικότερα πλεονεκτήματα των βιοκαυσίμων συγκαταλέγονται τα εξής:

- Τα βιοκαύσιμα παράγουν υψηλά ποσοστά ενέργειας και είναι οικονομικά αποδοτικά, με υψηλή απόδοση (Priya et al., 2022). Έτσι τα βιοκαύσιμα μπορούν να βελτιώσουν την ενεργειακή ανεξαρτησία και ασφάλεια (Luque et al., 2008).
- Οι εκπομπές CO₂ είναι πολύ λιγότερες κατά την καύση βιοκαυσίμων, επομένως είναι φιλικά προς το περιβάλλον (Priya et al., 2022) (μετριασμός της κλιματικής αλλαγής (Luque et al., 2008)). Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή βιοκαυσίμων καταναλώνει σχεδόν ίση ποσότητα CO₂ από το περιβάλλον που απελευθερώνεται κατά τη χρήση του βιοκαυσίμου (Priya et al., 2022).
- Ορισμένα βιοκαύσιμα είναι μη τοξικά από τη φύση τους και μπορούν να αποθηκευτούν εύκολα.
- Τα βιοκαύσιμα είναι σχετικά λιγότερο εύφλεκτα από τα ορυκτά καύσιμα (Priya et al., 2022).
- Τα βιοκαύσιμα είναι βιοαποδομήσιμα και βιώσιμα.
- Τα βιοκαύσιμα παρέχουν βελτιώσεις στην υγεία και τις συνθήκες διαβίωσης των ανθρώπων.
- Οικονομικά, τα βιοκαύσιμα συμβάλλουν στη σταθεροποίηση των τιμών της ενέργειας, στη διατήρηση συναλλάγματος και στη δημιουργία θέσεων εργασίας σε μακροοικονομικό επίπεδο.
- Η οικιακή χρήση βιοκαυσίμων δεν προκαλεί απειλητικές για τη ζωή καταστάσεις υγείας, σε αντίθεση με τα ορυκτά καύσιμα (Awogbemi et al., 2021).
- Τα βιοκαύσιμα μπορούν να βοηθήσουν στην αύξηση του αγροτικού εισοδήματος και να συμβάλουν στην αγροτική ανάπτυξη. Με μια αναπτυσσόμενη αγορά βιοκαυσίμων, πολλές χώρες θα είναι σε θέση να καλλιεργούν περισσότερα είδη καλλιεργειών για να καλύψουν εθνικές ή ξένες απαιτήσεις για ενεργειακές καλλιέργειες.

Ωστόσο, υπάρχουν πολλά τεχνικά, φυσικά, οικονομικά και κοινωνικά εμπόδια για την παραγωγή και τις χρήσεις βιοκαυσίμων (Priya et al., 2022).

- Απαιτείται μεγάλη έκταση καλλιέργειας τροφίμων γεγονός που εγείρει ορισμένες ανησυχίες σχετικά με τις συγκρούσεις καυσίμων έναντι τροφίμων (Bringezu, 2009).
- Τα βιοκαύσιμα είναι πιο ακριβά από τα ορυκτά καύσιμα (Priya et al., 2022). Έχουν υψηλό αρχικό κόστος παραγωγής και αποθήκευσης και αυτό μπορεί να λειτουργήσει αποτρεπτικά για τους πιθανούς παραγωγούς και χρήστες.
- Υπάρχουν βάσιμες ανησυχίες ότι η αυξημένη ζήτηση για βιοκαύσιμα θα αυξήσει το κόστος των σχετικών γεωργικών και ξυλωδών πρώτων υλών, καθώς και άλλων πρώτων υλών.
- Η συνεχής ζήτηση για ξύλο μπορεί να οδηγήσει σε ταχεία αποψίλωση των δασών, ενώ απαιτούνται τεράστια αγροτεμάχια για την καλλιέργεια ειδικών δέντρων και άλλων μη βρώσιμων ελαίων για την παραγωγή βιοκαυσίμων (Awogbemi et al., 2021).
- Η παραγωγή βιοκαυσίμων απαιτεί μεγάλη ποσότητα ενέργειας.
- Ορισμένα βιοκαύσιμα μπορεί να καταστρέψουν το περιβάλλον από καουτσούκ και τις στεγανοποιήσεις στο θάλαμο του κινητήρα.
- Η διανομή και η προμήθεια των παραγόμενων βιοκαυσίμων δεν είναι εύκολη. Απαιτεί προηγμένο σύστημα εφοδιαστικής αλυσίδας (Priya et al., 2022).

Συνεπώς, τα βιοκαύσιμα είναι μια βιώσιμη λύση, σε συνδυασμό και με άλλες ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, ώστε να αντικατασταθούν πλήρως τα ορυκτά καύσιμα, με βασικό στόχο την μείωση του CO₂. (Mandley et al., 2020, Awogbemi et al., 2021).

Σίγουρα, η τεχνολογική εξέλιξη της παραγωγής βιοκαυσίμων θα συμβάλει στον μετριασμό των επικείμενων μειονεκτημάτων, δηλαδή κυρίως της ενεργοβόρας παραγωγής. Στην πραγματικότητα η παραγωγή βιοκαυσίμου απαιτεί περισσότερη ενέργεια, αλλά παρέχει επίσης 30% περισσότερη ενέργεια από την ενέργεια που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του. (Priya et al., 2022).

3. Βιοαιθανόλη

3.1 Εισαγωγή

Η βιοαιθανόλη είναι ένα ανανεώσιμο και βιώσιμο υγρό καύσιμο που αναμένεται να έχει ένα πολλά υποσχόμενο μέλλον για την αντιμετώπιση της σημερινής παγκόσμιας ενεργειακής κρίσης και της καταστροφής του περιβάλλοντος. Η βιοαιθανόλη δεν είναι μια νέα πηγή ενέργειας δεδομένου ότι έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην Ευρώπη και τις Ηνωμένες Πολιτείες στις αρχές του 1900, αλλά αγνοήθηκε λόγω του υψηλού κόστους παραγωγής της σε σύγκριση με τη βενζίνη (Aditiya et al., 2016).

Η βιοαιθανόλη μπορεί να παραχθεί από μικροβιακή μετατροπή της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας, δηλαδή μέσω της διαδικασίας της ζύμωσης. Η ποιότητα της βιοαιθανόλης εξαρτάται από την πρώτη ύλη. Οι τεχνολογίες μετατροπής για την παραγωγή αιθανόλης από πόρους κυτταρινούχας βιομάζας, όπως τα δασικά υλικά, τα γεωργικά κατάλοιπα και τα αστικά απόβλητα, βρίσκονται υπό συνεχή ανάπτυξη. Για την παραγωγή βιοαιθανόλης από κυτταρινική βιομάζα, χρησιμοποιείται μια διαδικασία προεπεξεργασίας για τη μείωση του μεγέθους του δείγματος, τη διάσπαση των

ημικυτταρινών σε σάκχαρα και το άνοιγμα της δομής του συστατικού της κυτταρίνης. Το τμήμα της κυτταρίνης υδρολύεται από οξέα ή ένζυμα σε σάκχαρα γλυκόζης και στην συνέχεια μέσω της ζύμωσης η γλυκόζη μετατρέπεται σε αιθανόλη. Τα σάκχαρα από τις ημικυτταρίνες ζυμώνονται επίσης σε βιοαιθανόλη. Η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται κυρίως ως καύσιμο κίνησης σε κινητήρα εσωτερικής καύσης. (Ayhan Demirbas, 2005).

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντικαταστάτης της καθαρής βενζίνης ή σε μείγματα με βενζίνη. Η κατανάλωση βιοαιθανόλης σε έναν κινητήρα είναι περίπου 51% υψηλότερη από τη βενζίνη, δεδομένου ότι η ενέργεια ανά μονάδα όγκου αιθανόλης είναι 34% χαμηλότερη από ό, τι για τη βενζίνη. Ωστόσο, η χρήση βιοαιθανόλης σε κινητήρες ανάφλεξης με σπινθήρα έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τη βενζίνη. Η βιοαιθανόλη είναι ένα οξυγονούχο καύσιμο που περιέχει 35% οξυγόνο, άρα προάγει την καλύτερη καύση. Η αιθανόλη έχει χαμηλότερες εκπομπές καυσαερίων και υψηλότερο αριθμό οκτανίων, πράγμα το οποίο επιτρέπει στους κινητήρες να λειτουργούν με υψηλότερο ρυθμό συμπίεσης. Το σημείο ανάφλεξης της αιθανόλης και του μείγματος είναι επίσης υψηλότερο από τη βενζίνη, καθιστώντας το καύσιμο ασφαλέστερο για χειρισμό κατά τη μεταφορά. Επιπλέον, η αιθανόλη έχει χαμηλότερη θερμογόνο δύναμη. Επίσης, η χρήση φυτικής βιομάζας ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης επιτρέπει την ανακύκλωση του CO₂ που απελευθερώνεται κατά την καύση, μειώνοντας τις εκπομπές του (Sebayang et al., 2016).

Συγκεκριμένα, η βιοαιθανόλη συμβάλλει στη μείωση των εκπομπών CO₂ έως και 80% σε σύγκριση με τη χρήση βενζίνης. Τα κριτήρια της βιοαιθανόλης για αντικατάσταση ή ανάμειξη με τη βενζίνη προδιαγράφονται σύμφωνα με το πρότυπο ASTM D4806, το οποίο καθορίζει τις απαιτήσεις ποιότητας της βιοαιθανόλης για κινητήρα που αναφέρεται με σπινθήρα (Aditiya et al., 2016). Συνεπώς, τα μείγματα βενζίνης-βιοαιθανόλης μπορούν να μειώσουν σημαντικά τη χρήση ορυκτών καυσίμων και τις εκπομπές GHG (αέρια του θερμοκηπίου).

Η Βραζιλία και οι ΗΠΑ είναι οι μεγαλύτεροι παραγωγοί αιθανόλης παγκοσμίως, κατέχοντας το 70% της παγκόσμιας παραγωγής αιθανόλης. Οι χώρες ήταν σε θέση να εξάγουν το 2006 με παραγωγή 17 και 20 δισεκατομμύρια λίτρα από τη Βραζιλία και τις ΗΠΑ αντίστοιχα. Η Ευρώπη ξεχωρίζει με το πρόγραμμα βιοαιθανόλης ζαχαροκάλαμου, και εξαιρετικά αποτελέσματα έχουν αποκτηθεί σε ολόκληρη την αλυσίδα παραγωγής από την ανάπτυξη, τη βελτίωση της παραγωγής περισσότερων ποικιλιών ζαχαροκάλαμου, και κινητήρες των οποίων η κατασκευή μπορεί να λειτουργήσει με οποιαδήποτε βενζίνη και μείγματα βιοαιθανόλης. Η Βόρεια Αμερική και η Σουηδία εισήγαγαν οχήματα που λειτουργούν με μείγμα καυσίμου 85% αιθανόλης με 15% βενζίνη.

Οι ΗΠΑ ηγούνται της παγκόσμιας παραγωγής βιοαιθανόλης κατά σχεδόν 20 δισεκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης. Το δεύτερο είναι από τη Βραζιλία που παρήγαγε σχεδόν 17 δισεκατομμύρια λίτρα βιοαιθανόλης, με φθηνότερο κόστος παραγωγής \$ 0.18-0.20/liter σε σύγκριση με τις ΗΠΑ (\$ 0.33-0.47/liter). Η ΕΕ αντλεί υψηλό κόστος παραγωγής για κάθε λίτρο παραγόμενης βιοαιθανόλης, το οποίο κυμαίνεται στα 0,97 \$/λίτρο, αν και σε σύγκριση με την Κίνα, η ΕΕ παρήγαγε μικρότερη βιοαιθανόλη κατά 3,4 δισεκατομμύρια λίτρα, ενώ η Κίνα παρήγαγε 3,85 δισεκατομμύρια λίτρα. Η επέκταση της παραγωγής βιοαιθανόλης θα αυξήσει τη χρήση ανανεώσιμων πηγών

ενέργειας, επιτρέποντας έτσι την ανεξαρτησία από τα ορυκτά καύσιμα. Η βιοαιθανόλη έχει λάβει ευρύτατα ενδιαφέροντα σε διεθνές, εθνικό και περιφερειακό επίπεδο.

3.2 Ιδιότητες αιθανόλης

Η αιθανόλη είναι μία υγρή ουσία η οποία είναι πτητική, εύφλεκτη, διαφανής και ευδιάλυτη στο νερό, χρησιμοποιείται ευρέως ως διαλύτης και έχει δομικό τύπο $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (National Center for Biotechnology Information, 2023). 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.

Η βιοαιθανόλη έχει υψηλότερο αριθμό οκτανίων (108), ευρύτερα όρια ευφλεκτότητας, υψηλότερες ταχύτητες φλόγας και υψηλότερες θερμοότητες εξάτμισης από τη βενζίνη. Αυτές οι ιδιότητες επιτρέπουν την υψηλότερη αναλογία συμπίεσης, το μικρότερο χρόνο καύσης και την πιο λιτή καύση, πράγματα που οδηγούν σε θεωρητικά πλεονεκτήματα απόδοσης έναντι της βενζίνης σε έναν κινητήρα εσωτερικής καύσης.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο αντί της βενζίνης, ως προσθετικό καυσίμου ή 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.

Τα μειονεκτήματα της βιοαιθανόλης περιλαμβάνουν τη χαμηλότερη ενεργειακή της πυκνότητα από τη βενζίνη (αλλά περίπου 35% υψηλότερη από αυτή της βιομεθανόλης), τη διαβρωτικότητα της, τη χαμηλή φωτεινότητα της φλόγας, τη χαμηλότερη πίεση ατμών (καθιστώντας τις κρύες εκκινήσεις δύσκολες), την αναμειξιμότητα με το νερό και την τοξικότητα στα οικοσυστήματα, την αύξηση των εκπομπών καυσαερίων ακεταλδεΐδης και την αύξηση της τάσης ατμών (και των εκπομπών εξάτμισης) όταν αναμιγνύεται με βενζίνη (Demirbas et al., 2011).

Στον παρακάτω πίνακα συμπεριλαμβάνονται όλες οι χημικές και φυσικές ιδιότητες της αιθανόλης:

Πίνακας 6 : Χημικές και φυσικές ιδιότητες της καθαρής αιθανόλης (Demirbas et al., 2011)

Ιδιότητα	Τιμή/Περιγραφή
Χρώμα	Καθαρή, άχρωμη
Φυσική κατάσταση	Πολύ κινητό υγρό

Μοριακός τύπος	CH ₃ CH ₂ OH (C ₂ H ₆ O)
Μοριακό βάρος (g/mol)	46,07
Σημείο πήξης (°C)	-114,1
Σημείο τήξης (°C)	-144,15
Σημείο βρασμού (°C)	78,32
Σημείο ανάφλεξης (°C)	13,85
Πυκνότητα (g/mL)	0,7893
Σταθερά διάστασης (pKa)	15,9
Διαλυτότητα στο νερό στους 25 °C (mg/L)	1,000,000 (υψηλά διαλυτό)
Αζεότροπο με το νερό	95% EtOH
Διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες	Αναμίξιμο σε πολλούς οργανικούς διαλύτες, συμπεριλαμβανομένου του αιθυλαιθέρα, της ακετόνης και του χλωροφορμίου. Διαλυτό στο βενζόλιο.
Ιξώδες στους 20 °C (mPa*s)	1,17
Μέγιστη θερμοκρασία φλόγας (°C)	1919,85
Ελάχιστη ενέργεια ανάφλεξης στον αέρα (mL)	0,23
Θερμοκρασία αυτανάφλεξης (°C)	362,85
Χρόνος ημιζωής αερόβιου ρύπου (DT ₅₀)	Η βιβλιογραφία προτείνει ότι το DT ₅₀ είναι 1-3 μέρες.
Υδρόλυση	Σταθερή στην υδρόλυση
Φωτοαποδόμηση	Φωτοχημική οξειδωση παρουσία ατμοσφαιρικών οξειδίων του αζώτου και οξειδίων του θείου.
Συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού (K _{ow})	0,4898
Πίεση ατμών στους 25 °C (mm Hg)	59,3
Η σταθερά του νόμου του Henry (atm*m ³ /mol)	5*10 ⁻⁶

3.3 Χρήσεις Αιθανόλης-Βιοαιθανόλης

Ανάλογα με την επικείμενη χρήση της αιθανόλης, ρυθμίζεται η περιεκτικότητά της και η καθαρότητά της, όσον αφορά τις προσμίξεις. Αναλυτικότερα, οι διάφοροι τύποι αιθανόλης παρουσιάζονται παρακάτω:

- **Αιθανόλη 95% (95,6%)** : Αυτή είναι η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης που μπορεί κανείς να αποκτήσει με απόσταξη. Είναι αζεοτροπική, που σημαίνει ότι η φάση ατμού και υγρού έχει την ίδια αναλογία αιθανόλης:νερού. Αυτή η αλκοόλη θα μπορούσε να ληφθεί είτε συνθετικά στο εργαστήριο από μια ποικιλία πρώτων υλών είτε με διαδικασία ζύμωσης διαφορετικών βιομαζών. Η ποιότητα αυτού του αλκοόλ θεωρείται ότι είναι συμβατή με τις βιομηχανίες τροφίμων και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε αρώματα, καραμέλες, προϊόντα προσωπικής φροντίδας και ως φορέας για ένα ευρύ φάσμα φαρμάκων όπως για τον βήχα, τα αποσυμφορητικά και τα διαλύματα ιωδίου (Alzeer et al., 2016).
- **Καθαρή αιθανόλη (99-100%)** : Η καθαρή αιθανόλη χρησιμοποιείται σε πειράματα που είναι ευαίσθητα στο νερό. Μια κοινή μέθοδος για την παραγωγή αιθανόλης με συγκέντρωση μεγαλύτερη από 95% είναι η χρήση πρόσθετων, όπως το τολουόλιο, το επτάνιο, το κυκλοεξάνιο και το 2-βουτάνιο που διαταράσσουν τη σύνθεση των αζεοτρόπων και επιτρέπουν περαιτέρω απόσταξη. Για το λόγο αυτό, η καθαρή αιθανόλη περιέχει ίχνη αυτών των προσθέτων. Καθώς η αιθανόλη είναι υγροσκοπική, το νερό μπορεί να απορροφηθεί εύκολα από την αιθανόλη, επομένως η καθαρή αιθανόλη πρέπει να προετοιμαστεί σε κοντινό χρονικό διάστημα ή να διατηρηθεί πάνω από μέταλλο μαγνησίου και να αποσταχθεί όταν χρειάζεται (Alzeer et al., 2016).
Η αλήθεια είναι ότι μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό του συνόλου της αιθυλικής αλκοόλης που παράγεται για βιομηχανικούς σκοπούς πωλείται ως καθαρή αιθυλική αλκοόλη. Ωστόσο, η καθαρή αιθανόλη συνεισφέρει σημαντικά στη βιομηχανία και την επιστήμη. Τα νοσοκομεία και τα ερευνητικά εργαστήρια εξαρτώνται από την καθαρότητα και την ευελιξία της ως αντιδραστήριο και ως διαλύτης. Πολλά φάρμακα, προϊόντα διατροφής και αρώματα δεν θα μπορούσαν να παραχθούν εύκολα χωρίς αυτήν.
Το καθαρό οινόπνευμα χρησιμοποιείται για πολλά φαρμακευτικά σιρόπια και ελιξίρια. Τα αρωματικά εκχυλίσματα, τα οποία χρησιμοποιούνται συνήθως για πολλά αναψυκτικά, λαμβάνονται με τη χρήση καθαρού αλκοόλ, όπως και το γνωστό εκχύλισμα βανίλιας, το οποίο βρίσκεται σχεδόν σε κάθε κουζίνα. Οι απολυμαντικές ιδιότητες, η ισχύς του διαλύτη και η καθαρότητα καθιστούν την καθαρή αιθυλική αλκοόλη το αντιδραστήριο επιλογής για πολλές κλινικές και εργαστηριακές εφαρμογές (Alzeer et al., 2016).
- **Μετουσιωμένη αιθανόλη**: Η ειδικά μετουσιωμένη αλκοόλη είναι ο μεγαλύτερος, ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος τύπος αλκοόλης (Alzeer et al., 2016). Κατασκευάζεται έτσι ώστε να είναι ακατάλληλη για ανθρώπινη κατανάλωση με την προσθήκη μίας ή περισσότερων χημικών ουσιών, όπως μεθανόλη και ισοπροπανόλη. Συνήθως είναι φθηνότερη από την καθαρή αιθανόλη και χρησιμοποιείται συχνά ως καθαριστικό και απολυμαντικό. Η αιθανόλη αυτή αποτελεί ένα αποτελεσματικό απολυμαντικό σε συγκεντρώσεις μεταξύ 70 και 90% (Alzeer et al., 2016).

Η μετουσιωμένη αιθανόλη χρησιμοποιείται συνήθως σε κολόνιες και αρώματα και σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας που περιλαμβάνουν αποσμητικά, παρασκευάσματα για τα μαλλιά και το τριχωτό μέρος της κεφαλής, στοματικά διαλύματα, λοσιόν, κρέμες, σαπουνία και παρασκευάσματα μπάνιου και λοσιόν για πλύσιμο χεριών χωρίς νερό. Άλλες εφαρμογές είναι σε φαρμακευτικά προϊόντα για εξωτερική εφαρμογή, όπως ενώσεις αλκοόλης εντριβής και διάφορα αντισηπτικά διαλύματα (π.χ. βάμμα ιωδίου). Χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως ως διαλύτες στην παρασκευή αντιβιοτικών, χαπιών, εμβολίων και βιταμινών (Alzeer et al., 2016).

Το ξύδι παράγεται εκτενώς από ειδικά μετουσιωμένη αλκοόλη. Το σταθερό κόστος πρώτης ύλης και η εξασφαλισμένη προμήθεια υψηλής ποιότητας προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα στους παραγωγούς ξυδιού (Alzeer et al., 2016).

Οι εφαρμογές οικιακών προϊόντων στις οποίες χρησιμοποιούνται μετουσιωμένες αλκοόλες περιλαμβάνουν εντομοκτόνα αερολύματος, εντομοαπωθητικά, αποσμητικά δωματίου και μυκητοκτόνα. Χρησιμοποιούνται επίσης στην κατασκευή πολλών ειδών προσωπικής φροντίδας, απορρυπαντικών και σαπουνιών (Alzeer et al., 2016).

Επομένως, η αιθανόλη χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη σε:

- **Προϊόντα προσωπικής φροντίδας και φάρμακα**

Η αιθανόλη είναι μια σημαντική πρώτη ύλη στα φαρμακευτικά προϊόντα, τα φάρμακα και τα καλλυντικά. Χρησιμοποιείται κυρίως ως διαλύτης, παράγοντας εκχύλισης και απολυμαντικό για να βοηθήσει στον καθαρισμό του δέρματος. Χρησιμοποιείται σε λοσιόν ως συντηρητικό και σε ψεκασμούς μαλλιών για να βοηθήσουν το σπρέι να κολλήσει στα μαλλιά.

Ωστόσο, οι ποσότητες αιθανόλης που χρησιμοποιούνται για αυτούς τους σκοπούς είναι σημαντικά μικρότερες σε σύγκριση με αυτές που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή ενέργειας στη χημική βιομηχανία και στη βιομηχανία τροφίμων (Baras et al., 2002).

- **Απολυμαντικά προϊόντα**

Η αιθανόλη είναι υπεύθυνη για την θανάτωση μικροοργανισμών όπως βακτηρίων, μυκήτων και ιών για αυτό είναι ένα από τα κύρια συστατικά σε πολλά απολυμαντικά χεριών.

- **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.

- **Τρόφιμα**

Η αιθανόλη χρησιμοποιείται από την αρχαιότητα με τη μορφή αλκοολούχων ποτών, όμως σε αυτή την περίπτωση δεν θεωρείται βιομηχανικό προϊόν (Baras et al., 2002).

Η βιοαιθανόλη που λαμβάνεται βιομηχανικά (που παράγεται αποκλειστικά με ζύμωση) χρησιμοποιείται πλέον στη βιομηχανία τροφίμων:

- 3 στην παραγωγή ισχυρών αλκοολούχων ποτών, όπως ρούμι, βότκα, τζιν κ.λπ.
- 4 ως παράγοντας συντήρησης και
- 5 ως διαλύτης (Baras et al., 2002).

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.

- **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.

- **Οργανική χημική σύνθεση**

Η χημικά καθαρή, άνυδρη (απόλυτη) αιθανόλη χρησιμοποιείται κυρίως ως πρώτη ύλη στην οργανική χημική σύνθεση. Η αιθανόλη χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ακεταλδεΐδης (σχεδόν το ήμισυ της παράγεται στις ΗΠΑ) ακολουθούμενη από τη χρήση της στην παραγωγή οξικού οξέος, οξικού αιθυλεστέρα και άλλων αιθυλεστέρων, αιθυλαιθέρα, διαιθυλαιθέρα, γλυκόλης και άλλων αιθέρων. Ωστόσο, το φάσμα των προϊόντων από αιθανόλη είναι πολύ ευρύτερο. Για παράδειγμα, μόνο η Union Carbide Corporation παράγει περισσότερες από 70 διαφορετικές οργανικές χημικές ουσίες χρησιμοποιώντας την αιθανόλη ως πρώτη ύλη (Baras et al., 2002).

Η σημασία της αιθανόλης ως πρώτη ύλη για την οργανική χημική βιομηχανία μπορεί να κριθεί καλύτερα από το γεγονός ότι μεταξύ 50 από τις πιο συχνά παραγόμενες οργανικές και ανόργανες χημικές ουσίες το 1995, εννέα μπορούσαν να ληφθούν από αιθανόλη: αιθέριο, διχλωριούχο αιθυλένιο, χλωριούχο βινύλιο, αιθυλενοξειδίο, αιθυλενογλυκόλη, οξικό οξύ, βουταδιένιο, ακρυλονιτρίλιο και οξικό βινύλιο. Αυτές οι εννέα χημικές ουσίες παράγονται σήμερα κυρίως από πετροχημικά. Ωστόσο, οι πετρελαϊκοί πόροι που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή πετροχημικών θα εξαντληθούν στο εγγύς μέλλον. Αυτό δημιουργεί νέες ευκαιρίες για παραγωγή αιθανόλης από ζύμωση έτσι ώστε, εκτός από τη χρήση της ως συμπλήρωμα στη βενζίνη, να μπορεί να γίνει υποκατάστατο του αργού πετρελαίου ως πετροχημική πρώτη ύλη (Baras et al., 2002).

3.4 Βιοαιθανόλη ως καύσιμο

Η βιοαιθανόλη παράγεται συνήθως από τη ζύμωση των σακχάρων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υποκατάστατο βενζίνης σε κινητήρες ανάφλεξης με σπινθήρα. Ωστόσο, το κόστος της παραγωγής βιοαιθανόλης είναι συγκριτικά μεγαλύτερο από αυτό των ορυκτών καυσίμων. Η μεγάλης κλίμακας παραγωγή αιθανόλης ως βιοκαύσιμο βασίζεται κυρίως σε σακχαρόζη από ζαχαροκάλαμο στη Βραζιλία ή σε άμυλο, από καλαμπόκι, στις ΗΠΑ. Η τρέχουσα παραγωγή αιθανόλης με βάση το καλαμπόκι, το άμυλο και τις σακχαρούχες ουσίες δεν είναι ιδιαίτερα επιθυμητή λόγω της τροφικής τους αξίας. (Sarkar N. et al, 2012)

Η βιοαιθανόλη έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι της βενζίνης. Με βάση τον παρακάτω πίνακα 7, ο αριθμός οκτανίων (RON), (κατά συνέπεια και ο δείκτης ανικροτοκότητας) της βιοαιθανόλης είναι μεγαλύτερος από αυτόν της βενζίνης. Επομένως, τα ποσοστά αυτανάφλεξης στο θάλαμο καύσης είναι πολύ μικρότερα, με αποτέλεσμα η λειτουργία του κινητήρα να είναι ομαλότερη.

Επιπλέον, 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. Ακόμη, η βιοαιθανόλη είναι ένα οξυγονωμένο καύσιμο που περιέχει 35% οξυγόνο, το οποίο μειώνει τις εκπομπές σωματιδίων και NO_x από την καύση (Demirbas et al., 2011). Η βιοαιθανόλη μπορεί να μειώσει έως και 80% το διοξείδιο του άνθρακα σε σύγκριση με τη βενζίνη, (Luque et al., 2008).

Από την άλλη πλευρά, το ενεργειακό περιεχόμενο της βιοαιθανόλης είναι αρκετά μικρότερο από αυτό της βενζίνης, γεγονός που δικαιολογείται από τη μικρότερη τιμή της θερμογόνου δύναμης που έχει η βιοαιθανόλη. Το κυριότερο μάλλον μειονέκτημα της βιοαιθανόλης είναι ότι είναι υγροσκοπική, καθώς η ανάμειξη βιοαιθανόλης με βενζίνη θα πρέπει να γίνεται ακριβώς πριν από τη χρήση της. Έτσι, προκύπτουν ζητήματα αποθήκευσης και διανομής των βιοκαυσίμων, επιβαρύνοντας το κόστος του τελικού προϊόντος. Επιπρόσθετα, η βιοαιθανόλη έχει υψηλότερη θερμοκρασία ανάφλεξης, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται προβλήματα στην εκκίνηση της μηχανής σε κρύες περιόδους. Προτείνεται, λοιπόν, να χρησιμοποιείται μίγμα βενζίνης-βιοαιθανόλης σε περιοχές που έχουν χαμηλές θερμοκρασίες. Όταν η βιοαιθανόλη αναμειχθεί με βενζίνη, τότε παράγεται το λεγόμενο "gasohol".

Η βιοαιθανόλη μπορεί να αναμειχθεί με βενζίνη σε αναλογία έως 10% και 15% σύμφωνα με τις απαιτήσεις των προδιαγραφών EN 15376 και ASTM D4806, αντίστοιχα. Σε αυτή την περίπτωση η βιοαιθανόλη θα πρέπει να είναι άνυδρη προκειμένου να αποφευχθεί ο διαχωρισμός φάσης βενζίνης-αιθανόλης. Το πιο διαδεδομένο μίγμα αποτελείται από 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη (E-10) και υποστηρίζεται από τα συμβατικά οχήματα που κυκλοφορούν στην αγορά. Στις ΗΠΑ χρησιμοποιείται η αναλογία μίγματος με 15% αιθανόλη και 85% βενζίνη (E-15). Η αιθανόλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην καθαρή της μορφή (E-100). Θα πρέπει να σημειωθεί όμως ότι η χρήση καθαρής αιθανόλης (E-100) απαιτεί τροποποιήσεις του κινητήρα για να ξεπεραστούν ζητήματα που σχετίζονται με τη συμπίεση του καυσίμου,

τον χρόνο έγχυσης και τη διάβρωση του κινητήρα. Μίγματα που περιέχουν 85% αιθανόλη και 15% βενζίνη (E-85) 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 (Fivga A. et al, 2019).

Παρακάτω παρατίθεται ένας **πίνακας** σύγκρισης μεταξύ της βενζίνης, της καθαρής αιθανόλης (E-100) και του μίγματος αυτών με σύσταση 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη (E-10).

Πίνακας 7: Ιδιότητες μεταξύ της βενζίνης, της καθαρής αιθανόλης (E-100) και του μίγματος αυτών με σύσταση 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη (E-10) (Al-Mashhadani, 2017).

Ιδιότητες	Βενζίνη	E-100	E-10
Ιξώδες mm ² /s	0,48-0,84	1,57 (20 °C)	0,53 (30 °C)
Σημείο ανάφλεξης °C	-65	13	-40
Αριθμός οκτανίων (RON)	86,4-100	108,6-114	87,4-94
Σημείο θόλωσης °C	-22	-	8
Σημείο ροής °C	(-17) - (-19)	-	0
Θερμογόνος δύναμη (MJ/Kg)	41,9-44,4	26-30	33,19-44,22

3.5 Πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοαιθανόλης

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της βιοαιθανόλης είναι οι εξής τρεις: Σακχαρούχα, αμυλούχα και λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα . Η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα (δεύτερης γενιάς) υπερτερεί της σακχαρούχας και της αμυλούχας (που είναι και οι δύο πρώτης γενιάς), λόγω της χρήσης τους και ως τρόφιμα ή ζωοτροφές. Αντίθετα, η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα υπάρχει σε αφθονία και έχει χαμηλότερο κόστος. (Tomás-Rejón et al., 2011).

3.5.1 Σακχαρούχες πηγές

Οι βασικότερες σακχαρούχες πηγές για την παραγωγή βιοαιθανόλης προέρχονται από ζαχαροκάλαμο, ζαχαρότευτλα και φρούτα πλούσια σε σάκχαρα (π.χ. σταφυλιού, καρπουζιού και μήλου). Στα θετικά αυτών των πρώτων υλών συγκαταλέγεται η υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων, η μη απαίτηση προεπεξεργασίας και η εύκολη υδρόλυση, ενώ στα αρνητικά συγκαταλέγεται η εποχιακή διαθεσιμότητα τους και ο ανταγωνισμός που προκύπτει με τα τρόφιμα. (Bušić et al., 2018). Ακόμη, σακχαρούχα πηγή θεωρούνται και τα απόβλητα από διυλιστήρια ζάχαρης. Η μελάσα, παραδείγματος χάριν, αποτελεί ένα κύριο υποπροϊόν της βιομηχανίας ζάχαρης, είτε από ζαχαροκάλαμο είτε από ζαχαρότευτλα, και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα για την παραγωγή μαγιάς και βιοαιθανόλης, αλλά μπορεί επίσης να είναι κατάλληλη για την παραγωγή ζωοτροφών. Τα συνολικά της σάκχαρα ανέρχονται σε 50–60% (m/V), εκ των οποίων περίπου το 60% είναι σακχαρόζη, γεγονός που καθιστά αυτό το υπόστρωμα κατάλληλο για παραγωγή βιοαιθανόλης μεγάλης κλίμακας (Senthilkumar et al., 2009).

3.5.2 Αμυλούχες πηγές

Οι αμυλούχες πρώτες ύλες περιλαμβάνουν τα σιτηρά, όπως καλαμπόκι, κριθάρι, σιτάρι ή κόκκοι σόργου (με άμυλο 60-80 %), ρίζες όπως μανιόκα, πατάτα, γλυκοπατάτα, αγκινάρα ή κάκτος (με άμυλο 60-90 %), όσπρια (με άμυλο 25-50%) και πράσινα και ανώριμα φρούτα (έως 70% άμυλο). Οι συγκεκριμένες πρώτες ύλες διακρίνονται από την διαθεσιμότητά τους παγκοσμίως, την εύκολη μετατροπή και την υψηλή απόδοση σε αιθανόλη, καθώς επίσης και από την δυνατότητα αποθήκευσης για μεγάλο χρονικό διάστημα (Bušić et al., 2018). Στις ΗΠΑ, το καλαμπόκι αποτελεί πηγή πάνω από το 95% της παραγωγής βιοαιθανόλης και το υπόλοιπο παράγεται από κριθάρι, σιτάρι, ορό γάλακτος και υπολείμματα ποτών (Solomon et al., 2007).

Ένα βασικό μειονέκτημα είναι ότι για να παραχθεί βιοαιθανόλη, θα πρέπει να πραγματοποιηθεί υδρόλυση του αμύλου με ένζυμα (α-αμυλάση και γλυκοαμυλάση) για να αποικοδομηθεί το άμυλο σε γλυκόζη και ύστερα να γίνει η ζύμωση της γλυκόζης σε αιθανόλη, γεγονός το οποίο αποτελεί ένα επιπρόσθετο κόστος, συγκριτικά με τις σακχαρούχες πρώτες ύλες. (Bušić et al., 2018).

Μία άλλη πηγή παραγωγής βιοαιθανόλης είναι τα μικροφύκη, τα οποία μετατρέπουν το CO₂ της ατμόσφαιρας σε λιπίδια και πολυσακχαρίτες. Θα ήταν, επομένως, χρήσιμο στα πλαίσια της βιωσιμότητας, να συλλέγεται το βιομηχανικό εκπεμπόμενο CO₂ και να τροφοδοτεί καλλιέργειες μικροφυκών. Τα μικροφύκη έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν άμυλο, ως εφεδρικό πολυσακχαρίτη, άρα γίνεται δυνατή η παραγωγή βιοαιθανόλης (τρίτης γενιάς) μετά από την κατάλληλη προεπεξεργασία. (Bušić et al., 2018).

3.5.3 Λιγνοκυτταρινούχες πηγές

Οι ανανεώσιμες λιγνοκυτταρινούχες πηγές προς παραγωγή βιοαιθανόλης υπερσχύουν έναντι των άλλων προαναφερθέντων πηγών, καθώς διακρίνονται από την μεγάλη αφθονία τους σε όλο τον κόσμο και δεν επηρεάζουν καθόλου την παραγωγή τροφίμων και ζωοτροφών. Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα αποτελεί το 50% της παγκόσμιας βιομάζας, και περιλαμβάνει κυρίως υπολείμματα και απόβλητα, κατά συνέπεια αποτελεί συνήθως την φθηνότερη πρώτη ύλη συγκριτικά με τις σακχαρούχες και αμυλούχες πηγές (Cherubini et al., 2011). Αξίζει να σημειωθεί ότι, η χρήση βιοαιθανόλης που προέρχεται από λιγνοκυτταρινική βιομάζα σχετίζεται με την αξιολογή μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου (Binod et al., 2010).

Η παγκόσμια παραγωγή φυτικής βιομάζας είναι περίπου 200×10^9 t/y, ενώ σχεδόν 8×10^9 - 20×10^9 τόνοι εξ αυτών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα μπορεί να παραληφθεί από διάφορες πηγές όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 8: Πηγές λιγνοκυτταρινικής βιομάζας (Bušić et al., 2018)

Είδος Βιομάζας	Παραδείγματα
Δασικά υπολείμματα	Μαλακά ξύλα (πεύκο, έλατο), σκληρά ξύλα (ασπένι, λεύκα), πριονίδια, κλαδιά, φλοιοί δέντρων
Αγροτικά υπολείμματα	Βαγάσση από ζαχαροκάλαμο και γλυκό σόργο, διαφορετικοί τύποι άχυρου, φλούδες σιτηρών, φύλλα, κουκούτσια, πολτός ελιάς, κοπριά ζώων
Υδροβία φυτά	Υάκινθος νερού κ.α.
Βιομηχανικά απόβλητα	Βιομηχανία τροφίμων, βιομηχανία χαρτιού κ.α.
Αστικά απόβλητα	Οικιακά στερεά οργανικά απόβλητα

Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα περιέχει κατά μέσο όρο 43% κυτταρίνη, 27% λιγνίνη, 20% ημικυτταρίνη και 10% άλλα συστατικά (Cherubini et al., 2011). Αυτή η σύνθετη και άκαμπτη δομή της λιγνοκυτταρινικής βιομάζας απαιτεί πολύπλοκες χημικές διεργασίες. Η σύσταση της είναι διαφορετική από είδος σε είδος, από περιοχή σε περιοχή, καθώς επίσης η συγκομιδή λιγνοκυτταρινικών καλλιεργειών συνήθως δεν είναι δυνατή καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου, γεγονός το οποίο οδηγεί στην αστάθεια της προμήθειας της ως βιομάζα.

Όλα αυτά είναι υπαρκτά προβλήματα και για αυτό θα πρέπει πρώτα να σταθεροποιείται όσο το δυνατόν περισσότερο η περιεκτικότητα της βιομάζας, αλλά και να σχεδιάζεται η μακροπρόθεσμη αποθήκευση της (Bušić et al., 2018).

3.6 Παραγωγή βιοαιθανόλης

Η βιοαιθανόλη παράγεται με την μετατροπή βιομάζας σε σάκχαρα, τα οποία στη συνέχεια με αλκοολική ζύμωση μετατρέπονται σε αιθανόλη. Σε γενικές γραμμές, η διαδικασία που ακολουθείται για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι η εξής:

- Παραγωγή πρώτης ύλης (θερισμός, συγκομιδή, αποθήκευση, ξήρανση),
- Καθαρισμός πρώτης ύλης από ανεπιθύμητα φερτά υλικά και άλεση/κοπή της για μείωση του μεγέθους της,
- Προεπεξεργασία, για την απομάκρυνση της λιγνίνης που έχει παρεμποδιστική τάση και για την αποικοδόμηση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης (φυσική, φυσικοχημική και βιολογική προκατεργασία),
- Υδρόλυση/Σακχαροποίηση, για τη λήψη ζυμώσιμων σακχάρων.
- Ζύμωση με κατάλληλους μικροοργανισμούς, για τη μετατροπή των σακχάρων σε αιθανόλη.
- Ανάκτηση και αφυδάτωση, για διαχωρισμό και καθαρισμό της παραγόμενης αιθανόλης (Branco et al., 2019). Πραγματοποιείται μέσω της διαδικασίας της απόσταξης, και προκύπτει τελικό προϊόν με περιεκτικότητα περίπου 95% αιθανόλη και 5% νερό.



Σχήμα 5: Βήματα για τη μετατροπή της λιγνοκυτταρινικής βιομάζας σε βιοαιθανόλη (Zabed et al., 2017).

Στην συνέχεια, περιγράφονται αναλυτικά τα προαναφερθέντα στάδια της προεπεξεργασίας των πρώτων υλών, της υδρόλυσης των πολυσακχαριτών και της ζύμωσης των σακχάρων.

3.6.1 Προεπεξεργασία

Η σημαντικότερη πρόκληση για την παραγωγή βιοκαυσίμων είναι η προεπεξεργασία της βιομάζας. Η λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα αποτελείται από τρία κύρια συστατικά, την ημικυτταρίνη, τη λιγνίνη και την κυτταρίνη. Οι μέθοδοι προεπεξεργασίας αναφέρονται στη διαλυτοποίηση και το διαχωρισμό ενός ή περισσότερων από αυτά τα συστατικά της βιομάζας και καθιστούν την υπόλοιπη στερεή βιομάζα πιο προσιτή για περαιτέρω χημική ή βιολογική επεξεργασία (DEMİRBAŞ, A. ,2005).

Το λιγνοκυτταρινούχο σύμπλοκο αποτελείται από μία μήτρα κυτταρίνης και λιγνίνης, που δεσμεύεται από αλυσίδες ημικυτταρίνης. Η προεπεξεργασία γίνεται για να σπάσει αυτή η μήτρα, προκειμένου να μειωθεί ο βαθμός κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης και να αυξηθεί το κλάσμα της άμορφης κυτταρίνης, της πιο κατάλληλης μορφής για ενζυματική προσβολή (Sanchez O.J. et al, 2008).

Με άλλα λόγια, η προεπεξεργασία πραγματοποιείται με σκοπό την αλλαγή του μακροσκοπικού και μικροσκοπικού μεγέθους, αλλά και της δομής της βιομάζας, καθώς επίσης και της υπομικροσκοπικής δομής και της χημικής σύνθεσης της. Η προεπεξεργασία, λοιπόν, καθιστά τη λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα ευαίσθητη στην ταχεία υδρόλυση, με αυξημένες αποδόσεις των μονομερών σακχάρων (Mosier N. et al, 2005).

Συγκεκριμένα, οι στόχοι μιας αποτελεσματικής διαδικασίας προεπεξεργασίας είναι οι εξής:

- Ο σχηματισμός σακχάρων άμεσα ή στη συνέχεια με υδρόλυση,
- η αποφυγή απώλειας ή/και αποδόμησης των σακχάρων που σχηματίζονται,
- ο περιορισμός του σχηματισμού ανασταλτικών προϊόντων,
- η μείωση των ενεργειακών απαιτήσεων και
- η ελαχιστοποίηση του κόστους.

Οι θεμελιώδεις τεχνικές προεπεξεργασίες που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι οι φυσικές, χημικές, φυσικοχημικές και βιολογικές επεξεργασίες ή ένας συνδυασμός αυτών των τεχνικών.

Να επισημανθεί ότι η προεπεξεργασία θεωρείται ότι είναι το κύριο εμπόδιο στην ανάπτυξη μιας οικονομικά αποδοτικής παραγωγής βιοαιθανόλης από λιγνοκυτταρινική βιομάζα και αντιπροσωπεύει περίπου το 40% του συνολικού κόστους.

3.6.1.1 Φυσική προεπεξεργασία

3.6.1.1.1 Μηχανική μείωση μεγέθους

Το πρώτο βήμα για την παραγωγή αιθανόλης από οργανικά στερεά απόβλητα είναι ο τεμαχισμός, η θραύση ή αλλιώς η άλεση. Αυτό μειώνει την κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης (Sun Y. et al, 2002), και βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της επόμενης επεξεργασίας, διότι μεγιστοποιείται η προσβάσιμη επιφάνεια για χημικές και ενζυμικές αντιδράσεις, και κατά συνέπεια αυξάνεται ο ρυθμός υδρόλυσης και/ή ενζυμικής σακχαροποίησης. Η μείωση του μεγέθους μπορεί να παρέχει καλύτερα αποτελέσματα (Bjerre et al, 1996), (Pandey, A., 2008), αλλά το μέγεθος των πολύ λεπτών σωματιδίων μπορεί να επιφέρει αρνητικές επιπτώσεις, καθώς μπορεί να δημιουργήσει συσσωματώματα κατά τη διάρκεια των επακόλουθων βημάτων που περιλαμβάνουν υγρό. Επίσης όσο μειώνεται το μέγεθος των κόκκων τόσο περισσότερο αυξάνεται η κατανάλωση ενέργειας. (Da Silva et al, 2010).

3.6.1.1.2 Ακτινοβολία μικροκυμάτων

Η ακτινοβολία μικροκυμάτων εφαρμόζει ηλεκτρομαγνητικό πεδίο για να προκαλέσει εσωτερική θέρμανση ενός αντικειμένου. Στην παραγωγή βιοαιθανόλης, αυτή η προσέγγιση είναι εφαρμόσιμη με σκοπό τη δομική διάσπαση της προεπεξεργασμένης βιομάζας. Στο λιγνοκυτταρινικό υλικό, τα μικροκύματα επιτίθενται στους πολικούς δεσμούς δονώντας τη δομή μέχρι το υλικό να θερμανθεί εσωτερικά. Ως αποτέλεσμα, η σύνθετη λιγνοκυτταρινική δομή σπάει, διευρύνοντας την πρακτική περιοχή για την επακόλουθη ενζυματική επίθεση. Σύμφωνα με έρευνες η προεπεξεργασία του άχυρου ρυζιού και της βαγάσης με μικροκύματα, ακολουθούμενη από εκχύλιση λιγνίνης, αποδίδει 43–55% των συνολικών διαθέσιμων αναγωγικών σακχάρων. (Aditiya et al., 2016).

3.6.1.1.3 Πυρόλυση

Η πυρόλυση είναι μια ενδοθερμική διεργασία όπου απαιτείται λιγότερη ενέργεια. Κατά τη διεργασία αυτή, τα υλικά υποβάλλονται σε επεξεργασία σε θερμοκρασία άνω των 300 °C, κατά την οποία η κυτταρίνη αποσυντίθεται ταχέως για την παραγωγή αέριων προϊόντων, όπως H₂ και CO, και υπολειπόμενου εξανθρακωμένου άνθρακα. Η αποσύνθεση είναι πολύ πιο αργή και λιγότερο πτητικά προϊόντα σχηματίζονται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (Sanchez et al, 2008), (Prasad S. et al, 2007), (Mtui G.Y., 2009).

Το υπόλειμμα εξανθράκωσης υποβάλλεται σε περαιτέρω επεξεργασία με έκπλυση με νερό ή με ήπιο οξύ. Το προϊόν έκπλυσης νερού περιέχει αρκετή πηγή άνθρακα για να υποστηρίξει τη μικροβιακή ανάπτυξη για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Η γλυκόζη είναι

το κύριο συστατικό των εκπλυμάτων νερού. Κατά μέσο όρο, το 55% του συνολικού βάρους της βιομάζας χάνεται κατά την έκπλυση με νερό (Das P. et al, 2004).

3.6.1.2 Φυσικοχημική προεπεξεργασία

3.6.1.2.1 Έκρηξη ή αυτοϋδρόλυση ατμού

Η έκρηξη ατμού είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος προεπεξεργασίας που καθιστά τη βιομάζα πιο προσβάσιμη σε προσβολή της κυτταρίνης. Αυτή η μέθοδος προεπεξεργασίας χωρίς τη χρήση οποιουδήποτε καταλύτη είναι πολλά υποσχόμενη και τα κλάσματα βιομάζας αποδίδουν λεβουλινικό οξύ, ξυλιτόλη και αλκοόλες. Στη μέθοδο αυτή η βιομάζα θερμαίνεται με ατμό υψηλής πίεσης (20–50 bar, 160–290 °C) για λίγα λεπτά. Η αντίδραση στη συνέχεια σταματά με ξαφνική αποσυμπίεση στην ατμοσφαιρική πίεση. Όταν ο ατμός μπορέσει να διασταλεί εντός της λιγνοκυτταρινούχας μήτρας, διαχωρίζει τις μεμονωμένες ίνες. Η υψηλή ανάκτηση ξυλόζης (45–65%) καθιστά την προεπεξεργασία της έκρηξης ατμού οικονομικά ελκυστική (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.2.2 Μέθοδος υγρού ζεστού νερού

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί συμπιεσμένο ζεστό νερό σε υγρή μορφή (σε πίεση πάνω από το σημείο κορεσμού) για την υδρόλυση της ημικυτταρίνης. Πρόκειται για μια υδροθερμική μέθοδο προεπεξεργασίας που απελευθερώνει υψηλό κλάσμα ημικυτταρικών σακχάρων με τη μορφή ολιγομερών. Γενικά λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασίες 170–230 °C και πιέσεις άνω των 5 MPa για 20 λεπτά. Συμβάλλει, ωστόσο, στην παραγωγή μικρών ποσοτήτων ανεπιθύμητων ενώσεων αποικοδόμησης, όπως φουρφουράλη, καρβοξυλικό οξύ, οι οποίες είναι πολύ τοξικές στη ζύμωση αιθανόλης, καθώς αναστέλλουν τη μικροβιακή ανάπτυξη. Πρόκειται για μια περιβαλλοντικά ελκυστική και οικονομικά ενδιαφέρουσα μέθοδο, καθώς η ανάκτηση ξυλόζης είναι σχετικά υψηλή (88-98%) και δεν απαιτείται να προστεθεί οξύ ή άλλη χημική ουσία (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.2.3 Έκρηξη ινών αμμωνίας

Η προεπεξεργασία της έκρηξης ινών αμμωνίας (AFEX) περιλαμβάνει την υγρή αμμωνία και την έκρηξη ατμού. Το AFEX είναι μια αλκαλική θερμική προεπεξεργασία η οποία εκθέτει τα λιγνοκυτταρινούχα υλικά σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση, ακολουθούμενη από ταχεία απελευθέρωση πίεσης. Αυτή η μέθοδος δεν παράγει αναστολές των διεργασιών και δεν απαιτείται μικρό μέγεθος σωματιδίων για την αποτελεσματικότητα. Αυτή η προεπεξεργασία έχει τα μειονεκτήματα ότι είναι λιγότερο αποτελεσματική για τη βιομάζα που περιέχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιγνίνη, καθώς και ότι προκαλεί τη διαλυτοποίηση μόνο ενός πολύ μικρού κλάσματος στερεού υλικού, ιδιαίτερα ημικυτταρίνης. Τα πλεονεκτήματα είναι ότι είναι απλή προεπεξεργασία και έχει σύντομο χρόνο διαδικασίας (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.2.4 Έκρηξη CO₂

Η έκρηξη CO₂ δρα κατά τρόπο παρόμοιο με εκείνον των τεχνικών έκρηξης ατμού και αμμωνίας. Ωστόσο, η έκρηξη CO₂ είναι πιο αποδοτική από την έκρηξη αμμωνίας και δεν προκαλεί το σχηματισμό αναστολέων, όπως στην έκρηξη ατμού. Οι αποδόσεις

μετατροπής είναι υψηλότερες σε σύγκριση με τη μέθοδο έκρηξης ατμού (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.3 Χημική προεπεξεργασία

Οι μέθοδοι χημικής προεπεξεργασίας περιλαμβάνουν τη χρήση αραιού οξέος, αλκαλίων, αμμωνίας, οργανικού διαλύτη, SO₂, CO₂ ή άλλων χημικών ουσιών. Αυτές οι μέθοδοι είναι εύκολες στη λειτουργία και έχουν καλές αποδόσεις μετατροπής σε σύντομο χρονικό διάστημα.

3.6.1.3.1 Όξινη Προεπεξεργασία

Η όξινη προεπεξεργασία θεωρείται ως μία από τις σημαντικότερες τεχνικές και στοχεύει σε υψηλές αποδόσεις σακχάρων από λιγνοκυτταρινούχα πρώτη ύλη. Συνήθως πραγματοποιείται με συμπυκνωμένα ή αραιωμένα οξέα (συνήθως μεταξύ 0,2% και 2,5% w/w) σε θερμοκρασίες μεταξύ 130 °C και 210 °C. Το θειικό οξύ χρησιμοποιείται ευρέως για όξινη προεπεξεργασία μεταξύ διαφόρων τύπων οξέος όπως υδροχλωρικό οξύ, νιτρικό οξύ και φωσφορικό οξύ. Η όξινη προεπεξεργασία μπορεί να χρησιμοποιήσει είτε αραιά είτε συμπυκνωμένα οξέα για να βελτιώσει την υδρόλυση της κυτταρίνης. Το όξινο μέσο προσβάλλει τους πολυσακχαρίτες, ιδιαίτερα τις ημικυτταρίνες που είναι ευκολότερο να υδρολυθούν από την κυτταρίνη. Ωστόσο, η όξινη προεπεξεργασία έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή διαφόρων αναστολέων όπως το οξικό οξύ, η φουρφουράλη και η 5-υδροξυμεθυλοφουρφουράλη. Αυτά τα προϊόντα είναι αναστολείς ανάπτυξης μικροοργανισμών. Επομένως, τα υδρολύματα που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν για ζύμωση πρέπει να αποτοξινωθούν (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.3.2 Αλκαλική προεπεξεργασία

Η αλκαλική προεπεξεργασία των λιγνοκυτταρινούχων υλών έχει ως αποτέλεσμα την χώνευση της λιγνίνης και καθιστά την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη διαθέσιμες για ενζυματική αποδόμηση. Η αλκαλική επεξεργασία της λιγνοκυτταρίνης διαταράσσει το κυτταρικό τοίχωμα, διαλύοντας ημικυτταρίνες, λιγνίνη και διοξειδίο του πυριτίου, υδρολύοντας ουρονικούς και οξικούς εστέρες και διογκώνοντας την κυτταρίνη. Η κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης μειώνεται λόγω διόγκωσης. Με αυτή τη διαδικασία, τα υποστρώματα μπορούν να κλασματοποιηθούν σε αλκαλοδιαλυτή λιγνίνη, ημικυτταρίνες και υπολείμμα, που αποτελείται κυρίως από κυτταρίνη. Στη διαδικασία αυτή χρησιμοποιούνται υδροξείδια του νατρίου, του καλίου, του ασβεστίου και του αμμωνίου. Οι αλκαλικές διεργασίες προεπεξεργασίας χρησιμοποιούν χαμηλότερες θερμοκρασίες και πιέσεις από άλλες τεχνολογίες προεπεξεργασίας. Οι Sun et al (1995) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα διαφορετικών αλκαλικών διαλυμάτων αναλύοντας την απολιγνιτοποίηση και τη διάλυση της ημικυτταρίνης σε άχυρο σίτου.» Διαπίστωσαν ότι η βέλτιστη συνθήκη επεξεργασίας ήταν η χρήση NaOH 1,5% για 144 ώρες στους 20 °C, απελευθερώνοντας 60% και 80% λιγνίνη και ημικυτταρίνη αντίστοιχα. Η NaOH έχει αναφερθεί ότι αυξάνει την πεπτικότητα του σκληρού ξύλου από 14% σε 55% μειώνοντας την περιεκτικότητα σε λιγνίνη από 24–55% σε 20% (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.3.3 Υγρή Οξειδωση

Στην υγρή οξείδωση, η πρώτη ύλη υποβάλλεται σε επεξεργασία με νερό, και είτε με αέρα είτε με οξυγόνο σε θερμοκρασίες άνω των 120 °C. Το νερό προστίθεται στη βιομάζα σε αναλογία 1 L ανά 6 g βιομάζας. Με αυτήν την τεχνική επιτυγχάνεται η μεταφορά των ημικυτταρίνων από τη στερεά στην υγρή φάση, όμως δεν υδρολύει τα απελευθερωμένα μόρια ημικυτταρίνης. Τα προϊόντα της υδρόλυσης ημικυτταρίνης κατά την υγρή οξείδωση είναι ολιγομερή σακχάρων (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.3.4 Προεπεξεργασία με οργανικό διαλύτη

Οι διεργασίες προεπεξεργασίας με οργανικό διαλύτη είναι εναλλακτικές μέθοδοι για την απολιγνοποίηση των λιγνοκυτταρινούχων υλών. Η χρήση οργανικών μειγμάτων διαλύτη/νερού εξαλείφει την ανάγκη καύσης του υγρού και επιτρέπει την απομόνωση των λιγνινών (με απόσταξη του οργανικού διαλύτη). Παραδείγματα τέτοιων προεπεξεργασιών περιλαμβάνουν τη χρήση 90% μυρμηκικού οξέος και του συνδυασμού πεπτιεσμένου διοξειδίου του άνθρακα (50% μείγμα αλκοόλης/νερού και 50% διοξείδιο του άνθρακα). Άλλοι διάφοροι οργανικοί διαλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απολιγνοποίηση είναι η μεθανόλη, η αιθανόλη, το οξικό οξύ, το εκτελεστικό οξύ και το υπεροξικό οξύ, η ακετόνη κ.λπ. Ένας συνδυασμός αμμωνίας και ιοντικών υγρών για την προεπεξεργασία του άχυρου ρυζιού είχε ως αποτέλεσμα τη μετατροπή της κυτταρίνης σε γλυκόζη κατά 97% (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.1.4 Βιολογική προεπεξεργασία

Η βιολογική προεπεξεργασία στηρίζεται στην αποικοδόμηση του λιγνοκυτταρινούχου συμπλέγματος ώστε να απελευθερωθεί η κυτταρίνη με την βοήθεια μικροοργανισμών όπως είναι οι μύκητες της μαλακής μούχλας, οι μύκητες της καφέ μούχλας και οι μύκητες της λευκής μούχλας. Η βιολογική προεπεξεργασία οδηγεί στην αποδόμηση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης και οι μύκητες της λευκής μούχλας φαίνεται να είναι ο πιο αποτελεσματικός μικροοργανισμός. Η καφέ μούχλα αποικοδομεί την κυτταρίνη, ενώ η λευκή και η μαλακή μούχλα αποικοδομούν τόσο την κυτταρίνη, όσο και τη λιγνίνη (Sarkar N. et al, 2012).

Η ικανότητα των μυκήτων να αποικοδομούν τη λιγνοκυτταρινική δομή έγκειται στο υδρολυτικό σύστημα και στο λιγνινολυτικό σύστημα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την παραγωγή υδρολασών για την απελευθέρωση πολυσακχαρίτη και για τη διάσπαση της δομής της λιγνίνης, αντίστοιχα (Aditiya et al., 2016).

Αυτή η μέθοδος είναι ασφαλής και εξοικονομεί ενέργεια λόγω της λιγότερης μηχανικής υποστήριξης. Δεν χρειάζεται χημικές ουσίες, αλλά τα χαμηλά ποσοστά υδρόλυσης και οι χαμηλές αποδόσεις δυσχεραίνουν την εφαρμογή της (Sarkar N. et al, 2012).

3.6.2 Υδρόλυση/Σακχαροποίηση

Κατά την διαδικασία της υδρόλυσης η μακριά αλυσίδα υδατανθράκων (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, άμυλο) διασπάται στα μονομερή της, μέσω της προσθήκης μορίων νερού και συνήθως η διάσπαση καταλύεται από κάποιο ένζυμο ή οξύ. Το συγκεκριμένο στάδιο είναι απαραίτητο για την παραγωγή βιοαιθανόλης, διότι οι μικροοργανισμοί που προστίθενται στο στάδιο της ζύμωσης έχουν την ικανότητα να ζυμώσουν μόνο την

απλούστερη μορφή σακχάρου, όπως η γλυκόζη, από τον σύνθετο υδατάνθρακα της βιομάζας.

Υπάρχουν δύο κατηγορίες υδρόλυσης, η όξινη και η ενζυματική. Η ενζυματική υδρόλυση είναι μία ακριβή τεχνική, λόγω του υψηλού κόστους των ενζύμων όμως συγκριτικά με την όξινη υδρόλυση, τα ένζυμα λειτουργούν σε πιο ήπιο περιβάλλον, κατά συνέπεια χρειάζεται λιγότερο κόστος συντήρησης εξοπλισμού. Επίσης, ένα σημαντικό πρόβλημα της όξινης υδρόλυσης είναι η ικανότητα του οξέος να αποικοδομεί σταδιακά τα μονομερή σακχάρου μόλις σχηματιστούν σε ένα εχθρικό όξινο περιβάλλον με υψηλή θερμοκρασία (Aditiya et al., 2016).

3.6.2.1 Όξινη Υδρόλυση

Κατά την διαδικασία της όξινης υδρόλυσης χρησιμοποιούνται συνήθως θειικά ή υδροχλωρικά οξέα σε διάφορες συγκεντρώσεις προκειμένου να διασπαστούν η κυτταρινούχα και ημικυτταρινούχα βιομάζα. Η συμπυκνωμένη όξινη υδρόλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες και επιτυγχάνεται υψηλή απόδοση σακχαροποίησης, συγκεκριμένα περίπου το 90% της θεωρητικής απόδοσης γλυκόζης. Ωστόσο, απαιτεί υψηλές συγκεντρώσεις οξέος, συνήθως στην περιοχή 30-70%, γεγονός το οποίο οδηγεί σε διάβρωση του εξοπλισμού. Επομένως, η συμπυκνωμένη όξινη υδρόλυση συνεπάγεται οικονομικά και περιβαλλοντικά προβλήματα (Kennes et al., 2016). Από την άλλη πλευρά, η αραιωμένη όξινη υδρόλυση απαιτεί πολύ μικρότερη ποσότητα οξέος, 2-5%, και εφαρμόζεται πιο συχνά στη βιομηχανία. Ωστόσο, απαιτεί θερμοκρασία περίπου 200 °C, η οποία μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό διαφορετικών ανασταλτικών ενώσεων, όπως οξικό οξύ, φουρφουράλη, HMF και φαινόλες. Αυτές οι ενώσεις όχι μόνο επηρεάζουν αρνητικά το επόμενο στάδιο της ζύμωσης, αλλά μειώνουν και την απόδοση σακχαροποίησης (Branco et al., 2019).

3.6.2.2 Ενζυματική Υδρόλυση

Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν τις αποδόσεις σχηματισμού μονομερών σακχάρων από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα μέσω της ενζυματικής υδρόλυσης όπως ο χρόνος και η θερμοκρασία της προκατεργασίας, το pH, η περιεκτικότητα σε υγρασία και το μέγεθος των σωματιδίων. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση είναι η συγκέντρωση του υποστρώματος, η φόρτωση των ενζύμων και οι ρυθμοί ανάμιξης.

Είναι γεγονός ότι η ενζυματική υδρόλυση απαιτεί ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας και pH (δηλαδή, 50–60 °C και pH 4,5–5,5). Αυτές οι συνθήκες απαιτούν λιγότερη ενέργεια και δεν οδηγούν στο σχηματισμό ανασταλτικών ενώσεων ή στη διάβρωση του εξοπλισμού. Επιπλέον, η ενζυματική υδρόλυση επιτυγχάνει υψηλές αποδόσεις σακχαροποίησης, περίπου 80-95%, και έχει μειωμένες περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Kamzon et al., 2016). Βασικό μειονέκτημα της ενζυματικής υδρόλυσης αποτελεί το κόστος των ενζύμων, το οποίο αντιπροσωπεύει περίπου το 20% του συνολικού κόστους παραγωγής αιθανόλης. Επίσης, στα αρνητικά χαρακτηριστικά συγκαταλέγεται και η βραδύτητα των αντιδράσεων, η οποία οδηγεί σε μεγάλους χρόνους υδρόλυσης (π.χ. 36 ώρες) (Branco et al., 2019).

Στην περίπτωση των οικιακών οργανικών αποβλήτων που περιέχουν υψηλά ποσοστά αμύλου, η ενζυμική υδρόλυση του αμύλου εκτελείται με την προσθήκη ενός μίγματος

ενζύμων, δηλαδή αυτό της α-αμυλάσης και γλυκοαμυλάσης. Το ένζυμο α-αμυλάση μπορεί να καταλύσει την υδρόλυση α-1,6-γλυκοσιδικών δεσμών διακλαδισμένων πολυσακχαριτών παράγοντας γραμμικούς ολιγοσακχαρίτες. Στη συνέχεια το ένζυμο γλυκοαμυλάση καταλύει την αντίδραση της σακχαροποίησης των γραμμικών ολιγοσακχαριτών παράγοντας ζυμώσιμα σάκχαρα όπως η γλυκόζη, η σακχαρόζη, η φρουκτόζη και η μαλτόζη (Robertson G. et al, 2006).

Στη ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης της βιομάζας 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) (Vohra M. et al 2014).

3.6.3 Ζύμωση Σακχάρων

3.6.3.1 Μικροοργανισμοί

Στο επόμενο στάδιο, αφού έχουν παραχθεί τα ζυμώσιμα σάκχαρα, χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της ζύμωσης και να παραχθεί η βιοαιθανόλη, που είναι το ζητούμενο. Για μια εμπορικά βιώσιμη μέθοδο παραγωγής αιθανόλης, ένας ιδανικός μικροοργανισμός θα πρέπει να έχει ευρεία χρήση υποστρώματος, υψηλή απόδοση αιθανόλης και παραγωγικότητα, θα πρέπει να έχει την ικανότητα να αντέχει υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης και υψηλή θερμοκρασία, θα πρέπει να είναι ανεκτικός στους αναστολείς που υπάρχουν στο προϊόν υδρόλυσης και να έχει κυτταρολυτική δράση. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται γενετικά τροποποιημένοι ή μηχανικά επεξεργασμένοι μικροοργανισμοί που έχουν τις περισσότερες προαναφερθέντες ιδιότητες, έτσι ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή ζύμωση των σακχάρων. (Sarkar N. et al, 2012).

Τα σάκχαρα, λοιπόν, χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα στην παραγωγή βιοαιθανόλης από ζύμες ή βακτήρια, με βάση τη γραμμομοριακή μάζα, όπως φαίνεται στην παρακάτω εξίσωση.



Θεωρητικά, οι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να παράγουν, για κάθε kg γλυκόζης, 0,51 kg αιθανόλης και 0,49 kg διοξειδίου του άνθρακα (Balat M. & Balat H., 2009). 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 (Vohra M. et al 2014).

3.6.3.2 Διεργασίες ζύμωσης

Οι διεργασίες που χρησιμοποιούνται συνήθως στη ζύμωση του λιγνοκυτταρινούχου υδρολύματος είναι η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (**SSF**, simultaneous saccharification and fermentation) και η ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση (**SHF**, separate hydrolysis and fermentation). Η διεργασία SHF έχει χρησιμοποιηθεί παραδοσιακά, και έχει το πλεονέκτημα να μπορούν οι δύο διαδικασίες να πραγματοποιηθούν υπό τις βέλτιστες συνθήκες, γεγονός πολύ σημαντικό, διότι οι βέλτιστες θερμοκρασίες λειτουργίας των υδρολυτικών ενζύμων διαφέρουν από αυτές

των μικροβιακών στελεχών που παράγουν αιθανόλη, συνήθως δηλαδή περίπου 50 και 28–37 °C, αντίστοιχα. Ωστόσο, τα υδρολυτικά ένζυμα συμβάλλουν στην αναστολή του τελικού προϊόντος και αυτό αποτελεί ένα σοβαρό μειονέκτημα.

Η αναστολή του τελικού προϊόντος εξαλείφεται στην SSF, καθώς η υδρόλυση και η ζύμωση εκτελούνται ταυτόχρονα στο ίδιο δοχείο. Έτσι, τα υδρολυμένα σάκχαρα ζυμώνονται αμέσως σε αιθανόλη, βελτιώνοντας τόσο την αποτελεσματικότητα της ενζυμικής υδρόλυσης, όσο και την απόδοση της αιθανόλης. Επιπλέον, η SSF πλεονεκτεί, αφού καταργείται η ανάγκη για ξεχωριστούς αντιδραστήρες, με αποτέλεσμα το κόστος να μειώνεται (Choudhary et al, 2016). Η SSF από οικονομική πλευρά είναι αποδοτική, αλλά η διαφορά μεταξύ των βέλτιστων συνθηκών θερμοκρασίας του υδρολυτικών ενζύμων και των ζυμωτικών μικροοργανισμών θέτει ορισμένους περιορισμούς (Sarkar N. et al, 2012).

Το γεγονός αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με τη μείωση της θερμοκρασίας, παρά τη μείωση της υδρολυτικής αποτελεσματικότητας της κυτταρινάσης. Η θερμοκρασία δεν θα μπορούσε να αυξηθεί, καθώς οι ζυμομύκητες όταν εκτεθούν σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τη βέλτιστη θερμοκρασία τους, η μορφολογία και η φυσιολογία τους αλλάζουν και μπορεί να προκληθούν κυτταρικές βλάβες, μειώνοντας τη βιωσιμότητά τους και τον μεταβολισμό τους. Επομένως, η υψηλή θερμοκρασία οδηγεί σε χαμηλότερη συγκέντρωση, απόδοση και παραγωγικότητα αιθανόλης. Αρκετοί θερμοφιλοι μικροοργανισμοί που ανήκουν σε είδη, όπως το *Clostridium*, το *Thermoanaerobacterium*, το *Thermoanaerobacter* και το *Kluveromyces* αναγνωρίστηκαν ως πιθανοί παραγωγοί αιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα με την διαδικασία της SSF. Βέβαια, αυτοί οι μικροοργανισμοί εξακολουθούν να παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής πολλαπλών υποπροϊόντων και των χαμηλών αποδόσεων και ρυθμών παραγωγής αιθανόλης. (Branco et al., 2019).

3.6.3.3 Συστήματα ζύμωσης

Τα συστήματα ζύμωσης ταξινομούνται σύμφωνα με τον τρόπο λειτουργίας τους ως:

1. continuous flow (σύστημα συνεχούς ροής),
2. fed-batch (σύστημα στο οποίο το βιοαπόβλητο τροφοδοτείται κατά παρτίδες)
3. batch (σύστημα στο οποίο όλη η τροφοδοσία εισέρχεται στον χρόνο μηδέν της διεργασίας).

Για να επιλεγεί το καταλληλότερο σύστημα εξετάζονται τα χαρακτηριστικά του υδρολύματος, οι κινητικές ιδιότητες της μαγιάς και οι τεχνοοικονομικές παράμετροι.

3.6.4 Ανάκτηση και αφυδάτωση

Κατά το τέλος της διαδικασίας της ζύμωσης, το μίγμα περιέχει μόνο περίπου 5% κατά βάρος βιοαιθανόλη, συγκριτικά με αυτήν της πρώτης γενιάς, η οποία μπορεί να φτάσει το 12% κατά βάρος. Το μίγμα ζύμωσης αρχικά αποστάζεται σε στήλη απογυμνωτή που συμπυκνώνει την αιθανόλη σε ποσοστό άνω του 20% κατά βάρος και, στη συνέχεια, το ρεύμα αιθανόλης συμπυκνώνεται περαιτέρω σε μια στήλη ανορθωτή σε όχι περισσότερο από 95,6% κατά βάρος αιθανόλη σε νερό, λόγω του σχηματισμού ενός ελάχιστου αζεότροπου που βράζει στους 78,15 °C και στην 1 atm. Η απόσταση

αποτελεί μία ενεργοβόρα μέθοδο, αντιπροσωπεύοντας το 60–80% του συνολικού κόστους διαχωρισμού της βιοαιθανόλης από το νερό, ιδιαίτερα λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης αιθανόλης στο μίγμα. Για να αναμειχθεί με βενζίνη, θα πρέπει να ληφθεί άνυδρη αιθανόλη (>99,5 % κατά βάρος αιθανόλη) και απαιτείται ένα στάδιο αφυδάτωσης μετά την απόσταξη. Στο παρελθόν, η αφυδάτωση γινόταν συνήθως με αζεοτροπική απόσταξη. Λόγω της υψηλής ζήτησης σε ενέργεια, η αζεοτροπική απόσταξη αντικαταστάθηκε από προσρόφηση με μοριακά κόσκινα ζεόλιθου (Galbe et al., 2013).

4. Οικιακά Απορρίμματα - Βιοαπόβλητα

4.1 Εισαγωγή

Η μέση ποσότητα αστικών στερεών αποβλήτων (ΑΣΑ) που παράγει ένα άτομο στην Ευρώπη είναι περίπου 475 kg ετησίως. Ο αριθμός αυτός αυξάνεται συνεχώς λόγω της εκθετικής αύξησης του παγκόσμιου πληθυσμού, η οποία συνδέεται άμεσα με την εκτεταμένη κατανάλωση ενέργειας και φυσικών πόρων. Τα ΑΣΑ περιλαμβάνουν τα βιοαποικοδομήσιμα απόβλητα κήπων, τα απόβλητα τροφίμων και κουζίνας από νοικοκυριά, γραφεία, εστιατόρια, χονδρικό εμπόριο, κυλικεία, μονάδες τροφοδοσίας και χώρους λιανικής πώλησης, καθώς και συγκρίσιμα απόβλητα από μονάδες επεξεργασίας τροφίμων. Το οργανικό κλάσμα των ΑΣΑ είναι το μεγαλύτερο κλάσμα των ΑΣΑ, αντιπροσωπεύοντας το 40–50% της συνολικής περιεκτικότητας σε ξηρά ουσία. Το οργανικό κλάσμα προέρχεται από απορρίμματα κουζίνας, που αποτελούνται από φλούδες φρούτων και λαχανικών, μαγειρεμένα και άψητα τρόφιμα, κρέας και οστά, με περιεκτικότητα σε υγρασία ίση ή μεγαλύτερη από 75%. Επίσης, μπορεί να αποτελείται και από λιγνοκυτταρινική βιομάζα όπως γρασίδι και κλαδιά. Το οργανικό κλάσμα περιέχει κυρίως υδατάνθρακες (30–40%), λιπίδια (10–15%) και πρωτεΐνες (5–15%) (ξηρό βάρος). Επιπλέον, τα οργανικά κλάσματα παρουσιάζουν συνήθως μεταβλητό περιεχόμενο αδρανών υλικών όπως πλαστικό, γυαλί και κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, των οποίων οι συγκεντρώσεις εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το σύστημα συλλογής που χρησιμοποιείται. Η παρουσία μεγάλης ποσότητας αδρανών υλικών μπορεί να προκαλέσει διαφορετικά τεχνολογικά προβλήματα και να μειώσει την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας αξιοποίησης. Τα χαρακτηριστικά και τα ποσοστά παραγωγής των οργανικών κλασμάτων σχετίζονται με το σύστημα διαλογής, την εποχικότητα, τον πληθυσμό, τις διατροφικές συνήθειες και τις κοινωνικοοικονομικές συνθήκες. Το οργανικό κλάσμα θεωρείται ως ένα απαιτητικό υπόστρωμα λόγω της πολύπλοκης και ετερογενούς φύσης του. Για αυτό το λόγο υπογραμμίζεται η σημασία του διαχωρισμού των βιολογικών αποβλήτων στην πηγή (Duque A. et al, 2021).

Είναι γεγονός ότι με την ταχεία αστικοποίηση και την οικονομική ανάπτυξη, οι πυκνοκατοικημένες μεγαλουπόλεις αντιμετωπίζουν μια αυξανόμενη πρόκληση για τη διαχείριση των οικιακών στερεών αποβλήτων (HSW) (Yousefloo et al, 2020). Η συνολική ποσότητα αποβλήτων αναμένεται να φθάσει τα 3,40 δισεκατομμύρια τόνους παγκοσμίως έως το 2050, με περίπου το ένα τρίτο των αποβλήτων να μην τυγχάνουν καλής διαχείρισης λόγω απόρριψης ή καύσης (Kaza et al., 2018). Αυτό ασκεί μεγάλη πίεση στις μεγαλουπόλεις ειδικότερα, όσον αφορά την έλλειψη γης, τη σπατάλη τροφίμων και την ανάκτηση πόρων (Zhang et al., 2018).

Οι παραδοσιακές μέθοδοι διάθεσης αποβλήτων δημιουργούν πολλά προβλήματα, όπως η ατμοσφαιρική ρύπανση, η μόλυνση των υπόγειων υδάτων, η ρύπανση του εδάφους και οι εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου, και θέτουν σε κίνδυνο τις υποδομές των κοινοτήτων. Η βέλτιστη διαχείριση των αποβλήτων μειώνει την παραγωγή αποβλήτων, τα κοινωνικά και περιβαλλοντικά προβλήματα που σχετίζονται με τα απόβλητα και αυξάνει την παραγωγή ενέργειας και χρήσιμων υλικών.

Υπολογίζεται ότι μετά τη συλλογή των ΑΣΑ, περίπου το 70% καταλήγει σε χώρους υγειονομικής ταφής, το 19% ανακυκλώνεται και το 11% χρησιμοποιείται για την ανάκτηση ενέργειας (Nanda, S. et al, 2021).

4.2 Μέθοδοι Διαχείρισης Στερεών Οικιακών Απορριμμάτων - Βιοαποβλήτων

Ως αποτέλεσμα των ζητημάτων δημόσιας υγείας και της προστασίας του περιβάλλοντος, των ανησυχιών για τη χρήση γης και την απώλεια πόρων, των ανησυχιών για την κλιματική αλλαγή και των αυστηρών κανονισμών για τη διάθεση των οργανικών αποβλήτων, καταβάλλονται όλο και περισσότερες προσπάθειες για την μείωση των αποβλήτων, για την ανακύκλωση τους και την αξιοποίησή τους ενεργειακά.

Υπάρχουν διάφορες τεχνολογίες για την παραγωγή ενέργειας από απόβλητα, όπως η διαδικασία αναερόβιας χώνευσης που μπορεί να παράγει βιοαέριο, η αποτέφρωση που μπορεί να παρέχει ηλεκτρική ενέργεια και θερμότητα και η αεριοποίηση που μπορεί να παράγει αέρια καύσης MSW. Υπάρχουν επίσης κάποιες άλλες λύσεις για τα ΑΣΑ, όπως το σύστημα ανάκτησης αερίων υγειονομικής ταφής (Lfgs), το κομπόστ, η πυρόλυση κ.λ.π.

Ως επί το πλείστον η διάθεση των ΑΣΑ συνδέεται με την υγειονομική ταφή, τη θερμική επεξεργασία (σε χώρες υψηλού εισοδήματος), την κομποστοποίηση και τις παράνομες χωματερές (σε χώρες χαμηλού και μεσαίου εισοδήματος). Η υγειονομική ταφή των ΑΣΑ, εάν δεν εκτελεστεί σωστά, μπορεί να μολύνει τις κοντινές πηγές νερού και το έδαφος με στραγγίσματα που μεταφέρουν βαρέα μέταλλα, ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους και μικροβιακούς παθογόνους οργανισμούς. Οι δυσλειτουργικοί χώροι υγειονομικής ταφής προκαλούν επίσης ατμοσφαιρική ρύπανση από την εκπομπή οσμών, αερίων του θερμοκηπίου (GHG) και πτητικών οργανικών ενώσεων (VOC). Ο τομέας της διαχείρισης των στερεών αποβλήτων ευθύνεται για σχεδόν το 5% (1460 εκατ. τόνοι CO₂) των συνολικών παγκόσμιων εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και για το 9% του εκλυόμενου μεθανίου. Μπορεί επίσης να απειλήσει τη δημόσια υγεία προσελκύοντας φορείς ασθενειών και εκθέτοντας τους ανθρώπους που ζουν κοντά σε χώρους διάθεσης αποβλήτων σε επιβλαβή συστατικά. Η μεταφορά των ΑΣΑ σε χώρους διάθεσης συμβάλλει στην εκπομπή CO₂, SO₂, NO_x, οσμών και άλλων ατμοσφαιρικών ρύπων από την απαιτούμενη ενέργεια και τις εκπομπές κατά τη μεταφορά. Η αποτέφρωση έχει υψηλό κόστος κεφαλαίου και λειτουργίας, παράγει τέφρα και μπορεί να εκπέμπει σωματιδιακούς και αέριους ρύπους (βαρέα μέταλλα, CO₂, N₂O, διοξίνες και φουράνια και έμμονους οργανικούς ρύπους) στην ατμόσφαιρα εάν υπάρχει ανεπαρκής έλεγχος της ατμοσφαιρικής ρύπανσης. Η προηγμένη θερμική επεξεργασία, δηλαδή η πυρόλυση και η αεριοποίηση, είναι τεχνικά προκλητικές, σχετικά μη αποδεδειγμένες σε εμπορική κλίμακα και μπορεί να μην είναι ενεργειακά θετικές, δεδομένου ότι η παραγόμενη ενέργεια μπορεί να χρειαστεί για την τροφοδοσία

της διαδικασίας. Η ανοικτή καύση αποβλήτων προκαλεί σοβαρή ατμοσφαιρική ρύπανση λόγω της καύσης σε χαμηλή θερμοκρασία. Η κομποστοποίηση αντιμετωπίζει έλλειψη δημόσιου ενδιαφέροντος κυρίως λόγω της χαμηλής αξίας του προϊόντος (δηλαδή του κομπόστ, που χρησιμοποιείται ως εδαφοβελτιωτικό) και της περιορισμένης μείωσης του όγκου των αποβλήτων (Tyagi V. et al, 2018).

Η καύση γενικότερα αποτελεί τον χειρότερο τρόπο αντιμετώπισης των βιοαποβλήτων, επειδή καταστρέφει τους πόρους για ανακύκλωση ή κομποστοποίηση. Η ανακύκλωση απορριμμάτων αποδεικνύεται μια αποτελεσματική επιλογή διαχείρισης, διότι δεν συνεπάγεται την εκπομπή πολλών αερίων του θερμοκηπίου και ρύπων του νερού. Αυτή η προσέγγιση εξοικονομεί ενέργεια, προμηθεύει πολύτιμες πρώτες ύλες τη βιομηχανία, τονώνει την ανάπτυξη πράσινων τεχνολογιών, εξοικονομεί φυσικούς πόρους και μειώνει την ανάγκη για νέους χώρους υγειονομικής ταφής και αποτεφρωτές (Jacobus, 2001).

Εκτός από τις παραδοσιακές μεθόδους διαχείρισης και αξιοποίησης απορριμμάτων, τα οικιακά απόβλητα έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοαιθανόλης ως καύσιμο αντικαθιστώντας τον άνθρακα και το πετρέλαιο, όπως εξετάζεται στην παρούσα εργασία και έχει προαναφερθεί αναλυτικά η παραγωγή της.

4.3 Διαχείριση βιοαποβλήτων στην Ελλάδα

Όλα τα κράτη-μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης και κατά συνέπεια και η Ελλάδα, εφαρμόζοντας την ευρωπαϊκή νομοθεσία, θα πρέπει να λαμβάνουν μέτρα για τη μείωση της παραγωγής αποβλήτων, την επαναχρησιμοποίηση και την ανακύκλωση υλικών, με ειδική πρόβλεψη για το οργανικό κλάσμα των αποβλήτων και τις δυνατότητές του ως προς την παραγωγή κόμποστ υψηλής ποιότητας και την ανάκτηση ενέργειας. Η εθνική πολιτική για τα βιοαπόβλητα, ακολουθώντας τις οδηγίες της ΕΕ, εστιάζει στην ανάπτυξη συστημάτων χωριστής συλλογής και εγκαταστάσεων κομποστοποίησης ή αναερόβιας χώνευσης.

Ως στόχος τέθηκε, έως τις 31 Δεκεμβρίου 2022, τα βιοαπόβλητα υποχρεωτικά είτε να διαχωρίζονται και να ανακυκλώνονται στην πηγή είτε να συλλέγονται χωριστά και να μην αναμιγνύονται με άλλα είδη αποβλήτων προκειμένου να υποβάλλονται σε ανακύκλωση, συμπεριλαμβανομένης της κομποστοποίησης και της αναερόβιας χώνευσης.

Βασικοί δείκτες για τη παρακολούθηση της πορείας της ανακύκλωσης είναι η Διαλογή στη Πηγή (ΔσΠ) και η Ανάκτηση.

Η ΔσΠ αποτελεί το λόγο των απορριμμάτων που συλλέχθηκαν χωριστά στο σημείο παραγωγής τους προς το σύνολο των παραγόμενων απορριμμάτων. Η ΔσΠ αναφέρεται σε 2 διακριτά ρεύματα, τα ανακυκλώσιμα υλικά και τα βιοαπόβλητα.

Η Ανάκτηση αποτελεί το λόγο των ανακτώμενων υλικών προς το σύνολο των παραγόμενων απορριμμάτων. Για λόγους απλότητας, επιλέχθηκαν οι ακόλουθοι δύο βασικοί δείκτες:

$$\Delta\sigma\Pi (\%) = \frac{\text{Βάρος απορριμμάτων που συλλέχθηκαν χωριστά στο σημείο παραγωγής τους}}{\text{Συνολικό βάρος των παραγόμενων απορριμμάτων}} * 100 \quad \mathbf{Εξ. 2}$$

$$\text{Ανάκτηση (\%)} = \frac{\text{Βάρος των ανακτώμενων υλικών}}{\text{Συνολικό βάρος των παραγόμενων απορριμμάτων}} * 100 \quad \text{Εξ. 3}$$

Ειδικότερα, η συνολική παραγωγή Αστικών Στερεών Αποβλήτων (ΑΣΑ) όλων των Δήμων της Περιφέρειας Αττικής ανέρχεται σε 1.883.130 τόνους για το 2021, ή περίπου σε 5.159 τόνους ΑΣΑ ανά ημέρα. Στην ποσότητα αυτή δεν περιλαμβάνονται τα βιομηχανικά εμπορικά απόβλητα συσκευασίας. Το συνολικό ποσοστό Διαλογής στην Πηγή αποκλειστικά σε επίπεδο Δήμων υπολογίστηκε σε 13,6% κ.β., ενώ το συνολικό ποσοστό Ανάκτησης υπολογίστηκε στο 8,4% κ.β.. Η ΔσΠ αφορά δύο ρεύματα, τα ανακυκλώσιμα υλικά και τα βιοαπόβλητα. Το ποσοστό ΔσΠ των ανακυκλώσιμων υλικών είναι 9,8% κ.β. και των βιοαποβλήτων 3,8% κ.β.. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 9.

Πίνακας 9: Συνολικά ποσοστά για τους δείκτες ΔσΠ και Ανάκτηση, για την περιφέρεια Αττικής.

ΔσΠ (%) Συνολικά	ΔσΠ (%) Ανακυκλώσιμα υλικά	ΔσΠ (%) Βιοαπόβλητα	Ανάκτηση
13,6%	9,8%	3,8%	8,4%

Ο αναθεωρημένος ΠΕΣΔΑ (Περιφερειακός Σχεδιασμός Διαχείρισης Αποβλήτων) Αττικής του 2021 έχει θέσει συγκεκριμένους στόχους σχετικά με την επαναχρησιμοποίηση, την ανακύκλωση και την ανάκτηση υλικών. Οι στόχοι είναι οι ακόλουθοι (**Πίνακας 10**):

Πίνακας 10: Στόχοι διαχείρισης ΑΣΑ από το ΠΕΣΔΑ Αττικής

Στόχος	2025	2030
Προετοιμασία για επαναχρησιμοποίηση και ανακύκλωση των παραγόμενων ΑΣΑ τουλάχιστον σε ποσοστό:	55% κ.β.	60% κ.β.
Αύξηση της συνολικής ανακύκλωσης αποβλήτων (συσκευασιών) τουλάχιστον στο:	65% κ.β.	70% κ.β.
Δημιουργία ενός ολοκληρωμένου, συνεκτικού και σύγχρονου δικτύου υποδομών διαχείρισης αποβλήτων, με χρήση των βέλτιστων διαθέσιμων τεχνικών, στη βάση των αρχών της εγγύτητας και της αυτάρκειας και βάσει των αρχών της κυκλικής οικονομίας.		

Λαμβάνοντας υπόψιν τους στόχους του ΠΕΣΔΑ, στον παρακάτω πίνακα 11 παρουσιάζονται οι ποσότητες και οι επιδόσεις της ΔσΠ βιοαποβλήτων και ανακυκλώσιμων υλικών για το έτος 2021 συγκρινόμενα με τους στόχους για το 2025.

Πίνακας 11: Επιδόσεις της ΔσΠ των βιοαποβλήτων και των ανακυκλώσιμων υλικών για το έτος 2021.

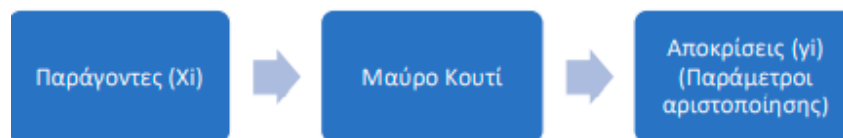
ΔσΠ	Αποτέλεσμα ΔσΠ 2021 (τόνοι/έτος)	Στόχος ΔσΠ 2025 (τόνοι/έτος)	% του στόχου 2025
Βιοαπόβλητα	71.460	422.000	15,7%

Ανακυκλώσιμα υλικά	183.800	541.000	34,0%
--------------------	---------	---------	-------

5. Παραγοντικός σχεδιασμός

5.1 Εισαγωγή

Σχεδιασμός ενός στατιστικού πειράματος, είναι η μέθοδος επιλογής του αριθμού των μετρήσεων (επί μέρους πειραμάτων) και των συνθηκών εκτέλεσης τους που είναι αναγκαία και ικανά για τη λύση του προβλήματος που έχει τεθεί με την απαιτούμενη ακρίβεια. Το αντικείμενο της έρευνας απαιτεί ακριβή προσδιορισμό και γι' αυτό έχει υιοθετηθεί η αρχή του "μαύρου κουτιού" της Κυβερνητικής (**Σχήμα 6**). Ένας πειραματιστής προκειμένου να χρησιμοποιήσει μεθόδους σχεδιασμού πειραμάτων πρέπει να μπορεί να διαμορφώσει το πρόβλημα του σύμφωνα με αυτή την αρχή.



Σχήμα 6: Διάγραμμα μαύρου κουτιού της κυβερνητικής (Ρήγας Φ. , 1988).

5.1.1 Βασικές αρχές και έννοιες για τον σχεδιασμό πειραμάτων

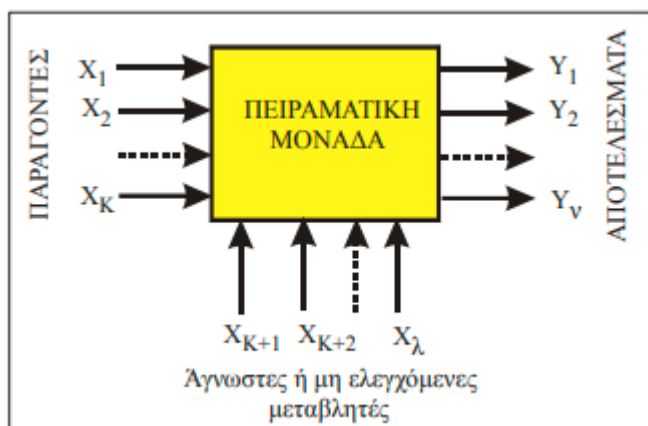
Ο στατιστικός σχεδιασμός πειραμάτων είναι μία επιβεβαιωμένη πλέον τεχνική που βρίσκει συνεχώς και μεγαλύτερη εφαρμογή τόσο στη βιομηχανική αριστοποίηση των διεργασιών όσο και σε κάθε ερευνητική πειραματική εργασία. Καθώς οι σημερινές ανάγκες της εφαρμοσμένης έρευνας πιέζουν για ολοένα και μεγαλύτερη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

- Πρώτον ότι δίνει τις περισσότερες πληροφορίες, ανά πείραμα, από οποιαδήποτε μη σχεδιασμένη προσέγγιση. Όλοι οι ερευνητές που ασχολήθηκαν με τον στατιστικό σχεδιασμό ισχυρίζονται ότι αυτός ελαχιστοποιεί τον χρόνο της έρευνας και έχει μεγάλη αποτελεσματικότητα σε συστήματα που επηρεάζονται από πολλές μεταβλητές.
- Ένα δεύτερο όφελος είναι ότι η συλλογή και η ανάλυση των πληροφοριών που προκύπτουν από ένα στατιστικό σχεδιασμό πειραμάτων γίνεται με την πλέον οργανωμένη προσέγγιση για αυτό και τα συμπεράσματα είναι σαφή και αξιόπιστα χωρίς να απαιτείται εκτενής στατιστική ανάλυση. Από την άλλη πλευρά, τα αποτελέσματα από μία τυχαία πειραματική προσέγγιση, δύσκολα μπορούν να ερμηνευτούν, πολλές φορές, ακόμα και από ειδικευμένους στατιστικούς.

- Ένα άλλο πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής, είναι ότι παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ενός σχεδιασμού, μπορεί εύκολα ένας αναγνώστης να ελέγξει την αξιοπιστία τους εφαρμόζοντας κοινώς παραδεκτά κριτήρια ελέγχου.
- Μία τέταρτη ωφελιμότητα του σχεδιασμού είναι η δυνατότητα που μας παρέχει να υπολογίζουμε ποσοτικά τις αλληλοεπιδράσεις των πειραματικών μεταβλητών ώστε να οδηγήσει τον ερευνητή, με μεγαλύτερη ασφάλεια, σε προβλέψεις εκτός της περιοχής σχεδιασμού δηλαδή σε περιοχές που δεν καλύπτονται απευθείας από τα πειράματα.
- Τέλος το πιο σημαντικό κέρδος από την τεχνική του σχεδιασμού, είναι η δυνατότητα της απ' ευθείας εύρεσης της διεύθυνσης που πρέπει να ακολουθήσει ο ερευνητής στον πολυδιάστατο χώρο των πειραματικών μεταβλητών ώστε να προσεγγίσει το άριστο σημείο (μέγιστο ή ελάχιστο).

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

Ένα πείραμα αποτελεί μία δοκιμή. Ένα πείραμα αποτελείται από μία πειραματική μονάδα, μία σειρά μεταβλητών εισόδου και μία σειρά μεταβλητών εξόδου. Οι μεταβλητές εισόδου είναι παράμετροι που η μεταβολή των τιμών τους επηρεάζουν την έκβαση του αποτελέσματος και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες τις παραμέτρους που μπορούν να προσδιοριστούν και να ελεγχθούν και ονομάζονται παράγοντες και τις παραμέτρους που είναι είτε άγνωστες είτε μη ελεγχόμενες. Οι παράγοντες παίρνουν καθορισμένες τιμές και μπορούν να παραμείνουν σταθερές, με κάποια διαδικασία ελέγχου, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Το σύνολο των διαφορετικών τιμών που μπορούν να πάρουν οι παράγοντες ονομάζεται πειραματική περιοχή. Η ανατομία ενός πειράματος φαίνεται στο **Σχήμα 7**. Η διεξαγωγή ενός πειράματος απαιτεί όλοι οι παράγοντες να λάβουν μία καθορισμένη τιμή. Οι μεταβλητές εξόδου ενός πειράματος είναι μία σειρά αποτελεσμάτων (απαντήσεων) που προκύπτουν από την διεξαγωγή του πειράματος. Η μεταβλητή εξόδου που μας ενδιαφέρει να αριστοποιήσουμε προσδιορίζοντας τις κατάλληλες τιμές των παραγόντων, ονομάζεται παράμετρος αριστοποίησης. Η πειραματική μονάδα μπορεί να παρομοιαστεί μ' ένα «μαύρο κουτί» στο οποίο δεν μπορούμε να αναγνωρίσουμε τις άμεσες πραγματικές σχέσεις μεταξύ των επιδράσεων και των ανταποκρίσεων, αλλά μπορούμε να τις μετρήσουμε και να τις συσχετίσουμε με κάποια μαθηματικά μοντέλα. Ο πειραματικός σχεδιασμός αποτελείται από έναν αριθμό δοκιμών (πειραμάτων) που πραγματοποιούνται με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση των παραγόντων, σε μία πειραματική περιοχή τιμών, στις μεταβλητές εξόδου.



Σχήμα 7: Η ανατομία ενός πειράματος (Ρήγας Φ. ,1988).

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

5.1.2 Παράμετροι αριστοποίησης

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

- Να είναι αποτελεσματική ως προς τον χαρακτηρισμό του επιδιωκόμενου τελικού σκοπού. Αυτή η αναγκαιότητα ταυτίζεται με την σαφήνεια προσδιορισμού του προβλήματος. Σύμφωνα με την ανάγκη αποτελεσματικότητας, μία παράμετρο αριστοποίησης, μπορεί να μεταβάλλεται ανάλογα με την πορεία της έρευνας. Έτσι π.χ. ενώ ξεκινώντας μία ερευνά μπορεί να χρησιμοποιεί την παραγωγή του προϊόντος σαν παράμετρο αριστοποίησης, από κάποιο όμως σημείο και πέρα πιθανώς το ενδιαφέρον της αριστοποίησης μπορεί να μετατοπιστεί στην ποιότητα του προϊόντος. Δηλαδή

υπάρχει μία δυναμική σχέση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν με τον επιδιωκόμενο σκοπό κατά την διάρκεια ενός πειραματικού σχεδιασμού.

- Να έχει μία διεθνή υπόσταση δηλαδή να εκφράζεται σε μονάδες ή να μετράτε με μεθόδους διεθνώς παραδεκτές.
- Να έχει ποσοτική έκφραση και μάλιστα να παρουσιάζεται με ένα απλό νούμερο. Όταν είναι δύσκολο να εκφραστεί ποσοτικά τότε πρέπει να χρησιμοποιήσουμε μία μέθοδο προσεγγιστικής κλίμακας.
- Πρέπει να έχει «στατιστική αποτελεσματικότητα» δηλαδή πρέπει να εκλέξουμε μία παράμετρο αριστοποίησης που να προσδιορίζεται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.
- Πρέπει να έχει μία φυσική οντότητα που να εκφράζεται απλά και να υπολογίζεται εύκολα. Πολλές φορές όταν μία παράμετρο αριστοποίησης, ενώ έχει απλή φυσική σημασία δεν έχει στατιστική αποτελεσματικότητα, τότε καταφεύγουμε σε τεχνικές μαθηματικού μετασχηματισμού της παραμέτρου όπως π.χ του τύπου $\eta(\gamma)$ ή γ όπου πλέον η διασπορά των τιμών της αποκτά μεγαλύτερη ομοιογένεια.
- Να υπάρχει σε όλα τα στάδια του σχεδιασμού (Ρήγας Φ. ,1988).

5.1.3 Παράγοντες σχεδιασμού

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

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

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

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

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

1. Πρέπει να μπορεί να ρυθμιστεί ώστε η τιμή του να διατηρείται σταθερή, καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος, στο επιθυμητό επίπεδο.

2. Πρέπει να είναι σαφής η μέθοδος μέτρησής του, το όργανο που θα χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση του καθώς επίσης και οι μονάδες που θα εκφράζεται. Όταν είναι δυνατόν να διευκρινιστούν όλα τα παραπάνω τότε ο παράγοντας αυτός λέγεται λειτουργικός.

3. Η μέτρηση του παράγοντα πρέπει να γίνεται με την μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια. Βέβαια αυτή η ακρίβεια εξαρτάται από την κάθε περίπτωση. Δεν έχει νόημα π.χ. σε εποχιακά πειράματα η μέτρηση του χρόνου με ακρίβεια δευτερολέπτου ασχέτως αν μπορεί αυτό να επιτευχθεί. Αν είναι δύσκολο να διατηρήσουμε τον παράγοντα σε σταθερό επίπεδο, κατά την διάρκεια του πειράματος, τότε πρέπει να καταφύγουμε σε ειδική ανάλυση που ονομάζεται συμβολική ανάλυση.

4. Ένας παράγοντας πρέπει να δρα απ' ευθείας στο αποτέλεσμα δηλαδή πρέπει να είναι σαφής. Είναι δύσκολο να ελέγξεις έναν παράγοντα που είναι συνάρτηση άλλου. Μερικές φορές όμως επιβάλλεται κάτι τέτοιο όπως π.χ. αν η θερμοκρασία μέσα σ' έναν αντιδραστήρα μεταβάλλεται γραμμικά τότε σαν παράγοντα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την κλίση ή την παράγωγο της ευθείας.

5. Η αρμονία των παραγόντων είναι μία άλλη αναγκαιότητα π.χ. δεν μπορούμε να δώσουμε τέτοιες τιμές σ' ένα πείραμα ώστε να γίνει έκρηξη στα όργανα και τις πειραματικές συσκευές. Η αρμονία επιτυγχάνεται με τον ξεκάθαρο προσδιορισμό του πεδίου τιμών των παραγόντων.

6. Επίσης πρέπει να εξασφαλίζεται η ανεξαρτησία των παραγόντων π.χ. σε ένα κλειστό θερμοδυναμικό σύστημα δεν μπορεί ταυτόχρονα να αποτελούν παράγοντες η πίεση, η θερμοκρασία και ο όγκος, εφ' όσον το ένα είναι συνάρτηση των άλλων δύο.

5.1.4 Μαθηματικά μοντέλα

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

$$\text{Μηδενικού Βαθμού: } y = b_0 \quad \text{Εξ. 4}$$

$$\text{Πρώτου Βαθμού: } y = b_0 + \sum_i^K b_i x_i \quad \text{Εξ. 5}$$

$$\text{Δευτέρου Βαθμού: } y = b_0 + \sum_i^K b_i x_i + \sum_i^K \sum_j^K b_{ij} x_i x_j \quad \text{Εξ. 6}$$

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

$$k + 1 + \frac{k!}{2!(k-2)!} + k = \frac{(k+1)(k+2)}{2} \quad \text{Εξ. 7}$$

5.1.4.1 Δυνατότητες

Το μοντέλο μηδενικού βαθμού δείχνει ότι οι παράγοντες δεν επηρεάζουν την παράμετρο αριστοποίησης, μια κατάσταση που δεν έχει νόημα, αφού σκοπός της

έρευνας είναι να βρεθεί και να καθορισθεί ποσοτικά αυτή η επίδραση. Το μοντέλο αυτό είναι αποτέλεσμα συνήθως ενός κακού σχεδιασμού ή μιας κακής εκτέλεσης του πειράματος.

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

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

5.1.4.2 Αποφάσεις πριν τον σχεδιασμό

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

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

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

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

$$X_j = \frac{\bar{X}_j - X_{j0}}{J_j} \quad \text{Εξ. 8}$$

Όπου:

X_j = η κωδικοποιημένη τιμή του παράγοντα

$\overline{X_j}$ = η φυσική τιμή του παράγοντα

X_{j0} = η φυσική τιμή του βασικού επιπέδου

J_j = το μέγεθος υποπεριοχής

j = ο αύξων αριθμός του παράγοντα.

5.2 Σχεδιασμοί πρώτης τάξης

5.2.1 Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός

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

$$N=2^k \quad \text{Εξ. 9}$$

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

5.2.2 Μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων

Οι συνθήκες ενός πειράματος μπορούν να γραφούν στη μορφή ενός πίνακα, του οποίου οι γραμμές να αντιστοιχούν σε διαφορετικές μετρήσεις και οι στήλες στις τιμές των παραγόντων. Τέτοιοι πίνακες ονομάζονται μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων. Η μήτρα σχεδιασμού ενός 2^2 παραγοντικού πειράματος φαίνεται στον **πίνακα 12**.

Πίνακας 12: Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα 2^2 παραγοντικό πείραμα (Ρήγας Φ. ,1988).

Αριθμός Μέτρησης	X_1	X_2	X_1X_2
1	+1	+1	+1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	-1	-1	+1

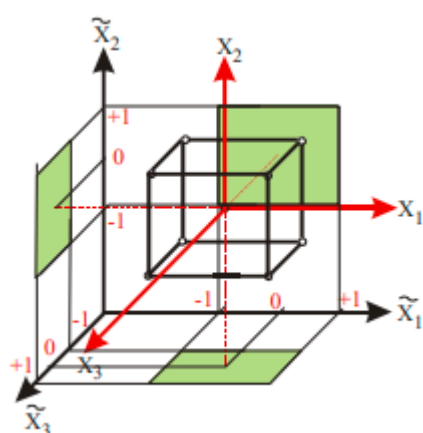
Στον **πίνακα 12** οι τιμές +1 και -1 είναι οι κωδικοποιημένες τιμές των παραγόντων και οι συνδυασμοί αυτών των επιπέδων καθορίζουν τις συνθήκες εκτέλεσης κάθε πειράματος. Στο εξής, στους σχεδιασμούς πρώτης τάξης, οι τιμές αυτές αντικαθίστανται με + και – αντίστοιχα.

Η τελευταία στήλη του **πίνακα 12** χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αλληλεπίδρασης των δύο παραγόντων και προκύπτει σαν αλγεβρικό γινόμενο των αντίστοιχων στοιχείων των στηλών των παραγόντων.

Αντίστοιχα, η μήτρα και η γραφική παράσταση ενός παραγοντικού πειράματος 2^3 απεικονίζονται στον **πίνακα 13** και στο **Σχήμα 8** αντίστοιχα.

Πίνακας 13: Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα 2^3 πείραμα (Ρήγας Φ. ,1988).

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



Σχήμα 8: Γεωμετρική εικόνα ενός 2^3 πειράματος (Ρήγας Φ. ,1988).

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

5.2.3 Ιδιότητες ενός παραγοντικού πειράματος

Οι ιδιότητες ενός παραγοντικού σχεδιασμού είναι :

- Συμμετρία ως προς το κέντρο του σχεδιασμού : $\sum_i^N X_{ji} = 0$ **Εξ. 10**

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

i= αριθμός μέτρησης (1,2,...,N)

- Κανονικότητα της μήτρας σχεδιασμού που εκφράζεται από τη σχέση :

$$\sum_i^N X_{ji}^2 = N \quad \text{Εξ. 11}$$

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

- Ορθογωνικότητα της μήτρας σχεδιασμού που έχει σχέση με σύνθετες στήλες και πληρούνται με την ισχύ της εξίσωσης:

$$\sum_i^N X_{ji}X_{ui} = 0 \quad \text{Εξ. 12}$$

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

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

5.2.4 Βαθμοί ελευθερίας και αλληλεπιδράσεις

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

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

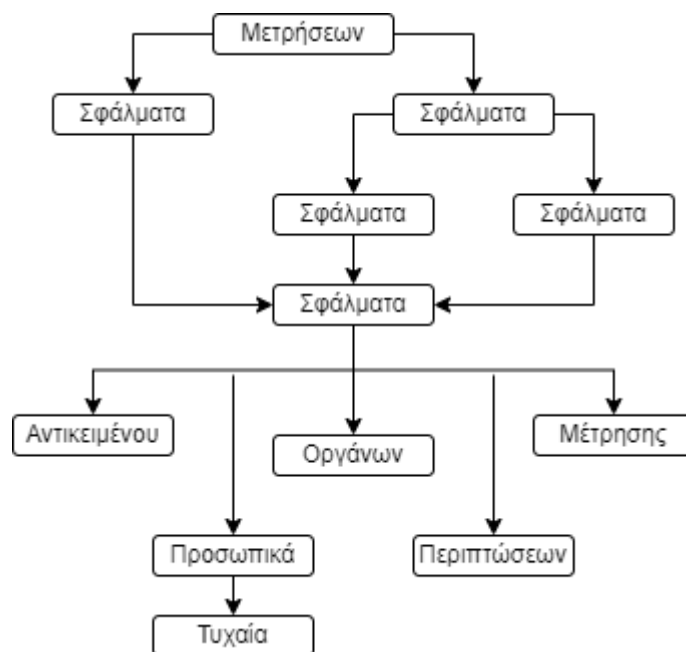
$$f = N - (k + 1) \quad \text{Εξ. 13}$$

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

5.3 Εκτέλεση του πειράματος

5.3.1 Σφάλματα επαναλήψεων και διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης

Το σφάλμα μιας μέτρησης είναι το άθροισμα μιας σειράς μερικών σφαλμάτων, όπως είναι τα σφάλματα στη σταθεροποίηση των παραγόντων, στη μέτρηση της παραμέτρου αριστοποίησης, σφάλματα που οφείλονται στη γήρανση της συσκευής ή μιας από τις πρώτες ύλες κ.α. Κάθε ένα από τα σφάλματα αυτά, επίσης, μπορεί να διαιρεθεί στα συστατικά του. Μια κατάταξη των σφαλμάτων δίνεται στο **Σχήμα 9**.



Σχήμα 9: Ανάλυση σφαλμάτων ενός πειράματος (Ρήγας Φ. ,1988).

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

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

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

Δεν επιτρέπεται να γίνονται αυθαίρετες διορθώσεις στις επαναλήψεις κάθε μέτρησης. Για την απαλλαγή των μετρήσεων από εσφαλμένες παρατηρήσεις χρησιμοποιείται το κριτήριο Student-t.

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

$$t_{exp} = \frac{y_i - \gamma_{\text{μέσο}}}{s_i} \quad \text{Εξ. 14}$$

Μία παρατήρηση απορρίπτεται, εάν η απόλυτη πειραματική τιμή t_{exp} είναι μεγαλύτερη από την τιμή του Student-t (Πίνακας 40 του παραρτήματος), για τον ίδιο βαθμό ελευθερίας και με στατιστική σημαντικότητα 95%. Αυτή η στατιστική σημαντικότητα είναι γενικά αποδεκτή για εργαστηριακά και βιομηχανικά χημικά πειράματα και με αυτή τη βάση γίνονται όλες οι στατιστικές εκτιμήσεις που ακολουθούν. Οι βαθμοί ελευθερίας των επαναλήψεων όπως σημειώθηκε και προηγουμένως ισούται με το πλήθος των επαναλήψεων μείον ένα.

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

$$s_y^2 = \frac{\sum_i^n (y_i - \gamma_{\text{μέσο}})^2}{n-1} \quad \text{Εξ. 15}$$

Αυτή η σχέση είναι αρκετή για την περίπτωση της εκτίμησης του σφάλματος προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης από ένα μόνο σημείο του χώρου των παραγόντων, π.χ. από το κέντρο του σχεδιασμού. Στην περίπτωση όμως, που υπάρχουν επαναλήψεις και στις μετρήσεις του σχεδιασμού, περίπτωση που είναι και

προτιμότερη γιατί επισημαίνει έγκαιρα μεγάλα σφάλματα, η διακύμανση πρέπει να υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$S_y^2 = \frac{\sum_i^{nm} f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad \text{Εξ. 16}$$

Όπου s_i^2 είναι κάθε μία από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού που χρησιμοποιείται στον υπολογισμό της S_y^2 και f_i οι αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας (Ρήγας Φ. ,1988).

5.3.2 Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων

Ο έλεγχος της ομοιογένειας των διακυμάνσεων γίνεται με τη βοήθεια διαφόρων στατιστικών κριτηρίων. Το απλούστερο απ' αυτά είναι ο λόγος F (λόγος του Fisher) που έχει σχεδιασθεί για τη σύγκριση δύο διακυμάνσεων. Ο λόγος F είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης προς τη μικρότερη. Η τιμή που προκύπτει συγκρίνεται με την αντίστοιχη τιμή του πίνακα των λόγων Fisher. Εάν ο λόγος F που υπολογίζεται είναι μεγαλύτερος από την τιμή που δίνεται στον πίνακα για τους αντίστοιχους βαθμούς ελευθερίας και την επιθυμητή στατιστική σημαντικότητα, αυτό σημαίνει ότι οι διακυμάνσεις διαφέρουν σημαντικά, δηλαδή δεν είναι ομοιογενείς. Εάν ο αριθμός των διακυμάνσεων που συγκρίνονται είναι μεγαλύτερος από δύο και μια διακύμανση είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τις άλλες μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κριτήριο του Cochran. Αυτό είναι χρήσιμο σε περιπτώσεις που υπάρχει ο ίδιος αριθμός επαναλήψεων σε όλα τα σημεία. Το κριτήριο του Cochran είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης προς το άθροισμα όλων των διακυμάνσεων:

$$G = \frac{S_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad \text{Εξ. 17}$$

Η υπόθεση της ομοιογένειας των διακυμάνσεων επιβεβαιώνεται, όταν η πειραματική τιμή του G δεν ξεπερνά την αντίστοιχη τιμή του πίνακα (Ρήγας Φ. ,1988).

5.3.3 Αντιμετώπιση σφαλμάτων

Για την αντιμετώπιση των τυχαίων σφαλμάτων το κριτήριο του Student-t βοηθάει στην απόρριψη των πιο απίθανων (εσφαλμένων) τιμών. Αυτό σε συνδυασμό με την εκτέλεση νέων επαναλήψεων μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των τυχαίων σφαλμάτων. Για τη μείωση της επίδρασης των συστηματικών σφαλμάτων που οφείλονται σε εξωτερικές συνθήκες, συνίσταται η τυχαία σειρά εκτέλεσης των μετρήσεων της μήτρας σχεδιασμού.

Η αντιμετώπιση λοιπόν των σφαλμάτων προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης γίνεται κατά τον πίνακα:

Πίνακας 14: Τρόπος αντιμετώπισης των σφαλμάτων προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης

Σφάλματα	Αντιμετώπιση
Τυχαία →	Επαναλήψεις μετρήσεων
Συστηματικά →	Τυχαιοποίηση μετρήσεων

5.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

5.4.1 Προϋποθέσεις

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

α) Η παράμετρος αριστοποίησης είναι μια τυχαία ποσότητα που υπακούει στο νόμο της κανονικής κατανομής.

β) Η διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης δεν εξαρτάται από την τιμή της (υπάρχει ομοιογένεια διακυμάνσεων)

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

5.4.2 Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης

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

$$y = b_0 + b_1 x_1 \quad \text{Εξ. 18}$$

Στόχος εδώ είναι ο προσδιορισμός των αγνώστων συντελεστών b_0 και b_1 μετά την εκτέλεση ενός στατιστικού πειράματος και με τη χρησιμοποίηση των αποτελεσμάτων του. Εάν όλα τα πειραματικά σημεία βρισκόντουσαν πάνω στην ευθεία που εκφράζεται με την παραπάνω εξίσωση, τότε θα ίσχυε η ακόλουθη εξίσωση για κάθε ένα από αυτά:

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = 0 \quad \text{Εξ. 19}$$

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

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = \xi_i \quad \text{Εξ. 20}$$

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

$$\xi_i = y_i - y_i^* \quad \text{Εξ. 21}$$

Η ποσότητα ξ αναφέρεται συχνά σαν υπόλοιπο.

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

$$\sum_i^N \xi_i^2 = \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i})^2 = \min \quad \text{Εξ. 22}$$

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

$$\frac{\partial(\xi_i^2)}{\partial b_0} = \frac{\partial(\xi_i^2)}{\partial b_1} = 0 \quad \text{Εξ. 23}$$

Από αυτές τις εξισώσεις προκύπτουν:

$$-2 \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) = 0 \quad \text{Εξ. 24}$$

$$-2 \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) x_{1i} = 0 \quad \text{Εξ. 25}$$

Η ιδιότητα της συμμετρίας της μήτρας σχεδιασμού δίνει όμως:

$$\sum_i^N x_{1i} = 0 \quad \text{Εξ. 26}$$

Οπότε οι προηγούμενες εξισώσεις γίνονται:

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad \text{Εξ. 27}$$

$$b_1 = \frac{\sum_i^N y_i x_{1i}}{\sum_i^N x_{1i}^2} \quad \text{Εξ. 28}$$

Ο προσδιορισμός των συντελεστών μιας γραμμικής συνάρτησης απόκρισης με k παράγοντες : $Y=b_0+b_1x_1+b_2x_2+\dots+b_kx_k$.Γίνεται με όμοιο τρόπο με την εφαρμογή πολλαπλής παλινδρόμησης. Επομένως ακολουθώντας πάλι την μέθοδο των ελάχιστων τετραγώνων, επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των υπολοίπων:

$$\sum_i^N \xi_i^2 = \sum_i^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i} - \dots - b_k x_{ki})^2 = \min \quad \text{Εξ. 29}$$

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

$$b_0 = \frac{\sum_i^N y_i}{N} \quad \text{Εξ. 30}$$

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{\sum_i^N x_{ji}^2} \quad \text{Εξ. 31}$$

Όπου $j=1,2,\dots,k$ ο αριθμός του παράγοντα. Στο σχεδιασμό πρώτης τάξης ισχύει επίσης η ιδιότητα της κανονικότητας της μήτρας σχεδιασμού, οπότε η εξίσωση 28 μετασχηματίζεται σε:

$$b_j = \frac{\sum_i^N y_i x_{ji}}{N} \quad \text{Εξ. 32}$$

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

$$b_{uj} = \frac{\sum_i^N y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad \text{Εξ. 33}$$

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

5.4.3 Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών

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

$$s_{bj}^2 = \frac{s_y^2}{\sum_i^N x_{ji}^2} = \frac{s_y^2}{N} \quad \text{Εξ. 34}$$

Από την εξίσωση αυτή φαίνεται ότι σε μοντέλα πρώτης τάξης οι διακυμάνσεις όλων των συντελεστών είναι ίσες μεταξύ τους. Το διάστημα εμπιστοσύνης με το οποίο θα συγκριθούν οι συντελεστές ώστε να ελεγχθεί η σημαντικότητα τους υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\Delta b_j = \pm t \cdot s_{bj} = \frac{t \cdot s_y}{\sqrt{N}} \quad \text{Εξ. 35}$$

Όπου t είναι η τιμή του Student-t (**Πίνακας 40**) με στατιστική σημαντικότητα 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της s_y .

Ένας συντελεστής είναι σημαντικός, εάν η απόλυτη τιμή του είναι μεγαλύτερη από το διάστημα εμπιστοσύνης του (Ρήγας Φ., 1988).

5.4.4 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου

Το άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών των μέσων πειραματικών τιμών της παραμέτρου αριστοποίησης (y_i , μέσο) από τις αντίστοιχες υπολογισμένες τιμές με βάση το μαθηματικό μοντέλο που κατασκευάστηκε (y^*), δίνει το υπόλοιπο άθροισμα των τετραγώνων. Ο λόγος του υπολοίπου του αθροίσματος τετραγώνων με τους βαθμούς ελευθερίας ενός πειράματος δίνει την διακύμανση υπολοίπων, ή διακύμανση επάρκειας (s_{ad}^2):

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N n_i (y_i, \text{μέσο} - y^*)^2}{f} \quad \text{Εξ. 36}$$

Όπου:

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

f = βαθμοί ελευθερίας του σχεδιασμού

Για τον έλεγχο της επάρκειας ενός γραμμικού μαθηματικού μοντέλου χρησιμοποιείται το γνωστό κριτήριο του Fisher, όπου ο λόγος F στην περίπτωση αυτή είναι (Ρήγας Φ., 1988):

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2} \quad \text{Εξ. 37}$$

Πειραματικό μέρος

6. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η αριστοποίηση της παραγωγής βιοαιθανόλης μέσω της διαδικασίας ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης (SSF) ως προς τις δόσεις του αμυλολυτικού και του κυτταρινολυτικού ενζύμου και της μαγιάς σε εργαστηριακή κλίμακα (100mL). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό, σε εργαστηριακή κλίμακα με σταθερό φορτίο στερεού 10%, βασιζόμενοι σε αποτελέσματα προηγούμενων εργασιών του εργαστηρίου.

Στη συνέχεια, τα βέλτιστα αποτελέσματα των πειραμάτων εργαστηριακής κλίμακας ανακλιμακώθηκαν σε μεγαλύτερου όγκου αντιδραστήρα (4L), μελετώντας την επίδραση του στερεού φορτίου (10%, 15%, 20%, 25% και 30%), με απώτερο σκοπό να εντοπιστούν οι βέλτιστες πειραματικές συνθήκες για την παραγωγή βιοαιθανόλης από ξηρά βιοαπόβλητα.

7. Πειραματική μεθοδολογία

7.1 Πρώτη ύλη

Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν από προδιαλεγμένα οικιακά απορρίμματα, τα οποία συλλέχθηκαν μέσω προγράμματος, που εφαρμόζεται από το 2016, στον Δήμο Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης. Πολίτες με πλήρη ενημέρωση συμμετέχουν και συλλέγουν τα βιοαπόβλητα ξεχωριστά και η υπηρεσία καθαρισμού του δήμου συλλέγει τα απόβλητα αυτά σε προκαθορισμένες ημερομηνίες. Το ΕΜΠ σε συνεργασία με τον Δήμο Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης έλαβε την πρώτη παρτίδα πρώτων υλών στις 30/6/2020 και συνεχίζει να λαμβάνει σε δεκαπενθήμερη βάση. Να σημειωθεί, ότι μια συγκεκριμένη παρτίδα χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία για όλα τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με σταθερό στερεό φορτίο 10%, έτσι ώστε να εξαλειφθεί η επίδραση αυτής της παραμέτρου.

Οι παρτίδες αποθηκεύονταν στη μονάδα περιβαλλοντικής επιστήμης και τεχνολογίας (ΜΠΕΤ), όπου ξηραίνονταν, ομογενοποιούνταν και μετατρέπονταν σε σκόνη (διαμέτρου \approx 1-5 mm). Η ξήρανση πραγματοποιήθηκε σε ένα εμπορικό σύστημα ξήρανσης Gaia GC-100. Τα προξηραμένα οργανικά απόβλητα, αφού ομογενοποιούνταν, αποθηκεύονταν σε συνηθισμένους σάκους απορριμμάτων υψηλής αντοχής για περαιτέρω επεξεργασία και στη συνέχεια χαρακτηρίζονταν ως προς τις

ακόλουθες παραμέτρους, σύμφωνα με τις πρότυπες μεθόδους ανάλυσης που περιγράφονται στο 7.3:

- 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.

7.2 Συστήματα και μέθοδοι ζύμωσης

Στη παρούσα διπλωματική εργασία, τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν αρχικά σε μικρή εργαστηριακή κλίμακα, συγκεκριμένα σε γυάλινα μπουκαλάκια των 100 mL, και ύστερα σε έναν τετράλιτρο (4L) αντιδραστήρα. Σε κάθε περίπτωση, η λειτουργία του συστήματος ήταν batch και SSF, δηλαδή η τροφοδοσία, τα ένζυμα και η μαγιά προσθέτονταν ταυτόχρονα με την εκκίνηση του πειράματος, σε χρόνο μηδέν.

Η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF) προτάθηκε προκειμένου να ξεπεραστούν οι αδυναμίες του SHF, καθώς 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 λιγότερες παρεμποδιστικές ενώσεις. 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.

7.3 Μέθοδοι ανάλυσης

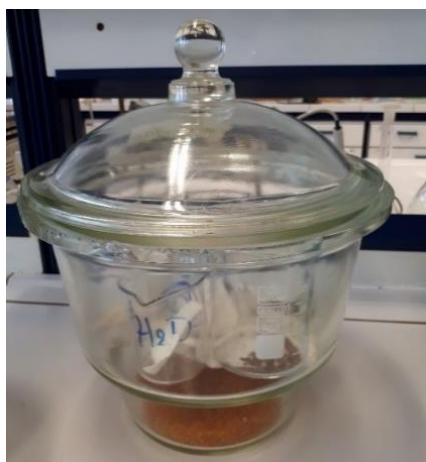
7.3.1 Προσδιορισμός ολικών στερεών (TS)

Για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών TS ζυγίστηκε ποσότητα 5 g για κάθε δείγμα βιοαποβλήτου σε ζυγό ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένα γυάλινα ποτήρια ζέσεως και μπήκαν σε φούρνο ξήρανσης Carbolite στους 105°C για 24 ώρες.



Σχήμα 10: Φούρνος ξήρανσης Carbolite.

Μετά το πέρας των 24 ωρών τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου, και ζυγίστηκαν ξανά.



Σχήμα 11: Αφυγραντήρας.

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

$$\%TS = \frac{\text{τελική μάζα δείγματος}}{\text{αρχική μάζα δείγματος}} * 100 \quad \text{Εξ. 38}$$

7.3.2 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 πορσελάνινες 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 **Σχήμα 12: Φούρνος μέτρησης**



πτητικών στερεών.

Σχήμα 12: Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών.

Μετά το πέρας των 4 ωρών, οι κάψες αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 20 λεπτά, ώστε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, ζυγίζονται ξανά οι κάψες μαζί με τα περιεχόμενα δείγματα.

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

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

$$\%κ.β.VS = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) * 100 \quad \text{Εξ. 39}$$

όπου:

m_i = αρχική μάζα ξηρού δείγματος

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

7.3.3 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 13**: Διάταξη της Soxhlet., με μη πολικό διαλύτη, το εξάνιο. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε αναλύεται παρακάτω.



Σχήμα 13: Διάταξη της Soxhlet.

Αρχικά, ζυγίζεται ποσότητα ξηρού στερεού περίπου 20 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 με το δείγμα τοποθετήθηκε σε προζυγισμένο γυάλινο ποτήρι ζέσεως και μπήκε σε φούρνο ξήρανσης Carbolite στους 105°C για 24 ώρες. Ύστερα, 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 και ενώ έχει απομακρυνθεί το εξάνιο, 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:

$$\% \kappa. \beta. \text{Oils} = \left(\frac{m_2 - m_1}{m_{\text{solid}}} \right) * 100 \quad \text{Εξ. 40}$$

όπου:

m_1 = μάζα φιάλης με πυρήνες βρασμού

m_2 = μάζα φιάλης με πυρήνες βρασμού και έλαια

m_{solid} = αρχική μάζα στερεού στην χαρτούσα

7.3.4 Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών (WS - Water soluble Solids)

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 (**Σχήμα 14**: Ανακινούμενο αερόλουτρο IKA KS 30001 control.. Να σημειωθεί ότι για κάθε δείγμα TS



Σχήμα 14: Ανακινούμενο αερόλουτρο IKA KS 30001 control.

πραγματοποιούνται 3 επαναλήψεις.

Μετά το πέρας της 1 ώρας, τα δείγματα διηθούνται για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις του μίγματος. Το στερεό υπόλειμμα της διήθησης που συγκεντρώνεται πάνω στο διηθητικό χαρτί τοποθετείται σε προζυγισμένο γυάλινο ποτήρι ζέσεως και μπαίνει στον φούρνο ξήρανσης στους 105 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, το ποτήρι ζέσεως με το διηθητικό χαρτί και το δείγμα τοποθετείται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ακολούθως ζυγίζεται.

Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\%WS = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) * 100 \quad \text{Εξ. 41}$$

όπου:

m_i = αρχική μάζα στερεού

m_f = τελική μάζα στερεού

Όσον αφορά το διήθημα της διήθησης, από αυτό συλλέγονται 50 ml προκειμένου να γίνει η μέτρηση της ελεύθερης γλυκόζης.

7.3.5 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 περιεκτικότητας 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 **Σχήμα 15** φαίνεται ο αποστειρωτής:



Σχήμα 15: Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave.

- Μετά την αποστείρωση, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία διηθούνται. Τα διηθήματα αποθηκεύονται σε falcon tubes των 50 mL, ενώ τα στερεά υπολείμματα σε πορσελάνινες κάψες.
- Από τα διηθήματα που προκύπτουν λαμβάνονται 20 mL από το καθένα και εξουδετερώνονται, υπό ανάδευση, με χρήση CaCO₃, 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. (**Σχήμα 16**)



Σχήμα 16: Φυγόκεντρος IEC CENTRA CL2.

- Το συλλεχθέν υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος αραιώνεται κατάλληλα και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP. Από το υπερκείμενο υγρό λαμβάνονται 100 μ L τα οποία τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια στα οποία προστίθενται και 2 mL αντιδραστηρίου σακχάρου. Ακολούθως, τα φιαλίδια τοποθετούνται στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 $^{\circ}$ C για 15 λεπτά. Τέλος, λαμβάνει χώρα φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm (**Σχήμα 17**).



Σχήμα 17: Φωτόμετρο.

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

Πιο συγκεκριμένα:

$$Total\ gluc\ (\% \ W/W) = \frac{0,71 * ABS_{mean} * D * 86,73 * 10^{-3}}{initial\ solid} * \frac{100}{0,897} \quad \text{Εξ. 42}$$

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:

$$Κυτταρίνη\ (\% \ W/W) = Total\ gluc\ (\% \ W/W) * 0,9 \quad \text{Εξ. 43}$$

όπου:

0,9 = 162/180 = συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης.

7.3.6 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:

$$ABS_{xyl} = ABS_{\eta\mu\kappa\upsilon\tau} - \frac{(0,71 * ABS_{\kappa\upsilon\tau})}{1,4268} \quad \text{Εξ. 44}$$

όπου:

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

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

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

Κατόπιν, υπολογίζεται η συνολική περιεκτικότητα κατά βάρος ξυλόζης:

$$Total\ xylose\ (\% W/W) = \frac{(1,3861 * ABS_{xyL})}{0,86} \quad \text{Εξ. 45}$$

όπου:

ABS_{xyL} = 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:

$$Ημικυτταρίνη\ (\% W/W) = \frac{total\ xylose * \left(\frac{132}{150}\right) * 0,08673 * \left(\frac{1}{1000}\right) * 100}{initial\ solid} \quad \text{Εξ. 46}$$

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

7.3.7 Προσδιορισμός λιγνίνης (Lignin)

7.3.7.1 Διαλυτή λιγνίνη

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

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

$$Λιγνίνη\ (\% W/W) = \frac{ABS_{mean} * D * 86,73 * 10^{-3}}{\epsilon * initial\ solid} * 100 \quad \text{Εξ. 47}$$

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

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

7.3.7.2 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:

$$\% \text{μη διαλυτής λιγνίνης} = \left(\frac{m_{575} - m_{105}}{\text{initial solid}} \right) * 100 \quad \text{Εξ. 48}$$

όπου:

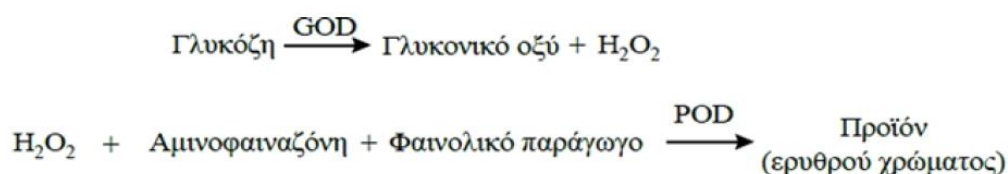
m_{575} = η μάζα του δείγματος που βγήκε από το φούρνο στους 575 °C

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

7.3.8 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 παραγωγού 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 18: 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.

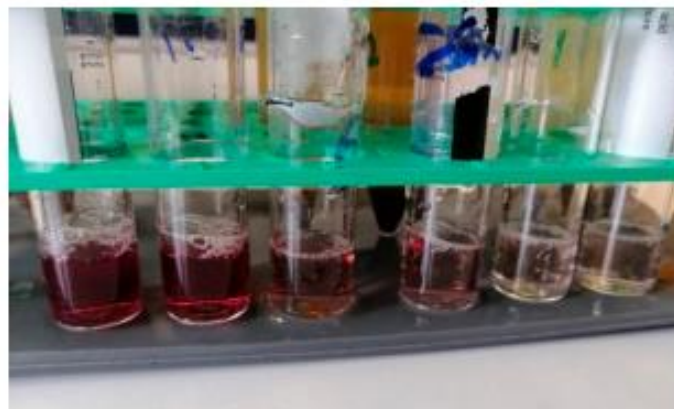
7.3.9 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP

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 **Σχήμα 19** απεικονίζονται τα διαλύματα μετά το πέρασμα των 15 λεπτών στο υδατόλουτρο.



Σχήμα 19: 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.

Να σημειωθεί, ότι η παρουσία γλυκόζης στο δείγμα φαίνεται στον χρωματισμό του σακχάρου από άχρωμο σε ελαφρύ ροζ κατά την προσθήκη δείγματος. Στην περίπτωση που το δείγμα δεν 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:

$$\text{Ελεύθερη γλυκόζη (\% W/W)} = \frac{0,71 * \text{ABS}_{\text{mean}} * D * (V_{\text{tot}}) * 10^{-3}}{\text{initial solid}} * 100 \quad \text{Εξ. 49}$$

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.

7.3.10 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-amylase) 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 φυγοκέντρησης 3000 rpm, στη συσκευή φυγοκέντρησης IEC/CENTRA CL2 .
- Μετά τη φυγοκέντριση ακολουθείται η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP στο υπερκείμενο υγρό. Το υπερκείμενο υγρό αραιώνεται με λόγο αραιώσης D και στη συνέχεια για κάθε δείγμα συμπεριλαμβανομένου και του τυφλού, ετοιμάζεται ένας δοκιμαστικός σωλήνας στον οποίο 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 κατασκευασμένη καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με τη μέθοδο GOD/PAP, και στη συνέχεια υπολογίζεται η συγκέντρωση του αμύλου, με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν.

$$C_{\text{γλυκόζης}} (\% \text{ W/W}) = \frac{0,71 * \text{ABS}_{\text{mean}} * D * 10,4 * 10^{-3}}{\text{initial solid}} * 100 \quad \text{Εξ. 50}$$

$$\text{Ολικό άμυλο} (\% \text{ W/W}) = C_{\text{γλυκόζης}} * 0,9 \quad \text{Εξ. 51}$$

όπου:

ABS_{mean} = 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)

$$0,9 = \text{Mr}_{\text{glucose}} / \text{Mr}_{\text{starch}}$$

7.3.11 Προσδιορισμός Ολικού Οργανικού Άνθρακα (TOC)

Για τον προσδιορισμό της επί της εκατό κατά όγκο περιεκτικότητας ολικού οργανικού άνθρακα TOC σε υγρά δείγματα χρησιμοποιήθηκε η συσκευή TOC-TN της εταιρείας Shimadzu η οποία απεικονίζεται στο παρακάτω **Σχήμα 20**.



Σχήμα 20: Συσκευή μέτρησης TOC.

Το δείγμα εισάγεται απ' ευθείας στο σωλήνα καύσης που περιέχει τον καταλύτη αφού προηγουμένως έχει αραιωθεί καταλλήλως. Ο συνολικός άνθρακας καίγεται στους 900 °C στο σωλήνα καύσης και σχηματίζεται διοξείδιο του άνθρακα. Το φέρον αέριο, δηλαδή ο υπερκάθαρος αέρας, ρέει μέσα στον σωλήνα καύσης και παραλαμβάνει το διοξείδιο και τα υπόλοιπα προϊόντα καύσης, τα οποία μεταφέρει σε έναν αφυγραντήρα όπου απομακρύνεται η υγρασία, με ταυτόχρονη ψύξη των αερίων καύσης. Στην συνέχεια, το φέρον αέριο διέρχεται μέσα από μία παγίδα αλογόνων (όπου κατακρατούνται τα αλογόνα που ίσως περιέχει), και καταλήγει στην κυβελίδα ανιχνευτή NDIR (Non dispersive infra red gas analyzer), όπου ανιχνεύεται το διοξείδιο του άνθρακα και κατ' επέκταση ο ολικός οργανικός άνθρακας, TOC. Το εύρος μετρήσεων είναι από 0,2 mg C έως 30 mg C.

7.3.12 Προσδιορισμός Αιθανόλης

Για τον προσδιορισμό της αιθανόλης ακολουθείται η εξής διαδικασία:

1. Τοποθετούνται σε γυάλινο φιαλίδιο 2 mL από το πρότυπο διάλυμα αιθανόλης Reagent 1 και προστίθεται 0,1 mL από το δείγμα.
2. Σε ένα άλλο γυάλινο φιαλίδιο κατασκευάζεται το τυφλό δείγμα όπου τοποθετούνται σε γυάλινο φιαλίδιο 2 mL από το πρότυπο δείγμα αιθανόλης Reagent 1 και προστίθεται 0,1 mL από απιονισμένο νερό.
3. Μετά το πέρας 3 λεπτών προστίθενται στα γυάλινα φιαλίδια 0,5 mL από το πρότυπο διάλυμα αιθανόλης Reagent 2 και αφήνονται σε ηρεμία.
4. Μετά το πέρας 7 λεπτών τα δείγματα φωτομετρώνται εφόσον έχει επιλεγθεί η μέθοδος με τον AutoSelector, μετά από ανάδευση στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2 και μηδενισμό του φωτομέτρου με απιονισμένο νερό.

7.3.13 Προσδιορισμός της Περιεκτικότητας του Ολικού Αζώτου σε Στερεά Δείγματα

Η μέθοδος βασίζεται στην τροποποιημένη κατά Kjeldahl μέθοδο προσδιορισμού αζώτου.

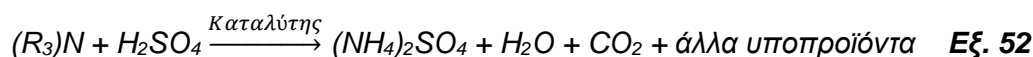
Στην κλασσική μέθοδο Kjeldahl πραγματοποιείται η μετατροπή του οργανικού αζώτου και ελεύθερου αμμωνίου σε άλας θειικού αμμωνίου στην διάρκεια χώνευσης παρουσία θειικού οξέος και καταλυτών. Στην συνέχεια η αμμώνια αποστάζεται και προσδιορίζεται ογκομετρικά με τιτλοδότηση. Τα νιτρικά και νιτρώδη άλατα δεν διασπώνται με την χώνευση κατά Kjeldahl οπότε πρέπει να γίνει μετατροπή τους σε αμμωνιακά.

Στην τροποποιημένη μέθοδο κατά Kjeldahl, το διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) χρησιμοποιείται ως καταλύτης αντί σεληνίου. Η μετατροπή (αναγωγή) των νιτρικών (N-NO₃) και νιτρώδη ενώσεων (N-NO₂) σε αμμωνιακά γίνεται με χρήση σαλικυλικού οξέος και θειοθειικού νάτριο.

Η διαδικασία της μεθόδου ουσιαστικά μπορεί να χωριστεί σε τρία μέρη: (1) χώνευση, (2) απόσταξη και (3) τιτλοδότηση.

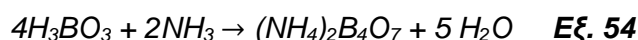
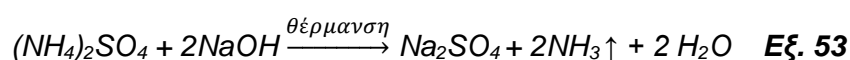
1. Χώνευση δείγματος

Στην παρούσα τροποποιημένη μέθοδο Kjeldahl η προζυγισμένη ποσότητα του δείγματος προεπεξεργάζεται πριν την χώνευση με το διάλυμα του σαλικυλικού οξέος διαλυμένου στο πυκνό θειικό οξύ. Οι νίτρο-ενώσεις που σχηματίζονται σε όξινο περιβάλλον στην αντίδραση του σαλικυλικού οξέος με νιτρικό άζωτο δείγματος, ανάγονται σε άμινο-ενώσεις υπό θέρμανση του δείγματος με θειοθειικό νάτριο. Στην συνέχεια το μίγμα θερμαίνεται κοντά στους 400°C και πραγματοποιείται χημική αποσύνθεση του δείγματος. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ένα διάλυμα θειικού αμμωνίου. Η γενική εξίσωση για την χώνευση ενός οργανικού δείγματος φαίνεται παρακάτω (Εξ. 52):



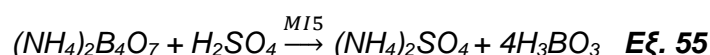
2. Απόσταξη αμμωνίας

Μετά τον σχηματισμό του θειικού αμμωνίου, η αμμωνία ελευθερώνεται σε αλκαλικό περιβάλλον, σύμφωνα με την Εξ.53. Στην συνέχεια η αμμωνία αποστάζεται και δεσμεύεται σε διάλυμα βορικού οξέος, σύμφωνα με την Εξ.54, όπου και προσδιορίζεται εμμέσως.



3. Τιτλοδότηση

Το ποσό παρούσας αμμωνίας (ως εκ τούτου το ποσό παρόντος αζώτου στο δείγμα) καθορίζεται με τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα θειικού οξέος παρουσία καταλλήλου δείκτη, σύμφωνα με την Εξ. 55 :



Η διαδικασία ανάλυσης της μεθόδου προσδιορισμού του ολικού αζώτου είναι η ακόλουθη:

- **Διαδικασία χώνευσης**

Ανάλογα με τον τύπο του δείγματος (αποξηραμένου στον αέρα) ζυγίζεται διαφορετική ποσότητα στερεού, όπως περιγράφεται στον **πίνακα 15**:

Πίνακας 15: Βάρος ποσότητας του στερεού ανάλογα με τον τύπο δείγματος.

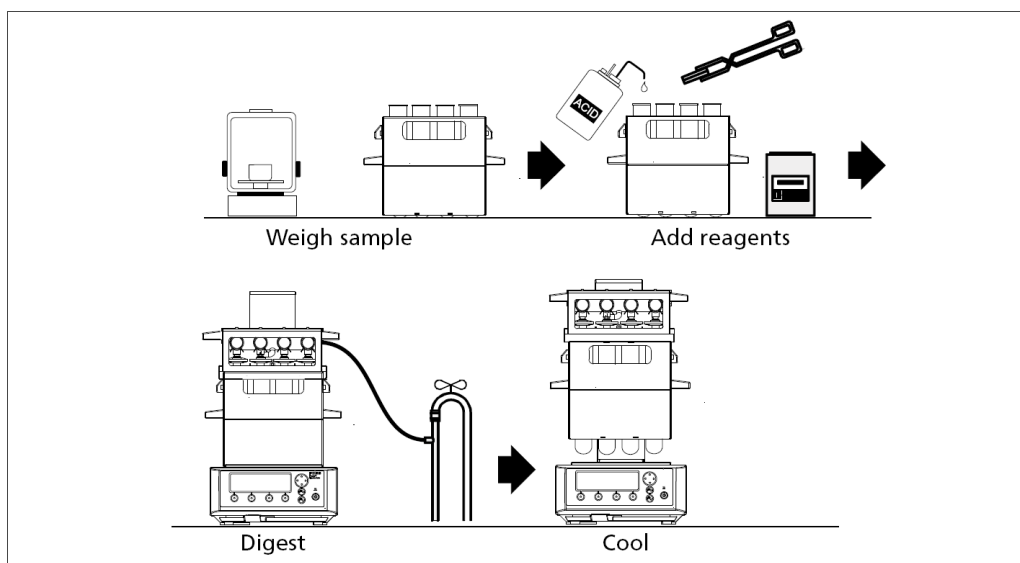
Τύπος δείγματος	Αναμενόμενη περιεκτικότητα σε άζωτο	Ποσότητα δείγματος
Χώμα	0,05 – 0,5%	1 - 10 g
Κομπόστ	0,5 – 2%	0,5 - 1 g
Λάσπη	1 – 10%	0.1 – 0,5 g

Τα βήματα που έπονται είναι τα εξής:

1. Σε ειδικό σωλήνα καύσης μεταφέρεται ποσοτικά η ζυγισμένη ποσότητα στερεού δείγματος, και στη συνέχεια 20 mL του διαλύματος σαλικυλικού οξέος σε θειικό οξύ. Ο σωλήνας ανακινείται μέχρις ότου το οξύ να αναμιχθεί καλά με το στερεό δείγμα. Το μίγμα αφήνεται για αρκετές ώρες (ή όλη τη νύχτα).
2. Στην συνέχεια προσθέτονται 2,5 g θειοθειικού νατρίου μέσω στεγνού χωνιού στον πάτο του σωλήνα και το μίγμα θερμαίνεται στους 170 ± 10 °C στην ειδική συσκευή καύσης Gerhard Kjeldatherm KB/KBL για 30 λεπτά (μέχρι ο αφρισμός να σταματήσει) – Πρόγραμμα 5.
3. Ύστερα, ο σωλήνας ψύχεται και προσθέτονται 5,5 g μίγματος καταλύτη.
4. Ο σωλήνας τοποθετείται ξανά στην συσκευή καύσης όπου θερμαίνεται ήπια έως σε συνθήκες έντονου βρασμού για 2 ώρες στους 400 ± 10 °C. Ο σωλήνας αφήνεται να ψυχθεί (10 min/ 300 ± 10 °C, 10 min/ 200 ± 10 °C) – Πρόγραμμα 6.

Σημείωση: Η θερμοκρασία του διαλύματος δεν πρέπει να υπερβαίνει τους 400 °C. Το μίγμα βράζει ήπια έως 5 ώρες, έτσι ώστε το θειικό οξύ υγροποιείται περίπου στο 1/3 της διαδρομής μέχρι το λαιμό του σωλήνα. Στις περισσότερες περιπτώσεις 2 ώρες βρασμού είναι επαρκείς.

5. Στο τέλος της χώνευσης ο σωλήνας αφήνεται να κρυώσει και μεταφέρεται στη συσκευή απόσταξης Vapodest.
6. Επίσης, φτιάχνεται ταυτόχρονα και τουλάχιστον ένα τυφλό δείγμα (20 mL διαλύματος σαλικυλικού οξέος/θειικού οξέος, 2,5 g θειοθειικού νατρίου και 5,5 g μίγματος καταλύτη) το οποίο ακολουθεί την ίδια διαδικασία χώνευσης, απόσταξης και τιτροδότησης.



Σχήμα 21: Διαδικασία χώνευσης.

- **Διαδικασία απόσταξης**

Ανοίγοντας την συσκευή απόσταξης αμέσως ανοίγεται και η βρύση με την οποία είναι συνδεδεμένο το όργανο, ώστε να υπάρχει ροή στο σύστημα και να φύγει τους σχηματιζόμενους ατμούς. Κατά την έναρξη λειτουργίας της συσκευής απόσταξης χρειάζεται ένα τέταρτο μέχρι να προθερμανθεί. Υπάρχουν τέσσερα προγράμματα στην συσκευή:

00 TEST: αρχικός καθαρισμός της συσκευής κατά την έναρξη λειτουργίας της με φιάλη κενή.

01 AZOTO: Διαδικασία προσδιορισμού αζώτου. Αυτόματα προστίθενται 100 mL διαλύματος καυστικού νατρίου 40% w/w και 100 mL απιονισμένου νερού. Αμέσως ξεκινάει η απόσταξη για τη δέσμευση της αμμωνίας, που ελευθερώνεται στο αλκαλικό περιβάλλον, από 25 mL διαλύματος βορικού οξέος 2% w/v που περιείχε και διαλύματος δείκτη (σε κωνική φιάλη).

02 CLEAN: Πραγματοποιείται μετά από κάθε ανάλυση δείγματος για καθαρισμό λόγω επιμολύνσεων

03 KATH: Πραγματοποιείται στο τέλος όλων των αναλύσεων για τον τελικό καθαρισμό της συσκευής

Ακόλουθη διαδικασία:

1. Πραγματοποιείται αρχικός καθαρισμός της συσκευής με πρόγραμμα **00 TEST**.
2. Ο σωλήνας με το χωνεμένο δείγμα προσαρμόζεται στην συσκευή απόσταξης.
3. Προστίθενται 25 mL βορικού οξέος σε κωνική φιάλη 250 mL και 3-4 σταγόνες δείκτη και η φιάλη τοποθετείται κάτω από το ψυκτήρα της συσκευής απόσταξης.
4. Πραγματοποιείται το πρόγραμμα απόσταξης **01 AZOTO**.

5. Συλλεγμένο απόσταγμα στην κωνική φιάλη μεταφέρεται στην τιτλοδότηση.
6. Πραγματοποιείται το πρόγραμμα απόσταξης 02 CLEAN.
7. Στο τέλος όλων αποστάξεων πραγματοποιείται το πρόγραμμα απόσταξης 03 KATH.

- **Διαδικασία τιτλοδότησης**

Συλλεγμένο απόσταγμα στην κωνική φιάλη ογκομετρείται με το θειϊκό οξύ μέχρι τελικού σημείου με αλλαγή χρώματος από πράσινο σε βιολετί.

Υπολογισμός Ολικού Αζώτου (TN)

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

$$TN = \frac{(V_{\Delta} - V_T) \times c(H^+) \times M_N}{m} \times \frac{100 + \%Y_{\Xi.B.}}{100} \quad \text{Εξ. 56}$$

Όπου:

V_{Δ} = ο όγκος, σε ml, του θειϊκού οξέος που χρησιμοποιούνται για την τιτλοδότηση του δείγματος.

V_T = ο όγκος, σε ml, του θειϊκού οξέος που χρησιμοποιούνται για την τιτλοδότηση του τυφλού.

$c(H^+)$ = η συγκέντρωση των H^+ σε θειϊκό οξύ, σε mole/l.

M_N = το μοριακό βάρος του αζώτου, σε g/mole (= 14.0067).

m = η μάζα, σε g, του ξηραμένου στερεού δείγματος.

$\%Y_{\Xi.B.}$ = η υγρασία δείγματος σε ξηρή βάση (%) σύμφωνα με την ΟΕ-702Γ-1.

Το αποτέλεσμα παρουσιάζεται με δύο σημαντικά ψηφία.

Τα αποτελέσματα του TN αναφέρονται ως μέσος όρος για τουλάχιστον δύο μετρήσεις παραμέτρου. Η διαφορά μεταξύ δύο διαφορετικών προσδιορισμών δεν πρέπει να υπερβαίνει το 15% της μετρούμενης περιεκτικότητας σε ολικό άζωτο (μέσο όρου δυο μετρήσεων), όταν η περιεκτικότητα είναι μικρότερη από 2 mg/g, και του 10%, όταν η περιεκτικότητα είναι μεγαλύτερη από 2 mg/g.

Εναλλακτικά, η περιεκτικότητα του δείγματος σε ολικό άζωτο εκφράζεται σε %N με ακόλουθο τύπο:

$$\%TN = TN (mg/g) / 10 \quad \text{Εξ. 57}$$

7.4 Ορισμοί για τον υπολογισμό των θεωρητικών παραμέτρων

Προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι υπολογισμοί που ακολουθούν για τις αποδομήσεις και αποδόσεις της αιθανόλης, παρατίθενται κάποιοι ορισμοί που είναι χρήσιμοι.

Θεωρητική γλυκόζη βάση κυτταρίνης είναι η γλυκόζη που θα παραγόταν αν πραγματοποιούνταν πλήρης διάσπαση της κυτταρίνης. Βάση της θεωρίας προκύπτει ότι:

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη βάση κυτταρίνης (g)} = \frac{\text{Θεωρητική κυτταρίνη (g)}}{0,9} \quad \text{Εξ. 58}$$

Όπου:

$$\text{Θεωρητική κυτταρίνη (g)} = \text{Κυτταρίνη\%} * \text{Αρχικό στερεό κλάσμα (g)} \quad \text{Εξ. 59}$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συντελεστής 0,9 προκύπτει με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης, καθώς και από τον λόγο των μοριακών βαρών της γλυκόζης και της κυτταρίνης.

Θεωρητική γλυκόζη βάση αμύλου είναι η γλυκόζη που θα παραγόταν αν πραγματοποιούνταν πλήρης διάσπαση του αμύλου. Βάση της θεωρίας προκύπτει ότι:

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη βάση αμύλου (g)} = \frac{\text{Θεωρητικό άμυλο (g)}}{0,9} \quad \text{Εξ. 60}$$

Όπου:

$$\text{Θεωρητικό άμυλο (g)} = \text{Άμυλο\%} * \text{Αρχικό στερεό κλάσμα (g)} \quad \text{Εξ. 61}$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συντελεστής 0,9 προκύπτει και πάλι με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης, καθώς και από τον λόγο των μοριακών βαρών της γλυκόζης και του αμύλου.

Έτσι, ορίζεται ως θεωρητική αιθανόλη η αιθανόλη που θα παραγόταν εάν γινόταν πλήρης διάσπαση της κυτταρίνης και του αμύλου σε γλυκόζη, και με τη σειρά της, η παραγόμενη γλυκόζη και η ελεύθερη γλυκόζη μετατρέπονταν πλήρως σε αιθανόλη. Πιο συγκεκριμένα, βάση θεωρίας προκύπτει ότι:

$$\text{Θεωρητική αιθανόλη (g)} = (\text{Θεωρητική γλυκόζη βάση κυτταρίνης} + \text{Θεωρητική γλυκόζη βάση αμύλου} + \text{ελεύθερη γλυκόζη})(g) * 0,511 \quad \text{Εξ. 62}$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συντελεστής 0,511 προκύπτει με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης.

7.5 Υπολογισμός αποδομήσεων και αποδόσεων

Η αποδόμηση στερεού υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Αποδόμηση στερεού (g)} = \frac{\text{Αρχική ποσότητα στερεού (g)} - \text{Τελική ποσότητα στερεού (g)}}{\text{Αρχική ποσότητα στερεού (g)}} \quad \text{Εξ. 63}$$

Ομοίως υπολογίζονται και οι αποδομήσεις της κυτταρίνης και του αμύλου.

Η απόδοση σε αιθανόλη βάση συγκέντρωσης (*ethanol yield*), υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{Ethanol yield (\%)} = \frac{\text{Μάζα παραγόμενης αιθανόλης (g)}}{\text{Μάζα θεωρητικής αιθανόλης (g)}} 100\% \quad \text{Εξ. 64}$$

Όπου:

Μάζα παραγόμενης αιθανόλης (g) = Συγκέντρωση παραγόμενης αιθανόλης (g/L) * όγκο υγρού (L).

Με άλλα λόγια, η απόδοση της αιθανόλης υπολογίζεται από την παραγόμενη αιθανόλη προς την αιθανόλη που εκτιμάται ότι μπορεί να παραχθεί βάση της σύστασης της τροφοδοσίας (θεωρητική αιθανόλη).

Η απόδοση σε αιθανόλη με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου (*Ethanol yield by degradation of cellulose and starch*) υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{Ethanol yield by degradation of cell and starch (\%)} = \frac{\text{Μάζα παραγόμενης αιθανόλης βάση της αποδόμησης κυτταρίνης και αμύλου (g)}}{\text{Μάζα θεωρητικής αιθανόλης (g)}} 100\% \quad \text{Εξ. 65}$$

8. Πειραματικό πρωτόκολλο

8.1 Πειραματική διαδικασία

Αρχικά, σε κάθε τροφοδοσία οικιακών οργανικών απορριμμάτων που χρησιμοποιείται για τις ανάγκες των πειραμάτων απομακρύνονται τα μεγάλα κομμάτια, που δεν έχουν μετατραπεί σε σκόνη όπως κόκκαλα ή κουκούτσια με την χρήση κόσκινου με διάμετρο 8 mm (**Σχήμα 22**).



Σχήμα 22: Κόσκινο διαμέτρου 8 mm.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι με στόχο τη μεγιστοποίηση της παραγόμενης βιοαιθανόλης και την εύρεση των άριστων συνθηκών.

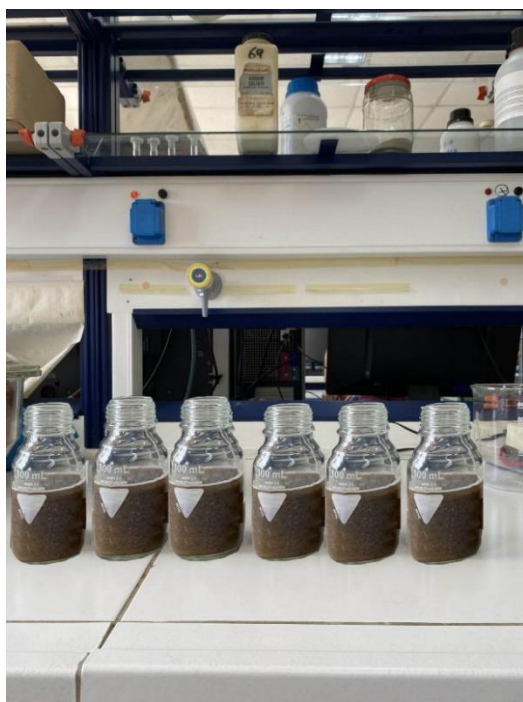
8.2 Πειραματική διαδικασία - 1^{ος} πειραματικός κύκλος

Στον 1^ο πειραματικό κύκλο, πραγματοποιήθηκαν 10 πειράματα σε εργαστηριακή κλίμακα με την μέθοδο SSF με περιεκτικότητα στερεών 10% και με δύο επαναλήψεις κάθε πειράματος. Η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση έγιναν ταυτόχρονα στους 35°C για 18 ώρες με προσθήκη εμπορικού αμυλολυτικού ενζύμου SpirizymeXL, μη εμπορικού κυτταρινολυτικού ενζύμου NS87014 και μαγιάς *Saccharomyces Cerevisiae* σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό.

Το κυτταρινολυτικό ένζυμο είναι ένα μη εμπορικό ένζυμο παρασκευασμένο για την αποδόμηση κυτταρίνης διατροφικών αποβλήτων από την εταιρεία Novozymes, ενώ το αμυλολυτικό ένζυμο είναι ένα εμπορικό προϊόν της εταιρείας Novozymes.

Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η εξής πορεία:

1. Σε κάθε γυάλινο μπουκαλάκι των 100 mL προστίθενται 10 g στερεού ξηρού δείγματος, 90 mL απιονισμένου νερού, ώστε το φορτίο να είναι 10%. Ακόμη, προστίθενται οι κατάλληλες ποσότητες ενζύμων και μαγιάς σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό, το μπουκαλάκι σφραγίζεται και τοποθετείται στο ανακινούμενο αερόλουτρο IKA KS 30001 control σε θερμοκρασία 35 °C και ταχύτητα ανάδευσης 150 rpm για 18 ώρες.



Σχήμα 23: Γυάλινα μπουκαλάκια των 100 ml με 10 g στερεού ξηρού δείγματος και 90 ml απιονισμένου νερού.

2. Μετά το πέρας της διεργασίας, διαχωρίζεται το μίγμα στην στερεή και υγρή του φάση με διήθηση υπό κενό. Η υγρή φάση ή διήθημα αποθηκεύεται σε falcon tubes. Η στερεή φάση, αλλιώς το υπόλειμμα της διήθησης, συλλέγεται στο

διηθητικό χαρτί και αποθηκεύεται σε προζυγισμένο γυάλινο ποτήρι ζέσεως, το οποίο τοποθετείται στο φούρνο στους 105 °C για 24 ώρες, για την απομάκρυνση της υγρασίας του. Ύστερα, το στερεό θρυμματίζεται με την βοήθεια του γουδιού, λαμβάνει την μορφή σκόνης και συλλέγεται σε falcon των 50 mL.

3. Στην υγρή φάση πραγματοποιείται με τη χρήση φωτομέτρου μέτρηση της περιεκτικότητας σε γλυκόζη και αιθανόλη, με αραιώσεις D=2 και D=100 αντίστοιχα. Επίσης, γίνεται μέτρηση της επί της εκατό κατά όγκο περιεκτικότητας ολικού οργανικού άνθρακα με χρήση της συσκευής TOC.
4. Έπειτα, στην στερεή φάση πραγματοποιείται πλήρης χαρακτηρισμός και μετρούνται οι εξής περιεκτικότητες σε ξηρή βάση:
 - Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)
 - Πτητικά στερεά (VS)
 - Τέφρα (ASH)
 - Κυτταρίνη (Cellulose)
 - Ημικυτταρίνη (TRS)
 - Άμυλο (Starch)
 - Διαλυτή λιγνίνη (ASL)
 - Μη διαλυτό υπόλειμμα (AIR).

Έτσι, με την εύρεση των παραπάνω παραμέτρων μπορούν να υπολογισθούν οι αποδομήσεις των επιμέρους χαρακτηριστικών, καθώς και οι επιθυμητές αποδόσεις.

Ο παραγοντικός σχεδιασμός του 1^{ου} πειραματικού κύκλου αναφέρεται αναλυτικά στο υποκεφάλαιο **9.3**.

8.2.1 Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών του 1^{ου} πειραματικού κύκλου

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής, όπως έχει προαναφερθεί, είναι η βελτιστοποίηση παραγωγής βιοαιθανόλης ως προς τις δόσεις των ενζύμων και της μαγιάς. Για να βρεθούν οι κατάλληλες ποσότητες ενζύμων και μαγιάς επιλέχθηκε να σχεδιαστεί παραγοντικό πείραμα, προκειμένου με έναν γρήγορο και αποτελεσματικό τρόπο να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τις βέλτιστες συνθήκες.

Ο στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού είναι να προσδιοριστεί η επίδραση κάποιων βασικών παραμέτρων στην απόδοση της βιοαιθανόλης («παράμετρος αριστοποίησης») από την τροφοδοσία που μελετήθηκε.

Οι κύριες παράμετροι που επηρεάζουν την απόδοση της βιοαιθανόλης είναι το αμυλολυτικό ένζυμο SpirizymeXL, το κυτταρινολυτικό ένζυμο NS87014 και η μαγιά *Saccharomyces Cerevisiae*. Οι παράμετροι αυτές καλούνται «ρυθμιστικές παράμετροι» του συστήματος.

Η επίδραση των ρυθμιστικών παραμέτρων στην παράμετρο αριστοποίησης εκτιμήθηκε μέσω ενός 2³ παραγοντικού πειράματος. Γενικά, μέσω ενός 2ⁿ παραγοντικού πειράματος, οι ρυθμιστικές παράμετροι συσχετίζονται με την

παράμετρο αριστοποίησης μέσω ενός κατάλληλου γραμμικού μοντέλου. Η σημαντικότητα των παραμέτρων αυτών μπορεί επίσης να εκτιμηθεί και να αξιολογηθεί.

Για το παραγοντικό σχεδιασμό όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 5 χρειάζεται να οριστεί το χαμηλότερο και το υψηλότερο επίπεδο, καθώς και το κέντρο του πειράματος. Έτσι, τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων παρουσιάζονται στον ακόλουθο **πίνακα 16**.

Πίνακας 16: Οι ρυθμιστικές παράμετροι και τα επίπεδα του παραγοντικού πειράματος.

Παράμετρος	Χαμηλό επίπεδο (-)	Υψηλό Επίπεδο (+)	Κέντρο
SpirizymeXL (μL/g αμύλου)	20	60	40
NS87014 (μL/g κυτταρίνης)	100	250	175
S. cerevisiae (%)	1	3	2

Η πειραματική περιοχή του παραγοντικού σχεδιασμού προκαθορίστηκε με βάση τη βιβλιογραφία (Karmee S. K., 2014, Gustavsson J., 2011) και προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου.

Στον 2³ παραγοντικό σχεδιασμό, πραγματοποιήθηκαν οκτώ πειράματα με δύο επαναλήψεις για τη κάθε μια. Τέσσερα επιπλέον πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο κέντρο του σχεδιασμού (επίπεδο 0) για στατιστικούς λόγους. Από αυτά τα δεδομένα, κατασκευάστηκε ένα μαθηματικό μοντέλο και η επάρκειά του ελέγχθηκε από το κριτήριο Fisher.

Ο πειραματικός σχεδιασμός των πειραμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω **πίνακα 17**:

Πίνακας 17: Πειράματα παραγοντικού σχεδιασμού

Πειράματα	Spirizyme (μL/g αμύλου)	NS87014 (μL/g κυτταρίνης)	S.cerevisiae (%)
1	20	100	1%
2	20	250	1%
3	60	100	1%
4	60	250	1%
5	20	100	3%
6	20	250	3%
7	60	100	3%
8	60	250	3%
9	40	175	2%

8.3 Πειραματική διαδικασία - 2^{ος} Πειραματικός Κύκλος

Στη συνέχεια, στον 2^ο πειραματικό κύκλο, που εφαρμόζονται οι βέλτιστες συνθήκες που προέκυψαν από τον παραγοντικό σχεδιασμό πειραμάτων ως προς τις ποσότητες των ενζύμων και της μαγιάς, πραγματοποιείται αριστοποίηση ως προς τη φόρτιση των στερεών με ανακλιμάκωση σε έναν αντιδραστήρα 4L. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 5 πειράματα με την μέθοδο SSF (Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση) με τις εξής περιεκτικότητες ανά πείραμα: 10%, 15%, 20%, 25%, 30%. Ο ενεργός όγκος του μίγματος των πειραμάτων ήταν περίπου 2,5L. Τα πειράματα αυτά διενεργήθηκαν σε 35 °C για 24 ώρες, με προσθήκη αμυλολυτικού ενζύμου SpirizymeXL, κυτταρινολυτικού ενζύμου NS87014 και μαγιάς *Saccharomyces Cerevisiae*. Ειδικότερα, η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

1. Σε έναν τετράλιτρο αντιδραστήρα προστίθενται η ποσότητα της τροφοδοσίας σύμφωνα με τον σχεδιασμό πειραμάτων όπως αναφέρεται στον **πίνακα 18** και το απαιτούμενο απιονισμένο νερό, ώστε ο τελικός ενεργός όγκος να είναι 2,5 L.



Σχήμα 24: Τετράλιτρος αντιδραστήρας.



Σχήμα 25: Σύστημα λειτουργίας του τετρά-λιτρου αντιδραστήρα.



Σχήμα 26: Άδειος αντιδραστήρας.



Σχήμα 27: Περιεχόμενο τετρά-λιτρου αντιδραστήρα.

2. Έπειτα, γίνεται προσθήκη των ενζύμων και της μαγιάς. Οι δοσολογίες του αμυλολυτικού ενζύμου, του κυτταρινολυτικού ενζύμου και της μαγιάς *Saccharomyces Cerevisiae* είναι σταθερές σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πρώτου πειραματικού κύκλου.
3. Στη συνέχεια, ο αντιδραστήρας τίθεται σε λειτουργία. Στις 24 ώρες από την έναρξη της ζύμωσης στον βιοαντιδραστήρα λαμβάνεται δείγμα σε falcon των 50 mL.
4. Το δείγμα αυτό πρώτα υφίσταται φυγοκέντρηση και μετά διήθηση από κενό, προκειμένου να διαχωριστεί η υγρή από την στερεή φάση.
5. Στο δείγμα μετά τον διαχωρισμό μετρείται ο όγκος του υγρού κλάσματος και αποθηκεύεται σε falcon, καθώς επίσης ζυγίζεται το στερεό κλάσμα. Το τελευταίο ακολούθως ξηραίνεται σε φούρνο στους 105 °C για την απομάκρυνση της υγρασίας. Μετά το πέρας μίας ημέρας, ζυγίζεται ξανά, το στερεό θρυμματίζεται με την βοήθεια του γουδιού, λαμβάνει την μορφή σκόνης και συλλέγεται σε falcon των 50 mL. Οι ζυγίσεις του στερεού κλάσματος και οι μετρήσεις του υγρού κλάσματος αποσκοπούν στον υπολογισμό των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS).
5. Στην υγρή φάση πραγματοποιείται με τη χρήση φωτομέτρου μέτρηση της περιεκτικότητας σε γλυκόζη και αιθανόλη.
6. Τέλος, στην στερεή φάση πραγματοποιείται πλήρης χαρακτηρισμός και μετρούνται οι εξής περιεκτικότητες σε ξηρή βάση:
 - Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)
 - Πτητικά στερεά (VS)
 - Τέφρα (ASH)
 - Κυτταρίνη (Cellulose)

- Ημικυτταρίνη (TRS)
- Άμυλο (Starch)
- Διαλυτή λιγνίνη (ASL)
- Μη διαλυτό υπόλειμμα (AIR).

Ομοίως, με την εύρεση των παραπάνω παραμέτρων μπορούν να υπολογισθούν οι αποδομήσεις των επιμέρους χαρακτηριστικών, καθώς και οι επιθυμητές αποδόσεις.

Στον παρακάτω **πίνακα 18** παρουσιάζονται τα πειράματα του 2^{ου} πειραματικού κύκλου.

Πίνακας 18: Σχεδιασμός πειραμάτων 2^{ου} πειραματικού κύκλου

Σχεδιασμός Πειραμάτων				
Πειράματα	Φορτίο	Spirizyme (μL/g αμύλου)	NS87014 (μL/g κυτταρίνης)	S.Cerevisiae (%)
1	10%	Σταθερό	Σταθερό	Σταθερό
2	15%			
3	20%			
4	25%			
5	30%			

9. Πειραματικά αποτελέσματα

9.1 Χαρακτηρισμός πρώτης ύλης

Στην συγκεκριμένη διπλωματική χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη προδιαλεγμένα οικιακά τροφικά απορρίμματα από το Δήμο Βάρης-Βούλας-Βουλιαγμένης για την τροφοδοσία του πειράματος. Σύμφωνα με τον χαρακτηρισμό της πρώτης ύλης, δηλαδή τη μέση σύσταση της σε ξηρή βάση (εφεξής ξ.β.) προέκυψαν τα εξής δεδομένα στον **πίνακα 19**. Ειδικότερα, προσδιορίστηκαν τα ολικά στερεά, η υγρασία, τα λίπη και έλαια, τα πτητικά στερεά, η τέφρα, τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά, οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες, το pH και το άζωτο. Η συνολική περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι ο κύριος στόχος για την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων.

Πίνακας 19: Μέση σύσταση των προδιαλεγμένων οικιακών οργανικών βιοαποβλήτων που χρησιμοποιήθηκαν.

Παράμετροι	Σύσταση (%w/w)
Ολικά στερεά - TS	90,62 ± 0,19
Υγρασία - Moisture	9,38 ± 0,19
Έλαια – Oils (ξ.β.)	10,18 ± 0,35
Υδατοδιαλυτά στερεά – WS (ξ.β.)	30,98 ± 0,81
Πτητικά στερεά – VS (ξ.β.)	91,39 ± 2,64

Τέφρα – ASH (ξ.β.)	8,22 ± 2,64
Κυτταρίνη – Cellulose (ξ.β.)	8,46 ± 0,39
Ημικυτταρίνη – Hemicellulose (ξ.β.)	13,64 ± 1,59
Άμυλο – Starch (ξ.β.)	16,90 ± 3,09
Διαλυτή λιγνίνη – ASL (ξ.β.)	1,48 ± 0,08
Μη διαλυτό Υπόλειμμα – AIR (ξ.β.)	11,41 ± 3,00
Ελεύθερη γλυκόζη - free glycose (ξ.β.)	0,92 ± 0,49
Ξυλόζη – TRS (ξ.β.)	0,79 ± 0,14
Άζωτο – N (ξ.β.)	2,36 ± 0,12
pH (ξ.β.)	4,56

Από τον χαρακτηρισμό προέκυψε ότι περίπου το 40,7% της συνολικής ξηράς ύλης αποτελείται από υδατάνθρακες και συνεπώς μπορεί να μπορεί να αξιοποιηθεί προς την κατεύθυνση της παραγωγή βιοαιθανόλης.

Σύμφωνα με τους Baramprouiti et al. (2019), οι μέσες τιμές για τα λίπη και τα έλαια κυμαίνονται από 5,6% έως 24,7%, για την λιγνίνη από 1,8% έως 29,1%, για την κυτταρίνη από 3,2% έως 49,0%, για την ημικυτταρίνη είναι 1,8% έως 15,8%, για το άμυλο είναι 11,7% έως 56,5% και για την ελεύθερη γλυκόζη είναι 4,9% έως 21,0%. Γενικά, παρατηρείται ότι οι μέσοι όροι της σύστασης του **πίνακα 19** είναι εντός των ορίων σε σχέση με τη βιβλιογραφία.

9.2 1^{ος} πειραματικός κύκλος: Αριστοποίηση SSF ως προς δόσεις ενζύμων και μαγιάς

9.2.1 Πρωτογενή Αποτελέσματα

Οι ποσότητες των ενζύμων, της μαγιάς αλλά και του στερεού που προστέθηκαν σε κάθε πείραμα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 20: Ποσότητες ενζύμων, της μαγιάς αλλά και στερεού όλων των πειραμάτων του 1^{ου} πειραματικού κύκλου σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό.

Συνθήκες Πειραμάτων				
Πειράματα	Spirizyme (μL)	NS87014 (μL)	S.Cerevisiae (g)	Αρχική μάζα στερεού (g)
1	34,062	85,305	0,101	10,0784
2	33,810	84,673	0,100	10,0038
3	33,853	211,952	0,100	10,0165
4	33,892	212,198	0,100	10,0281
5	102,744	85,771	0,101	10,1335
6	101,391	84,642	0,100	10,0001
7	101,395	211,614	0,100	10,0005
8	101,442	211,711	0,100	10,0051

9	33,812	84,680	0,300	10,0046
10	33,840	84,750	0,300	10,0128
11	33,817	211,728	0,300	10,0059
12	33,799	211,620	0,300	10,0008
13	101,414	84,661	0,300	10,0023
14	102,630	85,676	0,304	10,1223
15	101,443	211,713	0,300	10,0052
16	101,554	211,944	0,300	10,0161
17	67,613	148,165	0,200	10,0029
18	67,600	148,136	0,200	10,0009
19	67,662	148,272	0,200	10,0101
20	67,608	148,155	0,200	10,0022

Με βάση την περιεκτικότητα της τροφοδοσίας σε ελεύθερη γλυκόζη, άμυλο και κυτταρίνη υπολογίζεται η θεωρητική μέγιστη ποσότητα γλυκόζης και αιθανόλης που μπορεί να παραχθεί από την συγκεκριμένη τροφοδοσία σύμφωνα με τους ορισμούς και τις εξισώσεις στο υποκεφάλαιο 7.4. Οι υπολογισμοί παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 21: Υπολογισμοί των θεωρητικών παραμέτρων της 1^{ης} πειραματικής πορείας

Πειράματα	Περιεχόμενο άμυλο (g)	Περιεχόμενη κυτταρίνη (g)	Περιεχόμενη ελεύθερη γλυκόζη (g)	Θεωρητική γλυκόζη (g)	Θεωρητική αιθανόλη (g)
1	1,7031	0,8530	0,0924	2,9326	1,4985
2	1,6905	0,8467	0,0917	2,9109	1,4875
3	1,6926	0,8478	0,0919	2,9146	1,4893
4	1,6946	0,8488	0,0920	2,9179	1,4911
5	1,7124	0,8577	0,0929	2,9486	1,5067
6	1,6899	0,8464	0,0917	2,9098	1,4869
7	1,6899	0,8465	0,0917	2,9099	1,4870
8	1,6907	0,8468	0,0918	2,9112	1,4876
9	1,6906	0,8468	0,0918	2,9111	1,4876
10	1,6920	0,8475	0,0918	2,9135	1,4888
11	1,6908	0,8469	0,0918	2,9115	1,4878
12	1,6900	0,8465	0,0917	2,9100	1,4870
13	1,6902	0,8466	0,0917	2,9104	1,4872
14	1,7105	0,8568	0,0928	2,9454	1,5051
15	1,6907	0,8469	0,0918	2,9113	1,4877
16	1,6926	0,8478	0,0919	2,9145	1,4893
17	1,6903	0,8467	0,0917	2,9106	1,4873
18	1,6900	0,8465	0,0917	2,9100	1,4870
19	1,6915	0,8473	0,0918	2,9127	1,4884
20	1,6902	0,8466	0,0917	2,9104	1,4872

Το υγρό κλάσμα που προέκυψε μετά την ενζυμική υδρόλυση και την ζύμωση αναλύθηκε ως προς την περιεκτικότητά τους σε γλυκόζη και αιθανόλη με τη χρήση φωτομέτρου και προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα μετά από τον μέσο όρο των δύο -ή και τεσσάρων στην περίπτωση του κέντρου- επαναλήψεων. Επίσης, παρατίθενται οι μέσες τιμές των μετρήσεων του TOC (g/L).

Πίνακας 22: Σύνθεση υγρής φάσης των παραγοντικών πειραματικών δοκιμών

Πειράματα	TOC (g/L)	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)
1	16,1 ± 0,3	0,4 ± 0,0	13,0 ± 0,00
2	16,3 ± 0,4	0,3 ± 0,0	14,0 ± 0,00
3	16,3 ± 0,5	0,3 ± 0,0	13,0 ± 0,00
4	17,0 ± 0,3	0,1 ± 0,0	14,5 ± 0,71
5	16,1 ± 0,4	0,1 ± 0,0	12,0 ± 0,00
6	16,8 ± 0,1	0,1 ± 0,0	13,0 ± 0,00
7	16,8 ± 0,2	0,2 ± 0,0	13,0 ± 0,00
8	17,2 ± 0,2	0,2 ± 0,0	13,5 ± 0,00
9	16,9 ± 0,7	0,2 ± 0,0	13,5 ± 1,00

Παρόμοιες συγκεντρώσεις αιθανόλης επιτεύχθηκαν σε όλες τις δοκιμές. Επιπλέον φαίνεται από τον πίνακα αυτόν ότι τα απελευθερωμένα σάκχαρα ζυμώθηκαν επιτυχώς σε βιοαιθανόλη, καθώς η υπολειπόμενη γλυκόζη συμβάλλει στον ολικό άνθρακα μόλις κατά 0,5 ± 0,2%, ενώ η αιθανόλη κατά 32,0 ± 1,5%.

Από την άλλη πλευρά στο στερεό κλάσμα μετρήθηκαν οι ακόλουθες παράμετροι:

1. Πτητικά στερεά (VS)
2. Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)
3. Στάχτη (ASH)
4. Κυτταρίνη (Cellulose)
5. Ημικυτταρίνη (TRS)
6. Άμυλο (Starch)
7. Διαλυτή λιγνίνη (ASL)
8. Μη διαλυτό υπόλειμμα (AIR).

Οι μετρήσεις των παραμέτρων περιλαμβάνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πειράματα	WS (%)	VS (%)	ASH (%)	Κυτταρίνη (%)
1	13,72 ± 0,40	94,84 ± 0,66	5,16 ± 0,66	10,48 ± 1,81
2	14,62 ± 1,77	90,71 ± 2,22	9,29 ± 2,22	9,91 ± 1,51

3	14,95 ± 0,34	94,03 ± 0,33	5,97 ± 0,33	11,76 ± 0,57
4	13,25 ± 0,25	93,52 ± 0,89	6,48 ± 0,89	11,95 ± 1,92
5	13,98 ± 0,64	91,43 ± 5,90	8,57 ± 5,90	11,78 ± 0,75
6	14,84 ± 0,46	83,40 ± 0,81	16,60 ± 0,81	12,29 ± 1,74
7	15,71 ± 2,28	94,43 ± 0,69	5,57 ± 0,69	11,52 ± 0,96
8	16,35 ± 0,32	91,92 ± 1,16	8,08 ± 1,16	11,46 ± 2,77
9	14,81 ± 1,16	92,90 ± 0,96	7,10 ± 0,96	12,19 ± 0,85

Πίνακας 23: Σύνθεση στερεής φάσης των παραγοντικών πειραματικών δοκιμών (Μέρος Α')

Πίνακας 24: Σύνθεση στερεής φάσης των παραγοντικών πειραματικών δοκιμών (Μέρος Β')

Πειράματα	TRS (%)	Άμυλο (%)	ASL (%)	AIR (%)
1	16,57 ± 1,12	2,74 ± 0,09	2,49 ± 0,11	33,74 ± 1,12
2	14,03 ± 1,04	2,82 ± 0,35	2,59 ± 0,05	32,76 ± 0,32
3	18,65 ± 1,21	2,47 ± 0,15	3,58 ± 0,11	25,60 ± 4,11
4	15,71 ± 0,62	2,15 ± 0,36	3,45 ± 0,28	31,87 ± 6,62
5	16,04 ± 1,54	3,02 ± 0,39	2,59 ± 0,56	32,99 ± 0,52
6	16,13 ± 1,62	2,57 ± 0,11	2,40 ± 0,37	31,76 ± 4,11
7	17,06 ± 0,85	2,27 ± 0,25	2,96 ± 0,40	28,29 ± 0,97
8	16,59 ± 2,63	2,02 ± 0,38	2,89 ± 0,03	27,81 ± 2,86
9	15,18 ± 2,66	2,07 ± 0,38	2,78 ± 0,12	32,40 ± 0,96

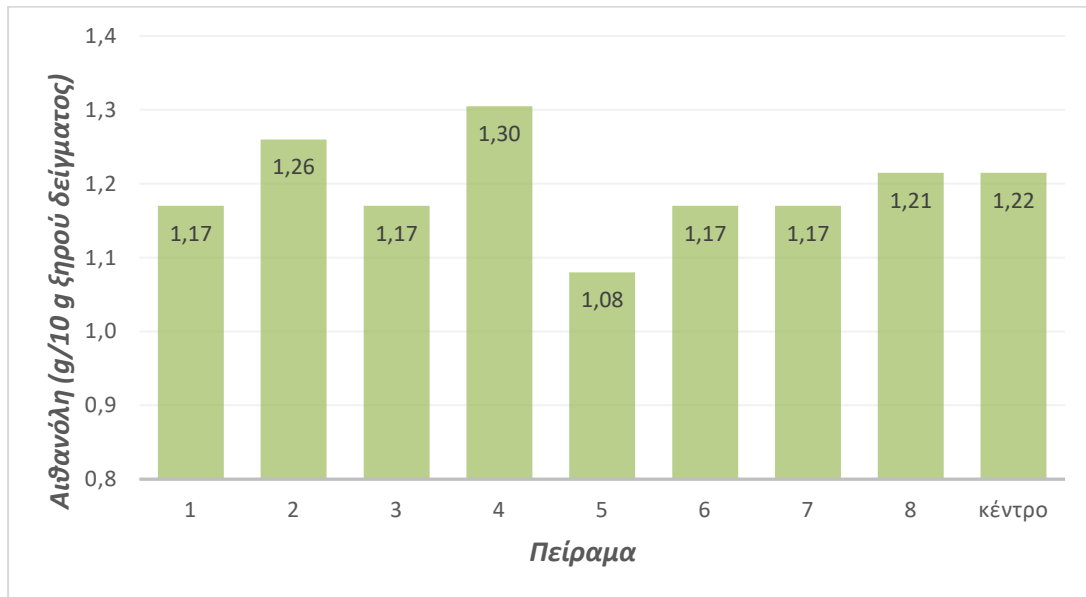
9.2.2 Δευτερογενή αποτελέσματα

Από τα πειραματικά αποτελέσματα υπολογίζεται η ποσότητα της αιθανόλης με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου, και με βάση τη θεωρητικά παραγόμενη αιθανόλη, σύμφωνα με τις εξισώσεις στο υποκεφάλαιο Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.. Ακόμη, υπολογίστηκε η ποσοστιαία αποδόμηση του στερεού. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των πειραμάτων ως προς την αιθανόλη βάση της πειραματικής μέτρησης της με τη χρήση φωτόμετρου μετά την ζύμωση, ως προς την αιθανόλη με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου, ως προς την αποδόμηση της κυτταρίνης, του αμύλου και του στερεού. Να σημειωθεί ότι στην αποδόμηση της αιθανόλης, δεν λαμβάνεται υπόψη η ελεύθερη γλυκόζη.

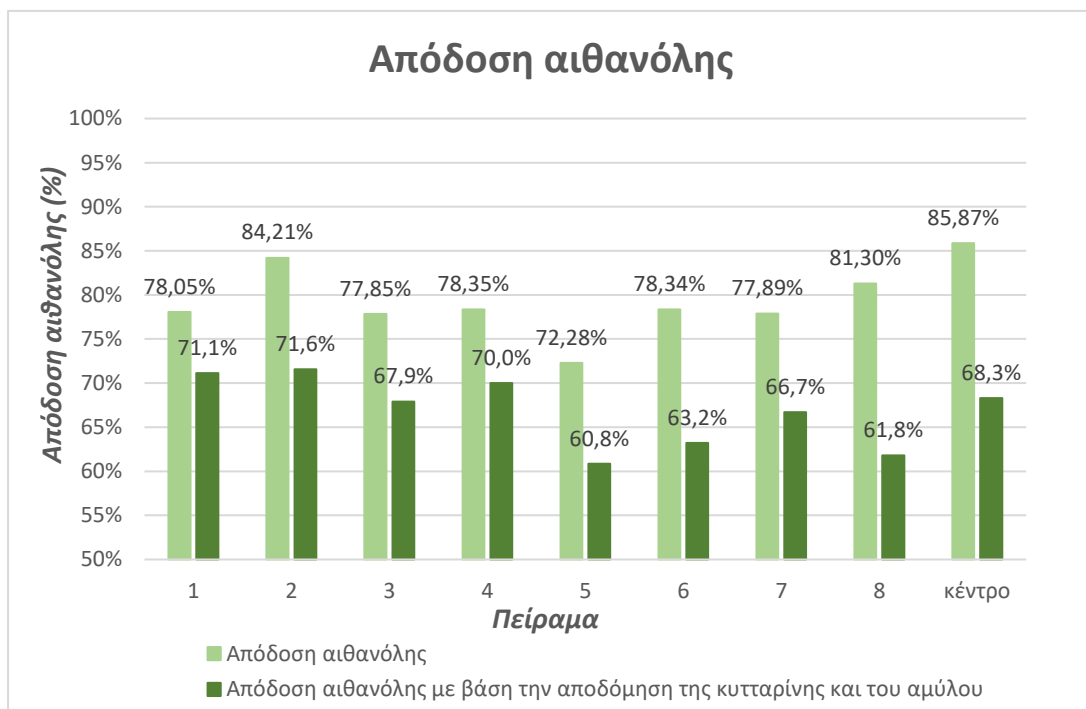
Πίνακας 25: Απόδοση αιθανόλης βάση αποδόμησης και βάση θεωρητικής αιθανόλης στον 1^ο πειραματικό κύκλο.

Πειράματα	Αιθανόλη βάση αποδόμησης (g)	Απόδοση αιθανόλης βάση αποδόμησης (%)	Αιθανόλη (g)	Απόδοση αιθανόλης (%)		
1	1,06 ± 0,06	71,1 ± 3,7	1,17 ± 0,00	78,05	±	0,41

2	1,07 ± 0,06	71,6 ± 3,7	1,26 ± 0,00	84,21	±	0,07
3	1,02 ± 0,05	67,9 ± 2,7	1,17 ± 0,00	77,85	±	0,73
4	1,04 ± 0,06	70,0 ± 3,8	1,30 ± 0,06	78,35	±	8,55
5	0,91 ± 0,09	60,8 ± 6,1	1,08 ± 0,00	72,28	±	0,04
6	0,94 ± 0,02	63,2 ± 1,2	1,17 ± 0,00	78,34	±	0,03
7	1,00 ± 0,03	66,7 ± 1,7	1,17 ± 0,00	77,89	±	0,66
8	0,92 ± 0,19	61,8 ± 13,1	1,21 ± 0,00	81,30	±	4,20
9	1,02 ± 0,06	68,3 ± 4,3	1,22 ± 0,09	85,87	±	2,98



Διάγραμμα 3: Παραγωγή αιθανόλης (g/ 10 g ξηρού δείγματος) για κάθε πείραμα του παραγοντικού σχεδιασμού.



Διάγραμμα 4: Αποδόσεις αιθανόλης βάση αποδόμησης και βάση θεωρητικής αιθανόλης στον 1^ο πειραματικό κύκλο.

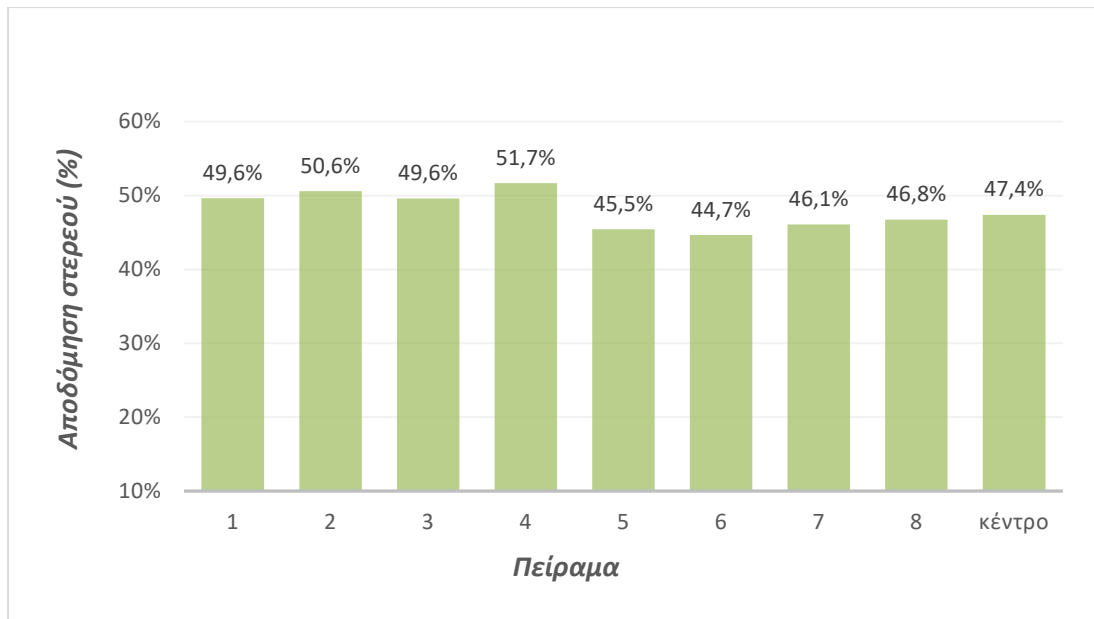
Σύμφωνα με τον **πίνακα 25**, είναι προφανές ότι η μέση απόδοση αιθανόλης ήταν ίση με $78,5 \pm 4,9\%$. Στο πειραματικό εύρος που μελετήθηκε, η υψηλότερη απόδοση αιθανόλης που επιτεύχθηκε ήταν 85,87% στο κέντρο του πειραματικού σχεδιασμού (Spirizyme 40μL/(g αμόλου), NS87014 175 (μL/g κυτταρίνης) και 2% *S. cerevisiae*). Έτσι, το κέντρο του πειραματικού σχεδιασμού θα μπορούσε να θεωρηθεί ως οι βέλτιστες συνθήκες για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης αιθανόλης.

Επιπλέον, οι Wang et al. (2016) παρατήρησαν επίσης παρόμοιες αποδόσεις αιθανόλης (περίπου 77%) μετά την εφαρμογή της SSF διαδικασίας στα οικιακά απορρίμματα με 11,5% στερεά φόρτιση. Οι Koike et al. (2009) ανέφεραν επίσης αποδόσεις αιθανόλης που κυμαίνονταν από 76 έως 84% κατά την εφαρμογή της SSF σε απόβλητα καντίνας με φορτίο στερεών 10%.

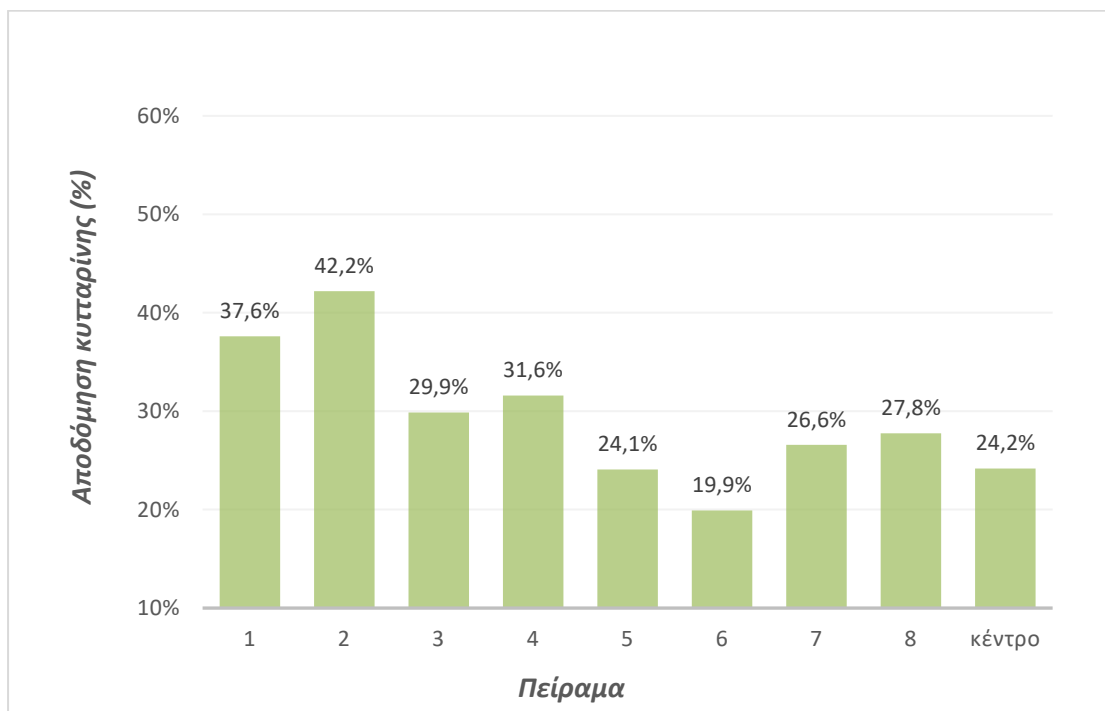
Πίνακας 26: Υπολογισμοί αποδόμησης κυτταρίνης, αμόλου και στερεού τον 1^ο πειραματικό κύκλο.

Πειράματα	Αποδόμηση κυτταρίνης (%)	Αποδόμηση αμόλου (%)	Αποδόμηση στερεού (%)
1	$37,6 \pm 11,0$	$91,8 \pm 0,2$	$49,6 \pm 0,2$
2	$42,2 \pm 7,5$	$91,8 \pm 1,2$	$50,6 \pm 1,2$
3	$29,9 \pm 4,1$	$92,6 \pm 0,4$	$49,6 \pm 0,5$
4	$31,6 \pm 12,2$	$93,8 \pm 1,1$	$51,7 \pm 0,9$
5	$24,1 \pm 3,1$	$90,2 \pm 1,5$	$45,5 \pm 1,3$
6	$19,9 \pm 6,7$	$91,6 \pm 0,1$	$44,7 \pm 3,2$
7	$26,6 \pm 7,4$	$92,7 \pm 0,9$	$46,1 \pm 0,9$
8	$27,8 \pm 18,3$	$93,6 \pm 1,1$	$46,8 \pm 0,6$
9	$24,2 \pm 6,1$	$93,5 \pm 1,4$	$47,4 \pm 1,7$

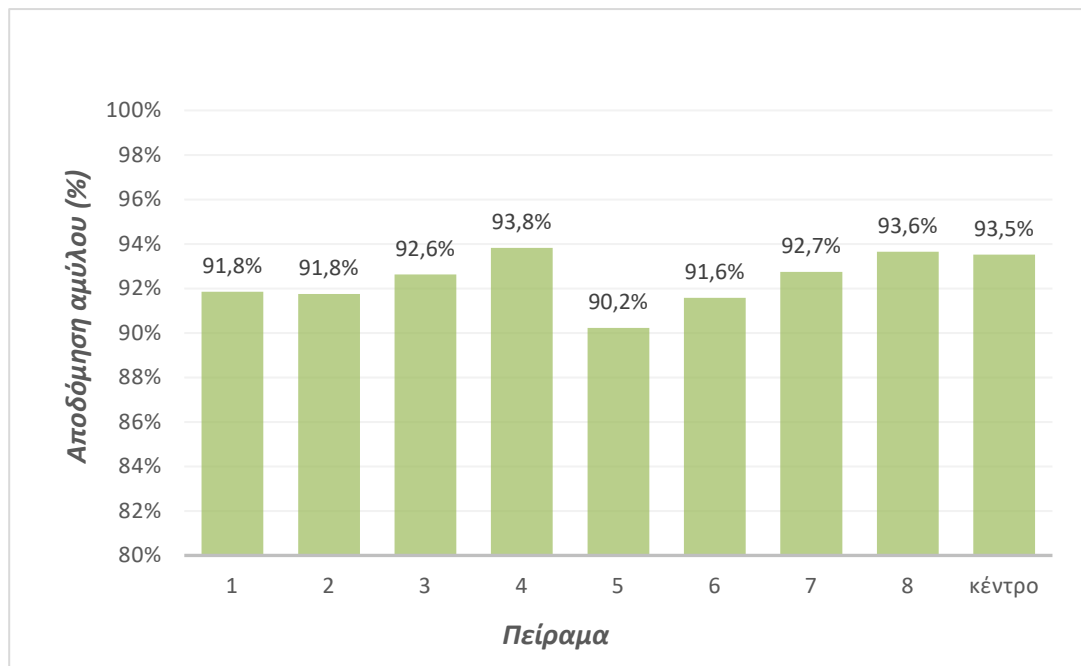
Αξίζει να επισημανθεί ότι σχεδόν το 50% της στερεάς πρώτης ύλης υδρολύθηκε για όλες τις περιπτώσεις.



Διάγραμμα 5: Αποδόμηση στερεού δείγματος, για κάθε πείραμα του παραγοντικού σχεδιασμού.



Διάγραμμα 6: Αποδόμηση κυτταρίνης, για κάθε πείραμα του παραγοντικού σχεδιασμού.



Διάγραμμα 7: Αποδόμηση αμύλου, για κάθε πείραμα του παραγοντικού σχεδιασμού

9.3 Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού

9.3.1 Υπολογισμός μέσων τιμών και του στατιστικού σφάλματος

Προτού αρχίσει η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου της πειραματικής διαδικασίας πρέπει πρώτα να εκτιμηθεί το τυπικό σφάλμα των μετρήσεων καθώς επίσης και η ομοιογένεια των διακυμάνσεων των πειραματικών μετρήσεων. Για να υπολογιστεί το τυπικό σφάλμα (s) πρέπει πρώτα να υπολογιστεί η διασπορά (s_y^2) των πειραματικών μας μετρήσεων. Η διασπορά υπολογίστηκε ποσοτικά με βάση τον **πίνακα 27**. Στον πίνακα αυτό, στη πρώτη στήλη απεικονίζεται ο αριθμός της κάθε επανάληψης. Στη δεύτερη στήλη απεικονίζονται οι μετρήσεις της απόδοσης για κάθε επανάληψη. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της απόδοσης κάθε δοκιμής ενώ στην τέταρτη στήλη απεικονίζονται οι διασπορές τριών αυτών δοκιμών. Στη πέμπτη στήλη αναγράφονται οι βαθμοί ελευθερίας για κάθε δοκιμή και τέλος, στη τελευταία γραμμή υπολογίζεται η συνολική διασπορά των πειραματικών μετρήσεων. Οι σχέσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τον **πίνακα 27** και τον υπολογισμό της μέσης τιμής κάθε δοκιμής, της διασποράς κάθε δοκιμής και της ολικής διασποράς των αποτελεσμάτων είναι οι εξής:

$$\bullet \quad \gamma_{\text{μέσο}} = \frac{\sum_i^N Y_i}{N} \quad \text{Εξ. 66}$$

Όπου:

Y_i : απόδοση κάθε επανάληψης

N : οι επαναλήψεις για κάθε δοκιμή

$$\bullet \quad s_i^2 = \frac{\sum_1^n (Y_i - \gamma_{\text{μέσο}})^2}{n-1} \quad \text{Εξ. 67}$$

Όπου:

Υμέσο : μέση τιμή κάθε δοκιμής

n: πλήθος επαναλήψεων (n=2)

$$s_Y^2 = \frac{\sum_i^m f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad \text{Εξ. 68}$$

Όπου:

s_i^2 :κάθε μια από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού

f_i : αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας.

Οι βαθμοί ελευθερίας του συστήματος υπολογίζονται από τον τύπο $f=N-(k+1)$ όπου N οι δοκιμές του παραγοντικού σχεδιασμού και k οι ρυθμιστικές παράμετροι. Άρα για το μοντέλο της παρούσας εργασίας, όπου $N=8$ και $k=3$ προκύπτει ότι οι βαθμοί ελευθερίας είναι $f=4$.

Πίνακας 27: Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος για απόδοση.

N	Yi (%)	Υμέσο (%)	si	fi
1	78,08	78,05	0,0424	1
	78,02			
2	84,60	84,21	0,5515	1
	83,82			
3	77,65	77,85	0,2828	1
	78,05			
4	84,74	78,35	9,0368	1
	71,96			
5	72,60	72,28	0,4525	1
	71,96			
6	78,64	78,34	0,4243	1
	78,04			
7	78,67	77,89	1,1031	1
	77,11			
8	78,65	81,30	3,7477	1
	83,95			
Κέντρο	86,72	85,87	1,3439	3
	84,73			
	87,31			
	84,72			
$s_Y^2 = 12.2121$				

Με τον υπολογισμό της διασποράς S_Y^2 υπολογίζεται εύκολα η τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα σύμφωνα με την εξίσωση **Εξ.69** :

$$s = \sqrt{s^2} \quad \text{Εξ. 69}$$

Άρα τελικά → **s = 6,1061**

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

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

$$G = \frac{s_{max}^2}{\sum_i^N s_i^2} \quad \text{Εξ. 70}$$

Άρα: $G_{exp}=0,4882$

Για να υπάρχει ομοιογένεια πρέπει η τιμή αυτή να είναι μικρότερη από την αντίστοιχη (G_{tab}) του πίνακα Cochran. Για το G_{tab} λαμβάνουμε υπόψη τη τιμή του **πίνακα 41** με τις τιμές Cochran, για $N=8$ (δοκιμές) και $f=1$ (βαθμοί ελευθερίας). Στον **πίνακα 28** παρατίθενται τα αποτελέσματα του κριτηρίου. Όπως φυσικά μπορεί να δει κανείς, υπάρχει ομοιογένεια στις τιμές των διασπορών και συνεπώς η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου μπορεί να συνεχιστεί.

Πίνακας 28: Έλεγχος ομοιογένειας διασπορών.

Κριτήριο Cochran	
Ομοιογένεια → $G_{exp} < G_{tab}$	
G_{exp}	0,4882
G_{tab}	0,68
Ομοιογένεια	ΝΑΙ

9.3.2 Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων

Βασικός στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού 2^3 είναι η προσέγγιση των συντελεστών του μοντέλου:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$

Εξ. 71

Όπου

X_1, X_2, X_3 : Παράγοντες σχεδιασμού

b_1, b_2, b_3 : Οι αντίστοιχοι συντελεστές τους

$b_{12}, b_{13}, b_{23}, b_{123}$: συντελεστές που αφορούν την αλληλεπίδραση των παραγόντων μεταξύ τους

Y : μέσος όρος της παραμέτρου αριστοποίησης για κάθε δοκιμή

Στο σχεδιασμό της παρούσας εργασίας η παράμετρος αριστοποίησης είναι η απόδοση κάθε δοκιμής. Με τη πραγματοποίηση των 16 πειραμάτων, δύο για κάθε δοκιμή, του 2^3 παραγοντικού πειράματος υπολογίζεται η μέση τιμή της παραμέτρου αριστοποίησης για κάθε δοκιμή, ώστε να υπολογιστούν στη συνέχεια οι αντίστοιχοι συντελεστές b_1, b_2, b_3 , αλλά και οι συντελεστές $b_{12}, b_{13}, b_{23}, b_{123}$. Οι τελευταίοι συντελεστές είναι συντελεστές αλληλεπίδρασης των παραμέτρων, οι οποίοι υπολογίζονται, καθώς οι τιμές τους προσδιορίζουν το μέγεθος της ενδοδράσης.

Οι συντελεστές προκύπτουν από τις παρακάτω εξισώσεις: **Εξ. 72**

$$b_0 = \frac{(+Y1(+Y2(+Y3(+Y4(+Y5(+Y6(+Y7(+Y8$$

$$b_1 = \frac{(-)Y1(-)Y2(+Y3(+Y4(-)Y5(-)Y6(+Y7(+Y8$$

$$b_2 = \frac{(-)Y1(+Y2(-)Y3(+Y4(-)Y5(+Y6(-)Y7(+Y8$$

$$b_3 = \frac{(-)Y1(-)Y2(-)Y3(-)Y4(+Y5(+Y6(+Y7(+Y8$$

$$b_{12} = \frac{(+Y1(-)Y2(-)Y3(+Y4(+Y5(-)Y6(-)Y7(+Y8$$

$$b_{13} = \frac{(+Y1(+Y2(-)Y3(-)Y4(-)Y5(-)Y6(+Y7(+Y8$$

$$b_{23} = \frac{(+Y1(-)Y2(+Y3(-)Y4(-)Y5(+Y6(-)Y7(+Y8$$

$$b_{123} = \frac{(-)Y1(+Y2(+Y3(-)Y4(+Y5(-)Y6(-)Y7(+Y8$$

Στον **πίνακα 29** φαίνονται οι κωδικοποιημένες τιμές των παραμέτρων σύμφωνα με τις οποίες δημιουργήθηκαν οι εξισώσεις (**Εξ.72**) καθώς και οι τιμές Y (αποδόσεις) που χρειάστηκαν για τον υπολογισμό τους.

Πίνακας 29: Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b .

N	X0	X1	X2	X3	X1X2	X1X3	X2X3	X1X2X3	Υμέσο (%)	
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	78,05	Y1
2	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	84,21	Y2
3	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	77,85	Y3
4	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	78,35	Y4
5	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	72,28	Y5

6	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	78,34	Y6
7	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	77,89	Y7
8	1	1	1	1	1	1	1	1	81,30	Y8

Στον **πίνακα 30** καταγράφονται οι τιμές των συντελεστών b που προέκυψαν σύμφωνα με τις εξισώσεις (**Εξ. 72**) και τα δεδομένα του **πίνακα 29**.

Πίνακας 30: Συντελεστές b της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.

Σταθερές γραμμικού μοντέλου	
b0	79,99
b1	1,45
b2	3,16
b3	-2,22
b12	0,09
b13	0,70
b23	-0,78
b123	-0,76

Το γραμμικό μοντέλο που προκύπτει από την εύρεση των συντελεστών του **πίνακα 30** και αντικαθιστώντας τους στην εξίσωση (**Εξ. 73**) είναι το εξής :

$$Y = 79,99 + 1,45 \cdot X_1 + 3,16 \cdot X_2 - 2,22 \cdot X_3 \quad \text{Εξ. 74}$$

Με μετατροπή των παραμέτρων X_1 , X_2 και X_3 στη φυσική τους υπόσταση μέσω της

εξίσωσης $X_j = \frac{\bar{X}_j - X_{j0}}{J_j}$ **Εξ. 8**, προκύπτει :

$$X_1 = \frac{E1-40}{20} \quad \text{Εξ. 75}$$

$$X_2 = \frac{E2-175}{75} \quad \text{Εξ. 76}$$

$$X_3 = \frac{M-2\%}{1\%} \quad \text{Εξ. 77}$$

Όπου,

E_1 : Ποσότητα αμυλολυτικού ενζύμου ανά g αμύλου

E_2 : Ποσότητα κυτταρινολυτικού ενζύμου ανά g κυτταρίνης

M: Ποσότητα μαγιάς ως % ποσοστό επί του ξηρού στερεού

Τελικά, με την αντικατάσταση των εξισώσεων X_1 , X_2 και X_3 στην $Y = 79,99 + 1,45 \cdot X_1 + 3,16 \cdot X_2 - 2,22 \cdot X_3$ **Εξ. 74** προκύπτει η τελική εξίσωση:

$$Y = 74,157 + 0,0725 \cdot E_1 + 0,042 \cdot E_2 - 0,0222 \cdot M \quad \text{Εξ. 78}$$

$$20 < E_1 < 60, \quad 100 < E_2 < 250, \quad 1\% < M < 3\%$$

Το μέγεθος των συντελεστών δείχνει πόση σημασία έχουν στο τελικό αποτέλεσμα της παραμέτρου αριστοποίησης, δηλαδή της απόδοσης. Το πρόσημο του δείχνει πως θα μεταβληθεί η απόδοση σε πιθανή αύξηση ή μείωση κάποιας ρυθμιστικής παραμέτρου. Πιο συγκεκριμένα, οι 2 πρώτες ρυθμιστικές παράμετροι, δηλαδή τα 2 ένζυμα, στο συγκεκριμένο πείραμα έχουν ανάλογη σχέση με την απόδοση, με αποτέλεσμα όσο αυξάνονται να αυξάνει και η απόδοση. Αντίθετα η τρίτη παράμετρος επηρεάζει αντιστρόφως ανάλογα, δηλαδή όσο αυξάνεται η τιμή της ρυθμιστικής παραμέτρου (της μαγιάς), η τιμή της απόδοσης μειώνεται.

9.3.3 Έλεγχος σημαντικότητας των συντελεστών

Μετά την εύρεση των συντελεστών των X_1 , X_2 , X_3 , X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 και $X_1X_2X_3$ ακολουθεί ο έλεγχος για το αν είναι σημαντικός καθένας από αυτούς τους συντελεστές. Η σημαντικότητα κάθε συντελεστή ελέγχεται χωριστά χρησιμοποιώντας το κριτήριο κατανομής student-t με τη παρακάτω μέθοδο.

Αρχικά, υπολογίζεται από την εξίσωση (**Εξ.79**) η διασπορά των συντελεστών s_b^2 :

$$s_b^2 = \frac{s_Y^2}{N} \quad \text{Εξ. 79}$$

όπου,

N: ο αριθμός των δοκιμών N=8

S_b^2 : διασπορά των πειραματικών μετρήσεων

Έπειτα υπολογίζεται από την εξίσωση (**Εξ.80**) το διάστημα Δb :

$$\Delta b = t * s_b \quad \text{Εξ. 80}$$

όπου,

t :η τιμή από το **Πίνακα 40** student-t του παραρτήματος για επίπεδο σημαντικότητας 99,5% και βαθμούς ελευθερίας 11 (όσους έχει η διασπορά s_Y^2)

Η τιμή του $t_{995,11}$ βρίσκεται από τον **Πίνακα 40** Student-t και ισούται με: $t_{995,11}=3,11$

Η τιμή του S_b^2 υπολογίζεται από την εξίσωση (**Εξ.79**) και ισούται με:

$$s_b^2 = \frac{s_Y^2}{N} = \frac{10,081}{8} = 1,26$$

Συνεπώς, από την εξίσωση (**Εξ.80**) μπορεί να υπολογιστεί το διάστημα Δb και ισούται με:

$$\Delta b = t_{995,11} * s_b = 3,11 * \sqrt{1,26} = 3,49$$

Για να είναι ένας συντελεστής σημαντικός πρέπει η απόλυτη τιμή του να είναι μεγαλύτερη από το Δb. Στον **πίνακα 31** φαίνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

Πίνακας 31: Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων

Συντελεστές		Δb	Αποτέλεσμα
b0	79,99	Συνθήκη σημαντικότητας: $ b_i > 3,49$	Σημαντικός
b1	1,45		Όχι σημαντικός
b2	3,16		Όχι σημαντικός
b3	-2,22		Όχι σημαντικός
b12	0,09		Όχι σημαντικός
b13	0,70		Όχι σημαντικός
b23	-0,78		Όχι σημαντικός
b123	-0,76		Όχι σημαντικός

Όπως προκύπτει από τον **πίνακα 31** μόνο ο συντελεστής b0 κρίνεται σημαντικός. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να επηρεάσει την επάρκεια του γραμμικού μοντέλου που σχεδιάστηκε η οποία θα υπολογιστεί στη συνέχεια.

9.3.4 Έλεγχος επάρκειας γραμμικού μοντέλου

Προκειμένου να εκτιμηθεί η επάρκεια του γραμμικού μοντέλου που προσδιορίστηκε, αρχικά πρέπει να υπολογιστεί διασπορά της επάρκειας S_{ad}^2 , σύμφωνα με την εξίσωση (**Εξ.81**):

$$S_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - Y_{\theta\epsilon\omega\rho})^2}{f} \quad \text{Εξ. 81}$$

Όπου:

Y_i: Η μέση πειραματική τιμή για κάθε δοκιμή i

Y_{θεωρ}: Η θεωρητική τιμή της i δοκιμής που υπολογίζεται από την εξίσωση $Y = 79,99 + 1,45 * X_1 + 3,16 * X_2 - 2,22 * X_3$ (**Εξ. 74**)

f: βαθμοί ελευθερίας του συστήματος που υπολογίζεται από τη σχέση $f = N - (k + 1)$ όπου N ο αριθμός των δοκιμών και k ο αριθμός των παραγόντων. Συνεπώς $f = 4$.

Στον **πίνακα 32** παρουσιάζονται τα δεδομένα από τα οποία υπολογίστηκε το S_{ad}^2 μέσω της εξίσωσης (**Εξ.81**).

Πίνακας 32: Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας.

N	Y μέσο	Y θεωρητικό	(Y μέσο-Y θεωρητικό) ²	n*(Y μέσο-Y θεωρητικό) ²
1A	78,05	79,986	2,622	5,244
1B	84,21	79,986	20,849	41,70
2A	77,85	79,986	3,3015	6,603
2B	78,35	79,986	60,096	120,19
3A	72,28	79,986	54,972	109,94
3B	78,34	79,986	1,755	3,509
4A	77,89	79,986	3,178	6,356
4B	81,30	79,986	2,688	5,377
Από την εξίσωση (Εξ.81) προκύπτει ότι: $S_{ad}^2=74,73$				

Με n=2, το οποίο αφορά τον αριθμό των επαναλήψεων των δοκιμών.

Για τον έλεγχο της επάρκειας του γραμμικού μοντέλου ($Y = 79,99 + 1,45 \cdot X_1 + 3,16 \cdot X_2 - 2,22 \cdot X_3$ **Εξ. 74**) εφαρμόζεται το κριτήριο του Fisher κατά το οποίο υπολογίζεται ο λόγος του Fisher σύμφωνα με την εξίσωση (**Εξ.82**) :

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_{\hat{Y}}^2} \quad \text{Εξ. 82}$$

Άρα προκύπτει ότι F=2,413

Η τιμή που θα προκύψει από την εξίσωση (**Εξ.82**) πρέπει να ακολουθεί τη κατανομή-F με επίπεδο σημαντικότητας 95% που φαίνεται στο **πίνακα 42** (πίνακα Fisher του παραρτήματος). Επισημαίνεται ότι το S_{ad}^2 έχει τέσσερις βαθμούς ελευθερίας, ενώ για το $s_{\hat{Y}}^2$ οι βαθμοί ελευθερίας είναι έντεκα. Στον **πίνακα 33** απεικονίζονται τα αποτελέσματα του κριτηρίου Fisher.

Πίνακας 33: Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του γραμμικού μοντέλου

Κριτήριο Fisher	
Επάρκεια γραμμικού μοντέλου → F<Ftab	
S_{ad}^2	74,73
F	2,413
Ftab(4,11)	3,36
Επαρκές	ΝΑΙ

Επομένως, το γραμμικό μοντέλο κρίνεται επαρκές, αφού ισχύει η συνθήκη $F < F_{tab}$, και η τιμή του λόγου του Fisher, μικρότερη από την αντίστοιχη του **πίνακα 42** (Παράρτημα), F_{tab} .

9.4 2^{ος} πειραματικός κύκλος: Ανακλιμάκωση και αριστοποίηση φόρτισης στερεών

9.4.1 Πρωτογενή αποτελέσματα

Στις βέλτιστες συνθήκες που προέκυψαν από τον παραγοντικό σχεδιασμό πειραμάτων ως προς τις ποσότητες των ενζύμων και της μαγιάς, πραγματοποιείται αριστοποίηση ως προς τη φόρτιση των στερεών με ανακλιμάκωση σε έναν τετράλιτρο αντιδραστήρα με μηχανική ανάδευση. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 5 πειράματα με την μέθοδο SSF (Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση) με τις εξής περιεκτικότητες ανά πείραμα: 10%, 15%, 20%, 25%, 30%. Ο ενεργός όγκος του μίγματος των πειραμάτων ήταν περίπου 2,5L. Τα πειράματα αυτά διενεργήθηκαν σε θερμοκρασία 35 °C για 24 ώρες, με προσθήκη αμυλολυτικού ενζύμου SpirizymeXL, κυτταρινολυτικού ενζύμου NS87014 και μαγιάς *Saccharomyces Cerevisiae*.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο σχεδιασμός των πειραμάτων:

Πίνακας 34: Σχεδιασμός 2^{ου} πειραματικού κύκλου, αναφορικά με το φορτίο του στερεού δείγματος, με σταθερές τις βέλτιστες συνθήκες (*Spirizyme* 40μL/g αμύλου, NS87014 175 μL/g κυτταρίνης και 2% *S. cerevisiae*).

Σχεδιασμός Πειραμάτων				
Πειράματα	Φορτίο	Spirizyme (μL/g αμύλου)	NS87014 (μL/g κυτταρίνης)	S.Cerevisiae (%)
1	10%	40	175	2%
2	15%	40	175	2%
3	20%	40	175	2%
4	25%	40	175	2%
5	30%	40	175	2%

Οι ποσότητες των ενζύμων, της μαγιάς αλλά και του στερεού και του νερού που προστέθηκαν σε κάθε πείραμα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα. Θεωρήθηκε ότι 1 kg στερεού ισούται με 1 L στερεού, ώστε εν τέλει ο ενεργός όγκος του μίγματος να είναι περίπου ίσος με 2,5 L. Ο τελικός όγκος αντιπροσωπεύει τον όγκο του μίγματος μετά το πείραμα.

Πίνακας 35: Ποσότητες ενζύμων, της μαγιάς αλλά και στερεού και του νερού όλων των πειραμάτων του 2^{ου} πειραματικού κύκλου.

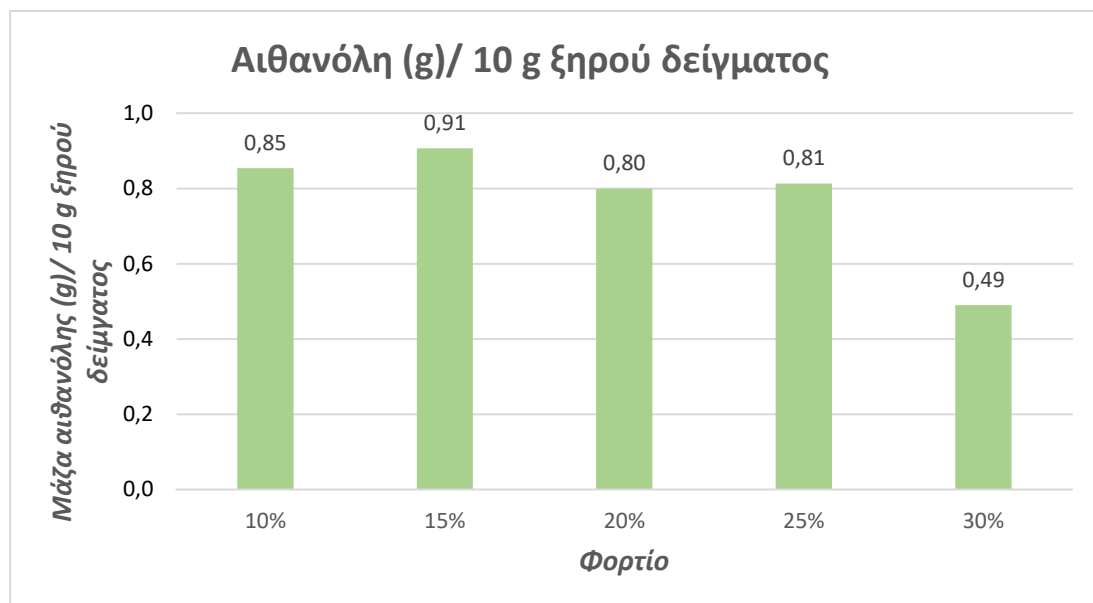
Πραγματικές συνθήκες πειραμάτων						
Πειράματα	Spirizyme (ml)	NS87014 (ml)	Μαγιά (g)	Μάζα στερεού (g)	Όγκος νερού(L)	Τελικός όγκος (L)
1	1,51	3,31	5,00	250,23	2,250	2,35

2	2,27	4,97	7,50	375,10	2,125	2,10
3	3,02	6,62	10,00	500,02	2,000	2,18
4	3,78	8,28	12,51	625,60	1,875	2,00
5	4,53	9,93	15,00	750,19	1,750	2,10

Το μίγμα με το πέρας των 24 ωρών, διαχωρίστηκε με φυγοκέντρηση και μετά με διήθηση, και στην υγρή φάση προσδιορίστηκε η περιεκτικότητά τους σε γλυκόζη και αιθανόλη με τη χρήση φωτομέτρου και προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Πίνακας 36: Συγκεντρώσεις γλυκόζης, αιθανόλης και αποδόσεις αιθανόλης των πειραμάτων SSF στις βέλτιστες συνθήκες (Spirizyme 40μL/g αμύλου, NS87014 175 μL/g κυτταρίνης και 2% *S. cerevisiae*) σε 4-L βιοαντιδραστήρα μετά από 24 ώρες.

Φορτίο	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)		Απόδοση αιθανόλης (%)	
10%	0,2 ± 0,0	9,5	± 0,2	64,3	± 0,4
15%	0,2 ± 0,0	16,0	± 1,1	68,2	± 0,3
20%	2,4 ± 0,1	20,0	± 1,2	60,2	± 0,3
25%	0,6 ± 0,0	27,1	± 2,0	61,2	± 0,3
30%	0,6 ± 0,0	21,0	± 2,2	36,9	± 0,8



Διάγραμμα 8: Παραγωγή αιθανόλης (g/ 10 g ξηρού δείγματος) για κάθε πείραμα του 2^{ου} πειραματικού κύκλου.

Συμπερασματικά, η αύξηση του στερεού φορτίου μέχρι 25% είχε ως αποτέλεσμα υψηλή απόδοση αιθανόλης πάνω από 60% σε όλες τις περιπτώσεις και αυξημένες συγκεντρώσεις αιθανόλης. Η περαιτέρω αύξηση της φόρτισης από 25 σε 30% οδήγησε σε απότομη μείωση της παραγωγής αιθανόλης από 61,2% σε 36,9%, υποδηλώνοντας ότι η υψηλή συγκέντρωση στερεών αναστέλλει την πρόοδο των διεργασιών σακχαροποίησης και ζύμωσης. Η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης παρατηρείται σε φορτίο 25%, ενώ η μέγιστη απόδοση αιθανόλης σε φορτίο 15%. Παρόλα αυτά, ως

καλύτερο φορτίο χαρακτηρίζεται το 25%, καθώς ενδιαφέρει περισσότερο η αυξημένη περιεκτικότητα της αιθανόλης στο νερό, που οδηγεί σε ευνοϊκότερες συνθήκες απόσταξης.

Η διεργασία SSF του 2^{ου} πειραματικού κύκλου διαρκεί 24 ώρες, για λόγους ευκολίας διεξαγωγής των πειραμάτων. Θα μπορούσε, όμως, να διερευνηθεί η βέλτιστη χρονική περίοδος στην οποία εμφανίζεται η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης, καθώς μετά από ένα χρονικό σημείο η συγκέντρωση αυτή ελαττώνεται, γεγονός το οποίο καθιστά την απόσταξη χρονοβόρα και οικονομικά ασύμφορη διεργασία. Στην πραγματικότητα, η απόσταξη επηρεάζεται άμεσα από την περιεκτικότητα της αιθανόλης στο νερό, καθώς όσο μεγαλύτερη είναι, τόσο αυξάνεται ο ρυθμός της απόσταξης, και η περιεκτικότητα της αιθανόλης στο απόσταγμα.

Στην στερεή φάση έγινε πλήρης χαρακτηρισμός σύμφωνα με τους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 37: Σύνθεση στερεής φάσης στην 2^η πειραματική πορεία (Μέρος Α')

Πειράματα	WS (%)	VS (%)	ASH (%)	Κυτταρίνη (%)
1	18,5	94,0	6,0	13,1
2	22,3	93,6	6,4	13,0
3	27,2	93,2	6,8	8,4
4	28,9	91,8	8,2	8,8
5	32,6	92,6	7,4	10,0

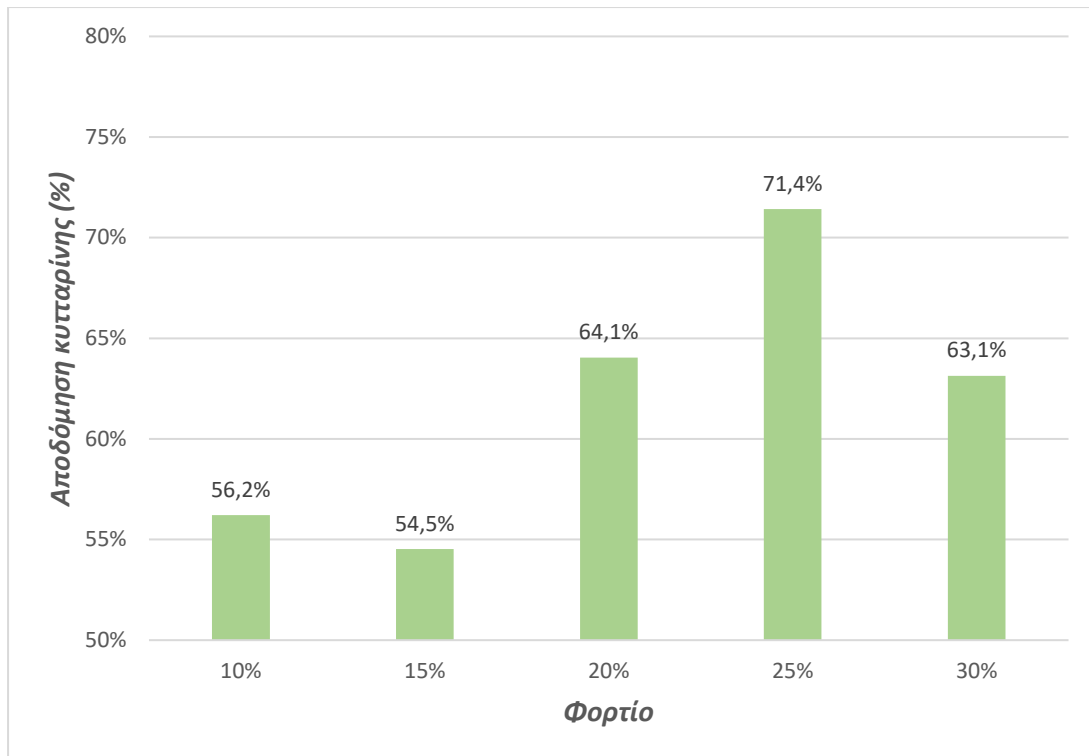
Πίνακας 38: Σύνθεση στερεής φάσης στην 2^η πειραματική πορεία (Μέρος Β')

Πειράματα	TRS (%)	Άμυλο (%)	ASL (%)	AIL (%)
1	14,6	1,3	2,0	28,4
2	13,7	1,6	1,7	29,7
3	14,8	1,7	1,4	26,7
4	19,0	1,8	1,4	27,0
5	13,8	1,8	1,2	28,4

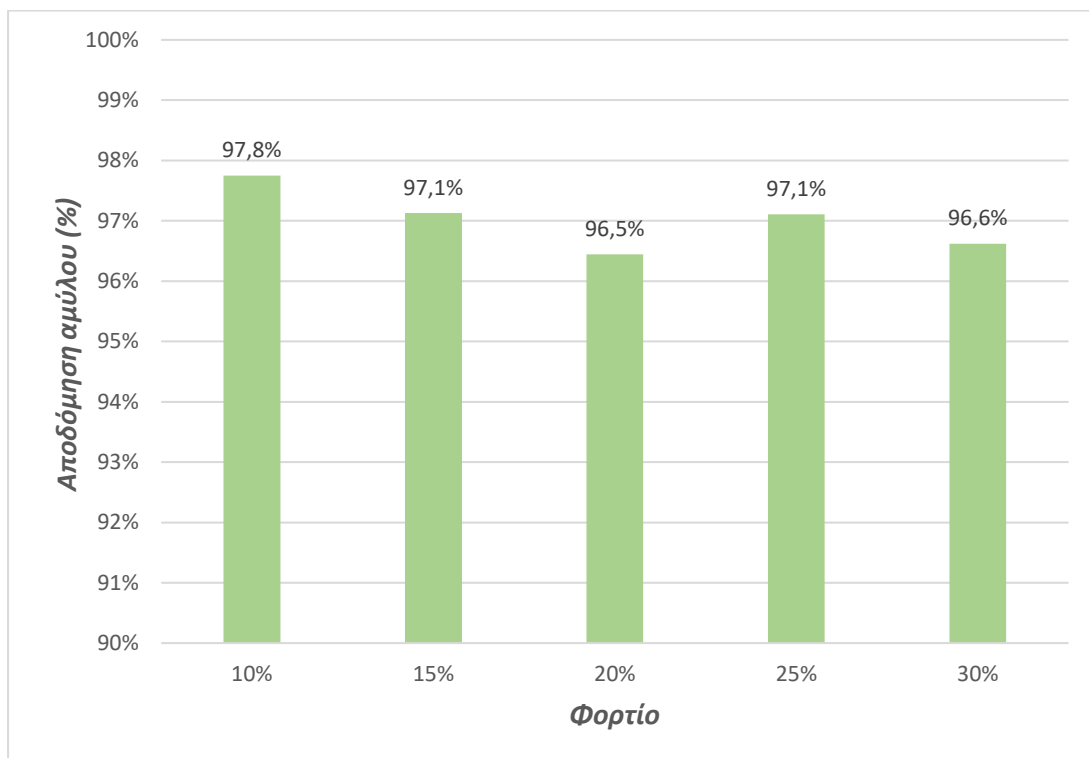
Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των πειραμάτων ως προς την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου.

Πίνακας 39: Αποδόμηση κυτταρίνης και αμύλου του 2^{ου} πειραματικού κύκλου.

Πειράματα	Αποδόμηση κυτταρίνης (%)	Αποδόμηση αμύλου (%)
1	56,2 ± 1,2	97,8 ± 1,1
2	54,5 ± 1,1	97,1 ± 0,9
3	64,1 ± 1,0	96,5 ± 0,8
4	71,4 ± 1,4	97,1 ± 0,2
5	63,1 ± 1,1	96,6 ± 0,4



Διάγραμμα 9: Αποδόμηση κυτταρίνης, για κάθε φορτίο του 2^{ου} πειραματικού κύκλου.



Διάγραμμα 10: Αποδόμηση αμύλου, για κάθε φορτίο του 2^{ου} πειραματικού κύκλου.

10. Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν τα οικιακά διατροφικά απόβλητα ως υπόστρωμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης σε εργαστηριακή κλίμακα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του 1^{ου} πειραματικού κύκλου, τα ζυμώσιμα σάκχαρα μετατράπηκαν επιτυχώς σε βιοαιθανόλη, με αποτέλεσμα η απόδοση της αιθανόλης να είναι σε κάθε πείραμα αρκετά υψηλή, πάνω από 72,2%. Το γεγονός αυτό επαληθεύεται και από τις χαμηλές συγκεντρώσεις της υπολειπόμενης γλυκόζης που κυμαίνονται κάτω από 0,4 g/L.

Όσον αφορά την διάσπαση του αμύλου, αυτή ήταν πάρα πολύ υψηλή, καθώς σε όλες τις δοκιμές η αποδόμηση του αμύλου ξεπερνούσε το 90%, σε αντίθεση με την κυτταρίνη που η αποδόμηση της ήταν χαμηλότερη. Συνεπάγεται, λοιπόν, ότι τα υψηλά ποσοστά αιθανόλης οφείλονται κυρίως στην πολύ υψηλή αποδόμηση του αμύλου και ύστερα στην αποδόμηση της κυτταρίνης. Αναφορικά με την αποδόμηση των στερεών, υπάρχουν μικρές διακυμάνσεις από $44,7 \pm 3,2\%$ έως $51,7 \pm 0,9\%$.

Τυχόν αποκλίσεις που παρατηρούνται στα πειράματα μπορεί να οφείλονται σε πληθώρα παραγόντων, όπως ανθρώπινα σφάλματα, σφάλματα οργάνων, αλλά κυρίως σε μεγάλο βαθμό στην μικρή εργαστηριακή κλίμακα που πραγματοποιούνται τα πειράματα, καθώς δεν υπάρχει πλήρης ομοιογένεια και σταθερή σύσταση στην στερεά αποξηραμένη τροφοδοσία, λόγω της αναπόφευκτης μεταβλητής σύστασης των οικιακών διατροφικών αποβλήτων, του χαμηλού βαθμού άλεσης και της χρήσης κόσκινου διαμέτρου μόνο 8 mm. Ωστόσο, αυτό θα μπορούσε να αποφευχθεί με καλύτερο κοσκίνισμα και με την διεξαγωγή των πειραμάτων σε μεγαλύτερη κλίμακα πχ σε πιλοτική ή βιομηχανική.

Από τα αποτελέσματα του παραγοντικού σχεδιασμού, αποδείχθηκε ότι καμία από τις παραμέτρους ελέγχου ή οι αλληλεπιδράσεις τους δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Αυτό σημαίνει ότι το εύρος που επιλέχθηκε ήταν το βέλτιστο, δεδομένων των απόλυτων τιμών της απόδοσης αιθανόλης. Έτσι, το μοντέλο που προέκυψε ήταν $Y = b_0 = 79,9$. Ως εκ τούτου, οι συνθήκες του κέντρο του πειραματικού σχεδιασμού (Spirizyme 40 μL/g αμύλου, NS87014 175 μL/g κυτταρίνης και 2% w/w *S. cerevisiae*) θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως οι βέλτιστες συνθήκες για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης αιθανόλης.

Στον 2^ο πειραματικό κύκλο της εργασίας μελετήθηκαν τα διατροφικά οικιακά απόβλητα ως υπόστρωμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης σε έναν τετράλιτρο αντιδραστήρα, με βάση τις βέλτιστες συνθήκες που προέκυψαν από τον παραγοντικό σχεδιασμό (40 μL SpirizymeXL/g αμύλου, 175 μL NS87014/g κυτταρίνης και 2% μαγιά, SSF, στους 35 °C για 24 ώρες).

Ο βιοαντιδραστήρας αυτός ανταποκρίθηκε στις απαιτήσεις της επεξεργασίας των ξηρών διατροφικών οικιακών αποβλήτων στις συνθήκες που μελετήθηκαν. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα ζυμώσιμα σάκχαρα μετατράπηκαν επιτυχώς σε βιοαιθανόλη, γεγονός το οποίο επαληθεύεται και από τις χαμηλές συγκεντρώσεις της υπολειπόμενης γλυκόζης που κυμαίνονται κάτω από 0,6 g/L, με εξαίρεση στο φορτίο 20% που η γλυκόζη έχει συκέντρωση 2,4 g/L.

Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση του στερεού φορτίου μέχρι 25% είχε ως αποτέλεσμα υψηλή απόδοση αιθανόλης πάνω από 60% σε όλες τις περιπτώσεις και αυξημένες συγκεντρώσεις αιθανόλης. Η περαιτέρω αύξηση της φόρτισης από 25% σε 30% οδήγησε σε απότομη μείωση της παραγωγής αιθανόλης από 61,2% σε 36,9%, υποδηλώνοντας ότι η υψηλή συγκέντρωση στερεών αναστέλλει την πρόοδο των διεργασιών σακχαροποίησης και ζύμωσης. Η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης παρατηρείται σε φορτίο 25%, ενώ η μέγιστη απόδοση αιθανόλης σε φορτίο 15%.

Οι αποδομήσεις της κυτταρίνης φαίνεται να είναι πολύ μεγαλύτερες σε σχέση με αυτές του 1^{ου} πειραματικού κύκλου, καθώς κυμαίνονται από 54,5% έως 71,4% στην περίπτωση της φόρτισης 25% στερεού. Όσον αφορά τις αποδομήσεις του αμύλου, αυτές είναι ιδιαίτερα υψηλές με ποσοστά πάνω από 96,5%.

Συμπερασματικά, η αξιοποίηση υπολειμμάτων τροφίμων προς την κατεύθυνση της παραγωγής βιοαιθανόλης είναι τεχνικά εφικτή με ικανοποιητικές αποδόσεις. Παρόλα αυτά περαιτέρω βελτιστοποίηση της γραμμής επεξεργασίας αλλά και μελέτη με τεχνικο-οικονομικούς όρους είναι απαραίτητα.

11. Βιβλιογραφία

- Aditiya, H. B., Mahlia, T. M. I., Chong, W. T., Nur, H., & Sebayang, A. H. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 66, pp. 631–653).
- Alamanou, D. G., Malamis, D., Mamma, D., & Kekos, D. (2015). Bioethanol from dried household food waste applying non-isothermal simultaneous saccharification and fermentation at high substrate concentration. *Waste and Biomass Valorization*, 6(3), 353-361.
- Alatzas, S., Moustakas, K., Malamis, D., & Vakalis, S. (2019). Biomass potential from agricultural waste for energetic utilization in Greece. *Energies*, 12(6), 1095.
- Al-Mashhadani, H., & Fernando, S. (2017). Properties, performance, and applications of biofuel blends: a review. *AIMS Energy*, 5(4), 735-767.
- Alzeer, J., & Abou Hadeed, K. (2016). Ethanol and its Halal status in food industries. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 58, pp. 14–20).
- Awogbemi, O., Von Kallon, D. V., Onuh, E. I., & Aigbodion, V. S. (2021). An overview of the classification, production and utilization of biofuels for internal combustion engine applications. *Energies*, 14(18), 1–42.
- Ayhan Demirbas (2005). Bioethanol from Cellulosic Materials: A Renewable Motor Fuel from Biomass, *Energy Sources*, vol 27, pp. 327-337
- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. In *Energy Conversion and Management* (Vol. 52, Issue 2, pp. 858–875).
- Balat, M., & Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bioethanol fuel. *Applied energy*, 86(11), 2273-2282
- Balat, M., Balat, H., & Öz, C. (2008). Progress in bioethanol processing. *Progress in energy and combustion science*, 34(5), 551-573.
- 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.
- Baras, J., Gacesa, S., & Pejin, D. (2002). Ethanol is a strategic raw material. *Hemijaska Industrija*, 56(3), 89–104.
- Barth J. (2009). Let's talk legislation, *Waste Management World*, Nov-Dec 2009.
- Basha SA, Gopal KR, Jebaraj S. (2009) A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. *Renew Sustain Energy Rev*, 13:1628–34.
- Binod P, Sindhu R, Singhanian RR, Vikram S, Devi L, Na- galakshmi S, et al. (2010). Bioethanol production from rice straw: An overview. *Bioresour Technol.*, 101(13), 4767–74

Biofuels Digest. <https://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2018/01/01/biofuels-mandates-around-the-world-2018/>

Bjerre, A. B., Olesen, A. B., Fernqvist, T., Plöger, A., & Schmidt, A. S. (1996). Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose. *Biotechnology and bioengineering*, 49(5), 568-577.

Branco, R. H. R., Serafim, L. S., & Xavier, A. M. R. B. (2019). Second generation bioethanol production: On the use of pulp and paper industry wastes as feedstock. *Fermentation*, 5(1), 1–30.

Bringezu, S. (Ed.). (2009). *Towards sustainable production and use of resources: assessing biofuels*. UNEP/Earthprint.

Bušić, A., Mardetko, N., Kundas, S., Morzak, G., Belskaya, H., Šantek, M. I., Komes, D., Novak, S., & Šantek, B. (2018). Bioethanol production from renewable raw materials and its separation and purification: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 56(3), 289–311.

Cherubini F, Strømman AH. (2011). Principles of biorefining. In: Pandey A, Larroche C, Ricke SC, Dussap CG, Gnansounou E, editors. *Biofuels – Alternative feedstocks and conversion processes*. Oxford, UK: Academic Press., pp 3–24.

Choudhary, J., Singh, S., Nain, L. (2016). Thermotolerant fermenting yeasts for simultaneous saccharification fermentation of lignocellulosic biomass. *Electron. J. Biotechnol.*, 21, 82–92.

Coronado, C. R., de Carvalho Jr, J. A., Yoshioka, J. T., & Silveira, J. L. (2009). Determination of ecological efficiency in internal combustion engines: The use of biodiesel. *Applied Thermal Engineering*, 29(10), 1887-1892.

Da Silva, A. S. A., Inoue, H., Endo, T., Yano, S., & Bon, E. P. (2010). Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Bioresource technology*, 101(19), 7402-7409.

Das, P., Ganesh, A., & Wangikar, P. (2004). Influence of pretreatment for deashing of sugarcane bagasse on pyrolysis products. *Biomass and Bioenergy*, 27(5), 445-457.

Demirbas, F., H., Balat, M., Balat, H. (2011). Biowastes-to-biofuels, *Energy Conversion and Management*, 52, 1815-1828.

DEMİRBAŞ, A. (2005). Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass. *Energy sources*, 27(4), 327-337.

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.

Dixon, W. Joseph., Massey, F. Jones. (1949). *Introduction to statistical analysis*.

Duque, A., Álvarez, C., Doménech, P., Manzanares, P., & Moreno, A. D. (2021). Advanced bioethanol production: from novel raw materials to integrated biorefineries. *Processes*, 9(2), 206.

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.

European commission, Biodegradable Waste.
<https://ec.europa.eu/environment/waste/compost/index.htm>

Fivga, A., Speranza, L. G., Branco, C. M., Ouadi, M., & Hornung, A. (2019). A review on the current state of the art for the production of advanced liquid biofuels. *Aims Energy*, 7(1), 46-76.

Flach, B., Lieberz, S., Lappin J., Bolla, S. (2018) EU Biofuels Annual 2018, USDA Foreign Agricultural Service, Gain Report 7/3/2018, 2018.

Galbe, M., Wallberg, O., Zacchi, G. (2013). Cellulosic bioethanol production. In *Separation and Purification Technologies in Biorefineries*, 1st ed.; Ramaswamy, S., Huang, H.-J., Ramarao, B.V., Eds.; John Wiley & Sons Inc.: West Sussex, UK, pp. 490–493, ISBN 978-0-470-97796-5

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.

Gustavsson, J., Cederberg, C. Sonesson, U. (2011) *Global Food Losses and Food Waste*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Dusseldorf, Germany

Inderwildi, O. R., & King, D. A. (2009). Quo vadis biofuels?. *Energy & Environmental Science*, 2(4), 343-346.

Jacobus P.H. van Wyk (2001). Biotechnology and utilization of biowaste as a resource for bioproduct development. *TRENDS in Biotechnology*, Vol 19, No 5.

Kamzon, M.A., Abderafi, S., Bounahmidi, T. (2016). Promising bioethanol processes for developing a biorefinery in the Moroccan sugar industry. *Int. J. Hydrog Energy*, 41, 20880–20896.

Kanji, G. K. (2006). *100 statistical tests*. Sage.

Karmee, S. K., & Lin, C. S. K. (2014). Valorisation of food waste to biofuel: Current trends and technological challenges. *Sustainable Chemical Processes*, 2(1), 22.

Kaza, S., Yao, L., Bhada-Tata, P., & Van Woerden, F. (2018). *What a waste 2.0: a global snapshot of solid waste management to 2050*. World Bank Publications.

Kennes, D., Abubackar, H.N., Diaz, M., Veiga, M.C., Kennes, C. (2016). Bioethanol production from biomass: Carbohydrate vs. syngas fermentation. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 91, 304–317.

- 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.
- Konti, A., Kekos, D., & Mamma, D. (2020). Life cycle analysis of the bioethanol production from food waste—a review. *Energies*, 13(19), 5206.
- Leung, D. Y., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied energy*, 87(4), 1083-1095.
- Luostarinen, S., Normak, A., & Edström, M. (2011). Overview of biogas technology. *Overview of Biogas Technology. Baltic manure WP6 Energy potentials*, 47.
- Luque, R., Herrero-Davila, L., Campelo, J. M., Clark, J. H., Hidalgo, J. M., Luna, D., Marinas, J. M., & Romero, A. A. (2008). Biofuels: A technological perspective. *Energy and Environmental Science*, 1(5), 542–564.
- Mandley, S., Daioglou, V., Junginger, H., van Vuuren, D., Wicke (2020). B. EU bioenergy development to 2050. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 127, 109858.
- Matsakas, L., Kekos, D., Loizidou, M., & Christakopoulos, P. (2014). Utilization of household food waste for the production of ethanol at high dry material content. *Biotechnology for biofuels*, 7(1), 1-9.
- McMillan, J. D. (1997). Bioethanol production: status and prospects. *Renewable energy*, 10(2-3), 295-302.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M., & Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 96(6), 673-686.
- Mtui, G. Y. (2009). Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products. *African Journal of Biotechnology*, 8(8).
- Nanda, S., & Berruti, F. (2021). A technical review of bioenergy and resource recovery from municipal solid waste. *Journal of hazardous materials*, 403, 123970.
- National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 702, Ethanol. Retrieved February 5, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol>.
- Pandey, A. (2008). *Handbook of plant-based biofuels*. CRC press.
- Prasad, S., Singh, A., & Joshi, H. C. (2007). Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues. *Resources, Conservation and Recycling*, 50(1), 1-39.
- Priya, Deora, P. S., Verma, Y., Muhal, R. A., Goswami, C., & Singh, T. (2022). Biofuels: An alternative to conventional fuel and energy source. *Materials Today: Proceedings*, 48(xxxx), 1178–1184.

- 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.
- Sanchez, O. J., & Cardona, C. A. (2008). Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource technology*, 99(13), 5270-5295.
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S., & Aikat, K. (2012). Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. *Renewable energy*, 37(1), 19-27.
- Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S., & Aikat, K. (2012). Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. *Renewable energy*, 37(1), 19-27.
- 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.
- Scarlat, N., Dallemand, J. F., & Fahl, F. (2018). Biogas: Developments and perspectives in Europe. *Renewable energy*, 129, 457-472.
- Sebayang, A. H., Masjuki, H. H., Ong, H. C., Dharma, S., Silitonga, A. S., Mahlia, T. M. I., & Aditiya, H. B. (2016). A perspective on bioethanol production from biomass as alternative fuel for spark ignition engine. *Rsc Advances*, 6(18), 14964-14992.
- Senthilkumar V, Gunasekaran P. (2009). Bioethanol from biomass production of ethanol from molasses. In: Pandey A, editor. *Handbook of plant-based biofuels*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, pp. 73–86
- Shahid, E. M., Jamal, Y. (2011). Production of biodiesel_ A technical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15, 4732-4745.
- Sheehan, J., Camobreco, V., Duffield, J., Graboski, M., & Shapouri, H. (1998). An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles.
- Sinha S, Agarwal AK, Garg S. (2008). Biodiesel development from rice bran oil: transesterification process optimization and fuel characterization. *Energy Conver Manage*, 49(5), 1248–57.
- Solomon BD, Barnes JR, Halvorsen KE. (2007). Grain and cellulosic ethanol: History, economics, and energy policy. *Biomass Bi- oenergy.*, 31(6):416–25.
- Sun, R., Lawther, J. M., & Banks, W. B. (1995). Influence of alkaline pre-treatments on the cell wall components of wheat straw. *Industrial crops and products*, 4(2), 127-145.
- Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*, 83(1), 1-11.
- Tasneem Abbasi, S.M. Tauseef, S.A. Abbasi (2011). *Biogas Energy*, Vol 2 SpringerBriefs in Environmental Science, Springer Science & Business Media, pp. 3
- Tomás-Pejó E, Alvira P, Ballesteros M, Negro MJ. (2011). Pretreatment technologies for lignocellulose-to-bioethanol conversion. In: Pandey A, Larroche C, Ricke SC,

Dussap CG, Gnansounou E, editors. Biofuels – Alternative feedstocks and conversion processes. Oxford, UK: Academic Press, pp. 149–76.

Tyagi, V. K., Fdez-Güelfo, L. A., Zhou, Y., Álvarez-Gallego, C. J., Garcia, L. R., & Ng, W. J. (2018). Anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW): Progress and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 93, 380-399.

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.

Wang, J., Gao, M., Wang, Q., Zhang, W., & Shirai, Y. (2016). Pilot-scale open fermentation of food waste to produce lactic acid without inoculum addition. *RSC advances*, 6(106), 104354-104358.

Wang, Q., Li, H., Feng, K., & Liu, J. (2020). Oriented fermentation of food waste towards high-value products: A review. *Energies*, 13(21), 5638.

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.

Yousefloo, A., & Babazadeh, R. (2020). Designing an integrated municipal solid waste management network: A case study. *Journal of cleaner production*, 244, 118824.

Z. Karafiát, T. Vítěz, K. Somerlíková, J. Gaduš, M. Haitl, T. Koutný (2012). Employment of maize silage in non-liquid fermentation for biogas production. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.*, 2012, LX, No. 6, pp. 153–160

Zabed, H., Sahu, J.N., Suely, A., Boyce, A.N., Faruq, G. (2017). Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 71, 475–501.

Zhang, M., Gao, M., Yue, S., Zheng, T., Gao, Z., Ma, X., & Wang, Q. (2018). Global trends and future prospects of food waste research: a bibliometric analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(25), 24600-24610.

Zwillinger, D. (2018). *CRC standard mathematical tables and formulas*. Chapman and Hall/CRC.

Κορδούλης Χ. (2013). Μέθοδοι Αξιοποίησης Βιομάζας για Παραγωγή Βιοκαυσίμων, Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, Πάτρα.

Παρατηρητήριο Ανακύκλωσης Περιφέρειας Αττικής (<https://recycleattica.gr>)

Ρήγας, Φ. (1988). Στατιστικός Σχεδιασμός Πειραμάτων Και Αριστοποίηση Βιομηχανικών Διαδικασιών, Ε.Μ.Π, Αθήνα

12. Παράρτημα

Πίνακας 40: Τιμές πίνακα student-t (Zwillinger, D., 2018).

f	t_{0,9}	t_{0,95}	t_{0,975}	t_{0,99}	t_{0,995}	t_{0,999}
1	3,08	6,31	12,71	31,82	63,66	318,31
2	1,89	2,92	4,30	6,97	9,93	22,33
3	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84	10,22
4	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17
5	1,48	2,02	2,57	3,37	4,03	5,89
6	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21
7	1,42	1,90	2,37	3,00	3,50	4,78
8	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50
9	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30
10	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14
11	1,36	1,80	2,20	2,72	3,11	4,02
12	1,36	1,78	2,18	2,68	3,06	3,93
13	1,35	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85
14	1,35	1,76	2,15	2,62	2,98	3,79
15	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73
16	1,34	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69
17	1,33	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65
18	1,33	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61
19	1,33	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58
20	1,33	1,73	2,09	2,53	2,85	3,55
21	1,32	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53
22	1,32	1,72	2,07	2,51	2,82	3,51
23	1,32	1,71	2,07	2,50	2,81	3,49
24	1,32	1,71	2,06	2,49	2,80	3,47
25	1,32	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45
26	1,32	1,71	2,06	2,48	2,78	3,44
27	1,31	1,70	2,05	2,47	2,77	3,42
28	1,31	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41
29	1,31	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40
30	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39
40	1,30	1,68	2,02	2,42	2,70	3,31
60	1,30	1,67	2,00	2,39	2,66	3,23
100	1,29	1,66	1,98	2,36	2,63	3,17
∞	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58	3,09

Πίνακας 41: Τιμές Cochran G (95% στατιστική σημαντικότητα) (Kanji, G. K., 2006).

N	f=n _i -1							
	1	2	3	4	5	6	7	8
2	0,999	0,975	0,939	0,906	0,877	0,853	0,833	0,816
3	0,967	0,871	0,798	0,746	0,707	0,677	0,653	0,633
4	0,907	0,768	0,684	0,629	0,590	0,560	0,637	0,518
5	0,841	0,684	0,598	0,544	0,507	0,478	0,456	0,439
6	0,781	0,616	0,532	0,480	0,445	0,418	0,398	0,382
7	0,727	0,561	0,480	0,431	0,397	0,373	0,354	0,338
8	0,680	0,516	0,438	0,391	0,360	0,336	0,319	0,304
9	0,639	0,478	0,403	0,358	0,329	0,307	0,290	0,227
10	0,602	0,445	0,373	0,331	0,303	0,282	0,267	0,254
12	0,541	0,392	0,326	0,288	0,262	0,244	0,230	0,219
15	0,471	0,335	0,276	0,242	0,220	0,203	0,191	0,182
20	0,389	0,271	0,221	0,192	0,174	0,160	0,150	0,142

Πίνακας 42: Τιμές λόγου Fisher (95% στατιστική σημαντικότητα) (Dixon, W. Joseph., Massey, F. Jones., 1949).

df1/df2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	246	248	249	250	251	252	253	254
2	18,5	19,0	19,2	19,2	19,3	19,3	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
3	10,1	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,37
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,18	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

df1= βαθμοί ελευθερίας του αριθμητή

df2= βαθμοί ελευθερίας του παρανομαστή