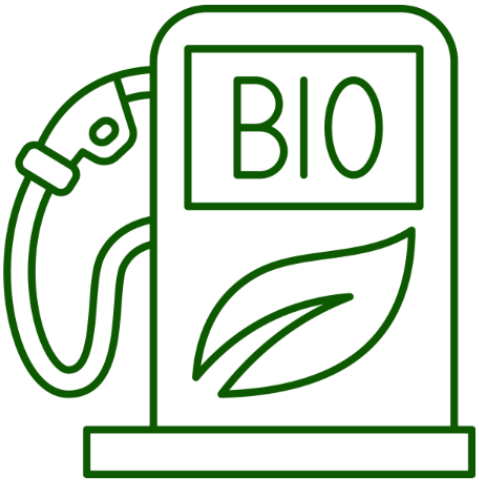
ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ Ι -Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

΄΄Παραγωγή βιοαιθανόλης από απόβλητα αρτοποιίας΄΄



Νικολάου Μαρίνα

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Χαραλάμπους Αικατερίνη

Αθήνα , Φεβρουάριος 2023

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της κυρίας Χαραλάμπους Αικατερίνης, καθηγήτριας του Ε.Μ.Π.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Χαραλάμπους για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα, το οποίο αποτέλεσε κίνητρο για πιθανή μελλοντική ενασχόληση με το συγκεκριμένο τομέα, καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Χρυσάνθη Σταυράκη, ερευνήτρια και μέλος του προσωπικού του εργαστηρίου, για την πολύτιμη βοήθεια της, την επιστημονική υποστήριξη, την καθοδήγηση και τις γνώσεις που μου παρείχε σε οποιαδήποτε απορία μου για την εκπόνηση της εργασίας μου.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τις Έλλη - Μαρία Μπαραμπούτη, και Σοφία Μάη, ΕΔΙΠ του Ε.Μ.Π. για τη σημαντική βοήθεια και τις χρήσιμες συμβουλές τους, καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, την υπεύθυνη ποιότητας και αναλύσεων Jelica Novakovic, την Νικολέτα Κοντογιάννη ερευνήτρια και μέλος του εργαστηρίου για την πολύτιμη ακαδημαϊκή και ψυχολογική υποστήριξή της καθόλη την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Ακόμη ευχαριστώ και όλα τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου για την πολύ καλή συνεργασία και το φιλικό κλίμα.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους μου τους φίλους και τους δικούς μου ανθρώπους που ήταν κοντά μου είτε κυριολεκτικά είτε με τη σκέψη τους για την στήριξη και την βοήθεια σε όλα τα χρόνια της φοίτησής μου στην Σχολή Χημικών Μηχανικών. Συγκεκριμένα, οφείλω τις ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου στις φίλες μου και συμφοιτήτριές μου Δανάη, Ειρήνη, Πηνελόπη, Σοφία, και Νάγια, για την υπομονή, τη συμπαράσταση, την αλληλοβοήθεια, τις αμέτρητες ώρες διαβάσματος και εκπόνησης εργασιών μαζί τους για το νόημα που έδωσε η φιλία μας τόσο στην ακαδημαϊκή μας πορεία όσο και στα φοιτητικά μας χρόνια μέχρι στιγμής. Επιπλέον δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω τον φίλο μου Βασίλη για την κοινή μας πορεία στην σχολή, την παράλληλη εκπόνησή των διπλωματικών μας εργασιών στην Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας και την καθημερινή μας αλληλοστήριξη.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω αυτήν την διπλωματική εργασία στους γονείς μου Πέτρο και Βαρβάρα για την αγάπη τους, την υπομονή τους, τη στήριξή τους και την ενθάρρυνσή τους σε κάθε μου βήμα, και στην αδερφή μου Βασιλική που αποτελεί το πρότυπό μου σε όλη μου την ζωή και μου προσφέρει έμπνευση να προσπαθώ περισσότερο.

΄΄Human beings cannot live without Mother Earth, but the planet can live without humans.΄΄, Evo Morales.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες, η ζήτηση για εναλλακτικές πηγές καυσίμων έχει αυξηθεί λόγω της υπερβολικής κατανάλωσης ορυκτών καυσίμων. Η βιοαιθανόλη θεωρείται ένα από τα πολλά υποσχόμενα ανανεώσιμα καύσιμα που μπορεί να αντικαταστήσει τα ορυκτά καύσιμα μεταφορών. Ήδη χρησιμοποιείται ως πρόσθετο στις βενζίνες σε μείγματα E5 δηλαδή σε αναλογία 5% αιθανόλη και 95% βενζίνη έχοντας σημαντικά θετική επίδραση στης μείωση εκπομπών των αερίων του θερμοκηπίου. Η βιοαιθανόλη μπορεί να ληφθεί από πρώτες ύλες που περιέχουν σακχαρόζη, αμυλώδη υλικά και λιγνοκυτταρινική βιομάζα. Το ψωμί είναι ένα αμυλώδες υλικό και μια πλούσια πηγή εύκολα εκχυλίσιμων ζυμώσιμων σακχάρων. Είναι ένα από τα διατροφικά προϊόντα με τη μεγαλύτερη σπατάλη στον ανεπτυγμένο κόσμο και αποτελεί ιδιαίτερα σοβαρό πρόβλημα στα περισσότερα ευρωπαϊκά έθνη. Η παγκόσμια ετήσια παραγωγή ψωμιού είναι 100 εκατομμύρια τόνοι και έχει υπολογιστεί κατά προσέγγιση ότι, παγκοσμίως και ετησίως, το 10% των προϊόντων αρτοποιίας σπαταλάται.

Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας ήταν η παραγωγή βιοαιθανόλης από απόβλητα αρτοποιίας, με μελέτη και αριστοποίηση των σταδίων επεξεργασίας (προεπεξεργασία-ξήρανση, ενζυμική υδρόλυση, ζύμωση), προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή βιοαιθανόλης αλλά και να πραγματοποιηθεί ανακλιμάκωση της συνολικής διεργασίας. Πραγματοποιήθηκαν δύο διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες: χωριστή διαδικασία υδρόλυσης και ζύμωσης SHF και ταυτόχρονη διεργασία σακχαροποίησης και ζύμωσης SSF, προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η παραγωγή αιθανόλης μέσω παραγοντικού σχεδιασμού. Τα πειράματα διεξήχθησαν με βάση ορισμένες λειτουργικές συνθήκες που ορίζονται από τρεις ανεξάρτητες μεταβλητές στη διαδικασία SHF (θερμοκρασία υδρόλυσης, ποσότητα ενζύμου, φόρτιση στερεού) και δύο ανεξάρτητες μεταβλητές στη διαδικασία SSF (ποσότητα ενζύμου, φόρτιση στερεού), ενώ ο χρόνος υδρόλυσης, ο χρόνος ζύμωσης, η θερμοκρασία ζύμωσης και η ποσότητα της μαγιάς ήταν σταθερές μετά από ορισμένα προκαταρκτικά πειράματα που έγιναν σχετικά με τις συγκεκριμένες συνθήκες.

Τα απόβλητα αρτοποιίας λήφθηκαν από τοπικά αρτοποιεία. Μετά την παραλαβή τους, πραγματοποιήθηκε ξήρανση, άλεση, κοσκίνισμα και αποθήκευση σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι τη χρήση τους. Το υπόστρωμα χαρακτηρίστηκε φυσικοχημικά και βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα σε άμυλο ήταν αρκετά υψηλή (62.5 ± 1.9 % της ξηρής ουσίας).

Στη διαδικασία SHF, η υδρόλυση διήρκεσε 1 ώρα, σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες υδρόλυσης 35.0 °C, 50.0 °C και 65.0 °C. Οι ποσότητες του αμυλολυτικού ενζύμου Spirizyme που εξετάστηκαν ήταν 20.0, 40.0 και 60.0 μL ενζύμου/g αρχικού αμύλου και στερεών φορτίσεων 10%, 15% και 20%. Στα υδρολύματα των απόβλητων αρτοποιίας προστέθηκε μαγιά *Saccharomyces cerevisae* 2% και αφέθηκε για αιθανολική ζύμωση για 48 ώρες στους 35.0 °C. Τα βέλτιστα αποτελέσματα ελήφθησαν σε συνθήκες θερμοκρασίας υδρόλυσης 35.0 °C, 20.0 μL ενζύμου/g αρχικού αμύλου και 20% στερεής φόρτισης με αποτέλεσμα 99% απόδοση αιθανόλης. Ακόμη, υπό συνθήκες SSF μέσω του παραγοντικού σχεδιασμού πραγματοποιήθηκαν πειράματα για ποσότητες του ενζύμου Spirizyme 20.0, 40.0 και 60.0 μL ενζύμου/g αρχικού αμύλου και στερεών φορτίσεων 10%, 15% και 20%. Τα βέλτιστα αποτελέσματα ελήφθησαν σε συνθήκες 20.0 μL ενζύμου/g αρχικού αμύλου και 20% στερεής φόρτισης με αποτέλεσμα 95% απόδοσης αιθανόλης.

Τα υπολείμματα από τα πειράματα που παρουσιάστηκαν παραπάνω χαρακτηρίστηκαν πλήρως για τον προσδιορισμό της αποικοδόμησης του αμύλου. Όπως ήταν αναμενόμενο, το άμυλο μετατράπηκε σε γλυκόζη, η οποία με τη σειρά της καταναλώθηκε πλήρως επιτυγχάνοντας αποικοδόμηση του αμύλου στα πειράματα SHF μεγαλύτερη του 98.0%, και στα πειράματα SSF μεγαλύτερη του 99%. Ακόμη, πραγματοποιήθηκε και αποδόμηση των στερεών στα πειράματα SHF και SSF με τιμές μεγαλύτερες του 74.0% και 75.0% αντίστοιχα.

Επιπλέον, οι συνολικές αποδόσεις μετατροπής έδειξαν πως υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης των αποβλήτων αρτοποιίας ως βιομάζα για μεγάλης κλίμακας παραγωγή βιοαιθανόλης. Έτσι, με βάση τις βέλτιστες συνθήκες SSF διεξήχθησαν δύο αντίστοιχα πείραμα σε πιλοτική κλίμακα. Τα βέλτιστα αποτελέσματα που λήφθηκαν από τις πιλοτικές δοκιμές ήταν περίπου στις 30 ώρες διαδικασίας, συγκέντρωση αιθανόλης 100g/L που αντιστοιχεί σε απόδοση αιθανόλης 98.0% και επιπλέον μετά την ζύμωση υπολογίστηκε στο υπόλειμμα αποδόμηση στερών 75.0% και αποδόμηση αμύλου 99.0%.

Συμπερασματικά, η αξιοποίηση των απορριμμάτων αρτοποιίας μέσω αιθανολικής ζύμωσης παρέχει μια καινοτόμο λύση για τη διαχείριση οργανικών απορριμμάτων και συμβάλλει στη βιώσιμη παραγωγή προϊόντων βιολογικής βάσης, όπως η βιοαιθανόλη. Με βάση αυτή τη διπλωματική εργασία, τα απόβλητα αρτοποιίας φαίνεται να αποτελούν ένα ελπιδοφόρο υπόστρωμα από οικονομική άποψη για την παραγωγή βιοαιθανόλης όμως απαιτείται όμως περαιτέρω έρευνα για τη βελτιστοποίηση αυτής της διαδικασίας.

Λέξεις-κλειδιά: Απόβλητα αρτοποιίας, Αιθανόλη, Υδρόλυση, Ζύμωση, SHF, SSF

ABSTRACT

In recent decades, the demand for alternative fuel sources has increased due to the excessive consumption of fossil fuels. Bioethanol is considered one of the most promising renewable fuels that can replace fossil transport fuels. It is already used as an additive to gasoline in E5 blends, i.e. in a ratio of 5% ethanol and 95% gasoline, having a significant positive effect in reducing greenhouse gas (GHG) emissions. Bioethanol can be obtained from raw materials containing sucrose, starchy materials and lignocellulosic biomass. Bread is a starchy material and a rich source of easily extractable fermentable sugars. It is one of the most wasted food products in the developed world and is a particularly serious problem in most European nations. Global annual bread production is 100 million tonnes and it has been estimated that, globally and annually, an estimated 10% of bakery products is wasted.

The aim of this thesis was the production of bioethanol from bakery waste, by studying and optimizing the processing steps (pre-treatment-drying, enzymatic hydrolysis, fermentation) in order to maximize the bioethanol production but also to upscale the overall process. Two different experimental procedures were carried out: a separate SHF hydrolysis and fermentation process and a simultaneous SSF saccharification and fermentation process, in order to optimise ethanol production through factorial design. The experiments were conducted based on some operating conditions defined by three independent variables in the SHF process (hydrolysis temperature, enzyme amount, solid loading) and two independent variables in the SSF process (enzyme amount, solid loading), while the hydrolysis time, fermentation time, fermentation temperature and yeast amount were constant after some preliminary experiments.

The bakery waste was obtained from local bakeries. After receiving them, drying, milling and storage at room temperature until use was carried out. The substrate was physico-chemically characterized revealing its high starch content (62.5 ± 1.9 % of dry matter).

In the SHF process, the hydrolysis lasted 1 hour, at three different hydrolysis temperatures of 35.0 °C, 50.0 °C and 65.0 °C. The amounts of the amylolytic enzyme (Spirizyme) tested were 20.0, 40.0 and 60.0 μL of enzyme/g of initial starch and solid loadings of 10%, 15% and 20%. 2% Saccharomyces cerevisiae yeast was added to the bakery waste hydrolysates and left for ethanolic fermentation for 48 h at 35.0 °C. Optimal results were obtained at hydrolysis temperature of 35.0 °C, 20.0 μL enzyme/g of initial starch and 20% solids loading resulting in 99% ethanol yield. Furthermore, under SSF conditions through factorial design, experiments were carried out for Spirizyme enzyme amounts of 20.0, 40.0 and 60.0 μL enzyme/g initial starch and solid loading of 10%, 15% and 20%. The optimal results were obtained at conditions of 20.0 μL enzyme/g initial starch and 20% solid loading resulting in 95.0% ethanol yield.

The residues from the experiments presented above were fully characterized to determine starch degradation. As expected, starch was converted to glucose, which in turn was fully consumed achieving starch degradation in SHF experiments greater than 98.0%, and in SSF experiments greater than 99%. Furthermore, solids degradation was also achieved in SHF and SSF experiments with values greater than 74.0% and 75.0% respectively.

Moreover, the overall conversion efficiencies showed that there is a potential to use bakery waste as feedstock for large-scale bioethanol production. Thus, based on the optimal SSF

conditions, two corresponding experiments were conducted on a pilot scale. The optimum results obtained from the pilot tests were at about 30 h of process; ethanol concentration of 100g/L was observed corresponding to an ethanol yield of 98.0%. I In addition, after fermentation, solids degradation of 75.0% and starch degradation of 99.0% were estimated in the residue.

In conclusion, the volarization of bakery waste through ethanolic fermentation provides an innovative solution for organic waste management and contributes to the sustainable production of bio-based products such as bioethanol. Based on this thesis, bakery waste has great potential from an economic point of view but requires further technoeconomic analysis to optimize this process.

Keywords: Bread waste, Ethanol, Hydrolysis, Fermentation, SHF, SSF

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ 14
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 14
1.02 ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΓΙΑ ΤΑ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 16
1.3 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΓΙΑ ΣΤΕΡΕΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ 19
1.4 ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΔΙΚΑΙΟ 21
2 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 23
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 23
2.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ 25
2.2.1 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 1ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ 26
2.2.2 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 2ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ 27
2.2.3 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 3ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ 28
2.2.4 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 4ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ 29
2.3 ΚΟΣΤΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ 30
3 ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ 30
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 30
3.2 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ 32
3.3 ΧΡΗΣΕΙΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ 33
3.4 ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ ΩΣ ΚΑΥΣΙΜΟ 34
3.5 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ. 37
3.5.1 ΑΜΥΛΟΥΧΕΣ ΠΗΓΕΣ 37
3.5.2 ΣΑΚΧΑΡΟΥΧΕΣ ΠΗΓΕΣ 37
3.5.3 ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΕΣ ΠΗΓΕΣ 38
3.6 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ 38
3.6.1 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ 39
3.6.2 ΥΔΡΟΛΥΣΗ 41
3.6.3 ΖΥΜΩΣΗ ΣΑΚΧΑΡΩΝ 45
4 ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ 47
4.1 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΑ 47
4.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ 47
4.1.2 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ 48
4.1.3 ΣΥΣΤΑΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ 48
4.2 ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ 49
4.2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ 49

4.2.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ 50
4.2.3 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΤΡΟΠΟΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ 51
5 ΣΚΟΠΟΣ 53
6 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ 54
6.1 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ 54
6.2 ΞΗΡΑΝΣΗ 56
6.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΣΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ 57
6.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ SHF 57
6.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ SSF 58
6.6 ΠΙΛΟΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ – ΒΙΟΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ (Μονάδα Waste2Bio) 58
6.7 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ 59
6.7.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ TS 59
6.7.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ VS 60
6.7.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΣΤΕΡΕΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ 61
6.7.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ WS 63
6.7.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ 63
6.7.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ 66
6.7.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ 68
6.7.8 ΔΙΑΛΥΤΗ ΛΙΓΝΙΝΗ 69
6.7.9 ΜΗ ΔΙΑΛΥΤΗ ΛΙΓΝΙΝΗ 69
6.7.10 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΑΜΥΛΟΥ 70
6.7.11 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ TOC 71
6.7.12 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ 72
6.7.13 ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ 72
7 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ 74
7.1 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ 74
7.2 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΖΥΜΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΜΑΓΙΑΣ 74
7.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ 75
7.3.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ SHF 76
7.3.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ SSF 78
7.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΠΙΛΟΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ 79
8 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 80
8.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΗΣ ΥΛΗΣ 80
8.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ 80
8.3 ΧΡΟΝΟΥ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ 80

8.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΧΡΟΝΟΥ ΖΥΜΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΜΑΓΙΑΣ. 81
8.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ SHF 83
8.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ SSF 87
8.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΙΛΟΤΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ 88
9 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 93
10 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 95

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1-1 :Προηγμένες πηγές βιοκαυσίμων, Μέρος Α και Μέρος Β στην RED II.18
Πίνακας 1-2: Προηγμένες πηγές βιοκαυσίμων, Μέρος Α και Μέρος Β στην RED II, εντολές και ανώτατο όριο. 18
Πίνακας 1-3: Όρια εξοικονόμησης αερίων θερμοκηπίου στην RED II. 19
Πίνακας 1-4: Όρια βαρών μετάλλων στα βιοαπόβλητα 20
Πίνακας 3-1: Ιδιότητες Αιθανόλης. 33
Πίνακας 3-2 : Επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις οξυγονούχων συστατικών σε βενζίνες σύμφωνα με το ευρωπαϊκό πρότυπο EN 228....34
Πίνακας 3-3: Φυσικοχημικές ιδιότητες αιθανόλης και βενζίνης. 35
Πίνακας 4-1: Σύγκριση σύστασης διατροφικών αποβλήτων από τέσσερις διαφορετικές χώρες. 49
Πίνακας 4-2: Χημική σύσταση ρεύματος αποβλήτων αρτοποιίας. 50
Πίνακας 4-3: Χημική σύσταση Αλευριού 50
Πίνακας 6-1: Μετρήσεις για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GODPAP....65
Πίνακας 7-1: Συνθήκες πειραμάτων διερεύνησης χρόνου υδρόλυσης. 74
Πίνακας 7-2: Διερεύνηση χρόνου ζύμωσης με ποσότητα μαγιάς 2%. 75
Πίνακας 7-3: Διερεύνηση χρόνου ζύμωσης με ποσότητα μαγιάς 3%. 75
Πίνακας 7-4: Διερεύνηση Ποσότητας μαγιάς για χρόνο ζύμωσης 24 ώρες. 75
Πίνακας 7-5: Διερεύνηση Ποσότητας μαγιάς για χρόνο ζύμωσης 48 ώρες. 75
Πίνακας 7-6: Συνθήκες πειραμάτων SHF. 76
Πίνακας 7-7 : Επίπεδα παραγοντικού σχεδιασμού πειραμάτων SHF. 76
Πίνακας 7-8 :Παραγοντικός σχεδιασμός πειραμάτων SHF. 77
Πίνακας 7-9: Συνθήκες πειραμάτων SSF. 78
Πίνακας 7-10: Επίπεδα παραγοντικού σχεδιασμός πειραμάτων SSF. 78
Πίνακας 7-11: Παραγοντικός σχεδιασμός πειραμάτων SSF. 78
Πίνακας 7-12: Πειραματικές συνθήκες δοκιμών σε πιλοτική κλίμακα. 79
Πίνακας 8-1: Χαρακτηρισμός αποβλήτων αρτοποιίας. 80
Πίνακας 8-2: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου υδρόλυσης. 81
Πίνακας 8-3: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου ζύμωσης με ποσότητα μαγιάς 2% 82
Πίνακας 8-4: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου ζύμωσης με ποσότητας μαγιάς 3% 82
Πίνακας 8-5: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης ποσότητας μαγιάς με χρόνο ζύμωσης 24 ώρες. 82
Πίνακας 8-6: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης ποσότητας μαγιάς με χρόνο ζύμωσης 48 ώρες. 82
Πίνακας 8-7: Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF. 84
Πίνακας 8-8: Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF. 85
Πίνακας 8-9: Αποδόμηση στερεού και αμύλου πειραμάτων SHF. 86
Πίνακας 8-10: Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF. 87
Πίνακας 8-11: Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF. 87
Πίνακας 8-12: Αποδόμηση στερεού και αμύλου πειραμάτων SSF. 88
Πίνακας 8-13: Αποτελέσματα παραγωγής γλυκόζης και αιθανόλης για όλες τις χρονικές δοκιμές της Δοκιμής 1 σε πιλοτική κλίμακα. 89

Πίνακας 8-14: Αποτελέσματα παραγωγής γλυκόζης και αιθανόλης για όλες τις χρονικές δοκιμές της Δοκιμής 2 σε πιλοτική κλίμακα. 90
Πίνακας 8-15: Αποτελέσματα υπολογισμών αποδόμησης στερεού και αμύλου για τις πιλοτικές δοκιμές. 92

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Παγκόσμια ενεργειακή προμήθεια 2019 15
Σχήμα 2: Ανανεώσιμες πηγές ενέργειας στις μεταφορές το 2018 [8]. 22
Σχήμα 3 :Κατανάλωση βιοκαυσίμων και ενσωμάτωση τους στην ενέργεια [8]. 22
Σχήμα 4: Διεργασία παραγωγής βιοκαυσίμων για κάθε γενιά. 24
Σχήμα 5 :Τα είδη Βιοκαυσίμων και οι γενιές τους. 26
Σχήμα 6: Περιβαλλοντικό αντίκτυπο και εκπομπές GHGs διαφόρων τύπων λιγνοκυτταρινουχου βιομάζας. 28
Σχήμα 7: Κόστος παραγωγής βιοντήζελ και βιοαιθανόλης 1ης γενιάς. 30
Σχήμα 8 :Παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης ανά περιοχή. 32
Σχήμα 9 :Παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης (Εκατομ. Γαλόνια) 32
Σχήμα 10: Μοριακή δομή λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας. 38
Σχήμα 11: Διάγραμμα ροής διεργασιών μετατροπής βιομάζας σε βιοαιθανόλη. 39
Σχήμα 12: Διάγραμμα ροής βιοδιεργασίας. 42
Σχήμα 13: Απεικόνιση ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρινάσης. 43
Σχήμα 14 : Ενζυματική υδρόλυση αμύλου. 44
Σχήμα 15: Sacccharomyces cerevisiae 46
Σχήμα 16: Ποσοστό διατροφικών απορριμάτων που δημιουργείται στα διάφορα στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας τροφίμων και κατηγοριοποίηση στις βασικές κατηγορίες των διατροφικών απορριμάτων. 48
Σχήμα 1: Ακατέργαστη πρώτη ύλη – Απόβλητα Αρτοποιίας. 54
Σχήμα 2: Κοσκίνισμα πρώτης ύλης μετά από ξήρανση 55
Σχήμα 3: Θρυμματισμός πρώτης ύλης. 55
Σχήμα 4: Αποθήκευση κοσκινισμένης πρώτης ύλης. 56
Σχήμα 5: Ξηραντήρας Gaia 57
Σχήμα 6: Μονάδα Βιομετατροπής. 59
Σχήμα 7: Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών, Barnstead Thermolyne. 61
Σχήμα 8: Διάταξη εκχύλισης ελαίων Soxhlet. 62
Σχήμα 9: Καμπύλη αναφοράς με τη μέθοδο GODPAP. 65
Σχήμα 10: Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave. 67
Σχήμα 11: Καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης με τη μέθοδο GOPOD. 71
Σχήμα 12: Συσκευή μέτρησης TOC. 72
Σχήμα 14: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης Δοκιμής 1 σε συνάρτηση με τον χρόνο. ..... **Error! Bookmark not defined.**
Σχήμα 15: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης Δοκιμής 2σε συνάρτηση με τον χρόνο. 91

1 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

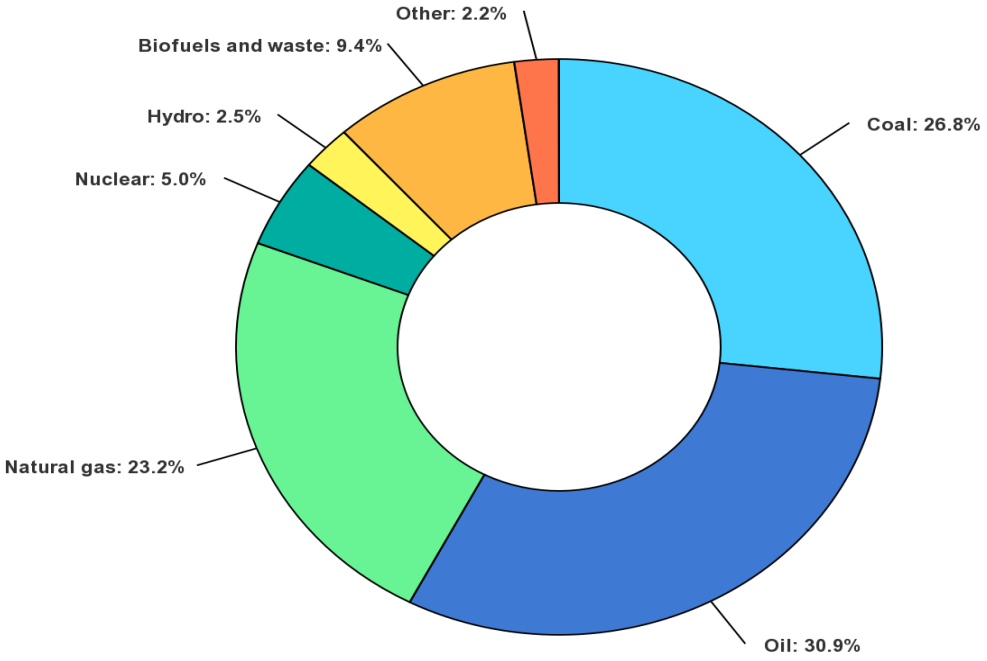
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες ο όρος κλιματική κρίση ή κλιματική αλλαγή έχει αρχίσει να αναλύεται ολοένα και περισσότερο και να απασχολεί την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα. Συγκεκριμένα το φαινόμενο αυτό αποτελεί μια απειλή για τον πλανήτη. Με τον όρο κλιματική αλλαγή εννοούμε το πώς επηρεάζει η ανθρώπινη δραστηριότητα το κλίμα της γης προσθέτοντας ολοένα και μεγαλύτερες ποσότητες αερίων του θερμοκηπίου σε εκείνες που απαιτούνται φυσιολογικά από την ατμόσφαιρα, ενισχύοντας με τον τρόπο αυτό το φαινόμενο του θερμοκηπίου και έχοντας ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας του πλανήτη και τις σημαντικές αλλαγές στο παγκόσμιο κλίμα. Οι επιπλέον ποσότητες αερίων προέρχονται από ανθρωπογενείς και βιομηχανικές δραστηριότητες όπως καύση ορυκτών καυσίμων, αποψίλωση τροπικών δασών, γεωργικές και κτηνοτροφικές διεργασίες. Μέσω δραστηριοτήτων όπως οι παραπάνω, παράγεται το βασικότερο αέριο του θερμοκηπίου που είναι το διοξείδιο του άνθρακα.

Από την αρχή της βιομηχανικής επανάστασης οι μεγάλες οικονομίες του πλανήτη βασίστηκαν στα ορυκτά καύσιμα και στην χρήση τους αρχικά σε βιομηχανικό επίπεδο και στην συνέχεια και σε ανθρώπινο για μεταφορά, θέρμανση και άλλες χρήσεις . Ωστόσο, η μελλοντική εξάντληση των φυσικών αποθεμάτων των ορυκτών καυσίμων έχει ήδη αρχίσει να οδηγεί σε μια ενδεχόμενη παγκόσμια οικονομική και πολιτική αναταραχή και όπως είναι αντιληπτό ακολουθούμενη από την μεγάλη ενεργειακή κρίση που όλος ο πλανήτης βιώνει. [1]

Με βάση μελέτες της Διεθνούς Οργάνωσης Ενέργειας για το 2019 περίπου το 80% της συνολικής πρωτογενούς ενέργειας στον κόσμο προέρχεται από ορυκτά στατιστικά παρουσιάζονται και στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 1) καύσιμα, με το πετρέλαιο να αντιπροσωπεύει το 30,9%, τον άνθρακα το 26,8% και το φυσικό αέριο το 23,2% της συνολικής παγκόσμιας κατανάλωσης ενέργειας [2]

Η ενεργειακή στρατηγική μιας χώρας στοχεύει στην αποτελεσματικότητα, την ασφάλεια και την φιλική προς το περιβάλλον δραστηριότητα, ώστε να επιτευχθεί ένα βέλτιστο μείγμα πρώτων υλών για την παραγωγή ενέργειας. Τα ορυκτά καύσιμα θα συνεχίσουν να διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στον ενεργειακό τομέα της χώρας μας τις επόμενες δεκαετίες, ωστόσο, οι συμβατικοί ή ορυκτοί πόροι καυσίμων είναι περιορισμένοι, μη ανανεώσιμοι, ρυπογόνοι και άρα πρέπει να χρησιμοποιούνται με σύνεση [3].



Σχήμα 1: Παγκόσμια ενεργειακή προμήθεια 2019

Από την άλλη πλευρά, Οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, είναι μη ρυπογόνοι πόροι και σχεδόν ανεξάντλητοι. Οι πηγές αυτές μπορούν ολοένα και περισσότερο να ικανοποιήσουν τις υψηλές ενεργειακές ανάγκες της σύγχρονης εποχής με περιβαλλοντικά φιλικό και οικονομικά αποδοτικό τρόπο, ενώ ταυτόχρονα, εξασφαλίζεται και η μείωση της εξάρτησης από την εισαγωγή ορυκτών καυσίμων και η εξασφάλιση αυτονομίας και αυτάρκειας κάθε κράτους και έτσι παρέχεται υψηλότερος βαθμός Εθνικής Ενεργειακής Ασφάλειας.

Για τους λόγους αυτούς έχει τεθεί σε ισχύει από το 2019 ένα συνολικότερο πλάνο αντιμετώπισης της κλιματικής αλλαγής και της υποβάθμισης του Περιβάλλοντος από την Ευρωπαϊκή Ένωση γνωστό και ως EUROPEAN GREEN DEAL .Οι βασικοί στόχοι του προγράμματος αυτού είναι οι εξής :

- μηδενικές καθαρές εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου έως το 2050.
- οικονομική ανάπτυξη αποσυνδεδεμένη από τη χρήση πόρων.
- κανένας άνθρωπος και καμιά περιφέρεια δεν μένουν στο περιθώριο.

Στα πλαίσια του συγκεκριμένου προγράμματος, έχουν οριστεί δράσεις σχετικά με πληθώρα ζητημάτων που αφορούν την προστασία του περιβάλλοντος οι οποίες απασχολούν τομείς όπως την μετάβαση στην καθαρή ενέργεια μέσω της απανθρακοποίησης του ενεργειακού συστήματος της Ε.Ε. , και την διασφάλισης ενός ασφαλούς και οικονομικά προσιτού ενεργειακού εφοδιασμού της Ε.Ε. , στην δημιουργία ενός υγιούς συστήματος τροφίμων, τον τουρισμό, τις μεταφορές, την γεωργία, το περιβάλλον και τους ωκεανούς κ.α.

1.2 ΝΟΜΟΘΕΤΙΚΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΓΙΑ ΤΑ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ

Η Ευρωπαϊκή Νομοθεσία σχετικά με τις Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας στις οποίες συγκαταλέγονται και τα βιοκαύσιμα βασίζεται στην Renewable Energy Directive (RED) η οποία συνεχώς εμπλουτίζεται και εξελίσσεται με βάση την προώθηση των Α.Π.Ε. και την αντιμετώπιση της κλιματικής αλλαγής. Η εξέλιξή της τα τελευταία 14 έτη παρουσιάζεται συνοπτικά παρακάτω:

- **Απρίλιος 2009:** Η αρχική οδηγία για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, **RED I** (Οδηγία (ΕΕ) 2009/28/ΕΚ) η οποία εγκρίθηκε τον Απρίλιο του 2009 ορίζει ότι, έως το 2020, το 20% της κατανάλωσης ενέργειας στην Ε.Ε. πρέπει να καλύπτεται από ΑΠΕ και ότι όλα τα κράτη μέλη πρέπει να καλύπτουν το 10% των καυσίμων μεταφορών τους από ΑΠΕ. 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. [4], [5]
- **Δεκέμβριος 2018:** Τον Δεκέμβριο του 2018, τέθηκε σε ισχύ η αναθεωρημένη οδηγία για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, **REDII** (Οδηγία (ΕΕ) 2018/2001), στο πλαίσιο της πρωτοβουλίας της Ε.Ε. «Καθαρή ενέργειας για όλους τους Ευρωπαίους» η οποία είχε δημοσιευτεί ήδη από το 2016. Ο βασικός στόχος της RED II ορίζει πως η κατανάλωση Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας έως το 2030 πρέπει να έχει αυξηθεί στο 32%. Η αναθεωρημένη οδηγία αυτή, αποβλέπει στο να παραμείνει η Ε.Ε. παγκόσμιος ηγέτης στον τομέα των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας και, γενικότερα, να την βοηθήσει να εκπληρώσει τις δεσμεύσεις της για μείωση των εκπομπών στο πλαίσιο της συμφωνίας του Παρισιού.
- **Μάϊος 2022:** Τον Μάιο του 2022, ως τμήμα του σχεδίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης REPowerEU μετά τη Ρωσική επίθεση κατά της Ουκρανίας, η Επιτροπή πρότεινε νέα τροποποίηση **(RED III)** για να επισπευσθεί η μετάβαση σε καθαρές μορφές ενέργειας σε συνάρτηση με τη σταδιακή κατάργηση της εξάρτησης από ρωσικά ορυκτά καύσιμα. Ουσιαστικά, μέσω αυτής της οδηγίας ο στόχος της παραγωγής ενέργειας από Α.Π.Ε. αυξήθηκε στο 45% έως το 2030 Η Επιτροπή πρότεινε την εγκατάσταση αντλιών θερμότητας, την αύξηση της ηλιακής φωτοβολταϊκής δυναμικότητας και την εισαγωγή ανανεώσιμου υδρογόνου και βιομεθανίου [6]
- **Νοέμβριος 2022:** Στις 9 Νοεμβρίου 2022, η Επιτροπή πρότεινε νέα τροποποίηση (**RED IV**) για έναν κανονισμό του Συμβουλίου που θεσπίζει πλαίσιο για την επιτάχυνση της ανάπτυξης ανανεώσιμης ενέργειας. Με βάση την νέα τροποποίηση, οι σταθμοί παραγωγής ενέργειας από ανανεώσιμες πηγές θα θεωρείται ότι εξυπηρετούν υπερισχύον δημόσιο συμφέρον, γεγονός που θα ενθαρρύνει και θα επιταχύνει την έκδοση αδειών και θα επιτρέπει συγκεκριμένες παρεκκλίσεις από την περιβαλλοντική νομοθεσία της ΕΕ. Ωστόσο, ακόμη το πλαίσιο πολιτικής για την ενέργεια για το 2030 και για την μετά το 2030 περίοδο βρίσκεται υπό συζήτηση.

Η οδηγία RED II ορίζει ορισμένα σημαντικά κριτήρια σχετικά με τα βιοκαύσιμα. Αναλυτικότερα:

1. Παρόλο που δεν περιλάμβανε αρχικά υποστόχους σχετικά με τις μεταφορές, στην πορεία ορίστηκε ότι τα κράτη μέλη πρέπει να απαιτούν από τους προμηθευτές καυσίμων να παρέχουν τουλάχιστον το 14% της ενέργειας που καταναλώνεται στις οδικές και σιδηροδρομικές μεταφορές έως το 2030 ως ανανεώσιμη ενέργεια.
2. Παράλληλα, ορίζονται διάφορα κριτήρια σχετικά με την βιωσιμότητα και με τις εκπομπές GHGs (Greenhouse Gases) με τα οποία πρέπει να συμμορφώνονται τα βιοκαύσιμα που χρησιμοποιούνται στις μεταφορές .Ορισμένα από αυτά τα κριτήρια είναι τα ίδια όπως στο αρχικό RED, ενώ άλλα είναι νέα ή αναδιατυπωμένα. Ειδικότερα, η RED II εισάγει την αειφορία για τις πρώτες ύλες δασοκομίας, καθώς και κριτήρια GHG για στερεά και αέρια καύσιμα βιομάζας.
3. Η πρώτη ύλη που αναφέρεται στο Μέρος Α πρέπει να παρέχεται σε ποσοστό τουλάχιστον 0.2% της ενέργειας των μεταφορών το 2022, 1% το 2025 και τουλάχιστον 3.5% έως το 2030.
4. Τα βιοκαύσιμα που παράγονται από πρώτες ύλες που αναφέρονται στο Μέρος Β θα πρέπει να φτάσουν στο 1.7% το 2030.
5. Ενώ διατηρείται το ισχύον ανώτατο όριο του 7% για τα βιοκαύσιμα σε οδικές και σιδηροδρομικές μεταφορές, εισάγεται μια υποχρέωση σε επίπεδο ΕΕ για τους προμηθευτές καυσίμων να παρέχουν ένα ορισμένο ποσοστό (6,8%) καυσίμων χαμηλών εκπομπών και ανανεώσιμων καυσίμων, και μια επέκταση του πεδίου εφαρμογής των κριτηρίων βιωσιμότητας της ΕΕ για τη βιοενέργεια (ώστε να καλύπτουν τη βιομάζα και το βιοαέριο για την παραγωγή θερμότητας, ψύξης και ηλεκτρικής ενέργειας).
6. Μια ακόμη πρόταση οδηγίας στα πλαίσια του σχεδίου REPowerEU για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας είναι πως ορίστηκε στόχος σχετικά με τα με προηγμένα βιοκαύσιμα και το βιοαέριο, τα οποία έχουν ως στόχο μερίδιο 2,2 % των έως το 2030 και ενδιάμεσο στόχο 0,5 % έως το 2025.

Στους παρακάτω πίνακες (

Πίνακας 1-1, Πίνακας 1-2)παρουσιάζονται οι προηγμένες πηγές βιοκαυσίμων με βάση την RED II. Στην συνέχεια (Πίνακας 1-3) παρουσιάζονται οι ελάχιστες απαιτήσεις μείωσης GHGs όπως αυτές ορίζονται στην RED. Τα βιοκαύσιμα μπορούν να καταμετρηθούν στους στόχους της ΕΕ ή/και των κρατών μελών μόνο εάν πληρούν τις ελάχιστες απαιτήσεις αυτές. Τέλος στον Πίνακας 1-3 παρουσιάζονται τα όρια εξοικονόμησης των αερίων του θερμοκηπίου λόγω της χρήσης βιοκαυσίμων όπως αυτά ορίζονται στην RED II.

Πίνακας 1-1 :Προηγμένες πηγές βιοκαυσίμων, Μέρος Α και Μέρος Β στην RED II.

Μέρος Α	**Μέρος Β**
• Φύκια εάν καλλιεργούνται στη γη σε λίμνες ή φωτοβιοαντιδραστήρες. • Κλάσμα βιομάζας μικτών αστικών απορριμμάτων. • Βιολογικά απόβλητα από ιδιωτικά νοικοκυριά που υπόκεινται σε χωριστή συλλογή. • Κλάσμα βιομάζας βιομηχανικών αποβλήτων ακατάλληλο για χρήση στην αλυσίδα τροφίμων ή ζωοτροφών. • Άχυρο • Ζωική κοπριά και λάσπη λυμάτων. • Απόβλητα ελαιοτριβείου και άδεια τσαμπιά φρούτων φοινικέλαιου. • Ακατέργαστη γλυκερίνη. • Υπολείμματα ζαχαροκάλαμου. • Στέμφυλα και οινολάσπες. • Τσόφλια ξηρών καρπών. • Φλοιοί • Στάχια καθαρισμένα από κόκκους καλαμποκιού. • Κλάσμα βιομάζας αποβλήτων και υπολειμμάτων από τη δασοκομία και τις δασικές βιομηχανίες. • Άλλο μη εδώδιμο κυτταρινικό υλικό. • Άλλο λιγνοκυτταρινικό υλικό εκτός από κορμούς πριονιού και κορμούς καπλαμά.	• Μεταχειρισμένο μαγειρικό λάδι. • Μερικές κατηγορίες ζωικών λιπών.

Πίνακας 1-2: Προηγμένες πηγές βιοκαυσίμων, Μέρος Α και Μέρος Β στην RED II, εντολές και ανώτατο όριο.

Χρονολογία	**Ελάχιστες % μειώσεις εκπομπών GHG κάθε βιοκαυσίμου κατά RED σε σύγκριση με το αντίστοιχο ορυκτό καύσιμο.**
2009-2017	35%
2018 και έπειτα	50% για βιοκαύσιμα που παράγονται σε επιχειρήσεις που ξεκίνησαν την παραγωγή στις 5 Οκτωβρίου 2015 ή πριν. 60% για βιοκαύσιμα που παράγονται σε επιχειρήσεις που ξεκίνησαν την παραγωγή μετά τις 5 Οκτωβρίου 2015.

Πίνακας 1-3: Όρια εξοικονόμησης αερίων θερμοκηπίου στην RED II.

Χρονολογία έναρξης λειτουργίας εγκαταστάσεων	Βιοκαύσιμα μεταφοράς	Ανανεώσιμα καύσιμα μεταφοράς μη βιολογικής προέλευσης	Ηλεκτρισμός, θέρμανση και ψύξη
Πριν τον Οκτώβριο του 2015	50%	-	-
Μετά τον Οκτώβριο του 2015	60%	-	-
Μετά τον Ιανουάριο του 2021	65%	70%	70%
Μετά τον Ιανουάριο του 2026	65%	70%	80%

Ακόμη, η Οδηγία για την ποιότητα των καυσίμων (FQD, Fuel Quality Directive) (οδηγία 2009/30/ΕΚ) συμπλήρωσε την RED και υιοθετεί μέρος του περιεχομένου της, όπως τα κριτήρια βιωσιμότητας. Μια βασική απαίτηση στο άρθρο 7α της FQD είναι ότι όλοι οι προμηθευτές καυσίμων πρέπει να πληρούν 6% μείωση των εκπομπών GHG έως το 2020 σε όλες τις κατηγορίες καυσίμων που παρέχονται στην αγορά. Αυτό έχει σχεδιαστεί για να συνάδει με τον στόχο ελάχιστης χρήσης του 10% για τα βιοκαύσιμα και να μετατοπίσει τη ζήτηση προς τα βιοκαύσιμα με υψηλότερη εξοικονόμηση αερίων του θερμοκηπίου. Επιπλέον, η FQD περιορίζει τα μείγματα αιθανόλης στο 10% ή λιγότερο όταν χρησιμοποιείται η αιθανόλη ως οξυγονούχο, και θέτει όρια στην περιεκτικότητα του βιοντίζελ σε φοινικέλαιο και σογιέλαιο.

Τέλος, αρκετά βασικό είναι πως το 2018, τα βιοκαύσιμα αναμιγνύονταν σε ποσοστό 5.2% με τα ορυκτά καύσιμα. Η ανάμιξη συμβατικών βιοκαυσίμων (food-based) άγγιζε το 4.1%, τιμή αρκετά χαμηλότερη του 7% που είναι το όριο της νομοθεσίας μέχρι και το 2030 (RED II). Η ανάμιξη προηγμένων (non-food based) βιοκαυσίμων εκτιμάται στο 1.2%

1.3 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΓΙΑ ΣΤΕΡΕΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

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. [7]

Η Οδηγία 2008/98/ΕΚ αιτιολογούσε τη σημασία της χωριστής συλλογής των βιοαποβλήτων, ενώ η αναθεωρημένη οδηγία 2018/851/ΕΚ δεν αφήνει πλέον περιθώρια στα κράτη μέλη σχετικά με την χωριστή συλλογή των βιοαποβλήτων, 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. Το συγκεκριμένο σημείο της οδηγίας είναι ιδιαίτερα σημαντικό διότι 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. Σε εθνικό επίπεδο δεν έχουμε προχωρήσει σε εκτεταμένα προγράμματα διαλογής στην πηγή, και οι εγκαταστάσεις μηχανικής/βιολογικής επεξεργασίας που διαθέτουμε εφαρμόζουν μηχανική διαλογή σε σύμμεικτα απορρίμματα. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1-4) απεικονίζονται τα όρια σε περιεκτικότητα βαρεών μετάλλων για τα βιοαπόβλητα. [8], [9]

Πίνακας 1-4: Όρια βαρών μετάλλων στα βιοαπόβλητα

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

Ακόμη ορισμένες σημαντικές ευρωπαϊκές οδηγίες και κανονισμοί παρουσιάζονται περιληπτικά παρακάτω:

1. 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.
2. 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,
3. Η αποτέφρωση των βιολογικών αποβλήτων ρυθμίζεται στην οδηγία για την αποτέφρωση των αποβλήτων 2000/76/ΕΕ.
4. 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.

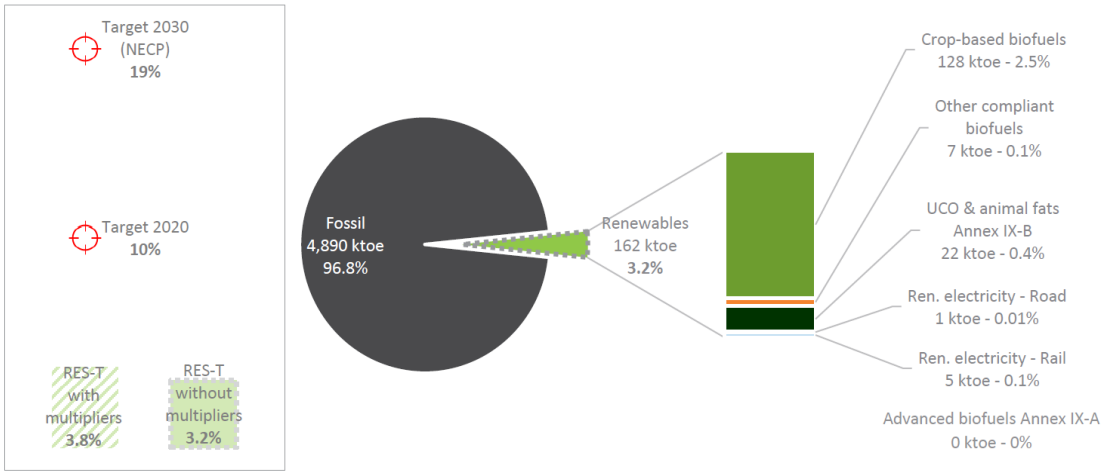
5. Οι απαιτήσεις υγιεινής καθορίζονται στον εκτελεστικό κανονισμό (ΕΕ) 142/2011, που τέθηκε σε ισχύ στις 4 Μαρτίου 2011 και τροποποιήθηκε με τον κανονισμό (ΕΕ) 294/2013.

1.4 ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΔΙΚΑΙΟ

Στο Ελληνικό δίκαιο έχουν ενσωματωθεί όλες οι σχετικές οδηγίες της Ε.Ε. . 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. 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 προωθηθούν συνεπείς στρατηγικές για την εκτροπή των βιοαποβλήτων από τους χώρους υγειονομικής ταφής. Η Οδηγία πρέπει να περιλαμβάνει κανονιστικές πτυχές (π.χ. συνθήκες για την εφαρμογή του κομπόστ κ.λπ.), αλλά κυρίως οδηγίες και στόχους που θα δημιουργήσουν ένα ασφαλές περιβάλλον που θα εξασφαλίσει μακροπρόθεσμα επιχειρηματικά σχέδια και επενδύσεις, στον τομέα των βιοαποβλήτων. Ένα σημαντικό ζήτημα που αντιμετωπίζουν οι υπεύθυνοι για τη λήψη αποφάσεων, όταν η διαχείριση βιολογικών αποβλήτων γίνεται σε τοπικό επίπεδο, είναι η βιωσιμότητα και το κόστος των συστημάτων χωριστής συλλογής, τα οποία έχουν ρόλο κλειδί στην παραγωγή καλής ποιότητας κομπόστ, που απαιτείται ώστε να ικανοποιούνται οι αρχές των «ευεργετικών επιπτώσεων» και «πρόληψης της μόλυνσης» που αναφέρονται εκτενώς, στη στρατηγική για το έδαφος.

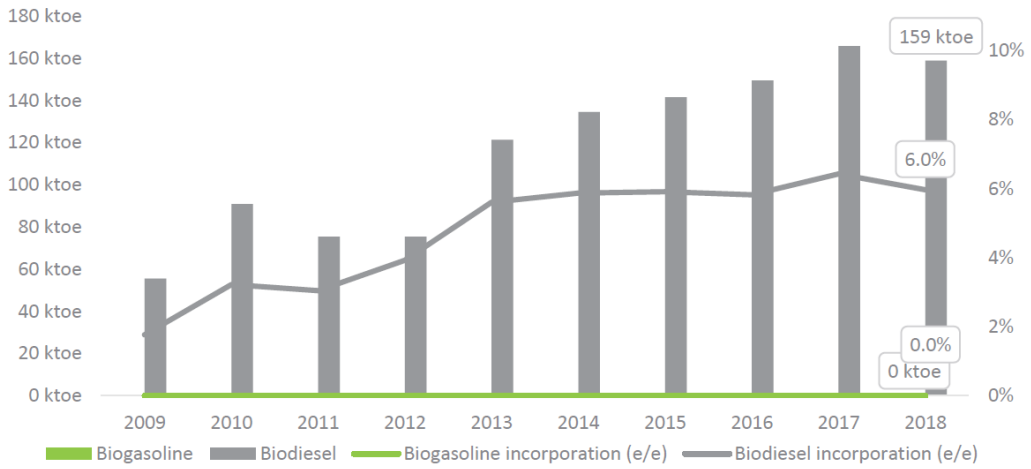
Υπάρχει η άποψη ότι ο υποχρεωτικός - επιτακτικός διαχωρισμός στην πηγή, δεν έχει την ευελιξία που απαιτείται για να καλυφθεί ένα ευρύ φάσμα κοινωνικών συνθηκών, διαφορετικών τύπων κατοικιών, πυκνότητας πληθυσμού και υφιστάμενων εγκαταστάσεων, σε όλη την Ευρώπη. Από αυτή την άποψη, ο καθορισμός στόχων για τη διαλογή στην πηγή και την κομποστοποίηση είναι μια προσέγγιση που στοχεύει στο αποτέλεσμα και παρέχει ένα βαθμό ελευθερίας στους υπεύθυνους λήψης αποφάσεων να επιλέξουν τους πιο κατάλληλους τρόπους κατά περίπτωση, για την εφαρμογή της διαλογής στην πηγή. Αντιθέτως η «γενική υποχρέωση» είναι πιθανό να οδηγήσει σε ελλιπώς σχεδιασμένα συστήματα που μεταφράζονται σε χαμηλά ποσοστά συμμετοχής και αποδοτικότητας

Η Ελλάδα σχεδιάζει να αυξήσει το Μερίδιο Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας στις μεταφορές στο 19% το 2030 με τα βιοκαύσιμα να αντιπροσωπεύουν το 80% του Μεριδίου Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας ή περίπου 371 ktoe (τόνος ισοδύναμου πετρελαίου) (έναντι των 157 ktoe το 2018) [4], [10]



Σχήμα 2: Ανανεώσιμες πηγές ενέργειας στις μεταφορές το 2018 [8].

.



Σχήμα 3 :Κατανάλωση βιοκαυσίμων και ενσωμάτωση τους στην ενέργεια [8].

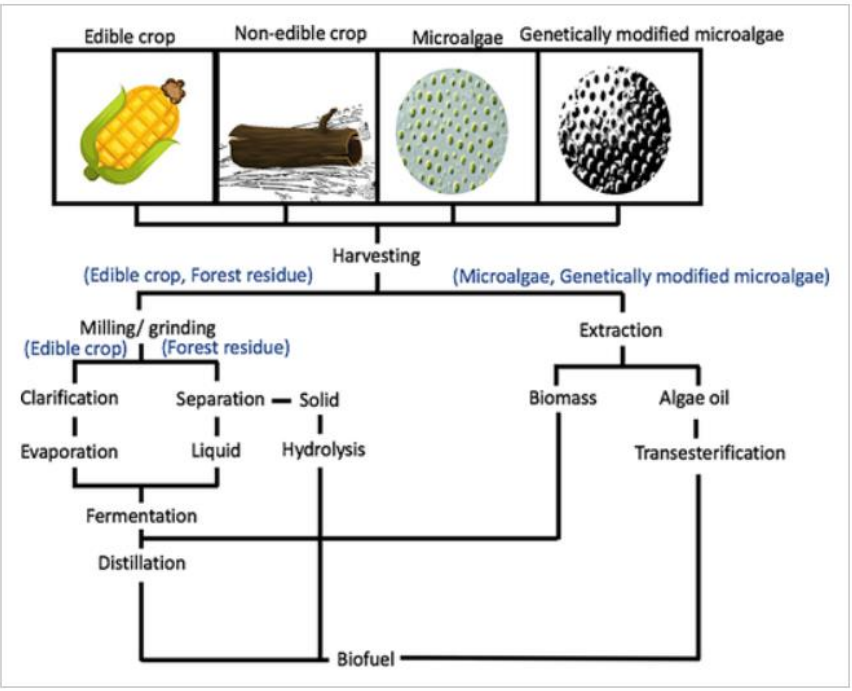
2 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Για την ανάπτυξη στο βιομηχανικό, εμπορικό και κοινωνικό τομέα αλλά και την προσωπική άνεση και κινητικότητα η ενέργεια έχει κύριο ρόλο. Τα πρώτα καύσιμα που χρησιμοποιήθηκαν από τον άνθρωπο ανήκαν στα βιοκαύσιμα και ήταν το ξύλο, το λίπος και τα άχυρα, τα οποία μετά αντικαταστάθηκαν από τα ορυκτά [11]. Η κύρια πηγή ενέργειας σε όλο τον κόσμο είναι τα ορυκτά καύσιμα, τα οποία αποτελούν υπολείμματα οργανισμών που υπήρχαν στην γη, υποβλήθηκαν στη θερμότητα και πίεση του φλοιού της γης για εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια και έχουν σχηματιστεί από την αερόβια αποσύνθεση νεκρών και θαμμένων οργανισμών (φυσική διεργασία). Με την πάροδο των χρόνων αυτή η αποσύνθεση έχει γίνει ένας υδρογονάνθρακας ικανός να περιέχει ενέργεια . Οι περισσότερες χώρες βασίζονται στα ορυκτά καύσιμα (πετρέλαιο, φυσικό αέριο και άνθρακα), προκειμένου να ικανοποιήσουν την ανάγκη για ενέργεια, χρησιμοποιώντας ως κυριότερη πηγή ενέργειας και χημικών το πετρέλαιο, με τρέχουσα ζήτηση περίπου 12 εκατομμυρίων τόνων την ημέρα και με πρόβλεψη να αυξηθεί στους 16 εκατομμύρια τόνους ημερησίως έως το 2030. Τα ορυκτά καύσιμα είναι η κύρια πηγή παγκόσμιας ενέργειας που συμβάλλει στο 88% της παγκόσμιας παραγωγής. Κυριαρχούν λοιπόν στο μείγμα καυσίμων με περίπου το 77% των ενεργειακών αναγκών του μέσου ευρωπαίου να καλύπτεται από πετρέλαιο, φυσικό αέριο και άνθρακα . Το 2017, η εκπομπή διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) από την καύση ορυκτών καυσίμων είχε αυξηθεί κατά 1,6% και αναμένεται να αυξάνεται περαιτέρω χρόνο με τον χρόνο. Πολλές ανθρώπινες δραστηριότητες απαιτούν την καύση των ορυκτών, με αποτέλεσμα την αύξηση των συγκεντρώσεων σε διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) και την εκπομπή αερίων θερμοκηπίου (GHGs) στην ατμόσφαιρα που έχει ως συνέπεια την υπερθέρμανση του πλανήτη, την κλιματική αλλαγή, την απελευθέρωση και άλλων επιβλαβών ουσιών όπως νιτρικά θειικά ή ανθρακικά οξέα τα οποία με τη σειρά τους είναι υπεύθυνα για την όξινη βροχή [12]Επιπλέον με την καύση των ορυκτών καυσίμων απελευθερώνονται αέρια του θερμοκηπίου συμπεριλαμβανομένου του υποξειδίου του αζώτου (N_2O) , του διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) και του μεθανίου (CH_4), απελευθερώνονται και διάφορες ραδιενεργές ουσίες όπως το ουράνιο (U) και το θόριο (Th), τα οποία περιέχονται στα ορυκτά καύσιμα σε μικρές ποσότητες. Το 2000 απελευθερώθηκαν περίπου 12.000 τόνοι ουρανίου και 5.000 τόνοι θορίου παγκοσμίως από την καύση κάρβουνου. Η καύση του λιθάνθρακα παράγει επίσης μεγάλα ποσά τέφρας και έτσι επιβαρύνονται οι γειτονικές κατοικημένες περιοχές, στις μεγάλες μονάδες που χρησιμοποιούν αυτό το καύσιμο, ενώ σημαντικά είναι και τα προβλήματα που προκαλούνται από τις μεθόδους εξόρυξης του άνθρακα, όπως για παράδειγμα στις υπεράκτιες εξορύξεις, που υπάρχει πιθανότητα διαρροής του υγρού στην θάλασσα. Ολέθριες είναι οι συνέπειες και σε περίπτωση θαλάσσιου ατυχήματος μεγάλου δεξαμενόπλοιου κατά την μεταφορά πετρελαίου, που θα οδηγούσε σε καταστροφή των κοντινότερων ακτών σε ακτίνα πολλών χιλιομέτρων. Για τους παραπάνω λόγους διερευνώνται διάφοροι εναλλακτικοί οδοί, συμπεριλαμβανομένης μιας σειράς πηγών χωρίς άνθρακα και ανανεώσιμων πηγών (αιολική και πυρηνική ενέργεια, φωτοβολταϊκά, υδρογόνο) στην προσπάθεια αντικατάστασης του φυσικού αερίου, του πετρελαίου και του άνθρακα στον τομέα παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας. Σχετικά με τα μέσα μεταφοράς δεν

έχει βρεθεί εναλλακτική λύση που μπορεί εύκολα να υιοθετηθεί από τον καθένα, αφού τα ηλεκτρικά/υβριδικά αυτοκίνητα απέχουν πολύ για να γίνουν κύρια οχήματά [13]

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί νέοι εναλλακτικοί τρόποι παραγωγής ενέργειας έναντι της χρήσης πετρελαίου και των προϊόντων του, τόσο για περιβαλλοντικούς όσο και για διαχειριστικούς και οικονομικούς λόγους [21 [14] . Ένας από τους κλάδους των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας είναι τα βιοκαύσιμα. Τα βιοκαύσιμα παράγονται από τη ζύμωση βιολογικών πρώτων υλών, που περιέχουν ζυμώσιμα σάκχαρα, λιπίδια ή υδατάνθρακες. Αυτό γίνεται με τη μετατροπή της βιομάζας των πρώτων υλών σε διαφορετικές μορφές ενέργειας όπως θερμότητα, ηλεκτρική ενέργεια, βιοαέριο και υγρά καύσιμα. Για να περιοριστεί η υπερθέρμανση του πλανήτη, η παραγωγή βιοκαυσίμων θα πρέπει να αυξηθεί από 9.7×10^6 GJ /d σε $4{,}6 \times 10^7$ GJ /d μεταξύ 2016 και 2040. Οι βιολογικές πρώτες ύλες των βιοκαυσίμων ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες που είναι η πρώτη, η δεύτερη, η τρίτη και η τέταρτη γενιά. Το παρακάτω σχήμα (*Σχήμα 4*) δείχνει τις διαδικασίες παραγωγής βιοκαυσίμων για κάθε πρώτη ύλη βιοκαυσίμου.



Σχήμα 4: Διεργασία παραγωγής βιοκαυσίμων για κάθε γενιά.

Τα βιοκαύσιμα είναι μη ρυπογόνα, τοπικά διαθέσιμα, βιώσιμα και αξιόπιστα καύσιμα που λαμβάνονται από ανανεώσιμες πηγές [15]. Κυριότεροι λόγοι για τους οποίους ειδικά τα τελευταία χρόνια προωθούνται όλο και περισσότερα τα βιοκαύσιμα είναι:

- Το γεγονός ότι παράγουν υψηλά ποσοστά ενέργειας με υψηλή απόδοση.
- Απελευθερώνουν πολύ λιγότερα ποσά CO_2 από την καύση τους συγκριτικά με τα συμβατικά καύσιμα και είναι έτσι πιο φιλικά προς το περιβάλλον.
- Είναι βιοαποδομήσιμα, βιώσιμα και σχετικά λιγότερο εύφλεκτα.
- Μπορούν να συμβάλλουν στη σταθεροποίηση των τιμών της ενέργειας και στη διατήρηση συναλλάγματος.

- Η οικιακή χρήση τους δεν προκαλεί απειλή στην υγεία και ασφάλεια των πολιτών σε αντίθεση με τα ορυκτά καύσιμα [[16],[17] .

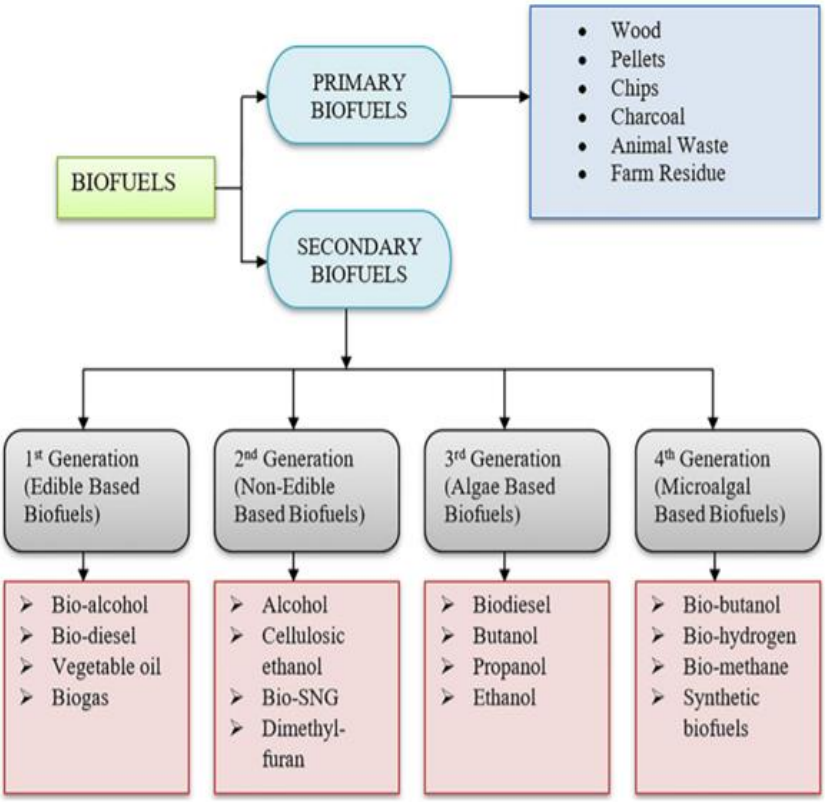
Τα βασικότερα βιοκαύσιμα που κυκλοφορούν σήμερα είναι:

- Το βιοντίζελ που παράγεται από τα φυτικά και ζωικά λίπη και αποτελεί ένα άριστο υποκατάστατο του συμβατικού ντίζελ. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτούσιο ή και σε συνδυασμό με το συμβατικό στους ήδη υπάρχοντες πετρελαιοκινητήρες .
- Η βιοαιθανόλη που παράγεται από σακχαρούχες, κυτταρινούχες και αμυλούχες πρώτες ύλες και μπορεί και αυτή να χρησιμοποιηθεί σε μίγματα με τη βενζίνη .
- Το βιοαέριο που παράγεται από τα οργανικά αγροτοβιομηχανικά και άλλα απόβλητα και υπολείμματα και από ενεργειακά φυτά.
- Τα πέλλετς (pellets) και οι μπρικέτες (briquettes) που παράγονται από υπολείμματα γεωργικών καλλιεργειών (γεωργική βιομάζα) και υπολείμματα καλλιέργειας των δασών και επεξεργασίας του ξύλου (δασική βιομάζα) [[16], [14]
- Το SAF ένα υγρό αεροπορικό βιοκαύσιμο . Μειώνει τις εκπομπές CO_2 έως 80%. Μπορεί να παραχθεί από πρώτες ύλες συμπεριλαμβανομένων των χρησιμοποιημένων ελαίων και λιπών, των αστικών αποβλήτων και διαφόρων μη εδώδιμων καλλιέργειών.. Είναι «βιώσιμο» καθώς η ακατέργαστη πρώτη ύλη για την παραγωγή του δεν ανταγωνίζεται καλλιέργειες τροφίμων ή προμήθειες νερού, και δεν είναι υπεύθυνη για υποβάθμιση των δασών. Ενώ τα ορυκτά καύσιμα εκπέμπουν CO2 στην ατμόσφαιρα, το SAF ανακυκλώνει το CO2 που έχει απορροφηθεί από τη βιομάζα που χρησιμοποιείται σε την πρώτη ύλη κατά τη διάρκεια της ζωής της συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο και στην κυκλική οικονομία. [[18] .

Ωστόσο, τα βιοκαύσιμα εμφανίζουν και ορισμένα μειονεκτήματα, όπως το ότι είναι πιο ακριβά συγκριτικά με τα συμβατικά, παρουσιάζοντας υψηλότερο αρχικό κόστος παραγωγής Ακόμη, η παραγωγή τους απαιτεί μεγάλα ποσά ενέργειας, αλλά και τυχόν ανησυχίες ότι η αυξημένη ζήτηση τους θα αυξήσει το κόστος των γεωργικών και ξυλωδών προϊόντων και ότι η συνεχής ζήτηση για ξύλο θα οδηγήσει στην αποψίλωση των δέντρων. Παρά τα παραπάνω μειονεκτήματα, τα βιοκαύσιμα αποτελούν μια βιώσιμη και οικονομικά προσιτή επιλογή ενεργειακού πόρου που μπορεί να αντικαταστήσει τα ορυκτά καύσιμα με την ταυτόχρονη μεγάλη περιβαλλοντική τους συνεισφορά επιτυγχάνοντας την μείωση του CO_2 και τον μετριασμό του άνθρακα [23 [17], [19]].

2.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ

Τα βιοκαύσιμα κατατάσσονται σε 4 κατηγορίες, πρώτης, δεύτερης, τρίτης και τέταρτης γενιάς με βάση τις πηγές που προέρχονται για την παραγωγή τους, όπως παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα (*Σχήμα 5*) [16].



Σχήμα 5 :Τα είδη Βιοκαυσίμων και οι γενιές τους.

2.2.1 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 1ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ

Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς παράγονται από βρώσιμες πρώτες ύλες όπως το σογιέλαιο, το κραμβέλαιο, το φοινικέλαιο, το ηλιέλαιο, το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο, η σόγια , ο ηλίανθος, τα ζαχαρότευτλα και το σιτάρι. Οι πρώτες ύλες αυτές, επεξεργάζονται και μετατρέπονται σε βιοαιθανόλη ή βιοντίζελ μέσω ζύμωσης ή μετεστεροποίησης αντίστοιχα και έπειτα μέσω της διεργασίας της απόσταξης απομακρύνονται τυχόν ακαθαρσίες και αυξάνεται η καθαρότητα του τελικού προιόντος. Τα βιοκαύσιμα που παράγονται από πρώτες ύλες με βάση το άμυλο πριν την ζύμωση απαιτούν μια προκατεργασία , καθώς έχουν δομή πολυμερούς μακράς αλυσίδας γλυκόζης η οποία πρέπει να αναλυθεί σε μικρότερη αλυσίδα με σκοπό να εξασφαλιστεί η επιτυχής βιομετατροπή . Οι παραπάνω πρώτες ύλες καλλιεργούνται σε μονοκαλλιέργειες, δηλαδή μόνο ένας τύπος πρώτης ύλης καλλιεργείται στον ίδιο χώρο ταυτόχρονα. Οι πιο ευρέως διαδεδομένες βρώσιμες πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς είναι το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο και το σιτάρι . Η παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς έχει διατεθεί στο εμπόριο και συμβάλλει σε περίπου 50 δισεκατομμύρια λίτρα της συνολικής παραγωγής βιοκαυσίμων ετησίως.

Ωστόσο, η περιβαλλοντική αξία των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς αμφισβητείται εν μέρει καθώς οι βρώσιμες πρώτες ύλες καταλαμβάνουν μεγάλες εκτάσεις γης έναντι των καλλιεργήσιμων εκτάσεων για τρόφιμα. Ακόμη έχουν σημαντικές απαιτήσεις σε παροχή νερού, λιπασμάτων και κατανάλωση ενέργειας. Ακόμη, ορισμένες πιθανές επιπτώσεις είναι η αποψίλωση των δασών, η εκμετάλλευση των φυσικών οικοσυστημάτων, η καύση θάμνων

και οι αυξήσεις στις τιμές των βρώσιμων ελαίων που χρησιμοποιούνται για το βιοντίζελ[16]

Αξιολόγηση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου της πρώτης γενιάς βιοκαυσίμων.

Η χρήση βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς είναι ιδιαίτερα σημαντική για την επίτευξη των παγκόσμιων περιβαλλοντικών στόχων που αφορούν την αντιμετώπιση της κλιματικής αλλαγής. Αρχικά, μειώνουν τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου (GHGs) σε σχέση με τα συμβατικά καύσιμα και ταυτόχρονα, η καλλιέργεια των πρώτων υλών απορροφά διοξείδιο του άνθρακα από την ατμόσφαιρα. Συγκεκριμένα, αναφορικά με την βιοαιθανόλη , η οποία έχει παραχθεί από ζαχαροκάλαμο, οι εκπομπές GHGs μειώνονται κατά 59% έως 82% συγκριτικά με την συμβατική βενζίνη. Ωστόσο κατά την Ανάλυση Κύκλου Ζωής του συγκεκριμένου βιοκαυσίμου έχει προκύψει πως κατά την χρήση του απελευθερώνεται σημαντική ποσότητα N_2O στην ατμόσφαιρα εξαιτίας της χρήσης λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται κατά την καλλιέργεια ζαχαροκάλαμου, γεγονός αποθαρρυντικό σχετικά με το περιβαλλοντικό αποτύπωμα της συγκεκριμένης βιοαιθανόλης. Αναφορικά με την χρήση βιοντίζελ ,που παράγεται με βάση καλλιέργειες ηλίανθου, είναι πιθανόν να μειώσει από 45% έως 65% τις εκπομπές GHGs συγκριτικά με το συμβατικό ντίζελ. [15]

Αξιολόγηση της ενεργειακής απόδοσης της πρώτης γενιάς βιοκαυσίμων.

Το Ινστιτούτο Μελετών Περιβάλλοντος και Ενέργειας, ορίζει την ενεργειακή απόδοση ως την ελάχιστη ενέργεια που απαιτείται για την παροχή ή εκτέλεση ίδων υπηρεσιών περιορίζοντας την απώλεια ενέργειας. Ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας για το ενεργειακό ισοζύγιο στην παραγωγή βιοκαυσίμων είναι οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται. Υπάρχουν τρεις βασικές κατηγορίες ενεργειακής κατανάλωσης σε όλη την διαδικασία παραγωγής. Αυτές είναι, η κατανάλωση ενέργειας κατά την καλλιέργεια των πρώτων υλών, η κατανάλωση ενέγειας κατά την μεταφορά και τέλος η κατανάλωση ενέργειας στις διεργασίες παραγωγής βιοκαυσίμου. Οι ενεργειακές απαιτήσεις για την παραγωγή βιοαιθανόλης πρώτης γενιάς κυμαίνονται από 0.9 έως 1.7 MJ / MJ βιοαιθανόλης. Αντίστοιχα, για την παραγωγή βιοκαυσίμου πρώτης γενιάς με πρώτη ύλη το φυτικό έλαιο οι ενεργειακές απαιτήσεις κυμαίνονται από 0.6 έως 2.5 MJ / MJ βιοκαυσίμου. Ένα παράδειγμα που αναλύει την κατανομή ενεργειακών καταναλώσεων κατά την παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς είναι αυτό της παραγωγής βιοαιθανόλης με πρώτη ύλη το καλαμπόκι. Για την παραγωγή 1 L αποτούνται περίπου 15 MJ ενέργειας από τα οποία το 36% καταναλώνεται κατά την άλεση του καλαμποκιού και το 63% κατά τις διεργασίες παραγωγής του βιοκαυσίμου (απόσταξη, αφυδάτωση κ.α.). Η Ενεργειακή Απόδοση των διαφόρων πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς επηρεάζεται σε πολύ μεγάλο βαθμό από παράγοντες όπως η χώρα, τύπος του εδάφους της καλλιέργειας και οι διεργασίες μετατροπή.

2.2.2 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 2ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ

Τα βιοκαύσιμα 2ης γενιάς ή αλλιώς προηγμένα βιοκαύσιμα έχουν αρχίσει να αναπτύσσονται για να ξεπεραστούν οι περιορισμοί και οι αδυναμίες των βιοκαυσίμων 1ης 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. Η συγκεκριμένη

κατηγορία βιοκαυσίμων μπορεί να παρέχει μεγαλύτερο μέρος προμήθειας καυσίμου με πιο βιώσιμο και οικονομικό τρόπο. Οι διεργασίες παραγωγής είναι αντίστοιχες με αυτές των βιοκαυσίμων 1ης γενιάς με ορισμένες όμως διαφορές στην προεπεξεργασία της πρώτης ύλης. Συγκεκριμένα, για τις λιγνοκυτταρινικές βιομάζες πριν από την μετατροπή τους απαιτείται προεπεξεργασία για την ανάκτηση των ζυμώσιμων σακχάρων ενώ στην συνέχεια ακολουθούν οι διεργασίες υδρόλυσης, ζύμωσης και απόσταξης . Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα των βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς είναι ότι η πρώτη ύλη δεν χρειάζεται να καλλιεργηθεί καθώς χρησιμοποιείται από βιομάζα αποβλήτων. Ωστόσο, οι πρώτες ύλες αυτές έχουν μικρότερο χρονικό περιθώριο που τους επιτρέπει να είναι διαθέσιμες προς παραγωγή βιοκαυσίμων [15] .
Η ποσότητα της λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για βιοκαύσιμα 2ης γενιάς μπορεί να φτάσει ετησίως από από 5 εως 8 εκατομμύρια τόνους. Αναλύοντας τις βιώσιμες προοπτικές της παραγωγής βιοκαυσίμων από την συγκεκριμένη πρώτη ύλη, παρατηρείται ότι υπάρχουν προοπτικές για μείωση των εκπομπών των αερίων του θερμοκηπίου . Στην Ε.Ε. έχουν ξεκινήσει σημαντικά έργα στη χρήση βιοκαυσίμων με βάση τη λιγνοκυτταρινούχο βιομάζα, στην κατεύθυνση της ενεργειακής μετάβασης από τα ορυκτά καύσιμα. Τα έργα αυτά βασίζονται στην κυκλική οικονομία και την προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης της βιοενέργειας. Οι υπάρχουσες τεχνολογικές μετατροπής βιομάζας σε βιοκαύσιμα βασίζονται σε βιοχημικές, θερμοχημικές και υβριδικές διεργασίες. Στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 6) παρουσιάζονται συνοπτικά το περιβαλλοντικό αντίκτυπο και οι εκπομπές GHGs των πρώτων υλών βιοκαυσίμων 2ης γενιάς.

Lignocellulose biomass	Bioenergy	Conversion technologies	Environmental impacts	GHGs emission
Rice straw	Coal power	Co-firing	Acidification, global warming, and toxicity	Acidification caused by the utilization of chemicals and fertilisers
Wood residue	Bioelectricity	Co-firing	Global warming	894.3 g CO_2 eq/ kWh
Crops and wheat straw	Bioelectricity	Co-firing	Global warming	298-ton CO_2 eq/TJ
Corn stover	Biofuels	Pyrolysis	Global warming	7.65-ton CO_2 eq/ha
Poplar	Biofuels	Pyrolysis	Ozone layer depletion, global warming and acidification	50.54 kg CO_2 eq/MJ and release of acid gases
Forest residue	Biofuels	Pyrolysis	Global warming	98-117 g CO_2 eq/km
Forest residue	Heat and power	Gasification	Ozone layer depletion, global warming and acidification	8.8-10.5 g CO_2 eq/MJ
Willow biomass	Heat and power	Gasification	Global warming and acidification	Acidification caused by the utilization of chemicals and fertilisers
Birch wood	Heat	Combustion	Global warming and acidification	80-110 g CO_2 eq/ kWh
Rice husk	Bioelectricity	Combustion	Toxicity, global warming and acidification.	217.33 kg CO_2 eq/MWh
Forest residue	Power	Combustion	Global warming	11–14 g CO_2 eq/kWh

Σχήμα 6: Περιβαλλοντικό αντίκτυπο και εκπομπές GHGs διαφόρων τύπων λιγνοκυτταρινουχου βιομάζας [15].

2.2.3 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 3ΗΣ ΓΕΝΙΑΣ

Τα βιοκαύσιμα 3ης γενιάς μαζί με τα βιοκαύσιμα 2ης γενιάς ανήκουν στην κατηγορία των προηγμένων βιοκαυσίμων. Βασίζονται σε βελτιώσεις σχετικά με την παραγωγή βιομάζας, και εκμεταλλεύονται τις ειδικά σχεδιασμένες ενεργειακές καλλιέργειες, όπως τα φύκη ως πηγή ενέργειας. Τα φύκη, καλλιεργούνται έτσι ώστε να αποτελούν ταυτόχρονα χαμηλού

κόστους και υψηλής παρεχόμενης ενέργειας, πρώτες ύλες. Έχουν τη δυνατότητα να παράγουν περισσότερη ενέργεια ανά στρέμμα από τις συμβατικές καλλιέργειες .Τα φύκια αυτά χρησιμοποιούνται ως πηγή επειδή περιέχουν έλαια πλούσια σε ενέργεια ενώ ταυτόχρονα, παρουσιάζουν αρκετά ακόμη περιβαλλοντικά σημαντικά χαρακτηριστικά[16] .Η βιομάζα των φυκών καταναλώνει το CO_2 από τις εκπομπές των σταθμών παραγωγής ενέργειας μετατρέποντάς το μέσω της φωτοσύνθεσης. Με την φωτοσύνθεση εκπέμπεται στην ατμόσφαιρα οξυγόνο άρα η καλλιέργεια και η χρήση των φυκών ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων είναι μία από τις στρατηγικές για την επίτευξη της μείωσης των εκπομπών του CO_2 [17]

Τα καύσιμα με βάση τα φύκη στοχεύουν στον περιορισμό των αδυναμιών καυσίμων προηγούμενων γενιών. Τα φύκη κοστίζουν παραπάνω από άλλες καλλιέργειες βιοκαυσίμων λόγω της υψηλής επένδυσης τους και του κόστους εργασίας, παράγουν όμως 10-100 φορές μεγαλύτερες ποσότητες βιοκαυσίμων [16],[20] . Τα βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς που μπορούν να παραχθούν συνθέτουν ένα ευρύ φάσμα, μερικά από αυτά είναι το βιοντίζελ, η βιοαιθανόλη και αεροπορικά βιοκαύσιμα. Παράλληλα, τα μικροφύκη μπορούν να παράγουν βιομόρια όπως πρωτεΐνες, βιταμίνες, υδατάνθρακες, λιπίδια και άλλα. Ωστόσο, η καλλιέργεια τους απαιτεί μεγάλη ποσότητα γλυκού νερού και θρεπτικών ουσιών που μπορούν να αυξήσουν το κόστος καλλιέργειας. Μία λύση μείωσης του κόστους παραγωγής είναι η χρήση των απορριμμάτων τροφίμων και της πηγής λυμάτων ως πηγή θρεπτικών ουσιών.

2.2.4 ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΑ 4^{ΗΣ} ΓΕΝΙΑΣ

Πρόκειται για βιοκαύσιμα που βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό εργαστηριακό στάδιο και αναπτύσσονται από γενετικά τροποποιημένα φύκη. Η συγκεκριμένη κατηγορία βιοκαυσίμων στοχεύει στην παραγωγή βιώσιμης ενέργειας, στην αυξημένη δυνατότητα δέσμευσης CO_2 αλλά και στην υψηλότερη περιεκτικότητα σε έλαιο. Παράλληλα, στοχεύει στην ανάπτυξη διεργασιών παραγωγής βιοκαυσίμων αρνητικού άνθρακα καθώς αποτελούν μια τεχνητή δεξαμενή αποθήκευσης CO_2. Η παροχή ενέργειας στα βιοκαύσιμα 4^{ης} γενιάς προέρχεται από μικροφύκη, μακροφύκη και κυανοβακτήρια . Τα υλικά βιομάζας, τα οποία έχουν απορροφήσει CO_2, μετατρέπονται σε καύσιμο. 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 αποθηκεύοντάς 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 CO_2 αντικαθιστώντας έτσι με πολύ ευνοϊκούς όρους τα ορυκτά καύσιμα. [16], [17], [21]

2.3 ΚΟΣΤΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ

Το κόστος παραγωγής βιοκαυσίμων παίζει επίσης μεγάλο ρόλο στον καθορισμό της βιωσιμότητας του βιοκαυσίμου. Το κόστος παραγωγής καλύπτει το κόστος της πρώτης ύλης, το κόστος επεξεργασίας και το κόστος κεφαλαίου. Το συνολικό κόστος παραγωγής αιθανόλης και βιοντίζελ της πρώτης γενιάς βιοκαυσίμων είναι 0,49 $/L και 0,86 $/L, αντίστοιχα. Το παρακάτω σχήμα (Σχήμα 7) συνοψίζει το εκτιμώμενο κόστος παραγωγής βιοκαυσίμων στην Ε.Ε. . Η επέκταση της χρήσης βιοκαυσίμων απαιτεί επίσης αρκετές εκτιμήσεις όσον αφορά τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις, την κατανάλωση ενέργειας, τη συντήρηση και τις φορολογικές πολιτικές για την αντικατάσταση των καυσίμων με βάση το πετρέλαιο με εναλλακτικά βιοκαύσιμα [15].

Country	Biodiesel (EUR Million)	Ethanol (EUR Million)
France	2220	644
Germany	2340	1310
Italy	1410	239
Spain	1580	377
United Kingdom	797	537
EU	11 900	4930

Σχήμα 7: Κόστος παραγωγής βιοντίζελ και βιοαιθανόλης 1ης γενιάς [15]..

3 ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

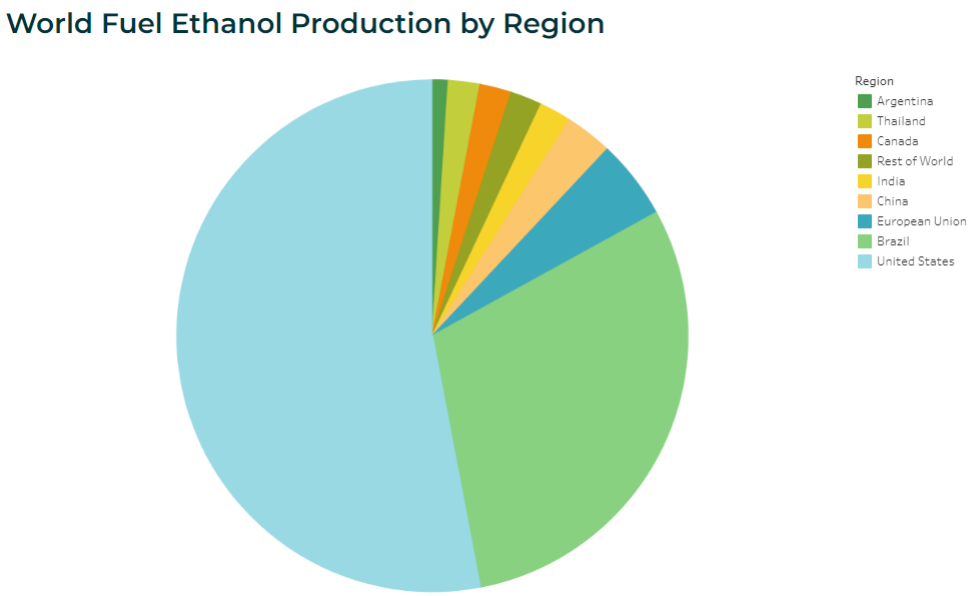
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αιθανόλη είναι μια ιδιαίτερα σημαντική χημική ένωση με χρήσεις και εφαρμογές σε πληθώρα τομέων και βιομηχανιών όπως τα τρόφιμα, τα αλκοολούχα ποτά, τα φαρμακευτικά προϊόντα και τα καύσιμα. Η παραγωγή αλκοολούχων ποτών που έχουν ως βάση τους κυρίως την αιθανόλη χρονολογείται περίπου τον 12^{ο} αιώνα , κυρίως σε χώρες που ξεκίνησαν την παραγωγή μπύρας μέσω διαδικασίας ζύμωσης κυρίως αμυλούχων πρώτων υλών. Η παραγωγή της αιθανόλης είναι επίσης μια πολύ ανεπτυγμένη διαδικασία. Τον 19^{ο} αιώνα, οι βελτιστοποιήσεις των διεργασιών παραγωγής αιθανόλης και των αποτελεσματικότερων διαδικασιών απόσταξης, οδήγησαν σε μεγάλη αύξηση του βιομηχανικού εμπορίου της. Η μεγαλύτερη ποσότητα της βιομηχανικής παραγόμενης αιθανόλης εδώ και πολλά χρόνια χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή αλκοολούχων ποτών.

Η χρήση αιθανόλης ως ένας φορέας ενέργειας και συγκεκριμένα ως βιοκαύσιμο πρόσθετο στις βενζίνες ξεκίνησε στα τέλη του 19^{ου} αιώνα. Οι αρχικές έρευνες για την χρήση αιθανόλης καταγράφηκαν από τον Nicolaus Otto για την τροφοδοσία μιας μηχανής εσωτερικής καύσης τεσσάρων κύκλων, το 1826, και το 1876 . Σε συνέχεια αυτού το 1908, κατασκευάστηκε το Ford Model T,το οποίο ήταν το πρώτο αυτοκίνητο με κινητήρα συμβατό έτσι ώστε να μπορεί να λειτουργήσει με μείγμα αιθανόλης ως καύσιμο[22] .Στην συνέχεια, η ταχύτατη ανάπτυξη της πετρελαιοβιομηχανίας δεν άφησε ιδιαίτερα περιθώρια στην αιθανόλη της οποίας η χρήση ως καυσίμου ήταν αμελητέα μέχρι τα τέλη του 20^{ου} αιώνα. Ωστόσο, εξαιτίας των αυξήσεων των τιμών του ακατέργαστου πετρελαίου και των περιβαλλοντικών ανησυχιών λόγω της μολυβδούχου βενζίνης δημιουργήθηκε η ανάγκη για ένα φιλικότερο προς το περιβάλλον καύσιμο με βάση το οκτάνιο. Έτσι, η αιθανόλη έδειξε μια αναβίωση ως καύσιμο από ανανεώσιμα υποστρώματα όπως η ζάχαρη το άμυλο ή ακόμα και οι κυτταρίνες. Η παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης βασίζεται περίπου στο 40% σε υποστρώματα ζάχαρης όπως το ζαχαροκάλαμο και τα ζαχαρότευτλα και περίπου 60% σε αμυλούχα υποστρώματα με τα πιο διαδεδομένα να είναι το καλαμπόκι στις ΗΠΑ και το σιτάρι στην Ευρώπη. Αρχικά, το καλαμπόκι ήταν η μόνη πρώτη ύλη που χρησιμοποιούταν για την παραγωγή αιθανόλης λόγω της μεγάλης διαθεσιμότητάς του και της ευκολίας μετατροπής του σε αλκοόλη [23] .Η ανακάλυψη ότι τα αναμεμειγμένα με αιθανόλη καύσιμα προκαλούν σημαντική μείωση των εκπομπών μονοξειδίου του άνθρακα, και έτσι αποτελούν μια πιο φιλική προς το περιβάλλον εναλλακτική, οδήγησε στην αυξημένη παραγωγή αυτού του καυσίμου κατά τη δεκαετία του 1990. Η βιοαιθανόλη δεν αποτελεί λοιπόν 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. Το 1933, ένας Αμερικανός έμπορος πετρελαίου, Earl Coryell, άρχισε να προμηθεύει βενζίνη καλαμποκιού-αλκοόλης στο βενζινάδικό του στο Λίνκολν. Σε αυτή τη φάση τα καύσιμα αυτά ονομάζονταν ευρέως "gasohol", ένας όρος που υποδήλωνε ένα μείγμα από 10% αλκοόλη με βάση το καλαμπόκι (αιθανόλη) και 90% βενζίνη. [24], [25]

Η παραγωγή βιοαιθανόλης από ανανεώσιμες πηγές και τα πλεονεκτήματα για πιο πράσινες εναλλακτικές λύσεις έχουν οδηγήσει την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα σε ολοένα και αυξανόμενες έρευνες με σκοπό την ανάπτυξη τεχνολογιών για την επίτευξη υψηλότερης μετατροπής βιομάζας και, κατά συνέπεια, υψηλότερη απόδοση και καθαρότητα βιομηχανικού επιπέδου. Με αυτόν τον τρόπο, η παραγωγή βιοαιθανόλης μπορεί να μειώσει την κατανάλωση αργού πετρελαίου. [24]

Στον όγκο της παγκόσμιας αγοράς η παραγωγή της βιοαιθανόλης φαίνεται συνεχώς να αυξάνεται όπως παρουσιάζεται και από τα στατιστικά στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 9). Ακόμη όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα (*Σχήμα 8*), η παραγωγή της είναι πολύ πιο διαδεδομένη και ανεπτυγμένη στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και στην Βραζιλία σε σχέση με την Ευρωπαϊκή Ένωση[26] . Από την παραγόμενη βιοαιθανόλη ετησίως το μεγαλύτερο μέρος της χρησιμοποιείται ως καύσιμο περίπου 68%, η βιομηχανική χρήση είναι 21% και το 11% χρησιμοποιείται σε ποτά .Η βιοαιθανόλη ως καύσιμο στην Ευρώπη χρησιμοποιείται σε μείγματα E5 δηλαδή σε αναλογία 5% αιθανόλη και 95% βενζίνη ενώ στις ΗΠΑ κυρίως σε μείγματα E10 δηλαδή σε αναλογία 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη.



Σχήμα 8 :Παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης ανά περιοχή. [26] .

Annual World Fuel Ethanol Production (Mil. Gal.)

Region	2016	2017	2018	2019	2020	2021	% of World Production
United States	15,413	15,936	16,091	15,778	13,941	15,016	55%
Brazil	6,840	6,730	8,060	8,860	8,100	7,320	27%
European Union	1,190	1,250	1,300	1,350	1,280	1,350	5%
China	730	850	810	1,010	930	870	3%
India	260	230	430	460	540	850	3%
Canada	460	460	460	497	429	434	2%
Thailand	330	380	390	430	390	360	1%
Argentina	240	290	290	290	210	270	1%
Rest of World	587	644	709	655	650	820	3%
Total	26,050	26,770	28,540	29,330	26,470	27,290	

Σχήμα 9 :Παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης (Εκατομ. Γαλόνια). [26] .

3.2 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Η αιθανόλη (EtOH ή αιθυλική αλκοόλη) έχει μοριακό τύπο CH3CH2OH (C2H6O) και μοριακό βάρος 46.07 g/mol. Είναι ένα άχρωμο υγρό με ήπια χαρακτηριστική οσμή και μπορεί να παραχθεί από άνθρακα, φυσικό αέριο και βιομάζα. Ακόμη, είναι πτητικό, διαφανές και ευδιάλυτο στο νερό υγρό, καθώς επίσης και σημαντικός διαλύτης [38]. Αναμιγνύεται με το νερό σε κάθε αναλογία και κατά την ανάμειξη τους παρατηρείται έκλυση θερμότητας και ελάττωση όγκου[27] . Μίγμα 95% αλκοόλης και 5% νερού χαρακτηρίζεται ως αζεοτροπικό, επειδή κατά την απόσταξη τους δεν διαχωρίζονται τα συστατικά τους, καθώς έχουν παρόμοια θερμοκρασία ζέσεως. Η καθαρή αιθανόλη έχει πυκνότητα 0.789 g/mL και σημείο βρασμού 78.5˚C και σημείο τήξης στους -117 ˚C. Είναι

ουσία που δεν επιφέρει κανένα κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Ταυτόχρονα, μπορεί να αναφλεγεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με σημείο ανάφλεξης 13.85 ˚C και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτικό καύσιμο, ως προσθετικό καυσίμου ή ακόμη ως πρώτη ύλη για την παραγωγή ETBE (αιθυλο-τριτοταγής βουτυλ-αιθέρας), που αποτελεί βελτιωτικό της βενζίνης για την αύξηση του αριθμού των οκτανίων . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται ορισμένες από τις βασικές ιδιότητες της αιθανόλης.

Πίνακας 3-1: Ιδιότητες Αιθανόλης.

Παράμετρος	**Αιθανόλη**
Χημικός τύπος	C2H6O
Μοριακό βάρος (g/mol)	46.07
Εμφάνιση	Άχρωμο υγρό
Πυκνότητα (g/cm3) στους 20 ˚C	Πυκνότητα 0.789
Σημείο βρασμού (˚C)	78.37
Τάση ατμών (kPa) στους 20 ˚C	5.95
Ιξώδες (Pa*s) στους 20 ˚C	0.0012
Σημείο ανάφλεξης (˚C)	13-14

3.3 ΧΡΗΣΕΙΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Η αιθανόλη αποτελεί την βασικότερη ουσία του κρασιού και πολλών αλκοολούχων ποτών, καθώς και μία από τις σημαντικότερες χημικές ουσίες που διαθέτει η βιομηχανία. Η διαλυτική της ικανότητα την καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμη για την εκχύλιση πολύτιμων φυσικών προϊόντων από φυτικούς και ζωικούς ιστούς. Ως βιομηχανική πρώτη ύλη, η αιθανόλη συμμετέχει στην παρασκευή [28]:

- Εναλλακτικών καυσίμων
- Οινοπνευματωδών ποτών
- Συγκολλητικών
- Προϊόντων υγιεινής
- Απορρυπαντικών
- Εκρηκτικών
- Μελανιών
- Χημικών
- Κρεμών χεριών
- Πλαστικών
- Χρωμάτων
- Διαλυτικών
- Κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων
- Ξυδιού και άλλων

Δύο τύποι αιθανόλης παράγονται παγκοσμίως, η ζυμωμένη και η συνθετική αιθανόλη. Η αιθανόλη που έχει υποστεί ζύμωση (βιοαιθανόλη) παράγεται από βιομάζα και χρησιμοποιείται κυρίως για καύσιμα, και για τη βιομηχανία ποτών. Η συνθετική αιθανόλη παράγεται από το αιθυλένιο, ένα υποπροϊόν του πετρελαίου και χρησιμοποιείται κυρίως σε βιομηχανικές εφαρμογές. Μια ακόμη κατηγοριοποίηση της αιθανόλης γίνεται με βάση την

καθαρότητά της. Ειδικότερα, υπάρχει η αιθανόλη 95%, η καθαρή αιθανόλη (99-100%) και η μετουσιωμένη αιθανόλη.

3.4 ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ ΩΣ ΚΑΥΣΙΜΟ

Η κατάργηση των μολυβδούχων πρόσθετων στις βενζίνες την δεκαετία του '90, για λόγους τοξικότητας, δημιούργησε την ανάγκη για εύρεση νέων συστατικών ανάμιξης της βενζίνης τα οποία και θα κάλυπταν την απώλεια αριθμού οκτανίου που προέκυπτε. Η ανάγκη αυτή καθιέρωσε την χρήση των οξυγονούχων ενώσεων, ως συστατικών ανάμιξης, στα τελικά προϊόντα των διυλιστηρίων. Δύο είναι οι κύριες κατηγορίες ενώσεων οι οποίες χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγω, οι αλκοόλες και οι αιθέρες. Οι βασικές αλκοόλες που χρησιμοποιούνται είναι η μεθανόλη, η αιθανόλη, η ισοποροπανόλη και η τριτοταγής βουτανόλη. Οι βασικότεροι αιθέρες που χρησιμοποιούνται είναι ο μέθυλο-τριτοταγής-βουτυλαιθέρας (MTBE), ο τριτοταγής- άμυλο-μεθυλαιθέρας (TAME), ο αίθυλο-τριτοταγής-βουτυλαιθέρας (ETBE) και μίγματα αυτών. Τα βασικά πλεονεκτήματα της χρήσης οξυγονούχων συστατικών συμπεριλαμβανομένης και της αιθανόλης στις βενζίνες είναι αρχικά, η μείωση εκπομπών GHGs και κυρίως μονοξειδίου του άνθρακα[29] Ακόμη, η μείωση της περιεκτικότητας της κατώτερης ατμόσφαιρας σε όζον σε περιοχές με υψηλό πληθυσμό υπό ιδιαίτερες κλιματολογικές συνθήκες. Το όζον προκύπτει από μια αλληλουχία σύνθετων χημικών αντιδράσεων μεταξύ των υδρογονανθράκων που υπάρχουν στην ατμόσφαιρα με οξείδια του αζώτου. Τέλος ιδιαίτερα σημαντικό είναι πως ικανοποιούνται οι απαιτήσεις των προδιαγραφών των βενζινών για τον αριθμό οκτανίων χωρίς την χρήση τοξικών προσθέτων αλλά με χρήση πιο περιβαλλοντικά φιλικών ενώσεων όπως οι παραπάνω αλκοόλες και αιθέρες οι οποίες μπορούν να έχουν και βιολογική προέλευση με δυνατότητα παραγωγής από ανανεώσιμες πρώτες ύλες. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις σε οξυγονούχα πρόσθετα στην βενζίνη με βάση το ευρωπαϊκό πρότυπο EN 228 (Πίνακας 3-2). Η ανάμιξη οξυγονούχων συστατικών, κυρίως αιθανόλης στις βενζίνες είναι αρκετά διαδεδομένη στην Βραζιλία, στις Ηνωμένες πολιτείες και τον Καναδά. Στην Ευρώπη η χρήση τους είναι ακόμα περιορισμένη όπως φαίνεται και από τις προδιαγραφές του παρακάτω πίνακα παρόλα αυτά στόχος της Ευρωπαϊκής Ένωσης είναι η σταδιακή αύξηση τόσο της παραγωγής όσο και της χρήσης τους .

Πίνακας 3-2 : Επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις οξυγονούχων συστατικών σε βενζίνες σύμφωνα με το ευρωπαϊκό πρότυπο EN 228

Οξυγονούχο συστατικό	**Μέγιστη περιεκτικότητα (%κ.ο.)**
Μεθανόλη	3.0
Αιθανόλη	5.0
Ισοπροπυλική αλκοόλη	10.0
Ισοβουτυλική αλκοόλη	10.0
Τριτοταγής βουτυλική αλκοόλη	7.0
Αιθέρες με 5 ή περισσότερα άτομα άνθρακα ανά μόριο	15.0
Άλλες οξυγονούχες ενώσεις	10.0

Η βιοαιθανόλη έχει ευρύτερα όρια ευφλεκτότητας, υψηλότερο αριθμό οκτανίων και ταχύτητες φλόγας από την συμβατική βενζίνη. Επιπλέον, έχει υψηλότερη ενθαλπία εξάτμισης σε σύγκριση με τη βενζίνη, πράγμα που σημαίνει ότι παγώνει τον αέρα επιτρέποντας την έλξη περισσότερης μάζας στον κύλινδρο και αυξάνει την ισχύ εξόδου.

Εκτός αυτού, η αιθανόλη έχει αντικροτικές ιδιότητες που βελτιώνουν την απόδοση του κινητήρα και δίνουν υψηλότερους λόγους συμπίεσης . Ακριβώς για αυτούς τους λόγους, η προσαρμογή των εμπορικών βενζινοκινητήρων σε καύσιμα με διάφορες αναλογίες αιθανόλης και βενζίνης είναι τρέχον ενδιαφέρον και έχουν γίνει πολυάριθμες προσπάθειες για αυτό το θέμα από ερευνητές σε όλο τον κόσμο την τελευταία δεκαετία. Στην συνέχεια αναλύονται ορισμένες σημαντικές παράμετροι και ιδιότητες των μειγμάτων αιθανόλης βενζίνης. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι φυσικοχημικές ιδιότητες αιθανόλης και βενζίνης [30]

Πίνακας 3-3: Φυσικοχημικές ιδιότητες αιθανόλης και βενζίνης.

Ιδιότητα	**Μονάδα Μέτρησης**	**Μέθοδος**	**Αιθανόλη**	**Βενζίνη**
Μοριακός Τύπος			C2H5OH	C4 - C12
Σύσταση (C,H,O)	(% Μάζα)	ASTM D5291- 02	52,13,35	86,14,0
Πυκνότητα 15 ºC	(kg/L)	ISO 12185	0.79	0.73
Σημείο Βρασμού	(ºC)	-	78.3	27-225
Θερμοκρασία αυτανάφλεξης	(ºC)	-	360	228-470
Σημείο Ανάφλεξης	(ºC)	ASTM D93	21.1	-45 έως -38
Κατωτέρα Θερμογόνος Δύναμη	(MJ/kg)	ASTM D240	27.0	43.5
Αριθμός Οκτανίων	VM	ASTM D2699	108	95
Αριθμός Κετανίων	-	ASTM D2700	11	0-10
Λανθάνουσα Θερμότητα Εξάτμισης	(KJ/kg)	-	838	223.2
Στοιχειομετρική αναλογία αέρα/καυσίμου	w/w	-	9.0	14.7
Ιξώδες στους 20 ºC	(mm^2/s)	-	1.19	0.37-0.44
Πίεση Κορεσμού στους 38 ºC	(KPa)	-	13.8	31
Όριο Ευφλεκτότητας στους 20 ºC	(vol%)	-	3.3-9	1.0-8.0
Αρωματικές ενώσεις	(%v/v)	-	0	33.3
Πρότυπη Ενθαλπία Σχηματισμού	(kJ/mol)	-	-224.1	-259.28

Ένα από τα σημαντικότερα αποτελέσματα της προσθήκης βιοαιθανόλης σε μίγματα βενζίνης είναι η αύξηση του αριθμού οκτανίου. Η βιοαιθανόλη παρουσιάζει τις καλύτερες αποδόσεις στην αύξηση RON και MON συγκριτικά με όλα τα υπόλοιπα οξυγονούχα πρόσθετα στις βενζίνες[31], [32].

Παράλληλα, ιδιαίτερα σημαντική είναι και η παράμετρος της διαλυτότητας του μίγματος βιοαιθανόλης/ βενζίνης στο νερό. Δεδομένου ότι η αιθανόλη είναι πλήρως αναμίξιμη με το νερό στην περίπτωση που προστεθεί νερό σε ένα τέτοιο μείγμα θα παρατηρηθεί διαχωρισμός του μίγματος σε δύο διακριτές στοιβάδες. Η κάτω στοιβάδα που δημιουργείται είναι ένα μίγμα πλούσιο σε αιθανόλη με νερό και η πάνω στοιβάδα αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από καθαρή βενζίνη. Αποτέλεσμα του φαινομένου αυτού είναι η δημιουργία ενός καυσίμου το οποίο έχει μειωμένο αριθμό οκτανίου, μη πληρώντας τις απαιτούμενες προδιαγραφές και ταυτόχρονα ένα κατώτερο στρώμα αποτελούμενο σε μεγάλο βαθμό από οξυγονούχο το οποίο σε περίπτωση που αντληθεί από το σύστημα τροφοδοσίας, το οποίο και βρίσκεται στο κάτω μέρος της δεξαμενής, θα σταματήσει την λειτουργία του κινητήρα. Η ανοχή ενός μίγματος βενζίνης/αλκοόλης αυξάνεται όταν η περιεκτικότητα της σε αρωματικά αυξάνεται καθώς και όταν υπάρχει παρουσία συνδιαλύτη ή κατάλληλα επιφανειακά ενεργών ενώσεων. Αντίθετα η ανοχή του μίγματος μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. [1]

Σχετικά με την τάση ατμών, η καθαρή βιοαιθανόλη παρουσιάζει την χαμηλότερη τιμή, από όλες τις υπόλοιπες οξυγονούχες ενώσεις, η οποία είναι 15.6 kPa. Ωστόσο όταν αναμειχθεί με μείγμα βενζίνης προκαλεί αύξηση της τάσης ατμών μέχρι περίπου το 7% περιεκτικότητας του μείγματος σε αιθανόλη και στη συνέχεια παρατηρείται ραγδαία μείωση. Η αιτία του φαινομένου αυτού, είναι ο σχηματισμός αζεότροπων μεταξύ των οξυγονούχων και των ελαφρών υδρογονανθράκων της βενζίνης τα οποία και μεταβάλουν την τάση ατμών[33], [32], [34].

Η καμπύλη απόσταξης αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες των βενζινών καθώς παρέχει πληροφορίες για την πτητικότητα του δείγματος και κατ' επέκταση για την ποιότητα καύσης του σε κινητήρες εσωτερικής καύσης .Η επίδραση της προσθήκης αιθανόλης στα κλάσματα της βενζίνης εντοπίζεται στην βάση της καμπύλης απόσταξης και συγκεκριμένα εμφανίζεται παραμόρφωση σε θερμοκρασίες από 60 μέχρι περίπου 100°C. Όσο η περιεκτικότητα του μίγματος σε αιθανόλη αυξάνεται τόσο η παραμόρφωση στην καμπύλη απόσταξης γίνεται εντονότερη, όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα. Παράλληλα παρατηρείται ότι η επίδραση της αιθανόλης μετατοπίζεται σε μεγαλύτερες τιμές ανάκτησης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της στο δείγμα παραμένοντας βέβαια στο ίδιο φάσμα θερμοκρασιών. Η παραμόρφωση αυτή προέρχεται από τον σχηματισμό αζεοτρόπου ελαχίστου μεταξύ της αιθανόλης και των συστατικών της βενζίνης βάσης. Η επίδραση της αιθανόλης, ανάλογα πάντα με το ποσοστό που περιέχεται στο μείγμα, εξασθενεί όσο αυξάνονται οι ανακτήσεις που μελετάμε, φαινόμενο που προκύπτει από την εξάτμιση της σε αυτές τις θερμοκρασίας. Παρατηρείται ότι η καμπύλη απόσταξης μετατοπίζεται σε όλο της το φάσμα προς τα κάτω, γεγονός που υποδεικνύει ότι η πτητικότητα του μείγματος αυξάνει όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα σε αιθανόλη. Πιο

συγκεκριμένα σημαίνει ότι εμφανίζεται η ίδια ανάκτηση αποστάγματος σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Η μεγαλύτερη διαφοροποίηση εμφανίζεται στην περιοχή 60 με 80°C όπου οι ανακτήσεις αυξάνονται αισθητά όσο αυξάνει η περιεκτικότητα της αιθανόλης.[35] [34].[36]

3.5 ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ.

3.5.1 ΑΜΥΛΟΥΧΕΣ ΠΗΓΕΣ

Οι αμυλούχες πηγές αποτελούν μια ευρέως διαδεδομένη πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης παγκοσμίως. Αυτό συμβαίνει κυρίως λόγω της διαθεσιμότητάς τους σε όλο τον κόσμο, της ευκολίας μετατροπής, της ικανότητας αποθήκευσης για μεγάλο χρονικό διάστημα και της υψηλής απόδοσης αιθανόλης. Αυτές οι πρώτες ύλες περιλαμβάνουν δημητριακά όπως καλαμπόκι, σιτάρι και κριθάρι τα οποία αποτελούνται από ποσοστό αμύλου από 60% έως 80%, ρίζες με ποσοστό αμύλου 60% εως 90% , όσπρια με ποσοστό αμύλου 25 εως 50% καθώς και πράσινα και ανώριμα φρούτα με ποσοστό αμύλου έως 70% . Το καλαμπόκι, οι σπόροι σόργου, το σιτάρι, οι πατάτες και οι γλυκοπατάτες είναι μερικές από τις φημισμένες πηγές αιθανόλης καυσίμου. Το άμυλο που αποθηκεύεται σε κόκκους αποτελείται από μακριές αλυσίδες μονάδων γλυκόζης, που περιέχουν 1000 μονομερείς μονάδες ή περισσότερες ανά δομή αμυλόζης και 1000–6000 μονάδες ή περισσότερα μονομερή ανά δομή αμυλοπηκτίνης. Αυτός ο τύπος πρώτης ύλης (κυρίως το καλαμπόκι και το σιτάρι) χρησιμοποιείται περισσότερο για την παραγωγή αιθανόλης στη Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη. Σε τροπικές χώρες, άλλες αμυλούχες καλλιέργειες όπως οι κόνδυλοι (π.χ. μανιόκα) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εμπορική παραγωγή αιθανόλης καυσίμου .[37]

3.5.2 ΣΑΚΧΑΡΟΥΧΕΣ ΠΗΓΕΣ

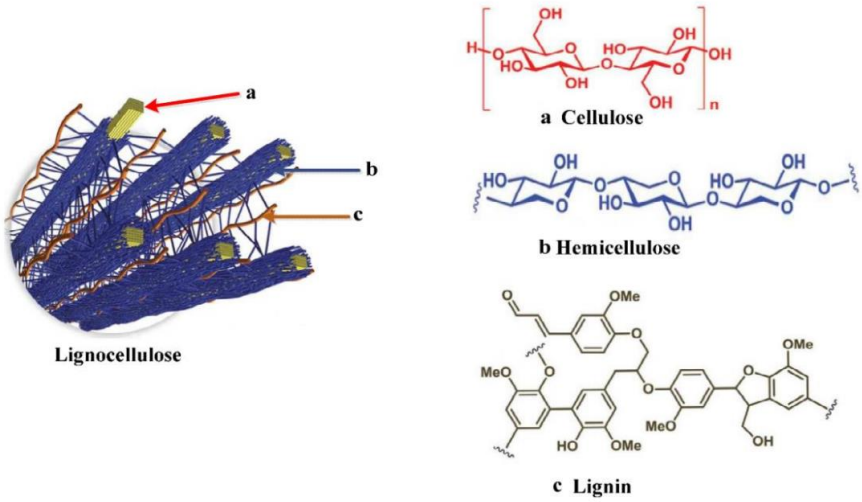
Οι Σακχαρούχες πρώτες ύλες προέρχονται από ενεργειακές καλλιέργειες όπως του ζαχαροκάλαμου, από καλλιέργειες φρούτων (π.χ. σταφυλιού, καρπουζιού και μήλου) και από βιομηχανικά απόβλητα διυλιστηρίων ζάχαρης. Το ζαχαροκάλαμο, είτε με τη μορφή χυμού είτε υπό την μορφή μελάσας είναι η πιο σημαντική πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται στις τροπικές και υποτροπικές χώρες για την παραγωγή αιθανόλης. Στις ευρωπαϊκές χώρες, η μελάσα τεύτλων είναι η πιο χρησιμοποιούμενη πρώτη ύλη που περιέχει σακχαρόζη. Το ζαχαροκάλαμο περιέχει περίπου 12-17% διαλυτά σάκχαρα στον χυμό του στελέχους, εκ των οποίων το 90% είναι σακχαρόζη και το 10% γλυκόζη και φρουκτόζη σε ίσες αναλογίες .Ακόμη, η μετατροπή της σακχαρόζης σε αιθανόλη είναι ευκολότερη σε σύγκριση με τα αμυλώδη υλικά και τη λιγνοκυτταρινική βιομάζα, επειδή δεν απαιτείται προηγούμενη υδρόλυση της πρώτης ύλης, καθώς αυτός ο δισακχαρίτης μπορεί να διασπαστεί από τα κύτταρα της ζύμης. [38]

3.5.3 ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΕΣ ΠΗΓΕΣ

Η λιγνοκυτταρινούχος βιομάζα είναι μια άφθονη, ανανεώσιμη πηγή υδατανθράκων ιδανική για μικροβιακή μετατροπή σε χημικά προϊόντα και καύσιμα[39]. Προέρχεται από αγροτικά υπολείμματα, όπως π.χ. το άχυρο, το ξύλο και άλλα αγροτικά απόβλητα [40] .Ιδιαίτερα σημαντικό σημείο για την χρήση της συγκεκριμένης πρώτης ύλης για την παραγωγή βιοαιθανόλης είναι πως βελτιώνει την ισορροπία του CO2 και παράλληλα δεδομένου ότι είναι ένας πόρος αποβλήτων ,δεν ανταγωνίζεται τον άνθρωπο και την τροφική αλυσίδα [41]. Η σύνθεση της κατηγοριοποιείται σε τρία κύρια μέρη:

- κυτταρίνη (30 % έως 50 % ξ.β. κατά βάρος)
- ημικυτταρίνη (20 % έως 40 % ξ.β. κατά βάρος)
- λιγνίνη (10 % έως 20 % ξ.β.) ([42], [43])

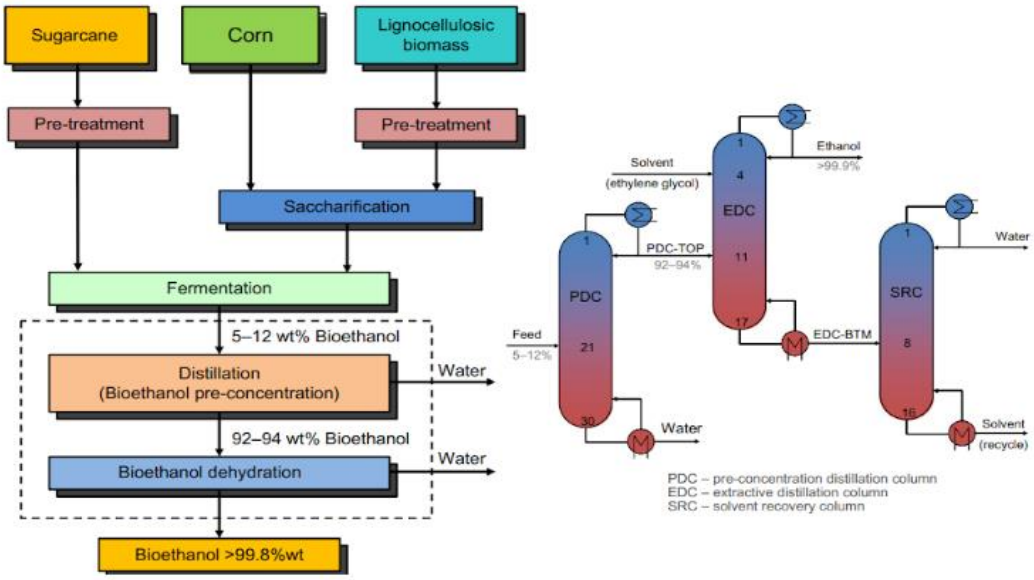
Στο παρακάτω σχήμα παρουσιάζονται οι μοριακές δομές της κυτταρίνης , της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης.(Σχήμα 10)



Σχήμα 10: Μοριακή δομή λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας.

3.6 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Η διαδικασία παραγωγής της βιοαιθανόλης από βιομάζα γενικά βασίζεται σε τέσσερα στάδια, την προ-επεξεργασία , την υδρόλυση, την ζύμωση και την απόσταξη. Ωστόσο τα συγκεκριμένα στάδια διαφοροποιούνται και προσαρμόζονται κυρίως με βάση την σύσταση και τις ιδιότητες της πρώτης ύλης. Πραγματοποιείται η μετατροπή βιομάζας σε σάκχαρα, τα οποία στη συνέχεια με ζύμωση μετατρέπονται σε αιθανόλη. Ακολουθεί η διαδικασία της απόσταξης, η οποία διαχωρίζει τη μεγαλύτερη ποσότητα του νερού από την αιθανόλη, αφήνοντας ένα τελικό προϊόν με περιεκτικότητα περίπου 95% αιθανόλη και 5% νερό. Η βασική διεργασία είναι η αλκοολική ζύμωση η οποία μπορεί να γίνει με διάφορες μορφές διεργασιών. Το παρακάτω διάγραμμα ροής (Σχήμα 11) δείχνει τα διάφορα στάδια της όλης διαδικασίας μετατροπής της βιομάζας σε βιοαιθανόλη.



Σχήμα 11: Διάγραμμα ροής διεργασιών μετατροπής βιομάζας σε βιοαιθανόλη.

3.6.1 ΠΡΟΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Ένα πλήθος από διαφορετικές μεθόδους προκατεργασίας έχουν προταθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Μπορούν να διαχωριστούν σε τέσσερις διαφορετικές κατηγορίες : φυσικές, χημικές , φυσικοχημικές , βιολογικές και συνδυασμοί αυτών.[44], [45]

3.6.1.1 Φυσικές μέθοδοι προεπεξεργασίας.

1. Μηχανικός κατακερματισμός ή άλεση. Μέσω της συγκεκριμένης διαδικασίας επιτυγχάνεται η τροποποίηση της δομής του υλικού και η μείωση της κρυσταλλικότητάς του. Η άλεση και η μείωση του μεγέθους του υλικού είναι μια από τις πρώτες προκατεργασίες που εφαρμόστηκαν. Υπάρχουν διάφορα είδη άλεσης όπως άλεση με κολλοειδή μύλο ή άλεση με σφυρόμυλο.
2. Ακτινοβόληση: Η διαδικασία της ακτινοβόλησης με ακτίνες γ, δέσμη ηλεκτρονίων και μικροκύματα μπορούν να βελτιώσουν την ενζυμική υδρόλυση. Ο συνδυασμός της ακτινοβολίας με κάποια άλλη μέθοδο όπως η όξινη προκατεργασία μπορεί να επιταχύνει την ενζυμική υδρόλυση [46]

3.6.1.2 Χημικές μέθοδοι προεπεξεργασίας.

1. Αλκαλική προεπεξεργασία: Αυτή η διαδικασία προεπεξεργασίας εφαρμόζεται με απλή λειτουργία και δίνει υψηλές αποδόσεις μετατροπής μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα[47]. Χρησιμοποιεί χαμηλότερες θερμοκρασίες και πιέσεις από άλλες τεχνολογίες προεπεξεργασίας [48],[49]. Ορισμένα από τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι το υδροξείδιο του καλίου (KOH), το υδροξείδιο του νατρίου (NaOH), το N_2H_2,η άνυδρη αμμωνία (NH_3) και το υδροξείδιο του ασβεστίου. Το $Ca(OH)_2$ εμφανίζεται συνήθως στην προεπεξεργασία βιομάζας με αλκάλια. Η διαδικασία προεπεξεργασίας με χρήση υδροξειδίου του νατρίου

(NaOH) είναι μια από τις πιο αποτελεσματικές χημικές ουσίες προεπεξεργασίες για την παραγωγή αιθανόλης

2. Όξινη Προεπεξεργασία: Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιείται συχνότερα από τις βιολογικές ή φυσικές μεθόδους προεπεξεργασίας επειδή είναι πιο αποτελεσματικό και ενισχύει τη βιοαποικοδόμηση πολύπλοκων υλικών .Σε αυτή τη μέθοδο, το αραιό θειικό οξύ (H2SO4) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ,επειδή έχει υψηλή απόδοση στη διαδικασία διαχωρισμού των συστατικών του κυτταρικού τοιχώματος με αποτέλεσμα σε υδρόλυση ημικυτταρίνης και κυτταρίνη. [45]
3. Προεπεξεργασία με διαλύτες: Ορισμένοι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην συγκεκριμένη προεπεξεργασία είναι το όζον, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, η γλυκερόλη και η φαινόλη. Οι συγκεκριμένοι έχουν δείξει ότι μπορεί να συνεισφέρουν στην μείωση της κρυσταλλικότητας και του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης. Ακόμη, κατάλληλοι είναι υπό ειδικές συνθήκες και οι πράσινοι διαλύτες ILs και NaDES .

3.6.1.3 Φυσικοχημικές μέθοδοι προεπεξεργασίας :

1. Προκατεργασία με έκρηξη ατμού (steam explosion): Είναι μία υδροθερμική προεπεξεργασία κατά την οποία το υλικό υπόκειται σε συμπιεσμένο ατμό για ένα χρονικό διάστημα (από δευτερόλεπτα μέχρι και λεπτά) και μετά απότομα αποσυμπιέζεται. [45]
2. Υδροθερμόλυση : Πρόκειται για μία υδροθερμική κατεργασία που δεν απαιτεί ραγδαία αποσυμπίεση και δεν χρησιμοποιεί κανένα καταλύτη ή χημικό. Εφαρμόζεται άσκηση πίεσης για την διατήρηση του νερού σε υγρή μορφή σε υψηλές θερμοκρασίες (160-240°C), με τον τρόπο αυτό προκαλούνται μετατροπές στη δομή του υλικού.
3. Υγρή προεπεξεργασία οξείδωσης: Μέσω της συγκεκριμένης οξειδωτικής μεθόδου προεπεξεργασίας χρησιμοποιείται οξυγόνο ή αέρας ως καταλύτης για 10-15 λεπτά σε θερμοκρασίες 170-200o C και σε πιέσεις 10- 12 bar οξυγόνου .
4. Εκτόνωση ίνας με αμμωνίας: Σε αυτή την προεπεξεργασία το υλικό κατεργάζεται με υγρή άνυδρη αμμωνία σε θερμοκρασίες 60-100o C και σε υψηλές πιέσεις άνω των 3 MPa για χρονικά διαστήματα από 10 έως 60 λεπτά. Απαιτούνται περίπου 2 kg αμμωνίας ανά kg ξηρής βιομάζας. Με τον τρόπο αυτό, πραγματοποιείται εκτονωτική αποσυμπίεση με αποτέλεσμα την ραγδαία διαστολή της αμμωνίας (σε αέρια φάση) που προκαλεί την διόγκωση των πόρων του υλικού, την μηχανική διαταραχή των ινών του υλικού και μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης
5. Προκατεργασία με χρήση μικροκυμάτων: Στην διαδικασία αυτή γίνεται επεξεργασία του υλικού με αραιά χημικά διαλύματα και έπειτα πραγματοποιείται ακτινοβολία με μικροκύματα για χρονικά διαστήματα 5 έως 20 λεπτών.
6. Έκρηξη CO2: Στην συγκεκριμένη μέθοδο χρησιμοποιείται CO2 ως υπερκρίσιμο ρευστό δηλαδή ένα ρευστό που είναι σε αέρια μορφή που όμως έχει συμπιεστεί σε θερμοκρασίες πάνω από το κρίσιμο σημείο του με αποτέλεσμα η πυκνότητά του να είναι σαν υγρού ρευστού. Μέσω των

συγκεκριμένων συνθηκών απομακρύνεται αποτελεσματικά η λιγνίνη και πραγματοποιούνται αλλαγές στην δομή της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης. [45]

3.6.1.4 Βιολογική προεπεξεργασία:

Η βιολογική προεπεξεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας μικροοργανισμούς που διασπούν τη λιγνίνη και την ημικυτταρίνη. Αποτελεί φιλική προς το περιβάλλον μέθοδο και ενεργειακά οικονομική καθώς πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες και δεν χρειάζεται την προσθήκη χημικών. Ωστόσο, ο ρυθμός των βιολογικών μεθόδων προκατεργασίας είναι πολύ χαμηλός για βιομηχανική χρήση και μερικά υλικά χάνονται καθώς οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν, σε κάποιο βαθμό, ημικυτταρίνη, λιγνίνη ή και κυτταρίνη. Παρόλα αυτά αυτή η μέθοδος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν ένα πρώτο στάδιο ακολουθούμενο από μία άλλη μέθοδο προκατεργασίας. [45]

3.6.2 ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Η διεργασία της υδρόλυσης διαχωρίζει τις μακρές αλυσίδες των υδρογονανθράκων από την κυτταρίνη και το άμυλο, με την προσθήκη μορίων νερού και συνήθως καταλύεται από κάποιο ένζυμο ή οξύ. Το στάδιο αυτό είναι καθοριστικό για την παραγωγή βιοαιθανόλης, καθώς η ποιότητα του υδρολύματος επηρεάζει την ακόλουθη διεργασία της ζύμωσης, η οποία με τη σειρά της επιδρά σημαντικά στην ποιότητα του τελικού προϊόντος. Η υδρόλυση είναι απαραίτητη καθώς οι μικροοργανισμοί (που δρουν κατά τη ζύμωση) μπορούν να χωνεύσουν και να αποικοδομήσουν μόνο απλούστερες δομές σακχάρων, που προκύπτουν από τα σύνθετα συμπλέγματα υδρογονανθράκων της αρχικής βιομάζας. Οι πιο συχνά εφαρμοζόμενες μέθοδοι ταξινομούνται σε δύο ομάδες: ενζυμική υδρόλυση και όξινη υδρόλυση (αραιωμένη και συμπυκνωμένη) [50]. Η ενζυμική υδρόλυση συνδέεται με υψηλά κόστη για την εξασφάλιση των απαραίτητων ενζύμων και δεν είναι πρακτική για εφαρμογή για εμπορικούς σκοπούς. Ωστόσο, σε αντίθεση με την όξινη υδρόλυση, τα ένζυμα δρουν σε πιο ήπιο περιβάλλον, δεν απαιτούνται υψηλά κόστη συντήρησης εξοπλισμού, ούτε ειδικό σύστημα επεξεργασίας της απορροής που πρέπει να προσαρτηθεί στη εγκατάσταση. Ακόμη, τα μονομερή σάκχαρα σταδιακά αποδομούνται στο όξινο περιβάλλον με υψηλή θερμοκρασία, που δημιουργεί πρόβλημα στο στάδιο της ζύμωσης.[51]

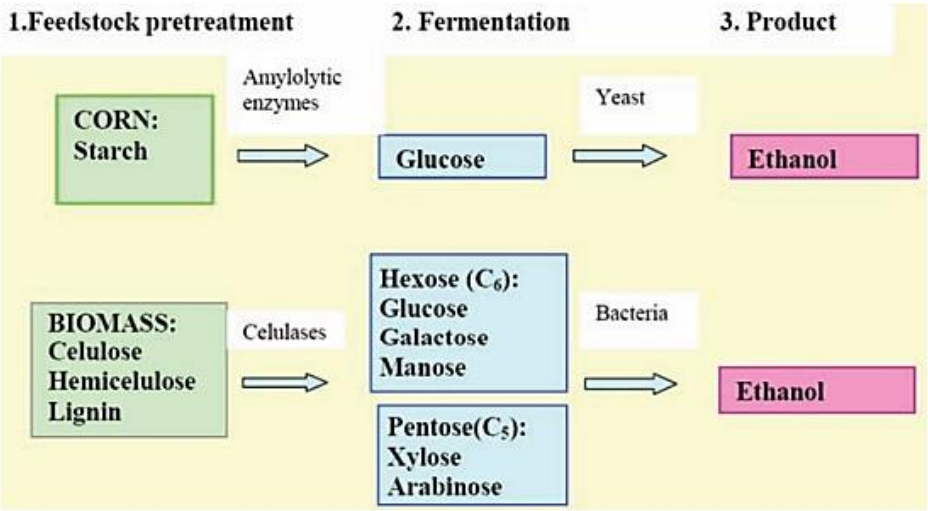
3.6.2.1 ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Ο σκοπός της ενζυμικής υδρόλυσης είναι η απελευθέρωση μονοσακχαριτών από πολυσακχαρίτες που βρίσκονται στο κυτταρικό τοίχωμα. Η υδρόλυση πολυσακχαριτών, παράγει ζυμώσιμα σάκχαρα, τα οποία μπορούν να μετατραπούν σε αιθανόλη κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Η επιλογή του ενζύμου εξαρτάται από τον τύπο της πρώτης ύλης, όπως φαίνεται σχηματικά και στο παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 12). Οι μονοσακχαρίτες αποτελούν πηγή άνθρακα για τους μικροοργανισμούς που είναι υπεύθυνοι για τη διαδικασία ζύμωσης [44], [52]

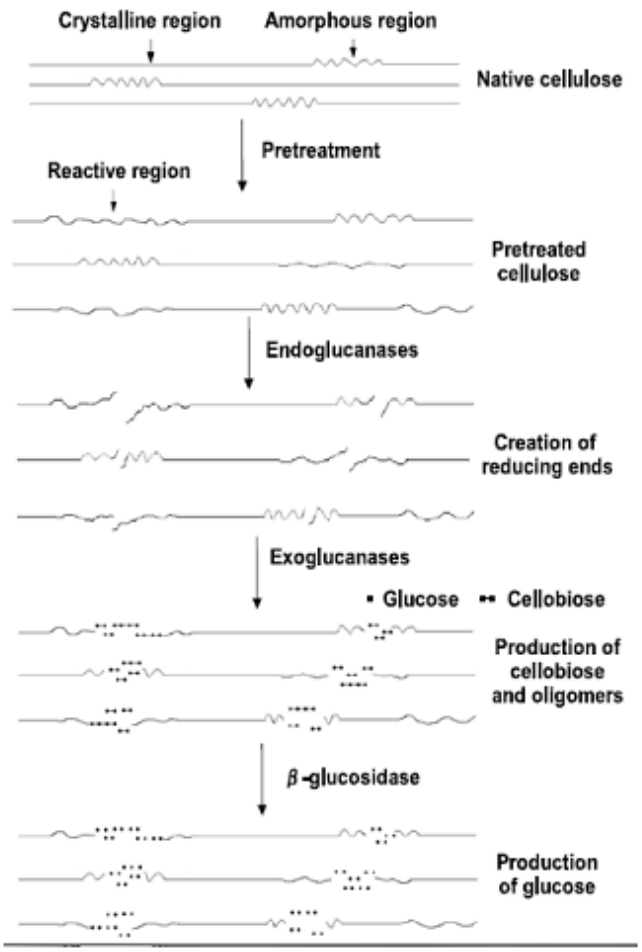
Στην περίπτωση της λιγνοκυταρινούχου βιομάζας η ενζυμική υδρόλυση εφαρμόζει υδρολυτικά ένζυμα για τη διάσπαση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης . Η μη

επεξεργασμένη βιομάζα (στην φυσική της μορφή) είναι δύσκολο να αφομοιωθεί από τα ένζυμα και για το λόγο αυτό απαιτεί υψηλότερες δόσεις υδρολυτικών ενζύμων. Τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται σε βιομηχανικές εφαρμογές παράγονται κυρίως από τους νηματώδεις μύκητες όπως Aspergillus nidulans, Aspergillus niger, Penicillium spp. και Trichoderma reesei (49). Το T. reesei έχει την ικανότητα να παράγει κυτταρινάσες, συγκεκριμένα ενδογλυκανάση (EG), εξω-κελλοβιοϋδρολάση (CBH) και β-γλυκοσιδάση (BGL). Οι ενδογλυκανάσες επιτίθενται στα εσωτερικά μέρη των περιοχών της άμορφης κυτταρίνης, προκαλώντας αποπολυμερισμό της δομής της κυτταρίνης. Η λειτουργία της εξογλουκανάσης είναι να διασπά περαιτέρω τα μόρια της β-γλυκάνης, απελευθερώνοντας τις μονάδες κυτταροβιόζης από τα άκρα της. Αντίθετα, η β-γλυκοσιδάση επιτίθεται στην κυτταροβίωση και συμβάλλει στη δημιουργία δύο μονάδων γλυκόζης .Η κυτταρινάση είναι το ένζυμο που καταλύει τα κυτταρινικά συστατικά. Ανάλογα με τη δραστηριότητα του ενζύμου και το ρόλο που επιτελεί οι κυτταρινάσες διακρίνονται σε: [53]

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



Σχήμα 12: Διάγραμμα ροής βιοδιεργασίας.



Σχήμα 13: Απεικόνιση ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρινάσης.

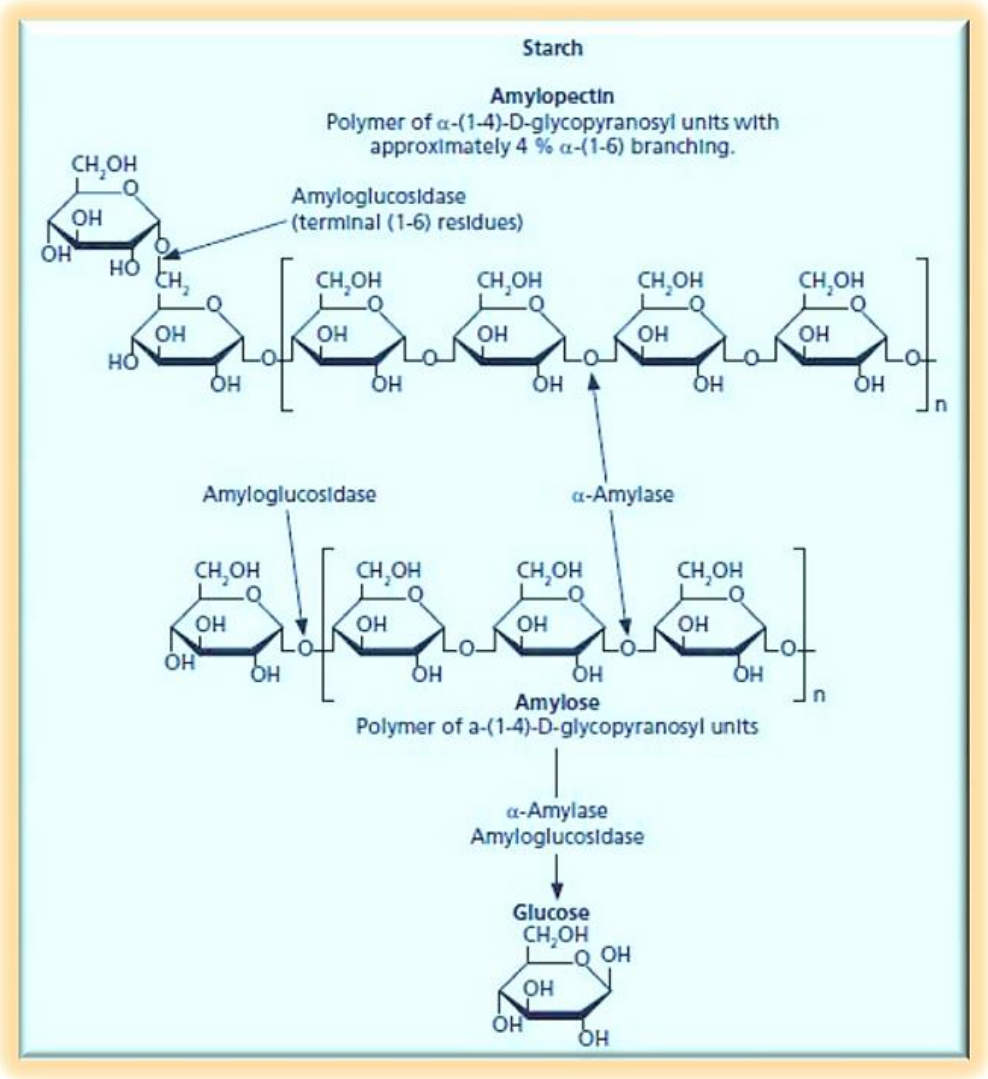
Τα ένζυμα αυτά δρουν συνεργιστικά καθώς τα ενδο – δραστικά ένζυμα επιτίθενται στις άμορφες περιοχές της κυτταρίνης και απελευθερώνουν συνεχώς τόσο αναγωγικά όσο και μη αναγωγικά άκρα για τα έξω – δραστικά ένζυμα, τα οποία απελευθερώνουν μόρια κελλοβιόζης. Αυτά με τη σειρά τους μετατρέπονται από τις β – γλυκοζιδάσες σε γλυκόζη. Η συγκεκριμένη διαδικασία φαίνεται διαγραμματικά και στο παραπάνω σχήμα (Σχήμα 13) .

Ορισμένοι από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση είναι τα υποστρώματα, η δραστικότητα της κυτταρινάσης και οι συνθήκες της αντίδρασης (θερμοκρασία, pH καθώς και άλλες παράμετροι). Για τη βελτίωση της απόδοσης και του ρυθμού της ενζυμικής υδρόλυσης, έχει επικεντρωθεί η έρευνα βελτιστοποίηση της διαδικασίας υδρόλυσης και ενίσχυση της δραστηριότητας της κυτταρινάσης .

Στην περίπτωση της αμυλούχου βιομάζας ο κύριος ρόλος αυτού του βήματος είναι να παρέχει αποτελεσματικά τη μετατροπή δύο κύρια συστατικά πολυμερούς αμύλου: αμυλόζη, κυρίως γραμμική α-D-(1-4)-γλυκάνη και διακλαδισμένη αμυλοπηκτίνη, α α-D-(1-4)-γλυκάνη, η οποία έχει α-D-(1-6) δεσμούς στο σημεία διακλάδωσης, σε ζυμώσιμα σάκχαρα που θα μπορούσαν στη συνέχεια να μετατραπούν σε αιθανόλη από ζυμομύκητες ή βακτήρια. Οι α-αμυλάσες είναι ενδο-ενεργά ένζυμα που προσβάλλουν τα εσωτερικά

τμήματα των πολυμερικών αλυσίδων του αμύλου, προκαλώντας μια ταχεία μείωση του ιξώδους και μια ταχεία μεταβολή του χρώματος ιωδιούχου διαλύματος. Λόγω των ιδιοτήτων αυτών, μερικές φορές ονομάζονται ΄΄ένζυμα υγροποίησης΄΄ . Όταν η α-αμυλάση αντιμετωπίσει μια αλυσίδα αμύλου και υδρολύσει τον α-(1 → 4) δεσμό, παράγονται μαλτοδεξτρίνες χαμηλού μοριακού βάρους με μια διαδικασία που ονομάζεται ‘’πολλαπλή επίθεση’’ σε μία από τις δύο αλυσίδες που αρχικά είχαν διασπαστεί.

Η υδρόλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί και με οξέα, ωστόσο αποτελεί παλαιότερη διαδικασία η οποία πλέον εγκαταλείπεται κυρίως και αντικαθίσταται από πιο αποτελεσματική ενζυμική διαδικασία. Η ενζυμική υδρόλυση του αμύλου παρουσιάζεται και διαγραμματικά στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 14) [51], [53]



Σχήμα 14 : Ενζυμική υδρόλυση αμύλου.

3.6.2.2 ΟΞΙΝΗ ΥΔΡΟΛΥΣΗ

Η όξινη υδρόλυση μπορεί να χωριστεί σε δύο τύπους, σε υδρόλυση αραιού οξέος και υδρόλυση πυκνού οξέος. Στην πρώτη περίπτωση η υδρόλυση πραγματοποιείται σε υψηλότερη θερμοκρασία ενώ στην δεύτερη περίπτωση πραγματοποιείται σε χαμηλότερη θερμοκρασία. Η υδρόλυση αραιού οξέος είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη διαδικασία επειδή δημιουργεί μεγάλο αριθμό αναστολέων σε σύγκριση με αυτή συμπυκνωμένου οξέος . Ο στόχος της υδρόλυσης αραιού οξέος είναι η απομάκρυνση ημικυτταρίνης επιλεκτικά. Σε αυτή τη διαδικασία, η βιομάζα μπορεί να υδρολυθεί σε ένα εύρος θερμοκρασιών από 120 °C έως 220 °C χρησιμοποιώντας αραιό θειικό οξύ (H_2SO_4) ως καταλύτη. Υπό αυτές τις συνθήκες, σχεδόν επιλεκτική υδρόλυση ημικυτταρινών μπορεί να επιτευχθεί, αφού σχηματίζει λιγότερη γλυκόζη . Οι συνθήκες αντίδρασης επιλέγονται από πολλές αλληλένδετες παραμέτρους όπως ο χρόνος, το οξύ συγκέντρωση, το είδος της βιομάζας και τη συγκέντρωσή της. [49]

3.6.3 ΖΥΜΩΣΗ ΣΑΚΧΑΡΩΝ

Πρόκειται για μια διαδικασία μετατροπής της βιομάζας σε βιοαιθανόλη από μικροοργανισμούς όπως μαγιά, μύκητες, και βακτήρια, τα οποία αφομοιώνουν τα ζυμώσιμα σάκχαρα και παράγουν αιθυλική αλκοόλη και άλλα υποπροϊόντα. Η διεργασία της ζύμωση είναι η βασική διεργασία σε όλη την μετατροπή βιομάζας σε βιοαιθανόλη, και μπορεί να πραγματοποιηθεί χωριστά ή ταυτόχρονα με την υδρόλυση. Οι ακόλουθες διαδικασίες ζύμωσης χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή βιοαιθανόλης: χωριστή υδρόλυση και ζύμωση (SHF), ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF) και ταυτόχρονη σακχαροποίηση και συνζύμωση (SSCF). Οι πιο διαδεδομένοι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται είναι οι Saccharomyces και Pichia καθώς και τα βακτήρια Zymomonas και Escherichia and Aspergillus. Ωστόσο ο πιο διαδεδομένος και αποτελεσματικός μικροοργανισμός που χρησιμοποιείται στις περισσότερες μελέτες είναι ο Saccharomyces cerevisiae . Η περίπλοκη δομή της βιομάζας στα διατροφικά απορρίμματα καθιστά δύσκολο τον αποπολυμερισμό σε απλά σάκχαρα. Η προεπεξεργασία παίζει σημαντικό ρόλο στη διάσπαση της δομής για να αυξήσει τη μετατροπή με ενζυμική σακχαροποίηση σε απλά σάκχαρα, η οποία στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για παραγωγή βιοαιθανόλης χρησιμοποιώντας τους ζυμωτικούς μικροοργανισμούς [47]. Ανάλογα με την πηγή της βιομάζας, το προϊόν υδρόλυσης αποτελείται συνήθως από γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη και μαλτόζη, ενώ άλλη πηγή όπως η λιγνοκυτταρίνης χαρακτηρίζεται από γλυκόζη, ξυλόζη, αραβινόζη, γαλακτόζη, μαννόζη, φρουκτόζη και ραμνόζη [48,49]. Η παρακάτω χημική εξίσωση (1) αποτυπώνει την διαδικασία ζύμωσης.

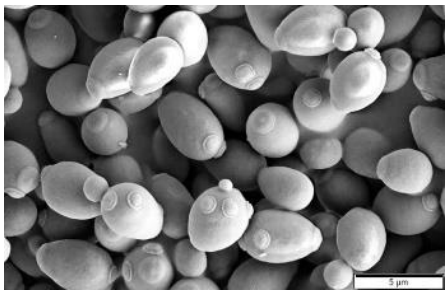
$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 \quad (1)$$

Θεωρητικά, οι μικροοργανισμοί είναι σε θέση να παράγουν, για κάθε kg γλυκόζης, 0,51 kg αιθανόλης και 0,49 kg διοξειδίου του άνθρακα [50]. Μικροοργανισμοί κατάλληλοι για παραγωγή βιοαιθανόλης σε βιομηχανική κλίμακα είναι τα στελέχη που μπορούν να παράγουν θεωρητική απόδοση βιοαιθανόλης μεγαλύτερη από 90% και συγκέντρωση μεγαλύτερη από 40 g/L. Ένας ιδανικός μικροοργανισμός για παραγωγή βιοαιθανόλης μπορεί να περιγραφεί καλύτερα ως προς την ικανότητά του να παράγει αιθανόλη με υψηλή απόδοση, την ευρεία χρήση υποστρώματος, την ανθεκτικότητα σε ανασταλτικές ενώσεις

που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια των σταδίων υδρόλυσης, την ανοχή υψηλών συγκεντρώσεων σακχάρου και αιθανόλης, την αντοχή στους αναστολείς, την αντοχή σε υψηλές θερμοκρασίες, την ικανότητα ανάπτυξης σε χαμηλό pH και τους ελάχιστους σχηματισμούς παραπροϊόντων .[51], [53]

Η διεργασία της ζύμωσης απαιτεί ορισμένες συνθήκες θερμοκρασίας και pH για τη διατήρηση των μικροβίων. Οι περισσότεροι παράγοντες ζύμωσης είναι μεσοφιλικοί και για το λόγο αυτό συνιστώνται θερμοκρασίες μεταξύ 30-40ºC. Όταν χρησιμοποιούνται βακτήρια ως παράγοντες ζύμωσης το βέλτιστο εύρος pH που θα εξασφαλίσει την ανάπτυξή τους είναι 6.5-7.5, ενώ οι μύκητες αντέχουν σε πιο όξινο περιβάλλον pH, 3.5-5.0. Πρόσθετοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διεργασία της ζύμωσης είναι ο ρυθμός ανάπτυξης και η γενετική σταθερότητα των μικροβίων και η ανθεκτικότητα των αναστολέων .[50], [51]

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε ο Sacccharomyces cerevisiae (Σχήμα 15**Error! Reference source not found.**), ο οποίος παρέχει υψηλή παραγωγικότητα και απόδοση σε αιθανόλη ενώ εμφανίζει μεγάλη ανθεκτικότητα απέναντι σε αυτή.



Σχήμα 15: Sacccharomyces cerevisiae

Σε κατάλληλο περιβάλλον ακόμα και με μικρό αρχικό πληθυσμό πολλαπλασιάζεται περνώντας διαδοχικά από τις φάσεις: λανθάνουσα, εκθετικής ανάπτυξης, στασιμότητας και θανάτου. Ο S.c λειτουργεί σε περιοχές pH 3,0 – 7,5 με την άριστη περιοχή να είναι συνάρτηση και της θερμοκρασίας. Είναι μεσόφιλος οργανισμός με ευνοϊκή θερμοκρασία από 20 έως 40ºC. Η απόδοση σε αιθανόλη αυξάνεται με αύξηση της θερμοκρασίας έως 30-32ºC ενώ με περαιτέρω αύξηση επέρχεται μείωση στην απόδοση. Το υπόστρωμα του S.c αποτελείται από γλυκόζη, ανόργανα άλατα και θρεπτικό πρόσθετο. Η γλυκόζη αποτελεί μέσον διατροφής και πηγή ενέργειας του κυττάρου και επηρεάζει την συγκέντρωση της ζύμης και την παραγωγή αιθανόλης. Η συγκέντρωση του διαλυμένου O_2 έχει μεγάλη επίδραση στο ρυθμό μικροβιακής ανάπτυξης και της παραγωγής των προϊόντων. Αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου O_2 ευνοεί τον σχηματισμό προϊόντων μέσα από έντονα οξειδωτικά ενδιάμεσα στάδια, ενώ η μείωση του ευνοεί το σχηματισμό προϊόντων με αναγωγικές δράσεις. Γενικά οι αναερόβιες συνθήκες ευνοούν το μεταβολισμό της γλυκόζης σε αιθανόλη, ενώ σε αερόβιες σχηματίζεται ζύμη η οποία όταν η συγκέντρωση της γλυκόζης στο υπόστρωμα φτάσει τα 70 g/L, μετατρέπεται μερικά σε αιθανόλη και CO_2. Μικρή συγκέντρωση O_2 ωστόσο είναι απαραίτητη για διάφορες λειτουργίες της ζύμης. [51]

4 ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

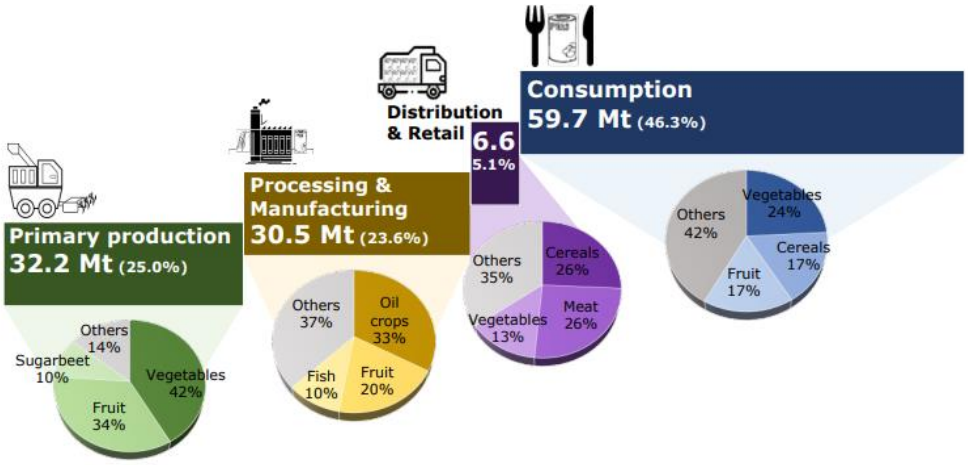
4.1 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΑ

4.1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Παρόλο που η έννοια των διατροφικών αποβλήτων μοιάζει απλή στον ορισμό της, υπάρχουν πολλές διαφορετικές εκδοχές από κράτη και οργανισμούς σχετικά με αυτήν. Για αυτόν ακριβώς τον λόγο καθίσταται αρκετά δύσκολο να υπάρξει μια συγκεκριμένη και ευθυγραμμισμένη στρατηγική αντιμετώπισής τους. Αρχικά, η Διεθνής Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών διαχωρίζει τα διατροφικά απορρίμματα (food waste) από την απώλεια τροφίμων (food loss). Συγκεκριμένα, ως απώλεια τροφίμων ορίζεται: «Η μείωση της ποσότητας ή της ποιότητας των τροφίμων που προκύπτει από αποφάσεις και ενέργειες των προμηθευτών τροφίμων στην αλυσίδα, εξαιρουμένων των λιανοπωλητών, των παρόχων υπηρεσιών τροφίμων και των καταναλωτών » . Από την άλλη, ως διατροφικά απόβλητα ορίζεται ως «Η μείωση της ποσότητας ή της ποιότητας των τροφίμων που προκύπτει από αποφάσεις και ενέργειες από τους λιανοπωλητές και τους παρόχους υπηρεσιών τροφίμων και τους καταναλωτές» .Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, έπειτα από αναθεωρημένη οδηγία του Μαΐου του 2018 (Regulation (EC) No 178/2002) τα διατροφικά απορρίμματα ορίζονται με βάση τα τρόφιμα, συγκεκριμένα αναφέρεται ότι τα «απόβλητα τροφίμων» ορίζονται ως «όλα τα τρόφιμα που έχουν γίνει απόβλητα » όπως αυτά αναλύονται στο άρθρο 2 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 178/2002 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου. Ωστόσο με βάση άλλες μελέτες και στρατηγικές της Ε.Ε. τα διατροφικά απορρίμματα ή αλλιώς food waste ορίζονται ως τα τρόφιμα ή το μη βρώσιμο μέρος των τροφίμων που αφαιρούνται από την αλυσίδα εφοδιασμού και πρόκειται να απορριφθούν. Ο κύκλος των τροφίμων περιλαμβάνει φάρμες, εγκαταστάσεις επεξεργασίας, κέντρα διανομής, κέντρα αποθήκευσης, σούπερ μάρκετ, εστιατόρια και νοικοκυριά. Κατά την διάρκεια όλης αυτής της αλυσίδας μια αρκετά σημαντική ποσότητα τροφίμων απορρίπτεται.[54], [55]. Παράλληλα, η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών (US E.P.A.) ορίζει τον όρο σπατάλη τροφίμων (wasted food) με τον οποίο περιγράφει τα τρόφιμα που δεν χρησιμοποιήθηκαν για τον προορισμό τους και διατέθηκαν για άλλες χρήσεις για παράδειγμα δημιουργία ζωοτροφών, κομποστοποίηση, αναερόβια χώνευση ή αποστολή σε χώρους υγειονομικής ταφής ή εγκαταστάσεις καύσης. Ορισμένα παραδείγματα περιλαμβάνουν μη φαγώσιμα παρασκευασμένα τρόφιμα ,απούλητα τρόφιμα από καταστήματα λιανικής, είδη κουζίνας από εστιατόρια, καφετέριες και νοικοκυριά, υποπροϊόντα από εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων και ποτών. Ο συγκεκριμένος διαχωρισμός που γίνεται από την EPA ανάμεσα σε διατροφικά απόβλητα και σπατάλη τροφίμων πραγματοποιείται για να δηλωθεί η πεποίθηση του Οργανισμού πως ένας πολύτιμος πόρος όπως τα τρόφιμα δεν χρησιμοποιείται και σπαταλιέται , σε αντίθεση με τον όρο απορρίμματα ο οποίος από μόνος του υποδηλώνει ότι τα τρόφιμα δεν έχουν αξία και αντιμετωπίζονται ως απορρίμματα [56]

4.1.2 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση περίπου 57 εκατομμύρια τόνοι διατροφικών αποβλήτων παράγονται ετησίως, τιμή που αντιστοιχεί σε περίπου παραγωγή 127 κιλών ανά κάτοικο [57]Ακόμη, με βάση μελέτες προκύπτει ότι περίπου το 10% των τροφίμων που είναι διαθέσιμα στους καταναλωτές (σε σουπερ μάρκετ, εστιατόρια και νοικοκυριά) πρόκειται να απορριφθεί ως απόβλητο .Σύμφωνα με την Διεθνή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας περίπου το 1/3 των τροφίμων που παράγονται με σκοπό την ανθρώπινη κατανάλωση παγκοσμίως, ποσοστό που αντιστοιχεί σε περίπου 1.6 δισεκατομμύρια τόνους, σπαταλούνται ή χάνονται. Ακόμη, τα απόβλητα των τροφίμων ευθύνονται για 4.4 γίγα τόνους CO_2 ετησίως, τιμή η οποία αντιστοιχεί στο 8% περίπου της παγκόσμιας ανθρωπογενούς εκπομπής αερίων του θερμοκηπίου[58]Η μεγαλύτερη ποσότητα παραγωγής διατροφικών απορριμμάτων πραγματοποιείται στο τελικό στάδιο της κατανάλωσης των τροφίμων ποσοστό που αντιστοιχεί στο 46.3% της συνολικής ποσότητας διατροφικών απορριμμάτων, ενώ η δεύτερη μεγαλύτερη πραγματοποιείται κατά την πρωτογενή παραγωγή και καλλιέργεια σε ποσοστό 25%, ενώ στην συνέχει ακολουθεί το στάδιο των διεργασιών επεξεργασίας με ποσοστό 23,6% και στο τέλος το στάδιο εφοδιασμού με ποσοστό 5,1%. Τα παραπάνω στοιχεία καθώς και από τι αποτελείται το κάθε επιμέρους διατροφικό μείγμα απορριμμάτων παρουσιάζονται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 16).



Σχήμα 16: Ποσοστό διατροφικών απορριμάτων που δημιουργείται στα διάφορα στάδια της εφοδιαστικής αλυσίδας τροφίμων και κατηγοριοποίηση στις βασικές κατηγορίες των διατροφικών απορριμάτων.

4.1.3 ΣΥΣΤΑΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΑΠΟΡΡΙΜΜΑΤΩΝ

Η σύσταση των διατροφικών απορριμμάτων αποτελεί ένα πολύπλευρο ζήτημα και δεν είναι ιδιαίτερα εύκολη μια ακριβής προσέγγισή της καθώς αποτελούν μια κατηγορία βιοαποβλήτων με ιδιαίτερα μεταβαλλόμενη σύσταση. Αυτό συμβαίνει καθώς το διατροφικό μείγμα και οι διατροφικές συνήθειες διαφέρουν από χώρα σε χώρα μερικές φορές κατά πολύ. Ωστόσο για να επιτευχθεί η εκμετάλλευση των οικιακών διατροφικών αποβλήτων και να υπάρξει βιολογική επεξεργασία, αντί για παραδοσιακούς τρόπους διαχείρισης, η μελέτη της σύστασής τους αποτελεί ένα πολύ σημαντικό εργαλείο, τόσο για την συλλογή και όσο και για την εκμετάλλευση αυτών. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4-1) αποτυπώνονται τα αποτελέσματα μελέτης της σύστασης διατροφικών αποβλήτων

τεσσάρων διαφορετικών χωρών του Ηνωμένου Βασίλειου, της Φιλανδίας, της Πορτογαλίας και της Ιταλίας [59]

Πίνακας 4-1: Σύγκριση σύστασης διατροφικών αποβλήτων από τέσσερις διαφορετικές χώρες.

% βάρος σε υγρή βάση	Ηνωμένο Βασίλειο	Φιλανδία	Πορτογαλία	Ιταλία	Μέσος όρος
Φρούτα και λαχανικά	60.9	44.5	59.2	69.0	58.4
Ρύζι/αλεύρι/δημητριακά	1.5	0.4	0.2	12.4	3.6
Ψωμί και προιόντα αρτοποιίας	9.0	3.8	3.1	2.8	4.7
Κρέας και ψάρι	6.7	4.3	7.3	6.2	6.1
Γαλακτοκομικά	1.7	2.0	0.7	1.4	1.4
Ποτά	7.1	27.5	0.2	0.0	8.7
Σνακ	0.7	3.2	0.3	0.0	1.0
Μικτά γεύματα	12.3	6.3	29.0	1.4	12.2
Άλλα	0.2	8.0	0.0	6.9	3.8
Συνολικά	100	100	100	100	100

4.2 ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

4.2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ

Τα απόβλητα τροφίμων είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα, με σημαντικές περιβαλλοντικές και οικονομικές επιπτώσεις. Το ψωμί είναι ένα τρόφιμο που σπαταλάται σε μεγάλο βαθμό, γεγονός που αποτελεί σοβαρό πρόβλημα για την πλειονότητα των κρατών. Ένας από τους βασικότερους παράγοντες σχηματισμού ιδιαίτερα μεγάλων ποσοτήτων αποβλήτων αρτοποιίας είναι η υπέρβαση στην παραγωγή ψωμιού, καθώς ένα μεγάλο ποσοστό των προϊόντων δεν πωλείται και μετά από λίγες ημέρες η ποιότητά του χαλάει και αχρηστεύεται. Άλλοι σημαντικοί λόγοι μπορούν να είναι η χρήση σιταριού κακής ποιότητας, λάθη στα συστήματα αποθήκευσης και στα κέντρα διανομής. Έχει προκύψει από μελέτες ότι η για παραγωγή ενός κιλού ψωμιού απαιτούνται 1608 L νερού και καταναλώνονται μεταξύ 5.5 και 1.3 MJ ενέργειας κατά την διεργασία του ψησίματος [60]. Ακόμη, το ψωμί και τα άλλα υλικά που χάνονται κατά τη διάρκεια αυτών των διεργασιών έχουν σημαντικό αντίκτυπο στην κοινωνία, το περιβάλλον και την οικονομία. Η παγκόσμια ετήσια παραγωγή ψωμιού είναι μεγαλύτερη από 100 εκατομμύρια τόνους .Είναι δύσκολο να ποσοτικοποιηθεί η ακριβής ποσότητα ψωμιού και προϊόντων αρτοποιίας που καταλήγει ως απόβλητο. Ωστόσο, η εκτιμώμενη απώλεια για τα προϊόντα αρτοποιίας κυμαίνεται από 7% έως 10% του συνόλου παραγωγής [60] . Έτσι συμπεραίνεται ότι η ποσότητα των παραγόμενων απορριμμάτων μπορεί να φτάσει ετησίως ακόμη και τα 10 εκατομμύρια τόνους σε παγκόσμια κλίμακα. Ορισμένα χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι το Ιράν, το Ηνωμένο Βασίλειο και η Ολλανδία και η Σουηδία. Συγκεκριμένα, περισσότεροι από 10 εκατομμύρια τόνοι σιτάρι μετατρέπονται ετησίως σε ψωμί στο Ιράν, όπου περισσότερο από το 10% του ψωμιού γίνεται υπόλειμμα. Στο Ηνωμένο Βασίλειο το ψωμί είναι το δεύτερο πιο σπαταλημένο τρόφιμο. Το 44% του παρασκευασμένου ψωμιού πάει χαμένο, προκαλώντας τεράστιες οικονομικές απώλειες και περιβαλλοντικές ανησυχίες [61] .Κάθε μέρα, περίπου 20 εκατομμύρια φέτες ψωμιού πετιούνται στο Ηνωμένο Βασίλειο, οδηγώντας σε ετήσια σπατάλη 292.000 τόνων, τιμή που αντιστοιχεί σε 584.000 τόνους εκπομπών ισοδύναμων CO_2 .Στην Ολλανδία, ποσότητα περίπου ίση με το 20% της

ετήσιας παραγωγής ψωμιού καταλήγει ως απόβλητο. Ο όγκος αυτός του ψωμιού που σπαταλάται αντιπροσωπεύει οικονομική ζημία> 400 εκατομμύριων ευρώ. Τέλος, στην Σουηδία 80.410 τόνοι ψωμιού καταλήγουν ως απόβλητα ετησίως, τιμή που μεταφράζεται ως 8.1 kg ανά κάτοικο τον χρόνο [60][62], [63],[64] .

4.2.2 ΣΥΣΤΑΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΑΡΤΟΠΟΙΙΑΣ

Η σύσταση ενός ρεύματος αποβλήτων αρτοποιίας που αποτελείται από ψωμί, κέικ και ζαχαροπλαστικά προϊόντα παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα. Τα αποτελέσματα αναφέρονται σε δείγματα 100g.

Πίνακας 4-2: Χημική σύσταση ρεύματος αποβλήτων αρτοποιίας.

Συστατικά	Ψωμί (g)	Κέικ (g)	Είδη ζαχαροπλαστείου (g)
Υγρασία	22.3	45.0	34.5
Άμυλο (σε ξηρή βάση)	59.8	12.6	44.6
Υδατάνθρακες	46.8	62.0	33.5
Λιπίδια	0.9	19.0	35.2
Σακχαρόζη	3.0	22.7	4.5
Φρουκτόζη	-	11.9	2.3
Πρωτείνες (σε ξηρή βάση)	8.9	17.0	7.1
Ολικός Φώσφορος (σε ξηρή βάση)	1.5	1.5	1.7
Τέφρα (σε ξηρή βάση)	-	1.6	2.5

Το ψωμί όπως και όλα τα προϊόντα αρτοποιίας είναι τρόφιμα με κύριο συστατικό το αλεύρι σίτου. Για τον λόγο αυτό έχουν ιδιαίτερα υψηλές περιεκτικότητες αμύλου, γεγονός που σημαίνει ότι υδρολύονται εύκολα σε μονομερή σάκχαρα χρησιμοποιώντας αμυλάσες, με ποσότητες αμύλου και απλών σακχάρων να κυμαίνονται από 500–750 και 3– 50 g /kg .Το γεγονός αυτό έρχεται σε άμεση αντίθεση με τις λιγνοκυτταρινικές πρώτες ύλες όπου απαιτούνται σκληρές φυσικές, χημικές ή/και ενζυμικές διαδικασίες προεπεξεργασίας για την απελευθέρωση ζυμώσιμων σακχάρων.. Ωστόσο, παρά το γεγονός ότι η χημική σύσταση του ψωμιού είναι σχεδόν παρόμοια με αυτή του αρχικού του αλευριού, κατά το ψήσιμο, ο συνδυασμός παραγωγής αερίου και εξάτμισης μαζί με την αλλαγή των ρεολογικών ιδιοτήτων έχουν ως αποτέλεσμα την μετατροπή της δομή του αφρού της ζύμης. Η μικροδομή του αλευριού τροποποιείται συνεχώς κατά τη διάρκεια όλων αυτών των διεργασιών εως ότου σταθεροποιηθεί στο τελικό προϊόν του ψωμιού. Ακόμη κατά τις διεργασίες παραγωγής προϊόντων αρτοποιίας λαμβάνει χώρα η αντίδραση Μαιγιάρντ (Maillard reaction). Κατά την συγκεκριμένη αντίδραση, η δραστική καρβονυλομάδα της ζάχαρης αντιδρά με την πυρηνόφιλη αμινομάδα του αμινοξέος. Έτσι, σχηματίζεται ένα σύνθετο μείγμα μορίων στα οποία οφείλονται πολλά αρώματα και γεύσεις. Η συγκεκριμένη αντίδραση οφείλεται για το σκούρο καφέ χρώμα της κόρας σε αρτοκατασκευάσματα όπως τα πρέτσελ, τα μπέγκελ και τα τοστ [65] Οι αντιδράσεις Μαιγιάρντ με τον τρόπο αυτό συνθέτουν ένα μέρος των σακχάρων με αμινοξέα. Τέλος, τα απόβλητα αρτοποιίας ενδέχεται να έχουν διαφοροποιημένη σύσταση από αυτήν του αρχικού αλευριού καθώς μπορεί να αποτελούνται σε ένα ποσοστό από τρόφιμα στα οποία έχουν αναπτυχθεί μύκητες και είναι ορατοί στην επιφάνεια του τροφίμου.

Πίνακας 4-3: Χημική σύσταση Αλευριού

Συστατικά	Σύσταση (%) στο αλεύρι
Υγρασία (υγρή βάση)	12,4
Άμυλο (ξηρή βάση)	68,5
ΤΚΝ (ξηρή βάση)	1,9
Πρωτεΐνη (ξηρή βάση)	11,0
Φώσφορος (ξηρή βάση)	0,289
Μαγνήσιο (ξηρή βάση)	0,067
Κάλιο (ξηρή βάση)	0,572
Ασβέστιο (ξηρή βάση)	0,039

4.2.3 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΤΡΟΠΟΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Οι πιο διαδεδομένες ήδη υπάρχουσες διεργασίες για την επεξεργασία των απορριμμάτων αρτοποιίας είναι η αναερόβια χώνευση (AD) και η αποτέφρωση. Οι μέθοδοι αυτές παράγουν περιορισμένες ποσότητες πράσινης ενέργειας οι οποίες έχουν ελάχιστα περιβαλλοντικά ή οικονομικά οφέλη. Με βάση το μοντέλο της κυκλικής οικονομίας τα τελευταία χρόνια αυξάνονται ολοένα οι έρευνες για ενναλακτικούς τρόπους διαχείρισης και εκμετάλλευσης των αποβλήτων αρτοποιίας . Τα συγκεκριμένα απόβλητα χρησιμοποιούμενα ως πρώτη ύλη προσφέρουν αρκετές δυνατότητες για παραγωγή νέων χημικών ουσιών, τροφίμων και άλλων προϊόντων και υλικών. Κυρίως μέσω της διεργασίας της ζύμωσης τα απόβλητα αρτοποιίας μπορούν να μετατραπούν σε πολύτιμα προϊόντα .

4.2.3.1 ΑΙΘΑΝΟΛΗ

Τα απόβλητα αρτοποιίας αποτελούν ένα από τα πιο υποσχόμενα υποστρώματα για την παραγωγή αιθανόλης. Περιέχουν σημαντική ποσότητα αμύλου που υδρολύεται εύκολα σε μονομερή σάκχαρα χρησιμοποιώντας αμυλάσες. Συγκεκριμένα, το ένζυμο γλυκοαμυλάση, το οποίο χρησιμοποιείται εκτενώς για την υδρόλυση του άμυλου στα βιοδιυλιστήρια, παράγεται από έναν μύκητα που ονομάζεται Aspergillus. Τα συγκεκριμένα ένζυμα χρησιμοποιούνται για να υδρολύουν αλεύρι σε ρεύματα πλούσια σε άνθρακα και άζωτο. Το υδρόλυμα μπορεί εύκολα να μετατραπεί σε αιθανόλη με τη διαδικασία της ζύμωσης με τη χρήση μαγιάς Saccharomyces cerevisiae που παράγει υψηλή ποσότητα αιθανόλης [14] [15]

4.2.3.2 ΒΙΟΥΔΡΟΓΟΝΟ

Το βιοϋδρογόνο ανήκει στην κατηγορία των βιοκαυσίμων είναι φιλικό προς το περιβάλλον και αποτελεί εναλλακτική λύση έναντι των ορυκτών καυσίμων. Η χρήση αποβλήτων ψωμιού για παραγωγή υδρογόνου έχει μελετηθεί σε πειράματα συνεχούς αναερόβιας ζύμωση υδρογόνου, κατά τα οποία τα απόβλητα από ένα εργοστάσιο ψωμιού ζυμώθηκαν με χρήση μικροχλωρίδα ριζόσφαιρας ρυζιού. Χρησιμοποιήθηκαν βακτήρια που παράγουν υδρογόνο Megasphaera elsdenii και Clostridium sp., αποδίδοντας 1,3 mol H2/ mol γλυκόζης. Με βάση άλλες μελέτες, 1g ψωμιού θα μπορούσε να δημιουργήσει 0,332 g γλυκόζης που θα μπορούσε να χρησιμοποιήθεί περαιτέρω για την παραγωγή 109,5 ml υδρογόνου . [60]

4.2.3.3 2,3- ΒΟΥΤΑΝΟΔΙΟΛΗ

Η 2,3 βουτανοδιόλη, είναι μια ένωση άχρωμη, άοσμη με υγρή ή κρυσταλλική μορφή. Η συγκεκριμένη ένωση μπορεί να μετατραπεί σε 1,3-βουταδιένιο, το οποίο είναι χρησιμοποιείται για την παραγωγή συνθετικού καουτσούκ. Τα παράγωγά του

χρησιμοποιούνται ως διαλύτες και αρωματικές ύλες καθώς και στην παραγωγή πλαστικών. Η 2,3-βουτανοδιόλη χρησιμοποιείται στα τρόφιμα, χημικά, φαρμακευτικά, πετρο-χημικές και αεροδιαστημικές βιομηχανίες . Έχει μελετηθεί ο σχηματισμός του D-2,3-βουτανοδιόλη από καλλιέργεια Bacillus amyloliquefaciens σε απόβλητα αρτοποιίας . Αυτή η μελέτη καταδεικνύει ότι ακατέργαστα απόβλητα αρτοποιίας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για ανάπτυξη βιοδιαδικασιών που οδηγεί σε υψηλή παραγωγή D-2,3-βουτανοδιόλης καθαρότητα και αποτελεσματικότητα. Παράλληλα με βάση άλλες έρευνες χρησιμοποιήθηκε το βακτήριο E. ludwigii το οποίο λειτουργεί ως εργοστάσιο κυττάρων για την παραγωγή 2,3-βουτανοδιόλης από υπολείμματα ψωμιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για παραγωγή 2,3-βουτανοδιόλης από τα απόβλητα ψωμιού πραγματοποιώντας όξινη και ενζυματική υδρόλυση, έλαβαν απόδοση γλυκόζης 330–530 g ανά 1 κιλά απόβλητων ψωμιού και 150–200g 2,3-βουτανοδιόλη μπορεί να παραχθεί από 1 κιλό υπολειμμάτων ψωμιού.. [60]

4.2.3.4 ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ

Το Bacillus coagulans είναι ένα θερμόφιλο βακτήριο που μειώνει το ιξώδες, αυξάνει τους ρυθμούς διάχυσης, βελτιώνει τη διαλυτότητα του υποστρώματος και μειώνει την κίνδυνος μόλυνσης. Το συγκεκριμένο βακτήριο έχει χρησιμοποιηθεί σε διαεργασίες ζύμωσης με υπόστρωμα τα απόβλητα αρτοποιίας προς παραγωγή γαλακτικού οξέος. Τα αποτέλεσμα της συγκεκριμένης μελέτης έδειξαν ότι 419,1 g γαλακτικού οξέος μπορούν να παραχθούν από 1 kg απόβλητου αρτοποιίας (155,4 g γαλακτικού οξέος παρήχθησαν από 182,8 g γλυκόζης που λαμβάνεται από 370,8 g υπολειμμάτων ψωμιού). Το B. coagulans έδειξε υψηλά αποτελέσματα (80% της χρήσης γλυκόζης lisation) σε σύγκριση με άλλα βακτήρια που έχουν μελετηθεί αντιστοίχως. Το γαλακτικό οξύ χρησιμοποιείται επίσης στην παραγωγή ιατρικών εμφυτευμάτων και συσκευασιών τροφίμων. Τα αποτελέσματα της χρήσης του B. coagulans επιβεβαιώνουν ότι αυτό το βακτήριο είναι πιο κατάλληλο για παραγωγή γαλακτικού οξέος. [60]

4.2.3.5 ΞΑΝΘΑΝΗ

Η ξανθάνη είναι ένας πολυσακχαρίτης με πρωτογενή δομή που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες πεντασακχαρίτη που σχηματίζονται από δύο μονάδες γλυκόζης, δύο μονάδες μαννόζης και μία μονάδα γλυκουρονικού οξέος. Η δομή της κύριας αλυσίδας είναι πανομοιότυπη με αυτή της κυτταρίνης. Είναι μια μη τοξική, υδατοδιαλυτή, βιοαποικοδομήσιμη, βιοσυμβατή, θερμικά σταθερή και ανοσολογικά αποτελεσματική ουσία, σταθερή υπό όξινες και αλκαλικές συνθήκες . Χρησιμοποιείται ως πυκνωτικό και σταθεροποιητής για εναιωρήματα/γαλακτώματα στη βιομηχανία τροφίμων . Διάφορες έρευνες έχουν χρησιμοποιήσει με επιτυχία ένα υδρόλημα απόβλητου ψωμιού ως βιολογική πηγή για την παραγωγή ξανθάνης. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι το υδρόλυμα από τα υπολείμματα ψωμιού θα μπορούσαν να είναι μια πολλά υποσχόμενη, οικονομικά αποδοτική πηγή άνθρακα για την παραγωγή ξανθάνης [60]

4.2.3.6 ΓΡΑΦΕΝΙΟ

Το γραφένιο είναι ένα ενιαίο στρώμα γραφίτη , εξαιρετικά άκαμπτο υλικό που παρουσιάζει πολύ υψηλή θερμική αγωγιμότητα. Η αντοχή εφελκυσμού του γραφενίου βρέθηκε να είναι ίδια ή μεγαλύτερη από αυτήν CNT, αλλά πολύ υψηλότερο από αυτό του χάλυβα. Καθώς το γραφένιο είναι ένα υλικό με βάση τον άνθρακα, το άχρηστο ψωμί είναι καλό πρόδρομος για αυτή τη σύνθεση, καθώς είναι πηγή ανθράκων. Με βάση έρευνες απόβλητα ψωμιού προστιθέμενα σε απιονισμένο νερό σε υψηλές θερμοκρασίες (70–80◦C) μπορούν να παράξουν εναιώρημα που μοιάζει με γέλη. Αυτό το εναιώρημα μεταφέρθηκε σε autoclave με ανοξείδωτη επένδυση για 12 ώρες. Παράγοντες όπως συγκέντρωση, pH και

θερμοκρασία αντίδρασης (2 g/l, 180 ◦C και pH 7) πρέπει να ελέγχονται καθώς έχουν σημαντικές επιπτώσεις στην ποιότητα του προϊόντος. Με τον τρόπο αυτό, λήφθηκε ένα ομοιόμορφο και ενιαίο στρώμα, στρογγυλού φύλλου γραφενίου υψηλής ποιότητας από απορρίμματα ψωμιού. [60]

4.2.3.7 ΣΟΥΚΙΝΙΚΟ ΟΞΥ

Το σουκινικό οξύ, αποτελεί βασική πρώτη ύλη για πολλές χημικές ουσίες , έχει παραγωγική ικανότητα 30.000 τόνων ετησίως και αντίστοιχη αγοραία αξία 225 εκατομμυρίων δολαρίων. Για τον λόγο αυτό, νέοι τρόποι παραγωγής SA έχουν προσελκύσει ερευνητικό ενδιαφέρον ως εναλλακτική λύση στην τρέχουσα μη βιώσιμη πετροχημική οδό. Έτσι, έχει αρχίσει να ερευνείται μια νέα ιδέα βιοδιυλιστηρίου για τη χρήση απορριμμάτων ψωμιού ως μοναδικής πηγής θρεπτικών συστατικών για την παραγωγή μιας πλούσιας σε θρεπτικά συστατικά πρώτης ύλης , η οποία πρόκειται να ζυμωθεί για να παράξει σουκινικό οξύ με χρήση του Actinobacillus succinogenes. Το απόβλητο ψωμιού χρησιμοποιήθηκε στις SSF διεργασίες ΄με χρήση διαφόρων μυκήτων(Aspergillus awamori, Aspergillus oryzae) που παράγουν σύμπλοκα ενζύμων πλούσια σε αμυλολυτικά και πρωτεολυτικά ένζυμα. Τα προκύπτοντα στερεά ζύμωσης προστέθηκαν απευθείας σε ένα εναιώρημα ψωμιού για να παραχθεί ένα προϊόν υδρόλυσης που περιέχει πάνω από 100 g/L γλυκόζη και 490 mg/L ελεύθερο αμινο άζωτο (FAN) Το υδρόλυμα αυτό χρησιμοποιήθηκε ως τροφοδοσία για ζύμωση με χρήση *A. Succinogenes*. Με τον τρόπο αυτό παράχθηκαν 47.3 g/L σουκινικού οξέος με απόδοση και παραγωγικότητα 1.16 g SA/g γλυκόζης and 1.12 g/L h αντίστοιχα. [60]

5 ΣΚΟΠΟΣ

Τα απόβλητα αρτοποιίας έχουν ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα οργανικού φορτίου και συγκεκριμένα αμύλου. Παράλληλα είναι φθηνά, ανανεώσιμα και παράγονται σε καθημερινή βάση σε μεγάλες ποσότητες. Ως εκ τούτου, στην παρούσα διπλωματική εργασία διερευνάται η δυνατότητα και η βελτιστοποίηση παραγωγής βιοαιθανόλης με πρώτη ύλη τα απόβλητα αρτοποιίας που συλλέχθηκαν από τοπικά αρτοποιεία. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε περιλαμβάνει τα στάδια της προεπεξεργασίας (ξήρανση, κοσκίνισμα), της ενζυμικής υδρόλυσης και της ζύμωσης. Εξετάστηκαν τρεις διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες με στόχο τη βελτιστοποίηση ολόκληρης της διαδικασίας. Η πρώτη πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει πρώτα σακχαροποίηση των υδατανθράκων και στη συνέχεια τη ζύμωση των σακχάρων (Separation Hydrolysis and Fermentation – SHF). Στη δεύτερη πειραματική διαδικασία πραγματοποιείται ταυτόχρονα η σακχαροποίηση των σακχάρων και ζύμωση της αιθανόλης (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF). Τέλος, στην τρίτη διαδικασία πραγματοποιήθηκε παραγωγή βιοαιθανόλης σε πιλοτική κλίματα μέσω πιλοτικούβιοαντιδραστήρα.

6 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

6.1 ΠΡΩΤΗ ΥΛΗ

Κατά την παράδοση των δειγμάτων αποβλήτων αρτοποιίας (Σχήμα 17) στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας (ΜΠΕΤ) παρατηρείται ανομοιογένεια στο σχήμα, στο χρώμα και στη σύσταση. Μετά την παραλαβή τους, τα οργανικά απόβλητα τοποθετήθηκαν σε πλαστικές σακούλες εντός του εργαστηρίου. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε η ξήρανση των αποβλήτων αρτοποιίας όπου ταυτόχρονα έγινε και η ομογενοποίησή τους λόγω της μηχανικής ανάδευσης που γίνεται στο συγκεκριμένο ξηραντήρα. Το τελικό προϊόν στη συνέχεια πέρασε από την διαδικασία κοσκινίσματος (Σχήμα 18) και σε όσες ποσότητες χρειάστηκε πραγματοποιήθηκε και διαδικασία θρυμματίσματος, έως ότου λάβει την μορφή σκόνης, διαμέτρου 1-5 mm (Σχήμα 19). Η διεργασία της ξήρανσης πραγματοποιήθηκε σε ένα εμπορικό σύστημα ξήρανσης Gaia GC-100. Τα προξηραμένα απόβλητα αρτοποιίας αφού ομογενοποιήθηκαν, αποθηκεύτηκαν σε σακούλες απορριμμάτων υψηλής αντοχής για περαιτέρω επεξεργασία (Σχήμα 20). Έπειτα τα απόβλητα αρτοποιίας χαρακτηρίστηκαν ως προς τις ακόλουθες παραμέτρους με βάση τις πρότυπες μεθόδους ανάλυσης.

Σχήμα 17: Ακατέργαστη πρώτη ύλη – Απόβλητα Αρτοποιίας

Σχήμα 18: Κοσκίνισμα πρώτης ύλης μετά από ξήρανση

Σχήμα 19: Θρυμματισμός πρώτης ύλης.

Σχήμα 20: Αποθήκευση κοσκινισμένης πρώτης ύλης.

6.2 ΞΗΡΑΝΣΗ

Ο ξηραντήρας Gaia (Σχήμα 21) είναι ένα σύστημα μείωσης του όγκου των οργανικών απορριμμάτων και υπολειμμάτων φαγητού σε ποσοστό που φτάνει μέχρι και το 90%. Το συγκεκριμένο σύστημα ξήρανσης στηρίζεται στη θέρμανση και τη μηχανική ανάδευση. Είναι χαρακτηριστικό των οργανικών αποβλήτων και συγκεκριμένα των αποβλήτων τροφών και αρτοποιίας το ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό υγρασίας τους (70 – 80%). Συνεπώς η μείωση του όγκου και του βάρους επιτυγχάνεται με την εξάτμιση του νερού. Η κύρια διαφοροποίηση των ξηραντηρίων Gaia από άλλες τεχνολογίες ξήρανσης είναι το συστήματος κλειστού βρόγχου (closed loop). Οι υδρατμοί που παράγονται από την θέρμανση αφού περάσουν από σύστημα δύο φίλτρων οδηγούνται προς συμπύκνωση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην υπάρχουν εκπομπές και οσμές παρά μόνο νερό το οποίο και απομακρύνεται στο αποχετευτικό σύστημα, ενώ το τελικό προϊόν είναι άοσμη, ξηρή αποστειρωμένη βιομάζα που μπορεί να αποθηκευτεί για αρκετές εβδομάδες. Το σύστημα τροφοδοτείται με ηλεκτρική ενέργεια ενώ η θέρμανση είναι δυνατόν να προέρχεται από φυσικό αέριο, πετρέλαιο, ηλεκτρικό ρεύμα ή ακόμα και από ατμό.

Σχήμα 21: Ξηραντήρας Gaia

6.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΣΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

Για την παραγωγή της βιοαιθανόλης από απόβλητα αρτοποιίας εφαρμόστηκαν δυο διαφορετικές διεργασίες η Διακριτή Υδρόλυση και Ζύμωση (Separate Hydrolysis Fermentation, SHF) και η Ταυτόχρονη Σακχαροποίηση και Ζύμωση (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF). Αρχικά, τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε εργαστηριακή κλίμακα και συγκεκριμένα σε δοχεία των 100 mL (autoclavable bottles), με χρήση ανακινούμενου υδατόλουτρου (Unitronic-Orbital, PSelecta). Στη συνέχεια, οι δοκιμές με τις καλύτερες αποδόσεις επανεξετάστηκαν και σε πιλοτική κλίμακα, και συγκεκριμένα στον πιλοτικό βιοαντιδραστήρα όγκου 200 L της Μονάδας Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας του Ε.Μ.Π. προκειμένου να γίνει ανακλιμάκωση της διεργασίας.

6.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ SHF

Στη διεργασία αυτή, το στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης προηγείται του σταδίου της ζύμωσης. Η ενζυμική υδρόλυση είναι μια αρκετά σημαντική διαδικασία για την παραγωγή βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα. Το δομικό άμυλο υδατανθράκων, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη είναι τα συστατικά, από τα οποία θα απελευθερωθεί κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης γλυκόζη, απαραίτητο συστατικό για το στάδιο της ζύμωσης. Και στα δύο στάδια εφαρμόζονται οι βέλτιστες βιβλιογραφικές συνθήκες, έτσι ώστε αρχικά τα ένζυμα να απελευθερώνουν μονομερή σάκχαρα και ακολούθως κατά τη διάρκεια της ζύμωσης με χρήση του κατάλληλου μικροοργανισμού να μετατρέπονται τα σάκχαρα αυτά σε βιοαιθανόλη. Συνήθως, η διεργασία της ενζυμικής υδρόλυσης πραγματοποιείται σε υψηλότερη θερμοκρασία απ' ότι η διεργασία της ζύμωσης, διότι το ένζυμο αυξάνει την καταλυτική του δραστικότητα σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Αντίθετα, η δυναμικότητα του *Saccharomyces cerevisiae* αυξάνεται όταν πραγματοποιείται η ζύμωση των σακχάρων σε ήπιες θερμοκρασίες.

6.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ SSF

Με σκοπό τη μείωση της ενεργειακής κατανάλωσης και την περεταίρω βελτιστοποίηση της παραγωγής βιοαιθανόλης πραγματοποιείται μια διαφορετική διεργασία, η οποία ονομάζεται Ταυτόχρονη Σακχαροποίηση και Ζύμωση (SSF). Μέσω του SSF πραγματοποιείται ταυτόχρονα σε έναν αντιδραστήρα η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση μειώνοντας έτσι την συνολική χρονική διάρκεια της διεργασίας, αλλά και τις λειτουργικές δαπάνες. Οι συνθήκες οι οποίες επικρατούν στον αντιδραστήρα είναι οι ιδανικές τόσο για τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται στην υδρόλυση όσο και για τον μικροοργανισμό που χρησιμοποιείται για την ζύμωση. Τα σάκχαρα που υδρολύονται από τα ένζυμα μετατρέπονται άμεσα σε βιοαιθανόλη από τον μικροοργανισμό *Saccharomyces cerevisiae*. Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό αυτής της διεργασίας είναι ότι η πιθανή ενζυμική παρεμπόδιση από την παραγωγή της γλυκόζης και κελλοβιόζης που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της ενζυμικής υδρόλυσης αντιμετωπίζεται από την άμεση κατανάλωση τους κατά την διάρκεια της ζύμωσης .

Η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση είναι μια ενθαρρυντική εναλλακτική λύση για την παραγωγή βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα και για το λόγο αυτό εξετάζεται και αυτή στην παρούσα διπλωματική εργασία.

6.6 ΠΙΛΟΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ – ΒΙΟΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ

Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως πραγματοποιήθηκαν δοκιμές και σε πιλοτική κλίμακα. Για τα συγκεκριμένα πειράματα, χρησιμοποιήθηκε ο βιοαντιδραστήρας που είχε κατασκευαστεί στα πλαίσια του ευρωπαϊκού έργου Life Waste2Bio του Μονάδας Επιστήμης και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος Ε.Μ.Π. .

Τα συστήματα ζύμωσης βιοαποβλήτων προς παραγωγή βιοαιθανόλης μπορούν να ταξινομηθούν σύμφωνα με τον τρόπο λειτουργίας τους ως continuous flow (συνεχής ροής), fed-batch (βιοαπόβλητο τροφοδοτείται κατά παρτίδες) ή batch (όλη η τροφοδοσία στον χρόνο μηδέν της διεργασίας). Τα χαρακτηριστικά του υδρολύματος, οι κινητικές ιδιότητες της μαγιάς και οι τεχνοοικονομικές παράμετροι είναι οι κινητήριες δυνάμεις για την επιλογή του καταλληλότερου συστήματος. Εκτός από τον τρόπο λειτουργίας, η ζύμωση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε μετά είτε ταυτόχρονα με την υδρόλυση. Έτσι, έχουν προταθεί διάφορες διαμορφώσεις διεργασίας ζύμωσης. Ξεχωριστή Υδρόλυση και Ζύμωση (SHF), Ταυτόχρονη Σακχαροποίηση και Ζύμωση (SSF), μη ισοθερμική Ταυτόχρονη Σακχαροποίηση και Ζύμωση (NSSF) και Ταυτόχρονη Σακχαροποίηση και Συν-ζύμωση (SSCF) έχουν αναφερθεί για παραγωγή βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα.

Η μονάδα βιομετατροπής αποτελείται από δύο διασυνδεόμενους οριζόντιους κυλινδρικούς βιοαντιδραστήρες των 200L, με έναν περιστρεφόμενο άξονα για την ανάμιξη του υλικού (Σχήμα 22). Η θερμοκρασία ελέγχεται με νερό που βρίσκεται σε εξωτερικά τοιχώματα γύρω από τον κάθε αντιδραστήρα. Κάθε βιοαντιδραστήρας έχει ανεξάρτητο κύκλωμα θέρμανσης, οπότε η θερμοκρασία του μείγματος αντίδρασης ρυθμίζεται και ελέγχεται μέσω του Πίνακα ελέγχου (PLC). Τέσσερις κεντρικές οθόνες θερμοκρασίας περιλαμβάνονται στον κεντρικό πίνακα. Ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει τόσο τη θερμοκρασία αντίδρασης, όσο και τη θερμοκρασία του ανακυκλωμένου νερού. Το pH

παρακολουθείται και ελέγχεται, μέσω ενός πλήρως αυτοματοποιημένου συστήματος που περιλαμβάνει ανιχνευτές pH και 4 περισταλτικές αντλίες για την προσθήκη των απαραίτητων χημικών. Η λειτουργία του πιλοτικού σταθμού ελέγχεται πλήρως μέσω του αναβαθμισμένου πίνακα ελέγχου PLC Siemens S7-1200. Ο χειριστής μπορεί να ορίσει όλες τις παραμέτρους λειτουργίας (Θερμοκρασία, pH, χρόνος και κατεύθυνση ανάμιξης, συνολική διάρκεια ανάδευσης) μέσω της εγκατεστημένης οθόνης αφής 7'' Siemens. Επιπλέον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποθηκευμένα προγράμματα.

Σχήμα 22: Μονάδα Βιομετατροπής.

Εφαρμόζεται ένα μόνο στάδιο απόσταξης για την ανάκτηση της αιθανόλης. Όταν τελειώσει η ζύμωση, το μίγμα ζύμωσης θερμαίνεται στους 75°C και εφαρμόζεται αντλία κενού με χαμηλό κενό. Οι ατμοί που παράγονται μέσω μονωμένων σωλήνων διέρχονται μέσω της σπείρας του εναλλάκτη θερμότητας και του συμπυκνώματος. Το συμπύκνωμα που προκύπτει συλλέγεται στον πυθμένα του δοχείου. Όσον αφορά την ικανότητα επεξεργασίας του συστήματος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι αυτό σχετίζεται στενά με κρίσιμες λειτουργικές παραμέτρους όπως το φορτίο του στερεού, τη διάρκεια της υδρόλυσης και τη ζύμωση. 10% στερεής φόρτισης, ενζυμική υδρόλυση 6 ωρών και ζύμωση 16 ωρών αντιστοιχεί σε δυναμικότητα συστήματος 40 kg/ d ξηρών βιοαποβλήτων. Από την άλλη πλευρά, 10% στερεής φόρτισης και 12 ώρες ταυτόχρονης διαδικασίας ζύμωσης και σακχαροποίησης αντιστοιχεί σε 80 kg/d ξηρών βιοαποβλήτων. Έτσι, είναι προφανές ότι η δυναμικότητα θα μπορούσε να ρυθμιστεί μέσω των επιλογών των λειτουργικών παραμέτρων.

6.7 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

6.7.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ TS

Για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών TS ζυγίζεται ποσότητα 2-3 g για κάθε δείγμα βιοαποβλήτου σε ζυγό ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετούνται σε προζυγισμένα ποτήρια ζέσεως, με τρόπο ώστε να καλύπτουν τον πάτο του ποτηριού και μπαίνουν σε φούρνο ξήρανσης Carbolite στους 105°C για 24 ώρες. Μετά

το πέρας των 24 ωρών τα δείγματα τοποθετούνται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά, ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου, και ζυγίζονται ξανά. Παράλληλα με την διαδικασία προσδιορισμού των ολικών στερεών TS, σε ένα μεγάλο ποτήρι ζέσεως τοποθετείται δείγμα αποβλήτου (περίπου 10-15 g), το οποίο χρησιμοποιείται για τον υπόλοιπο χαρακτηρισμό. Αφού μπαίνει στο φούρνο ξήρανσης στους 105°C για 24 ώρες, μετριέται η υγρασία από την συσκευή μέτρησης υγρασίας, ώστε να ελεγχθεί ότι είναι κάτω από 10%.

Το ποσοστό των ολικών στερεών υπολογίζεται από το λόγο της τελικής μάζας m_f προς την αρχική m_i, σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση (2):

$$\%\mathrm{TS} = \left(\frac{m_f}{m_i}\right) \cdot 100 \quad (2)$$

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_2$$

Όπου:

m_1= Ποτήρι ζέσεως (g)

m_2= Π.ζ.+ Δείγμα (g)

m_3= Π.ζ.+ Δείγμα στους 105 °C (g)

6.7.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ 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, περίπου 0.5-1 g για κάθε δείγμα TS και αυτά τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες κάψες. Μετά. τα δείγματα μπήκαν στο φούρνο Barnstead Thermolyne στους 550 °C για 4 ώρες. Ο φούρνος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των πτητικών στερεών απεικονίζεται στην παρακάτω εικόνα (Σχήμα 23) :

Σχήμα 23: Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών, Barnstead Thermolyne.

Μετά το πέρας των 4-5 ωρών. οι κάψες αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά. ώστε να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος ζυγίζονται ξανά οι κάψες μαζί με τα περιεχόμενα δείγματα.

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 (4):

$$\%\mathrm{VS} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i}\right) \cdot 100 \quad (4)$$

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_1$$

Όπου:

m_i= αρχική μάζα ξηρού δείγματος (g)

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

m_1=Κάψα (g)

m_2= Κάψα + Δείγμα (g)

m_3= Κάψα + Δείγμα 550 °C (g)

6.7.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΑΙΩΝ ΣΕ ΣΤΕΡΕΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

6.7.3.1 Soxhlet

Ο προσδιορισμός των ελαίων σε στερεό πραγματοποιείται με εκχύλιση των ελαίων σε διάταξη Soxhlet, με χρήση εξανίου. Το εξάνιο είναι ένας χημικά αδρανής και πτητικός μη πολικός διαλύτης. Για τον προσδιορισμό των ελαίων χρησιμοποιείται το αποξηραμένο δείγμα από το μεγάλο ποτήρι ζέσεως που αναφέρθηκε στη διαδικασία προσδιορισμού των

TS. Δηλαδή, ζυγίζονται περίπου 10 – 20 g ξηρού δείγματος και τοποθετούνται σε προζυγισμένη χαρτούσα. Ζυγίζεται μία κυκλική φιάλη 24/29, με 6 – 7 Glass Beads. Σε αυτή εισάγεται εξάνιο, έως ότου η φιάλη να γεμίσει λίγο πιο πάνω από τη μέση. Στη συνέχεια, η χαρτούσα με το δείγμα βρέχεται ελάχιστα με εξάνιο, και τοποθετείται μαζί με την κυκλική φιάλη στην Soxhlet. Ακολουθεί το άνοιγμα της βρύσης και της διάταξης, ώστε να αρχίσει η θέρμανση. Η εκχύλιση διαρκεί 4 – 6 ώρες. Στο τέλος, η χαρτούσα τοποθετείται σε φούρνο στους 105 ℃, ώστε να εξατμιστεί το εξάνιο και ζυγίζεται μετά από 2 – 24 ώρες.

Ο προσδιορισμός των ελαίων με βάση το στερεό προκύπτει με βάση την αρχική και τελική μάζα του στερεού στη χαρτούσα με βάση την παρακάτω εξίσωση (5) :

$$\% \text{ Oils} = \frac{m_f}{m_i} \cdot 100 \quad (5)$$

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_2$$

Όπου:

m_1:Χαρτούσα (g)

m_2:Χαρτούσα + Δείγμα (g)

m_3:Χαρτούσα + Δείγμα 105 °C (g)

Σχήμα 24: Διάταξη εκχύλισης ελαίων Soxhlet.

6.7.3.2 Περιστροφικός εξατμιστήρας (Rotary Evaporator)

Για την αποτελεσματική απομάκρυνση του εξανίου από τα έλαια χρησιμοποιείται ο περιστροφικός εξατμιστήρας. Η φιάλη με το εξάνιο και τα εκχυλισμένα έλαια από την Soxhlet τοποθετείται στη διάταξη. Ακολουθούν τα εξής βήματα:

- Άνοιγμα βρύσης
- Άνοιγμα διακόπτη της διάταξης
- Ρύθμιση θερμοκρασίας στους 60 ℃

- Άνοιγμα αντλίας
- Ρύθμιση κενού (μέχρι 400 mbar)
- Ρύθμιση στροφών

Στο τέλος, αφού πρώτα αδειάσει η φιάλη με το ανακτημένο εξάνιο, εφαρμόζεται πλήρες κενό, ώστε να γίνει πλήρης εκχύλιση των ελαίων. Η φιάλη μπαίνει σε φούρνο στους 105 °C για μισή ώρα και αφού έρθει σε θερμοκρασία δωματίου, ζυγίζεται. Ο προσδιορισμός γίνεται με βάσει την αρχική και την τελική μάζα με βάση την παρακάτω εξίσωση (6):

$$\%\ \text{Oils} = \frac{m_5 - m_4}{m_2 - m_1} \cdot 100 \quad (6)$$

Όπου:

m_4: Φιάλη+G.B.(g)

m_5: Φιάλη +G.B.+Oils(g)

6.7.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΔΑΤΟΔΙΑΛΥΤΩΝ ΣΤΕΡΕΩΝ WS

Για τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών αρχικά λαμβάνονται 2.5 g από κάθε δείγμα TS. Αυτά τοποθετούνται μαζί με 100 mL απιονισμένου νερού σε γυάλινα μπουκαλάκια τα οποία σφραγίζονται. Στη συνέχεια, τα γυάλινα μπουκαλάκια τοποθετούνται στο ανακινούμενο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 50 °C και ταχύτητα ανάδευσης 130 rpm για 1 ώρα. Μετά το πέρας της 1 ώρας, τα δείγματα διηθούνται, για να συλλεχθεί η στερεή και η υγρή φάση. Η στερεή φάση των δειγμάτων τοποθετείται σε προζυγισμένα ποτήρια ζέσεως, τα οποία μπαίνουν στον φούρνο ξήρανσης στους 105 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, τα δείγματα τοποθετούνται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ακολούθως ζυγίζονται. Συλλέγεται η υγρή φάση των δειγμάτων, ώστε να μετρηθεί η ελεύθερη γλυκόζη με "GOD"/"PAP"

Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με την εξίσωση (7):

$$\%\text{WS} = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i}\right) \cdot 100 \quad (7)$$

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_1$$

Όπου:

m_i =η αρχική μάζα ξηρού δείγματος

m_f =η τελική μάζα μετά το πέρας 24 ωρών στους 105 °C

m_1= Ποτήρι ζέσεως + Διηθητικό Χαρτί (g)

m_2= Π.ζ.+ Διηθητικό Χαρτί + Δείγμα (g)

m_3= Π.ζ.+ Διηθητικό Χαρτί + Δείγμα στους 105 °C (g)

6.7.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Η μέθοδος προσδιορισμού της γλυκόζης βασίζεται στη μετατροπή της γλυκόζης σε ένα προϊόν ερυθρού χρώματος, που είναι αποτέλεσμα της διαδοχικής δράσης των ενζύμων

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

$$\text{Γλυκόζη} \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Γλυκονικό οξύ} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{Αμινοφαιναζόνη} + \text{Φαινολικό παράγωγο} \xrightarrow{\text{POD}} \begin{matrix}\text{Προϊόν} \\ \text{(Ερυθρού χρωματος)}\end{matrix}$$

6.7.5.1 Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP

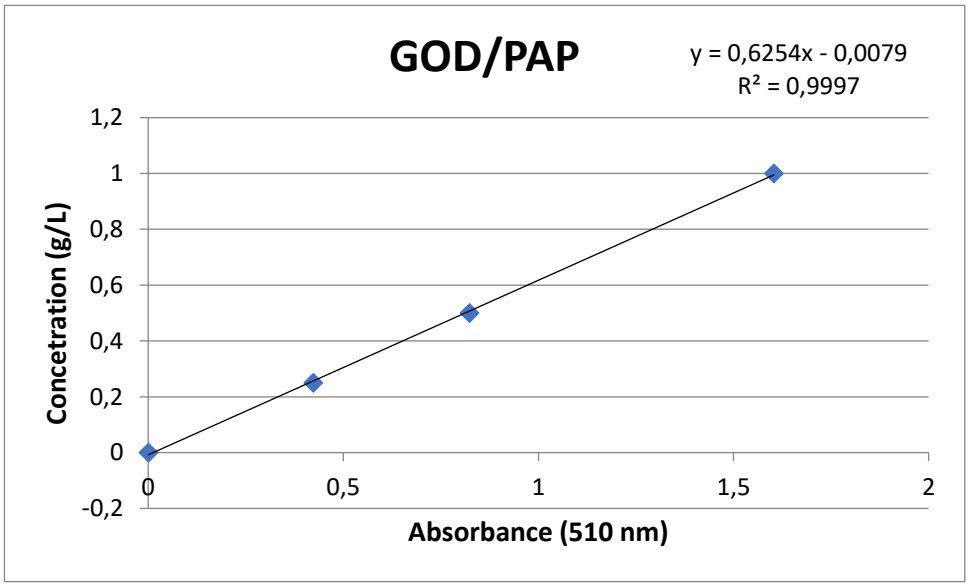
Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP κατασκευάζεται πρώτα η καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με την παρακάτω μέθοδο:

- Χρησιμοποιείται πρότυπο διάλυμα γλυκόζης 1 g/L. Πραγματοποιούνται αραιώσεις του παραπάνω διαλύματος με απιονισμένο νερό, έτσι ώστε να προκύψουν διαλύματα γλυκόζης 0.25, 0.5, 0.75 g/L.
- Σε 8 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 10 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.

Πίνακας 6-1: Μετρήσεις για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP.

Συγκέντρωση γλυκόζης (g/L)	ABS_1	ABS_2	Μέση τιμή	Απορρόφηση τυφλό
0	0.023	0.023	0.023	0
0.25	0.453	0.438	0.4455	0.4225
0.5	0.844	0.848	0.846	0.823
0.75	1.391	1.238	1.3145	1.2915
1	1.638	1.615	1.6265	1.6035



Σχήμα 25: Καμπύλη αναφοράς με τη μέθοδο GOD/PAP.

Από την εξίσωση της καμπύλης λαμβάνεται ο συντελεστής που μετατρέπει την απορρόφηση γλυκόζης στα 510 nm σε συγκέντρωση.

Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης στα προς μελέτη υλικά άγνωστης συγκέντρωσης, χρησιμοποιούνται τα διηθήματα που προέκυψαν μετά από την ενζυμική ή όξινη υδρόλυση των δειγμάτων. Στα διηθήματα αυτά, αρχικά πραγματοποιείται η κατάλληλη αραίωση (ανάλογα το υπόστρωμα). Στη συνέχεια, προστίθενται σε γυάλινα φιαλίδια 2 mL διαλύματος εργασίας και 0.1 mL αραιωμένου δείγματος. Για την παρασκευή του τυφλού, προστίθενται σε γυάλινο φιαλίδιο 2 mL διαλύματος εργασίας και 0.1 mL απιονισμένου νερού. Ακολούθως, τα γυάλινα φιαλίδια τοποθετούνται για επώαση στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 ^{o}C για 10 λεπτά.

Μετά το πέρας της επώασης κάθε ένα γυάλινο φιαλίδιο 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 μηδενίζεται με απιονισμένο νερό.

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

Τέλος, η ελεύθερη γλυκόζη υπολογίζεται με βάση τη σχέση που ακολουθεί (8):

$$\text{Ελεύθερη γλυκόζη}(\%\,\text{w/w}) = \frac{0.6254 \cdot ABS_{mean} \cdot D \cdot V \cdot 10^{-3}}{\text{Initial Solid}} \cdot 100 \quad (8)$$

Όπου:

ABS_{mean}: ο μέσος όρος απορρόφησης.

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

V: ο συνολικός όγκος του διηθήματος.

6.7.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ

Η διαδικασία προσδιορισμού κυτταρίνης πραγματοποιείται στην όξινη υδρόλυση του στερεού υπολείμματος που προέκυψε από τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών (WS).

6.7.6.1 Όξινη υδρόλυση

- Λαμβάνονται 300 mg από το κάθε δείγμα στερεού υπολείμματος που προέκυψε κατά τον προσδιορισμό WS και τοποθετούνται σε γυάλινα μπουκαλάκια. Εκεί προστίθενται 3 mL H_2SO_4 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 (Σχήμα 26) για μία ώρα και σε θερμοκρασία 121 ℃.
- Μετά την αποστείρωση, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνεχεία διηθούνται. Τα διηθήματα αποθηκεύονται σε falcon tubes των 50 mL, ενώ τα στερεά υπολείμματα σε πορσελάνινες προζυγισμένες κάψες. Από το υπερκείμενο υγρό προσδιορίζεται η διαλυτή λιγνίνη με φωτομέτρηση στα 320 nm, ενώ από το στερεό που συλλέγεται στις κάψες προσδιορίζονται τα μη διαλυτά σε οξύ υπολείμματα.

Σχήμα 26: Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave.

6.7.6.2 Εξουδετέρωση

- Από τα διηθήματα που προκύπτουν από την όξινη υδρόλυση λαμβάνονται 20 mL από το καθένα και εξουδετερώνονται, υπό ανάδευση, με χρήση $CaCO_3$ (περίπου 0.81 g) έως ότου το pH να κυμαίνεται μεταξύ 5 και 6.
- Μετά την εξουδετέρωση τα δείγματα αφήνονται να ηρεμήσουν και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό μέσω φυγοκέντρησης.
- Το υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος αραιώνεται κατάλληλα και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP. Από το υπερκείμενο υγρό λαμβάνονται 0.1 mL τα οποία τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια, στα οποία προστίθενται και 2 mL αντιδραστηρίου σακχάρου.
- Ακολούθως, τα φιαλίδια τοποθετούνται στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 °C για 10 λεπτά. Τέλος, λαμβάνει χώρα φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm.
- Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται στη κατασκευασμένη καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP και υπολογίζεται το ποσοστό γλυκόζης με την παρακάτω σχέση (9):

$$\text{Total gluc (\% w/w)} = \frac{0.6254 \cdot ABS_{mean} \cdot D \cdot 86.73 \cdot 10^{-3}}{\text{Initial Solid}} \cdot \frac{100}{0.897} \quad (9)$$

όπου:

ABS_{mean}: ο μέσος όρος απορρόφησης

D: αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα

86.73 (mL): προκαθορισμένη τιμή συνολικού όγκου

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, το ποσοστό της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση (10):

$$\text{Κυτταρίνη}(\%\ \text{w/w}) = \text{Total gluc}(\%\ \text{w/w}) \cdot \frac{\text{M}_{\text{R,cellulose}}}{\text{M}_{\text{R,glucose}}} \quad (10)$$

Όπου:

$$\frac{M_{R,cellulose}}{M_{R,glucose}} = \frac{162}{180} = 0.9$$

6.7.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΗΜΙΚΥΤΤΑΡΙΝΗΣ

Για τον προσδιορισμό της ημικυτταρίνης ακολουθείται η διαδικασία προσδιορισμού αναγωγικών σακχάρων. 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 μέσω των παρακάτω εξισώσεων (11), (12):

$$ABS_{xyl} = ABS_{hcell} - ABS_{glu} \quad (11)$$

$$ABS_{glu} = 0.6591 \cdot C_{glu} \quad (12)$$

Όπου:

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

ABS_{hcell}: η απορρόφηση σε μήκος κύματος 540 nm, η οποία μετρήθηκε στο συγκεκριμένο στάδιο.

C_{glu}: συγκέντρωση γλυκόζης που μετρήθηκε στον προσδιορισμό της κυτταρίνης

ABS_{glu}: η απορρόφηση στα 540 nm που προκύπτει εισάγοντας την C_{glu}, στην καμπύλη αναφοράς γλυκόζης με τη μέθοδο DNS

Κατόπιν, υπολογίζεται η συγκέντρωση ξυλόζης (13):

$$\text{Total xylose}\ (\text{mg/mL}) = \frac{1.4268 \cdot \text{ABS}_{\text{xyl}}}{0.86} \quad (13)$$

όπου:

0.86: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της ξυλόζης

Τέλος, η ποσότητα της ημικυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση (14):

$$\text{Ημικυτταρίνη}\ (\%\,\text{w/w}) = \frac{(\text{Total xylose}) \cdot \left(\frac{M_{R,hcell}}{M_{R,xylose}}\right) \cdot 86.73}{\text{Initial Solid}} \cdot 100 \quad (14)$$

Όπου:

$$\frac{M_{R,hcell}}{M_{R,xylose}} = \frac{132}{150}$$

86.73 (mL): προκαθορισμένη τιμή του συνολικού όγκου

Initial Solid (mg): η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

6.7.8 ΔΙΑΛΥΤΗ ΛΙΓΝΙΝΗ

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

Στη συνέχεια με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν προσδιορίζεται η συγκέντρωση λιγνίνης (15):

$$\text{Λιγνίνη (\% w/w)} = \left(\frac{ABS_{mean} \cdot D \cdot 0.08673}{\varepsilon \cdot \text{Initial Solid} \cdot \text{Pathlength}}\right) \cdot 100 \quad (15)$$

Όπου:

ABS_{mean}: ο μέσος όρος απορρόφησης

D: η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα

86.73 (mL): προκαθορισμένη τιμή συνολικού όγκου

Initial Solid (g): η μάζα του δείγματος που λήφθηκε από τα στερεά υπολείμματα που προέκυψαν κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

Pathlength (cm): το μήκος διαδρομής της ακτινοβολίας – μήκος κυψελίδας (1 cm)

ε: σταθερά που εξαρτάται από το είδος της πρώτης ύλης και το μήκος κύματος της φωτομέτρησης (ε=30 L/(g·cm) για οργανική ύλη στα 320 nm)

6.7.9 ΜΗ ΔΙΑΛΥΤΗ ΛΙΓΝΙΝΗ

Οι πορσελάνινες κάψες με τα στερεά υπολείμματα που έχουν προκύψει κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης τοποθετούνται στο φούρνο ξήρανσης στους 105 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και κατόπιν ζυγίζονται. Στη συνέχεια, τοποθετούνται στο φούρνο στους 575 °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών αφήνονται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ξαναζυγίζονται. Από τη διαφορά των δυο μαζών που μετρήθηκαν προκύπτει το ποσοστό της μη διαλυτής λιγνίνης, όπως φαίνεται και στην παρακάτω εξίσωση (16):

$$\text{\% Μη διαλυτή λιγνίνη} = \left(\frac{m_{105} - m_{575}}{\text{Initial Solid}}\right) \cdot 100 \quad (16)$$

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 (≈ 300mg)

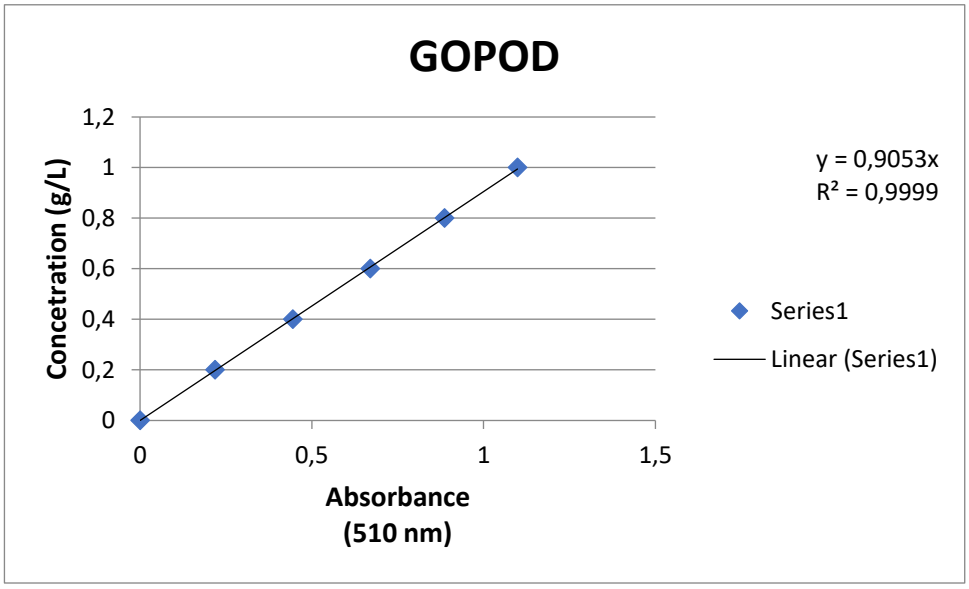
6.7.10 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΑΜΥΛΟΥ

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

Τα βήματα της διαδικασίας που ακολουθούνται είναι τα εξής:

- 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. Το στερεό πρέπει να βρίσκεται στον πάτο των φιαλιδίων και όχι στα τοιχώματα.
- Εκτός από τα ανωτέρω γυάλινα φιαλίδια ετοιμάζεται ένα ακόμα με την προσθήκη 0.1 mL Sodium acetate buffer με $\mathrm{pH} = 5$ ή απιονισμένου νερού (τυφλό).
- Στα γυάλινα φιαλίδια προστίθενται 0.2 mL αιθανόλης (80% v/v) και τα φιαλίδια αναδεύονται στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2. Η ανάδευση είναι πολύ σημαντική, για να βοηθήσει την πλήρη διάλυση του σε δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο.
- Στα γυάλινα φιαλίδια προστίθενται 2 mL NaOH 1.7M και αναδεύονται για 15 sec στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2. Τα φιαλίδια τοποθετούνται σε παγόλουτρο για 15 min, με παράλληλη ανάδευση κάθε 5 min. Είναι σημαντικό να μην υπάρχουν σβώλοι στο δείγμα.
- Μετά την αφαίρεση τους από το παγόλουτρο ακολουθεί η προσθήκη 8 mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου (CH_3COONa , sodium acetate buffer, $\mathrm{pH} = 3.8$), 0.1 ml α-αμυλάσης (α-amylase) και 0.1 mL αμυλογλυκοσιδάσης (AMG: amyloglucosidase). Στο τυφλό δείγμα, αντί για την προσθήκη ενζύμων, γίνεται προσθήκη 0.2 mL από το Sodium acetate buffer με $\mathrm{pH} = 5$.
- Τα δείγματα αναδεύονται και τοποθετούνται σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 50 °C για 30 min με παράλληλη έντονη ανάδευση τους κάθε 5 min. Μετά το πέρας των 30min τα δείγματα τοποθετούνται για φυγοκέντρηση για 10 min, με ταχύτητα φυγοκέντρησης 3000 rpm, στη συσκευή φυγοκέντρησης IEC/ CENTRA CL2.
- Μετά τη φυγοκέντρηση ακολουθείται η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOPOD, στο υπερκείμενο υγρό: Το υπερκείμενο υγρό αραιώνεται με $D = 5$ ($D = 11$ στην περίπτωση υψηλού αμύλου) και στη συνέχεια για κάθε δείγμα συμπεριλαμβανομένων και των τυφλών, ετοιμάζονται δοκιμαστικοί σωλήνες, στους οποίους προστίθενται 0.1 ml αραιωμένου διαλύματος και 3 mL διαλύματος εργασίας (GOPOD). Οι δοκιμαστικοί σωλήνες επωάζονται στους 50 °C για 20 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 καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με τη μέθοδο GOPOD, και στη συνέχεια υπολογίζεται η συγκέντρωση του αμύλου, με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν. Η καμπύλη αναφοράς έγινε με το πρότυπο διάλυμα γλυκόζης που παρέχει η Megazymes και παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 27).



Σχήμα 27: Καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης με τη μέθοδο GOPOD.

$$C_{\gamma\lambda\upsilon\kappa\acute{o}\zeta\eta\varsigma}\ (\%\ \mathrm{w/w}) = \left(\frac{0.9053\ \cdot ABS_{mean}\cdot\ D\cdot 10.4\cdot 10^{-3}}{\text{Initial Solid}}\right)\cdot 100\% \quad (17)$$

$$\text{Ολικό άμυλο}\ (\%\ \mathrm{w/w}) = C_{\gamma\lambda\upsilon\kappa\acute{o}\zeta\eta\varsigma}\cdot\left(\frac{M_{r,starch}}{M_{r,glucose}}\right) \quad (18)$$

Όπου:

- ABS_{mean}: ο μέσος όρος απορρόφησης.
- D: Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα (D=1 όταν το διάλυμα δεν υφίσταται αραίωση, $D = 5$ όταν η αραίωση είναι 1:5 και D=10 όταν η αραίωση είναι 1:10)
- 10.4 (mL): προκαθορισμένη τιμή συνολικού όγκου
- Initial Solid: η μάζα του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε
- $\frac{M_{r,\alpha\mu\acute{\upsilon}\lambda o\upsilon}}{M_{r,\gamma\lambda\upsilon\kappa\acute{o}\zeta\eta\varsigma}} = 0.9$

6.7.11 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ TOC

Για τον προσδιορισμό της επί της εκατό κατά όγκο περιεκτικότητας ολικού οργανικού άνθρακα TOC χρησιμοποιήθηκε η συσκευή TOC της εταιρείας Shimatzu η οποία απεικονίζεται στο παρακάτω Σχήμα 28

Σχήμα 28: Συσκευή μέτρησης TOC.

Μετά τα διαλύματα μετρήθηκαν στη συσκευή μέτρησης TOC από την οποία υπολογίστηκε η περιεκτικότητα κατά όγκο ολικού οργανικού άνθρακα σε mg/L.

6.7.12 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ

Για τον προσδιορισμό της αιθανόλης ακολουθείται η μέθοδος Megazymes χρησιμοποιούμενα ένζυμα περιλαμβάνονται στο σετ αντιδραστηρίων που παρέχει η εταιρεία Megazyme προκειμένου για τον προσδιορισμό της αιθανόλης.

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 επιλεχθεί η μέθοδος με τον AutoSelector, μετά από ανάδευση στη συσκευή ανάδευσης Vortex Genie 2 και μηδενισμό του φωτομέτρου με απιονισμένο νερό.

6.7.13 ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ

Προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι υπολογισμοί που ακολουθούν, παρατίθενται κάποιοι χρήσιμοι ορισμοί.

- Θεωρητικό άμυλο (g) = Άμυλο%·αρχικό στερεό κλάσμα (g)
  Η επι τοις εκατό σύσταση αμύλου στην τροφοδοσία υπολογίζεται μέσω της μεθοδολογίας που αναλύεται σε προηγούμενο κεφάλαιο στην πρώτη ύλη.

- Θεωρητική γλυκόζη από άμυλο (g)=θεωρητικό άμυλο (g)/0.9
  Με την έννοια της θεωρητικής γλυκόζης εκφράζεται η γλυκόζη που θα παραγόταν αν πραγματοποιούνταν πλήρης διάσπαση του αμύλου. Η θεωρητική αυτή γλυκόζη προκύπτει από την παρακάτω εξίσωση .Ο συντελεστής 0.9 προκύπτει με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης (1/1), καθώς και από τον λόγο των μοριακών βαρών της γλυκόζης και του αμύλου (Μ.Β. αμύλου/Μ.Β. γλυκόζης = 162/180=0.9).

- Θεωρητική αιθανόλη=Θεωρητική γλυκόζη·0.511

Ο συντελεστής 0.511 προκύπτει με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης (2 μόρια γλυκόζης δίνουν 1 μόριο αιθανόλης) και από τον λόγο των μοριακών βαρών της αιθανόλης και της γλυκόζης (Μ.Β.αιθανόλης/Μ.Β.γλυκόζης= 46/180=0.2555).

Με βάση τους παρακάτω υπολογισμούς, υπολογίστηκαν η απόδοση σακχαροποίησης, η απόδοση ζύμωσης και η απόδοση αιθανόλης και παρουσιάζονται στις ακόλουθες εξισώσεις (19,20,21):

1. Απόδοση σακχαροποίησης (%)= $\frac{\text{Μάζα γλυκόζης που παράγεται } (g)}{\text{θεωρητική γλυκόζη } (g)} \cdot 100\%$ (19)

2. Απόδοση ζύμωσης (%)= $\frac{\text{Μάζα αιθανόλης που παράγεται}}{\text{Μάζα αιθανόλης που θα παραγόταν εάν όλη η παράγομενη γλυκόζη μετατρέπονταν σε αιθανόλη}} \cdot 100\%$ (20)

3. Απόδοση Αιθανόλης (%)= $\frac{\text{Μάζα αιθανόλης που παράγεται}}{\text{Μάζα αιθανόλης που θα παραγόταν εάν όλο το άμυλο του υποστρώματος μετατρέπονταν σε αιθανόλη}} 100\%$ (21)

7 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

Για την παραγωγή βιοαιθανόλης, εξετάστηκαν δύο διαφορετικές πειραματικές διαδικασίες με στόχο τη βελτιστοποίηση παραγωγής βιοαιθανόλης ως προς την απόδοση βιοαιθανόλης. Η πρώτη πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει διακριτή σακχαροποίηση των υδατανθράκων και της ζύμωσης των σακχάρων (Separation Hydrolysis and Fermentation – SHF), ενώ στη δεύτερη πειραματική διαδικασία πραγματοποιείται ταυτόχρονα η σακχαροποίηση των σακχάρων και ζύμωση της αιθανόλης (Simultaneous Saccharification and Fermentation – SSF). Τα πειράματα της ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης πραγματοποιήθηκαν τόσο σε εργαστηριακή όσο και σε πιλοτική κλίμακα. Ακόμη, πραγματοποιήθηκε διερεύνηση σχετικά με τον χρόνο της ζύμωσης, τον χρόνο της υδρόλυσης, καθώς και την ποσότητα της μαγιάς μέσω πειραματικών δοκιμών. Στη συνέχεια με βάση τις βέλτιστες συνθήκες για τους παραπάνω υπό διερεύνηση παράγοντες πραγματοποιήθηκε παραγοντικός σχεδιασμός με κύριες παραμέτρους την ποσότητα ενζύμου (μL/g αμύλου), την θερμοκρασία υδρόλυσης (στην περίπτωση SHF), καθώς και το φορτίο του στερεού. Μετά τις δύο πειραματικές διαδικασίες η δοκιμή με τα καλύτερα αποτελέσματα αποδόσεων μελετήθηκε σε ανακλιμάκωση σε πιλοτική κλίμακα.

7.1 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ

Έπειτα, σε εργαστηριακή κλίμακα πραγματοποιήθηκαν πειράματα με σκοπό την διερεύνηση του βέλτιστου χρόνου της διαδικασίας υδρόλυσης. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκαν 3 πειράματα με δύο επαναλήψεις στο καθένα. Στο πρώτο πείραμα ο χρόνος υδρόλυσης ήταν 1 ώρα, στο δεύτερο 2 ώρες και στο τρίτο 3 ώρες. Οι υπόλοιπες συνθήκες των πειραμάτων (Στερεή φόρτιση, ποσότητα ενζύμου) παρέμειναν σταθερές. Οι συνθήκες των συγκεκριμένων πειραμάτων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7-1).

Πίνακας 7-1: Συνθήκες πειραμάτων διερεύνησης χρόνου υδρόλυσης.

Πείραμα	Στερεή φόρτιση (% w/w)	Ένζυμο (μL/g αμύλου)	Θερμοκρασία υδρόλυσης (ºC)	Χρόνος υδρόλυσης (h)	Θερμοκρασία ζύμωσης (ºC)	Χρόνος ζύμωσης (h)	Μαγιά (% στερεού)
1	20.0	20.0	35.0	1	35.0	48	2.0
2	20.0	20.0	35.0	2	35.0	48	2.0
3	20.0	20.0	35.0	3	35.0	48	2.0

7.2 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΧΡΟΝΟΥ ΖΥΜΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΜΑΓΙΑΣ

Αρχικά, σε εργαστηριακή κλίμακα πραγματοποιήθηκαν ορισμένα πειράματα για τον προσδιορισμό της βέλτιστης χρονικής διάρκειας πραγματοποίησης της ζύμωσης καθώς και της βέλτιστης ποσότητας φορτίου της μαγιάς. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκαν 4 κύκλοι πειραμάτων με 2 πειράματα ο καθένας και με δύο επαναλήψεις για κάθε πείραμα με σκοπό να υπολογισθούν και οι τυπικές αποκλίσεις . Στον πρώτο κύκλο πειραμάτων εφαρμόστηκε ποσότητα μαγιάς 2% του στερεού διερευνήθηκε ο χρόνος ζύμωσης πραγματοποιώντας ένα πείραμα για 24 και και ένα για 48 ώρες ενώ στον δεύτερο κύκλο πειραμάτων εφαρμόστηκε

ποσότητα μαγιάς 3%, και τα πειράματα ήταν ίδια με τον πρώτο. Ο τρίτος κύκλος πειραμάτων πραγματοποιήθηκε με χρόνο ζύμωσης 24 ώρες και δοκιμάστηκαν ποσότητες μαγιάς 2% και 3%. Τέλος, ο τέταρτος κύκλος πειραμάτων πραγματοποιήθηκε με χρόνο ζύμωσης 48 ώρες και δοκιμάστηκαν ποσότητες μαγιάς 2% και 3%.Οι υπόλοιπες συνθήκες των πειραμάτων (Στερεή φόρτιση, ποσότητα ενζύμου, όγκος νερού) παρέμειναν σταθερές. Οι συνθήκες των συγκεκριμένων πειραμάτων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7-2,Πίνακας 7-3, Πίνακας 7-4, Πίνακας 7-5).

Πίνακας 7-2: Διερεύνηση χρόνου ζύμωσης με ποσότητα μαγιάς 2%.

Πείραμα	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία ζύμωσης (ºC)**	**Χρόνος ζύμωσης (h)**	**Μαγιά (% w/w στερεού)**
1	15.0	40.0	35.0	24	2.0
2	15.0	40.0	35.0	48	2.0

Πίνακας 7-3: Διερεύνηση χρόνου ζύμωσης με ποσότητα μαγιάς 3%.

Πείραμα	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία ζύμωσης (ºC)**	**Χρόνος ζύμωσης (h)**	**Μαγιά (% w/w στερεού)**
1	15.0	40.0	35.0	24	3.0
2	15.0	40.0	35.0	48	3.0

Πίνακας 7-4: Διερεύνηση Ποσότητας μαγιάς για χρόνο ζύμωσης 24 ώρες.

Πείραμα	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία ζύμωσης (ºC)**	**Χρόνος ζύμωσης (h)**	**Μαγιά (% w/w στερεού)**
1	15.0	40.0	35.0	24	2.0
2	15.0	40.0	35.0	24	3.0

Πίνακας 7-5: Διερεύνηση Ποσότητας μαγιάς για χρόνο ζύμωσης 48 ώρες.

Πείραμα	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία ζύμωσης (ºC)**	**Χρόνος ζύμωσης (h)**	**Μαγιά (% w/w στερεού)**
1	15.0	40.0	35.0	48	2.0
2	15.0	40.0	35.0	48	3.0

7.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

Όπως αναφέρθηκε στόχος της διπλωματικής αυτής εργασίας είναι η μελέτη της απόδοσης παραγωγής βιοαιθανόλης από απόβλητα αρτοποιίας. Για τη μελέτη λοιπόν αυτή,

επιλέχθηκε να σχεδιαστούν παραγοντικά πειράματα. Ο στόχος του παραγοντικού σχεδιασμού ήταν να προσδιοριστεί η επίδραση ορισμένων βασικών παραμέτρων στην απόδοση της παραγωγής βιοαιθανόλης και στους δυο πειραματικούς κύκλους που πραγματοποιήθηκαν (διακριτή υδρόλυση και ζύμωση, ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση). Οι παράμετροι που επιλέχθηκαν είναι η ποσότητα ενζύμου (μL/g αμύλου), η θερμοκρασία υδρόλυσης (στην περίπτωση SHF), καθώς και το φορτίο του στερεού υποστρώματος. Οι παράμετροι αυτές καλούνται ρυθμιστικές παράμετροι του συστήματος.

7.3.1 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ SHF

Η επίδραση των ρυθμιστικών παραμέτρων στην παράμετρο αριστοποίησης εκτιμήθηκε μέσω ενός 2^3 παραγοντικού πειράματος. Γενικά, μέσω ενός 2^k παραγοντικού πειράματος μελετάται η επίδραση των ρυθμιστικών παραμέτρων στην παράμετρο αριστοποίησης, μέσω ενός γραμμικού μοντέλου. Η σημαντικότητα των παραμέτρων αυτών μπορεί επίσης να εκτιμηθεί και να αξιολογηθεί. Το παραγοντικό πείραμα που πραγματοποιήθηκε ήταν της μορφής 2^3, όπου k=3 (οι ρυθμιστικές παράμετροι). Ως ρυθμιστικές παράμετροι ορίστηκαν η ποσότητα ενζύμου (μL/ g αμύλου), η θερμοκρασία υδρόλυσης, καθώς και η στερεή φόρτιση. Για τον παραγοντικό σχεδιασμό χρειάζεται να οριστεί το χαμηλότερο και το υψηλότερο επίπεδο. Έτσι, τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων παρουσιάζονται στον παρακάνω πίνακα (Πίνακας 7-7). Η πειραματική περιοχή του παραγοντικού σχεδιασμού είχε προκαθοριστεί με βάση τη βιβλιογραφία [66], [67]

Σε αυτόν τον κύκλο πειραμάτων SHF πραγματοποιήθηκαν 9 πειράματα αποτελούμενα από δύο επαναλήψεις το καθένα μεταβάλλοντας τους παράγοντες ποσότητα ενζύμου, θερμοκρασία υδρόλυσης, στερεή φόρτιση. Οι συνθήκες όλων των πειραμάτων παρουσιάζονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7-6). Τέλος παρουσιάζονται επίσης οι τιμές που προέκυψαν μετά τον παραγοντικό σχεδιασμό για τις 3 αυτές παραμέτρους (Πίνακας 7-8):

Πίνακας 7-6: Συνθήκες πειραμάτων SHF.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	**Χρόνος ζύμωσης (h)**	**Μαγιά (% w/w στερεού)**	**Θερμοκρασία ζύμωσης (°C)**
1	48	2.0	35.0

Πίνακας 7-7 : Επίπεδα παραγοντικού σχεδιασμού πειραμάτων SHF.

Παράμετρος	**Χαμηλότερο επίπεδο (-)**	**Υψηλότερο επίπεδο (+)**	**Κέντρο (0)**
Ένζυμο (μL/g αμύλου)	20.0	60.0	40.0
Θερμοκρασία υδρόλυσης (°C)	35.0	65.0	50.0
Στερεή φόρτιση (%)	10.0	20.0	15.0

Πίνακας 7-8 :Παραγοντικός σχεδιασμός πειραμάτων SHF.

Πείραμα	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία υδρόλυσης (ºC)**	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**
1	20.0	35.0	10.0
2	20.0	35.0	20.0
3	20.0	65.0	10.0
4	20.0	65.0	20.0
5	60.0	35.0	10.0
6	60.0	35.0	20.0
7	60.0	65.0	10.0
8	60.0	65.0	20.0
9	40.0	50.0	15.0

Στα πειράματα SHF ακολουθήθηκε η εξής πορεία:

- Αρχικά, ζυγίζεται το ξηρό στερεό ανάλογα με το φορτίο που ορίστηκε από τον πειραματικό σχεδιασμό και τοποθετείται σε autoclavable bottles. Έπειτα, προστίθεται το νερό και το ένζυμο Spirizyme excel. Πραγματοποιείται ανάδευση του δοχείου για καλύτερη ομοιογένεια του μίγματος.
- Τοποθετείται το δοχείο (autoclavable bottle) στο shaker (Unitronic-Orbital, PSelecta) για μια ώρα σε θερμοκρασία που ορίζεται από τον παραγοντικό σχεδιασμό, ώστε να πραγματοποιηθεί η ενζυμική υδρόλυση.
- Μετά το πέρας της μιας ώρας το δείγμα αφαιρείται από το shaker και αφού επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος προστίθεται ο μικροοργανισμός *Saccharomyces cerevisiae* σε ποσότητα 2% w/w της μάζας του ξηρού στερεού που τροφοδοτήθηκε.
- Το δείγμα επανατοποθετείται στο shaker και η θερμοκρασία ορίζεται στους 35°C και ορίζεται ως το σημείο της έναρξης της ζύμωσης. Το δείγμα αφήνεται για 48 ώρες και πραγματοποιείται η διαδικασία της ζύμωσης.
- Μετά το πέρας των 48 ωρών το δείγμα αφαιρείται και πραγματοποιούνται διηθήσεις για την παραλαβή του υγρού και του στερεού υπολείμματος και την μετέπειτα ανάλυση τους.
- Θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν προστίθενται επιπλέον θρεπτικά συστατικά και ότι δεν πραγματοποιήθηκε ρύθμιση του pH δεδομένου ότι το pH του μίγματος ήταν 4.8 και βρισκόταν εντός του εύρους λειτουργίας των ενζύμων. Οι φιάλες τοποθετούνται σε υδατόλουτρο. Όλες οι δοκιμές πραγματοποιούνται εις διπλούν. Στο τέλος κάθε πειράματος τα δείγματα διηθούνται και φυγοκεντρούνται και αναλύεται η στερεή και η υγρή φάση.

7.3.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ SSF

Ο παραγοντικός σχεδιασμός για τα πειράματα ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης ακολούθησε ακριβώς την ίδια διαδικασία με αυτήν των πειραμάτων SHF με την μόνη διαφορά ότι ο ρυθμιστικός παράγοντας θερμοκρασία υδρόλυσης δεν υπήρχε, καθώς δεν πραγματοποιείται ξεχωριστά η διεργασία της υδρόλυσης. Συνεπώς, το παραγοντικό πείραμα που πραγματοποιήθηκε ήταν ένα πείραμα της μορφής 2^2 όπου k=2 (οι ρυθμιστικές παράμετροι). Ως ρυθμιστικές παράμετροι ορίστηκαν η ποσότητα ενζύμου (μL/g αμύλου) και η στερεή φόρτισης. Έτσι, τα επίπεδα των ρυθμιστικών παραμέτρων παρουσιάζονται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 7-10).

Σε αυτόν τον κύκλο πειραμάτων SSF πραγματοποιήθηκαν 5 πειράματα αποτελούμενα από δύο επαναλήψεις το καθένα μεταβάλλοντας τους παράγοντες ποσότητα ενζύμου και το φορτίο του στερεού. Οι τιμές που προέκυψαν μετά τον παραγοντικό σχεδιασμό για τις 2 αυτές παραμέτρους παρουσιάζονται παρακάτω (Πίνακας 7-11). Το κέντρο αποτελεί την κεντρική τιμή που παίρνει ο κάθε πειραματικός παράγοντας. το χαμηλό επίπεδο αποτελεί την χαμηλότερη πειραματική τιμή ενώ το υψηλό επίπεδο την υψηλότερη. Ακόμη παρουσιάζονται και οι σταθερές συνθήκες των πειραμάτων SSF στον Πίνακας 7-9.

Πίνακας 7-9: Συνθήκες πειραμάτων SSF.

Χρόνος (h)	**Μαγιά (% w/w στερεού)**	**Θερμοκρασία (°C)**
48	2.0	35.0

Πίνακας 7-10: Επίπεδα παραγοντικού σχεδιασμός πειραμάτων SSF.

Παράμετρος	**Χαμηλότερο επίπεδο (-)**	**Υψηλότερο επίπεδο (+)**	**Κέντρο (0)**
Ένζυμο (μL/ g αμύλου)	20.0	60.0	40.0
Στερεή φόρτιση (%)	10.0	20.0	15.0

Πίνακας 7-11: Παραγοντικός σχεδιασμός πειραμάτων SSF.

Πείραμα	**Ένζυμο (μL/ g αμύλου)**	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**
1	20.0	10.0
2	20.0	20.0
3	60.0	10.0
4	60.0	20.0
5	40.0	15.0

Στα πειράματα SSF ακολουθήθηκε αντίστοιχη διαδικασία με τα πειράματα SHF όπως περιγράφεται στην συνέχεια:

- Αρχικά ζυγίζεται το ξηρό στερεό ανάλογα με το φορτίο που ορίστηκε από τον πειραματικό σχεδιασμό και τοποθετείται σε autoclave bottle. Έπειτα προστίθεται η αντίστοιχη ποσότητα νερού, ενζύμου Spirizyme excel και μαγιάς *Saccharomyces cerevisiae*. Πραγματοποιείται ανάδευση του δοχείου για καλύτερη ομοιογένεια του μίγματος.
- Το δείγμα τοποθετείται στο shaker και η θερμοκρασία ορίζεται στους 35°C και ορίζεται ως το σημείο της έναρξης της ζύμωσης. Το δείγμα αφήνεται για 48 ώρες και πραγματοποιείται η διαδικασία της ζύμωσης.
- Μετά το πέρας των 48 ωρών το δείγμα αφαιρείται και πραγματοποιούνται διηθήσεις για την παραλαβή του στερεού υπολείμματος και την μετέπειτα μελέτη του.

7.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΕ ΠΙΛΟΤΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

Σε πιλοτική κλίμακα έγιναν δύο δοκιμές του πειράματος με τα καλύτερα συγκριτικά αποτελέσματα. Επιλέχθηκε να ακολουθηθεί διαδικασία SSF. Όλες οι συνθήκες των πειραμάτων παρουσιάζονται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα. Λήφθηκαν δείγματα σε 13 χρονικές στιγμές από t=0h έως t=48h.

Πίνακας 7-12: Πειραματικές συνθήκες δοκιμών σε πιλοτική κλίμακα.

Δοκιμή	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Ένζυμο (μL/ g αμύλου)**	**Μαγιά (% w/w στερεού)**	**Θερμοκρασία (ºC)**	**Χρόνος (h)**
1	20.0	20.0	2.0	35.0	48
2	15.0	13.0	2.0	35.0	48

8 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΗΣ ΥΛΗΣ

Η μέση σύνθεση των αποβλήτων αρτοποιίας που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική μελέτη συνοψίζεται στον Πίνακας 8-1. Η συνολική ξηρή πρώτη ύλη είναι μια έμμεση ένδειξη των κύριων θρεπτικών ουσιών που διατίθενται στη μαγιά για ανάπτυξη και συντήρηση. Η συνολική περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες είναι ο κύριος στόχος για την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων. Μετά τη ξήρανση οι αναλύσεις της πρώτης ύλης έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι 3.3% w/w, γεγονός που οδηγεί σε 96.7% w/w ξηρή μάζα. Περίπου το 65% της συνολικής ξηράς ύλης προσδιορίστηκε ως κλάσμα υδατανθράκων, το οποίο απέδειξε ότι τα διατροφικά απόβλητα αρτοποιίας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πολύτιμη πρώτη ύλη για την παραγωγή αιθανόλης. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η σύσταση της τροφοδοσίας όπως αυτή προέκυψε μετά από εργαστηριακές αναλυτικές τεχνικές.

Πίνακας 8-1: Χαρακτηρισμός αποβλήτων αρτοποιίας.

Σύσταση	**Πειραματική τιμή (% ξ.β.)**
Πτητικά Στερεά (VS)	96.7 ± 0.1
Έλαια	2.9 ± 0.1
Υδατοδιαλυτά Στερεά (WS)	18.1 ± 0.1
Κυτταρίνη (CELL)	7.1 ± 1.4
Ημικυτταρίνη (HCELL)	1.2 ± 1.0
Άμυλο (ST)	62.5 ± 1.9
Διαλυτή Λιγνίνη (ASL)	0.5 ± 0.0
Μη διαλυτή Λιγνίνη (AIL)	8.2±0.3

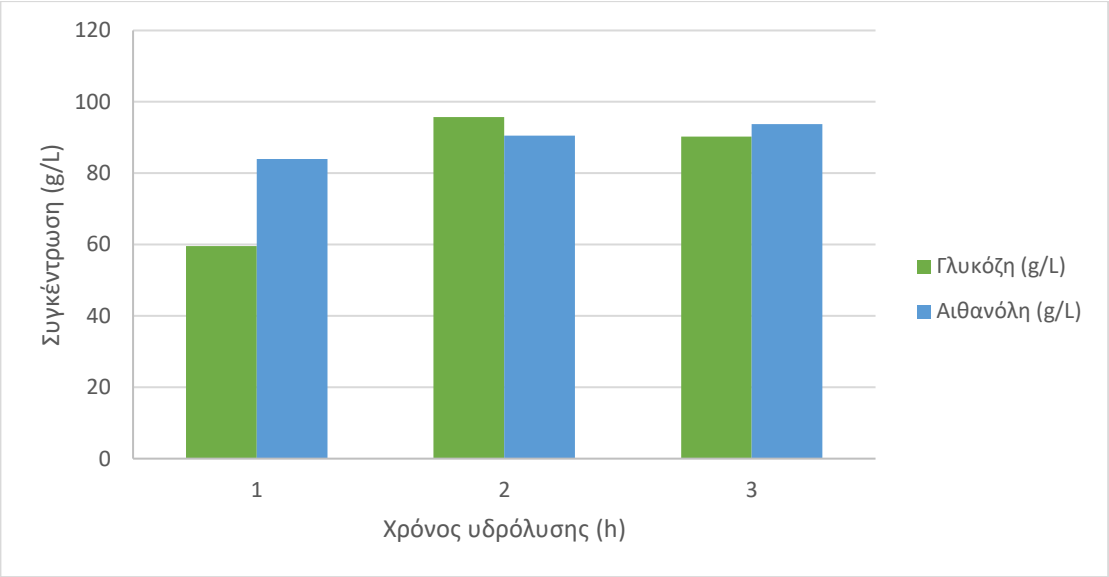
8.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ

8.3 ΧΡΟΝΟΣ ΥΔΡΟΛΥΣΗΣ

Στα συγκεκριμένα πειράματα μετρήθηκε η συγκέντρωση γλυκόζης μετά την υδρόλυση, για να εξαχθεί κάποιο συμπέρασμα σχετικά με τον βέλτιστο χρόνο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα(Πίνακας 8-2). Με βάση τα αποτελέσματα παρατηρείται πως σε όλα τα συγκεκριμένα πειράματα διερεύνησης τόσο οι συγκεντρώσεις αιθανόλης και γλυκόζης όσο και η απόδοση της αιθανόλης έχουν ιδιαίτερα υψηλές τιμές πραγματοποιώντας έτσι πετυχημένα αποτελέσματα σε όλα τα πειράματα. Ακόμη, η διεργασία της υδρόλυσης συνεχίζει να πραγματοποιείται και κατά την διάρκεια της ζύμωσης της αιθανόλης. Έτσι συμπεραίνεται πως η διαφοροποίηση στον χρόνο υδρόλυσης δεν επηρεάζει ιδιαίτερα την παραγωγή αιθανόλης οπότε για οικονομία χρόνου και λειτουργικού κόστους της διεργασίας επιλέγεται ο χρόνος υδρόλυσης να είναι 1 ώρα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται και διαγραμματικά στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 29, Σχήμα 2).

Πίνακας 8-2: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου υδρόλυσης.

Πείραμα	Χρόνος Υδρόλυσης (h)	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Απόδοση αιθανόλης (%)
1	1	59.6 ± 1.1	84.0 ± 1.2	84.5 ± 0.9
2	2	95.7 ± 0.9	90.5 ± 0.6	91.0 ± 1.4
3	3	90.3 ± 1.6	93.75 ± 0.9	94.2 ± 1.9



Σχήμα 29: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου υδρόλυσης.

8.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΧΡΟΝΟΥ ΖΥΜΩΣΗΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ ΜΑΓΙΑΣ

Στα συγκεκριμένα πειράματα μετρήθηκε η συγκέντρωση αιθανόλης και η συγκέντρωση γλυκόζης, για να εξαχθεί κάποιο συμπέρασμα σχετικά με τον βέλτιστο χρόνο ζύμωσης και την βέλτιστη ποσότητα μαγιάς, παράγοντες ιδιαίτερα σημαντικούς για την διεξαγωγή όλων των πειραματικών διαδικασιών στην συνέχεια. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 8-3, Πίνακας 8-4). Με βάση τα αποτελέσματα παρατηρείται ότι τα πειράματα με χρόνο ζύμωσης 48 ώρες έχουν τις καλύτερες αποδόσεις. Ακόμη, παρατηρείται ότι η ποσότητα της μαγιάς δεν επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τις αποδόσεις αιθανόλης ούτε στις 24 ούτε στις 48 ώρες. Για τους παραπάνω λόγους προκύπτει ως βέλτιστη επιλογή τόσο για λόγους απόδοσης όσο και για λόγους οικονομίας πρώτων υλών η επιλογή των 48 ωρών ως χρόνος ζύμωσης και του 2% στερεού φορτίου ως ποσότητα μαγιάς. Τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων πειραμάτων διερεύνησης παρουσιάζονται και διαγραμματικά στα παρακάτω σχήματα (Σχήμα 30, Σχήμα 31).

Πίνακας 8-3: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου ζύμωσης με ποσότητα μαγιάς 2% .

Πείραμα	Χρόνος ζύμωσης (h)	Μαγιά (% στερεού)	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Απόδοση αιθανόλης (%)
1	24	2.0	58.7 ± 1.4	32.7 ± 0.9	46.6 ± 0.9
2	48	2.0	1.0 ± 0.6	50.9 ± 1.2	72.6 ± 1.6

Πίνακας 8-4: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου ζύμωσης με ποσότητας μαγιάς 3% .

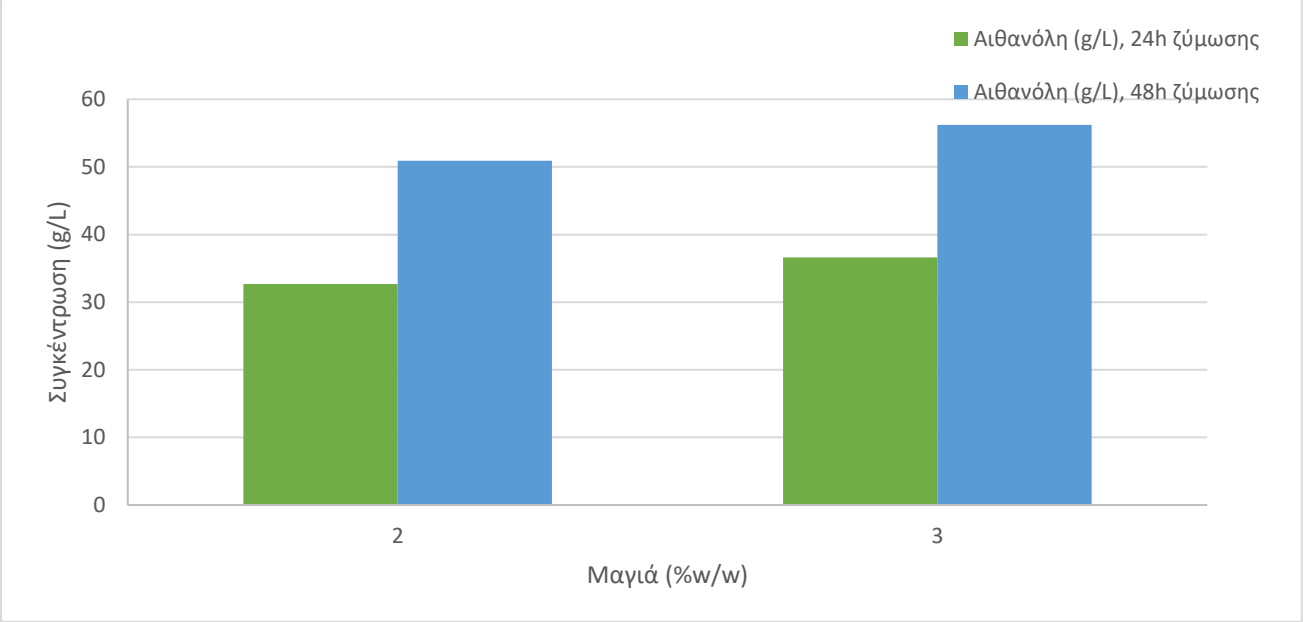
Πείραμα	Χρόνος ζύμωσης (h)	Μαγιά (% στερεού)	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Απόδοση αιθανόλης (%)
1	24	3.0	34.9 ± 1.9	36.6 ± 0.8	52.2 ± 1.2
2	48	3.0	0.4 ± 1.2	56.2 ± 1.4	80.1 ± 0.9

Πίνακας 8-5: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης ποσότητας μαγιάς με χρόνο ζύμωσης 24 ώρες.

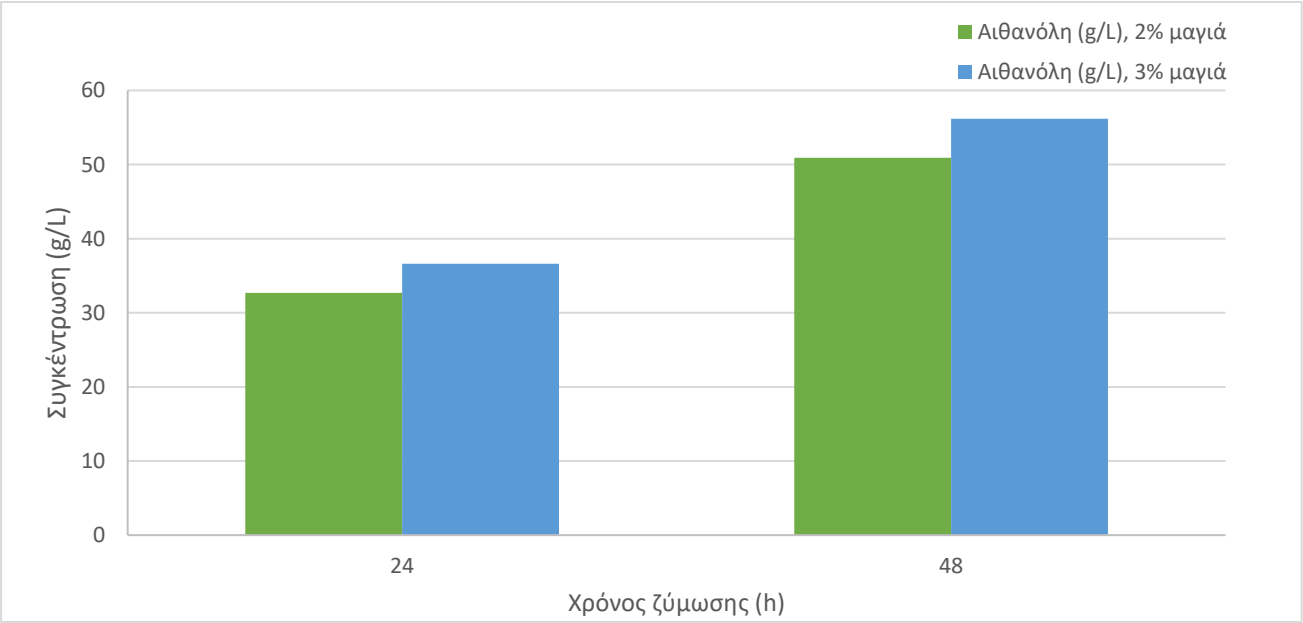
Πείραμα	Χρόνος ζύμωσης (h)	Μαγιά (% στερεού)	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Απόδοση αιθανόλης (%)
1	24	2.0	58.7 ± 1.4	32.7 ± 0.9	46.6 ± 0.9
2	24	3.0	34.9 ± 1.9	36.6 ± 0.8	52.2 ± 1.2

Πίνακας 8-6: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης ποσότητας μαγιάς με χρόνο ζύμωσης 48 ώρες.

Πείραμα	Χρόνος ζύμωσης (h)	Μαγιά (% στερεού)	Γλυκόζη (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Απόδοση αιθανόλης (%)
1	48	2.0	1.0 ± 0.6	50.9 ± 1.2	72.6 ± 1.6
2	48	3.0	0.4 ± 1.2	56.2 ± 1.4	80.1 ± 0.9



Σχήμα 30: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης ποσότητας μαγιάς για 24 και 48h ζύμωσης.



Σχήμα 31: Αποτελέσματα πειραμάτων διερεύνησης χρόνου ζύμωσης για 2 και 3% μαγιά.

8.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ SHF

Στα πειράματα αυτά, σκοπός ήταν η μελέτη των παραμέτρων αριστοποίησης ,δηλαδή της απόδοσης του ενζύμου για την διάσπαση του αμύλου (απόδοση σακχαροποίησης), αλλά

και η απόδοση παραγωγής αιθανόλης. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8-7) παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα για όλα τα δείγματα SHF:

Με βάση τα παρακάτω αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι μεταξύ των πειραμάτων 1 και 3, όπου και τα δύο πραγματοποιούνται με 10% στερεής φόρτισης και με προσθήκη 20 μL/g ενζύμου, η καλύτερη παραγωγή γλυκόζης πραγματοποιείται στο πείραμα 3, σε αυτό δηλαδή με την υψηλότερη θερμοκρασία υδρόλυσης. Αντιστοίχως, συγκρίνοντας τα πειράματα 2-4, 5-7 και 6-8 παρατηρείται ακριβώς το ίδιο. Συνεπώς μεταξύ πειραμάτων με ίδια ποσότητα ενζύμου και ίδια στερεή φόρτισης η παραγωγή της γλυκόζης αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας υδρόλυσης. Επιπλέον, συγκρίνοντας τα πειράματα 2 και 6, τα οποία έχουν ίδιες συνθήκες όσον αφορά την θερμοκρασία υδρόλυσης και η στερεή φόρτιση, 35°C και 20% αντίστοιχα, παρατηρείται ότι το πείραμα με την υψηλότερη παραγωγή γλυκόζης είναι το πείραμα 6, στο οποίο υπάρχει η μεγαλύτερη ποσότητα ενζύμου, 60 μL/g αμύλου έναντι 20 μL/g αμύλου στο πείραμα 2. Αυτό το αποτέλεσμα επαναλαμβάνεται και στα πειράματα 4, 8 αντιστοίχως. Ωστόσο, στα πειράματα 3, 7 και 1, 5 συμβαίνει το αντίστροφο, δηλαδή παρατηρείται πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στην συγκέντρωση γλυκόζης που προκύπτει παρότι η ποσότητα του ενζύμου είναι τριπλάσια στο πείραμα 5 σε σχέση με το πείραμα 1 (7-3 αντίστοιχα). Βάση αυτού συμπεραίνεται πως σε πειράματα με χαμηλή στερεή φόρτιση η ποσότητα του ενζύμου δεν φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την υδρόλυση. Ακόμη στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι τιμές του TOC. Όπως φαίνεται στο πείραμα 2 οι τιμές της μέτρησης του ολικού άνθρακα είναι σχεδόν διπλάσια από εκείνη του πειράματος 1. Αυτό συμβαίνει διότι το πείραμα 2 έχει διπλάσια τιμή στερεής φόρτισης σε σχέση με το πείραμα 1 και ίδιες όλες τις υπόλοιπες παραμέτρους. Για τον λόγο αυτό παράγεται και μεγαλύτερη ποσότητα γλυκόζης και αντίστοιχα αιθανόλης, και κατά συνέπεια η συγκέντρωση TOC είναι και αυτή σημαντικά μεγαλύτερη σχεδόν διπλάσια. Ακριβώς το ίδιο συμβαίνει και στα υπόλοιπα ζευγάρια πειραμάτων 3-4, 5-6, 7-8 για τους ίδιους λόγους.

Πίνακας 8-7: Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF.

Πείραμα	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία υδρόλυσης (ºC)**	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Γλυκόζη (g/L)**	**Αιθανόλη (g/L)**	**TOC (g/L)**	**TN (g/L)**
1	20.0	35.0	10.0	38.5 ± 0.3	37.5 ± 1.2	22.2 ± 0.7	0.6 ± 0.1
2	20.0	35.0	20.0	105.8 ± 0.4	92.0 ± 0.9	51.1 ± 0.6	1.5 ± 0.2
3	20.0	65.0	10.0	65.4 ± 0.1	35.1 ± 0.5	20.0 ± 0.3	1.4 ± 0.2
4	20.0	65.0	20.0	137.7 ± 0.9	76.4 ± 0.6	42.4 ± 0.2	0.6 ± 0.1
5	60.0	35.0	10.0	33.3 ± 0.6	40.2 ± 0.3	23.5 ± 0.1	0.8 ± 0.1
6	60.0	35.0	20.0	120.9 ± 1.1	88.4 ± 1.5	50.5 ± 1.1	1.1 ± 0.3
7	60.0	65.0	10.0	69.8 ± 0.8	37.5 ± 0.4	22.1 ± 0.2	0.5 ± 0.0
8	60.0	65.0	20.0	163.5 ± 2.1	76.0 ± 1.2	40.2 ± 0.9	0.8 ± 0.1
9	40.0	50.0	15.0	113.8 ± 1.3	50.1 ± 0.8	26.8 ± 0.5	0.8 ± 0.2

Τα αποτελέσματα όλων των αποδόσεων των πειραμάτων SHF παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8-8). Παρατηρείται πως οι βέλτιστες συνθήκες εμφανίζονται στο Πείραμα 2, το οποίο παρουσιάζει την μεγαλύτερη απόδοση αιθανόλης. Παρατηρείται ότι η απόδοση ζύμωσης σε κάποια πειράματα είναι μεγαλύτερη του 100%. Αυτό συμβαίνει διότι στην μια ώρα δεν έχει επιτευχθεί πλήρως η διαδικασίας της υδρόλυσης.

Πίνακας 8-8: Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SHF.

Πείραμα	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία υδρόλυσης (ºC)**	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Απόδοση σακχαροποίησης (%)**	**Απόδοση αιθανόλης (%)**
1	20.0	35.0	10.0	48.1 ± 1.2	91.8 ± 1.9
2	20.0	35.0	20.0	58.9 ± 1.4	99.9 ± 0.6
3	20.0	65.0	10.0	81.3 ± 0.9	85.7 ± 2.1
4	20.0	65.0	20.0	76.5 ± 1.9	82.7 ± 1.7
5	60.0	35.0	10.0	41.4 ± 1.3	97.9 ± 2.2
6	60.0	35.0	20.0	67.2 ± 1.5	95.6 ± 3.1
7	60.0	65.0	10.0	86.7 ± 0.8	91.7 ± 4.1
8	60.0	65.0	20.0	91.0 ± 1.1	82.7 ± 1.4
9	40.0	50.0	15.0	92.0 ± 0.8	77.0 ± 0.5

Όσον αφορά το μέρος βελτιστοποίησης αυτής της ανάλυσης, εξετάστηκε η απόκριση δύο παραμέτρων: της απόδοσης σακχαροποίησης SG και της απόδοση αιθανόλης YEtOH. Δημιουργήθηκαν οι ακόλουθες εξισώσεις, προκειμένου να υποδειχθεί η επίδραση των στατιστικά σημαντικών συνθηκών λειτουργίας στη μέγιστη σακχαροποίηση και απόδοση αιθανόλης.

$$SG=68,9+15\ x_2 \quad (22)$$

$$SG=18,9+T_{υδρόλυσης} \quad (23)$$

$$YEtOH=91,0 \quad (24)$$

Η εξίσωση 22 αναφέρεται σε κωδικοποιημένες τιμές, ενώ η εξ. 23 αναφέρεται σε φυσικές τιμές, όπου x_2 και $T_{υδρόλυσης}$ είναι οι κωδικοποιημένες και φυσικές τιμές της θερμοκρασίας υδρόλυσης. Επομένως, η θερμοκρασία υδρόλυσης είναι η στατιστικά σημαντική παράμετρος για την υδρόλυση, ενώ όλες οι άλλες παράμετροι και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους μπορούν στατιστικά να παραβλεφθούν. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται παραπάνω σχετίζονται με 1 ώρα υδρόλυσης, πράγμα που σημαίνει ότι ο χρόνος υδρόλυσης είναι επίσης ένας παράγοντας που θα μπορούσε να διερευνηθεί περαιτέρω. Το γεγονός ότι η θερμοκρασία ενζυμικής υδρόλυσης είναι ένας στατιστικά σημαντικός παράγοντας ήταν

αναμενόμενο, δεδομένου ότι οι πειραματικές συνθήκες που μελετήθηκαν δεν ήταν απλώς οι βέλτιστες, ήταν οι συνθήκες που προτείνει ο κατασκευαστής του ενζύμου. Από την άλλη πλευρά, οι αποδόσεις αιθανόλης δεν φαίνεται να επηρεάζονται από τις παραμέτρους ελέγχου εντός των ορίων που εξετάστηκαν, καθώς όλοι οι όροι δεν είναι στατιστικά σημαντικοί και η προβλεπόμενη τιμή της απόδοσης αιθανόλης είναι κατά συνέπεια ίση με μια σταθερή τιμή. Αυτό σημαίνει ότι το εύρος που επιλέχθηκε ήταν το βέλτιστο, δεδομένων των απόλυτων τιμών της απόδοσης αιθανόλης. Ως εκ τούτου, το κέντρο του πειραματικού σχεδιασμού (50°C, Spirizyme 40 μL/$g_{αμύλου}$ και 15% στερεό φορτίο) θα μπορούσε να θεωρηθεί ως οι βέλτιστες συνθήκες για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης αιθανόλης υπό συνθήκες SHF.

Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα της μελέτης αποδόμησης στερεού και αποδόμησης αμύλου, μετά την ζύμωση (Πίνακας 8-9).

Πίνακας 8-9: Αποδόμηση στερεού και αμύλου πειραμάτων SHF.

Πείραμα	**Ένζυμο (μL/g αμύλου)**	**Θερμοκρασία υδρόλυσης (°C)**	**Στερεή φόρτιση (% w/w)**	**Αποδόμηση στερεού (%)**	**Αποδόμηση αμύλου (%)**
1	20.0	35.0	10.0	78.5 ± 0.2	99.6 ± 0.2
2	20.0	35.0	20.0	77.3 ± 0.5	98.8 ± 0.3
3	20.0	65.0	10.0	76.6 ± 0.7	98.7 ± 0.4
4	20.0	65.0	20.0	74.6 ± 0.1	100.0 ± 0.6
5	60.0	35.0	10.0	78.8 ± 0.9	98.2 ± 0.1
6	60.0	35.0	20.0	77.0 ± 0.4	99.4 ± 0.4
7	60.0	65.0	10.0	76.4 ± 0.3	97.9 ± 0.5
8	60.0	65.0	20.0	75.1 ± 0.9	99.1 ± 0.8
9	40.0	50.0	15.0	77.2 ± 0.2	99.0 ± 0.3

Από τα αποτελέσματα των παραπάνω πινάκων, γίνεται φανερό ότι επιτυγχάνεται πολύ υψηλή αποδόμηση στερεού, ίση περίπου με 75-78% και ακόμα υψηλότερη αποδόμηση αμύλου η οποία κυμαίνεται στο 97-99%. Αυτό σημαίνει πως όλη η πειραματική διαδικασία και ο πειραματικός σχεδιασμός είναι επιτυχημένος και πως οι πολύ υψηλές τιμές αποδόσεις αιθανόλης επαληθεύονται. Ακόμη, το γεγονός ότι η αποδόμηση του στερεού φτάνει σε τιμές 75-78% σημαίνει πως ένας ακόμη στόχος όλης της πειραματικής διαδικασίας έχει επιτευχθεί καθώς η πρώτη ύλη εκτός από ένα ιδανικό υπόστρωμα για παραγωγή βιοαιθανόλης δεν παύει να είναι και απόβλητο και με τον τρόπο αυτόν επιτυγχάνεται αρκετά μεγάλη αποδόμησή του.

8.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ SSF

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8-10) παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα για όλα τα δείγματα SSF:

Πίνακας 8-10: Πρωτογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF.

Πείραμα	Ένζυμο (μL/g αμύλου)	Στερεή φόρτιση (% w/w)	Αιθανόλη (g/L)	Γλυκόζη (g/L)	TOC (g/L)	TN (g/L)
1	20.0	10.0	36.3 ± 1.8	0.1 ± 0.1	22.7 ± 0.2	0.6 ± 0.0
2	20.0	20.0	87.5 ± 3.5	1.6 ± 2.1	45.9 ± 1.4	1.0 ± 0.1
3	60.0	10.0	37.5 ± 8.5	0.1 ± 0.0	23.4 ± 0.3	0.9 ± 0.0
4	60.0	20.0	86.0 ± 3.5	1.6 ± 1.9	49.2 ± 0.6	1.3 ± 0.2
5	40.0	15.0	55.0 ± 3.5	0.0 ± 0.0	25.3 ± 11.0	0.7 ± 0.3

Με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης παρατηρείται ότι η παραγωγή αιθανόλης δεν επηρεάζεται σημαντικά από την προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας ενζύμου. Συγκεκριμένα, συγκρίνοντας τα πειράματα 1 και 3, τα οποία έχουν ίδια ποσότητα στερεού υποστρώματος 10% αλλά διαφορετικές ποσότητες ενζύμου τα αποτελέσματα αιθανόλης που λαμβάνονται δεν παρουσιάζουν σημαντικές αποκλίσεις. Αντίστοιχα. οι τιμές για τα πειράματα 2 και 4 αποδεικνύουν το ίδιο.

Πίνακας 8-11: Δευτερογενή αποτελέσματα πειραμάτων SSF.

Πείραμα	Ένζυμο (μL/g αμύλου)	Στερεή φόρτιση (% w/w)	Απόδοση Αιθανόλης (%)
1	20.0	10.0	88.7 ± 4.3
2	20.0	20.0	95.0 ± 3.9
3	60.0	10.0	91.8 ± 8.7
4	60.0	20.0	93.6 ± 9.2
5	40.0	15.0	84.6 ± 5.6

Με βάση τα παραπάνω πειραματικά αποτελέσματα, προκύπτει ότι σε κάθε πείραμα λήφθηκαν παρόμοιες αποδόσεις αιθανόλης υποδεικνύοντας έτσι τη στατιστικά ασήμαντη επίδραση της φόρτωσης στερεών και της ποσότητας ενζύμου στην απόδοση αιθανόλης εντός των εξεταζόμενων ορίων. Όσον αφορά τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας και σύμφωνα με τα αποτελέσματα της απόδοσης αιθανόλης από το παραγοντικό πείραμα που παρουσιάζεται παρακάτω η εξ. (26) που δημιουργήθηκε:

$$YEtOH=92,3 \quad (26)$$

Ομοίως όπως και στο SHF, αυτό σημαίνει ότι το εύρος των λειτουργικών παραμέτρων που επιλέχθηκαν ήταν το βέλτιστο, δεδομένων των απόλυτων τιμών της απόδοσης αιθανόλης. Επομένως, το κέντρο του πειραματικού σχεδιασμού (Spirizyme 40 μL/$g_{αμύλου}$ και 15% στερεής φόρτισης) θα μπορούσε να θεωρηθεί ως οι βέλτιστες συνθήκες για την επίτευξη της μέγιστης απόδοσης αιθανόλης υπό συνθήκες SSF

Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα της μελέτης αποδόμησης στερεού και αποδόμησης αμύλου, μετά την πειραματική διεργασία της ζύμωσης.

Πίνακας 8-12: Αποδόμηση στερεού και αμύλου πειραμάτων SSF.

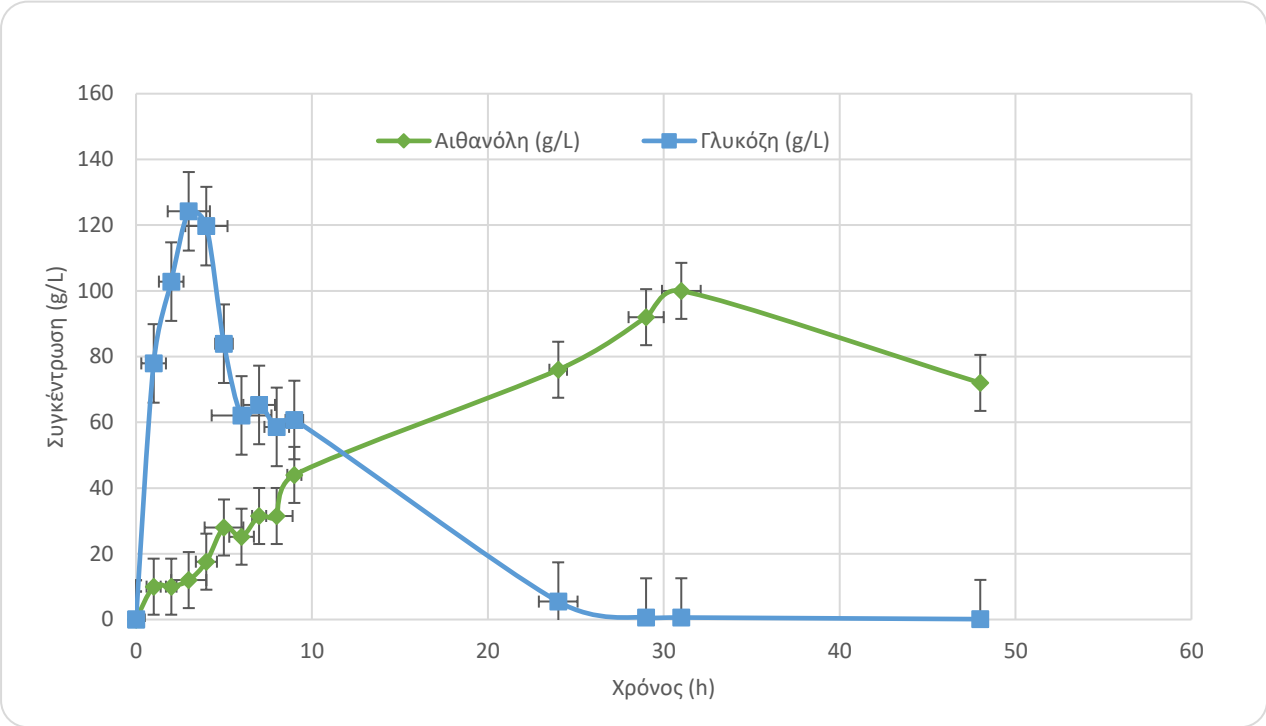
Πείραμα	Ένζυμο (μL/g αμύλου)	Στερεή φόρτιση (% w/w)	Αποδόμηση στερεού (%)	Αποδόμηση αμύλου (%)
1	20.0	10.0	79.7 ± 0.3	99.5 ± 0.2
2	20.0	20.0	75.9 ± 0.4	99.2 ± 0.2
3	60.0	10.0	80.5 ± 0.4	99.5 ± 0.0
4	60.0	20.0	75.7 ± 0.8	99.3 ± 0.3
5	40.0	15.0	77.6 ± 0.4	99.4 ± 0.2

Όπως και στα πειράματα SHF έτσι και στα πειράματα SSF ,γίνεται φανερό ότι επιτυγχάνεται πολύ υψηλή αποδόμηση στερεού, ίση περίπου με 75-78% και ακόμα υψηλότερη αποδόμηση αμύλου η οποία κυμαίνεται στο 97-99% . Αντίστοιχα όπως και στα αποτελέσματα αποδόμησης των πειραμάτων SHF επιτυγχάνεται ο στόχος της αποδόμησης του βιοαποβλήτου σε υψηλά ποσοστά αποδόμησης στερεού και ταυτόχρονα οι υψηλές τιμές αποδόμησης του αμύλου επαληθεύουν τις υψηλές αποδόσεις σε αιθανόλη που προέκυψαν.

8.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΙΛΟΤΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

8.7.1.1 Δοκιμή 1

Αρχικά, σχετικά με την Δοκιμή 1 στην πιλοτική κλίμακα παρουσιάζονται παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8-13) τα αποτελέσματα συγκέντρωσης αιθανόλης και γλυκόζης για όλες τις χρονικές στιγμές που λήφθηκαν δείγματα. Έπειτα απεικονίζονται και διαγραμματικά (Σχήμα 32**Error! Reference source not found.**) οι πορείες παραγωγής αιθανόλης και κατανάλωση γλυκόζης.



Σχήμα 32: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης Δοκιμής 1 σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Πίνακας 8-13: Αποτελέσματα παραγωγής γλυκόζης και αιθανόλης για όλες τις χρονικές δοκιμές της Δοκιμής 1 σε πιλοτική κλίμακα.

Χρόνος (h)	Αιθανόλη (g/L)	Γλυκόζη (g/L)
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
1	10.0 ± 0.4	77.9 ± 0.5
2	10.0 ± 0.4	102.8 ± 0.7
3	12.0 ± 0.3	124.2 ± 0.7
4	17.6 ± 1.0	119.7 ± 1.2
5	28.0 ± 0.6	83.9 ± 1.2
6	25.2 ± 1.1	62.1 ± 0.5
7	31.5 ± 0.7	65.3 ± 1.7
8	31.5 ± 0.4	58.6 ± 0.9
9	44.0 ± 0.9	60.7 ± 0.7
24	76.0 ± 0.4	5.4 ± 0.5
29	92.0 ± 0.5	0.6 ± 1.1
31	100.0 ± 1.0	0.6 ± 0.3
48	72.0 ± 1.1	0.1 ± 0.4

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα (Σχήμα 32), παρατηρείται ότι περίπου στις 4 πρώτες ώρες της διεργασίας αυξάνεται κατακόρυφα η παραγωγή γλυκόζης, καθώς πραγματοποιείται η υδρόλυση του αμύλου και συνεπώς η παραγωγή της γλυκόζης αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου. Μετά το πέρας των πρώτων τεσσάρων ωρών παρατηρείται μείωση. Συγκεκριμένα, η μέγιστη συγκέντρωση παραγόμενης γλυκόζης από την υδρόλυση μετρήθηκε στις 4 ώρες για στερεή φόρτιση 20%. στα 119.70 g/L. Ακόμη, στο παραπάνω

διάγραμμα (Σχήμα 32) αποτυπώνεται η παραγωγή αιθανόλης συναρτήσει του χρόνου της διεργασίας στην πιλοτική κλίμακα. Παρατηρείται πως η παραγωγή αιθανόλης αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου όπως είναι το αναμενόμενο. Ωστόσο η μέγιστη τιμή αιθανόλης παρουσιάζεται στις 31h και έπειτα υπάρχει πτώση της. Συγκεκριμένα η μέγιστη συγκέντρωση παραγόμενης αιθανόλης στις 31 h είναι 100 g/L. Με βάση αυτή την παρατήρηση συμπεραίνεται πως ο απαιτούμενος χρόνος για την διεργασία της ζύμωσης δεν είναι 48 ώρες όπως είχε προγραμματιστεί εξ αρχής αλλά περίπου 31 ώρες.

Με βάση τα πρωτογενή αποτελέσματα που λήφθηκαν στην πρώτη πιλοτική δοκιμή υπολογίστηκαν ορισμένα μεγέθη όπως αποικοδόμηση αμύλου και αποικοδόμηση στερεού φορτίου. Η συγκεκριμένη δοκιμή διεξήχθη σε πιλοτική κλίμακα (14 kg απορρίμματα αρτοποιίας) υπό τις βέλτιστες συνθήκες SSF (20% στερεό φόρτωση, φόρτωση ενζύμου 20 μL/g αμύλου, 2% w/w *Saccharomyces cerevisiae*) στους 35 °C για 48 ώρες. Σε τακτά χρονικά διαστήματα συλλέχθηκε δείγμα για τη μέτρηση της γλυκόζης και της αιθανόλης προκειμένου να μελετηθεί η κινητική της αντίδρασης και να προσδιοριστεί η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης όπως φαίνεται στον

Πίνακας 8-13. Παρατηρείται κορύφωση γλυκόζης τις πρώτες ώρες. Η γλυκόζη καταναλώνεται πλήρως από τη μαγιά που είναι υπεύθυνη για την παραγωγή αιθανόλης τις επόμενες ώρες. Η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης που παρατηρήθηκε ήταν 100 g/L μετά από 31 ώρες.

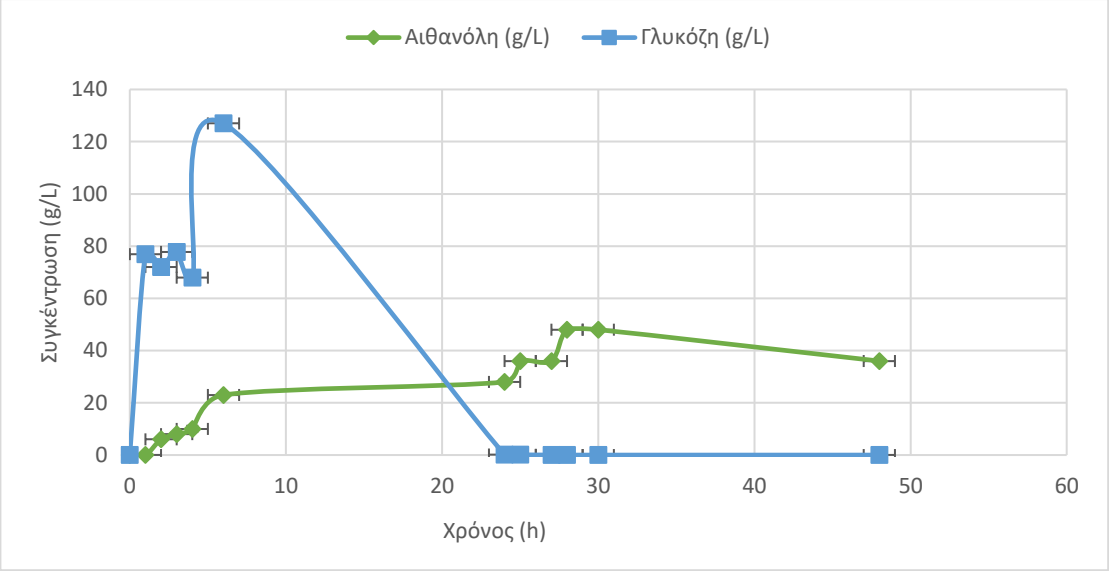
Μετά από 48 ώρες, ελήφθησαν αρκετά δείγματα για να χαρακτηριστεί το στερεό κλάσμα του πειράματος. Επιτεύχθηκε αποικοδόμηση 99% του αμύλου και 75% αποικοδόμηση του στερεού, η οποία είναι συγκρίσιμη με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν κατά τις δοκιμές εργαστηριακής κλίμακας.

8.7.1.2 Δοκιμή 2

Ακόμη, σχετικά με την Δοκιμή 2 στην πιλοτική κλίμακα παρουσιάζονται παρακάτω τα αποτελέσματα συγκέντρωσης αιθανόλης και γλυκόζης για όλες τις χρονικές στιγμές που λήφθηκαν δείγματα (Πίνακας 8-14). Έπειτα απεικονίζονται και διαγραμματικά οι πορείες παραγωγής αιθανόλης και κατανάλωσης γλυκόζης (Σχήμα 33) .

Πίνακας 8-14: Αποτελέσματα παραγωγής γλυκόζης και αιθανόλης για όλες τις χρονικές δοκιμές της Δοκιμής 2 σε πιλοτική κλίμακα.

Χρόνος (h)	Αιθανόλη (g/L)	Γλυκόζη (g/L)
0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
1	0.0 ± 0.0	76.9 ± 0.4
2	6.0 ± 0.4	72.1 ± 0.5
3	8.0 ± 0.7	77.8 ± 1.1
4	10.0 ± 1.2	67.9 ± 0.7
6	23.0 ± 0.4	127.0 ± 0.3
24	28.0 ± 0.9	0.2 ± 0.0
25	36.0 ± 0.2	0.1 ± 0.0
27	36.0 ± 0.4	0.0 ± 0.0
28	48.0 ± 0.5	0.0 ± 0.0
30	48.0 ± 0.8	0.0 ± 0.0
48	36.0 ± 0.6	0.0 ± 0.0



Σχήμα 33: Συγκέντρωση γλυκόζης και αιθανόλης Δοκιμής 2 σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα (Σχήμα 33) παραγωγής γλυκόζης και αιθανόλης σε συνάρτηση με τον χρόνο παρατηρείται ότι περίπου στις 6 πρώτες ώρες της διεργασίας αυξάνεται η παραγωγή γλυκόζης, καθώς πραγματοποιείται η υδρόλυση του αμύλου και συνεπώς η παραγωγή της γλυκόζης αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου. Μετά το πέρας των πρώτων έξι ωρών παρατηρείται μείωση. Συγκεκριμένα η μέγιστη συγκέντρωση παραγόμενης γλυκόζης από την υδρόλυση μετρήθηκε στις 6 ώρες για Στερεή φόρτιση 15% στα 127.0 g/L.

Ακόμη, στο παραπάνω διάγραμμα αποτυπώνεται η παραγωγή αιθανόλης συναρτήσει του χρόνου της διεργασίας στην 2^{η} δοκιμή της πιλοτικής κλίμακας. Παρατηρείται πως η παραγωγή αιθανόλης αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου όπως είναι το αναμενόμενο. Ωστόσο η μέγιστη τιμή αιθανόλης παρουσιάζεται στις 28h και έπειτα υπάρχει πτώση της. Συγκεκριμένα η μέγιστη συγκέντρωση παραγόμενης αιθανόλης στις 28 h είναι 48 g/L. Με βάση αυτή την παρατήρηση συμπεραίνεται πως ο απαιτούμενος χρόνος για την διεργασία της ζύμωσης δεν είναι 48 ώρες, όπως είχε προγραμματιστεί εξ αρχής αλλά περίπου 28 ώρες.

Με βάση τα πρωτογενή αποτελέσματα που λήφθηκαν στη δεύτερη πιλοτική δοκιμή υπολογίστηκαν ορισμένα μεγέθη όπως αποδόμηση αμύλου και αποδόμηση στερεού. Η συγκεκριμένη δοκιμή διεξήχθη σε πιλοτική κλίμακα (5.4 kg απορρίμματα αρτοποιίας) υπό συνθήκες SSF (15% Στερεής φόρτισης, ποσότητα ενζύμου 13 μL/g αμύλου, 2% w/w *Saccharomyces cerevisiae*) στους 35 °C για 48 ώρες. Σε τακτά χρονικά διαστήματα συλλέχθηκε δείγμα για τη μέτρηση της γλυκόζης και της αιθανόλης, προκειμένου να μελετηθεί η κινητική της αντίδρασης και να προσδιοριστεί η μέγιστη συγκέντρωση αιθανόλης όπως φαίνεται στον Πίνακας 8-14. Παρατηρείται κορύφωση γλυκόζης τις πρώτες ώρες. Η γλυκόζη καταναλώνεται πλήρως από τη μαγιά που είναι υπεύθυνη για την παραγωγή αιθανόλης τις επόμενες ώρες. Η υψηλότερη συγκέντρωση αιθανόλης που παρατηρήθηκε ήταν 48 g/L μετά από 28 ώρες.. Η παραπάνω τιμή αντιστοιχεί σε απόδοση αιθανόλης ίση με 82.2 %.

Μετά από 48 ώρες, ελήφθησαν αρκετά δείγματα τόσο στην δοκιμή όσο και στην δοκιμή 2 για να χαρακτηριστεί το στερεό κλάσμα του πειράματος. Επιτεύχθηκε κατά μέσο όρο αποδόμηση αμύλου 98.5% και 74.5% αποδόμηση του στερεού, η οποία είναι συγκρίσιμη με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν κατά τις δοκιμές εργαστηριακής κλίμακας.

Πίνακας 8-15: Αποτελέσματα υπολογισμών αποδόμησης στερεού και αμύλου για τις πιλοτικές δοκιμές.

	1η πιλοτική δοκιμή	**2η πιλοτική δοκιμή**
Αποδόμηση στερεού (%)	75.0%	74.0%
Αποδόμηση αμύλου (%)	99.0%	98.0%

9 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκαν τα απόβλητα αρτοποιίας ως υπόστρωμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Μέσω των χαρακτηρισμών της πρώτης ύλης προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα σε άμυλο που ενδιαφέρει άμεσα τους πειραματικούς μας σκοπούς, η οποία ήταν ίση με 62.5 ± 1.9 %. Αυτό που έχει ιδιαίτερη σημασία να σημειωθεί είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη που επιτρέπει να επιτευχθούν ιδιαίτερα ικανοποιητικές αποδόσεις σακχαροποίησης και ζύμωσης χωρίς καμία χημική προεπεξεργασία. Η ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο που προσδιορίστηκε αποτελεί μια σαφή ένδειξη πως τα απόβλητα αρτοποιίας είναι όντως ιδανικό υπόστρωμα για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

Επιπλέον, στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν δύο είδη διεργασιών ζύμωσης (ξεχωριστή υδρόλυση και ζύμωση SHF, ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση SSF) και η σύγκρισή τους έγινε ως προς την απόδοση τους σε αιθανόλη.

Με βάση τον παραγοντικό σχεδιασμό που πραγματοποιήθηκε για τα πειράματα SHF και την ανάλυσή του προέκυψε ότι η θερμοκρασία υδρόλυσης είναι η στατιστικά σημαντική παράμετρος για την υδρόλυση, ενώ όλες οι άλλες παράμετροι και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους μπορούν δεν είναι στατιστικά σημαντικές. Τα βέλτιστα αποτελέσματα λήφθηκαν σε συνθήκες 20.0% w/w φόρτισης στερεού, 35.0°C θερμοκρασίας υδρόλυσης και 20 μL ενζύμου/g. Επιτεύχθηκε μάλιστα συγκέντρωση αιθανόλης 92.0±0.9 g/L, η οποία αντιστοιχεί σε απόδοση αιθανόλης 99.0%. Ένα ακόμη συμπέρασμα που μπορεί να αναφερθεί είναι πως με βάση και τα πειραματικά αποτελέσματα σχετικά με την υδρόλυση πως ακόμη και αν οι αποδόσεις γλυκόζης στα πειράματα με θερμοκρασία υδρόλυσης 35.0°C είναι μικρότερες συγκριτικά με αυτά στους 65.0°C, οι αποδόσεις αιθανόλης προκύπτουν υψηλότερες.

Αντίστοιχα στα πειράματα SSF, προέκυψε ότι σε κάθε πείραμα λήφθηκαν παρόμοιες και ιδιαίτερα υψηλές αποδόσεις αιθανόλης υποδεικνύοντας έτσι τη στατιστικά ασήμαντη επίδραση του φορτίου στερεού και της ποσότητας ενζύμου στην απόδοση αιθανόλης εντός των εξεταζόμενων ορίων. Τα βέλτιστα αποτελέσματα λήφθηκαν σε συνθήκες 20.0% w/w στερεής φόρτισης, και 20 μL ενζύμου/g και ήταν συγκέντρωση αιθανόλης 87.5±3.5 g/L η οποία αντιστοιχεί σε απόδοση αιθανόλης 95.0%.

Τα αποτελέσματα που λήφθηκαν στην παρούσα μελέτη απέδειξαν ότι η διαδικασία SSF θα μπορούσε να οδηγήσει σε συγκρίσιμα υψηλές αποδόσεις σε σύγκριση με την SHF, γεγονός πλεονεκτικό δεδομένου ότι η SSF είναι λιγότερο ενεργειακά απαιτητική, λιγότερο χρονοβόρα και πιο αποδοτική από την SHF.

Όπως είναι φανερό, οι συνολικές αποδόσεις βιομετατροπής των πειραμάτων σε εργαστηριακή κλίμακα απέδειξαν πως υπάρχει η δυνατότητα χρησιμοποίησης των αποβλήτων αρτοποιίας ως υπόστρωμα για μεγάλης κλίμακας παραγωγή βιοαιθανόλης. Για τον λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε ανακλιμάκωση της διαδικασίας σε δυο πιλοτικές δοκιμές με βάση τις βέλτιστες συνθήκες των πειραμάτων SSF. Τα βέλτιστα αποτελέσματα προέκυψαν στην δοκιμή 1, στην οποία χρησιμοποιήθηκε στερεή φόρτιση 20% w/w (14kg αποβλήτου) και 20 μL ενζύμου /g αμύλου. Η μέγιστη συγκέντρωση παραγόμενης αιθανόλης λήφθηκε στις 31 h ίση με100.0±0.0 g/L ενώ η μέγιστη συγκέντρωση γλυκόζης λήφθηκε στις 2 h ίση με 102.8 ± 0.7 g/L. Η παραγωγή αιθανόλης αυξανόταν με την πάροδο

του χρόνου όπως ήταν αναμενόμενο και αντίστοιχα η συγκέντρωση γλυκόζης αυξανόταν κατακόρυφα τις πρώτες ώρες της διεργασίας και στην συνέχεια ελαττωνόταν.

Μια ακόμη πολύ σημαντική παράμετρος που εκτιμήθηκε τόσο σε εργαστηριακή κλίμακα στις διαδικασίες SHF και SSF όσο και στις δοκιμές της πιλοτικής κλίμακας ήταν η αποδόμηση αμύλου και στερεού στα στερεά υπολείμματα των πειραμάτων. Κατά μέσο όρο σε όλα τα πειράματα η αποδόμηση αμύλου υπολογίστηκε μεγαλύτερη του 97.0 % και η αποδόμηση στερεού μεγαλύτερη του 75.0 %. Αυτό συνεπάγεται αρχικά πως όλη η πειραματική διαδικασία και ο πειραματικός σχεδιασμός είναι επιτυχημένος και πως οι πολύ υψηλές τιμές αποδόσεις αιθανόλης επαληθεύονται μέσω των αντίστοιχα πολύ υψηλών τιμών αποδόμησης του αμύλου. Ένας ακόμη στόχος όλης της πειραματικής διαδικασίας έχει επιτευχθεί καθώς η πρώτη ύλη εκτός από ένα ιδανικό υπόστρωμα για παραγωγή βιοαιθανόλης δεν παύει να είναι και απόβλητο και με τον τρόπο αυτόν επιτυγχάνεται αρκετά μεγάλη αποδόμησή του.

Μιας και η παρούσα διπλωματική αποτέλεσε το πρώτο βήμα για την έρευνα της παραγωγής βιοαιθανόλης από απόβλητα αρτοποιίας κρίνεται σκόπιμο με βάση τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα η έρευνα να συνεχιστεί προς αυτή την κατεύθυνση. Σε μελλοντικές έρευνες θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη η συστηματική αριστοποίηση των πειραματικών συνθηκών παραγωγής της βιοαιθανόλης εφαρμόζοντας τεχνικές πειραματικού σχεδιασμού, όπως ο παραγοντικός σχεδιασμός. Συγκεκριμένα θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν παραγοντικοί σχεδιασμοί και ως προς άλλες παραμέτρους της διαδικασίας. Ακόμη αρκετά χρήσιμες θα ήταν περισσότερες δοκιμές σε πιλοτική κλίμακα για παραγωγή βιοαιθανόλης και η βελτιστοποίηση της διαδικασίας μέσω της μείωσης των ποσοτήτων ενζύμων και μαγιάς κάνοντας πιο οικονομικά συμφέρουσα την πειραματική διαδικασία. Μια ακόμη πρόκληση για το μέλλον είναι η διαχείριση και η συλλογή των αποβλήτων αρτοποιίας δεδομένου ότι δεν πραγματοποιείται διαλογή τους στην πηγή. Ένα άλλο συναρπαστικό πεδίο έρευνας είναι η ανάκτηση και ο καθαρισμός της παραγόμενης αιθανόλης, δεδομένου ότι η αιθανόλη παράγεται από ένα ρεύμα αποβλήτων και θεωρείται προηγμένο βιοκαύσιμο έχει κατά συνέπεια μια πρόσθετη προστιθέμενη αξία.

Συμπερασματικά, τα ευρήματα αυτής της μελέτης υποδηλώνουν ότι τα απορρίμματα αρτοποιίας μπορεί να είναι μια κατάλληλη πηγή ενέργειας, εκπληρώνοντας τους στόχους της Ε.Ε. για κυκλική οικονομία και μηδενικά απόβλητα. Για να ξεπεραστούν τα σημαντικά εμπόδια της αναβάθμισης και διείσδυσης στην αγορά, πρέπει να διεξαχθεί περαιτέρω τεχνοοικονομική ανάλυση των προτεινόμενων σχημάτων καθώς και Ανάλυση Κύκλου Ζωής.

10 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] N. Abas, A. Kalair, and N. Khan, "Review of fossil fuels and future energy technologies," *Futures*, vol. 69, pp. 31–49, May 2015, doi: 10.1016/j.futures.2015.03.003.

[2] M. Höök and X. Tang, "Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change—A review," *Energy Policy*, vol. 52, pp. 797–809, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.enpol.2012.10.046.

[3] R. K. Srivastava, N. P. Shetti, K. R. Reddy, E. E. Kwon, M. N. Nadagouda, and T. M. Aminabhavi, "Biomass utilization and production of biofuels from carbon neutral materials," *Environmental Pollution*, vol. 276, p. 116731, May 2021, doi: 10.1016/J.ENVPOL.2021.116731.

[4] "EUR-Lex - 32001L0077 - EN - EUR-Lex." https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/ALL/?uri=CELEX%3A32001L0077 (accessed Feb. 06, 2023).

[5] "Renewable Energy – Recast to 2030 (RED II)." https://joint-research-centre.ec.europa.eu/welcome-jec-website/reference-regulatory-framework/renewable-energy-recast-2030-red-ii_el (accessed Feb. 06, 2023).

[6] "REPowerEU: affordable, secure and sustainable energy for Europe." https://commission.europa.eu/strategy-and-policy/priorities-2019-2024/european-green-deal/repowereu-affordable-secure-and-sustainable-energy-europe_en (accessed Feb. 06, 2023).

[7] "EUR-Lex - 32018L0851 - EN - EUR-Lex." https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/?uri=CELEX%3A32018L0851 (accessed Feb. 06, 2023).

[8] "Biodegradable waste." https://environment.ec.europa.eu/topics/waste-and-recycling/biodegradable-waste_en (accessed Feb. 06, 2023).

[9] C. Duquennoi and J. Martinez, "European Union's policymaking on sustainable waste management and circularity in agroecosystems: The potential for innovative interactions between science and decision-making," *Front Sustain Food Syst*, vol. 6, p. 327, Aug. 2022, doi: 10.3389/FSUFS.2022.937802/BIBTEX.

[10] "Environmental indicator report 2016 — In support to the monitoring of the 7th Environment Action Programme — European Environment Agency." https://www.eea.europa.eu/publications/environmental-indicator-report-2016 (accessed Feb. 06, 2023).

[11] Priya, P. S. Deora, Y. Verma, R. A. Muhal, C. Goswami, and T. Singh, "Biofuels: An alternative to conventional fuel and energy source," *Mater Today Proc*, vol. 48, pp. 1178–1184, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2021.08.227.

[12] "Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος — Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος." https://www.eea.europa.eu/el (accessed Feb. 06, 2023).

[13] R. Luque *et al.*, “Biofuels: a technological perspective,” *Energy Environ Sci*, vol. 1, no. 5, pp. 542–564, Nov. 2008, doi: 10.1039/B807094F.

[14] “Βιοκαύσιμα | Agroenergy.gr.” http://www.agroenergy.gr/categories/%CE%B2%CE%B9%CE%BF%CE%BA%CE%B1%CF%8D%CF%83%CE%B9%CE%BC%CE%B1 (accessed Feb. 06, 2023).

[15] N. S. Mat Aron, K. S. Khoo, K. W. Chew, P. L. Show, W. Chen, and T. H. P. Nguyen, “Sustainability of the four generations of biofuels – A review,” *Int J Energy Res*, vol. 44, no. 12, pp. 9266–9282, Oct. 2020, doi: 10.1002/er.5557.

[16] Priya, P. S. Deora, Y. Verma, R. A. Muhal, C. Goswami, and T. Singh, “Biofuels: An alternative to conventional fuel and energy source,” *Mater Today Proc*, vol. 48, pp. 1178–1184, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2021.08.227.

[17] O. Awogbemi, D. V. von Kallon, E. I. Onuh, and V. S. Aigbodion, “An Overview of the Classification, Production and Utilization of Biofuels for Internal Combustion Engine Applications,” *Energies (Basel)*, vol. 14, no. 18, p. 5687, Sep. 2021, doi: 10.3390/en14185687.

[18] M. F. Shahriar and A. Khanal, “The current techno-economic, environmental, policy status and perspectives of sustainable aviation fuel (SAF),” *Fuel*, vol. 325, p. 124905, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2022.124905.

[19] S. J. Mandley, V. Daioglou, H. M. Junginger, D. P. van Vuuren, and B. Wicke, “EU bioenergy development to 2050,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 127, p. 109858, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.rser.2020.109858.

[20] M. A. Carriquiry, X. Du, and G. R. Timilsina, “Second generation biofuels: Economics and policies,” *Energy Policy*, vol. 39, no. 7, pp. 4222–4234, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.enpol.2011.04.036.

[21] M. Fatih Demirbas, M. Balat, and H. Balat, “Biowastes-to-biofuels,” *Energy Convers Manag*, vol. 52, no. 4, pp. 1815–1828, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.enconman.2010.10.041.

[22] J. Starita, “Introduction to *Ethanol: Salvation or Damnation?*,” *Journalism & Mass Communications: Student Media*, Oct. 2008, Accessed: Feb. 05, 2023. [Online]. Available: https://digitalcommons.unl.edu/journalismstudent/18

[23] “Building the ‘Minnesota Model’ | EthanolProducer.com.” https://ethanolproducer.com/articles/3855/building-the-minnesota-model (accessed Feb. 05, 2023).

[24] S. Niphadkar, P. Bagade, and S. Ahmed, “Bioethanol production: insight into past, present and future perspectives,” *https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1334338*, vol. 9, no. 2, pp. 229–238, Mar. 2017, doi: 10.1080/17597269.2017.1334338.

[25] M. Balat, “Bioethanol as a Vehicular Fuel: A Critical Review,” *http://dx.doi.org/10.1080/15567030801952334*, vol. 31, no. 14, pp. 1242–1255, Jan. 2009, doi: 10.1080/15567030801952334.

[26] "Annual Ethanol Production," *https://ethanolrfa.org/markets-and-statistics/annual-ethanol-production*.

[27] M. Fatih Demirbas, M. Balat, and H. Balat, "Biowastes-to-biofuels," *Energy Convers Manag*, vol. 52, no. 4, pp. 1815–1828, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.enconman.2010.10.041.

[28] J. Alzeer and K. Abou Hadeed, "Ethanol and its Halal status in food industries," *Trends Food Sci Technol*, vol. 58, pp. 14–20, Dec. 2016, doi: 10.1016/J.TIFS.2016.10.018.

[29] Δ. Καρώνης, Ε. Λόης, Φ. Ζαννίκος, and Σ. Στούρνας, *Τεχνολογία πετρελαίου και φυσικού αερίου*. 2011.

[30] J. Gao, D. Jiang, and Z. Huang, "Spray properties of alternative fuels: A comparative analysis of ethanol–gasoline blends and gasoline," *Fuel*, vol. 86, no. 10–11, pp. 1645–1650, Jul. 2007, doi: 10.1016/J.FUEL.2006.11.013.

[31] J. E. Anderson *et al.*, "High octane number ethanol–gasoline blends: Quantifying the potential benefits in the United States," *Fuel*, vol. 97, pp. 585–594, Jul. 2012, doi: 10.1016/J.FUEL.2012.03.017.

[32] R. da Silva, R. Cataluña, E. W. de Menezes, D. Samios, and C. M. S. Piatnicki, "Effect of additives on the antiknock properties and Reid vapor pressure of gasoline," *Fuel*, vol. 84, no. 7–8, pp. 951–959, May 2005, doi: 10.1016/J.FUEL.2005.01.008.

[33] H. A. Dabbagh, F. Ghobadi, M. R. Ehsani, and M. Moradmand, "The influence of ester additives on the properties of gasoline," *Fuel*, vol. 104, pp. 216–223, Feb. 2013, doi: 10.1016/J.FUEL.2012.09.056.

[34] E. W. de Menezes, R. Cataluña, D. Samios, and R. da Silva, "Addition of an azeotropic ETBE/ethanol mixture in eurosuper-type gasolines," *Fuel*, vol. 85, no. 17–18, pp. 2567–2577, Dec. 2006, doi: 10.1016/J.FUEL.2006.04.014.

[35] "Understanding gasoline volatility and ethanol effects Joint programmes on driveability and evaporative emissions ".

[36] J. Gao, D. Jiang, and Z. Huang, "Spray properties of alternative fuels: A comparative analysis of ethanol–gasoline blends and gasoline," *Fuel*, vol. 86, no. 10–11, pp. 1645–1650, Jul. 2007, doi: 10.1016/J.FUEL.2006.11.013.

[37] M. Vohra, J. Manwar, R. Manmode, S. Padgilwar, and S. Patil, "Bioethanol production: Feedstock and current technologies," *J Environ Chem Eng*, vol. 2, no. 1, pp. 573–584, Mar. 2014, doi: 10.1016/J.JECE.2013.10.013.

[38] C. A. Cardona and Ó. J. Sánchez, "Fuel ethanol production: Process design trends and integration opportunities," *Bioresour Technol*, vol. 98, no. 12, pp. 2415–2457, Sep. 2007, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2007.01.002.

[39] C. C. Geddes, I. U. Nieves, and L. O. Ingram, “Advances in ethanol production,” *Curr Opin Biotechnol*, vol. 22, no. 3, pp. 312–319, Jun. 2011, doi: 10.1016/j.copbio.2011.04.012.

[40] A. R. Domínguez-Bocanegra, J. A. Torres-Muñoz, and R. A. López, “Production of Bioethanol from agro-industrial wastes,” *Fuel*, vol. 149, pp. 85–89, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.fuel.2014.09.062.

[41] C. R. Soccol *et al.*, “Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil,” *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 13, pp. 4820–4825, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.067.

[42] A. Limayem and S. C. Ricke, “Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects,” *Prog Energy Combust Sci*, vol. 38, no. 4, pp. 449–467, 2012, doi: 10.1016/J.PECS.2012.03.002.

[43] H. B. Aditiya, T. M. I. Mahlia, W. T. Chong, H. Nur, and A. H. Sebayang, “Second generation bioethanol production: A critical review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 66, pp. 631–653, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.rser.2016.07.015.

[44] K. Robak and M. Balcerek, “Review of Second Generation Bioethanol Production from Residual Biomass,” *Food Technol Biotechnol*, vol. 56, no. 2, p. 174, Apr. 2018, doi: 10.17113/FTB.56.02.18.5428.

[45] P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, and M. J. Negro, “Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review,” *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 13, pp. 4851–4861, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.093.

[46] M. Galbe and G. Zacchi, “Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production,” *Adv Biochem Eng Biotechnol*, vol. 108, pp. 41–65, Apr. 2007, doi: 10.1007/10_2007_070.

[47] P. Harmsen, W. Huijgen, L. Bermudez, and R. Bakker, “Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass,” 2010, Accessed: Feb. 05, 2023. [Online]. Available: www.wur.nl

[48] Y. Zheng, Z. Pan, R. Zhang, and B. M. Jenkins, “Kinetic modeling for enzymatic hydrolysis of pretreated creeping wild ryegrass,” *Biotechnol Bioeng*, vol. 102, no. 6, pp. 1558–1569, Apr. 2009, doi: 10.1002/bit.22197.

[49] L. Canilha *et al.*, “Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: An overview about composition, pretreatment methods, detoxification of hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation,” *J Biomed Biotechnol*, vol. 2012, 2012, doi: 10.1155/2012/989572.

[50] A. ABDU YUSUF and F. L. INAMBAO, “BIOETHANOL PRODUCTION TECHNIQUES FROM LIGNOCELLULOSIC BIOMASS AS ALTERNATIVE FUEL: A REVIEW,” *INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH IN ENGINEERING & TECHNOLOGY*, vol. 10, no. 3, Jun. 2019, doi: 10.34218/IJARET.10.3.2019.026.

[51] Γ. Ν. Παπαδοπούλου and G. N. Papadopoulou, “Μελέτη της διεργασίας παραγωγής βιοαιθανόλης από διατροφικά απορρίμματα,” Jul. 2014, doi: 10.26240/HEAL.NTUA.6363.

[52] M. Rakin, M. Vukašinović, S. Nikolić, and D. Savić, “LJILJANA MOJOVIĆ 1 DUŠANKA PEJIN 2 OLGICA GRUJIĆ 2 SINIŠA MARKOV 2 JELENA PEJIN 2 PROGRESS IN THE PRODUCTION OF BIOETHANOL ON STARCH-BASED FEEDSTOCKS*,” *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, vol. 15, no. 4, pp. 211–226, 2009, doi: 10.2298/CICEQ0904211M.

[53] Β. Στούμπου and V. Stoumpou, “Αξιοποίηση στερεού υπολείμματος αναερόβιας χώνευσης από επεξεργασία βιοαποβλήτων για την παραγωγή αιθανόλης,” 2019, doi: 10.26240/HEAL.NTUA.17230.

[54] “Brief on food waste in the European Union 12 Key messages”, Accessed: Feb. 05, 2023. [Online]. Available: https://www.eu-fusions.org/

[55] Eprs, “Reducing food waste in the European Union”.

[56] “Sustainable Management of Food Basics | US EPA.” https://www.epa.gov/sustainable-management-food/sustainable-management-food-basics (accessed Feb. 05, 2023).

[57] “Food waste and food waste prevention - estimates - Statistics Explained.” https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Food_waste_and_food_waste_prevention_-_estimates&stable=0&redirect=no (accessed Feb. 05, 2023).

[58] “Brief on food waste in the European Union 12 Key messages”, Accessed: Feb. 05, 2023. [Online]. Available: https://www.eu-fusions.org/

[59] Y. Zhang *et al.*, “Compositional analysis of food waste entering the source segregation stream in four European regions and implications for valorisation via anaerobic digestion,” 2013.

[60] A. Dymchenko, M. Geršl, and T. Gregor, “Trends in bread waste utilisation,” *Trends Food Sci Technol*, vol. 132, pp. 93–102, Feb. 2023, doi: 10.1016/J.TIFS.2023.01.004.

[61] “How Much Bread Do We Waste in the UK?” https://www.ecoandbeyond.co/articles/much-bread-waste-uk/ (accessed Feb. 05, 2023).

[62] F. Ebrahimi, M. Khanahmadi, S. Roodpeyma, and M. J. Taherzadeh, “Ethanol production from bread residues,” *Biomass Bioenergy*, vol. 32, no. 4, pp. 333–337, Apr. 2008, doi: 10.1016/J.BIOMBIOE.2007.10.007.

[63] W. Pietrzak and J. Kawa-Rygielska, “Ethanol fermentation of waste bread using granular starch hydrolyzing enzyme: Effect of raw material pretreatment,” *Fuel*, vol. 134, pp. 250–256, Oct. 2014, doi: 10.1016/j.fuel.2014.05.081.

[64] V. Narisetty *et al.*, “Recycling bread waste into chemical building blocks using a circular biorefining approach,” *Sustain Energy Fuels*, vol. 5, no. 19, pp. 4842–4849, 2021, doi: 10.1039/D1SE00575H.

[65] E. Tareke, P. Rydberg, P. Karlsson, S. Eriksson, and M. Törnqvist, “Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs,” *J Agric Food Chem*, vol. 50, no. 17, pp. 4998–5006, Aug. 2002, doi: 10.1021/jf020302f.

[66] N. K. Sahu and A. Andhare, “Design of Experiments Applied to Industrial Process,” in *Statistical Approaches With Emphasis on Design of Experiments Applied to Chemical Processes*, InTech, 2018. doi: 10.5772/intechopen.73558.

[67] F. Dweiri *et al.*, “Environment and sustainability approach to manage sweet bakery waste product,” *Science of The Total Environment*, vol. 772, p. 145557, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145557.