



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας Ι – Τομέας Χημικών Επιστημών

Διπλωματική Εργασία

«Αξιοποίηση οργανικών αποβλήτων
προς παραγωγή βιοδιαλυτών»

Καραμπλιά Βαρβάρα

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Κωνσταντίνα Κόλλια

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2023

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη της κα Κωνσταντίνας Κόλλια, καθηγήτριας του Ε.Μ.Π.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Κόλλια για την εμπιστοσύνη της στο να αναλάβω ένα τόσο σημαντικό και ενδιαφέρον θέμα. Η ενασχόλησή μου με αυτή την εργασία αποτέλεσε μεγάλη ευκαιρία να διευρύνω τις γνώσεις μου πάνω στα περιβαλλοντικά ζητήματα που έρχεται αντιμέτωπος ένας σύγχρονος χημικός μηχανικός.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Χρυσάνθη Σταυράκη, μέλος του προσωπικού του εργαστηρίου, για την πολύτιμη βοήθειά της, την επιστημονική υποστήριξη, την καθοδήγηση και τις γνώσεις που μου παρείχε σε οποιαδήποτε απορία μου για την εκπόνηση της εργασίας μου. Η Χρυσάνθη έγινε ο μέντοράς μου τόσο για την διπλωματική εργασία όσο και για την μελλοντική επαγγελματική και προσωπική μου εξέλιξη.

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 σε πολύ κομβικά σημεία της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και όλα τα υπόλοιπα μέλη του Εργαστηρίου για την άριστη συνεργασία μας σε καθημερινό επίπεδο που ήταν εκεί τόσο σαν συνεργάτες, όσο και σαν φίλοι.

Τέλος, δεν είναι δυνατόν να μην αναφέρω την ευγνωμοσύνη που νιώθω για την οικογένειά μου, τους φίλους μου αλλά και τους συμφοιτητές μου για την έμμεση αλλά ταυτόχρονα έμπρακτη βοήθειά τους, κατά την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και για όλα τα προηγούμενα χρόνια των σπουδών μου.

Είμαι αισιόδοξη πως αυτή η διπλωματική εργασία μαζί με την έρευνα που έχει προηγηθεί και αυτή που θα πραγματοποιηθεί στο σύντομο μέλλον, θα αποτελέσουν τα πρώτα βήματα για «νέες ανακαλύψεις». Νιώθω μεγάλη τιμή που συμβάλλω με την έρευνά μου στην δημιουργία νέων τεχνολογιών που προσφέρουν στη βιωσιμότητα του πλανήτη και την καλύτερη ποιότητα ζωής των συνανθρώπων μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι διαλύτες αντιπροσωπεύουν μια σημαντική κατηγορία χημικών λόγω της αναγκαιότητάς τους σε μια ποικιλία βιομηχανικών διεργασιών όπως διάλυση, αραιώση και απομάκρυνση άλλων χημικών ουσιών χωρίς να προκαλούν χημικές αλλαγές. Η πλειοψηφία των διαλυτών που προέρχονται από ορυκτό άνθρακα είναι επικίνδυνοι τόσο για την ανθρώπινη υγεία, όσο και για το περιβάλλον. Ταυτόχρονα, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή τείνει να προσαρμοστεί σε μια κυκλική οικονομία. Ως εκ τούτου, η βιομηχανία θα αναγκαστεί να χρησιμοποιήσει κλειστούς βρόχους πόρων στο μέλλον για να περιορίσει τα απόβλητα και να μειώσει τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των διαδικασιών της. Η βέλτιστη προσέγγιση συνίσταται στη μετατροπή της βιομάζας σε νέους εναλλακτικούς πιο πράσινους διαλύτες, οι οποίοι θα αντικαθιστούσαν τους πτητικούς και τοξικούς για τον άνθρωπο και το περιβάλλον συμβατικούς διαλύτες. Λόγω της υψηλής βιοδιασπασιμότητας και της χαμηλότερης απελευθέρωσης πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs) κατά την παραγωγή, όλο και περισσότεροι ερευνητές δίνουν έμφαση σε αυτό το θέμα. Αυτές οι νέες τεχνολογίες, παρέχουν χαμηλότερο κόστος διάθεσης, ασφαλέστερο εργασιακό περιβάλλον και προωθούν πιο πράσινες συνήθειες στους καταναλωτές.

Οι διαλύτες βιολογικής βάσης παράγονται από αμυλούχες και λιγνοκυτταρινικές καλλιέργειες μέσω νέων τεχνολογιών και διαδικασιών. Η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε στην παραγωγή δύο βιοδιαλυτών: το γαλακτικό οξύ και τον γαλακτικό αιθυλεστέρα. Το υπόστρωμα για την παραγωγή βιοδιαλυτών ήταν βιοαπόβλητα που προέρχονται από τη βιομηχανία τροφίμων.

Το γαλακτικό οξύ παράγεται παραδοσιακά από γλυκόζη, λακτόζη, απόβλητα γαλακτοκομικών φυτών, άμυλο, μελάσα και γλυκερίνη από τη βιομηχανία βιοντίζελ. Ένα μείγμα γαλακτοβακίλλων (LAB), συμπεριλαμβανομένων στελεχών ετεροζυμωτικών γαλακτοβακίλλων, αναπτύχθηκε σε μέσο Man-Rogosa-Sharp (MRS) στους 35°C, 130 rpm για 24 ώρες και χρησιμοποιήθηκε για αναερόβια ζύμωση, όπου μετατράπηκαν τα σάκχαρα (εξόζες και πεντόζες) σε μείγμα προϊόντων (γαλακτικό οξύ, αιθανόλη, οξικό οξύ). Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν δύο ένζυμα για να επιταχυνθεί η διαδικασία, το Spizzyme Excel XHS και το Lactozyme Pure από τη Novozymes.

Σε αυτή τη μελέτη εξετάστηκαν οι δόσεις του ενζύμου Lactozyme Pure (5 mg/g Λακτόζη και 20 mg/g Λακτόζη) και το φορτίο των μικροοργανισμών (5% v/v και 10% v/v), ενώ το φορτίο στερεού (10% w/w), η δόση του Spizzyme Excel XHS (40 mL/γάμυλο) και η θερμοκρασία (35°C) παρέμειναν σταθερά. Μετά από αρκετές δοκιμές και μετά από συλλογή δειγμάτων σε τακτά χρονικά διαστήματα, βρέθηκε ότι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος έφτασε σχεδόν τα 17,3 g/L μετά από 144 ώρες με 5 mg Lactozyme Pure/γλακτόζη και μέγεθος εμβολίου 10%v/v, που αντιστοιχεί σε 0,12 g/L h παραγωγικότητα σε γαλακτικό οξύ. Σε μια προσπάθεια να αυξηθεί η παραγωγικότητα του γαλακτικού οξέος, εφαρμόστηκε επαναλαμβανόμενη ζύμωση εξετάζοντας την προσθήκη ενζύμων. Μετά από 5 κύκλους επαναλήψεων, χρησιμοποιώντας ένζυμα μόνο στους δύο πρώτους κύκλους, η παραγωγικότητα γαλακτικού οξέος έφτασε τα 0,97 g/L h, που είναι 8 φορές υψηλότερη από την αντίστοιχη τιμή που επιτυγχάνεται με τη συμβατική ζύμωση γαλακτικού οξέος χωρίς επαναλαμβανόμενη ζύμωση.

Από την άλλη πλευρά, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι ένας περιβαλλοντικά φιλικός διαλύτης, ο οποίος θα μπορούσε να υποκαταστήσει τις πτητικές οργανικές ενώσεις με βάση τη βενζίνη σε πολλές εφαρμογές. Από χημικής άποψης, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι ένας εστέρας που παράγεται από την εστεροποίηση του γαλακτικού οξέος με αιθανόλη – δύο σημαντικά χημικά δομικά στοιχεία των βιοδιυλιστηρίων που είναι διαθέσιμα σε βιομηχανική

κλίμακα. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται σε όξινο περιβάλλον και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται είτε ομογενείς είτε ετερογενείς όξινοι καταλύτες.

Η αρχική μοριακή αναλογία αιθανόλης/γαλακτικού οξέος που βρέθηκε βιβλιογραφικά και μελετήθηκε είναι $n_{\text{EtOH}}/n_{\text{LA}} = 3/1$. Έγινε προσπάθεια παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα με πρώτες ύλες την βιοαιθανόλη (98 v/v %) και το μείγμα ζύμωσης που είχε προέλθει από τα πειράματα παραγωγής γαλακτικού οξέος. Μαζί με την προσθήκη καταλύτη Amberlyst 15 σε κλάσματα βάρους $w_{\text{cat}} = 0.1$ και 0.3 αναμίχθηκαν και θερμάνθηκαν στους 100°C . Δοκιμάστηκαν δύο πειραματικές διατάξεις και ικανοποιητικά αποτελέσματα έδειξε μόνο η δοκιμή στον περιστροφικό εξατμιστήρα με κλάσμα βάρους καταλύτη $w_{\text{cat}}=0.3$.

Συνολικά, από την παρούσα διπλωματική εργασία αποδείχθηκε ότι είναι τεχνικά εφικτή η παραγωγή γαλακτικού οξέος και γαλακτικού αιθυλεστέρα από βιοαπόβλητα παρέχοντας μια βιώσιμη προσέγγιση στην κυκλική οικονομία, περιορίζοντας τα απόβλητα και ελαχιστοποιώντας τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των βιομηχανικών διεργασιών. Περαιτέρω διερεύνηση των λειτουργικών παραμέτρων και των χρησιμοποιούμενων υποστρωμάτων θα μπορούσε να ενισχύσει την τεχνολογική και εμπορική ετοιμότητα της βιομηχανικής παραγωγής τέτοιων βιοδιαλυτών.

ABSTRACT

Solvents represent a major category of chemicals due to their necessity in a variety of industries: dissolution, dilution and removal other chemicals without generating chemical changes. The majority of solvents derived from fossil carbons are hazardous to both human health and the environment. At the same time, the European Commission tends to adapt to a circular economy. Therefore, the industry will be forced to use closed resource loops in the future to limit waste and diminish the environmental effect of their processes. The optimum approach consists of converting the biomass into new alternative greener solvents, which would replace the volatile and toxic to human and the environment conventional solvents. Due to the high biodegradability and the lower release of volatile organic compounds (VOCs) during the production, more and more researchers emphasize on this topic. These properties provide a lower disposal cost, a safer working environment and promote greener habits to the consumers.

Bio – based solvents are generated from starchy and lignocellulosic crops via novel technologies and processes. The present study concentrates on the production of two biosolvents; namely lactic acid and ethyl-lactate. The substrate for biosolvents production was biowaste derived from food industry.

Lactic acid is traditionally produced from glucose, lactose, dairy plant wastes, starch, molasses and glycerol from biodiesel industry. A mixture of Lactic Acid Bacteria (LAB), including heterofermentative lactobacillus strains, was grown in Man-Rogosa-Sharp medium at 35°C, 130 rpm for 24h and was utilized for anaerobic fermentation, where carbohydrates (hexoses and pentoses) were converted into a mixture of products (lactic acid, ethanol, acetic acid). LABs can only consume the fermentable sugars directly; therefore, two enzymes were used in order to accelerate the process, Spirizyme Excel XHS and Lactozyme Pure from Novozymes.

In this study, the dosages of Lactozyme Pure enzyme (5 mg/g_{Lactose} and 20 mg/g_{Lactose}) and inoculum size (5% v/v and 10% v/v) were examined, while the solid loading (10% w/w), the dosage of Spirizyme Excel XHS (40 µL/g_{starch}) and the temperature (35°C) remained stable. After several tests and after collecting samples at regular intervals, it was found that the lactic acid concentration reached almost 17.3g/L after 144 hours with 5mg_{LactozymePure}/g_{lactose} and 10%v/v inoculum size, corresponding to 0.12 g/L h productivity of lactic acid. In an effort to increase the productivity of lactic acid, repeated fermentation was applied examining the addition of enzymes. After 5 runs, using enzymes in the first two runs, lactic acid productivity reached 0.97 g/L h, which is 8 times higher than the respective value achieved with conventional batch lactic acid fermentation.

On the other hand, ethyl lactate is an environmentally benign solvent, which could replace gasoline-based VOCs in many applications. Chemically ethyl lactate is an ester produced by the esterification of lactic acid with ethanol – two important chemical building blocks of biorefineries available on an industrial scale. This reaction works in an acidic environment and for this reason either homogeneous or heterogeneous acid catalysts are used.

The initial ethanol/lactic acid molar ratio found in the literature and studied is nEtOH/nLA= 3/1. An attempt was made to produce ethyl lactate with bioethanol (98 v/v %) and the fermentation mixture derived from the lactic acid production experiments as raw materials. Together with the addition of Amberlyst 15 catalyst in weight fraction w_{cat} = 0.1, 0.3 were mixed and heated to 100°C. Two experimental setups were tested and only the rotary device test with a catalyst weight fraction w_{cat}=0.3 showed satisfactory results.

Overall, the production of these biosolvents from biowaste provides a sustainable approach to the circular economy, limiting waste and minimizing the environmental effect of industrial processes.

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT	6
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	11
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	14
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	16
1 ΒΙΟΔΙΑΛΥΤΕΣ	16
2 ΣΤΕΡΕΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ	19
3 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ.....	21
3.1 ΚΥΚΛΙΚΗ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑ	22
3.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ	23
3.3 ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ	25
3.4 ΣΤΟΧΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ	26
4 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ	27
4.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ.....	27
4.2 ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΓΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ.....	29
5 ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	33
5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	33
5.2 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	33
5.3 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	34
5.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	34
5.4.1 Παραγωγή γαλακτικού οξέος με χημικές διεργασίες.....	35
5.4.2 Παραγωγή γαλακτικού οξέος με βιολογικές διεργασίες.....	35
5.4.3 Παραγωγή γαλακτικού οξέος με επαναλαμβανόμενη ζύμωση.....	37
5.5 ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	38
6 ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ	39
6.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ	40
6.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ.....	43
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	46
ΣΚΟΠΟΣ.....	46
7 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	47
7.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	47

7.1.1	Προσδιορισμός ολικών στερεών (TS)	47
7.1.2	Προσδιορισμός πτητικών στερεών (VS).....	48
7.1.3	Προσδιορισμός ελαίων σε στερεά δείγματα (Oils)	49
7.1.4	Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών (WS)	50
7.1.5	Προσδιορισμός Ελεύθερης Γλυκόζης.....	51
7.1.6	Προσδιορισμός ολικού αμύλου	53
7.2	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΡΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ.....	55
8	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ	56
8.1	ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ	56
8.2	ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ	56
8.3	ΔΙΑΛΥΜΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ.....	56
8.4	ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	57
8.4.1	Επίδραση ενζύμου λακτάσης.	57
8.4.2	Επίδραση χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα πειράματος.....	58
8.4.3	Επίδραση φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum).....	58
8.4.4	Επίδραση επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών.	58
8.4.5	Επίδραση πειραμάτων επαναλαμβανόμενης ζύμωσης με διαφορετικές ποσότητες ενζύμων.....	59
8.5	ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ.....	61
8.6	ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ.....	61
8.6.1	Προεργασία μείγματος ζύμωσης.....	61
8.6.2	Αντίδραση Εστεροποίησης.....	62
9	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	65
9.1	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΠΡΩΤΗΣ ΥΛΗΣ.....	65
9.2	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	66
9.2.1	Αποτελέσματα επίδρασης ενζύμου λακτάσης.	66
9.2.2	Αποτελέσματα επίδρασης χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα αντίδρασης.....	67
9.2.3	Επίδραση φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum size).....	69
9.2.4	Αποτελέσματα επίδρασης επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών.....	70
9.2.5	Επαναλαμβανόμενη ζύμωση.....	73
9.3	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ.....	79
10	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	86
10.1	ΓΕΝΙΚΑ.....	86
10.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	86

10.3	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ	87
11	ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	88
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	89

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

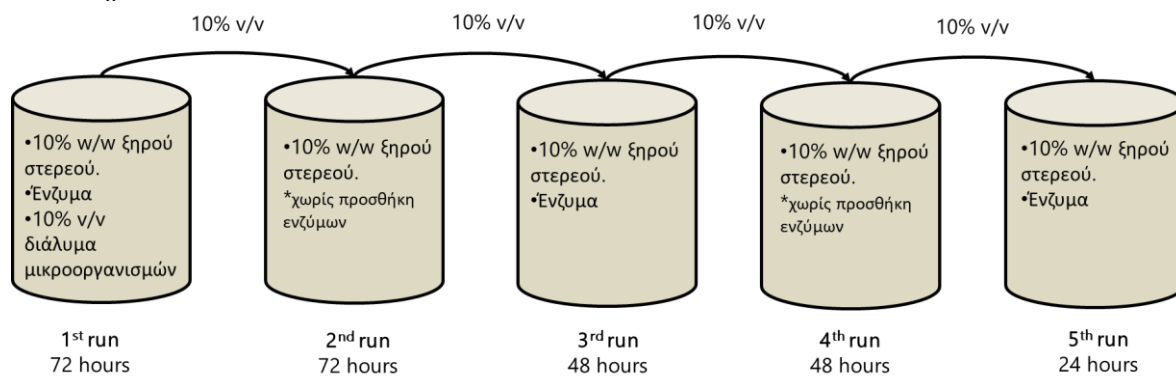
Πίνακας 2-1. Όρια Βαρέων Μετάλλων στα βιοαπόβλητα.	19
Πίνακας 6-1. Διαλυτικές ικανότητες του ethyl lactate και του πετροχημικού N-methyl pyrrolidone.	42
Πίνακας 6-2: Ιδιότητες γαλακτικού αιθυλεστέρα σε διάφορες θερμοκρασίες.	42
Πίνακας 6-3: Ιδιότητες γαλακτικού αιθυλεστέρα.....	42
Πίνακας 8-1. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης της λακτάσης.....	57
Πίνακας 8-2. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης του χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα πειράματος.	58
Πίνακας 8-3. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης του φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum).....	58
Πίνακας 8-4. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης της επανακαλλιέργειας των μικροοργανισμών.	59
Πίνακας 8-5. Συνθήκες πειραμάτων παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα, που πραγματοποιήθηκαν στην πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης.....	63
Πίνακας 8-6. Συνθήκες πειραμάτων παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα που πραγματοποιήθηκαν στην συσκευή Rottary.	64
Πίνακας 9-1. Αναγραφόμενες περιεκτικότητες αποβλήτου βιομηχανίας παραγωγής βρεφικών τροφών.	65
Πίνακας 9-2. Χαρακτηρισμός αποβλήτου βιομηχανίας παραγωγής βρεφικών τροφών.	65
Πίνακας 9-3. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 5mg λακτάσης /g λακτόζης.	66
Πίνακας 9-4. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 20mg λακτάσης/g λακτόζης.	66
Πίνακας 9-5. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης ενζύμου λακτάσης.	67
Πίνακας 9-6. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 24h καλλιέργεια μικροοργανισμών.	67
Πίνακας 9-7. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 48h καλλιέργεια μικροοργανισμών.	68
Πίνακας 9-8. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα.	69
Πίνακας 9-9. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών.	69
Πίνακας 9-10. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.	69
Πίνακας 9-11. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης του φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum size).....	70
Πίνακας 9-12. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος χωρίς επανακαλλιέργεια με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.	71

Πίνακας 9-13. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με έναν κύκλο επανακαλλιέργειας με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.	71
Πίνακας 9-14. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 2 κύκλους επανακαλλιέργειας με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.	71
Πίνακας 9-15. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών.	72
Πίνακας 9-16. 1 ^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε κάθε κύκλο.	73
Πίνακας 9-17. 2 ^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων μόνο στον 1 ^ο κύκλο.	73
Πίνακας 9-18. 3 ^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων στον 1 ^ο και 2 ^ο κύκλο.	74
Πίνακας 9-19. 4 ^η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε όλους τους κύκλους.	74
Πίνακας 9-20. 5 ^η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων εναλλάξ.	75
Πίνακας 9-21. Υπολογισμός απόδοσης 1 ^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε κάθε κύκλο.	75
Πίνακας 9-22. Υπολογισμός απόδοσης 2 ^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων μόνο στον 1 ^ο κύκλο.	76
Πίνακας 9-23. . Υπολογισμός απόδοσης 3 ^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων στον 1ο και 2ο κύκλο.	77
Πίνακας 9-24. . Υπολογισμός απόδοσης 4 ^η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε όλους τους κύκλους.	78
Πίνακας 9-25. . Υπολογισμός απόδοσης 5 ^η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων εναλλάξ.	78
Πίνακας 9-26. Αποδόμηση αμύλου στο πέρας των κύκλων της 5 ^{ης} δοκιμής.	79
Πίνακας 9-27. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.1 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 161.45 g/L	80
Πίνακας 9-28. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.1 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 95g/L	80
Πίνακας 9-29. . Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 147.25 g/L	81
Πίνακας 9-30. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 105.25 g/L	82
Πίνακας 9-31. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 143.55 g/L	83

Πίνακας 9-32. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **224.9 g/L**. 84

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1-1. Μετατροπή πρώτης ύλης βιολογικής βάσης σε πράσινους διαλύτες	17
Σχήμα 3-1. Κατηγοριοποίηση βιομηχανικών αποβλήτων.....	22
Σχήμα 3-2. Τρόπος Λειτουργείας της Κυκλικής Οικονομίας.	23
Σχήμα 3-3: Πυραμίδα ιεράρχησης 5 βαθμίδων για τα απόβλητα.....	26
Σχήμα 4-1. Οργανικά απόβλητα από ιδιωτικά νοικοκυριά.....	27
Σχήμα 4-2. Αερόβια και αναερόβια χώνευση οργανικών αποβλήτων.	28
Σχήμα 4-3. Καφέ κάδοι ειδική συλλογής οργανικών αποβλήτων.	31
Σχήμα 5-1. Θρεπτικό μέσο MRS μετά από καλλιέργεια γαλακτοβακίλων.	37
Σχήμα 6-1. Ο κύκλος ζωής του γαλακτικού αιθυλεστέρα.	40
Σχήμα 6-2: Διάταξη παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα.....	45
Σχήμα 7-1. Φούρνος ξήρανσης Carbolite.....	48
Σχήμα 7-2. Αφυγρανήρας.	48
Σχήμα 7-3. Φούρνος Barnstead Thermolyne.....	49
Σχήμα 7-4. Διάταξη της Soxhlet.	50
Σχήμα 7-5. Ανακινούμενο αερόλουτρο IKA KS 30001 control.	51
Σχήμα 7-6: Φυγόκεντρος IEC CENTRA CL2.	51
Σχήμα 7-7. Φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck.	52
Σχήμα 8-1. 1 ^η δοκιμή (5% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων σε κάθε κύκλο)	60
Σχήμα 8-2. 2 ^η δοκιμή (5% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων μόνο στον 1 ^ο κύκλο).....	60
Σχήμα 8-3. 3 ^η δοκιμή (5% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων στον 1 ^ο και 2 ^ο κύκλο).....	60
Σχήμα 8-4. 4η δοκιμή (10% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων σε όλους τους κύκλους)	



.....	61
Σχήμα 8-5. 5η δοκιμή (10% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων εναλλάξ)	61

Σχήμα 8-6. Διάταξη πλάγιας απόσταξης για παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα.	63
Σχήμα 8-7. Διάταξη Rottary.....	63
Σχήμα 9-1. Επίδραση ενζύμου λακτάσης στην παραγωγή γαλακτικού οξέος.	67
Σχήμα 9-2. Επίδραση χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα αντίδρασης.....	68
Σχήμα 9-3. Επίδραση φορτίου μικροοργανισμών (inoculum) στην παραγωγή γαλακτικού οξέος.....	70
Σχήμα 9-4. Επίδραση επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών με 10% v/v φορτίο στο διάλυμα πειράματος.	72
Σχήμα 9-5. Μεταβολή παραγωγικότητας στα πειράματα επαναλαμβανόμενης ζύμωσης, ...	79
Σχήμα 9-6. . Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 15min, 75min, 225min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.1 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 161.45 g/L	80
Σχήμα 9-7. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 10min, 100min, 190min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.1 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 95g/L	81
Σχήμα 9-8. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 147.25 g/L	82
Σχήμα 9-9. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 90min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 105.25 g/L	83
Σχήμα 9-10. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 60min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 143.55 g/L	84
Σχήμα 9-11. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 30min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους wcat=0.3 και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 224.9 g/L	84

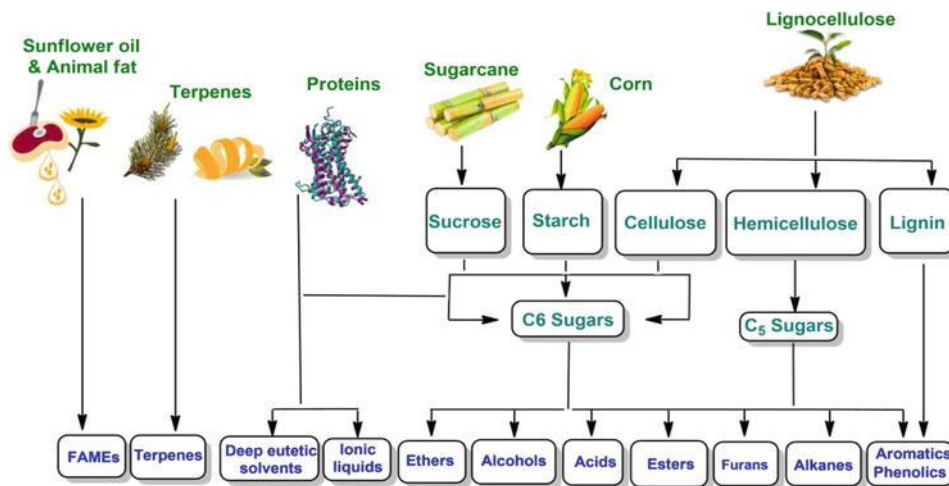
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΒΙΟΔΙΑΛΥΤΕΣ

Ο διαλύτης είναι μία πολική ή μη πολική ουσία, της οποίας ο ρόλος είναι να διαλύει ένα χημικώς διαφορετικό υγρό, στερεό ή αέριο, με αποτέλεσμα να παράγει ένα διάλυμα. Στις περισσότερες περιπτώσεις, είναι σε υγρή μορφή αλλά μπορεί να εμφανιστεί και σε στερεή ή αέρια. Η θερμοκρασία αλλά και η ικανότητα του διαλύτη, ορίζει την μέγιστη διαλυμένη ουσία που μπορεί να διαλυθεί σε συγκεκριμένο όγκο του εν λόγω διαλύτη. Ο κυριότερος κοινός διαλύτης είναι το νερό. Οι διαλύτες εφαρμόζονται κυρίως σε βιομηχανίες χημικών, τροφίμων, φαρμακευτικών, ξύλου και επίπλου, υφαντουργίας, ελαίων και αερίων, συμπεριλαμβανόμενων των διεργασιών καθαρισμού και χημικών συνθέσεων. [1]

Το περιβαλλοντικό κίνημα που έλαβε χώρα τη δεκαετία του 1970 στη Διάσκεψη των Ηνωμένων Εθνών στη Στοκχόλμη το 1972 (Conference on the Human Environment) αποτέλεσε την αρχή για την ανάπτυξη νέων τεχνολογιών στην παραγωγή διαλυτών. Οι διεθνείς συμβάσεις και περιβαλλοντικές οδηγίες κρίθηκαν αναγκαίες καθώς μέχρι την δεκαετία του 1980 η χημική νομοθεσία και η περιβαλλοντική ρύθμιση ήταν εθνική, ενώ ταυτόχρονα πραγματοποιούνταν μεγάλη ανάπτυξη του εμπορίου χημικών αλλά και αύξηση των επιπτώσεών του. Από εκείνη την δεκαετία, η «βιώσιμη ανάπτυξη» συνδέθηκε άμεσα με την οικονομική ανάπτυξη βοηθώντας στην διάδοσή της.

Ταυτόχρονα, τα περιβαλλοντικά ζητήματα, η υγεία και η ασφάλεια έχουν εγείρει σοβαρές ανησυχίες σχετικά με την συνέχιση της επεξεργασίας πρώτων υλών με βάση τα ορυκτά για την παραγωγή χημικών προϊόντων όπως καύσιμα και διαλύτες αφού οι περισσότεροι διαλύτες είναι εύφλεκτοι και τοξικοί. Ως εκ τούτου, καταβάλλονται πολλές προσπάθειες για την μείωση της χρήσης επικίνδυνων ουσιών (ιδιαίτερα πτητικών οργανικών ουσιών) και για την εξάλειψη ή την ελαχιστοποίηση της παραγωγής παραπροϊόντων σε χημικές διεργασίες. Η μετάβαση από τους ευρέως χρησιμοποιούμενους διαλύτες με βάση τα ορυκτά, σε πιο πράσινους και οικολογικούς διαλύτες που προέρχονται από ανανεώσιμες πηγές αποτελεί βασική στρατηγική για την προώθηση της βιωσιμότητας καθώς και καθαρότερων και ασφαλέστερων χημικών διαδικασιών τόσο στην βιομηχανία, όσο και σε απλές καθημερινές δραστηριότητες. Για τον σκοπό αυτό, πολλές πρώτες ύλες βιολογικής βάσης, όπως υδατάνθρακες, πολυμερή υδατανθράκων, πρωτεΐνες, αλκαλοειδή, φυτικά έλαια και ζωικά λίπη έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή διαλυτών βιολογικής βάσης. Αυτό, συχνά απαιτεί προηγούμενη επεξεργασία πρώτων υλών συνήθως θερμοχημικές και βιομηχανικές μεθόδους. [2]



Σχήμα 1-1. Μετατροπή πρώτης ύλης βιολογικής βάσης σε πράσινους διαλύτες

Την τελευταία δεκαετία, εναλλακτικά προϊόντα όπως τα πράσινα και λιγότερο επιβλαβή χημικά έχουν καταλάβει περισσότερο χώρο στις βιομηχανίες για να αντικαταστήσουν τους ορυκτούς πόρους, ειδικά τις πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs). Παρά τις ανησυχίες από περιβαλλοντική άποψη και την ανθρώπινη υγεία, για την ατομική χρήση χημικών βιολογικών προϊόντων που προέρχονται από γεωργικά απόβλητα, οι πράσινοι διαλύτες είναι μια αναδυόμενη ανανεώσιμη εναλλακτική λύση στα ορυκτά χημικά και έχουν προσελκύσει πρόσφατο ερευνητικό ενδιαφέρον. [3]

Από τους πράσινους διαλύτες οι πιο δημοφιλείς είναι το νερό, το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα και τα ιοντικά υγρά. Παρά το αυξανόμενο ενδιαφέρον, η προσοχή που δίνεται στα βιολογικά προϊόντα όπως στους διαλύτες που ανήκουν στην οικογένεια των γαλακτικών εστέρων, από τους οποίους ο πιο σημαντικός είναι το ethyl lactate, είναι μειωμένη. [4] **ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΠΡΑΣΙΝΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**

Ο σκοπός αλλά και η πρόκληση ταυτόχρονα, είναι η δημιουργία και η εφαρμογή πράσινων προϊόντων και διεργασιών. Οι αρχές της Πράσινης Χημείας στοχεύουν στην εξασφάλιση πως το μεγαλύτερο μέρος των διεργασιών που πραγματοποιούνται για την παραγωγή ενός νέου προϊόντος είναι φιλικές προς το περιβάλλον και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις του μειωμένες σε σχέση με το αντίστοιχο «συμβατικό» προϊόν.

Οι 12 αρχές της Πράσινης Χημείας:

- 1) Προτιμάται η πρόληψη των αποβλήτων από την επεξεργασία και τον καθαρισμό τους αφού παραχθούν.
- 2) Οι συνθετικές μέθοδοι θα πρέπει να σχεδιάζονται έτσι ούτως ώστε να μεγιστοποιείται η ενσωμάτωση όλων των υλικών που χρησιμοποιούνται για τη διαδικασία στο τελικό προϊόν.
- 3) Οι μεθοδολογίες αυτές θα πρέπει, όπου είναι εφικτό, να χρησιμοποιούν και να παράγουν ουσίες που προκαλούν ελάχιστη ή και καθόλου τοξικότητα τόσο στην ανθρώπινη υγεία, όσο και στο περιβάλλον.
- 4) Τα χημικά προϊόντα θα πρέπει να είναι σχεδιασμένα με τέτοιο τρόπο ώστε να διατηρούν την αποτελεσματική λειτουργία τους με ταυτόχρονη μείωση της τοξικότητας.
- 5) Οι βοηθητικές ουσίες όπως οι διαλύτες θα πρέπει να κρίνονται μη απαραίτητοι και να μην χρησιμοποιούνται όπου είναι δυνατόν.
- 6) Οι ενεργειακές απαιτήσεις θα πρέπει να αναλογιστεί ότι έχουν και περιβαλλοντικές και οικονομικές επιπτώσεις και για αυτό θα πρέπει να ελαχιστοποιούνται.

- 7) Θα πρέπει οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται να είναι ανανεώσιμες όποτε αυτό είναι τεχνικά και οικονομικά εφικτό.
- 8) Η περιττή παραγωγή (προστασία/αποπροστασία και προσωρινή τροποποίηση φυσικών/χημικών διεργασιών) πρέπει να αποφεύγεται όσο το δυνατόν γίνεται.
- 9) Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται ως καταλύτες (όσο το δυνατόν πιο εκλεκτικά) υπερτερούν σημασίας συγκριτικά με τα στοιχειομετρικά αντιδραστήρια.
- 10) Τα χημικά προϊόντα πρέπει να σχεδιάζονται ώστε στο τέλος της λειτουργίας τους να μην παραμένουν στο περιβάλλον αλλά να διασπώνται σε αβλαβή προϊόντα.
- 11) Οι αναλυτικές μεθοδολογίες χρειάζονται περαιτέρω ανάπτυξη ώστε να επιτρέπουν τον έλεγχο και την παρακολούθηση της διαδικασίας σε πραγματικό χρόνο προκειμένου να αποφευχθεί ο πιθανός σχηματισμός επικίνδυνων ουσιών.
- 12) Οι ουσίες που χρησιμοποιούνται καθώς και οι μορφές που έχουν αυτές σε μια χημική διεργασία, πρέπει να επιλέγονται έτσι ώστε να ελαχιστοποιούνται οι πιθανότητες πραγματοποίησης χημικών ατυχημάτων, όπως εκλύσεων, εκρήξεων και πυρκαγιών.[5]

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε ακολουθώντας τις αρχές που αναφέρθηκαν παραπάνω.

2 ΣΤΕΡΕΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Η οδηγία για τα απόβλητα 2008/98/ΕΚ, όπως τροποποιήθηκε και ισχύει από την Οδηγία 2018/851/ΕΚ, αναφέρεται στις γενικές απαιτήσεις για την διαχείριση των αποβλήτων, όπως είναι η προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος κατά την επεξεργασία αποβλήτων και η ανακύκλωση. 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». Ενσωματώνει την έννοια «υποπροϊόν» και εισάγει τη διάκριση μεταξύ αποβλήτων και μη αποβλήτων διευκρινίζοντας, ότι μια ουσία ή αντικείμενο που αναγράφεται στον ΕΚΑ (2000/532/ΕΚ) δεν συνιστά οπωσδήποτε απόβλητο, παρά μόνο εάν πληροί τα κριτήρια του ορισμού αποβλήτων.[6]

Η Οδηγία 2008/98/ΕΚ αιτιολογεί τη σημασία της χωριστής συλλογής των βιοαποβλήτων, ενώ η αναθεωρημένη οδηγία 2018/851/ΕΚ δεν αφήνει πλέον, τη χωριστή συλλογή των βιοαποβλήτων στη διακριτική ευχέρεια των κρατών – μελών, αλλά απαιτεί να εξασφαλίσουν ότι μέχρι 31-12-2023 τα βιοαπόβλητα είτε θα διαχωρίζονται και θα ανακυκλώνονται στην πηγή, είτε θα συλλέγονται χωριστά και δεν θα αναμιγνύονται με άλλα είδη αποβλήτων. Αυτή η ποιοτική παράμετρος διαφοροποιεί την κομποστοποίηση που εφαρμόζεται μόνο σε διαχωρισμένα στην πηγή βιοαπορρίμματα, από τα σταθεροποιημένα βιοαπόβλητα που προέρχονται από μηχανική/βιολογική επεξεργασία σύμμεικτων ή υπολειμματικών απορριμμάτων, ακόμη και αν τα αυτά πληρούν τις ποιοτικές προδιαγραφές του κομποστ. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία για την Ελλάδα, που δεν έχει προχωρήσει σε εκτεταμένα προγράμματα διαλογής στην πηγή, και οι εγκαταστάσεις μηχανικής/βιολογικής επεξεργασίας που διαθέτει εφαρμόζουν μηχανική διαλογή σε σύμμεικτα απορρίμματα. Στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 2-1) απεικονίζονται τα όρια σε περιεκτικότητα βαρέων μετάλλων για τα βιοαπόβλητα.[7]

Πίνακας 2-1. Όρια Βαρέων Μετάλλων στα βιοαπόβλητα.

Βαρέα Μέταλλα (mg/kg D.S)	Κομπόστ (τάξης1)	Κομπόστ (τάξης 2)	Σταθεροποιημένο βιοαποδομήσιμο απόβλητο
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

ΣΤΟΧΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Οι σχετικές οδηγίες της Ε.Ε έχουν ενσωματωθεί στο ελληνικό δίκαιο. Τουλάχιστον κάθε πενταετία, αναθεωρείται το Εθνικό Σχέδιο Διαχείρισης Αποβλήτων (ΕΣΔΑ) στο οποίο αναφέρονται οι βασικές αρχές και οι στόχοι για τη διαχείριση των στερεών αποβλήτων, μαζί με τις προδιαγραφές για τον εθνικό και περιφερειακό σχεδιασμό.

Κρίνεται σημαντική μία νέα στρατηγική οδηγία για την διαχείριση των βιοαποβλήτων έτσι ώστε να επιτευχθεί η εκτροπή τους από τους χώρους υγειονομικής ταφής. Μία τέτοια οδηγία, θα συμβάλει στην επίτευξη στόχων του Ευρωπαϊκού Προγράμματος για την Κλιματική Αλλαγή αλλά και μακροπρόθεσμα επιχειρηματικά σχέδια και επενδύσεις στον τομέα της εκμετάλλευσης των βιοαποβλήτων. Το σημαντικότερο ζήτημα, ωστόσο, που αντιμετωπίζουν οι υπεύθυνοι για την λήψη μιας τέτοιας απόφασης, είναι η βιωσιμότητα και το κόστος των συστημάτων χωριστής συλλογής, όταν η διαχείριση βιολογικών αποβλήτων πραγματοποιείται σε τοπικό επίπεδο. Το παραπάνω πρόβλημα παίζει ρόλο κλειδί σε όλη την διαδικασία καθώς η χωριστή συλλογή είναι αυτή που θα οδηγήσει στο κομπόστ καλής ποιότητας 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. [4]

3 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Μετά την βιομηχανική επανάσταση δημιουργήθηκαν τρεις βασικοί τομείς δραστηριοτήτων:

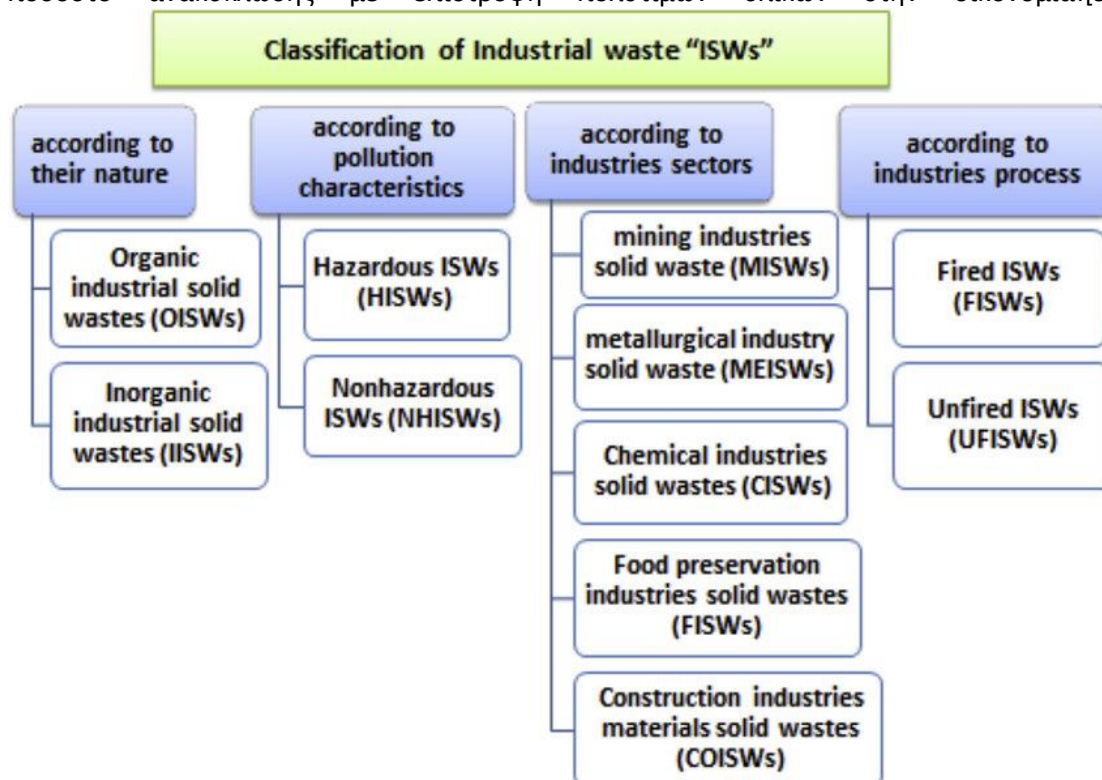
- Πρωτογενής τομέας (παραγωγή πρώτων υλών, γεωργία, κτηνοτροφία, ορυχεία)
- Δευτερογενής τομέας (βιομηχανία)
- Τριτογενής τομέας (εμπόριο, υπηρεσίες, διοίκηση)

Τα βιομηχανικά απόβλητα είναι αυτά που προέρχονται από τις διαδικασίες παραγωγής, μετατροπής, καθαρισμού, συντήρησης ή κατανάλωσης που παράγονται από τις βιομηχανίες πρωτογενούς ή δευτερογενούς τομέα. Τα βιομηχανικά απόβλητα περιλαμβάνουν προϊόντα βιομηχανικής παραγωγής τα οποία παύουν να χρησιμοποιούνται λόγω παλαιότητας, φθοράς ή αστοχίας και πρέπει να διατεθούν κατάλληλα στο περιβάλλον.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή (Οδηγία Πλαίσιο για τα απόβλητα 2008/98/ΕΚ) και Ελληνική νομοθεσία (Ν.4042/2012- Νόμος πλαίσιο για τα απόβλητα) ως απόβλητο θεωρείται «κάθε ουσία ή αντικείμενο το οποίο ο κάτοχός του απορρίπτει ή προτίθεται ή υποχρεούται να απορρίψει». Παλαιότερα τα βιομηχανικά απόβλητα δεν μπορούσαν να αξιοποιηθούν με οποιοδήποτε τρόπο λόγω έλλειψης καινοτόμων τεχνολογιών διαχείρισής τους, με αποτέλεσμα να θωρούνται άχρηστα. Το φαινόμενο του υπερπληθυσμού ωστόσο που θεωρείται μείζων θέμα στην εποχή μας, έχει επιφέρει μεγάλη αύξηση σε εργασίες πρωτογενούς και δευτερογενούς τομέα, με αποτέλεσμα και την εκθετική αύξηση των αποβλήτων της βιομηχανίας. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση κάθε χρόνο, καταναλώνονται περίπου 7,3 δισ. τόνοι φυσικών πόρων και παράγονται περίπου 2,7 δισ. τόνοι αποβλήτων, εκ των οποίων μόλις το 40% επαναχρησιμοποιείται ή ανακυκλώνεται, με το υπόλοιπο να καταλήγει για ταφή ή καύση. Υπήρξε λοιπόν επιτακτική ανάγκη για ανάπτυξη νέων τεχνολογιών και υιοθέτηση μιας νέας βιομηχανικής και επιχειρηματικής κουλτούρας, η οποία επιβάλλει την ανάπτυξη μονάδων που αποβλέπουν στην ορθή περιβαλλοντική διαχείριση αυτών των αποβλήτων. [8]

Τα τελευταία χρόνια είναι φανερή η προσπάθεια εκμετάλλευσης των αυξημένων σε ποσότητα αποβλήτων, με σκοπό την επαναχρησιμοποίησή τους για την ανάκτηση ενέργειας ή την παραγωγή νέων πράσινων προϊόντων. Αυτή η προσπάθεια είναι ιδιαίτερα περίπλοκη και περιλαμβάνει πολλά στάδια, καθώς για κάθε είδος αποβλήτου υπάρχουν συγκεκριμένες μέθοδοι ώστε η τελική εναπόθεση ή επαναχρησιμοποίηση να γίνεται αποδοτικά και χωρίς λειτουργικά προβλήματα. Η διαχείριση αποβλήτων έχει κεντρικό ρόλο στην κυκλική οικονομία. Ο τρόπος συλλογής και διαχείρισης αποβλήτων μπορεί να οδηγήσει σε υψηλό

ποσοστό ανακύκλωσης με επιστροφή πολύτιμων υλικών στην οικονομία.[9]



Σχήμα 3-1. Κατηγοριοποίηση βιομηχανικών αποβλήτων.

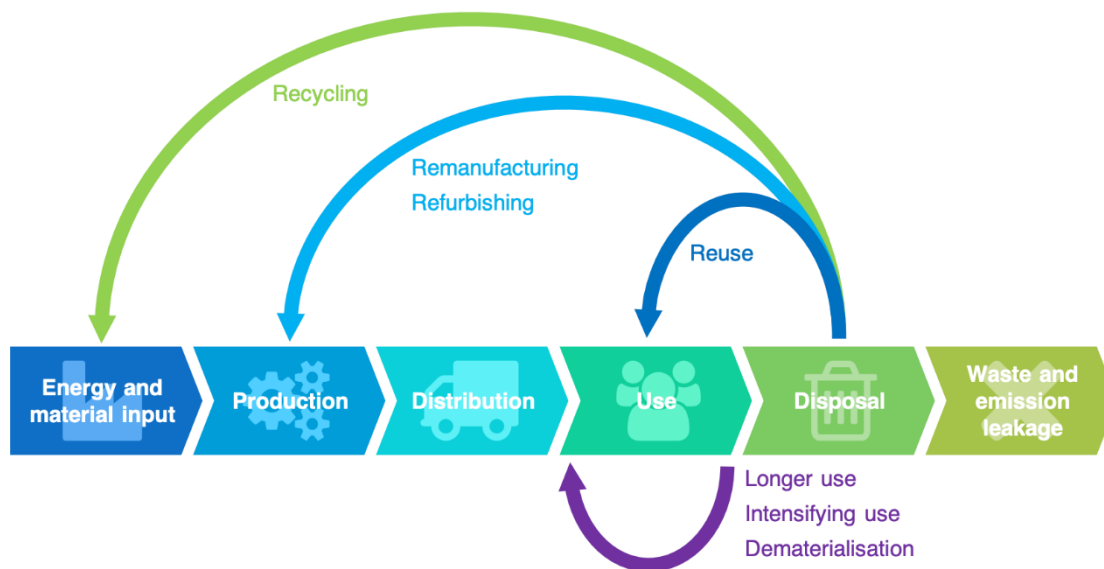
3.1 ΚΥΚΛΙΚΗ ΟΙΚΟΝΟΜΙΑ

Η κυκλική οικονομία είναι ένα μοντέλο παραγωγής και κατανάλωσης, το οποίο περιλαμβάνει την ανταλλαγή, εκμίσθωση, επαναχρησιμοποίηση, επισκευή, ανακαίνιση και ανακύκλωση των υπάρχοντων υλικών και προϊόντων όσο το δυνατόν περισσότερο προκειμένου να παραταθεί ο κύκλος ζωής τους [10]. Στην πράξη, η κυκλική οικονομία υποδηλώνει τη μείωση των αποβλήτων στο ελάχιστο δυνατό επίπεδο. Όταν ένα προϊόν φτάνει στο τέλος της ζωής του, τα υλικά κατασκευής του διατηρούνται μέσα στην οικονομία για να χρησιμοποιηθούν ξανά και ξανά, δημιουργώντας προστιθέμενη αξία στο προϊόν. Αυτό έρχεται σε αντιπαράθεση με το παραδοσιακό μοντέλο οικονομίας, το οποίο βασίζεται στο πρότυπο "παίρνω-φτιάχνω-καταναλώνω-πετώ". Το μοντέλο αυτό βασίζεται σε μεγάλες ποσότητες φθηνών και εύκολα προσβάσιμων υλικών και ενέργειας.[11], [12]

Κάποια από τα βασικά οφέλη που μπορεί να επιφέρει η εφαρμογή του μοντέλου της κυκλικής οικονομίας παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω:

- Προστασία του περιβάλλοντος: ελαχιστοποίηση φυσικών πόρων, μείωση διαταραχής των οικοτόπων, περιορισμός απώλειας βιοποικιλότητας, μείωση ετήσιων εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου.
- Μείωση εξάρτησης από πρώτες ύλες: η πεπερασμένη διάθεση πρώτων υλών δημιουργεί σχέσεις εξάρτησης μεταξύ των χωρών για την κάλυψη αναγκών επομένως είναι σημαντική η εύρεση ανανεώσιμων πηγών πρώτων υλών και ενέργειας.
- Η στροφή προς μια κυκλική οικονομία θα μπορούσε να αποφέρει οφέλη όπως την αύξηση της ανταγωνιστικότητας, την τόνωση της καινοτομίας, την προώθηση της οικονομικής ανάπτυξης και τη δημιουργία θέσεων εργασίας. Εξασφαλίζει επίσης την

παροχή πιο ανθεκτικών και καινοτόμων προϊόντων στους καταναλωτές, με αποτέλεσμα την εξοικονόμηση σημαντικών ποσών και την βελτίωση της ποιότητας ζωής.[13]



Σχήμα 3-2. Τρόπος Λειτουργίας της Κυκλικής Οικονομίας.

3.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Τα βιομηχανικά απόβλητα περιλαμβάνουν διαφόρων ειδών λύματα και χώματα, σκύρα, πλίνθους και σκυρόδεμα (από κατασκευές, εκσκαφές, κατεδαφίσεις), άχρηστα μέταλλα (παλιοσίδερα), έλαια, διαλύτες, χημικά, άχρηστη ξυλεία, τροφές, κλπ., και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τα ειδικά χαρακτηριστικά τους. [8]

Ανάλογα με τη φυσική τους κατάσταση, διακρίνονται κυρίως:

- σε απόβλητα σε στερεά μορφή, που πιθανώς περιέχουν και ρύπους σε υγρή ή ρευστή μορφή (από την έκλυση ορυκτών υλικών ή άνθρακα, τη βιομηχανία πορσελάνινων ειδών, κλπ.),
- απόβλητα σε μορφή αιωρήματος/διαλύματος με τον ρύπο σε υγρή μορφή (π.χ., από τη βιομηχανία γαλακτοκομικών).

Μια σημαντική διάκριση που εφαρμόζεται στα βιομηχανικά απόβλητα είναι σε:

- μη επικίνδυνα απόβλητα, όταν δεν αποτελούν κίνδυνο ούτε για το περιβάλλον ούτε για τη δημόσια υγεία. Ο όρος στερεά απόβλητα αναφέρεται τυπικά σε υλικά που δεν συνιστούν άμεσα επικίνδυνο απόβλητο και περιλαμβάνει ακάθαρτα και άχρηστα υλικά από δημοτικές/οικιακές πηγές, π.χ., πλαστικά, χαρτιά, μέταλλα, γυαλί, κλπ., ή επίσης υλικά κατασκευών (μπάζα) και απόβλητα πάρκων
- επικίνδυνα ή/και τοξικά απόβλητα, τα οποία εμφανίζουν μια ή περισσότερες από τις επικίνδυνες ιδιότητες που αναφέρονται στο παράρτημα III της οδηγίας 2008/98/ΕΚ, όπως έχουν τροποποιηθεί προσφάτως μέσω του κανονισμού 1357/2014 της επιτροπής και συνοψίζονται ως εξής:
 - HP 1 → Εκρηκτικό
 - HP 2 → Οξειδωτικό
 - HP 3 → Εύφλεκτο

- HP 4→Ερεθιστικό —ερεθισμός του δέρματος και οφθαλμική βλάβη
- HP 5→ Ειδική τοξικότητα στα όργανα-στόχους, τοξικότητα από αναρρόφηση
- HP 6→Οξεία τοξικότητα
- HP 7→ Καρκινογόνο
- HP 8→Διαβρωτικό
- HP 9→Μολυσματικό
- HP 10→ Τοξικό για την αναπαραγωγή
- HP 11→ Μεταλλαξιγόνο
- HP 12→ Έκλυση αερίου οξείας τοξικότητας
- HP 13→ Ευαισθητοποιητικό
- HP 14→ Οικοτοξικό
- HP 15→ Απόβλητο ικανό να επιδείξει μια από τις παραπάνω επικίνδυνες ιδιότητες που δεν είναι άμεσα εμφανής στο αρχικό απόβλητο.

Τα επικίνδυνα απόβλητα έχουν ειδικές προδιαγραφές επειδή απαιτούν προσεκτικό και σύνθετο χειρισμό. Οι κατηγορίες των υλικών αυτών προκύπτουν με βάση ορισμένα χαρακτηριστικά τους, όπως τη χημική δραστικότητα, την αναφλεξιμότητα, τη διαβρωτικότητα και την τοξικότητα που παρουσιάζουν. Διακρίνονται σε:

- Χημικώς δραστικά απόβλητα είναι εκείνα τα οποία μπορεί να προκαλέσουν εκρήξεις όταν θερμανθούν, αναμιχθούν με νερό ή συμπιεστούν ή/και να απελευθερώσουν τοξικά αέρια στην ατμόσφαιρα. Ένα παράδειγμα είναι οι μπαταρίες λιθίου/θείου.
- Αναφλέξιμα απόβλητα είναι αυτά που έχουν θερμοκρασίες ανάφλεξης μικρότερες από 60 °C. Είναι πολύ εύφλεκτα και μπορούν να προκαλέσουν πυρκαγιά. Παραδείγματα είναι οι οργανικοί διαλύτες και τα λιπαντικά έλαια
- Διαβρωτικά απόβλητα είναι υγρά ικανά να διαβρώσουν μέταλλα. Είναι οξέα με pH μικρότερο περίπου του 2 ή βάσεις με pH μεγαλύτερο περίπου του 12.5. Ένα παράδειγμα είναι τα υγρά μπαταριών (π.χ., μολύβδου).
- Τοξικά απόβλητα είναι εκείνα που περιέχουν τοξικές ουσίες (χημικές ύλες, παθογόνους μικροοργανισμούς ή άλλες τοξίνες, ραδιενεργά υλικά που εκπέμπουν ακτινοβολίες, κλπ.), οι οποίες ελλοχεύουν σοβαρούς κινδύνους βλάβης ή και θανάτου ενός οργανισμού όταν προσληφθούν με κατάποση, εισπνοή ή και απορρόφηση από το δέρμα. [14]

Η ταξινόμηση των αποβλήτων και, συγκεκριμένα, η κατανόηση του πότε και υπό ποιες συνθήκες τα απόβλητα πρέπει να θεωρούνται επικίνδυνα αποτελεί απόφαση κρίσιμης σημασίας στο πλαίσιο της συνολικής διαδικασίας διαχείρισης αποβλήτων, από την παραγωγή έως την τελική επεξεργασία τους. Ο Ευρωπαϊκός Κατάλογος Αποβλήτων (ΕΚΑ) είναι το βασικό έγγραφο για την ενιαία ταξινόμηση των αποβλήτων στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Περιέχει όλα τα ρεύματα αποβλήτων, επικίνδυνα και μη. Η ταξινόμηση ενός αποβλήτου ως επικίνδυνου συνεπάγεται σειρά σημαντικών υποχρεώσεων, για παράδειγμα, σε ό,τι αφορά την επισήμανση και τη συσκευασία αλλά και σε σχέση με τους διαθέσιμους τρόπους επεξεργασίας.

Εκτός από το Ευρωπαϊκό Κατάλογο Αποβλήτων (ΕΚΑ), αρκετά σημαντικό έγγραφο κρίνεται και το Ηλεκτρονικό Μητρώο Αποβλήτων. Το ΗΜΑ - Ηλεκτρονικό Μητρώο Αποβλήτων - είναι μία ηλεκτρονική υπηρεσία (online βάση δεδομένων), που παρέχεται από το Υπουργείο και περιλαμβάνει την ηλεκτρονική εγγραφή των υπόχρεων φορέων (Επιχειρήσεις και Οργανισμοί) στο μητρώο και παράλληλα υποστηρίζει την καταχώριση των δραστηριοτήτων τους (Εγκαταστάσεις και δραστηριότητες Συλλογής-Μεταφοράς) σε συνδυασμό με τη

δήλωση των αποβλήτων που διαχειρίζονται και των αδειών που τα τεκμηριώνουν. Συγκεκριμένα, στο μητρώο αυτό γίνεται η καταχώρηση στοιχείων σχετικά με τα απόβλητα, όπως: η ποσότητα, ο τρόπος διαχείρισής τους, καθώς και το είδος τους.

Πιο συγκεκριμένα οι στόχοι του Ηλεκτρονικού μητρώου αποβλήτων είναι:

- Η καταγραφή όλων όσων εμπλέκονται με την διαχείριση και την παραγωγή των αποβλήτων.
- Η καταγραφή της ποσότητας και του είδους των αποβλήτων καθώς και η δυνατότητα ανίχνευσης αυτών
- Η ευκολότερη διασταύρωση των στοιχείων, ώστε να διευκολύνεται και η διεξαγωγή περιβαλλοντικών ελέγχων.
- Η αποτελεσματικότερη διεξαγωγή των επιθεωρήσεων, έτσι ώστε να αποφεύγονται ή να αντιμετωπίζονται οι παραβάσεις που αφορούν το περιβάλλον.
- Η διευκόλυνση του ερευνητικού έργου καθώς και των σχετικών αναφορών και εκθέσεων.
- Η άμεση και αξιόπιστη ενημέρωση μέσω διαδικτύου, όλων όσων εμπλέκονται.
- Η σύνδεση και με άλλες πλατφόρμες δημοσίων φορέων.
- Η ελαχιστοποίηση του φόρτου, του χρόνου και των πόρων που απαιτούνται από την διοίκηση.

3.3 ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Για την σωστή διαχείριση πρέπει να ακολουθηθούν διάφορα στάδια. Βασική μέριμνα αποτελεί η προστασία του περιβάλλοντος και της υγείας των ανθρώπων, μέσω της μείωσης των απορριμμάτων στα πλαίσια της βιώσιμης διαβίωσης. Τα στάδια διαχείρισης των βιομηχανικών αποβλήτων έχουν ως εξής:

- Παραγωγή βιομηχανικών αποβλήτων.

Αποτελεί ένα πολύ σημαντικό πρόβλημα, αφού όταν παράγονται τα απόβλητα, αυτά πρέπει να ταξινομηθούν και να διαχωριστούν ανάλογα με την επικινδυνότητά τους και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους. Στόχος είναι να αποφεύγονται τα μείγματα, ώστε αργότερα να είναι ευκολότερη η επεξεργασία των απορριμμάτων.

- Συσσώρευση και αποθήκευση βιομηχανικών αποβλήτων.

Τα απόβλητα έπειτα συλλέγονται και αποθηκεύονται χωριστά, στον τόπο παραγωγής όπου ελέγχονται οι διαρροές και αποφεύγονται έτσι τα μείγματα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται συσκευασίες, συμβατές και ανθεκτικές στα υπολείμματα, στις οποίες να αναγράφονται: επισήμανση με την ημερομηνία, είδος των απορριμμάτων και κωδικός για την παρακολούθησή τους. Πολύ σημαντικό, μόλις γεμίσουν τα δοχεία, να κλείσουν ερμητικά για να αποφευχθεί η διαρροή και να μεταφερθούν στο χώρο αποθήκευσης. Τα απόβλητα, ανάλογα με το είδος τους και σύμφωνα με τα πρότυπα αποθήκευσης, δεν μπορούν να αποθηκευτούν για περισσότερο από ορισμένο.

- Μεταφορά βιομηχανικών αποβλήτων.

Η μεταφορά βιομηχανικών απορριμμάτων πρέπει να συμβαδίζει με τους νόμους κάθε χώρας και το όχημα μεταφοράς πρέπει να φέρει τεχνικό δελτίο των απορριμμάτων, καθώς και ο οδηγός να έχει άδεια που του επιτρέπει να τα μεταφέρει.

- Επεξεργασία και τελική διάθεση.

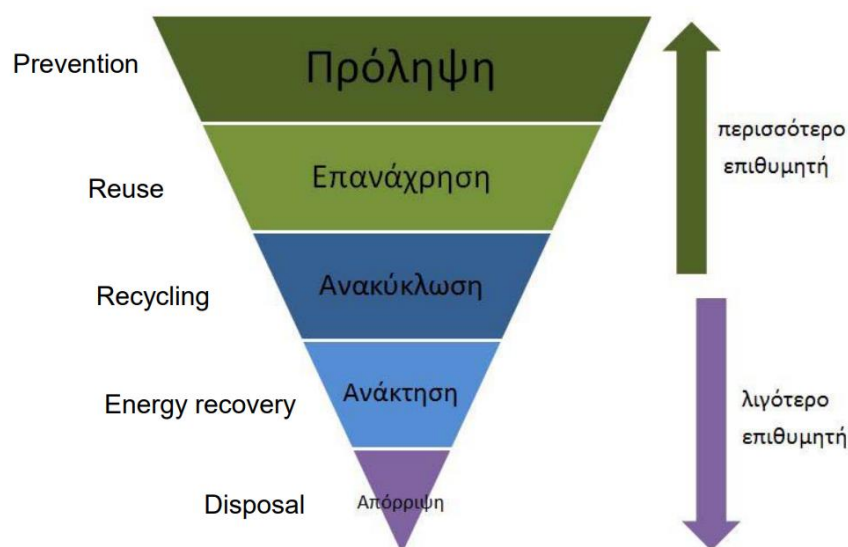
Η επεξεργασία πραγματοποιείται έτσι ώστε για τα βιομηχανικά απόβλητα να εξασφαλιστεί η όσο το δυνατόν μικρότερη επιβάρυνση του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας. Οι επεξεργασίες, που θα πραγματοποιηθούν, θα εξαρτηθούν από τον τύπο των βιομηχανικών αποβλήτων, για παράδειγμα τα επικίνδυνα βιομηχανικά απόβλητα δεν θα αντιμετωπιστούν με τον ίδιο τρόπο όπως τα μη επικίνδυνα βιομηχανικά απόβλητα.

3.4 ΣΤΟΧΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Το 7ο Πρόγραμμα δράσης για το Περιβάλλον ορίζει τους ακόλουθους στόχους προτεραιότητας για την πολιτική στον τομέα των αποβλήτων στην ΕΕ:

- μείωση της ποσότητας των παραγόμενων αποβλήτων
- μεγιστοποίηση της ανακύκλωσης και της επαναχρησιμοποίησης
- περιορισμό της αποτέφρωσης στα μη ανακυκλώσιμα υλικά
- σταδιακή μείωση και κατάργηση της υγειονομικής ταφής για τα μη ανακυκλώσιμα και μη ανακτήσιμα απόβλητα
- διασφάλιση της πλήρους εφαρμογής των στόχων πολιτικής για τα απόβλητα σε όλα τα κράτη μέλη της ΕΕ.

Η αναθεωρημένη οδηγία για τα απόβλητα του 2008 έχει διαμορφώσει μια πυραμίδα ιεράρχησης 5 βαθμίδων, όπως παρουσιάζεται παρακάτω, στην οποία βέλτιστη επιλογή αποτελεί η πρόληψη και ακολουθούν η επαναχρησιμοποίηση, η ανακύκλωση, άλλες μορφές ανάκτησης και τέλος η υγειονομική ταφή. [8]



Σχήμα 3-3: Πυραμίδα ιεράρχησης 5 βαθμίδων για τα απόβλητα.

Σύμφωνα με τη νέα στρατηγική της ευρωπαϊκής κυκλικής οικονομίας, όλες οι χώρες μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης πρέπει να περάσουν σε μια οικονομία που εξοικονομεί πόρους και επαναχρησιμοποιεί τα απόβλητα.

4 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα οργανικά απόβλητα αποτελούνται από βιοαποδομήσιμα υπολείμματα τροφών, λιπάσματα, λάσπη, κόπρανα κ.α που προέρχονται τόσο από ιδιωτικά νοικοκυριά όσο και από την βιομηχανία. Μία τεράστια ποσότητα οργανικών αποβλήτων παράγεται από φυτά, ζώα και βιομηχανικές δραστηριότητες όπου μεγάλο μέρος του παραμένει αναξιοποίητο και οδηγείται στην απόρριψη ή την καύση, δημιουργώντας ρύπανση και απειλή για το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία.[15] Σύμφωνα με την Υπηρεσία Προστασία του Περιβάλλοντος το 2018 η συνολική αστική παραγωγή αστικών, στερών αποβλήτων έφτασε του 292,4 εκατομμύρια τόνους όπου τα κλαδιά και τα απορρίμματα τροφίμων (οργανικά απόβλητα) αποτελούσαν το 21,6% και το 12,1% της συνολικής παραγωγής, αντίστοιχα. Δυστυχώς, πάνω από το 90% των οργανικών αποβλήτων απορρίπτονται κατευθείαν στη γη χωρίς περαιτέρω επεξεργασία. [16]

Οι βασικοί τύποι οργανικών αποβλήτων είναι:

- Φυτικά απόβλητα: υπολείμματα καλλιεργειών, απόβλητα πράσινης αγοράς, δασική βιομάζα, βλάστηση στην άκρη των δρόμων σε αστικά περιβάλλοντα, κ.α.
- Ζωικά απόβλητα: ούρα, ιχθυάλευρα, κόπρανα, κ.α.
- Βιομηχανικά και αστικά απόβλητα: σκουπίδια πόλεων, ίλος βιοαερίου, λύματα, απόβλητα γαλακτοκομείων, χαρτοποιίας, κ.α.

What is Organic Waste?

Organic waste is any biodegradable material from either a plant or an animal that can be broken into carbon dioxide, methane, or simple organic molecules.

Food scraps

- ✓ Eggshells
- ✓ Bones
- ✓ Coffee grounds
- ✓ Poultry & meat
- ✓ Vegetables

Food-soiled paper

- ✓ Paper plates
- ✓ Sandwich paper
- ✓ Pizza boxes
- ✓ Tea bags
- ✓ Egg cartons
- ✓ Paper towels

Yard trimmings

- ✓ Grass clippings
- ✓ Leaves
- ✓ House/garden plants
- ✓ Branches



Σχήμα 4-1. Οργανικά απόβλητα από ιδιωτικά νοικοκυριά

4.1 ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Η ανακύκλωση οργανικών αποβλήτων έχει οφέλη, όπως η χρήση θρεπτικών, η διατήρηση της ενέργειας, η μείωση του κόστους λιπασμάτων, η μείωση της ρύπανσης του εδάφους καθώς και η βιωσιμότητα της βιομηχανίας. Η επαναχρησιμοποίηση οργανικών αποβλήτων μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή νέων προϊόντων, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη της κυκλικής οικονομίας. [17], [18]

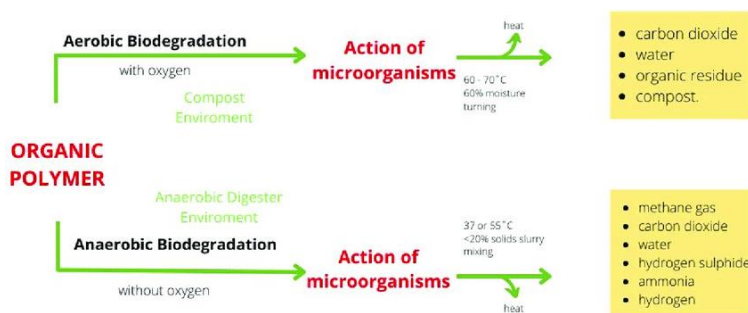
Αερόβια Χώνευση (κομποστοποίηση) και Αναερόβια Χώνευση

Οι δύο πιο συνηθισμένοι τρόποι επεξεργασίας των οργανικών αποβλήτων είναι η κομποστοποίηση και η αναερόβια χώνευση. Η κομποστοποίηση, είναι η απλούστερη και φθηνότερη διαδικασία, ενώ η αναερόβια χώνευση ταιριάζει καλύτερα σε εγκαταστάσεις μεγάλης κλίμακας, λόγω του υψηλότερου αρχικού κόστους, αλλά και τα δύο μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε οποιαδήποτε κλίμακα. Η κομποστοποίηση παράγει κομπόστ για τοπική γεωργία, πάρκα και δασοκομία, ενώ η αναερόβια χώνευση παράγει ανανεώσιμα καύσιμα.

Η βασική διαφορά των δύο αυτών μεθόδων είναι η παρουσία του οξυγόνου. Όταν τα οργανικά απόβλητα θάβονται σε χώρους υγειονομικής ταφής, αποκόπτονται από τον αέρα – το οξυγόνο δεν μπορεί να φτάσει σε αυτά – και παράγεται υψηλό επίπεδο μεθανίου, καθώς διασπάται, μαζί με CO₂ (το αέριο υγειονομικής ταφής είναι περίπου 50% μεθάνιο, 50% CO₂). Η επεξεργασία με χρήση αναερόβιας χώνευσης, παράγει και δεσμεύει βιοαέριο πλούσιο σε μεθάνιο. Η κομποστοποίηση σημαίνει ότι τα οργανικά απόβλητα εκτίθενται στο οξυγόνο, με περιστροφή ή μέσω της χρήσης ζωντανών οργανισμών, παράγοντας περισσότερο (λιγότερο ισχυρό) CO₂ και λιγότερο ή ακόμα και μηδενικό μεθάνιο.[19]

Ειδικότερα, η κομποστοποίηση είναι η αερόβια αποσύνθεση οργανικών αποβλήτων και μειώνει σημαντικά ή και εμποδίζει την απελευθέρωση μεθανίου κατά τη διάσπαση της οργανικής ύλης. Το κομπόστ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιστροφή θρεπτικών συστατικών σε εξαντλημένα εδάφη και την υποστήριξη της κατακράτησης υγρασίας, η οποία ενισχύει την παραγωγικότητα των καλλιεργειών – μπορεί να αυξήσει την παραγωγή των καλλιεργειών κατά 15-25%, ενώ μειώνει τη χρήση χημικών λιπασμάτων. Το κομπόστ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για πρωτοβουλίες αστικής δασοκομίας, καθώς υποστηρίζει την πρώιμη ανάπτυξη των δενδρυλλίων.[20]

Η αναερόβια χώνευση είναι η αποσύνθεση οργανικών αποβλήτων σε ελεγχόμενες συνθήκες χρησιμοποιώντας μια σφραγισμένη δεξαμενή χωρίς οξυγόνο. Δημιουργεί βιοαέριο – μια ανανεώσιμη πηγή ενέργειας που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ή να πωληθεί για τη δημιουργία εσόδων – καθώς και την αποφυγή της απελευθέρωσης μεθανίου στην ατμόσφαιρα. Το βιοαέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί τοπικά για την παραγωγή ζεστού νερού και για μαγείρεμα, για παράδειγμα. Παράγει επίσης χωνεμένο υλικό, ένα βιολίπασμα που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπλήρωμα βιολογικής βάσης για την παραγωγή τροφίμων.[21]



Σχήμα 4-2. Αερόβια και αναερόβια χώνευση οργανικών αποβλήτων.

Μικροβιακή Ζύμωση

Η ζύμωση είναι μια πολύ γνωστή τεχνική που χρονολογείται από τους αρχαίους πολιτισμούς για την παραγωγή προϊόντων διατροφής όπως το ψωμί, το κρασί και το γάλα που έχει υποστεί ζύμωση. Ο μικροβιακός μετασχηματισμός έκανε τα προϊόντα να εκτιμηθούν ιδιαίτερα για την ευκολότερη πεπτικότητα, τη γεύση και τη μεγαλύτερη διάρκεια ζωής τους. Σήμερα, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τη βελτίωση των υγιεινών, διατροφικών, τεχνολογικών και οργανοληπτικών ιδιοτήτων των τροφίμων που έχουν υποστεί ζύμωση και, χάρη στην ανάπτυξη νέων καλλιεργειών εκκίνησης, είναι δυνατόν να καθοδηγηθούν

μικροοργανισμοί σε διαφορετικά υποστρώματα για την παραγωγή νέων ενώσεων και νέων προϊόντων.

Η ζύμωση είναι μια διαδικασία που εκτελείται από μικροοργανισμούς, για τη διάσπαση οργανικών ενώσεων για τη λήψη ενέργειας μέσω του αναερόβιου μεταβολισμού. Αυτή η βιολογική διαδικασία χαρακτηρίζεται από χαμηλό κόστος, χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και χαμηλή παραγωγή λυμάτων και μπορεί να αξιοποιηθεί για την επαναχρησιμοποίηση των οργανικών αποβλήτων σε προϊόντα προστιθέμενης αξίας. Οι μύκητες, οι ζυμομύκητες και τα βακτήρια αναπτύσσονται στην επιφάνεια διαφόρων οργανικών ουσιών, οι οποίες λειτουργούν ως φυσικό στήριγμα για την ανάπτυξή τους χωρίς προσθήκη νερού. Η επιλογή των καταλληλότερων μέσων και μικροοργανισμών για τη βελτιστοποίηση και τον σχεδιασμό των σταδίων επεξεργασίας, καθώς και η δυνατότητα χρήσης υποστρωμάτων χαμηλού έως μηδενικού κόστους, όπως τα απορρίμματα τροφίμων, αντιπροσωπεύουν τα κλειδιά για την επιτυχία αυτής της τεχνικής. [22]

Η διαδικασία της μικροβιακής ζύμωσης, με την ανάπτυξη νέων τεχνολογιών μπορεί να βοηθήσει στην μετατροπή οργανικών αποβλήτων σε νέα χρήσιμα προϊόντα τα οποία θα χαρακτηρίζονται πράσινα, όπως βιοδιαλύτες, βιοκαύσιμα κ.α. Η μέθοδος αυτή έχει κινήσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών οι οποίοι αναζητούν νέους τρόπους για την αξιοποίηση των οργανικών αποβλήτων.

4.2 ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΓΙΑ ΣΥΛΛΟΓΗ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥΣ.

Στην Ελλάδα, η διαχείριση αποβλήτων περιορίζεται ως επί το πλείστον στη συλλογή και την υγειονομική ταφή, παρά τις προσπάθειες της χώρας κατά τα τελευταία χρόνια για την υλοποίηση επιλογών επεξεργασίας υψηλότερης έντασης κεφαλαίου. Η επικρατούσα μέθοδος συλλογής ανακυκλώσιμων υλικών σε επίπεδο δήμου βασίζεται σε ένα μεικτό σύστημα συλλογής χαρτιού, πλαστικού και μετάλλων, ενώ μόνο ένας περιορισμένος αριθμός δήμων εφαρμόζει χωριστή συλλογή αποβλήτων (π.χ. Χαλανδρίου, Κοζάνης, Βάρης - Βούλας - Βουλιαγμένης, Βριλησίων). Η χωριστή συλλογή των επιμέρους κλασμάτων αποβλήτων θεωρείται αναγκαία προϋπόθεση για την προώθηση ανακύκλωσης υψηλής ποιότητας και την επίτευξη υψηλών ποσοστών ανακύκλωσης. Ως εκ τούτου, η Οδηγία-Πλαίσιο της ΕΕ για τα Απόβλητα καθορίζει τις γενικές απαιτήσεις για τη χωριστή συλλογή και υποχρεώνει τα κράτη μέλη να λάβουν μέτρα για την προώθηση ανακύκλωσης υψηλής ποιότητας, καθώς και να συγκροτήσουν συστήματα χωριστής συλλογής για τα ξηρά ανακυκλώσιμα υλικά (χαρτί, μέταλλα, πλαστικά και γυαλί) και τα βιοαπόβλητα έως το 2023. Ωστόσο, παρά την ενσωμάτωση όλων των Οδηγιών της ΕΕ στο ελληνικό δίκαιο, συμπεριλαμβανομένης της θέσπισης στόχων για τη χωριστή συλλογή από το 2012, η Ελλάδα υπολείπεται ως προς την εφαρμογή τους. [23]

Η Οδηγία για την υγειονομική ταφή (1999/31/ΕΚ) καθόριζε ως στόχο τη μείωση της υγειονομικής ταφής των βιοαποδομήσιμων αποβλήτων στο 35% (ως προς το επίπεδο των παραγόμενων ποσοτήτων του 1995) έως το 2016. Η Οδηγία αυτή αναθεωρήθηκε πρόσφατα βάσει της Οδηγίας (ΕΕ) 2018/850, η οποία επιβάλλει αυστηρότερους περιορισμούς όσον αφορά την υγειονομική ταφή, υποχρεώνοντας τα κράτη μέλη, έως το 2035, να διαθέτουν σε ΧΥΤ το 10% ή λιγότερο της συνολικής ποσότητας των αστικών αποβλήτων που παράγονται και απαγορεύοντας, παράλληλα, την υγειονομική ταφή των χωριστά συλλεγόμενων αποβλήτων που είναι κατάλληλα για ανακύκλωση και ανάκτηση, συμπεριλαμβανομένων των βιοαποβλήτων.

Στην Ελλάδα, η χωριστή συλλογή βιοαποβλήτων έχει υλοποιηθεί σε μικρή μόνο κλίμακα, μέσω της εφαρμογής περιορισμένων πιλοτικών προγραμμάτων οικιακής κομποστοποίησης,

επιτόπιας κομποστοποίησης, διαλογής στην πηγή (ΔσΠ) και κομποστοποίησης υλικών ανακτημένων από εγκαταστάσεις ΜΒΕ. [24] Στο Ελληνικό δίκαιο έχουν ενσωματωθεί όλες οι σχετικές οδηγίες της ΕΕ. 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. [25]

Οι προκλήσεις για τους δήμους στον τομέα της χωριστής συλλογής – ιδίως αλλά όχι αποκλειστικά – των οικιακών βιοαποβλήτων σχετίζονται κυρίως με τις ακόλουθες παραμέτρους:

- Τη βιοαποδομησιμότητα του συγκεκριμένου τύπου αποβλήτων.
- Την ευκολία με την οποία μπορεί να προκληθεί παρουσία προσμίξεων στα βιοαπόβλητα των νοικοκυριών και τη δυσκολία αφαίρεσης των προσμίξεων.
- Τις ασταθείς πηγές οχλήσεων, π.χ. οσμές, διαποτισμός κ.λπ.
- Τα μεταβλητά επίπεδα υγρασίας, τα οποία επηρεάζουν τις απαιτήσεις σε υλικοτεχνική υποστήριξη και τεχνικά μέσα για τη συλλογή και την περαιτέρω επεξεργασία των βιοαποβλήτων.



Σχήμα 4-3. Καφέ κάδοι ειδική συλλογής οργανικών αποβλήτων.

Η ανακύκλωση οργανικών απορριμμάτων έχει πολλαπλά πλεονεκτήματα που βοηθούν στην πρόληψη των προβλημάτων που προκύπτουν με τη συσσώρευση απορριμμάτων στη φύση. Μερικά από τα κοινά πλεονεκτήματα ή τη σημασία της ανακύκλωσης οργανικών απορριμμάτων είναι:

- Η ανακύκλωση βιομάζας ή βιοαποβλήτων επιτρέπει την παραγωγή ενέργειας με τη μορφή βιοαερίου με διαδικασίες ανακύκλωσης όπως η αναερόβια χώνευση.
- Η μετατροπή της οργανικής ύλης σε λίπασμα βοηθά στην εξοικονόμηση πόρων καθώς το κομπόστ μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιολίπασμα, που αποφεύγει τη χρήση άλλων χημικών λιπασμάτων.
- Ο διαχωρισμός οργανικών και ανόργανων αποβλήτων βελτιώνει επίσης την αποτελεσματικότητα της μη οργανικής ανακύκλωσης.
- Μία από τις σημαντικότερες σημασίες της ανακύκλωσης οργανικών αποβλήτων είναι η μείωση της ρύπανσης στον αέρα, το νερό και τη γη, καθώς μειώνει προβλήματα όπως η δημιουργία οσμών ή οι εκπομπές αερίων.
- Η παραγωγή βιολιπασμάτων μέσω της διαδικασίας ανακύκλωσης βελτιώνει την ποιότητα του εδάφους, η οποία στη συνέχεια αυξάνει τη γονιμότητα του εδάφους και την ανάπτυξη των φυτών.
- Οι ΧΥΤΑ τείνουν να αυξάνουν τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου και η ανακύκλωση τέτοιων αποβλήτων σε λιγότερο επιβλαβή απόβλητα μειώνει αυτές τις εκπομπές.
- Η ανακύκλωση οργανικών αποβλήτων μειώνει επίσης τη συγκέντρωση των απορριμμάτων που απομένουν για λιγότερο αποτελεσματικές διαδικασίες όπως η υγειονομική ταφή και η αποτέφρωση.
- Η ανακύκλωση οργανικής ύλης αυξάνει την οργανική περιεκτικότητα του εδάφους, η οποία βελτιώνει τη γονιμότητα του εδάφους και παρέχει απαραίτητα θρεπτικά συστατικά στο φυτό, αυξάνοντας την απόδοση των καλλιεργειών.
- Η σταθεροποίηση των οργανικών αποβλήτων, προσθέτει αξία όσον αφορά τη βελτίωση της περιεκτικότητας σε θρεπτικά συστατικά και της διαθεσιμότητας για

χρήση ως λίπασμα στη γεωργία. Επίσης, εισάγει νέες δημοφιλείς έννοιες όπως καθαρότερη παραγωγή, πολιτική μηδενικών αποβλήτων, αειφορία και κυκλική οικονομία βιολογικής βάσης.

- Κάποιο κομπόστ που παρασκευάζεται με κατάλληλο υπόστρωμα λειτουργεί ως παράγοντες βιοελέγχου, για την πρόληψη και τον έλεγχο των φυτικών ασθενειών.[26]

5 ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ

5.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γαλακτικό οξύ είναι μία οργανική χημική ένωση με μοριακό τύπο $C_3H_6O_3$. Ανακαλύφθηκε το 1780 από τον C. W. Scheele στο ξινόγαλα και το 1881 ο Fermi το παρήγαγε με την διεργασία της ζύμωσης. Το χημικά καθαρό γαλακτικό οξύ, σε συνθήκες περιβάλλοντος, είναι λευκό στερεό αναμείξιμο με το νερό και η παραγωγή του απαιτεί τόσο φυσικές όσο και τεχνητές μεθόδους. Αποτελείται από δύο εναντιομερή, το L-(+)- ή S- γαλακτικό οξύ και το D-(-)- ή R- γαλακτικό οξύ, που είναι όμοιο με κατοπτρική εικόνα του πρώτου. Κατά την αναερόβια αναπνοή των ζωικών μυών, παράγεται το L- γαλακτικό οξύ και για αυτό ενίοτε το εναντιομερές αυτό ονομάζεται και «σαρκογαλακτικό οξύ». [27] Το γαλακτικό οξύ, χαρακτηρίζεται ως ακίνδυνη ουσία από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών και έχει σχετικά υψηλή προστιθέμενη αξία. Επιπρόσθετα, πολλά φθηνά υλικά όπως η μελάσα και άλλα υπολείμματα από τη γεωργία αλλά και από την βιομηχανία γενικότερα, έχουν χρησιμοποιηθεί ως υποστρώματα για τη ζύμωση του γαλακτικού οξέος και έχει μελετηθεί η βελτίωση της αποτελεσματικότητας των μικροοργανισμών για την παραγωγή γαλακτικού οξέος μέσω γονιδιακής τροποποίησης. Όλα τα παραπάνω, καθιστούν αυτόν τον διαλύτη ιδανικό για χρήση στη βιομηχανία και ιδιαίτερα ικανό να αποτελέσει έναν από τους βασικότερους πράσινους διαλύτες στο μέλλον. [28]

5.2 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Το γαλακτικό οξύ βρίσκεται πολλές εφαρμογές κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων (περίπου το 70%) ενώ η υπόλοιπη παραγωγή του αφορά τους τομείς της ιατρικής, των καλλυντικών, την κτηνοτροφία, την κλωστοϋφαντουργεία, φαρμακοβιομηχανία κ.α.

Στην βιομηχανία τροφίμων, η χρήση του γαλακτικού οξέος επικεντρώνεται στην παραγωγή γιαουρτιού, καθώς είναι το κύριο προϊόν της ζύμωσης των μικροοργανισμών *Streptococcus thermophilus* και *Lactobacillus bulgaricus*. Στην παραγωγή τυριού, η παρουσία του γαλακτικού οξέος προκαλεί τη συσώρευση μικκυλίων καζεΐνης λόγω της μείωσης του pH. Επίσης, με την άμεση όξινση του προϊόντος με χρήση γαλακτικού οξέος, αποφεύγεται ο κίνδυνος πολλαπλασιασμού ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Στον τομέα παραγωγής δημητριακών, επηρεάζει στην αλλαγή στο άρωμα και στην γεύση των παρασκευασμάτων και προκαλεί την μείωση του pH άρα και τον παρεμποδισμό παραγωγής παθογόνων βακτηρίων.[28]

Στην ιατρική, το γαλακτικό οξύ, είναι ένα από τα βασικά συστατικά των γαλακτικών διαλυμάτων Χάρτμαν και Ρίνγκερ. Αυτά τα δύο, αποτελούν ενδοφλέβια διαλύματα και περιέχουν γαλακτικό οξύ, χλωριούχο νάτριο, χλωριούχο κάλιο σε αποσταγμένο νερό σε ισοτονικές συγκεντρώσεις με το ανθρώπινο αίμα. Η χρήση τους αφορά την αντικατάσταση απωλειών σε υγρά του αίματος μετά από τραύμα, εγχείρηση ή έγκαυμα.

Στη βιομηχανία καλλυντικών και φαρμάκων, το γαλακτικό οξύ έχει σημαντικό ρόλο λόγω των ενυδατικών, αντιμικροβιακών και αναζωογονητικών του επιδράσεων στο δέρμα αλλά χρησιμοποιείται και ως συστατικό σε σκευάσματα κατά της οστεοπόρωσης. Τα παράγωγά του, όπως οι γαλακτικοί εστέρες χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω των υγροσκοπιών και γαλακτωματοποιητικών ιδιοτήτων τους.

Όσον αφορά τη κτηνοτροφία, η γαλακτική ζύμωση όταν πραγματοποιείται υπό συγκεκριμένες συνθήκες, αυξάνει την διάρκεια ζωής, τη γευστικότητα και τη θρεπτική αξία της ενσίρωσης. Το γαλακτικό αμμώνιο είναι προτιμότερο από την ουρία και το κιτρικό

αμμώνιο κατά το τάισμα των βοοειδών καθώς παράγεται γάλα με υψηλότερη θρεπτική αξία και δεν απαιτεί ακριβό καθαρισμό. [29]

Τέλος, τα τελευταία χρόνια η ζήτηση του γαλακτικού οξέος έχει αυξηθεί καθώς αποτελεί δομικό στοιχείο για τη σύνθεση πολυγαλακτικού οξέος (PLA). Τα πολυμερή του είναι βιοδιασπώμενα, χρησιμοποιούνται ευρέως για συσκευασία και επισήμανση αλλά και βιοσυμβατά με αποτέλεσμα να είναι χρήσιμα για την κατασκευή προσθετικών συσκευών, ραμμάτων και εσωτερικής δοσολογίας φαρμάκων.[30] Το PLA προβλέπεται να αντικαταστήσει τα πλαστικά με βάση τα ορυκτά καύσιμα σε πολλές εφαρμογές εφόσον και αν μειωθεί το κόστος παραγωγής του στο μισό της σημερινής τιμής. Η παραγωγή του μονομερούς με την διαδικασία της ζύμωσης έχει υψηλό κόστος εξαιτίας του κόστους του υποστρώματος, των πηγών αζώτου και τις διαδικασίες ανάκτησης και καθαρισμού του. Επομένως για να είναι δυνατή η μεγάλη παραγωγή πλαστικού από PLA είναι σημαντικό να ερευνηθούν νέες τεχνολογίες για την αύξηση της απόδοσης παραγωγής του γαλακτικού οξέος.[31]

5.3 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Το καθαρό (άνυδρο) γαλακτικό οξύ είναι στερεό, λευκό, άοσμο κρυσταλλικό σώμα που διαλύεται πολύ εύκολα στο νερό με το οποίο σχηματίζει ένα διαυγές έως υποκίτρινο υγρό. Είναι πολύ υγροσκοπικό (απορροφά υγρασία από την ατμόσφαιρα), γι' αυτό και στο εμπόριο διατίθεται ως διάλυμα σε νερό με περιεκτικότητα που κυμαίνεται από 22-90%. Ανήκει στην οικογένεια των α-υδρόξυ καρβοξυλικών οξέων καθώς τόσο το υδροξύλιο όσο και το καρβοξύλιο του είναι ενωμένα με το ίδιο άτομο άνθρακα. Στο εμπόριο συνήθως διατίθεται η ρακεμική του μορφή (DL-lactic acid) η οποία είναι μείγμα των δύο ισομερών σε αναλογία 1 προς 1[27]. Το γαλακτικό οξύ (2-υδροξυκαρβοξυλικό οξύ) αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο στη φύση οργανικό οξύ. Είναι το απλούστερο 2-υδροξυκαρβοξυλικό οξύ και συναντάται σε 2 εναντιομερείς μορφές, όπως προαναφέρθηκε. Τα διαχωρισμένα εναντιομερή έχουν αρκετά υψηλότερη θερμοκρασία τήξης 53°C από ότι το ισομοριακό μείγμα, το οποίο έχει σημείο τήξης 16.8°C [32]. Η χημική συμπεριφορά του καθορίζεται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του, μεταξύ των οποίων είναι ο όξινος χαρακτήρας σε υδατικό μέσο και η διλειειτουργική αντιδραστικότητα που συνδέεται με την παρουσία μιας καρβοξυλομάδας και μιας υδροξυλομάδας, που του προσδίδουν μεγάλη ευελιξία στις αντιδράσεις. Η συγκέντρωση του L-γαλακτικού οξέος στο αίμα είναι συνήθως 1-2 mM σε ηρεμία, αλλά μπορεί να ξεπεράσει τα 20 mM, κατά τη διάρκεια έντονης άσκησης, καθώς και τα 25 mM μετά την άσκηση.[33]

5.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με χημικές είτε με βιολογικές διεργασίες. Το γαλακτικό οξύ που παράγεται με χημική σύνθεση είναι ένα ρακεμικό μείγμα των L- και D- ισομερών του γαλακτικού οξέος και η διαδικασία αυτή βασίζεται κυρίως στη χρήση λακτονιτριλίου υδρολυομένο με ισχυρά οξέα. Υπάρχουν και άλλες χημικές διαδρομές μέσω των οποίων είναι δυνατή η παραγωγή γαλακτικού οξέος, αλλά δεν είναι τεχνικά ή οικονομικά εφικτές διεργασίες. Από την άλλη, οι βιοτεχνολογικές διεργασίες (ζύμωση) πλεονεκτούν καθώς χρησιμοποιούν εναλλακτικές πρώτες ύλες ως υποστρώματα που μπορούν να είναι αμυλούχες, κутταρινούχες πηγές ή απλά οργανικά αστικά απόβλητα. Επιπλέον, μέσω αυτών των διεργασιών παράγεται οπτικά καθαρό L- ή D-γαλακτικού οξύ. [31]

5.4.1 Παραγωγή γαλακτικού οξέος με χημικές διεργασίες.

Για τη χημική σύνθεση γαλακτικού οξέος, η ακεταλδεΐδη αφήνεται να αντιδράσει σε υγρή φάση και υπό υψηλή πίεση με υδροκυάνιο παρουσία βάσης για την παραγωγή λακτονιτριλίου. Μετά την ανάκτηση και τον καθαρισμό του μέσω απόσταξης, προστίθεται υδροχλωρικό οξύ ή θειικό οξύ για την υδρόλυση του λακτονιτριλίου σε γαλακτικό οξύ. Το γαλακτικό οξύ στη συνέχεια εστεροποιείται με μεθανόλη για την παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα, ο οποίος με τη σειρά του ανακτάται και καθαρίζεται με απόσταξη. Το καθαρισμένο γαλακτικό μεθύλιο υδρολύεται τελικά σε όξινο υδατικό διάλυμα σε γαλακτικό οξύ και μεθανόλη.[32] Άλλες χημικές οδοί για τη σύνθεση γαλακτικού οξέος περιλαμβάνουν την καταλυόμενη από βάσεις αποικοδόμηση σακχάρων, την οξειδωση προπυλενογλυκόλης, μονοξειδίου του άνθρακα και νερού σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση, την υδρόλυση του χλωροπροπιονικού οξέος και την οξειδωση του προπυλενίου με νιτρικό οξύ, μεταξύ άλλων.[34]

5.4.2 Παραγωγή γαλακτικού οξέος με βιολογικές διεργασίες.

Η διεργασία της ζύμωσης προς παραγωγή γαλακτικού οξέος αποτελεί μία από τις αποτελεσματικότερες και ταχύτερες διαδικασίες που μπορεί να οδηγήσει σε ένα από τα δύο στερεοϊσομερή του γαλακτικού οξέος ή στο ρακεμικό μείγμα τους. Το κόστος παραγωγής του γαλακτικού οξέος βασίζεται κυρίως στις πρώτες ύλες και στη σχετική μεταγενέστερη επεξεργασία και η ανάκτηση του προϊόντος είναι μια σημαντική διαδικασία μέσω της οποίας διαχωρίζεται το τελικό προϊόν από τα απόβλητα που περιέχουν ακαθαρσίες, θρεπτικά συστατικά, οργανικά οξέα και υπολείμματα σακχάρων. Μετά την παροχή των θρεπτικών συστατικών, τα διαλύματα σακχάρων εμβολιάζονται με τον επιλεγμένο μικροοργανισμό και λαμβάνει χώρα η ζύμωση. Είναι απαραίτητο να επιλεγθούν οι ευνοϊκότερες συνθήκες ζύμωσης, όσον αφορά τη θερμοκρασία, το pH, τον αερισμό, την ανάδευση κ.ο.κ. Για να επιτευχθεί η ποιότητα του γαλακτικού οξέος βιομηχανικής ποιότητας, είναι απαραίτητο να επιτευχθούν μεγάλες ποσότητες οπτικά καθαρού γαλακτικού οξέος με κατάλληλες τεχνικές ανάκτησης.

Για την παραγωγή του είναι σημαντικό να μελετηθούν οι 4 βασικοί παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση της παραγωγής του γαλακτικού οξέος:

1. Η πηγή που προέρχεται το υπόστρωμα (αμυλούχες, κυτταρινούχες πηγές)
2. Το υπόστρωμα (μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες και πολυμερή)
3. Οι μικροοργανισμοί (ομοζυμωτικοί, ετεροζυμωτικοί)
4. Το θρεπτικό μέσο καλλιέργειας μικροοργανισμών

5.4.2.1 Η πηγή από την οποία προέρχεται το υπόστρωμα.

Οι πρώτες ύλες από τις οποίες μπορεί να παραχθεί το γαλακτικό οξύ έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα και άμυλο. Τα παραπροϊόντα της γεωργίας μπορούν να αποτελέσουν μία πολύ καλή βάση για παραγωγή γαλακτικού οξέος. Ωστόσο, προσπάθειες έχουν πραγματοποιηθεί για την παραγωγή του από αστικά απόβλητα πλούσια σε οργανικό υπόλειμμα. Οι πρώτες ύλες (πρώτης γενιάς) που περιέχουν ζάχαρη και άμυλο χρησιμοποιούνται και ως τρόφιμα είτε ανθρώπων είτε ζώων, δημιουργώντας προβληματισμούς σχετικά με την βιωσιμότητα αφού αποτελούν ταυτόχρονο και την βασικότερη πρώτη ύλη για παραγωγή βιοαιθανόλης.

5.4.2.2 Το υπόστρωμα

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται συχνότερα για το σκοπό αυτό μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο ομάδες, δηλαδή τους μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες και τα πολυμερή υποστρώματα. Ορισμένα από τα σάκχαρα που χρησιμοποιούνται στη ζύμωση του γαλακτικού οξέος είναι η γλυκόζη, η ξυλόζη, η σακχαρόζη, η λακτόζη και η σελοβιόζη. Ωστόσο, η γλυκόζη είναι το πιο ευνοϊκό σάκχαρο για αφομοίωση από τα μικροβιακά στελέχη για την παραγωγή γαλακτικού οξέος. Τα περισσότερα από τα μικροβιακά στελέχη δεν μπορούν να χρησιμοποιήσουν άμεσα την ξυλόζη. Μερικές φορές, όταν η συγκέντρωση της γλυκόζης είναι υψηλή, δεν καταναλώνονται άλλα σάκχαρα από τα μικρόβια. Τα βακτήρια του γαλακτικού οξέος ακολουθούν ένα ιεραρχικό μοτίβο αξιοποίησης των σακχάρων, ξεκινώντας με τη γλυκόζη, οδηγώντας έτσι στην καταστολή του καταβολίτη του άνθρακα, που συμβαίνει όταν τα σάκχαρα δεν αξιοποιούνται πλήρως, με αποτέλεσμα την μειωμένη αποτελεσματικότητα της ζύμωσης και την αύξηση του κόστους παραγωγής.

5.4.2.3 Οι μικροοργανισμοί

Για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της ζύμωσης και να παραχθεί γαλακτικό οξύ είναι απαραίτητη η παρουσία μικροβιακών στελεχών που ονομάζονται γαλακτοβάκιλλοι (Lactic Acid Bacteria). Τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (LAB) αποτελούν μια ευρεία ετερογενή ομάδα μικροοργανισμών γενικής ποιότητας τροφίμων που χρησιμοποιούνται ιστορικά στη συντήρηση τροφίμων. Νέες μεθοδολογίες, όπως η ανάπτυξη μοριακών τεχνικών επέτρεψαν την ταυτοποίηση και την ανακάλυψη νέων γενών και ειδών. Η εφαρμογή του LAB έχει αλλάξει από την παραδοσιακή χρήση τους σε τρόφιμα και ποτά, σε ορθολογικά ελεγχόμενη ζύμωση τροφίμων, *in situ* παραγωγή βιομηχανικά σχετικών μεταβολιτών και χρήση ως προβιοτικά [35]. Τα περισσότερα LAB προέρχονται από διάφορα φυτά και ζώα. Ωστόσο παρατηρούνται αρκετές δυσκολίες στην χρήση και την ανάπτυξή τους προς παραγωγή γαλακτικού οξέος καθώς απαιτούν πολύπλοκα θρεπτικά συστατικά και ελαφρώς χαμηλότερες θερμοκρασίες ζύμωσης (< 45 °C) σε σχέση με άλλους μικροοργανισμούς. Αυτή η πολυπλοκότητα, οδηγεί σε αυξημένο κόστος και κίνδυνο μόλυνσης. [36]

Ανάλογα με τα παραπροϊόντα που λαμβάνονται και την ικανότητα ζύμωσης των συγκεκριμένων σακχάρων, τα γένη των βακτηρίων ακολουθούν ένα από τα παρακάτω μονοπάτια :

- Ομοζυμωτικά: Το γαλακτικό οξύ παράγεται κατά κύριο λόγο έως και 85% από τη γλυκόζη, δηλαδή ένα μόριο γλυκόζης κατά τη ζύμωση παράγει γαλακτικό οξύ έως 2 μόρια, με αποτέλεσμα να παράγονται 2 μόρια τριφωσφορικής αδενοσίνης για κάθε ένα μόριο γλυκόζης που μεταβολίζεται. Μέσω των ομοζυμωτικών βακτηρίων, θεωρητικά, πρέπει να παραχθούν 4 mol γαλακτικού οξέος από 1 mol λακτόζης αφού διασπαστεί σε 1 mol γλυκόζης και 1 mol γαλακτόζης.
- Ετεροζυμωτικά: Η παραγωγή γαλακτικού οξέος από τη γλυκόζη είναι περίπου 50% σε αυτή τη διαδικασία ζύμωσης. Ένα μόριο γλυκόζης παράγει 1 μόριο γαλακτικού οξέος, 1 μόριο αιθανόλης και 1 μόριο διοξειδίου του άνθρακα με αποτέλεσμα να παράγεται 1 μόριο τριφωσφορικής αδενοσίνης που παράγεται για κάθε ένα μόριο γλυκόζης που μεταβολίζεται. Τα ετεροζυμωτικά γαλακτικά βακτήρια παράγουν παραπροϊόντα όπως το οξικό οξύ και την αιθανόλη, εκτός από γαλακτικό οξύ, με αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγικότητα και να αυξάνεται το σχετικό κόστος για την ανάκτηση του γαλακτικού οξέος. [37]

5.4.2.4 Θρεπτικό μέσο καλλιέργειας μικροοργανισμών.

Το θρεπτικό μέσο είναι ένα μέσο γενικής χρήσης που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια μεγάλης ποικιλίας εύχρηστων και μη μικροοργανισμών. Για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, απαιτείται καλλιέργεια γαλακτοβακίλων, όπως προαναφέρθηκε. Ένα από τα πιο αποδοτικά θρεπτικά μέσα για την καλλιέργεια αυτών των βακτηρίων είναι το MRS. Αναπτύχθηκε το 1960 και πήρε το όνομά του από τους εφευρέτες του, τους Johannes Cornelis de Man, Morrison Rogosa και Margaret Elisabeth Sharpe. Το θρεπτικό αυτό μέσο έχει ένα καθαρό καφέ χρώμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει πολύ πηκτή μορφή. Τα εκχυλίσματα μαγιάς/κρέατος και η πεπτόνη που περιέχει, παρέχουν πηγές άνθρακα, αζώτου και βιταμινών για τη γενική ανάπτυξη βακτηρίων. Το εκχύλισμα μαγιάς περιέχει επίσης βιταμίνες και αμινοξέα που απαιτούνται από τους γαλακτοβάκιλους, ενώ το Polysorbate 80 είναι ένα επιφανειοδραστικό που βοηθά στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Τέλος, το θειικό μαγνήσιο και το θειικό μαγγάνιο παρέχουν κατιόντα που χρησιμοποιούνται στο μεταβολισμό των μικροοργανισμών. [38]



Σχήμα 5-1. Θρεπτικό μέσο MRS μετά από καλλιέργεια γαλακτοβακίλων.

5.4.3 Παραγωγή γαλακτικού οξέος με επαναλαμβανόμενη ζύμωση.

Η ελαχιστοποίηση του απαιτούμενου χρόνου ζύμωσης, η οποία θα αύξανε και την παραγωγικότητα, είναι καθοριστικής σημασίας για την παραγωγή γαλακτικού οξέος με μικροβιακή ζύμωση. Για αυτό το λόγο, έχει εξεταστεί πειραματικά η εφαρμογή της επαναλαμβανόμενης ζύμωσης.

Η επαναλαμβανόμενη ζύμωση περιλαμβάνει επαναλαμβανόμενους κύκλους με εμβολιασμό ενός μέρους ή όλων των κυττάρων από μια προηγούμενη εκτέλεση στην επόμενη. Συγκριτικά με την απλή ζύμωση, η επαναλαμβανόμενη έχει πολλά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένων της αύξησης της απόδοσης, της εξοικονόμησης χρόνου και των διαδικασιών εργασίας που απαιτούνται για τον καθαρισμό και την αποστείρωση του αντιδραστήρα, την υψηλή συγκέντρωση και παραγωγικότητα γαλακτικού οξέος, και σύντομο χρόνο ζύμωσης λόγω του υψηλού αρχικού όγκου εμβολιασμού. [39]

5.5 ΑΝΑΚΤΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Ένα από τα πιο δαπανηρά αλλά και δύσκολα στάδια κατά την παραγωγή γαλακτικού οξέος, είναι ο καθαρισμός και η ανάκτησή του. Για την αφαίρεση των προσμίξεων στο τελικό προϊόν εφαρμόζονται τόσο φυσικές όσο και χημικές μέθοδοι:

- Εκχύλιση
- Διαχωρισμός με μεμβράνες
- Ιοντική ανταλλαγή
- Ηλεκτροδιάλυση
- Απόσταξη με χημική αντίδραση

Είναι σημαντικό, κατά την παραγωγή του γαλακτικού οξέος να αποφεύγεται η προσθήκη συστατικών χαμηλού κόστους ή περιττών θρεπτικών ουσιών στο μέσο καθώς η απομάκρυνση των προσμίξεων αυξάνει σημαντικά το κόστος ανάκτησης του τελικού προϊόντος. [40] Η απόσταξη είναι μια εξαιρετικά δύσκολη διεργασία, λόγω της χαμηλής πτητικότητας του γαλακτικού οξέος και η ηλεκτροδιάλυση δεν μπορεί να διαχωρίσει τα φορτισμένα συστατικά, ιδίως τα μολυσματικά αμινοξέα και οργανικά οξέα. Από την άλλη πλευρά, η νανοδιήθηση σε συνδυασμό με τη διπολική ηλεκτροδιάλυση στον μεταγενέστερο καθαρισμό μπορεί να αντικαταστήσει τα πολλαπλά στάδια καθαρισμού με δύο μόνο στάδια. [41]

Εάν το γαλακτικό οξύ προέρχεται από απόβλητα με υψηλό οργανικό φορτίο, η ανάκτησή του από το μείγμα ζύμωσης είναι ακόμα πιο πολύπλοκη καθώς εκτός από μεγάλη ποσότητα νερού, υπάρχει και ποσοστό αιθανόλης που έχει παραχθεί κατά την ζύμωση, εάν το υπόστρωμα το επιτρέπει. Επιπλέον, εάν η πρώτη ύλη είναι πλούσια σε σάκχαρα και λίπη τα οποία δεν διασπνται κατά την διαδικασία της ζύμωσης, τότε το τελικό μείγμα πριν από την ανάκτηση του καθαρού γαλακτικού οξέος είναι πηχτό και έχει κολλώδη μορφή. Αυτό το γεγονός κάνει την επεξεργασία και την ανάκτησή του ακόμα πιο δύσκολη.

6 ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΣ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ

Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι μία φιλική προς το περιβάλλον και ασφαλής χημική ουσία, η οποία παράγεται κυρίως από βιολογικούς πόρους. Είναι ικανός να αντικαταστήσει τους συμβατικούς διαλύτες με βάση την βενζίνη σε πολλές εφαρμογές, όπως χρώματα και καθαριστικά, βελτιώνοντας την ποιότητα του αέρα μειώνοντας την ποσότητα του διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα. Ωστόσο, το κόστος παραγωγής του εστέρα είναι αρκετά υψηλό με αποτέλεσμα ακόμα να μην μπορεί να εφαρμοστεί ευρέως. [42] Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας (EL), διαδραματίζει σημαντικό ρόλο ως πράσινος διαλύτης, όχι μόνο για την εφαρμογή των 12 αρχών της πράσινης χημείας, αλλά και για την επίτευξη ενός μακροπρόθεσμου στόχου βιώσιμης ανάπτυξης για έναν πιο οικονομικό και φιλικό προς το περιβάλλον διαλύτη, για χρήση σε διαφορετικά βιομηχανίες και σε παρασκευάσματα τροφίμων. Το EL παράγεται από την αντίδραση εστεροποίησης γαλακτικού οξέος και αιθανόλης, ιδιαίτερα από τη ζύμωση υλικών με βάση τα αγροτοκτηνοτροφικά προϊόντα. [43], [44]

Ειδικότερα, παράγεται σύμφωνα με την αμφίδρομη αντίδραση:



Οι οργανικοί εστέρες είναι μια πολύ σημαντική κατηγορία χημικών ουσιών που έχουν εφαρμογές σε διάφορους τομείς της χημικής βιομηχανίας, όπως στα αρώματα, στα φαρμακευτικά προϊόντα, ως πλαστικοποιητές, ως διαλύτες κ.τ.λ. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι ένας σημαντικός μονοβασικός εστέρας, γνωστός και ως αιθυλεστέρας γαλακτικού οξέος (ονομασία IUPAC: Ethyl (S)-2-υδροξυπροπανοϊκό), με μοριακό τύπο $C_5H_{10}O_3$. Είναι ένα διαυγές έως ελαφρώς κίτρινο υγρό και βρίσκεται φυσικά σε μικρές ποσότητες σε μια ευρεία ποικιλία τροφίμων, όπως είναι το κρασί, το κοτόπουλο και μερικά φρούτα. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας μπορεί να είναι είτε σε μορφή *levo* (S) είτε σε μορφή *dextro* (R), και παράγεται βιομηχανικά ως ρακεμικό μείγμα μέσω αντιστρεπτής αντίδρασης μεταξύ αιθανόλης και γαλακτικού οξέος, όπου το νερό είναι υποπροϊόν. [4] Η τρέχουσα παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα με εστεροποίηση γαλακτικού οξέος με την αντίστοιχη αλκοόλη χαρακτηρίζεται από χαμηλή μετατροπή και καθαρότητα. Οι αντιδράσεις εστεροποίησης χαρακτηρίζονται από θερμοδυναμικούς περιορισμούς στη μετατροπή. Η ενσωμάτωση της αντίδρασης και του διαχωρισμού ταυτόχρονα, μπορεί να συνεπάγεται σημαντική εξοικονόμηση κεφαλαίου καθώς και λειτουργικό κόστος. [45]

Για να αξιολογηθεί πόσο πράσινο είναι ένα προϊόν, θα πρέπει να ποσοτικοποιούνται οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις του χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία αξιολόγησης του κύκλου ζωής. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι σύμφωνος με 8 από τις 12 αρχές της Πράσινης Χημείας που αναφέρθηκαν στην ενότητα 0.

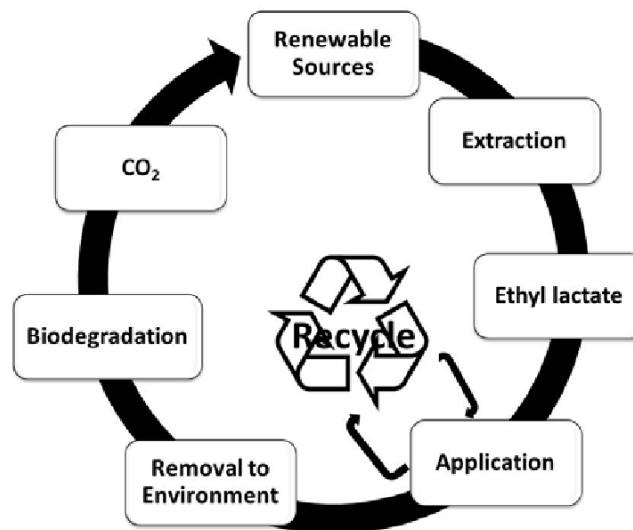
Συγκεκριμένα, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας:

- μπορεί να παραχθεί από ανανεώσιμες πρώτες ύλες και αποτελεί έτσι μια εναλλακτική, πιο φιλική προς το περιβάλλον λύση στους πετροχημικούς διαλύτες (7^η αρχή).
- είναι 100% βιοδιασπώμενος, εύκολος στην ανακύκλωση, μη διαβρωτικός, μη καρκινογόνος και μη καταστρεπτικός για το όζον. Είναι πράγματι τόσο καλοήθης που μέχρι και ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ ενέκρινε τη χρήση του στα τρόφιμα (3^η, 4^η, 10^η αρχή).
- μπορεί να παραχθεί μέσω ετερογενούς κατάλυσης χωρίς τη χρήση περίσσειας οποιουδήποτε από τα αντιδρώντα. Με την εξάλειψη των ομοιογενών καταλυτών

(συνήθως ορυκτά οξέα), μπορεί να αποφευχθεί η χρήση διαβρωτικών καταλυτών και ως εκ τούτου να εξαλειφθεί ένα περαιτέρω βήμα εξουδετέρωσης τους (1^η και 9^η αρχή).

- μπορεί να παραχθεί με τη χρήση υβριδικών τεχνολογιών, όπου η αντίδραση και ο διαχωρισμός τουλάχιστον ενός προϊόντος πραγματοποιείται σε μία μόνο ενότητα, εξαλείφοντας τη χρήση διαλυτών, μειώνοντας το κόστος κεφαλαίου (λιγότερες μονάδες διαχωρισμού) και απαιτώντας μικρότερη κατανάλωση ενέργειας (5^η και 6^η αρχή).

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 6-1, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας μπορεί εύκολα να ληφθεί από πρώτες ύλες υδατανθράκων, καθώς παράγεται από αιθανόλη και γαλακτικό οξύ, που με τη σειρά τους λαμβάνονται από τη ζύμωση βιομάζας. Επιπλέον, αποτελεί μια βιοδιασπώμενη ένωση με καλές ιδιότητες που μπορεί να έχει τις προδιαγραφές για χρήση ως πράσινο διαλύτης σε διάφορες εφαρμογές, όπως η οργανική σύνθεση, φαρμακευτικές προεργασίες, αρώματα, βιομηχανίες μελανιών και επιστρώσεων και πρόσθετα τροφίμων. [46]



Σχήμα 6-1. Ο κύκλος ζωής του γαλακτικού αιθυλεστέρα.

6.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΟΥ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο στον τομέα των τροφίμων, στην αρωματοποιία, ως ενισχυτικό γεύσης και ως διαλύτες, που μπορούν να διαλύσουν την κυτταρίνη οξικού οξέος και πολλές ρητίνες. Η κύρια εφαρμογή του είναι ως διαλύτης, και είναι ιδιαίτερα ελκυστικός στη βιομηχανία επιχρισμάτων λόγω της υψηλής διαλυτικότητας, του υψηλού σημείου ζέσεως (151 έως 155 °C), της χαμηλής πίεσης ατμών και επιφανειακής τάσης του.

Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας και άλλοι εστέρες γαλακτικού οξέος χρησιμοποιούνται γενικά σε καλλυντικά και προϊόντα προσωπικής φροντίδας. Αυτά τα συστατικά, χρησιμοποιούνται στη σύνθεση ενυδατικών, προϊόντων καθαρισμού και άλλων προϊόντων περιποίησης δέρματος, καθώς και σε μακιγιάζ, σαμπουάν, βαφές και χρώματα μαλλιών και άλλα προϊόντα περιποίησης μαλλιών. Συχνά βρίσκονται σε προϊόντα που προορίζονται να βελτιώσουν τη συνολική εμφάνιση και αίσθηση του δέρματος.

Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι ένα εξαιρετικό συστατικό για τη σύνθεση μελανιών εκτύπωσης, επικαλύψεων, καθαριστικών ρητίνης, διαβρωτικών χρωμάτων, αφαίρεσης

γκράφιτι, καθαριστικών μελάνης κ.λπ. Μόνος του και είναι ιδανικός διαλύτης σκουπίσματος. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε εφαρμογές βιομηχανικών επικαλύψεων, κυρίως σε πηνία, εξώθηση, ξύλινα έπιπλα και εξαρτήματα, δοχεία και πώματα, φινιρίσματα και μηχανήματα αυτοκινήτων. Είναι 100% βιοδιασπώμενο, εύκολο και φθινό στην ανακύκλωση. Λόγω της χαμηλής τοξικότητάς του, το γαλακτικό αιθυλεστέρα είναι μια δημοφιλή επιλογή σε πολλά διαφορετικά σενάρια παραγωγής. Είναι επίσης χρησιμοποιείται ως διαλύτης με διάφορους τύπους πολυμερών. Παρουσία νερού, οξέων και βάσεων η χημική ουσία υδρολύεται σε αιθανόλη και γαλακτικό οξύ. [47]

Μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθεί στις επιστρώσεις μαγνητικών ταινιών αντικαθιστώντας τους επικίνδυνους ατμοσφαιρικούς ρύπους. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας μπορεί να αντικαταστήσει διαλύτες όπως την Ν-μεθυλοπυρρολιδόνη, το τολουόλιο, την ακετόνη και το ξυλόλιο, γεγονός που καθιστά τον χώρο εργασίας ασφαλέστερο. Οι εφαρμογές του αιθυλεστέρα επεκτείνονται και χρησιμοποιείται ως μέσο καθαρισμού για τη βιομηχανία πολυουρεθάνης και για μεταλλικές επιφάνειες, συντελώντας αποτελεσματικά στην απομάκρυνση λιπών, ελαίων, συγκολλητικών ουσιών και στερεών καυσίμων. Έχει αποδειχθεί, ακόμη, η χρήση του στην απομάκρυνση του χαλκού από εδάφη που έχουν ρυπανθεί. Επίσης, έχει χρήσεις στις φαρμακοβιομηχανίες ως διαλυτικό/μέσο διασποράς για διάφορες βιολογικά δραστικές ενώσεις, χωρίς να παρεμποδίζεται ή να καταστρέφεται η φαρμακολογική δραστηριότητα του δραστικού συστατικού. Έχει, επιπλέον πολύ σημαντικό ρόλο στη διαλυτοποίηση βιολογικά ενεργών ενώσεων που είναι δύσκολο να διαλυθούν στα συνήθη έκδοχα. Ο γαλακτικός αιθυλεστέρας μπορεί ακόμα να χρησιμοποιηθεί ως μια πιο φιλική προς το περιβάλλον εναλλακτική λύση για την παραγωγή 1,2-προπανοδιόλης, η οποία συνήθως παράγεται από την αντίδραση ενυδάτωσης του οξειδίου του προπυλενίου, που προέρχεται από πετροχημικές πηγές.

Στις διεργασίες φαρμακευτικών βιομηχανιών χρησιμοποιούνται πληθώρα διαλυτών, καθώς περίπου το 80% της συνολικής μάζας των χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται για τη φαρμακευτική παραγωγή είναι διαλύτες. Ο επανασχεδιασμός των συνθετικών διεργασιών προκειμένου να μειωθεί η ποσότητα του διαλύτη που χρησιμοποιείται και η χρήση μη τοξικών και μη επιβλαβών διαλυτών που ανακτώνται και επαναχρησιμοποιούνται εύκολα είναι μείζονος σημασίας. Για τον λόγο αυτό, ο γαλακτικός αιθυλεστέρας προβάλλεται σήμερα ως ένας ελκυστικός διαλύτης για χημικές αντιδράσεις από περιβαλλοντικής άποψης, καθώς έχει χρησιμοποιηθεί για την πιο πράσινη σύνθεση αρυλικών αλδιμινών, για την εκχύλιση φυτοστερολών από υγρές ίνες καλαμποκιού, οι οποίες παρέχουν ένα ελαιώδες προϊόν με ελεύθερες φυτοστερόλες και ελεύθερα λιπαρά οξέα και για την εκχύλιση καρτενοειδών, που αποτελούν αποτελεσματικούς διαλύτες τόσο για τα cis όσο και για τα trans ισομερή του λυκοπενίου από ξηρή σκόνη ντομάτας.

Σχεδόν όλες οι βιομηχανίες παραγωγής και επεξεργασίας εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη χρήση των διαλυτών. Ορισμένοι εμπειρογνώμονες του κλάδου των βιομηχανιών υποστηρίζουν ότι ο γαλακτικός αιθυλεστέρας θα μπορούσε να αντικαταστήσει τους παραδοσιακούς διαλύτες σε περισσότερο από το 80% των εφαρμογών τους. Παρ' όλα αυτά, η άποψη αυτή φαίνεται εξαιρετικά διογκωμένη, μιας που ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι ένα πολικό πρωτικό προϊόν με πολύ υψηλό σημείο βρασμού και υπάρχουν εφαρμογές, για τις οποίες απαιτούνται μη πολικοί, απρωτικοί και με χαμηλότερο σημείο βρασμού διαλύτες. Η ραγδαία αύξηση που παρουσιάζει το αργό πετρέλαιο καθιστούν τον γαλακτικό αιθυλεστέρα, ως πράσινο διαλύτη, πιο ελκυστικό στον τομέα του εμπορίου, λόγω της αυξανόμενης όξυνσης της περιβαλλοντικής συνείδησης των πολιτών, οι οποίοι είναι πιο πρόθυμοι να πληρώσουν ακόμα και περισσότερο για προϊόντα που όμως είναι λιγότερο επιβλαβή για τον πλανήτη. [4]

Πίνακας 6-1. Διαλυτικές ικανότητες του ethyl lactate και του πετροχημικού N-methyl pyrrolidone.

	Ethyl lactate	N-methyl pyrrolidone
Τιμή Kauri βουτανόλης (μέτρηση ισχύος του διαλύτη)	>1.000	350
<i>Παράμετροι Διαλυτότητας</i>		
Παράμετρος Hildebrand	21.3	23.1
Παράμετρος διασποράς Hansen	7.8	8.8
Παράμετρος πολικότητας Hansen	3.7	6.0
Παράμετρος δεσμών υδρογόνου Hansen	6.1	3.5
Αναμειξιμότητα	Αναμείξιμο με νερό και υδατάνθρακες	Αναμείξιμο με νερό και υδατάνθρακες

Πίνακας 6-2: Ιδιότητες γαλακτικού αιθυλεστέρα σε διάφορες θερμοκρασίες.

	278.15 K	298.15 K	318.15 K
<i>Πυκνότητα ρ (g.cm³)</i>	1.06	1.03	0.99
<i>Ιξώδες η (cP)</i>	4.55	2.21	1.26
<i>Πίεση Ατμών P_{vp} (mmHg)</i>	1.07	3.75	$1.12 \cdot 10^1$
<i>Ειδική θερμοχωρητικότητα υπό σταθερή πίεση C_p (Jmol⁻¹ K⁻¹)</i>	$2.46 \cdot 10^{-2}$	$2.55 \cdot 10^{-2}$	$2.64 \cdot 10^{-2}$
<i>Ενθαλπία εξάτμισης ΔH^v (Jmol⁻¹)</i>	$6.17 \cdot 10^4$	$6.01 \cdot 10^4$	$5.84 \cdot 10^4$
<i>λ (Wm⁻¹ K⁻¹)</i>	$1.73 \cdot 10^{-1}$	$1.68 \cdot 10^{-1}$	$1.63 \cdot 10^{-1}$

Πίνακας 6-3: Ιδιότητες γαλακτικού αιθυλεστέρα.

Ιδιότητες	Ethyl lactate
-----------	---------------

Μοριακό Βάρος – M (g/mol)	118.133
Σημείο τήξης – T_f (K)	248.25
Σημείο ζέσης – T_b (K)	426.15–427.15
Κρίσιμη Θερμοκρασία – T_c (K)	588.00
Κρίσιμη Πίεση – P_c (bar)	38.60
Κρίσιμος Όγκος – V_c (cm³/mol)	354.0

6.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

Όπως προαναφέρθηκε ο γαλακτικός αιθυλεστέρας είναι ένας εστέρας που παράγεται από την αντίδραση της αιθανόλης με το γαλακτικό οξύ. Η αντίδραση αυτή λειτουργεί σε όξινο περιβάλλον και για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούνται είτε ομογενείς είτε ετερογενείς όξινοι καταλύτες. Η προσέγγιση αυτή όμως είναι ακριβή λόγω των δαπανηρών διαδικασιών διαχωρισμού και καθαρισμού του γαλακτικού οξέος, το κόστος των οποίων εκτιμάται ότι αποτελούν περίπου το μισό του συνολικού για την παραγωγή υψηλής καθαρότητας γαλακτικού οξέος. Η σύνθεση του γαλακτικού αιθυλεστέρα απευθείας από γαλακτικά άλατα που λαμβάνονται από τη ζύμωση γαλακτικού οξέος μπορεί να συμβάλει στη μείωση του μεγάλου κόστους παραγωγής αυτής της ένωσης.

Και τα δυο αντιδρώντα που χρησιμοποιούνται, αιθανόλη και γαλακτικό οξύ, αποτελούν σημαντικά δομικά στοιχεία των βιοδιυλιστηρίων και είναι διαθέσιμα σε βιομηχανική κλίμακα. Οι διεργασίες παρασκευής του γαλακτικού αιθυλεστέρα έχουν πατενταριστεί και έχουν λάβει χώρα στη βιομηχανία. Ωστόσο οι διεργασίες αυτές χαρακτηρίζονται από χαμηλούς ρυθμούς αντίδρασης και κατά συνέπεια υψηλό κόστος κεφαλαίου και κόστος λειτουργίας. Έχουν αναπτυχθεί διάφοροι εναλλακτικοί τρόποι παραγωγής του, από τους οποίους οι διεργασίες με χρήση μεμβρανών και η δραστική απόσταξη είναι οι πιο υποσχόμενοι. [48]

Κατά την διάρκεια της αντίδρασης εστεροποίησης παράγεται ως παραπροϊόν νερό, με την απομάκρυνση του οποίου υπερνικάται ο περιορισμός της ισορροπίας των συμβατικών αντιδραστήριων. Η χημική ισορροπία αποκαθίσταται ακολουθώντας τον νόμο της μαζικής δράσης, και επομένως μπορεί να επιτευχθεί η μετατροπή του γαλακτικού οξέος και πάνω από την ισορροπία της παρτίδας. Η κινητήρια δύναμη διατηρείται σε υψηλό επίπεδο και η κινητική της αντίδρασης ενισχύεται, με αποτέλεσμα η ενεργειακή απόδοση και η χρωροχρονική απόδοση τέτοιων διαδικασιών να είναι σημαντικά υψηλότερη.

Η παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα μέσω αντιδραστικής απόσταξης έχει εξεταστεί και έχει επιτευχθεί πάνω από 90% μετατροπή γαλακτικού οξέος και απόδοση σε παραγωγή γαλακτικού οξέος 73%. Επειδή η εστεροποίηση και ο διαχωρισμός αιθανόλης-νερού γίνεται σε μία μόνο συσκευή λαμβάνονται ως αποτέλεσμα μεγάλες ποσότητες ολιγομερών στο ρεύμα του ακτέργαστου προϊόντος και άρα κρίνεται απαραίτητη μια πρόσθετη μονάδα επεξεργασίας για εξευγενισμό. Η διεργασία βελτιστοποιήθηκε όσον αφορά την κινητική της αντίδρασης με πειράματα σε εργαστηριακό επίπεδο και συγκρίθηκε με μια σειριακή διάταξη αντιδραστήρων και μονάδων απόσταξης. Μείζονος σημασίας αποτέλεσαν οι απαιτήσεις για τις πρώτες ύλες και ο αποτελεσματικός διαχωρισμός του νερού και πραγματοποιήθηκαν υπολογισμοί σχετικά με τα ισοζύγια υλικών και ενέργειας. Με βάση τα αποτελέσματα προτάθηκε μια συνεχής διαδικασία παραγωγής που χρησιμοποιεί απόσταξη για

εντατικοποίηση της διαδικασίας. Αυτές οι ενέργειες περιγράφουν την προετοιμασία για πιλοτική εφαρμογή. Για τον ευκολότερο διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκε ετερογενής καταλύτης και συγκεκριμένα επιλέχθηκαν οι ρητίνες Amberlyst επειδή παρουσιάζουν ευνοϊκές καταλυτικές ιδιότητες σε χαμηλές συγκεντρώσεις του νερού. Δοκιμάστηκαν 3 διαφορετικές ρητίνες ανταλλαγής κατιόντων σε αντιδραστήρες διαλλείποντος έργου. Η χρήση των αντιδρώντων με μοριακό λόγο αιθανόλης-γαλακτικού οξέος $n_{\text{EtOH}}/n_{\text{LA}} = 3/1$ βρέθηκε ως βέλτιστη τιμή, η οποία και εφαρμόστηκε στα πειράματα.

Οι χημικές ουσίες που προστίθενται στην είσοδο, ειδικά το γαλακτικό οξύ έχουν υψηλές ποσότητες νερού, το οποίο είναι ανεπιθύμητο στη διαδικασία, και ως παραπροϊόν στην αντίδραση εστεροποίησης περιορίζει τον ρυθμό αντίδρασης και τη μετατροπή του γαλακτικού οξέος. Η κινητική της αντίδρασης έχει μελετηθεί για διάφορες συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος, από αραιό διάλυμα 20% w/w σε γαλακτικό οξύ μέχρι πυκνό 88% w/w. Λόγω της δομής του, το γαλακτικό οξύ υφίσταται ενδομοριακή αυτοεστεροποίηση και τείνει να σχηματίζει ολιγομερή σε συμπυκνωμένα διαλύματα. Ο ολιγομερισμός αυτός μειώνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης της αιθανόλης. Έτσι εάν ένα διάλυμα γαλακτικού οξέος 88% w/w αναμιγνύεται με αιθανόλη σε μοριακή αναλογία $n_{\text{EtOH}}/n_{\text{LA}} = 1/1$, η περιεκτικότητα σε ολιγομερή είναι στο 2.4% ενώ για αναλογία $n_{\text{EtOH}}/n_{\text{LA}} = 3/1$ μειώνεται στο 0.4%. [49]

Στη δραστική απόσταση, όπου η ετερογενώς καταλυόμενη αντίδραση εστεροποίησης συνδυάζεται με τον ταυτόχρονο διαχωρισμό, διάφορες είναι οι επιπλοκές που μπορεί να συμβούν και να δράσουν περιοριστικά στη μετατροπή του γαλακτικού οξέος. Η χημική αντίδραση στο καταλυτικό σημείο, χαρακτηριζόμενη από την συγκέντρωση των συστατικών και την καταλυτική ικανότητα των σωματιδίων του καταλύτη. Μεταφορά μάζας μεταξύ καταλύτη και του όγκου του διαλύματος (για τις ρητίνες Amberlyst αυτό μπορεί να προσπελασθεί με μέτρια ταχύτητα ανάδευσης). Σχετικά με την απόσταση, ο διαχωρισμός του νερού από τον κύριο όγκο μπορεί να είναι αυτός που καθορίζει τον ρυθμό της αντίδρασης. [50]

Αντιδραστήρας διαλλείποντος έργου

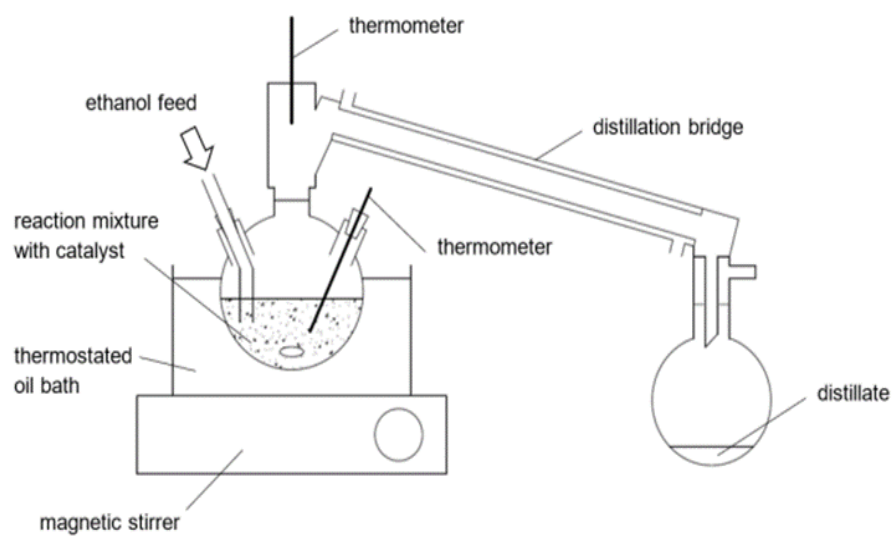
Σύμφωνα με τους Stipsitz P., Mandl M., & Harasek M., που έκαναν αξιολόγηση των διαφορετικών καταλυτών και των διαφορετικών αρχικών ποσοτήτων των αντιδρώντων (kg μίγματος) σε πειράματα διαλλείποντος έργου, προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

μεταξύ των τριών καταλυτών (Amberlyst 46, Amberlyst 48, Amberlyst 15 που δοκιμάστηκαν για την εστεροποίηση σε κλάσμα βάρους $w_{\text{cat}}=0.1$, την υψηλότερη καταλυτική δραστικότητα παρουσίασε το Amberlyst 46.

μεταξύ των διαφορετικών διαλυμάτων γαλακτικού οξέος, αυτά με το χαμηλότερο κλάσμα νερού ευνοούν την μετατροπή στην ισορροπία. Με την αφυδάτωση η χημική ισορροπία επιτεύχθηκε μετά από 1h και με 71% μετατροπή, ενώ χωρίς αφυδάτωση με αρχικό κλάσμα νερού ίσο με 19% η ισορροπία επιτεύχθηκε μετά από 2.5 ώρες με μετατροπή γαλακτικού οξέος 59%. Η αφαίρεση του νερού, λοιπόν, από την τροφοδοσία γαλακτικού οξέος πριν από την ανάμιξη με αιθανόλη έδειξε βέλτιστα αποτελέσματα.

Αντιδραστήρας ημιδιαλλείποντος έργου

Για την πραγματοποίηση της δραστικής απόσταξης χρησιμοποιήθηκε μια συμβατική απόσταση όπως παρουσιάζεται και στο Σχήμα 6-2 με διαφορετικές καθαρότητες των αρχικών αντιδραστηρίων. Το απόσταγμα συλλεγόταν συνεχώς μέσω μιας γέφυρας απόσταξης και ανά 10 λεπτά γινόταν προσθήκη αιθανόλης για να αντισταθμιστούν οι απώλειες σε αιθανόλη και να διατηρηθεί η αρχική μοριακή αναλογία αιθανόλη/γαλακτικού οξέος στο 3/1.



Σχήμα 6-2: Διάταξη παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όταν χρησιμοποιήθηκε αιθανόλη καθαρότητας 96%, η αντιδραστική απόσταξη είχε παρόμοια απόδοση με αυτή των batches, ενώ η μετατροπή ήταν κάτω από την αντίστοιχη που επιτεύχθηκε στα batches.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση παραγωγής γαλακτικού οξέος και γαλακτικού αιθυλεστέρα, χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη απόβλητο βιομηχανίας παραγωγής βρεφικών τροφών. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός της πρώτης ύλης χρησιμοποιώντας πρότυπες μεθόδους ανάλυσης, οι οποίοι θα αναλυθούν παρακάτω. Η πειραματική διαδικασία παραγωγής γαλακτικού οξέος αποτελείται από πειράματα με τη χρήση καλλιέργειας γαλακτοβακίλλων σε θρεπτικό μέσο, μελετώντας διαφορετικούς παράγοντες που επηρεάζουν την διεργασία. Η παραγωγή του γαλακτικού αιθυλεστέρα πραγματοποιήθηκε μέσω της αμφίδρομης αντίδρασης εστεροποίησης του γαλακτικού οξέος με βιοαιθανόλη, χρησιμοποιώντας κατάλληλο καταλύτη. Η αντίδραση μελετήθηκε σε δύο διαφορετικές πειραματικές διατάξεις.

7 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η πρώτη ύλη χαρακτηρίστηκε ως προς τις παρακάτω παραμέτρους:

- Ολικά στερεά (TS)
- Υγρασία
- Πτητικά Στερεά (VS)
- Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)
- Ελεύθερη γλυκόζη
- Έλαια
- Άμυλο
- Άζωτο

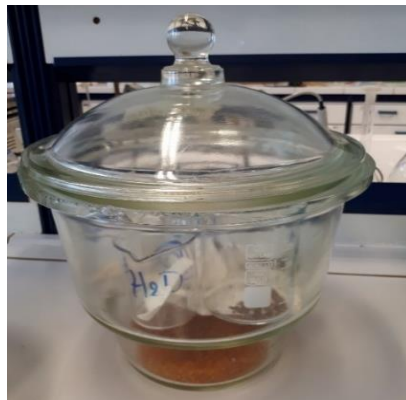
7.1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

7.1.1 Προσδιορισμός ολικών στερεών (TS)

Για τον προσδιορισμό των ολικών στερεών TS ζυγίζεται ποσότητας 2-3g στερεού σε ζυγό ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες κάψες πορσελάνης και μπήκαν σε φούρνο ξήρανσης Carbolite, που φαίνεται παρακάτω (Σχήμα 7-1), στους 105°C για 24 ώρες. Μετά τις 24ώρες τα δείγματα τοποθετούνται για 15λεπτά σε αφυγραντήρα (Σχήμα 7-2), ώστε να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου και έπειτα ζυγίζονται. 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%.



Σχήμα 7-1. Φούρνος ξήρασης Carbolite.



Σχήμα 7-2. Αφυγραντήρας.

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

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

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_2$$

όπου:

m_i = η αρχική μάζα ξηρού δείγματος.

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

7.1.2 Προσδιορισμός πτητικών στερεών (VS)

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

Αρχικά, ζυγίστηκε περίπου 0.5-1 g για κάθε δείγμα και αυτά τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες κάψες. Μετά, τα δείγματα μπήκαν στο φούρνο Barnstead Thermolyne (Σχήμα 7-3) στους 550 °C για 4 ώρες. Ο φούρνος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των πτητικών στερεών απεικονίζεται στο Σχήμα 7-3.



Σχήμα 7-3. Φούρνος Barnstead Thermolyne.

Μετά από 4-5 ώρες οι κάψες τοποθετούνται για 15λεπτά στον αφυγραντήρα, για να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ζυγίζονται ξανά οι κάψες μαζί με τα περιεχόμενα δείγματα.

Η εκτίμηση του οργανικού φορτίου έγινε με τον υπολογισμό της απώλειας μάζας πριν και μετά την εισαγωγή του στο φούρνο στους, όπου πραγματοποιείται καύση και οι οργανικές ουσίες οξειδώνονται. Για αυτό και η απώλεια βάρους που υπολογίζεται αποτελεί στην ουσία μέτρο των οργανικών ουσιών που περιέχονται στα στερεά, παρόλο που κατά την 48 καύση απομακρύνονται μερικές φορές και ορισμένα ανόργανα πτητικά συστατικά του δείγματος.

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

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

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_1$$

όπου:

m_i = η αρχική μάζα ξηρού δείγματος.

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

7.1.3 Προσδιορισμός ελαίων σε στερεά δείγματα (Oils)

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

Για την απομάκρυνση των ελαίων και των λιπών επιλέγεται η διάταξη της Soxhlet, όπως φαίνεται στο Σχήμα 7-4, με μη πολικό διαλύτη, το εξάνιο. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε αναλύεται παρακάτω.



Σχήμα 7-4. Διάταξη της Soxhlet.

Για τον προσδιορισμό των ελαίων χρησιμοποιείται το αποξηραμένο δείγμα από το μεγάλο ποτήρι ζέσεως που αναφέρθηκε στην διαδικασία προσδιορισμού των TS (7.1.1). Συγκεκριμένα, ζυγίζονται περίπου 10-20 g ξηρού δείγματος και τοποθετούνται σε προζυγισμένη χαρτούσα. Ζυγίζεται μια 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 στη Soxhlet. Ακολουθεί το άνοιγμα της βρύσης της διάταξης, ώστε να αρχίσει η θέρμανση. Η εκχύλιση διαρκεί 4-6 ώρες. Στο τέλος, η χαρτούσα τοποθετείται σε φούρνο στους 105°C, ώστε να εξατμιστεί το εξάνιο και ζυγίζεται μετά από 2-24 ώρες.

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

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

όπου:

m_1 = μάζα φιάλης με πυρήνες βρασμού

m_2 = μάζα φιάλης με πυρήνες βρασμού και έλαια

m_{solid} = αρχική μάζα στερεού στην χαρτούσα

7.1.4 Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών (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 αερόλουτρο IKA KS 30001 control (Σχήμα 7-5) σε θερμοκρασία 50 °C και ταχύτητα ανάδευσης 130 rpm για 1 ώρα.



Σχήμα 7-5. Ανακινούμενο αερόλουτρο IKA KS 30001 control.

Μετά το πέρας της 1 ώρας, τα δείγματα φυγοκεντρώνται (Σχήμα 7-6) και διηθούνται για να συλλεχθεί η στερεή και η υγρή φάση. Η στερεή φάση των δειγμάτων ζυγίζεται και τοποθετείται σε προζυγισμένα ποτήρια ζέσεως, τα οποία μπαίνουν στον φούρνο ξήρανσης στους 50 °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.



Σχήμα 7-6: Φυγόκεντρος IEC CENTRA CL2.

Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με την εξίσωση:

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

$$m_i = m_2 - m_1$$

$$m_f = m_3 - m_1$$

όπου:

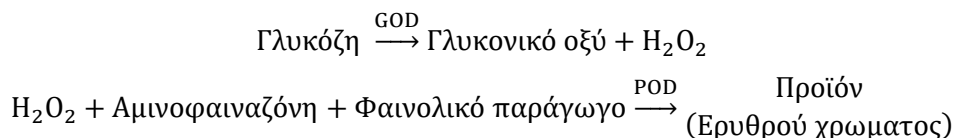
m_i = αρχική μάζα στερεού ξηρού δείγματος.

m_f = τελική μάζα στερεού μετά το πέρας 24 ωρών στους 50 °C .

7.1.5 Προσδιορισμός Ελεύθερης Γλυκόζης.

Η μέθοδος προσδιορισμού της γλυκόζης βασίζεται στη μετατροπή της γλυκόζης σε ένα προϊόν ερυθρού χρώματος, που είναι αποτέλεσμα της διαδοχικής δράσης των ενζύμων οξειδάση και υπεροξειδάση της γλυκόζης. Αρχικά, η γλυκόζη με τη δράση της οξειδάσης

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



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

7.1.5.1 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 εν λόγω μέθοδο.

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

- 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 (Σχήμα 7-7) 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.



Σχήμα 7-7. Φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck.

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, χρησιμοποιήθηκαν τα διηθήματα που προέκυψαν μετά από την ενζυμική υδρόλυση των δειγμάτων. Στα διηθήματα αυτά, αρχικά πραγματοποιήθηκε πραγματοποιείται η κατάλληλη αραιώση ανάλογα το υπόστρωμα. Στη συνέχεια, προστέθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2 mL διαλύματος εργασίας και 0.1 mL διηθήματος από κάθε αραιωμένο διάλυμα. Για την παρασκευή του τυφλού, προστέθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 2 mL διαλύματος εργασίας και 0.1 mL απιονισμένου νερού. Ακολούθως, οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν για επώαση στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C για 10 λεπτά.

Μετά το πέρας της επώασης κάθε ένας δοκιμαστικός σωλήνας αναδεύεται στη συσκευή Vortex-Genie 2 και ακολουθεί η φωτομέτρηση, στο φωτόμετρο (Σχήμα 7-7) σε μήκος κύματος 510 nm. Το φωτόμετρο πριν την έναρξη της φωτομέτρησης των δειγμάτων μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό.

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

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

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

όπου:

ABS_{mean} = ο μέσος όρος απορρόφησης.

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

V = ο συνολικός όγκος του διηθήματος.

Initial solid: η αρχική μάζα του δείγματος.

7.1.6 Προσδιορισμός ολικού αμύλου

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

Τα βήματα της διαδικασίας που ακολουθήθηκε είναι τα εξής :

- 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 ετοιμάζονται ένα ακόμα με την προσθήκη 0.1 mL Sodium acetate buffer με 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 2mL NaOH 2M 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) με pH = 3.8, 0.1 mL α -αμυλάσης (α -amylase) και 0.1 mL αμυλογλουκοσιδάσης (AMG: amyloglucosidase). Στο τυφλό δείγμα, αντί για την προσθήκη ενζύμων, γίνεται προσθήκη 0.2 mL από το Sodium acetate buffer με 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 30 min τα δείγματα τοποθετούνται για φυγοκέντρηση για 10 min, με ταχύτητα φυγοκέντρησης 3000 rpm, στη συσκευή φυγοκέντρησης (Σχήμα 7-6).
- Μετά τη φυγοκέντρηση ακολουθεί 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 (Σχήμα 7-7) με απιονισμένο νερό.

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

$$C_{\text{γλυκόζης}} (\% \text{ w/w}) = \frac{0.9053 \cdot ABS_{\text{mean}} \cdot D \cdot 10.4 \cdot 10^{-3}}{\text{initial solid}} \cdot 100$$

$$\text{Ολικό άμυλο (\% w/w)} = C_{\text{γλυκόζης}} \cdot \left(\frac{M_{r,\text{starch}}}{M_{r,\text{glucose}}} \right)$$

όπου:

ABS_{mean} : ο μέσος όρος απορρόφησης.

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

10.4 (mL): προκαθορισμένη τιμή συνολικού όγκου

Initial Solid: η μάζα του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε

$$\frac{M_{r,\text{starch}}}{M_{r,\text{glucose}}} = 0.9$$

7.2 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΡΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Για να μπορούν τα αποτελέσματα να συγκριθούν και να βρεθεί ο βέλτιστος τρόπος παραγωγής γαλακτικού οξέος, είναι σημαντικό να υπολογισθεί η απόδοση της διεργασίας. Επομένως, είναι σημαντικό να υπολογισθούν τα συνολικά θεωρητικά γραμμάρια γαλακτικού οξέος που μπορούν να παραχθούν εάν όλη η γλυκόζη που περιέχεται στην αρχική ξηρή βάση μετατραπεί σε αυτό.

$$\text{Θεωρητικό άμυλο (g)} = \text{Άμυλο\%} \cdot \text{αρχικό στερεό κλάσμα (g)}$$

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

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη από άμυλο (g)} = \frac{\text{θεωρητικό άμυλο (g)}}{0.9}$$

Όπου 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 ($Mw_{\text{starch}}/Mw_{\text{glucose}}=162/180=0.9$).

$$\text{Θεωρητική ελεύθερη γλυκόζη (g)} = \text{Ελεύθερη Γλυκόζη\%} \cdot \text{Αρχικό στερεό κλάσμα (g)}$$

$$\text{Θεωρητική λακτόζη (g)} = \text{Λακτόζη\%} \cdot \text{αρχικό στερεό κλάσμα (g)}$$

Θεωρητική γλυκόζη από τη λακτόζη είναι η γλυκόζη που θα παραγόταν αν πραγματοποιούνταν πλήρης διάσπαση της λακτόζης.

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη από λακτόζη (g)} = \text{θεωρητική λακτόζη (g)} \cdot 0.5263$$

Όπου ο συντελεστής 0.5263 προκύπτει από τη στοιχειομετρία της αντίδρασης (1/1), καθώς και από τον λόγο των μοριακών βαρών της γλυκόζης και της λακτόζης ($Mw_{\text{lactose}}/Mw_{\text{glucose}}=342/180=0.5263$).

Άρα με την χρήση ενζύμων διάσπασης και του αμύλου και της λακτόζης, η θεωρητική γλυκόζη προκύπτει ίση με το άθροισμα της θεωρητικής γλυκόζης από το άμυλο, από τη λακτόζη και από το ποσοστό (% του στερεού) ελεύθερης γλυκόζης:

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη (g)} = \frac{\text{θεωρητικό άμυλο (g)}}{0.9} + \text{θεωρητική λακτόζη (g)} \cdot 0.5263 + \\ + \% \text{ελεύθερης γλυκόζης} \cdot \text{αρχ. στερεό (g)}$$

Θεωρητικό γαλακτικό οξύ ορίζεται το αρχικό γαλακτικό οξύ του στερεού προσθέτοντας το γαλακτικό οξύ που θα παραγόταν εάν η συνολική γλυκόζη και η γαλακτόζη μετατρέπονταν πλήρως σε γαλακτικό οξύ. Πιο συγκεκριμένα, βάση θεωρίας προκύπτει ότι:

$$\text{Θεωρητικό γαλακτικό οξύ (g)} = \text{Γαλακτικό οξύ\%} \cdot \text{αρχικό στερεό κλάσμα (g)} + \\ + \text{θεωρητική γλυκόζη (g)} \cdot 0.5 + \text{θεωρητική γαλακτόζη (g)} \cdot 0.5$$

Ο συντελεστής 0.5 προκύπτει βιβλιογραφικά και ισχύει ότι για τη γλυκόζη, τη γαλακτόζη και γενικότερα τις εξόζες 0.5g αντιστοιχούν σε 1g γαλακτικού οξέος.

8 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ

8.1 ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

Για την παραγωγή γαλακτικού οξέος είναι απαραίτητη η παρουσία γαλακτοβάκιλλων και κρίνεται πολύ σημαντική η ανάπτυξή τους σε καλλιέργεια με θρεπτικό μέσο.

8.2 ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ

Ως θρεπτικό μέσο επιλέχθηκε το MRS (De Man, Rogosa and Sharpe agar), το οποίο θεωρείται κατάλληλο για καλλιέργεια και ανάπτυξη γαλακτοβάκιλλων με σκοπό την παραγωγή γαλακτικού οξέος. Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων αυτής της διπλωματικής εργασίας, το θρεπτικό μέσο που χρησιμοποιείται, μπορεί να συντηρηθεί στο ψυγείο για 90 ημέρες και χαρακτηρίζεται από την παρακάτω σύσταση:

- 2% Glucose
- 0.26% di-Potassium hydrogen phosphate 3-hydrate AR
- 0.0037% Manganese (II) sulfate monohydrate
- 0.2% Ammonium sulfate
- 1% Agar
- 0.5% Sodium acetate trihydrate
- 0.02% Magnesium sulfate heptahydrate
- 1% beef extract
- 0.1% tween 80
- 1% peptone

Στη συγκεκριμένη πειραματική διεργασία το θρεπτικό μέσο παρασκευάστηκε δύο φορές, 1000ml και 500ml. Αρχικά, προστίθενται όλα τα αντιδραστήρια σε ογκομετρική φιάλη των 1000ml και 500ml αντίστοιχα (ο ζωμός βοδινού πρώτα διαλύεται σε 100ml νερού και μετά προστίθεται στην φιάλη). Στη συνέχεια, πληρώνεται η φιάλη με τον αντίστοιχο όγκο απιονισμένου νερού και θερμαίνεται στους 50°C με παράλληλη ανάδευση έως ότου την ομοιογένεια του διαλύματος. Έπειτα, τοποθετείται στον αποστειρωτή (autoclave) στους 100°C για 15min και αποθηκεύεται στο ψυγείο.

8.3 ΔΙΑΛΥΜΑ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Η καλλιέργεια των μικροοργανισμών πραγματοποιείται στο θρεπτικό μέσο σύμφωνα με το πειραματικό πρωτόκολλο.

- Το προπαρασκευασμένο θρεπτικό μέσο (MRS) τοποθετείται στον αποστειρωτή (autoclave) στους 100°C για 15min και έπειτα αφήνεται να φτάσει σε θερμοκρασία χαμηλότερη των 40°C (αλλιώς υπάρχει κίνδυνος θανάτου των μικροοργανισμών).
- Προστίθεται κατάλληλη ποσότητα μικροοργανισμών (10mg/ml MRS) από φαρμακευτικό σκεύασμα προβιοτικών σε μορφή σκόνης.
- Το διάλυμα τοποθετείται στο ανακινούμενο αερόλουτρο στους 37°C και 150rpm για χρονικό διάστημα που απαιτεί κάθε πειραματική διαδικασία.

8.4 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Για την παραγωγή γαλακτικού οξέος πραγματοποιήθηκαν πειράματα με σκοπό την βελτιστοποίηση της διαδικασίας ως προς την παραγόμενη συγκέντρωσή γαλακτικού και τον χρόνο παραγωγής του.

Πραγματοποιήθηκαν πειράματα, δοκιμάζοντας διαφορετικές παραμέτρους με σκοπό την εύρεση της βέλτιστης διαδικασίας, ωστόσο η ποσότητα του φορτίου, η θερμοκρασία, ο όγκος και ο ρυθμός ανάδευσης διατηρήθηκαν σταθερά.

- Διάλυμα με φορτίο 10% w/w ξερού στερεού (σκόνη φαρίν λακτέ).
- Θερμοκρασία 37°C.
- 200ml διαλύματος αντίδρασης.
- Ρυθμός ανάδευσης 140 rpm.

Σε εργαστηριακή κλίμακα η πορεία που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

- Ζυγίζονται 20g ξηρό στερεό (σκόνη φαρίν λακτέ) και τοποθετούνται σε μπουκάλια με την κατάλληλη ποσότητα απιονισμένου νερού με φορτίο 10% w/w.
- Γίνεται, σε κάποια πειράματα προσθήκη αμυλολυτικού ενζύμου (Spirizyme EXCEL, 40μL/g starch) και λακτάσης (Lactozyme Pure, 5mg/g λακτόζης, 20mg/g λακτόζης), ανάλογα με το πειραματικό πρωτόκολλο.
- Προσθήκη διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum) σε ποσότητα ανάλογη με το φορτίο που απαιτεί κάθε πείραμα (5% v/v, 10% v/v).
- Το τελικό πείραμα τοποθετείται στο ανακινούμενο αερόλουτρο σε θερμοκρασία 37°C και ρυθμό ανάδευσης 140rpm.
- Μετά το πέρας του χρόνου που απαιτείται για κάθε πείραμα, λαμβάνεται δείγμα 7,5ml στο οποίο πραγματοποιείται φυγοκέντρηση, διήθηση, αραιώση (D=10) και μέτρηση με μέθοδο High-performance liquid chromatography (HPLC).

Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, εξετάστηκε η επίδραση τριών διαφορετικών παραγόντων στη παραγόμενη συγκέντρωση γαλακτικού καθώς και στην απόδοση της διεργασίας.

8.4.1 Επίδραση ενζύμου λακτάσης.

Δοκιμάστηκε η επίδραση του ενζύμου της λακτάσης στην παραγόμενη ποσότητα γαλακτικού οξέος, καθώς και στην απόδοση της αντίδρασης πραγματοποιώντας δύο πειράματα με ίδιες συνθήκες, φορτίο και μικροοργανισμούς αλλάζοντας την ποσότητα της λακτάσης.

Πίνακας 8-1. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης της λακτάσης.

Πείραμα	Φορτίο Στερεού (% w/w)	Αμυλάση (μL/g αμύλου)	Λακτάση (mg/g λακτόζης)	Φορτίο μικροοργανισμών 24h (% v/v)	Θερμοκρασία (°C)
1	10	40	5	5	37
2	10	40	20	5	37

8.4.2 Επίδραση χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα πειράματος.

Δοκιμάστηκε η καλλιέργεια των μικροοργανισμών στο ίδιο θρεπτικό μέσο (MRS) για διαφορετικό χρονικό διάστημα, 24h και 48h αντίστοιχα. Ίδιες συνθήκες, σταθερό φορτίο ξηρού στερεού, φορτίο μικροοργανισμών και ποσότητα ενζύμων αλλάζοντας μόνο τον χρόνο καλλιέργειας μικροοργανισμών που έχει προηγηθεί.

Πίνακας 8-2. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης του χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα πειράματος.

Πείραμα	Φορτίο Στερεού (% w/w)	Αμυλάση (μL/g αμύλου)	Λακτάση (mg/g λακτόζης)	Φορτίο μικροοργανισμών (% v/v)	Χρόνος καλλιέργειας μικροοργανισμών (hours)	Θερμοκρασία (°C)
1	10	40	5	5	24	37
2	10	40	5	5	48	37

8.4.3 Επίδραση φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum).

Δοκιμάστηκε η επίδραση της ποσότητας διαλύματος μικροοργανισμών στην παραγόμενη ποσότητα γαλακτικού οξέος καθώς και στην απόδοση της αντίδρασης πραγματοποιώντας δύο πειράματα με ίδιες συνθήκες, φορτίο και ποσότητες ενζύμων αλλάζοντας την ποσότητα του διαλύματος μικροοργανισμών.

Πίνακας 8-3. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης του φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum).

Πείραμα	Φορτίο Στερεού (% w/w)	Αμυλάση (μL/g αμύλου)	Λακτάση (mg/g λακτόζης)	Φορτίο μικροοργανισμών 24h (% v/v)	Θερμοκρασία (°C)
1	10	40	5	5	37
2	10	40	5	10	37

8.4.4 Επίδραση επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών.

Δοκιμάστηκε η επανακαλλιέργεια μικροοργανισμών για την ενίσχυσή τους και την αύξηση της παραγωγικότητας και της απόδοσης της αντίδρασης.

- Κατασκευάζεται διάλυμα μικροοργανισμών σύμφωνα με την προαναφερθείσα διαδικασία (κεφάλαιο MRS (100mg probiotics/10ml MRS)) και τοποθετείται στο ανακινούμενο αερόλουτρο στους 37°C και 150rpm για 1 ημέρα (Διάλυμα 1^{ns} καλλιέργειας).

- Μετά το πέρας των 24ωρών, σε 5ml από το Διάλυμα 1^{ης} καλλιέργειας προστίθενται 50ml MRS και το νέο διάλυμα τοποθετείται εκ νέου στο ανακινούμενο αερόλουτρο στους 37°C και 150rpm για άλλες 24ώρες (Διάλυμα 2^{ης} καλλιέργειας).
- Μετά το πέρας των 24ωρών, σε 10ml από το Διάλυμα 2^{ης} καλλιέργειας προστίθενται 200ml MRS και το νέο διάλυμα τοποθετείται εκ νέου στο ανακινούμενο αερόλουτρο στους 37°C και 150rpm για άλλες 24ώρες (Διάλυμα 3^{ης} καλλιέργειας).

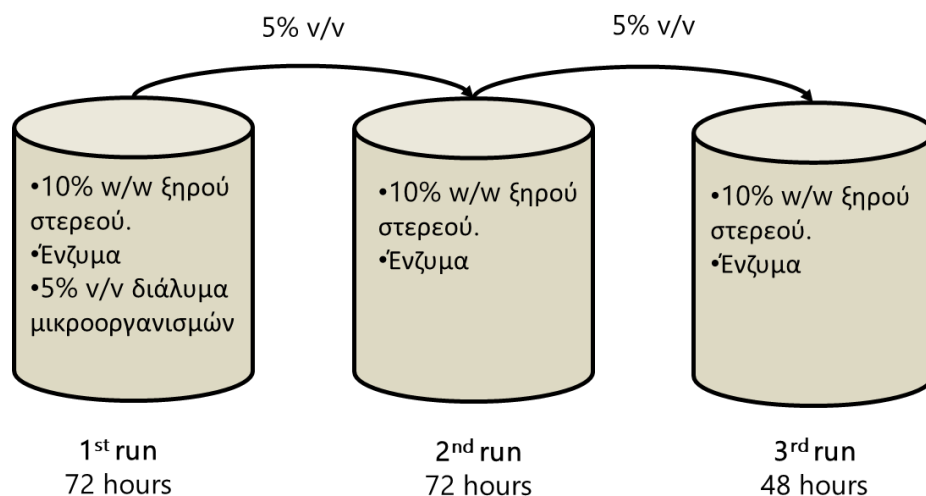
Επομένως, πραγματοποιήθηκαν 3 δοκιμές με σκοπό την μελέτη της επίδρασης της επανακαλλιέργειας των μικροοργανισμών στην παραγόμενη ποσότητα γαλακτικού και την απόδοση της διεργασίας.

Πίνακας 8-4. Συνθήκες πειραμάτων για τον έλεγχο της επίδρασης της επανακαλλιέργειας των μικροοργανισμών.

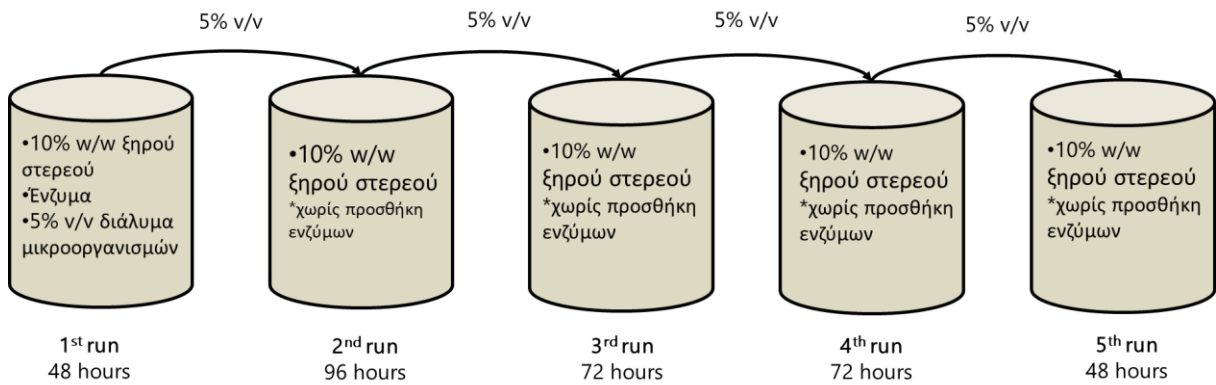
Πείραμα	Φορτίο Στερεού (% w/w)	Αμυλάση (μL/g αμύλου)	Λακτάση (mg/g λακτόζης)	Καλλιέργεια μικροοργανισμών	Θερμοκρασία (°C)
1	10	40	5	1 ^η	37
2	10	40	5	2 ^η	37
3	10	40	5	3 ^η	37

8.4.5 Επίδραση πειραμάτων επαναλαμβανόμενης ζύμωσης με διαφορετικές ποσότητες ενζύμων.

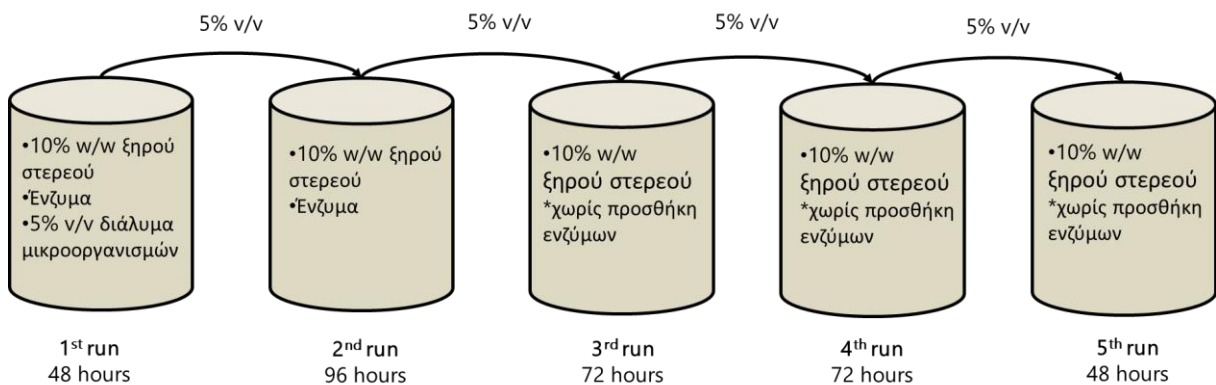
Έγινε προσπάθεια εφαρμογής επαναλαμβανόμενης ζύμωσης (repeated fermentation) με σκοπό την μεγιστοποίηση της παραγωγικότητας της αντίδρασης και της αποδόμησης του αποβλήτου. Πραγματοποιήθηκαν 5 δοκιμές σύμφωνα με το παρακάτω πειραματικό πρωτόκολλο δίνοντας ιδιαίτερη σημασία στην λειτουργία των ενζύμων. Όλα τα διαλύματα μικροοργανισμών έχουν καλλιεργηθεί για 24h.



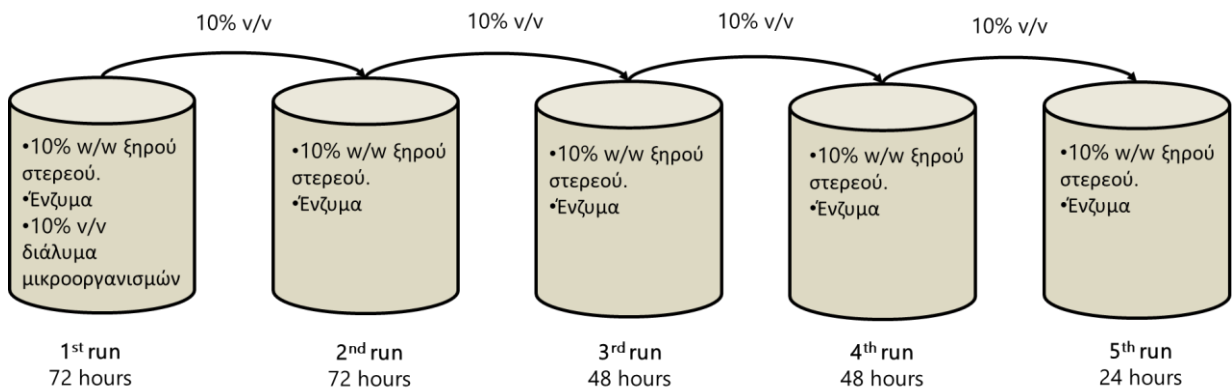
Σχήμα 8-1. 1^η δοκιμή (5% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων σε κάθε κύκλο)



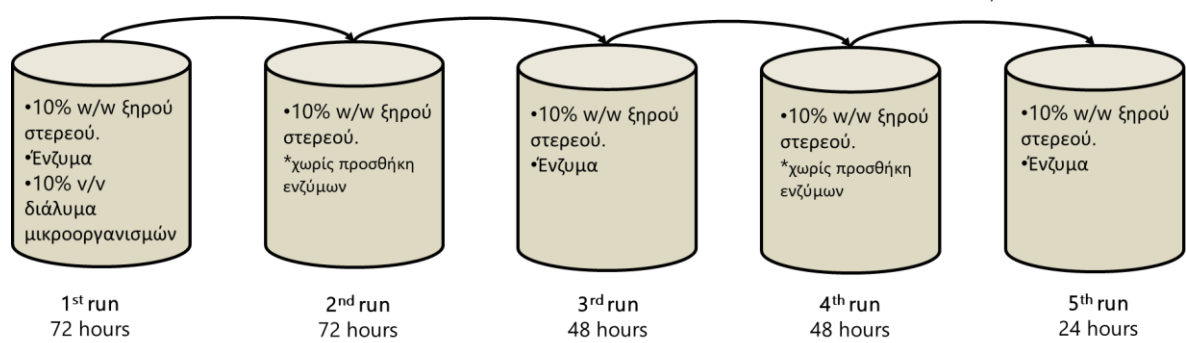
Σχήμα 8-2. 2^η δοκιμή (5% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων μόνο στον 1^ο κύκλο)



Σχήμα 8-3. 3^η δοκιμή (5% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων στον 1^ο και 2^ο κύκλο)



Σχήμα 8-4. 4η δοκιμή (10% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων σε όλους τους κύκλους)



Σχήμα 8-5. 5η δοκιμή (10% v/v φορτίο μικροοργανισμών, προσθήκη ενζύμων εναλλάξ)

8.5 ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΣΤΕΡΕΟΥ

Κρίθηκε σημαντική η μελέτη της αποδόμησης του αμύλου σε κάποια πειράματα έτσι ώστε να μελετηθεί τόσο η δράση των ενζύμων, όσο και η αποδόμηση του αποβλήτου. Το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολουθείται είναι:

- Μετά την λήψη του δείγματος, το υπολειπόμενο υγρό αντίδρασης διηθείται και το στερεό συλλέγεται και μεταφέρεται σε προζυγισμένο ποτήρι ζέσεως σε φούρνο στους 50°C για 24h.
- Μετά το πέρας των 24h, λαμβάνεται ποσότητα από το στερεό, η οποία προηγουμένως έχει θρυμματιστεί με την βοήθεια γουδιού και στη συνέχεια υπολογίζεται η ποσότητα του αμύλου, με την μέθοδο προσδιορισμού του αμύλου.

8.6 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

Η παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα όπως προαναφέρθηκε επιτυγχάνεται με πρώτες ύλες το γαλακτικό οξύ και την αιθανόλη, μέσω αμφίδρομης αντίδρασης εστεροποίησης. Κατά την διάρκεια της αντίδρασης παράγεται ως παραπροϊόν νερό. Η αρχική μοριακή αναλογία αιθανόλης/γαλακτικού οξέος που βρέθηκε βιβλιογραφικά και μελετήθηκε είναι $n_{EtOH}/n_{LA} = 3/1$ καθώς με αυτήν την αναλογία η περιεκτικότητα σε ολιγομερή, που σχηματίζει το γαλακτικό οξύ (ενδομοριακή αυτοεστεροποίηση) είναι περίπου 0.4% (ενώ με αναλογία 1/1 στο 2.4%) [51]

Έγινε προσπάθεια παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα με πρώτες ύλες την βιοαιθανόλη (98 v/v %) και το μείγμα ζύμωσης που έχει προέλθει από τα πειράματα παραγωγής γαλακτικού οξέος. Το μείγμα ζύμωσης, περιέχει την απαραίτητη ποσότητα γαλακτικού για την αντίδραση που έχει παραχθεί με την διαδικασία που προαναφέρθηκε παραπάνω (8.6). Ωστόσο, περιέχει και μεγάλο ποσοστό νερού, αιθανόλης και άλλων συστατικών που παρεμποδίζουν σε σημαντικό βαθμό την αντίδραση εστεροποίησης επομένως είναι σημαντική η προεργασία του.

8.6.1 Προεργασία μείγματος ζύμωσης.

Η προετοιμασία του μείγματος ακολουθεί το παρακάτω πειραματικό πρωτόκολλο:

- Στο μείγμα ζύμωσης, που έχει παραχθεί ικανοποιητική ποσότητα γαλακτικού οξέος, πραγματοποιείται φυγοκέντρηση και διήθηση.
- Το διήθημα τοποθετείται σε φιάλη στο ROTTARY με σκοπό την αφαίρεση του νερού, της αιθανόλης και διαφόρων άλλων συστατικών, που παρεμποδίζουν την αντίδραση της εστεροποίησης, με την διαδικασία της απόσταξης υπό κενό. Οι συνθήκες λειτουργίας του ROTTARY ρυθμίζονται στους 85°C, 35grm και πίεση 200-300mbar.
- Η διαδικασία σταματάει όταν πλέον στην φιάλη παρατηρηθεί πηκτό κίτρινο υγρό με κολλώδη υφή, η οποία οφείλεται στα σάκχαρα που έχουν παραμείνει μαζί με το γαλακτικό οξύ.
- Δείγμα από την φιάλη, αραιώνεται και χαρακτηρίζεται με μέθοδο High-performance liquid chromatography (HPLC) έτσι ώστε να υπολογισθεί η ποσότητα γαλακτικού που θα αντιδράσει τελικώς με βιοαιθανόλη προς παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα.

8.6.2 Αντίδραση Εστεροποίησης.

Με γνωστή την νέα συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, σε σφαιρική φιάλη προστίθεται το γαλακτικό και η κατάλληλη ποσότητα βιοαιθανόλης και πραγματοποιείται η αντίδραση με την προσθήκη ποσότητας καταλύτη Amberlyst 15.

Ανά τακτά χρονικά διαστήματα γίνεται λήψη δείγματος για τον έλεγχο της προόδου της αντίδρασης με μέθοδο High-performance liquid chromatography (HPLC) και προσθήκη αιθανόλης στην σφαιρική φιάλη για να αντισταθμίζονται οι απώλειες σε αιθανόλη και να διατηρείται η αρχική μοριακή αναλογία αιθανόλη/γαλακτικού οξέος στο 3/1, όπως ορίστηκε προηγουμένως.

Έγιναν 6 δοκιμές παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα. (3 στην διάταξη που παρουσιάζεται στο Σχήμα 8-6 και 3 στο Rottary)



Σχήμα 8-6. Διάταξη πλάγιας απόσταξης για παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα.



Σχήμα 8-7. Διάταξη Rottary.

Οι συνθήκες των δοκιμών παρουσιάζονται παρακάτω.

Πίνακας 8-5. Συνθήκες πειραμάτων παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα, που πραγματοποιήθηκαν στην πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης.

Δοκιμές	Συγκέντρωση Γαλακτικού Οξέος (g/L)	Όγκος Γαλακτικού Οξέος (ml)	Όγκος Βιοαιθανόλης 98% v/v (ml)	Wcat	Θερμοκρασία (°C)
1	161.45	30	7.7	0.1	90
2	95	40	7.4	0.1	95
3	147.25	15	4.2	0.3	95

Πίνακας 8-6. Συνθήκες πειραμάτων παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα που πραγματοποιήθηκαν στην συσκευή Rotttary.

Δοκιμές	Συγκέντρωση Γαλακτικού Οξέος (g/L)	Όγκος Γαλακτικού Οξέος (ml)	Όγκος Βιοαιθανόλης 98% v/v (ml)	Wcat	Θερμοκρασία (°C)	Πίεση (mbar)
1	105	25	5	0.3	75	450
2	143	25	6.8	0.3	75	450
3	225	17	7.4	0.3	75	450

9 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΠΡΩΤΗΣ ΥΛΗΣ.

Η αρχική τροφοδοσία, δηλαδή η πρώτη ύλη, που χρησιμοποιείται για την παραγωγή γαλακτικού οξέος, αποτελεί απόβλητο βιομηχανίας βρεφικών τροφών, το οποίο προέκυψε από τους διάφορους καθαρισμούς που πραγματοποιήθηκαν στην γραμμή παραγωγής της βιομηχανίας, με αναγραφόμενες τις παρακάτω περιεκτικότητες.

Πίνακας 9-1. Αναγραφόμενες περιεκτικότητες αποβλήτου βιομηχανίας παραγωγής βρεφικών τροφών.

Χαρακτηρισμός	Τιμή (%)
Υδατάνθρακες (Carbohydrates)	66.67 ± 10.02
Σάκχαρα (Sugars)	30.33 ± 11.02
Εδώδιμες Ίνες (Dietary fibers)	5.13 ± 3.09
Έλαια (Oils)	9.03 ± 3.41
Πρωτεΐνες (Proteins)	15.00 ± 2.65
Άλλα	1.16 ± 0.13

Εφαρμόζοντας και τις πειραματικές μεθόδους ανάλυσης προκύπτουν τα αποτελέσματα του παρακάτω πίνακα (Πίνακας 9-2) για τη σύσταση του αποβλήτου.

Πίνακας 9-2. Χαρακτηρισμός αποβλήτου βιομηχανίας παραγωγής βρεφικών τροφών.

Χαρακτηρισμός	Τιμή (%)
Ολικά Στερεά (TS)	99.87±0.16
Υγρασία (Moisture)	0.13±0.01
Πτητικά Στερεά (VS)	96.5±0.12
Τέφρα (ASH)	3.5±0.12
Υδατοδιαλυτά (WS)	41.81±0.35
Ελεύθερη γλυκόζη (Free Sugars)	1.66±0.1
Άμυλο (Starch)	37±2.26
Έλαια (Oils)	2.5±0.43
Άζωτο (TN)	2.83±0.1
Μη διαλυτό σε οξύ υπόλειμμα	5.68±0.45

Όπως παρατηρείται, τα πειραματικά αποτελέσματα χαρακτηρισμού της πρώτης ύλης δεν αποκλίνουν πολύ από τις θεωρητικές μετρήσεις που αναγράφονται στα προϊόντα βιομηχανίας παραγωγής διάφορων βρεφικών τροφών.

9.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.

9.2.1 Αποτελέσματα επίδρασης ενζύμου λακτάσης.

Συνοψίζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων με διαφορετική ποσότητα ενζύμου λακτάσης.

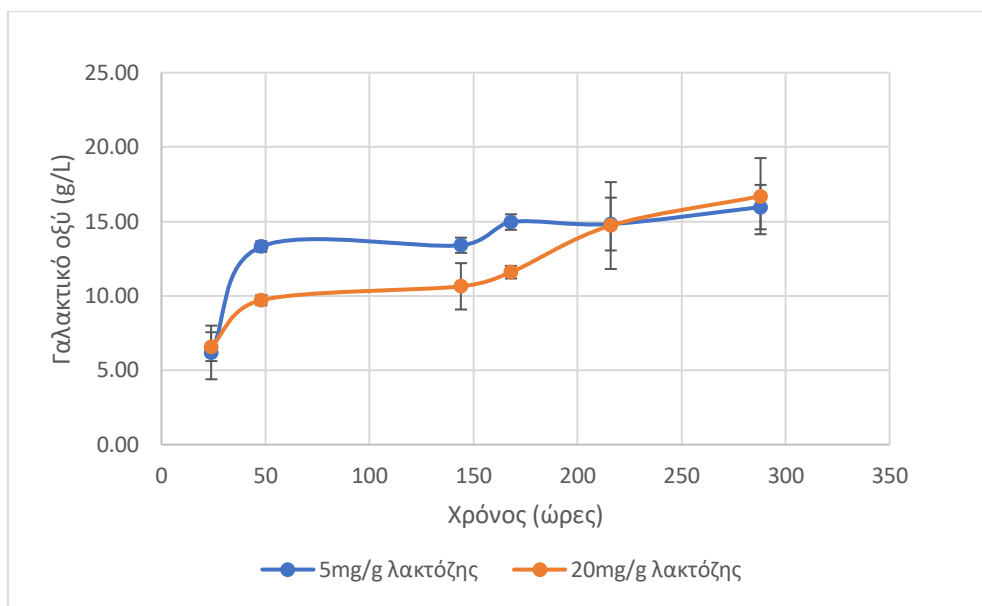
Πίνακας 9-3. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 5mg λακτάσης /g λακτόζης.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	32.5 ± 6.3	6.2 ± 1.8	7.4 ± 0.9	3.4 ± 0.7	10.1 ± 1.5	1.0 ± 0.0
48	0.3 ± 0.0	13.3 ± 0.4	27.1 ± 2.4	3.6 ± 0.2	8.5 ± 0.9	0.6 ± 0.0
144	0.0 ± 0.0	13.4 ± 0.5	19.8 ± 5.0	3.3 ± 0.6	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.1
168	4.4 ± 1.3	15.0 ± 0.5	20.0 ± 6.0	7.0 ± 2.3	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.0
216	0.5 ± 0.0	14.8 ± 1.8	18.2 ± 0.2	6.3 ± 2.3	1.4 ± 0.5	1.1 ± 0.3
288	3.5 ± 0.9	16.0 ± 1.5	19.2 ± 1.8	4.0 ± 2.9	0.3 ± 0.0	1.5 ± 0.2

Πίνακας 9-4. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 20mg λακτάσης/g λακτόζης.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	33.6 ± 6.0	6.6 ± 1.0	3.6 ± 0.3	1.7 ± 0.2	10.1 ± 1.9	0.8 ± 0.2
48	0.7 ± 0.0	9.7 ± 0.3	26.1 ± 2.7	1.3 ± 0.5	8.8 ± 0.7	0.5 ± 0.1
144	0.7 ± 0.3	10.6 ± 1.6	24.2 ± 3.3	1.9 ± 1.1	1.1 ± 0.7	0.6 ± 0.1
168	0.4 ± 0.1	11.6 ± 0.4	17.5 ± 8.0	1.5 ± 1.0	1.6 ± 0.8	0.8 ± 0.3
216	0.2 ± 0.1	14.7 ± 2.3	27.2 ± 5.7	0.8 ± 0.1	1.4 ± 0.7	3.2 ± 2.3
288	0.7 ± 0.4	16.7 ± 2.6	23.1 ± 1.7	1.0 ± 0.4	0.9 ± 0.1	1.5 ± 0.2

Από τους παραπάνω πίνακες προκύπτει το Σχήμα 9-1.



Σχήμα 9-1. Επίδραση ενζύμου λακτάσης στην παραγωγή γαλακτικού οξέος.

Η αλλαγή του φορτίου του ενζύμου της λακτάσης στο διάλυμα, σε βάθος χρόνου, δεν επηρεάζει την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Ωστόσο, παρατηρείται μία καθυστέρηση στο ρυθμό παραγωγής με μεγαλύτερο φορτίο ενζύμου. Με 5mg/g λακτόζης επιτυγχάνεται μεγάλη απόδοση παραγωγής σε λιγότερο χρόνο. Επομένως, το μικρότερο φορτίο ενζύμου λακτάσης κρίνεται καταλληλότερο για την παραγωγή γαλακτικού οξέος καθώς επιτυγχάνει την μεγαλύτερη παραγωγικότητα (15g/L σε 168 ώρες). Οι μέγιστες αποδόσεις του κάθε πειράματος, καθώς και ο χρόνος στον οποίο επιτυγχάνονται παρουσιάζονται στον Πίνακα 9-5.

Πίνακας 9-5. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης ενζύμου λακτάσης.

Πείραμα	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
5mg/g λακτόζης	168	48
10mg/g λακτόζης	288	51

9.2.2 Αποτελέσματα επίδρασης χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα αντίδρασης.

Συνοψίζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων με διαφορετικό χρόνο καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα αντίδρασης. Δηλαδή ο χρόνος καλλιέργειας του διαλύματος MRS/προβιοτικά.

Πίνακας 9-6. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 24h καλλιέργεια μικροοργανισμών.

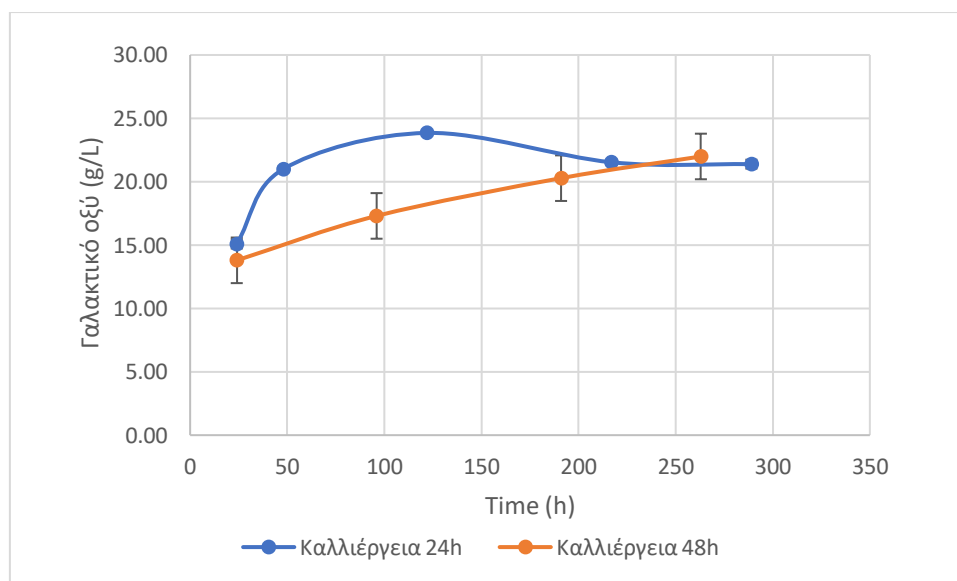
Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	48.25±0.24	15.10±0.37	0.19±0.27	20.57±0.2	9.03±0.5	0.35±0.05

48	29.92±0.34	21.00±0.18	7.99±0.91	19.07±0.2	5.09±0.00	0.68±0.16
122	0.00±0.00	23.85±0.17	8.80±12.45	19.70±0.1	1.36±0.00	0.40±0.01
217	0.40±0.08	21.53±0.20	16.10±1.16	14.66±0.9	1.97±0.14	0.54±0.02
289	0.02±0.06	21.39±0.35	15.08±2.21	16.09±0.5	0.53±0.00	0.38±0.04

Πίνακας 9-7. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 48h καλλιέργεια μικροοργανισμών.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	13.80±0.21	13.80±0.21	8.41±1.68	20.57±0.15	2.34±0.37	0.43±0.09
96	17.30±0.81	17.30±0.81	14.70±0.66	16.50±0.07	0.60±0.00	0.49±0.01
191	20.28±0.08	20.28±0.08	17.72±0.35	18.06±0.47	0.61±0.02	0.57±0.03
263	21.99±0.78	21.99±0.78	18.49±0.87	19.35±0.56	0.77±0.01	0.60±0.04

Από τους παραπάνω πίνακες προκύπτει το Σχήμα 9-2.



Σχήμα 9-2. Επίδραση χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα αντίδρασης.

Ο διαφορετικός χρόνος καλλιέργειας των μικροοργανισμών, σε βάθος χρόνου, επιφέρει το ίδιο αποτέλεσμα στην παραγωγή του γαλακτικού οξέος, δηλαδή παρατηρείται τελικώς η ίδια συγκέντρωση. Ωστόσο, στην καλλιέργεια των 48 ωρών παρατηρείται μικρότερος ρυθμός παραγωγής, καθώς φτάνει στη μέγιστη συγκέντρωση σε μεγαλύτερο χρόνο σε σχέση με την καλλιέργεια των 24 ωρών. Επομένως, η καλλιέργεια μικροοργανισμών 24 ωρών κρίνεται καταλληλότερη για την βέλτιστη παραγωγή γαλακτικού οξέος, η οποία ωφελεί και ολόκληρη την διεργασία καθώς πραγματοποιείται σε μικρότερο συνολικό χρόνο. Οι μέγιστες

αποδόσεις κάθε πειράματος καθώς και οι χρόνοι, στους οποίους επιτυγχάνονται παρουσιάζονται στον Πίνακας 9-8.

Πίνακας 9-8. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης χρόνου καλλιέργειας μικροοργανισμών πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα.

Πείραμα	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
Καλλιέργεια 24 ωρών	122	88
Καλλιέργεια 48 ωρών	263	74

Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως οι υψηλότερες αποδόσεις αυτών των δύο πειραμάτων είναι πιθανό να οφείλονται στον μεγαλύτερο όγκο διαλύματος στο οποίο πραγματοποιήθηκε το πείραμα (400ml αντί για 200ml).

9.2.3 Επίδραση φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum size).

Συνοψίζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων με διαφορετικό φορτίο μικροοργανισμών μέσα στο διάλυμα αντίδρασης.

Πίνακας 9-9. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών.

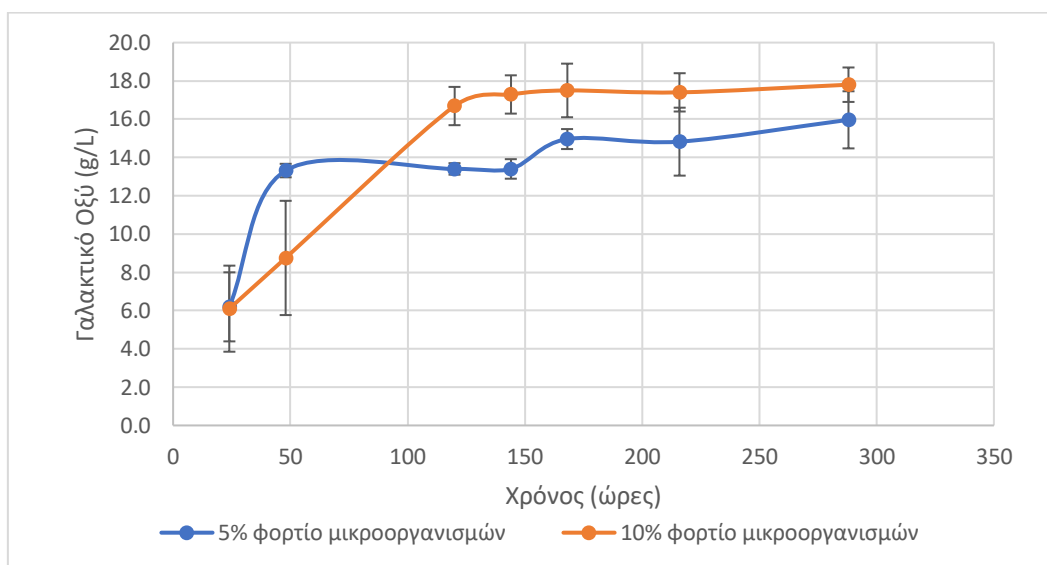
Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	32.5 ± 6.3	6.2 ± 1.8	7.4 ± 0.9	3.4 ± 0.7	10.1 ± 1.5	1.0 ± 0.0
48	0.3 ± 0.0	13.3 ± 0.4	27.1 ± 2.4	3.6 ± 0.2	8.5 ± 0.9	0.6 ± 0.0
144	0.0 ± 0.0	13.4 ± 0.5	19.8 ± 5.0	3.3 ± 0.6	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.1
168	4.4 ± 1.3	15.0 ± 0.5	20.0 ± 6.0	7.0 ± 2.3	0.7 ± 0.2	0.4 ± 0.0
216	0.5 ± 0.0	14.8 ± 1.8	18.2 ± 0.2	6.3 ± 2.3	1.4 ± 0.5	1.1 ± 0.3
288	3.5 ± 0.9	16.0 ± 1.5	19.2 ± 1.8	4.0 ± 2.9	0.3 ± 0.0	1.5 ± 0.2

Πίνακας 9-10. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	15.0 ± 4.5	6.1 ± 2.0	9.8 ± 3.7	15.2 ± 3.0	1.8 ± 0.3	1.6 ± 0.8
48	2.2 ± 0.5	8.8 ± 3.0	15.0 ± 4.0	14.0 ± 3.2	2.0 ± 0.7	1.9 ± 0.8
120	0.1 ± 0.0	16.7 ± 1.0	18.6 ± 1.5	13.9 ± 4.0	1.5 ± 1.0	2.3 ± 0.1

144	0.1 ± 0.0	17.3 ± 1.0	17.4 ± 3.2	16.6 ± 3.5	0.7 ± 0.1	2.1 ± 0.3
168	0.08±0.0	17.5 ± 1.4	17.5±1.3	16.4±2.1	0.6±0.0	2.3±0.2
216	0.04±0.1	17.4 ± 1.0	16.9±1.5	16.4±1.3	0.6±0.1	1.9±0.1
288	0.05±0.0	17.8 ± 0.9	17.3±0.5	16.1±0.3	0.8±0.2	2.2±0.2

Από τους παραπάνω πίνακες προκύπτει το Σχήμα 9-3.



Σχήμα 9-3. Επίδραση φορτίου μικροοργανισμών (inoculum) στην παραγωγή γαλακτικού οξέος.

Το φορτίο των μικροοργανισμών επηρεάζει αισθητά την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Με την αύξηση του φορτίου, γίνεται αντιληπτό ότι αυξάνεται η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος, με μέγιστη τιμή 17.8g/L σε διάρκεια 288h. Οι μέγιστες αποδόσεις του κάθε πειράματος καθώς και ο χρόνος, στον οποίο επιτυγχάνονται παρουσιάζονται στον Πίνακα 9-11.

Πίνακας 9-11. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης του φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (inoculum size)

Πείραμα	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
5% v/v φορτίο μικροοργανισμών	168	47
10% v/v φορτίο μικροοργανισμών	144	56

9.2.4 Αποτελέσματα επίδρασης επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών.

Συνοψίζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων παραγωγής γαλακτικού οξέος με επανακαλλιέργεια μικροοργανισμών με 10% v/v φορτίο πριν την προσθήκη τους στο διάλυμα της αντίδρασης.

Πίνακας 9-12. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος χωρίς επανακαλλιέργεια με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	14.98±0.45	6.10±0.22	9.78±0.37	15.18±0.74	1.85±0.3	1.61±0.75
48	2.23±0.21	8.75±0.30	14.98±0.57	13.99±0.75	1.98±0.5	1.95±0.76
120	0.08±0.06	16.69±0.84	18.59±0.15	13.93±0.45	1.53±0.1	2.27±0.14
144	0.07±0.09	17.29±0.25	17.37±0.33	16.64±0.60	0.65±0.3	2.13±0.33

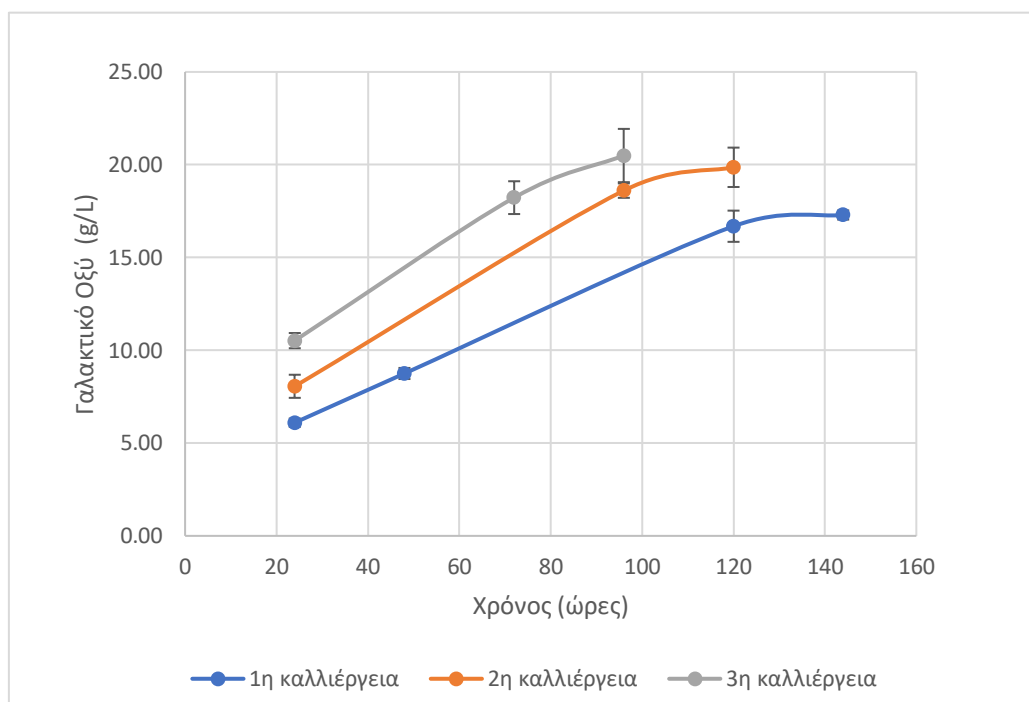
Πίνακας 9-13. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με έναν κύκλο επανακαλλιέργειας με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	31.43±0.79	8.06±0.62	9.44±0.25	14.22±0.13	4.63±0.62	1.69±0.16
96	0.06±0.04	18.61±0.39	21.65±0.78	12.33±0.39	2.60±0.17	2.37±0.01
120	0.02±0.03	19.86±1.06	19.52±0.95	13.29±1.87	1.37±0.58	2.39±0.07

Πίνακας 9-14. Αποτελέσματα πειράματος παραγωγής γαλακτικού οξέος με 2 κύκλους επανακαλλιέργειας με 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών.

Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
24	45.26±0.55	10.52±0.41	7.21±0.32	3.85±0.19	10.38±0.25	1.27±0.09
72	0.88±0.80	18.23±0.88	16.84±1.21	20.79±2.13	0.78±0.50	2.07±0.13
96	0.09±0.13	20.50±1.44	19.32±0.54	17.65±1.80	1.98±0.06	2.30±0.10

Από τους παραπάνω πίνακες προκύπτει το Σχήμα 9-4.



Σχήμα 9-4. Επίδραση επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών με 10% v/v φορτίο στο διάλυμα πειράματος.

Η επανακαλλιέργεια των μικροοργανισμών με ενισχυμένο φορτίο 10%v/v , είναι αντιληπτό πως επηρεάζει την παραγωγή του γαλακτικού οξέος. Ειδικότερα, ο πρώτος με τον δεύτερο κύκλο καλλιέργειας φαίνεται πως παρουσιάζει διαφορά στην τελική και μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος, 17.29g/L και 19.86g/L αντίστοιχα. Επίπρόσθετα, ο δεύτερος με τον τρίτο κύκλο καλλιέργειας παρουσιάζουν διαφορά μόνο στον χρόνο στον οποίο επιτυγχάνεται η μέγιστη συγκέντρωση (19.86g/L και 20.50 g/L αντίστοιχα). Μπορεί ο τρίτος κύκλος να φαίνεται πως επιτυγχάνει την μέγιστη συγκέντρωση ταχύτερα, ωστόσο ο συνολικός χρόνος του πειράματος είναι ακριβώς ο ίδιος. (απαιτεί μια μέρα περισσότερη για επανακαλλιέργεια). Συνεπώς, η επανακαλλιέργεια των μικροοργανισμών σε δύο κύκλους κρίνεται η καταλληλότερη για την βέλτιστη παραγωγή γαλακτικού οξέος. Οι μέγιστες αποδόσεις κάθε πειράματος καθώς και οι χρόνοι στους οποίους επιτυγχάνονται παρουσιάζονται στον Πίνακα 9-15.

Πίνακας 9-15. Μέγιστες αποδόσεις πειραμάτων επίδρασης επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών.

Πείραμα	Συνολικός χρόνος διεργασίας (ώρες)	Χρόνος πειράματος (ώρες)	Απόδοση (%)
1 ^η καλλιέργεια	168	144	54%
2 ^η καλλιέργεια		120	64%
3 ^η καλλιέργεια		96	66%

9.2.5 Επαναλαμβανόμενη ζύμωση.

9.2.5.1 Αποτελέσματα επαναλαμβανόμενης ζύμωσης.

Συνοψίζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων της επαναλαμβανόμενης ζύμωσης για τις 5 δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν συνολικά (Πίνακας 9-16-Πίνακας 9-20). Κάθε δοκιμή διαφέρει από την άλλη είτε λόγω αριθμού κύκλων, είτε λόγω ποσότητας και συχνότητας προσθήκης ενζύμων.

Πίνακας 9-16. 1^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε κάθε κύκλο.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
1	24	32.48±0.63	6.2±0.18	7.36±0.91	3.4±0.67	10.11±1.47	0.96±0.04
	48	0.34±0.48	13.32±0.35	27.12±0.24	3.59±0.21	8.49±0.86	0.62±0.88
2	72	0.49±0.08	17.08±0.25	20.13±0.21	13.59±0.24	1.43±0.07	0.34±0.01
	96	0.36±0.21	20.18±0.22	25.72±0.17	11.54±0.39	2.22±0.36	0.42±0.00
3	24	16.85±0.40	11.31±0.08	11.17±1.10	12.44±0.92	1.94±0.37	0.46±0.01
	48	19.85±0.00	15.63±0.00	17.12±0.00	17.34±0.00	0.76±0.00	0.39±0.00
	72	21.85±0.06	16.36±1.60	19.47±0.00	11.39±1.22	0.88±0.21	0.80±0.11

Πίνακας 9-17. 2^η δοκιμή ,5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων μόνο στον 1^ο κύκλο.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
1	24	32.48±0.63	6.2±0.18	7.36±0.91	3.4±0.67	10.11±1.47	0.96±0.04
	48	0.34±0.48	13.32±0.35	27.12±0.24	3.59±0.21	8.49±0.86	0.62±0.88
2	72	0.53±0.01	17.53±0.23	18.65±0.19	14.07±0.19	0.82±0.33	0.87±0.01
	96	0.59±0.01	20.24±0.34	26.21±0.30	14.14±0.37	0.79±0.21	0.96±0.00
3	24	21.38±0.57	12.14±0.18	9.09±0.09	25.12±0.47	8.34±0.42	0.07±0.09
	48	1.64±0.49	20.16±0.12	16.09±0.16	25.80±0.20	0.93±0.02	0.93±0.77

	72	3.15±0.25	19.09±0.38	14.50±0.26	21.05±0.38	0.12±0.01	0.45±0.17
4	72	13.34±0.16	17.98±0.08	6.79±0.22	11.48±0.26	5.45±0.64	0.71±0.08
5	24	0.22±0.00	10.17±0.22	3.78±0.95	13.28±0.27	0.12±0.01	0.61±0.14
	48	0.33±0.01	15.79±0.56	6.15±0.18	5.75±0.49	0.21±0.00	0.81±0.03

Πίνακας 9-18. 3^η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων στον 1^ο και 2^ο κύκλο.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
1	24	32.48±0.63	6.2±0.18	7.36±0.91	3.4±0.67	10.11±1.47	0.96±0.04
	48	0.34±0.48	13.32±0.35	27.12±0.24	3.59±0.21	8.49±0.86	0.62±0.88
2	72	0.49±0.08	17.08±0.25	20.13±0.21	13.59±0.24	1.43±0.07	0.41±0.02
	96	0.36±0.21	20.18±0.22	25.72±0.17	11.54±0.39	2.22±0.36	0.42±0.00
3	24	23.01±0.61	11.92±0.62	10.84±0.73	23.05±0.51	1.67±0.36	0.12±0.16
	48	1.92±0.74	19.54±1.09	21.25±2.02	23.71±0.27	0.87±0.43	0.39±0.04
	72	0.43±0.11	17.50±1.53	18.67±0.83	17.38±0.13	0.34±0.21	0.52±0.05
4	72	7.20±0.00	20.03±0.41	15.92±0.37	16.04±0.20	0.33±0.13	1.08±0.05
5	24	0.44±0.00	23.09±0.00	3.37±0.00	19.85±0.00	1.55±0.01	1.13±0.00
	48	0.34±0.00	15.69±0.00	5.85±0.00	9.12±0.00	0.23±0.04	0.96±0.00

Πίνακας 9-19. 4^η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε όλους τους κύκλους.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
1	72	11.7±0.48	20.64±0.22	14.25±0.00	0.76±0.02	10.25±0.35	0.95±0.00
2	72	1.33±0.18	19.79±1.9	17.97±0.24	22.59±1.94	1.37±0.00	0.79±0.00

3	48	7.53±0.00	16.57±1.59	16.13±0.00	25.32±0.41	12.05±0.00	0.62±0.00
4	24	18.13±1.2	12.08±0.59	9.32±1.24	23.63±0.18	2.37±0.26	0.37±0.01
5	24	5.92±1.31	16.01±0.13	14.34±0.74	21.14±0.34	1.37±0.21	0.58±0.00

Πίνακας 9-20. 5η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων εναλλάξ.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Γλυκόζη (g/L)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Αιθανόλη (g/L)	Λακτόζη (g/L)	Γαλακτόζη (g/L)	Ακετικό οξύ (g/L)
1	72	30.70±0.28	17.15±0.12	5.54±0.2	3.26±0.59	9.42±0.05	0.84±0.00
2	72	0.56±0.14	20.95±0.00	10.86±0.00	19.48±0.37	0.38±0.00	0.67±0.00
3	48	6.72±0.6	19.96±0.14	11.19±0.24	24.61±1.46	1.95±0.04	0.59±0.00
4	24	11.23±0.60	18.58±0.29	14.91±0.23	27.50±0.34	1.37±0.09	0.40±0.01
4	48	0.71±0.00	24.82±2.62	18.39±0.17	28.47±2.60	0.50±0.01	0.55±0.00
5	24	5.36±0.00	21.35±0.28	19.08±0.00	29.67±0.17	1.91±0.81	0.89±0.00

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, παρατηρείται ότι με την επαναλαμβανόμενη ζύμωση επιτυγχάνεται ταχύτερη παραγωγή γαλακτικού οξέος με το πέρας των κύκλων. Ειδικότερα, όσο προχωρούν οι κύκλοι, απαιτείται όλο και λιγότερος χρόνος για την πλήρη κατανάλωση της γλυκόζης, αρά και για την παραγωγή γαλακτικού οξέος.

Για παράδειγμα, κατά την 3^η δοκιμή (προσθήκη ενζύμων στον 1^ο και 2^ο κύκλο), ο 4^{ος} κύκλος απαιτεί 72 ώρες για την πλήρη κατανάλωση της γλυκόζης, ενώ ο 5^{ος} μόλις 24 ώρες. Αυτό μπορεί να αιτιολογηθεί καθώς κάθε νέος κύκλος ζύμωσης περιέχει ενισχυμένο φορτίο μικροοργανισμών από το προηγούμενο διάλυμα αντίδρασης.

Για την καλύτερη εκτίμηση της διεργασίας, συνοψίζονται παρακάτω οι αποδόσεις και η παραγωγικότητα κάθε κύκλου για κάθε δοκιμή ξεχωριστά. (Πίνακας 9-21-Πίνακας 9-25, Σχήμα 9-5).

9.2.5.2 Απόδοση και παραγωγικότητα επαναλαμβανόμενης ζύμωσης.

Κρίθηκε πολύ σημαντική η καταγραφή της απόδοσης του πειράματος της επαναλαμβανόμενης ζύμωσης και πώς μεταβάλλεται με τον χρόνο καθώς αυτά τα αποτελέσματα βοηθούν στην εύρεση του βέλτιστου τρόπου πραγματοποίησης της διεργασίας.

Πίνακας 9-21. Υπολογισμός απόδοσης 1η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε κάθε κύκλο.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
1	24	22

	48	47
2	72	60
	96	71
3	24	40
	48	55
	72	58

Πίνακας 9-22. Υπολογισμός απόδοσης 2^η δοκιμή ,5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων μόνο στον 1^ο κύκλο.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
1	24	22
	48	47
2	72	62
	96	71
3	24	43
	48	71
	72	67
4	72	63
5	24	81
	48	56

Πίνακας 9-23. . Υπολογισμός απόδοσης 3η δοκιμή, 5% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων στον 1ο και 2ο κύκλο.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
1	24	22
	48	47
2	72	60
	96	71
3	24	42
	48	69
	72	62
4	72	71
5	24	36
	48	56

Συγκρίνονται οι τρεις πρώτες δοκιμές, οι οποίες ταυτίζονται στο φορτίο των μικροοργανισμών και στη διάρκεια κάθε κύκλου ζύμωσης, ενώ διαφέρουν στον τρόπο προσθήκης των ενζύμων.

Είναι αντιληπτό πως η συνεχόμενη προσθήκη ενζύμων (1^η δοκιμή), μπορεί να βοηθήσει στους πρώτους κύκλους, ωστόσο στη συνέχεια φαίνεται πως παρεμποδίζει την κατανάλωση γλυκόζης και την παραγωγή γαλακτικού. Η μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος που παράγεται 20.18g/L, επιτυγχάνεται κατά τον 2^ο κύκλο στις 96 ώρες.

Επιπρόσθετα, η ελάχιστη ποσότητα ενζύμων (2^η δοκιμή), παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα ωστόσο κατά τον πέμπτο κύκλο παρατηρήθηκε δυσκολία κατά την διήθηση του διαλύματος και η αποδόμηση του στερεού ήταν μειωμένη. Η μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού που παράγεται 20.16 g/L, επιτυγχάνεται κατά τον 3^ο κύκλο στις 48 ώρες, παρόμοια με τον 2^ο κύκλο στις 96 ώρες.

Τέλος, η προσθήκη ενζύμων στον 1^ο και 2^ο κύκλο (3^η δοκιμή), φαίνεται η καταλληλότερη επιλογή από τις τρεις δοκιμές καθώς επιτυγχάνονται μεγαλύτερες αποδόσεις από την 2^η περίπτωση και η αποδόμηση του στερεού παραμένει υψηλή σε όλους τους κύκλους, χωρίς να δημιουργεί προβλήματα κατά την διήθηση του διαλύματος. Η μέγιστη συγκέντρωση

γαλακτικού που παράγεται 23.09 g/L, επιτυγχάνεται κατά τον 5^ο κύκλο στις 24 ώρες, δηλαδή σε πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα.

Πίνακας 9-24. . Υπολογισμός απόδοσης 4η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων σε όλους τους κύκλους.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
1	72	73
2	72	70
3	48	58
4	24	43
5	24	56

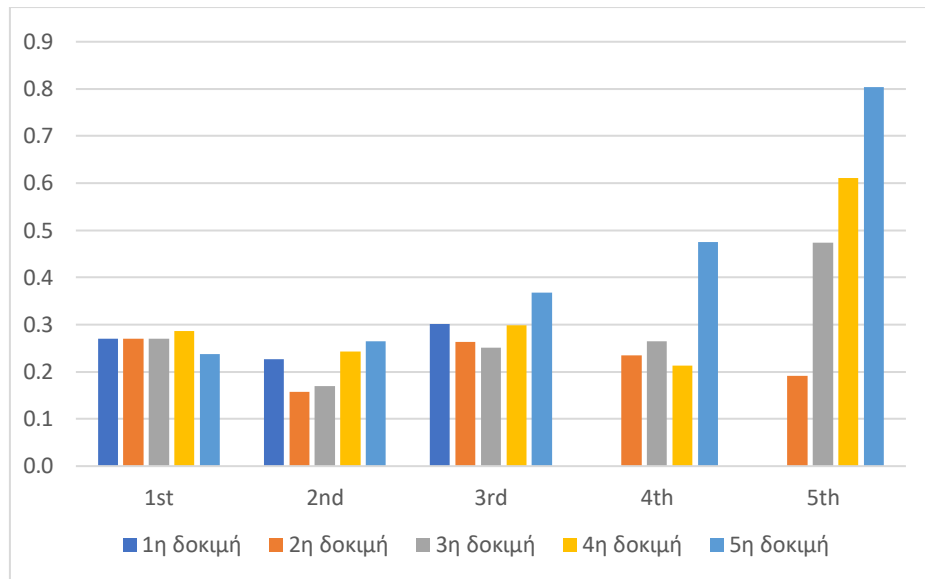
Πίνακας 9-25. . Υπολογισμός απόδοσης 5η δοκιμή, 10% v/v φορτίο μικροοργανισμών και προσθήκη ενζύμων εναλλάξ.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Απόδοση (%)
1	72	60
2	72	74
3	48	70
4	24	65
	48	87
5	24	75

Μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν η 4^η και η 5^η δοκιμή, με μεγαλύτερο φορτίο μικροοργανισμών, 10% v/v, όμοιους κύκλους και διαφορετική συχνότητα προσθήκης ενζύμων.

Είναι εμφανές πως η προσθήκη ενζύμων εναλλάξ σε κάθε κύκλο συμβάλει σε μεγάλο βαθμό στην παραγωγή γαλακτικού οξέος αυξάνοντας ιδιαίτερα και την απόδοση αλλά και την παραγωγικότητα. Αντιθέτως, η συνεχόμενη προσθήκη ενζύμων, όμοια με την 1^η δοκιμή, φαίνεται να παρεμποδίζει την διεργασία, μειώνοντας αντίστοιχα και την παραγωγικότητα. Στην 5^η δοκιμή επιτυγχάνεται μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού 24.82g/L στον 4^ο κύκλο στις 48 ώρες, σε σύγκριση με την μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού στην 4^η δοκιμή που φτάνει τα 20.64 g/L στον 1^ο κύκλο στις 72 ώρες.

Επιπρόσθετα, σημαντική κρίθηκε η μελέτη της μεταβολής της παραγωγικότητας στο πείραμα της επαναλαμβανόμενης ζύμωσης. Στο Σχήμα 9-5 παρουσιάζονται οι τιμές του γαλακτικού οξέος για το τέλος κάθε κύκλου και όχι ενδιάμεσα.



Σχήμα 9-5. Μεταβολή παραγωγικότητας στα πειράματα επαναλαμβανόμενης ζύμωσης.

Όπως σχολιάστηκε και παραπάνω, η διεργασία επαναλαμβανόμενης ζύμωσης με 10% φορτίο μικροοργανισμών και εναλλάξ προσθήκη ενζύμων φαίνεται να είναι η βέλτιστη επιλογή για παραγωγή γαλακτικού οξέος καθώς επιτυγχάνονται και μέγιστες αποδόσεις και μέγιστη παραγωγικότητα, η οποία παρουσιάζει σταδιακή αύξηση με το πέρασμα των κύκλων. Είναι σημαντικό να επισημανθεί πως ο 4^{ος} κύκλος πρέπει να διαρκεί τουλάχιστον 48 ώρες, καθώς παρουσιάζεται μεγάλη διαφορά στην απόδοση του πειράματος σε σχέση με τις 24h.

9.2.5.3 Αποδόμηση αμύλου στην επαναλαμβανόμενη ζύμωση.

Πραγματοποιήθηκε και έλεγχος της αποδόμησης του αμύλου στο πέρας της 5^{ης} δοκιμής σε όλους τους κύκλους και τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 9-26.

Πίνακας 9-26. Αποδόμηση αμύλου στο πέρας των κύκλων της 5^{ης} δοκιμής.

Κύκλος	Χρόνος (ώρες)	Αποδόμηση αμύλου (%)
1	72h	98.98
2	72h	99.47
3	48h	99.61
4	48h	99.58
5	24h	99.50

Από τα αποτελέσματα, συμπεραίνεται ότι η προσθήκη ενζύμων δεν επηρεάζει την αποδόμηση του αμύλου, η οποία παραμένει σταθερή σε όλους τους κύκλους. Η τιμή της είναι υψηλή καθώς η πρώτη ύλη αποτελείται κυρίως από σάκχαρα τα οποία είναι υδατοδιαλυτά και ακόμα και η μικρή προσθήκη ενζύμων προκαλεί την πλήρη αποδόμηση του αμύλου.

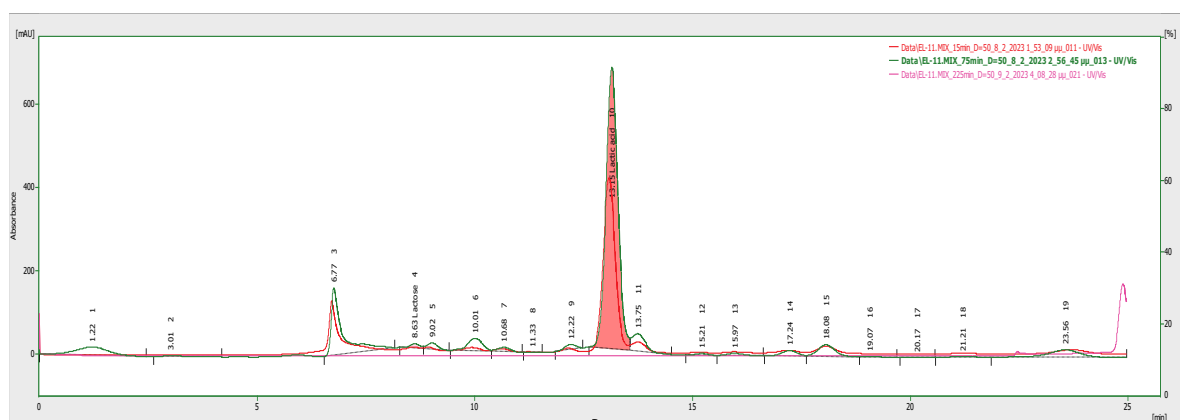
9.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ.

Όπως αναφέρθηκε στο πειραματικό πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκαν 6 δοκιμές παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα με διαφορετικές συνθήκες και διατάξεις. Συνοψίζονται οι τιμές

συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος καθώς και η μετατροπή του κατά την διάρκεια της εστεροποίησης.

Πίνακας 9-27. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.1** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **161.45 g/L**.

Χρόνος (λεπτά)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Μετατροπή γαλακτικού οξέος
15	66.79475	0%
45	227.82125	-241%
75	104.0866	-56%
135	83.3564	-25%
195	105.75335	-58%
255	116.06245	-74%

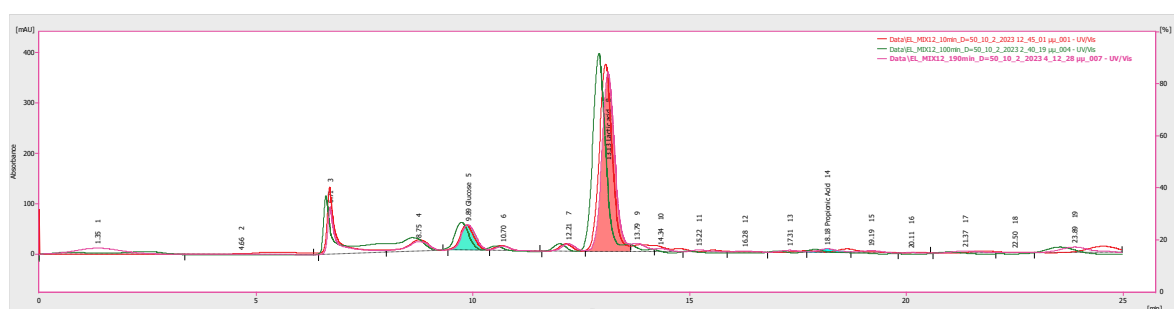


Σχήμα 9-6. . Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 15min, 75min, 225min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.1** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **161.45 g/L**.

Πίνακας 9-28. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.1** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **95g/L**.

Χρόνος (λεπτά)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Μετατροπή γαλακτικού οξέος
10	64.7613	0%

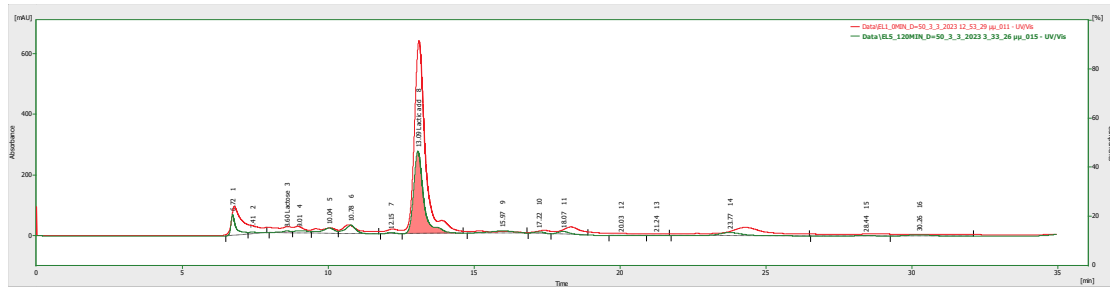
40	63.4508	2%
70	69.17595	-7%
100	61.4339	5%
130	94.26105	-46%
160	73.31325	-13%
190	117.20515	-81%



Σχήμα 9-7. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 10min, 100min, 190min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.1** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **95g/L**.

Πίνακας 9-29. . Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **147.25 g/L**.

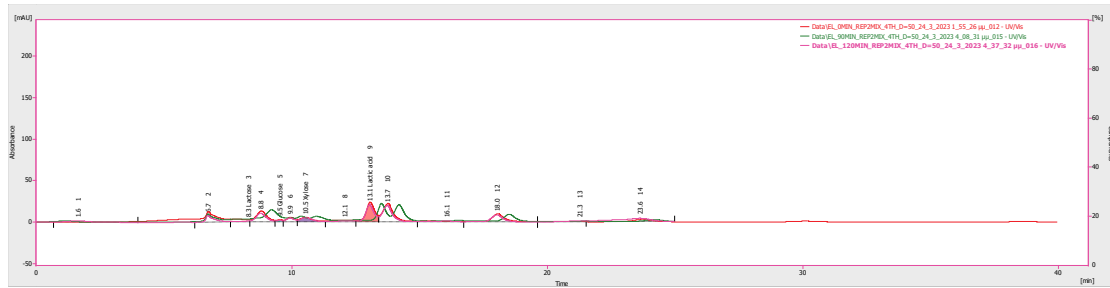
Χρόνος (λεπτά)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Μετατροπή γαλακτικού οξέος
0	114.56475	0%
30	71.89975	37%
60	57.06525	50%
90	53.7622	53%
120	45.7239	60%



Σχήμα 9-8. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη πειραματική διάταξη με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **147.25 g/L**.

Πίνακας 9-30. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **105.25 g/L**.

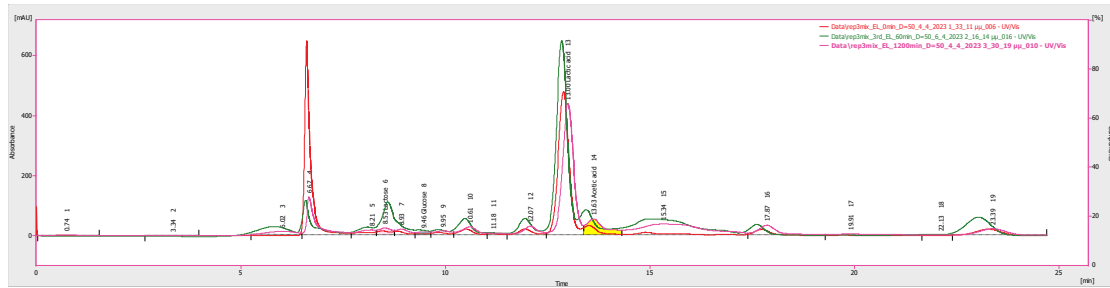
Χρόνος (λεπτά)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Μετατροπή γαλακτικού οξέος
0	78.47455	0%
30	81.73855	-4%
60	78.3523	0%
90	81.9236	-4%
120	77.8554	1%
150	68.8283	12%



Σχήμα 9-9. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 90min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **105.25 g/L**.

Πίνακας 9-31. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **143.55 g/L**.

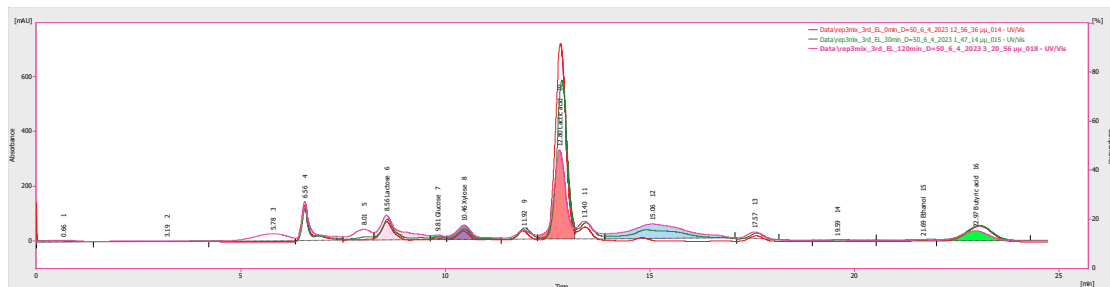
Χρόνος (λεπτά)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Μετατροπή γαλακτικού οξέος
0	87.91805	0%
30	81.7955	7%
60	86.95645	1%
90	91.85125	-4%
120	81.0774	8%
180	82.80085	6%



Σχήμα 9-10. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 60min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **143.55 g/L**.

Πίνακας 9-32. Συγκέντρωση και μετατροπή γαλακτικού οξέος σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **224.9 g/L**.

Χρόνος (λεπτά)	Γαλακτικό οξύ (g/L)	Μετατροπή γαλακτικού οξέος
0	132.305	0%
30	81.7955	10%
60	138.5703	-5%
90	110.86965	16%
120	84.90765	36%



Σχήμα 9-11. Χρωματογράφημα HPLC για την αντίδραση παραγωγής γαλακτικού αιθυλεστέρα στα 0min, 30min, 120min, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε στο Rottary με καταλύτη σε κλάσμα βάρους **wcat=0.3** και αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος **224.9 g/L**.

Όσον αφορά τα πειράματα που πραγματοποιούνται στην πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης, δεν υπάρχουν ικανοποιητικά αποτελέσματα αφού κανένα από αυτά δεν παρουσιάζει κορυφή του γαλακτικού αιθυλεστέρα στο χρωματογράφημα UV/Vis. Παρόλο που το πείραμα 3 έχει ικανοποιητική μετατροπή γαλακτικού οξέος (Πίνακας 9-29), δεν παρουσίασε κάποια κορυφή γαλακτικού αιθυλεστέρα στο χρωματογράφημα της HPLC UV/Vis. Κατά την πραγματοποίηση των πειραμάτων στην πειραματική διάταξη, υπάρχει πρόβλημα με τη ρύθμιση και σταθεροποίηση της θερμοκρασίας της αντίδρασης με

αποτέλεσμα είτε τον απότομο βρασμό, είτε την αδρανοποίηση του διαλύματος. Συμπεραίνεται ότι, η αντίδραση εστεροποίησης με βιοδιαλύτες απαιτεί μεγαλύτερο ποσοστό καταλύτη στο διάλυμα. Για το λόγο αυτό, στα πειράματα που πραγματοποιούνται στη διάταξη Rottary χρησιμοποιείται καταλύτης σε ποσοστό $w_{cat}=0.3$.

Όσον αφορά τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στη συσκευή Rottary, μόνο το πείραμα 6 παρουσιάζει και ικανοποιητική μετατροπή γαλακτικού οξέος (Πίνακας 9-32) και εμφανή κορυφή στο χρωματογράφημα της HPLC UV/Vis (Σχήμα 9-11). Η διαφορά με τα άλλα δύο παρόμοια πειράματα είναι η υψηλή αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος πριν της έναρξη της αντίδρασης (**224.9 g/L**).

Στο πείραμα 6, η πτώση του ποσοστού μετατροπής του γαλακτικού οξέος οφείλεται στη συμπύκνωση του γαλακτικού οξέος (δηλ. αφαίρεση αιθανόλης και νερού) πριν από την έναρξη της αντίδρασης. Αρχικά, αυξάνεται απότομα η συγκέντρωσή του και μόλις ξεκινά η εστεροποίηση, μειώνεται.

Γενικότερα, η παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα με χρήση βιοδιαλυτών παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες κυρίως λόγω της μορφής του γαλακτικού οξέος. Το φαρίν λακτέ αποτελεί μία πρώτη ύλη με πολλά σάκχαρα τα οποία κατά την αφαίρεση του νερού και της αιθανόλης στο Rottary (προεπεξεργασία γαλακτικού), θερμαίνονται και δημιουργούν ένα κολλώδες, παχύρευστο διάλυμα. Το διάλυμα αυτό, δεν είναι βοηθητικό για την αντίδραση με την αιθανόλη με προσθήκη καταλύτη προς παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα αφού με το πέρασ του χρόνου, το διάλυμα αντίδρασης γίνεται ακόμα πιο παχύρευστο και δυσλειτουργικό.

10 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

10.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η συγκεκριμένη διπλωματική εργασία μελέτησε σε βάθος την παραγωγή γαλακτικού οξέος και γαλακτικού αιθυλεστέρα από απόβλητα εργοστασίου παραγωγής βρεφικών τροφών, με πολύ σημαντικά αποτελέσματα. Ειδικότερα, αποδείχθηκε πως η παραγωγή γαλακτικού οξέος από οργανικά απόβλητα είναι τεχνικά εφικτή και έχει μεγάλες αποδόσεις επομένως το κρίσιμο σημείο πλέον είναι η ανάκτησή του. Ακόμα, η παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα, κρίνεται εφικτή ωστόσο χρήζει περαιτέρω ανάλυσης και πιθανότατα διαφορετικές διατάξεις ή πρώτες ύλες από αυτές που μελετήθηκαν σε αυτή την διπλωματική εργασία.

Επιπρόσθετα, κρίνεται σημαντικό να αναφερθεί πως η καλλιέργεια μικροοργανισμών είναι απαραίτητη διεργασία για την παραγωγή γαλακτικού οξέος καθώς και το θρεπτικό μέσο στο οποίο αναπτύσσονται. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκε ως θρεπτικό μέσο το MRS το οποίο παρασκευάστηκε δύο φορές κατά την διάρκεια εκπόνησης της εργασίας καθώς έχει μέγιστο χρόνο διατήρησης 90 ημέρες. Η επιλογή αυτού του μέσου, κρίνεται επιτυχής καθώς επέφερε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με προηγούμενες προσπάθειες καλλιέργειας γαλακτοβακίλλων.

Πιο αναλυτικά, τα συμπεράσματα για την παραγωγή των βιοδιαλυτών παρουσιάζονται παρακάτω.

10.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Για την παραγωγή γαλακτικού οξέος πραγματοποιήθηκαν πειράματα με σκοπό την βελτιστοποίηση της διαδικασίας ως προς την παραγόμενη συγκέντρωσή γαλακτικού και τον χρόνο παραγωγής του.

Πραγματοποιήθηκαν πειράματα, δοκιμάζοντας διαφορετικές παραμέτρους με σκοπό την εύρεση της βέλτιστης διαδικασίας, ωστόσο η ποσότητα του φορτίου, η θερμοκρασία, ο όγκος και ο ρυθμός ανάδευσης διατηρήθηκαν σταθερά:

- Διάλυμα με φορτίο 10% w/w ξηρού στερεού (σκόνη φαρίν λακτέ).
- Θερμοκρασία 37°C.
- 200ml διαλύματος αντίδρασης.
- Ρυθμός ανάδευσης 140 rpm.

Οι παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν οι εξής:

- **Επίδραση ενζύμου λακτάσης (9.2.1)** σε συγκεντρώσεις 5 και 20 μg/g λακτόζης με σταθερή ποσότητα αμυλάσης. Με την ολοκλήρωση της αντίδρασης, η διαφορετική ποσότητα λακτάσης επιφέρει τα ίδια αποτελέσματα συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος, ωστόσο στα πειράματα με 5 μg/g λακτόζη, παρατηρήθηκε μέγιστη παραγωγή (15g/L) σε μικρότερο χρονικό διάστημα (168h) με απόδοση 48%.
- **Επίδραση του χρόνου καλλιέργειας των μικροοργανισμών πριν από την προσθήκη τους στο διάλυμα (9.2.2).** Με την ολοκλήρωση της αντίδρασης, ο διαφορετικός χρόνος καλλιέργειας (24h και 48h) επιφέρει τα ίδια αποτελέσματα συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος, ωστόσο στα πειράματα των 48h, παρατηρήθηκε μέγιστη παραγωγή (23g/L) σε μικρότερο χρονικό διάστημα (122h) με απόδοση 88%.

- **Επίδραση του φορτίου διαλύματος μικροοργανισμών (9.2.3).** Πειράματα πραγματοποιήθηκαν με φορτίο 5% και 10% με αισθητή διαφορά στα πειράματα με μεγαλύτερο φορτίο. Ειδικότερα, επιτυγχάνεται μέγιστη συγκέντρωση 17,8g/L σε 144h με απόδοση 56%.
- **Επίδραση επανακαλλιέργειας μικροοργανισμών με 10% φορτίο (9.2.4).** Καταλληλότερες κρίθηκαν οι συνθήκες με 2 κύκλους επανακαλλιέργειας επιτυγχάνοντας μέγιστη συγκέντρωση 19,86g/L σε 120h με απόδοση 64% σε αντίθεση με την πραγματοποίηση ενός μόνο κύκλου όπου μέγιστη συγκέντρωση είναι 17,29g/L σε 144h.
- **Επαναλαμβανόμενη ζύμωση (9.2.5).** Παρατηρείται ότι με την επαναλαμβανόμενη ζύμωση επιτυγχάνεται ταχύτερη παραγωγή γαλακτικού οξέος με το πέρας των κύκλων. Ειδικότερα, όσο προχωρούν οι κύκλοι, απαιτείται όλο και λιγότερος χρόνος για την πλήρη κατανάλωση της γλυκόζης, αρά και για την παραγωγή γαλακτικού οξέος.

Μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν η 4^η και η 5^η δοκιμή, με μεγαλύτερο φορτίο μικροοργανισμών, 10% v/v, όμοιους κύκλους και διαφορετική συχνότητα προσθήκης ενζύμων.

Είναι εμφανές πως η προσθήκη ενζύμων εναλλάξ σε κάθε κύκλο συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στην παραγωγή γαλακτικού οξέος αυξάνοντας ιδιαίτερα και την απόδοση αλλά και την παραγωγικότητα. Αντιθέτως, η συνεχόμενη προσθήκη ενζύμων, όμοια με την 1^η δοκιμή, φαίνεται να παρεμποδίζει τη διεργασία, μειώνοντας αντίστοιχα και την παραγωγικότητα. Στην 5^η δοκιμή επιτυγχάνεται μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 24,82g/L στον 4^ο κύκλο στις 48 ώρες, σε σύγκριση με την μέγιστη συγκέντρωση γαλακτικού στην 4^η δοκιμή που φτάνει τα 20,64 g/L στον 1^ο κύκλο στις 72 ώρες.

10.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑ

Για την παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε δύο διαφορετικές διατάξεις μεταβάλλοντας τις ποσότητες του διαλύτη που προστίθεται αλλά κρατώντας σταθερή τη μοριακή αναλογία αιθανόλης και γαλακτικού οξέος ($n_{\text{EtOH}}/n_{\text{LA}} = 3/1$).

Όσον αφορά τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στην πειραματική διάταξη πλάγιας απόσταξης, δεν ελήφθησαν ικανοποιητικά αποτελέσματα αφού δεν παρατηρήθηκε παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα σύμφωνα με την ανάλυση της υγρής χρωματογραφίας με ανιχνευτή UV/Vis.

Όσον αφορά τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε περιστροφικό εξατμιστήρα, μόνο το πείραμα που πραγματοποιήθηκε στη συσκευή Rottary με ποσότητα καταλύτη $w_{\text{cat}}=0.3$ και αρχική συγκέντρωση 225 g/L L.A παρουσιάζει ικανοποιητική μετατροπή γαλακτικού οξέος (Πίνακας 9-32) και εμφανή κορυφή στο χρωματογράφημα της HPLC UV/Vis (Σχήμα 9-11). Η διαφορά με τα άλλα δύο παρόμοια πειράματα είναι η υψηλή αρχική συγκέντρωση γαλακτικού οξέος πριν της έναρξη της αντίδρασης (**224.9 g/L**).

Γενικότερα, η παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα με χρήση βιοδιαλυτών παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες κυρίως λόγω της μορφής του γαλακτικού οξέος.

11 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Όπως σχολιάστηκε και παραπάνω οι βιοδιαλύτες πρόκειται να αποτελέσουν το μέλλον στη βιομηχανία, επομένως η ενίσχυση της έρευνας σε αυτόν το τομέα κρίνεται απαραίτητη. Έγινε ολοκληρωμένη έρευνα στο κομμάτι της παραγωγής γαλακτικού οξέος από απόβλητα βρεφικών τροφών, ωστόσο η παραγωγή γαλακτικού αιθυλεστέρα σίγουρα χρήζει περαιτέρω εμβάθυνση. Με βάση την εμπειρία μου, είναι απαραίτητο να συνεχιστεί η έρευνα προς αυτή την κατεύθυνση με σκοπό την βελτιστοποίηση των διεργασιών και ίσως της σύνταξης ενός πειραματικού πρωτοκόλλου για την παραγωγή βιοδιαλυτών έτσι ώστε να δοκιμαστεί και να ξεκινήσει η εφαρμογή του και σε μεγαλύτερη κλίμακα.

Σημαντική θα ήταν η δοκιμή νέων υποστρωμάτων όπως υπολείμματα τροφών ή αστικά απόβλητα προς την παραγωγή βιοδιαλυτών καθώς και η απομόνωσή τους, με σκοπό την δημιουργία πραγματικών προϊόντων, έτοιμα προς χρήση.

Τέλος, στο στάδιο που έχει φτάσει η έρευνα, θα ήταν πραγματικά ενδιαφέρουσα η εκπόνηση μια έρευνας για τον κύκλο ζωής (LCA) ενός από τους βιοδιαλύτες έτσι ώστε να μελετηθούν και οι τεχνοοικονομικοί παράγοντες. Έτσι με αυτόν τον τρόπο, η παραγωγή πράσινων διαλυτών από οργανικά απόβλητα θα βρίσκεται ακόμα πιο κοντά στην υλοποίησή του σε βιομηχανική κλίμακα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] “Διαλύτης - Βικιπαίδεια.” <https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%94%CE%B9%CE%B1%CE%BB%CF%8D%CF%84%CE%B7%CF%82> (accessed Sep. 06, 2023).
- [2] N. K. Oklu, L. C. Matsinha, and B. C.E. Makhubela, “Bio-Solvents: Synthesis, Industrial Production and Applications,” in *Solvents, Ionic Liquids and Solvent Effects*, IntechOpen, 2020. doi: 10.5772/intechopen.86502.
- [3] S. Kumaravel, P. Thiruvengadam, and S. Kundu, “Biosolvents as green solvents in the pharmaceutical industry,” in *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*, Elsevier, 2021, pp. 105–149. doi: 10.1016/B978-0-12-821885-3.00007-4.
- [4] C. S. M. Pereira, V. M. T. M. Silva, and A. E. Rodrigues, “Ethyl lactate as a solvent: Properties, applications and production processes – a review,” *Green Chemistry*, vol. 13, no. 10, p. 2658, 2011, doi: 10.1039/c1gc15523g.
- [5] P. Anastas and N. Eghbali, “Green Chemistry: Principles and Practice,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 1, pp. 301–312, 2010, doi: 10.1039/B918763B.
- [6] “Biodegradable waste.” https://environment.ec.europa.eu/topics/waste-and-recycling/biodegradable-waste_en (accessed Sep. 06, 2023).
- [7] “Overview of biofuels policies and markets across the EU-27 and the UK,” 2020.
- [8] “Διαχείριση Βιομηχανικών Αποβλήτων ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΜΟΝΑΔΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ.”
- [9] “Τα βιομηχανικά απόβλητα και η αξιοποίησή τους | Μετάδοση Ισχύος.” <https://www.metadosi-ischios.gr/ta-viomichanika-apovlita-kai-i-axiopoisi-toys/> (accessed Sep. 07, 2023).
- [10] M. Geissdoerfer, M. P. P. Pieroni, D. C. A. Pigosso, and K. Soufani, “Circular business models: A review,” *J Clean Prod*, vol. 277, p. 123741, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.123741.
- [11] “Κυκλική Οικονομία,” *Υπουργείο Περιβάλλοντος και Ενέργειας*, Accessed: Sep. 07, 2023. [Online]. Available: <https://ypen.gov.gr/perivallon/kykliki-oikonomia/>
- [12] “Κυκλική οικονομία - Βικιπαίδεια.” https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CF%85%CE%BA%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CE%AE_%CE%BF%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CE%BD%CE%BF%CE%BC%CE%AF%CE%B1 (accessed Sep. 07, 2023).
- [13] “Κυκλική οικονομία: χρησιμοποιήσε το ξανά! | Επικαιρότητα | Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο.” https://www.europarl.europa.eu/news/el/headlines/economy/20151201STO05603/kukliki-oikonomia-chrisimopoiise-to-xana?&at_campaign=20234-Economy&at_medium=Google_Ads&at_platform=Search&at_creation=RSA&at_goal=TR_G&at_audience=%CE%BA%CF%85%CE%BA%CE%BB%CE%B9%CE%BA%CE%AE%20%CE%BF%CE%B9%CE%BA%CE%BF%CE%BD%CE%BF%CE%BC%CE%AF%CE%B1&at_topic=Circular_Economy&at_location=GR&gclid=CjwKCAjw6eWnBhAKiEiwADpnw9ho3AxVJet6QRU8BuRLIX-I5N4mP5JNF37J38a55O1QgZXXflyMT9xoC5k8QAvD_BwE (accessed Sep. 07, 2023).

- [14] “ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ.”
- [15] V. C. Pandey, G. Gajić, P. Sharma, and M. Roy, “Soil and phytomanagement for adaptive phytoremediation practices,” *Adaptive Phytoremediation Practices*, pp. 135–179, Jan. 2022, doi: 10.1016/B978-0-12-823831-8.00002-5.
- [16] G. Twagirayezu, K. Huang, and H. Xia, “Effects of bio-contaminants in organic waste products on the soil environment,” *Fate of Biological Contaminants During Recycling of Organic Wastes*, pp. 187–212, Jan. 2023, doi: 10.1016/B978-0-323-95998-8.00013-3.
- [17] P. G. S. Arockiam JeyaSundar, A. Ali, di Guo, and Z. Zhang, “Waste treatment approaches for environmental sustainability,” *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*, pp. 119–135, Jan. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-819001-2.00006-1.
- [18] R. Millati, R. B. Cahyono, T. Ariyanto, I. N. Azzahrani, R. U. Putri, and M. J. Taherzadeh, “Agricultural, industrial, municipal, and forest wastes: An overview,” *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches*, pp. 1–22, Jan. 2019, doi: 10.1016/B978-0-444-64200-4.00001-3.
- [19] A. Sæbø and F. Ferrini, “The use of compost in urban green areas - A review for practical application,” *Urban For Urban Green*, vol. 4, no. 3–4, pp. 159–169, Apr. 2006, doi: 10.1016/j.ufug.2006.01.003.
- [20] B. Sharma, B. Vaish, Monika, U. K. Singh, P. Singh, and R. P. Singh, “Recycling of Organic Wastes in Agriculture: An Environmental Perspective,” *Int J Environ Res*, vol. 13, no. 2, pp. 409–429, Apr. 2019, doi: 10.1007/S41742-019-00175-Y.
- [21] F. Xu, Y. Li, X. Ge, L. Yang, and Y. Li, “Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities,” *Bioresour Technol*, vol. 247, pp. 1047–1058, Jan. 2018, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2017.09.020.
- [22] J. Hadj Saadoun *et al.*, “Fermentation of Agri-Food Waste: A Promising Route for the Production of Aroma Compounds,” *Foods*, vol. 10, no. 4, Mar. 2021, doi: 10.3390/FOODS10040707.
- [23] “Βιοαπόβλητα Μαζί αναζωογονούμε τη Γη! ΟΟΗΓΟΣ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΗΜΟΥΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ ΜΕ ΜΕΤΡΑ ΠΟΥ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΛΗΦΘΟΥΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΘΙΕΡΡΣΗ ΤΗΣ ΧΧΡΙΣΤΗΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΒΙΟΑΠΟΒΛΗΤΤΝ.”
- [24] “Οδηγός για τη χωριστή συλλογή αστικών αποβλήτων στην Ελλάδα Τελική έκθεση.”
- [25] H. SAVEYN and P. EDER, “End-of-waste criteria for biodegradable waste subjected to biological treatment (compost & digestate): Technical proposals,” p. 312, 2014, doi: 10.2791/6295.
- [26] K. K. S, M. H. Ibrahim, S. Quaik, and S. A. Ismail, “Introduction to Organic Wastes and Its Management,” *Prospects of Organic Waste Management and the Significance of Earthworms*, pp. 1–21, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-24708-3_1.
- [27] “Γαλακτικό οξύ - Βικιπαίδεια (wikipedia.org).” https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%93%CE%B1%CE%BB%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%BF%CE%BE%CF%8D (accessed Sep. 06, 2023).
- [28] F. A. Castillo Martinez, E. M. Balciunas, J. M. Salgado, J. M. Domínguez González, A. Converti, and R. P. de S. Oliveira, “Lactic acid properties, applications and production: A review,” *Trends in Food Science and Technology*, vol. 30, no. 1. pp. 70–83, Mar. 2013. doi: 10.1016/j.tifs.2012.11.007.

- [29] A. O. Ojo and O. de Smidt, "Lactic Acid: A Comprehensive Review of Production to Purification," *Processes*, vol. 11, no. 3, p. 688, Feb. 2023, doi: 10.3390/pr11030688.
- [30] R. Datta and M. Henry, "Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies — a review," *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 81, no. 7, pp. 1119–1129, Jul. 2006, doi: 10.1002/jctb.1486.
- [31] C. Rodrigues, L. P. S. Vandenberghe, A. L. Woiciechowski, J. de Oliveira, L. A. J. Letti, and C. R. Soccol, "Production and Application of Lactic Acid," in *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier, 2017, pp. 543–556. doi: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00024-5.
- [32] P. Dey and P. Pal, "Direct production of l (+) lactic acid in a continuous and fully membrane-integrated hybrid reactor system under non-neutralizing conditions," *J Memb Sci*, vol. 389, pp. 355–362, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.memsci.2011.10.051.
- [33] H. Tsuji, T. Saeki, T. Tsukegi, H. Daimon, and K. Fujie, "Comparative study on hydrolytic degradation and monomer recovery of poly(l-lactic acid) in the solid and in the melt," *Polym Degrad Stab*, vol. 93, no. 10, pp. 1956–1963, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.06.009.
- [34] R. P. John, R. K. Sukumaran, K. M. Nampoothiri, and A. Pandey, "Statistical optimization of simultaneous saccharification and l(+)-lactic acid fermentation from cassava bagasse using mixed culture of lactobacilli by response surface methodology," *Biochem Eng J*, vol. 36, no. 3, pp. 262–267, Oct. 2007, doi: 10.1016/j.bej.2007.02.028.
- [35] F. Mozzi, "Lactic Acid Bacteria," in *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, 2016, pp. 501–508. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00414-1.
- [36] E. Abedi and S. M. B. Hashemi, "Lactic acid production - producing microorganisms and substrates sources-state of art.," *Heliyon*, vol. 6, no. 10, p. e04974, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04974.
- [37] S. A. A. Rawoof *et al.*, "Production of optically pure lactic acid by microbial fermentation: a review," *Environ Chem Lett*, vol. 19, no. 1, pp. 539–556, Feb. 2021, doi: 10.1007/s10311-020-01083-w.
- [38] "de man, rogosa and sharpe (MRS) agar," *Prog Ind Microbiol*, vol. 37, no. C, pp. 511–513, 2003, doi: 10.1016/S0079-6352(03)80066-8.
- [39] M. A. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, and K. Sonomoto, "Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes," *Biotechnol Adv*, vol. 31, no. 6, pp. 877–902, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.04.002.
- [40] M. A. Abdel-Rahman, Y. Tashiro, and K. Sonomoto, "Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits," *J Biotechnol*, vol. 156, no. 4, pp. 286–301, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.06.017.
- [41] J. Sikder, S. Chakraborty, P. Pal, E. Drioli, and C. Bhattacharjee, "Purification of lactic acid from microfiltrate fermentation broth by cross-flow nanofiltration," *Biochem Eng J*, vol. 69, pp. 130–137, Dec. 2012, doi: 10.1016/j.bej.2012.09.003.
- [42] N. Wang, Q. Ding, H. Li, Y. Jiao, X. Fan, and X. Gao, "Life cycle and techno-economic assessment of ethyl lactate production via reactive distillation with structured catalytic packing," *J Clean Prod*, vol. 369, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.jclepro.2022.133412.
- [43] M. A. Abdullah, H. A. Hussein, and O. M. S. Alshajrawia, "Ethyl lactate as a green solvent in the pharmaceutical industry," *Green Sustainable Process for Chemical and*

- Environmental Engineering and Science: Solvents for the Pharmaceutical Industry*, pp. 185–194, Jan. 2021, doi: 10.1016/B978-0-12-821885-3.00005-0.
- [44] “Ethyl lactate - Wikipedia.” https://en.wikipedia.org/wiki/Ethyl_lactate (accessed Sep. 08, 2023).
- [45] P. Delgado, M. T. Sanz, S. Beltrán, and L. A. Núñez, “Ethyl lactate production via esterification of lactic acid with ethanol combined with pervaporation,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 165, no. 2, pp. 693–700, Dec. 2010, doi: 10.1016/J.CEJ.2010.10.009.
- [46] Y. L. Kua, S. Gan, A. Morris, and H. K. Ng, “Ethyl lactate as a potential green solvent to extract hydrophilic (polar) and lipophilic (non-polar) phytonutrients simultaneously from fruit and vegetable by-products,” *Sustain Chem Pharm*, vol. 4, pp. 21–31, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.scp.2016.07.003.
- [47] “Ethyl lactate | Godavari.” <https://godavaribiorefineries.com/industries/personal-care-and-cosmetics/ingredient/ethyl-lactate> (accessed Sep. 08, 2023).
- [48] A. Komesu *et al.*, “Evaluation of operational parameters for ethyl lactate production using reactive distillation process,” *Chem Eng Trans*, vol. 43, pp. 1141–1146, 2015, doi: 10.3303/CET1543191.
- [49] P. Stipsitz, M. Mandl, and M. Harasek, “Ethyl lactate production by reactive distillation – optimization of reaction kinetics and energy efficiency,” *Open Research Europe*, vol. 1, p. 82, Jul. 2021, doi: 10.12688/openreseurope.13744.1.
- [50] B. Dangpradab and P. Rattanaphanee, “Efficiency Comparison of Different Design Schemes of Reactive Distillation Process for Ethyl Lactate Production from Fermentation-Derived Magnesium Lactate,” *Computer Aided Chemical Engineering*, vol. 37, pp. 1079–1084, Jan. 2015, doi: 10.1016/B978-0-444-63577-8.50025-5.
- [51] Q. Ding *et al.*, “Reactive distillation for sustainable synthesis of bio-ethyl lactate: Kinetics, pilot-scale experiments and process analysis,” *Chemical Engineering Research and Design*, vol. 179, pp. 388–400, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.cherd.2022.01.034.