



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Τομέας (I) Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας

Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας

«Αξιοποίηση βιομηχανικών αποβλήτων ζυθοποιίας»

Διπλωματική Εργασία

Κατερίνα Βασιλείου

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:
Ευαγγελία Παυλάτου

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2023

Πρόλογος

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε στη Μονάδα Περιβαλλοντικής Επιστήμης και Τεχνολογίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου στα πλαίσια της ολοκλήρωσης των σπουδών μου κατά το Ακαδημαϊκό Έτος 2022 – 2023.

Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη της διπλωματικής μου εργασίας, καθηγήτρια του Ε.Μ.Π., κ. Ευαγγελία Παυλάτου για την ανάθεση αυτού του ενδιαφέροντος θέματος. Στην επιτυχή ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής εργασίας στάθηκε πολύτιμη η συνεισφορά των Δρ. Έλλης Μαρίας Μπαραμπούτη και Δρ. Σοφίας Μάη. Θα ήθελα να τις ευχαριστήσω για τη συνεχή και πολύτιμη καθοδήγησή που μου προσέφεραν καθώς και για τον άψογο τρόπο επικοινωνίας τους.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Κωνσταντίνο Πασσάδη, υποψήφιο διδάκτορα και μέλος του προσωπικού του εργαστηρίου, για την υποστήριξη, την βοήθειά και τις γνώσεις που μου παρείχε για την εκπόνηση της εργασίας μου καθώς και το εργαστηριακό προσωπικό το οποίο με βοήθησε και με συμβούλευσε σε οτιδήποτε χρειάστηκα.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια μου και τους φίλους μου για τη συμπαράσταση που μου έδειξαν κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται παγκοσμίως η ανάγκη για ανάπτυξη και εφαρμογή πολιτικών υπέρ της κυκλικής οικονομίας και βιωσιμότητας, στα πλαίσια των οποίων η αποτελεσματική διαχείριση των αστικών, όσο και των βιομηχανικών, αποβλήτων αποτελεί μείζον ζήτημα. Πλήθος μελετών αποδεικνύουν πως η παραγωγή βιοκαυσίμων μέσω της χρήσης βιολογικών αποβλήτων αποτελεί έναν ελπιδοφόρο τρόπο διαχείρισής τους. Συγκεκριμένα η βιοαιθανόλη αποτελεί ένα βιώσιμο υγρό καύσιμο το οποίο δύναται να συμβάλλει στην αντιμετώπιση της σημερινής ενεργειακής κρίσης αλλά και της επιδείνωσης της ποιότητας του περιβάλλοντος.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία αντικείμενο αποτέλεσε η διερεύνηση του δυναμικού παραγωγής βιοαιθανόλης σε εργαστηριακή κλίμακα από βιομηχανικά απόβλητα, και συγκεκριμένα από Εξαντλημένους Σπόρους Ζυθοποιίας (ΕΣΖ) οι οποίοι προμηθεύτηκαν από την Ελληνική Ζυθοποιία Αταλάντης. Κριτήριο επιλογής των συγκεκριμένων αποβλήτων αποτέλεσε το γεγονός ότι οι ΕΣΖ παρουσιάζουν υψηλό οργανικό φορτίο και αντιστοιχούν στο 77% - 85% του συνόλου των αποβλήτων ζυθοποιίας σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η ζυθοποιία σε σχέση με άλλες βιομηχανίες έχει ιδιαίτερη ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια.

Για την υλοποίηση του στόχου της διπλωματικής, σχεδιάστηκαν δύο πειραματικοί κύκλοι σακχαροποίησης και ζύμωσης με τη βοήθεια του παραγοντικού σχεδιασμού. Στον πρώτο πειραματικό κύκλο πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF) σε θερμοκρασία 35 °C με στόχο τη μελέτη της επίδρασης δύο παραγόντων στην απόδοση σε βιοαιθανόλη: της ποσότητας του κυτταρινολυτικού ενζύμου, και συγκεκριμένα του CellicCTec3 που χρησιμοποιείται για τη διάσπαση της κυτταρίνης, καθώς και της δοσολογίας της μαγιάς, *S. Cerevisiae*. Στον δεύτερο πειραματικό κύκλο, εξετάστηκε υπό τις ίδιες συνθήκες, η επίδραση της παρουσίας των ελαίων στη διεργασία SSF και την τελική απόδοση σε αιθανόλη. Για τον λόγο αυτό, πριν την εκτέλεση των πειραμάτων πραγματοποιούνταν εκχύλιση και απομάκρυνση των λιπών και ελαίων με τη μέθοδο Soxhlet.

Αρχικά πραγματοποιήθηκε πλήρης φυσικοχημικός χαρακτηρισμός της πρώτης ύλης και βρέθηκε ότι η περιεχόμενη κυτταρίνη είναι ίση με 19,54 % ± 0,04%. Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων του πρώτου πειραματικού κύκλου, προέκυψε ότι η υψηλότερη απόδοση σε αιθανόλη ήταν ίση 61,08 % ± 7,23% για τις υψηλότερες δόσεις ενζύμου και μαγιάς, και συγκεκριμένα για 2200 μL/g κυτταρίνης CellicCTec3 (15 FPU/mL) και 3% μαγιάς *S. Cerevisiae*. Παρόμοια για τον δεύτερο πειραματικό κύκλο επιτεύχθηκε απόδοση σε αιθανόλη ίση με 71,12 % ± 1,29%, γεγονός που υποδεικνύει ότι η εκχύλιση των ελαίων ευνοεί την τελική παραγωγή αιθανόλης. Επιπλέον αποδείχθηκε ότι η παραγωγή αιθανόλης από ΕΣΖ μπορεί να επιτευχθεί με ικανοποιητικές αποδόσεις μέσω της διεργασίας SSF στους 35 °C δίχως προηγουμένως να γίνει κάποια χημική προεπεξεργασία.

Συνοψίζοντας, από την παρούσα μελέτη αποδείχθηκε ότι είναι τεχνικά εφικτή η παραγωγή βιοαιθανόλης από εξαντλημένους σπόρους ζυθοποιίας σε εργαστηριακή κλίμακα. Όμως η ποσότητα της αιθανόλης που παράγεται είναι σχετικά μικρή με αποτέλεσμα να μην φαίνεται βιώσιμη μια τέτοια τεχνολογική λύση. Πιθανώς, εάν η διεργασία ενσωματωθεί στα πλαίσια ενός βιοδυλιστηρίου όπου παράγονται και άλλα δευτερογενή προϊόντα, η βιωσιμότητα της διεργασίας θα πρέπει να επανεξεταστεί με μια λεπτομερή τεχνοοικονομική ανάλυση.

Abstract

In recent years, the need for the development and implementation of policies in favor of the circular economy and sustainability has been observed worldwide. In this context, the effective management of municipal, as well as industrial, waste is a major issue. Numerous studies have proven that the production of biofuels from biowaste is a promising way of facing waste management efficiently. Specifically, bioethanol is a renewable and sustainable liquid fuel that can address the current energy crisis as well as the deterioration of the quality of the environment.

The subject of this diploma thesis was the investigation of bioethanol production on laboratory scale from Brewery Spent Grains (BSG), an abundant industrial waste. This biowaste was delivered to the Unit of Environmental Science and Technology by the Hellenic Brewery of Atalanti. BSG stand as a promising biowaste given their high organic load, their abundancy within the production process (77%-85% of the total brewery waste) and the recent growth of the brewery sector.

In order to materialize the objectives of this thesis, two experimental cycles were designed via factorial design. In the first experimental cycle, simultaneous saccharification and fermentation (SSF) was carried out at a 35 °C to study the effect of two factors on the ethanol yield: the amount of cellulolytic enzyme, namely CellicCTec3 that is used to break down cellulose, as well as the dosage of the yeast, *S. Cerevisiae*. In the second experimental cycle, under the same conditions, the effect of the presence of oils on the SSF process and the final ethanol yield was examined. For this reason, before performing the experiments, fats and oils were extracted by the application of the Soxhlet method.

Firstly, a complete physico-chemical characterization of the raw material was performed, where the cellulose content was estimated equal to 19.54 % \pm 0.04%. From the results of the first experimental cycle, the maximum ethanol yield achieved was 61.08 % \pm 7.23% for the highest dosages of enzyme and yeast, and specifically for 2200 μ L /g cellulose CellicCTec3 (15 FPU/mL) and 3% yeast *S. Cerevisiae*. Similarly for the second experimental cycle, the maximum ethanol yield achieved was 71.12 % \pm 1.29%, indicating that the extraction of fats and oils positively affects the final ethanol production. These results imply that the production of bioethanol from BSG can be efficient via the SSF process at 35 °C without any chemical pre-treatment.

In summary, the present study demonstrates that it is technically feasible to produce bioethanol from Brewery Spent Grains on a laboratory scale. Nevertheless, the amount of ethanol produced is relatively small, so such a technological solution does not seem viable. Possibly, if the process is integrated into the context of a biorefinery where other secondary products are also produced, the viability of the process should be re-examined with a detailed techno-economic analysis.

Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	2
Περίληψη	3
Abstract	4
Περιεχόμενα Εικόνων	8
Περιεχόμενα Πινάκων.....	9
Περιεχόμενα Διαγραμμάτων.....	11
Εισαγωγή.....	12
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	14
Κεφάλαιο 1: Βιοκαύσιμα.....	14
1.1. Εισαγωγή.....	14
1.2. Νομοθεσία για τα Βιοκαύσιμα	14
1.3. Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα Βιοκαυσίμων.....	17
1.4. Είδη Βιοκαυσίμων.....	19
1.5. Κατηγορίες Βιοκαυσίμων	19
1.6. Πρώτες Ύλες για την Παραγωγή Βιοκαυσίμων.....	23
1.7. Παραγωγή Βιοκαυσίμων	23
Κεφάλαιο 2: Βιοαιθανόλη	25
2.1. Γενικά περί Βιοαιθανόλης.....	25
2.2. Ιδιότητες Βιοαιθανόλης	26
2.3. Χρήσεις Αιθανόλης-Βιοαιθανόλης.....	26
2.4. Η Βιοαιθανόλη σαν καύσιμο	29
2.5. Πρώτες ύλες για την παραγωγή Βιοαιθανόλης.....	30
2.6. Παραγωγή Βιοαιθανόλης.....	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Βιοαπόβλητα.....	37
3.1. Εισαγωγή.....	37
3.2. Νομοθεσία για στερεά απόβλητα	38
Κεφάλαιο 4: Ζύθος και Ζυθοποιία.....	41
4.1. Ορισμοί και βασικές έννοιες	41
4.2. Απόβλητα ζυθοποιίας	44
4.3. Η παραγωγή των ΕΣΖ	45
4.4. Χαρακτηριστικά των ΕΣΖ	46

4.5. Χρήσεις των ΕΣΖ.....	50
Κεφάλαιο 5: Παραγοντικός Σχεδιασμός.....	52
5.1. Εισαγωγή	52
5.2. Βασικές αρχές και έννοιες για τον σχεδιασμό πειραμάτων	52
5.3. Παράμετροι αριστοποίησης	54
5.4. Παράγοντες σχεδιασμού	55
5.5. Μαθηματικά μοντέλα.....	56
5.5.1 Σχεδιασμοί πρώτης τάξης	58
5.5.2 Ιδιότητες ενός παραγοντικού πειράματος.....	60
5.6. Βαθμοί ελευθερίας και αλληλεπιδράσεις	61
5.7. Εκτέλεση του πειράματος	61
5.7.1 Σφάλματα επαναλήψεων και διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης.....	61
5.7.2 Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων	63
5.7.3 Αντιμετώπιση σφαλμάτων	63
5.7.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων	64
5.7.5 Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης	64
5.7.6 Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών	66
5.7.7 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου	66
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματική μεθοδολογία.....	68
6.1. Σκοπός	68
6.2. Πρώτη ύλη	68
6.3. Μέθοδοι ανάλυσης	70
6.3.1 Προσδιορισμός ολικών στερεών TS.....	70
6.3.2 Προσδιορισμός πτητικών στερεών VS.....	70
6.3.3 Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών WS	71
6.3.4 Προσδιορισμός κυτταρίνης.....	72
6.3.5 Προσδιορισμός ημικυτταρίνης.....	74
6.3.6 Προσδιορισμός λιγνίνης	77
6.4. Ορισμοί για τον υπολογισμό των θεωρητικών παραμέτρων.....	79
6.5. Υπολογισμός αποδομήσεων και αποδόσεων.....	80
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματική διαδικασία και αποτελέσματα.....	82
7.1. Πειραματική διαδικασία.....	82
7.2. Πειραματικά αποτελέσματα	87
7.2.1 Χαρακτηρισμός πρώτης ύλης	87

7.2.2 Πρωτογενή Αποτελέσματα 1 ^{ου} πειραματικού κύκλου.....	87
7.2.3 Δευτερογενή αποτελέσματα 1 ^{ου} πειραματικού κύκλου	90
7.2.4 Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού 1 ^{ου} πειραματικού κύκλου.....	95
7.2.5 Πρωτογενή Αποτελέσματα 2 ^{ου} πειραματικού κύκλου.....	102
7.2.6 Δευτερογενή αποτελέσματα 2 ^{ου} πειραματικού κύκλου	104
7.2.7 Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού 2 ^{ου} πειραματικού κύκλου.....	108
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	114
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ.....	115
Βιβλιογραφία.....	116
Παράρτημα.....	123

Περιεχόμενα Εικόνων

Εικόνα 1- Είδη βιοκαυσίμων και οι γενιές τους (Priya et al., 2022).....	21
Εικόνα 2- Σχηματική απεικόνιση της παραγωγής αιθανόλης από πρώτης γενιάς πρώτη ύλη	22
Εικόνα 3- παραγωγή αιθανόλης με SHF και SSF (Cardona et al., 2006).....	25
Εικόνα 4- Γενικό σχεδιάγραμμα χρήσης της αιθανόλης (Baras, 2002).	31
Εικόνα 5-- Βήματα για τη μετατροπή λιγνοκυτταρινικής βιομάζας σε βιοαιθανόλη (HalimatunSaadiahHafid, 2017).	34
Εικόνα 6- Στόχοι της Ευρωπαϊκής Ένωσης από το 2025-2035.....	45
Εικόνα 7- Εγκαταστάσεις ζυθοποιίας (http://www.beeroskopio.com/2014/06/blog-post_2608.html).	47
Εικόνα 8- Διάγραμμα παραγωγικής διαδικασίας μιας ζυθοποιίας (Βλυσίδης et al., 2015).....	48
Εικόνα 9-Μορφή των ΕΣΖ.....	51
Εικόνα 10-Απεικόνιση σύνδεσης κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης.....	52
Εικόνα 11 Διάγραμμα μαύρου κουτιού της κυβερνητικής	56
Εικόνα 12- Η ανατομία ενός πειράματος.....	58
Εικόνα 13- Γεωμετρική εικόνα ενός 2 ³ πειράματος.....	63
Εικόνα 14- Ανάλυση σφαλμάτων ενός πειράματος (Ρήγας, 1988).....	65
Εικόνα 15- Εξαντλημένοι σπόροι ζυθοποιίας (ΕΣΖ)	71
Εικόνα 16- Το ξηραντήριο Gaia GC-100 (Βέκκος, 2016)	72
Εικόνα 17- Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών.....	74
Εικόνα 18- Προσθήκη H ₂ SO ₄ στα δείγματα προς τον προσδιορισμό της κυτταρίνης.....	75
Εικόνα 19- Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave.....	76
Εικόνα 20- Προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης με την μέθοδο GOD/PAP	80
Εικόνα 21- Προετοιμασία πειραμάτων (αριστερά) μέχρι την τελική εισαγωγή τους στο ανακινούμενο αερόλουτρο (δεξιά)	86
Εικόνα 22- Διάταξη Soxhlet.....	87

Περιεχόμενα Πινάκων

Πίνακας 1- Στόχος ποσοστού ανάμιξης βιοκαυσίμων στο REDII.....	15
Πίνακας 2- Τελικές απαιτήσεις όγκου παραγωγής βιοκαυσίμων σύμφωνα με το RFS για το 2019 (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018).	18
Πίνακας 3- Ταξινόμηση βιοκαυσίμων με βάση την τεχνολογία παραγωγής τους (Demirbas et al., 2011).	21
Πίνακας 4- Σύγκριση Βενζίνης με Βιοαιθανόλη.....	31
Πίνακας 5- Απόδοση Αιθανόλης για κάθε πρώτη ύλη.....	33
Πίνακας 6- Σύνθεση αποβλήτων τροφίμων που συλλέχθηκαν από πολυκαταστήματα τροφίμων (Kedong Maa, 2016).....	39
Πίνακας 7- Είδος και προέλευση υλικών που υπόκεινται στην κατηγορία των βιοαποβλήτων- Κωδικοί ΕΚΑ (Χ., 2013).....	41
Πίνακας 8- Ενδεικτικές θερμοφυσικές ιδιότητες των ΕΣΖ με βιβλιογραφικές αναφορές. Τιμές επί ξηρού υλικού.	53
Πίνακας 9- Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα 2 ² παραγοντικό πειράματος (Ρήγας, 1988).....	62
Πίνακας 10- Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα 2 ³ πείραμα.....	63
Πίνακας 11- Οι ρυθμιστικές παράμετροι και τα επίπεδα του παραγοντικού σχεδιασμού των δύο πειραματικών κύκλων.....	89
Πίνακας 12- Πειράματα παραγοντικού σχεδιασμού.....	89
Πίνακας 13- Χαρακτηρισμός πρώτης ύλης.....	90
Πίνακας 14- Συνθήκες πειραμάτων.....	91
Πίνακας 15- Πίνακας θεωρητικών τιμών.....	91
Πίνακας 16- Περιεκτικότητα αιθανόλης των πειραμάτων του πρώτου παραγοντικού κύκλου.....	92
Πίνακας 17- Σύνθεση των δοκιμών μετά το πέρας των πειραμάτων.....	93
Πίνακας 18- Πίνακας αποικοδομήσεων στερεού και λοιπών συστατικών.....	93
Πίνακας 19- Πειραματική απόδοση αιθανόλης.....	94
Πίνακας 20- Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος για απόδοση.....	98
Πίνακας 21- Έλεγχος ομοιογένειας διασπορών.....	99
Πίνακας 22- Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b.....	100
Πίνακας 23- Συντελεστές b της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.....	100
Πίνακας 24- Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων.....	102
Πίνακας 25- Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας.....	103
Πίνακας 26- Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του γραμμικού μοντέλου.....	104
Πίνακας 27- Πίνακας θεωρητικών τιμών.....	105
Πίνακας 28- Περιεκτικότητα αιθανόλης των πειραμάτων του δεύτερου παραγοντικού κύκλου.....	105
Πίνακας 29- Σύνθεση των δοκιμών μετά το πέρας των πειραμάτων.....	106
Πίνακας 30- Πίνακας αποικοδομήσεων στερεού και λοιπών συστατικών.....	107
Πίνακας 31- Πειραματική απόδοση αιθανόλης.....	107
Πίνακας 32- Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος για απόδοση.....	111
Πίνακας 33- Έλεγχος ομοιογένειας διασπορών.....	112
Πίνακας 34- Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b.....	114
Πίνακας 35- Συντελεστές b της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.....	114
Πίνακας 36- Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων.....	116
Πίνακας 37- Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας.....	117
Πίνακας 38- Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του γραμμικού μοντέλου.....	117
Πίνακας 39- Τιμές Cochran G (95% στατιστική σημαντικότητα).....	127
Πίνακας 40- Τιμές πίνακα student-t.....	128

Πίνακας 41- Τιμές λόγου Fisher (95% στατιστική σημαντικότητα)..... 128

Περιεχόμενα Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1- Προβλεπόμενες προδιαγραφές EISA 2007 και Προδιαγραφές σύμφωνα με τοRFS (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018).....	16
Διάγραμμα 2- Η πορεία της παραγωγής βιοκαυσίμων προερχόμενα από κутταρινούχες τροφοδοσίες (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018)	17
Διάγραμμα 3- Ποσοστιαία σύσταση ΕΣΖ.....	52
Διάγραμμα 4- Απόδοση αιθανόλης	94
Διάγραμμα 5- Αποικοδόμηση στερεού.....	95
Διάγραμμα 6- Αποικοδόμηση WS.....	95
Διάγραμμα 7- Αποικοδόμηση κутταρίνης.....	96
Διάγραμμα 8- Αποικοδόμηση ημικутταρίνης.....	96
Διάγραμμα 9- Αποικοδόμηση αμύλου.....	97
Διάγραμμα 10- Απόδοση αιθανόλης	108
Διάγραμμα 11- Αποικοδόμηση στερεού.....	108
Διάγραμμα 12- Αποικοδόμηση υδατοδιαλυτών (WS).....	109
Διάγραμμα 13- Αποικοδόμηση κутταρίνης.....	109
Διάγραμμα 14- Αποικοδόμηση ημικутταρίνης.....	110
Διάγραμμα 15- Αποκοικοδόμηση αμύλου.....	110

Εισαγωγή

Τα βιοκαύσιμα προερχόμενα από ανανεώσιμες πηγές βιομάζας αποτελούν ένα στρατηγικό πλεονέκτημα τόσο για την προώθηση της βιώσιμης ανάπτυξης όσο και τη συμπλήρωση των συμβατικών πηγών ενέργειας για την κάλυψη των ταχέως αυξανόμενων απαιτήσεων για καύσιμα μεταφοράς που συνδέονται με την υψηλή οικονομική ανάπτυξη, καθώς και για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του αγροτικού πληθυσμού παγκοσμίως. Τα βιοκαύσιμα μπορούν ολόένα και περισσότερο να ικανοποιήσουν αυτές τις ενεργειακές ανάγκες με περιβαλλοντικά φιλικό και οικονομικά αποδοτικό τρόπο, μειώνοντας ταυτόχρονα την εξάρτηση από την εισαγωγή ορυκτών καυσίμων παρέχοντας έτσι υψηλότερο βαθμό Εθνικής Ενεργειακής Ασφάλειας (No).

Η χρήση των βιοκαυσίμων σε όλο τον κόσμο υποκινείται, σε μεγάλο βαθμό, από διάφορες ανησυχίες σχετικά με την ενεργειακή ασφάλεια και το περιβάλλον, και ως εκ τούτου, ένα ευρύ φάσμα μηχανισμών της αγοράς, των κινήτρων και των επιδοτήσεων έχουν τεθεί σε εφαρμογή για να διευκολυνθεί η ανάπτυξή τους. Οι αναπτυσσόμενες χώρες, πέρα από αυτές τις σκέψεις, βλέπουν τα βιοκαύσιμα ως δυναμικό μέσο για την τόνωση της αγροτικής ανάπτυξης και τη δημιουργία ευκαιριών απασχόλησης (No).

Σχετικά με την νομοθεσία ισχύουν οι ακόλουθοι ορισμοί των βιοκαυσίμων:

- I. Τα «βιοκαύσιμα» είναι υγρά ή αέρια καύσιμα που παράγονται από πόρους βιομάζας και χρησιμοποιούνται στη θέση ή επιπλέον του ντίζελ, της βενζίνης ή άλλων ορυκτών καυσίμων για μεταφορές, σταθερές, φορητές και άλλες εφαρμογές.
- II. Οι πόροι «βιομάζας» είναι το βιοαποδομήσιμο κλάσμα προϊόντων, αποβλήτων και υπολειμμάτων από τη γεωργία, τη δασοκομία και τις συναφείς βιομηχανίες, καθώς και το βιοαποδομήσιμο κλάσμα βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων (No).

Το πεδίο εφαρμογής της νομοθεσίας περιλαμβάνει την βιοαιθανόλη, το βιοντίζελ και άλλα βιοκαύσιμα, όπως αναφέρονται παρακάτω:

- I. «Βιοαιθανόλη»: αιθανόλη που παράγεται από βιομάζα, όπως υλικά που περιέχουν ζάχαρη, για παράδειγμα ζαχαροκάλαμο, ζαχαρότευτλα, γλυκό σόργο κ.λπ., άμυλο που περιέχει υλικά όπως καλαμπόκι, μανιόκα, φύκια κ.λπ. και κυτταρινικά υλικά όπως απορρίμματα ξύλου, γεωργικά και δασοκομικά υπολείμματα κ.λπ.
- II. «Βιοντίζελ»: μεθυλεστέρας ή αιθυλεστέρας λιπαρών οξέων, που παράγεται από φυτικά έλαια, βρώσιμα και μη, ή ζωικό λίπος, ίδιας ποιότητας με το ντίζελ.

Άλλα βιοκαύσιμα: βιομεθανόλη, βιοσυνθετικά καύσιμα κ.λπ. (No)

Στην παρούσα έρευνα το ενδιαφέρον εστιάζεται στην διαχείριση των αποβλήτων από ζυθοποιίες και ειδικότερα από εξαντλημένους σπόρους κριθαριού τα οποία υπόκεινται ενζυμική υδρόλυση σε συνδυασμό με αλκοολική ζύμωση με σκοπό την παραγωγή βιοαιθανόλης. Επίσης, εν συνεχεία,

μελετήθηκε το δυναμικό παραγωγής βιαιθανολής σε εξαντλημένους σπόρους κριθαριού από τους οποίους έχουν αφαιρεθεί οι λιπαρές ουσίες.

Κεφάλαιο 1: Βιοκαύσιμα

1.1. Εισαγωγή

Τα βιοκαύσιμα ή καύσιμα γεωργικής προέλευσης (Luque et al., 2008) ή βιοανανεώσιμα καύσιμα αναφέρονται στα στερεά, υγρά ή αέρια καύσιμα (Demirbas et al., 2011) που παράγονται από οργανική ύλη (γνωστή και ως βιομάζα). Τα πιο κοινά βιοκαύσιμα είναι το βιοντίζελ και οι βιοαλκοόλες, συμπεριλαμβανομένης της βιοαιθανόλης και της βιοβουτανόλης (ονομάζεται επίσης βιοβενζίνη) (Luque et al., 2008). Τα υγρά και τα αέρια βιοκαύσιμα έχουν γίνει πιο ελκυστικά πρόσφατα λόγω των περιβαλλοντικών πλεονεκτημάτων τους. Τα βιοκαύσιμα αποτελούν μη ρυπογόνα, τοπικά διαθέσιμα, προσβάσιμα, βιώσιμα και αξιόπιστα καύσιμα τα οποία παράγονται μέσω ανανεώσιμων πηγών. Η παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από βιοκαύσιμα αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος στο πλησιέστερο μέλλον (Demirbas et al., 2009).

Υπάρχουν διάφοροι λόγοι για τους οποίους τα βιοκαύσιμα θεωρούνται ως προσιτές τεχνολογίες τόσο από τις αναπτυσσόμενες όσο και από τις βιομηχανικές χώρες. Περιλαμβάνουν λόγους ενεργειακής ασφάλειας, περιβαλλοντικές ανησυχίες, εξοικονόμηση και κοινωνικοοικονομικά ζητήματα που σχετίζονται με τους αγροτικούς τομείς όλων των χωρών του κόσμου. Τα τελευταία χρόνια, πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει τις οικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις των βιοκαυσίμων, ιδιαίτερα της βιοαιθανόλης, του βιοντίζελ, του βιοαερίου και του βιοϋδρογόνου (Demirbas et al., 2011).

1.2. Νομοθεσία για τα Βιοκαύσιμα

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

Σύμφωνα με την κοινοτική οδηγία 2003/30/EC, βιοκαύσιμο θεωρείται κάθε υγρό ή αέριο καύσιμο για τις μεταφορές το οποίο παράγεται από βιομάζα, όπου βιομάζα είναι το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα προϊόντων, αποβλήτων και καταλοίπων από διάφορες δραστηριότητες όπως βιομηχανικές, γεωργικές, δασοκομικές και άλλες συναφείς, καθώς και το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα των βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων. Με βάση την ίδια οδηγία, στην κατηγορία των βιοκαυσίμων εμπίπτουν η βιοαιθανόλη, το βιοντίζελ (μεθυλεστέρας λιπαρών οξέων), το βιοαέριο, η βιομεθανόλη, ο βιοδιμεθυλαιθέρας, ο βιο-ETBE (αιθυλο-τριτο-βουτυλ-αιθέρας), ο βιο-MTBE (μεθυλο-τριτο-βουτυλαιθέρας), τα συνθετικά βιοκαύσιμα (συνθετικοί υδρογονάνθρακες ή μίγματα συνθετικών υδρογονανθράκων που έχουν παραχθεί από βιομάζα), το βιοϋδρογόνο και τα καθαρά φυτικά έλαια. Η τελευταία οδηγία είναι η Renewable Energy Directive (EU)2018/2001 (REDII) του Ευρωπαϊκού

Κοινοβουλίου και Συμβουλίου για την προώθηση της χρήσης ανανεώσιμων πηγών ενέργειας η οποία εγκρίθηκε στις 11 Δεκέμβρη του 2018.

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

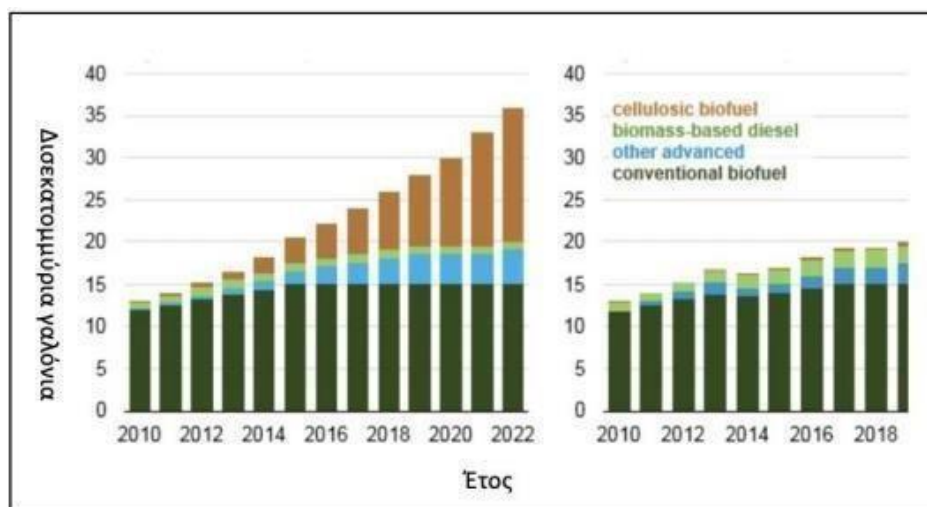
Πίνακας 1-Στόχος ποσοστού ανάμιξης βιοκαυσίμων στο REDII

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

Τα συμβατικά βιοκαύσιμα παράγονται από βρώσιμη πρώτη ύλη και η παραγωγή τους γίνεται σε αρκετά μεγάλη κλίμακα με τους κύριους τρόπους παραγωγής τους να είναι η ζύμωση και ημετεστεροποίηση. Δύο χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η βιοαιθανόλη από σάκχαρα και το βιοντίζελ από φυτικά έλαια που παράγονται με ζύμωση και μετεστεροποίηση αντιστοίχως

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

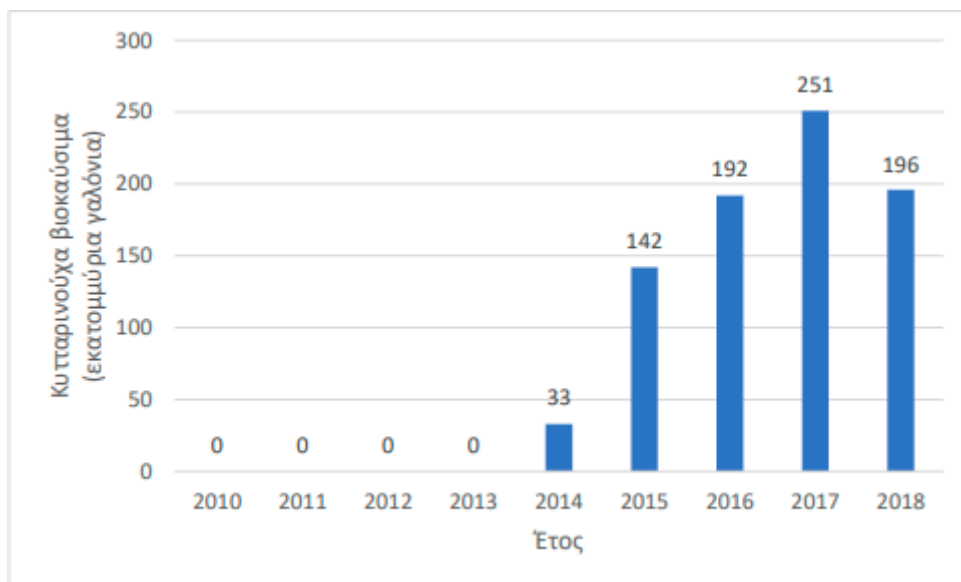
Το 2018, συνολικά τα βιοκαύσιμα αναμιγνύονταν σε ποσοστό 5.2% με τα ορυκτά καύσιμα. Η ανάμιξη συμβατικών βιοκαυσίμων (foodbased) εκτιμάται στο 4.1%, αρκετά πιο χαμηλά από το 7% που είναι το όριο της νομοθεσίας μέχρι και το 2030 (REDII). Η ανάμιξη προηγμένων (nonfoodbased) βιοκαυσίμων εκτιμάται στο 1.2%.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



Διάγραμμα 1- Προβλεπόμενες προδιαγραφές EISA 2007 και Προδιαγραφές σύμφωνα με το RFS (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018)

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

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



Διάγραμμα 2- Η πορεία της παραγωγής βιοκαυσίμων προερχόμενα από κυτταρινούχες τροφοδοσίες (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018)

Στον πίνακα 2, βρίσκονται οι τελικές απαιτήσεις για το 2019 που τέθηκαν από το RFS το οποίο ψηφίστηκε το Νοέμβριο του 2018.

Πίνακας 2-: Τελικές απαιτήσεις όγκου παραγωγής βιοκαυσίμων σύμφωνα με το RFS για το 2019 (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018).

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

1.3. Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα Βιοκαυσίμων

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

Οι κύριοι λόγοι για την προώθηση των βιοκαυσίμων μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

1. Τα βιοκαύσιμα μπορούν να παράξουν υψηλά ποσοστά ενέργειας γεγονός που τα καθιστά οικονομικά αποδοτικά, με υψηλή απόδοση (Priya et al., 2022). Έτσι τα βιοκαύσιμα μπορούν να βελτιώσουν την ενεργειακή ανεξαρτησία και ασφάλεια (Luque et al., 2008).

2. Χαρακτηρίζονται φιλικά προς το περιβάλλον καθώς εμφανίζουν αρκετά χαμηλές εκπομπές CO₂ (Priya et al., 2022) (μετριασμός της κλιματικής αλλαγής (Luque et al., 2008)). Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή βιοκαυσίμων καταναλώνει σχεδόν ίση ποσότητα CO₂ από το περιβάλλον που απελευθερώνεται κατά τη χρήση του βιοκαυσίμου (Priya et al., 2022).
3. Αρκετά βιοκαύσιμα δεν εμφανίζουν τοξικότητα και μπορούν να αποθηκευτούν εύκολα.
4. Τα βιοκαύσιμα είναι σχετικά λιγότερο εύφλεκτα από τα ορυκτά καύσιμα (Priya et al., 2022).
5. Τα βιοκαύσιμα είναι βιοαποδομήσιμα και βιώσιμα.
6. Τα βιοκαύσιμα παρέχουν βελτιώσεις στην υγεία και τις συνθήκες διαβίωσης των ανθρώπων.
7. Οικονομικά, τα βιοκαύσιμα συμβάλλουν στη σταθεροποίηση των τιμών της ενέργειας, στη διατήρηση συναλλάγματος και στη δημιουργία θέσεων εργασίας σε μακροοικονομικό επίπεδο.
8. Η οικιακή χρήση βιοκαυσίμων δεν προκαλεί απειλητικές για τη ζωή καταστάσεις υγείας, σε αντίθεση με τα ορυκτά καύσιμα (Awogbemi et al., 2021).
9. Τα βιοκαύσιμα μπορούν να βοηθήσουν στην αύξηση του αγροτικού εισοδήματος και να συμβάλουν στην αγροτική ανάπτυξη, καθώς η ανάγκη για την κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων θα οδηγήσει πολλά κράτη στην ανάπτυξη περισσότερων ειδών και μεγαλύτερων εκτάσεων. Η αυξανόμενη ζήτηση για γεωργία (Kammen et al., 2004) αναμένεται να βελτιώσει το γεωργικό εισόδημα και οι παραδοσιακά υποβαθμισμένες αγροτικές περιοχές θα μπορούσαν να βιώσουν μια αναγέννηση μέσω της εφαρμογής βιοκαυσίμων και βιοδιωλιστηρίων (Pimentel et al., 2005).

Αντιστοίχως, ορισμένα από τα βασικότερα μειονεκτήματα των βιοκαυσίμων είναι τα ακόλουθα:

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

Παρά τα προαναφερθέντα εμπόδια, τα βιοκαύσιμα είναι μια καθαρή, βιώσιμη και οικονομικά προσιτή

επιλογή ενεργειακού πόρου που μπορεί να αντικαταστήσει τα ορυκτά καύσιμα και να σώσει την ανθρωπότητα από την επικείμενη περιβαλλοντική καταστροφή. Η προσαρμογή των βιοκαυσίμων ως βιώσιμων καυσίμων σε διάφορους τομείς της οικονομίας είναι μία από τις στρατηγικές για τη μείωση του CO₂ και τον μετριασμό του άνθρακα (Mandley et al., 2020, Awogbemi et al., 2021).

1.4. Είδη Βιοκαυσίμων

Με βάση τη φυσική κατάσταση, τα βιοκαύσιμα διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: τα στερεά, τα υγρά και τα αέρια. Συγκεκριμένα:

❖ Στερεά βιοκαύσιμα: Γενικά, οποιοδήποτε στερεό υλικό βιομάζας μπορεί να περιγραφεί ως στερεό βιοκαύσιμο. Στερεά βιομάζα είναι κυρίως οποιαδήποτε στερεή πρώτη ύλη που μπορεί να μετατραπεί σε βιοκαύσιμο. Παραδείγματα τέτοιας στερεάς βιομάζας περιλαμβάνουν τη λιγνοκυτταρινική βιομάζα και διάφορους τύπους στερεών αποβλήτων (Chua et al., 2020). Στην ιδανική περίπτωση, κάθε μία από αυτές τις ακατέργαστες στερεές βιομάζες μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας ως στερεό βιοκαύσιμο ή ως πρώτη ύλη για άλλες μορφές παραγωγής βιοκαυσίμων.

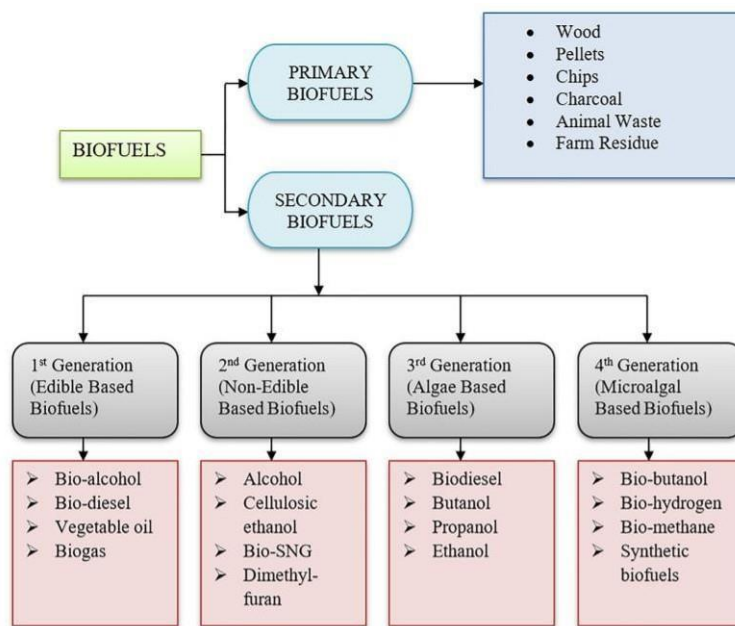
❖ Υγρά βιοκαύσιμα: Τα υγρά βιοκαύσιμα αναφέρονται σε οποιοδήποτε ανανεώσιμο καύσιμο σε υγρή μορφή. Χρησιμοποιούνται κυρίως ως καύσιμα μεταφορών. Το 2019, η παραγωγή υγρών βιοκαυσίμων αυξήθηκε στα 96 Mtoe (Million Tonnes of Oil Equivalent) από τα 82,31 Mtoe και 8,57 Mtoe που παρήχθησαν το 2016 και το 1990, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτα παραδείγματα υγρών βιοκαυσίμων είναι το βιοντίζελ, η βιομεθανόλη, η βιοιθανόλη, η βιοβουτανόλη, η βιοπροπανόλη και το βιοέλαιο (Moriarty et al., 2019). Στα βασικά πλεονεκτήματα από την εφαρμογή των υγρών βιοκαυσίμων συγκαταλλέγονται τα ακόλουθα (Demain et al., 2013): (i) η υψηλή τους καύση, (ii) είναι ασφαλέστερα και εύκολα στην αποθήκευση, (iii) είναι εύκολο να μεταφερθούν με αγωγούς, (iv) είναι ασφαλέστερα στη μεταφορά σε σύγκριση με τη βενζίνη, (v) είναι σχετικά φθηνά, (v) έχουν υψηλή αναλογία ενέργειας προς μάζα, (vi) σταθερότητα αποθήκευσης και (vii) είναι μη εκρηκτικά.

❖ Αέρια βιοκαύσιμα: Το βιοαέριο/βιομεθάνιο, το βιοϋδρογόνο και το biosyngas είναι τα συνηθέστερα παραδείγματα αερίων βιοκαυσίμων. Έχουν μια μεγάλη ποικιλία εφαρμογών, συμπεριλαμβανομένων των χρήσεων θερμικής, μεταφοράς και θερμότητας και παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας. Με τα χρόνια, τα αέρια βιοκαύσιμα έχουν μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί εκτενώς λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων που προκύπτουν από αυτά, τα οποία περιλαμβάνουν: (i) υψηλότερη δραστηριότητα, (ii) δημιουργία λιγότερων αποβλήτων όταν εφαρμόζονται, (iii) απαιτούνται λιγότερα οξειδωτικά, (iv) η απλότητα των αντιδραστήρων και (v) η ευκολία ελέγχου τους (Awogbemi et al., 2021).

1.5. Κατηγορίες Βιοκαυσίμων

Στη σημερινή εποχή υπάρχει σχετικά υψηλή αποδοχή από το ευρύ κοινό, τις κυβερνήσεις, τους παραγωγούς και μέρος των γεωργικών τομέων για την προώθηση της επέκτασης των βιοκαυσίμων στην κοινωνία σε μια προσπάθεια στρέψης από τη βιομηχανία που βασίζεται στη βενζίνη (τα τελευταία 50 χρόνια τουλάχιστον) σε μια βιομηχανία και κοινωνία που βασίζεται στη βιομάζα που μπορεί να εγγραφεί έναν πιο ασφαλή ενεργειακό εφοδιασμό. Από αυτή την άποψη, μεγάλο μέρος της

εργασίας που πραγματοποιήθηκε τα τελευταία χρόνια έχει επικεντρωθεί στην ανάπτυξη διαφόρων μεθοδολογιών για την παραγωγή βιοκαυσίμων για τα μέσα μεταφοράς. Υπάρχουν αρκετοί σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λάβει κανείς υπόψη για την επιτυχή εφαρμογή των βιοκαυσίμων στην κοινωνία (Luque et al., 2008). Τα βιοκαύσιμα ταξινομούνται σε πρώτη, δεύτερη, τρίτη και τέταρτη γενιά με βάση τις πηγές που προέρχονται και την παραγωγή τους όπως φαίνεται στην Εικόνα 1. Πολλοί ερευνητές έχουν εργαστεί και στις τέσσερις γενιές με έμφαση στους πόρους και την παραγωγή διάφορων βιοϋλικών (Priya et al., 2022).



Εικόνα 1- Είδη βιοκαυσίμων και οι γενιές τους (Priya et al., 2022).

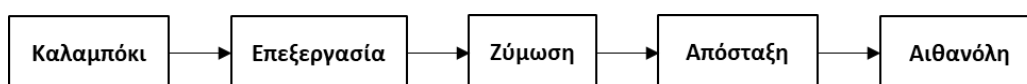
Ο Πίνακας 3 δείχνει την ταξινόμηση των ανανεώσιμων βιοκαυσίμων με βάση τις τεχνολογίες παραγωγής τους (Demirbas et al., 2011).

Πίνακας 3- Ταξινόμηση βιοκαυσίμων με βάση την τεχνολογία παραγωγής τους (Demirbas et al., 2011).

Γενιά	Πρώτη ύλη	Παράδειγμα
Βιοκαύσιμα 1 ^{ης} γενιάς	Ζάχαρη, άμυλο, φυτικά έλαια ή ζωικά λίπη	Βιοαλκοόλες, φυτικά έλαια, βιοντίζελ, βιοαέριο
Βιοκαύσιμα 2 ^{ης} γενιάς	Μη διατροφικές καλλιέργειες, άχυρο σίτου, καλαμπόκι, ξύλο, στερεά απόβλητα, ενεργειακή καλλιέργεια	Βιοαλκοόλες, βιοέλαιο, βιοϋδρογόνο, ντίζελ από ξύλο
Βιοκαύσιμα 3 ^{ης} γενιάς	Φύκη	Φυτικό έλαιο, βιοντίζελ
Βιοκαύσιμα 4 ^{ης} γενιάς	Φυτικό έλαιο, βιοντίζελ	Βιοβενζίνη

1.5.1. Βιοκαύσιμα 1^{ης} γενιάς (First generation biofuels, FGBs)

Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς αναφέρονται σε βιοκαύσιμα που παράγονται από άμεσα διαθέσιμες ενεργειακές καλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένων των καλλιεργειών ζάχαρης, αμύλου (Luque et al., 2008) και φυτικών ή ζωικών ελαίων (Demirbas et al., 2011) (βρώσιμες πρώτες ύλες) με τη χρήση συμβατικών τεχνολογιών (Luque et al., 2008). Τα βασικά αποθέματα τροφοδοσίας για την παραγωγή βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς είναι το κραμβέλαιο, το σογιέλαιο, το φοινικέλαιο, το ηλιέλαιο, το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο, το σιτάρι και τα ζαχαρότευτλα. Τα εξαγόμενα έλαια μετατρέπονται σε βιοντίζελ μέσω της διαδικασίας μετεστεροποίησης ενώ η αιθανόλη, μια μορφή βιοαλκοόλης, παράγεται από το καλαμπόκι, το ζαχαροκάλαμο κ.λπ., με άμεση ζύμωση. Μια σχηματική απεικόνιση της παραγωγής αιθανόλης από καλαμπόκι φαίνεται στην Εικόνα 2 (Awogbemi et al., 2021). Αξίζει να σημειωθεί ότι η τεχνολογία παραγωγής για τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς είναι πολύ περίπλοκη (Priya et al., 2022).



Εικόνα 2- Σχηματική απεικόνιση της παραγωγής αιθανόλης από πρώτης γενιάς πρώτη ύλη.

Τα πιο κοινά βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς είναι το βιοντίζελ και η βιοαιθανόλη. Μερικά άλλα βιοκαύσιμα αυτής της κατηγορίας είναι τα βιοκαύσιμα που ενσωματώνουν γλυκερίνη, τα βιοκαύσιμα από καταλυτική πυρόλυση, η βιοβουτανόλη και το 2,5-διμεθυλφουράνιο (DMF, Dimethylfuran). Τα διάφορα βιοκαύσιμα ομαδοποιούνται ανάλογα με την τεχνολογία που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τους, δηλαδή τη χημική, τη θερμοχημική και τη βιολογική μετατροπή (Luque et al., 2008).

1.5.2. Βιοκαύσιμα 2^{ης} γενιάς (Second generation biofuels, SGBs)

Τα βιοκαύσιμα αυτά παράγονται από κυτταρινική ή υδατανθρακική βιομάζα (Priya et al., 2022). Αυτοί οι υδατάνθρακες εξάγονται συνήθως από εναλλακτικές πρώτες ύλες, γενικά μη βρώσιμες πρώτες ύλες (Luque et al., 2008) (π.χ. άχυρο σίτου, καλαμπόκι, ξύλο (Demirbas et al., 2011)), συμπεριλαμβανομένων των απορριμμάτων φυτικών ελαίων και λιπών, μη εδωδιμων καλλιεργειών και πηγών βιομάζας, τέτοιες τεχνολογίες αρχίζουν να αναπτύσσονται σε μια προσπάθεια να ξεπεραστούν οι μεγάλες ελλείψεις της παραγωγής βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς. Τα βιοκαύσιμα που λαμβάνονται από τέτοιες τεχνολογίες έχουν χαρακτηριστεί ως βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς (Luque et al., 2008) ή αλλιώς προηγμένα βιοκαύσιμα (Demirbas et al., 2011) και θεωρητικά, αυτά μπορούν να παρέχουν μεγαλύτερο μέρος προμήθειας καυσίμου με πιο βιώσιμο τρόπο και πιο λογικές τιμές, αλλά και με μεγαλύτερα περιβαλλοντικά οφέλη (Luque et al., 2008).

Η πλειονότητα των τεχνολογιών επεξεργασίας βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς δεν είναι ακόμη διαθέσιμη σε πλήρως εμπορική κλίμακα, επομένως τα βιοκαύσιμα αναμένεται να εισέλθουν στην αγορά μέσα σε λίγα χρόνια. Με παρόμοιο τρόπο με αυτά των βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς, τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς παρασκευάζονται με χημική, βιολογική και θερμοχημική μετατροπή (Luque et al., 2008).

1.5.3. Βιοκαύσιμα 3^{ης} γενιάς (Third generation biofuels, TGBs)

Τα βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς ή προηγμένα βιοκαύσιμα ή καύσιμα φυκών ονομάζονται τα βιοκαύσιμα που παρασκευάζονται από φύκια. Τα φύκια είναι πρώτες ύλες χαμηλής εισροής/υψηλής απόδοσης (30 φορές περισσότερη ενέργεια ανά στρέμμα από τη γη) για την παραγωγή βιοκαυσίμων χρησιμοποιώντας πιο προηγμένη τεχνολογία (Demirbas et al., 2011). Είναι μια επιλογή αντικατάστασης των υγρών ορυκτών καυσίμων. Τα φύκια περιέχουν έλαια πλούσια σε ενέργεια για αυτό και χρησιμοποιούνται σε αυτόν τον τύπο παραγωγής (Priya et al., 2022). Η βιομάζα των φυκών λαμβάνει το CO₂ από τις εκπομπές των σταθμών παραγωγής ενέργειας και το χρησιμοποιεί για την ανάπτυξή της. Η βιομάζα μετατρέπεται σε CO₂ με φωτοσύνθεση, η οποία εκπέμπει οξυγόνο στην ατμόσφαιρα. Κατά συνέπεια η καλλιέργεια και η χρήση των φυκών ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων είναι μία από τις στρατηγικές για την επίτευξη του μετριασμού του CO₂ (Awogbemi et al., 2021).

Το καύσιμο με βάση τα φύκια μπορεί εύκολα να αντικαταστήσει τις πηγές βιοκαυσίμων με βάση το καλαμπόκι και το ζαχαροκάλαμο. Τα φύκια κοστίζουν περισσότερο ανά μονάδα μάζας από άλλες καλλιέργειες βιοκαυσίμων λόγω της υψηλής επένδυσής τους και του κόστους εργασίας τους, αλλά παράγουν περίπου 10-100 φορές περισσότερα βιοκαύσιμα ή έλαιο ανά μονάδα επιφάνειας (Carriguiry et al., 2011). Η τρίτη γενιά αποσκοπεί ουσιαστικά στον περιορισμό των βιοκαυσίμων πρώτης και δεύτερης γενιάς επειδή έχουν χαμηλή απόδοση επένδυσης και προηγμένες και σύγχρονες τεχνικές για τη διαδικασία παραγωγής τους (Priya et al., 2022).

1.5.4. Βιοκαύσιμα 4^{ης} γενιάς

Μία εμφανιζόμενη τέταρτη γενιά βιοκαυσίμων βασίζεται στη μετατροπή του φυτικού ελαίου και του βιοντίζελ σε βιοβενζίνη χρησιμοποιώντας την πιο προηγμένη τεχνολογία (Demirbas et al., 2011). Παράγεται με τη βοήθεια της γενετικής μηχανικής (Priya et al., 2022), καθώς η πρώτη ύλη τέταρτης γενιάς (4GF) είναι γενετικά τροποποιημένη (Awogbemi et al., 2021). Η παροχή βιομάζας στα βιοκαύσιμα τέταρτης γενιάς προέρχεται από μικροφύκη, μακροφύκη και κυανοβακτήρια. Τα κυανοβακτήρια είναι προκαρυώτες, ενώ τα μικροφύκη και τα μακροφύκη είναι ευκαρυώτες. Τα μικροφύκη που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή βιοκαυσίμων φυκών είναι τα εξής: Eustigmatophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Γαλαζοπράσινα φύκια (Priya et al., 2022).

Αν και τα βιοκαύσιμα 4^{ης} γενιάς βρίσκονται ακόμα στο πειραματικό εργαστηριακό στάδιο, αναπτύσσονται από την τροποποίηση των φυκών. Με αυτόν τον τρόπο, τα φύκια τροποποιούνται μεταβολικά για να έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε έλαιο, αυξημένη ικανότητα δέσμευσης άνθρακα και βελτιωμένες διαδικασίες καλλιέργειας, συγκομιδής και ζύμωσης. Έχουν διεξαχθεί ορισμένες έρευνες σχετικά με την εφαρμογή της νανοτεχνολογίας για την αύξηση της αποδοτικότητας και της αποδοτικής παραγωγής βιοκαυσίμων με βάση τα φύκια. Μια νέα προσέγγιση που αναφέρεται ως «νανοκαλλιέργεια» έχει θεωρηθεί ότι είναι ανεκτίμητη για την επιτάχυνση της εξόρυξης ελαίου από βιομάζα φυκών και επιτρέπει τη συνεχή χρήση της βιομάζας για μεγάλο χρονικό διάστημα, έως και 70 ημέρες (Ziolkowska, 2018).

1.6. Πρώτες Ύλες για την Παραγωγή Βιοκαυσίμων

Οι διάφορες πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοκαυσίμων κάθε γενιάς είναι οι ακόλουθες:

- ❖ Βιοκαύσιμα 1^{ης} γενιάς: Οι κύριες πρώτες ύλες για την παραγωγή τους περιλαμβάνουν εδώδιμες καλλιέργειες (τρόφιμα) όπως καλαμπόκι, σιτάρι, φοινικέλαιο, σόγια, βρώσιμο φυτικό έλαιο, δημητριακά, ζαχαροκάλαμο, ξύλο, σιτηρά, άχυρο, κάρβουνο, οικιακά απορρίμματα και αποξηραμένη κοπριά.
- ❖ Βιοκαύσιμα 2^{ης} γενιάς: Τα βιοκαύσιμα αυτά μπορούν να παραχθούν από μη βρώσιμες πρώτες ύλες όπως απόβλητα μαγειρικά έλαια, απόβλητα ζωικά λίπη, ανακτημένο λάδι, και λιγνοκυτταρινική βιομάζα, όπως γρασίδι, ξύλο, βαγιάση από ζαχαροκάλαμο, γεωργικά υπολείμματα, δασικά υπολείμματα και αστικά στερεά απόβλητα.
- ❖ Βιοκαύσιμα 3^{ης} γενιάς: Τα φύκια είναι η κύρια πρώτη ύλη για βιοκαύσιμα αυτά. Άλλες πρώτες ύλες περιλαμβάνουν μαγιά, μύκητες και κυανοβακτήρια.
- ❖ Βιοκαύσιμα 4^{ης} γενιάς: Παράγονται από γενετικά ή μεταβολικά τροποποιημένη πρώτη ύλη από φύκια (Priya et al., 2022).

1.7. Παραγωγή Βιοκαυσίμων

1.7.1. Παραγωγή Βιοντίζελ

Αρκετές διαδικασίες έχουν καθιερωθεί για τη μετατροπή των φυτικών ελαίων σε καύσιμα που έχουν ιδιότητες συγκρίσιμες με το ντίζελ. Αυτές περιλαμβάνουν τη μετεστεροποίηση, την ανάμειξη, τη διάσπαση, τη μικρογαλακτωματοποίηση και την πυρόλυση (Sinha et al., 2008).

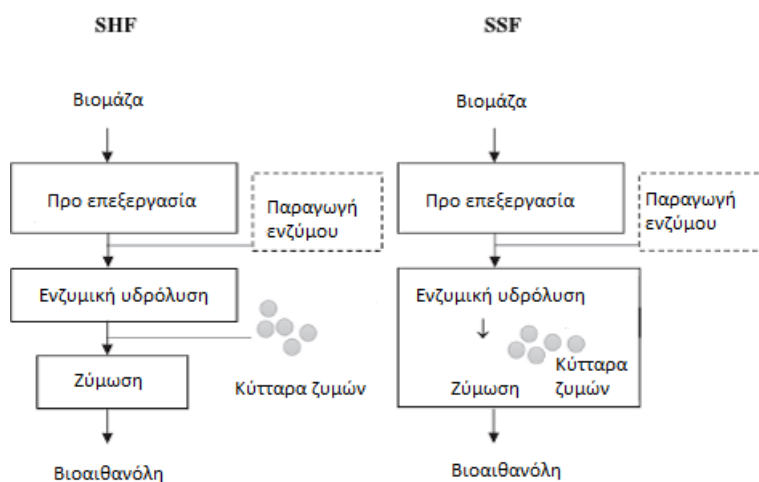
Η μετεστεροποίηση είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την ανάπτυξη βιοντίζελ. Έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων διεργασιών, π.χ. έχει καλή απόδοση βιοντίζελ, καλύτερης ποιότητας ενώ ταυτόχρονα εκτελείται υπό κανονικές συνθήκες (Sinha et al., 2008). Η μετεστεροποίηση είναι μια χημική μέθοδος κατά την οποία το τριγλυκερίδιο μετατρέπεται σε διγλυκερίδιο και το διγλυκερίδιο μετατρέπεται σε μονογλυκερίδιο που είναι μεθυλεστέρας ή αιθυλεστέρας και ονομάζεται βιοντίζελ. Οι αντιδράσεις αποτελούνται από διαδοχικές αναστρέψιμες διεργασίες. (Shahid et al., 2011).

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

1.7.2. Παραγωγή Βιοαιθανόλης

Η βιοχημική μετατροπή λιγνοκυτταρινικών υλικών μέσω σακχαροποίησης και ζύμωσης είναι μια κύρια οδός για την παραγωγή βιοαιθανόλης από βιομάζα. Η βιομετατροπή των λιγνοκυτταρινικών πρώτων

υλών σε βιοαιθανόλη είναι δύσκολη λόγω: (1) της ανθεκτικής φύσης της βιομάζας στη διάσπαση, (2) της ποικιλία των σακχάρων που απελευθερώνονται όταν η ημικυτταρίνη και τα πολυμερή κυτταρίνης θραύονται και της ανάγκης να βρεθούν ή να κατασκευαστούν γενετικά οργανισμοί για την αποτελεσματική ζύμωση αυτών των σακχάρων, (3) του κόστους συλλογής και αποθήκευσης λιγνοκυτταρικών υλικών χαμηλής πυκνότητας. Το γενικό διάγραμμα παραγωγής της βιοαιθανόλης από υλικά λιγνοκυτταρίνης δίνεται στην Εικόνα 3 Τα βασικά στάδια της διαδικασίας για την παραγωγή βιοαιθανόλης από λιγνοκυτταρινικά υλικά είναι τα ακόλουθα: προεπεξεργασία, υδρόλυση, ζύμωση και διαχωρισμός/απόσταξη προϊόντος (Balat, 2011).



Εικόνα 3- παραγωγή αιθανόλης με SHF και SSF (Cardona et al., 2006)

1.7.3. Παραγωγή Βιοαερίου

Το βιοαέριο είναι μια ευέλικτη ανανεώσιμη πηγή ενέργειας, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων στην παραγωγή ενέργειας και θερμότητας, αλλά και ως αέριο καύσιμο οχημάτων. Η παραγωγή βιοαερίου μέσω της αναερόβιας χώνευσης προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες μορφές παραγωγής βιοενέργειας. Έχει αξιολογηθεί ως μία από τις πιο ενεργειακά αποδοτικές και περιβαλλοντικά επωφελείς τεχνολογίες για την παραγωγή βιοενέργειας (Fehrenbach et al. 2008). Μπορεί να μειώσει δραστικά τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου σε σύγκριση με τα ορυκτά καύσιμα με τη χρήση των τοπικών διαθέσιμων πόρων. Το χωνεμένο υπόλειμμα είναι ένα βελτιωμένο λίπασμα όσον αφορά τη διαθεσιμότητά του σε καλλιέργειες που μπορούν να υποκαταστήσουν το ανόργανο λίπασμα (Balat, 2011).

Η ζύμωση μεθανίου είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, η οποία μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις φάσεις: υδρόλυση, οξεογένεση, ακετογένεση/αφυδρογόνωση και μεθανίωση. Τα επιμέρους στάδια αποδόμησης πραγματοποιούνται από διαφορετικές κατηγορίες μικροοργανισμών, οι οποίες εν μέρει βρίσκονται σε αλληλοσυσχέτιση και θέτουν διαφορετικές απαιτήσεις στο περιβάλλον (Angelidaki et al. 1993). Οι μικροοργανισμοί που υδρολύουν και ζυμώνουν είναι υπεύθυνοι για την αρχική επίθεση σε πολυμερή και μονομερή και παράγουν κυρίως οξικό άλας και υδρογόνο και ποικίλες ποσότητες πτητικών λιπαρών οξέων, όπως το προπιονικό και το βουτυρικό. Οι υδρολυτικοί μικροοργανισμοί εκκρίνουν υδρολυτικά ένζυμα, π.χ., κυτταρινάση, σελλοβιάση, ξυλανάση, αμυλάση, λιπάση και πρωτεάση. Μια πολύπλοκη κοινοπραξία μικροοργανισμών συμμετέχει στην υδρόλυση και ζύμωση της οργανικής ύλης. Τα περισσότερα από τα βακτήρια είναι αυστηρά αναερόβια (Balat, 2011).

Κεφάλαιο 2: Βιοαιθανόλη

2.1. Γενικά περί Βιοαιθανόλης

Είναι πλέον κοινώς αποδεκτό ότι ο άνθρωπος εξαρτάται από μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας για τις μεταφορές, τη θερμότητα και την παραγωγή ενέργειας. Σήμερα τα ορυκτά καύσιμα αποτελούν τη βασική πηγή ενέργειας, παρέχοντας περίπου το 80% της παγκόσμιας τελικής κατανάλωσης ενέργειας. Ένεκα των αυξανόμενων ενεργειακών απαιτήσεων και των επιπτώσεων της χρήσης ορυκτών καυσίμων στην υγεία και το περιβάλλον, καθίσταται επιτακτική ανάγκη να βρεθούν εναλλακτικές λύσεις. Ο ρυθμός ανακάλυψης ορυκτών καυσίμων, σύντομα δε θα ταιριάζει με τον ρυθμό κατανάλωσης. Τα βιοκαύσιμα είναι μια πιθανή ανανεώσιμη πηγή ενέργειας για την αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων, κυρίως λόγω των κατά πολύ χαμηλότερων εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου. Επίσης, τα βιοκαύσιμα παράγονται από κοινές πηγές βιομάζας που είναι γεωγραφικά πιο ομοιόμορφα κατανεμημένες από τα ορυκτά καύσιμα, γεγονός το οποίο επιτρέπει την αυτόνομη και ασφαλή παροχή ενέργειας.

Στην εποχή που διανύουμε η βιοαιθανόλη είναι το βιοκαύσιμο με τη μεγαλύτερη παραγωγή, που αντιστοιχεί στο περίπου 73% των 135 δισεκατομμυρίων λίτρων βιοκαυσίμων που παρήχθησαν το 2016. Οι Ηνωμένες Πολιτείες είναι ο μεγαλύτερος παραγωγός, 59%, με τη Βραζιλία να ακολουθεί με ποσοστό 27% της παγκόσμιας παραγωγής. Η βιοαιθανόλη δύναται να χρησιμοποιηθεί ως αντικαταστάτης της καθαρής βενζίνης ή ακόμα και σε μίγματα με βενζίνη. Η χρήση της σε κινητήρες ανάφλεξης με σπινθήρα έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τη βενζίνη. Η αιθανόλη έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε οξυγόνο, η οποία προάγει καλύτερη καύση, χαμηλότερες εκπομπές καυσαερίων και υψηλότερο αριθμό οκτανίων, πράγμα το οποίο επιτρέπει στους κινητήρες να λειτουργούν με πιο υψηλό ρυθμό συμπίεσης. Συνάμα, η χρήση φυτικής βιομάζας ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης επιτρέπει την ανακύκλωση του CO₂ που απελευθερώνεται κατά την καύση, μειώνοντας έτσι τις εκπομπές του (Sebayang, 2016).

Αναλυτικότερα, η βιοαιθανόλη είναι ένα ανανεώσιμο και βιώσιμο υγρό καύσιμο το οποίο αναμένεται να έχει ένα υποσχόμενο μέλλον για την αντιμετώπιση της σημερινής παγκόσμιας ενεργειακής κρίσης καθώς και της επιδείνωσης της ποιότητας του περιβάλλοντος. Το 2011, η παγκόσμια παραγωγή βιοαιθανόλης δηλώθηκε ότι ήταν πάνω από 100 δισεκατομμύρια λίτρα και αναμενόταν να αυξηθεί έως και 7% ετησίως το 2015, γεγονός που δείχνει ότι η βιοαιθανόλη θεωρείται ήδη ως μια ιδανική εναλλακτική πηγή ενέργειας για αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων. Η βιοαιθανόλη δεν είναι μια νέα πηγή ενέργειας δεδομένου ότι έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στην Ευρώπη και τις Ηνωμένες Πολιτείες στις αρχές του 1900, ωστόσο, αγνοήθηκε λόγω του υψηλού κόστους παραγωγής της σε σύγκριση με τη βενζίνη. Πιο συγκεκριμένα, η χρήση της αιθανόλης ξεκίνησε στη μηχανή εσωτερικής καύσης που εφευρέθηκε από τον Nikolaus Otto το 1897 και η παραγωγή της συνεχίστηκε λόγω της πετρελαϊκής κρίσης στη δεκαετία του 1970 κι έτσι αυτή χρησιμοποιήθηκε ως εναλλακτικό καύσιμο. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1980, η αιθανόλη θεωρείται ένα πιθανό εναλλακτικό καύσιμο σε πολλές χώρες. Περιέχει υψηλό αριθμό οκτανίων (108) και επομένως, γίνεται ευνοϊκό καύσιμο κινητήρα εσωτερικής καύσης για την πρόληψη του χτυπήματος του κινητήρα και της πρόωρης ανάφλεξης, οδηγώντας έτσι σε υψηλή αντικρουστική αξία. Αν και έχει 68% χαμηλότερη περιεκτικότητα σε ενέργεια σε σύγκριση με τη βενζίνη, η υψηλή περιεκτικότητα της σε οξυγόνο καθιστά την καύση καθαρότερη και έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερες εκπομπές τοξικών ουσιών. Επιπρόσθετα η βιοαιθανόλη συμβάλλει στη μείωση των εκπομπών CO₂ μέχρι και 80% σε σύγκριση

με την χρήση βενζίνης, προάγοντας έτσι ένα καθαρότερο περιβάλλον για το μέλλον (M., 2011), (Alcohol, 2014).

2.2. Ιδιότητες Βιοαιθανόλης

Η αιθανόλη ορίζεται ως μια ουσία υγρή, πτητική, διαφανής και ευδιάλυτη στο νερό, όπως επίσης και σημαντικός διαλύτης. Αναμιγνύεται με το νερό σε κάθε αναλογία και κατά την ανάμειξη τους παρατηρείται ελάττωση όγκου, ενώ ταυτόχρονα εκλύεται θερμότητα. Μίγμα 95% αλκοόλης και 5% νερού χαρακτηρίζεται ως αζεοτροπικό, επειδή κατά την απόσταξη τους δεν διαχωρίζονται τα συστατικά τους, καθώς ζέουν στην ίδια θερμοκρασία. Η καθαρή αιθανόλη έχει πυκνότητα 0.789 g/mL και σημείο βρασμού 78.5°C. Η καθαρή αιθυλική αλκοόλη έχει σημείο τήξης στους -117°C και το μοριακό της βάρος είναι 46,0684. Είναι ουσία η οποία δεν παρουσιάζει καμία επικινδυνότητα για την ανθρώπινη υγεία. Αποτελεί ουσία η οποία μπορεί να αναφλεγεί κάτω από όλες τις προϋποθέσεις θερμοκρασίας περιβάλλοντος. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ουσίες με σημείο ανάφλεξης από 38°C έως 23°C (Demirbas MF, 2009).

Οι ιδιότητες αυτές επιτρέπουν την υψηλότερη αναλογία συμπίεσης, το μικρότερο χρόνο καύσης και την απλούστερη καύση, πράγματα που οδηγούν σε θεωρητικά πλεονεκτήματα απόδοσης έναντι της βενζίνης σε έναν κινητήρα εσωτερικής καύσης. Τα μειονεκτήματα της βιοαιθανόλης περιλαμβάνουν τη χαμηλότερη ενεργειακή της πυκνότητα από τη βενζίνη, τη διαβρωτικότητα της, τη χαμηλή φωτεινότητα της φλόγας, τη χαμηλότερη πίεση ατμών, την αναμειξιμότητα με το νερό και την τοξικότητα στα οικοσυστήματα, την αύξηση των εκπομπών καυσαερίων ακεταλδεϋδης και την αύξηση της τάσης ατμών όταν αναμειγνύεται με βενζίνη.

2.3. Χρήσεις Αιθανόλης-Βιοαιθανόλης

1. Απολυμαντικά προϊόντα: Λόγω του ότι η αιθανόλη είναι πολύ αποτελεσματική στη θανάτωση μικροοργανισμών όπως βακτηρίων, μυκήτων και ιών, αποτελεί ένα κοινό συστατικό σε πολλά απολυμαντικά χεριών. Γενικώς, όταν δεν υπάρχει διαθέσιμο νερό και σαπούνι πολλά κέντρα υγείας σε Ευρώπη και Αμερική προτείνουν την απολύμανση των χεριών με αιθανόλη.
2. Προϊόντα προσωπικής φροντίδας: Η αιθανόλη είναι κοινό συστατικό σε πολλά καλλυντικά και διάφορα προϊόντα ομορφιάς. Έχει αρκετές χρήσεις όπως το να λειτουργεί ως στυπτικό για να βοηθήσει στο καθαρισμό του δέρματος, σε λοσιόν ως συντηρητικό καθώς και για να διασφαλίσει ότι τα συστατικά της λοσιόν δεν διαχωρίζονται και τέλος σε ψεκασμούς μαλλιών για να βοηθήσουν το σπρέι να κολλήσει στα μαλλιά.
3. Προϊόντα οικιακής χρήσης: Η αιθανόλη αναμιγνύεται εύκολα με νερό και με αρκετές οργανικές ενώσεις. Έτσι, αποτελεί αποτελεσματικό διαλύτη για χρήση σε χρώματα και βερνίκια, αλλά και σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας και οικιακού καθαρισμού. Ακόμη, η αιθανόλη χρησιμοποιείται ως συντηρητικό στα προϊόντα καθαρισμού, διότι

είναι αποτελεσματική στην εξάλειψη οργανισμών που θα μπορούσαν να αποτελέσουν κίνδυνο για τους καταναλωτές.

4. Πρόσθετα τροφίμων: Στον τομέα αυτό, η αιθανόλη συντείνει στην ομοιόμορφη κατανομή του χρωματισμού των τροφίμων και επίσης έχει τη δυνατότητα να ενισχύσει τη γεύση των εκχυλισμάτων τροφίμων. Ένα παράδειγμα είναι το εκχύλισμα βανίλιας, ένα κοινό αρωματικό φαγητού, το οποίο παρασκευάζεται με σκλήρυνση και επεξεργασία των φασολιών βανίλιας σε διάλυμα αιθανόλης νερού.
5. Καύσιμα: Η αιθανόλη έχει πιο υψηλό αριθμό οκτανίων από τη βενζίνη, παρέχοντας έτσι εξαιρετικές ιδιότητες ανάμειξης. Οι ελάχιστες απαιτήσεις αριθμού οκτανίων αποτρέπουν το χτύπημα του κινητήρα και διατηρούν την υψηλή απόδοση μηχανής. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως περίπου το 97% της βενζίνης των ΗΠΑ περιέχει αιθανόλη, συνήθως σε ένα μίγμα που ονομάζεται E10, το οποίο αποτελείται από 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη με σκοπό να οξυγονώσει το καύσιμο και να μειώσει την ατμοσφαιρική ρύπανση.



Εικόνα 4- Γενικό σχεδιάγραμμα χρήσης της αιθανόλης (Baras, 2002).

2.3.1. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα χρήσης βιοαιθανόλης

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης της αιθανόλης είναι πολλά και μερικά από αυτά αναλύονται παρακάτω:

- i. Κατά πρώτο λόγο, η βιοαιθανόλη προέρχεται από ανανεώσιμες καλλιέργειες κι όχι από ένα εξαντλήσιμο πόρο.
- ii. Η ανάμειξη της με βενζίνη, συμβάλλει στην παράταση ζωής των αποθεμάτων πετρελαίου και στην εξασφάλιση μεγαλύτερης παγκόσμια ασφάλεια αναφορικά με την διάθεση των καυσίμων.
- iii. Με την ενθάρρυνση εναλλακτικών καλλιεργητικών λύσεων, όπως είναι η χρήση της βιοαιθανόλης, θα επέλθει η ενδυνάμωση του γεωργικού χώρου και κατ'επέκταση η αύξηση του αγροτικού εισοδήματος. Ως αποτέλεσμα, μειώνονται οι περιφερειακές ανισότητες και το φαινόμενο της αστικοποίησης που εμφανίζεται στις σύγχρονες κοινωνίες.

- iv. Σε ποσότητες μέχρι και 5%, το βιοκαύσιμο μπορεί να αναμειχθεί με συμβατικά καύσιμα, χωρίς να είναι αναγκαίες οι τροποποιήσεις του κινητήρα
- v. Με τη χρήση της βιοαιθανόλης επιτυγχάνεται μείωση των εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα κατά 60- 90% σε σχέση με τη βενζίνη.
- vi. Το CO₂ που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της καύσης, ανακυκλώνεται από τα φυτά μέσω της φωτοσύνθεσης.
- vii. Η βιοαιθανόλη είναι εγχώρια πηγή ενέργειας, δηλαδή η αξιοποίησή της σε ενέργεια συμβάλλει σημαντικά στη μείωση της εξάρτησης από εισαγόμενα καύσιμα και ταυτόχρονα βελτίωση του εμπορικού ισοζυγίου, στην εξασφάλιση του ενεργειακού εφοδιασμού και στην εξοικονόμηση του συναλλάγματος.
- viii. Έχει καλή απόδοση ως καύσιμο στα αυτοκίνητα, είτε σε καθαρή μορφή είτε σε μίξη με τη βενζίνη και εξαιρετικές ιδιότητες σαν καύσιμο για μηχανές εσωτερικής καύσης με ανάφλεξη σπινθήρα.
- ix. Περιέχει μεγαλύτερο αριθμό οκτανίων από τη βενζίνη και συνεπώς οι μηχανές καύσης λειτουργούν με υψηλότερο λόγο συμπίεσης, δίνοντας καλύτερη καθαρή απόδοση. Ο μεγαλύτερος αριθμός οκτανίων καθώς και η υψηλότερη θερμοκρασία εξάτμισης, καθιστούν την βιοαιθανόλη περισσότερο αποτελεσματική σαν καθαρό καύσιμο από την βενζίνη.
- x. Η βιοαιθανόλη έχει χαμηλή πτητικότητα και φωτοχημική αντιδραστικότητα με την ατμόσφαιρα, με αποτέλεσμα η πιθανότητα σχηματισμός αιθαλομίχλης να είναι μικρή.
- xi. Είναι λιγότερο τοξική, συγκριτικά με άλλα καύσιμα και είναι εύκολα βιοδιασπώμενη στο νερό και στο έδαφος, ελαττώνοντας έτσι τις καταστρεπτικές συνέπειες τυχόν διαρροών συγκριτικά με τα ορυκτά καύσιμα.
- xii. Η μηδαμινή ύπαρξη του θείου στα βιοκαύσιμα συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στον περιορισμό των εκπομπών του διοξειδίου του θείου το οποίο είναι υπεύθυνο για την όξινη βροχή.

Παρόλα αυτά όμως, πέραν των πολλών και διαφόρων πλεονεκτημάτων του βιοκαυσίμου, υπάρχουν ανησυχίες οι οποίες πρέπει να σημειωθούν σχετικά με τη χρήση της βιοαιθανόλης ως μια μακροπρόθεσμη εναλλακτική λύση στην τροφοδοσία καυσίμου των αυτοκινήτων.

Άξιο αναφοράς είναι η αρνητική επίπτωση στην βιοποικιλότητα. Η ανάγκη για χρήση μεγάλης έκτασης καλλιεργήσιμης γης είναι πιθανό να οδηγήσει στην καταστροφή φυσικών οικοτύπων συμπεριλαμβανομένων και των τροπικών δασών. Υπάρχει ανησυχία ότι λόγω των προσοδοφόρων τιμών της βιοαιθανόλης, ένα μεγάλο ποσοστό αγροτών μπορούν να θυσιάσουν τις καλλιέργειες τροφίμων για την παραγωγή βιοαιθανόλης με αποτέλεσμα έτσι την αύξηση των τιμών των τροφίμων.

Επίσης, η μεγάλη διασπορά και η εποχιακή παραγωγή της βιομάζας δυσκολεύουν την συνεχή τροφοδοσία με πρώτη ύλη των μονάδων ενεργειακής αξιοποίησης της βιομάζας. Βάσει των

προαναφερθέντων παρουσιάζονται αρκετές δυσκολίες κατά τη συλλογή, μεταφορά και αποθήκευση της βιομάζας που αυξάνουν το κόστος της ενεργειακής αξιοποίησης.

Αναφορικά με το κόστος, οι σύγχρονες και βελτιωμένες τεχνολογίες μετατροπής της βιομάζας έχουν υψηλή απαίτηση σε κόστος εξοπλισμού, σε σχέση με αυτό των συμβατικών καυσίμων. Η ανταγωνιστικότητα της παραγωγής της συγκριτικά με το κόστος εξαρτάται από την τιμή των πρώτων υλών και την πορεία των τιμών των συμβατικών καυσίμων κίνησης, δύο ιδιαίτερα ασταθείς παράγοντες και συνάμα δύσκολο να τους προβλέψεις.

Όσον για την εκπομπές, η εκπομπή αλδεϋδών, ιδιαίτερα της ακεταλδεϋδης, είναι 2-4 φορές μεγαλύτερη από τις εκπομπές της βενζίνης, καθώς και στις εκπομπή οξειδίων του αζώτου παρατηρείται αύξηση κατά 10%, κάτι που ωστόσο δύναται να αντιμετωπιστεί με την χρήση καταλύτη ή κάποια μικρή τροποποίηση.

2.4. Η Βιοαιθανόλη σαν καύσιμο

Πλέον, η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται ως καύσιμο αντί της βενζίνης ή πιο συχνά σε διάφορες αναλογίες με τη βενζίνη. Το διάλυμα βιοαιθανόλης και βενζίνης έχει ένα σχετικά αδύναμο δεσμό. Η βιοαιθανόλη προκειμένου να αναμειχθεί με τη βενζίνη πρέπει να είναι άνυδρη, για να αποφευχθεί ο διαχωρισμός φάσης βενζίνης-αιθανόλης. Ο διαχωρισμός φάσης μπορεί να συμβεί σε περιεκτικότητα νερού πάνω από περίπου 0.05% στους 15°C για 1% βιοαιθανόλη ως πρόσθετο στην βενζίνη. Με την αύξηση της περιεκτικότητας του νερού σε περίπου 0.2% για ένα μίγμα που περιέχει 5% βιοαιθανόλη ως πρόσθετο βενζίνης, ο διαχωρισμός είναι μεγαλύτερος. Η ανάμειξη βιοαιθανόλης με βενζίνη είναι ενδόθερμη διεργασία και έτσι ο όγκος του τελικού μίγματος να είναι μεγαλύτερος από το άθροισμα των όγκων της βιοαιθανόλης και της βενζίνης. Επιπρόσθετα, η ανάμειξη βιοαιθανόλης σε χαμηλά ποσοστά κάτω από 10% με βενζίνη, ανυψώνει σημαντικά την τάση ατμών και λόγω της χαμηλής τοξικότητάς της, σε περίπτωση απόρριψης της μπορεί να βιοδιασπαστεί είτε αερόβια είτε αναερόβια τόσο στο νερό όσο και στο χώμα. Πρακτικά, στο έδαφος ή στα υπόγεια ύδατα, ο χρόνος ζωής της βιοαιθανόλης είναι μεταξύ λίγων ωρών έως λίγων ημερών.

Πίνακας 4-Σύγκριση Βενζίνης με Βιοαιθανόλη

Ιδιότητα	Βενζίνη	ΒΙΟαιθανόλη
Πυκνότητα (g/ml)	0,76	0,79
Ιξώδες (mm ² /s)	0,6	1,5
Σημείο ανάφλεξης (°C)	-45	13
Θερμογόνος δύναμη στους 20 °C (MJ/kg)	42,7	26,8
Αριθμός οκτανίου (RON)	92	129
Δείκτης αντικροτικότητας (AKI)	87	116

Όπως παρατηρείται, είναι εμφανές ότι η βιοαιθανόλη έχει πολλές ευνοϊκές ιδιότητες συγκριτικά με τη βενζίνη. Πιο συγκεκριμένα, ο δείκτης αντικροτικότητας και ο αριθμός οκτανίου της βιοαιθανόλης είναι μεγαλύτεροι από αυτούς της βενζίνης. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι τα ποσοστά αυτανάφλεξης στο θάλαμο καύσης είναι μικρότερα και άρα και το χτύπημα στον κινητήρα εμφανίζεται σε μικρότερο βαθμό, με αποτέλεσμα, η λειτουργία του κινητήρα να είναι ομαλότερη. Σε αντίθεση όμως, η ενεργειακή απόδοση της βιοαιθανόλης είναι τρεις φορές μικρότερη από αυτή της βενζίνης, πράγμα το οποίο δικαιολογείται από τη μικρότερη τιμή της θερμογόνου δύναμης που έχει η βιοαιθανόλη. Στη συνέχεια, η βιοαιθανόλη έχει υψηλότερη θερμοκρασία εξάτμισης με αποτέλεσμα να δημιουργούνται προβλήματα στην εκκίνηση της μηχανής κατά τις κρύες μέρες. Για το λόγο αυτό, στις περιοχές που έχουν χαμηλές θερμοκρασίες πρέπει να χρησιμοποιούνται μίγματα βενζίνης-βιοαιθανόλης. Το πλέον σύνθετο μίγμα αποτελείται από 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη (E10) και η καύση του μπορεί να υποστηριχθεί από τα συμβατικά οχήματα που κυκλοφορούν στην αγορά. Σε κάποιες χώρες, όπως οι Η.Π.Α. για παράδειγμα, γίνεται προώθηση του καυσίμου με αναλογίες 15% αιθανόλης και 85% βενζίνης (E15). Επίσης, μίγματα που περιέχουν 85% αιθανόλη και 15% βενζίνη (E85) χρησιμοποιούνται σε ειδικά ευέλικτα οχήματα, τα οποία περιέχουν ειδικά διαμορφωμένους κινητήρες εσωτερικής καύσης που αντέχουν στη φθορά η οποία μπορεί να προκληθεί από την καύση καθαρής αιθανόλης. Επιπλέον, αναφέρεται ότι η αιθανόλη είναι μία ασφαλέστερη εναλλακτική λύση ενός κοινού πρόσθετου της βενζίνης, που είναι το MTBE, παράγοντας καθαρότερης καύσης. Το πρόσθετο αυτό είναι μία τοξική χημική ένωση και αποδεικνύεται από έρευνες στο υπόγειο νερό, το οποίο μολύνεται από αυτό το πρόσθετο (Sun, 2002), (McCarthy, 1998).

2.5. Πρώτες ύλες για την παραγωγή Βιοαιθανόλης

Η ταξινόμηση των ανανεώσιμων πηγών οι οποίες χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοαιθανόλης, είναι σε σακχαρούχα, αμυλούχα και λιγνοκυτταρινική βιομάζα. Από την σακχαρούχα και αμυλούχα βιομάζα παράγεται η βιοαιθανόλη πρώτης γενιάς, ενώ η βιοαιθανόλη δεύτερης γενιάς παράγεται από λιγνοκυτταρινή βιομάζα. Η διαδικασία μετατροπής των τριών αυτών κατηγοριών σε βιοαιθανόλη διαφέρει αρκετά, ειδικά όσον αφορά την πρόσληψη των περιεχόμενων σακχάρων. Οι πρώτες ύλες με βάση τη ζάχαρη απαιτούν μόνο διαδικασία εκχύλισης για την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων (γλυκόζη), ενώ οι αμυλούχες καλλιέργειες πρέπει να υδρολυθούν για να δώσουν γλυκόζη. Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα, από την άλλη, πρέπει να προ επεξεργαστεί πριν από την υδρόλυση προκειμένου να διαμορφωθεί η δομή της κυτταρίνης και να δράσουν τα ένζυμα. Πιο αναλυτικά,

Σακχαρούχα πηγή

Οι Σακχαρούχες πρώτες ύλες προέρχονται κυρίως από ενεργειακές καλλιέργειες όπως του ζαχαροκάλαμου, από καλλιέργειες φρούτων όπως για παράδειγμα σταφυλιού, καρπουζιού, μήλου και από απόβλητα διυλιστηρίου ζάχαρης. Τα βασικά πλεονεκτήματα των καλλιεργειών αυτών ως πρώτων υλών αιθανόλης είναι η υψηλή απόδοση σακχάρων και το χαμηλό κόστος μετατροπής τους, ενώ η εποχιακή διαθεσιμότητα αυτών των καλλιεργειών είναι ο κύριος περιοριστικός παράγοντας.

Αμυλούχα πηγή

Οι αμυλόκαλλιέργειες χρησιμοποιούνται ευρέως για παραγωγή βιοαιθανόλης λόγω της διαθεσιμότητάς τους σε όλο τον κόσμο, της ευκολίας μετατροπής, της ικανότητας αποθήκευσης για μεγάλο χρονικό διάστημα και της υψηλής απόδοσης τους σε αιθανόλη. Οι πρώτες ύλες αυτές περιλαμβάνουν δημητριακά (άμυλο 60-80%), ρίζες (άμυλο 60-90%), όσπρια (άμυλο 25-50%) και πράσινα και ανώριμα φρούτα (έως 70% άμυλο). Το καλαμπόκι, οι σπόροι σόργου, το σιτάρι, οι πατάτες και οι γλυκοπατάτες αποτελούν αρκετά διαδεδομένες πηγές παραγωγής αιθανόλης καυσίμου. Οι μεμονωμένες καλλιέργειες μπορούν να διαφέρουν στην απόδοση μετατροπής καθώς και στην τελική απόδοση αιθανόλης.

Λιγνοκυτταρινική πηγή

Η λιγνοκυτταρινική βιομάζα διαχωρίζεται σε διάφορες ομάδες, όπως οι ενεργειακές καλλιέργειες (π.χ. πολυετείς χλόες και άλλες ειδικές ενεργειακές καλλιέργειες), υδρόβια φυτά (π.χ. υάκινθος νερού), δασικά υπολείμματα (π.χ. μαλακό ξύλο, σκληρό ξύλο, πριονίδι, κλάδεμα και υπολείμματα φλοιού), γεωργικά υπολείμματα (π.χ. φύλλα καλαμποκιού) και οργανικό τμήμα στερεών αστικών αποβλήτων. Σε γενικές γραμμές, η λιγνοκυτταρινή βιομάζα φαίνεται να είναι η μεγαλύτερη, πιο υποσχόμενη και άφθονη σε ολόκληρο τον κόσμο, που δύναται να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή αιθανόλης χωρίς την απαίτηση για επιπλέον γη ή παρέμβαση στην παραγωγή τροφίμων και ζωοτροφών.

Στον Πίνακα 5 πραγματοποιείται μια σύγκριση της απόδοσης αιθανόλης η οποία παράγεται για κάθε τόνο πρώτης ύλης ανά λίτρο.

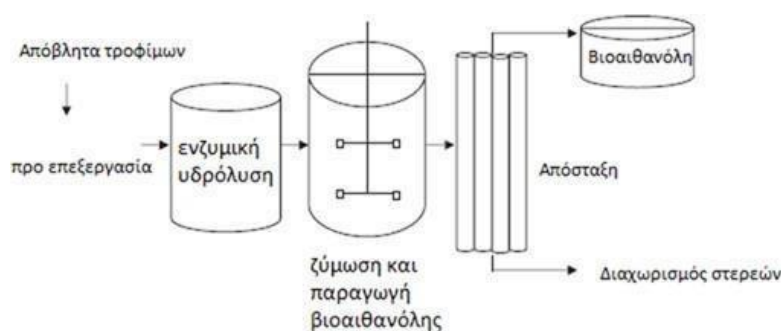
Πίνακας 5-Απόδοση Αιθανόλης για κάθε πρώτη ύλη

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

2.6. Παραγωγή Βιοαιθανόλης

Η βιοαιθανόλη παράγεται με την μετατροπή βιομάζας σε σάκχαρα, τα οποία ακολούθως μετατρέπονται σε αιθανόλη μέσω της διαδικασίας ζύμωσης. Έπειτα, με την απόσταξη διαχωρίζεται η μεγαλύτερη ποσότητα του νερού από την αιθανόλη, αφήνοντας ένα τελικό προϊόν με περιεκτικότητα γύρω στο 95% αιθανόλη και 5% νερό. Η παραγωγή βιοαιθανόλης βασίζεται στην αλκοολική ζύμωση και παρουσιάζει τα εξής στάδια:

1. Παραγωγή πρώτης ύλης (συγκομιδή/αποθήκευση).
2. Προεπεξεργασία πρώτων υλών για την απομάκρυνση της λιγνίνης που έχει παρεμποδιστική τάση, καθώς και η αποδέσμευση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης.
3. Υδρόλυση/σακχαροποίηση πολυσακχαριτών ή εξαγωγής σακχάρων.
4. Ζύμωση των σακχάρων από τον κατάλληλο μικροοργανισμό για την παραγωγή βιοαιθανόλης.
5. Ανάκτηση και αφυδάτωση, για διαχωρισμό και καθαρισμό της ληφθείσας αιθανόλης που θα είναι και το τελικό προϊόν (Branco, 2019).



Εικόνα 5- Βήματα για τη μετατροπή λιγνοκυτταρινικής βιομάζας σε βιοαιθανόλη (HalimatunSaadiyahHafid, 2017).

Προχωρώντας πραγματοποιείται ανάλυση των σταδίων που οδηγούν στην παραγωγή της βιοαιθανόλης.

Η παραγωγική διαδικασία της βιοαιθανόλης ξεκινά με το στάδιο της προ επεξεργασίας που σκοπό της είναι α) η μείωση των σωματιδίων των πρώτων υλών που πρόκειται να υδρολυθούν και β) η αύξηση της επιφάνειάς τους. Αυτό το βήμα είναι απαραίτητο κυρίως όταν πρόκειται για οικιακά οργανικά απόβλητα, διότι χαρακτηρίζονται από υψηλό περιεχόμενο σε σάκχαρα. Η προ επεξεργασία με αυτόν τον τρόπο συνεισφέρει:

- I. στην μείωση της ενεργειακής κατανάλωσης,
- II. στην μείωση του απαιτούμενου όγκου των δεξαμενών όπου πραγματοποιούνται οι διάφορες αντιδράσεις των επόμενων σταδίων

- III. καθώς και στην μείωση της ποσότητας των απαιτούμενων ενζύμων και μικροοργανισμών που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν κατά τις διαδικασίες υδρόλυσης και ζύμωσης αντίστοιχα.

Ως εκ τούτου, η διαδικασία παραγωγής της αιθανόλης είναι πιο φιλική στο περιβάλλον, ικανοποιώντας τις αρχές της πράσινης χημείας. Το ίδιο ισχύει και για τα οργανικά απόβλητα των βιομηχανιών των τροφίμων, τα οποία διαθέτουν υψηλά ποσοστά σακχάρων, όπως είναι το φοινικέλαιο, απόβλητα μπανάνας, απόβλητα ζυθοποιίας και σιρόπια φρούτων τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή αιθανόλης χωρίς να καθίσταται ενεργοβόρα διεργασία. Η μείωση της ενεργειακής απαίτησης επιτυγχάνεται όταν η παραγωγή της αιθανόλης διεξάγεται υπό συνθήκες μη-αποστείρωσης. Το στάδιο της προ επεξεργασίας συνήθως περιλαμβάνει σφαιρόμυλους ή σε μηχανές κοπής προκειμένου να αυξηθεί αρχικά η επιφάνεια επαφής και να διευκολυνθεί το επόμενο στάδιο της υδρόλυσης, ελαχιστοποιώντας το ενεργειακό κόστος κατανάλωσης. Επιπλέον, με την άλεση επιτυγχάνεται η αποδέσμευση κυτταρίνης και ημικυτταρίνης από την λιγνίνη που εμφανίζει παρεμποδιστική δράση στην διεργασία σακχαροποίησης των υδατανθράκων, με πρώτη ύλη μη εδώδιμα βιοαπόβλητα.

Στη συνέχεια, ακολουθεί η αντίδραση της υδρόλυσης που υπάρχει δυνατότητα πραγματοποίησης είτε με την χρήση ενζύμων είτε με την χρήση οξέων. Τα ένζυμα που συμμετέχουν και δρουν στην υδρόλυση των υδατανθράκων είναι αμυλάσες. Πολύ σημαντικό βήμα για την ανάλυση της υδρολυτικής διάσπασης είναι αρχικά η κατανόηση της αντίδρασης αυτής. Πιο αναλυτικά, υδρόλυση χαρακτηρίζεται η διάσπαση των υδατανθράκων με την προσθήκη ενζύμων ή οξέων, με την προσθήκη μορίων νερού στον χημικό δεσμό που διασπάται, σχηματίζοντας ελεύθερα σάκχαρα, όπως πεντόζες και εξόζες. Αξιοσημείωτο, είναι το γεγονός πως η παραγωγή βιοαιθανόλης συνεισφέρει και στην εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου (Dunn, Mueller, Wang, & Han, 2012). Προκειμένου όμως να χαρακτηριστεί πράσινη αυτή η διαδικασία παραγωγής, αξιοποιούνται αυτά τα αέρια για την κάλυψη ενεργειακών απαιτήσεων με την μορφή της ηλεκτρικής ενέργειας.

Μία σημαντική παράμετρος που εξετάζεται στη σύνθεση των βιοαποβλήτων είναι η παρουσία των υδατανθράκων, δηλαδή όσο μεγαλύτερη η παρουσία τους τόσο αυξάνεται η ποσότητα του βιοκαυσίμου, του τελικού προϊόντος (Nayak & Bhushan, An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for foodwastes, 2019). Οι κυριότεροι υδατάνθρακες που εντοπίζονται στη σύνθεση των οργανικών βιοαποβλήτων είναι το άμυλο, η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη.

Στην περίπτωση του αμύλου, η ενζυμική υδρόλυση επιτυγχάνεται παρουσία των ενζύμων της α-αμυλάσης και γλυκοαμυλάσης. Δηλαδή, αρχικά αλέθεται η πρώτη ύλη και στη συνέχεια προστίθεται νερό καθώς και τα ένζυμα. Η σακχαροποίηση των υδατανθράκων είναι σημαντικό να λαμβάνει χώρα σε συνθήκες θερμοκρασίας τέτοιες που θεωρούνται βέλτιστες για την δράση των ενζύμων. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται σε θερμοκρασία των 50 βαθμών κελσίου. Επιθυμείτε η θερμοκρασία να είναι όσο το δυνατόν πιο υψηλή γίνεται, διότι αύξηση της θερμοκρασίας ευνοεί την αύξηση της ταχύτητας της αντίδρασης της υδρολυτικής διάσπασης. Παρόλα αυτά, από μία θερμοκρασία και πάνω η δράση των ενζύμων αποκτά φθίνουσα πορεία, χωρίς να επιφέρει το επιθυμητό αποτέλεσμα στην αντίδραση.

Συνήθης κατηγορία υδατανθράκων που εμφανίζεται στην πρώτη ύλη είναι οι κυτταρινούχες ενώσεις. Η επιτυχία της ενζυμικής υδρόλυσης τους καθορίζεται από τα πρώιμα στάδια χημικής ή και

φυσικοχημικής υδρόλυσης, για να διευκολύνει την ενζυματική διάσπαση. Αρχικά, πραγματοποιείται ρήξη της δομής της κυτταρίνης με την εφαρμογή υψηλών πιέσεων και θερμοκρασιών και μετέπειτα ακολουθεί η δράση των κυτταρολυτικών ενζύμων (Nayak & Bhushan, An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for foodwastes, 2019).

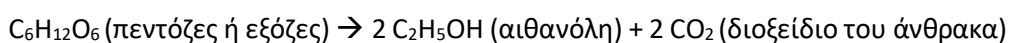
Άλλες ενώσεις που βρίσκονται ως συστατικά των βιοαποβλήτων είναι οι πρωτεΐνες, λιπίδια και τα άλατα. Όσον αφορά την πρωτεΐνη, ο ρυθμός αποικοδόμησής τους είναι χαμηλότερος συγκριτικά με αυτών των υδατανθράκων και των λιπιδίων. Η υδρόλυση των πρωτεϊνών, μετατρέπει τις πρωτεΐνες σε αμινοξέα και μικρότερα σωματίδια είτε μέσω χημικών υδρολύσεων είτε μέσω ενζυμικής υδρόλυσης. Εφόσον καταβολιστούν τα αμινοξέα παράγουν λιπαρά οξέα όπως γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, προπιονικό οξύ και βουτυρικό οξύ. Αξίζει να σημειωθεί ότι βιομάζα που χαρακτηρίζεται από υψηλή παρουσία πρωτεϊνών δεν προτείνεται ως πρώτη ύλη εξαιτίας της αναστολής που προσδίδουν στους ζυμώσιμους μικροοργανισμούς από την παρουσία αμμωνίας η οποία και μειώνει την συνολική παραγωγικότητα. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην εισαγωγή της αμμωνίας στα κυτταρικά τοιχώματα μέσω των λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών στη μη πρωτεϊνική μορφή της και γίνεται τοξική για τους μικροοργανισμούς. Τα λιπίδια μετρούνται σε ποσοστό 15-20% της συνολικής σύνθεσης των αποβλήτων των τροφίμων. Κατά την υδρόλυση των λιπιδίων παράγονται μεθάνιο και υδρογόνο, οπότε κατά την παραγωγική διαδικασία της βιοαιθανόλης αδυνατεί να συμμετάσχει. Η λιπόλυση είναι μία ενδοθερμική αντίδραση, δηλαδή απαιτείται προσθήκη ενέργειας και παρατηρείται αύξηση των θερμοκρασιών. Τα κυριότερα προϊόντα της λιπόλυσης είναι ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκερόλη. Επιπρόσθετα, η αποικοδόμηση των λιπιδίων είναι πιο αργή από αυτή των υδατανθράκων. Τέλος, υπάρχουν τα άλατα που συνθέτουν τα βιοαπόβλητα των τροφίμων. Τα άλατα και τα μεταλλικά ιόντα όπως Fe^{+3} , Al^{+3} επιδρούν σημαντικά στην παραγωγή της βιοαιθανόλης μέσω την δράση της ζύμης του *Saccharomyces cerevisiae*. Ωστόσο, όταν οι συγκεντρώσεις των ιόντων βρίσκονται σε περίσσεια, τα ιόντα αναστέλλουν την ανάπτυξη των ζυμών λόγω της αύξησης της ωσμωτικής πίεσης.

Μετά την ολοκλήρωση της διάσπασης των πολυμερικών υδατανθράκων, ακολουθεί η διαδικασία της ζύμωσης, που διακρίνεται σε δύο διαφορετικές διεργασίες προσανατολισμού και ονομάζονται Separation Hydrolysis and Fermentation- SHF (πρώτα σακχαροποίηση των υδατανθράκων και στη συνέχεια τη ζύμωση των σακχάρων) και η Simultaneous Saccharification and Fermentation- SSF (ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση). Η SHF αποτελεί μία παραδοσιακή στρατηγική πάνω στην οποία η τροφοδοσία της πρώτης ύλης υπόκειται σε υδρόλυση ακολουθούμενη από ζύμωση των μονοσακχαριτών σε αιθανόλη σε διαφορετικό βιοαντιδραστήρα. Από την άλλη πλευρά η άλλη διεργασία αφορά τον συνδυασμό της υδρόλυσης και της ζύμωσης στον ίδιο βιοαντιδραστήρα. Πλεονέκτημα της SHF είναι ότι τα ένζυμα και οι μικροοργανισμοί μπορούν να δράσουν στις βέλτιστες συνθήκες, αυξάνοντας κατά πολύ την απόδοση σε τελικό προϊόν. Ωστόσο καίριο μειονέκτημα της SHF αποτελεί η συσσώρευση προϊόντων υδρόλυσης, τα οποία πολλές φορές έχει αποδειχτεί ότι αναστέλλουν την δράση των ενζύμων. Στην SSF, η θερμοκρασία δεν μπορεί να προσεγγίσει την άριστη τιμή δράσης των ενζύμων και επομένως ο ρυθμός της αντίδρασης είναι σχετικά αργός σε κάποιες περιπτώσεις. Παρόλα αυτά αυτή η διεργασία SSF παρουσιάζει τα παρακάτω πλεονεκτήματα έναντι της άλλης μεθόδου παραγωγής βιοαιθανόλης:

- 1) Μειωμένο κόστος παραγωγικής διαδικασίας
- 2) Σύντομοι χρόνοι διεξαγωγής της διεργασίας
- 3) Μικρές απαιτήσεις όγκου βιοαντιδραστήρα

- 4) Μεγάλη παραγωγικότητα βιοαιθανόλης
- 5) Μικρότερο φορτίο ενζύμου
- 6) Περιορισμένη αναστολή ενζύμου λόγω της ταυτόχρονης απομάκρυνσης των τελικών προϊόντων (αρχή του la Chatellier).

Η διεργασία της ζύμωσης μπορεί να χαρακτηριστεί πράσινη όταν συνδυαστεί και με την ανάκτηση των ζυμών και συνεπώς επαναχρησιμοποιηθούν σε επόμενη ζύμωση, αυξάνοντας την βιωσιμότητα της διαδικασίας και μειώνοντας δραματικά το κόστος παραγωγής. Η χημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα κατά την ζύμωση είναι η εξής:



Η εξαγωγή των σακχάρων είναι μια διεργασία που πραγματοποιείται όταν η πρώτη ύλη περιέχει σάκχαρα, οπότε παρακάμπτεται στο στάδιο απόκτησης σακχάρων από υδατάνθρακες. Η εξαγωγή αυτή μπορεί να προκύψει από την άμεση σύνθλιψη της πρώτης ύλης, με αποτέλεσμα να εξαχθεί ο χυμός των σακχάρων από τα οργανικά βιοαπόβλητα. Η εξαγωγή του χυμού των σακχάρων διευκολύνεται, προσαρμόζοντας κάποιες παραμέτρους όπως είναι η θερμοκρασία, το pH, η αναλογία πρώτης ύλης/νερού και ο χρόνος που διαρκεί η εξαγωγή των σακχάρων.

Μετά το πέρας της ζύμωσης προκύπτει το αζεοτροπικό μίγμα αιθανόλης νερού. Η αύξηση της απόδοσης σε βιοαιθανόλη μπορεί να επιτευχθεί με την κλασματική απόσταξη, προκειμένου να αφαιρεθεί όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ποσότητα νερού. Μια κανονική κλασματική απόσταξη δεν χρειάζεται να πραγματοποιείται παραπάνω από μία φορά, αφού σχεδιάζεται έτσι ώστε στην κορυφή να προκύπτει το επιθυμητό προϊόν έστω και με ανακυκλοφορία. Η αιθανόλη έχει σημείο βρασμού κοντά στο 78,37 βαθμούς κελσίου, που είναι αρκετά μικρότερο από το σημείο βρασμού του νερού που αγγίζει τους 100 βαθμούς κελσίου. Όταν η διαδικασία της κλασματικής απόσταξης επαναλαμβάνεται η αιθανόλη προσεγγίζει τους 95 αλκοολικούς βαθμούς. Λόγω του ότι το μίγμα είναι αζεοτροπικό είναι αδύνατη η παραλαβή καθαρής αλκοόλης κατά την κλασματική απόσταξη. Για τον λόγο αυτό το νερό μπορεί να απομακρυνθεί, μέσω της χρήσης των μοριακών κοσκίνων που παγιδεύουν το νερό (Nayak & Bhushan, An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for foodwaste, 2019).

Τα στερεά που προκύπτουν ως παραπροϊόντα από την απόσταξη της αιθανόλης είναι πλούσια σε άμυλο, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν έπειτα από απομάκρυνση της υγρασίας σε ζωοτροφές και λίπασμα σε υδατοκαλλιέργειες (Iram, Cekmecelioglu, & Demirci, 2020).

Πίνακας 6- Σύνθεση αποβλήτων τροφίμων που συλλέχθηκαν από πολυκαταστήματα τροφίμων (Kedong Ma, 2016).

Παράμετροι	Βιοαπόβλητα (% w/w)
Υγρασία	72,5
Συνολικά στερεά	27,5
Καύσιμα συστατικά	27,4
Τέφρα	2,8

Συνολικά σάκχαρα	11,1
Πρωτεΐνες	4,5
Λιπίδια	8,3
C (με βάση το ξηρό φορτίο)	47,2
H (με βάση το ξηρό φορτίο)	7,0
O (με βάση το ξηρό φορτίο)	34,2
N (με βάση το ξηρό φορτίο)	2,3
C/N	20,5

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Βιοαπόβλητα

3.1. Εισαγωγή

Στο πλαίσιο της κυκλικής οικονομίας και των πολιτικών διαχείρισης αποβλήτων που εφαρμόζονται σε ευρωπαϊκό επίπεδο, τα βιολογικά απόβλητα ή βιο-απόβλητα, αποτελούν ένα ρεύμα με ιδιαίτερη σημασία, καθώς αποτελούν το μεγαλύτερο κλάσμα των αστικών αποβλήτων και συναντάται υπό τη μορφή κυρίως τροφικών υπολειμμάτων και αποβλήτων κήπων, αλλά συχνά προέρχονται από το γεωργικό και βιομηχανικό κλάδο.

Σήμερα, στην Ευρωπαϊκή Ένωση υφίστανται ποικίλες πολιτικές διαχείρισης για τη συγκεκριμένη κατηγορία αποβλήτου, με πολλά κράτη μέλη να εφαρμόζουν ανεξάρτητα μοντέλα συλλογής, αφού η ανάγκη ανακύκλωσης και επαναχρησιμοποίησής τους βρίσκεται στους άμεσους της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ως εκ τούτου, τα κράτη μέλη καλούνται να εφαρμόσουν τεχνικές ξεχωριστής διαλογής βιο-αποβλήτων, καθώς επίσης και να περιορίσουν την ανεξέλεγκτη σπατάλη τροφίμων (No).

Τα βιολογικά απόβλητα από διάφορες βιομηχανίες αυξάνονται με ταχύ ρυθμό με την αυξανόμενη ζήτηση του ανθρώπινου πληθυσμού για τα προϊόντα. Οι βιομηχανίες χρησιμοποιούν σε μεγάλο βαθμό πρώτες ύλες από την γεωργία για την παραγωγή του τελικού τους προϊόντος αλλά και μεγάλων ποσοτήτων βιοαπόβλητων τα οποία συνήθως απορρίπτονται. Αυτό μπορεί να δημιουργήσει τεράστια περιβαλλοντικά προβλήματα αλλά και απώλειες πόρων και θρεπτικών συστατικών (X., 2013).

Γενικότερα με τον όρο βιοαπόβλητα ή βιολογικά απόβλητα (BA) εννοούνται όλα τα σχετικά υλικά που καθορίζονται στον κατάλογο αποβλήτων της Ε.Ε. σχετικά με «Δημοτικά Απόβλητα», όπως αναφέρεται στην απόφαση της Επιτροπής αριθ. 2000/532/ΕΚ και τροποποιήθηκε με τις αποφάσεις 2001/118/ΕΚ και 2001/119/ΕΚ και την απόφαση 2001/573/ΕΚ του Συμβουλίου. Τα υλικά αυτά παρουσιάζονται στον πιο κάτω πίνακα:

Πίνακας 7- Είδος και προέλευση υλικών που υπόκεινται στην κατηγορία των βιοαποβλήτων- Κωδικοί ΕΚΑ (X., 2013)

Περιγραφή	Κωδικός ΕΚΑ	Προέλευση
Απόβλητα κουζίνας και χώρων εστίασης (foodwaste)	20 01 08	Από οικίες, εστιατόρια, καντίνες, μπαρ, καφετέριες, νοσοκομεία κλπ.
Απόβλητα από δημόσιες αγορές (Market waste)	20 03 02	Μόνο τα βιοαποδομήσιμα υλικά που αντιστοιχούν στους κωδικούς 200108 και 200201
Απόβλητα κήπων και πάρκων (Garden waste)	20 02 01	Από ιδιωτικούς κήπους και δημόσια πάρκα ή εκτάσεις πρασίνου
Απόβλητα ξύλου	20 01 38	Που δεν εμπεριέχουν επικίνδυνες ουσίες, όχι έπιπλα και ογκώδη οικιακά απόβλητα

Σύμφωνα με την Οδηγία 98/2008 για τα απόβλητα και την Πράσινη Βίβλο (3.12.2008 COM-2008 811) τα βιοαπόβλητα ή βιολογικά απόβλητα (BA) αποτελούν υποσύνολο των βιοαποδομήσιμων αποβλήτων (BAA) και ορίζονται ως τα «βιοαποδομήσιμα απόβλητα κήπων και πάρκων, τα απορρίμματα τροφών και μαγειρείων από σπίτια, εστιατόρια, εγκαταστάσεις ομαδικής εστίασης και χώρους λιανικής πώλησης και τα συναφή απόβλητα από εγκαταστάσεις μεταποίησης τροφίμων (X., 2013), (Council, 2018), (Monitoring of solid waste in Hong Kong, n.d.).

Η διαχείριση των αποβλήτων περιλαμβάνει τη συλλογή, τη μεταφορά, την ανάκτηση (και διαλογή) και τη διάθεση των αποβλήτων, συμπεριλαμβανομένης της εποπτείας των σχετικών εργασιών και της μετέπειτα φροντίδας των χώρων τελικής διάθεσης. Σκοπός της διαχείρισης είναι να παρέχει υγιεινές συνθήκες διαβίωσης για τη μείωση της ύλης που εισέρχεται ή εξέρχεται από την κοινωνία και να ενθαρρύνει την επαναχρησιμοποίηση. Μια σωστή διαχείριση στοχεύει στα ακόλουθα (Biofuels Mandates Around the World: Biofuels Digest, 2018):

- Μείωση της συνολικής ποσότητας αποβλήτων με μείωση και ανακύκλωση των απορριμμάτων.
- Αύξηση της επαναχρησιμοποίησης, ανακύκλωσης και ανάκτησης υλικών ή/και ενέργειας.
- Επαναφορά βιολογικών αποβλήτων στο φυσικό κύκλο.
- Μείωση των ποσοτήτων που οδηγούνται σε ταφή.

Τα βιολογικά απόβλητα αντιπροσωπεύουν σημαντικό μερίδιο της παραγωγής αστικών αποβλήτων στην Ευρώπη. Μεταξύ των 28 Κρατών Μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης, το κλάσμα των βιοαποβλήτων ανέρχεται σε περισσότερο από 34% των παραγόμενων αστικών.

3.2. Νομοθεσία για στερεά απόβλητα

Σύμφωνα με την οδηγία για τα απόβλητα 2008/98/EK καθίσταται ξεκάθαρη η ανάγκη για την προστασία του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας κατά την επεξεργασία αποβλήτων και η προτεραιότητα για την ανακύκλωση, όπως τροποποιήθηκε και ισχύει από την Οδηγία 2018/851/EK. Συγκεκριμένα ορίζεται ως «απόβλητο» κάθε ουσία ή αντικείμενο του οποίου ο κάτοχός του απορρίπτει ή προτίθεται ή υποχρεούται να απορρίψει και περιέχει ειδικά στοιχεία σχετικά με τα βιολογικά απόβλητα (νέοι στόχοι ανακύκλωσης για τα οικιακά απόβλητα, βιολογικά απόβλητα). Ενσωματώνει τις έννοιες «υποπροϊόν» και «αποχαρακτηρισμός αποβλήτων» εισάγοντας τη διάκριση μεταξύ αποβλήτων και μη αποβλήτων και διευκρινίζει, ότι μια ουσία ή αντικείμενο που αναφέρεται στον ΕΚΑ (2000/532/EK) δεν συνιστά οπωσδήποτε απόβλητο, παρά μόνο εάν πληροί τα κριτήρια του ορισμού αποβλήτων (Biodegradable waste, n.d.).

Η Οδηγία 2008/98/EK αιτιολογεί τη σημασία της χωριστής συλλογής των βιοαποβλήτων, ενώ η αναθεωρημένη οδηγία 2018/851/EK απαιτεί να εξασφαλίσουν ότι μέχρι το τέλος του 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 παράμετρος επηρεάζει την κομποστοποίηση, στην οποία θα γίνεται χρήση μόνο διαχωρισμένων στην πηγή βιοαπορριμμάτων, και όχι σταθεροποιημένων βιοαποβλήτων που προέρχονται από μηχανική/βιολογική επεξεργασία σύμμεικτων απορριμμάτων, ακόμη και στην περίπτωση που πληρούν τις ποιοτικές προδιαγραφές του κομποστ. Το γεγονός αυτό, έχει ιδιαίτερη σημασία για την Ελλάδα, η οποία δεν έχει προχωρήσει σε εκτεταμένα προγράμματα διαλογήςστην πηγή και οι εγκαταστάσεις μηχανικής-βιολογικής επεξεργασίας που διαθέτει εφαρμόζουν μηχανική διαλογή σε σύμμεικτα απορρίμματα.

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

Η οδηγία για τις βιομηχανικές εκπομπές 2010/75/ΕΕ καθορίζει την αδειοδότηση και τον έλεγχο των εγκαταστάσεων επεξεργασίας βιολογικών αποβλήτων, χωρητικότητας άνω των 50 τόνων ημερησίως, ενώ η αποτέφρωση των βιολογικών αποβλήτων ρυθμίζεται στην οδηγία για την αποτέφρωση των αποβλήτων 2000/76/ΕΕ (Biodegradable waste, n.d.).

Κύρια αναφορά αποτελεί και ο κανονισμός για τα ζωικά υποπροϊόντα ΚΑΝ (ΕΚ) 1069/2009, ο οποίος προβλέπει λεπτομερείς κανόνες υγιεινής για τις μονάδες κομποστοποίησης που επεξεργάζονται υποπροϊόντα ζωικής προέλευσης. Οι απαιτήσεις υγιεινής καθορίζονται στον εκτελεστικό κανονισμό (ΕΕ) 142/2011, που τέθηκε σε ισχύ στις 4 Μαρτίου 2011 και τροποποιήθηκε με τον κανονισμό (ΕΕ) 294/2013(SaveynH.E.,2014).

Η οδηγία 2008/98/ΕΕ για τα απόβλητα στο ν. 4042/2012 που έχει προστεθεί στο Ελληνικό δίκαιο περιλαμβάνει όλους τους κανονισμούς της ΕΕ. Το Εθνικό Σχέδιο Διαχείρισης Αποβλήτων (ΕΣΔΑ) το οποίο αναθεωρείται κάθε πενταετία, ή και νωρίτερα αν απαιτείται, καθορίζει τις βασικές αρχές και τους στόχους για τη διαχείριση των στερεών αποβλήτων αλλά και τον εθνικό και περιφερειακό σχεδιασμό (Agency, 2016).

Παρά το γεγονός ότι τις τελευταίες δεκαετίες, η Ευρώπη θέσπισε προοδευτικά ένα συνεκτικό πολιτικό και κανονιστικό πλαίσιο για τη διαχείριση των αποβλήτων και το Ευρωπαϊκό δίκαιο, υπάρχει ένα σαφές και προφανές κενό όσον αφορά τον τομέα των βιοαποβλήτων. Απαιτείται μια στρατηγική Οδηγία η οποία μπορεί να συνεισφέρει στην εκπλήρωση των στόχων για την υγειονομική ταφή και να ενισχύσει τις στρατηγικές για την πρόληψη και την ανακύκλωση αποβλήτων, για την προστασία του εδάφους, για την πράσινη χρήση των φυσικών πόρων και να συμβάλει στην επίτευξη των στόχων του Ευρωπαϊκού Προγράμματος για την Κλιματική Αλλαγή. Η Οδηγία είναι απαραίτητο να περιλαμβάνει κανονιστικές πτυχές (π.χ. συνθήκες για την εφαρμογή του κομποστ κ.λπ.), αλλά κυρίως οδηγίες και στόχους που θα δημιουργήσουν ένα ασφαλές περιβάλλον που θα εξασφαλίσει μακροπρόθεσμα επιχειρηματικά σχέδια και επενδύσεις, στον τομέα των βιοαποβλήτων.

Ένα σημαντικό ζήτημα που προκύπτει σε τοπικό συνήθως επίπεδο και σχετίζεται με τη διαχείριση βιολογικών αποβλήτων, είναι η βιωσιμότητα και το κόστος των συστημάτων χωριστής συλλογής, τα οποία θα καθορίσουν την ποιότητα του κομποστ, και το οποίο με την σειρά του απαιτείται έτσι ώστε να ικανοποιούνται οι αρχές των «ευεργετικών επιπτώσεων» και «πρόληψης της μόλυνσης» που αναφέρονται, στη στρατηγική για το έδαφος. Υπάρχει η άποψη ότι ο υποχρεωτικός - επιτακτικός

διαχωρισμός στην πηγή, δεν δύναται να καλύψει ένα ευρύ φάσμα κοινωνικών συνθηκών, διαφορετικών τύπων κατοικιών, πυκνότητας πληθυσμού, και υφιστάμενων εγκαταστάσεων, σε όλη την Ευρώπη.

Για αυτό τον λόγο, ο καθορισμός συγκεκριμένων στόχων για τη διαλογή στην πηγή και την κομποστοποίηση μπορεί να επιτρέψει στους εκάστοτε υπεύθυνους λήψης αποφάσεων να επιλέξουν οι ίδιοι 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, γεγονός το οποίο μεταφράζεται σε χαμηλά ποσοστά συμμετοχής και αποδοτικότητας (J., Nov-Dec 2009).

Τέλος η Ευρωπαϊκή Επιτροπή επιβάλλει σε όλα τα κράτη-μέλη μια εναρμονισμένη μεθοδολογία μέτρησης των ποσοστών ανακύκλωσης των αστικών απορριμμάτων. Η μεθοδολογία επιτρέπει μόνο σε εκείνα τα υλικά να συνυπολογίζονται στους στόχους ανακύκλωσης που δεν υποβάλλονται σε περαιτέρω επεξεργασία πριν εισέλθουν σε μια διαδικασία ανακύκλωσης, όπως για παράδειγμα μια διαδικασία πολτοποίησης ή μια διαδικασία εξώθησης. Ως εκ τούτου, τα ποσοστά ανακύκλωσης δεν καθορίζονται πλέον σύμφωνα με τις ποσότητες που συλλέγονται για ανακύκλωση, αλλά βάσει της ποσότητας των απορριμμάτων που εισέρχονται απευθείας στις διαδικασίες ανακύκλωσης ως δευτερεύουσα πρώτη ύλη. Αυτός ο νέος τρόπος καταμέτρησης θα θέσει στις χώρες αρκετές ποσοστιαίες μονάδες στις επιδόσεις τους στην ανακύκλωση και θα καταστήσει την επίτευξη των νέων στόχων τους ακόμη πιο φιλόδοξη (Brief, 2020).



Εικόνα 6- Στόχοι της Ευρωπαϊκής Ένωσης από το 2025-2035

Κεφάλαιο 4: Ζύθος και Ζυθοποιία

4.1. Ορισμοί και βασικές έννοιες

Η μύρα ή ζύθος αποτελεί ένα ζυμωμένο υδατικό ρόφημα, το οποίο αρωματίζεται με λυκίσκο. Από αυτόν τον απλό ορισμό, διαφαίνονται τα τέσσερα βασικά συστατικά για την παραγωγή της μύρας, τα οποία είναι τα εξής: νερό, κριθάρι, ζύμη (μαγιά) και λυκίσκος. Πιο συγκεκριμένα για την παραγωγή της μύρας χρησιμοποιείται νερό με χαμηλή περιεκτικότητα σε άλατα, κριθάρι που είναι συνήθως δίστιχο αλλά και κάποια άλλα δημητριακά ενίοτε όπως το σιτάρι, η σίκαλη, η βρώμη, ο λυκίσκος που είναι αρωματικό και συντηρητικό της μύρας και τέλος η ζύμη, που είναι διάφορα είδη ζυμομυκήτων (Keukeleire, 2000).

Αναλυτικότερα, το σώμα της μύρας παρέχεται από το κριθάρι και ειδικότερα από τη βύνη κριθαριού. Η βύνη σε κάποιες περιπτώσεις αντικαθίσταται από πρόσθετα πλούσια σε άμυλο, όπως το ρύζι, το καλαμπόκι ή το σιτάρι. Όταν η βύνη κριθαριού (πολτός) θερμαίνεται στους 60°C, διάφορα ένζυμα της βύνης (αμυλάσες και πρωτεάσες) αποικοδομούν άμυλο και πρωτεΐνες και οδηγούν στη δημιουργία σακχάρων, πεπτιδίων ή αμινοξέων. Η μετατροπή αυτή σταματάει με θέρμανση και ανάλογα με το χρόνο και τη θερμοκρασία στην οποία λαμβάνει χώρα η διαδικασία αυτή της ζύμωσης, προκύπτουν διάφορα χαρακτηριστικά χρώματα μύρας, λόγω της καραμελοποίησης των σακχάρων και των αντιδράσεων τύπου Maillard (Keukeleire, 2000).

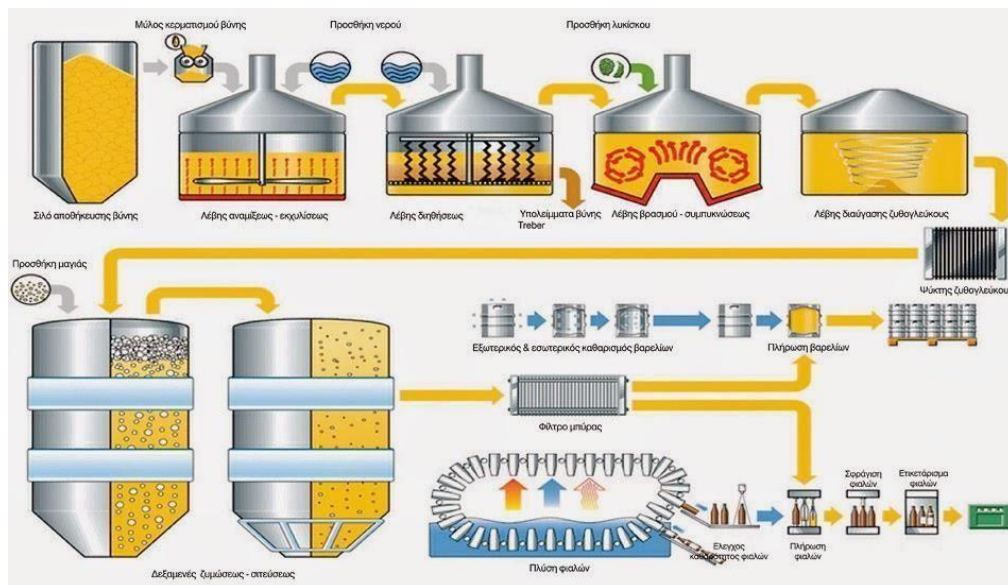
Τα βασικά στάδια για την παραγωγή ζύθου είναι τα εξής (Keukeleire, 2000):

- Ψήσιμο βύνης κριθαριού με πρόσθετα πλούσια σε άμυλο με νερό: Στο στάδιο αυτό παρασκευάζεται η βύνη.
- Αποικοδόμηση αμύλου και πρωτεϊνών από τα ένζυμα της βύνης: κατά το στάδιο αυτό η ξηρή βύνη χρησιμοποιείται για την παραγωγή αζύμωτης μύρας. Περιλαμβάνει την άλεση της βύνης, όπου η βύνη μετατρέπεται σε χονδρόκοκκη σκόνη και τη δημιουργία χυλού. Η χονδρόκοκκη σκόνη βύνης αναμιγνύεται με καυτό νερό και έτσι δημιουργείται ένας πολτός. Με τη δράση των ενζύμων το άμυλο αρχίζει να μετασχηματίζεται σε ζυμώσιμα κυρίως σάκχαρα. Ακολουθεί διήθηση του πολτού και παρασκευή του ζυθογλεύκου.
- Φιλτράρισμα: Κατά το στάδιο αυτό το μείγμα διαχωρίζεται από τους σπόρους που έχουν απομείνει με διήθηση μέσω πορώδους φίλτρου. Αξίζει να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι η μάζα που απομένει από τους αλεσμένους σπόρους είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και αποτελεί άριστο συστατικό ζωοτροφών αλλά και άλλων υποστρωμάτων. Επιπρόσθετα, το χρησιμοποιημένο νερό από το φίλτρο (όπως και μερικοί σπόροι) καταλήγει στο δίκτυο υγρών αποβλήτων της ζυθοποιίας.
- Προσθήκη λυκίσκου: Κατά το στάδιο αυτό προστίθενται ο λυκίσκος, η ζάχαρη και κάποια υλικά συσσωμάτωσης. Συνήθως η ποσότητα λυκίσκου που προστίθεται είναι 1-1,5 κιλό ανά 100 κιλά βύνης.
- Βρασμός: το μίγμα ζυθογλεύκου κατά το στράγγισμα έχει θερμοκρασία 75- 78°C. Ακολουθεί ο βρασμός του για περίπου 90 λεπτά της ώρας, με σκοπό να

απενεργοποιηθούν τα ένζυμα του, να καταβυθιστούν οι πρωτεϊνούχες ουσίες και να απολυμανθεί από τυχόν μικροοργανισμούς.

- Διαύγαση: το μείγμα διαυγάζεται σε υδροκυκλώνα ή σε κυλινδρικό δοχείο και έτσι διαχωρίζονται τα στερεά υπολείμματα από το υγρό ζυθογλεύκος.
- Ψύξη/αερισμός: κατά το στάδιο αυτό που ακολουθεί τη διαύγαση, η θερμοκρασία μειώνεται σε 7-10°C και καταβυθίζονται όλες οι στερεές ουσίες, που είναι κυρίως πρωτεΐνες και τανίνες. Η διάρκεια του σταδίου αυτού ποικίλει από 2 έως 16 ημέρες.
- Ζύμωση: κατά το στάδιο αυτό, το μείγμα εμβολιάζεται με συγκεκριμένη ποσότητα ζύμης και παροχετεύεται σε αντιδραστήρα. Κατά τη ζύμωση οι μικροοργανισμοί μετατρέπουν τα σάκχαρα του μείγματος σε διοξείδιο του άνθρακα και αλκοόλη.
- Ωρίμανση: Στην ουσία η ωρίμανση αποτελεί μια αργή συμπληρωματική ζύμωση ή μεταζύμωση. Η θερμοκρασία που λαμβάνει χώρα η μεταζύμωση αυτή είναι 0-2°C και η διάρκεια του σταδίου αυτού μπορεί να είναι από ένας έως τέσσερις μήνες. Πολλές φορές κατά το στάδιο αυτό γίνεται και προσθήκη πρωτεασών, έτσι ώστε να αποικοδομηθούν οι πρωτεϊνικές ουσίες.
- Φιλτράρισμα ή διαύγαση: Συνήθως γίνεται φυγοκέντρηση και ψύξη στους -1 έως -1,5°C και το μείγμα φιλτράρεται μέσω φίλτρου σκόνης γης διατόμων, φίλτρου σταθεροποίησης και φίλτρου χάρτου.
- Εμφιάλωση-Συσκευασία: Κατά το στάδιο αυτό αρχικά καθαρίζονται οι φιάλες μηχανικά ή βιολογικά και ελέγχονται μηχανικά ή οπτικά. Έπειτα γεμίζονται οι φιάλες ή τα κουτάκια και κλείνονται αεροστεγώς.
- Παστερίωση: Η συσκευασμένη μύρα παστεριώνεται στους 60°C για χρονικό διάστημα από μισή έως μία ώρα.
- Αποθήκευση φιαλών: Συνήθως οι φιάλες τοποθετούνται σε κιβώτια και αποθηκεύονται σε χώρους με κατάλληλη θερμοκρασία και υγρασία.

Στην εικόνα που ακολουθεί φαίνονται οι εγκαταστάσεις κατά τα βασικά στάδια της παραγωγικής διαδικασίας.

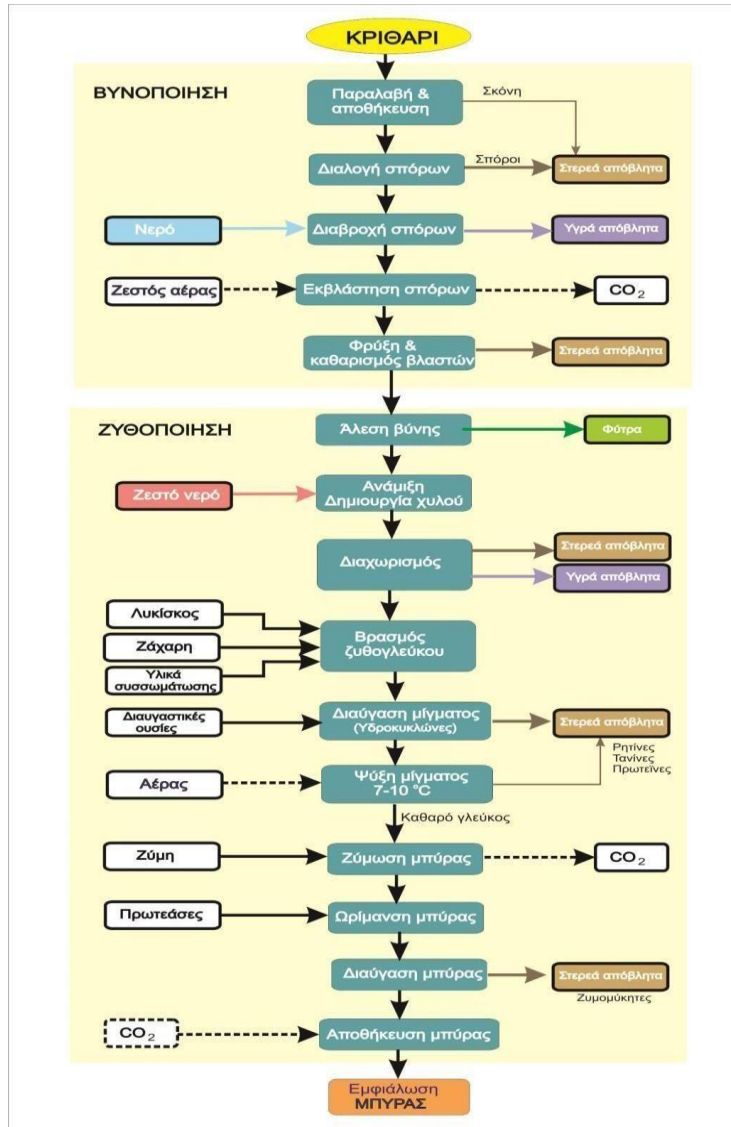


Εικόνα 7- Εγκαταστάσεις ζυθοποιίας.

Αξίζει να αναφερθεί ότι κατά τη παραγωγική διαδικασία και συγκεκριμένα μετά το φιλτράρισμα, το διάλυμα σακχάρων, το οποίο ονομάζεται “Wort”, μεταφέρεται στο βραστήρα, όπου βράζει για τουλάχιστον μία ώρα, μετά την προσθήκη του λυκίσκου (*Humulus Lupulus L.*). Ο λυκίσκος εκτός από τον σχηματισμό αδιάλυτων συμπλόκων με πρωτεΐνες και πολυπεπτίδια, συμβάλει στην κολλοειδή σταθερότητα της μπίρας, αλλά και αποστειρώνει το διάλυμα του γλεύκους, φροντίζοντας για τη βακτηριακή σταθερότητα της μπίρας. Η σημαντικότερη όμως συμβολή του λυκίσκου είναι η πικρή γεύση και το χαρακτηριστικό άρωμα που προσδίδει στην μπίρα (Moir, 1994).

Μετά την απομάκρυνση του λυκίσκου, το υγρό εισάγεται στα δοχεία ζύμωσης, όπου λαμβάνει χώρα η ζύμωση. Κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης της ζύμωσης τα σάκχαρα μετατρέπονται σε αιθανόλη και διοξείδιο του άνθρακα. Μια τυπική ζύμωση έχει συνήθως διάρκεια μιας εβδομάδας και το αποτέλεσμα της είναι η λεγόμενη «πράσινη μπίρα», η οποία δεν είναι πόσιμη. Απαιτούνται αρκετές εβδομάδες ωρίμανσης ή μεταζύμωσης στους 0°C έτσι ώστε να επέλθουν τα κατάλληλα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά της εκάστοτε μπίρας μετά τη ζύμωση αυτή (Keukeleire, 2000).

Παρακάτω, παρουσιάζεται ένα διάγραμμα ροής της παραγωγικής διεργασίας της μπίρας.



Εικόνα 8- Διάγραμμα παραγωγικής διαδικασίας μιας ζυθοποιίας (Βλυσίδης et al., 2015).

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι μέσα σε όλη τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας της μπύρας στις εγκαταστάσεις των ζυθοποιών, θα πρέπει να γίνεται προσπάθεια να αποφεύγεται η επιβάρυνση των υγρών και στερεών αποβλήτων με το ρυπαντικό φορτίο. Για το λόγο αυτό τα υπολείμματα βύνης, μαγιάς και τα πρωτεϊνούχα ιζήματα θα πρέπει να αποβάλλονται με εσχάρωση και καθίζηση, έτσι ώστε να μην μεγαλώνουν το οργανικό φορτίο των αποβλήτων ανεξέλεγκτα (Thomas & Rahman, 2006).

4.2. Απόβλητα ζυθοποιίας

Αρχικά αυτό που έγινε σαφές από την περιγραφή της παραγωγικής διαδικασίας της μπύρας ήταν ότι χρησιμοποιούνται μεγάλες ποσότητες νερού. Το μεγαλύτερο μέρος του νερού, το οποίο ανέρχεται σε 65-70% αποβάλλεται ως υγρά απόβλητα. Αξίζει βέβαια να αναφερθεί ότι τα περισσότερα υγρά απόβλητα των ζυθοποιών παράγονται στο στάδιο της εμφιάλωσης, λόγω της πλύσης των φιαλών. Στην Ελλάδα οι ζυθοποιίες καταναλώνουν κατά μέσο όρο 9,5 m³ νερού ανά m³ μπύρας (Βλυσίδης et

al. 2015).

Το νερό χρησιμοποιείται σχεδόν σε όλα τα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας της μύρας, συνεπώς η ποιότητα του νερού μπορεί να επηρεάσει όχι μόνο τη γεύση αλλά και την αποδοτικότητα της ζύμωσης. (van der Merwe and Friend, 2002).

Η κατανάλωση νερού στις σύγχρονες ζυθοποιίες κυμαίνεται από 0,4 με 1m³/hL παραγόμενης μύρας (Hannover, 2002). Η διακύμανση αυτή εξαρτάται από τον τύπο της μύρας που παράγεται, τον αριθμό των παρασκευασμάτων, το μέγεθος της ζυθοποιίας, την ύπαρξη πλυντηρίου φιαλών, τον τρόπο συσκευασίας και παστερίωσης, την ηλικία των εγκαταστάσεων της ζυθοποιίας, του συστήματος καθαρισμού που χρησιμοποιείται και γενικότερα του διαθέσιμου εξοπλισμού της εκάστοτε ζυθοποιίας. Αξίζει να αναφερθεί ότι όταν η μύρα εμφιαλώνεται σε μπουκάλι καταναλώνεται περισσότερο νερό από όταν εμφιαλώνεται σε κουτάκι.

Τα απόβλητα διακρίνονται στις κατηγορίες που είναι οι εξής:

- Υγρά απόβλητα που προέρχονται από διεργασίες παραγωγής της μύρας. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η μαλτόζη, η δεξτρόζη, το ζυθογλεύκος, η μαγιά και τα υπολείμματα από το φιλτράρισμα. Τα υγρά αυτά απόβλητα έχουν υψηλή συγκέντρωση BOD₅ και συνεπώς έχουν μεγάλο οργανικό φορτίο.
- Υγρά απόβλητα από την εμφιάλωση της μύρας: Τα απόβλητα αυτά έχουν έντονες διακυμάνσεις στο pH και μπορεί να είναι τόσο όξινα όσο και βασικά.
- Στερεά απόβλητα: δημιουργούνται κυρίως από τα υπολείμματα της βύνης, τους εξαντλημένους σπόρους κριθαριού, τη μαγιά, τα υπολείμματα ζυθογλεύκους, τα απόβλητα από τον καθαρισμό και την τυποποίηση, όπως είναι χαρτοπολτός, γυαλιά ή αλουμίνιο, καθώς και τα απόβλητα από άλλες εργασίες κατά την παραγωγική διαδικασία. Αναλυτικότερα, όσον αφορά στους εξαντλημένους σπόρους κριθαριού το ποσοστό τους είναι 14kg ανά 100 λίτρα ζυθογλεύκους με ποσοστό νερού 80%. Πιο συγκεκριμένα οι ΕΣΚ αντιστοιχούν από 77% έως 85% του συνόλου των αποβλήτων ζυθοποιίας (Kunze, 2004; Reinold, 1997). Ένα σημείο που χρήζει προσοχής είναι η περίσσεια μαγιάς, η οποία δεν πρέπει να διατίθεται στα υγρά απόβλητα, διότι λόγω του ιδιαίτερα υψηλού οργανικού φορτίου της μπορεί να προκαλέσει οξυγένεση, εάν οι συνθήκες είναι ανοξικές.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι η ζυθοποιία σε σχέση με άλλες βιομηχανίες είναι σχετικά φιλική προς το περιβάλλον και με τις κατάλληλες ενέργειες μπορεί τα απόβλητα και τα παραπροϊόντα που παράγονται να διαχειριστούν και να αξιοποιηθούν με τρόπο που δεν επιβαρύνεται το περιβάλλον (Ishiwaki et al., 2000, Mussatto et al., 2006).

4.3. Η παραγωγή των ΕΣΖ

Οι ΕΣΖ είναι το υπόλειμμα που παραμένει μετά τη ζυθεκχύλιση (Santos, Jiménez, Bartolomé, Gómez-Cordonés & del Nozal, 2003) και παίζουν σημαντικό ρόλο για τον διαχωρισμό του ζυθογλεύκους (Kunze, 2004).

Κατά την παραδοσιακή τεχνική, η αρχική άλεση των σπόρων της βύνης πρέπει να εξασφαλίζει την σχετική ακεραιότητα των φλοιών των σπόρων (Kunze, 2004) και εφαρμόζεται από πολλές

μικροζυθοποιίες (Lynch et al., 2016). Η ζυθεκχύλιση διαρκεί γύρω στη μία ώρα ή περισσότερο, ανάλογα με τον τύπο ζυθεκχύλισης (εκχύλιση, αφέγηση κ.ά.). Στη συνέχεια οι εξαντλημένοι σπόροι ξεπλένονται με θερμό νερό (74-78°C) ώστε να μεγιστοποιηθεί η απελευθέρωση σακχάρων και αυτή είναι η τελευταίαφάση ταυτόχρονης διήθησης και έκπλυσης-στράγγισης των υπολειμμάτων στην ηθμολεκάνη (*lautering*) (McKay et al., 2011).

Οι ΕΣΖ είναι διαθέσιμοι σε χαμηλό ή μηδενικό κόστος κατά τη διάρκεια όλου του έτους (Mussatto et al., 2006). Η μέση ετήσια παγκόσμια παραγωγή εκτιμάται σε $\sim 39 \cdot 10^6$ t με $\sim 3.4 \cdot 10^6$ t να προέρχονται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Lynch et al., 2016). Οι παραπάνω ποσότητες κρίνονται σημαντικές καθώς οι ΕΣΖ προέρχονται μόνο από υπολείμματα, κυρίως κριθαρόσπορου, ενώ η παραγόμενη ποσότητα κριθαριού δεν κατευθύνεται μόνο στη ζυθοποιία (Mussatto, 2014).

Πρακτικά, αντιστοιχούν από 77% (Kunze, 2004) έως 85% των ολικών αποβλήτων της ζυθοποιίας (Reinold, 1997) και για αυτόν το λόγο χαρακτηρίζονται ως το πιο άφθονο παραπροϊόν των ζυθοποιείων (Mussatto et al., 2006).

4.4. Χαρακτηριστικά των ΕΣΖ

4.4.1. Γενική συγκρότηση – Βασικά δομικά στοιχεία

Η σύσταση των ΕΣΖ χαρακτηρίζεται από εξαιρετική ετερογένεια καθώς συνιστά ένα μείγμα φλοιών σπόρων δημητριακών, περικάρπιων, τμημάτων ενδοσπερμίου και περικαλυμμάτων αρχικών σπόρων κριθαριού (Εικ. 12) (Steiner et al., 2015). Μετά την ζυθεκχύλιση περισσότερα ή λιγότερα τμήματα αμυλώδους ενδοσπερμίου και μεμβρανών, με κενά κύτταρα πρωτεϊνόκοκκου μπορούν να παραμείνουν στο μείγμα (Mussatto et al., 2006). Οι ΕΣΖ θεωρούνται ως απώλεια πολύτιμου εξαγωγίμου υλικού για την τεχνολογία της ζυθοποιίας, που εκτιμάται 1.1-2.5% του βάρους της βύνης (Kunze, 2004).



Εικόνα 9- Μορφή των ΕΣΖ

Φλούδες, περικάρπιο και περικαλύμματα είναι πλούσια σε κυτταρίνη, μη κυτταρινούχους πολυσακχαρίτες και λιγνίνη, που είναι τα βασικά δομικά στοιχεία, μεπιθανό μερικό περιεχόμενο σε

πρωτεΐνη και λιπίδια. Οι φλοιοί επίσης περιέχουν αξιόλογες ποσότητες πυριτίου, καθώς τα πυριτικά αποτελούν το 25% των μετάλλων στο κριθάρι (Kunze, 2004), και τα περισσότερα από τα πολυφαινολικά συστατικά τουκριθαρόσπορου (MacLeod, 1979 στο Mussatto et al., 2006).

Οι ίνες αποτελούν περίπου το ήμισυ της σύστασης του ξηρού βάρους των ΕΣΖ, ενώ οι πρωτεΐνες μπορούν να συνιστούν μέχρι το 30% (Lynch et al., 2016). Τα βασικά συστατικά των ινωδών ιστών των ΕΣΖ είναι *αραβινοξυλάνη*, *λιγνίνη* (πολυφαινολικό μακρομόριο) και *κυτταρίνη* (γραμμικό ομοπολυμερές μονάδων γλυκόζης). Εκτός από ίνες και πρωτεΐνη (24.2%), έχουν βρεθεί σε ξηραμένους σε φούρνο ΕΣΖ, 3.9% λιπίδια και 3.4% τέφρα (Santos et al., 2003). Οι πρωτεΐνες και οι ίνες εμφανίζονται με υψηλές συγκεντρώσεις στους ΕΣΖ γιατί το περισσότερο άμυλο απομακρύνεται κατά τη ζυθεκχύλιση (Kissel & Prentice, 1979 στο Mussatto et al., 2006).

Έτσι, το περιεχόμενο σε άμυλο είναι ασήμαντο και ίσως υπάρχουν κάποια υπολείμματα λυκίσκου που εισαχθήκανε κατά την ζυθεκχύλιση, ανάλογα με το πρωτόκολλο που ακολουθεί η ζυθοποιία (Mussatto et al., 2006). Τα συστατικά που είναι ελεύθερα από άζωτο μπορούν να είναι έως 46.7% των νωπών ΕΣΖ, ενώ έχουν καταγραφεί μέταλλα και βιταμίνες (Huige, 2006), αν και παλαιότερες αναφορές (Kunze, 2004) τις θεωρούν ασήμαντης αξίας.

Το βασικό φυσικό χαρακτηριστικό των ΕΣΖ είναι η υγρασία που μπορεί να οδηγήσει σε γρήγορη αποσύνθεσή τους και ανάπτυξη μικροβίων (Kunze, 2004). Έτσι, απαιτείται άμεση απομάκρυνσή τους και καθαρισμός του εξοπλισμού του χειρισμού τους (Briggs et al., 2004).

Από τα παραπάνω συνάγεται το συμπέρασμα ότι οι ΕΣΖ είναι ένα λιγνοκυτταρινούχο υλικό με τυπική σύσταση που απεικονίζεται παρακάτω, με τους υδατάνθρακες να ξεπερνάνε το 50% της κ.β. σύστασής τους επί ξηρού υλικού. Πιο αναλυτικά:

Ημικυτταρίνη

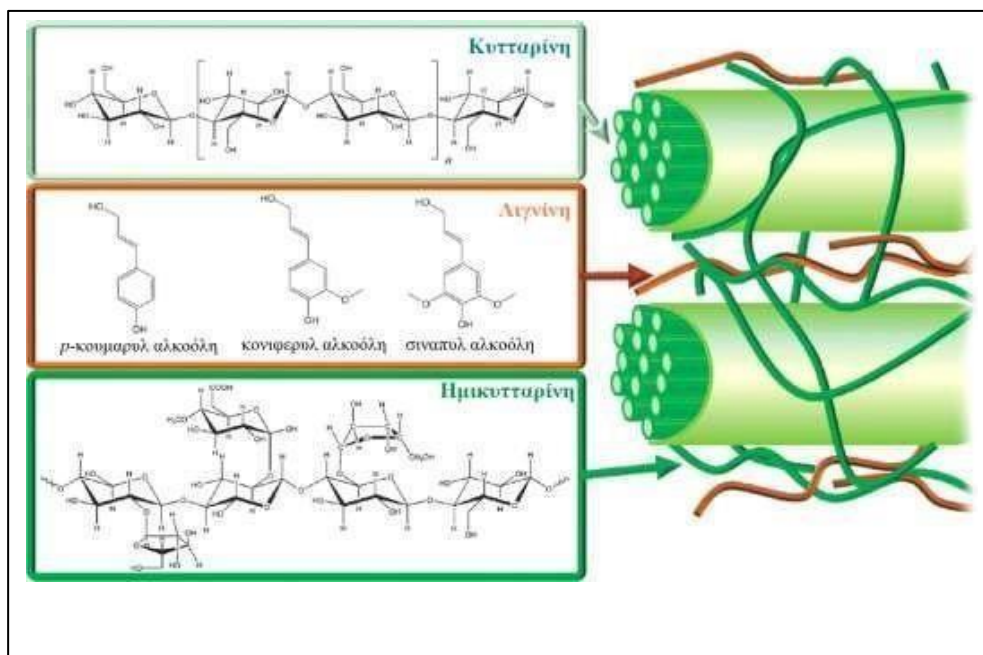
Η ημικυτταρίνη συνίσταται κυρίως από αραβινοξυλάνη και είναι το κύριο συστατικό των ΕΣΖ που μπορεί να φτάσει μέχρι τα επίπεδα του 40% της σύστασης του. Η αραβινοξυλάνη είναι βασικός μη κυτταρινούχος πολυσακχαρίτης δημητριακών και χόρτων (Lynch et al., 2016). Είναι συνδεδεμένη με τα ινίδια της κυτταρίνης μέσω δεσμών υδρογόνου (Mandalari et al., 2005).



Διάγραμμα 3- Ποσοστιαία σύσταση ΕΣΖ

Κυτταρίνη

Όπως είναι αναμενόμενο, η κυτταρίνη (υπολείμματα β -(1,4)-συνδεδεμένης γλυκόζης) είναι άλλος ένας άφθονος πολυσακχαρίτης στους ΕΣΖ. Επίσης, μπορούν να εμφανίζονται χαμηλά επίπεδα (1-3,1-4)- β -D-γλουκάνης και αμύλου. Οι πιο άφθονοι μονοσακχαρίτες στους ΕΣΖ είναι ξυλόζη, γλυκόζη και αραβινόζη (Forssell et al., 2008; Mandalari et al., 2005).



Εικόνα 10- Απεικόνιση σύνδεσης κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης

Λιγνίνη

Άλλο ένα σημαντικό συστατικό των ΕΣΖ είναι η λιγνίνη, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 10-28% του ολικού ξηρού βάρους (Lynch et al., 2016). Η λιγνίνη είναι πολυφαινολικό μακρομόριο σύνθετης κατασκευής, σημαντικό για την δομική ακαμψία και ακεραιότητα των τοιχωμάτων των φυτικών κυττάρων (Mussatto & Teixeira, 2010).

Η συνθετότητα της λιγνίνης σχηματίζεται από τρία μονομερή – *p*-κουμαρυλ- αλκοόλη, κονιφερυλ-αλκοόλη και σιναπύλ-αλκοόλη – τα οποία είναι συνδεδεμένα μαζί σε δομή αρθρωτού δικτύου με ριζική προέλευση αντιδράσεων συμπύκνωσης (Niemi et al., 2013).

Πρωτεΐνες

Το περιεχόμενο σε πρωτεΐνες επίσης ποικίλει αρκετά, αλλά συνήθως είναι σε επίπεδα περίπου 20% του ξηρού βάρους. Σε αφθονία βρίσκονται *ορδεΐνες* (διαλυτές στην αλκοόλη), *γλουτελίνες* (αδιάλυτες), *γλομπουλίνες* και *αλμπουμίνες* (Celus, Brijis & Delcour, 2006; Kemppainen, Rommi, Holopainen & Kruus, 2016). Απαραίτητα αμινοξέα αντιπροσωπεύουν περίπου το 30% του πρωτεϊνικού περιεχομένου (Mussatto, 2014). Έρευνα (Waters, Jacob, Titze, Arendt & Zannini, 2012) έχει εντοπίσει *λυσίνη* (14.3%), *λευκίνη* (6.12%), *φαινυλαλανίνη* (4.64%), *ισολευκίνη* (3.31%), *θρεονίνη* (0.71%) και *τρυπτοφάνη* (0.14%).

Εκτός από την χημική σύστασή τους, χαρακτηριστικά που ενδιαφέρουν γενικά για την ενεργειακή αξιοποίηση τους ως βιομάζα, είναι η θερμογόνος δύναμη (Πίνακας 8), η θερμοκρασία ανάφλεξης, η θερμοκρασία καύσης και φυσικές ιδιότητες που επηρεάζουν τη θερμογόνο δύναμη (πυκνότητα, περιεχόμενο σε υγρασία κ.ά.) (Nakomcic-Smaragdakis et al., 2016).

Πίνακας 8- Ενδεικτικές θερμοφυσικές ιδιότητες των ΕΣΖ με βιβλιογραφικές αναφορές. Τιμές επί ξηρού υλικού.

Πυκνότητα	0.45 kg·L ⁻¹ (νωπό υλικό)	Hernández et al., 1999 στο Mussatto et al., 2006
	188 kg·m ⁻³	Becidan et al., 2007a
Ειδική θερμότητα	3.90 kJ·(kg·°C) ⁻¹	Peces, Astals & Mata-Alvarez, 2015
Κατώτερη θερμογόνος δύναμη	18.64 MJ·kg ⁻¹	Russ et al., 2005
	19.9 MJ·kg ⁻¹	Kepplinger, 2008 στο Weger et al., 2014
	19.6 MJ·kg ⁻¹	Weger et al., 2014
	20.6 MJ·kg ⁻¹	Velebil, Malafák & Bradna, 2016; Weger, Jung, Stenzel & Hornung, 2017
Ανώτερη Θερμογόνος δύναμη	21.3 MJ·kg ⁻¹	Elliott, Sealock & Butner, 1988
	20.14 MJ·kg ⁻¹	Russ et al., 2005
	18.55 MJ·kg ⁻¹	Sanna, Li, Linforth, Smart & Andrézen, 2011
	23.1 MJ·kg ⁻¹	Ferraz et al., 2013
	15.374 MJ·kg ⁻¹	Goldfarb & Ceylan, 2015
	22.2 MJ·kg ⁻¹	Velebil et al., 2016
	21.55 (±0.3) MJ·kg ⁻¹	Kan et al., 2017
	21.1-21.8 MJ·kg ⁻¹	Briggs et al., 2004
	20.83 MJ·kg ⁻¹	Becidan et al., 2007a

4.5. Χρήσεις των ΕΣΖ

4.5.1. Σύντομη αναφορά στην μη ενεργειακή αξιοποίηση τους

Η βασική εφαρμογή των ΕΣΖ επί του παρόντος είναι η χρησιμοποίησή τους ως ζωοτροφή (σε βοειδή, μηρυκαστικά, πτηνοτροφία, χοιροτροφία, ιχθυοκαλλιέργειες κ.α.) (Mussatto et al., 2006), η οποία παραμένει επικρατούσα για οικονομικούς και περιβαλλοντικούς, κυρίως, λόγους (Steiner et al., 2015).

4.5.1.1. Οι ΕΣΖ ως συστατικό υψηλής θρεπτικής αξίας

Οι ΕΣΖ, εξαιτίας του υψηλού περιεχομένου τους σε πρωτεΐνες και ίνες (19-30% και 30-50% σε ξηρή βάση, αντίστοιχα) μπορούν να αποτελέσουν ένα ελκυστικό συμπλήρωμα για την ανθρώπινη διατροφή (Lynch et al., 2016; Mussatto, 2014; Mussatto et al., 2006). Υπάρχουν αρκετές έρευνες που αναφέρονται στην ενσωμάτωση των εξαντλημένων σπόρων σε αρτοσκευάσματα (αλεύρι, νιφάδες δημητριακών, ψωμί σίτου ολικής άλεσης, μπισκότα, ορεκτικά κ.ά.) αφού πρώτα μετατραπούν σε άλευρο, ή άλλα τρόφιμα, ενώ αξιοποιούνται και οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες των φαινολικών συστατικών τους (Mussatto, 2014).

4.5.1.2. Συμβολή των ΕΣΖ σε χημικές διεργασίες

Οι ΕΣΖ είναι πρώτη ύλη που προκαλεί το ενδιαφέρον για χημικές διεργασίες, είτε για την λήψη (μέσω εξαγωγής) είτε παραγωγής (μέσω χημικών αντιδράσεων) βιομηχανικών υλικών. Εκτός από προϊόντα που βασίζονται στην εξαγωγή βιοχημικών συστατικών (λιγνίνη, αραβινοξυλάνη κ.ά.) ή μετατροπής τους σε απλούστερες ενώσεις (ξυλόζη, αραβινόζη κ.ά.), αναπτύσσονται τεχνολογίες για την ενσωμάτωση των ΕΣΖ σε βιομηχανικές εφαρμογές (χαρτοβιομηχανία, βελτιωτικά εδάφους, αντιρρυπαντικά προσροφητικά υλικά κ.ά.) (Mussatto, 2014).

Ενδεικτικά, οι εξαντλημένοι σπόροι ζυθοποιίας μπορούν να αξιοποιηθούν ως πηγή άνθρακα σε αναερόβια απολύμανση εδάφους απόπαθογόνο (*Phytophthora nicotianae*), ως λειτουργικό πληρωτικό σε παραγωγή συνθετικού με βάση το πολυπροπυλένιο, για την αποθείωση πετρελαιοειδούς με ΕΣΖ τροποποιημένους από νανοσωματίδια Ag καθώς και ως βιοάνθρακας με ιδιότητες κατακράτησης αμμωνιακού αζώτου.

4.5.1.3. Χρησιμοποίηση των ΕΣΖ σε βιοτεχνολογικές διαδικασίες

Οι ΕΣΖ μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα για την καλλιέργεια μικροοργανισμών ή την παραγωγή ενζύμων (μυκήτων, ακτινοβακτηριδίων κ.ά.), ως πρώτη ύλη για την εξαγωγή αξιοποιήσιμων συστατικών μέσω ενζυματικών διεργασιών (φερουλικό και *p*-κουμαρικό οξύ, ξυλόζη, αραβινόζη κ.ά.), ως πρώτη ύλη για διεργασίες ζύμωσης (ξυλιτόλη, αραβιτόλη κ.ά.) και ως φορέας ακινητοποίησης κυττάρων (Mussatto, 2014; Mussatto et al., 2006).

Μεταξύ των σημαντικότερων ενζύμων που είναι στο επίκεντρο παραγωγής τους με την χρησιμοποίηση των ΕΣΖ, συγκαταλέγονται αμυλάσες, κυτταρινάσες, ημικυτταρινάσες και πρωτεάσες. Σημαντικότερες τεχνικές καλλιέργειάς τους είναι η βυθισμένη και η στερεάς κατάστασης (Χίρος & Christakopoulos, 2012).

4.5.2. Αξιοποίηση ΕΣΖ ως προϊόντα προστιθέμενης αξίας

Η παραγωγή ενέργειας μέσω της αξιοποίησης των αποβλήτων ΕΣΖ αποτελεί μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική λύση, στα πλαίσια της "επικρατούσας ενεργειακής κρίσης". Η εν λόγω κρίση ολοένα και περισσότερο απασχολεί τον κόσμο σε παγκόσμιο επίπεδο μιας και η εξάντληση των συμβατικών πηγών ενέργειας, δηλαδή των ορυκτών καυσίμων, δημιουργεί ανησυχίες για τον τρόπο παραγωγής ενέργειας στο μέλλον ενώ ταυτόχρονα η μείωση της προσφοράς τους οδηγεί στην αύξηση της αξίας τους καθιστώντας με αυτό τον τρόπο ακριβότερη την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών (Chandrasekaran, 2013).

Η αυξημένη οργανική περιεκτικότητα των ΕΣΖ σε δομικούς πολυσακχαρίτες τους καθιστά κατάλληλους τόσο για την παραγωγή βιοαερίου (μεθάνιο) όσο και για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Συγκεκριμένα, τα απόβλητα αυτά αν υποστούν διεργασίες όπως η καύση, η ζύμωση ή η αναερόβια χώνευση δύναται να παράξουν ικανοποιητικές ποσότητες των προαναφερθέντων βιοκαυσίμων (Chanie and Fievez, 2017).

Στις μέχρι τώρα μελέτες η διαδικασία που ακολουθείται περιλαμβάνει σε αρχικό στάδιο την αφυδάτωση, μέσω ξήρανσης, των σπόρων και κατόπιν την εκχύλιση των ελαίων αυτών. Η προεπεξεργασία των αποβλήτων είτε με όξινο είτε με αλκαλικό διάλυμα έχει αποδειχθεί, ως τώρα, ότι βοηθά την υδρόλυση των κλασμάτων ημικυτταρίνης και αμύλου αλλά και λοιπών εκχυλισμάτων με τέτοιο τρόπο ώστε να εμπλουτιστεί η κυτταρινή. Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνει την διάταξη των κλασμάτων κυτταρίνης σε δομές απλούστερες οι οποίες θεωρούνται πιο προσιτές για την ενζυματική επίθεση που θα ακολουθήσει.

Η χρήση, συνεπώς, ενζύμων καθιστά το επακόλουθο στάδιο, την σακχαροποίηση, κατά το οποίο από την κυτταρινή προκύπτει η γλυκόζη και η οποία με την σειρά της οδηγεί στην παραγωγή της αιθανόλης, κατά την διάρκεια της αιθανολικής ζύμωσης στην οποία απαιτείται η χρήση μαγιάς.

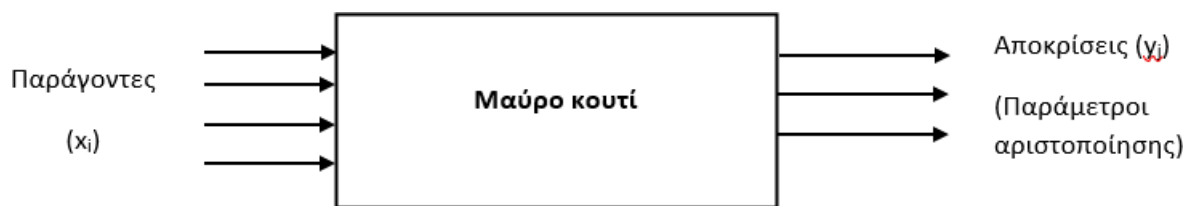
Στην παρούσα μελέτη, ωστόσο, πραγματοποιήθηκε η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση των αποβλήτων σε θερμοκρασία 35 °C για 24hr, παρουσιάζοντας εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα, με τις μέχρι τώρα μελέτες, ενώ παραλείφθηκε το στάδιο της προεπεξεργασίας οδηγώντας σε εξίσου ενδιαφέροντα αποτελέσματα.

Κεφάλαιο 5: Παραγοντικός Σχεδιασμός

5.1. Εισαγωγή

Σχεδιασμός ενός στατιστικού πειράματος, είναι η μέθοδος επιλογής του αριθμού των μετρήσεων (επί μέρους πειραμάτων) και των συνθηκών εκτέλεσης τους που είναι αναγκαία και ικανά για τη λύση του προβλήματος που έχει τεθεί με την απαιτούμενη ακρίβεια.

Το αντικείμενο της έρευνας απαιτεί ακριβή προσδιορισμό και γι' αυτό έχει υιοθετηθεί η αρχή του 'μαύρου κουτιού' της Κυβερνητικής. Ένας πειραματιστής προκειμένου να χρησιμοποιήσει μεθόδους σχεδιασμού πειραμάτων πρέπει να μπορεί να διαμορφώσει το πρόβλημα του σύμφωνα με αυτή την αρχή (Ρήγας, 1988).



Εικόνα 11- Διάγραμμα μαύρου κουτιού της κυβερνητικής

5.2. Βασικές αρχές και έννοιες για τον σχεδιασμό πειραμάτων

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

Τα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής είναι:

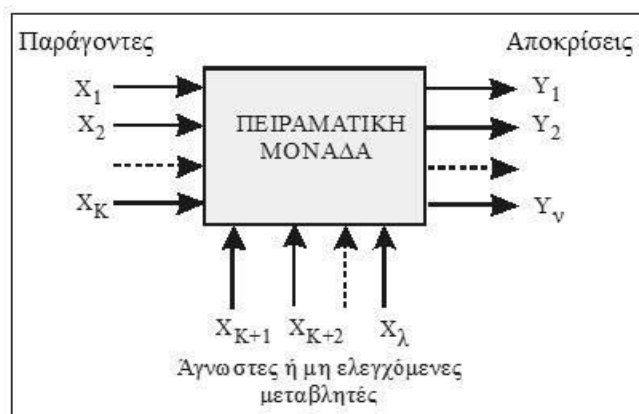
- Πρώτον ότι δίνει τις περισσότερες πληροφορίες, ανά πείραμα, από οποιαδήποτε μη σχεδιασμένη προσέγγιση. Όλοι οι ερευνητές που ασχολήθηκαν με τον στατιστικό σχεδιασμό ισχυρίζονται ότι αυτός ελαχιστοποιεί τον χρόνο της έρευνας και έχει μεγάλη αποτελεσματικότητα σε συστήματα που επηρεάζονται από πολλές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

σχεδιασμού, μπορεί εύκολα ένας αναγνώστης να ελέγξει την αξιοπιστία τους εφαρμόζοντας κοινώς παραδεκτά κριτήρια ελέγχου.

- Μία τέταρτη ωφελιμότητα του σχεδιασμού είναι η δυνατότητα που μας παρέχει να υπολογίζουμε ποσοτικά τις αλληλοεπιδράσεις των πειραματικών μεταβλητών ώστε να οδηγήσει τον ερευνητή, με μεγαλύτερη ασφάλεια, σε προβλέψεις εκτός της περιοχής σχεδιασμού δηλαδή σε περιοχές που δεν καλύπτονται απευθείας από τα πειράματα.
- Τέλος το πιο σημαντικό κέρδος από την τεχνική του σχεδιασμού, είναι η δυνατότητα της απ' ευθείας εύρεσης της διεύθυνσης που πρέπει να ακολουθήσει ο ερευνητής στον πολυδιάστατο χώρο των πειραματικών μεταβλητών ώστε να προσεγγίσει το άριστο σημείο (μέγιστο ή ελάχιστο).

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

Ένα πείραμα αποτελεί μία δοκιμή. Ένα πείραμα αποτελείται από μία πειραματική μονάδα, μία σειρά μεταβλητών εισόδου και μία σειρά μεταβλητών εξόδου. Οι μεταβλητές εισόδου είναι παράμετροι που η μεταβολή των τιμών τους επηρεάζουν την έκβαση του αποτελέσματος και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες τις παραμέτρους που μπορούν να προσδιοριστούν και να ελεγχθούν και ονομάζονται παράγοντες και τις παραμέτρους που είναι είτε άγνωστες είτε μη ελεγχόμενες. Οι παράγοντες παίρνουν καθορισμένες τιμές και μπορούν να παραμείνουν σταθερές, με κάποια διαδικασία ελέγχου, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Το σύνολο των διαφορετικών τιμών που μπορούν να πάρουν οι παράγοντες ονομάζεται πειραματική περιοχή. Η ανατομία ενός πειράματος φαίνεται στην εικόνα παρακάτω. Η διεξαγωγή ενός πειράματος απαιτεί όλοι οι παράγοντες να λάβουν μία καθορισμένη τιμή. Οι μεταβλητές εξόδου ενός πειράματος είναι μία σειρά αποτελεσμάτων (απαντήσεων) που προκύπτουν από την διεξαγωγή του πειράματος. Η μεταβλητή εξόδου που μας ενδιαφέρει να αριστοποιήσουμε προσδιορίζοντας τις κατάλληλες τιμές των παραγόντων, ονομάζεται παράμετρος αριστοποίησης. Η πειραματική μονάδα μπορεί να παρομοιαστεί μ' ένα «μαύρο κουτί» στο οποίο δεν μπορούμε να αναγνωρίσουμε τις άμεσες πραγματικές σχέσεις μεταξύ των επιδράσεων και των ανταποκρίσεων, αλλά μπορούμε να τις μετρήσουμε και να τις συσχετίσουμε με κάποια μαθηματικά μοντέλα. Ο πειραματικός σχεδιασμός αποτελείται από έναν αριθμό δοκιμών (πειραμάτων) που πραγματοποιούνται με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση των παραγόντων, σε μία πειραματική περιοχή τιμών, στις μεταβλητές εξόδου (Ρήγας, 1988).



Εικόνα 12- Η ανατομία ενός πειράματος

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

5.3. Παράμετροι αριστοποίησης

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

Χαρακτηρίζοντας μία μεταβλητή εξαγωγής σαν παράμετρο αριστοποίησης πρέπει να προσέξουμε ώστε να εκπληρώνει τις παρακάτω προϋποθέσεις:

1. Να είναι αποτελεσματική ως προς τον χαρακτηρισμό του επιδιωκόμενου τελικού σκοπού. Αυτή η αναγκαιότητα ταυτίζεται με την σαφήνεια προσδιορισμού του προβλήματος. Σύμφωνα με την ανάγκη αποτελεσματικότητας, μία παράμετρο αριστοποίησης, μπορεί να μεταβάλλεται ανάλογα με την πορεία της έρευνας. Έτσι π.χ. ενώ ξεκινώντας μία έρευνα μπορεί να χρησιμοποιεί την παραγωγή του προϊόντος σαν παράμετρο αριστοποίησης, από κάποιο όμως σημείο και πέρα πιθανώς το ενδιαφέρον της αριστοποίησης μπορεί να μετατοπιστεί στην ποιότητα του προϊόντος. Δηλαδή υπάρχει μία δυναμική σχέση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν με τον επιδιωκόμενο σκοπό κατά την διάρκεια ενός πειραματικού σχεδιασμού.
2. Να έχει μία διεθνή υπόσταση δηλαδή να εκφράζεται σε μονάδες ή να μετράται με μεθόδους

διεθνώς παραδεκτές.

3. Να έχει ποσοτική έκφραση και μάλιστα να παρουσιάζεται με ένα απλό νούμερο. Όταν είναι δύσκολο να εκφραστεί ποσοτικά τότε πρέπει να χρησιμοποιήσουμε μία μέθοδο προσεγγιστικής κλίμακας.
4. Να έχει «στατιστική αποτελεσματικότητα» δηλαδή πρέπει να εκλέξουμε μία παράμετρο αριστοποίησης που να προσδιορίζεται με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια.
5. Να έχει φυσική έννοια, να είναι απλή και να υπολογίζεται εύκολα. Πολλές φορές όταν οι διακυμάνσεις των μετρήσεων είναι ανομοιογενείς, δηλαδή όταν δεν επιτυγχάνεται η στατιστική αποτελεσματικότητα, τότε πραγματοποιείται μετασχηματισμός της παραμέτρου (πχ. $\sin y$) για να μετατραπούν οι διακυμάνσεις σε ομοιογενείς.
6. Να υπάρχει σε όλα τα στάδια του σχεδιασμού (Ρήγας, 1988).

5.4. Παράγοντες σχεδιασμού

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

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

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

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

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

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

2. Πρέπει να είναι σαφής η μέθοδος μέτρησής του, το όργανο που θα χρησιμοποιηθεί για την μέτρηση του καθώς επίσης και οι μονάδες που θα εκφράζεται. Όταν είναι δυνατόν να διευκρινιστούν όλα τα παραπάνω τότε ο παράγοντας αυτός λέγεται λειτουργικός.
3. Η μέτρηση του παράγοντα πρέπει να γίνεται με την μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια. Βέβαια αυτή η ακρίβεια εξαρτάται από την κάθε περίπτωση. Δεν έχει νόημα π.χ. σε εποχιακά πειράματα η μέτρηση του χρόνου με ακρίβεια δευτερολέπτου ασχέτως αν μπορεί αυτό να επιτευχθεί. Αν είναι δύσκολο να διατηρήσουμε τον παράγοντα σε σταθερό επίπεδο, κατά την διάρκεια του πειράματος, τότε πρέπει να καταφύγουμε σε ειδική ανάλυση που ονομάζεται συμβολική ανάλυση.
4. Ένας παράγοντας πρέπει να δρα απ' ευθείας στο αποτέλεσμα δηλαδή πρέπει να είναι σαφής. Είναι δύσκολο να ελέγξεις έναν παράγοντα που είναι συνάρτηση άλλου. Μερικές φορές όμως επιβάλλεται κάτι τέτοιο όπως π.χ. αν η θερμοκρασία μέσα σ' έναν αντιδραστήρα μεταβάλλεται γραμμικά τότε σαν παράγοντα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την κλίση ή την παράγωγο της ευθείας.
5. Η αρμονία των παραγόντων είναι μία άλλη αναγκαιότητα π.χ. δεν μπορούμε να δώσουμε τέτοιες τιμές σ' ένα πείραμα ώστε να γίνει έκρηξη στα όργανα και τις πειραματικές συσκευές. Η αρμονία επιτυγχάνεται με τον ξεκάθαρο προσδιορισμό του πεδίου τιμών των παραγόντων.
6. Επίσης πρέπει να εξασφαλίζεται η ανεξαρτησία των παραγόντων π.χ. σε ένα κλειστό θερμοδυναμικό σύστημα δεν μπορεί ταυτόχρονα να αποτελούν παράγοντες η πίεση, η θερμοκρασία και ο όγκος, εφ' όσον το ένα είναι συνάρτηση των άλλων δύο.

5.5. Μαθηματικά μοντέλα

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

Μηδενικού βαθμού: $y = b_0$

Πρώτου βαθμού: $y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i$

Δεύτερου βαθμού: $y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k b_{ji} x_i x_j$

Οι συντελεστές των μοντέλων που πρέπει να προσδιορισθούν (άγνωστοι) είναι 1 στο μοντέλο μηδενικής τάξης (b_0) και $k+1$ στο πρώτης τάξης. Στο μοντέλο δεύτερης τάξης οι συντελεστές

για προσδιορισμό είναι το άθροισμα αυτών του μοντέλου πρώτης τάξης, των αλληλεπιδράσεων και των τετραγωνικών όρων:

$$k + 1 + \frac{k!}{2!(k-2)!} + k = \frac{(k+1)(k+2)}{2} \quad (5.1)$$

Το μοντέλο μηδενικού βαθμού δείχνει ότι οι παράγοντες δεν επηρεάζουν την παράμετρο αριστοποίησης, μια κατάσταση που δεν έχει νόημα, αφού σκοπός της έρευνας είναι να βρεθεί και να καθορισθεί ποσοτικά αυτή η επίδραση. Το μοντέλο αυτό είναι αποτέλεσμα συνήθως ενός κακού σχεδιασμού ή μιας κακής εκτέλεσης του πειράματος.

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

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

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

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

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

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

$$x_j = \frac{\tilde{x}_j - \tilde{x}_{j0}}{j_j} \quad (5.2)$$

Όπου:

x_j = κωδικοποιημένη τιμή του παράγοντα

\tilde{x}_j = φυσική τιμή του παράγοντα

\tilde{x}_0 = φυσική τιμή του βασικού επιπέδου του

j_j = διάστημα μεταβολής του

j = αριθμός του παράγοντα.

5.5.1 Σχεδιασμοί πρώτης τάξης

Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός

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

$$N=2^k$$

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

Μήτρες σχεδιασμού πειραμάτων

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

Πίνακας 9- Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα 2^2 παραγοντικό πείραματος (Ρήγας, 1988)

No Μέτρησης	X_1	X_2	X_1X_2
1	+1	+1	+1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	-1	-1	+1

Στο πίνακα οι τιμές +1 και -1 είναι οι κωδικοποιημένες τιμές των παραγόντων και οι συνδυασμοί αυτών των

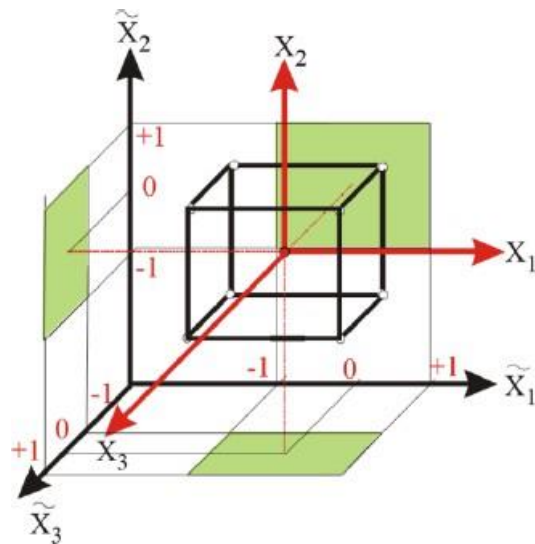
επιπέδων καθορίζουν τις συνθήκες εκτέλεσης κάθε πειράματος. Στο εξής, στους σχεδιασμούς πρώτης τάξης, οι τιμές αυτές αντικαθίστανται με + και – αντίστοιχα.

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

Αντίστοιχα, η μήτρα και η γραφική παράσταση ενός παραγοντικού πειράματος 2^3 απεικονίζονται στο πίνακα 10 και στην εικόνα 13 αντίστοιχα. (Ρήγας, 1988)

Πίνακας 10- Μήτρα σχεδιασμού πειραμάτων για ένα 2^3 πείραμα

No	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	-	+	-	-	-
3	+	-	+	-	+	-	-
4	+	-	-	-	-	+	+
5	-	+	+	-	-	+	-
6	-	+	-	-	+	-	+
7	-	-	+	+	-	-	+
8	-	-	-	+	+	+	-



Εικόνα 13- Γεωμετρική εικόνα ενός 2^3 πειράματος

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

5.5.2 Ιδιότητες ενός παραγοντικού πειράματος

Οι ιδιότητες ενός παραγοντικού σχεδιασμού είναι :

- Συμμετρία ως προς το κέντρο του σχεδιασμού : $\sum_{i=1}^N x_{ji} = 0$

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

i = αριθμός μέτρησης (1,2,...,N)

- Κανονικότητα της μήτρας σχεδιασμού που εκφράζεται από τη σχέση : $\sum_{i=1}^N x_{ji}^2 = N$

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

- Ορθογωνικότητα της μήτρας σχεδιασμού που έχει σχέση με σύνθετες στήλες και πληρούνται με την ισχύ της εξίσωσης: $\sum_{i=1}^N x_{ji}x_{ui} = 0 \quad i$

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

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

5.6. Βαθμοί ελευθερίας και αλληλεπιδράσεις

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

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

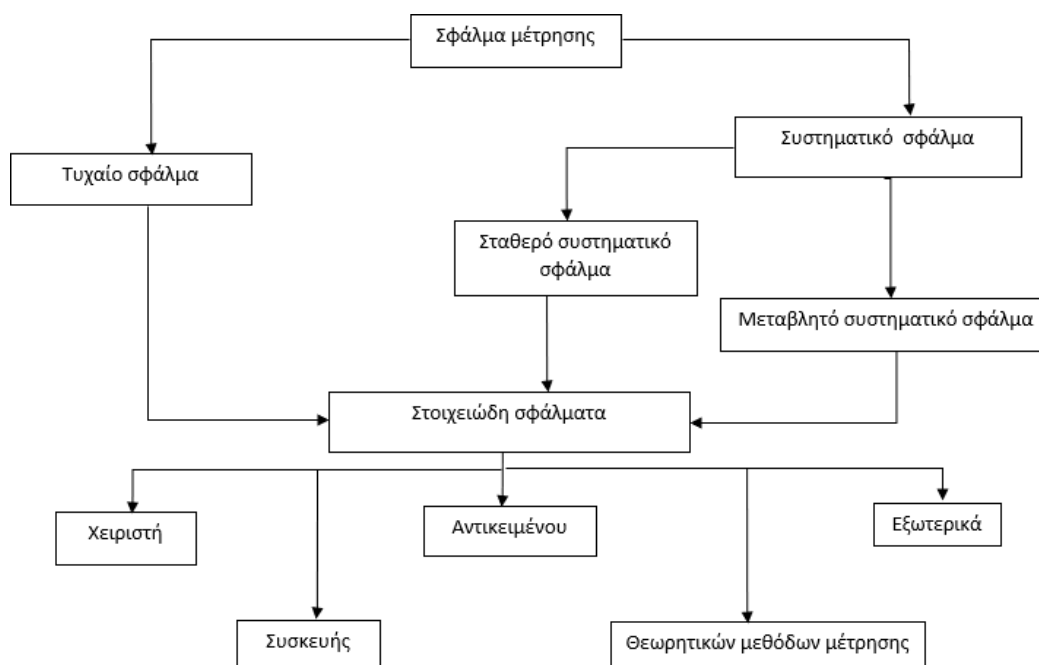
$$f=N-(k+1)$$

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

5.7. Εκτέλεση του πειράματος

5.7.1 Σφάλματα επαναλήψεων και διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης

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



Εικόνα 14- Ανάλυση σφαλμάτων ενός πειράματος (Ρήγας, 1988)

Τα σφάλματα διαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα συστηματικά και τα τυχαία σφάλματα.

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

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

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

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

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

$$t_{exp} = \frac{y_i - \bar{y}}{s_i} \quad (5.3)$$

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

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

$$s_y^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1} \quad (5.4)$$

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

$$s_y^2 = \frac{\sum_{i=1}^m f_i s_i^2}{\sum_{i=1}^m f_i} \quad (5.5)$$

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

5.7.2 Έλεγχος ομοιογένειας διακυμάνσεων

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

Εάν ο αριθμός των διακυμάνσεων που συγκρίνονται είναι μεγαλύτερος από δύο και μια διακύμανση είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τις άλλες μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κριτήριο του Cochran. Αυτό είναι χρήσιμο σε περιπτώσεις που υπάρχει ο ίδιος αριθμός επαναλήψεων σε όλα τα σημεία. Το κριτήριο του Cochran είναι ο λόγος της μεγαλύτερης διακύμανσης προς το άθροισμα όλων των διακυμάνσεων:

$$G = \frac{s_{max}^2}{\sum_{i=1}^N s_i^2} \quad (5.6)$$

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

5.7.3 Αντιμετώπιση σφαλμάτων

Για την αντιμετώπιση των τυχαίων σφαλμάτων το κριτήριο του Student βοηθάει στην απόρριψη των πιο απίθανων (εσφαλμένων) τιμών. Αυτό σε συνδυασμό με την εκτέλεση νέων επαναλήψεων μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των τυχαίων σφαλμάτων.

Για τη μείωση της επίδρασης των συστηματικών σφαλμάτων που οφείλονται σε εξωτερικές συνθήκες, συνίσταται η τυχαία σειρά εκτέλεσης των μετρήσεων της μήτρας σχεδιασμού.

Η αντιμετώπιση λοιπόν των σφαλμάτων προσδιορισμού της παραμέτρου αριστοποίησης γίνεται κατά το σχήμα:

Σφάλματα	Αντιμετώπιση
Τυχαία →	Επαναλήψεις μετρήσεων

5.7.4 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

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

- α) Η παράμετρος αριστοποίησης είναι μια τυχαία ποσότητα που υπακούει στο νόμο της κανονικής κατανομής.
- β) Η διακύμανση της παραμέτρου αριστοποίησης δεν εξαρτάται από την τιμή της (υπάρχει ομοιογένεια διακυμάνσεων)
- γ) Οι τιμές των παραγόντων δεν είναι τυχαίες ποσότητες, δηλαδή η τοποθέτηση και σταθεροποίηση κάθε παράγοντα στο προκαθορισμένο επίπεδο είναι πιο ακριβείς από το σφάλμα αναπαραγωγής.

5.7.5 Υπολογισμός συντελεστών συνάρτησης απόκρισης

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

$$y = b_0 + b_1 x_1$$

Στόχος εδώ είναι ο προσδιορισμός των αγνώστων συντελεστών b_0 και b_1 μετά την εκτέλεση ενός στατιστικού πειράματος και με τη χρησιμοποίηση των αποτελεσμάτων του.

Εάν όλα τα πειραματικά σημεία βρισκόντουσαν πάνω στην ευθεία που εκφράζεται με την παραπάνω εξίσωση, τότε θα ίσχυε η ακόλουθη εξίσωση για κάθε ένα από αυτά:

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = 0$$

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

$$y_i - b_0 - b_1 x_{1i} = \xi_i$$

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

$$\xi_i = y_i - y_i^*$$

Η ποσότητα ξ αναφέρεται συχνά σαν υπόλοιπο.

Για ελαχιστοποίηση των αποκλίσεων (υπολοίπων) η πιο διαδεδομένη, ευρείας εφαρμογής μέθοδος είναι αυτή των ελάχιστων τετραγώνων, όπως αναπτύχθηκε πριν από περισσότερα από 150 χρόνια από τους A. Legendre

και K.Gauss, και αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται στη συνέχεια. Σύμφωνα με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των υπολοίπων, δηλαδή:

$$\sum_{i=1}^N \xi_i^2 = \sum_{i=1}^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i})^2 = \min$$

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

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

Από αυτές τις εξισώσεις προκύπτουν:

$$\begin{aligned} -2 \sum_{i=1}^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) &= 0 \\ -2 \sum_{i=1}^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i}) x_{1i} &= 0 \end{aligned}$$

Η ιδιότητα της συμμετρίας της μήτρας σχεδιασμού δίνει όμως:

$$\sum_{i=1}^N x_{1i} = 0$$

Οπότε οι προηγούμενες εξισώσεις γίνονται:

$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N} \quad (5.7)$$

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^N y_i x_{1i}}{\sum_{i=1}^N x_{1i}^2} \quad (5.8)$$

Ο προσδιορισμός των συντελεστών μιας γραμμικής συνάρτησης απόκρισης με k παράγοντες :

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_k x_k$$

Γίνεται με όμοιο τρόπο με την εφαρμογή πολλαπλής παλινδρόμησης.

Επομένως ακολουθώντας πάλι την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση των τετραγώνων των υπολοίπων:

$$\sum_{i=1}^N \xi_i^2 = \sum_{i=1}^N (y_i - b_0 - b_1 x_{1i} - b_2 x_{2i} - \dots - b_k x_{ki})^2 = \min$$

Παίρνοντας k+1 μερικές παραγώγους ως προς τους αγνώστους b₀, b₁, b₂... b_k, εξισώνοντάς τις με μηδέν και ανακατατάσσοντας, προκύπτουν οι k+1 εξισώσεις πολλαπλής παλινδρόμησης από τις οποίες τελικά προκύπτει:

$$b_0 = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N} \quad (5.7)$$

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N y_i x_{ji}}{\sum_{i=1}^N x_{ji}^2} \quad (5.8)$$

Όπου $j=1,2,\dots,k$ ο αριθμός του παράγοντα. Στο σχεδιασμό πρώτης τάξης ισχύει επίσης η ιδιότητα της κανονικότητας της μήτρας σχεδιασμού, οπότε η εξίσωση (5.8) μετασχηματίζεται σε:

$$b_j = \frac{\sum_{i=1}^N y_i x_{ji}}{N} \quad (5.9)$$

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

$$b_{uj} = \frac{\sum_{i=1}^N y_i x_{ui} x_{ji}}{N} \quad (5.10)$$

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

5.7.6 Έλεγχος σημαντικότητας συντελεστών

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

$$s_{bj}^2 = \frac{s_y^2}{\sum_{i=1}^N x_{ji}^2} = \frac{s_y^2}{N} \quad (5.11)$$

Από την εξίσωση αυτή φαίνεται ότι σε μοντέλα πρώτης τάξης οι διακυμάνσεις όλων των συντελεστών είναι ίσες μεταξύ τους.

Το διάστημα εμπιστοσύνης με το οποίο θα συγκριθούν οι συντελεστές ώστε να ελεγχθεί η σημαντικότητα τους υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\Delta b_j = \pm t \cdot s_{bj} = \frac{t \cdot s_y}{\sqrt{N}} \quad (5.12)$$

Όπου t είναι η τιμή του πίνακα Student με στατιστική σημαντικότητα 95% και για τους βαθμούς ελευθερίας υπολογισμού της s_y .

Ένας συντελεστής είναι σημαντικός, εάν η απόλυτη τιμή του είναι μεγαλύτερη από το διάστημα εμπιστοσύνης του.

5.7.7 Έλεγχος επάρκειας μαθηματικού μοντέλου

Το άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών των μέσων πειραματικών τιμών της παραμέτρου αριστοποίησης ($y_{i,\mu\epsilon\sigma\sigma}$) από τις αντίστοιχες υπολογισμένες τιμές με βάση το μαθηματικό μοντέλο που κατασκευάστηκε (y^*), δίνει το υπόλοιπο άθροισμα των τετραγώνων.

Ο λόγος του υπολοίπου του αθροίσματος τετραγώνων με τους βαθμούς ελευθερίας ενός πειράματος δίνει την διακύμανση υπολοίπων, ή διακύμανση επάρκειας (s_{ad}^2):

$$s_{ad}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N n_i(\bar{y}_i - \hat{y})^2}{f} \quad (5.13)$$

Όπου: n_i = ο αριθμός επαναλήψεων στην i -στη σειρά της μήτρας σχεδιασμού πειραμάτων
 F = βαθμοί ελευθερίας του σχεδιασμού

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

$$F = \frac{s_{ad}^2}{s_y^2} \quad (5.14).$$

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Πειραματική μεθοδολογία

6.1. Σκοπός

Στην παρούσα διπλωματική μελετήθηκε η βελτιστοποίηση των συνθηκών παραγωγής βιοαιθανόλης χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη Εξαντλημένους Σπόρους Ζυθοποιίας. Πιο συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε η ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση των σπόρων ,υπό συνθήκες δηλαδή SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation), κάνοντας χρήση του ενζύμου CellicCTec3 (15 FPU/mL), το οποίο προμηθεύεται από την εταιρία Novozymes (S/A Δανίας), και της μαγιάς *S. Cerevisiae*. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν υπό διαφορετικές αναλογίες ενζύμου-μαγιάς με σκοπό την εύρεση του βέλτιστου σημείου.

Σε δεύτερο επίπεδο εξετάστηκε η παραγωγή βιοαιθανόλης υπό τις ίδιες συνθήκες χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη Εξαντλημένους Σπόρων Ζυθοποιίας από τους οποίους, αυτή την φορά, έχουν αφαιρεθεί τα έλαια μέσω εκχύλισης σε διάταξη Soxhlet. Σκοπός, στάθηκε η σύγκριση των αποτελεσμάτων και η εξαγωγή ανάλογων συμπερασμάτων για την επίδραση της παρουσίας των ελαίων στην απόδοση παραγωγή αιθανόλης.

6.2. Πρώτη ύλη

Η πρώτη ύλη που εξετάζεται στην παρούσα εργασία, όπως προαναφέρθηκε είναι οι εξαντλημένοι σπόροι ζυθοποιίας (ΕΣΖ) οι οποίοι προέρχονται από βιομηχανία ζυθοποιίας και πιο συγκεκριμένα από την ΕΖΑ (Ελληνική Ζυθοποιία Αταλάντης). Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται οι σπόροι ζυθοποιίας μετά την επεξεργασία απομάκρυνσης της υγρασίας.



Εικόνα 15- εξαντλημένοι σπόροι ζυθοποιίας (ΕΖΖ)

Τα υπολείμματα σπόρων ζύθου μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις του Ε.Μ.Π στο εργαστήριο της μονάδας περιβαλλοντικής επιστήμης και τεχνολογίας (UEST) όπου και τοποθετήθηκαν στο εμπορικό σύστημα αποκεντρωμένης ξήρανσης Gaia GC-100 (Εικόνα 16), προκειμένου να ξηραθούν.

Ο ξηραντήρας Gaia είναι ένα σύστημα μείωσης του όγκου των οργανικών απορριμμάτων και απορριμμάτων φαγητού σε ποσοστό που φτάνει μέχρι και το 90%. Γενικά, τα ξηραντήρια Gaia είναι απλά αυτόματα συστήματα ξήρανσης που στηρίζονται στη θέρμανση και τη μηχανική ανάδευση. Εξαιτίας του γεγονότος ότι τα ποσοστά υγρασίας στα οργανικά απορρίμματα και τα απορρίμματα φαγητού είναι πολύ υψηλά (έως και 98%), η μείωση του όγκου και του βάρους επιτυγχάνεται με την εξάτμιση του νερού. (Βέκκος, 2016)

Οι υδρατμοί που παράγονται από την θέρμανση αφού περάσουν από σύστημα δύο φίλτρων οδηγούνται προς υγροποίηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην υπάρχουν εκπομπές και οσμές παρά μόνο νερό το οποίο και απομακρύνεται στο αποχετευτικό σύστημα, ενώ το τελικό προϊόν είναι άοσμη, ξερή αποστειρωμένη βιομάζα που μπορεί να αποθηκευτεί για αρκετές εβδομάδες. Το σύστημα τροφοδοτείται με ηλεκτρική ενέργεια ενώ η θέρμανση είναι δυνατόν να προέρχεται από φυσικό αέριο, πετρέλαιο, ηλεκτρικό ρεύμα ή ακόμα και από ατμό. Οι χρόνοι κατεργασίας όπως επίσης και το κόστος χρήσης ποικίλουν και εξαρτώνται από τον τύπο των απορριμμάτων και την περιεκτικότητα αυτών σε υγρασία.



Εικόνα 16- Το ξηραντήριο Gaia GC-100 (Βέκκος, 2016)

Στην συνέχεια οι σπόροι ΕΖΖ αποθηκεύτηκαν και διατηρήθηκαν σε συνηθισμένους σάκους απορριμμάτων.

Προτού χρησιμοποιηθούν για την διεξαγωγή των πειραμάτων τα απόβλητα ξηράθηκαν εκ νέου στους 55 °C για 24h ώστε να ελαχιστοποιηθεί ακόμα περισσότερο η περιεχόμενη υγρασία τους.

6.3. Μέθοδοι ανάλυσης

Σημείο έναρξης της παρούσας εργασίας αποτέλεσε ο χαρακτηρισμός των ξηρών αποβλήτων υπό τις ακόλουθες μεθόδους ανάλυσης προκειμένου να διευκρινιστεί η περιεκτικότητά τους σε: Υπολειπόμενη Υγρασία, Ολικά Στερεά, Συνολικά Πτητικά Στερεά, Υδατοδιαλυτά στερεά, Κυτταρίνη, Ημικυτταρίνη, Άμυλο, Διαλυτή σε Οξύ Λιγνίνη αλλά και Μη Διαλυτή σε Οξύ Λιγνίνη καθώς και στην Ελεύθερη Γλυκόζη.

Ορισμένες από τις προαναφερθείσες μεθόδους πραγματοποιήθηκαν και μετά το πέρας των πειραμάτων με σκοπό την μελέτη των αποικοδομήσεων τους. Συγκεκριμένα, η μελέτη επικεντρώθηκε στην αποικοδόμηση: του στερεού, των υδατοδιαλυτών (WS), της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και του αμύλου.

6.3.1 Προσδιορισμός ολικών στερεών TS

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

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

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

Αυτή η μέτρηση χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της υγρασίας στην πρώτη ύλη των συγκεκριμένων πειραμάτων.

6.3.2 Προσδιορισμός πτητικών στερεών VS

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

Αρχικά, ζυγίστηκε περίπου 0,5-1 g για κάθε δείγμα TS και αυτά τοποθετήθηκαν σε προζυγισμένες κάψες. Μετά, τα δείγματα μπήκαν στο φούρνο στους 550 °C για 4 ώρες. Ο φούρνος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των πτητικών στερεών απεικονίζεται στη παρακάτω.



Εικόνα 17- Φούρνος μέτρησης πτητικών στερεών

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

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

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

$$\%VS = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100$$

όπου:

m_i = αρχική μάζα ξηρού δείγματος

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

6.3.3 Προσδιορισμός υδατοδιαλυτών στερεών WS

Για τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών αρχικά λαμβάνονται 1,25 g από κάθε δείγμα TS. Αυτά τοποθετούνται μαζί με 50 ml απιονισμένου νερού σε γυάλινα μπουκαλάκια τα οποία σφραγίζονται. Στη συνέχεια, τα γυάλινα μπουκαλάκια τοποθετούνται στο ανακινούμενο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 50°C και ταχύτητα ανάδευσης 130 rpm για 1 ώρα. Μετά το πέρας της 1 ώρας, τα δείγματα φυγοκεντρούνται για να συλλεχθεί η στερεή φάση. Η στερεή φάση των δειγμάτων ζυγίζεται και τοποθετείται σε προζυγισμένες κάψες

οι οποίες μπαίνουν στον φούρνο ξήρανσης στους 105°C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, τα δείγματα τοποθετούνται στον αφυγραντήρα για περίπου 15 λεπτά και ακολούθως ζυγίζονται.

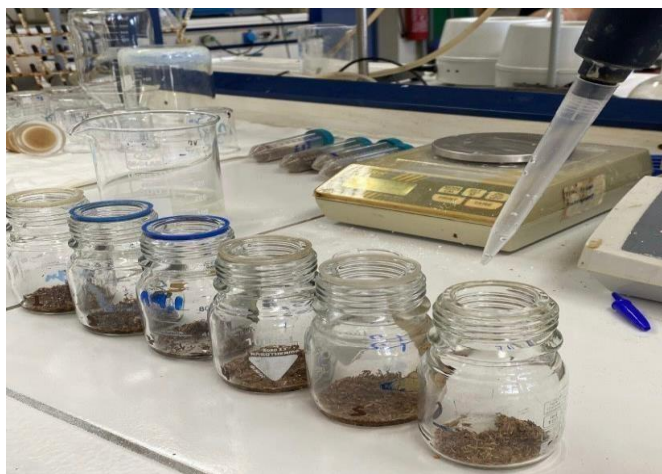
Τα ολικά υδατοδιαλυτά στερεά υπολογίζονται σύμφωνα με την εξίσωση:

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

6.3.4 Προσδιορισμός κυτταρίνης

Η διαδικασία προσδιορισμού κυτταρίνης συνίσταται στην όξινη υδρόλυση του στερεού υπολείμματος που προέκυψε από τον προσδιορισμό των ολικών υδατοδιαλυτών στερεών. Περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

- Λαμβάνονται 300 mg από το κάθε δείγμα στερεού υπολείμματος που προέκυψε κατά τον προσδιορισμό WS και τοποθετούνται σε γυάλινα μπουκαλάκια. Εκεί προστίθενται 3 ml H₂SO₄ 72% w/w.



Εικόνα 18- προσθήκη H₂SO₄ στα δείγματα προς τον προσδιορισμό της κυτταρίνης

- Τα γυάλινα μπουκαλάκια σφραγίζονται και τοποθετούνται σε ανακινούμενο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 30°C και ταχύτητα ανάδευσης 150 rpm για 1 ώρα.
- Μετά το πέρας 1 ώρας προστίθενται σε κάθε μπουκαλάκι 84 ml απιονισμένου νερού και τα δείγματα τοποθετούνται στον αποστειρωτή ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave για μία ώρα και σε θερμοκρασία 121 °C. Στην εικόνα 19 φαίνεται ο αποστειρωτής:



Εικόνα 19- Κλίβανος αποστείρωσης ISOLAB Laborgerate GmbH Autoclave

- Μετά την αποστείρωση, τα δείγματα αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου και εν συνεχεία διηθούνται. Τα διηθήματα αποθηκεύονται σε falcon tubes των 50 ml, ενώ τα στερεά υπολείμματα σε πορσελάνινες κάψες.
- Από τα διηθήματα που προκύπτουν λαμβάνονται 20 ml από το καθένα και εξουδετερώνονται, υπό ανάδευση, με χρήση CaCO_3 έως ότου το pH να κυμαίνεται μεταξύ 5 και 5,5.
- Μετά την εξουδετέρωση τα δείγματα αφήνονται να ηρεμήσουν και συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό μέσω φυγοκέντρωσης.
- Το συλλεχθέν υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος αραιώνεται κατάλληλα και ακολουθεί η μέθοδος προσδιορισμού της ελεύθερης γλυκόζης GOD/PAP. Από το υπερκείμενο υγρό λαμβάνονται 100 μl τα οποία τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια στα οποία προστίθενται και 2 ml αντιδραστηρίου σακχάρου. Ακολούθως, τα φιαλίδια τοποθετούνται στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 °C για 15 λεπτά. Τέλος, λαμβάνει χώρα φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm.

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

Πιο συγκεκριμένα:

$$Total\ gluc\ (\% \frac{w}{w}) = \frac{0.6254 \cdot ABS_{mean} \cdot 86.73 \cdot 10^{-3}}{Initial\ solid} \cdot \frac{100}{0.897}$$

όπου:

ABS_{mean} : ο μέσος όρος απορρόφησης

D: Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα

86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

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

0,897: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης

Τέλος, η ποσότητα της κυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Κυτταρίνη (\% } \frac{w}{w} \text{)} = \text{Total gluc (\% } \frac{w}{w} \text{)} \cdot 0.9$$

Όπου:

$$0.9 = \frac{162}{180} = \text{συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της γλυκόζης}$$

6.3.5 Προσδιορισμός ημικυτταρίνης

Από το υπερκείμενο υγρό που προέκυψε μετά την εξουδετέρωση κατά τον προσδιορισμό της κυτταρίνης λαμβάνονται 0,5 ml από κάθε δείγμα και τοποθετούνται σε γυάλινα φιαλίδια. Σε αυτά προστίθενται 0,5 ml αντιδραστηρίου DNS και τα δείγματα αφήνονται σε βραστό νερό για 5 λεπτά. Μετά, προστίθενται 4 ml νερού στο καθένα και ακολουθεί φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 540 nm.

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

Αρχικά υπολογίζεται η απορρόφηση της ξυλόζης στα 540 nm:

$$ABS_{xy1} = ABS_{\eta\mu\kappa\upsilon\tau} - ((0,71 * ABS_{\kappa\upsilon\tau}) / 1,664), \text{ όπου:}$$

ABS_{xy1} : η απορρόφηση της ξυλόζης σε μήκος κύματος 540 nm

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

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

Κατόπιν, υπολογίζεται η συνολική περιεκτικότητα κατά βάρος ξυλόζης:

$$\text{Total xylose (\% w/w)} = (1,3861 * ABS_{xy1}) / 0,86$$

Όπου ABS_{xy1} : η απορρόφηση της ξυλόζης σε μήκος κύματος 540 nm 0,86:
συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της ξυλόζης

Τέλος, η ποσότητα της ημικυτταρίνης υπολογίζεται από τη σχέση:

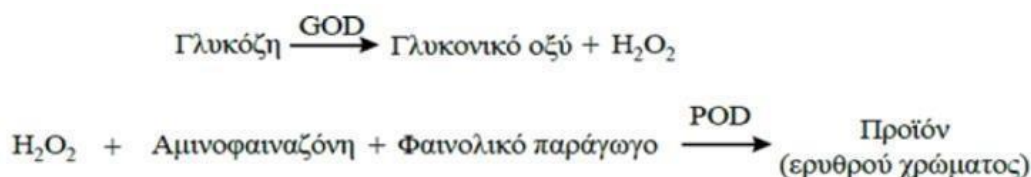
$$\text{Ημικυτταρίνη (\% w/w)} = ((\text{total xylose}) * (132/150) * 0,08673 * (1/1000) * 100) / (\text{initial solid})$$

Όπου 132/150: συντελεστής διόρθωσης της συγκέντρωσης της ξυλόζης
86,73 (ml): προκαθορισμένη τιμή

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

6.3.5. Προσδιορισμός Ελεύθερης Γλυκόζης (Free Sugars)

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



Εικόνα 19: Ενζυμική αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP.

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

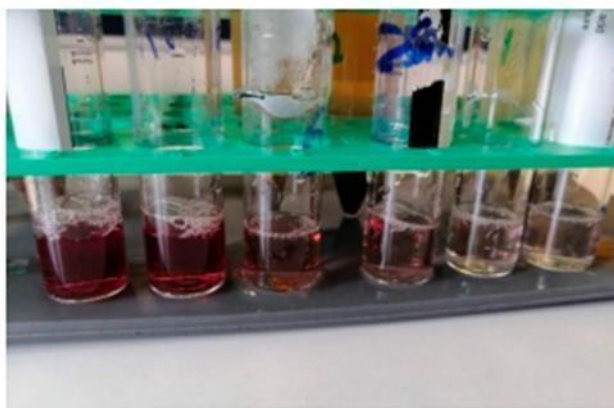
Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης με τη μέθοδο GOD/PAP κατασκευάζεται πρώτα η καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με την εν λόγω μέθοδο.

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

- ❖ Χρησιμοποιείται πρότυπο διάλυμα γλυκόζης 10 mg/mL. Πραγματοποιούνται αραιώσεις του παραπάνω διαλύματος με απιονισμένο νερό, έτσι ώστε να προκύψουν διαλύματα γλυκόζης 0,1, 0,2, 0,4, και 0,6 mg/mL.
- ❖ Σε οχτώ δοκιμαστικούς σωλήνες (δύο για κάθε συγκέντρωση γλυκόζης) προστίθενται 2 mL διαλύματος εργασίας και 0,1 mL από το κάθε διάλυμα γλυκόζης.
- ❖ Στη συνέχεια, σε δύο ακόμα δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 2 mL διαλύματος εργασίας και 0,1 mL απιονισμένου νερού (τυφλό).
- ❖ Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες επωάζονται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37 °C για 15 min.
- ❖ Επιλέγεται στο φωτόμετρο το μήκος κύματος των 510 nm. Το όργανο μηδενίζεται με απιονισμένο νερό, οι δοκιμαστικοί σωλήνες αναδεύονται στη συσκευή Vortex- Genie 2, της εταιρείας Scientific Industries και μετρούνται οι απορροφήσεις των διαλυμάτων γνωστής

συγκέντρωσης.

Για τον προσδιορισμό της ελεύθερης γλυκόζης στα προς μελέτη υλικά άγνωστης συγκέντρωσης, χρησιμοποιήθηκαν τα διηθήματα που προέκυψαν μετά από την ενζυμική υδρόλυση των δειγμάτων. Στα διηθήματα αυτά, αρχικά πραγματοποιήθηκε αραιώση 1:10. Στη συνέχεια, προστέθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2 mL διαλύματος εργασίας και 0,1 mL διηθήματος από κάθε αραιωμένο διάλυμα. Για την παρασκευή του τυφλού, προστέθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα 2 mL διαλύματος εργασίας και 0,1 mL απιονισμένου νερού. Ακολούθως, οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν για επώαση στο υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 37 °C για 15 λεπτά. Στην Εικόνα απεικονίζονται τα διαλύματα μετά το πέρας των 15 λεπτών στο υδατόλουτρο.



Εικόνα 20- προσδιορισμός ελεύθερης γλυκόζης με την μέθοδο GOD/PAP

Μετά το πέρας της επώασης κάθε ένας δοκιμαστικός σωλήνας αναδεύεται στη συσκευή Vortex-Genie 2 και ακολουθεί η φωτομέτρηση, σε φωτόμετρο Spectroquant Pharo 300 Merck, σε μήκος κύματος

510 nm. Το φωτόμετρο πριν την έναρξη της φωτομέτρησης των δειγμάτων μηδενίστηκε με απιονισμένο νερό.

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

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

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

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_{tot} = ο συνολικός όγκος του διηθήματος

initial solid: η αρχική μάζα του δείγματος.

6.3.6 Προσδιορισμός λιγνίνης

- Διαλυτή λιγνίνη

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

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

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

Όπου ABS_{mean} : ο μέσος όρος απορρόφησης

D : Η αραίωση που έχει πραγματοποιηθεί στο διάλυμα
προκαθορισμένη τιμή 86,73 (ml):

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

ϵ : σταθερά που εξαρτάται από το είδος της πρώτης ύλης.

- Μη διαλυτή λιγνίνη

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

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

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

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

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

6.3.7 Προσδιορισμός Ολικού Αμύλου (Starch)

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

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

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

Οι μετρούμενες απορροφήσεις εισάγονται στην κατασκευασμένη καμπύλη αναφοράς της γλυκόζης, με τη

μέθοδο GOD/PAP, και στη συνέχεια υπολογίζεται η συγκέντρωση του αμύλου, με βάση τις σχέσεις που ακολουθούν.

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

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

όπου:

ABSmean: ο μέσος όρος απορρόφησης.

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

10,4 (mL): προκαθορισμένη τιμή

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

0,9: Mrglucose/Mrstarch.

6.4. Ορισμοί για τον υπολογισμό των θεωρητικών παραμέτρων

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

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

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη βάση κυτταρίνης (g)} = \frac{\text{θεωρητική κυτταρίνη (g)}}{0,9}$$

Όπου:

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

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

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

$$\text{Θεωρητική γλυκόζη βάση αμύλου (g)} = \frac{\text{θεωρητικό άμυλο (g)}}{0,9}$$

Όπου:

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

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

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

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

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

Ως παραγόμενη αιθανόλη με βάση την ελεύθερη γλυκόζη και την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου ορίζεται η αιθανόλη που παράγεται από τη διασπώμενη κυτταρίνη και το άμυλο που μετατρέπονται σε γλυκόζη, και στη συνέχεια η παραγόμενη γλυκόζη και η ελεύθερη γλυκόζη μετατρέπονται πλήρως σε αιθανόλη. Πιο συγκεκριμένα, προκύπτει ότι:

$$\text{Παραγόμενη αιθανόλη (g)} = \left(\frac{\text{Διασπώμενη κυτταρίνη (g)}}{0,9} + \frac{\text{Διασπώμενο άμυλο (g)}}{0,9} + \text{ελεύθερη γλυκόζη (g)} \right) * 0,511$$

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο συντελεστής 0,511 προκύπτει με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης, ενώ ο συντελεστής 0,9 προκύπτει με βάση τη στοιχειομετρία της αντίδρασης, καθώς και από τον λόγο των μοριακών βαρών της γλυκόζης και του αμύλου.

Τέλος, ορίζεται ως παραγόμενη αιθανόλη με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου η αιθανόλη που παράγεται από τη διασπώμενη κυτταρίνη και το άμυλο που μετατρέπονται σε γλυκόζη, και έτσι, η παραγόμενη γλυκόζη μετατρέπεται πλήρως σε αιθανόλη. Πιο συγκεκριμένα, προκύπτει ότι:

$$\text{Παραγόμενη αιθανόλη (g)} = \left(\frac{\text{Διασπώμενη κυτταρίνη (g)}}{0,9} + \frac{\text{Διασπώμενο άμυλο (g)}}{0,9} \right) * 0,511$$

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

6.5. Υπολογισμός αποδομήσεων και αποδόσεων

Η αποδόμηση στερεού υπολογίζεται ως εξής:

$$\text{Αποδόμηση στερεού (\%)} = \frac{\text{Αρχική ποσότητα στερεού (g)} - \text{Τελική ποσότητα στερεού (g)}}{\text{Αρχική ποσότητα στερεού (g)}}$$

Ομοίως υπολογίζονται και οι αποδομήσεις της κυτταρίνης και του αμύλου.

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

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

Όπου:

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

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

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

$$\text{Ethanol yield by degradation of cellulose and starch (\%)} = \frac{\text{Μάζα παραγόμενης αιθανόλης με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου (g)}}{\text{Μάζα θεωρητικής αιθανόλης (g)}} 100\%$$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Πειραματική διαδικασία και αποτελέσματα

7.1. Πειραματική διαδικασία

Οι Εξαντλημένοι Σπόροι Ζυθοποιίας, εφόσον έχουν ξηρανθεί στον ξηραντήρα Gaia, με σκοπό την μείωση του όγκου τους και της υγρασίας τους, χρησιμοποιήθηκαν σε δύο διαφορετικούς πειραματικούς κύκλους με στόχο την μεγιστοποίηση της παραγόμενης βιοαιθανόλης.

Στον πρώτο πειραματικό κύκλο, πραγματοποιήθηκαν 4 δοκιμές με δύο επαναλήψεις για τη κάθε μια και τέσσερα επιπλέον πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο κέντρο του σχεδιασμού (επίπεδο 0) για στατιστικούς λόγους σε εργαστηριακή κλίμακα με την μέθοδο SSF με περιεκτικότητα στερεών 10%. Η ενζυμική υδρόλυση και η ζύμωση έγιναν ταυτόχρονα στους 35°C για 24 ώρες, σε συνθήκες όπου έχει βρεθεί ότι η διεργασία παρουσιάζει τα βέλτιστα αποτελέσματα σε προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου, με την προσθήκη του ενζύμου CellicCTec3 ενός κυτταρινολυτικού εμπορικού συμπλόκου ενζύμων (Novozymes A/S) (15 FPU/mL) και μαγιάς *Saccharomyces Cerevisiae* σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό.

Συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε η εξής πορεία:

1. Σε κάθε γυάλινο μπουκαλάκι των 250 ml προστίθενται 10 g στερεού ξηρού δείγματος, 90 ml απιονισμένου νερού, ώστε το φορτίο να είναι 10%. Γίνεται χρήση του δεδομένου μεγέθους στα μπουκαλάκια καθώς η πρώτη ύλη παρουσιάζει αρκετά μικρή πυκνότητα άρα καταλαμβάνει μεγάλο όγκο. Αφού γίνει διόρθωση του pH ώστε να βρίσκεται κοντά στο 5, αφού εκεί έχει βρεθεί ότι διασπάται καλύτερα η κυτταρίνη, προστίθενται οι κατάλληλες ποσότητες ενζύμων και μαγιάς σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό, το μπουκαλάκι σφραγίζεται και τοποθετείται στο ανακινούμενο αερόλουτρο IKA KS 30001 control σε θερμοκρασία 35 °C και ταχύτητα ανάδευσης 170 rpm για 24 ώρες.



Εικόνα 21- προετοιμασία πειραμάτων (αριστερά) μέχρι την τελική εισαγωγή τους στο ανακινούμενο αερόλουτρο (δεξιά)

2. Μετά το πέρας της διεργασίας, διαχωρίζεται το μίγμα στην στερεή και υγρή του φάση με διήθηση υπό κενό. Η υγρή φάση ή διήθημα αποθηκεύεται σε falcon tubes. Η στερεή φάση, αλλιώς το υπόλειμμα της διήθησης, συλλέγεται στο διηθητικό χαρτί και αποθηκεύεται σε προζυγισμένο γυάλινο ποτήρι ζέσεως, το οποίο τοποθετείται στο φούρνο στους 105 °C για 24 ώρες, για την απομάκρυνση της υγρασίας του.
3. Στην υγρή φάση πραγματοποιείται η μέτρηση της περιεκτικότητας σε αιθανόλη με την χρήση του αναλυτικού οργάνου της HPLC (υγρή χρωματογραφία), για ακριβέστερα αποτελέσματα.
4. Έπειτα, στην στερεή φάση πραγματοποιείται χαρακτηρισμός και μετρούνται οι εξής ποσότητες σε ξηρή βάση:
 - Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)
 - Κυτταρίνη (Κυτταρίνη)
 - Ημικυτταρίνη (TRS)
 - Άμυλο (Starch)

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

Στον δεύτερο πειραματικό κύκλο, εξετάζεται και πάλι η απόδοση των ίδιων πειραμάτων σε αιθανόλη με την διαφορά ότι στην πρώτη ύλη, οι ΕΣΖ, έχουν αφαιρεθεί τα έλαια μέσω εκχύλισης στην διάταξη Soxhlet και χρήση ως διαλύτη το εξάνιο, το οποίο αποτελεί μη πολικό διαλύτη ο οποίος προτιμάται αφού διαθέτει ισχυρή διαλυτική ικανότητα για έλαια και λίπη. Επιπλέον, το εξάνιο αποτελεί ένα φθινόδιαλύτη με χαμηλό σημείο βρασμού ώστε να μπορεί να εξατμιστεί και άρα να ανακτηθεί σε χαμηλές θερμοκρασίες. Η εκχύλιση έχει διάρκεια κατά μέσο όρο 4 ώρες προκειμένου να έχουν αφαιρεθεί κατά το δυνατό το μεγαλύτερο μέρος των ελαίων.



Εικόνα 22- διάταξη Soxhlet

Μέσα στην διάταξη υπάρχει μια χαρτούσα η οποία περιέχει την πρώτη ύλη από την οποία θα γίνει η εκχύλιση. Η σφαιρική φιάλη περιέχει τον διαλύτη που έχει επιλεγεί και είναι τοποθετημένη σε ένα μανδύα θέρμανσης. Στο πάνω μέρος της διάταξης υπάρχει ψυκτήρας από όπου περνάει νερό ως ψυκτικό μέσο του διαλύτη. Όσον αφορά τον τρόπο λειτουργίας της διάταξης αυτής είναι πολύ απλός. Ο μανδύας θερμαίνει το διαλύτη, εκείνος ανεβαίνει προς τον ψυκτήρα όπου ψύχεται και πέφτει μέσα στη χαρτούσα. Εκεί έρχεται σε επαφή με την πρώτη ύλη. Η στάθμη του διαλύτη με τα διαλυμένα έλαια και λίπη ανεβαίνει. Μόλις φτάσει ένα κρίσιμο επίπεδο, λόγω της αρχής των συγκοινωνούντων δοχείων, αρχίζει και αδειάζει. Στο σημείο αυτό θεωρείται πως έχει πραγματοποιηθεί ένας κύκλος Soxhlet. Ο διαλύτης που ανεβαίνει κάθε φορά είναι καθαρός γεγονός που καθιστά τη μέθοδο αυτή πολύ αποτελεσματική.

Μετά το πέρας του χρόνου που έχει οριστεί για την εκχύλιση των ελαίων στη Soxhlet ακολουθεί ο διαχωρισμός του διαλύτη από τα παραληφθέντα έλαια και τα λίπη. Αυτό γίνεται μέσω απόσταξης υπό περιστροφή και υπό κενό (vacuum rotary evaporator). Πρόκειται για μια απόσταξη που λόγω της περιστροφής και της εφαρμογής του κενού γίνεται πιο εύκολη και γρήγορη η ανάκτηση του διαλύτη. Με αυτό το τρόπο μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί ο διαλύτης έχοντας φυσικά υπολογίσιμες απώλειες λόγω της απορρόφησης διαλύτη από τη χαρτούσα και την πρώτη ύλη.

Κάθε χαρτούσα προτού χρησιμοποιηθεί καθαρίζεται και αφήνεται στο φούρνο στους 105 °C για 3h. Στην συνέχεια αφήνεται στον αφυγραντήρα για μισή ώρα και έπειτα ζυγίζεται. Αφού ζυγιστεί η χαρτούσα, ζυγίζεται και προστίθεται η επιθυμητή ποσότητα πρώτης ύλης η οποία διατηρείται στον αφυγραντήρα. Ζυγίζεται η μάζα της σφαιρικής φιάλης που θα χρησιμοποιηθεί καθώς επίσης και οι πυρήνες βρασμού (glass beads) που θα τοποθετηθούν μέσα σε αυτήν. Οι πυρήνες βρασμού καθιστούν το βρασμό του διαλύτη πιο ήπιο. Τοποθετείται η κατάλληλη ποσότητα διαλύτη και συναρμολογείται - στήνεται η διάταξη.

Μετά τη λήξη της εκχύλισης ακολουθούνται τα εξής βήματα:

A) Στερεό υπόλειμμα:

1. Η χαρτούσα με το στερεό υπόλειμμα τοποθετούνται στο φούρνο στους 105 °C για 24h.
2. Στη συνέχεια η χαρτούσα με το δείγμα αφήνονται στον αφυγραντήρα για μισή ώρα και έπειτα ζυγίζονται.
→ Ο λόγος που αφήνονται στον αφυγραντήρα πριν και μετά είναι για να εξαλειφθεί το σφάλμα που υπάρχει λόγω της υγρασίας, όσο αυτό είναι δυνατόν.
→ Έτσι υπολογίζεται η μάζα του στερεού υπολείμματος (defatted residue).

B) Λίπη και έλαια εκχύλισης:

1. Η σφαιρική φιάλη με το διαλύτη και το εκχύλισμα οδηγούνται σε έναν περιστροφικό εξατμιστήρα ώστε με την επιβολή κενού και περιστροφής να διαχωριστεί ο διαλύτης από το εκχύλισμα.

2. Μετά την όσο το δυνατόν υψηλότερης απόδοσης ανάκτησης διαλύτη, η σφαιρική φιάλη με τα έλαια και τα λίπη τοποθετείται σε φούρνο στους 105 °C για 24h.
3. Στη συνέχεια η σφαιρική φιάλη απομακρύνεται από το φούρνο και τη ζυγίζεται άμεσα ώστε να υπολογιστεί η ακριβής ποσότητα του εκχυλίσματος. Η μέτρηση αυτή γίνεται προκειμένου να υπολογιστούν τα έλαια που περιέχονται στην πρώτη ύλη και να ολοκληρωθεί ο πλήρης χαρακτηρισμός της, ωστόσο δεν συνυπολογίζονται στις τελικές αποδομήσεις.

Το στερεό αυτό υπόλειμμα της εκχύλισης, εν συνεχεία, αποτελεί την πρώτη ύλη για την διεξαγωγή των πειραμάτων που εκτελέστηκαν και κατά την πρώτη πειραματική πορεία υπό τις ίδιες ακριβώς συνθήκες προκειμένου να συγκριθούν τα αποτελέσματα στις αποδόσεις αιθανόλης.

Μετά των πέρας των πειραμάτων ακολουθείται, όμοια με τα πρώτα πειράματα, ο χαρακτηρισμός των στερεών υπολειμμάτων προκειμένου να υπολογισθούν οι αποδομήσεις των επιμέρους χαρακτηριστικών καθώς και οι επιθυμητές αποδόσεις.

Παραγοντικός σχεδιασμός πειραματικών δοκιμών και των δύο πειραματικών κύκλων

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής, όπως έχει προαναφερθεί, είναι η βελτιστοποίηση παραγωγής βιοαιθανόλης ως προς τις δόσεις των ενζύμων και της μαγιάς, δίχως προηγουμένως να γίνει κάποια όξινη ή βασική προεπεξεργασία. Για να βρεθούν οι βέλτιστες ποσότητες ενζύμων και μαγιάς επιλέχθηκε να σχεδιαστούν παραγοντικά πειράματα κατά τα οποία αυτές αποτελούν τις "παραμέτρους αριστοποίησης".

Συνεπώς, εξετάζεται η επίδραση του ενζύμου CelliCTec 3 και της μαγιάς *Saccharomyces Cerevisiae*, οι οποίες καλούνται και «ρυθμιστικές παράμετροι» του συστήματος, στην απόδοση της αιθανόλης. Το φορτίο του CelliCTec3 ήταν ίσο με 15 FPU/mL.

Η επίδραση των ρυθμιστικών παραμέτρων στην παράμετρο αριστοποίησης εκτιμήθηκε μέσω ενός 2² παραγοντικού πειράματος. Γενικά, μέσω ενός 2ⁿ παραγοντικού πειράματος, οι ρυθμιστικές παράμετροι συσχετίζονται με την παράμετρο αριστοποίησης μέσω ενός κατάλληλου γραμμικού μοντέλου. Η σημαντικότητα των παραμέτρων αυτών μπορεί επίσης να εκτιμηθεί και να αξιολογηθεί.

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

Πίνακας 11- Οι ρυθμιστικές παράμετροι και τα επίπεδα του παραγοντικού σχεδιασμού των δύο πειραματικών κύκλων

Παράγοντες	Χαμηλό επίπεδο (-)	Υψηλό επίπεδο (+)	Κέντρο
CelliCTec3 (μL/g κυτταρίνη)	600	2200	1400
<i>S.Cerevisiae</i> (%)	1	3	2

Η πειραματική περιοχή του παραγοντικού σχεδιασμού προκαθορίστηκε με βάση τη βιβλιογραφία (Kavalopoulos M., 2021), (Rojas-Chamorro J., 2020).

Στον 2² παραγοντικό σχεδιασμό, πραγματοποιήθηκαν 4 δοκιμές με δύο επαναλήψεις για τη κάθε μια. Τέσσερα επιπλέον πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο κέντρο του σχεδιασμού (επίπεδο 0) για στατιστικούς λόγους. Από αυτά τα δεδομένα, κατασκευάστηκε ένα μαθηματικό μοντέλο και η επάρκειά του ελέγχθηκε από το κριτήριο Fisher.

Όπως προαναφέρθηκε οι πειραματικές συνθήκες είναι κοινές και για τους δύο πειραματικούς κύκλους καθώς σκοπός της παρούσας εργασίας αποτελεί η σύγκριση της απόδοσης της αιθανόλης σχετικά με την επίδραση της παρουσίας των ελαίων στην πρώτη ύλη.

Ο πειραματικός σχεδιασμός των πειραμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 12-Πειράματα παραγοντικού σχεδιασμού

Πειράματα	CellicCTec3 ($\mu\text{L/g}$ κυτταρίνη)	S.Cerevisiae (%)
1.1	600	1%
1.2	600	1%
2.1	600	3%
2.2	600	3%
3.1	2200	1%
3.2	2200	1%
4.1	2200	3%
4.2	2200	3%
Κέντρο	1400	2%
Κέντρο	1400	2%
Κέντρο	1400	2%
Κέντρο	1400	2%

7.2. Πειραματικά αποτελέσματα

7.2.1 Χαρακτηρισμός πρώτης ύλης

Στην συγκεκριμένη διπλωματική χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτη ύλη ΕΣΖ από την Ελληνική Ζυθοποιία Αταλάντης για την τροφοδοσία του πειράματος. Σύμφωνα με τον χαρακτηρισμό της πρώτης ύλης, δηλαδή την αναλυτική μέση σύσταση της σε ξηρή βάση προέκυψαν τα εξής δεδομένα:

Πίνακας 13-χαρακτηρισμός πρώτης ύλης ΕΣΖ

Σύσταση σε ξηρή βάση	(%)
Πτητικά στερεά (%)	87,21%±0,12%
Έλαια (%)	6,59%± 0,02%
Υδατοδιαλυτά (%)	15,38%± 0,06%
Κυτταρίνη (%)	19,54%±0,04%
Άμυλο (%)	0,91%± 0,01%
Ημικυτταρίνη (%)	23,9%± 0,01%
Λιγνίνη (%)	28,3%± 0,01%
Ελεύθερη γλυκόζη (%)	0,87%± 0,01%
Υγρασία (%)	9,35%± 0,07%

Γενικά, παρατηρείται ότι οι μέσοι όροι της σύστασης του Πίνακα 13 είναι εντός των ορίων σε σχέση με τη βιβλιογραφικές αναφορές (Awolu, 2011), (Nidia Sá Caetano, 2013).

1ος πειραματικός κύκλος: Αριστοποίηση SSF ως προς δόσεις ενζύμων και μαγιάς

7.2.2 Πρωτογενή Αποτελέσματα 1^{ου} πειραματικού κύκλου

Συγκεκριμένα, οι συνθήκες των πειραμάτων που διαμορφώθηκαν παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 14-Συνθήκες πειραμάτων

CellicCTec3 (μL)	Μαγιά (g)	Αρχική μάζα στερεού (g)
1172	0,1	10
1172	0,1	10
1172	0,3	10
1172	0,3	10
4298	0,1	10
4298	0,1	10
4298	0,3	10
4298	0,3	10
2735	0,2	10
2735	0,2	10
2735	0,2	10
2735	0,2	10

Με βάση την περιεκτικότητα της τροφοδοσίας σε ελεύθερη γλυκόζη, άμυλο και κυτταρίνη υπολογίζεται η θεωρητική μέγιστη ποσότητα γλυκόζης και αιθανόλης που μπορεί να παραχθεί από την συγκεκριμένη τροφοδοσία. Οι υπολογισμοί παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 15-πίνακας θεωρητικών τιμών

Πειράματα	Θεωρητική κυτταρίνη (g)	Θεωρητική γλυκόζη (g)	Θεωρητική γλυκόζη (g)	Θεωρητική αιθανόλη (g)
1ος κύκλος				
1.1	1,93	0,01	2,16	1,10
1.2	1,92	0,01	2,15	1,09
2.1	1,93	0,01	2,16	1,10
2.2	1,94	0,01	2,17	1,11
3.1	1,93	0,01	2,15	1,01

3.2	1,93	0,01	2,15	1,10
4.1	1,94	0,01	2,16	1,10
4.2	1,94	0,01	2,16	1,11
Κέντρο	1,92	0,01	2,15	1,01
Κέντρο	1,93	0,01	2,16	1,10
Κέντρο	1,94	0,01	2,16	1,11
Κέντρο	1,93	0,01	2,15	1,10

Τα δείγματα αναλύθηκαν ως προς την περιεκτικότητά τους σε αιθανόλη με τη χρήση της HPLC και προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα μετά από τον μέσο όρο των δύο -ή και τεσσάρων στην περίπτωση του κέντρου- επαναλήψεων.

Πίνακας 16-Περιεκτικότητα αιθανόλης των πειραμάτων του πρώτου παραγοντικού κύκλου

Δοκιμές	Πειράματα	Αιθανόλη (g/L)
1	1.1	3,32± 0,17
	1.2	
2	2.1	3,73± 0,47
	2.2	
3	3.1	6,29± 0,12
	3.2	
4	4.1	7,50± 0,63
	4.2	
κέντρο	Κέντρο	4,41± 0,05
	Κέντρο	
	Κέντρο	
	Κέντρο	

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, είναι προφανές ότι τα απελευθερωμένα σάκχαρα ζυμώνονται επιτυχώς σε βιοαιθανόλη, ακόμη και χωρίς την πραγματοποίηση προεπεξεργασίας στην πρώτη ύλη.

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

1. Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)
2. Κυτταρίνη
3. Ημικυτταρίνη
4. Άμυλο (Starch)
5. Συνολική λιγνίνη

Οι μετρήσεις των παραμέτρων περιλαμβάνονται στους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 17-σύνθεση των δοκιμών μετά το πέρας των πειραμάτων

Πειράματα	WS (%)	Κυτταρίνη (%)	Ημικυτταρίνη (%)	Λιγνίνη (%)	Άμυλο (%)
1	19,37%	17,70%	24,89%	18,41%	0,35%
2	14,83%	19,73%	21,97%	22,45%	0,37%
3	13,07%	16,96%	25,40%	21,80%	1,15%
4	15,02%	17,70%	25,67%	21,35%	1,05%
5	14,43%	21,27%	32,96%	22,23%	0,71%

7.2.3 Δευτερογενή αποτελέσματα 1^{ου} πειραματικού κύκλου

Από τις επιμέρους δοκιμές και μετά τον υπολογισμό της αιθανόλης στο υγρό κλάσμα, συλλέχθηκε το εναπομείναντα στερεό με στόχο την εύρεση της αποδόμησης τόσο του ολικού στερεού όσο και των επιμέρους συστατικών. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των πειραμάτων ως προς την αιθανόλη βάση της πειραματικής μέτρησης της με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας HPLC καθώς και οι αντίστοιχες αποδομήσεις.

Πίνακας 18-πίνακας αποικοδομήσεων στερεού και λοιπών συστατικών

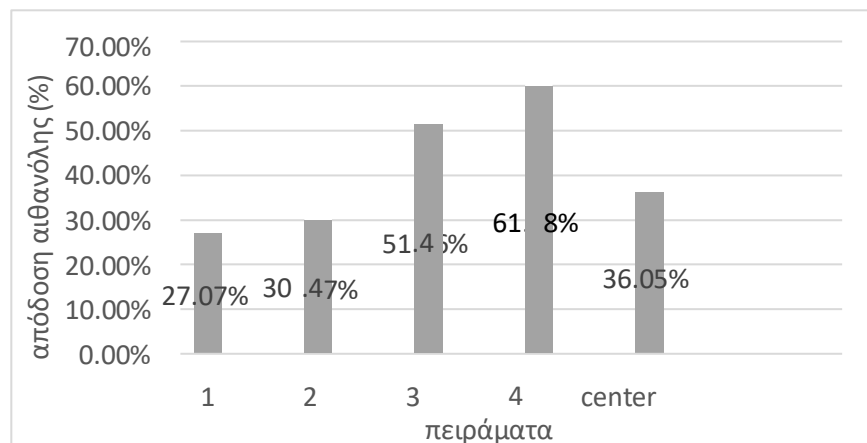
Δοκιμές	Πειράματα	Αρχικό Στερεό (g)	Στερεό (%)	WS (%)	Κυτταρίνη (%)	Ημικυτταρίνη (%)	Άμυλο (%)
1	1.1	10,03	35,4±0,78	26,36±0,88	46,02±0,65	49,79±0,60	77,45±0,27
	1.2						

2	2.1	10,07	24,17±3,85	33,81±3,36	29,38±3,58	47,97±2,64	72,15±1,41
	2.2						
3	3.1	10,03	35,61±0,29	50,47±0,22	48,45±0,23	48,92±0,23	25,68±0,33
	3.2						
4	4.1	10,01	28,76±0,66	37,03±0,58	40,48±0,55	42,9±0,53	25,03±0,69
	4.2						
κέντρο	Κέντρο	10,04	31,12±8,11	42,15±1,43	30,51±7,96	29,27±6,60	50,18±8,22

Πίνακας 19-πειραματική απόδοση αιθανόλης

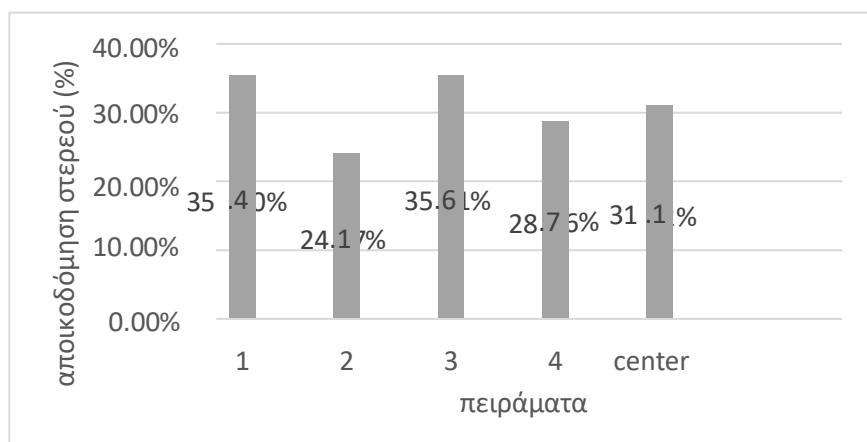
Δοκιμές	Πειράματα	Απόδοση αιθανόλης βάση πειραμάτων (%)	Μέση Απόδοση αιθανόλης βάση πειραμάτων (%)
1	1.1	28,50	27,07± 2,02
	1.2	25,65	
2	2.1	26,52	30,47 ±5,59
	2.2	34,43	
3	3.1	52,48	51,46± 1,45
	3.2	50,43	
4	4.1	55,97	61,08± 7,23
	4.2	66,20	
κέντρο	Κέντρο	36,80	36,05± 0,69
	Κέντρο	36,26	
	Κέντρο	35,14	
	Κέντρο	36,00	

Στο πειραματικό εύρος που μελετήθηκε, η υψηλότερη απόδοση αιθανόλης που επιτεύχθηκε ήταν στο υψηλότερο σημείο του πειραματικού σχεδιασμού με απόδοση 61,08%±7,23% για ποσότητα 2200 CellicCTec (μL/g κυτταρίνης) και 3% *S. cerevisiae*.



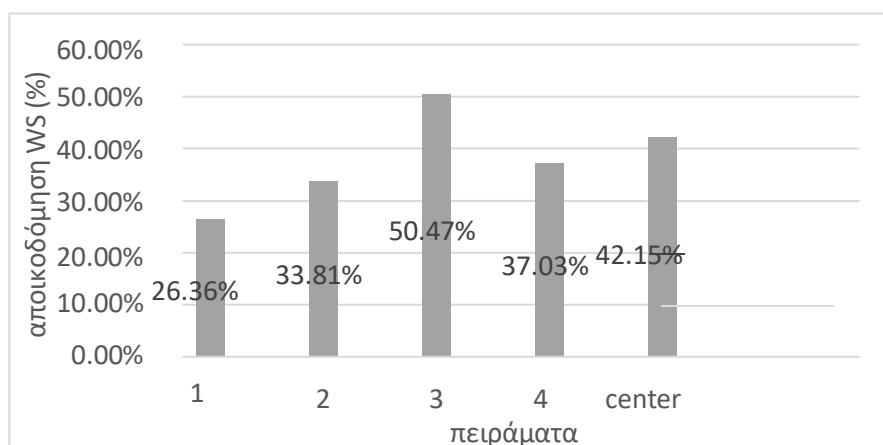
Διάγραμμα 4- Απόδοση αιθανόλης

Όπως γίνεται εμφανές και από το διάγραμμα η απόδοση της αιθανόλης επηρεάζεται περισσότερο από την ποσότητα ενζύμου που χρησιμοποιείται κατά τα πειράματα σε σχέση με την ποσότητα της μαγιάς.

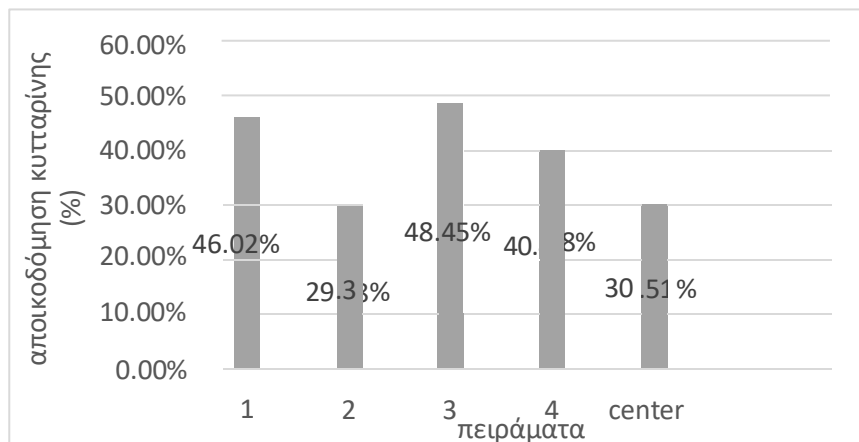


Διάγραμμα 5-Αποικοδόμηση στερεού

Η αποικοδόμηση του στερεού αν και εμφανίζει ικανοποιητικά αποτελέσματα δεν κρίνονται το ίδιο υψηλά όπως η απόδοση των πειραμάτων σε αιθανόλη κάτι που πιθανώς οφείλεται στις συνθήκες ξήρανσης των δειγμάτων μετά το τέλος των πειραμάτων (105°C και για 24 ώρες) το οποίο και προκάλεσε μερική καύση του διηθητικού χαρτιού που χρησιμοποιήθηκε κατά τον διαχωρισμό των του στερεού με την υγρή φάση άρα και απώλεια μέρους της πρώτης ύλης.

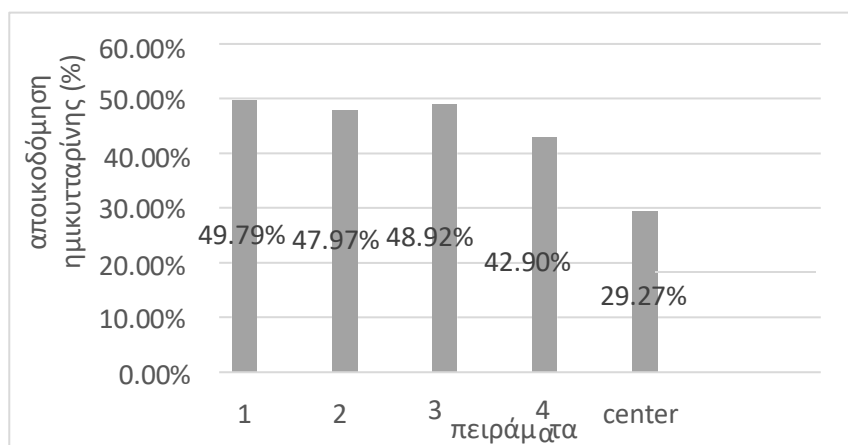


Διάγραμμα 6-Αποικοδόμηση WS

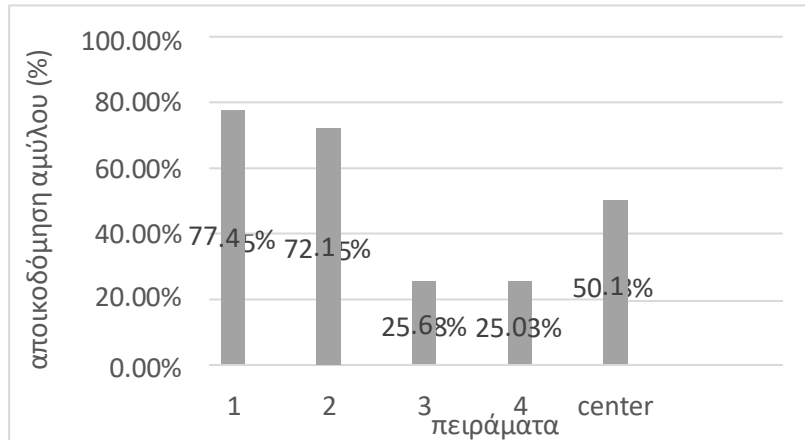


Διάγραμμα 7-Αποικοδόμηση κυτταρίνης

Η αποικοδόμηση της κυτταρίνης, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 7, είναι μεγαλύτερη για τα πειράματα με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε ένζυμο, 2200 CellicCTec3 (μL/g κυτταρίνης), κάτι που δικαιολογεί και την καλύτερη απόδοση σε παραγωγή αιθανόλης των συγκεκριμένων πειραμάτων.



Διάγραμμα 8-Αποικοδόμηση ημικυτταρίνης



Διάγραμμα 9-αποικοδόμηση αμύλου

7.2.4 Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού 1^{ου} πειραματικού κύκλου

7.2.4.1. Υπολογισμός μέσων τιμών και του στατιστικού σφάλματος

Προτού αρχίσει η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου της πειραματικής διαδικασίας πρέπει πρώτα να εκτιμηθεί το τυπικό σφάλμα των μετρήσεων καθώς επίσης και η ομοιογένεια των διακυμάνσεων των πειραματικών μετρήσεων. Για να υπολογιστεί το τυπικό σφάλμα (s) πρέπει πρώτα να υπολογιστεί η διασπορά (s_Y^2) των πειραματικών μας μετρήσεων. Η διασπορά υπολογίστηκε ποσοτικά βάση του πίνακα 18. Στον πίνακα 18 στη πρώτη στήλη απεικονίζεται ο αριθμός της κάθε επανάληψης. Στη δεύτερη στήλη απεικονίζονται οι μετρήσεις της απόδοσης για κάθε επανάληψη. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της απόδοσης κάθε δοκιμής ενώ στην τέταρτη στήλη απεικονίζονται οι διασπορές τριών αυτών δοκιμών. Στη πέμπτη στήλη αναγράφονται οι βαθμοί ελευθερίας για κάθε δοκιμή και τέλος, στη τελευταία γραμμή υπολογίζεται η συνολική διασπορά των πειραματικών μετρήσεων. Οι σχέσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τον πίνακα 18 και τον υπολογισμό της μέσης τιμής κάθε δοκιμής, της διασποράς κάθε δοκιμής και της ολικής διασποράς των αποτελεσμάτων είναι οι εξής:

$$\text{Υμέσο} = \frac{\sum_i^N Y}{N} \quad (7.1), \text{ όπου:}$$

Y_i: απόδοση κάθε επανάληψης

N: οι επαναλήψεις για κάθε δοκιμή

$$s_Y^2 = \frac{\sum_i^m f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (7.2)$$

Υμέσο : μέση τιμή κάθε δοκιμής

n: πλήθος επαναλήψεων (n=2)

$$S_Y^2 = \frac{\sum_i^m f_i s_i^2}{\sum_i^m f_i} \quad (7.3) \text{ όπου:}$$

S_i^2 :κάθε μια από τις διακυμάνσεις του σχεδιασμού

f_i : αντίστοιχοι βαθμοί ελευθερίας.

Οι βαθμοί ελευθερίας του συστήματος υπολογίζονται από τον τύπο $f=N-(k+1)$ όπου N οι δοκιμές του παραγοντικού σχεδιασμού και k οι ρυθμιστικές παράμετροι. Άρα για το μοντέλο της παρούσας εργασίας, όπου $N=4$ και $k=2$ προκύπτει ότι οι βαθμοί ελευθερίας είναι $f=1$.

Πίνακας 20- Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος για απόδοση

N	Y _i (%)	Υμέσο (%)	s _i ²	F _i
1	25,09	28,84	27,98	1
	32,58			
2	26,97	25,62	3,64	1
	24,27			
3	49,67	48,72	1,87	1
	47,73			
4	52,97	57,81	46,78	1
	62,65			
Κέντρο	34,82	33,66	0,42	3
	34,32			
	33,26			
	34,07			
s_Y² = 4,03				

Με τον υπολογισμό της διασποράς S_Y^2 υπολογίζεται εύκολα η τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα σύμφωνα με την εξίσωση : $s = \sqrt{s^2}$ (7.4) Άρα τελικά $\rightarrow s = 2,01$

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

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

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

Άρα: $G_{exp}=0,579$

Για να υπάρχει ομοιογένεια πρέπει η τιμή αυτή να είναι μικρότερη από την αντίστοιχη (G_{tab}) του πίνακα Cochran. Για το G_{tab} λαμβάνουμε υπόψη τη τιμή του πίνακα 1 από το παράρτημα για $N=4$ (δοκιμές) και $f=1$ (βαθμοί ελευθερίας). Στο πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα του κριτηρίου. Όπως φυσικά μπορεί να δει κανείς, υπάρχει ομοιογένεια στις τιμές των διασπορών και συνεπώς η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου μπορεί να συνεχιστεί.

Πίνακας 21-έλεγχος ομοιογένειας διασπορών

Κριτήριο Cochran	
Ομοιογένεια $\square G_{exp} < G_{tab}$	
G_{exp}	0,579334
G_{tab}	0,907
Ομοιογένεια	ΝΑΙ

7.2.4.2. Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων

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

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 \quad [7.6]$$

Όπου X_1, X_2 : Παράγοντες σχεδιασμού

b_1, b_2 : Οι αντίστοιχοι συντελεστές τους

Y : μέσος όρος της παραμέτρου αριστοποίησης για κάθε δοκιμή

Στο δικό μας σχεδιασμό η παράμετρος αριστοποίησης είναι η απόδοση αιθανόλης κάθε δοκιμής.

Με τη πραγματοποίηση των 4 πειραμάτων, δύο για κάθε δοκιμή, του 2^2 παραγοντικού πειράματος υπολογίζεται η μέση τιμή της παραμέτρου αριστοποίησης για κάθε δοκιμή ώστε να υπολογιστούν στη συνέχεια οι αντίστοιχοι συντελεστές b_1, b_2 αλλά και ο συντελεστής b_{12} . Ο συντελεστής b_{12} είναι ο συντελεστής της αλληλεπίδρασης των παραμέτρων X_1X_2 ο οποίος υπολογίζεται καθώς δείχνει τη σημασία της ενδοδράσης.

Οι συντελεστές προκύπτουν από τις παρακάτω εξισώσεις (7.7):

$$b_0 = \frac{(+Y1)(+Y2)(+Y3)(+Y4)(+Y5)(+Y6)(+Y7)(+Y8)}{8}$$

$$b_1 = \frac{(-)Y_1(-)Y_2(+)Y_3(+)Y_4(-)Y_5(-)Y_6(+)Y_7(+)Y_8}{8}$$

$$b_2 = \frac{(-)Y_1(+)Y_2(-)Y_3(+)Y_4(-)Y_5(+)Y_6(-)Y_7(+)Y_8}{8}$$

$$b_3 = \frac{(-)Y_1(-)Y_2(-)Y_3(-)Y_4(+)Y_5(+)Y_6(+)Y_7(+)Y_8}{8}$$

$$b_{12} = \frac{(+)Y_1(-)Y_2(-)Y_3(+)Y_4(+)Y_5(-)Y_6(-)Y_7(+)Y_8}{8}$$

$$b_{13} = \frac{(+)Y_1(+)Y_2(-)Y_3(-)Y_4(-)Y_5(-)Y_6(+)Y_7(+)Y_8}{8}$$

$$b_{23} = \frac{(+)Y_1(-)Y_2(+)Y_3(-)Y_4(-)Y_5(+)Y_6(-)Y_7(+)Y_8}{8}$$

$$b_{123} = \frac{(-)Y_1(+)Y_2(+)Y_3(-)Y_4(+)Y_5(-)Y_6(-)Y_7(+)Y_8}{8}$$

Στο πίνακα 22 φαίνονται οι κωδικοποιημένες τιμές των παραμέτρων σύμφωνα με τις οποίες δημιουργήθηκαν οι παραπάνω εξισώσεις καθώς και οι τιμές Y (αποδόσεις) που χρειάστηκαν για τον υπολογισμό τους.

Πίνακας 22- Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b.

N	X ₀	X ₁	X ₂	X ₁ X ₂	Average-Υμέσο (%)
1	1	-1	-1	1	28,84
2	1	-1	1	-1	25,62
3	1	1	-1	-1	48,70
4	1	1	1	1	57,81

Στο πίνακα 23 καταγράφονται οι τιμές των συντελεστών b που προέκυψαν σύμφωνα με τις εξισώσεις και το δεδομένα του πίνακα 22.

Πίνακας 23- Συντελεστές b της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.

Σταθερές μαθηματικού μοντέλου	
b ₀	40,24
b ₁	13,01
b ₂	1,47

b ₁₂	3,08
-----------------	------

Το μαθηματικό μοντέλο που προκύπτει από την εύρεση των συντελεστών του πίνακα 23 και αντικαθιστώντας τους στην εξίσωση 7.6 είναι το εξής :

$$Y = 40,24 + 13,01X_1 + 1,47X_2 + 3,08 X_1X_2 \quad (7.8)$$

Το μέγεθος των συντελεστών δείχνει πόση σημασία έχουν στο τελικό αποτέλεσμα της παραμέτρου αριστοποίησης, δηλαδή της απόδοσης. Το πρόσημο του δείχνει πως θα μεταβληθεί η απόδοση σε πιθανή αύξηση ή μείωση κάποιας ρυθμιστικής παραμέτρου. Πιο συγκεκριμένα οι δύο ρυθμιστικές παράμετροι στο συγκεκριμένο πείραμα έχουν ανάλογη σχέση με την απόδοση με αποτέλεσμα όσο αυξάνονται να αυξάνει και η απόδοση. Παρόμοια η αλληλεπίδραση τους όσο αυξάνεται ενισχύει την απόδοση.

7.2.4.3. Έλεγχος σημαντικότητας των συντελεστών

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

$$\text{Αρχικά υπολογίζεται από τη σχέση η διασπορά των συντελεστών } s^{b^2}: s^2 = \frac{s^2}{N} \quad (7.9)$$

Όπου: N ο αριθμός των δοκιμών N=4

S_b^2 : διασπορά των πειραματικών μετρήσεων

Έπειτα υπολογίζεται από τη σχέση το διάστημα Δb :

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

Όπου: t :η τιμή από το πίνακα κατανομής student-t για επίπεδο σημαντικότητας 95% και βαθμούς ελευθερίας 7 (όσους έχει η διασπορά s_Y^2)

S_b^2 : διασπορά των πειραματικών μετρήσεων

Η τιμή του $t_{95,7}$ βρίσκεται από τον πίνακα student-t (Πίνακας 2, Παράρτημα) με τις τιμές της κατανομής student-t και ισούται με:

$$t_{95,7}=1.9$$

Η τιμή του S^{b^2} υπολογίζεται από τη σχέση (7.9) και ισούται με:

$$S_b^2=0.89$$

Συνεπώς από τη σχέση (7.10) μπορεί να υπολογιστεί το διάστημα Δb και ισούται με:

$$\Delta b = 3,74$$

Για να είναι ένας συντελεστής σημαντικός πρέπει η απόλυτη τιμή του να είναι μεγαλύτερη από το Δb . Στο πίνακα 24 φαίνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

Πίνακας 24- Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων

Συντελεστές		Δb	Αποτέλεσμα
b0	40,24	Συνθήκη σημαντικότητας: $ b_i > 3,74$	Σημαντικός
b1	13,01		Σημαντικός
b2	1,47		Μη Σημαντικός
b12	3,08		Μη Σημαντικός

Το γραμμικό μοντέλο που προκύπτει από την εύρεση των συντελεστών του πίνακα 23 και αντικαθιστώντας τους στην εξίσωση είναι το εξής :

$$Y = 40.24 + 13.01X_1 \quad [7.8]$$

Με μετατροπή της παραμέτρου X_1 στη φυσική της υπόσταση μέσω της εξίσωσης (5.2) έχουμε:

$$X_1 = \frac{X - 1400}{800}$$

Όπου, X: CellicCTec3 (μL/g κυτταρίνη)

Τελικά με την αντικατάσταση της εξίσωσης του X_1 στην [7.8] προκύπτει η τελική εξίσωση με τη παράμετρο X_1 τροποποιημένη στη φυσική της υπόσταση:

$$Y = 0.016 \text{ CellicCTec3} + 17.47$$

$$600 < \text{CellicCTec3 (}\mu\text{L/g κυτταρίνη)} < 2200 \quad (15 \text{ FPU/mL})$$

Όπως προκύπτει από τον πίνακα 24 μόνο ο συντελεστής b_1 κρίνεται σημαντικός. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να επηρεάσει την επάρκεια του γραμμικού μοντέλου που προέκυψε η οποία θα υπολογιστεί στη συνέχεια.

7.2.4.4. Έλεγχος επάρκειας γραμμικού μοντέλου

Προκειμένου να εκτιμηθεί η επάρκεια του γραμμικού μοντέλου που προσδιορίστηκε, αρχικά πρέπει να υπολογιστεί διασπορά της επάρκειας S_{ad}^2 σύμφωνα με τη σχέση 7.11:

$$S_{ad}^2 = \frac{\sum_i^N (Y_i - Y_{\theta\omega\rho})^2}{f} \quad (7.11)$$

Όπου: Y_i : Η μέση πειραματική τιμή για κάθε δοκιμή i

$Y_{\theta\omega\rho}$: Η θεωρητική τιμή της i δοκιμής που υπολογίζεται από τη γραμμική σχέση (7.8)

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

Στον πίνακα 25 παρουσιάζονται τα δεδομένα από τα οποία υπολογίστηκε το S_{ad}^2 μέσω σχέσης (7.10).

Πίνακας 25- Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας

N	Y μέσο	Y θεωρητικό	(Y μέσο- Y θεωρ.) ²
1	28,84	27,2	2,59
2	25,62	27,2	2,59
3	48,70	53,3	20,74
4	57,81	53,3	20,74

Από την εξίσωση (7.11) προκύπτει ότι: $S_{ad}^2=93,31$

Για τον έλεγχο της επάρκειας του γραμμικού μοντέλου (10.8) εφαρμόζεται το κριτήριο του Fisher κατά το οποίο υπολογίζεται ο λόγος του Fisher σύμφωνα με τη σχέση (7.12):

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

Η τιμή που θα προκύψει από τη σχέση πρέπει να ακολουθεί τη κατανομή-F με επίπεδο σημαντικότητας 95% που φαίνεται στο πίνακα Fisher (Πίνακας 3, Παράρτημα). Επισημαίνεται ότι το S_{ad}^2 έχει ένα βαθμό ελευθερίας ενώ για το s_{γ}^2 όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως οι βαθμοί ελευθερίας είναι τρεις. Στο πίνακα 26 απεικονίζονται τα αποτελέσματα του κριτηρίου Fisher.

Πίνακας 26- Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του γραμμικού μοντέλου

Κριτήριο Fisher

Επάρκεια γραμμικού μοντέλου → $F < F_{tab}$	
F	4,33
F_{tab}	5,99
Επαρκές	ΝΑΙ

Όπως φαίνεται η τιμή του λόγου του Fisher είναι μικρότερη από την αντίστοιχη του πίνακα 3 (Παράρτημα) και συνεπώς το γραμμικό μας μοντέλο είναι επαρκές. Το γεγονός αυτό ενδυναμώνει το αποτέλεσμα του ελέγχου της σημαντικότητας των συντελεστών όπου αποδείχθηκε ότι αλληλεπίδραση μεταξύ των ρυθμιστικών παραμέτρων είναι στατιστικά ασήμαντη.

Αυτό σημαίνει ότι η γραμμική εξίσωση μπορεί να δώσει μια ικανοποιητική πρόβλεψη της απόδοσης της παραγωγής αιθανόλης από ΕΣΖ μέσα στα όρια των συνθηκών που μελετήθηκαν, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αριστοποίηση της δοσολογίας ενζύμου και συνεπώς τη βελτιστοποίηση της παραγωγής αιθανόλης.

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

7.2.5 Πρωτογενή Αποτελέσματα 2^{ου} πειραματικού κύκλου

Συγκεκριμένα, οι συνθήκες των πειραμάτων κατά την δεύτερη πειραματική πορεία είναι ακριβώς οι ίδιες με αυτές της πρώτης, με την μόνη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε defatted ΕΣΖ, ως πρώτη ύλη, δηλαδή εξαντλημένοι σπόροι ζυθοποιίας από τους οποίους έχουν αφαιρεθεί τα έλαια και λίπη.

Με βάση την περιεκτικότητα της τροφοδοσίας σε ελεύθερη γλυκόζη, άμυλο και κυτταρίνη υπολογίζεται η θεωρητική μέγιστη ποσότητα γλυκόζης και αιθανόλης που μπορεί να παραχθεί από την συγκεκριμένη τροφοδοσία. Οι υπολογισμοί παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 27-πίνακας θεωρητικών τιμών

Πειράματα	Θεωρητική κυτταρίνη (g)	Θεωρητική ελεύθερη γλυκόζη (g)	Θεωρητική γλυκόζη (g)	Θεωρητική αιθανόλη (g)
2ος κύκλος				
1.1	1,92	0,01	2,15	1,1
1.2	1,92	0,01	2,15	1,1

2.1	1,92	0,01	2,15	1,1
2.2	1,92	0,01	2,15	1,1
3.1	1,92	0,01	2,15	1,1
3.2	1,92	0,01	2,15	1,1
4.1	1,93	0,01	2,15	1,1
4.2	1,92	0,01	2,15	1,1
κέντρο	1,92	0,01	2,15	1,1
κέντρο	1,92	0,01	2,15	1,1
κέντρο	1,92	0,01	2,15	1,1
κέντρο	1,92	0,01	2,15	1,1

Τα δείγματα αναλύθηκαν ως προς την περιεκτικότητά τους σε αιθανόλη με τη χρήση της HPLC και προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα μετά από τον μέσο όρο των δύο -ή και τεσσάρων στην περίπτωση του κέντρου- επαναλήψεων.

Πίνακας 28-Περιεκτικότητα αιθανόλης των πειραμάτων του δεύτερου παραγοντικού κύκλου

Δοκιμές	Πειράματα	Αιθανόλη (g/L)
1	1.1	2,93± 0,15
	1.2	
2	2.1	3,18± 0,03
	2.2	
3	3.1	8,06± 0,11
	3.2	
4	4.1	8,69± 0,12
	4.2	
κέντρο	Κέντρο	6,16± 0,09

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, είναι προφανές ότι τα απελευθερωμένα σάκχαρα ζυμώνονται εξίσου επιτυχώς σε βιοαιθανόλη όπως τα πειράματα του πρώτου παραγοντικού κύκλου, ενώ φαίνεται ότι στην μεγαλύτερη δόση ενζύμου (πειράματα 3,4) αλλά και στο κέντρο αποδίδουν αρκετά καλύτερα.

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

1.Υδατοδιαλυτά στερεά (WS)

2.Κυτταρίνη

3.Ημικυτταρίνη

4.Αμυλο (Starch)

5.Συνολική λιγνίνη

Οι μετρήσεις των παραμέτρων περιλαμβάνονται στους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 29- σύνθεση των δοκιμών μετά το πέρας των πειραμάτων

Πειράματα	WS (%)	Κυτταρίνη (%)	Ημικυτταρίνη (%)	Λιγνίνη (%)	Αμυλο (%)
1	18,61%	17,98%	24,94%	22,12%	0,83%
2	15,26%	20,66%	24,04%	22,36%	0,73%
3	15,10%	21,41%	28,44%	26,11%	0,76%
4	15,42%	19,79%	34,40%	22,88%	0,87%
5	16,94%	21,27%	35,76%	26,69%	0,79%

7.2.6 Δευτερογενή αποτελέσματα 2^{ου} πειραματικού κύκλου

Από τα πειραματικά αποτελέσματα υπολογίζεται η αιθανόλη με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου, σε μορφή ποσότητας (g) και σε μορφή απόδοσης ως προς την θεωρητική παραγόμενη αιθανόλη. Ακόμη, υπολογίστηκε η ποσοστιαία αποδόμηση του στερεού. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των πειραμάτων ως προς την αιθανόλη βάση της πειραματικής μέτρησης της με τη χρήση φωτόμετρου μετά την ζύμωση, ως προς την αιθανόλη με βάση την αποδόμηση της κυτταρίνης και του αμύλου, ως προς την αποδόμηση της κυτταρίνης, του αμύλου και του στερεού. Να σημειωθεί ότι στην αποδόμηση της αιθανόλης, δεν λαμβάνεται υπόψη η ελεύθερη γλυκόζη.

Πίνακας 30- πίνακας αποικοδομήσεων στερεού και λοιπών συστατικών

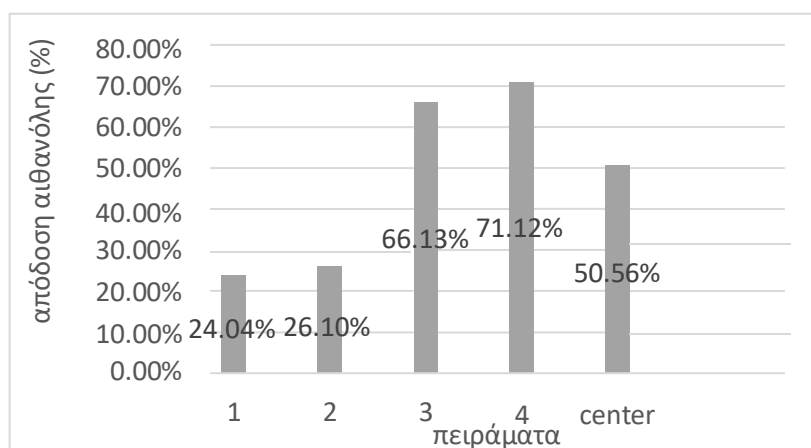
Πειράματα	Αρχικό Στερεό (g)	Στερεό (%)	WS (%)	Κυτταρίνη (%)	Ημικυτταρίνη (%)	Άμυλο (%)
1.1	10,007	35,15±0,49	32,17±0,53	45,25±0,01	49,5± 0,38	45,72±0,41
1.2						
2.1	10,008	28,34±2,93	32,81±2,63	30,13±2,85	46,21±2,20	47,45±2,15
2.2						
3.1	10,008	31,2±2,88	32,1±2,56	30,46±2,91	38,9± 2,56	47,51±2,20
3.2						
4.1	10,024	28,38±0,57	29,84±0,52	33,11±0,53	23,06±0,61	37,53±0,50
4.2						
Κέντρο	10,007	27,33±3,91	27,26±5,03	26,35±5,03	18,77±6,29	42,41±2,10

Πίνακας 31-Πειραματική απόδοση αιθανόλης

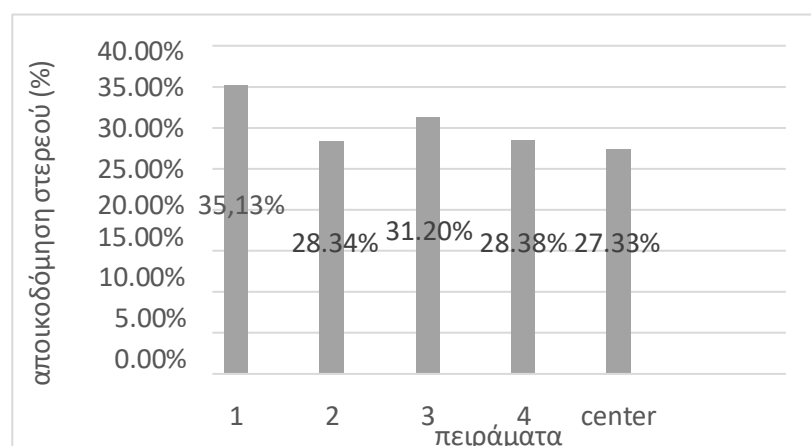
Δοκιμές	Πειράματα	Απόδοση αιθανόλη βάση πειραμάτων (%)	Μέση Απόδοση αιθανόλη βάση πειραμάτων (%)
1	1.1	22,83%	24,04%± 1,71%
	1.2	25,25%	
2	2.1	26,32%	26,1%± 0,31%
	2.2	25,88%	
3	3.1	65,17%	66,13%± 1,35%
	3.2	67,08%	
4	4.1	72,03%	71,12%± 1,29%
	4.2	70,21%	
	Κέντρο	51,70%	

κέντρο	Κέντρο	51,04%	50,56%± 1,04%
	Κέντρο	49,32%	
	Κέντρο	50,18%	

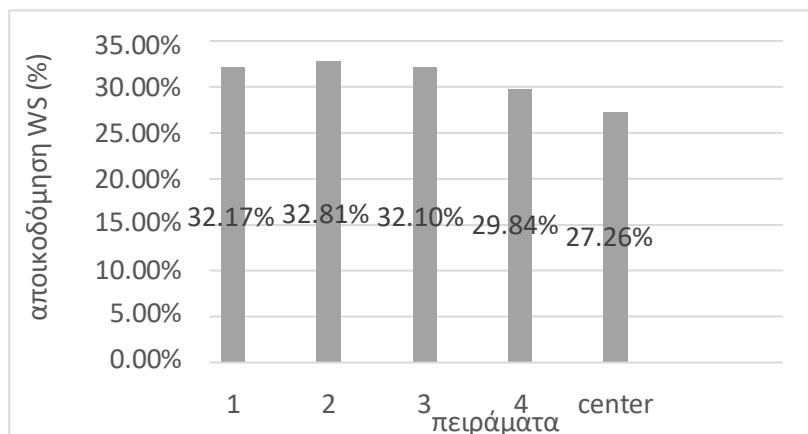
Στο πειραματικό εύρος που μελετήθηκε, η υψηλότερη απόδοση αιθανόλης που επιτεύχθηκε ήταν 71,12% στις υψηλότερες συνθήκες του πειραματικού σχεδιασμού όπου το ένζυμο CellicCTec3 που χρησιμοποιήθηκε είναι στα 2200 μL κυτταρινάσης/g κυτταρίνης (15 FPU/mL) και η μαγιά (*S. Cerevisiae*) στο 3% , κάτι που είναι αναμενόμενο.



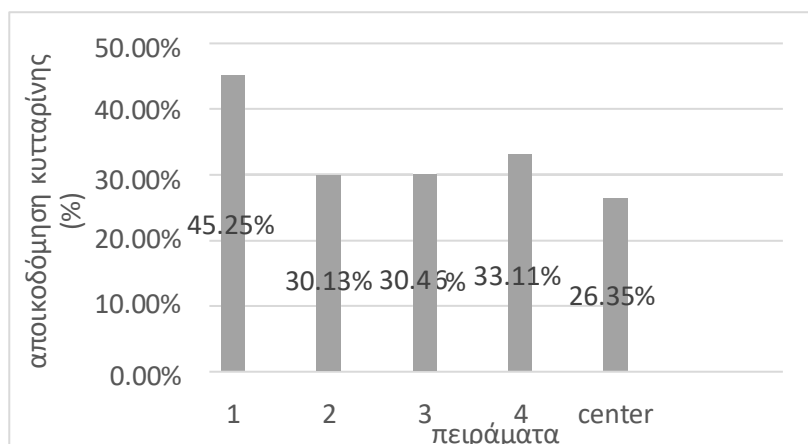
Διάγραμμα 10-απόδοση αιθανόλης



Διάγραμμα 11-αποικοδόμηση στερεού

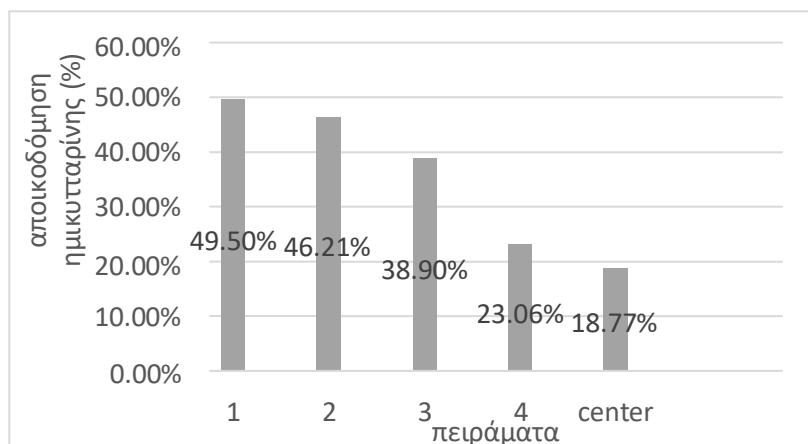


Διάγραμμα 12-αποικοδόμηση υδατοδιαλυτών (WS)

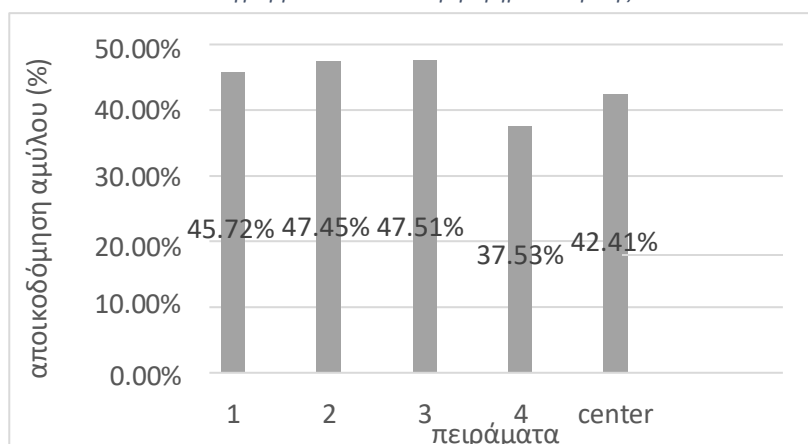


Διάγραμμα 13-αποικοδόμηση κυτταρίνης

Η αποικοδόμηση της κυτταρίνης κυμαίνεται σε παρόμοια ποσοστά για όλα τα πειράματα με αυτή που ξεχωρίζει να είναι του πρώτου πειράματος το οποίο εκτελέστηκε με τις χαμηλότερες ποσότητες ενζύμου και μαγιάς, δηλαδή 600 μ L κυτταρινάσης/g κυτταρίνης και 1% *S.Cerevisiae*.



Διάγραμμα 14-αποικοδόμηση ημικυτταρίνης



Διάγραμμα 15-αποικοδόμηση αμύλου

7.2.7 Αποτελέσματα παραγοντικού σχεδιασμού 2^{ου} πειραματικού κύκλου

7.2.7.1. Υπολογισμός μέσων τιμών και του στατιστικού σφάλματος

Προτού αρχίσει η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου της πειραματικής διαδικασίας πρέπει πρώτα να εκτιμηθεί το τυπικό σφάλμα των μετρήσεων καθώς επίσης και η ομοιογένεια των διακυμάνσεων των πειραματικών μετρήσεων. Για να υπολογιστεί το τυπικό σφάλμα (s) πρέπει πρώτα να υπολογιστεί η διασπορά (sy^2) των πειραματικών μας μετρήσεων. Η διασπορά υπολογίστηκε ποσοτικά βάση του πίνακα 32. Στον πίνακα 32 στη πρώτη στήλη απεικονίζεται ο αριθμός της κάθε επανάληψης. Στη δεύτερη στήλη απεικονίζονται οι μετρήσεις της απόδοσης για κάθε επανάληψη. Στη τρίτη στήλη παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της απόδοσης κάθε δοκιμής ενώ στην τέταρτη στήλη απεικονίζονται οι διασπορές τριών αυτών δοκιμών. Στη πέμπτη στήλη αναγράφονται οι βαθμοί ελευθερίας για κάθε δοκιμή και τέλος, στη τελευταία γραμμή υπολογίζεται η συνολική διασπορά των πειραματικών μετρήσεων. Οι σχέσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τον πίνακα 32 και τον υπολογισμό της μέσης τιμής κάθε δοκιμής, της διασποράς

κάθε δοκιμής και της ολικής διασποράς των αποτελεσμάτων παρουσιάστηκαν παραπάνω.

Άρα οι βαθμοί ελευθερίας είναι $f=4$.

Πίνακας 32- Επεξεργασία αποτελεσμάτων για την εύρεση του σφάλματος για απόδοση

N	Yi (%)	Υμέσο (%)	si²	Fi
1	22,83	24,04	2,92	1
	25,25			
2	26,32	26,1	0,098	1
	25,88			
3	65,17	66,13	1,83	1
	67,08			
4	72,03	71,12	1,65	1
	70,21			
Κέντρο	51,7	49,75	1,076	3
	51,04			
	49,31			
	50,18			
$s_Y^2 = 1,23$				

Με τον υπολογισμό της διασποράς S_Y^2 υπολογίζεται εύκολα η τυπική απόκλιση ή τυπικό σφάλμα σύμφωνα με την εξίσωση (7.4):

Άρα τελικά $\rightarrow s = 1,11$

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

Άρα: $G_{exp}=0,385$

Για να υπάρχει ομοιογένεια πρέπει η τιμή αυτή να είναι μικρότερη από την αντίστοιχη (G_{tab}) του πίνακα Cochran. Για το G_{tab} λαμβάνουμε υπόψη τη τιμή του πίνακα 1 από το παράρτημα για $N=4$ (δοκιμές) και $f=1$ (βαθμοί ελευθερίας). Στο πίνακα 33 παρατίθενται τα αποτελέσματα του κριτηρίου. Όπως φυσικά μπορεί να δει κανείς, υπάρχει ομοιογένεια στις τιμές των διασπορών και συνεπώς η διαδικασία εύρεσης του μοντέλου μπορεί να συνεχιστεί.

Πίνακας 33 Έλεγχος ομοιογένειας διασπορών

Κριτήριο Cochran	
Ομοιογένεια $G_{exp}<G_{tab}$	
G_{exp}	0,3853
G_{tab}	0,907
Ομοιογένεια	ΝΑΙ

7.2.7.1. Υπολογισμός των συντελεστών των παραγόντων

Στο δικό μας σχεδιασμό η παράμετρος αριστοποίησης είναι η απόδοση κάθε δοκιμής.

Στον πίνακα 34 φαίνονται οι κωδικοποιημένες τιμές των παραμέτρων σύμφωνα με τις οποίες δημιουργήθηκαν οι εξισώσεις καθώς και οι τιμές Y (αποδόσεις) που χρειάστηκαν για τον υπολογισμό τους.

Πίνακας 34- Δεδομένα υπολογισμού συντελεστών b .

N	X₀	X₁	X₂	X₁X₂	Average Yave (%)
1	1	-1	-1	1	24,04
2	1	-1	1	-1	26,10
3	1	1	-1	-1	66,13
4	1	1	1	1	71,12

Στο πίνακα 35 καταγράφονται οι τιμές των συντελεστών b που προέκυψαν σύμφωνα με τις παραπάνω εξισώσεις και το δεδομένα του πίνακα 34.

Πίνακας 35- Συντελεστές b της εξίσωσης της παραμέτρου αριστοποίησης.

Σταθερές γραμμικού μοντέλου	
b_0	46,85
b_1	21,78
b_2	1,76
b_{12}	0,73

Το γραμμικό μοντέλο που προκύπτει από την εύρεση των συντελεστών του πίνακα 35 και αντικαθιστώντας τους στην εξίσωση είναι το εξής :

$$Y = 46,85 + 21,78X_1 + 1,76X_2 + 0,73X_1X_2 \quad (7.8)$$

Το μέγεθος των συντελεστών δείχνει πόση σημασία έχουν στο τελικό αποτέλεσμα της παραμέτρου αριστοποίησης, δηλαδή της απόδοσης. Το πρόσημο του δείχνει πως θα μεταβληθεί η απόδοση σε πιθανή αύξηση ή μείωση κάποιας ρυθμιστικής παραμέτρου. Πιο συγκεκριμένα οι δύο ρυθμιστικές παράμετροι στο συγκεκριμένο πείραμα έχουν ανάλογη σχέση με την απόδοση με αποτέλεσμα όσο αυξάνονται να αυξάνει και η απόδοση. Αντίστοιχα, το ίδιο συμβαίνει και για την αλληλεπίδραση τους. Σε αντίθεση με το παραγοντικό του πρώτου κύκλου εδώ προκύπτει σημαντική παράμετρος και η δοσολογίας της μαγιάς.

7.2.7.2. Έλεγχος σημαντικότητας των συντελεστών

Μετά την εύρεση των συντελεστών των X_1 , X_2 και X_1X_2 ακολουθεί ο έλεγχος για το αν είναι σημαντικός καθένας από αυτούς τους συντελεστές.

Η τιμή του $S_b^{1/2}$ υπολογίζεται από τη σχέση (7.9) και ισούται με:

$$S_b^2 = 4,31$$

Συνεπώς από τη σχέση (7.10) μπορεί να υπολογιστεί το διάστημα Δb και ισούται με:

$$\Delta b = 1,14$$

Για να είναι ένας συντελεστής σημαντικός πρέπει η απόλυτη τιμή του να είναι μεγαλύτερη από το Δb . Στο πίνακα 36 φαίνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

Πίνακας 36- Η σημαντικότητα των συντελεστών των παραγόντων

Συντελεστές		Δb	Αποτέλεσμα
b0	46,85	Συνθήκη σημαντικότητας:	Σημαντικός
b1	21,78		Σημαντικός
b2	1,76		Σημαντικός
b12	0,73	$ b_i > 1,14$	Μη Σημαντικός

Όπως προκύπτει από τον πίνακα η ενδοδράση X_1X_2 κρίνεται ασήμαντη. Το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να επηρεάσει την επάρκεια του γραμμικού μοντέλου που σχεδιάστηκε η οποία θα υπολογιστεί στη συνέχεια.

Με μετατροπή των παραμέτρων X_1 και X_2 στη φυσική τους υπόσταση μέσω της εξίσωσης (5.2) έχουμε:

$$X_1 = \frac{X - 1400}{800}$$

$$X_2 = \frac{Z - 3}{1}$$

Όπου, X: CellicCTec3 (μL/g κυτταρίνη)

Z: S.Cerevisiae (%)

Τελικά με την αντικατάσταση των εξισώσεων X_1 και X_2 στην 7.8 προκύπτει η τελική εξίσωση:

$$Y = 3.49 + 0.027\text{CellicCTec3} + 1.76\text{S. Cerevisiae} (\%),$$

$600 < \text{CellicCTec3} (\mu\text{L/g κυτταρίνη}) < 2200$ και $1 < \text{S. Cerevisiae} (\%) < 3$ με Cellic CTec 3:15 FPU/mL

7.2.7.3. Έλεγχος επάρκειας γραμμικού μοντέλου

Προκειμένου να εκτιμηθεί η επάρκεια του γραμμικού μοντέλου που προσδιορίστηκε, υπολογίστηκε ότι $f=1$.

Στον πίνακα 10.7 παρουσιάζονται τα δεδομένα από τα οποία υπολογίστηκε το S_{ad}^2 μέσω σχέσης (7.11)

Πίνακας 37- Υπολογισμός της διασποράς της επάρκειας

N	Υμέσο	Υpredicted	(Υμέσο- Υpred)^2
1	24,04	23,3	0,54
2	26,10	26,8	0,54
3	66,13	66,9	0,54
4	71,12	70,4	0,54

Από την εξίσωση (7.11) προκύπτει ότι: $S_{ad}^{ad}=93,31$

Επισημαίνεται ότι το S_{ad}^2 έχει ένα βαθμό ελευθερίας ενώ για το SY_2 όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως οι βαθμοί ελευθερίας είναι τρεις. Στο πίνακα 38 απεικονίζονται τα αποτελέσματα του κριτηρίου Fisher.

Πίνακας 38-Αποτελέσματα ελέγχου επάρκειας του γραμμικού μοντέλου

Κριτήριο Fisher	
Επάρκεια γραμμικού μοντέλου → $F < F_{tab}$	
F	2,59
F_{tab}	5,99
Επαρκές	ΝΑΙ

Όπως φαίνεται η τιμή του λόγου του Fisher είναι μικρότερη από την αντίστοιχη του πίνακα 3 (Παράρτημα) και συνεπώς το γραμμικό μας μοντέλο είναι επαρκές. Το γεγονός αυτό ενδυναμώνει το αποτέλεσμα του ελέγχου της σημαντικότητας των συντελεστών όπου αποδείχθηκε ότι αλληλεπίδραση μεταξύ των ρυθμιστικών παραμέτρων είναι στατιστικά ασήμαντη.

Αυτό σημαίνει ότι η μπορεί να δώσει μια ικανοποιητική πρόβλεψη της απόδοσης της παραγωγής αιθανόλης από ΕΣΖ από τα οποία έχουν αφαιρεθεί τα λίπη και έλαια μέσα στα όρια των συνθηκών που μελετήθηκαν ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη περαιτέρω αριστοποίηση της δοσολογίας του ενζύμου και της μαγιάς.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη παρούσα διπλωματική, στόχος ήταν η μελέτη του δυναμικού παραγωγής βιοαιθανόλης από εξαντλημένους σπόρους ζυθοποιίας. Μελετήθηκε η επίδραση των ακόλουθων παραγόντων: η ποσότητα του ενζύμου κυτταρινάσης (CellicCTec3 15 FPU/mL), η ποσότητα της μαγιάς (*Saccharomyces Cerevisiae*), η επίδραση της παρουσίας των ελαίων στην απόδοση της αιθανόλης καθώς και η απόδοση της διεργασίας ταυτόχρονης υδρόλυσης και ζύμωσης (SSF), χωρίς προεπεξεργασία.

Από τον 1^ο παραγοντικό κύκλο πειραμάτων, προέκυψε ότι η ποσότητα του ενζύμου κυτταρινάσης παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην απόδοση της διεργασίας και συνεπώς στην παραγωγή αιθανόλης. Με τη μέγιστη συγκέντρωση ενζύμου (2200 μ L κυτταρινάσης/g κυτταρίνης) παρατηρήθηκε η μέγιστη απόδοση ($57,81 \% \pm 7,23\%$ με συγκέντρωση $7,5 \pm 0,63$ g/L αιθανόλη). Για την ελάχιστη τιμή ενζύμου (600 μ L κυτταρινάσης/g κυτταρίνης) το αντίστοιχο αποτέλεσμα ήταν $27,07 \pm 2,02\%$ με συγκέντρωση $3,32 \pm 0,17$ g/L. Σχετικά με την αποδόμηση της κυτταρίνης, τα ποσοστά που επιτεύχθηκαν κυμαίνονταν από $29,38\% \pm 3,58\%$ έως $48,45\% \pm 0,23\%$. Αντίστοιχα η συνολική αποδόμηση του στερεού κυμαίνονταν από $24,17 \% \pm 3,85\%$ έως $35,61 \% \pm 0,78\%$.

Από τον 2^ο παραγοντικό κύκλο πειραμάτων, όπου εξετάστηκε η επίδραση των ελαίων στην απόδοση της αιθανόλης, αναδείχθηκε ότι η παρουσία ελαίων δρα παρεμποδιστικά κατά την αλκοολική ζύμωση. Σχετικά με το μαθηματικό μοντέλο που προέκυψε βρέθηκαν και οι δύο παράμετροι (δοσολογία κυτταρινάσης και δοσολογία μαγιάς) σημαντικές. Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι η επίδραση του ενζύμου της κυτταρινάσης είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με την αντίστοιχη της μαγιάς. Για τη δοκιμή όπου χρησιμοποιήθηκαν οι μέγιστες δοσολογίες ενζύμου και μαγιάς (2200 μ L/g κυτταρίνης και 3% *S.Cerevisiae*), επιτεύχθηκε απόδοση αιθανόλης ίση με $71,12 \% \pm 1,29\%$. Αυτό υποδεικνύει ότι η εκχύλιση των ελαίων μπορεί να βελτιώσει την παραγωγή αιθανόλης από ΕΣΖ.

Οι Kavalopoulos et al. (2021), οι οποίοι εφάρμοσαν όξινη προεπεξεργασία αλλά και διακριτή υδρόλυση και ζύμωση (SHF), για την ελάχιστη ποσότητα ενζύμου (600 μ L κυτταρινάσης/g κυτταρίνης), παρατήρησαν απόδοση αιθανόλης 45,56 %. Ωστόσο, στον παρόντα πειραματικό σχεδιασμό, αφαιρώντας το στάδιο της προεπεξεργασίας, αυξάνοντας τη δόση του ενζύμου 3 φορές και εφαρμόζοντας ταυτόχρονη υδρόλυση και ζύμωση (SSF) τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν σαφώς καλύτερα, πετυχαίνοντας την προαναφερθείσα απόδοση αιθανόλης $71,12 \% \pm 1,29\%$.

Συμπερασματικά, η διεργασία της ταυτόχρονης υδρόλυσης και ζύμωσης των Εξαντλημένων Σπόρων Ζυθοποιίας εφαρμόστηκε επιτυχώς ως προς την παραγωγή αιθανόλης. Ωστόσο δεδομένης της μικρής ποσότητας της αιθανόλης που παράγεται, δεν μπορεί να θεωρηθεί βιώσιμη η εφαρμογή της σε βιομηχανική κλίμακα. Πιθανώς όμως, στα πλαίσια ενός βιοδιωλιστηρίου στο οποίο θα πραγματοποιείται μια σειρά από διεργασίες να μπορούσε να ενσωματωθεί η αιθανολική ζύμωση των εξαντλημένων σπόρων ζυθοποιίας συνδυαστικά με ένα υπόστρωμα πλούσιο σε άμυλο. Επιπλέον η παραγωγή και άλλων δευτερογενών πόρων από το απόβλητο αυτό το οποίο έχει πλούσια λιγνοκυτταρινούχα βάση, θα μπορούσε να καταστήσει μια

συνολική διεργασία βιώσιμη. Φυσικά, προκειμένου να αποδειχθεί κάτι τέτοιο, θα ήταν απαραίτητη μια αναλυτική οικονομοτεχνική μελέτη.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Η παραγωγή βιοκαυσίμων, και ειδικότερα της βιοαιθανόλης από βιοαπόβλητα, όπως διαπιστώθηκε κατά την παρούσα πειραματική μελέτη, αποτελεί μια εφικτή εναλλακτική λύση για την υπάρχουσα ενεργειακή κρίση. Η εφαρμογή της ωστόσο σε βιομηχανική κλίμακα ώστε να επιτευχθεί η ευρεία χρήση των βιοκαυσίμων και η αντικατάσταση των συμβατικών ορυκτών καυσίμων βρίσκεται ακόμα σε πρώιμο στάδιο.

Ένα από τα βασικά ζητήματα που απαιτείται να εξεταστεί, σε αρχικό στάδιο, είναι η διαθεσιμότητα και η ομοιομορφία των βιοαποβλήτων καθώς είναι απαραίτητο μια διεργασία μεγάλης κλίμακας να έχει εξασφαλισμένη σταθερή αλλά και συνεχή ροή τροφοδοσίας. Στην περίπτωση των εξαντλημένων σπόρων κριθαριού, επειδή προέρχονται από βιομηχανίες ζυθοποιίας, είναι ευκολότερη η πρόβλεψη του παράγοντα αυτού. (Munish Puri, 2012)

Στην συνέχεια οι βιομηχανίες που επιθυμούν να εντάξουν ή να ασχοληθούν εξ' ολοκλήρου με την παραγωγή βιοκαυσίμων οφείλουν να διενεργήσουν τεχνοοικονομικές μελέτες αλλά και μελέτες βιωσιμότητας των διεργασιών αυτών σε όλα τους τα στάδια ώστε να επιλεγεί η βέλτιστη και συμφερότερη διεργασία. Συγκεκριμένα, το είδος της τροφοδοσίας, των ενζύμων αλλά και το είδος της προ επεξεργασίας και οι συνθήκες υδρόλυσης και ζύμωσης των αποβλήτων επηρεάζουν κατά πολύ το κόστος του τελικού προϊόντος, δηλαδή των βιοκαυσίμων.

Για την ωφελιμότερη αξιοποίηση των αποβλήτων ΕΣΖ ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η προσθήκη ενός ακόμα οργανικού αποβλήτου πλούσιο σε αμυλούχα σύσταση ώστε να αυξηθεί η παραγόμενη αιθανόλη και να εξεταστεί εκ νέου η βιωσιμότητα της διεργασίας.

Επιπλέον ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η εξέταση της επαναχρησιμοποίησης του υγρού των πειραμάτων με τις περιεχόμενες ποσότητες ενζύμου και μαγιάς σε νέα τροφοδοσία ΕΣΖ με σκοπό τον εμπλουτισμό της ποσότητας της παραγόμενης αιθανόλης.

Τέλος, χρήσιμη πρόταση για μελλοντική έρευνα, ως εναλλακτική αξιοποίηση των σπόρων ζυθοποιίας, αποτελεί η χρήση τους σε διεργασία αναερόβιας χώνευσης με στόχο την παραγωγή βιοαερίου.

Βιβλιογραφία

- A food waste and yard waste plan for Hong Kong. (2022). <http://www.enb.gov.hk/en/files/FoodWastePolicyEng.pdf>
- Agency, E. E. (2016). Environmental Indicator report 2016 In support to the monitoring of the 7th Environment Action Programme. No 30/2016. Luxembourg: Publication Office of the European Union.
- Aikaterini Konti, D. K. (2020). Life Cycle Analysis of the Bioethanol Production from Food Waste-A review. *Energies*.
- Aliyu, S. & Bala, M. (2011). Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *African Journal of Biotechnology*, 10 (3), 324-331.
- Alcohol, E. A. (2014). Ethanol.
- Arnold, C. M. (2001). Global analysis of Escherichia coli gene expression during the acetate-induced acid tolerance response . *J. Bacteriol.*, σσ. 2178-2186.
- Awolu, O. O. (2011, April). Bioethanol production from brewer's spent grain, bread wastes and corn fiber. Ανάκτηση από https://www.researchgate.net/profile/Olugbenga-Awolu/publication/312433786_Bioethanol_production_from_brewer's_spent_grain_bread_wastes_and_corn_fiber/links/587d1cce08ae9275d4e73d29/Bioethanol-production-from-brewers-spent-grain-bread-wastes-and-corn-fibe
- Awogbemi, O., Von Kallon, D. V., Onuh, E. I., & Aigbodion, V. S. (2021). An overview of the classification, production and utilization of biofuels for internal combustion engine applications. *Energies*, 14(18), 1–42.
- Bai, F. A.-Y. (2008). Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Bioethanol Adv.*, σσ. 89- 105.
- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. In *Energy Conversion and Management* (Vol. 52, Issue 2, pp. 858–875).
- Baras, J. G. (2002). Ethanol is a strategic raw material. *HemijskalIndustrija*, σσ. 89-104.
- Basha SA, Gopal KR, Jebaraj S. (2009) A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. *Renew Sustain Energy Rev*, 13:1628–34.¹
- Benešová, K., Běláková, S., Mikulíková, R. & Svoboda, Z. (2012). Monitoring of selected aflatoxins in brewing materials and beer by liquid chromatography/mass spectrometry. *Food Control*, 25 (2), 626-630.

- Biodegradable waste. (χ.χ.). Ανάκτηση από https://environment.ec.europa.eu/topics/waste-and-recycling/biodegradable-waste_en
- Biofuels Mandates Around the World (2018): Biofuels Digest.
- Branco, R. H. (2019). Second generation bioethanol production: On the use of pulp and paper wastes as feedstock. *Fermentation*, σσ. 1-30.
- Brief, P. &. (2020). Sustainable waste management in a circular economy Environmental and resource efficiency.
- Bringezu, S. (Ed.). (2009). Towards sustainable production and use of resources: assessing biofuels. UNEP/Earthprint.
- Briggs, D.E., Boulton, C.A., Brookes, P.A., Stevens, R. (2004). *Brewing Science and practice*. London: CRC Press.
- Buffington, J. (2014). The Economic Potential of Brewer’s Spent Grain (BSG) as a Gupta, M., Abu-Ghannam, N. & Gallagher, E. (2010). Barley for Brewing: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By- Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9 (3), 318-328.
- Cardona Alzate CA, Sanchez Toro OJ. (2006). Energy consumption analysis of integrated flow sheets for production of fuel ethanol from ligno-cellulosic biomass. *Energy*, 31:2447–59.
- Celus, I., Brijs, K. & Delcour, J.A. (2006). The effects of malting and mashing on barley protein extractability. *Journal of Cereal Science*, 44 (2), 203-211.
- Chua, S.Y., Goh, C.M.H., Tan, Y.H., Mubarak, N.M., Kansedo, J., Khalid, M., Walvekar, R., Abdullah, E. (2020). Biodiesel synthesis using natural solid catalyst derived from biomass waste—A review. *J. Ind. Eng. Chem.*, 81, 41– 60.
- Coelho, E., Rocha, M.A.M., Moreira, A.S.P., Domingues, M.R.M. & Coimbra M.A. (2016). Revisiting the structural features of arabinoxylans from brewers’ spent grain. *Carbohydrate Polymers*, 139, 167-176
- Council, E. P. (2018). Promotion of the use of energy from renewable sources. Directive (EU) 2018/2001.
- Demain, A.L., Báez-Vásquez, M.A. (2013) Biofuels of the present and the future. In *New and Future Developments in Catalysis*; Suib, S.L., Ed.; Elsevier: Oxford, UK, pp. 325–364.
- Demirbas MF, B. M. (2009). Potential contribution of biomass to the sustainable energy development. Στο *Energy Converse Management* (σσ. 1746-1760).
- Demirbas, F., H., Balat, M., Balat, H. (2011). Biowastes-to-biofuels, *Energy Conversion and Management*, 52, 1815- 1828.
- Dos Santos Mathias, T.R., Alexandre, V.M.F., Cammarota, M.C., de Mello, P.P.M. & Sérvulo, E.F.C. (2015).

- Characterization and determination of brewer's solid wastes composition. *J. Inst. Brew.*, 121 (3), 400-404.
- Dunn, J., Mueller, S., Wang, M., & Han, J. (2012). Energy consumption and greenhouse gas emissions from enzyme and yeast manufacture for corn and cellulosic ethanol production. *Bioethanol*, σσ. 225-226.
- Fillaudeau, L., Blanpain-Avet, P., Daufin, G. (2006). Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production*, 14:463-471.
- Flach, B. L. (2018). *EU Biofuels Annual 2018*. Usda Agricultural Service.
- Forssell, P., Kontkanen, H., Schols, H.A., Hinz, S., Eijssink, V.G.H., Treimo, J., ... Buchert, J. (2008). Hydrolysis of Brewers' Spent Grain by Carbohydrate Degrading Enzymes. *J. Inst. Brew.*, 114 (4), 306-314.
- Gómez Palacios, J. M. (2002). European policy on biodegradable waste: a management perspective. *Στο Water Science and Technology* (σσ. 311-318).
- Halimatun SaadiahHafid, N. A. (2017). Feasibility of using kitchen waste as future substrate for bioethanol production. *Renewable and sustainable energy technologies*, σσ. 671-686.
- Hannover, K. (2002). *Best Available Techniques Reference Document on the Food and Milk Industry*, BMU: Hannover University.
- He, M. W. (2014). *Zymomonasmobilis*: a novel platform for future biorefineries. *Biotechnology for Biofuels*, σ. 101.
- Hu, L., Gastl, M., Linkmeyer, A., Hess, M. & Rychlik, M. (2014). Fate of enniatins and beauvericin during the malting and brewing process determined by stable isotope dilution assays. *LWT-Food Science and Technology*, 56 (2), 469- 477.
- Huige, N.J. (2006). *Brewery By-Products and Effluents*. In: F.G. Priest & G.G. Stewart (Eds.), *Handbook of Brewing*, [2nd edition] (655-713). CRC Taylor & Francis
- Iram, A., Cekmecelioglu, D., & Demirci, A. (2020). Distillers dried grains with solubles (DDGS) and its potential as fermentation feedstock. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*
- Ishiwaki, N., Murayama, H., Awayama, H., Kanauchi, O., Sato, T. (2000). Development of high value uses of spent grain by fractionation technology. *MBAA Technical Quarterly* 37: 261–265.
- J., B. (Nov-Dec 2009). Let's talk legislation, *Waste Management World*.
- Kanagachandran, K., Jayaratne, R. (2006). Utilization potential of brewery waste water sludge as an organic fertilizer. *J. Inst. Brew.* 112 (2).
- Kavalopoulos M., S. V. (2021, February). Sustainable valorisation pathways mitigating environmental pollution from brewers spent grains.

- Kedong Maa, Z. Z. (2016). Open fermentative production of fuel ethanol from food waste by an acid-tolerant mutant of *Zymomonas mobilis*. *Bioresource Technology*, σσ. 295-302.
- Kemppainen, K., Rommi, K., Holopainen, U. & Kruus, K. (2016). Steam explosion of Brewer's spent grain improves enzymatic digestibility of carbohydrates and affects solubility and stability of proteins. *Appl Biochem Biotechnol*, 180 (1), 94-108.
- Keukeleire, D. (2000). Fundamental of beer and hop chemistry. *Quimica Nova*, 23(1): 108-112..
- Krstanović, V., Mastanjević, K., Velić, N., Pleadin, J., Perši, N. & Španić, V. (2015). The influence of *Fusarium culmorum* contamination level on deoxynivalenol content in wheat, malt and beer. *Romanian Biotechnological Letters*, 20 (5), 10901-10910.
- Kumar K., Ghosh S., Angelidaki I., Holdt S.L., Karakashev D.B., Morales M.A., Das D. (2016) Recent developments on biofuels production from microalgae and macroalgae, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 65, 235–249.
- Kunze, W. (2004). *Technology Brewing and Malting*. 3rd ed, Germany: VLB.
- Luque, R., Herrero-Davila, L., Campelo, J. M., Clark, J. H., Hidalgo, J. M., Luna, D., Marinas, J. M., & Romero, A. A. (2008). Biofuels: A technological perspective. *Energy and Environmental Science*, 1(5), 542–564.
- Lynch, K.M., Steffen, E.J., Arendt, E.K. (2016). Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *J. Inst. Brew.*, 122 (4): 553-568.
- Mandalari, G., Faulds, C.B., Sancho, A.I., Saija, A., Bisignano, G., LoCurto, R. & Waldron, K.W. (2005). Fractionation and characterization of arabinoxylans from brewers' spent grain and wheat bran. *Journal of Cereal Science*, 42 (2), 205-212.
- M., B. (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and management*, σσ. 858-875.
- McCarthy, J. E. (1998). MTBE in gasoline: Clean air and drinking. CRS report for congress.
- Moen, B., Henjum, K., Måge, I., Knutsen, S.H., Rud, I., Hetland, R.B. & Paulsen, J.E. (2016). Effect of Dietary Fibers on Cecal Microbiota and Intestinal Tumorigenesis in Azoxymethane Treated A/J Min/+ Mice. *PloS ONE*, 11 (5), e0155402.
- Moir, M. (1994). Hop Aromatic Compounds. In *European Brewery Convention Monograph XXII - EBC-Symposium on Hops*, Zoeterwoude, The Netherlands, May/June 1994, Verlag Hans Carl, Nuremberg, Germany, 1994, pp. 165-180
- Monitoring of solid waste in Hong Kong. (χ.χ.). Ανάκτηση από https://www.wastereduction.gov.hk/en/assistancewizard/waste_red_sat.htm

- Moriarty, P., Yan, X., Wang, S.J. (2019) Liquid biofuels: Not a long-term transport solution. *Energy Procedia*, 158, 3265–3270.
- Mussatto, S.I & Roberto, I.C. (2006). Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81 (3): 268-274.
- Mussatto, S.I. (2014). Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications. *J Sci Food Agric*, 94(7): 1264-1275.
- Nakomcic-Smaragdakis, B., Cepic, Z. & Dragutinovic, N. (2016). Analysis of solid biomass energy potential in Autonomous Province of Vojvodina. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 57, 186-191.
- Nayak, A., & Bhushan, B. (2019). An overview of the recent trends on the waste valorization techniques for foodwaste. *Environmental management*, σσ. 352-370.
- Nídia Sá Caetano, R. F. (2013, January). Bioethanol from Brewer's Spent Grains: Acid Pretreatment Optimization. Ανάκτηση από https://www.researchgate.net/publication/278166145_Bioethanol_from_Brewer%27s_Spent_Grain_s_Acid_Pretreatment_Optimization
- Niemi, P., Aura, A.-M., Maukonen, J., Smeds, A.I., Mattila, I., Niemelä, K., ... Poutanen, K. (2013). Interactions of a Lignin-Rich Fraction from Brewer's Spent Grain with Gut Microbiota in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (27), 6754-6762.
- No, B. & (χ.χ.). National Policy on Biofuels. σσ. 1-18. Parliament, d. (χ.χ.). Use of Energy from renewable sources.
- Priya, Deora, P. S., Verma, Y., Muhal, R. A., Goswami, C., & Singh, T. (2022). Biofuels: An alternative to conventional fuel and energy source. *Materials Today: Proceedings*, 48(xxxx), 1178–1184.
- Pimentel D. and T. W. Patzek (2005). *Nat. Resour. Res.*, 14, 65–76.
- Reinold, M.R. (1997). *Manual Prnual de Cervejaria*, 1st ed. São Paulo: ADEN Editora e Comunicações Ltda.
- Rojas-Chamorro J., R. I.-L. (2020, April). Brewers spent grain as a source of renewable fuel through optimized dilute acid pretreatment.
- Robertson, J.A., I'Anson, K.J.A., Treimo, J., Faulds, C.B., Brocklehurst, T.F., Eijsink,
- Russ, W., Mörtel, H. & Meyer-Pittroff, R. (2005). Application of spent grains to increase porosity in bricks. *Construction and Building Materials*, 19 (2), 117-126.
- Santos, M., Jiménez, J.J., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. & del Nozal M.J.(2003). Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry*, 80 (1):17-21.
- Saveyn, H. & (2014). End of waste criteria for biodegradable waste subjected to biological treatment

(compost and digestate): Technical proposals. JRC Scientific and Policy Reports, European Commission.

- Sebayang, A. M. (2016). A prespective on bioethanol production from biomass as alternative fuel for spark ignition engine. RSC Adv.
- Shahid, E. M., Jamal, Y. (2011). Production of biodiesel_ A technical review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15, 4732-4745.
- Shui, Z. Q. (2015). Adaptive laboratory evolution of ethanologenic zymomonasmobilis strain tolerant to furfural and acetic acid inhibitors. Appl. Microbiol. Biotechnol., σσ. 5739-5748.
- Sinha S, Agarwal AK, Garg S. (2008). Biodiesel development from rice bran oil: trans- esterification process optimization and fuel characterization. Energy Conver Manage, 49(5), 1248–57.
- Steiner, J., Procopio, S. & Becker, T. (2015). Brewer’s spent grain: source of valueadded polysaccharides for the food industry in reference to the health claims. Eur Food Res Technol, 241(3): 303-315.
- Stojceska, V, Ainsworth, P., Plunkett, A. & İbanoğlu, Ş. (2009). The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. Food Chemistry, 114 (1), 226-232.
- Sun, Y. a. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production. A review: Biores. Technol., σσ. 1-11.
- Thomas, K.R., Rahman, P.K.S.M. (2006). Brewery wastes. Strategies for sustainability. A review. Aspects of Applied Biology, 80:147-153.
- Van der Merwe, A.I., Friend, J.F.C. (2002). Water management at a malted barley brewery. Water SA, 28 (3): 313- 318.
- V.G.H. & Waldron, K.W. (2010). Profiling brewers’ spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. LWT-Food Science and Technology, 43 (6), 890-896.
- Waters, D.M., Jacob, F., Titze, J., Arendt, E.K. & Zannini E. (2012). Fibre, protein and mineral fortification of wheat bread through milled and fermented brewer’s spent grain enrichment. Eur Food Res Technol, 235 (5), 767-778.
- Xiros, C. & Christakopoulos, P. (2012). Biotechnological Potential of Brewers Spent Grain and its Recent Applications. Waste Biomass Valor, 3 (2), 213-232
- Zanker, G., Kepplinger, W. & Pecher, C. (2007). Incineration of Solid Food Waste: A Project About Spent Grain. In:
- V. Oreopoulou & W. Russ (Eds.), Utilization of by- products and treatment of waste in the food industry (pp. 273- 281). NY, USA: Springer.

- Ziolkowska, J.R. (2018). Introduction to biofuels and potentials of nanotechnology. In Green Nanotechnology for Biofuel Production; Biofuel and Biorefinery Technologies; Srivastava, N., Srivastava, M., Pandey, H., Mishra, P.K., Ramteke, P.W., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, pp. 1–15.
- Βέκκος. (2016). Recycling Solutions-Gaia Food Waste Dryers. Ανάκτηση από <http://www.ecovrs.com/products/volume-reduction/food-waste-volume-reductio/gaia-food-waste-dryers/>
- Βλυσίδης, Α., Μάη, Σ., Μπαραμπούτη, Ε.Μ. (2015). Βιομηχανική Ρύπανση, Αθήνα: Εκδόσεις Ι. Σιδέρης.
- Ρήγας, Φ. (1988). Στατιστικός Σχεδιασμός Πειραμάτων και Αριστοποίηση Βιομηχανικών Διαδικασιών. Αθήνα: Ε.Μ.Π.

Παράρτημα

Πίνακας 39- Τιμές Cochran G (95% στατιστική σημαντικότητα)

N	f = n _i - 1							
	1	2	3	4	5	6	7	8
2	0.999	0.975	0.939	0.906	0.877	0.853	0.833	0.816
3	0.967	0.871	0.798	0.746	0.707	0.677	0.653	0.633
4	0.907	0.768	0.684	0.629	0.590	0.560	0.637	0.518
5	0.841	0.684	0.598	0.544	0.507	0.478	0.456	0.439
6	0.781	0.616	0.532	0.480	0.445	0.418	0.398	0.382
7	0.727	0.561	0.480	0.431	0.397	0.373	0.354	0.338
8	0.680	0.516	0.438	0.391	0.360	0.336	0.319	0.304
9	0.639	0.478	0.403	0.358	0.329	0.307	0.290	0.227
10	0.602	0.445	0.373	0.331	0.303	0.282	0.267	0.254
12	0.541	0.392	0.326	0.288	0.262	0.244	0.230	0.219
15	0.471	0.335	0.276	0.242	0.220	0.203	0.191	0.182
20	0.389	0.271	0.221	0.192	0.174	0.160	0.150	0.142

Πίνακας 40- Τιμές πίνακα student-t

f	t _{.55}	t _{.60}	t _{.70}	t _{.75}	t _{.80}	t _{.90}	t _{.95}	t _{.975}	t _{.99}	t _{.995}
1	.158	.325	.727	1.000	1.376	3.08	6.31	12.71	31.82	63.66
2	.142	.289	.617	.816	1.061	1.89	2.92	4.30	6.96	9.92
3	.137	.277	.584	.765	.978	1.64	2.35	3.18	4.54	5.84
4	.134	.271	.569	.741	.941	1.53	2.13	2.78	3.75	4.60
5	.132	.267	.559	.727	.920	1.48	2.02	2.57	3.36	4.03
6	.131	.265	.553	.718	.906	1.44	1.94	2.45	3.14	3.71
7	.130	.263	.549	.711	.896	1.42	1.90	2.36	3.00	3.50
8	.130	.262	.546	.706	.889	1.40	1.86	2.31	2.90	3.36
9	.129	.261	.543	.703	.883	1.38	1.83	2.26	2.82	3.25
10	.129	.260	.542	.700	.879	1.37	1.81	2.23	2.76	3.17
11	.129	.260	.540	.697	.876	1.36	1.80	2.20	2.72	3.11
12	.128	.259	.539	.695	.873	1.36	1.78	2.18	2.68	3.06
13	.128	.259	.538	.694	.870	1.35	1.77	2.16	2.65	3.01
14	.128	.258	.537	.692	.868	1.34	1.76	2.14	2.62	2.98
15	.128	.258	.536	.691	.866	1.34	1.75	2.13	2.60	2.95
16	.128	.258	.535	.690	.865	1.34	1.75	2.12	2.58	2.92
17	.128	.257	.534	.689	.863	1.33	1.74	2.11	2.57	2.90
18	.127	.257	.534	.688	.862	1.33	1.73	2.10	2.55	2.88
19	.127	.257	.533	.688	.861	1.33	1.73	2.09	2.54	2.86
20	.127	.257	.533	.687	.860	1.32	1.72	2.09	2.53	2.84
21	.127	.257	.532	.686	.859	1.32	1.72	2.08	2.52	2.83
22	.127	.256	.532	.686	.858	1.32	1.72	2.07	2.51	2.82
23	.127	.256	.532	.685	.858	1.32	1.71	2.07	2.50	2.81
24	.127	.256	.531	.685	.857	1.32	1.71	2.06	2.49	2.80
25	.127	.256	.531	.684	.856	1.32	1.71	2.06	2.48	2.79
26	.127	.256	.531	.684	.856	1.32	1.71	2.06	2.48	2.78
27	.127	.256	.531	.684	.855	1.31	1.70	2.05	2.47	2.77
28	.127	.256	.530	.683	.855	1.31	1.70	2.05	2.47	2.76
29	.127	.256	.530	.683	.854	1.31	1.70	2.04	2.46	2.76
30	.127	.256	.530	.683	.854	1.31	1.70	2.04	2.46	2.75
40	.126	.255	.529	.681	.851	1.30	1.68	2.02	2.42	2.70
60	.126	.254	.527	.679	.848	1.30	1.67	2.00	2.39	2.66
120	.126	.254	.526	.677	.845	1.29	1.66	1.98	2.36	2.62
∞	.126	.253	.524	.674	.842	1.28	1.645	1.96	2.33	2.58

Πίνακας 41- Τιμές λόγου Fisher (95% στατιστική σημαντικότητα)

$f_2 \backslash f_1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	246	248	249	250	251	252	253	254
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.30	4.47
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	1.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

F2= βαθμοί ελευθερίας του παρανομαστή

F1= βαθμοί ελευθερίας του αριθμητή