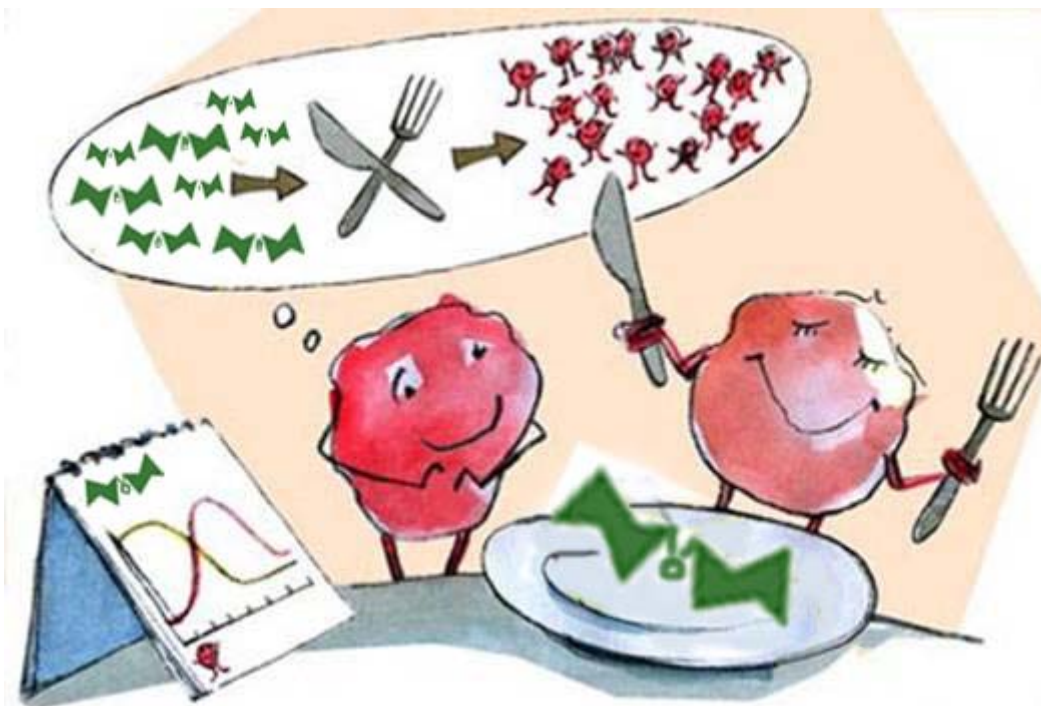




ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ  
Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας



## Ενζυμική υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγιάσσης σόργου με χρήση του εμπορικού σκευάσματος **Cellic<sup>®</sup> CTec2**

**ΘΩΜΑΣ-ΘΕΟΛΟΓΟΣ Ν. ΑΝΘΟΠΟΥΛΟΣ**

Επιβλέπων καθηγητής: **Δημήτρης Κέκος**  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Μάρτιος 2012

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	i
<b>I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	1
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	2
<b>2. ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	4
<b>3. ΒΙΟΜΑΖΑ</b>	5
3.1 Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης	5
3.2 Λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα	6
3.2.1 Κυτταρίνη	7
3.2.2 Ημικυτταρίνη	7
3.2.3 Λιγνίνη	8
<b>4. ΒΑΓΑΣΣΗ ΣΟΡΓΟΥ</b>	8
<b>5. ΒΙΟΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΛΙΓΝΙΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΣΕ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ</b>	9
5.1 Προκατεργασία λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας	10
5.1.1 Στόχος προκατεργασίας	10
5.1.2 Μέθοδοι προκατεργασίας	11
5.1.3 Φυσικές μέθοδοι προκατεργασίας	11
5.1.4 Χημικές μέθοδοι προκατεργασίας	12
5.1.5 Φυσιοχημικές μέθοδοι προκατεργασίας	14
5.1.6 Βιολογικές μέθοδοι προκατεργασίας	20
5.2 Ενζυμική υδρόλυση	20
5.2.1 Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση	21
<b>II. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ</b>	24
1. Πρώτες ύλες και χημικά αντιδραστήρια	25
2. Όργανα	25
3. Υδροθερμική προκατεργασία της βαγάσσης σόργου	25
4. Αλκαλική προκατεργασία	25
5. Υδρόλυση βαγάσσης σόργου	25
6. Μέτρηση ενεργότητας των ενζύμων	26
7. Μέτρηση αναγωγικών σακχάρων με τη μέθοδο DNS	26
8. Μέτρηση γλυκόζης	26
9. Ανάλυση στερεού υπολείμματος – Μέθοδος NREL	26
10. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας	26
<b>III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	29
1. Επίδραση της συγκέντρωσης NaOH κατά την υδροθερμική προκατεργασία της βαγάσσης σόργου	30
2. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας	52
3. Αλκαλική προκατεργασία	75
4. Συμπεράσματα	
<b>IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	87
<b>V. ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ</b>	91

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής είναι η μελέτη των συνθηκών υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου και η ενζυμική υδρόλυση του προκατεργασμένου υλικού. Το γλυκό σόργο θεωρείται εξαιρετική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης, λόγω των υψηλών αποδόσεων του σε βιομάζα και του υψηλού ποσοστού άμεσα ζυμώσιμων σακχάρων (9-25%) του χυμού του. Το στερεό υπόλειμμα της εκχύλισης των σακχάρων του γλυκού σόργου, η βαγάσση σόργου (SB), είναι πλούσιο σε κυτταρίνη (40%) και ημικυτταρίνη (36%).

Αρχικά η βαγάσση σόργου προκατεργάστηκε υδροθερμικά σε θερμοκρασία 180°C για 10 min παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων NaOH (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 και 1.0 g/100 g βαγάσσης). Ακολούθησε υδρόλυση (α) της προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης και (β) του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας. Η υδρόλυση έγινε με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου) και για συγκέντρωση υποστρώματος 8%, β/ο. Προέκυψε ότι η βέλτιστη συγκέντρωση του πρόσθετου NaOH είναι 1% β/β και ότι η υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας είναι πιο αποδοτική από ότι η υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης.

Ακολούθησε μελέτη της συνδυασμένης επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design). Το εύρος τιμών θερμοκρασίας ήταν 157-213°C για οι χρόνοι προκατεργασίας κυμάνθηκαν από 8-22 min. Το στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης φαίνεται να επηρεάζεται περισσότερο από την θερμοκρασία προκατεργασίας.

Τέλος πραγματοποιήθηκε «συμβατική» αλκαλική προκατεργασία της βαγάσσης σόργου στους 121°C για 30 min με διαφορετικές συγκεντρώσεις αλκάλειας (1.0, 4.0 και 10.0 g/100g βαγάσσης), ακολουθούμενη από υδρόλυση του στερεού υπολείμματος. Οι μέγιστες τιμές απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης επετεύχθησαν για για συγκέντρωση NaOH 10% β/β.

# **I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

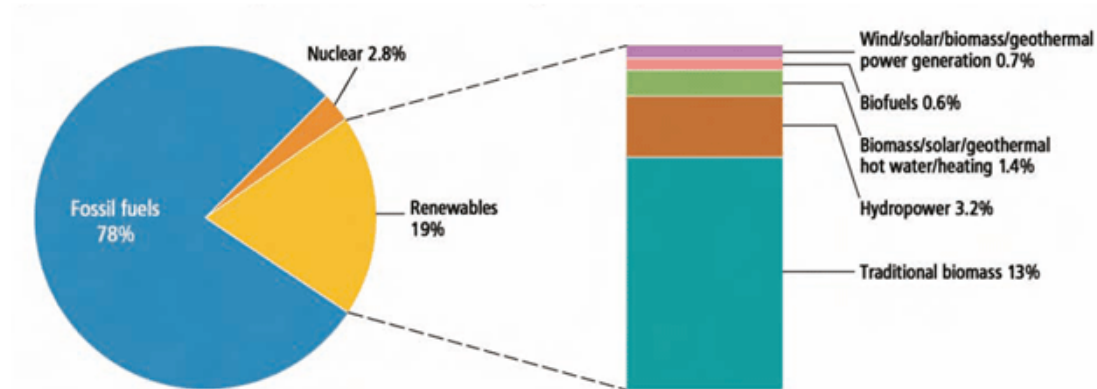
## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία 150 χρόνια, η ανθρώπινη δραστηριότητα έχει προκαλέσει δραματική αύξηση στην εκπομπή μεγάλων ποσοτήτων αερίων γνωστών και ως αερίων του θερμοκηπίου, όπως το CH<sub>4</sub>, το SO<sub>2</sub>, τα NO<sub>x</sub> και κυρίως το CO<sub>2</sub>, γεγονός που έχει επιφέρει σημαντικές αλλαγές στην ατμόσφαιρα (Galbe & Zacchi, 2002). Από το 1970 έως και το 2004, οι εκπομπές των αερίων του θερμοκηπίου σε παγκόσμια κλίμακα σημείωσαν αύξηση κατά 70% (Berstein *et al.*, 2007). Συγκεκριμένα, το 2000 περισσότεροι από 20 εκατ. μετρικοί τόνοι CO<sub>2</sub> απελευθερώθηκαν στην ατμόσφαιρα (Putun *et al.*, 2001; Bridgewater, 2003), ενώ υπολογίζεται ότι το CO<sub>2</sub> θα αυξηθεί από 1.9 δις μετρικούς τόνους το 2004 σε 2.7 δις μετρικούς τόνους το 2030 (Demain, 2009). Οι χώρες που συμμετέχουν στον ΟΟΣΑ (Οργανισμός για την Οικονομική Συνεργασία και Ανάπτυξη), συμβάλλουν περισσότερο από το 50% στη συνολική παγκόσμια εκπομπή CO<sub>2</sub>. Ο τομέας των μεταφορών ευθύνεται για το μεγαλύτερο ποσοστό εκπομπών CO<sub>2</sub> και δυστυχώς το ποσοστό αυτό αυξάνεται με το χρόνο. Η υπερθέρμανση του πλανήτη καθώς και φαινόμενα όπως η όξινη βροχή και η αιθαλομίχλη στις αναπτυσσόμενες και αναπτυσσόμενες χώρες σχετίζονται άμεσα με τη χρήση του πετρελαίου και των συμβατικών καυσίμων, ως βασική πηγή κάλυψης των ενεργειακών αναγκών τους (Okkerse & van Bekkum, 1998). Η καύση των συμβατικών καυσίμων ευθύνεται για το 73% της παραγωγής CO<sub>2</sub> (Wildenborg & Lokhorst, 2005), ενώ από την ατελή καύση τους παράγονται ταυτόχρονα και άλλα βλαβερά για το περιβάλλον και τον άνθρωπο αέρια, όπως CH<sub>4</sub>, SO<sub>2</sub>, τα N<sub>2</sub>O.

Επιπρόσθετα, στις μέρες μας το μεγαλύτερο ποσοστό της απαιτούμενης ενέργειας καλύπτεται από τη χρήση συμβατικών πηγών ενέργειας. Αναλυτικότερα, περίπου το 89% της παγκόσμιας παραγωγής ενέργειας προέρχεται από συμβατικές πηγές: 35% από αργό πετρέλαιο, 23% από φυσικό αέριο, 21% από τον άνθρακα, 9% από την ατομική (Demirbas, 2009). Ανάλογα με την παραγωγή και την κατανάλωσή τους, τα αποθέματα των συμβατικών καυσίμων υπολογίζεται ότι θα επαρκέσουν για 41 με 700 χρόνια ακόμα (Goldemberg, 2007). Αναλυτές εκτιμούν ότι η παγκόσμια κατανάλωση πετρελαίου θα συνεχίσει να αυξάνεται, με κορύφωση της παγκόσμιας παραγωγής του μεταξύ του 2010 και του 2020 (Kerr, 1998), ενώ μελέτες κάνουν λόγο για εξάντληση των παγκόσμιων αποθεμάτων μέχρι το 2050 (Saxena *et al.*, 2009). Ακόμα και όσοι υποστηρίζουν την επάρκεια του πετρελαίου για αρκετά χρόνια ακόμα, συμφωνούν ότι το κόστος για την εξόρυξή του και κατά συνέπεια η τιμή του αναμένεται να αυξηθεί (Ulgiati, 2001). Τα τελευταία χρόνια, οι τιμές του πετρελαίου αυξήθηκαν από 25\$ το βαρέλι το 2000 σε 94.86\$ το βαρέλι το 2011 (EIA-DOE, 2011).

Συνεπώς, οι κλιματικές αλλαγές σε συνδυασμό με την σταδιακή εξάντληση των αποθεμάτων των συμβατικών καυσίμων καθιστούν αναγκαία τη χρησιμοποίηση εναλλακτικών πηγών ενέργειας και τη χρήση εναλλακτικών καυσίμων (Chandel *et al.*, 2007). Η αντικατάσταση των συμβατικών καυσίμων με εναλλακτικά αναμφίλεκτα θα μείωνε τις εκπομπές των ρυπογόνων ουσιών που ευθύνονται για τις κλιματικές αλλαγές και τη μόλυνση του περιβάλλοντος, ικανοποιώντας ταυτόχρονα και τους στόχους για αγροτική ανάπτυξη (Pickett *et al.*, 2008). Οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας αποτελούν μόλις το 10.9% της

παγκόσμιας ενεργειακής παραγωγής (πετρέλαιο 37%, άνθρακας 22.1% και φυσικό αέριο 20.7%).



**Σχήμα 1: Μεριδίο των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας στην παγκόσμια κατανάλωση ενέργειας (United Nations Environment Programme)**

Από τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας περίπου το 50% σχετίζεται με την βιομάζα ενώ η γεωθερμική αποτελεί το 30.9% η αιολική το 18.9% και η ηλιακή το 1.1%. Η βιομάζα συνεισέφερε περίπου 1% της παγκόσμιας ηλεκτρικής ισχύς ρεύματος το 2006.

Παρόλα αυτά, η υποστήριξη της ανάπτυξης των βιοκαυσίμων σε πολλά κράτη ήρθε αντιμέτωπη με ανησυχίες για το περιβάλλον και την επάρκεια των τροφίμων. Η αλλαγή χρήσης των γεωργικών εκτάσεων για ενεργειακές καλλιέργειες έχει θεωρηθεί εν μέρει υπεύθυνη για την παγκόσμια έλλειψη τροφής και έχει συσχετιστεί με τις αυξανόμενες τιμές βασικών προϊόντων διατροφής όπως ο αραβόσιτος και το ρύζι (Sarath *et al.* 2008).

Το 1992 διοργανώθηκε η πρώτη Σύνοδος Κορυφής για το κλίμα στο Ρίο, από την οποία προέκυψε η Συνθήκη-Πλαίσιο του ΟΗΕ κατά των κλιματικών αλλαγών (FCCC). Πέντε χρόνια μετά, το 1997, συνήφθη το πρωτόκολλο του Κιότο στα πλαίσια της διεθνούς συνδιάσκεψης που πραγματοποιήθηκε στη Βραζιλία με θέμα το περιβάλλον. Επικυρώθηκε από περισσότερες από 160 χώρες και περιελάμβανε τα απαραίτητα βήματα για τη μακροπρόθεσμη αντιμετώπιση της αλλαγής του κλίματος λόγω της αύξησης των ανθρωπογενών εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου. Σύμφωνα με τις ρυθμίσεις του πρωτοκόλλου, οι βιομηχανικές χώρες συνολικά υποχρεούνται να μειώσουν τις εκπομπές των αερίων που ευθύνονται για τις κλιματικές αλλαγές κατά 5.2% μεταξύ 2008-2012 κατά μέσο όρο, σε σχέση με τα επίπεδα του 1990.

Επιπροσθέτως, το Μάιο 2003, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή υιοθέτησε την Οδηγία 2003/30/EK [EK, 2003] σχετικά με την προώθηση της χρήσης βιοκαυσίμων ή άλλων ανανεώσιμων καυσίμων για τις μεταφορές. Τα προτεινόμενα ποσοστά για τη διείσδυση των βιοκαυσίμων στις μεταφορές ξεκινούν από το 2% για το 2005 και φτάνουν το 5.75% για το 2010.

Στη Διεθνή Σύνοδο Κορυφής για το κλίμα στην Κοπεγχάγη επρόκειτο να αναζητηθεί μια νέα παγκόσμια συμφωνία για τη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, η οποία θα αντικαταστήσει και θα ενισχύσει τις δεσμεύσεις του πρωτοκόλλου του Κιότο που λήγει το 2012.

Δεν υπήρξε καμία δεσμευτική συμφωνία για βραχυπρόθεσμη, μέχρι το 2020, μείωση των εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) και δεν υπήρξε δεσμευτική συμφωνία ούτε για τη θέσπιση μακροπρόθεσμου στόχου μείωσης των εκπομπών, ενώ ο αρχικός στόχος ήταν να συμφωνηθεί μείωση 50% μέχρι το 2050. Τέλος, η "Συμφωνία της Κοπεγχάγης" δεν είναι δεσμευτική και απλώς "αναγνωρίζει" την ανάγκη να περιορισθεί η αύξηση της μέσης θερμοκρασίας στον πλανήτη σε λιγότερο από 2 βαθμούς Κελσίου.

Από την άλλη πλευρά, μπορούν να καταγραφούν τέσσερα σημεία στα οποία πράγματι κάτι άλλαξε με τη σύνοδο. Κατ' αρχήν για πρώτη φορά όλες οι χώρες που συμμετείχαν, σχεδόν όλες οι χώρες του κόσμου, δήλωσαν σε επίσημο κείμενο του ΟΗΕ ότι αναγνωρίζουν ως κοινό στόχο τους, τον περιορισμό της αύξησης της θερμοκρασίας στους 2 βαθμούς. Μια δεύτερη αλλαγή είναι ότι όλες οι ανεπτυγμένες χώρες, συμπεριλαμβανομένων των Ηνωμένων Πολιτειών, εντάχθηκαν στο ίδιο διεθνές πλαίσιο, σε μία συμφωνία που περιλαμβάνει επίσης "μέθοδο επαλήθευσης" της μείωσης των εκπομπών τους. Τρίτη καινοτομία είναι η δέσμευση των ανεπτυγμένων χωρών να συμβάλλουν με κονδύλια ύψους 30 δισεκατομμυρίων δολαρίων στη στήριξη μέτρων περιορισμού των ρύπων στις αναπτυσσόμενες χώρες μόνο για την περίοδο 2010-2012. Τέλος, από τη δική τους πλευρά οι αναπτυσσόμενες χώρες συμφώνησαν για πρώτη φορά να συμμετάσχουν στις προσπάθειες περιορισμού των κλιματικών αλλαγών και "έδειξαν πρόθυμες" να επιτρέψουν τη "διεθνή παρακολούθηση" των προσπαθειών τους (<http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+IM-PRESS+20091130FCS65642+0+DOC+XML+V0//EL>).

## 2. ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Η αιθανόλη είναι καύσιμο υψηλού αριθμού οκτανίων (υψηλότερου της βενζίνης) και με υψηλή περιεκτικότητα σε οξυγόνο με αποτέλεσμα να αυτοαναφλέγεται σε μεγαλύτερη συμπίεση από την βενζίνη επιτρέποντας στους κινητήρες να αποδίδουν μεγαλύτερη ισχύ. Επίσης δρα σημαντικά στην περιστολή της εκπομπής αερίων του θερμοκηπίου, ενδεικτικά η χρησιμοποίηση αιθανόλης από σακχαροκάλαμο στη θέση της βενζίνης, ως καύσιμο μεταφοράς, μειώνει τις εκπομπές των αερίων του θερμοκηπίου λίγο παραπάνω από 50% (Χριστακόπουλος & Τόπακας, 2010).

Η αιθανόλη αποδίδει πολύ καλά ως καύσιμο στα αυτοκίνητα, είτε σε καθαρή μορφή είτε ως μίγμα με βενζίνη. Το πιο συνηθισμένο μίγμα είναι αυτό που αποτελείται από 10% αιθανόλη και 90% βενζίνη (E10). Οι κινητήρες των συμβατικών οχημάτων δεν απαιτούν μετατροπή για να κινηθούν με E10, επιπλέον η χρήση E10 δεν έχει καμία επίπτωση στην εγγύηση του οχήματος. Μόνο ευέλικτα οχήματα μπορούν να κινηθούν με καύσιμο μίγμα 85% αιθανόλης και 15% βενζίνης (E85) (Hahn-Hagerdal *et al.*, 2006).

Η παγκόσμια παραγωγή αιθανόλης το 2010 σύμφωνα με τον RFA (Renewable Fuels Association) ανέρχεται στα 86.9 δισεκατομμύρια λίτρα, ενώ το 2000 ήταν 17 δισεκατομμύρια λίτρα, από τα οποία τα 50 δισεκατομμύρια λίτρα παράγονται στις ΗΠΑ, τα 26.2 δισεκατομμύρια λίτρα στην Βραζιλία, τα 4.45 δισεκατομμύρια λίτρα στην Ευρωπαϊκή Ένωση και περίπου 2

δισεκατομμύρια λίτρα από την Κίνα (<http://www.ethanolrfa.org/pages/how-ethanol-is-made>).

Η βιομηχανική παραγωγή βιοαιθανόλης στην ΕΕ ανήλθε το 2009 και κατ' εκτίμηση το 2010, στα 3.480 και 4.810 εκατομμύρια λίτρα, αντίστοιχα με σειρά μεγέθους παραγωγής τη Γερμανία, τις Κάτω Χώρες (Ολλανδία, Βέλγιο, Λουξεμβούργο), τη Γαλλία, την Ισπανία, το Ηνωμένο Βασίλειο, την Πολωνία, κ.ά., (Spencer et al., 2011)

### 3. ΒΙΟΜΑΖΑ

Ένα από τα πιο σημαντικά θέματα στην παραγωγή βιοαιθανόλης είναι η διαθεσιμότητα των πρώτων υλών, η οποία μπορεί να ποικίλλει σημαντικά από εποχή σε εποχή και εξαρτάται από τη γεωγραφική τοποθεσία. Οι συχνές μεταβολές της τιμής των πρώτων υλών επηρεάζουν και το κόστος της παραγωγής βιοαιθανόλης, καθώς το κόστος των πρώτων υλών αποτελεί περισσότερο από το 1/3 του συνολικού κόστους παραγωγής (Δόγερης Διδακτορική διατριβή ΕΒ, 2009).

#### 3.1. Πρώτες ύλες παραγωγής βιοαιθανόλης

Διαλυτοί (σάκχαρα) και αδιάλυτοι (άμυλο, κυτταρίνη) υδατάνθρακες, από διάφορες ανανεώσιμες φυτικές πρώτες ύλες όπως ζαχαροκάλαμο, ζαχαρότευτλα, μίσχανθο, γλυκό σόργο, αγριαγκινάρα, switchgrass, σιτάρι, κριθάρι, καλαμπόκι, κάνναβη, κενάφ, πατάτες, γλυκοπατάτες, μανιόκα, ηλίανθο, κ.ά. μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Την καταλληλότητα των υλών αυτών καθορίζουν οι τιμές και οι αποδόσεις τους σε βιοαιθανόλη.

Με βάση την πρώτη ύλη, η βιοαιθανόλη χαρακτηρίζεται ως *πρώτης* και *δεύτερης γενεάς*. Η πρώτη γενεάς παράγεται από σακχαρούχες και αμυλούχες πρώτες ύλες και η δεύτερης γενεάς από κυτταρινούχες και ημικυτταρινούχες (ξυλώδεις) πρώτες ύλες ορισμένων φυτών, γεωργικών και δασικών υπολειμμάτων και γεωργοβιομηχανικών παραπροϊόντων και αποβλήτων. Οι πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοαιθανόλης κατηγοριοποιούνται ως εξής:

*Σακχαρούχες πηγές:* όταν η πρώτη ύλη είναι φυτά σακχαρούχου σύστασης όπως σακχαρότευτλα, σακχαροκάλαμα και σόργο υπόκεινται, μετά από κατάλληλη φυσική προκατεργασία σε άμεση ζύμωση για την παραγωγή βιοαιθανόλης.

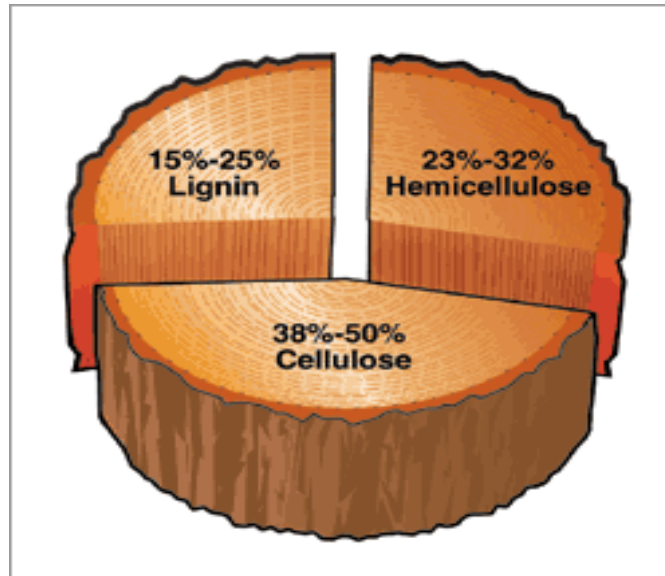
*Αμυλούχες πηγές:* όταν η πρώτη ύλη είναι ενεργειακά φυτά αμυλούχου σύστασης όπως οι σπόροι καλαμποκιού, σίτου και κριθής πριν το στάδιο της ζύμωσης προηγείται ένα στάδιο υδρόλυσης με την χρήση αμυλασών.

*Λιγνινοκυτταρινούχες πηγές:* Όταν η πρώτη ύλη είναι λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα στην οποία κατατάσσονται τα υπολείμματα της υλοτομίας, της γεωργίας, της βιομηχανίας τροφίμων, τα αστικά στερεά λύματα καθώς και οι ενεργειακές καλλιέργειες πριν το στάδιο της υδρόλυσης προηγείται το στάδιο χημικής ή φυσικής προκατεργασίας (Χριστακόπουλος & Τόπακας, 2010).



### 3.2. Λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα

Οι λιγνινοκυτταρινούχες πρώτες ύλες αποτελούν τον πιο άφθονο, ανανεώσιμο και φθηνό φυσικό πόρο στη Γη, αποτελώντας το 50% της παγκόσμιας βιομάζας. Οι πηγές λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας είναι δασικά και αγροτικά κατάλοιπα, υπολείμματα της βιομηχανίας τροφίμων και ενεργειακές καλλιέργειες, πηγές μη εδώδιμες, καθιστώντας το συγκεκριμένο κλάσμα της φυτικής βιομάζας ελκυστικό καθώς δεν ανταγωνίζεται τη βιομηχανία τροφίμων και επιπροσθέτως είναι αρκετά πιο φθηνό από τις σακχαρούχες-αμυλούχες πρώτες ύλες.



Εικόνα 2: Σύσταση λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας

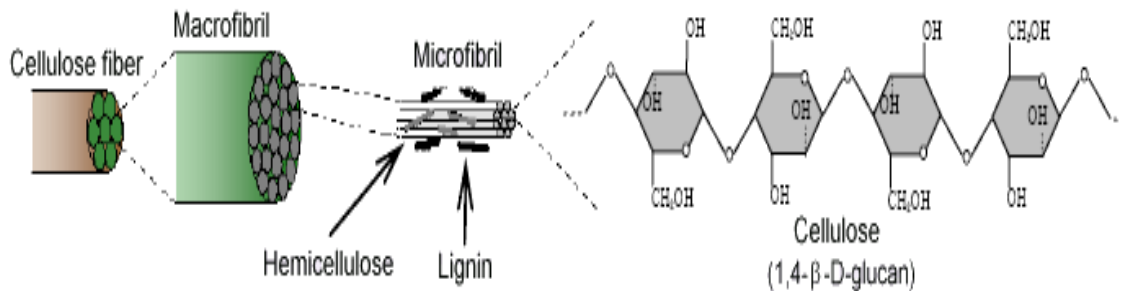
Τα κύρια συστατικά της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας είναι η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη. Γενικά η σύσταση της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας αποτελείται από 38-50% κυτταρίνη, 23-32% ημικυτταρίνη και 15-25% λιγνίνη (Δόγαρης Διδακτορική διατριβή ΕΒ,2009). Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζεται η σύσταση διαφόρων λιγνινοκυτταρινούχων πρώτων υλών.

**Πίνακας 1.** Σύσταση λιγνινοκυτταρινούχων υλικών (% , ξηρό β/β) (Δόγαρης Διδακτορική διτριβή ΕΒ,2009).

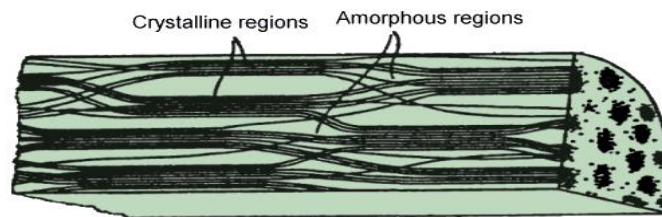
Πρώτη ύλη	Κυτταρίνη	Ημικυτταρίνη	Λιγνίνη
Λεύκα	44	22	26
Πεύκο	44	22	28
Switch grass	32	25	18
Φλοιός ρυζιού	36	15	19
Άχυρο σίτου	30	22	17
Άχυρο κριθαριού	40	20	15
Στέλεχος αραβόσιτου	38	30	23
Σπάδικας αραβόσιτου	42	39	14
Βαγάσση σόργου	40	36	4
Στέλεχος γλυκού σόργου	19	15	12

### 3.2.1. Κυτταρίνη

Η κυτταρίνη είναι ένα γραμμικό ομοπολυμερές από μονάδες D-γλυκόζης συνδεδεμένων με β-1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς και σχηματίζει ινίδια που προσδίδουν αντοχή στο φυτό (Σχήμα 3). Υδρογονικοί δεσμοί διευθετούν τις αλυσίδες κυτταρίνης σε παράλληλη επίπεδη διάταξη προκαλώντας ταυτόχρονα και το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου μεταξύ των παράλληλων επιπέδων κυτταρίνης δημιουργώντας έτσι κρυσταλλικές περιοχές (Σχήμα 4). Αυτές οι κρυσταλλικές περιοχές έχουν υψηλή ανθεκτικότητα σε μικροβιακή και ενζυμική αποικοδόμηση ενώ οι άμορφες περιοχές της κυτταρίνης υδρολύονται πολύ πιο γρήγορα (Taherzadeh *et al.* 2008).



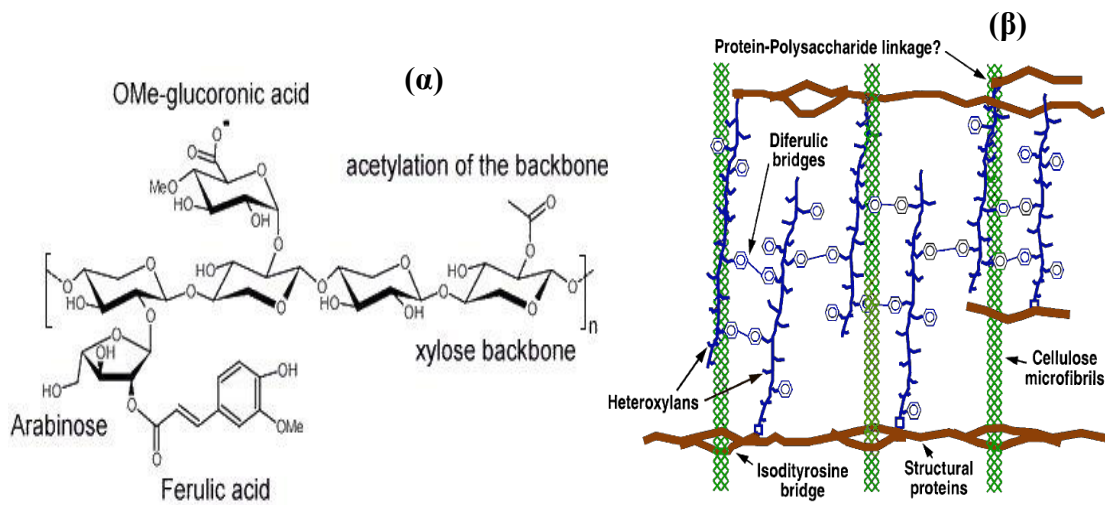
Σχήμα 3 : Δομή της κυτταρίνης (Taherzadeh *et al.*, 2008)



Σχήμα 4 : Απεικόνιση μικροϊνών κυτταρίνης σε άμορφες και κρυσταλλικές περιοχές (Panshin *et al.* 1980).

### 3.2.2. Ημικυτταρίνη

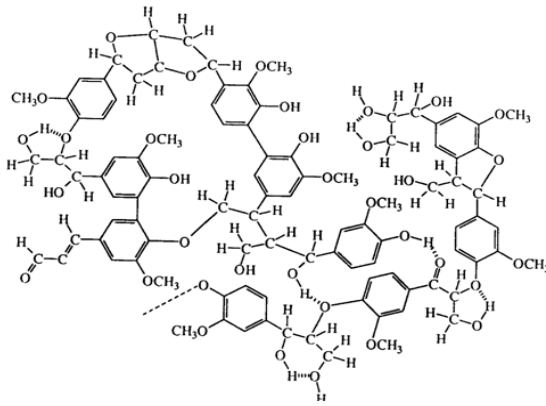
Η ημικυτταρίνη είναι ετεροπολυμερές που αποτελείται από πεντόζες (ξυλόζη, αραβινόζη), εξόζες (μαννόζη, γλυκόζη, γαλακτόζη) και ουρονικά οξέα. Το κυριότερο συστατικό της ημικυτταρίνης είναι η ξυλάνη η οποία αποτελεί το δεύτερο πιο άφθονο πολυσακχαρίτη μετά την κυτταρίνη και αποτελεί συνήθως την βασική αλυσίδα της ημικυτταρίνης (Σχήμα 5a). Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η ημικυτταρίνη δρα ως ένα φράγμα στην λιγνινοκυτταρινούχα μήτρα που περιορίζει την πρόσβαση των κυτταρινασών στην κυτταρίνη (Σχήμα 5β) (Kumar *et al.*, 2008).



**Σχήμα 5 :** (α) Βασική δομική σύνθεση της γλυκουρονοαραβινοξυλάνης (Hövel *et al.* 2003). (β) Απεικόνιση των δεσμών που σχηματίζονται μεταξύ των ξυλάνων και των μικροϊνιδίων κυτταρίνης στο κυτταρικό τοίχωμα ενός στελέχους (Saha *et al.* 2003)

### 3.2.3. Λιγνίνη

Η λιγνίνη, η οποία είναι άμορφη και αδιάλυτη στο νερό, είναι ένα δίκτυο αρωματικών πολυμερών με βασική δομική μονάδα το φαιυλοπροπάνιο συνδέεται ισχυρά με τα ινίδια κυτταρίνης και την ημικυτταρίνη, κυρίως με δεσμούς υδρογόνου αλλά και ομοιοπολικούς (Σχήμα 6). Είναι γενικά αποδεκτό ότι η λιγνίνη είναι η «κόλλα» που δένει την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη, προσδίδοντας ακαμψία και ανθεκτικότητα στην υγρασία στην δομή της λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας. Υδρολύεται δύσκολα κυρίως με αλκαλικά διαλύματα σε υψηλές θερμοκρασίες.



**Σχήμα 6:** Δομή τμήματος πολυμερούς λιγνίνης (Larson *et al.* 1994)

## 4. Βαγιάση σόργου

Από τις πιο υποσχόμενες ενεργειακές καλλιέργειες είναι το γλυκό σόργο (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), ένα C4 φυτό με υψηλές αποδόσεις βιομάζας και χαμηλές απαιτήσεις σε αζωτούχα λιπάσματα. Ο χρόνος ανάπτυξης του είναι περίπου 4 μήνες, είναι ανθεκτικό στην ξηρασία και το κρύο, προσαρμόζεται εύκολα και αναπτύσσεται γρήγορα. Το γλυκό σόργο θεωρείται εναλλακτική πρώτη ύλη για την παραγωγή ενέργειας στην Ευρωπαϊκή Ένωση, κυρίως λόγω των υψηλών αποδόσεων του σε βιομάζα και του υψηλού ποσοστού άμεσα ζυμώσιμων σακχάρων (9-25%) του χυμού του (Εικόνα 1).



**Εικόνα 2: Πειραματική καλλιέργεια γλυκού σόργου**

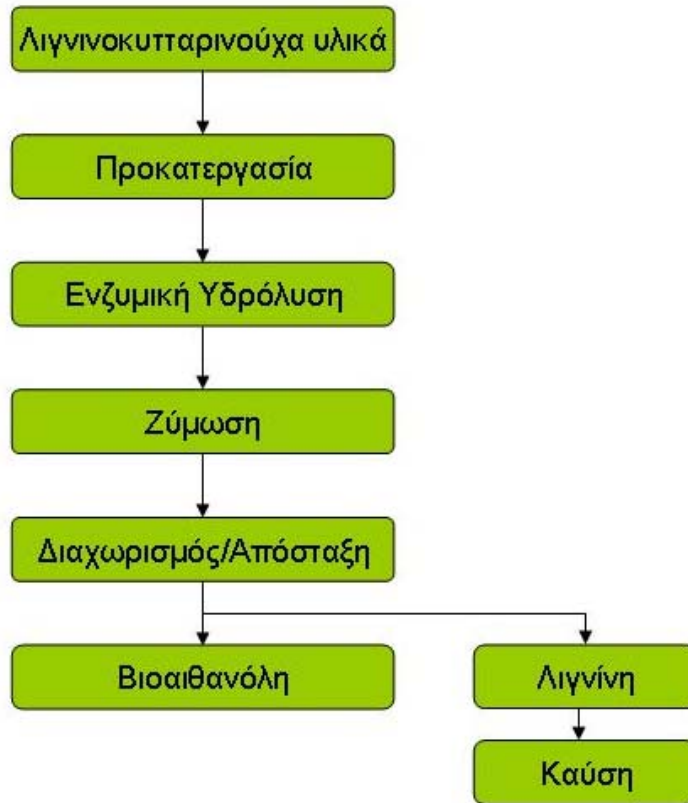
Παρόλα αυτά, η παραγωγή βιοαιθανόλης από το γλυκό σόργο παραμένει ακόμα σε αρχικό στάδιο, λόγω προβλημάτων στην αποθήκευση και την προκατεργασία του υλικού.

Η εξαγωγή των σακχάρων από τα στελέχη του γλυκού σόργου οδηγεί σε ένα λιγνινοκυτταρινούχο υπόλειμμα, τη βαγάσση σόργου που χρησιμοποιείται ως πηγή για παραγωγή βιοκαυσίμων, ως ζωοτροφή, ως οργανικό λίπασμα ή εναλλακτικά καίγεται για παροχή άμεσης ενέργειας. Η κυτταρίνη (~40%) και η ημικυτταρίνη (~36%) της βαγάσσης σόργου μπορούν να υδρολυθούν για να απελευθερώσουν σάκχαρα για την παραγωγή βιοαιθανόλης, ενώ το υπόλειμμα της λιγνίνης και άλλα συστατικά μπορούν να καούν για την παραγωγή ενέργειας (Δόγερης Διδακτορική διτριβή ΕΒ,2009).

## **5. Βιομετατροπή λιγνινοκυτταρινούχων υλικών σε βιοαιθανόλη**

Η βιομετατροπή λιγνινοκυτταρινούχων υλικών σε βιοαιθανόλη περιλαμβάνει τέσσερα στάδια: προκατεργασία, υδρόλυση, ζύμωση και τον διαχωρισμό/καθαρισμό των προϊόντων (Σχήμα 7).

Στο στάδιο της προκατεργασίας μεταβάλλεται η μακροσκοπική και μικροσκοπική δομή του υλικού ώστε το προκύπτον υλικό να καταστεί επιδεκτικότερο στην ενζυμική υδρόλυση (κυρίως με την απελευθέρωση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης από τη λιγνίνη). Στο στάδιο της υδρόλυσης πραγματοποιείται η μετατροπή των πολυμερών κυτταρίνης και ημικυτταρίνης σε άμεσα μεταβολίσιμα σάκχαρα (εξόζες, πεντόζες) κυρίως με την χρήση ενζύμων (κυτταρινάσες, ημικυτταρινάσες). Ακολουθεί το στάδιο της ζύμωσης των παραγόμενων σακχάρων σε βιοαιθανόλη με τη βοήθεια αιθανολοπαραγωγών μικροοργανισμών. Τέλος, η αιθανόλη ανακτάται με απόσταξη ενώ η εναπομένουσα λιγνίνη ανακτάται σαν παραπροϊόν είτε καίγεται για την παραγωγή θερμότητας ή ηλεκτρικής ενέργειας για την διαδικασία (Mosier *et al.* 2004).



Σχήμα 7: Στάδια βιομετατροπής λιγνινοκυτταρινούχων υλικών προς βιοαιθανόλη (Mosier *et al.* 2004).

## 5.1 Προκατεργασία Λιγνινοκυτταρινούχας Βιομάζας

### 5.1.1. Στόχος της προκατεργασίας

Με την προκατεργασία προκαλούνται ρωγμές και θραύση του υλικού, υδρολύεται η ημικυτταρίνη και η λιγνίνη υπόκειται σε δομικές αλλαγές που την αποδεσμεύουν από την κυτταρίνη με αποτέλεσμα τη μείωση της κρυσταλλικότητας και του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης και την αύξηση της ενεργής επιφάνειας του υλικού (Δόγαρης Διδακτορική διτριβή ΕΒ,2009).

Μία αποτελεσματική προκατεργασία οφείλει να οδηγεί σε απελευθέρωση ή να αυξάνει την απόδοση παραγωγής σακχάρων κατά την ενζυμική υδρόλυση, να διατηρεί τα κλάσματα των πεντοζών, να περιορίζει τον σχηματισμό προϊόντων αποικοδόμησης τα οποία αναστέλλουν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών ζύμωσης, να ελαχιστοποιεί τις ενεργειακές ανάγκες και περιορίζει το κόστος. Τα προαναφερθέντα σε συνδυασμό με χρήση καταλύτη χαμηλού κόστους ή ανακύκλωση του καταλύτη καθώς και αξιοποίηση του κλάσματος της λιγνίνης, δημιουργούν τη βάση σύγκρισης των διαφόρων τύπων προκατεργασίας (Mosier *et al.*, 2004). Τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των διαφόρων μεθόδων προκατεργασίας λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας καθώς και η επίδραση των μεθόδων αυτών στη δομή της παρουσιάζονται συνοπτικά στους Πίνακες 2 και 3 αντίστοιχα.

### 5.1.2. Μέθοδοι προκατεργασίας

Ένα πλήθος από διαφορετικές μεθόδους προκατεργασίας έχουν προταθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Μπορούν να διαχωριστούν σε τέσσερις διαφορετικές κατηγορίες : φυσικές (άλεσμα, ακτινοβόληση), χημικές (άλκαλι, αραιά οξέα, οξειδωτικά και οργανικοί διαλύτες), φυσικοχημικές (προκατεργασία με ατμό/ αυτοϋδρόλυση, υδροθερμόλυση και υγρή οξειδωση) και βιολογικές ή συνδυασμοί αυτών.

### 5.1.3. Φυσικές μέθοδοι προκατεργασίας

#### Μηχανικός κατακερματισμός

Στόχος της άλεσης είναι η τροποποίηση της δομής του λιγνινοκυτταρινούχου υλικού και η μείωση της κρυσταλλικότητας του καθιστώντας το περισσότερο επιδεκτικό στις κυτταρινάσες. Η άλεση και η μείωση του μεγέθους του υλικού είναι από τις πρώτες προκατεργασίες που εφαρμόστηκαν. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι αλέσματος όπως άλεση με κολλοειδή μύλο που είναι κατάλληλος για υλικά σε υγρή μορφή ή άλεση με σφαιρόμυλο ο οποίος είναι κατάλληλος για ξηρά υλικά. Η άλεση με σφαιρόμυλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στις δύο περιπτώσεις.

Χωρίς περαιτέρω προκατεργασία, κοτσάνια καλαμποκιού με μέγεθος 53-75 μm ήταν 1.5 φορές πιο παραγωγικά από ότι το μη αλεσμένο υλικό μεγέθους 425-710 μm (Taherzadeh *et al.*, 2008). Οι Sidiras & Koukios (1989) έδειξαν ότι μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης του αχύρου μετά από άλεση του υλικού σε σφαιρόμυλο οδήγησε σε ποσοστό σακχαροποίησης της τάξης του 50%.

Η άλεση είναι ενεργοβόρα διαδικασία γεγονός που την καθιστά οικονομικά ασύμφορη για εφαρμογή της σε βιομηχανική κλίμακα (Alvira *et al.*, 2009). Με τη διαδικασία άλεσης δεν απομακρύνεται η λιγνίνη του υλικού γεγονός που αποτελεί μειονέκτημα της συγκεκριμένης προκατεργασίας (Taherzadeh *et al.*, 2008).

#### Ακτινοβόληση

Η ακτινοβόληση με ακτίνες γ, δέσμη ηλεκτρονίων και μικροκύματα μπορούν να βελτιώσουν την ενζυμική υδρόλυση. Ο συνδυασμός της ακτινοβολίας με κάποια άλλη μέθοδο όπως η όξινη προκατεργασία μπορεί να επιταχύνει την ενζυμική υδρόλυση (Taherzadeh *et al.* 2008).

Μελέτες έχουν γίνει για την επίδραση της ακτινοβόλησης στην προκατεργασία της βαγάσσης πριν το στάδιο της ενζυμική υδρόλυσης. Η προκατεργασμένη βαγάσση είχε διπλάσια απόδοση γλυκόζης από ότι η ακατέργαστη. Η κυτταρίνη μπορεί να αποικοδομηθεί με την χρήση ακτινοβόλησης σε «ευάλωτες» ίνες, σε χαμηλού μοριακού βάρους ολιγοσακχαρίτες ακόμα και σε κελλοβιόζη. Αυτό αποδίδεται στη διάσπαση των γλυκοζιτικών δεσμών των κυτταρινικών αλυσίδων. Η μέθοδος αυτή ωστόσο είναι κατάλληλη για υλικά που υψηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη (Kumakura *et al.* 1983).

Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι υψηλού κόστους και υπάρχουν δυσκολίες στη βιομηχανική της εφαρμογή (Galbe *et al.* 2007).

Οι υπέρηχοι είναι μία προκατεργασία που εφαρμόζεται κυρίως στην παραγωγή βιοαερίου. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αποσύνθεση

ενεργούς ιλύος και λυμάτων υδατοκαλλιεργειών. Σε αυτή την μέθοδο, η ιλύς αποσυντίθεται και τα κυτταρικά τοιχώματα των βακτηρίων διαταράσσονται. Η πυκνότητα και ένταση των υπέρηχων, το pH της λάσπης και η συγκέντρωση της λάσπης επηρεάζουν την αποσύνθεση (Taherzadeh *et al.* 2008)

#### 5.1.4. Χημικές μέθοδοι προκατεργασίας

##### Αλκαλική προκατεργασία

Η επίδραση που έχουν ορισμένες βάσεις στην λιγνινοκυτταρινούχα βιομάζα είναι αρχή των αλκαλικών προκατεργασιών, οι οποίες είναι αποτελεσματικές αναλόγως του περιεχομένου σε λιγνίνη της βιομάζας. Η αλκαλική προκατεργασία αυξάνει την επιδεκτικότητα της κυτταρίνης σε ένζυμα, είναι αποτελεσματικότερη στην διαλυτοποίηση της λιγνίνης, εμφανίζει μικρά ποσοστά διαλυτοποίησης κυτταρίνης συγκριτικά με την όξινη προκατεργασία ή τις υδροθερμικές προκατεργασίες. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί χαμηλότερες θερμοκρασίες και πιέσεις σε σχέση με άλλες μεθόδους προκατεργασίας. Η αλκαλική προκατεργασία μπορεί να πραγματοποιείται σε συνθήκες περιβάλλοντος αλλά ο χρόνος προκατεργασίας κυμαίνεται από ώρες μέχρι και μέρες αντί για λεπτά ή δευτερόλεπτα.

Σε αντίθεση με την όξινη προκατεργασία εμφανίζεται ένας περιορισμός επειδή μια ποσότητα από τη βάση μετατρέπεται σε μη ανακτήσιμα άλατα ή ενσωματώνεται σαν άλατα στην βιομάζα. Η κατεργασία με NaOH προκαλεί την διόγκωση των πόρων του υλικού που οδηγεί σε αύξηση της εσωτερικής επιφάνειας επιτρέποντας έτσι την διείσδυση μορίων νερού σε εσωτερικά στρώματα και στην διάσπαση των δεσμών μεταξύ της ημικυτταρίνης και υδρογονανθράκων της λιγνίνης, σε μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης και στην διαταραχή της δομής της λιγνίνης. Επιπροσθέτως, η αλκαλική προκατεργασία απομακρύνει διάφορους υποκαταστάτες της ημικυτταρίνης που μειώνουν την προσβασιμότητα των ενζύμων στην επιφάνεια της ημικυτταρίνης και της κυτταρίνης. Λαμβάνοντας υπόψη οικονομικά και περιβαλλοντικά κριτήρια η κατεργασία με αραιό NaOH είναι καταλληλότερη από ότι η κατεργασία με πυκνό NaOH. Ο συνδυασμός αλκαλικής προκατεργασίας με άλλες φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικός. Για παράδειγμα, σε προκατεργασία κοτσανιών καλαμποκιού με προσθήκη αραιού NaOH (2%) σε συνδυασμό με ακτινοβόληση (500 kGy) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης σε γλυκόζη από 20% σε 43%.

Αλκαλικές συνθήκες εφαρμόζονται σε συνδυασμό με οξειδωτικές συνθήκες, στην υγρή προκατεργασία οξειδωσης. Στην μέθοδο αυτή το υλικό κατεργάζεται, υπό αλκαλικές συνθήκες, με υπέρθερμο νερό (185°C) το οποίο διατηρείται υγρό σε υψηλές πιέσεις. Προστίθεται οξυγόνο το οποίο θεωρείται ότι διευκολύνει την απομάκρυνση της λιγνίνης και ημικυτταρίνης αφήνοντας ένα καθαρό και χαμηλό σε κρυσταλλικότητα κλάσμα κυτταρίνης το οποίο έχει υψηλή επιδεκτικότητα σε ένζυμα και χωρίς τον σχηματισμό αποτελεσματικών παρεμποδιστών αιθανόλης (Alvira *et al.* 2009, Balat *et al.* 2008, Hayes 2009)

##### Όξινη προκατεργασία

Ο κύριος στόχος της όξινης προκατεργασίας είναι η διαλυτοποίηση του κλάσματος ημικυτταρίνης της βιομάζας και η αύξηση της επιδεκτικότητας της κυτταρίνης σε ένζυμα. Σε αυτού του είδους η προκατεργασία μπορεί να

χρησιμοποιηθεί και πυκνό και αραιό οξύ αλλά το πυκνό οξύ είναι λιγότερο ελκυστικό όταν πρόκειται για παραγωγή αιθανόλης εξαιτίας του σχηματισμού παρεμποδιστών. Επιπλέον, με τη χρησιμοποίηση πυκνών οξέων στην προκατεργασία η ανάκτηση του οξέος καθώς και προβλήματα διάβρωσης του εξοπλισμού είναι σημαντικά μειονεκτήματα. Τα υψηλό λειτουργικό κόστος και το υψηλό κόστος συντήρησης είναι ανασταλτικοί παράγοντες στην εφαρμογή της όξινης προκατεργασίας με την χρησιμοποίηση πυκνών οξέων σε εμπορική κλίμακα.

Καταλληλότερη μέθοδος για βιομηχανικές εφαρμογές είναι η προκατεργασία με την χρήση αραιού οξέος (κυρίως θειικού οξέος). Μπορεί να πραγματοποιηθεί σε υψηλές θερμοκρασίες (180°C) για μικρό χρονικό διάστημα ή σε χαμηλές θερμοκρασίες (120 °C) για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα (30-90 min). Γενικά, υψηλότερες θερμοκρασίες προκατεργασίας και μικρότερη χρόνοι παραμονής έχουν ως αποτέλεσμα υψηλότερα ποσοστά ανάκτησης ξυλόζης. Εκτός από την διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης αυτή η μέθοδος έχει το πλεονέκτημα της μετατροπής της διαλυμένης ημικυτταρίνης σε ζυμώσιμα σάκχαρα. Ωστόσο ανιχνεύονται ενώσεις από την αποικοδόμηση σακχάρων (όπως η φουρφουράλη) τα οποία στο στάδιο της ζύμωσης επηρεάζουν τον μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Ένα άλλο ζήτημα με την χρησιμοποίηση οξέων είναι η ρυθμιστική ικανότητα του υλικού και η χρήση προσθέτων που θα εξουδετερώσουν την οξύτητα του μίγματος πριν την υδρόλυσή του.

Επιπροσθέτως, πρέπει να επισημανθεί και η επίδραση που έχει η όξινη προκατεργασία στην κυτταρίνη. Μερικές άμορφες περιοχές της κυτταρίνης είναι πιθανόν να υδρολυθούν με αποτέλεσμα την μείωση του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης (Alvira *et al.* 2009)

#### Προκατεργασία με άλλους διαλύτες

Το όζον, το υπεροξειδίο του υδρογόνου, η γλυκερόλη και η φαινόλη είναι μερικοί διαλύτες που έχουν δείξει ότι μπορεί να συνεισφέρουν στην μείωση της κρυσταλλικότητας και του βαθμού πολυμερισμού της κυτταρίνης.

Το όζον είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό που συνεισφέρει αποτελεσματικά στην απολιγνινοποίηση του υλικού. Η απομάκρυνση της λιγνίνης αυξάνει την απόδοση του ακολουθούμενου σταδίου, της ενζυμικής υδρόλυσης. Η προκατεργασία πραγματοποιείται σε θερμοκρασία και πίεση δωματίου και δεν οδηγεί στον σχηματισμό παρεμποδιστών που μπορεί να επηρεάσουν τα στάδια της υδρόλυσης και της ζύμωσης. Ωστόσο, παρά τα πλεονεκτήματα αυτής δεν έχει γίνει περαιτέρω έρευνα γιατί οι μεγάλες ποσότητες όζοντος που απαιτούνται καθιστούν τη διεργασία οικονομικά ασύμφορη.

Η χρησιμοποίηση των ιοντικών υγρών (ILs) στην προκατεργασία της λιγνινοκυτταρινούχου βιομάζας έλαβε πρόσφατα πολλή προσοχή. Τα ILs είναι άλατα τα οποία αποτελούνται από ένα μεγάλο οργανικό κατιόν και ένα μικρό ανόργανο ανιόν και τα οποία είναι σε υγρή μορφή σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (συνήθως σε θερμοκρασία δωματίου). Αυτοί οι διαλύτες έχουν χημική και θερμική σταθερότητα, δεν είναι εύφλεκτοι, έχουν χαμηλή τάση ατμών και παραμένουν υγροί σε ένα ευρύ εύρος θερμοκρασιών. Αφού δεν σχηματίζονται τοξικά ή εκρηκτικά αέρια τα ILs καλούνται «πράσινοι» διαλύτες. Τα ILs σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των άνυδρων ιόντων χλωρίου του IL και των πρωτονίων του υδροξυλίου των σακχάρων σε στοιχειομετρία



1:1 με αποτέλεσμα να διαταράσσεται αποτελεσματικά το περίπλοκο δίκτυο των πολυμερών κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης ενώ ελαχιστοποιείται ο σχηματισμός αποικοδομήσιμων προϊόντων. Για την εφαρμογή τους σε βιομηχανική κλίμακα περαιτέρω έρευνα πρέπει να διεξαχθεί για την μείωση του κόστους της διεργασίας, αφού οι ILs είναι ακριβοί και δεν έχουν αναπτυχθεί ακόμη αποτελεσματικές μέθοδοι για την ανάκτησή τους. Επίσης, τεχνικές πρέπει να αναπτυχθούν για την ανάκτηση της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης από το διάλυμα μετά την απομάκρυνση της κυτταρίνης (Alvira *et al.* 2009, Hayes 2009).

#### Προκατεργασία με οργανικούς διαλύτες (organosolv)

Σε αυτή την προκατεργασία μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα οργανικά ή υδατικά διαλύματα όπως μεθανόλη, αιθανόλη, ακετόνη, γλυκόλη και τετραϋδροφουρφυρουλική αλκοόλη με σκοπό την διαλυτοποίηση της λιγνίνης και την παραγωγή προκατεργασμένης κυτταρίνης καταλληλότερη για ενζυμική υδρόλυση. Σε σύγκριση με άλλες χημικές μεθόδους το σημαντικότερο πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η ανάκτηση σχετικά καθαρής λιγνίνης σαν παραπροϊόν.

Σε διάφορες μελέτες αυτά τα διαλύματα συνδυάστηκαν με την δράση όξινων καταλυτών (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, οξαλικό ή σαλικυλικό οξύ) για την διάσπαση των ημικυτταρινικών δεσμών. Μπορεί να επιτευχθεί υψηλή απόδοση ανάκτησης ξυλόζης με την προσθήκη κάποιου οξέος.

Αυτή η μέθοδος μπορεί να συνδυαστεί με όξινη υδρόλυση για τον διαχωρισμό της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης σε έναν κλασματικό διαχωρισμό δύο σταδίων (το στάδιο της όξινης υδρόλυσης προηγείται του σταδίου προκατεργασίας με οργανικούς διαλύτες). Έχει επιτευχθεί υψηλή απομάκρυνση λιγνίνης (70%) και μικρή απώλεια κυτταρίνης (μικρότερη από 2%).

Η απομάκρυνση των διαλυτών είναι απαραίτητη χρησιμοποιώντας κατάλληλες μεθόδους διαχωρισμού όπως εξάτμιση και συμπύκνωση και ανακυκλώνονται έτσι ώστε να μειώσουν το λειτουργικό κόστος. Οι διαλύτες πρέπει να διαχωρίζονται γιατί μπορεί να δρουν σαν παρεμποδιστές στην ενζυμική υδρόλυση και στην ζύμωση. Η υψηλή εμπορική αξία των διαλυτών είναι ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας που πρέπει να εξεταστεί για την εφαρμογή αυτή της μεθόδου σε βιομηχανική κλίμακα (προτιμούνται αλκοόλες με χαμηλό μοριακό βάρος και με χαμηλό σημείο βρασμού όπως η αιθανόλη και η μεθανόλη) (Alvira *et al.* 2009).

#### *5.1.5. Φυσικοχημική προκατεργασία*

##### Προκατεργασία με έκρηξη ατμού (steam explosion)- Έκρηξη ατμού με προσθήκη SO<sub>2</sub>

Είναι μία υδροθερμική προκατεργασία στην οποία το υλικό υπόκειται σε συμπίεμένο ατμό για ένα χρονικό διάστημα (από δευτερόλεπτα μέχρι και λεπτά) και μετά απότομα αποσυμπιέζεται. Το υλικό που προκύπτει είναι πιο επιδεκτικό σε ενζυμική υδρόλυση εξαιτίας της υδρόλυσης της ημικυτταρίνης (η οποία καταλύεται από το οξικό και άλλα οξέα τα οποία απελευθερώνονται από τον ατμό και επίσης και το νερό δρα καταλυτικά σαν οξύ σε υψηλές θερμοκρασίες). Σε συνδυασμό με την υδρόλυση και την διαλυτοποίηση της

ημικυτταρίνης, η λιγνίνη απομακρύνεται μέχρι ένα βαθμό. Η απομάκρυνση της ημικυτταρίνης αυξάνει την ενεργή επιφάνεια της κυτταρίνης και αυξάνει την προσβασιμότητα των ενζύμων στα ινίδια κυτταρίνης. Τα πλεονεκτήματα αυτής της διεργασίας σχετικά με άλλες προκατεργασίες είναι: λιγότερες περιβαλλοντικές επιπτώσεις, χαμηλότερο κεφάλαιο επένδυσης, περισσότερες δυνατότητες για ενεργειακή αποδοτικότητα, πλήρης ανάκτησης των σακχάρων και λιγότερες επικίνδυνες διεργασίες με χημικά. Ωστόσο, με την προσθήκη όξινου καταλύτη η επιδεκτικότητα της κυτταρίνης σε ένζυμα αυξάνεται, η υδρόλυση της ημικυτταρίνης βελτιώνεται και, ανάλογα με την θερμοκρασία, ο σχηματισμός προϊόντων αποικοδόμησης μειώνεται.

Με σκοπό να μεγιστοποιηθεί η ανάκτηση των σακχάρων έχει προταθεί μία μέθοδος προκατεργασίας σε δύο στάδια. Στο πρώτο, η προκατεργασία πραγματοποιείται σε χαμηλή θερμοκρασία ώστε να διαλυτοποιηθεί το κλάσμα της ημικυτταρίνης και το κλάσμα της κυτταρίνης υπόκειται, στο δεύτερο στάδιο της προκατεργασίας, σε θερμοκρασίες άνω των 210°C. Με αυτόν τον τρόπο προκύπτουν υψηλότερες αποδόσεις αιθανόλης και στην ενζυμική υδρόλυση απαιτούνται μικρότερες ποσότητες ενζύμων. Τα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι η μερική αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης και η παραγωγή μερικών τοξικών ενώσεων (ανάλογα με την πρώτη ύλη και τις συνθήκες της προκατεργασίας) που μπορεί να επηρεάσουν τα στάδια της υδρόλυσης και της ζύμωσης. Οι κυριότεροι παρεμποδιστές είναι παράγωγα φουρανίου, φαινολικές ενώσεις και ασθενή οξέα.

Η φουρφουράλη και η 5-υδροξυμεθυλοφουρφουράλη είναι τα κύρια παράγωγα του φουρανίου τα οποία σχηματίζονται από την αποικοδόμηση των πεντοζών και των εξοζών, αντίστοιχα. Και τα δύο θεωρούνται ότι παρατείνουν την λανθάνουσα φάση στο στάδιο της ζύμωσης.

Τα ασθενή οξέα που σχηματίζονται κατά την διάρκεια της προκατεργασίας είναι κυρίως οξικά οξέα που προέρχονται από το κλάσμα της ημικυτταρίνης και οξέα όπως το μυρμηκικό που προέρχεται από περαιτέρω αποικοδόμηση της φουρφουράλης. Οι φαινολικές ενώσεις που σχηματίζονται προέρχονται από την διάσπαση της λιγνίνης και ποικίλλουν ανάλογα με την πρώτη ύλη (Alvira *et al.* 2009, Hayes 2009).

Η έκρηξη ατμού μπορεί να πραγματοποιηθεί με την προσθήκη διοξειδίου του θείου με σκοπό την βελτίωση της ανάκτησης των κλασμάτων κυτταρίνης και ημικυτταρίνης. Η προκατεργασία πραγματοποιείται με την προσθήκη διαλύματος SO<sub>2</sub> περιεκτικότητας 1-4%(w/w υποστρώματος) σε θερμοκρασίες 160-230 °C για 10 λεπτά (Eklund *et al.* 1995). Ο Eklund (1995) μελέτησε την προκατεργασία ιτιάς με την προσθήκη SO<sub>2</sub> ή H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> με σκοπό την ανάκτηση της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης. Η μέγιστη απόδοση γλυκόζης, 95%, επιτεύχθηκε με την χρησιμοποίηση διαλύματος 1% SO<sub>2</sub> σε θερμοκρασία 200°C. Ωστόσο η ανάκτηση της ξυλόζης με την προσθήκη SO<sub>2</sub> δεν ήταν τόσο υψηλή όσο με την προκατεργασία με αραιό θειικό οξύ ( Taherzadeh *et al.* 2008).

#### Υδροθερμόλυση (hydrothermolysis, liquid hot-water treatment)

Αυτή η κατεργασία είναι μία υδροθερμική κατεργασία που δεν απαιτεί ραγδαία αποσυμπίεση και δεν χρησιμοποιεί κανένα καταλύτη ή χημικό. Πίεση εφαρμόζεται για την διατήρηση του νερού σε υγρή μορφή σε υψηλές

θερμοκρασίες (160-240°C) και προκαλεί μετατροπές στη δομή του λιγνινοκυτταρινούχο υλικού. Ο στόχος αυτής της προκατεργασίας είναι η διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης, η αύξηση της προσβασιμότητας της κυτταρίνης και η αποφυγή του σχηματισμού παρεμποδιστών. Το μίγμα που προκύπτει μετά την προκατεργασία μπορεί να φιλτραριστεί για την ανάκτηση δύο κλασμάτων : ένα στερεό κλάσμα πλούσιο σε κυτταρίνη και ένα υγρό κλάσμα πλούσιο σε σάκχαρα που προέρχονται από την ημικυτταρίνη (κυρίως ξυλόζη). Για την αποφυγή του σχηματισμού παρεμποδιστών το pH πρέπει να διατηρείται στο 4-7. Η προκατεργασία με θερμό νερό απομακρύνει μέχρι και το 80% της ημικυτταρίνης και ενισχύει την επιδεκτικότητα του υλικού σε ένζυμα. Η λιγνίνη αποπολυμερίζεται και διαλυτοποιείται μερικώς κατά την προκατεργασία αλλά η απολιγνινοποίηση μόνο με θερμό νερό δεν είναι δυνατή εξαιτίας της ανασυμπύκνωσης διαλυτών ενώσεων που προέρχονται από τη λιγνίνη.

Γενικά, η προκατεργασία με θερμό νερό είναι ελκυστική εξαιτίας του χαμηλού κόστους της : δεν απαιτείται καταλύτης και το κόστος κατασκευής και συντήρησης είναι χαμηλό αφού υπάρχει χαμηλός κίνδυνος για διάβρωση. Έχει επίσης το μεγάλο πλεονέκτημα της μειωμένης συγκέντρωσης αποικοδομήσιμων προϊόντων και αυτό οφείλεται στο ότι τα διαλυμένα προϊόντα της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση εξαιτίας των υψηλών ποσοτήτων νερού που χρησιμοποιούνται . Ωστόσο, αυτή η διεργασία απαιτεί υψηλές ποσότητες νερού και περισσότερη ενέργεια από ότι διεργασίες που όπως η προκατεργασία με εκτόνωση ατμού (Alvira *et al.* 2009, Hayes 2009).

#### Υγρή προκατεργασία οξειδωσης

Η υγρή προκατεργασία οξειδωσης είναι μία οξειδωτική μέθοδος προκατεργασίας που χρησιμοποιεί οξυγόνο ή αέρα ως καταλύτη. Η προκατεργασία πραγματοποιείται για 10-15 λεπτά σε θερμοκρασίες 170-200°C και σε πιέσεις 10-12 bar οξυγόνου. Η προσθήκη οξυγόνου σε θερμοκρασίες πάνω από 170 °C καθιστά τη διεργασία εξώθερμη μειώνοντας τις ενεργειακές δαπάνες. Οι κύριες αντιδράσεις στην υγρή προκατεργασία οξειδωσης είναι ο σχηματισμός οξέων από τις υδρολυτικές διαδικασίες και οι οξειδωτικές αντιδράσεις. Αυτή η μέθοδος είναι αποτελεσματική για την διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης αλλά είναι κατάλληλη για υλικά χαμηλής περιεκτικότητας σε λιγνίνη, αφού η απόδοση δείχνει να μειώνεται όταν αυξάνεται η περιεκτικότητα σε λιγνίνη και αφού ένα μεγάλο μέρος της λιγνίνης οξειδώνεται και διαλύεται. Επιπλέον, το κόστος του οξυγόνου θεωρείται ότι είναι το σημαντικότερο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου (Mats Galbe *et al.* 2007, P. Alvira *et al.* 2009).

#### Εκτόνωση ίνας με αμμωνία (Ammonia fiber explosion, AFEX)

Σε αυτή την προκατεργασία το υλικό κατεργάζεται με υγρή άνυδρη αμμωνία σε θερμοκρασίες 60-100°C και σε υψηλές πιέσεις (άνω των 3 Mpa) για διάφορα χρονικά διαστήματα (10-60 λεπτά). Περίπου 2 kg αμμωνίας απαιτούνται ανά kg ξηρής βιομάζας. Σε αυτήν την μέθοδο πραγματοποιείται εκτονωτική αποσυμπύκνωση με αποτέλεσμα την ραγδαία διαστολή της αμμωνίας (σε αέρια φάση) που προκαλεί την διόγκωση των πόρων του υλικού, την

**Πίνακας 2.** Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα κάθε μεθόδου προκατεργασίας λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας (*Alvira et al. 2009*).

<b>Μέθοδος προκατεργασίας</b>	<b>Πλεονεκτήματα</b>	<b>Μειονεκτήματα</b>
Βιολογική	- Αποικοδόμηση λιγνίνης και ημικυτταρίνης - Χαμηλή ενεργειακή κατανάλωση	- Χαμηλός ρυθμός υδρόλυσης
Άλεση	- Μείωση κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης	- Υψηλή κατανάλωση ισχύος και ενέργειας
Έκρηξη ατμού	- Προκαλεί μετατροπή της λιγνίνης και διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης - Υψηλότερη απόδοση γλυκόζης και ημικυτταρίνης στη διαδικασία δύο σταδίων - Οικονομικά αποδοτική	- Σχηματισμός τοξικών ενώσεων - Μερική υποβάθμιση της ημικυτταρίνης
AFEX	- Αύξηση της ενεργής επιφάνειας - Χαμηλός σχηματισμός παρεμποδιστών	- Μη αποτελεσματική σε πρώτες ύλες με υψηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη - Υψηλό κόστος (απαιτούνται υψηλές ποσότητες αμμωνίας)
Έκρηξη CO <sub>2</sub>	- Αύξηση της ενεργής επιφάνειας - Οικονομικά αποδοτική - Δεν δημιουργούνται τοξικές ενώσεις	- Δεν επηρεάζει την λιγνίνη και την ημικυτταρίνη - Πολύ υψηλή απαιτούμενη πίεση
Υγρή οξειδωση	- Αποτελεσματική απομάκρυνση της λιγνίνης - Χαμηλός σχηματισμός παρεμποδιστών - Ελαχιστοποιεί την απαιτούμενη ενέργεια (εξώθερμη)	- Υψηλό κόστος του οξυγόνου και του αλκαλικού καταλύτη
Οζονόλυση	- Μειώνει την περιεκτικότητα σε λιγνίνη - Δεν δημιουργούνται τοξικές ενώσεις	- Υψηλό κόστος (απαιτείται υψηλές ποσότητες όζοντος)
Organosolv	- Προκαλεί υδρόλυση της ημικυτταρίνης και λιγνίνης	- Υψηλό κόστος - Οι διαλύτες πρέπει να στραγγιστούν και να ανακυκλωθούν
Πυκνό οξύ	- Υψηλή απόδοση σε γλυκόζη - Θερμοκρασία περιβάλλοντος	- Υψηλό κόστος του οξέος και της ανάκτηση του - Προβλήματα διάβρωσης στον αντιδραστήρα - Σχηματισμός παρεμποδιστών
Αραιό οξύ	- Λιγότερα προβλήματα διάβρωσης από αυτά του πυκνού οξέος - Χαμηλότερος σχηματισμός παρεμποδιστών από αυτού του πυκνού οξέος	- Σχηματισμός προϊόντων αποικοδόμησης - Χαμηλή συγκέντρωση σακχάρων στον ρεύμα εξόδου

**Πίνακας 3.** Επίδραση των διαφόρων τεχνολογιών προκατεργασίας στην δομή της λιγνινοκυτταρινούχο υλικού (*Alvira et al. 2009*).

	Άλεση	Έκρηξη ατμού	LHW	Οξύ	Άλκαλι	Οξειδωση	AFEX	ARP	LIME	Έκρηξη CO <sub>2</sub>
Αύξηση της ενεργής επιφάνειας	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Αποκρυστάλωση της κυταρίνης	H	-	n.d.	-	-	n.d.	H	H	n.d.	-
Διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης	-	H	H	H	L	-	M	M	M	H
Απομάκρυνση λιγνίνης	-	H	L	M	M	M	H	H	H	-
Σχηματισμός τοξικών ενώσεων	-	H	L	H	L	L	L	M	M	-
Αλλαγή στην δομή της λιγνίνης	-	H	M	H	H	M	H	H	H	-

H: υψηλή επίδραση, M: μέτρια επίδραση, L: μικρή επίδραση, n.d: δεν έχει καθοριστεί

μηχανική διαταραχή των ινών του υλικού και μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης. Να σημειωθεί ότι σε αντίθεση με άλλες μεθόδους, το προκατεργασμένο υλικό που προκύπτει με αυτή τη διεργασία είναι στερεό. Κατά την διεργασία μόνο ένα μικρό μέρος του στερεού υλικού διαλυτοποιείται, κυρίως ημικυτταρίνη και λιγνίνη. Η ανάκτηση και η ανακύκλωση της αμμωνίας είναι εφικτή εξαιτίας της υψηλής της πτητικότητας όμως η πολυπλοκότητα και το κόστος για αυτές τις διεργασίες είναι σημαντικά. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι δεν παρατηρείται σχηματισμός παρεμποδιστών. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος είναι περισσότερο αποτελεσματική σε υλικά με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιγνίνη.

Ένας άλλος τύπος διεργασίας που χρησιμοποιεί αμμωνία είναι η μέθοδος της ανακύκλωσης και διήθησης της αμμωνίας (*ammonia recycle percolation*). Σε αυτή την διεργασία υδατική αμμωνία διαπερνά τη βιομάζα σε αυξανόμενες θερμοκρασίες (140-210°C) με την αμμωνία να ανακτάται αργότερα. Αυτή η μέθοδος είναι αποτελεσματική στην απομάκρυνση της λιγνίνης (κυρίως σε αγροτικά υπολείμματα) στην διαλυτοποίηση της ημικυτταρίνης διατηρώνοντας ανέπαφο το κλάσμα της κυτταρίνης (Galbe *et al.*, 2007, Alvira *et al.*, 2009).

#### Προκατεργασία με χρήση μικροκυμάτων

Σε αυτήν την μέθοδο το υλικό επεξεργάζεται με αραιά χημικά διαλύματα και στη συνέχεια το μίγμα ακτινοβολούνται με μικροκύματα για χρόνο που κυμαίνονται από 5 μέχρι και 20 λεπτά. Ο Zhu (2006) έδειξε ότι η χρήση αλκαλικών διαλυμάτων είναι κατάλληλη για αυτή την μέθοδο προκατεργασίας. Το πιο αποτελεσματικό αλκαλικό διάλυμα αποδείχτηκε ότι ήταν το NaOH (Alvira *et al.*, 2009).

#### Έκρηξη CO<sub>2</sub>

Αυτή η μέθοδος προκατεργασίας βασίζεται στην χρησιμοποίηση του διοξειδίου του άνθρακα ως υπερκρίσιμου ρευστού δηλαδή ενός ρευστού που είναι σε αέρια μορφή που όμως έχει συμπιεστεί σε θερμοκρασίες πάνω από το κρίσιμο σημείο του με αποτέλεσμα η πυκνότητά του να είναι σαν υγρού ρευστού. Οι συνθήκες που απαιτούνται για να φτάσει το ρευστό σε υπερκρίσιμη κατάσταση απομακρύνουν αποτελεσματικά την λιγνίνη. Η προσθήκη διαλυμάτων όπως η αιθανόλη βελτιώνει την απολιγνινοποίηση. Σε υδατικά διαλύματα τα το CO<sub>2</sub> σχηματίζει οργανικά οξέα τα οποία ευνοούν το μετέπειτα στάδιο της υδρόλυσης. Το μέγεθος των μορίων CO<sub>2</sub> είναι ισοδύναμο με το μέγεθος των μορίου νερού και αμμωνίας και μπορούν να εισχωρήσουν με τον ίδιο τρόπο στους πόρους του υλικού. Αυτός ο μηχανισμός διευκολύνεται από τις υψηλές πιέσεις που χρησιμοποιούνται σε αυτή τη μέθοδο. Μετά την εκτονωτική αποσυμπίεση του CO<sub>2</sub> επέρχεται διαταραχή στη δομή της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης με αποτέλεσμα την αύξηση της ενεργής επιφάνειας του υλικού. Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους αυτή η μέθοδος λειτουργεί σε χαμηλές θερμοκρασίες και ως εκ τούτου δεν παρατηρείται αποικοδόμηση μονοσακχαριτών αλλά σε σύγκριση με την έκρηξη ατμού ή την έκρηξη αμμωνίας οι αποδόσεις των σακχάρων που ανακτούνται είναι χαμηλότερες. Επίσης απαιτούνται ιδιαίτερα υψηλές πιέσεις. Ωστόσο είναι οικονομικά αποδοτικότερο από την προκατεργασία με έκρηξη

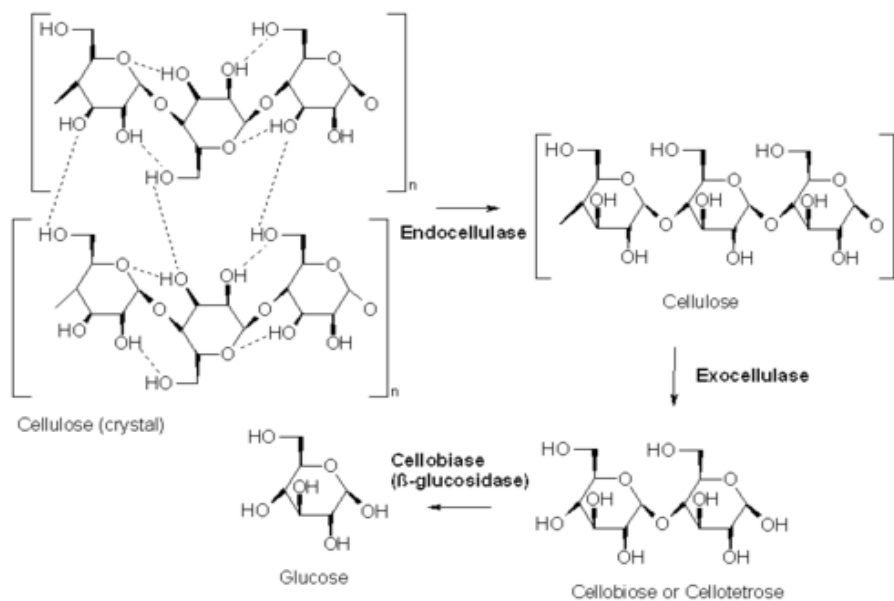
αμμωνίας και έχει χαμηλότερο σχηματισμό παρεμποδιστών από την προκατεργασία με έκρηξη ατμού. Επίσης η χρησιμοποίηση του CO<sub>2</sub> είναι ελκυστική εναλλακτική για την μείωση του κόστους αφού είναι παράγεται ούτως ή άλλως στο στάδιο της ζύμωσης. Άλλα πλεονεκτήματα του CO<sub>2</sub> είναι ότι είναι μη τοξικό, μη εύφλεκτο και ανακτάται εύκολα (Alvira *et al.*, 2009).

#### 5.1.6. Βιολογικές προκατεργασίες

Η βιολογική προκατεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί επιθέτοντας μικροοργανισμούς που διασπούν τη λιγνίνη και την ημικυτταρίνη. Αυτή η μέθοδος θεωρείται ότι είναι φιλική προς το περιβάλλον και ενεργειακά οικονομική καθώς πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες και δεν χρειάζεται την προσθήκη χημικών. Ωστόσο, ο ρυθμός των βιολογικών μεθόδων προκατεργασίας είναι πολύ χαμηλός για βιομηχανική χρήση και μερικά υλικά χάνονται καθώς οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν, σε κάποιο βαθμό, ημικυτταρίνη, λιγνίνη ή και κυτταρίνη. Παρόλα αυτά αυτή η μέθοδος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν ένα πρώτο στάδιο ακολουθούμενο από μία άλλη μέθοδος προκατεργασίας (Galbe *et al.* 2007).

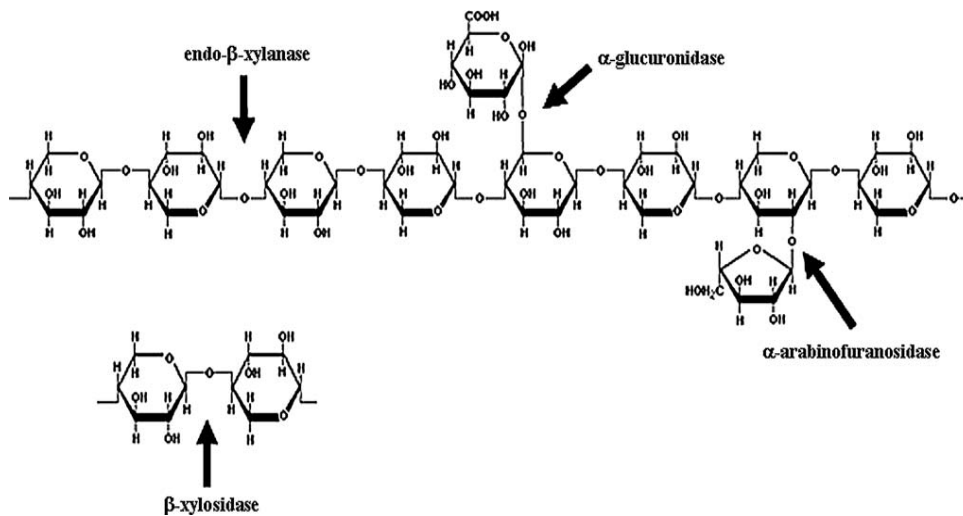
### 5.2. Ενζυμική Υδρόλυση

Η κυτταρίνη είναι ο κύριος πολυσακχαρίτης που απομένει μετά από τις περισσότερες προκατεργασίες. Τρία είδη ενζύμων δρουν συνεργιστικά για την υδρόλυση της κυτταρίνης: οι ενδο-β-1,4-γλουκανάσες (endoglucanases-EG, EC 3.1.2.4) προσβάλλουν εσωτερικά τις άμορφες περιοχές της αλυσίδας της κυτταρίνης, οι κελλοβιοϋδρολάσες ή εξωγλουκανάσες (cellobiohydrolases-CBH, EC 3.2.1.91) προσβάλλουν τα άκρα του πολυμερούς, απελευθερώνοντας κελλοβιόζη, η οποία τελικά διασπάται σε δύο μόρια γλυκόζης από τις β-γλυκοζιδάσες (β-glucosidases-BGL, EC 3.2.1.21) (Σχήμα 8) (Hayes 2009).



**Σχήμα 8:** Απεικόνιση ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης από τα ένζυμα : ένδο-1,4-β-γλουκανάση, έξω-1,4-β-D-γλουκανάση και β-γλυκοζιδάση.

Για την αποτελεσματική αξιοποίηση των λιγνινοκυτταρινούχων υλικών απαιτείται η αποικοδόμηση τόσο της κυτταρίνης όσο και της ημικυτταρίνης (Galbe & Zacchi 2002, Lee *et al.* 2008, Fukuda *et al.* 2009). Η ξυλάνη, το βασικό πολυμερές της ημικυτταρίνης, υδρολύεται σε ξυλο-ολιγοσακχαρίτες από ενδο- $\beta$ -1,4-ξυλανάσες (endo-xylanases, EC 3.2.1.8) και στη συνέχεια οι  $\beta$ -ξυλοζιδάσες ( $\beta$ -xylosidases, EC 3.2.1.37) υδρολύουν τους ξυλο-ολιγοσακχαρίτες (κυρίως την ξυλοβιόζη) σε μόρια ξυλόζης (Σχήμα 9). Άλλα ένζυμα που συνεισφέρουν στην αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης είναι οι  $\alpha$ -γλυκουρονιζάσες ( $\alpha$ -glucuronidases), οι  $\alpha$ -L-αραβινοφουρανοζιδάσες ( $\alpha$ -L-arabinofuranosidases), οι ακετυλ-εστεράσες και οι εστεράσες του φερουλικού οξέος. Η αποικοδόμηση των γλυκομαννάνων γίνεται από  $\beta$ -μαννανάσες ( $\beta$ -mannanases) και  $\beta$ -μαννοζιδάσες ( $\beta$ -mannosidases) (Howard *et al.* 2003, Gray *et al.* 2006, Kumar *et al.* 2008, Carvalhiero *et al.* 2008, Fukuda *et al.* 2009).



**Σχήμα 9:** Απεικόνιση ενζυμικής υδρόλυσης της ημικυτταρίνης από τα ένζυμα : ενδο- $\beta$ -ξυλανάση,  $\alpha$ -γλυκουρονοζιδάση,  $\beta$ -ξυλοζιδάση και  $\alpha$ -αραβινοφουρανοζιδάση (Kumar *et al.* 2008)

### 5.2.1. Παράγοντες που περιορίζουν την ενζυμική υδρόλυση

Όπως έχει αναφερθεί, οι δομικές τροποποιήσεις της λιγνινοκυτταρίνης εξαρτώνται από τύπο της προκατεργασίας που έχει εφαρμοστεί και επηρεάζουν τα μετέπειτα στάδια μετατροπής της σε αιθανόλη και κυρίως το στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης διακρίνονται σε: παράγοντες σχετικοί με το ένζυμο και παράγοντες σχετικοί με το υπόστρωμα, εν τούτοις πολλοί από αυτούς είναι αλληλένδετοι κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της υδρόλυσης.

Η μείωση της έντασης της προκατεργασίας απαιτείται μερικές φορές για τη μείωση του κόστους. Ήπια προκατεργασία οδηγεί σε χαμηλά ποσοστά απελευθέρωσης σακχάρων και συνεπώς θα απαιτηθούν μεγαλύτερες ποσότητες και διαφορετικοί τύποι ενζύμων για την επίτευξη υψηλών αποδόσεων σακχάρων από την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη. Σε αυτό το πλαίσιο, η ανάπτυξη των ημικυτταρινάσων αλλά και άλλων βοηθητικών ενζύμων που απαιτούνται για την πλήρη υποβάθμιση των πολυσακχαριτών της λιγνοκυτταρίνης έχει αποκτήσει σημαντικό ενδιαφέρον.



Οι παράγοντες που σχετίζονται με το υπόστρωμα και περιορίζουν την ενζυμική υδρόλυση συνδέονται άμεσα με την εκάστοτε προκατεργασία που χρησιμοποιήθηκε (Alvira *et al.* 2009).

#### Κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης

Ο βαθμός πολυμερισμού και η κρυσταλλικότητα της κυτταρίνης θεωρούνται σημαντικοί παράγοντες στον καθορισμό του ρυθμού υδρόλυσης κυτταρινούχων υποστρωμάτων, αλλά στοιχεία από διάφορες έρευνες δείχνουν ότι αυτές οι παράμετροι μόνες τους δεν εξηγούν την «ανθεκτικότητα» των λιγνοκυτταρινούχων υποστρωμάτων. Στην πραγματικότητα, σύμπλοκα κυτταρινάσων ικανά για την υδρόλυση της κρυσταλλικής κυτταρίνης έχουν προσδιοριστεί. Σε μερικές μελέτες στις οποίες η κρυσταλλικότητα θεωρήθηκε σημαντική, τα λιγνοκυτταρινούχα υλικά επεξεργάστηκαν μηχανικά, επομένως οποιαδήποτε μείωση στη κρυσταλλικότητα συνοδεύθηκε και από αλλαγή άλλων χαρακτηριστικών του υποστρώματος όπως η μείωση μεγέθους των σωματιδίων ή αύξηση της διαθέσιμης επιφάνειας.

Έχει παρατηρηθεί ότι η προκατεργασία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών βελτιώνει την υδρόλυση τους αλλά σε μερικές περιπτώσεις αυξάνει το δείκτη κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης. Αυτό το γεγονός έχει παρατηρηθεί ότι οφείλεται στην απομάκρυνση της άμορφης κυτταρίνης μετά από συγκεκριμένες προκατεργασίες όπως η έκρηξη ατμού. Αντίθετα, οι προκατεργασίες σε υψηλό pH έχει αποδειχθεί ότι έχουν μικρότερη επίδραση στην κρυσταλλικότητα της βιομάζας (Alvira *et al.* 2009).

#### Βαθμός πολυμερισμού της κυτταρίνης

Ο βαθμός πολυμερισμού σχετίζεται με άλλα χαρακτηριστικά του υποστρώματος, όπως η κρυσταλλικότητα. Παρότι ο ρόλος του μήκους της αλυσίδας της γλουκάνης δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως θεωρείται ότι επηρεάζει την ενζυμική υδρόλυση. Τα αποτελέσματα διάφορων προκατεργασιών στο μήκος των αλυσίδων κυτταρίνης δείχνουν ότι η μείωση του βαθμού πολυμερισμού στο προκατεργασμένο υλικό οφείλεται περισσότερο στην απομάκρυνση της ξυλάνης από ότι στην απομάκρυνση της λιγνίνης (Alvira *et al.* 2009).

#### Ενεργή επιφάνεια υλικού

Η ευκολία πρόσβασης των υδρολυτικών ενζύμων στο υλικό είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την διαδικασία της υδρόλυσης. Ως εκ τούτου, ένας από τους κύριους στόχους της προκατεργασίας είναι η αύξηση της ενεργής επιφάνειας του υλικού (Alvira *et al.* 2009).

#### Το «φράγμα» της λιγνίνης

Η παρουσία της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης δυσκολεύει την πρόσβαση των υδρολυτικών ενζύμων στην κυτταρίνη με αποτέλεσμα την μείωση της αποτελεσματικότητας της υδρόλυσης. Η λιγνίνη μεώνει το ρυθμό της ενζυμικής υδρόλυσης δρώντας σαν φυσικό εμπόδιο. Επιπλέον, η λιγνίνη φαίνεται να περιορίζει την υδρόλυση της κυτταρίνης με το να δεσμεύει τις κυτταρινάσες. Η δέσμευση των ενζύμων στη λιγνίνη επηρεάζεται από την

φύση του υλικού. Ενώ διάφορες κυτταρινάσες διαφέρουν στην αναστολή τους από τη λιγνίνη, οι ξυλανάσες και οι γλυκοζιδάσες επηρεάζονται λιγότερο.

Η λιγνίνη απομακρύνεται από το υλικό με διάφορους τρόπους ανάλογα και με την μέθοδο προκατεργασίας, για παράδειγμα στην έκρηξη ατμού η λιγνίνη τήκεται και μετατοπίζεται ή στην έκρηξη αμμωνίας διαταράσσονται οι δεσμοί μεταξύ των υδρογονανθράκων του υλικού και της λιγνίνης (Alvira *et al.* 2009).

#### Περιεκτικότητα σε ημικυτταρίνη

Η απομάκρυνση της ημικυτταρίνης αυξάνει το μέσο μέγεθος των πόρων του υλικού και επομένως αυξάνει την προσβασιμότητα και την πιθανότητα της κυτταρίνης να υδρολυθεί. Από την άλλη πλευρά, η ανάκτηση των σακχάρων της ημικυτταρίνης από το προκατεργασμένο υλικό θα είχε ενδιαφέρον για να επιτευχθεί υψηλότερη παραγωγή συνολικών ζυμώσιμων σακχάρων. Σε αυτή την περίπτωση πρέπει να ληφθούν υπόψη οι ενζυμικές προϋποθέσεις για την τροποποίηση της ημικυτταρίνης. Επίσης ο βαθμός ακετυλίωσης της ημικυτταρίνης είναι ένας σημαντικός παράγοντας, γιατί η λιγνίνη και οι ακετυλομάδες δεσμεύονται στην μήτρα της ημικυτταρίνης και εμποδίζουν την υδρόλυσή της (Alvira *et al.* 2009).

#### Μέγεθος των σωματιδίων του υλικού

Η μείωση του μεγέθους του υλικού αυξάνει την ενεργή επιφάνεια και επομένως αυξάνει την προσβασιμότητα της κυτταρίνης από τα ένζυμα (Alvira *et al.* 2009).

#### Πορώδες

Προηγούμενες έρευνες έχουν δείξει ότι το μέγεθος των πόρων του υλικού σε σχέση με το μέγεθος των ενζύμων είναι από τους κυριότερους περιοριστικούς παράγοντες της ενζυμικής υδρόλυσης λιγνινοκυτταρινούχου υλικό. Οι κυτταρινάσες μπορούν να παγιδευτούν στους πόρους εάν η εσωτερική επιφάνεια είναι πολύ μεγαλύτερη από την εξωτερική επιφάνεια πράγμα το οποίο συμβαίνει σε πολλά λιγνινοκυτταρινούχα υλικά. Η αύξηση του πορώδους κατά την προκατεργασία μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την υδρόλυση (Alvira *et al.* 2009).

#### Πάχος του κυτταρικού τοιχώματος (τραχύτητα)

Το κηρώδες φράγμα που απαντάται στο περίβλημα των χόρτων και στον φλοιό των δέντρων εμποδίζει την διεισδυτικότητα των ενζύμων, ακόμα και αλεσμένα, στελέχη των φυτών και ξυλώδης ιστοί είναι υδρόφοβοι από την φύση τους (Alvira *et al.* 2009).

## **II. ΜΕΘΟΔΟΙ & ΥΛΙΚΑ**

### 1. Πρώτες ύλες και χημικά αντιδραστήρια

Η βαγιάση του γλυκού σόργου (sweet sorghum bagasse) προέκυψε μετά από δύο διαδοχικές εκχυλίσεις των σακχάρων του γλυκού σόργου σε 15% (w/v) υδατικό αιώρημα στους 50°C για 45 λεπτά, διήθηση, εκτενή έκπλυση με νερό και τέλος ξήρανση στους 65°C για 24 ώρες.

Τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, προϊόντα των εταιρειών Sigma (Η.Π.Α.) και Panreac (Η.Π.Α.).

Χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2 της εταιρείας Novozymes (Δανία) το οποίο αποτελεί μίγμα κυτταρινάσων και ξυλανάσης.

### 2. Όργανα

- Φωτόμετρο (Hitachi UV 2000)
- pH-μετρο 537 (WTW, Γερμανία)
- Ηλεκτρονικοί ζυγοί ακριβείας
- Φούρνος μικροκυμάτων (Microwave digestion equipment, speed wave<sup>™</sup> MWS-2, Berghof Instruments GmbH, Γερμανία)

### 3. Υδροθερμική προκατεργασία της βαγιάσης σόργου

Για την προκατεργασία της βαγιάσης σόργου χρησιμοποιήθηκε Φούρνος Μικροκυμάτων (Microwave digestion equipment speedwave<sup>™</sup> MWS-2, Berghof Instruments GmbH, Γερμανία). Η συσκευή ήταν εφοδιασμένη με ανιχνευτή υπερύθρων για την εξ αποστάσεως μέτρηση της θερμοκρασίας, χωρίς επαφή με το δείγμα το οποίο βρισκόταν σε ειδικά φιαλίδια ανθεκτικά σε υψηλή πίεση ( $\leq 40$  bars) και θερμοκρασία ( $\leq 220^\circ\text{C}$ ). Η ισχύς του φούρνου μικροκυμάτων ρυθμίστηκε στα 700 W.

Μελετήθηκε:

(α) η επίδραση της συγκέντρωσης του NaOH (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 και 1.0 g NaOH/100 g βαγιάσης) κατά την προκατεργασία διάρκειας 10 min στους 180°C,

(β) η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου προκατεργασίας και της θερμοκρασίας διατηρώντας σταθερή τη συγκέντρωση του NaOH (1.0 g NaOH/100 g βαγιάσης).

### 4. Αλκαλική προκατεργασία

Σε 0.8g υποστρώματος προστέθηκε διάλυμα NaOH 12,5 ml, συγκέντρωσης 1% (συγκεκριμένα 0.5ml της βάσης και 5 ml νερό). Η τελική συγκέντρωση του αλκάλειου ήταν 0.04M. Ακολουθεί αποστείρωση των δειγμάτων στους 120°C για 20 λεπτά. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διήθηση και έκπλυση του στερεού με απιονισμένο νερό μέχρι απομάκρυνσης του αλκάλειου. Το προκύπτον στερεό υφίσταται ξήρανση στους 65°C για 24 ώρες.

### 5. Υδρόλυση βαγιάσης σόργου

Για την υδρόλυση της βαγιάσης σόργου χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2. Σε κάθε περίπτωση ο όγκος της αντίδρασης ήταν 10 mL. Η συγκέντρωση του στερεού ήταν 8% β/ο. Το ενζυμικό σκεύασμα αραιώνονταν κατάλληλα με ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών/φωσφορικών 50 mM με pH=5.0 ώστε η τελική ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης να είναι 10

FPU/g βαγιάσσης σόργου. Η θερμοκρασία της υδρόλυσης ήταν 50°C και σε κάθε μίγμα προστέθηκε αζίδιο του νατρίου (τελική συγκέντρωση 0.01% w/v) με σκοπό την αποτροπή μικροβιακής μόλυνσης. Σε τακτά χρονικά διαστήματα λαμβάνονταν δείγματα προκειμένου να μετρηθούν τα αναγωγικά σάκχαρα και η γλυκόζη μέσω ενζυμικού σκευάσματος (BIOSIS). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν.

### 6. Μέτρηση ενεργότητας των ενζύμων

Η ολική ενεργότητα κυτταρινασών (Filter Paper Activity-FPA Units) μετρήθηκε σύμφωνα με τη επίσημη μέθοδο κατά IUPAC (Ghose 1987).

### 7. Μέτρηση αναγωγικών σακχάρων με τη μέθοδο DNS

Η απελευθέρωση των αναγωγικών σακχάρων προσδιορίστηκε με την μέθοδο του 3,5-δινιτροσακυλικού οξέως (DNS) (Miller, 1959). Τα αναγωγικά σάκχαρα εκφράστηκαν μέσω καμπύλης αναφοράς σε ισοδύναμα γλυκόζης.

### 8. Μέτρηση γλυκόζης

Η γλυκόζη προσδιορίστηκε με τη χρήση εμπορικού ενζυμικού σκευάσματος αντιδραστηρίων (Biosis, Ελλάς).

### 9. Ανάλυση στερεού υπολείμματος – Μέθοδος NREL

Η ανάλυση του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας σε κυτταρίνη και ημικυτταρίνη έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο NREL (Sluiter 2005). Συνοπτικά, περιλάμβανε την όξινη υδρόλυση 300 mg από ξηρό δείγμα με 3 mL διαλύματος 72% (w/w) θειικού οξέος για 60 λεπτά στους 30°C, έπειτα αραιώση με 84 mL απιονισμένο νερό και επώαση σε κλίβανο αποστείρωσης στους 121°C για 60 λεπτά. Μετά από εξουδετέρωση των διαλυμάτων με CaCO<sub>3</sub>, φυγοκέντρηση (10 min, 10000 rpm) και φιλτράρισμα (0.2 μm) έγινε μέτρηση των συνολικών αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης.

### 10. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας

Η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας εκτιμήθηκε με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design).

Η σχέση μεταξύ των κωδικοποιημένων τιμών των μεταβλητών και των πραγματικών τιμών περιγράφεται από την Εξίσωση 1.

$$X_i = \frac{(A_i - A_0)}{\Delta A} \quad \text{Εξ. 1}$$

όπου  $X_i$  είναι η κωδικοποιημένη τιμή της μεταβλητής,  $A_i$  η πραγματική τιμή της μεταβλητής,  $A_0$  η κεντρική τιμή της μεταβλητής  $A_i$  και  $\Delta A$  το βήμα μεταβολής των τιμών της μεταβλητής

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται οι ανεξάρτητες μεταβλητές καθώς και τα επίπεδα των συγκεκριμένων μεταβλητών. Δημιουργήθηκε η μήτρα σχεδιασμού η οποία περιλαμβάνει 12 διακριτά πειράματα (Πίνακας 2).

**Πίνακας 1.** Μεταβλητές και επίπεδα πειραματικού σχεδιασμού

Ανεξάρτητες μεταβλητές	Κωδικοποίηση	Επίπεδα		
		-1	0	1
	$X_1$	165	185	205
	$X_2$	10	15	20

**Πίνακας 2.** Μήτρα σχεδιασμού.

A/A	$X_1$	$X_2$
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	0	0
6	0	0
7	-1.414	0
8	1.414	0
9	0	-1.414
10	0	1.414
11	0	0
12	0	0

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται οι πραγματικές τιμές των δύο μεταβλητών (χρόνου προκατεργασίας και θερμοκρασίας).

**Πίνακας 3.** Πραγματικές τιμές μεταβλητών

A/A	$X_1$	$X_2$
1	165	10
2	205	10
3	165	20
4	205	20
5	185	15
6	185	15
7	157	15
8	213	15
9	185	8
10	185	22
11	185	15
12	185	15

Το δευτροβάθμιο μοντέλο στο οποίο προσαρμόστηκαν τα αποτελέσματα των πειραματισμών περιγράφεται από την εξίσωση 2.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \beta_{11} \cdot X_1^2 + \beta_{22} \cdot X_2^2 + \beta_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 \quad \text{Εξ. 2}$$

όπου,

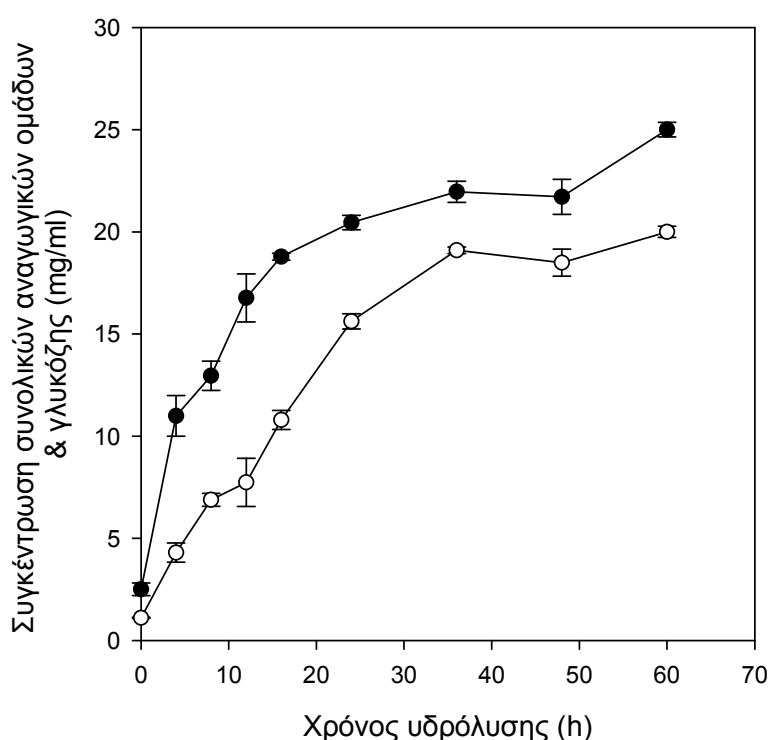
$Y$  η εξαρτημένη μεταβλητή;  $\beta_0$  σταθερά του μοντέλου;  $X_1$  και  $X_2$ , οι ανεξάρτητες μεταβλητές,  $\beta_1$  και  $\beta_2$  οι συντελεστές των γραμμικών όρων,  $\beta_{11}$  και  $\beta_{22}$  οι συντελεστές των τετραγωνικών όρων και  $\beta_{12}$  ο συντελεστής αλληλεπίδρασης των δύο όρων.

### **ΙΙΙ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**



### 1. Επίδραση της συγκέντρωσης NaOH κατά την υδροθερμική προκατεργασία της βαγάσσης σόργου

Η βαγάσση σόργου προκατεργάστηκε υδροθερμικά σε θερμοκρασία 180°C για 10 min παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων NaOH (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 και 1.0 g/100 g βαγάσσης). Ακολούθησε υδρόλυση (α) της προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης και (β) του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας (σύμφωνα με την περιγραφή στο κεφάλαιο Μέθοδοι & Υλικά). Η υδρόλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). Στο Διάγραμμα 1.1 Παρουσιάζεται η πορεία της ενζυμικής υδρόλυσης της ακατέργαστης βαγάσσης σόργου.



**Διάγραμμα 1.1.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση ακατέργαστης βαγάσσης σόργου συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

Η μέγιστη τιμή συνολικών αναγωγικών ομάδων που απελευθερώθηκαν κατά την ενζυμική υδρόλυση ανήλθε στα 25.00 mg/ml ενώ η αντίστοιχη τιμή της γλυκόζης ήταν 20.00 mg/ml.

Η σύσταση της υγρής φάσης της προκατεργασίας παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.1.

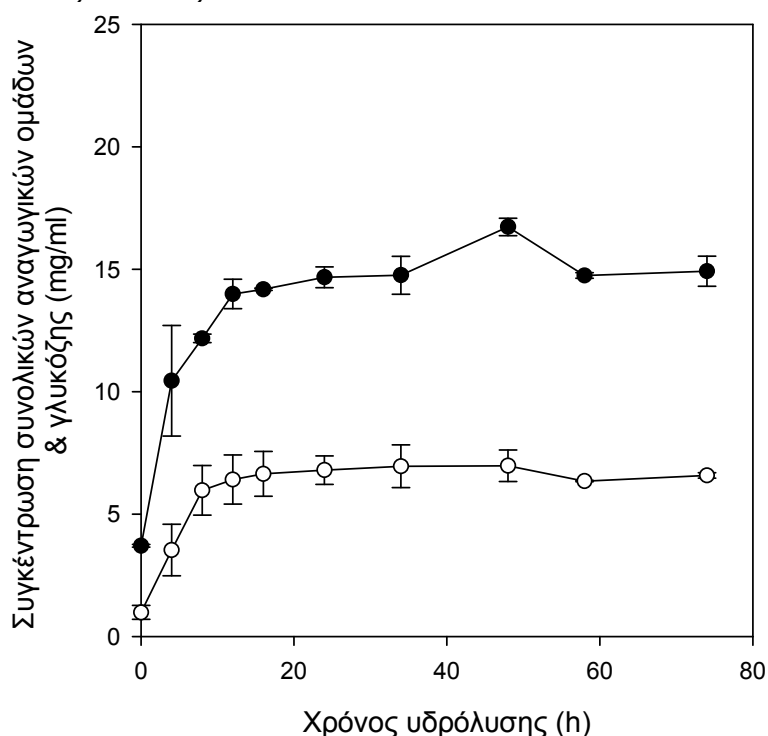
**Πίνακας 1.1.** Σύσταση υγρής φάσης μετά την προκατεργασία της βαγάσσης σόργου.

Συγκέντρωση NaOH (% , β/β)	Συνολικές αναγωγικές ομάδες (mg/ml)	Γλυκόζη (mg/ml)
0.0	0.87 ± 0.00	0.02 ± 0.00
0.2	0.76 ± 0.06	0.02 ± 0.00
0.4	0.58 ± 0.07	0.01 ± 0.00
0.6	0.69 ± 0.06	0.01 ± 0.00
0.8	0.69 ± 0.07	0.00 ± 0.00
1.0	0.68 ± 0.01	0.01 ± 0.00

Η γλυκόζη που μετρήθηκε στην υγρή φάση της προκατεργασίας (Πίνακας 1.1) κυμάνθηκε σε εξαιρετικά χαμηλά επίπεδα γεγονός που υποδεικνύει ότι το μόριο της κυτταρίνης δεν υπέστη αποικοδόμηση κατά τη διάρκεια της προκατεργασίας. Αντίστοιχα χαμηλά ήταν και τα επίπεδα των συνολικών αναγωγικών ομάδων, γεγονός που επίσης υποδεικνύει επίσης χαμηλό ποσοστό διαλυτοποίησης της ημικυτταρίνης. Εξάλλου όπως έχει αναφερθεί και προηγούμενα (Θεωρητικό Μέρος) η επεξεργασία με άλκαλι λιγνινοκυτταρινούχου υλικού (α) οδηγεί σε αύξηση της ενεργής επιφάνειας της κυτταρίνης και (β) επιφέρει σημαντικές δομικές αλλαγές στο μόριο της λιγνίνης. Επιπλέον διαλυτοποιεί ελαφρά την ημικυτταρίνη, απομακρύνει μερικά τη λιγνίνη και τέλος οδηγεί σε χαμηλά ποσοστά σχημαστικού τοξικών ενώσεων.

**(α) Υδρόλυση της προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης**

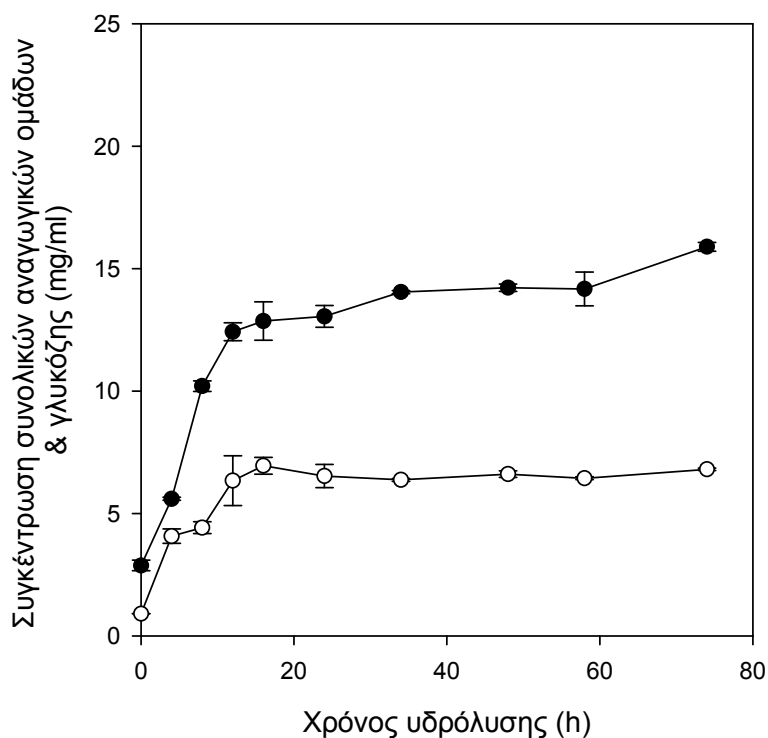
Τα αποτελέσματα της ενζυμικής υδρόλυσης παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 1.2-1.7 και στους Πίνακες 1.2-1.7.



**Διάγραμμα 1.2.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.2.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2.

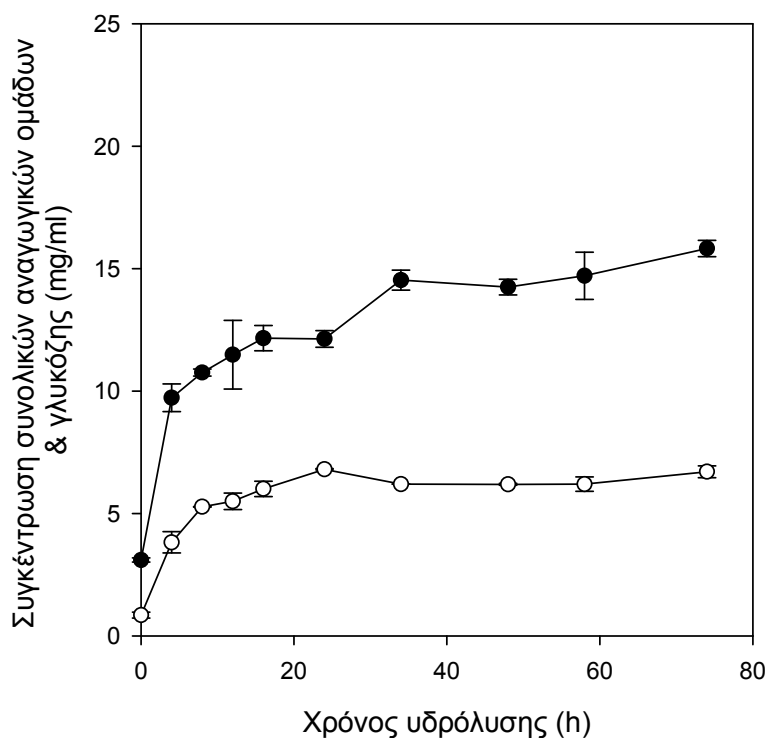
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	3.71 ± 0.06	0.99 ± 0.28
4	10.45 ± 2.26	3.53 ± 1.06
8	12.18 ± 0.17	5.97 ± 1.02
12	13.99 ± 0.60	6.41 ± 1.01
16	14.18 ± 0.04	6.65 ± 0.92
24	14.67 ± 0.42	6.80 ± 0.58
34	14.76 ± 0.77	6.96 ± 0.87
48	16.73 ± 0.36	6.97 ± 0.64
58	14.75 ± 0.12	6.35 ± 0.03
74	14.92 ± 0.62	6.58 ± 0.11



**Διάγραμμα 1.3.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0.2% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.3.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.2% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic<sup>®</sup> CTec2.

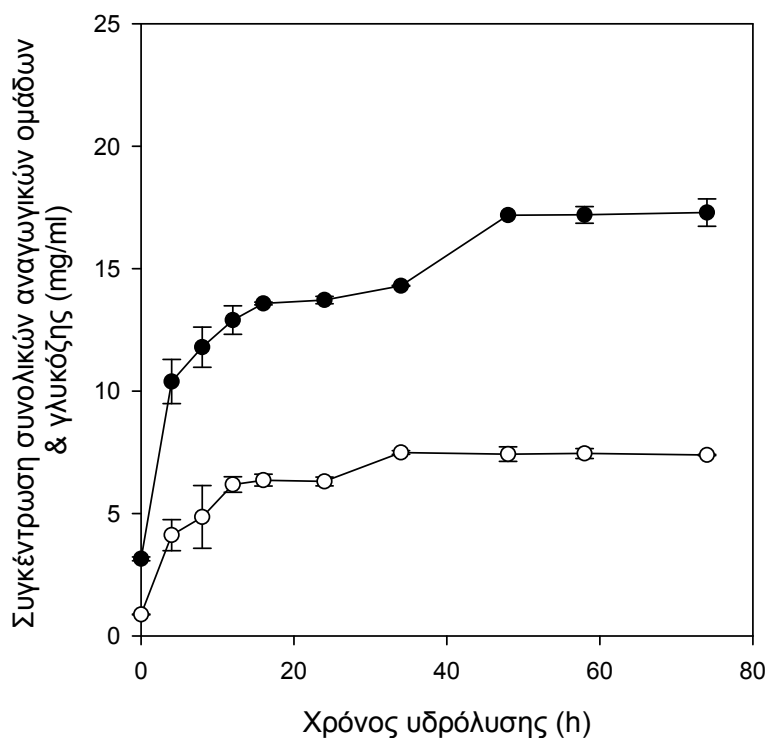
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.88 ± 0.22	0.91 ± 0.00
4	5.60 ± 0.06	4.08 ± 0.30
8	10.20 ± 0.22	4.42 ± 0.24
12	12.42 ± 0.37	6.34 ± 1.02
16	12.86 ± 0.78	6.95 ± 0.34
24	13.05 ± 0.45	6.53 ± 0.47
34	14.04 ± 0.06	6.37 ± 0.06
48	14.22 ± 0.15	6.61 ± 0.14
58	14.17 ± 0.69	6.44 ± 0.06
74	15.89 ± 0.18	6.80 ± 0.05



**Διάγραμμα 1.4.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0.4% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.4.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.4% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

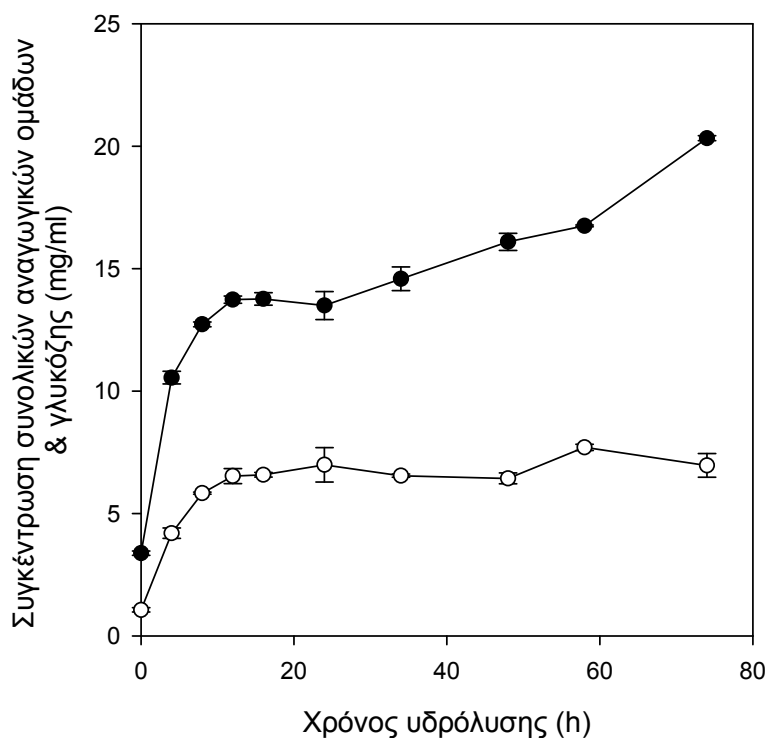
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	3.10 ± 0.08	0.85 ± 0.12
4	9.73 ± 0.56	3.82 ± 0.43
8	10.76 ± 0.14	5.27 ± 0.02
12	11.49 ± 1.40	5.50 ± 0.34
16	12.16 ± 0.51	6.01 ± 0.31
24	12.13 ± 0.34	6.81 ± 0.03
34	14.53 ± 0.41	6.20 ± 0.00
48	14.25 ± 0.32	6.19 ± 0.04
58	14.71 ± 0.97	6.20 ± 0.29
74	15.82 ± 0.33	6.70 ± 0.25



**Διάγραμμα 1.5.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0.6% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.5.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.6% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

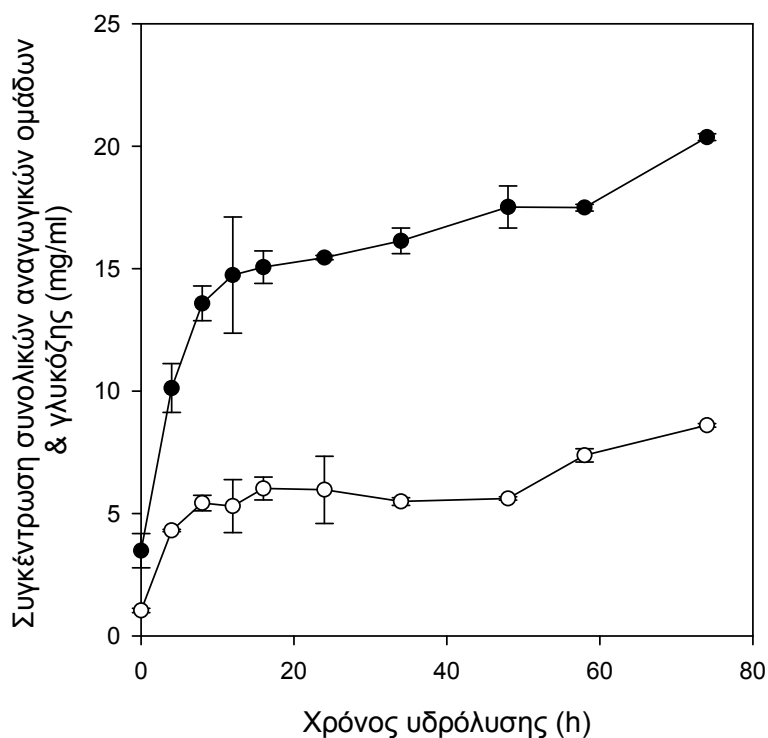
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	3.15 ± 0.08	0.88 ± 0.02
4	10.39 ± 0.91	4.12 ± 0.63
8	11.80 ± 0.82	4.86 ± 1.28
12	12.90 ± 0.58	6.19 ± 0.32
16	13.58 ± 0.05	6.36 ± 0.24
24	13.72 ± 0.15	6.31 ± 0.18
34	14.30 ± 0.02	7.49 ± 0.08
48	17.18 ± 0.00	7.43 ± 0.30
58	17.20 ± 0.34	7.45 ± 0.20
74	17.29 ± 0.56	7.39 ± 0.03



**Διάγραμμα 1.6.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0.8% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.6.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.8% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	3.38 ± 0.09	1.06 ± 0.09
4	10.55 ± 0.26	4.20 ± 0.21
8	12.72 ± 0.10	5.83 ± 0.04
12	13.74 ± 0.15	6.53 ± 0.31
16	13.76 ± 0.25	6.58 ± 0.09
24	13.49 ± 0.57	6.99 ± 0.70
34	14.58 ± 0.48	6.55 ± 0.07
48	16.10 ± 0.35	6.43 ± 0.22
58	16.75 ± 0.04	7.70 ± 0.13
74	20.33 ± 0.10	6.96 ± 0.48



**Διάγραμμα 1.7.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.7.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 1.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	3.48 ± 0.07	1.04 ± 0.09
4	10.12 ± 1.00	4.31 ± 0.05
8	13.58 ± 0.71	5.43 ± 0.32
12	14.74 ± 2.37	5.30 ± 1.08
16	15.06 ± 0.66	6.02 ± 0.47
24	15.45 ± 0.09	5.97 ± 1.37
34	16.13 ± 0.52	5.49 ± 0.16
48	17.52 ± 0.86	5.62 ± 0.07
58	17.49 ± 0.14	7.38 ± 0.27
74	20.37 ± 0.14	8.60 ± 0.08

Σχεδόν από το σύνολο των διαγραμμάτων παρατηρείται ότι κατά την ενζυμική υδρόλυση η συγκέντρωση των συνολικών αναγωγικών ομάδων και της γλυκόζης αυξάνεται μέχρι τις 12 ώρες υδρόλυσης. Μετά τις 16 περίπου ώρες



υδρόλυσης δεν παρατηρείται απελευθέρωση γλυκόζης και συνολικών αναγωγικών ομάδων. Μια πιθανή εξήγηση γιατί η συγκέντρωση των συνολικών αναγωγικών ομάδων και της γλυκόζης διατηρείται σχετικά σταθερή είναι ότι παραγόμενα από την υδρόλυση σάκχαρα (γλυκόζη, κελλοβιόζη) δρουν τα ίδια ως παρεμποδιστές γιατί δεσμεύονται σε διαφορετικές περιοχές από τις ενεργές περιοχές του ενζύμου, αλλάζοντας έτσι την μορφολογία του ενζύμου και με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση του ενζύμου (Holtzapfle *et al.*, 1990).

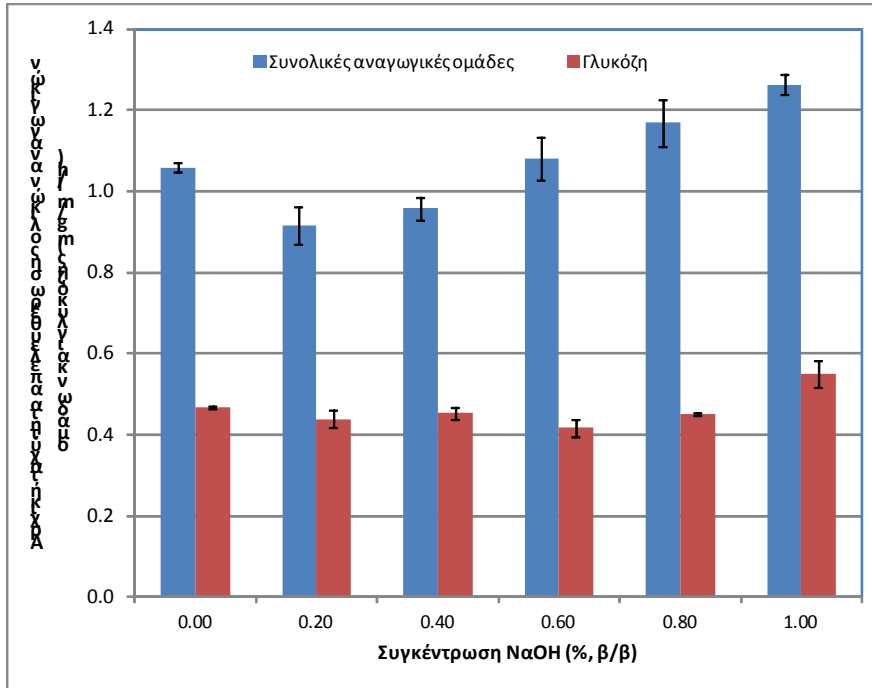
Στον Πίνακα 1.8 παρουσιάζονται οι μέγιστες τιμές συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης που επιτεύχθηκαν κατά την υδρόλυση της προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης.

**Πίνακας 1.8.** Μέγιστη παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης.

Συγκέντρωση NaOH (% β/β)	Συνολικές αναγωγικές ομάδες (mg/ml)	Γλυκόζη (mg/ml)
0.0	14.92 ± 0.62	6.65 ± 0.92
0.2	15.89 ± 0.18	6.37 ± 0.06
0.4	15.82 ± 0.33	6.70 ± 0.25
0.6	17.29 ± 0.56	7.49 ± 0.08
0.8	20.33 ± 0.12	7.70 ± 0.00
1.0	20.37 ± 0.14	8.60 ± 0.08

Παρατηρείται ότι η χρήση NaOH στο στάδιο της προκατεργασίας βελτιώνει την αποικοδόμηση των πολυσακχαριτών της βαγάσσης σόργου στο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης. Ειδικότερα αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης των απελευθερούμενων συνολικών αναγωγικών ομάδων καθώς και της γλυκόζης (Πίνακας 1.8). Η παραγωγή της γλυκόζης αυξήθηκε κατά 29% όταν η βαγάσση σόργου προκατεργάστηκε με 1.0% (β/β) NaOH (η σύγκριση γίνεται με την τιμή γλυκόζης απουσία NaOH), ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στις συνολικές αναγωγικές ομάδες είναι της τάξης του 36%.

Επιπλέον, παρατηρήθηκε και αύξηση στην αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης με αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH στο στάδιο της προκατεργασίας (Διάγραμμα 1.8).



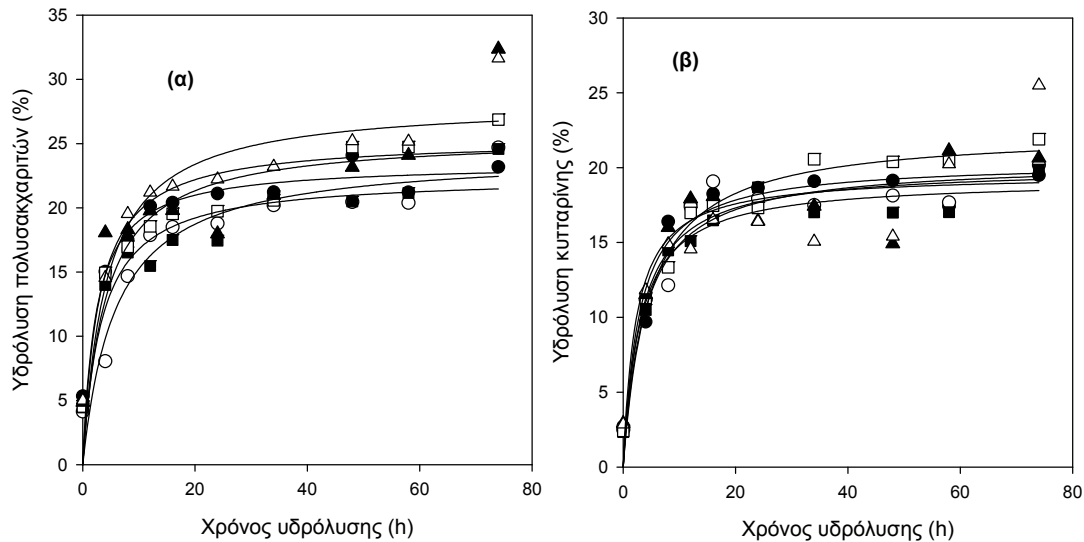
**Διάγραμμα 1.8.** Σύγκριση αρχικών ταχυτήτων απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων NaOH και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο).

Τα πειραματικά αποτελέσματα από την υδρόλυση της βαγάσσης σόργου προσαρμόστηκαν στο παρακάτω μαθηματικό μοντέλο (Εξ. 3) (Holtzapfle et al., 1984):

$$x = x_{max} \cdot \left( \frac{t}{t_{1/2} + t} \right) \quad \text{Εξ. 3}$$

Όπου,  $x$  το ποσοστό της μετατροπής των πολυσακχαριτών (κυτταρίνη ή συνολικοί πολυσακχαρίτες) σε απλά σάκχαρα (σακχαροποίηση),  $x_{max}$  ο μέγιστος βαθμός σακχαροποίησης,  $t$  ο χρόνος της ενζυμικής σακχαροποίησης και  $t_{1/2}$  ο χρόνος για να επιτευχθεί 50% του  $x_{max}$ .

Οι προσαρμογές παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 1.9 και οι τιμές  $x_{max}$  και  $t_{1/2}$  στον Πίνακα 1.9.

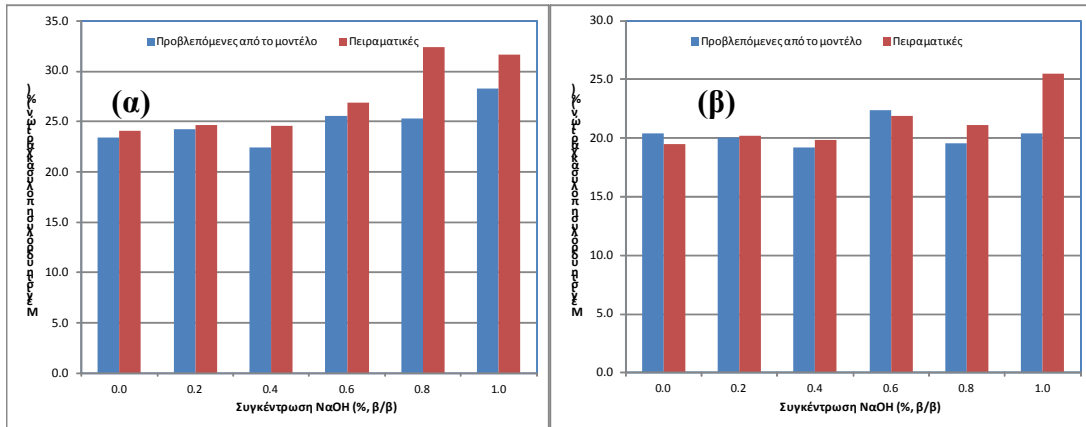


**Διάγραμμα 1.9.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapfle για την υδρόλυση **(α)** των ολικών πολυσακχαριτών και **(β)** της κυτταρίνης της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 0% β/β NaOH, (○) 0.2% β/β NaOH, (■) 0.4% β/β NaOH, (□) 0.6% β/β NaOH, (▲) 0.8% β/β NaOH και (△) 1.0% β/β NaOH.

**Πίνακας 1.9.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης

	Συγέντρωση NaOH (% , β/β)					
	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Ολικοί πολυσακχαρίτες						
$X_{max}$ (%)	23.45	24.24	22.45	25.58	25.34	28.25
$t_{1/2}$ (h)	2.36	5.88	3.38	3.98	2.84	4.16
	( $R^2=0.87$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.90$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.84$ , $P=0.0002$ )	( $R^2=0.87$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.69$ , $P=0.0028$ )	( $R^2=0.88$ , $P<0.0001$ )
Κυτταρίνη						
$X_{max}$ (%)	20.39	20.02	19.21	22.41	19.58	20.38
$t_{1/2}$ (h)	2.86	3.14	2.98	4.53	2.27	3.71
	( $R^2=0.92$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.91$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.94$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.96$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.85$ , $P=0.0002$ )	( $R^2=0.75$ , $P=0.0012$ )

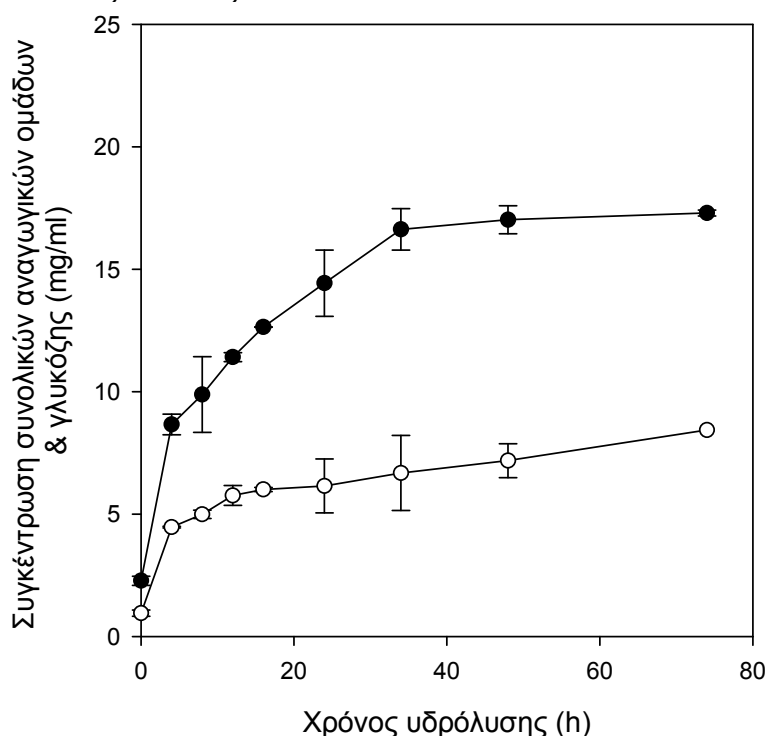
Στο Διάγραμμα 1.10 εμφανίζεται η σύγκριση των προβλεπόμενων από το υπερβολικό μοντέλο τιμών μέγιστης μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνης + ημικυτταρίνης) και κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές. Διαπιστώθηκε ότι το εν λόγω μοντέλο μπορεί να προβλέψει ικανοποιητικά στην πλειοψηφία των περιπτώσεων το μέγιστο βαθμό μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών και κυτταρίνης κατά την ενζυμική υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης.



**Διάγραμμα 1.10.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzapfle μέγιστης υδρόλυσης **(α)** πολυσακχαριτών και **(β)** κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης.

**(β) Υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας**

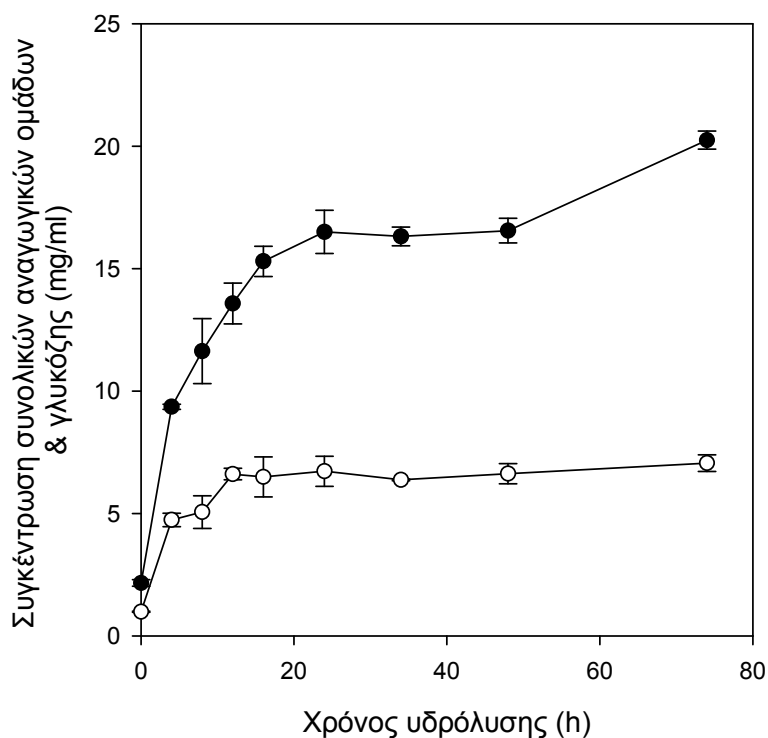
Τα αποτελέσματα της ενζυμικής υδρόλυσης παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 1.11-1.16 και στους Πίνακας 1.10-1.15.



**Διάγραμμα 1.11.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.10.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

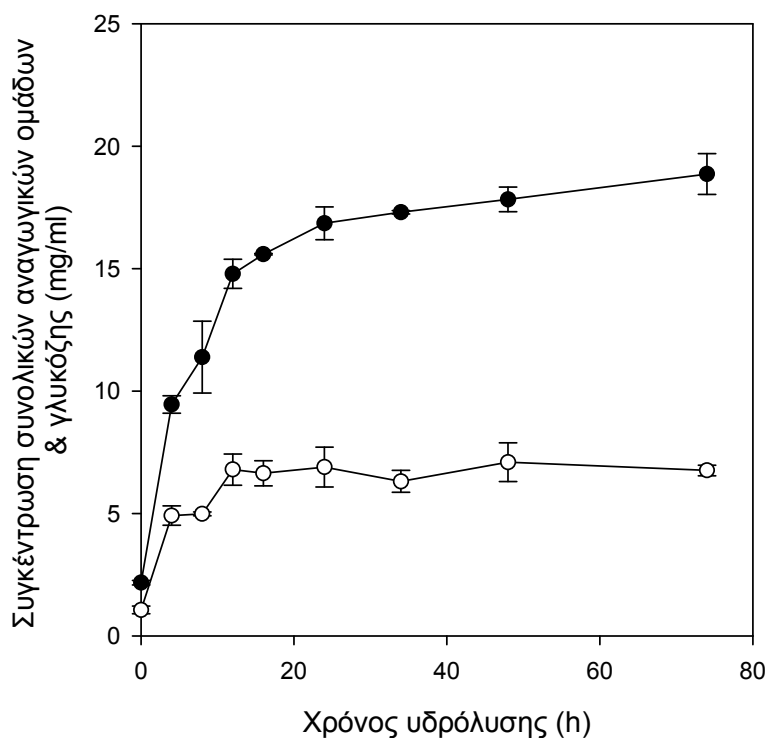
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.28 ± 0.19	0.96 ± 0.13
4	8.66 ± 0.42	4.47 ± 0.04
8	9.88 ± 1.54	4.99 ± 0.17
12	11.41 ± 0.19	5.76 ± 0.41
16	12.64 ± 0.01	6.01 ± 0.09
24	14.43 ± 1.35	6.15 ± 1.11
34	16.63 ± 0.85	6.68 ± 1.53
48	17.02 ± 0.57	7.18 ± 0.69
74	17.30 ± 0.12	8.44 ± 0.00



**Διάγραμμα 1.12.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0.2% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.11.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.2% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

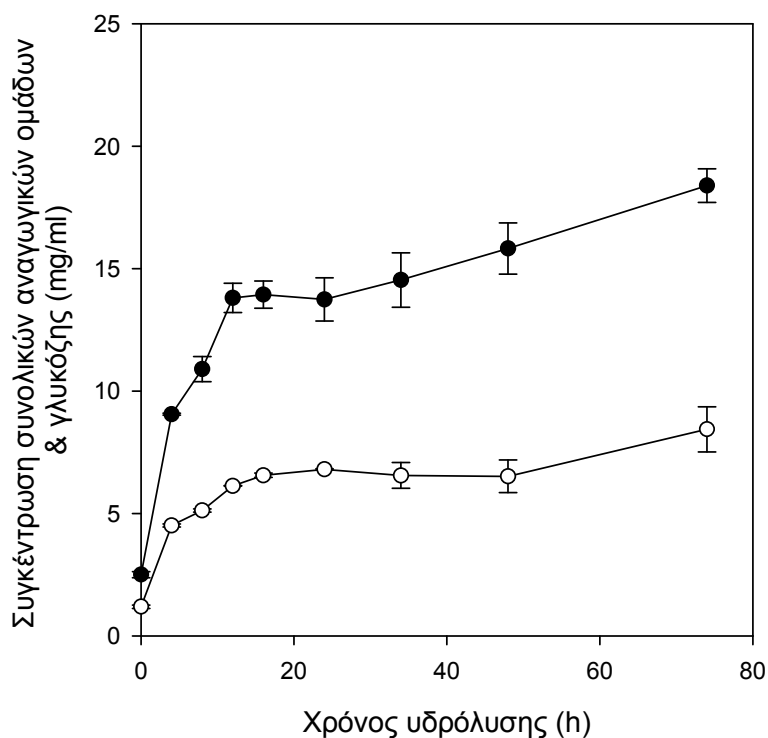
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.16 ± 0.14	0.99 ± 0.02
4	9.36 ± 0.10	4.74 ± 0.28
8	11.63 ± 1.33	5.06 ± 0.67
12	13.58 ± 0.83	6.61 ± 0.24
16	15.30 ± 0.62	6.49 ± 0.82
24	16.50 ± 0.88	6.73 ± 0.62
34	16.32 ± 0.38	6.38 ± 0.04
48	16.55 ± 0.50	6.63 ± 0.41
74	20.25 ± 0.37	7.06 ± 0.34



**Διάγραμμα 1.13.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0,4% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.12.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.4% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.18 ± 0.09	1.06 ± 0.16
4	9.45 ± 0.36	4.91 ± 0.39
8	11.39 ± 1.47	4.99 ± 0.08
12	14.79 ± 0.59	6.80 ± 0.64
16	15.59 ± 0.03	6.64 ± 0.52
24	16.85 ± 0.67	6.90 ± 0.81
34	17.30 ± 0.07	6.31 ± 0.45
48	17.83 ± 0.50	7.10 ± 0.79
74	18.86 ± 0.83	6.76 ± 0.22

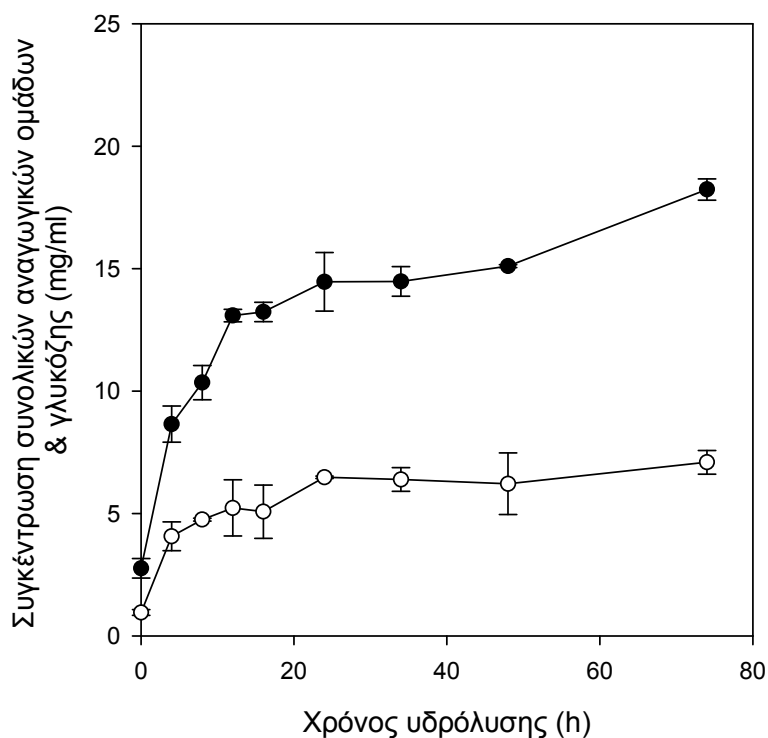


**Διάγραμμα 1.14.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.6% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.13.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.6% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.51 ± 0.12	1.19 ± 0.07
4	9.06 ± 0.04	4.51 ± 0.07
8	10.90 ± 0.51	5.12 ± 0.07
12	13.81 ± 0.60	6.13 ± 0.01
16	13.94 ± 0.56	6.56 ± 0.09
24	13.74 ± 0.88	6.80 ± 0.03
34	14.54 ± 1.11	6.55 ± 0.52
48	15.82 ± 1.05	6.52 ± 0.67
74	18.39 ± 0.68	8.44 ± 0.92

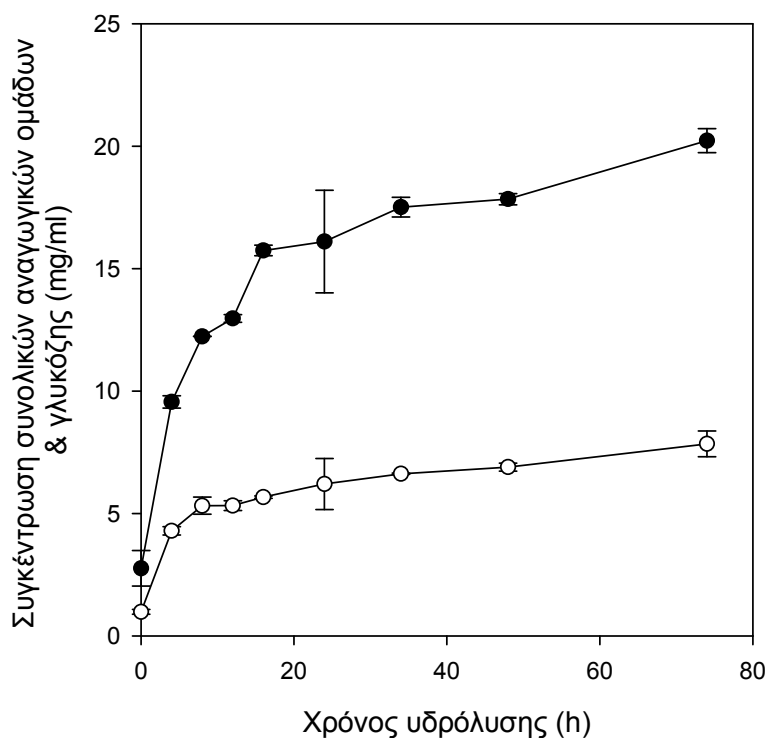




**Διάγραμμα 1.15.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 0.8% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.14.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 0.8% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.76 ± 0.40	0.96 ± 0.12
4	8.65 ± 0.74	4.07 ± 0.59
8	10.35 ± 0.70	4.75 ± 0.06
12	13.09 ± 0.25	5.23 ± 1.15
16	13.04 ± 0.39	5.07 ± 1.09
24	14.46 ± 1.20	6.48 ± 0.05
34	14.48 ± 0.60	6.39 ± 0.48
48	15.10 ± 0.06	6.22 ± 1.26
74	18.23 ± 0.43	7.09 ± 0.48



**Διάγραμμα 1.16.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 1.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 1.15.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $180^{\circ}\text{C}$ , 10 min παρουσία, 1.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.76 ± 0.73	0.98 ± 0.10
4	9.56 ± 0.25	4.30 ± 0.17
8	12.23 ± 0.01	5.32 ± 0.35
12	12.97 ± 0.16	5.32 ± 0.20
16	15.74 ± 0.22	5.67 ± 0.05
24	16.11 ± 2.09	6.21 ± 1.04
34	17.51 ± 0.40	6.63 ± 0.03
48	17.84 ± 0.23	6.90 ± 0.17
74	20.23 ± 0.49	7.85 ± 0.52

Τα συμπεράσματα από τα διαγράμματα για την χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου συμπίπτουν με τα συμπεράσματα που αναφέρθηκαν για την χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης.

Στον Πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 1.16) παρουσιάζεται η σύσταση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων NaOH.

**Πίνακας 1.16.** Σύσταση στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου.

Συγκέντρωση NaOH (% , β/β)	Κυτταρίνη (% , β/β)*	Ημικυτταρίνη (% , β/β)*
0.0	43.16 ± 5.42	30.97 ± 5.89
0.2	44.17 ± 2.96	31.25 ± 0.88
0.4	40.03 ± 4.11	33.79 ± 4.99
0.6	42.05 ± 1.08	32.24 ± 1.58
0.8	42.95 ± 2.66	30.88 ± 1.75
1.0	44.69 ± 3.64	30.88 ± 2.63

\* g/100 g ξηρού στερεού υπολείμματος προκατεργασίας

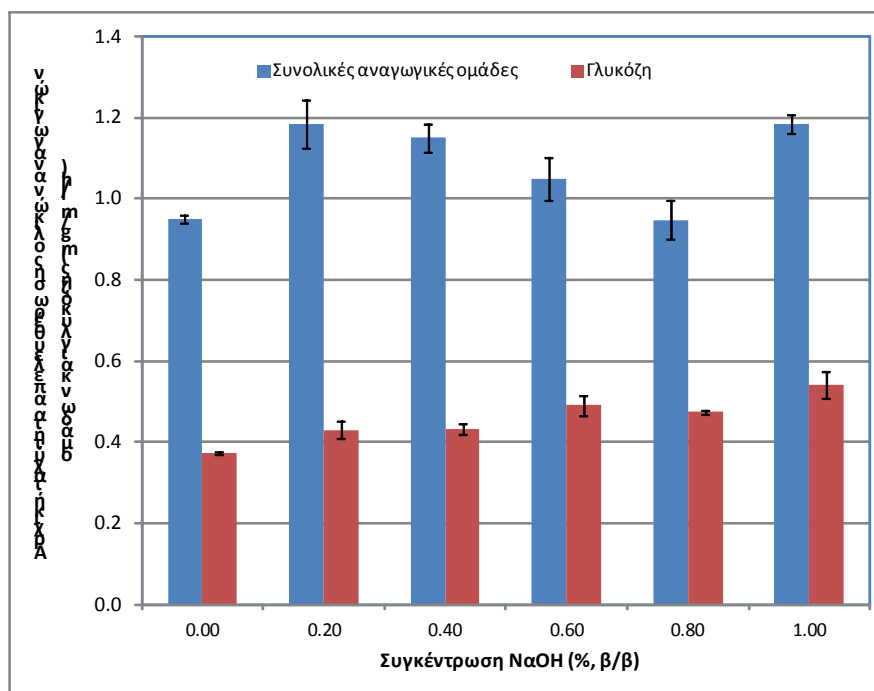
Στον Πίνακα 1.17 παρουσιάζονται οι μέγιστες τιμές συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης που επιτεύχθηκαν κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της προκατεργασμένης βαγάσσης.

**Πίνακας 1.17.** Μέγιστη παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου.

Συγκέντρωση NaOH (% , β/β)	Συνολικές αναγωγικές ομάδες (mg/ml)	Γλυκόζη (mg/ml)
0.0	17.30 ± 0.12	8.44 ± 0.00
0.2	20.25 ± 0.37	7.06 ± 0.34
0.4	18.86 ± 0.83	7.10 ± 0.79
0.6	18.39 ± 0.68	8.44 ± 0.92
0.8	18.23 ± 0.43	7.09 ± 0.48
1.0	20.23 ± 0.49	7.85 ± 0.52

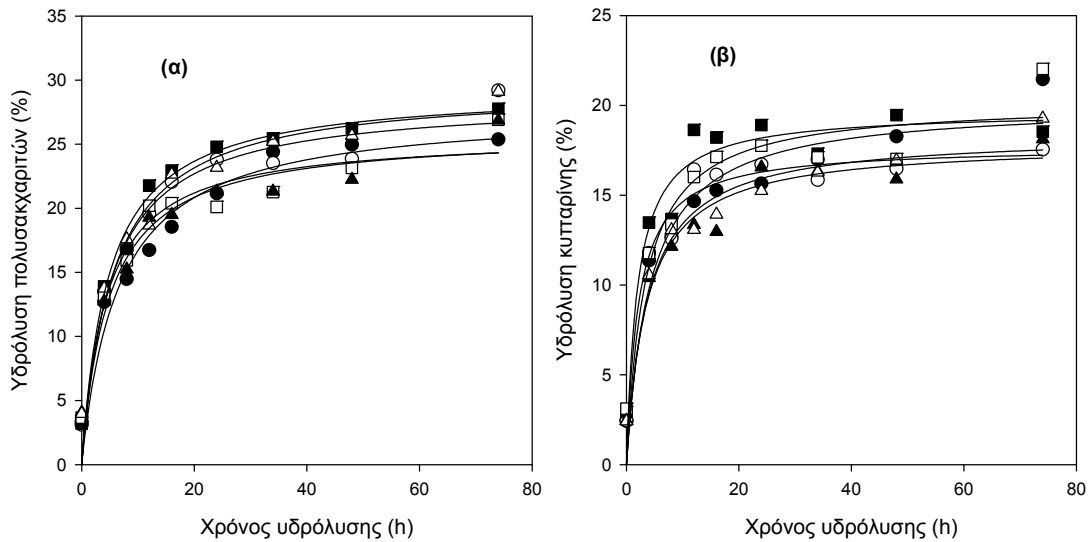
Στο Διάγραμμα 1.17 παρουσιάζονται οι αρχικές ταχύτητες απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου. Παρατηρείται ότι και στην περίπτωση των συνολικών αναγωγικών ομάδων και στην περίπτωση της γλυκόζης δεν μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα για την εξάρτηση της αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης από την συγκέντρωση του NaOH που χρησιμοποιείται στην προκατεργασία. Πάντως η μέγιστη αρχική

ταχύτητα απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων προκύπτει για συγκέντρωση 1.0% NaOH β/β.



**Διάγραμμα 1.17.** Σύγκριση αρχικών ταχυτήτων απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων NaOH και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο)

Τα πειραματικά αποτελέσματα από την υδρόλυση προσαρμόστηκαν στο μαθηματικό μοντέλο (Εξ. 3) (Holtzapfle et al., 1984). Οι προσαρμογές παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 1.18 και οι τιμές  $x_{max}$  και  $t_{1/2}$  στον Πίνακα 1.18.

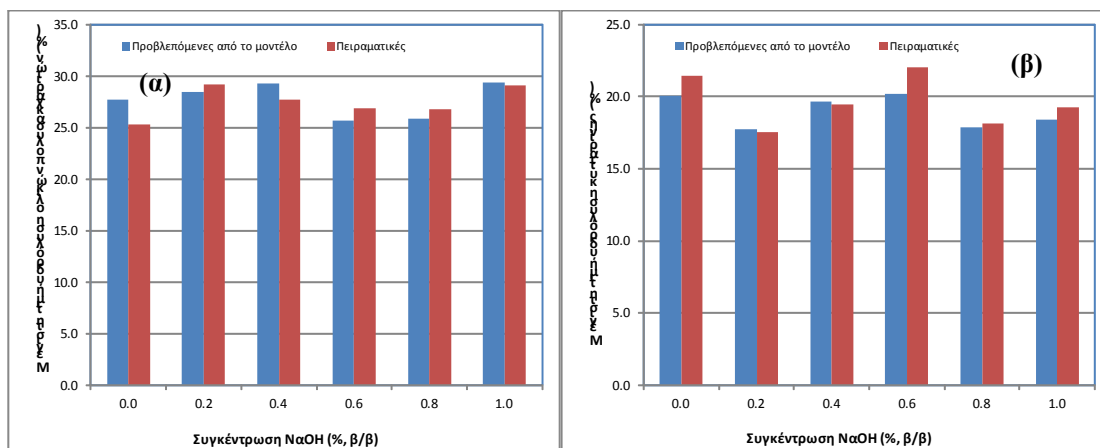


**Διάγραμμα 1.18.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapfle για την υδρόλυση (α) των ολικών πολυσακχαριτών και (β) της κυτταρίνης του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 0% β/β NaOH, (○) 0.2% β/β NaOH, (■) 0.4% β/β NaOH, (□) 0.6% β/β NaOH, (▲) 0.8% β/β NaOH και (△) 1.0% β/β NaOH.

**Πίνακας 1.18.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου.

	Συγκέντρωση NaOH (% , β/β)					
	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Ολικοί πολυσακχαρίτες						
$X_{max}$ (%)	27.71	28.50	29.35	25.74	25.92	29.45
$t_{1/2}$ (h)	6.60	5.12	4.80	4.29	4.86	5.44
	( $R^2=0.95$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.95$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.97$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.92$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.92$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.95$ , $P<0.0001$ )
Κυτταρίνη						
$X_{max}$ (%)	20.08	17.72	19.68	20.20	17.89	18.39
$t_{1/2}$ (h)	4.22	2.11	1.97	3.34	3.59	3.72
	( $R^2=0.92$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.94$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.91$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.89$ , $P=0.0001$ )	( $R^2=0.93$ , $P<0.0001$ )	( $R^2=0.93$ , $P<0.0001$ )

Στο Διάγραμμα 1.19 εμφανίζεται η σύγκριση των προβλεπόμενων από το υπερβολικό μοντέλο τιμών μέγιστης μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνης + ημικυτταρίνης) και κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές. Διαπιστώθηκε ότι το εν λόγω μοντέλο μπορεί να προβλέψει ικανοποιητικά το μέγιστο βαθμό μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών και κυτταρίνης κατά την ενζυμική υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας (παρουσία αλκάλεως) βαγάσσης σόργου.



**Διάγραμμα 1.19.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Hotzapple μέγιστης υδρόλυσης **(α)** πολυσακχαριτών και **(β)** κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας (παρουσία αλκάλειας) βαγάσσης σόργου.

Από τη σύγκριση των προβλεπόμενων από το υπερβολικό μοντέλο τιμών μέγιστης μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνης και ημικυτταρίνης) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας (Πίνακας 1.18) βαγάσσης σόργου με των προβλεπόμενων από το υπερβολικό μοντέλο τιμών μέγιστης μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών (κυτταρίνης και ημικυτταρίνης) κατά την υδρόλυση υδροθερικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης (Πίνακας 1.9) παρατηρούνται τα εξής:

Οι τιμές  $X_{max}$  για τους ολικούς πολυσακχαρίτες στην περίπτωση της υδρόλυσης στερεού υπολείμματος είναι μεγαλύτερες από τις τιμές  $X_{max}$  για τους ολικούς πολυσακχαρίτες στην περίπτωση της υδρόλυσης παρουσία υγρής φάσης (παρατηρείται ακόμα και 31% αύξηση της τιμής  $X_{max}$ ).

Οι τιμές  $X_{max}$  για την κυτταρίνη στην περίπτωση της υδρόλυσης στερεού υπολείμματος είναι μικρότερες από τις αντίστοιχες της υδρόλυσης παρουσία υγρής φάσης (μέχρι και 11%).

Όμως οι χρόνοι  $t_{1/2}$  (όπου  $t_{1/2}$  ο χρόνος για να επιτευχθεί 50% του  $X_{max}$ ) στην περίπτωση της υδρόλυσης στερεού υπολείμματος είναι στην πλειοψηφία τους μικρότεροι από ότι στην περίπτωση υδρόλυσης παρουσία υγρής φάσης. Επίσης σχεδόν για κάθε συνθήκη υδρόλυσης που πραγματοποιήθηκε η μέγιστη παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου είναι μεγαλύτερη (μέχρι και ποσοστού 27%) από τις αντίστοιχες τιμές κατά την υδρόλυση υδροθερικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης.

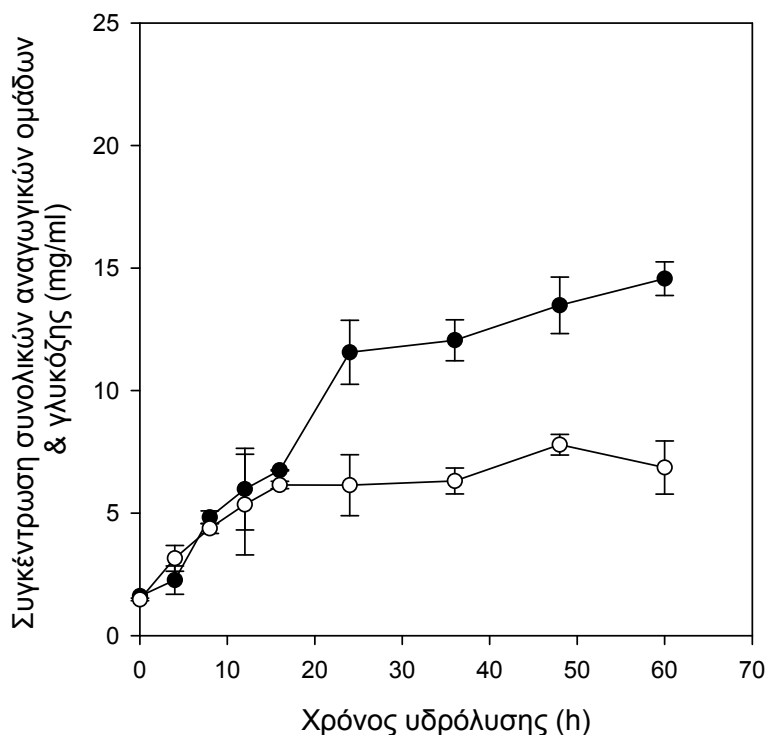
Και από τις δύο σειρές πειραμάτων στις περιπτώσεις όπου πραγματοποιήθηκε προκατεργασία με χρήση 1%, β/β NaOH παρατηρήθηκαν οι μέγιστες τιμές  $X_{max}$  για τους ολικούς πολυσακχαρίτες καθώς επίσης και μέγιστη παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων. Επιπλέον, από τις δύο σειρές πειραμάτων παρατηρήθηκε ότι η μέγιστη αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων προκύπτει για συγκέντρωση 1.0% NaOH β/β.

Με βάση τα παραπάνω, στα επόμενα πειράματα η προκατεργασία της βαγιάσης σόργου πραγματοποιούνταν σε σταθερή συγκέντρωση NaOH (1%, β/β) και η υδρόλυση γίνονταν στο στερεό υπόλειμμα της προκατεργασίας.

## **2. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας**

Μελετήθηκε η επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας στην υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγιάσης σόργου συγκέντρωσης 8% (β/ο) διατηρώντας σταθερή τη συγκέντρωση NaOH (1% β/β) που προστέθηκε. Η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας εκτιμήθηκε με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design). Οι συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου που προέκυψαν από τον παραπάνω πειραματικό σχεδιασμό αναγράφονται στον Πίνακα 4. Μετά το στάδιο της υδροθερμικής προκατεργασίας του υλικού και πριν το στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης πραγματοποιήθηκε διήθηση και έκπλυση του υλικού με απιονισμένο νερό μέχρι απομάκρυνσης του αλκάλειου. Το προκύπτον στερεό υφίσταται ξήρανση στους 65°C για 24 ώρες.

Η μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης για τις διάφορες συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίας προκατεργασίας παρουσιάζονται στα Διάγραμματα και στους Πίνακες 2.1-2.9.

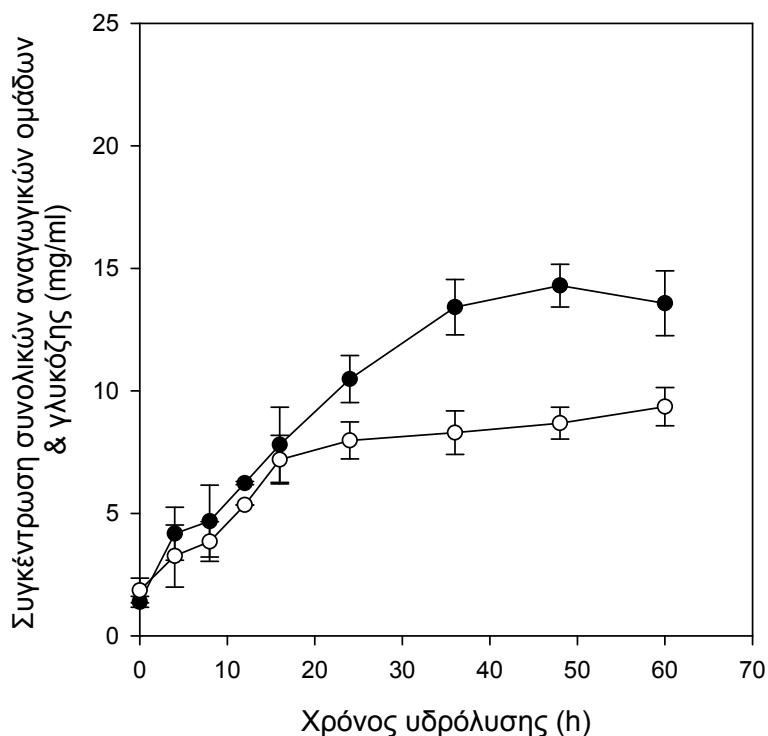


**Διάγραμμα 2.1.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (157°C, 15 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.1.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (157°C, 15 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.61 ± 0	1,48 ± 0.05
4	2.27 ± 0.58	3,15 ± 0.53
8	4.83 ± 0.27	4,38 ± 0.20
12	5.98 ± 1.66	5,35 ± 2.05
16	6.75 ± 0.02	6,15 ± 0.15
24	11.56 ± 1.31	6,14 ± 1.24
36	12.05 ± 0.84	6,31 ± 0.53
48	13.48 ± 1.15	7,79 ± 0.42
60	14.57 ± 0.68	6,86 ± 1.09

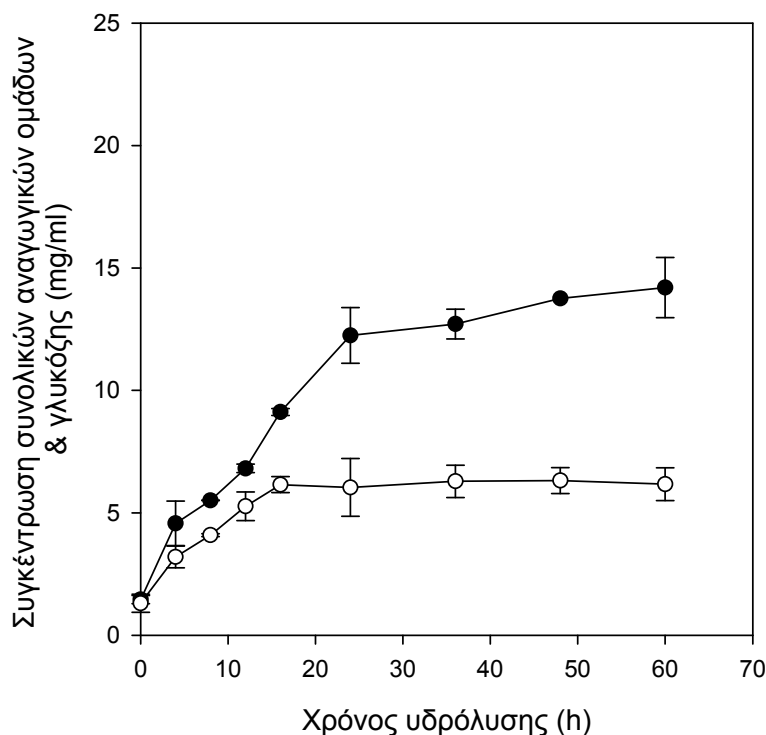




**Διάγραμμα 2.2.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (165°C, 10 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.2.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (165°C, 10 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

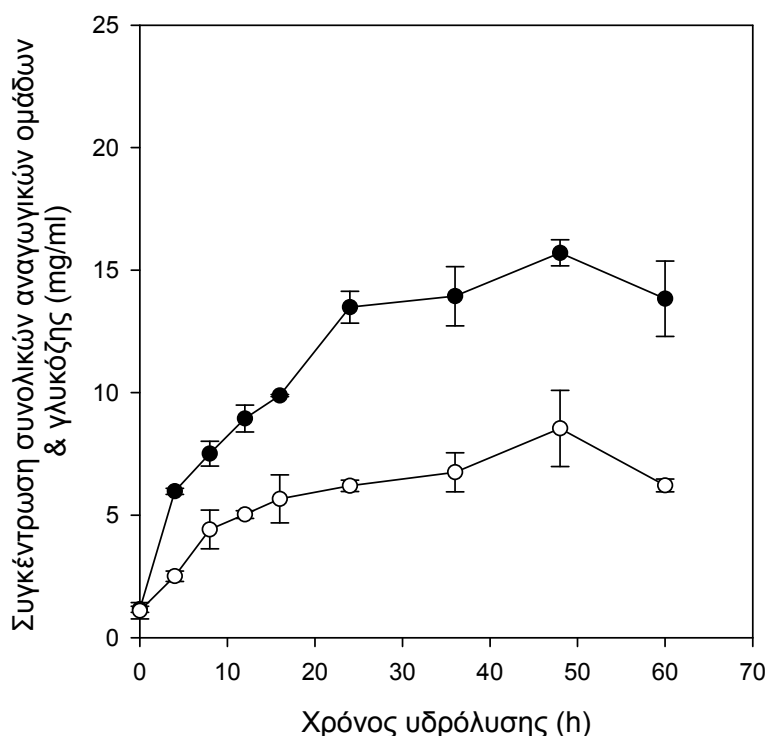
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.39 ± 0.22	1.86 ± 0.51
4	4.17 ± 1.08	3.26 ± 1.27
8	4.68 ± 1.47	3.85 ± 0.81
12	6.24 ± 0.07	5.35 ± 0.01
16	7.80 ± 1.54	7.20 ± 0.99
24	10.48 ± 0.96	7.98 ± 0.75
36	13.42 ± 1.13	8.29 ± 0.89
48	14.30 ± 0.87	8.68 ± 0.65
60	13.57 ± 1.32	9.35 ± 0.78



**Διάγραμμα 2.3.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου (165°C, 20 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσης σόργου).

**Πίνακας 2.3.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου (165°C, 20 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

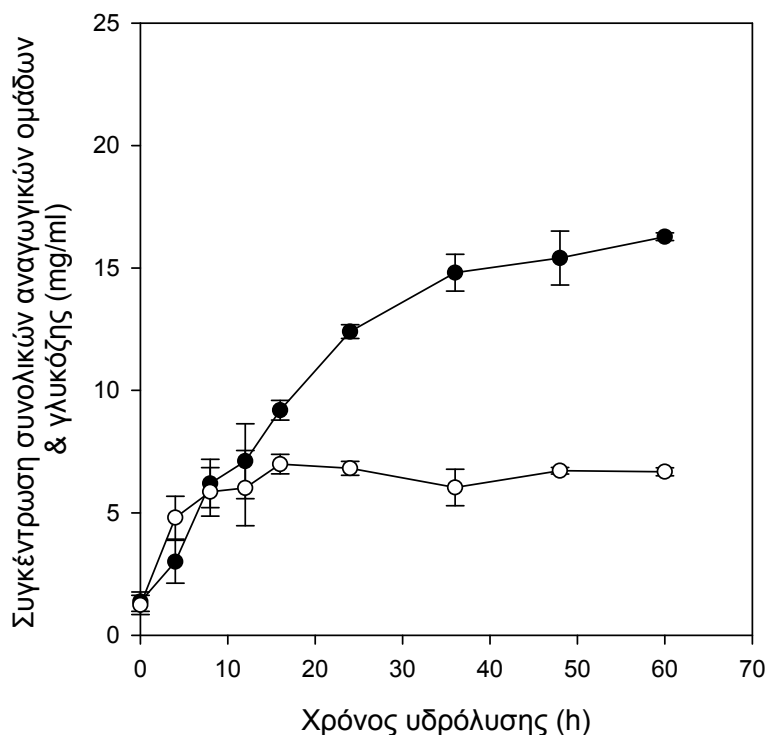
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.46 ± 0.17	1.31 ± 0.37
4	4.57 ± 0.91	3.20 ± 0.45
8	5.51 ± 0.01	4.09 ± 0.06
12	6.82 ± 0.17	5.27 ± 0.58
16	9.12 ± 0.14	6.15 ± 0.33
24	12.25 ± 1.14	6.04 ± 1.18
36	12.71 ± 0.61	6.29 ± 0.66
48	13.75 ± 0.00	6.32 ± 0.53
60	14.20 ± 1.23	6.17 ± 0.67



**Διάγραμμα 2.4.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 8 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.4.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 8 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

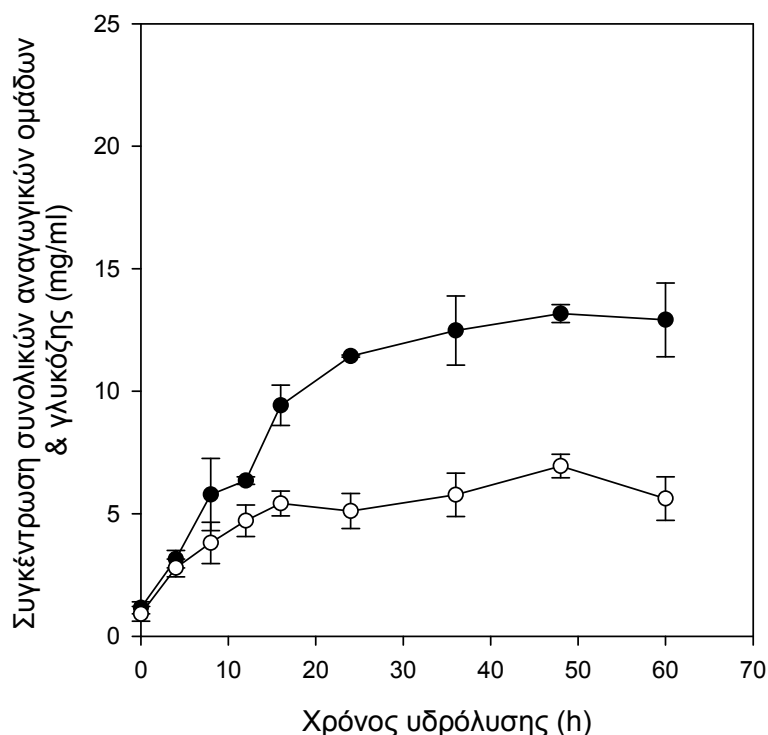
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.16 ± 0.12	1.10 ± 0.33
4	5.97 ± 0.12	2.51 ± 0.21
8	7.51 ± 0.51	4.41 ± 0.79
12	8.94 ± 0.55	5.02 ± 0.16
16	9.88 ± 0.04	5.67 ± 0.98
24	13.49 ± 0.65	6.20 ± 0.23
36	13.94 ± 1.21	6.75 ± 0.79
48	15.71 ± 3.53	8.54 ± 1.56
60	13.83 ± 4.54	6.21 ± 0.26



**Διάγραμμα 2.5.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 15 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.5.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 15 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

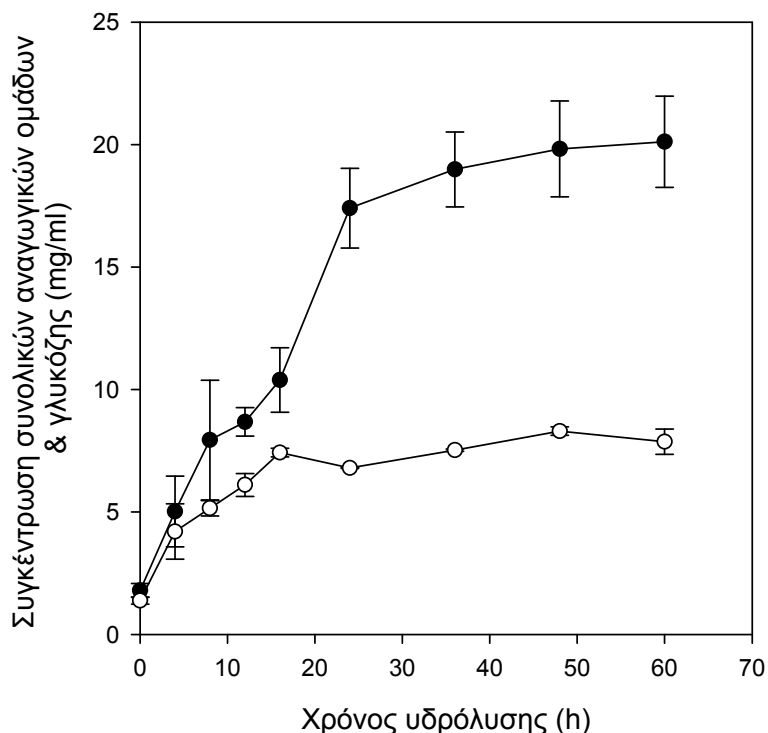
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.37 ± 0.40	1.24 ± 0.40
4	3.00 ± 0.87	4.80 ± 0.87
8	6.20 ± 0.99	5.86 ± 0.99
12	7.11 ± 1.53	6.01 ± 1.53
16	9.19 ± 0.40	4.99 ± 0.40
24	12.40 ± 0.28	6.82 ± 0.28
36	14.81 ± 0.75	6.04 ± 0.75
48	15.41 ± 1.10	6.72 ± 0.13
60	16.28 ± 0.16	6.68 ± 0.16



**Διάγραμμα 2.6.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 22 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.6.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 22 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

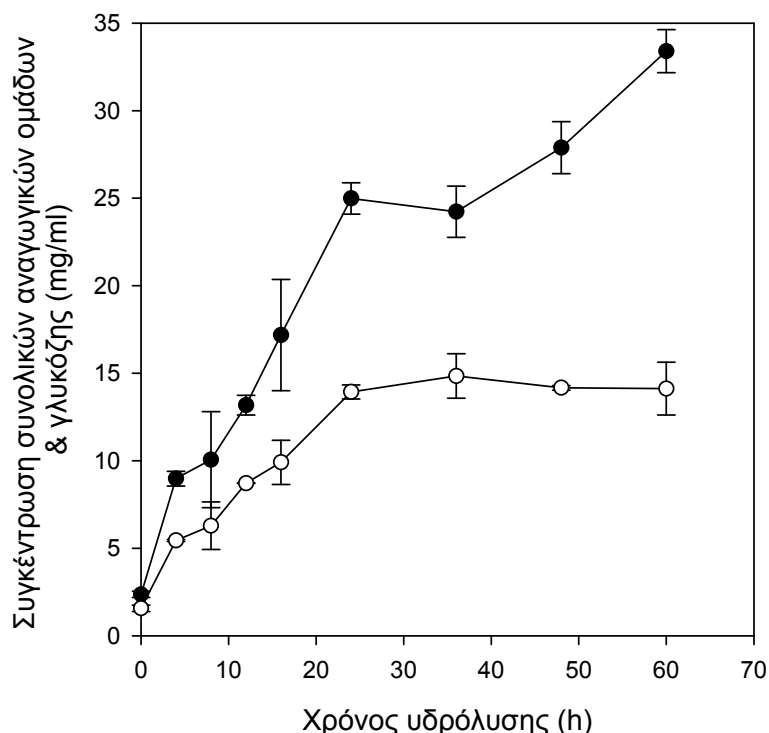
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.16 ± 0.25	0.91 ± 0.30
4	3.15 ± 0.36	2.79 ± 0.36
8	5.79 ± 1.47	3.81 ± 0.85
12	6.36 ± 0.16	4.72 ± 0.64
16	9.43 ± 0.82	5.42 ± 0.50
24	11.43 ± 0.04	5.11 ± 0.71
36	12.48 ± 1.41	5.77 ± 0.89
48	13.17 ± 0.37	6.95 ± 0.48
60	12.91 ± 1.51	5.62 ± 0.89



**Διάγραμμα 2.7.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 10 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.7.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 10 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

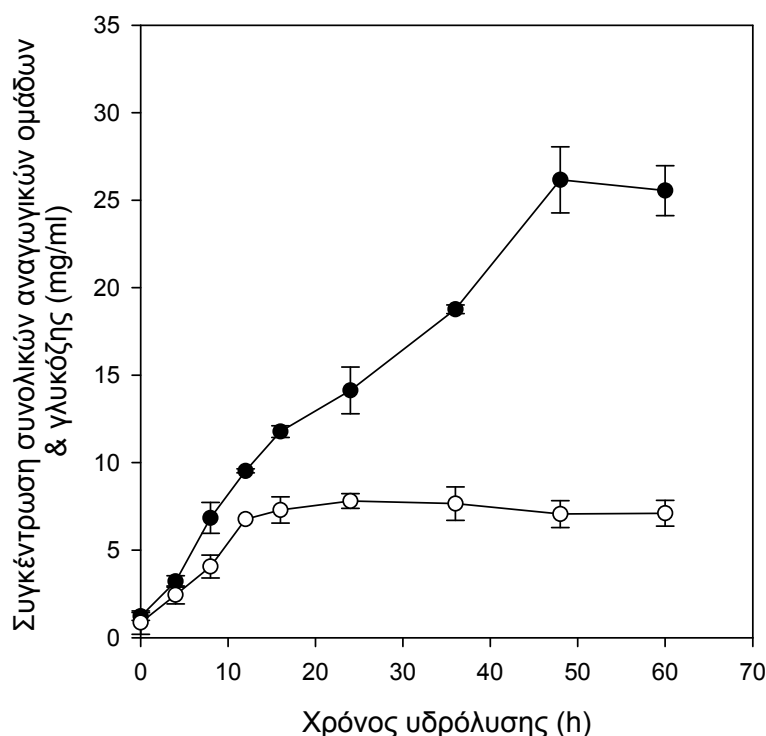
Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.80 ± 0.28	1.38 ± 0.15
4	5.02 ± 1.45	4.20 ± 1.13
8	7.94 ± 2.45	5.15 ± 0.32
12	8.68 ± 0.58	6.10 ± 0.47
16	10.39 ± 1.32	7.43 ± 0.18
24	17.41 ± 1.63	6.80 ± 0.02
36	18.99 ± 1.53	7.52 ± 0.04
48	19.83 ± 1.96	8.30 ± 0.17
60	20.12 ± 1.86	7.87 ± 0.51



**Διάγραμμα 2.8.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 20 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.8.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 20 min) από το εμπορικό σκευάσμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.37 ± 0.18	1.57 ± 0.18
4	8.98 ± 0.42	5.44 ± 0.05
8	10.07 ± 2.74	6.29 ± 1.36
12	13.18 ± 0.56	8.71 ± 0.01
16	17.18 ± 3.18	9.91 ± 1.26
24	24.98 ± 0.89	13.93 ± 0.40
36	24.23 ± 1.46	14.85 ± 1.27
48	27.88 ± 1.49	14.17 ± 0.13
60	33.40 ± 1.23	14.13 ± 2.51



**Διάγραμμα 2.9.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $213^{\circ}\text{C}$ , 15 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 2.9.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $213^{\circ}\text{C}$ , 15 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.22 ± 0.23	0.86 ± 0.66
4	3.22 ± 0.33	2.45 ± 0.52
8	6.84 ± 0.89	4.06 ± 0.65
12	9.53 ± 0.11	6.77 ± 0.00
16	11.78 ± 0.33	7.30 ± 0.75
24	14.13 ± 3.33	7.81 ± 0.42
36	18.76 ± 0.25	7.66 ± 0.96
48	26.16 ± 2.89	7.07 ± 0.77
60	25.55 ± 1.43	7.11 ± 0.73



Η σύσταση του στερεού υπολείμματος μετά την προκατεργασία της βαγιάσης σόργου σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας/χρόνου παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.10, ενώ οι μέγιστες επιτευχθείσες τιμές συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά το στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.11.

**Πίνακας 2.10.** Σύσταση στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγιάσης σόργου.

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	Κυτταρίνη (% β/β)*	Ημικυτταρίνη (% β/β)*
157	15	37.06 ± 2.80	34.62 ± 2.25
165	10	38.30 ± 2.45	42.38 ± 0.72
165	20	38.54 ± 1.75	30.33 ± 1.13
185	8	38.67 ± 1.93	34.45 ± 3.00
185	15	39.35 ± 6.88	30.75 ± 5.28
185	22	40.77 ± 7.00	32.32 ± 6.97
205	10	47.58 ± 1.23	23.33 ± 0.65
205	20	45.72 ± 3.15	23.36 ± 1.95
213	15	37.68 ± 4.73	34.33 ± 4.13

\* g/100 g ξηρού στερεού υπολείμματος προκατεργασίας

**Πίνακας 2.11.** Μέγιστες παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγιάσης σόργου.

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	Συνολικές αναγωγικές ομάδες (mg/ml)	Γλυκόζη (mg/ml)
157	15	14.57 ± 0.68	7.80 ± 0.42
165	10	14.30 ± 0.87	9.35 ± 0.78
165	20	14.20 ± 1.23	6.32 ± 0.53
185	8	15.71 ± 0.53	8.56 ± 1.53
185	15	16.28 ± 0.16	6.99 ± 0.40
185	22	13.17 ± 0.37	6.95 ± 0.48
205	10	20.12 ± 1.86	8.30 ± 0.17
205	20	33.40 ± 1.23	14.85 ± 1.27
213	15	26.16 ± 1.89	7.81 ± 0.42

Από την μελέτη της συνδυασμένης επίδρασης χρόνου και θερμοκρασίας προκατεργασίας στην υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγιάσης σόργου παρατηρήθηκαν τα εξής :

Η μέγιστη συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων καθώς και γλυκόζης προέκυψε για θερμοκρασία προκατεργασίας 205°C και για χρόνο προκατεργασίας 20 min (33.40 g/L και 14.85 g/L αντίστοιχα).

Η προσαρμογή των δεδομένων της μέγιστης απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων (Πίνακας 2.11) στο δευτεροβάθμιο μοντέλο (Εξ. 2) οδήγησε στην Εξίσωση 4.

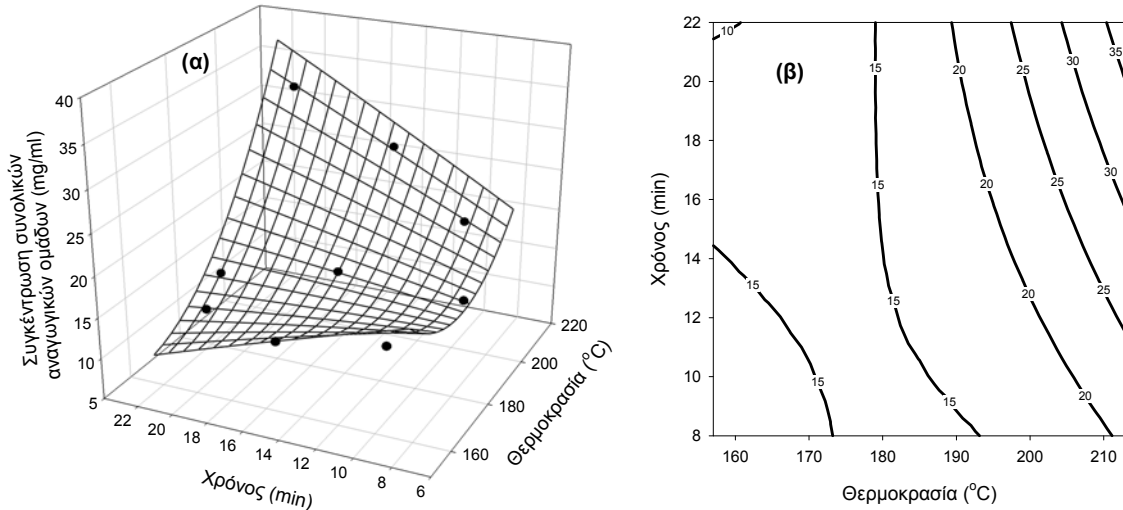
$$TRS_{max} = 307.3961 - 2.9555 \cdot X_1 - 5.8367 \cdot X_2 + 0.0073 \cdot X_1^2 - 0.0036 \cdot X_2^2 + 0.0334 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.84, P=0.19) \text{ (Εξ. 4)}$$

Όπου,

$TRS_{max}$  η μέγιστη επιτευχθείσα τιμή συνολικών αναγωγικών ομάδων ( $mg \cdot ml^{-1}$ ),  
 $X_1$  η θερμοκρασία προκατεργασίας ( $^{\circ}C$ ) και  $X_2$  ο χρόνος προκατεργασίας (min)

Η σχέση μεταξύ της εξαρτημένης μεταβλητής (μέγιστη επιτευχθείσα τιμή συνολικών αναγωγικών ομάδων) και των ανεξάρτητων μεταβλητών (θερμοκρασία και χρόνος προκατεργασίας) διερευνήθηκε περαιτέρω χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατη απεικόνιση και τις ισούψεις καμπύλες (Διάγραμμα 2.10α και 2.10β, αντίστοιχα).



**Διάγραμμα 2.10. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση της συγκέντρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισούψεις καμπύλες συγκέντρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού

Από την ισούψη καμπύλη (Διάγραμμα 2.10β) προκύπτει ότι η θερμοκρασία προκατεργασίας (για θερμοκρασίες άνω των  $190^{\circ}C$ ) επηρεάζει περισσότερο τη συγκέντρωση των συνολικών αναγωγικών ομάδων που απελευθερώνονται κατά την υδρόλυση του προκατεργασμένου υλικού.

Από τη στατιστική επεξεργασία των συντελεστών της εξίσωσης 4 απαλείφθηκαν αυτοί που εμφάνισαν  $P > 0.1$  (στατιστικά μη σημαντικοί). Προέκυψε το απλοποιημένο μαθηματικό μοντέλο (Εξ. 5)

$$TRS_{max} = 312.8745 - 3.0074 \cdot X_1 - 5.9443 \cdot X_2 + 0.0075 \cdot X_1^2 + 0.0334 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.84, P=0.07) \text{ (Εξ. 5)}$$

Όπου,

$TRS_{max}$  η μέγιστη επιτευχθείσα τιμή συνολικών αναγωγικών ομάδων ( $mg \cdot ml^{-1}$ ),  
 $X_1$  η θερμοκρασία προκατεργασίας ( $^{\circ}C$ ) και  $X_2$  ο χρόνος προκατεργασίας (min)

Η επίλυση του μοντέλου (Εξ. 5) οδήγησε στο κάτωθι ζεύγος τιμών:

$$X_1 = 177.9^{\circ}C$$

$$X_2 = 10.1 \text{ min}$$

Η τιμή που προκύπτει με αντικατάσταση του παραπάνω ζεύγους στην Εξ. 5 είναι 16.27  $mg/ml$  συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων. Η συνάρτηση που περιγράφεται από την Εξ. 5 παρουσιάζει ελάχιστο (όπως προκύπτει από τη μελέτη της μονοτονίας της συνάρτησης) και το συγκεκριμένο ζεύγος τιμών αντιπροσωπεύει την ελάχιστη συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων. Η προσαρμογή των δεδομένων της μέγιστης απελευθέρωσης γλυκόζης (Πίνακας 2.11) στο δευτεροβάθμιο μοντέλο (Εξ. 2) οδήγησε στην Εξίσωση 6.

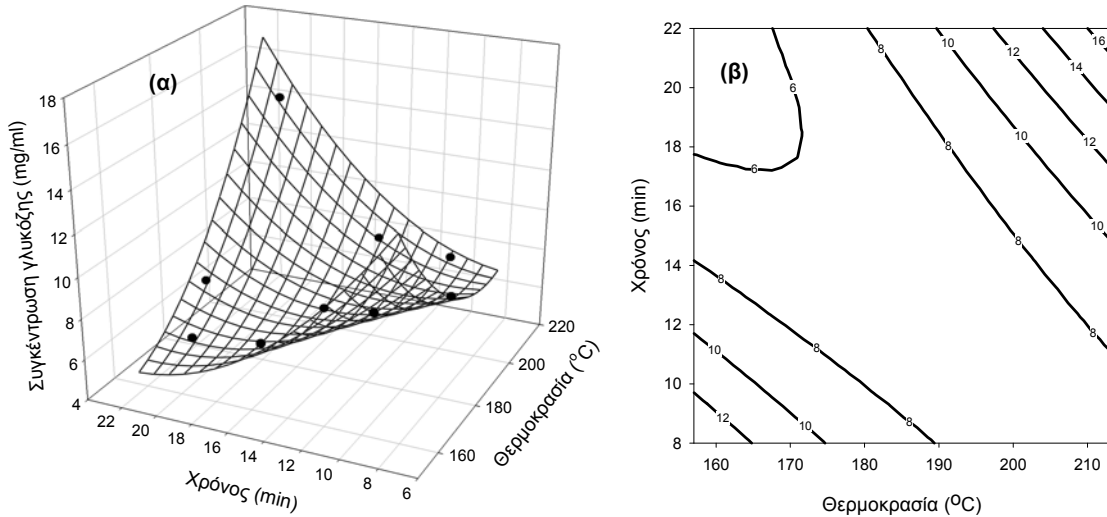
$$Glu_{max} = 165.6677 - 1.3105 \cdot X_1 - 5.6568 \cdot X_2 + 0.0027 \cdot X_1^2 + 0.0419 \cdot X_2^2 + 0.0240 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.65, P=0.49) \text{ (Εξ. 6)}$$

Όπου,

$Glu_{max}$  η μέγιστη επιτευχθείσα τιμή συνολικών αναγωγικών ομάδων ( $mg \cdot ml^{-1}$ ),  
 $X_1$  η θερμοκρασία προκατεργασίας ( $^{\circ}C$ ) και  $X_2$  ο χρόνος προκατεργασίας (min)

Η σχέση μεταξύ της εξαρτημένης μεταβλητής (μέγιστη επιτευχθείσα τιμή γλυκόζης) και των ανεξάρτητων μεταβλητών (θερμοκρασία και χρόνος προκατεργασίας) διερευνήθηκε περαιτέρω χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατη απεικόνιση και τις ισοϋψείς καμπύλες (Διάγραμμα 2.11α και 2.11β, αντίστοιχα).



**Διάγραμμα 2.11. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση της συγκέντρωσης γλυκόζης συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες συγκέντρωσης γλυκόζης συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού

Από την ισουΨή καμπύλη (Διάγραμμα 2.11β) προκύπτει ότι η θερμοκρασία προκατεργασίας επηρεάζει περισσότερο τη συγκέντρωση της γλυκόζης που απελευθερώνονται κατά την υδρόλυση του προκατεργασμένου υλικού.

Από τη στατιστική επεξεργασία των συντελεστών της εξίσωσης 6 απαλείφθηκαν αυτοί που εμφάνισαν  $P > 0.1$  (στατιστικά μη σημαντικοί). Προέκυψε το απλοποιημένο μαθηματικό μοντέλο (Εξ. 7)

$$Glu_{\max} = 65.7365 - 0.3119 \cdot X_1 - 4.3989 \cdot X_2 + 0.0240 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.59, P=0.19) \text{ (Εξ. 7)}$$

Όπου,

$Glu_{\max}$  η μέγιστη επιτευχθείσα τιμή συνολικών αναγωγικών ομάδων ( $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ),  
 $X_1$  η θερμοκρασία προκατεργασίας ( $^{\circ}\text{C}$ ) και  $X_2$  ο χρόνος προκατεργασίας (min)

Η επίλυση του μοντέλου (Εξ. 7) οδήγησε στο κάτωθι ζεύγος τιμών:

$$X_1 = 183.3^{\circ}\text{C}$$

$$X_2 = 12.99 \text{ min}$$

Η τιμή που προκύπτει με αντικατάσταση του παραπάνω ζεύγους στην Εξ. 7 είναι  $8.57 \text{ mg/ml}$  συγκέντρωση γλυκόζης. Η συνάρτηση που περιγράφεται από την Εξ. 7 παρουσιάζει ελάχιστο και το συγκεκριμένο ζεύγος τιμών αντιπροσωπεύει την ελάχιστη συγκέντρωση γλυκόζης.

Στον Πίνακα 2.12 παρουσιάζεται η αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος προκατεργασίας βγάσσης σόργου.

**Πίνακας 2.12.** Αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών μονάδων και γλυκόζης

Θερμοκρασία ( $^{\circ}\text{C}$ )	Χρόνος (min)	Αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης ( $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )	
		Συνολικών αναγωγικών ομάδων	Γλυκόζης
157	15	0.350	0.288
165	10	0.372	0.319
165	20	0.439	0.294
185	8	0.510	0.291
185	15	0.381	0.318
185	22	0.435	0.274
205	10	0.521	0.350
205	20	0.846	0.499
213	15	0.686	0.430

Η μέγιστη αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων καθώς και γλυκόζης προέκυψε για θερμοκρασία προκατεργασίας  $205^{\circ}\text{C}$  και για χρόνο προκατεργασίας 20 min ( $0.864 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  και  $0.499 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  αντίστοιχα).

Η προσαρμογή των δεδομένων της αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων (Πίνακας 2.12) στο δευτεροβάθμιο μοντέλο (Εξ. 2) οδήγησε στην Εξίσωση 8.

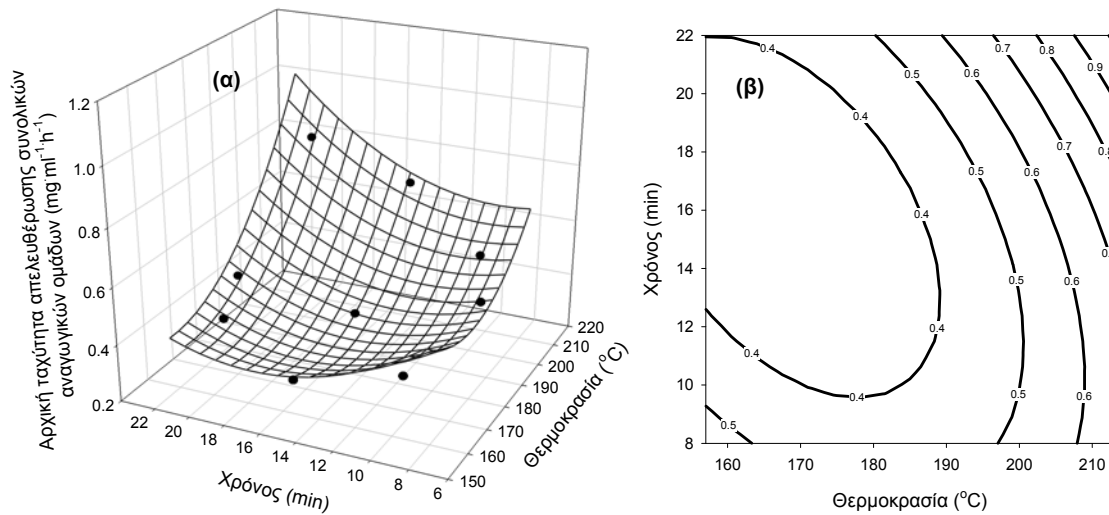
$$r_{TRS} = 8.4537 - 0.0795 \cdot X_1 - 0.1832 \cdot X_2 + 0.0002 \cdot X_1^2 + 0.0024 \cdot X_2^2 + 0.0006 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.83, P=0.19) \text{ (Εξ. 8)}$$

Όπου,

$r_{TRS}$  η αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών πολυσακχαριτών ( $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ),  $X_1$  η θερμοκρασία προκατεργασίας ( $^{\circ}\text{C}$ ) και  $X_2$  ο χρόνος προκατεργασίας (min)

Η σχέση μεταξύ της εξαρτημένης μεταβλητής (αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης ολικών αναγωγικών ομάδων) και των ανεξάρτητων μεταβλητών (θερμοκρασία και χρόνος προκατεργασίας) διερευνήθηκε περαιτέρω χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατη απεικόνιση και τις ισοϋψείς καμπύλες (Διάγραμμα 2.12α και 2.12β, αντίστοιχα).



**Διάγραμμα 2.12. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού

Από την ισοϋψή καμπύλη (Διάγραμμα 2.12β) προκύπτει ότι η αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων επηρεάζεται τόσο από το χρόνο όσο και από τη θερμοκρασία προκατεργασίας.

Η επίλυση του μοντέλου (Εξ. 8) οδήγησε στο κάτωθι ζεύγος τιμών το οποίο αντιστοιχεί και στο ελάχιστο της συνάρτησης 8:

$$X_1 = 174.15 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$X_2 = 16.39 \text{ min}$$

Η τιμή που προκύπτει με αντικατάσταση του παραπάνω ζεύγους στην Εξ. 8 είναι  $0.028 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ .

Η προσαρμογή των δεδομένων της αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης γλυκόζης στο δευτεροβάθμιο μοντέλο (Εξ. 2) οδήγησε στην Εξίσωση 9.

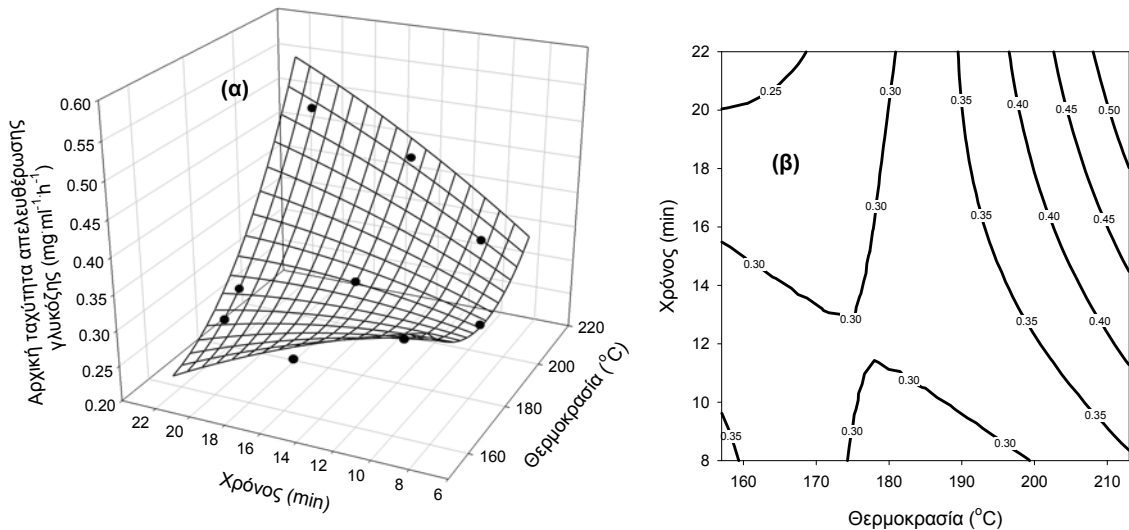
$$r_{Glu} = 3.7762 - 0.0364 \cdot X_1 - 0.0709 \cdot X_2 + 8.2357 \cdot 10^{-5} \cdot X_1^2 - 0.0002 \cdot X_2^2 + 0.0004 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.85, P=0.16) \text{ (Εξ. 9)}$$

Όπου,

$r_{Glu}$  η αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης γλυκόζης ( $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ),  $X_1$  η θερμοκρασία προκατεργασίας ( $^{\circ}\text{C}$ ) και  $X_2$  ο χρόνος προκατεργασίας (min)

Η σχέση μεταξύ της εξαρτημένης μεταβλητής (αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης γλυκόζης) και των ανεξάρτητων μεταβλητών (θερμοκρασία και χρόνος προκατεργασίας) διερευνήθηκε περαιτέρω χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατη απεικόνιση και τις ισοϋψείς καμπύλες (Διάγραμμα 2.13α και 2.13β, αντίστοιχα).



**Διάγραμμα 2.13. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης γλυκόζης συναρτήσεως των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης γλυκόζης συναρτήσεως των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού

Από την ισοϋψή καμπύλη (Διάγραμμα 2.13β) προκύπτει ότι για υψηλές θερμοκρασίες (άνω των  $195^{\circ}\text{C}$ ) η αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης γλυκόζης επηρεάζεται από περισσότερο από τη θερμοκρασία από ότι από το χρόνο προκατεργασίας.

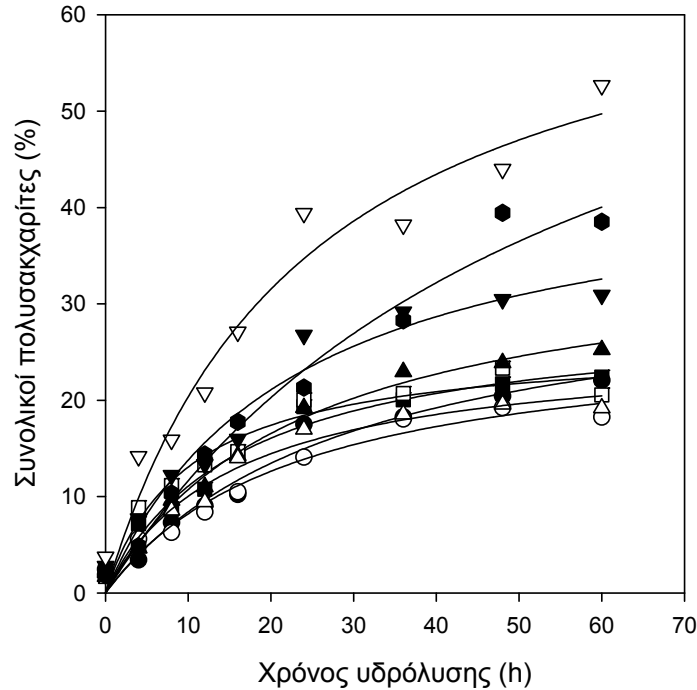
Η επίλυση του μοντέλου (Εξ. 3) οδήγησε στο κάτωθι ζεύγος τιμών:

$$X_1 = 190^{\circ}\text{C}$$

$$X_2 = 12.76 \text{ min}$$

Η τιμή που προκύπτει με αντικατάσταση του παραπάνω ζεύγους στην Εξ. 3 είναι αρνητική και συνεπώς χωρίς φυσική σημασία.

Τα πειραματικά αποτελέσματα από την υδρόλυση προσαρμόστηκαν στο μαθηματικό μοντέλο του Holtzapfle (Εξ. 3) (Holtzapfle et al., 1984). Οι προσαρμογές της συνολικής υδρόλυσης πολυσακχαριτών παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 2.14 και 2.15 και οι τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  στον Πίνακα 2.13, ενώ τα αντίστοιχα αποτελέσματα για την υδρόλυση της κυτταρίνης στα Διαγράμματα 2.16 και 2.17 και στον Πίνακα 2.14.

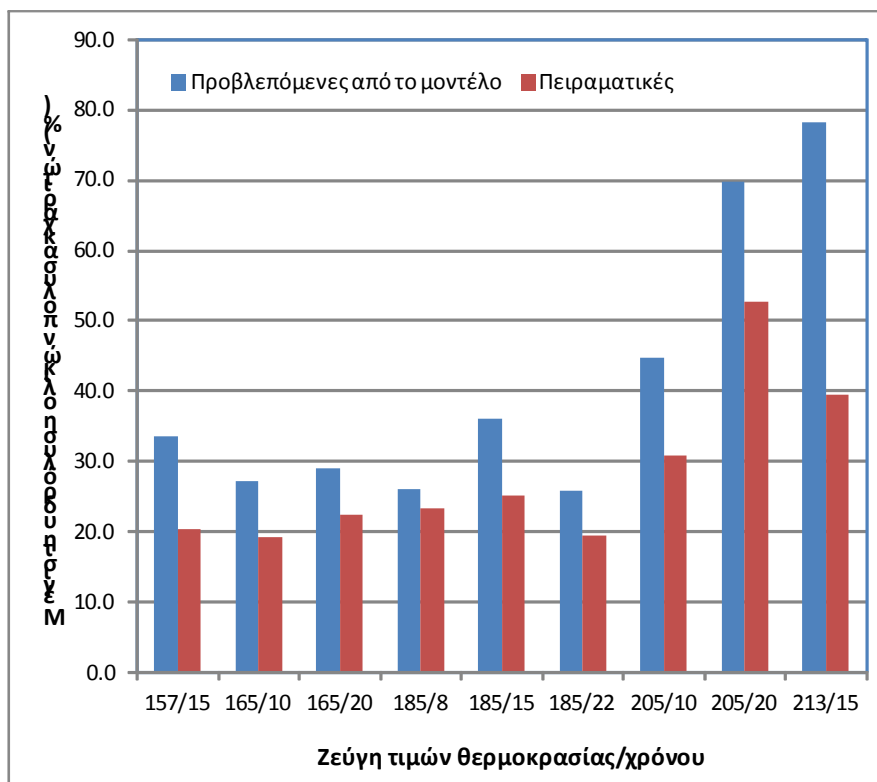


**Διάγραμμα 2.14.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapfle για την υδρόλυση των συνολικών πολυσακχαριτών της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β, σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 157°C-15 min, (○) 165°C-10 min, (■) 165°C-20 min, (□) 185°C-8 min, (▲) 185°C-15 min, (△) 185°C-22 min, (▼) 205°C-10 min, (▽) 205°C-20 min, (◆) 213°C-15 min.

**Πίνακας 2.13.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσης σόργου (1%, β/β, NaOH)

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	Ολικοί Πολυσακχαριτές	
		$X_{max}$ (%)	$t_{1/2}$ (h)
157	15	33.57	29.88
$(R^2=0.97, P < 0.0001)$			
165	10	27.30	23.23
$(R^2=0.96, P < 0.0001)$			
165	20	29.14	16.28
$(R^2=0.96, P < 0.0001)$			
185	8	26.09	9.97
$(R^2=0.96, P < 0.0001)$			
185	15	36.19	23.72
$(R^2=0.98, P < 0.0001)$			
185	22	25.80	15.72

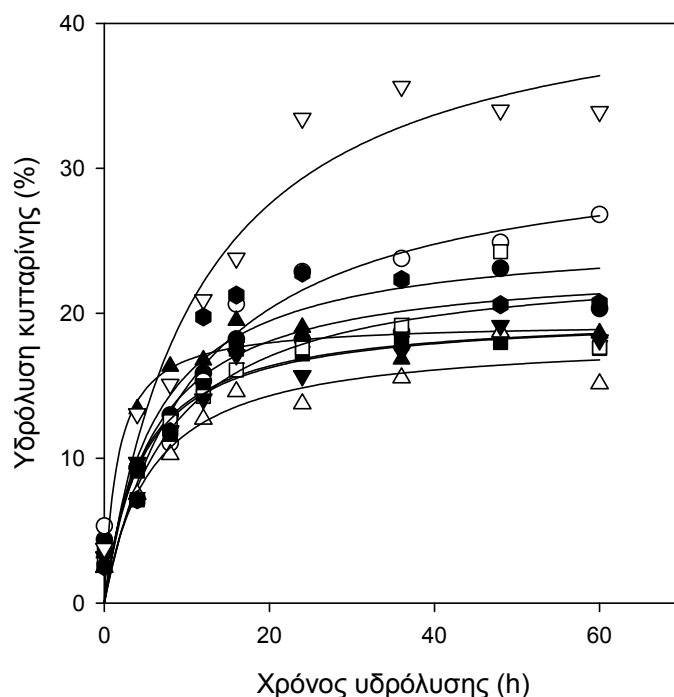
$(R^2=0.97, P < 0.0001)$			
205	10	44.78	22.48
$(R^2=0.96, P < 0.0001)$			
205	20	69.87	24.33
$(R^2=0.96, P < 0.0001)$			
213	15	78.13	57.06
$(R^2=0.98, P < 0.0001)$			



**Διάγραμμα 2.15.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzapfle μέγιστης υδρόλυσης πολυσακχαριτών με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου.

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι σε όλες τις συνθήκες οι προβλεπόμενες τιμές από το μοντέλο του Holtzapfle μέγιστης υδρόλυσης πολυσακχαριτών είναι υψηλότερες από τις αντίστοιχες πειραματικές (στην περίπτωση θερμοκρασίας προκατεργασίας 213°C και χρόνο προκατεργασίας 15 min η προβλεπόμενη από το μοντέλο τιμή είναι σχεδόν διπλάσια από την πειραματική). Επιπλέον, από το μοντέλο η συνθήκη για την οποία παρατηρείται μέγιστη υδρόλυση ολικών πολυσακχαριτών είναι για θερμοκρασία προκατεργασίας 213°C και χρόνο προκατεργασίας 15 min ενώ πειραματικά προκύπτει ότι συνθήκη για την οποία παρατηρείται μέγιστη υδρόλυση ολικών πολυσακχαριτών είναι για θερμοκρασία προκατεργασίας 205°C και χρόνο προκατεργασίας 20 min.

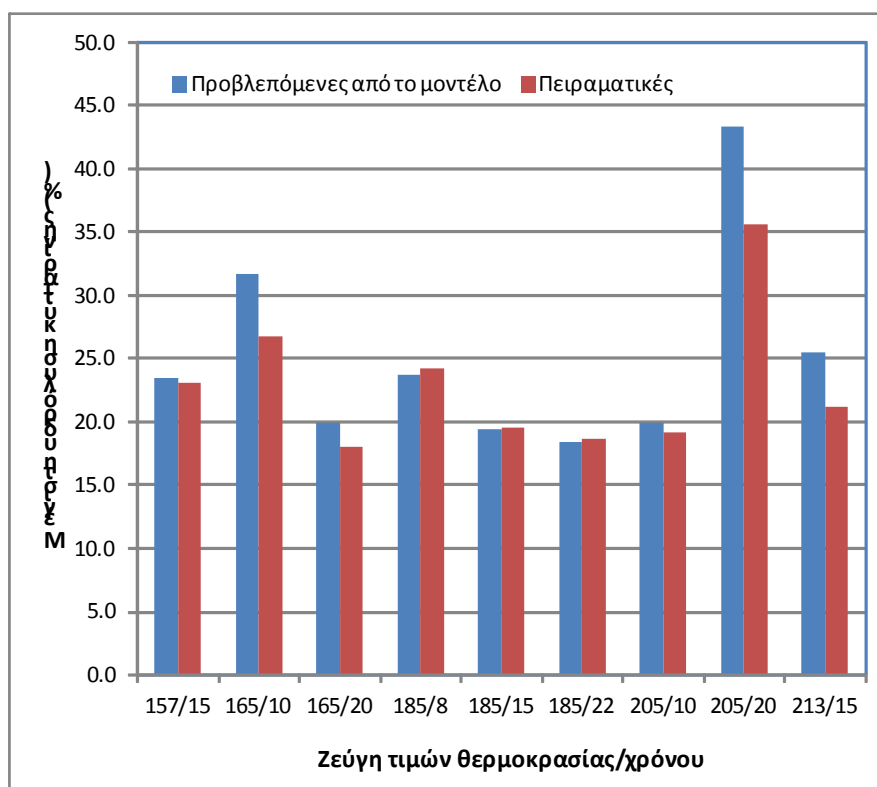




**Διάγραμμα 2.16.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapfle για την υδρόλυση της κυτταρίνης της υδροθερικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β), σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 15<sup>o</sup>C-15 min, (○) 165<sup>o</sup>C-10 min, (■) 165<sup>o</sup>C-20 min, (□) 185<sup>o</sup>C-8 min, (▲) 185<sup>o</sup>C-15 min, (△) 185<sup>o</sup>C-22 min, (▼) 205<sup>o</sup>C-10 min, (▽) 205<sup>o</sup>C-20 min, (●) 213<sup>o</sup>C-15 min.

**Πίνακας 2.14.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσης σόργου (1%, β/β, NaOH)

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	Κυτταρίνη	
		$X_{max}$ (%)	$t_{1/2}$ (h)
157	15	23.46 ( $R^2=0.90, P=0.0001$ )	5.97
165	10	31.75 ( $R^2=0.91, P<0.0001$ )	11.29
165	20	19.97 ( $R^2=0.90, P<0.0001$ )	4.43
185	8	23.70 ( $R^2=0.89, P=0.0001$ )	7.85
185	15	19.37 ( $R^2=0.90, P<0.0001$ )	1.57
185	22	18.37 ( $R^2=0.91, P<0.0001$ )	5.69
205	10	19.96 ( $R^2=0.92, P<0.0001$ )	4.59
205	20	43.37 ( $R^2=0.94, P<0.0001$ )	11.52
213	15	25.48 ( $R^2=0.88, P=0.0002$ )	6.18



**Διάγραμμα 2.17.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzappple μέγιστης υδρόλυσης κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου.

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι οι προβλεπόμενες τιμές από το μοντέλο του Holtzappple μέγιστης υδρόλυσης κυτταρίνης έχουν μικρές αποκλίσεις από τις αντίστοιχες πειραματικές μετρήσεις (η μεγαλύτερη απόκλιση είναι της τάξεως του 23% και παρατηρείται για συνθήκες προκατεργασίας 205 °C και 20 min). Η συνθήκη για την οποία την οποία το μοντέλο προβλέπει μέγιστη υδρόλυση κυτταρίνης συμπίπτει και με τα πειραματικά δεδομένα και είναι για θερμοκρασία προκατεργασίας 205 °C και χρόνο προκατεργασίας 20 min.

Η κινητική των ενζύμων συνήθως μελετάται με τη βοήθεια της εξίσωσης Michaelis-Menten. Στην περίπτωση ετερογενών συστημάτων είναι δυνατή η μελέτη χρησιμοποιώντας τα δεδομένα χρονικής μεταβολής κάποιου παραμέτρου, όπως έχει αναφερθεί από τον Chrastil (Chrastil, 1982, 1988α, 1988β). Η μεταφορά των μορίων στους πόρους της πρωτεΐνης ή άλλου βιολογικού υλικού είναι μια διαδικασία διάχυσης. Η ρόφηση είναι συνήθως στιγμιαία, αλλά η διάχυση είναι χρονοβόρα. Η εξίσωση Michaelis-Menten δεν λαμβάνει υπόψιν της τους παράγοντες περιορισμού του ρυθμού λόγω διάχυσης (diffusion rate-limiting factor).

Τα προϊόντα που δημιουργούνται στα ενεργά κέντρα (τα οποία ποσοτικοποιούνται στη παρούσα εργασία ως συνολικές αναγωγικές ομάδες ή γλυκόζη) θα εκροφηθούν από την επιφάνεια στην υγρή φάση. Αν δεν

εκροφηθούν θα δράσουν ως παρεμποδιστές (Lee & Fan, 1983, Nidetzky & Steiner, 1993) της μεταφοράς σε περαιτέρω κέντρα αντίδρασης κατά μήκος ή εγκάρσια των μοριακών δομών του υποστρώματος. Κατά συνέπεια υπάρχουν δύο βαθμίδες που καθορίζουν τη συνολική συμπεριφορά του συστήματος: η αρχική συγκέντρωση του ενζύμου και η τελική συγκέντρωση του προϊόντος στην επιφάνεια του υποστρώματος.

Η εξίσωση 10 παρουσιάζει το προτεινόμενο από τον Chrastil (Chrastil, 1988a) κινητικό μοντέλο που περιορίζεται από τη διάχυση (diffusion-limited kinetic model).

$$P = P_{\infty} \cdot [1 - \exp(-k \cdot E_0 \cdot t)]^n \quad \text{Εξ. 10}$$

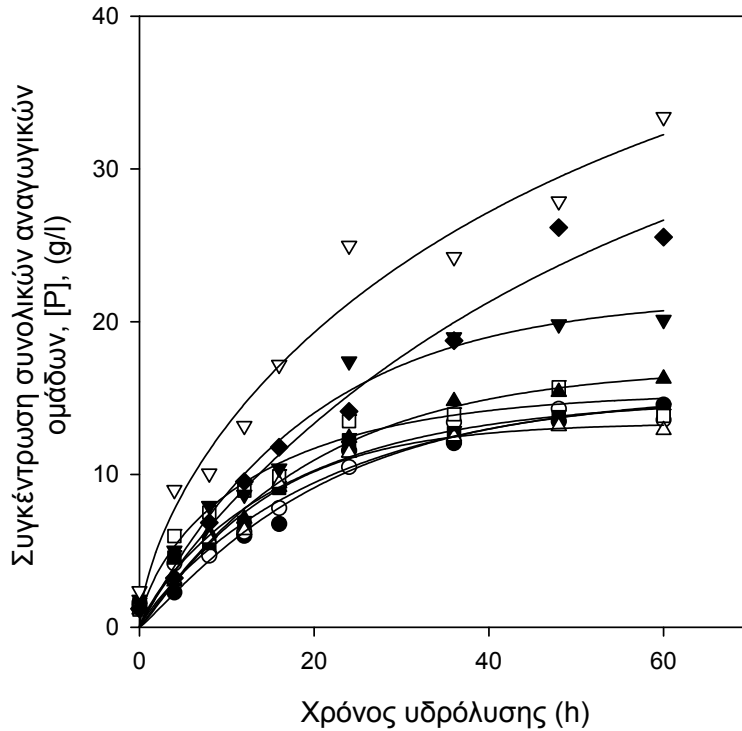
Όπου,

$P$  και  $P_{\infty}$  είναι τα προϊόντα (g/l) τα οποία διαχέονται σε χρόνο  $t$  (h) και στην ισορροπία αντίστοιχα,  $k$  είναι σταθερά ρυθμού (h<sup>-1</sup>/FPU) ανάλογη του συντελεστή διάχυσης όπως ορίζεται από το νόμο του Fick,  $E_0$  η αρχική συγκέντρωση του ενζύμου (FPU/l) και  $n$  σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση (structural diffusion resistance constant), που εξαρτάται από τη στερική δομή του συστήματος (Chrastil, 1982, 1988a).

Από την εξίσωση 10 προκύπτει για την παράμετρο  $n$  (Chrastil, 1988β):

- (1) Όλες οι διαδοχικές αντιδράσεις έχουν  $n > 1$
- (2) Όλες οι αντιδράσεις πρώτης τάξης έχουν  $n = 1$
- (3) Όλες οι αντιδράσεις δεύτερης τάξης έχουν  $n < 1$
- (4) Όλες οι αντιδράσεις τρίτης τάξης έχουν  $n < 1$
- (5) Όλες οι αντιδράσεις που περιορίζονται από φαινόμενα διάχυσης έχουν  $n < 1$
- (6) Όταν  $n = 1$ , τότε το  $k$  είναι η σταθερά ρυθμού αντίδρασης πρώτης τάξης
- (7) Όταν  $n > 2$  τότε  $k(n-1)$  είναι η μικρότερη σταθερά ρυθμού των διαδοχικών αντιδράσεων ( $k_1$  ή  $k_2$ )
- (8) Όταν  $1 < n < 2$ , τότε  $0.96k$  είναι η μικρότερη σταθερά ρυθμού των διαδοχικών αντιδράσεων ( $k_1$  ή  $k_2$ )

Η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων συνολικών αναγωγικών ομάδων (Πίνακες 2.1-2.9) στην εξίσωση 10 παρουσιάζεται στον διάγραμμα 2.18 και οι τιμές των σταθερών  $k$  και  $n$  στον Πίνακα 2.15.



**Διάγραμμα 2.18.** Προσαρμογή εξίσωσης Chrastil για την υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β), σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 157°C-15 min, (○) 165°C-10 min, (■) 165°C-20 min, (□) 185°C-8 min, (▲) 185°C-15 min, (△) 185°C-22 min, (▼) 205°C-10 min, (▽) 205°C-20 min, (◆) 213°C-15 min.

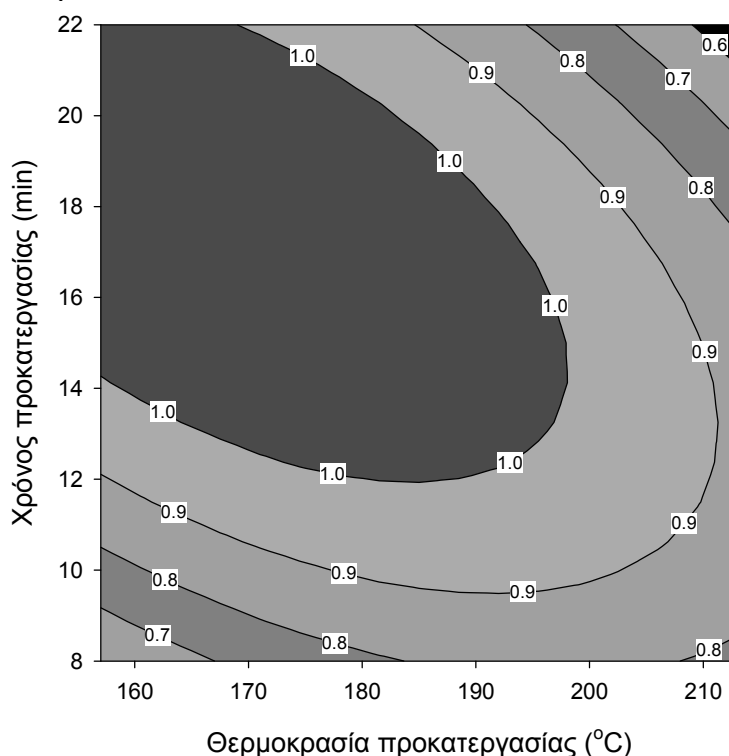
**Πίνακας 2.15.** Προσδιορισμός τιμών παραμέτρων από την ανάλυση παλινδρόμησης των πειραματικών αποτελεσμάτων (συνολικές αναγωγικές ομάδες) χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 10.

Θερμοκρασία (°C)	Χρόνος (min)	$k$	$n$	$R^2$
157	15	$6.38 \times 10^{-5}$	1.1	0.97
165	10	$5.29 \times 10^{-5}$	0.9	0.97
165	20	$6.24 \times 10^{-5}$	0.8	0.97
185	8	$6.65 \times 10^{-5}$	0.6	0.96
185	15	$6.69 \times 10^{-5}$	1.1	0.99
185	22	$9.87 \times 10^{-5}$	1.2	0.98
205	10	$6.64 \times 10^{-5}$	1.0	0.96
205	20	$1.79 \times 10^{-5}$	0.6	0.96
213	15	$2.16 \times 10^{-5}$	0.9	0.98
Ακατέργαστη βαγάση		$5.48 \times 10^{-5}$	0.5	0.97

Σε όλες τις περιπτώσεις η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξίσωση 10 είναι ικανοποιητική (συντελεστής συσχέτισης  $R^2 > 0.95$ ).

Η παράμετρος  $n$  για την υδρόλυση της ακατέργαστης βαγάσσης βρέθηκε ίση με 0.5 γεγονός που υποδεικνύει ότι η αντίδραση περιορίζεται από φαινόμενα διάχυσης (εφόσον  $n < 1$ ) και μάλιστα όπως αναφέρεται από τον Chrastil (Chrastil, 1988a) η δομή του υλικού είναι υψηλής αντίστασης (εφόσον  $n = 0.5-0.6$ ). Η προκατεργασία του υλικού με άλκαλι και σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου μεταβάλλει την τιμή της παραμέτρου  $n$  (Πίνακας 2.15), γεγονός που υποδεικνύει ότι έχουν συμβεί αλλαγές στη διάχυση και στη δομή του συστήματος υποστρώματος-ενζύμου. Η αύξηση των τιμών του  $n$  υποδεικνύει ότι τα προκατεργασμένα υλικά εμφανίζουν μικρότερη αντίσταση στη διάχυση συγκριτικά με το ακατέργαστο. Κατά συνέπεια, η προκατεργασία βελτιώνει την μετακίνηση των μορίων στους πόρους του υποστρώματος λόγω της διόγκωσης του υποστρώματος και της ενδεχόμενης υδρόλυσης της λιγνίνης.

Η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας της βαγάσσης σόργου στις τιμές της παραμέτρου  $n$  παρουσιάζεται στο διάγραμμα 2.19. Παρατηρείται ότι η σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση επηρεάζεται τόσο από το χρόνο όσο και από τη θερμοκρασία προκατεργασίας του υλικού.

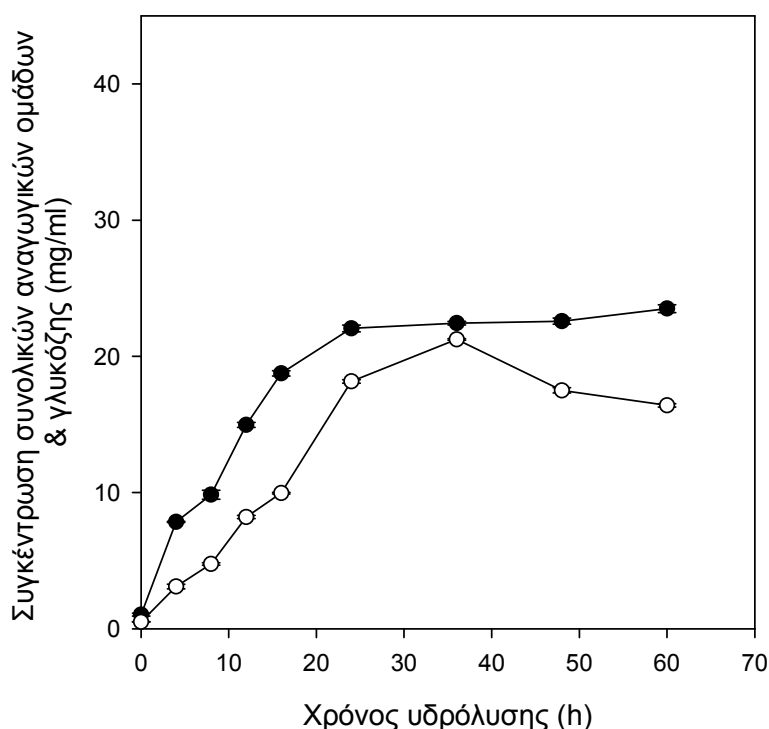


**Διαγράμμα 2.19.** Συνδυασμένη επίδραση χρόνου-θερμοκρασίας προκατεργασίας βαγάσσης σόργου στις τιμές της σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση ( $n$ ).

Η σταθερά του ρυθμού  $k$  είναι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων αυξημένη έναντι της τιμής που προκύπτει από την υδρόλυση της ακατέργαστης βαγάσσης.

### 3. Επίδραση της συγκέντρωσης NaOH κατά την αλκαλική προκατεργασία της βαγάσσης σόργου

Η βαγάσση σόργου προκατεργάστηκε αλκαλικά σε θερμοκρασία 120°C για 20 min παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων NaOH (1.0, 4.0 και 10.0 g/100 g βαγάσσης). Ακολούθησε υδρόλυση της προκατεργασμένης βαγάσσης του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας (σύμφωνα με την περιγραφή στο κεφάλαιο Μέθοδοι & Υλικά). Η υδρόλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

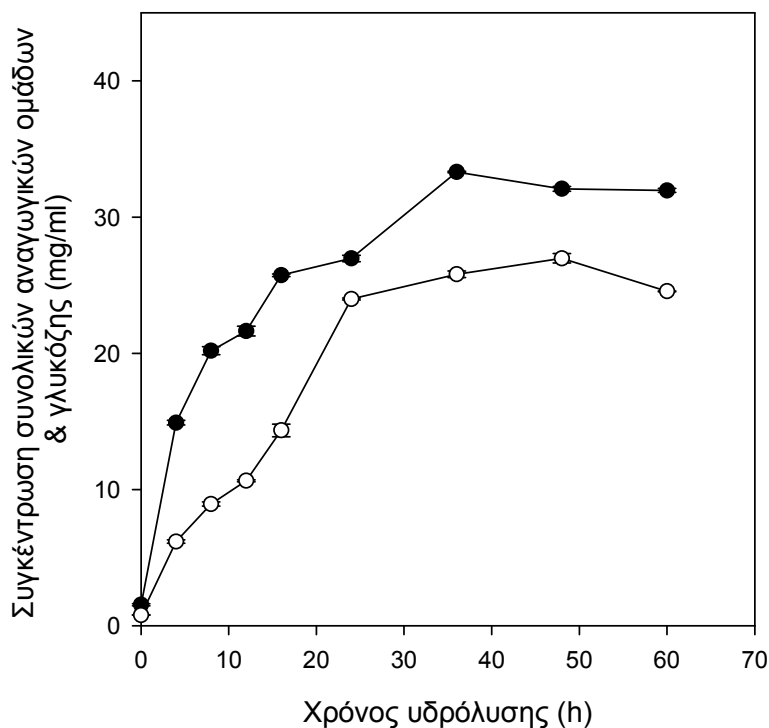


**Διάγραμμα 3.1.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 1.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 3.1.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 1.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκευάσμα Cellic® CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.03 ± 0.10	0.51 ± 0.01
4	7.84 ± 0.04	3.10 ± 0.17
8	9.84 ± 0.33	4.76 ± 0.09
12	14.96 ± 0.19	8.20 ± 0.12

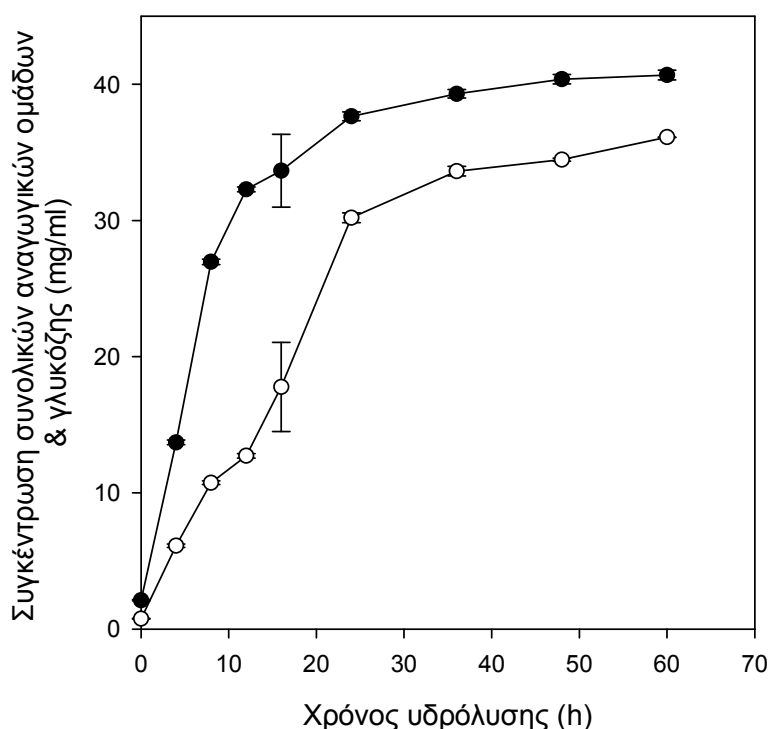
16	18.75 ± 0.20	9.96 ± 0.06
24	22.05 ± 0.25	18.15 ± 0.13
36	22.43 ± 0.12	21.24 ± 0.05
48	22.58 ± 0.22	17.50 ± 0.19
60	23.50 ± 0.28	16.40 ± 0.13



**Διάγραμμα 3.2.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 4.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 3.2.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 4.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	1.54 ± 0.08	0.79 ± 0.01
4	14.91 ± 0.17	6.18 ± 0.12
8	20.19 ± 0.30	8.93 ± 0.15
12	21.64 ± 0.36	10.65 ± 0.07
16	25.73 ± 0.10	14.34 ± 0.47
24	26.97 ± 0.24	23.99 ± 0.07
36	33.30 ± 0.05	25.80 ± 0.24
48	32.08 ± 0.17	26.98 ± 0.35
60	31.95 ± 0.15	24.55 ± 0.03



**Διάγραμμα 3.3.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $120^{\circ}\text{C}$ , 30 min, 10.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Πίνακας 3.3.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου ( $120^{\circ}\text{C}$ , 30 min, 10.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic<sup>®</sup> CTec2.

Χρόνος υδρόλυσης (h)	Συγκέντρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων (g/l)	Συγκέντρωση γλυκόζης (g/l)
0	2.12 ± 0.05	0.76 ± 0.03
4	13.70 ± 0.17	6.12 ± 0.13
8	26.96 ± 0.20	10.74 ± 0.13
12	32.28 ± 0.17	12.72 ± 0.17
16	33.65 ± 2.68	17.77 ± 3.28
24	37.64 ± 0.33	30.20 ± 0.35
36	39.29 ± 0.31	33.62 ± 0.35
48	40.37 ± 0.34	34.46 ± 0.11
60	40.68 ± 0.36	36.11 ± 0.02



Η σύσταση του στερεού υπολείμματος μετά την προκατεργασία της βαγάσσης σόργου παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.4, ενώ οι αρχικές ταχύτητες απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.5.

**Πίνακας 3.4.** Σύσταση στερεού υπολείμματος αλκαλικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου.

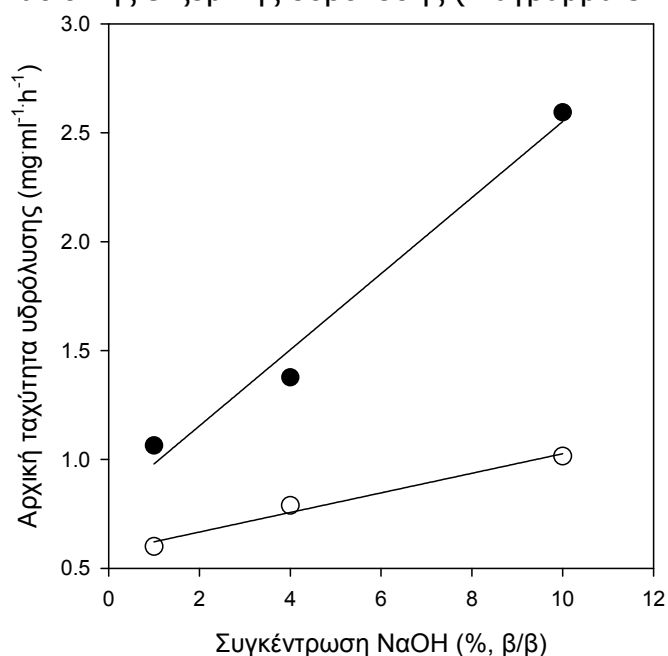
Συγκέντρωση NaOH (%, β/β)	Κυτταρίνη (%, β/β)*	Ημικυτταρίνη (%, β/β)*
1	38.50 ± 1.27	23.28 ± 2.35
4	44.96 ± 0.61	22.96 ± 0.97
10	53.26 ± 2.89	24.71 ± 1.20

\* g/100 g ξηρού στερεού υπολείμματος προκατεργασίας

**Πίνακας 3.5.** Αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης

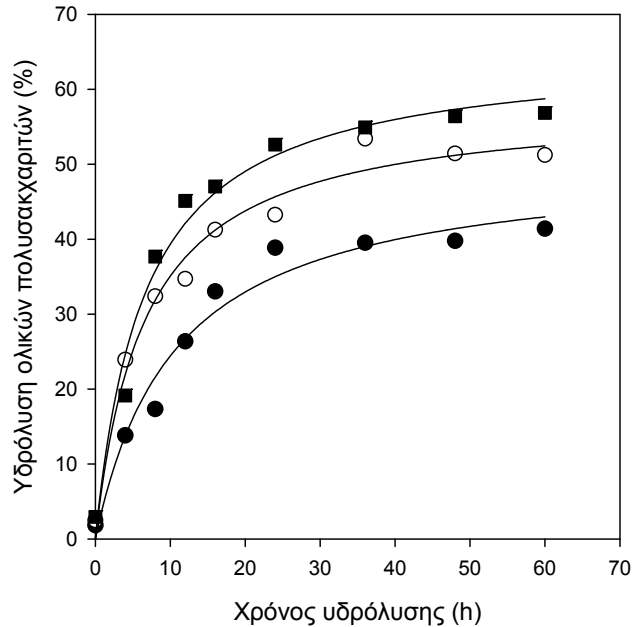
Συγκέντρωση NaOH (%, β/β)	Αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης (mg·ml <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	
	Συνολικών αναγωγικών ομάδων	Γλυκόζης
1	0.796	0.528
4	1.211	0.603
10	2.273	1.067

Η αύξηση της συγκέντρωσης του NaOH κατά την προκατεργασία οδηγεί σε αύξηση της ταχύτητας απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης στο στάδιο της ενζυμικής υδρόλυσης (Διάγραμμα 3.4).

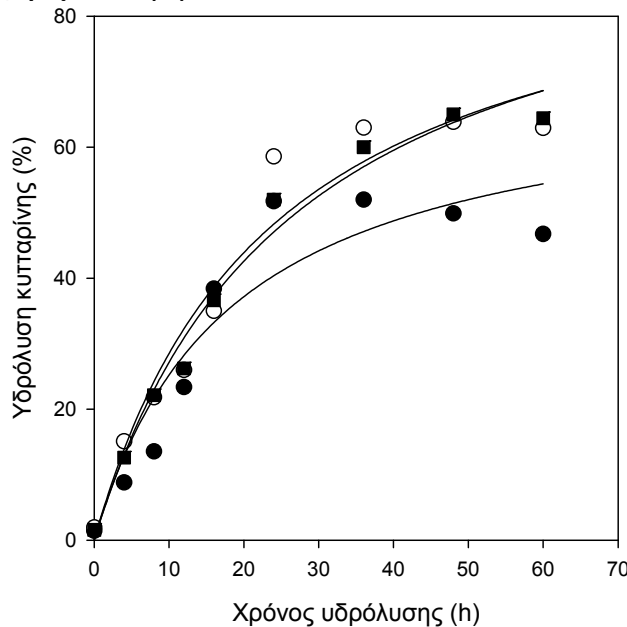


**Διάγραμμα 3.4.** Εξάρτηση αρχικής απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων (●) [ $r_{TRS} = 0.8049 + 0.1747 \cdot C_{NaOH}$ ,  $R^2 = 0.98$ ] και γλυκόζης (○) [ $r_{Glu} = 0.5769 + 0.0450 \cdot C_{NaOH}$ ,  $R^2 = 0.98$ ] από τη συγκέντρωση του NaOH που χρησιμοποιείται για την προκατεργασία της βαγάσσης.

Τα πειραματικά αποτελέσματα από την υδρόλυση προσαρμόστηκαν στο μαθηματικό μοντέλο του Holtzapple (Εξ. 3) (Holtzapple et al., 1984). Οι προσαρμογές της συνολικής υδρόλυσης πολυσακχαριτών και κυτταρίνης παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 3.5 και 3.6 και οι τιμές  $x_{max}$  και  $t_{1/2}$  στον Πίνακα 3.6.



**Διάγραμμα 3.5.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapple για την υδρόλυση των ολικών πολυσακχαριτών του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2. Η προκατεργασία έγινε σε αυτόκαυστο στους 120°C για 30 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 1% β/β NaOH, (○) 4% β/β NaOH, (■) 10% β/β NaOH.



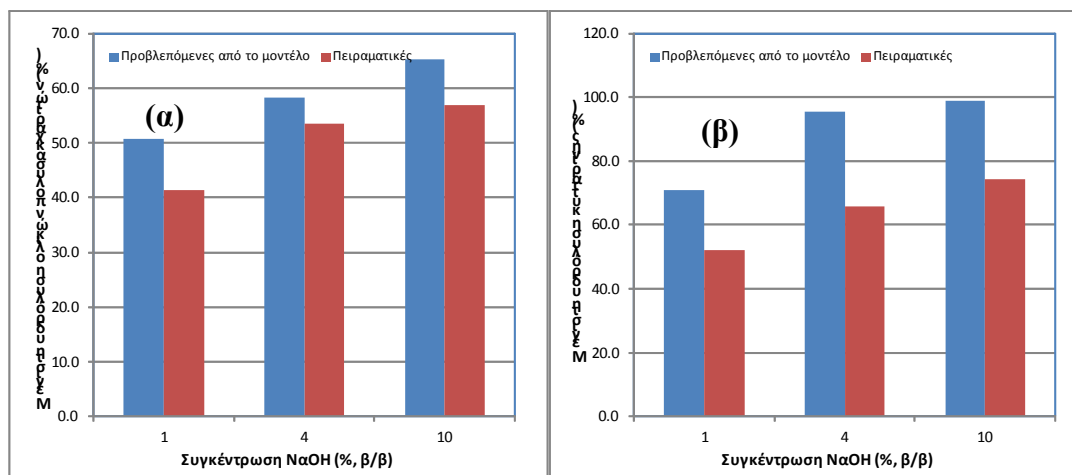
**Διάγραμμα 3.6.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapple για την υδρόλυση των ολικών πολυσακχαριτών του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2. Η προκατεργασία έγινε σε αυτόκαυστο στους 120°C για 30 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε

σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 1% β/β NaOH, (○) 4% β/β NaOH, (■) 10% β/β NaOH.

**Πίνακας 3.6.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου

Συγκέντρωση NaOH (%, β/β)	Ολικοί πολυσακχαρίτες	
	$x_{max}$ (%)	$t_{1/2}$ (h)
1	50.70 ( $R^2=0.97, P<0.0001$ )	10.77
4	58.23 ( $R^2=0.98, P<0.0001$ )	6.61
10	65.18 ( $R^2=0.98, P<0.0001$ )	6.58
Κυτταρίνη		
1	70.80 ( $R^2=0.89, P=0.0001$ )	18.09
4	95.61 ( $R^2=0.95, P<0.0001$ )	23.55
10	98.86 ( $R^2=0.98, P<0.0001$ )	26.42

Στο Διάγραμμα 3.7 εμφανίζεται η σύγκριση των προβλεπόμενων από το υπερβολικό μοντέλο τιμών μέγιστης μετατροπής ολικών πολυσακχαριτών (Διάγραμμα 3.7α) και κυτταρίνης (Διάγραμμα 3.7β) με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, αντίστοιχα

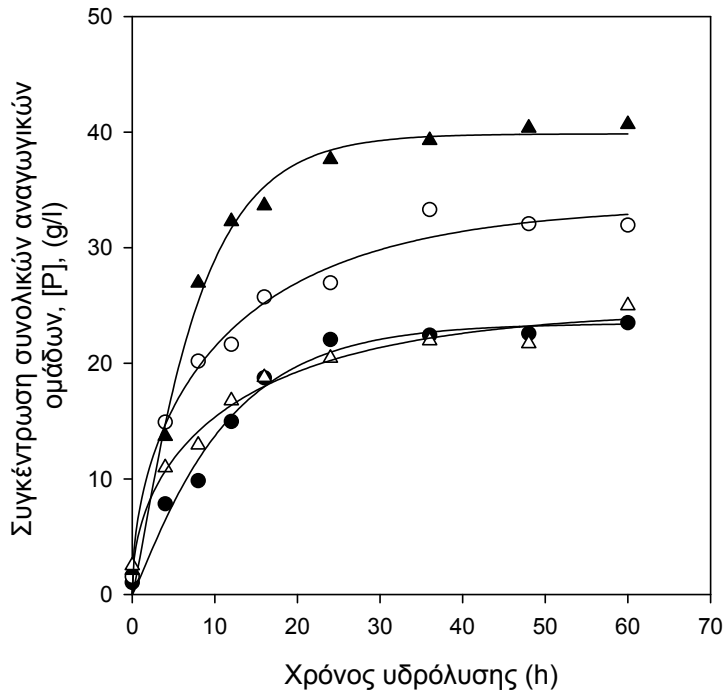


**Διάγραμμα 3.7.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Hotzapple μέγιστης υδρόλυσης (α) πολυσακχαριτών και (β) κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου.

Παρατηρείται ότι το υπερβολικό μοντέλο μπορεί να προβλέψει ικανοποιητικά την υδρόλυση των ολικών πολυσακχαριτών (Διάγραμμα 3.7α) της αλκαλικά

προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου αλλά όχι την υδρόλυση της κυτταρίνης (Διάγραμμα 3.7β).

Η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων συνολικών αναγωγικών ομάδων (Πίνακες 3.1-3.3) στην εξίσωση 10 παρουσιάζεται στον διάγραμμα 3.8 και οι τιμές των σταθερών  $k$  και  $n$  στον Πίνακα 3.7.



**Διάγραμμα 3.8.** Προσαρμογή εξίσωσης Chrastil για την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Cellic<sup>®</sup> CTec2. Σύμβολα: (●) 1% β/β, NaOH, (○) 4% β/β, NaOH, (▲) 10% β/β, NaOH, (Δ) ακατέργαστη βαγάσση σόργου.

**Πίνακας 3.7.** Προσδιορισμός τιμών παραμέτρων από την ανάλυση παλινδρόμησης των πειραματικών αποτελεσμάτων (συνολικές αναγωγικές ομάδες) χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 10.

Συγκέντρωση NaOH (% β/β)	$k$	$n$	$R^2$
1	$1.0 \times 10^{-4}$	1.2	0.98
4	$1.5 \times 10^{-4}$	1.2	0.98
10	$2.0 \times 10^{-4}$	1.2	0.99
Ακατέργαστη βαγάσση	$5.48 \times 10^{-5}$	0.5	0.97

Σε όλες τις περιπτώσεις η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων στην Εξίσωση 10 είναι ικανοποιητική (συντελεστής συσχέτισης  $R^2 > 0.95$ ).

Η παράμετρος  $n$  για την υδρόλυση της ακατέργαστης βαγάσσης βρέθηκε ίση με 0.5 γεγονός που υποδεικνύει ότι η αντίδραση περιορίζεται από φαινόμενα διάχυσης (εφόσον  $n < 1$ ) και μάλιστα όπως αναφέρεται από τον Chrastil (Chrastil, 1988a) η δομή του υλικού είναι υψηλής αντίστασης (εφόσον  $n = 0.5-0.6$ ). Οι διαφορετικές συγκεντρώσεις αλκάλειας με τις οποίες

προκατεργάζεται η βαγιάση σόργου δεν βρέθηκε να επηρεάζουν την τιμή της σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση ( $n$ ), η οποία βρέθηκε 2.4 φορές μεγαλύτερη έναντι αυτής της ακατέργαστης βαγιάσης.

Επιπλέον, η αλκαλική προκατεργασία οδήγησε σε αύξηση της σταθεράς του ρυθμού ( $k$ ) από 1.8-3.6 φορές (ανάλογα με την συγκέντρωση του NaOH) συγκριτικά με την ακατέργαστη βαγιάση. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει βελτίωση των ιδιοτήτων του συστήματος υδρόλυσης και επίσης ότι η προκατεργασία δημιουργεί ένα υπόστρωμα λιγότερο ανθεκτικό στην υδρόλυση και ευκολότερα προσβάσιμο από τα ένζυμα. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Carrillo et al., (2005) μελετώντας την ενζυμική υδρόλυση αλκαλικά προκατεργασμένου άχυρου σίτου.

#### 4. Συμπεράσματα

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής ήταν η μελέτη της επίδρασης του χρόνου και της θερμοκρασίας υδροθερμικής προκατεργασίας της βαγάσσης σόργου (παρουσία αλκάλειας) στην ενζυμική υδρόλυση του προκύπτοντος στερεού υπολείμματος με χρήση του εμπορικού σκευάσματος *Cellic<sup>®</sup> CTec2*. Επιλέον, πραγματοποιήθηκε συμβατική αλκαλική προκατεργασία στους 121°C για 20 min χρησιμοποιώντας διαφορετικές συγκεντρώσεις NaOH.

Η επεξεργασία με άλκαλι λιγνινοκυτταρινούχου υλικού (α) οδηγεί σε αύξηση της ενεργής επιφάνειας της κυτταρίνης και (β) επιφέρει σημαντικές δομικές αλλαγές στο μόριο της λιγνίνης. Επιπλέον διαλυτοποιεί ελαφρά την ημικυτταρίνη, απομακρύνει μερικά τη λιγνίνη και τέλος οδηγεί σε χαμηλά ποσοστά σχηματισμού τοξικών ενώσεων.

Αρχικά εξετάστηκαν δύο παράγοντες: α) η επίδραση της συγκέντρωσης NaOH (% β/β) που προστίθηκε κατά την υδροθερμική προκατεργασία του υλικού και β) η υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης και του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας. Προέκυψε ότι η βέλτιστη συγκέντρωση του πρόσθετου NaOH είναι 1% β/β και ότι η υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας είναι πιο αποδοτική από ότι η υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσσης παρουσία της υγρής φάσης (η παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος ήταν μεγαλύτερη μέχρι και ποσοστού 27% από τις αντίστοιχες τιμές για την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης).

Ακολούθησε η μελέτη της συνδυασμένης επίδρασης του χρόνου και της θερμοκρασίας προκατεργασίας. Πραγματοποιήθηκε προσαρμογή των δεδομένων της μέγιστης απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης σε δευτεροβάθμια μοντέλα και εφαρμογή τους για τον σχεδιασμό ισοϋψών καμπυλών. Η απελευθέρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης φαίνεται να επηρεάζεται περισσότερο από την θερμοκρασία. Δεν κατέστη δυνατή η εύρεση τιμών που να μεγιστοποιούν τις υπό εξέταση παραμέτρους, δεδομένου ότι τα δευτεροβάθμια μοντέλα που εξήχθησαν παρουσίαζαν ελάχιστο στο εύρος των παραμέτρων που εξετάστηκαν. Παρόλα αυτά η συνθήκη που φαίνεται να οδηγεί στη μέγιστη απελευθέρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης (33.40 g/L και 14.85 g/L αντίστοιχα) κατά το στάδιο της υδρόλυσης είναι 205°C και 20 min.

Τα αποτελέσματα του πειραματικού σχεδιασμού προσαρμόστηκαν στο κινητικό μοντέλο που περιορίζεται από τη διάχυση (diffusion-limited kinetic model) και έχει προταθεί από τον Chrastil (Chrastil, 1988a). Η προκατεργασία του υλικού με άλκαλι και σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου μεταβάλλει την τιμή της παραμέτρου  $n$  [η οποία έχει οριστεί ως σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση (structural diffusion resistance constant)], γεγονός που υποδεικνύει ότι έχουν συμβεί αλλαγές στη διάχυση και στη δομή του συστήματος υποστρώματος-ενζύμου. Η σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση επηρεάζεται τόσο από το χρόνο όσο και από τη θερμοκρασία προκατεργασίας του υλικού. Η αύξηση των τιμών του  $n$  υποδεικνύει ότι τα προκατεργασμένα υλικά εμφανίζουν μικρότερη αντίσταση στη διάχυση συγκριτικά με το ακατέργαστο. Κατά συνέπεια, η προκατεργασία βελτιώνει την μετακίνηση των μορίων στους πόρους του υποστρώματος λόγω

της διόγκωσης του υποστρώματος και της ενδεχόμενης υδρόλυσης της λιγνίνης. Η σταθερά του ρυθμού  $k$  είναι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων αυξημένη έναντι της τιμής που προκύπτει από την υδρόλυση της ακατέργαστης βαγιάσης.

Η προκατεργασία της βαγιάσης με συμβατική αλκαλική προκατεργασία οδήγησε στο συμπέρασμα ότι αυξανόμενη της συγκέντρωσης του NaOH αυξάνεται η απελευθέρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά το στάδιο της υδρόλυσης. Οι μέγιστες τιμές 40.68 g/L και 36.11 g/L αντίστοιχα επιτεύχθηκαν για συγκέντρωση NaOH 10% β/β.

Η σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση βρέθηκε μεγαλύτερη (μία τάξη μεγέθους) συγκριτικά με αυτές του πειραματικού σχεδιασμού. Επιπλέον, η αλκαλική προκατεργασία οδήγησε σε αύξηση της σταθεράς του ρυθμού ( $k$ ) από 1.8-3.6 φορές (ανάλογα με την συγκέντρωση του NaOH) συγκριτικά με την ακατέργαστη βαγιάση. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει βελτίωση των ιδιοτήτων του συστήματος υδρόλυσης και επίσης ότι η προκατεργασία δημιουργεί ένα υπόστρωμα λιγότερο ανθεκτικό στην υδρόλυση και ευκολότερα προσβάσιμο από τα ένζυμα. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Carrillo et al., (2005) μελετώντας την ενζυμική υδρόλυση αλκαλικά προκατεργασμένου άχυρου σίτου.

Τα πειραματικά αποτελέσματα από την υδρόλυση της βαγιάσης σόργου προσαρμόστηκαν στο μαθηματικό μοντέλο των Holtzapple et al (1984). Διαπιστώθηκε ότι το εν λόγω μοντέλο μπορεί να προβλέψει ικανοποιητικά στην πλειοψηφία των περιπτώσεων το μέγιστο βαθμό μετατροπής συνολικών πολυσακχαριτών και κυτταρίνης κατά την ενζυμική υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγιάσης σόργου.

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα η αλκαλική προκατεργασία υπερτερεί της υδροθερμικής παρουσία αλκάλειως. Η ενζυμική υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της αλκαλικά προκατεργασμένης βαγιάσης (συγκέντρωση NaOH 10%, β/β) οδήγησε σε 57% και 74.4% υδρόλυση ολικών πολυσακχαριτών και κυτταρίνης αντίστοιχα. Τα ποσοστά αυτά είναι υψηλότερα αυτών που ανέφεραν οι Dogaris et al (2009) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγιάσης σόργου (210 °C for 20 min) με χρήση μίγματος κυτταρινολυτικών ενζύμων που είχαν παραχθεί από τους μύκητες *F. oxysporum* F3 και *N. crassa* DSM 1129. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην παρούσα μελέτη η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε με 10 FPU/g βαγιάσης, ενεργότητα υψηλότερη αυτής της προαναφερθείσας εργασίας.

Η υδρόλυση της βαγιάσης στις προαναφερθείσες συνθήκες προκατεργασίας οδήγησε σε 225.7 g συνολικών αναγωγικών ομάδων/100 g προκατεργασμένης βαγιάσης. Η συγκεκριμένη απόδοση είναι δεκαπλάσια αυτής που ανέφεραν οι Xu et al., (2011) κατά την υδρόλυση 3.3% (β/ο) επεξεργασμένου με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1.5%, β/β, 121°C, 45 min) switchgrass με χρήση του ενυμικού συστήματος *Cellic<sup>®</sup> CTec2* σε ενεργότητα 20 FPU/g υλικού. Επιπλέον οι ίδιοι ερευνητές προκατεργάστηκαν τη βιομάζα με άλκαλι (0.75%, β/β, 50°C, 12 h) και υδρόλυσαν το προκύπτον υλικό με μίγμα *Cellic<sup>®</sup> CTec2* + *Cellic<sup>®</sup> HTec* (15 FPU/g+25 FXU/g). Η απελευθέρωση συνολικών αναγωγικών ομάδων ανήλθε στα 39.9 g/ 100 g προκατεργασμένου υλικού.

Οι Siros et al., (2008) προκατεργάστηκαν με έκρηξη ατμού (200°C, 5 min) βαγιάση σόργου και υδρόλυσαν το προκύπτον στερεό υπόλειμμα σε

συγκέντρωση 2% β/ο, με μίγμα εμπορικών σκευασμάτων Celluclast® 1.5 L και Novozyme® 188 τελικών ενεργοτήτων 20 FPU/g βαγάσης and 20 IU/g βαγάσης αντίστοιχα. Η επιτευχθείσα μετατροπή κυτταρίνης σε γλυκόζη ανήλθε στο 90%.

Οι Söderström et al., (2004) χρησιμοποίησαν ξύλο ερυθρελάτης (*Picea abies*) το οποίο υποβλήθηκε σε προκατεργασία με ατμό (215°C, 5 min) μετά την εμφάνισή του σε 3% (β/β) αέριο SO<sub>2</sub>. Η υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της προκατεργασίας πραγματοποιήθηκε με μίγμα εμπορικών σκευασμάτων Celluclast® 1.5 L και Novozyme® 188 τελικών ενεργοτήτων 15 FPU/g βαγάσης and 23 IU/g βαγάσης αντίστοιχα, σε συγκέντρωση υποστρώματος 2% (β/β). Οι συνολική απόδοση σε ζυμώσιμα σάκχαρα μετά την υδρόλυση ανήλθε σε 52.4 g/100 g υλικού.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι ικανοποιητικά δεδομένου ότι υψηλότερες τιμές σακχαροποίησης προκατεργασμένων υποστρωμάτων που αναφέρονται στη βιβλιογραφία επιτεύχθηκαν με χαμηλή συγκέντρωση υποστρώματος και χρησιμοποιώντας υψηλότερες ενεργότητες κυτταρίνης (10–30 FPU/g υποστρώματος) με προσθήκη β-γλυκοζιδάσης (20–60 Units/g υποστρώματος) (Kabel et al., 2007; Østergaard Petersen et al., 2009; Öhgren et al., 2006; Hu and Wen, 2008; Söderström et al., 2004).



## **IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

## Βιβλιογραφία

- Alvira P., Tomas-Pejo E., M. Ballesteros, M.J. Negro (2009). Pretreatment Technologies for an Efficient Bioethanol Production Process based on Enzymatic Hydrolysis: A Review, *Biosource Technology*, 101(13), 4851-4861.
- Balat M., Balat H., Oz C. (2008). Progress in bioethanol processing, *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(2008), 551-573.
- Berstein et al., 2007. Intergovernmental Panel on Climate Change Fourth Assessment Report. Climate Change 2007: Synthesis Report, Summary for Policy Makers.
- Bridgewater AV. (2003) Renewable fuels and chemicals by thermal processing of Biomass, *Chemical Engineering Journal*, 91, 87–102.
- Bringezu S., Schutz H., O'Brien M., Kauppi L., Howarth R.W., McNeely J. (2009). Assessing Biofuels for the United Nations Environment Programme.
- Carrillo F., Lis M.J., Colom X., Lopez-Mesas M., Valdeperas J. (2005) Effect of alkali pretreatment on cellulose hydrolysis of wheat straw: Kinetic study, *Process Biochemistry*, 40(10), 3360-3364.
- Carvalho F., Duarte L. and Cirio F. (2008) Hemicellulose biorefineries: a review on biomass pretreatments, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 67( November 2008), 849-864.
- Carvalho R. (2009). Dilute acid and enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse for biogas production.
- Chandel A., Chan ES., Rudravaram R., Narasu M., Rao L., Ravindra P. Economics and environmental impact of bioethanol production technologies: an appraisal, *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 2(1), 014-032.
- Chandra R.P., Bura R., Mabee W.E., Berlin A., Pan X., Saddler J.N. (2007) Substrate Pretreatment: The key to Effective Enzymatic Hydrolysis of lignocellulosics, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 108(2007), 67-93.
- Chrastil J. (1988). Determination of the first order consecutive reaction rate constants from final product, *Computers and Chemistry*, 12(4), 289-292.
- Chrastil J. (1988). Enzymic product formation curves with the normal or diffusion limited reaction mechanism and in the presence of substrate receptors, *International Journal of Biochemistry*, 20(7), 683-693.
- Chrastil J. (1982) Solubility of solids and liquids in supercritical gases, *Journal of Physical Chemistry*, 86(15), 3016-3021.
- Demain A. (2009). Biosolutions to the energy problem, *Journal of industrial Microbiology Biotechnology*, 36(3), 319-332.
- Demirbas A., (2009). Biofuels securing the planet's future energy needs, *Energy Conversion and Management*, 50(9), 2239-2249.
- Dogaris I., Karapati S., Mamma D., Kalogeris E., Kekos D. (2009). Hydrothermal processing and enzymatic hydrolysis of sorghum bagasse for fermentable carbohydrates production, *Bioresource Technology*, 100(24), 6543-6549.
- Δόγαρης Ιωάννης (2009). Σχεδιασμός ολοκληρωμένης διεργασίας παραγωγής βιοαιθανόλης από λιγνινοκυτταρινούχα υλικά. Διδακτορική Διατριβή, ΕΒ, Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ.

- Eklund, R., Galbe, M., Zacchi, G. (1995). The influence of SO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> impregnation of willow prior to steam pretreatment, *Bioresource Technology*, 52(3), 225-229.
- Fukuda H., Kondo A., Tamalampudi S., (2009). Bionergy: Sustainable fuels from biomass by yeast and fungal whole-cell biocatalysts, *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 2-12.
- Galbe M., Zacchi G. (2007). Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 108,41-65.
- Galbe M., Zacchi G. (2002) A review of the production of ethanol from softwood, *Applied Microbiology Biotechnology*, 59, 618–628.
- Goldemberg J., (2007). Ethanol for Sustainable Energy Future, *Science* 9, 315(5813), 808-810.
- Gautam S., Mitchell R., Sattler S., Funnell D., Pedersen J., Graybosch R., Vogel K. (2008). Opportunities and roadblocks in utilizing forages and small grains for liquid fuels *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*, 35(5), 343–354.
- Gray K. A., Zhao L., Emptage M., (2006) Bioethanol. *Current Opinion in Chemical Biology* 2006, 10:141–146
- Hahn-Hagerdal, B., Galbe, M., Gorwa-Grauslund, M.F., Liden, G., Zacchi, G. (2006). Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today. *TRENDS in Biotechnology*, 24(12), 549-556
- Kumar R., Singh S., Singh O.V (2008). Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(5), 377-391.
- Hayes D.J (2009). An examination of biorefining processes, catalysts and challenges, *Catalysis Today*, 145(1-2), 138-151.
- Holtzapple M., Caram H., Humphrey A.,(1984). A Comparison of Two Empirical Models for the Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Poplar Wood, *Biotechnology Bioengineering*, 26(8), 936-941.
- Holtzapple M., Brown R., (1990). A comparison of the Michaelis–Menten and HCH-1 models, *Biotechnology and Bioengineering*, 36(11), 1151-1154.
- Hövel, K., Shallom, D., Niefind, K., Belakhov, V., Shoham, G., Baasov, T., Shoham, Y., Schomburg, D.(2003). Crystal structure and snapshots along the reaction pathway of a family 51 α-L-arabinofuranosidase. *The EMBO Journal*, 22(19), 4922-4932.
- Howard R.L., Abotsi E., Jansen van Rensburg E.L., Howard S. (2003) Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2 (12), pp. 602-619  
<http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+IM-PRESS+20091130FCS65642+0+DOC+XML+V0//EL>  
<http://www.ethanolrfa.org/pages/how-ethanol-is-made>
- Hu, Z., Wen, Z. (2008). Enhancing enzymatic digestibility of switchgrass by microwave-assisted alkali pretreatment, *Biochemical Engineering Journal*, 38(3), 369–378.
- Kabel, M.A., Bos, G., Zeevalking, J., Voragen, A.G.J., Schols, H.A. (2007). Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic

- breakdown of the remaining cellulose from wheat straw, *Bioresource Technology*, 98(20), 2034–2042.
- Kumakura, M. Kaetsu, I (1983) Effect of radiation pretreatment of bagasse on enzymatic and acid hydrolysis, *Biomass*, 3(3), 199-208.
- Kerr R. (1998). The next oil Crisis Looms Large—and Perhaps Close *Science* 21, 281(5380), 1128-1131.
- Larson, R., Weber, E. (1994). Reaction mechanisms in environmental organic chemistry.
- Lee J.S., Parameswaran B., Joon-Pyo Lee J.P., Park S.C. (2008). Recent developments of key technologies on cellulosic ethanol production, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 67(November 2008), 865-873.
- Mosier N., Wyman C., Dale B., Elander B., Lee Y.Y., Holtzapple M., Ladisch M. (2004). Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass, *Biosource Tecnology*, 96(2005), 673-686.
- Nigam P.S., Singh A (2009). Production of liquid biofuels from renewable resources, *Progress in Energy and Combustion Science*, 37(1), 52-68.
- Okkerse C., van Bekkum H. (1999) From fossil fuel to green, *Green Chemistry & Technology*, 1(2), 107-114.
- Ohgren, K., Bura, R., Lesnicki, G., Saddler, J., Zacchi, G. (2007). A comparison between simultaneous saccharification and fermentation and separate hydrolysis and fermentation using steam-pretreated corn stover. *Process Biochemistry*, 42(5), 834– 839.
- Ostergaard Petersen, M., Larsena, J., Hedegaard Thomsen, M. (2009). Optimization of hydrothermal pretreatment of wheat straw for production of bioethanol at low water consumption without addition of chemicals, *Biomass Bioenergy*, 33(5), 834–840.
- Panshin, A., DeZeeuw, C. (1980). Textbook of Wood Technology.
- Sangseethong K., Penner M., (1998). p- Aminophenyl  $\beta$ -cellobioside as an affinity ligand for exo-type cellulases, *Carbohydrate Research*, 314(3-4), 245-250.
- Pickett, S. T. A., M. L. Cadenasso, J. M. Grove, P. M. Groffman, L. E. Band, C. G. Boone, W. R. Burch, S. B. Grimmond, J. Hom, J. C. Jenkins, N. L. Law, C. H. Nilon, R. V. Pouyat, K. Szlavecz, P. S. Warren, and M. Wilson. (2008). Beyond urban legends: an emerging framework of urban ecology, as illustrated by the Baltimore ecosystem study, *BioScience*, 58(2), 139-150.
- Putun A.E., Ozcan A., Gergel H.F., Putun E. (2001). Production of biocrudes from biomass in a fixed bed tubular reactor: product yields and Compositions, *Fuel*, 80(10), 1371–1378.
- Saha B. (2003) Hemicellulose Bioconversion, *Society of for Industrial Microbiology*, 30, 279-291.
- Saxena R.C., Adhikari D.K., Goyal H.B. (2009). Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13, 167–178.
- Sidiras, D.K.; Koukios, E.G. (1989). Acid saccharification of ball-milled straw, *Biomass*, 19(4), 289-306.
- Sipos, B., Riczey, J., Somorai, Z., Kadar, Z., Dienes, D., Riczey, K. (2009). Sweet sorghum as feedstock for ethanol production: enzymatic hydrolysis

- of steam pretreated bagasse, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 153(1-3), 151–162.
- Soderstrom, J., Galbe, M., Zacchi, G. (2004). Effect of washing on yield in one- and two-step steam pretreatment of softwood for production of ethanol, *Biotechnology Progress*, 20(3), 744–749.
- Spencer, P., Flach B., Lieberz, S., Bendz K., Dahlbacka B. (2011), "EU-27 Annual Biofuels Report". *Gain Report Number: NL1013*.
- Taherzadeh M.J, Karimi K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic waste to improve ethanol and biogas production: A review, *International Journal of Molecular Science*, 9(9), 1621-1651.
- Ulgiati, S. (2001). A comprehensive energy and economic assessment of biofuels: when "green" is not enough, *Critical Reviews in Plant Sciences* 20(1), 71-106.
- Wildenborg T., Lokhorst A. (2005). Introduction on CO<sub>2</sub> Geological storage-classification of storage options, *Oil Gas Science Technology*, 60(3), 513–515.
- Xu J., Wang Z., Sharma-Shivappa R., Cheng J. (2011). enzymatic hydrolysis of switchgrass and coastal bermuda grass pre treated using different chemical methods, *BioreSources*, 6(3), 2990-3003.
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Wang, C., Yu, F., Jin, S., Ding, Y., Chi, R., Liao, J., Zhang, Y. (2006). Comparison of three microvawe/chemical pretreatment processes for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Biosystems Engineering*, 93(3), 279–283.
- Χριστακόπουλος Χ., Τόπακας Ε. (2010). Βιοτεχνολογία Παραγωγής Βιοκαυσίμων.

## **V. ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ**

<b>ΠΙΝΑΚΕΣ</b>	<b>Σελ.</b>
<b>Πίνακας 1.</b> Σύσταση λιγνινοκυτταρινούχων υλικών (% , Ξηρό β/β) (Δόγαρης Διδακτορική διτριβή ΕΒ,2009).	<b>6</b>
<b>Πίνακας 2.</b> Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα κάθε μεθόδου προκατεργασίας λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας (Alvira et al. 2009).	<b>17</b>
<b>Πίνακας 3.</b> Επίδραση των διαφόρων τεχνολογιών προκατεργασίας στην δομή της λιγνινοκυτταρινούχο υλικού (Alvira et al. 2009).	<b>18</b>
<b>Πίνακας 1.</b> Μεταβλητές και επίπεδα πειραματικού σχεδιασμού	<b>27</b>
<b>Πίνακας 2.</b> Μήτρα σχεδιασμού	<b>27</b>
<b>Πίνακας 3.</b> Πραγματικές τιμές μεταβλητών	<b>27</b>
<b>Πίνακας 1.1.</b> Σύσταση υγρής φάσης μετά την προκατεργασία της βαγάσσης σόργου.	<b>31</b>
<b>Πίνακας 1.2.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2.	<b>32</b>
<b>Πίνακας 1.3.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.2% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2.	<b>33</b>
<b>Πίνακας 1.4.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.4% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2 .	<b>34</b>
<b>Πίνακας 1.5.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.6% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2 .	<b>35</b>
<b>Πίνακας 1.6.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.8% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2 .	<b>36</b>
<b>Πίνακας 1.7.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 1.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2 .	<b>37</b>
<b>Πίνακας 1.8.</b> Μέγιστη παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης.	<b>38</b>
<b>Πίνακας 1.9.</b> Τιμές $X_{max}$ και $t_{1/2}$ για την υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης	<b>39</b>
<b>Πίνακας 1.10.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Celllic® CTec2.	<b>42</b>
<b>Πίνακας 1.11.</b> Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου	<b>43</b>

(180°C, 10 min παρουσία, 0.2% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2.

**Πίνακας 1.12.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.4% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **44**

**Πίνακας 1.13.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.6% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **45**

**Πίνακας 1.14.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0.8% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **46**

**Πίνακας 1.15.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 1.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **47**

**Πίνακας 1.16.** Σύσταση στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου. **48**

**Πίνακας 1.17.** Μέγιστη παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου. **48**

**Πίνακας 1.18.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου. **50**

**Πίνακας 2.1.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (157°C, 15 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **53**

**Πίνακας 2.2.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (165°C, 10 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **54**

**Πίνακας 2.3.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (165°C, 20 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **55**

**Πίνακας 2.4.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 8 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **56**

**Πίνακας 2.5.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 15 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **57**

**Πίνακας 2.6.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 22 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. **58**



- Πίνακας 2.7.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 10 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. 59
- Πίνακας 2.8.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 20 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. 60
- Πίνακας 2.9.** Συγκέντρωση αναγωγικών σακχάρων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (213°C, 15 min) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. 61
- Πίνακας 2.10.** Σύσταση στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου. 62
- Πίνακας 2.11.** Μέγιστες παραγωγή συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου. 62
- Πίνακας 2.12.** Αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών μονάδων και γλυκόζης 65
- Πίνακας 2.13.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (1%, β/β, NaOH) 68
- Πίνακας 2.14.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (1%, β/β, NaOH) 70
- Πίνακας 2.15.** Προσδιορισμός τιμών παραμέτρων από την ανάλυση παλινδρόμησης των πειραματικών αποτελεσμάτων (συνολικές αναγωγικές ομάδες) χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 10. 73
- Πίνακας 3.1.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 1.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. 75
- Πίνακας 3.2.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 4.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. 76
- Πίνακας 3.3.** Συγκέντρωση αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 10.0% NaOH β/β) από το εμπορικό σκεύασμα Cellic® CTec2. 77
- Πίνακας 3.4.** Σύσταση στερεού υπολείμματος αλκαλικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου. 78
- Πίνακας 3.5.** Αρχική ταχύτητα απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων και γλυκόζης 78
- Πίνακας 3.6.** Τιμές  $X_{max}$  και  $t_{1/2}$  για την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου 80
- Πίνακας 3.7.** Προσδιορισμός τιμών παραμέτρων από την ανάλυση παλινδρόμησης των πειραματικών αποτελεσμάτων (συνολικές αναγωγικές ομάδες) χρησιμοποιώντας την Εξίσωση 10. 81

<b>ΣΧΗΜΑΤΑ, ΕΙΚΟΝΕΣ &amp; ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ</b>	<b>Σελ.</b>
<b>Σχήμα 1:</b> Μεριδίο των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας στην παγκόσμια κατανάλωση ενέργειας (United Nations Environment Programme)	<b>3</b>
<b>Εικόνα 2:</b> Σύσταση λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας	<b>6</b>
<b>Σχήμα 3 :</b> Δομή της κυτταρίνης (Taherzadeh <i>et al.</i> , 2008)	<b>7</b>
<b>Σχήμα 4 :</b> Απεικόνιση μικροϊών κυτταρίνης σε άμορφες και κρυσταλλικές περιοχές (Panshin <i>et al.</i> 1980).	<b>7</b>
<b>Σχήμα 5 :</b> (α) Βασική δομική σύνθεση της γλυκουρονοαραβινοξυλάνης (Hövel <i>et al.</i> 2003). (β) Απεικόνιση των δεσμών που σχηματίζονται μεταξύ των ξυλανών και των μικροϊνιδίων κυτταρίνης στο κυτταρικό τοίχωμα ενός στελέχους (Saha <i>et al.</i> 2003)	<b>8</b>
<b>Σχήμα 6:</b> Δομή τμήματος πολυμερούς λιγνίνης (Larson <i>et al.</i> 1994)	<b>8</b>
<b>Εικόνα 2:</b> Πειραματική καλλιέργεια γλυκού σόργου	<b>9</b>
<b>Σχήμα 7:</b> Στάδια βιομετατροπής λιγνινοκυτταρινούχων υλικών προς βιοαιθανόλη (Mosier <i>et al.</i> 2004).	<b>10</b>
<b>Σχήμα 8:</b> Απεικόνιση ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης από τα ένζυμα : ένδο-1,4-β-γλουκανάση, έξω-1,4-β-D-γλουκανάση και β-γλυκοζιδάση.	<b>20</b>
<b>Σχήμα 9:</b> Απεικόνιση ενζυμικής υδρόλυσης της ημικυτταρίνης από τα ένζυμα : ενδο-β-ξυλανάση, α-γλυκουρονοζιδάση, β-ξυλοζιδάση και α-αραβινοφουρανοζιδάση (Kumar <i>et al.</i> 2008)	<b>21</b>
<b>Διάγραμμα 1.1.</b> Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση ακατέργαστης βαγάσσης σόργου συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).	<b>30</b>
<b>Διάγραμμα 1.2.</b> Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min παρουσία, 0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).	<b>32</b>
<b>Διάγραμμα 1.3.</b> Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.2% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).	<b>33</b>
<b>Διάγραμμα 1.4.</b> Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.4% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).	<b>34</b>
<b>Διάγραμμα 1.5.</b> Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.6% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).	<b>35</b>

- Διάγραμμα 1.6.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.8% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **36**
- Διάγραμμα 1.7.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **37**
- Διάγραμμα 1.8.** Σύγκριση αρχικών ταχυτήτων απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων NaOH και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). **39**
- Διάγραμμα 1.9.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapple για την υδρόλυση (α) των ολικών πολυσακχαριτών και (β) της κυτταρίνης της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 0% β/β NaOH, (○) 0.2% β/β NaOH, (■) 0.4% β/β NaOH, (□) 0.6% β/β NaOH, (▲) 0.8% β/β NaOH και (△) 1.0% β/β NaOH. **40**
- Διάγραμμα 1.10.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzapple μέγιστης υδρόλυσης (α) πολυσακχαριτών και (β) κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου παρουσία της υγρής φάσης. **41**
- Διάγραμμα 1.11.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **42**
- Διάγραμμα 1.12.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.2% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **43**
- Διάγραμμα 1.13.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.4% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **44**
- Διάγραμμα 1.14.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.6% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **45**
- Διάγραμμα 1.15.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και **46**

γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 0.8% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Διάγραμμα 1.16.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (180°C, 10 min, 1.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **47**

**Διάγραμμα 1.17.** Σύγκριση αρχικών ταχυτήτων απελευθέρωσης γλυκόζης και ολικών αναγωγικών ομάδων κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min παρουσία διαφόρων συγκεντρώσεων NaOH και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο) **49**

**Διάγραμμα 1.18.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapple για την υδρόλυση (α) των ολικών πολυσακχαριτών και (β) της κυτταρίνης του στερεού υπολείμματος υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε στους 180°C για 10 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 0% β/β NaOH, (○) 0.2% β/β NaOH, (■) 0.4% β/β NaOH, (□) 0.6% β/β NaOH, (▲) 0.8% β/β NaOH και (△) 1.0% β/β NaOH. **50**

**Διάγραμμα 1.19.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzapple μέγιστης υδρόλυσης (α) πολυσακχαριτών και (β) κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας (παρουσία αλκάλειας) βαγάσσης σόργου. **51**

**Διάγραμμα 2.1.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (157°C, 15 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **53**

**Διάγραμμα 2.2.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (165°C, 10 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **54**

**Διάγραμμα 2.3.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (165°C, 20 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **55**

**Διάγραμμα 2.4.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 8 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **56**

**Διάγραμμα 2.5.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου **57**

(185°C, 15 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου).

**Διάγραμμα 2.6.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (185°C, 22 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). 58

**Διάγραμμα 2.7.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 10 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). 59

**Διάγραμμα 2.8.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (205°C, 20 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). 60

**Διάγραμμα 2.9.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών σακχάρων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (213°C, 15 min, 1% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). 61

**Διάγραμμα 2.10. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση της συγκέντρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες συγκέντρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού. 63

**Διάγραμμα 2.11. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση της συγκέντρωσης γλυκόζης συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες συγκέντρωσης γλυκόζης συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού. 64

**Διάγραμμα 2.12. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού. 66

**Διάγραμμα 2.13. (α)** Τρισδιάστατη απεικόνιση αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης γλυκόζης συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού, **(β)** Ισοϋψείς καμπύλες αρχικής ταχύτητας απελευθέρωσης γλυκόζης συναρτήσει των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού. 67

**Διάγραμμα 2.14.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzaple για την υδρόλυση των συνολικών πολυσακχαριτών της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Cellic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β, σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 157°C-15 min, (○) 165°C-10 min, (■) 165°C-20 min, (□) 185°C-8 min, (▲) 185°C-15 min, (△) 185°C-22 min, (▼) 205°C-10 min, (▽) 205°C-20 min, (●) 213°C-15 min. 68

**Διάγραμμα 2.15.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzaple για την υδρόλυση των 69

συνολικών πολυσακχαριτών της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β), σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 157°C-15 min, (○) 165°C-10 min, (■) 165°C-20 min, (□) 185°C-8 min, (▲) 185°C-15 min, (△) 185°C-22 min, (▼) 205°C-10 min, (▽) 205°C-20 min, (●) 213°C-15 min.

**Διάγραμμα 2.16.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzaple για την υδρόλυση της κυτταρίνης της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β), σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 157°C-15 min, (○) 165°C-10 min, (■) 165°C-20 min, (□) 185°C-8 min, (▲) 185°C-15 min, (△) 185°C-22 min, (▼) 205°C-10 min, (▽) 205°C-20 min, (●) 213°C-15 min. **70**

**Διάγραμμα 2.17.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzaple μέγιστης υδρόλυσης κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος υδροθερμικής προκατεργασίας βαγάσσης σόργου. **71**

**Διάγραμμα 2.18.** Προσαρμογή εξίσωσης Chrastil για την υδρόλυση της υδροθερμικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε παρουσία 1% (β/β) NaOH β/β), σε διάφορα ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε για συγκέντρωση προκατεργασμένης βαγάσσης 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 157°C-15 min, (○) 165°C-10 min, (■) 165°C-20 min, (□) 185°C-8 min, (▲) 185°C-15 min, (△) 185°C-22 min, (▼) 205°C-10 min, (▽) 205°C-20 min, (◆) 213°C-15 min. **73**

**Διαγράμμα 2.19.** Συνδυασμένη επίδραση χρόνου-θερμοκρασίας προκατεργασίας βαγάσσης σόργου στις τιμές της σταθερά δομικής αντίστασης στη διάχυση (n). **74**

**Διάγραμμα 3.1.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 1.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **75**

**Διάγραμμα 3.2.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 4.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **76**

**Διάγραμμα 3.3.** Χρονική μεταβολή συγκέντρωσης αναγωγικών ομάδων (●) και γλυκόζης (○) κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου (120°C, 30 min, 10.0% NaOH β/β), συγκέντρωσης 8% (β/ο), με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2 (ενεργότητα ολικής κυτταρινάσης 10 FPU/g βαγάσσης σόργου). **77**

**Διάγραμμα 3.4.** Εξάρτηση αρχικής απελευθέρωσης συνολικών αναγωγικών ομάδων (●)  $[r_{TRS} = 0.8049 + 0.1747 \cdot C_{NaOH}, R^2=0.98]$  και γλυκόζης (○)  $[r_{Glu} = 0.5769 + 0.0450 \cdot C_{NaOH}, R^2=0.98]$  από τη συγκέντρωση του NaOH που χρησιμοποιείται για την προκατεργασία της βαγάσσης. **78**

- Διάγραμμα 3.5.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapple για την υδρόλυση των ολικών πολυσακχαριτών του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε σε αυτόκαυστο στους 120°C για 30 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 1% β/β NaOH, (○) 4% β/β NaOH, (■) 10% β/β NaOH. **79**
- Διάγραμμα 3.6.** Προσαρμογή εξίσωσης Holtzapple για την υδρόλυση των ολικών πολυσακχαριτών του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση του εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2. Η προκατεργασία έγινε σε αυτόκαυστο στους 120°C για 30 min και η ενζυμική υδρόλυση πραγματοποιήθηκε σε συγκέντρωση στερεού υπολείμματος 8% (β/ο). Σύμβολα: (●) 1% β/β NaOH, (○) 4% β/β NaOH, (■) 10% β/β NaOH. **79**
- Διάγραμμα 3.7.** Σύγκριση προβλεπόμενων τιμών από το μοντέλο του Holtzapple μέγιστης υδρόλυσης (**α**) πολυσακχαριτών και (**β**) κυτταρίνης με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές, κατά την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος της αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου. **80**
- Διάγραμμα 3.8.** Προσαρμογή εξίσωσης Chrastil για την υδρόλυση του στερεού υπολείμματος αλκαλικά προκατεργασμένης βαγάσσης σόργου, με χρήση εμπορικού σκευάσματος Celllic® CTec2. Σύμβολα: (●) 1% β/β, NaOH, (○) 4% β/β, NaOH, (▲) 10% β/β, NaOH, (△) ακατέργαστη βαγάσση σόργου. **81**