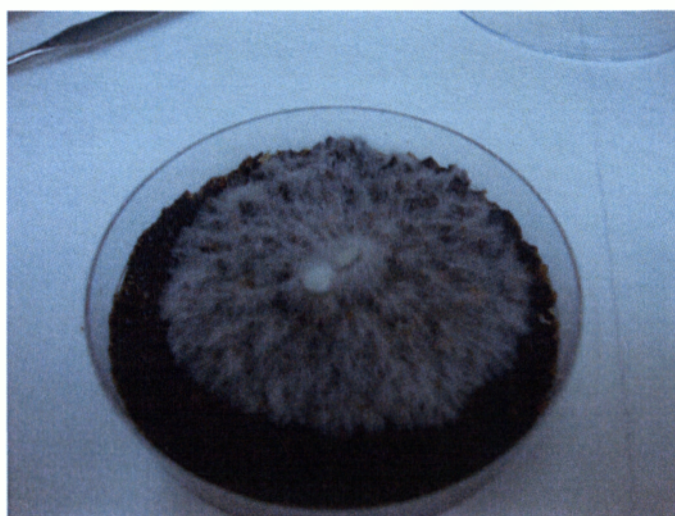




ΑΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
Τμήμα Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων

**Ανάπτυξη Βρώσιμων Μυκήτων σε Στερεά Απόβλητα
Τριφασικών Ελαιοτριβείων**



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΗΣ
ΣΤΑΥΡΟΥΛΑΣ Π. ΧΡΙΣΤΟΦΟΡΟΥ

Επιβλέπων καθηγητής: Ντάικου Ιωάννα
Επιστημονικός συνεργάτης

9 Μαΐου 2011

Copyright © 2011 – Σταυρούλας Π. Χριστοφόρου.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν αποκλειστικά τον συγγραφέα και δεν αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του ΑΤΕΙ Καλαμάτας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ



ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
2. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ ΕΛΑΙΟΤΡΙΒΕΙΩΝ	8
2.1. Τύποι ελαιοτριβείων	8
2.2. Ρεύματα αποβλήτων	12
2.2.1. Υγρά απόβλητα	12
2.2.1.1. Φυτικοχημικά χαρακτηριστικά των ΥΑΕ	13
2.2.1.2. Υφιστάμενη διαχείριση των ΥΑΕ	13
2.2.2. Στερεά απόβλητα	15
2.2.2.1. Στερεά απόβλητα από Παραδοσιακά και Διφασικά ελαιοτριβεία	17
2.2.2.2. Στερεά απόβλητα από Τριφασικά ελαιοτριβεία	19
2.3 Χαρακτηριστικά στερεών αποβλήτων τριφασικών ελαιοτριβείων και τρόποι εκμετάλλευσής τους	20
2.3.1. Χαρακτηριστικά Στερέων Αποβλήτων Τριφασικών Ελαιοτριβείων	20
2.3.2. Διαχείριση Στερέων Αποβλήτων Τριφασικών Ελαιοτριβείων	21
2.3.2.1. Εξαγωγή Πυρηνελαίου	22
2.3.2.2. Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης στερεών αποβλήτων τριφασικών ελαιοτριβείων	24
2.3.2.3. Εκμετάλλευση στερεών αποβλήτων τριφασικών ελαιοτριβείων μετά την εξαγωγή του πυρηνελαίου	25
2.3.2.4. Εφαρμογές εκμετάλλευσης ΣΑ τριφασικών ελαιοτριβείων στην Ελλάδα	27
3. ΛΙΓΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΑ ΒΙΟΜΑΖΑ	29
3.1. Δομή λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας	29
3.2. Χρήσεις λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας	35
3.2.1. Παραγωγή βιοκαυσίμων	35

3.2.2. Κομποστοποίηση	37
4. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΥΚΗΤΩΝ	38
4.1. Γενικές ιδιότητες μυκήτων	39
4.2. Οι μύκητες λευκής σήψης και οι εφαρμογές τους	40
4.2.1. Παραγωγή πρωτεΐνης	41
4.2.2. Επεξεργασία αποβλήτων	42
4.2.3. Απολιγνοποίηση λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας	44
4.2.3.1. Μηχανισμοί αποδόμησης από μύκητες λευκής σήψης	45
4.2.3.2. Ανάπτυξη της λιγνοκυτταρινικής ζύμωσης μυκήτων σε διάφορα υποστρώματα υπό συνθήκες χαμηλής οξυγόνωσης	46
5. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	47
5.1. Μικροοργανισμός	47
5.2. Πειραματική διάταξη και πλάνο	48
5.3. Αναλυτικές μέθοδοι	52
5.3.1 Υπολογισμός ξηρής βιομάζας, υγρασίας και οργανικής ύλης	52
5.3.2 Υπολογισμός υδατανθράκων και σακχάρων	52
6. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	56
6.1. Ξηρό βάρος αποβλήτου	56
6.2. Οργανική ύλη στο απόβλητο	59
6.3. Ενεργός οξύτητα (pH) εκχυλίσματος αποβλήτου	60
6.4. Ξηρό βάρος μύκητα	61
6.5 Σάκχαρα στο εκχύσμα	63
7 ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ	65
8 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	67

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 2.1.	Γραμμή παραγωγής ελαιολάδου σήμερα	8
Σχήμα 2.2	Τριφασικός διαχωριστήρας	9
Σχήμα 2.3	Διφασικός διαχωριστήρας	9
Σχήμα 2.4	Διάγραμμα ροής	10
Σχήμα 3.1.	Δομή του λιγνοκυτταρινούχου υλικού, και φωτογραφία SEM ινών συγκροτημένες από κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη	29
Σχήμα 3.2	Δομή κυτταρίνης	30
Σχήμα 3.3	Μονομερή ημικυτταρίνης	32
Σχήμα 3.4	Δομή λιγνίνης	34
Σχήμα 5.3.1	Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης γλυκόζης σε συνάρτηση με την οπτική απορρόφηση του συμπλόκου της μεθόδου τρυπτοφάνης-βορικού σε μήκος κύματος 520	54
Σχήμα 6.1	Μείωση ξηρού βάρους αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα <i>P. ostreatus</i>	56
Σχήμα 6.2	Ποσοστό μείωση ξηρού βάρους αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα <i>P. ostreatus</i> , μεταξύ δειγματοληψιών	57
Σχήμα 6.3	Ρυθμός κατανάλωσης αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα <i>P. ostreatus</i> , μεταξύ δειγματοληψιών	58
Σχήμα 6.4	Ποσοστό οργανικής ύλης στο απόβλητο σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα <i>P. ostreatus</i> , με την διαδικασία της αποτέφρωσης	59
Σχήμα 6.5	Ποσοστό ανόργανης ύλης στο απόβλητο σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα <i>P. ostreatus</i> , με την διαδικασία της αποτέφρωσης	60
Σχήμα 6.6	Μέτρηση pH εκχυλίσματος αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα <i>P. ostreatus</i> , μεταξύ δειγματοληψιών	60
Σχήμα 6.7	Ξηρό βάρος μύκητα <i>P. ostreatus</i> σε καλλιέργεια στερεάς φάσης	62
Σχήμα 6.8	Απόδοση βιομάζας του μύκητα <i>P. ostreatus</i> σε καλλιέργεια στερεάς φάσης, μεταξύ δειγματοληψιών	63
Σχήμα 6.9	Συγκέντρωση ποσότητας σακχάρων που περιέχονται στο εκχύλισμα	64

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.1	Χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων των κλασικών και των τριφασικών φυγοκεντρικών ελαιοτριβείων	14
Πίνακας 2.2	Χαρακτηριστικά των στερεών αποβλήτων των κλασικών και των φυγοκεντρικών ελαιοτριβείων δύο φάσεων	18
Πίνακας 2.3	Χαρακτηριστικά των αποβλήτων φυγοκεντρικών ελαιοτριβείων τριών φάσεων	21

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 2.1	Μονάδα πυρηνελαιουργείου	28
Εικόνα 5.1	Καλλιέργειες <i>P. ostreatus</i> σε θρεπτικό μέσο PDA που χρησιμοποιήθηκαν για τον εμβολιασμό των πειραματικών καλλιιεργειών σε ελαιοπυρήνα	47
Εικόνα 5.2	Νωπό απόβλητο (ελαιοπυρήνας) πριν (α) και μετά (β) τον εμβολιασμό με καλλιέργεια <i>P. ostreatus</i>	48
Εικόνα 5.3	Επωαστικός θάλαμος εξωτερικά (α) και εσωτερικά (β)	49
Εικόνα 5.4	Ανάπτυξη μύκητα σε ελαιοπυρήνα	49
Εικόνα 5.5	Ζυγός ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων (<i>Kern EG300-3M.</i>)	50
Εικόνα 5.6	Διαδικασία διήθησης	50
Εικόνα 5.7	Στερεό υπόλειμμα υπό ξήρανση (α) και εκχύλισμα (β) μετά το διαχωρισμό του ελαιοπυρήνα από το μύκητα στις πειραματικές καλλιέργειες	51
Εικόνα 5.8	Κρύωμα φιαλιδίων για μέτρηση σακχάρων	54
Εικόνα 5.9	Μέτρηση σακχάρων μετά την φωτομέτρηση	55

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η πειραματική διαδικασία της συγκεκριμένης εργασίας διήρκησε 3 μήνες, από 7 Οκτωβρίου 2010 έως και 22 Δεκεμβρίου 2010. Πραγματοποιήθηκε στο ΑΤΕΙ Καλαμάτας, στο εργαστήριο Μικροβιολογίας της σχολής, υπό την επίβλεψη της καθηγήτριας μου κ. Ντάικου Ιωάννας.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου και τα αδέρφια μου για την στήριξη τους, καθώς και την καθηγήτρια μου για την πολύτιμη βοήθειά της γιατί χωρίς αυτήν δεν θα μπορούσε να διεξαχθεί η εργασία.

1 Εισαγωγή

Η ελιά καλλιεργείται εδώ και χιλιάδες χρόνια, και λόγω της σημασίας της ως καλλιεργούμενο είδος, έχει εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο και σήμερα τα προϊόντα της αποτελούν μερικά από τα πιο σημαντικά αγροτικά προϊόντα. Πολλές μάλιστα χώρες που καλλιεργούν ελιά σε όλο τον κόσμο βασίζουν ένα **σημαντικό μέρος της οικονομίας τους στην παραγωγή ελαιολάδου**.

Ωστόσο, αυτή η τόσο προσοδοφόρος δραστηριότητα οδηγεί σε σοβαρή υποβάθμιση του περιβάλλοντος όταν δεν συνοδεύεται από τη σωστή διαχείριση των αποβλήτων που προκύπτουν. Ανεξάρτητα με τον τύπο ελαιοτριβείου που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ελαιολάδου **παράγονται πάντα και μεγάλες ποσότητες υγρών και στερεών αποβλήτων** που λόγω της φυτοτοξικής και αντιμικροβιακής τους δράσης αλλά και του υψηλού οργανικού τους φορτίου μπορεί να προκαλέσουν σημαντική **πηγή ρύπανσης αν διατεθούν ανεξέλεκτα** στο περιβάλλον. Η κατάσταση έχει επιδεινωθεί κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, κυρίως λόγω της εκβιομηχάνισης της γεωργίας, η οποία έχει ασκήσει αισθητή αύξηση στην παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου. Προς αυτή την κατεύθυνση συνέβαλαν επίσης η **μετατροπή του κλασικού τύπου ελαιοτριβείου στο πιο εξελιγμένο ελαιοτριβείο φυγοκεντρικού τύπου** καθώς και η **διασκορπισμένη θέση ενός μεγάλου αριθμού ελαιοτριβείων μικρών διαστάσεων**, που έχει αποτέλεσμα την αύξηση της ρύπανσης λόγω της έλλειψης αξιόπιστων μέτρων διαχείρισης των παραγόμενων αποβλήτων τοπικά.

Δεδομένης της έλλειψης λύσεων στη γραμμή παραγωγής ελαιολάδου, οι προσπάθειες επικεντρώθηκαν στο τελευταίο στάδιο παραγωγής είτε με βάση τις νέες συμβατικές μεθόδους ή τις αρχαίες φυσικές τεχνικές επεξεργασίας. Η βελτιστοποίηση των συμβατικών μεθόδων κατά τα τελευταία χρόνια οδήγησε σε σημαντική μείωση των διαφόρων συστατικών. Από την άλλη πλευρά, λόγω της χαμηλής λειτουργίας, της συντήρησης και τις απαιτήσεις της ενέργειας συστημάτων επεξεργασίας της γης θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για την επίτευξη της αειφόρου διαχείρισης λυμάτων. (Kapellakis et al, 2008)

Στα πλαίσια της παρούσας πτυχιακής εργασίας έγινε μια προσπάθεια προσέγγισης του θέματος της διαχείρισης των αποβλήτων ελαιοτριβείων τόσο **μέσω**

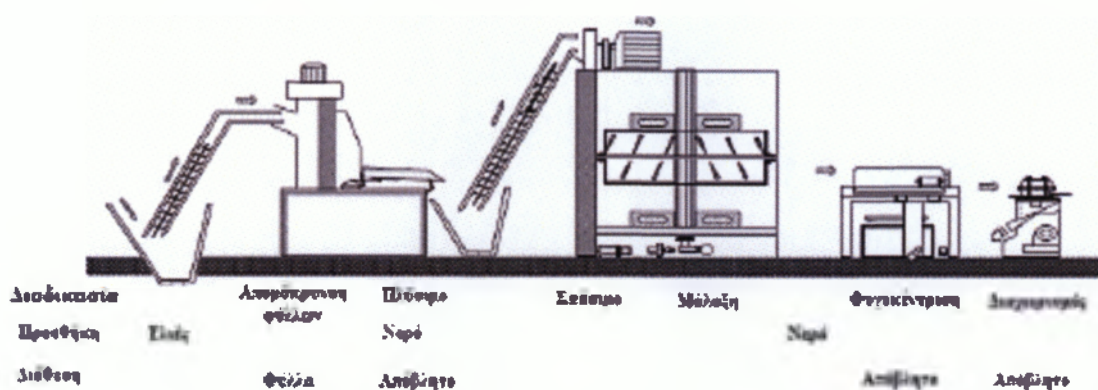
βιβλιογραφικά όσο και πειραματικά. Οι διαφορετικοί τύποι ελαιοτριβείων καθώς και τα ρεύματα αποβλήτων που προκύπτουν από κάθε ένα από αυτούς αναλύονται, με ιδιαίτερη έμφαση στα στερεά απόβλητα τριφασικού ελαιοτριβείου. Επίσης γίνονται αναφορές στην παγκόσμια παραγωγή ελαιολάδου, τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις της ανεξέλεγκτης διάθεσης των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου, και το νομικό πλαίσιο σχετικά με τη διαχείριση των κύριων ελαιοπαραγωγικών χωρών. Επίσης γίνεται αναφορά στα χαρακτηριστικά και τους τρόπους εκμετάλλευσης της λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας, αφού ως τέτοια μπορεί να χαρακτηριστούν και τα στερεά απόβλητα των ελαιουργείων. Τέλος γίνεται σύντομη αναφορά στην κατάταξη των μυκήτων σύμφωνα με τις ιδιότητες τους και με έμφαση στους βρώσιμους μύκητες λευκής σήψης και κυρίως στους τρόπους εφαρμογής τους στην ζωή μας.

Το **πειραματικό τμήμα** της πτυχιακής εργασίας είχε ως στόχο την διερεύνηση της **δυνατότητας ανάπτυξης** ενός βρώσιμου μύκητα, στην προκειμένη περίπτωση του μύκητα λευκής σήψης *Pleurotus ostreatus*, σε **στερεά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων**. Αυτός ο τρόπος ανάπτυξης του μύκητα οδηγεί σε **αξιοποίηση και εκμετάλλευση των στερεών αποβλήτων ελαιοτριβείων προς παραγωγή βρώσιμης πρωτεΐνης**, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί ένα **πιθανό τρόπο μείωσης ρύπανσης του περιβάλλοντος** από την συγκεκριμένη επεξεργασία ελαιοκάρπου λόγω της μείωσης του οργανικού φορτίου του αποβλήτου. Πειραματικά λοιπόν μελετήθηκε το κατά πόσο μπορεί να αναπτυχθεί ένας μύκητας λευκής σήψης σε στερεά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων χρησιμοποιώντας τα ως αποκλειστική πηγή θρεπτικών ουσιών (άνθρακα, αζώτου κ.λ.π).

2. Παραγωγή και διαχείριση αποβλήτων ελαιοτριβείου

2.1 Τύποι ελαιοτριβείων

Υπάρχουν **τρεις τύποι ελαιοτριβείων**: ο παροδοσιακός τύπος και οι δυο σύγχρονοι φυγοκεντρικοί τύποι, δηλ. ο διφασικός τύπος και ο τριφασικός τύπος. Ο διφασικός τύπος χωρίζει την ελαιομάζα σε 2 μέρη, δηλαδή το ελαιόλαδο και μαζί ελαιοπυρήνα και φυτικά υγρά. Ο τριφασικός διαχωρίζει την ελαιομάζα σε 3 μέρη, δηλαδή σε ελαιοπυρήνα, φυτικά υγρά και ελαιόλαδο.

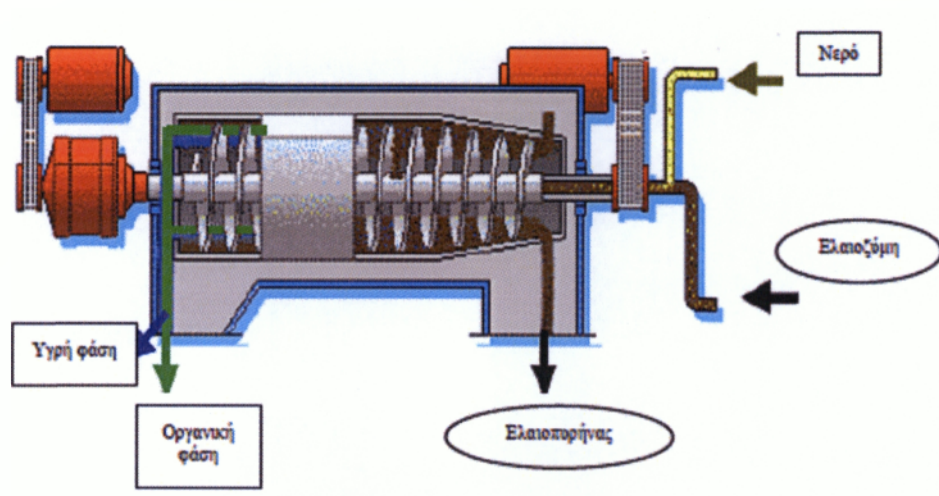


Σχήμα.2.1 Γραμμή παραγωγής ελαιολάδου σήμερα

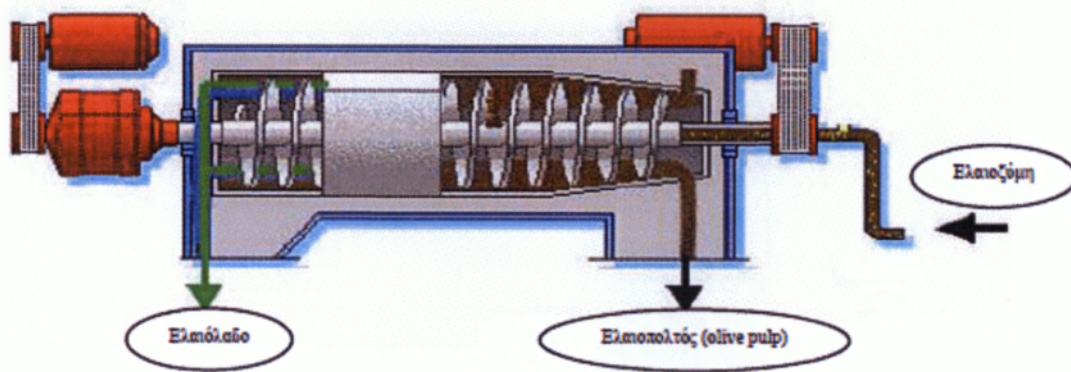
Η **παροδοσιακή μέθοδος** εξαγωγής ελαιολάδου βασίζεται στην άσκηση πίεσης. Πρόκειται για μια ασυνεχή διαδικασία (batch type process) που παράγει δύο φάσεις μέσω της πίεση των καρπών (μετά την άλεσή τους). Η υγρή φάση (μίγμα νερού/ λαδιού) διαχωρίζεται αργότερα προκειμένου να ληφθεί το ελαιόλαδο. Υπολογίζεται ότι από 1000 kg καρπού παράγονται περίπου 350 kg ελαιοπυρήνα (περιεκτικότητα σε υγρασία 25 %) και περίπου 450 kg υγρά απόβλητα (απόνερα). Η μέθοδος αυτή, αν και είναι **η πιο οικολογική** από τις τρεις μεθόδους, επειδή είναι ασυνεχής είναι **αργή** κάτι που αποτελεί μειονέκτημα για τη σύγχρονη βιομηχανία.

Η **τριφασική διαδικασία**, που παρουσιάζεται στο σχήμα 2.1, είναι μια συνεχής διαδικασία (continuous process) που άρχισε να χρησιμοποιείται στη δεκαετία του 1970-1980. Οι αλεσμένες ελιές τοποθετούνται σε ένα τριφασικό φυγοκεντρικό

διαχωριστήρα (σχήμα 2.2) όπου οι διαφορετικές φάσεις που παράγονται (ελαιόλαδο, απόνερα, ελαιοπυρήνας) διαχωρίζονται με την επίδραση της φυγοκέντρου δυνάμεως. Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι οι **μεγάλες ποσότητες νερού** που απαιτούνται και συνεπώς η παραγωγή σημαντικού όγκου υγρών αποβλήτων. Υπολογίζεται ότι από 1000 kg καρπό, παράγονται 500 kg ελαιοπυρήνα (περιεκτικότητα σε υγρασία 50 %) και 1200 kg υγρά απόβλητα.



Σχήμα 2.2. Τριφασικός διαχωριστήρας

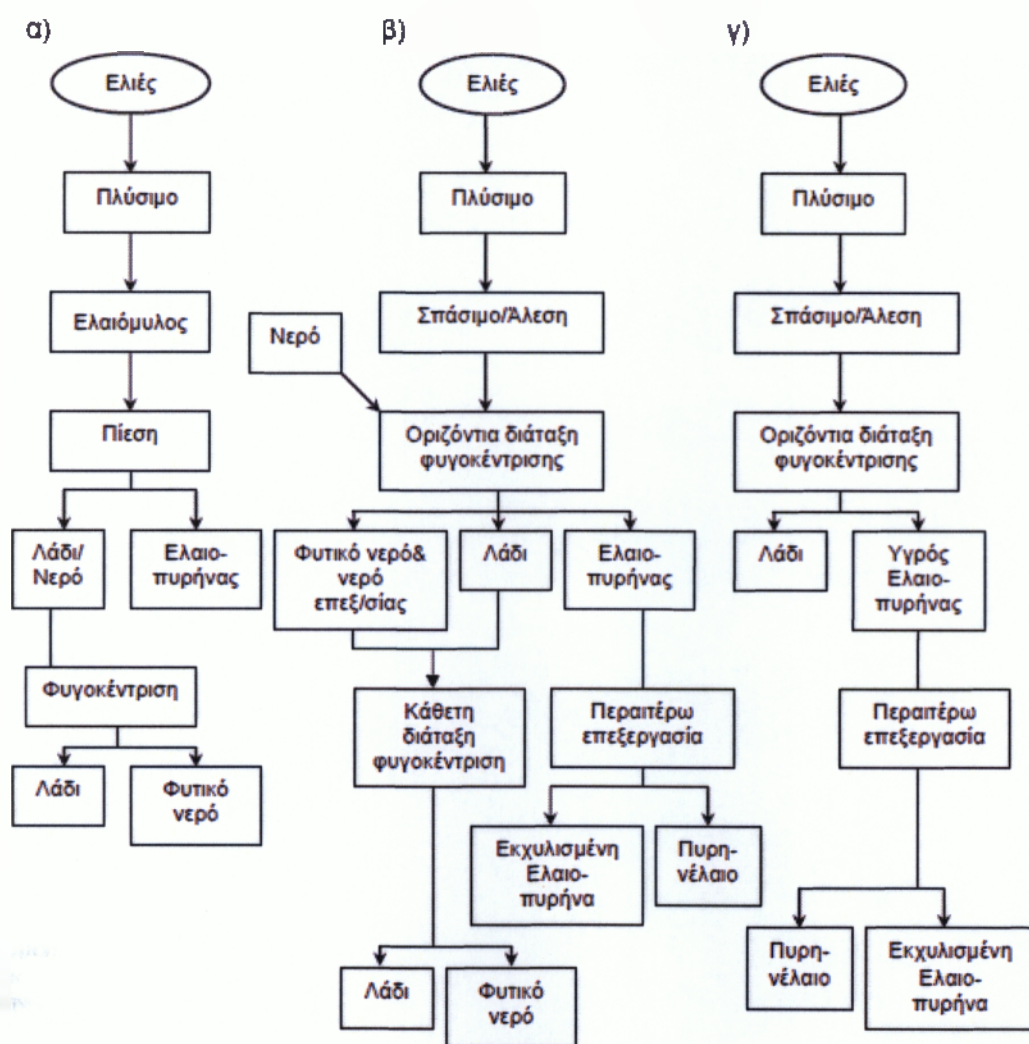


Σχήμα 2.3. Διφασικός διαχωριστήρας

Το διφασικό σύστημα (Σχήμα 2.1). παραγωγής ελαιολάδου αποκαλείται και «οικολογικό σύστημα» και είναι το πλέον εξελιγμένο. Σε αυτή τη διαδικασία, τα τελικά προϊόντα που παράγονται από το διαχωριστήρα (σχήμα 2.3) είναι το

ελαιόλαδο και ο ελαιοπυρήνας στον οποίο ενσωματώνονται τα απόνερα. Παράγεται συνεπώς ένα μόνο ρεύμα αποβλήτου, ημιστερεάς κατάστασης. Το σημαντικότερο πλεονέκτημα του συστήματος είναι η **μειωμένη κατανάλωση νερού και οι μειωμένες ποσότητες υγρών αποβλήτων**. Υπολογίζεται ότι κατά την επεξεργασία 1000 kg καρπού παράγονται 800 kg περίπου υγρής ελαιοπυρήνας. Σοβαρό, όμως, μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι η **ελαιοπυρήνα που προκύπτει έχει αυξημένη υγρασία και είναι δύσκολη στο χειρισμό**, στη μεταφορά και την επεξεργασία. Επιπλέον, ξηραίνεται με αργό ρυθμό και έχει υψηλό ρυπαντικό φορτίο.

Η γραμμή παραγωγής αναλυτικά για τους τρεις τύπους παρουσιάζεται στα διαγράμματα ροής του σχήματος 2.4.



Σχήμα 2.4. Διαγράμματα ροής (Μπλίκια 2009)

Και στους τρεις τύπους παραγωγής ελαιολάδου τα **κοινά στάδια** είναι η μεταφορά ελαιοκάρπου στο ελαιοτριβείο και η τοποθέτηση τους σε χοάνη παραλαβής και εν συνεχεία με την μεταφορική ταινία οδηγούνται στο αποφυλλωτήριο όπου απομακρύνονται τα φύλλα. Μετά ακολουθεί το πλύσιμο για την απομάκρυνση ξένων υλών(σκόνη, χώμα κλπ).

Στον παραδοσιακό τύπο (α) η άλεση του καρπού γίνεται με κυλινδρικές μυλόπετρες ενώ στους φυγόκεντρους τύπους (β και γ) χρησιμοποιούνται μεταλλικοί μύλοι, σφυρόμυλοι και σπαστήρες με οδοντωτούς δίσκους. Στον παραδοσιακό τύπο μετά την άλεση του ελαιοκάρπου και αφού η ελαιομάζα έχει αποκτήσει τις επιθυμητές φυσικοχημικές ιδιότητες υποβάλλεται σε πίεση, στο πιεστήριο αντίθετα στους φυγόκεντρους τύπους ο διαχωρισμός του ελαιολάδου από την ελαιομάζα γίνεται με φυγοκέντρωση. Το μηχάνημα ονομάζεται *decanter* και ο τύπος που χρησιμοποιείται είναι οριζόντιας διάταξης. Στον τριφασικό τύπο υπάρχει μία διαφορά στο ότι η ελαιομάζα εισάγεται στον φυγοκεντρητή αφού αραιωθεί με ζεστό νερό. Μετά την πίεση της ελαιομάζας στον παραδοσιακό τύπο γίνεται διαχωρισμός στερεών και υγρών δηλαδή παίρνουμε ελαιοπυρήνα και λάδι / νερό. Στον τριφασικό τύπο μετά την φυγοκέντρωση η ελαιομάζα χωρίζεται σε 3 στάδια:φυτικό νερό και νερό επεξεργασίας, το λάδι και τον ελαιοπυρήνα. Στον διφασικό τύπο μετά την φυγοκέντρωση η ελαιομάζα χωρίζεται σε 2 στάδια το λάδι και τον υγρό ελαιοπυρήνα. Τέλος στον παραδοσιακό τύπο το λάδι / νερό με τον ελαιοπυρήνα υπόκεινται σε φυγοκέντρωση που μας δίνει το τελικό προϊόν το οποίο είναι το λάδι και το φυτικό νερό. Όπως μπορούμε να δούμε στο σχεδιάγραμμα στον τριφασικό τύπο, στον διαχωριστήρα κάθετης διάταξης έχουμε τον τελικό διαχωρισμό σε λάδι και φυτικό νερό (αυτό επιτυγχάνεται λόγω του διαφορετικού ειδικού βάρους του λαδιού και των άλλων φυτικών υγρών),επίσης ο ελαιοπυρήνας υπόκειται σε περαιτέρω επεξεργασία και έχουμε ως υποπροϊόν την εκχυλισμένη ελαιοπυρήνα και το πυρηνέλαιο. Στον διφασικό τύπο το τελικό προϊόν είναι το λάδι και ο υγρός ελαιοπυρήνας ο οποίος μετά από επεξεργασία μας δίνει πυρηνέλαιο και εκχυλισμένη ελαιοπυρήνα.

2.2 Ρεύματα αποβλήτων

Η ελαιοπαραγωγή διεξάγεται κυρίως μέσα από τον παραδοσιακό ασυνεχή τύπο (κλασικός μύλος) ή τον πιο πρόσφατο συνεχή στερεό / υγρό φυγόκεντρο σύστημα (φυγόκεντρος μύλος). Και οι δύο διαδικασίες παράγουν **δύο ρεύματα αποβλήτων**: τα **υγρά απόβλητα** και τα **στερεά απόβλητα**. Από τον διφασικό τρόπο εκχύλισης παράγονται υγρός ελαιοπυρήνας (στερεό απόβλητο) και λάδι (υγρό απόβλητο). Ο υγρός ελαιοπυρήνας ύστερα από επεξεργασία όπως έχει προαναφερθεί παράγει ως υποπροϊόν **εκχειλισμένη ελαιοπυρήνα και πυρηνέλαιο**. Από τον τριφασικό τρόπο εκχύλισης παράγονται ο υγρός ελαιοπυρήνας (στερεό απόβλητο) και τα φυτικά υγρά με το λάδι (υγρά απόβλητα). (Ανώνυμος).

2.2.1 Υγρά Απόβλητα

Το μεγαλύτερο πρόβλημα στη διαδικασία εκχύλισης ελαιολάδου είναι τα υγρά απόβλητα, τα οποία παράγονται ως υποπροϊόντα σε μεγάλους όγκους και έχουν ρυπογόνο δράση αν διατεθούν στο περιβάλλον. Τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου (YAE) ή κατσίγαρος (στα αγγλικά αναφέρεται συχνά ως *OOW*, *Olive Oil Wastewater* ή, *OMW*, *Olive Mill Wastewaters*) ή τα επονομαζόμενα επίσης μαύρα νερά είναι τοξικά λύματα που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της παραγωγής του ελαιολάδου. Θεωρούνται σημαντικοί ρύποι και μπορούν να προκαλέσουν μεγάλα προβλήματα σε περιοχές καλλιέργειας ελαιόδεντρων σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες. Η **συνολική παραγωγή** των αποβλήτων ελαιοτριβείου (*OOW*) στην Ελλάδα **εκτιμάται σε περίπου 1.500.000 τόνους ετησίως** ενώ ο αριθμός των ελαιοτριβείων επεξεργασίας είναι 3.500.

Τυπικά ο κατσίγαρος δεν είναι απόβλητο αλλά σύνθετο προϊόν ελιάς το οποίο αποτελείται από δύο τμήματα. Το στερεό τμήμα που είναι ο **πολτός ελιάς** και το υγρό τμήμα που είναι το **ελαιόζουμο** και τα **νερά έκπλυσης**. Στην Ελλάδα έχει μάλιστα αναπτυχθεί ένα σύστημα εκμετάλλευσης των υποπροϊόντων του κατσίγαρου, μέσω του συστήματος *Eco Olive Cleaner* (<http://www.ecoolivecleaner.gr/>). Το ελαιόζουμο σύμφωνα με χημική ανάλυση έχει χαρακτηριστικά λιπάσματος και καλύπτει το 75%

των αναγκών πολλών καλλιεργειών όπως ελαίων, πορτοκαλιών κλπ. (Η Διαχείριση του Κατσιγαρού, ecoOliveCleaner-Ημερίδα, <http://www.ecoolivecleaner.gr/>)

2.2.1.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των ΥΑΕ

Παρότι προέρχονται από την επεξεργασία ενός φυσικού προϊόντος, τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων θεωρούνται ρυπαντές κυρίως λόγω των κάτωθι χαρακτηριστικών τους :

- Έχουν ιδιαίτερα υψηλό **οργανικό φορτίο** (BOD μεγαλύτερο από 50 g/l, COD μεγαλύτερο από 100 g/l), χαμηλό pH (≤ 5), **υψηλής αγωγιμότητας** (7-11 dS/m) και υψηλή συγκέντρωση **ανόργανων στοιχείων**, με αποτέλεσμα να οδηγούν σε **υποβάθμιση των υδάτινων αποδεκτών**.
- Επιπλέον κατά την διάθεση τους δημιουργούν **οσμές**, με αποτέλεσμα την με αποτέλεσμα
- Τέλος έχουν **φυτοτοξική και αντιμικροβιακή δράση** με αποτέλεσμα την υποβάθμιση και των **χερσέων οικοσυστημάτων**.

Η **ακριβής χημική σύσταση** των αποβλήτων αυτών ποικίλει και δεν μπορεί να τυποποιηθεί. Αντίθετα μπορεί να **παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις** λόγω των **διαφορετικών τύπων ελιάς** που εκχυλίζονται, τις **καλλιεργητικές συνθήκες** ακόμη και τον ίδιο τύπο ελιάς, τον ειδικό τρόπο **λειτουργίας κάθε ελαιουργείου** (ισχύς φυγοκεντρών, ποσότητες νερών κ.λπ.), την **εποχικότητα** κ.λπ. Κάποια βασικά χαρακτηριστικά υγρών αποβλήτων τριφασικού ελαιοτριβείου παρουσιάζονται στον πίνακα 2.1, σε αντιπαράθεση με τα χαρακτηριστικά από απόβλητο ενός παραδοσιακού ελαιοτριβείου.

2.2.1.2 Υφιστάμενη Διαχείριση των ΥΑΕ

Σήμερα ο πιο συνηθισμένος τρόπος διαχείρισης των ΥΑΕ είναι η **διάθεσή τους σε ανοικτές δεξαμενές εξάτμισης** προκειμένου να μειωθεί ο όγκος τους. Το **πλεονέκτημα** αυτής της μεθόδου είναι το **χαμηλό κόστος**. Τα **μειονεκτήματα** ωστόσο είναι πολύ περισσότερα, δηλαδή η **ρύπανση** των επιφανειακών και υπογείων υδάτων

καθώς και η φυτοτοξικότητα λόγω διαφυγής, η δημιουργία **εστίας πολλαπλασιασμού εντόμων** και οι **δυσάρεστες οσμές**, που αποτελούν σημαντικό πρόβλημα ιδιαίτερα κατά την τουριστική περίοδο. Για τη μείωση προβλημάτων εκπομπών οσμών πρέπει να αυξηθεί το *pH* με χρήση υδράσβεστου (*CaO*) ή με χρήση αποσμητικών.

Πίνακας : 2.1. Χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων των κλασικών και των τριφασικών φυγοκεντρικών ελαιουργείων (από Vlyssides et al., 2004)

ΤΥΠΟΣ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟΥ	ΚΛΑΣΙΚΟ	ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΚΟ
Μέγεθος		
pH	4.5-5.5	4.7-5.2
Ρυπογόνο δυναμικό		
Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο, (ΧΑΟ) (g/L)	120-130	45-60
Βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο, (ΒΑΟ) (g/L)	90-100	35-48
Αιωρούμενα στερεά (%)	0.1	0.9
Ολικά στερεά (%)	12	6
Ολικά οργανικά στερεά (%)	10.5	5.5
Ολικά ανόργανα στερεά (%)	1.5	0.5
Οργανικές ουσίες (%)		
Ολικά σάκχαρα	2-8	0.5-2.6
Αζωτούχες ενώσεις	0.5-2	1.7-2.4
Πολυαλκοόλες	1-1.5	0.3-0.5
Πηκτίνες, ταννίνες	1-1.5	0.2-0.5
Πολυφαινόλες	2-2.4	0.3-0.8
Λίπη	0.03-1	0.5-2.3
Ανόργανα στοιχεία (%)		
P	0.11	0.03
K	0.72	0.27
Ca	0.07	0.02
Mg	0.04	0.01
Na	0.09	0.03

Οι λάσπες που απομένουν μετά την εξάτμιση των υγρών μπορούν με κατάλληλη προεπεξεργασία να χρησιμοποιηθούν ως εδαφοβελτίωση. (Χαρτζουλάκης, 2010) Δεν υπάρχουν τεchnοοικονομικά αποδεκτές λύσεις για πλήρη επεξεργασία του συνόλου των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων ενός ελαιοτριβείου ώστε να είναι περιβαλλοντικά ασφαλής η διάθεσή τους σε αποδέκτες.

Τα υγρά απόβλητα ελαιουργείων θα πρέπει να μειώνονται στην πηγή, να θεωρούνται ως παραπροϊόντα και να επαναχρησιμοποιούνται μετά από κατάλληλη επεξεργασία. Η συγκομποστοποίηση (σε όλες τις περιπτώσεις) και η χρήση ως βιομάζα για την παραγωγή ενέργειας είναι δύο κύριες επιλογές για την επαναχρησιμοποίηση του προϊόντος. (Χατζηπαυλίδης, 2010)

2.2.2 Στερεά Απόβλητα

Η παραγωγή του ελαιολάδου ανεξάρτητα της διαδικασίας εξαγωγής του, συνοδεύεται, όπως προαναφέρθηκε, από σημαντικές ποσότητες υγρών και στερεών αποβλήτων. Τα **στερεά απόβλητα** διαφέρουν ως προς τον όγκο και την σύσταση, ανάλογα με την μέθοδο που χρησιμοποιείται κατά την επεξεργασία του ελαιοκάρπου. Διακρίνονται γενικά σε δύο κατηγορίες: α) σε αυτά που συλλέγονται κατά τα πρώτα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας και είναι όμοια, ανεξάρτητα της εφαρμοζόμενης μεθόδου, όπως φύλλα, πέτρες, ξύλα, χαρακτηριστικό είναι ότι συγκεντρώνονται πολύ μικρές ποσότητες και μπορούν εύκολα να επεξεργαστούν περαιτέρω. Συνήθως χρησιμοποιούνται (εκτός από τις πέτρες) ως καύσιμη ύλη ή διατίθενται εκ νέου στο έδαφος, ενώ σπανιότερα αξιοποιούνται σε τεχνικές πυρόλυσης ή αεριοποίησης και β) στα **στερεά που προκύπτουν στο στάδιο της παραλαβής του ελαιολάδου** και τα οποία αποτελούν το κυρίως στερεό υπόλειμμα της διεργασίας (www.pieralisi.gr). Τα στερεά αυτά απόβλητα ελαιοτριβείων (**ΣΑΕ**), που ονομάζονται επίσης και **ελαιοπυρήνας, πούλπα** κ.λ.π μας απασχολούν περισσότερο στην εργασία αυτή. Ιδιαίτερη εμφαση δίνεται στα ΣΑΕ από τριφασικό ελαιοτριβείο (εδώ αναφέρεται ως ελαιοπυρήνας) είναι αυτά που χρησιμοποιήθηκαν και πειραματικά στην παρούσα διπλωματική και συνεπώς αναλύονται διεξοδικά σε επόμενο κεφάλαιο.

Στην βιομηχανία ελαιολάδου παράγονται, όπως προαναφέρθηκε, μεγάλες ποσότητες αποβλήτων και υποπροϊόντων. Ενδεικτικά ένα τριφασικό σύστημα μπορεί να παράγει 35 κιλά στερεών αποβλήτων και 100 λίτρα υγρών αποβλήτων (OMW, Olive Mill Wastewater) ανά 100 κιλά ελίων. Τέτοια ουσιώδη ποσά των υποπροϊόντων μπορεί να έχουν επιβλαβείς επιπτώσεις στο περιβάλλον. Έτσι μία εναλλακτική χρησιμοποίηση των υποπροϊόντων είναι για παράδειγμα η χρησιμοποίησή τους ως πηγή των θρεπτικών ουσιών για τα ζώα. Τα στερεά υπολείμματα, που προέρχονται από το λάδι πρέπει να ανακτώνται μέσα από τον διαλύτη εκχύλισης. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι τα φύλλα δεν είναι τόσα πολλά σε όγκο και οι πυρήνες της ελιάς είναι χρήσιμοι για την παραγωγή σπόρου ελιάς, την παραγωγή ελαιολάδου από στερεά υπολείμματα δεν θα προκαλέσει σημαντικά στερεά απόβλητα. (Ανώνυμος).

Τρόποι εκμετάλλευσης των ΣΑΕ γενικά

Εφαρμογή στη γη: Εφαρμογή στη γη ή επεξεργασία των αποβλήτων στο έδαφος (όπως η κοπριά, η ιλύς και άλλα απόβλητα επεξεργασίας τροφίμων) είναι συχνά μια πολύ προσιτή εναλλακτική διάθεση αποβλήτων για τη βιομηχανία. Αυτή η μεταχείριση αξιοποιεί τα θρεπτικά απόβλητα για τη φυτική παραγωγή και μπορεί να λειτουργήσει ως βελτιωτικό εδάφους, καθώς επίσης να μεγιστοποιήσει τη χρήση θρεπτικών συστατικών και να ελαχιστοποιήσουμε τους κινδύνους ρύπανσης. Η πιο κοινή μέθοδος εφαρμογής της γης είναι η εξάπλωση γης ή η υπόγεια ένεση (10-25 cm) των υγρών και στερεών αποβλήτων επί του εδάφους.

Κομποστοποίηση: Κομποστοποίηση είναι η αερόβια κατανομή των οργανικών υλών στο έδαφος όπως το υλικό ονομάζεται χούμους. Τα οργανικά απορρίμματα είναι χτισμένα πάνω σε σωρούς. Λόγω της έντονης βιολογικής δραστηριότητας των βακτηρίων στο πρώτο στάδιο της υποβάθμισης, εξωθερμικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα, που οδηγούν σε θερμοκρασίες 70 έως 80 °C στο εσωτερικό του σωρού. Αυτή η θέρμανση οδηγεί σε παστερίωση των αποβλήτων. Ένας ενεργητικός ή παθητικός αερισμός του σωρού πρέπει να εξασφαλίζεται για την εξασφάλιση ταχείας και πλήρους αερόβιας αποδόμησης της βιοαποδομήσιμης οργανικής ύλης. Η διαδικασία της κομποστοποίησης ολοκληρώνεται μετά από περίοδο 3 έως 4 μηνών. Το κύριο πρόβλημα για την εφαρμογή της κομποστοποίησης από υποπροϊόντα ελιάς είναι η οσμή των εκπομπών.

Αναερόβια χώνευση: Αναερόβια ζύμωση ή χώνευση των στερεών οργανικών αποβλήτων είναι μια ευρέως εφαρμοσμένη τεχνολογία. Μια τεχνολογική λύση είναι να προσαρμόσουμε την περιεκτικότητα σε νερό των αποβλήτων τουλάχιστον 90% (υγρή ζύμωση) και να το επεξεργαστεί σε ένα εντελώς μικτό βιοαντιδραστήρα (εφαρμόζεται για υγρή κοπριά). Η δεύτερη λύση είναι η επεξεργασία των αποβλήτων με περιεκτικότητα σε νερό 60 έως 70% σε ένα σταθερό βιοαντιδραστήρα. (Ανώνυμος)

Παρά το γεγονός ότι για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα η κομποστοποίηση θεωρήθηκε μεταξύ των τεχνικών επεξεργασίας των αποβλήτων με τις μεγαλύτερες δυνατότητες (κατά την άποψη να ταξινομηθεί ως ανακύκλωση, και την υψηλότερη διαθέσιμη εγκατάσταση *WHC*, ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, χαμηλότερη πυκνότητα χύμα, σταθεροποίηση *pH* και καλύτερη ομαδοποίηση), και τις ελλείψεις του κυρίως από την άποψη των απαιτούμενων εγκαταστάσεων και του κόστους κατάρτισης, υπήρξε πρόσφατα μια νέα τάση σε αυτό όπου αρκετές έρευνες την έχουν ενοχοποιήσει ως μια μάλλον επικίνδυνη τεχνική για το περιβάλλον. Οι κύριοι λόγοι αναφέρονται η φυτοτοξικότητα του εδάφους, και η νέκρωση των φύλλων ελιάς. Ως εκ τούτου, φαίνεται ότι μια πιο ολιστική προσέγγιση είναι απαραίτητη, εφόσον το ενδιαμέσο (λιπασματοποίηση υλών) και η απόδοση (επεξεργασία του εδάφους) θα πρέπει να αναλυθούν στο πλαίσιο της ανάλυσης κύκλου ζωής (AKZ). (Arvanitoyannis et al., 2007).

2.2.2.1 Στερεά Απόβλητα από Παραδοσιακά και Διφασικά Ελαιουργεία

Κάποια βασικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δυο τύπων ΣΑΕ παρουσιάζονται στον πίνακα 2.2.

Πίνακας : 2.2. Χαρακτηριστικά των στερεών αποβλήτων των κλασικών και των φυγοκεντρικών ελαιοτριβείων (από Vlyssides et al., 1998)

ΤΥΠΟΣ ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΟΥ	ΚΛΑΣΙΚΟ	ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΙΚΟ
Υγρασία (%)	27.2 ± 1.05	56.80 ± 2.19
Λίπη και έλαια (%)	8.72 ± 3.25	4.65 ± 1.74
Πρωτεΐνες (%)	4.77 ± 0.02	2.87 ± 0.01
Ολικά σάκχαρα (%)	1.38 ± 0.02	0.83 ± 0.01
Κυτταρίνη (%)	24.1 ± 0.28	14.54 ± 0.17
Ημικυτταρίνη (%)	11.0 ± 0.61	6.63 ± 0.37
Τέφρα (%)	2.36 ± 0.15	1.42 ± 0.09
Λιγνίνη (%)	14.1 ± 0.29	8.54 ± 0.18
Ολικό άζωτο κατά Kjeldahl (%)	0.71 ± 0.01	0.43 ± 0.01
Ολικός φωσφόρος ως P ₂ O ₅ (%)	0.07 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Φαινολικές ενώσεις (%)	1.14 ± 0.06	2.43 ± 0.15
K ως K ₂ O (%)	0.54 ± 0.05	0.32 ± 0.03
Ca ως CaO (%)	0.61 ± 0.06	0.37 ± 0.04
Ολικός άνθρακας (%)	429 ± 3.42	25.37 ± 2.03
C/N	60.7 ± 5.35	59.68 ± 5.25
C/P	588.7 ± 51.25	577.2 ± 50.31

Όπως φαίνεται τα ΣΑΕ από το παραδοσιακό ελαιοτριβείο έχουν πολύ χαμηλή υγρασία αφού παράγονται χωρίς προσθήκη νερού. Αντίθετα τα ΣΑΕ διαφασικού συστήματος, που συνήθως αναφέρονται ως **πούλπα** (olive pulp) είναι ουσιαστικά ένα ημι-στερεό απόβλητο με υψηλή υγρασία και μικρότερο συγκριτικά υπολλειπόμενο ποσοστό ελαιολάδου. Ουσιαστικά από το διαφασικό σύστημα εκχύλισης ελαιολάδου παράγεται ένα μόνο ρευμα αποβλήτων που περιέχει τόσο τα νερά εκπλύσης όσο και την υπολοιπόμενη φυτική βιομάζα με τα φυτικά υγρά.

2.2.2.2 Στερεά απόβλητα από τριφασικά ελαιοτριβεία

Τα χαρακτηριστικά και οι χρήσεις των ΣΑΕ τριφασικού συστήματος αναλύονται στο επόμενο κεφάλαιο.

2.3 Χαρακτηριστικά στερεών αποβλήτων τριφασικών ελαιοτριβείων και τρόποι εκμετάλλευσής τους

2.3.1 Χαρακτηριστικά Στερεών Αποβλήτων Τριφασικών Ελαιοτριβείων

Στα στερεά απόβλητα τριφασικών ελαιοτριβείων περιλαμβάνονται τόσο ο ελαιοπυρήνας, όσο και τα πρωτογενή στερεά, δηλαδή τα φύλλα των ελαιόδεντρων που συλλέχθηκαν κατά τη συγκομιδή του ελαιοκάρπου. Το κύριο απόβλητο που πρέπει να διαχειριστούμε είναι ο ελαιοπυρήνας που παράγεται μετά το διαχωρισμό του μίγματος νερού και ελαιοπολτού από το φυγοκεντρητή. Στην παρούσα διπλωματική ως ΣΑΕ τριφασικών εννοούμε τον ελαιοπυρήνα, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του οποίου παρουσιάζονται στον πίνακα 2.3.

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 2.3, ο ελαιοπυρήνας περιέχει ελάχιστα σάκχαρα (σε αντίθεση με τα υγρά απόβλητα που τα σάκχαρα μπορεί να φτάσουν έως και το 6%) αλλά περιέχει σημαντικές ποσότητες σύνθετων υδατανθράκων, που είναι πολυμερή των σακχάρων. Έτσι, η **κυτταρίνη με την ημικυτταρίνη** ξεπερνούν συνολικά το 25% επί του νωπού βάρους του αποβλήτου, που σημαίνει ότι φτάνουν στο **50% του ξηρού τους βάρους**. Για αυτό τον λόγο ο ελαιοπυρήνας μπορεί να χαρακτηριστεί ως λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα.

Ο ελαιοπυρήνας συνήθως μεταφέρεται σε ειδικές εγκαταστάσεις (πυρηνελουργεία), μετά από ξήρανση στους 60 °C, εξάγεται με διάλυμα εξανίου για την παραγωγή του πυρηνέλαιου. Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά τα χαρακτηριστικά και οι τρόποι διαχείρισης του ελαιοπυρήνα.

Πίνακας : 2.3. Χαρακτηριστικά των αποβλήτων φυγοκεντρικών τριών ελαιουργείων (Vlyssides et al., 1998)

Παράμετρος	Τιμές
Υγρασία (%)	50.23 ± 1.94
Λίπη και έλαια (%)	3.89 ± 1.45
Πρωτεΐνες (%)	3.43 ± 0.02
Ολικά σάκχαρα (%)	0.99 ± 0.01
Κυτταρίνη (%)	17.37 ± 0.20
Ημικυτταρίνη (%)	7.92 ± 0.44
Τέφρα (%)	1.70 ± 0.11
Λιγνίνη (%)	10.21 ± 0.21
Ολικό άζωτο κατά Kjeldahl (%)	0.51 ± 0.01
Ολικός φωσφόρος ως P ₂ O ₅ (%)	0.05 ± 0.01
Φαινολικές ενώσεις (%)	0.33 ± 0.04
K ως K ₂ O (%)	0.39 ± 0.03
Ca ως CaO (%)	0.44 ± 0.04
Ολικός άνθρακας (%)	29.03 ± 2.32
C/N	57.17 ± 5.03
C/P	552.9 ± 48.20

2.3.2. Διαχείριση Στερεών Αποβλήτων Τριφασικών Ελαιοτριβείων

Ο ευρύτερα εφαρμοζόμενος τρόπος διαχείρισης των ΣΑΕ από τριφασικά είναι η περαιτέρω εκμετάλευσή του για εξαγωγή λαδιού χαμηλότερης ποιότητας. Από τη διαδικασία αυτή παράγονται ετησίως περίπου 170.000 τόνοι λαδιού και 1.600.000

τόνοι πυρηνόξυλο το οποίο χρησιμοποιείται σαν καύσιμο και καλύπτει πλήρως ή μερικώς τις ενεργειακές ανάγκες των ελαιοτριβείων, σε φούρνους, σε ειδικά ημιαυτόματα συστήματα κεντρικής θέρμανσης σπιτιών, θερμοκηπίων, ακόμη σε μονάδες παραγωγής ασβέστη και για κομποστοποίηση ως εδαφοβελτιωτικό. Εναλλακτικά όμως αναφέρονται βιβλιογραφικά πολλές ακόμη μέθοδοι, βιολογικές κυρίως, κάποιες από τις οποίες παρουσιάζουν αυξημένο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια και σε πρακτικό επίπεδο.

2.3.2.1 Εξαγωγή Πυρηνελαίου

Πυρηνέλαιο είναι το λάδι που αποχωρίζεται από τον πλακούντα πιεστηρίων (ελαιοπυρήνα) ή το υπόλειμμα των φυγοκεντρικών ή άλλου τύπου διαχωριστήρων, έπειτα από μερική ξήρανση και **εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες**. Από την χημική επεξεργασία του ελαιοπυρήνα παραλαμβάνουμε τις εξής κατηγορίες:

- ακάθαρτο
- πυρηνέλαιο-εξευγενισμένο
- πυρηνέλαιο-πυρηνέλαιο.

Στα πυρηνελαιουργεία που επεξεργάζονται τον ελαιοπυρήνα ακολουθούνται τα πιο κάτω στάδια: ξήρανση του ελαιοπυρήνα και εκχύλιση του ελαιοπυρήνα. Για να πραγματοποιήσουμε εκχύλιση του ελαιοπυρήνα χρησιμοποιούμε έναν διαλύτη(συνήθως εξάνιο). Στη συνέχεια μετά την εκχύλιση γίνεται απομάκρυνση του διαλύτη και το εκχύλισμα που παραλαμβάνουμε ονομάζεται ακάθαρτο πυρηνέλαιο ή *Bruto* πυρηνέλαιο. Το ακάθαρτο πυρηνέλαιο υποβάλλεται στη διαδικασία του ραφινάρισματος και παραλαμβάνουμε το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο, στο οποίο προσθέτουμε μία ποσότητα extra παρθένου ελαιολάδου και παραλαμβάνουμε το γνωστό σε όλους πυρηνέλαιο. (Ματσατσίνης, 2004)

Το πυρηνέλαιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας ή στην συμπαραγωγή θερμότητας και ηλεκτρικής ενέργειας στην Κρήτη, αφού παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα όπως: δεν υπάρχει ανάγκη για τη συγκομιδή των πρώτων υλών και των μεταφορών, διότι παράγεται από μονάδες μεταποίησης. Η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ χαμηλή και η θερμαντική αξία του είναι

υψηλή. Η τιμή του είναι χαμηλή σε σύγκριση με την αξία της θέρμανσης. Η τεχνολογία καύσης είναι γνωστή. Δεδομένου ότι είναι κοκκώδης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε αντιδραστήρες σταθερής κλίνης ή ρευστοποιημένης κλίνης. Η παραγόμενη ισχύς μπορεί να καταναλωθεί είτε στο εσωτερικό του φυτού ή μπορεί να αποσταλεί στο δίκτυο. Η Ελληνική Κυβέρνηση προσφέρει καλές επιδοτήσεις για επενδύσεις στον τομέα των Ανανεώσιμων Πηγών Ενέργειας και, φυσικά σε βιομάζα. Η χρήση της βιομάζας για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας στην Κρήτη θα μειώσει τις εκπομπές CO_2 στο νησί. Στην περίπτωση που μια τέτοια εγκατάσταση δημιουργηθεί, διάφορα άλλα στερεά γεωργικά υπολείμματα μπορούν να χρησιμοποιούνται μαζί με το πυρηνέλαιο ως πρώτες ύλες. Η δημιουργία ενός τέτοιου εργοστασίου θα συμβάλει στην παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας από και προς τα μικρά αποκεντρωμένα εργοστάσια αντί των μεγαλύτερων κεντρικών σταθμών παραγωγής ενέργειας που υπάρχουν σήμερα στην Κρήτη. Η περιεκτικότητα θείου κατά την ξήρανση ή την εκχύλιση πυρηνελαίου είναι ελάχιστη. Η αποτελεσματικότητα των μικρών μεγέθους εγκαταστάσεων καύσης είναι πολύ χαμηλή. Οι μονάδες επεξεργασίας πυρηνελαίου λειτουργούν εποχιακά. Η θερμότητα που παράγεται από την ξήρανση ή την εκχύλιση πυρηνελαίου χρησιμοποιείται κατά το χρόνο που λαμβάνεται από τη συμπαραγωγή θερμότητας και ηλεκτρισμού (κατά τη διάρκεια λειτουργίας των επιχειρήσεων, η οποία είναι από Νοέμβριο - Απρίλιο), ή έξω από το εργοστάσιο για κοντινές απαιτήσεις θέρμανσης. Πέραν αυτής της περιόδου, η τιμή του πυρηνελαίου μπορεί να αυξηθεί, λόγω της εποχιακής έλλειψης πηγών βιομάζας.

Συνήθως η μεταφορά και η επεξεργασία του ελαιοπυρήνα από τα φυγοκεντρικά ελαιοτριβεία είναι ασύμφορη λόγω μεγάλης απόστασης των ελαιοτριβείων από τα πυρηνελουργεία και λόγω υψηλής υγρασίας του πυρήνα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ο ελαιοπυρήνας να μένει ανεκμετάλλευτος και να δημιουργείται καινούργια εστία ρύπανσης. Ένα μικρό μέρος των φύλλων των ελαιόδεντρων και τα κλαδιά τους χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφή. Πρόσφατα άρχισε η περαιτέρω αξιοποίησή τους για την παρασκευή χουμικών και εδαφοβελτιωτικών υλικών διότι η περιεκτικότητα των φύλλων σε άζωτο και κάλιο είναι πλούσια (www.envfriendly.tuc.gr). Εναλλακτικά προτείνεται ότι τα στερεά απόβλητα (ελαιοπυρήνας) πρέπει να συλλέγονται από την πλατφόρμα και μπορούν να

χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφή, καύσιμη ύλη ή ως βελτιωτικό εδάφους, ή θα πρέπει να αποστέλλονται για περαιτέρω επεξεργασία σε πυρηνελαιουργείο ή τέλος θα μπορούν να χρησιμοποιούνται για την παραγωγή κομπόστας. Στο τέλος της κάθε περιόδου λειτουργίας του ελαιοτριβείου, δε θα πρέπει να παραμένει πυρήνας στο χώρο αποθήκευσης. (www.cyprus.gov.cy)

2.3.2.2 Εναλλακτικοί Τρόποι Διαχείρισης ΣΑ τριφασικών Ελαιοτριβείων

Εργαστηριακές έρευνες έδειξαν ότι τα απόβλητα των ελαιουργείων μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως: λίπασμα εδάφους, μικροβιοκτόνα εδάφους, ζωοτροφή (πυρηνέλαιο) πρώτη ύλη για την παραγωγή πυρηνέλαιου, πρώτη ύλη για την παραγωγή διάφορων προϊόντων (αλκοόλες), πρώτη ύλη για την παραγωγή ενέργειας.

Κομποστοποίηση

Τα στερεά απόβλητα ελαιοτριβείων (αλλά και πιθανά μίγματα με υγρά απόβλητα) μπορούν να αποτελέσουν κατάλληλη πρώτη ύλη για παραγωγή κομπόστ (βιολίπασμα) (Fillipi et al., 2002). Εφαρμόζονται βιοφίλτρα για τη επεξεργασία του φυσικού αερίου από την σωρό της κομποστοποίησης, που αυξάνουν το σύνολο στο κόστος της τεχνολογίας. Το βιο-λίπασμα είναι ένα πολύτιμο προϊόν και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διάφορους σκοπούς, όπως: ως πρόσθετη ύλη για τη βελτίωση της υφής και της βιολογικής δραστηριότητας για βιοαποδόμηση των μολυσμένων εδαφών, έλεγχος ασθενειών για τα φυτά και τα ζώα, λιπάσματα για την περαιτέρω καλλιέργεια, για τον έλεγχο διάβρωσης και εξωραϊσμό φυσικών υποβαθμισμένων τοπίων. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι η απελευθέρωση οσμών και η αποστράγγιση των υδάτων, με κίνδυνο ρύπανσης του υδροφόρου ορίζοντα.

Αναερόβια χώνευση

Επίσης τα στερεά ελαιοτριβείων (αλλά και πιθανά μίγματα με υγρά απόβλητα) μπορούν να αποτελέσουν κατάλληλη πρώτη ύλη για παραγωγή μεθανίου μέσω αναερόβιας χώνευσης (Niaounakis and Halvadakis, 2006). Το πρώτο βήμα της αναερόβιας αποδόμησης, η διαδικασία οξίνισης, γίνεται με υδρόλυση των οργανικών ουσιών. Το δεύτερο στάδιο που είναι αυστηρά αναερόβιος συνθήκες είναι ο

σχηματισμός του μεθανίου. Υπάρχουν διαφορετικές τεχνολογικές λύσεις: τα δύο αυτά μέτρα μπορούν να υλοποιηθούν σε ένα αντιδραστήρα (διαδικασία ενός βήματος) ή σε δύο χωριστούς αντιδραστήρες (διαδικασία δύο σταδίων). Περίπου 40 έως 50% των οργανικών υλών μετατρέπεται σε βιοαέριο, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας και θερμότητας. Το κύριο μειονέκτημα είναι η παραγωγή μειωμένης λάσπης. (Ανώνυμος)

2.3.2.3 Εκμετάλλευση Στερεών Αποβλήτων Τριφασικών Ελαιοτριβείων Μετά την Εξαγωγή Πυρηνελαίου

Η υπολειπόμενη ξηρή βιομάζα που απομένει μετά την εξαγωγή του πυρηνελαίου από τον ελαιοπυρήνα καλείται πυρηνόξυλο. Το πυρηνόξυλο αποτελεί ένα σημαντικό ενεργειακό πόρο για όλα τα μέρη όπου καλλιεργείται η ελιά. Η καλλιέργεια της ελιάς σε όλη την Ελλάδα καταλαμβάνει έκταση 7.802.913 στρεμμάτων (Ε.Σ.Υ.Ε., 2002). Συγκεκριμένα στην Πελοπόννησο βρίσκεται το 30% των εκτάσεων αυτών, αντίστοιχα στην Κρήτη το 22%, στη Στερεά Ελλάδα το 19%, στα νησιά του Αιγαίου το 10%, στα νησιά του Ιονίου το 6%, στη Μακεδονία το 6%, στη Θεσσαλία το 4% και στην Ήπειρο το 3%. Τα περισσότερα από τα παραπροϊόντα που παράγονται κατά την καλλιέργεια της ελιάς, αλλά και κατά την επεξεργασία του ελαιόκαρπου, όπως τα φύλλα, τα κλαδιά, οι ρίζες, το πυρηνόξυλο κ.ά., μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ενέργειας. Η ενέργεια αυτή μπορεί να παραχθεί είτε απευθείας, με καύση του υλικού, σε κατάλληλους καυστήρες, είτε με πιο προηγμένες μεθόδους, όπως με αεριοποίηση της βιομάζας και χρήση του παραγόμενου αερίου, μετά από καύση, για παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. (Βουρδουμπάς, 2001).

Πλεονεκτήματα - μειονεκτήματα από τη χρήση πυρηνόξυλου

Η χρησιμοποίηση του πυρηνόξυλου ως καύσιμο για τη θέρμανση στα θερμοκήπια έχει πολλά πλεονεκτήματα, τα οποία μπορούν να διακριθούν σε περιβαλλοντικά, οικονομικά και κοινωνικά. Τα περιβαλλοντικά οφέλη είναι η μείωση

των εκπομπών CO_2 στην ατμόσφαιρα λόγω της μη χρήσης του πετρελαίου και η απουσία θειούχων ενώσεων, οι οποίες είναι αρκετά επιβλαβείς, στους εκπεμπόμενους ρύπους. Επίσης περιορισμός των ποσοτήτων των, παλαιότερα θεωρούμενων «άχρηστων», παραπροϊόντων γεωργικών δραστηριοτήτων. Τα οικονομικά οφέλη είναι η μείωση του κόστους θέρμανσης καθώς και η μείωση του συναλλάγματος που δαπανάται για την εισαγωγή του πετρελαίου. Τα κοινωνικά οφέλη είναι η ανάπτυξη μονάδων επεξεργασίας ελαιοπυρήνα για παραγωγή τυποποιημένου προϊόντος, με επακόλουθο τη δημιουργία νέων θέσεων εργασίας. Σαν περιβαλλοντικό μειονέκτημα μπορεί να θεωρηθεί η ύπαρξη στις αέριες εκπομπές μικρών σωματιδίων και πιθανώς CO στην περίπτωση ατελούς καύσης.

Επίσης ένα από τα προβλήματα στο σχεδιασμό ενός αξιόπιστου συστήματος για την αξιοποίηση του πυρηνόξυλου είναι η εποχικότητα της παραγωγής του. Συγκεκριμένα το πυρηνόξυλο “παράγεται” κατά τους χειμερινούς μήνες Νοέμβριο, Δεκέμβριο και Ιανουάριο, ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις μέχρι και το Μάιο όταν πρόκειται για μεγάλη σοδειά, δηλαδή όταν μαζεύεται ο ελαιόκαρπος. Τέλος υπάρχει και το φαινόμενο της διακύμανσης της παραγωγής ανά έτος, που αποτελεί σοβαρό πρόβλημα γενικώς της ελαιοργίας και των προϊόντων της. (Klass, 1998)

Παραγωγή φτηνής ενέργειας από το κουκούτσι της ελιάς

Ένα παραπροϊόν, που παράγεται κατά την επεξεργασία της ελιάς στην Κρήτη και είναι φιλικό προς το περιβάλλον, μπορεί να αντικαταστήσει σε πολλές περιπτώσεις τη χρήση του πετρελαίου. Πρόκειται για το πυρηνόξυλο, που κοστίζει μόνον το ένα τρίτο της αξίας του «μαύρου χρυσού» και ήδη χρησιμοποιείται ευρέως στο νησί για τη θέρμανση κατοικιών και επαγγελματικών χώρων. Τη σχετική ανακοίνωση έκανε σήμερα ο δόκτωρ χημικός - μηχανικός και γενικός διευθυντής της ΑΒΕΑ (Ανώνυμος Βιομηχανική Εταιρεία "Ανατολή"), Ανδρέας Γεωργουσάκης, μιλώντας σε ημερίδα, που διοργάνωσε - στο πλαίσιο της 23ης *Agrotica* - η Αναπτυξιακή Εταιρεία Ανατολική ΑΕ, με θέμα "Στερεά καύσιμα από υπολείμματα αγροτικής και δασικής βιομάζας". Στην Κρήτη, το πυρηνόξυλο βρίσκει πολλές εφαρμογές σε ό,τι αφορά στην παραγωγή θερμότητας, δεδομένου ότι παράγεται σε μεγάλες ποσότητες (σήμερα, η ετήσια παραγωγή κυμαίνεται γύρω στους 100.000

τόνους). Επιπλέον, η χρήση του δεν παρουσιάζει δυσκολίες, ενώ και η τιμή του είναι αρκετά ελκυστική, σε σχέση με την ενεργειακή του αξία. Προσοδοφόρο προϊόν σήμερα, στην Κρήτη λειτουργούν δέκα πυρηνελαιουργεία, τα οποία παράγουν πυρηνόξυλο και ακατέργαστο πυρηνέλαιο. "Συνολικά, τα πυρηνελαιουργεία της Κρήτης, επεξεργάζονται περίπου 200.000 τόνους ελαιοπυρήνα και παράγουν 100.000 τόνους πυρηνόξυλο, από το οποίο αυτοκαταναλώνουν για τη λειτουργία τους 43.000 τόνους και το υπόλοιπο το διαθέτουν για πώληση", ανέφερε ο κ. Γεωργουσάκης. Συγκεκριμένα, τα πυρηνελαιουργεία αγοράζουν τους 200.000 τόνους ελαιοπυρήνα προς 15 ευρώ τον τόνο και παράγουν 8.500 τόνους ακατέργαστο πυρηνέλαιο, συνολικής αξίας 5,525 εκατομμυρίων ευρώ και 100.000 τόνους πυρηνόξυλο αξίας 5 εκατ. ευρώ. "Μάλιστα, το εργοστάσιο της ΑΒΕΑ είναι το πρώτο πυρηνελαιουργείο στην Ελλάδα, αφού λειτουργεί από το 1889 στα Χανιά της Κρήτης", ανέφερε ο κ. Γεωργουσάκης. Στις βασικές εφαρμογές του πυρηνόξυλου στην Κρήτη συγκαταλέγονται, σύμφωνα με τον κ. Γεωργουσάκη, η παραγωγή ενέργειας για αγροτικές βιομηχανίες (πυρηνελαιουργεία, ελαιουργεία, ραφιναρία λαδιών, σαπυνοποιείο), για βιοτεχνίες - βιομηχανίες (τυροκομία, φούρνοι, πλυντήρια ρούχων, καζάνια τσικουδιάς, ασβεστοποιείες), καθώς και για θέρμανση κατοικιών, ξενοδοχείων, θερμοκηπίων αλλά και για παραγωγή πρώτης ύλης σε ζωοτροφές. "Χαρακτηριστικά του πυρηνόξυλου είναι το χαμηλό κόστος - 5 λεπτά του ευρώ ανά κιλό - σε σχέση με τη θερμική του αξία, το ότι είναι ένας εγχώριος ενεργειακός πόρος και τα καυσαέρια από την καύση του δεν περιέχουν ενώσεις του θείου, ενώ η στάχτη του είναι ένα καλό λίπασμα", είπε, μιλώντας στην ημερίδα, ο κ. Γεωργουσάκης. (news.pathfinder.gr)

2.3.2.4 Εφαρμογές εκμετάλλευσης ΣΑ τριφασικών ελαιοτριβείων στην Ελλάδα

Επιτυχείς προσπάθειες αξιοποίησης των εν λόγω αποβλήτων στην Ελλάδα έχουν γίνει στην περιφέρεια των Χανίων, στο νησί της Κρήτης. Στα Χανιά η ελαιοπυρήνα χρησιμοποιείται για την εξαγωγή πυρηνέλαιου και μετέπειτα ως ξηρή ελαιοπυρήνα πλέον για την θέρμανση των νερών των ελαιουργείων καθώς και για την θέρμανση κάποιων οικιών που το χρησιμοποιούν ως συνδυαστικό καύσιμο μαζί με τα καυσόξυλα. Στην Ελλάδα παρόλο που η ξηρή ελαιοπυρήνα χρησιμοποιείται εδώ και

πάρα πολλά χρόνια ως καύσιμο δεν έχουν αναπτυχθεί στη χώρα μεγάλες εφαρμογές αντίστοιχα με αυτές της Ισπανίας. Οι Πρακτικές που επιλέχθηκαν στα Χανιά είναι οι ακόλουθες:

- ABEA. Η ξηρή ελαιοπυρήνα χρησιμοποιείται για την ξήρανση της ελαιοπυρήνα (εικόνα 2.1) κατά τη διάρκεια εξαγωγής του πυρηνελαίου. Τοποθεσία: αγροκήπιο Χανιά.
- BIOMEL. Σύστημα εξαγωγής ελαιοπυρήνα με χρήση ξηρής ελαιοπυρήνα και εξαγωγή ξηρής ελαιοπυρήνα στην Αγγλία. Τοποθεσία: Αχλάδες, Κεραμιά.
- Γιαννούλης βιοτεχνία. Κεντρικό σύστημα θέρμανσης με χρήση ξηρής ελαιοπυρήνας για την θέρμανση των εγκαταστάσεων του εργοστασίου. Τοποθεσία: Χανιά. (www.moreintelligentenergy.eu)

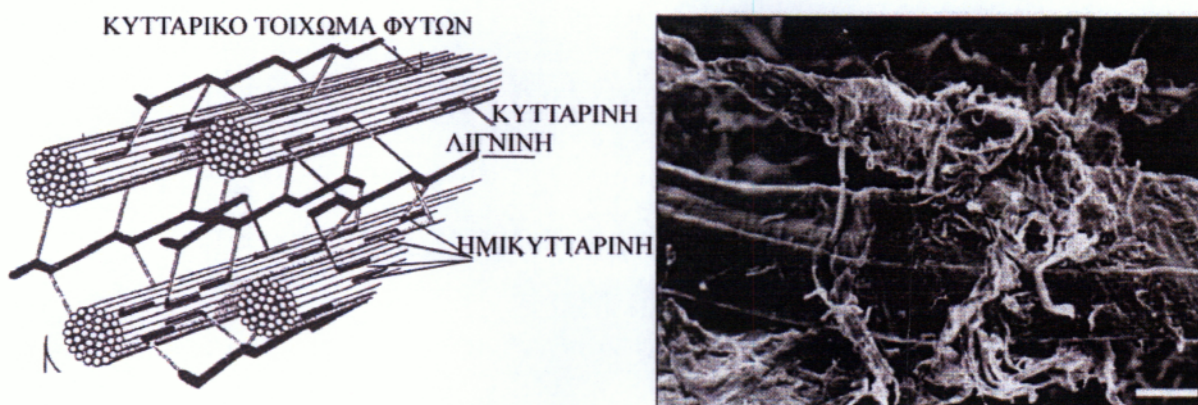


Εικόνα 2.1. Μονάδα πυρηνελαιουργείου

3 Λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα

3.1 Δομή λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας

Όπως προαναφέρθηκε τα ΣΑΕ τριφασικών μπορούν να χαρακτηριστούν ως λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα. Τα κύρια συστατικά ενός λιγνοκυτταρινικού υλικού είναι η **κυτταρίνη**, η **ημικυτταρίνη** και η **λιγνίνη**. Στο ξύλο, ένα τυπικό κύτταρο αποτελείται από πολλές στρώσεις που διαφέρουν μεταξύ τους τόσο στην δομή όσο και στη χημική τους σύσταση. Σε αυτές τις στρώσεις, τα ινίδια της κυτταρίνης οργανώνονται σε μικροϊνίδια, τα οποία συγκολλούνται μεταξύ τους με την βοήθεια πολυσακχαριτών (ημικυτταρίνη), της λιγνίνης και μιας πρωτεΐνης της εξτενσίνης. Έτσι σχηματίζονται περιοχές με ισχυρά συμπιεσμένη δομή που δρουν σαν **σκελετός** του κυττάρου. Βέβαια υπάρχουν και λιγότερο οργανωμένες περιοχές, οι οποίες ονομάζονται **άμορφες περιοχές** και αποτελούν το 15% της ολικής κυτταρίνης. Είναι γενικά αποδεκτό, ότι τα μόρια της ημικυτταρίνης είναι προσανατολισμένα παράλληλα με τις ίνες της κυτταρίνης, όπως φαίνεται και στο σχήμα 3.1.



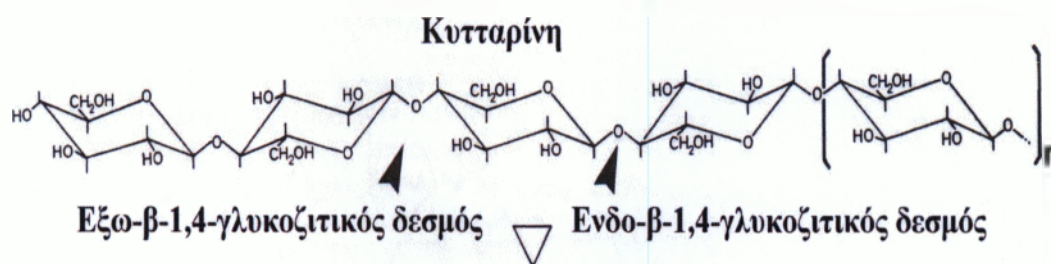
Σχήμα 3.1 : Δομή του λιγνοκυτταρινούχου υλικού, και φωτογραφία SEM ινών συγκροτημένες από κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη.

Ένα κυτταρικό τοίχωμα περιέχει 24 έως 36% κυτταρίνη, 8 έως 38% ημικυτταρίνη, 4.3 έως 8% λιγνίνη, 7 έως 17% πρωτεΐνες και 8 έως 33% διάφορα

αλλά διαλυτά συστατικά (Malburg, 1992). Χάρη στην κρυσταλλική δομή της κυτταρίνης και της πολύπλοκης δομικής οργάνωσης του συμπλόκου κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης, τα λιγνοκυτταρινούχα υλικά διαλύονται πιο δύσκολα από τα υλικά με βάση το άμυλο.

Κυτταρίνη

Η περισσότερο διαδεδομένη οργανική ένωση στη φύση είναι η κυτταρίνη, καθώς υπολογίζεται ότι ο ετήσιος σχηματισμός της στη βιόσφαιρα είναι της τάξης των 10^{11} τόνων (Κυριακίδης, 2000). Σε σχεδόν καθαρή μορφή (98%) απαντάται στις ίνες από βαμβάκι. Είναι ένα μη διακλαδιζόμενο πολυμερές που αποτελείται από μονομερή **β -D-γλυκόζης** συνδεδεμένα με **β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς**. Μπορεί ωστόσο, να αποδοθεί ως μια διαδοχή δακτυλίων **γλυκοπυρανόζης** στην οποία υπάρχει δυνατότητα περιστροφής των δακτυλίων γύρω από τους β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η πλέον σταθερή διαμόρφωση είναι εκείνη στην οποία κάθε υπόλοιπο μορίου γλυκόζης συνδυάζεται με το επόμενο, μετά από μια περιστροφή 180° , και το άτομο του *O* του δακτυλίου συνδέεται με δεσμό υδρογόνου με το 3-OH του επόμενου. Ο μέσος βαθμός πολυμερισμού της κυτταρίνης κυμαίνεται μεταξύ 7000 και 15000 μονομερών γλυκόζης, ανάλογα με την πηγή (Fengel, 1983).



Σχήμα 3.2 : Δομή κυτταρίνης (Styer, 1997)

Οι λειτουργικές ομάδες μέσα στην αλυσίδα της κυτταρίνης είναι οι ομάδες του υδροξυλίου. Λόγω της ύπαρξης πολλών $-OH$, είναι δυνατή η ανάπτυξη πολλών δεσμών υδρογόνου μεταξύ δακτυλίων, είτε στην ίδια αλυσίδα, είτε μεταξύ γειτονικών αλυσίδων. Έτσι οι β -1,4 δεσμοί επιτρέπουν στην κυτταρίνη να σχηματίζει μακριές

αλυσίδες ιδανικές για το σχηματισμό ινωδών δομών, που παρουσιάζουν μεγάλη αντοχή στον εφελκυσμό και ελάχιστη διαλυτότητα. Δεσμοί υδρογόνου υφίστανται επίσης μεταξύ των ομάδων $-OH$ της κυτταρίνης και των μορίων του νερού. Αυτοί οι δεσμοί κάνουν την επιφάνεια της κυτταρίνης σε μεγάλο βαθμό υδροφιλική.

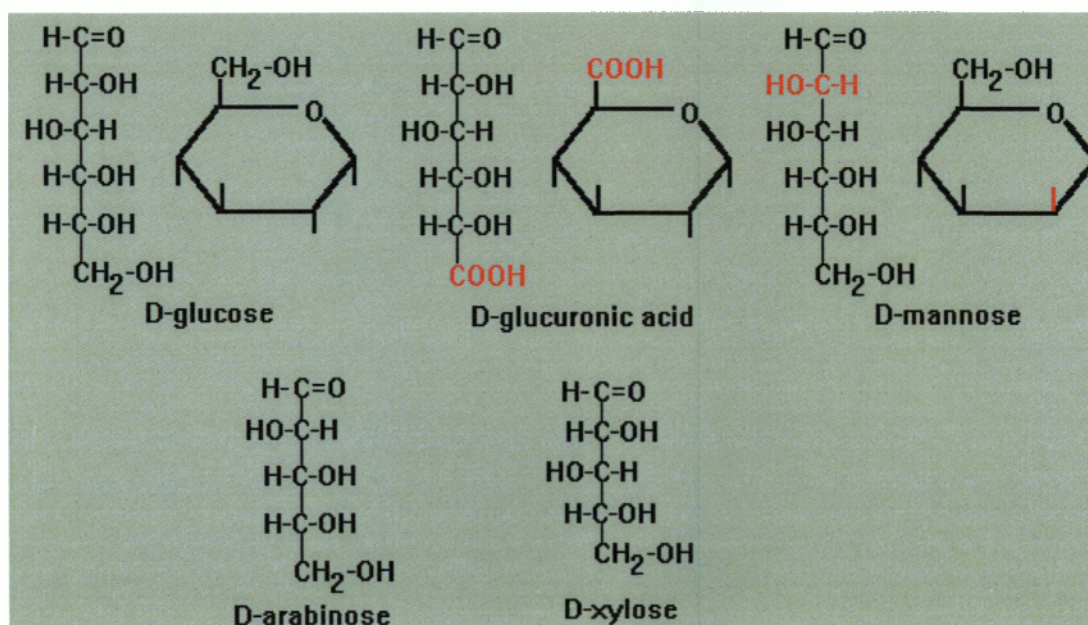
Ο βαθμός οργάνωσης στο εσωτερικό μιας αλυσίδας και μεταξύ γειτονικών αλυσίδων κυμαίνεται από περιοχές όπου τα μονομερή της γλυκόζης είναι προσανατολισμένα παράλληλα και άρα έχουν υψηλό βαθμό κρυσταλλικότητας, σε περιοχές τελείως άμορφες όπου κυριαρχεί η αταξία. Όσο μεγαλύτερο είναι το πηλίκο των κρυσταλλικών περιοχών ως προς τις άμορφες τόσο μεγαλύτερη είναι η αντίσταση των ινών σε μια ενζυμική υδρόλυση.

Χρήσεις της κυτταρίνης : Ξύλο για την κατασκευή, προϊόντα χαρτιού, βαμβάκι, λινό και τεχνητό μετάξι για ρούχα, νιτροκυτταρίνη εκρηκτικών, οξική κυτταρίνη για τις ταινίες Παλιότερα το χαρτί παρασκευαζόταν από ράκη μπαμπακιού ή λιναριού. Σήμερα, οι πρώτες ύλες είναι το ξύλο και το άχυρο και η μετατροπή τους σε χαρτοπολτό απαιτεί μεγάλη κατανάλωση νερού, περίπου $300-700 \text{ m}^3$ ανά τόνο παραγόμενου χαρτοπολτού. Τα ξύλα και τα άχυρα καθαρίζονται και μεταφέρονται στην αλεστική μηχανή, στο εσωτερικό της οποίας υπάρχει ένας κύλινδρος με επιφάνεια από σκληρό υλικό και συγχρόνως η μηχανή τροφοδοτείται με μεγάλες ποσότητες νερού. Με την περιστροφή του κυλίνδρου σχηματίζεται ένας πολτός, που δεν περιέχει μόνον την κυτταρίνη, αλλά και τη λιγνίνη. Η μηχανική αντοχή του είναι μικρή και χρησιμοποιείται για την παρασκευή του χαρτιού των εφημερίδων, αφού πρώτα αναμιχθεί με ένα μέρος ανθεκτικότερου χαρτοπολτού. Για να διαλυθεί η λιγνίνη του ξύλου και έτσι να πάρουμε ανθεκτικότερο χαρτοπολτό, επιδρούμε με όξινο θειώδες νάτριο (NaHSO_3). Η διεργασία γίνεται σε χωνευτήρια με επένδυση από κεραμικό υλικό σε θερμοκρασία 140°C , πίεση $4 - 6 \text{ atm}$ και διαρκεί $7 - 10$ ώρες.

Ημικυτταρίνη

Οι ημικυτταρίνες ταξινομούνται ανάλογα με τα υπολείμματα σακχάρων που έχουν στην κύρια αλυσίδα τους (π.χ. ξυλάνες, γλυκομαννάνες, γλυκόζη και γαλακτόζη, με τις ξυλάνες και τις γλυκομαννάνες να είναι τα κύρια συστατικά των ημικυτταρινασών). Οι ξυλάνες είναι το βασικό μέσο αλληλεπίδρασης μεταξύ λιγνίνης και άλλων υδρογονανθράκων. Η ημικυτταρίνη είναι πιο διαλυτή από την κυτταρίνη

και μπορεί να απομονωθεί από το ξύλο με εξαγωγή. Ο μέσος βαθμός πολυμερισμού της ημικυτταρίνης κυμαίνεται μεταξύ 70 και 200 μονομερών (Fengel, 1983). Η ημικυτταρίνη στο σκληρό ξύλο αποτελείται κυρίως από ξυλάνη (15-30%), ενώ στο μαλακό ξύλο αποτελείται από γαλακτογλυκομαννάνη (15-20%) και ξυλάνη (7-10%). Η ξυλάνη του σκληρού ξύλου αποτελείται από β-D-πυρανοσίλη, που περιέχει 4-O-μέθυλο-α-D-γλυκουρονικό οξύ και πλαϊνές ομάδες ακετυλίου. Το 4-O-μέθυλογλυκουρονικό οξύ συνδέεται στην κύρια αλυσίδα της ξυλάνης με O-(1→2) γλυκοσιδικούς δεσμούς και το οξικό οξύ εστεροποιείται στον 2 και/ή 3 άνθρακα της υδροξυλικής ομάδας. Οι ξυλάνες του μαλακού ξύλου είναι αρά-βινό-4-O-μεθυλόγλυκουρονοξυλάνες, οι οποίες δεν έχουν ακετυλιωθεί, αλλά η κεντρική αλυσίδα της ξυλάνης έχει αντικατασταθεί στον 2 και 3 άνθρακα με 4-O-μέθυλο-α-D-γλυκουρονικό οξύ και α-L-αραβινοφουρανόζη. Οι γαλακτογλυκομαννάνες έχουν μια κεντρική αλυσίδα από β-1-4-συνδε-δεμενες μονάδες β-D-πυρανοσίλης και β-D-μαννοπυρανοσίλης, οι οποίες έχουν αντικατασταθεί μερικώς από ομάδες α-D-γαλακτοπυρανοσίλης και ακετυλίου.

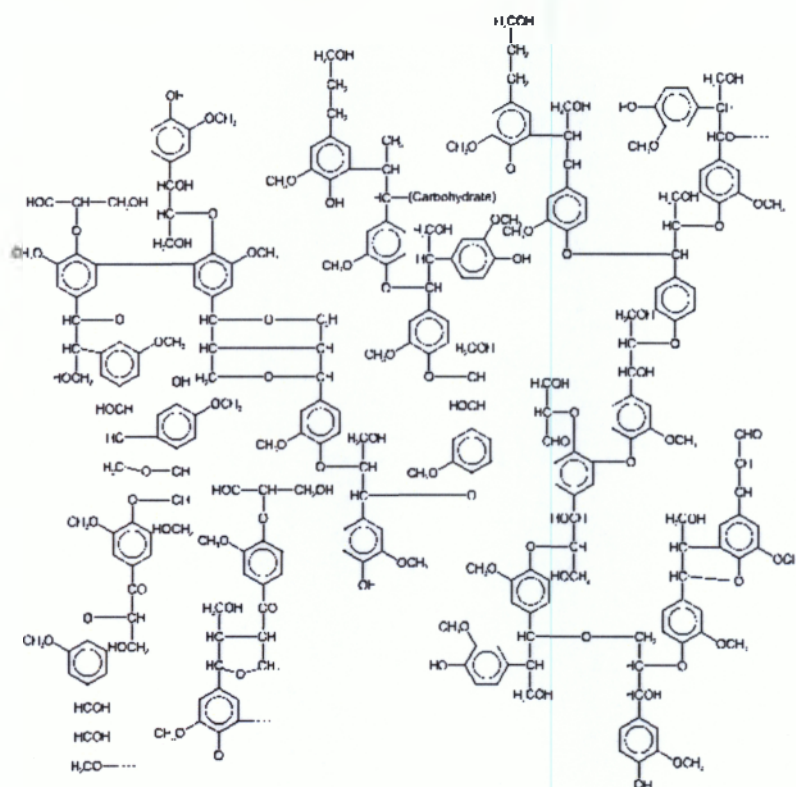


Σχήμα 3.3: Μονομερή ημικυτταρίνης

Βιομετατροπή ημικυτταρίνης: Διάφορα γεωργικά υπολείμματα, όπως ίνα καλαμποκιού, άχυρο σίτου, και υπολείμματα ζαχαροκάλαμου, περιέχουν περίπου 20-40% ημικυτταρίνη, ο δεύτερος πιο άφθονος πολυσακχαρίτης στη φύση. Η μετατροπή της ημικυτταρίνης στα καύσιμα και τα χημικά προϊόντα είναι προβληματική. Ορισμένες από τις αναδυόμενες μεθόδους προεπεξεργασίας, όπως το αλκαλικό υπεροξείδιο και *AFEX*, δημιουργούν διαλυτοποίηση και εν μέρει υποβάθμιση ημικυτταρινικής βιομάζας που πρέπει να διαχειριστεί περαιτέρω με τα ένζυμα ή άλλα μέσα προκειμένου να παράγουν ζυμώσιμα σάκχαρα. Με την ανάπτυξη της κατάλληλης μεθόδου προεπεξεργασίας, ελαχιστοποιώντας το σχηματισμό ανασταλτικής ένωσης για ζύμωση οργανισμών, και με την κατάλληλη αναλογία συνδυασμού της ημικυτταρίνης (ένζυμο κοκτέιλ) προσαρμοσμένη για κάθε μετατροπή της βιομάζας, η τεράστια αυτή ανανεώσιμη πηγή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή των καυσίμων και χημικών από ζύμωση. (Saha C., 2003)

Λιγνίνη

Η λιγνίνη είναι ένα πολύπλοκο, υδροφοβικό, διασταυρούμενο αρωματικό πολυμερές. Στην φύση συναντάται ως μέρος της εσωτερικής δομής του κυτταρικού τοιχώματος των κυττάρων των φυτών, εμβαπτισμένη σε μια υδατανθρακική μήτρα από κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Συντίθεται από τα φαινυλοπροπενικά μονομερή: **γουαΐακίλη (G)** από το πρόδρομο μόριο *trans*-κονιφερλική αλκοόλη, **συριγκίλη (S)** από *trans*-σιναφιλική αλκοόλη και **p-υδροξυ-φαινόλη** από το πρόδρομο μόριο *trans*-p-κουμαρλική αλκοόλη. Η ακριβής σύνθεση της αλκοόλης διαφέρει από είδος σε είδος. Η λιγνίνη μπορεί να χωριστεί σε δυο είδη : **γουαΐακιλική λιγνίνη** και **γουαΐακιλική-συριγκιλική λιγνίνη** (Gibbs, 1958). Οι γουαΐακιλικές λιγνίνες είναι κυρίως προϊόντα πολυμερισμού κονιφερλικών αλκοολών ενώ οι γουαΐακιλικές-συριγκιλικές λιγνίνες συντίθενται από διάφορα μέρη των αρωματικών πυρήνων της γουαΐακίλης και συριγκίλης, μαζί με ένα μικρό ποσοστό από μονάδες p-υδροξυφαινόλης.



Σχήμα 3.4: Δομή λιγνίνης

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η δομή της λιγνίνης δεν είναι ομοιόμορφη. Αντιθέτως, φαίνεται ότι αποτελείται από άμορφες περιοχές και περιοχές με επιμήκη μόρια και σφαιρίδια. Ακόμα υπάρχουν ενδείξεις ότι η χημική και η τρισδιάστατη δομή της επηρεάζεται αισθητά από το πολυσακχαριτικό μέσο που την περιβάλλει (Houtman, 1995). Οι υδροξυλομάδες και οι μεθοξυλομάδες της λιγνίνης αλληλεπιδρούν με τα μικροϊνίδια της κυτταρίνης παρά το γεγονός ότι η λιγνίνη έχει υδρόφοβο χαρακτήρα και η κυτταρίνη υδρόφιλο.

Οι μείζονες δεσμοί στο μόριο της λιγνίνης είναι οι δεσμοί αιθέρα εκ των οποίων ο δεσμός αρυλογλυκερίνης-β-αρυλαιθέρα είναι ο πιο κοινός. Επιπρόσθετα, τα τμήματα φαινιλοπροπενίου συνδέονται με δεσμούς άνθρακα-άνθρακα. Οι λειτουργικές ομάδες που επηρεάζουν την ενεργότητα της λιγνίνης περιλαμβάνουν ελεύθερες φαινολυδροξυλικές ομάδες, μεθοξυλικές ομάδες, βενζιλυδροξυλικές ομάδες, άκυκλες βενζιλοαιθερικές ομάδες και καρβονυλικές ομάδες. Οι γουαϊακλικές λιγνίνες περιέχουν περισσότερες φαινολυδροξυλικές ομάδες από τις

συριγκλικές. Στο σχήμα 3.4 φαίνεται η χημική δομή της λιγνίνης του μαλακού ξύλου, περιλαμβανομένης της δομής της διβενζοδιοξοσίνης (Brunow, 1998).

3.2 Χρήσεις λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας

3.2.1 Παραγωγή βιοκαυσίμων

Λόγω της ανόδου των τιμών του αργού πετρελαίου λόγω αυξημένων απαιτήσεων των καυσίμων, η ανάγκη για εναλλακτικές πηγές βιοενέργειας αναμένεται να αυξηθεί σημαντικά κατά τα προσεχή χρόνια. Μεταξύ των εναλλακτικών δυνατοτήτων βιοενέργειας πόρων, **τα λιγνοκυτταρινούχα έχουν εξακριβωθεί ως η κύρια πηγή βιοκαυσίμων και άλλων προϊόντων προστιθέμενης αξίας.**

Τα κύρια βιοκάυσιμα που έχουν παράγοντα από λιγνοκυτταρίνη είναι η **βιοαιθανόλη** (Badger, 2002), το **μεθάνιο** (Frigon and Guiot, 2010), το **βιοϋδρογόνο** (Ntaikou et al., 2010) καθώς και το **βιοντήζελ** (Hill, 2009). Η βιοαιθανόλη και το μεθάνιο παράγονται αποκλειστικά μέσω βιολογικών μεθόδων με τη χρήση μικροοργανισμών ενώ το βιοϋδρογόνο και το βιοντήζελ παράγονται τόσο μέσω βιολογικών μεθόδων όσο και μέσω φυσικοχημικής μετατροπής. Η λιγνοκυτταρίνη προέρχεται από γεωργικά, βιομηχανικά και δασικά υπολείμματα τα οποία αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος της συνολικής βιομάζας που υπάρχουν στο κόσμο. Ωστόσο επειδή η λιγνοκυτταρίνη δεν είναι άμεσα ζυμώσιμη/εκμεταλέυσιμη από τους μικροοργανισμούς, είναι απαραίτητη η **διάσπασή της για την μετατροπή των κυτταρινικών στοιχείων σε ζυμώσιμα σάκχαρα.** Για το σκοπό αυτό μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε φυσικοχημικές μέθοδοι είτε βιολογικές. Η **βιολογική διάσπαση της λιγνοκυτταρίνης αφορά στην ενζυμική υδρόλυση των δομικών της στοιχείων μέσω ειδικών ενζύμων** σημαντικότερα από τα οποία είναι οι **κυτταρινάσες.** Η παραγωγή κυτταρινάσης από τα μικροβιακά κύτταρα διέπεται από γενετικό και βιοχημικό έλεγχο συμπεριλαμβανομένης της επαγωγής, καταστολής, ή αναστολής του τελικού προϊόντος. Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για την αύξηση της παραγωγής

κυτταρινάσης μέσω της βελτίωσης του στελέχους μεταλλαξιογένεσης. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες φυσικές και χημικές μέθοδοι για την ανάπτυξη βακτηρίων και στελεχών μυκήτων που παράγουν υψηλότερα ποσά κυτταρινάσης, όλα με περιορισμένη επιτυχία. Η κυτταρινική βιομετατροπή είναι μια σύνθετη διαδικασία και απαιτεί την συνεργική δράση των τριών ενζυματικών συνιστωσών που αποτελείται από ενδογλυκανάσες, εξογλυκανάσες και β-γλυκοσιδάσες.

Η βιομετατροπή της λιγνοκυτταρίνης είναι μια διαδικασία που απαιτεί ένα πολύ-ένζυμικό συγκρότημα για αποτελεσματική βιομετατροπή σε ζυμώσιμα σάκχαρα. Ωστόσο, δεν υπάρχει ένας γνωστός οργανισμός που μπορεί να παράγει όλα τα απαραίτητα ένζυμα σε συγκεκριμένες ποσότητες. Πέρα από αυτό, απαιτούνται φυσικές και χημικές προϋποθέσεις για αποτελεσματική ενζυματική προσρόφηση και υδρόλυση λιγνοκυτταρινικής βιομάζας, είναι κάπως διαφορετική (δηλαδή υψηλότερη θερμοκρασία) από τη βέλτιστη για βιοσύνθεση ενζύμου. Περισσότεροι οργανισμοί από τη λιγνίνη έχουν τέλος αναστολής προϊόντων που μειώνει το ποσοστό του ενζύμου σύνθεσης με αποτέλεσμα την ελλιπή λιγνοκυτταρινική αξιοποίηση της βιομάζας.

Χρησιμοποιούνται διάφορες βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις για αποτελεσματική μετατροπή βιομάζας με περιορισμένη επιτυχία. Η συν-καλλιέργεια στους οργανισμούς έχει την ικανότητα να παράγει διαφορετικά συστατικά συγκροτήματα των κυτταρινάσεων σε επαρκή ποσότητα, αλλά έχουν περιορισμένη επιτυχία επειδή προκαλείται αναστολή ανατροφοδότησης τελικού προϊόντος. Ως εκ τούτου, για την καταπολέμηση του προβλήματος, διάφορα μεταλλαγμένα στελέχη αναπτύσσονται και χρησιμοποιούνται κατά την εργαστηριακή κλίμακα. Μεταβολική μηχανική περιλαμβανομένης της δέσμευσης ανεπιθύμητων «μονοπατιών» και επαγωγή της γονιδιακής έκφρασης που συνδέονται με την επιθυμητή πορεία για την ενίσχυση της παραγωγής βιοκαυσίμων και οργανικά οξέα που χρησιμοποιούν για λιγνοκυτταρινική βιομάζα είναι υπό εξέλιξη. Ωστόσο η τεχνολογία αυτή τη στιγμή είναι διαθέσιμη να γνωρίσει τις προκλήσεις της μεγάλης κλίμακας της χρησιμοποίησης της λιγνοκυτταρινικής βιομάζας. Γι' αυτό προτείνεται μία ολοκληρωμένη προσέγγιση περιλαμβάνοντας ακριβή σχεδιασμό βιοαντιδραστήρα, για την βελτιστοποίηση των φυσικών και χημικών συνθηκών για αρκετούς οργανισμούς που μπορεί να

χρησιμοποιούνται κάτω από συνθήκες συν-καλλιέργειας. Περαιτέρω η βελτίωση στελέχους για ενισχυμένη βιοσύνθεση κυτταρινάσης με μεταλλαξογένεση, μηχανική μεταβολή και γονιδιακές προσεγγίσεις, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την βιομετατροπή λιγνοκυτταρικής διαδικασίας σε μια ισχυρή τεχνολογία και να παράγουν βιομηχανικά σημαντικά προϊόντα στο μέλλον. (Kumar et al, 2008)

3.2.2 Κομποστοποίηση

Η κομποστοποίηση σήμερα είναι μια γενική μέθοδος επεξεργασίας αστικών στερεών αποβλήτων. Κομποστοποιήσιμα οικιακά απόβλητα περιέχουν, μαζί με φυτικά υλικά, ποικίλες ποσότητες χαρτιών. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση η κομποστοποίηση θεωρείται μία μέθοδος ανακύκλωσης η οποία θα ευνοήσει πιθανότατα κομποστοποιήσιμα πακέτα, όπως το χαρτί. Το χαρτί αποτελείται από λιγνοκυτταρίνη και μπορεί να περιέχει έως και 20% λιγνίνη. Αποτελεσματική υποβάθμιση των χαρτιών σε μονάδες λιπασματοποίησης σημαίνει ότι η βιοαποδόμησιμη λιγνίνη είναι επίσης αναγκαία. Ωστόσο, πολύ λίγα είναι γνωστά για την βιοαποδόμηση της λιγνίνης από μεικτούς μικροβιακούς πληθυσμούς, αν και η υποβάθμιση της λιγνίνης από μύκητες λευκής σήψης έχει μελετηθεί εκτενώς τα τελευταία χρόνια. Οργανικό υλικό μετατρέπεται σε διοξειδίου του άνθρακα, χούμο, και θερμότητα από λίπασμα. Υποτίθεται ότι χούμο σχηματίζεται κυρίως από λιγνίνη. Έτσι, η λιγνίνη δεν είναι εντελώς ανοργανοποιημένη κατά τη διάρκεια της κομποστοποίησης. Οι υψηλές θερμοκρασίες που βρέθηκαν κατά τη διάρκεια της θερμόφιλου φάσης είναι απαραίτητες για την ταχεία βιοαποδόμηση της λιγνίνης. Πολύπλοκες οργανικές ενώσεις όπως η λιγνίνη έχουν κυρίως υποβαθμιστεί από θερμόφιλου μικρομύκητες και ακτινομύκητες. Η βέλτιστη θερμοκρασία για τους θερμόφιλους μύκητες είναι 40 ± 50 °C, η οποία είναι και η βέλτιστη θερμοκρασία για την υποβάθμιση της λιγνίνης. (Tuomela et al, 1999)

4 Συστηματική κατάταξη, χαρακτηριστικά και εφαρμογές μυκήτων

Οι μύκητες ανήκουν στον κλάδο των ευκαριωτικών οργανισμών ως ξεχωριστό βασίλειο. Οι μικροβιολόγοι χρησιμοποιούν τον όρο *fungus* (στον πληθυντικό *fungi*: το οποίο στην λατινική γλώσσα σημαίνει μανιτάρι) που περιλαμβάνει ευκαριωτικούς σποριογόνους οργανισμούς χωρίς χλωροφύλλη, με απορροφούσα θρέψη και φυλετική και αφυλετική αναπαραγωγή.

Η μελέτη των μυκήτων είναι αντικείμενο της επιστήμης της **Μυκητολογίας**, κλάδος της οποίας είναι η μελέτη των μυκητοτοξίνων και οι επιδράσεις τους στους διάφορους οργανισμούς, καθώς επίσης και οι μυκώσεις που προκαλούνται στους ζωϊκούς οργανισμούς. Οι μύκητες είναι κυρίως εδαφικοί μικροοργανισμοί αν και υπάρχουν μερικοί των θαλασσινών και γλυκών νερών. Όλοι οι μύκητες είναι χημειοτετροτρόφοι, κατά κύριο λόγο σαπρόφυτοι πολλοί είναι φυτοπαθογόνοι και άλλοι μολύνουν τα ζώα. Το εν τέταρτο των αγγειακών φυτών σχηματίζουν συνδυασμούς μεταξύ των ριζών τους και των μυκήτων που καλούνται μυκόριζα. Αποικοδομούν πολύπλοκα οργανικά υλικά του περιβάλλοντος, κυρίως της νεκρής ύλης, τα οποία καθιστούν κατάλληλα για να χρησιμοποιηθούν από τους άλλους οργανισμούς. Οι μύκητες και κυρίως οι ζύμες είναι σημαντικοί για τις βιομηχανικές διαδικασίες που εμπλέκουν πολύπλοκες ζυμώσεις όπως στην αλευροποιία, την οινοποιεία και ζυθοποιία. Το σώμα ή η βλαστική δομή των μυκήτων καλείται θαλλός και ποικίλει σε μέγεθος. Το μυκητιακό κύτταρο συνήθως περιβάλλεται από κυτταρικό τοίχωμα χιτίνης. Η χιτίνη είναι ένας δυνατός αλλά ευέλικτος πολυσακχαρίτης που αποτελείται από κατάλοιπα της *N*-ακετυλογλυκοζαμίνης.

Ζύμες

Οι ζύμες είναι μονοκύτταροι μύκητες με απλό πυρήνα οι οποίοι αναπαράγονται αφυλετικά ή εκβλαστάνοντας και με εγκάρσια διαίρεση ή φυλετικά μέσω σχηματισμού σπορίων. Μερικές ζύμες παράγουν εκβλαστήσεις οι οποίες αποτυγχάνουν να αποχωριστούν μεταξύ τους και έτσι δημιουργούν μια αλυσίδα κυττάρων που καλείται ψευδομυκήλιο. Οι ζύμες πάνω σε στερεοποιημένο θρεπτικό άγαρ αναπτύσσουν αποικίες παρόμοιες με εκείνες των βακτηρίων.

Ερωτομύκητες ή Μούχλες

Οι μούχλες αποτελούνται από νήματα μεγάλου μήκους τα οποία καλούνται υφές, μερικές υφές είναι κοινοκυτικές ενώ άλλες φέρουν εγκάρσια τοιχώματα με ένα κεντρικό πόρο ή πολλούς πόρους. Οι πόροι διευκολύνουν την κίνηση του πρωτοπλάστη στο εσωτερικό των υφών. Όταν οι συνθήκες περιβάλλοντος είναι κατάλληλες οι υφές αυξάνονται και διαμορφώνουν το μυκήλιο το οποίο είναι ορατό με γυμνό μάτι. (Αμαλία Δ. Καραγκούνη-Κύρτσου, 1999)

4.1 Γενικές ιδιότητες των μυκήτων

Οι μύκητες ως χημειοετερότροφοι έχουν εκπροσώπους που κατατάσσονται στα ισχυρά παθογόνα για τον άνθρωπο και τα ανώτερα ζώα. Πρόκειται για τις μυκητιάσεις που κάμπτονται δύσκολα με αντιβιοτικά. Η βλαστική μορφή των μυκήτων είναι είτε πλασμώδιο ή θαλλός με ή χωρίς σεπτά. Οι μύκητες πολλαπλασιάζονται αγενώς με διαφορετικούς τρόπους, όπως με κυτταρική διαίρεση και αγενώς.

Οι σαπρόφυτοι μύκητες παίζουν πρωτεύοντα ρόλο στη φύση κυρίως στον τομέα της ανοργανοποίησης της νεκρής οργανικής ουσίας, γιατί εκκρίνουν μία εντυπωσιακή ποικιλία ενζύμων.

Οι μύκητες, όταν αναπτύσσονται και αλλοιώνουν τα τρόφιμα, σχηματίζουν μυκήλιο που είναι και μακροσκοπικά ορατό, έτσι ώστε να ζημιώνουν την εμφάνισή τους, σε σημείο που να μην είναι αποδεκτά από το καταναλωτικό κοινό. Πολλοί σαπρόφυτοι μύκητες χρησιμοποιούνται για ωφελιμιστικούς σκοπούς, όπως για την παραγωγή ενζύμων, αντιβιοτικών, βελτιωτικών και προσθετικών των τροφίμων.

Οι μύκητες που αναπτύσσονται στα τρόφιμα θεωρούνταν μέχρι πριν λίγα χρόνια ως ακίνδυνοι και αδύναμοι να προκαλέσουν τοξινώσεις. Σήμερα οι περισσότεροι μύκητες εκκρίνουν μυκοτοξίνες πέραν της αφλατοξίνης και πατουλίνης. (Μπαλατσούρας, 2006)

4.2 Οι μύκητες λευκής σήψης και οι εφαρμογές

Οι μύκητες λευκής σήψης είναι βασιδιομύκητες που έχουν την ικανότητα να αποδομούν τη λιγνίνη. Υπάρχουν και άλλοι μύκητες με αυτή την ικανότητα, όπως οι μύκητες φαίας-καφέ σήψης, αλλά δεν παράγουν τα ίδια ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση πιθανών ρυπαντών. Οι μύκητες λευκής σήψης ονομάζονται έτσι επειδή τα αποτελέσματα της διαδικασίας υποβάθμισης του ξύλου (που πραγματοποιούν στη φύση) είναι η λεύκανση.

Οι μύκητες είναι αυτοδύναμοι οργανισμοί που έχουν υψηλή αντοχή σε τοξικά περιβάλλοντα, που τους καθιστά ιδανικούς να χρησιμοποιηθούν για την εφαρμογή μεθόδων για την αντιμετώπιση της ρύπανσης. Αντέχουν σε υψηλές θερμοκρασίες και σε ευρύ φάσμα pH .

Οι μύκητες λευκής σήψης παράγουν τρεις διαφορετικούς τύπους εξωκυτταρικών ενζύμων τα οποία είναι μη επιλεκτικά αλλά εξαιρετικά αποτελεσματικοί στην επίθεση λιγνίνης. Αυτά τα συστήματα αναφέρονται συχνά ως Ένζυμα Τροποποίησης Λιγνίνης (S), και είναι η Υπεροξειδάση της Λιγνίνης (LIP), η Μαγγάνιο-εξαρτημένη Υπεροξειδάση (MNP) και η Λακάση (LAC). Παρόλο που καταστρέφουν ολοκληρωτικά την λιγνίνη, αυτοί οι μύκητες μπορούν να την χρησιμοποιήσουν ως πηγή ενέργειας, και θεωρείται ότι επίσης μέσω της υποβάθμισής της λιγνίνης διευκολύνουν επίσης την πρόσβαση στην κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη που περιέχεται στην λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα.

Ο πλέον ίσως γνωστός και πολυμελετημένος εκπρόσωπος των μυκήτων λευκής σήψης είναι ο *Pleurotus ostreatus*. Το γένος *Pleurotus* περιλαμβάνει μια ομάδα βρώσιμων λιγνινολιτικών μανιταριών με φαρμακευτικές ιδιότητες και σημαντικές βιοτεχνολογικές και περιβαλλοντικές εφαρμογές. Η καλλιέργεια των ειδών *Pleurotus* είναι μια οικονομικά σημαντική παγκόσμια βιομηχανία τροφίμων η οποία έχει επεκταθεί κατά τα τελευταία χρόνια. Ο *P. ostreatus* είναι η τρίτη σημαντικότερη ομάδα μανιταριών που καλλιεργούνται για την παραγωγή τροφίμων. Έχει μοναδική γεύση, θρεπτική αξία, και αρωματικές ιδιότητες. Θεωρείται πλούσια σε πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες και μέταλλα.. Τα *Pleurotus spp* είναι ελπιδοφόρα ως φαρμακευτικά μανιτάρια,

παρουσιάζοντας αντι-ική, αντι-νεοπλασματική, αντιβιοτική, αντιβακτηριακή, υπο-χοληστερολική δράση.

Τα βιοενεργά μόρια που έχουν απομονωθεί από τους διάφορους μύκητες είναι πολυσακχαρίτες. Μία από τις πιο σημαντικές πτυχές του *Pleurotus spp* σχετίζεται με τη χρήση του λιγνινολιτικού συστήματος για μια ποικιλία εφαρμογών, όπως η βιομετατροπή των γεωργικών αποβλήτων σε πολύτιμα προϊόντα για ζωοτροφές και άλλα προϊόντα διατροφής και η χρήση των λιγνινολιτικών ενζύμων για τη βιοαποδόμηση των οργανικών ρύπων, ξενοβιοτικών ουσιών και των βιομηχανικών ρύπων. Τα εδώδιμα μανιτάρια του γένους *Pleurotus* είναι βιολογικά ευπροσάρμοστοι μύκητες που θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως βάση για διάφορες βιοτεχνολογικές εφαρμογές και στο περιβάλλον. Ορισμένες από αυτές τις εφαρμογές είναι παραδοσιακές και ασκούνται σε όλο τον κόσμο για κάποια ανάγκη και περαιτέρω έρευνα και ανάπτυξη.

Το *Pleurotus spp* είναι επίσης καλός υποψήφιος για εφαρμογές βιοαποκατάστασης, όπως η απολύμανση του εδάφους, η υποβάθμιση των βιομηχανικών χρωμάτων και φαινόλων και επεξεργασία πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων και των λυμάτων. Ωστόσο, οι περισσότερες μελέτες έχουν διεξαχθεί υπό συνθήκες εργαστηρίου. Με την εξαίρεση των παραδοσιακών εδώδιμων μανιταριών καλλιέργειας, δεν έχει ακόμη αναπτυχθεί εμπορικά μεγάλης κλίμακας πρακτική εφαρμογή του βιοτεχνολογικού δυναμικού, με βάση τις μοναδικές ιδιότητες και τα ενζυμικά συστήματα του *Pleurotus spp*. (Cohen et al, 2002).

4.2.1 Παραγωγή πρωτεΐνης

Οι μύκητες λεκής σήψης μπορούν να αναπτυχθούν αξιοποιώντας μια ποικιλία υποστρωμάτων που κατατάσσονται στα στερεά και υγρά απόβλητα.

Τα *Pleurotus spp* αποτελούν την τρίτη μεγαλύτερη ομάδα καλλιεργούμενων εδώδιμων μανιταριών στον κόσμο, που καλλιεργούνται σε ποικιλία των φυτικών υπολειμμάτων και έχουν βρεθεί ότι από θρεπτικής αξίας και γαστρονομικής είναι σημαντικά. Τα *Pleurotus spp* μπορούν να χρησιμοποιήσουν

πολλά υποστρώματα, μπορούν να καλλιεργούνται σε ένα μεγάλο αριθμό των υποστρωμάτων, σύμφωνα με τοπική διαθεσιμότητα σε διάφορες περιοχές του κόσμου. Αυτό το μανιτάρι δείχνει επίσης φαρμακευτικές ιδιότητες. Η φαρμακευτική του αξία έγκειται στην βιοδραστική του ουσία. Απομόνωση των ουσιών αυτών, σε συνδυασμό με την κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στη μοριακή τους φύση και τη θεραπευτική δράση (π.χ. κατά του όγκου, κατά της χοληστερόλης), παρουσιάζει μια μεγάλη πρόκληση της βιοτεχνολογίας. Επιπλέον, απαιτούνται πολλές περισσότερες κλινικές μελέτες. Το *Pleurotus spp* έχει επίσης μελετηθεί στην αναβάθμιση λιγνοκυτταρινικής βιομάζας για τα γεωργικά απόβλητα, ζωοτροφές. Το *Pleurotus spp* μπορεί να θεωρηθεί ασφαλές για τη ζωική κατανάλωση χωρίς περαιτέρω έρευνα.

4.2.2 Επεξεργασία αποβλήτων

Για να αντιμετωπισθούν τα σημαντικά προβλήματα ρύπανσης που προκαλούν τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων στους υδάτινους και χερσαίους αποδέκτες, χρησιμοποιούνται διάφορες μεθοδολογικές και τεχνολογικές προσεγγίσεις. Οι **μύκητες λευκής σήψης αποτελούν την κύρια ομάδα μικροοργανισμών για τη μείωση της ρυπαντικής δράσης των φαινολικών ουσιών των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων**, ώστε να καταστούν απευθείας ένα περιβαλλοντικά αποδεκτό προϊόν ή να προετοιμασθούν για περαιτέρω φυσικοχημικούς ή βιολογικούς χειρισμούς. Σχετικά πρόσφατα άρχισαν να χρησιμοποιούνται ευρέως, σε περιβαλλοντικές και βιοτεχνολογικές εφαρμογές, είδη βασιδιομυκήτων που προκαλούν λευκές σήψεις (*white-rot fungi*). Το ενζυμικό τους σύστημα είναι κατά βάση οξειδωτικό, μη εξειδικευμένο και περιλαμβάνει ένζυμα όπως η λιγνινάση, η υπεροξειδάση του μαγγανίου και η λακκάση.

Ειδικότερα, **ως υποστρώματα χρησιμοποιούνται τα φαινολικά συστατικά των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων, τα οποία αποπολυμερίζουν διασπώντας τους αρωματικούς δακτυλίους, οδηγώντας στην ανοργανοποίησή τους.** Το γένος *Pleurotus* που έχει χρησιμοποιηθεί αρκετά από διάφορους ερευνητές, χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα μελέτη. Οι μύκητες του γένους *Pleurotus* διαθέτοντας έναν ιδιαίτερα αποδοτικό ενζυμικό μηχανισμό αποδόμησης

των φαινολικών που περιέχονται στα λιόζουμα, μειώνουν σημαντικά το οργανικό φορτίο τους ενώ παράλληλα προκαλούν τον αποχρωματισμό τους. Οι διαφορετικές συμπεριφορές που παρατηρήθηκαν στα επίπεδα του είδους αλλά και του στελέχους όσον αφορά τις δυνατότητες αποτοξικοποίησης, υποδεικνύουν την πολυπλοκότητα των ενζυμικών μηχανισμών και βιολογικών παραμέτρων που εμπλέκονται. (elocus.lib.uoc.gr)

Σε μια άλλη μελέτη αναφέρεται ο αποχρωματισμός των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου (YAE) από τον μύκητα *Phanerochaete chrysosporium*. Ο αποχρωματισμός YAE συνέβη κατά τη διάρκεια της πρωτογενής φάσης της ανάπτυξης όταν η γλυκερόλη χρησιμοποιήθηκε ως πηγή άνθρακα, και κατά τη διάρκεια του δευτερογενούς μεταβολισμού του αζώτου σε περιορισμένες καλλιέργειες. Ο αποχρωματισμός βρέθηκε να είναι εκτενής (74% απομάκρυνση του χρώματος, 80% απομάκρυνση χημικού οξυγόνου), όταν οι καλλιέργειες συμπληρώθηκαν με αλκοολικό διάλυμα και ξεπλύθηκαν με οξυγόνο. Το σύστημα βιοαποδόμησης ήταν κατασταλτικό με γλουταμίνη ως πηγή αζώτου. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι όλο ή μέρος του συστήματος αποδόμησης της λιγνίνης από τον *P. chrysosporium* έπαιξε ρόλο στην βιοαποδόμηση των YAE. Ο αποχρωματισμός των YAE αντιστοιχεί στον αποπολυμερισμό της υψηλής μοριακής μάζας αρωματικών σε συνδυασμό με ορυκτοποίηση από ένα ευρύ φάσμα μονοαρωματικών ενώσεων. (Sayadi et al, 1992)

Οι μύκητες λευκής σήψης θεωρούνται επίσης κατάλληλοι βιοεπεξεργαστές για την αποκράνυνση του ρυπαντικού φορτίου από διαφορούς άλλους τύπους περιβαλλοντικών ρύπων. Ο αυξανόμενος κατάλογος των χημικών προϊόντων μυκήτων λευκής σήψης είναι σε θέση να υποβαθμίσουν :

- φυτοφάρμακα,
- πολυαρωματικούς υδρογονάνθρακες, PCBs
- άλλες αλογονωμένες αρωματικές ουσίες (συμπεριλαμβανομένων των διοξινών), ορισμένες βαφές,
- TNT και άλλα εκρηκτικά, καθώς και

- άλλες χημικές τοξικές ουσίες όπως το **κυάνιο, αζίδιο, τετραχλωράνθρακα** , και **πενταχλωροφαινόλη**.

Οι μύκητες λευκής σήψης είναι επίσης εκλεκτικοί σε υποβάθμιση όλων των χημικών συστατικών των πολύπλοκων μειγμάτων. Για παράδειγμα, όλα τα στοιχεία της *Aroclors* (PCB), τοξαφέν, το κρεόσωτο, και λιθανθρακόπισσα έχουν υποβαθμιστεί από τους μύκητες. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η ικανότητα αυτή είναι σχετική με τη φύση του περοξιδασών που εκκρίνονται από τους μύκητες. Σε άλλες περιπτώσεις, συνδέεται με την ποικιλία των μηχανισμών που οι μύκητες χρησιμοποιούν για την υποβάθμιση των χημικών ουσιών. (ehp.niehs.nih.gov)

4.2.3 Απολιγνινοποίηση λιγνοκυτταρινούχας βιομάζας

Βρώσιμα φυτικά υλικά, που παράγονται σε *Controlled Life Support System* (CELSS), θα πρέπει να ανακυκλώνονται κατά προτίμηση από βιοενεργούς μεθόδους που χρησιμοποιούν ένζυμα ή μικροοργανισμούς. Το υλικό αυτό αποτελείται από ημικυτταρίνη, κυτταρίνη και λιγνίνη, με τη λιγνίνη που αντιπροσωπεύει ένα ανθεκτικό στοιχείο το οποίο δεν αντιμετωπίζεται εύκολα με ενζυματικές μεθόδους. **Κατά συνέπεια ο μύκητας λευκής σήψης, *Pleurotus ostreatus*, είναι ελκυστικός, αφού ουσιαστικά υποβαθμίζει την λιγνίνη και παράγει εδώδιμα μανιτάρια.**

Στην εργασία των Sarikaya και Ladisch (1999) περιγράφεται ένα αδόμητο μοντέλο για την ανάπτυξη του *P. ostreatus* σε καλλιέργειας στερεάς φάσης (solid state fermentation, SSF) χρησιμοποιώντας λιγνοκυτταρινικά υπολλείματα ελαιοκράμβης μετά την εξαγωγή του κραμβέλαιου, ως υπόστρωμα. Ένα λογιστικό μοντέλο λειτούργησε βασισμένο σε περιοχή που βρέθηκε να ταιριάζει στην επιφάνεια της ανάπτυξης του μυκηλίου για το στερεό υπόστρωμα ως προς τον χρόνο, λαμβάνοντας υπόψη ότι ένα μοντέλο που βασίζεται σε διάμετρο, μόνο, δεν ταίριαζαν τα στοιχεία. Η διαφορά μεταξύ των δύο μέτρων της ανάπτυξης ήταν επίσης εμφανής για μυκηλιακή ανάπτυξη σε βιοαντιδραστήρα σχεδιασμένο για να διευκολύνει μια αργή παροχή αέρα μέσα από το 1,5 εκατοστό πάχους της λιγνοκυτταρινικής βιομάζας σωματιδίων. Το αποτέλεσμα είναι σε συμφωνία με τις

αρχές του ανταγωνισμού των μυκηλίων για το υπόστρωμα που το περιβάλλει, απ'ότι το υπόστρωμα που είναι άμεσα διαθέσιμο για ενιαία κύτταρα. Η προσέγγιση αυτή παρέχει ένα ποσοτικό μέτρο της ανάπτυξης του *P. ostreatus* στη λιγνοκυτταρινική βιομάζα σε μια σταθερή κατάσταση ζυμώμενου συστήματος. Τα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η καλύτερη ανάπτυξη επιτυγχάνεται για τα μεγαλύτερα σωματίδια (1 cm) από το λιγνοκυτταρινικό υπόστρωμα.

Ο κύριος μύκητας που μελετήθηκε είναι ο *Phanerochaete chrysosporium*, όπως συνέβη κατά τη διάρκεια ενός πειράματος αυτό που ανακαλύφθηκε πρώτα ήταν οι λιγνινάσες, και πλέον έχουν γίνει το επίκεντρο της έρευνας. Επίσης αρκετά εκτεταμένα μελετήθηκαν οι *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete sordida*, *Trametes hirsutus*, και *Fusarium culmorum*. Υπάρχουν πολλοί άλλοι μύκητες λευκής σήψης που έχουν μελετηθεί, και επίσης κάποιοι μη-λιγνολιτικοί μύκητες. Παρόλο που όλοι έχουν παρόμοιες μεθόδους υποβάθμισης, είναι δυνατόν να διαφέρουν ελαφρώς στα ένζυμα και στους συμπαράγοντες που εμπλέκονται. (www.world-of-fungi.org)

4.2.3.1 Μηχανισμοί αποδόμησης από μύκητες λευκής σήψης

Η λιγνίνη είναι φυσικό πολυμερές του κυτταρικού τοιχώματος που δίνει δύναμη στο ξύλο. Οι μύκητες λευκής σήψης, που χρησιμοποιούν κυτταρίνη ως πηγή άνθρακα, έχουν τη μοναδική ικανότητα να υποβαθμίζουν εντελώς τη λιγνίνη σε διοξείδιο του άνθρακα. Παρόλο που αυτή η ικανότητα έχει αναγνωριστεί εδώ και πολλά χρόνια, μόλις πρόσφατα οι ερευνητές άρχισαν να κατανοούν τους μηχανισμούς που επιτυγχάνεται η υποβάθμιση. Οι επιστήμονες ελπίζουν ότι η κατανόηση του τρόπου υποβάθμισης του ξύλου από τους μύκητες λευκής σήψης θα οδηγήσει στην επιτυχή εφαρμογή αποκατάστασης των επικίνδυνων αποβλήτων.

Περοξειδάσες και υπεροξειδίο του υδρογόνου, που εκκρίνονται από τους μύκητες, καταλύουν αντιδράσεις της υψηλής δραστηριότητας και όχι συγκεκριμένα ελεύθερες ρίζες, με αποτέλεσμα τον αποπολυμερισμό και την υποβάθμιση της λιγνίνης. Παρόλο που η λιγνίνη είναι φυσικά ένα πολύ οξειδωμένο πολυμερές, μπορεί τελικά να οξειδώνεται εντελώς σε διοξείδιο του άνθρακα από μύκητες

λευκής σήψης. Η βιοαποδόμηση του εξωκυτταρικού συστήματος εξηγεί επίσης γιατί οι μύκητες μπορούν να είναι αρκετά ανθεκτικοί σε τοξικές ή μεταλλαξιγόνες χημικές ουσίες. Η λιγνίνη διαδραματίζει βασικό ρόλο στον κύκλο του άνθρακα ως την πιο πλούσια αρωματική ένωση στη φύση, παρέχοντας το προστατευτικό καλούπι γύρω από τα μικροϊνίδια της κυτταρίνης στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών. Παρόλο που η λιγνίνη είναι ένα τρομερό υπόστρωμα, η υποβάθμιση του από συγκεκριμένους μύκητες αναγνωρίστηκε και περιγράφηκε σχεδόν 125 χρόνια πριν.

Οι οργανισμοί που είναι υπεύθυνοι, που συλλογικά αναφέρονται ως μύκητες λευκής σήψης (αφού υποβαθμίζουν καφέ λιγνίνη και αφήνουν πίσω λευκή κυτταρίνη), είναι βασιδιομύκητες, μια ομάδα από μύκητες που περιλαμβάνουν βρώσιμα μανιτάρια, καθώς και παθογόνα φυτά, όπως άνθρακες και σκουριά. Ο *Phanerochaete chrysosporium* είναι ο πρώτος βασιδιομύκητας. (ehp.niehs.nih.gov)

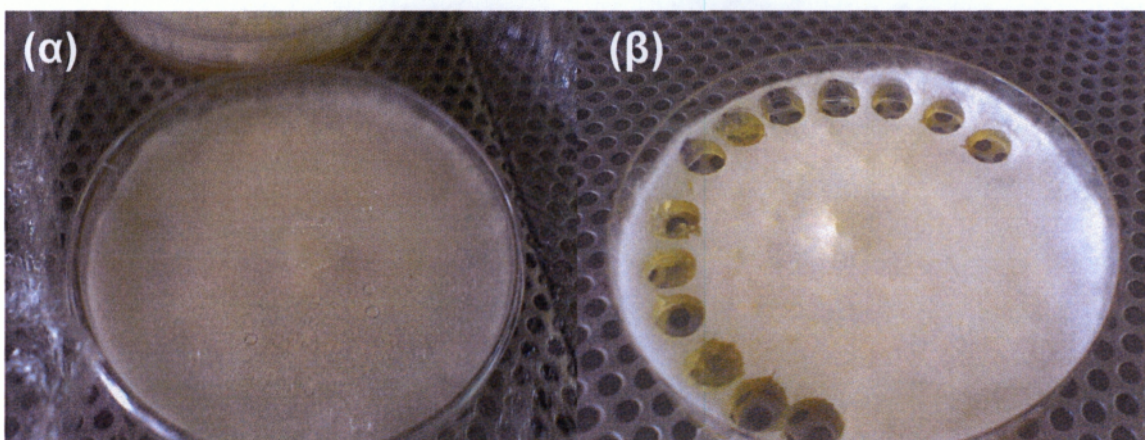
4.2.3.2 Ανάπτυξη της λιγνοκυτταρινικής ζύμωσης μυκήτων σε διάφορα υποστρώματα υπό συνθήκες χαμηλής οξυγόνωσης

Τέσσερις μύκητες του εδάφους ικανοί να αναπτυχθούν υπό συνθήκες χαμηλής οξυγόνωσης επελέγησαν και χρησιμοποιήθηκαν σε μελέτες για τον καθορισμό της παραγωγής των ενζύμων που προωθούν την υποβάθμιση των λιγνοκυτταρινικών υλικών. Η ικανότητα αυτών των μυκήτων να ζυμώνουν τα υλικά ήταν επίσης άξιο έρευνας. Οι μύκητες είχαν αναπτυχθεί σε υπολείμματα ζαχαροκάλαμου και πριονίδια σε τελικές συγκεντρώσεις πηγή άνθρακα των 4 και 10%. Τα στελέχη καλλιεργήθηκαν κάτω από μικροαερόφιλες και συνδυασμένες συνθήκες οξυγόνωσης (αερόβια ακολουθούμενη από μικροαερόφιλες συνθήκες). (www.springerlink.com)

5. Υλικά και Μέθοδοι

5.1. Μικροοργανισμός

Ο μικροοργανισμός που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο μύκητας λευκής σήψης *Pleurotus ostreatus* (Jacquin.Fr.) Kummer, στέλεχος DSMZ 1833, που είναι γνωστό ότι αποδομεί λιγνοκυτταρίνη (DSMZ, 2011). Για την διατήρηση των καλλιεργειών και τους εμβολιασμούς χρησιμοποιήθηκε το γενικό θρεπτικό μέσο PDA (*Potato Dextrose Agar*). Στο σχήμα 5.1 φαίνεται ένα τρυβλίο Petri με στερεά καλλιέργεια *P. ostreatus* σε PDA πριν (α) και μετά (β) την αφίρεση τεμαχίων που χρησιμοποιήθηκαν ως εμβόλια.



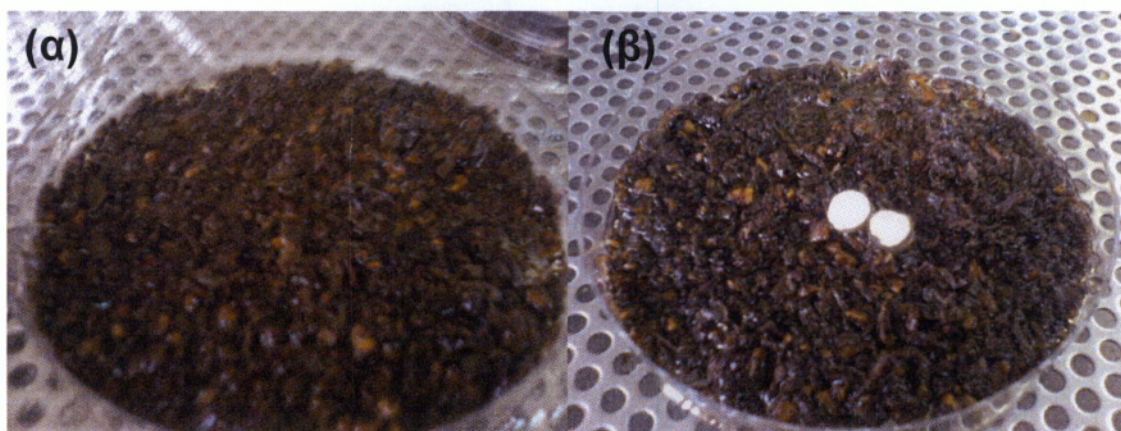
Εικόνα 5.1. Καλλιέργειες *P. ostreatus* σε θρεπτικό μέσο PDA που χρησιμοποιήθηκαν για τον εμβολιασμό των πειραματικών καλλιεργειών σε ελαιοπυρήνα

5.2 Πειραματική διάταξη και πλάνο

Όπως προαναφέρθηκε σκοπός του πειράματος ήταν η παρακολούθηση της βιοαποδομησιμότητας του αποβλήτου από το μύκητα *P. ostreatus* με ταυτόχρονη αύξηση της μυκηλιακής βιομάζας. Οι καλλιέργειες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τύπου ζύμωσης στερεάς κατάστασης (*Solid State Fermentation, SSF*), σε άσυπτες αερόβιες συνθήκες. Πραγματοποιήθηκαν **30 καλλιέργειες** σε αποστειρωμένα τρυβλία *Petri* (διαμέτρου 10 εκ.) με 6 gr ξηρού αποβλήτου, συνολική αρχική υγρασία ~70%, **χωρίς ρύθμιση του pH και χωρίς προσθήκη θρεπτικών**. Για την αποφυγή επιμολύνσεων όλα τα υλικά και όργανα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν αποστειρωθεί θερμικά στους 121 °C για 20 λεπτά, ενώ όλες οι εργασίες προετοιμασίας και εμβολιασμού των καλλιεργειών έγιναν στο θάλαμο νηματικής ροής. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είχε ως εξής:

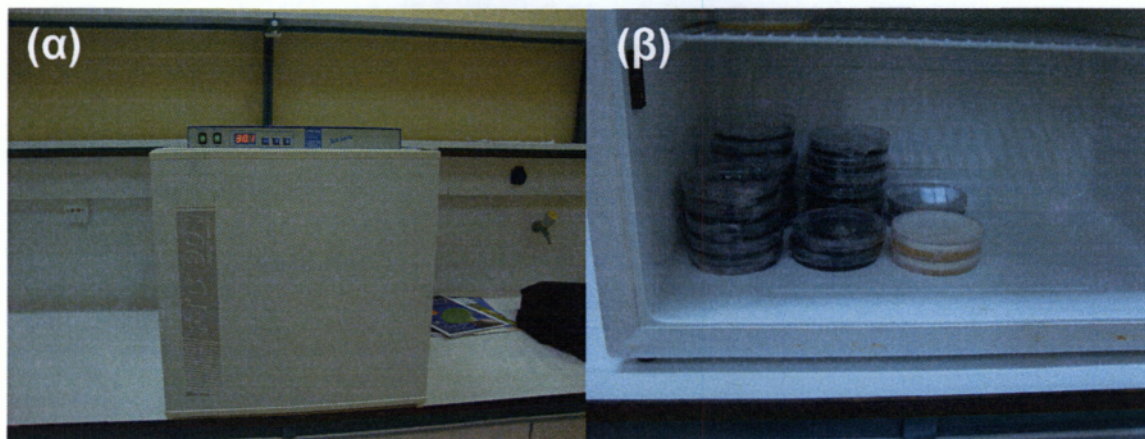
- Σε κάθε τρυβλίο τοποθετήθηκαν **6 gr ξηρού αποστειρωμένου αποβλήτου**, στα οποία προστέθηκαν με τη βοήθεια σιφωνιού **14 ml απιονισμένου και αποστειρωμένου νερού**, ώστε να έχουμε 20 gr βιομάζας αποβλήτου με υγρασία **70%** (εικόνα 5.2.α)

Στο κέντρο της επιφάνειας του αποβλήτου τοποθετήθηκαν με τη βοήθεια ειδικού κόφτη (διαμέτρου 0,5 εκ.) και λαβίδας δύο δίσκοι μυκηλίου *P. ostreatus* από προϋπάρχουσα καλλιέργεια σε θρεπτικό μέσο *PDA*. (Εικόνα 5.2.β)

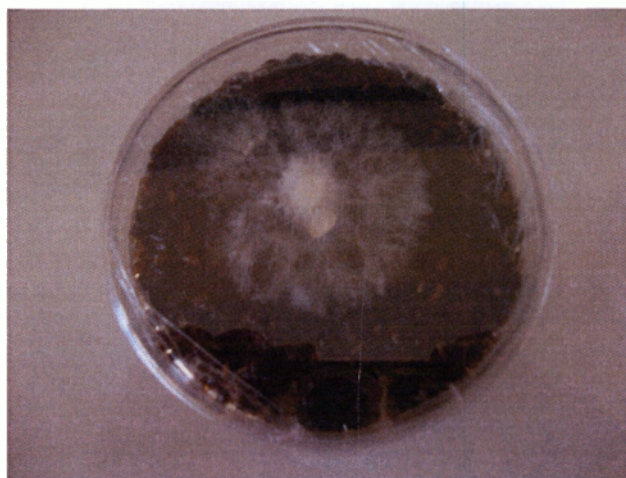


Εικόνα 5.2. Νωπό απόβλητο (ελαιοπυρήνας) πριν (α) και μετά (β) τον εμβολιασμό με καλλιέργεια *P. ostreatus*.

- Ακολούθησε πωματισμός των τρυβλίων και στεγανοποίηση τους με παραφίλμ, για αποφυγή επιμολύνσεων και διαφυγή της υγρασίας κατά την επώαση.
- Οι καλλιέργειες τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 25 °C (Εικόνα 5.3), προκειμένου να αναπτυχθεί ο μύκητας (Εικόνα 5.4).



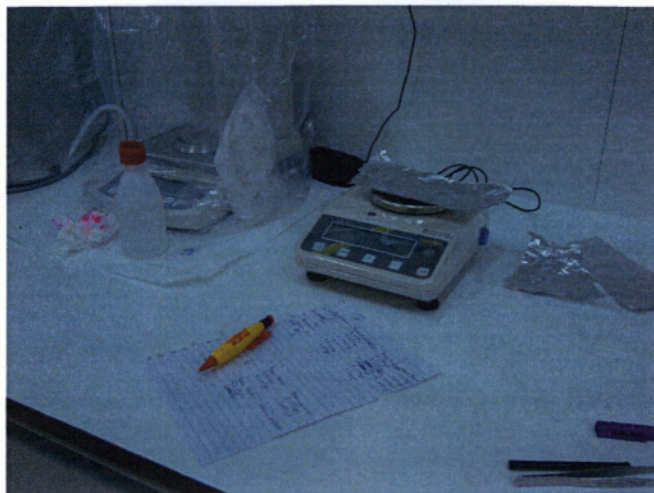
Εικόνα 5.3 Επωαστικός θάλαμος εξωτερικά (α) και εσωτερικά (β)



Εικόνα 5.4 Ανάπτυξη μύκητα σε ελαιοπυρήνα

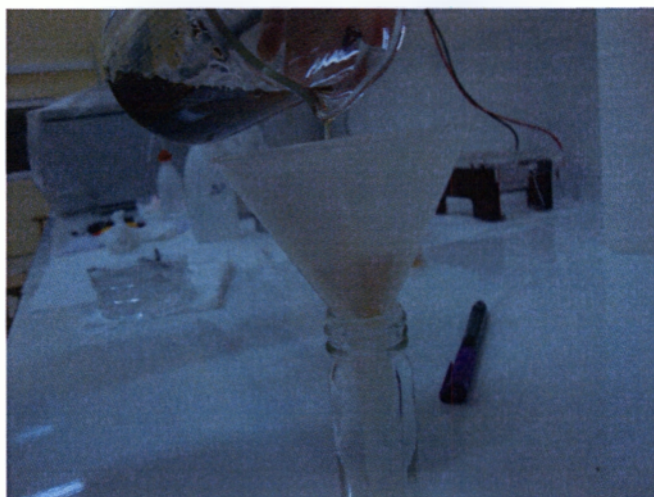
Σε κάθε δειγματοληψία ανοίγονταν **δύο τυχαίες καλλιέργειες** και με τη βοήθεια λαβίδας απομακρυνόταν το μυκήλιο που είχε αναπτυχθεί επιφανειακά. Η διαδικασία που ακολουθούταν στη συνέχεια είχε ως εξής:

- Τόσο το μυκήλιο όσο και το απόβλητο ζυγίζονταν σε ζυγό ακριβείας (Εικόνα 5.5). Μετά τον πλήρη διαχωρισμό η μικροβιακή βιομάζα ξηραινόταν ώστε να υπολογιστεί το ξηρό βάρος της.



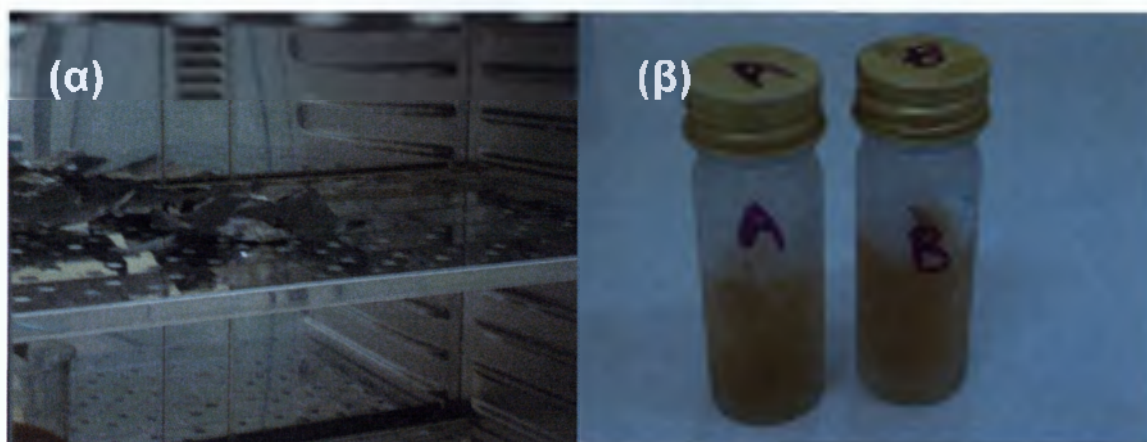
Εικόνα 5.5. Ζυγός ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων (*Kern EG300-3M.*)

- Στο απόβλητο γινόταν προσθήκη 50ml υπερκαθαρού νερού (τριπλής απόσταξης) και το εναιώρημα έμενε υπό ανάδευση με ήπια θέρμανση για μισή περίπου ώρα ώστε να εκχυλιστούν τα διαλυτά σάκχαρα και ακολουθούσε διήθηση με χάρτινο προζυγισμένο ηθμό (Εικόνα 5.6).



Εικόνα 5.6. Διαδικασία διήθησης

- το στερεό υπόλειμμα μαζί με τον ηθμό αφηνόταν να ξηρανθεί πλήρως για υπολογισμό του ξηρού του βάρους (Εικόνα 5.7.α) ενώ το εκχύλισμα μετά την μέτρηση του pH , τοποθετούταν άμεσα στους $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Εικόνα 5.7.β) έως την ημέρα ανάλυσης σακχάρων.



Εικόνα 5.7. Στερεό υπόλειμμα υπό ξήρανση (α) και εκχύλισμα (β) μετά το διαχωρισμό του ελαιοπυρήνα από το μύκητα στις πειραματικές καλλιέργειες

- Στο ξηρά απόβλητα μετά τη ζύγισή τους αποτεφρώνονταν στους $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ προκειμένου να υπολογιστεί η οργανική τους ύλη

Συνεπώς οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν οι εξής:

1. Υπολογισμός αύξησης ξηρού βάρους μύκητα
2. Υπολογισμός μείωσης ξηρού βάρους αποβλήτου
3. Υπολογισμός απώλειας οργανικής ύλης
4. Υπολογισμός διακύμανσης διαλυτών σακχάρων στις καλλιέργειες
5. Παρακολούθηση διακύμανσης pH στα εκχυλίσματα

5.3 Αναλυτικές μέθοδοι

5.3.1 Υπολογισμός ξηρής βιομάζας, υγρασίας και οργανικής ύλης

Υπολογισμός ξηρής βιομάζας: Ο υπολογισμός του ξηρού βάρους του αποβλήτου γινόταν με την ζύγιση του σε ζυγό ακριβείας μετά από ξήρανση στους 70 °C.

Υπολογισμός υγρασίας: Ζυγιζόταν συγκεκριμένη ποσότητα νωπού αποβλήτου και καταγραφόταν το νωπό βάρος. Ακολουθούσε ξήρανση στους 70 °C μέχρι σταθερού βάρους. Ζυγιζόταν το ξηρό βάρος και η υγρασία υπολογιζόταν ως εξής: $Y=(N\beta-\Xi\beta)*100$

όπου Y: υγρασία Nβ: νωπό βάρος Ξβ: ξηρό βάρος

Εργαστηριακός Εξοπλισμός: αλουμινένια πιατάκια, ζυγό ακριβείας και φούρνος ξήρανσης.

Υπολογισμός οργανικής ύλης: Ξηρή ζυγισμένη βιομάζα τοποθετούνταν για 2 ώρες σε πυραντήριο στους 550 °C και μετά μετρώνταν το βάρος της στάχτης. Η οργανική ύλη υπολογιζόταν ως εξής: $O.Y.=(\Xi\beta-\Sigma\beta)*100$

όπου O.Y: οργανική ύλη Ξ.β:ξηρό βάρος Σβ: σταθερό βάρος

5.3.2 Υπολογισμός υδατανθράκων και σακχάρων

Προκειμένου να υπολογιστεί η ποσότητα των υδατανθράκων (ολικών και διαλυτών) χρησιμοποιούταν μια φασματομετρική μέθοδος, η μέθοδος με αντιδραστήριο $H_2SO_{4(\pi)}$ -βορικού οξέος-L-τρυπτοφάνης [Josefsson,1983, Eberlein and Schutt, 1986].

Αρχή Μεθόδου: Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο σχηματισμό συμπλοκών καφέ-ιώδους (για τις εξόζες) ή καφέ-πράσινου χρώματος (για τις πεντόζες) μεταξύ των πολυαρωματικών ενώσεων του αντιδραστηρίου και των μορίων του σακχάρου. Η μέθοδος αυτή είναι κατάλληλη και για τον υπολογισμό σύνθετων

υδατανθράκων, όπως η κυτταρίνη, αφού το πυκνό θειικό οξύ μπορεί να διασπάσει τους γλυκοζιτικούς δεσμούς του πολυμερούς.

Εργαστηριακός Εξοπλισμός: Λουτρό βραστού νερού, δοκιμαστικοί σωλήνες, vortex, ογκομετρικές φιάλες, πιπέτα ακριβείας, φασματοφωτόμετρο

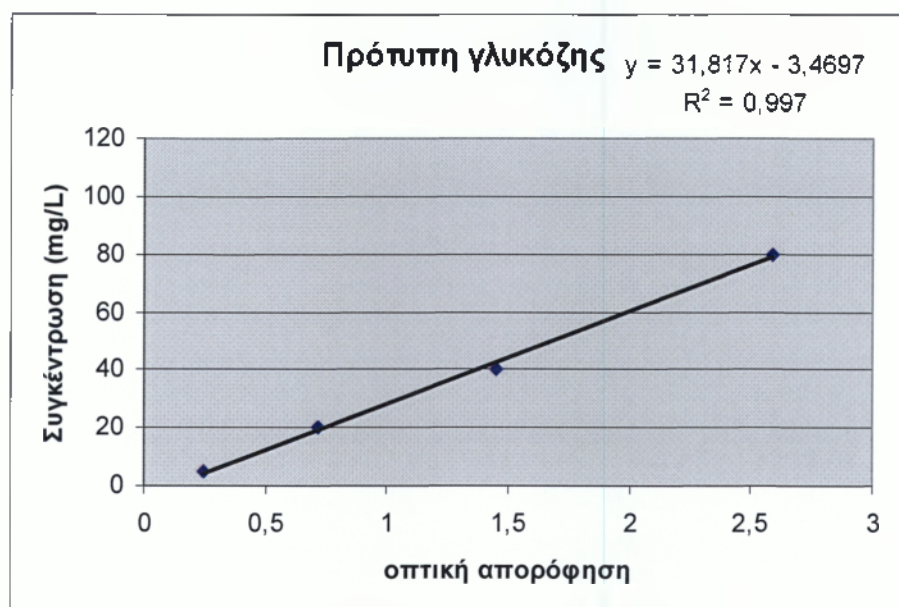
Αντιδραστήρια: Πρότυπο διάλυμα γλυκόζης 1g/L σε νερό 3-D 3-D, βορικό οξύ, L- τρυπτοφάνη, $H_2SO_{4(p)}$. Από το πρότυπο διάλυμα γλυκόζης, με αραιώσεις σε νερό 3-D, κατασκευάζονταν πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 5, 15, 30, 45, 60, 75 και 100 mg/l. Σε 100 ml $H_2SO_{4(c)}$ διαλύονταν 2,5gr βορικού οξέος και 0,5gr τρυπτοφάνη, υπό ανάδευση, έως ότου να προκύψει ομογενές διάλυμα. Το αντιδραστήριο έπρεπε να παραμείνει στους 4 °C τουλάχιστον για 12 h πριν χρησιμοποιηθεί.

Περιγραφή διαδικασίας: Σε κωνικές φιάλες οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετούνταν με πιπέτα α ml δείγματος (μετά από κατάλληλη αραιώση με τρισαπεσταγμένο νερό) και προσθέτονταν 2α ml αντιδραστήριου. Ακολουθούσε ανάμιξη σε vortex, πωματισμός και χώνευση των δειγμάτων σε λουτρό βραστού νερού για 20 λεπτά. Στη συνέχεια τα δείγματα αφήνονταν να κρυώσουν σε νερό βρύσης, και φωτομετρούνταν στα 520nm μηδενίζοντας με απεσταγμένο νερό.

Από την εξίσωση που προέκυπτε από την πρότυπη καμπύλη υπολογιζόταν η συγκέντρωση του δείγματος σε γλυκόζη από τη σχέση :

$$\text{Συγκέντρωση γλυκόζης σε mg/L} = (a * OD_{520} + b) * v$$

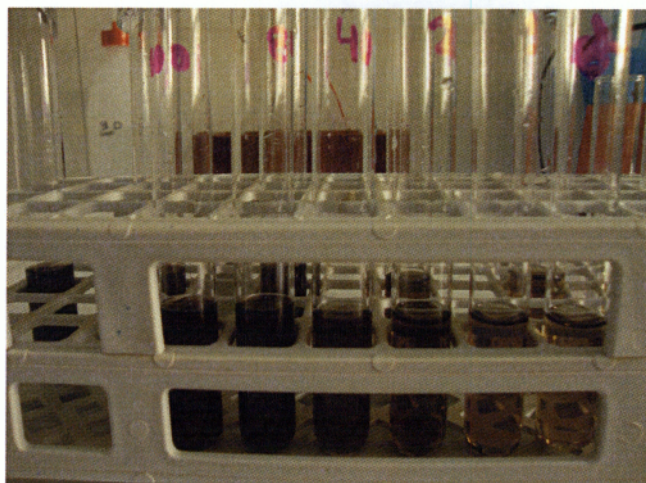
όπου α, b οι συντελεστές της εξίσωσης, και ν οι βαθμοί αραιώσης του δείγματος. Από τα πρότυπα διαλύματα γλυκόζης, κατασκευάζονταν με ανάλογο τρόπο, πρότυπη καμπύλη όπως στο **σχ.5.3.1** Τα όρια της μεθόδου είναι 5mg/l έως 150 mg/l.



Σχήμα 5.3.1 : Πρότυπη καμπύλη συγκέντρωσης γλυκόζης σε συνάρτηση με την οπτική απορρόφηση του συμπλόκου της μεθόδου τρυπτοφάνης-βορικού σε μήκος κύματος 520



Εικόνα 5.8 : Κρύωμα φιαλιδίων για να γίνει η μέτρηση των σακχάρων στο φασματοφωτόμετρο

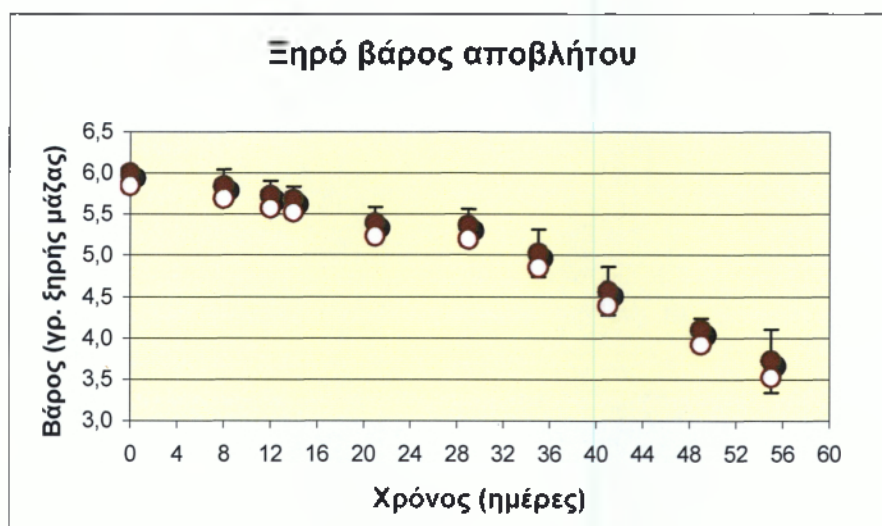


Εικόνα 5.9. : Μέτρηση σακχάρων μετά την φωτομέτρηση

6. Ανάλυση αποτελεσμάτων

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται η παρουσίαση των αποτελεσμάτων του πειραματικού μέρους της παρούσας διπλωματικής. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αναλύθηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος excel Microsoft office, και παρουσιάζονται στα γραφήματα που ακολουθούν.

6.1 Ξηρό βάρος αποβλήτου



Σχήμα 6.1: Μείωση ξηρού βάρους αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα *P. ostreatus*

Στην προκειμένη περίπτωση η μέτρηση ξεκινάει με αρχική μέτρηση της ξηρής μάζας δηλ την πρώτη μέρα (άρα σε χρόνο 0). Σύμφωνα με τις μετρήσεις που γίνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα το **ξηρό βάρος της βιομάζας μειώνεται**. Όπως μπορούμε να δούμε μέχρι τις 8 πρώτες ημέρες το ξηρό βάρος του αποβλήτου έχει μία σημαντική μείωση αλλά όχι πολύ μεγάλη και αυτό γιατί ο μύκητας προσπαθεί να «αναγνωρίσει» το περιβάλλον που βρίσκεται και να προσαρμοστεί σύμφωνα με τις ανάγκες του. Επίσης αρχικά η βιομάζα του μύκητα είναι αρχικά πολύ μικρή οπότε καταναλώνει το υπόστρωμα με μικρό ρυθμό ενώ

καθώς η βιομάζα αυξάνεται αυξάνεται και ο ρυθμός κατανάλωσης του αποβλήτου. Αυτό φαίνεται καλύτερα και στο σχήμα 6.1 που παρουσιάζεται πιο κάτω.

Από την 8^η-35^η μέρα (27 μέρες) το βάρος κυμαίνεται στο 5,705gr-5,233gr μειώνεται σχεδόν σταθερά άρα ο μύκητας τρέφεται σταθερά και παράλληλα αυξάνεται η βιομάζα. Τις τελευταίες μέρες το ξηρό βάρος μειώνεται πάρα πολύ γιατί ο μύκητας έχει αυξηθεί αρκετά και χρειάζεται περισσότερη «τροφή» για να συνεχίσει να αυξάνεται. Τέλος το ξηρό βάρος του αποβλήτου φαίνεται πως έχει μειωθεί στο μισό δηλαδή από 6gr (αρχική τιμή) στα 3,725gr (τελική τιμή) σε συνολικό χρόνο 55 ημέρες.

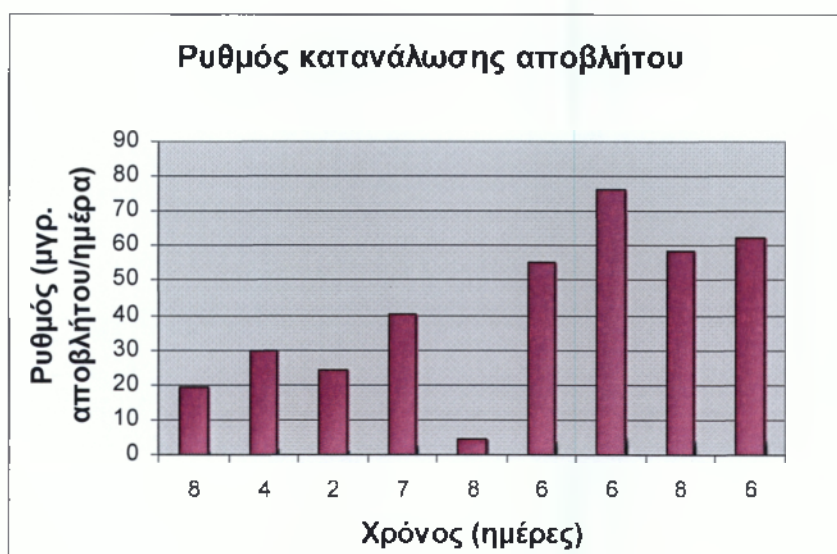


Σχήμα 6.2: Ποσοστό μείωση ξηρού βάρους αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα *P. ostreatus*, μεταξύ δειγματοληψιών

Στο σχήμα 6.2. παρουσιάζεται το ποσοστό μείωσης ξηρού βάρους αποβλήτου σε συνάρτηση με τον χρόνο (ημέρες καλλιέργειας). Το ποσοστό μείωσης βάρους σε κάθε μέτρηση που γίνεται αυξάνεται αφού ο μύκητας καταναλώνει σημαντική ποσότητα κάθε φορά για να αναπτυχθεί. Ενδεικτικά στην πρώτη μέτρηση 8 μέρες το ποσοστό είναι 2,55%, τέταρτη μέτρηση 21 μέρες είναι 10,09% και την ένατη μέτρηση στις 55 μέρες είναι 37,93%.

Ο ρυθμός κατανάλωσης αποβλήτου, που φαίνεται στο σχήμα 6.3, εκφράζει την ταχύτητα με την οποία ο μύκητας καταναλώνει το υπόστρωμα μεταξύ

διαδοχικών δειγματοληψιών. Ισοδυναμεί δηλαδή με το πόσο στερεό απόβλητο είχε καταναλώσει ο μύκητας μέχρι την ημέρα που γινόταν η κάθε μέτρηση. Ο ρυθμός κατανάλωσης διαφέρει σε κάθε μέτρηση και όπως φαίνεται υπάρχουν αυξομειώσεις. Αυτό ίσως να συμβαίνει επειδή οι μετρήσεις δεν γίνονταν σε ίδιο χρονικό διάστημα. Αυτό όμως δεν επηρεάζει το αποτέλεσμα. Υπάρχει μία καλή «συνεργασία» μύκητα-αποβλήτου. Είναι ωστόσο ξεκάθαρο πως με το πέρασμα του χρόνου ο ρυθμός κατανάλωσης αποβλήτου γίνεται μεγαλύτερος, κάτι που οφείλεται στο ότι α) ο μύκητας έχει εγκλιματιστεί και β) στο ότι αφού αυξάνει η βιομάζα του έχει μεγαλύτερες ανάγκες από υπόστρωμα για να αυξηθεί περαιτέρω και για να συντηρηθεί.



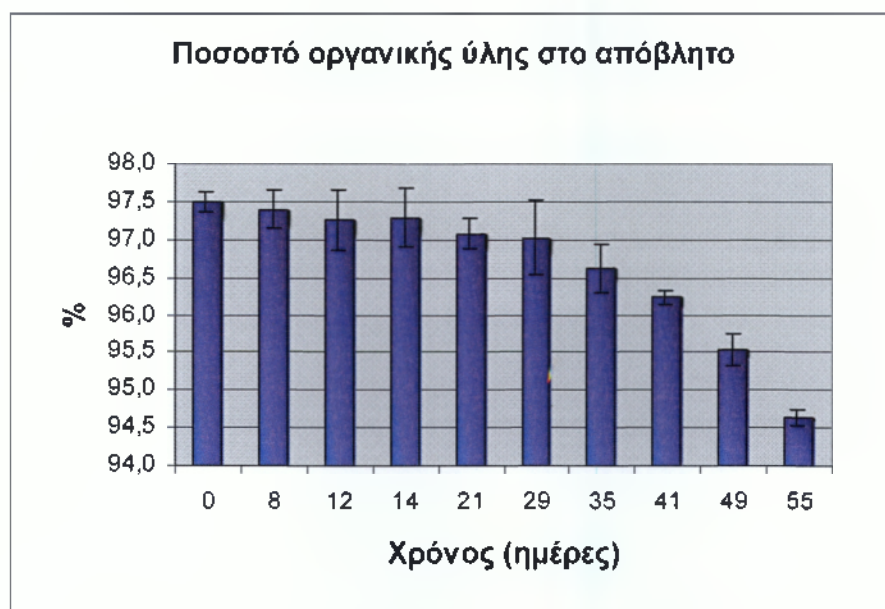
Σχήμα 6.3: Ρυθμός κατανάλωσης αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα *P. ostreatus*, μεταξύ δειγματοληψιών

6.2 Οργανική ύλη στο απόβλητο

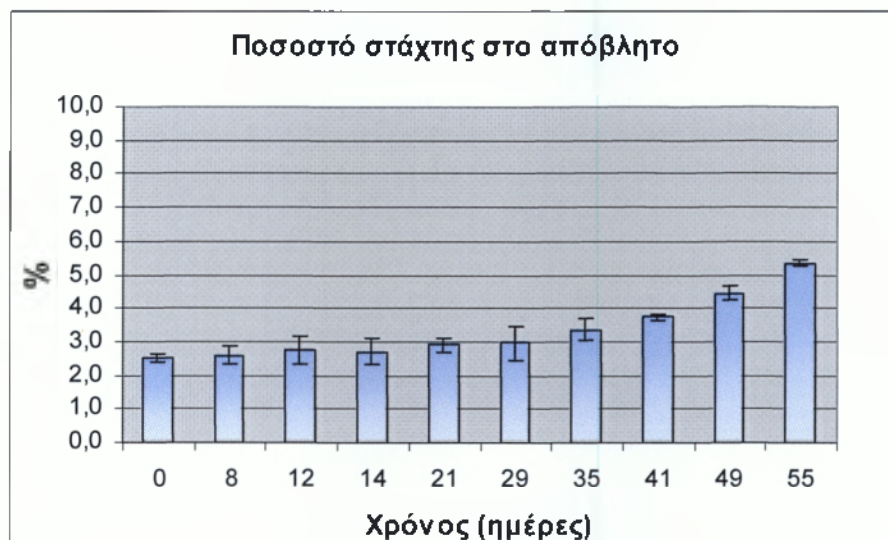
Το ξηρό βάρος αποβλήτου αποτελείται από την

- οργανική ύλη (κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, λιγνίνη, άζωτο, σάκχαρα) η οποία αφομοιώνεται από τον μύκητα, και την
- ανόργανη ύλη (στάχτη) που δεν καταναλώνεται από το μύκητα.

Για να γίνει η μέτρηση της ανόργανης ύλης έγινε αποτέφρωση της ξηρής μάζας του αποβλήτου στους 550 °C. Η ανόργανη ύλη καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος είναι σχεδόν σταθερή αφού δεν καταναλώνεται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να εμφανίζει μεγαλύτερο ποσοστό στη συνολική μάζα του αποβλήτου, όπως φαίνεται στο σχήμα 6.5. Όπως είναι λογικό η οργανική ύλη μέρα με την μέρα μειώνεται γιατί είναι η αφομοιώσιμη «τροφή» του μύκητα. Αυτό φαίνεται και από τις μετρήσεις, όπου η σταδιακή μείωση της οργανικής ύλης είναι εμφανής και αποτυπωμένη στο σχήμα 6.4.

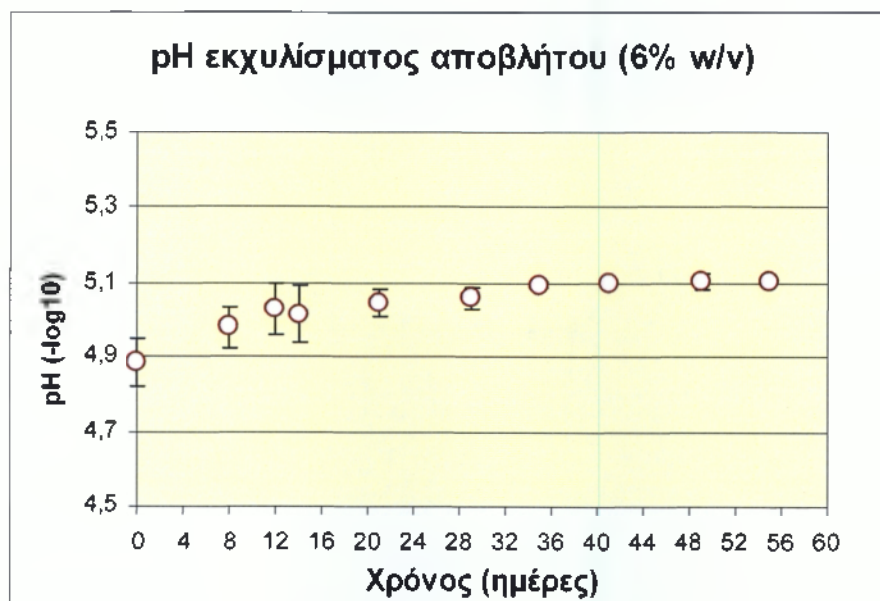


Σχήμα 6.4: Ποσοστό οργανικής ύλης στο απόβλητο σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα *P. ostreatus*, με την διαδικασία της αποτέφρωσης



Σχήμα 6.5: Ποσοστό ανόργανης ύλης στο απόβλητο σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα *P. ostreatus*, με την διαδικασία της αποτέφρωσης

6.3 pH εκχυλίσματος αποβλήτου



Σχήμα 6.6: Μέτρηση pH εκχυλίσματος αποβλήτου σε καλλιέργεια στερεάς φάσης με τον μύκητα *P. ostreatus*, μεταξύ δειγματοληψιών

Για την μέτρηση του pH του αποβλήτου έπρεπε να γίνει εναιώρηση σε υδατικό περιβάλλον. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε υπερκαθαρό νερό προκειμένου το εκχύλισμα που προέκυπτε να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω για τον υπολογισμό των διαλυτών υδατανθράκων (σάκχαρα) που παράγονταν κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας.

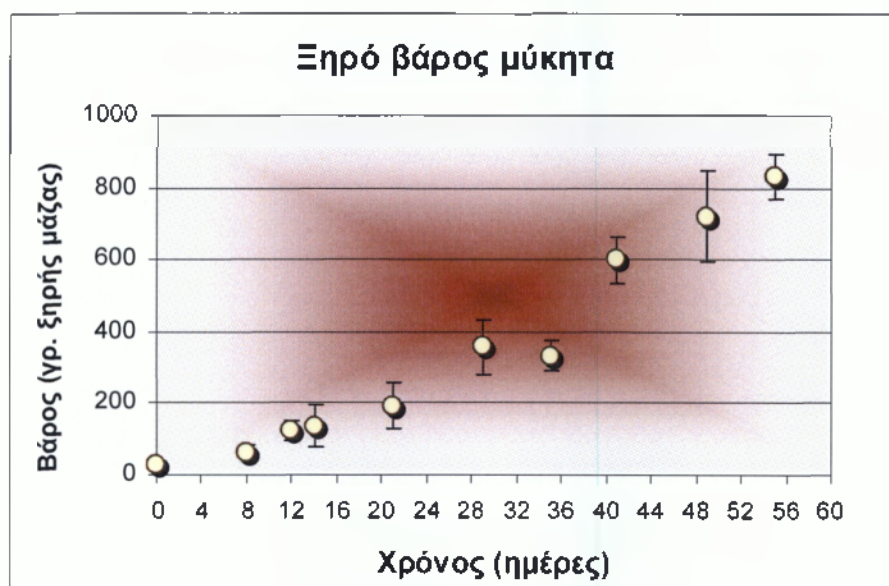
Το pH όπως φαίνεται στο διάγραμμα είναι **σταθερό**. Ξεκινάει με αρχική τιμή περίπου 4,8 που είναι το pH του αποβλήτου, το οποίο είναι όξινο λόγω της φύσης του αποβλήτου, δηλαδή των οξέων που περιέχονται στην ελαιομάζα αλλά και της ενδεχόμενης ζύμωσης που υπέστη η ελαιομάζα στο ελαιοτριβείο. Φαίνεται να έχει μια υποτυπώδη αυξητική τάση παραμένοντας σε **όξινα επίπεδα**, δηλ. περίπου 5, που είναι **βέλτιστα για την ανάπτυξη του *P. ostreatus***. Από σχετική εργασία για παραγωγή βιομάζας *P. ostreatus* βρέθηκε ότι μεταξύ των τιμών pH εύρους 5-6,5, η ανώτερη παραγωγή μυκηλίου παρουσιάζεται για το pH 5,4 (Sarket et al., 2007). Βλέπουμε άρα πως το απόβλητο που χρησιμοποιήσαμε δεν χρειάζεται κάποια εξωγενή ρύθμιση του pH.

6.4 Ξηρό βάρος μύκητα

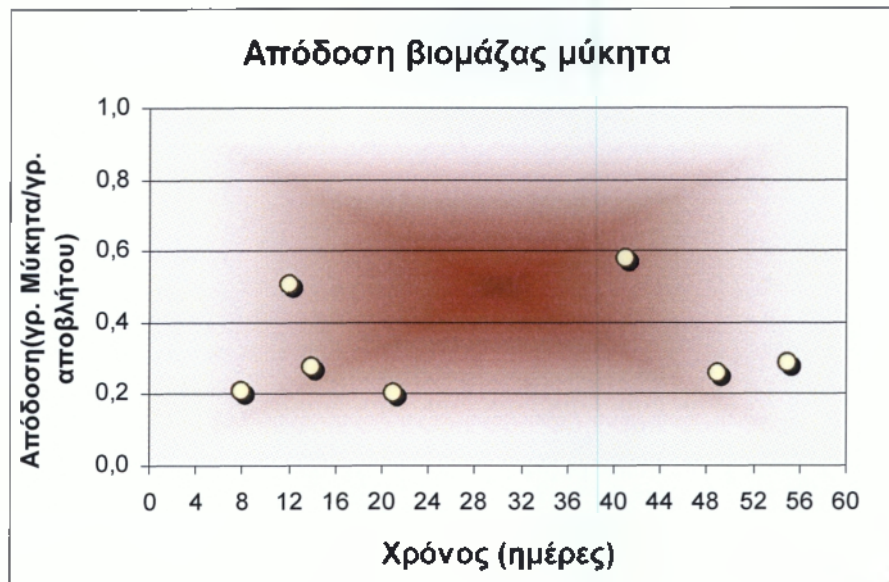
Στο σχήμα 6.7 φαίνεται η **αύξηση του βάρους του μύκητα**. Αυτό συμβαίνει γιατί ο μύκητας χρησιμοποιεί το υπόστρωμα ως πηγή άνθρακα και άλλων υλικών ώστε να αναπτυχθεί, και συνεπώς **αφομοιώνει μέρος του άνθρακα του αποβλήτου στη βιομάζα του ενώ το υπόλοιπο διαφύγει ως διοξείδιο του άνθρακα κατά το μεταβολισμό του μύκητα για τη συντήρησή του**. Σύμφωνα με αυτές τις μετρήσεις βλέπουμε πως υπάρχει μία σταδιακή αύξηση του ξηρού βάρους του μύκητα.

Η απόδοση της βιομάζας του μύκητα είναι ο **λόγος της αύξησης του βάρους του μύκητα ως προς την κατανάλωση του υποστρώματος**. Η μέση απόδοση της βιομάζας **ανά δειγματοληψία** υπολογίστηκε ότι ήταν ~33%, ενώ η τελική μέση απόδοση βιολόγας υπολογίστηκε ότι ήταν $37,8 \pm 2,1$ %. Κάνοντας μια αναγωγή σε μεγαλύτερη κλίμακα μπορούμε λοιπόν να πούμε ότι σε συνθήκες όμοιες με αυτές που έγινε το πείραμα **μπορούν να παραχθούν 378 γραμμάρια**

βιομάζας μύκητα ανά κιλό αποβλήτο που καταναλώνεται. Στην μελέτη των *Philippoussis* κ.λ. (2001) που χρησιμοποίησαν λιγνοκυτταρινούχα υπολλείματα για την ανάπτυξη διαφορετικών τύπων μυκήτων, μεταξύ των οποίων ήταν και ο *P.ostreatus*, η μέση απόδοση βιομάζας ήταν από 20% έως 32%. Φαίνεται ότι σε τέτοιου τύπου καλλιέργειες όπως και στην περίπτωση του πειράματος της διπλωματικής, μεγάλο μέρος την μάζας του αποβλήτου γίνεται βιομάζα μύκητα. Κάτι τέτοιο είναι αναμενόμενο αφού το υπόστρωμα των στερεών αποβλήτων ελαιοτριβείων χρησιμοποιείται κυρίως ως πηγή τροφής και ανάπτυξης του μύκητα και όχι για την βιομετατροπή σε κάποιο άλλο προϊόν μεταβολισμού.



Σχήμα 6.7: Ξηρό βάρος μύκητα *P. ostreatus* σε καλλιέργεια στερεάς φάσης

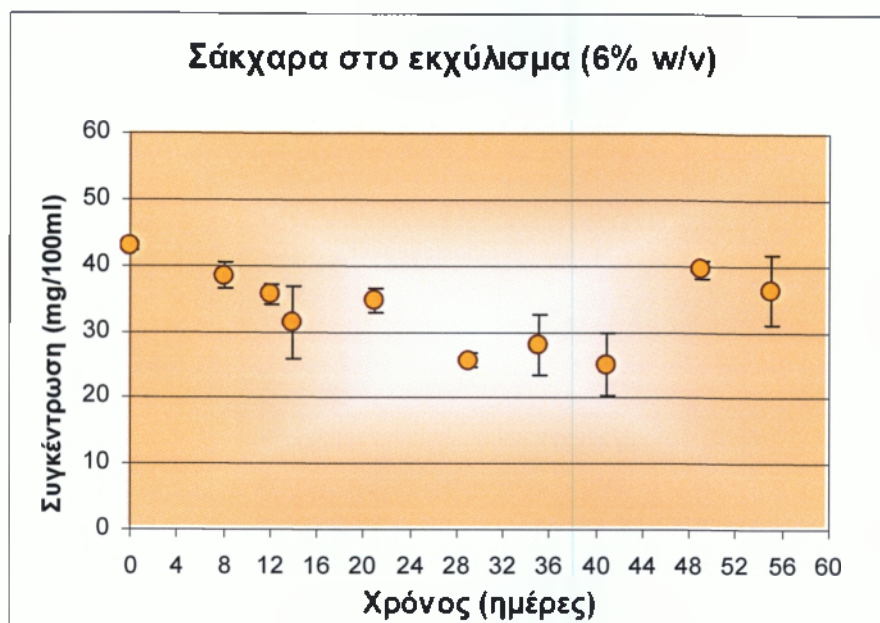


Σχήμα 6.8: Απόδοση βιομάζας του μύκητα *P. ostreatus* σε καλλιέργεια στερεάς φάσης, μεταξύ δειγματοληψιών

6.5 Σάκχαρα στο εκχύλισμα

Στο διάγραμμα 6.9. βλέπουμε την μεταβολή της συγκέντρωσης των σακχάρων στο εκχύλισμα του αποβλήτου. Όπως φαίνεται η συγκέντρωση μετρήθηκε ως **μιλιγραμμάρια σακχάρων ανά 100 ml αποβλήτου**, και σύμφωνα με τη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε (κεφάλαιο 5) **αντιστοιχεί σε mg ανά 6 γραμμάρια αποβλήτου**.

Κατά πρώτον φαίνεται ότι το απόβλητο είναι ούτως ή άλλως φτωχό σε σάκχαρα αφού έχει αρχική τιμή **~42mg ανά 6 γραμμάρια αποβλήτου**, δηλ. **~7 mg ανά g αποβλήτου**, που αντιστοιχεί σε **0,7% σάκχαρα στο απόβλητο**. Είναι βέβαια λογικό να υπάρχουν ελάχιστα σάκχαρα σε αυτό τον τύπο αποβλήτου, αφού είναι διαλυτές ουσίες και σχεδόν όλα απομακρύνονται κατά την διαδικασία της φυγοκέντρωσης με τα υγρά απόβλητα του τριφασικού ελαιοτριβείου. Η τιμή αυτή είναι πολύ κοντά και με άλλες μελέτες (Vlyssides et al., 1998).



Σχήμα 6.9: Συγκέντρωση ποσότητας σακχάρων που περιέχονται στο εκχύλισμα

Βλέπουμε ότι στην αρχή της ανάπτυξης του μύκητα η συγκέντρωση των σακχάρων φαίνεται να έχει πτωτική τάση που μπορεί να οφείλεται στο ότι τα σάκχαρα αποτελούν εύκολο υπόστρωμα για το μύκητα (δηλ. άμεσα αφομοιώσιμο). Στην πραγματικότητα η συγκέντρωση των σακχάρων παραμένει πολύ χαμηλή καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος και πρακτικά σταθερή. Αυτό συμβαίνει γιατί η κυτταρίνη και η ημικυτταρίνη του αποβλήτου συνεχώς διασπώνται προς σάκχαρα από τα υδρολυτικά ένζυμα που παράγει ο μύκητας με κάποιο ρυθμό όπως τα παραγόμενα σάκχαρα καταναλώνονται σχεδόν άμεσα όταν παράγονται προκειμένου για την ανάπτυξη του μύκητα

7 ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Συμπεράσματα:

- Σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που πραγματοποιήθηκε, φαίνεται πως με τα **αποτελέσματα** που είχαμε η **ανάπτυξη** του μύκητα, *Pleurotus ostreatus*, σε στερεά απόβλητα ελαιοτριβείου ήταν **επιτυχής** και αρκετά ικανοποιητική.
- Πρέπει να σημειωθεί πως ο μύκητας αναπτύχθηκε **χωρίς την βοήθεια θρεπτικών ουσιών**. Ο μύκητας «μεγάλωσε» υπό αερόβιες συνθήκες σε υπόστρωμα 6gr στερεού αποβλήτου ελαιοτριβείου και υγρασία 70% περίπου, **χωρίς** να προστεθεί κάποια πηγή αζώτου, φωσφόρου ή βιταμίνες και ιχνοστοιχεία.
- Τελικά φαίνεται πως στις συνθήκες στις οποίες αναπτύχθηκε ο μύκητας ήταν αρκετά καλές αφού από την πρώτη κιόλας μέτρηση που έγινε δηλαδή την 8^η μέρα υπήρξε μία **σημαντική ανάπτυξη**, ενώ η **απόδοση βιομάζας ήταν πολύ υψηλή**.
- Όπως επίσης είναι εμφανής η **μείωση του ξηρού βάρους το αποβλήτου** σε κάθε δειγματοληψία.

Βλέπουμε πως η διαδικασία εκμετάλλευσης του αποβλήτου για παραγωγή μανιταριών μπορεί να είναι βιώσιμη, όχι μόνο επιτύχαμε σημαντική μείωση του όγκου του αποβλήτου αλλά επιπλέον πράχθηκε και χρήσιμη πρωτεΐνη μύκητα.

Επίσης πρέπει να τονιστεί ότι με βελτιστοποίηση υλικών και προσθήκη διαφόρων θρεπτικών υλικών στην ήδη υπάρχουσα πειραματική διαδικασία τα αποτελέσματα αναμένεται να είναι ακόμη καλύτερα.

Ως μελλοντική εργασία για πειραματική ανάπτυξη λοιπόν θα μπορούσε να προταθεί

- Η μελέτη του αποτελέσματος προσθηκης πηγής ανόργανου και οργανικού αζώτου (π.χ. νιτρικών και αμμωνίας ή ουρίας)
- Η μελέτη της επίδρασης της ρύθμισης του pH
- Η ανάπτυξη σε μεγαλύτερη κλίμακα με ψεκασμό για την παραγωγή σώματος μανιταριών κι όχι μόνο υφών (fruit bodies)
- Η κξαλλιέργεια σε μη αποστειρωμένες συνθήκες

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Arjona R., Garcia A., Ollero P., (1999). The drying of alpeorujo, a waste product of the olive oil mill industry. *Journal of Food Engineering* 41, 229-234
- Arvanitoyannis I. S., Kassaveti A. (2007) "Current and potential uses of composted olive oil waste" *International Journal of Food Science and Technology* 42, 281–295
- Badger, P.C. 2002. Ethanol from cellulose: A general review. p. 17–21. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA
- Cohen R., Persky L., Hadar Y. (2002) "Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*" *Appl Microbiol Biotechnol* 58:582–594
- Fengel D., Wegener G. (1983) Wood: Chemistry, Ultrastructure and Reactions, Berlin : Walter De Gruyter & Co
- Filippi C., Bedini S., Levi-Minzi R., Cardelli R., Saviozzi A. 71 (2002).Co-composting of olive oil mill by-products: Chemical and microbiological evaluations. *Compost Sci. Util.*, 10 (1), 63–68
- Frigon J.C, Guiot S.R. (2010) Biomethane production from starch and lignocellulosic crops: a comparative review *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 4, 447-458.
- Hill J. (2009) Environmental Costs and Benefits of Transportation Biofuel Production from Food- and Lignocellulose-Based Energy Crops: A Review Sustainable Agriculture 1, 125-139
- Kapellakis I.E., Konstantinos P., Tsagarakis Z, Crowther J.C. (2007) Olive oil history, production and by-product management" *Rev Environ Sci Biotechnol* 7:1–26
- Klass D. (1998) "Biomass for renewable energy,fuels and chemicals",Academic press California,USA
- Kumar R., Singh S., Singh O.V. (2008) "Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemicaland molecular perspectives" *J Ind Microbiol Biotechnol* 35, 377–391

- Niaounakis M., Halvadakis C.P. (2006). Olive processing waste management: Literature Review and Patent Survey. Elsevier Ltd
- Ntaikou I., Antonopoulou G. and Lyberatos G. (2010) Biohydrogen production from biomass and wastes via dark fermentation: a review. *Waste and Biomass Valorization* 1, 21-39.
- Market of Olive Residues (2008) Report, Regional Energy Agency of Central Macedonia (REACM)-ANATOLIKI S.A.ARE Liguria-Italy, UC Liguria-Italy, AGENER-Spain, IPTPO-Croatia, UP ZRSSlovenia
- Philippoussis A., Zervakis G, Diamantopoulou A. (2001) Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvaceae* and *Pleurotus ostreatus* *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 17, 191-200.
- Saha B.C. (2003) "Hemicellulose bioconversion" *LJ Ind Microbiol Biotechnol* 30, 279-291
- Sarikaya A and Ladisch M.R. (1999) Solid-state fermentation of lignocellulosic plant residues from *Brassica napus* by *Pleurotus ostreatus* *Applied Biochemistry and Biotechnology* 1, 1-15.
- Sarker, N.C., Hossain M.M., Sultana N., Mian I.H., Sirajul I.J.M., Karim M. and Ruhul Amin S.M. (2007) Effect of Different pH Levels on the Growth and Yield of *Pleurotus ostreatus* (Jacquin ex Fr.) Kummer. *Bangladesh J. Mushroom.* 1, 57-62.
- Sayadi S., Ellouz R. (1992) "Decolourization of olive mill waste-waters by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*:involvement of the lignin-degrading system" *Appl Microbiol Biotechnol* 37:813-817
- TDC olive/By-Product Resusing from olive and olive oil production "Setting up a network of Technology Dissemination Centres to optimise SMEs in the olive and olive oil sector"
- Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itavaara M. (1999) "Biodegradation of lignin in a compost environment: a review" *Bioresource Technology* 72, 169-183

- Vlyssides A.G., Loizidou M., Gimouhopoulos K., Zorpas A., (1998). Olive oil processing wastes production and their characteristics in relation to olive oil extraction methods. *Fresenius Envir. Bull.* 7, 308-313
- Vlyssides A.G., Loizides M., Karlis P.K., 2004. Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. *Journal of Cleaner Production* 12, 603-611
- Zhang Z.W., Jin B., Bai Z.H., Wang X.Y. (2008) "Production of fungal biomass protein using microfungi from winery wastewater treatment" *Bioresource Technology* 99 3871–3876

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αβέρης Α. (2010) "Η διαχείριση κασιόγαρου" Eco Olive Cleaner-Ημερίδα 2010
- Βουρδούμπας Γ. (2001) "Ανανεώσιμες πηγές ενέργειας και γεωργία, γεωργία κτηνοτροφία" Τεύχος 4, σελ.52
- Γιάννης Ματσατσίνης, (2004) "Προϊόντα επεξεργασίας ελαιοκάρπου" σελ. 138-139
- Καραγκούνη-Κύρτσου Α.Δ. (1999) "Μικροβιολογία" σελ.320 και 322
- Κυριακίδης Δ.Α., (2000). Βιοτεχνολογία, Εκδόσεις ΖΗΤΗ
- Μπαλατσούρας Γ. (2006) "Μικροβιολογία τροφίμων" σελ.233-234
- Μπλίκας Π.Σ. (2009) "Βιοτεχνολογικές μέθοδοι επεξεργασίας υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου" σελ.17,20-24
- Χαρτζουλάκης Κ. "Διαχείριση Αποβλήτων Ελαιουργείων Προβλήματα & Προοπτικές" ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. – Ινστιτούτο Ελιάς και Υποτροπικών Φυτών Χανίων Ημερίδα 2010
- Χατζηπαυλίδης Ι. (2010) "Επεξεργασία και διαχείριση αποβλήτων ελαιοτριβείων" Ημερίδα 2010
- Stryer L. (1997) Βιοχημεία (Μεταφρασμένο), Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης

ΠΗΓΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

[:http://www.moreintelligentenergy.eu/public/file/download/D%204_2%20GR.pdf](http://www.moreintelligentenergy.eu/public/file/download/D%204_2%20GR.pdf)

<http://news.pathfinder.gr/scitech/610120.html>

<http://cool.conservation-us.org/byorg/abbey/ap/ap04/ap04-4/ap04-402.html>

<http://ehp.niehs.nih.gov/docs/1993/101-3/innovations.html>

<http://ehp.niehs.nih.gov/docs/1993/101-3/innovations.html> “Lignin and Fungi”

<http://ehp.niehs.nih.gov/members/1995/Suppl-5/aust-full.html>

<http://elocus.lib.uoc.gr/dlib/8/b/4/metadata-dlib-2004xezonakis.tkl>

<http://www.cyprus.gov.cy>

<http://www.ecoolivecleaner.gr/>

<http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/547cellulose.html>

<http://www.envifriendly.tuc.gr/gr/docs/diplo/Navrozidis.pdf>

http://www.pieralisi.gr/inner/uploaded_files/file-58.pdf

<http://www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/FUNDAMNT/hemicel.htm>

<http://www.springerlink.com/content/2746227023428113/>

<http://www.springerlink.com/content/v123687537i78881/>

[http://www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Lucy_Goodeve
Docker bioremediation website/whiterotfungi.htm](http://www.world-of-fungi.org/Mostly_Mycology/Lucy_Goodeve_Docker_bioremediation_website/whiterotfungi.htm)

<http://www.xhmikos.gr/Maios98.htm> “Τα Πολλά Πρόσωπα της Κυτταρίνης”

<http://www.xhmikos.gr/Maios98.htm> “Χάρτινη Χημεία”