

Βιομάζα και Βιοενέργεια

Αποικοδόμηση Αγροτοβιομηχανικών Αποβλήτων για Παραγωγή Προϊόντων Υψηλής Προστιθέμενης Αξίας

Παραγωγή Πόσιμης και Ενεργειακής Αιθανόλης από Αγροτοβιομηχανικά Απόβλητα

- Ως πρώτες ύλες μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

Σταφίδα

Βύνη

Μελάσα

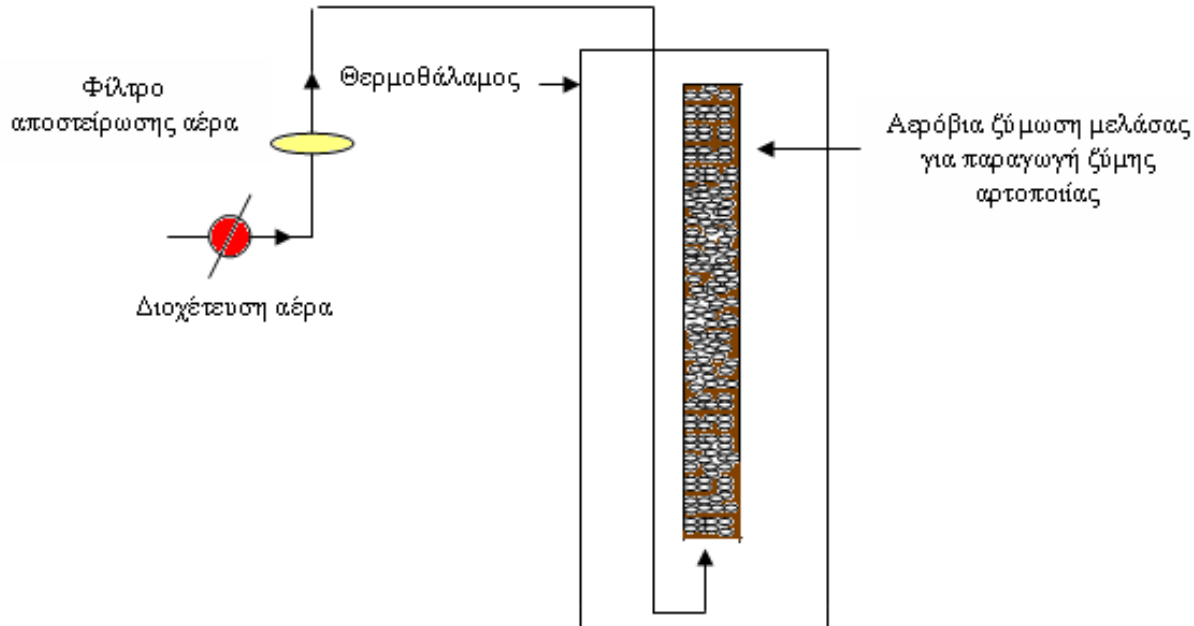
Αμυλούχες πρώτες ύλες

Τυρόγαλα

- Τα σάκχαρα αποικοδομούνται προς αιθανόλη από κατάλληλους μικροοργανισμούς (ανάλογα με την πρώτη ύλη) σε συστήματα ασυνεχούς ή συνεχούς λειτουργίας με ελεύθερα ή ακινητοποιημένα κύτταρα.
- Στη συνέχεια, ακολουθεί απόσταξη για παραλαβή της αιθανόλης.

Παραγωγή Μονοκυτταρικής Πρωτεΐνης (Single Cell Protein)

Από Μελάσα

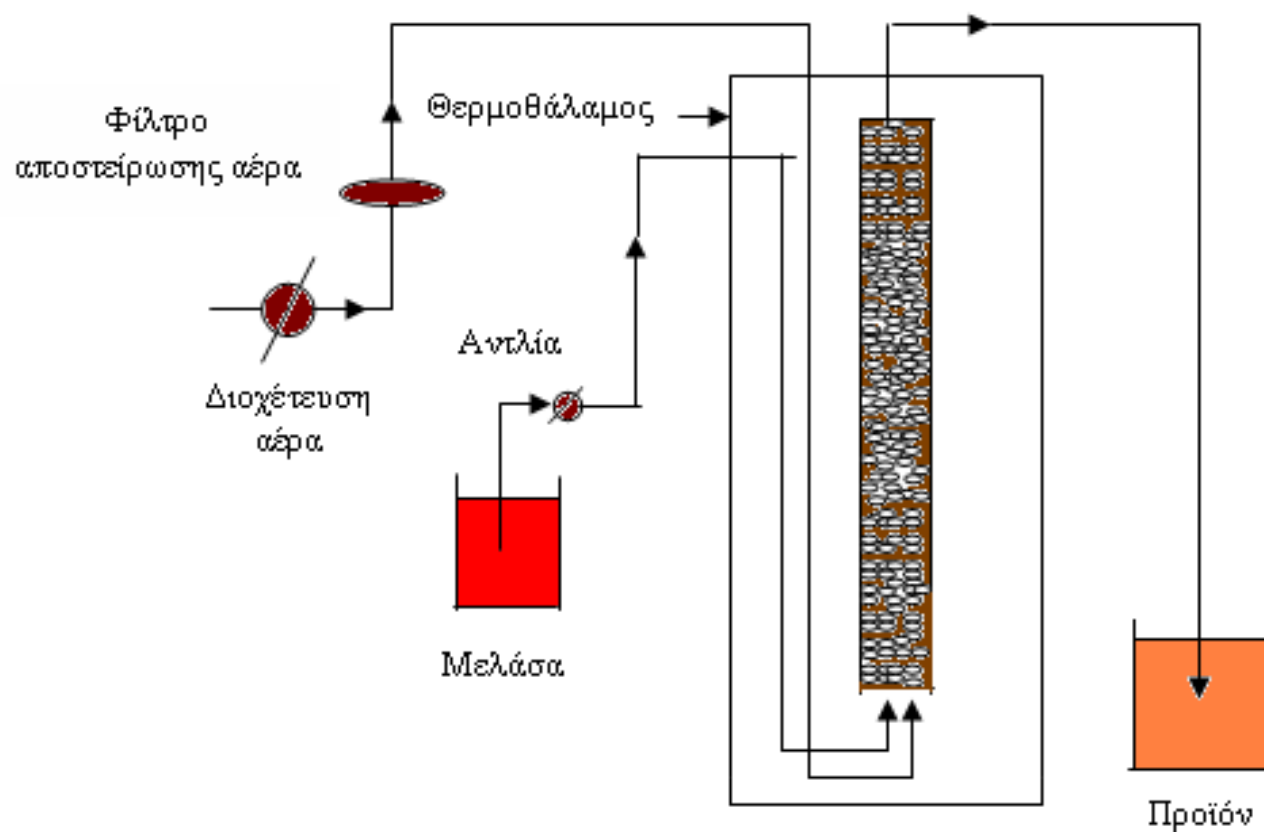


- Η μελάσα είναι παραπροϊόν της βιομηχανίας ζάχαρης.

- Περιέχει 80% ξηρά συστατικά. Η περιεκτικότητά της σε σουκρόζη είναι 50%.

Σχ. 82. Παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης από μελάσα.

- Στα συστήματα αερόβιας ζύμωσης πρέπει να προσεχθεί ο σχεδιασμός συστημάτων ψύξης του αντιδραστήρα λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται (εξ' αιτίας της αερόβιας ζύμωσης), οι οποίες δύναται να αναστείλλουν την ανάπτυξη των ζυμών.



Σχ. 83. Σύστημα συνεχούς αερόβιας παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης από μελάσα.

Συστήματα Αερόβιας Παραγωγής Βιομάζας

Πίνακας 6. Συστήματα αερόβιας παραγωγής μικροοργανισμών.

Σύστημα	Πρώτη ύλη/ σάκχαρο	Μικροοργα νισμός	Αναφορά
Ασυνεχούς λειτουργίας	Μελάσα	<i>S. cerevisiae</i>	Khan et al. 1995
	Μελάσα	<i>S. dastorianus</i>	Khan et al. 1995
	Μελάσα	<i>Candida utilis</i>	Lee & Kim, 2001
	Γλυκόζη	<i>Candida krusei</i>	Konlani et al. 1996
	Άμυλο	<i>S. lodgwii</i>	Khan et al. 1995
Συνεχούς λειτουργίας	Μελάσα	<i>Candida utilis</i>	Lawford et al. 1979
	Μελάσα	<i>Candida utilis</i>	Lee & Kim, 2001
	Φρουκτόζη	<i>Kluyveromyces fragilis</i>	Kim et al. 1998

Παραγωγή Μονοκυτταρικής Πρωτεΐνης από Υδρογονάνθρακες

- Είδη ζυμομυκήτων που προτάθηκαν για ζύμωση με θρεπτικό υλικό υδρογονάνθρακες είναι:

Torulopsis collisculosa

Candida utilis

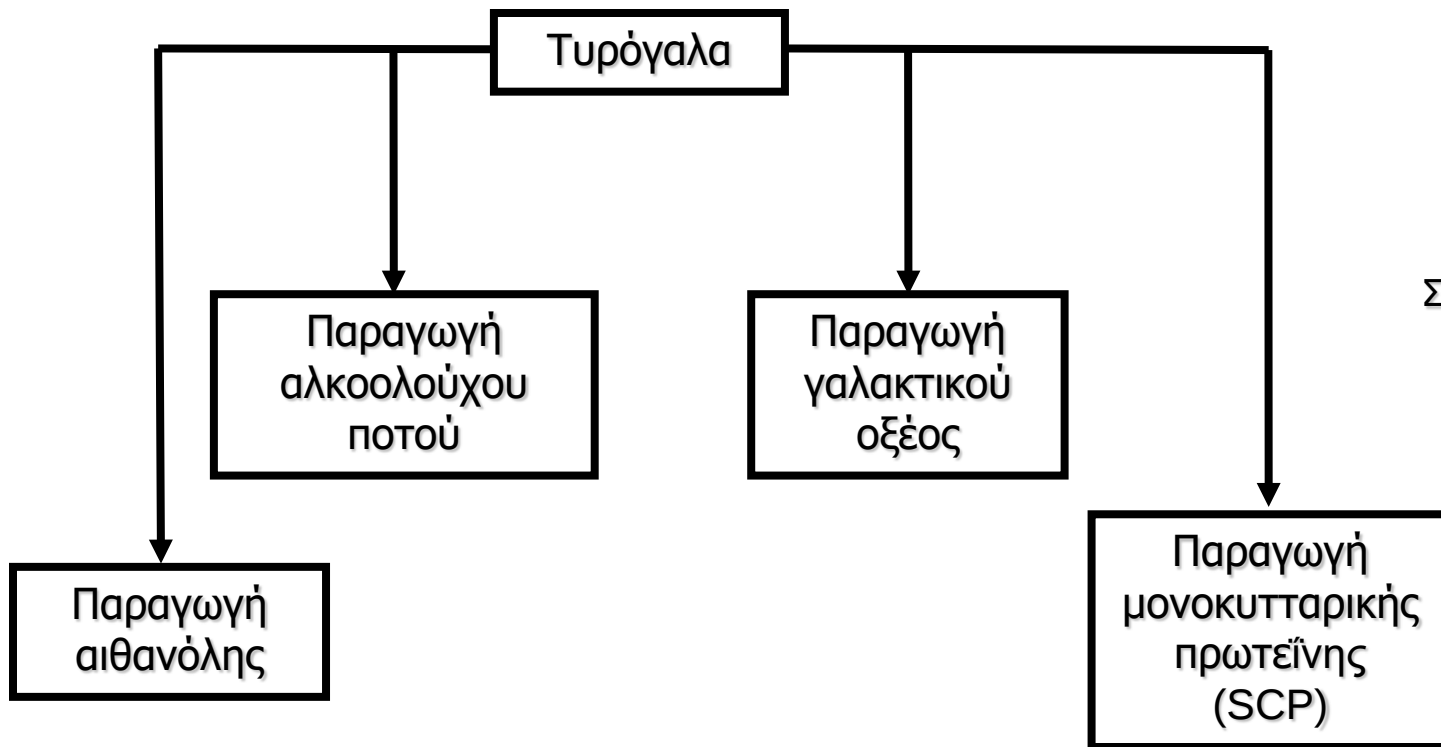
Candida lipolytica

Candida tropicalis

- Η ζύμωση γίνεται με συνεχή διαβίβαση αέρα. Προσοχή στη ρύθμιση του pH και στην ψύξη του αντιδραστήρα για τη διατήρηση της θερμοκρασίας στα επιθυμητά επίπεδα.

Το Τυρόγαλα

- Είναι το υγρό παραπροϊόν κατά την παρασκευή τυριού.
- Περιέχει κυρίως λακτόζη (5%), πρωτεΐνες (0.8%), λιπίδια (0.5%) και άλατα (κυρίως φωσφορικό ασβέστιο).
- Λόγω του υψηλού οργανικού φορτίου και των υψηλών ποσοτήτων που παράγονται, αποτελεί μεγάλο περιβαλλοντολογικό πρόβλημα.

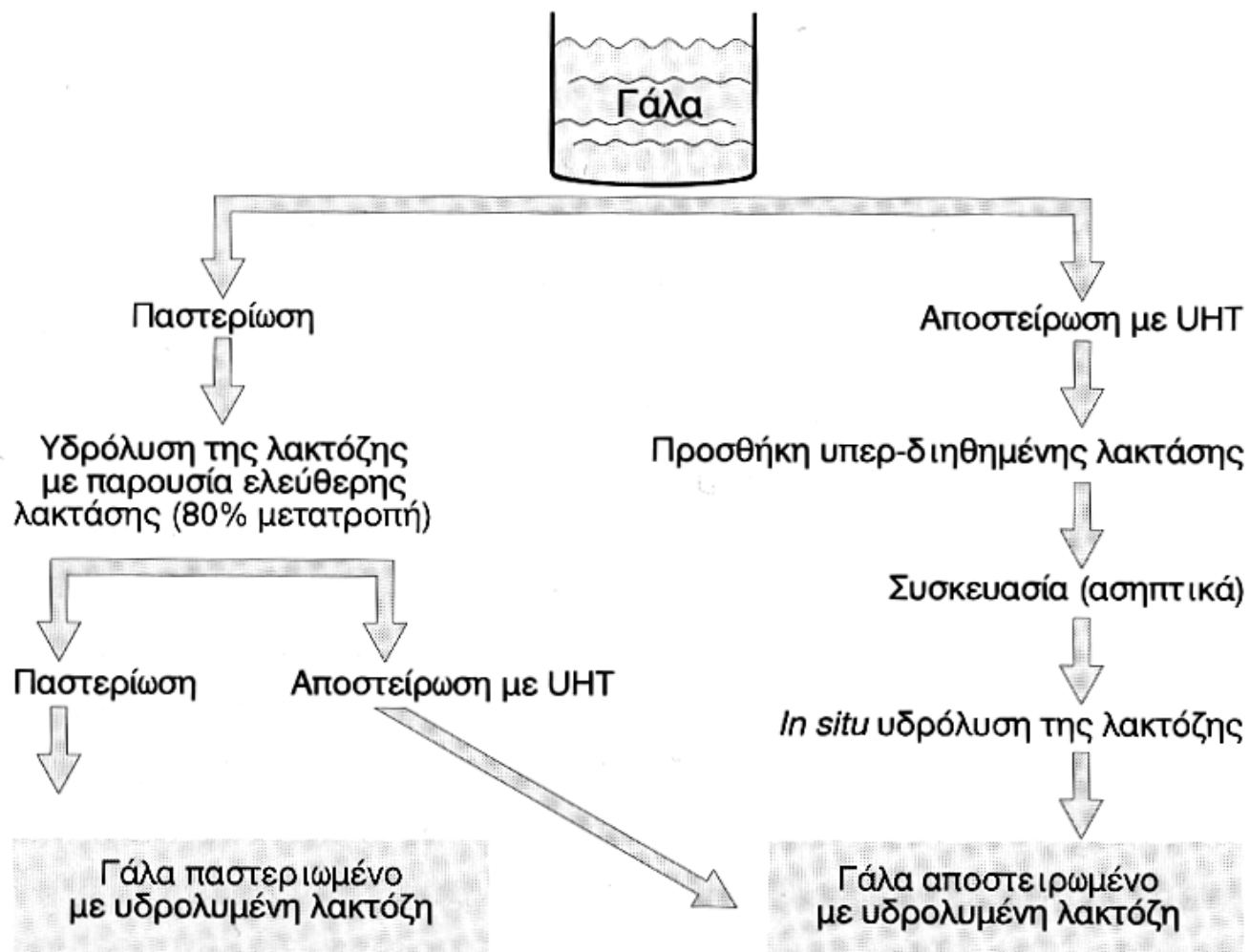


Σχ. 84 Αξιοποίηση τυρογάλακτος.

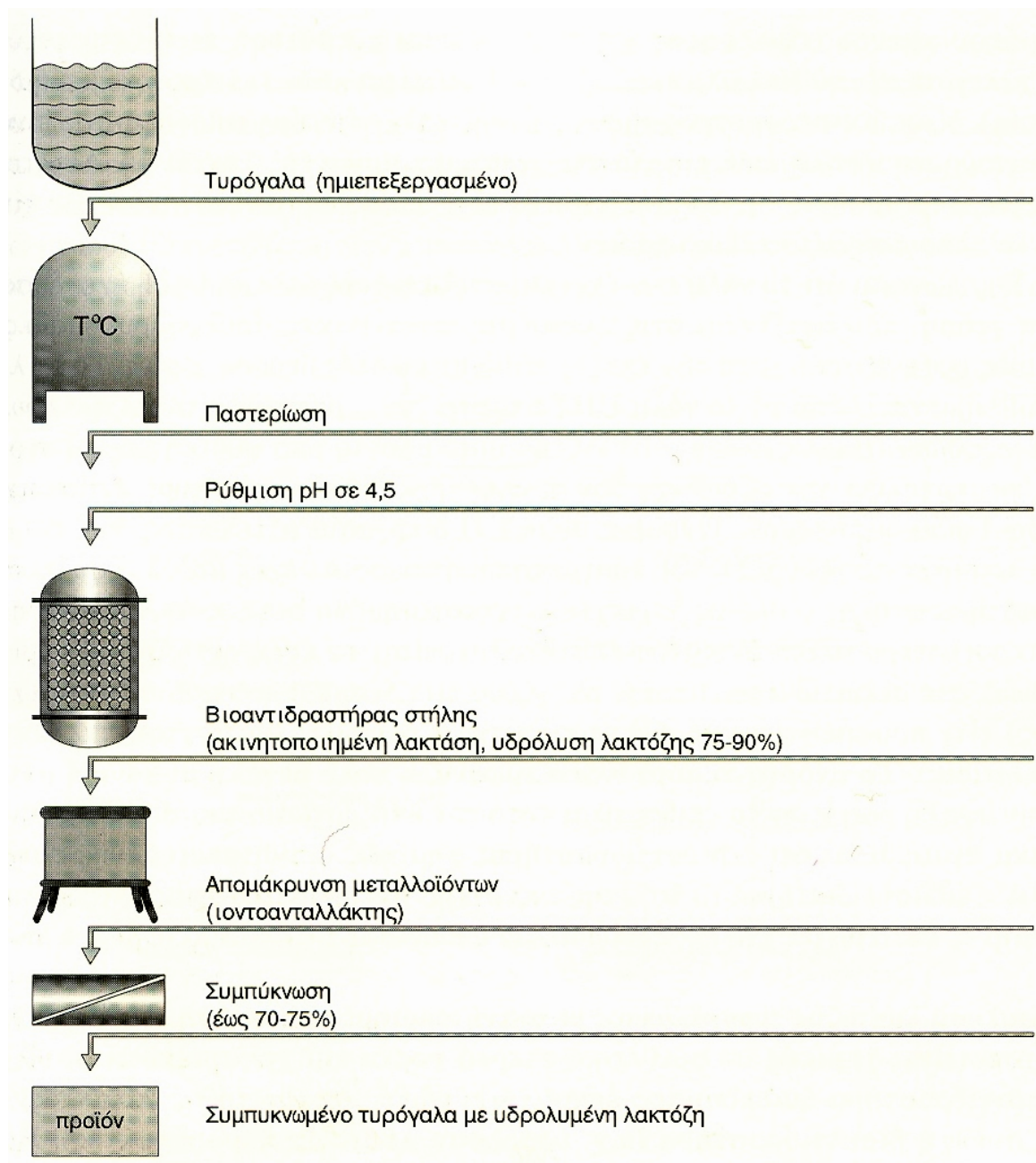
- Η λακτόζη [γαλακτόζη-β-(1,4)-γλυκόζη] είναι ο κύριος υδατάνθρακας του γάλακτος και αποτελεί το 50% των στερεών του αποβουτυρωμένου γάλακτος.
- Η υδρόλυση της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη είναι εφικτή από το ένζυμο β-γαλακτοσιδάση (λακτάση).
- Πηγές λακτάσης είναι πολλοί ζυμομύκητες (*Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces marxianus*, κλπ) και πολλοί μύκητες (*Aspergillus niger*, *A. oryzae*, κλπ).
- Το βέλτιστο pH δράσης του ενζύμου διαφέρει ανάλογα με την προέλευση (6-7 για ένζυμο προερχόμενο από ζυμομύκητες, 4-5 για ένζυμο προερχόμενο από μύκητες).

- Η υδρόλυση της λακτόζης του τυρογάλακτος (ή του γάλακτος) μπορεί να επιτευχθεί είτε **ασυνεχώς** ή με σύστημα **συνεχούς διεργασίας**.
- Η ασυνεχής διεργασία λαμβάνει χώρα σε αντιδραστήρα διαλλείποντος έργου με ελεύθερο ή ακινητοποιημένο ένζυμο, ενώ η συνεχής διεργασία σε βιοαντιδραστήρα στήλης με ακινητοποιημένο ένζυμο.
- Ένα πρόβλημα στο σύστημα συνεχούς διεργασίας είναι η μικροβιακή μόλυνση, καθώς η υδρόλυση πραγματοποιείται στους 30-40°C σε ουδέτερο pH.
- Το πρόβλημα αντιμετωπίζεται με υδρόλυση σε χαμηλή θερμοκρασία και στη συνέχεια αποστείρωση.
- Εάν χρησιμοποιηθεί ένζυμο από μύκητες, οπότε το pH της διεργασίας είναι ελαφρώς όξινο, τα προβλήματα της μικροβιακής μόλυνσης περιορίζονται.

- Σημειώνεται ότι το υδρολυμένο προϊόν είναι ακατάλληλο στην παρούσα του μορφή για προσθήκη σε τρόφιμα, λόγω παρουσίας μεταλλοϊόντων (K^+ , Mg^{2+} και Mn^{2+} αποτελούν ενεργοποιητές του ενζύμου και προστίθενται στο τυρόγαλα σε περίπτωση έλλειψης), τα οποία προσδίδουν δυσάρεστη γεύση.
- Η απομάκρυνση των μεταλλοϊόντων πραγματοποιείται με επεξεργασία με ιοντοανταλλάκτη.



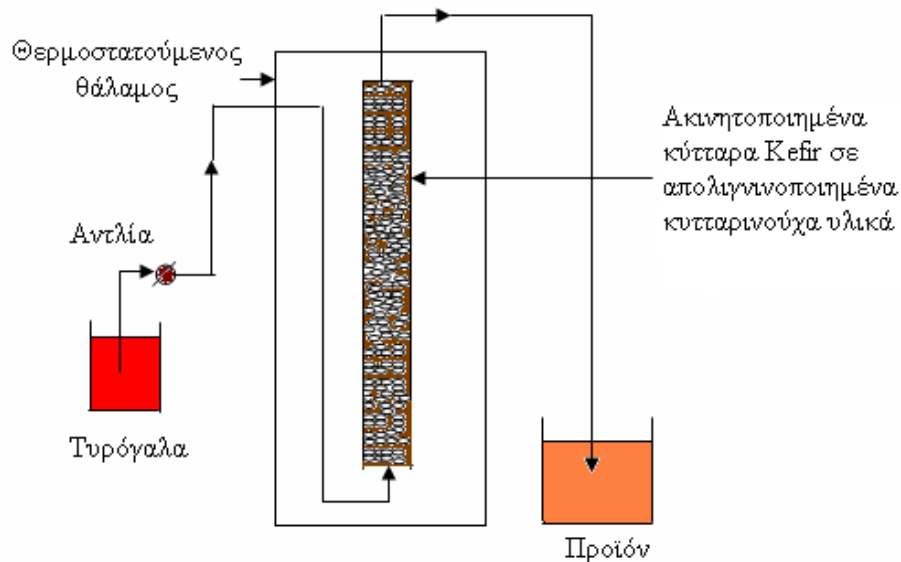
Σχ. 85. Στάδια παρασκευής γάλακτος με υδρολυμένη λακτόζη.



Σχ. 86. Στάδια παρασκευής συμπυκνωμένου τυρογάλακτος με υδρολυμένη λακτόζη.

Παραγωγή αιθανόλης από τυρόγαλα

- Μικροοργανισμοί που αποικοδομούν την λακτόζη του τυρογάλακτος σε αιθανόλη είναι ο *Kluyveromyces fragilis*, ο *Kluyveromyces marxianus*, η καλλιέργεια kefir, κλπ.
- Οι χαμηλές συγκεντρώσεις όμως της παραγόμενης αιθανόλης ($\approx 2.5\%$) είναι οικονομικά απαγορευτικές για απευθείας απόσταξη.
- Έτσι προτείνεται η χρήση συστημάτων συνεχούς λειτουργίας ή/και χρήση του ζυμωμένου τυρογάλακτος για αραίωση άλλων πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή αιθανόλης, π.χ. μελάσας.



Σχ. 87. Συνεχής παραγωγή αιθανόλης από τυρόγαλα.

Παραγωγή αλκοολούχου ποτού από τυρόγαλα

- Η ζύμωση τυρογάλακτος σε υψηλή θερμοκρασία (45°C) με ακινητοποιημένα κύτταρα του θερμόφιλου στελέχους *Kluyveromyces marxianus* σε απολιγνινοποιημένα κυτταρινούχα υλικά οδήγησε σε βελτίωση της ποιότητας και των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών (αρώματος) (Kourkoutas et al. 2002).
- Το ζυμωμένο τυρόγαλα αποτελεί πρώτη ύλη για παραγωγή ενός νέου, χαμηλού αλκοολικού βαθμού, το οποίο θα μπορούσε να παρασκευαστεί με προσθήκη πόσιμου οινοπνεύματος ή/και προσθήκη χυμών φρούτων.

Παραγωγή γαλακτικού οξέος από τυρόγαλα

Πίνακας 7. Συστήματα παραγωγής γαλακτικού οξέος με πρώτη ύλη το τυρόγαλα.

Σύστημα	Φορέας ακινητοποίησης	Μικροοργα νισμός	Αναφορά
Ελεύθερα		<i>L. casei</i>	Roukas & Kotsekidou, 1998
		<i>L. lactis</i>	Roukas & Kotsekidou, 1998
		<i>L. casei, L. lactis</i>	Yoo et al. 1996
		<i>L. brevis</i>	Elezi et al. 2003
Ακινητοποιημένα	Αλγινικό ασβέστιο	<i>L. casei</i>	Roukas & Kotsekidou, 1991
	Αλγινικό ασβέστιο	<i>L. lactis</i>	Roukas & Kotsekidou, 1991
	Αλγινικό ασβέστιο	<i>L. casei, L. lactis</i>	Roukas & Kotsekidou, 1991
	DC	<i>L. brevis</i>	Elezi et al. 2003

Παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης (SCP) από τυρόγαλα

- Η τεχνολογία παραγωγής βιομάζας από τυρόγαλα είναι παρόμοια με την αντίστοιχη παραγωγής βιομάζας από μελάσα.
- Η παραγωγή βιομάζας από τυρόγαλα εφαρμόζεται εμπορικά από το 1940. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η αερόβια παραγωγή ζυμών (*Kluyveromyces lactis*, *K. fragilis*, *Torulopsis bovina*) στη Γαλλία από τη βιομηχανία Fromageries Le Bel (González Siso, 1996).
- Η παραγόμενη ζύμη χρησιμοποιείται τόσο ως ζωοτροφή, όσο και ως πρόσθετο σε ανθρώπινες τροφές.
- Είναι εφικτή και η παραγωγή ζύμης αρτοποιίας από τυρόγαλα.
- Η λακτόζη υδρολύεται αρχικά από ακινητοποιημένη λακτάση και στη συνέχεια η γαλακτόζη και γλυκόζη μεταβολίζονται από τη ζύμη *S. cerevisiae* (Castillo, 1990).
- Επίσης, είναι δυνατή η ανάπτυξη στελεχών της ζύμης *Candida* με πρώτη ύλη το τυρόγαλα (Moulin & Galzy, 1984).

Εφαρμογές στην παραγωγή Ζωοτροφών

- Η χρησιμότητα ορισμένων ουσιών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ζωοτροφές, περιορίζεται από την ανικανότητα του ζώου να τις αφομοιώσει.
- Αν και πολλά δημητριακά εμφανίζουν υψηλή ενεργειακή αξία, μεγάλο μέρος των συστατικών βρίσκεται υπό μορφή μη αφομοιώσιμων πολυσακχαριτών (π.χ. β-γλυκανών).
- Η προσθήκη εξωγενών ενζύμων πραγματοποιείται είτε με μορφή κόκκων ή υπό μορφή ρευστού παρασκευάσματος με βάση το νερό.
- Καθώς το pH του στομάχου είναι πολύ όξινο ($\text{pH} \approx 2$), ενώ το pH του εντέρου είναι ≈ 6.5 , τα προστιθέμενα ένζυμα θα πρέπει να είναι ανθεκτικά σε πολύ όξινο περιβάλλον και να παρουσιάζουν βέλτιστο pH δραστηριότητας πλησίον του pH του εντέρου.
- Χαρακτηριστικό παράδειγμα εξωτερικής επεμβάσεως με ένζυμα στην εκτροφή των ζώων αποτελούν οι ζωοτροφές των πουλερικών.

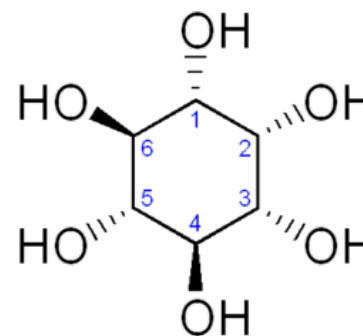
- Η τροφή των πουλερικών αποτελείται κατά κύριο λόγο από σιτάρι και αραβόσιτο.
- Για οικονομικούς λόγους επιδιώκεται η αντικατάσταση των παραπάνω δημητριακών από κριθάρι, που οδηγεί, όμως, σε μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και σε κολλώδη απόβλητα, με αποτέλεσμα την αύξηση του κινδύνου μολύνσεων.
- Τα αρνητικά αυτά φαινόμενα αποδίδονται στην υψηλή περιεκτικότητα του κριθαριού σε μη αφομοιώσιμους πολυσακχαρίτες (β -γλυκάνες με β -1,3 και β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς), οι οποίοι αποκτούν κολλώδη υφή στο έντερο.
- Επί πλέον, οι β -γλυκάνες επικαλύπτουν τα αμυλούχα και πρωτεϊνικά συστατικά της τροφής, δυσκολεύοντας την εκμετάλλευσή τους από τον οργανισμό.
- Η προσθήκη β -γλυκανασών στην ζωοτροφή οδηγεί σε υδρόλυση των β -γλυκανών και σε περιορισμό του προβλήματος.

Πίνακας 8. Επίδραση της παρουσίας β -γλυκανασών στην ζωοτροφή πουλερικών.

Βάση τροφής	Κατανάλωση (Α) (g/πουλερικό/μέρα)	Αύξηση βάρους (Β) (g/πουλερικό/μέρα)	Λόγος Α/Β
Σιτάρι	101	50	2,0
Κριθάρι	91	41	2,2
Κριθάρι και β -γλυκανάσες (0,1%)	96	50	1,9

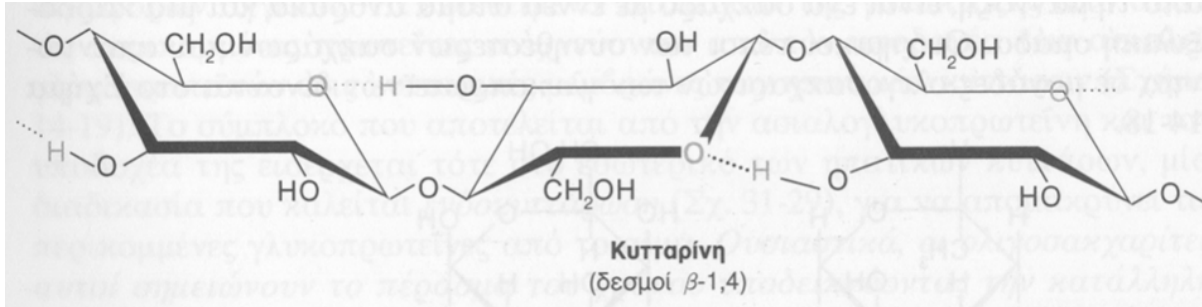
- Οι αμυλάσες και οι πρωτεάσες βρίσκουν εφαρμογή ως πρόσθετα σε ζωοτροφές χοίρων, καθώς η συγκέντρωση των αντίστοιχων ενδογενών ενζύμων είναι χαμηλή κατά τη γαλουχία.
- Στα δημητριακά, το μεγαλύτερο ποσοστό (>50%) του φωσφόρου βρίσκεται δεσμευμένο με τη μορφή εξαφωσφορικής ινοσιτόλης.

Σχ. 88. Χημική δομή ινοσιτόλης.



- Συνεπώς, οι 6 φωσφορικές ομάδες δεν είναι βιολογικά διαθέσιμες στα μη μηρυκαστικά ζώα, τα οποία στερούνται των ενζύμων φυτασών που αποσπούν τις φωσφορικές ομάδες από τον δακτύλιο της ινοσιτόλης.
- Στα μηρυκαστικά ζώα η διάσπαση της εξαφωσφορικής ινοσιτόλης επιτυγχάνεται από τον μικροβιακό πληθυσμό τους.
- Επιπλέον, η εξαφωσφορική ινοσιτόλη δεσμεύει μέσω των φωσφορικών ομάδων μεταλλοϊόντα (ασβέστιο, μαγνήσιο, ψευδάργυρο, σίδηρο, μαγγάνιο) απαραίτητα για τον οργανισμό.
- Η προσθήκη εξωγενών φυτασών σε ζωοτροφές πουλερικών περιορίζει τα παραπάνω προβλήματα.
- Κύρια πηγή φυτασών είναι ο μύκητας *Aspergillus ficuum*.
- Έκφραση του γονιδίου της φυτάσης από *Aspergillus niger* σε σπόρους καπνού απέδωσε 1% ενζύμου επί της συνολικής πρωτεΐνης.

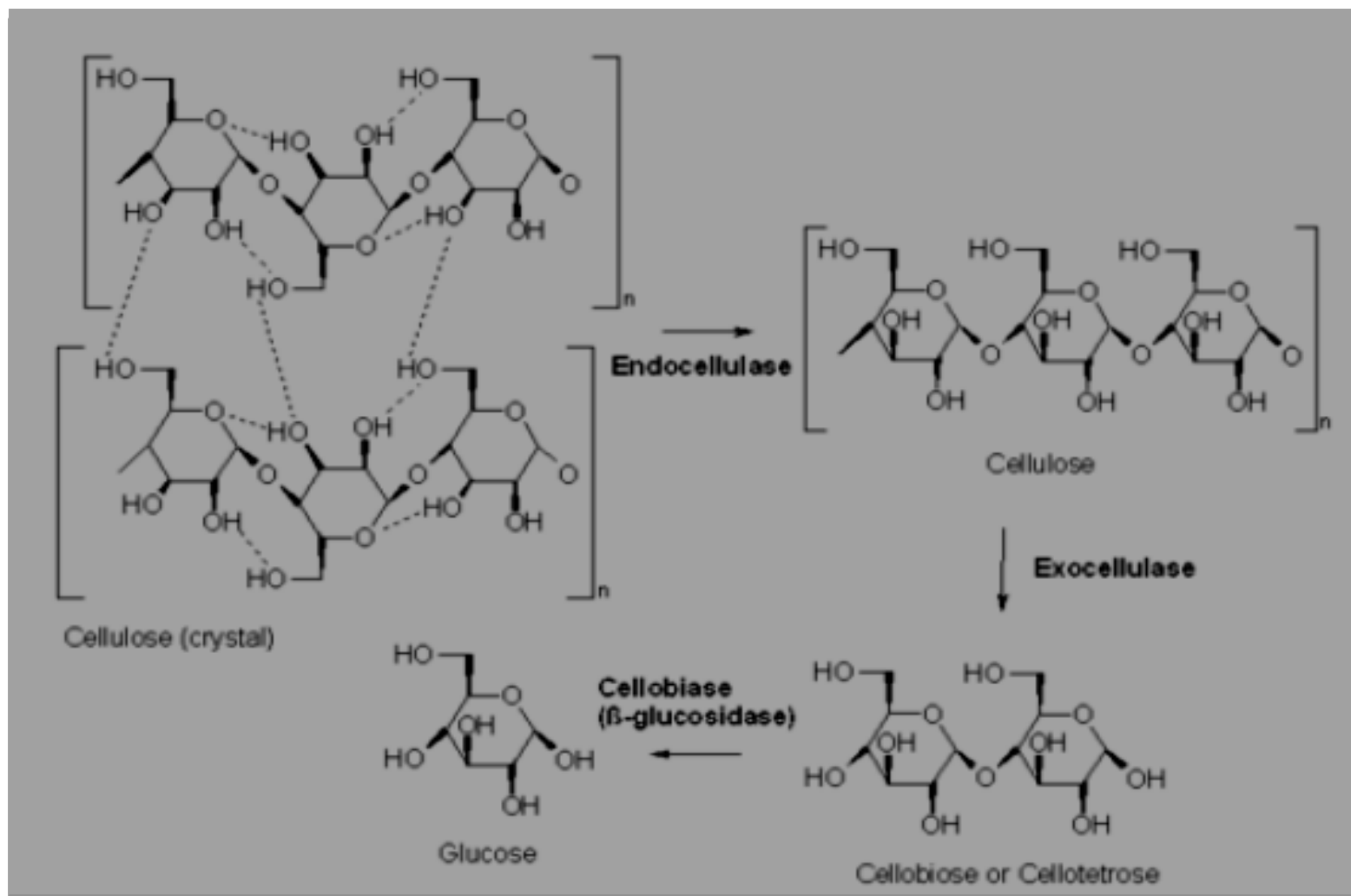
Αξιοποίηση Κυτταρινούχων Υλών για Παραγωγή Βιοαιθανόλης



Σχ. 89. Δομή κυτταρίνης.

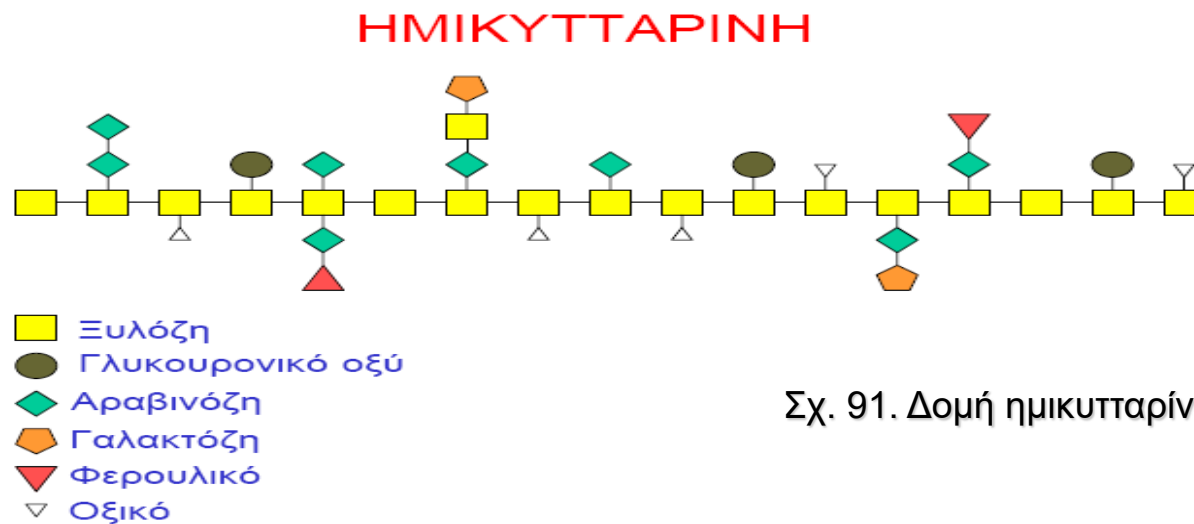
• Η **κυτταρίνη** είναι πολύ διαδεδομένη στη φύση. Αποτελεί το κύριο συστατικό των κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών.

- Είναι πολυμερές γλυκόζης με β -1,4-γλυκοζιτικούς δεσμούς.
- Η αποικοδόμησή της προς γλυκόζη έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας πολλών επιστημόνων. Η αποικοδόμηση μπορεί να επιτευχθεί με ένζυμα όπως:
 - Ένδο- β -1,4-γλυκανάσες. Υδρολύουν εσωτερικούς β -1,4- γλυκοζιτικούς δεσμούς.
 - Εξω- β -1,4-γλυκανάσες. Υδρολύουν κυτταρίνη προς δισακχαρίτες.
 - β -γλυκοσιδάσες. Υδρολύουν ολιγοσακχαρίτες της κυτταρίνης προς γλυκόζη.



Σχ. 90. Ενζυματική διάσπαση κυτταρίνης.

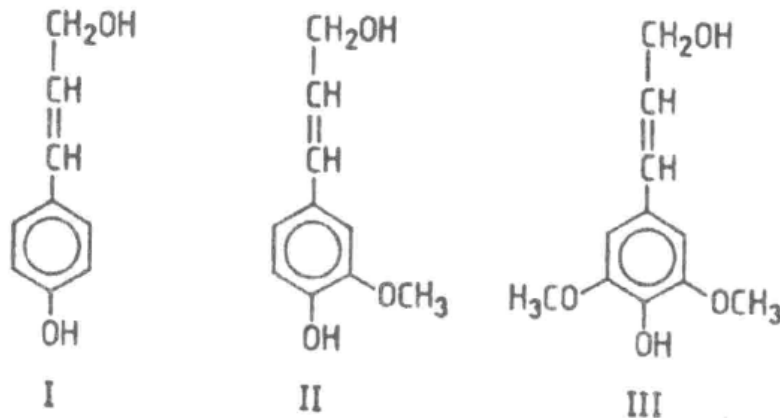
- Η **ημικυτταρίνη** είναι ένας άλλος πολυσακχαρίτης που απαντάται στα φυτά.
- Είναι γραμμικό, διακλαδιζόμενο βιοπολυμερές με μικρότερο βαθμό πολυμερισμού από την κυτταρίνη (200 με 300 δομικές μονάδες).
- Αποτελείται από περισσότερες από μία διαφορετικές δομικές μονάδες, κυρίως σάκχαρα, αλλά και ανυδρίτες ουρονικών οξέων.
- Οι μονοσακχαρίτες που αποτελούν την ημικυτταρίνη είναι κυρίως οι D-ξυλόζη, D-μαννόζη, L-ραμνόζη, D-γαλακτόζη, L-αραβινόζη, D-γλυκορουνικό οξύ, D-γαλακτουρονικό οξύ.
- Η ημικυτταρίνη δεν απαντάται μόνη της στη φύση, αλλά πάντα μαζί με την κυτταρίνη και τη λιγνίνη.



Σχ. 91. Δομή ημικυτταρίνης.

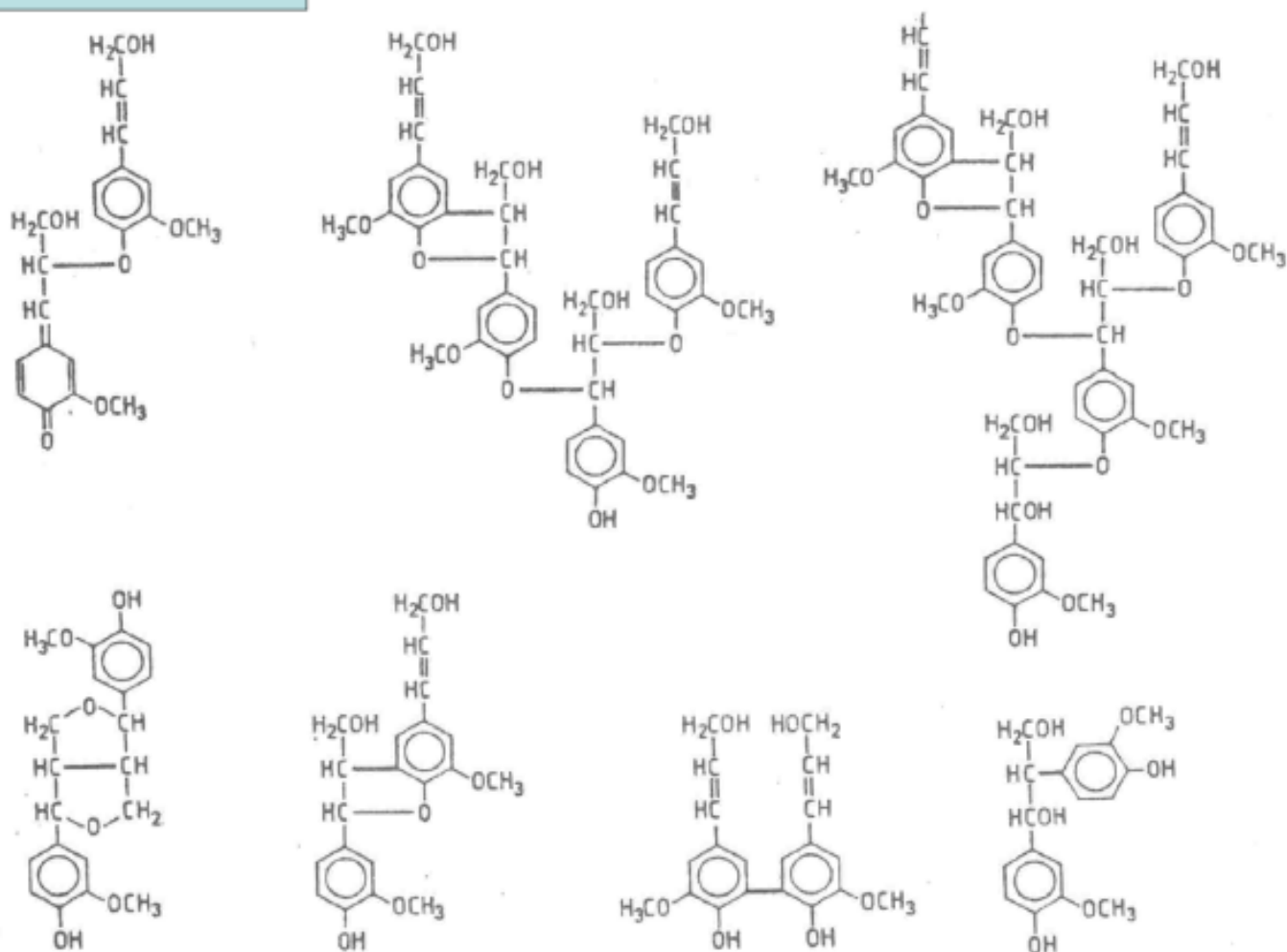
- Η **λιγνίνη**, είναι πολυμερές, όχι όμως μονοσακχαριτών, αλλά μονάδων φαινυλοπροπανίου.
- Στο φυτό δρα ως συγκολλητική ύλη παρεμβαλλόμενη ανάμεσα στις αλυσίδες της κυτταρίνης και της ημικυτταρίνης.
- Η σκληρότητα ενός ξύλου αυξάνει παράλληλα με το ποσοστό της λιγνίνης σε αυτό.
- Η ύπαρξη της λιγνίνης στην προς αποικοδόμηση πρώτη ύλη παρεμποδίζει την υδρόλυση, διότι δυσκολεύει την προσβολή των αλυσίδων των πολυσακχαριτών.

Τα **φαινυλοπροπάνια** της λιγνίνης



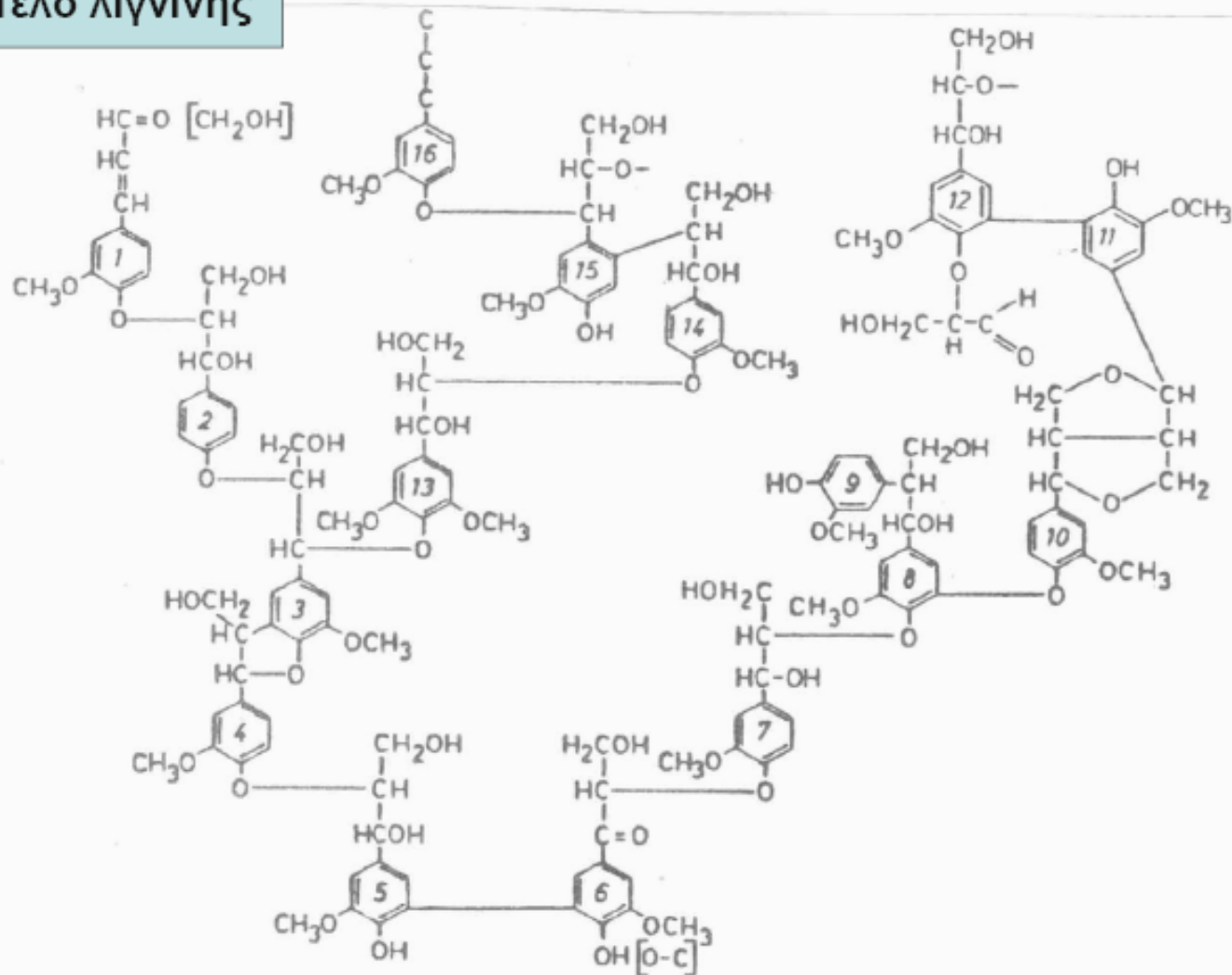
Σχ. 92. Τα φαινυλοπροπάνια της λιγνίνης.

Μέρη της Λιγνίνης



Σχ. 93. Δομικές μονάδες της λιγνίνης.

Μοντέλο λιγνίνης



Σχ. 94. Δομή λιγνίνης.

- Για το λόγο αυτό, η προκατεργασία της πρώτης ύλης στοχεύει στην απομάκρυνσή της από τις ίνες.

- Η υδρόλυση των πολυσακχαριτών μπορεί να γίνει είτε:

A. Με χημικά μέσα, όπως είναι η όξινη (παρουσία πυκνού ή αραιού οξέος) και η αλκαλική υδρόλυση, είτε

B. Με βιολογική μέθοδο.

- Οι τελευταίες μέθοδοι περιλαμβάνουν τη δράση ενζύμων που παράγονται από διάφορους μικροοργανισμούς (μύκητες ή βακτήρια).

Μέθοδοι Προκατεργασίας

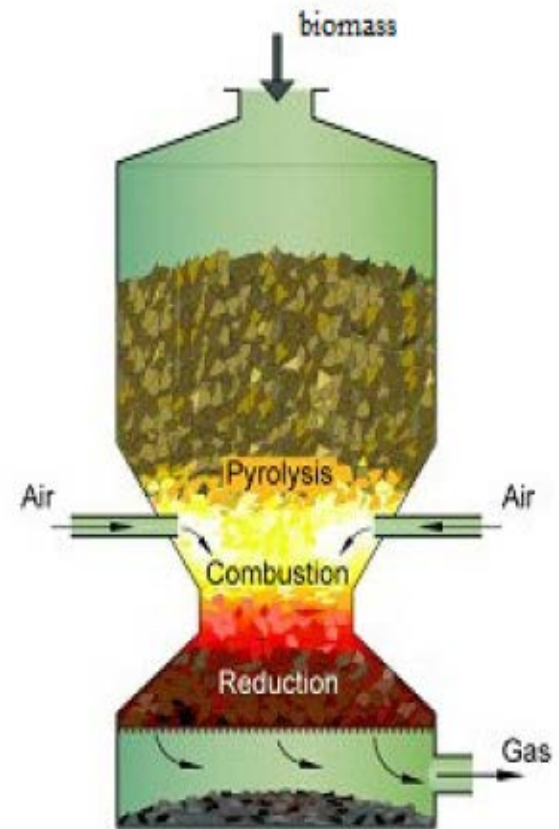
- Αφορούν την κατεργασία της βιομάζας με στόχο την σακχαροποίηση πριν την αλκοολική ζύμωση. Οι σημαντικότερες είναι:

1. Μηχανική ελάττωση μεγέθους

- Πραγματοποιείται με τη χρήση μηχανικών μεθόδων ελάττωσης μεγέθους, όπως είναι η κοπή και η άλεση.
- Στόχος της είναι η μείωση της κρυσταλλικότητας της κυτταρίνης, γεγονός που την κάνει πιο ευπρόσβλητη στην υδρόλυση.
- Το μέγεθος των σωματιδίων μετά την κοπή είναι περίπου 10-30mm, και μετά την άλεση 0.2-2.0mm.

2. Πυρόλυση

- Όταν η πρώτη ύλη επεξεργαστεί σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 300°C, η κυτταρίνη αποσυντίθεται ταχύτατα σε αέρια προϊόντα.
- Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες παράγονται λιγότερα πτητικά υλικά και με πιο χαμηλούς ρυθμούς.
- Αν προστεθεί Na_2CO_3 ή ZnCl_2 ως καταλύτης, η αποικοδόμηση της κυτταρίνης μπορεί να γίνει και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.



Σχ. 95. Βιοαντιδραστήρας πυρόλυσης.

3. Εκτόνωση ατμού ή αυτοϋδρόλυση

- Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, τεμαχισμένη βιομάζα επεξεργάζεται με κορεσμένο ατμό υψηλής πίεσης.
- Στη συνέχεια η πίεση ελαττώνεται απότομα και το υλικό υπόκεινται σε μια “εκρηκτική” εκτόνωση.
- Η αυτοϋδρόλυση πραγματοποιείται συνήθως σε θερμοκρασία μεταξύ 160-260°C (η αντίστοιχη πίεση είναι 0.69-4.83MPa) και σε χρόνο από αρκετά secs μέχρι λίγα mins (ανάλογα με τη θερμοκρασία) προτού εκτεθεί σε ατμοσφαιρική πίεση.
- Η διεργασία προκαλεί την αποικοδόμηση της ημικυτταρίνης και μέρους της λιγνίνης, αυξάνοντας τη δυνατότητα για υδρόλυση της κυτταρίνης.

4. Κατεργασία με θερμό νερό

- Η πρώτη ύλη επεξεργάζεται με νερό σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση (170-230°C), με αποτέλεσμα τη διαλυτοποίηση και απομάκρυνση της ημικυτταρίνης και τη διάσπαση του πλέγματος κυτταρίνης-λιγνίνης.

5. Εκτόνωση με αμμωνία

- Η βιομάζα επεξεργάζεται με υγρή αμμωνία σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση για κάποιο διάστημα και στη συνέχεια η πίεση μειώνεται γρήγορα.
- Η δόση υγρής αμμωνίας είναι 1-2kg NH_3 /kg ξηρής βιομάζας.
- Η διεργασία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί με καλά αποτελέσματα για πλήθος λιγνινοκυτταρινούχων υλικών, όπως είναι άχυρα δημητριακών (σιτάρι, κριθάρι, ρύζι) και αστικά απόβλητα.
- Γενικότερα, έχει αρκετά καλές αποδόσεις (90% υδρόλυση) για πρώτες ύλες με χαμηλή σχετικά περιεκτικότητα σε λιγνίνη (<15-20%), ενώ η απόδοση μειώνεται όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα της λιγνίνης (40-50% υδρόλυση σε εφημερίδες).
- Για να ελαττωθεί το κόστος παραγωγής και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις, πρέπει η αμμωνία που χρησιμοποιείται να ανακυκλώνεται.

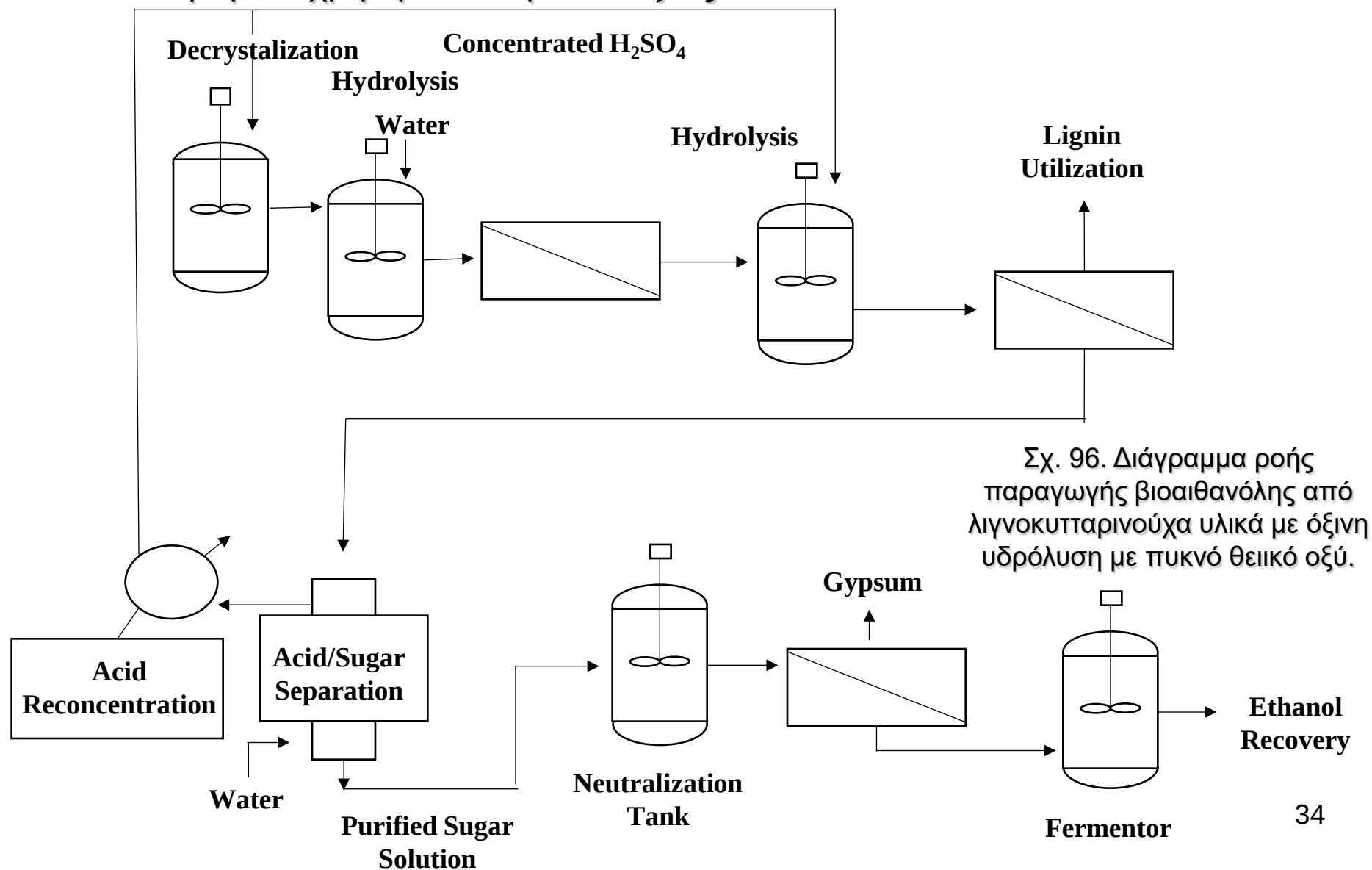
6. Οζονόλυση

- Το όζον μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποικοδόμηση της λιγνίνης και της ημικυτταρίνης από μια πληθώρα λιγνινοκυτταρινούχων υλικών, όπως άχυρο σιταριού και βαμβακιού, αλλά και πριονίδι από λεύκα.
- Ωστόσο, τα αποτελέσματα έδειξαν πως η αποικοδόμηση περιορίζεται στη λιγνίνη και σε πολύ μικρό βαθμό στην ημικυτταρίνη, ενώ η κυτταρίνη δεν διασπάται.
- Τα πλεονεκτήματα της οζονόλυσης συνοψίζονται στην απομάκρυνση της λιγνίνης, στη μηδενική παραγωγή τοξικών παραπροϊόντων για τις διεργασίες που θα ακολουθήσουν, ενώ μπορεί να εκτελεστεί και σε συνήθεις συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης.
- Οι μεγάλες ποσότητες όζοντος, όμως, που απαιτούνται αυξάνουν κατά πολύ το κόστος.

7. Όξινη Υδρόλυση

- Πυκνά οξέα, όπως το θειικό και το υδροχλωρικό έχουν χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία λιγνινοκυτταρινούχων υλικών.
- Το οξύ επιδρά στους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των αλυσίδων κυτταρίνης, καταστρέφοντας ολοκληρωτικά την κρυσταλλικότητά της.
- Στη συνέχεια, η κυτταρίνη δημιουργεί με το οξύ ένα gel που είναι πολύ ευάλωτο στην υδρόλυση.
- Έτσι, αραιώνοντας το διάλυμα με προσθήκη νερού έχουμε σχεδόν ποσοτική υδρόλυση της κυτταρίνης σε γλυκόζη.
- Ωστόσο, η χρήση συμπυκνωμένων οξέων δημιουργεί την απαίτηση για υλικά κατασκευής των αντιδραστήρων που να είναι ανθεκτικά στη διάβρωση.

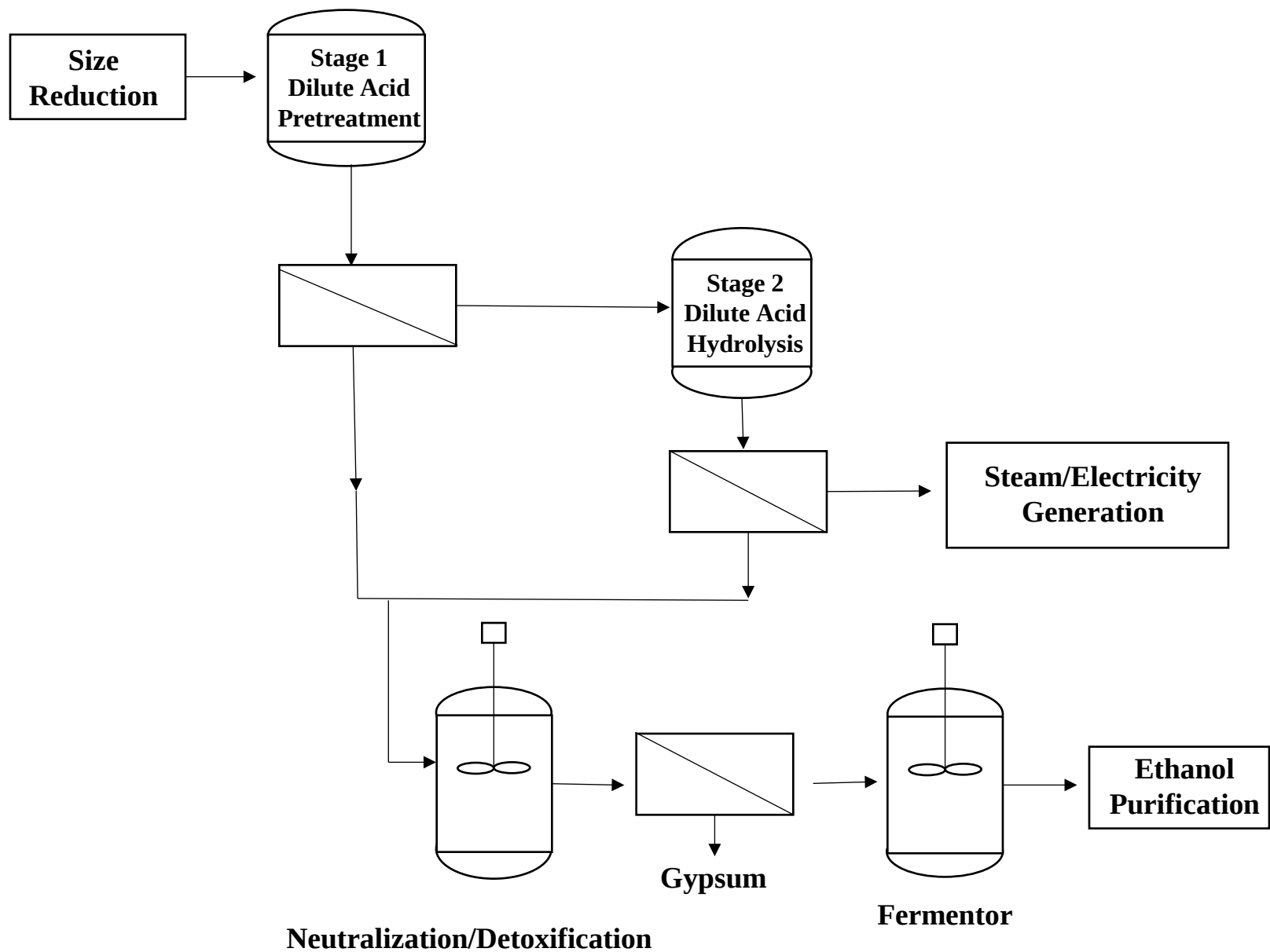
- Επίσης, για να μειωθεί το κόστος της διεργασίας πρέπει να προβλέπεται ανάκτηση του χρησιμοποιούμενου οξέος.



Σχ. 96. Διάγραμμα ροής παραγωγής βιοαιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχα υλικά με όξινη υδρόλυση με πυκνό θειικό οξύ.

- Η βιομηχανική εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι αρκετά δύσκολη, λόγω του μεγάλου κόστους της εγκατάστασης και της λειτουργίας.
- Η υδρόλυση με **αραιό οξύ** είναι σαφώς περισσότερο αναπτυγμένη.
- Αποτελεί την παλαιότερη τεχνολογία για τη μετατροπή βιομάζας σε αιθανόλη.
- Γενικά, υπάρχουν δύο τύποι τέτοιας διεργασίας:
 - A. Συνεχής διεργασία σε υψηλή θερμοκρασία ($>160^{\circ}\text{C}$) για χαμηλές συγκεντρώσεις στερεών στην είσοδο (6-10%), και
 - B. Ασυνεχής διεργασία σε χαμηλή θερμοκρασία ($<160^{\circ}\text{C}$) για υψηλό φορτίο σε στερεά (10-40%).

- Οι υψηλές θερμοκρασίες ευνοούν την αποικοδόμηση της κυτταρίνης, ενώ σε πιο ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας αυξάνεται η παραγωγή ξυλόζης.
- Σε πιο έντονες συνθήκες, η ξυλόζη διασπάται σε άλλα ανεπιθύμητα παραπροϊόντα.
- Μπορεί ακόμα να εφαρμοστεί ένας συνδυασμός συνθηκών με δύο στάδια:
 1. Ένα πιο ήπιο αρχικό, στο οποίο έχουμε υδρόλυση της ημικυτταρίνης, και
 2. Ένα δεύτερο στάδιο, με πιο έντονες συνθήκες στο οποίο υδρολύεται σε γλυκόζη η πιο ανθεκτική κυτταρίνη.



Σχ. 97. Διάγραμμα ροής διεργασίας παραγωγής βιοαιθανόλης από λιγνοκυτταρινούχα υλικά με προκατεργασία με αραιή όξινη υδρόλυση.

8. Αλκαλική Υδρόλυση

- Εκτός από οξέα, για την προκατεργασία κυτταρινούχου βιομάζας μπορούν να χρησιμοποιηθούν και βάσεις.
- Ο μηχανισμός της αλκαλικής υδρόλυσης εικάζεται ότι είναι η σαπωνοποίηση των διαμοριακών εστερικών δεσμών που συνδέουν την ημικυτταρίνη με άλλα στοιχεία, όπως τη λιγνίνη και την κυτταρίνη.
- Έτσι, αυξάνει το πορώδες της πρώτης ύλης.
- Επεξεργασία με αραιό NaOH προκάλεσε διόγκωση σε λιγνινοκυτταρινούχα υλικά, αυξάνοντας την εσωτερική ενεργό επιφάνεια, μείωσε τον βαθμό πολυμερισμού και την κρυσταλλικότητα, διαχώρισε τη λιγνίνη από τους υδατάνθρακες, και επέδρασε στη δομή της λιγνίνης.
- Τα αποτελέσματα της αλκαλικής υδρόλυσης εξαρτώνται άμεσα από το ποσοστό της λιγνίνης στην πρώτη ύλη.

9. Βιολογική Αποικοδόμηση

Υδρόλυση κυτταρίνης

- Οι συνθήκες στις οποίες λαμβάνει χώρα η διεργασία της ενζυμικής υδρόλυσης είναι αρκετά ήπιες (περίπου 50°C για θερμοφίλους και 28°C για μεσόφιλους οργανισμούς και pH περίπου 4.8).
- Κυτταρινάσες παράγονται από ποικιλία μικροοργανισμών, αερόβιους και αναερόβιους, μεσόφιλους και θερμοφίλους.
- Βακτήρια που παράγουν συστήματα κυτταρινολυτικών ενζύμων είναι αυτά που ανήκουν στα γένη *Clostridium*, *Cellulomonas*, και *Bacillus*, ενώ κάποιοι από τους μύκητες που παράγουν τα απαιτούμενα συστήματα ενζύμων ανήκουν στα γένη *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Schizophyllum*, και *Penicillium*.

Παράγοντες που επηρεάζουν την ενζυμική υδρόλυση της κυτταρίνης

1. Το υπόστρωμα

- Η αναλογία του υποστρώματος ως προς το ένζυμο είναι ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση και τον αρχικό ρυθμό της ενζυμικής υδρόλυσης της κυτταρίνης.
- Σε χαμηλά επίπεδα υποστρώματος, μια αύξηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος θα οδηγήσει σε μεγαλύτερη απόδοση και ρυθμό υδρόλυσης.
- Ωστόσο, υψηλές συγκεντρώσεις υποστρώματος μπορεί να οδηγήσουν σε παρεμπόδιση της διεργασίας, γεγονός που μειώνει τον ρυθμό της υδρόλυσης.
- Επίσης, η προεπεξεργασία που έχει υποστεί το υπόστρωμα πριν από την υδρόλυση επηρεάζει σαφώς την ικανότητά του να υδρολυθεί.
- Έχει βρεθεί πως η κρυσταλλικότητα των ινών της κυτταρίνης επιδρά αρνητικά στην ευπροσβλητότητά τους.

2. Τα ένζυμα

- Αύξηση της δοσολογίας των κυτταρινασών είναι δυνατόν να αυξήσει τον ρυθμό και την απόδοση της υδρόλυσης, ως ένα βαθμό.

- Όμως, κάτι τέτοιο θα αύξανε σημαντικά το κόστος της διεργασίας.

- Η υδρόλυση της κυτταρίνης περιλαμβάνει τρία στάδια:

A. Το ένζυμο προσροφάται στην επιφάνεια της κυτταρίνης,

B. Στη συνέχεια αποικοδομεί την κυτταρίνη, και

Γ. Τέλος εκροφάται.

- Η μείωση της δραστηριότητας των ενζύμων που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της υδρόλυσης οφείλεται σε μη αντιστρεπτή προσρόφηση του ενζύμου στην κυτταρίνη.

- Για τον περιορισμό αυτού του φαινομένου χρησιμοποιούνται συχνά τασιενεργές ουσίες.

- Η ενεργότητα των ενζύμων εξαρτάται άμεσα από την ικανότητα αυτών να προσροφώνται στο υπόστρωμα.
- Έτσι, η χρήση ενζύμων με βελτιωμένη αυτή την ικανότητα μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερες αποδόσεις και ρυθμούς.
- Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση μίγματος ενζύμων από διαφορετικούς μικροοργανισμούς, καθώς και με μίγματα κυτταρινασών με πηκτινάσες ή ημικυτταρινάσες.
- Επιπλέον, πρέπει να προσεχθούν και οι συνθήκες μέσα στον αντιδραστήρα (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση υποστρώματος, διατμητικές τάσεις, ιοντική ισχύς), καθώς μπορεί να προκαλέσουν απενεργοποίηση των ενζύμων.
- Πρέπει, επίσης, να αποφευχθεί η παρουσία άλλων παρεμποδιστών, εκτός της γλυκόζης και της κελλοβιόζης, στο υπόστρωμα.
- Ακόμα, ο ρυθμός και η απόδοση της σακχαροποίησης μπορεί να βελτιωθούν αν εφαρμοστεί επιτυχώς ανακύκλωση των ενζύμων που χρησιμοποιούνται, ελαττώνοντας παράλληλα το κόστος παραγωγής των ενζύμων.

3. Παρουσία παρεμποδιστών

- Το σημαντικότερο από τα προβλήματα που μπορεί να παρουσιαστούν κατά την υδρόλυση είναι η παρεμπόδιση της αντίδρασης από κάποιες ουσίες και πιο συγκεκριμένα από τα ίδια τα προϊόντα της υδρόλυσης, την κελλοβιόζη (κυρίως) και τη γλυκόζη (σε μικρότερο βαθμό).
- Η κελλοβιόζη παρεμποδίζει τη δράση της ενδο- και εξωκυτταρινάσης, ενώ η γλυκόζη της β -γλυκοζιδάσης.
- Τρόποι αποφυγής της παρεμπόδισης είναι:
 1. Η απομάκρυνση της γλυκόζης από το σύστημα εφαρμόζοντας υπερδιήθηση.
 2. Η χρήση ενεργού άνθρακα για την επιλεκτική προσρόφηση της κελλοβιόζης και της γλυκόζης, μέθοδος όμως που συνεπάγεται αυξημένο κόστος λόγω μεγάλων ποσοτήτων ενεργού άνθρακα.

3. Η αύξηση της δραστηριότητας της β -γλυκοζιδάσης, ώστε να υπάρχει γρηγορότερη κατανάλωση της κελλοβιόζης.

4. Η χρήση της τεχνολογίας ταυτόχρονης σακχαροποίησης και ζύμωσης, κατά την οποία η παραγόμενη γλυκόζη καταναλώνεται γρήγορα για να παραχθεί αιθανόλη.

- Όμως, έχει βρεθεί πως και η αιθανόλη μπορεί, σε ένα βαθμό να παρεμποδίσει την κυτταρινολυτική δράση των ενζύμων.

Υδρόλυση ημικυτταρίνης

- Η ημικυτταρίνη υδρολύεται σαφώς πιο εύκολα από την κυτταρίνη.
- Πολλές φορές δεν απαιτείται στάδιο ενζυμικής υδρόλυσης, αφού κατά την προκατεργασία αποικοδομείται εύκολα στα σάκχαρα που την αποτελούν (ξυλόζη, μαννόζη, αραβινόζη, κλπ).
- Συνήθως, αυτά τα σάκχαρα απομακρύνονται με το υγρό ρεύμα της εκάστοτε προκατεργασίας.
- Σε περίπτωση, βέβαια, που είναι αναγκαία η ενζυμική υδρόλυση, υπάρχει πλήθος μικροοργανισμών που μπορούν να παράγουν ημικυτταρινολυτικά ένζυμα, όπως π.χ. ο μύκητας *Fusarium oxysporum*.

- Τα ημικυτταρινολυτικά ένζυμα διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

A. Στις υδρολάσες, που διασπούν τους γλυκοζιτικούς δεσμούς, και

B. Στα ένζυμα που διασπούν τους εστερικούς δεσμούς.

- Το κυριότερο προϊόν της υδρόλυσης είναι η ξυλόζη που συνήθως αποτελεί και το μεγαλύτερο ποσοστό της ημικυτταρίνης.
- Οι βέλτιστες θερμοκρασίες κυμαίνονται 28-30°C για μεσόφιλους μικροοργανισμούς, και 50-55°C για θερμόφιλους.
- Η βέλτιστη τιμή του pH κυμαίνεται σε μεγάλο εύρος 2.5-9.5.

Τεχνολογία Παραγωγής Βιοαιθανόλης από Λιγνινοκυτταρινούχα Υλικά

- Η επιλογή του συστήματος μικροοργανισμών που θα χρησιμοποιηθεί για να παραχθεί αιθανόλη από λιγνινοκυτταρινούχο βιομάζα είναι πολύ σημαντική, καθώς ένας από τους τρόπους μείωσης τους κόστους της μονάδας παραγωγής είναι η βελτιστοποίηση της απόδοσης της παραγωγικής διαδικασίας.
- Συνεπώς, σημαντικό ρόλο παίζουν και οι μικροοργανισμοί που θα χρησιμοποιηθούν για την υδρόλυση και τη ζύμωση, οι οποίοι πρέπει να επιλεγούν με προσοχή, έτσι ώστε οι ιδιότητές τους να εγγυώνται υψηλή απόδοση.
- Ο ιδανικός μικροοργανισμός για την παραγωγή βιοαιθανόλης θα πρέπει να:
 1. Μπορεί να ζυμώσει όλα τα σάκχαρα (πεντόζες και εξόζες) με ικανοποιητική απόδοση και ρυθμό,
 2. Παρουσιάζει καλή αντίσταση στα μονομερή της λιγνίνης και άλλους παρεμποδιστές της διεργασίας,

3. Παρουσιάζει ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης, ώστε να μειώνεται η απαιτούμενη ενέργεια για τη συμπύκνωση του αλκοολικού διαλύματος,
4. Μπορεί να εργαστεί σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, και να
5. Παράγει συνδυασμό από κυτταρίνες, που θα δρούσαν συνεργειακά για την υδρόλυση της κυτταρίνης.
- Φυσικά ένας τέτοιος μικροοργανισμός δεν υπάρχει στη φύση.
 - Η βιωσιμότητα μιας μονάδας παραγωγής εξαρτάται από τη δυνατότητα να εκμεταλλευθούν όσο το δυνατόν περισσότεροι υδατάνθρακες.
 - Έτσι, οι έρευνες έχουν οδηγηθεί προς δύο κατευθύνσεις με τον ίδιο ουσιαστικά σκοπό:

1. Η πρώτη είναι η συνδυασμένη χρήση δύο ή περισσότερων μικροοργανισμών που μπορούν να ζυμώσουν διαφορετικά σάκχαρα ή η προσθήκη ενζύμων κατά τη διεργασία.

2. Η δεύτερη κατεύθυνση είναι η προσπάθεια για γενετική τροποποίηση ορισμένων μικροοργανισμών, ώστε να αποκτήσουν επιθυμητές ιδιότητες.

- Πολλές φορές, βέβαια, χρησιμοποιείται ένας συνδυασμός των δύο δρόμων, δηλαδή συγκαλλιέργειες γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών.

- Όπως έχουμε λοιπόν διαπιστώσει, τα **κύρια στάδια** παραγωγής της αιθανόλης είναι η **υδρόλυση** των πολυσακχαριτών και η **ζύμωση** των σακχάρων.

- Έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνολογίες, ανάλογα με το αν γίνονται χωριστά ή σε ένα στάδιο. Αυτές είναι:

A. Υδρόλυση και ζύμωση σε δύο στάδια (Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF), όπου η υδρόλυση και η ζύμωση γίνονται σε ξεχωριστούς αντιδραστήρες.

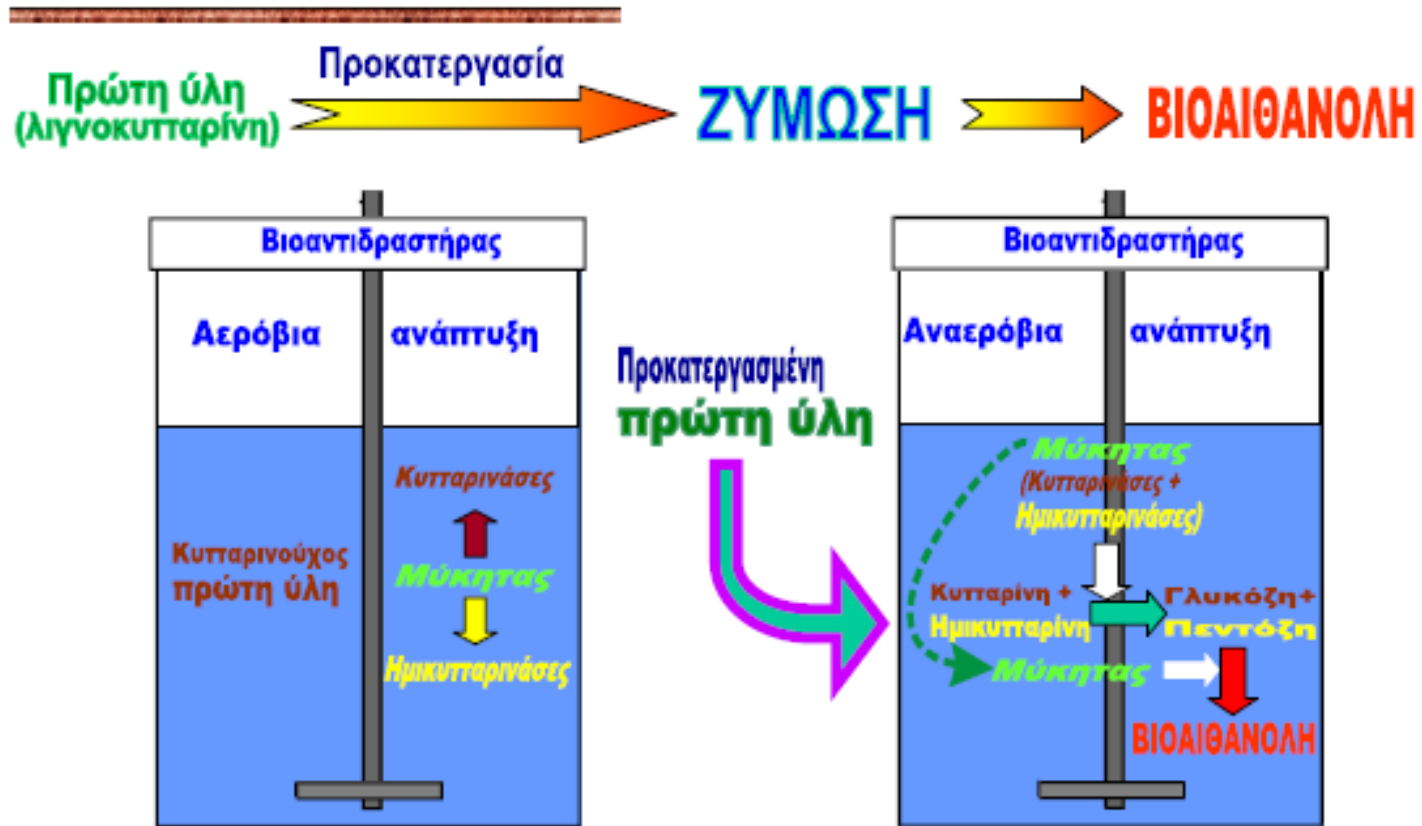
B. Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF), όπου χρησιμοποιείται ένας βιοαντιδραστήρας, και

Γ. Απευθείας μικροβιακή μετατροπή (Direct Microbial Conversion, DMC), όπου οι παραπάνω διεργασίες εκτελούνται από έναν μικροοργανισμό μόνο.

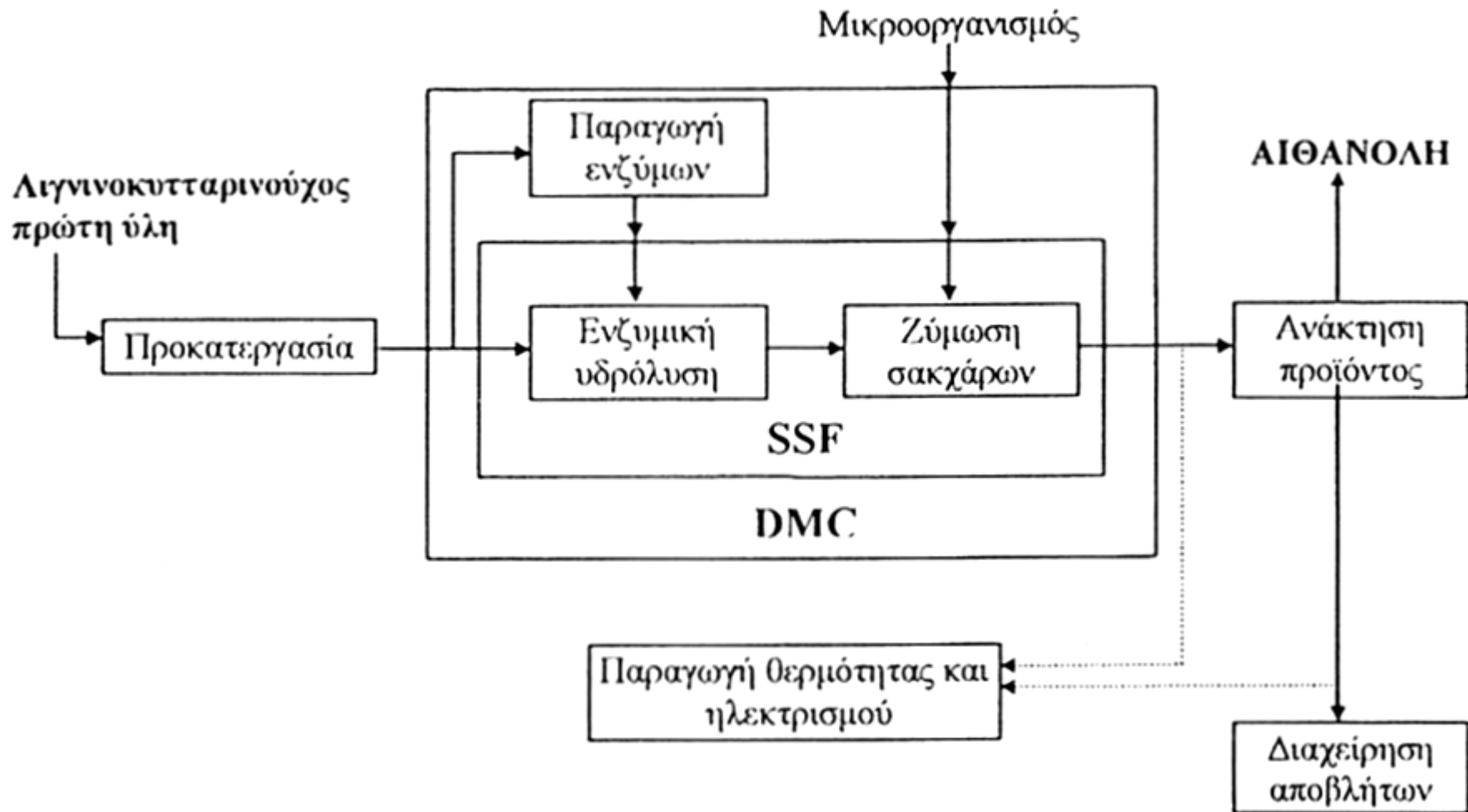


Σχ. 98. Διάγραμμα βιολογικής παραγωγής αιθανόλης από κυτταρινούχες πρώτες ύλες.

Διεργασίες μικροβιακής υδρόλυσης κυτταρίνης και ημικυτταρίνης

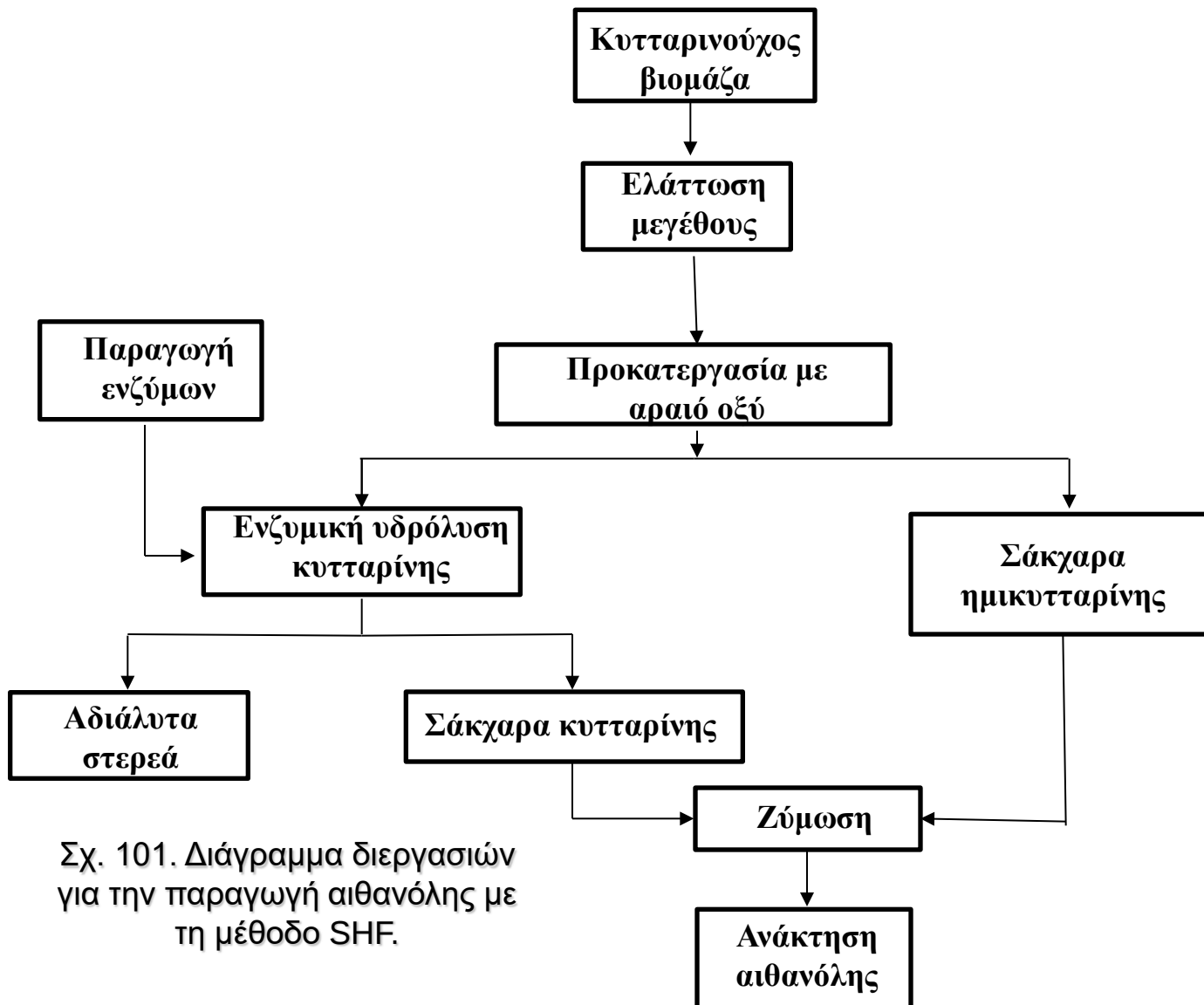


Σχ. 99. Συνοπτική παρουσίαση διεργασιών μικροβιακής υδρόλυσης κυτταρίνης και ημικυτταρίνης.



Σχ. 100. Συνοπτική παρουσίαση των τεχνολογιών βιολογικής παραγωγής αιθανόλης.

A. Υδρόλυση και ζύμωση σε δύο στάδια (SHF)



Σχ. 101. Διάγραμμα διεργασιών για την παραγωγή αιθανόλης με τη μέθοδο SHF.

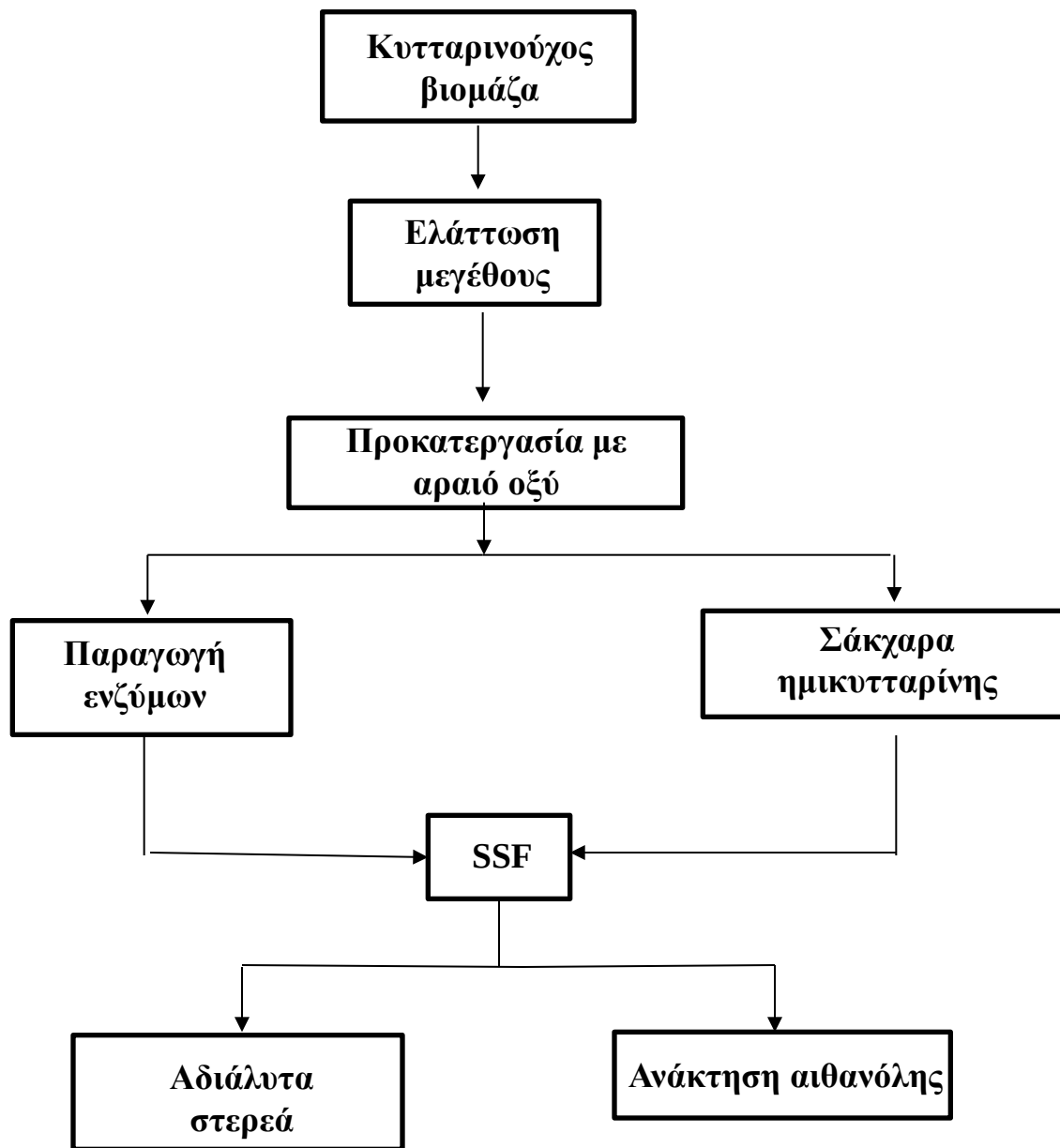
- Οι διεργασίες της ενζυμικής υδρόλυσης και της ζύμωσης αποτελούν δύο διακριτά στάδια της διαδικασίας παραγωγής.

- Μετά από την προκατεργασία και την υδρόλυση των σακχάρων της ημικυτταρίνης, το (στερεό) κλάσμα μεταφέρεται στον αντιδραστήρα υδρόλυσης.

- Ένα τμήμα της βιομάζας χρησιμοποιείται για την παραγωγή των ενζύμων, τα οποία στη συνέχεια προστίθενται στον αντιδραστήρα.
- Αφού ολοκληρωθεί η υδρόλυση, τα σάκχαρα οδηγούνται στον βιοαντιδραστήρα, όπου λαμβάνει χώρα η ζύμωσή τους σε αιθανόλη.
- Θετικό στοιχείο αυτής της μεθόδου είναι το ότι είναι δυνατή η αριστοποίηση του κάθε σταδίου ξεχωριστά, έτσι ώστε να ληφθεί η μέγιστη δυνατή απόδοση σε αιθανόλη.
- Ωστόσο, το κόστος αυξάνει σημαντικά λόγω της χρήσης δύο βιοαντιδραστήρων, αλλά και της ανάγκης για τη βελτίωση της ανθεκτικότητας των ενζύμων στα προϊόντα της υδρόλυσης.

B. Ταυτόχρονη σακχαροποίηση και ζύμωση (SSF)

- Χρησιμοποιείται μόνο ένας βιοαντιδραστήρας για τη μετατροπή των πολυσακχαριτών σε αιθανόλη, ενώ πάντα απαιτείται άλλος ένας για την παραγωγή των κυτταρινολυτικών ενζύμων.
- Μετά από την προκατεργασία της πρώτης ύλης, ένα μέρος του κυτταρινούχου κλάσματος κατευθύνεται για την παραγωγή των ενζύμων, ενώ το υπόλοιπο, μαζί με τα σάκχαρα της ημικυτταρίνης, οδεύει προς τον βιοαντιδραστήρα, όπου θα λάβει χώρα η διεργασία.
- Στον βιοαντιδραστήρα βρίσκονται τα κυτταρινολυτικά ένζυμα και ο μικροοργανισμός (ή οι μικροοργανισμοί) που θα τελέσει (ή τελέσουν) τη ζύμωση.
- Τέλος, το προϊόν μεταφέρεται στη μονάδα ανάκτησης αιθανόλης.
- Ένα πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι το σαφώς μειωμένο κόστος εγκατάστασης σε σχέση με την SHF, γεγονός που οφείλεται στους λιγότερους αντιδραστήρες που απαιτούνται.



- Επίσης, η ποσότητα ενζύμων που απαιτείται είναι χαμηλότερη, ενώ παράλληλα αυξάνεται και ο ρυθμός της υδρόλυσης λόγω της ταχείας κατανάλωσης της παραγόμενης γλυκόζης.

- Υπευθυμίζεται ότι η δράση των ενζύμων που καταλύουν την υδρόλυση της κυτταρίνης παρεμποδίζεται από τη γλυκόζη και την κελλοβιόζη.

Σχ. 102. Διάγραμμα διεργασιών για την παραγωγή αιθανόλης με τη μέθοδο SSF.

- Όμως, σημαντικό πρόβλημα μπορεί να προκαλέσει η παρουσία της αιθανόλης ως τελικού προϊόντος, καθώς η αιθανόλη μπορεί να μειώσει και τη δραστηριότητα των κυτταρινολυτικών ενζύμων.
- Το κυριότερο, όμως, πρόβλημα με την διεργασία SSF είναι οι διαφορετικές συνθήκες που απαιτούνται για την άριστη απόδοση των δύο διαφορετικών διεργασιών, υδρόλυσης και ζύμωσης.
- Η υδρόλυση ευνοείται συνήθως σε υψηλές θερμοκρασίες (45-50°C), ενώ η ζύμωση σε χαμηλότερες (περίπου 30°C).
- Έτσι, ο αντιδραστήρας αναγκάζεται να λειτουργήσει σε μια θερμοκρασία “συμβιβασμού” περίπου 38°C, γεγονός που δεν επιτρέπει την πλήρη αξιοποίηση της πρώτης ύλης και οδηγεί σε μικρότερες αποδόσεις, αλλά και σε αύξηση του χρόνου της διεργασίας, μιας και η υδρόλυση είναι το καθορίζον την ταχύτητα στάδιο.
- Η λύση του προβλήματος εστιάζεται στην χρήση θερμόφιλων ζυμών.
- Η απόδοση της διεργασίας μπορεί να βελτιωθεί με ανακύκλωση των στερεών.

Γ. Απευθείας μικροβιακή μετατροπή (DMC)

- Η παραγωγή των κυτταρινολυτικών ενζύμων και η ζύμωση των σακχάρων σε αιθανόλη εκτελούνται από τον ίδιο μικροοργανισμό.
- Μικροοργανισμοί που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην διεργασία DMC είναι αναερόβια θερμοφιλά βακτήρια, όπως το *Clostridium thermocellum*, αλλά και ορισμένοι μύκητες, όπως *Monilia* sp., *Neurospora crassa*, και *Paecilomyces* sp.
- Οι μικροοργανισμοί αυτοί απαιτούν μεγάλους χρόνους διεργασίας, ενώ και η απόδοση σε αιθανόλη είναι μικρή, πιθανόν λόγω χαμηλής αλκοολανθεκτικότητας.
- Ένας άλλος τρόπος για να βελτιωθεί η απόδοση είναι να χρησιμοποιηθεί και συγκαλλιέργεια δύο ή περισσότερων μικροοργανισμών.
- Απαιτείται, βέβαια, προσοχή στην επιλογή των μικροοργανισμών, καθώς θα πρέπει να μπορούν να αναπτυχθούν σε κοινή καλλιέργεια χωρίς προβλήματα.

- Στα θετικά στοιχεία της διεργασίας αυτής συγκαταλέγεται το μειωμένο κόστος εγκατάστασης, αφού ουσιαστικά απαιτείται ένας βιοαντιδραστήρας για όλη τη διαδικασία.
- Επίσης, επιτρέπεται η κατανάλωση μεγαλύτερου ποσοστού του υποστρώματος (πρακτικά όλο) για μετατροπή του σε αιθανόλη, μιας και δεν καταναλώνεται ξεχωριστά για την παραγωγή των ενζύμων.
- Πάντως, οι χαμηλές αποδόσεις σε αιθανόλη και η παραγωγή σημαντικών παραπροϊόντων περιορίζουν, για την ώρα, τη δυνατότητα βιομηχανικής εφαρμογής της διεργασίας.
- Έχει όμως πολύ καλή προοπτική για το μέλλον, αν λάβουμε υπόψη και τις προόδους της γενετικής μηχανικής.