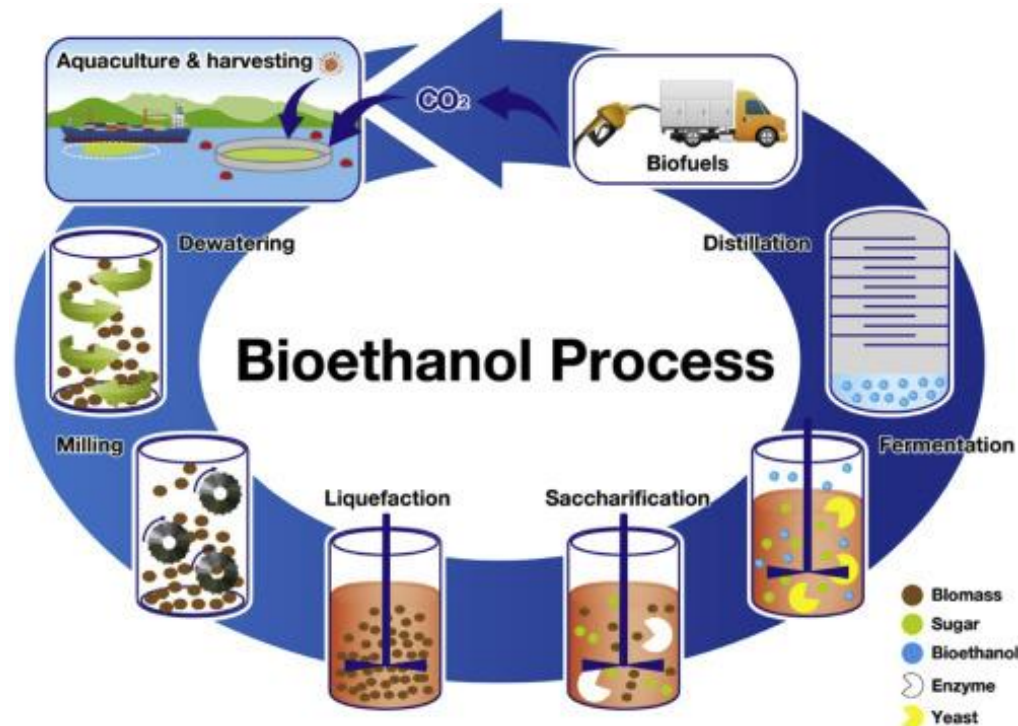


Διάλεξη 10

Εφαρμογές Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας στην Ενέργεια – Βιοαέριο, Βιοαιθανόλη



Ορυκτέλαια, φυσικό αέριο, γαιάνθρακας
ονομάζονται fossil fuels (ορυκτά καύσιμα)

Τα ορυκτά καύσιμα χρησιμοποιούνται ακόμη σε σημαντικές ποσότητες διότι είναι εύκολα διαθέσιμα παγκοσμίως,
απαιτούν απλές τεχνολογικές μεθόδους για να παραληφθεί
η ενέργεια που περιέχουν και μπορούν να μεταφερθούν με
ευκολία

Μειονεκτήματα

1. Περιορισμένα αποθέματα **(μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας!!)**
2. Παραγωγή αερίων ρύπων και αερίων που προκαλούν το φαινόμενο του θερμοκηπίου

Αποθέματα ορυκτών καυσίμων

- Τα **αποθέματα γαιάνθρακα** υπολογίζεται ότι θα εξαντληθούν το **2180**. Τα **αποθέματα πετρελαίου** θα εξαντληθούν το **2080**
- Τα **αποθέματα φυσικού αερίου** επαρκούν μέχρι το **2047**

Παραγωγή αερίων που προκαλούν το φαινόμενο του θερμοκηπίου από την καύση ορυκτών καυσίμων

Αέριο	Συγκέντρωση
Αέρας	80%
Νερό	4.5%
CO ₂	12%
CO	40 ppm
SO ₂	1000-1700 ppm
SO ₃	1-5 ppm
NO	400-600 ppm
NO ₂	20 ppm
N ₂ O	40 ppm
HCl	250 ppm
HF	<20 ppm
Hg	3 ppb

Τα συμβατικά καύσιμα κατά την καύση τους παράγουν **CO₂** , **N₂O** που θεωρούνται μαζί με άλλα αέρια όπως

- **Όζον**

- **Μεθάνιο**

- **CFCs**

ότι προκαλούν το φαινόμενο του θερμοκηπίου

Παραγωγή Τοξικών Αερίων από καύση ορυκτών καυσίμων

<i>Αέριο</i>	<i>Συγκέντρωση</i>
Αέρας	80%
Νερό	4.5%
CO ₂	12%
CO	40 ppm
SO ₂	1000-1700 ppm
SO ₃	1-5 ppm
NO	400-600 ppm
NO ₂	20 ppm
N ₂ O	40 ppm
HCl	250 ppm
HF	<20 ppm
Hg	3 ppb

Καύση των ορυκτών καυσίμων οδηγεί σε παραγωγή αερίων ρύπων όπως SO₂, NO_x.

Το 54% της ποσότητας SO₂ στην ατμόσφαιρα προέρχεται από την καύση συμβατικών καυσίμων.

Λύσεις για αντικατάσταση ορυκτών καυσίμων

1. Αύξηση των δεξαμενών απορρόφησης CO₂ (π.χ. δάση)
2. Αύξηση αποτελεσματικότητας των ορυκτών καυσίμων
3. Απομάκρυνση CO₂ από τα αέρια που εκλύονται από τα ορυκτά καύσιμα
4. **Χρήση εναλλακτικών πηγών ενέργειας που δεν παράγουν αέρια θερμοκηπίου**

4. Εναλλακτικές Πηγές Ενέργειας

- Πυρηνική Ενέργεια
- Υδροηλεκτρική Ενέργεια
- Αιολική Ενέργεια
- Γεωθερμική Ενέργεια
- Ηλιακή Ενέργεια
- **Βιοκαύσιμα**

Βιοκαύσιμα

- **Βιαέριο (biogas)**
- Φυτικά έλαια (βιοντίζελ)
- Βιοαιθανόλη (bioethanol)
- Βιουδρογόνο (biohydrogen)

Βιοαέριο (Biogas)

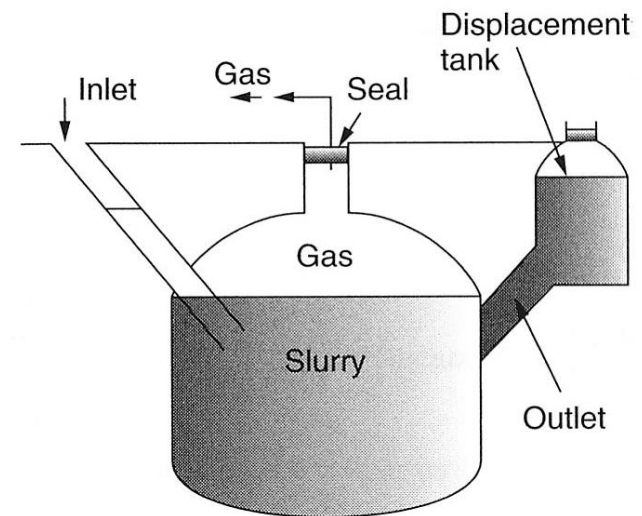
- **Μίγμα κυρίως CH_4 και CO_2** που παράγεται κατά την αναερόβια αποσύνθεση της οργανικής ουσίας στερεών ή υγρών αποβλήτων
- Η συνήθης σύσταση του βιοαερίου είναι **60% CH_4 , 40% CO_2** αλλά δεν έχει τόσο υψηλή ενεργειακή αξία όσο το φυσικό αέριο.
- Η σύσταση του βιοαερίου εξαρτάται από το οργανικό φορτίο των αποβλήτων που αποσυντίθενται. Γενικότερα, απόβλητα από βιομηχανίες τροφίμων και ποτών παράγουν βιοαέριο υψηλής περιεκτικότητας σε CH_4 (75%)

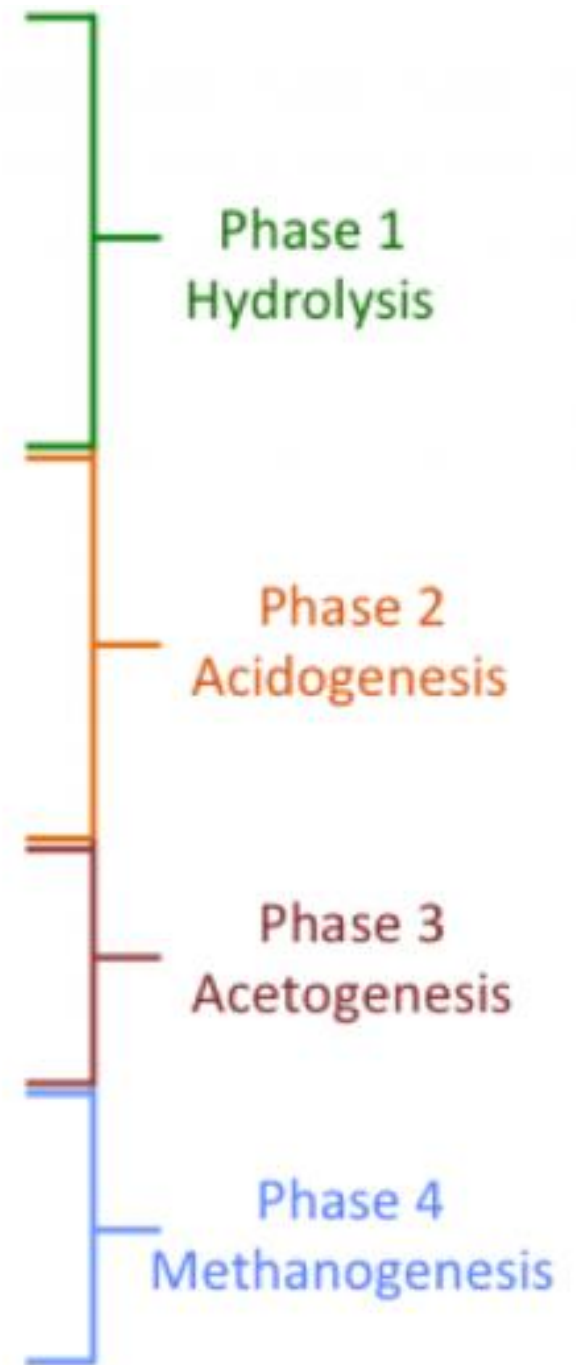
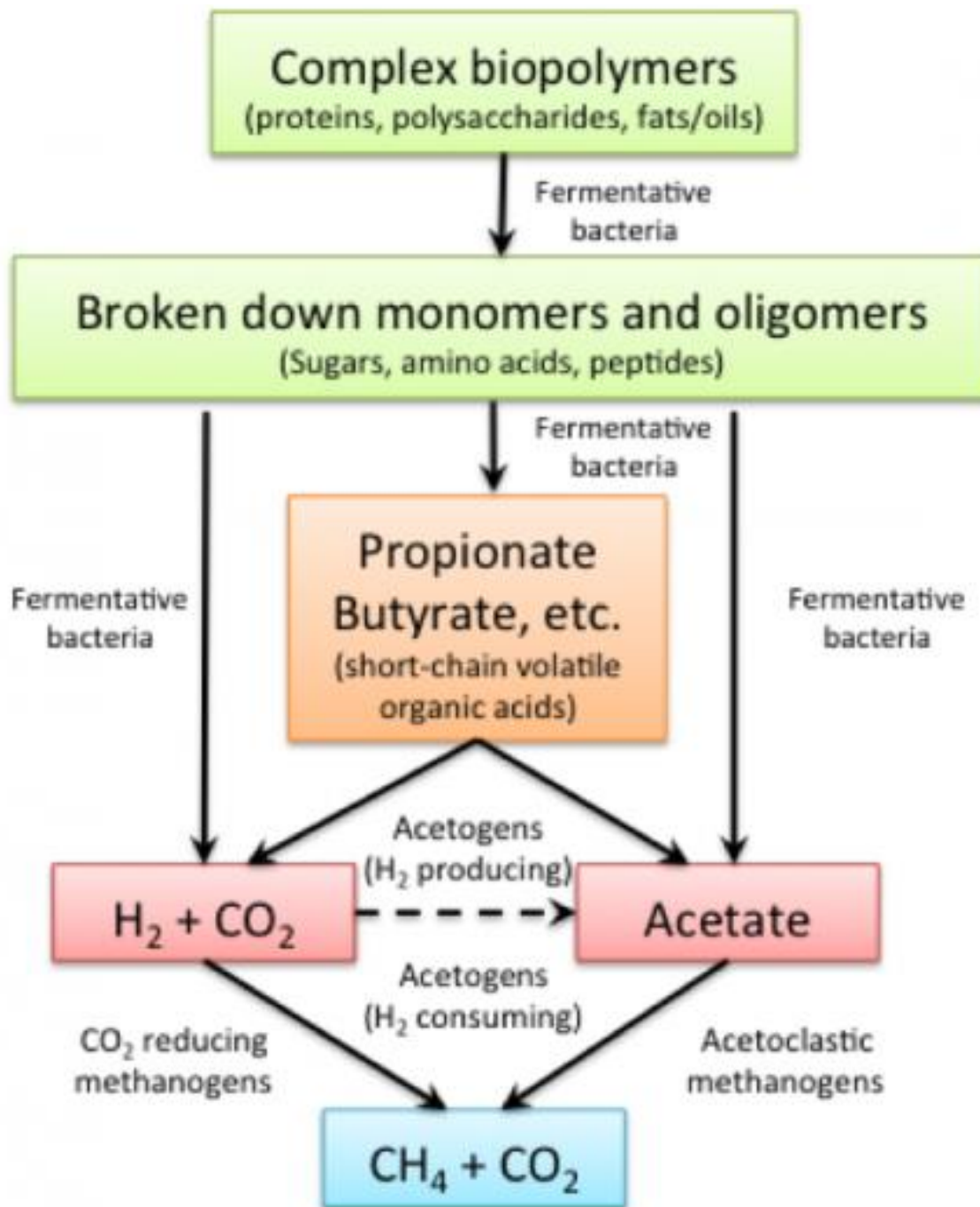
Βιοαέριο

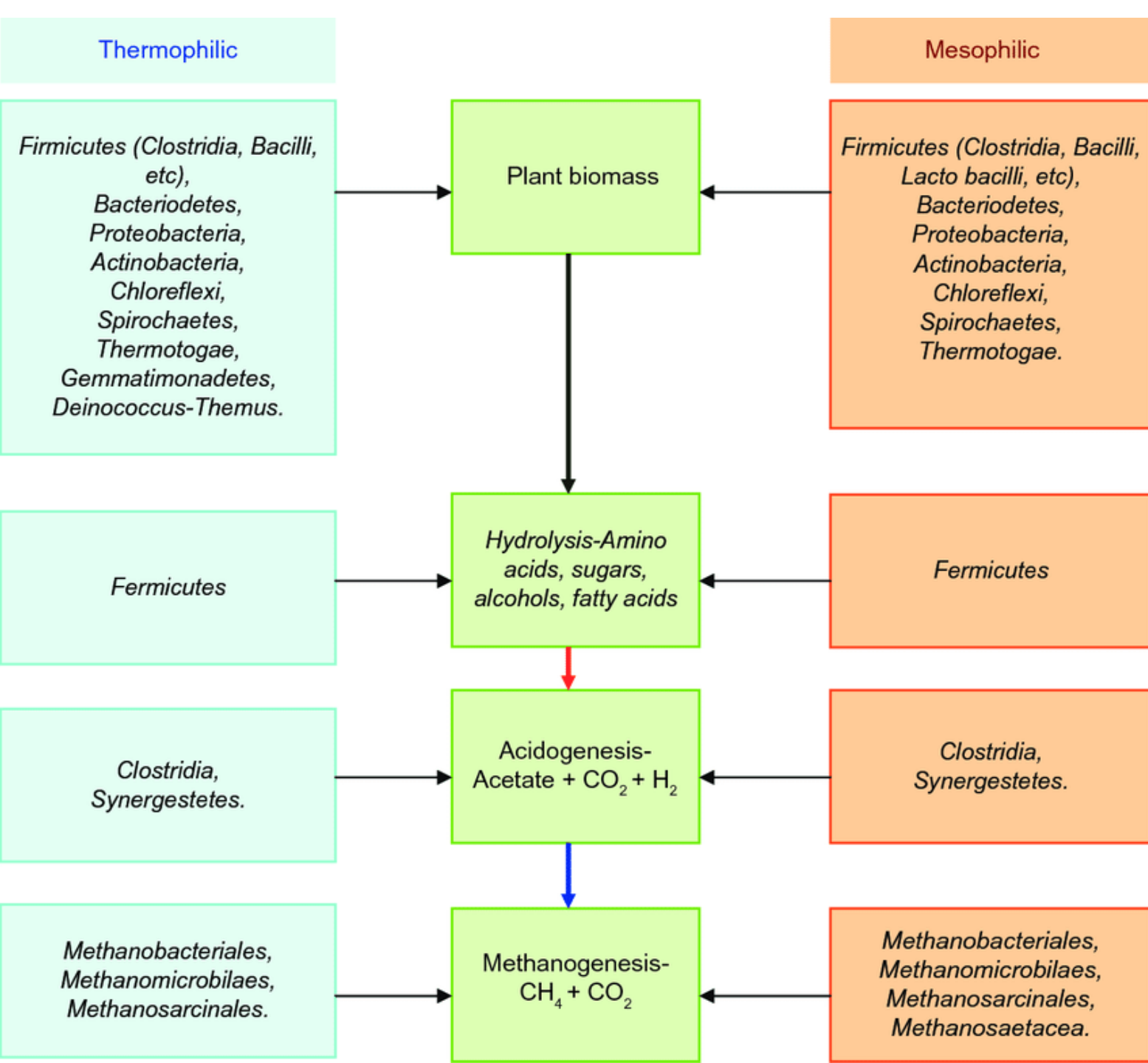
Σε αναπτυσσόμενες χώρες η αναερόβια αποσύνθεση στερεών αποβλήτων χρησιμοποιείται για παραγωγή βιοαερίου

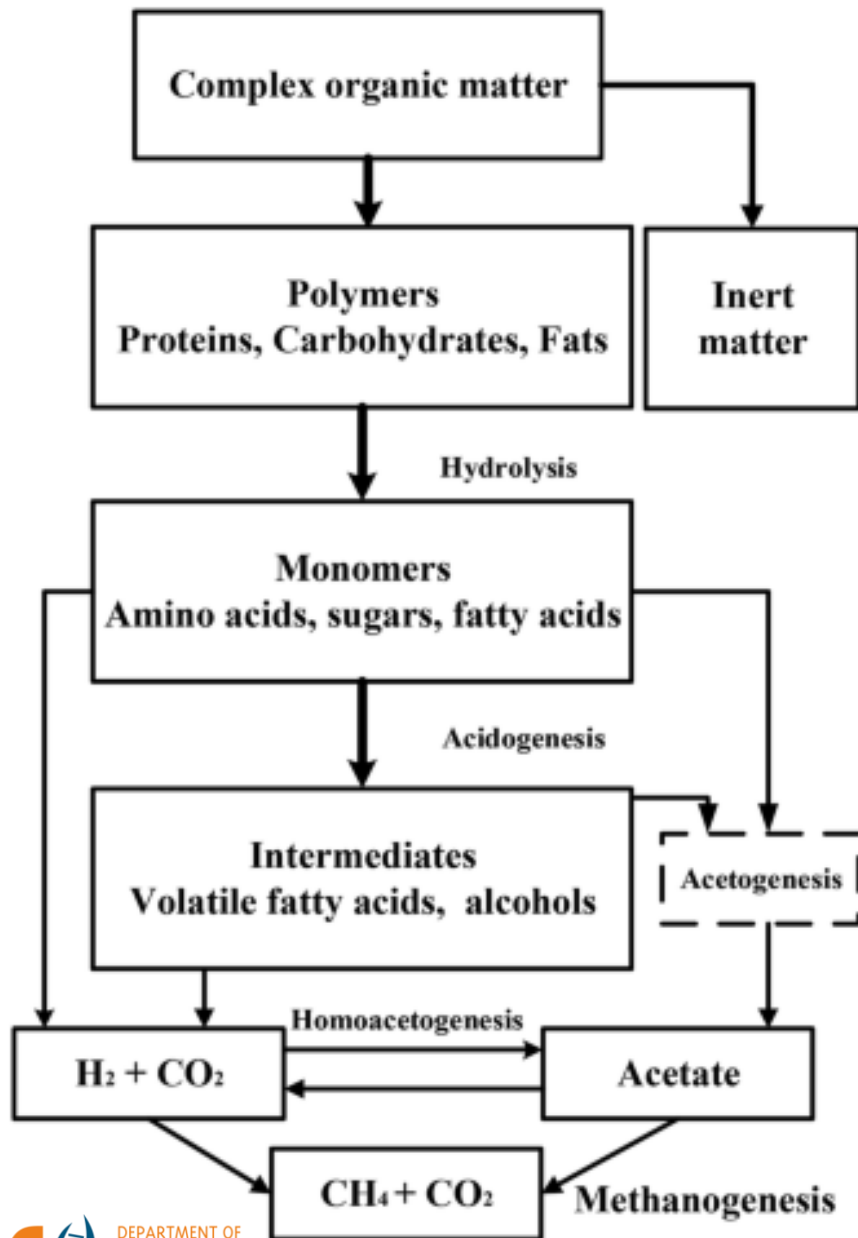
Σε Κίνα και Ινδία έχει εφαρμοσθεί το σύστημα των ατομικών αναερόβιων βιοαντιδραστήρων όπου αφήνονται να αποδομηθούν απόβλητα κτηνοτροφικής προέλευσης

Το παραγόμενο βιοαέριο χρησιμοποιείται για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών του νοικοκυριού



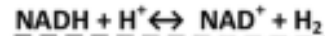




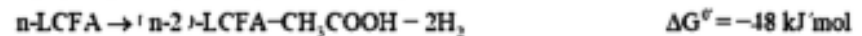
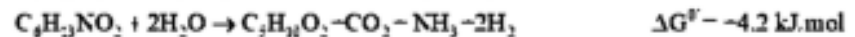
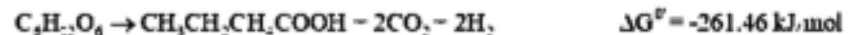
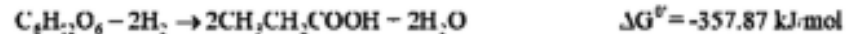
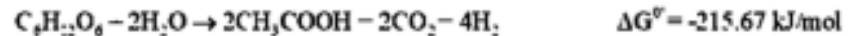


Hydrogen participated anaerobic bio-reactions during methane fermentation

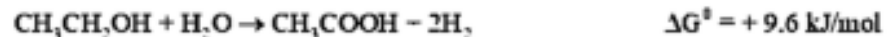
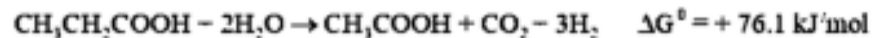
Oxidation and reduction bio-reactions:



Fermentative bacteria (conversion of complex organic molecules into organic acids):



Acetogenesis bacteria (conversion of volatile fatty acids into acetic acid):



Homoacetogens (acetate production through CO_2 reduction with H_2):



Syrotrophic acetate-oxidizing bacteria (acetic acid oxidation):



Hydrogenotrophic methanogens (conversion of H_2 and CO_2 into methane):

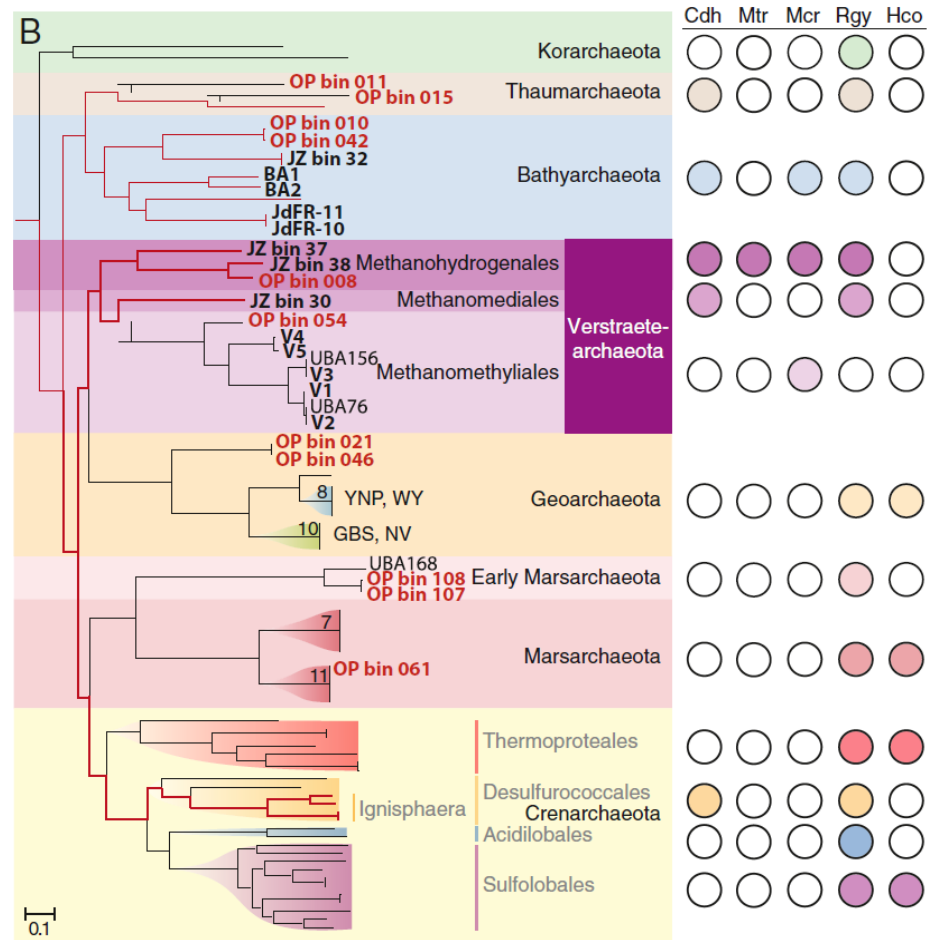


Acetlastic methanogens (conversion of acetate into methane):



Μεθανιογόνα Αρχαία

- Ανήκουν στο φύλο *Euryarchaeota*
- Πρόσφατες μεταγονιδιωματικές μελέτες έδειξαν ότι και αρχαία των φύλων *Bathyarchaeota*, *Verstraetearchaeota* μπορούν να συνθέτουν μεθάνιο



Κατηγορίες Μεθανιογόνων Αρχαίων

- **Ακετοκλαστικά (Aceticlastic):** μόνο στην Τάξη *Methanosarcinales*
- **Υδρογονοτροφικά (Hydrogenotrophic):** τα περισσότερο διαδεδομένα στην αναερόβια χώνευση
- **Μεθυλοτροφικά (Methylotrophic):** μετατρέπουν μεθανόλη, μεθυλαμίνη και άλλα μεθυλιωμένα μόρια σε μεθάνιο

	Reaction	ΔG° (kJ/mol)
Hydrogenotrophic methanogenesis	$4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-135.0
Aceticlastic methanogenesis	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-31.0

Βιοαέριο

- Βιοαέριο παράγεται και στους ΧΥΤΑ και είναι ποιότητας ανάλογης αυτού που παράγεται σε βιοαντιδραστήρες
- Στους ΧΥΤΑ έχουν δημιουργηθεί συστήματα άντλησης και συλλογής του βιοαερίου που χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας



Βιοκαύσιμα

- Βιαέριο (biogas)
- Φυτικά έλαια (βιοντίζελ)
- **Βιοαιθανόλη (bioethanol)**
- Βιουδρογόνο

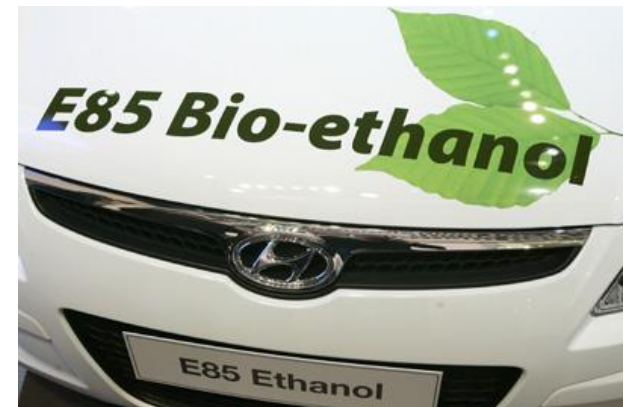
Βιοαιθανόλη

Η αιθανόλη βιολογικής προέλευσης παράγεται από την μικροβιακή ζύμωση υδατανθράκων που προέρχονται από βιομάζα που βρίσκεται άφθονη και σε χαμηλό κόστος στην φύση

Πως χρησιμοποιείται ως καύσιμο?

- Αυτούσια (95.5%) αιθανόλη σε κατάλληλες μηχανές εσωτερικής καύσης (αυτοκίνητα σε Βραζιλία ή ΗΠΑ)
- Σε μίγματα διαφορετικής σύστασης με βενζίνη

Καύσιμο	Περιεκτικότητα σε αιθανόλη (%)
E85 (N. Αμερική)	85
Βενζίνη (Βραζιλία)	24
E10 (Gazohol) (N. Αμερική)	10
Οξυγονομένο καύσιμο (ΗΠΑ)	7.6
Βιοντίζελ (Σουηδία)	15

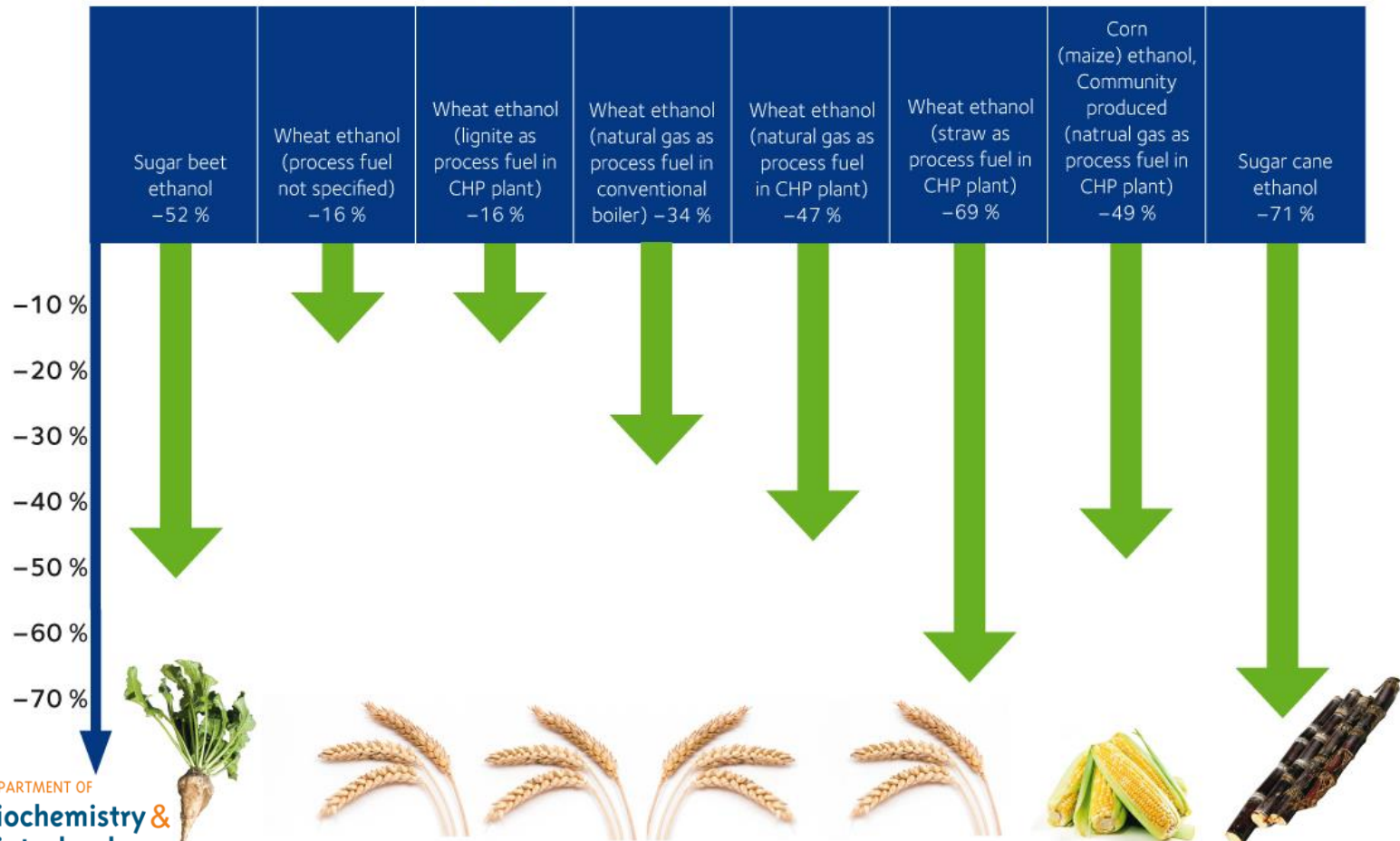


Γιατί προτιμούμε την βιοαιθανόλη?

- Με την καύση της παράγονται ελάχιστες ποσότητες CO₂ (φαινόμενο θερμοκηπίου) και χαμηλότερες ποσότητες CO, NO_x σε σύγκριση με την βενζίνη
- Παράγεται από ανανεώσιμες πηγές **(βιομάζα δεν θα μας λείψει ποτέ!)**
- Θα οδηγήσει σε περιορισμό στην χρήση ορυκτών καυσίμων
- **Μπορεί να περιορίσει σε σημαντικό βαθμό την παγκόσμια ενεργειακή εξάρτηση από το πετρέλαιο (τεχνητές κρίσεις, αύξηση τιμών κ.α.)**

Η χρήση βιοαιθανόλης θα οδηγήσει σε περιορισμό στην έκλυση αερίων του θερμοκηπίου που δημιουργούν περιβαλλοντικά προβλήματα

CO₂ reduction for various bioethanols



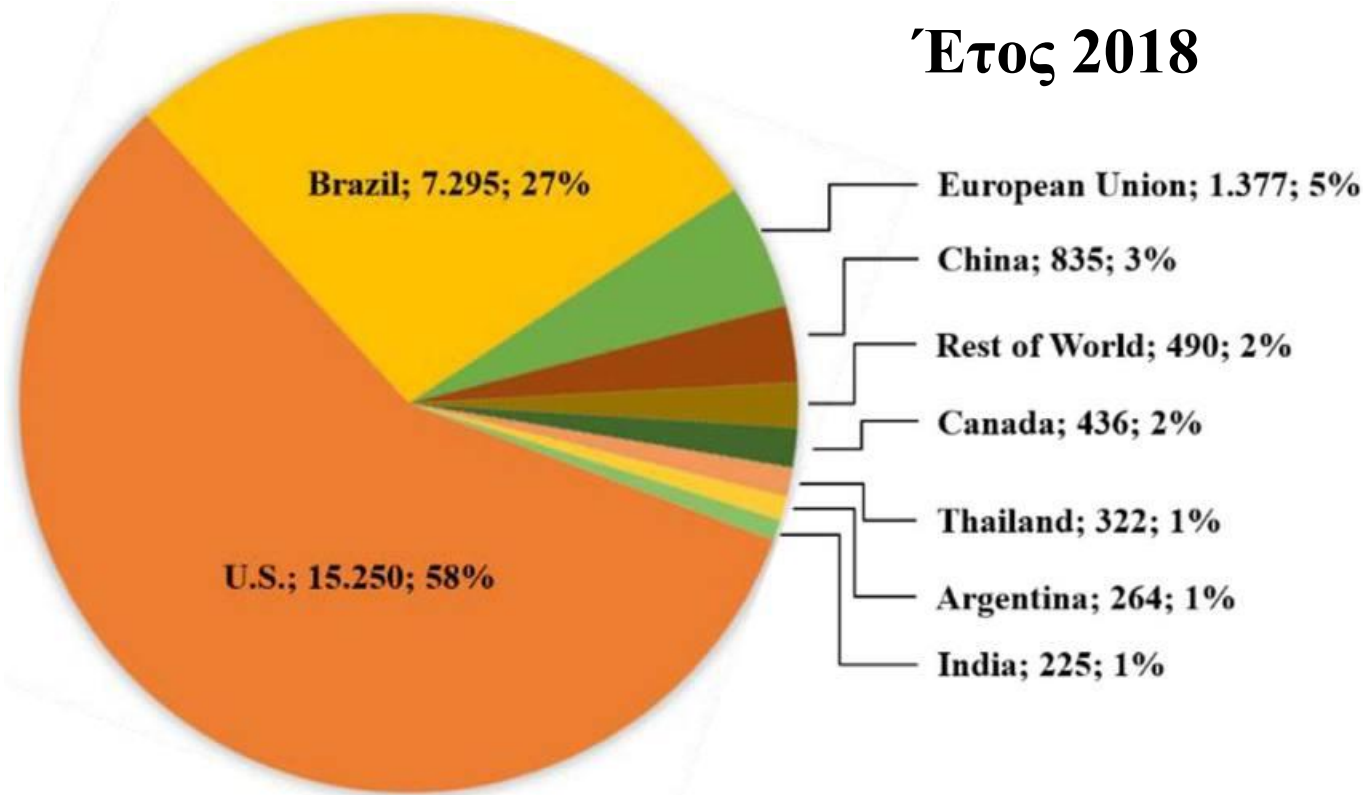
Η ενίσχυση της βιοαιθανόλης ως καύσιμο για μερική ή στο μέλλον πλήρη αντικατάσταση του πετρελαίου είναι πολιτική απόφαση

- Η ΕΕ έθεσε ως στόχο μέχρι το 2020 την αντικατάσταση του 20% της συνολικής ποσότητας συμβατικών καυσίμων από βιοκαύσιμα
- Οι ΗΠΑ έθεσαν ως στόχο μέχρι το 2025 την αντικατάσταση του 75% των συμβατικών καυσίμων από βιοκαύσιμα
- Μειωμένους φόρους για βιοκαύσιμα σε ΗΠΑ και Βραζιλία

Παγκόσμια Παραγωγή Βιοαιθανόλης

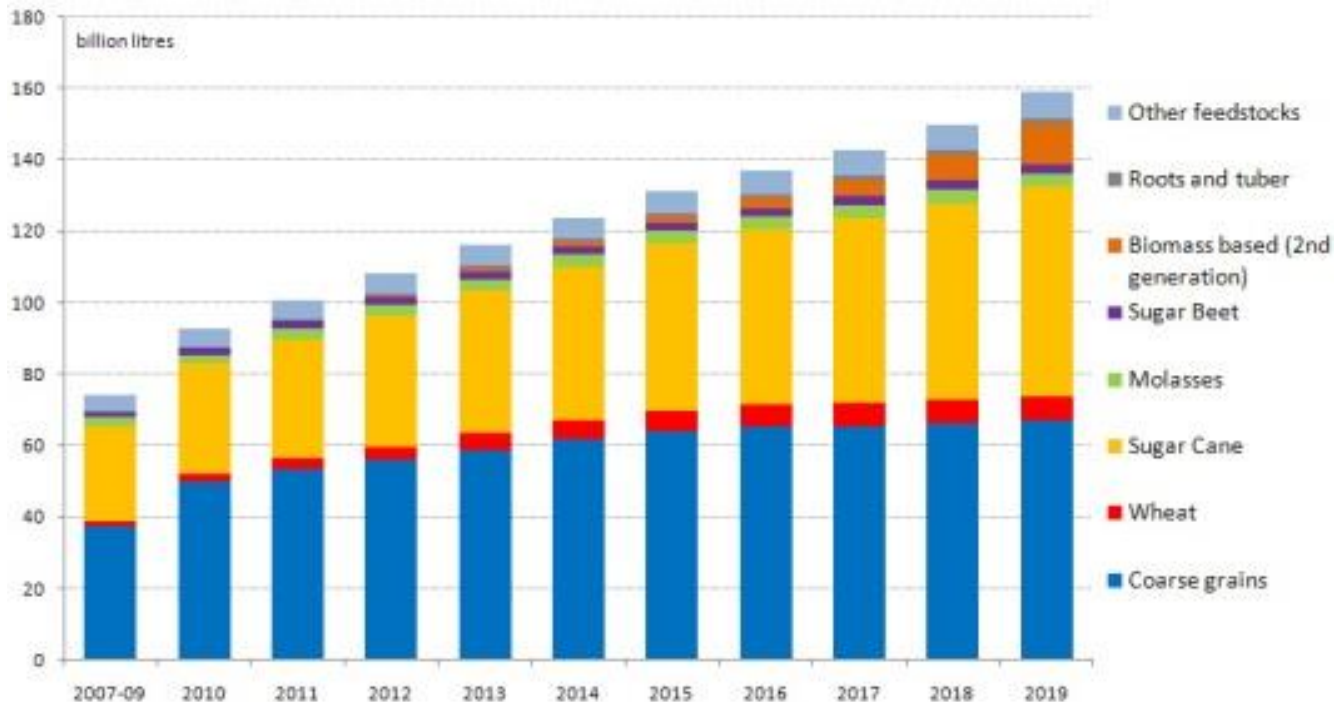
Οι μεγαλύτερες ποσότητες βιοαιθανόλης παράγονται σε
Βραζιλία και ΗΠΑ

Έτος 2018



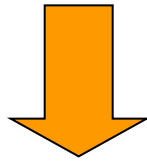
Από τι υλικά παράγεται η βιοαιθανόλη?

- Ζαχαροκάλαμο
- Σπόρους καλαμποκιού
- Βιομάζα (κυτταρίνης / ημικυτταρίνης)



Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Βραζιλία

Η πετρελαϊκή κρίση τα 1970 και η τεράστια παραγωγή ζαχαροκάλαμου που δεν μπορούσε πλέον να απορροφηθεί σε υψηλές τιμές οδήγησε στην χρήση ζαχαροκάλαμου ως υποστρώματος για παραγωγή βιοαιθανόλης (**ProAlcool**)



- Ένα εκατομμύριο νέες θέσεις εργασίας
- 13 δις Lt βιοαιθανόλη/έτος
- Κέρδη 9 δις \$ από την πώληση βιοαιθανόλης αλλά και κέρδος 28.7 δις \$ από την αναστολή εισαγωγής πετρελαίου

Παραγωγή βιοαιθανόλης στην Βραζιλία

Την περίοδο 1983-1987 >90% των αυτοκινήτων που πωλήθηκαν στην Βραζιλία χρησιμοποιούσαν σαν καύσιμο αποκλειστικά ένυδρη αιθανόλη



Βιοαιθανόλη από Ζαχαροκάλαμο

Η βιοαιθανόλη παράγεται στην Βραζιλία από χυμό από ζαχαροκάλαμο υψηλής περιεκτικότητας σε σάκχαρα (σουκρόζη, γλυκόζη, φρουκτόζη)

Ο χυμός ζαχαροκάλαμου θερμαίνεται στους 110°C ώστε να αποστειρωθεί το υλικό



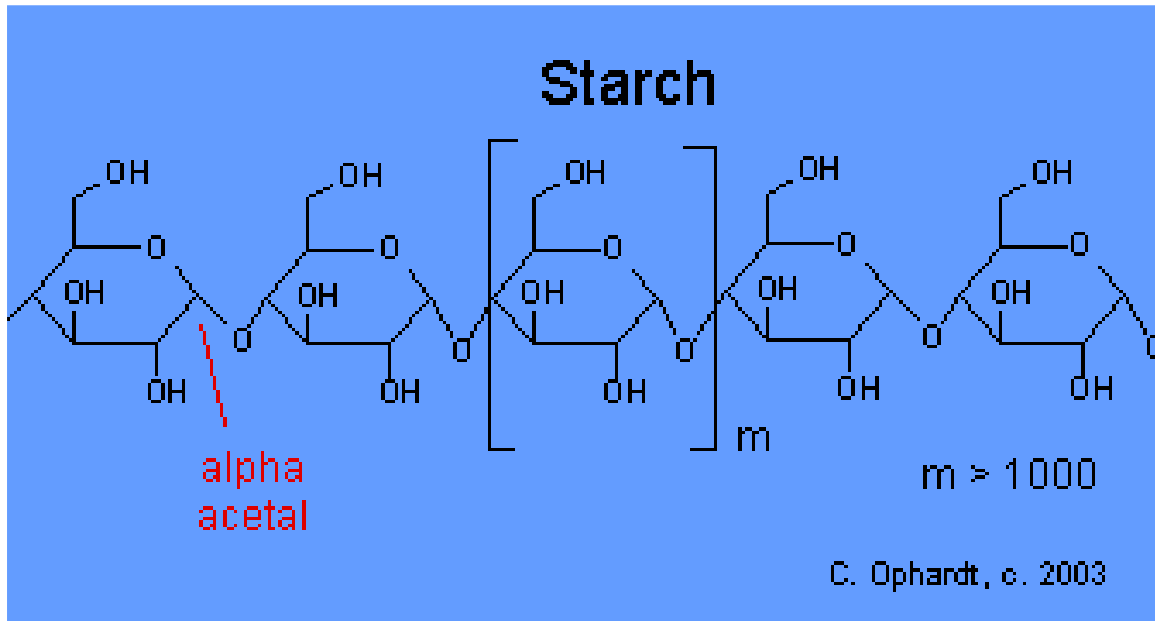
Ακολουθεί εξάτμιση για αύξηση της περιεκτικότητας σε σάκχαρα



Ζύμωση των σακχάρων από την ζύμη *Saccharomyces cerevisiae* και παραγωγή ένυδρης ή ανυδρης αιθανόλης

Βιοαιθανόλη από Καλαμπόκι

Η βιοαιθανόλη παράγεται στην ΗΠΑ από σπόρους καλαμποκιού ή και άλλων δημητριακών χρησιμοποιώντας γενικά υλικά πλούσια σε άμυλο



Πολυσακχαρίδιο που αποτελείται από μονάδες γλυκόζης ενωμένες α-1,4 (αμυλόζη) ή α-1,6 (αμυλοπεκτίνη) γλυκοσιδικούς δεσμούς

Βιοαιθανόλη από Καλαμπόκι

Δύο είναι οι βασικές διαδικασίες παραγωγή αιθανόλης από σπόρους καλαμποκιού

- Υγρής Άλεσης (Wet-milling process)
- Ξηρής Άλεσης (Dry-milling process)

Διαδικασία Υγρής Άλεσης

Οι σπόροι εμβαπτίζονται σε νερό με SO_2 για > 40 h



Άλεση και διαχωρισμός του αμύλου από τα υπόλοιπα προϊόντα



Θέρμανση σε υψηλές και χαμηλές θερμοκρασίες για
κρυστάλλωση του αμύλου



Προσθήκη α-αμυλάσης και παραγωγή ολιγοσακχαριδίων από
δεξτρίνες



Προσθήκη γλυκοαμυλάσης και ελευθέρωση γλυκόζης



Μικροβιακή ζύμωση με *S. cerevisiae* και παραγωγή αιθανόλης
μέσω των αντιδράσεων της γλυκόλυσης

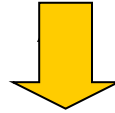
Διαδικασία Ξηρής Άλεσης

Οι διαφορές με την διαδικασία υγρής άλεσης είναι ότι

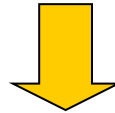
- Οι σπόροι καλαμποκιού αλέθονται σε σωματίδια διαμερισμού 1 mm
- Τα διάφορα συστατικά των σπόρων δεν διασπώνται πριν την προσθήκη νερού και ενζύμου

Στην συνέχεια η διαδικασία είναι ίδια με την υγρή άλεση

Η βιομάζα της ζύμης διαχωρίζεται από την αιθανόλη με
φυγοκέντρηση

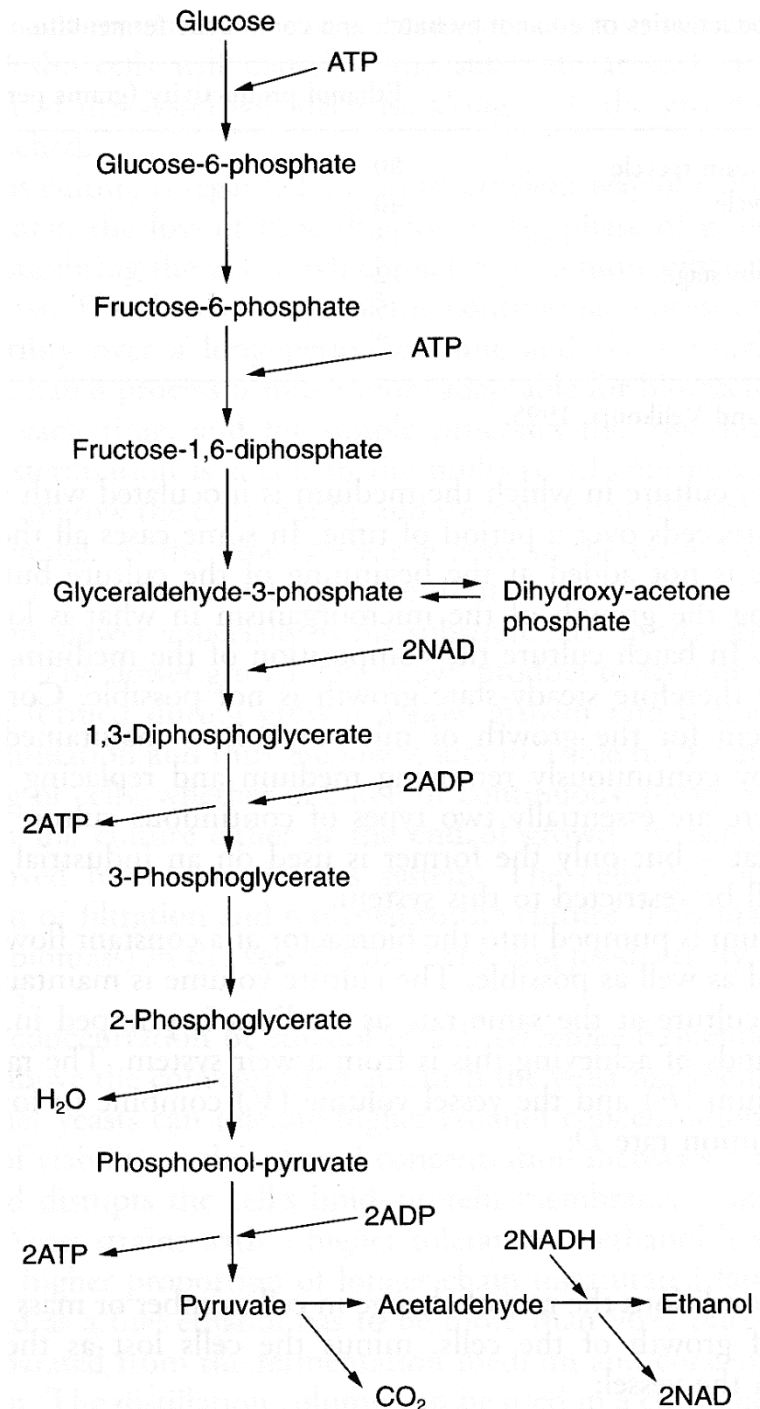


Προσθήκη αραιού διαλύματος θειικού οξέος για περιορισμό
της επιμόλυνσης από άλλους μικροοργανισμούς



Ανακύκλωση της μικροβιακής βιομάζας ως και τρεις φορές
την ημέρα για 200 ημέρες

Παραγωγή 8-12% αιθανόλης
είναι ικανοποιητική ενώ σε
μεγαλύτερες συγκεντρώσεις η
ζύμη *S. cerevisiae* χάνει την
μεταβολική της ικανότητα



Η αιθανόλη που παράγεται περιέχει περίπου 4.5% νερό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί

- Ως ένυδρη βιοαιθανόλη αυτούσια ως καύσιμο για αυτοκίνητα που χρησιμοποιούν μόνο αιθανόλη
- Αφού απομακρυνθεί το νερό με μοριακά φίλτρα (άνυδρη αιθανόλη) σε μίγματα με βενζίνη ως καύσιμο κίνησης (E95, Gazohol)

Μικροβιολογία Συστήματος

Η ζύμη *Saccharomyces cerevisiae*
παραδοσιακά χρησιμοποιείται από την
βιομηχανία παραγωγής βιοαιθανόλης για την
μετατροπή των σακχάρων σε αιθανόλη

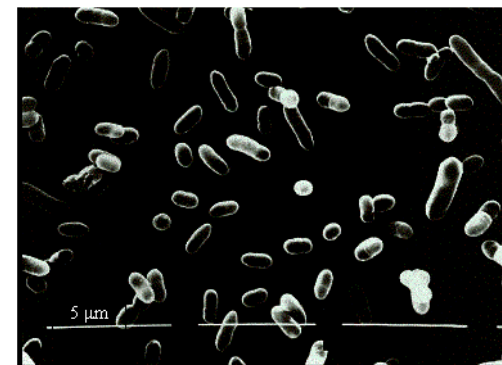


Προβλήματα

1. Μειωμένη παραγωγή αιθανόλης
2. Ευαισθησία σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης
3. Χρήση περιορισμένου φάσματος σακχάρων

Μικροβιολογία Συστήματος

Το βακτήριο *Zygomonas mobilis* παρουσιάζει πλεονεκτήματα σε σχέση με την ζύμη αλλά ακόμη η χρήση του είναι περιορισμένη



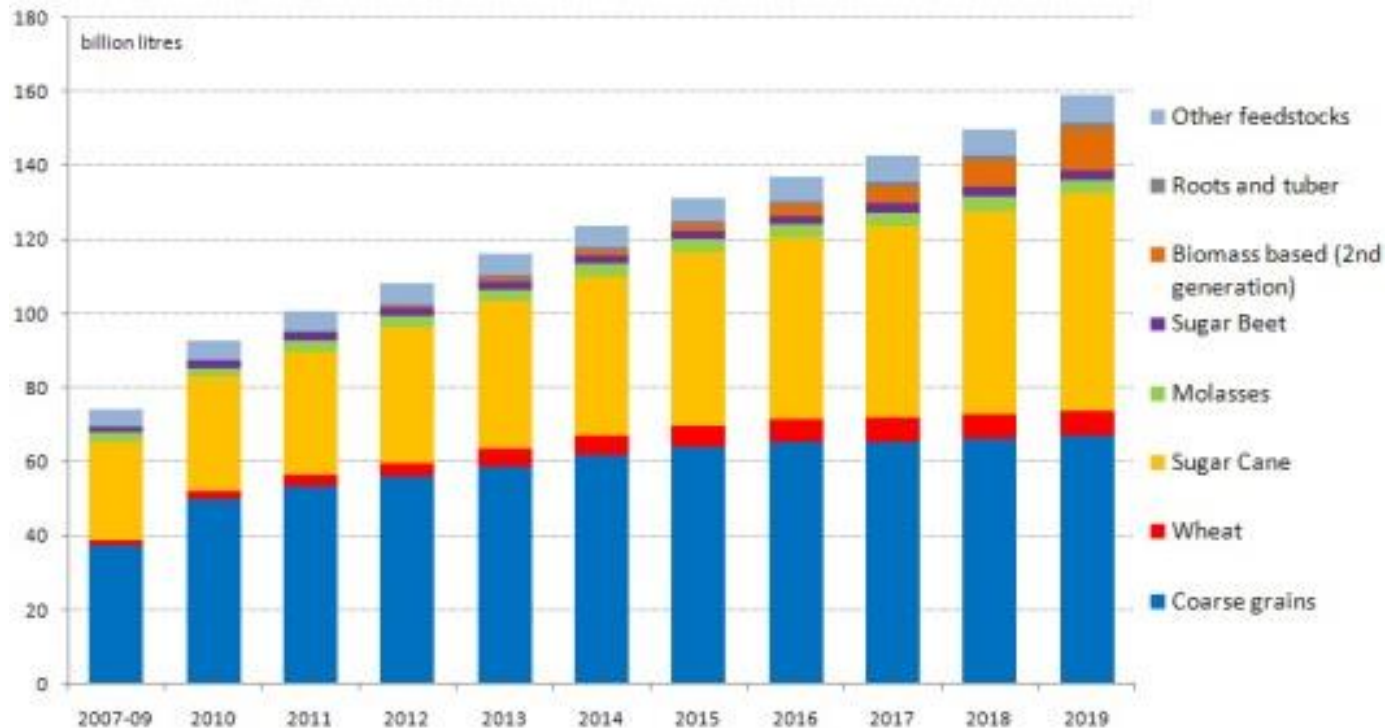
Πλεονεκτήματα (σε σχέση με τις ζύμες)

1. Αυξημένη παραγωγή αιθανόλης
2. Ανθεκτικό σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης
3. Ταχύτερη παραγωγή αιθανόλης

Οι ζύμες γενικότερα ανθεκτικότερες σε αντίξοα περιβάλλοντα και στην ανακύκλωση από τα βακτήρια

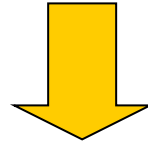
Από τι υλικά παράγεται η βιοαιθανόλη?

- Ζαχαροκάλαμο
- Σπόρους καλαμποκιού
- **Βιομάζα (κυτταρίνης / ημικυτταρίνης)**

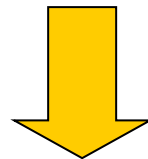


Ποιο το μέλλον της βιοαιθανόλης?

Η παραγωγή αιθανόλης από σπόρους δημητριακών ή ζαχαροκάλαμο **μόνο** δεν μπορεί να καλύψει την αυξανόμενη ζήτηση για βιοαιθανόλη



Απαιτείται η χρήση υποστρωμάτων για την παραγωγή βιοαιθανόλης **που θα χαρακτηρίζονται από χαμηλό κόστος και διαθεσιμότητα σε αφθονία**



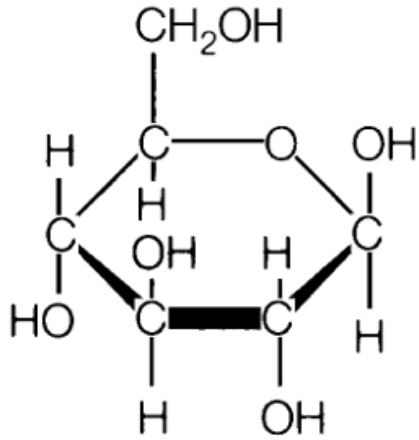
Βιομάζα με υψηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη / ημικυτταρίνη

Προέλευση Βιομάζας

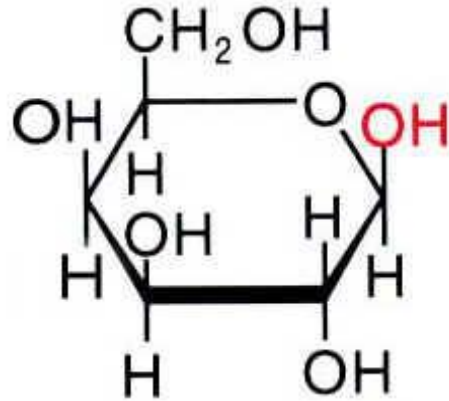
- Υπολείμματα φυτικής μάζας από καλλιεργούμενα φυτά
- Υπολείμματα φυτικά δασικής προέλευσης
- Ενεργειακά φυτά
- Αστικά στερεά απόβλητα
- Χαρτί

Δομική σύσταση βιομάζας

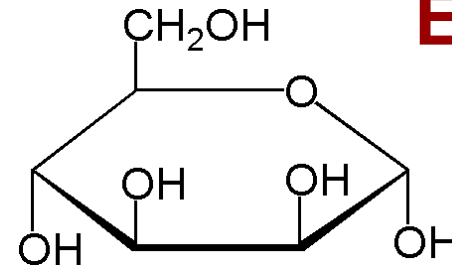
- **Κυτταρίνη (40-50%):** αποτελείται από γλυκόζη (6C)
- **Ημικυτταρίνη (24-25%):** αποτελείται από γλυκόζη, γαλακτόζη
μανόζη (6C) και πεντόζες (5C) όπως ξυλόζη, αραβινόζη
- **Λιγνίνη (15-20%)**



γλυκόζη

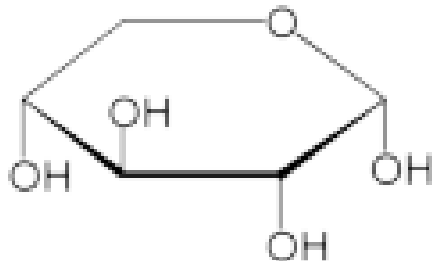


γαλακτόζη

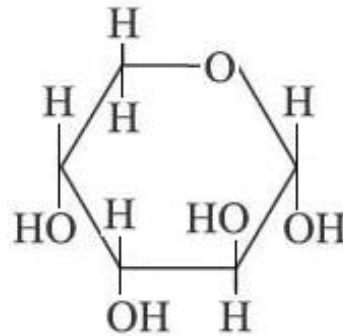


μανόζη

Εξόζες



Ξυλόζη

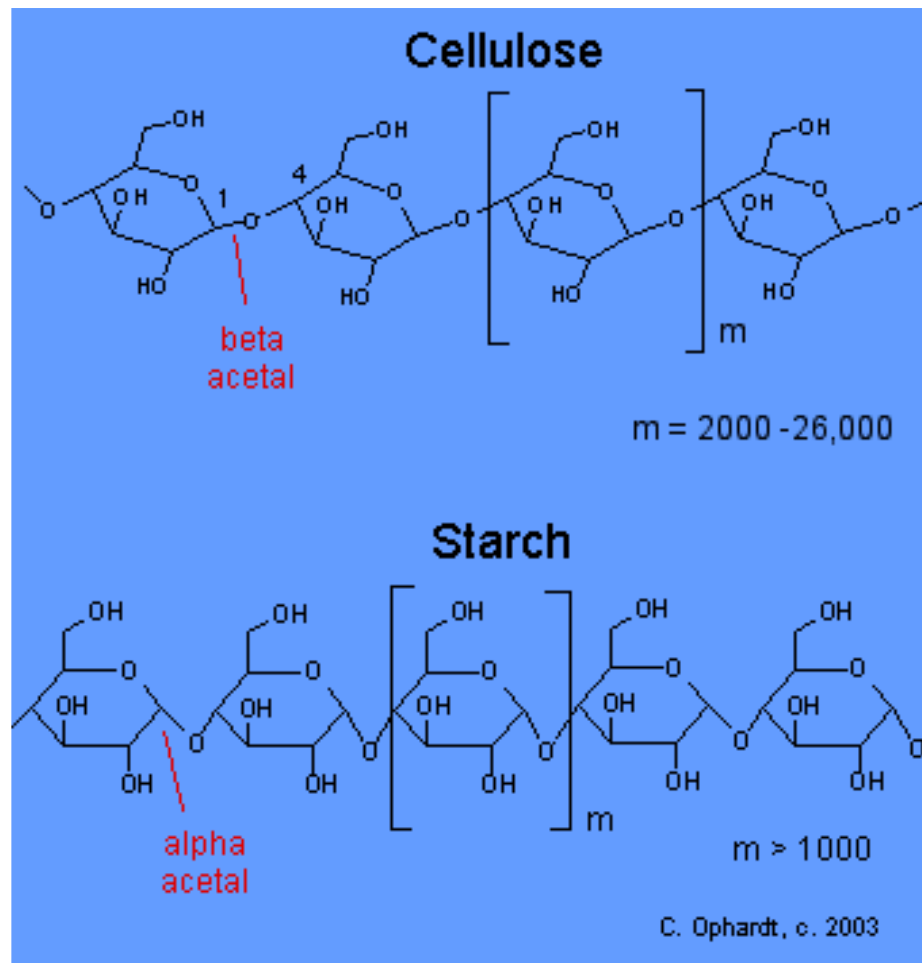


αραβινόζη

Πεντόζες

Υλικό	Κυτταρίνη	Ημικυτταρίνη	Λιγνίνη
Σκληρό ξύλο	50	30	20
Μαλακό ξύλο	45	27	28
Καλαμπόκι (βλαστός)	39-47	26-31	3-5
Άχυρο	37-41	27-32	13-15
Χαρτί εφημερίδας	40-55	25-40	18-30
Βλαστός φυτού	18-38	15-33	30-60
Κορμός δένδρου	22-40	20-38	30-55

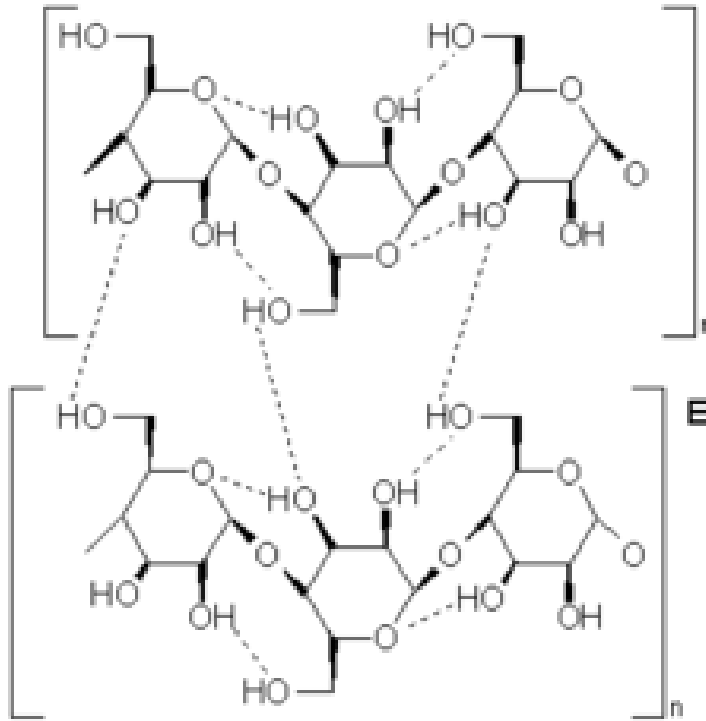
Σε ΗΠΑ, Βραζιλία η παραγωγή αιθανόλης βασίζεται στην υδρόλυση του αμύλου και την παραγωγή αιθανόλης από γλυκόζη
(Εμείς εδώ θέλουμε να χρησιμοποιήσουμε κυτταρίνη)



β - 1,4 γλυκοσιδικούς δεσμούς μεταξύ μορίων γλυκόζης που δεν διασπώνται εύκολα

α - 1,4 ή α - 1,6 γλυκοσιδικούς δεσμούς μεταξύ μορίων γλυκόζης που διασπώνται σχετικά εύκολα

Η κυτταρίνη βρίσκεται συνήθως σε κρυσταλλική μορφή
(δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αλυσίδων κυτταρίνης)



Είναι σε συμπλέγματα με **ημικυτταρίνη** και **λιγνίνη** που την προστατεύουν από ενζυμική διάσπαση

Στάδια Βιομηχανικής Παραγωγής Βιοαιθανόλης από Βιομάζα

- Διάσπαση του συμπλέγματος κυτταρίνης – ημικυτταρίνης – λιγνίνης (**Προκαταρκτική Μεταχείριση**)
- Υδρόλυση των βιοπολυμερών κυτταρίνης και ημικυτταρίνης στα συστατικά τους (σάκχαρα με 6C και 5C) (**Σακχαροποίηση**)
- Μικροβιακή μετατροπή όλων των σακχάρων (εξόζες και πεντόζες) σε αιθανόλη (**Ζύμωση**)
- **Διαχωρισμός αιθανόλης και παραπροϊόντων** (π.χ. λιγνίνη)

1ο Στάδιο: Προκαταρκτική μεταχείριση

Στόχος: Η διάσπαση της κρυσταλλικής δομής του συμπλέγματος ημικυτταρίνης - κυτταρίνης – λιγνίνης

Μέθοδοι

- Εφαρμογή αραιού διαλύματος οξέος
- Εφαρμογή πυκνού διαλύματος οξέος
- Εφαρμογή ενζύμων

Μεταξύ 1ου (Προκατεργασία) και 2ου σταδίου

(Ζακχαροποίηση) συνήθως παρεμβάλλεται ένα στάδιο

καθαρισμού και απομάκρυνσης παραπροϊόντων της

υδρόλυσης της ημικυτταρίνης όπως ασθενή οξέα, φουρανικά

και φαινολικά παράγωγα που συνήθως έχουν ανασταλτική

δράση στους αιθανολογόνους μικροοργανισμούς στο 2ο στάδιο

2ο στάδιο: Σακχαροποίηση βιομάζας

Στόχος: η πλήρης μετατροπή κυτταρίνης και ημικυτταρίνης στα δομικά τους σάκχαρα

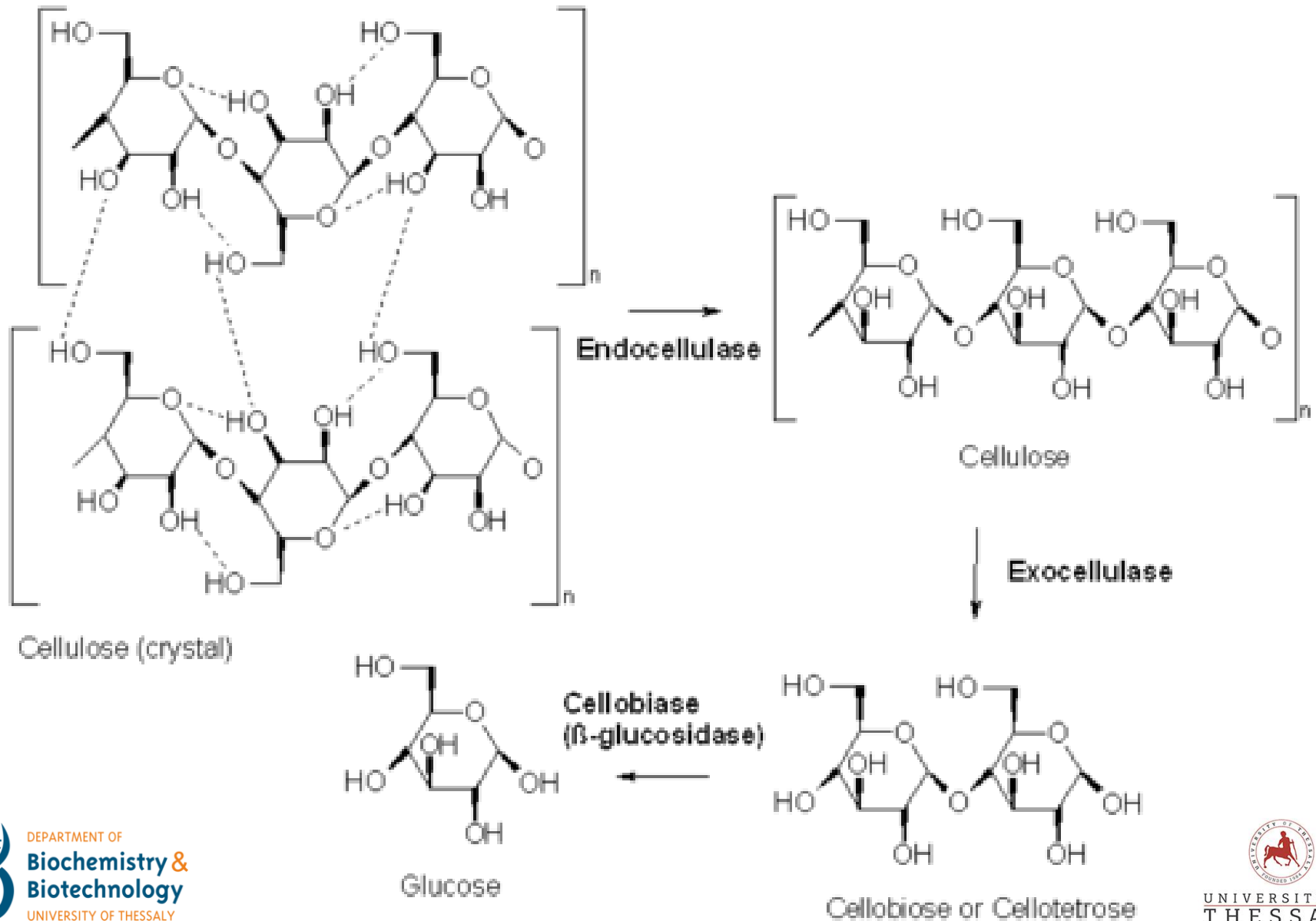
Πως πραγματοποιείται?

Με την χρήση ενζύμων που υδρολύουν την κυτταρίνη και την ημικυτταρίνη στα συστατικά τους μονομερή δηλαδή γλυκόζη, ξυλόζη, αραβινόζη

Ποια ένζυμα χρησιμοποιούνται?

- **Ενδογλυκανάσες:** διασπούν τυχαία την κυτταρίνη παράγοντας ολιγοσακχαρίδια μικρότερου μοριακού βάρους
- **Εξωγλυκανάσες:** δεσμεύονται στα μη-αναγωγικά άκρα των ολιγοσακχαριδίων που προέκυψαν και τα διασπούν προς διμερή κυτταρίνης (cellobiose)
- **β-γλυκοσιδάσες:** Υδρολύουν cellobiose και άλλα ολιγοσακχαρίδια προς γλυκόζη
- **Ημικυτταρινάσες:** Διασπούν β-1,4 ξυλάνια (ξυλανάσες) και διάφορες πλευρικές αλυσίδες

Ενζυμική διάσπαση κυτταρίνης



Προέλευση Ενζύμων

Ο μικροοργανισμός από τον οποίο απομονώθηκαν οι πρώτες **κυτταρινάσες** είναι ο μύκητας *Trichoderma reesei*

Νέα δραστικά ένζυμα έχουν απομονωθεί από το θερμόφιλο βακτήριο *Acidothermus cellulolyticus* (ενδογλυκανάση) και από τον μύκητα *Aspergillus niger* (β-γλυκοσιδάση)

Χρησιμοποιούνται σε βιομηχανική κλίμακα μίγματα ενζύμων (εξωγλυκανάσες, ενδογλυκανάσες, β-γλυκοσιδάσες)



3ο Στάδιο: Μικροβιακή ζύμωση σακχάρων

Χρησιμοποιούνται κυρίως γενετικά τροποποιημένα βακτήρια

- *Zymomonas mobilis*
- *E. coli*
- *Klebsiella oxytoca*

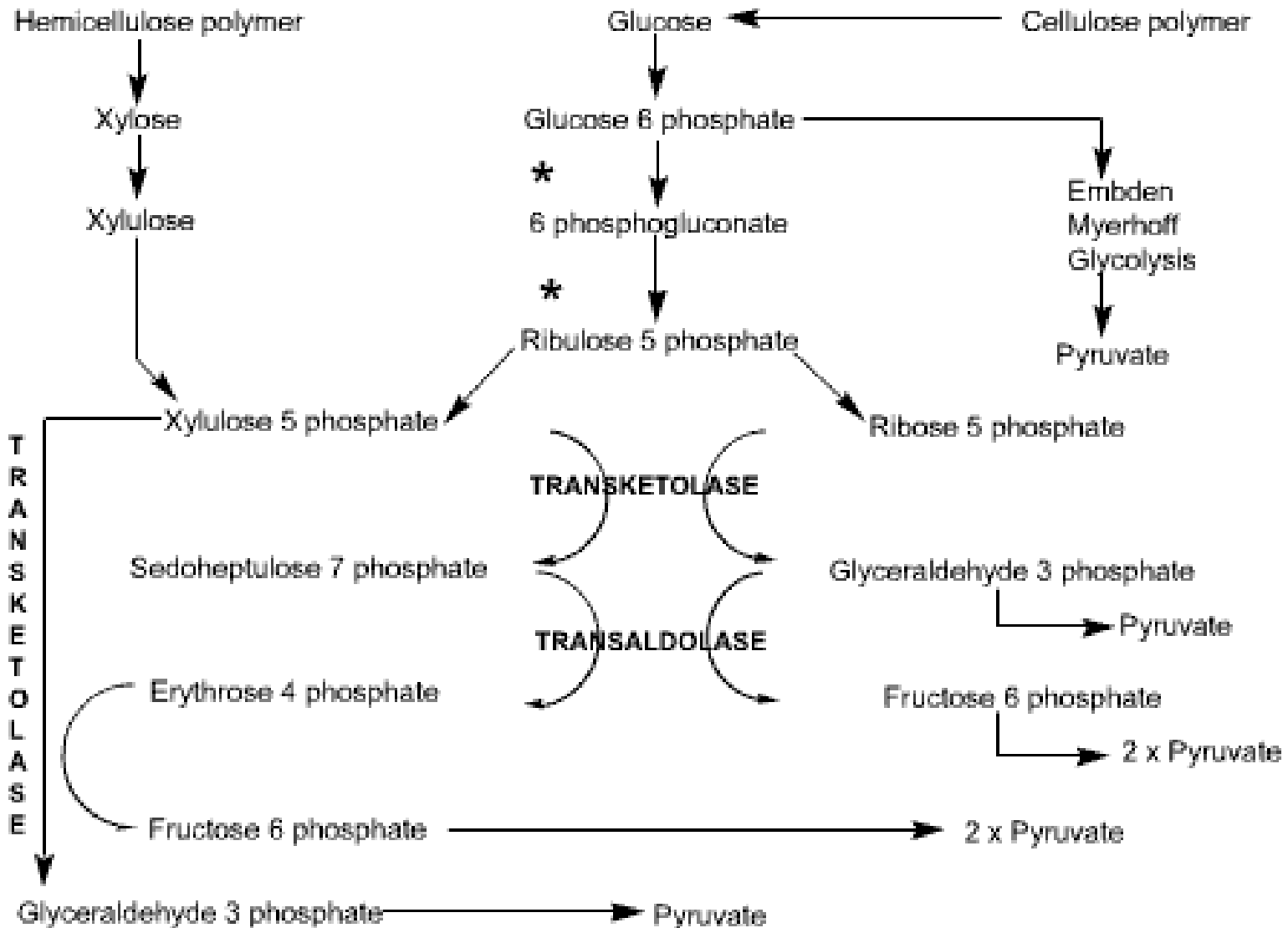
Η ζύμη *S. cerevisiae* δεν χρησιμοποιείται λόγω της αδυναμίας της να χρησιμοποιεί και πεντόζες για την παραγωγή αιθανόλης

Χαρακτηριστικά μικροοργανισμών για παραγωγή βιοαιθανόλης από κυτταρινούχα βιομάζα

1. Να χρησιμοποιεί όλο το φάσμα των σακχάρων (πεντόζες και εξόζες) που περιέχονται στην βιομάζα
2. Υψηλή παραγωγή αιθανόλης (>90% θεωρητικής)
3. Ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης (> 40 g/L)
4. Ανθεκτικότητα σε αναστολείς (οξικό οξύ) που παράγονται κατά την υδρόλυση κυτταρίνης και ημικυτταρίνης
5. Βέλτιστη ανάπτυξη σε συνθήκες όξινου pH και υψηλής θερμοκρασίας

Γενετική Βελτίωση Αιθανολογόνων Μικροοργανισμών

- Ενσωμάτωση στο γονιδίωμα μικροοργανισμών που έχουν την ικανότητα να παράγουν αιθανόλη από εξόζες, νέων μονοπατιών ώστε να χρησιμοποιούν και πεντόζες όπως ξυλόζη και αραβινόζη για την παραγωγή βιοαιθανόλης (*Zymomonas mobilis*, *Saccharomyces cerevisiae*)
- Βελτίωση της παραγωγικότητας σε αιθανόλη μικροοργανισμών που έχουν την ικανότητα να χρησιμοποιούν εξόζες και πεντόζες (*E. coli*, *K. oxytoca*)



* oxidation reactions that direct metabolite flow into Pentose Phosphate Pathway

Βελτίωση *Zygomonas mobilis*

ΓΤ στελέχη του *Z. mobilis* χρησιμοποιούν και πεντόζες (ξυλόζη, αραβινόζη) για την παραγωγή αιθανόλης

Πως έγινε η γενετική τροποποίηση? Ενσωμάτωση 4

γονιδίων από το *E. coli* που ελέγχουν την μετατροπή της ξυλόζης προς αιθανόλη και άλλων 5 γονιδίων από το *E. coli* που ελέγχουν την μετατροπή αραβινόζης σε αιθανόλη στο γονιδίωμα του *Z. mobilis*.

Πρόβλημα η υψηλή ευαισθησία σε ουσίες-αναστολείς που ελευθερώνονται κατά την προκατεργασία (οξικό οξύ)

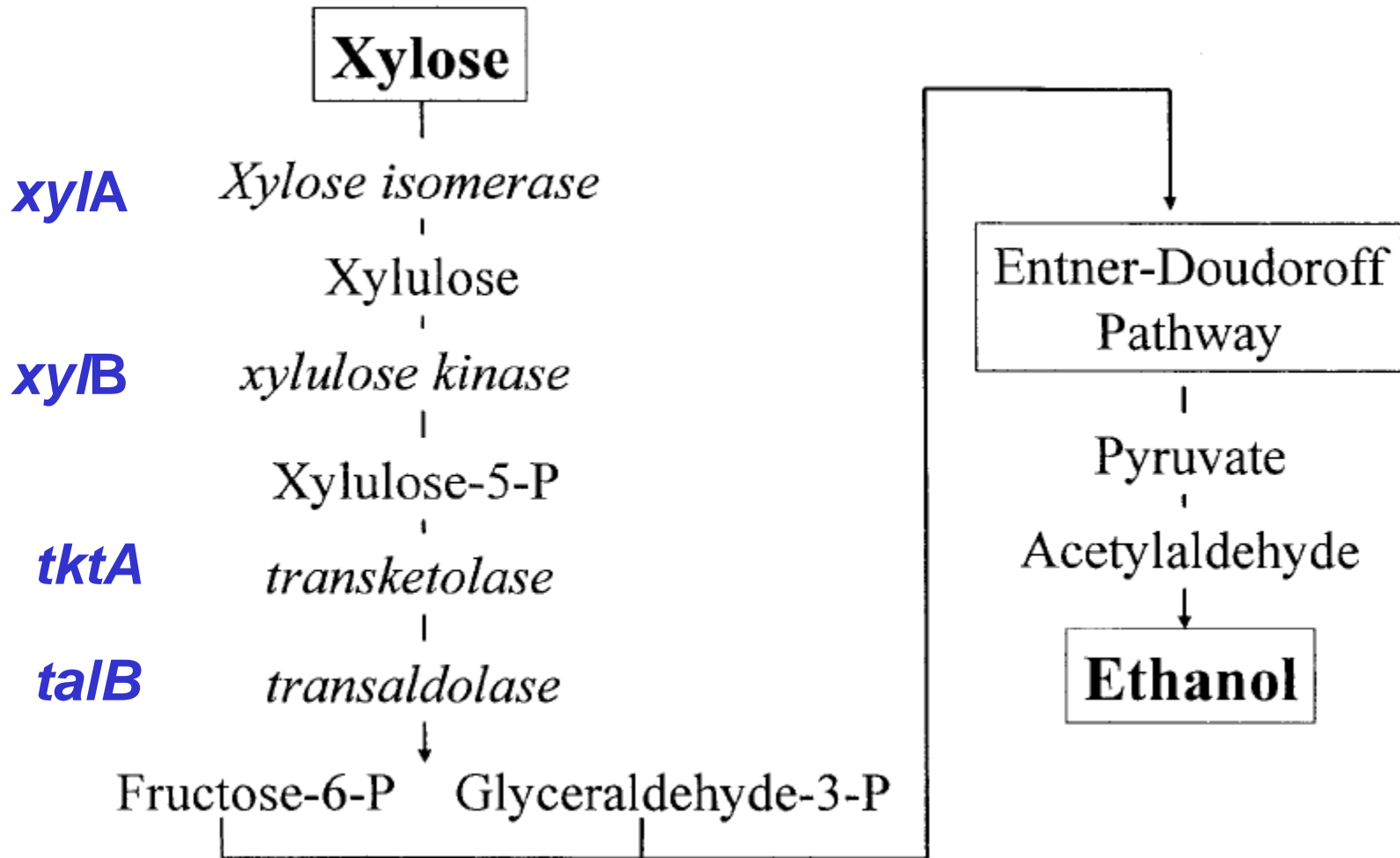
Βελτίωση *S. cerevisiae*

Γενετικώς τροποποιημένα στελέχη του *S. cerevisiae*
χρησιμοποιούν και ξυλόζη για την παραγωγή αιθανόλης

Πως έγινε η γενετική τροποποίηση?

1. Προσθήκη του γονιδίου που κωδικοποιεί την ισομεράση της ξυλόζης από το βακτήριο *Thermus thermophilus* στο γονιδίωμα της ζύμης
2. Προσθήκη στο *S. cerevisiae* των γονιδίων *xyl*, *tkt*, *tal* που ελέγχουν τον μεταβολισμό της ξυλόζης στην ζύμη *Pichia stipitis*

Παραγωγή Αιθανόλης από Ξυλόζη



Βελτίωση *E. coli* για παραγωγή αιθανόλης

Πλεονεκτήματα

1. Ικανό να χρησιμοποιηθεί σάκχαρα με 6C και 5C
2. Αναπτύσσεται σε απλά υποστρώματα
3. Ύπαρξη εμπειρίας για χειρισμό τους σε βιομηχανική κλίμακα

Μειονεκτήματα

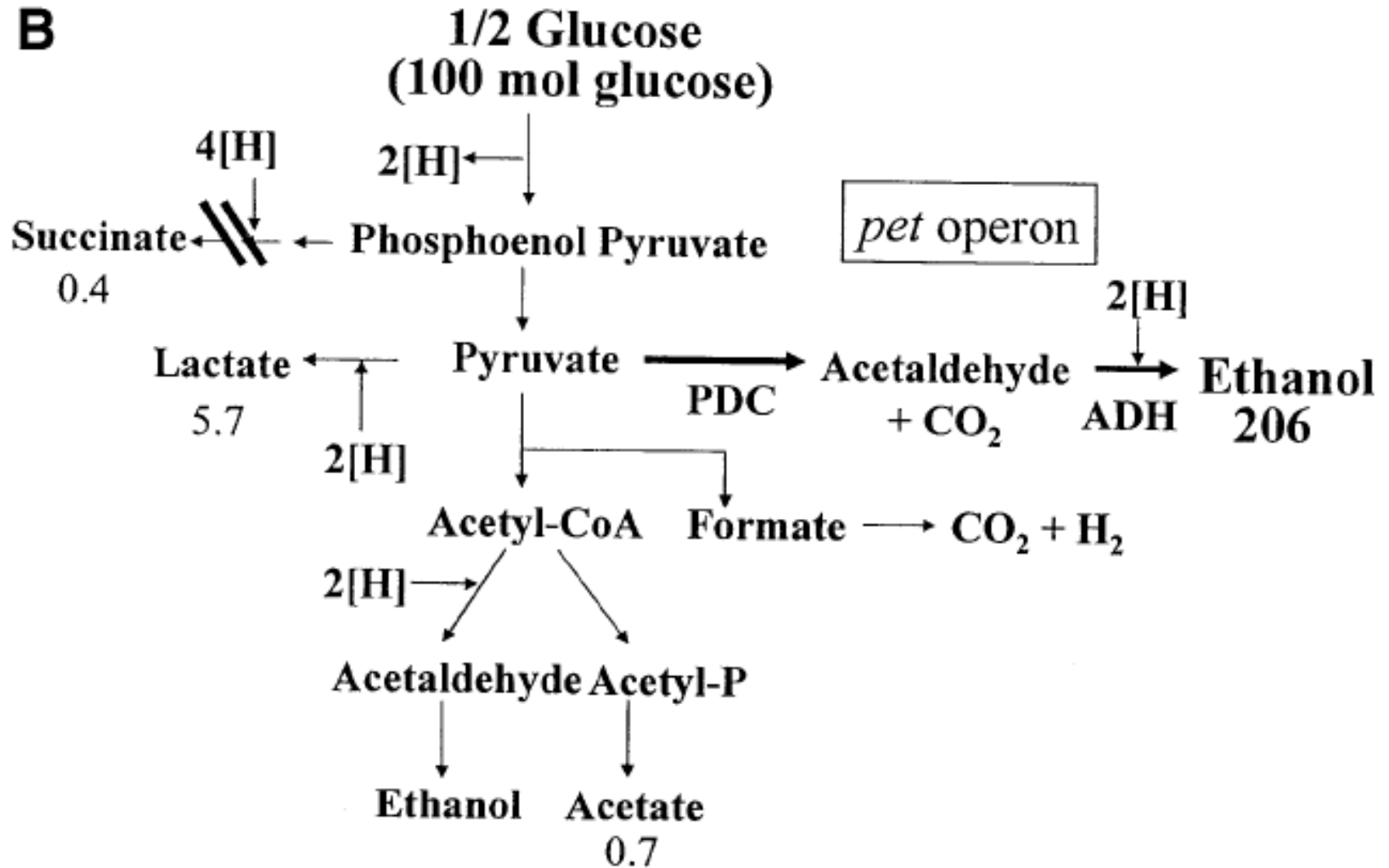
1. Βέλτιστο pH 6-8 (Για κυτταρινάσες όξινο pH)
2. Λιγότερο ανθεκτικά κύτταρα σε σύγκριση με τις ζύμες
3. Η κοινή γνώμη θεωρεί το *E. coli* παθογόνο

Βελτίωση *E. coli* για παραγωγή αιθανόλης

Σειρά από τυχαίες μεταλλάξεις οδήγησαν στην εμφάνιση του στελέχους KO11 που κατείχε το οπερόνιο *pet* από το βακτήριο *Zymomonas mobilis*

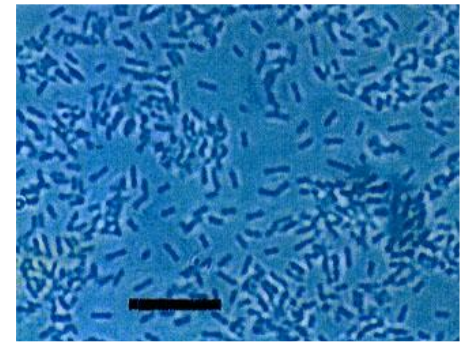
Το οπερόνιο *pet* περιέχει τα γονίδια που κωδικοποιούν την παραγωγή της αλκοολικής αφυδρογονάσης (*adhB*) και πυρουβικής αποκαρβοξυλάσης (*pdc*) που ελέγχουν τα δύο τερματικά βήματα για την μετατροπή του πυρουβικού οξέος σε αιθανόλη

Το στέλεχος KO11 μπορεί να μετατρέψει πλήρως γλυκόζη, ξυλόζη και αραβινόζη σε αιθανόλη με υψηλές αποδόσεις

B

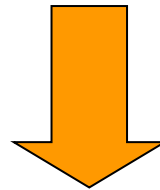
Η μετατροπή της γλυκόζης σε αιθανόλη από το *E. coli* K011

Βελτίωση *Klebsiella oxytoca*



Πλεονεκτήματα

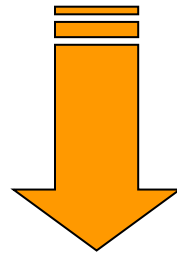
1. Βέλτιστες συνθήκες pH (<5) και θερμοκρασίας (35°C)
2. Μπορεί να χρησιμοποιήσει μεγάλο φάσμα σακχάρων (εξόζες, πεντόζες, cellobiose, cellotriose)



Ιδανικά βακτήρια για συστήματα SSF (ταυτόχρονη σακχαροποίηση & ζύμωση), η χρήση τους θα οδηγήσει σε μείωση της χρήση εξωγλυκανασών (υδρολύουν cellobiose, cellotriose)

Σύνοψη – Τι πρέπει να βελτιώσουμε?

- Παραγωγή αποδοτικότερων ενζύμων
- Δημιουργία γενετικά βελτιωμένων αιθανολογόνων μικροοργανισμών
- Βελτίωση τεχνολογιών



Χαμηλότερο κόστος για να γίνει η αιθανόλη πλήρως ανταγωνιστική ως προς το πετρέλαιο