

Σχεδιασμός και εκπόνηση τεchnο-οικονομικής μελέτης διεργασιών παραγωγής βιοντλήζελ από απόβλητα και παραπροϊόντα βιομηχανιών τροφίμων.



*Μηχανική Τροφίμων και
Εφαρμογή Η/Υ στην
Επιστήμη και Τεχνολογία
τροφίμων*

Επιβλέπων καθηγητής
Κουτίνας Απόστολος

Μεταπτυχιακή φοιτήτρια
Μαρούλη Δήμητρα

Αθήνα, 2011

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο εργαστήριο Σχεδιασμός Βιομηχανιών τροφίμων με την χρήση Ηλεκτρονικού Υπολογιστή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. «Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου».

Για την εμπιστοσύνη του και την βοήθεια, καθοδήγηση και συμβολή καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου μελέτης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Λέκτορα και επιβλέπων καθηγητή κ. Αποστόλη Κουτίνα ο οποίος αποτελούσε και μέλος της επιτροπής μου. Το αποτέλεσμα αυτής της μελέτης οφείλεται στην προθυμία του, στην επιμονή του και στο ενδιαφέρον του να πραγματοποιηθεί μια εργασία ολοκληρωμένη με τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα. Τον ευχαριστώ για την άψογη συνεργασία μας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής μου, τον κ. Γιαννιώτη Σταυριανό και τον κ. Στοφόρου Νικόλαο για την εμπιστοσύνη που έδειξαν στο πρόσωπό μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένειά μου για την στήριξη και την συμπαράστασή τους όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Περίληψη

Ο στόχος της μελέτης ήταν να αξιολογηθεί η οικονομική βιωσιμότητα της παραγωγής βιοντήζελ από πρώτες ύλες που δεν χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα ή ζωοτροφές. Τα χαρακτηριστικά όλων των μονάδων επεξεργασίας στα δύο διαγράμματα ροής που αξιολογήθηκαν έχουν βρεθεί στη διεθνή επιστημονική βιβλιογραφία. Οι ανανεώσιμες πρώτες ύλες που αξιολογήθηκαν ήταν σιρόπι γλυκόζης, υδρόλυμα αραβοσίτου και ακατέργαστα αλευρούχα υδρολύματα αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων. Οι παραπάνω πρώτες ύλες χρησιμοποιήθηκαν ως πηγές γλυκόζης σε ζυμώσεις για την παραγωγή μικροβιακού λίπους, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντήζελ. Αξιολογήθηκαν δύο διεργασίες όπου στην μία η παραγωγή βιοντήζελ πραγματοποιείται χωρίς πρότερη εκχύλιση του λίπους από την κυτταρική μάζα, ενώ στην άλλη το λίπος πρώτα διαχωρίζεται από την κυτταρική μάζα και ακολούθως μετατρέπεται σε βιοντήζελ.

Ο σχεδιασμός των γραμμών παραγωγής πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού SuperPro Designer (Intelligen, Inc.). Οι γραμμές παραγωγής ήταν συνεχούς λειτουργίας και η ετήσια παραγωγή ορίστηκε ως 10.000 τόνοι ανά έτος. Το κόστος παραγωγής βιοντήζελ, στην περίπτωση που χρησιμοποιείται σιρόπι γλυκόζης ως πρώτη ύλη, στην διεργασία όπου δεν πραγματοποιείται εκχύλιση του λίπους (\$4,99/kg) είναι μεγαλύτερο από την διεργασία όπου πραγματοποιείται εκχύλιση του λίπους (\$3,89/kg). Το κόστος της πρώτης ύλης, η μέθοδος παραγωγής βιοντήζελ και η αποδοτικότητα της ζύμωσης (π.χ. παραγωγικότητα, τελική συγκέντρωση μικροβιακού λίπους κ.α.) είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που αυξάνουν το κόστος της διεργασίας. Όταν χρησιμοποιείται υδρόλυμα καλαμποκιού (\$2,84/kg) ή υδρόλυμα αποβλήτων τροφίμων (\$2,23/kg) τότε το κόστος παραγωγής μειώνεται αισθητά.

Μελετήσαμε επίσης την επίδραση της αύξησης της παραγωγικότητας στο τελικό κόστος παραγωγής βιοντήζελ. Η υπόθεση αυτή βασίστηκε στο γεγονός ότι η ζύμωση θα βελτιωθεί μέσω επιλογής καλύτερων μικροοργανισμών ή γενετικής τροποποίησης μικροοργανισμών. Η χρησιμοποίηση αποβλήτων τροφίμων και η επίτευξη παραγωγικότητας 2,1 g μικροβιακού λίπους ανά λίτρο και ανά ώρα ζύμωσης είχαν ως αποτέλεσμα να μειωθεί το κόστος παραγωγή του λίπους έως \$1,2/kg.

ABSTRACT

This study focused on the evaluation of the economic viability of a novel process producing biodiesel from renewable raw materials that do not compete with food or feed production. The specifications of each unit operation were derived from various literature cited publications. The renewable raw materials that were evaluated were glucose syrup, corn hydrolysates and crude hydrolysates from flour-based industrial food wastes. These raw materials were employed as carbon sources in fermentations for the production of microbial oil that was subsequently employed for the production of biodiesel. Two processes were evaluated for biodiesel production where the first one was based on direct conversion of microbial oil, while the other was based on a two-step process employing extraction of microbial oil from microbial biomass followed by transesterification to biodiesel.

The software SuperPro Designer (Intelligen, Inc.) was employed for the costing study. The process flowsheets were designed in continuous mode of operation and an annual production capacity of 10,000 tn was assumed. When glucose syrup was used as raw material, the biodiesel production cost in the process employing direct transesterification of microbial oil (\$4,99/kg) was higher than the process utilizing indirect transesterification of purified microbial oil (\$3,89/kg). The raw material cost, the biodiesel production methodology and the fermentation efficiency (e.g. productivity) were the main factors that influenced the final cost. When corn hydrolysates (\$2,84/kg) or food industry waste streams (\$2,23/kg) were used as raw materials the biodiesel production cost was reduced further.

The effect of productivity during fermentation was also studied. It was assumed that fermentation productivity will be improved through proper microorganism selection and application of genetic engineering. The utilization of industrial food wastes and the achievement of microbial oil productivity in the range of 2,1 g/L/h during fermentation would reduce the biodiesel production cost up to \$1,2/kg.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- | | | |
|-----|--|----|
| 1.1 | Σκοπός της παρούσας μελέτης | 7 |
| 1.2 | Το βιοντλήζελ ως ανανεώσιμη πηγή καυσίμων. | 9 |
| 1.3 | Ελαιογόνοι μικροοργανισμοί και παραγωγή μικροβιακού λίπους. | 16 |
| 1.4 | Παραγωγή βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος χρησιμοποιώντας ελαιογόνους μικροοργανισμούς. | 27 |

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

- | | | |
|-----|--|----|
| 2.1 | Μεθοδολογία επιλογής των σταδίων της διεργασίας. | 29 |
| 2.2 | Γενικές πληροφορίες για την γραμμή παραγωγής. | 30 |
| 2.3 | Υπολογισμός του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης. | 31 |
| 2.4 | Υπολογισμός του συνολικού κόστους παραγωγής. | 31 |
| 2.5 | Αξιολόγηση της προοπτικής εφαρμογής της τεχνολογίας. | 32 |

3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΝΤΗΖΕΛ

- | | | |
|-----|-------------------------------------|----|
| 3.1 | Επιλογή ελαιογόνου μικροοργανισμού. | 34 |
| 3.2 | Μεθοδολογίες επεξεργασίας ελαίου. | 35 |
| 3.3 | Μεθοδολογία παραγωγής Biodiesel. | 36 |
| 3.4 | Βιολογικό υλικό. | 39 |

3.5	Διάγραμμα ροής.	45
------------	------------------------	-----------

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1	Τεχνοοικονομική μελέτη.	50
------------	--------------------------------	-----------

4.2	Οικονομική Ανάλυση.	51
------------	----------------------------	-----------

	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	61
--	--------------------------------	-----------

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Σκοπός της παρούσας μελέτης

Η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε στην αξιολόγηση μίας διεργασίας που χρησιμοποιεί ανανεώσιμες πηγές άνθρακα και συγκεκριμένα εμπορική γλυκόζη, υδρολύματα που προκύπτουν από την ενζυμική επεξεργασία δημητριακών και απόβλητα βιομηχανιών τροφίμου σαν πρώτες ύλες για την μικροβιακή παραγωγή μικροβιακού λίπος (SCO) το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ακατέργαστο υλικό για την παραγωγή βιοντλήζελ. Με αυτό τον τρόπο, αξιολογήσαμε την προοπτική της αντικατάστασης της χρήσης σπόρων πλούσιων σε φυτικά έλαια από ανανεώσιμες πρώτες ύλες πλούσιες σε υδατάνθρακες για την παραγωγή του βιοντλήζελ. Η μελέτη επικεντρώθηκε στον σχεδιασμό της διεργασίας και στην εκπόνηση τεχνοοικονομικής μελέτης έτσι ώστε να αξιολογηθεί το κόστος παραγωγής του βιοντλήζελ από την συγκεκριμένη διεργασία και να αξιολογηθεί η προοπτική μεταφοράς της προτεινόμενης τεχνολογίας σε βιομηχανική κλίμακα. Επίσης, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης μπορούν να χρησιμοποιηθούν από ερευνητές που ασχολούνται με την παραγωγή βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος έτσι ώστε να επικεντρωθούν στην πειραματική βελτιστοποίηση των κρίσιμων σταδίων της συνολικής διεργασίας από τα οποία εξαρτάται ή βιώσιμη μεταφορά της εν λόγω τεχνολογίας στην βιομηχανία.

Ο σχεδιασμός της διεργασίας παραγωγής βιοντλήζελ στηρίχτηκε στον δημιουργία μίας γραμμής παραγωγής συνεχούς λειτουργίας. Η ετήσια παραγωγή ορίστηκε ως 10.000 τόνοι ανά έτος λειτουργίας της μονάδας και θεωρήσαμε ότι το εργοστάσιο λειτουργεί 330 μέρες ανά έτος και 24 ώρες ανά ημέρα. Ο συνολικός χρόνος λειτουργίας του εργοστασίου ορίστηκε ως 10 έτη και η ετήσια απόσβεση της αρχικής επένδυσης ορίστηκε ως 10% ανά έτος λειτουργίας τως γραμμής παραγωγής. Ο σχεδιασμός και η τεχνοοικονομική μελέτη πραγματοποιήθηκαν με την χρήση του λογισμικού SuperPro Designer (Intelligen, Inc.).

Τα τεχνικά χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν για τον σχεδιασμό της γραμμής παραγωγής, την επιλογή κάθε στοιχείου εξοπλισμού και την

επιλογή κάθε σταδίου της διεργασίας στηρίχτηκαν σε πειραματικά δεδομένα τα οποία είναι δημοσιευμένα σε διάφορες ερευνητικές μελέτες. Η συνολική διεργασία παραγωγής βιοντήζελ από μικροβιακό λίπος στηρίζεται στον συνδυασμό της βιοτεχνολογικής παραγωγής μικροβιακού λίπους και της μετεστεροποίησης του εν λόγω λίπους με μεθανόλη για την παραγωγή βιοντήζελ. Η επιλογή των ανανεώσιμων πρώτων υλών στηρίχτηκε σε συμβατικές πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία ζυμώνσεων (εμπορική γλυκόζη και ακατέργαστο υδρόλυμα που προκύπτουν από καρπούς σίτου ή καλαμποκιού) ή καινοτόμες πρώτες ύλες που δύνανται να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον οι οποίες δεν χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα ή ζωοτροφές (αλευρούχα ή αμυλούχα απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων). Η γλυκόζη επιλέχθηκε ως πηγή άνθρακα για την ζύμωση διότι η βιβλιογραφική μελέτη που ανέφερε τα καλύτερα τεχνολογικά χαρακτηριστικά (συνδυασμός συγκέντρωσης μικροβιακού λίπους, περιεκτικότητας μικροβιακού λίπους στον μικροοργανισμό, παραγωγικότητας και απόδοσης παραγωγής μικροβιακού λίπους από την γλυκόζη) στην διεργασία της ζύμωσης στηρίζονταν στην χρησιμοποίηση της γλυκόζης. Ο μικροοργανισμός που χρησιμοποιήθηκε στην εν λόγω βιβλιογραφική μελέτη στο στάδιο της ζύμωσης ήταν ο *Rhodosporidium toruloides* Y4.

Έχουν χρησιμοποιηθεί δύο διαφορετικές μέθοδοι για την παραγωγή βιοντήζελ μέσω μετεστεροποίησης του μικροβιακού λίπους. Η παραγωγή βιοντήζελ πραγματοποιήθηκε είτε μέσω απευθείας χρησιμοποίησης της μικροβιακής μάζας ή μέσω εκχύλισης του μικροβιακού ελαίου από τη βιομάζα. Κατά την πρώτη μέθοδο, το μικροβιακό λίπος δεν διαχωρίζεται μέσω διάρρηξης των μικροβιακών κυττάρων και εκχύλισης με οργανικούς διαλύτες πριν την παραγωγή του βιοντήζελ, αλλά πραγματοποιείται απευθείας διαχωρισμός και μετεστεροποίηση σε ένα στάδιο με χρήση μεθανόλης και όξινου καταλύτη. Κατά την δεύτερη μέθοδο, η παραγωγή των μεθυλεστέρων πραγματοποιείται αφού διαχωρίσουμε το μικροβιακό λίπος από την μικροβιακή βιομάζα. Τα τεχνολογικά χαρακτηριστικά των δύο διεργασιών έχουν δημοσιευτεί σε ερευνητικές μελέτες σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά.

Ένας από τους στόχους της μελέτης είναι η χρησιμοποίηση του σχεδιασμού διεργασιών στην κατεύθυνση μελλοντικών πειραματικών

μελετών. Η ανάπτυξη βιοδιυλιστηρίων για την παραγωγή βιοκαυσίμων, χημικών ουσιών και βιοϋλικών από ανανεώσιμες πρώτες ύλες εξαρτάται από την δημιουργία οικονομικά βιώσιμων διεργασιών οι οποίες δεν προκαλούν αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών που δεν αποτελούν τρόφιμα ή ζωοτροφές θα μπορούσαν να γίνουν μια βιώσιμη επιλογή για την παραγωγή βιοντλήζελ. Επίσης, το μικροβιακό λίπος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βασική (ή ενδιάμεση) πρώτη ύλη για την παραγωγή χημικών ουσιών προστιθέμενης αξίας. Σε κάθε μία από τις παραπάνω εφαρμογές, το μικροβιακό λίπος θα μπορούσε να αντικαταστήσει τα φυτικά έλαια ως βιομηχανική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντλήζελ αλλά και χημικών ουσιών.

1.2 Το βιοντλήζελ ως ανανεώσιμη πηγή καυσίμων.

Τα τελευταία χρόνια η υπερθέρμανση του πλανήτη και η μόλυνση του περιβάλλοντος αποτελούν μεγάλο πρόβλημα. Η χρήση καυσίμων που προέρχονται από βιομάζα όπως το βιοντλήζελ και η βιοαιθανόλη μπορούν να βοηθήσουν στην επίλυση τέτοιων περιβαλλοντικών προβλημάτων.

Οι μεγάλες απαιτήσεις ενέργειας από την βιομηχανία όπως επίσης η ανάγκη που αναπτύσσεται στον κόσμο της έρευνας και τα προβλήματα μόλυνσης της διαδεδομένης χρήσης των καυσίμων καθορίζουν τελείως απαραίτητη την ανάπτυξη καινούργιων πηγών με απεριόριστη διάρκεια και με λιγότερη επίδραση στο περιβάλλον από τις παραδοσιακές πηγές ενέργειας (Meher et al., 2006; Yagiz et al, 2007). Πρόσφατα έχουν διερευνηθεί πολλές εναλλακτικές πηγές καυσίμων και ένα από αυτά είναι το βιοντλήζελ.

Το μεγαλύτερο μειονέκτημα του υψηλής κλίμακας εμπορευματοποιημένου βιοντλήζελ είναι το μεγάλο κόστος παραγωγής, 1,5-3 φορές υψηλότερο από το diesel (Dermibas, 2009). Αυτό το γεγονός αποδίδεται σε μεγάλο βαθμό στο κόστος των φυτικών ελαίων (Canacki and Van Gerpen, 2001). Από την άλλη πλευρά η παραγωγή βιοντλήζελ από οικονομικές πρώτες ύλες ακολουθώντας πιστά τα πρότυπα EN-14214:2003 ή ASTM 6751-07 αποτελεί ένα πρόβλημα το οποίο θα πρέπει να λυθεί. Η έρευνα

για καινούργιες πρώτες ύλες χαμηλού κόστους - συμπεριλαμβανομένων μιγμάτων από διάφορες πηγές (ακατέργαστα ή ανακυκλώσιμα) (Pinzi *et al.*, 2009) - καθώς επίσης και η εξέλιξη των εργαλείων προσομοίωσης ικανά για την πρόβλεψη των ιδιοτήτων του τελικού προϊόντος, μπορεί να αποτελέσουν τον τρόπο που θα οδηγήσει σε πιο οικονομικό βιοντλήζελ που εκπληρώνει τα υποχρεωτικά χαρακτηριστικά του τελικού προϊόντος (Garcia *et al.*, 2010).

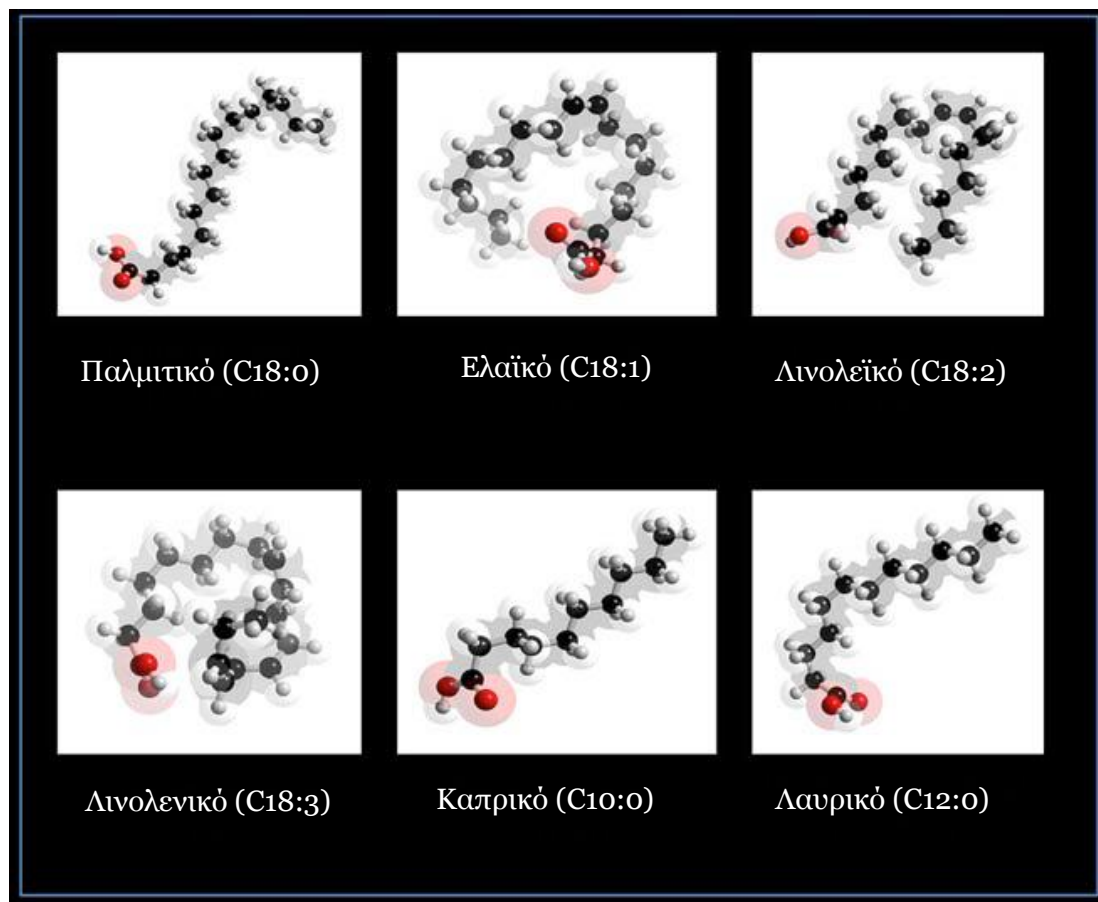
Το βιοντλήζελ είναι μια φυσική και ανανεώσιμη, εναλλακτική λύση καυσίμων για μηχανές ντίζελ, που παράγεται από φυτικά έλαια, συνήθως καλαμποκέλαιο, σογιέλαιο ή ηλιέλαιο, από λάδι μαγειρέματος μετά από ανακύκλωση ή από λίπος ζώων. Δεν περιέχει καθόλου ορυκτέλαιο, είναι μη τοξικό και βιοδιασπώμενο. Τυπικά περιλαμβάνει 14 διαφορετικούς τύπους λιπαρών οξέων (Πίνακας 1-1.2.1) τα οποία μετασχηματίζονται χημικά σε εστέρες των ελεύθερων λιπαρών οξέων (K. Shaine Tyson, 2001).

Πίνακας 1-1.2.1 Δομές λιπαρών οξέων που χρησιμοποιούνται στο biodiesel.

Όνομασία λιπαρού οξέος	Αριθμός ατόμων άνθρακα και διπλών δεσμών	Χημικός τύπος (= διπλός δεσμός)
Καπριλικό	C8	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH
Καπρικό	C10	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH
Λαυρικό	C12	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH
Μυριστικό	C14	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
Παλμιτικό	C16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
Παλμιτολεϊκό	C16:1	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Στεατικό	C18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
Ελαϊκό	C18:1	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Λινολεϊκό	C18:2	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Λινολενικό	C18:3	CH ₃ (CH ₂) ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COO
Αραχιδονι	C20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH

κώ		
Εικοσενοϊκό	C20:1	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₉ COOH
Μπεχενικό	C22:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH
Εουρικό	C22:1	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₁₁ COOH

Εικόνα 1-1.2.1 Βασικά λιπαρά οξέα που υπάρχουν στα φυτικά έλαια τα οποία χρησιμοποιούνται ως πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοντλήζελ.



Διαφορετικά κλάσματα από κάθε τύπο των ελεύθερων λιπαρών οξέων που υπάρχουν σε διάφορες πρώτες ύλες (Πίνακας 1-1.2.2) επηρεάζουν μερικές από τις ιδιότητες του καυσίμου (Πίνακας 1-1.2.3). Για παράδειγμα, υψηλά επίπεδα κεκορεσμένων λιπαρών οξέων (C14:0, C16:0, C18:0) αυξάνουν το σημείο θάλωσης (cloud point), αυξάνουν τον αριθμό κετανίου, μειώνουν τα οξειδία του αζώτου (NO_x) και βελτιώνουν τη σταθερότητα. Σε αντίθεση, η παρουσία πολλών πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (C18:2, C18:3) θα οδηγήσει

στην μείωση του σημείου θόλωσης και του αριθμό κετανίου, θα μειώσει τη σταθερότητα (εκτός κι αν χρησιμοποιηθούν πρόσθετα σταθερότητας) και θα αυξήσουν τα NO_x (K. Shaine Tyson, 2001).

Πίνακας 1-1.2.2 Βάρος επί τις εκατό λιπαρών οξέων σε διάφορες πρώτες ύλες

Λιπαρό οξύ ζωικού λίπους ή φυτικού ελαίου	Ζωικά λίπη (Tallow)	Λαρδί (Lard)	Κοκοφοίνικας (Coconut)	Palm Kernal	Φοίνικας (Palm)	Κάρδαμο (Safflower)	Φυστίκια (Peanut)
C8:0	--	--	5-9	2-4	--	--	--
C10:0	--	--	4-10	3-7	--	--	--
C12:0	0.2	--	44-51	45-52	--	--	--
C14:0	2-3	1	13-18	14-19	1-6	--	0.5
C16:0	25-30	25-30	7-10	6-9	32-47	5.2	6-11
C16:1	2-3	2-5	--	0-1	--	--	1-2
C18:0	21-26	12-16	1-4	1-3	1-6	2.2	3-6
C18:1	39-42	41-51	5-8	10-18	40-52	76.3	39-66
C18:2	2	4-22	1-3	1-2	2-11	16.2	17-38
C18:3	--	--	--	--	--	--	--
C20:0 C22:0	0.4-1	-	--	1-2	--	--	5-10
C20:1 C22:1	0.3	2-3	--	--	--	--	--
Other	0.5	0.2	--	--	--	--	--

Λιπαρό οξύ φυτικού ελαίου	Αραβόσιτος	Ηλίανθος	Σόγια	Ελαιοκράμβη	Λιναρόσπορος
C8:0	--	--	--	--	--
C10:0	--	--	--	--	--
C12:0	--	--	--	--	--
C14:0	0-2	--	0.3	--	0.2
C16:0	8-10	6.0	7-11	2-5	5-9

C16:1	1-2	--	0-1	0.2	--
C18:0	1-4	4.2	3-6	1-2	0-1
C18:1	30-50	18.7	22-34	10-15	9-29
C18:2	34-56	69.3	50-60	10-20	8-29
C18:3	--	0.3	2-10	5-10	45-67
C20:0 C22:0	--	1.4	5-10	.9	--
C20:1 C22:1	0-2	--	--	50-60	--
Other	--	--	--	--	--

Πίνακας 1-1.2.3 Επιλεγμένες ιδιότητες για Diesel και Βιοντλήζελ καύσιμα.

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΓΙΑ ΤΟ DIESEL ΚΑΙ ΤΟ BIODIESEL		
Ιδιότητες καυσίμου	Ντίζελ	Βιοντίζελ
Σπάνταρ	ASTM D975	ASTM PS 121
Σύνθεση Καυσίμου	C10-C21 HC	C12-C22 FAME
Ελάχιστη θερμαντική Αξία (Btu/gal)	131,295	117,093
Κινηματικό Ιξώδες σε 40°C	1.3-4.1	1.9-6.0
Ειδικό βάρος σε 60°F (kg/l)	0.85	0.88
Πυκνότητα σε 15°C (lb/gal)	7.079	7.328
Νερό (ppm κ.β.)	161	.05% max
Άνθρακας % κ.β.	87	77
Υδρογόνο % κ.β.	13	12
Οξυγόνο % κ.β	0	11
Θείο % κ.β	0.05 max	0.0 - 0.0024
Σημείο Ζέσης°C	188-343	182-338
Σημείο Ανάφλεξης °C	60-80	100-170
Σημείο Θόλωσης°C	-15 έως 5	-3 έως 12
Σημείο Απόχυσης°C	-35 έως -15	-15 έως 10
Αριθμός Κετανίου	40-55	48-65
Στοιχειομετρική αναλογία αέρα/ καυσίμου κ.β.	15	13.8
Πηγή: Biodiesel Handling and Use Guidelines, K. Shaine Tyson, National Renewable Energy Laboratory, NREL/TP-580-30004, September 2001		

Το βιοντλήζελ μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη καθαρή του μορφή ή να συνδυαστεί με καύσιμα πετρελαίου. Για παράδειγμα, το γνωστό ως "B100" είναι καθαρό βιοντλήζελ και το πιο κοινό μίγμα είναι 20/80, γνωστό ως "B20", με 20% βιοντλήζελ και 80% πετρέλαιο (K. Shaine Tyson, 2001). Το βιοντλήζελ μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε οποιοδήποτε κινητήρα ανάφλεξης με συμπίεση με καμία ή ελάχιστες τροποποιήσεις. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αυτοκίνητα, φορτηγά, βάρκες, ναυτιλιακό εξοπλισμό, συστήματα άρδευσης, ηλεκτρικές γεννήτριες και στις περισσότερες εφαρμογές όπου χρησιμοποιείται το ντλήζελ (K. Shaine Tyson, 2001).

Μίγματα βιοντλήζελ είναι δημοφιλή καύσιμα γιατί είναι βιοαποδομήσιμα και μειώνουν την τοξικότητα των ντλήζελ. Το γνωστό "B100" χρησιμοποιείται σε θαλάσσια σκάφη και σε εξοπλισμό εξόρυξης. Το βιοντλήζελ έχει πυκνότητα 0,88 kg/L έναντι 0,85 kg/L για το πετρέλαιο ντλήζελ. Επειδή το βιοντλήζελ είναι ελαφρώς βαρύτερο από το πετρέλαιο ντλήζελ, η κοινή διαδικασία μίξης είναι η προσθήκη του βιοντλήζελ στο πάνω μέρος του πετρελαίου ντλήζελ (K. Shaine Tyson, 2001).

Το βιοντλήζελ δεν περιέχει άζωτο ή αρωματικές ουσίες και περιέχει χαρακτηριστικά λιγότερο από 15 ppm θείου. Το βιοντλήζελ περιέχει οξυγόνο 11% κατά βάρος, στο οποίο οφείλεται η ελαφρώς χαμηλότερη θερμομαντική αξία του (ενεργειακό περιεχόμενο) όπως και οι χαρακτηριστικά χαμηλές εκπομπές μονοξειδίου του άνθρακα, αιθάλης, και υδρογονανθράκων. Το ενεργειακό περιεχόμενο του βιοντλήζελ είναι κατά προσέγγιση 10% λιγότερο από το diesel No. 2 και συγκρίσιμος με το diesel No.1. (κηροζίνη) η αποδοτικότητα καυσίμων βιοντλήζελ είναι η ίδια με τα καύσιμα ντλήζελ. Η οικονομία, η ισχύς, και η ροπή είναι ανάλογες προς την θερμομαντική αξία του βιοντλήζελ ή του μίγματος βιοντλήζελ (K. Shaine Tyson, 2001).

Ορισμός βιοντλήζελ

Το βιοντλήζελ είναι ένα εναλλακτικό είδος πετρελαίου ντλήζελ από φυτικά έλαια και λίπος ζώων. Αποτελείται από εστέρες λιπαρών οξέων μακρυνάς ανθρακικής αλυσίδας τα οποία προέρχονται από ανανεώσιμες πρώτες ύλες,

όπως είναι τα φυτικά έλαια, ζωϊκά λίπη ή έλαια που παράγονται από μικροοργανισμούς (Meher *et al.*, 2006; Dorado, 2008). Το βιοντλήζελ αποτελείται από μεθυλικούς εστέρες των λιπαρών οξέων (FAME) οι οποίοι προέρχονται από τριγλυκερίδια του ελαίου μέσω μετεστεροποίησης με μεθανόλη.

ΔΙΑΦΟΡΑ ΣΤΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΟ BIODIESEL ΚΑΙ ΤΟ DIESEL ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ			
Ντίζελ πετρελαίου	129.500 Btu/gal	Ντίζελ πετρελαίου	129.500 Btu/gal
Βιοντίζελ από ζωϊκά λίπη	115.720 Btu/gal	Βιοντίζελ από φυτικά έλαια	119.216 Btu/gal
Διαφορά	-10,6%		-7,9%
Πηγή: A Comprehensive Analysis of Biodiesel Impacts on Exhaust Emissions, EPA420-P-02-001, October 2002			

Οι συνθήκες αντίδρασης γενικά περιλαμβάνουν έναν συνδυασμό μεταξύ χρόνου αντίδρασης και θερμοκρασίας. Τα μεγαλύτερα προβλήματα της μεθόδου οφείλονται στα επιμέρους συστατικά των πρώτων υλών, όπως νερό και ελευθέρα λιπαρά οξέα ή τις ακαθαρσίες που περιέχονται στο τελικό προϊόν, όπως μεθανόλη, ελεύθερη γλυκερόλη και προϊόντα σαπωνοποίησης (Jon Van Gerpen, 2004). Τα κυριότερα πλεονεκτήματα είναι ότι αποτελεί ένα από τα πιο ανανεώσιμα καύσιμα τα οποία είναι διαθέσιμα σήμερα και ότι είναι επίσης μη τοξικό και βιοαποικοδομήσιμο. Το βιοντλήζελ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί σε κινητήρες ντίζελ απευθείας χωρίς την απαίτηση επιπρόσθετων μηχανικών τροποποιήσεων.

Τα κυριότερα συστατικά του φυτικού ελαίου είναι τα τριγλυκερίδια (triglycerides). Τα τριγλυκερίδια είναι εστέρες της γλυκερόλης μακρυσ αλυσίδας λιπαρών οξέων. Παρουσία όξινου ή αλκαλικού καταλύτη, το τριγλυκερίδιο διασπάται προς γλυκερόλη και λιπαρά οξέα. Η παρουσία αλκοόλης στην αντίδραση οδηγεί στην παραγωγή εστέρων με τα λιπαρά οξέα. Η διαδικασία αυτή καλείται μετεστεροποίηση (transesterification). Η μετεστεροποίηση είναι εξαιρετικά σημαντική για το βιοντλήζελ. Το βιοντλήζελ επιτυγχάνεται με μετεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων με μεθανόλη. Η μεθανόλη είναι η αλκοόλη που προτιμάται για την παραγωγή βιοντλήζελ γιατί

είναι η φθηνότερη και πιο διαθέσιμη αλκοόλη. Παρόλα αυτά για την αντίδραση για να πραγματοποιηθεί σε ένα λογικό χρονικό διάστημα, μια ουσία η οποία καλείται καταλύτης (καταλύτες είναι ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται σε μικρές ποσότητες και επιταχύνουν την ταχύτητα της αντίδρασης: σε πολλές περιπτώσεις οι αντιδράσεις δεν πραγματοποιούνται μόνες τους χωρίς καταλύτη), πρέπει να προστεθεί στο μίγμα του φυτικού ελαίου και της μεθανόλης. (Van Gerpen, 2004)

1.3 Ελαιογόνοι μικροοργανισμοί και παραγωγή μικροβιακού λίπους.

Η παραγωγή του βιοντλήζελ από φυτικά έλαια είναι σχετικά υψηλή σε κόστος λόγω του υψηλού κόστους του φυτικού ελαίου. Για την ακρίβεια το 70-90% του κόστους παραγωγής του βιοντλήζελ αντιστοιχεί στο κόστος παραγωγής του ακατέργαστου φυτικού ελαίου. Το μικροβιακό λίπος αποτελεί μια υποσχόμενη εναλλακτική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντλήζελ μιας και χαρακτηρίζεται από πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τα φυτικά έλαια. Η παραγωγή του μικροβιακού λίπους μπορεί να επιτευχθεί μέσω μικροβιακών ζυμώσεων και να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντλήζελ.

Το μικροβιακό λίπος θα μπορούσε να αποτελέσει μία εναλλακτική λύση ως πρόσθετο στα τρόφιμα υψηλής προστιθέμενης αξίας καθώς διάφοροι ελαιογόνοι μικροοργανισμοί παράγουν λίπος που περιέχει πολυακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία δύνανται να χρησιμοποιηθούν για διατροφικούς και πιθανόν ιατρικούς σκοπούς. Για παράδειγμα, διάφοροι ελαιογόνοι μικροοργανισμοί δύνανται να παράξουν μικροβιακό λίπος που περιέχει γ-λινολεϊκό οξύ. Εκτός από διατροφικό παράγοντα το γ-λινολεϊκό οξύ αποτελεί και έναν θεραπευτικό παράγοντα, καθώς υφίσταται ως ουσία εντός φαρμακευτικών σκευασμάτων για την αντιμετώπιση ορισμένων μορφών καρκίνου, του διαβήτη, περιπτώσεων εκζέματος, προεμμηνορροϊκής έντασης, φλεγμονών και άλλων παθολογικών καταστάσεων (Horrobin, 1992).

Αρχές και ορισμός:

Ο ορισμός του μικροβιακού λίπους (SCO) χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά δημοσίως το 1976 (Ratledge, 1976) αν και είχε χρησιμοποιηθεί προηγουμένως σε αρκετές παρουσιάσεις. Το μικροβιακό λίπος (SCO) είχε θεωρηθεί ότι είναι ισοδύναμο της μικροβιακής πρωτεΐνης (SCP), ένας όρος ο οποίος είχε υιοθετηθεί στα τέλη του 1960 από τους ερευνητές που ασχολούνταν με την παραγωγή βρώσιμης μικροβιακής βιομάζας μέσω ζυμώνσεων χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη διάφορες πηγές άνθρακα. Με βάση την καταγωγή του όρου, θα μπορούσε να δοθεί ο παρακάτω ορισμός: μικροβιακό λίπος (SCO) είναι το βρώσιμο έλαιο (τριγλυκερίδια) το οποίο μπορεί να εκχυλιστεί από διάφορα μικροβιακά κύτταρα (Kyle and Ratledge, 1992).

Ιστορική αναδρομή του SCO:

Παρόλο που το μικροβιακό λίπος είναι ένας σχετικά καινούργιος όρος, το σκεπτικό της χρήσης του σαν συμπληρωματική πηγή ελαίου και λίπους είναι πολύ πιο παλιό. Η παραγωγή μικροβιακού λίπους ανακαλύφθηκε πριν από εκατό χρόνια, ωστόσο πριν μόλις 70 χρόνια τα λιπίδια από φύκη άρχισαν να προσελκύουν το ερευνητικό ενδιαφέρον. Το μικροβιακό λίπος είχε προσελκύσει την ακαδημαϊκή περιέργεια και ήταν όχι πριν την κορύφωση του πολέμου το 1914, με την συνοδεία της καταστροφής του εμπορίου και των προμηθειών, όπου η Γερμανία ξεκίνησε σοβαρά να αναπτύσσει έρευνα στο Linder σε μελλοντικές μεθόδους για την παραγωγή μικροβιακού λίπους. Δύο μέθοδοι για παραγωγή λίπους αναπτύχθηκαν από τα μέλη του Lindner: 1) μια επιφανειακή μέθοδος για την καλλιέργεια του *Endomyces vernalis* (τώρα ταξινομείται ως *Trichosporon pullulans*) η οποία προπορεύτηκε της μεθόδου με το κιτρικό οξύ η οποία ήταν να αναπτυχθεί με τον *Aspergillus niger* μια δεκαετία νωρίτερα και 2) μια δεύτερη διεργασία η οποία ήταν στην πραγματικότητα μια ζύμωση στερεών χρησιμοποιώντας άχυρο σαν υλικό για την ανάπτυξη μαγιάς. Μια πιο λεπτομερή ανάλυση αυτών των μεθόδων που αναπτύχθηκαν δίνεται στις αναφορές Woodbine, 1959 και Hesse, 1949.

Πίνακας: 1-1.3.1 Οι πρώτες δημοσιεύσεις στην ανάλυση λιπιδίων για κάθε μεγάλη ομάδα οργανισμών.

Organisms	Lipid	Investigators	Year	Ref.
Molds: <i>Claviceps purpurea</i>	30%	Ficinus	1873	Ficinus, 1873
Yeasts: Baker's yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9%	Nägeli & Loew	1878	Nageli and Loew, 1878
Algae: <i>Pennales spp.</i>	40-50%	Harder & Witsch	1942	Harder and Witsch, 1942

Οι έρευνητικές μελέτες όσον αφορά στο μικροβιακό λίπος εξαπλώθηκαν περαιτέρω στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και στην Βρετανία αλλά οι επιστήμονες της Γερμανίας παρέμειναν κυρίαρχοι σε αυτό το τομέα. Αξιόλογες ποσότητες λίπους παράχθηκαν, αλλά τα προβλήματα ανάκτησης και απόσταξης δεν μπορούσαν να ξεπεραστούν. Οι κυριότεροι οργανισμοί που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ο *Odium lactis* (ονομαζόταν το “milk mold” και τώρα αναταξινομήθηκε ως *Geotrichum candidum*), ο *Torula (Candida) utilis*, διάφορα *Fusarium spp.* και άλλοι μύκητες. Οι κυριότερες ιστορικές αναφορές για την ανάπτυξη του SCO αναφέρονται στον πίνακα 1-1.3.2 (Kyle and Ratledge, 1992).

Πίνακας: 1-1.3.2 Single Cell Oil: Ιστορικές ανακαλύψεις μετά το 1960.

Ημερομηνία προσέγγισης	Χώρα	Κύριοι ερευνητές	Κύριοι μικροοργανισμοί
1899-1922	Germany	Lindner	<i>Trichosporon pullulans</i> <i>Torula utilis</i>
1927-1931	U.S.A. U.K.	Barber Peterson Lockwood Birkinshaw & Raistrick	<i>Penicillium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>molds</i>
1927-1945	Germany	Schmidt Heide Damm Harder & Witsch/Barg Rippel Kleinzeller	<i>Geotrichum candidum</i> <i>Trichosporon</i> <i>various molds</i> <i>algae</i> <i>Candida spp.</i> <i>Lipomyces</i>

		Witter Bernhauer	<i>Fusarium and others</i> <i>Mucor circinelloides</i>
1939-1950	Sweden U.S.A. Czechoslovakia Switzerland Yugoslavia	Lundin Pan Hospodka Bernhard & Albrecht Blinc	<i>Rhodotorula</i> <i>Rh. gracilis</i> <i>Aspergillus, Rhizopus</i> <i>Phycomyces</i> <i>blakesleeanus</i> <i>Mucor mucedo</i>
1950-1959	U.K. Japan U.S.A.	Walker Woodbine Fogg & Collyer Kaibara Ikeda Burlew	<i>various molds</i> <i>molds and yeasts</i> <i>Chlorella</i> <i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Algae</i>

Η εξέλιξη του ενδιαφέροντος μετά το 1960 μπορεί να θεωρηθεί ότι οφείλεται περισσότερο σε ένα είδος περιέργειας που οδηγεί την έρευνα σε θέματα βιομηχανικής παραγωγής του μικροβιακού λίπος. Δεν θα πρέπει να αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι μαζί με αυτό το αξιόλογο ενδιαφέρον στο μικροβιακό λίπος οι γερμανοί επιστήμονες παρέμειναν διακεκριμένοι στην βιοχημεία των λιπιδίων, με το νόμπελ Prize in Chemistry το οποίο απονεμήθηκε στον Professor F. Lynen του Munich University για την εργασία του στην βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων (Kyle and Ratledge, 1992).

Από το 1960 το ενδιαφέρον για την παραγωγή του μικροβιακού λίπους (SCO) άρχισε να μειώνεται, αλλά έπειτα άρχισε πάλι να αυξάνεται. Πολύ μικρό ενδιαφέρον είχε εκδηλωθεί κατά το 1960 στην παραγωγή μικροβιακού λίπους (SCO). Η Unilever, η πολυεθνική εταιρεία, είχε μια μικρή ομάδα που ασχολιόταν με τα μικροβιακά λιπίδια κατά τη διάρκεια εκείνης της εποχής. Η έρευνα εμπεριείχε μελέτες στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) των μυκήτων, με έμφαση συγκεκριμένα στο αραχιδονικό οξύ. Αυτή η έρευνα αποτέλεσε τα θεμέλια της έρευνας που ακολούθησε κατά το 1980 όσον αφορά την ύπαρξη άλλων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), τα οποία έχουν σημαντικό διατροφικό ενδιαφέρον (Kyle and Ratledge, 1992). Το μικροβιακό λίπος μπορεί να περιέχει υψηλές ποσότητες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων τα οποία εκτός από διατροφικό ενδιαφέρον, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρώτες ύλες για την παραγωγή ειδικών τροφών και καλλυντικών (Ratledge, 1994, Αγγελής, 2007).

Παρόλο που η παραγωγή του μικροβιακού λίπους αποτελούσε μια βιώσιμη εναλλακτική πρώτη ύλη σε σύγκριση με τα φυτικά έλαια και τα λίπη, η πρώτη εμπορική παραγωγή τους άρχισε το 1985 για χρονικό διάστημα 6 ετών όπου και σταμάτησε λόγω του ότι δεν ήταν αποδοτική οικονομικά. Το έλαιο αυτό παράχθηκε χρησιμοποιώντας τον μικροοργανισμό *Mucor circinelloides* και ήταν πλούσιο σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) και γ-λινολεϊκό οξύ (GLA; 18:3, n-6). Παρόλο που η παραγωγή του μικροβιακού λίπους δεν είχε μεγάλη χρονική διάρκεια, καθιερώθηκε όμως η αντίληψη ότι οι μικροοργανισμοί θα μπορούσαν εμπορικά να αποτελέσουν έναν εναλλακτικό τρόπο παραγωγής ελαίου έναντι των φυτικών ελαίων και ότι για την παραγωγή του μικροβιακού ελαίου θα μπορούσε να αναπτυχθεί μια τεχνολογία που δεν θα συμπεριλάμβανε ακριβές μονάδες παραγωγής (Ratledge, 2004).

Η παραγωγή μικροβιακού λίπους έχει προκαλέσει το βιομηχανικό ενδιαφέρον λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του. Οι ελαιογόνες ζύμες και μύκητες συσσωρεύουν τριγλυκερίδια πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Διάφορες ανανεώσιμες πρώτες ύλες έχουν χρησιμοποιηθεί ως υποστρώματα για την παραγωγή μικροβιακού λίπους όπως φυτικά έλαια, εστέρες λιπαρών οξέων, ακατέργαστα έλαια, προϊόντα σαπωνοποίησης και υδρογονάνθρακες (Papanikolaou *et al*, 2001).

Υπάρχουν πολλές ζύμες (π.χ. *Candida*, *Cryptococcus*, *Lipomyces*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Trichosporon*) και μύκητες (π.χ. *Mortierella*, *Cunninghamella*) οι οποίοι μπορούν να συσσωρεύσουν ενδοκυτταρικά υψηλές ποσότητες του μικροβιακού λίπους (SCO) το οποίο έχει την ίδια σύνθεση λιπαρών οξέων με τα φυτικά έλαια (Meng *et al.*, 2009). Οι μικροοργανισμοί μπορούν να χαρακτηριστούν ως ελαιογόνοι στην περίπτωση που μπορούν να συσσωρεύσουν μικροβιακό λίπος (SCO) πάνω από 20% του συνολικού κυτταρικού ξηρού βάρους (Ratledge, 1991). Το μικροβιακό λίπος μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε για εφαρμογές υψηλής προστιθέμενης αξίας (π.χ. πρόσθετα τροφίμων) είτε για την παραγωγή βιοντλήζελ. Η βιομηχανική εφαρμογή του μικροβιακού λίπους (SCO) για την παραγωγή βιοντλήζελ εξαρτάται από την εξέλιξη της μικροβιακής ζύμωσης, η οποία θα πρέπει να επιτυγχάνει υψηλή απόδοση μετατροπής της μηγής άνθρακα σε SCO, υψηλή

παραγωγικότητα, υψηλή περιεκτικότητα λιπιδίων στην ενδοκυτταρική βιομάζα και υψηλές συγκεντρώσεις μικροβιακού λίπους. Τα προηγούμενα κριτήρια αποτελούν ένα χρήσιμο εργαλείο έτσι ώστε να επιλεχθούν οι κατάλληλοι μικροοργανισμοί οι οποίοι θα διευκολύνουν την βιομηχανική εφαρμογή της παραγωγής βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος. Για παράδειγμα, τα μικροφύκη μπορούν να συσσωρεύσουν υψηλές ποσότητες του μικροβιακού λίπους αλλά δεν μπορούν να ανταγωνιστούν με τις ελαιογόνες ζύμες και τους ελαιογόνους μύκητες γιατί η καλλιέργειά τους απαιτεί μεγάλη έκταση και μεγάλης διάρκειας ζύμωση. Μερικά στελέχη ζυμών (π.χ. *Rhodospiridium sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Lipomyces sp.*) μπορούν να συσσωρεύσουν ενδοκυτταρικά περίπου 70% (w/w) SCO (Guerzoni *et al.*, 1985; Li *et al.*, 2007; Angerbauer *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009).

Ο πίνακας 1-1.3.3 δείχνει ότι κυρίως ζύμες και μερικοί μύκητες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε βιομηχανικές ζυμώσεις για την παραγωγή SCO. Ο πίνακας 1-1.3.3 αποδεικνύει ότι κυτταρικές μάζες έως 185 g/L με περιεκτικότητα σε λίπος έως 67,5% (w/w) επιτυγχάνονται κυρίως σε ζυμώσεις διαλείποντος έργου ή ζυμώσεις συνεχούς λειτουργίας με ανακύκλωση (Yamauchi *et al.*, 1983; Pan *et al.*, 1986; Ykema *et al.*, 1988; Meesters *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2007). Σε πολλές περιπτώσεις, το μικροβιακό λίπος έχει παρόμοια περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα όπως στην περίπτωση των φυτικών ελαίων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοντλήζελ. Το μικροβιακό λίπος αποτελείται κυρίως από τριγλυκερίδια τα οποία περιέχουν λιπαρά οξέα όπως το παλμιτικό (16:0), το παλμιτολεϊκό (16:1), το στεατικό (18:0), το ελαϊκό (18:1) και το λινολεϊκό (18:2) (Meesters *et al.*, 1996; Ratledge and Wynn, 2002; Li *et al.*, 2007; Meng *et al.*, 2009). Το μικροβιακό λίπος που παράγεται από *C. curvatus* έχει την ίδια σύνθεση με το φοινικέλαιο (Davies, 1988). Το μικροβιακό λίπος που παράγεται από την ζύμη *Yarrowia lipolytica* περιέχει στεατικό, ελαϊκό, λινολεϊκό και παλμιτικό οξύ (Papanikolaou *et al.*, 2002α).

Πίνακας 1-1.3.3 Παραγωγή SCO από διάφορους μικροοργανισμούς, πηγές άνθρακα και τρόπους καλλιέργειας.

Μικροοργανι	Μέθοδος	Πηγή	Συνολι	Περιεκτικότη	Παραγωγικό
-------------	---------	------	--------	--------------	------------

σμός	καλλιέργει- ας	άνθρακ α	κό- ξηρό βάρος (g/L)	ητα σε μικροβιακό λίπος (% w/w)	τητα (gL ⁻¹ h ⁻¹)
<i>Yeast species</i>					
<i>Candida sp.107</i>	Single- stage continuous	Glucose	18.1	37.1	0.4
<i>Apiotrichum curvatum</i>	batch	Glucose	14.5	45.6	N.A.
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Single- stage continuous	Glucose	9.2	25	0.08
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Single- stage continuous	Crude glycerol	8.1	43	0.11
<i>Yarrowia lipolytica</i>	shake flask	Stearin	15.2	52	N.A.
<i>Candida curvata</i>	Single- stage continuous	Glucose	13.5	29	0.16
	Single- stage continuous	Sucrose	16	28	0.18
	Single- stage continuous	Lactose	18	31	0.22
	Single- stage continuous	Xylose	15	37	0.27
	Single- stage continuous	Ethanol	11.5	35	0.2
<i>Apiotrichum curvatum</i>	batch	Whey	21.6	36	0.119
	recycling		85	35	0.372

	continuous		20	36	0.382
	partial recycling		91.4	33	0.995
<i>Cryptococcus curvatus</i>	fed-batch	Glycerol	118	25	0.59
<i>Lipomyces starkeyi</i>	shake flask	Glucose & Xylose	20.5	61.5	N.A.
<i>Lipomyces starkeyi</i>	shake flask	Glucose & Sewage sludge	9.4	68	N.A.
<i>Lipomyces starkeyi</i>	fed-batch	Glucose	153	54	0.59
<i>Trichosporon fermentans</i>	shake flask	Glucose	24.1	56.6	N.A.
		Sucrose	19.5	62.6	N.A.
		Xylose	17.1	57.8	N.A.
		Lactose	16.9	49.6	N.A.
		Fructose	21.5	40.7	N.A.
		Molasses	36.4	35.3	N.A.
<i>Trichosporon fermentans</i>	shake flask	Rice raw hydrolysate	28.6	40.1	N.A.
		Mannose	22.7	50.4	N.A.
		Galactose	23.6	59	N.A.
		Cellobiose	15.8	65.6	N.A.
<i>Rhodospiridium toruloides</i>	fed-batch	Glucose	106.5	67.5	0.54
<i>Rhodotorula gracilis</i>	continuous	Glucose	9.6	49.8	0.096
<i>Rhodotorula glutinis</i>	shake flask	Monosodium glutamate	25	20	N.A.

		wastewater			
<i>Rhodotorula glutinis</i>	fed-batch	Glucose	185	40	0.88
<i>Fungal species</i>					
<i>Cunninghamella echinulata</i>	shake flask	Glucose	15	46	N.A.
<i>Cunninghamella echinulata</i>	shake flask	Starch	13.5	28	N.A.
		Pectin	4.1	10	N.A.
<i>Mortierella isabellina</i>	shake flask	Glucose	27	44.6	N.A.
<i>Mortierella isabellina</i>	shake flask	Starch	10.4	36	N.A.
		Pectin	8.4	24	N.A.
<i>Mucor sp. RRL001</i>	shake flask	Tarioca starch	28	17.8	N.A.
<i>Mortierella ramanniana</i>	commercial-scale batch bioreactor	Glucose	62	46.1	N.A.

Υπάρχει αξιοσημείωτη πληθώρα (καθαρών και ακατέργαστων γεωργο-βιομηχανικών) υποστρωμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από ελαιογόνους μικροοργανισμούς για μικροβιακή ανάπτυξη και συσσώρευση μικροβιακού λίπους. Η παραγωγή του SCO μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση διαφόρων μονοσακχαριτών ή δισακχαριτών σαν υποστρώματα (π.χ. γλυκόζη, φρουκτόζη κτλ.) (Moreton, 1985; Moreton and Clode, 1985; Aggelis *et al.*, 1996; Papanikolaou *et al.*, 2004α, 2004β; Li *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2008; Fakas *et al.*, 2009α), διαφόρων αποβλήτων πλούσια σε σάκχαρα (Ykema *et al.*, 1989, 1990; Davies *et al.*, 1990; Papanikolaou *et al.*, 2007α; Fakas *et al.*, 2006, 2007, 2008α, 2008β, 2009α), διάφορα φυτικά έλαια (Bati *et al.*, 1984; Koritala *et al.*, 1987; Aggelis and Sourdís, 1997), καθαρά λιπαρά οξέα (Mlickova *et al.*, 2004α, 2004β) ή γλυκερόλη (Meesters *et al.*, 1996;

Papanikolaou and Aggelis 2002; Mantzouridou *et al.*, 2008; Andre *et al.*, 2009; Makri *et al.*, 2010).

Απόβλητα που περιέχουν κυρίως άμυλο ή υποπροϊόντα (π.χ. υποπροϊόντα άλεσης σίτου, απόβλητα ψωμιού, απόβλητα από αλεύρι ή υποπροϊόντα από βιομηχανίες ζαχαροπλαστικής) τα οποία προκύπτουν από βιομηχανία τροφίμων ή συλλέγονται ως τρόφιμο που απορρίπτεται από τις εταιρείες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή μέσου ζύμωσης το οποίο βασίζεται στη γλυκόζη. Στην περίπτωση παραγωγής μικροβιακού λίπους, ορισμένοι ελαιογόνοι μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να καταναλώνουν γλυκόζη και ξυλόζη. Απόβλητα από ψωμί και άλλα τρόφιμα βασισμένα στο άμυλο θα μπορούσαν να συλλεχθούν πριν τη διάθεση από τις εταιρείες και να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος. Τα απόβλητα από ψωμί έχουν αξιολογηθεί για την παραγωγή βιοαιθανόλης (Ebrahimi *et al.*, 2008). Επιπλέον, απόβλητα ή παραπροϊόντα από βιομηχανίες ζαχαροπλαστικής που περιέχουν κυρίως άμυλο και σουκρόζη σαν πηγή άνθρακα θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως υποσχόμενες πρώτες ύλες για την παραγωγή μικροβιακού λίπους.

Άλλα ρεύματα αποβλήτων από τη βιομηχανία τροφίμων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή μικροβιακού λίπους είναι το ξινόγαλα και η μελάσσα. Το ξινόγαλα συνιστά ένα σημαντικό απόβλητο από τη γαλακτοκομική βιομηχανία και η αξιοποίησή του είναι ένας σημαντικός στόχος για την μείωση της μόλυνσης του περιβάλλοντος. Η ζύμη *Cryptococcus curvatus* μπορεί να συσσωρεύει ενδοκυτταρικά μικροβιακό λίπος έως περίπου 60% (w/w) του συνολικού ξηρού βάρους κατά τη διάρκεια ζύμωσης του ξινόγαλακτος και άλλων αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων (Ratledge 1991; Meesters *et al.*, 1996). Επιπλέον, οι μελάσσες (παραπροϊόν από την διεργασία παραγωγής ζάχαρης) έχουν χρησιμοποιηθεί σαν μέσο ζύμωσης για την παραγωγή μικροβιακού λίπους με τη ζύμη *Trichosporon fermentans* για να παραχθούν 36,4 g/L συνολικό ξηρό βάρος με μια περιεκτικότητα μικροβιακού λίπους έως 35,3% (w/w) (Zhu *et al.*, 2008).

Ορισμένοι ελαιογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να καταναλώσουν γλυκερόλη για την παραγωγή μικροβιακού λίπους (Papanikolaou and Aggelis,

2002; Meesters et al., 1996). Συνεπώς, η ακατέργαστη (crude) γλυκερόλη που προέρχεται από τα σχέδια παραγωγής βιοντήζελ θα μπορούσε να ανακυκλωθεί για την παραγωγή του βιοντήζελ μέσω της ενδιάμεσης παραγωγής του μικροβιακού λίπους.

Τα βιοδυλιστήρια πρέπει να εξαρτώνται πλήρως από ακατέργαστες πρώτες ύλες για τον σχηματισμό του μέσου ζύμωσης το οποίο θα περιέχει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την μικροβιακή ανάπτυξη και το σχηματισμό του μικροβιακού λίπους. Προκειμένου να εφαρμοστεί αυτή η αρχή, βιομηχανικά απόβλητα πλούσια σε πρωτεΐνες θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μέσου ζύμωσης εμπλουτισμένο σε οργανικές πηγές αζώτου (π.χ. αμινοξέα, πεπτίδια), φωσφόρου, ιχνοστοιχείων και βιταμινών. Τέτοιου είδους απόβλητα πλούσια σε πρωτεΐνες αποτελούν τα υπολείμματα ελαιοκράμβης που παράγονται μετά την εκχύλιση του φυτικού ελαίου σε πρώτη γενιά παραγωγής βιοντήζελ. Επίσης, απόβλητα τροφίμων από εταιρείες εστίασης θα μπορούσαν να αποτελέσουν πολύτιμες πρώτες ύλες για την παραγωγή μικροβιακού λίπους μέσω ζύμωσης. Θα πρέπει να τονιστεί ότι οργανικές πηγές αζώτου μπορούν να ενισχύσουν τη συσσώρευση λιπιδίων (ακόμη και δυο ή τρεις φορές περισσότερο από την ποσότητα λιπιδίων που συσσωρεύονται με ανόργανες πηγές αζώτου) σε μερικούς ελαιογόνους μικροοργανισμούς (π.χ. *Rhodosporidium toruloides*, *Trichosporon cutaneum* και *Trichosporon fermentans*) (Evans and Ratledge, 1984α, 1984β; Zhu et al., 2008; Koutinas and Papanikolaou, 2010).

1.4 Παραγωγή βιοντήζελ από μικροβιακό λίπος χρησιμοποιώντας ελαιογόνους μικροοργανισμούς.

Η βιοαιθανόλη (κυρίως από σακχαρόζη και γλυκόζη) και η παραγωγή βιοντήζελ (μέσω μετεστεροποίησης τριγλυκεριδίων) είναι τα κυριότερα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς τα οποία παράγονται σε βιομηχανική κλίμακα. Το βιοντήζελ παράγεται με μετεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων με μικρής ανθρακικής αλυσίδας αλκοόλες (κυρίως μεθανόλη ή αιθανόλη) για να

παραχθούν μεθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων (FAMES) και αιθυλικοί εστέρες λιπαρών οξέων (FAEEs). Η παγκόσμια παραγωγή του βιοντλήζελ εξαρτάται κυρίως από την χρησιμοποίηση φυτικών ελαίων και ζωικών λιπών. Η πρόσφατη κρίση στην τιμή των τροφίμων έδειξε ότι η έρευνα πρέπει να επικεντρωθεί στην εξέλιξη της δεύτερης γενιάς βιοκαυσίμων τα οποία προέρχονται από λιγνοκυτταρινούχα ακατέργαστα υλικά και βιομηχανικά απόβλητα (πχ. απόβλητα από βιομηχανίες τροφίμων) (Koutinas and Paranikolaou, 2010).

Τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην εξέλιξη της παραγωγής βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος. Τα κυριότερα πλεονεκτήματα είναι:

- ✓ Οι πρώτες ύλες που θα χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή SCO από όπου προκύπτει το βιοντλήζελ δεν ανταγωνίζονται με την παραγωγή τροφίμων. Με αυτό το τρόπο, η καλλιέργεια γης για την παραγωγή τροφίμων καθώς επίσης και η βιομηχανική διαδικασία παραγωγής τροφίμων θα μπορούσε να συνδυαστεί με την παραγωγή βιοντλήζελ χρησιμοποιώντας υπολείμματα και γεωργο-βιομηχανικά απόβλητα.
- ✓ Το μικροβιακό λίπος θα μπορούσε να παραχθεί από ποικίλες πηγές άνθρακα (π.χ. γλυκόζη, λακτόζη, ξυλόζη, σακχαρόζη, γλυκερόλη) χρησιμοποιώντας φυσικούς μικροοργανισμούς σε αντίθεση με την παραγωγή βιοαιθανόλης όπου οι μικροοργανισμοί οι οποίοι παραδοσιακά χρησιμοποιούνται στην βιομηχανική διαδικασία χρησιμοποιούν κυρίως γλυκόζη και σακχαρόζη.
- ✓ Ο διαχωρισμός της βιοαιθανόλης είναι μια τεχνολογία με υψηλές απαιτήσεις σε κατανάλωση ενέργειας και κεφάλαιο επένδυσης, ενώ ο διαχωρισμός ενδοκυτταρικού συσσωρευμένου SCO είναι πιθανό να επιτευχθεί σε σημαντικά λιγότερο κόστος κεφαλαίου και απαιτήσεις σε κατανάλωση ενέργειας.
- ✓ Η χρησιμοποίηση φυτικών ελαίων και ζωικών λιπών για την παραγωγή βιοντλήζελ δεν θα παρέχουν ποτέ επαρκή ποσότητες πρώτων υλών για

την παραγωγή βιοντλήζελ που απαιτείται ετησίως σε παγκόσμια κλίμακα. Επιπλέον, το κόστος παραγωγής ελαιοκράμβης είναι περίπου 70-80% του συνολικού κόστους παραγωγής βιοντλήζελ. Η παραγωγή βιοντλήζελ από SCO εξαρτάται από χαμηλής αξίας απόβλητα ή υπολείμματα και συνεπώς θα προσφέρει μια βιώσιμη προοπτική για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

- ✓ Η μετεστεροποίηση του SCO έχει αποτέλεσμα την παραγωγή ακατέργαστης γλυκερόλης η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων, χημικών ουσιών και βιοπλαστικών (Koutinas et al, 2007; Aggelis, 2009).

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Μεθοδολογία επιλογής των σταδίων της διεργασίας

Ο σχεδιασμός της διεργασίας βασίστηκε αποκλειστικά σε πειραματικά αποτελέσματα τα οποία έχουν δημοσιευτεί σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά. Αρχικά η διεργασία διαχωρίστηκε σε τέσσερα στάδια:

- 1.** Παραγωγή θρεπτικού μέσου για την μικροβιακή ζύμωση
- 2.** Παραγωγή μικροβιακού λίπους μέσω μικροβιακής ζύμωσης
- 3.** Προεπεξεργασία μικροβιακής βιομάζας για την παραγωγή βιοντλήζελ
- 4.** Μετεστεροποίηση του μικροβιακού λίπους και απομόνωση του βιοντλήζελ

Χρησιμοποιήθηκαν τρεις πρώτες ύλες σύμφωνα με την πηγή άνθρακα που επιλέχθηκε για την παραγωγή μικροβιακού λίπους. Η πηγή άνθρακα επιλέχθηκε σύμφωνα με την δημοσίευση στην οποία αναφέρθηκαν τα καλύτερα αποτελέσματα για την παραγωγή μικροβιακού λίπους. Οι δημοσιεύσεις που μελετήθηκαν όσον αφορά στην παραγωγή μικροβιακού λίπους περιλαμβάνονται στον Πίνακα 1-1.3.3. Η πηγή άνθρακα ήταν η γλυκόζη και οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η καθαρή (εμπορική) γλυκόζη, ακατέργαστο υδρόλυμα σπόρων σιτηρών ή καλαμποκιού και υδρολύματα αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων. Το κόστος προμήθειας των παραπάνω πρώτων υλών και οι βιβλιογραφικές αναφορές στις οποίες στηρίχτηκε η εκάστοτε επιλογή του κόστους προμήθειας παρουσιάζεται στον Πίνακα 2-2.1.1

Κατά την μελέτη των δημοσιεύσεων που αναφέρονταν στην δυνατότητα παραγωγής βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος προέκυψαν δύο τεχνολογίες. Η πρώτη τεχνολογία στηρίζεται στην απευθείας μετεστεροποίηση του μικροβιακού λίπους χωρίς εκχύλιση από την κυτταρική μάζα, ενώ η δεύτερη τεχνολογία στηρίζεται στον διαχωρισμό του μικροβιακού λίπους από την κυτταρική μάζα πριν το στάδιο της μετεστεροποίησης. Οι δύο αυτές διεργασίες είχαν σαν αποτέλεσμα να σχεδιάσουμε δύο διαφορετικές γραμμές

παραγωγής και ακολούθως η οικονομικότερη από τις δύο επιλέχθηκε για περεταίρω αξιολόγηση.

Πίνακας 2-2.1.1 Πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν στις διεργασίες

Πρώτες ύλες	Κόστος (\$/kg)	Βιβλιογραφική αναφορά
Σιρόπη γλυκόζης	0,4	http://www.ers.usda.gov/briefing/sugar/data.htm#yearbook
Ακατέργαστο υδρόλυμα αραβοσίτου	0,15	http://www.ers.usda.gov/briefing/sugar/data.htm#yearbook
Ακατέργαστο υδρόλυμα από απόβλητα τροφίμων πλούσια σε αλεύρι	0,05	Υπόθεση
Εκχύλισμα ζύμης (extract from bakers yeast)	0,539	Atkinson and Mavituna, 1991

2.2 Γενικές πληροφορίες για την γραμμή παραγωγής

Επιλέχθηκε ο σχεδιασμός μίας γραμμής παραγωγής συνεχούς λειτουργίας η οποία λειτουργεί 330 μέρες ανά έτος και 24 ώρες ανά ημέρα. Ορίσαμε την ετήσια παραγωγή βιοντλήζελ ως 10.000 τόνους, ενώ ο συνολικός χρόνος λειτουργίας του εργοστασίου ορίστηκε ως 10 έτη.

Το λογισμικό SuperPro Designer (Intelligen, Inc.) χρησιμοποιήθηκε για την τον σχεδιασμό και την εκπόνηση της τεχνοοικονομικής μελέτης. Πριν από τον σχεδιασμό της γραμμής παραγωγής επιλέχθηκαν οι πρώτες ύλες και τα προϊόντα που παρήχθησαν στην διεργασία παραγωγής βιοντλήζελ. Οι πρώτες ύλες και τα προϊόντα είτε ορίστηκαν στο λογισμικό από την βάση δεδομένων του λογισμικού στην περίπτωση που υπήρχαν αποθηκευμένα σε αυτή είτε ορίστηκαν από τον χρήστη.

2.3 Υπολογισμός του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης

Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης έχει προταθεί στο βιβλίο που δημοσιεύτηκε από τους Blanch and Clark (1997). Στον Πίνακα 2-2.3.1 παρουσιάζεται η σχετική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε. Ο υπολογισμός των επιμέρους δαπανών στηρίχτηκε στον υπολογισμό των κόστους προμήθειας και εγκατάστασης των κυριότερων στοιχείων εξοπλισμού. Ο υπολογισμός του κόστους προμήθειας των στοιχείων εξοπλισμού της διεργασίας στηρίχτηκε σε εξισώσεις και γραφικές παραστάσεις που δίνονται στα βιβλία που δημοσιεύτηκαν από τους Atkinson and Mavituna (1991), Blanch and Clark (1997), Peters et al. (2002) και Coulson and Richardson (2006). Τα δύο πρώτα βιβλία περιέχουν πληροφορίες σχετικά με την βιομηχανία ζυμώνσεων, ενώ τα δύο τελευταία βιβλία περιέχουν πληροφορίες σχετικά με την χημική βιομηχανία. Η χρησιμοποίηση πληροφοριών για διαφορετικές βιομηχανίες κρίθηκε απαραίτητη γιατί η διεργασία που μελετήθηκε στηρίζεται στο συνδυασμό δύο διαφορετικών τεχνολογιών, την μικροβιακή παραγωγή του λίπους και την χημική μετατροπή του σε βιοντλήζελ.

2.4 Υπολογισμός του συνολικού κόστους παραγωγής

Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του συνολικού κόστους παραγωγής έχει προταθεί στο βιβλίο που δημοσιεύτηκε από τους Blanch and Clark (1997). Το κόστος των πρώτων υλών που χρησιμοποιήθηκαν στις δύο διεργασίες και η σχετική πηγή που χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση του εκάστοτε κόστους παρουσιάζεται στον Πίνακα 2-2.1.1 Το κόστος των βοηθητικών παροχών υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψη τα κόστη που περιλαμβάνονται στα βιβλία που δημοσιεύτηκαν από τους Coulson and Richardson (1983) και Coulson and Richardson (2006). Για να υπολογίσουμε τα κόστη των βοηθητικών παροχών το 2010 υποθέσαμε ετήσια αύξηση της τάξης του 2% αντίστοιχη του μέσου ετήσιου πληθωρισμού. Οι εργατικές δαπάνες υπολογίστηκαν λαμβάνοντας υπόψη το εργατικό κόστος κατά το έτος 2004 όπως περιλαμβάνεται στο βιβλίο που δημοσιεύτηκε από τους Coulson and Richardson (2006). Το παραπάνω εργατικό κόστος μετατράπηκε

στο αντίστοιχο (\$32 ανά ώρα εργασίας) κατά το έτος 2010 χρησιμοποιώντας τους αντίστοιχους δείκτες από το US Department of Labour (Labour Productivity and Costs, <http://www.bls.gov/lpc/>). Η ετήσια απόσβεση της αρχικής επένδυσης ορίστηκε ως 10% ανά έτος λειτουργίας της γραμμής παραγωγής.

Πίνακας 2-2.4.1 Υπολογισμός του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης

Κεφάλαιο επένδυσης για μηχανήματα	
Δεπτομερής λίστα των πιο σημαντικών μηχανημάτων	A
Βοηθητικά μηχανήματα (π.χ. αντλίες, βραστήρας, πύργος ψύξης)	B
Υποσύνολο	(A + B)
Γενικά έξοδα και αμοιβές	40% του (A + B)
Συνολικό κόστος μηχανημάτων	$1.4 \times (A + B)$
Κτίρια (15% του συνολικού κόστους μηχανημάτων)	$0.15 \times \{1.4 \times (A + B)\}$
Αγορά γης και αξιοποίηση χώρων (7% του συνολικού κόστους μηχανημάτων)	$0.07 \times \{1.4 \times (A + B)\}$
Κόστος αρχικής λειτουργίας του εργοστασίου (10% του συνολικού κόστους μηχανημάτων)	$0.10 \times \{1.4 \times (A + B)\}$
Πάγιο κεφάλαιο επένδυσης	$C = 1,848 \times (A + B)$
Κεφάλαιο κίνησης	
Τρεις μήνες αγορά πρώτων υλών και προμηθειών, ένας μήνας εργατικά	W
Συνολικό κόστος επένδυσης	C + W

2.5 Αξιολόγηση της προοπτικής εφαρμογής της τεχνολογίας

Αφού επιλέχθηκε η γραμμή παραγωγής με το χαμηλότερο κόστος, αξιολογήθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες που πρέπει να επιτευχθούν σε

συγκεκριμένα στάδια της διεργασίας προκειμένου να μειωθεί αισθητά το κόστος παραγωγής του βιοντλήζελ από μικροβιακό λίπος. Οι τεχνοοικονομικές μελέτες έδειξαν ότι οι κυριότερες δαπάνες της διεργασίας οι οποίες αυξάνουν αισθητά το συνολικό κόστος παραγωγής ήταν το κόστος της πρώτης ύλης και το κόστος που προκύπτει από την αγορά και την λειτουργία του βιοαντιδραστήρα. Γι' αυτό το λόγο αξιολογήσαμε το κόστος παραγωγής του βιοντλήζελ μεταβάλλοντας τις δύο αυτές δαπάνες.

3. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΝΤΗΖΕΛ

3.1 Επιλογή ελαιογόνου μικροοργανισμού

Στον Πίνακα 1-1.3.3 παρουσιάζεται το συνολικό ξηρό βάρος, η παραγωγικότητα των μικροοργανισμών και η περιεκτικότητα σε ΜΟ (% w/w) που έχουν δημοσιευτεί σε βιάφορες βιβλιογραφικές αναφορές από ερευνητές που μελετούν την παραγωγή μικροβιακού λίπους χρησιμοποιώντας διάφορους μικροοργανισμούς. Από το επίπεδο του συνολικού ξηρού βάρους, της παραγωγικότητας και της περιεκτικότητας σε ΜΟ (% w/w) επιλέχθηκε ο μικροοργανισμός που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη μελέτη. Οι μικροοργανισμοί που πέτυχαν τις καλύτερες επιδόσεις κατά την διάρκεια της ζύμωσης είναι:

1. ο *Rhodotorula glutinis* με συνολικό ξηρό βάρος 185 g/L, περιεκτικότητα σε λίπος 40% και παραγωγικότητα 0,88 g/L/h,
2. ο *Lipomyces starkeyi* με συνολικό ξηρό βάρος 153 g/L, περιεκτικότητα σε λίπος 54% και παραγωγικότητα 0,59 g/L/h,
3. ο *Rhodosporidium torulooides* με συνολικό ξηρό βάρος 106,5 g/L, περιεκτικότητα σε λίπος 67,5% και παραγωγικότητα 0,54 g/L/h,
4. ο *Cryptococcus curvatus* με συνολικό ξηρό βάρος 118 g/L, περιεκτικότητα σε λίπος 25% και παραγωγικότητα 0,59 g/L/h,
5. ο *Apiotrichum curvatum* με συνολικό ξηρό βάρος 91,4 g/L, περιεκτικότητα σε λίπος 33% και παραγωγικότητα 0,995 g/L/h,

Ο μικροοργανισμός που επιλέχθηκε σε αυτή τη μελέτη ήταν ο *Rhodosporidium torulooides* ο οποίος μπορεί να συσσωρεύσει ενδοκυτταρικά λιπίδια έως 67,5% του συνολικού ξηρού βάρους της κυτταρικής μάζας. Για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό υπάρχει επίσης επιστημονική μελέτη για την

απευθείας παραγωγή βιοντλήζελ χωρίς πρότερη εκχύλιση του μικροβιακού λίπους. Η διεργασία αυτή περιγράφεται στην ακόλουθη ενότητα.

Ο μοριακός τύπος της κυτταρικής μάζας που χρησιμοποιήθηκε στο στάδιο της ζύμωσης είναι ο ακόλουθος: $C_4H_{6,5}O_{1,9}N_{0,7}$. Ο τύπος $C_4H_8O_2N_1$ που αποτελεί τον πιο κοινό μοριακό τύπο για θεωρητικές εκτιμήσεις (Harder and Van Dijken, 1976; Anthony, 1978; Babel and Muller, 1985b) δεν χρησιμοποιήθηκε σε αυτή την μελέτη καθώς ο μοριακός τύπος $C_4H_{6,5}O_{1,9}N_{0,7}$ είναι κατάλληλος για ζύμες. Ο τύπος των αμινοξέων υπολογίστηκε από το μέσο μοριακό τύπο αμινοξέων.

3.2 Μεθοδολογίες επεξεργασίας ελαίου.

Στην συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιούνται δύο μεθοδολογίες στο τμήμα επεξεργασίας του μικροβιακού λίπους. Η πρώτη μεθοδος στηρίζεται στην απευθείας μετεστεροποίηση του λίπους χωρίς εκχύλιση. Η δεύτερη μέθοδος στηρίζεται στην μετεστεροποίηση του καθαρού μικροβιακού λίπους το οποίο έχει εκχυλιστεί από την μικροβιακή μάζα.

Και στις δύο διεργασίες, μετά το πέρας της ζύμωσης, το υγρό της ζύμωσης πρέπει να επεξεργαστεί έτσι ώστε να διαχωριστεί η κυτταρική μάζα που περιέχει το μικροβιακό λίπος από το νερό. Το υγρό της ζύμωσης θα πρέπει να επεξεργαστεί βιολογικά πριν απορριφθεί με ασφάλεια σε ποτάμι ή σύστημα νερού προκειμένου να ικανοποιηθούν οι τοπικοί περιβαλλοντικοί κανονισμοί. Η κυτταρική μάζα που περιέχει το έλαιο θα πρέπει να υποστεί γρήγορα ξήρανση για να σταθεροποιηθεί το έλαιο. Η κυτταρική μάζα περιέχει επίσης διάφορα ένζυμα τα οποία συνεχίζουν να είναι ενεργά. Μερικά όπως οι λιπάσες και εστεράσες, μπορούν να υδρολύσουν τα τριγλυκερίδια και να παράγουν ελεύθερα λιπαρά οξέα τα οποία δεν είναι επιθυμητά κατά την διεργασία της παραγωγής βιοντλήζελ. Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, τα κύτταρα μπορούν επίσης να αρχίσουν να καταναλώνουν τα έλαια που έχουν συσσωρεύσει.

Όταν τα ένζυμα αδρανοποιηθούν συνήθως μέσω θερμικής επεξεργασίας της κυτταρικής μάζας, το νερό μπορεί να απομακρυνθεί μέσω φιλτραρίσματος

και ξήρανσης. Η ξηρή κυτταρική μάζα είναι έπειτα διαθέσιμη για εκχύλιση του μικροβιακού λίπους. Ωστόσο, επειδή όλα τα ένζυμα που θα μπορούσαν να υποβαθμίσουν το έλαιο έχουν αδρανοποιηθεί, τα κύτταρα μπορούν να αποθηκευτούν για αρκετές εβδομάδες πριν την εκχύλιση του μικροβιακού λίπους.

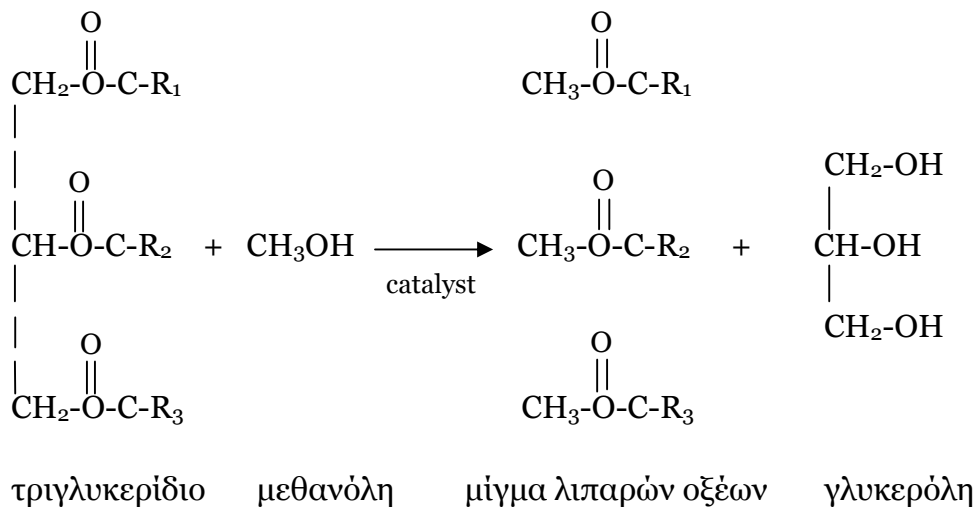
Η εκχύλιση του μικροβιακού λίπους χρησιμοποιώντας εξάνιο είναι ο καλύτερος τρόπος για τον διαχωρισμό του λίπους από την κυτταρική μάζα. Οι συσκευές εκχύλισης που χρησιμοποιούνται από την βιομηχανία για τον διαχωρισμό των ελαίων από μικρές ποσότητες φυτικών πρώτων υλών (π.χ. μερικά εξωτικά έλαια και τα βασικά έλαια) μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς προσαρμογή δεδομένου ότι η μικροβιακή βιομάζα σε αυτό το στάδιο προσεγγίζει στα ξηραμένα και σε μορφή σκόνης φυτικά υλικά. Ο μεγάλος κλίμακας εξοπλισμός που χρησιμοποιείται στην βιομηχανία παραγωγής βιοντλήζελ για την ανάκτηση ελαίων από σπόρους πλούσιους σε έλαια (π.χ. ελαιοκράμβη, ηλίανθος κ.α.) είναι πολύ μεγάλος για να χρησιμοποιηθεί σε σχετικά μικρές ποσότητες της μικροβιακής βιομάζας που πρέπει να εκχυλιστεί. Επομένως, μικρότερης κλίμακας εξοπλισμός που μπορεί να χειριστεί 10-50 τόννους υλικών ανά ημέρα είναι κατάλληλος. Οι χειριστές αυτών των στοιχείων εξοπλισμού δεν έχουν βρει σημαντικές δυσκολίες στον χειρισμό μικροβιακής βιομάζας για την ανάκτηση ελαίου. Επιπλέον βελτίωση του ελαίου για τον καθαρισμό του και την απομάκρυνση φωσφολιπιδίων και διαφόρων μη σαπωνοποιημένων υλικών επιτυγχάνεται για την παραγωγή του τελικού συνήθως καθαρού ελαίου.

3.3 Μεθοδολογία παραγωγής Biodiesel.

Το ισοζύγιο μάζας που προκύπτει από την αντίδραση της μετεστεροποίησης των τριγλυκεριδίων για την παραγωγή βιοντλήζελ είναι το ακόλουθο:

100 lbs ελαίου + 10 lbs μεθανόλης → 100 lbs biodiesel + 10 lbs γλυκερόλης

Η στοιχειομετρική εξίσωση της μετεστεροποίησης των τριγλυκεριδίων προς παραγωγή βιοντλήζελ είναι:



όπου R₁, R₂ και R₃ είναι μακρυές αλυσίδες ατόμων άνθρακα και υδρογόνου, μερικές φορές καλούνται αλυσίδες λιπαρών οξέων. Τα συνηθέστερα λιπαρά οξέα που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή βιοντλήζελ είναι το παλμιτικό (16:0), το στεατικό (18:0), το ελαϊκό (18:1), το λινολεϊκό (18:2) και το λινολενικό (18:3).

Η αλκοόλη, ο καταλύτης και το έλαιο αναμιγνύονται σε ένα αντιδραστήρα υπό ισχυρή ανάδευση για περίπου 1 ώρα στους 60° C, όταν ο καταλύτης είναι αλκαλικός (NaOH ή KOH). Πάνω από 4 εκατομμύρια λίτρα βιοντλήζελ το χρόνο μπορούν να παραχθούν με χρησιμοποίηση διεργασιών συνεχούς ροής στις οποίες χρησιμοποιούνται αναδευόμενοι αντιδραστήρες συνεχούς λειτουργίας (CSTR) ή αυλωτοί αντιδραστήρες (G. Assman et al., 1996). Η αντίδραση καμιά φορά γίνεται σε δύο στάδια. Σε αυτό το σύστημα, περίπου 80% της αλκοόλης και του καταλύτη προστίθενται στο έλαιο στο πρώτο στάδιο (1^{ος} αντιδραστήρας). Έπειτα το ρεύμα που έχει αντιδράσει πηγαίνει από αυτόν τον αντιδραστήρα μέσω ενός μονοπατιού απομάκρυνσης γλυκερόλης πριν καταλήξει σε δεύτερο αντιδραστήρα. Το υπόλοιπο 20% της αλκοόλης και του καταλύτη προστίθενται στον 2^ο αντιδραστήρα. Αυτό το

σύστημα παρέχει μια ολοκληρωμένη αντίδραση με το πλεονέκτημα της χρήσης λιγότερης αλκοόλης σε σύγκριση με το σύστημα ενός σταδίου.

Στην τεχνοοικονομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε αυτή την εργασία, στην 1^η μέθοδο παραγωγής βιοντλήζελ χρησιμοποιήθηκε μια καινοτόμος μέθοδος παραγωγής βιοντλήζελ η οποία στηρίζεται στην ταυτόχρονη διάρρηξη της κυτταρικής μάζας και την μετεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων. Η κυτταρική μάζα που περιέχει το κυτταρικό λίπος αναμιγνύεται με μεθανόλη και όξινο καταλύτη στον αντιδραστήρα. Πάνω από 98% απόδοση επιτεύχθηκε με αναλογία ξηρής βιομάζας με μεθανόλη 1:20 (w/v) και με την χρήση όξινου καταλύτη, 0,2 mol/L H₂SO₄ ή 0,4 mol/L HCl (Liu and Zhao, 2007). Σαν όξινο καταλύτη χρησιμοποιήθηκε H₂SO₄ αντί HCl γιατί από στοιχεία ενός πειράματος για την παραγωγή biodiesel από μικροβιακό λίπος όπου συγκρίθηκε η απόδοση σε FAMES στους 65° C, αποδείχτηκε ότι το H₂SO₄ είχε ίδιες αποδόσεις με το BF₃ (13% - 14%) ενώ το HCl ήταν πιο χαμηλά (10,4%) (Gemma et al., 2009).

Στην 2^η μέθοδο παραγωγής βιοντλήζελ χρησιμοποιήθηκε NaOH ως καταλύτης γιατί θεωρείται ότι δεν υπάρχουν ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) και στην περίπτωση που η ποσότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων είναι < 2% χρησιμοποιείται βάση για καταλύτης αντί για οξύ (J. Van Gerpen, 2004). Η ποσότητα της μεθανόλης ορίζεται από την αναλογία της με την ποσότητα των τριγλυκεριδίων η οποία είναι 6:1, γιατί είναι γνωστό ότι η αναλογία αλκοόλης με τα τριγλυκερίδια κυμαίνεται από 4:1 σε 20:1 (mole:mole) με πιο κοινή την 6:1 αναλογία (J. Van Gerpen, 2004). Επίσης, όταν γενικά η ποσότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων είναι μικρότερη από 1% και ειδικότερα μικρότερη από 0,5%, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα μπορούν να αγνοηθούν και στην περίπτωση αυτή η ποσότητα του NaOH αποτελεί το 1% του βάρους των τριγλυκεριδίων. Μια αναλογία αλκοόλης-ελαίου 6:1 είναι απαραίτητη για μια ολοκληρωμένη αντίδραση (J. Van Gerpen, 2004).

Μετά το στάδιο της μετεστεροποίησης, η γλυκερόλη απομακρύνεται από τους μεθυλικούς εστέρες. Ο διαχωρισμός αυτός γενικά πραγματοποιείται γρήγορα και μπορεί να ολοκληρωθεί είτε σε δεξαμενές καθίζησης είτε μέσω φυγοκέντρησης. Η περίσσεια μεθανόλης μπορεί να αντιδράσει σαν διαλύτης

και μπορεί να καθυστερήσει το διαχωρισμό. Ωστόσο, αυτή η περίσσεια μεθανόλης δεν απομακρύνεται συνήθως από το ρεύμα αντίδρασης μέχρι μετά αφού η γλυκερόλη και οι μεθυλικοί εστέρες διαχωριστούν εξαιτίας της πιθανότητας αντιστροφής της αντίδρασης μετεστεροποίησης. Το νερό μπορεί να προστεθεί στο μίγμα αντίδρασης σε επόμενο στάδιο αφού η μετεστεροποίηση ολοκληρωθεί για να βελτιωθεί ο διαχωρισμός της γλυκερόλης.

Μετά το διαχωρισμό από τη γλυκερόλη, οι μεθυλεστέρες εισάγονται σε ένα στάδιο εξουδετέρωσης, πλυσίματος με νερό και διαχωρισμού της μεθανόλης. Το οξύ προστίθεται στο βιοντήζελ για να εξουδετερώσει τον αλκαλικό καταλύτη και να διασπάσει προϊόντα σαπονοποίησης που μπορεί να έχουν σχηματιστεί κατά τη διάρκεια της αντίδρασης. Κατά το στάδιο καθαρισμού με νερό απομακρύνεται οποιοδήποτε υπόλοιπο καταλύτη, προϊόντα σαπονοποίησης, άλατα, μεθανόλη ή ελεύθερη γλυκερόλη από το βιοντήζελ. Η εξουδετέρωση πριν το καθάρισμα με νερό μειώνει το νερό που παραμένει και ελαχιστοποιεί το ενδεχόμενο για σχηματισμό γαλακτώματος όταν το νερό καθαρισμού προστίθεται στο βιοντήζελ.

Το ρεύμα της γλυκερόλης που προκύπτει από την φυγόκεντρο και τον διαχωρισμό του βιοντήζελ περιέχει μόνο περίπου 50% γλυκερόλη. Περιέχει επίσης μεθανόλη, καταλύτη και προϊόντα σαπονοποίησης. Σε αυτό το ρεύμα, η γλυκερόλη έχει μικρή αξία και η απόρριψη μπορεί να είναι δύσκολη. Η περιεκτικότητα σε μεθανόλη έχει ως αποτέλεσμα το ρεύμα αυτό της γλυκερόλης να θεωρείται ως επικίνδυνο απόβλητο. Το πρώτο βήμα στον καθαρισμό της γλυκερόλης είναι συνήθως η προσθήκη οξέως για να σπάσουν τα προϊόντα σαπονοποίησης σε ελεύθερα λιπαρά οξέα και σε άλατα. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα δεν είναι διαλυτά στη γλυκερόλη και μπορούν να απομακρυνθούν. Τα άλατα παραμένουν με τη γλυκερόλη παρόλο που εξαρτώνται από την παρουσία χημικών ενώσεων, μερικά πρέπει να σχηματίζουν ίζημα.

Η μεθανόλη που απομακρύνεται από τα ρεύματα μεθυλεστέρων και γλυκερόλης θα επιδιώξουν να συλλέξουν όποια ποσότητα νερού μπορεί να έχει εισαγάγει η διαδικασία. Το νερό αυτό πρέπει απομακρυνθεί σε στήλη

απόσταξης πριν η μεθανόλη επιστρέψει στην διαδικασία επεξεργασίας. Το στάδιο αυτό είναι πιο δύσκολο εαν μια αλκοόλη σαν την αιθανόλη ή την ισοπροπανόλη χρησιμοποιούνται που σχηματίζουν ένα αζεοτροπικό μίγμα με το νερό (J. Van Gerpen, 2005).

3.4 Βιολογικό υλικό.

Για την πραγματοποίηση της ζύμωσης χρησιμοποιήθηκε ο μικροοργανισμός *Rhodosporidium toruloides* Y₄, όπου η παραγωγή μικροβιακού λίπους έχει μελετηθεί χρησιμοποιώντας γλυκόζη σαν πηγή άνθρακα προκειμένου να επιτευχθεί υψηλή απόδοση καλλιέργειας κυτταρικής μάζας. Χρησιμοποιώντας καλλιέργειες ημι-διαλείποντος έργου (fed-batch) σε ένα βιοαντιδραστήρα 15 λίτρων συνολικής διάρκειας για 134 ώρες, καταλήξαμε στην παραγωγή 106,5 g l⁻¹ ξηρή βιομάζα, περιεκτικότητα σε λιπίδια 67,5% (w/w) και παραγωγικότητα λιπιδίων 0,54 g l⁻¹ h⁻¹. Η απόδοση μικροβιακής μάζας στο στάδιο της εκθετικής μικροβιακής ανάπτυξης είναι 0,59 g μικροβιακής μάζας ανά g γλυκόζης. Κατά το στάδιο της συσώρευσης μικροβιακού λίπους, η απόδοση λιπιδίων και η περιεκτικότητα λιπιδίων στα κύτταρα είναι 0,23 g g⁻¹ και 67,5% (w/w), αντίστοιχα. Εντός του 134 ωρών διάρκειας της ζύμωσης, 2500 g γλυκόζης τροφοδοτήθηκαν στον αντιδραστήρα, το οποίο αντιστοιχεί σε μια τελική συγκέντρωση υποστρώματος 307 g l⁻¹. Κατά το πρώτο στάδιο της ζύμωσης όπου επιτυγχάνεται μόνο κυτταρική ανάπτυξη, το μέσο ζύμωσης περιείχε 60 g l⁻¹ γλυκόζης (Li et al., 2007). Οι αποδόσεις και τα χαρακτηριστικά του σταδίου της ζύμωσης περιλαμβάνονται στον Πίνακας 3-3.4.1.

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν και οι ποσότητές τους αναγράφονται στους παρακάτω πίνακες για την 1^η διεργασία (Πίνακας 3-3.4.2) και την 2^η διεργασία (Πίνακας 3-3.4.3). Η κάθε διεργασία αποσκοπεί στην ετήσια παραγωγή 10.000.000 kg βιοντλήζελ.

Πίνακας 3-3.4.1 Πληροφορίες και υπολογισμοί που βασίστηκαν σε βιβλιογραφικές αναφορές

Χρόνος λειτουργίας ανά έτος (h)	7920
Χρόνος λειτουργίας ανά fed-batch (h)	134
Συγκέντρωση κυττάρων ανά fed-batch (g L ⁻¹)	106,5
Συγκέντρωση μικροβιακού ελαίου ανά fed-batch (g L ⁻¹)	71,8875
Μικροβιακή μάζα ανά fed-batch (g L ⁻¹)	34,6125
Συνολική συγκέντρωση γλυκόζης ανά fed-batch (g L ⁻¹)	307
Αρχική συγκέντρωση γλυκόζης για ανάπτυξη κυττάρων (g L ⁻¹)	60
Απόδοση μετατροπής γλυκόζης σε κυτταρική μάζα κατά το 1 ^ο στάδιο της ζύμωσης (g g ⁻¹)	0,35
Απόδοση μετατροπής γλυκόζης σε μικροβιακό λίπος κατά το 2 ^ο στάδιο της ζύμωσης (g g ⁻¹)	0,23

Πίνακας 3-3.4.2 Υπολογισμοί ποσοτήτων πρώτων υλών που απαιτούνται για την παραγωγή βιοντλήζελ κατά την 1^η διεργασία

Biodiesel (Methyl oleate) παραγωγή ανά έτος (kg)	10000000		
Απόδοση μετατροπής biodiesel σε τριγλυκερίδια (g/g)	0,986		
Τριγλυκερίδια εισόδου για μετεστεροποίηση (kg ανά έτος)	10096303,2	Τριγλυκερίδια ανά ώρα (kg/h)	1274,786
Παραγωγή μικροβιακής μάζας (kg ανά έτος)	4861183,022	Μικροβιακή μάζα ανά ώρα (kg/h)	613,7857
Όγκος λειτουργίας βιοαντιδραστήρα (m ³ ανά	140445,88	Όγκος λειτουργίας	17,73307

έτος)		βιοαντιδραστήρα (m ³ /h)	
Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή τριγλυκεριδίων (kg ανά έτος)	34263472,4	Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή τριγλυκεριδίων (kg/h)	4326,196
Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή μικροβιακής μάζας (kg ανά έτος)	8249858,048	Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή μικροβιακής μάζας (kg/h)	1041,649
Συνολική γλυκόζη που απαιτείται (kg ανά έτος)	42513330,45	Συνολική γλυκόζη που απαιτείται (kg/h)	5367,845
Συνολική ποσότητα αμινοξέων που απαιτείται (kg ανά έτος)	3305305,627	Συνολική ποσότητα αμινοξέων που απαιτείται (kg/h)	417,3366
Συνολική ποσότητα νερού που απαιτείται (kg ανά έτος)	94627243,95	Συνολική ποσότητα νερού που απαιτείται (kg/h)	11947,88
Μεθανόλη που απαιτείται (v/w)	20		
Μεθανόλη που απαιτείται ανά έτος (L ανά έτος)	299149724,4	Μεθανόλη που απαιτείται (L per h)	37771,43
Συγκέντρωση θειϊκού οξέως (g/L)	19,616		
Θειϊκό οξύ που απαιτείται (kg ανά έτος)	5868120,995	Θειϊκό οξύ που απαιτείται (kg per h)	740,9244
NaOH στον καθαρισμό γλυκερόλης (kg ανά έτος)	4790302,853	NaOH στον καθαρισμό γλυκερόλης (kg per h)	604,8362

Πίνακας 3-3.4.2 Υπολογισμοί ποσοτήτων πρώτων υλών που απαιτούνται για την παραγωγή βιοντλήζελ κατά την 2^η διεργασία

Biodiesel (Methyl oleate) παραγωγή ανά έτος (kg)	10000000		
Απόδοση μετατροπής biodiesel σε τριγλυκερίδια (g/g)	0,986		
Τριγλυκερίδια εισόδου για μετεστεροποίηση (kg ανά έτος)	10096303,2	Τριγλυκερίδια ανά ώρα (kg/h)	1274,786
Παραγωγή μικροβιακής μάζας (kg ανά έτος)	4861183,022	Μικροβιακή μάζα ανά ώρα (kg/h)	613,7857
Όγκος λειτουργίας βιοαντιδραστήρα (m ³ ανά έτος)	140445,88	Όγκος λειτουργίας βιοαντιδραστήρα (m ³ /h)	17,73307
Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή τριγλυκεριδίων (kg ανά έτος)	34263472,4	Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή τριγλυκεριδίων (kg/h)	4326,196
Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή μικροβιακής μάζας (kg ανά έτος)	8249858,048	Γλυκόζη που απαιτείται για παραγωγή μικροβιακής μάζας (kg/h)	1041,649
Συνολική γλυκόζη που απαιτείται (kg ανά έτος)	42513330,45	Συνολική γλυκόζη που απαιτείται (kg/h)	5367,845
Συνολική ποσότητα αμινοξέων που απαιτείται (kg ανά έτος)	3305305,627	Συνολική ποσότητα αμινοξέων που απαιτείται (kg/h)	417,3366
Συνολική ποσότητα νερού που απαιτείται (kg ανά έτος)	94627243,95	Συνολική ποσότητα νερού που απαιτείται (kg/h)	11947,88
Αναλογία ζύμης σε εξάνιο	25%		

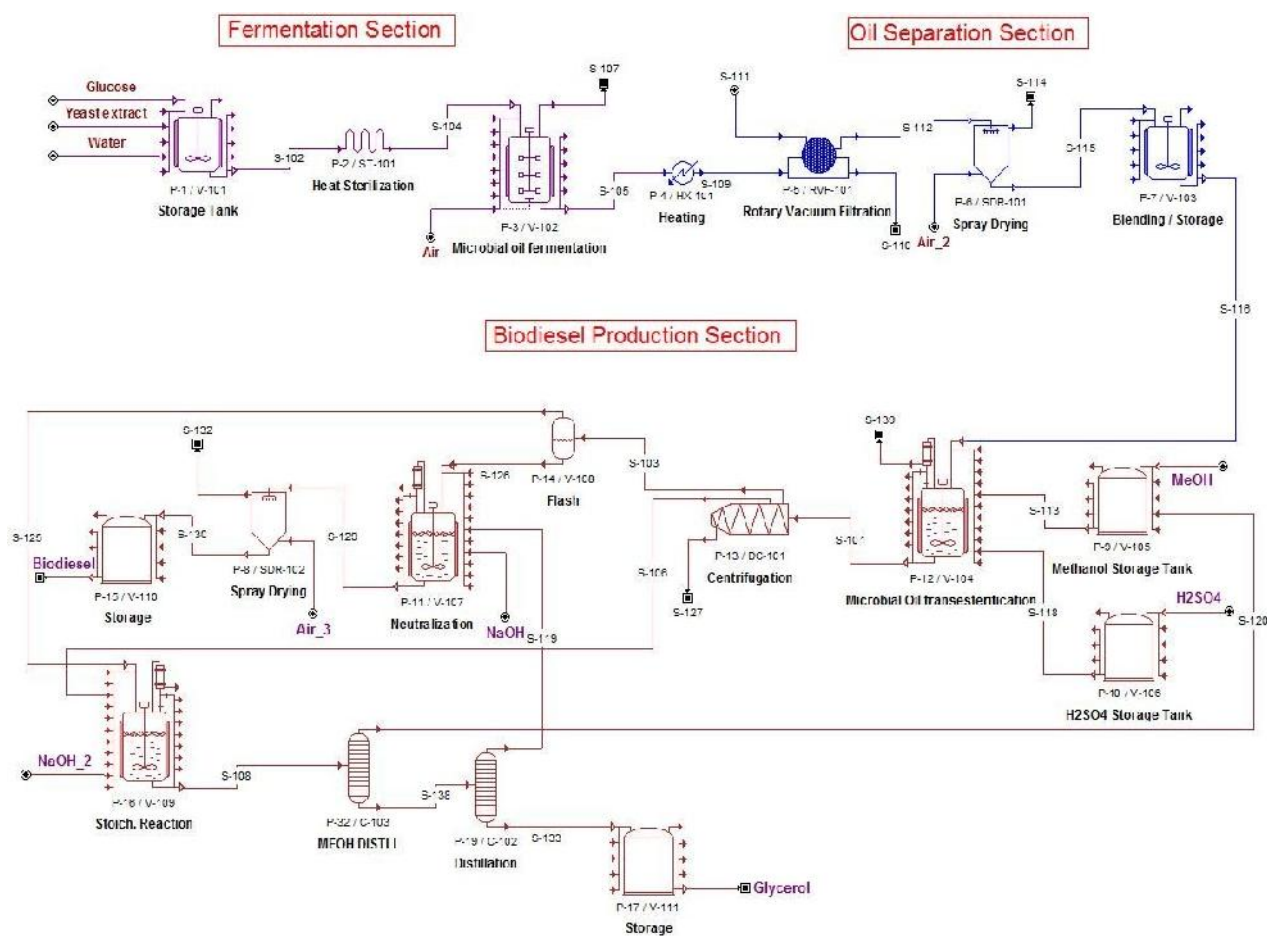
(w/w)			
Εξάνιο που απαιτείται (kg)	40385213	Εξάνιο που απαιτείται (kg/h)	5099,143
Απαιτούμενη αναλογία μεθανόλης σε τριγλυκερίδια (mol/mol)	6		
Απαιτούμενη αναλογία μεθανόλης σε τριγλυκερίδια (gr/gr)	0,217466		
Μεθανόλη που απαιτείται ανά έτος (kg ανά έτος)	2195603	Μεθανόλη που απαιτείται (kg per h)	277,2226
NaOH που απαιτείται ανά έτος (1% βάρους τριγλυκεριδίων)	100963	NaOH που απαιτείται (kg per h)	12,74786
Απαιτούμενη ποσότηταθειϊκού οξέως στην 1 ^η αντίδραση (kg ανά έτος)	16931,58	Απαιτούμενη ποσότηταθειϊκού οξέως στην 1 ^η αντίδραση (kg per h)	2,137825
Ποσότητα νερού σε diesel (methyl oleate) που απαιτείται στην 1 ^η αντίδραση (g/g)	0,242417		
Ποσότητα νερού που απαιτείται ανά έτος (kg ανά έτος)	2421240	Ποσότητα νερού που απαιτείται (kg per h)	305,7122
Απαιτούμενη ποσότηταθειϊκού οξέως στην 2 ^η αντίδραση (kg ανά έτος)	969,8379	Απαιτούμενη ποσότηταθειϊκού οξέως στην 2 ^η αντίδραση (kg per h)	13,49105
Απαιτούμενη ποσότηταθειϊκού οξέως (kg ανά έτος)	37175024	Απαιτούμενη ποσότηταθειϊκού οξέως (kg per h)	4693,816
NaOH που απαιτείται για τον	30346958	NaOH που απαιτείται για	3831,687

καθαρισμό γλυκερόλης (kg ανά έτος)

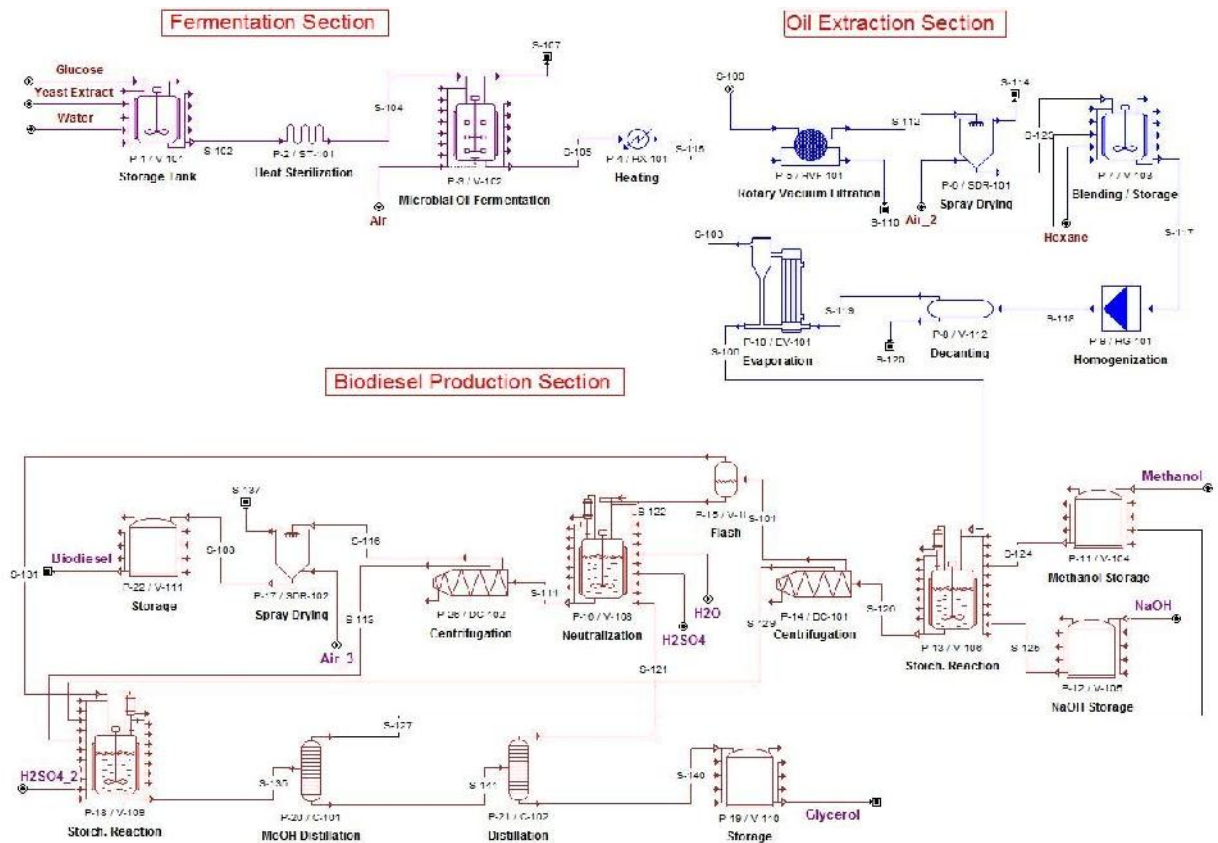
τον καθαρισμό γλυκερόλης (kg per h)

3.5 Διάγραμμα ροής.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα ροής των δύο διεργασιών παραγωγής βιοντλήζελ.



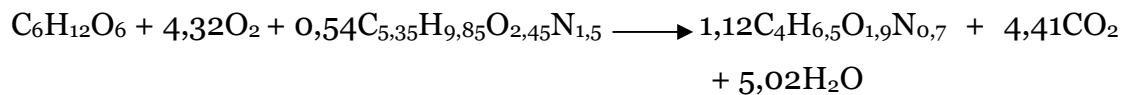
Σχήμα 3-3.5.1 Διάγραμμα ροής της διεργασίας παραγωγής βιοντλήζελ όπου δεν διαχωρίζεται το μικροβιακό λίπος από την κυτταρική μάζα πριν το στάδιο της μετεστεροποίησης



Σχήμα 3-3.5.2 Διάγραμμα ροής της διεργασίας παραγωγής βιοντλήζελ όπου διαχωρίζεται το μικροβιακό λίπος από την κυτταρική μάζα πριν το στάδιο της μετεστεροποίησης

Στην 1^η διεργασία όπως φαίνεται στο Σχήμα 3-3.5.2 αρχικά εισέρχεται γλυκόζη με παροχή 5.367 kg/h, εκχύλισμα ζυμών με 417 kg/h και νερό με 11.947 kg/h σε μία δεξαμενή ανάμειξης (Storage Tank) στους 25° C για 1 ώρα. Στη συνέχεια πραγματοποιείται αποστείρωση σε μία διεργασία συνεχούς λειτουργίας (Heat Sterilizer) και καταλήγουν στον βιοαντιδραστήρα (Microbial Oil Fermentation) όπου και επιτυγχάνεται η ζύμωση για την παραγωγή τριγλυκεριδίων. Η στοιχειομετρική αντίδραση που χρησιμοποιήθηκε στο στάδιο της ζύμωσης για τον υπολογισμό των ισοζυγίων μάζας πραγματοποιείται σε δύο στάδια:

1^η Στοιχειομετρική Αντίδραση (ανάπτυξη κυτταρικής μάζας)



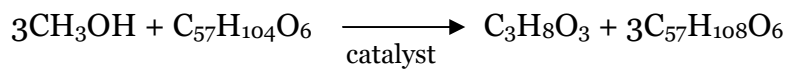
2^η Στοιχειομετρική Αντίδραση (συσσώρευση μικροβιακού λίπους)



Η ζύμωση πραγματοποιείται στους 30° C για 134 ώρες και το ρεύμα εξόδου από την ζύμωση επεξεργάζεται θερμικά σε έναν εναλλάκτη θερμότητας στους 63°C για να απενεργοποιηθούν τα ένζυμα έτσι ώστε να αποφύγουμε την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων. Ακολούθως το υγρό απομακρύνεται χρησιμοποιώντας περιστρεφόμενο φίλτρο υπό κενό (Rotary Vacuum Filtration). Στη συνέχεια το μίγμα περνάει από Spray Drying όπου η ποσότητα νερού μειώνεται ακόμα περισσότερο και εξέρχεται με 31% βιομάζα και 64% τριγλυκερίδια, όπου το μίγμα αυτό παραμένει σε μία δεξαμενή (Storage Tank) για 1 ώρα.

Ακολουθεί το στάδιο παραγωγής βιοντλήζελ όπου το μίγμα που έχει προκύψει και αποτελείται κυρίως από κυτταρική μάζα και τριγλυκερίδια, εισέρχεται στον αντιδραστήρα (Microbial Oil Transesterification) έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί η μετεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων και να παραχθεί το βιοντλήζελ. Για την επίτευξη της μετεστεροποίησης απαιτείται η προσθήκη μεθανόλης σε αναλογία 20:1 και θειϊκού οξέος. Τα ρεύματα αυτά εισέρχονται στον αντιδραστήρα όπου πραγματοποιείται η μετεστεροποίηση με την ακόλουθη παροχή: η μεθανόλη με 37.777 kg/h και θειϊκό οξύ με 740 kg/h. Να σημειωθεί ότι η ποσότητα αυτή της μεθανόλης προστίθεται μόνο στην αρχή και μετά γίνεται ανακύκλωση, οπότε η ποσότητα που χρειάζεται ουσιαστικά σε κάθε κύκλο λειτουργίας του αντιδραστήρα είναι 219 kg/h. Η αντίδραση της μετεστεροποίησης διαρκεί 20 ώρες και πραγματοποιείται στους 64°C.

Η στοιχειομετρική αντίδραση που χρησιμοποιήθηκε στον αντιδραστήρα για τον υπολογισμό των ισοζυγίων μάζας έχει αναφερθεί σε προηγούμενη ενότητα και είναι η ακόλουθη:



Το λιπαρό οξύ του τριγλυκεριδίου έχει θεωρηθεί ότι είναι το ελαϊκό οξύ (18:1, R= $-(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$) διότι από την σύσταση των τριγλυκεριδίων που παράγονται από τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό που χρησιμοποιήθηκε στο στάδιο της ζύμωσης προκύπτει ότι το ελαϊκό οξύ αποτελεί περισσότερο από το 46% του συνολικών λιπαρών οξέων.

Από το Microbial Oil Transesterification εξέρχεται μίγμα που αποτελείται κυρίως από μεθανόλη και βιοντήζελ. Το μίγμα αυτό εισέρχεται στο Centrifugation για να διαχωριστεί το βιοντήζελ από τη μεγαλύτερη ποσότητα της μεθανόλης, την γλυκερόλη και τη κυτταρική μάζα. Έτσι εξέρχεται μίγμα το οποίο περιέχει κυρίως βιοντήζελ 87%, μικρή ποσότητα μεθανόλης 11%, πολύ μικρή ποσότητα τριγλυκεριδίων 1% και ελάχιστες ποσότητες γλυκερόλης, θειϊκού οξέος και νερού. Στη συνέχεια περνάει μέσα από απόσταξη ενός σταδίου με εκτόνωση (Flash distillation) από όπου απομακρύνεται ποσότητα μεθανόλης και η περιεκτικότητά της σχεδόν μηδενίζεται. Το μίγμα πλέον περιέχει 98,5% biodiesel, 1,13% τριγλυκερίδια και ελάχιστες ποσότητες μεθανόλης, γλυκερόλης, θειϊκού οξέος και νερού. Για να εξουδετερωθεί η ποσότητα θειϊκού οξέος που αποτελεί το 0,25% του μίγματος, το μίγμα εισέρχεται σ μία δεξαμενή όπου πραγματοποιείται η εξουδετέρωση (Neutralization) του οξέος με προσθήκη καυστικό νάτριο με παροχή 6,72 kg/h. Στην πορεία το μίγμα εισέρχεται σε Spray Drying από όπου απομακρύνεται τελείως η ποσότητα μεθανόλης και νερού. Το βιοντήζελ τέλος αποθηκεύεται (Storage Tank).

Τα ρεύματα πλούσια σε μεθανόλη και γλυκερόλη που διαχωρίστηκαν από το βιοντήζελ, εισέρχονται στο στάδιο ανακύκλωσης της μεθανόλης και παραγωγής του ρεύματος της ακατέργαστης γλυκερόλης. Στο πρώτο στάδιο

(Stoich. Reaction) πραγματοποιείται εξουδετέρωση του μίγματος με καυστικό νάτριο λόγω της περιεκτικότητάς του σε θειϊκό οξύ. Το μίγμα που προκύπτει περιέχει κυρίως μεθανόλη, θειϊκό νάτριο, γλυκερόλη και νερό. Η μεθανόλη, η οποία αποτελεί το μεγαλύτερο ποσοστό του ρεύματος αυτού (96%) απομακρύνεται στο στάδιο της απόσταξης (Distillation), η οποία ανακυκλώνεται καθώς χρησιμοποιείται στην παραγωγή του βιοντλήζελ. Το μίγμα που παραμένει έχει περιεκτικότητα σε γλυκερόλη 8,29% και νερό 23,41%. Το νερό του ρεύματος αυτού διαχωρίζεται στην δεύτερη αποστακτική στήλη και επαναχρησιμοποιείται για το πλύσιμο του βιοντλήζελ. Το ακατέργαστο ρεύμα γλυκερόλης αποθηκεύεται στην δεξαμενή αποθήκευσης (Storage Tank).

Στην 2^η διεργασία παραγωγής βιοντλήζελ, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3-3.5.2 το στάδιο της ζύμωσης και η παραγωγή βιοντλήζελ μέσω μετεστεροποίησης του καθαρού λίπους πραγματοποιούνται με τις ίδιες διεργασίες όπως αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στην 1^η διεργασία. Στην 2^η διεργασία αλλάζει το στάδιο επεξεργασίας του μικροβιακού λίπους. Πραγματοποιείται εκχύλιση του ελαίου αφού το υγρό της ζύμωσης μετά το φιλτράρισμα (Rotary Vacuum Filtration) και την ξήρανση (Spray Drying) εισέρχεται στην δεξαμενή (Storage Tank) όπου αναμιγνύεται με εξάνιο (5.099kg/h). Το ρεύμα αυτό επεξεργάζεται μέσω ομογενοποίησης (Homogenization) προκειμένου να διαρρηχθεί η κυτταρική μάζα και να διευκολυνθεί η εκχύλιση του μικροβιακού λίπους στην φάση του εξανίου. Η φάση του εξανίου που περιέχει το κυτταρικό λίπος διαχωρίζεται από το ρεύμα που περιέχει τα κατεστραμμένα μικροβιακά κύτταρα μέσω καθίζησης (Decanting). Τα κύτταρα διαχωρίζονται εύκολα παραμένοντας στην κάτω φάση, ενώ η φάση που περιέχει το έλαιο και το εξάνιο βρίσκεται στην κορυφή. Ακολουθεί το στάδιο της εξάτμισης (Evaporation) όπου εξατμίζεται η ποσότητα του εξανίου το οποίο ανακυκλώνεται, ενώ απομονώνονται τα τριγλυκερίδια τα οποία χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του βιοντλήζελ. Στην επεξεργασία παραγωγής βιοντλήζελ αλλάζει η αναλογία μεθανόλης:μικροβιακού λίπους, η οποία είναι 6:1. Επίσης, χρησιμοποιείται NaOH ως καταλύτης.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Τεχνοοικονομική μελέτη

Η τεχνοοικονομική μελέτη πραγματοποιήθηκε και στις δύο μεθοδολογίες παραγωγής βιοντλήζελ. Η οικονομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε και αναλύεται παρακάτω για το κεφάλαιο επένδυσης και το κόστος λειτουργίας στηρίχθηκε στην ποσότητα γλυκόζης που χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη. Αναλύθηκαν οικονομικά ξεχωριστά οι δύο μεθοδολογίες με κόστος γλυκόζης 0,4 \$/kg, το κόστος δηλαδή του σιροπιού γλυκόζης που προκύπτει από την υδρόλυση του αμύλου.

Οι υπολογισμοί του παγίου και του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης βασίστηκαν στην τεχνική που έχει προταθεί από τους Blanch και Clark (1997). Το συνολικό κόστος για κάθε μηχάνημα περιλαμβάνει το κόστος αγοράς (free on board, ή fob), το άμεσο κόστος (υλικά και εργασία) και το έμμεσο κόστος (μηχανολογικές εγκαταστάσεις και διάφορες κατασκευές). Το fob κόστος εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας εξισώσεις για τον μηχανολογικό εξοπλισμό, που λήφθησαν από το βιβλίο των Blanch και Clark (1997). Στις περιπτώσεις που αυτές οι εξισώσεις δεν ήταν κατάλληλες, χρησιμοποιήθηκαν γραφικές παραστάσεις οι οποίες λήφθησαν από το βιβλίο των Peters et al. (2004). Η αναγωγή των δαπανών αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού στο έτος 2010 πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τους αντίστοιχους ετήσιους δείκτες Marshall and Swift.

Το κόστος λειτουργίας υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας μια μέθοδο, η οποία περιελάμβανε την χρήση συγκεκριμένων συντελεστών για τον υπολογισμό των επιμέρους εργατικών δαπανών, των δαπανών που συνδέονται με το πάγιο κεφάλαιο επένδυσης (π.χ. απόσβεση, συντήρηση στοιχείων εξοπλισμού κ.α.) και των δαπανών για έρευνα και ανάπτυξη. Οι βοηθητικές παροχές υπολογίστηκαν σύμφωνα με τις τιμές που δόθηκαν για το 2004 από τους Coulson et al. (2006) και μετατράπηκαν στο αντίστοιχο κόστος για το έτος

2010. Ο μέσος μισθός για το 2010 υπολογίστηκε ως \$32,00 ανά ώρα εργασίας. Η διάρκεια λειτουργίας των διεργασιών ορίστηκε ως 10 χρόνια, ενώ η ετήσια απόσβεση ορίστηκε ως 10% του πάγιου κεφαλαίου επένδυσης.

4.2 Οικονομική Ανάλυση

Η οικονομική ανάλυση αρχικά στην 1^η διεργασία της παραγωγής βιοντλήζελ μελετήθηκε θεωρώντας ετήσια ποσότητα παραγωγής 10.000.000 kg. Οι υπολογισμοί του κόστους αγοράς εξοπλισμού, κεφαλαίου επένδυσης και κόστους λειτουργίας για μια παραγωγική διαδικασία συνεχούς λειτουργίας παρουσιάζονται στους Πίνακες 4-4.2.1 και 4-4.2.2. Σύμφωνα με τον Πίνακα 4-4.2.2., οι πιο σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν το συνολικό κόστος λειτουργίας είναι το κόστος αγοράς της γλυκόζης, οι εργατικές δαπάνες και πάγια κόστη που σχετίζονται με το πάγιο κεφάλαιο επένδυσης.

Πίνακας 4-4.2.1. Εκτίμηση του κόστους προμήθειας εξοπλισμού και του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης στην 1^η διεργασία παραγωγής βιοντλήζελ.

Εξοπλισμός	Χαρακτηριστικά	Μονάδα	Συνολικό κόστος (\$)
Storage tank	18,894 m ³	1	159.825
Heat sterilization	52,26 cm	1	39.000
Fermentor	231,169 m ³	11	31.625.000
Heat exchanger	3,384 m ²	1	16.197
Rotary Vacuum filtration	50,880 m ²	1	421.105
Spray Dryer 1	0,322 kg water/sec	1	534.852
Holding Tank	2,256 m ³	1	49.660
Methanol Storage Tank	41,968 m ³	1	70.000
H₂SO₄ Storage Tank	0,45 m ³	1	9.500
Transesterification	39 m ³	23	5.290.000

Σχεδιασμός και εκπόνηση τεχνο-οικονομικής μελέτης διεργασιών παραγωγής βιοντλήζελ από απόβλητα και παραπροϊόντα βιομηχανιών τροφίμων.

Centrifugation	52495 L/h	1	238.000
Flash Drum	0,140 m ³	1	1425
Neutralization	1,855 m ³	1	37.000
Spray Dryer 2	0,095 kg water/sec	1	257.291
Storage tank (biodiesel)	1,459 m ³	1	14.000
Stoich. Reaction	28,295 m ³	2	380.000
MeOH Distillation	12,98 m ³	4	196.000
Distillation	0,283 m ³	1	14.643
Storage tank (Glycerol)	1,374 m ³	1	16.000
Equipment for utility production			4.374.000
Κόστος προμήθειας εξοπλισμού			43.743.000
Έκτακτες ανάγκες και αμοιβές (40% του κόστους προμήθειας εξοπλισμού)			17.497.200
Συνολικό κόστος αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού			61.240.200
Κτίρια (15% του συνολικού αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού)			9.186.030
Έκταση και ανάπτυξη δικτύου (7% του συνολικού αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού)			4.286.814
Κόστος κίνησης (10% του συνολικού αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού)			6.124.020
Συνολικό κεφάλαιο επένδυσης			80.837.064

Πίνακας 4-4.2.2 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντήζελ κατά την 1^η διεργασία παραγωγής βιοντήζελ όπου χρησιμοποιείται σιρόπι γλυκόζης.

Συνιστώσα	Λεπτομέρειες	Κόστος (1000 \$)
Πρώτες ύλες		
Γλυκόζη	42.513.332kg, 0,4\$/kg	17.005
Εκχύλισμα ζυμών	3.305.306kg, 0,563\$/kg	1.859
Νερό	94.627.210kg, 0,000353\$/kg	33
Θειϊκό οξύ	5.868.121kg, 0,07\$/kg	410
Καυστικό νάτριο	4.760.091kg, 0,617\$/kg	2.936
Μεθανόλη	1.735.414kg, 0,428\$/kg	741
Κόστος βοηθητικών παροχών		
Ηλεκτρική ενέργεια	19.295.240 kWh, 0,064\$/kWh	1.234
Ατμός	566.058.278kg, 13,44\$/MT	7.607
Νερό ψύξης 1 (cooling water)	48.408.213.637kg, 0,01\$/MT	542
Νερό ψύξης 2 (chilled water)	3.065.382.727kg, 0,09\$/MT	274
Σύνολο εργατικών δαπανών	3,3 εργάτες, 32\$/h	2.389
Δαπάνες που σχετίζονται με το πάγιο κεφάλαιο επένδυσης		15.763
Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντήζελ		4,99 \$/kg

Το κόστος παραγωγής βιοντήζελ υπολογίστηκε ως ανά μονάδα προϊόντος ως 4,99 \$ ανά kg βιοντήζελ το οποίο είναι αρκετά πιο ακριβό σε σχέση με το κόστος παραγωγής βιοντήζελ από φυτικά έλαια. Στους επόμενους δύο πίνακες παρουσιάζεται η οικονομική ανάλυση της 2^{ης} διεργασίας που αξιολογήθηκε για την παραγωγή βιοντήζελ.

Πίνακας 4-4.2.3. Εκτίμηση του κόστους προμήθειας εξοπλισμού και του συνολικού κεφαλαίου επένδυσης στην 2^η διεργασία παραγωγής βιοντλήζελ.

Εξοπλισμός	Χαρακτηριστικά	Μονάδα	Συνολικό κόστος (\$)
Storage tank	18,894 m ³	1	159.825
Heat sterilization	52,26 cm	1	39.000
Fermentor	231,169 m ³	11	31.625.000
Heat exchanger	3,384 m ²	1	16.197
Rotary Vacuum filtration	50,880 m ²	1	421.105
Spray Dryer 1	0,322 kg water/sec	1	534.852
Holding Tank	11,061 m ³	1	119.057
Homogenization	11.430 L/h	2	766.000
Decanter tank	1,04 m ³	1	29.000
Evaporator	2,362 m ²	1	99.501
Methanol Storage Tank	0,39 m ³	1	9.000
NaOH Storage Tank	0,01424 m ³	1	1500
Transesterification	1,987 m ³	1	39.000
Centrifugation	1768 L/h	1	44.711
Flash drum	0,138 m ³	1	1421
Neutralization	1,989 m ³	1	39.000
Centrifugation 2	1.887 L/h	1	46.106
Spray Dryer 2	0,008 kg water/sec	1	58.297
Storage tank (biodiesel)	1,621 m ³	1	15.000
Stoich. Reaction	0,683 m ³	1	20.000
MeOH Distillation	0,1 m ³	1	10.281
Distillation	0,26 m ³	1	14.189
Storage Glycerol	0,182 m ³	1	5.500

Equipment for utility production	3.790.000
Κόστος προμήθειας εξοπλισμού	37.903.000
Έκτακτες ανάγκες και αμοιβές (40% του κόστους προμήθειας εξοπλισμού)	15.161.200
Συνολικό κόστος αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού	53.064.200
Κτίρια (15% του συνολικού αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού)	7.959.630
Έκταση και ανάπτυξη δικτύου (7% του συνολικού αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού)	3.714.494
Κόστος κίνησης (10% του συνολικού αγοράς και εγκατάστασης εξοπλισμού)	5.306.420
Συνολικό κεφάλαιο επένδυσης	70.044.744

Πίνακας 4-4.2.4 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντλήζελ κατά την 2^η διεργασία παραγωγής biodiesel όπου χρησιμοποιείται σιρόπι γλυκόζης.

Συμμετέχοντα	Λεπτομέρειες	Κόστος (1000 \$)
Πρώτες ύλες		
Γλυκόζη	42.513.332 kg, 0,4\$/kg	17.005
Εκχύλισμα ζυμών	3.305.306 kg, 0,563\$/kg	1.859
Νερό	95.040.634 kg, 0,000353\$/kg	33
Εξάνιο	233.973 kg, 0,33 \$/kg	77
Θειϊκό οξύ	123.781 kg, 0,07\$/kg	8
Καυστικό νάτριο	100.963 kg, 0,617\$/kg	62
Μεθανόλη	1.081.314 kg, 0,428\$/kg	462
Δαπάνες βοηθητικών		

παροχών		
Ηλεκτρική ενέργεια	22.669.046 kWh, 0,064\$/kWh	1.450
Ατμός	99.373.967kg, 13,44\$/MT	1.335
Νερό ψύξης 1 (cooling water)	836.496.309kg, 0,01\$/MT	8
Νερό ψύξης 2 (chilled water)	3.914.567.545kg, 0,09\$/MT	352
Σύνολο εργατικών δαπανών	4,1 εργάτες, 32\$/h	2.969
Δαπάνες που σχετίζονται με το πάγιο κεφάλαιο επένδυσης		13.659
Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντήζελ		3,89 \$/kg

Από την σύγκριση του πάγιου κεφαλαίου επένδυσης στις δύο διεργασίες παρατηρούμε ότι το πάγιο κεφάλαιο επένδυσης είναι μικρότερο στην 1^η διεργασία. Όπως επίσης το κόστος μονάδας παραγωγής στην 1^η διεργασία είναι 4,99\$/kg ενώ στην 2^η διεργασία είναι 3,89\$/kg MP, που σημαίνει ότι η παραγωγή βιοντήζελ χωρίς τον διαχωρισμό του μικροβιακού λίπους είναι πολύ πιο οικονομική και την οποία και επιλέγουμε.

Αφού καταλήξαμε στην πιο οικονομική μεθοδολογία, στους περαιτέρω υπολογισμούς μελετάμε τη μείωση του κόστους παραγωγής μειώνοντας την τιμή αγοράς της γλυκόζης και την χρονική διάρκεια της ζύμωσης. Οι τιμές της γλυκόζης είναι 0,4 \$/kg για σιρόπι γλυκόζης, 0,15 \$/kg για υδρόλυμα καλαμποκιού ή σίτου και 0,05 \$/kg από απόβλητα βιομηχανιών τροφίμων πλούσια σε άμυλο. Το υδρόλυμα καλαμποκιού ή σίτου χρησιμοποιείται στις Ηνωμένες Πολιτείες για την παραγωγή βιοαιθανόλης και γαλακτικού οξέος. Το υδρόλυμα σίτου έχει χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοαιθανόλης (Arifeen et al., 2007).

Επίσης μελετήσαμε για κάθε τιμή της πρώτης ύλης την μείωση του κόστους παραγωγής που επιτυγχάνεται για αυξημένη παραγωγικότητα μικροβιακού λίπους κατά την διάρκεια της ζύμωσης. Αυτό αποτελεί ένα υποθετικό σενάριο όπου υποθέτουμε ότι στο μέλλον η συγκεκριμένη ζύμωση θα βελτιστοποιηθεί

περαιτέρω ή θα βελτιωθεί ένας ελαιογόνος μικροοργανισμός έτσι ώστε να αυξηθεί ο χρόνος της ζύμωσης. Σύμφωνα με αυτό το υποθετικό σενάριο, η διάρκεια της ζύμωσης θεωρήθηκε ως 114h, 94h, 74h, 54h και 34h. Στον Πίνακα 4-4.2.5 παρουσιάζεται το κόστος παραγωγής του βιοντήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες μικροβιακού λίπους κατά την ζύμωση όταν η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται είναι σιρόπι γλυκόζης (0,4\$/kg).

Πίνακας 4-4.2.5 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες κατά την διάρκεια της ζύμωσης όπου χρησιμοποιείται σιρόπι γλυκόζης ως πηγή γλυκόζης.

Διάρκεια Ζύμωση (h)	Παραγωγικότητα (g/L/h)	Συνολικό Κεφάλαιο Επένδυσης (\$)	Κόστος παραγωγής βιοντήζελ (\$/kg)
134 h	0,54	70044744	3,89
114 h	0,63	59605392	3,66
94 h	0,76	51250584	3,48
74 h	0,97	40824168	3,26
54 h	1,33	32408376	3,08
34 h	2,11	22011528	2,86

Από τον Πίνακα 4-4.2.5 παρατηρούμε ότι με την μείωση του χρόνου διάρκειας της ζύμωσης έχουμε μείωση του κόστους παραγωγής κατά 26,5%. Αυτό συμβαίνει στην περίπτωση που χρησιμοποιείται σιρόπι γλυκόζης ως πρώτη ύλη.

Στόν Πίνακα 4-4.2.6 παρουσιάζεται το κόστος παραγωγής του βιοντήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες μικροβιακού λίπους κατά την ζύμωση όταν η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται είναι ακατέργαστο υδρόλυμα καλαμποκιού ή σίτου (0,15\$/kg). Από τον πίνακα παρατηρούμε ότι με την μείωση του χρόνου διάρκειας της ζύμωσης έχουμε μείωση του κόστους παραγωγής κατά 36,6%.

Στόν Πίνακα 4-4.2.7 παρουσιάζεται το κόστος παραγωγής του βιοντλήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες μικροβιακού λίπους κατά την ζύμωση όταν η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται είναι ακατέργαστο υδρόλυμα αποβλήτων της βιομηχανίας τροφίμων τα οποία είναι πλούσια σε αλεύρι (0,05\$/kg). Έχει θεωρηθεί επίσης ότι δεν χρησιμοποιείται εκχύλισμα ζύμης διότι τα αλευρούχα απόβλητα τροφίμων μπορούν επίσης να θεωρηθούν ότι αποτελούν πηγή αζώτου και ιχνοστοιχείων. Από τον πίνακα παρατηρούμε ότι με την μείωση του χρόνου διάρκειας της ζύμωσης έχουμε μείωση του κόστους παραγωγής κατά 46,2%.

Πίνακας 4-4.2.6 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντλήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες κατά την διάρκεια της ζύμωσης όπου χρησιμοποιείται ακατέργαστο υδρόλυμα καλαμποκιού ή σίτου ως πηγή γλυκόζης.

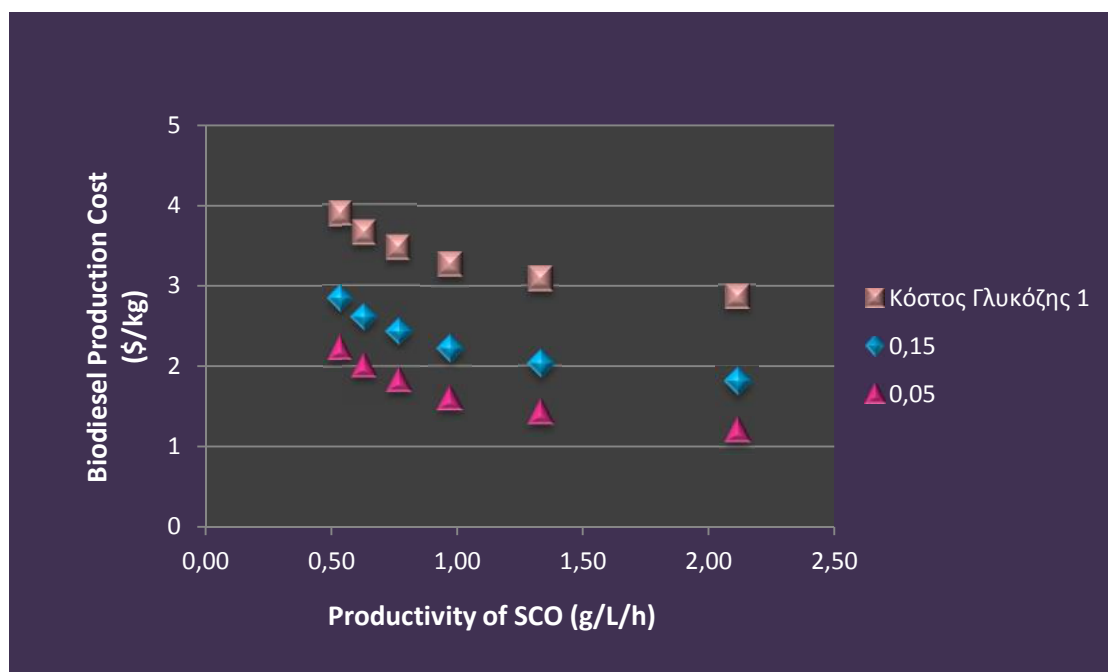
Ζύμωση (h)	Παραγωγικότητα (g/L/h)	TCE (\$)	Κόστος παραγωγής biodiesel (\$/kg)
134 h	0,54	70044744	2,84
114 h	0,63	59605392	2,61
94 h	0,76	51250584	2,43
74 h	0,97	40824168	2,21
54 h	1,33	32408376	2,03
34 h	2,11	22011528	1,8

Πίνακας 4-4.2.7 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντλήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες κατά την διάρκεια της ζύμωσης όπου χρησιμοποιείται ακατέργαστο υδρόλυμα βιομηχανιών τροφίμων πλούσιο σε αλεύρι.

Ζύμωση (h)	Παραγωγικότητα (g/L/h)	TCE (\$)	Κόστος παραγωγής biodiesel (\$/kg)
------------	------------------------	----------	------------------------------------

134 h	0,54	70044744	2,23
114 h	0,63	59605392	2,01
94 h	0,76	51250584	1,83
74 h	0,97	40824168	1,6
54 h	1,33	32408376	1,42
34 h	2,11	22011528	1,2

Παρατηρούμε ότι όταν χρησιμοποιείται ακατέργαστο υδρόλυμα από βιομηχανίες τροφίμων επιτυγχάνεται η μεγαλύτερη μείωση του κόστους παραγωγής. Η γραφική παράσταση 4-4.2.1 παρουσιάζει την μείωση του κόστους παραγωγής του βιοντλήζελ για κάθε μία από τις πρώτες ύλες που αναφέρθηκαν παραπάνω και για διαφορετικές παραγωγικότητες κατά την διάρκεια της ζύμωσης. Το χαμηλότερο κόστος επιτυγχάνεται όταν χρησιμοποιείται υδρόλυμα της βιομηχανίας τροφίμων και παραγωγικότητα 2,11 g/L/h. Αυτό σημαίνει ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνητικές μελέτες για την βελτίωση της ζύμωσης για την παραγωγή μικροβιακού λίπους.



Γράφημα 4-4.2.1 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντλήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες κατά την διάρκεια της

ζύμωσης όπου χρησιμοποιείται τρεις διαφορετικές πηγές γλυκόζης.

Η βέλτιστη μείωση κόστους παραγωγής βιοντήζελ επιτυγχάνεται με την αύξηση του συνολικού ξηρού βάρους. Έστω ότι την αυξάνουμε στα 200 g/L, τότε η συγκέντρωση γλυκόζης ανά κύκλο γίνεται 576,52 g/L από 307 g/L που ήταν. Η ποσότητα γλυκόζης που καταναλώνεται για βιομάζα ανά κύκλο γίνεται 112,67 g/L από 60 g/L που ήταν, η συγκέντρωση μικροβιακού λίπους ανά κύκλο γίνεται 134,98 g/L από 71,88 g/L και η απόδοση γλυκόζης σε μικροβιακό λίπος γίνεται 0,29 g/g. Σύμφωνα με τις παραπάνω αλλαγές υπολογίσαμε το κόστος παραγωγής του βιοντήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες (Πίνακας 4-4.2.8). Όπως φαίνεται από τον πίνακα, το κόστος παραγωγής biodiesel με την αύξηση του συνολικού ξηρού βάρους μειώνεται κατά 52,9%.

Πίνακας 4-4.2.8 Συνολικό κόστος παραγωγής ανά kg βιοντήζελ για διαφορετικές παραγωγικότητες κατά την διάρκεια της ζύμωσης όπου χρησιμοποιείται ακατέργαστο υδρόλυμα βιομηχανιών τροφίμων πλούσιο σε αλεύρι και αυξημένη παραγωγή κυτταρικής μάζας και μικροβιακού λίπους κατά την ζύμωση.

Ζύμωση (h)	Παραγωγικότητα (g/L/h)	TCE (\$)	Κόστος παραγωγής biodiesel (\$/kg)
134 h	1,01	70044744	2,23
100 h	1,35	53141088	1,87
65h	2,08	35908488	1,5
50 h	2,70	29124480	1,35
40 h	3,38	15602660	1,05

Από την παραπάνω μελέτη συμπεραίνεται ότι το κόστος παραγωγής βιοντήζελ από μικροβιακό λίπος εξαρτάται από την ζύμωση και την επιλογή της κατάλληλης πρώτης ύλης η οποία θα πρέπει να είναι απόβλητο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Anthony C (1978) The prediction of growth yields in methylotrophs. *J Gen Microbiol* 104: 91-104.

Arifeen N, Wang R-H, Kookos IK, Webb C and Koutinas AA. (2007), “Process design and optimization of novel wheat-based continuous bioethanol production system”, *Biotechnol Progr*, 23, 1394-1403.

André A, Chatzifragkou A, Diamantopoulou P, Sarris D, Philippoussis A, Galiotou-Panayotou M, Komaitis M and Papanikolaou S. (2009), ‘Biotechnological conversions of bio-diesel derived crude glycerol by *Yarrowia lipolytica* strains’, *Eng Life Sci*, 6, 468-478.

Aggelis G and Sourdis J. (1997), ‘Prediction of lipid accumulation-degradation in oleaginous micro-organisms growing on vegetable oils’, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 72, 159-165.

Aggelis G. (2009), *Microbial conversions of raw glycerol*, Nova Science Publishers Inc., New York.

Aggelis G, Stathas D, Tavoularis N and Komaitis M. (1996), ‘Composition of lipids produced by some strains of *Candida* species. Production of single-cell oil in a chemostat culture’, *Folia Microbiol*, 41, 299-302.

Angerbauer C., Siebenhofer M, Mittelbach M and Guebitz GM. (2008), Conversion of sewage sludge into lipids by *Lipomyces starkeyi* for biodiesel production, *Biores Technol*, 99, 3051-3056.

Atkinson B and Mavituna F. 1991. *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*, 2nd edition.

A Comprehensive Analysis of Biodiesel Impacts on Exhaust Emissions, EPA420-P-02-001, October 2002.

Blanch HW and Clark DS. 1997. Biochemical Engineering, Marcel Dekker: New York, pp 643-682.

Bo Liu and Zongbao (Kent) Zhao, Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass, *J Chem Technol Biotechnol* 82: 775-780 (2007).

Bati N, Hammond EG and Glatz BA. (1984), 'Biomodification of fats and oils: Trials with *Candida lipolytica*', *J Am Oil Chem Soc*, 61, 1743-1746.

Babel W, Muller RH (1985b) Mixed substrate utilization in micro-organisms: biochemical aspects and energetics. *J Gen Microbiol* 131: 39-45.

Coulson JM and Richardson JF. 2006. Coulson & Richardson's Chemical Engineering, Butterworth-Heinemann in Oxford, Boston.

Canakci, M., Van Gerpen, J., 2001. Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. *Transactions of the ASAE* 44, 1429-1436.

Colin Ratledge, David J. Kyle, *Industrial applications of single cell oils*, American Oil Chemists' Society, 1992.

Demirbas, A., 2009. Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management* 50, 14-34.

Dorado, M.P., *Raw Materials to Produce Low Cost Biodiesel. Chapter 4.*, in *Biofuels Refining and Performance*, A. Nag, Editor. 2008, McGraw Hill Professional. p. 107-148.

Dorado MP, Lin SKC, Koutinas A, Du C, Wang R and Webb C. (2009), "Cereal-based biorefinery development: Utilisation of wheat milling by-products for the production of succinic acid", *J Biotechnol*, 143, 51-59.

Davies RJ, Holdsworth JE and Reader SL. (1990), ‘The effect of low oxygen uptake rate on the fatty acid profile of the oleaginous yeast *Apiotrichum curvatum*’, *Appl Microbiol Biotechnol*, 33, 569-573.

Du C, Lin SKC, Koutinas A, Wang R, Dorado P and Webb C. (2008), ‘A wheat biorefining strategy based on solid-state fermentation for fermentative production of succinic acid’, *Biores Technol*, 99, 8310-8315.

Ebrahimi F, Khanahmadi M, Roodpeyma S and Taherzadeh MJ. (2008), ‘Ethanol production from bread residues’, *Biom Bioen*, 32, 333-337.

Evans CT and Ratledge C. (1984a), ‘Effect of nitrogen source on lipid accumulation in oleaginous yeasts’, *J Gen Microbiol*, 130, 1693-1704.

Evans CT and Ratledge C. (1984b), ‘Influence of nitrogen metabolism on lipid accumulation by *Rhodospiridium toruloides* CBS 14’, *J Gen Microbiol*, 130, 1705-1710.

Fakas S, Papanikolaou S, Galiotou-Panayotou M, Komaitis M and Aggelis G. (2006), ‘Lipids of *Cunninghamella echinulata* with emphasis to γ -linolenic acid distribution among lipid classes’, *Appl Microbiol Biotechnol*, 73, 676-683.

Fakas S, Galiotou-Panayotou M, Papanikolaou S, Komaitis M and Aggelis G. (2007), ‘Compositional shifts in lipid fractions during lipid turnover in *Cunninghamella echinulata*’, *Enzyme Microb Technol*, 40, 1321-1327.

Fakas S, Certik M, Papanikolaou S, Aggelis G, Komaitis M and Galiotou-Panayotou M. (2008a), ‘ γ -Linolenic acid production by *Cunninghamella echinulata* growing on complex organic nitrogen sources’, *BioresourTechnol*, 99, 5986-5990.

Fakas S, Papanikolaou S, Galiotou-Panayotou M, Komaitis M and Aggelis G. (2008b), ‘Organic nitrogen of tomato waste hydrolysate enhances glucose uptake and lipid accumulation in *Cunninghamella echinulata*’, *J Appl Microbiol*, 105, 1062-1070.

Fakas S, Papanikolaou S, Batsos A, Galiotou-Panayotou M, Mallouchos M and Aggelis G. (2009a), 'Evaluating renewable carbon sources as substrates for single cell oil production by *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina*', *Biomass Bioen*, 33, 573-580.

Ficinus, O., Arch. Pharm., Berlin, 3: 219 (1873)

Gemma Vicente, L. Fernando Bautista^a, Rosalia Rodriguez, Javier Gutierrez, Irantzu Sadaba, Rosa M. Ruiz-Vazquez, Santiago Torres-Martinez, Victoriano Garre, *Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungus*, *Biochemical Engineering Journal* 48 (2009) 22-27

Guerzoni ME, Lambertini P, Lercker G and Marchetti R. (1985), Technological potential of some starch degrading yeasts, *Starch*, 37, 52-57.

Guo X, Tomonaga T, Yanagihara Y and Ota Y. (1999), 'Screening for yeasts incorporating the exogenous eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from crude fish oil', *J Biosci Bioeng*, 87, 184-188.

Guo X and Ota Y. (2000), 'Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids by a yeast (FO726A)', *J Appl Microbiol*, 89, 107-115.

G. Assman, G. Blasey, B. Gutsche, L. Jeromin, J. Rigal, R. Armengand, B. Cormary, Continuous progress for the production of lower alkyl esters, US Patent No. 5,514,820 (1996).

Harder, R., and H. von Witsch, Ber. Dtsch. Bot. Ges. 60: 146 (1942)

Harder W, van Dijken JP (1976) Theoretical considerations on the relation between energy production and growth on methane-utilizing bacteria. In: Schlegel HG, Gottschalk G, Pfenning N (eds) *Microbial production and utilization of gases*, E Goltze KG, Gottingen, pp 403-418.

Hesse, A., Adv. Enzymol. 9: 653 (1949).

Horrobin D.F., 1992. Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid. *Prog. Lipid Res.* 31, pp. 163-194.

Huang C, Zong M-H, Wu H and Liu Q-P. (2009), “Microbial oil production from rice straw hydrolysate by *Trichosporon fermentans*”, *Biores Technol*, 100, 4535–4538.

Peters MS, Timmerhaus K and West RE. 2002. *Plant Design and Economics for Chemical Engineers*, 5th Edition, McGraw-Hill.

Manuel Garcia^a, Alberto Gonzalo^a, Jost Luis Sanchez^a, Jesús Arauzo^a, Jost Angel Pepa^{b,*}, 2010. Prediction of normalized biodiesel properties by simulation of multiple feedstock blends, pp 4431-4439.

S. Papanikolaou · I. Chevalot · M. Komaitis · I. Marc G. Aggelis, 2001. Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures, pp 308-312.

Meher, L.C., D. Vidya Sagar, and S.N. Naik, *Technical Aspects of Biodiesel Production by Transesterification--a Review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2006. **10**(3): pp. 248-268.

Yagiz, F., Kazan, D., Akin, A.N . *Biodiesel Production from Waste Oils by Using Lipase Immobilized on Hydrotalcite and Zeolites*. *Chem Eng J*, 2007. 134: pp. 262-267.

Luque, R., et al., *Biofuels for Transport: Prospect and Challenges*, in *Emerging Environmental Technologies*, V. Shah, Editor. 2010, Springer: New York (USA). p. 171-210.

K. Shaine Tyson, *Biodiesel Handling and Use Guidelines*, 2001, pp 1-4

Prediction of normalized biodiesel properties by simulation of multiple feedstock blends Manuel Garcia a, Alberto Gonzalo a, Jost Luis Sanchez a, Jesús Arauzo a, Jost Angel Pepa b,* , *Bioresource Technology* 101 (2010) 4431–4439.

Pinzi, S., Garcia, I.L., Lopez-Gimenez, F.J., de Castro, M.D.L., Dorado, G., Dorado, M.P., 2009. The ideal vegetable oil-based biodiesel composition: a

review of social, economical and technical implications. *Energy and Fuels* 23, 2325–2341.

Improved and Alternative Sources of Lipids, Blackie Academic and Professional, London, pp. 235-291.

Jon Van Gerpen* Biodiesel processing and production, *Fuel processing Technology* 86 (2005) 1097-1107

J. Van Gerpen, B. Shanks, and R. Pruszko, D. Clements, G. Knothe Biodiesel Production technology, 2004

Jon Van Gerpen, Biodiesel processing and production, *Fuel processing Technology* 86 (2005) 1097-1107.

K. Shaine Tyson, Biodiesel Handling and Use Guidelines, National Renewable Energy Laboratory, NREL/TP-580-30004, September 2001.

Koritala, S, Hesseltine CW, Pryde EH and Mounts TL. (1987), ‘Biochemical modification of fats by microorganisms: a preliminary study’, *J Am Oil Chem Soc*, 64, 509-513.

Koutinas AA, Arifeen N, Wang R and Webb C. (2007b), “Cereal-based biorefinery development: Integrated enzyme production for cereal flour hydrolysis”, *Biotechnol Bioeng*, 97, 61-72.

Koutinas AA and Papanikolaou. (2010), “Biodiesel production from microbial oil”. In: *Handbook of biofuels production – Processes and technologies*. Luque R, Campelo J, Clark JH (ed.), Woodhead Publishing Limited.

Li Yh, Zhao ZB and Bai FW. (2007), High density cultivation of oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* Y4 in fed-batch culture, *Enzyme Microb Technol*, 41, 312-317.

Mahro B and Timm M. 2007. Potential of biowaste from the food industry as a biomass resource. *Engineering in Life Science* 7:457–468.

Makri A, Fakas S and Aggelis G. (2010), 'Metabolic activities of biotechnological interest in *Yarrowia lipolytica* grown on glycerol in repeated batch cultures', *Bioresour Technol*, in press doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.024.

Mantzouridou F, Naziri E and Tsimidou MZ. (2008), 'Industrial glycerol as a supplementary carbon source in the production of β -carotene by *Blakeslea trispora*', *J Agric Food Chem*, 56, 2668-2675.

Meesters PAEP, Huijberts GNM and Eggink G. (1996), 'High cell density cultivation of the lipid accumulating yeast *Cryptococcus curvatus* using glycerol as a carbon source', *Appl Microbiol Biotechnol*, 45, 575-579.

Meng X, Yang J, Xu X, Zhang L., Nie Q and Xian M. (2009), Biodiesel production from oleaginous microorganisms, *Ren En*, 34, 1-5.

Mlickova K, Luo Y, d'Andrea S, Peč P, Chardot T and Nicaud JM. (2004a), 'Acyl-CoA oxidase, a key step for lipid accumulation in the yeast *Yarrowia lipolytica*', *J Mol Catal B: Enzym*, 28, 81-85.

Mličková K, Roux E, Athenstaedt K, d'Andrea S, Daum G, Chardot T and Nicaud JM. (2004b), 'Lipid accumulation, lipid body formation, and acyl-coenzyme A oxidases of the yeast *Yarrowia lipolytica*', *Appl Environ Microbiol*, 70, 3918-3924.

Moreton RS and Clode DM. (1985), 'Microbial desaturase enzyme inhibitors and their use in a method of producing lipids', UK Patent Application 840 7195.

Moreton RS. (1985), 'Modification of fatty acid composition of lipid accumulating yeasts with cyclopropene fatty acid desaturase inhibitors', *Appl Microbiol Biotechnol*, 22, 41-45.

Nageli, C., and O. Loew, *Liebigs Ann.* 193:322 (1878)

Pan JG, Kwak MY and Rhee JS. (1986), High density cell culture of *Rhodotorula glutinis* using oxygen-enriched air, *Biotechnol Lett*, 8, 715-718.

Papanikolaou S, Chevalot I, Komaitis M, Aggelis G and Marc I. (2001), 'Kinetic profile of the cellular lipid composition in an oleaginous *Yarrowia lipolytica* capable of producing a cocoa-butter substitute from industrial fats', *Antonie van Leeuwenhoek*, 80, 215-224.

Papanikolaou S and Aggelis G. (2002), 'Lipid production by *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol in a single-stage continuous culture', *Bioresour Technol*, 82, 43-49.

Papanikolaou S, Chevalot I, Komaitis M, Marc I and Aggelis G. (2002a), 'Single cell oil production by *Yarrowia lipolytica* growing on an industrial derivative of animal fat in batch cultures', *Appl Microbiol Biotechnol*, 58, 308-312.

Papanikolaou S and Aggelis G. (2003a), 'Modeling lipid accumulation and degradation in *Yarrowia lipolytica* cultivated on industrial fats', *Curr Microbiol*, 46, 398-402.

Papanikolaou S and Aggelis G. (2003b), 'Selective uptake of fatty acids by the yeast *Yarrowia lipolytica*', *Eur J Lipid Sci Technol*, 105, 651-655.

Papanikolaou S, Komaitis M and Aggelis G. (2004a), 'Single cell oil (SCO) production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media', *Bioresour Technol*, 95, 287-291.

Papanikolaou S, Sarantou S, Komaitis M and Aggelis G. (2004b), 'Repression of reserve lipid turnover in *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina* cultivated in multiple-limited media', *J Appl Microbiol*, 97, 867-874.

Papanikolaou S, Galiotou-Panayotou M, Fakas S, Komaitis M and Aggelis G. (2007a), 'Lipid production by oleaginous *Mucorales* cultivated on renewable carbon sources', *Eur J Lipid Sci Technol*, 109, 1060-1070.

Papanikolaou S, Chevalot I, Galiotou-Panayotou M, Komaitis M, Marc I and Aggelis G. (2007b), 'Industrial derivative of tallow: a promising renewable

substrate for microbial lipid, single-cell protein and lipase production by *Yarrowia lipolytica*, *Electron J Biotechnol*, 10, 425-435.

Ratledge C, Food from Waste, edited by G.G. Birch, K.J. Parker and J.T. Worgan, Applied Science Publishers, London, 1976, pp. 98-113.

Ratledge C. (1991), Microorganisms for lipids, *Acta Biotechnol*, 11, 429-438.

Ratledge C, 1994. Yeasts, moulds, algae and bacteria as sources of lipids. In: Kamel, B.S. and Kakuda, Y., Editors, 1994. Technological Advances in *improved and alternative sources of lipids*, London, Blackie Academic and Professional, 235-291.

Ratledge C and Wynn JP. (2002), 'The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms', *Adv Appl Microbiol*, 51, 1-51.

Ratledge C, 2004. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. *Biochimie* 86, pp. 807-815.

Wolfgang Babel and Roland H. Muller, Correlation between cell composition and carbon conversion efficiency in microbial growth: a theoretical study, *Appl Microbial Biotechnol* (1985) 22:201-207.

Woodbine, M., *Prog. Ind. Microbial.* 1: 181 (1959)

Xu Y, Wang R-H, Koutinas AA and Webb C. 2010, "Microbial biodegradable plastic production from a wheat-based biorefining strategy", *Proc Biochem*, 45, 153-163.

Yamauchi H, Mori H, Kobayashi T and Shimizu S (1983), Mass production of lipids by *Lipomyces starkeyi* in microcomputer-aided-fed-batch culture, *J Ferment Technol*, 61, 275-280.

Ykema A, Verbree EC, Kater MM and Smit H. (1988), "Optimization of lipid production in the oleaginous yeast *Apiotrichum curvatum* in whey permeate", *Appl Microbiol Biotechnol*, 29, 211-218.

Ykema A, Verbree EC, Nijkamp HJJ and Smit H. (1989), 'Isolation and characterization of fatty acid auxotrophs from the oleaginous yeast *Apiotrichum curvatum*', *Appl Microbiol Biotechnol*, 32, 76-84.

Yonghong Li, Zongbao (Kent) Zhao, Fengwu Bai, High-density cultivation of oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* Y4 in fed-batch culture, *Enzyme and Microbial Technology* 41 (2007) 312-317.

Zhu LY, Zong MH and Wu H. (2008), "Efficient lipid production with *Trichosporon fermentans* and its use for biodiesel preparation", *Biores Technol*, 99, 7881-7885.

Zhao X, Kong X, Hua Y, Feng B and Zhao ZB. (2008), 'Medium optimization for lipid production through co-fermentation of glucose and xylose by the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*', *Eur J Lipid Sci Technol*, 110, 405-412.

Αγγελής Γ., 2007. Μικροβιολογία και Μικροβιακή Τεχνολογία. Εκδόσεις Σταμούλη.