



Βιοδιυλιστήριο 2^{ης} γενιάς

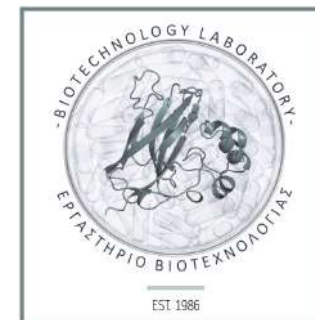
Βιοτεχνολογική παραγωγή βιοκαυσίμων και βιοπροϊόντων από αγροτικά παραπροϊόντα



Ευάγγελος Τόπακας
Καθηγητής, ΕΜΠ

<https://indubiocat.chemeng.ntua.gr>

*GrowHive seminar
29th of July 2025*



Το μέλλον σύμφωνα με τη GenAI



Generated using Microsoft Designer IA· 17 June 2024

- Μικρής κλίμακας εγκαταστάσεις βιοπαραγωγής
- Υψηλός βαθμός βιωσιμότητας



Η βιοτεχνολογία ανθεί...

Η παγκόσμια αγορά βιοτεχνολογίας είναι

- αξίας 785 δισεκατομμυρίων ευρώ το 2020

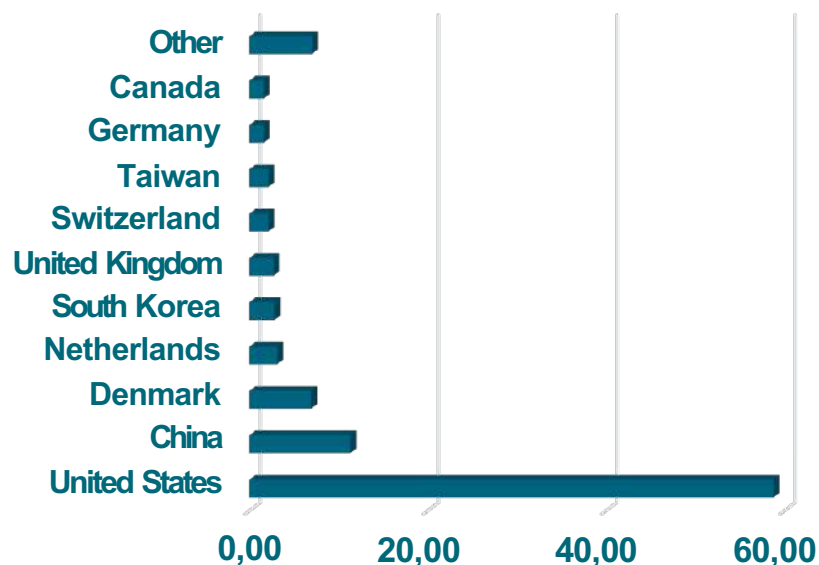
- Προβλέπεται ισχυρή ανάπτυξη 3,17 τρισεκατομμύρια ευρώ το 2030

- Συγκρίσιμο με τη σημερινή χημική βιομηχανία (5,27 τρισεκατομμύρια ευρώ παγκοσμίως*)

- Οι ΗΠΑ κυριαρχούν με περίπου το 60% του παγκόσμιου μεριδίου!

- Το μερίδιο της Ευρώπης αντιπροσωπεύει περίπου το 12%

ΜΕΡΙΔΙΟ ΑΞΙΑΣ ΤΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΓΚΟΣΜΙΩΣ



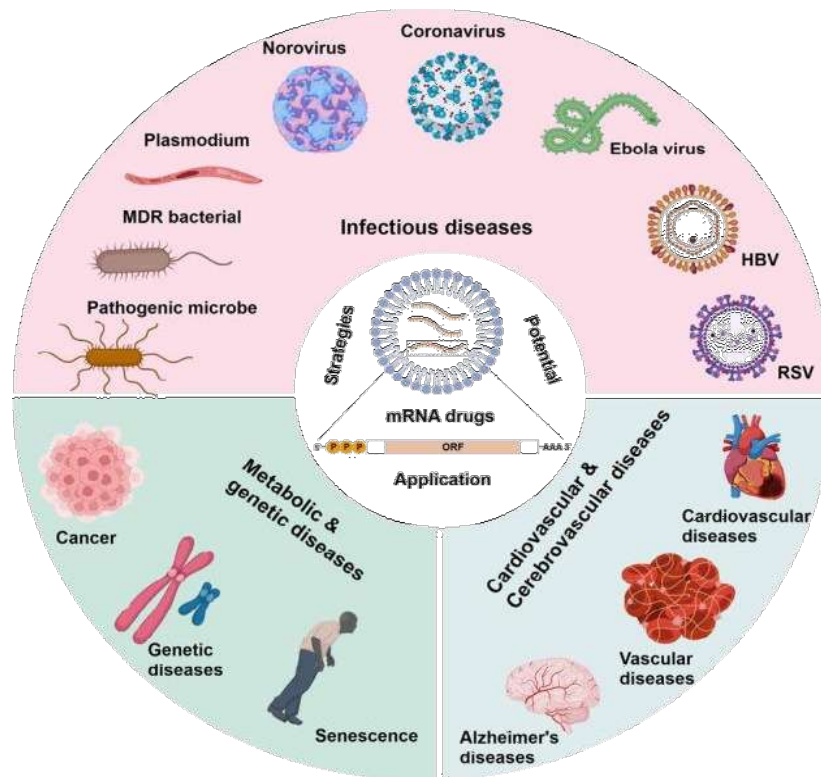
* <https://www.statista.com/statistics/302081/revenue-of-global-chemical-industry/>



Biologics

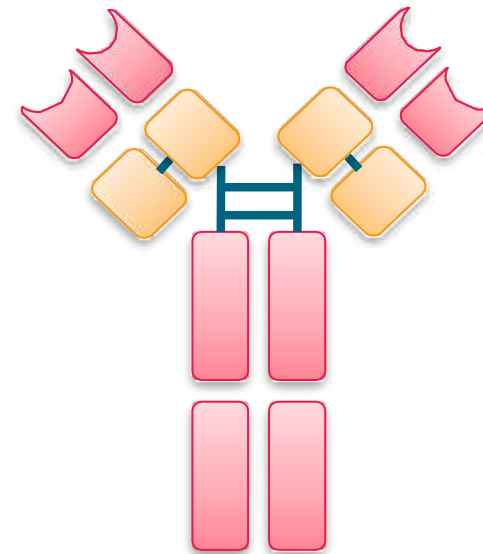
Τεχνολογία εμβολίων mRNA

— Θετικές επιπτώσεις από την πανδημία COVID-19!



mAbs

— αγορά πολλών δισεκατομμυρίων ευρώ



Qin et al. Signal Transduct Target Ther. 2022; 7: 166. doi: 10.1038/s41392-022-01007-w



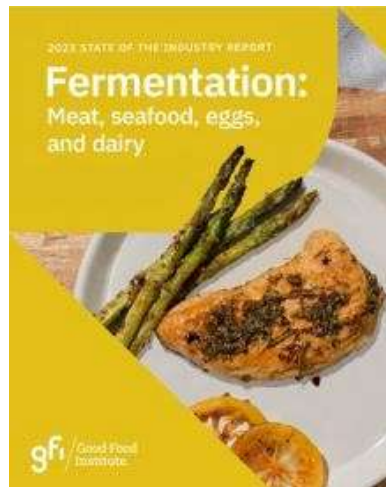
« Precision fermentation »

To 2023:

Ο αριθμός των εταιρειών ζύμωσης αυξήθηκε κατά 16%. Οι εταιρείες αυτές συγκέντρωσαν αξία ύψους 514.7 εκατομμυρίων δολαρίων

To 2032:

Η αξία της αγοράς αναμένεται να ανέλθει σε >30 δισ.



GFI - 2023 State of the Industry Report /
Fermentation: meat, seafood, eggs, and dairy

	1-9 companies	10-19 companies	20+ companies
▼ Africa and Middle East Count 15			
Ethiopia	1		
Israel		13	
South Africa			1
▼ Asia Pacific Count 27			
Australia	4		
China	6		
India	3		
New Zealand		4	
Singapore		8	
Thailand		1	
Vietnam			1
▼ Europe Count 61			
Austria	2		
Belgium	5		
Denmark	2		
Estonia	2		
Finland	3		
France		6	
Germany		10	
Lithuania		1	
The Netherlands		6	
Norway		1	
Spain			6
Sweden			4
Switzerland			2
Turkey			1
United Kingdom			10
▼ Latin America Count 5			
Brazil	3		
Chile		2	
▼ Canada and U.S. Count 50			
Canada	4		
United States			46



Βιώσιμα αεροπορικά καύσιμα

- Η πολιτική αεροπορία ευθύνεται για περίπου το 2,5% των αερίων του θερμοκηπίου παγκοσμίως
- Τα προηγμένα βιοκαύσιμα προβλέπονται ως μέρος της ευρύτερης εικόνας, αλλά οι ανάγκες σε βιομάζα είναι σημαντικές



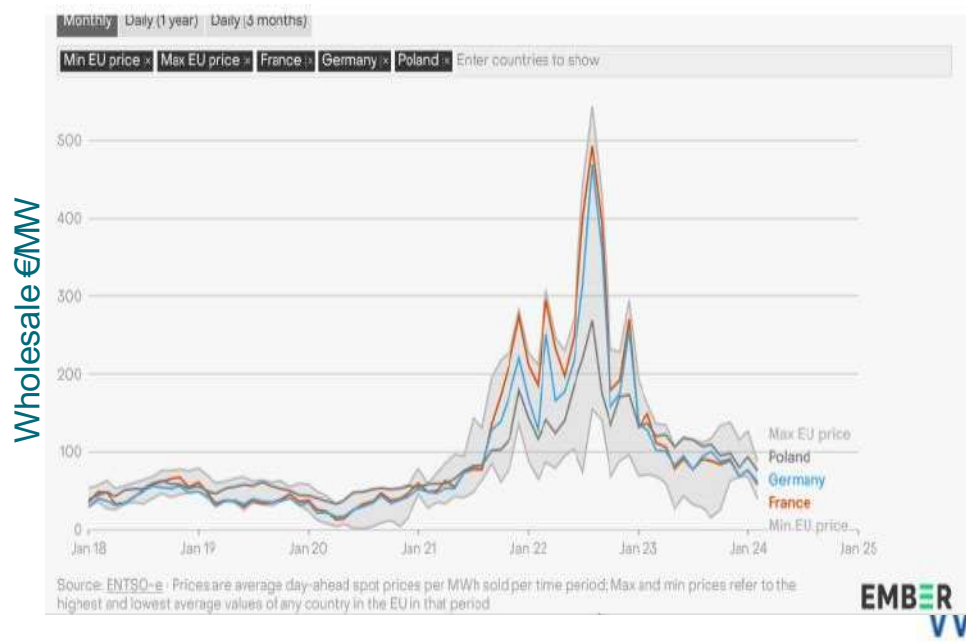
GIFAS 2023 – « Towards decarbonised air travel »

6-7 MT βιομάζα ανά έτος! (Γαλλία)

French Academy of Technologies (2023) Decarbonisation of the aviation sector through the production of sustainable fuels

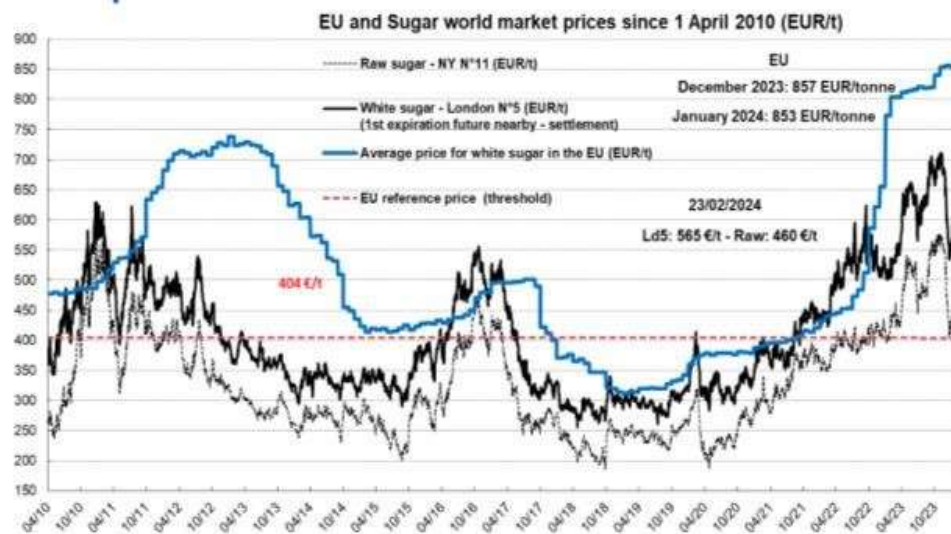


Προκλήσεις και απειλές



Η ηλεκτρική ενέργεια κορυφώθηκε τον Φεβρουάριο του 2022 στις πάνω από 500 € ανά MW!

Ραφινάρισμα ζάχαρη που πωλείται στα 855 €/τόνο τον Ιανουάριο του 2024 !



DG AGRI E 4 - Expert Group Common Market Organisation on Arable Crops





Προκλήσεις και απειλές

December 06, 2023

Clariant shuts its sunliquid® bioethanol plant in Romania

Ad hoc announcements pursuant to Art. 53 LR Corporate Global

AD HOC ANNOUNCEMENT PURSUANT TO ART. 53 LR

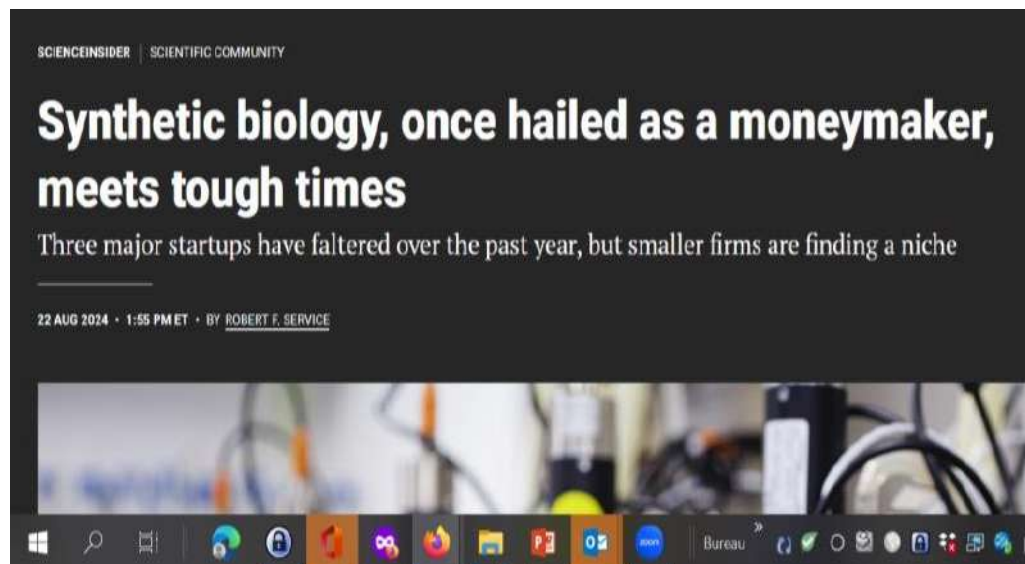
- **Strategic review concluded:** Board of Directors has decided to close bioethanol plant in Podari, Romania, and to downsize related activities in Germany
- Asset impairments of approximately CHF 110 million and provisions relating to closure of approximately CHF 60 – 90 million in Q4 2023
- Anticipated cash impact of CHF 110 – 140 million in 2024
- Continued focus on execution of Clariant's purpose-led growth strategy

MUTTENZ, DECEMBER 6, 2023 – Clariant, a sustainability-focused specialty chemical company, today

Media Relations
Corporate Communications
+41 61 469 63 63
[Get in contact](#)

Ένα εμβληματικό έργο που χρηματοδοτείται από την CBE καταρρέει!

Οι ναυαρχίδες της συνθετικής βιολογίας βρίσκεται σε μπελάδες: Η Amyris κήρυξε πτώχευση και η Gingo Bioworks ανακοίνωσε απολύσεις

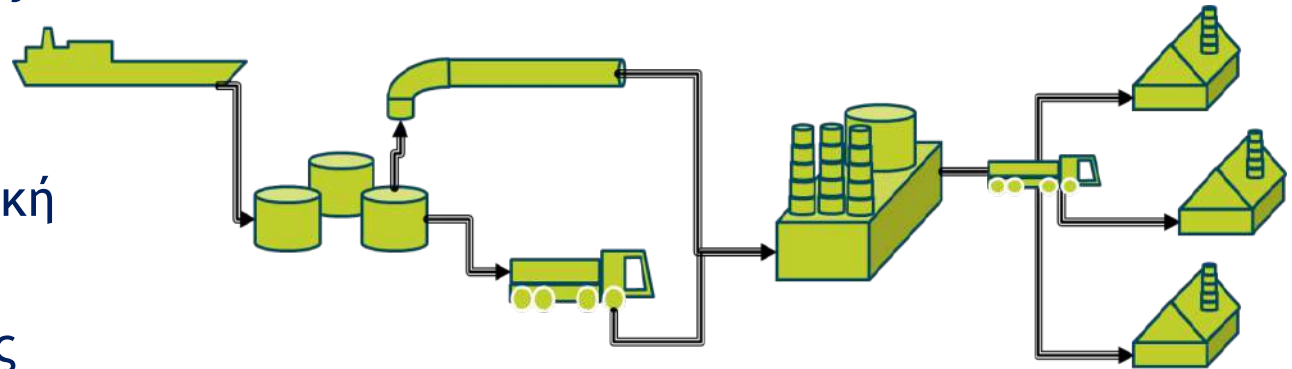




Η Βιοδιύλιση/Βιοπαραγωγή απαιτεί ένα νέο μοντέλο;

- Η πετροχημική βιομηχανία λειτουργεί σε κλίμακες ανέφικτες για τα βιοδιυλιστήρια
- Το βιοδιυλιστήριο Clariant κατασκευάστηκε για να καταναλώνει 250.000 τόνους ετησίως
- Τα διυλιστήρια πετρελαίου εμφανίζουν υψηλή ενεργειακή απόδοση
- Οι πετροχημικές βιομηχανίες συγκεντρώνονται γύρω από λιμάνια και μεγάλους αυτοκινητόδρομους (συμπεριλαμβανομένων των σιδηροδρόμων)

Τυπική δυναμικότητα περίπου 140.000 βαρέλια πετρελαίου ημερησίως* (57.000 τόνοι άχρου ημερησίως!)



Η πετροχημική αλυσίδα αξίας

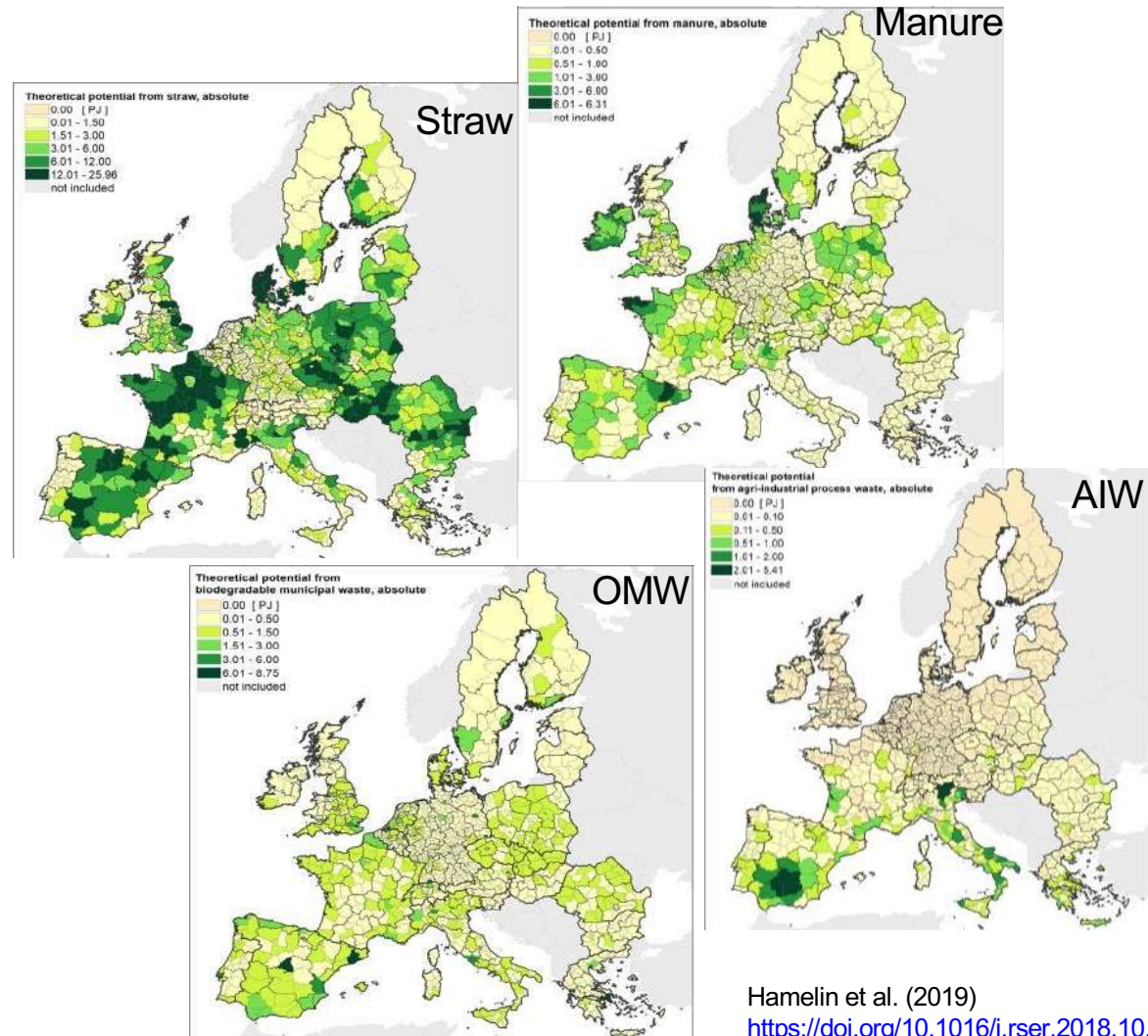
Courtesy of Dr Michael Donohue, IBISBA

Capacity data from https://www.eia.gov/dnav/pet/pet_pnp_cap1_dcu_nus_a.htm



Προκλήσεις σχετικές με τη βιομάζα

- Η βιομάζα είναι ιδιαίτερα διασκορπισμένη, αλλά δυνητικά βρίσκεται παντού
- Η βιομάζα είναι εποχιακή και ετερογενής
- Η πυκνωση βιομάζας (π.χ. πελλετοποίηση) είναι μια ενεργοβόρα διαδικασία
- Η μεταφορά βιομάζας αντιπροσωπεύει σημαντικό μέρος του κόστους της παρεχόμενης βιομάζας (Schnorf et al 2021)



Hamelin et al. (2019)
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.10.017>

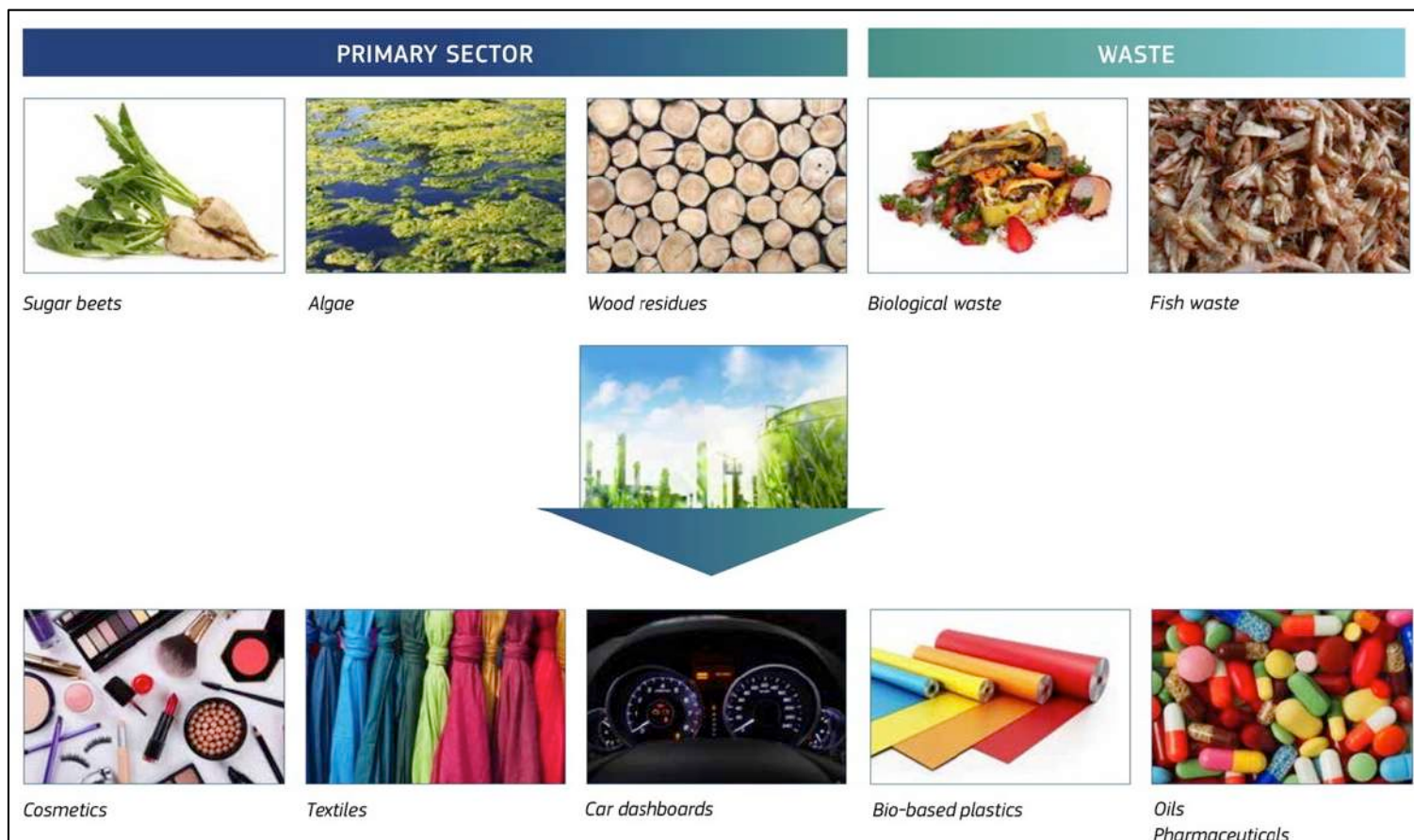


Η Ευρωπαϊκή Βιοοικονομία

- Η βιοοικονομία καλύπτει όλους τους τομείς και τα συστήματα που βασίζονται σε βιολογικούς πόρους– συμπεριλαμβανομένων των οργανικών αποβλήτων– καθώς και τις λειτουργίες και τις αρχές τους
- Η βιοοικονομία περιλαμβάνει και διασυνδέει:
 - **χερσαία και θαλάσσια οικοσυστήματα** και τις υπηρεσίες που παρέχουν
 - **όλους τους τομείς της πρωτογενούς παραγωγής** που χρησιμοποιούν και παράγουν βιολογικούς πόρους (γεωργία, δασοκομία, αλιεία και υδατοκαλλιέργεια)
 - **όλους τους οικονομικούς και βιομηχανικούς τομείς** που χρησιμοποιούν βιολογικούς πόρους και διαδικασίες για την παραγωγή τροφίμων, ζωοτροφών, βιολογικών προϊόντων, ενέργειας και υπηρεσιών
 - Για να είναι επιτυχής, η ευρωπαϊκή βιοοικονομία πρέπει να έχει την **αιιφορία** στην καρδιά της και εξ ορισμού να είναι κυκλική



Ευκαιρίες στη βιοοικονομία: νέες αλυσίδες αξίας πάνω σε βιολογικά προϊόντα





Ορισμός του βιοδιυλιστηρίου

- Το βιοδιυλιστήριο

- χαρακτηρίζεται από μια σαφώς **ενοποιητική, πολυλειτουργική, γενική** έννοια
- που χρησιμοποιεί τη βιομάζα ως μια διαφορετική πηγή πρώτων υλών
- για τη βιώσιμη παραγωγή ενός φάσματος διαφόρων ενδιάμεσων προϊόντων και προϊόντων (χημικές ουσίες, υλικά, βιοενέργεια / βιοκαύσιμα),
- συμπεριλαμβανομένης της πληρέστερης δυνατής χρήσης όλων των συστατικών των πρώτων υλών.
- Τα συμπαραγωγά μπορούν επίσης να είναι τρόφιμα και / ή ζωοτροφές.





Platform chemicals

bio-based

methane

carbon
dioxide

ethanol

acetic
acid

lactic acid

glycerine

butanol

succinic
acid

lignin

petro-based

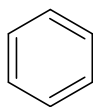
C1 | CH_4 CH_3OH CO
methane methanol carbon monoxide

C2 | $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$
ethylene

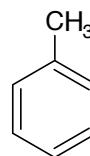
C3 | $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$
propylene

C4 | $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{|}{\text{C}}}=\text{CH}_2$
1 butene 2 butene 1,3 butadiene isobutene

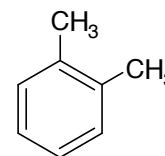
aromatics
C6 – C8



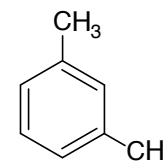
benzene



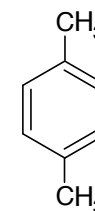
toluene



o-xylene

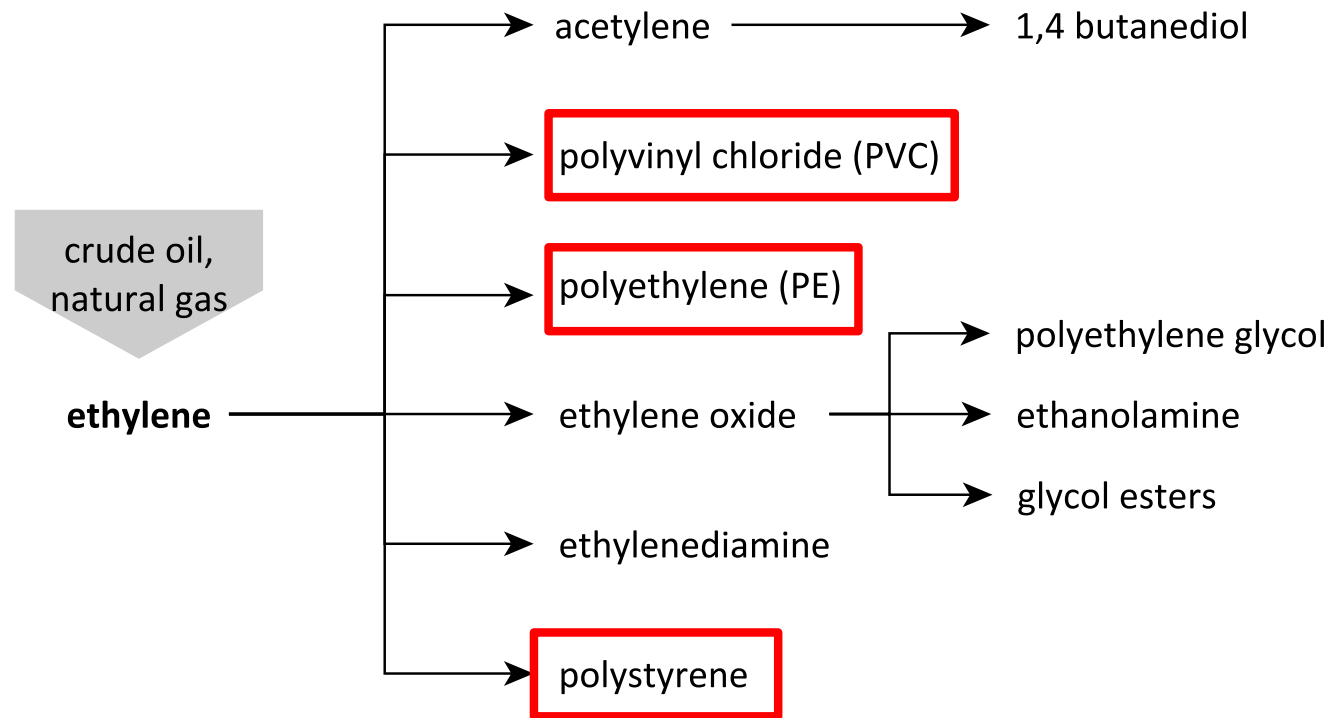


m-xylene

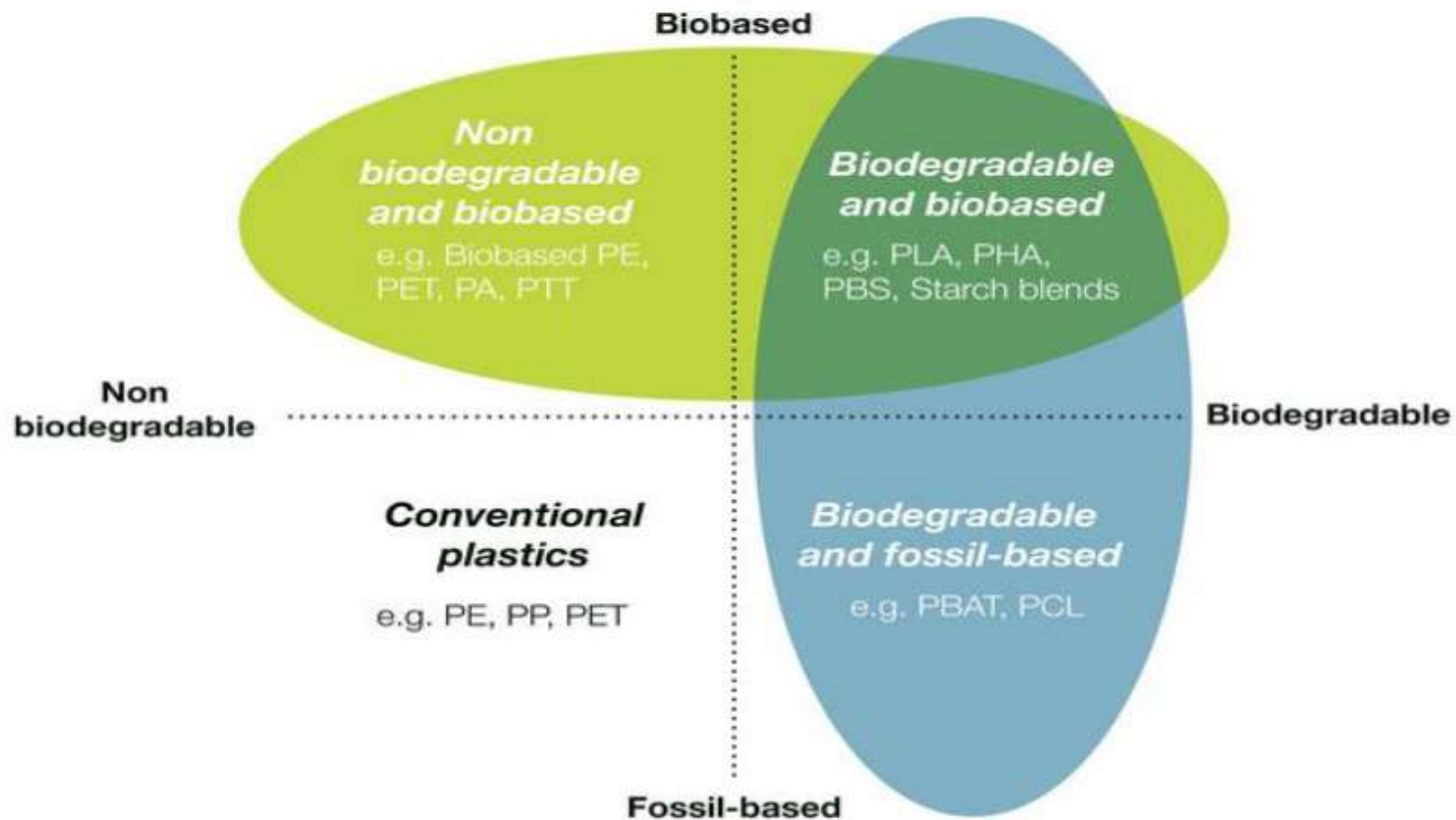


p-xylene

Αρχή του χημικού δέντρου βασισμένου στο αιθυλένιο



Βιολογικά προερχόμενα πλαστικά: η λύση για ένα βιώσιμο μέλλον



Βιολογικά προερχόμενα πλαστικά: η λύση για ένα βιώσιμο μέλλον

Article 7a	
Bio-based feedstock in plastic packaging	
1.	By ... [3 years from the date of entry into force of this Regulation], the Commission shall review the state of technological development and environmental performance of bio-based plastic packaging taking into consideration the sustainability criteria laid down in Article 29 of Directive (EU) 2018/2001;
2.	Where appropriate, and based on that review, the Commission shall present a legislative proposal in order to:
a)	lay down sustainability requirements for bio-based feedstock in plastic packaging;
b)	lay down targets to increase the use of bio-based feedstock in plastic packaging;
c)	introduce the possibility to achieve the targets set out in Article 7(1) and (2) of this Regulation by using bio-based plastic feedstock instead of recycled content recovered from post-consumer plastic waste in case suitable recycling technologies for food contact packaging complying with the requirements laid down in Regulation (EU) 2022/1616 are not available.
d)	modify, where appropriate, the definition of biobased plastic set out in Article 3(41b).

		Biodegradation (ISO and ASTM standards)			
		Industrial composting	Anaerobic digestion	Home composting	
PLA-PCL(80/20)		PASS	FAIL	FAIL	
PLA-PBS(80/20)		PASS	FAIL	FAIL	
PLA-PHB(80/20)		PASS	FAIL	FAIL	
PLA-PHO(85/15)		PASS	FAIL	FAIL	
PHB-PHO(85/15)		PASS	FAIL	FAIL	
PHB-PCL(60/40)		PASS	FAIL	FAIL	
PHB-PBS(50/50)		PASS	FAIL	FAIL	
PCL-PHO(85/15)		PASS	FAIL	FAIL	
PCL-TPS(70/30)		PASS	FAIL	FAIL	
PLA		PASS	FAIL	FAIL	
PCL		PASS	FAIL	FAIL	
PBS		PASS	FAIL	FAIL	
PHO		PASS	FAIL	FAIL	
PHB		PASS	FAIL	FAIL	
TPS		PASS	FAIL	FAIL	
		Managed environments			
		Unmanaged environments			
		Marine Fresh water			
		Anaerobic aq. digestion			
		Soil			
		PASS			
		FAIL			

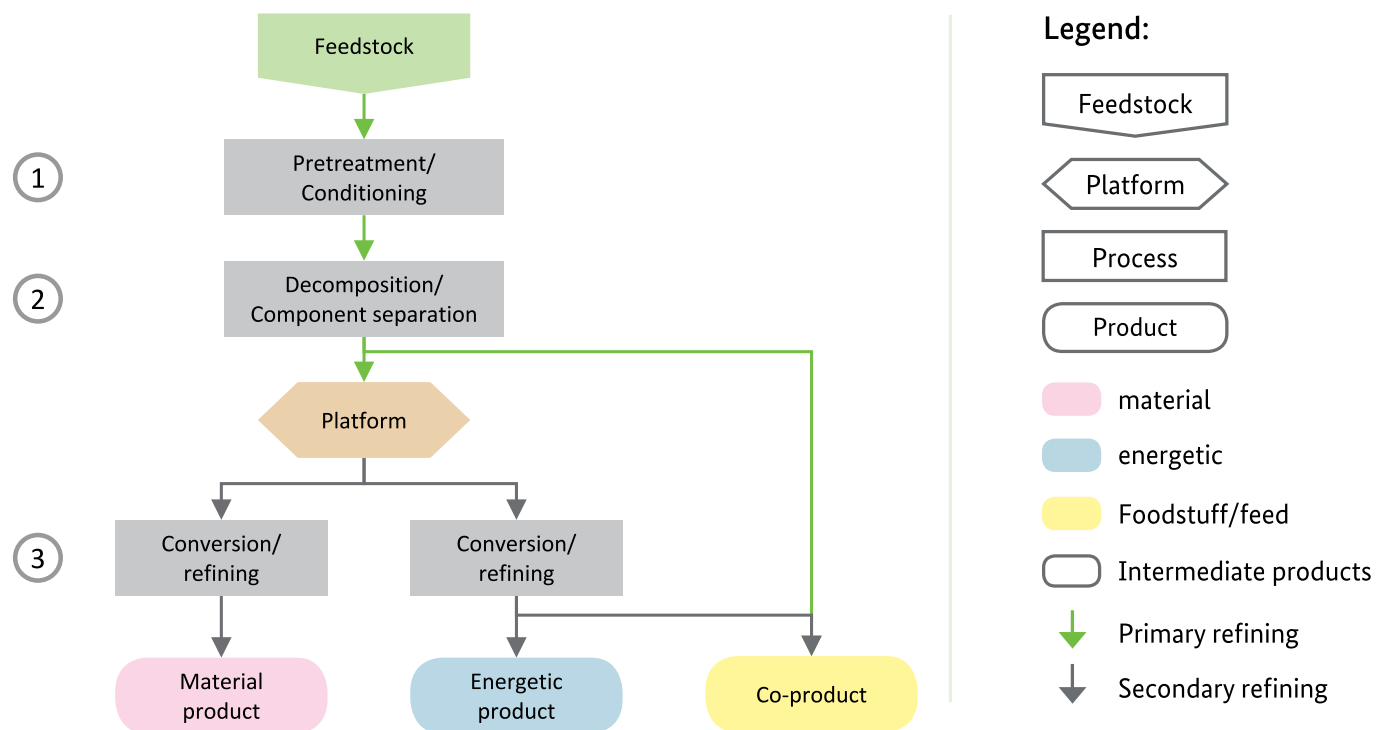
Narancic et al. Environ. Sci. Technol. 2018,
52, 10441-10452

Regulation of the European Parliament and of the Council

On packaging and packaging waste, amending regulation (EU) 2019/1020 and directive (EU) 2019/904, and repealing directive 94/62/EC



Σχηματική αναπαράσταση ενός βιοδιυλιστηρίου



1. Προκατεργασία και προετοιμασία της βιομάζας
2. Αποσύνθεση και διαχωρισμός των συστατικών (Πρωτοβάθμια Διύλιση)
3. Μεταγενέστερα στάδια μετατροπής και διύλισης (δευτερογενής διύλιση)



Τα στοιχεία της ταξινόμησης των βιοδιυλιστηρίων

Feedstock	Agricultural biomass → Oil crops → Starch crops → Sugar crops → Grasses → Wood → Woody biomass	Aquatic biomass → Algae	Biogenic residual- & waste materials → Agricultural and forestry residues (e.g. straw, manure, wood residues, fruit peel, slurry) → Biogenic residual materials from processing (e.g. whey, pulp, stillage, spent grains) → Biogenic waste materials (e.g. yellow grease, waste wood)
Platform	→ Low molecular weight carbohydrates (e.g. lactose, sucrose) → Polymeric carbohydrates (e.g. starch, inulin, pectin) → Lignocellulose components (lignin/cellulose/ hemicellulose) → Proteins → Plant fibres → Vegetable oils, lipids → Pyrolysis oil → Press juice → Biogas → Syngas		
Products	Materials → Chemicals → Materials → Feedstuff* → Foodstuff* * as a co-product	Bioenergy → Solid, liquid, gaseous sources of bioenergy → Electricity → Heat	
Processes	→ Physical, including mechanical processes → Thermochemical processes → Chemical processes → Biotechnological processes		



Λόγοι που επιβάλλουν τη Βιοοικονομία





(1)

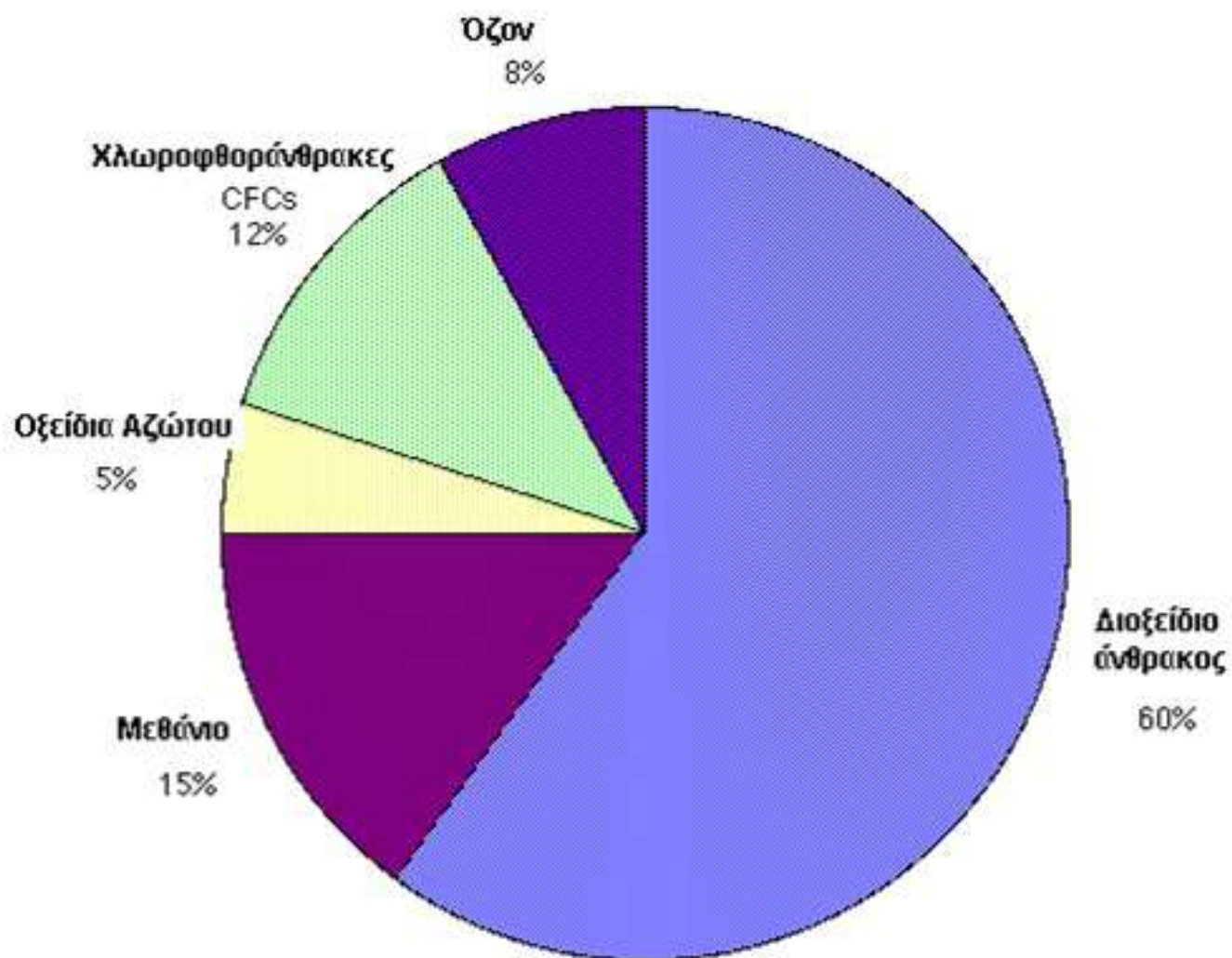
ΕΛΑΤΤΩΣΗ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Α) ΕΚΠΟΜΠΕΣ ΑΕΡΙΩΝ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΤΟ
ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΟΥ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ

(Σχετίζονται με την ενέργεια που
χρησιμοποιείται για την παραγωγή του
καυσίμου)



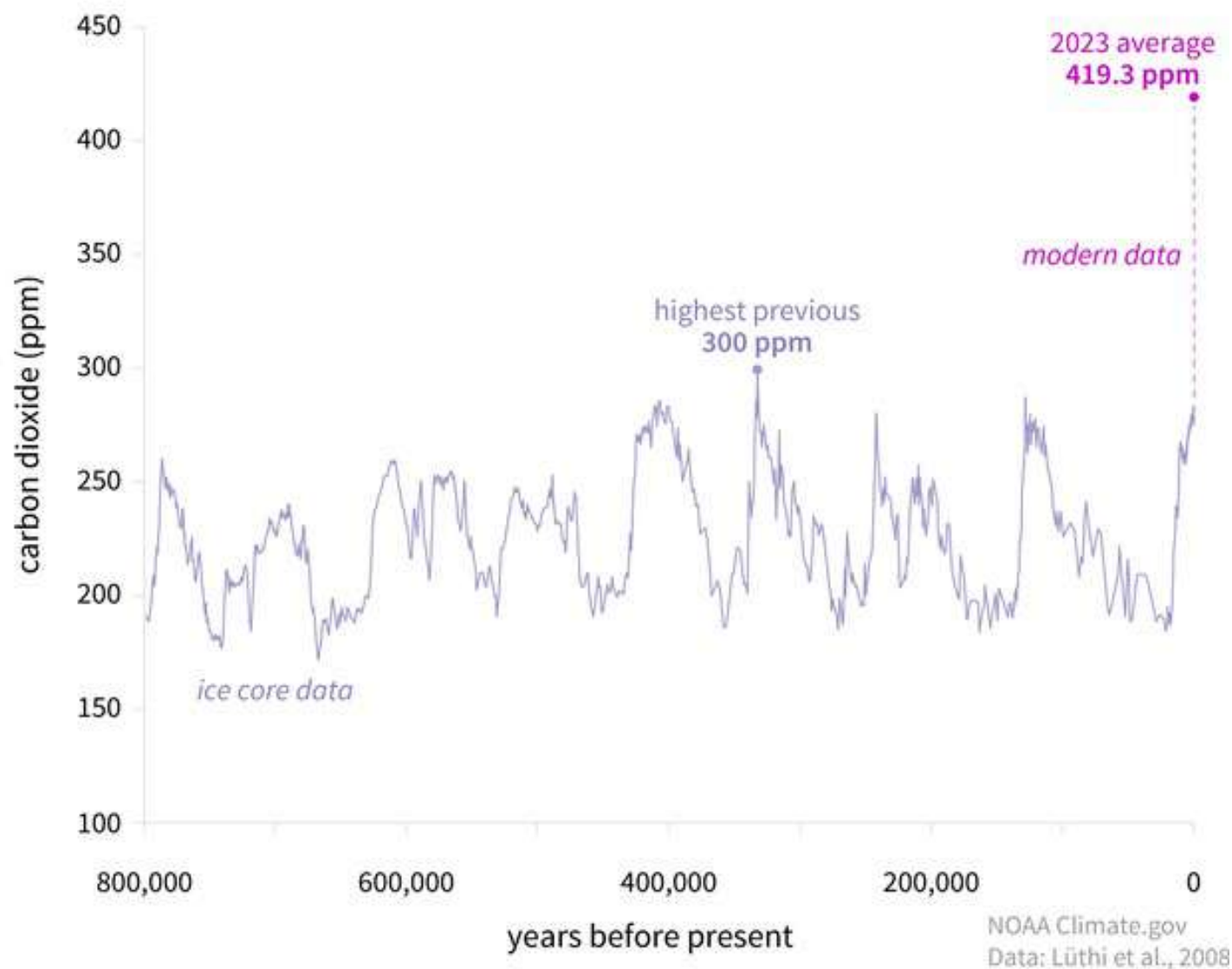
ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΩΝ ΡΥΠΩΝ ΣΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΟΥ





Το ατμοσφαιρικό CO₂ αυξάνει επικίνδυνα

CARBON DIOXIDE OVER 800,000 YEARS





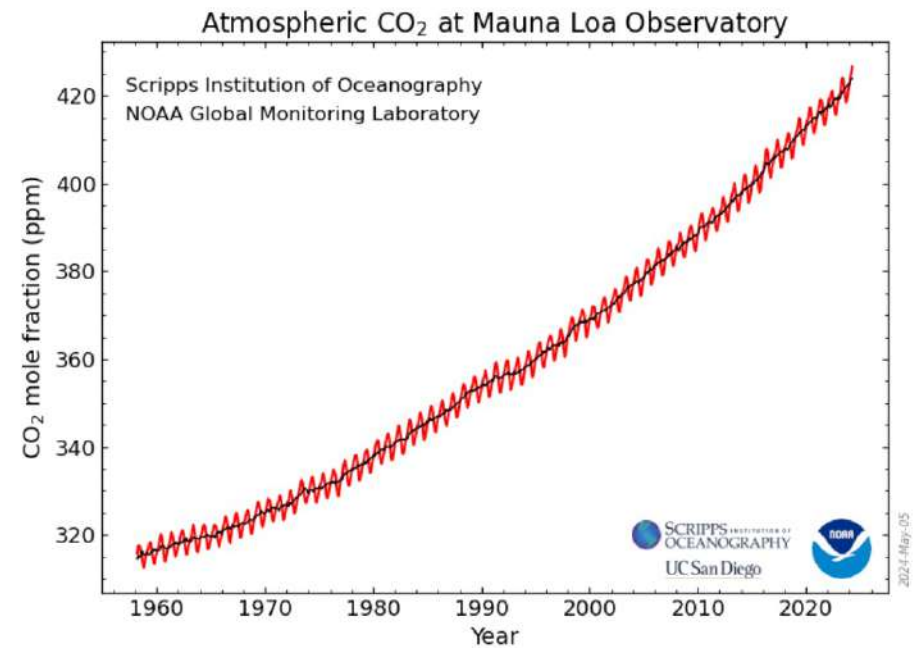
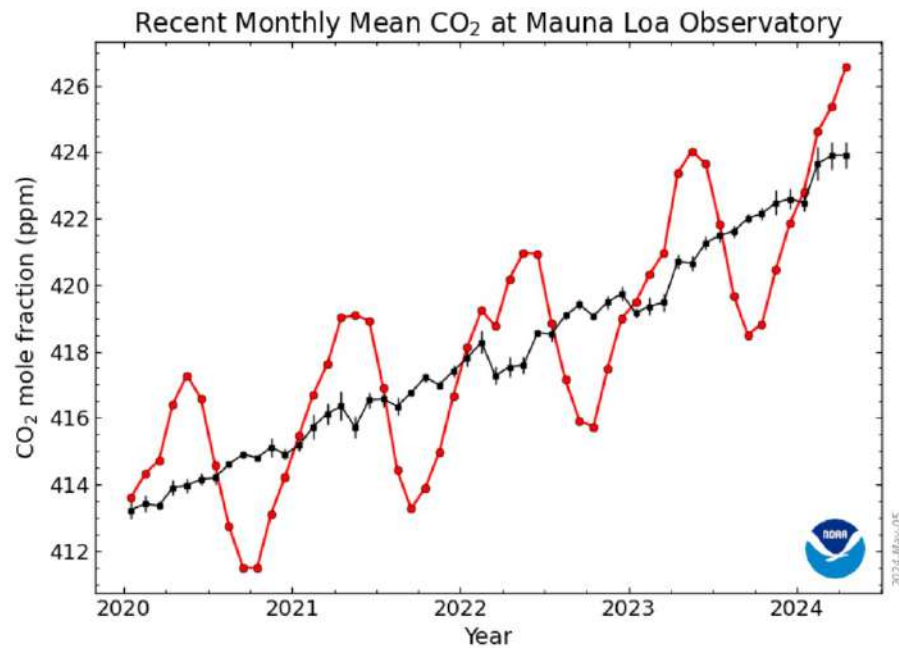
Το ατμοσφαιρικό CO₂ αυξάνει επικίνδυνα

Monthly Average Mauna Loa CO₂

April 2024: 426.57 ppm

April 2023: 423.37 ppm

Last updated: May 05, 2024



<https://gml.noaa.gov/ccgg/trends/>



Τα βιοκαύσιμα κατά την καύση τους απελευθερώνουν άνθρακα που έχει δεσμευτεί με τη διεργασία της φωτοσύνθεσης κατά την διάρκεια της ετήσιας ανάπτυξης της βιομάζας



Τα ορυκτά καύσιμα απελευθερώνουν κατά την καύση τους άνθρακα που έχει δεσμευτεί εκατομμύρια χρόνια πριν

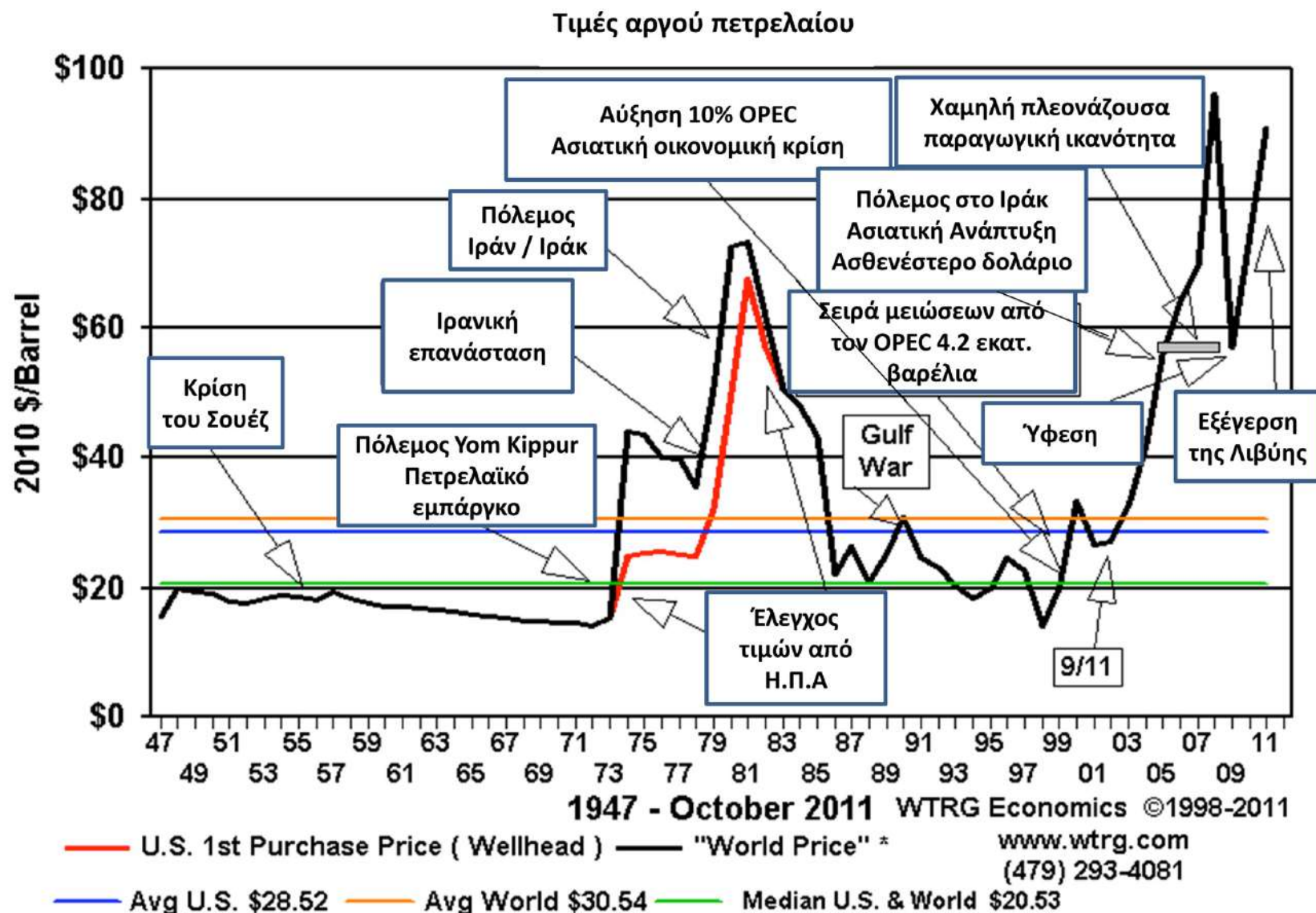


(2)

ΜΕΙΩΣΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗΣ ΕΞΑΡΤΗΣΗΣ



ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΤΙΜΗΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ





BIOMAZA



ΤΥΠΟΙ ΒΙΟΜΑΖΑΣ

- οι υπολειμματικές μορφές
- και η βιομάζα που παράγεται από ενεργειακές καλλιέργειες



ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

1^{ης} γενιάς Βιοκαύσιμα

- ✓ Παραδοσιακές καλλιέργειες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για την παραγωγή βιοκαυσίμων/ενέργειας (π.χ. τεύτλα, σιτάρι, ηλίανθος, ευκάλυπτος, αραβοσιτος).
- ✓ Φυτά που δεν καλλιεργούνται, προς το παρόν, εμπορικά και το τελικό προϊόν τους προορίζεται για την παραγωγή βιοκαυσίμων/ενέργειας (π.χ. σόργο, ελαιοκράμβη, κενάφι).



ΡΟΗ ΣΤΑΔΙΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗΣ ΑΠΟ ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ

Δημητριακά: 2,6-3Kg

Νερό: 2,7 λίτρα

Ηλεκτρική ενέργεια: 0.36 kW/h

Ατμός: 3,5 Kg

Νερό ψύξης: Ποικίλλει

Ποτάσα: 0,012 Kg

Θειικό οξύ: 0.01 Kg

Χλωριούχο ασβέστιο: 0,001 Kg

α-Αμυλάση

Αμυλογλυκοζιδάση

ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ



Καθαρισμός, Άλεση

Ρευστοποίηση

Σακχαροποίηση

Ζύμωση

Φυγοκέντρωση

Απόσταξη

Μοριακή αφυδάτωση

Στερεά απόσταξης

Υγρά απόσταξης

ΒΙΟΑΙΘΑΝΟΛΗ

Ξήρανση

Συμπύκνωση

Ζωοτροφή (DGS)

Ζωοτροφή (σιρόπι)





Indianapolis Grand Prix

Από το 2007
χρησιμοποιείται 98%
αιθανόλη (Lifeline Foods)
και 2% βενζίνη ενώ το
2010 στο Grand Prix του
Sao Paolo (Brasil)
χρησιμοποιήθηκε 100%
αιθανόλη





ΣΑΚΧΑΡΟΚΑΛΑΜΟ

1 στρέμμα σακχαροκάλαμου αποδίδει 600-900 λίτρα αιθανόλη, υπερδιπλάσια απο αυτή που παίρνουμε από το καλαμπόκι.

ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΑΠΟΔΟΣΗ **8**

Η παραγωγή και η καύση αιθανόλης από ζαχαροκάλαμο προκαλούν 55-90% λιγότερες εκπομπές CO₂ από ό,τι η βενζίνη.



Photograph by Robert Clark

Blackened by soot, a cane cutter in São Paulo state aims to harvest ten tons a day—earning \$250 a week—in a field burned to ease his work. Mechanical harvesters are replacing muscle and fire in Brazil's sugar belt, likely to double in area within ten years as ethanol demand rises.





Photograph by Robert Clark

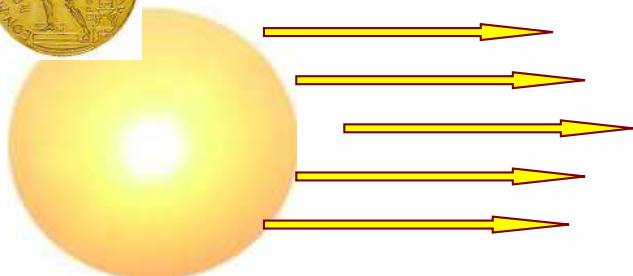
Lighting up the night near Pradópolis, Brazil, Usina São Martinho is one of the largest ethanol refineries in the world, producing 300 million liters annually—without relying on fossil fuel or electricity from the grid. For heat and power, the plant burns sugarcane waste.



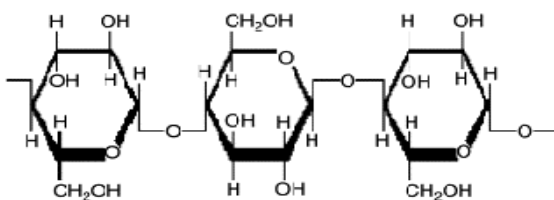
ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ

2^{ης} γενιάς Βιοκαύσιμα

- ✓ Αγροτικά υπολείμματα (άχυρα, κλαδέματα κ.ά.).
- ✓ Δασικά υπολείμματα (υλοτομία, καθαρισμοί).
- ✓ Υπολείμματα γεωργικών/δασικών βιομηχανιών (πυρηνόξυλο, πριονίδια, απόβλητα τυροκομείου κ.ά.).
- ✓ Απόβλητα κτηνοτροφίας (κοπριές, απόβλητα σφαγείων).
- ✓ Αστικά απόβλητα.
- ✓ Οργανικό κλάσμα απορριμμάτων.

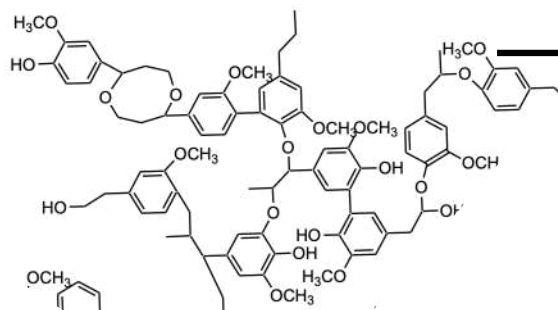


10^{11} tη/έτος



Κυτταρίνη (38-50%)

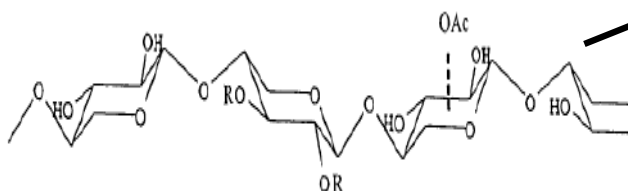
Ομοπολυμερή της β-γλυκόζης μεγάλου μοριακού βάρους με ημικρυσταλλική ή κρυσταλλική δομή



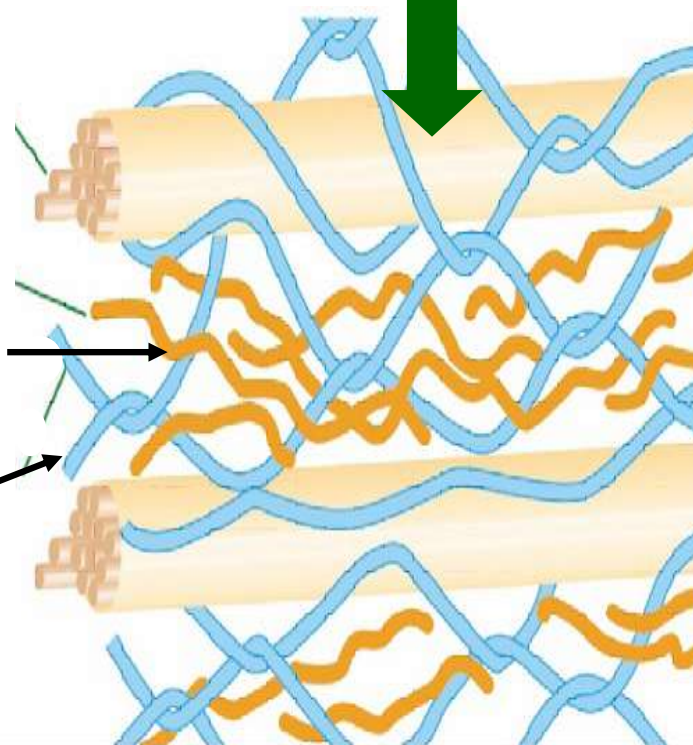
Λιγνίνη (15-25%)

Πολυσύνθετο δίκτυο αρωματικών ενώσεων

Ημικυτταρίνη (23-32%)

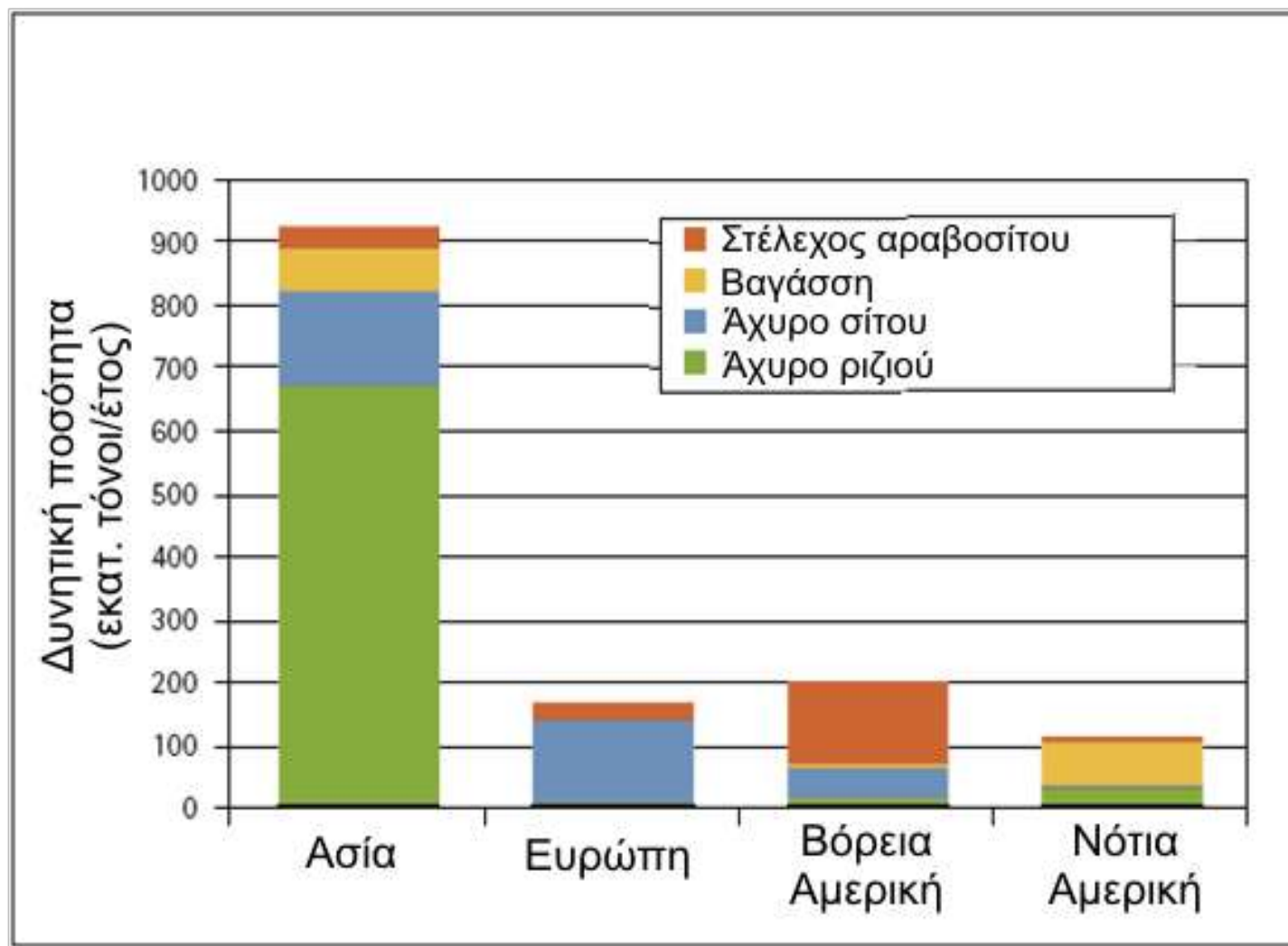


Ετεροπολυμερή μικρής αλυσίδας πεντοζών (ξυλόζη, αραβινόζη) ή εξοζών (μαννόζη) με πλευρικές διακλαδώσεις (αραβινόζη, γαλακτόζη, γλυκόζη, γλυκουρονικό οξύ). Μη κρυσταλλική μορφή



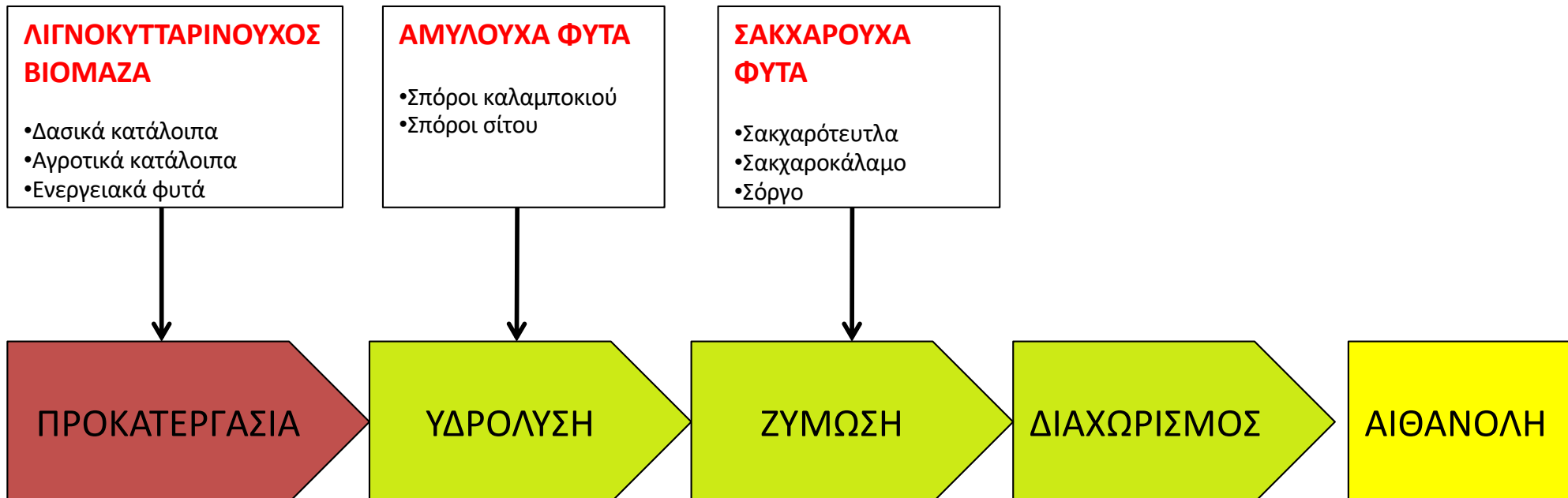


ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΛΙΓΝΙΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΩΝ ΥΠΟΛΕΙΜΑΤΩΝ



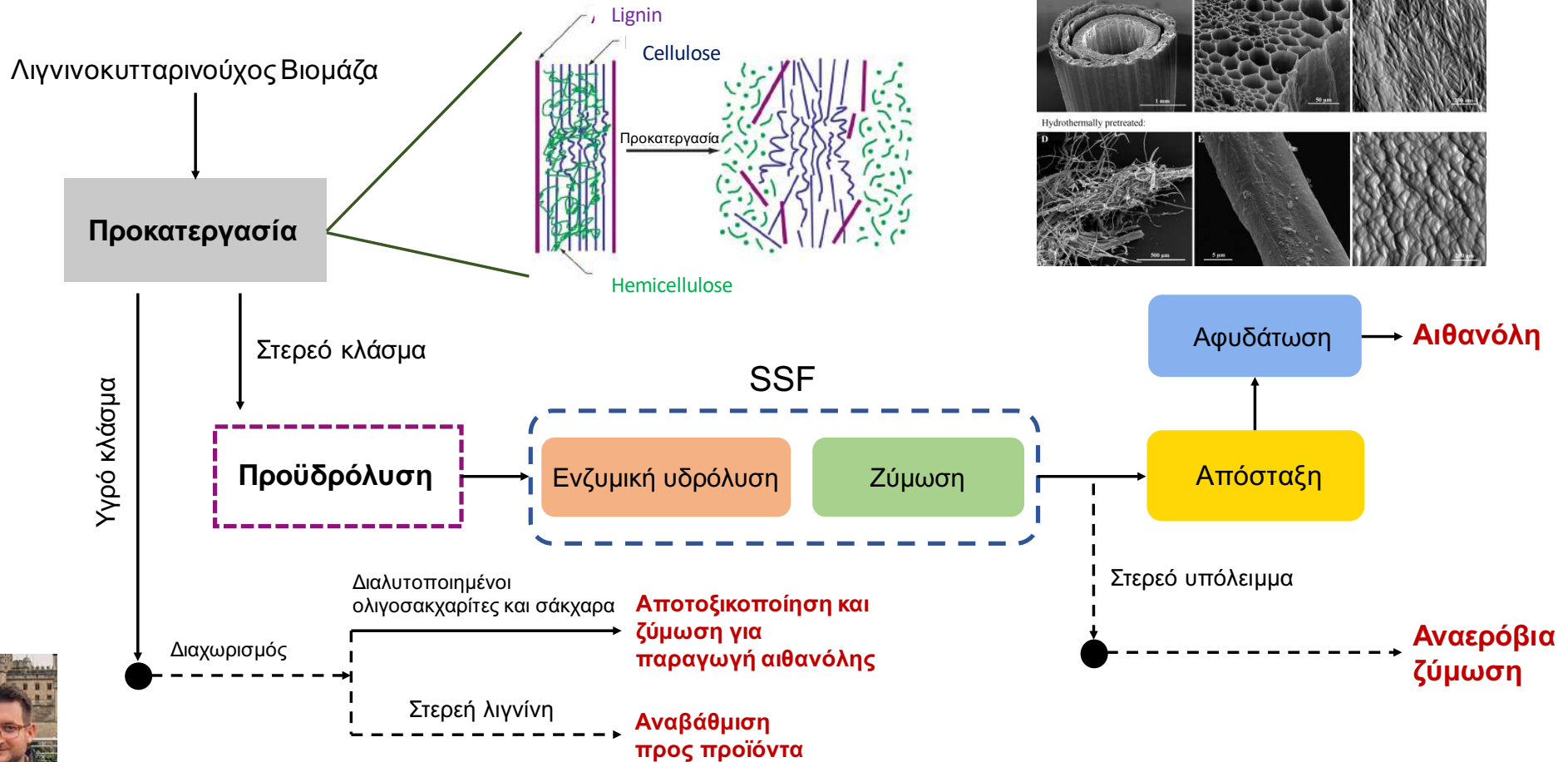


ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ





Bioethanol production process from lignocellulosic biomass





Liquefaction/saccharification and fermentation of pretreatment biomass

Liquefaction process



Simultaneous Saccharification
& Fermentation



Hydrothermal with dilute CH_3COOH

- EtOH production >48 h: **41.5 g/L**

Steam explosion (with or without H_2SO_4)

- EtOH production >48 h: **70-76 g/L**

Organosolv with $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$

- EtOH production >48 h: **60-65 g/L**

Wet oxidation with $\text{CH}_3\text{COCH}_3/\text{H}_2\text{O}$ mixture

- EtOH production >48 h: **71-76 g/L**

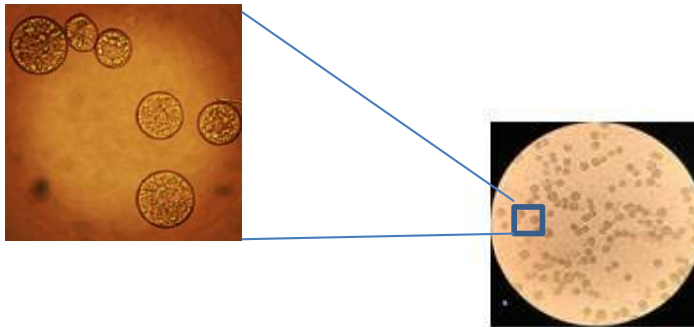
- Katsimpouras et al. (2016). Acetic acid-catalyzed hydrothermal pretreatment of corn stover for the production of bioethanol at high-solids content. *Bioprocess Biosys Eng*, 39(9), pp. 1415-1423.
- Katsimpouras et al. (2017). Sequential high gravity ethanol fermentation and anaerobic digestion of steam explosion and organosolv pretreated corn stover. *Biores Technol*, 244, pp. 1129-1136.
- Katsimpouras et al. (2018). Acetone/water oxidation of corn stover for the production of bioethanol and prebiotic oligosaccharides. *Biores Technol.*, 270, pp. 208-215.
- Katsimpouras et al. (2017). Production of high concentrated cellulosic ethanol by acetone/water oxidized pretreated beech wood. *Biotechnol Biofuels*, 10:54



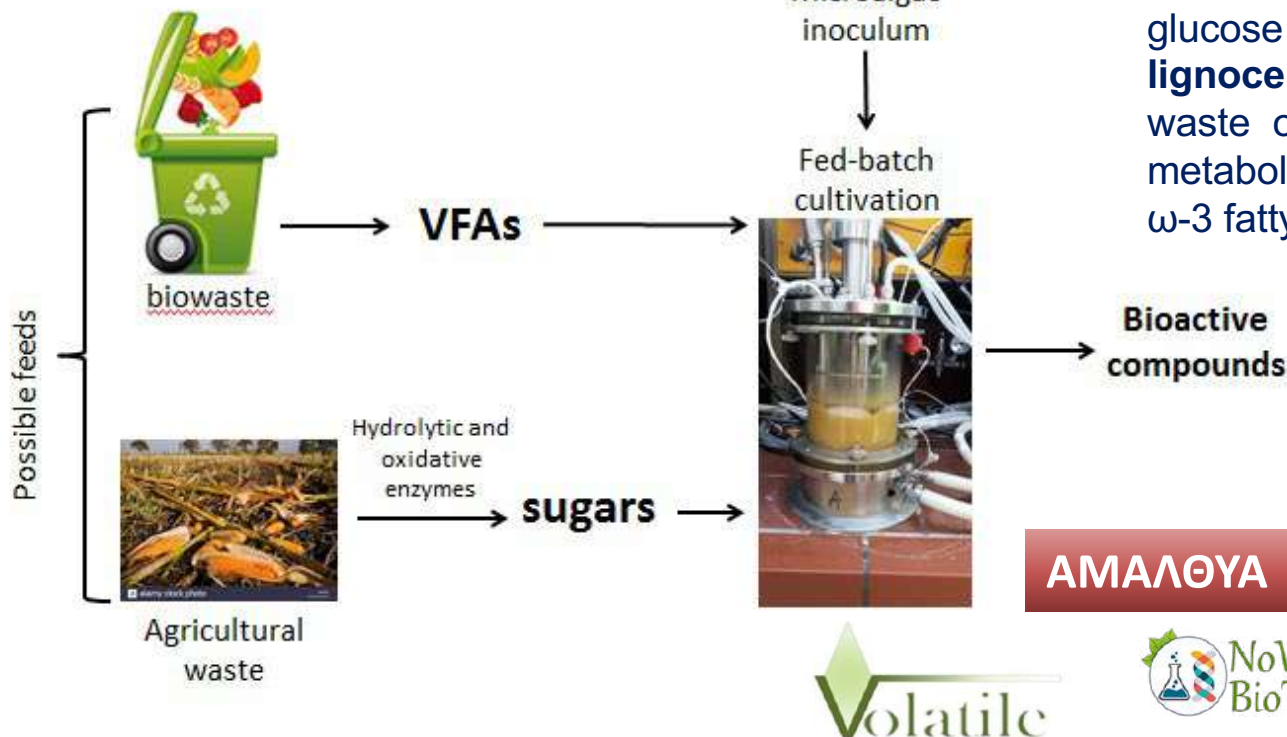


Utilization of biowaste and lignocellulosic biomass for the production of ω 3 DHA from microalgae

Cryptocodinium cohnii ATCC 30772

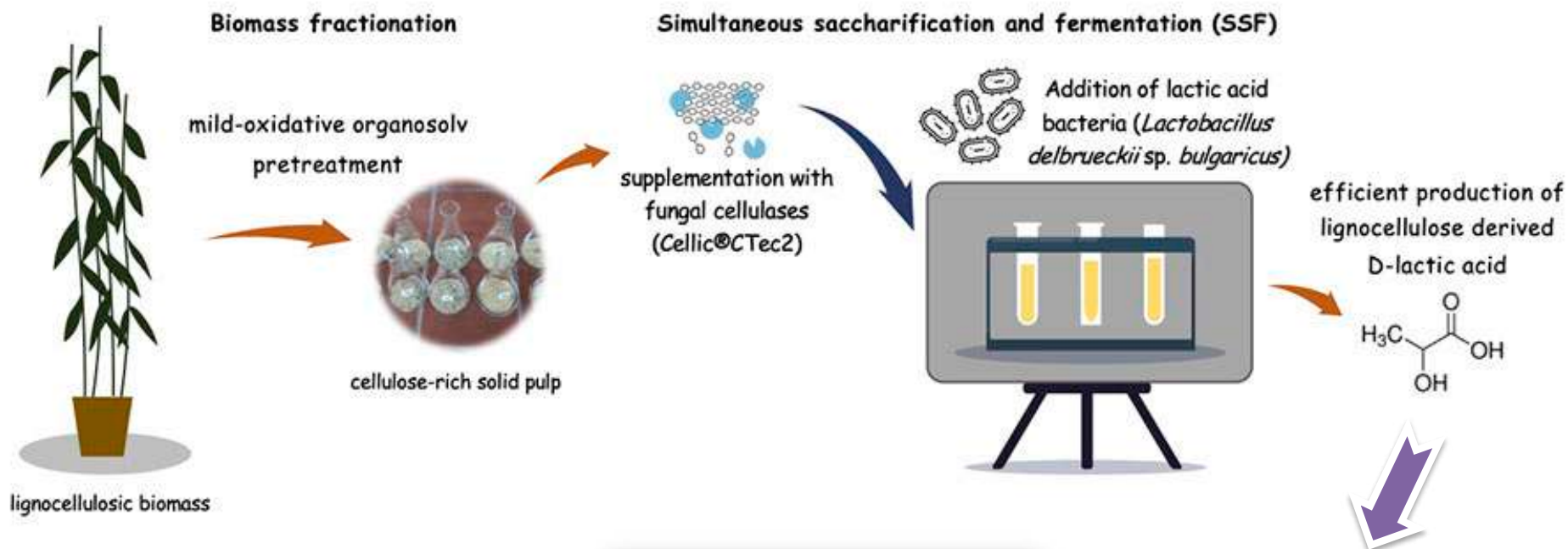


- The **high scale production of microalgae** is a developing research topic of biotechnology due to the high variety of useful metabolites with industrial application potentials. The main disadvantage of the process, however, is the low biomass productivity.
- We are investigating the ability of microalgae to grow on **volatile fatty acids (VFA)**, derived from the dark fermentation of biowaste, or on glucose from the enzymatic hydrolysis of **lignocellulosic biomass**, produced as a waste of the agricultural industry. The algal metabolites examined in our group are mainly ω -3 fatty acids.

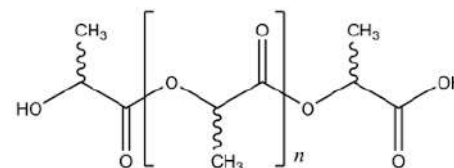




Utilization of lignocellulosic biomass to produce lactic acid

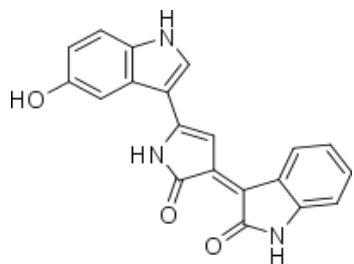


Poly(lactic acid), also known as polylactide (PLA), is a thermoplastic polyester formally obtained by condensation of lactic acid with loss of water



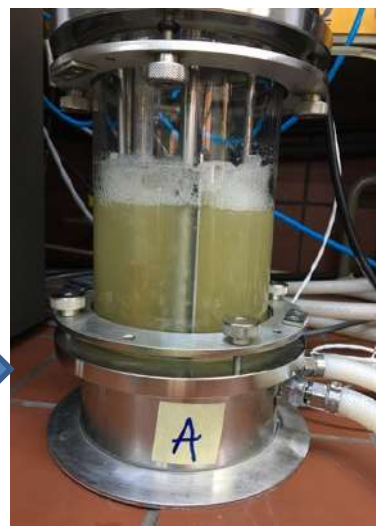
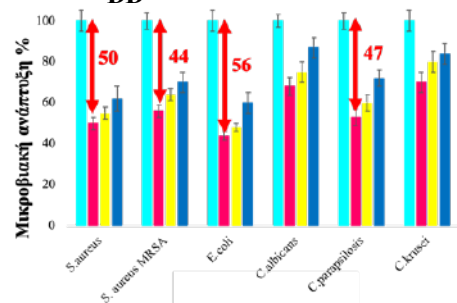


Production of violacein from *Janthinobacterium lividum* from glycerol– dyeing textiles

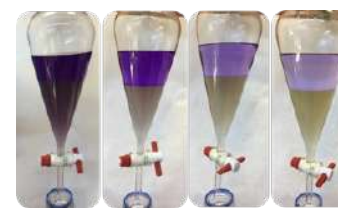


█ No treated
█ SFD
█ DAFS
█ DD

Liquid cultures with different carbon source.

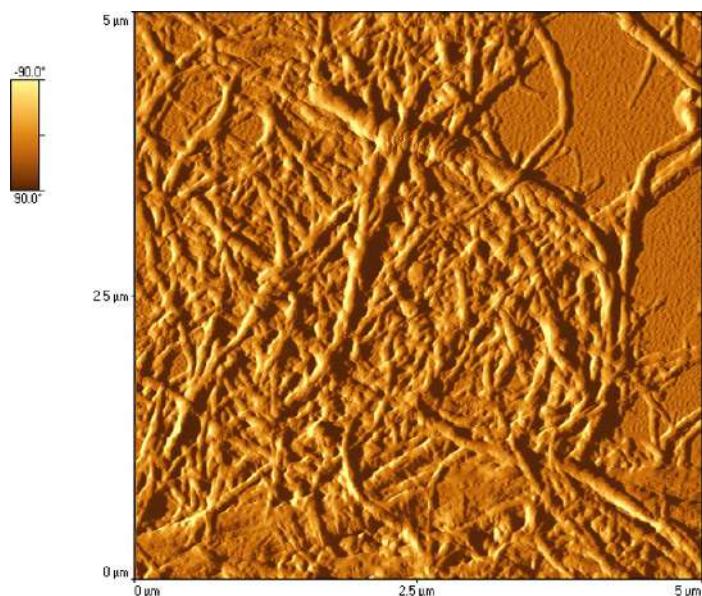


Scale up violacein production in bioreactors. Five-fold increase of pigment yield with the addition of glycerol.



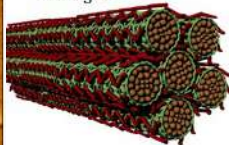


Production of nanoscale cellulose through a four-step enzymatic process



Natural biomass

Untreated beechwood biomass 39.4 wt% cellulose, 20.3 wt% hemicellulose, 19.9 wt% lignin



AA9 LPMO pretreatment

AA9 LPMO oxidative pretreatment creates nicks in cellulose and hemicellulose



1

Treatment with Hemicellulases

Hemicellulose removal using:

- Cellic Htec 2 or
- Xylanases GH10/GH11, β -xylosidase GH43 and acetyl-xylan esteraseCE6



2

Treatment with Cellulases

Removal of cellulose amorphous areas using:

- Celluclast or
- Endoglucanase GH7 or
- Endoglucanases GH7 and GH5



3

AA9 LPMO post-treatment

Post-treatment with AA9 LPMO results in introduction of -COOH groups and leads to defibrillation



4

Choroizian K., Karnaouri A., Karantonis A., Souli M., Topakas* E. (2022). Characterization of a dual cellulolytic/xylanolytic AA9 lytic polysaccharide monooxygenase from *Thermothelomyces thermophilus* and its utilization towards nanocellulose production in a multi-step bioprocess. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 10, 8919-8929; doi: [10.1021/acssuschemeng.2c02255](https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.2c02255).

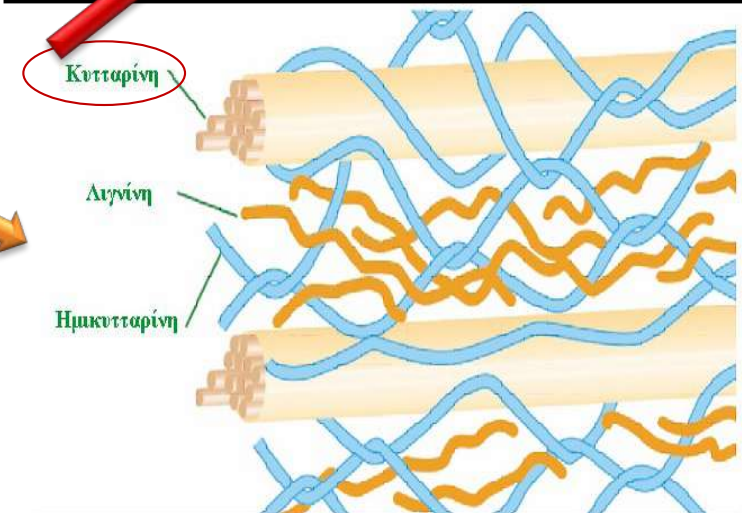
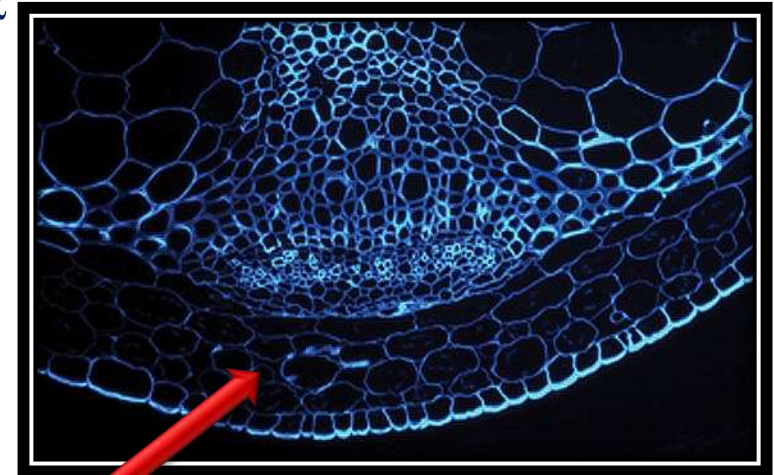
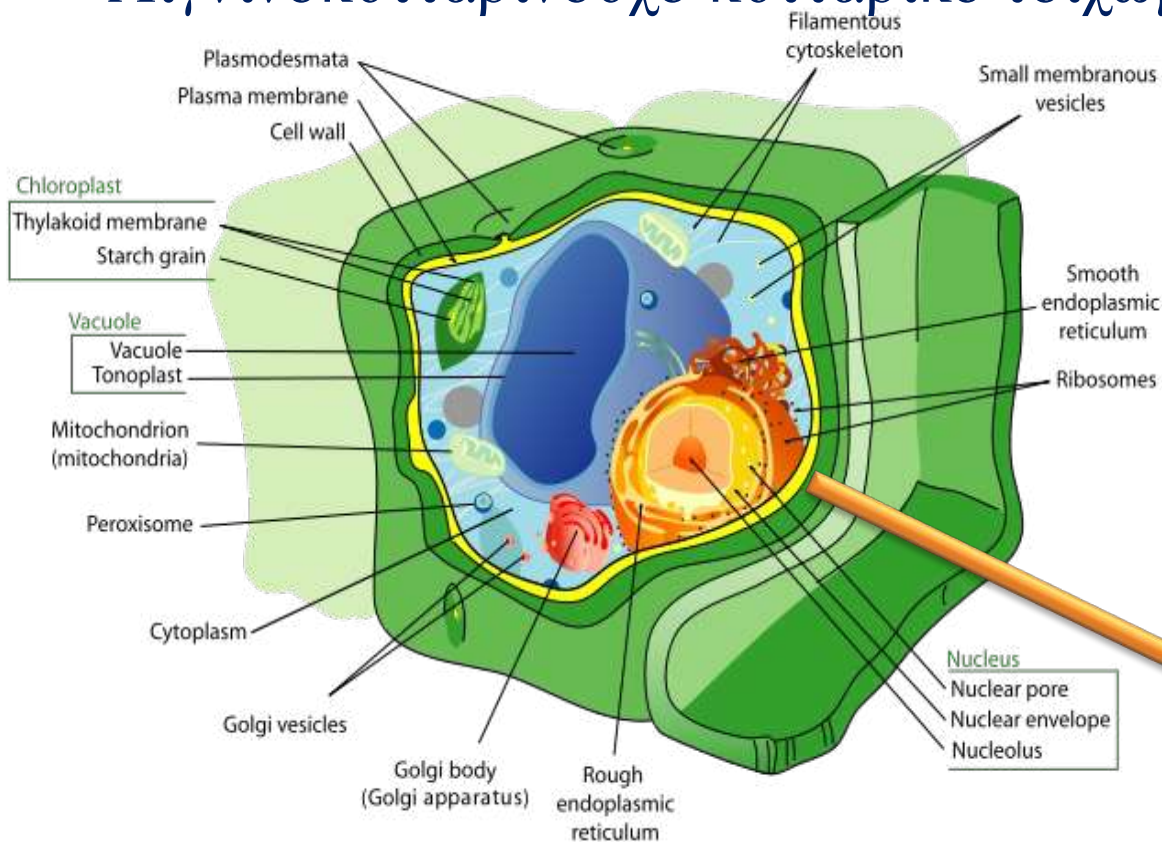




Φυτικά Κύτταρα

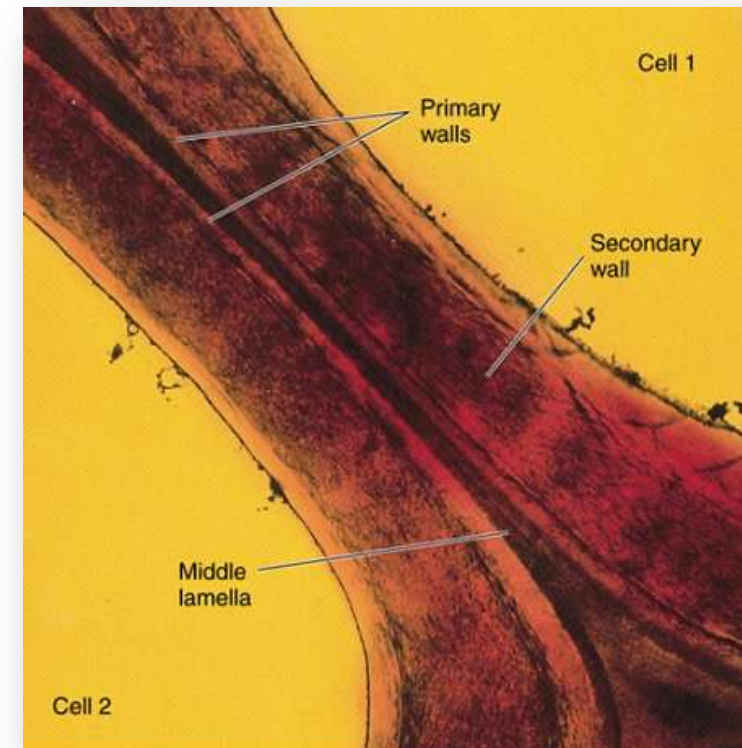
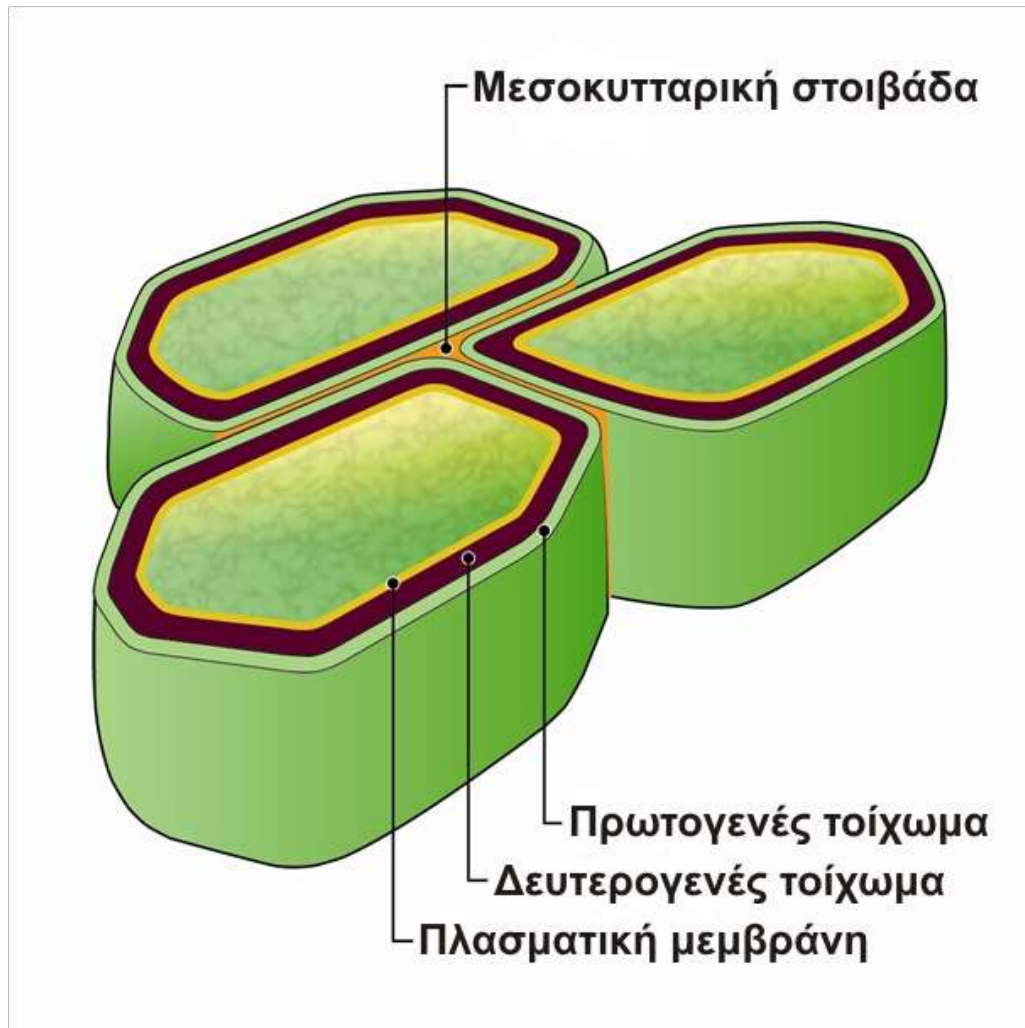
Κύρια διαφορά από τα ζωικά:

- Χλωροπλάστες
- Κεντρικό Χυμοτόπιο το οποίο αποτελεί το $>30\%$ του κυτταρικού όγκου
- Λιγνινοκυτταρινούχο κυτταρικό τοίχωμα



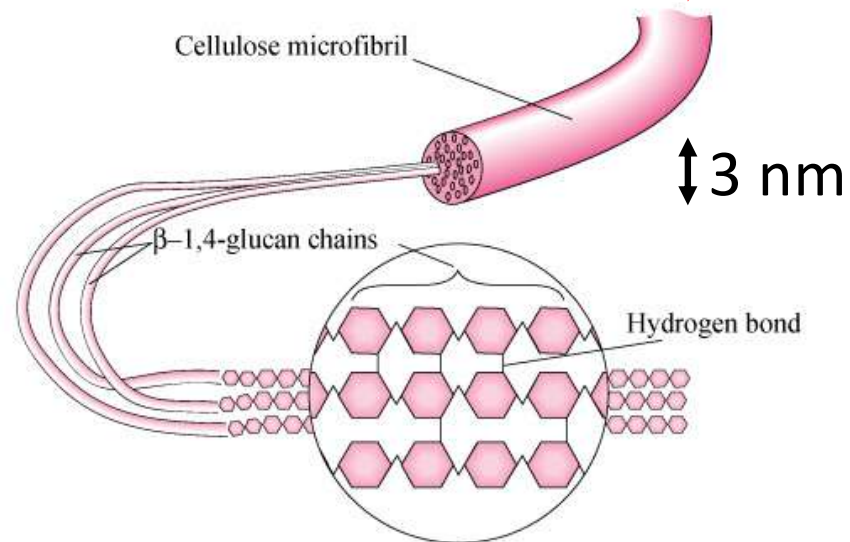
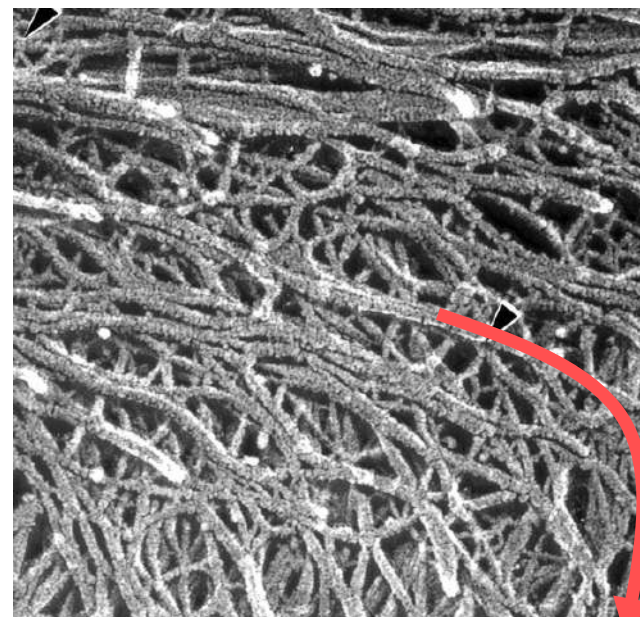
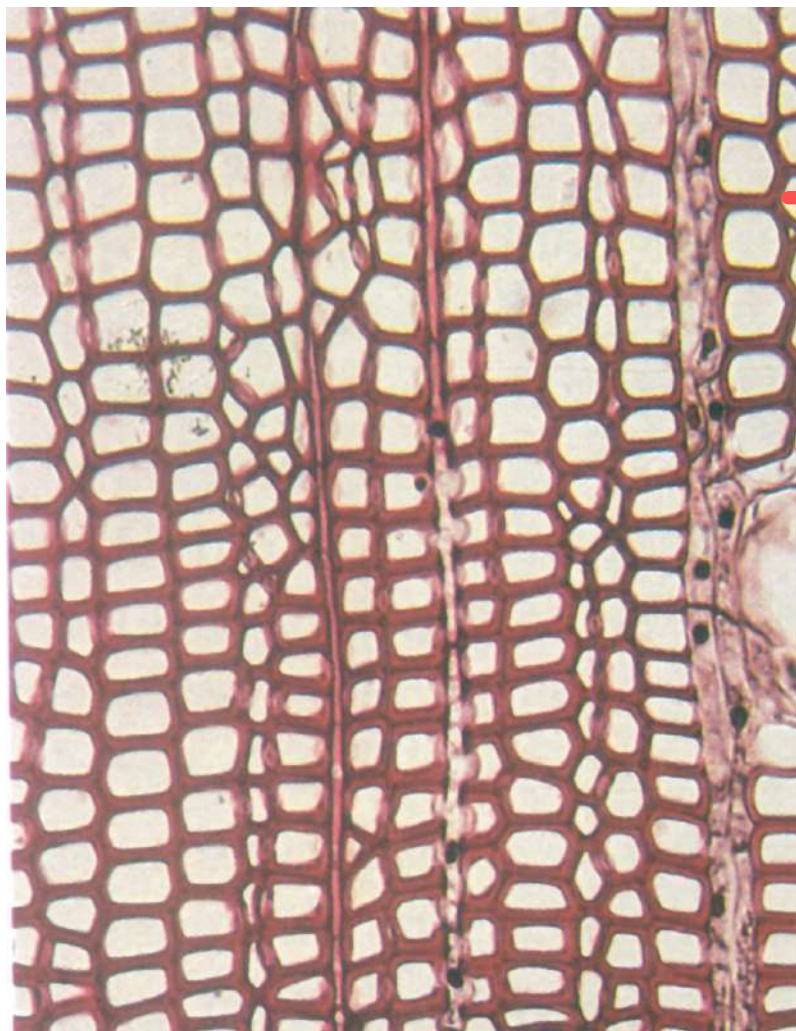


Φυτά: δύο είδη κυτταρικών τοιχωμάτων: Πρωτογενές κυτταρικό τοίχωμα που αποτελείται από *κυτταρίνη* και *ημικυτταρίνη*. Το δευτερογενές αποτελείται επιπλέον και από *λιγνίνη*. Το μεσοδιάστημα δύο γειτονικών κυττάρων περιέχει *πηκτίνη*.





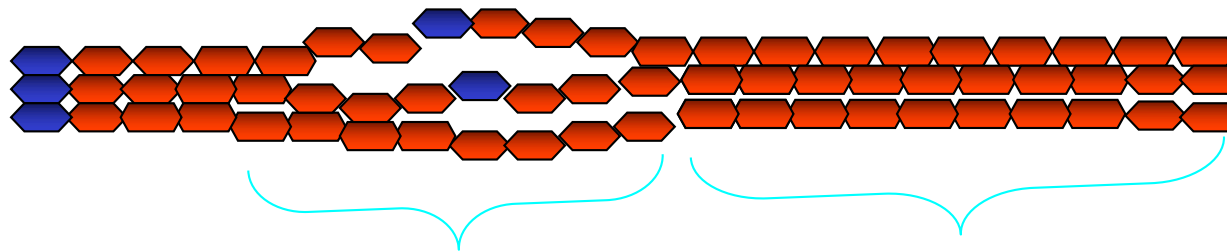
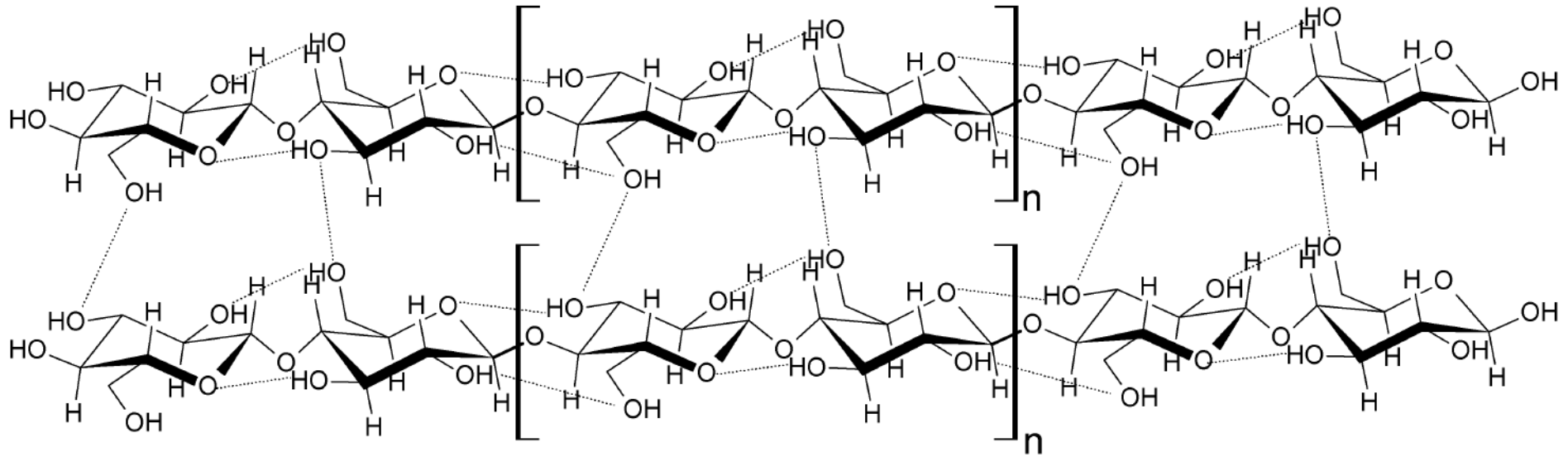
Τα φυτά αποτελούνται κυρίως από σάκχαρα



Πολυμερισμένη γλυκόζη



Κυτταρίνη

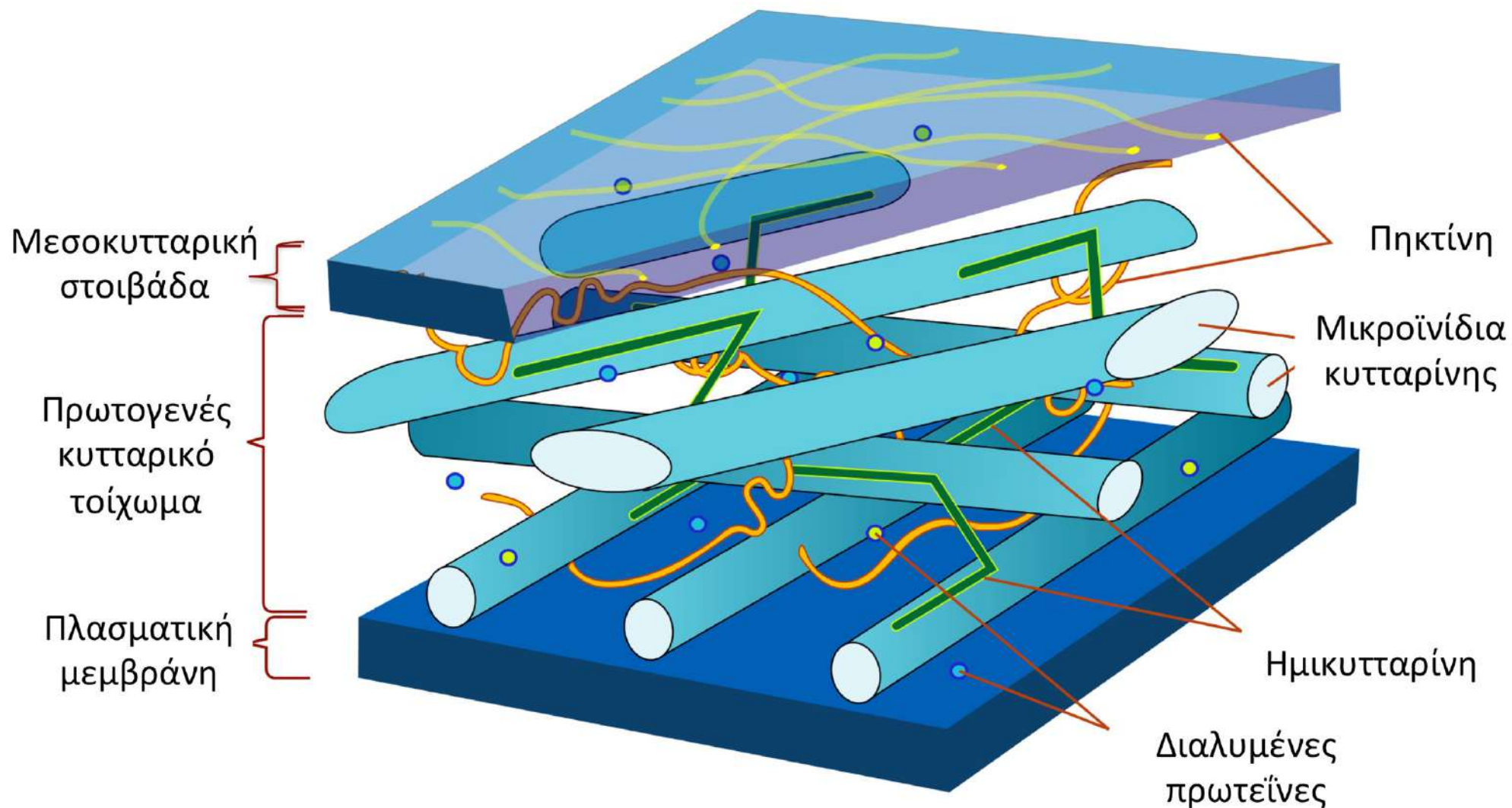


Άμορφη περιοχή

Κρυσταλλική περιοχή

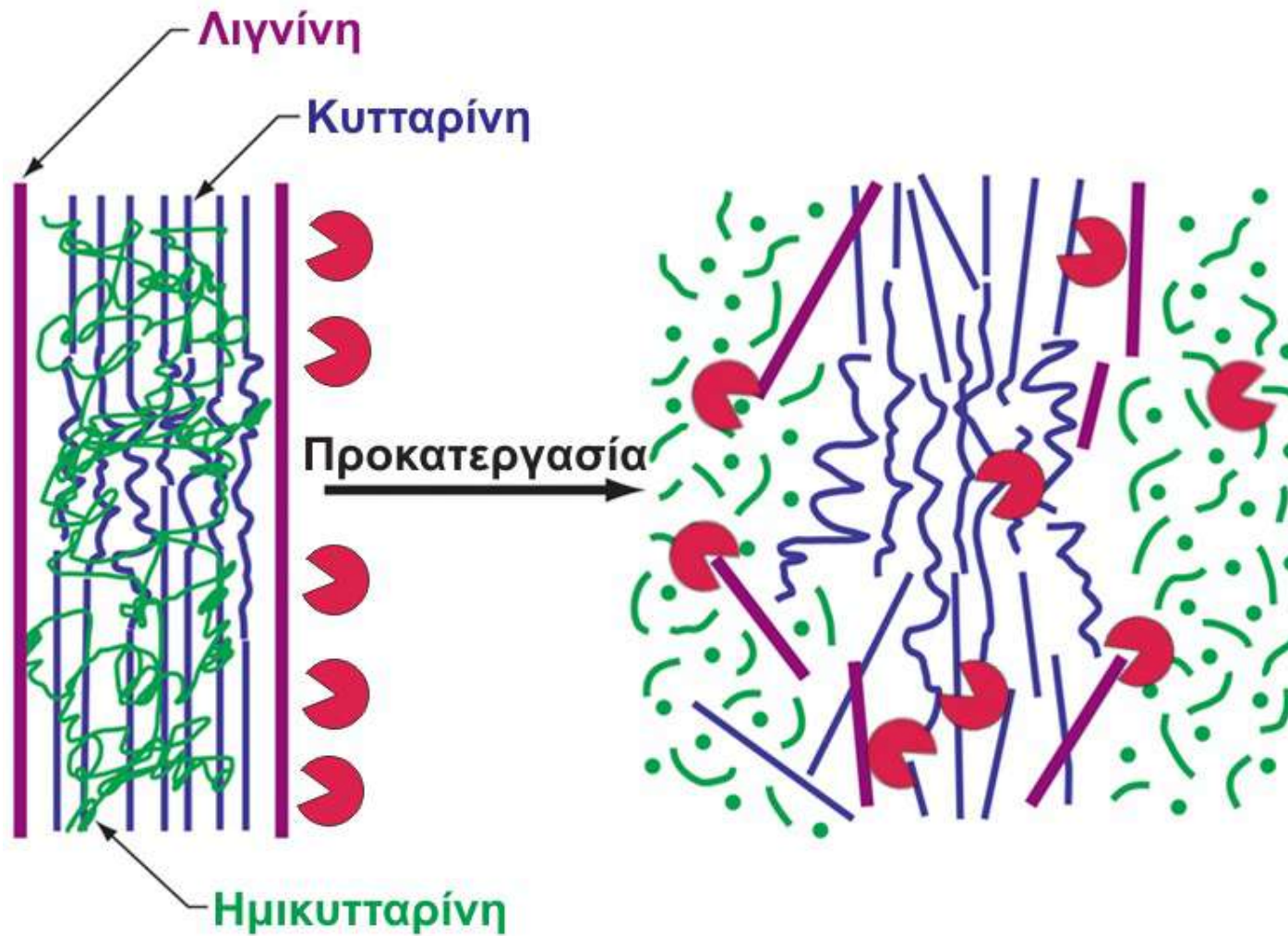


Μοντέλο πρωτογενούς κυτταρικού τοιχώματος





ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΒΙΟΜΑΖΑΣ





Inbicon

Υδροθερμική Επεξεργασία



- Η βιομάζα αναμειγνύεται συνεχώς με νερό και θερμαίνεται στους 180-200 °C για 5-15 min με σκοπό την καταστροφή της δομής της λιγνίνης ώστε να διευκολυνθεί η πρόσβαση της κυτταρίνης από τα ένζυμα.
- Απομάκρυνση μέρους των ημικυτταρινών και παρεμποδιστών που σχηματίζονται



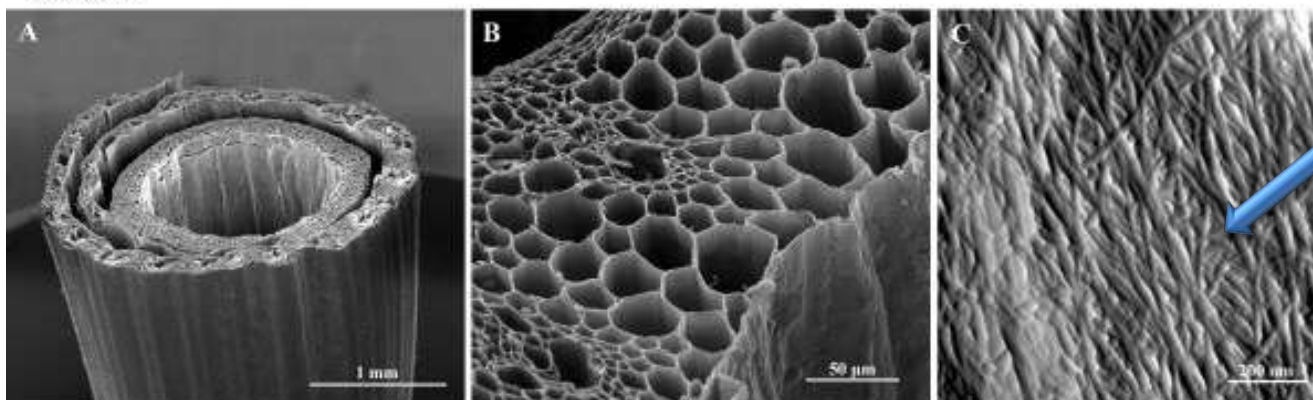
Επεξεργασία έκρηξης ατμού (LTU)





Αποτελέσματα υδροθερμικής προκατεργασίας

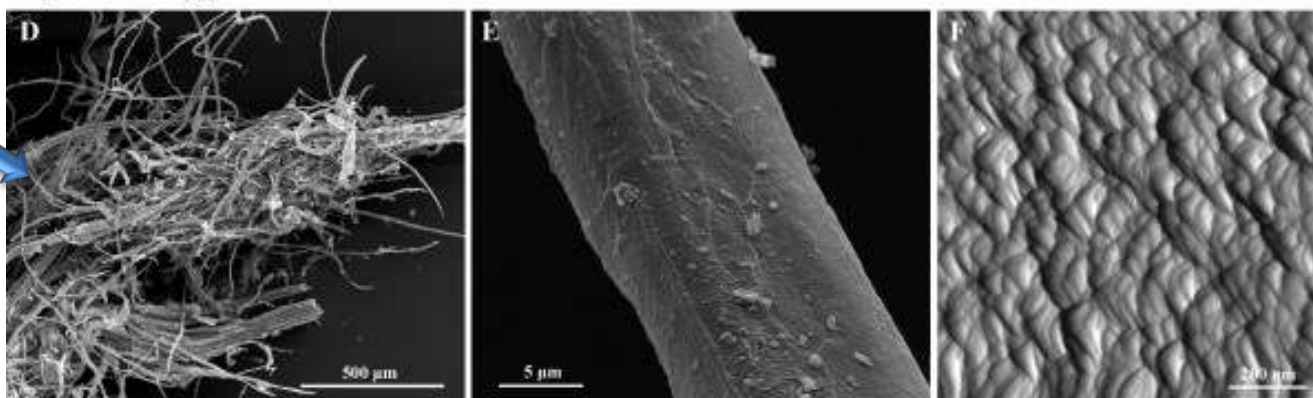
Untreated:



Μικροϊνίδια
κυτταρίνης

Αποδιάταξη
μικροϊνιδίων

Hydrothermally pretreated:

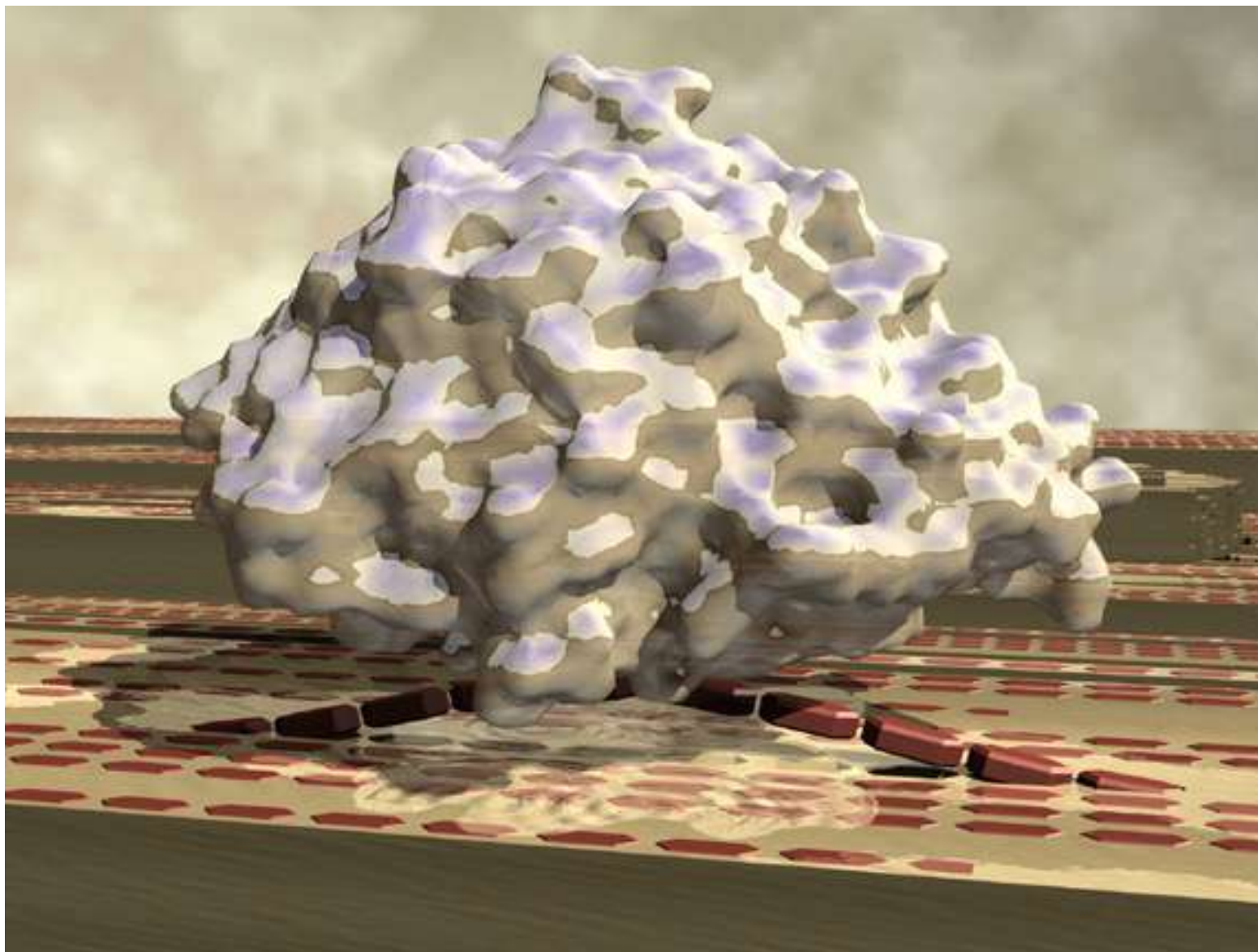


Προκατεργασία άχυρου σίτου

Kristensen *et al. Biotechnology for Biofuels* 2008 1:5 doi:10.1186/1754-6834-1-5

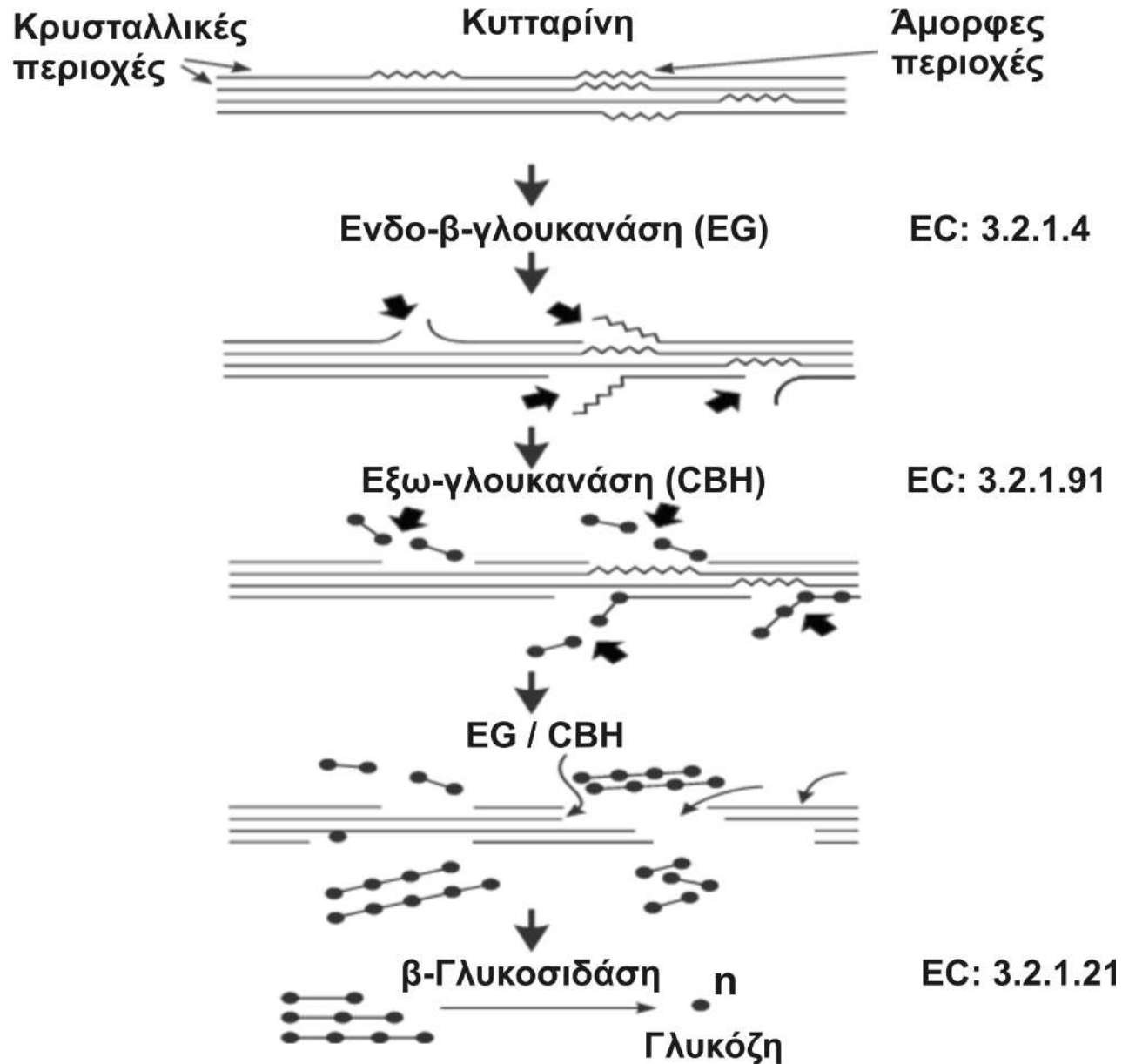


Η κυτταρίνη είναι ανθεκτική στην υδρόλυση



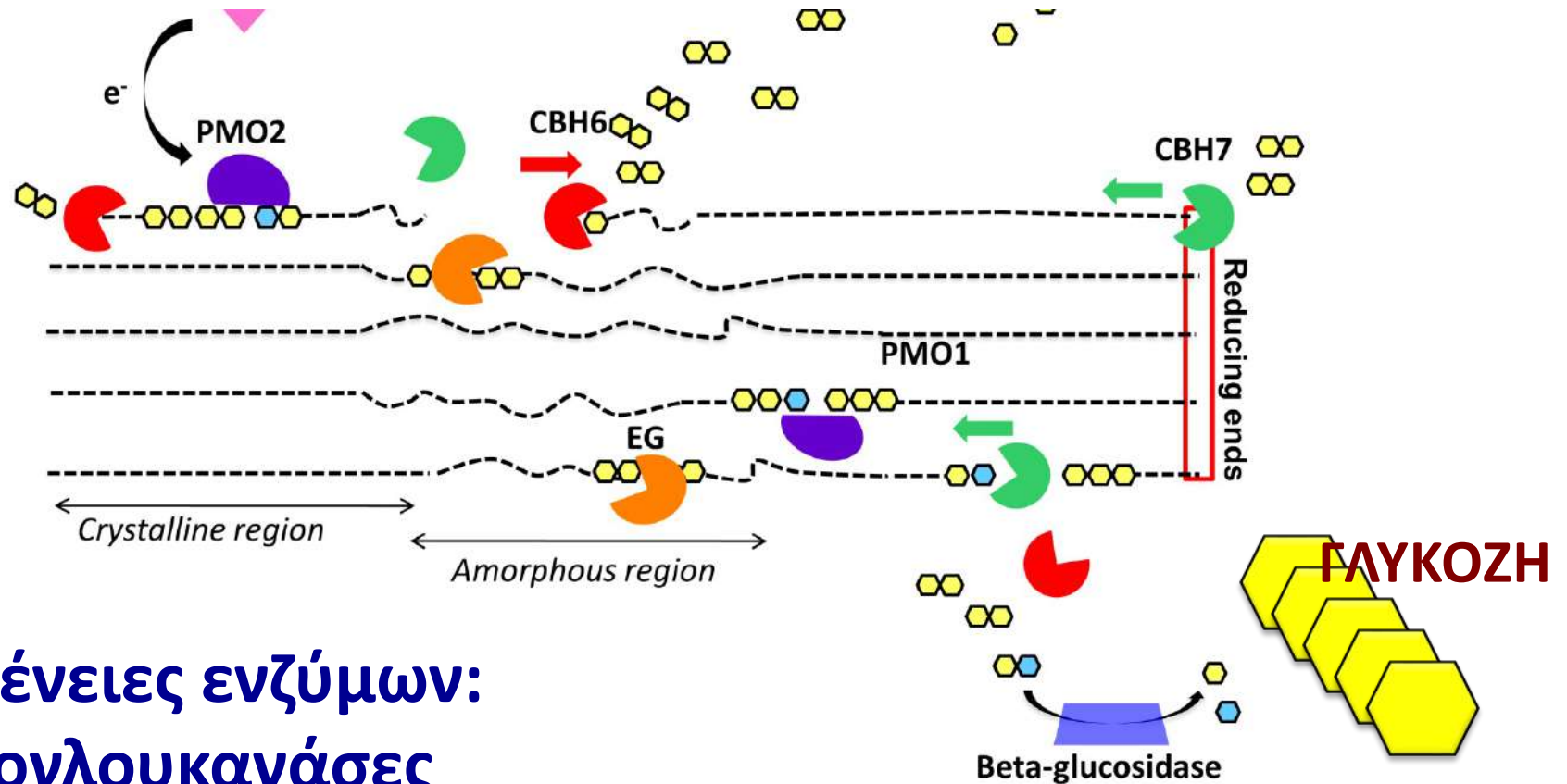


Ενζυμική Υδρόλυση Κυτταρίνης (ΣΥΝΕΡΓΗΤΙΣΜΟΣ)





Ενζυμική Υδρόλυση Κυτταρίνης (ΣΥΝΕΡΓΕΙΑ)



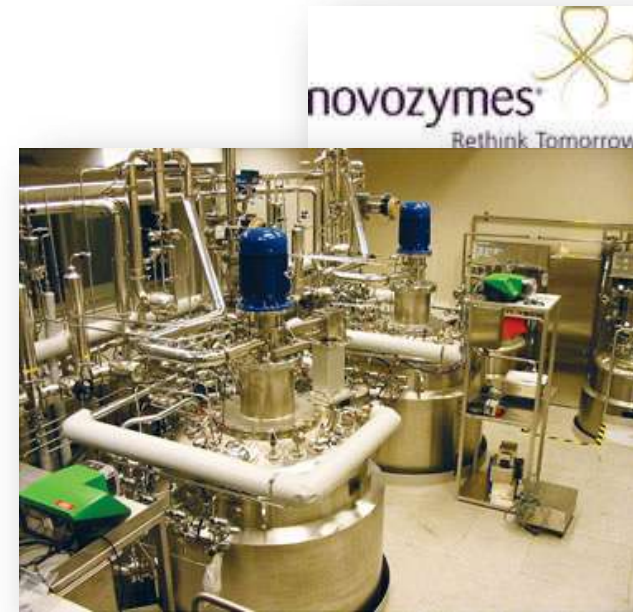
Οικογένειες ενζύμων:

- Ενδογλουκανάσες
- Κελλοβιοϋδρολάσες
- β-γλυκοζιδάσες
- **Lytic Polysaccharides MonoOxygenases (LPMOs)**



Σημασία της ανακάλυψης νέων ενζύμων στη βιομηχανία

- Celluclast
(Μίγμα κυτταρινασών)
- Cellic Ctec (2009)
- Cellic CTec2 (2010)
- Cellic CTec3 (2012)
(Μίγμα κυτταρινασών + **LPMOs** +
Ημικυτταρινάσες)
- Novozym 188 (β-γλυκοζιδάση)



Inbicon: η χρήση των LPMOs μείωσε το κόστος των ενζύμων **κατά 35%** με μελλοντικό στόχο τη μείωση κατά 65% μέσω βελτιστοποίησης της διεργασίας



Εφαρμογές κυτταρινασών (i)

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

- Εξαγωγή και διαύγαση χυμών φρούτων και λαχανικών (ενζυμικό κοκτέϊλ από κυτταρινάσες, ξυλανάσες, πηκτινάσες)
- Εξαγωγή ελαιόλαδου





Εφαρμογές κυτταρινασών (ii)

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΥΦΑΝΤΟΥΡΓΙΑ

- Bio-stoning (denim fabrics)
- Bio-polishing (βαμβακερά και non-denim fabrics)
- Συστατικό απορρυπαντικών





Ιστορική αναδρομή της δράσης των ΚΥΤΤΑΡΙΝΑΣΩΝ

- Πρώτη αναφορά στη βιβλιογραφία του όρου κυτταρινάσες (cellulase) που περιγράφει την ενζυμική δράση της αποικοδόμησης της κυτταρίνης έγινε από τον Pringsheim (1912).
- Στο 2^ο Παγκόσμιο πόλεμο στις ζούγκλες του Νότιου Ειρηνικού (Νέα Γουϊνέα) απομονώθηκε ο μύκητας *Trichoderma reesei* ο οποίος κατάστρεφε τα ρούχα των στρατιωτών και απετέλεσε τον κύριο παραγωγό κυτταρινασών



Ταξινόμηση κυτταρινασών

- Περισσότερες από 120 οικογένειες γλυκοζυλ-υδρολασών έχουν περιγραφεί

<http://www.cazy.org/>

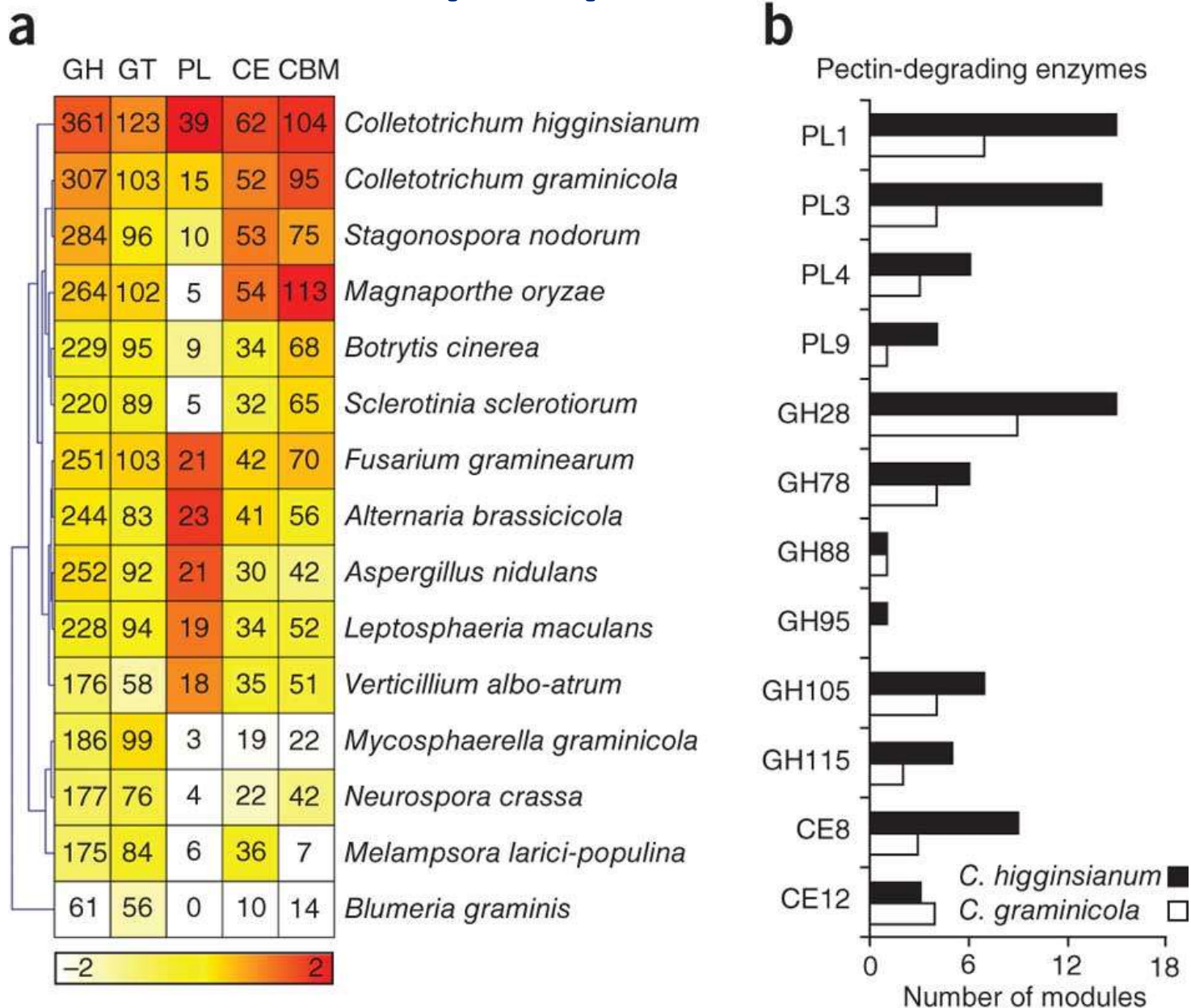
Οι κυτταρινάσες είναι μέλη των οικογενειών:

1,3,5,6,7,8,9,12,30,44,45,48,51,61,74 και 124





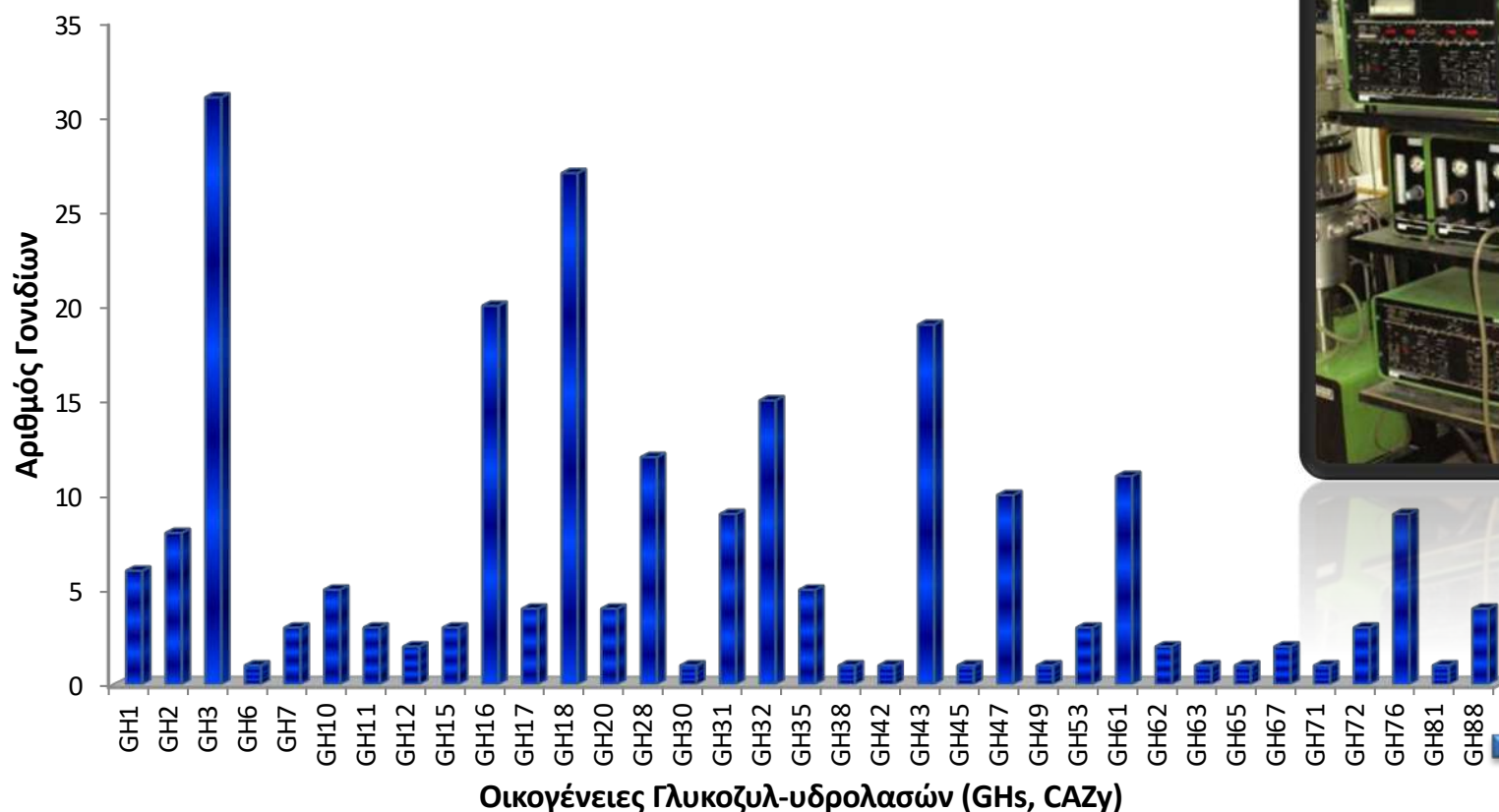
Ύπαρξη CAZγ ενζύμων στα γονιδιώματα μυκήτων





Το Λιγνινοκυτταρινολυτικό σύστημα του *Fusarium oxysporum*

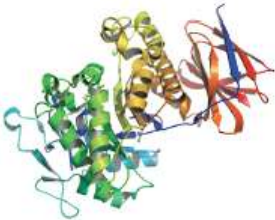
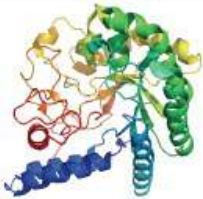
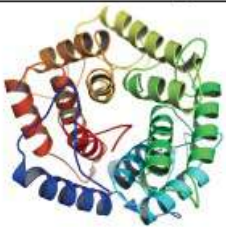
- Πάνω από 250 γονίδια σχετίζονται με ένζυμα που αποικοδομούν το κυτταρικό τοίχωμα των φυτών και τα οποία κατηγοριοποιούνται στην τράπεζα δεδομένων Carbohydrate Active enZymes (CAZy: <http://www.cazy.org/>)

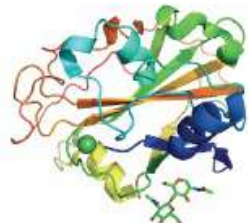


230 GHs



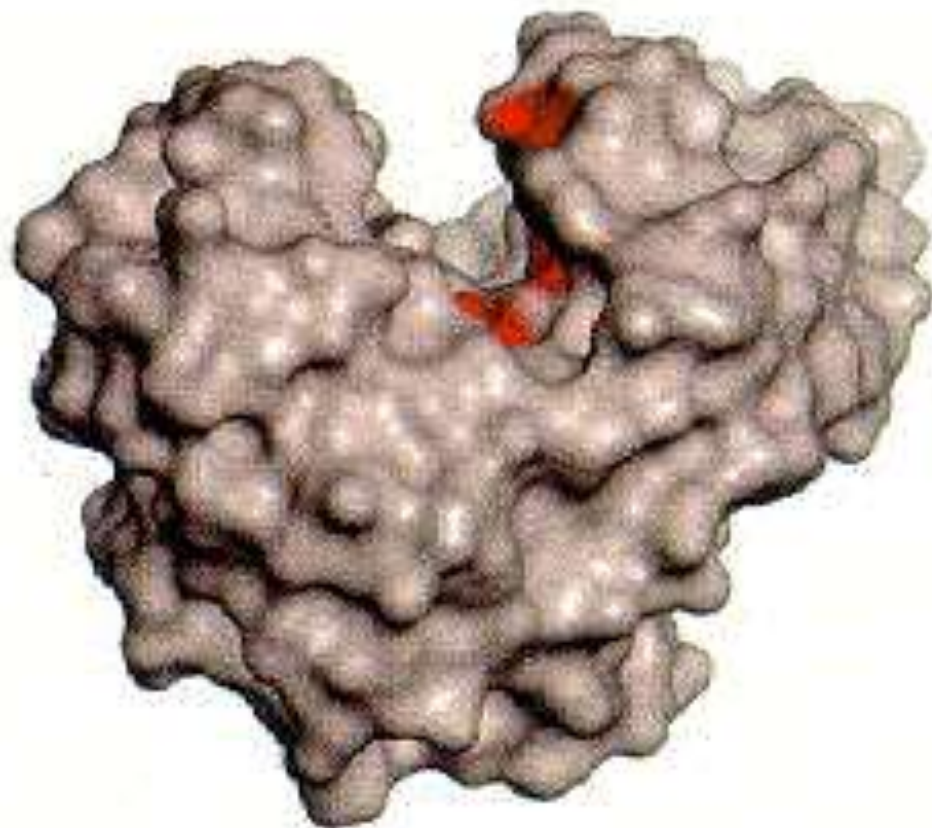
3D δομές κυτταρινασών

Topology	GH family	Activity	Structure
$(\beta/\alpha)_8$ barrel	5, 44, 51	Endo- β -1,4-glucanase	
	5	Cellobiohydrolase	
	1, 5, 30	β -glucosidase	
			[PDB: 2E0P]
atypical $(\beta/\alpha)_8$ 6 barrel	6	Endo- β -1,4-glucanase Cellobiohydrolase	
			[PDB:1DYS]
β -jelly roll	7, 12	Endo- β -1,4-glucanase	
	7	Cellobiohydrolase	
			[PDB:1H8V]
$(\alpha/\alpha)_6$ thoroid	8, 9, 48	Endo- β -1,4-glucanase	
	9, 48	Cellobiohydrolase	
	9	β -glucosidase	
			[PDB:1CEM]
α_8 super-helical	124	Endo- β -1,4-glucanase	
			[PDB:2XQO]

β_6 barrel	45	Endo- β -1,4-glucanase	
			[PDB:2ENG]
β sandwich, Ig-like	61	Polysaccharide Monooxygenases (former weak endo- β -1,4- glucanases)	
			[PDB:2VTC]
7-fold β -propeller	74	Endo- β -1,4-glucanase	
			[PDB:2CN2]
Multiple structural domains:	3	β -glucosidase	
1. $(\beta/\alpha)_8$ barrel			
2. $(\alpha/\beta)_6$ sandwich			
3. FnIII fold			[PDB:3ABZ]

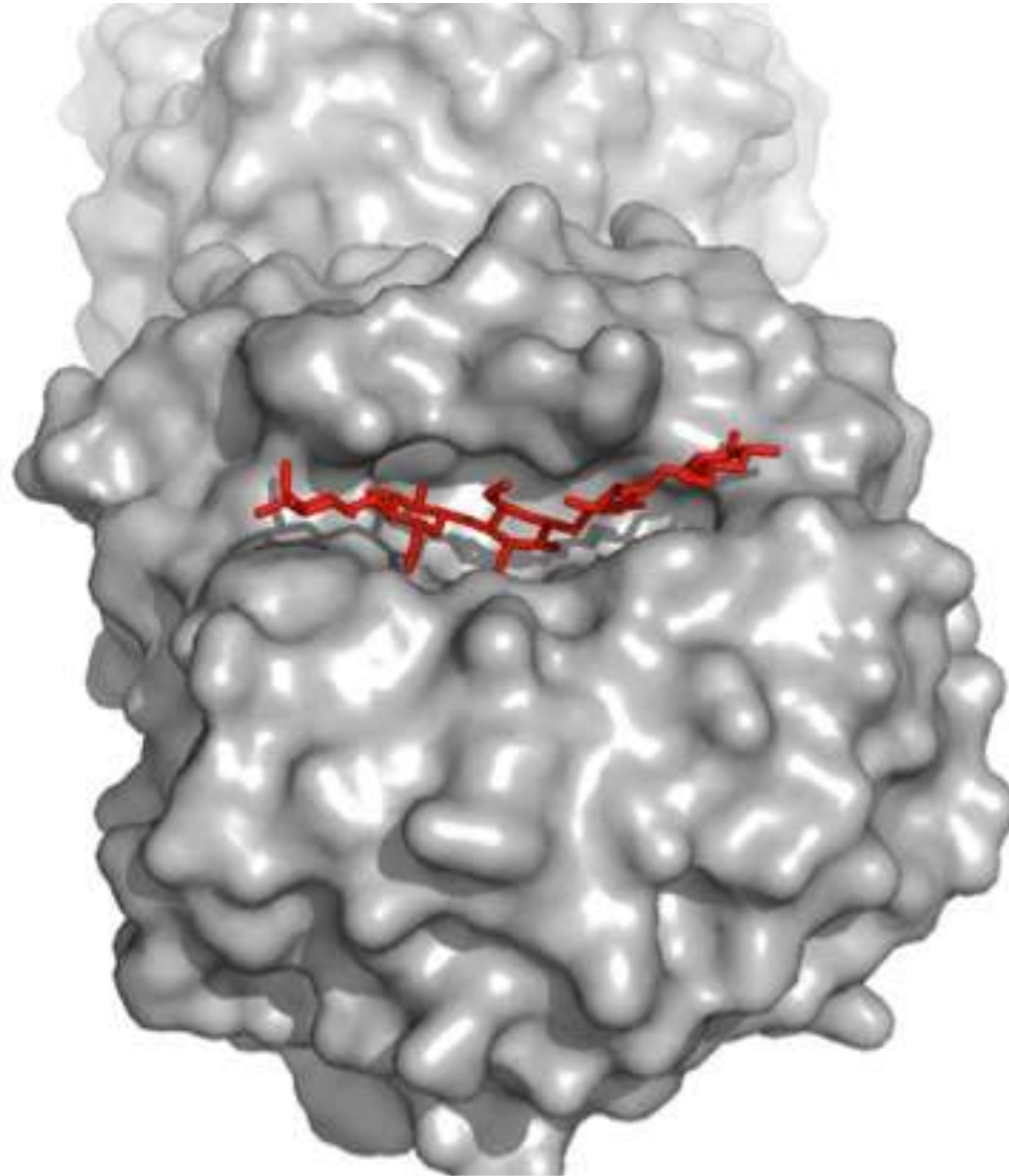


Διαμόρφωση καταλυτικού κέντρου ενδογλουκανασών



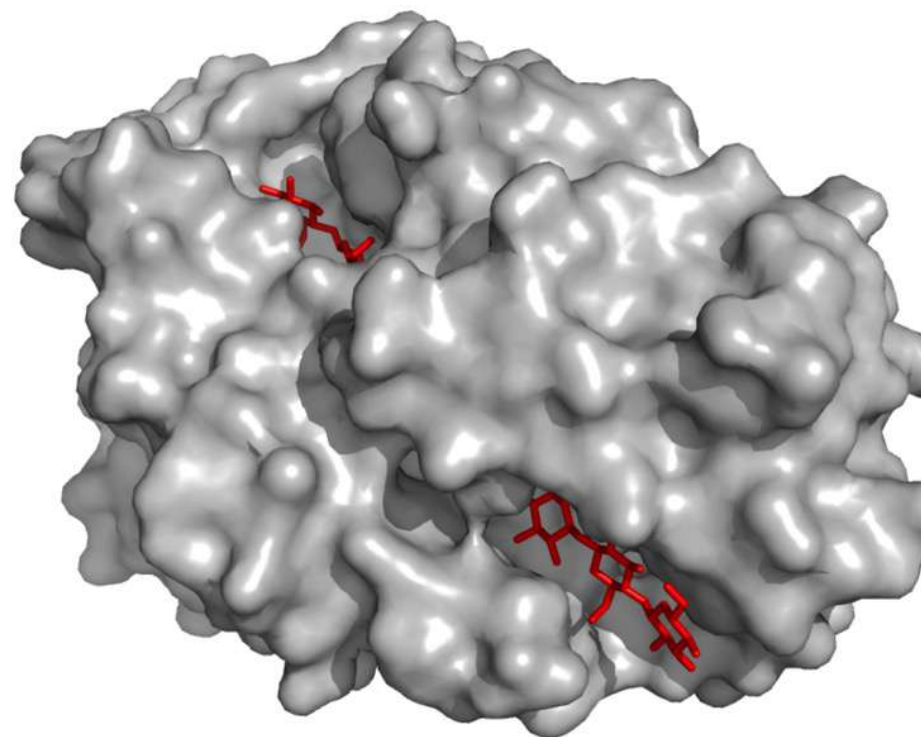
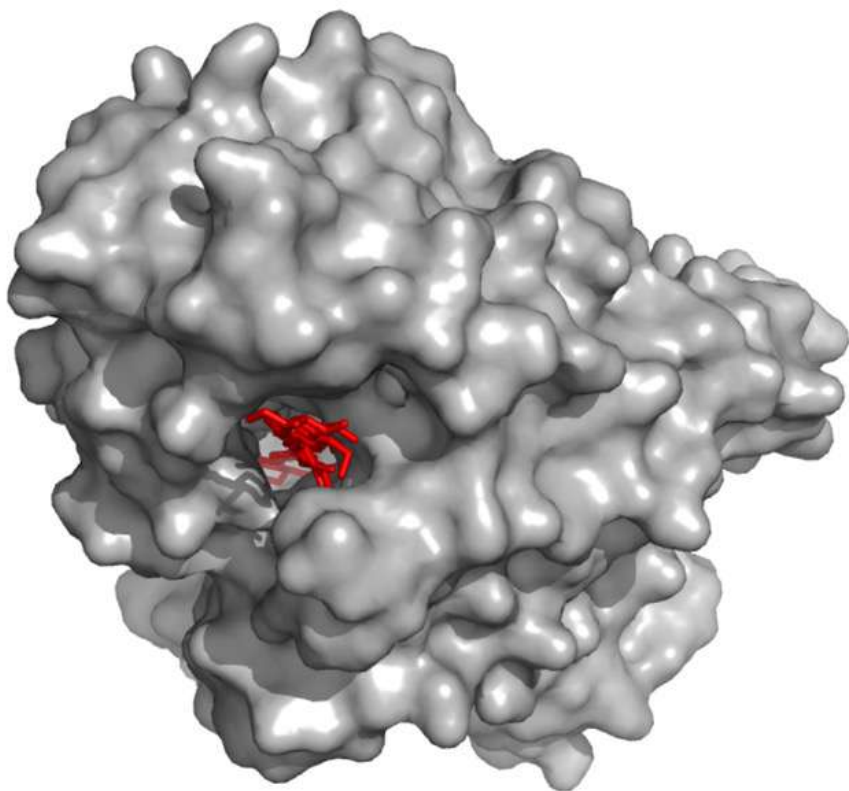


Διαμόρφωση καταλυτικού κέντρου ενδογλουκανασών



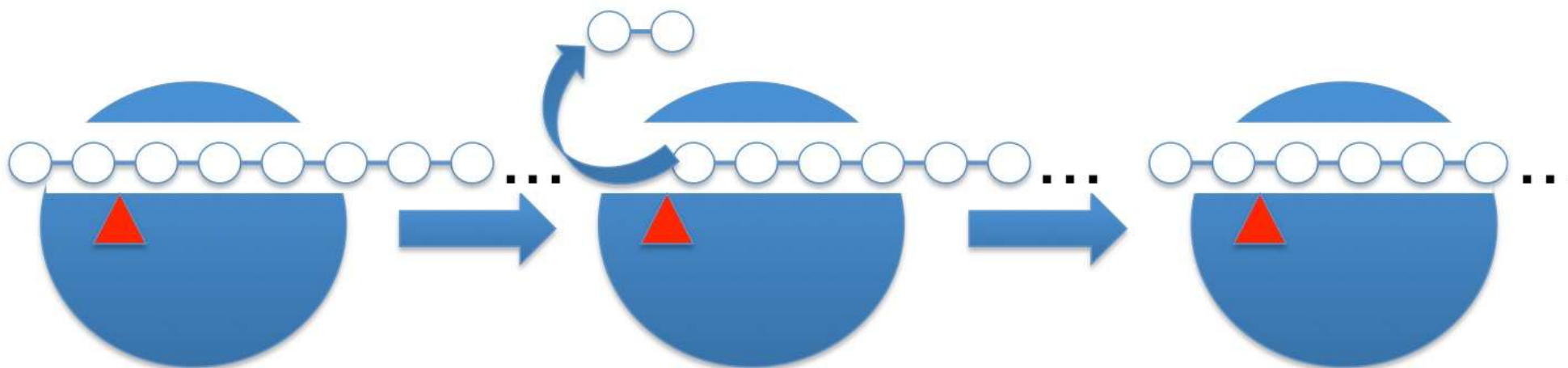


Διαμόρφωση καταλυτικού κέντρου εξωγλουκανασών





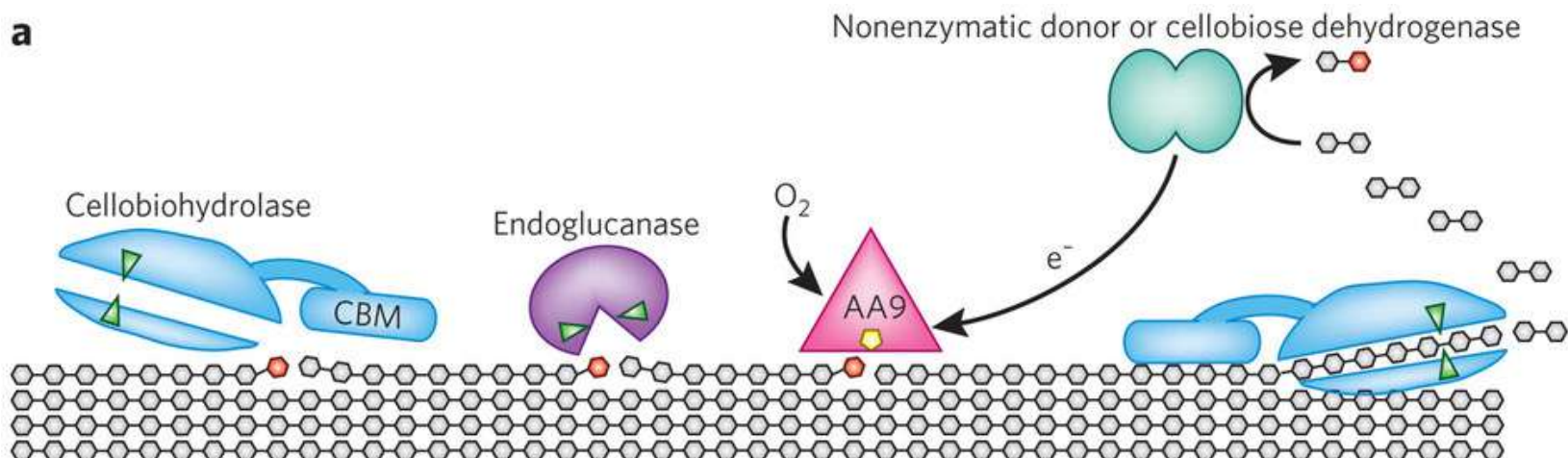
Μηχανισμός καταλυτικής δράσης των εξωγλουκανασών



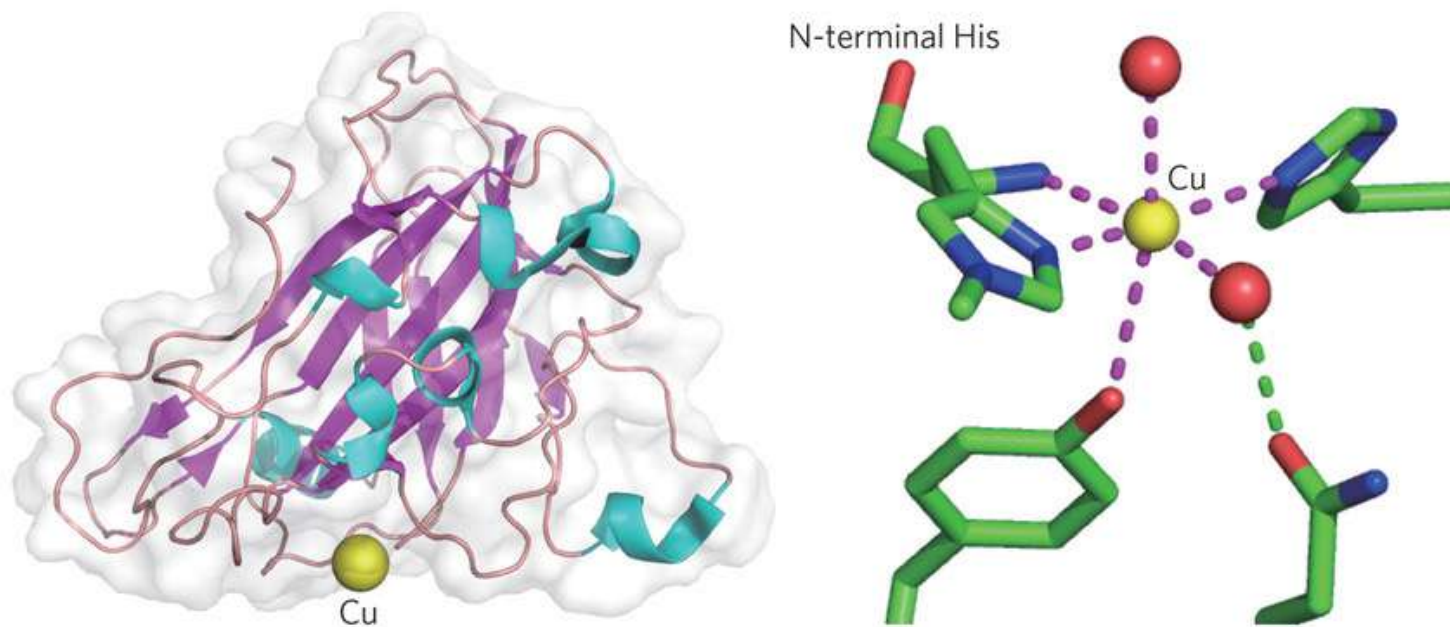


Διαμόρφωση καταλυτικού κέντρου LPMOs

a



b





(α) Αρχικό υλικό



(β) $t=0$



(γ) $t=1h$



(δ) $t=6h$





Inbicon

Λιγνινοκυτταρινούχος αιθανόλη



The new ethanol: Στο Kalundborg της Δανίας, παράγονται 5,3 εκατομμύρια λίτρα/έτος λιγνινοκυτταρινούχου αιθανόλης



Inbicon

Υδροθερμική Επεξεργασία



- Η βιομάζα αναμειγνύεται συνεχώς με νερό και θερμαίνεται στους 180-200 °C για 5-15 min με σκοπό την καταστροφή της δομής της λιγνίνης ώστε να διευκολυνθεί η πρόσβαση της κυτταρίνης από τα ένζυμα.
- Απομάκρυνση μέρους των ημικυτταρινών και παρεμποδιστών που σχηματίζονται



Inbicon

Ενζυμική υδρόλυση και Ζύμωση



Ενζυμική υδρόλυση

- Ρευστοποίηση της βιομάζας (30-40% ξηρό βάρος) σε συνεχή διεργασία με στόχο την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων
- Οριζόντιος αντιδραστήρας ελεύθερης πτώσης



Ζύμωση

- Αναερόβια ζύμωση με στελέχη του *Saccharomyces cerevisiae*
- Διύλιση αιθανόλης και εκμετάλλευση υπολλείματος



The Inbicon Process (animation)

