



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΕΙΡΑΙΩΣ
ΤΜΗΜΑ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ
ΔΙΟΙΚΗΣΗΣ &
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΘΝΙΚΟ
ΜΕΤΣΟΒΙΟ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ
ΧΗΜΙΚΩΝ
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**



ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

**«ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»**

**ΟΙΚΟΝΟΜΟΤΕΧΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ
ΜΕ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΑΠΟΡΡΙΠΤΟΜΕΝΩΝ ΥΛΩΝ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗΣ ΧΗΜΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Φ. ΜΠΑΤΖΙΑΣ

ΑΘΑΝΑΣΕΚΟΥ ΧΡΥΣΟΥΛΑ

2005

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο **Εργαστήριο Προσομοίωσης Χημικών Διεργασιών** του τμήματος Βιομηχανικής Διοίκησης & Τεχνολογίας του Πανεπιστημίου Πειραιώς κατά το χρονικό διάστημα Μάρτιος – Σεπτέμβριος 2005.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή κ. Φραγκίσκο Μπατζιά για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση της εργασίας, για το ενδιαφέρον και τις πολύτιμες συμβουλές του.

Θερμότερες ευχαριστίες οφείλω και στα μέλη του εργαστηρίου Επίκουρο καθηγητή κ. Σιδηρά Δημήτριο και τη Δρ κ. Σιοντώρου Χριστίνα για το ενδιαφέρον, τη βοήθεια, και τις συμβουλές τους κατά τη διάρκεια της συγγραφής.

Η εργασία αφιερώνεται, φυσικά, στους γονείς μου

Χρύσα

Σεπτέμβριος 2005

Περίληψη.....	5
1 Γενικά περί παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας	6
1.1 Εισαγωγή.....	6
1.2 Ορισμοί.....	8
Μονοκυτταρικές πρωτεΐνες	8
Βιοτεχνολογία.....	9
1.3 Ιστορική αναδρομή της χρήσης των μικροβιακών πρωτεϊνών.....	9
1.4 Πλεονεκτήματα & Μειονεκτήματα της χρήσης των μικροβιακών πρωτεϊνών.....	16
1.5 Ποιοτικά χαρακτηριστικά προϊόντος.....	17
Μύκητες.....	21
Φύκη.....	23
Βακτήρια.....	25
Ζύμες.....	25
Το πρόβλημα των τοξινών	26
Το πρόβλημα των νουκλεϊκών οξέων.....	27
1.6 Θρεπτικές απαιτήσεις για την παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης	28
Ανθρακικό υπόστρωμα	28
Άζωτο.....	28
Οξυγόνο	29
Φωσφόρος.....	29
Ανόργανα στοιχεία.....	29
1.7 Κατηγορίες υποστρωμάτων.....	31
Υδρογονάνθρακικά υποστρώματα.....	31
Υδατανθρακικά υποστρώματα.....	32
Υπόστρωμα CO ₂	35
1.8 Επιπτώσεις της χορήγησης SCP σε ανθρώπους & ζώα.....	35
2 Ανάπτυξη Συστήματος Λήψης απόφασης με τη βοήθεια H/Y - Δημιουργία Βάσης Δεδομένων	37
2.1 Δομή της Βάσης Δεδομένων.....	37
2.1.1 Κατάταξη διεργασιών βάσει των υποστρωμάτων	40
2.1.2 Κατάταξη των διεργασιών παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας βάσει των χρησιμοποιούμενων μικροοργανισμών	43
2.1.3 Κατάταξη διεργασιών παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας ως προς την κλίμακα εφαρμογής.....	44
2.2 Παραδείγματα χρήσης της Βάσης με ερωτήματα.....	44

2.3	Κατάρτιση άριστου σιτηρεσίου δια της μεθόδου του Γραμμικού Προγραμματισμού	47
2.4	Δεντροειδείς δομές επιστημονικής εξέλιξης.....	52
3	Ανάπτυξη Συστήματος λήψης απόφασης με χρήση Η/Υ - Πολυκριτηριακή Ανάλυση για την επιλογή κατάλληλης μεθόδου παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης.....	55
	Μελέτη περίπτωσης	55
3.1	Μελέτη περίπτωσης - Οι εναλλακτικές λύσεις.....	56
3.2	Μελέτη περίπτωσης - Τα κριτήρια	67
3.3	Μελέτη περίπτωσης - Καθορισμός βαρών	68
3.4	Μελέτη περίπτωσης-Βαθμολόγηση λύσεων ως προς τα κριτήρια	69
3.5	Μελέτη περίπτωσης - Ανάλυση ευαισθησίας.....	70
4	Εφαρμογή του αποτελέσματος της Πολυκριτηριακής Ανάλυσης στον Ελλαδικό χώρο.	72
4.1	Τυρόγαλα	72
4.2	Παραγόμενες ποσότητες τυρογάλακτος	73
4.3	Συνεχής διεργασία παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης.....	75
4.4	Διάγραμμα ροής τη διεργασίας.....	76
4.5	Έλεγχος της βιολογικής διεργασίας.....	78
4.6	Ανάκτηση της βιομάζας.....	81
4.7	Το τελικό προϊόν	83
4.8	Χρήσεις του προϊόντος	85
4.9	Χωροθέτηση εργοστασίου παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας.....	86
4.10	Οικονομικά της εγκατάστασης	87
5	Συμπεράσματα - Προοπτικές	103
6	Βιβλιογραφικές Αναφορές.....	105
7	Παράρτημα	112

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία γίνεται μια διερεύνηση των μεθόδων παραγωγής πρωτεϊνικής βιόμαζας από απορριπτόμενες ύλες. Στο πρώτο και εισαγωγικό κεφάλαιο γίνεται διασαφήνιση του όρου μονοκυτταρική πρωτεΐνη και ο αναγνώστης κατατοπίζεται περί της ιστορικής πορείας της χρήσης μονοκυτταρικής πρωτεΐνης για διατροφή και εκτροφή, των πλεονεκτημάτων και μειονεκτημάτων χρήσης της, των χρησιμοποιούμενων ειδών μικροοργανισμών και των ιδιαιτεροτήτων που παρουσιάζουν αυτοί. Γίνεται αναφορά στα διάφορα υποστρώματα καλλιέργειας και παρουσίαση της αναγκαιότητας για εφαρμογή των μεθόδων αυτών σε απορριπτόμενες ύλες.

Στο δεύτερο κεφάλαιο, στα πλαίσια ανάπτυξης Συστήματος Λήψης Απόφασης με τη βοήθεια H/Y, δημιουργείται Βάση Γνώσης των υπαρχόντων στη βιβλιογραφία μεθόδων παραγωγής πρωτεϊνικής βιόμαζας, με σκοπό τη γρήγορη πρόσβαση, τόσο σε ολοκληρωμένες προτάσεις (whole cases), όσο και σε επιμέρους συνδυασμούς (parts). Παράλληλα επιλύεται πρόβλημα γραμμικού προγραμματισμού, για την εύρεση του σιτηρεσίου (μίγματος κοινών ζωοτροφών και μονοκυτταρικής πρωτεΐνης), που θα ικανοποιεί τις ιδιαίτερες πρωτεϊνικές, και ενεργειακές ανάγκες των διαφόρων ζώων κτηνοτροφίας, με το ελάχιστο δυνατό κόστος για τον κτηνοτρόφο.

Στο τρίτο κεφάλαιο, το Σύστημα Λήψης Απόφασης με H/Y, εμπλουτίζεται με την εφαρμογή πολυκριτηριακής ανάλυσης για την επιλογή κατάλληλης μεθόδου παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης.

Τέλος, στο κεφάλαιο 4, παρουσιάζεται μια μελέτη περίπτωσης της εφαρμογής του αποτελέσματος της πολυκριτηριακής ανάλυσης στον Ελλαδικό χώρο και μελέτη βιωσιμότητας μιας τέτοιας επένδυσης.

1 Γενικά περί παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας

1.1 Εισαγωγή

Η αύξηση του πληθυσμού της γης έχει οδηγήσει σε σημαντική ελάττωση των πηγών τροφίμων. Οι απαιτήσεις για συγκεκριμένου τύπου διατροφή, κυρίως στις ανεπτυγμένες χώρες, έχει δημιουργήσει τεχνητή έλλειψη τροφίμων. Η παραγωγή τροφίμων και κυρίως πρωτεΐνης από ζώα (βοοειδή, πουλερικά, ψάρια) έχει μεγάλο οικονομικό κόστος, η δε ποιότητα τους είναι κακή, όταν συγκρίνεται το πρωτεϊνικό περιεχόμενο με το ολικό βάρος του τροφίμου. Σύμφωνα με εκτιμήσεις του World Health Organization (WHO) 12.000.000 άνθρωποι πεθαίνουν κάθε χρόνο από πείνα και ασθένειες συνδεδεμένες με αυτή. Δεδομένης της άμεσης επίπτωσης στην γεωργία, κτηνοτροφία και αλιεία που θα έχει μια ενδεχόμενη ενεργειακή κρίση είναι σαφές ότι η ανθρωπότητα καλείται να αναζητήσει άλλες πηγές τροφής προς επιβίωση [7]. Επιπρόσθετα, οι ποσότητες τροφίμων, πλουσίων σε πρωτεΐνη, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ζωοτροφή είναι περιορισμένες [11].

Δύο από τις σπουδαιότερες πηγές πρωτεϊνών για ζωοτροφές είναι το σογιάλευρο και τα ιχθυάλευρα. Οι ΗΠΑ παρήγαγαν το 80% της παγκόσμιας παραγωγής σόγιας στις αρχές του '80 που ανερχόταν σε 50 εκατ τόνους το χρόνο περίπου. Η παραγωγή ιχθυαλεύρων κυμαινόταν σε 3-5 εκατ τόνους το χρόνο ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούσαν στην αλιεία. Στα μέσα του 1975, οι SCP δε μπορούσαν να ανταγωνιστούν το σογιάλευρο του οποίου η τιμή κυμαινόταν από 112 έως 140 \$/τον).

Σύμφωνα με τον Σωτ Καρβούνη μια δεκάδα μονάδων παραγωγής συνθετικής πρωτεΐνης είναι ικανές να παράγουν ισοδύναμη ποσότητα πρωτεΐνης σαν σογιάλευρο με 40.000.000 στρέμματα γης, και να καλύψουν έτσι τις απαιτήσεις της Δυτικής Ευρώπης [38]. Για να επιτευχθεί μέγιστη απόδοση πρωτεϊνών από ορισμένες κατηγορίες μη μηρυκαστικών ζώων, είναι αναγκαίο να προσθέσουμε μια πηγή υψηλής ποιότητας πρωτεΐνης στη διαίτα τους. Μέχρι τώρα τα ιχθυάλευρα χρησιμοποιούνταν ευρύτατα για αυτό το σκοπό. Όμως, ήδη πριν από το 1980 η ζήτηση σε ιχθυάλευρα έχει γίνει μεγαλύτερη από την προσφορά τους και έχει εμφανιστεί έλλειψη σε υψηλής ποιότητας πρωτεϊνικές ύλες [38]. Εξ αιτίας της ανόδου της τιμής του πετρελαίου και της αυξομειωτικής διακύμανσης στην τιμή των πρωτεϊνούχων σκευασμάτων σογιαλεύρου και ιχθυαλεύρου, η ίδρυση των πρώτων μεγάλης κλίμακας εγκαταστάσεων στην Ευρώπη έχει αναβληθεί για πολλά χρόνια, παρά τις βαριές επενδύσεις σε μεγάλο και μοντέρνο εξοπλισμό παραγωγής [1].

Για όλα τα παραπάνω καθώς και την ανάγκη της βιομηχανίας να καλύψει νέες διεξόδους παραγωγής, έχει προταθεί η χρήση καλλιεργειών μικροοργανισμών ως

υποκατάστατων των τροφίμων [11]. Η αξιοποίηση και επαναχρησιμοποίηση αποβλήτων-υποπροϊόντων της αγροτοβιομηχανίας αποτελεί μία ενδιαφέρουσα οικονομική και οικολογική λύση για την συνολική διαχείρισή τους στην γεωργία. Κάθε χρόνο γίνεται σπατάλη πολύτιμου συναλλάγματος για εισαγωγή πρωτεϊνούχων ζωοτροφών και διαφόρων εδαφοβελτιωτικών. Πολλά από τα ανωτέρω εισαγόμενα προϊόντα μπορούν να υποκατασταθούν με εγχώρια τεχνογνωσία, αξιοποιώντας τα διαθέσιμα στον Ελληνικό χώρο και ανανεώσιμα κάθε χρόνο αγροτοβιομηχανικά υποπροϊόντα και απόβλητα [35]. Στην Ελλάδα παράγονται ετησίως περίπου 5 εκατ. τόνοι λιγνοκυτταρινικής φύσεως γεωργικά υποπροϊόντα. Ιδιαίτερα έντονο εμφανίζεται το πρόβλημα της περαιτέρω διάθεσης και αξιοποίησης αγρο-βιομηχανικών υπολειμμάτων ή αποβλήτων, όπως αυτά που προέρχονται από τον εκκοκκισμό βαμβακιού και αραβοσίτου, τα πυρηελαιουργεία, τα αποστακτήρια αλκοολούχων ποτών, τις βιομηχανίες επεξεργασίας ξύλου, αποφλοιωτήρια κλπ. Τα συγκεκριμένα υλικά παράγονται σε μεγάλες ποσότητες και η εκμετάλλευσή τους είναι δυσχερής κυρίως λόγω της χημικής τους σύστασης (μεγάλη περιεκτικότητα σε λιγνίνη, κυτταρίνες, φαινολικές ενώσεις κλπ.). Καθώς παρουσιάζουν πρόβλημα διάθεσης, συνήθως καίγονται ή ενσωματώνονται στο έδαφος.

Η παρασκευή υποστρώματος καλλιέργειας μανιταριών αποτελεί μια διαδικασία βιομετατροπής τέτοιων οικονομικά μη ωφέλιμων υπολειμμάτων σε πολύτιμα για τον άνθρωπο και την κτηνοτροφία προϊόντων υψηλής διατροφικής και προστιθέμενης αξίας [35].

Σήμερα, ο τομέας αυτός (φυτικής προέλευσης ζωοτροφές) μετά τα προβλήματα που έχουν δημιουργηθεί με τις ζωικές προέλευσης ζωοτροφές αποκτά ιδιαίτερη σημασία και ενδιαφέρον στη ζωική παραγωγή στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Οι μετατροπές των αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων σε χρήσιμα προϊόντα (waste to product) αποτελεί μία από τις βασικές διεργασίες της Βιοτεχνολογίας [36]. Η ανάπτυξη μονοκυτταρικών πρωτεϊνών υπήρξε αναμφισβήτητα η απαρχή της βιοτεχνολογίας, καθώς ήταν η πρώτη κατηγορία προϊόντων που έπρεπε να ανταγωνιστούν αντίστοιχα προϊόντα στην αγορά. Η ανάπτυξη προήλθε από τις εταιρείες πετρελαίου και όχι των τροφίμων, μια και μόνο οι πρώτες μπορούσαν να πάρουν το ρίσκο ενός προϊόντος υψηλού κόστους. Οι προσπάθειες μέχρι τώρα για εισαγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών στην διαίτα των χωρών του τρίτου κόσμου, δεν έχουν αποδώσει κατά το δοκούν. Κάθε νέο προϊόν που εισάγεται στην αγορά τροφίμων, δεν καλείται να έχει μόνο υψηλή θρεπτική αξία αλλά και καλές οργανοληπτικές ιδιότητες. Σήμερα στις περισσότερες χώρες που λειτουργούν οι δυνάμεις της αγοράς, οι SCP δε μπορούν να ανταγωνιστούν τη σόγια, το τριφύλλι, ή τα ιχθυάλευρα. Η παραγωγή μανιταριών από λιγνο-κυτταρίνη διαφαίνεται να είναι μια οικονομικά βιώσιμη και υποσχόμενη χρήση των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών [7].

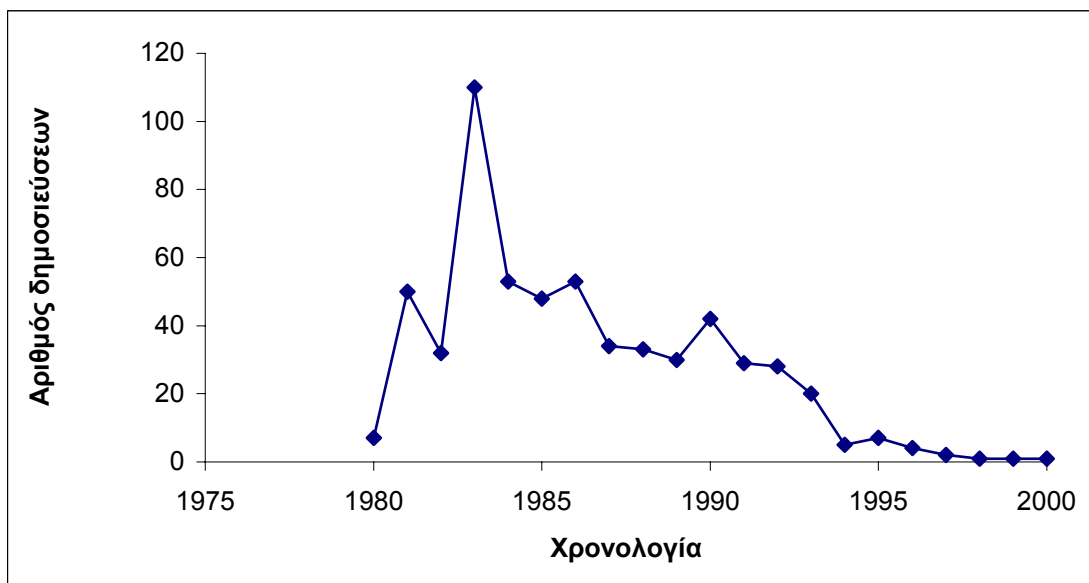
1.2 Ορισμοί

Οι πρωτεΐνες είναι ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους που σχηματίζονται από μικρότερα μόρια τα αμινοξέα. Αυτά είναι είκοσι στο σύνολό τους από τα οποία τα 10 ονομάζονται απαραίτητα, μια και δεν μπορούν να συντεθούν από τον ανθρώπινο οργανισμό. Από τα ζώα τα μηρυκαστικά έχουν την ικανότητα να διατρέφονται με τροφές φυτικής προέλευσης και να συνθέτουν όλα τα απαραίτητα για τον άνθρωπο αμινοξέα. Σ' αυτό ακριβώς έγκειται και ότι η αξία των πρωτεϊνούχων τροφίμων είναι υψηλότερη. Τα απαραίτητα για τον άνθρωπο αμινοξέα είναι: Αργινίνη, Βαλίνη, Θρεονίνη, Ιστιδίνη, Ισολεικίνη, Λευκίνη, Λυσίνη, Μεθειονίνη, Τρυπτοφάνη, και Φαινυλανίνη [40]. Κριτήρια αξιολόγησης της πρωτεΐνης αποτελούν η θρεπτική της αξία, δηλ το ποσοστό μετατρεψιμότητάς της στον οργανισμό και η καθαρά πρωτεϊνική χρησιμοποίησή της, δηλαδή ο λόγος της πρωτεΐνης που εισήλθε στον οργανισμό και της ποσότητας αυτής που μετατράπηκε σε πρωτεΐνη του σώματος [40].

Σαν ικανοποιητική ημερήσια ποσότητα πρωτεΐνης για τον ανθρώπινο οργανισμό, θεωρείται το 1g πρωτεΐνης για κάθε kg του σώματος. Η ποσότητα αυτή ισοδυναμεί με 200-250 g πλουσίων σε πρωτεΐνες τροφίμων (κρέας, αυγά κλπ) και πολλαπλάσιο ποσό για πτωχά σε πρωτεΐνες τρόφιμα [38].

Μονοκυτταρικές πρωτεΐνες

Ο όρος μονοκυτταρικές πρωτεΐνες (Single Cell Proteins) αναφέρεται σε πεθαμένα, ξηρά κύτταρα μικροοργανισμών όπως ζύμες, βακτήρια και φύκη, τα οποία αναπτύσσονται πάνω σε διάφορες πηγές άνθρακα. Η πρωταρχική ανάπτυξη σε αυτόν το χώρο παρουσιάστηκε σε εργασίες και συνέδρια που έλαβαν χώρα στο τεχνολογικό ινστιτούτο της Μασαχουσέτης το 1967 και το 1973 με απώτερο στόχο την άμεση χρήση των μικροοργανισμών ως τροφή του ανθρώπου [72,73,74]. Το όνομα εισήχθη στην βιβλιογραφία πριν από 45 περίπου χρόνια από την καθηγήτρια του M.I.T Carol Wilson στην προσπάθεια να βελτιωθεί ο όρος «μικροβιακή πρωτεΐνη» [7]. Επειδή η καλλιέργεια αυτή προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό ενός και μόνο κυττάρου, το τελικό προϊόν ονομάζεται μονοκυτταρική πρωτεΐνη [11]. Στο διάγραμμα 1.1 παρουσιάζεται το πλήθος των επιστημονικών δημοσιεύσεων, που περιέχουν "SCP" στον τίτλο ή στις λέξεις κλειδιά τους, στη βάση των Cambridge Scientific Abstracts (CSA).



Διάγραμμα 1.1 : Πλήθος επιστημονικών δημοσιεύσεων, που περιέχουν " SCP" στον τίτλο ή στις λέξεις κλειδιά τους, στη βάση των Cambridge Scientific Abstracts (CSA)

Βιοτεχνολογία

Βιοτεχνολογία είναι η αξιοποίηση των βιολογικών οργανισμών ή διαδικασιών στη βιομηχανία και στην προσφορά υπηρεσιών. Η βιοτεχνολογία υπόσχεται να κατασκευάσει μία ποικιλία προϊόντων φιλικών προς το περιβάλλον, τα οποία θα μπορούν να συμπληρώσουν ή, ακόμα, και να υποκαταστήσουν αυτά που έχουν συντεθεί χημικά. Το ευρύ πεδίο των βιοτεχνολογικών προϊόντων περιλαμβάνει αντιβιοτικά και ορμόνες, προσθετικά τροφών και βιταμίνες, φθηνά, οικολογικώς καθαρά καύσιμα και βιολογικές ουσίες που προστατεύουν τα φυτά και υποκαθιστούν τα επικίνδυνα φυτοφάρμακα, καθώς και παραγωγή ανθρώπινης ή ζωικής τροφής. [7]

1.3 Ιστορική αναδρομή της χρήσης των μικροβιακών πρωτεϊνών

Η χρήση των μικροβιακών πρωτεϊνών για διατροφή χρονολογείται από τον 2ο παγκόσμιο πόλεμο. Για παράδειγμα στο Βερολίνο η ανάπτυξη του *Saccharomyces Cerevisiac* έγινε σε επίπεδο ικανό να αντικαταστήσει το 60% της εισαγωγής τροφής της Γερμανίας μετά τον 1ο παγκόσμιο πόλεμο. Τα είδη *Candida arborea* και *C. Utilis*, απετέλεσαν βασικό συστατικό της διαίτας των Γερμανών κατά τη διάρκεια του 2ου παγκοσμίου πολέμου. Το αποτέλεσμα ήταν η ανάπτυξη SCP's για ζωοτροφή αλλά και για ανθρώπινη κατανάλωση [7].

Μεταξύ των ετών 1934-1938 οι λιγότερο ανεπτυγμένες περιοχές του πλανήτη ήταν οι κύριες εξαγωγικές καρπούς προς τον ανεπτυγμένο κόσμο. Από το 1948 όμως η ροή τροφής ανεστράφη κυρίως λόγω του ρυθμού πληθυσμιακής αύξησης, που ήταν μακράν υψηλότερος στον τρίτο κόσμο [7].

Στην δεκαετία του 50 βιομηχανίες πετρελαίου, περιλαμβανομένων των BP (Μεγάλη Βρετανία), Kanegafuchi (Ιαπωνία), and Liquichimica (Ιταλία), έδειξαν ενδιαφέρον για την ανάπτυξη SCP's σε υπόβαθρο αλκανίων. Στη Ρωσία (USSR) 12 από τις 86 εγκαταστάσεις που παρήγαγαν SCP's πήραν γραμμή να χρησιμοποιούν υδρογονάνθρακες ως πηγή άνθρακα και ενέργειας για τους μικροοργανισμούς. Άλλες ουσίες που δυνητικά μπορεί να αποτελέσουν υπόβαθρο για την καλλιέργεια μικροοργανισμών είναι υπολείμματα αποχύμωσης εσπεριδοειδών, απορριπτόμενα εσπεριδοειδή από τη συγκομιδή, μελάσα, κοπριά ζωικής προέλευσης, ορός γάλακτος, άμυλο [7].

Στην αρχή των 1950 η British Petroleum (BP) άρχισε να ενδιαφέρεται για καλλιέργεια μικροοργανισμών με υπόβαθρο αερίαιου (gas oil) (κ-παραφίνες C15-C30) [40]. Τα βακτήρια μπορούν να τραφούν μόνο με το παραφινικό κλάσμα αυτού, το οποίο ανέρχεται μόλις στο 15%. Αυτό το παραφινικό κλάσμα πρέπει να απομακρύνεται καθώς καθιστά το πετρέλαιο παχύρρευστο και συμπυκνώνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, φράσσοντας τους σωλήνες [7]. Το υπόλοιπο 85% του αερίαιου όμως δεν χρήσιμο και πρέπει να απομακρύνεται αποκηρωμένο, γεγονός που αποτελεί πρόβλημα καθώς χρειάζονται μεγαλύτερες εγκαταστάσεις και τελειότερος καθαρισμός του προϊόντος [40].

Η BP χρησιμοποιεί δυο ζύμες τις *Candida lipolytica* και *Candida tropicalis* σε εγκατάσταση 16.000 tons/year στο Cap Lavera της Γαλλίας, και μια 4000 tons/year στην Αγγλία. Το όνομα του προϊόντος ήταν "TOPRINA". Στο Ηνωμένο Βασίλειο ονομαζόταν "TOPRINA G" και ήταν καθαρότερο προϊόν επειδή της Γαλλίας δεν είχε αποχωριστεί από τα αλκάνια. Και οι δυο πορείες χρησιμοποιούσαν την NH₃ σαν πηγή αζώτου, και ιόντα Mg για αύξηση της απόδοσης. Καμία άλλη πηγή άνθρακα δε χρησιμοποιήθηκε. Για 12 χρόνια το TOPRINA υπεβλήθη σε τεστ τοξικότητας και καρκινογένεσης και προωθήθηκε στην αγορά ως υποκατάστατο ιχθυάλευρου υψηλής πρωτεϊνικής αξίας καθώς και σαν υποκατάστατο αποβουτυρωμένου γάλακτος σε σκόνη. Δεν υπήρξαν καθόλου ενδείξεις τοξικότητας ή καρκινογένεσης. Παρόλα αυτά πλανάτο η υπόνοια ότι αρωματικοί υδρογονάνθρακες (καρκινογόνα) είχαν εισχωρήσει και μεταφερθεί μέσω της διεργασίας στις SCP. Η κύρια αντίδραση προήλθε από την Ιαπωνία, όπου περιβαλλοντικές οργανώσεις και καθηγητές πανεπιστημίων τις αποδοκίμασαν ως επικίνδυνες και το θέμα έλαβε πολιτικές διαστάσεις. Το 1972 μια ειδικευμένη επιτροπή αποφάσισε ότι οι SCP θα χρησιμοποιούνταν μόνο για ζωοτροφή, αλλά αργότερα η Ιαπωνία ήταν η πρώτη χώρα που απαγόρευσε καθολικά τις πετρελαϊκές πρωτεΐνες [7].

Εν τω μεταξύ, η BP και μια Ιταλική εταιρεία ίδρυσαν μια εγκατάσταση παραγωγικότητας 100.000 tn/year στην Σαρδηνία. Την Ιαπωνική ακολούθησε Ιταλική επίθεση εναντίων των SCP, που ανάγκασε την ιταλική κυβέρνηση να επιβάλει νέες μελέτες, οι οποίες επίσης έδειξαν ότι δεν υπήρχε κανένα ίχνος πιθανής καρκινογένεσης. Χοίροι που ετράφησαν σε ποσοστό 30% με TOPRINA εμφάνισαν λιγότερα κανονικά αλκάνια στο λιπώδη ιστό τους, από ό,τι αυτά που βόσκησαν. Βασιζόμενη σε αυτά η ιταλική κυβέρνηση αποφάσισε να χρησιμοποιήσει TOPRINA σε περιορισμένες ποσότητες και μόνο για εξαγωγές [7]. Μετά το 1973 και την ενεργειακή κρίση τα προγράμματα παραγωγής συνθετικών πρωτεϊνών βρέθηκαν αντιμέτωπα με την πραγματικότητα της κατακόρυφης αύξησης της τιμής της πρώτης ύλης τους, δηλαδή τους υδρογονάνθρακες [7]. Στις αρχές του 1974 η τιμή των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών ήταν γύρω στα 450 \$/τόνο και πιστεύεται ότι αυτή θα μπορούσε να είναι 320 \$/τόνο, εάν ήταν απαλλαγμένη από την άνοδο της τιμής του πετρελαίου. Μόνο τότε θα μπορούσαν να είναι σαφώς φθηνότερες από τις φυσικές πρωτεΐνες (σογιάλευρα-ιχθυάλευρα), ή εκείνες που παράγονται από υδατάνθρακες [40]. Το 1977 η Ιταλία σταμάτησε εξολοκλήρου την παραγωγή SCP από αλκάνια λόγω άνοδου της τιμής του πετρελαίου. Άλλοι λόγοι που έδρασαν αποτρεπτικά ήταν η χαμηλή τιμή του σογιάλευρου, το οποίο καλούντο να υποκαταστήσουν, καθώς και οι επιφυλάξεις τους οργανισμών υγείας στο θέμα της τοξικότητας. Σήμερα δεν υπάρχει εργοστάσιο που να παράγει πετρελαϊκή πρωτεΐνη [7].

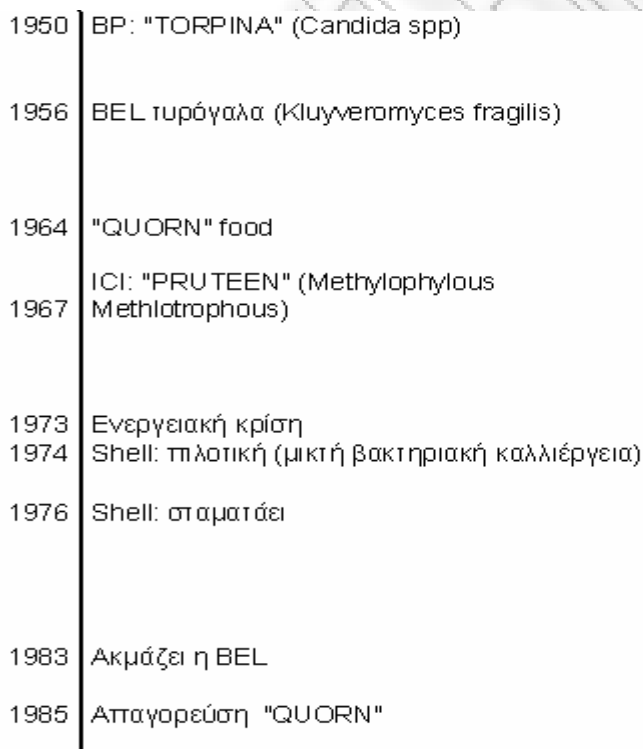
Παράλληλα, έγινε προσπάθεια αξιοποίησης μεθανίου σαν πηγή άνθρακα. Λόγω των εμφανιζόμενων δυσκολιών στη χρήση του (αέριο σχεδόν αδιάλυτο στο νερό), στην πλειοψηφία των μεθόδων ακολουθείται πρωτόκολλο οξειδωσης του μεθανίου σε μεθανόλη η οποία είναι υγρό πλήρως αναμίξιμο με το νερό. Για την οξείδωση αυτή η Shell χρησιμοποίησε μια ανάμικτη καλλιέργεια βακτηριών. Αυτή η ανάμικτη καλλιέργεια υπήρξε ένα από τα καλύτερα παραδείγματα συμβίωσης. Η διαδικασία ξεκίνησε το 1970 στο Sittingbourne της Αγγλίας. Το 1974 ανακοίνωσε σχέδια ίδρυσης πιλοτικής μονάδας μεγαλύτερων διαστάσεων στην ίδια περιοχή και ένα πρόγραμμα ανάπτυξης στο Άμστερνταμ με στόχο την παραγωγή 100.000 tn/year. Την Άνοιξη του 1976, η Shell σταμάτησε την εμπορική προβολή αυτών των ενεργειών και τα σχέδια της αναβλήθηκαν επ' αόριστον [7].

Παρά την υψηλή της τιμή, η αιθανόλη, έχει χρησιμοποιηθεί ως υπόβαθρο για παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Η εταιρία Amoco Company των ΗΠΑ χρησιμοποίησε την ζύμη "Torula". Το όνομα του προϊόντος ήταν "TORUTEIN" και κυκλοφόρησε σε Καναδά και Σουηδία. Η περιεκτικότητα της ζύμης σε πρωτεΐνη είναι περίπου 52% αλλά χαμηλή περιεκτικότητα σε μεθειονίνη. Το «Torutein» παρότι προωθήθηκε στην αγορά ως ενισχυτικό γεύσης υψηλής θρεπτικής αξίας, ικανό να αντικαταστήσει το κρέας, το γάλα και την πρωτεΐνη αυγού, δεν έτυχε μεγάλης αποδοχής στις ΗΠΑ λόγω της αφθονίας και της χαμηλής τιμής σόγιας που αντικαθιστά επάξια κρέας

και αυγά [7].

Εκτός από τους υδρογονάνθρακες σε βιομηχανική κλίμακα έχει χρησιμοποιηθεί σαν υπόστρωμα και το τυρόγαλα, το οποίο, όπως έχει δημοσιευθεί, είναι ένα εξαιρετικό υπόστρωμα για την παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Το 1956 η γαλλική εταιρεία γαλακτοκομικών Fromageries Bel ξεκίνησε ένα πρόγραμμα παραγωγής της ζύμης *Kluyveromyces fragilis* από τυρόγαλα. Οι ζύμες προορίζοντο κυρίως για ζωοτροφή. Το 1983, η ίδια εταιρεία παρήγαγε 8000 τόνους ζύμης συνεχούς καλλιέργειας. Παρόλο που παρόμοιες προσπάθειες έγιναν τόσο σε ευρωπαϊκό έδαφος όσο και ηνωμένων πολιτειών η διεργασία της Bel υπήρξε η πιο επιτυχημένη [7]. Οι ζύμες προορίστηκαν κυρίως για ζωοτροφή [32].

Αξιοσημείωτο παράδειγμα χρήσης των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών σε νέα προϊόντα είναι η εταιρεία Rank Hovis McDoygall (RHM) που σε συνεργασία με την ICI χρηματοδότησαν την Marlow foods, που παρήγαγε και εισήγαγε στην αγορά το 1964 προϊόντα μηκυτιακής πρωτεΐνης υπό το εμπορικό σήμα κατατεθέν QUORN™ που προορίστηκε για ανθρώπινη κατανάλωση, κυκλοφορία που απαγορεύτηκε το 1985 από το UK Ministry of Agriculture, Fishery and Foods. Το QUORN™ υπήρξε το μόνο προοριζόμενο για ανθρώπινη κατανάλωση, εμπορικό προϊόν [32].



Σχήμα 1.2 Η βιομηχανική παραγωγή SCP μέχρι το 1985,σχηματικά

Το 1967 το βακτήριο *Methylophilus methylotrophus* επιλέχθηκε μεταξύ των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν την μεθανόλη μετά από τεστ τοξικότητας και παθογένειας. Το προϊόν ονομάστηκε "PRUTEEN" και περιείχε 72% ακατέργαστη (crude) πρωτεΐνη. Προωθήθηκε στην αγορά σαν πηγή ενέργειας, βιταμινών, μετάλλων και ιχνοστοιχείων υψηλής πρωτεϊνικής αξίας. Το περιεχόμενο σε μεθιονίνη και λυσίνη είναι συγκρίσιμο με αυτό του ψαριού. Η ICI ίδρυσε μονάδα παραγωγής 60.000 tn/year. Σήμερα το Pruteen δε μπορεί να συναγωνιστεί με την σόγια και το ιχθυάλευρο. Η ICI ελπίζει να καταφέρει να πουλήσει την τεχνολογία της μια και η ιδέα του Pruteen δεν είναι οικονομικά βιώσιμη [7].

Παρά την ολιγοετή απουσία των μικροβιακών πρωτεϊνών από το προσκήνιο του επιστημονικού ενδιαφέροντος, στο τέλος της δεκαετίας του '90 παρατηρείται μια επιστροφή σε αυτές, τόσο με εφαρμογές σε πιλοτικό επίπεδο, όσο και εφαρμοσμένο βιομηχανικό. Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δίνει αρκετές επιστημονικές δημοσιεύσεις την περίοδο αυτή, οι **πιλοτικές** κλίμακας εκ των οποίων είναι οι εξής:

- **2002:** Πιλοτικό σύστημα για παραγωγής μυκητιακής πρωτεΐνης με επεξεργασία υδατικών αποβλήτων [180]
- **2004:** Παραγωγή πρωτεΐνης υψηλής κυτταρικής πυκνότητας από το βακτήριο *Methylobacterium extorquens* [182]
- **2005:** Πιλοτική μονάδα καλλιέργειας της ζύμης *Candida arborea* με υπόστρωμα υδρολυμένο άχυρο ρυζιού.
- **2005:** Πιλοτική μονάδα καλλιέργειας του μύκητα *Zygosaccharomyces bailii* με υπόστρωμα κυτταρινούχο υπόλειμμα αποχύμωσης ζαχαρότευτλων. [187]

Παράλληλα, σχεδόν από τις αρχές του εικοστού αιώνα, η ΕΕ εκδίδει οδηγίες στις οποίες αποφαινεται περί τις καταλληλότητας εμπορικών σκευασμάτων που κυκλοφορούν ως συμπληρώματα διατροφής ζώων. Αυτά είναι:

- **2003: Provita E®**, με περιεχόμενο βακτήριο το *Enterococcus faecium*
- **2002: Oralin**, με περιεχόμενο βακτήριο το *Enterococcus faecium*
- **2002: Bonvital LE.**, μίγμα των βακτηρίων *Lactobacillus rhamnosus* και *Enterococcus faecium*
- **2002: Bioplus 2B®**, μίγμα βακτηρίων δυο ειδών του γένους *Bacillus* των *Bacillus licheniformis* και *Bacillus subtilis*, σε αναλογία 1:1.
- **2000: Paciflor®**, με ενεργό συστατικό το βακτήριο *Bacillus cereus*.
- **1999: Esporafeed Plus®**, με ενεργό συστατικό το βακτήριο *Bacillus cereus*.

Οι οδηγίες τις ΕΕ που αφορούν τα εν λόγω σκευάσματα παρατίθενται στο

παράρτημα. Προφανώς, οι μικροβιακές πρωτεΐνες δε συγκαταλέγονται στις πρωτεΐνες ζωικής προέλευσης, για τις οποίες η ΕΕ με την υπ' αριθμόν 2000/766/ΕΚ, απόφαση της 4ης Δεκεμβρίου 2000, του Συμβουλίου [παράρτημα] περί ορισμένων μέτρων προστασίας σχετικά με τις μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες και τη χρησιμοποίηση ζωικών πρωτεϊνών στη διατροφή των ζώων, προβλέπει ότι τα κράτη μέλη πρέπει να απαγορεύουν τη χορήγηση μεταποιημένων ζωικών πρωτεϊνών σε ζώα εκτροφής τα οποία φυλάσσονται, παχύνονται ή εκτρέφονται για την παραγωγή τροφίμων. Ωστόσο, η απόφαση αυτή δεν εφαρμόζεται στη χορήγηση ιχθυαλεύρων σε ζώα εκτός των μηρυκαστικών.

Πίνακας 1.6: Εταιρείες και διεργασίες παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας [73]

Παραγωγός	Πρώτη ύλη	Τύπος διεργασίας - δυναμικότητα	Μικροοργανισμός
Taiwan Chorella Manufacture Co. Ltd, Taipei	CO ₂ ή NaHCO ₃	Φύκια 2 τόν/ημέρα	<i>Spirulina maxima</i>
Sosa Texcoco, S.A., Mexico City	CO ₂ ή NaHCO ₃	Φύκια 320 τόν/χρόνο, φωτο σύνθεση	<i>Spirulina maxima</i>
Imperial Chemical Industries, Billingham	Μεθανόλη	Βακτήρια 70000 τόν/χρόνο	<i>Methylophilus methylotrophus</i>
Hochest – Uhde, Frankfurt, West Germany	Μεθανόλη	Βακτήρια 1000 τόνοι /χρόνο	<i>Methylomonas clara</i>
Pure Culture Products Hutchinson, Minnesota	Αιθανόλη	Ζύμη 6750 τόν/χρόνο	<i>Candida Utilis (Torula)</i>
All-Union Research institute of Protein Biosynthesis, U.S.S.R	Παραφίνες, προϊόντα υδρόλυσης ξύλου	Ζύμη 20*10 ³ - 40*10 ³ τόν/χρόνο	<i>Candida sp.</i>
Rhinalander Paper Corp., Phinalander, Wisconsin	Χαρτοπλτός	Ζύμη 13, 5 τόν/ημέρα	<i>Candida Utilis</i>
Pekilo prosess, Finish Pulp and Paper Research Institute, Jamsankoski, Finland	Χαρτοπλτός	Μύκητες 10000 τόννοι/χρόνο	<i>Paecilomyces varioti</i>
Rank Hoviw MacDougall Research Limited, High Wycombe, U.K.	Γλυκόζη	Μύκητες 50-100 τόν/χρόνο	<i>Fusarium graminearum</i>
Amber Laboratories, Juneau, Wisconsin	Τυρόγαλα	Ζύμη 4500 τόν/χρόνο	<i>Klauyeromyces Fragilis</i>
Heurty, S.A., France	Τυρόγαλα	Μύκητες 300 τόν/χρόνο	<i>Penicillium cyclopium</i>

Τα είδη που κυριαρχούν σήμερα στη διατροφή είναι τα *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Spirulina* και *Chlorella*, τα οποία και είναι εξολοκλήρου αποδεκτά για κατανάλωση από τον άνθρωπο. Το είδος *Spirulina maxima* αναπτύσσεται σε εμπορική κλίμακα στην περιοχή της λίμνης Texcoco. Αρκετές εγκαταστάσεις λειτουργούν για παρασκευή *Chlorella* και *Spirulina* στην Ιαπωνία, την Ταϊβάν, το Ισραήλ, την Ταϊλάνδη και τις ΗΠΑ [1]. Η συνολική παραγωγή «υγιεινής» τροφής προερχόμενης από φύκια, φτάνει τους 2000 μετρικούς τόνους/χρόνο επί ξηρής βάσης. Παρά την εμπορική προώθηση μερικών φυκιών, μυκήτων και βακτηρίων η αποδοχή και χρήση τους είναι μικρή, εξαιτίας του υψηλού κόστους παραγωγής και της αδιαφορίας του πλήθους και τις ανώριμες στρατηγικές προώθησης στην αγορά [1].

Πίνακας 1.5: Η χρήση των άλγεων για διατροφή και εκτροφή ανά τον κόσμο [1]

Φύκος	Περιοχή	Χρήση
<i>Alaria</i>	Ιαπωνία	Πωλούνται κοτσάνια ξηραμένα και αλατισμένα με την εμπορική ονομασία «Saumen»
<i>Ascophylleum</i> , <i>Fucus</i> , <i>Lamnaria</i>	Ιαπωνία, ΗΠΑ, Ν Ζηλανδία	Ζωοτροφή για βοοειδή, πουλερικά και χοίρους.
<i>Caulerpa roseosa</i>	Φιλιππίνες	Διατροφή ανθρώπου
	Χηλή	Διατροφή ανθρώπου
<i>Laminaria</i>	Ιαπωνία	Πωλούνται κοτσάνια ξηραμένα και αλατισμένα με την εμπορική ονομασία «Kombu»
<i>Laminaria</i>	Μ Βρετανία, Γαλλία, Σκανδιναβία, ακτές ΗΠΑ (Ειρηνικός)	Ζωοτροφή για αιγοπρόβατα και κοτόπουλα
<i>Ulva</i>	Ευρώπη	Διατροφή ανθρώπου
<i>Ulva lactica</i>	Μεγάλη Βρετανία	Πρόσθετο σε σαλάτες και σούπες
<i>Sargassum</i>	Κίνα	Διατροφή ανθρώπου
<i>Chlorella spirulina</i>	Νησιά Ειρηνικού	Διατροφή ανθρώπου

Στις μέρες μας, στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος που διεξάγεται στο National Institute for Chemistry, Indonesian Institute of Sciences στην Bandung της Ινδονησίας, σχεδιάζεται πιλοτική μονάδα που θα χρησιμοποιεί μελάσα σαν πρώτη ύλη με δυναμικότητα παραγωγής 100 τόνους το χρόνο (334 κιλά την ημέρα) και βιομηχανική μονάδα για 1000 τόνους το χρόνο (3,3 τόνους την ημέρα). Η δυναμικότητα των εργαστηριακών μονάδων είναι 34 κιλά ημερησίως που επιτυγχάνεται με την χρήση 6 αντιδραστήρων ζύμωσης, 4-8 λίτρα χωρητικότητα ο καθένας. Το κόστος των προγραμμάτων έρευνας και ανάπτυξης και του στησίματος της πιλοτικής μονάδας, είναι \$900.000 και \$1.500.000 αντίστοιχα [32].

1.4 Πλεονεκτήματα & Μειονεκτήματα της χρήσης των μικροβιακών πρωτεϊνών.

Για να χρησιμοποιηθεί ένας μικροοργανισμός ως υποκατάστατο τροφίμων θα πρέπει να μην είναι τοξικός, να αφήνει ασήμαντα απόβλητα, και κατά την παραγωγή του να γίνεται χρήση χαμηλής ποιότητας υδατανθράκων για την παραγωγή υψηλής ποιότητας πρωτεΐνης. Οι βιομηχανίες έχουν προχωρήσει στην διερεύνηση της διατροφικής αλυσίδας των μικροοργανισμών κυρίως για τους εξής λόγους:

- πολλαπλασιάζονται ταχύτατα
- έχουν μικρές απαιτήσεις σε θρεπτική ύλη για να αναπτυχθούν
- η θρεπτική ύλη μπορεί να είναι οτιδήποτε ακόμα και απόβλητα
- μπορούν να καλλιεργηθούν οπουδήποτε
- το μεγαλύτερο ποσοστό του ξηρού βάρους είναι πρωτεΐνη
- η καλλιέργεια παράγεται σε συνεχή βάση
- ο μικροοργανισμός μπορεί να ελεγχθεί γενετικά
- η καλλιέργεια μικροοργανισμών ως πηγή πρωτεΐνης προκαλεί λιγότερη μόλυνση
- είναι ανεξάρτητη στις ευφορίας της γης και του κλίματος [7]
- μη βρώσιμο κυτταρικό τοίχωμα. (κυρίως στα φύκη)
- όπως όλοι οι ταχέως αναπτυσσόμενοι οργανισμοί έχουν υψηλό περιεχόμενο σε νουκλεϊκά οξέα
- παρουσιάζονται μη αποδεκτοί χρωματισμοί. (κυρίως στα φύκη)
- εμφανίζεται δυσάρεστη γεύση (κυρίως φύκη και ζύμες)
- τα κύτταρα πρέπει να θανατωθούν πριν την κατανάλωση

Η επεξεργασία των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών γίνεται με πολλούς τρόπους, ώστε να θανατωθούν τα κύτταρα, να βελτιωθεί η ευπεψία τους, και να μειωθεί το νουκλεϊκό περιεχόμενο [1,7].

Πίνακας 1.6 : Μέσος όρος χρόνου διπλασιασμού μάζας

Οργανισμός	Χρόνος διπλασιασμού μάζας
Βακτήρια & Ζύμες	10-120 λεπτά
Μύκητες & φύκη	2-6 ώρες
Φυτά	1- 2 εβδ
Κοτόπουλα	2-4 εβδ
Χοίροι	4-6 εβδ
Βοοειδή	1-2 μήνες
Άνθρωπος	0,2-0,5 χρ

Πίνακας 1.7: Ποσότητα παραγόμενης πρωτεΐνης σε 24 ώρες από έναν τόνο οργανικής ύλης [89]

Από 1000 κιλά οργανικής πρώτης ύλης	Παραγόμενη πρωτεΐνη	Ποσοστιαία Αύξηση μάζας
Βοοειδή	1 kg	1 ‰
Σόγια	10 kg	1 ‰
Ζύμες	100 tn	10,000 ‰
Βακτήρια	100 * 10.000.000 tn	100.000.000.000 ‰

Πίνακας 1.8 : Σύγκριση πρωτεϊνικού περιεχομένου τροφίμων [1]

	Αρχική μάζα θρεπτικής ύλης	Ολικό προϊόν	Πρωτεΐνη
Βοοειδή	1 kg	68 g	14 g
Χοιρίδια	1 kg	200 g	41 g
Πουλερικά	1 kg	240 g	49 g
<i>Fusarium graminearum</i>	1kg υδατάθρακα + NH ₃ +NH ₄	1080 g υγρή κυτταρική μάζα	136 g

Πίνακας 1.9: Ποιοτική σύγκριση τροφίμων [11]

Συστατικό (% κβ)	<i>Fusarium graminearum</i>	Βοοειδή (μπριζόλα)
Πρωτεΐνη	47	68
Λίπος	14	30
Διαιτητικές ίνες	25	ίχνη
Υδατάνθρακες	10	0
Τέφρα	3	2
RNA	1	ίχνη

1.5 Ποιοτικά χαρακτηριστικά προϊόντος

Για την εκλογή του κατάλληλου μικροοργανισμού με χρήσιμες εφαρμογές στην παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης, απαιτείται να ληφθούν υπ' όψιν ορισμένοι παράγοντες, όπως:

- Η ασφάλεια της χρήσης του, η οποία συνίσταται στην απουσία παθογένειας, στη μη μεταλλαξιμότητα του μικροοργανισμού, καθώς και στη παραγωγή τοξινών [72].
- Η θρεπτική αξία. Ο μικροοργανισμός θα πρέπει να αποτελεί μια ισορροπημένη πηγή πρωτεϊνών. Η σύνθεση των αμινοξέων των πρωτεϊνών, θα πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πλησιέστερη σ' αυτή της καζεΐνης και των πρωτεϊνών του αυγού [72].

- Τεχνικά χαρακτηριστικά όπως η θερμοανθεκτικότητα, η δυνατότητα ζύμωσης του άνθρακα του υποστρώματος, η ικανότητα πολλαπλασιασμού με υψηλούς ρυθμούς και η αντοχή στο διοξείδιο του άνθρακα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους [72].

Ο ιδανικός μικροοργανισμός πρέπει να πληροί της παρακάτω προϋποθέσεις, όσον αφορά τα τεχνολογικά του χαρακτηριστικά:

- υψηλό ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και απόδοση σε βιομάζα.
- υψηλό βαθμό συγγένειας με το υπόστρωμα
- χαμηλές θρεπτικές απαιτήσεις
- δυνατότητα να αξιοποιεί πολύπλοκα υποστρώματα
- δυνατότητα να αναπτύσσει κύτταρα σε μεγάλη πυκνότητα
- σταθερότητα κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού.
- δυνατότητα γενετικής μετάλλαξης
- καλές επιδόσεις ανοχής σε θερμοκρασία και pH
- ισορροπημένο πρωτεϊνικό και λιπιδιακό περιεχόμενο
- χαμηλό νουκλεϊκό περιεχόμενο
- να είναι εύπεπτο
- οι μη διαθέσιμοι παράγοντες ανάπτυξης να είναι λίγοι [35]

Η συλλογή, απομόνωση και επιλογή των επιθυμητών μικροοργανισμών θα πρέπει να γίνεται ανάλογα με τις παραγωγικές διαδικασίες για τις οποίες αυτοί προορίζονται [65]. Γενικά έχει γίνει αποδεκτό ότι μια διαδικασία, η οποία θα απαιτούσε πλήρως ασηπτικές συνθήκες, θα ήταν αντιοικονομική. Γενικά οποιαδήποτε μορφή θέρμανσης η οποία θα απαιτούσε ειδικές εγκαταστάσεις, ενέργεια και νερό ψύξης, θα πρέπει να αποφευχθεί. Συνεπώς οι προς χρήση μικροοργανισμοί θα πρέπει να ανταποκρίνονται πλήρως στο είδος της διαδικασίας χωρίς να διακινδυνεύεται η μόλυνσή αυτών από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς [65]. Η ιδιότητα του υψηλού ρυθμού πολλαπλασιασμού είναι σημαντική όχι μόνο γιατί επιτρέπει το μικρό όγκο του αντιδραστήρα ζύμωσης αλλά και γιατί παρέχει έναν υψηλό βαθμό αξιοπιστίας όσον αφορά το είδος του παραγόμενου μικροοργανισμού [65]. Οι μικροοργανισμοί αυτοί θα πρέπει επίσης να παρουσιάζουν αυξημένη αντοχή στα οξέα, έτσι ώστε είτε διατηρώντας χαμηλό το pH κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, είτε με όξινη έκπλυση της «κρέμας» της βιομάζας σε τακτά χρονικά διαστήματα, να αποφεύγεται η ανάπτυξη των βακτηρίων, τα οποία παρουσιάζουν αδυναμία πολλαπλασιασμού σε pH κάτω του 3,7 [65].

Οι μικροοργανισμοί που θα χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να είναι κατάλληλοι για συνεχή καλλιέργεια, κατά προτίμηση σ' ένα στάδιο, ώστε να παραμένουν τα έξοδα εγκατάστασης και λειτουργίας σε χαμηλό επίπεδο. Για την συγκομιδή από το υγρό ζύμωσης, ιδιαίτερη σημασία έχει το μέγεθος των κυττάρων τους. Η παραλαβή τους σαν ίζημα, εφ' ενός,

όσο αυτή επιτρέπεται ποσοτικά, εξοικονομεί χρόνο φυγοκέντρωσης και ενδείκνυται για λόγους διατήρησης της βιομάζας σε ομογενείς συνθήκες, ενώ το ίδιο δεν ισχύει στην περίπτωση εξάτμισης του υγρού ζύμωσης μαζί με τη βιομάζα [65]. Η ενιαία μορφολογία του μικροβιακού κυττάρου είναι επίσης επιθυμητή αν απαιτείται η ξεχωριστή συλλογή της βιομάζας. Έτσι, πρέπει να απουσιάζουν τα ψευδο-μικκύλια. Εφόσον, δε, αυτό συμβαίνει, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν δυο διαφορετικές διαδικασίες παραλαβής: μια διήθηση για την απομάκρυνση των μυκηλίων και μια φυγοκέντρωση για την παραλαβή των μητρικών και θυγατρικών κυττάρων, γιατί ελλοχεύει ο κίνδυνος να κλείσουν οι είσοδοι του αέρα των διαχωριστών από τους μικροοργανισμούς νηματοειδούς τύπου. Επίσης τα ψευδο-μικκύλια αυξάνουν το ιξώδες του υγρού καλλιέργειας και συνεπώς το ενεργειακό κόστος [65]. Μετά την απομόνωση ενός μικροοργανισμού που να πληροί όλες αυτές τις ιδιότητες, θα πρέπει να ελεγχθεί το πρωτεϊνικό του περιεχόμενο καθώς και πιθανές βλαβερές συνέπειες της ένταξης του στο ανθρώπινο και ζωικό διαιτολόγιο [65].

Πίνακας 1.10: Η κατά μέσο όρο σύσταση των μικροοργανισμών (% σε ξηρό βάρος) [90]

	Μύκητες	Φύκη	Ζύμες	Βακτήρια
Πρωτεΐνη	30-45	40-60	45-55	50-65
Λίπος	2-8	7-20	2-6	1,5 – 3,0
Τέφρα	9-14	8-10	5-9, 5	3-7
Νουκλεϊκά οξέα	7-10	3-8	6-12	8-12

Πίνακας 1.11. Σύγκριση διαφόρων παραμέτρων των διεργασιών παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης από μικροοργανισμούς των τεσσάρων κατηγοριών [1]

Παράμετρος	Φύκη	Βακτήρια	Ζύμες	Μύκητες
Ρυθμός ανάπτυξης	Χαμηλός	Υψηλότερος όλων	Αρκετά υψηλός	Χαμηλότερος των βακτηρίων & ζυμών
Υπόστρωμα	CO ₂ & Ανόργανες ύλες	Ευρύ φάσμα	Ευρύ φάσμα	Κυρίως λιγνοκυταρίνη
Περιοχή pH	Μέχρι 11	5 – 7	5 – 7	3 – 8
Κίνδυνος μόλυνσης	Υψηλός & σοβαρός	Μέτριος	Χαμηλός	Πολύ χαμηλός εάν το pH κάτω του 5
Περιεχόμενο σε θειούχα αμινοξέα	Χαμηλό	Ανεπαρκές	Ανεπαρκές	Χαμηλό
Απομάκρυνση νουκλεϊκών οξέων	-	Απαιτείται	Απαιτείται	Απαιτείται
Τοξίνες	-	Ενδοτοξίνες από Gram-	-	Μυκητοξίνες

Πίνακας 1.12 Σύνθεση των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών αντιπροσωπευτικών τύπων μικροοργανισμών. (% ποσοστό βάρους) [1]

Συστατικό	Φύκη	Μύκητες	Βακτήρια
πρωτεΐνες	40-60 %	30-70 %	50-83 %
Συνολικό άζωτο (πρωτεΐνη+ νουκλεϊκά οξέα)	45-65	35-50	60-80
Λυσίνη	4, 6-7, 0	6, 5-7, 8	60-80
Μεθιονίνη	1, 4-2, 6	1, 5-1, 8	2, 2-3, 0
Λιπίδια	5-10	5-13	8-10
Υδατάνθρακες	9	-	-
Νουκλεϊκά οξέα	4-6	9,70	15-16
Μεταλλικά άλατα	7,6	6,6	8
Αμινοξέα	-	54	65
Τέφρα	3	-	-
Υγρασία	6,0	4,5-6,0	2,8
Ίνες	3		

Πίνακας 1.13 Σύνθεση (g ανά 100 g ξηρού βάρους) των μικροοργανισμών [37]

Μικροοργανισμός	Υπόστρωμα	Πρωτεΐνη	Λίπος	Υδατάνθρακες
Φύκη				
<i>Chlorella sorokiniana</i>	CO ₂	60	8	22
<i>Spirulina maxima</i>	CO ₂	62	3	
Βακτήρια				
<i>Cellulomonas sp.</i>	Κατάλοιπα αποχύμωσης	87	8	
<i>Methylomonas clara</i>	Methanol	80-85	8-10	
Ζύμες				
<i>Candida Lyphotylica</i>	Κανονικά αλκάνια	65	8,1	
<i>Candida utilis</i>	Αιθανόλη	52	7	
<i>Kluyvermyces fragilis</i>	Τυρόγαλα	54	1	
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Μελάσα	53	6, 3	
Μύκητες				
<i>Aspergillus niger</i>	Μελάσα	50		
<i>Morchella crassipes</i>	Γλυκόζη	31	3,1	
<i>Raecilomyces variotii</i>	Χαρτοπολτός	55	1,3	25

Για τον υπολογισμό της θρεπτικής αξίας των SCP's παράγοντες όπως η σύνθεση και το προφίλ αμινοξέων, το περιεχόμενο βιταμινών και νουκλεϊκών οξέων καθώς και η γεύση, οι πιθανόν προκαλούμενες αλλεργίες και γαστρεντερικές επιπτώσεις, λαμβάνονται υπ' όψιν [9]. Επιπρόσθετα, μακροπρόθεσμες επιπτώσεις μπορούν να προβλεφθούν ύστερα από τοξικολογικό και έλεγχο και έλεγχο καρκινογένεσης. Στο πίνακα φαίνεται κατά μέσο όρο η σύσταση των κύριων ομάδων μικροοργανισμών σε (% ξηρό βάρος).

Η βακτηριακή πρωτεΐνη είναι παρόμοια με την πρωτεΐνη του ψαριού, η πρωτεΐνη της ζύμης παρομοιάζει αυτή της σόγιας και των μυκήτων είναι ελαφρώς υποδεέστερη αυτής των ζυμών. Είναι γνωστό ότι οι μικροβιακές πρωτεΐνες είναι ελλιπείς στα μετα-θείου αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη και απαιτούν συμπλήρωση, ενώ παράλληλα έχουν να επιδείξουν υψηλότερα επίπεδα λυσίνης [7].

Μύκητες

Οι μύκητες έτυχαν μικρής προσοχής όσον αφορά την παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών για δυο λόγους. Πρώτον γιατί θεωρούνται εν γένει αργά αναπτυσσόμενοι μικροοργανισμοί, και δεύτερον γιατί ελλοχεύει ο κίνδυνος της παραγωγής μυκητοξινών κατά την καλλιέργεια τους. Παρουσιάζουν όμως και σημαντικά πλεονεκτήματα, όπως η δυνατότητα επιβίωσης σε χαμηλό pH και έτσι ελαχιστοποιείται το πρόβλημα της μόλυνσης. Εξαιτίας του μεγέθους μπορούν να συλλεγούν πιο οικονομικά, από το μίγμα της ζύμωσης. Οι μύκητες που σήμερα καλλιεργούνται σε εμπορική κλίμακα είναι τα μανιτάρια και αναπτύσσονται σε μεγάλη ποικιλία υποστρωμάτων. Τέτοια είναι μη ζυμωμένα φρέσκα λιγνοκυτταρινούχα υλικά, όπως π.χ. το άχυρο που χρησιμοποιείται για το γένος *Pleurotus*, παραπροϊόντα ξύλου (π.χ. πριονίδια) για τον *Lentinula edodes*, αλλά και λίγο ζυμωμένα (για 2-4 ημέρες) υποστρώματα όπως π.χ. τα υπολείμματα βαμβακιού ή το άχυρο ρυζιού στην περίπτωση της *Volvariella volvacea*. Το πλέον απαιτητικό μανιτάρι *Agaricus bisporus* καλλιεργείται σε υπόστρωμα *compost* με βάση το άχυρο σίτου (πηγή άνθρακα), γύψο (ρύθμιση pH, δομής) και κοπριά ορνίθων για εμπλουτισμό σε άζωτο και υδατάνθρακες μικρού μοριακού βάρους και που παρασκευάζεται με ελεγχόμενη διαδικασία αεροβίων ζυμώσεων. (Σκοπός της κομποστοποίησης είναι να παραχθεί ένα υπόστρωμα εκλεκτικό δηλ. να καλύπτει τις θρεπτικές απαιτήσεις του μύκητα, αλλά επίσης να παρέχει τις φυσικές και χημικές συνθήκες που αυξάνουν την ανταγωνιστική ικανότητα του μύκητα απέναντι στους άλλους μικροοργανισμούς). Αντίθετα, στην εμπορική καλλιέργεια άλλων μυκήτων όπως π.χ. των γενών *Pleurotus*, *Volvariella*, *Flammulina* και *Stropharia* μπορούν να χρησιμοποιηθούν μη ζυμωμένα υλικά. Αυτά τα υλικά μπορεί να είναι αποστειρωμένα ή

παστεριωμένα, ή μπορεί να χρησιμοποιούνται χωρίς να έχουν υποστεί καμιά θερμική επεξεργασία [33,32,35]. Γενικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι σε συνήθεις ενεργότητες νερού, οι μύκητες παρουσιάζουν πλουσιότερη ανάπτυξη συγκρινόμενοι με βακτήρια και φύκη.

Πίνακας 1.14. Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα των μυκήτων [35]

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
<ul style="list-style-type: none"> • Όχι υψηλό νουκλεϊκό περιεχόμενο • Περιέχουν μέχρι ενός ορίου τις βιταμίνες του συμπλέγματος Β • Σε συνήθεις ενεργότητες νερού παρουσιάζουν πλουσιότερη ανάπτυξη από βακτήρια και φύκη 	<ul style="list-style-type: none"> • Όποια τοξική ουσία τυχόν βρεθεί στο υπόστρωμα, περνάει στο μανιτάρι. • Ύπαρξη μυκητοξινών • Αργοί ρυθμοί ανάπτυξης (μέγιστος απαιτούμενος χρόνος 18 ώρες, ενώ για βακτήρια και ζύμες είναι 30 λεπτά και 4 ώρες αντίστοιχα) • Επιδεικνύουν περιεχόμενο νουκλεϊκού οξέος 9,7%

Ιδιαίτερη μνεία θα πρέπει να γίνει για τη θεραπευτική αξία των μυκήτων. Παρότι τα φύκη είναι τόσο πλούσια σε βιταμίνες, οι μύκητες παρέχουν μέχρι ενός ορίου τις βιταμίνες του συμπλέγματος Β. Παράλληλα επιδεικνύουν περιεχόμενο νουκλεϊκού οξέος (9,7 %). Η σύνθεση αμινοξέων των ποικιλιών *Aspergillus niger*, σύμφωνα με τα τις απαιτήσεις του FAO, είναι ισορροπημένη όπως φαίνεται στον πίνακα 1.15. [1]

Όσον αφορά τους μύκητες, πρόβλημα αποτελεί η παρουσία μυκητοξινών σε συγκεκριμένα είδη όπως *Aspergillus parasiticus* και *Aspergillus Flavus*. Αυτές ευθύνονται για διάφορες αλλεργικές αντιδράσεις, επιδημικές ασθένειες και καρκίνο ήπατος σε ζώα και ανθρώπους [7]. Στον πίνακα 1.14 φαίνονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των μυκήτων σε σχέση με τους λοιπούς χρησιμοποιούμενους μικροοργανισμούς.

Πίνακας 1.15: Σύγκριση της σύνθεσης της πρωτεΐνης του μύκητα *Aspergillus niger* συγκρινόμενη με τις προδιαγραφές του FAO [1]

% αμινοξέα	Προδιαγραφές FAO	<i>Aspergillus niger</i>
Βαλίνη	4,20	4,36
Λευκίνη	4,80	6,80
Ισολευκίνη	4,20	3,75
Λυσίνη	4,20	4,50
Μεθιονίνη	2,20	0,35
Φαινυλανίνη	2,80	5,70
Κυστίνη	2,80	ίχνη
Τυροσίνη	2,80	3,00

Φύκη

Η κατάταξη των φυκών μεταξύ των μικροοργανισμών που ενδιαφέρουν πηγάζει από την ιδιότητα τους να πολλαπλασιάζονται καταναλώνοντας CO₂ ως μοναδική πηγή άνθρακα. Κάποια γένη όπως το *Cyanophyta* μπορούν να χρησιμοποιήσουν και το ατμοσφαιρικό άζωτο. Η παραγωγή τους λαμβάνει χώρα σε φυσικά υδάτινα συστήματα (waterbodies) όπως λίμνες, λάκκους, στέρνες. Τα φύκη αποτελούν παραδοσιακά διατροφικό είδος για πληθυσμούς στο Μεξικό (*Spirulina platensis*) και άλλες χώρες (*Spirulina maxima*) [35,7]. Παρά το γεγονός ότι τα φύκη είναι καλές θρεπτικές πηγές, υπάρχουν περιορισμοί για ανθρώπινη κατανάλωση. Ο πιο σημαντικός είναι το αλγινικό κυτταρικό τοίχωμα για τη διάσπαση του οποίου ο άνθρωπος δεν διαθέτει το ένζυμο κυτταρινάση, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να το πέψει. Εάν οι μονοκυτταρικές πρωτεΐνες προοριστούν για ζωοτροφή, δεν απαιτείται το στάδιο της διάσπασης του κυτταρικού τοιχώματος που θα προηγηθεί απαραίτητως εάν προοριστούν για ανθρώπινη κατανάλωση. Τα ζώα εκτροφής διαθέτουν τα απαραίτητα συμβιωτικά βακτήρια διάσπασης στο ανώτερο γαστρεντερικό τους σύστημα [7]. Στον πίνακα 1.16 φαίνονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των άλγεων σε σχέση με τους λοιπούς χρησιμοποιούμενους μικροοργανισμούς.

Αναφερόμενοι στη θρεπτική αξία των φυκών, θα πρέπει να τονίσουμε ότι είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, λίπη και βιταμίνες A, B, C, D, και E. Τα φύκη του πλανητόν είναι εξαιρετικές πηγές βιταμινών A και D και η ποικιλία *Macrocystis* είναι πλούσια σε A και E. Η B βρέθηκε στις ποικιλίες *Ulva*, *Enteromorpha*, *Laminaria*, *Alaria valida* και *Porphyra*. Η C βρέθηκε σε *Ulva*, *Enteromorpha*, *Alaria valida*, μεταξύ άλλων. Τα *Dulse* περιέχουν την μισή ποσότητα βιταμίνης C από τα πορτοκάλια, τα *Fucoids* και τα *Porphyra* είναι ακόμα πλουσιότερα. Η παραγωγή γάλακτος των βοοειδών έχει δημοσιευθεί ότι εμπλουτίζεται όταν περιέχονται *Pelvetia*, στην διατροφή τους. Πέραν όμως των βιταμινών τα φύκη περιέχουν 40–60% πρωτεΐνες, 7% μεταλλικά άλατα, χλωροφύλλη, στεροειδείς ενώσεις, χρωστικές ίνες, και έχουν χαμηλό περιεχόμενο νουκλεϊκού οξέος (4–6%) [1,7].

Πίνακας 1.16 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα των άλγεων [35]

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
<ul style="list-style-type: none">• Συλλέγοντα εύκολα• Χαμηλό περιεχόμενο σε νουκλεϊκά οξέα 4 - 6%.• Πλούσια σε βιταμίνες A, D, και E ενώ περιέχουν και B, C.	<ul style="list-style-type: none">• Πολλαπλασιάζονται αργά• Έχουν χαμηλή περιεκτικότητα στα μετα - θείου αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη.• Το κόστος επενδύσεων θα πρέπει να περιλαμβάνει τεχνητές λίμνες άρα υψηλό.• Αλγινικό κυτταρικό τοίχωμα

Πίνακας 1.17: Απαραίτητα αμινοξέα περιεχόμενα στο πρωτεϊνικό κύτταρο σε σύγκριση με πρωτεΐνες αναφοράς (gr αμινοξέος ανά 100gr πρωτεΐνης) [7]

αμινοξύ	<i>Cellulomonas</i>	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	<i>Spirulina maxima</i>	<i>Penicillium notatum</i>	BP (scp)	σίτος	αγό	γάλα βοοειδών
Λυσίνη	7,6	7,7	4,6	3,9	7,0	2,8	6,3	7,8
Θρεονίνη	5,4	4,8	4,6	-	4,9	2,9	5,0	4,6
Μεθιονίνη	2,0	1,7	1,4	1	1,8	1,5	3,2	2,4
Κυστεΐνη	-	-	0,4	-	-	2,5	2,4	-
Θρυπτοφαΐνη	-	1,0	1,4	1,25	-	1,1	1,6	-
Ισολευκίνη	5,3	4,6	6,0	3,2	4,5	3,3	6,8	6,4
Λευκίνη	7,3	7,0	8,0	5,5	7,0	6,7	9,0	9,9
Βαλίνη	7,1	5,3	6,5	3,9	5,4	4,4	7,4	6,9
Φαινυλανίνη	4,6	4,1	5,0	2,8	4,4	4,5	6,3	4,9
Ιστιδίνη	7,8	2,7	-	-	2,0	-	-	-
Αργινίνη	6,4	2,4	-	-	4,8	-	-	-

Οι βιταμίνες είναι κυρίως του συμπλέγματος Β. Η Β12 συναντάται κυρίως στα βακτήρια, ενώ η Α στα φύκη. Στον πίνακα φαίνεται το περιεχόμενο βιταμινών των διαφόρων μικροοργανισμών.

Πίνακας 1.18: Περιεχόμενο βιταμινών μικροοργανισμών (mg/100 g dry weight) [7]

Βιταμίνες	<i>Morchella Hortensis</i>	<i>Candida utilis</i>	<i>Sacharomyces Cerevisiae</i>	<i>Methylomonas Methanica</i>
Θυαμίνη	0,52	0,53	5-36	1,81
Ριβαφλαβίνη	1,31	4,50	3,6-4,2	4,82
Νιασίνη	12,4	41,73	80-100	15-9
Πυριδοξίνη	2,62	3,34	2,5-10	14,3
Παντοθενικό οξύ	12,6	3,72	10	2,42
χολίνη	4,61	-	-	968,0
Φολικό οξύ	1,09	2,15	1,5-8,0	-
Ινοσιτόλη	1,78	-	-	-
Β12	0	0	0	0,96
Π-αμινοβενζοϊκό οξύ	-	1,7	0,9-10	-

Βακτήρια

Τα μονοκυτταρικά βακτήρια είναι πλούσια σε πρωτεΐνη και στα απαραίτητα αμινοξέα. Το περιεχόμενο σε ακατέργαστη πρωτεΐνη είναι της τάξης του 80% του συνολικού ξηρού βάρους. Το περιεχόμενο νουκλεϊκό οξύ είναι υψηλό, δηλαδή σε ξηρή βάση αναφέρεται να είναι της τάξης του 15–16%. Η βακτηριακή μονοκυτταρική πρωτεΐνη είναι πλούσια σε μεθειονίνη, περίπου 2,2–3,0%, η οποία είναι συγκριτικά υψηλότερη αυτής των φυκιών (1,4 – 2,6%) και των μυκήτων (2,5–1,8%) Η σύνθεση σε απαραίτητα αμινοξέα των διαφόρων *Lactobacilli* φαίνεται συγκρίσιμη με την πρωτεΐνη αναφοράς του FAO και την SCP άλλων πηγών [1]. Η βακτηριακή πρωτεΐνη είναι παρόμοια με την πρωτεΐνη του ψαριού, η πρωτεΐνη της ζύμης αρτοποιείας παρομοιάζει αυτή της σόγιας και των μυκήτων είναι ελαφρώς υποδεέστερη αυτής των ζυμών. Είναι γνωστό ότι οι μικροβιακές πρωτεΐνες είναι ελλειπείς στα μετά θείου αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη και απαιτούν συμπλήρωση, ενώ παράλληλα έχουν να επιδείξουν υψηλότερα επίπεδα λυσίνης [7]. Για την κατανάλωση βακτηρίων το κύριο εμπόδιο αποτελεί το υψηλό κόστος. Τα κύτταρα έχουν πολύ μικρό μέγεθος και πρέπει να συσσωματωθούν πολλά πριν υποστούν φυγοκέντριση. Παράλληλα το νουκλεϊκό περιεχόμενο τους είναι απαγορευτικό [7].

Ζύμες

Οι ζύμες είναι οι πρώτοι μικροοργανισμοί που έγιναν γνωστοί, οι πλέον μελετημένοι και αποδεκτοί από τον άνθρωπο. Περιλαμβάνουν 39 γένη στα οποία ταξινομούνται 349 είδη, ανάλογα με τις μορφολογικές, βιοχημικές και γενετικές ιδιότητές τους [84]. Έχει διατυπωθεί [72] ότι ζύμες χαρακτηρίζονται γενικά οι μύκητες που δεν παράγουν ευδιάκριτα σεξουαλικά σπόρια (κονίδια) και βιώνουν ολόκληρο τον βλαστικό κύκλο σαν ανεξάρτητα κύτταρα [72]. Ζύμες αναπτύσσονται στα περισσότερα από τα διαθέσιμα υποστρώματα όπως μελάσες, τυρόγαλα, φυσικό αέριο, παραφίνες, μεθανόλη, αιθανόλη [40]. Στα πλεονεκτήματά τους περιλαμβάνεται το γεγονός ότι σπάνια είναι τοξικές ή παθογενείς και έτσι μπορούν να χρησιμοποιούν στην ανθρώπινη διαίτα. Άλλο πλεονέκτημα αποτελεί η ικανοποιητική περιεκτικότητά τους σε απαραίτητα αμινοξέα όπως λυσίνη (6-9 %), θρυπτοφαίνη και θρεονίνη. Το μέγεθός τους, που είναι μεγαλύτερο αυτού των βακτηρίων, διευκολύνει την τελική συγκομιδή. Η σύνθεση σε βιταμίνες είναι πλούσια (θυαμίνη, ριβοφλαβίνη, βιοτίνη, νιασίνη, παντοθενικό οξύ, πυριδοξίνη, χολίνη, στρεπτογενίνη, γλουταθιόνη, φολικό οξύ, και π-αμινο βενζοϊκό οξύ)[35]. Τα δυο κύρια μειονεκτήματά τους είναι το χαμηλό πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο που δεν ξεπερνά το 60% και ο αργός ρυθμός ανάπτυξης (2-5 ώρες) [35].

Πίνακας 1.19 Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα των ζυμών [35]

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
<ul style="list-style-type: none"> • Σπάνια είναι τοξικές ή παθογενείς, μπορούν να χρησιμοποιούν στην ανθρώπινη διαίτα • Έχουν ικανοποιητική περιεκτικότητα τους σε απαραίτητα αμινοξέα όπως λυσίνη [6 με 9%], θρυπτοφαίνη και θρεονίνη • Μέγεθος του που είναι μεγαλύτερο αυτού των βακτηρίων, διευκολύνοντας την τελική συγκομιδή • Περιεκτικότητα βιταμίνες: θυαμίνη, ριβοφλαβίνη, βιοτίνη, νιασίνη, παντοθενικό οξύ, πυριδοξίνη, χολίνη, στρεπτογενίνη, γλουταθιόνη, φολικό οξύ, και π-αμινο βενζοϊκό οξύ 	<ul style="list-style-type: none"> • Χαμηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο που δεν ξεπερνά το 60% • Αργός ρυθμός ανάπτυξης (2 ως 5 ώρες)

Το πρόβλημα των τοξινών

Οι μυκητοξίνες παράγονται από συγκεκριμένους μύκητες σε stationary phase ως δευτερογενείς μεταβολίτες, και μάλιστα σε συγκεκριμένο στάδιο του κύκλου ζωής τους. Έτσι θα μπορούσε να θεωρηθεί εφικτή η παρεμπόδιση της παραγωγής μυκητοξίνης με ανάπτυξη του οργανισμού με πολύ γρήγορους ρυθμούς [2]. Οι πιο διάσημες μυκητοξίνες περιλαμβάνουν την αφλατοξίνη τύπου B1, B2, G1 και G2 από τον μύκητα *Aspergillus flavus*. Εκτός από αυτή, οι οχρατοξίνες είναι εξίσου επικίνδυνες και παράγονται από τον *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* και *Aspergillus oryzae*. Οχρατοξίνες έχουν παρατηρηθεί στα είδη *Aspergillus sp.* και *Penicillium sp.*, έχοντας την οχρατοξίνη A σε μεγαλύτερη αφθονία εκ των πέντε που αποτελούν την οικογένεια, και προκαλούν βλάβη στο συκώτι και στα νεφρά. Η επόμενη γνωστή ομάδα είναι οι τριχοθεσίνες. Αυτές έχουν 80 τύπους και προκαλούν κυρίως δερματίτιδες και αιματοποιητικές ανωμαλίες. Πριν μερικά χρόνια οι μυκητοξίνες αποτέλεσαν αντικείμενο ευρέως προβληματισμού καθώς πληθώρα από γαλοπούλες ψόφησαν από αφατοξίνη που περιείχετο στην τροφή τους. Ακόμα και εάν χρησιμοποιηθούν μη τοξικογενή είδη στην καλλιέργεια μονοκυτταρικών πρωτεϊνών, μολυσμένοι πληθυσμοί συχνά παράγουν τοξίνες στο υπόστρωμα. Ακόμα και ασήμαντες ποσότητες μυκητοξινών είναι ικανές να προκαλέσουν αλλεργίες, ασθένειες, εξανθήματα, νευροτοξικότητα, και άλλες ανωμαλίες. Η έρευνα για την απομάκρυνση των μυκητοξινών από της μονοκυτταρικές πρωτεΐνες που οδεύουν προς κατανάλωση, έχει επικεντρωθεί στην απομάκρυνση της αφλατοξίνης. Μεταξύ των μεθόδων που έχουν χρησιμοποιηθεί η αμμωνίωση είναι η πιο επιτυχής, καθώς μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της κατά 99%. Παράλληλα όταν ο μύκητας *Aspergillus flavus* συγκαλλιεργείται με άλλα μικρόβια, η ικανότητα του να παράγει τοξίνη φαίνεται να μειώνεται. Πρόσφατα έχει γίνει χρήση τεχνικών μοριακής βιολογίας για αποτοξίνωση και περιορισμό γονιδίων υπευθύνων για

σύνθεση μυκητοξινών. Όταν οι μονοκυτταρικές πρωτεΐνες προορίζονται για ζωική κατανάλωση τα επίπεδα ανεκτικότητας σε τοξίνες είναι γενικά υψηλότερα.

Το πρόβλημα των νουκλεϊκών οξέων

Περίπου το 70-80 % του συνολικού άζωτου του κυττάρου αντιπροσωπεύεται από τα αμινοξέα ενώ το υπόλοιπο συναντάται στα νουκλεϊκά οξέα. Η περιεκτικότητα σε νουκλεϊκά οξέα είναι υψηλότερη αυτής των συμβατικών πρωτεϊνών, στοιχείο τυπικό για όλους τους ταχέως αναπτυσσόμενους οργανισμούς. Τα βακτήρια, για παράδειγμα περιέχουν νουκλεϊκά οξέα μέχρι και 16% του ξηρού τους βάρους [1]. Το πρόβλημα που προκύπτει από την κατανάλωση πρωτεϊνών με υψηλά επίπεδα νουκλεϊκού οξέως (78-25 g/100 g ξηρής πρωτεΐνης), είναι το υψηλό επίπεδο ουρικού οξέως (προϊόν του μεταβολισμού του αμινοξέος πουρίνη) στο αίμα, που συχνά οδηγεί σε ουρική αρθρίτιδα [20]. Κατανάλωση περισσότερων των 2g ισοδυνάμων νουκλεϊκού οξέως την ημέρα μπορεί να δημιουργήσει πέτρα στα νεφρά [1]. Οι εναποθέσεις κρυστάλλων ουρικού οξέος αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα της ουρικής αρθρίτιδας, ασθένειας που οφείλεται στο λανθασμένο μεταβολισμό της πουρίνης. Η ουρική αρθρίτιδα οφείλεται σε γενετικές ανωμαλίες κατά το μεταβολισμό του ουρικού οξέος που οδηγούν σε υπερβολική αύξηση του ουρικού οξέος στα σωματικά υγρά και σε εναπόθεση κρυστάλλων στους ιστούς. Στον άνθρωπο, σε αντίθεση με τους περισσότερους οργανισμούς, δεν υπάρχει το ένζυμο ουρικάση και έτσι το ουρικό οξύ αποτελεί το τελικό προϊόν του μεταβολισμού της πουρίνης. Η μείωση του νουκλεϊκού περιεχομένου επιτυγχάνεται με μια από τις παρακάτω διεργασίες :

- χημική επεξεργασία με NaOH
- επεξεργασία των κυτάρων με 10% NaCl
- θερμικό σοκ
- ενεργοποίηση του ενζύμου της ενδογενούς RNAάσης [7,1]

Η ενεργοποίηση αυτή επιτυγχάνεται με απότομη έκθεση στους 60–70 °C για 20 λεπτά, αλκαλική υδρόλυση των νουκλεϊκών οξέων, τροποποίηση των συνθηκών καλλιέργειας με σεβασμό στο περιεχόμενο άζωτο, άνθρακα, φώσφορο, και ψευδάργυρο ή εκχύλιση και απομάκρυνση των νουκλεϊκών οξέων με παράλληλη πρωτεϊνική απώλεια 6-10% [1].

1.6 Θρεπτικές απαιτήσεις για την παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης

Η λεπτομερής τεχνική για την παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης εξαρτάται από το είδος της παραγωγικής διαδικασίας, εν τούτοις, σ' όλες τις διαδικασίες παραγωγής κυτταρικής πρωτεΐνης από ζύμες καθώς και από άλλους μικροοργανισμούς, υπάρχουν ορισμένες βασικές απαιτήσεις για την ανάπτυξη αυτών. Αυτές οι χαρακτηριστικές ανάγκες είναι κοινές για όλες τις διαδικασίες αερόβιας ζύμωσης.

Ανθρακικό υπόστρωμα

Το υπόστρωμα δεν είναι μόνο η κύρια πηγή άνθρακα αλλά και ενέργειας, για την παραγωγή του κυττάρου. Ο Pasteur διαπίστωσε ότι υπό αερόβιες συνθήκες το ποσό του άνθρακα που καταναλώνεται υπό αερόβιες συνθήκες είναι σχεδόν το μισό του συνολικού άνθρακα ενώ το υπόλοιπο χρησιμοποιείται για τη δημιουργία του κυττάρου [72]. Για τους μη φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται σε συνθήκες διαλείποντος έργου, η συγκέντρωση της πηγής άνθρακα και ενέργειας κυμαίνεται μεταξύ 1-5% όταν χρησιμοποιούνται διαλυτοί υδατάνθρακες ενώ όταν χρησιμοποιούνται αλκάνια και αλκοόλες, η συγκέντρωση είναι μικρότερη ή ίση του 1% για συνεχή διεργασία [73]. Κατά τη διάρκεια της αερόβιας ανάπτυξης των μικροοργανισμών παρατηρείται μεγάλη αύξηση της διαθέσιμης ενέργειας. Έτσι, από την οξείδωση 1 γραμμομορίου γλυκόζης παράγονται 38 γραμμομόρια φωσφορικών αλάτων υψηλής ενέργειας, ενώ κατά την αναερόβια ζύμωση παράγονται 2 γραμμομόρια τέτοιων αλάτων.

Άζωτο

Από την ποσότητα αζώτου που υπάρχει μέσα στο κύτταρο υπό μορφή πρωτεΐνης, νουκλεϊκών οξέων και ενζύμων, μπορεί κάποιος να εκτιμήσει τη μεγάλη σημασία της πηγής αζώτου στην παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης [72]. Το άζωτο τροφοδοτείται στο σύστημα υπό τη μορφή αλάτων αμμωνίου, αμινοξέων, ουρίας και άλλων ενώσεων αζώτου, σε ιδιαίτερα αυξημένα ποσά για να αποφευχθούν σημαντικές μεταβολές του pH του συστήματος [72]. Είναι απαραίτητο να ρυθμιστεί η παροχή της πηγής αζώτου κατά τέτοιον τρόπο ώστε η αναλογία πηγής άνθρακα προς πηγή αζώτου να διατηρείται σε επίπεδο 10/1. Έτσι, μειώνεται η συσσώρευση λιπιδίων και άλλων ανεπιθύμητων ενώσεων και ευνοείται η αύξηση της περιεκτικότητας του κυττάρου σε πρωτεΐνη [73].

Οξυγόνο

Ο ρόλος του οξυγόνου είναι πολύ σημαντικός, μια και κάτω από αναερόβιες συνθήκες, ορισμένοι μικροοργανισμοί είναι ικανοί να συνεχίσουν να αναπτύσσονται χωρίς να επιτευχθεί πλήρης οξείδωση του υποστρώματος. Το μη οξειδωμένο ποσοστό του υποστρώματος μετατρέπεται σε αιθανόλη, οξικό οξύ κ.α. και έτσι χάνεται πολύτιμη πηγή ενέργειας για τα κύτταρα. Σε αερόβιες συνθήκες ανάπτυξης, η ιδανική διάσπαση του υποστρώματος διαπιστώνεται από τα τελικά προϊόντα οξείδωσης, τα οποία είναι το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό [72]. Οι ποσότητες της παραγόμενης κυτταρικής μάζας και της παρεχόμενης ποσότητας οξυγόνου αυξάνουν στην περίπτωση υδρογονανθρακικού υποστρώματος [72]. Κατά το σχεδιασμό των βιοατιδραστήρων, η ανάδευση υπολογίζεται όχι με βάση τις ανάγκες ανάμιξης του υποστρώματος, αλλά με εκείνες της μεταφοράς οξυγόνου και αυτό γιατί οι βιολογικές αντιδράσεις, λόγω της χαμηλής ταχύτητάς τους, απαιτούν ρυθμούς ανάδευσης, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να υπερνικούνται τα προβλήματα μεταφοράς μάζας από το θρεπτικό υπόστρωμα προς το κύτταρο [75].

Φωσφόρος

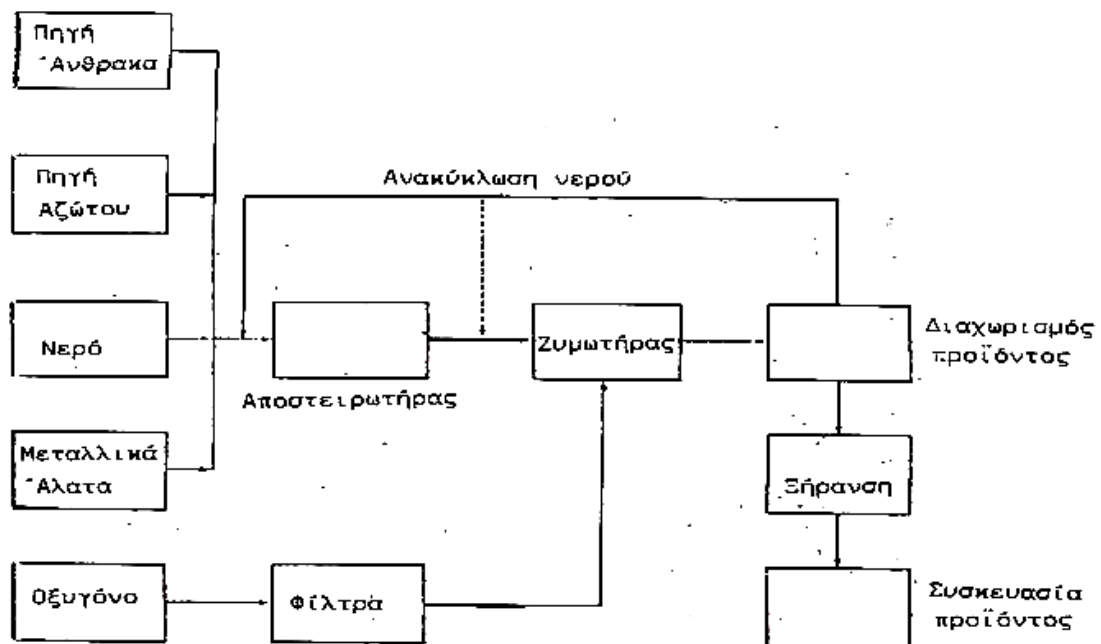
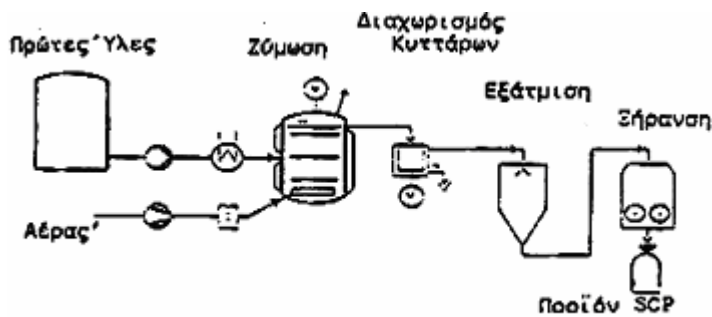
Διαλυτά φωσφορικά άλατα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των κυττάρων και τροφοδοτούνται στο σύστημα με φωσφορικό οξύ ή άλατα [72,73].

Ανόργανα στοιχεία

Στοιχεία όπως K, Mg και S είναι απαραίτητα για την παραγωγή ζύμης, ενώ στοιχεία όπως το Ca και το Mn τροφοδοτούνται στο σύστημα για προληπτικούς λόγους. Απαραίτητα ιχνοστοιχεία είναι ο Cu, ο Fe, και ο Zn, τα οποία όμως θα πρέπει να προστίθεται υπό μορφή θεικών αλάτων ή υδροξειδίων αντί χλωριούχων ενώσεων τους ώστε αποφεύγονται φαινόμενα διάβρωσης του εξοπλισμού και το αντιδραστήρα ζύμωσης [72,73]. Σαν πηγή μεταλλικών στοιχείων μπορεί να χρησιμοποιηθεί φυσικό νερό [73]. Στα σχήματα 1.20 και 1.21 απεικονίζεται η πορεία που ακολουθείται μέχρι το προϊόν να είναι έτοιμο να εισέλθει στην αγορά.

Η επιλογή των πρώτων υλών παίζει σημαντικό ρόλο σε μια διεργασία. Αποτελεί συνάντηση των ενδογενών χαρακτηριστικών του υποστρώματος άνθρακα (στερεό, υγρό, αέριο), της σύστασης του και της κατάστασης οξείδωσης του. Η διεργασία σχεδιάζεται έτσι ώστε να προωθεί και να βελτιώνει την παραγωγή της κυτταρικής πρωτεΐνης. Οι πιο σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν στο σχεδιασμό της διεργασίας είναι:

- συντελεστής απόδοσης σε κυτταρική μάζα (kg κυτταρικής μάζας/ kg υποστρώματος)
- Η παραγωγικότητα (kg βιομάζας / h / m³)
- Η διαλυτότητα του υποστρώματος στο μέσο καλλιέργειας.
- Η θερμότητα στις ζύμωσης (kcal / kg κυτταρικής μάζας)
- Η αποτελεσματικότητα της ζύμωσης (kg υποστρώματος / kg κυτταρικής μάζας)
- Η αντίσταση στη μόλυνση από άλλους μικροοργανισμούς (το pH της διεργασίας)



Σχήματα 1.20 και 1.21. Πορεία παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης [66]

Οι βιομηχανικές εφαρμογές βασίζονται στη ζύμωση συνεχούς έργου. Μ' αυτό τον τρόπο εξυπηρετούνται οι ακόλουθοι σκοποί :

- Η εξασφάλιση της παραγωγής προϊόντος σταθερής ποιότητας
- Η καλύτερη εκμετάλλευση του όγκου του αντιδραστήρα ζύμωση και του εξοπλισμού.
- Η αποτελεσματική αποφυγή μόλυνσης από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς [72]

1.7 Κατηγορίες υποστρώματων

Η επιλογή υποστρώματος είναι πρωταρχικής σημασίας για την κατάστροψη στρατηγικής και πορείας στην παραγωγής μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Τα συναντούμενα στην βιβλιογραφία υποστρώματα διακρίνονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες, τις πρωτογενείς ύλες και τα απόβλητα ή παραπροϊόντα βιομηχανικών διεργασιών. Υποκατηγορίες αυτών αποτελούν τα υδρογονανθρακικά υποστρώματα και τα υδατανθρακικά.

Υδρογονανθρακικά υποστρώματα

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται τα προϊόντα της πετροχημικής βιομηχανίας. Η χρήση υδρογονανθράκων ως υπόστρωμα για παραγωγή πρωτεϊνικής βιομάζας παρουσιάζει δυσκολίες, οφειλόμενες στην πολύ χαμηλή διαλυτότητα αυτών στο νερό και στον αυξημένο βαθμό αερισμού (ανάδευσης) που χρειάζεται για τον μεταβολισμό. Το υπόστρωμα στερείται εντελώς την παρουσία οξυγόνου, στοιχείου απαραίτητου για την δράση των αερόβιων μικροοργανισμών, γεγονός που ανεβάζει το κόστος της διεργασίας λόγω του υψηλού κόστους ανάδευσης της καλλιέργειας. Η διεργασία οξυγόνωσης είναι ισχυρά εξώθερμη και το κόστος ψύξης είναι συγκριτικά υψηλό. Οι υπόνοιες για τοξική μόλυνση των πληθυσμών με υπόστρωμα έχει οδηγήσει τις μεθόδους αυτές σε αχρηστία [32]. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται τα κανονικά αλκάνια, το μεθάνιο, η μεθανόλη και η αιθανόλη.

Στην αρχή των 1950 η British Petroleum (BP) άρχισε να ενδιαφέρεται για καλλιέργεια μικροοργανισμών με υπόβαθρο αλκάνια $C_{12}-C_{20}$. Αυτά αποτελούν το παραφινικό κλάσμα του αεριολαίου σε ποσοστό μέχρι 15%, τα οποία και πρέπει να απομακρύνονται καθώς καθιστούν το πετρέλαιο παχύρρευστο και συμπυκνούμενο σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Το μεθάνιο είναι φθηνό, απαντάται σε αφθονία και δε παρουσιάζει τα προβλήματα τοξικότητας των λοιπών αλκανίων. Είναι συστατικό του φυσικού αερίου καθώς και παράγωγο της αναερόβιας ζύμωσης οργανικής ύλης, γι' αυτό και μαζί με το διοξείδιο του άνθρακα αποτελούν το βιοαέριο που προέρχεται από τους χώρους ταφής απορριμμάτων σε αναλογία περίπου 1:1. Περιλαμβάνει την πιο ανηγμένη μορφή άνθρακα και συνεπώς δίνει υψηλές αποδόσεις κυττάρων συγκριτικά με τις ποσότητες του αερίου που καταναλώνονται. Οι μικροοργανισμοί *Methylomonas* και *Methylococcus* χρησιμοποιούν το μεθάνιο ως πηγή άνθρακα. Ως πηγή αζώτου μπορούν να χρησιμεύσουν νιτρικά ή αμμωνιακά άλατα [7]. Λόγω των εμφανιζομένων δυσκολιών στη χρήση του (αέριο σχεδόν αδιάλυτο στο νερό), στην πλειοψηφία των μεθόδων ακολουθείται πρωτόκολλο οξείδωσης του μεθανίου σε μεθανόλη η οποία είναι υγρό πλήρως αναμείξιμο με το νερό.

Η μεθανόλη είναι παραπροϊόν της βιομηχανίας πετροχημικών, και ως υπόστρωμα έχει το πλεονέκτημα της πτητικότητας που της επιτρέπει να εξαφανίζεται κατά την υγρή διεργασία ζύμωσης, και να μην παραμένει ως υπόλειμμα στην καλλιέργεια. Πολλά παραδείγματα χρήσης ζυμών, κυρίως των γενών *Hansenula*, *Pichia*, *Candida*, και *Torulopsis* εμφανίστηκαν στη δεκαετία του '70, που δε συνεχίστηκαν όμως αργότερα [32].

Η αιθανόλη, παρά την υψηλή της τιμή, έχει χρησιμοποιηθεί ως υπόβαθρο για παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Η εταιρία Amoco Company των ΗΠΑ χρησιμοποίησε την ζύμη "Torula". Το όνομα του προϊόντος ήταν "TORUTEIN" και κυκλοφόρησε σε Καναδά και Σουηδία.

Υδατανθρακικά υποστρώματα

Μια κατανομή ανάλογα με το είδος των υδατανθράκων που περιέχουν, δίνει τις εξής τρεις κατηγορίες

- Τα αμυλούχα προϊόντα (πατάτα, αραβόσιτος, δημητριακά)
- Σακχαρούχα προϊόντα (μελάσα, ζαχαροκάλαμο, ζαχαρότευτλα, τυρόγαλα)
- Τα κυτταρινούχα υλικά (ξύλο, στελέχη φυτών, αγροτικά προϊόντα) [28]

Το φθηνότερο και ευρύτερα διαδεδομένο υπόστρωμα είναι το άμυλο που προέρχεται από ευρύ φάσμα παραπροϊόντων αγροκαλλιέργειας όπως ρύζι, αραβόσιτος, δημητριακά. Είναι ένα μεγάλο μοριακού βάρους φυσικό πολυμερές της D-γλυκόζης και αποτελείται από μίγμα δυο μορφών του πολυμερούς την αμυλόζη και την αμυλοπικτίνη. Το άμυλο στους φυσικούς ιστούς βρίσκεται με την μορφή αμυλοκόκκων. Για να υδρολυθεί απαιτείται προηγουμένως να απορροφήσουν οι αμυλόκοκκοι μόρια νερού, να διογκωθούν και να γίνουν ευπρόσβλητοι στην ενζυματική ή χημική δράση. Στην περίπτωση που η υδρόλυση γίνεται με οξέα ή βάσεις σε υψηλές θερμοκρασίες δεν απαιτείται τέτοια προκατεργασία. Στην περίπτωση όμως της ενζυμικής υδρόλυσης, είναι απαραίτητα η θερμική προκατεργασία, πολλές φορές σε όξινο περιβάλλον [32].

Η μελάσα είναι παραπροϊόν της βιομηχανικής παραγωγής ζάχαρης και χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή οινοπνεύματος, ζυμών και ζωοτροφών. Το συμπυκνωμένο διάλυμα ζάχαρης που παραλαμβάνεται από άλεσμα των ζαχαρότευτλων ή ζαχαροκάλαμων, ψύχεται επιτρέποντας στην ζάχαρη να κρυσταλλωθεί. Όταν η κρυστάλλωση αυτή έχει ολοκληρωθεί, το απομένον διάλυμα που περιέχει 50 % σουκρόζη, απομονώνεται. Αυτό αποτελεί τη μελάσα. Από κάθε 100 kg εισερχόμενης πρώτης ύλης, παράγονται 3,5 ως 4,5 kg μελάσας [32]. Το γεγονός ότι οι μελάσες μπορούν να προέλθουν από την επεξεργασία τουλάχιστον δυο διαφορετικών φυτικών πηγών (ζαχαρότευτλα ή ζαχαροκάλαμα) ανάλογα με

το κλίμα και την θερμοκρασία του τόπου, τις καθιστά διαδεδομένες σε ευρύ φάσμα γεωγραφικών μηκών και πλατών.

Πίνακας 1.22: Μέσες τιμές συστατικών σε μελάσες προερχόμενες από ζαχαρότευτλα (beets) και ζαχαροκάλαμα (canes) σε 75% (w/w) ξηρό μέσο [32]

Συστατικά	Μελάσα ζαχαρότευτλου	Μελάσα ζαχαροκάλαμου
Ολικά σάκχαρα (%)	48-52	48-56
Μη σαχζαρούχα οργανική ύλη	12-17	9-12
Πρωτεΐνη (%)	6-10	2-4
Κάλιο(%)	2-7	1, 5-5, 0
Ασβέστιο (%)	0, 1-0, 5	0, 4-0, 8
Μαγνήσιο (%)	0, 09	0, 06
Φώσφορος (%)	0, 02-0, 07	0.6-2
Βιοτίνη (mg/kg)	0.02-0.15	0.6-2
Παντοθενικό οξύ (mg/kg)	50-110	15-55
Ινοσιτόλη (mg/kg)	5000-8000	2500-6000
Θυαμίμη	1, 3	1, 8

Τυρόγαλα είναι το απομένον υγρό μετά την απομάκρυνση πρωτεϊνών και λίπους από το γάλα. Παραδοσιακά προέρχεται από την διαδικασία αφαίρεσης της πέτσας του γάλακτος στην παρασκευή τυριού, αλλά πλέον προέρχεται και από την διεργασία υπερδιήθησης (ultra filtration), κατά την οποία το κλάσμα πρωτεϊνών που αντιπροσωπεύουν οι γαλακτοαλβουμίνες και γαλακτογλοβουλίνες, ενσωματώνεται με την καζεΐνη. Περίπου 9 kg τυρογάλακτος αποδίδονται για κάθε κιλό τυριού που παρασκευάζεται και το κυρίαρχο συστατικό είναι η λακτόζη (4-6%) (w/v) [32]. Το τυρόγαλα έχει αναγνωρισθεί ως ένα εξαιρετικό υπόστρωμα για παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Ο μικροοργανισμός του οποίου το όνομα έχει κατ' εξοχήν συνδεθεί με το τυρόγαλα είναι η ζύμη *Kluyveromyces fragilis*.

Πίνακας 1.23: σύνθεση τυρογάλακτος [32]

Συστατικό	% (w/v)
Νερό	92, 6 - 93, 5
Λακτόζη	4, 5 – 5, 2
πρωτεΐνες	0, 3 -1, 0
Μεταλλικά άλατα	0, 6 -0, 9
Γαλακτικό οξύ	0, 2 – 0, 3

Άλλο είδος υποστρώματος είναι η λιγνοκυτταρίνη (μίγμα λιγνίνης και κυτταρίνης), το οποίο είναι ένα γραμμικό ομοπολυμερές της μονοϋδρο-γλυκόζης. Τα μόρια αυτής είναι

ενωμένα με β-(1,4)-γλυκοζιτικούς δεσμούς. Το μήκος των μακρομορίων ποικίλει ανάλογα με την προέλευση. Κατά μέσο όρο παρουσιάζει ένα βαθμό πολυμερισμού περίπου 1000, ενώ το λευκό βαμβάκι έχει βαθμό πολυμερισμού γύρω στο 10000 [14]. Η μεγάλη αντίστασή της στην υδρόλυση δεν οφείλεται τόσο στην ίδια την δομή της όσο στην συνεργασία της με άλλες προστατευτικές δομές εντός του κυτταρικού τοιχώματος όπως η λιγνίνη, το άμυλο οι ημικυτταρίνες [16]. Η ελάττωση του μεγέθους των τεμαχίων λιγνο-κυτταρίνης, που επιτυγχάνεται κυρίως με άλεση, αυξάνει την προσβασιμότητα σε αυτή των μικροβίων και άρα την ζύμωσή της. Αυτό παρατηρείται τόσο στην υγρή όσο και στην ξηρή πρώτη ύλη. Η διεργασίες άλεσης είναι ενεργοβόρες, και έτσι προσθέτουν κόστος στην συνολική παραγωγή βιομάζας. Άλλη φυσική μέθοδος για την ελάττωση του μεγέθους των τμημάτων κυτταρίνης είναι η ακαριαία εφαρμογή υποπίεσης που προκαλεί πολλαπλά κατάγματα στο εσωτερικό κυτταρικό τοίχωμα των φυσικών ινών, αυξάνοντας έτσι της συνολική επιφάνεια. [2].

Τα λιγνοκυτταρινούχα αγροτικά και δασοκομικά παραπροϊόντα αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος του συνολικά δεσμευμένου άνθρακα μέσω της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης. Ωστόσο, μόνο ένα μικρό τμήμα της κυτταρίνης, ημικυτταρίνης και λιγνίνης που υπάρχει σ' αυτά χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή ή ως συστατικά αυτής, καθώς δεν αποτελούν υψηλής διαιτητικής αξίας τροφές (υψηλό ποσοστό ινών, χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, βιταμίνες και άλατα). Ακόμη και σήμερα τα υπολείμματα αυτά καίγονται ή παραμένουν για αποσύνθεση στον αγρό, δημιουργώντας έτσι περιβαλλοντικά προβλήματα. Παρόλα αυτά είναι πλούσια σε οργανική ουσία και ανόργανα στοιχεία, γεγονός που επιτρέπει την χρησιμοποίησή τους σαν υπόστρωμα καλλιέργειας μονοκυτταρικών πρωτεϊνών [35]. Η παγκόσμια παραγωγή σε άχυρο αγγίζει τους 600.000.000 τόνους ετησίως. Στην Ελλάδα τα άχυρα από σιτάρι και σίκαλη, τα δυο κυριότερα δημητριακά, υπολογίζεται στα 1,5 εκατ τόνους το χρόνο [7].

Για την αξιοποίησή της λιγνοκυτταρίνης απαιτείται προ-κατεργασία, για την οποία πλήθος μεθόδων έχουν κοινοποιηθεί, από επεξεργασία με αλκάλια ή οξέα, μέχρι έκθεση σε ατμό ακόμα και σε x-ray ακτινοβολία [7]. Έχουν δημοσιευθεί καλλιέργειες τόσο βακτηρίων όσο και μυκήτων και ζυμών σε λιγνοκυτταρικά υποστρώματα. Σήμερα η μόνη ευρέως διαδεδομένη αξιοποίηση λιγνο-κυτταρίνης είναι η παραγωγή μανιταριών από απορρίμματα [7]. Παρά την υπάρχουσα τεχνογνωσία για την καλλιέργεια μανιταριών *Agaricus bisporus* υπάρχουν και άλλα σημαντικά είδη περιέχοντα ένζυμα λιγνο-κυτταρίνης και τα οποία καλλιεργούνται για διατροφή κυρίως στην Ασία και Αφρική. Μερικά είναι μεγάλης οικονομικής σημασίας και καλλιεργούνται ήδη σε βιομηχανική κλίμακα, όπως τα είδη: *Volvariella sp.*, *Lentinus* και *Pleurotus sp* [7]. Στην κατηγορία αυτή συγκαταλέγονται και τα κατάλοιπα αποχύμωσης, κυρίως οι φλούδες εσπεριδοειδών, τα στέμφυλα της οινοποίησης, τα απομεινάρια εκχύμωσης τεύτλων και ζαχαροκάλαμων και το άχυρο των δημητριακών.

Η ανάγκη για μείωση του κόστους διαχείρισης των απορριμμάτων, οδήγησε στην αναζήτηση νέων τεχνικών. Η έρευνα στην βιομηχανική τεχνολογία της ζύμωσης και η SSF μέχρι πρόσφατα δεν προκαλούσαν ενδιαφέρον. Η ανανέωση του ενδιαφέροντος για την SSF των τελευταίων ετών πηγάζει από την ανάγκη να μειωθεί το κόστος διαχείρισης των απορριμμάτων, αποβλήτων και βιομηχανικών παραπροϊόντων εκμεταλλευόμενοι νέες τεχνικές. Η διεργασία στερεής ζύμωσης (Solid State Fermentation, SSF) περιλαμβάνει την ανάπτυξη μικροβίων σε ένα κυρίαρχα αδιάλυτο υπόστρωμα όπου δεν υπάρχει ελεύθερο υγρό. Σ' αυτές περιλαμβάνεται ο χειρισμός του ζυμωτήρα Koji, που επιτυγχάνει ζύμωση με ταυτόχρονη διάσπαση των υδατανθράκων σε απλά σάκχαρα αλλά και ζύμωση της λιγνοκυτταρίνης με απελευθέρωση υδρολυτικών ενζύμων στο μέσο κατά την διάρκεια της ανάπτυξης. [1]

Υπόστρωμα CO₂

Αν και μη οργανική ύλη το διοξείδιο του άνθρακα, αποτελεί το υπόβαθρο ανάπτυξης των φυκιών, τα οποία πολλαπλασιάζονται καταναλώνοντας CO₂ ως μοναδική πηγή άνθρακα. Δεν ανήκει σε καμία από τις δυο ανωτέρω κατηγορίες, των υδρογονανθράκων και των υδατανθράκων. Κάποια γένη φυκών, όπως το *Cyanophyta* μπορούν να χρησιμοποιήσουν και το ατμοσφαιρικό άζωτο. Η παραγωγή τους λαμβάνει χώρα σε φυσικά υδάτινα συστήματα (waterbodies) όπως λίμνες, λάκκους, στέρνες. Τα φύκη αποτελούν παραδοσιακά διατροφικό είδος για πληθυσμού στο Μεξικό (*Spirulina platensis*) και άλλες χώρες (*Spirulina maxima*). Παρόλα αυτά έχουν χαμηλή περιεκτικότητα στα μετά θείου αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη [35]

1.8 Επιπτώσεις της χορήγησης SCP σε ανθρώπους & ζώα.

Με πρωτόπορο το Protein Evaluation Group των Ηνωμένων Εθνών, τόσο ο οργανισμός Food and Drug Administration των ΗΠΑ, όσο και η ΕΕ, έχουν θεσπίσει κατευθυντήριους γραμμές για την ασφαλή αποτίμηση των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών στους ανθρώπους και τα ζώα [1]. Μεταξύ των πορισμάτων τους αναφέρεται ότι οι ξένες προς τον ανθρώπινο οργανισμό πρωτεΐνες μπορεί να επιφέρουν δερματικές αντιδράσεις, αλλεργίες, ή γαστρεντερικές αντιδράσεις προκαλώντας ναυτία και εμετό αλλά και το ότι οι μονοκυτταρικές πρωτεΐνες ενδέχεται να περιέχουν βαρέα μέταλλα που μπορεί να επιφέρουν μεταλλάξεις ακόμα και σε ελάχιστες ποσότητες.

Σε πειράματα που έχουν κατά καιρούς λάβει χώρα, η κατανάλωση μικροβιακών

πρωτεϊνών δεν επέφερε προβλήματα στο ανοσοποιητικό σύστημα ποντικών που υποβλήθηκαν σε πειράματα.[1]. Προερχόμενες από βακτήρια και ανεπτυγμένες σε υπόβαθρο μεθανόλης μονοκυτταρικές πρωτεΐνες, δεν έχουν βρεθεί μεταλλαξιογόνες σε διάφορα είδη θηλαστικών που ελέγχθηκαν [1]. Το ίδιο κατάλληλη είναι και σαν συμπληρωματική πηγή πρωτεΐνης για εκτροφή αιγών προοριζομένων για γαλακτοπαραγωγή [1]. Πειράματα 90 ημερών που έγιναν σε όρνιθες, κατά τις ημέρες μέγιστης γονιμότητας, με σκοπό την αποτίμηση των επιπτώσεων κατανάλωσης δυο ειδών μονοκυτταρικών πρωτεϊνών, του Pruteen, παρασκευαζόμενο σε χρήση βακτηρίων σε υπόστρωμα μεθανόλη, και ενός σκευάσματος τύπου Lavera αποτελούμενο από ζύμες σε υπόστρωμα κανονικών παραφινών βαρέως κλάσματος πετρελαίου, έδειξαν ότι στις ίδιες συγκεντρώσεις (50 g/kg τροφής) πρωτεΐνης, η ζύμη είχε μικρή επίδραση, ενώ το Pruteen μείωσε το ρυθμό παραγωγής αυγών [1]. Παράλληλα, η συμμετοχή τους στην διαίτα νεαρών μοσχάρων σε ποσοστό μέχρι 20%, δε είχε επιζήμιες επιπτώσεις στο ρυθμό ανάπτυξης τους [1]. Παρόμοιες επιδόσεις παρατηρήθηκαν όταν αρνιά ετράφησαν με μονοκυτταρικές πρωτεΐνες σε ποσοστά μέχρι και 15 %. Τόσο η παραγωγή γάλακτος όσο και η απόδοση της παραγωγικότητας σε γάλα αυξήθηκαν όταν οι μονοκυτταρικές πρωτεΐνες αντικατέστησαν τα αράπικα φιστίκια στη διαίτά τους [1]. Βέλτιστες επιδόσεις παρατηρήθηκαν όταν η εκτροφή γινόταν με μονοκυτταρικές πρωτεΐνες σε ποσοστό 2,5 % [1]. Σε γενικές γραμμές, οι μονοκυτταρικές πρωτεΐνες φαίνεται να απορροφώνται καλύτερα από τα μηρυκαστικά ζώα.

2 Ανάπτυξη Συστήματος Λήψης απόφασης με τη βοήθεια Η/Υ - Δημιουργία Βάσης Δεδομένων

2.1 Δομή της Βάσης Δεδομένων

Παρ' ότι η παραγωγή πρωτεϊνικής βιομάζας έχει ευρύτατα διερευνηθεί, κυρίως στη δεκαετία του 1970, οι πληροφορίες συχνά διατίθεται με τρόπο ασαφή και ανοργανώτο. Στην παρούσα εργασία, το διαθέσιμο υλικό συλλέχθηκε, επεξεργάστηκε και καταχωρήθηκε σε Βάση Δεδομένων με σκοπό τη γρήγορη πρόσβαση τόσο σε ολοκληρωμένες προτάσεις (whole cases) όσο και σε επιμέρους συνδυασμούς (parts). Η επεξεργασία συνίστατο κυρίως στη διάσπαση των whole cases (προερχόμενων από βιβλιογραφικές πηγές) στις εξής επιμέρους συνιστώσες (parts) (Σχήματα 2.1 και 2.2):

- **Πρώτη ύλη:** Στην κατηγορία αυτή αναφέρεται η προέλευση του υποστρώματος, δηλαδή αν είναι παραπροϊόν κάποιας βιομηχανικής διεργασίας ή απορριπτόμενη ύλη (πχ κατάλοιπα αποχύμωσης, παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής, κέλυφος ρυζιού, πατάτα, δημητριακά, λαχανικά κλπ).

- **Υπόστρωμα:** Στην κατηγορία αυτή αναφέρεται το ακριβές ζυμώσιμο υλικό που καταναλώνεται από τον μικροοργανισμό. Στα υδατανθρακικά υποστρώματα, συναντήθηκαν ποικίλα προβλήματα αποκωδικοποίησης της παρεχομένης πληροφορίας εξαιτίας της ανομοιομορφίας στη χρησιμοποιούμενη από τους συγγραφείς ορολογία. Έτσι τηρήθηκε η τακτική της παράθεσης του ακριβούς ζυμώσιμου σακχάρου μόνο σε περιπτώσεις που αυτό αναφέρεται ρητά (πχ λακτόζη, γλυκόζη). Υπάρχουν και περιπτώσεις στις οποίες αναφέρεται η συναντώμενη στη βιβλιογραφία πολυμερική μορφή αυτού (άμυλο, κυτταρίνη) και αυτό για να αποφευχθούν αυθαίρετες εξειδικεύσεις που δεν υποστηρίζονται από το βιβλιογραφικό κείμενο. Στις περιπτώσεις των υδρογονανθρακικών υποστρωμάτων η παρεχομένη στην βιβλιογραφία πληροφορία υπήρξε σαφέστερα ορισμένη.

- **Προκατεργασία του μέσου/ θρεπτικές ύλες:** Στην κατηγορία αυτή καταχωρούνται πληροφορίες σχετικά με το απαιτούμενο για τη διεργασία pH, τα ανόργανα ή οργανικά που βοηθούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, τυχόν απαιτούμενες ασηπτικές συνθήκες κλπ.

- **Τύπος ζυμωτήρα:** Στην κατηγορία αυτή παρατηρείται κυρίως η διαφοροποίηση μεταξύ αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας και διαλείποντος έργου, ενώ συναντώνται και πληροφορίες σχετικά με το αν απαιτούνται συνθήκες αερισμού και ανάδευσης.

- **Θερμοκρασία ζύμωσης:** Η βέλτιστη θερμοκρασία ζύμωσης για κάθε μικροοργανισμό διαφέρει, αλλά η παρατηρούμενη μέση τιμή είναι οι 35°C, όπως και αναμενόταν.

#	Υπόστρωμα	Πρώτη όλη	Προκατεργασία μέσου/ αποδοθέντα υαλά	Τύπος ζυμωτήρα	Θερμοκρασία ζύμωσης °C	Χρόνος ζύμωσης	Απόδοση	Είδος μικροοργανισμού	Πρωτεΐνη περιεχόμεν
1	γλυκόζη		αμυλώνη	air lift	30°C			Fusarium venenatum strain A3/5 F	
2	κυταρίνη	soica-floc	pH 3,5 glucose, Zn	batch	35°C	5,5-6ώρες	87%	Aspergillus oryzae F	20-22%
3	κυταρίνη	Κατάλοιπα αποζύμωσης	pH 3,5 glucose, Zn	batch	35°C	5,5-6ώρες	77%	Aspergillus oryzae F	25-30%
4	κυταρίνη	Κατάλοιπα αποζύμωσης	pH 3,5 glucose, Zn	batch	35°C	5,5-6ώρες	50,30%	Aspergillus oryzae F	18-20%
5	κυταρίνη	soica-floc	alkali, pH 6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	64,30%	Aspergillus oryzae F	
6	κυταρίνη	παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής - soica-floc	pH 7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	28,60%	Aspergillus terreus F	
7									
8	κυταρίνη	κέλυφος ρυζού	alkali, pH 6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	44,40%	Aspergillus terreus F	
9	κυταρίνη	κέλυφος ρυζού	pH 7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	22,20%	Aspergillus terreus F	
10	κυταρίνη	χαρτί, εφημερίδες	alkali, pH 6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	33,30%	Candida lipolytica Y	
11	κυταρίνη	χαρτί, εφημερίδες	pH 7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	6,60%	Candida tropicalis Y	
12	κυταρίνη	παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής - sisal fibres	alkali, pH 6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	44,40%	Candida tropicalis Y	
13									
14	κυταρίνη	παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής - sisal fibres	pH 7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	40,70%	Candida utilis Y	
15	κυταρίνη	Κατάλοιπα αποζύμωσης	alkali, pH 6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	38,50%	Cellulomonas flavigena B	
16	κυταρίνη	Κατάλοιπα αποζύμωσης	pH 7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	30,70%	Hansenula Y	
17	κυταρίνη	κέλυφος ρυζού	alkali, pH 6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	50,00%	Hericium Y	
18	κυταρίνη	κέλυφος ρυζού	pH 7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	32,50%	Kloekera apiculata Y	
19	όξινο	πατάτα	ενζυμική υδρόλυση 24 ώρες	batch	30-45°C	4-8 ώρες	52%	Candida utilis Y	
20	όξινο	μανιόκα	ενζυμική υδρόλυση (αμύλαση) / pH 5 / 87oC	batch	30-46°C	4- 8 ώρες	53%	Candida utilis Y	
21	όξινο	μανιόκα	ενζυμική υδρόλυση (αμύλαση) / pH 5 / 87oC	batch	30-47°C	6-10 ώρες	50%	Saccharomyces cerevisiae Y	
22	όξινο	μανιόκα	ενζυμική υδρόλυση (αμύλαση) / pH 5 / 87oC	batch	30-46°C		48%	Rhodoturlula glutinis Y	

Χρόνος ζύμωσης	Απόδοση	Είδος μικροοργανισμού	Πρωτεϊνικό περιεχόμενο %	Νουκλεϊκά οξέα	Προσριτιμής τεκτεόλυσης	Κλίμακα	Χωρική μεταβλητή	Μεταβλητή ευχυνότητας	Ποσοτική μεταβλητή	συναφορά
		Fusarium venenatum strain A3/5 F		9%	food (Quorn)	industr	U			34
5,5-6ώρες	87%	Aspergillus oryzae F	20-22%		feed	lab	L	O	E	2
5,5-6ώρες	77%	Aspergillus oryzae F	25-30%		feed	pilot	U	F	E	2
5,5-6ώρες	50,30%	Aspergillus oryzae F	18-20%		feed	lab	U	F	G	2
6-8ώρες	64,30%	Aspergillus oryzae F			feed	lab	L	O	G	2
6-8ώρες	28,60%	Aspergillus terreus F			feed	lab	L	O	B	2
6-8ώρες	44,40%	Aspergillus terreus F			feed	lab	U	F	G	2
6-8ώρες	22,20%	Aspergillus terreus F			feed	lab	U	F	B	2
6-8ώρες	33,30%	Candida lipolytica Y			feed	lab	U	F	B	2
6-8ώρες	6,60%	Candida tropicalis Y			feed	lab	U	F	BB	2
6-8ώρες	44,40%	Candida tropicalis Y			feed	lab	R	R	G	2
6-8ώρες	40,70%	Candida utilis Y			feed	lab	R	R	G	2
6-8ώρες	38,50%	Cellulomonas flavigena B			feed	lab	U	F	G	2
6-8ώρες	30,70%	Hansenula Y			feed	lab	U	F	B	2
6-8ώρες	50,00%	Hericium Y			feed	lab	U	F	G	2
6-8ώρες	32,50%	Kloekera apiculata Y			feed	lab	U	F	B	2
4-8 ώρες	52%	Candida utilis Y			pilot	U	F	G	G	19
4- 8 ώρες	53%	Candida utilis Y			pilot	U	F	G	G	19
6-10 ώρες	50%	Saccharomyces cerevisiae Y			pilot	R	O	G	G	19
48%		Rhodoturlula glutinis Y			pilot	R	O	G	G	19

Σχήματα 2.1 & 2.2 Sample screenshot της Βάσης Δεδομένων που σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε με στόχο τη γρήγορη πρόσβαση τόσο σε ολοκληρωμένες προτάσεις (whole cases) όσο και σε επιμέρους συνδυασμούς (parts).

- Χρόνος ζύμωσης:** Με τον όρο αυτό αναφερόμαστε είτε στον καθ' αυτό χρόνο ζύμωσης, είτε στο χρόνο της συγκομιδής του προϊόντος με την παραδοχή ότι σε καμία των περιπτώσεων η συγκομιδή δεν πραγματοποιείται πριν την κατανάλωση της μέγιστης δυνατής ποσότητας του υποστρώματος. Η αναγκαιότητα για την τήρηση αυτής της τακτικής προκύπτει και πάλι από την έλλειψη επαρκών δεδομένων.

- Απόδοση:** Η κατηγορία αυτή απετέλεσε την δυσκολότερη περίπτωση κατηγοριοποίησης. Πέραν της ανομοιομορφίας στην ορολογία περί των αποδόσεων, σε πολλά κείμενα δεν υπήρχε καν επεξήγηση των χρησιμοποιούμενων μονάδων μέτρησης. Για

παράδειγμα, απαντήθηκαν εκφράσεις απόδοσης ως ποσοστό καταναλωθέντος υποστρώματος χωρίς να διευκρινίζει αν αναφέρεται σε ζυμώσιμο υπόστρωμα ή στο μίγμα με τα μη ζυμώσιμα υλικά (impurities). Άλλες εκφράσεις απόδοσης χρησιμοποιούσαν μονάδες (πχ g/g ή g/l) που δεν ορίζονται εντός του κειμένου και δεν διευκρινίζεται σε τι αναφέρονται. Εξ αιτίας των δυσκολιών αυτών δεν είναι εφικτή μια σύγκριση μεταξύ των αποδόσεων των διαφόρων μεθόδων παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας.

- **Είδος μικροοργανισμού:** Στην κατηγορία αυτή αναφέρεται το είδος του καλλιεργούμενου μικροοργανισμού, στην περίπτωση που είναι γνωστός, ή του γένους αυτού. Με τους συμβολισμούς F, B, Y, διευκρινίζεται ένα αυτός είναι μύκητας, βακτήριο, ή ζύμη αντίστοιχα.

- **Πρωτεϊνικό περιεχόμενο:** Άλλη μια κατηγορία για την οποία τα παρεχόμενα στοιχεία υπήρξαν ελλιπή.

- **Νουκλεϊκά οξέα:** Και για την κατηγορία αυτή τα παρεχόμενα στοιχεία υπήρξαν ελλιπή.

- **Προορισμός Εκμετάλλευσης:** Παρά τη γνώση ότι οι απόπειρες παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας στοχεύουν πρώτα στην παραγωγή προϊόντων ζωοτροφής, στην παρούσα κατηγορία χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι περιπτώσεις όπου ρητά αναφέρεται ο προορισμός του προϊόντος.

- **Κλίμακα εφαρμογής:** Στην κατηγορία αυτή χρησιμοποιήθηκε η σημειολογία lab, pilot, και industry, για τις περιπτώσεις εργαστηριακής, πιλοτικής και βιομηχανικής εφαρμογής της εκάστοτε μεθόδου, αντίστοιχα. Περιπτώσεις με αντιδραστήρα 10–50 λίτρων χαρακτηρίστηκαν ως πιλοτικές, ενώ βιομηχανικές περιπτώσεις προϊόντων που είτε κυκλοφόρησαν στην αγορά, είτε στήθηκε η βιομηχανική μονάδα, που λειτούργησε λίγο ή και καθόλου.

- **Χωρική Μεταβλητή:** Η κατηγορία αυτή φιλοξενεί έναν χαρακτηρισμό για την περιοχή δυνητικής εφαρμογής της εν λόγω μεθόδου, ο οποίος λαμβάνει τρεις τιμές: U(universal), R(regional), L(local). Ο χαρακτηρισμός αυτός αποτελεί κρίση του εμπειρογνώμονα και βασίζεται στην περιοχή εύρεσης τους υποστρώματος της ζύμωσης.

- **Μεταβλητή συχνότητας εμφάνισης:** Ομοίως, η κατηγορία αυτή φιλοξενεί έναν χαρακτηρισμό για την συχνότητα εμφάνισης της εν λόγω μεθόδου στην ανασκοπηθείσα βιβλιογραφία, ο οποίος λαμβάνει τρεις τιμές: O(occasional), F(frequent), R(rare).

Ο χαρακτηρισμός αυτός αποτελεί και πάλι κρίση του εμπειρογνώμονα.

- **Μεταβλητή ποιότητας:** Τέλος, σύμφωνα με τις προηγούμενες κατηγορίες, εδώ φιλοξενείται ένας χαρακτηρισμός για την γενικότερη εικόνα και εφαρμοσιμότητα της μεθόδου, που περικλείει την προσβασιμότητα ημών στην πρώτη ύλη, την τιμή αυτής, την απόδοση της μεθόδου, την ευκολία ανάκτησης του προϊόντος, την θρεπτική του αξία, την τοξικότητα αυτού και γενικότερα την καταλληλότητα του για βρώση.

2.1.1 Κατάταξη διεργασιών βάσει των υποστρωμάτων

Στη δημιουργηθείσα Βάση Δεδομένων, το άμυλο, προερχόμενο από πατάτα, και άλλα λαχανικά, δημητριακά, ρύζι, ή μανιόκα (cassava, τροπική ρίζα), αποτελεί πρώτη ύλη για το 2,8% των περιπτώσεων. Συναντάμε μύκητες του γένους *Aspergillus* [5,45,46], ζύμες *Candida* [19,27], *Rhodoturula glutinis* [19] και *Saccharomyces cerevisiae* [19] καθώς και συγκαλλιέργεια των ζυμών *Endomycopsis Fibuliger* και *Candida Utilis* [53]. Οι αποδόσεις που αναφέρονται, της τάξης του 50%, δεν θεωρούνται ικανοποιητικές, δεδομένου ότι αφορούν καθαρή αξιοποιήσιμη πρώτη ύλη (άμυλο) και όχι μίγμα αυτής με μη ζυμώσιμα υλικά. Στο σχήμα 2.3 φαίνεται η εφαρμογή στο EXCEL αυτόματου φίλτρου για την επιλογή των μεθόδων που χρησιμοποιούν σαν υπόστρωμα άμυλο.

#	Υπόστρωμα	Πρώτη ύλη	Προκαταγασία μέσων απαιτούμενα υλικά	Τύπος ζυμοθύρα	Θερμοκρασία ζύμωσης °C	Χρόνος ζύμωσης	Απόδοση	Είδος μικροοργανισμού	Πρωτεύου περιεχόμε
1	(Όλα) (Πρώτα 10...)	γλυκόζη	αμυλόνια	air lift	30°C			Fusarium venenatum strain A3/5 F	
	Fuel Oil	sofca-floc	pH:3,5 glucose, Zn	batch	35°C	5,5-6ώρες	87%	Aspergillus oryzae F	20-22%
	σπασίμων υγρό σύνθετο	κατάλοιπα αποχύμωσης	pH:3,5 glucose, Zn	batch	35°C	5,5-6ώρες	77%	Aspergillus oryzae F	25-30%
	Απόνερα	γλυκόζη	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	50,20%	Aspergillus oryzae F	19-20%
	εγκύλισμα άνθρακα	sofca-floc	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	64,20%	Aspergillus oryzae F	
	Ζαχαρόπηκτα	παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής - sofca-floc	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	28,60%	Aspergillus terreus F	
	κανονικά αλκάνια	κάλυφος ρυζιού	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	44,40%	Aspergillus terreus F	
	κανονικά αλκάνια C10-	κάλυφος ρυζιού	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	22,20%	Aspergillus terreus F	
	κανονικά αλκάνια C14-	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	33,20%	Aspergillus oryzae F	
	κανονικά δεκαεξάνια	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	33,20%	Aspergillus oryzae F	
	κυτταρίνη	κατάλοιπα αποχύμωσης	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	6,60%	Candida tropicalis Y	
	κυτταρίνη, υδατικό διάλυμα	κατάλοιπα αποχύμωσης	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	6,60%	Candida tropicalis Y	
	λακτόζη	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	44,40%	Candida tropicalis Y	
	μεθανόλη	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	44,40%	Candida tropicalis Y	
	φορμαλδεΰδη	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	44,40%	Candida tropicalis Y	
12	κυτταρίνη	παραπροϊόντα αγροτικής παραγωγής - sisal fibres	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	40,70%	Candida utilis Y	
13	κυτταρίνη	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	38,60%	Cellulomonas flavigena B	
14	κυτταρίνη	κατάλοιπα αποχύμωσης	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	30,70%	Hansenula Y	
15	κυτταρίνη	κατάλοιπα αποχύμωσης	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	50,00%	Hericium Y	
16	κυτταρίνη	κάλυφος ρυζιού	alkali, pH:6,9 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	50,00%	Hericium Y	
17	κυτταρίνη	κάλυφος ρυζιού	pH:7 cyclohexamide	batch	35°C	6-8ώρες	32,50%	Kloeckera apiculata Y	
18	άμυλο	πατάτα	ενζυμική υδρόλυση 24 ώρες	batch	30-45°C	4-8 ώρες	62%	Candida utilis Y	
19	άμυλο	μανιόκα	ενζυμική υδρόλυση (αμύλαση) pH 5 / 87oC ανόργανα άλατα	batch	30-45°C	4-8 ώρες	53%	Candida utilis Y	
20	άμυλο	μανιόκα	ενζυμική υδρόλυση (αμύλαση) / pH 5 / 87oC ανόργανα άλατα	batch	30-47°C	6-10 ώρες	50%	Saccharomyces cerevisiae Y	
21	άμυλο	μανιόκα	ενζυμική υδρόλυση	batch	30-45°C		48%	Rhodoturula glutinis Y	

Σχήμα 2.3. Screenshot της εφαρμογής στο EXCEL αυτόματου φίλτρου για την επιλογή των μεθόδων που χρησιμοποιούν σαν υπόστρωμα άμυλο.

Η γλυκόζη αποτελεί περίπου το 1% των αναφερθέντων υποστρωμάτων, με χρήση του μύκητα *Fusarium venenatum*, το οποίο και αποτέλεσε το μοναδικό εμπορικό προϊόν, QUORN™, που προορίστηκε για ανθρώπινη κατανάλωση [34]. Στο σχήμα 2.3 φαίνεται η εφαρμογή στο EXCEL αυτόματου φίλτρου για την επιλογή των μεθόδων που χρησιμοποιούν σαν υπόστρωμα γλυκόζη.

Το εκχύλισμα άνθρακα αναφέρεται σε 2% των περιπτώσεων ως υπόστρωμα, χωρίς να προσδιορίζεται η προέλευσή του. Οι χρησιμοποιούμενοι μύκητες είναι οι *Aspergillus niger* [43] και *Fusarium sp* [44] και οι αποδόσεις είναι μέτριες δεδομένου ότι πρόκειται για καθαρό ζυμώσιμο υπόστρωμα

Δύο αναφορές γίνονται στην ζαχαρόπιττα ως υπόστρωμα με χρήση του μύκητα του γένους *Arachniotus* και χαμηλή απόδοση [63], που οφείλεται κυρίως στη χρήση ολόκληρης της απορριπτόμενης ύλης και όχι του ζυμώσιμου μέρους αυτής. Αναφέρεται επίσης και συγκαλλιέργεια των *Trichoderma reesei* (μύκητας) και *Kluyveromyces marxianus* (ζύμη) [1].

Οι υδρογονάνθρακες, προερχόμενοι από την πετροχημική βιομηχανία, αναφέρονται στην βιβλιογραφία ως υποστρώματα ζύμωσης σε ποσοστό 11%, κυρίως κανονικά αλκάνια [55], είτε με περιορισμό ατόμων άνθρακα κυρίως C₁₀-C₂₀ [55]. Στους επιλεγμένους μικροοργανισμούς κυριαρχούν οι ζύμες του γένους *Candida* (*lipolitica*, *tropicallis* και *intermedia*) [55] σε απλές ή μικτές καλλιέργειες, καθώς και βακτήρια *Mycobacterium phlei*, *Micrococcus cereficans* [55] και *Nocardia sp.* [55].

Η κυτταρίνη κυριαρχεί μεταξύ των υποστρωμάτων, κατέχοντας το 41%. Η πλειοψηφία των συγγραφέων αναφέρει κυρίως την προέλευση αυτής, που είναι ινώδη κατάλοιπα αποχύμωσης [1,2,27] (εσπεριδοειδή, ζαχαρότευτλα), άχυρο [27,58,59], γεωργικά υπολείμματα [51,2] (στελέχη βάμβακος) [35] ή και παραπροϊόντα της αγροτοβιομηχανίας, όπως το κέλυφος ρυζιού [2,10]. Στην προέλευση της κυτταρίνης απαντάται, επίσης, το χαρτί [2,27,15,1] και το ξύλο [35]. Μεταξύ των μικροοργανισμών που καλλιεργούνται επί κυτταρίνης ξεχωρίζει η ζύμη *Trichosporon cutaneum* [27,35,58,59,60,61], ενώ αναφέρονται επίσης και οι *Saccharomyces cerevisiae* [27,1,15], *Saccharomycopsis fibuligera* [27], *Candida sp. (utilis, lipolytica, stercoraria και tropicalis)* [2,35], *Kloeckera apiculata* [2], *Calvatia gigantean* [35], *Hansenula sp* [2], *Hericium sp* [2] και *Paecilomyces variotii* [54]. Οι μύκητες που αναφέρονται είναι του γένους *Aspergillus* [2,35] καθώς και τα μανιτάρια *Pleurotus* [1,27,51,42,10]. Αναφέρεται και η οξική κυτταρίνη στην οποία καλλιεργείται το βακτήριο *Artemia Salina* [62], προοριζόμενο για εκτροφή γαρίδων.

Ένα άλλο συχνά εμφανιζόμενο υπόστρωμα είναι το τυρόγαλα, που αποτελεί το 7,5% των συναντώμενων υποστρωμάτων. Το σάκχαρο λακτόζη, σε περιεκτικότητες που εξαρτώνται από την προέλευση του υποστρώματος, αποτελεί την καταναλισκόμενη πρώτη ύλη. Οι ζύμες μονοπωλούν τις καλλιέργειες επί τυρογάλακτος. Μελετήθηκαν τα είδη *Kluyveromyces sp* [40], *Saccharomyces fragilis* [48,52,13], *Candida sp. (intermedia, utilis και krusei)* [27]. Οι αποδόσεις κρίνονται ικανοποιητικές.

Το πλέον σημαντικό υπόστρωμα αποτελεί το σάκχαρο σουκρόζη, κύριο συστατικό της μελάσας σε ποσοστό περίπου 50%, το οποίο αποτελεί το 7,5% των αναφερθέντων στη βιβλιογραφία υποστρωμάτων. Αποτελεί υπόστρωμα για τη καλλιέργεια τόσο ζυμών (*Saccharomyces cerevisiae* [18,27,15], *Scacharomyces kloekerianus* [50]) όσο και μυκήτων (*Verticillum sp*[41], *Aspergillus niger* [1], *Pleurotus sp.*[27]) Στον πίνακα 2.4 φαίνεται η συνολική κατάταξη των διεργασιών βάσει των υποστρωμάτων και η συχνότητα εμφάνισης αυτών.

Πίνακας 2.4: Συνολική κατάταξη των διεργασιών βάσει των υποστρωμάτων και η συχνότητα εμφάνισης αυτών.

Πρώτη Ύλη	Υπόστρωμα	Προϊόν	Συχνότητα εμφάνισης
Κυτταρινούχα υπολείμματα	Κυτταρίνη	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ζύμες (<i>Trichosporon sp.</i>, <i>Saccharomyces sp.</i>, <i>Sacharomycopsis sp.</i>, <i>Candida sp.</i>, <i>Kloeckera sp.</i>, <i>Calvatia sp.</i>, <i>Hansenula sp.</i>, <i>Hericiium sp.</i>, <i>Paecilomyces sp.</i>) ▪ Μύκητες (<i>Aspergillus sp.</i>, <i>Pleurotus sp.</i>) 	41%
Παραπροϊόντα πετροχημικής βιομηχανίας	Υδρογονάνθρακες	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ζύμες (<i>Candida sp.</i>) ▪ Βακτήρια (<i>Mycobacterium sp.</i>, <i>Nocardia sp.</i>, <i>Micrococcus sp.</i>) 	13,2%
Τυρόγαλα	Λακτόζη	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ζύμες (<i>Kluyveromyces sp.</i>, <i>Sacharomyces sp.</i>, <i>Candida sp.</i>) 	12,5%
Τεύτλα	Μελάσσα	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ζύμες (<i>Saccharomyces sp.</i>), ▪ Μύκητες (<i>Verticillium sp.</i>, <i>Aspergillus sp.</i>, <i>Pleurotus sp.</i>) 	10,5%
Εδώδιμα (οπωροκηπευτικά δημητριακά) – ινώδη κατάλοιπα	Σάκχαρα	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ζύμες (<i>Saccharomyces sp.</i>, <i>Torula sp.</i>, <i>Candida sp.</i>) 	8,7%
Μεθανόλη	Μεθανόλη	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Βακτήρια (<i>Pseudomonas sp.</i>, <i>Methylomonas sp.</i>), ▪ Ζύμες (<i>Hansenula sp.</i>) 	4,4%
Εδώδιμα (οπωροκηπευτικά δημητριακά)	Άμυλο	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Μύκητες (<i>Aspergillus sp.</i>), ▪ Ζύμες (<i>Candida sp.</i>, <i>Endomycopsis sp.</i>, <i>Fibuliger sp.</i>) 	4,2%
Εκχύλισμα άνθρακα	Εκχύλισμα άνθρακα	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Μύκητες (<i>Aspergillus sp.</i>, <i>Fusarium sp.</i>) 	2,0%
Εδώδιμα (οπωροκηπευτικά δημητριακά)	Γλυκόζη	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Μύκητες (<i>Fusarium sp.</i>) 	1,5%
Ζαχαρόπιττα	Μελάσσα	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Μύκητες (<i>Arachniotus sp.</i>) 	1,0%
Κυτταρινούχα πολυμερή	Οξεϊκή κυτταρίνη	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Βακτήρια (<i>Artemia sp.</i>) 	1,0%

Άλλο υπόστρωμα που συναντάται είναι η μεθανόλη σε ποσοστό 4,6%, στην οποία καλλιεργούνται κυρίως βακτήρια του γένους *Pseudomonas* [24,26,13], το *Methilophylous methypotrophous* [14] αλλά και η ζύμη *Hansenula sp* [24]. Παρόμοια με τη μεθανόλη συμπεριφέρονται η φορμαλδεϋδη και η μεθυλαμίνη [26,14]. Τα βακτήρια, αυτά παρά το υψηλό νουκλειϊκό τους περιεχόμενο, παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο.

Οι χυμοί οπωροκηπευτικών, τέλος, αναφέρονται ως υπόστρωμα σε ποσοστό 3%, περιέχοντες σάκχαρα επί των οποίων καλλιεργούνται οι ζύμες *Scacharomyces cerevisiae* [3], *Torula utilis* [3], και *Candida lipolytica* [3].

2.1.2 Κατάταξη των διεργασιών παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας βάσει των χρησιμοποιούμενων μικροοργανισμών

Στη δημιουργηθείσα Βάση Δεδομένων, οι ζύμες αποτελούν την συχνότερα εμφανιζόμενη κατηγορία μικροοργανισμών σε ποσοστό 57,4% επί του συνόλου. Τα γένη *Candida* (*utilis*, *lipolitica*, *tropicalis*, *stereolitica*, *krusei*) [2,19,53,54,27,1,55,35,30,3], *Sacharomyces* (*cervisiae*, *fragilis*, *kloekerianus*) [19,18,48,50,52,27,15,13,1], *Kluyveromyces* [40,27,1,35], *Trichosporon* [27,58,59,60,61,35] είναι τα συχνότερα εμφανιζόμενα, ενώ παρατηρούνται και τα *Hansenula sp* [2,24], *Hericiium sp* [2], *Kloeckera sp* [2], *Paecilomyces sp* [54], *Rhodoturula sp* [19], *Cavaltia sp* [54,35], *Endomycopsis sp* [53], *Trichoderma sp* [1,35]. Με εξαίρεση την *Candida tropicalis* που καλλιεργείται σε υδρογονανθρακικά υποστρώματα (κανονικά αλκάνια) [55], οι λοιπές αφομοιώνουν σάκχαρα είτε σε απλή μορφή (λακτόζη, σουκρόζη) [27,13,40,48,52,1,15,18,50], είτε σε πολυμερική μορφή αυτών (άμυλο, κυτταρίνη) [19,53, 27,1].

Οι μύκητες καλλιεργούμενοι αποκλειστικά επί υδατανθρακικών υποστρωμάτων, εμφανίζονται σε ποσοστό 33,3% με τα γένη *Aspergillus* (*niger oryzae*, *fumigatus*, και *terreus*) [2,5,1,35] και *Pleurotus* (*eryngii*, *ostreatus*, και *pulmonarius*) [10,42,27,51,1] να κυριαρχούν. Μελετήθηκαν, επίσης, τα γένη *Fusarrium* [44] και *Verticillum* [41].

Σπανιότερως εμφανιζόμενα είναι τα βακτήρια που κατέχουν μόνο το 12% της βιβλιογραφίας. Η καλλιέργεια τους αποφεύγεται καθώς η συγκομιδή παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες, λόγω του μικρού μεγέθους του προϊόντος, ενώ το υψηλό νουκλεϊκό τους περιεχόμενο τα καθιστά ακατάλληλα για τις περισσότερες από τις προοριζόμενες χρήσεις. Τα συναντούμενα γένη είναι τα *Pseudomonas* [24,26,56], *Methylomonas* [67], *Nocardia* [55], και καλλιεργούνται αποκλειστικά επί υδρογονανθρακικών υποστρωμάτων, ενώ απαντάται και το *Cellulomonas sp.* επί κυτταρίνης [2,22].

Πίνακας 2.5. Το προϊόν σε σχέση με το υπόστρωμα και τη συχνότητα εμφάνισης

Προϊόν	Υπόστρωμα	Συχνότητα
Μύκητες	Κυτταρίνη, άμυλο, σάκχαρα, εκχύλισμα άνθρακα	57%
Ζύμες	Κυτταρίνη, άμυλο, σάκχαρα, μεθανόλη, υδρογονάνθρακες	32%
Βακτήρια	μεθανόλη, υδρογονάνθρακες, κυτταρίνη	11%

2.1.3 Κατάταξη διεργασιών παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας ως προς την κλίμακα εφαρμογής

Στον πίνακα 2.6 που ακολουθεί φαίνεται η κατηγοριοποίηση των μεθόδων παραγωγής μικροβιακής πρωτεΐνης που περιέχονται στη Βάση Δεδομένων, βάσει της κλίμακας εφαρμογής της διεργασίας, με τη συχνότητα εμφάνισης αυτής. Όπως αναμενόταν, η συντριπτική πλειοψηφία αυτών βρίσκει εφαρμογή σε εργαστηριακή κλίμακα και ελάχιστες σε βιομηχανική.

Πίνακας 2.6: Κατηγοριοποίηση των μεθόδων της Βάσης Δεδομένων βάσει της κλίμακας εφαρμογής της διεργασίας, με τη συχνότητα εμφάνισης αυτής.

Κλίμακα διεργασίας	Υπόστρωμα	Προϊόν	Συχνότητα εμφάνισης
Εργαστηριακή	Σάκχαρα, άμυλο, κυτταρίνη	Μύκητες, Ζύμες, Βακτήρια	65,5%
Πιλοτική	Υδρογονάνθρακες, σάκχαρα, άμυλο, κυτταρίνη, μεθανόλη	Μύκητες, Ζύμες	29,5%
Βιομηχανική	Υδρογονάνθρακες	Ζύμες, Βακτήρια	5, 0%

2.2 Παραδείγματα χρήσης της Βάσης με ερωτήματα

Η βάση δεδομένων που αναπτύχθηκε μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην επιλογή διαδικασιών που πληρούν συγκεκριμένα κριτήρια. Για παράδειγμα, θέτοντας τα κάτωθι κριτήρια

- α) απουσία ανάγκης για προκατεργασία του υποστρώματος
- β) ελάχιστα προστιθέμενα υλικά
- γ) ήπια θερμοκρασία ζύμωσης
- δ) χρόνος ζύμωσης μικρότερο των 30 ωρών,

το πρόγραμμα εμφάνισε 35 αναφορές (ποσοστό 41% των βιβλιογραφικών αναφορών), που αποτελούν τις ευκολότερα εφαρμόσιμες εκ των διεργασιών. Εξ αυτών σε 4 αναφορές μελετάται η καλλιέργεια μυκήτων σε άμυλο, σε 17 η καλλιέργεια ζυμών σε κυτταρίνη, και σε 14 η καλλιέργεια ζυμών σε σάκχαρα. Παράλληλα, αναζητήθηκε η επιρροή που έχουν συχνά εμφανιζόμενες παράμετροι ανάπτυξης σε συγκεκριμένες μεθόδους καλλιέργειας. Σε κάθε μια από τις περιπτώσεις που εξετάζονται, αναφέρονται οι παράμετροι που επηρεάζουν την ζύμωση και ο τρόπος με τον οποίο επιδρούν στο αποτέλεσμα αυτής.

- Η καλλιέργεια μανιταριών του γένους *Pleurotus* επί λιγνοκυτταρινούχων γεωργικών

υπολειμμάτων εξαρτάται κυρίως από την υγρασία υποστρώματος και το μικροβιακό φορτίο. Η βέλτιστη τιμή υγρασίας υποστρώματος κυμαίνεται μεταξύ 60-70% και αυτό γιατί υγρασία υποστρώματος μικρότερη του 60% συνεπάγεται μείωση της απόδοσης ενώ υγρασία υποστρώματος μεγαλύτερη του 70% συνεπάγεται μείωση της ποιότητας του προϊόντος. Η διακύμανση του pH, επιδρά της απόδοσης της μεθόδου. Εκτός ορίων 6,4 - 7,0 παρατηρείται μείωση της απόδοσης. Τέλος το μικροβιακό φορτίο (πέραν των καλλιεργούμενων οργανισμών) επιδρά στην απόδοση της μεθόδου. Για αυτό και απαιτείται αποστείρωση του μίγματος της ζύμωσης, με την οποία επιτυγχάνεται πλήθος στελεχών ανά γραμμάριο της τάξης των 100 CFU/ g. Τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνονται και στον πίνακα 2.7.

Πίνακας 2.7. Επίδραση παραγόντων ανάπτυξης στην καλλιέργεια μανιταριών του γένους *Pleurotus* επί λιγνοκυτταρινούχων γεωργικών υπολειμμάτων

Υγρασία υποστρώματος 60 -70%	Υγρασία υποστρώματος <60% συνεπάγεται μείωση της απόδοσης, ενώ Υγρασία υποστρώματος > 70% συνεπάγεται μείωση της ποιότητας του προϊόντος
pH 6,4 - 7,0	Εκτός ορίων μείωση της απόδοσης
Μικροβιακό φορτίο	Με αποστείρωση επιτυγχάνεται πλήθος στελεχών ανά γραμμάριο της τάξης των 100 CFU/ g, αλλιώς μειώνεται η απόδοση.

- Η καλλιέργεια μυκήτων του γένους *Aspergillus* σε υπόστρωμα κυτταρίνης, παρουσιάζει μεγάλη εξάρτηση από το pH, τη θερμοκρασία, την αρχική ποσότητα του υποστρώματος, τις ασηπτικές συνθήκες της μεθόδου και το ρυθμός διαλυτοποίησης. Συγκεκριμένα το pH πρέπει να διατηρείται εντός των ορίων 3, 5 –3, 8, μια και εκτός αυτών μειώνεται η απόδοση. Η θερμοκρασία, σε αντίθεση με άλλες μεθόδους που λειτουργούν εύρυθμα σε εύρος των πχ 3-4 βαθμών Κελσίου, εδώ απαιτείται να είναι «καρφωμένη» στους 38 °C, και αυτό γιατί αυξανόμενης της θερμοκρασίας μειώνεται το πραγματικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο του προϊόντος, έχουμε δηλαδή επιπτώσεις επί τις ποιότητας του προϊόντος. Σε περίπτωση που δεν ακολουθούνται ασηπτικές συνθήκες για αποφυγή μόλυνσης του μίγματος της ζύμωσης, μειώνεται η απόδοση, όπως είναι αναμενόμενο, καθώς καταναλώνεται υπόστρωμα και από τους μη επιθυμητούς μικροοργανισμούς. Αυξανόμενης της αρχικής ποσότητας υποστρώματος μειώνεται η δυνατότητα αερισμού του μίγματος της ζύμωσης. Τέλος αυξανόμενου του ρυθμού διαλυτοποίησης του υποστρώματος, με μονάδες hr⁻¹, αυξάνεται η αξιοποίηση αυτού. Τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνονται και στον πίνακα 2.8.

Πίνακας 2.8 Επίδραση παραγόντων ανάπτυξης στην καλλιέργεια μυκήτων του γένους

Aspergillus σε υπόστρωμα κυτταρίνης

pH 3, 5 –3, 8	Εκτός ορίων μειώνεται η απόδοση
θερμοκρασία 38°C	Αυξανόμενη της θερμοκρασίας μειώνεται το πραγματικό πρωτεϊνικό περιεχόμενο του προϊόντος
Αρχική ποσότητα υποστρώματος	Αυξανόμενη της αρχικής ποσότητας υποστρώματος μειώνεται η δυνατότητα αερισμού του μίγματος της ζύμωσης.
Ασηπτικές συνθήκες	μειώνεται η απόδοση
Ρυθμός διαλυτοποίησης hr(-1)	Αυξανόμενου αυξάνεται η αξιοποίηση του υποστρώματος

- Η καλλιέργεια βακτηρίου *Cellulomonas spp.* σε υπόστρωμα υδατικό διάλυμα κυτταρίνης, εξαρτάται από την κατεργασία της κυτταρίνης, την προσθήκη του ιόντος Zn(++) και εκχυλίσματος ζύμης με θρεπτικά συστατικά, καθώς και τον αερισμό του μίγματος της ζύμωσης. Ειδικότερα η κατεργασία της κυτταρίνης αυξάνει την απόδοση της μεθόδου λόγω αύξησης της προσβασιμότητας των βακτηρίων στο ζυμώσιμο τμήμα, ενώ η προσθήκη ιόντος Zn (++) μειώνει το περιεχόμενο RNA (νουκλεϊκά οξέα). Η προσθήκη εκχυλίσματος ζύμης με θρεπτικά συστατικά, αυξάνει την απόδοση της μεθόδου. Για τον ίδιο λόγο απαιτείται και αερισμός για τις πρώτες 72-100 ώρες. Τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνονται και στον πίνακα 2.9

Πίνακας 2.9 Επίδραση παραγόντων ανάπτυξης στην καλλιέργεια του βακτηρίου *Cellulomonas spp.* σε υπόστρωμα υδατικό διάλυμα κυτταρίνης

Κατεργασία κυτταρίνης	Αύξηση απόδοσης λόγω αύξησης της προσβασιμότητας των βακτηρίων στο ζυμώσιμο τμήμα
Προσθήκη ιόντος Zn(++)	μείωση περιεχόμενου RNA
Προσθήκη εκχυλίσματος ζύμης με θρεπτικά συστατικά	Αύξηση απόδοσης
Αερισμός για τις πρώτες 72-100 ώρες	Αύξηση απόδοσης

- Η καλλιέργεια Ζύμης *Kluyveromyces spp.* σε υπόστρωμα τυρόγαλα, απαιτεί την ύπαρξη αεροβίων συνθηκών, και pH εντός των ορίων 5-5, 7 προς αύξηση της απόδοσης. Ο ρυθμός διαλυτοποίησης παρουσιάζει βέλτιστο στα 0.35 h⁻¹, γάντι σε μεγάλες αποκλίσεις μειώνεται η απόδοση λόγω μη αξιοποίησης του συνόλου του υποστρώματος. Στη μέθοδο αυτή θερμοκρασία μεταξύ 30-33 °C κρίνεται ικανοποιητική, μια και σε θερμοκρασίες μικρότερες των 30 °C, παρατηρείται μείωση της απόδοσης ενώ σε υψηλές μέχρι και 43 °C, παρότι δεν παρατηρήθηκε μείωση της απόδοσης σε θερμοκρασίες παρατηρήθηκε μόλυνση από βακτήρια. Τέλος σημαντική παράμετρο αποτελεί μια ειδική προκατεργασία που

υφίσταται το μίγμα της ζύμωσης με θέρμανση στους 80 °C για 45 λεπτά ακολουθούμενη από ψύξη. Αυτό γίνεται ώστε να αποφευχθεί η ενζυμική μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ και μου ρίξει το pH στις ακατάλληλες τιμές 3-3,4. Τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνονται και στον πίνακα 2.10

Πίνακας 2.10 Επίδραση παραγόντων ανάπτυξης στην καλλιέργεια ζύμης *Kluyveromyces spp.* σε υπόστρωμα τυρόγαλα

Αερόβιες συνθήκες	Αύξηση απόδοσης
pH 5-5.7	Εκτός ορίων μείωση της απόδοσης
Θέρμανση στους 80 °C για 45 λεπτά , στη συνέχεια ψύχεται	Όστε να αποφευχθεί η ενζυμική μετατροπή της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ και μου ρίξει το pH στις ακατάλληλες τιμές 3-3, 4
Ρυθμός διαλυτοποίησης 0.35 h⁻¹	Σε μεγάλες αποκλίσεις μειώνεται η απόδοση λόγω μη αξιοποίησης του συνόλου του υποστρώματος
Θερμοκρασία 30-33 °C	Σε θερμοκρασίες < 30, παρατηρείται μείωση της απόδοσης ενώ σε υψηλές μέχρι 43, παρότι δεν παρατηρήθηκε μείωση της απόδοσης σε θερμοκρασίες παρατηρήθηκε μόλυνση από βακτήρια

2.3 Κατάρτιση άριστου σιτηρεσίου δια της μεθόδου του Γραμμικού Προγραμματισμού

Ο γραμμικός προγραμματισμός είναι μέθοδος καταρτίσεως σιτηρεσίου υπό σύγχρονη οικονομική αξιολόγηση και επιλογή των τροφών, δια επίλυσεως του Προβλήματος της Δίαιτας (diet problem), με ταυτόχρονη ελαχιστοποίηση της οικονομικής συνάρτησης. Αυτό επιτυγχάνεται δια της χρήσεως προγράμματος ηλεκτρονικού υπολογιστή.

Το Πρόβλημα Διαιτής είναι ένα από τα πρώτα προβλήματα βελτιστοποίησης που μελετήθηκε στις δεκαετίες του 1930 και 40. Στόχος του είναι η εύρεση της οικονομικότερου συνδυασμού τροφών που θα μπορέσει να ικανοποιήσει όλες τις ημερήσιες θρεπτικές απαιτήσεις του υπό εξέταση ζώου. Η προτεινόμενη στην παρούσα εργασία μέθοδος ταξινόμησης μπορεί να βοηθήσει ουσιαστικά στο σχεδιασμό και την επίλυση ενός τέτοιου προβλήματος, που αφορά την εκτροφή ζώων.

Στον πίνακα 2.11, φαίνονται οι ημερήσιες ανάγκες τριών βασικών ειδών ζώων κτηνοτροφίας. Δεδομένης της πληθώρας των παρεχομένων στη βιβλιογραφία δεδομένων, αλλά και των σχετικώς μεγάλων αποκλίσεων που εμφανίζουν αυτά μεταξύ τους, οι τιμές που

υιοθετούνται είναι οι μέσες εκ των διασταυρωμένων. Τα παρακάτω ζώα είναι «τυποποιημένα», δηλαδή πρόκειται για αίγες 60 κιλών, πρόβατα 90 κιλών και αγελάδες 500 κιλών, σε περίοδο συντήρησης του βάρους τους. Έγινε η παραδοχή ότι τα παρακάτω ζώα βρίσκονται και σε περίοδο γαλακτοπαραγωγής, γι' αυτό και οι τιμές που υιοθετούνται διαφέρουν από της απαιτήσεις για απλή συντήρηση του βάρους του ζώου. Ειδικότερα στα βοοειδή οι ενεργειακές απαιτήσεις είναι 3050 Kcal/day, τιμή που προκύπτει από τα 2825 Kcal/d για συντήρηση και 225 Kcal/d για γαλακτοπαραγωγή, ενώ οι πρωτεϊνικές απαιτήσεις είναι 0,33 kg/d, τιμή που προκύπτει από 280 g/d για συντήρηση και 50 g/d για γαλακτοπαραγωγή. Στις αίγες οι ενεργειακές απαιτήσεις είναι 755 Kcal/day, τιμή που προκύπτει από τα 550 Kcal/d για συντήρηση και 225 Kcal/d για γαλακτοπαραγωγή, ενώ οι πρωτεϊνικές απαιτήσεις είναι 0,1 kg/d, τιμή που προκύπτει από 55 g/d για συντήρηση και 50 g/d για γαλακτοπαραγωγή. Τέλος για τα πρόβατα οι ενεργειακές απαιτήσεις είναι 902,5 kcal/day, τιμή που προκύπτει από τα 577,5 Kcal/d για συντήρηση και 325 Kcal/d για γαλακτοπαραγωγή, ενώ οι πρωτεϊνικές απαιτήσεις είναι 0,15 kg/d, τιμή που προκύπτει από 77 g/d για συντήρηση και 70 g/d για γαλακτοπαραγωγή [138]. Οι απαιτήσεις σε φωσφόρο και ασβέστιο προέκυψαν από την παραδοχή ότι η ημερήσια παραγωγή σε γάλα της αγελάδας είναι της τάξης των 8 κιλών. Έτσι για αγελάδα 500 κιλών απαιτούνται 42,6 γρ ασβεστίου, από τα οποία 25 γρ καταναλώνονται για συντήρηση του ζώου και 17,6 γρ για γαλακτοπαραγωγή, καθώς και 32 γρ φωσφόρου από τα οποία 20 καταναλώνονται για συντήρηση και 12 για γαλακτοπαραγωγή. Τα αιγοπρόβατα έχουν παραπλήσιες απαιτήσεις σε ιχνοστοιχεία δηλαδή 11,5 γρ ασβεστίου ημερησίως, από τα οποία 3,5 γρ καταναλώνονται για την συντήρηση του ζώου και 8 για γαλακτοπαραγωγή, καθώς και 9,5 γρ φωσφόρου ημερησίως από τα οποία 2,5 αφορούν τη συντήρηση του ζώου και 7 την γαλακτοπαραγωγή.

Στον Πίνακα 2.12 παρουσιάζεται η % περιεκτικότητα διαφόρων εμπορικών ζωοτροφών, και η περιεχόμενη μεταβολίσιμη ενέργεια ανά kg ξηρού βάρους. Οι εμφανιζόμενες είναι μέσες τιμές, και αυτές που θα χρησιμοποιηθούν στην επίλυση του προβλήματος του Γραμμικού Προγραμματισμού. Στη βιβλιογραφία, οι παρεχόμενες τιμές διαφέρουν σημαντικά, γεγονός που οφείλεται στο διαφορετικό υλικό του οποίου η περιεκτικότητα προσδιορίζεται. Για παράδειγμα, αλλού ως αραβόσιτος αναφέρεται το όλο φυτό χλωρό, αλλού το όλο φυτό αποξηραμένο, αλλού ο καρπός μαζί με τα πίτουρα, αλλού καθαρισμένος, αλλού αποφλοιωμένος. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις τόσο το πρωτεϊνικό και ενεργειακό περιεχόμενο, όσο και η τιμή πώλησης κυμαίνονται σε διαφορετικές τάξεις μεγέθους. Έτσι, στη δική μας περίπτωση, ως καλαμπόκι αναφέρεται ο καρπός αραβόσιτου, ολόκληρος, άνευ πιτύρων και άχυρου. Ο βαμβακόσπορος θεωρείται ολόκληρος, μη αποφλοιωμένος, μη αλεσμένος. Όσον αφορά τα σογιάλευρα, η επεξεργασία που έχουν υποστεί, δικαιολογεί τις υψηλές τιμές περιεκτικότητας θρεπτικών ουσιών που

παρατηρούνται. Οι τιμές αγοράς υπολογίζονται λαμβανομένης της ισοτιμίας €/ \$ ίσης με 1,23.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι το παρόν παράδειγμα παρουσιάζεται για να γίνει εμφανής η χρησιμότητα της Δημιουργηθείσης Βάσης Γνώσης, γι' αυτό και οι τιμές, ιδιαιτέρως του κόστους, είναι ενδεικτικές καθότι μεταβάλλονται διαρκώς.

Πίνακας 2.11: Ημερήσιες θρεπτικές απαιτήσεις των διαφόρων ζώων κτηνοτροφίας, σε επί τοις εκατό ποσοστά επί της ημερήσιας ποσότητας λαμβανόμενης τροφής

	Πρωτεΐνη kg/d	Ασβέστιο kg/d	Φώσφορος kg/d	Ενεργειακές απαιτήσεις Kcal/day
Αίγες (60 κιλά)	0,1	0,012	0,009	755
Πρόβατα (90 κιλά)	0,15	0,012	0,009	902,5
Βοοειδή (500 kg)	0,33	0,043	0,032	3050

Πίνακας 2.12: Η % περιεκτικότητα διαφόρων εμπορικών ζωοτροφών, και η περιεχόμενη μεταβολίσιμη ενέργεια ανά kg ξηρού βάρους

	Πρωτεΐνη %	Ασβέστιο %	Φώσφορος %	Τιμή €/kg	Ενέργεια μεταβολίσιμη kcal/ kg
Καλαμπόκι (καρπός αραβόσιτου)	7,35	0,034	0,34	0,23 [105]	897
Βαμβακόσπορος	18,45	0,15	0,73	0,11 [104]	947
Σογιάλευρο	49,36	0,31	0,75	0,29 [102]	803,5
Μελάσα	3,9	0,065	0,026	0,12 [129]	587
Ξηρά ζύμη <i>Sacchromyces cerevisiae</i>	46	0,33	1,7	0,4	785,6

Έστω Q_1 η ποσότητα καλαμποκιού που λαμβάνεται ημερησίως από τις αίγες, Q_2 η ποσότητα βαμβακόσπορου, Q_3 η ποσότητα σογιαλεύρου, Q_4 η ποσότητα μελάσας, και Q_5 η ποσότητα ξηράς ζύμης *Sacchromyces cerevisiae*, σε kg/d. Έτσι η συνολική ημερησίως λαμβανόμενη ποσότητα τροφής είναι $Q = Q_1 + Q_2 + Q_3 + Q_4 + Q_5$. Ο δείκτης (κ , π ή α) πάνω δεξιά επιδεικνύει αν αυτή η ποσότητα τροφής αφορά τις αίγες (κ = κατσίκες), τα πρόβατα, ή τις αγελάδες, αντίστοιχα. Εκφράζοντας το περιεχόμενο των παραπάνων πινάκων με μαθηματικές εξισώσεις λαμβάνουμε:

Αίγες

Συνάρτηση προς ελαχιστοποίηση:

$$Q_1^k \cdot 0,23 \text{ €/kg} + Q_2^k \cdot 0,11 \text{ €/kg} + Q_3^k \cdot 0,295 \text{ €/kg} + Q_4^k \cdot 0,123 \text{ €/kg} + Q_5^k \cdot 0,4 \text{ €/kg} = \min (\text{€/d})$$

Πρωτεΐνη :

$$Q_1^k \cdot 7,35\% + Q_2^k \cdot 18,45\% + Q_3^k \cdot 49,36\% + Q_4^k \cdot 3,9\% + Q_5^k \cdot 46\% \geq 0,1 \text{ kg/d}$$

Ασβέστιο:

$$Q_1^k \cdot 0,034 \% + Q_2^k \cdot 0,15 \% + Q_3^k \cdot 0,31 \% + Q_4^k \cdot 0,065 \% + Q_5^k \cdot 0,33 \geq 0,012 \text{ kg/d}$$

Φωσφόρος :

$$Q_1^k \cdot 0,34 \% + Q_2^k \cdot 0,73 \% + Q_3^k \cdot 0,75 \% + Q_5^k \cdot 0,026 + Q_5^k \cdot 1,7\% \geq 0,009 \text{ kg/d}$$

Ενέργεια :

$$Q_1^k \cdot 897 \text{ kcal/kg} + Q_2^k \cdot 947 \text{ kcal/kg} + Q_3^k \cdot 803,5 \text{ kcal/kg} + Q_4^k \cdot 587 \text{ kcal/kg} + Q_5^k \cdot 785,6 \text{ kcal/kg} \geq 755 \text{ kcal/d}$$

Πρόβατα

Συνάρτηση προς ελαχιστοποίηση:

$$Q_1^\pi \cdot 0,23 \text{ €/kg} + Q_2^\pi \cdot 0,11 \text{ €/kg} + Q_3^\pi \cdot 0,295 \text{ €/kg} + Q_4^\pi \cdot 0,123 \text{ €/kg} + Q_5^\pi \cdot 0,4 \text{ €/kg} = \min (\text{€/d})$$

Πρωτεΐνη :

$$Q_1^\pi \cdot 7,35\% + Q_2^\pi \cdot 18,45\% + Q_3^\pi \cdot 49,36\% + Q_4^\pi \cdot 3,9\% + Q_5^\pi \cdot 46\% \geq 1,15 \text{ kg/d}$$

Ασβέστιο:

$$Q_1^\pi \cdot 0,034 \% + Q_2^\pi \cdot 0,15 \% + Q_3^\pi \cdot 0,31 \% + Q_4^\pi \cdot 0,065 \% + Q_5^\pi \cdot 0,33 \% \geq 0,012 \text{ kg/d}$$

Φωσφόρος :

$$Q_1^\pi \cdot 0,34\% + Q_2^\pi \cdot 0,73 \% + Q_3^\pi \cdot 0,75 \% + Q_4^\pi \cdot 0,026\% + Q_5^\pi \cdot 1,7\% \geq 0,009 \text{ kg/d}$$

Ενέργεια :

$$Q_1^\pi \cdot 897 \text{ kcal/kg} + Q_2^\pi \cdot 947 \text{ kcal/kg} + Q_3^\pi \cdot 803,5 \text{ kcal/kg} + Q_4^\pi \cdot 587 \text{ kcal/kg} + Q_5^\pi \cdot 785,6 \text{ kcal/kg} \geq 902,5 \text{ kcal/d}$$

Αγελάδες

Συνάρτηση προς ελαχιστοποίηση:

$$Q_1^a \cdot 0,23 \text{ €/kg} + Q_2^a \cdot 0,11 \text{ €/kg} + Q_3^a \cdot 0,295 \text{ €/kg} + Q_4^a \cdot 0,123 \text{ €/kg} \\ + Q_5^a \cdot 0,4 \text{ €/kg} = \min (\text{kg/d})$$

Πρωτεΐνη :

$$Q_1^a \cdot 7,35 \% + Q_2^a \cdot 18,45 \% + Q_3^a \cdot 49,36 \% + Q_4^a \cdot 3,9 \% \\ + Q_5^a \cdot 46 \% \geq 0,33 \text{ kg/d}$$

Ασβέστιο:

$$Q_1^a \cdot 0,034 \% + Q_2^a \cdot 0,15 \% + Q_3^a \cdot 0,31 \% + Q_4^a \cdot 0,0065 \% \\ + Q_5^a \cdot 0,33 \% \geq 0,0043 \text{ kg/d}$$

Φωσφόρος :

$$Q_1^a \cdot 0,34 \% + Q_2^a \cdot 0,73 \% + Q_3^a \cdot 0,75 \% + Q_4^a \cdot 0,026 \% \\ + Q_4^a \cdot 1,7 \geq 0,0032 \text{ kg/d}$$

Ενέργεια :

$$Q_1^a \cdot 897 \text{ kcal/kg} + Q_2^a \cdot 947 \text{ kcal/kg} + Q_3^a \cdot 803,5 \text{ kcal/kg} + Q_4^a \cdot 587 \text{ kcal/kg} + \\ Q_5^a \cdot 785,6 \text{ kcal/kg} \geq 3050 \text{ kcal/d}$$

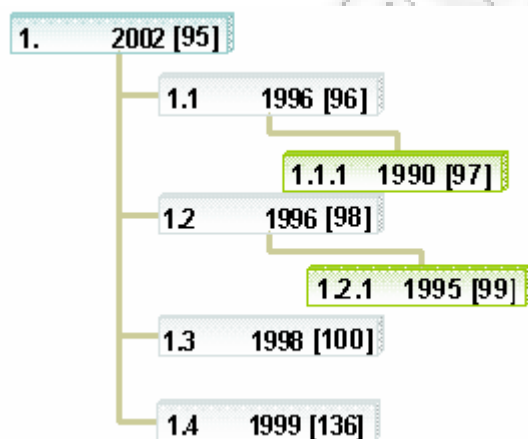
Επιλύοντας το πρόβλημα του Γραμμικού Προγραμματισμού με χρήση του EXCEL λαμβάνουμε τα ακόλουθα αποτελέσματα. Όσον αφορά τις αίγες, η συνάρτηση ελαχιστοποιείται για $Q=Q_3=3,871 \text{ kg/d}$. Αυτή είναι η ελάχιστη απαραίτητη ημερήσια ποσότητα λαμβανομένης τροφής που καλύπτει τις ανάγκες σε πρωτεΐνη, ασβέστιο φωσφόρο και ενέργεια, η οποία στην προκειμένη περίπτωση θα προέρχεται εξ' ολοκλήρου από τα σογιάλευρα. Ομοίως για τα πρόβατα απαιτούνται ημερησίως $3,871 \text{ kg}$ σογιαλεύρου. Για τις αγελάδες η ποσότητα αυτή αυξάνεται στα $13,87 \text{ kg/d}$, αλλά εξακολουθεί να καλύπτεται αποκλειστικά από σογιάλευρο.

Παρατηρείται απουσία ποικιλίας στα αποτελέσματα του γραμμικού προγραμματισμού. Σε όλες τις περιπτώσεις το σιτηρέσιο αποτελείται αποκλειστικά από σογιάλευρο, γεγονός που καθορίζεται κυρίως από τις απαιτήσεις σε ασβέστιο, οι οποίες είναι δυσανάλογα αυξημένες. Το ασβέστιο υπήρξε το ελλειμματικό συστατικό, που καθόρισε τελικά το αποτέλεσμα του Γραμμικού Προγραμματισμού. Δεδομένου όμως ότι οι ανάγκες σε ασβέστιο μπορούν να καλυφθούν και από πρόσθετα σκευάσματα ασβεστίου, τεχνική που χρησιμοποιείται κατά κόρον από τους κτηνοτρόφους, τρέξαμε και το εναλλακτικό σενάριο της κάλυψης μόνο του 30% των απαιτήσεων ασβεστίου από την τροφή και της χορήγησης του υπόλοιπου 70% από πρόσθετα σκευάσματα. Τα αποτελέσματα του υποθετικού αυτού σεναρίου έχουν ως εξής: Όσο αφορά τις αίγες και τα πρόβατα η σύνθεση του ημερήσιου σιτηρεσίου αποτελείται από $0,079 \text{ kg/d}$ βαμβακόσπορου και $1,123 \text{ kg/d}$ σογιαλεύρου. Το

βέλτιστο σιτηρέσιο για τις αγελάδες αποτελείται επίσης αποκλειστικά από βαμβακόσπορο και σογιάλευρο ημερήσιες ποσότητες της τάξεων των 0,215 kg/d και 4,057 kg/d αντιστοίχως. Και εδώ δεν παρατηρείται συμμετοχή της παραχθείσας ξηρής ζύμης στο σιτηρέσιο, γεγονός που οφείλεται κυρίως στην αυξημένη τιμή της. Παρά το εφάμιλλο του σογιαλεύρου υψηλό πρωτεϊνικό της περιεχόμενο, η τιμή της είναι σημαντικά υψηλότερη, και άρα απαγορευτική.

2.4 Δεντροειδείς δομές επιστημονικής εξέλιξης

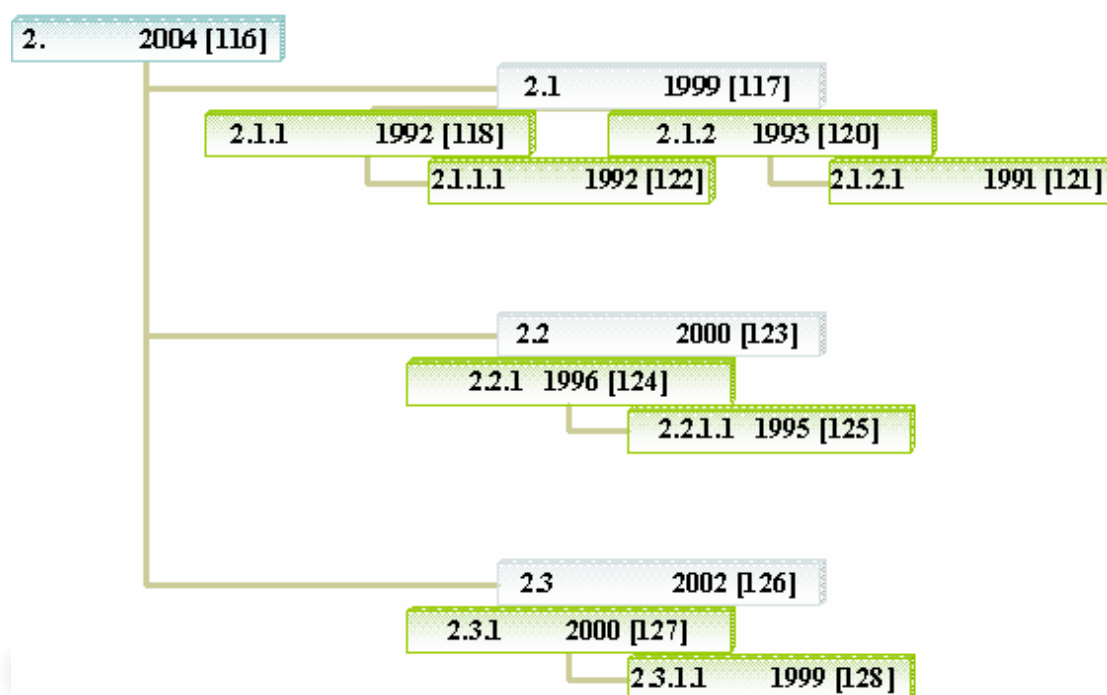
Άλλη μια δυνατότητα που μας παρέχει η δημιουργηθείσα Βάση Δεδομένων αποτελεί η εύρεση και απεικόνιση σε δενδροειδείς δομές (tree like structures), την επιστημονική εξέλιξη, πάνω σε ένα συγκεκριμένο θέμα, όπως αυτή προκύπτει από τις δημοσιευθείσες επιστημονικές εργασίες. Στα σχήματα που ακολουθούν απεικονίζονται τρεις τέτοιες αλληλουχίες. Για καλύτερη συνεννόηση θα υιοθετηθεί η σημειολογία: α.β.γ.δ, όπου α η σειρά ταξινόμησης στην πρώτη γενιά, β η σειρά ταξινόμησης στη δεύτερη γενιά, γ η σειρά ταξινόμησης στο εσωτερικό κάθε στοιχείου της δεύτερης γενιάς και δ η σειρά ταξινόμησης στο εσωτερικό κάθε στοιχείου της τρίτης γενιάς. Σε αγκύλη παρατίθεται ο αύξων αριθμός της αναφοράς στο βιβλιογραφικό πίνακα που ακολουθεί στο τέλος της εργασίας.



Σχήμα 2.13 Δεντροειδής δομή επιστημονικής εξέλιξης

Στο σχήμα 2.13 παρουσιάζεται η αλληλουχία γνώσης που προκύπτει από τη δημιουργηθείσα Βάση Γνώσης, σχετικά με την δημοσίευση 1 της πρώτης γενιάς. Αυτή, για την καλλιέργεια βακτηρίων σε υπόστρωμα υδρολύματος κεράτου κριού, αντλεί υλικό από τέσσερις κλάδους. Στον πρώτο κλάδο, η 1.1.1 μεταφέρει στην 1.1 πληροφορία σχετικά με το χρόνο ζύμωσης, αλλά και το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του προϊόντος καλλιέργειας της ζύμης *Pichia pinus*, υπό ημισυνεχή διεργασία σε υπόστρωμα εκχυλίσματος φλούδας φρούτου

μάνγκο. Οι πληροφορίες αυτές αξιοποιούνται από την 1.1, η οποία δοκιμάζει και νέα είδη ζυμών (*Saccharomyces cerevisiae*, *Torula utilis* και *Candida lipolytica*) σε αντίστοιχα υποστρώματα, δηλαδή εκχυλίσματα οπωροκηπευτικών, συγκρίνοντας τις αποδόσεις. Στο δεύτερο κλάδο, η δημοσίευση 1.2.1. παρέχει στην 1.2 πληροφόρηση σχετικά με τις συνθήκες διεργασίας (θαερμοκρασία, χρόνος ζύμωσης, διαστάσεις ζυμωτήρα, αερισμός, ταχύτητα ανάδευσης) για την καλλιέργεια του μύκητα *Paecilomyces variotii* σε υπόστρωμα υδρόλυμα ημικυτταρίνης. Αυτή τα αξιοποιεί στην καλλιέργεια της ζύμης *Saccharomyces cerevisiae* σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου αλλά και συνεχούς λειτουργίας. Οι αναφορές 1.3 και 1.4 παρέχουν πληροφορίες για το πρωτεϊνικό, νουκλεϊκό και υδατανθρακικό περιεχόμενο αλλά και τα ποσοστά ελάττωσης του BOD και COD των υποστρωμάτων καλλιέργειας των ζυμών *Candida utilis* σε υπόστρωμα εκχυλίσματος ανανά και *Hansenula* σε μελάσσα αντίστοιχα. Οι τιμές αυτές χρησιμοποιήθηκαν ως μέτρο σύγκρισης για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων του 1, αλλά και τη στροφή του πειράματος σε άλλο μικροοργανισμό όπως είναι τα βακτήρια.



Σχήμα 2.14 Δεντροειδής δομή επιστημονικής εξέλιξης

Στο σχήμα 2.14 έχουμε ως πιο πρόσφατη δημοσίευση αυτή του 2004 που περιγράφει μια πιλοτική διεργασία καλλιέργειας της ζύμης *Candida utilis* σε υπόστρωμα κέλυφος ρυζιού. Αυτή αντλεί πληροφοριακό υλικό από τρεις δημοσιεύσεις δεύτερης, ως προς αυτή, γενιάς, οι οποίες με τη σειρά τους αντλούν από άλλες τρίτης και τέταρτης γενιάς δημοσιεύσεις. Όλες αυτές οι δημοσιεύσεις συνεισφέρουν κάποια στοιχεία γνώσεις στην τελική, τα οποία είναι τα

εξής: Η 2.1.1.1 τροφοδοτεί τη δημοσίευση με κωδικό 2.1.1 με στοιχεία για θερμοδυναμικό προσδιορισμό της απόδοσης των αντιδράσεων παραγωγής μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Συγκεκριμένα παρέχει μέθοδο θεωρητικού προσδιορισμού της απόδοσης βάσει θερμοδυναμικών δεδομένων, με επίπεδο λάθους της τάξης του 13% στην περιοχή από 0,01 έως 0,8 (γραμμομόρια παραγόμενης βιομάζας /ανά γραμμομόρια ανθρακικού υποστρώματος καλλιέργειας). Η 2.1.1 αξιοποιεί τα δεδομένα που λαμβάνει καταρτίζοντας μαθηματικό μοντέλο υπολογισμού της θεωρητικής απόδοσης της αντίδρασης παραγωγής μονοκυτταρικής βιομάζας, βασισμένο στη διαφορά ελεύθερης ενέργειας μεταξύ αρχικής και τελικής κατάστασης. Η 2.1 αξιοποιεί τις πληροφορίες αυτές για την κατάρτιση της στοιχειομετρίας της αντίδρασης παραγωγής βιομάζας από υπόστρωμα καθαρής γλυκόζης και τον υπολογισμό της απόδοσής της. Η 2 λοιπόν, που περιγράφει μια πιλοτική διεργασία καλλιέργειας της ζύμης *Candida utilis* σε υπόστρωμα κέλυφος ρυζιού, μπορεί πλέον να συγκρίνει τις δικές της αποδόσεις με της θεωρητικές και να αποφανθεί περί της περιεκτικότητας του χρησιμοποιούμενου υποστρώματος (κέλυφος ρυζιού) στην ζυμώσιμη ύλη (κυτταρίνη) και κατ' επέκταση περί της καταλληλότητας αυτού του υποστρώματος για χρήση σε βιομηχανική κλίμακα.

Ταυτόχρονα, η αναφορά 2 αντλεί και από τον κλάδο 2.2. Η αναφορά 2.2.1.1 παρέχει πληροφορίες για τις παραμέτρους ανάπτυξης της διεργασίας παραγωγής ενός μύκητα σε υπόστρωμα υδρόλυμα ημικυτταρίνης, και γενικές πληροφορίες για το μέγεθος και τον τρόπο λειτουργίας της πιλοτικής μονάδας που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της εργασίας 2. Παράλληλα πιθανώς λειτούργησε αποθαρρυντικά για την ομάδα εργασίας της δημοσίευσης 2.2.1, για την επιλογή μύκητα ως τον προς καλλιέργεια μικροοργανισμό. Το 2.2.1. στρέφεται στη χρήση ζύμης του γένους *Candida*, ενώ το 2.2 εξειδικεύει το είδος τους γένους *Candida*, αντικαθιστώντας την *Candida tropicalis*, με την *Candida langeronii*, που αξιοποιεί το υπόστρωμα υδρολύματος ημικυτταρίνης ζαχαροκάλαμων, με μεγαλύτερες αποδόσεις.

Τέλος, στο σχήμα 2.14 βλέπουμε ότι η αναφορά 2 του 2004, αντλεί και από τον κλάδο του 2.3. Η αναφορά 2.3.1.1 παρέχει την πληροφορία ότι ο ρυθμός ανάπτυξης του μικροοργανισμού *Anaerobiospirillum succiniciproducens* αυξάνεται αυξανόμενης της συγκέντρωσης γλυκόζης μέχρι το όριο των 20 g/l και ότι η ευκολία διαχωρισμού των τελικών προϊόντων, δεν επηρεάζεται από τη συγκέντρωση της γλυκόζης. Η 2.3.1 αξιοποιεί τις πληροφορίες καλλιεργώντας τον ίδιο μικροοργανισμό *Anaerobiospirillum succiniciproducens* σε υπόστρωμα τυρογάλακτος, αυτή τη φορά και επιτελεί σύγκριση των αποδόσεων από αντιδραστήρες διαλείποντος έργου και συνεχούς καλλιέργειας. Αυτές οι πληροφορίες, με τη σειρά τους τροφοδοτούν με πληροφορίες περί των συνθηκών και παραμέτρων της αντίδρασης, τη δημοσίευση 2.3 δεύτερης τάξης για καλλιέργεια της ζύμης *Kluyeromyces fragilis* σε υπόστρωμα τυρόγαλα.

3 Ανάπτυξη Συστήματος λήψης απόφασης με χρήση H/Y - Πολυκριτηριακή Ανάλυση για την επιλογή κατάλληλης μεθόδου παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης

Η λήψη βέλτιστων αποφάσεων με πολλαπλά κριτήρια είναι συνήθως για τον λήπτη απόφασης ένα σύνθετο πρόβλημα που απαιτεί ποσοτικοποίηση και μοντελοποίηση για την επίλυσή του. Η πολυκριτηριακή ανάλυση (Multi Criteria Decision Making, MCDM) είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την αξιολόγηση και την επιλογή των βέλτιστων λύσεων σε προβλήματα με στοχαστικό ή ντετερμινιστικό χαρακτήρα. Έχουν προταθεί και αναπτυχθεί διάφορες προσεγγίσεις και μεθοδολογίες πολυκριτηριακής ανάλυσης, οι οποίες παρουσιάζουν ικανοποιητικά ή όχι αποτελέσματα. Τα δεδομένα του προβλήματος μπορεί να είναι ποσοτικά ή ποιοτικά. Η επιλογή της πλέον κατάλληλης μεθοδολογίας για την επίλυση προβλημάτων και την αξιολόγηση των εναλλακτικών λύσεων βασίζεται στην ιεραρχική αξιολόγηση των εναλλακτικών λύσεων και την κατάταξή της σε σειρά προτίμησης (optimal ranking). Στην επιλογή των λύσεων πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν όλοι οι εμπλεκόμενοι παράγοντες.

Μελέτη περίπτωσης

Για την ενδεικτική εφαρμογή μεθόδου MCDM στην συγκεκριμένη περίπτωση επίλυσης του προβλήματος πολυκριτηριακής επιλογής μεθόδου παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας, ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1. Ορίστηκαν οι συγκρινόμενες εναλλακτικές λύσεις του προβλήματος, από το σύνολο των διαθέσιμων πιθανών εναλλακτικών λύσεων.
2. Ορίστηκαν τα κριτήρια, ως προς τα οποία αξιολογήθηκαν οι συγκρινόμενες λύσεις, με γνώμονα να περιλαμβάνουν τις βασικότερες παραμέτρους του προβλήματος σε ρεαλιστικές συνθήκες.
3. Ορίστηκαν τα βάρη του κάθε κριτηρίου
4. Βαθμολογήθηκαν οι επιδόσεις των λύσεων για το κάθε κριτήριο.
5. Οικοδομήθηκε η μήτρα προτίμησης των εναλλακτικών λύσεων ως προς τα μεμονωμένα κριτήρια (βαθμολογία 1 έως 5 με ακρίβεια δεκαδικού). Ως βασικό σενάριο μελετήθηκε η βέλτιστη λύση ως προς ένα οριζόμενο εύρος της βαθμολογίας του βαρύτερου κριτηρίου, λόγω σημαντικής αβεβαιότητας στην εκτίμηση της επίδοσης μιας από τις εναλλακτικές λύσεις.
6. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση ευαισθησίας με μονοπαραμετρική ανάλυση.

3.1 Μελέτη περίπτωσης - Οι εναλλακτικές λύσεις

Οι εναλλακτικές λύσεις αποτελούν ένα σύνολο διακριτών λύσεων, που η κάθε μια είναι μέθοδος παραγωγής πρωτεϊνικής βιομάζας. Κάθε λύση έχει διαφορετικές επιδόσεις στα διάφορα κριτήρια. Οι διάφορες παράμετροι είναι μεταξύ τους αντιφατικές με αποτέλεσμα ο λήπτης απόφασης να μη μπορεί να επιλέξει τη λύση που είναι βέλτιστη έναντι όλων των κριτηρίων.

Ως εναλλακτικές επιλέγονται να μελετηθούν 7 αντιπροσωπευτικές μέθοδοι παραγωγής οι οποίες είναι:

- A1: Μύκητας *Aspergillus* sp. σε κυτταρίνη
- A2: Βακτήριο *Cellulomonas* σε χαρτοπολτό
- A3: Βακτήριο *Methilophylous methyrotrophous* σε υπόστρωμα μεθανόλη
- A4: Ζύμη *Kluyveromyces fragilis* σε τυρόγαλα
- A5: Ζύμη *Saccharomyces* sp. σε μελάσσα
- A6: Ζύμη *Candida* sp. σε κανονικά αλκάνια
- A7: Ζύμη *Sacchromyces cerevisiae* σε τυρόγαλα

Σύντομη περιγραφή των εναλλακτικών λύσεων

A1: Μύκητας *Aspergillus* sp. σε κυτταρίνη

Η μέθοδος αυτή ασχολείται με την καλλιέργεια μυκήτων επί κυτταρινούχων υπολειμμάτων. Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να διασπάσουν την φυσική κυτταρίνη είναι ελάχιστοι, γι' αυτό και το υπόστρωμα υφίσταται επεξεργασία και τροποποίηση πριν έλθει σε επαφή με αυτούς. Το αποτέλεσμα της επεξεργασίας είναι να καθίσταται η κυτταρίνη προσβάσιμη και διασπασίμη από πολλούς περισσότερους μικροοργανισμούς. Κατά την προκατεργασία αυτή, η κυτταρίνη βυθίζεται σε διάλυμα καυστικού νατρίου συγκέντρωσης 1 N και θερμαίνεται για 15 - 30 λεπτά στους 100–120°C [2]. Έτσι επιτυγχάνεται διόγκωση των ινών κυτταρίνης και διαλυτοποίηση της λιγνίνης και ημικυτταρίνης. Μέχρι και 90 % της κυτταρίνης ελευθερώνεται και είναι διαθέσιμη για προσβολή και διάσπαση από μικροοργανισμούς. Η ανάγκη αυτή για προκατεργασία την κυτταρίνη με βάσεις αυξάνει σημαντικά το λειτουργικό κόστος της μεθόδου.

Ο κυτταρινολυτικός (cellulolytic) μύκητας *Aspergillus* sp., που χρησιμοποιείται, μπορεί να αναπτυχθεί σε ποικιλία ανθρακικών υποστρωμάτων όπως γλυκόζη, λακτόζη, σελλοβιόζη και άμυλο, εξίσου καλά με την κυτταρίνη. Ο οργανισμός παρουσιάζει ανάπτυξη

σε μεγάλη περιοχή pH (3,5 μέχρι 7,0) και θερμοκρασίες από 30° ως 45°C. Εξαιτίας της δυσκολίας για τροφοδοσία επί συνεχούς βάσης με διάλυμα κυτταρίνης, στην εν λόγω μέθοδο, χρησιμοποιείται υπόστρωμα σε ποσοστό μόνο 0,15%, σε εργαζόμενο όγκο 5 λίτρων (εργαστηριακή κλίμακα). Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν ασηπτικές συνθήκες, γεγονός που αυξάνει πολύ, το ήδη βεβαρημένο με την προκατεργασία του υποστρώματος, λειτουργικό κόστος της μεθόδου. Το τελικό προϊόν αποτελείται από τον νηματοειδή μύκητα και μη καταναλωθείσα κυτταρίνη.

Μια οικονομική προσέγγιση της διαδικασίας μπορεί να γίνει με τις ακόλουθες παραδοχές: 300 ημέρες λειτουργίας σε εγκατάσταση ενεργού όγκου 40000 λίτρων με δυναμικότητα παραγωγής 800 μετρικών τόνων προϊόντος το χρόνο, το οποίο θα περιέχει ακατέργαστη πρωτεΐνη σε ποσοστό 25-30% προερχόμενη από απόβλητα βιομηχανιών χυμών εσπεριδοειδών. Το κόστος ανέρχεται σε \$ 180/τόνο. Εάν υπάρξει μια εγγυημένη πληρωμή για την απομάκρυνση των απορριμμάτων και παραπροϊόντων, το λειτουργικό κόστος θα μειωθεί ακολουθώς. Αλλά δεν υπάρχει καμία σε βάθος χρόνου δέσμευση χρηματικής αναγνώρισης του οφέλους από την απομάκρυνση των απορριμμάτων. [2]

Παρά την ικανοποιητική, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του FAO (πίνακας 3.1), σύνθεση του εν λόγω μύκητα ως προς τα απαραίτητα αμινοξέα, η αποδοχή του προϊόντος από το κοινό δεν αναμένεται ενθαρρυντική εξαιτίας του κινδύνου των αφατοξινών. Οι πιο διάσημες μυκητοξίνες περιλαμβάνουν την αφατοξίνη τύπου B1, B2, G1 και G2 από τον μύκητα *Aspergillus flavus*. Εκτός από αυτή, οι οχρατοξίνες είναι εξίσου επικίνδυνες και παράγονται από τον *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* και *Aspergillus oryzae*. Έχοντας την Οχρατοξίνη Α σε μεγαλύτερη αφθονία εκ των πέντε που αποτελούν την οικογένεια, έχουν παρατηρηθεί στα είδη *Aspergillus sp.* και προκαλούν βλάβη στο συκώτι και στα νεφρά. Πριν μερικά χρόνια οι μυκητοξίνες αποτέλεσαν αντικείμενο ευρέως προβληματισμού καθώς πληθώρα από γαλοπούλες ψόφησαν από αφατοξίνη που περιείχετο στην τροφή τους.

Πίνακας 3.1 Σύγκριση της σύνθεσης της πρωτεΐνης του μύκητα *Aspergillus niger* συγκρινόμενη με τις προδιαγραφές του FAO [1]

% αμινοξέα	Προδιαγραφές FAO	<i>Aspergillus niger</i>
Βαλίνη	4, 20	4, 36
Λευκίνη	4, 80	6, 80
Ισολευκίνη	4, 20	3, 75
Λυσίνη	4, 20	4, 50
Μεθιονίνη	2, 20	0, 35
Φαινυλανίνη	2, 80	5, 70
Κυστίνη	2, 80	ίχνη
Τυροσίνη	2, 80	3, 00

Τέλος, όσον αφορά στη φιλικότητα της μεθόδου στο περιβάλλον και στη συμβολή αυτής στην περιφερειακή ανάπτυξη, έχουμε να παρατηρήσουμε ότι η μέθοδος αποβαίνει επικερδής για το σύνολο, καθώς απορροφά τα προς διάθεση κυτταρινούχα υπολείμματα αγροκαλλιέργειας.

A2: Βακτήριο *Cellulomonas sp.* σε χαρτοπολτό

Ο χρησιμοποιούμενος μικροοργανισμός *Cellulomonas cartalyticum* είναι ένα Gram+ βακτήριο. Σε 1000 γαλόνια υδατικού διαλύματος περιέχοντος κυτταρίνη, ορυκτά άλατα και εκχύλισμα ζύμης που έχει την σύσταση του πίνακα 3.3, προστίθενται 10 γαλόνια της ζύμης που περιέχουν περίπου 10 δις ζωντανά κύτταρα ανά ml. Είναι επιθυμητό κατά τη διάρκεια την ζύμωσης η δεξαμενή να επιτρέπει τον αερισμό για τις πρώτες 72-100 ώρες ενώ η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή στους 30 °C. Αυτή η ανάγκη ανάδευσης αυξάνει το λειτουργικό κόστος, το οποίο επιβαρύνεται ακόμα περισσότερο από τη δύσκολη συγκομιδή οφειλόμενη στο πολύ μικρό μέγεθος των βακτηρίων (*Cellulomonas cartalyticum* διαστάσεις 0,4 * 0,6-1,7 μm). Η σύνθεση του μίγματος, σε μέρη κατά βάρος φαίνεται στον πίνακα 3.3. Η ανακατωμένη κατά τη διήθηση κυτταρίνη ανακυκλώνεται. Το διήθημα φυγοκεντρείται για περίπου 10–30 λεπτά στις 1000 με 10000 στροφές το λεπτό. Η σύνθεση των αμινοξέων της παραχθείσας βιομάζας έχει περίπου όπως φαίνεται στον πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: σύνθεση των αμινοξέων του *Cellulomonas cartalyticum* [22]

Αργινίνη	Ισπινίδη	Ισολευκίνη	Λευκίνη	Λυσίνη	Μεθιονίνη	Φαινυλανίνη	Θριονίνη	Τυροσίνη	Βαλίνη
7-12	1,5-4	3-7	8-15	5-9	1-3	2-6	3-8	2-7	8-15

Έχει παρατηρηθεί ότι τα υπάρχοντα στο υπόβαθρο ιχνοστοιχεία παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μικροοργανισμού. Στα κύτταρα, το περιεχόμενο RNA είναι χαμηλότερο παρουσία Zn(++). Σε περίπτωση που η παραγόμενη βιομάζα προορίζεται για εκτροφή ζώων, δεν χρειάζονται επεμβάσεις μείωσης του υψηλού νουκλεϊκού περιεχομένου των βακτηρίων και έτσι δεν επιφορτίζεται επιπρόσθετα το ήδη βεβαρημένο λειτουργικό κόστος της μεθόδου. Αυτή είναι μια χρήσιμη παρατήρηση καθώς μπορεί να οδηγήσει σε μέθοδο μείωσης του συνολικού νουκλεϊκού περιεχομένου του κυττάρου [2]. Στόχος των ερευνών είναι να βελτιστοποιηθούν τα περιβάλλοντα ανάπτυξης των *Cellulomonas sp.* με τέτοιο τρόπο ώστε η προεπεξεργασμένη με βάση κυτταρίνη, να αποδομείται με ταχύτερο

ρυθμό και έτσι να αυξάνεται η παραγωγή (βιομάζα που παράγεται ανά μονάδα όγκου πρώτης ύλης, ανά μονάδα χρόνου).

Πίνακας 3.3: Σύνθεση του μίγματος της ζύμωσης σε μέρη κατά βάρος [22]

H ₂ O	974, 5
K ₂ HPO ₄	7
KH ₃ PO ₄	2
NaCl	0.4
MgSO ₄	0.05
(NH ₄) ₂ SO ₄	1
Εκχύλισμα ζύμης	0, 05
Κυτταρινούχο υλικό	15
Σύνολο	1000

A3: Βακτήριο *Methilophylous methypotrophous* σε υπόστρωμα μεθανόλη

Η μεθανόλη είναι παραπροϊόν της βιομηχανίας πετροχημικών, και ως υπόστρωμα έχει το πλεονέκτημα της πτητικότητας που της επιτρέπει να εξαφανίζεται κατά την υγρή διεργασία ζύμωσης, και να μην παραμένει ως υπόλειμμα στην καλλιέργεια. Η μεθανόλη μπορεί να παρασκευαστεί απ' ευθείας από το μεθάνιο και πλεονεκτεί έναντι αυτού. Το πλεονέκτημα έγκειται στην υγρή και απολύτως διαλυτή στο νερό φύση της, έναντι το της αέριας, αδιάλυτης στο νερό φύσης του μεθανίου. Μεταξύ των μικροοργανισμών που δύνανται να αξιοποιήσουν το μεθύλιο αλλά και τη μεθανόλη ξεχωρίζει το βακτήριο *Methilophylous methypotrophous* [14].

Στο σχήμα 3.6 φαίνεται ότι η τιμή της μεθανόλης σε σχέση με αυτή της μελάσας υπήρξε σταθερά χαμηλότερη, παρά την κοινή ανοδική τους πορεία. Υπολογισμοί που έγιναν στο διάστημα 1976-1976 και αφορούσαν την παραγωγή πρωτεϊνικής βιόμαζας από μεθανόλη, κοστολόγούσαν την τήρηση ασηπτικών συνθηκών στα 660-1000 δολάρια, για κάθε τόνο παραγόμενου προϊόντος από μονάδες ετήσιας δυναμικότητας 50.000-100.000 τόνων. Παρ' ότι χρησιμοποιεί το πιο φθινό υπόστρωμα, τη μεθανόλη, η μέθοδος δεν έχει τύχει οικονομικής αποδοχής στην Δυτική Ευρώπη και τις ΗΠΑ, αντίθετα με τις μακροχρόνιες εξετάσεις καταλληλότητας του προϊόντος που υπήρξαν εξ ολοκλήρου καθησυχαστικές.

Όπως και στην προηγούμενη εναλλακτική λύση, το λειτουργικό κόστος αυξάνεται λόγω της δυσκολίας στη συγκομιδή των μικρού μεγέθους βακτηρίων. Σε περίπτωση που η παραγόμενη βιομάζα προορίζεται για εκτροφή ζώων, δεν χρειάζονται επεμβάσεις μείωσης του υψηλού νουκλεϊκού περιεχομένου των βακτηρίων και έτσι δεν επιφορτίζεται επιπρόσθετα το ήδη βεβαρημένο λειτουργικό κόστος της μεθόδου.

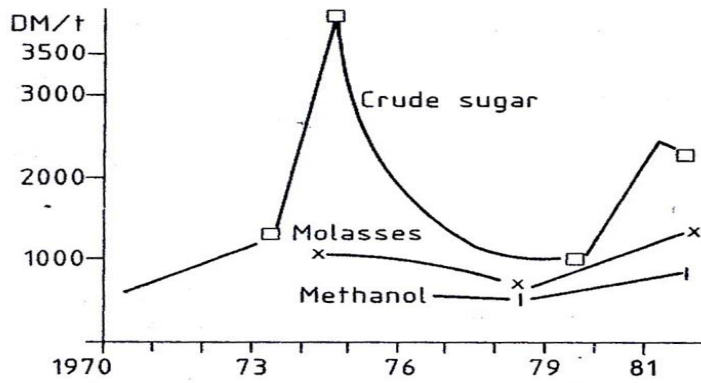
Πίνακας 3.4 Λειτουργικό Κόστος [14]

	%
Μεθανόλη	59
Ενέργεια	23
Μέσο	17
Νερό	1
Σύνολο	100

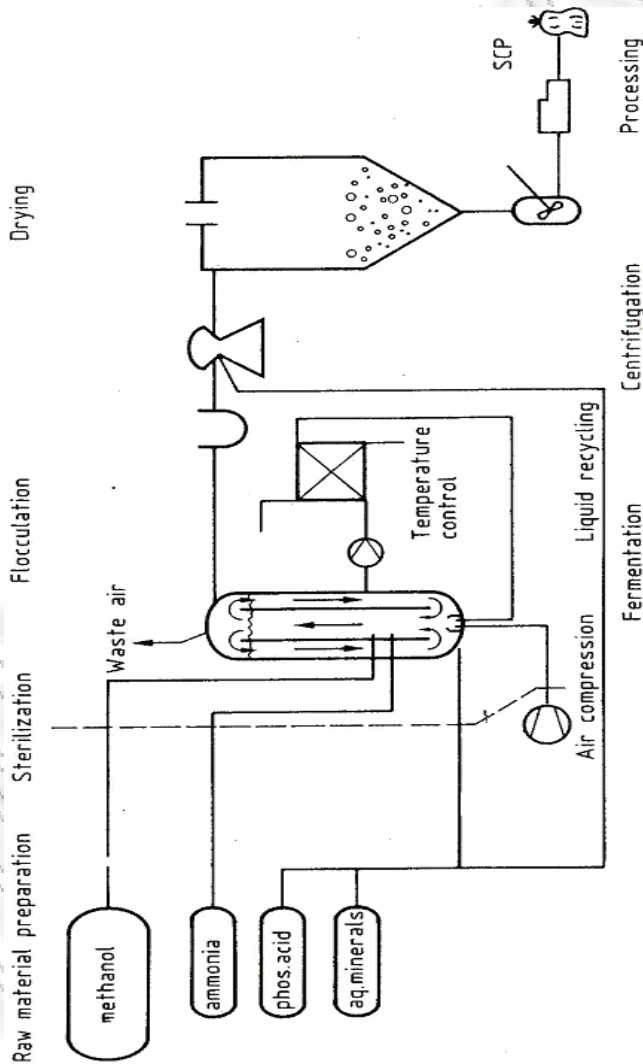
Πίνακας 3.5: % συμμετοχή των διαφόρων διεργασιών στον καθορισμό του λειτουργικού κόστους [14].

	%
Αφυδάτωση	19
Εκτός πεδίου services	16
Ζύμωση	14
Ξήρανση	12
Αποθήκευση / Συσκευασία	12
Εντός πεδίου services	11
Συμπίεση	9
Επεξεργασία του effluent	4
Χειρισμός των πρώτων υλών	3
Σύνολο	100

Σχετικά με την ωριμότητα της μεθόδου, έχουμε να παρατηρήσουμε ότι η τεχνολογία παρασκευής μονοκυτταρικών πρωτεϊνών από μεθανόλη έχει μελετηθεί σε βάθος και η πιο προηγμένη μέθοδος ανήκει στην εταιρεία ICI. Αρχικά πειραματίστηκαν με το βακτήριο *Pseudomonas methylotropha* [23,40], ενώ το βακτήριο *Methylophilus methylotropha* επιλέχθηκε μεταξύ των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν την μεθανόλη μετά από τεστ τοξικότητας και παθογένειας. Το προϊόν ονομάστηκε "PRUTEEN" και περιείχε 72% ακατέργαστη (crude) πρωτεΐνη. Προωθήθηκε στην αγορά το 1967 σαν πηγή ενέργειας, βιταμινών, μετάλλων και ιχνοστοιχείων υψηλής πρωτεϊνικής αξίας. Το περιεχόμενο σε μεθιονίνη και λυσίνη είναι συγκρίσιμο με αυτό του ψαριού. Η ICI ίδρυσε μονάδα παραγωγής 60.000 τόνοι/έτος. Σήμερα το Pruteen δε μπορεί να συναγωνιστεί την σόγια και το ιχθυάλευρο. Η ICI ελπίζει να καταφέρει να πουλήσει την τεχνολογία της μια και η ιδέα του Pruteen δεν είναι οικονομικά βιώσιμη [7]. Στο σχήμα 3.7 φαίνεται το διάγραμμα ροής της διεργασίας.



Σχήμα 3.6: Η τιμή της μεθανόλης συγκρινόμενη με αυτή της μελάσσας, κατά τα έτη 1970-1982 [14]



Σχήμα 3.7 Διάγραμμα ροής διεργασίας παραγωγής του Βακτηρίου *Methilophylous methypotrophous* από υπόστρωμα μεθανόλη

A4 : Ζύμη *Kluyveromyces fragilis* σε Τυρόγαλα

Το 1977 περιεγράφη μια διεργασία για αξιοποίηση τυρογάλακτος η οποία μπορεί να εφαρμοστεί χρησιμοποιώντας αντιδραστήρα διακοπτόμενης λειτουργίας, ημίσυνεχούς λειτουργίας ακόμα και συνεχούς [40]. Η ανάπτυξη του *Kluyveromyces fragilis* σε υπόστρωμα τυρογάλακτος, έχει αναφερθεί ότι δίνει απόδοση 91% και η απομόνωση αυτής της πρωτεΐνης έχει επιτευχθεί σε ποσοστό 80%. Η εν λόγω μέθοδος κρίνεται ιδιαίτερος φιλική προς το περιβάλλον δεδομένης της αξιοποίησης ενός εξαιρετικά ρυπογόνου παραπροϊόντος της τυροκομίας, αλλά και διότι καθ' όλη την πορεία της διεργασίας δεν χρησιμοποιούνται επικίνδυνοι οργανικοί διαλύτες, ούτε παράγονται βλαβερά απόβλητα. Η μέθοδος έχει προοπτικές δεδομένου ότι μέχρι τώρα έχει εφαρμοστεί σε πιλοτική κλίμακα. Αναλυτικότερη αναφορά σε αυτή θα ακολουθήσει στο κεφάλαιο 4.

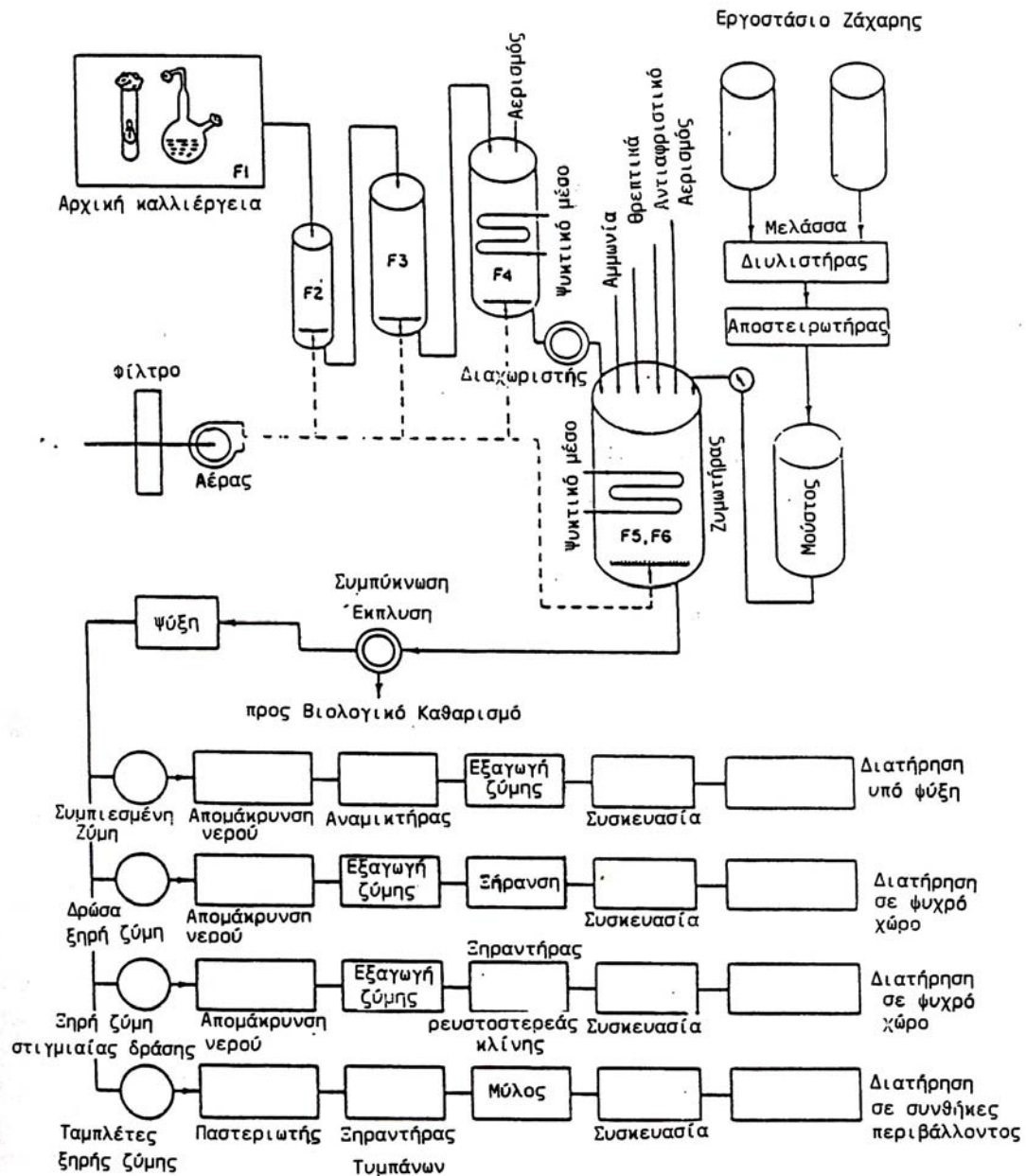
A5: Ζύμη *Saccharomyces sp.* σε μελάσα

Η μελάσα είναι παραπροϊόν της βιομηχανικής παραγωγής ζάχαρης και χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή οινοπνεύματος, ζυμών και ζωοτροφών. Το συμπυκνωμένο διάλυμα ζάχαρης που παραλαμβάνεται από άλεσμα των ζαχαρότευτλων (sugar beets) ή ζαχαροκάλαμων (sugar canes), ψύχεται επιτρέποντας στην ζάχαρη να κρυσταλλωθεί. Όταν η κρυστάλλωση αυτή έχει ολοκληρωθεί, το απομένον διάλυμα που περιέχει 50% σουκρόζη, απομονώνεται. Αυτό αποτελεί τη μελάσα. Από κάθε 100 kg εισερχόμενης πρώτης ύλης, παράγονται 3,5 ως 4,5 kg μελάσσας [32].

Το γεγονός ότι οι μελάσσες μπορούν να προέλθουν από την επεξεργασία τουλάχιστον δυο διαφορετικών φυτικών πηγών (ζαχαρότευτλα ή ζαχαροκάλαμα) ανάλογα με το κλίμα και την θερμοκρασία του τόπου, τις καθιστά συναντώμενες σε ευρύ φάσμα γεωγραφικών μηκών και πλατών. Το ζαχαροκάλαμο είναι φυτό που αναπτύσσεται σε τροπικά κλίματα ενώ τα τεύτλα ευδοκίμουν σε εύκρατα κλίματα. Το περιεχόμενο σουκρόζης των εκ τεύτλων προερχομένων μελασσών εξαρτάται από το ποσοστό περιεχόμενης τέφρας, η οποία αποτελείται από συστατικά που συγκρατούν την σουκρόζη στο διάλυμα [17]. Πέραν του υψηλού περιεχομένου της σε σάκχαρα η μελάσα περιέχει μέταλλα, οργανικές ενώσεις, και βιταμίνες που αποτελούν χρήσιμα θρεπτικά στοιχεία στη διαδικασία της ζύμωσης. Έχουν όμως έλλειψη σε άζωτο και φωσφόρο, στοιχεία τα οποία θα πρέπει να προστεθούν κατά τη διάρκεια της ζύμωσης.

Η ζύμη *Sacharomyces cerevisiae* (ζύμη αρτοποιίας) αποτελεί συχνά εμφανιζόμενο μικροοργανισμό για καλλιέργεια σε υπόστρωμα μελάσσα. Το απομένον της ζύμωσης με *Sacharomyces cerevisiae* υπόλειμμα που περιέχει μη ζυμωμένα σάκχαρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα για την καλλιέργεια της *Candida utilis* ή της *Candida*

tropicalis. Οι ζύμες *Candida sp.* δίνουν μεγαλύτερες αποδόσεις όταν καλλιεργούνται σε καθαρά διαλύματα σακχάρων. Άλλος λόγος για τον οποίο προτιμάται η ζύμη *Sacharomyces cerevisiae* (ζύμη αρτοποιίας), αφορά το μη σχηματισμό αιθανόλης κατά την αερόβια ζύμωση, κάτω από συνθήκες στις οποίες η *Sacharomyces cerevisiae* θα μεταβόλιζε σάκχαρα σε αιθανόλη. [17]



Σχήμα 3.8: Στάδια παραγωγής ξηρής ζύμης. [66]

Η τεχνολογία που χρησιμοποιείται για την παραγωγή ξηρής ζύμης για εκτροφή ζώων ή διατροφή φαίνεται στο σχήμα 3.8. Σε περιπτώσεις που η τιμή του σκευάσματος διατροφής ή εκτροφής εξαρτάται από το πρωτεϊνικό περιεχόμενο, οι ζύμες αυτές καλλιεργούνται αεροβίως σε περιβάλλοντα υψηλής συγκέντρωσης αζώτου (πέραν του 8%)

[17]. Όσον αφορά την παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης από ζύμες, έχουν δημοσιευθεί ρυθμοί κατανάλωσης σακχάρων (υδατανθράκων) από 10 ως 30 gr/lt/h.

Στις μέρες μας, στο National Institute for Chemistry, Indonesian Institute of Sciences στην Bandung της Ινδονησίας σχεδιάζεται πιλοτική μονάδα που θα χρησιμοποιεί μελάσσα σαν πρώτη ύλη με δυναμικότητα παραγωγής 100 τόνους το χρόνο (334 κιλά την ημέρα) και βιομηχανική μονάδα για 1000 τόνους το χρόνο (3,3 τόνους την ημέρα). Η δυναμικότητα των εργαστηριακών μονάδων είναι 34 κιλά ημερησίως που επιτυγχάνεται με την χρήση 6 αντιδραστήρων ζύμωσης, 4-8 λίτρα χωρητικότητα ο καθένας. Το κόστος των προγραμμάτων έρευνας και ανάπτυξης και της ίδρυσης της πιλοτικής μονάδας, είναι \$900.000 και \$1,500.000 αντίστοιχα [32]. Σύμφωνα με τον κανονισμό αριθ. 1260/2001 του Συμβουλίου της ΕΕ της 19ης Ιουνίου 2001 για την κοινή οργάνωση των αγορών στον τομέα της ζάχαρης, η τιμή της μελάσσας καθορίζεται στα 8,21 Ευρώ/100 kg. [139]

A6: Ζύμη *Candida spp* σε κανονικά αλκάνια

Στην αρχή των 1950 η British Petroleum (BP) άρχισε να ενδιαφέρεται για καλλιέργεια μικροοργανισμών με υπόβαθρο αερίελο (gas oil) (κ-παραφίνες C₁₅-C₃₀) [40]. Οι ζύμες μπορούν να τραφούν μόνο με το παραφινικό κλάσμα αυτού, το οποίο ανέρχεται μόλις στο 15%. Αυτό το παραφινικό κλάσμα πρέπει να απομακρύνεται καθώς καθιστά το πετρέλαιο παχύρρευστο και συμπυκνούμενο σε χαμηλές θερμοκρασίες, φράσσοντας τους σωλήνες [7].

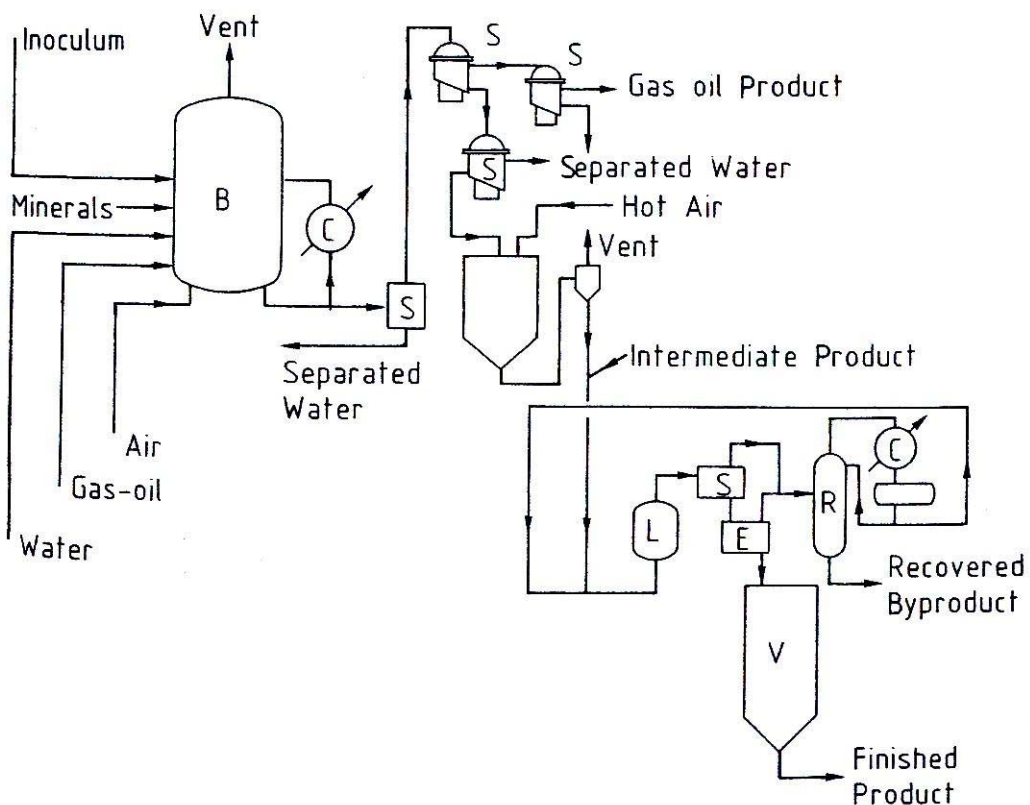
Το υπόλοιπο 85% του αεριελαίου όμως δεν είναι χρήσιμο και πρέπει να απομακρύνεται αποκηρωμένο, γεγονός που αποτελεί πρόβλημα, καθώς χρειάζονται μεγαλύτερες εγκαταστάσεις και τελειότερος καθαρισμός του προϊόντος [40]. Η BP χρησιμοποίησε δυο ζύμες τις *Candida lipolytica* και *Candida tropicalis*. Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται οι ακριβείς ποσότητες των πρώτων υλών που απαιτούνται για μια διαδικασία με κανονικά αλκάνια σε κιλά ανά κιλά ξηρής μάζας προϊόντος [15].

Το νερό, το υπόστρωμα, και τα μεταλλικά άλατα εισέρχονται στον βιοαντιδραστήρα συνεχώς υπό ανάδευση. Το άζωτο παρέχεται από ένα ρεύμα αμμωνίας το οποίο εμπλουτίζει συνεχώς τον εισερχόμενο αέρα, μια και η όλη διεργασία διεξάγεται αεροβίως. Ο ρυθμός εισαγωγής ρυθμίζεται αυτόματα από το pH του μίγματος του αντιδραστήρα. Η θερμότητα που παράγεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης απομακρύνεται από εναλλάκτη θερμότητας.

Μέρος του εξερχομένου από τον αντιδραστήρα μίγματος επανασυμπυκνώνεται και επανεισέρχεται σε αυτόν. Το υπόλοιπο, που περιέχει στερεές ύλες σε ποσοστό 15-20%, κατόπιν αφαιρέσεως του νερού οδηγείται σε ξηραντή και τέλος αποθηκεύεται. Τα προϊόντα θεωρήθηκαν ύποπτα μόλυνσης με υπόστρωμα, γι αυτό και η αποδοχή της μεθόδου από το κοινό δεν υπήρξε η δέουσα. Στο σχήμα 3.10 παρουσιάζεται το διάγραμμα ροής της διεργασίας

Πίνακας 3.9: Απαιτούμενες ποσότητες πρώτων υλών για τη διεργασία ζύμωσης αλκανίων [15].

Πρώτη ύλη	Απαιτούμενα kg/kg ξηρής μάζας προϊόντος
Καθαρά αλκάνια	0,9
Άνυδρη αμμωνία	0,14
Φωσφορικό οξύ	0,052
Μεταλλικά άλατα	0,022



Σχήμα 3.10 . Διάγραμμα ροής διεργασίας

A7: Ζύμη *Sacchromyces cerevisiae* σε τυρόγαλα

Ένα από τα σημαντικά προβλήματα της παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης είναι η υψηλή περιεκτικότητα του προϊόντος σε νουκλεϊκά οξέα. Για την επίτευξη παραγωγής προϊόντος υψηλού πρωτεϊνικού περιεχομένου και μικρής περιεκτικότητας σε νουκλεϊκά οξέα, προτάθηκε μια διεργασία δυο σταδίων κατά την οποία έχουμε συνεχή ζύμωση του τυρογάλακτος από γαλακτικά βακτήρια η οποία ακολουθείται από συνεχή παραγωγή ζύμης. Σύμφωνα με τη διεργασία αυτή, που ονομάζεται Kie στη αρχή η λακτόζη του ορού μετατρέπεται αναερόβια σε γαλακτικό οξύ. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται βακτήρια του γένους *Lactobacillus sp.*. Τα βακτήρια παραγωγής γαλακτικού οξέος απομακρύνονται με φυγοκέντριση. Η παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης επιτυγχάνεται με την καλλιέργεια της ζύμης *Sacchromyces cerevisiae*, η οποία είναι ικανή να αφομοιώσει το γαλακτικό οξύ, ενώ δε μπορεί να επιτύχει το ίδιο και με την λακτόζη καθώς δεν περιέχει το ένζυμο Β-γαλακτοξιδάση [65,71]. Στο σχήμα 3.11 φαίνεται η όλη πορεία σε αδρές γραμμές. (Α: Ζυμωτήρας μετατροπής της Λακτόζης σε Γαλακτικό οξύ, Β: Ζυμωτήρας μετατροπής του γαλακτικού οξέος σε Μονοκυτταρική Πρωτεΐνη, 1,2 : Διαχωριστήρες).

Όταν η ζύμη παραλαμβάνεται με φυγοκέντριση η απόδοση παραλαβής είναι υψηλή και το περιεχόμενο σε ακατέργαστη (crude) πρωτεΐνη είναι της τάξεως του 45-55%. Εναλλακτικά προκειμένου να μειωθεί το κόστος αλλά και να απλοποιηθεί η μέθοδος το προϊόν της ζύμωσης μπορεί να συμπυκνωθεί και να ξηραθεί. Το παραλαμβανόμενο προϊόν, περιέχει ζύμη, παραμένουσες πρωτεΐνες του τυρογάλακτος και ένα αξιοσημείωτο περιεχόμενο σε τέφρα και γαλακτικό οξύ και είναι κατάλληλο για ζωοτροφή [13,40]. Η διεργασία δίνει απόδοση 45-55% στερεής ζύμης επί της καταναλωθείσας λακτόζης [40]. Η απομόνωση αυτής της πρωτεΐνης επετεύχθη σε ποσοστό 80%. Και το νουκλεϊκό περιεχόμενο ήταν μειωμένο κατά 90,8 %. Τα υπολείμματα κυτταρικού τοιχώματος ήταν επίσης μειωμένα στο τελικό προϊόν [1].



Σχήμα 3.11: Η πορεία ανάπτυξης της ζύμης *Sacchromyces cerevisiae* σε τυρόγαλα .

3.2 Μελέτη περίπτωσης - Τα κριτήρια

Τα κριτήρια αποτελούν τις βασικές παραμέτρους για την αξιολόγηση των εναλλακτικών λύσεων. Το σύνολο των κριτηρίων που επιλέχθηκε για την επίλυση του προβλήματος είναι αντιπροσωπευτικά αυτού και καλύπτουν όλες τις πλευρές του.

- f_1 : Κεφαλαιακό κόστος
- f_2 : Λειτουργικό κόστος
- f_3 : Βαθμός αναμενόμενης αποδοχής
- f_4 : Φιλικότητα στο περιβάλλον
- f_5 : Ωριμότητα μεθόδου
- f_6 : Προοπτική μεθόδου
- f_7 : Συμβολή στην περιφερειακή ανάπτυξη

Σύντομη περιγραφή των κριτηρίων

f_1 : Το κριτήριο του Κεφαλαιακού Κόστους

Το κριτήριο αυτό αναφέρεται στο κόστος της εγκατάστασης της μονάδας παραγωγής της μονοκυτταρικής πρωτεΐνης. Τα υψηλότερα έξοδα κεφαλαίου αφορούν τις διεργασίες που λειτουργούν υπό ασηπτικές συνθήκες. Η αποτίμηση βαθμολογιών ως προς αυτό το κριτήριο στις διάφορες εναλλακτικές λύσεις έγινε κατ' εκτίμηση συγκριτικά.

f_2 : Το κριτήριο του Λειτουργικού Κόστους

Παράγοντες που επηρεάζουν το λειτουργικό κόστος είναι οι συνθήκες της διεργασίας, το υλικό τροφοδοσίας, τα θρεπτικά πρόσθετα, οι απαιτήσεις ανάκτησης του προϊόντος, και οι απαιτήσεις σε ψύξη. Η προέλευση του υποστρώματος της ζύμωσης καθορίζει σε σημαντικό βαθμό τα λειτουργικά έξοδα. Η χρήση απορρίμματος ή βιομηχανικού παραπροϊόντος έχει αρνητικό κόστος αγοράς, μια και επί τοις ουσίας εξοικονομεί το κόστος διάθεσης αυτού. Ο επιδιωκόμενος ρυθμός παραγωγής, όπως επίσης και η απόδοση της μεθόδου, παίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των λειτουργικών εξόδων.

f_3 : Το κριτήριο του Βαθμού αναμενόμενης αποδοχής

Το κριτήριο αυτό σχετίζεται με την αποδοχή που αναμένεται να έχει στο κοινό το παραγόμενο προϊόν και σχετίζεται άμεσα με τις πιθανότητες μόλυνσης αυτού, είτε με τοξίνες παραγόμενες από τον μικροοργανισμό, είτε με υπολείμματα υποστρώματος, κυρίως στα επικίνδυνα εξ αυτών (πχ μεθανόλη).

***f₄*: Το κριτήριο της Φιλικότητας στο περιβάλλον**

Η φιλικότητα της μεθόδου στο περιβάλλον έχει δυο συνιστώσες. Η πρώτη αφορά το βαθμό στον οποίο η υπό εξέταση τεχνολογία συντελεί στο να απομακρυνθεί ένα ιδιαίτερα τοξικό οργανικό απόβλητο, για το οποίο σε άλλη περίπτωση θα επιβαρυνόμασταν με το κόστος και η άλλη στο κατά πόσο η ίδια η μέθοδος έχει επιβλαβή για το περιβάλλον παραπροϊόντα.

***f₅*: Το κριτήριο της Ωριμότητας της μεθόδου**

Στο κριτήριο αυτό αποτιμάται η κλίμακα εφαρμογής της μεθόδου, δηλ εάν η μέθοδος μέχρι στιγμής εφαρμόζεται σε εργαστηριακό, πιλοτικό ή βιομηχανικό επίπεδο. Η ωριμότητας της μεθόδου ίναι μέγεθος αντιστρόφως ανάλογο με την προοπτική της.

***f₆*: Το κριτήριο της Προοπτικής της μεθόδου**

Εδώ αποτιμάται η δυνατότητα μελλοντικής κλιμάκωσης του μεγέθους της διεργασίας.

***f₇*: Το κριτήριο της Συμβολής στην περιφερειακή ανάπτυξη**

Το κριτήριο αυτό αφορά στην αξιοποίηση υπάρχοντος παραπροϊόντος σε κάποια περιφέρεια, κατάλοιπο αγροτικής παραγωγής ή βιομηχανικής διεργασίας, η παρουσία του οποίου υποβαθμίζει την περιοχή οικονομικά ή οικιστικά.

3.3 Μελέτη περίπτωσης - Καθορισμός βαρών

Το κάθε κριτήριο αποτελεί μια χαρακτηριστική παράμετρο της τελικής απόφασης. Η σχετική βαρύτητα και σημασία του έναντι των άλλων κριτηρίων, είναι ικανή να αλλάξει τελείως την τελική απόφαση. Αυτό συμβαίνει κατά κανόνα και στην πραγματική ζωή. Διαφορετικοί λήπτες απόφασης, ανάλογα με την υποκειμενική τους άποψη, ενδέχεται να δώσουν διαφορετική προτίμηση σε σημαντικά κριτήρια προσεγγίζοντάς τα από διαφορετική σκοπιά.

Στην περίπτωσή μας, ο λήπτης απόφασης εξέτασε ανά δυο τα κριτήρια και κατέληξε στην ιεράρχηση τους όπως περιγράφεται στον πίνακα 3.12. Στη σχετική αυτή ιεράρχηση το βαρύτερο κριτήριο είναι αυτό του λειτουργικού κόστους το οποίο και κατέχει το μεγαλύτερο επί τοις εκατό βάρος.

3.4 Μελέτη περίπτωσης-Βαθμολόγηση λύσεων ως προς τα κριτήρια

Για την αξιολόγηση της συμπεριφοράς των εναλλακτικών λύσεων ως προς το ορισθέν σύνολο των κριτηρίων, ορίστηκε επίσης, η αντίστοιχη κλίμακα βαθμολόγησης για κάθε κριτήριο. Δεδομένης της αβεβαιότητας στην αξιολόγηση τους, βαθμολογήθηκαν ποιοτικά, σε μια κλίμακα από το 1 έως το 5 με ακρίβεια δεκαδικού θεωρώντας τη μέγιστη βαθμολογία ως βέλτιστη, ασχέτως της κατεύθυνσης του κριτηρίου (δηλαδή αν η συμπεριφορά του πρέπει να μεγιστοποιηθεί ή να ελαχιστοποιηθεί). Στον Πίνακα 3.12 παρατίθενται η βαθμολογία κάθε εναλλακτικής λύσης ως προς τα κριτήρια, ενώ ο πίνακας 3.13 αποτελεί την ορθογωνική μήτρα προτίμησης λύσεων και συνίσταται από τα γινόμενα του βάρους κάθε κριτηρίου επί τη βαθμολογία του αποκόμισε αυτό από τον εμπειρογνώμονα.

Πίνακας 3.12: Βάρη κριτηρίων & βαθμολογία λύσεων

	w_i	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
f_1	0.18	4.5	2.8	2.1	4	2.2	1.8	4.2
f_2	0.27	3.2	2.5	2.3	4.8	3.5	4.1	3.5
f_3	0.25	1.5	2.1	2.1	4.3	4.0	2.5	4.4
f_4	0.05	3.8	3.4	2.5	3.5	4.8	2.9	3.5
f_5	0.08	1.2	3.2	3.1	3.6	4, 3	4.7	2.1
f_6	0.12	1.9	3.7	3.2	4	3.4	1.2	4.0
f_7	0.05	3.7	2.5	1.5	4.2	4.3	1.7	4.2
Σύνολο	1.00							

Πίνακας 3.13 : Ορθογωνική μήτρα προτίμησης λύσεων

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
f_1	0.810	0.504	0.378	0.720	0.396	0.324	0.756
f_2	0.864	0.675	0.621	1.296	0.945	1.107	0.945
f_3	0.375	0.525	0.525	1.075	1.000	0.625	1.100
f_4	0.190	0.170	0.125	0.175	0.240	0.145	0.175
f_5	0.096	0.256	0.248	0.288	0.256	0.376	0.168
f_6	0.228	0.444	0.384	0.480	0.408	0.144	0.480
f_7	0.185	0.125	0.075	0.210	0.215	0.085	0.210
Σύνολο	2.748	2.699	2.356	4.244	3.460	2.806	3.834

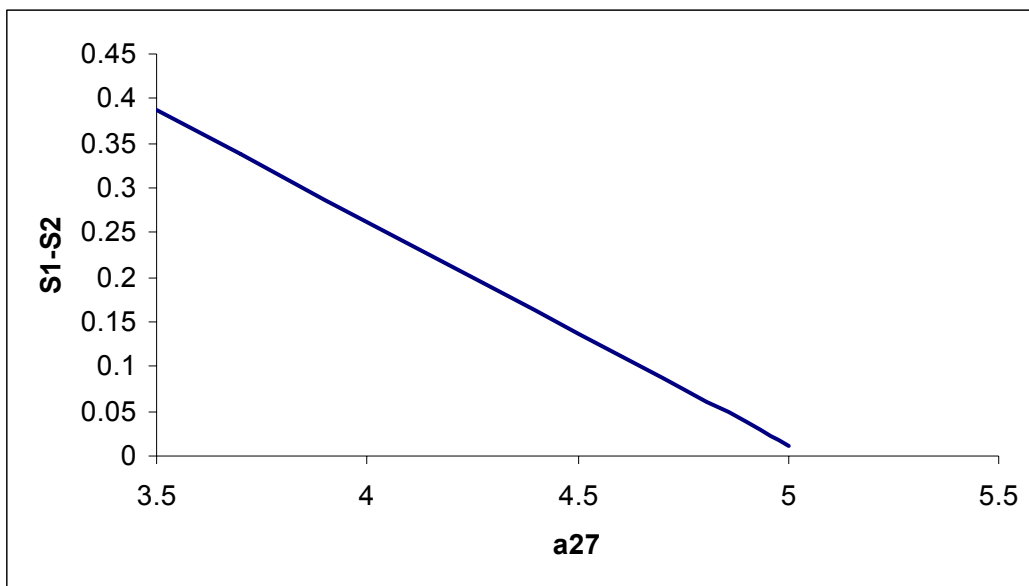
3.5 Μελέτη περίπτωσης - Ανάλυση ευαισθησίας

Το πρόβλημα της πολυκριτηριακής επιλογής μεθόδου για την παραγωγή πρωτεϊνικής βιομάζας προοριζομένης για ζωοτροφή, μελετάται στην παρούσα εργασία μέσω μια πολυκριτηριακής ανάλυσης. Το μοντέλο είναι ενδεικτικό. Τα κριτήρια δεν είναι μοναδικά. Θα μπορούσαν να επιλεγούν άλλα κριτήρια που ενδεχομένως θα έδιναν διαφορετικές βέλτιστες λύσεις. Στην ανάλυση ευαισθησίας μελετήθηκαν η μεταβολή της επίδοσης μιας εναλλακτικής λύσης ως προς ένα ή περισσότερα κριτήρια, λόγω αβεβαιότητας στην αξιολόγηση και λόγω έλλειψης απόλυτων ποσοτικών δεδομένων. Θα είχε επίσης ενδιαφέρον αν μελετηθούν η συνεργεία μεταξύ δυο σημαντικών κριτηρίων (trade -offs) ή ο τρόπος επίδρασης της μεταβολής των βαρών των κριτηρίων στη λήψη της τελικής απόφασης.

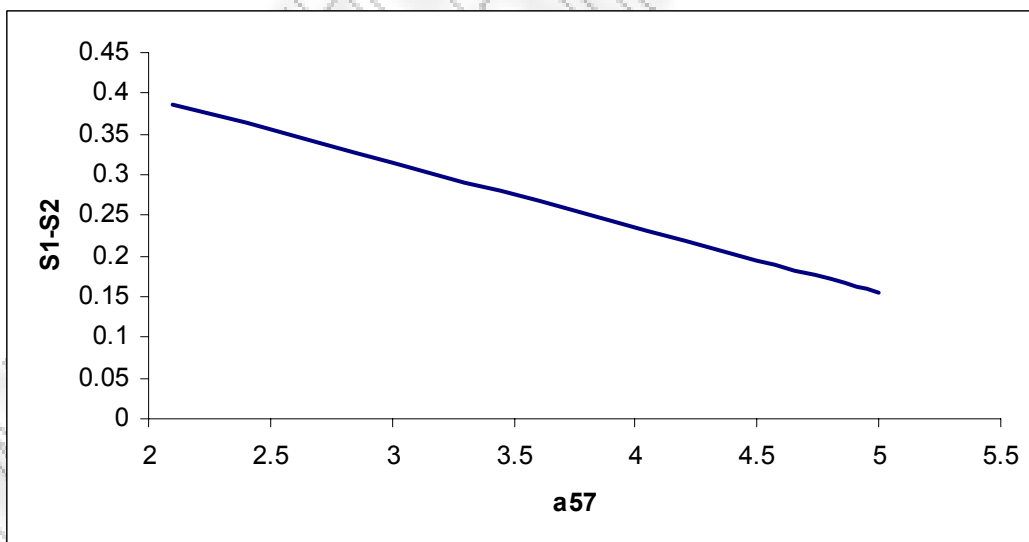
Τα αποτελέσματα της πολυκριτηριακής ανάλυσης είχαν ως εξής:
A4>A7>A5>A6>A1>A2>A3.

Βέλτιστη λύση είναι η μέθοδος καλλιέργειας της ζύμης *Klauyromyces fragillis* σε υπόστρωμα τυρόγαλα. Παρατηρούμε ότι τα κριτήρια που καθόρισαν τη διαφορά μεταξύ πρώτης και δεύτερης εναλλακτικής είναι τα f_2 και f_5 . Στο διάγραμμα 3.14, αναπαριστάται γραφικά η διαφορά της πολυκριτηριακής επίδοσης των δυο καλύτερων λύσεων ως προς τη μεταβολή του βαρύτερου κριτηρίου μέσα στο εύρος 3, 5 - 5 στη βάση του υπολογιστικού Excel. Παρατηρούμε ότι όσο και να αυξηθεί η βαθμολογία της δεύτερης λύσης, δεν καταλαμβάνει την πρώτη θέση. Η περίπτωση δηλαδή της καλλιέργειας ζύμης *Klauyromyces fragillis* σε υπόστρωμα τυρογάλακτος είναι σταθερή (μη ευαίσθητη).

Στο διάγραμμα 3.15, αναπαριστάται γραφικά η διαφορά της πολυκριτηριακής επίδοσης των δυο καλύτερων λύσεων ως προς τη μεταβολή του κριτηρίου f_5 , μέσα στο εύρος 2,1 - 5 στη βάση του υπολογιστικού Excel. Το κριτήριο f_5 είναι αυτό στο οποίο οι 2 αυτές λύσεις παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη διαφορά βαθμολογίας. Παρατηρούμε ότι όσο και να αυξηθεί η βαθμολογία της δεύτερης λύσης, δεν καταλαμβάνει την πρώτη θέση. Η περίπτωση δηλαδή της καλλιέργειας ζύμης *Klauyromyces fragillis* σε υπόστρωμα τυρογάλακτος είναι σταθερή (μη ευαίσθητη).



Διάγραμμα 3.14: Γραφική παράσταση της κατανομής της διαφοράς επίδοσης των δυο καλύτερων λύσεων ως προς το κριτήριο f_2



Διάγραμμα 3.15: Γραφική παράσταση της κατανομής της διαφοράς επίδοσης των δυο καλύτερων λύσεων ως προς το κριτήριο f_5

4 Εφαρμογή του αποτελέσματος της Πολυκριτηριακής Ανάλυσης στον Ελλαδικό χώρο.

4.1 Τυρόγαλα

Ορός γάλακτος ή τυρόγαλα είναι το υποκίτρινο απομένον υγρό μετά την απομάκρυνση πρωτεϊνών και λίπους από το γάλα, με σκοπό την παραγωγή τυριού ή γιαουρτιού. Παραδοσιακά προέρχεται από την διαδικασία αφαίρεσης της πέτσας του γάλακτος στην παρασκευή τυριού, αλλά πλέον προέρχεται και από την διεργασία υπερδιήθησης (ultra filtration), κατά την οποία το κλάσμα πρωτεΐνης που αντιπροσωπεύουν οι γαλακτοαλβουμίνες και γαλακτογλοβουλίνες, ενσωματώνεται με την καζεΐνη. Περίπου 9 kg τυρογάλακτος αποδίδονται για κάθε κιλό τυριού που παρασκευάζεται και το κυρίαρχο συστατικό είναι η λακτόζη (4-6%) (w/v) [32].

Το τυρόγαλα παράγεται σε μεγάλες ποσότητες και βρίσκεται σε όλες σχεδόν τις χώρες. Μια και προέρχεται από το γάλα, θα φανταζόταν κανείς ότι μπορεί να αξιοποιηθεί για απ' ευθείας κατανάλωση από τον άνθρωπο, αλλά η αυτή η διέξοδος αξιοποίησης του περιορίζεται λόγω του ότι: (α) το κυρίαρχο σάκχαρο, η λακτόζη βρίσκεται σε συγκέντρωση τόσο χαμηλή που είναι απαγορευτική οικονομικά για την μεταφορά και συμπύκνωσή του (β) προκαλεί προβλήματα δυσανεξίας στους ενήλικες, καθώς η ικανότητα αφομοίωσης της λακτόζης από τον οργανισμό μειώνεται με την ενηλικίωση, κυρίως στους πληθυσμούς της Αφρικής και της Ασίας (γ) Ο δισακχαρίτης παρουσιάζει την τάση να κρυσταλλώνεται με διαλύματα υψηλών συγκεντρώσεων, περιορίζοντας έτσι τις συνθήκες κάτω από τις οποίες θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν πρόσθετο τροφίμων (δ) έχει συγκριτικά χαμηλή γλυκαντική ικανότητα [32]. Το 1956 η γαλλική εταιρεία γαλακτοκομικών Fromageries Bel ξεκίνησε ένα πρόγραμμα παραγωγής ζύμης από τυρόγαλα. Το 1983, η ίδια εταιρεία παρήγαγε 8000 τόνους ζύμης από ζυμωτήρα συνεχούς καλλιέργειας. Παρόλο που παρόμοιες προσπάθειες έγιναν τόσο σε ευρωπαϊκό έδαφος όσο και στις Ηνωμένες Πολιτείες η διεργασία της Bel υπήρξε η πιο επιτυχημένη. Οι ζύμες προορίστηκαν κυρίως για ζωοτροφή [32].

Το τυρόγαλα έχει αναγνωρισθεί ως ένα εξαιρετικό υπόστρωμα για παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών. Ο μικροοργανισμός του οποίου το όνομα έχει κατ' εξοχήν συνδεθεί με το τυρόγαλα είναι η ζύμη *Kluyveromyces fragilis*. Στον πίνακα αποτυπώνεται η επί τοις εκατό κατ' όγκο σύσταση του τυρογάλακτος.

Πίνακας 4.1 Επί τοις εκατό κατ' όγκο σύσταση του τυρογάλακτος [32]

Συστατικό	% w/v
Νερό	92, 6-93, 5
Λακτόζη	4, 5-5, 2
Πρωτεΐνες	0, 3-1, 0
Μεταλλικά άλατα	0, 6-0, 9
Γαλακτικό οξύ	0, 2-0, 3

4.2 Παραγόμενες ποσότητες τυρογάλακτος

Είναι γνωστό ότι κατά μέσο όρο ένα κιλό τυρί για να παραχθεί χρειάζεται 10 λίτρα γάλα και παράγει 9 λίτρα τυρόγαλα [91]. Στις ΗΠΑ παράγονται περίπου 30 εκατομμύρια τόνοι υγρού τυρογάλακτος ετησίως [91]. Στο σχήμα 4.3 φαίνεται η μηνιαία διακύμανση της παραγωγής ξηρού τυρογάλακτος στις Ηνωμένες Πολιτείες κατά τα έτη 2002 έως σήμερα. Η τιμή του ξηρού τυρογάλακτος υπολογίζεται στα 0,03 \$/τόνο [92]. Έτσι μια μεσαίου μεγέθους βιομηχανία που παράγει 1.800.000 λίτρα τυρογάλακτος ετησίως, κερδίζει 426.000 \$/χρόνο από την πώλησή του [91]. Η παγκόσμια παραγωγή τυρογάλακτος φαίνεται στον πίνακα 4.2 [92].

Σύμφωνα με στοιχεία του 1998 [88] στην Ελλάδα παράγονται 560.000 τόνοι τυρόγαλα το χρόνο, το οποίο κατά 70 % προέρχεται από αιγοπρόβειο γάλα και διατίθεται ως εξής:

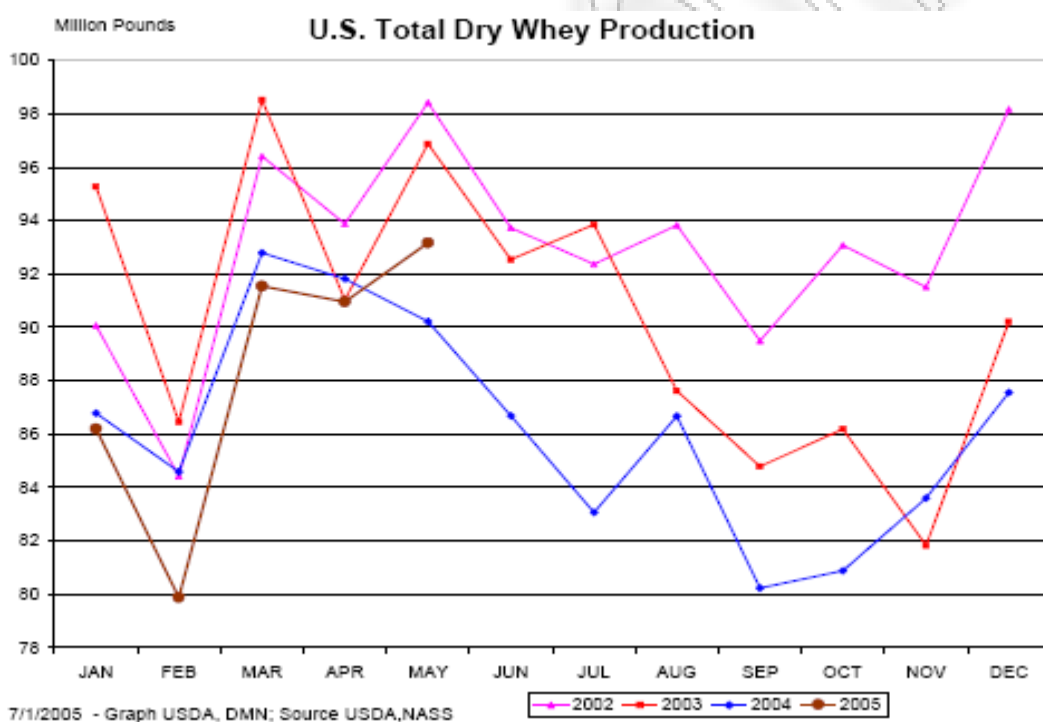
- 260.000 τόνοι αξιοποιούνται σε τυριά τυρογάλακτος
- 50.000 τόνοι αξιοποιούνται στην χοιροτροφία
- 250.000 τόνοι αναξιοποίητο πλήρες τυρόγαλα
- 245.000 τόνοι αναξιοποίητος ορός λακτόζης.

Κατ' αυτόν τον τρόπο απορρίπτονται 495.000 τόνοι, και έτσι χάνονται οργανικές ουσίες υψηλής βιολογικής αξίας όπως πρωτεΐνες (3,73 χιλιάδες τόνοι) και λακτόζη (22,25 χιλιάδες τόνοι) που επιβαρύνουν την κανονική ρύπανση των γαλακτοβιομηχανιών με 17, 8 χιλιάδες τόνους BOD που αντιστοιχούν με ρύπανση 673.000 ανθρώπων [68,70].

Πίνακας 4.2: Παγκόσμια παραγωγή ξηρού τυρογάλακτος. (FAO Statistical databases 2002)

[92]

	Μετρικοί τόνοι ξηρού τυρογάλακτος		Μετρικοί τόνοι ξηρού τυρογάλακτος
1991	1.591.456	1996	1.825.342
1992	1.719.527	1997	1.797.683
1993	1.704.452	1998	1.875.487
1994	1.721.392	1999	1.876.269
1995	1.808.545	2000	1.927.289
Μέση ετήσια αύξηση 2, 2 %			



Σχήμα 4.3 Μηνιαία διακύμανση της παραγωγής ξηρού τυρογάλακτος στις ΗΠΑ κατά τα έτη 2002 έως και σήμερα [93].

4.3 Συνεχής διεργασία παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης

Ο στόχος όλων των ερευνητικών προσπαθειών για την παραγωγή κυτταρικής πρωτεΐνης από τυρόγαλα μέσω αερόβιας ζύμωσης, είναι η ανάπτυξη μιας συνεχούς διεργασίας ζύμωσης η οποία να συνοδεύεται από συνεχή ανάκτηση κυτταρικής μάζας. Στη ζύμωση αυτή, σαν ανοιχτό σύστημα που είναι, λειτουργεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε υπό συνθήκες σταθερού όγκου θρεπτικού υλικού και σταθερού ειδικού ρυθμού ανάπτυξης του μικροοργανισμού, εισάγεται νέο θρεπτικό υλικό στον αντιδραστήρα με σταθερή ταχύτητα ροής και υπό ασηπτικές συνθήκες, ενώ ταυτόχρονα ίσο ποσό υλικού καλλιέργειας κυττάρων εξάγεται από αυτόν. Με τον ρυθμό διάλυσης εννοούμε το κλάσμα του όγκου του υγρού ζύμωσης το οποίο αντικαθίσταται από νέο υγρό ζύμωσης ανά ώρα συνεχούς καλλιέργειας [66].

Η διεργασία συνεχούς έργου πλεονεκτεί αυτής του διαλείποντος έργου κυρίως ως προς τη δυνατότητα χρησιμοποίησης μεγαλύτερων μεγεθών ζύμωσης με καλύτερα οικονομικά αποτελέσματα και ο πληρέστερος έλεγχος λειτουργίας με αναφορά σε μαθηματικά μοντέλα. Άλλα πλεονεκτήματα είναι η μείωση προσθέτων εξόδων που αφορούν το μέγεθος του ζυμωτήρα, τα απαραίτητα εργατικά, τις αντλίες και τους χώρους αποθήκευσης. Τέλος το σημαντικότερο πλεονέκτημα είναι η ελάττωση της απώλειας του μικροοργανισμού. Οι τελευταίοι σαν καταλύτες δεν καταναλώνονται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, ενώ η απόρριψη τους δημιουργεί πρόσθετο κόστος. Παρά τα πλεονεκτήματά τους οι συνεχείς διεργασίες δεν έχουν βρει μεγάλη εφαρμογή σήμερα στη βιομηχανία. Μερικοί από τους λόγους είναι η δυσκολία διατήρησης ασηπτικών συνθηκών, η περιορισμένη εναλλακτική δυνατότητα χρησιμοποίησης για την παραγωγή διαφορετικών προϊόντων και το γεγονός ότι οι περισσότερες βιομηχανίες εφαρμοσμένης βιοτεχνολογίας είναι κατά κανόνα μικρές [65,75,76].

Σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν μια συνεχή διεργασία παραγωγής κυτταρικής πρωτεΐνης από τυρόγαλα είναι:

α) Το είδος του καλλιεργούμενου μικροοργανισμού. Όλα τα είδη μικροοργανισμών δεν είναι κατάλληλα για καλλιέργεια σε συνεχή διεργασία, ανεξάρτητα από τα επιτυχημένα αποτελέσματα τα οποία μπορεί να δίνουν σε συνθήκες διαλείποντος έργου [65].

β) Η συγκέντρωση λακτόζης. Αναφέρεται ότι ο ορός γάλακτος που θα ζυμωθεί σε μια συνεχή διεργασία θα πρέπει να παρουσιάζει μικρότερη συγκέντρωση λακτόζης απ' αυτή του φυσικού ορού και συγκεκριμένα γύρω στο 30, 5% [65].

γ) Ο συνδυασμός των θρεπτικών αλάτων καθώς και οι ενώσεις που χρησιμοποιούνται για την διατήρηση του pH της ζύμωσης σε μια ορισμένη τιμή. Έχει παρατηρηθεί ότι ο συνδυασμός των αντιδραστηρίων και ο ρυθμός διάλυσης επιδρούν στη παραγωγικότητα σε

κυτταρική μάζα, για το ίδιο είδος μικροοργανισμού, σε συνθήκες συνεχούς έργου [65].

δ) Η παροχή οξυγόνου, η θερμοκρασία της ζύμωσης και η τιμή του pH [65].

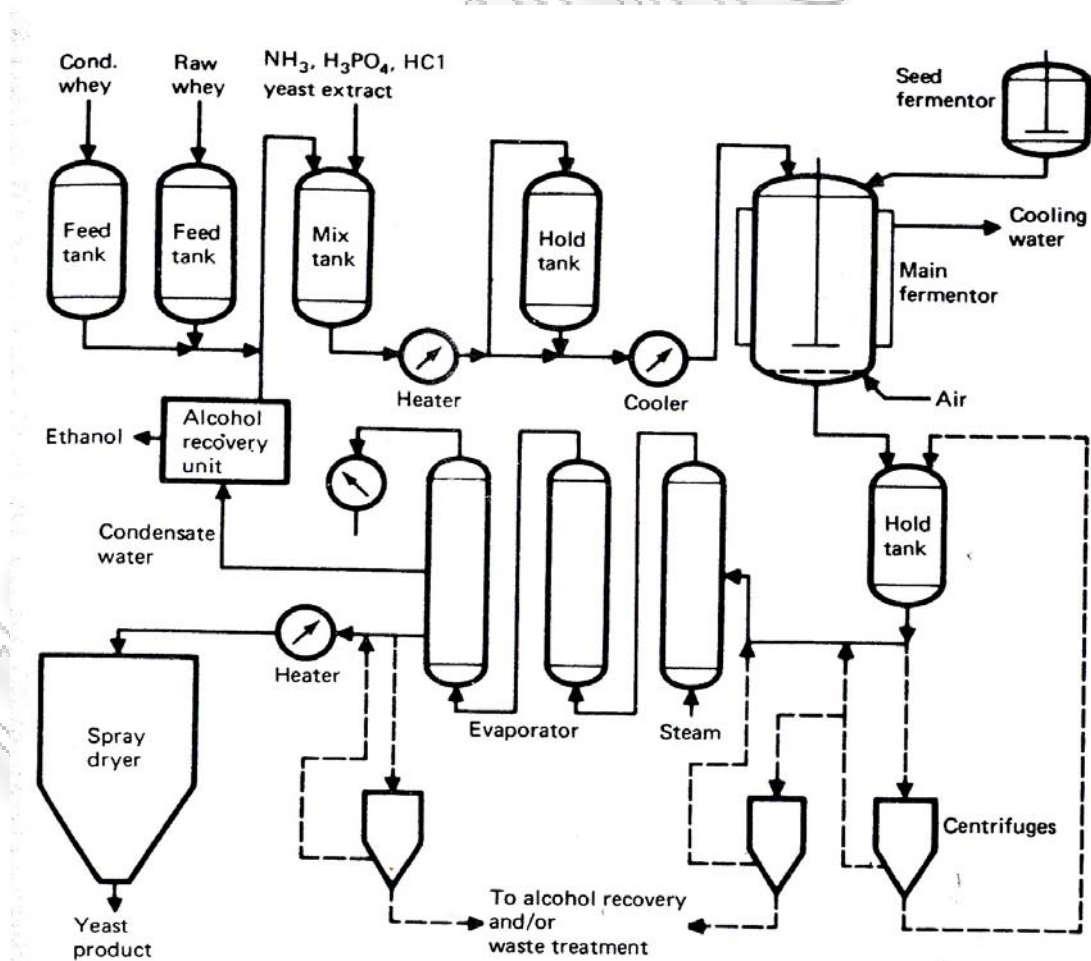
ε) Ο ρυθμός διάλυσης ο οποίος ίσως αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα που επηρεάζει την παραγωγικότητα της ζύμωσης συνεχούς έργου. Οι έρευνες που έχουν γίνει ως τώρα, δείχνουν ότι ο συντελεστής απόδοσης σε βιομάζα και η παραγωγικότητα μειώνονται όσο αυξάνει ο ρυθμός διάλυσης, πέρα από τον οποίο επέρχεται σημαντική μείωση του συντελεστή απόδοσης σε βιομάζα [65,76,77]. Η μείωση αυτή αποδίδεται αφ' ενός στην ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών, και αφ' ετέρου στον μη επαρκή αερισμό, που συνεπάγεται η αύξηση του ρυθμού διάλυσης. Μικρές ανεπάρκειες σε θρεπτικά συστατικά, οι οποίες δεν γίνονται φανερές σε συνθήκες διαλείποντος έργου, αποτελούν περιοριστικούς παράγοντες σε συνθήκες συνεχούς καλλιέργειας. Ακόμη, η αύξηση του ρυθμού διάλυσης προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης της λακτόζης και αύξηση του ιξώδους του υποστρώματος, με αποτέλεσμα τον μη ικανοποιητικό αερισμό του. Αυτό έχει σαν συνέπεια τη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης του μικροοργανισμού [76]. Οι ρυθμοί διάλυσης που χρησιμοποιούνται στις ερευνητικές προσπάθειες ανάλογα με τις συνθήκες καλλιέργειας και το είδος του μικροοργανισμού, κυμαίνονται μεταξύ $0,1 \text{ h}^{-1}$ και $0,3 \text{ h}^{-1}$ [76,77].

Κατά την κλιμάκωση μεγέθους η συνεχής παραγωγή κυτταρικής πρωτεΐνης συναντά περισσότερες δυσκολίες απ' ότι προβλεπόταν. Η μετάβαση από μια επιτυχημένη διεργασία ζύμωσης διαλείποντος έργου δεν συνεπάγεται μια επιτυχημένη συνεχή διεργασία. Σε συνθήκες συνεχούς έργου, ο ρυθμός ανάπτυξης είναι σχεδόν πάντα μικρότερος του μέγιστου δυνατού [65,76].

4.4 Διάγραμμα ροής τη διεργασίας

Η ζύμη που έχει χρησιμοποιηθεί για μεταβολισμό του τυρογάλακτος είναι η *Kluyveromyces fragilis*. Η θερμοκρασία ανάπτυξης της ζύμης είναι μεταξύ $30-33 \text{ }^\circ\text{C}$ και αναφέρονται αποδόσεις πιλοτικής κλίμακας, της τάξης των $0,55 \text{ g/g}$ καταναλωθείσης λακτόζης. Παρότι δεν παρατηρείται μείωση της απόδοσης σε θερμοκρασίες υψηλές μέχρι $41-43 \text{ }^\circ\text{C}$, παρατηρείται μόλυνση από βακτήρια [13]. Η ζύμωση διεξάγεται υπό αερόβιες συνθήκες [40]. Σε εργαστηριακή κλίμακα η ανάπτυξη του *Kluyveromyces fragilis* σε υπόστρωμα τυρόγαλα, έχει δώσει απόδοση 91% , η απομόνωση αυτής της πρωτεΐνης επετεύχθη σε ποσοστό 80% . Και το νουκλεϊκό περιεχόμενο ήταν μειωμένο κατά $90,8\%$. Τα υπολείμματα κυτταρικού τοιχώματος ήταν επίσης μειωμένα στο τελικό προϊόν [1]. Συμπυκνωμένο τυρόγαλα αραιώνεται αρχικά με νερό ή ακατέργαστο τυρόγαλα για επίτευξη γνωστής συγκέντρωσης λακτόζης. Ελαχιστοποίηση των απωλειών επιτυγχάνεται με τη χρήση ενός βρόγχου ανακύκλωσης των προϊόντων του ζυμωτήρα, τα οποία ξαναγυρίζουν στα

αρχικά στάδια της διεργασίας. Ακολούθως το τυρόγαλα εμπλουτίζεται με θρεπτικά συστατικά, θερμαίνεται στους 80 °C για 45 λεπτά, στη συνέχεια ψύχεται και οδηγείται στο ζυμωτήρα [13]. Σε ασυνεχείς διεργασίες μια πυκνότητα ζύμης τάξης 10^9 κύτταρα/ml που εισάγεται σε ποσοστό 10 % επί του υποστρώματος δίνει τη δυνατότητα μέσα σε διάστημα 8 ωρών να καταναλωθεί όλη η ποσότητα λακτόζης. Υπ' αυτές τις συνθήκες επιτυγχάνεται μέγιστος ρυθμός διαλυτοποίησης (λόγος ροής εισαγωγής μέσου καλλιέργεια προς τον όγκο του ζυμωτήρα (όγκος/χρόνο/όγκο) [25] των 0.35 h^{-1} [13]. Οι νεκροί χρόνοι ζύμωσης μπορούν να ελαχιστοποιηθούν με την εφαρμογή ημισυνεχών συνθηκών λειτουργίας, στις οποίες το ρεύμα εξόδου απομακρύνεται σε ποσοστό 90% πριν την εκ νέου τροφοδοσία του ζυμωτήρα ενώ εκμηδενίζεται με εφαρμογή συνεχούς λειτουργίας. Με ρυθμούς διαλυτοποίησης $0,125 \text{ h}^{-1}$, η βιομάζα συλλέγεται με ρυθμό 120 γαλόνια/ώρα το οποίο προσομοιώνει ένα κύκλο ασυνεχούς λειτουργίας των 10000 γαλονιών ανά 8 ώρες λειτουργίας [13]. Στο σχήμα 4.4 φαίνεται το διάγραμμα ροής της διεργασίας ανάπτυξη του *Kluyveromyces fragilis* σε υπόστρωμα τυρογάλακτος.



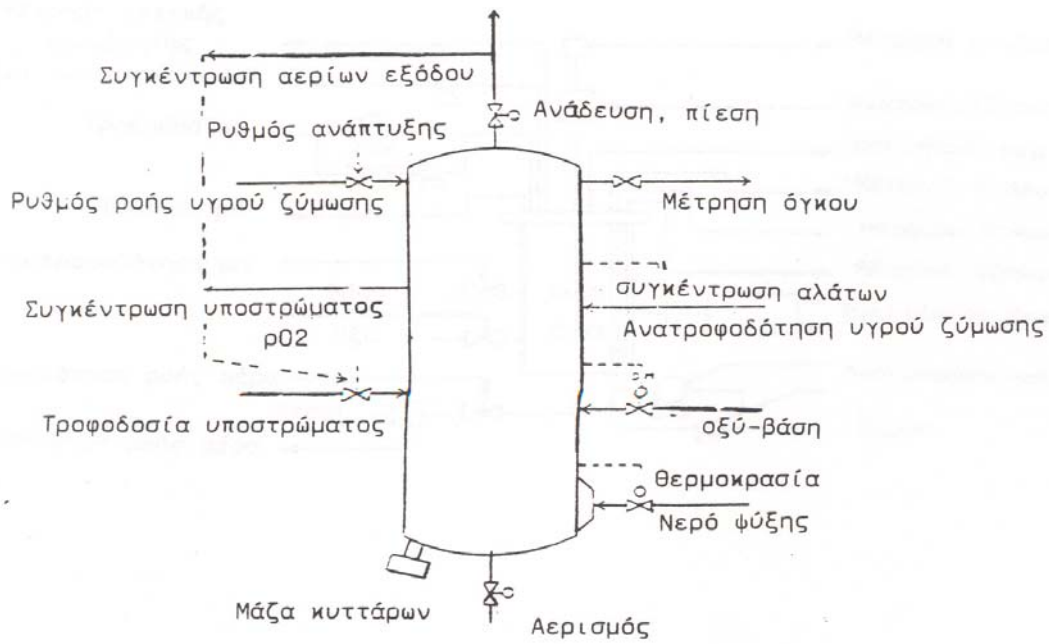
Σχήμα 4.4: Διάγραμμα ροής διεργασίας

4.5 Έλεγχος της βιολογικής διεργασίας

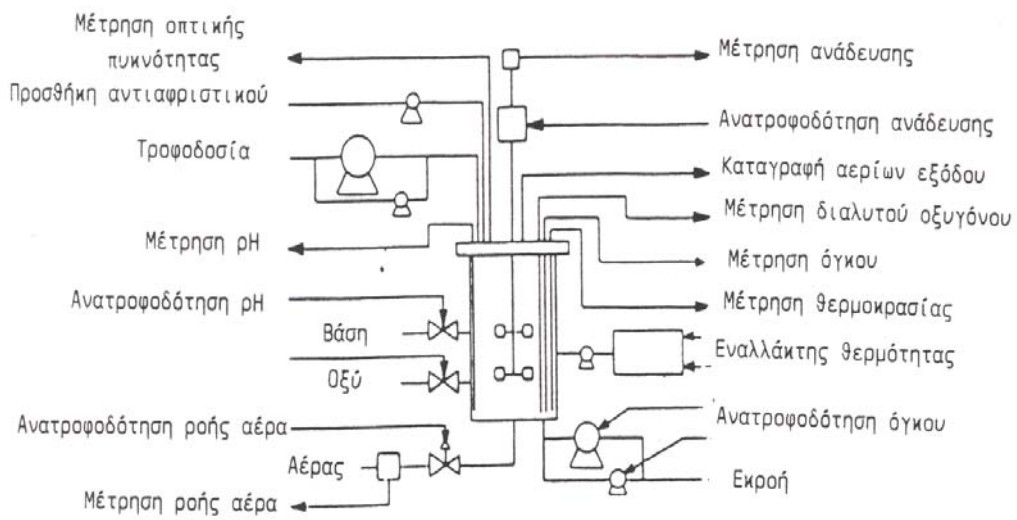
Όλες οι κλασικές μέθοδοι παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης όπως η παραγωγή ζύμης από υδατάνθρακες, λειτούργησαν σύμφωνα με την αρχή του χυμοστάτη και χωρίς ή μικρό έλεγχο των παραμέτρων που επηρεάζουν τη ζύμωση. Η ανάπτυξη των μεθόδων και η εξάπλωση της εφαρμογής των ηλεκτρονικών υπολογιστών καθιστούν δυνατό τον άμεσο προσδιορισμό της τιμής του pH, του οξυγόνου του διοξειδίου του άνθρακα, των πτητικών υδρογονανθράκων καθώς επίσης και των αλκοολών και των οργανικών οξέων στο ρεύμα αερίων της εξόδου στο ζυμωτήρα.

Ο συνδυασμός ενός πολύπλοκου συστήματος φασματομετρίας μάζας και αερίου χρωματογραφίας επιτρέπει την άμεση ανάλυση αυτών των παραγόντων και στην υγρή φάση. Τα απαραίτητα ανόργανα στοιχεία προσδιορίζονται στο υγρό ζύμωσης μέσω φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης. Οι τροφοδοσίες των υγρών και των αερίων ρευμάτων στο ζυμωτήρα καταγράφονται αυτόματα σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, ο οποίος εξασφαλίζει τις προϋπολογισθείσες παροχές ροής. Ένας ρυθμιστής ελέγχει τη μάζα και τον όγκο του υγρού ζύμωσης μέσα στο ζυμωτήρα και διατηρεί στο επιθυμητό επίπεδο. Η συγκέντρωση του διαλυτού οξυγόνου στο υγρό υπόστρωμα, διατηρείται συνεχώς βέλτιστη, η οποία εξασφαλίζει τη μέγιστη κυτταρική ανάπτυξη. Η συγκέντρωση των θρεπτικών αλάτων στο υγρό υπόστρωμα, διορθώνεται συνεχώς και σταθεροποιείται στις τιμές που προτείνει το θεωρητικό πρότυπο. Όλες οι υπολογισθείσες τιμές των παραμέτρων της ζύμωσης καταγράφονται στη μνήμη ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή, ο οποίος στη συνέχεια προσδιορίζει αυτόματα, την παραγωγικότητα, τον συντελεστή απόδοσης σε κυτταρική μάζα, τα ισοζύγια μάζας και άλλα στοιχεία για τη ζύμωση. Είναι φανερό ότι τα συστήματα αυτόματου ελέγχου και ανάλυσης της διεργασίας της ζύμωσης αποτελούν μια ακριβή επένδυση, η οποία όμως επιτρέπει τον άριστο έλεγχο αυτής, ενώ παράλληλα μεγιστοποιεί την απόδοση της διεργασίας και συντελεί στη παραγωγή προϊόντος σταθερής και μεγάλης ασφάλειας [78,79].

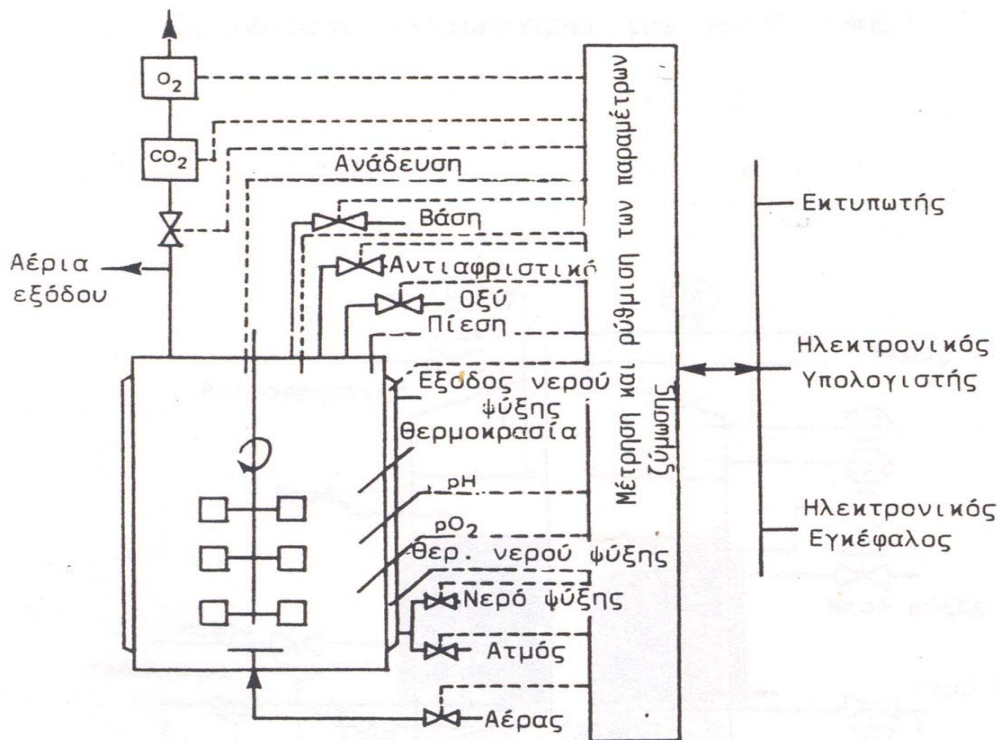
Στο σχήμα 4.5 βλέπουμε τον τρόπο σύνδεσης ζυμωτήρα με ηλεκτρονικό υπολογιστή. Αυτός έχει τη δυνατότητα αυτόματης ρύθμισης και προσδιορισμού παραμέτρων όπως η θερμοκρασία, το pH, η ταχύτητα της ανάδευσης, του όγκου του υγρού, της ροής του αέρα, του διαλυτού οξυγόνου, της οπτικής πυκνότητας του υποστρώματος και της περιεκτικότητας σε οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα στο ελεγχόμενο ρεύμα αερίων. Η χρήση του ηλεκτρονικού υπολογιστή και ο συνδυασμός του με σύγχρονες μεθόδους της αναλυτικής χημείας, επιτρέπει τη βελτιστοποίηση της παραγωγής [78,79].



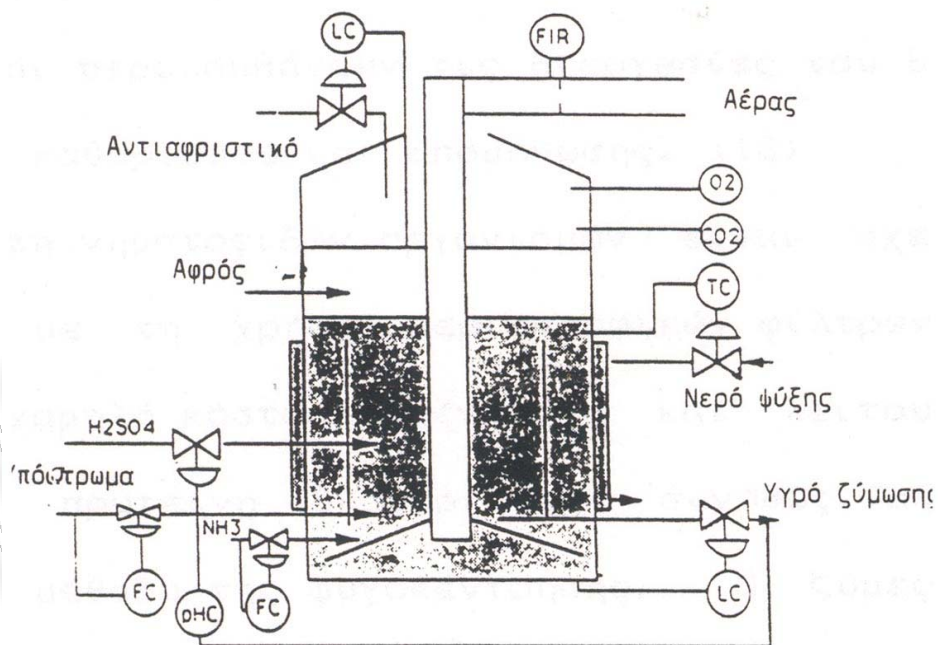
Σχήμα 4.5 Παράμετροι ελέγχου της ζύμωσης [88]



Σχήμα 4.6 Σύνδεση ζυμοτήρα με H/Y [88]



Σχήμα 4.7 Έλεγχος των παραμέτρων της ζύμωσης με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή [88]



Σχήμα 4.8. Αυτόματη ρύθμιση ζυμωτήρα [88]

4.6 Ανάκτηση της βιομάζας

Τα βιοτεχνολογικά προϊόντα είναι πολύ ευαίσθητες ουσίες η δομή και η ενεργότητα των οποίων διατηρείται μόνο κάτω από αυστηρά καθορισμένες συνθήκες του περιβάλλοντος ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Έτσι, η ανάκτηση βιοτεχνολογικών προϊόντων είναι μια σχετικά πολύπλοκη διαδικασία. Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται εξαρτώνται από το μέγεθος της διαδικασίας και από ορισμένες ιδιότητες του προϊόντος όπως σταθερότητα, συγκέντρωση και διαλυτότητα, μέγεθος και φορτίο του μορίου καθώς και τις προδιαγραφές του τελικού προϊόντος (αποστειρωμένο, πυκνόρρευτο υγρό, σκόνη, κρυσταλλικό προϊόν κλπ.) Έτσι κατά κανόνα χρησιμοποιούνται μέθοδοι ανάκτησης που είναι διαφορετικές από τις κλασσικές μεθόδους της χημικής μηχανικής, και περιλαμβάνουν τις διεργασίες του διαχωρισμού, συγκέντρωσης, καθαρισμού και απομόνωσης [75].

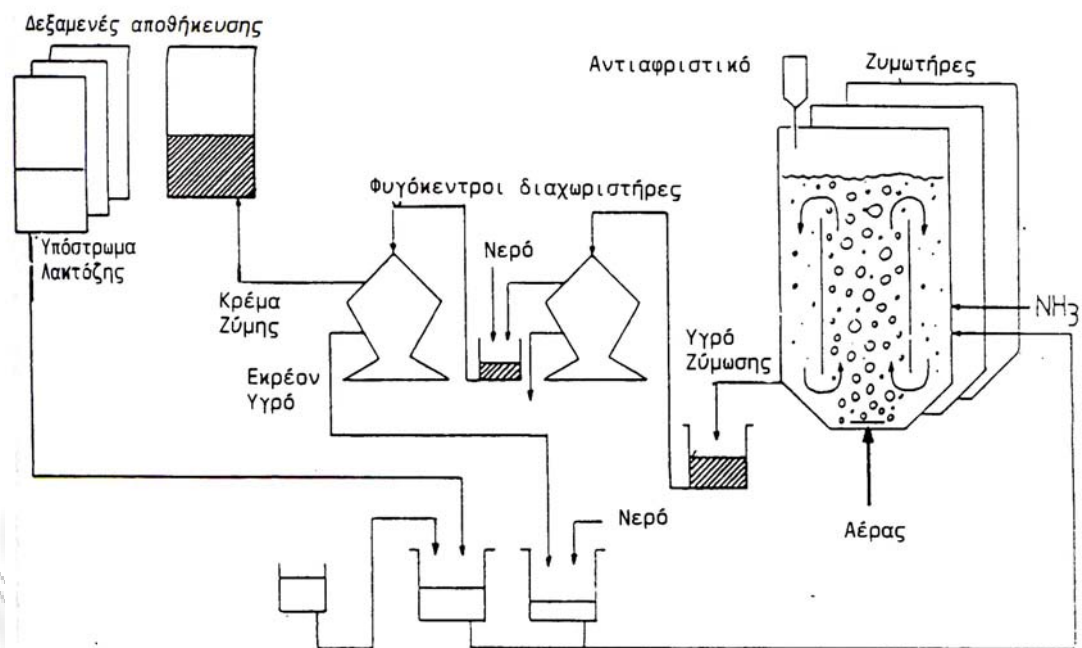
Η ανάκτηση νηματοειδών οργανισμών είναι σχετικά φθηνή και γίνεται με τη χρήση περιστροφικών φίλτρων, τα οποία και παρουσιάζουν χαμηλό κόστος επένδυσης και λειτουργίας. Η μονοκυτταρική πρωτεΐνη διαχωρίζεται συνήθως από το υγρό ζύμωσης με τη μέθοδο της φυγοκέντρωσης. Οι ζύμες ανακτώνται με φυγοκέντρωση και οι ενεργειακές απαιτήσεις της μεθόδου είναι της τάξης των 50-100 Wh ανά κιλό ξηρής μάζας. Το κόστος επένδυσης για τους διαχωριστήρες φυγοκέντρωσης αποτελεί περίπου το 8 % του κόστους εγκατάστασης του εργοστασίου παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης. Για οικονομικούς λόγους το υγρό ζύμωσης θα πρέπει να περιέχει τουλάχιστον 10 g/l ζύμη για να φυγοκεντρωθεί. Το υγρό προϊόν που ανακτάται μετά τη φυγοκέντρωση έχει συγκέντρωση 120-150 g/l σε ζύμη και μπορεί αν διατεθεί σε χοιροτροφείο αφού πρώτα οξιμιστεί σε $pH < 4,5$ με κιτρικό ή γαλακτικό οξύ. Η διάθεση της ζύμης κατ' αυτόν τον τρόπο είναι επιθυμητή από μικρές μονάδες παραγωγής, οι οποίες δεν έχουν την οικονομική δυνατότητα περαιτέρω επεξεργασίας του προϊόντος αυτού [72]. Στο σχήμα 4.9 φαίνονται τα στάδια της διεργασίας μέχρι την φυγοκέντρωση.

Σε μεγάλες βιομηχανικές μονάδες, το επόμενο στάδιο της φυγοκέντρωσης είναι η ξήρανση. Για οικονομικούς λόγους, απαιτείται η αύξηση της συγκέντρωσης του υγρού προϊόντος σε 280-3000 g/l, πριν την ξήρανση. Αυτό γίνεται συνήθως με εξάτμιση σε συσκευές με μικρούς χρόνους παραμονής, επειδή τα βιομόρια είναι θερμοευαίσθητα [72]. Το προϊόν που προκύπτει ύστερα από την εξάτμιση, ξηραίνεται μέχρι τελικής υγρασίας 4%, σε ξηρή βάση. Οι συνηθισμένες μέθοδοι ξήρανσης των διεργασιών παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης, είναι με χρήση ξηραντηρίων ψεκασμού ή ξηραντηρίων τυμπάνων.

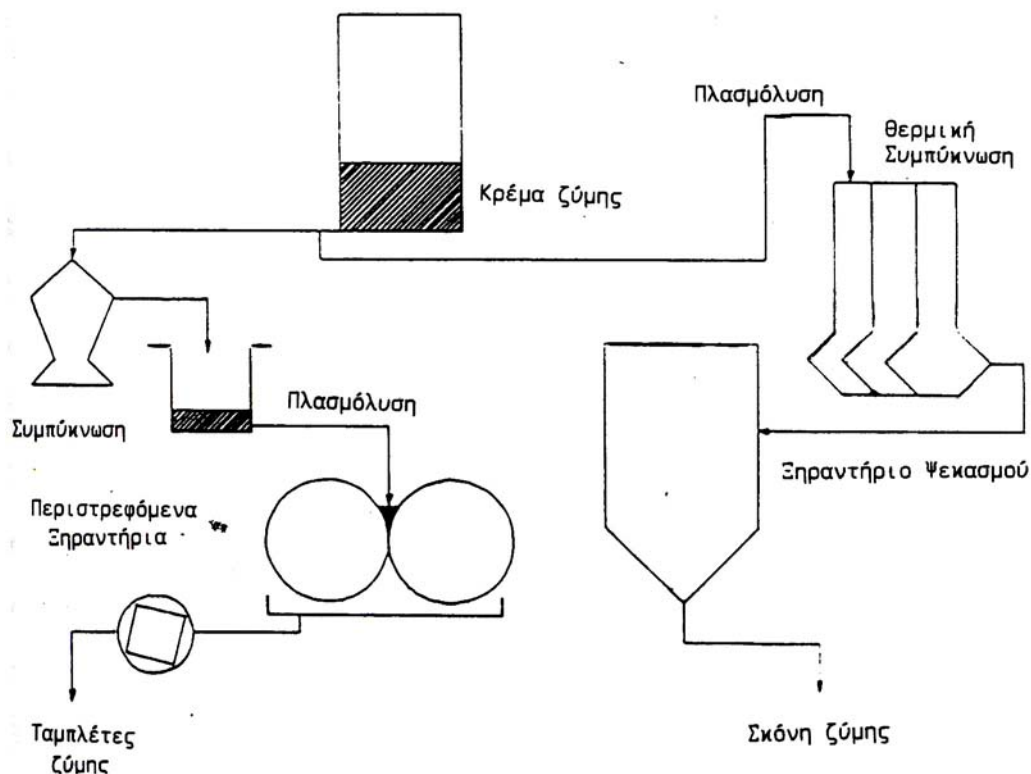
Μια εναλλακτική μέθοδος, είναι η χρήση όλου του υγρού ζύμωσης για ζωοτροφές. Κατ' αυτόν τον τρόπο αποφεύγονται οι δαπάνες για φυγοκέντρωση, εξάτμιση και ξήρανση

της κυτταρικής μάζας, και δεν υπάρχουν απόβλητα από τη διαδικασία παραγωγής. Η μέθοδος αυτή είναι περιορισμένης εφαρμογής λόγω του ότι το υγρό ζύμωσης θα πρέπει να διατεθεί γρήγορα σε χοιροτροφεία τα οποία βρίσκονται το πολύ σε ακτίνα 150 χλμ από τη βιομηχανική μονάδα [72].

Κατά την επιλογή της μεθόδου ξήρανσης, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στη μη καταστροφή της βιολογικής αξίας του προϊόντος, στα έξοδα λειτουργίας, στο μέγεθος του κυττάρου του προϊόντος, στην αποφυγή μόλυνσης του περιβάλλοντος και στη σωστή κλιμάκωση μεγέθους για τη λήψη των επιθυμητών προϊόντων [79]. Καλύτερα αποτελέσματα έχει η ξήρανση σε πύργους ψεκασμού, οι οποίοι αποτελούνται από δυο επίπεδα εκ των οποίων το πρώτο είναι ξηραντήριο ψεκασμού, ενώ το δεύτερο είναι ξηραντήριο ρευστοστερεάς κλίνης [79]. Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκαν ξηραντές κατάψυξης [75]. Στο σχήμα 4.10 απεικονίζονται οι ακολουθούμενες πορείες μέχρι την παραλαβή του τελικού προϊόντος.



Σχήμα 4.9 Πρώτα στάδια διεργασίας [88]



Σχήμα 4.10 . Ξήρανση προϊόντος [88]

4.7 Το τελικό προϊόν

Η σύσταση της ανακτώμενης βιομάζας εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού που χρησιμοποιείται, τη μέθοδο καλλιέργειας, τη φύση των προστιθέμενων ενώσεων και τη μέθοδο ανάκτησης του προϊόντος. Οι πηγές ανοργάνων στοιχείων που καταναλώνονται για τη ρύθμιση του pH της διεργασίας, αυξάνει τη περιεκτικότητα της βιομάζας σε μέταλλα καθώς και τη τέφρα του προϊόντος και καθιστά αναγκαία την έκλυση του προϊόντος μετά τη φυγοκέντρωση [72,77,82,80]. Η συγκέντρωση σε αμινοξέα των ζυμών, οι οποίες παράγονται με διάφορες μεθόδους, διαφέρει ελάχιστα, ανεξάρτητα από το είδος της ζύμης ή το υπόστρωμα [80]. Στον πίνακα 4.11 δίνεται η σύσταση της ξηρής ζύμης σε αμινοξέα και γίνεται συγκριτική παρουσίαση της σύστασης με την πρωτεΐνη αναφοράς του FAO (πρωτεΐνη αυγού) [80,82]. Τα στοιχεία δίνονται σε γρ. αμινοξέων ανά 16 γρ. αζώτου. Με εξαίρεση τη μεθειονίνη, όλα τα αμινοξέα βρίσκονται σε ικανοποιητικές συγκεντρώσεις. Παρατηρείται επίσης υψηλότερη περιεκτικότητα σε λυσίνη από άλλες ζύμες [80, 82]. Στους πίνακες 4.12 και 4.13 δίνεται η σύσταση του σε βιταμίνες και ιχνοστοιχεία *Kluyveromyces fragilis*. Η περιεκτικότητα των ζυμών σε βιταμίνες επηρεάζεται από το είδος,

από τις συνθήκες καλλιέργειας και τη σύσταση του υποστρώματος. Οι ζύμες απορροφούν θειαμίνη από το υπόστρωμα. Έτσι είναι απαραίτητα η προσθήκη μιας πηγής θειαμίνης. Αυξημένοι ρυθμοί απόδοσης σε κυτταρική μάζα μειώνουν την αναλογία βιταμίνης ανά κύτταρο. Έτσι είναι πιθανόν οι βέλτιστοι ρυθμοί απόδοσης να οδηγήσουν σε μείωση του βιταμινικού περιεχομένου της βιομάζας [80]. Η πρωτεΐνη *Kluyveromyces fragilis* παρουσιάζει χημικό δείκτη 58,2 ενώ ο δείκτης απαραίτητων αμινοξέων έχει την τιμή 76 και βρίσκεται πολύ κοντά στη θρεπτική αξία της καζεΐνης [72,83,82].

Πίνακας 4.13 Σύσταση σε αμινοξέα του *Kluyveromyces fragilis*. Συγκριτική παρουσίαση της σύστασης με την πρωτεΐνη αναφοράς του FAO (πρωτεΐνη αυγού) [80, 82] Τα στοιχεία δίνονται σε γρ. αμινοξέων ανά 16 γρ. αζώτου.

Αμινοξέα	<i>Kluyveromyces fragilis</i> , ολόκληρα κύτταρα [82]	<i>Kluyveromyces fragilis</i> , πρωτεΐνη [82]	FAO [82, 80]
Λυσίνη	11, 4	10, 15	6, 4
Αργινίνη	7, 37	7, 08	
Ιστιδίνη	3, 98	1, 97	
Ασπαραγινικό οξύ	10, 40	11, 16	
Θρεανίνη	5, 57	6, 46	5, 1
Σερίνη	5, 21	6, 96	
Γλουταγινικό οξύ	15, 24	13, 26	
Προλίνη	-	4, 31	
Γλυκίνη	4, 24	4, 63	
Αλανίνη	7, 21	8, 17	
Βαλίνη	5, 72	7, 78	7, 3
Μεθειονίνη	1, 57	1, 24	3, 1
Ισολευκίνη	5, 05	6, 00	6, 6
Λεκίνη	-	9, 60	8, 8
Τυροσίνη	4, 57	3, 42	4, 2
Φαινυλανίνη	5, 05	5, 39	5, 8
Τρυπτοφάνη	1, 7		1, 6
Κυστεΐνη	1, 7		2, 4

Πίνακας 4.11 Περιεκτικότητα σε βιταμίνες της ξηρής ζύμης *Klavyeromyces fragilis* [80]

Βιταμίνη (μg/g)	Περιεχόμενο
Θειαμίνη	24, 1
Πυριδοξίνη	13, 6
Ριβοφλαβίνη	36, 0
Νιασίνη	280, 0
Φολικό οξύ	5, 8
Παντοθενικό οξύ	67, 2
ρ-Αμινοβενζοϊκό οξύ	24, 2
Βιοτίνη	2, 0
Χολίνη	6700
Ινοσιτόλη	3000

Πίνακας 4.12 Περιεκτικότητα σε ιχνοστοιχεία της ξηρής ζύμης *Klavyeromyces fragilis* [80]

Ιχνοστοιχεία	Περιεχόμενο (mg/100g)
Φωσφόρος	2100
Κάλιο	2000
Μαγνήσιο	300
Θείο	200
Νάτριο	100
Ασβέστιο	15
Σίδηρος	9,5
Ψευδάργυρος	9,3
Φθόριο	1,2
Μαγγάνιο	0,7

4.8 Χρήσεις του προϊόντος

Στις Ηνωμένες Πολιτείες το Υπουργείο Διατροφής και Υγείας (FDA) επιτρέπει την κατανάλωση των ξηρών κυττάρων των ζυμών *Saccharomyces cerevisiae*, *Klavyeromyces fragilis* και *Candida utilis* από τον άνθρωπο, με την προϋπόθεση ότι η περιεκτικότητα της ζύμης σε φολικό οξύ δεν ξεπερνά τα 0,4 mg/g ζύμης [72,73,65,84].

Η ζύμη *Kluyeromyces fragilis* παρασκευάζεται με τη μέθοδο BEL και χρησιμοποιείται πάνω από 15 χρόνια. Παρουσιάζει χαμηλή περιεκτικότητα σε νουκλεϊκά οξέα.. Η αναλογία νουκλεϊκών οξέων /πρωτεΐνης στη ζύμη είναι 12/100, ενώ στο κρέας είναι 20/100. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετο σε τρόφιμα για τη βελτίωση της θρεπτικότητάς του. Η ξηρή ζύμη περιέχει όλα τα απαραίτητα αμινοξέα σε ικανοποιητικά επίπεδα, με εξαίρεση την μεθειονίνη. Επίσης αποτελούν πολύ καλές πηγές φωσφόρου, καλίου και ιχνοστοιχείων, καθώς και βιταμινών του συμπλέγματος Β [84]. Οι ζύμες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ενισχυτικά γεύσεως σε σούπες, σε σαλάτες, σε προϊόντα λαχανικών και κρέατος καθώς και σε προϊόντα αλλαντικών. Επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τη μορφή σκόνης ή δισκίων ως θρεπτικά συμπληρώματα αθλητών, ασθενών ή ατόμων που ακολουθούν δίαιτα, ενώ προβλέπεται ότι θα αποτελέσουν θρεπτικό συμπλήρωμα μερικής αντικατάστασης παραδοσιακών τροφίμων όπως το αλεύρι [84]. Βέβαια το μεγαλύτερο μέρος της θα εξακολουθεί να διατίθεται για εκτροφή μόσχων, χοίρων και πουλερικών [84].

4.9 Χωροθέτηση εργοστασίου παραγωγής πρωτεϊνικής βιόμαζας

Ιδανική τοποθεσία εγκατάστασης ενός εργοστασίου παραγωγής κυτταρικής πρωτεΐνης, είναι μια περιοχή με φθηνή παροχή νερού, και τυρογάλακτος. Επίσης, σημαντικό είναι να βρίσκεται η μονάδα κοντά σε κεντρικές αρτηρίες του συγκοινωνιακού δικτύου. Στον ελλαδικό χώρο η παραγωγή τυριού και κατ' επέκταση τυρογάλακτος γίνεται κατά κύριο λόγο στην Ήπειρο. Το εργοστάσιο αυτό θα πρέπει να είναι κοντά στην πηγή παραγωγής τυρογάλακτος ή να αποτελέσει επέκταση μιας γαλακτοβιομηχανίας. Η επιλεχθείσα τοποθεσία είναι πλησίον του εργοστασίου της εταιρείας ΔΩΔΩΝΗ, που εδράζεται στα Ιωάννινα.. Η Αγροτική Βιομηχανία Γάλακτος Ηπείρου ΔΩΔΩΝΗ Α.Ε., που ιδρύθηκε το 1963 από την Αγροτική Τράπεζα της Ελλάδος και τις 6 Ενώσεις Αγροτικών Συνεταιρισμών της Περιφέρειας της Ηπείρου, αρχικά εξυπηρετούσε αποκλειστικά τις ανάγκες των κατοίκων της πόλης των Ιωαννίνων συλλέγοντας αγελαδινό γάλα από μικρές μονάδες της περιοχής [92].

4.10 Οικονομικά της εγκατάστασης

Η παραγωγή βιομάζας από ορό δεν έχει εφαρμοστεί σε μεγάλο βαθμό ακόμη και σήμερα, παρά το γεγονός ότι το ήμισυ των παραγόμενων ποσοτήτων ορού απορρίπτεται σαν απόβλητο χωρίς καμία επεξεργασία, μολύνοντας του υδάτινους αποδέκτες. Η παραγωγική αυτή διαδικασία παρουσιάζει ένα σημαντικό πλεονέκτημα, τη χρήση ενός φθηνού υποστρώματος. Με τα σημερινά δεδομένα στη τιμή του τυρογάλακτος υπολογίζεται μόνο το κόστος μεταφοράς, ενώ προβλέπεται μελλοντική αύξηση της παραγωγής μονοκυτταρικής πρωτεΐνης ως μέθοδος αξιοποίησης του απορριπτόμενου τυρογάλακτος. Ακόμη και εάν επιτευχθεί μια καλή τιμή του προϊόντος στην αγορά, θα πρέπει να καταβληθούν προσπάθειες να διατηρηθεί χαμηλά το κόστος παραγωγής, εφαρμόζοντας μια όσο το δυνατόν απλούστερη διεργασία και αποφεύγοντας υψηλές επενδύσεις κεφαλαίου και σπατάλης ενέργειας. Ένα από τα κυριότερα μειονεκτήματα της διεργασίας είναι η, όχι καλή, τιμή του προϊόντος στην αγορά, η απαίτηση για υψηλή επένδυση κεφαλαίου για την εγκατάσταση της μονάδας, η μεγάλη δυναμικότητα που πρέπει να έχει για να είναι οικονομικά βιώσιμη, η διεργασία και το σχετικά υψηλό κόστος λειτουργίας. Έτσι η μέθοδος αυτή δεν είναι προσιτή σε μικρές βιομηχανικές μονάδες [65].

Στον πίνακα 4.14 παρουσιάζεται το κεφάλαιο επένδυσης για την δημιουργία δυο μονάδων παραγωγής βιομάζας από τυρόγαλα με δυναμικότητες επεξεργασίας 20.000 και 150.000 λίτρων ορού γάλακτος ημερησίως, αντιστοίχως. Το έργο, μια και θα αξιοποιεί ένα απόβλητο περιβαλλοντικά ρυπογόνο, συμβάλλοντας έτσι στη γενικότερη περιβαλλοντική αναβάθμιση και προστασία, τυγχάνει ισχυρής χρηματοδοτικής επιχορήγησης. Στο κεφαλαιακό κόστος του πίνακα 4.14, δεν περιλαμβάνεται η λαμβανόμενη επιχορήγηση.

Πίνακας 4.14 : Κεφάλαιο επένδυσης για την παραγωγή βιομάζας από τυρόγαλα

	Κεφάλαιο επένδυσης για την παραγωγή βιομάζας από τυρόγαλα (€)	
	Μονάδα 20.000 lt/d	Μονάδα 150.000 lt/d
Προκατεργασία υποστρώματος	67.378	85.714
Ζύμωση	216.327	468.286
Διαχωρισμός	78.571	193.357
Ξήρανση	164.286	597.357
Εγκατάσταση	15.816	76.531
Σύνολο	491.816	1.421.245

Πίνακας 4.15: Μεταβλητό κόστος παραγωγής βιομάζας από τυρόγαλα ανά τόνο παραγομένου προϊόντος.

	Μεταβλητό κόστος παραγωγής (€/τόνο παραγομένου προϊόντος)	
	Μονάδα 20.000 lt/d	Μονάδα 150.000 lt/d
Πρώτη ύλη	-	-
Προκατεργασία υποστρώματος	343	207
Ζύμωση	217	84
Διαχωρισμός	109	42
Ξήρανση	97	26
Προσωπικό	43	16
Σύνολο	810	374

Στον πίνακα 4.15 παρουσιάζεται μια εκτίμηση για τα έξοδα παραγωγής βιομάζας από τυρόγαλα, ανηγμένα, ανά τόνο παραγομένου προϊόντος, δεδομένου ότι το εργοστάσιο λειτουργεί στο 100% της δυναμικότητάς του. Αυτό όμως δε συμβαίνει στην πράξη. Η λειτουργία του εργοστασίου επιτελείται πάντα σε επίπεδο χαμηλότερο της δυναμικότητάς του για λόγους που άπτονται :

α) της διαθεσιμότητας πρώτης ύλης. Η παραγωγή τυρογάλακτος δεν είναι συνεχής και ισόποση καθ' όλη η διάρκεια του έτους.

β) της απορρόφησης από την αγορά του προϊόντος. Σε περίπτωση που δεν υπάρχουν μεγάλοι αποθηκευτικοί χώροι, θα πρέπει η παραγωγή να συμβαδίζει με την κατανάλωση του προϊόντος.

γ) της καταπόνησης του εξοπλισμού που επέρχεται με τη συνεχή λειτουργία του, γεγονός που θα αύξανε κατακόρυφα το κόστος συντήρησης και θα έριχνε το χρόνο ζωής πολύ κάτω από τα 10 χρόνια, που αρχικά θεωρήσαμε

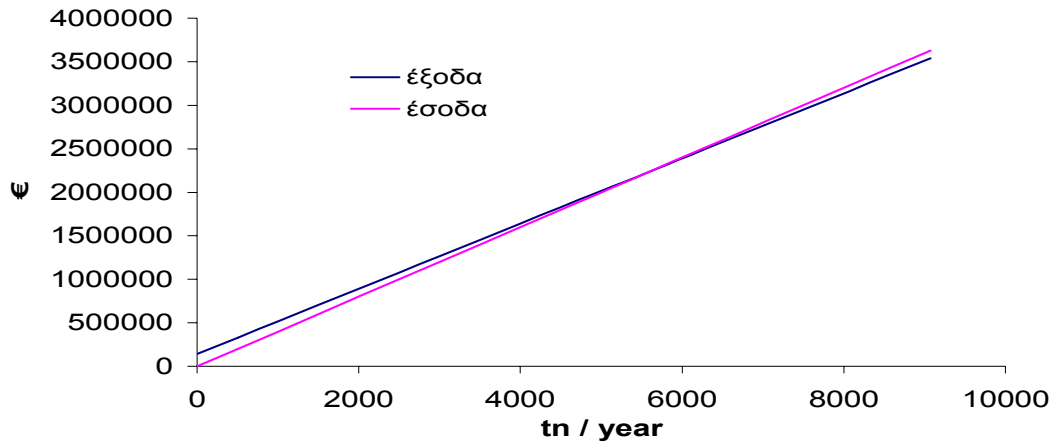
Παρατηρούνται ισχυρότατες οικονομίες κλίμακας, δηλαδή μια εγκατάσταση υψηλότερης δυναμικότητας, αποβαίνει πολύ πιο οικονομική ως προς τα λειτουργικά της έξοδα. Δεδομένου του απορριπτόμενου της πρώτης ύλης (τυρόγαλα), θεωρούμε το κόστος της για τη λειτουργία του εργοστασίου μηδενικό, αφού εγκαθιστώντας το εργοστάσιο παραγωγής ξηρής ζύμης δίπλα σε τυροκομική μονάδα μηδενίζεται και το κόστος μεταφοράς. Το κόστος τυρογάλακτος θα μπορούσε να θεωρηθεί ακόμα και αρνητικό, λαμβάνοντας υπ' όψιν το κόστος τελικής διάθεσης.

Σε μια προσπάθεια αναζήτησης του νεκρού σημείου της παραγωγής για μια μονάδα δυναμικότητας επεξεργασίας 150.000 λίτρων ορού/ ημέρα, δηλαδή του ποσοστού εκείνου, της δυναμικότητας της μονάδας, στο οποίο η λειτουργία της καθίσταται οικονομικά βιώσιμη, ο χρόνος ζωής του εξοπλισμού μπορεί να ληφθεί αυθαίρετα ίσος με δέκα χρόνια. Η τιμή του προϊόντος, σύμφωνα με εκτιμήσεις, καθορίζεται στα 400 €/τόνος και θεωρείται σταθερή για το διάστημα των 10 ετών ζωής της εγκατάστασης. Τα ετήσια έσοδα και έξοδα δίνονται αντίστοιχα από τις εξής συναρτήσεις:

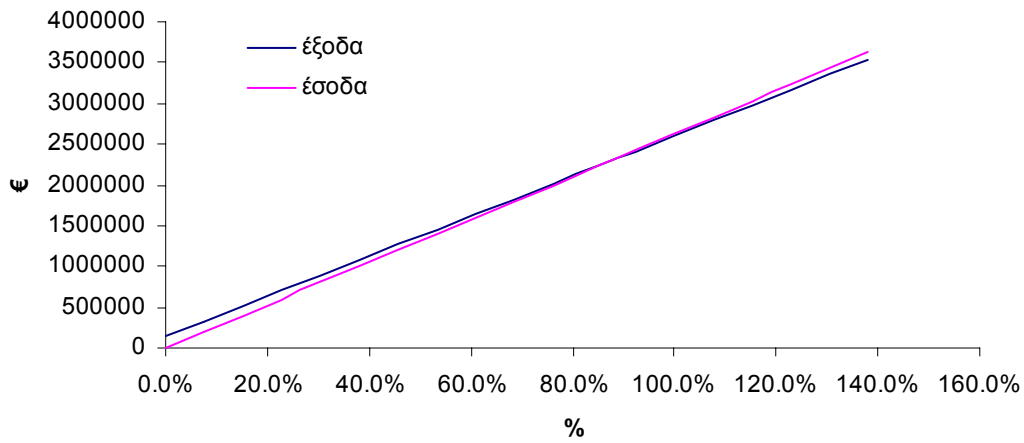
- Έσοδα = ετήσια παραγωγή (τόνους) * τιμή πώλησης (€/τόνο)
- Έξοδα = σταθερά + μεταβλητά όπου
 σταθερά = κεφάλαιο * (1-επιδότηση)/10
 μεταβλητά = λειτουργικό κόστος (€/τόνο) * παραγωγή (τόνοι)

Στο διάγραμμα 4.16 παρουσιάζονται τα έσοδα και τα έξοδα εργοστασίου συναρτήσει της ετήσιας παραγωγής του. Το λειτουργικό κόστος λαμβάνεται ίσο με 374 €/τόνο προϊόντος, για δυναμικότητα 6750 τόνους ετησίως. Θεωρούμε επένδυση κεφαλαίου 1.421.245 €, επιχορήγηση 0%, και τιμή πώλησης προϊόντος 400 €/τόνο. Γίνεται, επίσης, η παραδοχή ότι το λειτουργικό κόστος ανά τόνο προϊόντος παραμένει σταθερό ανεξαρτήτου της παραγομένης ποσότητας. Παρατηρούμε ότι το νεκρό σημείο βρίσκεται στους 5571 τόνους ετησίως. Δηλαδή για να είναι οικονομικά βιώσιμη η μονάδα, θα πρέπει αν δουλεύει στο 84,8% της δυναμικότητάς της, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 4.17. Το ίδιο φαίνεται και στο 4.18, στο οποίο απεικονίζεται η διαφορά εσόδων – εξόδων (κέρδος) συναρτήσει της παραγωγής προϊόντος (ποσοστό δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί).

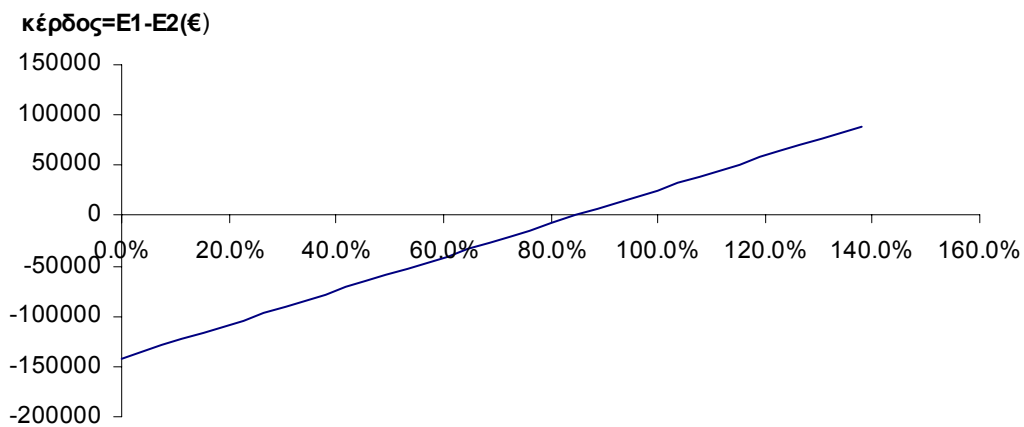
Ακολουθεί ανάλυση ευαισθησίας ως προς διάφορα ποσοστά επιδότησης, εντός ρεαλιστικών ορίων. Στο διάγραμμα 4.19, απεικονίζεται η περίπτωση του ίδιου εργοστασίου αλλά επιδότηση κεφαλαίου 10 %, αυτή τη φορά. Εδώ το νεκρό σημείο πέφτει στους 5014 τόνους το χρόνο, δηλαδή στο 76,32 % της δυναμικότητας, όπως φαίνεται και στα διαγράμματα 4.20 και 4.21. Ομοίως για επιδότηση 20% το νεκρό σημείο πέφτει στους 4457 τόνους το χρόνο, που αντιστοιχεί στο 67,84 % της δυναμικότητας του, όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4.22, 4.35, 4.36. Ομοίως για επιδότηση 30% το νεκρό σημείο πέφτει στους 3899 τόνους το χρόνο, που αντιστοιχεί στο 59,36 % της δυναμικότητας του, όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4.23, 4.24 και 4.25. Τέλος για επιδότηση 40% το νεκρό σημείο πέφτει στους 3343 τόνους το χρόνο, που αντιστοιχεί στο 50,88% της δυναμικότητας του, όπως φαίνεται στα διαγράμματα 4.26, 4.27 και 4.28.



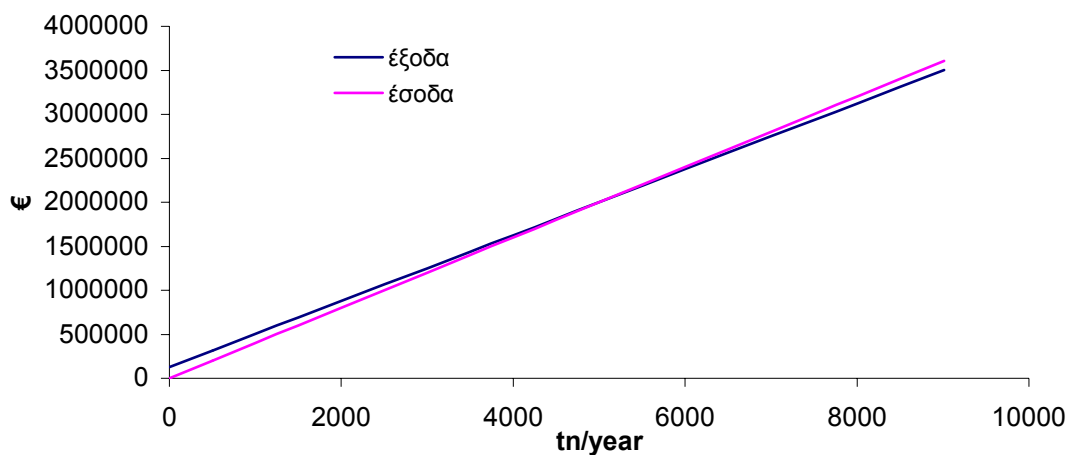
Διάγραμμα 4.16: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει της ετήσιας παραγωγής, για επιδότηση 0%



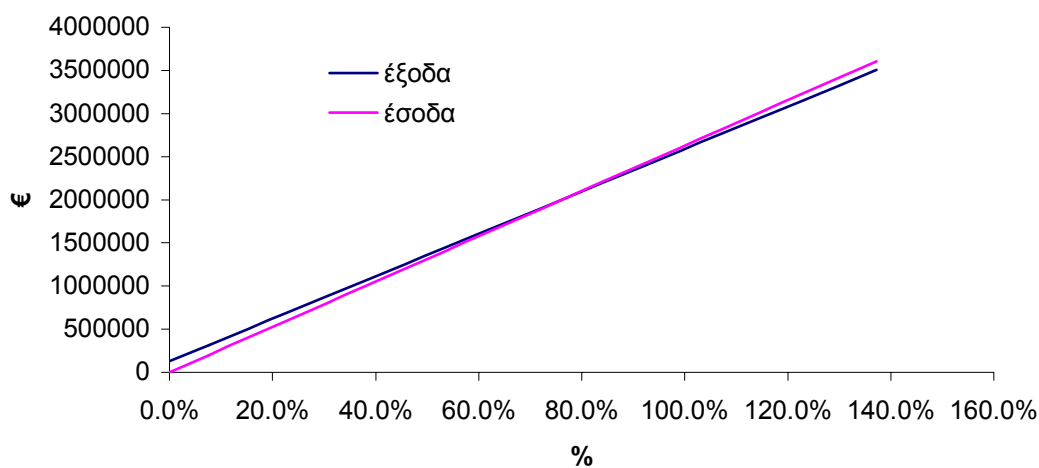
Διάγραμμα 4.17: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 0%



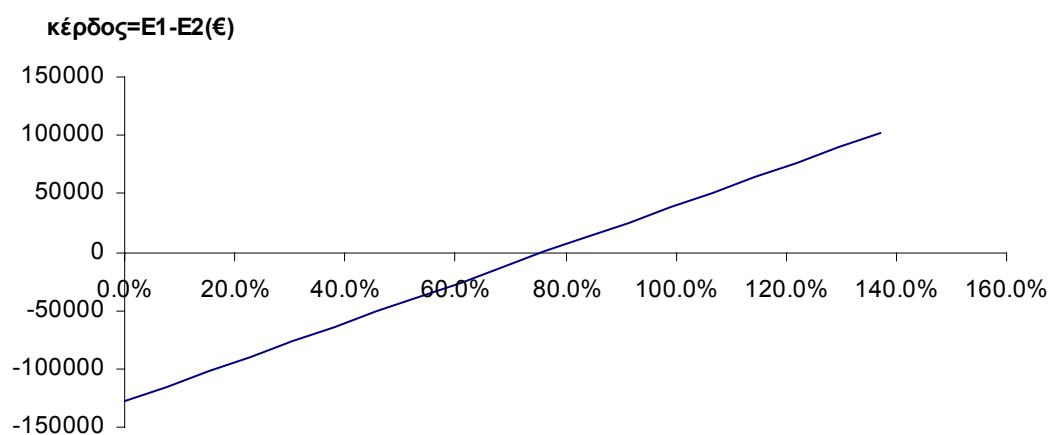
Διάγραμμα 4.18: Διαφορά εσόδων / εξόδων εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 0%



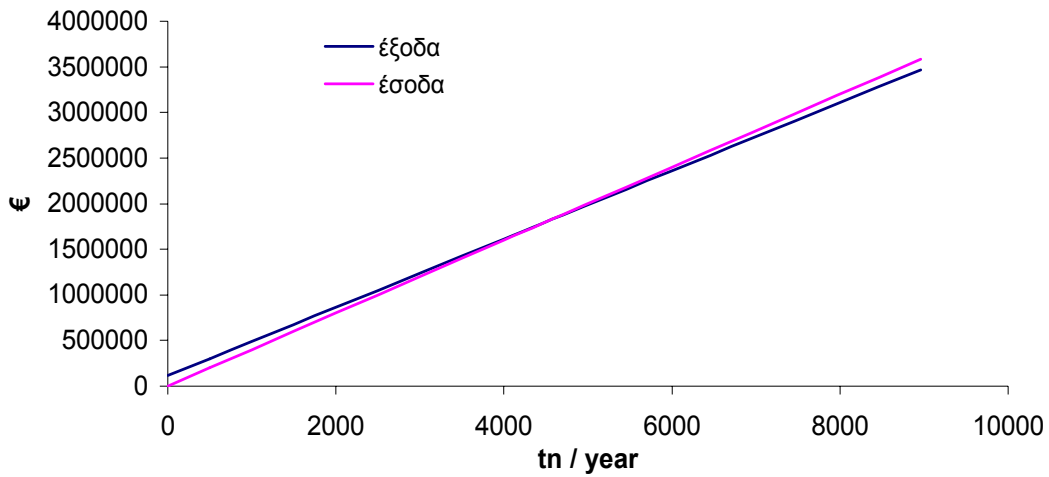
Διάγραμμα 4.19: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει της ετήσιας παραγωγής, για επιδότηση 10%



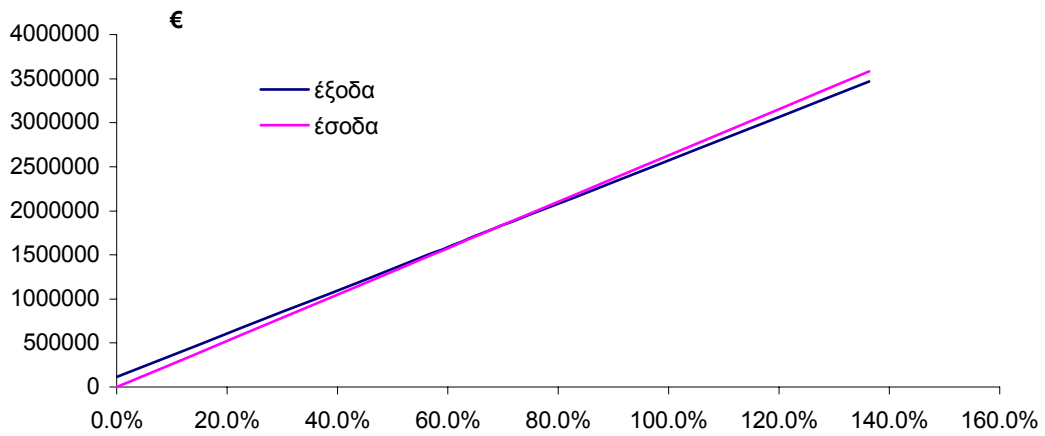
Διάγραμμα 4.20: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 10%



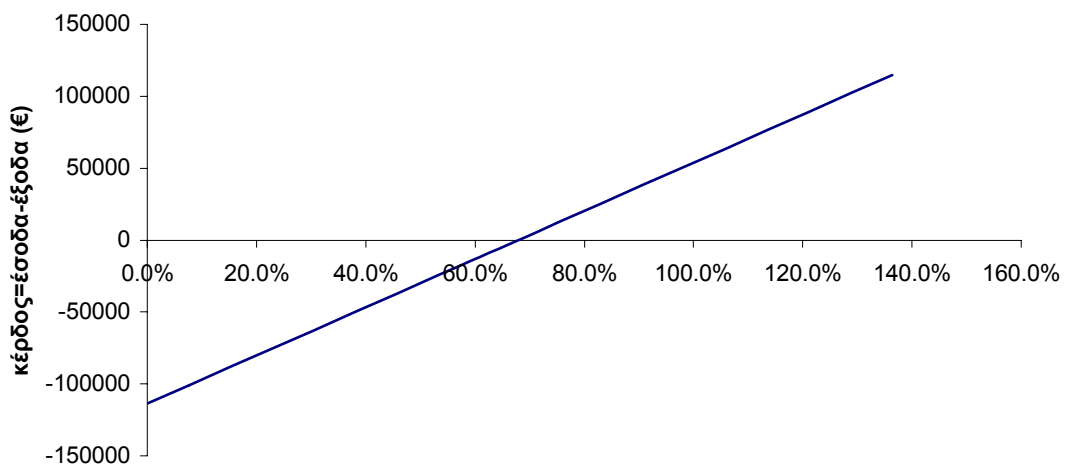
Διάγραμμα 4.21: Διαφορά εσόδων / εξόδων εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 10%



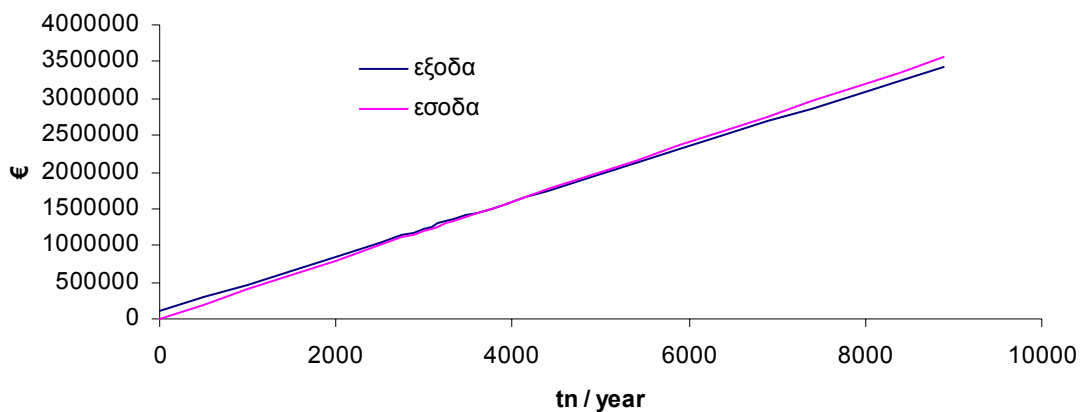
Διάγραμμα 4.22 : Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει της ετήσιας παραγωγής, για επιδότηση 20%



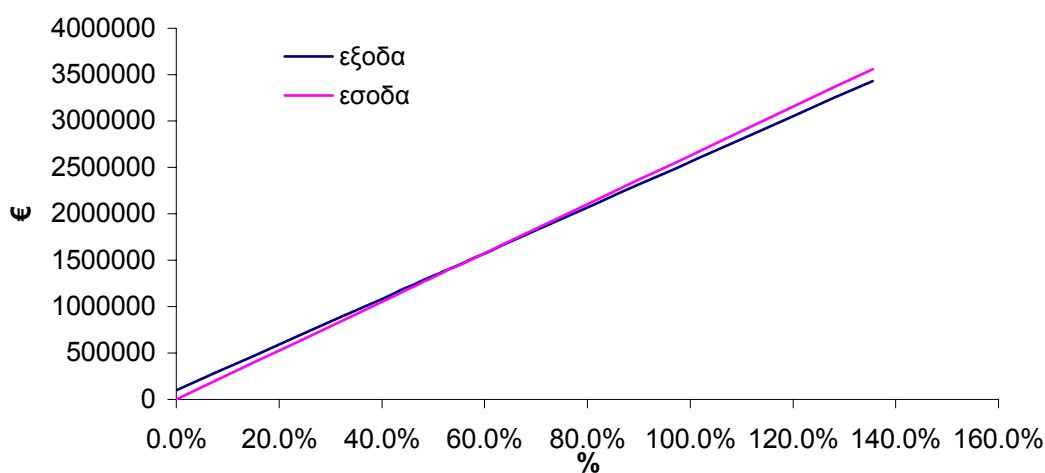
Διάγραμμα 4.23: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 20%



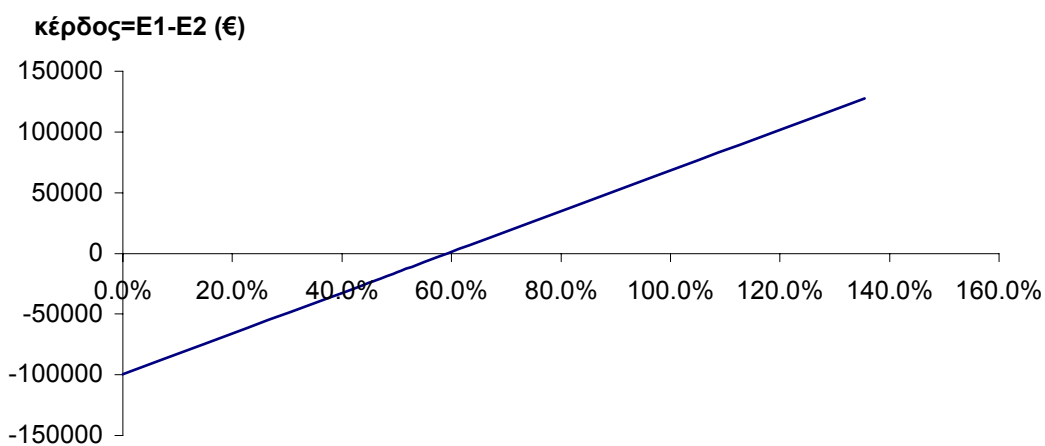
Διάγραμμα 4.24.: Διαφορά εσόδων / εξόδων εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 20%



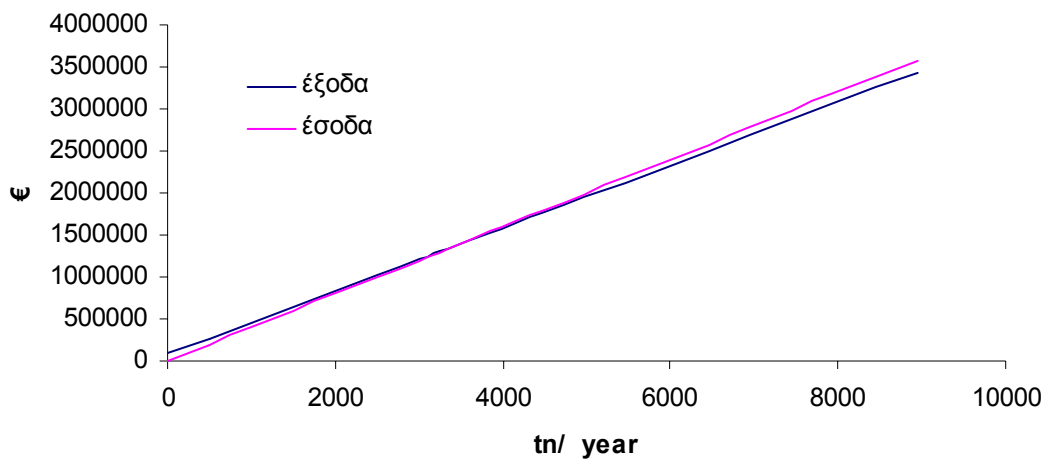
Διάγραμμα 4.25: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει της ετήσιας παραγωγής, για επιδότηση 30%



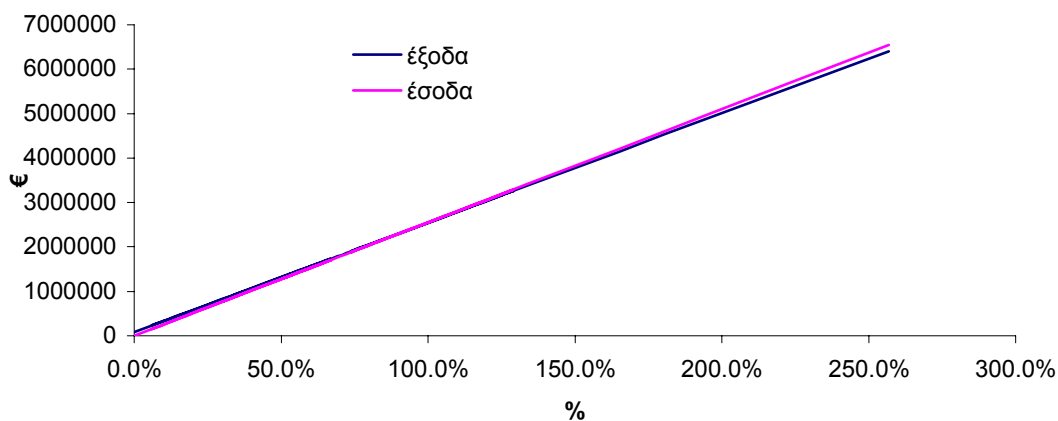
Διάγραμμα 4.26: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 30%



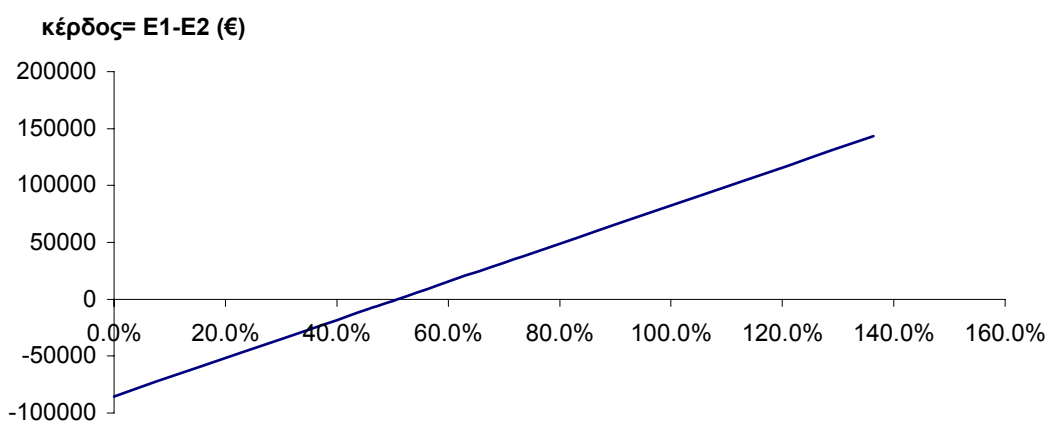
Διάγραμμα 4.27: Διαφορά εσόδων / εξόδων εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 30%



Διάγραμμα 4.28: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει της ετήσιας παραγωγής, για επιδότηση 40%

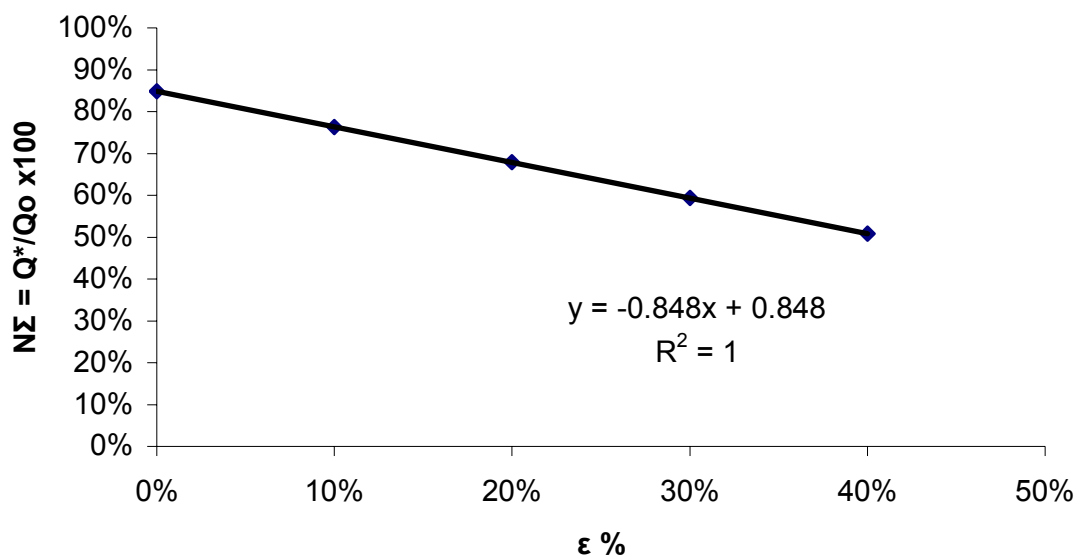


Διάγραμμα 4.29: Έσοδα & έξοδα εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 40%



Διάγραμμα 4.30: Διαφορά εσόδων / εξόδων εργοστασίου συναρτήσει του ποσοστού δυναμικότητας στο οποίο λειτουργεί, για επιδότηση 40%

Συνοψίζοντας, διαπιστώνουμε ότι αυξανόμενης της επιχορήγησης, μειούμενου δηλαδή του αρχικού κεφαλαίου επένδυσης, η επιχείρηση γίνεται οικονομικά βιώσιμη σε ποσοστά παραγωγής αρκετά χαμηλότερα της δυναμικότητας αυτής. Οι επιδοτήσεις που εξετάζονται είναι εντός ρεαλιστικών ορίων, δηλαδή μέχρι 40%. Ο γεωμετρικός τόπος των νεκρών σημείων συναρτήσει των διαφορών, εντός εφικτών ορίων, ποσοστών επιχορήγησης, φαίνεται στο σχήμα 4.31

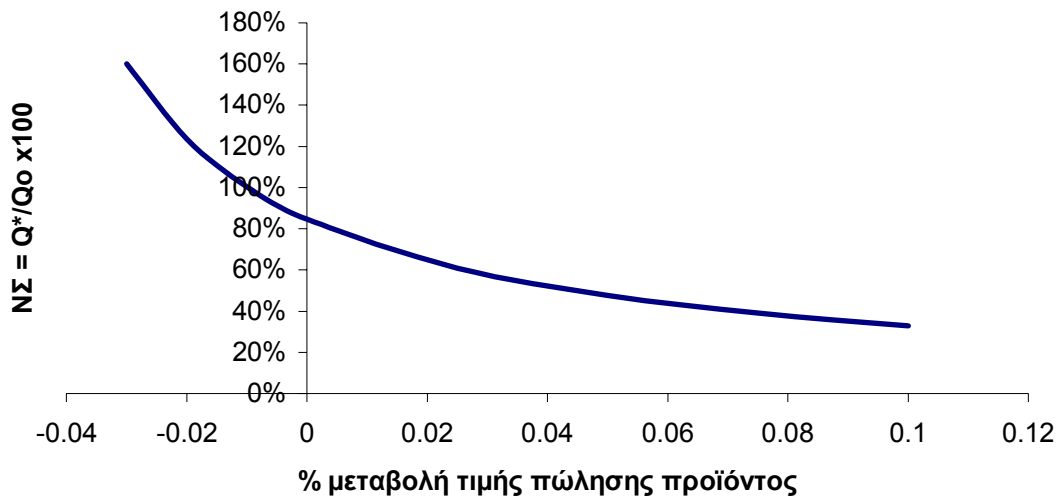


Διάγραμμα 4.31 : Διακύμανση του νεκρού σημείου παραγωγής συναρτήσει των διαφορών ποσοστών επιδότησης.

Πίνακας 4.31 Η επίδραση της ποσοστιαίας μεταβολής στην τιμή πώλησης προϊόντος στο νεκρό σημείο παραγωγής, για ποσοστό επιδότησης 0%

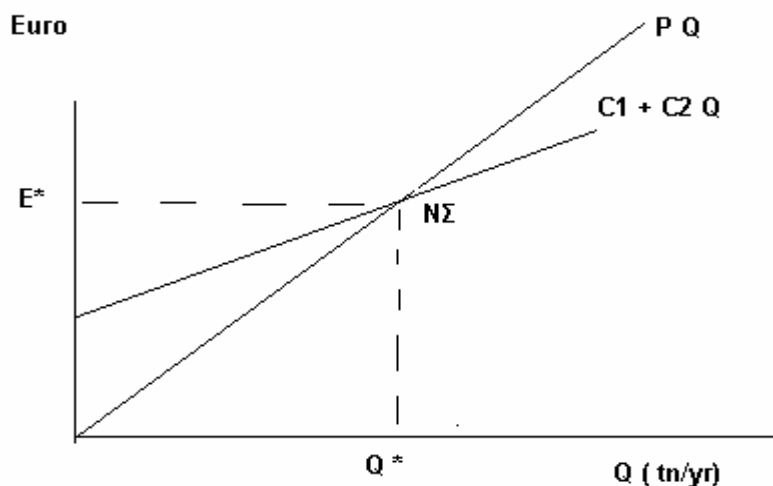
επιδότηση	ποσοστιαία μεταβολή τιμής πώλησης προϊόντος	νεκρό σημείο παραγωγής	ποσοστιαία μεταβολή νεκρού σημείου παραγωγής
0%	-3%	160%	75.2%
	-2%	123.54%	38.74%
	-1%	100.57%	15.77%
	0%	84.80%	0%
	2.5%	60.92%	-23.88%
	5%	47.53%	-37.27%
	7.5%	39.00%	-45.8%
	10%	33.02%	-51.78%

Ακολούθως, επιχειρείται και ανάλυση ευαισθησίας ως προς την τιμή του προϊόντος, όπου τα αποτελέσματα είναι άκρως ενδιαφέροντα. Αρχικά ερευνάται η επίδραση μικρών ποσοστιαίων αυξήσεων και μειώσεων της τιμής πώλησης του προϊόντος για επιδότηση κεφαλαίου 0% και τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 4.31 και απεικονίζονται γραφικά στο διάγραμμα 4.32.



Διάγραμμα 4.32. Νεκρό σημείο παραγωγής συναρτήσει της ποσοστιαίας μεταβολής στην τιμή πώλησης του προϊόντος, για επιδότηση 0%

Για την εύρεση της εξίσωσης της καμπύλης του διαγράμματος 4.32, σκεπτόμαστε ως εξής: Νεκρό σημείο παραγωγής για ένα εργοστάσιο είναι το σημείο τομής των εσόδων και εξόδων στο διάγραμμα 4.16 ή σε γενική μορφή διαγράμματος όπως το 4.33. Η ευθεία PQ περιγράφει τα έσοδα, ενώ η $C_1 + C_2 Q$ περιγράφει την ευθεία των εξόδων.



Διάγραμμα 4.33. Σημείο εξίσωσης εσόδων εξόδων

Στο νεκρό σημείο ισχύει :

$E1 = E2 = E^*$ και με αντικατάσταση

$$PQ^* = C_1 + C_2 Q^*, \text{ όπου}$$

$E1 = PQ = \text{έσοδα}$

$E2 = C1 + C2 Q = \text{έσοδα}$

$Q = \text{ παραγόμενη ποσότητα προϊόντος σε tn /yr}$

$Q^* = \text{ παραγωγή που αντιστοιχεί στο νεκρό σημείο}$

$C_1 = \text{ κεφαλαιακό κόστος της εγκατάστασης ανηγμένο ανά έτος με μηδενική επιδότηση} = 142124 \text{ €}$

$C_2 = \text{ λειτουργικό κόστος της εγκατάστασης} = 375,5 \text{ € / tn}$

$P = \text{ η τιμή πώλησης του προϊόντος}$

Από αυτή προκύπτει ότι η παραγωγή στο νεκρό σημείο ισούται με $Q^* = \frac{C_1}{P - C_2}$

Στο διάγραμμα 4.32 κατακόρυφος άξονας περιγράφει το ποσοστό της δυναμικότητας του εργοστασίου στο οποίο έχουμε νεκρό σημείο, δηλαδή την ποσότητα

$$N\Sigma = \frac{Q^*}{Q_0} \cdot 100, \text{ όπου } Q_0 = \text{ δυναμικότητα του εργοστασίου ίση με } 6570 \text{ tn/yr}$$

Από τις δυο αυτές σχέσεις λαμβάνουμε $N\Sigma = \frac{C_1}{Q_0 \cdot (P - C_2)} \cdot 100$. Ειδικότερα,

$C_1 = C_0(1 - \varepsilon)/t$, όπου

$C_0 = \text{ αρχικό κόστος εγκατάστασης}$

$t = \text{ χρόνος ζωής της εγκατάστασης ίσος με } 10 \text{ χρόνια}$

$\varepsilon = \text{ επιδότηση κεφαλαίου} = 0, 10\%, 20\%, 30\%, 40\%$

και αντικαθιστώντας έχουμε $N\Sigma(\%) = \frac{C_0(1 - \varepsilon) \cdot 100}{t \cdot Q_0(P - C_2)}$.

Στο διάγραμμα 4.30, ο οριζόντιος άξονα περιγράφει την ποσοστιαία μεταβολή της

τιμής πώλησης του προϊόντος, δηλαδή την ποσότητα $x = \frac{P - P_0}{P_0} \cdot 100$, όπου

$P_0 = \text{ η αρχική τιμή πώλησης του προϊόντος ίση με } 400 \text{ €/tn, με } 0 < x < 100$.

Με επίλυση αυτής προκύπτει $P = P_0 \cdot (1 + \frac{x}{100})$.

Τελικά ενσωματώνοντας όλες τις παραπάνω, έχουμε

$$N\Sigma(\%) = \frac{Co(1-\varepsilon) \cdot 100}{t \cdot Q_0 \cdot [P_0 \cdot (1 + \frac{x}{100}) - C_2]}, \text{ η οποία είναι εξίσωση της μορφής } y = \frac{A}{Bx + \Gamma}$$

$$\text{με } A = Co(1-\varepsilon) \cdot 100, \quad B = \frac{Q_0 \cdot P_0}{100}, \quad \Gamma = t \cdot Q_0 \cdot (P_0 - C_2)$$

και περιγράφει την εξάρτηση του νεκρού σημείου παραγωγής (NΣ) από την μεταβολή της τιμής πώλησης του προϊόντος (x), όπως φαίνεται στο διάγραμμα 4.35.

Σύμφωνα με τη γενική εξίσωση, που εξήχθη ανωτέρω και περιγράφει τις καμπύλες αυτές, με αντικατάσταση μπορεί να διατυπωθεί η ακριβής εξίσωση για κάθε διαφορετικό ποσοστό επιδότησης. Έτσι,

για επιδότηση 0% η εξίσωση καμπύλης είναι

$$N\Sigma(\%) = \frac{1421245 \cdot (1-0)}{10 \cdot 6750 \cdot [400 \cdot (1 + \frac{x}{100}) - 375.5]} \cdot 100, \text{ δηλ } N\Sigma(\%) = \frac{142124490}{1676020 - 262800 \cdot x}$$

για επιδότηση 10% η εξίσωση καμπύλης είναι

$$N\Sigma(\%) = \frac{1421245 \cdot (1-0,1)}{10 \cdot 6750 \cdot [400 \cdot (1 + \frac{x}{100}) - 375.5]} \cdot 100, \text{ δηλ } N\Sigma(\%) = \frac{127912041}{1676020 - 262800 \cdot x}$$

για επιδότηση 20% η εξίσωση καμπύλης είναι

$$N\Sigma(\%) = \frac{1421245 \cdot (1-0,2)}{10 \cdot 6750 \cdot [400 \cdot (1 + \frac{x}{100}) - 375.5]} \cdot 100, \text{ δηλ } N\Sigma(\%) = \frac{113699592}{1676020 - 262800 \cdot x}$$

για επιδότηση 30% η εξίσωση καμπύλης είναι

$$N\Sigma(\%) = \frac{1421245 \cdot (1-0,3)}{10 \cdot 6750 \cdot [400 \cdot (1 + \frac{x}{100}) - 375.5]} \cdot 100, \text{ δηλ } N\Sigma(\%) = \frac{99487143}{1676020 - 262800 \cdot x}$$

για επιδότηση 40% η εξίσωση καμπύλης είναι

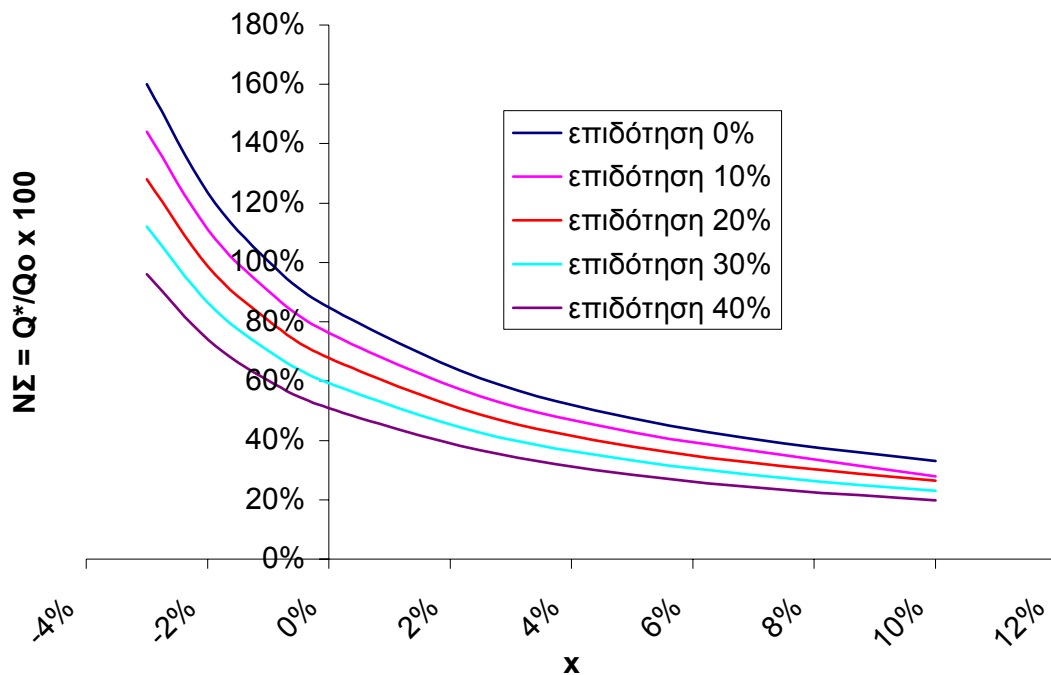
$$ΝΣ(\%) = \frac{1421245 \cdot (1 - 0,4)}{10 \cdot 6750 \cdot [400 \cdot (1 + \frac{x}{100}) - 375.5]} \cdot 100, \text{ δηλ } ΝΣ(\%) = \frac{85274694}{1676020 - 262800 \cdot x}$$

Ακολουθεί ανάλογη ανάλυση ευαισθησίας του νεκρού σημείου για τις διάφορες τιμές επιδότησης κεφαλαίου, ως προς μεταβολές της τιμής πώλησης του προϊόντος, με τα αποτελέσματα στον πίνακα 4.34 και στα διαγράμματα 4.35 και 4.36

Πίνακας 4.34 Η επίδραση της ποσοστιαίας μεταβολής στην τιμή πώλησης προϊόντος στο νεκρό σημείο παραγωγής, για διαφορετικά ποσοστά επιδότησης

επιδότηση	ποσοστιαία μεταβολή τιμής πώλησης προϊόντος	νεκρό σημείο παραγωγής	ποσοστιαία μεταβολή νεκρού σημείου παραγωγής
0%	-3%	160%	75.2%
	-2%	123.54%	38.74%
	-1%	100.57%	15.77%
	0%	84.80%	0%
	2.5%	60.92%	-23.88%
	5%	47.53%	-37.27%
	7.5%	39.00%	-45.8%
10%	10%	33.02%	-51.78%
	-3%	144.10%	67.80%
	-2%	111.20%	34.90%
	-1%	90.50%	14.20%
	0%	76%	0.00%
	2.5%	55%	-21.50%
	5%	43%	-33.52%
20%	7.5%	35%	-41.20%
	10%	28%	-48.40%
	-3%	128.10%	60.26%
	-2%	98.80%	30.96%
	-1%	80.50%	12.66%
	0%	67.84%	0.00%
	2.5%	48.70%	-19.14%
5%	38.00%	-29.84%	
7.5%	31.20%	-36.64%	
10%	26.40%	-41.44%	

30%	-3%	112.08%	52.72%
	-2%	86.48%	27.12%
	-1%	70.40%	11.04%
	0%	59.36%	0.00%
	2.5%	42.64%	-16.72%
	5%	33.30%	-26.06%
	7.5%	27.30%	-32.06%
	10%	23.10%	-36.26%
40%	-3%	96.10%	45.22%
	-2%	74.10%	23.22%
	-1%	60.30%	9.42%
	0%	50.88%	0.00%
	2.5%	36.60%	-14.28%
	5%	28.50%	-22.38%
	7.5%	23.40%	-27.48%
	10%	19.80%	-31.08%

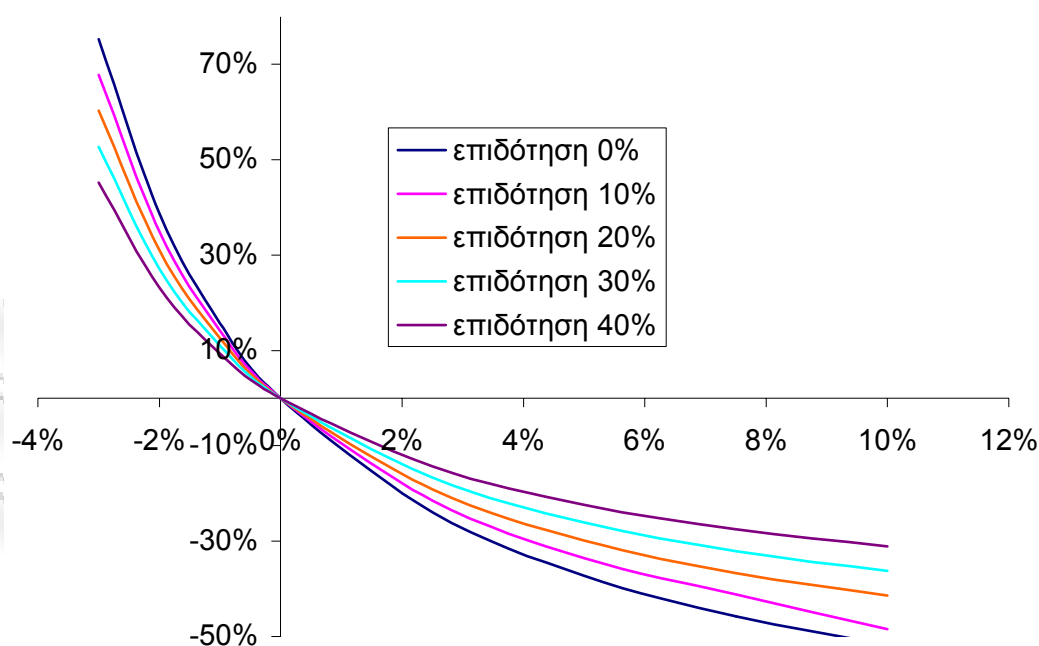


Διάγραμμα 4.35: Νεκρό σημείο παραγωγής συναρτήσει της μεταβολής στην τιμή πώλησης, για διαφορετικά ποσοστά επιδότησης κεφαλαίου.

Παρατηρούμε ότι το νεκρό σημείο παραγωγής είναι εξαιρετικά ευαίσθητο ως προς την μείωση της τιμής πώλησης του προϊόντος, ενώ είναι αισθητά λιγότερο ευαίσθητο ως προς την άνοδο της τιμής πώλησης. Το γεγονός αυτό οφείλει να

προβληματίζει σε μεγάλο βαθμό τους παραγωγούς που αν βρεθούν στην ανάγκη να μειώσουν έστω και σε ποσοστό 3% την τιμή πώλησης του προϊόντος, πιθανώς για αύξηση της ανταγωνιστικότητας του προϊόντος στην αγορά, θα δουν το νεκρό σημείο της παραγωγής να εκτινάσσεται σε δυσθεώρητα ύψη, άνοδο (στην περίπτωση με 0% επιδότηση) της τάξεως του 75% !!! Αντίθετα, με μικρή άνοδο τιμής πώλησης, της τάξεως του 5%, όπου το επιτρέπει η αγορά, μπορεί η μονάδα να λειτουργήσει ακόμα και στο 30% της δυναμικότητάς της με μια ισχυρή επιδότηση, ή στο 60% χωρίς καθόλου επιδότηση κεφαλαίου, εξοικονομώντας σημαντικά κέρδη για τους παραγωγούς.

Στο διάγραμμα 4.36 απεικονίζεται η ποσοστιαία μεταβολή του νεκρού σημείου παραγωγής συναρτήσει της ποσοστιαίας μεταβολής της τιμής πώλησης του προϊόντος, για διαφορετικά ποσοστά επιδότησης κεφαλαίου. Εδώ γίνεται σαφές ότι η αυξανόμενη του ποσοστού επιδότησης εξομαλύνεται η διαφορά στην επίδραση που έχει η μεταβολή της τιμής πώλησης στο νεκρό σημείο. Αυξανόμενης δηλαδή της επιδότησης, το σύστημα γίνεται λιγότερο ευαίσθητο τόσο στη μείωση όσο και στην αύξηση της τιμής πώλησης του προϊόντος. Αντίθετα, μειούμενης της επιδότησης, το σύστημα συμπεριφέρεται ακραία, με το φαινόμενο να γίνεται εντονότερο στην επιδότηση 0%.



Διάγραμμα 4.36: Ποσοστιαία μεταβολή του νεκρού σημείου παραγωγής συναρτήσει της ποσοστιαίας μεταβολής της τιμής πώλησης του προϊόντος, για διαφορετικά ποσοστά επιδότησης κεφαλαίου.

Πέρα από αναλύσεις της οικονομικής βιωσιμότητας τέτοιων διεργασιών, θα πρέπει να λάβουμε υπ' όψιν δυο πολύ σημαντικές παραμέτρους. Την ύπαρξη ή όχι καλύτερου τρόπου διάθεσης, επεξεργασίας και αναβάθμισης του τυρογάλακτος και το αν είναι η αγορά σε θέση να εξασφαλίσει τη σίγουρη διάθεση των προϊόντων κυτταρικής πρωτεΐνης σε ικανοποιητική τιμή. Η τιμή του προϊόντος στην αγορά είναι αποτέλεσμα καλής προώθησης και διαφήμισης. Το γαλλικό προϊόν Bel, το οποίο έχει ελεγχθεί και τυποποιηθεί και επιτυχημένα δοκιμασθεί ως ζωοτροφή, έχει διπλάσια τιμή από τις άλλες ζύμες της αγοράς [65]. Ακόμη και εάν επιτευχθεί μια καλή τιμή του προϊόντος στην αγορά, θα πρέπει να καταβληθούν προσπάθειες να διατηρηθεί χαμηλά το κόστος παραγωγής, εφαρμόζοντας μια όσο το δυνατόν απλούστερη διεργασία και αποφεύγοντας υψηλές επενδύσεις κεφαλαίου και σπατάλη ενέργειας.

5 Συμπεράσματα - Προοπτικές

Η ανάγκη για ελαχιστοποίηση του κόστους διάθεσης των οικιακών απορριμμάτων και παραπροϊόντων βιομηχανίας, αλλά και της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης, ωθεί στην αναζήτηση πρωτότυπων τρόπων αξιοποίηση τους. Παράλληλα η ανάγκη για βελτίωση της κτηνοτροφικής παραγωγής, ως προς την ποσότητα αλλά και την ποιότητα των προοριζόμενων για ανθρώπινη κατανάλωση κρέατος και γαλακτοκομικών προϊόντων, δημιουργεί την ανάγκη για αναζήτηση νέων ζωοτροφών πλουσίων σε πρωτεΐνη και σε θειούχα αμινοξέα. Ως τέτοιες ζωοτροφές δοκιμάστηκαν τα λοιπά ζωάλευρα, με τα γνωστά παραδείγματα αποτυχίας (σπογγώδης εγκεφαλοπάθειες) που επέσυραν θύελλα αντιδράσεων. (Παρατίθενται στο Παράρτημα οδηγίες τις ΕΕ περί της ασφάλειας των ζωοτροφών).

Ταυτόχρονη λύση στα δυο αυτά προβλήματα της διάθεσης της περιβαλλοντικά ρυπογόνου απορριπτόμενης ύλης και της πρωτεϊνικής ενίσχυσης των σιτηρεσίων των ζώων κτηνοτροφίας, μπορεί να αποτελέσει η με αξιοποίηση απορριμμάτων και παραπροϊόντων παραγωγή μικροβιακής πρωτεΐνης για ζωοτροφή. Το 1973 η κρίση της τροφοδοσίας της αγοράς σε σόγια στην Ευρώπη και η αύξηση της τιμής της, επέφερε την επιθυμία των χωρών για μεγαλύτερη ανεξαρτησία στις ζωοτροφές. Η παραγωγή μονοκυτταρικής πρωτεΐνης ως εναλλακτική λύση απέκτησε μεγάλο ενδιαφέρον

Παρ' ότι η παραγωγή πρωτεϊνικής βιομάζας έχει διερευνηθεί εκτενώς κατά τα τελευταία 50 χρόνια, οι πληροφορίες συχνά διατίθεται με τρόπο ασαφή και ανοργάνωτο. Πληθώρα άρθρων περιγράφουν τέτοιες απόπειρες, που βρίσκονται κυρίως σε εργαστηριακό επίπεδο. Στην παρούσα εργασία, το διαθέσιμο υλικό συλλέχθηκε, επεξεργάστηκε και καταχωρήθηκε σε Βάση Γνώσης με σκοπό τη γρήγορη πρόσβαση, τόσο σε ολοκληρωμένες προτάσεις (whole cases), όσο και σε επιμέρους συνδυασμούς (parts).

Δεδομένης της ανάγκης εμπλουτισμού των ζωοτροφών με πρόσθετα αυξημένου πρωτεϊνικού περιεχομένου, όπως υποδεικνύεται και από τις οδηγίες της ΕΕ (παράρτημα), επιλύθηκε πρόβλημα Γραμμικού Προγραμματισμού για την εύρεση του σιτηρεσίου (μίγματος κοινών ζωοτροφών και μονοκυτταρικής πρωτεΐνης), που θα ικανοποιεί τις ιδιαίτερες πρωτεϊνικές, και ενεργειακές ανάγκες των διαφόρων ζώων κτηνοτροφίας, με το ελάχιστο δυνατό κόστος για τον κτηνοτρόφο. Δε παρατηρήθηκε ποικιλία μεταξύ των αποτελεσμάτων και το σιτηρέσιο θα αποτελείτο αποκλειστικά από σογιάλευρο. Το γεγονός οφείλεται στις δυσανάλογα αυξημένες απαιτήσεις σε ασβέστιο, γι αυτό εξετάστηκε και το εναλλακτικό σενάριο της κάλυψης των αναγκών σε ασβέστιο από πρόσθετα σκευάσματα ασβεστίου. Τα αποτελέσματα αυτού του σεναρίου του Προβλήματος Διαίτης περιείχαν και το βαμβακόσπορο στις πηγές κάλυψης των ημερησίων διατροφικών αναγκών καθενός ζώου.

Πολυκριτηριακή ανάλυση μεταξύ των δημοφιλέστερων μεθόδων, ανέδειξε τον ορό

γάλακτος ως το επικρατέστερο υπόβαθρο καλλιέργειας, μεταξύ άλλων όπως της μεθανόλης, παραπροϊόντος της διύλισης του πετρελαίου, και κυτταρινούχων υπολειμμάτων αγροτικής διεργασίας όπως το άχυρο. Ο συνδυασμός του ορού γάλακτος ως πηγή άνθρακα και ενέργειας με τη ζύμη *Kluyveromyces fragilis*, μπορεί να δώσει μια τεχνολογία εφαρμόσιμη και στο Ελλαδικό χώρο, χάρη στις μεγάλες ποσότητες τυρογάλακτος που προκύπτουν ετησίως ως παραπροϊόν της τυροκομίας, κυρίως στις περιοχές της Ηπείρου.

Η παραγωγή βιομάζας από ορό δεν έχει εφαρμοστεί σε μεγάλο βαθμό ακόμη και σήμερα, παρά το γεγονός ότι το ήμισυ των παραγόμενων ποσοτήτων ορού απορρίπτεται σαν απόβλητο χωρίς καμία επεξεργασία, μολύνοντας του υδάτινους αποδέκτες. Προβλέπεται, όμως επερχόμενη επέκταση της χρήσης της δεδομένων των όλο και αυστηρότερων κανονισμών της ΕΕ (παράρτημα) για την τελική του διάθεση. Η παραγωγική διαδικασία παρουσιάζει το σημαντικό πλεονέκτημα της χρήσης ενός φθηνού υποστρώματος. Με τα σημερινά δεδομένα στη τιμή του τυρογάλακτος υπολογίζεται μόνο το κόστος μεταφοράς, ενώ η τιμή του θα μπορούσε να θεωρηθεί ακόμα και αρνητική, συνυπολογίζοντας το κόστος τελικής διάθεσης αυτού του περιβαλλοντικά ρυπογόνου.

Ένα από τα κυριότερα μειονεκτήματα της διεργασίας είναι η, όχι καλή, τιμή του προϊόντος στην αγορά, η απαίτηση για υψηλή επένδυση κεφαλαίου για την εγκατάσταση της μονάδας, η μεγάλη δυναμικότητα που πρέπει να έχει για να είναι οικονομικά βιώσιμη η διεργασία και το σχετικά υψηλό κόστος λειτουργίας. Κάθε διεργασία πρέπει μακροπρόθεσμα να επιφέρει κέρδη έναντι του λειτουργικού της κόστους, εάν ευελπιστεί να προσελκύσει επενδυτές και η παραγωγή μονοκυτταρικών πρωτεϊνών δεν αποτελεί εξαίρεση στον κανόνα αυτό. Η τιμή του προϊόντος θα πρέπει να είναι ανταγωνιστική προς αυτή των λοιπών, φυτικών ή ζωικών πηγών πρωτεΐνης. Παράγοντες όπως το υπόστρωμα, η απόδοση της μεθόδου, η θρεπτική αξία του προϊόντος ως προς το πρωτεϊνικό και βιταμινικό του περιεχόμενο, υπαγορεύουν το κόστος του τελικού προϊόντος, με κυρίαρχους μεταξύ αυτών το κόστος προεπεξεργασίας του υποστρώματος και τη χρήση ζυμωτηρίων ανάδευσης. Η τιμή των προϊόντων μονοκυτταρικής πρωτεΐνης δε μπορεί να καθοριστεί στη βάση περιστασιακών κρίσεων ενώ η καθιέρωση και η αποδοχή της χρήσης τους πρέπει να προηγηθεί της βιομηχανικής παραγωγής τους. Γενικά, θα λέγαμε ότι η μέθοδος αυτή δεν είναι προσιτή σε μικρές βιομηχανικές μονάδες. Ακόμα και στην περίπτωση που επιτευχθεί μια καλή τιμή του προϊόντος στην αγορά, θα πρέπει να καταβληθούν προσπάθειες να διατηρηθεί χαμηλά το κόστος παραγωγής, εφαρμόζοντας μια όσο το δυνατόν απλούστερη διεργασία και αποφεύγοντας υψηλές επενδύσεις κεφαλαίου και σπατάλη ενέργειας.

6 Βιβλιογραφικές Αναφορές

- 1 Value-Added Food: Biotechnology Advances 18 (2000) 459–479
V.R. Srinivasan, Department Of Microbiology, Louisiana State University,
2 Baton Rouge, Louisiana, Usa
- 3 Bioresource Technology 57 (1996) 51-54
Aquaculture - A Biotechnology In Progress, 1989. Incorporation Of Brewery
4 Activated-Sludge Single Cell Proteins (Bscp) In Diets For Clarias
Garipepinus B. Fingerling
5 Solid State Fermentation Of Starchy Substrates, Jacques C. Senez, Laboratory
Of Chimie Bacterieene , Cnrs France
- 6 The Economics Of Single Cell Proteins, McMahon & Whelehan
7 Nutrition – Single Cell Protein, 20 Years Later, Cleanthis Israelidis
Production Of Single-Cell Protein For Animal Feed From Lignocellulose
8 Wastes By W. Dexter Bellamy
- 9 Fao [Http://Www.Fao.Org/Ag/Agap/Frg/Afris/Data/734.Htm](http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/afri/data/734.htm)
- 10 Food Technol. Biotechnol. 41 (3) 243–246 (2003)
[Http://Www.Chemistry.Upatras.Gr/Dep/Divisions/Organiki/Faculty/Vyniospages/Pr](http://www.chemistry.upatras.gr/dep/divisions/organiki/faculty/vyniospages/Pr)
11 [olog.Htm](http://www.chemistry.upatras.gr/dep/divisions/organiki/faculty/vyniospages/Pr)
- 12 Αξιοποίηση Στερεών Οργανικών Αγροτοβιομηχανικών Αποβλήτων Κ.Ισραηλίδης
Handbook Of Organic Waste Conversion
By Michael Bewick, Chapter: Production Of Feedstuff
13 Biomass From Liquid Organic Wastes
- 14 Biotechnology Vol 3 Chapter 1c
- 15 Biotechnology Vol 3 Chapter 1β
- 16 Biotechnology Vol 3 Chapter 3α
- 17 Biotechnology Vol 3 Chapter 1α
- 18 81140 – 1984-12-13 Παραγωγή Πρωτεΐνης Απλού Κυττάρου και
Σουκρόζης (Οργανισμός Βιομηχανικής Ιδιοκτησίας)
Uk1579632 - 1980-11-19 Production Of Microbial Protein And Lipid From
19 Vegetable Carbohydrates
- 20 Ιατροχειρουργική Εταιρεία Κέρκυρας [Www.Ixek.Gr/Magazine/Issue3/](http://www.ixek.gr/magazine/issue3/)
[Ww-Jcb.Bio.Auth.Gr/Mor_Biol/](http://www.jcb.bio.auth.gr/mor_biol/)
21 [Lysosomes/Texts/Lysosomes19.Htm](http://www.jcb.bio.auth.gr/mor_biol/)
- 22 Πατέντα US3778349 - 1973-12-11
- 23 Πατέντα UK1563392 - 1980-03-26
- 24 Πατέντα US3982998 - 1976-09-28
- 25 Single Cell Proteins In Diets For Weanling Pigs P.M. Becker Report
03/0016848 Animal Sciences Group - Nutrition & Food
- 26 Πατέντα US3989595 - 1976-11-02
- 27 Παραγωγή Βιοαιθανόλης Από Λιγνινοκυτταρινούχα Υλικά Υπό Συνθήκες Ζύμωσης
Στερεάς Καλλιέργειας. Διπλωματική Εργασία. Παπαδοπούλου Ελένη

- Μελέτη Της Παραγωγής Αμυλάσης Και Μικροβιακής Πρωτεΐνης Από Την
Καλλιέργεια Του Μύκητα *Calvatia Gigantea* Σε Κονιοποιημένο Βελανίδι Και
Καθαρό Άμυλο Και Της Ανάπτυξης Της Ζύμης *Candida Utilis* Σε Υδρόλυμα
28 Βαλανιδιού. Διδακτορική Διατριβή Κέκου Δ.
R.H. Kurtzman, "Mushrooms As A Source Of Food Protein," In M. Friedman (Ed.),
Nutrition And Clinical Nutrition. I. Protein Nutritional Quality Of Foods And Feeds,
29 Part 2, P. 305 - 318, Marcel Dekker, Inc., New York, 1975.
- Production Os Single Cell Protein From Ram Horn Hydrolysate. Esabi Basaran,
30 Ataturk University, Department Of Biology
- Protein Enrichment Of Starchy Substrates By Solid-State Fermentation J.C.Senez
Laboratoire De Chimie Bactérienne - Cnrs, Marseilles, Francem. Raimbault And F.
31 Deschamps
- Single Cell Proteins From Fungi And Yeasts U. O. Ugalde And J. I. Castrillo
Department Of Applied Chemistry, Faculty Of Chemistry, University Of The Basque
32 Country
Δυνατοτητες Οικολογικης Διαχειρισης Λιγνοκυτταρινουχων Γεωργικων
Υπολειμματων Και Αποβλητων Με Την Καλλιερεια Μανιταριων – Συνοψη
Αποτελεσματος Των Ερευνων Στο ΙΓΕΜΚ (ΕΘΙΑΓΕ) Αντώνης Φιλιππούσης, και
Παναγιώτα Διαμαντοπούλου Εθ.Ι.Αγ.Ε, Ινστιτούτο Γεωργ. Μηχανών Και
33 Κατασκευών (Ι.Γ.Ε.Μ.Κ), Εργαστήριο Εδώδιμων Μανιταριών
«Επαναχρησιμοποίηση Λιγνοκυτταρινουχων Στερεων Καταλοιπων Της
Αγροτοβιομηχανιας Με Βιοτεχνολογικες Μεθοδους Αξιοποιησης» Εθιαγε
Ινστιτούτο Τεχνολογιας Γεωργικων Προϊοντων Τομεας: Βιοτεχνολογικων
Εφαρμογων
34 Δημητρης Οικονομου
- Production Of Microbial Biomass Hélène Boze Guy Moulinpierre Galzy Montpellier,
35 France
- Mini-Fermentation Technology To Produce Single-Cell Protein From Molasses
Suharto National Institute For Chemistry, Indonesian Institute Of Sciences, Bandung,
36 Indonesia
37 [Http://Www.Unido.Org/File-Storage/Download/?File_Id=32](http://Www.Unido.Org/File-Storage/Download/?File_Id=32)
- 38 Συνθετικες Πρωτεινες . Σωτ. Καρβούνης
Microbial Conversion Of Lignocellulosic Residues For Production Of Animal Feeds.
Granato, Mitchell, Departement Of Microbiology & Parasitology Federal University
39 Of Florianopolis, Brazil
- Industrial Microbiology , Prescott And Dumm's, Chapter Microbial Biomass, Single
40 Cell Protein And Other Microbial Products*
- 41 Espinosa Et Al 1977 13*
- 42 Hang Et Al 1974 13*
- 43 Imprie And Vlitos 1975 13*
- 44 Imprie And Righelato 1976 13*
- 45 Reade And Gregory 1975 13*
- 46 Worgan 1976 13*
- 47 Hang 1977 13*
- 48 Wasserman 1960 13*
- 49 Forage 1978 13*
- 50 Meryrath 1975 13*

51	Church Et Al 1972	13*
52	Bernstein Et Al 1977	
53	Skognam 1976	
54	Shannon And Steenson 1975	
55	Litchfield 1977	15*
56	Shennan And Levi 1974	15*
57	Blanch And Einselle 1973	15*
58	Tripathi & Yadan 1992	39*
59	Ashour Et Al 1993	39*
60	Pessoa Et Al 1996	39*
61	Balla & Joshi	39*
	The Cultivation Of Single Cell Protein As Feed To Shrimps, N301 Industrial And Environmental Microbiology , Cynthia Wong,	
62	Isabelle Lean, Jean Tan And Sabrina Yeo	
63	Pakistan Journal Of Biological Sciences 5 (10) : 1052-1055, 2002	
64	J. Spinelli , National Marine Fishriew Services, Seattle, Washington Biomass From Whey, J. Meyrath And K. Bayer . Economic	
65	Microbiology 1979 (P 207-269)	66*
66	Χρήση Κατεργασμένου Τυρογάλακτος Για Παραγωγή Κυτταρικής Πρωτεΐνης, Διπλωματική Εργασία Ν.Θωμά (1992)	
67	Πατέντα US 4795708	
68	Αξιοποίηση Τυρογάλακτος Γ. Ζεφυρίδης	66*
	Trends In Whey Fractionation And Utilization . A Global Perspective. Robrert R.Zall Journal Of Daivy Science 67 (1984) P 2621-2629.	
69		66*
70	Το Τυρόγαλα Των Γαλακτοβιομηχανιών Μας. Α. Παπάς, Γ. Καλατζόπουλος. Αθήνα 1980	66*
71	Food Engineering And Dairy Technology H. G. Kessler 1981	66*
72	Developments In Food Proteins:2 , Chapter 7: Yeast Protein 1986 M. Guzman	66*
73	Single Cell Proteins . John H. Litchfield . Science Vol.219 (Febr 1983) P. 740-746	66*
	Single Cell Protein Biotechnology A Text Book Of Industrial Microbiology. Wrif Gieger	
74		66*
75	Στοιχεία Βασικής Βιοτεχνολογίας Β. Ι. Μακρής, Δ. Κέκος 1991	66*
	Protein Production From Crude Lactose By Saccharomyces Gragilis. Continuous Culture Studies. P.Vananuvat Nad J.E.Kinsella ,	
76	Journal Of Food Science, Vol. 40 (1975) , P. 823-825.	66*
	Non Polluting Conversion Of Whey Permeate To Food Yeast Protein. L.K.Shay, G.H. Wegner, Journal Of Dairy Science 69: 676-683 (1986)	
77		66*
78	Food Biotechnology. M.Dekker, Inc. New York And Base (1987)	66*
	Process Alternatives In Sep Fermentation Dr.V.Faust And Dr.P.Prave, 1979 P. 28-33	
79		66*
	Whey Utilization. Availability Of Whey Nitrogen For The Growth Of Saccharomyces Fragilis. Journal Of Dairy Science, 43, 1960	
80		66*
	Nutrient Supplementation Of Swiss Cheese Whey For The Production Of Feed Yeast.M. Harju, Milchwissenschaft 31 (1976) P. 530-533	
81		66*

- 82 Composition Of Saccharomyces Fragilis , Biomaww Growth On Lactose
Permeate. Journal Of The Science Of Food And Agrcultyrare26,
1975 P 117-1186 66*
- 83 Proccsed Plant Protein Foodstuffw, Chapter 29: Micribial Proteins
By J.Stokews 1958 66*
- 84 Yeast And Yeast Derivatives: Definitions, Characteristics And Processing.
Food And Technology 1987 P.107-125 66*
- 85 The Utilization Of Whey And Its Components. Single Cell Proteins From
Lactose Kad Whey. N.K.Osaric Advances In Bochemical Engineering/
Biotechnology 32, P. 39-42 66*
- 86 The Commercail Fermantation Of Cheese Whey For Thw Production Of
Protein And Or Alclcohol. Biotechnology And Bioengineering Symposium
No7 1977 P.1-7 66*
- 87 Development Of A Direct Digital - Controlled Fermentor Using A
Microcomputer Michael J. Rolf , Biotechnology And Bioengineering,
Vol. Xxiv , P 1191-1210 (1982) 66*
- 88 Prodcom 1998, Πινακας Στοιχειων Ετησιας Ερευνας Παραγωγης
Και Πωλησεων Βιομηχανικων Προιοντων
[Http://Www.Statistics.Gr/Gr_Tables/S502_Sin_6_Tb_An_98_1_T.Htm,\)](http://Www.Statistics.Gr/Gr_Tables/S502_Sin_6_Tb_An_98_1_T.Htm,)
- 89 U.S.D.A. Agricultural Statistics, G.P.O 1976 7*
- 90 Brighton Miller & Warren Litsky (1976) "Single Cellprotein
In Industrial Microbiology" P 408 7*
- 91 Dried Whey - A Valuable Ingredient For Pig Starters By: Gary L.
Cromwell Professor, Swine Nutrition
[Http://Www.Uky.Edu/Ag/Animalsciences](http://Www.Uky.Edu/Ag/Animalsciences)
/Swine/Documents/Driedwheyavaluableingredientinpigstarters.Pdf
- 92 Fao Statistical Databases 2002
- 93 [Http://Www.Ams.Usda.Gov/Dairy/Mncs/Graphs/Whey_Prod.Pdf](http://Www.Ams.Usda.Gov/Dairy/Mncs/Graphs/Whey_Prod.Pdf)
- 94 [Http://Www.Dodonidairy.Com/Home/Company/Profile/
Default.Xml.Aspx?Language=1](http://Www.Dodonidairy.Com/Home/Company/Profile/Default.Xml.Aspx?Language=1)
- 95 Single-Cell Protein Production From Ram Horn Hydrolysate By Bacteria
Kurbanoglu Eb, Algur Of
Bioresource Technology 5 (2): 125-129 Nov 2002
- 96 Plant Origin Liquid Waste: A Resource For Single-Cell Protein Production By Yeast
Bioresource Technology 57 (1): 51-54 Jul 1996
- 97 Propagation Of Yeast In Whey, A By-Product From Leaf Protein-Production Plant
Current Science 9 (20): 793-794 1980
- 98 Acid Hydrolysis Of Shrimp-Shell Wastes And The Production Of Single Cell
Protein From The Hydrolysate
Bioresource Technology 7 (1): 55-60 Jul 1996

- Microbial Protein-Production By Paecilomyces-Variotii Cultivated In Eucalyptus Hemicellulosic Hydrolyzate
99 Bioresource Technology 2 (2): 197-200 1995
- Single Cell Protein From Pineapple Cannery Effluent
100 World Journal Of Microbiology & Biotechnology 4 (5): 693-696 Oct 1998
101 [Http://Www.Fao.Org/Ag/Agp/Agpc/Doc/Publicat/Pub6/P620.Htm](http://Www.Fao.Org/Ag/Agp/Agpc/Doc/Publicat/Pub6/P620.Htm)
- 102 [Http://Www.Soymeal.Org/Worldlitarticles_New/Globalssampling.Html](http://Www.Soymeal.Org/Worldlitarticles_New/Globalssampling.Html)
Γραμμικός Προγραμματισμός [Http://Www-](http://Www-Fp.Mcs.Anl.Gov/Otc/Guide/Casestudies/Diet/)
103 [Fp.Mcs.Anl.Gov/Otc/Guide/Casestudies/Diet/](http://Www-Fp.Mcs.Anl.Gov/Otc/Guide/Casestudies/Diet/)
- 104 <http://www.cottoninc.com/2004CottonseedMarketPrices/>
105 www.prin.gr/prin/589/589_18.htm
106 [Http://Www.Umass.Edu/Cdl/Publications/A_Buying_Feeds.Htm](http://Www.Umass.Edu/Cdl/Publications/A_Buying_Feeds.Htm)
107 Www.Moomilk.Com/Archive/Nutrition-13.Htm
108 [Http://Virtual.Clemson.Edu/Groups/Psapublishing/Disaster/Drought/Drou4.Htm](http://Virtual.Clemson.Edu/Groups/Psapublishing/Disaster/Drought/Drou4.Htm)
109 [Http://Www.Wvu.Edu/~Agexten/Forglvst/Alterdrot.Htm](http://Www.Wvu.Edu/~Agexten/Forglvst/Alterdrot.Htm)
- 110 [Http://Edis.Ifas.Ufl.Edu/Pdffiles/An/An13400.Pdf](http://Edis.Ifas.Ufl.Edu/Pdffiles/An/An13400.Pdf)
[Http://Www.Fao.Org/Documents/Show_Cdr_Asp?Url_File=/Docrep/004/Ac797e/Ac797e09.Htm](http://Www.Fao.Org/Documents/Show_Cdr_Asp?Url_File=/Docrep/004/Ac797e/Ac797e09.Htm)
111 [797e09.Htm](http://Www.Fao.Org/Documents/Show_Cdr_Asp?Url_File=/Docrep/004/Ac797e/Ac797e09.Htm)
- 112 [Http://Www.Extension.Umn.Edu/Distribution/Livestocksystems/Di6496.Html](http://Www.Extension.Umn.Edu/Distribution/Livestocksystems/Di6496.Html)
113 [Http://Www.Ads.Uga.Edu/Annrpt/1995/95_255.Htm](http://Www.Ads.Uga.Edu/Annrpt/1995/95_255.Htm)
114 [Http://Www.Merckvetmanual.Com/Mvm/Htm/Bc/Cat_Tbl_180000.Htm](http://Www.Merckvetmanual.Com/Mvm/Htm/Bc/Cat_Tbl_180000.Htm)
- Supplemental Winter Feeding Of Goats
115 [Http://Www.Clemson.Edu/Agronomy/Goats/Winter_Feed.Html](http://Www.Clemson.Edu/Agronomy/Goats/Winter_Feed.Html)
- Production Of Single Cell Protein From Rice Polishings Using Candida Utilis
116 World Journal Of Microbiology & Biotechnology 20 (3): 297-301 Apr 2004
- Determination Of Biomass Yield For Growth Of Candida Utilis On Glucose: Black Box And Metabolic Descriptions
117 World Journal Of Microbiology & Biotechnology 15 (4): 431-438 Aug 1999
Black-Box Mathematical-Model To Calculate Autotrophic And Heterotrophic Biomass Yields Based On Gibbs Energy-Dissipation
Biotechnology And Bioengineering 40 (10): 1139-1154 Dec 5 1992
118
- Linear Relations In Microbial Reaction Systems - A General Overview Of Their Origin, Form, And Use
119 Biotechnology And Bioengineering 38 (6): 603-618 Sep 1991
- The Yield Equations In The Modeling And Control Of Bioprocesses
Andrews Gf
Biotechnology And Bioengineering 42 (5): 549-556 Aug 20 1993
120

- Control And Thermodynamics Of Microbial-Growth - Rational Tools For Bioengineering
Rutgers M, Vandam K, Westerhoff Hv
Critical Reviews In Biotechnology 11 (4): 367-395 1991
- 121 In Search Of A Thermodynamic Description Of Biomass Yields For The Chemotropic Growth Of Microorganisms
Heijnen Jj, Vandijken Jp
Biotechnology And Bioengineering 39 (8): 833-858 Apr 5 1992
- 122 Cultivation Of Candida Langeronii In Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolyzate For The Production Of Single Cell Protein
Nigam Jn
World Journal Of Microbiology & Biotechnology 16 (4): 367-372 Jun 2000
- 123 Cultivation Of Candida Tropicalis In Sugar Cane Hemicellulosic Hydrolyzate For Microbial Protein Production
Pessoa A, Mancilha Im, Sato S
Journal Of Biotechnology 51 (1): 83-88 Oct 18 1996
- 124 Microbial Protein-Production By Paecilomyces-Variotii Cultivated In Eucalyptus Hemicellulosic Hydrolyzate
Silva Jbae, Demancilha Im, Vannetti Mcd, Teixeira Ma
Bioresource Technology 52 (2): 197-200 1995
- 125 Nutritional Profile Of Food Yeast Kluyveromyces Fragilis Biomass Grown On Whey
Paul D, Mukhopadhyay R, Chatterjee Bp, Guha Ak
Applied Biochemistry And Biotechnology 97 (3): 209-218 Mar 2002
- 126 Batch And Continuous Cultivation Of Anaerobiospirillum Succiniciproducens For The Production Of Succinic Acid From Whey
Lee Pc, Lee Wg, Kwon S, Lee Sy, Chang Hn
Applied Microbiology And Biotechnology 54 (1): 23-27 Jul 2000
- 127 Effects Of Medium Components On The Growth Of Anaerobiospirillum Succiniciproducens And Succinic Acid Production
Lee Pc, Lee Wg, Lee Sy, Chang Hn
Process Biochemistry 35 (1-2): 49-55 Oct 1999
<http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32001R1260:EL:NOT>
- 129 "Advances In Environmental Research 6 2002.179-189
A Comprehensive Pilot Plant System For Fungal Biomass Protein Production And Wastewater Reclamation"
- 130 "Bioresource Technology 66 (1998) 201-206
© 1998. Utilisation Of Starch Processing Wastewater For Production Of Microbial Biomass Protein And Fungal A-Amylase By Aspergillus Oryzae"
- 131 "Fems Microbiology Letters 231 (2004) 197-204 Production Of Heterologous Protein By Methylobacterium Exorquens
In High Cell Density Fermentation" Culture Factors"
- 132

- "Journal Of Biotechnology 118 (2005) 413–420
133 Microbial Biomass Production From Rice Straw Hydrolysate In Airlift Bioreactors"
- "Process Biochemistry 34 (1999) 59–65
134 Production Of Fungal Protein And Glucoamylase By Rhizopus Oligosporus From Starch Processing Wastewater"
- "Biomass And Bioenergy Vol. 1 I, No. 4, Pp. 361-364, 1996
135 production Of Single-Cell Protein And Cellulase From Sugarcane Bagasse: Effect Of culture Factors
- Bioconversion Of Molasses Stillage To Protein As An Economic Treatment Of This Effluent
Shojaosadati Sa, Khalilzadeh R, Jalilzadeh A, Sanaei Hr
136 Resources Conservation And Recycling 27 (1-2): 125-138 Jul 1999
- Mineral Supplementation In Tunisian Smallholder Dairy Farms
J. Rekhis
137 Animal Production Department, Veterinary School, Sidi Thabet
- Εφαρμογές εις την διατροφή των αγροτικών ζώων - Π. Καλαϊσάκης - Ανωτάτη
138 Γεωπονική Σχολή Αθηνών 1968

* όπως αναφέρεται στην αναφορά υπ' αριθμόν

7 Παράρτημα

- On a generic approach to the safety assessment of micro-organisms used in feed/food production
- Assessment By The Scientific Committee On Animal Nutrition (SCAN) Of A Micro-Organisms Product : Esporafeed Plus® 1 (June 1999)
- Assessment by the Scientific Committee on Animal Nutrition (SCAN) Of A Micro-Organisms Product : Neoferm BS-10 ® 1 (Dec 1999)
- Επίσημη Εφημερίδα Των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων . Απόφαση Της Επιτροπής Και Τροποποιήσεις Αυτής Για Τη Χρήση Ζωικών Πρωτεϊνών Στη Διατροφή Των Ζώων / Μέτρα Προστασίας Σχετικά Με Τις Μεταδοτικές Σπογγώδεις Εγκεφαλοπάθειες. (2000-2002)
- Report of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the assessment under directive 87/153/EEC of the efficacy of micro-organisms used as feed additives (February 2000)
- Report Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On Product Bioplus 2b ® For Use As Feed Additive (Adopted On 22 June 2000)
- Report of the SCAN on safety assessment report of Probiotic Roduct MSB ®1. (January 2001)
- Assessment of the Scientific committee on animal nutrition of the safety of product PACIFOR ® for the use as feed additive (May 2001)
- Reports Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On The Use In Animal Feed Of Protein-Rich Biomass Derived Of Cells Of Methanotrophic Bacteria Grown On Natural Gas As A Carbon Source. (Dec 2001)
- Report Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On Product Toycerin For Use As Feed Additive. (Dec 2001)
- Opinion Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On The Safety Of Use Of *Bacillus* Species In Animal Nutrition (17 February 2000)
- Opinion Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On The Use Of *Bacillus Licheniformis* NCTC 13123 In Feedingstuffs For Pigs (Product Alcare TM) (April 2002)
- Evaluation Of The Efficacy Of Micro-Organism Product Biosaf Sc47 (Dec 2002)
- Evaluation Of The Efficacy Of Micro-Organism Product « Levucell® Sb 20» (*Saccharomyces Cerevisiae* C.N.C.M. I-1079) (Dec 2002)
- Safety Assessment And Regulatory Aspects Of Micro-Organisms In Feed And Food Applications
- Update Of The Report Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On The

Safety Of Protein-Rich Biomass Derived Largely From Cells Of Methanotrophic Bacteria Grown Using Natural Gas As Carbon Source (Bioprotein®) (February 2003)

- Report Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On The Safety Of The Micro-Organism Product Provita E® For Use As Feed Additive (January 2003)
- Opinion Of The Scientific Committee On Animal Nutrition On The Evaluation Of The Safety Of Calmix®, A Micro-Organism Product (26 March 2003)
- Opinion on the use of certain micro-organisms as additives in feedingstuffs April 2003