

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΩΜΕΓΑ-3 ΛΙΠΑΡΩΝ ΟΞΕΩΝ ΑΠΟ ΕΤΕΡΟΤΡΟΦΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΩΣ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΣΑΚΧΑΡΑ ΛΙΓΝΙΝΟΚΥΤΤΑΡΙΝΟΥΧΟΥ ΒΙΟΜΑΖΑΣ

Α. Καρναούρη^{1*}, Π. Κωστόπουλος^{1*}, Α. Χαλιμά¹, Κ. Καλογιάννης², Α. Λάμπας², Ε. Τόπακας¹

¹Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα

²Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών και Ενεργειακών Πόρων, ΙΔΕΠ/ΕΚΕΤΑ, Θεσσαλονίκη, Ελλάδα

(*panos.kwsto@hotmail.com; akarnaouri@chemeng.ntua.gr)

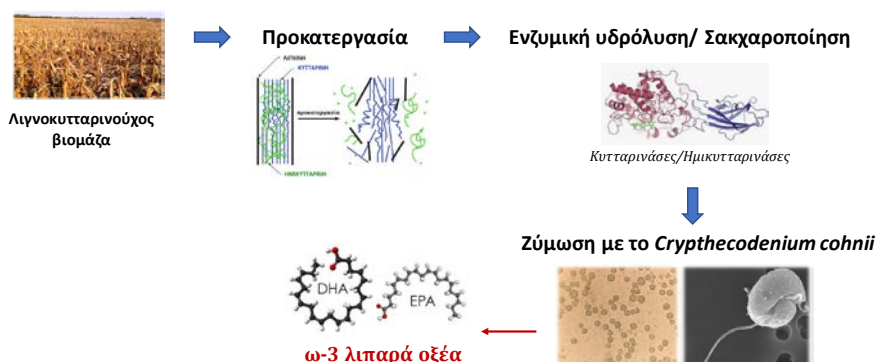
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε παγκόσμιο επίπεδο για την παραγωγή ευρέως φάσματος προϊόντων υψηλής αξίας που χρησιμοποιούνται σε πολλούς τομείς της βιομηχανίας. Η παραγωγή ωμέγα-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων κρίνεται ως ιδιαίτερα ελκυστική τεχνολογία, καθώς τα εν λόγω έλαια έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA) και εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (DHA) τα οποία είναι ευρέως αναγνωρισμένα ως σημαντικά διατροφικά στοιχεία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε φαρμακευτικά σκευάσματα και συμπληρώματα διατροφής με στόχο τη βελτίωση της υγείας των καταναλωτών και την πρόληψη ασθενειών. Ετεροτροφικά συστήματα θαλάσσιων μικροφυκών της συνομοταξίας των Δινομαστιγωτών, όπως εκείνα του είδους *Cryptocodinium cohnii*, έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας ως πηγή άνθρακα τη γλυκόζη και να συσσωρεύουν υψηλά ποσοστά λιπαρών οξέων στο εσωτερικό των κυττάρων τους. Ο στόχος της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων καλλιέργειας μικροφυκών για τη μετατροπή φθηνών οργανικών πηγών άνθρακα (λιγνινοκυτταρινούχα υποστρώματα και συγκεκριμένα πριονίδια ξύλου οξιάς) σε πολυακόρεστα ω-3 λιπαρά οξέα μέσω διεργασιών μικροβιακών ζυμώσεων με κύτταρα του μικροφύκου *C. cohnii*. Πραγματοποιήθηκε φυσικοχημική προκατεργασία ήπιας οργανολυτικής κλασμάτωσης του υλικού με τη χρήση οργανικών διαλυτών, σε διαφορετικές συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου, προκειμένου να επιτευχθεί η παραγωγή στερεού κλάσματος με υψηλό ποσοστό ανάκτησης κυτταρίνης και ημικυτταρίνης. Ακολούθησε ενζυμική υδρόλυση και τα σάκχαρα που παράχθηκαν αξιοποιήθηκαν ως πηγή άνθρακα για την παραγωγή ωμέγα-3 λιπαρών οξέων από τα κύτταρα του μικροφύκου σε καλλιέργειες μικρής κλίμακας, σε σύστημα ανακινούμενων φιαλών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα σάκχαρα από την υδρόλυση της βιομάζας έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα ως προς την απόδοση των παραγόμενων προϊόντων, με τα συνολικά λιπαρά να φτάνουν σε ποσοστό ως και 22.6% του ξηρού βάρους των κυττάρων. Η παραγωγή των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων, και συγκεκριμένα του DHA, έφτασε μέχρι και 56.2% του βάρους των συνολικών λιπαρών οξέων, αφήνοντας περιθώρια προς περαιτέρω βελτίωση των συνθηκών της καλλιέργειας σε σάκχαρα προερχόμενα από τη βιομάζα και λαμβάνοντας υπόψιν τυχόν αναστολή της ανάπτυξης των μικροφυκών από ενώσεις-παρεμποδιστές που δημιουργούνται στο υδρόλυμα της βιομάζας μετά την προκατεργασία. Η χρήση λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας για την παραγωγή συστατικών υψηλής προστιθέμενης αξίας, όπως τα ω-3 λιπαρά οξέα, προσφέρει μια οικονομικά ανταγωνιστική και συμφέρουσα εναλλακτική σε σχέση με τις ήδη υπάρχουσες τεχνολογίες και προάγει τη βιωσιμότητα και την αειφόρο ανάπτυξη.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε παγκόσμιο επίπεδο για την παραγωγή ευρέως φάσματος προϊόντων υψηλής αξίας που χρησιμοποιούνται στις βιομηχανίες φαρμάκων και τροφίμων, την κοσμετολογία και σε λοιπές βιομηχανικές εφαρμογές. Η παραγωγή ωμέγα 3 (n-3) πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (polyunsaturated fatty acids (PUFAs), και ειδικότερα εκείνων με την ω-3 μακριά αλειφατική αλυσίδα (ω-3-long chain LC-PUFAs), από τα κύτταρα των μικροφυκών κρίνεται ως ιδιαίτερα ελκυστική τεχνολογία. Τα εν λόγω έλαια έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA, 20:5n-3) και εικοσιδιεξαενοϊκό οξύ (DHA, 22:6n-3) τα οποία είναι

ευρέως αναγνωρισμένα ως σημαντικά διατροφικά στοιχεία που συμβάλλουν στην πρόληψη νοσημάτων και προσφέρουν ποικίλα οφέλη μέσω της δράσης τους στη φυσιολογία του οργανισμού (μοριακό, κυτταρικό και μεταβολικό επίπεδο)^[1]. Επιπλέον, η χρήση τους έναντι των ιχθυελαίων αποτρέπει την εντατικοποίηση της αλιείας και εξαλείφει την πιθανότητα παρουσίας τοξικών μη μεταβολιζόμενων χημικών ουσιών όπως διοξίνες, πολυχλωριωμένα διφαινύλια και βαρέα μέταλλα. Τέλος, τα εν λόγω παρασκευάσματα έχουν καλύτερη οσμή και βελτιωμένες οργανοληπτικές ιδιότητες. Ετεροτροφικά συστήματα θαλάσσιων μικροφυκών της συνομοταξίας των Δινομαστιγιωτών (*Dinoflagellata*) έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας ως πηγή άνθρακα τη γλυκόζη, συσσωρεύοντας λιπαρά οξέα που φτάνουν ως και 40% του ξηρού βάρους (ξ.β.) των κυττάρων, ενώ η παραγωγή PUFAs, και συγκεκριμένα του DHA, μπορεί να φτάσει μέχρι και 70% του συνολικών λιπαρών οξέων. Επίσης, έχει δειχθεί πως τα μικροφύκη μπορούν επιτυχώς να αναπτυχθούν σε υδρόλυμα από την επεξεργασία της βιομάζας σε μια διεργασία που απεικονίζεται στο Σχήμα 1. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται υψηλή απόδοση παραγωγής λιπαρών οξέων που μπορεί να φτάσει ως και εκείνη στην οποία χρησιμοποιείται γλυκόζη στο μέσο καλλιέργειας ως πηγή άνθρακα^[2,3], καθιστώντας έτσι τις υπολειμματικές μορφές βιομάζας ως κατάλληλο υπόστρωμα για την αξιοποίηση των μικροφυκών σε ευρεία κλίμακα.



Σχήμα 1. Απεικόνιση διεργασίας παραγωγής ω -3 λιπαρών οξέων αξιοποιώντας τη λιγνοκυτταρινούχο βιομάζα ως πρώτη ύλη.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Αρχικά, δεδομένα από τη βιβλιογραφία^[4], καθώς και προκαταρκτικά πειράματα με καθαρή γλυκόζη ως πηγή άνθρακα κατέδειξαν τις βέλτιστες συνθήκες των παραμέτρων της καλλιέργειας ως προς τις συγκεντρώσεις πηγών αζώτου, τις συγκεντρώσεις σακχάρων και τη στρατηγική τροφοδοσίας υποστρώματος. Οι καλλιέργειες πραγματοποιήθηκαν σε σύστημα αναδευόμενων φιαλών, σε όγκο 40 mL, όπου προστέθηκε 10% του όγκου εμβόλιο. Το αρχικό pH της καλλιέργειας ρυθμίστηκε στο 6.5 και οι συνθήκες της καλλιέργειας ήταν 27°C και 160 rpm, οι οποίες είναι οι βέλτιστες για την ανάπτυξη του μικροφύκου σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Εκχύλισμα ζύμης χρησιμοποιήθηκε ως πηγή αζώτου, ενώ σε όλες τις καλλιέργειες προστέθηκε διάλυμα μεταλλικών αλάτων, ιχνοστοιχείων και βιταμινών (sea salts) σε συγκέντρωση 25 g/L. Στις περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκε υδρόλυμα στερεής πούλπας προκατεργασμένης βιομάζας ως πηγή άνθρακα, αρχικά πραγματοποιήθηκε υδρόλυση προς την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων με τη βοήθεια του εμπορικού παρασκευάσματος Cellic[®] CTec2 (Novozymes) σε ρυθμιστικό διάλυμα 50 mM φωσφορικών αλάτων (pH 5.0) και 72 ώρες επώασης στους 50°C. Τα πειράματα έγιναν με συγκέντρωση βιομάζας ίση με 9% β/ο, ενώ το ενζυμικό φορτίο ήταν 9 mg/g βιομάζας. Η συγκέντρωση των κυττάρων κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας προσδιορίστηκε μετρώντας την οπτική απορρόφηση στα 600nm. Η συγκέντρωση των παραγόμενων σακχάρων προσδιορίστηκε ακολουθώντας τη μέθοδο της οξειδάσης της γλυκόζης (GOD-POD)^[5] καθώς και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

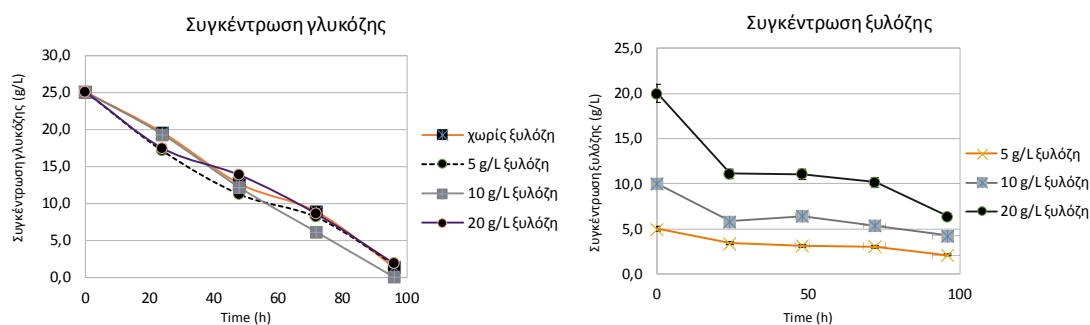
Μετά το πέρας της καλλιέργειας, τα κύτταρα παραλήφθηκαν με φυγοκέντρηση, ακολούθησε πλύση με ισότονο διάλυμα και το συνολικό τους βάρος προσδιορίστηκε μετά από λυοφιλίωση. Για την απομόνωση των λιπαρών οξέων από τη βιομάζα των μικροφυκών, ακολούθησε εκχύλιση με μίγμα χλωροφορμίου/αιθανόλης 2:1 (v/v), ακολουθώντας την μέθοδο του Folch^[6] και προσδιορίστηκε το βάρος τους μετά από ξήρανση σε φούρνο κενού, σε θερμοκρασία 41°C και πίεση 457 mbar, για την απομάκρυνση του οργανικού διαλύτη. Για την ανάλυση των λιπαρών οξέων, ακολούθησε μετεστεροποίηση χρησιμοποιώντας διάλυμα μεθανόλης/υδροχλωρικού οξέος, για 15 λεπτά σε θερμοκρασία 60°C, μετέπειτα προσθήκη χλωριούχου ασβεστίου και εκχύλιση με εξάνιο. Οι πτητικοί μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία (GC)^[7].

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρχικά έγινε μελέτη σε γλυκόζη ως πηγή άνθρακα, σε διάφορες συγκεντρώσεις για να βρεθεί η μέγιστη συγκέντρωση σακχάρων που ευνοεί την ανάπτυξη βιομάζας και τη συσσώρευση λιπαρών οξέων. Μελετήθηκαν συγκεντρώσεις 5-100 g/L γλυκόζη, όπου βρέθηκε πως η βέλτιστη συνθήκη είναι εκείνη όπου η αρχική συγκέντρωση γλυκόζης είναι ίση με 25 g/L, ενώ συγκεντρώσεις υψηλότερες από 50 g/L δρουν παρεμποδιστικά για την ανάπτυξη της βιομάζας. Επίσης μελετήθηκε η δυνατότητα του *C. cohnii* να καταβολίζει πεντόζες και ιδιαίτερα την ξυλόζη, το οποίο αποτελεί ένα χαρακτηριστικό ιδιαίτερης σημασίας, εφόσον αυτή το σάκχαρο αυτό βρίσκεται στο υδρόλυμα της βιομάζας. Μελετήθηκε η ανάπτυξη του μικροφύκου παρουσία συνδυασμού γλυκόζης και ξυλόζης ως πηγή άνθρακα, όπου η αρχική συγκέντρωση της γλυκόζης ήταν ίση με 25 g/L, ενώ η ξυλόζη προστέθηκε σε συγκεντρώσεις 5 – 20 g/L.

Πίνακας 1. Ανάπτυξη βιομάζας και συσσώρευση λιπαρών οξέων παρουσία συνδυασμού γλυκόζης και ξυλόζης ως πηγή άνθρακα. Σε όλα τα πειράματα, ο χρόνος της καλλιέργειας ήταν 100 ώρες, ενώ η αρχική συγκέντρωση γλυκόζης ήταν ίση με 25 g/L και η συγκέντρωση πηγής αζώτου ίση με 2 g/L.

Ξυλόζη (g/L)	Βιομάζα (g/L)	Λιπαρά οξέα (g/L)	Λιπαρά οξέα (% ξ.β. κυττάρων)	DHA (g/L)	DHA % (% ξ.β. λιπαρών οξέων)
0	7.42 ± 0.09	3.46 ± 0.05	46.7 ± 2.5	1.06 ± 0.05	30.49 ± 0.29
5	7.31 ± 0.29	3.37 ± 0.01	46.1 ± 0.3	1.11 ± 0.03	32.82 ± 2.5
10	9.03 ± 0.93	3.82 ± 0.11	42.3 ± 0.1	1.32 ± 0.06	34.48 ± 1.48
20	7.37 ± 0.55	3.11 ± 0.02	42.2 ± 0.2	1.04 ± 0.02	33.37 ± 1.57



Σχήμα 2. Κατανάλωση γλυκόζης και ξυλόζης, όταν το μικροφύκος αναπτύσσεται παρουσία διαφορετικών συνδυασμών των δυο σακχάρων ως πηγή άνθρακα. Το pH της καλλιέργειας διατηρήθηκε σταθερό στο 6.7-7.2 για τις 100 ώρες της επώασης.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 και στο Σχήμα 2, όπου φαίνεται πως η παρουσία της ξυλόζης δεν επηρεάζει το ρυθμό με τον οποίο καταναλώνεται η γλυκόζη, ενώ η κατανάλωση πεντοζών και εξοζών μπορεί να γίνει ταυτόχρονα από το μεταβολισμό του μικροφύκου. Επίσης, δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές ως προς την ανάπτυξη της βιομάζας και τη συσσώρευση

λιπαρών οξέων στα κύτταρα, η οποία φτάνει ως και 46.7% του ξ.β. βιομάζας. Τα ποσοστά συσσώρευσης του DHA επίσης παραμένουν όμοια για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις ξυλόζης και φτάνουν το 34.5% του συνολικού ξ.β. των λιπαρών οξέων.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν οι συγκεντρώσεις πηγών άνθρακα (γλυκόζη) και αζώτου (εκχύλισμα ζύμης) ως παράμετροι που επηρεάζουν την καλλιέργεια και συγκεκριμένα την ανάπτυξη των κυττάρων και τη σύνθεση λιπαρών οξέων. Παράλληλα, μελετήθηκε η δυνατότητα αύξησης του χρόνου της καλλιέργειας και της συνολικής παραγωγής λιπαρών οξέων με επιπλέον προσθήκη πηγής άνθρακα και αζώτου σε ημιτροφοδοτούμενη (fed-batch) καλλιέργεια. Για σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν επίσης σάκχαρα από υδρόλυμα λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας, σε αρχική συγκέντρωση γλυκόζης 25 g/L. Το υδρόλυμα επίσης περιείχε ξυλόζη σε συγκέντρωση ίση με 3.5 g/L. Μετά από 96 ώρες, όπου και παρατηρήθηκε κατανάλωση της γλυκόζης (2-5 g/L σε όλες τις καλλιέργειες), προστέθηκε θρεπτικό που περιείχε επιπλέον πηγής άνθρακα και αζώτου ανά περίπτωση και μελετήθηκε η ανάπτυξη μέχρι τις 280 ώρες της επώασης. Τα αποτελέσματα, όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 2, δείχνουν πως η καλλιέργεια του μικροφύκου συνεχίστηκε επιτυχώς μετά την προσθήκη πηγής άνθρακα και αζώτου, οδηγώντας σε αποδόσεις βιομάζας ως και 20.8 g/L. Η προσθήκη επιπλέον πηγής αζώτου οδήγησε μεν σε αύξηση της βιομάζας, αλλά μείωση στην συσσώρευση λιπαρών οξέων και DHA, το οποίο έχει επίσης αναφερθεί στη βιβλιογραφία^[8]. Σε όλες τις περιπτώσεις, το ποσοστό του DHA επί του συνολικού βάρους των λιπαρών ήταν παρόμοιο, φτάνοντας το 40.6% του ξ.β. των λιπαρών οξέων.

Πίνακας 2. Ανάπτυξη βιομάζας και συσσώρευση λιπαρών οξέων παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων πηγής άνθρακα (γλυκόζη) και αζώτου (εκχύλισμα ζύμης). Σε όλα τα πειράματα, ο χρόνος της καλλιέργειας ήταν 280 ώρες, ενώ στις 96 ώρες πραγματοποιήθηκε επιπλέον προσθήκη πηγής άνθρακα και αζώτου ανά περίπτωση.

Γλυκόζη (g/L)	YE (g/L)	Προσθήκη πηγής άνθρακα/Αζώτου (96h)	Βιομάζα (g/L)	Λιπαρά οξέα (g/L)	DHA (g/L)	Λιπαρά οξέα (% ξ.β. κυττάρων)	DHA (% του ξ.β. λιπαρών οξέων)
25	2	25 g/L Glc	15.02 ± 1.28	6.15 ± 0.18	2.28 ± 0.15	41.1 ± 2.3	37.08 ± 1.33
25	4	25 g/Lt Glc	20.78 ± 2.59	5.78 ± 0.39	2.35 ± 0.36	28 ± 1.6	40.39 ± 3.49
25	2	25 g/L Glc/2g/L YE	16.08 ± 1.42	4.81 ± 0.15	2.07 ± 0.01	30.2 ± 3.6	43.19 ± 1.4
50	4	-	17.68 ± 0.97	5.09 ± 0.17	2.06 ± 0.05	28.8 ± 0.6	40.59 ± 2.29
25*	4*	25 g/L BDS*	9.23 ± 0.73	1.13 ± 0.01	0.46 ± 0.01	22.6 ± 0.2	40.31 ± 0.37

*σάκχαρα από ενζυμική υδρόλυση στερεής πούλπας λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας

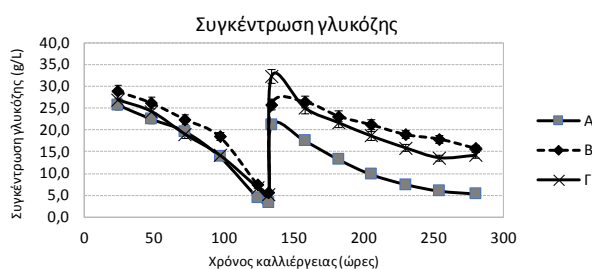
Έπειτα μελετήθηκε η ικανότητα του μικροφύκου να συσσωρεύει λιπαρά οξέα αξιοποιώντας σάκχαρα προερχόμενα μετά από ενζυμική υδρόλυση προκατεργασμένων βιομαζών με διαφορετικές ιδιότητες. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές στερεές πούλπες που προέκυψαν μετά από προκατεργασία με τη βοήθεια μιας νέας μεθόδου οργανολυτικής απολιγνίνωσης (organosolv) βιομάζας που στηρίζεται στην ήπια οξειδωση και αποπολυμερισμό της λιγνίνης σε μίγμα νερού – οργανικού διαλύτη^[9]. Ως πρώτη ύλη χρησιμοποιήθηκε ξύλο οξιός, ενώ πραγματοποιήθηκαν διαφορετικές προκατεργασίες: (Α) τετραϋδροφουράνιο/νερό (50/50), 160°C, 16 bar πίεση, 60 λεπτά, (Β) αιθανόλη/νερό (50/50, β/β), 160°C, 16 bar πίεση, 120 λεπτά, (Γ) ακετόνη/νερό (50/50, β/β), 160°C, 8 bar πίεση, 120 λεπτά. Η ανάλυση σύστασης έδειξε πως οι εν λόγω στερεές πούλπες αποτελούνταν σε ποσοστό ξηρού βάρους από: (Α) 68.99% κυτταρίνη, 11.35% λιγνίνη και 15.55% ημικυτταρίνη, (Β) 72.96% κυτταρίνη, 6.44% λιγνίνη και 16.03% ημικυτταρίνη, (Γ) 66.77% κυτταρίνη, 10.45% λιγνίνη και 18.36% ημικυτταρίνη. Ακολούθησε ενζυμική υδρόλυση με αποδόσεις 70-85% β/β μετατροπής της βιομάζας σε ζυμώσιμα σάκχαρα και, στη συνέχεια, τα σάκχαρα που προέκυψαν χρησιμοποιήθηκαν ως πηγή άνθρακα, με αρχική συγκέντρωση γλυκόζης 25 g/L και πηγή αζώτου ίση με 2 g/L, σε pH 6.5, σε καλλιέργειες

ημιτροφοδοτούμενης λειτουργίας. Καθώς η κατανάλωση των σακχάρων ήταν πιο αργή σε σχέση με τις καλλιέργειες όπου χρησιμοποιούνταν καθαρά σάκχαρα ως πηγή άνθρακα, πιθανότατα λόγω παρουσίας άλλων σακχάρων πέραν της γλυκόζης, η προσθήκη νέου θρεπτικού έγινε στις 134 ώρες. Η καλλιέργεια συνεχίστηκε επιτυχώς μέχρι τις 280 ώρες.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 3 και στο Σχήμα 3 και δείχνουν πως τα κύτταρα του *C. cohnii* μπορούν να χρησιμοποιήσουν επιτυχώς το υδρόλυμα προκατεργασμένης βιομάζας για να συνθέσουν λιπαρά οξέα, και μάλιστα με ένα υψηλό ποσοστό λιπαρών οξέων που φτάνει τα 56.2% του ξ.β. του συνολικού ελαίου. Η τιμή αυτή είναι από τις υψηλότερες που έχουν αναφερθεί στη βιοβλιογραφία^[10]. Η ανάπτυξη των κυττάρων και το συνολικό ποσοστό των λιπαρών είναι αρκετά χαμηλότερα σε σχέση με εκείνα σε καλλιέργειες με καθαρά σάκχαρα, όμως τα έλαια που παράγονται στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι καλύτερης ποιότητας λόγω του υψηλού ποσοστού DHA. Συγκριτικά με τις τρεις βιομάζες, η Γ είναι εκείνη που ευνοεί την ανάπτυξη βιομάζας, αλλά με χαμηλότερες αποδόσεις λιπαρών οξέων, ενώ η Α και η Β παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές. Τα εν λόγω αποτελέσματα κρίνονται ιδιαίτερα ελκυστικά για την περαιτέρω μελέτη των υδρολυμάτων λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας ως φθηνή πηγή άνθρακα για την παραγωγή ωμέγα-3 λιπαρών οξέων.

Πίνακας 3. Ανάπτυξη βιομάζας και συσσώρευση λιπαρών οξέων παρουσία υδρολυμάτων που προέρχονται από στερεές πούλπες λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας διαφορετικής σύστασης. Σε όλα τα πειράματα, ο χρόνος της καλλιέργειας ήταν 280 ώρες, ενώ στις 134 ώρες πραγματοποιήθηκε επιπλέον προσθήκη πηγής άνθρακα (υδρόλυμα από τη βιομάζα). Οι ενδείξεις Α-Γ αντιστοιχούν σε δείγματα ξύλου οξιάς που έχουν υποστεί διαφορετική προκατεργασία.

Δείγμα στερεής πούλπας	Βιομάζα (g/L)	Λιπαρά οξέα (g/L)	Λιπαρά οξέα (% ξ.β. κυττάρων)	DHA (g/L)	DHA (% του ξ.β. λιπαρών οξέων)
A	8.39 ± 0.09	1.05 ± 0.15	17.6 ± 2.1	0.47 ± 0.12	45.1 ± 2.8
B	7.31 ± 0.29	0.65 ± 0.02	17.4 ± 3.2	0.36 ± 0.02	56.17 ± 1.9
Γ	9.03 ± 0.03	1.41 ± 0.08	14.4 ± 0.9	0.66 ± 0.04	46.74 ± 1.5



Σχήμα 3. Κατανάλωση γλυκόζης παρουσία υδρολυμάτων που προέρχονται από στερεές πούλπες λιγνοκυτταρινούχου βιομάζας διαφορετικής σύστασης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα κύτταρα του θαλάσσιου δινομαστιγωτού *C. cohnii* μπορούν να αναπτύσσονται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει απλά σάκχαρα (εξόζες και πεντόζες) και να συσσωρεύουν υψηλές ποσότητες λιπαρών οξέων μακρούς αλυσίδας, όπως το DHA. Τα σάκχαρα από τη λιγνοκυτταρινούχος βιομάζα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φθηνή πηγή άνθρακα για την παραγωγή λιπαρών οξέων μετά από φυσικοχημικές διεργασίες που περιλαμβάνουν προκατεργασία της βιομάζας με τεχνολογία ήπιας οργανολυτικής κλασμάτωσης και εν συνεχεία ενζυμική υδρόλυση της στερεής πούλπας προς την παραγωγή ζυμώσιμων σακχάρων. Με αυτό τον τρόπο, οι υπολειμματικές μορφές βιομάζας, όπως τα αγροτικά παραπροϊόντα μπορούν να αξιοποιηθούν για την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας.

Μελλοντικοί στόχοι είναι να αποσαφηνιστεί αν η παρουσία ενώσεων που υπάρχουν στη βιομάζα δύναται να επηρεάζουν παρεμποδιστικά την ανάπτυξη κυττάρων και τη συσσώρευση λιπαρών οξέων. Επίσης, εκτός από το ξύλο οξιάς, στόχος είναι να μελετηθούν και άλλα είδη βιομάζας, όπως υπολείμματα αραβόσιτου, ξύλο πεύκου, κριθάρι, ώστε να βρεθεί εκείνο που μεγιστοποιεί την παραγωγή λιπαρών οξέων αλλά και την καλύτερη ποιότητα ελαίου (με υψηλά ποσοστά DHA).

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Το έργο χρηματοδοτείται από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ) και από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ), με αρ. Σύμβασης Έργου 1085.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] E. Trautwein. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 103 (2001) 45–55.
- [2] H. Zheng, X. Ma, Z. Gao, Y. Wan, M. Min, W. Zhou, Y. Li, Y. Liu, H. Huang, P. Chen, R. Ruan. Appl. Biochem. Biotechnol. 177 (2015) 662-674.
- [3] M.H Joe, J.Y Kim, S. Lim, D.H Kim, S. Bai, H. Park, S.G Lee, S.J Han, J.I Choi. Biotechnol. Biofuels. 8 (2015) 125.
- [4] M.E De Swaarf, L. Sijtsma, J.T Pronk. Biotechnol Bioeng, 81 (2003) 666-72.
- [5] J. Lin, B. Pillay, S. Singh. Biotechnol Appl Biochem. 30 (1) (1999) 81-7.
- [6] J. Folch, M. Lees, S. Sloane. J Biol Chem. 226 (1957) 497-509.
- [7] A. Chalima, A. Hatzidaki, A. Karnaouri, E. Topakas E. Applied Energy 214 (2019) 130-138.
- [8] W. Safdar, M. Shamoan, X. Zan, J. Haider, H.R Sharif, M. Shoaib, Y. Song. AMB Expr (2017) 7:85
- [9] C. Katsimpouras, G. Dedes, P. Bistis, D. Kekos, K.G Kalogiannis, E. Topakas E. Bioresour Technol. 270 (2018) 208-215.
- [10] X. Li, G. Pei, L. Liu, L. Chen, W. Zhang. Biores. Technol. 235 (2017) 87–95