

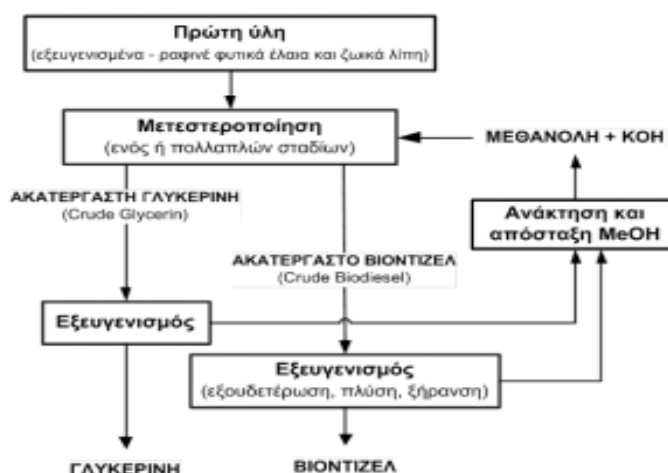
## ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΟΛΥΟΛΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΖΥΜΗΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΓΛΥΚΕΡΟΛΗΣ ΚΑΙ ΡΗ

Ε. Βασταρούχα<sup>1</sup>, Σ. Παπανικολάου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων και Διατροφής του Ανθρώπου, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης έλαβε χώρα η διερεύνηση της ικανότητας της ζύμης *Yarrowia lipolytica* να αναπτύσσεται σε υδρόφιλο υπόστρωμα χαμηλού κόστους και συγκεκριμένα την ακάθαρτη γλυκερόλη, η οποία είναι παραπροϊόν της βιομηχανικής παραγωγής βιοντίζελ (Σχήμα 1), σε ζυμώσεις βυθού.



Σχήμα 1: Διεργασία παραγωγής βιοντίζελ (Van Gerpen *et al.*, 2004).

Τα καύσιμα που προέρχονται από την παραπάνω μέθοδο παρασκευής χαρακτηρίζονται ως βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς ή τυπικά βιοκαύσιμα. Η γλυκερόλη είναι το κυριότερο παραπροϊόν της ανωτέρω βιομηχανικής διεργασίας και στην παρούσα εργασία διερευνάται η ικανότητα της ζύμης να μεταβολίζει την γλυκερίνη που παράγεται κατά αυτόν τον τρόπο προς παραγωγή πολυολών (π.χ. μαννιτόλη, αραβιτόλη, ερυθριτόλη), βιομάζας και δευτερογενών μεταβολιτών όπως μικροβιακό λίπος και ενδοπολυσακχαρίτες, τα οποία αποτελούν προϊόντα με ισχυρές αντιοξειδωτικές ικανότητες, κατάλληλα για χρήση τόσο στη φαρμακοβιομηχανία όσο και στη βιομηχανία τροφίμων.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προβλεπόμενη και προσβλεπόμενη αλματώδης αύξηση της χρήσης των διαφόρων τύπων εναλλακτικών καυσίμων (π.χ. μεθυλ-εστέρες και σε μικρότερο βαθμό, αιθυλ- ή βουτυλ-εστέρες λιπαρών οξέων προερχόμενοι από μετεστεροποίηση λιπών και ελαίων ευτελούς κόστους, το καλούμενο βιολογικό πετρέλαιο ή βιοντίζελ) αναμένεται να έχει ως απόρροια τα επόμενα χρόνια, τεράστια αύξηση της παρουσίας της γλυκερόλης ως παραπροϊόντος της βιομηχανικής αυτής διεργασίας. Η αύξηση αυτή της παρουσίας της γλυκερόλης αναμένεται να έχει σοβαρές περιβαλλοντικές επιπτώσεις, συνεπώς η εύρεση τρόπων αξιοποίησης αυτού του παραπροϊόντος είναι κεφαλαιώδους σημασίας. Συνεπώς, η βιομηχανική-ακάθαρτη (crude) γλυκερόλη προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με την καθαρή γλυκερόλη λόγω του πολύ χαμηλού (και ενίοτε αρνητικού) κόστους της πρώτης και έτσι τα τελευταία χρόνια, ένας

αυξανόμενος αριθμός εργασιών έχει εμφανιστεί στη βιβλιογραφία σχετικά με την αξιοποίηση αυτού του υλικού. Απώτερος σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η παραγωγή πολυολών, καθώς και η αριστοποίηση των συνθηκών της καλλιέργειας για επίτευξη της μέγιστης παραγωγής των, όταν η ακάθαρτη γλυκερόλη χρησιμοποιήθηκε ως υλικό εκκίνησης. Χρησιμοποιήθηκαν δυο στελέχη της ζύμης *Yarrowia lipolytica* (LMBF Y-46 & LMBF Y-47). Οι καλλιέργειες διενεργήθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις υποστρώματος ( $40-120 \text{ g L}^{-1}$ ) και pH (3.0-7.0) και σε σταθερές συνθήκες ανάδευσης (180 rpm) και θερμοκρασίας ( $T=30^\circ\text{C}$ ). Η γλυκερόλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν διαχωρισμένη και καθαρότητας 88% κατά βάρος.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ως βιολογικό υλικό τα στελέχη LMBF Y-46 & LMBF Y-47 της ζύμης *Yarrowia lipolytica*. Απομονώθηκαν, αναγνωρίστηκαν και ταυτοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Οι μικροοργανισμοί ανανεώνονταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες (slants) με στερεό θρεπτικό μέσο που περιείχε glucose  $10 \text{ g L}^{-1}$ , peptone  $10 \text{ g L}^{-1}$ , yeast  $10 \text{ g L}^{-1}$  και agar  $20 \text{ g L}^{-1}$  και επώζονταν σε θερμοκρασία  $T=28^\circ\text{C}$  για 3 μέρες. Η συντήρηση των καλλιέργειών γινόταν σε  $T=4^\circ\text{C}$ . Προκειμένου να διατηρηθεί η ζωτικότητα των στελεχών πραγματοποιούνταν ανανεώσεις ανά τακτά χρονικά διαστήματα (περίπου κάθε 3 βδομάδες), ενώ πριν από κάθε εμβολιασμό του θρεπτικού μέσου τα στελέχη ανανεώνονταν προκειμένου να βρίσκονται κάθε φορά στην ίδια φάση της αύξησης (εκθετική φάση). Η αύξηση του μικροοργανισμού για την παρασκευή του υγρού εμβολίου έγινε σε προκαλλιέργεια, η οποία πραγματοποιήθηκε σε κωνικές φιάλες Erlenmeyer των 250 mL, πληρωμένες κατά το 1/5 του όγκου τους ( $50\pm 1 \text{ mL}$ ) με θρεπτικό μέσο YPD (Yeast Peptone D-glucose). Μετά την αποστείρωση σε θερμοκρασία  $121^\circ\text{C}$  για 20 min οι φιάλες εμβολιάστηκαν, υπό ασηπτικές συνθήκες με κύτταρα των ζυμών προερχόμενα από καλλιέργειες ηλικίας 1 ημέρας. Στη συνέχεια, η προκαλλιέργεια τοποθετήθηκε σε ανακινούμενο επωαστικό θάλαμο (New Brunswick Sc, USA), προς επώαση σε σταθερές συνθήκες ανάδευσης, στις  $180\pm 5 \text{ rpm}$  και θερμοκρασία  $T=29\pm 1^\circ\text{C}$ . Μετά το πέρας 24 ωρών, η προκαλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό του θρεπτικού μέσου της κύριας καλλιέργειας. Η συγκεκριμένη διαδικασία επαναλήφθηκε για όλες τις πειραματικές διαδικασίες πριν από κάθε κύρια καλλιέργεια του εκάστοτε στελέχους. Οι καλλιέργειες πραγματοποιήθηκαν σε θρεπτικό μέσο που περιείχε ως μοναδική πηγή άνθρακα και ενέργειας ακάθαρτη βιομηχανική γλυκερόλη (περιείχε 1-2% μονογλυκερίδια, διγλυκερίδια και ελεύθερα λιπαρά οξέα, 2-4% NaCl, 0.1% μεθανόλη, 6-8% νερό και ήταν καθαρότητας περίπου 88% κατά βάρος). Η καθαρότητα της γλυκερόλης ελήφθη υπόψη για τους υπολογισμούς των αρχικών συγκεντρώσεων υποστρώματος στα πειράματα που έλαβαν χώρα. Όλες οι ζυμώσεις πραγματοποιήθηκαν σε περιοριστικές συνθήκες ως προς την πηγή αζώτου (Papanikolaou *et al.*, 2001).

Πραγματοποιήθηκαν χημικές αναλύσεις που αφορούσαν τον προσδιορισμό του pH, της παραγόμενης βιομάζας, του ενδοκυτταρικού λίπους, των ενδοπολυσακχαριτών, καθώς και των προσδιορισμό σακχάρων και πολυολών με την χρήση της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ευρήματα της πειραματικής διαδικασίας που προέκυψαν από τους υπολογισμούς των παραμέτρων της μικροβιακής αύξησης και αποτέλεσαν κριτήρια για την επιλογή του στελέχους που χρησιμοποιήθηκε στο επόμενο στάδιο είναι η μέγιστη παραγωγή βιομάζας και η μέγιστη παραγωγή πολυολών και συγκεκριμένα της μαννιτόλης.

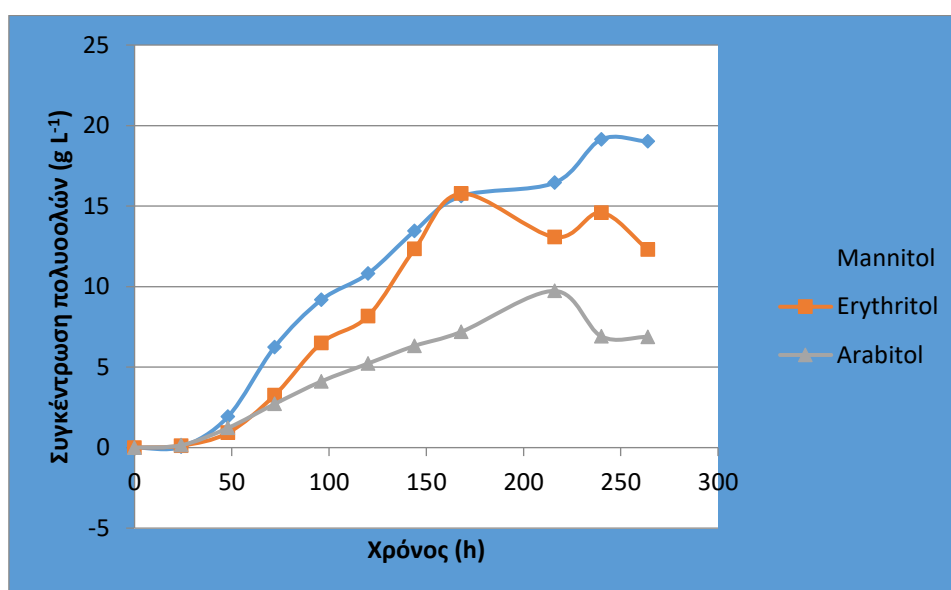
Η μέγιστη συγκέντρωση της βιομάζας  $13.4 \text{ g L}^{-1}$ , παρατηρήθηκε στο στέλεχος *Yarrowia lipolytica* LMBF Y-46 σε υγρές καλλιέργειες με αρχική συγκέντρωση βιομηχανικής γλυκερόλης  $40 \text{ g L}^{-1}$  και σε pH 7 στις 120 ώρες καλλιέργειας.

Η μέγιστη συγκέντρωση ενδοπολυσακχαριτών  $4.35 \text{ g L}^{-1}$ , παρατηρήθηκε από το στέλεχος LMBF Y – 46 σε κλειστές καλλιέργειες αρχικής συγκέντρωσης υποστρώματος  $40 \text{ g L}^{-1}$  και σε pH 5.0 στις 72 ώρες καλλιέργειας.

Επίσης, στην παραγωγή πολυολών παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη παραγωγή μαννιτόλης και συγκεκριμένα το στέλεχος *Yarrowia lipolytica* LMBF Y-46 έδωσε την μεγαλύτερη τιμή  $19.64 \text{ g L}^{-1}$  για pH 3.0 στις 48 ώρες καλλιέργειας.

Για περαιτέρω μελέτη επιλέχθηκε το στέλεχος LMBF Y-46 της ζύμης *Yarrowia lipolytica*, συγκεκριμένα εξετάστηκε η παραγωγή βιομάζας, η παραγωγή των πολυολών και ο συντελεστής απόδοσης του ως προς το καταναλωθέν υπόστρωμα, σε διαφορετικές τιμές αρχικής συγκέντρωσης υποστρώματος ( $60 \text{ g L}^{-1}$ ,  $80 \text{ g L}^{-1}$  και  $120 \text{ g L}^{-1}$ ) σε pH 3.5.

Παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη παραγωγή ερυθριτόλης και αραβιτόλης με την μεγαλύτερη αρχική συγκέντρωση υποστρώματος, όταν καταναλώθηκε σχεδόν όλο το αρχικό υπόστρωμα της γλυκερόλης.



Διάγραμμα 1: Καμπύλες παραγωγής πολυολών ως προς το χρόνο για αρχική συγκέντρωση υποστρώματος  $80 \text{ g L}^{-1}$ .

Προσδιορίστηκε η ξηρή βιομάζα για τις τρεις διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις υποστρώματος, παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη τιμή ( $7.58 \text{ g L}^{-1}$ ) για  $S_0 = 60 \text{ g L}^{-1}$  και μικρότερες τιμές για τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις.

Υπολογίστηκαν η συγκέντρωση των συνολικών πολυολών και ο συντελεστής απόδοσης τους. Ενδιαφέρον παρουσιάζει πως για χαμηλές συγκεντρώσεις αρχικού υποστρώματος ο συντελεστής απόδοσης της μαννιτόλης αυξάνεται.

Στις μεγάλες συγκεντρώσεις αρχικού υποστρώματος παρατηρείται πτώση της βιομάζας μετά τις 96 ώρες ζύμωσης που επιτυγχάνεται η μέγιστη τιμή, φαινόμενο που καλείται αυτόλυση.

Είναι φανερό πως από την αρχή της ζύμωσης αυξάνονται κατακόρυφα οι συγκεντρώσεις των πολυολών για την αρχική συγκέντρωση υποστρώματος  $80 \text{ g L}^{-1}$ , ομοίως και για τις υπόλοιπες αρχικές συγκεντρώσεις. Αντίστοιχα και η συγκέντρωση της βιομάζας αυξάνεται τις πρώτες ώρες ζύμωσης και στη συνέχεια διατηρείται σε σταθερά επίπεδα μέχρι το τέλος.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ως γενικό συμπέρασμα, αξίζει να τονιστεί ότι τα στελέχη του μικροοργανισμού που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, βρέθηκαν ικανά να αποικοδομήσουν την γλυκερόλη,

ως πηγή άνθρακα και ενέργειας, ανεξαρτήτως των συγκεντρώσεων ( $40 \text{ g L}^{-1}$ ,  $60 \text{ g L}^{-1}$ ,  $80 \text{ g L}^{-1}$  &  $120 \text{ g L}^{-1}$ ) με απώτερο στόχο την παραγωγή πολυολών.

Από τα αποτελέσματα που πάρθηκαν ήταν φανερό πως το στέλεχος LMBF Y-46 έδωσε πιο ικανοποιητικές τιμές σε όλα τα μεγέθη σε σχέση με το στέλεχος LMBF Y-47. Αντίστοιχα αποτελέσματα δεικνύουν ότι στα πρώτα στάδια της αύξησης και παρά τον περιορισμό σε άζωτο, αξιοσημείωτες ποσότητες ενδοπολυσακχαριτών παρατηρήθηκαν. Τούτο είναι αντίθετο προς τις θεωρήσεις της βιβλιογραφίας (Ratledge, 1988; Paranikolaou & Aggelis, 2011a; 2011b) καθόσον θεωρείται ότι οι πολυσακχαρίτες, όπως και τα λιπίδια συσσωρεύονται κατά τη στάσιμη φάση της αύξησης και η συγκέντρωση του αζώτου έχει κατέλθει ενός κρίσιμου ορίου. Από την άλλη πλευρά όμως, άλλες (ελαιογόνες) ζύμες (π.χ. *Cryptococcus curvatus*, *Rhodospiridium toruloides*, κλπ) έχει δειχτεί ότι συσσωρεύουν σε αξιοσημείωτα ποσά ενδοπολυσακχαρίτες στα πρώιμα στάδια αύξησης παρά την παρουσία αζώτου στο μέσο της ζύμωσης. Περαιτέρω η εξέλιξη των λιπιδίων, όπου υπήρξε η τάση σύνθεσης κάποιας ποσότητας λιπιδίων στα πρώιμα στάδια της αύξησης, ακολουθούμενη από πτώση του ποσοστού των λιπιδίων επί της ξηράς ουσίας, συνάδει με αρκετές μελέτες της βιβλιογραφίας για στελέχη του *Yarrowia lipolytica* (Makri *et al.*, 2010).

Τα δυο στελέχη της ζύμης *Yarrowia lipolytica* δίνουν μέγιστη τιμή ενδοπολυσακχαριτών στις 72 ώρες ζύμωσης και μετά ακολουθεί πτώση. Το στέλεχος LMBF Y-46 παρήγαγε  $4.35 \text{ g L}^{-1}$  ενδοπολυσακχαριτών, σε αντίθεση με το στέλεχος LMBF Y-47 που στις ίδιες ώρες ζύμωσης είχε παραγάγει  $2.79 \text{ g L}^{-1}$  σε συνθήκες pH 6.0 και σε αρχική συγκέντρωση υποστρώματος  $40 \text{ g L}^{-1}$ .

Επιπλέον τα δυο στελέχη μελετήθηκαν και ως προς την παραγωγή τους σε μικροβιακό λίπος. Υπολογίστηκε ο συντελεστής λίπους ως προς την παραχθείσα βιομάζα σε συνάρτηση με τον χρόνο. Παρατηρήθηκε ταύτιση της μέγιστης παραγωγής μικροβιακού λίπους της τάξεως του 10% και στα δυο στελέχη. Συγκεκριμένα, κατά την διάρκεια της ζύμωσης και μεταξύ 48-144 ωρών παράγεται μικροβιακό λίπος σε σχετικά χαμηλά ποσοστά (4-10%) και στην συνέχεια η παραγωγή σχεδόν εκμηδενίζεται.

Συμπεραίνεται από το πρώτο πείραμα πως τα στελέχη:

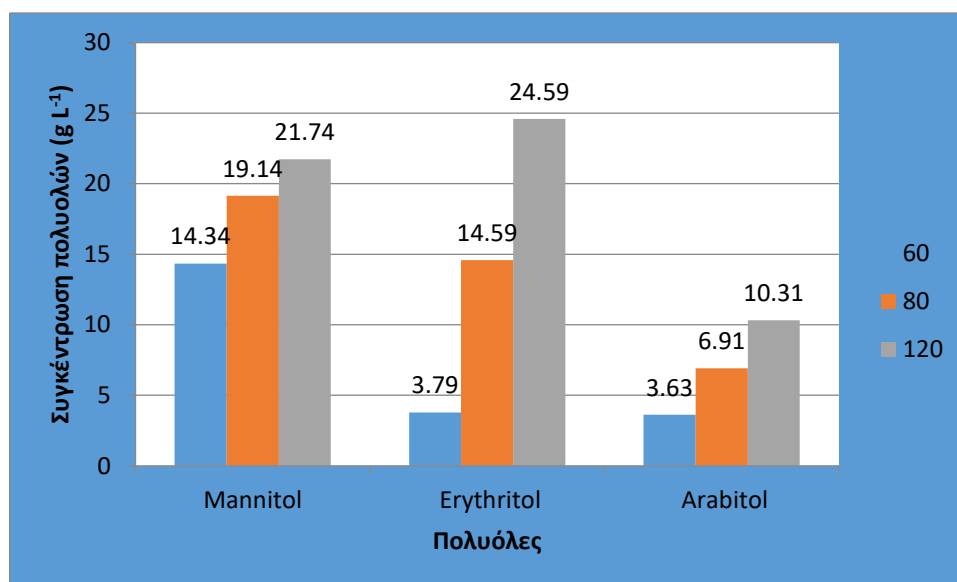
- Αντέδρασαν ικανοποιητικά στην κατανάλωση του υποστρώματος βιομηχανικής γλυκερόλης.
- Δεν παρήγαγαν ικανοποιητικές ποσότητες μικροβιακού λίπους, σε αντίθεση με τις ποσότητες των ενδοπολυσακχαριτών που ήταν μεγαλύτερες.
- Παρήχθησαν ικανοποιητικές ποσότητες ξηρής βιομάζας.
- Καταναλώθηκε πλήρως το υπόστρωμα και παρήχθησαν πολυόλες σε υψηλές συγκεντρώσεις (κυρίως μαννιτόλη).
- Για τις τιμές του pH 3.0 και 4.0 είχαμε υψηλότερα αποτελέσματα σε σχέση με την παραγωγή πολυολών, σε αντίθεση με τα μεγαλύτερα pH, το οποίο συνάδει με την βιβλιογραφία (Rytowicz *et al.*, 2009).
- Η μείωση του pH είχε ως απόρροια, ο συντελεστής απόδοσης της μαννιτόλης προς την αναλωθείσα γλυκερόλη να φτάσει περίπου  $0.55 \text{ g g}^{-1}$ , τιμή που θεωρείται υψηλή.

Εν κατακλείδι, με βάση τα αποτελέσματα αυτά επιλέχθηκε το στέλεχος LMBF Y-46 για περαιτέρω διερεύνηση, καθώς παρουσίασε υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης μαννιτόλης για pH 3.0.

Στη συνέχεια των πειραματικών διαδικασιών, έγινε χρήση του στελέχους LMBF Y-46 σε υγρές κλειστές καλλιέργειες με pH σταθερό στο 3.5 και διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις καθαρής γλυκερόλης ( $60 \text{ g L}^{-1}$ ,  $80 \text{ g L}^{-1}$  και  $120 \text{ g L}^{-1}$ ). Μελετήθηκαν οι συντελεστές απόδοσης, ενδεικτικά παρατίθεται η κινητική του συντελεστή απόδοσης πολυολών για αρχική συγκέντρωση υποστρώματος  $80 \text{ g L}^{-1}$ , ομοίως και για τις υπόλοιπες αρχικές συγκεντρώσεις.

Διαπιστώνεται πως σε μικρότερες συγκεντρώσεις υποστρώματος ( $60 \text{ g L}^{-1}$ ), ο συντελεστής απόδοσης πολυολών αυξάνεται κατακόρυφα από τις πρώτες ώρες της ζύμωσης, φτάνει το μέγιστο ποσοστό 89% στις 48 ώρες και στη συνέχεια αρχίζει να μειώνεται έντονα με μικρές διακυμάνσεις μέχρις ότου ολοκληρωθεί η ζύμωση. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της γλυκερόλης στα  $80 \text{ g L}^{-1}$  και στα  $120 \text{ g L}^{-1}$ , το ποσοστό του συντελεστή απόδοσης φτάνει το μέγιστο 58% και 55% αντίστοιχα, ενώ χρειάζονται περισσότερες από 48 ώρες ζύμωσης για να επιτευχθούν.

Στο επόμενο διάγραμμα δίνονται οι μέγιστες τιμές των πολυολών στις διαφορετικές συγκεντρώσεις.



Διάγραμμα 2: Μέγιστες τιμές πολυολών για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις κάτω από τις ίδιες συνθήκες καλλιέργειας.

Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός πως όσο αυξάνονται οι αρχικές συγκεντρώσεις γλυκερόλης που έχουν χρησιμοποιηθεί ως πηγή άνθρακα και ενέργειας, διακρίνεται αύξηση και στις τιμές των πολυολών ξεχωριστά για την κάθε μια.

Η μαννιτόλη φτάνει την μέγιστη τιμή  $14,34 \text{ g L}^{-1}$  για  $S_0$   $60 \text{ g L}^{-1}$  μέσα σε 264 ώρες ζύμωσης, ακολουθούν τα  $19,14 \text{ g L}^{-1}$  για  $S_0$   $80 \text{ g L}^{-1}$  μέσα σε 240 ώρες ζύμωσης και τέλος στη μέγιστη αρχική συγκέντρωση υποστρώματος ( $S_0$   $120 \text{ g L}^{-1}$ ) φτάνει τα  $21,74 \text{ g L}^{-1}$  μέσα σε 312 ώρες ζύμωσης.

Η ερυθριτόλη ακολουθεί την ίδια αυξητική πορεία ανάλογα με την αρχική συγκέντρωση του υποστρώματος και φτάνει  $24,59 \text{ g L}^{-1}$  για  $S_0$   $120 \text{ g L}^{-1}$  στις 312 ώρες ζύμωσης.

Η μέγιστη αραβιτόλη που παράγεται σε  $S_0$   $60 \text{ g L}^{-1}$  είναι  $3,63 \text{ g L}^{-1}$  και σε  $S_0$   $120 \text{ g L}^{-1}$  φτάνει  $10,31 \text{ g L}^{-1}$ .

Παρόλη την αυξητική τάση της συγκέντρωσης, στο άθροισμα των πολυολών αλλά και στην κάθε μια χωριστά, όταν εξετάστηκε ο συντελεστής απόδοσης της μαννιτόλης ως προς την αναλωθείσα πηγή ενέργειας, παρουσιάστηκε πτώση της τιμής του στα  $80 \text{ g L}^{-1}$  και στα  $120 \text{ g L}^{-1}$  γλυκερόλης. Συγκεκριμένα για  $S_0$   $60 \text{ g L}^{-1}$  ο μέγιστος συντελεστής απόδοσης που έχει επιτευχθεί είναι 0,40 στις 48 ώρες ζύμωσης, ενώ για  $S_0$   $80 \text{ g L}^{-1}$  και για  $S_0$   $120 \text{ g L}^{-1}$  ο μέγιστος συντελεστής φτάνει 0,26 και 0,22 αντίστοιχα. Αντίθετα, αυξανόμενης της συγκέντρωσης γλυκερόλης αυξάνει η μέγιστη απόλυτη τιμή και ο συντελεστής για την ερυθριτόλη και την αραβιτόλη.

Συμπερασματικά προέκυψε ότι:

- Για μικρές αρχικές συγκεντρώσεις υποστρώματος αυξάνεται ο συντελεστής πολυολών.
- Αυξάνονται οι συγκεντρώσεις των πολυολών ξεχωριστά, όσο μεγαλύτερες αρχικές συγκεντρώσεις υπάρχουν.

- Αυξάνεται το άθροισμα της συγκέντρωσης ερυθριτόλης και της αραβιτόλης όταν μειώνεται η συγκέντρωση της μαννιτόλης.
- Ο συντελεστής απόδοσης της μαννιτόλης ως προς το καταναλωθέν υπόστρωμα μικραίνει όσο αυξάνεται η αρχική συγκέντρωση υποστρώματος.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία υλοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου «Προσθέτοντας αξία στην ακάθαρτη γλυκερόλη, υπόλειμμα της διεργασίας παραγωγής βιολογικού πετρελαίου (βιοντίζελ), με τη χρήση μικροβιακής και χημικής τεχνολογίας -Addvalue2glycerol», στο πλαίσιο του ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ (κωδικός έργου ΟΠΣ 2076) στο Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «Ανταγωνιστικότητα Επιχειρηματικότητα και Καινοτομία», που συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνεΚ). Οι συγγραφείς εκφράζουν θερμές ευχαριστίες προς το Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Βιοτεχνολογίας Τροφίμων, του Τμήματος Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για την διεξαγωγή των μετρήσεων.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] S. Papanikolaou, S., Chevalot, I., Komaitis, M., Aggelis, G. and Marc, I. (2001) Kinetic profile of the cellular lipid composition in an oleaginous *Yarrowia lipolytica* capable of producing a cocoa-butter substitute from industrial fats. *Antonie Van Leeuwenhoek* **80**, 215–224.
- [2] Ratledge, C., *Biotechnology group meeting extremophiles*, 1988, 42, 298-322.
- [3] Papanikolaou S., Aggelis G., Lipids of oleaginous yeasts. Part I: Biochemistry of single cell oil production. *Eur J Lipid Sci Technol* 2011a, 113, 1031-1051.
- [4] Papanikolaou S., Aggelis G., Lipids of oleaginous yeasts. Part II: Technology and potential applications. *Eur J Lipid Sci Technol* 2011b, 113, 1052-1073.
- [5] Makri A., Fakas S., Aggelis G., Metabolic activities of biotechnological interest in *Yarrowia lipolytica* grown on glycerol in repeated batch cultures, *Bioresour Technol*, 2010, 101, 2351-2358.
- [6] Rymowicz W., Rywińska A., Marcinkiewicz M., High-yield production of erythritol from raw glycerol in fed-batch cultures of *Yarrowia lipolytica*. *Biotechnol Lett.*, 2009, 31, 377–380.