



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
Σχολή Χημικών Μηχανικών και
Μηχανικών Περιβάλλοντος

Κατεύθυνση: Χημικών Μηχανικών

Κατεύθυνση: Μηχανικών Περιβάλλοντος

**Δέσμευση CO₂ από απαέρια εργοστασίου παραγωγής
ηλεκτρικής ενέργειας μέσω καλλιέργειας μικροφύκους
Stichococcus sp.**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΟΥ
ΔΗΜΗΤΡΗ ΜΗΤΡΟΓΙΑΝΝΗ**

ΧΑΝΙΑ, ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2024

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για μη κερδοσκοπικού σκοπό, εκπαιδευτικού ή ερευνητικού χαρακτήρα, με την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για άλλη χρήση θα πρέπει να απευθύνονται προς το συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Πολυτεχνείου Κρήτης.



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
Σχολή Χημικών Μηχανικών και
Μηχανικών Περιβάλλοντος

Κατεύθυνση: Χημικών Μηχανικών

Κατεύθυνση: Μηχανικών Περιβάλλοντος

Δέσμευση CO₂ από απαέρια εργοστασίου παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας μέσω καλλιέργειας μικροφύκους *Stichococcus* sp.

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΟΥ

ΔΗΜΗΤΡΗ ΜΗΤΡΟΓΙΑΝΝΗ

Τριμελής επιτροπή

Πέτρος Γκίκας (Επιβλέπων καθηγητής)

Νικόλαος Καλογεράκης

Απόστολος Γιαννής

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της έρευνας αυτής είναι η μείωση του CO₂ από τα καυσαέρια με τη χρήση μικροφυκών και η μετατροπή της βιομάζας σε προϊόντα υψηλής αξίας. Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στον Ατμοηλεκτρικό Σταθμό Κερατέας-Λαυρίου της Δημόσιας Επιχείρησης Ηλεκτρισμού (ΔΕΗ). Φωτο-βιοαντιδραστήρες κλειστού τύπου 15 L χρησιμοποιήθηκαν για την καλλιέργεια μικροφυκών, στους οποίους τα μικροφύκη αναπτύχθηκαν προσκολλημένα σε γυαλί αμμοβολής. Ο εργαστηριακός φωτο-βιοαντιδραστήρας τοποθετήθηκε μέσα σε ένα οικίσκο, παρέχοντας προστασία από τις καιρικές συνθήκες και άλλους περιοριστικούς παράγοντες. Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος *Stichococcus* sp. Για την ανάπτυξη των μικροφυκών γινόταν τροφοδοσία άνθρακα στους φωτο-βιοαντιδραστήρες υπό τη μορφή διοξειδίου του άνθρακα που περιέχεται στα καυσαέρια με ρυθμό 0,6 L/min. Εξετάστηκαν 3 τύποι καλλιέργειών: καλλιέργεια με σταθερό φως, με διακεκομμένο φως και καλλιέργεια με πενία αζώτου. Οι καλλιέργειες φωτίζονταν με λαμπτήρες LED (6.600, 6.600 και 3.300 lux για καλλιέργεια με σταθερό φως, διακεκομμένο φως και με έλλειψη αζώτου, αντίστοιχα), ενώ η θερμοκρασία του περιβάλλοντος ελεγχόταν από μονάδα A/C (25 ± 1 °C). Τυπικά, το *Stichococcus* sp. καλλιεργήθηκε σε τεχνητό θαλασσινό νερό με την προσθήκη Bold's Basal Medium. Η σύνθεση των NaCl και NaNO₃ ήταν 35 g/L και 0,75 g/L, αντίστοιχα. Επίσης, στην τελευταία καλλιέργεια που αναφέρθηκε εφαρμόστηκε πενία αζώτου 3 ημέρες πριν από τη συλλογή βιομάζας, προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή λιπιδίων. Στο τέλος της καλλιεργητικής περιόδου, η εξαγόμενη βιομάζα μετατράπηκε σε προϊόντα υψηλής αξίας (π.χ. λιπίδια, χρωστικές, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες), για την αξιολόγηση του *Stichococcus* sp. στην δυνατότητα εφαρμογής σε βιοδιυλιστήρια 3^{ης} γενιάς.

Τα αποτελέσματα της *Stichococcus* sp. για παραγωγή βιομάζας ήταν 50,5, 47,9 και 38,3 g/m² για καλλιέργεια με σταθερό φως, διακεκομμένο φως και με πενία αζώτου αντίστοιχα. Η περιεκτικότητα σε βιοπροϊόντα (υδατάνθρακες, λιπίδια πρωτεΐνες και ολική χλωροφύλλη) του *Stichococcus* sp. ήταν περίπου 80-90%. Η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες ήταν η υψηλότερη μεταξύ άλλων βιοπροϊόντων, με 24,8, 23,4 και 11,9 g/m² αντίστοιχα. Η περιεκτικότητα σε λιπίδια ήταν 6,6, 6,8 και 11,0 g/m². Η πρωτεΐνη ήταν 8,3, 7,6 και 6,1 g/m² και η συνολική χλωροφύλλη που βρέθηκε ήταν $19,1 \cdot 10^{-2}$, $23 \cdot 10^{-2}$, $12 \cdot 10^{-2}$ g/m².

ABSTRACT

The research purpose was the reduction of CO₂ from flue gases with the use of microalgae and bioconversion of biomass into high-value products. The present study took place in the thermal power plants AIS Kerateas-Lavriou of the Public Power Corporation (PPC). 15 L closed type photo-bioreactors were utilized for microalgae cultivation, in which the cells were cultivated attached on sandblasted glass. The lab photo-bioreactor was placed inside a small shelter providing protection from weather conditions and other limiting factors. *Stichococcus* sp. was used throughout the experiments. Carbon under the form of carbon dioxide contained in flue gas was provided into the photo-bioreactor at a rate of 0,6 L per minute. Three types of cultures were examined: cultivation with continuous light, with alternating light and with nitrogen deficiency. Cultures were illuminated by LED lamps (6.600, 6.600 and 3.300 lux for cultivation with continuous light, alternating light and with nitrogen deficiency, respectively) and the ambient temperature was controlled by an A/C unit (25 ± 1 °C). Typically, *Stichococcus* sp. was cultivated in artificial seawater with the addition of Bold's Basal Medium. The composition of NaCl and NaNO₃ was 35 g/L and 0.75 g/L, respectively. Also, nitrogen starvation was implemented 3 days prior to biomass harvesting, in order to increase lipids production. At the end of cultivation period, the extracted biomass was converted into high added value products (i.e., lipids, pigments, proteins and carbohydrates), to assess *Stichococcus* sp. potential for 3rd generation biorefineries.

The results of *Stichococcus* sp. cultivation for biomass production were 50,5, 47,9 and 38,3 g/m² for cultivation with continuous light, alternating light and with nitrogen deficiency respectively. The bioproducts content of *Stichococcus* sp. was approximately 80-90%, the bioproducts include carbohydrates, lipids proteins and total chlorophyll. Carbohydrates content was the highest amongst other bio-products, being 24,8, 23,4 and 11,9 g/m² respectively. The lipid content was 6,6, 6,8 and 11 g/m². The proteins were 8,3, 7,6 and 6,1 g/m² and the total chlorophyll found to be 19,1·10⁻², 23·10⁻², 12·10⁻² g/m².

ΠΡΟΛΟΓΟΣ ΚΑΙ ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπων καθηγητή μου Πέτρο Γκίκα καθώς και τον διδάκτωρ Γιώργο Μακάρογλου για τη βοήθεια και τη συμβολή τους στη διπλωματική μου. Οι συμβουλές και οι γνώσεις τους ήταν καθοριστικές καθ' όλη τη διάρκεια της πραγματοποίησης της διπλωματικής. Ιδιαίτερες ευχαριστίες αποδίδω στον Γιώργο Μακάρογλου που με κατατόπισε και με βοήθησε στην διεξαγωγή των πειραμάτων, καθώς και στις εργαστηριακές μετρήσεις. Επιπρόσθετα, ευχαριστώ τον κύριο Νικόλαο Καλογεράκη Ομότιμο Καθηγητή του Πολυτεχνείου Κρήτης που με εξυπηρέτησε παραδίδοντάς μου το εργαστήριό του για ένα μέρος των εργαστηριακών μετρήσεων μου. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους εργαζόμενους της ΔΕΗ και ιδιαίτερα τον κύριο Μιλτιάδη Κακάμπουρα για την εξυπηρέτηση τους ώστε να πραγματοποιήσω την πιλοτική εγκατάσταση της καλλιέργειας στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου. Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια και τους φίλους μου που με στήριξαν συναισθηματικά κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	4
Abstract	5
Πρόλογος και Ευχαριστίες	6
Περιεχόμενα.....	7
Κατάλογος Πινάκων	9
Κατάλογος Εικόνων	10
Κατάλογος Εξισώσεων.....	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	12
1 Εισαγωγή.....	13
1.1 Μικροφύκη	13
1.2 Παράμετροι ανάπτυξης μικροφυκών	15
1.2.1 Θρεπτικά συστατικά	16
1.2.2 Φως.....	18
1.2.3 pH.....	19
1.2.4 Θερμοκρασία.....	20
1.3 Βιο-προϊόντα μικροφυκών	20
1.4 Μέσα καλλιέργειας	21
1.4.1 Ανοικτού τύπου καλλιέργειες.....	22
1.4.2 Κλειστού τύπου καλλιέργειες.....	23
1.5 Δέσμευση CO ₂ από απαέρια εργοστασίων	24
1.6 Μέθοδοι διαχωρισμού μικροφυκών από το υγρό καλλιέργειας.....	26
1.7 Μέθοδοι αφυδάτωσης βιομάζας μικροφυκών	28
1.8 Σκοπός και μεθοδολογία της διπλωματικής εργασίας.....	28
2 Υλικά και μεθοδοι	30
2.1 Ανάπτυξη ακινητοποιημένων μικροφυκών με απαέρια εργοστασίου ηλεκτροπαραγωγής	30
2.1.1 Σύσταση θρεπτικού υλικού καλλιέργειας.....	31
2.1.2 Πειραματική διάταξη	32
2.1.3 Συνθήκες ανάπτυξης.....	34

2.1.4	Διαχωρισμός βιομάζας από το υγρό καλλιέργειας	35
2.1.5	Αφυδάτωση ανακτημένης βιομάζας	37
2.2	Πρωτοκόλλα ποσοτικοποίησης βιο-προϊόντων	38
2.2.1	Λιπίδια	38
2.2.2	Πρωτεΐνες	39
2.2.3	Υδατάνθρακες	41
2.2.4	Χρωστικές ουσίες.....	42
3	Αποτελέσματα - Συζήτηση	43
3.1	Παραγωγή βιομάζας-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΗ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ Ενεργειακής καταναλωσης ηλεκτρικού ρευματος	43
3.1.1	Παραγωγή Βιομάζας	43
3.1.2	Μετρήσεις pH	46
3.1.3	Μετρήσεις Κατανάλωσης ηλεκτρικού ρεύματος.....	46
3.2	Παραγωγή βιο-προϊόντων	48
3.3	Τεχνοοικονομική ανάλυση σε βιομηχανική κλίμακα	49
3.3.1	Επιλογή συνθηκών καλλιέργειας	49
3.3.2	Κατασκευή και μεθοδολογία	49
3.3.3	Κόστος εγκατάστασης.....	51
3.3.4	Έσοδα εγκατάστασης.....	55
3.3.5	Συμπεράσματα τεχνοοικονομικής ανάλυσης	55
4	Συμπεράσματα - Προτάσεις.....	56
5	Βιβλιογραφία	57

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Θρεπτικά άλατα Bold's Basal medium.....	31
Πίνακας 2. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Stichococcus</i> sp. στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου.....	34
Πίνακας 3. Αραιώσεις πρότυπων διαλυμάτων γλυκόζης για τη δημιουργία καμπύλης βαθμονόμησης στο πρωτόκολλο Phenol-Sulfuric Acid μέτρησης υδατανθράκων.....	42
Πίνακας 4. Μέση βιομάζα ανά λίτρο υπερκείμενου υγρού.	45
Πίνακας 5. Σύγκριση κατανάλωσης ηλεκτρικού ρεύματος σταθερού και διακεκομμένου φωτισμού.....	46
Πίνακας 6. Κόστος κατανάλωσης €/(kWh·kg καλλιέργειας).	47
Πίνακας 7. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Stichococcus</i> sp. στην καλλιέργεια με διακεκομμένο φως για κάθε δεξαμενή.	50
Πίνακας 8. Συνθήκες ανάπτυξης <i>Stichococcus</i> sp. στην καλλιέργεια με πηνία αζώτου για κάθε δεξαμενή.....	51
Πίνακας 9. Κόστος κεφαλαίου κατασκευής εγκατάστασης παραγωγής μικροφυκών.	51
Πίνακας 10. Βιομηχανικό λειτουργικό κόστος για τις καλλιέργειες χωρίς το κόστος των LED....	54
Πίνακας 11. Κόστος αναλώσιμων προϊόντων ανά m ³ καλλιέργειας.....	54
Πίνακας 12. Μισθοί εργατικού προσωπικού.	54

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Μικροφύκος γένους <i>Stichococcus</i>	15
Εικόνα 2. Ανοιχτού τύπου καλλιέργεια μικροφυκών.....	22
Εικόνα 3. Κλειστού τύπου σωληνοειδής καλλιέργεια μικροφυκών.	23
Εικόνα 4. Ατμοηλεκτρικό εργοστάσιο παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας Κερατέας-Λαυρίου.	25
Εικόνα 5. Μονάδα καύσης φυσικού αερίου στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου.....	25
Εικόνα 6. Αρχική ποσότητα καλλιέργειας μικροφυκών στο εργαστήριο του Πολυτεχνείου Κρήτης.....	30
Εικόνα 7. Ροόμετρο παροχής καυσαερίων ρυθμισμένο στα 0,6 L/min.....	35
Εικόνα 8. Βιοφίλμ μικροφυκών στο γυαλί αμμοβολής.....	36
Εικόνα 9. Ανάκτηση υπερκείμενου υγρού από τους φωτοβιοαντιδραστήρες.	37
Εικόνα 10. Βιομάζα δειγμάτων μετά τη ξήρανση μέσω λυοφιλίωσης.	38
Εικόνα 11. Εκχύλιση λιπιδίων μικροφυκών σε διαχωριστικές χοάνες με τη μέθοδο Folch (1957).	39
Εικόνα 12. Συσκευή παραγωγής υπερήχων (Hielscher UP100H).	40
Εικόνα 13. Ελαιόλουτρο σε θερμοκρασία 100 °C που χρησιμοποιήθηκε για τη θέρμανση δειγμάτων και τη ποσοτικοποίηση πρωτεϊνών από τη βιομάζα <i>Stichococcus</i> sp.	41
Εικόνα 14. Βιομάζα δειγμάτων πριν την αφυδάτωση.....	43
Εικόνα 15. Διήθηση μέσο κενού αέρος του υπερκείμενου υγρού ανά 30 mL.....	45

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΞΙΣΩΣΕΩΝ

Εξίσωση 1: Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης μ_g	16
Εξίσωση 2: Εξίσωση Monod.....	16
Εξίσωση 3: Ρυθμός παραγωγής βιομάζας.....	16
Εξίσωση 4: Χλωροφύλλη-α.	42
Εξίσωση 5: Χλωροφύλλη-β.	42
Εξίσωση 6: Ολική χλωροφύλλη.	42

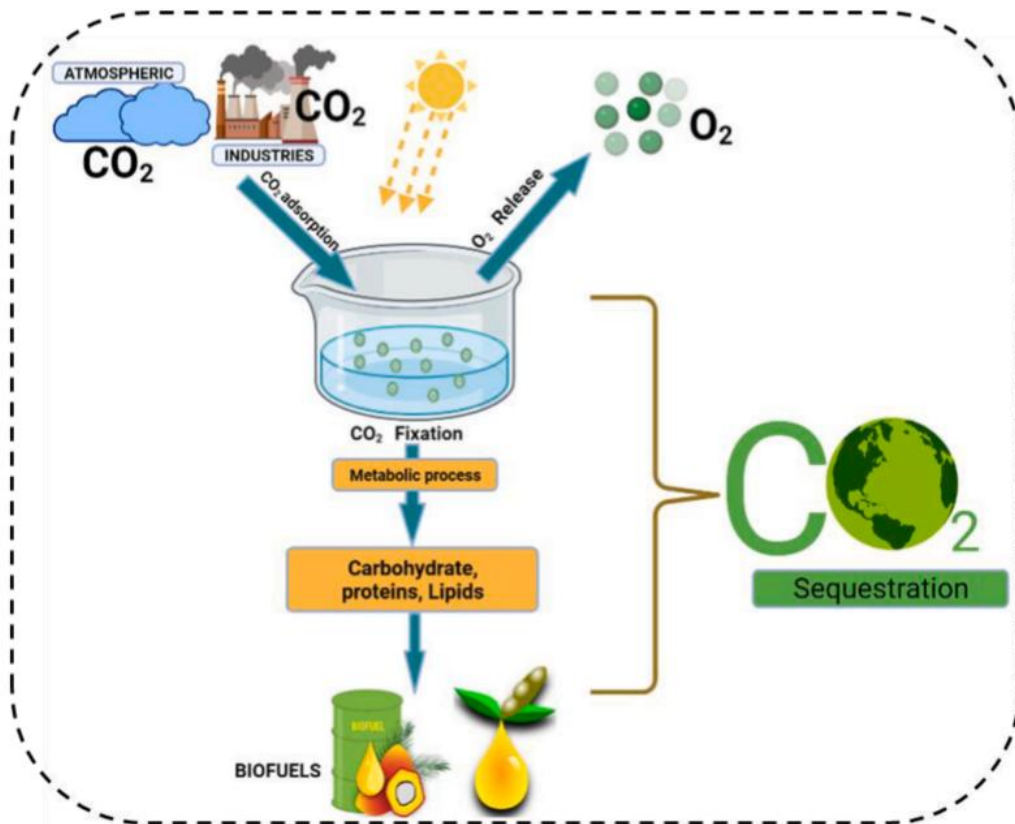
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1. Καλλιέργεια μικροφυκών για τη δέσμευση CO ₂ και την παραγωγή βιο-προϊόντων.....	15
Διάγραμμα 2. Σχεδιάγραμμα πειραματικής διάταξης στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου.....	33
Διάγραμμα 3. Ξηρή βιομάζα των τριών συνθηκών καλλιέργειας (g/m ²).....	44
Διάγραμμα 4. Μετρήσεις pH ανά ημέρα.....	46
Διάγραμμα 5. Διάγραμμα παραγωγής βιο-προϊόντων των τριών συνθηκών καλλιέργειας του πειράματος.	

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

Τα ορυκτά καύσιμα έχουν γίνει ένα κρίσιμο κομμάτι της σύγχρονης ζωής, εξαρτώντας ποικίλους τομείς από αυτά και έχουν αποτελέσει αναπόσπαστο κομμάτι του ανθρώπου. Ωστόσο, η καύση των ορυκτών καυσίμων απελευθερώνει διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) στην ατμόσφαιρα που προκαλεί την παγκόσμια κλιματική αλλαγή. Παγκοσμίως η παραγωγή ενέργειας από ορυκτά καύσιμα αντιπροσωπεύει το ένα τρίτο όλων των εκπομπών CO_2 . Επομένως, επιστήμονες σε όλο τον κόσμο εργάζονται για τον μετριασμό των εκπομπών CO_2 και την καταπολέμηση της υπερθέρμανσης του πλανήτη. Τα μικροφύκη είναι μονοκύτταροι οργανισμοί που μπορούν να μετατρέψουν την ηλιακή ενέργεια σε χημική μέσω φωτοσύνθεσης, χρησιμοποιώντας CO_2 ως πηγή άνθρακα (Διάγραμμα 1). Μπορούν να προσφέρουν ταχύ ρυθμό ανάπτυξης και να χρησιμοποιηθούν για επιτόπια βιοαποκατάσταση CO_2 , καθιστώντας τα μια πολλά υποσχόμενη τεχνική για τη δέσμευση και αποθήκευση CO_2 . Είναι πιο αποτελεσματικά στη μετατροπή του φωτός σε ενέργεια από τα παραδοσιακά χερσαία φυτά καθώς αυτά μπορούν να δεσμεύσουν CO_2 , οι αργοί ρυθμοί ανάπτυξής τους περιορίζουν την αποτελεσματικότητά τους μόνο στο 3-6% των εκπομπών ορυκτών καυσίμων (Abdur Razzak et al., 2023). Πρέπει να σημειωθεί πως τα θαλάσσια φύκη καταναλώνουν το 40 με 60% του διοξειδίου του άνθρακα παγκοσμίως (Γκουβούση, 2016). Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι τα μικροφύκη έχουν τη δυνατότητα να δεσμεύουν έως και 1,83 kg CO_2 ανά kg βιομάζας, καθιστώντας τα ένα πολύτιμο εργαλείο για την καταπολέμηση της υπερθέρμανσης του πλανήτη (Abdur Razzak et al., 2023).



Διάγραμμα 2. Καλλιέργεια μικροφυκών για τη δέσμευση CO₂ και την παραγωγή βιο-προϊόντων.

Τα μικροφύκη αντιπροσωπεύουν μια εναλλακτική λύση στα ορυκτά καύσιμα ως ανανεώσιμη πηγή για την παραγωγή πολλών βιο-προϊόντων, συμπεριλαμβανομένων υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λιπιδίων και χρωστικών. Αυτό είναι αναμφισβήτητο ένα ξεχωριστό πλεονέκτημα της βιομάζας μικροφυκών ως πρώτης ύλης στο μέλλον των εργοστασίων βιοδιυλιστηρίου. Ανάμεσα στα διάφορα που προέρχονται από μικροφύκη, τα χημικά, τα λιπαρά οξέα και τα τριγλυκερίδια εμφανίζονται ως τα πιο ελκυστικά γιατί μπορούν να μετατραπούν σε καύσιμα μεταφοράς (δηλαδή βιοντίζελ). Την ίδια ώρα, υπάρχει μία διαμάχη σχετικά με την αμφισβητούμενη βιωσιμότητα και φιλικότητα προς το περιβάλλον των βιοκαυσίμων που βασίζονται σε μικροφύκη (δηλ. μείωση των αερίων του θερμοκηπίου και η υπερθέρμανση του πλανήτη) και η ασάφεια αν μπορούν πράγματι να συμβάλουν στον μετριασμό των αποθεμάτων ορυκτών καυσίμων. Επιπλέον, οι δυνατότητες αξιοποίησης των αγροτικών ή/και βιομηχανικών υγρών αποβλήτων, πλούσια σε νιτρικά και φωσφορικά άλατα, ως φθηνή πηγή θρεπτικών συστατικών για την ανάπτυξη των μικροφυκών, παρέχει ένα επιπλέον κίνητρο για την ανάπτυξη διεργασιών που βασίζονται σε μικροφύκη για την επεξεργασία λυμάτων και την ταυτόχρονη παραγωγή βιοχημικών (Moore, 2008).

Το *Stichococcus* (Εικόνα 3) είναι ένα γένος πράσινων φυκιών (Chlorophyta) που χαρακτηρίζεται από απλή μορφολογία, με μέγεθος κυτάρου που κυμαίνονται από 2 έως 6 μm, οργανωμένα σε

νηματώδεις ή μονοκύτταρες δομές, με μερικά είδη (π.χ. *S. bacillaris*) που διακρίνονται για την αντοχή τους στη θερμοκρασία, την αλατότητα και η διακύμανση του pH, η περιεκτικότητά τους σε λιπίδια, καθώς και η ικανότητά τους να αφαιρούν αποτελεσματικά βαρέα μέταλλα από υγρά απόβλητα (Psachouli and Chatzidoukas, 2021).

Stichococcus



Εικόνα 3. Μικροφύκος γένους *Stichococcus*.

1.2 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα μικροφύκη, γενικότερα, τα μονοκύτταρα φωτότροφα, είναι μικροοργανισμοί ταχέως αναπτυσσόμενοι, για μεγαλύτερη ακρίβεια είναι οργανισμοί ταχέως αναδιπλασιαζόμενοι με μεγάλη δυνατότητα να παράγουν βιομάζα με υψηλό ρυθμό σε σύγκριση με άλλες υψηλότερες πηγές φωτοσυνθετικής βιομάζας, όπως τα φυτά. Το κύριο πλεονέκτημα της καλλιέργειας μικροφυκών σε φωτοβιοαντιδραστήρες είναι ότι ο χρόνος αναπαραγωγής τους (ο χρόνος διπλασιασμού) είναι σύντομος. Ως εκ τούτου, ο ρυθμός ανάπτυξής τους είναι υψηλός με υψηλότερη φωτοσυνθετική απόδοση. Ο ρυθμός ανάπτυξης της βιομάζας είναι συνάρτηση του φωτός και της ηλιακής ακτινοβολίας, της θερμοκρασίας, των διαθέσιμων θρεπτικών ουσιών, της συγκέντρωσης CO₂ και του pH στα μέσα καλλιέργειας. Αυτές οι παράμετροι είναι καθοριστικοί και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη στη μαζική καλλιέργεια και στον σχεδιασμό φωτοβιοαντιδραστήρα (Abdur Razzak et al., 2023). Η βιοχημική σύνθεση της βιομάζας μικροφυκών προσδιορίζεται από διαφορετικούς παράγοντες, όπως είδη μικροφυκών, ένταση φωτός, ανάδευση, pH, θερμοκρασία, σύνθεση θρεπτικών συστατικών και συγκέντρωση CO₂, (González-Fernández and Ballesteros, 2012). Οι συγκεντρώσεις των μακροθρεπτικών συστατικών (άζωτο, φώσφορο, θείο, κάλιο και άνθρακα) και των μικροθρεπτικών συστατικών (σίδηρος και μαγγάνιο) επηρεάζουν τη φωτοσύνθεση, μεταβάλλοντας την σταθεροποίηση και

την κατανομή του άνθρακα, τον μεταβολισμό των μικροφυκών και την συσσώρευση βιομορίων (Solís-Salinas et al., 2021).

Γενικά, η βασική έννοια του υπολογισμού της ανάπτυξης βιομάζας βασίζεται στις ακόλουθες εξισώσεις ειδικού ρυθμού ανάπτυξης και παραγωγικότητας βιομάζας. Ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, μ_g , που περιγράφεται ως η αύξηση του βάρους ξηρής βιομάζας ανά ημέρα, υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση 1:

$$\mu_g = \frac{\ln\left(\frac{X_1}{X_2}\right)}{t_1 - t_2}$$

Εξίσωση 1: Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης μ_g .

Όπου: X_1 και X_2 η ξηρή βιομάζα τη χρονική στιγμή t_1 και t_2 , αντίστοιχα στη φάση ανάπτυξης.

Η επίδραση της περιοριστικής θρεπτικής ουσίας (νιτρικά) στην ανάπτυξη των μικροφυκών περιεγράφηκε από το μοντέλο Monod όπως φαίνεται στην εξίσωση 2:

$$\mu = \hat{\mu} \left[\frac{S}{K_s + S} \right]$$

Εξίσωση 2: Εξίσωση Monod.

Όπου: μ = ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ανά ημέρα, $\hat{\mu}$ = μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, ανά ημέρα, S = περιοριστική συγκέντρωση θρεπτικών συστατικών, mg/L, K_s = σταθερά κορεσμού ή ημίσειας ταχύτητας, mg/L.

Η παραγωγικότητα βιομάζας (P_b), η οποία περιγράφεται επίσης ως ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας, υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση 3:

$$P_b = \frac{X_t - X_0}{t_t - t_0}$$

Εξίσωση 3: Ρυθμός παραγωγής βιομάζας.

Όπου: X_t και X_0 είναι η ξηρή βιομάζα στο χρονικό διάστημα t_t στο τέλος της καλλιέργειας και t_0 στην αρχή της καλλιέργειας, αντίστοιχα (Abdur Razzak et al., 2023).

1.2.1 Θρεπτικά συστατικά

Οι τρεις σημαντικότεροι παράγοντες των θρεπτικών συστατικών αποτελούνται από το άζωτο, το φώσφορο και το σίδηρο.

Ο φώσφορος είναι ένα συστατικό που κατέχει σημαντικό ρόλο στις κυτταρικές μεταβολικές διεργασίες σχηματίζοντας πολλά δομικά και λειτουργικά συστατικά που απαιτούνται για τη φυσιολογική ανάπτυξη και αναπαραγωγή των μικροφυκών. Όταν τα θρεπτικά συστατικά

παρέχονται σε περίσσεια και το φως είναι ο παράγοντας περιορισμού της ανάπτυξης, τα περισσότερα είδη μικροφυκών εμφανίζουν αξιοσημείωτη συνοχή στην κυτταρική περιεκτικότητά τους σε φώσφορο, περίπου 1% του ξηρού βάρους. Το ανόργανο φωσφορικό μπορεί να εμφανίζεται στα κύτταρα με τη μορφή πολυφωσφορικών, που συσσωρεύονται σε διακριτούς κόκκους πολυφωσφορικών. Αυτοί οι κόκκοι πολυφωσφορικών εμφανίζονται συχνά σε φυσιολογικά κύτταρα υπό ανάπτυξη επαρκούς φωσφορικού αλλά εξαφανίζονται όταν τα φωσφορικά είναι ανεπαρκή. Μερικά από τα συμπτώματα της εξάντλησης του φωσφόρου είναι παρόμοια με εκείνα που παρατηρούνται σε καλλιέργειες με έλλειψη αζώτου. Η περιεκτικότητα σε χλωροφύλλη μειώνεται ενώ η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες αυξάνεται στα ευκαρυωτικά και προκαρυωτικά κύτταρα. Σε αντίθεση με την εξάντληση του αζώτου, παρατηρείται μικρή αποικοδόμηση του rhycobilisome (συσσωματώματα πρωτεϊνών συγκομιδής φωτός που συνδέονται με την πλευρά του στρώματος των θυλακοειδών μεμβρανών των κυανοβακτηρίων και των κόκκινων φυκιών) κατά τη διάρκεια της εξάντλησης του φωσφόρου. Η μείωση του επιπέδου του κυτταρικού rhycochilosis οφείλεται στην κυτταρική διαίρεση ενώ η νέα σύνθεση φυκοχλιδώματος σταματά. Η εξάντληση του φωσφόρου αναφέρθηκε ότι έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση β-καροτίνης στα κύτταρα *Dunaliella* και τη συσσώρευση λεπτής ασταζάνης στα κύτταρα *Haematooccus*, αλλά όχι αξιοσημείωτα σε σύγκριση με την έλλειψη νιτρικών. Τα συγκεκριμένα συμπτώματα σχετίζονται με την περιεκτικότητα σε λιπίδια και τη σύνθεση λιπαρών οξέων των μικροφυκών. Για παράδειγμα, με τη μείωση της συγκέντρωσης φωσφορικών αλάτων από 175 σε 0 μM (K_2HPO_4), τα φωσφολιπίδια, η μονογαλακτοσυλδιακυλογλυκερόλη (MGDG) και η EPA μειώθηκαν σημαντικά, ενώ ταυτόχρονα, το ουδέτερο λιπίδιο τρι-ακυλογλυκερόλη και τα πολικά λιπίδια διγαλακτυλογλυκερόλη (DGDGDG) διακυλογλυκερολτριμεθυλοομοσερίνη (DGTS) αυξήθηκε απότομα στο *Monodus subterraneous* (Eustigmatophyte) (Hu, 2013).

Το άζωτο, γενικά αντιπροσωπεύει περίπου το 7-10% του ξηρού βάρους των κυττάρων, είναι απαραίτητο συστατικό όλων των δομικών και λειτουργικών πρωτεϊνών στα κύτταρα των φυκών. Μια μεγάλη ποικιλία πηγών αζώτου, όπως νιτρικά, αμμωνία και ουρία, όπου η καθεμία μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μοναδική πηγή αζώτου για τη διατήρηση της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής των φυκών. Γενικά, τα μικροφύκη έχουν περιορισμένη ικανότητα να παράγουν υλικά αποθήκευσης αζώτου όταν αναπτύσσονται υπό συνθήκες επαρκείς σε άζωτο, εξαιρέσεις είναι η κυανοφυκίνη και η φυκοκυανίνη που βρέθηκε ότι είναι ενώσεις αποθήκευσης αζώτου σε κυανοβακτήρια. Όταν τα μικροφύκη αναπτύσσονται υπό συνθήκες περιορισμένες σε άζωτο, το πιο εντυπωσιακό αποτέλεσμα είναι η ενεργή και ειδική αποδόμηση των φυκοδισωμάτων (Collier, 1992). Έως ότου το κυτταρικό άζωτο πέσει κάτω από μια τιμή κατωφλίου, η φωτοσύνθεση συνεχίζεται, αν και με μειωμένο ρυθμό. Υπό αυτές τις συνθήκες, ο φωτοσυνθετικά σταθεροποιημένος άνθρακας στη συνέχεια εκτρέπεται από την πρωτεϊνική σύνθεση στις οδούς για τη σύνθεση υδατανθράκων και λιπιδίων. Πολυάριθμες μελέτες δείχνουν ότι η βιοσύνθεση και η συσσώρευση λιπιδίων ενισχύεται σε καλλιέργειες με περιορισμένο άζωτο ή στερημένες καλλιέργειες μικροφυκών διαφόρων ταξινομικών ομάδων. Σε αντίθεση με τα πολικά λιπίδια των επαρκών σε άζωτο κυττάρων, τα ουδέτερα λιπίδια με τη μορφή τριακυλογλυκερολών γίνονται τα κυρίαρχα συστατικά των λιπιδίων στα κύτταρα με έλλειψη αζώτου. Τα είδη φυκών αυξάνουν τους υδατάνθρακες τους παρά την περιεκτικότητά τους σε λιπίδια υπό συνθήκες έλλειψης αζώτου, για παράδειγμα, πολλά στελέχη *Dunaliella*, στα οποία

μπορούν να συσσωρεύσουν μεγάλες ποσότητες γλυκερίνης μαζί με αυξημένους μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες και πολυσακχαρίτες υπό συνθήκες ανάπτυξης στερημένες από άζωτο. Φαίνεται ότι η προτίμηση της συσσώρευσης μιας αποθηκευτικής ένωσης έναντι της άλλης ειδικής για το είδος της και μιας αποθηκευτικής ένωσης (άμυλο ορτριάκυλογλυκερόλης) μπορεί να προσφέρει μεγάλη φυσιολογική ανοχή σε μεμονωμένα είδη για επιβίωση κάτω από λιμοκτονία αζώτου και άλλες συνθήκες στρες. Για εκείνα τα είδη μικροφυκών που διαθέτουν την ικανότητα να συνθέτουν άμυλο και τριακυλογλυκερόλη, μια γενική τάση είναι ότι το άμυλο χρησιμεύει ως πρωταρχικό προϊόν αποθήκευσης άνθρακα και ενέργειας υπό εξάντληση αζώτου ή άλλες συνθήκες στρες. Καθώς το στρες επιμένει, τα κύτταρα στη συνέχεια μετατοπίζουν τον καταμερισμό του άνθρακα κατά προτίμηση στις οδούς για τη σύνθεση λιπιδίων. Ως εκ τούτου, η τριακυλογλυκερόλη χρησιμεύει ως δευτερεύον απόθεμα άνθρακα και ενέργειας για τη μακροπρόθεσμη επιβίωση των μικροφυκών υπό πίεση. Η συσσώρευση δευτερογενών καρροτενοειδών είναι ένα άλλο κύριο χαρακτηριστικό πολλών φυκιών όταν αναπτύσσονται υπό συνθήκες περιορισμένου σε άζωτο, η οποία συχνά συνοδεύεται από μείωση της περιεκτικότητας σε χλωροφύλλη των κυττάρων (Hu, 2013). Η αυξημένη παραγωγή β-καροτίνης εμφανίστηκε σε κύτταρα *Dunaliella* που δεν είχαν άζωτο. Ακόμη η χαμηλή συγκέντρωση αζώτου είναι ένας σημαντικός παράγοντας για τη διέγερση της σύνθεσης και της συσσώρευσης της ασταξανθίνης (φυσική χρωστική που υπάγεται στα καρροτενοειδή) και των ακυλεστερών της στο μικροφύκη *Haematococcus pluvialis* (Ben-Amotz et al., 1982).

1.2.2 Φως

Το φως ασκεί μεγάλη επιρροή στην καλλιέργεια των μικροφυκών. Ο χαμηλός όπως και ο πολύ υψηλός φωτισμός επιδρά αρνητικά στα μικροφύκη (He et al., 2015). Η ένταση του φωτισμού επηρεάζει άμεσα τον ρυθμό φωτοσύνθεσης. Σε χαμηλή φωτεινότητα η αύξηση του φωτισμού οδηγεί σε γραμμική αύξηση του ρυθμού φωτοσύνθεσης, ενώ αντίστοιχα το υπερβολικό φως μπορεί να οδηγήσει σε φωτοοξειδωτική βλάβη καθώς και μείωση αποτελεσματικότητας και του ρυθμού φωτοσύνθεσης, δηλαδή φωτοαναστολή (Erickson et al., 2015; Maltsev et al., 2021). Η ρυθμιστική επίδραση του φωτός στην ανάπτυξη των μικροφυκών, κατά κανόνα, δε μελετά ολόκληρη τη φωτεινή ροή, αλλά εκείνο το τμήμα του που έχει τη μεγαλύτερη φυσιολογική δραστηριότητα. Αυτή η ακτινοβολία αντιστοιχεί στο ορατό τμήμα του φάσματος στο μήκος κύματος εύρος 400–700 nm και ονομάζεται φωτοσυνθετικά ενεργή ακτινοβολία (Guo et al., 2019). Κατά τον χαρακτηρισμό των συνθηκών φωτός για την ανάπτυξη μικροφυκών, η ένταση του φωτός, η διάρκεια του φωτισμού και λαμβάνεται υπόψη η φασματική σύνθεση της φωτεινής ροής (Maltsev et al., 2021).

Η υψηλή κατανάλωση ενέργειας και το υψηλό κόστος λειτουργίας των πηγών τεχνητού φωτός είναι ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που σχετίζονται με τα συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών. Ο ρυθμός ανάπτυξης μικροφυκών με χαμηλότερο κόστος θα ήταν ένα ουσιαστικό βήμα προς την ανάπτυξη της επιτυχημένης διαδικασίας παραγωγής μικροφυκών. Μεταξύ όλων των διαθέσιμων πηγών φωτός, ο ήλιος είναι ξεκάθαρα η πιο άφθονη λύση, καθώς η ακτινοβολία του παρέχει το υψηλότερη ροή ενέργειας περίπου $5,7 \cdot 10^{24}$ J/έτος, δηλαδή περίπου 10.000 φορές περισσότερο από τη συνολική ενέργεια καταναλώνεται από τον άνθρωπο κάθε χρόνο (Miyake et al., 1999). Το μεσημέρι, το φως του ήλιου παρέχει την υψηλότερη ένταση φωτός, στα

1.100 W/m² (Miyake et al., 1999) που υπερβαίνει την ένταση που απαιτείται για αποτελεσματική παραγωγή μικροφυκών. Η πιο κοινή καλλιέργεια μικροφυκών πραγματοποιείται σε ανοιχτή λίμνη, με άμεση χρήση ηλιακής ενέργειας. Ωστόσο, η απόδοση αυτών των φωτοβιοαντιδραστήρων ανοιχτής εξωτερικής λίμνης είναι συνήθως φτωχή, λόγω των προβλημάτων ότι είναι δύσκολο να ελεγχθούν οι συνθήκες καλλιέργειας, άμεση έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία, μόλυνση, χαμηλή ένταση φωτός και ανομοιόμορφη διανομή (Chen et al., 2008), κύκλοι ημέρας-νύχτας, καθώς και την ανάγκη για μεγάλη έκταση γης. Αν και όλα αυτά τα ζητήματα περιορίζουν την αποτελεσματικότητα και παραγωγικότητα της μετατροπής φωτός των εξωτερικών φωτοβιοαντιδραστήρων, οι κύκλοι ημέρας-νύχτας και η ημερήσια διακύμανση στην ένταση του φωτός θεωρούνται οι σημαντικά προβλήματα κατά τη χρήση του ηλιακού φωτός. Εξαρτάται από τον καιρό, την εποχή, το ηλιακό φάσμα και το χρονικό διάστημα κατά το οποίο η ένταση του φωτός είναι αρκετά υψηλή για να υποστηρίξει την ανάπτυξη μικροφυκών. Σε απουσία φωτεινής ενέργειας, η λειτουργία κυτταρικού μεταβολισμού θα αλλάξει, και επομένως τόσο η παραγωγικότητα όσο και η βιοχημική σύνθεση των κυττάρων των μικροφυκών επηρεάζεται από την διαθεσιμότητα του φωτός (Kitajima et al., 1999). Η διάρκεια του φωτισμού, εξασφαλίζει τη μέγιστη παραγωγικότητα μικροφυκών και την ελαχιστοποίηση του ενεργειακού κόστους κατά την καλλιέργεια. Η πρακτική της χρήσης σταθερού ή διακεκομμένου φωτισμού καλλιέργειας ημέρας και νύχτας είναι γνωστοί, συμπεριλαμβανομένου του παλμικού φωτισμού (που αναβοσβήνει), ο οποίος χαρακτηρίζεται από μία γρήγορη αλλαγή σε φωτεινές και σκοτεινές περιόδους (Sforza et al., 2014; Yustinadiar et al., 2020).

Η σύνηθες εναλλακτική του ηλιακού φωτός με σκοπό τη καλλιέργεια μικροφυκών είναι η χρήση των LED. Η χρήση των LED ως πηγής φωτός επιτρέπει τόσο το μονοχρωματικό φωτισμό των μικροφυκών και ταυτόχρονα τον φωτισμό με φωτεινή ροή ορισμένης φασματικής σύνθεσης. Αναφέρεται ότι η χρήση αυτής της τεχνολογίας μπορεί να βελτιώσει την απόδοση της φωτοχημικής αντίδρασης και τη κερδοφορία της παραγωγής (Okumura et al., 2015; Schulze et al., 2014; Teo et al., 2014). Είναι επίσης εξαιρετικά σημαντικό ότι η φωτεινή ροή μιας ειδικής φασματικής σύνθεσης μπορεί να αλλάξει τις μεταβολικές διεργασίες στα κύτταρα των μικροφυκών, μετατοπίζοντάς τα προς τη κυρίαρχη συσσώρευση πρωτεϊνών, υδατανθράκων ή λιπιδίων (Teo et al., 2014).

1.2.3 pH

Η επίδραση του pH στην ανάπτυξη των μικροφυκών ποικίλει ανάλογα με τα στελέχη τους. Γενικά, το pH=7 για τα μικροφύκη του γλυκού νερού και 8 για τα θαλάσσια μικροφύκη είναι το βέλτιστο για ανάπτυξη, ενώ σε pH κάτω από 4 τα περισσότερα μικροφύκη παύουν να αναπτύσσονται (Huntley and Redalje, 2007). Η παρουσία CO₂, SO_x, NO_x επηρεάζουν το pH των μέσων καλλιέργειών, ενώ η πιο σημαντική επίδραση στο pH σχετίζεται με υψηλές συγκεντρώσεις SO_x στα καυσαέρια. Γενικά, το CO₂ είναι ο κύριος μηχανισμός που διαταράσσει το pH των μέσων καλλιέργειών. Η αύξηση της συγκέντρωσης του CO₂ στα μέσα μειώνει το pH λόγω των επιδράσεων της όξυνσης και αυτό έχει επίδραση στη φυσιολογία των μικροφυκών (Ramaraj, 2012). Καθώς το pH αυξάνεται με τη συγκέντρωση βιομάζας, η προσεκτική διαχείριση του pH στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης είναι υψίστης σημασίας για να διασφαλιστεί ότι η ανάπτυξη δεν αναστέλλεται. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την προσθήκη ενός ρυθμιστικού

διαλύματος (NaOH ή CO₂) για να επαναφέρει το pH στο βέλτιστο επίπεδο για την ανάπτυξη των στελεχών των μικροφυκών (Matsumoto et al., 1997).

1.2.4 Θερμοκρασία

Δεδομένου ότι τα καυσαέρια από πηγές όπως οι σταθμοί ηλεκτροπαραγωγής έχουν υψηλές θερμοκρασίες, η χρήση μικροφυκών ανθεκτικών σε υψηλές θερμοκρασίες θα μπορούσε να επιτύχει σημαντικές μειώσεις στο κόστος ψύξης των αερίων. Τα περισσότερα μικροφύκη που εξετάζονται για το μετριασμό του άνθρακα είναι τα μεσόφιλα μικροφύκη (θερμοκρασίες 13-45°C) με υψηλή ανοχή στο CO₂, ενώ έχουν επίσης πραγματοποιηθεί κάποιες μελέτες για την παραγωγή θερμοφίλων κυανοβακτηρίων (42-72°C) για την αντιμετώπιση του προβλήματος με το κόστος ψύξης. Ωστόσο, η υψηλή παραγωγικότητα δεν μπορεί να επιτευχθεί με τα κυανοβακτήρια (Ono and Cuello, 2007). Ένα πρόβλημα με την καλλιέργεια μικροφυκών σε αυτές τις υψηλές θερμοκρασίες είναι η απώλεια νερού μέσω της εξάτμισης. Εντός του μεσόφιλου εύρους, μια αύξηση της θερμοκρασίας θα οδηγήσει σε αύξηση της παραγωγικότητας μέχρι ένα κρίσιμο όριο θερμοκρασίας στο οποίο παρεμποδίζεται η ανάπτυξη για ορισμένα στελέχη μικροφυκών (Sung et al., 1999).

1.3 ΒΙΟ-ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα προϊόντα που παράγονται από τα μικροφύκη χωρίζονται στις εξής κατηγορίες τα πρωτεΐοντα και τα δευτερεύοντα. Στην πρώτη κατηγορία ανάγονται οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λιπίδια, ενώ στα δευτερεύοντα προϊόντα ανάγονται τα καροτενοειδή, η ασταξανθίνη και πολυυδροξυαλκανοϊκά-PHA (Japar et al., 2021).

Τα μικροφύκη είναι μια εξέχουσα πηγή αμινοξέων, πεπτιδίων και πρωτεϊνών (Ejike et al., 2017). Η πρωτεΐνη των μικροφυκών υπάρχει σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα όπως το κυτταρόπλασμα, το κυτταρικό τοίχωμα, τα οργανίδια, ο πυρήνας και τα πλαστίδια (Suarez Garcia et al., 2018). Η πρωτεΐνη μικροφυκών παράγεται από διάφορα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που υπάρχουν μέσα στον πυρήνα τους. Τα διαφορετικά είδη μικροφυκών παράγουν διαφορετικές ποσότητες πρωτεΐνης. Η συνολική περιεκτικότητα πρωτεΐνης σε ορισμένα είδη μικροφυκών, όπως *Arthrospira* sp., *Chlorella* sp., το *Scenedesmus* sp. ή το *Synechococcus* sp., μπορεί να ξεπεράσει το 50% του ξηρού βάρους (Amorim et al., 2020). Όσον αφορά τα οφέλη για την υγεία, οι πρωτεΐνες έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε βιοενεργές ουσίες πεπτιδίων, τα οποία έχουν ποικίλες επιπτώσεις στην υγεία όταν καταναλώνονται (Araújo et al., 2021).

Οι υδατάνθρακες είναι το κύριο προϊόν της φωτοσυνθετικής οδού και έχουν διαφορετικούς φυσιολογικούς ρόλους στην ανάπτυξη μικροφυκών (Chen et al., 2016). Ορισμένα είδη μπορούν να αυξήσουν την περιεκτικότητά τους σε υδατάνθρακες και να τα συσσωρεύσουν στα πλαστίδια. Όσο υψηλότερη είναι η περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, τόσο υψηλότερη είναι η αποτελεσματικότητα και η σκοπιμότητα της μετατροπής τους σε βιοκαύσιμα (Lakatos et al., 2019). Τα μικροφύκη διαφέρουν ως προς την ποσότητα και τη σύνθεση υδατανθράκων τους (de

Morais et al., 2016). Οι υδατάνθρακες βρίσκονται κυρίως ως εφεδρεία πολυσακχαριτών μέσα σε πλαστίδια και δομικά συστατικά, όπως το κυτταρικό τοίχος (Chen et al., 2016). Το κύριο αποθεματικό πολυσακχαρίτη που συντίθεται και αποθηκεύεται από τα μικροφύκη είναι το άμυλο, ενώ τα κυανοβακτήρια συνήθως συσσωρεύουν γλυκογόνο (Levasseur et al., 2020). Το κυτταρικό τοίχωμα μικροφυκών αποτελείται από ένα εσωτερικό στρώμα (που περιέχει κυρίως κυτταρίνη) και ένα εξωτερικό στρώμα (που περιέχει πηκτίνη, άγαρ ή αλγινικό), παρόλα αυτά ο μεταβολισμός των υδατανθράκων διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ειδών (Chen et al., 2016).

Η υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια των μικροφυκών υπόσχεται την εφαρμογή τους σε παραγωγή βιοντίζελ. Επιπλέον, τα μικροφύκη έχουν ένα προσαρμόσιμο και επαγωγίμο μεταβολικό σύστημα που ενισχύει τη διέγερση περισσότερης περιεκτικότητας σε λιπίδια. Για παράδειγμα, μια μελέτη ανέφερε ότι ο περιορισμός της διαθεσιμότητας αζώτου και η αύξηση του στρες αλατότητας ενισχύει την αύξηση της τριακυλογλυκερόλης (TAG) και των ελαϊκών οξέων στα περισσότερα είδη μικροφυκών (Poh et al., 2020). Άλλη μία μελέτη έδειξε ότι τα μικροφύκη που καλλιεργήθηκαν σε ετερογενείς πηγές αζώτου υποδηλώνουν υψηλότερη απομάκρυνση αζώτου, αύξηση της βιομάζας και υψηλότερη παραγωγικότητα λιπιδίων και βιοντίζελ με μία μόνο πηγή αζώτου (Zhu et al., 2019).

Όσον αφορά τα δευτερεύοντα προϊόντα τα καροτενοειδή έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον πολλών μελετητών. Πολλά μικροφύκη συσσωρεύουν διάφορους τύπους και ποσότητες καροτενοειδών μέσα στα κύτταρά τους. Η *Dunaliella salina* αναφέρθηκε κυρίως για την συσσώρευση β-καροτίνης (Mehariya et al., 2021). Το *Tetraselmis* sp. CTP4 έχει διερευνηθεί για την ικανότητά του να παράγει καροτενοειδή σε διαφορετικές εντάσεις φωτός. Το αποτέλεσμα έδειξε ότι η χαμηλή ένταση (33 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) αύξησε την περιεκτικότητα σε β-καροτίνη κατά 3 φορές ενώ η υψηλή ένταση φωτός (170–280 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) ενισχυμένη περιεκτικότητα σε λουτεΐνη 1,5 φορές (Schüler et al., 2020). Πολυάριθμες φυσιολογικές διεργασίες εξαρτώνται από τα καροτενοειδή, τα οποία εξυπηρετούν επίσης μια ποικιλία βιολογικών σκοπών, όπως αντικαρκινικές, ανοσοτροποποιητικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιβακτηριακές, αντιδιαβητικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες (Nabi et al., 2020). Πολλές άλλες μελέτες έχουν αναφέρει τη χρήση καροτενοειδών των θαλάσσιων μικροφυκών για την πρόληψη χρόνιων ασθενειών και πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων (Sathasivam and Ki, 2018).

1.4 ΜΕΣΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Στο φυσικό τους περιβάλλον τα μικροφύκη απορροφούν ηλιακή ακτινοβολία και αφομοιώνουν διοξείδιο του άνθρακα από τον αέρα και θρεπτικά συστατικά από τους υδρόβιους οικότοπους. Επομένως, η τεχνητή καλλιέργεια θα πρέπει να 'αντιγράψει' και καλύτερα να ενισχύσει στο βέλτιστο τις φυσικές συνθήκες ανάπτυξης των μικροφυκών (Brennan and Owende, 2010). Επί του παρόντος, η φωτοαυτοτροφική παραγωγή είναι η μόνη μέθοδος που είναι τεχνικά και οικονομικά εφικτή για μεγάλης κλίμακας παραγωγή βιομάζας μικροφυκών, αλλά όχι για παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Δύο είναι τα συστήματα που έχουν αναπτυχθεί, βασίζονται σε ανοιχτή λίμνη και τεχνολογίες κλειστού φωτοβιοαντιδραστήρα (Borowitzka, 1999). Η τεχνική βιωσιμότητα του κάθε συστήματος επηρεάζεται από εγγενείς ιδιότητες του επιλεγμένου

χρησιμοποιούμενου στελέχους φυκιών, καθώς και οι κλιματικές συνθήκες και το κόστος της γης και του νερού (Brennan and Owende, 2010).

1.4.1 Ανοικτού τύπου καλλιέργειες

Η καλλιέργεια μικροφυκών σε ανοικτές λίμνες χρησιμοποιείται από τη δεκαετία του 1950 (Borowitzka, 1999). Τα συστήματα αυτά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε φυσικά νερά (λίμνες, λιμνοθάλασσες) και σε τεχνητές λίμνες ή δοχεία (Εικόνα 4). Οι λιμνούλες με δρομικές διαδρομές είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο τεχνητό σύστημα (Jiménez et al., 2003). Συνήθως αποτελούνται από ένα κλειστό βρόχο, οβάλ σχήματος που επιτρέπει την ανακυκλοφορία. Συνήθως το βάθος τους είναι μεταξύ 0,2 και 0,5 m, με ανάμιξη και κυκλοφορία που απαιτούνται για τη σταθεροποίηση της ανάπτυξης και της παραγωγικότητας των μικροφυκών. Οι λίμνες αυτές κατασκευάζονται συνήθως από σκυρόδεμα, αλλά έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί συμπιεσμένες χωμάτινες λιμνούλες με λευκό πλαστικό. Σε ένα συνεχή κύκλο παραγωγής, τα μικροφύκη και τα θρεπτικά συστατικά εισάγονται μπροστά από έναν φτερωτό τροχό και κυκλοφορούν μέσω του βρόχου προς τη συγκομιδή, δηλαδή το σημείο εξαγωγής. Ο φτερωτός τροχός βρίσκεται σε συνεχή λειτουργία για να αποτρέπει την καθίζηση. Η απαίτηση των μικροφυκών σε CO₂ είναι συνήθως από τον επιφανειακό αέρα, αλλά βυθισμένοι αεριστήρες μπορεί να εγκατασταθούν για να ενισχυθεί η απορρόφηση CO₂, καθώς και ο καλύτερος αερισμός της καλλιέργειας (Terry and Raymond, 1985).



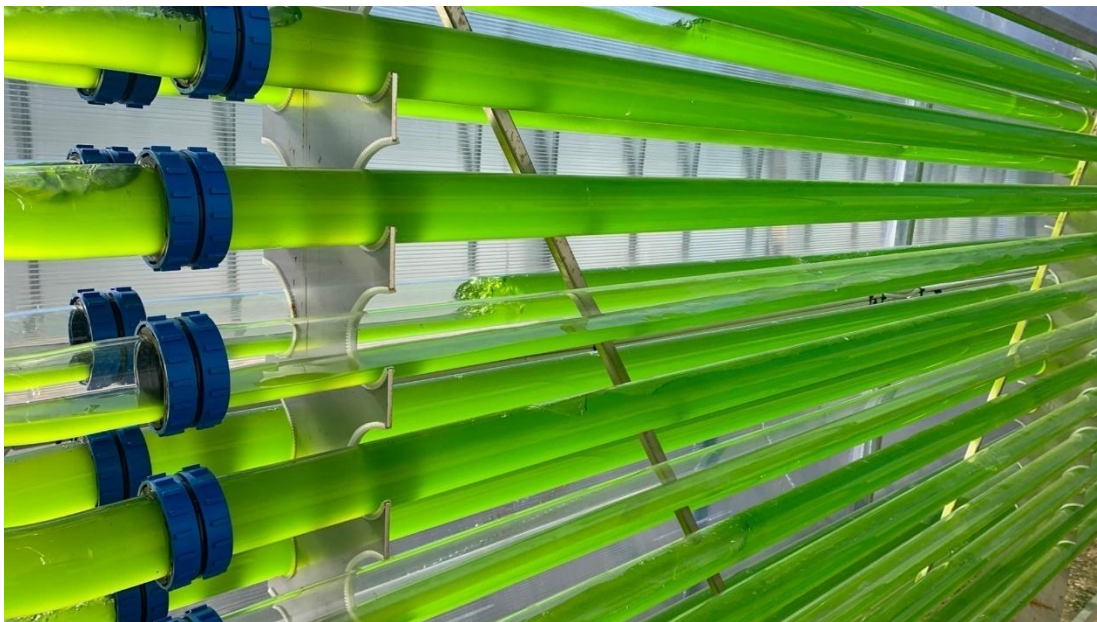
Εικόνα 4. Ανοικτού τύπου καλλιέργεια μικροφυκών.

Σε σύγκριση με του κλειστού τύπου καλλιέργειες, οι ανοικτού τύπου είναι πιο οικονομικές για μεγάλη ποσότητα παραγωγής βιομάζας. Αυτού του τύπου καλλιέργειες χρειάζονται προσοχή όσον αφορά στη μόλυνση από άλλου είδους μικροφύκη και πρωτόζωων (Lee, 2017). Η καλλιέργεια μόνο ενός είδους είναι δυνατή όταν διατηρούνται ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες που ταιριάζουν σε αυτό το είδος μικροφύκους. Για παράδειγμα, η *Spirulina* προσαρμόζεται εύκολα σε περιβάλλον με υψηλή αλκαλικότητα (Borowitzka, 1999). Οι ανοικτού τύπου καλλιέργειες είναι λιγότερο αποδοτικές από του κλειστού τύπου όσον αφορά την παραγωγή βιομάζας, λόγω διαφόρων παραγόντων όπως η υψηλή εξάτμιση, διακυμάνσεις θερμοκρασίας, ελλείψεις CO₂, ανεπαρκής ανάμιξη και λόγω περιορισμού του φωτός (Chisti, 2007).

1.4.2 Κλειστού τύπου καλλιέργειες

Οι κλειστού τύπου καλλιέργειες σχεδιάζονται με τρόπο ώστε να περιορίσουν τα προβλήματα των ανοιχτών τύπων (Εικόνα 5). Σε αντίθεση με του ανοιχτού τύπου καλλιέργειες, οι κλειστού μειώνουν σημαντικά τη μόλυνση της καλλιέργειας για μεγάλο διάστημα (Chisti, 2007). Τα συστήματα αυτά λειτουργούν με φωτοβιοαντιδραστήρες σε μορφή σωληνώσεων, επίπεδων πλακών και σε στήλες. Οι κλειστοί βιοαντιδραστήρες ευνοούν καλύτερα τις ποικιλίες μικροφυκών, οι οποίες είναι ευαίσθητες καθώς με αυτό τον τρόπο βρίσκονται περιορισμένες και καλύτερα ελεγχόμενες. Όμως, σε αντίθεση με του ανοιχτού τύπου, το κόστος των κλειστών καλλιέργειών είναι σημαντικά υψηλότερο (Carvalho et al., 2006).

Οι σωληνοειδής φωτοβιοαντιδραστήρες μπορούν να τοποθετηθούν οριζόντια, κάθετα, σε κλίση ή και σε μορφή έλικα ώστε να συλλάβουν ηλιακό φως και οι σωληνώσεις έχουν διάμετρο 0.1 μέτρα ή και λιγότερο (Chisti, 2007). Η καλλιέργεια βρίσκεται σε συνεχή κίνηση με τη βοήθεια μιας αντλίας όπου εξασφαλίζει την ορθή ανάμιξη και ταυτόχρονα διοχετεύεται O_2 και CO_2 (Eriksen, 2008).



Εικόνα 5. Κλειστού τύπου σωληνοειδής καλλιέργεια μικροφυκών.

Μία άλλη απλούστερη μορφή κλειστού φωτοβιοαντιδραστήρα είναι οι φωτοβιοαντιδραστήρες με επίπεδες πλάκες. Τα υλικά κατασκευής τους αποτελούνται από διαφανή υλικά με σκοπό την όσο δυνατόν περισσότερη συλλογή φωτός. Η καλλιέργεια απλώνεται στις επίπεδες πλάκες που δίνει την δυνατότητα για καλύτερη απορρόφηση (Jin et al., 2020; Richmond et al., 2003; Samson and Leduy, 1985). Αυτού του είδους φωτοβιοαντιδραστήρες είναι κατάλληλοι για να χρησιμοποιηθούν ως μέσα παραγωγής μεγάλης ποσότητας βιομάζας, λόγω του χαμηλού κόστους αλλά και της υψηλής φωτοσυνθετικής αποτελεσματικότητας (Richmond, 2013).

Οι καλλιέργειες σε στήλες προσφέρουν την καλύτερη ανάμιξη, την υψηλότερη ογκομετρική μεταφορά μάζας και τους καλύτερους ελεγχόμενους παράγοντες ανάπτυξης (Eriksen, 2008). Το κόστος συντήρησης είναι χαμηλό και είναι εύκολα ελεγχόμενοι. Ο αερισμός της καλλιέργειας ξεκινάει από το κάτω μέρος μέσω αεριστήρων και φωτίζονται μέσω διαφανών τοιχωμάτων (Sánchez Mirón et al., 2002).

1.5 ΔΕΣΜΕΥΣΗ CO₂ ΑΠΟ ΑΠΑΕΡΙΑ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΩΝ

Το διοξείδιο του άνθρακα είναι απαραίτητο για την καλλιέργεια των μικροφυκών. Καθώς τα απαέρια των εργοστασίων είναι ένα μόνιμο πρόβλημα που δύσκολα θα αντιμετωπιστεί, λόγω τόσο του κόστους όσο και του τρόπου δέσμευσης αυτών. Η καλλιέργεια μικροφυκών μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λύση στη μείωση του CO₂. Οι υψηλότερες εκπομπές CO₂ προέρχονται από την καύση ορυκτών καυσίμων όπως τσιμέντο, σίδηρος και η παραγωγή χάλυβα αντιπροσωπεύει επίσης μεγάλα ποσοστά σε παγκόσμιες εκπομπές CO₂ (Aslam and Mughal, 2016). Ενώ αυτά αντιπροσωπεύουν τις υψηλές εκπομπές CO₂, τα μικροφύκη μπορούν επίσης να καλλιεργηθούν με καυσαέρια που εκπέμπονται από πολλές άλλες βιομηχανίες που εκπέμπουν σημαντικές ποσότητες CO₂ συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής πετροχημικών προϊόντων, ζάχαρης, ελαστικά, μαύρο άνθρακα, αλουμίνιο, χαρτί, ανόργανα χημικά, λιπάσματα, καθώς και σε ζυθοποιεία και εξόρυξη (Chae et al., 2006). Τα καυσαέρια ορυκτών καυσίμων των σταθμών ηλεκτροπαραγωγής (Εικόνα 6, 6) περιέχουν συνήθως διαφορετικά επίπεδα CO₂, CO, NO_x, SO_x, N₂, H₂O καθώς και περίσσεια O₂ που δεν χρησιμοποιήθηκε στην καύση. Τα επίπεδα CO₂ ποικίλλουν ανάλογα με το καύσιμο που καίγεται. Για μια τουρμπίνα συνδυασμένου κύκλου (CCGT) CO₂, η συγκέντρωση στα καυσαέρια είναι περίπου 3-4%, ενώ το 13-14% είναι κοινό για ένα εργοστάσιο ηλεκτροπαραγωγής με καύση άνθρακα και έως 25% για τα καυσαέρια από την παραγωγή τσιμέντου (Alie et al., 2005). Το αέριο CO₂ υψηλής καθαρότητας δεν απαιτείται για την ανάπτυξη πολλών στελεχών των μικροφυκών, γεγονός που μειώνει το κόστος της προεπεξεργασίας των καυσαερίων (Olaizola, 2003).



Εικόνα 6. Ατμοηλεκτρικό εργοστάσιο παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας Κερατέας-Λαυρίου.



Εικόνα 7. Μονάδα καύσης φυσικού αερίου στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου.

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι αυξημένα επίπεδα CO₂ στο ρεύμα αέρα αυξάνει την παραγωγικότητα σε πολλά από τα στελέχη μικροφυκών (Wang et al., 2008). Ωστόσο, σε υψηλά επίπεδα CO₂ (πάνω από 20% για πολλά στελέχη) η παραγωγικότητα της βιομάζας μειώνεται και σε ορισμένες περιπτώσεις σταματά, όμως εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από την κυτταρική πυκνότητα της καλλιέργειας καθώς και το pH της. Ορισμένα στελέχη όπως το *Nannochloropsis oculata* αναπτύσσονται πολύ πιο αποτελεσματικά σε 2% CO₂ από ότι στον αέρα, αλλά η πάνω από 5% αύξηση CO₂ είναι κατασταλτική (Hsueh et al., 2007). Μπορεί να υποθεθεί ότι απαιτούνται περίπου 2 τόνοι CO₂ για να παραχθεί 1 τόνος βιομάζα φυκών. Σε μια μελέτη του (Chiu et al., 2008) η *Chlorella* sp. αποδείχθηκε ότι έχει υψηλότερη δυνατότητα απομάκρυνσης CO₂ αλλά χαμηλότερη παραγωγικότητα σε χαμηλές συγκεντρώσεις CO₂. Σε ψηλότερες συγκεντρώσεις CO₂ καταναλώθηκε περισσότερος άνθρακας και η παραγωγικότητα της βιομάζας ήταν μεγαλύτερη, ωστόσο η αποτελεσματικότητα αφαίρεσης μειώθηκε λόγω των κυττάρων των φυκών που χρησιμοποιούν τον άφθονο άνθρακα για μεταβολική δραστηριότητα παρά για κατασκευή κυτταρικών οργανιδίων (Chiu et al., 2009). Το βέλτιστο επίπεδο κατανάλωσης του άνθρακα εμφανίστηκε σε 1% CO₂ παρά σε άλλα πειράματα τα οποία παρουσιάζουν καλούς ρυθμούς ανάπτυξης σε υψηλότερες συγκεντρώσεις CO₂. Συνολικά η αντοχή των μικροφυκών σε CO₂ εξαρτάται από την πυκνότητα των κυττάρων, το pH, τα θρεπτικά συστατικά, τη φωτεινότητα και το είδος του μικροφύκου. Τα υψηλά επίπεδα CO₂ (30 έως 50%) έχει αποδειχθεί ότι ευνοούν τη συσσώρευση ολικών λιπιδίων και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων σε ορισμένα μικροφύκη (Chiu et al., 2008; Tang et al., 2011). Αυτή η αύξηση σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έχει εξηγηθεί από τη σχετική μείωση της συγκέντρωσης οξυγόνου που μπορεί επηρεάζουν τον ενζυματικό αποκορεσμό (Vargas et al., 2002).

1.6 ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΑΠΟ ΤΟ ΥΓΡΟ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

Η μέθοδος η οποία επιλέγει ο κάθε ερευνητής για να πραγματοποιήσει την συγκομιδή της βιομάζας διαφέρει ανάλογα με τα χαρακτηριστικά της ποικιλίας μικροφυκών που ερευνεί. Το μέγεθος, η πυκνότητα και τα προϊόντα που επικεντρώνεται η κάθε ποικιλία είναι μερικά χαρακτηριστικά όπου ο κάθε ερευνητής παρατηρεί για να επιλέξει τον τρόπο συγκομιδής (Olaizola, 2003). Γενικά, η συγκομιδή χωρίζεται σε δύο βήματα, τη μαζική συγκομιδή και την πάχυνση.

Η μαζική συγκομιδή έχει στόχο το διαχωρισμό της βιομάζας από το συνολικό εναιώρημα της καλλιέργειας. Οι συντελεστές συγκέντρωσης για αυτή τη λειτουργία είναι γενικά 100-800 φορές για να φτάσουν το 2-7% της συνολικής στερεάς ύλης. Αυτό θα εξαρτηθεί από την αρχική συγκέντρωση βιομάζας και τις χρησιμοποιούμενες τεχνολογίες, συμπεριλαμβανομένης της κροκίδωσης, της επίπλευσης ή της καθίζησης με βαρύτητα.

Η πάχυνση έχει σκοπό να συμπυκνωθεί ο πολτός μέσω τεχνικών όπως η φυγοκέντριση, η διήθηση και η συσσωμάτωση με υπερήχους, ως εκ τούτου είναι γενικά ένα πιο ενεργοβόρο βήμα από τη μαζική συγκομιδή.

Μία μέθοδος συγκομιδής της βιομάζας είναι η κροκίδωση και η συσσωμάτωση με υπερήχους. Αυτό είναι το πρώτο στάδιο στη διαδικασία μαζικής συλλογής βιομάζας που προορίζεται για τη συγκέντρωση των κυττάρων των μικροφυκών προκειμένου να αυξηθεί το αποτελεσματικό μέγεθος των «σωματιδίων». Η κροκίδωση είναι ένα προπαρασκευαστικό βήμα πριν από άλλες μεθόδους συγκομιδής, όπως διήθηση, επίπλευση ή καθίζηση με βαρύτητα. Δεδομένου ότι τα κύτταρα μικροφυκών φέρουν αρνητικό φορτίο που αποτρέπει τη φυσική συσσωμάτωση των κυττάρων σε αιώρηση, η προσθήκη κροκιδωτικών όπως πολυσθενών κατιόντων και κατιονικών πολυμερών εξουδετερώνει ή μειώνει το αρνητικό φορτίο. Μπορεί επίσης να συνδέσει φυσικά ένα ή περισσότερα σωματίδια μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται γεφύρωση, για να διευκολυνθεί η συσσωμάτωση. Τα άλατα πολυσθενών μετάλλων, όπως ο χλωριούχος σίδηρος, το θειικό αργίλιο και ο θειικός σίδηρος είναι κατάλληλα κροκιδωτικά (Molina-Grima et al., 2003). Έχουν δοκιμαστεί αρκετές μέθοδοι κροκίδωσης με απώτερο σκοπό τη συλλογή βιομάζας. Μια διαδικασία συλλογής είναι η προσαρμογή του pH της καλλιέργειας μικροφυκών μεταξύ 10 και 10,6 χρησιμοποιώντας NaOH που ακολουθήθηκε από προσθήκη μη ιοντικού πολυμερούς Magnafloc LT-25. Το κροκίδωμα συλλέχθηκε με σιφώνιο από την επιφάνεια του νερού μετά από μια περίοδο καθίζησης, και στη συνέχεια εξουδετερώθηκε για να δώσει μια τελική συγκέντρωση βιομάζας 6-7 g/L. Η διαδικασία εφαρμόστηκε με επιτυχία σε μια σειρά ειδών με αποτελεσματικότητα κροκίδωσης >80% (Knuckey et al., 2006). Σε άλλη μία διαδικασία χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς η Chitosan (Χιτοζάνη) ως βιολογικό κροκιδωτικό. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου ήταν πολύ ευαίσθητη στο pH, καταγράφοντας μέγιστη κροκίδωση σε pH=7,0 για τα είδη του γλυκού νερού και χαμηλότερη για τα θαλάσσια είδη. Το υπολειπόμενο νερό θα μπορούσε να επαναχρησιμοποιηθεί για την παραγωγή καινούριων καλλιεργειών μικροφυκών (Divakaran and Pillai, 2002).

Η ήπια συσσωμάτωση που ακολουθείται από ενισχυμένη καθίζηση μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη συλλογή βιομάζας μικροφυκών. Μια έρευνα χρησιμοποίησε με επιτυχία τον υπέρηχο για να βελτιστοποιήσει την αποτελεσματικότητα της συσώρευσης και τον παράγοντα συγκέντρωσης. Επιτεύχθηκε απόδοση διαχωρισμού 92% και με συντελεστή συγκέντρωσης 20 φορές μεγαλύτερο (ο παράγοντας με τον οποίο έχει συμπυκνωθεί το αρχικό υγρό μείγμα). Τα κύρια πλεονεκτήματα της συγκομιδής με υπερήχους είναι ότι μπορεί να λειτουργήσει συνεχώς χωρίς να προκαλείται διατμητική τάση στη βιομάζα, η οποία θα μπορούσε να καταστρέψει δυνητικά πολύτιμους μεταβολίτες, και είναι μια τεχνική μη ρύπανσης (Bosma et al., 2003). Οι επιτυχημένες εφαρμογές στον ιατρικό τομέα παρέχουν τη βάση για περαιτέρω έρευνες σχετικά με πιθανές εφαρμογές της συλλογής βιομάζας μικροφυκών (Otto et al., 2001).

Άλλη μία μέθοδος είναι η συγκομιδή μέσω επίπλευσης. Οι μέθοδοι επίπλευσης βασίζονται στην παγίδευση κυττάρων μικροφυκών χρησιμοποιώντας διάσπαρτες μικρές φυσαλίδες αέρα και επομένως, σε αντίθεση με την κροκίδωση, δεν απαιτείται προσθήκη χημικών ουσιών (Wang et al., 2008). Ορισμένα στελέχη επιπλέουν φυσικά στην επιφάνεια του νερού καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα σε λιπίδια των μικροφυκών. Αν και η επίπλευση έχει αναφερθεί ως πιθανή μέθοδος συγκομιδής, υπάρχουν πολύ περιορισμένα στοιχεία για την τεχνική και την οικονομική βιωσιμότητά της (Bruton et al., 2009).

Ακόμη μία μέθοδος συγκομιδής είναι η βαρύτητα και καθίζηση με φυγοκέντρωση. Οι μέθοδοι βαρύτητας και φυγοκεντρικής καθίζησης βασίζονται στο νόμο του Stoke, δηλαδή τα χαρακτηριστικά καθίζησης των αιωρούμενων στερεών καθορίζονται από την πυκνότητα και την ακτίνα των κυττάρων των μικροφυκών (ακτίνα Stoke) και την ταχύτητα καθίζησης (Schenk et al., 2008). Η καθίζηση με βαρύτητα είναι η πιο κοινή τεχνική συλλογής για τη βιομάζα μικροφυκών στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων λόγω των μεγάλων όγκων που επεξεργάζονται και της χαμηλής αξίας της παραγόμενης βιομάζας. Ωστόσο, η μέθοδος είναι κατάλληλη μόνο για μεγάλα (περίπου > 70 μm) μικροφύκη όπως η *Spirulina* (Muñoz and Guieysse, 2006; Nurdogan and Oswald, 1996).

1.7 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΦΥΔΑΤΩΣΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Ο πολτός βιομάζας που συλλέγεται (συνήθως περιεκτικότητα σε ξηρά στερεά 5-15%) είναι ευπαθής και πρέπει να υποβληθεί σε ταχεία επεξεργασία μετά τη συγκομιδή. Η αφυδάτωση ή η ξήρανση χρησιμοποιείται συνήθως για την επέκταση της βιωσιμότητας ανάλογα με το τελικό προϊόν που απαιτείται. Οι μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί περιλαμβάνουν ξήρανση στον ήλιο, ξήρανση σε χώρο χαμηλής πίεσης, ξήρανση με ψεκασμό, ξήρανση με τύμπανο, ξήρανση σε ρευστοποιημένη κλίση, ξήρανση με κατάψυξη και ξήρανση με τεχνολογία Refractance Window (Brennan and Owende, 2010; Prakash et al., 1997). Το Refractance Window είναι μια συνεχή διαδικασία χαμηλής θερμοκρασίας/μικρού χρόνου για να στεγνώσει ευαίσθητα προϊόντα. Η ξήρανση στον ήλιο είναι η φθηνότερη μέθοδος αφυδάτωσης, αλλά τα κύρια μειονεκτήματα περιλαμβάνουν μεγάλους χρόνους ξήρανσης, την απαίτηση για μεγάλες επιφάνειες και τον κίνδυνο απώλειας υλικού. Η ξήρανση με ψεκασμό χρησιμοποιείται συνήθως για την εκχύλιση προϊόντων υψηλής αξίας, αλλά είναι σχετικά ακριβή και μπορεί να προκαλέσει σημαντική αλλοίωση ορισμένων χρωστικών ουσιών των μικροφυκών (Desmorieux and Decaen, 2005). Η λυοφιλίωση (freeze drying) είναι εξίσου ακριβή, ειδικά για εργασίες μεγάλης κλίμακας, αλλά διευκολύνει την εξαγωγή των ελαίων. Τα διακυτταρικά στοιχεία όπως τα έλαια είναι δύσκολο να εξαχθούν από την υγρή βιομάζα με διαλύτες χωρίς διαταραχή των κυττάρων, αλλά εξαγονται πιο εύκολα από τη λυοφιλιωμένη βιομάζα (Molina-Grima et al., 2003; Nindo and Tang, 2007).

1.8 ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η διπλωματική εργασία παρουσιάζει μια τεχνολογία μείωσης CO₂ και παραγωγής ενός αξιοποιήσιμου προϊόντος. Μια πιλοτική εγκατάσταση καλλιέργειας μικροφυκών *Stichococcus* sp. τοποθετήθηκε στο εργοστάσιο ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου, όπου η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε με παραλλαγές με σκοπό τη σύγκρισή των αποτελεσμάτων βιομάζας και βιο-προϊόντων από τη δέσμευση CO₂ παραγόμενο από την καύση φυσικού αερίου. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μια τεχνοοικονομική ανάλυση σε βιομηχανική κλίμακα που προσομοιάζει μια εγκατάσταση καλλιέργειας η οποία διοχετεύεται με σημαντική παροχή απαερίων από το εργοστάσιο ηλεκτρικής ενέργειας.

Η προετοιμασία του πειράματος, που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο του Πολυτεχνείου της Κρήτης, είναι η καλλιέργεια της αρχικής ποσότητας μικροφυκών καθώς και η παρασκευή του τεχνητού θαλασσινού νερού (θρεπτικό υλικό) που χρησιμοποιήθηκε ως το μέσο της καλλιέργειας. Στην συνέχεια, κατασκευάστηκε η πειραματική διάταξη στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου που αποτελείται από τους φωτοβιοαντιδραστήρες οι οποίοι συνδέθηκαν με τη ροή απαερίων του εργοστασίου. Οι τρόποι καλλιέργειας υπάγονται στην καλλιέργεια με σταθερό φωτισμό, με διακεκομμένο και στην καλλιέργεια με πηνία αζώτου. Αυτές παρακολουθούνταν με διάφορα όργανα μετρήσεων για την ορθή ανάπτυξή τους και στο τέλος συλλέχθηκε η βιομάζα που παράχθηκε. Τέλος, στο εργαστήριο του Πολυτεχνείου Κρήτης αναλύθηκαν τα χαρακτηριστικά της βιομάζας της κάθε καλλιέργειας.

2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΜΕ ΑΠΑΕΡΙΑ ΕΡΓΟΣΤΑΣΙΟΥ ΗΛΕΚΤΡΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Η καλλιέργεια ακινητοποιημένων μικροφυκών πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη μείωση των σταδίων καλλιέργειας μικροφυκών, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του κόστους καλλιέργειας. Αυτό προκύπτει καθώς τα μικροφύκη αναπτύσσονται σε συγκεκριμένο σημείο του φωτοβιοαντιδραστήρα και όχι υπό αιώρηση. Επομένως, η ανάκτηση της βιομάζας μπορεί να πραγματοποιηθεί με μεγαλύτερη ευκολία επεξεργάζοντας μόνο ένα μέρος του συνόλου της καλλιέργειας. Η μεθοδολογία της διπλωματικής εργασίας χωρίζεται στην προεπεξεργασία, τις μετρήσεις πεδίου και τις εργαστηριακές μετρήσεις. Η προεπεξεργασία περιλάμβανε την εργαστηριακή προετοιμασία του πειράματος (Εικόνα 8), δηλαδή την παρασκευή του θρεπτικού υλικού Bold's Basal Medium για την καλλιέργεια του *Stichococcus* sp., καθώς και την αρχική ποσότητα καλλιέργειας για την εκτέλεση των πειραμάτων πεδίου. Οι μετρήσεις πεδίου έλαβαν μέρος στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου κατά την καλλιέργεια των μικροφυκών, συγκεκριμένα παρατηρήθηκαν οι παράμετροι της θερμοκρασίας, pH, CO₂ και η κατανάλωση ρεύματος. Τέλος, οι εργαστηριακές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο Πολυτεχνείο Κρήτης και καταμερίζονται στα λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και τις χρωστικές ουσίες.



Εικόνα 8. Αρχική ποσότητα καλλιέργειας μικροφυκών στο εργαστήριο του Πολυτεχνείου Κρήτης.

2.1.1 Σύσταση θρεπτικού υλικού καλλιέργειας

Υλικά παρασκευής θρεπτικού υλικού Bold's Basal Medium (BBM)

- Θρεπτικά άλατα (NaNO_3 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Βιταμίνες (Thiamine HCl, Biotin, Cyanocobalamin)
- Ιχνοστοιχεία ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
- Απιονισμένο νερό
- Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων ($\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, με pH = 8,0)

Η διαδικασία παραγωγής του θρεπτικού υλικού βασίστηκε στην αναλογία των υλικών παρασκευής στο 1 L, με τη σύσταση του να αναγράφεται στον Πίνακα 1. Το 1 L αποτελούταν από 10 mL διαλύματος από κάθε άλας που προαναφέρθηκε καθώς και 35 g NaCl. Τέλος, το pH του διαλύματος ρυθμίστηκε στο 6,5 μέσω του ρυθμιστικού διαλύματος $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι το τελικό διάλυμα BBM, αποστειρώθηκε στους 121 °C για 21 min, προς αποφυγή ανάπτυξης ανεπιθύμητων μικροοργανισμών και στην συνέχεια προστέθηκαν οι βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία ως ενισχυτικά μικροφυκών.

Πίνακας 1. Θρεπτικά άλατα Bold's Basal medium.

Θρεπτικό άλας	Συγκέντρωση (g/L)
NaNO_3	0,75
K_2HPO_4	0.075
KH_2PO_4	0.175
MgSO_4	0.075
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.025
NaCl	35

Βιταμίνες	Συγκέντρωση (mg)
Thiamine HCl	0.2
Biotin	0.001
Cyanocobalamin	0.001

Ιχνοστοιχεία	Συγκέντρωση (mg)
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.00315
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0.00436
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.0098
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.0063
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.022

2.1.2 Πειραματική διάταξη

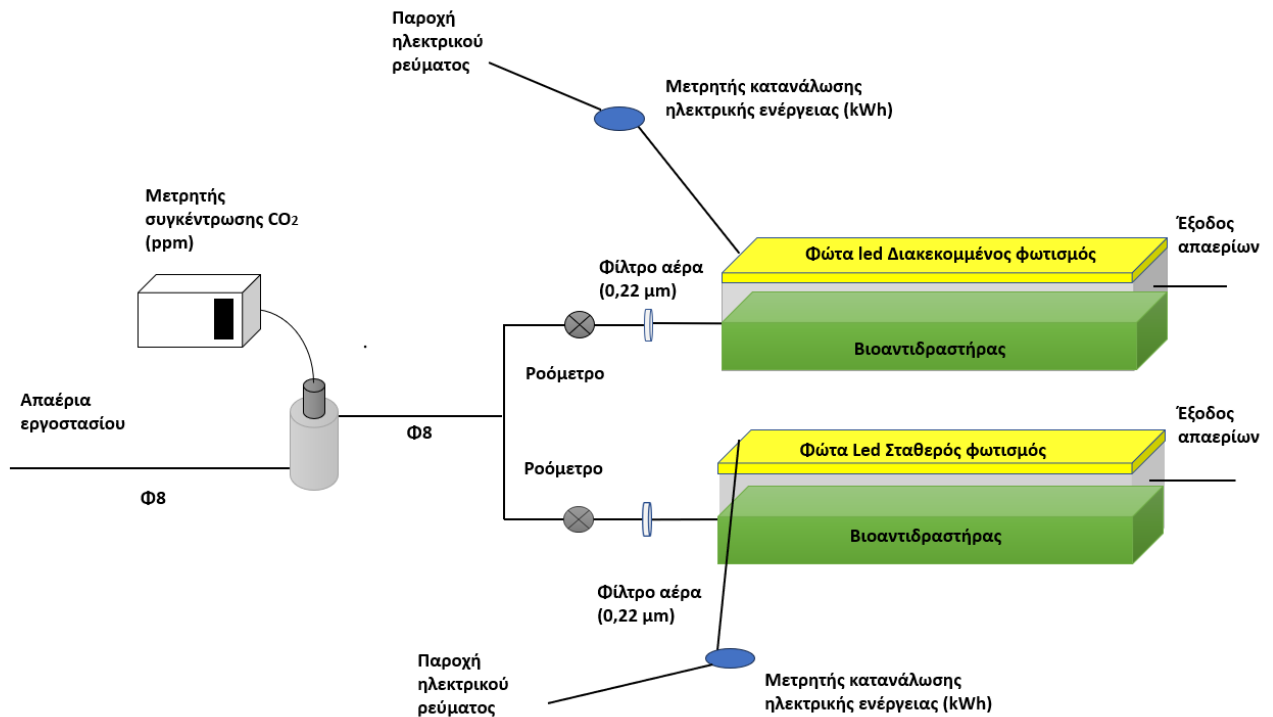
Η καλλιέργεια του στελέχους *Stichococcus sp.* στους φωτοβιοαντιδραστήρες έλαβε χώρα στον ατμοηλεκτρικό σταθμό (ΑΗΣ) Κερατέας-Λαυρίου της Δημόσιας Επιχείρησης Ηλεκτρισμού (ΔΕΗ), με σκοπό τη δέσμευση CO₂ από τα παραγόμενα απαέρια και τη μείωση των ρύπων. Αρχικά, στήθηκε η πειραματική διάταξη στον σταθμό. Για το σκοπό αυτό απαραίτητα ήταν τα παρακάτω υλικά.

Υλικά πειράματος

- Θρεπτικό υλικό BBM
- Βιοαντιδραστήρες (2)
- Φωτισμός LED
- Ροόμετρα παροχής έως 1 L/min (2)
- Αρχική ποσότητα καλλιέργειας
- Φίλτρα αποστείρωσης αέρα 0,2 μm (2)
- Γυαλιά αμβρολής φωτοβιοαντιδραστήρων
- Όργανο μέτρησης θερμοκρασίας και φωτεινότητας (HOBO MX2202)
- Όργανο μέτρησης pH (Hach HQ40D)
- Όργανο μέτρησης CO₂ (ιδιοκατασκευή με Arduino microcontroller)
- Όργανα μέτρησης κιλοβατώρας (OR-WAT-419) (2)
- Περισταλτική αντλία (MCP V5.12)
- Ποτήρι ζέσεως 2 L
- Απιονισμένο νερό
- Πλαστικός σωλήνας 6 mm
- Δοχεία Boro του 1 L (2)
- Αιθανόλη (για απολύμανση)
- Ξέστρο βιομάζας μικροφυκών

Σημείωση: Σε παρένθεση βρίσκονται οι ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν.

Αρχικά, έγινε εγκατάσταση των βιοαντιδραστήρων σε οικίσκο στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχεδιάγραμμα (Διάγραμμα). Πραγματοποιήθηκαν τρεις συνθήκες ανάπτυξης του *Stichococcus*, οι οποίες αποτυπώνονται στον Πίνακα 3. Οι διαστάσεις των φωτοβιοαντιδραστήρων ήταν 150 x 40 cm, όπου στον πυθμένα τους τοποθετήθηκαν 4 φύλλα γυαλιού αμμοβολής στον καθένα. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες ήταν κατασκευασμένοι από υλικό Plexiglass. Η παροχή των καυσαερίων συνδέθηκε με το μετρητή CO₂, στη συνέχεια η παροχή χωρίστηκε σε δύο σκέλη και συνδέθηκε με τα ροόμετρα του 1 L/min για κάθε φωτοβιοαντιδραστήρα. Στον κάθε φωτοβιοαντιδραστήρα προστέθηκαν οι ποσότητες θρεπτικού υλικού BBM, η αρχική ποσότητα καλλιέργειας καθώς και τα διαλύματα βιταμινών και ιχνοστοιχείων για την επίτευξη τελικού όγκου καλλιέργειας 15 L. Έπειτα τοποθετήθηκε το όργανο μέτρησης θερμοκρασίας-φωτεινότητας στον πυθμένα του φωτοβιοαντιδραστήρα, για την καταγραφή ωριαίων μετρήσεων. Τέλος, στο σύστημα των φωτοβιοαντιδραστήρων τοποθετήθηκαν οι φωτισμοί LED και ρυθμίστηκε η φωτεινότητα του καθενός. Καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν ανά 2 μέρες ήταν για την καταγραφή θερμοκρασίας, pH, CO₂ και κατανάλωσης ρεύματος του συστήματος φωτισμού.



Διάγραμμα 2. Σχεδιάγραμμα πειραματικής διάταξης στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου.

2.1.3 Συνθήκες ανάπτυξης

Πίνακας 2. Συνθήκες ανάπτυξης *Stichococcus* sp. στον ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου.

Παροχή καυσαερίων (L/min)	Ένταση φωτεινότητας (lux)	Τύπος φωτισμού	Συγκέντρωση NaNO ₃ (g/L)	Πενία αζώτου (d)
0,6	6.600	Σταθερός	0,75	0
0,6	6.600	Διακεκομμένος	0,75	0
0,6	3.300	Σταθερός	0,75	3

Η παροχή καυσαερίων και στις τρεις συνθήκες ήταν 0,6 L/min (Εικόνα 9). Η ένταση της φωτεινότητας ρυθμίστηκε στα 6.600 lux για τις πρώτες δύο συνθήκες καλλιέργειας, ενώ για τη μεγιστοποίηση των λιπιδίων η φωτεινότητα ρυθμίστηκε στα 3.300 lux. Το προφίλ φωτισμού για όλες τις συνθήκες ήταν 16:8 h (Ημέρα:Σκότος). Οι δύο πρώτες συνθήκες καλλιέργειας είναι παρόμοιες με τη μόνη διαφορά πως στον ένα φωτοβιοαντιδραστήρα χρησιμοποιήθηκε σταθερός φωτισμός, ενώ στον άλλο διακεκομμένος. Το σύστημα LED που χρησιμοποιήθηκε στο διακεκομμένο φωτισμό ρυθμίστηκε να ανοιγοκλείνει την παροχή φωτός σε συχνότητα 1.000 Hz. Ο διακεκομμένος φωτισμός χρησιμοποιήθηκε με σκοπό τη σύγκριση του με το σταθερό για την επίδραση του πάνω στα μικροφύκη. Επίσης, έγινε σύγκριση της ενεργειακής κατανάλωσης και απόδοσης βιομάζας των δύο συστημάτων. Η ενεργειακή κατανάλωση μετρήθηκε με τη χρήση καταγραφικού οργάνου μέτρησης ηλεκτρικής ενέργειας (σε kWh). Η συγκέντρωση NaNO₃ που τοποθετήθηκε στο θρεπτικό υλικό ήταν 0,75 g/L και για τις τρεις συνθήκες. Η τελευταία συνθήκη καλλιέργειας πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη μεγιστοποίηση των λιπιδίων και η μεθοδολογία της διαφέρει ελάχιστα από τις δυο άλλες συνθήκες ως προς τη καλλιέργεια του *Stichococcus*, καθώς πραγματοποιήθηκε πενία αζώτου 3 μέρες πριν την ολοκλήρωση της καλλιέργειας. Η επιθυμητή θερμοκρασία καλλιέργειας ήταν στους 25 °C και το επιθυμητό εύρος pH ήταν στο διάστημα 3,5-8,5 (Olivieri et al., 2011).

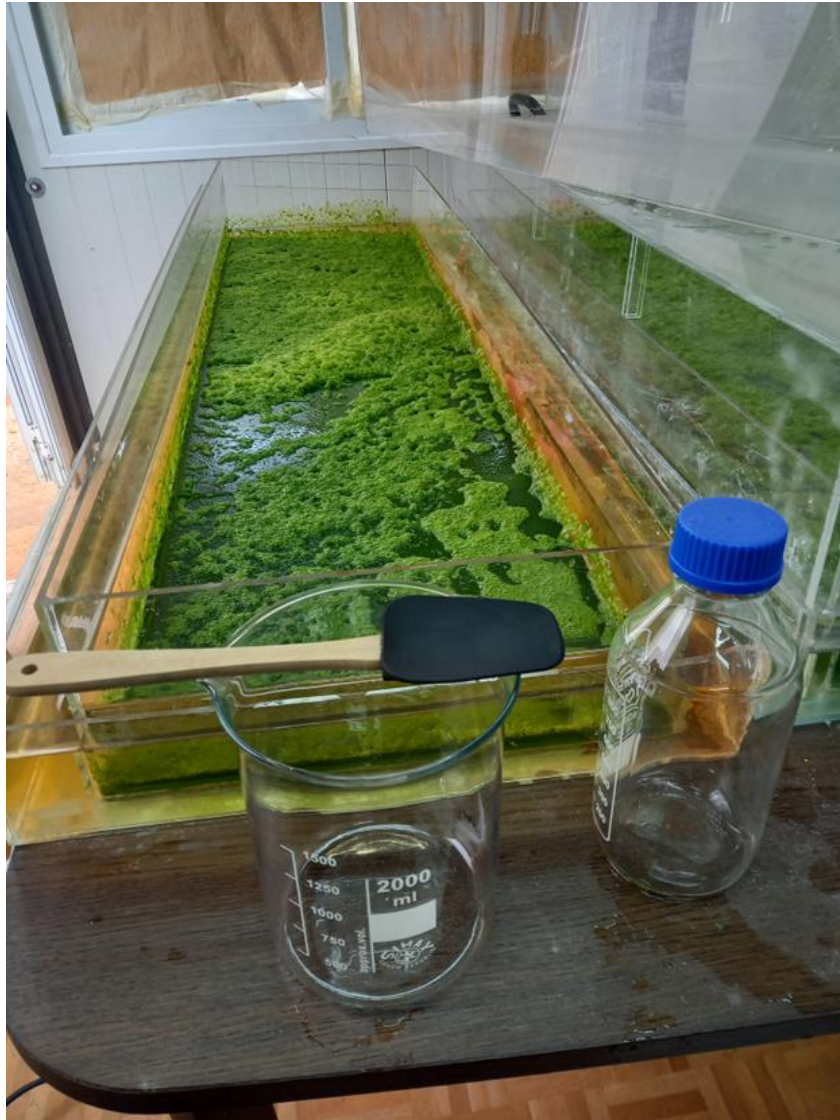


Εικόνα 9. Ροόμετρο παροχής καυσαερίων ρυθμισμένο στα 0,6 L/min.

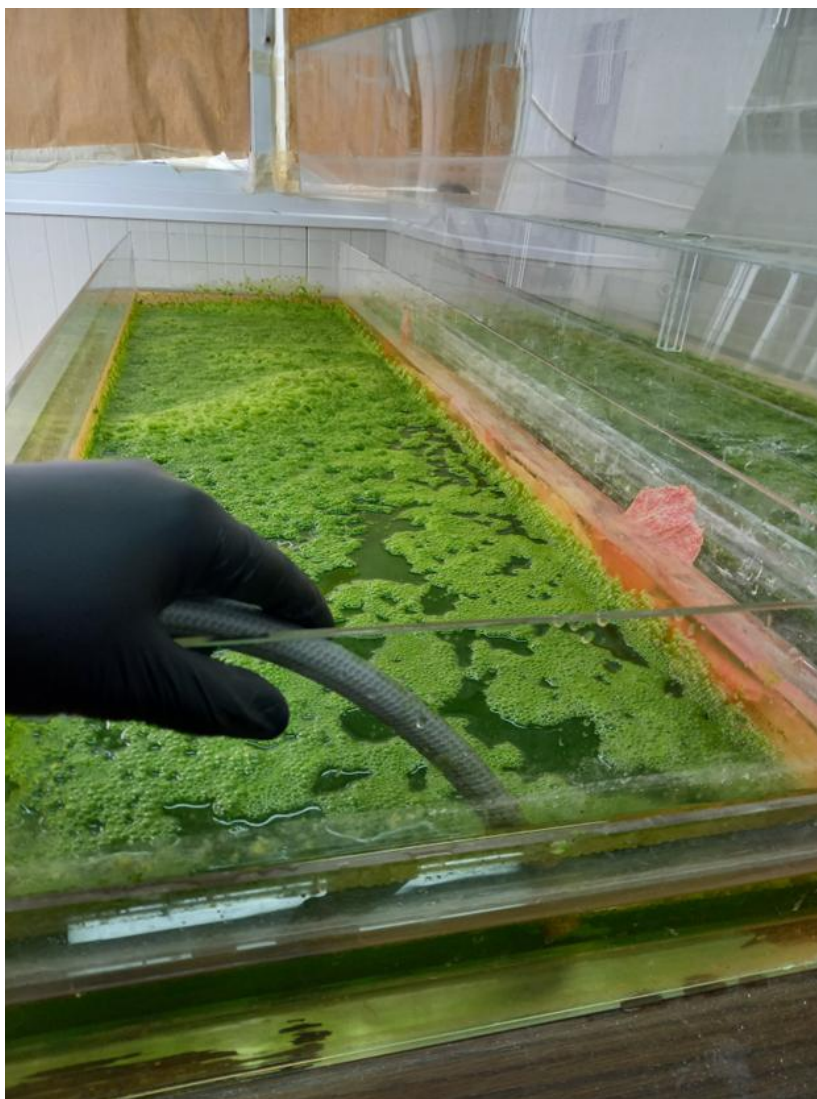
2.1.4 Διαχωρισμός βιομάζας από το υγρό καλλιέργειας

Η ανάπτυξη των μικροφυκών διήρκησε 26 ημέρες και έπειτα πραγματοποιήθηκε συλλογή βιομάζας με σκοπό την περεταίρω ανάλυση της. Η συνθήκη καλλιέργειας με σκοπό τη μεγιστοποίηση των λιπιδίων διήρκησε και αυτή 26 μέρες με τη διαφορά πως τρεις ημέρες πριν τη συλλογή βιομάζας από τα γυαλιά αμμοβολής, αφαιρέθηκε το υπερκείμενο υγρό και προστέθηκε νέο θρεπτικό υλικό BBM χωρίς την προσθήκη NaNO_3 για την επίτευξη πενίας αζώτου. Τα γυαλιά αμμοβολής χρησιμοποιήθηκαν καθώς πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια ακινητοποιημένων κυττάρων, με σκοπό την προσκόλληση των μικροφυκών στην τραχιά επιφάνεια των γυαλιών αμμοβολής (Εικόνα 10). Στη συνέχεια, ακολουθήθηκε ίδια μεθοδολογία για όλες τις συνθήκες καλλιέργειας, το υπερκείμενο υγρό αντλήθηκε με την βοήθεια μιας περισταλτικής αντλίας (Εικόνα 11) και συλλέχθηκε σε δοχεία με σκοπό την περεταίρω ανάλυση του στο εργαστήριο. Η προσκολλημένη βιομάζα στα γυαλιά αμμοβολής αφαιρέθηκε μέσω ξέστρου, τοποθετήθηκε αρχικά σε ένα ποτήρι ζέσεως ώστε να συλλεχθεί σε ένα μπουκάλι Βογο για την ασφαλή μεταφορά στο εργαστήριο. Η απομάκρυνση του νερού της βιομάζας ήταν απαραίτητη και πραγματοποιήθηκε με φυγοκέντρηση στις 4.000 rpm για 10 min. Στο

υπερκείμενο υγρό υπήρχε αιωρούμενη βιομάζα και η διαδικασία μέτρησης του βάρους της έγινε με διήθηση. Τρεις μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν για κάθε συνθήκη καλλιέργειας και ο μέσος όρος της βιομάζας στα φίλτρα χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της συνολικής αιωρούμενης βιομάζας του υπερκείμενου υγρού.



Εικόνα 10. Βιοφίλμ μικροφυκών στο γυαλί αμμοβολής.



Εικόνα 11. Ανάκτηση υπερκείμενου υγρού από τους φωτοβιοαντιδραστήρες.

2.1.5 Αφυδάτωση ανακτημένης βιομάζας

Η ξήρανση της βιομάζας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της λυοφιλίωσης-κρυοξήρανσης (Εικόνα 12). Σκοπός της αφυδάτωσης αυτής είναι ο υπολογισμός της ξηρής βιομάζας. Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε ονομάζεται Coolsafe της CANVAC. Η αφυδάτωση πραγματοποιήθηκε στους $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ με κενό αέρος και διήρκησε 3 μέρες για την ολοκλήρωση της. Σκοπός της ξήρανσης ήταν να μην επηρεαστούν τα κύτταρα από την ξήρανση σε κλίβανο και για να γίνει πιο εύχρηστη η βιομάζα στις μετρήσεις που ακολουθήθηκαν.



Εικόνα 12. Βιομάζα δειγμάτων μετά τη ξήρανση μέσω λυοφιλίωσης.

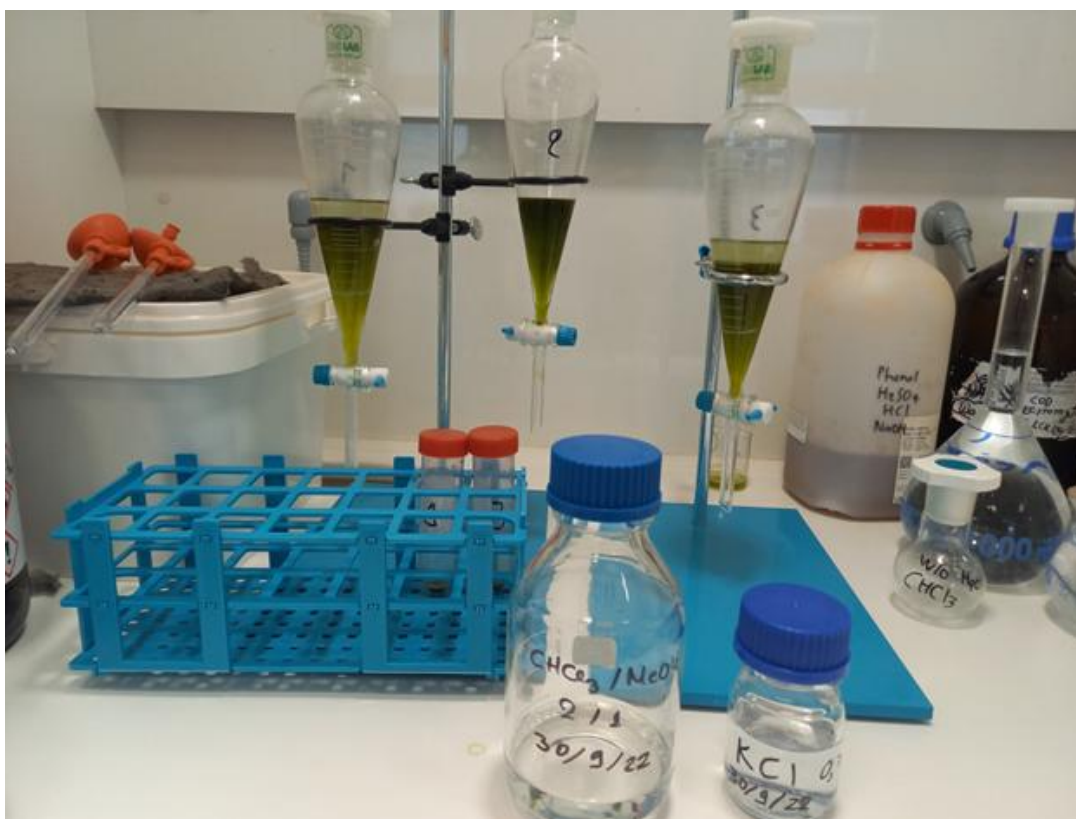
2.2 ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΙΟ-ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Η ανάλυση των βιο-προϊόντων στηρίχθηκε στα αντίστοιχα πρωτόκολλα των λιπιδίων, πρωτεϊνών, υδατανθράκων και χρωστικών ουσιών.

2.2.1 Λιπίδια

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε ήταν μια παραλλαγή της μεθόδου Folch (Folch et al., 1957). Τα βήματα του πρωτοκόλλου ξεκινάνε με τη ζύγιση της λυοφιλωμένης βιομάζας περί τα 100 mg και με τη μεταφορά τους σε σωληνάρια falcon των 50 mL. Στην συνέχεια προστέθηκαν 20 mL χλωροφορμίου:μεθανόλης με αναλογία 2:1 και πραγματοποιήθηκε ανάδευση με συσκευή vortex. Εφαρμόστηκαν υπέρηχοι για 10 min στο 50-60% της έντασης και με κύκλο λειτουργίας 0.6, με σκοπό τη διάσπαση των κυττάρων μικροφυκών. Αφού το διάλυμα φυγοκεντρίθηκε για 10 min με ταχύτητα περιστροφής 4.000 rpm, απομακρύνθηκε το υπερκείμενο υγρό όπου μεταφέρθηκε σε μια διαχωριστική χοάνη (των 100/250 mL). Στο falcon, όπου είχε παραμείνει το ίζημα μετά την απομάκρυνση του υπερκείμενου, προστέθηκαν ξανά 10-15 mL διαλύτη χλωροφορμίου:μεθανόλης και επαναλήφθηκαν τα προηγούμενα βήματα ως ότου το χρώμα του διαλύτη να είναι ανοιχτό πράσινο και να παραμένει ίδιο ώστε να ανακτηθούν όσα περισσότερα λιπίδια. Συλλέγοντας όλη την ποσότητα του υπερκείμενου υγρού στην διαχωριστική χοάνη, τοποθετήθηκε ποσότητα KCl (0.74%) ίση με την ποσότητα του διαλύτη x 0,2. Έπειτα, η ανακίνηση της χοάνης οδήγησε στον διαχωρισμό του διαλύματος σε 2 φάσεις οι οποίες συλλέχθηκαν σε διαφορετική κωνική φιάλη των 100 mL. Η κωνική φιάλη που περιείχε το χλωροφόρμιο με τα λιπίδια, επανατοποθετήθηκε στην διαχωριστική χοάνη ώστε να πραγματοποιηθεί 2^{ος} διαχωρισμός του δείγματος. Η κάτω φάση συλλέχθηκε σε κωνική φιάλη των 250 mL η οποία περιείχε Na₂SO₄ για την απομάκρυνση της υγρασίας. Η πάνω φάση της δεύτερης εκχύλισης τοποθετήθηκε στην κωνική φιάλη που βρισκόταν η αντίστοιχη φάση της 1^{ης}. Ολόκληρο το διάλυμα τοποθετήθηκε ξανά στη διαχωριστική χοάνη μαζί με KCl και επαναλαμβάνοντας τη διαδικασία, η κάτω φάση συλλέχθηκε στην κωνική των 250 mL όπου ήδη

βρισκόταν το χλωροφόρμιο με τα λιπίδια από τις προηγούμενες φάσεις. Οι κάτω φάσεις τοποθετήθηκαν σε κατάλληλη σφαιρική φιάλη όγκου ανάλογου με την ποσότητα των λιπιδίων (50mL, 100mL ή 250mL). Η σφαιρική φιάλη τοποθετήθηκε σε rotavaporator με θερμοκρασία υδατόλουτρο 58 °C και κενό -450 mbar. Σε κάθε ξηραμένη σφαιρική φιάλη τοποθετήθηκε λίγο χλωροφόρμιο και το υγρό μεταφέρθηκε σε ξηραμένα, προζυγισμένα φιαλίδια των 4 mL. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε θερμαντική πλάκα στους 58 °C και με ρεύμα αζώτου για την εξάτμιση του χλωροφορμίου. Τα 2 τελευταία βήματα επαναλήφθηκαν ως ότου απομακρύνθηκαν όλα τα λιπίδια από τη σφαιρική φιάλη. Για την καλύτερη ξήρανση των λιπιδίων, τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα υπό κενό για τουλάχιστον 2 ημέρες. Τέλος, κάθε φιαλίδιο ζυγίστηκε σε εργαστηριακό ζυγό ακριβείας για τον υπολογισμό των λιπιδίων.

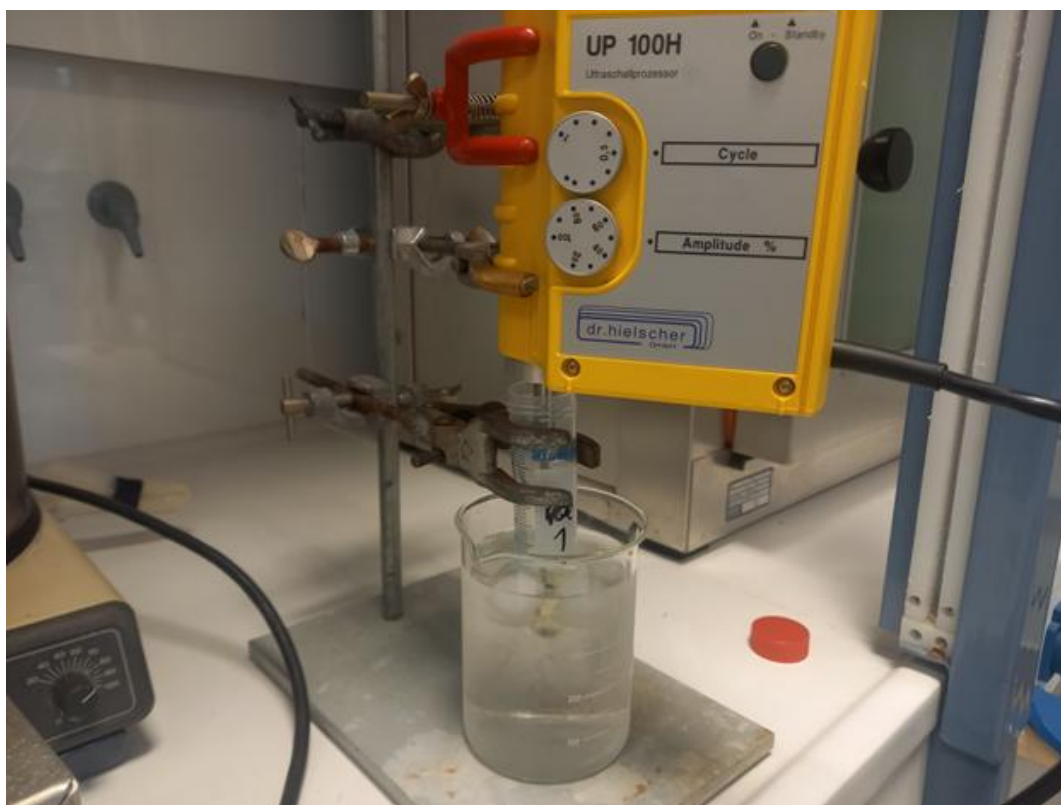


Εικόνα 13. Εκχύλιση λιπιδίων μικροφυκών σε διαχωριστικές χοάνες με τη μέθοδο Folch (1957).

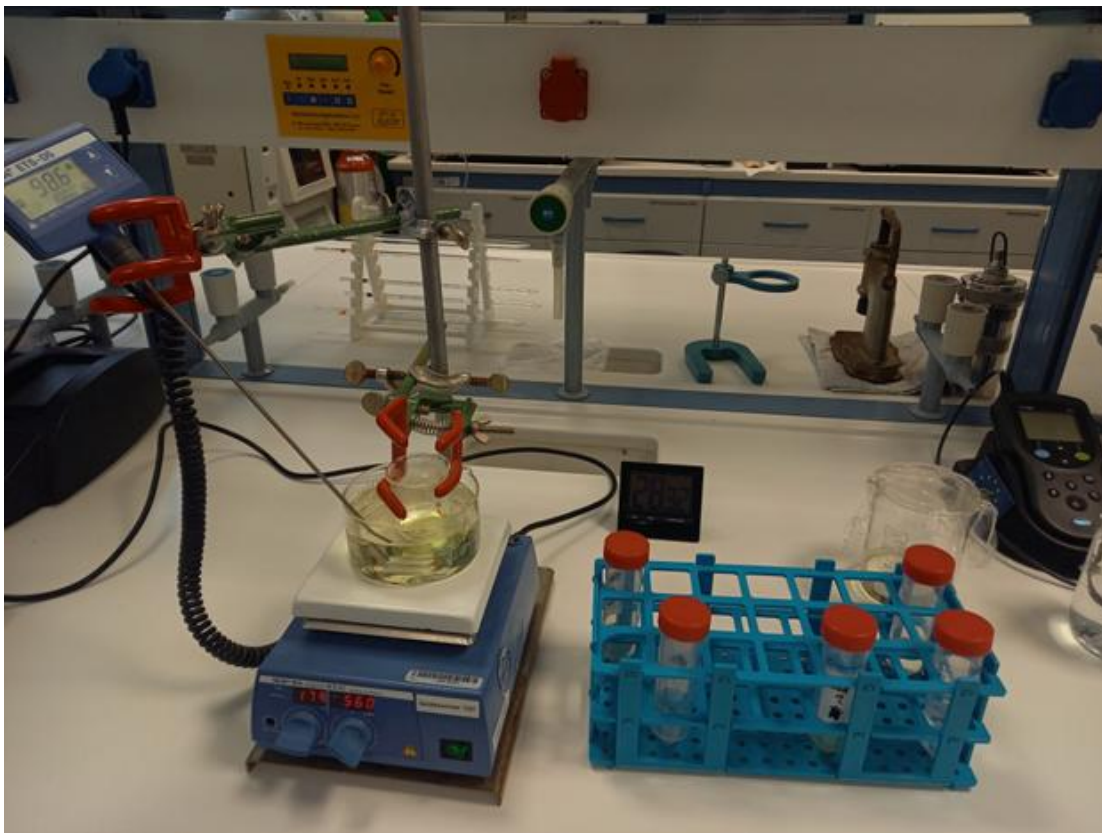
2.2.2 Πρωτεΐνες

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε ονομάζεται BCA Protein Assay Kit (Novagen™). Αρχικά παρασκευάστηκε διάλυμα 0,5 M NaOH με 5% v/v MeOH, το οποίο ονομάστηκε διάλυμα R1 και στο οποίο προστέθηκε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ & $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0,05 M με pH=7,4 σε αναλογία 1% v/v. Στη συνέχεια προστέθηκαν 3 mg λυοφιλιωμένης βιομάζας σε 10 mL του διαλύματος R1 και μέσω υπερήχων πραγματοποιήθηκε διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων (Εικόνα 14). Το όργανο των υπερήχων είχε άκρο διαμέτρου ½ in. και

ένταση 50% της μέγιστης ισχύος σε διακοπτόμενη λειτουργία συνολικής διάρκειας 10 min. Έπειτα προστέθηκαν 5 mL από το R1 έως ότου ο τελικός όγκος να γίνει 15 mL. Το αιώρημα μεταφέρθηκε σε ποτήρι ζέσεως και θερμάνθηκε στους 100 °C σε ελαιόλουτρο για 30 min υπό συνεχή ανάδευση στα 280 rpm (Εικόνα 15). Στη συνέχεια, το διάλυμα μεταφέρθηκε ξανά σε σωληνάριο falcon και τα διαρρηγμένα κύτταρα διαχωρίστηκαν από το διαλύτη που περιέχει τις διαλυμένες πρωτεΐνες με φυγοκέντριση για 10 min στα 4.000 rpm. Στο υπερκείμενο διάλυμα μετρήθηκαν οι πρωτεΐνες μέσω της αναλυτικής μεθόδου micro-BCA (Test tube assay). Η μέθοδος αυτή βαθμονομείται με χρήση ορού αλβουμίνης (Bovine serum albumin, BSA). Παρασκευάστηκαν 8 πρότυπα διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης BSA με εύρος 0,5-200 μg/mL. Ακόμη, παρασκευάστηκε διάλυμα μηδενικής περιεκτικότητας σε BSA που χρησιμεύει στη διόρθωση της αρχικής τιμής των πειραματικών μετρήσεων. Ως διαλύτης για τα πρότυπα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν 1% MeOH σε 0,1 NaOH με 0,534% v/v ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ & $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$).



Εικόνα 14. Συσσκευή παραγωγής υπερήχων (Hielscher UP100H).



Εικόνα 15. Ελαιόλουτρο σε θερμοκρασία 100 °C που χρησιμοποιήθηκε για τη θέρμανση δειγμάτων και τη ποσοτικοποίηση πρωτεϊνών από τη βιομάζα *Stichococcus* sp.

2.2.3 Υδατάνθρακες

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των υδατανθράκων στη βιομάζα που συλλέχθηκε ονομάζεται “Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates” (Nielsen, 2010) Αρχικά παρασκευάστηκαν δύο διαλύματα HCl με περιεκτικότητα 2,5 mol/L και NaOH με 2,5 mol/L, τα οποία είχαν τελικό 100 mL, έκαστος. Έπειτα προστέθηκαν 1,5 mg λυοφιλιωμένης βιομάζας σε 5 mL HCl που παρασκευάστηκε και το αιώρημα επωάστηκε σε κλίβανο στους 100 °C για 3 h. Στη συνέχεια προστέθηκαν 5 mL του διαλύματος NaOH με σκοπό την εξουδετέρωση του οξέος. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Phenol-Sulfuric Acid για την ποσοτικοποίηση της περιεκτικότητας υδατανθράκων μέσω της μέτρησης απορρόφησης του πειραματικών δειγμάτων στα 490 nm σε UV-Vis φασματοφωτόμετρο μέθοδος φαινόλης-θειικού οξέος ξεκίνησε κατασκευάζοντας 6 διαλύματα γλυκόζης (όπως φαίνονται στον

Πίνακας 3 που χρησιμοποιήθηκαν για τη βαθμονόμηση και στη συνέχεια υπολογίστηκε η περιεκτικότητα γλυκόζης στο δείγμα.

Πίνακας 3. Αραιώσεις πρότυπων διαλυμάτων γλυκόζης για τη δημιουργία καμπύλης βαθμονόμησης στο πρωτόκολλο Phenol-Sulfuric Acid μέτρησης υδατανθράκων.

Περιεκτικότητα γλυκόζης (mL)	Απιονισμένο νερό (mL)
0	2,0
0,2	1,8
0,4	1,6
0,6	1,4
0,8	1,2
1,0	1,0

2.2.4 Χρωστικές ουσίες

Για την ποσοτικοποίηση των χρωστικών ουσιών ζυγίστηκαν 5 mg λυοφιλιωμένης βιομάζας και προστέθηκαν σε αυτά 2 mL μεθανόλης (99,8%). Το αιώρημα αφέθηκε σε ηρεμία για 20-30 min. Επιπρόσθετα το αιώρημα φυγοκεντρίθηκε για 10 min στα 4.000 rpm. Στο φασματοφωτόμετρο μετρήθηκε η απορρόφηση του υπερκείμενου διαλύματος στα 665 και 652 nm. Κατά την μέτρηση γινόταν αραιώση 1:4, καθώς η συγκέντρωση των χρωστικών ήταν αρκετά υψηλή. Τέλος, με τις μετρήσεις που πάρθηκαν από το φασματοφωτόμετρο, καθώς και τις παρακάτω εξισώσεις υπολογίστηκαν η χλωροφύλλη-α, -β και η ολική χλωροφύλλη (Lichtenthaler, 1987).

$$Chl_a = (16,72 \times A_{665}) - (9,16 \times A_{652}) \frac{\mu g}{ml \text{ καλλιέργειας}}$$

Εξίσωση 4. Χλωροφύλλη-α.

$$Chl_b = (32,09 \times A_{665}) - (15,28 \times A_{652}) \frac{\mu g}{ml \text{ καλλιέργειας}}$$

Εξίσωση 5. Χλωροφύλλη-β.

$$Chl_{ολική} = Chl_a + Chl_b$$

Εξίσωση 6. Ολική χλωροφύλλη.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

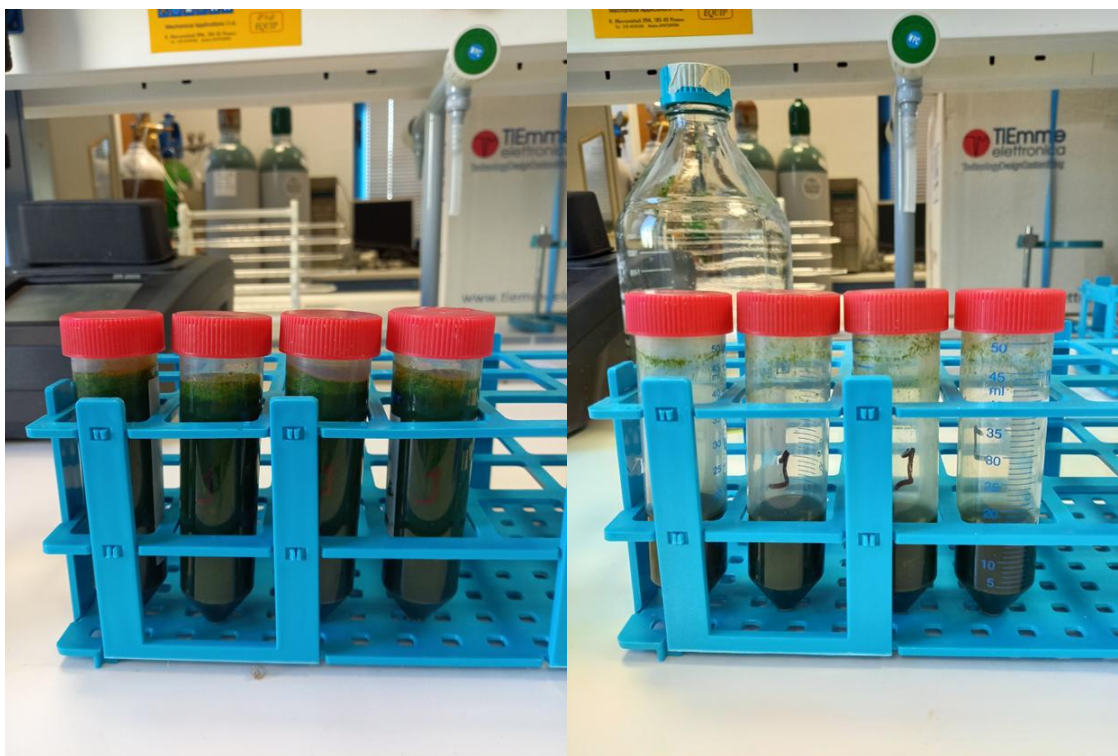
Τα αποτελέσματα της εργαστηριακής έρευνας ανάγονται στην παραγωγή της τελικής βιομάζας που συλλέχθηκε από τα γυαλιά αμμοβολής καθώς και από το υπερκείμενο υγρό αλλά και την παραγωγή των βιο-προϊόντων που μετρήθηκαν εργαστηριακά στο Πολυτεχνείο Κρήτης. Η βιομάζα του πειράματος που συλλέχθηκε θα υποστεί διάφορες μετρήσεις για την αξιοποίησή της καθώς και των βιο-προϊόντων που ενδέχεται να επιφέρει. Οι μετρήσεις αυτές ανάγονται στις πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια και χρωστικές ουσίες, καθώς και το βάρος της συνολικής βιομάζας και το pH.

3.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΡΗ-ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΟΥ ΡΕΥΜΑΤΟΣ

3.1.1 Παραγωγή Βιομάζας

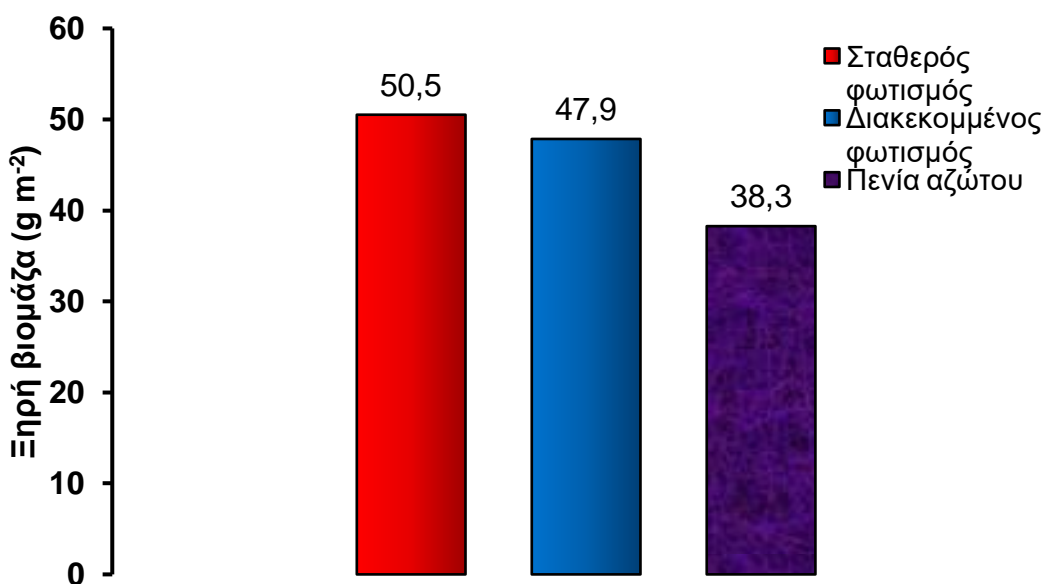
Ακίνητοποιημένη Βιομάζα

Για την επεξεργασία της προσκολλημένης βιομάζας από τα γυαλιά αμμοβολής, πραγματοποιήθηκε ξήρανση και έπειτα μετρήθηκε η βιομάζα των δειγμάτων.



Εικόνα 16. Βιομάζα δειγμάτων πριν την αφυδάτωση.

Στη συνέχεια, υπολογίστηκε το βάρος της ξηρής βιομάζας ανά τετραγωνικό μέτρο επιφάνειας γυαλιού αμμοβολής για τον σταθερό, τον διακεκομμένος φωτισμό και τη συνθήκη πενίας αζώτου. (**Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.**). Τα αποτελέσματα της ξηρής βιομάζας προερχόμενης από τα γυαλιά αμμοβολής, καταλήγουν πως η συνθήκη με τη μεγαλύτερη απόδοση βιομάζας είναι αυτή του σταθερού φωτισμού με τιμή 50,5 g/m². Ο διακεκομμένος φωτισμός με τιμή 47,9 g/m² παρουσιάζεται μεν λιγότερο αποδοτικός, αλλά συγκριτικά θα μπορούσε κανείς να αναφέρει πως απέχει μόνο 2,6 g/m² από τον σταθερό φωτισμό. Η τρίτη εκδοχή του πειράματος (πενία αζώτου) έχει εμφανώς χαμηλότερα αποτελέσματα από τις άλλες δυο συνθήκες με τιμή 38,3 g/m², με συμπέρασμα πως αν ο σκοπός της καλλιέργειας είναι η μέγιστη τιμή της βιομάζας αυτή η εκδοχή δεν είναι βέλτιστη. Σε μια άλλη ερευνητική εργασία όπου έχει χρησιμοποιηθεί φωτεινότητα παρόμοια με τις συνθήκες του σταθερού και του διακεκομμένου φωτισμού (100 PPFD=7000 lux), στην ίδια θερμοκρασία και παροχή CO₂ 1% (v/v), η ποσότητα βιομάζας υπολογίστηκε 26 g/m² για 6 μέρες καλλιέργειας (Wang et al., 2021). Η τελική βιομάζα στην ερευνητική αυτή φαίνεται πιο αποδοτική καθώς μόλις σε 6 ημέρες η ποσότητα της βιομάζας είναι η σχεδόν η μισή από ότι στην καλλιέργεια που μελετάται.



Διάγραμμα 3. Ξηρή βιομάζα των τριών συνθηκών καλλιέργειας (g/m²).

Βιομάζα στο υπερκείμενο υγρό

Η εύρεση της αιωρούμενης βιομάζας του υπερκείμενου υγρού από τους τρεις φωτοβιοαντιδραστές βρέθηκε μέσω διήθησης ενός μέρους του. Η διήθηση πραγματοποιήθηκε 3 φορές για κάθε συνθήκη σε δείγμα 30 mL δείγματος (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Μέση βιομάζα ανά λίτρο υπερκείμενου υγρού.

Συνθήκη καλλιέργειας	Μέση βιομάζα ανά λίτρο υπερκείμενου υγρού (g/L)
Σταθερός φωτισμός	0,08
Διακεκομμένος φωτισμός	0,04
Πενία αζώτου	0,03

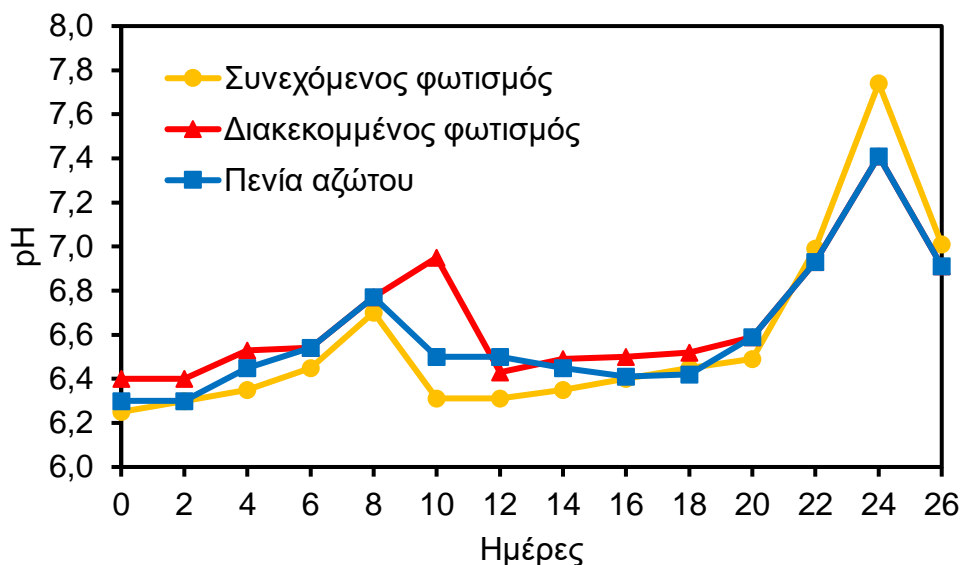
Η βιομάζα της καλλιέργειας από το υπερκείμενο υγρό στις τρεις συνθήκες ακολουθούν τις αναλογίες της βιομάζας από τα γυαλιά αμμοβολής (Εικόνα 17). Ο σταθερός φωτισμός έχει τη μεγαλύτερη τιμή με 0,08 g/L, ενώ ο διακεκομμένος έχει 0,04 g/L με την πενία αζώτου να έχει τη χαμηλότερη τιμή με 0,03 g/L. Η τιμή της τρίτης περίπτωσης φαίνεται να είναι αρκετά κοντά σε σχέση με την περίπτωση του διακεκομμένου φωτισμού, ακόμη και αν το υπερκείμενο υγρό που συλλέχθηκε από την πενία αζώτου αφέθηκε τρεις μέρες λιγότερο από αυτό του διακεκομμένου φωτισμού. Ακόμη παρατηρείται πως επειδή η καλλιέργεια αναπτύσσεται με ακινητοποιημένη βιομάζα το υπερκείμενο υγρό είναι φτωχό σε μικροφύκη, καθώς το περισσότερο είναι προσκολλημένο στην επιφάνεια των γυαλιών αμμοβολής.



Εικόνα 17. Διήθηση μέσω κενού αέρος του υπερκείμενου υγρού ανά 30 mL.

3.1.2 Μετρήσεις pH

Το pH κατά την καλλιέργεια του *Stichococcus* sp. μετριόταν ανά δύο μέρες για κάθε συνθήκη καλλιέργειας. Η συγκεκριμένη μέτρηση ήταν σημαντική τόσο για τη τελική παρατήρηση της καλλιέργειας και τον σχολιασμό της πορείας της αλλά όσο και για τη συντήρησή της κατά την διάρκεια της. Ανάλογα με τις μετρήσεις του pH προβλεπόταν αν οι καλλιέργειες ήταν υγιείς.



Διάγραμμα 4. Μετρήσεις pH ανά ημέρα.

Η μέτρηση του pH στην αρχική ποσότητα καλλιέργειας που προστέθηκε για την έναρξη του πειράματος ήταν 6,5. Όπως παρατηρείται στο διάγραμμα (**Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.**) η πρώτη μέτρηση κάθε συνθήκης καλλιέργειας έχει μικρότερη τιμή 6,2 για το σταθερό φωτισμό, 6,4 για το διακεκομμένο και 6,3 για την πενία αζώτου.

3.1.3 Μετρήσεις Κατανάλωσης ηλεκτρικού ρεύματος

Η κατανάλωση ρεύματος παρατηρήθηκε με σκοπό τη σύγκριση των δύο συνθηκών καλλιέργειας σταθερού και διακεκομμένου ρεύματος (Πίνακας 5). Οι μετρήσεις κιλοβατώρας πραγματοποιήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια των 26 ημερών καλλιέργειας.

Πίνακας 5. Σύγκριση κατανάλωσης ηλεκτρικού ρεύματος σταθερού και διακεκομμένου φωτισμού.

Συνθήκη καλλιέργειας	Κατανάλωση ρεύματος (kWh/26 d)
----------------------	--------------------------------

Σταθερός φωτισμός	33,1
Διακεκομμένος φωτισμός	25,7
Πενία αζώτου	16,5

Με μέσο όρο κόστους κατανάλωσης 0,167 €/kWh (“ΔΕΗ myEnergy SolarNet,” 2024) υπολογίστηκε το κόστος κατανάλωσης ανά kg καλλιέργειας (Πίνακας 6).

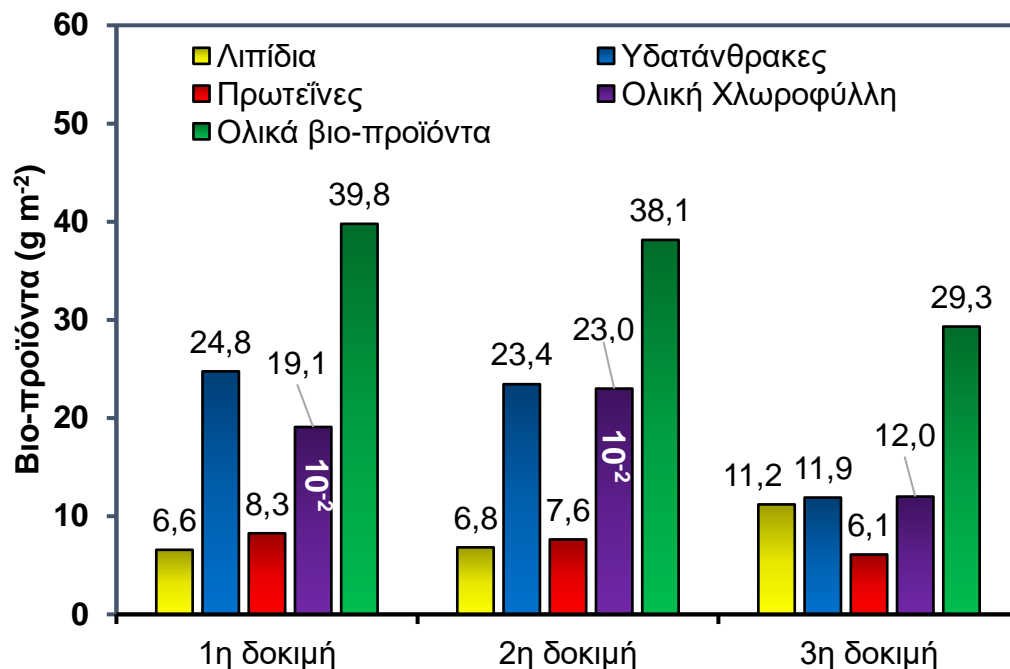
Πίνακας 6. Κόστος κατανάλωσης €/kWh·kg καλλιέργειας).

Συνθήκη καλλιέργειας	Κόστος κατανάλωσης [€/kWh·kg καλλιέργειας]
Σταθερός φωτισμός	0,11
Διακεκομμένος φωτισμός	0,09
Πενία αζώτου	0,07

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα του Πίνακας 6, ο διακεκομμένος φωτισμός συμφέρει οικονομικά καθώς το κόστος κατανάλωσης είναι μικρότερο σε σχέση με τον σταθερό. Σε μια μεγαλύτερη κλίμακα καλλιέργειας η διαφορά των δυο αυτών κοστών θα είναι εμφανώς μεγαλύτερη και η συνθήκη καλλιέργειας που θα προτιμηθεί είναι η οικονομικότερη.

3.2 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟ-ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Τα βιο-προϊόντα όπως παρουσιάζονται στην Εικόνα 20 υπολογίστηκαν σε g ανά m².



Διάγραμμα 5. Διάγραμμα παραγωγής βιο-προϊόντων των τριών συνθηκών καλλιέργειας του πειράματος.

Τα βιο-προϊόντα όπως παρατηρείται στην **Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.** έχουν διαφορετικές τιμές ανάλογα με τη συνθήκη καλλιέργειας. Οι πρώτες δύο συνθήκες καλλιέργειας, δηλαδή ο σταθερός και διακεκομμένος φωτισμός είχαν παρόμοια αποτελέσματα. Η πρώτη συνθήκη καλλιέργειας (Σταθερός φωτισμός) είχε τη μεγαλύτερη τιμή συνολικών βιο-προϊόντων στα 39,8 g/m², με την αμέσως μεγαλύτερη τιμή ολικών βιο-προϊόντων του διακεκομμένου φωτισμού στα 38,1 g/m², ενώ η τρίτη συνθήκη είχε αναμενόμενα μικρότερη τιμή συνολικών βιο-προϊόντων στα 29,3 g/m². Τα λιπίδια στη πρώτη συνθήκη (Σταθερός φωτισμός) υπολογίστηκαν στα 6,6 g/m² ενώ στη δεύτερη συνθήκη (διακεκομμένος) η τιμή τους ήταν αυξημένη κατά 0,2 g/m² της πρώτης συνθήκης. Οι υδατάνθρακες στον σταθερό φωτισμό είχαν τιμή 24,8 g/m², ενώ στον διακεκομμένο η τιμή τους ήταν 23,4 g/m². Η ολική χλωροφύλλη στην πρώτη συνθήκη ήταν 0,191 g/m², ενώ στην δεύτερη συνθήκη παρατηρείτε αύξηση στα 0,23 g/m². Συγκριτικά οι δύο πρώτες συνθήκες είχαν παρόμοια αποτελέσματα με μικρές αυξομειώσεις στις τιμές των βιο-προϊόντων. Τα αποτελέσματα που πάρθηκαν και από τις δυο συνθήκες απέχουν με μικρές τιμές ως ότου να θεωρηθούν σχεδόν αμελητέες. Συμπερασματικά, η συνθήκη καλλιέργειας με τον διακεκομμένο φωτισμό προτιμάται έναντι του σταθερού φωτισμού, αφού τα βιο-προϊόντα που παράχθηκαν και στις δύο συνθήκες είναι παρόμοια και

σύμφωνα και με τις μετρήσεις κατανάλωσης ηλεκτρικού ρεύματος (σε kWh), ο διακεκομμένος φωτισμός είναι πιο οικονομικός.

Τα αποτελέσματα της τρίτης συνθήκης καλλιέργειας (πενία αζώτου) ήταν αναμενόμενα καθώς η επίτευξη της συνθήκης αυτής ήταν η αυξημένη τιμή των λιπιδίων ($11,2 \text{ g/m}^2$) με κόστος τη μείωση της απόδοσης όλων των υπόλοιπων τιμών των βιο-προϊόντων. Οι υδατάνθρακες υπολογίστηκαν ως $11,9 \text{ g/m}^2$, οι πρωτεΐνες $6,1 \text{ g/m}^2$ και η ολική χλωροφύλλη $0,12 \text{ g/m}^2$. Όπως παρατηρείται, τα υπόλοιπα βιο-προϊόντα είναι εμφανώς μειωμένα λόγω της διαδικασίας της καλλιέργειας (αφαίρεση θρεπτικού υλικού και αντικατάστασή του με θρεπτικό υλικό χωρίς άζωτο), όπως και λόγω του χαμηλότερου φωτισμού από τις άλλες δύο συνθήκες καλλιέργειας.

3.3 ΤΕΧΝΟΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΕ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΚΛΙΜΑΚΑ

Τα αποτελέσματα των τριών περιπτώσεων που εξετάστηκαν στον ατμοηλεκτρικό σταθμό (ΑΗΣ) Κερατέας-Λαυρίου έχουν προοπτική για μία μεγαλύτερη εγκατάσταση καλλιέργειας μικροφυκών *Stichococcus sp.*, με σκοπό τη μείωση του CO₂ από τα απαέρια του εργοστασίου, καθώς και την παραγωγή βιομάζας σε βιομηχανική κλίμακα ώστε να είναι εφικτή η αξιοποίηση της στο εμπόριο ως πρώτη ύλη. Γι' αυτό το λόγο, πραγματοποιήθηκε μία ανάλυση για την εκτίμηση του κόστους εγκατάστασης καλλιέργειας μικροφυκών.

3.3.1 Επιλογή συνθηκών καλλιέργειας

Η επιλογή της συνθήκης καλλιέργειας για την εγκατάσταση αυτή, βασίζεται στην αξιοποίηση των προϊόντων έπειτα από το τέλος της επεξεργασίας της καλλιέργειας. Δηλαδή, ανάλογα με την χρήση που θα έχει μετέπειτα η βιομάζα στο εμπόριο, επιλέγεται η πιο κατάλληλη μέθοδος καλλιέργειας, καθώς όπως αναλύθηκε οι αλλαγές στις συνθήκες καλλιέργειας επηρεάζουν την παραγωγή διαφορετικών βιο-προϊόντων. Στη συγκεκριμένη εγκατάσταση καλλιέργειας γίνεται υπόθεση πως τα βιο-προϊόντα θα χρησιμοποιηθούν ως προϊόν κατανάλωσης σε μορφή ζωοτροφής και τα λιπίδια να μετατραπούν σε βιοντίζελ. Η συνθήκη διακεκομμένου φωτισμού με την πενία αζώτου είναι οι μέθοδοι που επιλέχτηκαν. Τα παρόμοια αποτελέσματα των καλλιέργειών με σταθερό και διακεκομμένο φωτισμό που αναφέρθηκαν στην ενότητα 3.2, οδηγούν στην επιλογή της ανάπτυξης σε βιομηχανική κλίμακα της καλλιέργειας με διακεκομμένο φωτισμό καθώς προσφέρει σχεδόν τα ίδια αποτελέσματα, με χαμηλότερο κόστος. Η καλλιέργεια με πενία αζώτου εξειδικεύεται στην παραγωγή λιπιδίων που χρησιμοποιούνται κυρίως στη δημιουργία βιοντίζελ.

3.3.2 Κατασκευή και μεθοδολογία

Η κατασκευή μιας τέτοιας εγκατάστασης θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί πλησίον του ατμοηλεκτρικού σταθμού (ΑΗΣ) Κερατέας-Λαυρίου λόγω της παροχής απαερίων που προσφέρει καθώς και του πλεονεκτήματος της παραθαλάσσιας τοποθεσίας του. Το πλεονέκτημα αυτό ρίχνει ραγδαία το κόστος μεταφοράς του θαλασσινού νερού στην εγκατάσταση.

Η εγκατάσταση θα αποτελείται από 2 ροές καλλιέργειας και ένα εργαστήριο προετοιμασίας της βιομάζας που θα συλλεχθεί.

Συνθήκη καλλιέργειας με διακεκομμένο φωτισμό

Θα κατασκευαστούν 4 δεξαμενές με διαστάσεις 250 m² (5 x 50 x 1 m) στις οποίες θα παροχετεύεται το θαλασσινό νερό, η αρχική ποσότητα καλλιέργειας καθώς και η παροχή καυσαερίων. Στις δεξαμενές αυτές οι καλλιέργειες θα γίνονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, δηλαδή θα ξεκινάνε διαφορετική χρονική στιγμή, με σκοπό τη συνεχή απασχόληση των εργαζομένων, όπως και τη συνεχή παραγωγή βιομάζας. Η αρχική ποσότητα καλλιέργειας που θα τροφοδοτηθεί στις δεξαμενές θα έχει συγκέντρωση 0,45 mg/L βιομάζας, η παροχή θαλασσινού νερού μέσω μιας φυγοκεντρικής αντλίας καθώς και μίας ηλεκτροβάνας θα συμπληρώνουν την κάθε δεξαμενή (25 m³) όπως και οι βιταμίνες με τα ιχνοστοιχεία (μέσω δοσομετρικής αντλίας). Η παροχή των αερίων θα ελέγχεται από ένα ροόμετρο στην τιμή 1 m³/min. Ο φωτισμός (LED) που θα προσφέρεται στο σύστημα θα έχει ένταση 6.600 lux με προφίλ φωτισμού ημέρα:νύχτα 16:8 h. Έπειτα από 26 ημέρες θα πραγματοποιείται η συγκομιδή της βιομάζας μέσω μηχανοκίνητου ξέστρου, με το υπερκείμενο νερό να διοχετεύεται στην θάλασσα. Η βιομάζα αφού συλλεχθεί, βρίσκεται σε ποσότητα 330 L, θα οδηγείται σε έναν φυγοκεντρική για αφυδάτωση και στην συνέχεια θα τοποθετείται σε μία δεξαμενή ηλιακής αποξήρανσης (5 x 10 x 0,5 m). Το νερό που αφαιρείται από τον φυγοκεντρική θα απορρίπτεται στη θάλασσα. Η συγκομιδή για κάθε δεξαμενή καλλιέργειας υπολογίζεται πως θα έχει τιμή περίπου στα 12,2 kg αποξηραμένης βιομάζας στα 250 m² επιφάνειας.

Πίνακας 7. Συνθήκες ανάπτυξης *Stichococcus* sp. στην καλλιέργεια με διακεκομμένο φως για κάθε δεξαμενή.

Διαστάσεις Δεξαμενής (m ³)	Συγκέντρωση αρχικής καλλιέργειας (mg/L)	Παροχή καυσαερίων (m ³ /min)	Ένταση φωτεινότητας (lux)	Τύπος φωτισμού	Συγκέντρωση NaNO ₃ (g/L)	Βιταμίνες (m ³)	Ιχνοστοιχεία (m ³)
25 (5x50x1 m)	0,45	1	6.600	Διακεκομμένος	0,75	0,125	0,125

Συνθήκη καλλιέργειας με πενία αζώτου

Η συνθήκη αυτή έχει την ίδια μεθοδολογία με την καλλιέργεια του διακεκομμένου φωτός με τις διαφορές στην φωτεινότητα καθώς σε αυτή την συνθήκη η τιμή της είναι 3.300 lux και πως τις τελευταίες 3 ημέρες πριν την συγκομιδή της βιομάζας εφαρμόζεται πενία αζώτου (Πίνακας 8). Η συγκομιδή για κάθε δεξαμενή καλλιέργειας υπολογίζεται πως θα έχει τιμή περίπου στα 9,5 kg αποξηραμένης βιομάζας στα 250 m² επιφάνειας. Τα kg της αποξηραμένης βιομάζας είναι

λιγότερα από αυτά της καλλιέργειας με διακεκομμένο φωτισμό, αλλά τα λιπίδια που μπορεί να παραχθούν είναι περισσότερα σε αναλογία 280g/m² καλλιέργειας.

Πίνακας 8. Συνθήκες ανάπτυξης *Stichococcus* sp. στην καλλιέργεια με πενία αζώτου για κάθε δεξαμενή.

Διαστάσεις Δεξαμενής (m ³)	Συγκέντρωση αρχικής καλλιέργειας (mg/L)	Παροχή καυσαερίων (m ³ /min)	Ένταση φωτεινότητας (lux)	Τύπος φωτισμού	Συγκέντρωση NaNO ₃ (g/L)	Βιταμίνες (m ³)	Ιχνοστοιχεία (m ³)	Πενία αζώτου (d)
25 (5x50x0,5 m)	0,45	1	3.300	Σταθερός	0,75	0,125	0,125	3

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί πως σημαντική είναι η κατασκευή ενός κτηρίου όπου θα πραγματοποιείται η προετοιμασία των απαραίτητων βιταμινών και ιχνοστοιχείων, η ανάπτυξη της αρχικής ποσότητας της καλλιέργειας καθώς και η αποθήκευση της αποξηραμένης βιομάζας.

3.3.3 Κόστος εγκατάστασης

Όσον αφορά το κόστος της συνολικής εγκατάστασης, αυτό χωρίζεται σε δύο κύριες κατηγορίες, το κόστος κεφαλαίου και το λειτουργικό κόστος. Ο υπολογισμός του κόστους εγκατάστασης πραγματοποιήθηκε με μια απλουστευτική μέθοδο, καθώς παραλείπονται διάφορα έξοδα που αφορούν την κατασκευή, τη συναρμολόγηση και την λειτουργία της εγκατάστασης.

3.3.3.1 Κόστος κεφαλαίου

Στο κόστος κεφαλαίου συμπεριλαμβάνονται τα έξοδα για να κατασκευαστεί η εγκατάσταση που αποτελούνται από τα υλικά κατασκευής και τα μηχανήματα-εξοπλισμός λειτουργίας. Οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στην εγκατάσταση είναι η συγκομιδή, η αφυδάτωση και η ξήρανση. Οι τιμές που παρουσιάζονται για το κόστος της κατασκευής βρέθηκαν με έρευνα αγοράς και το συνολικό κόστος είναι προσεγγιστικό, καθώς αναλύονται τα κύρια έξοδα της εγκατάστασης. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα έξοδα (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Κόστος κεφαλαίου κατασκευής εγκατάστασης παραγωγής μικροφυκών.

Είδος	Ποσότητα	Τιμή (€)
Ηλεκτροβάνες	8	12.000
Δοσομετρική αντλία	2	4.000
Φυγοκεντρική αντλία	2	16.000

Ξέστρο δεξαμενής καλλιέργειας και ηλιακού συλλέκτη	16	160.000
Σκέπαστρο με LED	8	24.000
Αντλία έκκεντρου κοχλία	2	5.000
Φυγοκεντριστής	2	200.000
Μπετόν	450 (m ³)	29.250
Οπλισμός μπετόν	45.000 (kg)	45.000
Μισθοδοσία συνεργείου κατασκευής μπετόν		36.000
Συνολικό κόστος (€)		531.250
Συνολικό πραγματικό κόστος (€)		796.875

Οι φυγοκεντρικές αντλίες που θα χρησιμοποιηθούν σε κάθε καλλιέργεια αριθμούνται δύο, καθώς προστίθεται μία εφεδρική. Εφεδρική αντλία προστίθεται και για την δοσομετρική αντλία. Ακόμη, οι ηλεκτροβάνες θα είναι 8 αφού χρειάζονται για να διανέμουν το θαλασσινό νερό που παρέχει η φυγοκεντρική αντλία σε όποια δεξαμενή επιλεχθεί. Τέλος, οι αντλίες έκκεντρου κοχλία με τους φυγοκεντριστές δεν χρειάζονται περισσότεροι από 2 έκαστος, λόγω της διαφορετικής χρονικής περιόδου συγκομιδής των καλλιεργειών.

ΜΠΕΤΟΝ

Η κατασκευή της κάθε μίας δεξαμενής καλλιέργειας καθώς και της ηλιακής αποξήρανσης που χρειάζεται υπολογίζεται ως εξής:

Δεξαμενή καλλιέργειας (5x50x1 m)

Διαστάσεις:

- Μήκος: 50 m
- Πλάτος: 5 m
- Ύψος: 1 m
- Πάχος τοιχίων: 20 cm
- Πάχος βάσης δεξαμενής: 10 cm

$$\text{Μπετόν}_{\Delta.κ.} = 5 \times 50 \times 0,1 + 1 \times 0,2 \times (2 \times 5 + 2 \times 50) = 47 \text{ m}^3$$

Κατασκευάζοντας 8 δεξαμενές, ο όγκος του μπετόν υπολογίζεται ως 376 m³.

Δεξαμενή ηλιακής αποξήρανσης (5x10x0,5 m)

Διαστάσεις:

- Μήκος: 10 m
- Πλάτος: 5 m
- Ύψος: 50 cm

- Πάχος τοιχίων: 20 cm
- Πάχος βάσης δεξαμενής: 10 cm

$$\text{Μπετόν}_{\text{H.A.}} = 5 \times 10 \times 0,1 + 0,5 \times 0,2 \times (2 \times 5 + 2 \times 10) = 8 \text{ m}^3$$

Κατασκευάζοντας 8 δεξαμενές, ο όγκος του μπετόν είναι 64 m³.

Ακόμη, η κατασκευή του εργαστηρίου προετοιμασίας των καλλιεργειών θα έχει διαστάσεις 5x15x3 m με πάχος δαπέδου 20 cm.

Διαστάσεις

- Μήκος: 15 m
- Πλάτος: 5 m
- Ύψος: 3 m
- Πάχος δαπέδου: 20 cm

$$\text{Μπετόν}_{\text{E.Π.}} = 5 \times 10 \times 0,20 = 10 \text{ m}^3$$

Άρα για όλη την εγκατάσταση συνολικά θα χρειαστούν 450 m³ μπετόν.

Η τιμή του μπετόν στην αγορά ανέρχεται στα 65 €/m³. Ο οπλισμός του μπετόν που θα χρειαστεί για την κατασκευή των δεξαμενών κατά μέσο όρο υπολογίζεται στα 100 kg κάθε m³ μπετόν, η τιμή του οπλισμού είναι 1 €/m³. Τέλος, οι εργαζόμενοι οι οποίοι θα κατασκευάσουν τις δεξαμενές πληρώνονται με το m³ μπετόν στα 80 €.

Το κύριο κόστος κατασκευής ανέρχεται στα 531.250 €, αλλά λόγω επιπρόσθετων εξόδων που δεν αναφέρονται στον παραπάνω πίνακα (πίνακας 9), στο συνολικό κόστος κατασκευής της εγκατάστασης θα προστεθεί ένα ποσοστό της τάξης 50% για την καλύτερη προσέγγιση της πραγματικής τιμής. Άρα η τιμή του συνολικού κόστους είναι 9 ΦΠΑ.

3.3.3.2 Λειτουργικό κόστος

Το λειτουργικό κόστος καταμερίζεται στο καθημερινό κόστος των διεργασιών που θα επιλεγθούν, καθώς και τα αναλώσιμα υλικά όπως και οι μισθοί των εργαζομένων.

Μηνιαία κατανάλωση ενέργειας

Το κόστος της κιλοβατώρας την παρούσα χρονική στιγμή όπως αναφέρθηκε είναι 0,164 €/kwh (“ΔΕΗ myEnergy SolarNet,” 2024).

Ο φωτισμός ο οποίος χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη της καλλιέργειας αποτελεί το μεγαλύτερο έξοδο της μηνιαίας κατανάλωσης ενέργειας στην εγκατάσταση αυτή (Πίνακας 10).

Η κάθε δεξαμενή με διακεκομμένο φωτισμό χρειάζεται 41.834 kWh για το χρονικό περιθώριο που αναπτύσσεται η καλλιέργεια (26 μέρες). Άρα για με την λειτουργία και των 4 δεξαμενών κυμαίνεται στα 27.500 €.

Αντίστοιχα για κάθε δεξαμενή με πενία αζώτου χρειάζεται 27.583,5 kWh για την διάρκεια της καλλιέργειας, έτσι για τις τέσσερις δεξαμενές το κόστος κυμαίνεται στα 18.095 €.

Πίνακας 10. Βιομηχανικό λειτουργικό κόστος για τις καλλιέργειες χωρίς το κόστος των LED.

Εξοπλισμός	Ισχύς (kw)	Ώρες λειτουργίας (h)	Απαίτηση ενέργειας (kWh)
Φυγοκεντρική αντλία	0,090	4	0,51
Ξέστρο	0,2	1	0,29
Αντλία έκκεντρου κοχλία	0,005	4	0,03
Φυγοκεντριστής	100	3	428,6

Σημείωση: Η απαίτηση ενέργειας του εξοπλισμού υπολογίστηκε με συντελεστές απώλειας ενέργειας 0,7.

Αναλώσιμα προϊόντα

Πίνακας 11. Κόστος αναλώσιμων προϊόντων ανά m³ καλλιέργειας

Αναλώσιμα	Κόστος (€/m ³)
Βιταμίνες	20
Ιχνοστοιχεία	25

Σημείωση: Οι βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία χρειάζονται συμπληρωματικά καθώς το θαλασσινό νερό περιέχει αρκετές ποσότητες και των δύο.

Μισθοί εργαζομένων

Οι μισθοί των εργαζομένων παρουσιάζονται μαζί με τις ασφαλιστικές καλύψεις και καταγράφονται στον πίνακα 13. Τα άτομα τα οποία θα χρειαστούν για να καλύψουν τις θέσεις λειτουργίας της εγκατάστασης είναι 2 χειριστές και 1 επόπτης. Σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 13) το κόστος των μισθών μηνιαίως είναι 3.500 €.

Πίνακας 12. Μισθοί εργατικού προσωπικού.

Κόστος εργαζομένων	€/month
Βασικός μισθός	1.000
Επόπτης	1.500

3.3.4 Έσοδα εγκατάστασης

Σύμφωνα με την έρευνα αγοράς, το κόστος των μικροφυκών μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με παράγοντες όπως η καθαρότητα της καλλιέργειας, η ποσότητα αγοράς, η μέθοδος καλλιέργειας και η προβλεπόμενη χρήση της βιομάζας που συλλέγεται (π.χ. έρευνα, συμπληρώματα διατροφής, καλλυντικά, παραγωγή βιοκαυσίμων). Οι τιμές μπορεί να κυμαίνονται από μερικά ευρώ έως αρκετές εκατοντάδες ευρώ ανά γραμμάριο για δείγματα υψηλής καθαρότητας που προορίζονται για έρευνα. Για εμπορικές αγορές, η τιμή ανά γραμμάριο θα μπορούσε να είναι σημαντικά χαμηλότερη, αλλά αυτό εξαρτάται συχνά από τις απαιτήσεις του αγοραστή, συμπεριλαμβανομένης της μορφής των μικροφυκών (π.χ. ζωντανές καλλιέργειες, αποξηραμένη σκόνη ή εκχυλισμένες ενώσεις). Στην συγκεκριμένη περίπτωση η καλλιέργεια είναι αρκετά καθαρή, καθώς συμβάλει το θαλασσινό νερό που συγκεκριμενοποιεί τις συνθήκες καλλιέργειας, η μέθοδος καλλιέργειας είναι κλειστού βιοαντιδραστήρα με σταθερή καλλιέργεια και η προβλεπόμενη χρήση είναι εμπορική όπως και για παραγωγή βιοντίζελ από λιπίδια. Συμπερασματικά, η τιμή που κυμαίνεται ανά kg αποξηραμένης βιομάζας *Stichococcus sp.* είναι από 30-50 €.

3.3.5 Συμπεράσματα τεχνοοικονομικής ανάλυσης

Η εγκατάσταση η οποία παρουσιάστηκε δεν παρουσιάζει τα επιθυμητά οικονομικά αποτελέσματα, καθώς τα έξοδα κατασκευής και συντήρησης ενός τέτοιου έργου προσπερνάνε τα οικονομικά οφέλη των βιο-προϊόντων που παράγονται. Πρέπει να αναφερθεί ότι ο σκοπός μιας τέτοιας εγκατάστασης δεν είναι πρωτίστως η παραγωγή βιο-προϊόντων αλλά η δέσμευση του CO₂ από τα καυσαέρια του εργοστασίου ηλεκτροπαραγωγής. Περισσότερο, η τεχνική αυτή είναι ένας τρόπος προστασίας της ατμόσφαιρας και του περιβάλλοντος γενικά. Ένα βασικό εργαλείο της Ευρωπαϊκής Ένωσης για την μείωση των αέριων εκπομπών είναι το χρηματιστήριο ρύπων (ΣΕΔΕ). Το ΣΕΔΕ ορίζεται ως ένας μηχανισμός παρακολούθησης των εκπομπών CO₂ και των άλλων αερίων που συμβάλλουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου. Η εκπλήρωση των δεσμεύσεων αυτών γίνεται μέσω μιας ευρωπαϊκής εμπορίας δικαιωμάτων εκπομπής αερίων του θερμοκηπίου. Το ΣΕΔΕ ορίζει την τιμή του άνθρακα που πρέπει να καταβάλλουν οι ρυπαντές δημιουργώντας έτσι κίνητρα για την μείωση των εκπομπών. Το χρηματιστήριο αυτό συμπερασματικά ωθεί τα κράτη μέλη της Ε.Ε. να μειώσουν σε ένα ορισμένο χρονοδιάγραμμα χρόνων τις εκπομπές ρύπων στην ατμόσφαιρα, έτσι οι δραστηριότητες των επιχειρήσεων ή άλλων φορέων που εκπέμπουν ρύπους πρέπει να ψάξουν τρόπους ώστε να μειώσουν τους ρύπους αυτούς. Μία εταιρία σαν την ΔΕΗ θα μπορούσε να χρησιμοποιήσει την παρούσα εγκατάσταση, εφόσον της υποβάλλεται να μειώσει τους ρύπους των απαερίων της, ακόμη και αν η τελευταία δεν είναι οικονομικά συμφέρουσα.

4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Η συγκεκριμένη ερευνητική, που εξέτασε την καλλιέργεια του μικροφυκού *Stichococcus sp.* σε τρεις παραδοχές με σκοπό τη μείωση του CO₂ από απαέρια εργοστασίου παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας, είναι μια αποτελεσματική τεχνική μείωσης εκπομπών του CO₂ από τα απαέρια μείωσης του CO₂ από τα καυσαέρια του ΑΗΣ Κερατέας-Λαυρίου. Εκτός από τη μείωση του CO₂ σημαντικές μετρήσεις πάρθηκαν και κατά την διάρκεια της καλλιέργειας καθώς και έπειτα από την συγκομιδή αφού πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τα βιοπροϊόντα των καλλιεργειών. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αυτών είναι σημαντικά διότι η βιβλιογραφία για το μικροφυκή *Stichococcus sp.* είναι ελλιπείς. Ακόμη, συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των παραδοχών που πραγματοποιήθηκαν μπορεί κανείς να χρησιμοποιήσει την κάθε παραδοχή μεμονωμένα ανάλογα με τα επιθυμητά βιοπροϊόντα. Η τεχνοοικονομική ανάλυση σε βιομηχανική κλίμακα μπορεί να μην είναι οικονομικά αποτελεσματική αλλά η δέσμευση του CO₂ είναι ικανοποιητική. Η συνέχεια της έρευνας αυτής προτείνεται να μειώσει τα έξοδα της εγκατάστασης που παρουσιάστηκε καθώς και να αναπτύξει αποτελεσματικότερους αλλά και πιο εύχρηστους τρόπους διεξαγωγής της καλλιέργειας των μικροφυκών.

5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdur Razzak, S., Bahar, K., Islam, K.M.O., Haniffa, A.K., Faruque, M.O., Hossain, S.M.Z., Hossain, M.M., 2023. Microalgae cultivation in photobioreactors: Sustainable solutions for a greener future. *Green Chem. Eng.* <https://doi.org/10.1016/j.gce.2023.10.004>
- Alie, C., Backham, L., Croiset, E., Douglas, P.L., 2005. Simulation of CO₂ capture using MEA scrubbing: a flowsheet decomposition method. *Energy Convers. Manag.* 46, 475–487. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2004.03.003>
- Amorim, M.L., Soares, J., Vieira, B.B., Batista-Silva, W., Martins, M.A., 2020. Extraction of proteins from the microalga *Scenedesmus obliquus* BR003 followed by lipid extraction of the wet deproteinized biomass using hexane and ethyl acetate. *Bioresour. Technol.* 307, 123190. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123190>
- Araújo, R., Vázquez Calderón, F., Sánchez López, J., Azevedo, I.C., Bruhn, A., Fluch, S., Garcia Tasende, M., Ghaderiardakani, F., Ilmjärv, T., Laurans, M., Mac Monagail, M., Mangini, S., Peteiro, C., Rebours, C., Stefansson, T., Ullmann, J., 2021. Current Status of the Algae Production Industry in Europe: An Emerging Sector of the Blue Bioeconomy. *Front. Mar. Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.626389>
- Aslam, A., Mughal, T.A., 2016. A Review on Microalgae to Achieve Maximal Carbon Dioxide (CO₂) Mitigation from Industrial Flue Gases.
- Ben-Amotz, A., Katz, A., Avron, M., 1982. ACCUMULATION OF β-CAROTENE IN HALOTOLERANT ALGAE: PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF β-CAROTENE-RICH GLOBULES FROM DUNALIELLA BARDAWIL (CHLOROPHYCEAE)1. *J. Phycol.* 18, 529–537. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1982.tb03219.x>
- Borowitzka, M.A., 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J. Biotechnol.* 70, 313–321. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00083-8)
- Bosma, R., Spronsen, W., Tramper, J., Wijffels, R., 2003. Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae. *J. Appl. Phycol.* 15, 143–153. <https://doi.org/10.1023/A:1023807011027>
- Brennan, L., Owende, P., 2010. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14, 557–577. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- Bruton, T., Lyons, H., Lerat, Y., Stanley, M., Rasmussen, M.B., 2009. A review of the potential of Marine Algae as a Source of Biofuel in Ireland. *Sustainable Energy*.
- Carvalho, A.P., Meireles, L.A., Malcata, F.X., 2006. Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances. *Biotechnol. Prog.* 22, 1490–1506. <https://doi.org/10.1002/bp060065r>
- Chae, S.R., Hwang, E.J., Shin, H.S., 2006. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photo-bioreactor. *Bioresour. Technol.* 97, 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.037>
- Chen, C., Saratale, G., Lee, C., Chen, P., Chang, J., 2008. Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers. *Int. J. Hydrog. Energy* 33, 6886–6895. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.09.014>
- Chen, C.-Y., Chang, H.-Y., Chang, J.-S., 2016. Producing carbohydrate-rich microalgal biomass grown under mixotrophic conditions as feedstock for biohydrogen production. *Int. J. Hydrog. Energy* 41, 4413–4420. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.05.163>

- Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25, 294–306.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Chen, C.-H., Kuan, T.-C., Ong, S.-C., Lin, C.-S., 2008. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresour. Technol.* 99, 3389–3396. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.013>
- Chiu, S.-Y., Kao, C.-Y., Tsai, M.-T., Ong, S.-C., Chen, C.-H., Lin, C.-S., 2009. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresour. Technol.* 100, 833–838. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.061>
- Collier, J., 1992. Chlorosis induced by nutrient deprivation in *Synechococcus* sp. strain PCC 7942: not all bleaching is the same. *J. Bacteriol.*
- de Moraes, E.G., Moraes, L., de Moraes, M.G., Costa, J.A.V., 2016. Biodiesel and Bioethanol from Microalgae, in: Soccol, C.R., Brar, S.K., Faulds, C., Ramos, L.P. (Eds.), *Green Fuels Technology: Biofuels*. Springer International Publishing, Cham, pp. 359–386. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30205-8_14
- Desmorieux, H., Decaen, N., 2005. Convective drying of spirulina in thin layer. *J. Food Eng.* 66, 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.021>
- Divakaran, R., Pillai, S., 2002. Divakaran R and Pillai VNS, “Flocculation of algae using chitosan”, *Journal of Applied Phycology*, 14(5), 2002, p 419-422. *J. Appl. Phycol.* 14, 419–422. <https://doi.org/10.1023/A:1022137023257>
- Ejike, C.E.C.C., Collins, S.A., Balasuriya, N., Swanson, A.K., Mason, B., Udenigwe, C.C., 2017. Prospects of microalgae proteins in producing peptide-based functional foods for promoting cardiovascular health. *Trends Food Sci. Technol.* 59, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.026>
- Erickson, E., Wakao, S., Niyogi, K.K., 2015. Light stress and photoprotection in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J.* 82, 449–465. <https://doi.org/10.1111/tpj.12825>
- Eriksen, N., 2008. The Technology of Microalgal Culturing. *Biotechnol. Lett.* 30, 1525–36. <https://doi.org/10.1007/s10529-008-9740-3>
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1957. A SIMPLE METHOD FOR THE ISOLATION AND PURIFICATION OF TOTAL LIPIDES FROM ANIMAL TISSUES. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- González-Fernández, C., Ballesteros, M., 2012. Linking microalgae and cyanobacteria culture conditions and key-enzymes for carbohydrate accumulation. *Biotechnol. Adv.*, Special issue on ACB 2011 30, 1655–1661. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.07.003>
- Guo, C.-L., Wang, W., Duan, D.-R., Zhao, C.-Y., Guo, F.-Q., 2019. Enhanced CO₂ biofixation and protein production by microalgae biofilm attached on modified surface of nickel foam. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 42, 521–528. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-2055-4>
- He, Q., Yang, H., Wu, L., Hu, C., 2015. Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. *Bioresour. Technol.* 191, 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.021>
- Hsueh, H.T., Chu, H., Yu, S.T., 2007. A batch study on the bio-fixation of carbon dioxide in the absorbed solution from a chemical wet scrubber by hot spring and marine algae. *Chemosphere* 66, 878–886. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.06.022>
- Hu, Q., 2013. Environmental Effects on Cell Composition.
- Huntley, M.E., Redalje, D.G., 2007. CO₂ Mitigation and Renewable Oil from Photosynthetic Microbes: A New Appraisal. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Change* 12, 573–608. <https://doi.org/10.1007/s11027-006-7304-1>
- Japar, A.S., Takriff, M.S., Mohd Yasin, N.H., 2021. Microalgae acclimatization in industrial wastewater and its effect on growth and primary metabolite composition. *Algal Res.* 53, 102163. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102163>

- Jiménez, C., Cossío, B.R., Labella, D., Xavier Niell, F., 2003. The Feasibility of industrial production of *Spirulina (Arthrospira)* in Southern Spain. *Aquaculture* 217, 179–190. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00118-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00118-7)
- Jin, H., Zhang, H., Zhou, Z., Li, K., Hou, G., Xu, Q., Chuai, W., Zhang, C., Han, D., Hu, Q., 2020. Ultrahigh-cell-density heterotrophic cultivation of the unicellular green microalga *Scenedesmus acuminatus* and application of the cells to photoautotrophic culture enhance biomass and lipid production. *Biotechnol. Bioeng.* 117, 96–108. <https://doi.org/10.1002/bit.27190>
- Kitajima, Y., El-Shishtawy, R., Ueno, Y., Otsuka, S., Miyake, J., Morimoto, M., 1999. Analysis of Compensation Point of Light Using Plane-Type Photosynthetic Bioreactor, in: *Biohydrogen*. pp. 359–367. https://doi.org/10.1007/978-0-585-35132-2_44
- Knuckey, R.M., Brown, M.R., Robert, R., Frampton, D.M.F., 2006. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquac. Eng.* 35, 300–313. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2006.04.001>
- Lakatos, G.E., Ranglová, K., Manoel, J.C., Grivalský, T., Kopecký, J., Masojídek, J., 2019. Bioethanol production from microalgae polysaccharides. *Folia Microbiol. (Praha)* 64, 627–644. <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00732-0>
- Lee, S.Y. (Ed.), 2017. *Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids: Production of Fuels and Chemicals*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-50436-0>
- Levasseur, W., Perré, P., Pozzobon, V., 2020. A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnol. Adv.* 41, 107545. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107545>
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes, in: *Methods in Enzymology, Plant Cell Membranes*. Academic Press, pp. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Maltsev, Y., Maltseva, K., Kulikovskiy, M., Maltseva, S., 2021. Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition. *Biology* 10, 1060. <https://doi.org/10.3390/biology10101060>
- Matsumoto, H., Hamasaki, A., Sioji, N., Ikuta, Y., 1997. Influence of CO₂, SO₂ and NO in Flue Gas on Microalgae Productivity. *J. Chem. Eng. Jpn.* 30, 620–624. <https://doi.org/10.1252/jcej.30.620>
- Mehariya, S., Goswami, R.K., Karthikeysan, O.P., Verma, P., 2021. Microalgae for high-value products: A way towards green nutraceutical and pharmaceutical compounds. *Chemosphere* 280, 130553. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130553>
- Miyake, J., Wakayama, T., Schnackenberg, J., Arai, T., Asada, Y., 1999. Simulation of the daily sunlight illumination pattern for bacterial photo-hydrogen production. *J. Biosci. Bioeng.* 88, 659–663. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(00\)87096-6](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(00)87096-6)
- Molina-Grima, E., Belarbi, E., Acien, G., Robles, A., Chisti, Y., 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. *Biotechnol. Adv.* 20, 491–515. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00050-2)
- Moore, A., 2008. Biofuels are dead: long live biofuels(?) - Part one. *New Biotechnol.* 25, 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2008.04.001>
- Muñoz, R., Guieysse, B., 2006. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Res.* 40, 2799–2815. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>
- Nabi, F., Arain, M.A., Rajput, N., Alagawany, M., Soomro, J., Umer, M., Soomro, F., Wang, Z., Ye, R., Liu, J., 2020. Health benefits of carotenoids and potential application in poultry industry: A review. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 104, 1809–1818. <https://doi.org/10.1111/jpn.13375>

- Nielsen, S.S., 2010. Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates, in: Nielsen, S.S. (Ed.), *Food Analysis Laboratory Manual*, Food Science Texts Series. Springer US, Boston, MA, pp. 47–53. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_6
- Nindo, C., Tang, J., 2007. Refractance Window Dehydration Technology: A Novel Contact Drying Method. *Dry. Technol. - DRY TECHNOL* 25, 37–48. <https://doi.org/10.1080/07373930601152673>
- Nurdogan, Y., Oswald, W.J., 1996. Tube settling of high-rate pond algae. *Water Sci. Technol., Waste Stabilization Ponds: Technology and Applications* 33, 229–241. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00358-7](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00358-7)
- Okumura, C., Saffreena, N., Rahman, M.A., Hasegawa, H., Miki, O., Takimoto, A., 2015. Economic efficiency of different light wavelengths and intensities using LEDs for the cultivation of green microalga *Botryococcus braunii* (NIES-836) for biofuel production. *Environ. Prog. Sustain. Energy* 34, 269–275. <https://doi.org/10.1002/ep.11951>
- Olaizola, M., 2003. Microalgal removal of CO₂ from flue gases: Changes in medium pH and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgal cultures. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 8, 360–367. <https://doi.org/10.1007/BF02949280>
- Olivieri, G., Marzocchella, A., Andreozzi, R., Pinto, G., Pollio, A., 2011. Biodiesel production from *Stichococcus* strains at laboratory scale. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 86, 776–783. <https://doi.org/10.1002/jctb.2586>
- Ono, E., Cuello, J.L., 2007. Carbon Dioxide Mitigation using Thermophilic Cyanobacteria. *Biosyst. Eng.* 96, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.09.010>
- Otto, C., Baumann, M., Schreiner, T., Bartsch, G., Borberg, H., Schwandt, P., Schmid-Schönbein, H., 2001. Standardized ultrasound as a new method to induce platelet aggregation: Evaluation, influence of lipoproteins and of glycoprotein IIb/IIIa antagonist tirofiban. *Eur. J. Ultrasound* 14, 157–166. [https://doi.org/10.1016/S0929-8266\(01\)00157-4](https://doi.org/10.1016/S0929-8266(01)00157-4)
- Poh, Z.L., Amalina Kadir, W.N., Lam, M.K., Uemura, Y., Suparmaniam, U., Lim, J.W., Show, P.L., Lee, K.T., 2020. The effect of stress environment towards lipid accumulation in microalgae after harvesting. *Renew. Energy* 154, 1083–1091. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.03.081>
- Prakash, J., Pushparaj, B., Carozzi, P., Torzillo, G., Montaini, E., Materassi, R., 1997. Microalgal Biomass Drying by a Simple Solar DEVICE. *Int. J. Sol. Energy* 18, 303–311. <https://doi.org/10.1080/01425919708914325>
- Psachoulia, P., Chatzidoukas, C., 2021. Illumination Policies for *Stichococcus* sp. Cultures in an Optimally Operating Lab-Scale PBR toward the Directed Photosynthetic Production of Desired Products. *Sustainability* 13, 2489. <https://doi.org/10.3390/su13052489>
- Ramaraj, R., 2012. Growth condition study of algae function in ecosystem for CO₂ bio-fixation. *J. Photochem. Photobiol. B.*
- Richmond, A., 2013. Biological Principles of Mass Cultivation of Photoautotrophic Microalgae, in: *Handbook of Microalgal Culture*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 169–204. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch11>
- Richmond, A., Cheng-Wu, Z., Zarmi, Y., 2003. Efficient use of strong light for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optimal population density and cell-growth inhibition. *Biomol. Eng.* 20, 229–236. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00060-1)
- Samson, R., Leduy, A., 1985. Multistage continuous cultivation of blue-green alga *spirulina maxima* in the flat tank photobioreactors with recycle. *Can. J. Chem. Eng.* 63, 105–112. <https://doi.org/10.1002/cjce.5450630117>
- Sánchez Mirón, A., Cerón García, M.-C., García Camacho, F., Molina Grima, E., Chisti, Y., 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift

- photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme Microb. Technol.* 31, 1015–1023. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00229-6](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00229-6)
- Sathasivam, R., Ki, J.-S., 2018. A Review of the Biological Activities of Microalgal Carotenoids and Their Potential Use in Healthcare and Cosmetic Industries. *Mar. Drugs* 16, 26. <https://doi.org/10.3390/md16010026>
- Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussgnug, J.H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B., 2008. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *BioEnergy Res.* 1, 20–43. <https://doi.org/10.1007/s12155-008-9008-8>
- Schüler, L.M., Santos, T., Pereira, H., Duarte, P., Katkam, N.G., Florindo, C., Schulze, P.S.C., Barreira, L., Varela, J.C.S., 2020. Improved production of lutein and β -carotene by thermal and light intensity upshifts in the marine microalga *Tetraselmis* sp. CTP4. *Algal Res.* 45, 101732. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101732>
- Schulze, P.S.C., Barreira, L.A., Pereira, H.G.C., Perales, J.A., Varela, J.C.S., 2014. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends Biotechnol.* 32, 422–430. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.06.001>
- Sforza, E., Gris, B., De Farias Silva, C., Morosinotto, T., Bertuccio, A., 2014. Effects of Light on Cultivation of *Scenedesmus Obliquus* in Batch and Continuous Flat Plate Photobioreactor. *Chem. Eng. Trans.* 38, 211–216. <https://doi.org/10.3303/CET1438036>
- Solís-Salinas, C.E., Patlán-Juárez, G., Okoye, P.U., Guillén-Garcés, A., Sebastian, P.J., Arias, D.M., 2021. Long-term semi-continuous production of carbohydrate-enriched microalgae biomass cultivated in low-loaded domestic wastewater. *Sci. Total Environ.* 798, 149227. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149227>
- Suarez Garcia, E., van Leeuwen, J., Safi, C., Sijtsma, L., Eppink, M.H.M., Wijffels, R.H., van den Berg, C., 2018. Selective and energy efficient extraction of functional proteins from microalgae for food applications. *Bioresour. Technol.* 268, 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.131>
- Sung, K.D., Lee, J.S., Shin, C.S., Park, S.C., 1999. Isolation of a new highly CO₂ tolerant fresh water Microalga *Chlorella* sp. KR-1. *Renew. Energy, Renewable Energy Energy Efficiency, Policy and the Environment* 16, 1019–1022. [https://doi.org/10.1016/S0960-1481\(98\)00362-0](https://doi.org/10.1016/S0960-1481(98)00362-0)
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X., Zhong, J., 2011. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresour. Technol.* 102, 3071–3076. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.047>
- Teo, C.L., Atta, M., Bukhari, A., Taisir, M., Yusuf, A.M., Idris, A., 2014. Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths. *Bioresour. Technol.* 162, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.113>
- Terry, K.L., Raymond, L.P., 1985. System design for the autotrophic production of microalgae. *Enzyme Microb. Technol.* 7, 474–487. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(85\)90148-6](https://doi.org/10.1016/0141-0229(85)90148-6)
- Vargas, M., Rodríguez, H., Moreno Fernández, J., Olivares, H., Campo, J.A., Rivas, J., Guerrero, M., 2002. Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria. *J. Phycol.* 34, 812–817. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1998.340812.x>
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C.Q., 2008. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 707–718. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1518-y>
- Wang, Y., Jiang, Z., Lai, Z., Yuan, H., Zhang, Xinru, Jia, Y., Zhang, Xinxin, 2021. The self-adaption capability of microalgal biofilm under different light intensities: Photosynthetic parameters and biofilm microstructures. *Algal Res.* 58, 102383. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102383>
- Yustinadiar, N., Manurung, R., Suantika, G., 2020. Enhanced biomass productivity of microalgae *Nannochloropsis* sp. in an airlift photobioreactor using low-frequency flashing light with blue LED. *Bioresour. Bioprocess.* 7, 43. <https://doi.org/10.1186/s40643-020-00331-9>

- Zhu, L., Li, S., Hu, T., Nugroho, Y.K., Yin, Z., Hu, D., Chu, R., Mo, F., Liu, C., Hiltunen, E., 2019. Effects of nitrogen source heterogeneity on nutrient removal and biodiesel production of mono- and mix-cultured microalgae. *Energy Convers. Manag.* 201, 112144.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.112144>
- Γκουβούση, Μ., 2016. Μελέτη του ρόλου της πηγής του άνθρακα στην ανάπτυξη του μικροφύκου *nannochloropsis* sp. και την παραγωγή προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- ΔΕΗ myEnergy SolarNet [WWW Document], 2024. . ΔΕΗ. URL <https://www.dei.gr/el/gia-to-spiti/myenergy/myenergy-solar/myenergy-solarnet/> (accessed 5.14.24).