



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ  
ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)

“ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ & ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ”

---

## ΜΕΛΕΤΗ ΝΕΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

---

### ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΟΔΩΡΟΣ Κ. ΤΖΑΝΗΣ

Διπλωματούχος Σ.Ε.Μ.Φ.Ε. ΕΜΠ

#### ΕΠΙΒΛΕΨΗ:

Ευάγγελος Β. Χριστοφόρου

Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα , Οκτώβριος 2018





**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ  
ΣΠΟΥΔΩΝ (Δ.Π.Μ.Σ.)**

**“ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ & ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ”**

**Θεόδωρος Κ. Τζανής**

**Επίβλεψη:  
Καθηγητής Ευάγγελος Β. Χριστοφόρου.  
Σχολή Ηλεκτρολόγων Μηχανικών & Μηχανικών Υπολογιστών ΕΜΠ**

Αθήνα,  
Οκτώβριος 2018



# Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο ηλεκτρονικών αισθητηρίων της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών & Μηχανικών Υπολογιστών του Ε.Μ.Π. Η εκπόνηση της δεν θα ήταν εφικτή χωρίς τη συνεργασία και την υποστήριξη της ερευνητικής ομάδας της μονάδας. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω:

- Τον κ. Ευάγγελο Χριστοφόρου, Καθηγητή της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών & Μηχανικών Υπολογιστών του Ε.Μ.Π., για την προσπάθεια εύρεσης κοινού επιστημονικού τόπου, προϊόν της οποίας είναι η παρούσα εργασία, για τη συνεχή καθοδήγηση επιστημονική και οργανωτική, για τη μύηση μου στην ερευνητική διαδικασία και για τις ενδιαφέρουσες και χρήσιμες συζητήσεις μας.
- Τον κ. Angelo Ferraro, μεταδιδακτορικό ερευνητή, χωρίς την πολύτιμη καθοδήγηση και τις ιδέες του οποίου δε θα ήταν εφικτή η διεξαγωγή και ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής εργασίας.
- Τον κ. Γεώργιο Μπάνη, Υποψήφιο Διδάκτορα Ε.Μ.Π., για τη συνεχή προσπάθεια βελτίωσης αυτής της εργασίας τόσο με τις επιστημονικές μας συζητήσεις όσο και με τις συμβουλές του και την καλοπροαίρετη κριτική του για το κείμενο, αλλά και για το ευχάριστο και φιλικό κλίμα.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς την οικογένειά μου για την συνεχή υποστήριξη καθώς και σε όλους αυτούς που με δίδαξαν, με τη συμπεριφορά τους με εκπαίδευσαν και μου ενέπνευσαν την ανάγκη για την κατάκτηση της γνώσης.

Αθήνα, Οκτώβριος 2018

Τζανής Θεόδωρος



## Περίληψη

Το αντικείμενο της μεταπτυχιακής εργασίας αφορά τη μελέτη του ρυθμού ανάπτυξης διαφορετικών μεθόδων καλλιέργειας κυττάρων μικροφυκών μέσα σε ένα κλειστό σύστημα καλλιέργειας. Η ανάγκη για νέους τρόπους παραγωγής βιομάζας σε κλάδους όπως τα τρόφιμα, η φαρμακευτική και οι ανανεώσιμες πηγές ενέργειας έχουν στρέψει το ενδιαφέρον προς τη βιομάζα μικροφυκών.

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία μελετήθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης δύο διαφορετικών μεθόδων καλλιέργειας. Έγινε προσπάθεια πλήρους ελέγχου των συνθηκών καλλιέργειας εντός του συστήματος με συνεχείς μετρήσεις και καταγραφή των δεδομένων.

Κατασκευάστηκε ένα κλειστό σύστημα καλλιέργειας, το περίβλημα του οποίου ήταν από υλικό Πολυπροπυλένιο (PP) και μέσα τοποθετήθηκαν αισθητήρες πίεσης, διοξειδίου του άνθρακα, θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας, ένα θερμοηλεκτρικό στοιχείο Peltier και ένας ανεμιστήρας. Παράλληλα, τοποθετήθηκαν και δύο βαλβίδες για τον έλεγχο των συνθηκών πίεσης και διοξειδίου του άνθρακα και την είσοδο /έξοδο των αερίων, ενώ η καλλιέργεια φωτίστηκε με λαμπτήρες LED.

Οι αισθητήρες συνδέθηκαν με ένα μικροελεγκτή Arduino και προγραμματίστηκαν με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Η καταγραφή των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια μιας κάρτας μνήμης SD. Ο μικροελεγκτής λαμβάνει τα δεδομένα των αισθητήρων και στη συνέχεια γίνονται οι απαραίτητες ενέργειες για τη διατήρηση των συνθηκών που έχουν επιλεγεί για την καλλιέργεια.

Τα κύτταρα και στις δύο μεθόδους καλλιέργειας τοποθετήθηκαν ταυτόχρονα στο κλειστό σύστημα και αφήθηκαν εκεί για σαράντα οκτώ ώρες. Η μία μέθοδος καλλιέργειας ήταν με συμβατικό τρόπο όπου τοποθετήθηκε ένας μαγνητικός αναδευτήρας για τη συνεχή ανάδευση των κυττάρων.

Στη δεύτερη μέθοδο καλλιέργειας, μέσω πολύ λεπτού στρώματος νερού, τα κύτταρα κυκλοφορούσαν συνεχώς με τη βοήθεια μιας περισταλτικής αντλίας. Κατά τη διάρκεια ενός πλήρη κύκλου τα κύτταρα περνούσαν από μια κυλινδρική δομή, όπου μέσω πολύ λεπτού φιλμ ρευστού, λόγω βαρύτητας, δημιουργούνταν ιδανικές συνθήκες για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης.

Τέλος, μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα (Optical Density) των καλλιεργειών και η συγκέντρωση της χλωροφύλλης στα κύτταρα των δύο μεθόδων καλλιεργειών και έγινε σύγκριση των αποτελεσμάτων.





# Abstract

The subject of this postgraduate thesis concerns the study of growth rate of different methods of microalgae cells cultivation within a closed culture system. The need for new ways of producing biomass in sectors such as food, pharmaceuticals and renewable energy have turned interest to microalgae biomass.

In the present work, the growth rate of two different cultivation methods has been studied. An attempt was made to fully control the growing conditions within the system by continually measuring and recording the data.

A closed culture system was constructed, the shell of which was made by Polypropylene (PP) material. Into the chamber were placed sensors measuring pressure, CO<sub>2</sub>, temperature and relative humidity, a Peltier thermal element and a fan. Additionally, two valves were placed to control the pressure and CO<sub>2</sub> conditions and gas input/output, while the cultivation was illuminated by LED lamps.

The sensors were connected to an Arduino microcontroller and got programmed via a computer. Data were captured using an SD memory card. The microcontroller receives the data from sensors and then the necessary actions are taking place to maintain the cultivation conditions.

The cells in both culture methods were simultaneously placed into the closed system and been left there for forty-eight hours. One cultivation method was made by a conventional way, while a magnetic stirrer was placed to continuously stirring the cells.

In the other cultivation method, through a very thin layer of water, cells were constantly circulated by using a peristaltic pump. During a full cycle, the cells were passing through a cylindrical structure, whereby a very thin fluid film, due to gravity, created ideal conditions for the photosynthesis process.

Finally, the optical density (OD) of the cultures and the concentrations of chlorophyll in the cells were measured in both cultivation methods and the results were compared.

# Πίνακας περιεχομένων

Ευχαριστίες .....	v
Περίληψη.....	vii
Abstract .....	ix
Πίνακας περιεχομένων .....	x
<b>1 Εισαγωγή και ορισμός του προβλήματος.....</b>	<b>3</b>
1.1 Ανάγκη για περισσότερο .....	3
1.2 Στροφή σε νέες μορφές πόρων.....	4
1.3 Βιομάζα.....	5
1.3.1 Αξιοποίηση της βιομάζας μικροφυκών.....	6
1.3.2 Η βιομάζα μικροφυκών ελπίδα για το μέλλον .....	7
<b>2 Βασικές αρχές αλγών .....</b>	<b>9</b>
2.1 Τι είναι τα φύκη – άλγες.....	9
2.2 Βασική δομή .....	11
2.3 Μεταβολισμός φυκών.....	13
2.4 Κατηγορίες φυκών .....	15
2.5 Μικροφύκη .....	17
2.6 Ο ρόλος των φυκών στην καθημερινή ζωή των ανθρώπων.....	18
<b>3 Συστήματα καλλιέργειας .....</b>	<b>21</b>
3.1 Γενικά για τα συστήματα.....	21
3.2 Ανοικτά συστήματα.....	22
3.3 Κλειστά συστήματα.....	25
3.3.1 Στατικές – συνεχείς καλλιέργειες.....	26
3.3.2 Φωτοβιοαντιδραστήρες.....	27
3.4 Σύγκριση μεταξύ συστημάτων παραγωγής βιομάζας μικροφυκών .....	30
<b>4 Συνθήκες καλλιέργειας .....</b>	<b>31</b>
4.1 Γενικά για τις συνθήκες .....	31
4.2 Κατηγορίες καλλιεργειών .....	32
4.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροφυκών.....	34
4.3.1 Φως.....	34
4.3.2 Θερμοκρασία.....	35
4.3.3 pH και αλατότητα .....	36
4.3.4 Θρεπτικά συστατικά .....	36
4.4 Επίδραση του φωτός στα συστήματα καλλιέργειας.....	38
4.4.1 Ο ήλιος σαν πηγή φωτός.....	38
4.4.2 Τεχνητές πηγές φωτός .....	38

4.4.3	Ανάπτυξη τεχνητών πηγών φωτός στην καλλιέργεια μικροφυκών .....	40
4.4.4	Σύγκριση διαφορετικών πηγών φωτός.....	40
<b>5</b>	<b>Ανάλυση πειραματικής διαδικασίας.....</b>	<b>45</b>
5.1	Σκοπός του πειράματος.....	45
5.2	Πειραματική διάταξη .....	45
5.2.1	Αισθητήρας θερμοκρασίας & υγρασίας DHT 11.....	46
5.2.2	Αισθητήρας πίεσης MPX4250 .....	49
5.2.3	Αισθητήρας CO <sub>2</sub> MH-Z16 .....	51
5.2.4	Μικροελεγκτής Arduino .....	53
5.2.5	Θερμοηλεκτρικό στοιχείο Peltier.....	53
5.3	Κυκλοφορία αέρα στην καλλιέργεια.....	54
5.4	Πειραματική διαδικασία .....	56
<b>6</b>	<b>Ανάλυση πειραματικών δεδομένων .....</b>	<b>59</b>
6.1	Η μέθοδος της οπτικής πυκνότητας (OD).....	59
6.2	Μέτρηση με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας .....	60
6.3	Μέτρηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης.....	63
<b>7</b>	<b>Συμπεράσματα.....</b>	<b>65</b>
<b>8</b>	<b>Μελλοντικοί στόχοι.....</b>	<b>67</b>
<b>9</b>	<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>69</b>



# ***Θεωρητικό μέρος***



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

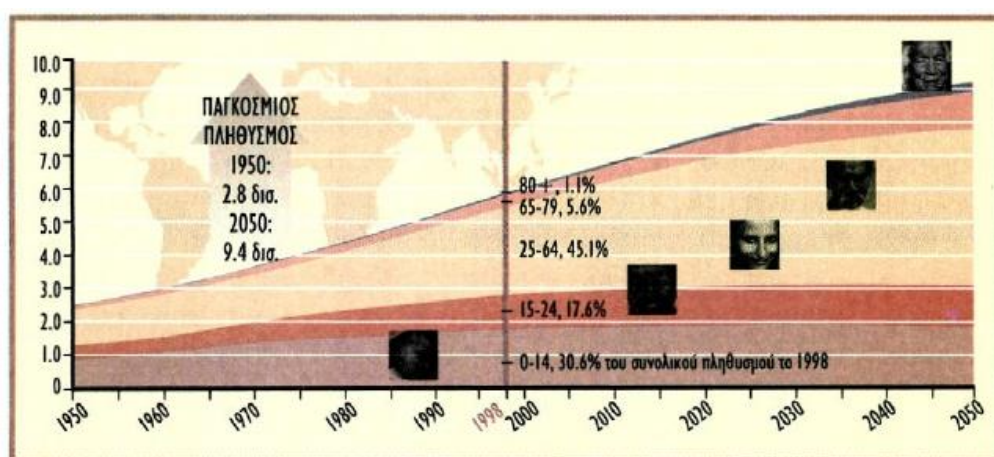


## 1 Εισαγωγή και ορισμός του προβλήματος

### 1.1 Ανάγκη για περισσότερο

Ο ανθρώπινος πληθυσμός αυξάνεται καθημερινά με πολύ γρήγορους ρυθμούς, ενώ σύμφωνα με τις εκτιμήσεις αναμένεται να φτάσει ή ακόμα και να ξεπεράσει τα 9 δισεκατομμύρια τα επόμενα χρόνια, την ώρα που σήμερα ανέρχεται στα 7 δισεκατομμύρια.

Όπως είναι φυσικό θα μεταβληθούν κατά πολύ και οι ανθρώπινες ανάγκες. Τρόφιμα, φάρμακα, νερό, ενέργεια και γενικά είδη πρώτης ανάγκης και πρώτες ύλες θα πρέπει να υπάρχουν σε αφθονία ούτως ώστε να καλυφθεί η αυξημένη ζήτηση.



Σχήμα 1.1 : Αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού κατά ομάδες ηλικιών, 1950-2050. [2]

Δύο δισεκατομμύρια επιπλέον άνθρωποι στο πλανήτη που θα χρειάζονται τροφή, νερό, φάρμακα, στέγη και διάφορα άλλα. Αναμφισβήτητα λοιπόν, στα επόμενα χρόνια ο κόσμος θα έρθει αντιμέτωπος με τα αποτελέσματα της μεγαλύτερης έκρηξης πληθυσμού την ανθρώπινη ιστορία.

Το πρόβλημα ασφαλώς και δεν εστιάζεται στο νούμερο σαν απόλυτο μέγεθος, αλλά στη σχέση του με τους διαθέσιμους πόρους που υπάρχουν στον πλανήτη Γη, προς ικανοποίηση των ανθρώπινων αναγκών.

Η αλήθεια είναι πως οι πόροι αυτοί είναι σχετικά περιορισμένοι, και ότι θα πρέπει να βρεθούν τρόποι και εναλλακτικές λύσεις ούτως ώστε να μην εξαντληθούν. Εναλλακτικές λύσεις όμως που δεν θα είναι επιβλαβείς για το περιβάλλον και θα παρέχουν ασφάλεια.

Νέα εδάφη που δεν καλλιεργούνται στη σημερινή εποχή όπως έρημοι, ίσως τεθούν με τη βοήθεια της τεχνολογίας στη διάθεση των παραγωγών. Παράλληλα, η δυνατότητα πλήρους εκμετάλλευσης της ηλιακής ενέργειας, ακόμα μετά τη δύση του ήλιου θα έδινε λύσεις σε πάρα πολλά προβλήματα. [1,2,3]

## **1.2 Στροφή σε νέες μορφές πόρων**

Είναι λοιπόν επιτακτική η ανάγκη της διαφύλαξης των αποθεμάτων των φυσικών πόρων αλλά και η εύρεση και προσθήκη σε αυτά νέων πρώτων υλών για τη δημιουργία αγαθών πρώτης ανάγκης.

Είναι αλήθεια ότι ήδη παίρνονται μέτρα προστασίας με δεκάδες ποτάμια και λίμνες να εντάσσονται σε προγράμματα προστασίας ούτως ώστε να μην εξαλειφθούν. Όπως και αρκετά δάση, που είναι απαραίτητα για την ανθρώπινη ζωή.

Ένα από τα σημαντικότερα δομικά στοιχεία της κοινωνίας και απαραίτητο για τη δημιουργία αγαθών από φυσικούς πόρους αλλά και τη ζωή την ίδια, είναι η ενέργεια. Όπως σε όλα τα αγαθά έτσι και εδώ η αυξανόμενη ζήτηση οδήγησε σε αναζήτηση νέων πηγών ενέργειας.

Αναπόφευκτα οι έρευνες οδηγήθηκαν σε νέες μεθόδους όπως η αιολική ενέργεια, ο ήλιος και η βιομάζα. Πρόκειται για πόρους που μπορούν να δώσουν τεράστια δυναμική στον τομέα της ενέργειας και να καλύψουν την παγκόσμια ζήτηση, ενώ θα δώσουν λύσεις και σε αρκετά άλλα προβλήματα.

Επιτακτική είναι και η ανάγκη παραγωγής τροφίμων σε υψηλότερα επίπεδα, αφού για να επιβιώσουν περισσότεροι άνθρωποι, χρειάζεται να παραχθεί περισσότερη τροφή, ενώ για να παραχθεί περισσότερη τροφή χρειάζονται περισσότεροι πόροι. Παράλληλα χρειάζεται και αύξηση της παραγωγής φαρμάκων.

Είναι δεδομένο ότι πρέπει να αναζητηθούν νέοι φυσικοί πόροι για τη δημιουργία αγαθών όπως η βιομάζα αλλά και τρόποι βελτίωσης των καλλιεργειών με στόχο τις όσο το δυνατόν καλύτερες συνθήκες. Οι όσο το δυνατόν βέλτιστες συνθήκες θα αυξήσουν την παραγωγή, μειώνοντας παράλληλα και το κόστος. [4,5,6]



### 1.3 Βιομάζα

Η βιομάζα αποτελεί βιολογικό υλικό από ζωντανούς ή πρόσφατα ζωντανούς οργανισμούς, που είναι συνήθως φυτά ή υλικά φυτικής προέλευσης. Αποτελεί το επιστέγασμα της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, όπου τα φυτά μετασχηματίζουν την ηλιακή ενέργεια σε βιομάζα.

Μπορεί να παραχθεί από ξύλα, δασικά προϊόντα, ακόμα και υπολείμματα καλλιεργειών, κτηνοτροφικά απόβλητα και απόβλητα βιομηχανιών. Μετά από επεξεργασία βέβαια η βιομάζα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή διάφορων αγαθών όπως ενέργεια αλλά και φάρμακα.

Πρόκειται για ένα πολύ σημαντικό πλεονέκτημα στην ανθρώπινη ζωή καθώς ακόμα κι αν στερέψουν διάφορες πηγές όπως το πετρέλαιο θα υπάρχει πάντα η λύση της βιομάζας, αφού όσο υπάρχουν φυτά και ζώα στον πλανήτη, θα υπάρχει πάντα ανεξάντλητη βιομάζα. Ήδη από πολύ παλιά ο άνθρωπος για να μαγειρέψει και να ζεσταθεί στράφηκε στη καύση ξύλων που αποτελούν κομμάτι βιομάζας.

Τα συστήματα παραγωγής βιομάζας χωρίζονται σε χερσαία και υδάτινα, ενώ από τα δύο αυτά συστήματα, το πρώτο έχει ήδη αναπτυχθεί αρκετά και αποτελεί βασικό συστατικό της καθημερινότητας. Χρόνια τώρα γεωργοί καλλιεργούν τη Γη και κτηνοτρόφοι τρέφουν ζώα, ενώ και στη βιομηχανία δημιουργούνται αρκετά απόβλητα.



Σχήμα 1.2 : Κατανομή χερσαίων & υδάτινων συστημάτων. [7]

Είναι αλήθεια βέβαια ότι η χερσαία βιομάζα δεν μπορεί να αναπτυχθεί πολύ περαιτέρω, όπως επίσης και ότι δεν επαρκεί αν και μεγάλη σε ποσότητα για την κάλυψη όλων των δραστηριοτήτων του ανθρώπινου πληθυσμού.

Από την άλλη, η παραγωγή υδάτινης βιομάζας έχει τεράστια προοπτική, ενώ ακόμα εξετάζονται και ερευνώνται διάφορες τεχνολογίες για την πλήρη εκμετάλλευσή της. Μία εξ' αυτών είναι η παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη.

Τα μικροφύκη μπορούν να δώσουν λύση σε όλα σχεδόν τα προβλήματα που έχουν αναφερθεί μέχρι στιγμής καθώς είναι ικανά να παράγουν βιομάζα μεγαλύτερη από 50000 kg/στρέμμα/έτος.

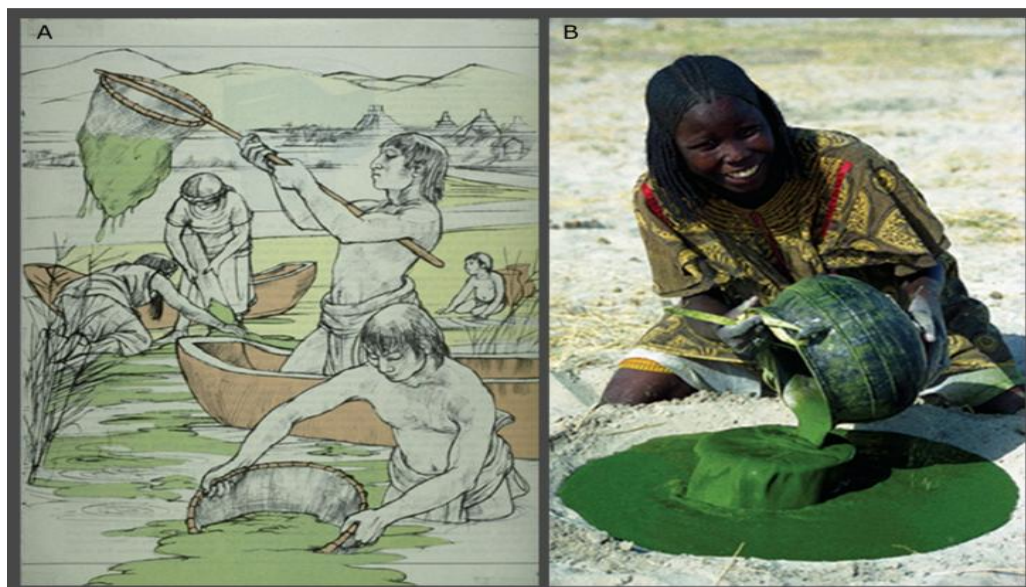
Βέβαια, είναι αλήθεια ότι η επιστήμη δεν έχει φτάσει ακόμα στο σημείο της πλήρους αξιοποίησης των μικροφυκών, καθώς χρειάζεται ακόμα πρόοδος σε αρκετά τεχνολογικά και πολιτικά κομμάτια. [8,9,10]

### 1.3.1 Αξιοποίηση της βιομάζας μικροφυκών

Η καλλιέργεια των μικροφυκών δεν είναι τωρινό φαινόμενο, αλλά ξεκίνησε πριν από πολλά χρόνια. Τότε, κατά κύριο λόγο, μικροφύκη όπως η *Spirulina* ή η *Chlorella* καλλιεργούνταν για τροφή, η *Dunaliella salina* για το β-καροτένιο και πολλά άλλα είδη για διάφορες άλλες διαδικασίες.

Τελευταία βέβαια, η επιστήμη έχει προχωρήσει αρκετά και πλέον η βιομάζα μικροφυκών χρησιμοποιείται για την παραγωγή τροφίμων, φαρμάκων, λιπασμάτων, βιοχημικών, ζωοτροφών ή ακόμα και βιοκαυσίμων.

Φαίνεται λοιπόν μια μεγάλη ανάπτυξη στην παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη λόγω της δυνατότητας παραγωγής των αγαθών που αναφέρθηκαν παραπάνω, ενώ συνεχίζονται οι έρευνες σχετικά με νέους τομείς που θα μπορεί να χρησιμοποιηθεί.



**Σχήμα 1.3 :** α) Συλλογή κυανοβακτηρίων από λίμνες στο Μεξικό (σκίτσο του Peter T. Furst, HumanNature 1978), β) Γυναίκα τοποθετεί βιομάζα για ξήρανση.  
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/y5118e/y5118e09c.pdf>. [11]

Η βιομάζα μικροφυκών μπορεί να παραχθεί και να συλλεχθεί είτε από το περιβάλλον, είτε μέσω μιας ελεγχόμενης καλλιέργειας σε ανοιχτά ή κλειστά συστήματα. Βρίσκει

πολλές εμπορικές εφαρμογές σε μικρού όγκου αλλά υψηλής αξίας προϊόντα, όπως συμπληρώματα διατροφής, αντιοξειδωτικά καλλυντικά, διάφορες χρωστικές και άλλα.

Η καλλιέργεια διαφοροποιείται σχετικά με το σκοπό που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί και γι αυτό μπορεί να αποτελέσει ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία. Δεν απαιτείται λίπασμα για την ανάπτυξη των μικροφυκών και ο ρυθμός ανάπτυξης και ωρίμανσης είναι αρκετά μεγάλος.

Πολύ σημαντικό είναι και το γεγονός ότι δεν καταλαμβάνουν εκτάσεις που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια άλλων αγαθών που προορίζονται για διατροφή. Καλλιεργούνται παντού, ιδιαίτερα σε νερά, γλυκά ή αλμυρά αρκεί να υπάρχει ήλιος και διοξείδιο του άνθρακα. [12,13,14,15]

### **1.3.2 Η βιομάζα μικροφυκών ελπίδα για το μέλλον**

Τα τελευταία χρόνια η βιομάζα μικροφυκών έχει τραβήξει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας, με τη χρησιμοποίησή της σαν πρώτη ύλη για την παραγωγή προϊόντων να αποτελεί ένα μεγάλο πλεονέκτημα για τα μέλλον. Ήδη όμως, χρησιμοποιείται σε υδατοκαλλιέργειες αλλά και στη διατροφή ανθρώπων και ζώων.

Οι προοπτικές βέβαια είναι πολύ ενθαρρυντικές και τα όποια προβλήματα αναμένεται να ξεπεραστούν στα επόμενα χρόνια. Μάλιστα σε χώρες όπως οι ΗΠΑ επενδύονται μεγάλα ποσά στον τομέα αυτό.

Πολύ σημαντικό είναι και το γεγονός ότι αρκετοί μεταβολίτες των φυκών μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε φαρμακευτικά προϊόντα, καθώς έχει βρεθεί ότι έχουν αντιοξειδωτική και ισοστατική δράση ενισχύοντας έτσι το ανοσοποιητικό και το νευρικό σύστημα ανθρώπων και ζώων.

Αρκετά ενθαρρυντικό είναι και το γεγονός πως αρκετά ήδη μικροφυκών μπορούν να χρησιμοποιηθούν απευθείας για διατροφή άλλα και σαν πρόσθετα διατροφής.

Πέρα όμως από τη διατροφή και τη φαρμακευτική, τα μικροφύκη μπορούν να καταστούν πολύ χρήσιμα και σε άλλους τομείς όπως στις αγροτικές καλλιέργειες καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν λιπάσματα, αλλά και σαν πρόσθετα για την παραγωγή λιπασμάτων περισσότερο φιλικών προς το περιβάλλον.

Παράλληλα, η ικανότητα που έχουν να τρέφονται καταναλώνοντας τοξικά απόβλητα μπορεί να σώσει τον πλανήτη από πολύ δυσάρεστες συνέπειες, ειδικά όσο αναπτύσσεται ο τομέας της βιομηχανίας. Ικανοποιείται έτσι διπλός στόχος, αφού και το περιβάλλον διατηρείται καθαρό, αλλά και παράγεται σημαντική ποσότητα βιομάζας με μηδαμινό κόστος που μπορεί να χρησιμεύσει σε αρκετούς τομείς.

Πρόκειται για τη μοναδική ίσως εναλλακτική για το μέλλον, ενώ οι επενδύσεις μεγάλων εταιρειών στο συγκεκριμένο τομέα δείχνει τη σημαντικότητά του. Παρόλα αυτά υπάρχουν ακόμα αρκετά εμπόδια να ξεπεραστούν προκειμένου η λύση αυτή να είναι οικονομικά και τεχνικά αποδεκτή. [16,17,18,19]



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2



## 2 Βασικές αρχές αλγών

### 2.1 Τι είναι τα φύκη – άλγες

Αν και δεν είναι ιδιαίτερα γνωστή σαν ονομασία στο ευρύ κοινό τα φύκη ονομάζονται και άλγες, από τη λατινική λέξη algae. Τα φύκη, και όχι φύκια με τα οποία συχνά συγχέονται, ανήκουν στην γενικότερη κατηγορία των φυτών. Πρόκειται για φωτοσυνθετικούς αυτότροφους οργανισμούς που δεν έχουν βέβαια βλαστούς, ρίζες ή φύλλα, ούτε σχηματίζουν άνθη, καρπούς ή σπέρματα.



**Σχήμα 2.1** : Υψηλή αφθονία κυττάρων του χλωροφύκου *Dunaliella* προσδίδει πορτοκαλέρυθρο χρώμα σε αλυκή. [15]

Αντί για σπέρματα σχηματίζουν σπόρια και γενικά έχουν μια πιο πρωτόγονη οργάνωση αλλά και εξαιρετική ποικιλία από μορφολογικής πλευράς. Τα σπόρια δημιουργούνται

από βλαστητικά κύτταρα με μιτωτικές διαιρέσεις και διακρίνονται σε πλανοσπόρια ή απλανοσπόρια, ανάλογα με το αν έχουν μαστίγια ή όχι.

Ορισμένα φύκη έχουν πολύπλοκους κύκλους ζωής, ενώ δε μοιάζουν καθόλου με τα σπερματοφύτα, είτε χερσαία είτε θαλάσσια. Θα μπορούσε να πει κανείς ότι μοιάζουν με μικροσκοπικούς θάμνους ή με φύλλα.

Τα φύκη αναπτύσσονται είτε σε αλμυρό είτε σε γλυκό νερό καθώς εκτός από τη θάλασσα τα συναντάμε και σε λίμνες και ποτάμια. Χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα μακροφύκη και τα μικροφύκη. Τα μακροφύκη μπορεί να έχουν μεγάλες διαστάσεις, ενώ τα μικροφύκη είναι πολύ μικρά και φαίνονται μόνο με μικροσκόπιο.

Για να ευδοκιμήσουν απαιτείται αεριζόμενο και υγρό περιβάλλον, ενώ πρέπει να έχουν επαρκή πρόσβαση στο φως, το διοξείδιο του άνθρακα και σε άλλα θρεπτικά συστατικά. Κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης καταναλώνουν διοξείδιο του άνθρακα και παράγουν μεγάλες ποσότητες οξυγόνου.

Τα μακροφύκη αναπτύσσονται κυρίως στη θάλασσα και μπορούν να φτάσουν σε πραγματικά μεγάλες διαστάσεις, σχηματίζοντας υποθαλάσσια δάση. Από την άλλη, τα μικροφύκη, τα βλέπουμε παντού, ειδικά στο νερό, γλυκό και αλμυρό, ενώ μπορούν ακόμα να προσαρμοστούν και να αναπτυχθούν, εκτός από το νερό, στο έδαφος, σε πέτρες, ξύλα ή ακόμα και σε ψυχρές ή θερμές ερημικές περιοχές. [15,20]

Μια πολύ σημαντική λεπτομέρεια σχετικά με τις άλγες είναι το γεγονός ότι αναπτύσσονται πολύ γρήγορα σε βρώμικα νερά, χρησιμοποιώντας για τροφή τις τοξίνες και τα άλλα απόβλητα που υπάρχουν σε αυτά. Μπορούν δηλαδή να χρησιμοποιηθούν παράλληλα ως ένα φυσικό μέσο για τον καθαρισμό διάφορων υδάτινων εκτάσεων.

Ήδη από πολύ παλιά έχει αρχίσει η εμπορική εκμετάλλευσή τους σε διάφορα μέρη του κόσμου, ενώ το 1997 οι ετήσιες πωλήσεις τους ξεπέρασαν τα 30 δισεκατομμύρια δολάρια. Για καρκεύματα και υδατοκαλλιέργεια προοριζόταν το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής αυτής.

Τα τελευταία χρόνια ωστόσο, το παγκόσμιο ενδιαφέρον συγκεντρώνεται στα μικροφύκη για την παραγωγή πολύτιμων πρώτων υλών που μετά από επεξεργασία καλύπτουν πολύ σημαντικές ανθρώπινες ανάγκες. Χρησιμοποιούνται για την παραγωγή διαφόρων προϊόντων, από θεραπευτικές πρωτεΐνες μέχρι βιοκαύσιμα, ενώ είναι ιδιαίτερα κατάλληλα για διατροφικές και ιατρικές εφαρμογές. Γενικά οι ουσίες που προέρχονται από τα μικροφύκη θεωρούνται ιδιαίτερα ασφαλείς για κατανάλωση και χρήση από τους ανθρώπους. [21,22]

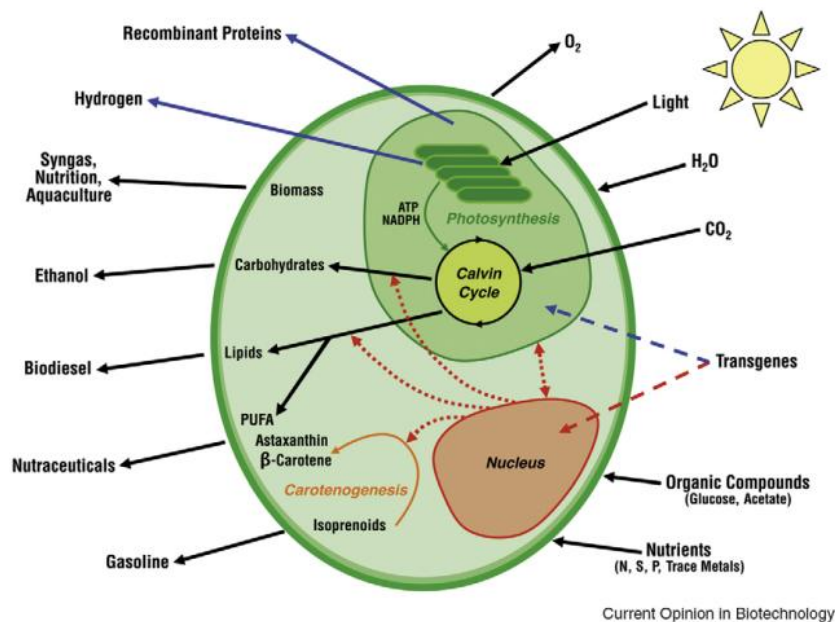
Αν και πολλά από τα είδη αυτά παράγουν χρήσιμες ενώσεις με φυσικό τρόπο, είναι επίσης κατάλληλα για επεξεργασία και γενετικό χειρισμό.

Σήμερα, αρκετές είναι οι εταιρείες που δραστηριοποιούνται στη βιομηχανία παραγωγής άλγης για διάφορους σκοπούς, ενώ και αρκετά πανεπιστήμια παγκοσμίως έχουν δημιουργήσει ερευνητικό έργο στο αντικείμενο αυτό.

## 2.2 Βασική δομή

Πρόκειται για μια αρκετά ετερογενή ομάδα, που έχουν μεγάλες διαφορές μεταξύ τους σε επίπεδο κυτταρικής δομής. Θα μπορούσε να πει κανείς ότι οι άλγες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί, καθώς ακόμα και τα συγκροτήματα άλγης που επιφανειακά φαίνεται να είναι μακροσκοπικοί, πολυκύτταροι οργανισμοί, στην πραγματικότητα είναι ένα γιγάντιο μονοκύτταρο. Ένας θαλλός, όπως ονομάζεται, αποτελεί το πολύ μεγάλο πολυπύρηνο κύτταρο.

Είναι χαρακτηριστικό ότι τα αναπαραγωγικά τους κύτταρα δεν περιβάλλονται από άγονα επικαλυπτικά κύτταρα, ενώ κύρια φωτοσυνθετική χρωστική τους ουσία είναι η χλωροφύλλη α. Η ανάπτυξή τους διαφέρει γενικά καθώς ποικίλει ανάλογα με το είδος. Ορισμένα φύκη αναπαράγονται αγενώς με μιτωτικές διαιρέσεις των βλαστητικών τους κυττάρων, ενώ άλλα αγενώς με σπόρια.



**Σχήμα 2.2 :** Σχηματική απεικόνιση των απλοποιημένων κυτταρικών οδών που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση διαφόρων προϊόντων που προέρχονται από μικροφύκη. [20]

Παρόλα αυτά, όλα τα ευκαρυωτικά φύκη παρουσιάζουν παρόμοια συστατικά στα κύτταρά τους, καθώς και μια σχετικά βασική δομή.

- **Κυτταρικό τοίχωμα :** Τα περισσότερα φύκη έχουν κυτταρινικό κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο μετά από μελέτες προκύπτει ότι αποτελείται από μικροϊνίδια κυτταρίνης. Παρατηρήθηκε επίσης διαφορά στο πάχος και τον προσανατολισμό. Ανάλογα με την εκάστοτε ομάδα φυκών μπορεί να περιέχει ημικυτταρίνη, βλεννώδη, πηκτίνη και ουσίες όπως το αλγινικό οξύ, η φουκοϊδίνη, η φουκίνη, το ανθρακικό ασβέστιο, το διοξειδίο του πυριτίου κ.α., σε διαφορετική σύσταση και συνδυασμούς.

- Μαστίγια : Πρόκειται για κύτταρα τα οποία υπάρχουν σε όλες τις ομάδες φυκών εκτός από τα κυανοφύκη και τα ροδοφύκη. Ανάλογα με την ομάδα διαφέρει το μήκος τους και η θέση στην οποία βρίσκονται, ενώ ποικίλει και ο αριθμός τους. Είναι μικρά νηματοειδή και χάρη στη δράση του ολοκληρώνεται η κίνηση.
- Πρωτοπλάστης : Είναι το πρωτοπλασματικό υλικό στο εσωτερικό των κυττάρων και στα ευκαρυωτικά φύκη έχει ένα λιποπρωτεϊνικό τοίχωμα γύρω του, τη κυτταρική μεμβράνη. Αποτελείται από το κυτταρόπλασμα και από έναν ή περισσότερους σφαιρικούς ή ελλειψοειδείς πυρήνες. Όλο το εσωτερικό του κυττάρου, από την εξωτερική πλευρά του πυρήνα μέχρι την εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης περιέχει ένα παχύρρευστο υλικό που συγκρατεί τα διάφορα οργανίδια που υπάρχουν μέσα στο κύτταρο, τα προστατεύει και αναπληρώνει το κενό χώρο που υπάρχει και ονομάζεται κυτταρόπλασμα. Η κυτταρική μεμβράνη από την άλλη, είναι λεπτή, ελαστική και επιλεκτικά διαπερατή ώστε να ελέγχει τη διέλευση υλικών στο εσωτερικό αλλά και αντίστροφα.

Πολύ σημαντικά οργανίδια που βρίσκονται όμως στο εσωτερικό των ευκαρυωτικών κυττάρων των φυκών είναι και τα παρακάτω :

- Πυρήνας : Βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου και το σχήμα του μπορεί να είναι σφαιρικό ή ελλειπτικό. Περιβάλλεται από την πυρηνική μεμβράνη, η οποία αποτελείται από δύο στρώματα και ελέγχει την επικοινωνία του πυρήνα με το κυτταρόπλασμα. Το εξωτερικό κομμάτι της πυρηνικής μεμβράνης είναι συνέχεια του ενδοπλασματικού δικτύου. Στο εσωτερικό κάθε πυρήνα υπάρχουν ένας ή περισσότεροι πυρηνίσκοι, αριθμός που ποικίλει ανάλογα με την ομάδα φυκών στην οποία ανήκει, ενώ ανάλογα ποικίλει και ο αριθμός των χρωμοσωμάτων που περιέχει.
- Χλωροπλάστες : Πολύ σημαντικό μέρος των κυττάρων των φυκών αποτελούν οι χλωροπλάστες, καθώς σε αυτά βρίσκονται όλα τα απαραίτητα για τη φωτοσύνθεση, ένζυμα. Έχουν διπλή μεμβράνη και το μέγεθός τους ποικίλει από 3 έως 6 μm, ενώ ανάλογα με την ομάδα φυκών στην οποία ανήκουν, εμφανίζουν και διαφορετικό σχήμα, όπως δισκοειδές, σχήμα κυπέλλου κ.α. Παράλληλα, έχει παρατηρηθεί ότι δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές η δομή τους ανάμεσα στους φυτικούς οργανισμούς, έχοντας μερικές κύριες δομικές περιοχές :
  - Μια διπέταλη μεμβράνη με κενό χώρο ανάμεσα στα δύο πέταλα.
  - Ένα κινητό στρώμα όπου βρίσκονται τα διαλυτά ένζυμα για το μεταβολισμό, τη σύνθεση των πρωτεϊνών και την αποθήκευση αμύλου.
  - Τις ελασματοειδείς μεμβράνες που περιέχουν χρωστικές και βοηθούν στη δέσμευση ενέργειας και τη μεταγωγή της.

Στο εσωτερικό σχηματίζονται δίσκοι σε στοίβες που ονομάζονται θυλακοειδή. Το σύστημα αυτό χωρίζεται από το στρώμα μέσω της θυλακοειδούς μεμβράνης. Τα απαραίτητα χρωστικά συστήματα για τη φωτοσύνθεση βρίσκονται μέσα στις μεμβράνες αυτές.



Στα κυανοφύκη, τα θυλακοειδή σχηματίζουν χλωροπλάστες ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα. Αντίθετα η χλωροφύλλη α και διάφορες βοηθητικές χρωστικές περικλείονται στα θυλακοειδή.

- Πυρηνοειδές σωματίο : Πρόκειται για πρωτεϊνούχα μέρη των χλωροπλαστών και βοηθούν στη σύνθεση και την αποθήκευση του αμύλου. Μπορεί να υπάρχει ένα ή και περισσότερα τέτοια σωματίδια σε κάθε χλωροπλάστη.
- Μιτοχόνδρια : Είναι επιμήκη, σφαιρικά ή έχουν ωοειδές σχήμα και περιβάλλονται από μια διπλή μεμβράνη. Ο αριθμός τους ανά κύτταρο ποικίλει καθώς στα περισσότερα κύτταρα υπάρχουν παραπάνω από ένα, ενώ σε μερικές ομάδες όπως στα χλωροφύκη υπάρχει μόνο ένα. Υπάρχουν σε όλες τις ομάδες φυκών εκτός από τα κυανοφύκη.
- Ενδοπλασματικό δίκτυο : Σε μελέτες που έγιναν παρατηρήθηκε ένα μεγάλο δίκτυο μεμβρανών στα κύτταρα των φυκών. Το δίκτυο αυτό αποτελείται από σωληνάρια και δεξαμενές που συνδέονται μεταξύ τους και ονομάζεται ενδοπλασματικό δίκτυο.
- Δικτυόσωμα ή συσκευή Golgi : Λειτουργεί σαν ενδιάμεσο μέσο μεταξύ της πλασματικής μεμβράνης και του ενδοπλασματικού δικτύου και υπάρχει σε όλα τα ήδη φυκών εκτός από τα κυανοφύκη. Είναι πολύ μικρό σε μέγεθος και παρατηρείται μόνο με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Βρίσκεται οπουδήποτε μέσα στο κύτταρο, τον πυρήνα, σε πλαστίδια ή αλλού. Αποτελείται από 2 έως 20 επίπεδα κυστίδια σε στοίβες, και η κάθε στοίβα να καλείται δικτυόσωμα. Όλα τα δικτυόσωμα μαζί αποτελούν στη συσκευή Golgi και φροντίζουν το πακετάρισμα των υλικών που πρέπει να εξέλθουν του κυττάρου. Παράλληλα είναι υπεύθυνα για τη φροντίδα της κυτταρικής μεμβράνης, το σχηματισμό νέας, την υποστήριξη της ανάπτυξης της ή την αντικατάσταση της χαμένης.
- Eye Spot ή Στίγμα : Πρόκειται για χρωστικές κηλίδες σε διάφορα μέρη των κινητήριων φυτικών ή αναπαραγωγικών κυττάρων των φυκών, που μετέχουν άμεσα ή έμμεσα στην αντίληψη του φωτός.
- Κενोटόπια : Υπάρχουν σχεδόν σε όλα τα κύτταρα των φυκών εκτός από τα κυανοφύκη, και ο αριθμός τους ποικίλει ανάλογα με το είδος. Περιορίζονται από διακριτές μεμβράνες, τους τονοπλάστες. [23]

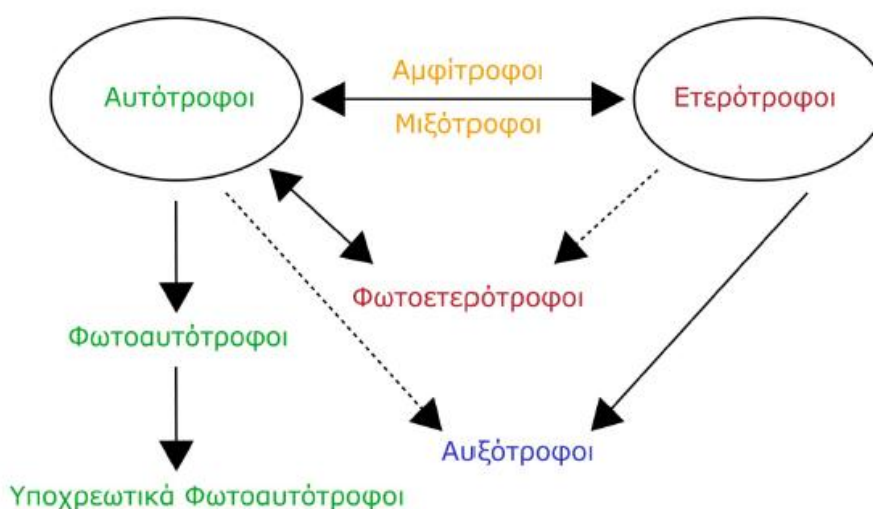
## 2.3 Μεταβολισμός φυκών

Τα περισσότερα φύκη είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, όπως και τα υπόλοιπα φυτά δηλαδή, φωτοσυνθέτουν. Προσλαμβάνουν λοιπόν άνθρακα από το διοξείδιο του άνθρακα αλλά και από άλλες πηγές και ενέργεια από τον ήλιο. Δεν το κάνουν όμως με τον ίδιο τρόπο όλες οι ομάδες φυκών, καθώς έχει παρατηρηθεί διαφορά στο τρόπο μεταβολισμού τους.

Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχουν διαφορετικοί τύποι μεταβολισμού ανάμεσα στις ομάδες φυκών αλλά και ότι ορισμένες ομάδες έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούν το μεταβολισμό τους ανάλογα με τις συνθήκες που υπάρχουν.

Παρατηρήθηκαν τέσσερις διαφορετικοί τύποι μεταβολισμού με τους οποίους αναπτύσσονται τα φύκη :

- Φωτοαυτότροφος : Είναι ο ευρέως διαδεδομένος τρόπος ανάπτυξης των φυκών και μοιάζει πολύ με τον τρόπο που λειτουργούν τα υπόλοιπα φυτά. Τα φύκη απορροφούν ενέργεια από τον ήλιο και άνθρακα από το διοξείδιο του άνθρακα ή άλλα είδη ανόργανου άνθρακα.
- Ετερότροφος : Πρόκειται για τις ομάδες φυκών οι οποίες δεν παίρνουν την ενέργεια από τον ήλιο, αλλά όπως και τον άνθρακα, τα απορροφούν από διάφορες οργανικές ουσίες.
- Μιξότροφος : Στη κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται οι ομάδες φυκών στις οποίες ο μεταβολισμός μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με τις συνθήκες. Πρόκειται δηλαδή για μια μίξη των δύο πρώτων τρόπων μεταβολισμού, φωτοαυτότροφου και ετερότροφου, με τα μικροφύκη να απορροφούν ενέργεια και άνθρακα με διάφορους τρόπους.
- Φωτοετερότροφος : Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα μικροφύκη που προσλαμβάνουν ενέργεια από τον ήλιο και άνθρακα από οργανικές ενώσεις.



**Σχήμα 2.3** : Οι διαφορετικοί τύποι μεταβολισμού στην ανάπτυξη των φυκών. [12]

Γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι ο φωτοαυτότροφος και ο φωτοετερότροφος τύπος μεταβολισμού έχουν ένα μεγάλο περιορισμό, καθώς τα φύκη στο μεταβολισμό αυτό επιβάλλεται να έχουν επαρκή πρόσβαση στο ηλιακό φως ούτως ώστε να αναπτυχθούν. Το πρόβλημα αυτό εντοπίζεται σε καλλιέργειες με μεγάλη πυκνότητα και σε καλλιέργειες όπου κατά τους θερινούς μήνες η ένταση του ηλιακού φωτός είναι μεγαλύτερη και χρησιμοποιείται φωτοπαρεμπόδιση για την προστασία τους. Στις περιπτώσεις αυτές μεγάλο μέρος της καλλιέργειας δεν έχει πρόσβαση στο φως, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να φωτοσυνθέσει.

Από την άλλη ο ετερότροφος και ο μιξότροφος τύπος μεταβολισμού είναι πολύ καλές περιπτώσεις για καλλιέργεια, ακριβώς για τους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Παράλληλα, στις περιπτώσεις αυτές, η εναπόθεση οργανικού άνθρακα στα υπόστρωμα βοηθά στην καλύτερη ανάπτυξη των φυκών, με αρκετές προϋποθέσεις όμως για να αποφευχθεί ο κίνδυνος της κυριαρχίας των βακτηρίων τελικώς.

Ειδικά ο μιξότροφος μεταβολισμός φαίνεται να έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τους υπόλοιπους τρόπους μεταβολισμού. Παρατηρείται ταχύτερος ρυθμός στην ανάπτυξη αλλά και μεγαλύτερη ποσότητα στην τελική παραγωγή βιομάζας.

Τέλος, οργανικά απόβλητα είναι δυνατό να αποτελέσουν τροφή για την ανάπτυξη των φυκών ούτως ώστε να μειωθεί το κόστος παραγωγής. [12,24,25,26,27,28,29,30]

## 2.4 Κατηγορίες φυκών

Η κατηγοριοποίηση των φυκών είναι γενικά αρκετά δύσκολη λόγω της μεγάλης ποικιλίας που υπάρχει. Οι περισσότερες ομάδες διαφέρουν μεταξύ τους μορφολογικά, στον τρόπο αναπαραγωγής τους ή ακόμα και στις χρωστικές που έχουν. Συνήθως οι μεγάλες ομάδες μπορούν να διακριθούν με βάση διάφορα βιοχημικά κριτήρια.

Τα Ροδοφύκη διακρίνονται για το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα τους, ενώ και οι θαλλοί τους θυμίζουν μικρούς θάμνους. Τα Δινοφύκη έχουν καστανά κύτταρα με αυλάκια και κυτταρικό τοίχωμα από πλάκες, ενώ τα Διάτομα χαρακτηρίζονται από κύτταρα με καστανή χροιά και τοιχώματα από πυρίτιο.



**Σχήμα 2.4** : Εικόνα κατά τη διαδικασία συλλογής φαιοφυκών. [15]

Τα φύκη λοιπόν μπορεί να ειπωθεί ότι χωρίζονται σε ομάδες, γένη ή ακόμα και είδη. Πληροφορίες για την ταξινόμηση τους προέρχονται εξετάζοντας τα νερά στα οποία αναπτύσσονται, το μέγεθος, το χρώμα, το μεταβολισμό, τη μορφή, τα κύτταρα, τον τρόπο με τον οποίο κινούνται αλλά και αναπαράγονται. Για περισσότερο λεπτομερή μελέτη θα πρέπει να αναζητηθεί ο κύκλος ζωής του φύκους αλλά και η βοήθεια μικροσκοπίου.

Ο όρος πλαγκτό χρησιμοποιείται για όλους τους μικροοργανισμούς που μεταφέρονται παθητικά μέσα σε θάλασσες, λίμνες κλπ. Από τους μικροοργανισμούς αυτούς ορισμένοι είναι αυτότροφοι, μπορούν δηλαδή να φτιάξουν τα κύτταρα τους και να φωτοσυνθέσουν, λειτουργώντας ακριβώς όπως τα ανώτερα φυτά. Οι μικροοργανισμοί αυτοί αποτελούν το φυτοπλαγκτόν. Έχουν τρομερή ποικιλία από μορφολογικής πλευράς και πολύ σπάνια ξεπερνούν τα 70 εκατομμυριοστά σε μέγεθος.

Παρακάτω, λοιπόν φαίνονται οι κύριες ομάδες φυκών :

- Κυανοφύκη ή κυανοβακτήρια : Πρόκειται για μικροσκοπικούς, προκαρυωτικούς, φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που δεν έχουν τα χαρακτηριστικά ενός πρότυπου ευκαρυωτικού κυττάρου. Έχουν κυανοπράσινο χρώμα λόγω μιας χρωστικής και αναπαράγονται αγενώς με κυτταρική διαίρεση. Αποτελούν βασική ομάδα του φυτοπλαγκτού και ο ρόλος τους είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς ορισμένα έχουν την ικανότητα να συγκρατούν ατμοσφαιρικό άζωτο. Περιλαμβάνουν περίπου 2.000 είδη και στην κατηγορία αυτή ανήκει η Spirulina που είναι από τα πλέον γνωστά φύκη.
- Διάτομα : Τα διάτομα είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί πολύ μικρού μεγέθους. Έχουν ένα μόνο κύτταρο και χαρακτηριστικό πυριτικό κυτταρικό τοίχωμα. Περιλαμβάνουν περίπου 16.000 είδη, ενώ είναι σχεδόν απίθανο να μαζέψει κάποιος φυτοπλαγκτόν που να μην περιέχει διάτομα.
- Δινοφύκη, Δινομαστιγιωτά, Πυρροφύκη : Πρόκειται ευκαρυωτικούς οργανισμούς που έχουν μόνο ένα κύτταρο και κινούνται με τη βοήθεια μαστιγίων. Τα περισσότερα διαθέτουν αυλάκια στο κύτταρο τους, όπου μέσα εκεί βρίσκονται τα μαστίγια. Αποτελούνται από 800 περίπου ήδη με 100 από αυτά να ζουν αποκλειστικά σε γλυκά νερά.
- Χλωροφύκη : Είναι μια μεγάλη ομάδα με περισσότερα από 400 γένη και 6.000 είδη, από τα οποία κάποιοι είναι μονοκύτταροι και άλλοι πολυκύτταροι οργανισμοί. Έχουν ευκαρυωτικά κύτταρα με σχηματισμένο πυρήνα και έναν ή περισσότερους χλωροπλάστες, ενώ και από μορφολογικής πλευράς παρουσιάζουν αρκετά μεγάλη ποικιλία. Διακρίνονται από πράσινο χρώμα και αναπαράγονται αγενώς και εγγενώς.
- Χαροφύκη : Θα μπορούσαν να ανήκουν κι αυτά στην παραπάνω κατηγορία καθώς μοιάζουν αρκετά, αλλά έχουν διαφορές από μορφολογικής πλευράς με τα χλωροφύκη. Τα χαροφύκη σχηματίζουν νήματα που στερεώνονται στο υπόστρωμα. Αναπαράγονται εγγενώς και τα αναπαραγωγικά τους όργανα είναι αρκετά πολύπλοκα, είτε πρόκειται για αρσενικά, είτε για θηλυκά. Αναπτύσσονται συνήθως σε καθαρά νερά, λίμνες και ρυάκια.
- Φαιοφύκη : Τα φαιοφύκη είναι μια ομάδα που ζουν και αναπτύσσονται σε θαλάσσια νερά, ενώ μόνο τρία γένη, από τα περίπου 250 που ανήκουν στην ομάδα, αναπτύσσονται σε γλυκά νερά. Το καστανό τους χρώμα εξηγείται από τη χρωστική ουσία φουκοξανθίνη, η οποία υπερτερεί σε σχέση με τη χλωροφύλλη α. Είναι πολυκύτταρα με μεγάλη ποικιλία στη μορφή και τη δομή τους και περιλαμβάνουν περίπου 2.000 είδη.
- Ροδοφύκη : Τα Ροδοφύκη αναπτύσσονται κυρίως στη θάλασσα, αν και έχουν παρατηρηθεί μερικά που αναπτύσσονται σε γλυκά νερά. Έχουν χαρακτηριστικό ρόδινο χρώμα και τις περισσότερες φορές αρκετά πολύπλοκη δομή, ενώ αν και

έχουν σχετικά μικρές διαστάσεις, είναι ορατά με γυμνό μάτι. Περιλαμβάνουν περίπου 4.000 είδη. [15,20]

## 2.5 Μικροφύκη

Τα μικροφύκη είναι κυτταρικά εργοστάσια που με καύσιμο την ηλιακή ενέργεια μετατρέπουν το διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ) σε τρόφιμα, ενέργεια, βιοκαύσιμα και διάφορα άλλα υψηλής αξίας βιοενεργά μόρια.

Πρόκειται για μικροσκοπικούς οργανισμούς που ανήκουν στην κατηγορία των φυκών και αναπτύσσονται πολύ γρηγορότερα από τα υπόλοιπα φυτά. Είναι χαρακτηριστικό ότι ενώ τα περισσότερα φυτά, αν όχι όλα, χρειάζονται μήνες για να διπλασιάσουν τη βιομάζα τους, τα μικροφύκη χρειάζονται μερικές μόνο μέρες καθώς το πετυχαίνουν σε δύο με πέντε μέρες.

Γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι τα μικροφύκη έχουν αυξημένη φωτοσυνθετική ικανότητα και αυτό γίνεται γιατί δεν χρειάζονται αγγειακό σύστημα για τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών. Επιπροσθέτως, δεν απαιτείται η χρήση ζιζανιοκτόνων, φυτοφαρμάκων και άλλων για την καλλιέργειά τους. [13]

Είναι μονοκύτταροι μικροοργανισμοί όπου αναπτύσσονται μεμονωμένα, σε αλυσίδες ή ομάδες. Το μέγεθος τους κυμαίνεται, ανάλογα με το είδος τους, μεταξύ 1-200  $\mu\text{m}$  και μπορεί να έχουν κακκοειδείς, μαστιγωτές ή παλμελοειδείς μορφές και τριχώματα, αλλά και μεγάλους αποικιακούς σχηματισμούς με νήματα, μικροθαλλούς ή πιο περίπλοκες δομές. [16]

Τα μικροφύκη διαφέρουν σε βασικούς τομείς μεταξύ τους όπως η βιολογία και η φυσιολογία τους. Με βάση αυτά ταξινομούνται σε κατηγορίες, οι κυριότερες των οποίων είναι :

- Τα Διάτομα
- Τα Χλωροφύκη
- Τα Κυανοφύκη
- Τα Χρυσοφύκη
- Τα Ροδοφύκη

Η ταξινόμησή τους στις διάφορες κατηγορίες γίνεται συνήθως βάση του χρώματος, του κύκλου ζωής, της κυτταρικής δομής τους, του μεταβολισμού αλλά και άλλων παραγόντων. [31,32,33]

Ήδη από το 1960 στην Ιαπωνία καλλιεργούνταν το χλωροφύκος *Chlorella*, το οποίο χρησιμοποιήθηκε στα τρόφιμα, ενώ τις επόμενες δεκαετίες, χώρες όπως οι ΗΠΑ, Ινδία, Ισραήλ, Αυστραλία επένδυσαν σε εκτεταμένη παραγωγή μικροφυκών.

Τα τελευταία χρόνια η αναζήτηση πρώτων υλών και νέων υλικών έφερε στο προσκήνιο στη λεγόμενη μπλε βιοτεχνολογία, εστιάζοντας στους υδρόβιους μικροοργανισμούς. Οι

δυνατότητες που έχουν τα μικροφύκη παρόλα αυτά σαν πρώτη ύλη για την παραγωγή προϊόντων είναι τεράστιες και σε μεγάλο βαθμό ανεκμετάλλευτες.

Πρόκειται για την καλύτερη ίσως λύση για βιομηχανική παραγωγή καινούριων φυσικών προϊόντων, αλλά το κόστος δυστυχώς για την ώρα αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα και φυσικά αντικείμενο ερευνητικής μελέτης. [34,35,36,37,38]

## 2.6 Ο ρόλος των φυκών στην καθημερινή ζωή των ανθρώπων

Το ενδιαφέρον που παρουσιάζουν τα φύκη είναι τεράστιο. Τεράστιας σημασίας επίσης είναι και η επίδρασή τους πάνω στη διαμόρφωση του κλίματος και της εξέλιξης της ζωής. Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω τα φύκη απορροφούν το διοξείδιο του άνθρακα και απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες οξυγόνου, συμβάλλοντας έτσι στον καθαρισμό της ατμόσφαιρας και την ανάπτυξη της ζωής. Ήδη από πολύ παλιά, τα κυανοφύκη αποτέλεσαν τους πρώτους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που δημιουργήθηκαν πάνω στη Γη και βοήθησαν αρκετά στην ύπαρξη μεγάλων ποσοτήτων οξυγόνου.

Όπως είναι ήδη γνωστό, τα φυτά αποτελούν τη βάση της τροφικής αλυσίδας, ενώ εύκολα γίνεται η σύνδεση, το ρόλο των φυτών στο υδάτινο περιβάλλον να αναλαμβάνουν τα φύκη. Τα φύκη λοιπόν αποτελούν τη βάση της τροφικής αλυσίδας σε γλυκά αλλά και αλμυρά νερά.

Τα φύκη πλέον διαδραματίζουν αρκετά σημαντικό ρόλο στη ζωή του ανθρώπου και η σχέση τους γίνεται ολοένα και πιο στενή όσο προχωράει η επιστήμη και ανακαλύπτονται νέα πεδία και εφαρμογές.

Ήδη τη σήμερον ημέρα, τα φύκη χρησιμοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα των ανθρώπινων αναγκών :

- Από τα πολύ παλιά χρόνια, και δη το 2700 π.Χ. χρησιμοποίησαν οι Κινέζοι τα φύκη στη διατροφή τους. Πλέον είναι πολλοί περισσότεροι οι λαοί που τα έχουν εντάξει στην καθημερινή τους διατροφή. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατροφή καθώς περιέχουν πολύτιμα συστατικά, όπως ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Ορισμένα, όπως το Ροδοφύκος *Porphyra* από το οποίο φτιάχνεται το σούσι, είναι πολύ δημοφιλή στις μέρες μας. Παράλληλα, το Ροδοφύκος *Porphyra* φέρεται να έχει κάποια στοιχεία που βοηθούν στην πρόληψη ασθενειών, καθώς άτομα που το ενέταξαν στη διατροφή τους εμφάνισαν σπανιότερα ορισμένα είδη ασθενειών σε σχέση με άλλους. Πολύ δημοφιλές είναι και το κυανοφύκος *Spirulina* που συγκαταλέγεται στις τροφές του μέλλοντος.
- Έχουν εφαρμογές στη φαρμακοβιομηχανία ως πρώτη ύλη για την παραγωγή φαρμάκων, αντιβιοτικών, εμβολίων κλπ.
- Χρησιμοποιούνται στη γεωργία σαν λιπάσματα ή βελτιωτικά του εδάφους.

- Χρησιμοποιούνται επίσης στην κτηνοτροφία σαν συμπληρώματα διατροφής, όπως και στις ιχθυοκαλλιέργειες. Στοιχείο που τα κάνει κατάλληλα για ζωοτροφή είναι ότι περιέχουν πολλές πρωτεΐνες.
- Τα φύκη αναπτύσσονται πολύ γρήγορα. Αυτό σχετίζεται με ορισμένες αυξητικές ορμόνες που περιέχουν, και με βάση αυτές, παράγονται προϊόντα που βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών και την προστασία τους.
- Τα φύκη σαν πρώτη ύλη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή διαφόρων κολλοειδών προϊόντων, τα οποία έχουν πολλές εφαρμογές στην ιατρική, τη φαρμακευτική και πολλούς άλλους κλάδους, ενώ μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί ανάλογα υλικά με παρόμοιες ιδιότητες.
- Στην κοσμετολογία για σύσταση καλλυντικών μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν τα φύκη, αφού είναι πλούσια σε ιχνοστοιχεία, προβιταμίνες, μεταλλικά άλατα κλπ. Τα συστατικά αυτά βοηθούν στην ενυδάτωση της επιδερμίδας καταπολεμώντας την κυτταρίτιδα.
- Χρωστικές ουσίες μπορούν επίσης να παραχθούν από τα φύκη. Οι ουσίες αυτές παράγουν υλικά τα οποία λειτουργούν σαν πρόδρομες ουσίες της βιταμίνης A, αλλά και σαν αντιοξειδωτικά συστατικά στη βιομηχανία χρωμάτων και αλλού.
- Λόγω της ικανότητας που έχουν να καταναλώνουν το διοξείδιο του άνθρακα και να παράγουν οξυγόνο μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό της ατμόσφαιρας κοντά σε βιομηχανικές περιοχές. Επίσης λόγω του ότι χρησιμοποιούν τοξίνες και λοιπά απόβλητα σαν τροφή μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό υδάτων σε λίμνες και ποτάμια όπου καταλήγουν τα απόβλητα διαφόρων εργοστασίων και πόλεων.
- Κάποια φύκη χρησιμοποιούνται σαν βιοδείκτες, δείχνουν δηλαδή την ποιότητα του νερού.
- Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σαν πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων αλλά και για νέες μορφές ανανεώσιμων πηγών ενέργειας (ΑΠΕ), ενώ όταν καίγονται παράγουν ηλεκτρισμό. [15,39]





# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3



## 3 Συστήματα καλλιέργειας

### 3.1 Γενικά για τα συστήματα

Ήδη από το 1950 εντοπίζεται να αναπτύσσονται τα πρώτα συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών, με σκοπό τότε, την εκμετάλλευσή τους σαν πηγή πρωτεΐνης για τον όλο και αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό. Αργότερα, από το 1970 περίπου ξεκίνησε να διερευνάται το κατά πόσο μπορεί η βιομάζα μικροφυκών να προσφέρει και σαν πηγή ενέργειας.

Τα τελευταία χρόνια η παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη έχει αναπτυχθεί αρκετά και μπορεί να αναπτυχθεί ακόμα περισσότερο φέρνοντας επανάσταση σε διάφορους τομείς, όπως η διατροφή, η φαρμακευτική και άλλοι. Παρόλα αυτά εξακολουθεί να έχει μεγαλύτερο κόστος οικονομικά σε σχέση με την αντίστοιχη των φυτών. Είναι πολύ σημαντικό λοιπόν ένα σύστημα καλλιέργειας που να είναι αρκετά αποδοτικό οικονομικά.

Ένα σύστημα καλλιέργειας, εκτός από οικονομικό θα πρέπει να παρέχει και ορισμένες άλλες συνθήκες για να είναι αποδοτικό. Πρέπει να υπάρχει επαρκής σύνδεση της καλλιέργειας με νερό, θρεπτικά συστατικά αλλά και ορισμένες κλιματολογικές και γεωφυσικές συνθήκες.

Κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας μικροφυκών είναι πολύ σημαντική η ταχύτητα με την οποία αυτά φωτοσυνθέτουν και κατ' επέκταση παράγεται βιομάζα. Γίνεται λοιπόν σαφές πως θα παραχθεί πολύ πιο γρήγορα, περισσότερη βιομάζα αν η φωτοσύνθεση γίνεται όλο το εικοσιτετράωρο, από ότι αν γίνεται μόνο κατά τις φωτεινές ώρες. Γι αυτό θα πρέπει να τροφοδοτούνται τα μικροφύκη με ηλιακή ενέργεια καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας.

Άλλοι σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να ρυθμίζει ένα σύστημα καλλιέργειας είναι η θερμοκρασία και η ανταλλαγή αερίων. Η ιδανική θερμοκρασία για την ανάπτυξη των περισσότερων τύπων μικροφυκών κυμαίνεται μεταξύ 20 και 30 °C.

Τα συστήματα καλλιέργειας διαφέρουν αρκετά ανάμεσα σε μακροάλγη και μικροάλγη. Στα μικροφύκη, λόγω του ότι είναι πολύ μικρά, επιβάλλονται συστήματα καλλιέργειας που έχουν φτιαχτεί αποκλειστικά γι αυτά. Διαφορές στα συστήματα εντοπίζονται και ανάμεσα στα είδη μικροφυκών καθώς χρειάζονται διαφορετικά χαρακτηριστικά.

Οι δυο βασικές κατηγορίες συστημάτων καλλιέργειας είναι τα ανοικτά και τα κλειστά συστήματα και το πρώτο πράγμα που πρέπει να προσεχθεί είναι ποιος από τους δύο τύπους θα επιλεγεί. Στη συνέχεια γίνεται σχεδιασμός του συστήματος καλλιέργειας με βάση το είδος μικροάλγης που έχει επιλεγεί να καλλιεργηθεί. Τα συστήματα εγκαθίστανται είτε πάνω στο νερό, είτε σε χερσαίο έδαφος. [40]

Παράλληλα ιδιαίτερα σημαντική είναι και η σωστή επιλογή του μικροφύκου που θα καλλιεργηθεί για να είναι όσο το δυνατόν αποδοτικότερη η καλλιέργεια με το μικρότερο δυνατό κόστος. Παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη είναι :

- η παραγωγικότητα βιομάζας,
- η περιεκτικότητα σε διάφορα θρεπτικά στοιχεία που περιέχει το μικροφύκος,
- η αντοχή σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες,
- η ικανότητα δέσμευσης διοξειδίου του άνθρακα,
- η ευκολία διαχωρισμού της παραγόμενης βιομάζας,
- η πιθανότητα επιπλέον χρήσεων.

Όλα τα παραπάνω μαζί με το σωστό εξοπλισμό και σχεδιασμό του συστήματος θα καθορίσουν το πόσο αποδοτική θα είναι η καλλιέργεια και πόσο κερδοφόρα τα αποτελέσματα. [13,41]

### 3.2 Ανοικτά συστήματα

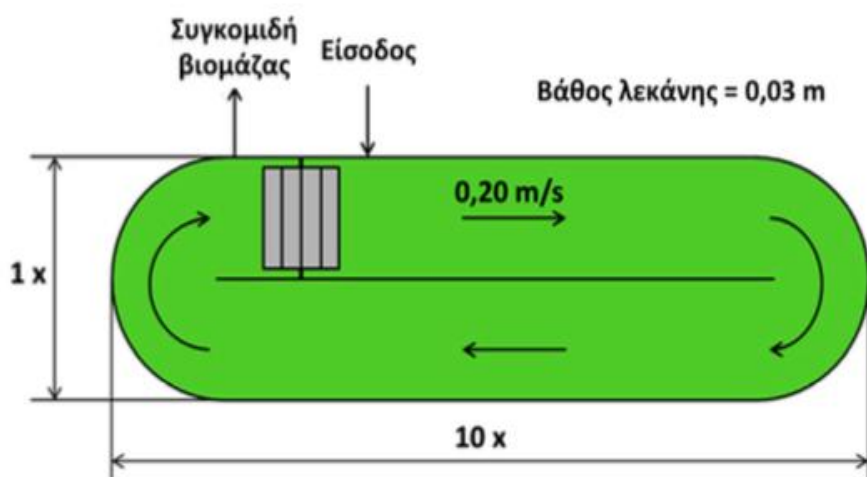
Στη θεωρία είναι τα πρώτα συστήματα που αναπτύχθηκαν για τη μαζική καλλιέργεια φυκών, ήδη από το 1950, και ταυτόχρονα τα πιο απλά. Διαδόθηκαν από την αρχή περισσότερο από τα υπόλοιπα καθώς έχουν λιγότερες απαιτήσεις, είναι πολύ πιο εύκολο να φτιαχτούν και είναι πιο οικονομικά, ειδικά τα θαλάσσια. [42]

Στα συστήματα αυτά, τα μικροφύκη τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά ενώ η ανταλλαγή αερίων γίνεται με τον αέρα και το ηλιακό φως. Μπορούν να αναπτύσσονται σε φυσικά συστήματα όπως λίμνες, λιμνοθάλασσες και στη θάλασσα αλλά και σε τεχνητές δεξαμενές. Οι δεξαμενές αυτές βέβαια, δεν έχουν καλή σταθερότητα και εμφανίζουν χαμηλή συγκέντρωση βιομάζας (μεταξύ 0,1-1,5 g\*L<sup>-1</sup>).

Τα ανοικτά συστήματα καλλιέργειας χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες :

- ελλειψοειδείς δεξαμενές, όπου μετακινούμενα μηχανικά συστήματα προκαλούν συνεχόμενη ανάδευση,
- κυκλικές δεξαμενές, όπου μια νοητή κινούμενη ακτίνα προκαλεί συνεχόμενη ανάδευση.

- επικλινείς δεξαμενές, όπου μέσω της άντλησης και στη συνέχεια της βαρύτητας επιτυγχάνεται η ανάδευση.



Σχήμα 3.1 : Απλή απεικόνιση επιμήκους λεκάνης. [43]

Το σύστημα της ανάδευσης έχει βαρύνουσα σημασία στις καλλιέργειες ανοικτού τύπου καθώς είναι αναγκαίο για τη μη δημιουργία συσσωμάτωσης και καθίζησης των μικροφυκών. Παράλληλα η καλή ανάδευση βοηθά στην καλύτερη αξιοποίηση του φωτός και στην ομογενοποίηση του υποστρώματος. [44]

Στις καλλιέργειες ανοικτού τύπου μπορεί να υφίσταται το πλεονέκτημα του χαμηλού κόστους και της εύκολης λειτουργίας, όμως τα φύκη βρίσκονται εκτεθειμένα στο περιβάλλον. Ακραία καιρικά φαινόμενα μπορούν να δυσχεράνουν την παραγωγή ή ακόμα και να την καταστρέψουν. Παράλληλα είναι πιθανό τα μικροφύκη να επιμολυνθούν από άλλα είδη μικροφυκών, βακτηρίων ή άλλων μικροοργανισμών.

Τέτοιες επιμολύνσεις μπορούν να διαφοροποιήσουν τη σύσταση των μικροφυκών, να υποβαθμίσουν την ποιότητα αλλά και να μειώσουν την παραγωγή καθώς εκτός από το προσδοκώμενο είδος μικροφύκου θα παραχθούν και άλλα. Σε ορισμένες περιπτώσεις με πολύ έντονη επιμόλυνση μπορεί ακόμα και να αποτύχει η καλλιέργεια, είτε λόγω εμφάνισης παρασιτικών ασθενειών, είτε γιατί μπορεί να επικρατήσει κάποιο άλλο είδος.

Μεγάλος είναι και ο κίνδυνος οι επιμολύνσεις αυτές να αποβούν επικίνδυνες για την υγεία των καταναλωτών, όπως για παράδειγμα στην καλλιέργεια της σπιρουλίνας, από άλλα κυανοβακτήρια που παράγουν ορισμένες τοξίνες.

Ένα άλλο πρόβλημα που προκύπτει σε τεχνητές δεξαμενές στις καλλιέργειες τέτοιου είδους είναι η εξάτμιση του νερού καθώς πρέπει συνεχώς αυτό να αναπληρώνεται. Στις περιπτώσεις με σημαντική εξάτμιση χάνονται μεγάλες ποσότητες νερού και αυξάνεται η συγκέντρωση των αλάτων, η οποία όταν ξεπεράσει κάποιο όριο αρχίζει και δρα ανασταλτικά στην ανάπτυξη των μικροφυκών. [45,46]

Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων, που επηρεάζουν τις καλλιέργειες ανοικτού τύπου σχεδιάζονται ειδικά συστήματα, συγκεκριμένων συνθηκών, ξεχωριστά για κάθε είδος μικροφύκους. Αν για παράδειγμα καλλιεργηθεί ένα συγκεκριμένο μικροφύκος που απαιτεί πολύ μεγάλη περιεκτικότητα σε αλατότητα ή κάποια ακραία τιμή pH τότε αυτό συνήθως δεν κινδυνεύει από την παρουσία άλλων μικροφυκών. Επιπροσθέτως, για να μη μειονεκτήσουν έναντι άλλων μικροοργανισμών, θα πρέπει να επιλεγούν μικροφύκη με υψηλό ρυθμό ανάπτυξης. [17,27,47,48]

Συνήθως τα συστήματα αυτά είναι είτε κυκλικές δεξαμενές είτε υδατοδιάδρομοι (raceway ponds) ή επιμήκεις λεκάνες. Οι δεξαμενές αυτές αποτελούν τα συστήματα που προτιμώνται περισσότερο σε τέτοιου τύπου καλλιέργειες. Πρόκειται για ένα κλειστό κύκλωμα καναλιών ανακύκλωσης με ωσειδές σχήμα στο οποίο παρέχεται με συνεχή τρόπο ανάμειξη και κυκλοφορία. Οι δεξαμενές αυτές κατασκευάζονται συνήθως από σκυρόδεμα, το οποίο επενδύεται από πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC). Οι διαστάσεις τους κυμαίνονται μεταξύ 10-100 μέτρα μήκος, 1-10 μέτρα πλάτος και 10-50 εκατοστά βάθος. Στις δεξαμενές αυτές η ανάδευση επιτυγχάνεται μέσω ενός τροχού με πτερύγια, ενώ στις κυκλικές δεξαμενές μέσω ενός κινούμενου βραχίονα. [49]



**Σχήμα 3.2** : Ανοιχτό σύστημα καλλιέργειας με επιμήκεις λεκάνες στη Cynanotech, Χαβάη. [50]

Πολύ σημαντικό για την απόδοση του συστήματος καλλιέργειας είναι το βάθος των δεξαμενών καθώς δε θα πρέπει να είναι πολύ μεγάλο, αλλά ούτε και πολύ μικρό. Πολύ μεγάλο δε θα πρέπει να είναι για να μπορεί το ηλιακό φως να φτάνει μέχρι τον πάτο, καθώς το φως εξασθενεί μέσα σε υγρά μέσα. Αντίθετα, δε θα πρέπει να είναι πολύ μικρό για να μην αλλάζει εύκολα η συγκέντρωση των ιόντων με την εξάτμιση του νερού. Επίσης αρκετά σημαντικό είναι να αναπληρώνεται επαρκώς το διοξείδιο του άνθρακα που χάνεται στην ατμόσφαιρα. Ανάλογα βέβαια με το είδος του μικροφύκου και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν, το ιδανικό βάθος μπορεί να ποικίλει. [47]

Η εμπειρία και η γνώση που υπάρχει πλέον στη μαζική παραγωγή βιομάζας μικροφυκών είναι αρκετά μεγάλη, καθώς χώρες όπως το Ισραήλ, οι ΗΠΑ και η Κίνα χρησιμοποιούν την συγκεκριμένη. Αντίθετα χώρες όπως οι Ιαπωνία, Ταϊβάν και Ινδονησία έχουν αναπτύξει και χρησιμοποιούν κυκλικού τύπου δεξαμενές. Στις ΗΠΑ και

πιο συγκεκριμένα στην Calipatria βρίσκεται η μεγαλύτερη εγκατάσταση παραγωγής βιομάζας μικροφυκών, όπου παράγονται κυανοβακτήρια για συμπληρώματα διατροφής. [37]

Σε γενικές γραμμές οι καλλιέργειες ανοικτού τύπου ευδοκίμουν σε χώρες με αρκετή ηλιοφάνεια όπως η Ελλάδα. Αντίθετα σε χώρες με χαμηλές θερμοκρασίες και μικρή ηλιοφάνεια οι περιόδους καλλιέργειας είναι πολύ περιορισμένες.

Οι μεγάλες βιομηχανικές εγκαταστάσεις παραγωγής βιομάζας χρησιμοποιούν ανοικτά συστήματα καλλιέργειας κυρίως λόγω του χαμηλού επενδυτικού κεφαλαίου που χρειάζεται και του εξίσου χαμηλού πάγιου κόστους που αυτά έχουν, ενώ στα θετικά συγκαταλέγεται και το γεγονός ότι δε χρειάζεται καθημερινή παρακολούθηση της καλλιέργειας. Οι καλλιέργειες αυτού του τύπου όμως χρειάζονται μεγάλες εκτάσεις και ποσότητες νερού, ενώ δεν έχουν μεγάλη παραγωγικότητα. Στα αρνητικά και το γεγονός ότι δεν μπορούν να ρυθμιστούν παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η ηλιακή ακτινοβολία και το διοξείδιο του άνθρακα, ενώ χρειάζεται και αρκετή ενέργεια για τη συνεχή ανάμειξη.

### 3.3 Κλειστά συστήματα

Στα συστήματα αυτά, τα φύκια καλλιεργούνται σε κλειστά μέσα που μπορεί να είναι από απλές γυάλινες ή πλαστικές φιάλες και δεξαμενές, μέχρι πολύπλοκες κατασκευές που ονομάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες. Χωρίζονται σε συνεχείς ή στατικές καλλιέργειες και σε στεγασμένες ή υπαίθριες.



**Σχήμα 3.3 :** Αυλωτός φωτοβιοαντιδραστήρας για παραγωγή υψηλής αξίας προϊόντων από μικροφύκη (IGV-Biotech) [13]

Οι συνθήκες ελέγχονται καλύτερα, αναλογικά και με το σύστημα που χρησιμοποιείται, αν είναι στεγασμένη ή υπαίθρια η καλλιέργεια, ενώ τα φύκη δεν έρχονται σε άμεση επαφή με τις εξωτερικές συνθήκες. Με το τρόπο αυτό προστατεύονται από ενδεχόμενες μεταβολές των συνθηκών καλλιέργειας και από ακραία φυσικά φαινόμενα που θα μπορούσαν να καταστρέψουν την παραγωγή.

Οι στεγασμένες καλλιέργειες πραγματοποιούνται μέσα σε φωτοβιοαντιδραστήρες όπου οι συνθήκες είναι πλήρως ελεγχόμενες. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες χρησιμοποιούνται περισσότερο σήμερα για ερευνητικούς σκοπούς σε μικρή κλίμακα ή για την παραγωγή προϊόντων υψηλής αξίας καθώς αυξάνεται αισθητά το κόστος παραγωγής και συντήρησης.

Υπάρχουν βέβαια και οι κλειστού τύπου καλλιέργειες όπου δεν είναι όλα απόλυτα ελεγχόμενα. Πρόκειται για τις υπαίθριες καλλιέργειες, στις οποίες, παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η ένταση του φωτός δεν μπορούν να ελεγχθούν.

Παράλληλα, υπάρχουν και τα κλειστά συστήματα δεξαμενών από πλεξιγκλάς που μοιάζουν πολύ με τα θερμοκήπια. Στα συστήματα αυτά όπως και στους φωτοβιοαντιδραστήρες είναι πιο εύκολο να ελεγχθούν οι συνθήκες καλλιέργειας και ως εκ τούτου μπορούν να καλλιεργηθούν περισσότερα είδη μικροφυκών, ενώ και η περίοδος καλλιέργειας είναι μεγαλύτερη. [17,51,52,53]

### 3.3.1 Στατικές – συνεχείς καλλιέργειες

Οι στατικές καλλιέργειες χρησιμοποιούνται συνήθως για συντήρηση ή την περαιτέρω έρευνα στον τομέα της μαζικής παραγωγής βιομάζας μέσω της καλλιέργειας μικροφυκών. Τα κύρια κομμάτια που ερευνώνται αφορούν κυρίως το ρυθμό ανάπτυξης αλλά και τις διάφορες φάσεις που εμφανίζονται κατά τη διαδικασία.

Στις στατικές καλλιέργειες η ανάπτυξη έχει συνήθως έναν σταθερό ρυθμό και πραγματοποιείται χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση από την αρχή μέχρι το τέλος, ενώ λαμβάνουν χώρα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, κωνικές φιάλες, σάκους πολυαιθυλενίου και άλλα.

Πολύ σημαντική για τις καλλιέργειες τέτοιου τύπου είναι η διαδικασία της μεταφοράς ζωντανών κυττάρων μέσα στο μέσο ανάπτυξης, καθώς θα καθορίσει σε μεγάλο βαθμό την αποδοτικότητα της καλλιέργειας. Ο τρόπος και η ποσότητα της απόθεσης παίζουν μεγάλο ρόλο, ενώ χρειάζονται και οι κατάλληλες εγκαταστάσεις.

Ο τρόπος αύξησης των φυκών με το χρόνο συνδέεται μη γραμμικά με το χρόνο και εκφράζεται από την σχέση :

$$\mu = \frac{\ln \left( \frac{N_1}{N_0} \right)}{t_1 - t_0}, \text{ εξίσωση 3.1}$$

όπου N είναι μια παράμετρος, π.χ. αριθμός κυττάρων, συγκέντρωση χλωροφύλλης α, οπτική πυκνότητα κ.λπ.,

$N_0$  η παράμετρος στο χρόνο  $t = t_0$

$N_1$  η παράμετρος στο χρόνο  $t = t_1$

Ο χρόνος που απαιτείται για το διπλασιασμό της καλλιέργειας δίνεται από τη σχέση :

$$G = \frac{\ln 2}{\mu}, \text{ εξίσωση 3.2}$$

Σημειώνεται ότι από τη στιγμή της απόθεσης των ζωντανών κυττάρων στο μέσο ανάπτυξης μεσολαβεί ένα χρονικό διάστημα μέχρι αυτά να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Το διάστημα αυτό είναι ένα διάστημα προσαρμογής και καλείται φάση υστέρησης.

Στην πορεία και ανάλογα με τους παράγοντες που την επηρεάζουν, είτε λόγω μείωσης θρεπτικών συστατικών, είτε λόγω διάφορων τοξικών παραγόντων που ελευθερώνονται, η καλλιέργεια μπορεί να αναπτύσσεται με μικρότερο ρυθμό ή ακόμα και να σταματήσει πλήρως η ανάπτυξη της.

Εκτός από τις στατικές καλλιέργειες, στα κλειστού τύπου συστήματα υπάρχουν και οι παρατεταμένης διάρκειας, οι λεγόμενες συνεχείς καλλιέργειες. Στις καλλιέργειες αυτές αφαιρούνται κατά διαστήματα ποσότητες καλλιέργειας οι οποίες αντικαθίστανται από θρεπτικά συστατικά. Έτσι εξασφαλίζεται πολύ πιο γρήγορος ρυθμός ανάπτυξης.

Τέτοιες καλλιέργειες βοηθούν για τη μετάβαση από μια μικρότερη σε μεγαλύτερης κλίμακας καλλιέργεια, ενώ χρησιμοποιούνται αρκετά και σε πειραματικές εγκαταστάσεις για χρήση στη φαρμακοβιομηχανία. [12]

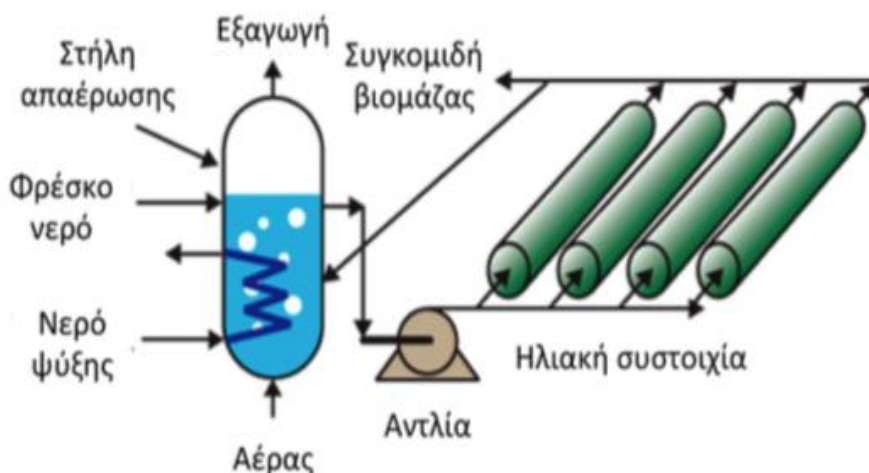
### 3.3.2 Φωτοβιοαντιδραστήρες

Οι περισσότερες καλλιέργειες κλειστού τύπου λαμβάνουν χώρα σε κλειστά συστήματα που ονομάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες σχεδιάστηκαν για την αποφυγή αρκετών προβλημάτων που παρουσιάστηκαν στις ανοιχτού τύπου καλλιέργειες, όπως μολύνσεις και διάφορα άλλα.

Υπάρχει πλήθος υλικών τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη δημιουργία ενός φωτοβιοαντιδραστήρα, ενώ και το σχήμα τους μπορεί να πάρει αρκετές μορφές. Τα συνηθέστερα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι το πλαστικό και το γυαλί, αν και δεν είναι τα μοναδικά.

Απλές κατασκευές αποτελούν οι σάκοι πολυαιθυλενίου, ενώ υπάρχουν ακόμα, επίπεδοι φωτοβιοαντιδραστήρες που μοιάζουν με ηλιακούς συλλέκτες, είτε κατακόρυφοι είτε κεκλιμένοι, ελικοειδούς μορφής ή κυλινδρικοί με επιμήκης αγωγούς. [17,51,52,53]





**Σχήμα 3.5 :** Παράδειγμα αυλωτού φωτοβιοαντιδραστήρα με παράλληλους οριζόντιους σωλήνες. [54]

Η δημιουργία ενός φωτοβιοαντιδραστήρα δεν είναι εύκολη και απαιτείται ιδιαίτερα καλή γνώση φυσικής και βιολογίας για το σχεδιασμό του. Ένας φωτοβιοαντιδραστήρας αποτελείται από κάποια υποσυστήματα, τα κυριότερα των οποίων είναι :

- σύστημα φωτισμού,
- σύστημα εμπλουτισμού CO<sub>2</sub>,
- σύστημα ανάδευσης,
- σύστημα απομάκρυνσης αερίων,
- σύστημα θέρμανσης/ψύξης,
- σύστημα παροχής θρεπτικών συστατικών. [53, 55,56]

Ορισμένα συστήματα στην προσπάθεια μείωσης του κόστους χρησιμοποιούν την ηλιακή ενέργεια αντί για σύστημα φωτισμού και θέρμανσης. Τα συστήματα αυτά όμως χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, βάση των μεταβολών στα επίπεδα του φωτός και των εποχών.

Τα συστήματα φωτοβιοαντιδραστήρων που χρησιμοποιούνται περισσότερο είναι οι αυλωτοί ή σωληνοειδείς και οι επίπεδοι (flat panel PBRs) φωτοβιοαντιδραστήρες, με τα πρώτα να είναι τα πιο ευρέως διαδεδομένα για μεγάλες σχετικά καλλιέργειες.

Οι αυλωτοί φωτοβιοαντιδραστήρες δημιουργούνται από γυαλί ή πλαστικό και είναι κατασκευές που αποτελούνται από έναν μεγάλο αριθμό σωληνώσεων. Μέσω των σωληνώσεων αυτών δεσμεύεται η ηλιακή ενέργεια που χρειάζεται η καλλιέργεια. Σημειώνεται ότι η διάμετρος τους δεν πρέπει να είναι μεγάλη για να μπορεί το φως να τα διαπερνά ακόμα και σε καλλιέργειες μικροφυκών υψηλής πυκνότητας.

Στις κατασκευές αυτές η βιομάζα κυκλοφορεί με τη βοήθεια αντλιών ή μέσω ενός συστήματος αερισμού. Στο κομμάτι αυτό αξίζει να τονιστεί, ότι η κατηγορία αυτή συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων έχει και αρκετά λειτουργικά προβλήματα όπως οι



ακαθαρσίες που μαζεύονται στα τοιχώματα των σωληνώσεων που μπορεί να έχουν ανασταλτική λειτουργία στην ανάπτυξη των μικροφυκών.

Η πιθανότητα καθίζησης όπως και η αυξημένη συγκέντρωση σε οξυγόνο ή διοξείδιο του άνθρακα στο εσωτερικό των σωληνώσεων είναι επίσης προβλήματα προς επίλυση για την καλύτερη λειτουργία τους. Αν για παράδειγμα τα επίπεδα του οξυγόνου είναι μεγαλύτερα του επιτρεπτού τότε παρεμποδίζεται η φωτοσύνθεση και κατ' επέκταση η ανάπτυξη της καλλιέργειας.

Για τους λόγους αυτούς το μήκος ενός συνεχόμενου σωλήνα δεν πρέπει να ξεπερνά τα 80 μέτρα, και η διάμετρός του τα 10 εκατοστά. Επισημαίνεται βέβαια πως οι διαστάσεις που πρέπει να έχει ένας σωλήνας καθορίζονται από μια σειρά παραγόντων, όπως η ένταση του φωτός, η συγκέντρωση της βιομάζας και η ταχύτητα ροής και εισόδου του οξυγόνου. [55]

Βέβαια, από τα πρώτα κλειστά συστήματα καλλιέργειας που φτιάχτηκαν είναι οι επίπεδοι φωτοβιοαντιδραστήρες, στο κομμάτι των οποίων έχει πέσει αρκετά μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Τα συστήματα αυτά είναι φτιαγμένα έτσι, με μεγάλη επιφάνεια, με σκοπό τη δέσμευση της ηλιακής ενέργειας στο μέγιστο βαθμό.

Είναι σταθερά συστήματα, εύκολα στο χειρισμό και έχουν σχετικά χαμηλό κόστος λειτουργίας, ενώ χαρακτηρίζονται από παραγωγή βιομάζας μικροφυκών με μεγάλη πυκνότητα.

Κατασκευάζονται από διαφανή υλικά, ούτως ώστε να μπορούν να απορροφούν την ηλιακή ενέργεια και για το λόγο αυτό εμφανίζουν υψηλότερη φωτοσυνθετική απόδοση σε σύγκριση με άλλου τύπου φωτοβιοαντιδραστήρες. Παράλληλα διατηρούν χαμηλά τη συγκέντρωση του οξυγόνου. Από την άλλη, δεν μπορεί να επιτευχθεί πλήρης έλεγχος της θερμοκρασίας, ενός παράγοντα πολύ σημαντικού για την ανάπτυξη των μικροφυκών. [56]

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες στήλης αποτελούν το τρίτο είδος φωτοβιοαντιδραστήρων και η απόδοσή τους είναι σε συγκρίσιμα μεγέθη σε σχέση με τα άλλα δύο είδη, ενώ γενικά παρουσιάζουν τα ίδια προβλήματα ως προς την κλιμάκωση μεγέθους. Κύρια χαρακτηριστικά τους είναι οι καλύτερα ελεγχόμενες συνθήκες, η αποδοτική ανάμειξη και η καλύτερη μεταφορά μάζας.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι όλα τα συστήματα φωτοβιοαντιδραστήρων οφείλουν να σταματούν τη λειτουργία τους μια φορά το χρόνο τουλάχιστον για καθαρισμό και συντήρηση. Επιπροσθέτως, σε περίπτωση αποτυχίας μιας καλλιέργειας είναι απαραίτητο μετά να καθαριστεί ο φωτοβιοαντιδραστήρας, καθώς κατάλοιπα μολύνσεων μπορούν να αποβούν επιβλαβή σε νέες καλλιέργειες.

Είναι πολύ σημαντικό για έναν φωτοβιοαντιδραστήρα να μπορεί να καθαρίζεται εύκολα και σε όσο το δυνατόν πιο σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίς να απαιτείται διάλυση και επανασυναρμολόγησή του, καθώς όλο αυτό κοστίζει σε χρόνο, φθορά αλλά και παραγωγή. [57,58,59]

### 3.4 Σύγκριση μεταξύ συστημάτων παραγωγής βιομάζας μικροφυκών

Δυστυχώς μέχρι σήμερα δεν έχει ακόμα εμφανιστεί το τέλειο σύστημα για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. Τα συστήματα που χρησιμοποιούνται στις μέρες μας, ανάλογα με την κατηγορία στην οποία ανήκουν, εμφανίζουν σαφέστατα πλεονεκτήματα αλλά και αρκετά μειονεκτήματα.

Οι ανοικτές δεξαμενές εμφανίζουν πολύ χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας για τη μαζική παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. Επίσης, δεν καταλαμβάνουν καλλιεργήσιμες εκτάσεις γης, καθώς τα μικροφύκη μπορούν να αναπτυχθούν σε διάφορα μέρη. Καθαρίζονται και συντηρούνται σχετικά εύκολα. Παράλληλα, δεν επιβάλλεται καθημερινή παρακολούθηση της καλλιέργειας.

Βέβαια, είναι αδύνατο να ελεγχθούν οι συνθήκες καλλιέργειας, για αυτό και απαιτούν για τη λειτουργία τους ένα περιβάλλον που πρέπει να επιλεγεί πολύ προσεκτικά. Οι καλλιέργειες είναι απροστάτευτες από ενδεχόμενες μολύνσεις από άλλα μικροφύκη, μικροοργανισμούς ή παράσιτα.

Επιπροσθέτως, οι ανοικτές δεξαμενές μειονεκτούν στο ρυθμό παραγωγής βιομάζας, κάτι που μπορεί να οφείλεται σε αρκετούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, απώλειες από εξάτμιση, έλλειψη διοξειδίου του άνθρακα, κακή ανάδευση, περιορισμένο φως. [17]

Από την άλλη οι φωτοβιοαντιδραστήρες έχουν πολύ υψηλό κόστος ως προς την κατασκευή και τη λειτουργία τους, ενώ δεν μπορούν να κατασκευαστούν σε μεγάλης κλίμακας εγκαταστάσεις.

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες βέβαια έχουν αρκετά θετικά στοιχεία σε σχέση με τα υπόλοιπα συστήματα καλλιέργειας :

- σχετικά υψηλή απόδοση ανάπτυξης της καλλιέργειας,
- εγκαθίστανται σχετικά εύκολα,
- προσφέρουν μεγαλύτερο έλεγχο ως προς τις συνθήκες,
- δυνατότητα καλλιέργειας διαφορετικών τύπων μεταβολισμού
- ορισμένοι τύποι φωτοβιοαντιδραστήρων δίνουν καλύτερο έλεγχο κίνησης των αερίων,
- περιορίζουν την εξάτμιση του νερού,
- προσφέρουν καλύτερη θερμική κατανομή,
- έχουν μεγαλύτερο λόγο επιφάνειας/όγκου,
- προστατεύουν από μολύνσεις από άλλα μικροφύκη, μικροοργανισμούς και παράσιτα,

Κάνοντας μια σύγκριση για παράδειγμα, μιας επιμήκης λεκάνης και ενός κλειστού φωτοβιοαντιδραστήρα, παρατηρείται ότι λόγω της μεγαλύτερης παραγωγικότητας που παρουσιάζει το δεύτερο σύστημα έως και 13 φορές, θα παράγει περισσότερη βιομάζα ανά επιφάνεια σε σχέση με την αντίστοιχη παραγωγή του ανοιχτού συστήματος, με ίδια ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα. [14,27,55,60]

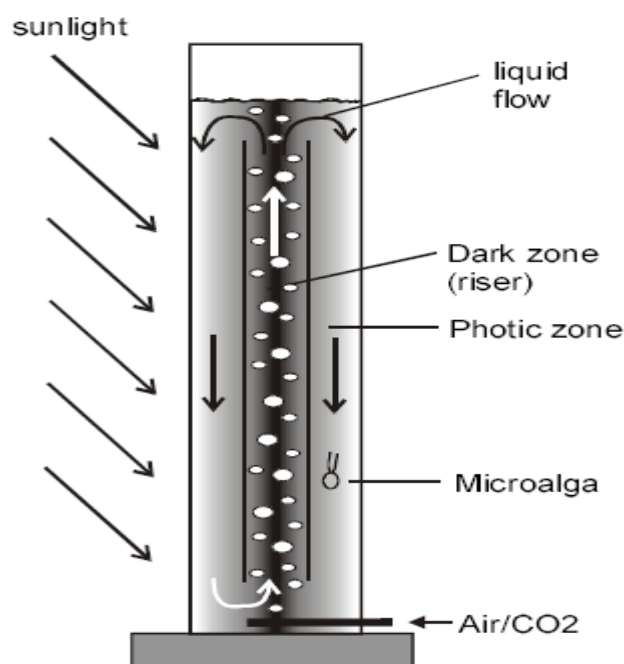
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4



## 4 Συνθήκες καλλιέργειας

### 4.1 Γενικά για τις συνθήκες

Οι συνθήκες που επικρατούν σε ένα σύστημα καλλιέργειας είναι πολύ σημαντικές για την πορεία και την επιτυχία της καλλιέργειας αλλά και το ρυθμό ανάπτυξης των μικροφυκών. Οι συνθήκες αυτές επηρεάζουν ένα σύνολο παραγόντων επιδρώντας θετικά ή αρνητικά στην πορεία ανάπτυξης της καλλιέργειας.



**Σχήμα 4.1** : Παράδειγμα ενός φωτοβιοαντιδραστήρα που λειτουργεί σε εξωτερικό χώρο. [61]

Η επάρκεια του ηλιακού φωτός, μερικών θρεπτικών συστατικών και καλής θερμοκρασίας, αποτελούν τους σημαντικότερους παράγοντες σε ένα σύστημα καλλιέργειας. Παράλληλα, το pH, η αλατότητα, το σύστημα ανάδευσης, ο αερισμός, η

παρουσία ή όχι άλλων μικροοργανισμών παίζουν κι αυτά πολύ σημαντικό ρόλο στην πορεία μιας καλλιέργειας.

Οι ιδανικές συνθήκες καλλιέργειας βέβαια δεν είναι ίδιες για όλα τα είδη μικροφυκών καθώς αλλάζουν ανάλογα με το είδος το οποίο θα καλλιεργηθεί και το μεταβολισμό που αυτό έχει, ενώ άλλα επηρεάζονται περισσότερο κι άλλα λιγότερο από τις συνθήκες που επικρατούν.

Η αλήθεια είναι βέβαια ότι όλα τα συστήματα καλλιέργειας δεν προσφέρουν τη δυνατότητα πλήρους ελέγχου των συνθηκών καλλιέργειας. Ειδικά στα ανοιχτά συστήματα, η πορεία ανάπτυξης ποικίλει συνεχώς και ανάλογα με την εποχή και τις συνθήκες που επικρατούν.

Σε πολλές περιπτώσεις και λόγω ακραίων συνθηκών μπορεί ακόμα και να προκληθεί κατάπτωση μιας καλλιέργειας.

## 4.2 Κατηγορίες καλλιεργειών

Υπάρχουν τέσσερις κύριοι τύποι συνθηκών καλλιέργειας μικροφυκών, οι οποίοι καθορίζονται από τους παραπάνω παράγοντες :

- Φωτοτροφική καλλιέργεια : Πρόκειται για την πιο ευρέως διαδεδομένη καλλιέργεια για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. Είναι η καλλιέργεια στην οποία τα μικροφύκη για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, χρησιμοποιούν το ηλιακό φως σαν πηγή ενέργειας και σαν πηγή άνθρακα το διοξείδιο του άνθρακα. Λόγω της ικανότητας που έχουν να μην επιτρέπουν εύκολα μόλυνσεις από άλλους μικροοργανισμούς, οι φωτοτροφικές καλλιέργειες προτιμώνται από άλλες στα υπαίθρια συστήματα..
- Ετερότροφη καλλιέργεια : Είναι η καλλιέργεια στην οποία τα μικροφύκη χρησιμοποιούν σαν πηγή άνθρακα αλλά και ενέργειας τον οργανικό άνθρακα. Η καλλιέργεια αυτού του τύπου θα μπορούσε να δώσει τη λύση στο πρόβλημα του φωτισμού, ώστε να μη διακόπτεται η φωτοσύνθεση των μικροφυκών. Λόγω αυτού, φαίνεται να μπορεί να παραχθεί μεγαλύτερη ποσότητα βιομάζας σε ετεροτροφικές συνθήκες. Παρόλα αυτά δεν προτιμάται σαν καλλιέργεια λόγω του ότι συχνά αντιμετωπίζει προβλήματα μόλυνσης.
- Μιξότροφη καλλιέργεια : Οι καλλιέργειες αυτού του τύπου αποτελούν ένα συνδυασμό φωτοτροφικών και ετερότροφων καλλιεργειών, καθώς τα μικροφύκη χρησιμοποιούν σαν πηγή άνθρακα είτε οργανικό είτε ανόργανο. Στις καλλιέργειες αυτές, ακόμα και το διοξείδιο του άνθρακα που ελευθερώνεται κατά την αναπνοή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ξανά σαν πηγή άνθρακα. Μιξότροφες καλλιέργειες χρησιμοποιούνται σπάνια και για ερευνητικούς κυρίως σκοπούς.
- Φωτοετερότροφη καλλιέργεια : Στην κατηγορία αυτή τα μικροφύκη χρειάζονται φως για την αφομοίωση οργανικών ουσιών σαν πηγή άνθρακα. Σάκχαρα και φως χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα για την παραγωγή βιομάζας. Η φωτοετερότροφη καλλιέργεια χρησιμοποιείται επίσης σπάνια, όπως και η μιξότροφη.

Συγκρίνοντας τους τέσσερις αυτούς τύπους καλλιέργειας μεταξύ τους, είναι σαφές, ότι η ετερότροφη καλλιέργεια μπορεί να δώσει μεγαλύτερη παραγωγή. Αν και όπως γίνεται αντιληπτό, προσελκύει μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της δυνατότητας αυτής που δίνει για παραγωγή περισσότερης βιομάζας, οι ετερότροφες καλλιέργειες αντιμετωπίζουν αρκετά προβλήματα μόλυνσεων, πράγμα που τις κάνει ακατάλληλες για ανοικτά συστήματα. Παράλληλα, η χρησιμοποίηση άνθρακα σαν πηγή φωτός ανεβάζει αισθητά το κόστος, κάτι που κάνει ασύμφορη την όλη διαδικασία.

Όλα αυτά έχουν οδηγήσει τη φωτοτροφική καλλιέργεια στο να είναι η πιο ευρέως διαδεδομένη τεχνική καλλιέργειας, καθώς βολεύει περισσότερο σε μεγάλα συστήματα. Πολύ σημαντικό είναι και το γεγονός ότι τα μικροφύκη μπορούν να καταναλώνουν και το διοξείδιο του άνθρακα από τα καυσαέρια που ελευθερώνουν τα εργοστάσια.

Παράλληλα, το χαμηλό κόστος που απαιτεί η φωτοτροφική καλλιέργεια σε συνδυασμό με το ρίσκο της μόλυνσης που έχουν και οι τρεις άλλες κατηγορίες αλλά και οι απαιτήσεις σε φως που έχουν η μιξότροφη και η φωτοετερότροφη καλλιέργεια, την καθιστούν ως την πλέον κατάλληλη για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. [13,24,62,63]

Πίνακας 4.1 : Σύγκριση χαρακτηριστικών των συνθηκών καλλιέργειας [13]						
Συνθήκες Καλλιέργειας	Πηγή Ενέργειας	Πηγή Άνθρακα	Πυκνότητα Κυττάρων	Κλιμάκωση Μεγέθους	Κόστος	Προβλήματα Κλιμάκωσης Μεγέθους
Φωτοτροφική	Φως	Ανόργανη	Χαμηλή	Ανοικτή δεξαμενή	Χαμηλό	Χαμηλή πυκνότητα κυττάρων
Ετερότροφη	Οργανική	Οργανική	Υψηλή	Συμβατικός Επωαστήρας	Μέτριο	Μολύνσεις, Υψηλό Κόστος
Μιξότροφη	Φως / Οργανική	Ανόργανη / Οργανική	Μέτρια	Κλειστός Φωτοβιοαντιδραστήρας	Υψηλό	Μολύνσεις, Υψηλό Κόστος
Φωτοετερότροφη	Φως	Οργανική	Μέτρια	Κλειστός Φωτοβιοαντιδραστήρας	Υψηλό	Μολύνσεις, Υψηλό Κόστος

### 4.3 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροφυκών

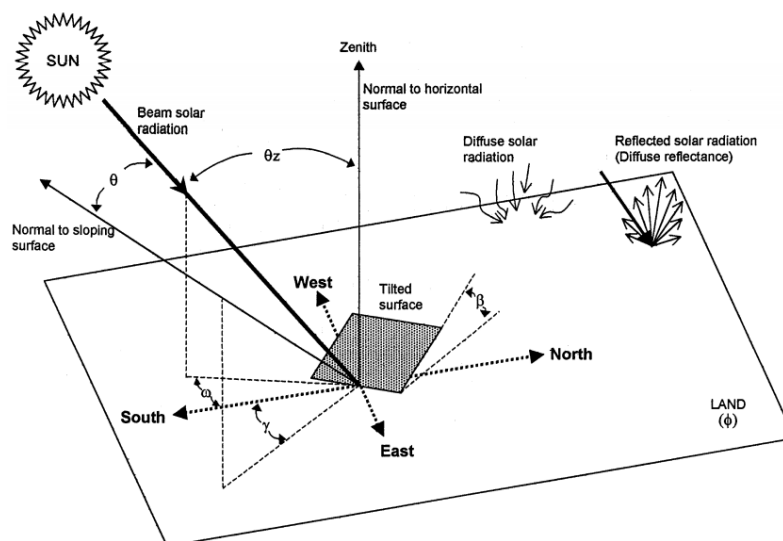
Οι καλλιέργειες μικροφυκών δεν είναι εύκολη διαδικασία, ενώ μοιάζει αρκετά με αυτή των ανώτερων φυτών, όπου ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν, καθορίζεται και η πορεία τους.

Παρακάτω θα αναλυθούν εν συντομία οι κυριότεροι παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό παραγωγής βιομάζας μικροφυκών.

#### 4.3.1 Φως

Αποτελεί κατά γενική ομολογία το σημαντικότερο παράγοντα στην ανάπτυξη των μικροφυκών όπως και στα ανώτερα φυτά, καθώς είναι ζωτικής σημασίας για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Βέβαια, όσο απαραίτητο κι αν είναι, ο ανεξέλεγκτος φωτισμός μπορεί να έχει και αρνητικές επιδράσεις στην πορεία ανάπτυξης της καλλιέργειας, αποτελώντας ανασταλτικό παράγοντα. Η διάρκεια, η ένταση αλλά και η ποιότητα της φωτεινής δέσμης που φτάνει στο σύστημα καλλιέργειας αποτελούν καθοριστικά χαρακτηριστικά.

Στις ανοικτού τύπου καλλιέργειες για παράδειγμα, όπου η πηγή φωτός είναι ο ήλιος, τα χαρακτηριστικά αυτά δεν μπορούν να ελεγχθούν. Ειδικότερα σε περιόδους με άσχημες καιρικές συνθήκες αλλά και κατά τη διάρκεια της νύχτας, στις καλλιέργειες αυτές δεν υπάρχει φωτισμός, οπότε και η ανάπτυξη των μικροφυκών επιβραδύνεται.



**Σχήμα 4.2** : Η εκτιμώμενη ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας όπως προσπίπτει στην επιφάνεια ενός φωτοβιοαντιδραστήρα. Προσαρμοσμένη από τους Duffie & Beckman [64]

Τα διάφορα είδη μικροφυκών αξιοποιούν καλύτερα, διαφορετικά μήκη κύματος του φωτός. Το φάσμα που αξιοποιούν τα μικροφύκη για τη φωτοσύνθεσή τους κυμαίνεται από 400 έως 700 nm. [57,61]

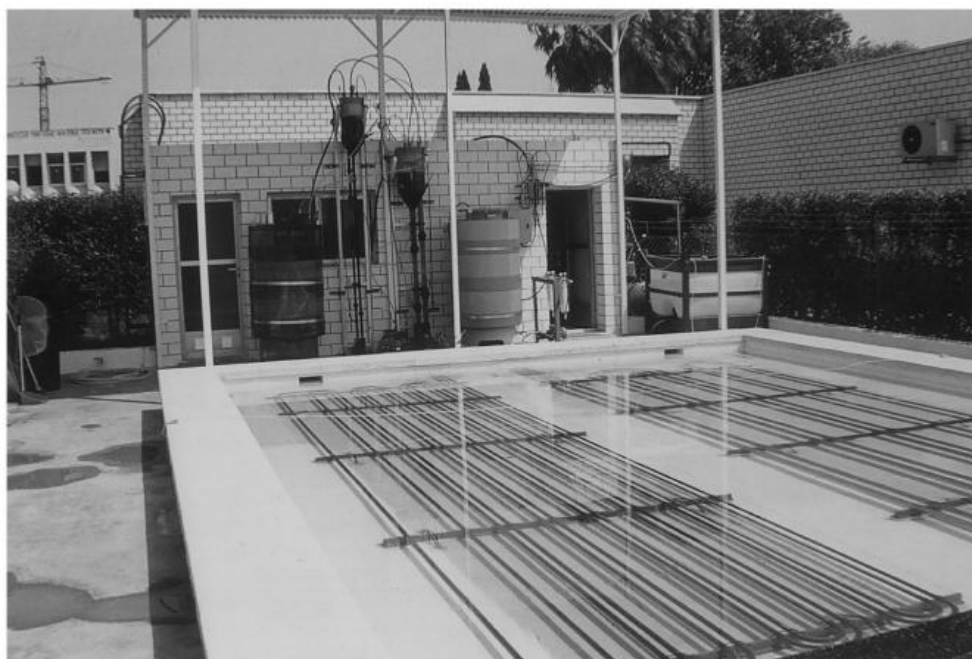
Ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών μεταβάλλεται ανάλογα με τα την ένταση του φωτός που φτάνει σε αυτά. Βέβαια, μετά από ένα όριο η περαιτέρω αύξηση του φωτισμού δεν βοηθά στην αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης της καλλιέργειας, ενώ μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα κύτταρα λόγω φωτοοξειδωσης.

Ο ρυθμός ανάπτυξης διαφέρει ανάλογα με το είδος μικροφύκους αλλά συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 200 – 400  $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ . Βέβαια, αυτό επηρεάζεται και από την πυκνότητα της καλλιέργειας. [58,64,65]

Υπάρχουν διάφορες πηγές φωτός, είτε φυσικές όπως ο ήλιος, είτε τεχνητές όπως διάφοροι λαμπτήρες. [59,66]

#### 4.3.2 Θερμοκρασία

Ο δεύτερος πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το ρυθμό ανάπτυξης μετά το φως είναι η θερμοκρασία. Ως επί το πλείστον, τα μικροφύκη αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από 20 έως 30 βαθμούς κελσίου, αν και υπάρχουν είδη μικροφυκών, τα θερμοφιλα, που αναπτύσσονται ακόμα και σε θερμοκρασίες μέχρι και τους 40 °C ή άλλα που αντέχουν σε χαμηλές θερμοκρασίες έως 15 °C.



**Σχήμα 4.3** : Δύο φωτοβιοαντιδραστήρες βυθισμένοι σε μια λίμνη νερού ψύξης. [64]

Η εύρεση της ιδανικής θερμοκρασίας για κάθε είδος μικροφύκους, αλλά και η διατήρησή της, κατά την καλλιέργεια είναι πολύ σημαντική για την επίτευξη του ιδανικού ρυθμού παραγωγής βιομάζας.

Είναι σημαντικό γιατί σε ορισμένα μικροφύκη, μικρή αλλαγή της θερμοκρασίας, κατά 2 – 4 °C προς τα πάνω, μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη ή ακόμα και να προκαλέσει πλήρη κατάπτωση της καλλιέργειας.

Για το λόγο αυτό στα κλειστά συστήματα καλλιέργειας υπάρχει ένα σύστημα ψύξης, το οποίο εφαρμόζεται όταν υπάρχει ανάγκη. Στα ανοικτά συστήματα, η ψύξη αυτή επιτυγχάνεται μέσω της εξάτμισης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε χαμηλές θερμοκρασίες συνήθως μειώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών καθώς επιβραδύνονται ορισμένες κυτταρικές διεργασίες. Δε θα υπάρξει κατάπτωση της καλλιέργειας όμως, μέχρι να παγώσει το νερό. [67,68,69,70]

#### 4.3.3 pH και αλατότητα

Τα μικροφύκη, ανάλογα με το είδος, αναπτύσσονται καλύτερα είτε σε αλμυρά είτε σε γλυκά νερά, ενώ πολλά αντέχουν και σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις αλάτων χωρίς να είναι αυτές αναγκαίες για την ανάπτυξή τους. Υπάρχουν βέβαια και είδη μικροφυκών που δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε μεγάλες συγκεντρώσεις αλάτων.

Για κάθε είδος μικροφύκους υπάρχει συγκεκριμένη, ιδανική τιμή συγκέντρωσης αλάτων όπου αναπτύσσεται καλύτερα. Η αυξημένη αλατότητα βέβαια, επηρεάζει αρνητικά το ρυθμό ανάπτυξης της καλλιέργειας.

Το pH στο οποίο συνήθως αναπτύσσονται τα φύκη κυμαίνεται από 7 μέχρι 9, αν και υπάρχουν ορισμένα οξεόφιλα και άλλα αλκαλόφιλα είδη μικροφυκών που αναπτύσσονται σε πιο ακραίες τιμές pH.

Η τιμή του pH αυξάνεται με διάφορες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε μια καλλιέργεια. Βέβαια, απότομες αλλαγές στο pH μπορεί να προκαλέσουν ανεπανόρθωτες καταστροφές σε μια καλλιέργεια και για το λόγο αυτό συνήθως χρησιμοποιούνται ρυθμιστικά διαλύματα.

Τα είδη μικροφυκών που αντέχουν και αναπτύσσονται σε ακραίες τιμές αλατότητας ή pH είναι αυτά που προτιμώνται πολλές φορές καθώς οι καλλιέργειες τους είναι πολύ δύσκολο να επιμολυνθούν και να κυριαρχήσει κάποιος άλλος μικροοργανισμός ή βακτήριο. [32,46,71,72]

#### 4.3.4 Θρεπτικά συστατικά

Τα μικροφύκη όπως και τα ανώτερα φυτά, χρειάζονται και ορισμένα θρεπτικά συστατικά προκειμένου να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν. Τα κυριότερα στοιχεία που απαιτούνται είναι ο άνθρακας (C), το άζωτο (N), ο φώσφορος (P) και το κάλιο (K). Λιγότερο βέβαια, ίσως χρειάζονται και πυρίτιο (Si), θείο (S), σίδηρο (Fe), μαγνήσιο (Mg), ασβέστιο (Ca), αλλά και μερικά ακόμα μέταλλα.



Η αλήθεια είναι ότι τα υδατικά συστήματα περιέχουν τα περισσότερα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία, για την ανάπτυξη των μικροφυκών, αλλά όχι στην απαιτούμενη ποσότητα και αναλογία. Αν λοιπόν δεν προστεθούν με κάποιο τρόπο οι ποσότητες που χρειάζονται τότε η ανάπτυξη τους περιορίζεται και δεν λαμβάνεται το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Ανάλογα βέβαια με το είδος του μικροφύκου που καλλιεργείται απαιτούνται διαφορετικές ποσότητες και αναλογίες θρεπτικών συστατικών, ούτως ώστε να επιτευχθεί ο ιδανικός ρυθμός ανάπτυξης. [72]

Τα τρία βασικά στοιχεία λοιπόν που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροφυκών είναι ο άνθρακας, το άζωτο και ο φώσφορος :

- Άνθρακας : Όπως και στα ανώτερα φυτά, έτσι και στα μικροφύκη η βασική διεργασία που λαμβάνει χώρα κατά την ανάπτυξή τους είναι η φωτοσύνθεση. Κατά τη διαδικασία αυτή μετατρέπεται η ηλιακή ενέργεια και ο ανόργανος άνθρακας ( $\text{CO}_2$ ) σε οργανικό άνθρακα (γλυκόζη). Υπάρχουν βέβαια και είδη μικροφυκών που χρησιμοποιούν οργανικό άνθρακα σαν πηγή άνθρακα, ή άλλα που είναι μη φωτοσυνθετικά είδη. Στην ατμόσφαιρα η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα αγγίζει τα 360-400 ppmv (0,036-0,040 %), το οποίο αποδεδειγμένα δεν είναι αρκετό για υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης των μικροφυκών. Για το λόγο αυτό παρέχεται στις καλλιέργειες με ποικίλους τρόπους. Κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης, παράγονται ιόντα  $\text{OH}^-$  τα οποία τείνουν να ανεβάζουν την τιμή του pH της καλλιέργειας. Το  $\text{CO}_2$  όμως τα δεσμεύει κρατώντας το pH στα θεμιτά επίπεδα, αποφεύγοντας έτσι δυσάρεστες συνέπειες για την καλλιέργεια. [41,73,74,75,76,77,78,79]
- Άζωτο : Πρόκειται για ένα στοιχείο που είναι πολύ σημαντικό για την ανάπτυξη των μικροφυκών που μπορεί να φτάσει ακόμα και στο 10% κ.β. της βιομάζας των μικροφυκών. Απορροφάται πιο εύκολα από τα φύκη αν είναι σε αμμωνιακή μορφή καθώς δε χρειάζεται να το μετατρέψουν, αλλά μπορεί να προληφθεί και σε άλλες μορφές όπως σε νιτρική ή νιτρώδη μορφή ή ακόμα και με δέσμευση μοριακού αζώτου από την ατμόσφαιρα για ορισμένα είδη μικροφυκών. Μάλιστα, μελέτες έχουν δείξει ότι η πρόσληψη αζώτου σε νιτρική μορφή έχει καλύτερα αποτελέσματα, ενώ μεγάλες συγκεντρώσεις αμμωνίας δρουν τοξικά με αποτέλεσμα να δρα ανασταλτικά στην ανάπτυξη της καλλιέργειας. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην προσπάθεια μείωσης του κόστους, παρουσιάζει η χρήση ουρίας ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ) στην οποία το άζωτο βρίσκεται σε οργανική μορφή και υδρολύεται προς αμμώνιο. Παρόλα αυτά, το παραγόμενο αμμώνιο, ειδικά σε αλκαλικά υποστρώματα, μπορεί να χαθεί. [41,80,81,82,83,84,85]
- Φώσφορος : Ο φώσφορος αποτελεί κι αυτό αρκετά σημαντικό θρεπτικό στοιχείο για την ανάπτυξη των φυκών, παρόλο που δεν ξεπερνά το 1% κ.β. στη βιομάζα τους. Αποτελεί βέβαια περιοριστικό παράγοντα στην ανάπτυξή τους, ειδικά στο φυσικό περιβάλλον. Απορροφάται από τα μικροφύκη με τη μορφή ορθοφωσφορικών ριζών, ενώ όταν προσλαμβάνεται σε οργανική μορφή, τότε μετατρέπεται σε ορθοφωσφορικό με τη βοήθεια φωσφατάσων που εκκρίνονται. Τα μικροφύκη έχουν επίσης τη δυνατότητα αποθήκευσης μεγάλων ποσοτήτων φωσφόρου για την κάλυψη αναγκών για δύο ή ακόμα και τρεις γενιές. Αυτό συμβαίνει συνήθως όταν υπάρχει χαμηλή συγκέντρωση φωσφόρου στο περιβάλλον. [86,87,88,89]

#### 4.4 Επίδραση του φωτός στα συστήματα καλλιέργειας

Το φως αποτελεί τον κατά γενική ομολογία σημαντικότερο παράγοντα στην πορεία ανάπτυξης μιας καλλιέργειας μικροφυκών. Όπως και στα ανώτερα φυτά, η πηγή και η ένταση του φωτός έχουν μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη των μικροφυκών, είτε πρόκειται για κλειστά, είτε για ανοικτά συστήματα καλλιέργειας.

Ο ήλιος αποτελεί την κυριότερη πηγή φωτός για τα υπαίθρια συστήματα, ενώ για τα κλειστά συστήματα έχουν αναπτυχθεί ορισμένες καινοτόμες τεχνητές πηγές φωτός που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον. [90]

##### 4.4.1 Ο ήλιος σαν πηγή φωτός

Το ηλιακό φως αποτελεί την κυρίαρχη πηγή φωτός καθώς παρέχεται ελεύθερα, σε μεγάλες ποσότητες και χωρίς κόστος, ενώ παράλληλα, παρέχει το πλήρες φάσμα της φωτεινής ενέργειας και με ένα φίλτρο υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) επιλέγεται το κατάλληλο μήκος κύματος.

Η ακτινοβολία του παρέχει ροή ενέργειας περίπου  $5,7 * 10^{24}$  J ετησίως, που είναι περίπου ίση με 10000 φορές μεγαλύτερη από τη συνολική ενέργεια που καταναλώνει ο άνθρωπος σε ένα χρόνο.

Είναι αλήθεια βέβαια, ότι δεν υπάρχει η ίδια αφθονία του ηλιακού φωτός σε όλα τα μέρη τη γης. Ορισμένα μέρη, έχουν μικρή περίοδο το χρόνο ηλιοφάνεια, ενώ άλλα μέρη, όπως η Ελλάδα, έχουν αρκετά μεγάλη περίοδο ηλιοφάνειας. Παράλληλα, το ηλιακό φως δεν έχει την ίδια ένταση καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας. Η μεγαλύτερη τιμή φτάνει τα  $1100 \text{ W/m}^2$ , πολύ μεγαλύτερη από αυτή που χρειάζονται τα μικροφύκη για την ανάπτυξή τους.

Γίνεται κατανοητό λοιπόν, ότι η 100% εκμετάλλευση του ηλιακού φωτός θα μπορούσε να δώσει πολλές λύσεις στην καλλιέργεια μικροφυκών, και κατ' επέκταση σε πολλούς άλλους τομείς. Παρόλα αυτά, οι μεγάλες αλλαγές στην ένταση του κατά τη διάρκεια της ημέρας αποτελούν δισεπίλυτο πρόβλημα για την ώρα. [59,91,92]

##### 4.4.2 Τεχνητές πηγές φωτός

Δύο είναι οι κύριες τεχνητές πηγές φωτός που είναι κατάλληλες για χρήση στην καλλιέργεια μικροφυκών. Οι λαμπτήρες LED και η διέγερση μέσω οπτικών ινών είναι δύο επιλογές που μπορούν να φανούν αρκετά χρήσιμες σαν πηγές φωτός.

Μια πηγή φωτός θα πρέπει να έχει υψηλή απόδοση και να είναι ανθεκτική και αξιόπιστη χωρίς να αυξάνει το κόστος, ούτως ώστε να είναι αποδοτική και να επιτυγχάνεται ικανοποιητικός ρυθμός ανάπτυξης στις καλλιέργειες.

Παράλληλα, επειδή το κάθε είδος μικροφύκους απαιτεί συγκεκριμένο μήκος κύματος, μια πηγή φωτός που εκπέμπει ένα συγκεκριμένο φάσμα στα πλαίσια του φάσματος που απορροφάται κατά τη φωτοσύνθεση θα βοηθήσει στην αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης.



**Σχήμα 4.4 :** Φωτοβιοαντιδραστήρας με ενσωματωμένες λυχνίες LED για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. [13]

- Λαμπτήρες LED : Τα LED είναι ουσιαστικά τα μόνα που πληρούν όλα τα παραπάνω κριτήρια καθώς έχουν μια στενή φασματική εκπομπή φωτός στα 20-30 nm. Το φάσμα αυτό ταιριάζει τις ανάγκες της φωτοσύνθεσης, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι διαφορετικό χρώμα καλύπτει καλύτερα τις ανάγκες συγκεκριμένων ειδών μικροφυκών. Παράλληλα, είναι αρκετά μικρά για να χωράνε σε όλα τα είδη φωτοβιοαντιδραστήρων, έχουν αρκετά μεγάλο κύκλο ζωής, μεγάλη αντοχή και παράγουν πολύ μικρές ποσότητες ενέργειας.
- Οπτικές ίνες : Οι οπτικές ίνες μεταδίδουν την ακτινοβολία από άκρη σε άκρη, ενώ αν τροποποιηθούν λίγο μετατρέπονται σε οπτικές ίνες πλευρικού φωτισμού, ενισχύοντας σε μεγάλο βαθμό την ένταση του φωτός. Δίνουν ομοιόμορφη κατανομή φωτός, δυνατότητα να μπουν μέσα στο σύστημα καλλιέργειας, ενώ δεν παράγουν θερμότητα. Παράλληλα οι οπτικές ίνες πλευρικού φωτισμού με την κατάλληλη διέγερση μπορούν δώσουν ακτινοβολία διαφορετικού μήκους κύματος για εσωτερική πηγή φωτός σε φωτοβιοαντιδραστήρες. [13,93]

#### 4.4.3 Ανάπτυξη τεχνητών πηγών φωτός στην καλλιέργεια μικροφυκών

Η αποδοτικότητα των φωτοβιοαντιδραστήρων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την πηγή φωτός και την απόδοση που αυτή έχει. Υπάρχουν όμως αρκετά προβλήματα και περιορισμοί που πρέπει να ξεπεραστούν.

Αρχικά, η ένταση του φωτός πολύ γρήγορα αρχίζει να μειώνεται μέσα στο σωλήνα, είτε λόγω της πυκνότητας των μικροφυκών, είτε διάφορων στρωμάτων που σχηματίζονται σε διάφορα σημεία του φωτοβιοαντιδραστήρα.

Παράλληλα, πρόβλημα αποτελεί και το γεγονός ότι οι σωλήνες των φωτοβιοαντιδραστήρων έχουν σχετικά μικρή διάμετρο και ενώ αυτό θεωρητικά θα έπρεπε να ευνοεί έναν αυξημένο ρυθμό ανάπτυξης, τελικά δυσκολεύει την τοποθέτηση τεχνητών πηγών φωτός στην καλλιέργεια, καθώς εκλύεται θερμότητα.

Η παρακάτω εξίσωση συνδέει την ένταση του φωτός με την απόσταση των τοιχωμάτων και τις συγκεντρώσεις των κυττάρων του παραγόμενου προϊόντος :

$$\frac{I_L}{I_0} = e^{-\gamma L}, \text{ εξίσωση 4.1}$$

Όπου  $I_L$  είναι η ένταση του φωτός σε μήκος  $L$ ,

$I_0$  είναι η πραγματική ένταση,

$\Gamma$  η θολερότητα.

Έχουν αναπτυχθεί και σχεδιαστεί αρκετοί φωτοβιοαντιδραστήρες με διαφορετικούς τρόπους φωτισμού προκειμένου να ξεπεραστούν τα προβλήματα αυτά και έχοντας στόχο έναν καλύτερο ρυθμό παραγωγής βιομάζας μικροφυκών.

Παρόλα αυτά παραμένουν σημαντικά εμπόδια, όπως το πολύ υψηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας, και η κλιμάκωση μεγέθους για μεγαλύτερη παραγωγή. [13,94]

#### 4.4.4 Σύγκριση διαφορετικών πηγών φωτός

Ένα σύστημα καλλιέργειας λοιπόν μπορεί να φωτιστεί με ποικίλους τρόπους, είτε με το φως του ήλιου, είτε ακόμα και με τεχνητά μέσα. Είναι ακόμα δυνατό να υπάρχουν συστήματα με συνδυασμό του ηλιακού φωτός και τεχνητών μέσων.

Στα συστήματα αυτά η καλλιέργεια έχει σαν πηγή φωτός τον ήλιο, αλλά όταν η ένταση του πέσει κάτω από μία τιμή, ενεργοποιείται αυτόματα ένα τεχνητό σύστημα φωτισμού ούτως ώστε να μην μειωθεί καθόλου ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών.

Τα συστήματα φωτισμού που βασίζονται στη LED τεχνολογία έχουν καταφέρει να μειώσουν την απαιτούμενη ηλεκτρική ενέργεια που χρειάζονται οι φωτοβιοαντιδραστήρες εργαστηριακής κλίμακας στο μισό.

Παράλληλα, τα συστήματα που βασίζονται στη τεχνολογία οπτικών ινών μπορούν να συνδυαστούν με ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, δίνοντας μια πλήρως ανανεώσιμη διαδικασία και μειώνοντας την κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας.

Είναι δεδομένο ότι τα συστήματα με τεχνητό φωτισμό μπορούν να διατηρήσουν έναν ιδανικό ρυθμό καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας παραγωγής βιομάζας μικροφυκών αλλά είναι επίσης δεδομένο ότι αυτό απαιτεί πολύ υψηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας. Τα συστήματα που βασίζονται στον ήλιο ως μοναδική πηγή φωτός παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις στο ρυθμό ανάπτυξης ανάλογα με την ένταση της ηλιακής ενέργειας.

Ένα σύστημα λοιπόν που θα απορροφά το ηλιακό φως όταν αυτό υπάρχει σε αφθονία και θα έχει και μια τεχνητή πηγή φωτός, με χαμηλές απαιτήσεις ηλεκτρικής ενέργειας, θα μπορούσε να είναι αρκετά αποδοτικό καθώς θα κρατούσε το κόστος λειτουργίας σχετικά χαμηλά, ενώ θα διατηρούσε ένα πολύ υψηλό ρυθμό ανάπτυξης για όλη τη διάρκεια της ημέρας. Ακόμα καλύτερο ενδεχομένως θα ήταν ένα σύστημα που θα αποθήκευε ηλιακή ενέργεια, την οποία θα χρησιμοποιούσε κατά τις βραδινές ώρες. Έτσι δε θα μειωνόταν ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας. [13,14]



## ***Πειραματικό μέρος***





# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5



## 5 Ανάλυση πειραματικής διαδικασίας

### 5.1 Σκοπός του πειράματος

Η μεταπτυχιακή εργασία στοχεύει στη μελέτη μιας καινοτόμου μεθόδου παραγωγής βιομάζας. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα με στόχο τη σύγκριση και τη μελέτη, της πορείας και του ρυθμού ανάπτυξης κυττάρων μικροφυκών σε δύο διαφορετικές μεθόδους καλλιέργειας κλειστού τύπου, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες.

Για το λόγο αυτό τοποθετήθηκαν μέσα σε ένα κλειστό σύστημα δύο ξεχωριστές καλλιέργειες. Στη μία καλλιέργεια τα κύτταρα αναπαράχθηκαν με συμβατικό τρόπο, ενώ στη δεύτερη μέσω ενός λεπτού στρώματος ρευστού δημιουργούνται ιδανικές συνθήκες αναπαραγωγής.

Στόχος στη δεύτερη καλλιέργεια ήταν με κυκλοφορία των κυττάρων να έχουν όλα τα κύτταρα την ίδια πρόσβαση σε διοξείδιο του άνθρακα αλλά και στο φως, κάτι που δεν συμβαίνει σε μια συμβατική καλλιέργεια. Με τον τρόπο αυτό αναμένουμε καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων.

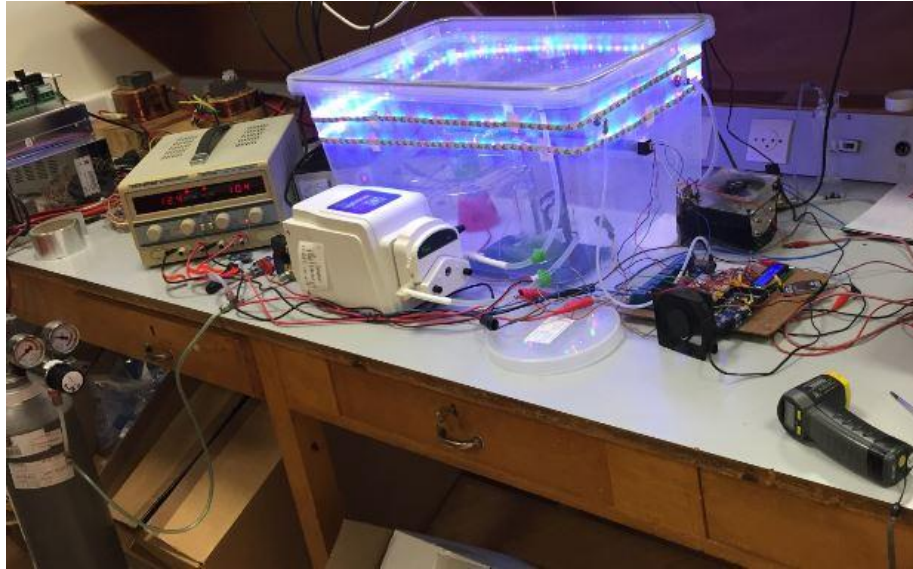
Η αρχική ποσότητα των κυττάρων ήταν ίδια και στις δύο μεθόδους και τα κύτταρα αφέθηκαν μέσα στο θάλαμο για αναπαραγωγή κάτω από τις ίδιες ακριβώς συνθήκες, θερμοκρασίας, πίεσης, φως, διοξειδίου του άνθρακα. Η διαδικασία της καλλιέργειας διήρκησε 48 ώρες.

Στη συνέχεια, με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας μετρήθηκαν τα αποτελέσματα και βγήκαν χρήσιμα συμπεράσματα για την πορεία και το ρυθμό ανάπτυξης των δύο μεθόδων καλλιέργειας.

### 5.2 Πειραματική διάταξη

Για την πειραματική διάταξη κατασκευάστηκε ένα κλειστό σύστημα καλλιέργειας όπου μέσα τοποθετήθηκαν τα κύτταρα μικροφυκών για την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή τους. Το σύστημα αυτό ήταν ένας αεροστεγής θάλαμος από πλαστικό PP.

Για την παρακολούθηση των συνθηκών καλλιέργειας χρησιμοποιήθηκαν ένας αισθητήρας DHT11 για τη μέτρηση και τον έλεγχο της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας, ένας αισθητήρας πίεσης MPX4250, όπως και ένας αισθητήρας MH-Z16 για τη μέτρηση της συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub>.



**Σχήμα 5.1** : Η πειραματική διάταξη με το αεροστεγές σύστημα όπου πάρθηκαν οι μετρήσεις.

Παράλληλα για τον έλεγχο της θερμοκρασίας εντός του θαλάμου χρησιμοποιήθηκε ένα θερμοηλεκτρικό στοιχείο (thermoelectric cooler, tec) Peltier, που λειτουργεί σαν αντλία θερμότητας, όπως επίσης και μια περισταλτική αντλία για τη συνεχή ροή των κυττάρων στη μία μέθοδο καλλιέργειας, ώστε να έρχονται όλα σε άμεση επαφή με το διοξείδιο του άνθρακα.

Για το φωτισμό των καλλιεργειών χρησιμοποιήθηκαν λαμπτήρες LED, ενώ στο σύστημα τοποθετήθηκαν και δύο βαλβίδες για την είσοδο και έξοδο των αερίων. Χρησιμοποιήθηκε επίσης ένας ανεμιστήρας για τη συνεχή ανακατανομή και ομοιογένεια της ατμόσφαιρας στο θάλαμο.

Το σύστημα και όλοι οι αισθητήρες ήταν συνδεδεμένα με μια κάρτα μνήμης SD για τη συνεχή καταγραφή και αποθήκευση των δεδομένων.

### **5.2.1 Αισθητήρας θερμοκρασίας & υγρασίας DHT 11**

Για τη μέτρηση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας, αλλά και τις μεταβολές αυτών, χρησιμοποιήθηκε ένας αισθητήρας της εταιρείας Aosong, μοντέλο DHT 11. Πρόκειται για έναν αρκετά σύνθετο αισθητήρα με βαθμονομημένο σήμα εξόδου θερμοκρασίας και υγρασίας.

Το μοντέλο αυτό περιλαμβάνει μια αντίσταση ανίχνευσης υγρασίας και μια συσκευή μέτρησης θερμοκρασίας NTC (Negative Temperature Coefficient), δηλαδή αρνητικού συντελεστή θερμοκρασίας, του οποίου η αντίσταση μικραίνει με την αύξηση της θερμοκρασίας. NTC χρησιμοποιούνται κυρίως για περισσότερη ακριβεία μετρήσεων θερμοκρασίας. Είναι επίσης, συνδεδεμένος και με έναν 8-bit μικροελεγκτή υψηλής απόδοσης.

Οι διαστάσεις του είναι αρκετά μικρές καθώς δεν ξεπερνά τα 15,5 mm σε μήκος, τα 12 mm σε ύψος και τα 5,5 mm σε πάχος. Παράλληλα, έχει 4 ακίδες (pins) μήκους 8 mm, που είναι τοποθετημένες σε απόσταση 2,54 mm μεταξύ τους, στο κάτω μέρος της συσκευής.

Όσον αφορά τον τρόπο λειτουργίας του συστήματος αυτού, χρησιμοποιείται ένας απλοποιημένος τρόπος λειτουργίας, “single bus communication”, για τη μεταφορά δεδομένων. Υπάρχει λοιπόν μόνο ένα κανάλι επικοινωνίας για το σύστημα ανταλλαγής δεδομένων του αισθητήρα.

Το κανάλι αυτό μπορεί να έχει μονή κατεύθυνση κάθε φορά. Τα δεδομένα αποστέλλονται και διαβάζονται από το σύστημα σε πραγματικό χρόνο πάντα.



**Σχήμα 5.2 :** Αισθητήρας θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας DHT 11, της Aosong. [95]

Πρόκειται για μια συσκευή που έχει σαν χαρακτηριστικά :

- το χαμηλό κόστος,
- την εξαιρετική ποιότητα,
- τη γρήγορη απόκριση,
- τις μετρήσεις θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας,
- την ακριβή βαθμονόμηση,
- το ψηφιακό σήμα εξόδου,
- τη μακροπρόθεσμη σταθερότητα,
- την ισχυρή ικανότητα έναντι παρεμβολών,
- την ικανότητα μετάδοσης του σήματος σε σχετικά μεγάλες αποστάσεις.

Στη σημερινή εποχή βρίσκει πολλές εφαρμογές σε αρκετούς τομείς και συσκευές όπως αφυγραντήρες, ρυθμιστές υγρασίας, διάφορους καταγραφείς υγρασίας, μετεωρολογικούς σταθμούς, αυτόματα συστήματα ελέγχου, όπως και στην αυτοκινητοβιομηχανία, σε συσκευές μέτρησης και ελέγχου στην ιατρική αλλά και σε διάφορα καταναλωτικά αγαθά και οικιακές συσκευές.

Απαιτείται τροφοδοσία μεταξύ 3,5-5,5 V και ρεύμα της τάξης των 0,3 mA κατά τη μέτρηση και 60 mA στην αναμονή, ενώ η περίοδος δειγματοληψίας διαρκεί πάνω από 2 δευτερόλεπτα. Οι ακίδες έχουν ένα μονό δίαυλο επικοινωνίας και γείωση GND.

Έχει πολύ καλή ανάλυση που φτάνει τα 16 Bit και αρκετά καλό χρόνο απόκρισης. Το σφάλμα μέτρησης φτάνει το  $\pm 5\%$  για τη σχετική υγρασία (RH) στους 25 °C, ενώ το εύρος θερμοκρασιών στους 25 °C είναι στο  $\pm 2$  °C.

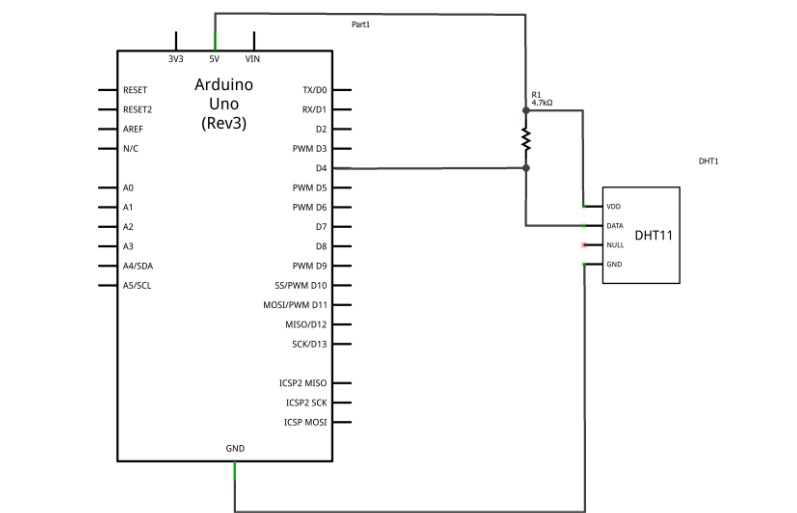
Χρειάζεται βέβαια μεγάλη προσοχή κατά την εγκατάσταση και τη λειτουργία του γιατί αν τεθεί σε συνθήκες εκτός του εύρους που ορίζει ο κατασκευαστής του μπορεί να συλλεχθούν λάθος δεδομένα ή ακόμα και να προκληθούν ανεπανόρθωτες βλάβες στον αισθητήρα. Μπορεί να χαλάσει η βαθμονόμηση ή ακόμα και να προκληθεί πρόωρη γήρανση του προϊόντος.

Πιο συγκεκριμένα :

- Η σχετική υγρασία ενός αερίου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία. Πρέπει λοιπόν οι μετρήσεις υγρασίας να γίνονται σε συγκεκριμένη θερμοκρασία. Ο αισθητήρας μακριά από πηγές θερμότητας και ηλεκτρονικά εξαρτήματα που εκλύουν θερμότητα, όπως ακριβώς ορίζει ο κατασκευαστής.
- Παρατεταμένη έκθεση σε ηλιακό φως ή ισχυρή υπεριώδη ακτινοβολία μπορούν να προκαλέσουν μειωμένη απόδοση του αισθητήρα, για το λόγο αυτό οι λαμπτήρες LED δεν φωτοβολούν κάθετα στην επιφάνεια του αισθητήρα.
- Στον αισθητήρα υπάρχει μια στρώση χημικών ατμών, τα οποία χημικά αν πολλαπλασιαστούν με κάποιο τρόπο στο στρώμα ανίχνευσης, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε κακή ευαισθησία του αισθητήρα και συλλογή λάθος δεδομένων. Υψηλή συγκέντρωση χημικής ρύπανσης θα προκαλέσει πλήρη βλάβη του ευαίσθητου στρώματος του αισθητήρα.

Στη συνδεσμολογία χρησιμοποιήθηκαν υψηλής ποιότητας καλώδια με θωράκιση ούτως ώστε να μην επηρεαστεί η ποιότητα της τάσης εξόδου. Τα καλώδια αυτά ήταν μικρού μήκους, ώστε να μην επηρεαστεί η απόδοση του αισθητήρα. [95]

Η επιλογή του συγκεκριμένου αισθητήρα έγινε με βάση τις συνθήκες που επικρατούν στο θάλαμο, προκειμένου να εξασφαλιστεί η εύρυθμη λειτουργία του.



**Σχήμα 5.3 :** Σύνδεση Arduino με αισθητήρα θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας DHT11. [96]

Η σύνδεση του αισθητήρα θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας με το Arduino έγινε με βάση το σχήμα 5.3. Για τη σύνδεση χρησιμοποιήθηκαν οι τρεις από τις τέσσερις ακίδες του αισθητήρα και συνδέθηκαν η μία με τροφοδοσία, μια άλλη με GND και η άλλη με το Arduino στη θέση D4.

### 5.2.2 Αισθητήρας πίεσης MPX4250

Για τη μέτρηση της πίεσης χρησιμοποιήθηκε ένας αισθητήρας MPX4250 της εταιρείας NXP semiconductors, ένας κορυφαίος αισθητήρας πίεσης, σχεδιασμένος για ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών.

Συνδυάζει προηγμένες τεχνικές μικρομηχανικής, επιμετάλλωσης με τεχνολογία λεπτών υμενίων και διπολική επεξεργασία ούτως ώστε να παρέχει ακρίβεια και υψηλού επιπέδου αναλογικό σήμα εξόδου, το οποίο είναι ανάλογο με την εφαρμοζόμενη πίεση.



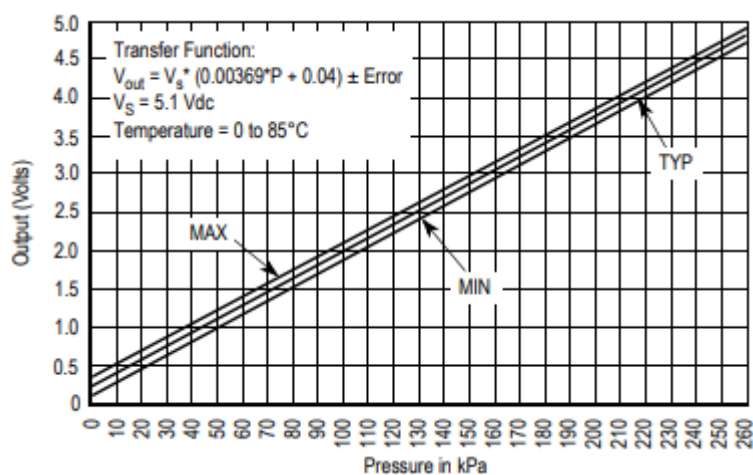
**Σχήμα 5.4 :** Αισθητήρας πίεσης MPX4250. [97]

Ο αισθητήρας αυτός έχει σχεδιαστεί για χρήση με μέσο πίεσης τον ξηρό αέρα, ενώ αν εκτεθεί σε άλλο μέσο πίεσης ενδέχεται να επηρεάσει την απόδοση του αισθητήρα και την μακροπρόθεσμη αξιοπιστία του.

Πάνω στο κεντρικό τσιπ υπάρχει ένας αισθητήρας που εντοπίζει διαφορές στην πίεση, ενώ στο κάτω μέρος υπάρχουν έξι ακίδες.

Λειτουργεί με τάση τροφοδοσίας μεταξύ 4,85-5,35 V, με τα 5,1 V να είναι η τυπική τάση στους 25 °C. Το εύρος πίεσης κυμαίνεται από 0-250 kPa και η παροχή ρεύματος μεταξύ 7-10 mA.

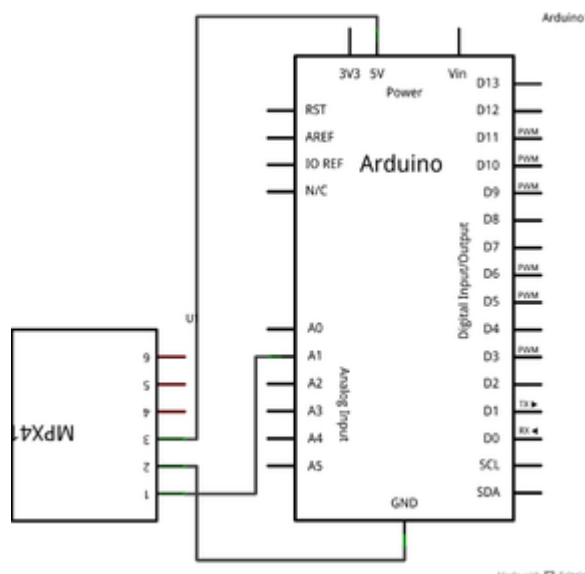
Ο τυπικός χρόνος απόκρισης του αισθητήρα είναι στο 1 ms και ο χρόνος που χρειάζεται για να ζεσταθεί και να τεθεί σε λειτουργία φτάνει τα 20 ms. Ο χρόνος που χρειάζεται για να ζεσταθεί ουσιαστικά αποτελεί το χρόνο που απαιτείται ούτως ώστε ο αισθητήρας να μπορεί να ανταποκρίνεται στην καθορισμένη τάση εξόδου μετά τη σταθεροποίηση της πίεσης.



**Σχήμα 5.5 :** Διάγραμμα που δείχνει στο σήμα εξόδου του αισθητήρα συναρτήσει της πίεσης εισόδου. [97]

Στο παραπάνω διάγραμμα (σχήμα 5.5) φαίνονται οι τυπικές, ελάχιστες και μέγιστες καμπύλες εξόδου για λειτουργία σε περιοχή θερμοκρασιών από 0 έως 85 °C. Στις θερμοκρασίες αυτές το μέγιστο σφάλμα μπορεί να φτάσει το 1,4%.

Οι συνθήκες που επικρατούσαν μέσα στο θάλαμο ήταν μέσα στα προκαθορισμένα όρια που ορίζει ο κατασκευαστής, ούτως ώστε να μην προκληθεί μειωμένη απόδοση της συσκευής ή ακόμα και μόνιμη βλάβη. [97]



**Σχήμα 5.6 :** Σύνδεση αισθητήρα πίεσης με Arduino. [98]

Στο σχήμα 5.6 φαίνεται ο τρόπος, βάση του οποίου έγινε η σύνδεση του αισθητήρα πίεσης με το σύστημα Arduino όπου αποστέλλονται και καταγράφονται τα δεδομένα που λαμβάνει, μεταβολές δηλαδή στην πίεση. Από τις 6 ακίδες που έχει ο αισθητήρας χρησιμοποιούνται μόνο οι 3 στη σύνδεση με το Arduino. Η μία ακίδα συνδέεται με τη γείωση GND και οι άλλες δύο με  $V_{in}$  και  $V_{out}$  αντίστοιχα, όπως φαίνεται στο σχήμα.

### 5.2.3 Αισθητήρας CO<sub>2</sub> MH-Z16

Για τη μέτρηση και τον έλεγχο της συγκέντρωσης του διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) στην καλλιέργεια, χρησιμοποιήθηκε ένας αισθητήρας MH-Z16 της εταιρείας Zhengzhou Winsen Electronics.

Οι διαστάσεις του δεν είναι πολύ μικρές, καθώς το μήκος του φτάνει τα 9,7 cm, το πλάτος του το 1,7 cm και το ύψος τα 2 cm. Η διάμετρος του φτάνει τα 1,55 cm.



**Σχήμα 5.7 :** Αισθητήρας μέτρησης CO<sub>2</sub>. [99]

Η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> υπολογίζεται με βάση τον παρακάτω τύπο :

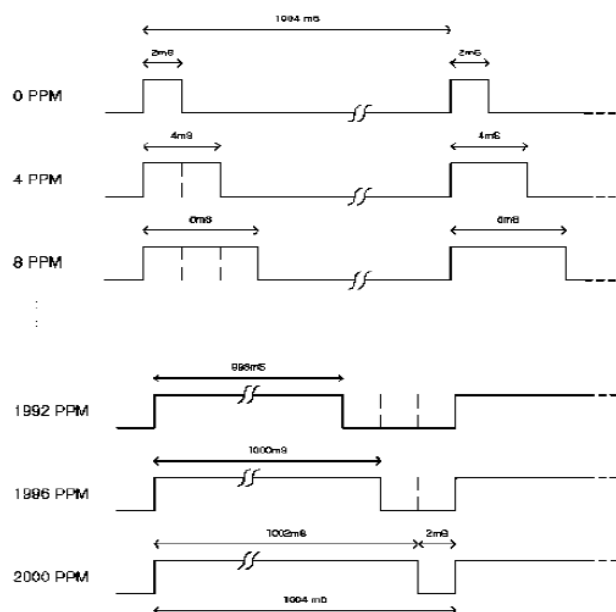
$$C_{ppm} = 2000 \times \frac{(T_H - 2ms)}{(T_H + T_L - 4ms)}, \text{ εξίσωση 5.1}$$

όπου  $C_{ppm}$  είναι η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> που υπολογίζεται,

$T_H$  είναι ο χρόνος για έναν πλήρη κύκλο στο υψηλό επίπεδο

$T_L$  είναι ο χρόνος για έναν πλήρη κύκλο στο χαμηλό επίπεδο.

Στο σχήμα 5.8 που ακολουθεί φαίνονται καλύτερα οι χρόνοι για  $T_{High}$  και  $T_{Low}$  σε έναν πλήρη κύκλο για διαφορετικές συγκεντρώσεις. Το πλάτος της κορυφής ( $T_H$ ) είναι ευθέως ανάλογο με τη συκέντρωση  $C_{ppm}$  όπως φαίνεται και στο σχήμα. Αντίθετα, το  $T_L$  μειώνεται όταν αυξάνεται η συκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα.



**Σχήμα 5.8 :** Σχηματική απεικόνιση για πλήρεις κύκλους σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. [99]

Είναι ένας αισθητήρας με πολύ καλά χαρακτηριστικά, όπως :

- υψηλή ευαισθησία,
- υψηλή ανάλυση
- χαμηλή κατανάλωση ενέργειας
- μέθοδοι εξόδου : UART, αναλογικό σήμα τάσης, κύμα PWM
- γρήγορη απόκριση
- αντιστάθμιση θερμοκρασίας, εξαιρετική γραμμική έξοδος
- καλή σταθερότητα
- μεγάλη διάρκεια ζωής
- καλή αντίσταση κατά της υγρασίας
- μη δηλητηριώδες.

Για τη λειτουργία του αισθητήρα απαιτείται τάση τροφοδοσίας μεταξύ 4,5-5,5 V και μέσο ρεύμα μικρότερο των 85 mA. Απαιτείται επίσης 3 λεπτά χρόνος προθέρμανσης της συσκευής, ενώ ο χρόνος απόκρισης είναι μικρότερος των 30 δευτερολέπτων.

Οι συνθήκες κάτω από τις οποίες είναι λειτουργικός ο αισθητήρας είναι από 0 έως 50 °C και μεταξύ 0-95 % RH. Στο θάλαμο που τοποθετήθηκε οι συνθήκες είναι εντός των

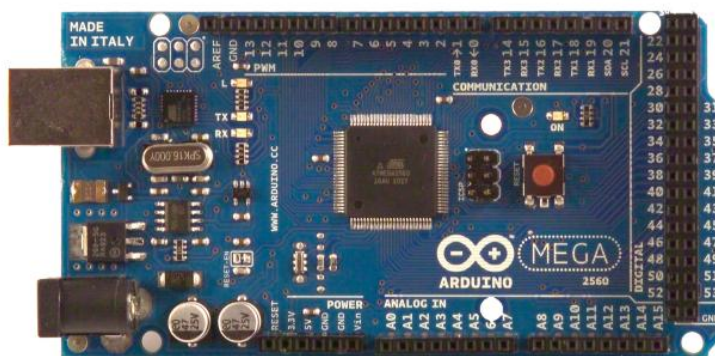


ορίων αυτών, κάτι που κάνει τον αισθητήρα ιδανικό για το σύστημα αυτό. Ζυγίζει 21 γραμμάρια και η διάρκεια ζωής του είναι μεγαλύτερη των πέντε χρόνων. [99]

Κατά τη σύνδεση του αισθητήρα με το Arduino χρησιμοποιήθηκαν οι 4 ακίδες (pins) όπου συνδέθηκαν η μια με  $V_{in}$ , μια άλλη με GND και δύο ακόμα με PWM (Pulse Width Modulation).

#### 5.2.4 Μικροελεγκτής Arduino

Όλοι οι αισθητήρες που αναφέρθηκαν παραπάνω είναι συνδεδεμένοι με έναν μικροελεγκτή για τον έλεγχο και το συντονισμό των συνθηκών της καλλιέργειας. Το μοντέλο Arduino 2560 που χρησιμοποιήθηκε, αποτελεί μια απλή μητρική πλακέτα μικροελεγκτή.



Σχήμα 5.9 : Μητρική πλακέτα Arduino. [100]

Ο μικροελεγκτής συνδέθηκε με τους αισθητήρες και τα υπόλοιπα μέρη του συστήματος και προγραμματίστηκε με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή, ούτως ώστε να συλλέγει τα δεδομένα που λαμβάνουν και στέλνουν σε αυτόν οι αισθητήρες και στη συνέχεια και ανάλογα με τις πληροφορίες που έχει πάρει να δίνει εντολές για μια σειρά από ενέργειες ώστε να διατηρούνται αναλλοίωτες οι συνθήκες μέσα στο θάλαμο.

Λειτουργεί με εξωτερική τροφοδοσία που κυμαίνεται μεταξύ 6 και 20 Volts, είτε με USB σύνδεση, είτε με εξωτερική πηγή. Το συνιστώμενο εύρος τροφοδοσίας βέβαια κυμαίνεται μεταξύ 7-12 V, καθώς σε χαμηλότερες τιμές ενδέχεται να είναι ασταθής, ενώ σε υψηλότερες τιμές μπορεί να υπερθερμανθεί και να προκληθούν βλάβες. [100]

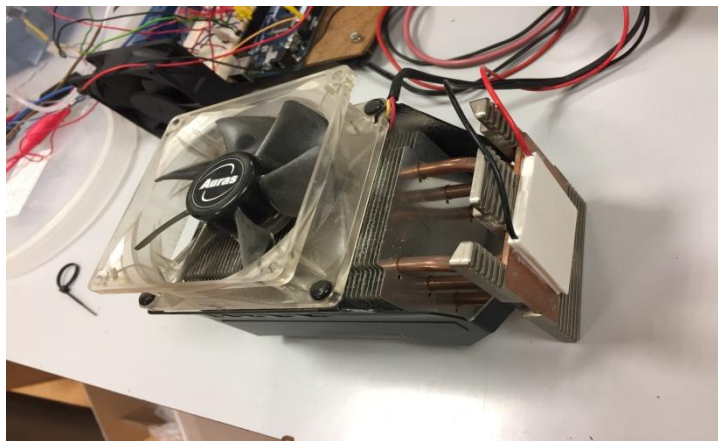
#### 5.2.5 Θερμοηλεκτρικό στοιχείο Peltier

Για τον έλεγχο της θερμοκρασίας και τη ψύξη του θαλάμου χρησιμοποιήθηκε ένα θερμοηλεκτρικό στοιχείο Peltier. Ο τρόπος λειτουργίας του βασίζεται στη μεταφορά θερμότητας από το ένα άκρο στο άλλο.

Εφαρμόζοντας συνεχή τάση στους ακροδέκτες του, μεταφέρεται θερμότητα από τη μια πλευρά στην άλλη με αποτέλεσμα ή μία να θερμανθεί και άλλη να ψυχθεί. Η θερμότητα που καταλήγει στη θερμή πλευρά του θερμοηλεκτρικού στοιχείου, ελευθερώνεται με τη

βοήθεια ενός θερμοαπαγωγού στο περιβάλλον. Ο θερμοαπαγωγός αποτελείται από πτερύγια αλουμινίου και ανεμιστήρα που βοηθά στην απαγωγή της θερμότητας.

Πρόκειται για μια τετραγωνική επιφάνεια μήκους 40mm, πλάτους 40mm και πάχους 4mm. Λειτουργεί σε τάση μεταξύ 0-15,2 V, 0-6 A και θερμοκρασία μεταξύ -30 με 70 °C.



**Σχήμα 5.10** : Θερμοηλεκτρικό στοιχείο Peltier μαζί με το ανεμιστήρακι.

Ένα απλό θερμοηλεκτρικό στοιχείο μπορεί εύκολα να κατασκευαστεί, συνδέοντας ηλεκτρικά με μεταλλικούς αγωγούς, 2 παραλληλεπίπεδα από θερμοηλεκτρικό υλικό, το ένα τύπου p και το άλλο τύπου n. Τα παραλληλεπίπεδα τοποθετούνται παράλληλα μεταξύ τους και με το ηλεκτρικό ρεύμα που δημιουργείται μεταφέρεται θερμότητα προς τη μία άκρη, δημιουργώντας έτσι μια θερμή και μια ψυχρή πλευρά. [101,102]

### 5.3 Κυκλοφορία αέρα στην καλλιέργεια

Ένας ανεμιστήρας χρησιμοποιήθηκε με σκοπό τη συνεχή ομογενή κατανομή του αέρα στο θάλαμο. Με τον τρόπο αυτό, διοξείδιο του άνθρακα έφτανε συνεχώς στα κύτταρα βοηθώντας έτσι στη φωτοσύνθεσή τους.

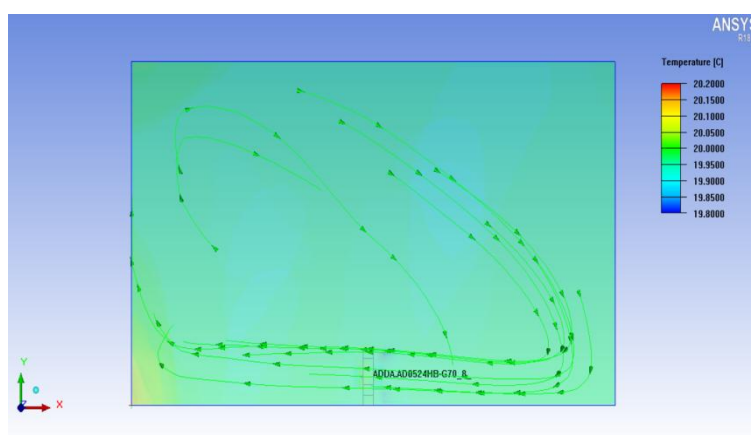
Ο ρόλος λειτουργίας του ανεμιστήρα στη συγκεκριμένη διάταξη μοιάζει αρκετά με τον τρόπο λειτουργίας φούρνων και θερμοστατικών θαλάμων που χρησιμοποιούνται ευρέως σε εγκαταστάσεις εργαστηρίων στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμακευτικών και χημικών προϊόντων. Στις συσκευές αυτές με τη βοήθεια ενός ή περισσότερων ανεμιστήρων επιτυγχάνεται ομοιόμορφη κατανομή του αέρα και της θερμότητας μέσα στο θάλαμο.

Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στην καλή κυκλοφορία και εναλλαγή του αέρα μέσα στο θάλαμο και η τεχνική που χρησιμοποιείται για τη βελτίωση της διαδικασίας, είναι αυτή της υπολογιστικής μηχανικής ρευστών (Computational Fluid Dynamics, CFD), που εφαρμόστηκε με επιτυχία στις συσκευές ψησίματος/ζεστάματος φαγητού.

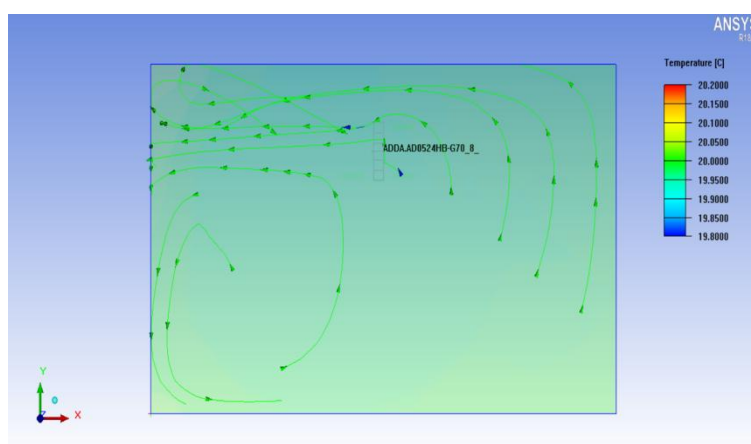
Η τεχνική CFD αναλύει και επιλύει προβλήματα που έχουν να κάνουν με τις ροές ρευστών, μετάδοση θερμότητας και μάζας χημικών αντιδράσεων. Χρησιμοποιείται για προσομοίωση σε πραγματικές διαστάσεις και συνθήκες, που βασίζεται στο σχεδιασμό και παρέχει ακριβή αποτελέσματα σχετικά με τη ροή ρευστών μέσα σε ένα θάλαμο.

Πολλά εργαστήρια που ασχολήθηκαν με τη ροή ρευστών τα προηγούμενα χρόνια, μελέτησαν και επικύρωσαν τη σωστή λειτουργία της CFD τεχνικής. Αποδείχθηκε ότι παρέχει πολύτιμα δεδομένα σε βασικά ζητήματα της κυκλοφορίας των ρευστών, κάτι που είναι αρκετά δύσκολο και χρονοβόρο να γίνει με πειραματικές μετρήσεις. [103]

Με το πρόγραμμα προσομοίωσης ANSYS Icerak, μελετήθηκε η κατανομή του αέρα στο θάλαμο, ούτως ώστε να βρεθεί η καλύτερη θέση του ανεμιστήρα για τη βέλτιστη λειτουργία του.



**Σχήμα 5.11** : Εικόνα από προσομοίωση με το πρόγραμμα ANSYS.



**Σχήμα 5.12** : Εικόνα no. 2 από την προσομοίωση με το πρόγραμμα ANSYS.

Παράχθηκαν απεικονίσεις τρισδιάστατου πεδίου ροής αέρα μέσα στο θάλαμο έχοντας τοποθετήσει τον ανεμιστήρα κεντρικά στο θάλαμο στην μία περίπτωση χαμηλά και στην άλλη στο πάνω μέρος όπως φαίνεται στις παραπάνω εικόνες.

Με βάση τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων επιλέχθηκε να τοποθετηθεί ο ανεμιστήρας στο κάτω μέρος του θαλάμου, σε κεντρικό σημείο, όπως φαίνεται στην εικόνα 5.11, και τα κύτταρα να τοποθετηθούν πάνω από τον ανεμιστήρα.

Η επιλογή αυτή έγινε ούτως ώστε να υπάρχει ομοιομορφία αέρα γύρω από τα κύτταρα, χωρίς όμως να υπάρχει έντονη ροή αέρα στο μέρος όπου αυτά καλλιεργούνται.

#### 5.4 Πειραματική διαδικασία

Κατά τη πειραματική διαδικασία τοποθετήθηκαν τα κύτταρα στο θάλαμο για καλλιέργεια με δύο διαφορετικές μεθόδους.

Η μια καλλιέργεια έγινε με συμβατικό τρόπο όπου τα κύτταρα τοποθετήθηκαν μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα για αναπαραγωγή. Κάτω από τα κύτταρα τοποθετήθηκε ένας μαγνητικός αναδευτήρας για τη συνεχή ανάδευση τους, ούτως ώστε να μην υπάρξει καθίζηση.



**Σχήμα 5.13** : Καλλιέργεια κυττάρων με συμβατικό τρόπο.

Στη δεύτερη καλλιέργεια χρησιμοποιήθηκε μια περισταλτική αντλία με σκοπό τη συνεχή κυκλοφορία των κυττάρων. Με τη συνεχή αυτή κυκλοφορία επιτυγχάνεται πιο άμεση έκθεση του συνόλου των κυττάρων στο διοξείδιο του άνθρακα και το φως.



**Σχήμα 5.14** : Η κυλινδρική δομή από την οποία περνούν τα κύτταρα.

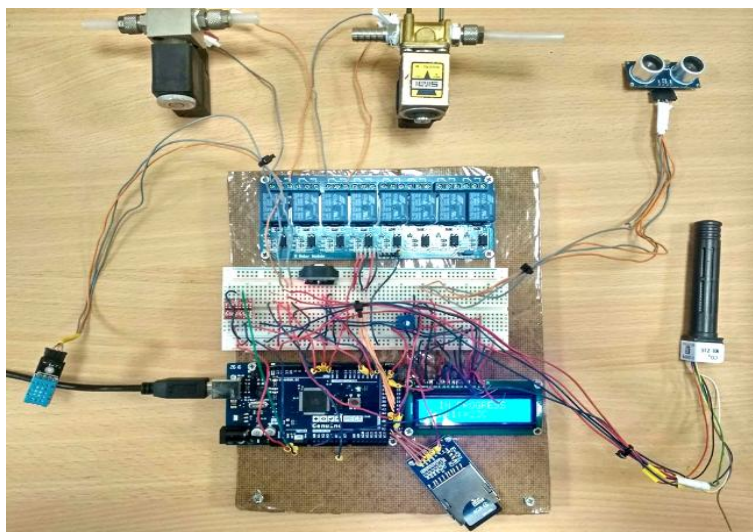
Κατά τη διάρκεια ενός πλήρη κύκλου τα κύτταρα περνούν από μια κυλινδρική δομή, όπου μέσω πολύ λεπτού φιλμ ρευστού, λόγω βαρύτητας, δημιουργούνται ιδανικές συνθήκες για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης.

Η αναπαραγωγή των κυττάρων έγινε κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες όπου η πίεση κυμαινόταν μεταξύ 15 και 18 psi, καθώς δε γίνεται να πέσει κάτω από 15 psi που είναι η ατμοσφαιρική, ενώ η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα ήταν ~1%.

Με τη χρήση των αισθητήρων πίεσης, CO<sub>2</sub>, θερμοκρασίας και υγρασίας ελέγχονταν συνεχώς οι συνθήκες στο θάλαμο, ούτως ώστε να μην παρεκκλίνουν από αυτές που επιλέχθηκαν κατά τη σχεδίαση του πειράματος.

Στο σύστημα τοποθετήθηκαν δύο βαλβίδες, η μία ήταν για να εισχωρεί το διοξείδιο του άνθρακα στο σύστημα και η άλλη για εκτόνωση, όταν κρινόταν αυτό απαραίτητο. Κάθε φορά λοιπόν που η πίεση έφτανε τα 18 psi, άνοιγε η βαλβίδα εξόδου αφήνοντας τον αέρα να βγει έξω. Στη συνέχεια άνοιγε πάλι η βαλβίδα εισόδου μέχρι να φτάσει η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> στο 1% ή η πίεση στα 18 psi.

Η βαλβίδα εισόδου ήταν συνδεδεμένη με μια φιάλη διοξειδίου του άνθρακα για το συνεχή εφοδιασμό της καλλιέργειας. Σαν πηγή φωτός χρησιμοποιήθηκαν λαμπτήρες LED, ενώ στο σύστημα τοποθετήθηκε κι ένας ανεμιστήρας για την καλύτερη κατανομή των αερίων. Η περισταλτική αντλία, το θερμοστατικό στοιχείο, οι λαμπτήρες και ο ανεμιστήρας βρισκότουσαν σε λειτουργία συνεχώς, καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας.



**Σχήμα 5.15 :** Σύνδεση αισθητήρων και βαλβίδων με το σύστημα ελέγχου Arduino.

Στο σύστημα αυτό, όπως φαίνεται στην εικόνα 5.15, λαμβάνονται όλα τα δεδομένα που στέλνουν και καταγράφουν οι αισθητήρες και αναλόγως στέλνεται σήμα για τις ενέργειες που πρέπει να εκτελεστούν.

Συγκεκριμένα, αν ο αισθητήρας που μετράει το CO<sub>2</sub> καταγράψει έλλειψη στη συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα, τότε αυτόματα ανοίγει η βαλβίδα εισόδου για να εισχωρήσει το αέριο. Αν από την άλλη, το σήμα που θα στείλει ο αισθητήρας είναι για μεγάλη συγκέντρωση CO<sub>2</sub> ή αυξημένη πίεση, τότε θα ανοίξει η βαλβίδα εξόδου ούτως ώστε να αποσυμπιεστεί ο θάλαμος.



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6



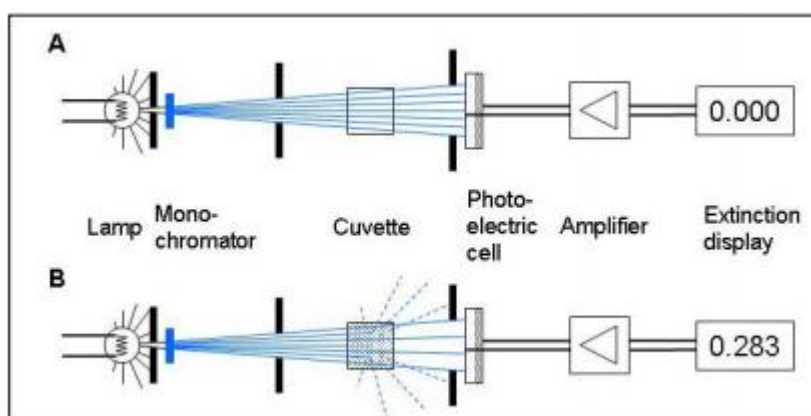
## 6 Ανάλυση πειραματικών δεδομένων

### 6.1 Η μέθοδος της οπτικής πυκνότητας (OD)

Η οπτική πυκνότητα (Optical Density, OD) είναι ένας εύκολος τρόπος μελέτης της ανάπτυξης και της μεταβολικής δραστηριότητας των κυττάρων μιας καλλιέργειας μικροφυκών. Με τη βοήθεια ενός φασματοφωτόμετρου ρίχνεται φως στην καλλιέργεια και βγαίνουν συμπεράσματα με βάση την ποσότητα του φωτός που απορροφάται ή σκεδάζεται.

Το φως προσπίπτει πάνω στην καλλιέργεια και μπορεί είτε να απορροφάται, είτε να σκεδάζεται. Η ποσότητα του φωτός που σκεδάζεται αποτελεί ένδειξη ύπαρξης βιομάζας και δημιουργεί μια θολότητα, η οποία είναι ορατή με γυμνό μάτι.

Με τη βοήθεια φωτοκύτταρου, μετράται η φωτεινή δέσμη που εξέρχεται από το φασματοφωτόμετρο και αυτή που παραμένει μετά τη καλλιέργεια. Όταν δεν υπάρχουν κύτταρα η φωτεινή δέσμη θα παραμείνει ίδια και η οπτική πυκνότητα μηδέν, ενώ όσο αυξάνεται η πυκνότητα, η φωτεινή δέσμη εμφανίζει μεγαλύτερες απώλειες.



Σχήμα 5.16 : Παράδειγμα λειτουργίας φασματοφωτόμετρου A) χωρίς κύτταρα και B) με κύτταρα. [104]

Σε γενικές γραμμές όσο ο αριθμός των κυττάρων αυξάνεται και κατ' επέκταση αυξάνεται και η πυκνότητα της καλλιέργειας, τόσο αυξάνεται και η θολότητα (turbidity) κατά τη διαδικασία της μεθόδου της οπτικής πυκνότητας.

Με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας (ΟΠ) και τη θολότητα που προκύπτει ουσιαστικά μετρείται η πυκνότητα των κυττάρων της καλλιέργειας. Οι μετρήσεις πρέπει να παίρνονται σε συγκεκριμένο μήκος κύματος, το οποίο και να παραμένει ίδιο κάθε φορά, για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας μπορεί να γίνει μέτρηση μιας καλλιέργειας στην αρχή και στο τέλος αυτής και με τη σύγκριση των δύο αυτών να εξαχθούν συμπεράσματα για την πορεία και το ρυθμό ανάπτυξής της. Μπορεί όμως να γίνει και σύγκριση δύο διαφορετικών καλλιεργειών ή μεθόδων καλλιεργειών, με ίδια αρχική ποσότητα και να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με το ποια εκ των δύο είχε καλύτερο ρυθμό ανάπτυξης.

Γενικά, οι τεχνικές σκέδασης φωτός για τη μελέτη καλλιεργειών έχουν το τεράστιο πλεονέκτημα ότι είναι γρήγορες και μη καταστρεπτικές. Ωστόσο δεν μετράνε τον αριθμό των κυττάρων. Η σκέδαση του φωτός σχετίζεται κυρίως με το ξηρό βάρος αυτών.

Ένα δεύτερο μειονέκτημα είναι ότι δεν μπορεί να γίνει διαχωρισμός με τυχών νεκρά κύτταρα που ενδεχομένως υπάρχουν στην καλλιέργεια.

Η μέθοδος της οπτικής πυκνότητας έχει λογαριθμική λειτουργία και όταν αυξάνεται το μέγεθος της απορρόφησης φωτός κατά ένα, τότε η ένταση του φωτός που διέρχεται από το δείγμα μειώνεται κατά 10 φορές.

Συνήθως παρουσιάζεται με γραφική παράσταση του  $\log OD$  συναρτήσεως του χρόνου, η οποία είναι ευθεία γραμμή όταν ο ρυθμός ανάπτυξης της καλλιέργειας είναι εκθετικός. Η φάση αυτή ονομάζεται λογαριθμική φάση.

Ρυθμός ανάπτυξης (growth rate) μιας καλλιέργειας ορίζεται η αλλαγή της κυτταρικής μάζας στη μονάδα του χρόνου, ενώ ο χρόνος που απαιτείται για το διπλασιασμό του αρχικού αριθμού των κυττάρων ονομάζεται χρόνος γενεάς (generation time). Στο στάδιο εκείνο της ανάπτυξης που ο αριθμός των κυττάρων διπλασιάζεται στη μονάδα του χρόνου έχουμε εκθετική ανάπτυξη. [104,105,106]

## 6.2 Μέτρηση με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας

Πριν τη διαδικασία καλλιέργειας αλλά και μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας μετρήθηκε με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας (OD) ο όγκος των κυτταροκαλλιεργειών στα δείγματα των δύο μεθόδων. Η οπτική πυκνότητα των καλλιεργειών μετρήθηκε σε μήκος κύματος 680 nm.

Η αρχική ποσότητα ήταν ίδια και στις δύο μεθόδους καλλιέργειας και η μέτρηση της οπτικής πυκνότητάς τους σε χρόνο  $t = 0$  ήταν :



$$OD_{680nm} = 1,41$$

Τα κύτταρα των δύο καλλιέργειών τοποθετήθηκαν σε θάλαμο με τις ίδιες ακριβώς συνθήκες για 48 ώρες και στη συνέχεια μετρήθηκε η οπτική τους πυκνότητα.

Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας για τη μέθοδο καλλιέργειας με το συμβατικό τρόπο έδωσε το εξής αποτέλεσμα :

$$OD_{680nm} = 1,46$$

Η αντίστοιχη μέτρηση της οπτικής πυκνότητας για την καλλιέργεια μέσω λεπτού στρώματος νερού είχε σαν αποτέλεσμα :

$$OD_{680nm} = 1,43$$

Φαίνεται ότι οι μετρήσεις της οπτικής πυκνότητας πριν και μετά την καλλιέργεια σε αμφότερες τις μεθόδους εμφανίζουν πολύ παρεμφερή αποτελέσματα καθώς η διαφορά της τάξης δεύτερου δεκαδικού θεωρείται αμελητέα.

Σε καμία από τις δύο μεθόδους δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη της καλλιέργειας. Αυτό πιθανώς οφείλεται σε κάποιο παράγοντα που έδρασε περιοριστικά στη διαδικασία και είναι κάτι που χρήζει περαιτέρω μελέτης και πειραμάτων.

Είναι πιθανό οι καλλιέργειες να μην αναπτύχθηκαν και τα αποτελέσματα να μην ήταν τα αναμενόμενα λόγω της υψηλής θερμοκρασίας, γύρω στους 25 °C, μιας και όλες οι υπόλοιποι παράμετροι ήταν ιδανικές (CO<sub>2</sub>, φως, νερό).

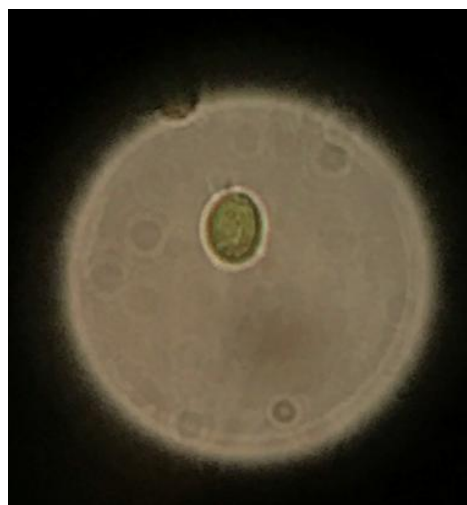
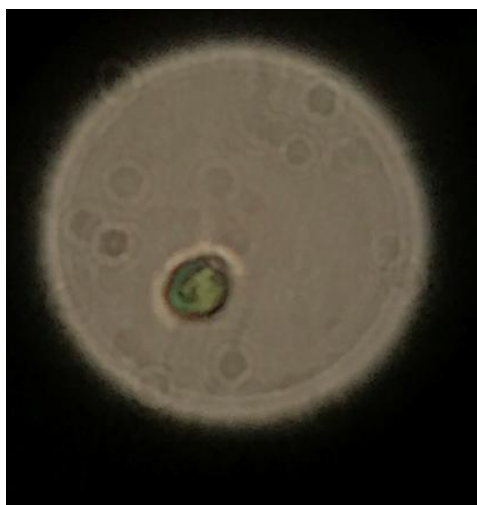
Στη συνέχεια θα γίνουν περαιτέρω πειράματα στο εργαστήριο με χαμηλότερη θερμοκρασία, στην προσπάθεια να βρεθεί ο λόγος που δεν αναπτύχθηκαν οι καλλιέργειες.



(α)

(β)

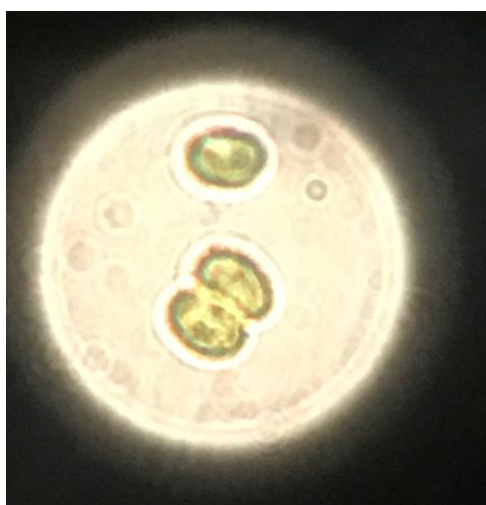
**Σχήμα 6.1** : Εικόνες κυττάρων από το μικροσκόπιο για α) συμβατικό τρόπο καλλιέργειας και β) μέθοδο καλλιέργειας μέσω λεπτού στρώματος ρευστού.



(α)

(β)

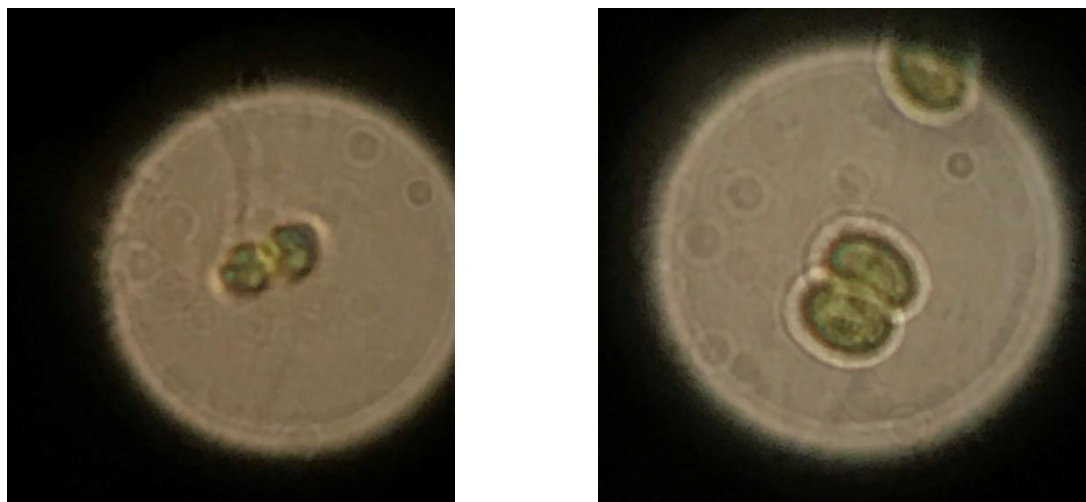
**Σχήμα 6.2 :** Εικόνες ενός μονού κυττάρου από το μικροσκόπιο για α) συμβατικό τρόπο καλλιέργειας και β) μέθοδο καλλιέργειας μέσω λεπτού στρώματος ρευστού.



(α)

(β)

**Σχήμα 6.3 :** Εικόνα κυττάρων από το μικροσκόπιο για α) συμβατικό τρόπο καλλιέργειας και β) μέθοδο καλλιέργειας μέσω λεπτού στρώματος ρευστού.



(α)

(β)

**Σχήμα 6.4 :** Εικόνες κυττάρων από το μικροσκόπιο για α) συμβατικό τρόπο καλλιέργειας και β) μέθοδο καλλιέργειας μέσω λεπτού στρώματος ρευστού.

Από τις εικόνες με τη βοήθεια μικροσκοπίου, φαίνεται ότι τα κύτταρα παρουσιάζουν το ίδιο περίπου μέγεθος μετά την καλλιέργεια σε αμφότερες τις μεθόδους.

### 6.3 Μέτρηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης

Εκτός από τις μετρήσεις με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας μετρήθηκε και η συγκέντρωση της χλωροφύλλης στα δύο δείγματα από τις δύο διαφορετικές μεθόδους καλλιέργειας. Με τη μέτρηση της χλωροφύλλης εξάγονται χρήσιμα συμπεράσματα ως προς την ποιότητα των κυττάρων και την υγεία τους.

Με τη μέθοδο της οπτικής πυκνότητας εξάγονται συμπεράσματα για την πυκνότητα μιας καλλιέργειας, αν αυξήθηκε και αν αναπτύχθηκε ή όχι. Δεν μπορούν όμως να διαχωριστούν νεκρά κύτταρα που ενδεχομένως να προκύψουν κατά τη διαδικασία.

Για το λόγο αυτό μετρήθηκε και η χλωροφύλλη στις δύο μεθόδους καλλιέργειας μετά το τέλος της διαδικασίας.

Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης για τη συμβατική μέθοδο καλλιέργειας μετρήθηκε :

$$C_{\text{chlor}} = 11,38 \mu\text{g}_{\text{chlorophyll}}/\text{ml}_{\text{medium}}$$

Η αντίστοιχη μέτρηση της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης για τη μέθοδο καλλιέργειας μέσω πολύ λεπτού στρώματος νερού έδωσε :

$$C_{\text{chlor}} = 10,92 \mu\text{g}_{\text{chlorophyll}}/\text{ml}_{\text{medium}}$$

Παρατηρείται ότι τα κύτταρα είναι υγιή και ικανά για φωτοσύνθεση και στις δύο μεθόδους καλλιέργειας.

Σημειώνεται επίσης, ότι υπήρχε μεγάλο ποσοστό εξάτμισης (~1 ml/h) στη μέθοδο καλλιέργειας μέσω λεπτού στρώματος νερού. Η εξάτμιση αυτή προκαλεί μεγάλη συγκέντρωση κυττάρων σε μικρό όγκο νερού, πράγμα που εμποδίζει την ανάπτυξη της καλλιέργειας.

Συμπερασματικά, μπορεί οι δύο καλλιέργειες να μην αναπτύχθηκαν αλλά είναι πολύ σημαντικό ότι τα κύτταρα επέζησαν από τη διαδικασία και ειδικά για τη μέθοδο καλλιέργειας μέσω πολύ λεπτού στρώματος νερού, καθώς τα κύτταρα δέχονται συνεχείς μηχανικές καταπονήσεις κατά τη διαδικασία.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7



## 7 Συμπεράσματα

Στόχος των πειραμάτων ήταν η μελέτη δύο διαφορετικών μεθόδων καλλιέργειας, αποσκοπώντας στη βελτίωση της παραγωγικότητας της βιομάζας. Προκειμένου να διερευνηθεί ο αποτελεσματικότερος τρόπος, κατασκευάστηκε ένα κλειστό σύστημα καλλιέργειας, με ιδανικές συνθήκες.

Η έρευνα επικεντρώθηκε στη μελέτη, παρακολούθηση και σύγκριση του ρυθμού ανάπτυξης δύο διαφορετικών μεθόδων καλλιέργειας. Μέσω των πειραματικών διαδικασιών, σε πρώτο επίπεδο εξασφαλίστηκε πλήρης έλεγχος των συνθηκών καλλιέργειας στο θάλαμο που κατασκευάστηκε. Σε δεύτερο επίπεδο, τα κύτταρα επέζησαν από τη διαδικασία της καλλιέργειας και στις δύο μεθόδους.

Παρόλα αυτά, προκαλεί προβληματισμό το γεγονός ότι δεν αναπτύχθηκαν οι καλλιέργειες σε καμία από τις δύο μεθόδους. Πιθανότατα αυτό οφείλεται στη θερμοκρασία, καθώς όλες οι άλλες παράμετροι είχαν ελεγχθεί σε παλαιότερα πειράματα του εργαστηρίου και συμφωνούν με βιβλιογραφικές πηγές και πρωτόκολλα. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι η θερμοκρασία αποτελεί μια πολύ σημαντική παράμετρο για τη σωστή λειτουργία του παρόντος συστήματος, η οποία στα πλαίσια αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας δεν κατέστη δυνατό να ελεγχθεί. Αυτό συμφωνεί απόλυτα και με τη θεωρία (κεφάλαιο 4.3.2), όπου επισημαίνεται ότι μικρή διαφορά θερμοκρασίας μπορεί να επιβραδύνει ή ακόμα και να καταστείλει την καλλιέργεια.

Είναι όμως πολύ ενθαρρυντικό στοιχείο το γεγονός ότι επέζησαν τα κύτταρα στη μέθοδο καλλιέργειας μέσω πολύ λεπτού στρώματος νερού (Ultra Thin Bioreactor). Η μέθοδος αυτή αποτελεί μια πολύ ελπιδοφόρα διαδικασία για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών αλλά και άλλων κυτταροκαλλιεργειών, επειδή εξασφαλίζεται μεγάλη επιφάνεια επαφής των κυττάρων με τις ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες (CO<sub>2</sub>, φως).

Η εργασία αυτή αποτελεί ένα αρχικό βήμα μεγάλης έρευνας που απαιτείται να πραγματοποιηθεί προκειμένου να υπάρξει κλιμάκωση από την πειραματική διάταξη σε βιομηχανικές εφαρμογές.



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8



## 8 Μελλοντικοί στόχοι

Σε πρώτο στάδιο θα πρέπει να γίνουν περαιτέρω πειράματα με μεγαλύτερο έλεγχο της θερμοκρασίας ούτως ώστε να εξακριβωθεί αν όντως η θερμοκρασία ήταν ο περιοριστικός παράγοντας για το γεγονός ότι δεν αναπτύχθηκαν οι καλλιέργειες και να μελετηθεί ο ρυθμός ανάπτυξης τους.

Παράλληλα, προκειμένου να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της εξάτμισης, προτείνεται να γίνουν πειράματα με χρήση μιας αντλίας που θα προσθέτει νερό όπου και όποτε χρειάζεται.

Σε δεύτερο στάδιο, ο θάλαμος που κατασκευάστηκε με κατάλληλη προσαρμογή των παραμέτρων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για άλλων ειδών κυτταροκαλλιέργειες (π.χ. βλαστοκύτταρα).

Επιπροσθέτως, και η μέθοδος καλλιέργειας μέσω λεπτού στρώματος νερού, μπορεί να καταστεί ωφέλιμη για διαφορετικού τύπου καλλιέργειες, λόγω της μεγάλης επιφάνειας έκθεσης των κυττάρων στις ευνοϊκές συνθήκες στο θάλαμο.

Τέλος, θα πρέπει να διερευνηθεί το κατά πόσο είναι εφικτή η κλιμάκωση της παραγωγής από το εργαστηριακό σε βιομηχανικό επίπεδο.





# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9



## 9 Βιβλιογραφία

1. [www.census.gov/population](http://www.census.gov/population)
2. Ηνωμένα Έθνη, World Population Prospects : The 1996 Revision.
3. <https://ec.europa.eu/eurostat>
4. R.A. Andersen, "Algae. In. J.C. Hunter-Cevera and C.A. Belt eds. Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry", London (1996).
5. W. Wiessner, E. Schnepf, R.C. Starr, "Algae, Environment Human Affairs", Bristol (1995).
6. A. Jassby, "Spirulina: a Model of Microalgae as Human Food. In: C. Lembi, J.R. Waaland eds. Algae and Human Affairs", Cambridge (1988).
7. J.M. Halley. "Εφαρμοσμένη Οικολογία. Οικοσυστήματα", Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα (2014).
8. users.sch.gr
9. D.J. Cuff, W.J. Young, "United States Energy Atlas", USA (1980).
10. J.A. Gimpel, E.A. Specht, D.R. Georgianna, S.P. Mayfield, "Advances in Microalgae Engineering and Synthetic Biology Applications for Biofuel Production", Current Opinion in Chemical Biology, USA (2013).
11. Food and Agriculture Organization of the United Nations  
<http://www.fao.org/home/en/> .
12. Ε. Βουλτσιάδου, Θ. Αμπατζόπουλος, Ε. Αντωνοπούλου, Κ. Γκάνιας, Σ. Γκέλης, Α. Στάικου, Α. Τριανταφυλλίδης, "Υδατοκαλλιέργειες Οργανισμοί, Συστήματα Παραγωγής, Προοπτικές", ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη (2015).
13. Π. Χριστακόπουλος, Ε. Τόπακας, "Βιοτεχνολογική Παραγωγή Βιοκαυσίμων, 2<sup>ης</sup> & 3<sup>ης</sup> Γενιάς Βιοκαύσιμα", Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα (2015).
14. Y. Chisti, "Biodiesel from Microalgae", Biotechnology Advances (2007).
15. Ελληνική Φυκολογική Εταιρεία ([http://www.phycology.gr/downloads/Fyk-entypo\\_X.pdf](http://www.phycology.gr/downloads/Fyk-entypo_X.pdf)).
16. Γ. Μάρκου, Ι. Τζοβένης, Η. Νερατζής, "Μικροφύκη : Καλλιέργεια και Βιομηχανικές Εφαρμογές", E-Journal of Science & Technology (e-JST) (2013).
17. L. Brennan, P. Owende, " Biofuels from Microalgae-A Review of Technologies for Production, Processing, and Extractions of Biofuels and Co-Products", Renewable and Sustainable Energy Reviews (2010).

18. R. Harun, M. Singht, G.M. Forde, M.K. Danquah, "Bioprocess Engineering of Microalgae to Produce a Variety of Consumer Products", *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (2010).
19. O. Pulz, W. Gross, "Valuable Products from Biotechnology of Microalgae", *Applied Microbiology and Biotechnology* (2004).
20. J.N. Rosenberg et al., "A Green Light engineered algae: Redirecting Metabolism to Fuel a Biotechnology Revolution", *Current Opinion in Biotechnology* (2008).
21. S.E. Franklin, S.P. Mayfield, "Prospects for Molecular Farming in the Green Alga *Chlamydomonas*" (2004).
22. M. Gantar, Z. Svircev, "Microalgae and Cyanobacteria : Food for Thought (1)", *Journal of Phycology* (2008).
23. J. Nickelsen, U. Kuck, "The Unicellular Green Alga *Chlamydomonas Reinhardtii* as an Experimental System to Study Chloroplast", *RNA Metabolism Naturwissenschaften* (2000).
24. K. Chojnacka, F.J. Marquez-Rocha, "Kinetic and Stoichiometric Relationships of the Energy and Carbon Metabolism in the Culture of Microalgae", *Biotechnology Advances* (2004).
25. A.P. Abreu, B. Fernandes, A.A.Vicente, J. Teixeira, G. Dragone, "Mixotrophic Cultivation of *Chlorella Vulgaris* Using Industrial Dairy Waste as Organic Carbon Source", *Bioresource Technology* (2012).
26. M.R. Andrade, J.A.V. Costa, "Microphic Cultivation of Microalgae *Spirulina Platensis* Using Molasses at Organic Substrate", *Aquaculture* (2007).
27. F. Chen, "High Cell Density Culture of Microalgae in Heterotrophic Growth", *Trends in Biotechnology* (1996).
28. K. Chojnacka, A. Zielinska, "Evaluation of Growth Yield of *Spirulina* (*Arthrospira*) sp. In Photoautotrophic, Heterotrophic and Mixotrophic Cultures", *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (2011).
29. C. Gao, Y. Zhai, Y. Ding, Q. Wu, "Application of Sweet Sorghum for Biodiesel Production by Heterotrophic Microalgae *Chlorella Protothecoides*", *Applied Energy* (2010).
30. H. Zhang, W. Wang, Y. Li, W. Yang, G. Shen, "Mixotrophic Cultivation of *Botryococcus braunii*", *Biomass and bioenergy* (2011).
31. K. Heinmann, R. Huerlimann, "Microalgal Classification : Major Classes and Genera of Commercial Microalgal Species" (2015).
32. L. Barsanti, P. Gualtieri. "Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology", New York (2006).
33. W.M. Darley, "Algal Biology: A Physical Approach. In: J.F. Wilkinson eds. *Basic Microbiology*", London (1982).
34. L.M. Bongiorno, F. Pietra, "Marine Natural Products for Industrial Applications", *Chemistry and Industry* (1996).
35. K.Y. Kreeger, "Industry Investors Show Increased Interest in Denizens of the Deep", *The Scientist* (1996).
36. F.B. Metting, "Biodiversity and Application of Microalgae", *Journal of Industrial Microbiology* (1996).

37. P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert, "Commercial Applications of Microalgae", *Journal of Bioscience and Bioengineering* (2006).
38. J.B. Waterbury. "The Cyanobacteria-Isolation, Purification and Identification. In: M. Dworkin eds. *The Prokaryotes – A Handbook on the Biology of Bacteria*" (2006).
39. L. Gouveia, "Microalgae as a Feedstock for biofuels", Springer (2011).
40. B. Gikonyo, "Advances in Biofuel Production : Algae and Aquatic Plants", Apple Academic Press (2013).
41. J.U. Grobbelaar, "Algal Nutrition. In Richmond, A., ed., *Handbook of Microalgal Culture*", *Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell (2004).
42. O. Jorquera, A. Kiperstok, E.A. Sales, M. Embirucu, M.L. Ghirardi, "Comparative Energy Life-Cycle Analyses of Microalgal Biomass Production in Open Ponds and Photobioreactors", *Bioresource Technology* (2010).
43. M. Marsullo, A. Mian A.V. Ensinas, G. Manente, A. Lazzaretto, F. Marechal, "Dynamic Modeling of the Microalgae Cultivation Phase for Energy Production in Open Raceway Ponds and Flat Panel Photobioreactors", *Frontiers in Energy Research* (2005).
44. D. Chaumont, "Biotechnology of Algal Biomass Production : a Review of Systems for Outdoor Mass Culture", *Journal of Applied Phycology* (1993).
45. J.G. Day, S.P. Slocombe, M.S. Stanley, "Overcoming Biological Constraints to Enable the Exploitation of Microalgae for Biofuels", *Bioresource Technology* (2011).
46. D. Bilanovic, A. Andarfatchew, T. Kroeger, G Shelef, "Freshwater and Marine Microalgae Sequestering of CO<sub>2</sub> at Different C and N Concentrations – Response Surface Methodology Analysis", *Energy Conversion and Management* (2009).
47. M.A. Borowitzka, "Commercial Production of Microalgae : Ponds, Tanks, Tubes and Fermenters", *Journal of Biotechnology* (1999).
48. C.U. Ugwu, H. Aoyagi, H. Uchiyama, "Photobioreactors for Mass Cultivation of Algae", *Bioresource Technology* (2008).
49. A. Richmond, "Open Systems for the Mass Production of Photoautotrophic Microalgae Outdoors : Physiological Principles", *Journal of Applied Phycology* (1992).
50. <http://www.Cynanotech.com> .
51. O.P. Pulz, "Photobioreactors : Production Systems for Phototrophic Microorganisms", *Applied Microbiology and Biotechnology* (2001).
52. A.P. Carvalho, L.A. Meireles, F.X. Malcata, "Microalgal Reactors : A Review of Enclosed System Designs and Performances", *Biotechnology Progress* (2006).
53. Y. Chisti, M. Moo-Young, "Bioreactors, In : R. Meyers eds. *Encyclopedia of Physical Science and Technology*", San Diego (2002).
54. Z. Wen, M.B. Johnson, "Virginia Cooperative Extension", Virginia Tech, Virginia State University (2009). <https://pubs.ext.vt.edu/442/442-886/442-886.html>.
55. E. Molina, J. Fernandez, F.G. Acien, Y. Chisti, "Tubular Photobioreactor Design for Algal Cultures", *Journal of Biotechnology* (2001).
56. N. Eriksen, "The Technology of Microalgal Culturing", *Biotechnology Letters* (2008).

57. I. Suh, C.G. Lee, "Photobioreactors Engineering : Design and Performance", Biotechnology and Bioprocess Engineering (2003).
58. A. Carvalho, S. Silva, J. Baptista, F. Malcata, "Light Requirements in Microalgal Photobioreactors : An Overview of Biophotonic Aspects", Applied Microbiology and Biotechnology (2011).
59. C.Y. Chen, K.L. Yeh, R. Aisyah, D.J. Lee, J.S. Chang, "Cultivation, Photobioreactor Design and Harvesting of Microalgae for Biodiesel Production : A Critical Review", Bioresource Technology (2011).
60. F. Lehr, C. Posten, "Closed Photo-Bioreactors as Tools for Biofuel Production", Current Opinion in Biotechnology (2009).
61. M. Janssen, "Cultivation of Microalgae: Effect of Light/Dark Cycles on Biomass Yield" (2002).
62. H. Xu, X.L. Miao, Q.Y. Wu, "High Quality Biodiesel Production from a Microalgae *Chlorella Protothecoides* by Heterotrophic Growth in Fermenters", Journal of Biotechnology (2006).
63. Y.N. Liang, N. Sarkany, Y. Cui, "Biomass and Lipid Productivities of *Chlorella Vulgaris* Under Autotrophic, Heterotrophic and Mixotrophic Growth Conditions", Biotechnology Letters (2009).
64. E. Molina Grima, F.G.A. Fernandez, F. Garcia Camacho, Y. Chisti, "Photobioreactors : Light Regime, Mass Transfer and Scaleup", Journal of Biotechnology (1999).
65. B. Fernandes, G. Dragone, J. Teixeira, A. Vicente, "Light Regime Characterization in an Airlift Photobioreactor for Production of Microalgae with High Starch Content", Applied Biochemistry and Biotechnology (2010).
66. C.Y. Wang, C.C Fu, Y.C. Liu, "Effects of Using Light-Emitting Diodes on the Cultivation of *Spirulina Platensis*", Biochemical Engineering Journal (2007).
67. A. Richmond, "Physiological Principles and Modes of Cultivation in Mass Production of Photoautotrophic Microalgae. In Z. Cohen eds. Chemical from Microalgae", Philadelphia (1999).
68. A. Carvalho, C. Monteiro, F. Malcata, "Simultaneous Effect of Irradiance and Temperature on Biochemical Composition of the Microalgae *Pavlova Lutheri*", Journal of Applied Phycology (2009).
69. S. Jensen, G. Knutsen, "Influence of Light and Temperature on Photoinhibition of Photosynthesis *Spirulina Platensis*", Journal of Applied Phycology (1993).
70. A. Vonshak, "Spirulina : Growth, Physiology and Biochemistry. In: A. Vonshak eds. *Spirulina Platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*", London (2002).
71. M. Borowitzka, "Limits to Growth. In: Y.S. Wong and N.F.Y. Tam eds. *Wastewater treatment with Algae*" (1998).
72. A. Richmond, "Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology" (2004).
73. M.R. Badger, G.D. Price, "CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms in Cyanobacteria : Molecular Components, their Diversity and Evolution", Journal of Experimental Botany (2003).
74. M. Giordano, J. Beardall, J. Raven, "CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms in Algae: Mechanisms, Environmental Modulation, and Evolution", Annual Review of Plant Biology (2005).
75. L. Brennan, P. Owende, "Biofuels from Microalgae: Towards Meeting Advance Fuel Standards. In J.W. Lee eds. *Advance Biofuels and Bioproducts*" (2013).

76. J. Doucha, F. Straka, K. Livansky, "Utilizations of Flue Gas for Cultivation of Microalgae (*Chlorella* sp.) in an Outdoor Open Thin-Layer Photobioreactor", *Journal of Applied Phycology* (2005).
77. L.S. Ferreira, M.S. Rodrigues, A. Converti, S. Sato, J.C.M. Carvalho, "Arthrospira (*Spirulina*) Platensis Cultivation in Tubular Photobioreactor: Use of no-cost CO<sub>2</sub> from Ethanol Fermentation", *Applied Energy* (2012).
78. B. Wang, Y. Li, N. Wu, C. Lan, "CO<sub>2</sub> Bio-Mitigation Using Microalgae", *Applied Microbiology and Biotechnology* (2008).
79. O. Perez-Garcia, F.M.E. Escalante, L.E. De-Bashan, Y. Bashan, "Heterotrophic Cultures of Microalgae: Metabolism and Potential Products", *Water Research* (2011).
80. S. Boussida, J. Gibson, "Ammonia translocation in Cyanobacteria", *FEMS Microbiology Letters* (1991).
81. J.A. Costa, K.L. Cozza, L. Oliveira, G. Magagnin, "Different Nitrogen Sources and Growth Responses of *Spirulina Platensis* in Microenvironments", *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (2001).
82. Y. Azov, J.C. Goldman, "Free ammonia inhibition of Algal photosynthesis in Intensive Cultures", *Applied and Environmental Microbiology* (1982).
83. E.D.G. Danesi, C. de O. Rangel-Yagui, J.C.M. de Carvalho, S. Sato, "An Investigation of Effect of Replacing Nitrate by Urea in the Growth and Production of Chlorophyll by *Spirulina Platensis*", *Biomass and Bioenergy* (2002).
84. C.H. Hsieh, W.T. Wu, "Cultivation of Microalgae for Oil Production with a Cultivation Strategy for Urea Limitation", *Bioresource Technology* (2009).
85. M.C. Matsudo, R.P. Bezerra, S. Sato, P. Perego, A. Converti, J.C.M. Carvalho, "Repeated Fed-Batch Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *Platensis* Using Urea as Nitrogen Source", *Biochemical Engineering Journal* (2009).
86. R.L. Oliver, G.G. Ganf, "Freshwaters Blooms. In: B.A. Whitton and M. Potts eds. *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*", New York (2000).
87. L.J. Stal, "Cyanobacterial Mats and Stromatolites. In B.A. Whitton eds. *Ecology of Cyanobacteria II*" (2012).
88. R.L. Oliver, D.P. Hamilton, J.D. Brooks, G.G. Ganf, "Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria. In: B.A. Whitton eds. *Ecology of Cyanobacteria II*" (2012).
89. N. Powell, A. Shilton, S. Pratt, Y. Chisti, "Luxury Uptake of Phosphorus by Microalgae in Full-Scale Waste Stabilization Ponds", *Water Science and Technology* (2011).
90. T.M. Mata, A.A. Martins, N.S. Caetano, "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*" (2010).
91. J. Miyake, T. Wakayama, J. Schnackenberg, T. Arai, Y. Asada, "Simulation of the Daily Sunlight Illumination Pattern for Bacterial Photo-Hydrogen Production", *Journal of Bioscience and Bioengineering* (1999).
92. J.C. Ogbonna, H. Tanaka, "Cyclic Autotrophic/Heterotrophic Cultivation of Photosynthetic Cells: a Method of Achieving Continuous Cell Growth Under Light Dark Cycles", *Bioresource Technology* (1998).
93. N.C. Yeh, J.P. Chung, "High-Brightness LEDs-Energy Efficient Lighting Sources and Their Potential in Indoor Plant Cultivation", *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (2009).

94. C.Y. Chen, G.D. Saratale, C.M. Lee, P.C. Chen, J.S. Chang, "Phototrophic Hydrogen Production in Photobioreactors Coupled With Solar-Energy-Excited Optical Fibers", International Journal of Hydrogen Energy (2008).
95. <https://akizukidenshi.com/download/ds/aosong/DHT11.pdf>
96. <http://arduinolearning.com/learning/basics/dht11-sensor-example.php>
97. <http://www.mouser.com/ds/2/302/MPX4250-1127330.pdf>
98. <https://ccollins.wordpress.com/2013/12/11/how-to-measure-air-pressure-with-arduino>
99. <https://www.winsen-sensor.com/d/files/PDF/Infrared%20Gas%20Sensor/NDIR%20CO2%20SENSOR/MH-Z16%20CO2%20V2.1.pdf>
100. <http://www.mantech.co.za/datasheets/products/A000047.pdf>
101. <https://www.stathisnet.gr/thermoilektriko-stoixeio-peltier-40mm-x-40mm-x-4mm-tec1-12706>
102. <http://www.eng.ucy.ac.cy/kyratsi/thermoelectrics/diataxeis.html>
103. J.C.Z. Piaia, C.A. Claumann, M.B. Quadri, A. Bolzan, "Air Flow CFD Modeling in an Industrial Convection Oven" (2018).
104. F. Widdel, "Theory and Measurement of Bacterial Growth", Universitat Bremen (2010).
105. S. Sutton, "Measurement of Microbial Cells by Optical Density", Microbiology Topics, Journal of Validation Technology (2011).
106. Α. Οικονόμου, "Σημειώσεις Εργαστηριακού Μαθήματος, Γενικές Μέθοδοι Κυτταρικής και Γενετικής Ανάλυσης", Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

