



**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ**

**ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Τεχνολογίες δέσμευσης και μετατροπής διοξειδίου το άνθρακα  
(CO<sub>2</sub>) με τη χρήση μικροφυκών**

**Όλγα Κέφη**

Επιβλέπων: Γεράσιμος Λυμπεράτος  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2024

## Ευχαριστίες

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2023-2024 στο Εργαστήριο Οργανικής Χημικής Τεχνολογίας, της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη του καθηγητή Γεράσιμου Λυμπεράτου, ενώ μέρος της πειραματικής διαδικασίας πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Αιγαίου υπό τον καθηγητή Δημήτριο Λέκκα. Με αφορμή την ολοκλήρωση της συγγραφής θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου σε όσους βοήθησαν στην υλοποίηση του εν λόγω ερευνητικού έργου.

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Λυμπεράτο, για την ευκαιρία να ενταχθώ στην ομάδα του εργαστηρίου του, ενώ παράλληλα με εμπιστεύθηκε με μία καινοτόμα ιδέα. Οι πολύτιμες γνώσεις και δεξιότητες που απέκτησα μέσω των διαλέξεων του κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών μαθημάτων, αποτέλεσαν αναπόσπαστο κομμάτι της πορείας που θέλω να ακολουθήσω ως χημικός μηχανικός.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στη Δρ. Κωνσταντίνα Παπαδοπούλου, ΕΔΙΠ, χωρίς την οποία η παρούσα εργασία δε θα μπορούσε να έρθει εις πέρας, για την άψογη συνεργασία και καθοδήγηση, από τη πρώτη μας συνάντηση μέχρι και το τέλος.

Επιπλέον, ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον υποψήφιο διδάκτορα Χαράλαμπο Παυλόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια που μου πρόσφερε καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Το ενδιαφέρον και η προθυμία του ήταν καθοριστικής σημασίας στην ομαλή ολοκλήρωση του παρόντος έργου.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω φυσικά τον καθηγητή Δημήτριο Λέκκα και τη Δρ. Ελευθερία Κλώντζα, οι οποίοι κατέστησαν δυνατή τη μετακίνησή μου στο Τμήμα Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Αιγαίου και με ένταξαν στην ομάδα τους, δίνοντας μου τη δυνατότητα να μαζέψω εφόδια και γνώσεις για τη συνέχιση της έρευνάς μου. Επίσης, την υποψήφια διδάκτορα του τμήματος, Ευσταθία Τζίβελου, με την οποία συνεργαστήκαμε κατά την παραμονή μου εκεί.

Ευχαριστίες απευθύνω συνολικά στους συναδέλφους από το Εργαστήριο Οργανικής Χημικής Τεχνολογίας (Σχολή Χημικών Μηχανικών) και από το Εργαστήριο Διαχείρισης Αποβλήτων (Τμήμα Περιβάλλοντος) για την υποστήριξη και τη βοήθειά τους κατά την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας

Τέλος, οφείλω το μεγαλύτερο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και στους ανθρώπους μου, που σε όλη τη διάρκεια των ακαδημαϊκών σπουδών, ήταν δίπλα μου. Δεν θα βρισκόμουν στη θέση αυτή χωρίς την ανιδιοτελή αγάπη και υποστήριξη τους και είμαι ευγνώμων και τυχερή που αποτελούν κομμάτι της ζωής μου.

Όλγα Κέφη  
Αθήνα, 2024

# Περιεχόμενα

---

Περίληψη.....	7
Abstract .....	8
1 Εισαγωγή.....	9
1.1 Αέρια του θερμοκηπίου και κλιματική αλλαγή: Η περίπτωση του CO <sub>2</sub> .....	9
1.2 Τεχνολογίες δέσμευσης και αποθήκευσης άνθρακα (Carbon Capture & Storage Technologies).....	11
2 Φύκη.....	16
2.1 Μικρο – και Μακροφύκη .....	16
2.2 Ο Μηχανισμός της Φωτοσύνθεσης.....	18
2.2.1 Φωτοσυνθετικές χρωστικές .....	20
2.2.2 Φωτοσύνθεση και φως .....	21
2.2.3 Φωτοσυνθετική αποδοτικότητα .....	23
2.2.4 Αναπνοή .....	23
2.3 Καλλιέργεια Μικροφυκών.....	24
2.4 Κινητική ανάπτυξης.....	25
2.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της βιομάζας.....	28
2.6 Συστήματα Καλλιέργειας Μικροφυκών .....	34
2.6.1 Ανοιχτά συστήματα .....	35
2.6.2 Κλειστά συστήματα .....	35
2.7 Αξιοποίηση παραγόμενης βιομάζας .....	37
3 Πειραματική Διαδικασία .....	38
3.1 <i>Arthrospira (Spirulina) Platensis</i> .....	38
3.2 Παραγωγή θρεπτικού μέσου.....	40
3.3 Καλλιέργεια σε φωτοβιοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας με διοχέτευση αέρα (vertical surface airlift photoreactor, VSAPs) – Τμήμα Περιβάλλοντος Παν.Αιγαίου.....	41
3.4 Καλλιέργεια σε κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης (Modular Photochemical Development System, MPDS) – Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο .....	44
3.4.1 Παρακολούθηση ανάπτυξης μικροφυκών <i>Arthrospira Platensis</i> χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> .....	45
3.4.2 Παρακολούθηση ανάπτυξης μικροφυκών <i>Arthrospira Platensis</i> με παροχή CO <sub>2</sub> .....	48
4 Αποτελέσματα .....	51
4.1 Αποτελέσματα πειραμάτων σε φωτοβιοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας με διοχέτευση αέρα (vertical surface airlift photoreactor, VSAPs) – Τμήμα Περιβάλλοντος Παν.Αιγαίου.....	51
4.2 Αποτελέσματα πειραμάτων σε κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης (Modular Photochemical Development System, MPDS) – Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο .....	56
4.2.1 Καλλιέργεια μικροφυκών <i>Arthrospira Platensis</i> χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> .....	56

4.2.2 Καλλιέργεια μικροφυκών <i>Arthrospira Platensis</i> με παροχή CO <sub>2</sub> .....	61
5 Συμπεράσματα και μελλοντικές προτάσεις .....	66
5.1 Μελλοντικές Προτάσεις .....	67
Βιβλιογραφία.....	69
Πηγές Εικόνων & Διαγραμμάτων: .....	76

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1: Παραγωγή μορίων ATP και NADPH στη θυλακοειδή μεμβράνη, κατά το πρώτο στάδιο αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης.....	18
Εικόνα 2: Ο κύκλος Calvin – 1ο στάδιο) Ενσωμάτωση του CO <sub>2</sub> στο οργανικό μόριο 3-PGA από το ένζυμο RuBisCO, 2ο στάδιο) διάσπαση του οργανικού μορίου με τη χρήση e <sup>-</sup> από το NADPH 3ο στάδιο) αναγέννηση του μορίου RuBP, το οποίο εκκινεί τον κύκλο Calvin .....	19
Εικόνα 3: Παράδειγμα ανοικτού συστήματος καλλιέργειας μικροφυκών - Φωτοαντιδραστήρας ανοικτής διαδρομής (open raceway photobioreactor) .....	35
Εικόνα 4: Σχηματικά διαγράμματα των βασικών τύπων φωτοβιοαντιδραστήρων - (a) σωληνοειδής, (b) στήλη airlift, c) κατακόρυφη στήλη φυσαλίδων, (d) επίπεδης επιφάνειας, (e) φωτοαντιδραστήρας με μηχανικό σύστημα ανάδευσης .....	36
Εικόνα 6: Ελικοειδής ίνα spirulina platensis μέσα από το μικροσκόπιο.....	40
Εικόνα 7: Το στέλεχος spirulina platensis, εικόνες από τη βιβλιογραφία .....	40
Εικόνα 8: 1ο Πείραμα - (Αριστερά) Η καλλιέργεια στον φωτοαντιδραστήρα την μέρα της εκκίνησης λειτουργίας τους (Δεξιά) Η καλλιέργεια κατά την 5η μέρα λειτουργίας του φωτοαντιδραστήρα .....	43
Εικόνα 9: Πείραμα 2ο με διοχέτευση CO <sub>2</sub> - (Αριστερά) Η καλλιέργεια στον φωτοαντιδραστήρα την μέρα της εκκίνησης λειτουργίας τους (Δεξιά) Η καλλιέργεια κατά την 5η μέρα λειτουργίας του φωτοαντιδραστήρα .....	43
Εικόνα 10: Κυλινδρικός φωτοαντιδραστήρας από την Peschl Ultraviolet GmbH (Mainz –Germany) .....	44
Εικόνα 11: Διατήρηση διαλυμάτων μικροφυκών σε κωνικές φιάλες (κλειστές) εντός επωαστήρα υπό σταθερές συνθήκες.....	45
Εικόνα 12: Αρχή λειτουργίας φασματοφωμέτρου - Η πορεία της δέσμης φωτός από την πηγή ακτινοβολίας, διαμέσου της κυψελίδας του δείγματος και τελικά στον ανιχνευτή.....	46
Εικόνα 13: Πείραμα 1ο - (Αριστερά) Εκκίνηση φωτοαντιδραστήρα, μέρα 0, (Δεξιά) Παύση λειτουργίας, μέρα 7 .....	47
Εικόνα 14: Βασικά μέρη ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας .....	50

## Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Συνολικές εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου από ανθρωπογενείς δραστηριότητες, 1990 – 2022, Emissions Gap Report 2023 – United Nations .....	9
Διάγραμμα 2: Εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου ανά τομέα της οικονομίας και του ΑΕΠ, από το 2ο τρίμηνο του 2020 έως και 2ο τρίμηνο 2023, Ευρωπαϊκή Ένωση .....	10
Διάγραμμα 3: Ενδεικτικό διάγραμμα ροής της διεργασίας δέσμευσης CO <sub>2</sub> i) πριν την καύση, ii) μετά την καύση & iii) με τη χρήση οξυγόνου .....	12
Διάγραμμα 4: Πυκνότητα πληθυσμού μικροοργανισμών (πχ μικροφυκών ) σε συνάρτηση με το χρόνο (ανά ημέρα). Διακρίνονται οι πέντε φάσεις ανάπτυξης, από την εκκίνηση της καλλιέργειας έως τον κυτταρικό θάνατο .....	25
Διάγραμμα 5: Καμπύλη φωτοσυνθετικής απόκρισης στην φωτεινή ακτινοβολία – α, η κλίση της καμπύλης, P <sub>max</sub> ο μέγιστος φωτοσυνθετικός ρυθμός, I <sub>c</sub> ένταση ακτινοβολίας όπου επικρατεί ισορροπία μεταξύ φωτοσύνθεσης και αναπνοής, I <sub>s</sub> ακτινοβολία κορεσμού, I <sub>p</sub> ακτινοβολία φωτοαναστολής .....	30
Διάγραμμα 6: Απεικόνιση μετρήσεων φασματοφωτομέτρου - Απορρόφηση δείγματος καλλιέργειας στα 750nm i) για το πείραμα καλλιέργειας χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> και ii) με παροχή CO <sub>2</sub> .....	52
Διάγραμμα 7: Απεικόνιση μετρήσεων φωτοαντιδραστήρα οπτικής πυκνότητας - i) για το πείραμα καλλιέργειας χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> και ii) με παροχή CO <sub>2</sub> .....	53

Διάγραμμα 8: Καταγραφή της περιεκτικότητας της εξόδου σε O <sub>2</sub> για i) exp1 - καλλιέργεια χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> , ii) exp2 - καλλιέργεια με παροχή CO <sub>2</sub> .....	54
Διάγραμμα 9: Καταγραφή της περιεκτικότητας της εξόδου σε CO <sub>2</sub> για i) exp1 - καλλιέργεια χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> , ii) exp2 - καλλιέργεια με παροχή CO <sub>2</sub> .....	54
Διάγραμμα 10: Καλλιέργεια με παροχή CO <sub>2</sub> - καταγραφή περιεκτικότητας εξόδου σε CO <sub>2</sub> και διακυμάνσεων του pH σε συνάρτηση με τον χρόνο .....	55
Διάγραμμα 11: Σάρωση μήκους κύματος - Πείραμα 1ο (χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> , λαμπτήρας ηλιακού τόξου με ξέρον (140Watt), μηχανική ανάδευση) .....	57
Διάγραμμα 12: Σάρωση μήκους κύματος - Πείραμα 2ο (χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> , ταινία LED (10 Watt), μηχανική ανάδευση).....	57
Διάγραμμα 13: Σάρωση μήκους κύματος - Πείραμα 3ο (χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> , ταινία LED (10 Watt), μηχανική ανάδευση & ανάδευση με άερα) .....	57
Διάγραμμα 14: Εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας με τον χρόνο (απορρόφηση στα 625nm) για καθ' ένα από τα τρία πειράματα που παρουσιάζονται .....	58
Διάγραμμα 15: Πείραμα 2ο - Εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας και του pH της καλλιέργειας για περίοδο 10 ημερών.....	59
Διάγραμμα 16: 1ο Πείραμα με διοχέτευση CO <sub>2</sub> (SBR) - Εξέλιξη οπτικής πυκνότητας (απορρόφηση στα 625nm).....	61
Διάγραμμα 17: Σάρωση μήκους κύματος για τις 4 μέρες λειτουργίας του φωτοαντιδραστήρα κατά το 1ο πείραμα με παροχή CO <sub>2</sub> .....	62
Διάγραμμα 18: Η περιεκτικότητα του αέρα σε CO <sub>2</sub> στον κενό χώρο του αντιδραστήρα ανά ημέρα (για το 1ο Πείραμα με χορήγηση CO <sub>2</sub> ) .....	63
Διάγραμμα 19: Φάσμα Απορρόφησης i) για την εκκίνηση (day 0) του αντιδραστήρα και ii) για την τελευταία μέρα λειτουργίας (day 4).....	64
Διάγραμμα 20: Η περιεκτικότητα του αέρα σε CO <sub>2</sub> στον κενό χώρο του αντιδραστήρα ανά ημέρα (για το 2ο Πείραμα με χορήγηση CO <sub>2</sub> ) .....	65

## Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Κινητικές σχέσεις για τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης μικροφυκών.....	28
Πίνακας 2: Σύσταση μέσου Zarrouk που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια του στελέχους <i>Arthrospira Platensis</i> .....	41
Πίνακας 3: : Σύσταση διαλύματος ιχνοστοιχείων (1mL ανά λίτρο μέσου).....	41
Πίνακας 4: Συγκεντρωτικός πίνακας συνθηκών υπό τις οποίες διεξήχθησαν τα πειράματα στον αντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας.....	42
Πίνακας 5: Συγκεντρωτικός πίνακας συνθηκών υπό τις οποίες διεξήχθησαν τα πειράματα χωρίς διοχέτευση CO <sub>2</sub> στον κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης .....	48
Πίνακας 6: Συγκεντρωτικός πίνακας συνθηκών υπό τις οποίες διεξήχθησαν τα πειράματα με χορήγηση CO <sub>2</sub> στον κυλινδρικό φωτοαντιδραστήρα .....	49
Πίνακας 5: Μετρήσεις Φωτομέτρου - Απορρόφηση δείγματος καλλιέργειας στα 750nm i) για το πείραμα καλλιέργειας χωρίς παροχή CO <sub>2</sub> και ii) με παροχή CO <sub>2</sub> .....	51

## Περίληψη

Η καλλιέργεια μικροφυκών σε συστήματα φωτοαντιδραστήρων αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο για τη δέσμευση διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) και την παραγωγή βιοκαυσίμων. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση και ποσοτικοποίηση της ικανότητας του κυανοβακτηρίου *Arthrospira Platensis* να βιοδεσμεύει CO<sub>2</sub> μέσω της φυσικής διεργασίας της φωτοσύνθεσης. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε δύο διαφορετικά συστήματα φωτοβιοαντιδραστήρων: σε έναν φωτοβιοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας με διοχέτευση αέρα και σε έναν κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης. Σε κάθε μία από τις δύο περιπτώσεις αρχικά παρακολουθήθηκε η καλλιέργεια βιομάζας σε συγκεκριμένες συνθήκες για να συλλεχθούν στοιχεία σχετικά με τον τρόπο ανάπτυξης της. Σε επόμενη φάση, η καλλιέργεια στον φωτοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας τροφοδοτήθηκε με CO<sub>2</sub> σε συνεχή ροή (1 ml/min) και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με την περίπτωση όπου δεν υπήρχε τροφοδοσία CO<sub>2</sub>. Η σύγκριση έδειξε ότι η *Arthrospira Platensis* ήταν σε θέση να αναπτυχθεί με επιτυχία υπό τη συγκεκριμένη ροή CO<sub>2</sub>, αυξάνοντας την οπτική της πυκνότητα κατά 68% σε διάστημα 96 ωρών. Σχετικά με την καλλιέργεια στον κυλινδρικό αντιδραστήρα, η χορήγηση CO<sub>2</sub> έγινε μέσω ένεσης στον κενό χώρο του αντιδραστήρα, διαμορφώνοντας αέρα με υψηλή περιεκτικότητα σε CO<sub>2</sub>. Σε διάρκεια 96 ωρών έγιναν δύο χορηγήσεις CO<sub>2</sub> (63.7% v/v CO<sub>2</sub> τη στιγμή της εκκίνησης και 81% v/v CO<sub>2</sub> μετά από 48ώρες), με αποτέλεσμα κατά την ολοκλήρωση του πειράματος, η οπτική πυκνότητα να εμφανίζει αύξηση 47%, η παραγωγικότητα της βιομάζας να ισούται με  $P = 0.0298 \text{ g/L/day}$  και ο πληθυσμός των μικροφυκών να έχει αυξηθεί κατά 6.68%. Ακόμα, σε όλα τα πειράματα μελετήθηκαν τα φάσματα απορρόφησης και η διακύμανση των συνθηκών.

Λέξεις κλειδιά: μικροφύκη, φωτοσύνθεση, διοξείδιο του άνθρακα, CO<sub>2</sub>, βιοσυσσώρευση, καλλιέργεια, φωτοαντιδραστήρας, οπτική πυκνότητα, βιομάζα

## Abstract

Microalgae cultivation in photobioreactors is a promising method for carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) capture and sustainable biofuel production. The aim of this study is to investigate the ability of the cyanobacterium *Arthrospira Platensis* to biofixate CO<sub>2</sub> via the process of photosynthesis. For this purpose, different experiments were conducted in two different bioreactors: a vertical surface airlift photoreactor and a cylindrical photochemical development system. In both cases, the microalgal biomass was first monitored under specific conditions to collect data on its growth pattern. After that, the culture in the vertical surface photoreactor was supplied with CO<sub>2</sub> at a continuous flow rate (1 ml/min) and the results were compared with the case where there was no CO<sub>2</sub> feed. The comparison showed that *Arthrospira Platensis* was able to grow successfully under this CO<sub>2</sub> flow, increasing its optical density by 68% over the period of 96 hours. Regarding the culture in the cylindrical reactor, CO<sub>2</sub> was injected into the headspace of the reactor, forming an air mixture with high CO<sub>2</sub> concentration. During the cultivation (a total of 96 hours), two CO<sub>2</sub> injections were made (63.7% v/v CO<sub>2</sub> in the beginning of the cultivation and 81% v/v CO<sub>2</sub> after 48h). At the end of the experiment, the optical density showed an increase of 47%, the biomass productivity was equal to  $P = 0.0298$  g/L/day and the microalgal population had increased by 6.68%. Furthermore, absorption spectra and variation of conditions were studied in all experiments.

Keywords: microalgae, photosynthesis, carbon dioxide, CO<sub>2</sub>, biofixaton,, photoreactor, cultivation, optical density, biomass

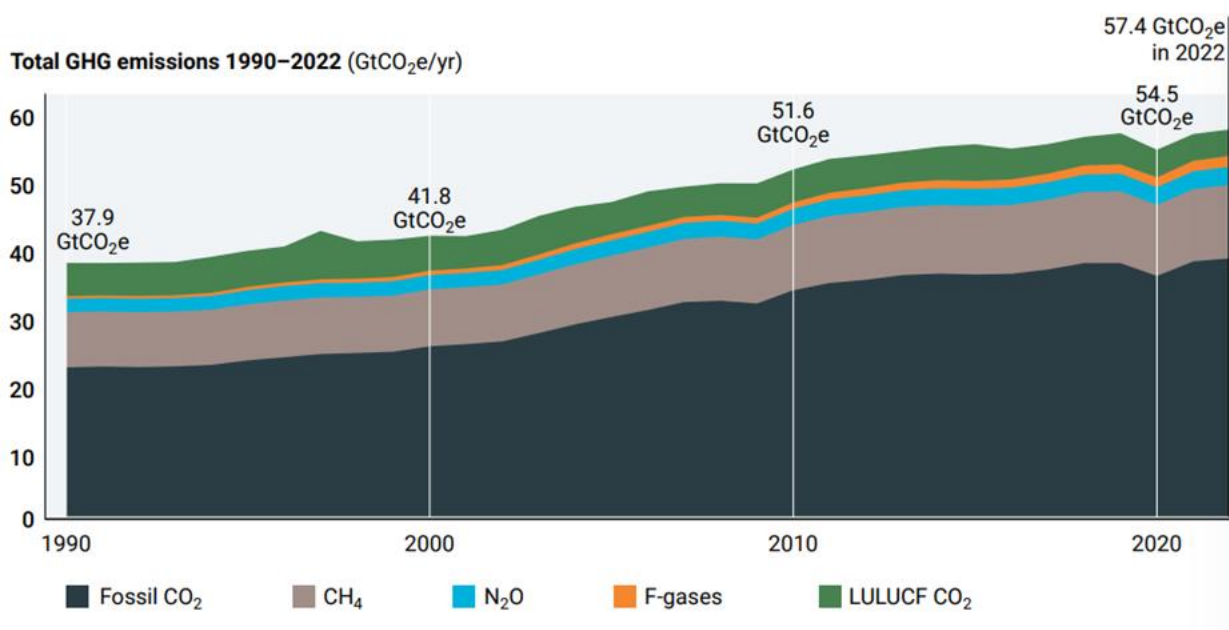


# 1 Εισαγωγή

## 1.1 Αέρια του θερμοκηπίου και κλιματική αλλαγή: Η περίπτωση του CO<sub>2</sub>

Η κλιματική αλλαγή αποτελεί ένα πολυδιάστατο και επίκαιρο ζήτημα, το οποίο συνοπτικά χαρακτηρίζεται από αλλαγές στα παγκόσμια κλιματικά πρότυπα, εξαιτίας της συσσώρευσης των επονομαζόμενων *αερίων του θερμοκηπίου* (GHG, greenhouse gases) στην ατμόσφαιρα. Το φαινόμενο του θερμοκηπίου, μία φυσική διαδικασία για τη διατήρηση της θερμοκρασίας της Γης σε βιώσιμα επίπεδα, περιλαμβάνει την παγίδευση της ηλιακής ακτινοβολίας από κάποια αέρια που περιέχονται στην ατμόσφαιρα, όπως οι υδρατμοί, το διοξείδιο του άνθρακα, το μεθάνιο, οξείδια του αζώτου και οι χλωροφθοράνθρακες. Οι ενώσεις αυτές απορροφούν μέρος της ανακλώμενης ακτινοβολίας από τη Γη, θερμαίνοντας έτσι την επιφάνεια και την κατώτερη ατμόσφαιρα. Αν δεν υπήρχε αυτό το προστατευτικό “στρώμα” των αερίων της ατμόσφαιρας, η ανακλώμενη από τη Γη ακτινοβολία θα διέφευγε στο διάστημα και η μέση επιφανειακή θερμοκρασία της Γης θα ήταν αρκετές δεκάδες βαθμοί χαμηλότερη (1)(83).

Παρόλο που πρόκειται για ένα φυσικό φαινόμενο, απαραίτητο για τη διατήρηση της θερμοκρασίας του πλανήτη, τις τελευταίες δεκαετίες ο όρος συνδέεται πλέον με το φαινόμενο της υπερθέρμανσης. Βάσει των στοιχείων που προκύπτουν από την ανάλυση των κλιματικών μοντέλων και τις δορυφορικές παρατηρήσεις, ανθρώπινες δραστηριότητες, όπως η καύση ορυκτών καυσίμων και η αποψίλωση των δασών, έχουν αυξήσει σημαντικά τις συγκεντρώσεις των αερίων του θερμοκηπίου εντείνοντας το φαινόμενο και οδηγώντας σε ανισορροπία του ενεργειακού ισοζυγίου της Γης, προκαλώντας τελικά υπερθέρμανση του πλανήτη. Στις συνέπειες περιλαμβάνονται μεταβολές στα πρότυπα των βροχοπτώσεων, συχνότερα και πιο σφοδρά ακραία καιρικά φαινόμενα και διαταραχές στα οικοσυστήματα (83)(84).



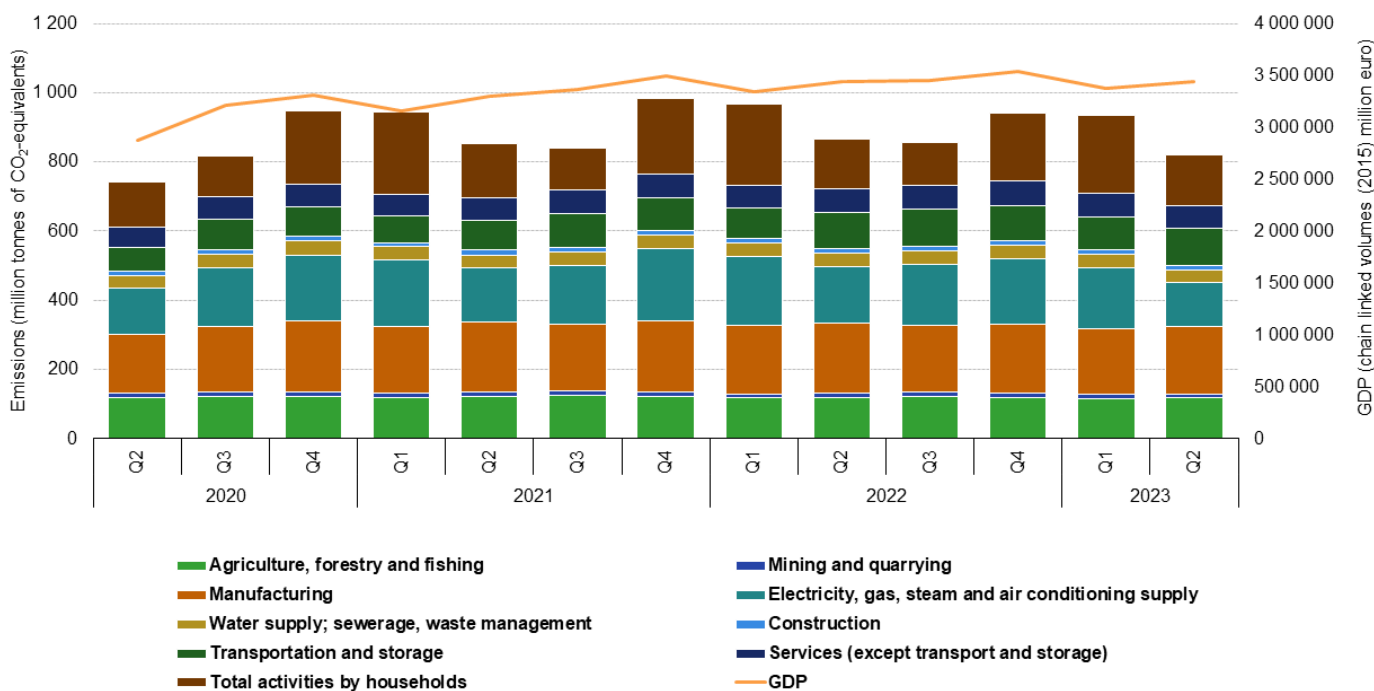
Διάγραμμα 1: Συνολικές εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου από ανθρωπογενείς δραστηριότητες, 1990 – 2022, Emissions Gap Report 2023 – United Nations

Η Διακυβερνητική Επιτροπή για την Κλιματική Αλλαγή (Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC) έχει ορίσει μία μονάδα ποσοτικοποίησης των επιπτώσεων των διαφορετικών αερίων του θερμοκηπίου για μία συγκεκριμένη χρονική περίοδο, χρησιμοποιώντας το CO<sub>2</sub> ως βάση, τον δείκτη μέτρησης της υπερθέρμανσης του πλανήτη (Global Warming Potential, GPW). Έτσι το CO<sub>2</sub> αντιστοιχεί σε 1 GPW για μία περίοδο εκατό ετών. Για σύγκριση, αναφέρεται ότι το μεθάνιο CH<sub>4</sub> στο ίδιο χρονικό διάστημα έχει 20GPW, ενώ οι χλωροφθοράνθρακες, κυμαίνονται από 12GPW (η ένωση CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>F) έως και 14.800GPW (για το CHF<sub>3</sub>). Από το GPW υπολογίζεται και το CO<sub>2</sub> equivalent (CO<sub>2</sub> -eq), το οποίο αντιστοιχεί τη μάζα ενός αερίου με ικανότητα θέρμανσης του πλανήτη, σε μάζα CO<sub>2</sub> (63).

Από τον 18<sup>ο</sup> αιώνα και την αρχή της εκβιομηχάνισης μέχρι σήμερα, η ανθρώπινη δραστηριότητα έχει αυξήσει την περιεκτικότητα της ατμόσφαιρας σε διοξείδιο του άνθρακα CO<sub>2</sub> κατά 50%. Το 2022, οι συνολικές εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου από βιομηχανικές διεργασίες, έφθασαν τους 41.3 Gton CO<sub>2</sub> – eq, τον υψηλότερο αριθμό που έχει καταγραφεί ποτέ, ενώ οι παγκόσμιες εκπομπές CO<sub>2</sub> από την παραγωγή και κατανάλωση ενέργειας αντιστοιχούν σε 36.8 Gton ή αλλιώς το 89% όλων των εκπομπών GHG. Η συμβολή των αιολικών πάρκων και των ηλιακών φωτοβολταϊκών στην παραγωγή ενέργειας, συνέβαλε στην μείωση εκπομπών του τομέα ηλεκτρικής ενέργειας κατά περίπου 465 Gton. Παράλληλα, αποτράπηκε η απελευθέρωση επιπλέον 85Mt CO<sub>2</sub> στην ατμόσφαιρα χάρη στη χρήση άλλων τεχνολογιών καθαρής ενέργειας όπως τα ηλεκτρικά αυτοκίνητα, οι αντλίες θερμότητας και άλλων ανανεώσιμων πηγών (1).

### Greenhouse gas emissions by economic sector and GDP

(million tonnes of CO<sub>2</sub>-equivalents, chain linked volumes (2015) million euro, EU, Q2 2020-Q2 2023)



Διάγραμμα 2: Εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου ανά τομέα της οικονομίας και του ΑΕΠ, από το 2ο τρίμηνο του 2020 έως και 2ο τρίμηνο 2023, Ευρωπαϊκή Ένωση

## 1.2 Τεχνολογίες δέσμευσης και αποθήκευσης άνθρακα (Carbon Capture & Storage Technologies)

Ο Διεθνής Οργανισμός Ενέργειας (International Energy Agency, IEA) στοχεύει στη κατά το ήμισυ μείωση των παγκόσμιων εκπομπών CO<sub>2</sub> μέχρι το 2050. Σε αυτή την προσπάθεια, κίριο ρόλο θα έχει η εξέλιξη των τεχνολογιών δέσμευσης και αποθήκευσης άνθρακα (CCUS) (1)(2). Οι τεχνολογίες αυτές περιλαμβάνουν τη δέσμευση CO<sub>2</sub> στη μονάδα παραγωγής, τη μεταφορά σε μια θέση έγχυσης και τη μακροχρόνια αποθήκευση σε κατάλληλο γεωλογικό σχηματισμό. Για να επιτευχθεί αυτό, το αέριο CO<sub>2</sub> αρχικά μετατρέπεται σε υπερκρίσιμο ρευστό μέσω συμπίεσης και στη συνέχεια διαχωρίζεται/ απομονώνεται από το εξερχόμενο ρεύμα καυσαερίων. Οι μέθοδοι CCUS ενίοτε περιλαμβάνουν και βιολογικές διεργασίες, όπως εν δυνάμει τη χρήση μικροφυκών για τη δέσμευση του CO<sub>2</sub>, παρόλα αυτά η πρακτική εφαρμογή τους στη βιομηχανία δεν είναι διαδεδομένη (3).

### **Δέσμευση πριν την καύση (pre - combustion capture)**

Στα συστήματα δέσμευσης πριν την καύση, το καύσιμο είτε είναι γαιάνθρακας είτε φυσικό αέριο, κατεργάζεται με O<sub>2</sub> ή/και ατμό με σκοπό την απαnthρακοποίησή του πριν από έναρξη της διαδικασίας, σχηματίζοντας ένα μείγμα υδρογόνου – διοξειδίου του άνθρακα. Το μείγμα διαχωρίζεται στη συνέχεια στα συστατικά του, με το καθαρό H<sub>2</sub> να αξιοποιείται για την παραγωγή ενέργειας. Στόχος των τεχνολογιών δέσμευσης πριν την καύση, είναι η δημιουργία ενός καυσίμου χωρίς ανθρακικό περιεχόμενο και το επιτυγχάνουν με τη μετατροπή της χημικής ενέργειας του άνθρακα σε χημική ενέργεια υδρογόνου. Το CO<sub>2</sub>, το οποίο έχει συγκέντρωση από περίπου 30% μέχρι 60% κατ' όγκο και βρίσκεται σε υψηλή μερική πίεση, διαχωρίζεται από το υδρογόνο κατά κύριο λόγο με την διαδικασία της φυσικής απορρόφησης. Η δέσμευση επίσης, μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας τεχνικές προσρόφησης, μεμβρανών ή ακόμα και βιομάζας (5)

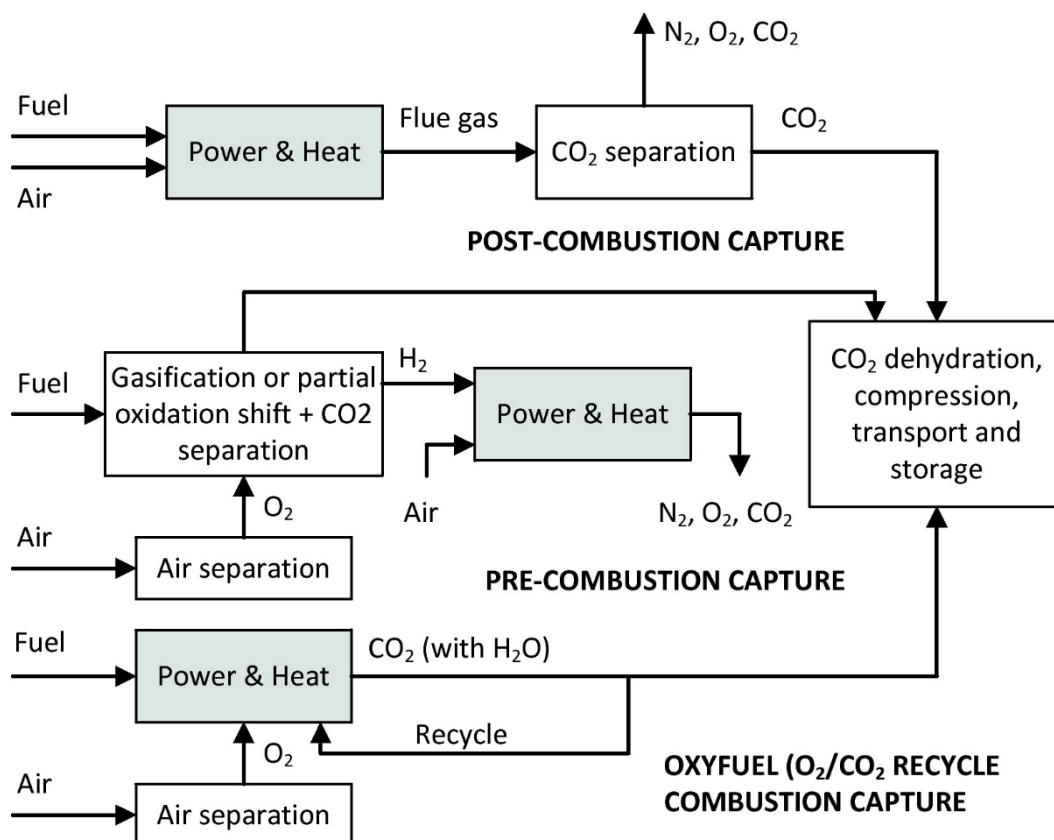
### **Δέσμευση μετά την καύση (post combustion capture)**

Κατά τη δέσμευση του CO<sub>2</sub> μετά την καύση, το CO<sub>2</sub> διαχωρίζεται από τα άλλα συστατικά καυσαερίων αφού πραγματοποιηθεί η διαδικασία καύσης και πριν την εκπομπή τους στην ατμόσφαιρα. Τα καυσαέρια βρίσκονται σε θερμοκρασίες 120 – 180°C και δεδομένου ότι έχουν χαμηλή συγκέντρωση CO<sub>2</sub> (<15%), η πιο εφαρμόσιμη τεχνική διαχωρισμού είναι η χημική απορρόφηση. Οι μονάδες άνθρακα που λειτουργούν με αυτή την τεχνολογία μπορούν να δεσμεύσουν έως και 800 t/ημέρα (3)(5). Εκτός από τη χρήση διαλυτών, η δέσμευση μετά την καύση μπορεί να γίνει μέσω μεμβρανών. Η τεχνολογία δέσμευσης CO<sub>2</sub> μετά την καύση είναι λιγότερο αποτελεσματική από την δέσμευση πριν από την καύση, ωστόσο είναι οικονομικότερη, έχει ευελιξία και είναι η πιο εφικτή για την μετασκευή των υφιστάμενων μονάδων ηλεκτροπαραγωγής με καύση άνθρακα και αερίου (3)(6).

### **Δέσμευση κατά την καύση με τη χρήση καθαρού O<sub>2</sub>**

Η τελευταία στρατηγική είναι η δέσμευση CO<sub>2</sub> με χρήση καθαρού οξυγόνου κατά την καύση. Η τεχνολογία αυτή, όντας όμοια με την παραπάνω, έχει αναγνωριστεί ως μια από τις πιο ανταγωνιστικές επιλογές για τον εκ

των υστέρων εξοπλισμό των υφιστάμενων σταθμών ηλεκτροπαραγωγής με καύση άνθρακα (7). Κατά την συγκεκριμένη τεχνολογία, ο πλούσιος σε άζωτο (79%) ατμοσφαιρικός αέρας, αρχικά, διαχωρίζεται με σκοπό την παραγωγή σχεδόν καθαρού οξυγόνου (πάνω από 95%) που θα έχει ως αποτέλεσμα τα καυσαέρια να έχουν υψηλή συγκέντρωση CO<sub>2</sub>. Η ύπαρξη του αζώτου σε αυτή την ποσότητα μειώνει τη συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> στα καυσαέρια, ενώ παρόλο που δεν παίρνει μέρος στην καύση, σε υψηλές θερμοκρασίες μετατρέπεται σε NOx. Με την απομάκρυνση του N<sub>2</sub> και την χρήση καθαρού O<sub>2</sub> στην αντίδραση καύσης, το καυσαέριο αποτελείται κυρίως από CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>O, ενώ σε πολύ μικρότερες ποσότητες εντοπίζονται οξείδια του θείου και του αζώτου καθώς και ίχνη ευγενών αερίων. Το H<sub>2</sub>O μπορεί να απομακρυνθεί με μια διαδικασία συμπύκνωσης των καυσαερίων και το SO<sub>2</sub> με μια διαδικασία αποθειώσης (5)(6). Η συγκέντρωση του CO<sub>2</sub> με αυτή την τεχνική και ανάλογα το καύσιμο που χρησιμοποιείται είναι τουλάχιστον 90% και μπορεί να φτάνει μέχρι και 98%. Η καύση οξυγόνου εφαρμόζεται συνήθως στη βιομηχανία γυαλιού και τη μεταλλουργική βιομηχανία. Το βασικό μειονέκτημα της παρούσας μεθόδου είναι ότι απαιτεί καθαρό οξυγόνο. Για τον διαχωρισμό του ατμοσφαιρικού αέρα χρησιμοποιείται μια κρυογονική μονάδα διαχωρισμού αέρα η οποία καταναλώνει περίπου το 85% της συνολικής ενέργειας (7).



Διάγραμμα 3: Ενδεικτικό διάγραμμα ροής της διεργασίας δέσμευσης CO<sub>2</sub> i) πριν την καύση, ii) μετά την καύση & iii) με τη χρήση οξυγόνου

Η τεχνολογία δέσμευσης CO<sub>2</sub> εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο της εγκατάστασης παραγωγής CO<sub>2</sub>. Επί του παρόντος, ανάμεσα στις μεθόδους που εφαρμόζονται για την διαχείριση των εκπομπών CO<sub>2</sub>, οι πιο

διαδομένες είναι η χημική απορρόφηση, η προσρόφηση, ο διαχωρισμός αερίων με μεμβράνες και η κρυογονική υγροποίηση. Οι τεχνολογίες αυτές όμως συνοδεύονται από ποικίλες αρνητικές περιβαλλοντικές συνέπειες. Η απορρόφηση είναι η πιο συχνά ακολουθούμενη διαδικασία στην επεξεργασία βιομηχανικών αερίων ρευμάτων και συγκεκριμένα στον διαχωρισμό CO<sub>2</sub> (ή άλλων όξινων αερίων όπως τα H<sub>2</sub>S και NO<sub>x</sub>) (3), λόγω της αποτελεσματικότητάς της και του χαμηλότερου κόστους (2)(4). Κατά τη μέθοδο της απορρόφησης, το ρεύμα του αερίου CO<sub>2</sub> έρχεται σε επαφή με κάποιον υγρό διαλύτη, η επιλογή του οποίου καθορίζει τη φύση της απορρόφησης, σε φυσική ή χημική. Η φυσική απορρόφηση βασίζεται στο νόμο του Henry και συντελείται εξαιτίας ηλεκτροστατικών δυνάμεων ή δυνάμεων έλξης Van der Waals. Ανάμεσα στις δύο όμως, η πιο ευρέως εφαρμόσιμη μέθοδος απομόνωσης του CO<sub>2</sub>, είναι η χημική απορρόφηση. Η χημική απορρόφηση έχει το πλεονέκτημα να απομακρύνει το CO<sub>2</sub> ακόμα και όταν αυτό βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (5), ενώ παράλληλα χαρακτηρίζεται από υψηλό λόγο δέσμευσης (Capture Ratio, CR), δηλαδή μεγαλύτερο ποσοστό των εκπομπών CO<sub>2</sub> δεσμεύεται αποτελεσματικά και απομακρύνεται από το αέριο ρεύμα των καυσαερίων. Παρόλα αυτά εμφανίζει υψηλό θερμικό λόγο (Heat Ratio, HR). Ο λόγος HR χαρακτηρίζει την ποσότητα ενέργειας που απαιτείται για την αναγέννηση του διαλύτη ανά μονάδα CO<sub>2</sub> που δεσμεύεται, επομένως ένας χαμηλότερος θερμικός λόγος υποδηλώνει μία πιο ενεργειακά αποδοτική διαδικασία δέσμευσης (3).

Οι πιο κοινοί και αποδοτικοί υγροί διαλύτες στην χημική απορρόφηση διοξειδίου του άνθρακα είναι οι αμίνες, όπως η μονοαιθανολαμίνη (MEA), η διαιθανολαμίνη (DEA) και η μεθυλοδιαιθανολαμίνη (MDEA). Μάλιστα η μονοαιθανολαμίνη εμφανίζει απόδοση απορρόφησης άνω του 90% (5). Εναλλακτικά, αντί των αμινών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η αμμωνία (NH<sub>3</sub>) ως διαλύτης. Πρόκειται για μία ανανεώσιμη διεργασία (Chilled Ammonia Process, CAP), μέσω της οποίας επιτυγχάνεται απορρόφηση του CO<sub>2</sub> σε χαμηλές θερμοκρασίες (0-20°C), επομένως πρόκειται για μία διαδικασία με χαμηλότερες ενεργειακές απαιτήσεις (3).

Γενικά, η απορρόφηση σαν μέθοδος δέσμευσης CO<sub>2</sub>, παρόλο που είναι αποδοτική, συνοδεύεται και από ποικίλες επιπτώσεις. Αρχικά οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται έχουν περιορισμένη δυνατότητα ανακύκλωσης (limited cyclic CO<sub>2</sub> loading capacity), ενώ για την αναγέννησή τους απαιτείται υψηλή κατανάλωση ενέργειας. Παράλληλα, συμβάλλουν στην διάβρωση του εξοπλισμού. (3)

Η προσρόφηση διοξειδίου του άνθρακα, ως μέθοδος διαχωρισμού και δέσμευσης, αναπτύχθηκε με σκοπό τη μείωση του κόστους της διεργασίας διαχωρισμού και τη δυνατότητα δέσμευσης μεγαλύτερων όγκων (7). Σε σχέση με την απορρόφηση, διαφοροποιείται ως προς τη φύση των υλικών που χρησιμοποιούνται για τη δέσμευση, αφού τα προσροφητικά υλικά είναι στερεά. Κατά τη διαδικασία της προσρόφησης, η χημική συγγένεια ανάμεσα στη προσροφημένη ένωση και τη στερεή επιφάνεια του προσροφητικού οδηγεί στην ανάπτυξη διαμοριακών δυνάμεων, οι οποίες προκαλούν την προσρόφηση των μορίων στην επιφάνεια. Τα προσροφητικά μέσα έχουν υψηλό πορώδες ενώ η προσρόφηση λαμβάνει χώρα στην εσωτερική τους επιφάνεια. Έτσι, η ικανότητα τους δέσμευσης διοξειδίου του άνθρακα εξαρτάται σημαντικά από τη χημική τους σύσταση, το μέγεθος της ειδικής επιφάνειάς τους, αλλά επίσης ακόμα από την κατανομή μεγέθους των πόρων και το μέγεθος των σωματιδίων τους (8). Το προσροφημένο CO<sub>2</sub> μπορεί να ελευθερωθεί είτε μειώνοντας την πίεση

είτε αυξάνοντας τη θερμοκρασία και το προσροφητικό μπορεί να ανακυκλωθεί (9). Ένα ευρύ φάσμα πολλά υποσχόμενων υλικών έχουν διερευνηθεί σχετικά με την ικανότητά δέσμευσης CO<sub>2</sub>, όπως οι νανοσωλήνες (CNTs) και οι τελείες άνθρακα, οι ζεόλιθοι, τα μεταλλικά οργανικά πλέγματα (MOFs) καθώς και διάφορα πορώδη οργανικά πολυμερή (POPs) (7). Η μέθοδος της προσρόφησης αποτελεί μία από τις πιο αποδοτικές μεθόδους διαχωρισμού και πέρα από την δέσμευση του CO<sub>2</sub> εφαρμόζεται και στην απομάκρυνση άλλων ρύπων όπως βαρέα μέταλλα, φαινόλες, αλογονομένες ενώσεις κ.α. (8)

Κατά τον κρυογονικό διαχωρισμό, το αέριο υπόκειται σε συμπίεση, ψύξη και εκτόνωση για τη μετατροπή του σε υγρό και στη συνέχεια εισέρχεται σε αποστακτική στήλη όπου συντελείται η δέσμευση του CO<sub>2</sub> σε υψηλές πιέσεις. Η ποσότητα του CO<sub>2</sub> που ανακτάται ανέρχεται έως και το 90% της αρχικής ποσότητας στο μείγμα των καυσαερίων, η μέθοδος όμως του κρυογονικού διαχωρισμού είναι επικερδής μόνο στην περίπτωση που το CO<sub>2</sub> βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση και χαμηλή θερμοκρασία στο ρεύμα εξόδου, αφού διαφορετικά είναι ενεργειακά κοστοβόρα (5). Ο κρυογονικός διαχωρισμός δεν απαιτεί τη χρήση χημικών διαλυτών, ενώ ένα ακόμα σημαντικό όφελος είναι η απουσία δευτερογενών ρύπων. Επίσης, πλεονεκτεί σε σχέση με τις προαναφερθείσες τεχνικές ως προς τη καθαρότητα του παραλαμβανόμενου διοξειδίου (πάνω από 99,9% καθαρότητα) (10), ενώ παράλληλα υπό τις κατάλληλες προϋποθέσεις εμφανίζει χαμηλό κόστος και ενεργειακές απαιτήσεις (7).

Ανάμεσα στις τεχνολογίες διαχωρισμού του CO<sub>2</sub> από κάποιο ρεύμα καυσαερίων είναι και η τεχνολογία μεμβρανών. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως στους διαχωρισμούς αερίων, ενώ πλεονεκτεί έναντι των υπόλοιπων συμβατικών τεχνολογιών διαχωρισμού εξαιτίας του χαμηλού κόστους της, τη χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και το μικρό περιβαλλοντικό αποτύπωμα (13). Χρησιμοποιούνται λεπτά εκλεκτικά φίλμ τα οποία επιτρέπουν τη διέλευση μόνο του CO<sub>2</sub> και όχι των υπολοίπων συστατικών των καυσαερίων. Ο πιο κοινός μηχανισμός δέσμευσης διοξειδίου από μεμβράνες είναι η διάχυση (solution – diffusion mechanism). Το υλικό της μεμβράνης απορροφά το CO<sub>2</sub>, ενώ στη συνέχεια αυτό διαχέεται διαμέσου της. Ο ρυθμός της διάχυσης επηρεάζεται από τη βαθμίδα συγκέντρωσης και τη διαλυτότητα του CO<sub>2</sub> στο υλικό της μεμβράνης (11). Η εκλεκτικότητα της μεμβράνης εξαρτάται κυρίως από το υλικό, τη ροή των αερίων και τη διαφορά πίεσης που επικρατεί ανάμεσα στις δύο πλευρές (9). Οι πιο διαδομένοι τύποι μεμβρανών είναι οι πολυμερικές και οι ανόργανες (13). Οι ανόργανες μεμβράνες, κατασκευασμένες είτε από κεραμικά υλικά είτε από μεταλλικά, προσφέρουν υψηλή σταθερότητα ακόμα και σε υψηλές θερμοκρασίες, ενώ εμφανίζουν μεγάλη αντοχή σε πραγματικές βιομηχανικές συνθήκες λειτουργίας. Παρόλα αυτά, οι πορώδεις πολυμερικές μεμβράνες είναι οι πλέον διαδεδομένες για τη δέσμευση CO<sub>2</sub>, λόγω του χαμηλού κόστους παραγωγής τους, των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους και της υδροφοβικής τους φύσης (12). Ανάμεσα στα πιο δημοφιλή πολυμερή κατασκευής μεμβρανών βρίσκεται το πολυαιθυλένιο (PE), το πολυαιθεριμίδιο (PEI), η πολυσουλφόνη (PSF), το φθοριούχο πολυβινυλιδένιο (PVDF), το πολυτετραφθοροαιθυλένιο (τεφλόν) (PTFE) και το προπυλένιο (PP).

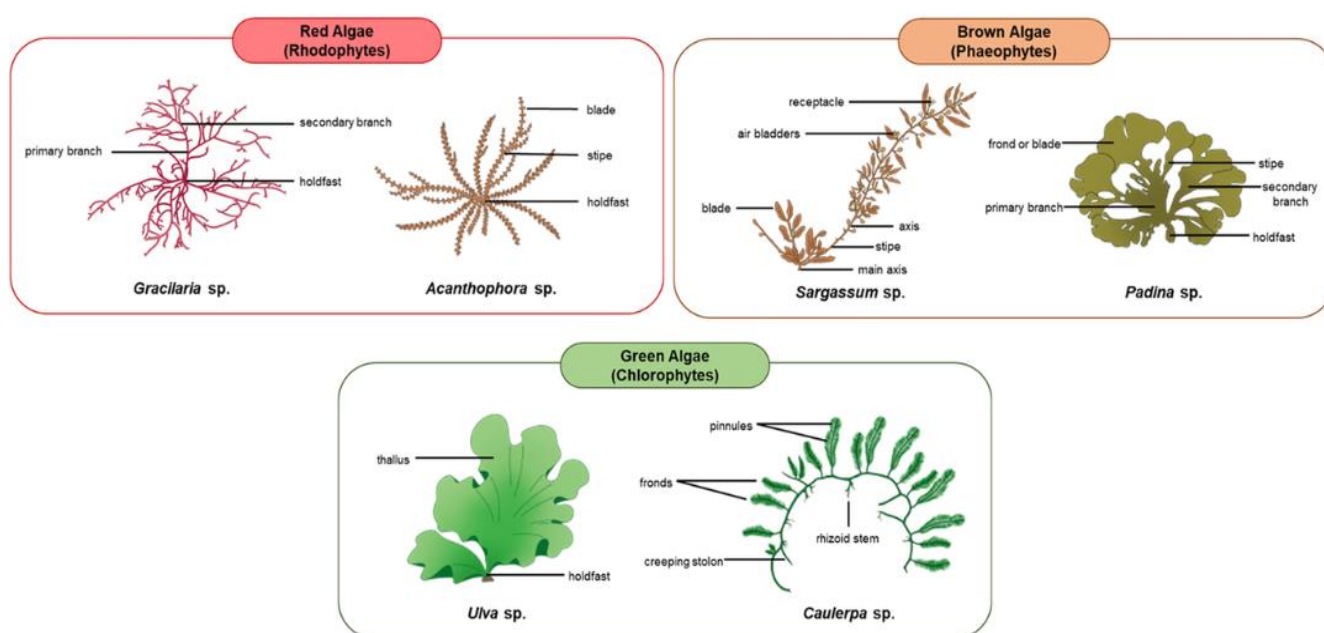
Τα φυτά, λόγω της διεργασίας της φωτοσύνθεσής που συντελούν, αποτελούν την πιο φυσική διεργασία δέσμευσης CO<sub>2</sub>. Τα φύκη (μάκρο- και μικροφύκη), μία υποκατηγορία των φυτών, είναι μία ποικιλόμορφη

ομάδα αυτότροφων, κυρίως υδρόβιων οργανισμών και είναι γνωστά για την ικανότητά τους να φωτοσυνθέτουν. Μέσω της φωτοσύνθεσης, μετατρέπουν το ηλιακό φως και το διοξείδιο του άνθρακα σε οργανικές ενώσεις που χρησιμοποιούν στην ανάπτυξή τους, ενώ παράλληλα παράγουν περίπου το 50% του ατμοσφαιρικού οξυγόνου. Σε σύγκριση με τα χερσαία φυτά, τα μικροφύκη και τα κυανοβακτήρια έχουν ταχύτερους ρυθμούς ανάπτυξης και 10 με 50 φορές υψηλότερη αποτελεσματικότητα στη δέσμευση CO<sub>2</sub> (24). Μάλιστα μπορούν να δεσμεύσουν CO<sub>2</sub> από τρεις διαφορετικές πηγές: 1) από διαλυτά ανθρακικά άλατα, 2) από την ατμόσφαιρα και 3) από το ρεύμα καυσαερίων που παράγουν οι βιομηχανίες (20). Επομένως οι οργανισμοί αυτοί μπορούν να αξιοποιηθούν για την διαχείριση των καυσαερίων διαφόρων πηγών, όπως σταθμών ηλεκτροπαραγωγής (15) και αποτελούν μία σημαντική τεχνολογία για τη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου και συγκεκριμένα του διοξειδίου του άνθρακα. Τα καυσαέρια, μετά τη διαδικασία καύσης, περιέχουν ως επί το πλείστο οξίνες και τοξικές ουσίες, δημιουργώντας έτσι ένα δύσκολο περιβάλλον για την επιβίωση ζωντανών οργανισμών (7). Διάφορες έρευνες όμως έδειξαν ότι διάφορα θερμοφιλά στελέχη αλγών όπως τα *Galderia spp.* και *Viridella spp.*, αλλά και τα *Chlorella fusca*, *Botryococcus braunii* και *Nannochloropsis salina* απομάκρυναν επιτυχώς, πέραν του CO<sub>2</sub>, μέρος του περιεχόμενου διοξειδίου του θείου και των οξειδίων του αζώτου (16). Προς το παρόν όμως, η πρακτική χρήση των μικροφυκών στον τομέα αυτό εξακολουθεί να απαιτεί σημαντικές καινοτόμες επιστημονικές και τεχνολογικές ανακαλύψεις για να γίνει εφαρμόσιμη σε μεγάλη κλίμακα.

## 2 Φύκη

### 2.1 Μίκρο – και Μάκροφυκη

Τα φύκη (ή άλγη) παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα δομικής και οργανωτικής πολυπλοκότητας, που κυμαίνεται από μονοκύτταρες δομές έως πολυκύτταρες ή και αποικιακές. Οι δύο κύριοι τύποι φυκών, βάσει της κυτταρικής δομής, είναι τα μικροφύκη και τα μάκροφυκη (17). Τα μακροφύκη, τα πιο κοινώς γνωστά ως φύκια, είναι ευκαρυωτικοί πολυκύτταροι υδρόβιοι οργανισμοί, που αναπτύσσονται κυρίως σε θαλάσσια περιβάλλοντα. Έχουν υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης, ενώ το μέγεθός τους κυμαίνεται από μερικά εκατοστά, έως και αρκετά μέτρα. Κατατάσσονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με την απόχρωσή τους: i) καφέ φύκη (*Phaeophyceae*), ii) κόκκινα φύκη (*Rhodophyceae*) και iii) πράσινα φύκη (*Chlorophyceae*). Τα φύκη χρησιμοποιούνται κυρίως στην παραγωγή τροφίμων και την εξαγωγή υδροκολλοειδών<sup>1</sup> (21). Καλλιεργούνται όμως εκτενώς και για την παραγωγή καυσίμων, εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε υδατάνθρακες (24). Περίπου 200 διαφορετικά είδη μάκροαλγών αξιοποιούνται παγκοσμίως, με τα αυτά που καλλιεργούνται εκτενέστερα να είναι τα καφέ φύκη *Laminaria japonica* και *Undaria pinnatifida*, τα κόκκινα φύκη *Porphyra*, *Eucheuma*, *Kappaphycus* και *Gracilaria*, και τα πράσινα φύκη *Monostroma* and *Enteromorpha* (25).



Εικόνα 1: Οι τρεις μεγάλες κατηγορίες των μακροαλγών και χαρακτηριστικά παραδείγματα στελεχών της κάθε κατηγορίας. Περιλαμβάνονται τα βασικά δομικά/ μορφολογικά χαρακτηριστικά τους

Τα μικροφύκη είναι μονοκύτταροι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται επίσης σε αλμυρό ή γλυκό νερό και μπορούν να επιβιώσουν ακόμα και σε αντίξοες συνθήκες. Μπορούν να είναι προκαρυωτικοί ή ευκαρυωτικοί, ενώ το μέγεθός τους μπορεί να κυμαίνεται από 0,2μm έως και κάποια χιλιοστά, ενώ έχουν ταξινομηθεί πάνω

<sup>1</sup> Τα υδροκολλοειδή είναι υδρόφιλα πολυμερή και προέρχονται κυρίως από χημικές τροποποιήσεις φυσικών πολυσακχαριτών. Χρησιμοποιούνται ως πυκνωτικοί και σταθεροποιητικοί παράγοντες στη βιομηχανία τροφίμων, όπως επίσης σε ποικίλες φαρμακευτικές εφαρμογές.



από 50.000 διαφορετικά στελέχη. Οι δύο μεγάλες ομάδες μικροφυκών είναι τα διάτομα και τα δινομαστιγώματα (Dinoflagellata). Τα δινομαστιγώματα ανήκουν στο γένος Pyrrhophyta και είναι θαλάσσια, μονοκύτταρα ευκαρυωτικά μικροφύκη με διμαστιγωτή δομή. Τα διάτομα ή βακιλλαριοφύκη (Bacillariophyceae) είναι επίσης μονοκύτταροι, ευκαρυωτικοί οργανισμοί, διαφορετικού όμως σχήματος, με χαρακτηριστικό εξωτερικό κυτταρικό τοίχωμα να καλύπτει το κύτταρο. Το τοίχωμα αυτό περιέχει πολυμερισμένο πυρίτιο και έχει την ικανότητα να συσσωρεύει έλαια και χρυσολαμιναρίνη, έναν πολυσακχαρίτη που παρέχει ενέργεια στα κύτταρα των φυκών όταν χρειάζεται. Χαρακτηριστικά παραδείγματα προκαρυωτικών μικροφυκών είναι τα κυανοβακτήρια (Cyanophyceae) και τα πράσινα φύκη (Chlorophyta) (21)(24).

Όπως και τα μακροφυκη, τα μικροφύκη χαρακτηρίζονται από υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης, ενώ συσσωρεύουν μεγάλες ποσότητες λιπιδίων, πρωτεϊνών και άλλων ενώσεων. Είναι επίσης γνωστά για την υψηλή διατροφική τους αξία και χρησιμοποιούνται σε ποικίλες εφαρμογές, όπως στην παραγωγή υψηλής αξίας ενώσεων (καροτενοειδή, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και φυκοβιλιπρωτεϊνών), στην παραγωγή βιολογικών λιπασμάτων και βιοκαυσίμων, καθώς επίσης και ως ζωντανοί οργανισμοί σε διαδικασίες επεξεργασίας νερού και βιοαπομάκρυνσης (καθαρισμός εδάφους, ατμόσφαιρας κτλ.). Τα πρώτα στελέχη που μελετήθηκαν εκτενέστερα ήταν τα *Chlamydomonas*, *Chlorella* και *Spirulina*, με τα δύο τελευταία να είναι αυτά που καλλιεργούνται περισσότερο παγκοσμίως σήμερα (22)(23).

### 2.1.1 Κυανοβακτήρια

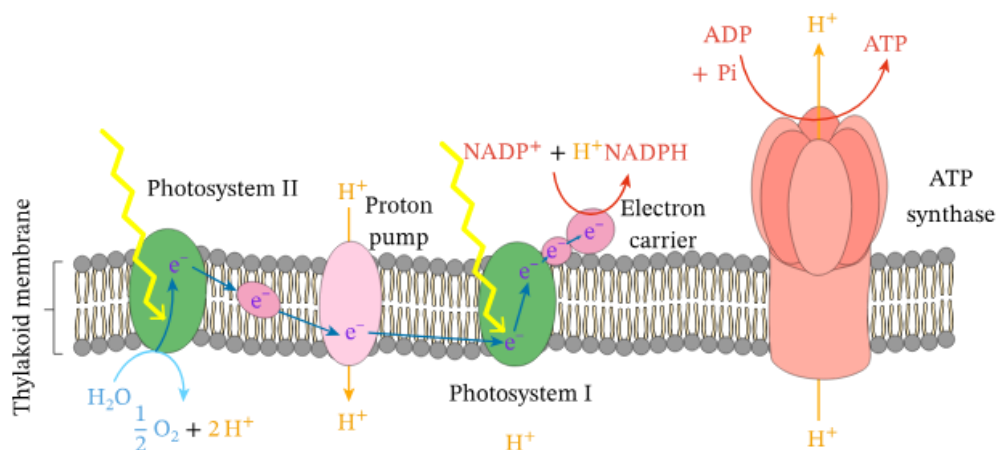
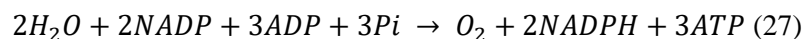
Τα κυανοβακτήρια αποτελούν μία ποικιλόμορφη ομάδα φωτοσυνθετικών προκαρυωτικών οργανισμών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στα διάφορα οικοσυστήματα, λόγω της μοναδικής ικανότητάς τους να πραγματοποιούν οξυγονική φωτοσύνθεση. Η οξυγονική φωτοσύνθεση που πραγματοποιήθηκε από πρωτόγονα κυανοβακτήρια πριν από 2,4 δισεκατομμύρια χρόνια μετέτρεψε την αναγωγική ατμόσφαιρα της Γης σε οξειδωτική και δημιούργησε ένα προστατευτικό στρώμα όζοντος, επιτρέποντας έτσι την εξέλιξη πιο σύνθετων αερόβιων οργανισμών. Ακόμα, ορισμένα κυανοβακτηριακά στελέχη έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν το ατμοσφαιρικό άζωτο, συμβάλλοντας στην ανακύκλωση θρεπτικών συστατικών των οικοσυστημάτων (17)(62). Μάλιστα, το 50% της βιολογικής δέσμευσης αζώτου παγκοσμίως αποδίδεται σε τροπικά και υποτροπικά θαλάσσια κυανοβακτήρια. Επιπλέον, από το ποσό της ηλιακής ενέργειας που φτάνει στη Γη (17800TW) το ~0,25% αξιοποιείται από τα κυανοβακτήρια κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης, ενώ σε παγκόσμια κλίμακα, τα κυανοβακτήρια συσσωρεύουν περίπου 25Gt άνθρακα από το CO<sub>2</sub> (61).

Τα κυανοβακτήρια δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με διάφορους οργανισμούς. Για παράδειγμα, ορισμένα στελέχη συμβιώνουν με κάποια φυτά και συμβάλλουν στη διαθεσιμότητα του αζώτου στο έδαφος. Μία αντίστοιχη περίπτωση είναι και οι λειχήνες, οι οποίοι είναι ιδιαίτερα ανθεκτικοί μικροοργανισμοί, αποτέλεσμα της συμβίωσης κυανοβακτηρίων με μύκητες (17)(62). Πέρα όμως από την ευεργετική συμβολή τους στο περιβάλλον, τα κυανοβακτήρια μπορούν να αποτελέσουν πρόκληση κατά τον πολλαπλασιασμό τους, αφού μπορεί να οδηγήσει σε επιβλαβείς ανθίσεις φυκιών και την παραγωγή τοξινών, επηρεάζοντας την υδρόβια ζωή

και θέτοντας σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Η διαχείριση των κυανοβακτηριακών πληθυσμών είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της υγείας των οικοσυστημάτων και την πρόληψη των αρνητικών επιπτώσεων (17).

## 2.2 Ο Μηχανισμός της Φωτοσύνθεσης

Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης, τόσο στα μακρο- όσο και στα μικροφύκη, είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση των οργανισμών. Τα φύκη περιέχουν φωτοδευσμειτικές χρωστικές όπως η χλωροφύλλη α, η χλωροφύλλη β, διάφορα καροτενοειδή, αλλά και ουσίες χωρίς την χαρακτηριστική πράσινη χρωστική όπως η ξανθοφύλλη, η φυκοερυθρίνη, η φυκοκυανίνη, οι οποίες απορροφούν την ηλιακή ενέργεια και τη μετατρέπουν σε χημική, κυρίως με τη μορφή γλυκόζης. Οι χρωστικές αυτές εντοπίζονται στους χλωροπλάστες των φυτικών κυττάρων, οι οποίοι είναι τα κυτταρικά οργανίδια υπεύθυνα για τη φωτοσύνθεση. Αρχικά, η φωτεινή ενέργεια απορροφάται από δύο μόρια, τα φωτοσυστήματα I και II (PSI & PSII), τα οποία βρίσκονται ενσωματωμένα στη μεμβράνη των θυλακοειδών<sup>2</sup> (Εικόνα 2) και διασπά το νερό στα συστατικά του. Η διεργασία αυτή ονομάζεται φωτόλυση και απελευθερώνει νερό ως παραπροϊόν, ενώ ταυτόχρονα παράγεται ατομικό υδρογόνο, το οποίο στη συνέχεια δεσμεύεται από διάφορα ένζυμα. Τα ένζυμα αυτά σε συνδυασμό με ηλεκτρόνια και τα ιόντα υδρογόνου που απελευθερώνονται από τη φωτόλυση, συμβάλουν στη σύνθεση της τριφωσφορικής αδενοσίνης ATP και του μορίου NADPH (νικοτιναμιδο-αδενο-δινουκλεοτίδιο). Η ένωση ATP σχηματίζεται με την προσθήκη μίας φωσφορικής ομάδας στο μόριο της διφωσφορικής αδενοσίνης, ADP, μέσω της διαδικασίας της φωτοφωσφορυλίωσης. Η φωτόλυση και η παραγωγή χημικής ενέργειας με τη μορφή των ATP και NADPH, χαρακτηρίζονται ως το εξαρτώμενο από το φως στάδιο της φωτοσύνθεσης (light – dependant phase). Η συνολική αντίδραση που συντελείται στο στάδιο αυτό είναι:

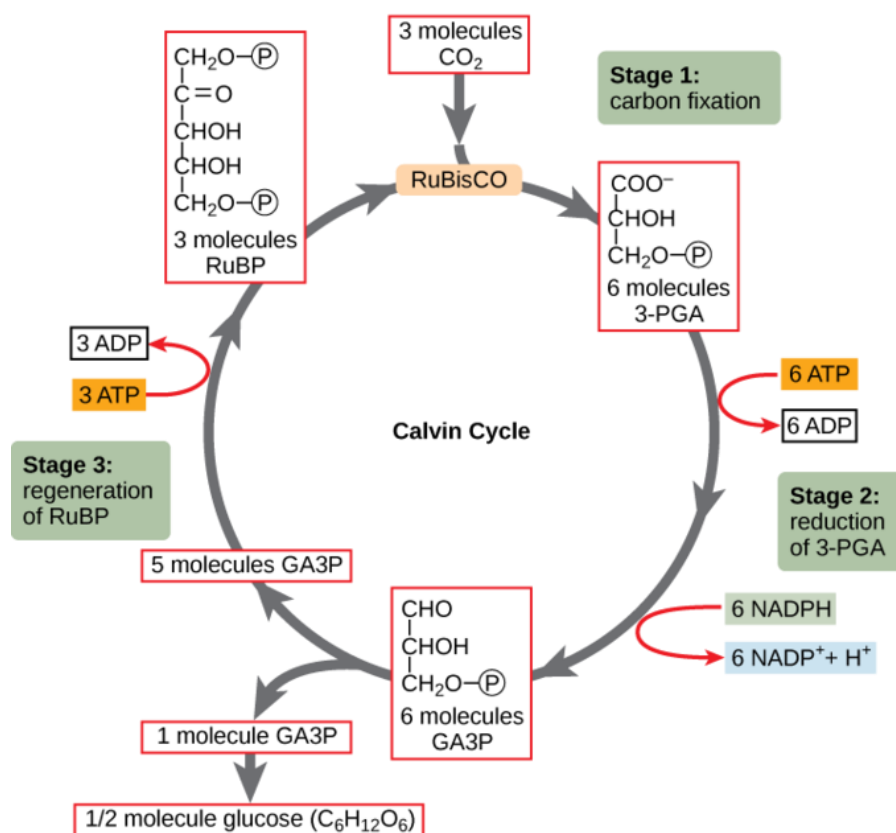


Εικόνα 2: Παραγωγή μορίων ATP και NADPH στη θυλακοειδή μεμβράνη, κατά το πρώτο στάδιο αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης

<sup>2</sup> Τα θυλακοειδή αναφέρονται σε πεπλατυσμένες μεμβρανοειδείς δομές στο εσωτερικό των χλωροπλάστων, τακτοποιημένες σε στρώσεις σε στενή επαφή, με τρόπο τέτοιο που να σχηματίζουν σάκκους. Ανάλογα με το είδος του φύκου η ομαδοποίηση των θυλακοειδών που διατρέχουν τον χλωροπλάστη ποικίλλει (29).

Οι ενεργοποιημένοι φορείς ATP και NADPH που συντέθηκαν κατά τη πρώτη φάση της φωτοσύνθεσης, χρησιμοποιούνται στο δεύτερο στάδιο για τη μετατροπή του διοξειδίου του άνθρακα σε οργανικά μόρια, διεργασία που καλείται *καθήλωση άνθρακα*. Το στάδιο αυτό δεν απαιτεί ηλιακή ενέργεια (light – independent phase) και είναι γνωστό ως ο Κύκλος του Calvin, ενώ οι αντιδράσεις δέσμευσης άνθρακα (carbon – fixation reactions) καλούνται *σκοτεινές αντιδράσεις*. Αρχικά παράγεται ένα σάκχαρο με τρία άτομα άνθρακα, η 3-φωσφορική γλυκεριναλδεΐδη (PGAL), στο στρώμα του χλωροπλάστη. Η αντίδραση καταλύεται από ένα μεγάλο ένζυμο, την καρβοξυλάση της διφωσφορικής ριβουλόξης (Rubisco), το οποίο συνδέει το μόριο του CO<sub>2</sub> με την πεντόζη 1,5-διφωσφορική ριβουλόξη (RuBP). Η 3-φωσφορική γλυκεριναλδεΐδη που σχηματίζεται από αυτή την αντίδραση, υφίσταται στη συνέχεια μία σειρά αντιδράσεων, που οδηγούν τελικά στην παραγωγή της γλυκόζης και άλλων υδατανθράκων. Σε κάθε ολοκλήρωση του κύκλου Calvin δεσμεύεται ένα μόριο διοξειδίου του άνθρακα και παράγονται δύο μόρια φωσφογλυκερικού οξέος (PGA). Απαιτούνται τρεις ολοκληρώσεις του κύκλου για την απελευθέρωση ενός μορίου PGAL.

Ένα σημαντικό στάδιο του κύκλου Calvin είναι η αναγέννηση της ένωσης RuBP, αφού διασφαλίζει τη συνεχή λειτουργία του κύκλου, επιτρέποντας έτσι τη διαρκή δέσμευση και μετατροπή του CO<sub>2</sub>. Η αναγέννηση πραγματοποιείται με τη χρήση μορίων ATP για την παροχή της απαραίτητης ενέργειας και της 3-φωσφορική γλυκεραλδεΐδη (GA3P), μίας ένωσης που προκύπτει από τις ενζυμικές αντιδράσεις στις οποίες υπόκειται η 3-PGAL.



Εικόνα 3: Ο κύκλος Calvin – 1<sup>ο</sup> στάδιο) Ενσωμάτωση του CO<sub>2</sub> στο οργανικό μόριο 3-PGA από το ένζυμο RuBisCO, 2<sup>ο</sup> στάδιο) διάσπαση του οργανικού μορίου με τη χρήση e<sup>-</sup> από το NADPH 3<sup>ο</sup> στάδιο) αναγέννηση του μορίου RuBP, το οποίο εκκινεί τον κύκλο Calvin

Ένα πρόβλημα που αντιμετωπίζουν όλοι οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που δεσμεύουν CO<sub>2</sub>, είναι ότι το διοξείδιο του άνθρακα διαχέεται εύκολα μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Στα φυτά, το CO<sub>2</sub> συσσωρεύεται σε συγκεκριμένα κύτταρα/θήκες της επιφάνειας των φύλλων τους, όπου επίσης περιέχεται σημαντική ποσότητα του ενζύμου Rubisco. Τα τοιχώματα των κυττάρων είναι αρκετά συμπαγή ώστε να εμποδίσουν τη διάχυση του CO<sub>2</sub> των αντιδράσεων αποκαρβοξυλίωσης. Στη περίπτωση των μικροφυκών, το πρόβλημα είναι πιο αισθητό, αφού πρόκειται για μονοκύτταρους οργανισμούς (ή λίγων μόλις κυττάρων), με άμεση πρόσβαση στο περιβάλλον. Επομένως πρέπει να έχουν την ικανότητα να εμποδίζουν τη διάχυση του διοξειδίου, αλλά ταυτόχρονα να επιτρέπουν την είσοδο θρεπτικών συστατικών στο κύτταρο. Αυτό επιτυγχάνεται με τη συσσώρευση του ιόντος HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, το οποίο όντας φορτισμένο διαχέεται διαμέσου των μεμβρανών με πολύ πιο αργό ρυθμό σε σύγκριση με το CO<sub>2</sub>. Το CO<sub>2</sub> όμως είναι το υπόστρωμα που απαιτείται για το ένζυμο Rubisco κατά το δεύτερο στάδιο της φωτοσύνθεσης, επομένως το συσσωρευμένο HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> πρέπει να μετατραπεί σε CO<sub>2</sub>. Έτσι τα μικροφύκη συγκεντρώνουν το ένζυμο σε μία πολύ συγκεκριμένη τοποθεσία εντός του κυττάρου (στα καρβοξυσώματα για τα κυανοβακτήρια και στο πυρηνοειδές για τα φύκη), συσσωρεύουν το HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> και με υψηλό ρυθμό, το μετατρέπουν σε CO<sub>2</sub> στη θέση του ενζύμου, ώστε να προχωρήσουν οι αντιδράσεις του 2<sup>ου</sup> σταδίου πριν αυτό προλάβει να διαχυθεί (30)(31).

Μία σημαντική διαφορά ανάμεσα στα ευκαρυωτικά φύκη και τα κυανοβακτήρια είναι η ύπαρξη οργανωμένων χλωροπλαστών. Τα κυανοβακτήρια δεν περιέχουν χλωροπλάστες, έχουν όμως τα βασικά δομικά στοιχεία των χλωροπλαστών, δηλαδή ειδικά διαμορφωμένες θυλακοειδείς μεμβράνες με φωτοσυλλεκτικές χρωστικές και τα κατάλληλα ένζυμα για να δεσμεύουν το διοξείδιο του άνθρακα.

### 2.2.1 Φωτοσυνθετικές χρωστικές

Οι φωτοσυνθετικές χρωστικές στα μικροφύκη (αλλά και γενικότερα σε όλους τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς) παίζουν καθοριστικό ρόλο στην απορρόφηση της φωτεινής ενέργειας και στη μετατροπή της σε χημική μέσω της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης. Οι χρωστικές αυτές είναι υπεύθυνες για την απορρόφηση φωτός συγκεκριμένων μηκών κύματος. Υπάρχουν τρεις μεγάλες κατηγορίες φωτοσυνθετικών χρωστικών: οι χλωροφύλλες, τα καροτενοειδή και οι φυκοβιλίνες. Οι χλωροφύλλες κατηγοριοποιούνται σε a, b, c, και d ανάλογα με τους υποκατάστατες πλευρικής ομάδας που έχουν στον τετραπυρρολικό δακτύλιο. Όλοι οι τύποι χλωροφυλλών απορροφούν σε δύο κύριες ζώνες του φάσματος· στα 450 - 475nm (μπλε - πράσινο) και στα 630 - 675 nm (κόκκινο), με αποτέλεσμα το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα τους. Χλωροφύλλες υπάρχουν σε όλους τους οξυγονικούς φωτοαυτότροφους οργανισμούς, με τη χλωροφύλλη-a να είναι η επικρατέστερη χρωστική στα μικροφύκη. Η περιεκτικότητα της ανάλογα με το στέλεχος του μικροφύκου κυμαίνεται από 0.37% έως 1.8% επί του ξηρού βάρους. Για καλλιέργεια με πλούσια παροχή θρεπτικών (ιδιαίτερα ανόργανου αζώτου) η χλωροφύλλη-a εμφανίζει αυξημένη περιεκτικότητα. Οι χλωροφύλλες -b & -c δρουν κυρίως επικουρικά, διευρύνοντας το εύρος της απορρόφησης του φωτός, ενώ η χλωροφύλλη-d συναντάται μόνο σε συγκεκριμένες κατηγορίες κόκκινης άλγης (ροδοφύκη) και επιτρέπει στα μικροφύκη να δεσμεύουν ηλιακή ακτινοβολία σε μεγάλα βάθη, όπου τα μικρότερα μήκη κύματος δεν φτάνουν (32)(33).

Τα καροτενοειδή αναφέρονται σε μία μεγάλη ομάδα χρωμοφόρων, με εύρος απορρόφησης μεταξύ 400nm και 500nm. Στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, ο ρόλος τους είναι βοηθητικός στη συλλογή φωτεινής ενέργειας, επεκτείνοντας τη δυνατότητα της χλωροφύλλης-α να εκμεταλλεύεται ευρύτερο μέρος του ορατού φάσματος. Η ικανότητά τους να απορροφούν φωτεινή ακτινοβολία οφείλεται στους διπλούς δεσμούς που περιέχει το μόριό τους, ενώ εξαιτίας των μηκών κύματος που απορροφούν, το χρώμα τους συνήθως περιλαμβάνει αποχρώσεις του κίτρινου και του κόκκινου. Από χημικής άποψης, χαρακτηρίζονται ως ισοπρενοειδείς ενώσεις και συνήθως είναι είτε υδρογονάνθρακες (καροτένια α & β) ή οξυγονομένοι υδρογονάνθρακες (ξανθοφύλλες). Το καροτενοειδές που συναντάται συνήθως στα μικροφύκη είναι η β-καροτένιο, όπως και οι ξανθοφύλλες λουτεΐνη, ζεαξανθίνη και βιολακανθίνη, οι οποίες προστατεύουν από την περίσσεια ακτινοβολίας και προλαμβάνουν πιθανές βλάβες.

Στα κυανοβακτήρια και σε ορισμένα μικροφύκη κόκκινου χρώματος απαντώνται στις θυλακοειδείς μεμβράνες του κυτταροπλάσματος, οι χρωστικές βιλιπρωτεΐνες. Το χρώμα τους είναι είτε κόκκινο (φυκοερυθρίνες, φυκοερυθροκυανίνες), είτε μπλε (φυκοκυανίνες, αλλοφυκοκυανίνες) και καθορίζεται από την εκάστοτε φυκοβιλίνη, το χρωμοφόρο συστατικό των φυκοβιλιπρωτεΐνων. Το φάσμα απορρόφησης των φυκοβιλιπρωτεΐνων είναι ιδιαίτερο και εμφανίζει δύο ή τρεις κορυφές στα φάσμα των 500-650nm. Σε αντίθεση με τις χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή, οι φυκοβιλιπρωτεΐνες είναι υδατοδιαλυτές και βρίσκονται στην επιφάνεια των θυλακοειδών μεμβρανών, τακτοποιημένες σε συγκροτήματα, τα επονομαζόμενα φυκοβιλισωμάτια. Τα φυκοβιλισωμάτια, εξαιτίας της δομής και της θέσης τους στην επιφάνεια των μεμβρανών προσφέρουν ένα μεγάλο πλεονέκτημα στα κυανοβακτήρια και τα μικροφύκη που τα έχουν, αφού μπορούν να συλλάβουν πιο μεγάλο εύρος του φάσματος, ακόμα και φως ελάχιστης έντασης.

### 2.2.2 Φωτοσύνθεση και φως

Το φως αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για την παραγωγή τροφής στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς (μέσω της φωτοσυνθετικής οδού). Έχει διττή φύση, καθώς διαδίδεται ως κύμα αλλά ως ύλη. Έτσι, εμφανίζει διάφορα κυματοειδή χαρακτηριστικά, όπως η παρεμβολή και η περίθλαση (παρεμβολή συμβαίνει όταν δύο ενώ περισσότερα κύματα φωτός συνδυάζονται, είτε ενισχύοντας είτε ακυρώνοντας το ένα το άλλο, ενώ η περίθλαση αναφέρεται στο φαινόμενο κάμψης των φωτεινών κυμάτων γύρω από εμπόδια). Το φως συμπεριφέρεται επίσης ως μία “ροή” σωματιδίων του καλούνται φωτόνια και μεταφέρουν διακριτά ποσά ενέργειας, γνωστά ως κβάντα. Η ενέργεια ενός φωτονίου (σε Joule) εκφράζεται σε συνάρτηση με το μήκος κύματος του φωτός ως:

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

Όπου  $h = 6,63 \times 10^{-34}$  η σταθερά του Planck,  $\nu$  η συχνότητα,  $C = 3 \times 10^8$  m/s η ταχύτητα του φωτός στο κενό και  $\lambda$  το μήκος κύματος σε m (34). Βάσει αυτή της εξίσωσης μπορεί να υποστηριχθεί ότι ένα φωτόνιο της ερυθρής περιοχής του φάσματος (700nm) έχει 43% λιγότερη ενέργεια από ένα φωτόνιο της μπλε περιοχής (400nm). Οι φωτοσυνθετικές χρωστικές περιέχουν ειδικές ηλεκτρονιακές δομές που επιτρέπουν την απορρόφηση φωτονίων συγκεκριμένων μηκών κύματος. Η κβαντισμένη φύση των φωτονίων εξυπηρετεί τα διακριτά ενεργειακά

επίπεδα των χρωστικών και έτσι επιτυγχάνεται αποτελεσματική μεταφορά ενέργειας κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης (26). Το ποσοστό των απορροφημένων φωτονίων που μετατρέπονται σε χημική ενέργεια μέσω των φωτοσυνθετικών διεργασιών εκφράζεται μέσω ενός μεγέθους που καλείται *κβαντική αποδοτικότητα* (Quantum Efficiency, QE). Η κβαντική αποδοτικότητα είναι ένα μέσο ποσοτικοποίησης της αποτελεσματικότητας με την οποία η φωτεινή ενέργεια συλλαμβάνεται και αξιοποιείται από το φωτοσυνθετικό σύστημα.

Η κβαντική απόδοση ( $\varphi$ ) της φωτοσύνθεσης ορίζεται ως ο μοριακός λόγος μεταξύ του οξυγόνου που απελευθερώνεται κατά τη φωτοσύνθεση και των φωτονίων που απορροφώνται κατά τη διαδικασία. Εναλλακτικά, μπορεί να οριστεί ως ο λόγος της αποθηκευμένης ακτινοβολίας (photosynthetically stored radiant energy, PSR) προς την απορροφούμενη ενέργεια που μπορεί να αξιοποιηθεί στη φωτοσύνθεση (photosynthetically usable radiant energy, PUR). (35)

$$\varphi = \frac{\text{moles oxygen evolved (CO}_2 \text{ absorbed)}}{\text{moles light quanta absorbed}} = \frac{PSR}{PUR} \quad \text{κβαντική απόδοση φωτοσύνθεσης}$$

Κατά τη διάρκεια της φωτόλυσης, του 1<sup>ου</sup> σταδίου της φωτοσύνθεσης, απαιτούνται 4 ηλεκτρόνια για τη διάσπαση του νερού και την απελευθέρωση O<sub>2</sub>. Καθένα από αυτά τα e<sup>-</sup> “συνοδεύεται” από δύο φωτόνια, τα οποία θα απορροφήσουν στη συνέχεια τα φωτοσυστήματα I και II. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι 8 φωτόνια είναι η ελάχιστη απαίτηση για τη διεργασία της φωτοσύνθεσης και αντίστοιχα η μέγιστη κβαντική απόδοση δεν μπορεί να υπερβεί το  $\varphi = 0.125$  (36). Υψηλές τιμές απόδοσης (δηλαδή κοντά στο θεωρητικό μέγιστο) έχουν παρατηρηθεί σε χαμηλό φωτισμό, αφού σε περιπτώσεις έντονης ακτινοβολίας ο ρυθμός απορρόφησης φωτονίων υπερβαίνει τον ρυθμό αξιοποίησης της φωτεινής ενέργειας στις φωτοχημικές διεργασίες και η περίσσεια ενέργειας απελευθερώνεται ως θερμότητα, η οποία απορροφάται από φωτοπροστατευτικές ουσίες όπως η περιδινίνη και η ασταξανθίνη. Ακόμα ένας παράγοντας που επηρεάζει την κβαντική απόδοση είναι η διαθεσιμότητα των θρεπτικών στο περιβάλλον του φωτοσυνθετικού οργανισμού και ιδιαίτερα η πηγή αζώτου. (35)

Στην φωτοσύνθεση, η απορρόφηση φωτός ακροβατεί ανάμεσα στην αποδοτική σύλληψη ηλιακής ακτινοβολίας και την υπερβολική απορρόφηση, με καταστροφικές επιπτώσεις για τον φωτοσυνθετικό οργανισμό. Το φαινόμενο της φωτοαναστολής (photoinhibition) συμβαίνει όταν ο ρυθμός απορρόφησης φωτός υπερβαίνει τον ρυθμό με το οποίο ο οργανισμός χρησιμοποιεί τη φωτεινή ενέργεια στη διεργασία της φωτοσύνθεσης. Αυτή η περίσσεια φωτεινής ενέργειας μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή δραστικών ριζών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), δηλαδή δραστικά μόρια και ελεύθερες ρίζες από το μοριακό οξυγόνο, τα οποία είναι επιβλαβή για όλους τους αερόβιους οργανισμούς. Εντός των κυττάρων, η φωτοαναστολή επηρεάζει πρωταρχικά το φωτοσύστημα II, ένα από τα δύο φωτοσυστήματα που συμμετέχει στις αντιδράσεις του πρώτου σταδίου της φωτοσύνθεσης. Το φωτοσύστημα II (PSII) είναι υπεύθυνο για την απορρόφηση της φωτεινής ενέργειας και την εκκίνηση της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, επομένως οποιαδήποτε βλάβη στο φωτοσύστημα μειώνει την απόδοση και τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα (33). Για αυτό το λόγο, οι

φωτοσυνθετικοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει διάφορους μηχανισμούς για την ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων της φωτοαναστολής, οι οποίοι περιλαμβάνουν και τροποποιήσεις στη λειτουργία του PSII, είτε στον τρόπο που απορροφά τη φωτεινή ακτινοβολία είτε στον αριθμό των ενεργών του κέντρων (32). Ένας από αυτούς είναι η μη φωτοχημική σβέση (non-photochemical quenching, NPQ). Ακόμα, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, για την προστασία από την υψηλή φωτεινή ακτινοβολία και γενικά το περιβαλλοντικό στρες, τόσο τα φυτά όσο και τα φύκη συσσωρεύουν διάφορες φωτοπροστατευτικές ουσίες, όπως το β-καροτένιο και η ξανθοφύλλη (33).

### 2.2.3 Φωτοσυνθετική αποδοτικότητα

Η φωτοσυνθετική αποδοτικότητα είναι ένα μέτρο του πόσο αποτελεσματικά ένας φωτοσυνθετικός οργανισμός μετατρέπει τη φωτεινή ενέργεια σε χημική μέσω της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης. Συνήθως εκφράζεται ως ο λόγος της αποθηκευμένης ενέργειας (με τη μορφή υδατανθράκων ή βιομάζας), προς την ποσότητα της φωτεινής ενέργειας που απορροφάται κατά τη φωτοσύνθεση. Το τμήμα του ηλιακού φάσματος που χρησιμοποιείται από τους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς έχει εκτιμώμενο μέσο μήκος κύματος ~ 570nm, επομένως η ενέργεια της φωτεινής ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται κατά τη φωτοσύνθεση ισούται με περίπου 50kcal ανά mole φωτονίων. Η τιμή της αποδοτικότητας της φωτοσύνθεσης διαφέρει για κάθε οργανισμό και επηρεάζεται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως από την ένταση της ακτινοβολίας, τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών και το περιβαλλοντικό στρες (61).

Τόσο η κβαντική, όσο και η φωτοσυνθετική αποδοτικότητα, παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την αποτελεσματικότητα της μετατροπής ενέργειας, εστιάζουν όμως σε διαφορετικές πτυχές της συνολικής φωτοσυνθετικής διεργασίας. Η φωτοσυνθετική αποδοτικότητα είναι μία ευρύτερη έννοια και λαμβάνει υπόψη ολόκληρη τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Πέρα από την κβαντική απόδοση της αξιοποίησης του φωτός, περιλαμβάνει και άλλους παράγοντες που σχετίζονται με τη μεταφορά ενέργειας, τις βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα, αλλά και την ενέργεια που αποθηκεύεται στα κύτταρα με τη μορφή υδατανθράκων. Έτσι, η σχέση μεταξύ της φωτοσυνθετικής και της κβαντικής αποδοτικότητας έγκειται στο γεγονός ότι η κβαντική αποδοτικότητα συμβάλει στη συνολική φωτοσυνθετική αποδοτικότητα. Η κβαντική αποδοτικότητα ποσοτικοποιεί την απόδοση των αρχικών σταδίων της φωτοσύνθεσης, όπου η φωτεινή ενέργεια απορροφάται και χρησιμοποιείται για την πραγματοποίηση των φωτοχημικών αντιδράσεων, καθορίζει δηλαδή πόσο αποτελεσματικά μετατρέπονται τα φωτόνια σε χημική ενέργεια με τη μορφή ATP και NADPH. Είναι σημαντική η βελτιστοποίηση και των δύο αυτών μεγεθών κατά την καλλιέργεια μικροφυκών, αφού μία υψηλή κβαντική αποδοτικότητα εξασφαλίζει την αποτελεσματική αξιοποίηση του διαθέσιμου φωτός, ενώ η συνολική φωτοσυνθετική αποδοτικότητα μεγιστοποιεί την παραγωγή βιομάζας ή άλλων σημαντικών ενώσεων (59)(60).

### 2.2.4 Αναπνοή

Η φωτοαναπνοή αναφέρεται σε μία ανταγωνιστική διαδικασία της φωτοσύνθεσης, κατά την οποία ο οργανικός άνθρακας μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα CO<sub>2</sub> χωρίς κανένα μεταβολικό κέρδος για τον οργανισμό. Έναντι παλαιών απόψεων, η φωτοαναπνοή θεωρείται βασικό κομμάτι της φωτοσύνθεσης και επομένως του

κύκλου του άνθρακα. Εξαρτάται από τις σχετικές συγκεντρώσεις των O<sub>2</sub> και CO<sub>2</sub> στο σύστημα, δηλαδή υψηλή συγκέντρωση O<sub>2</sub> και χαμηλή CO<sub>2</sub> ευνοεί την φωτοαναπνοή, εννοώ το ανάποδο, ευνοεί την αντίδραση της καρβοξυλίωσης. Τα μικροφύκη, εξαιτίας της χαμηλής συγγένειας που εμφανίζει το ένζυμο Rubisco με το CO<sub>2</sub>, συγκεντρώνουν υψηλά επίπεδα CO<sub>2</sub> στην περιοχή του ενζύμου για να αντισταθμίσουν το φαινόμενο. Διαφορετικά, μειωμένη συγκέντρωση CO<sub>2</sub> κάτω από υψηλή ακτινοβολία θα μετατόπιζε την ισορροπία της αντίδρασης προς την φωτοαναπνοή και όχι τη φωτοσύνθεση. Για την βελτιστοποίηση της απόδοσης στην καλλιέργεια μικροφυκών και την αύξηση της παραγόμενης βιομάζας, είναι απαραίτητο να ελαχιστοποιηθούν οι επιπτώσεις της φωτοαναπνοής. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με εμπλουτισμό της καλλιέργειας με CO<sub>2</sub> και απομάκρυνση της περίσσειας οξυγόνου (32).

### 2.3 Καλλιέργεια Μικροφυκών

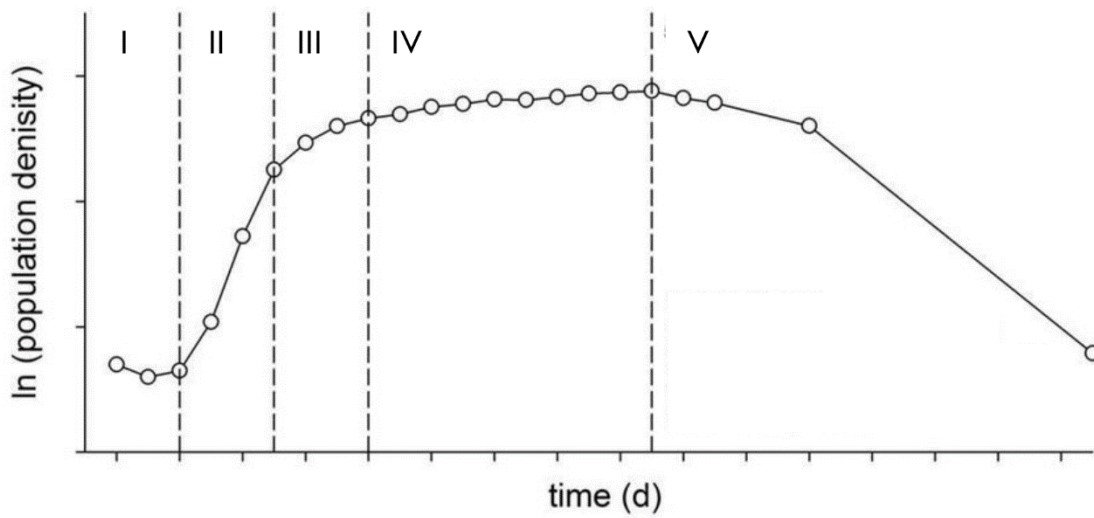
Τα μικροφύκη είναι μονοκύτταροι (ή πολυκύτταροι με μικρό πλήθος κυττάρων) υδρόβιοι μικροοργανισμοί. Ο τρόπος με τον οποίο αναπαράγονται είναι διαφορετικός για κάθε ταξινομική ομάδα και στέλεχος και η κατανόηση των ειδικών αναπαραγωγικών μηχανισμών τους είναι σημαντική για την καλλιέργεια και την παραγωγή βιομάζας. Γενικά, η διαδικασία αναπαραγωγής στα μικροφύκη γίνεται τόσο με εγγενή όσο και με αγενή τρόπο. Η αγενής αναπαραγωγή (δεν πραγματοποιείται σύντηξη γαμετών) περιλαμβάνει την αύξηση του πληθυσμού του μικροφύκου με κυτταρική διαίρεση. Εναλλακτικά, κάποια στελέχη μπορούν να αναπαραχθούν με ζωοσπόρια (μαστιγοφόρα κύτταρα) ή με αυτοσπόρια (μη μαστιγοφόρα κύτταρα). Η εγγενής αναπαραγωγή από την άλλη μπορεί να περιλαμβάνει τρεις διαφορετικούς βιολογικούς κύκλους, τη ζυγωτική μείωση, τη γαμετική μείωση και τη σποριακή μείωση. Τα κυανοβακτήρια, αποτελούν μία ειδική περίπτωση αγενής αναπαραγωγής, αφού αναπαράγονται με απλή διχοτόμηση (38).

Όταν σε ένα θρεπτικό υπόστρωμα (μέσο καλλιέργειας), το οποίο αποτελείται από το κατάλληλο μείγμα ουσιών (θρεπτικά) και βρίσκεται σε κατάλληλες περιοχές θερμοκρασίας και pH, προστεθούν κύτταρα μικροφυκών, παρατηρείται αύξηση στον αριθμό των κυττάρων και ανάπτυξη της βιομάζας σε συνάρτηση με τον χρόνο. Κάθε ρυθμιστική επέμβαση στις αναβολικές και καταβολικές λειτουργίες των κυττάρων επηρεάζει αναπόφευκτα την ανάπτυξη. Οι βασικές λειτουργίες που περιλαμβάνονται στην κυτταρική ανάπτυξη είναι i) η παραγωγή και ανάπτυξη των κυττάρων, ii) η κατανάλωση των θρεπτικών συστατικών, iii) η κατανάλωση ενέργειας και iv) η παραγωγή μεταβολικών προϊόντων. Στην περίπτωση των μικροφυκών, αξιοποιείται η φωτεινή ακτινοβολία ως πηγή ενέργειας, ενώ η παραγωγή των μεταβολικών προϊόντων εξαρτώνται από το είδος του μικροφύκου και τις συνθήκες ανάπτυξης της καλλιέργειας. Το κύριο μεταβολικό προϊόν είναι η βιομάζα που παράγεται εξαιτίας της φωτοσύνθεσης που συντελείται εντός των κυττάρων. Στα πλαίσια της φωτοσύνθεσης, παράγονται ακόμα υδατάνθρακες όπως η γλυκόζη ή άλλα σάκχαρα. Πολλά είδη μικροφυκών είναι γνωστά επίσης για την βιοσυσσώρευση λιπιδίων, τα οποία εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην παραγωγή βιοκαυσίμων. Ακόμα έχουν πλούσιο πρωτεϊνικό περιεχόμενο και παράγουν επίσης αντιοξειδωτικές ενώσεις όπως οι πολυφαινόλες και τα καροτενοειδή, που αξιοποιούνται σε φαρμακευτικές εφαρμογές. Ορισμένα είδη μικροφυκών απελευθερώνουν πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs) ως δευτερογενείς μεταβολίτες (26)(38).



Η ανάπτυξη των μικροφυκών, όπως και όλων των μικροοργανισμών γενικότερα, περιλαμβάνει πέντε διακριτές φάσεις, με την υπόθεση διεργασίας διαλείποντος έργου:

- I. Λανθάνουσα φάση (lag phase)
- II. Εκθετική φάση (exponential phase)
- III. Γραμμική φάση (linear phase)
- IV. Φάση στασιμότητας (stationary phase)
- V. Φθίνουσα ανάπτυξη ή Φάση Θανάτου (death phase)



Διάγραμμα 4: Πυκνότητα πληθυσμού μικροοργανισμών (πχ μικροφυκών) σε συνάρτηση με το χρόνο (ανά ημέρα). Διακρίνονται οι πέντε φάσεις ανάπτυξης, από την εκκίνηση της καλλιέργειας έως τον κυτταρικό θάνατο

Στην λανθάνουσα φάση, υπάρχει μία καθυστέρηση στην ανάπτυξη, που οφείλεται στην προσαρμογή των κυττάρων στο νέο περιβάλλον και στην ύπαρξη κάποιων μη βιώσιμων κυττάρων. Ακολουθεί η εκθετική φάση κατά την οποία όλα τα κύτταρα αναπτύσσονται με σταθερούς ρυθμούς ως εκθετική συνάρτηση του χρόνου. Στη φάση αυτή η ένταση της ακτινοβολίας και τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά δεν περιορίζουν την ανάπτυξη των μικροφυκών. Όταν το φως αρχίσει να λειτουργεί περιοριστικά, η κυτταρική διαίρεση επιβραδύνεται και η βιομάζα συσσωρεύεται με σταθερό ρυθμό μέχρι τα θρεπτικά και οι αναστολείς να δράσουν επίσης περιοριστικά. Κατά τη φάση στασιμότητας, τα μικροφύκη συσσωρεύουν επίσης τα μεταβολικά προϊόντα (πχ άμυλο και λιπίδια). Οι περιοριστικοί παράγοντες επιβραδύνουν τον ρυθμό αναπαραγωγής έως ότου να μηδενιστεί όταν εξαντληθούν τα διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά στο μέσο καλλιέργειας. Η φάση του θανάτου επέρχεται με την εξάντληση των θρεπτικών, ή εξαιτίας άλλων συνθηκών όπως η υπερθέρμανση της καλλιέργειας, διαταραχές του pH και επιμολύνσεις.

## 2. 4 Κινητική ανάπτυξης

Τα περισσότερα κινητικά μοντέλα θεωρούν το σύστημα της καλλιέργειας ομογενές και την ανάπτυξη ισόρροπη. Συνήθως, εκφράζονται ως συνάρτηση της συγκέντρωσης μεμονωμένων θρεπτικών συστατικών

(υποστρώματος), έναντι των οποίων όλα τα υπόλοιπα βρίσκονται σε περίσσεια. Το κινητικό μοντέλο Monod είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μαθηματικό μοντέλο για την περιγραφή της ανάπτυξης μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των μικροφυκών. Το μοντέλο αναπτύχθηκε από το βιοχημικό Jacques Monod και περιγράφει την εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης μόνο από το περιοριστικό υπόστρωμα  $S$  και όχι από τη συγκέντρωση της βιομάζας, υπό την προϋπόθεση της μόνιμης κατάστασης<sup>3</sup>.

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S} \quad \text{κινητικό μοντέλο Monod}$$

Όπου η παράμετρος  $\mu_{max}$  ονομάζεται *μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης*, η σταθερά  $K_s$ , *σταθερά κορεσμού* και  $S$  η *συγκέντρωση του περιοριστικού υποστρώματος*. Παρόλο που το μοντέλο Monod αποτελεί μία καλή προσέγγιση για τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης, σε περιπτώσεις πολύ χαμηλών ή υψηλών συγκεντρώσεων του μέσου καλλιέργειας δεν είναι επαρκές. Για να ληφθεί υπόψη η περιοριστική επίδραση της αναστολής χρησιμοποιούνται μοντέλα όπως το τροποποιημένο Monod, τα μοντέλα Haldane - Andrews και Aiba. Μάλιστα τα μοντέλα αυτά μπορούν να τη σχέση μεταξύ του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης  $\mu$  και της φωτεινής ακτινοβολίας (39).

Το μοντέλο Haldane αποτελεί μία “επέκταση” του κινητικού μοντέλου Monod για ένζυμα, ώστε να περιλαμβάνει την ανασταλτική επίδραση των υψηλών συγκεντρώσεων του υποστρώματος στον ρυθμό ανάπτυξης. Όταν το μοντέλο χρησιμοποιείται για να περιγράψει μικροβιακή ανάπτυξη, αναφέρεται ως μοντέλο Andrews (39)(40). Ένα παράδειγμα αναστολής στην ανάπτυξη των μικροφυκών, παρατηρείται όταν η συγκέντρωση της αμμωνίας ( $\text{NH}_3$ ) στο μέσο καλλιέργειας είναι πάνω από  $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (40).

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad \text{κινητικό μοντέλο Andrews}$$

Όπου όπως στο μοντέλο Monod,  $\mu_{max}$  ο *μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης*,  $K_s$  η *σταθερά κορεσμού*,  $S$  η *συγκέντρωση του περιοριστικού υποστρώματος*, ενώ η παράμετρος  $K_i$  αναφέρεται στη *σταθερά αναστολής*. Ο όρος  $\frac{S^2}{K_i}$  στον παρονομαστή είναι αυτός που περιγράφει την ανασταλτική επίδραση του υποστρώματος σε υψηλές συγκεντρώσεις.

Σε περιπτώσεις που παρατηρείται σημαντική διαφοροποίηση στη σύσταση των κυττάρων, χρησιμοποιείται μία άλλη κατηγορία κινητικών μοντέλων, τα οποία βασίζονται στην υπόθεση ότι ο ρυθμός ανάπτυξης εξαρτάται από την συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών στο εσωτερικό των κυττάρων. Καθώς τα μοντέλα αυτά

---

<sup>3</sup> Η μόνιμη κατάσταση σε αυτή την περίπτωση αναφέρεται στην κατάσταση κατά την οποία ο ρυθμός μεταφοράς θρεπτικών ουσιών από το μέσο καλλιέργειας είναι ίσος με τον ρυθμό κατανάλωσης των θρεπτικών αυτών από τα κύτταρα.

εκφράζονται ως συνάρτηση των εσωκυτταρικών συστατικών είναι δυνατόν να εφαρμοστούν και σε περιπτώσεις μη μόνιμη κατάσταση. Παρόλα αυτά, καθώς η εφαρμογή τους προϋποθέτει τη γνώση του μεταβολισμού του κυττάρου και του μηχανισμού που τον ελέγχει, η χρήση τους στην πράξη είναι περιορισμένη. Στα μικροφύκη, τέτοια μοντέλα έχουν εφαρμοστεί να περιγράψουν την ανταγωνιστική σχέση στελεχών, αλλά και αλλαγές στη φυσιολογία εξαιτίας περιβαλλοντικών προαγόντων (πχ διαθεσιμότητα θρεπτικών). Ένα παράδειγμα αυτού του είδους κινητικό μοντέλο, είναι το μοντέλο Droop, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει την ανάπτυξη αλγών σε φυσικά οικοσυστήματα, θεωρώντας ως περιοριστικό θρεπτικό το άζωτο ή τον φώσφορο (40).

$$\mu = \mu'_{max} \cdot \left(1 - \frac{Q_{min}}{Q}\right) \quad \text{κινητικό μοντέλο Droop}$$

Ο όρος  $Q$  στον παραπάνω τύπο αναφέρεται στην κατανομή των θρεπτικών συστατικών ανά βιομάζα άνθρακα.

Ένας σημαντικός παράγοντας στην περίπτωση της καλλιέργειας μικροφυκών, που δεν έχει ληφθεί υπόψιν από τα μοντέλα που παρουσιάστηκαν είναι το φως και η επίδρασή του. Καθώς γίνεται λόγος για φωτοαυτοτροφικούς οργανισμούς, απαιτείται ένα συγκεκριμένο επίπεδο φωτεινής ενέργειας για να φθάσουν τον μέγιστο ρυθμό ανάπτυξή τους. Το επίπεδο αυτό αναφέρεται ως επίπεδο κορεσμού και αν η ένταση της ακτινοβολίας είναι πάνω από αυτό, θα δράσει ανασταλτικά στην ανάπτυξη της καλλιέργειας. Αντίστοιχα, χαμηλότερες εντάσεις, θα περιορίσουν την ανάπτυξη. Είναι φανερό επομένως ότι η ύπαρξη κινητικών μοντέλων που συμπεριλαμβάνουν την επίδραση αυτή, είναι απαραίτητη, ειδικά σε περιπτώσεις σχεδιασμού φωτοαντιδραστήρων και βελτιστοποίησης της απόδοσης των καλλιεργειών. Ένα τέτοιο μοντέλο είναι το θεωρητικό κινητικό μοντέλο Tamiya (ανάλογο του μοντέλου Monod) για την περιγραφή της επίδρασης του φωτός στην ανάπτυξη των μικροφυκών. Το μοντέλο υποθέτει ότι ισχύουν συνθήκες ακτινοβολίας μικρότερης έντασης από το επίπεδο κορεσμού και υποθέτει ότι η καλλιέργεια περιλαμβάνει μεμονωμένα κύτταρα (40).

$$\mu = \mu_{max} \frac{I}{K_I + I} \quad \text{κινητικό μοντέλο Tamiya}$$

Όπου  $K_I$ , η σταθερά κορεσμού και  $I$  η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Όταν η ένταση  $I \ll K_I$  τότε η ανάπτυξη περιορίζεται από φως και ο ρυθμός ακολουθεί κινητικό 1<sup>ης</sup> τάξης. Στην περίπτωση τώρα που  $I \gg K_I$ , ο ρυθμός είναι ανεξάρτητος της ακτινοβολίας και προσεγγίζει το  $\mu_{max}$ .

Κινητικά μοντέλα όπως το Tamiya, χρησιμοποιούνται κυρίως σε εργαστηριακή κλίμακα και υποθέτουν ότι κάθε κύτταρο της καλλιέργειας λαμβάνει την ίδια έντασης ακτινοβολία. Σε πραγματικές συνθήκες όμως καθώς τα μικροφύκη αναπτύσσονται και αυξάνεται η συγκέντρωση, μειώνεται η διαπερατότητα της καλλιέργειας και το σύστημα δεν ακτινοβολείται με τον ίδιο τρόπο σε κάθε σημείο του.

Αντίστοιχης φιλοσοφίας με το μοντέλο Andrews είναι το κινητικό μοντέλο Aiba, το οποίο καλύπτει τόσο την περίπτωση του περιορισμού της ανάπτυξης από την ακτινοβολία, όσο και της φωτοαναστολής.

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot I}{K_I + I + \frac{I^2}{K_{i,L}}} \quad \text{κινητικό μοντέλο Aiba}$$

Πίνακας 1: Κινητικές σχέσεις για τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης μικροφυκών

Κινητική	Υπολογισμός Ρυθμού	Εύρη εφαρμογής
<b>Monod</b>	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S}$	CO <sub>2</sub> : 0–880 mg L <sup>-1</sup>
<b>Andrews</b>	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$	
<b>Droop</b>	$\mu = \mu'_{max} \cdot \left(1 - \frac{Q_{min}}{Q}\right)$	N: 0.014 – 0.061 mol mol <sup>-1</sup> P: 0.352–324 × 10 <sup>-15</sup> mol cell <sup>-1</sup>
<b>Tamiya</b>	$\mu = \mu_{max} \frac{I}{K_I + I}$	Φως: 0–1000 lx / ή 0–550 μmol photon m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<b>Aiba</b>	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot I}{K_I + I + \frac{I^2}{K_{i,L}}}$	Φως: 0 – 83 W m <sup>-2</sup>

## 2.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της βιομάζας

### Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία, μαζί με το φως είναι ίσως οι δύο πιο σημαντικοί παράγοντες στην ανάπτυξη των μικροφυκών, αφού καθορίζει το μέγεθος των κυττάρων, τον μεταβολισμό τους και τη γενική αποδοτικότητα της καλλιέργειας. Παρόλο που οι κινητικοί ρυθμοί των φωτοχημικών αντιδράσεων είναι συνήθως ανεξάρτητοι από τη θερμοκρασία, οι ρυθμοί των αντιδράσεων του 2<sup>ου</sup> σταδίου της φωτοσύνθεσης (σκοτεινές αντιδράσεις), που υποκινούνται από ένζυμα, μειώνονται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Ταυτόχρονα ακραίες θερμοκρασίες (προς οποιαδήποτε κατεύθυνση) έχουν επίδραση στην συσσώρευση του CO<sub>2</sub> μέσω του κύκλου Calvin – Benson (43). Πιο συγκεκριμένα, υψηλότερες θερμοκρασίες σχετίζονται με υψηλότερα ποσοστά απορρόφησης CO<sub>2</sub>, ταυτόχρονα όμως διαταράσσουν την ενεργειακή ισορροπία των κυττάρων και δρουν ανασταλτικά για τις φωτοσυνθετικές πρωτεΐνες (41)(42). Οι υψηλές θερμοκρασίες επηρεάζουν την ανάπτυξη της μικροβιακής βιομάζας και μπορούν να την περιορίσουν. Κανένας φωτοσυνθετικός οργανισμός δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες άνω των 75°C, ενώ για τα ευκαρυωτικά φύκη, η μέγιστη δυνατή θερμοκρασία για την επιβίωσή τους είναι οι 62°C. Η βέλτιστη θερμοκρασία εξαρτάται από το στέλεχος που έχει επιλεγεί για καλλιέργεια, συνήθως όμως στις κυμαίνεται από 25°C – 30°C. (41)(43). Ως βέλτιστη θερμοκρασία χαρακτηρίζεται η θερμοκρασία στην οποία τα εκάστοτε μικροφύκη εμφανίζουν τον υψηλότερο ρυθμό ανάπτυξης.

Όταν το ισοζύγιο μεταφοράς θερμότητας ανάμεσα στην καλλιέργεια και το περιβάλλον της συγκλίνει, δεν απαιτείται έλεγχος της θερμοκρασίας, αφού η εισροή θερμότητας από την ακτινοβολία μεταφέρεται και

αντισταθμίζεται από τον αέρα που περιβάλλει το σύστημα. Η αρχή αυτή μπορεί να εφαρμοστεί σε φωτοαντιδραστήρες μικρής κλίμακας. Αντιδραστήρες εκτεθειμένοι σε εξωτερικά περιβάλλοντα είναι επιρρεπείς σε εποχιακές αλλαγές και σε διαστήματα υψηλής ηλιακής ακτινοβολίας (πχ θερινοί μήνες) υπάρχει ο κίνδυνος υπερθέρμανσης. Επομένως απαιτούνται επιπλέον συστήματα ψύξης και ελέγχου της θερμοκρασίας (42)(43). Ανάμεσα στα πιο αποτελεσματικά συστήματα ψύξης ενός αντιδραστήρα PBR είναι η βύθιση της καλλιέργειας σε ποσότητα νερού, η εγκατάσταση εναλλάκτη θερμότητας και ο ψεκασμός ψυχρού νερού στην επιφάνεια του φωτοαντιδραστήρα (43).

Πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη ενός κινητικού μοντέλου που να περιγράφει την επίδραση της θερμοκρασίας στον ρυθμό ανάπτυξης. Οι Mayo et al. (44) υποστήριξαν ότι ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης, ως συνάρτηση της θερμοκρασίας μπορεί να υπολογιστεί μέσω της εξίσωσης Arrhenius. Σύμφωνα με την εξίσωση αυτή, για κάθε αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10°C, η ανάπτυξη της βιομάζας διπλασιάζεται, έως ότου το σύστημα φτάσει στη βέλτιστη στη θερμοκρασία. Πάνω από το σημείο αυτό, η ανάπτυξη επιβραδύνεται λόγω του θερμικού στρες στο οποίο υπόκειται η καλλιέργεια (44).

$$\mu = A \cdot e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)}$$

Όπου  $A$  ο προεκθετικός παράγοντας / μέρα,  $E_a$  η ενέργεια ενεργοποίησης της περιοριστικής αντίδρασης (J/mole),  $R = 8,314 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$  η παγκόσμια σταθερά των αερίων και  $T$  η απόλυτη θερμοκρασία σε (°K). Όμως, η εφαρμογή της παραπάνω εξίσωσης σε καλλιέργειες μικροφυκών δεν είναι απόλυτα δόκιμη, αφού η ανάπτυξή τους είναι μία πολύπλοκη βιολογική διαδικασία που περιλαμβάνει διάφορες μεταβολικές οδούς και όχι μία απλή χημική αντίδραση. Επομένως, η εξίσωση Arrhenius δεν μπορεί να προβλέψει πλήρως την πολυπλοκότητα βιολογικών διεργασιών. Σε μία προσπάθεια να αντισταθμιστεί το μειονέκτημα αυτό, οι Bechet et al. (45) πρότειναν τον συνδυασμό της εξίσωσης Arrhenius με το κινητικό μοντέλο Monod. Έτσι, ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης της φωτοσύνθεσης προκύπτει ως το γινόμενο δύο διακριτών μεταβλητών της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας και της θερμοκρασίας.

$$\mu = \mu_{max} \cdot e^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \cdot \frac{\bar{I}}{K + \bar{I}}$$

Όπου  $\mu_{max}$  ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης ( $h^{-1}$ ),  $E_a$  η ενέργεια ενεργοποίησης της φωτοσύνθεσης (J),  $K$  η σταθερά Boltzmann (J/K),  $T$  η απόλυτη θερμοκρασία (°K) και  $\bar{I}$  η μέση ένταση της ακτινοβολίας στην καλλιέργεια ( $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

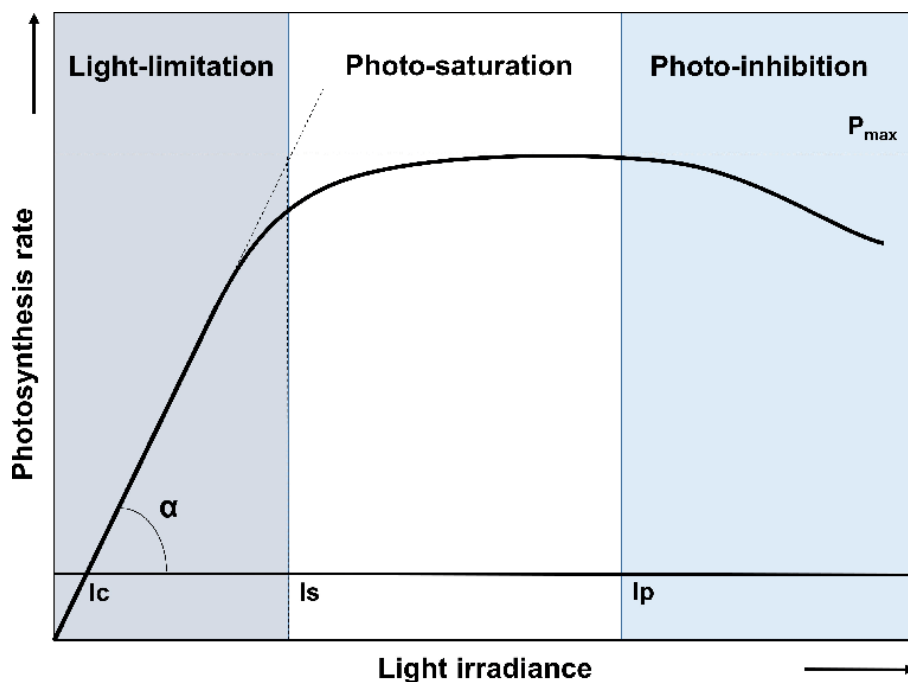
Ένα πιο ακριβές μοντέλο για την περιγραφή της εξάρτησης της μικροβιακής ανάπτυξης από τη θερμοκρασία είναι το *Θεμελιώδες Μοντέλο Θερμοκρασίας (Cardinal Temperature Model)*. Το μοντέλο αυτό, από τους Rosso et al (46), αναπτύχθηκε για να προβλέψει την ανάπτυξη βακτηρίων σε μη περιοριστικές συνθήκες θρεπτικών συστατικών και εφαρμόστηκε κυρίως στη βιομηχανία τροφίμων. Μία πρόσφατη έρευνα όμως (47), βασιζόμενη στο μοντέλο αυτό, ανέπτυξε ένα τροποποιημένο μοντέλο το οποίο προβλέπει με ακρίβεια την επίδραση της θερμοκρασίας και της ακτινοβολίας στην ανάπτυξη μικροφυκών, καλύπτοντας μάλιστα ένα ευρύ φάσμα

θερμοκρασιών και στελεχών. Ένα βασικό συμπέρασμα ήταν ότι κάποιες θεμελιώδης θερμοκρασίες αντιπροσωπεύουν την απόκριση της ανάπτυξης στη θερμοκρασία, για διαφορετικές συνθήκες ακτινοβολίας (47).

## Φως

Η φωτεινή ακτινοβολία είναι η βασική πηγή ενέργειας για τους φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς. Επομένως το είδος και η ποσότητα της ακτινοβολίας που δέχεται μία καλλιέργεια μικροφυκών είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας για τον ρυθμό ανάπτυξης της βιομάζας (41)(42)(43). Η ανάπτυξη καθορίζεται από τον ρυθμό της φωτοσύνθεσης, ο οποίος είναι άμεση συνάρτηση της ακτινοβολίας που λαμβάνουν τα κύτταρα εντός της καλλιέργειας (42). Τα διαφορετικά στελέχη μικροφυκών έχουν διαφορετικές απαιτήσεις στην ένταση και το μήκος κύματος, επομένως υπάρχει μία βέλτιστη ακτινοβολία για την κάθε καλλιέργεια. Υψηλές εντάσεις μπορούν να οδηγήσουν σε αναστολή της φωτοσύνθεσης και να βλάψουν τους φωτο-υποδοχείς των χλωροπλαστών (41), ενώ αντίθετα πολύ χαμηλές εντάσεις ακτινοβολίας περιορίζουν την ανάπτυξη.

Το *Διάγραμμα 5* περιγράφει την εξάρτηση του φωτοσυνθετικού ρυθμού από την ένταση του φωτός. Όταν  $I_c < I < I_s$  η φωτοσύνθεση περιορίζεται από το ρυθμό απορρόφησης φωτονίων. Ο ρυθμός της φωτοσύνθεσης γίνεται ανεξάρτητος από την ένταση στην περιοχή  $I_s < I < I_p$  (περιοχή κορεσμού), όπου μάλιστα είναι και μέγιστος (41). Στα περισσότερα είδη μικροφυκών η περιοχή κορεσμού κυμαίνεται από 100 έως 500  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (42). Όταν η ένταση αυξηθεί αρκετά και αρχίσει να λαμβάνει χώρα το φαινόμενο της φωτοαναστολής, ο ρυθμός αρχίζει να μειώνεται (φαινόμενο φωτοαναστολής) (41). Η φωτοαναστολή παρατηρείται για τιμές της έντασης μεγαλύτερες των 1000  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (βέβαια κάποια πιο ευαίσθητα στελέχη έχουν μικρότερη ανοχή).



Διάγραμμα 5: Καμπύλη φωτοσυνθετικής απόκρισης στην φωτεινή ακτινοβολία –  $\alpha$ , η κλίση της καμπύλης,  $P_{\max}$  ο μέγιστος φωτοσυνθετικός ρυθμός,  $I_c$  ένταση ακτινοβολίας όπου επικρατεί ισορροπία μεταξύ φωτοσύνθεσης και αναπνοής,  $I_s$  ακτινοβολία κορεσμού,  $I_p$  ακτινοβολία φωτοαναστολής

Η μέγιστη παραγωγικότητα επιτυγχάνεται στη μέση ακτινοβολία (*average irradiance, AI*). Η ένταση της ακτινοβολίας μέσα στην καλλιέργεια δεν κατανέμεται με ομοιόμορφο τρόπο και εξαρτάται από το πάχος της καλλιέργειας, το σχήμα του αντιδραστήρα και τη συγκέντρωση της βιομάζας. Επομένως, το μέγεθος της μέσης ακτινοβολίας είναι ιδιαίτερα σημαντικό αφού ομαλοποιεί τις συνθήκες ακτινοβολίας εντός της καλλιέργειας (42). Τοπικά, η τιμή της έντασης μπορεί να υπολογιστεί με εφαρμογή του νόμου Lambert – Beer (41)(42)

$$I_{local} = I_0 \cdot \exp(-\sigma Xl)$$

Όπου  $I_{local}$  η ένταση της ακτινοβολίας σε ένα συγκεκριμένο σημείο σε απόσταση  $l$  από την επιφάνεια,  $I_0$ ,  $\sigma$  ο συντελεστής απόσβεσης και  $X$  η κυτταρική συγκέντρωση της βιομάζας. Η βέλτιστη ένταση της ακτινοβολίας προσδιορίζεται πειραματικά με σκοπό να μεγιστοποιηθεί η βιοσυσσώρευση του  $CO_2$ , ενώ ταυτόχρονα να αποφευχθεί η φωτοαναστολή και να μειωθεί ο ρυθμός της φωτοαναπνοής (41).

Εκτός όμως από την ένταση της ακτινοβολίας, παίζει σημαντικό ρόλο και το είδος της, δηλαδή σε ποια περιοχή του φάσματος αντιστοιχεί. Όπως αναλύθηκε και σε προηγούμενη ενότητα, τα διάφορα είδη μικροφυκών περιέχουν διαφορετικές χρωστικές ουσίες (χλωροφύλλες, καροτενοειδή, φυκοβιλίνες), η κάθε μια από τις οποίες απορροφά το φως σε διαφορετικά μήκη κύματος. Στο ερυθρό κομμάτι του φάσματος (700 – 650nm) έχουν παρατηρηθεί υψηλότεροι ρυθμοί ανάπτυξης σε μικρότερα κύτταρα αλλά χαμηλότερη απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Αντίθετα στην μπλε περιοχή (– 450nm) επηρεάζεται η έκφραση των γονιδίων και ορισμένες μεταβολικές οδοί των μικροφυκών, οδηγώντας μεν σε καλύτερη απορρόφηση θρεπτικών αλλά ταυτόχρονα σε χαμηλότερους ρυθμούς ανάπτυξης. Επίσης, η ποιότητα της ακτινοβολίας μπορεί να επηρεάσει τη φωτομορφογένεση, την μορφολογία δηλαδή των μικροφυκών ως απόκριση στην ακτινοβολία. Για παράδειγμα, καθώς τα χαμηλά μήκη κύματος επηρεάζουν τη σύνθεση ορισμένων δευτερογενών μεταβολιτών επηρεάζεται άμεσα το σχήμα και το μέγεθος των κυττάρων.

Στο περιβάλλον, η πηγή της φωτεινής ακτινοβολίας είναι ο ήλιος, για την καλλιέργεια μικροφυκών όμως μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης δίοδοι εκπομπής φωτός (LEDs), λάμπες αλογόνου, πυρακτώσεως και φθορισμού. Οι πηγές αυτές διαφέρουν ως προς την κατανομή του μήκους κύματος, την κατανάλωση ενέργειας και το κόστος, επομένως επιλέγεται το είδος της πηγής ανάλογα με τις απαιτήσεις της εκάστοτε εφαρμογής. Από τα παραπάνω, πιο συχνά χρησιμοποιούνται οι λάμπες φθορισμού και οι LED, και ειδικά οι LED, αφού σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πηγές ακτινοβολίας προσφέρουν καλύτερο έλεγχο και χρησιμοποιούν διαφορετικά μήκη κύματος (42).

### Θρεπτικά συστατικά και μέσο καλλιέργειας

Για την καλλιέργεια μικροφυκών απαιτούνται οι απαραίτητες ποσότητες μακροθρεπτικών, βιταμινών και ιχνοστοιχείων. Οι συγκεντρώσεις και οι αναλογίες των συστατικών του μέσου καλλιέργειας είναι ιδιαίτερα σημαντικές στον ρυθμό ανάπτυξης της βιομάζας, αφού πολλά κινητικά μοντέλα προσδιορίζουν τον ρυθμό ως συνάρτηση των συστατικών που δεν βρίσκονται σε περίσσεια. Έτσι η σύνθεση του μέσου καλλιέργειας

επηρεάζει τη συνολική παραγωγικότητα της βιομάζας και τη βιοχημική σύνθεση των κυττάρων. Τυπικά, το μέσο καλλιέργειας περιέχει (41)(42)(43):

- Νερό: Αποτελεί τη βάση του μέσου καλλιέργειας. Είναι σημαντικό να είναι απαλλαγμένο από ρύπους και μικροοργανισμούς που θα μπορούσαν να δράσουν αρνητικά στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιείται συνήθως απιονισμένο ή υπερκάρθρο νερό.
- Μακροθρεπτικά: Περιλαμβάνουν απαραίτητα στοιχεία και περιλαμβάνονται στο μέσο καλλιέργειας σε σχετικά μεγάλες ποσότητες. Κάποια από αυτά είναι το άζωτο (συνήθως με τη μορφή  $\text{NO}_3^-$  ή  $\text{NO}_4^+$ ), ο φώσφορος (με τη μορφή  $\text{PO}_4^{3-}$ ), το κάλιο (ως άλας) και το θείο (με τη μορφή  $\text{SO}_4^{2-}$ )
- Ιχνοστοιχεία: Αυτά περιλαμβάνουν το σίδηρο, ο οποίος είναι απαραίτητος για τη σύνθεση της χλωροφύλλης εντός των κυττάρων, το μαγγάνιο, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το μολυβδαίνιο και άλλα. Ορισμένα στελέχη μικροφυκών μπορεί να απαιτούν επίσης συγκεκριμένα ιχνοστοιχεία όπως το κοβάλτιο ή το σελήνιο, για την ενίσχυση της ανάπτυξής τους.
- Βιταμίνες: Τα μικροφύκη μπορούν να επωφεληθούν από την προσθήκη βιταμινών στο μέσο καλλιέργειας, όπως το σύμπλεγμα βιταμινών B, που επιδρά στις μεταβολικές διεργασίες.
- Χημικοί παράγοντες: Μπορούν να συμπεριληφθούν με σκοπό να δεσμεύσουν τα μεταλλικά ιόντα, ώστε αυτά να μην γίνουν τοξικά ή δράσουν περιοριστικά. Παράδειγμα χημικού παράγοντα είναι το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA).
- Άνθρακας: Για τη φωτοσύνθεση απαιτείται κάποια πηγή άνθρακα. Στην καλλιέργεια συνήθως διοχετεύεται με τη μορφή  $\text{CO}_2$  ή χρησιμοποιούνται διττανθρακικά ιόντα ή ακόμα και άλλες οργανικές πηγές άνθρακα.

Η σύνθεση του μέσου εξαρτάται από το στέλεχος που πρόκειται να καλλιεργηθεί, τις ανάγκες του και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Η σύνθεση αυτή μπορεί να βελτιστοποιηθεί με βάση τις απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά και τα μεταβολικά χαρακτηριστικά του στελέχους.

### Άνθρακας

Ο άνθρακας αποτελεί το βασικό συστατικό της βιομάζας των μικροφυκών, φτάνοντας μέχρι και το 65% του ξηρού βάρους της. Η πλειονότητα όμως των στελεχών περιέχει περίπου 50% w/ dry weight και οποιαδήποτε αύξηση του ποσοστού αυτού συμβαίνει λόγω της μείωσης άλλων θρεπτικών συστατικών όπως το άζωτο και ο φώσφορος (41)(42). Έτσι, για την παραγωγή 1kg βιομάζας, τα μικροφύκη απαιτούν από 1.8 έως 2 kg  $\text{CO}_2$ . Η προσθήκη  $\text{CO}_2$  σε μία καλλιέργεια, δεν χρησιμοποιείται μόνο ως πηγή άνθρακα, αλλά ταυτόχρονα σταθεροποιεί το pH και διασφαλίζει ότι μεγαλύτερη ποσότητα άνθρακα είναι διαθέσιμη για τα κύτταρα (43). Εντός της καλλιέργειας, ο άνθρακας αφομοιώνεται μέσω της φωτοσύνθεσης κυρίως στην ανόργανη μορφή του βάσει της εξίσωσης:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+$  (41)(43)

Η ισορροπία της παραπάνω εξίσωσης εξαρτάται από το pH της καλλιέργειας. Έτσι για  $\text{pH} < 6.5$  η ισορροπία μετατοπίζεται προς τα αριστερά και επικρατεί η μορφή  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . Αντίστοιχα για τιμές  $6.5 < \text{pH} < 10$  η κύρια μορφή είναι το ιόν  $\text{HCO}_3^-$ , ενώ για  $\text{pH} > 10$  η ισορροπία μετατοπίζεται προς τα δεξιά και επικρατεί η μορφή



$CO_3^{2-}$  (41). Τα περισσότερα μικροφύκη προσλαμβάνουν τον άνθρακα ως  $CO_2$  και  $HCO_3^-$ , υπάρχουν όμως και μερικά είδη που προσλαμβάνουν συγκεκριμένα μόνο μία από τις δύο αυτές μορφές (43).

Σε περιπτώσεις που το pH είναι πολύ υψηλό, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανθρακικό ασβέστιο ( $CaCO_3$ ), ως εναλλακτική πηγή  $CO_2$ . Η διαδικασία περιλαμβάνει κατακρήμνιση του  $CaCO_3$  ως ιόντα ασβεστίου, τα οποία μάλιστα συμβάλουν στην πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών από τους μικροοργανισμούς και προλαμβάνουν την ενδοκυτταρική τοξικότητα (41).

Βάσει των πιο πρόσφατων δεδομένων, η περιεκτικότητα της ατμόσφαιρας σε  $CO_2$  είναι περίπου 421ppm ή 0,04% v/v. Έτσι, οι έρευνες σχετικά με την επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων  $CO_2$  στην ανάπτυξη των μικροφυκών έχουν επικεντρωθεί προς το παρόν σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, της τάξεως του 0,5%  $CO_2$  v/v. Για να αξιοποιηθούν όμως αυτοί οι μικροοργανισμοί στη αποτελεσματική δέσμευση  $CO_2$  από πχ ένα ρεύμα καυσαερίων, θα πρέπει να μπορούν να αναπτυχθούν και σε υψηλότερες περιεκτικότητες διοξειδίου του άνθρακα (43). Τα καυσαέρια από εργοστάσια καύσης άνθρακα ή φυσικού αερίου, περιέχουν περίπου 10% – 25%  $CO_2$  και θα πρέπει πριν διοχετευθούν σε κάποια καλλιέργεια, να επεξεργαστούν καταλλήλως ώστε να αφαιρεθούν οι ποσότητες οξειδίων  $NO_x$  και  $SO_x$  (41).

#### Άζωτο

Το άζωτο είναι επίσης σημαντικό μακροθρεπτικό, απαραίτητο για την ανάπτυξη των μικροφυκών. Συνήθως παρέχεται στην καλλιέργεια μέσω νιτρικών αλάτων ή αμμωνίας και στη βιομάζα των μικροφυκών εμφανίζεται σε περιεκτικότητα 1% - 14% w/ dry weight. Η πηγή αζώτου που χρησιμοποιείται δεν φαίνεται να διαφοροποιεί ιδιαίτερα τον ρυθμό ανάπτυξης των μικροφυκών, παρόλα αυτά προτιμάται η αμμωνία (αμμώνιο) γιατί εμφανίζει τη μικρότερη κατανάλωση ενέργειας κατά την αφομοίωση του αζώτου σε σχέση με τις υπόλοιπες πηγές (41)(42). Η ουρία, αποτελεί την σημαντικότερη πηγή οργανικού αζώτου, καθώς υδρολύεται σε αμμωνία και ανθρακικό οξύ, τα οποία αξιοποιούνται και τα δύο από τα μικροφύκη για την παροχή αζώτου (41). Το άζωτο είναι υπεύθυνο για το σχηματισμό πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και φωτοσυνθετικών χρωστικών εντός των κυττάρων, ενώ ο μηχανισμός αφομοίωσης των ιόντων  $NO_3^-$  και  $NO_4^+$  από τα μικροφύκη πραγματοποιείται μέσω ενεργής μεταφοράς τους χάρη σε εξειδικευμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες. Σε περιπτώσεις ελλείματος αζώτου, τα κύτταρα αποχρωματίζονται γιατί μειώνεται η περιεχόμενη χλωροφύλλη (και ταυτόχρονα αυξάνονται τα καροτενοειδή), ενώ παρατηρείται συσσώρευση οργανικών ενώσεων, όπως πολυσακχαριτών και ελαίων (42). Από την άλλη πλευρά, υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου, επηρεάζουν αρνητικά τη μικροβιακή ανάπτυξη, δημιουργώντας ένα τοξικό περιβάλλον για τα κύτταρα (41).

#### Φώσφορος

Η συγκέντρωση του φωσφόρου στη βιομάζα κυμαίνεται από 0,05% - 3,3% w/ dry weight και όπως το άζωτο αφομοιώνεται από τα κύτταρα των μικροφυκών μέσω της ενεργού μεταφοράς. Παρέχεται συνήθως με τη μορφή  $PO_4^{3-}$  για λόγους ενεργειακής εξοικονόμησης. Η σύσταση της παραγόμενης βιομάζας σε λιπίδια και υδατάνθρακες επηρεάζεται από την περιεκτικότητα σε φώσφορο, ενώ πιθανό έλλειμά επηρεάζει επίσης τις φωτοσυνθετικές χρωστικές και το χρώμα των κυττάρων, όχι όμως στον ίδιο βαθμό με το άζωτο. Ακόμα, τα

μικροφύκη έχει την ικανότητα να συγκεντρώνουν ενδοκυτταρικά αποθέματα φωσφόρου, τα οποία αξιοποιούν όταν εξαντληθούν τα φωσφορικά άλατα στο μέσο καλλιέργειας. Για το λόγο αυτό, καλλιέργειας μικροφυκών μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε εφαρμογές επεξεργασίας λυμάτων (41)(42).

## pH

Το pH και η κατάλληλη ρύθμισή του είναι υψηλής σημασίας στην καλλιέργεια μικροφυκών, καθώς εκτός από την παραγωγικότητα της βιομάζας και τη ζωτικότητα των κυττάρων, καθορίζει και τη διαλυτότητα των αλάτων και του CO<sub>2</sub> στο μέσο καλλιέργειας. Το pH επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η σύσταση του μέσου, η συγκέντρωση του διαλυμένου διοξειδίου του άνθρακα, η θερμοκρασία και η μεταβολική δραστηριότητα των κυττάρων, ενώ τα όρια ανοχής για το pH εξαρτώνται από το εκάστοτε στέλεχος (42). Συνήθως εύρη pH για την καλλιέργεια μικροφυκών είναι 7,9 – 8,6 για στελέχη που ζουν σε θαλάσσια περιβάλλοντα και 6 – 9 για στελέχη του γλυκού νερού (41). Σε κλειστά συστήματα, το pH μπορεί να φτάσει τιμές μέχρι και 10 – 11, καθώς η αύξηση της βιομάζας τείνει να ανεβάσει το pH (αφού το pH του κυτταροπλάσματος των μικροφυκών είναι ουδέτερο ή ελαφρώς αλκαλικό), δημιουργώντας ένα πολύ αλκαλικό περιβάλλον για την επιβίωση της καλλιέργειας. Για να αποφευχθεί αυτό, το pH μπορεί να ρυθμιστεί μέσω της παροχής CO<sub>2</sub> ή με κάποιο ρυθμιστικό διάλυμα. Γενικά, ακραίες συνθήκες pH, προς οποιαδήποτε κατεύθυνση, μπορεί να προκαλέσουν διαταραχές στις κυτταρικές διεργασίες και να οδηγήσουν στον θάνατο της καλλιέργειας (42).

## Ανάδευση

Η κατάλληλη ανάδευση διασφαλίζει ότι εντός του διαλύματος της καλλιέργειας υπάρχει επαρκής ανάμιξη για την ομοιόμορφη κατανομή των θρεπτικών συστατικών και την αποφυγή της καθίζησης. Επίσης η ανάδευση παίζει βασικό ρόλο στην ισορροπία των αερίων και του pH εντός του συστήματος και ελαχιστοποιεί την δημιουργία τυχών βαθμίδων που θα περιόριζαν την ανάπτυξη των κυττάρων. Ακόμα, διευκολύνει τη μεταφορά θερμότητας και μέσω της ανάδευσης, επιτυγχάνεται ομοιόμορφη έκθεση των κυττάρων στην φωτεινή ακτινοβολία. Υπάρχουν δύο βασικοί μέθοδοι ανάδευσης στις καλλιέργειες μικροφυκών· η ανάδευση μέσω αερισμού με φυσαλίδες αερίου και η μηχανική ανάδευση. Ορισμένα στελέχη είναι ευαίσθητα στην έντονη ανάδευση, επομένως είναι μία παράμετρος που πρέπει να ληφθεί υπόψιν κατά το σχεδιασμό ενός βιοαντιδραστήρα. Υπερβολική ανάδευση δημιουργεί μηχανικό στρες στα κύτταρα της καλλιέργειας, εξαιτίας των υδροδυναμικών και δυνάμεων διάτμησης που αναπτύσσονται, περιορίζοντας έτσι την ανάπτυξή τους (42)(43).

## 2.6 Συστήματα Καλλιέργειας Μικροφυκών

Τα συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών περιλαμβάνουν προηγμένους βιοαντιδραστήρες, οι οποίοι δημιουργούν το κατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι βιοαντιδραστήρες παρέχουν την δυνατότητα ελέγχου και βελτιστοποίησης των κρίσιμων παραγόντων, όπως της θερμοκρασίας,

της ακτινοβολίας και της διαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών, ενισχύοντας έτσι την ανάπτυξη και την παραγωγικότητα της καλλιέργειας. Ο βασικός στόχος του συστήματος είναι να εκτίθεται το μεγαλύτερο δυνατό ποσοστό της καλλιέργειας στις βέλτιστες συνθήκες, με το χαμηλότερο κόστος (41)(49).

### 2.6.1 Ανοιχτά συστήματα

Σε εμπορική κλίμακα, το 99% της βιομάζας μικροφυκών παράγεται σε ανοιχτούς φωτοβιοαντιδραστήρες (PBRs) (49). Τα ανοικτά συστήματα αξιοποιούν την ηλιακή ενέργεια για τις απαιτήσεις της καλλιέργειας σε φωτεινή ακτινοβολία και έχουν μικρότερο κόστος κατασκευής και λειτουργίας. Παρόλα αυτά, σε αυτού του τύπου τους βιοαντιδραστήρες ο έλεγχος των συνθηκών είναι πιο δύσκολος, ενώ εγκυμονεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης (50). Έτσι η παραγωγικότητα που επιτυγχάνεται είναι χαμηλότερη από τη θεωρητικά δυνατή. Επίσης, η διαθεσιμότητα διοξειδίου του άνθρακα, για την ανάπτυξη της καλλιέργειας, είναι περιορισμένη, όμως η προσθήκη CO<sub>2</sub> σε αυτά τα συστήματα είναι συνήθως αναποτελεσματική και οικονομικά ασύμφορη (51). Ο πιο συχνός τύπος βιοαντιδραστήρα ανοιχτού συστήματος είναι οι *φωτοαντιδραστήρες ανοικτής διαδρομής* (open raceway photobioreactors). Αποτελούνται από μεγάλα, ρηγά κανάλια, με συνεχή ροή της καλλιέργειας και πλεονεκτούν έναντι των υπόλοιπων συστημάτων λόγω του απλού και οικονομικά αποδοτικού σχεδιασμού τους. Τα κανάλια έχουν συνήθως βάθος 15 - 30cm και ρυθμό ροής 15 -30 cm<sup>-1</sup> και η δομή τους επιτρέπει την αποτελεσματική έκθεση της καλλιέργειας στην ηλιακή ακτινοβολία. Η ανάδευση εντός των καναλιών πραγματοποιείται με ένα σύστημα φτερωτών ή μέσω συστήματος κυκλοφορίας αέρα (50)(51).

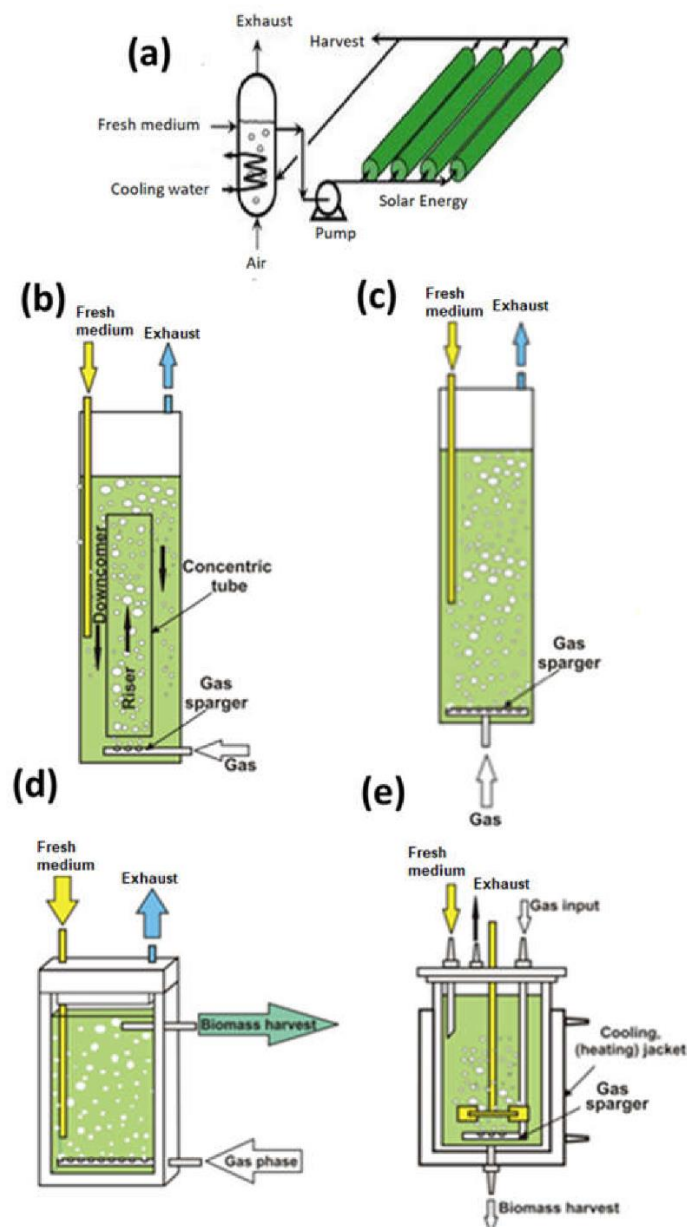


Εικόνα 4: Παράδειγμα ανοικτού συστήματος καλλιέργειας μικροφυκών - Φωτοαντιδραστήρας ανοικτής διαδρομής (open raceway photobioreactor)

### 2.6.2 Κλειστά συστήματα

Τα κλειστά συστήματα (φωτοβιοαντιδραστήρες) καλλιέργειας μικροφυκών, γνωστά και PBRs , προσφέρουν ελεγχόμενα περιβάλλοντα για την ανάπτυξη μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των μικροαλγών, παρέχοντας πλεονεκτήματα όπως αυξημένη παραγωγικότητα, αποφυγή επιμόλυνσεων και δυνατότητα καθορισμού και παρακολούθησης των συνθηκών καλλιέργειας. Ακόμα, εμφανίζουν καλύτερη θερμική

κατανομή στο υπόστρωμα καλλιέργειας και επιτυγχάνουν υψηλότερες αποδόσεις σε σχέση με τις ανοικτές δεξαμενές. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες μπορούν να ταξινομηθούν σε διάφορες κατηγορίες με βάση τον σχεδιασμό και τη λειτουργία τους. Έτσι, ποικίλοι τύποι φωτοβιοαντιδραστήρων αξιοποιούνται στην παραγωγή μικροφυκών, όπως οι αντιδραστήρες επίπεδης επιφάνειας, κάθετων στηλών, στηλών με φυσαλίδες, οι σωληνωτοί φωτοβιοαντιδραστήρες και άλλοι. Κάθε διάταξη έχει συγκεκριμένα πλεονεκτήματα, όπως και περιορισμούς και ο σχεδιασμός της απαιτεί καλή γνώση των διάφορων φυσικών και βιολογικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα. Σε κάθε περίπτωση όμως, σε σύγκριση με τις ανοικτές δεξαμενές, έχουν μεγαλύτερα κόστη κατασκευής και λειτουργίας, όπως και περιορισμένη δυνατότητα scale – up.



Εικόνα 5: Σχηματικά διαγράμματα των βασικών τύπων φωτοβιοαντιδραστήρων - (a) σωληνοειδής, (b) στήλη airlift, c) κατακόρυφη στήλη φυσαλίδων, (d) επίπεδης επιφάνειας, (e) φωτοαντιδραστήρας με μηχανικό σύστημα ανάδευσης

## 2.7 Αξιοποίηση παραγόμενης βιομάζας

Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας καλλιέργειας, η παραγόμενη βιομάζα των μικροφυκών μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή βιοκαυσίμων όπως βιοντίζελ και βιοαιθανόλη. Το προς ποιο βιοκαύσιμο θα κατευθυνθεί η βιομάζα εξαρτάται από την περιεχόμενη ποσότητα λιπιδίων και σακχάρων, τα οποία ποσοστά διαφοροποιούνται ανάλογα το στέλεχος.

Αρχικά η καλλιέργεια πρέπει να υποβληθεί σε διεργασία διαχωρισμού υγρής – στερεής φάσης, όπως η φυγοκέντρηση, η κροκίδωση, η καθίζηση και η υπερηχητική συσσωμάτωση (ultrasonic aggregation). Η στερεή φάση στη συνέχεια αφυδατώνεται και ξηραίνεται (μέχρι περίπου 12-15% περιεκτικότητα σε υγρασία). Για την παραγωγή βιοντίζελ, πραγματοποιείται εξαγωγή του ελαίου των μικροφυκών (53). Το βιοντίζελ παράγεται από τα λιπίδια ή τα λιπαρά οξέα των μικροφυκών μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται μετεστεροποίηση. Τα λιπίδια εξάγονται από τα μικροφύκη και στη συνέχεια μετατρέπονται σε βιοντίζελ μέσω χημικής αντίδρασης με αλκοόλη και καταλύτη. Αυτή η διεργασία παραγωγής του εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα όπως υψηλές αποδόσεις, χαμηλή κατανάλωση νερού και μειωμένες εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου (54).

Η βιοαιθανόλη, από την άλλη πλευρά, παράγεται από τους υδατάνθρακες ή τα σάκχαρα των μικροφυκών μέσω ζύμωσης. Οι υδατάνθρακες εξάγονται από τα μικροφύκη και στη συνέχεια μετατρέπονται σε βιοαιθανόλη μέσω μιας διαδικασίας παρόμοιας με την παραγωγή μύρας ή κρασιού. Η βιοαιθανόλη από μικροφύκη αποτελεί μία ανανεώσιμη και βιώσιμη εναλλακτική λύση στην παραδοσιακή βενζίνη, με το πρόσθετο όφελος των χαμηλότερων εκπομπών (54).

## 3 Πειραματική Διαδικασία

---

Σε συνεργασία με το Τμήμα Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Αιγαίου, πραγματοποιήθηκαν δύο βασικά πειράματα για την παρακολούθηση της ανάπτυξης του στελέχους *Arthrospira Platensis* PCC 8005 και την αξιολόγηση της δυνατότητας αφομοίωσης διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>). Η καλλιέργεια πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικούς φωτοβιοαντιδραστήρες: έναν φωτοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας με διοχέτευση αέρα (vertical surface airlift photoreactor) (Παν. Αιγαίου) και έναν κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης (modular photochemical development system) (EMΠ). Καθώς ο κάθε αντιδραστήρας λειτουργεί με διαφορετικές αρχές, οι συνθήκες λειτουργίες έπρεπε να προσαρμοστούν στην εκάστοτε περίπτωση με άξονα τη βελτιστοποίηση της παραγωγής βιομάζας. Τα δύο συστήματα και οι αντίστοιχες συνθήκες διεξαγωγής των πειραμάτων θα παρουσιαστούν παρακάτω, στην παρούσα ενότητα.

### 3.1 *Arthrospira (Spirulina) Platensis*

Το στέλεχος *Arthrospira (Spirulina) Platensis* είναι ένα φωτοαυτότροφο, προκαρυωτικό κυανοβακτήριο, νηματοειδής μορφολογίας και μπλε – πράσινου χρώματος (55), που μπορεί να καλλιεργηθεί σε μεγάλη κλίμακα τόσο σε ανοιχτά όσο και σε κλειστά συστήματα. Είναι ένα ιδιαίτερα “ελκυστικό” στέλεχος, καθώς εμφανίζει υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης, είναι ανθεκτικό σε περιβαλλοντικές αλλαγές και έχει υψηλή ικανότητα βιοσυσσώρευσης CO<sub>2</sub>, ακόμα και από ένα ρεύμα καυσαερίων (52). Έχει υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, πρωτεΐνες και σάκχαρα, ενώ είναι πλούσιο σε γ – λινολενικό οξύ (GLA), βιταμίνες του συμπλέγματος B, καροτίνη και ασκορβικό οξύ (55). Για το λόγο αυτό, η παραγόμενη βιομάζα έχει υψηλή διατροφική αξία ενώ μπορεί να αξιοποιηθεί και στην παραγωγή υγρών βιοκαυσίμων πρώτης γενιάς, όπως βιοντίζελ (μέσω μετεστεροποίησης), βιοαερίου (μέσω αναερόβιας χώνευσης), βιοαιθανόλης (μέσω ζύμωσης) καθώς και την φωτοβιολογική παραγωγή υδρογόνου.

Η *Arthrospira Platensis* εντοπίζεται σε περιβάλλοντα όπου επικρατούν υψηλές συγκεντρώσεις ανθρακικών και διττανθρακικών ιόντων. Επίσης μπορεί να αναπτυχθεί και σε υψηλές συνθήκες αλάτων λόγω της ανοχής του στελέχους σε αλκάλια και άλατα. Μπορεί να καλλιεργηθεί σε μεγάλη κλίμακα για μεγαλύτερη παραγωγή βιομάζας, τόσο σε εξωτερικές όσο και σε εσωτερικές συνθήκες, ενώ αναπτύσσεται καλύτερα σε ανοιχτά υδάτινα σώματα. Στα πλεονεκτήματά του συγκεκριμένου στελέχους περιλαμβάνονται η εύκολη ανάκτηση του λιπιδικού μέσου, η παραγωγή βιομάζας υψηλότερης διατροφικής αξίας, η δυνατότητα scale up, η ανθεκτικότητά του όπως επίσης και η ικανότητα βιοσυσσώρευσης CO<sub>2</sub> από καυσαέρια (69). Ακόμα, μέσω της διαδικασίας της αεριοποίησης, μετατρέπεται σε (βιο)μεθανόλη, με μέγιστη απόδοση (yield) 0,64g μεθανόλης ανά γραμμάριο βιομάζας (στους 1000°C) (68).

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την επίτευξη του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης είναι περίπου 30° – 35° C, ενώ το pH βάσει των συνθηκών που επικρατούν στο μέσο καλλιέργειας (περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα και διττανθρακικά) κυμαίνεται μεταξύ 9 – 10 (52)(56)(69). Η ένταση φωτός προτείνεται να είναι από 1500 έως 3500 lux και συνήθως για την ακτινοβόληση χρησιμοποιούνται λάμπες φθορισμού (40W), οι οποίες λειτουργούν σε φωτοπερίόδους (light/dark cycles) 12 ωρών. Η περιεκτικότητα σε διοξείδιο του άνθρακα για την ανάπτυξη του στελέχους ανέρχεται συνήθως στα 10% v/v (69).

Σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Ενέργειας, η ετήσια παραγωγή των στελεχών spirulina παγκοσμίως ανέρχεται σε περίπου 10000 τόνους (ξηρής βιομάζας), εκ των οποίων το 50% παράγεται στην Κίνα (70).

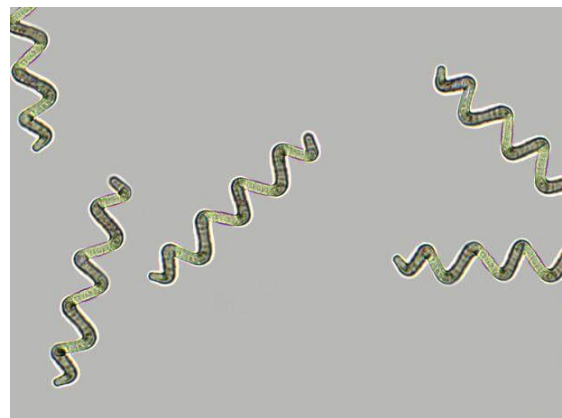
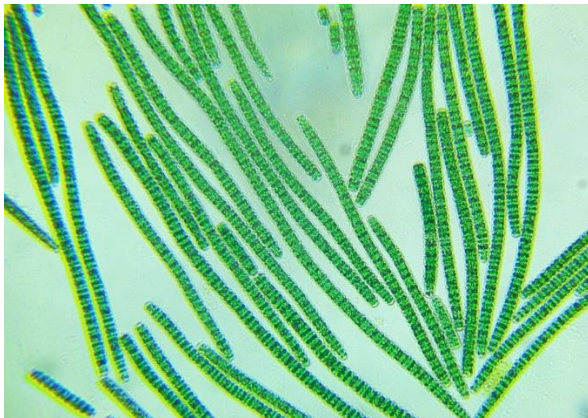
### 3.1.1. Παρατήρηση στελέχους στο μικροσκόπιο

Στο πλαίσιο της πειραματικής διαδικασίας, πραγματοποιήθηκε παρατήρηση δείγματος του στελέχους *Arthrospira Platensis* σε μικροσκόπιο. Γενικά, όπως αναφέρθηκε, πρόκειται για ένα πράσινου-μπλε χρώματος και ελικοειδούς μορφής κυανοβακτήριο. Στο μικροσκόπιο, εντοπίστηκε ως ίνες πράσινου χρώματος, που όμως στην πλειοψηφία είχαν χάσει την ελικοειδή μορφή τους και ήταν γραμμικές. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται σε ποικίλους παράγοντες. Αρχικά, καθώς το φως παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του στελέχους, διαφορετικές εντάσεις και μήκη κύματος μπορούν να επηρεάσουν την μορφή της περιέλιξης, Υψηλότερες εντάσεις φωτός τείνουν να οδηγήσουν στο σχηματισμό ευθύγραμμων ινών, ενώ οι χαμηλότερες συντηρούν την ελικοειδή περιέλιξη. Ακόμα, διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως το pH, η θερμοκρασία, η αλατότητα, και τα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα, μπορούν να επηρεάσουν τη συνολική φυσιολογία και μορφολογία του κυανοβακτηρίου, οδηγώντας δυνητικά και σε αλλαγές στην περιέλιξη των ινών. Σε ευθυγράμμιση όμως μπορούν να οδηγήσουν και μηχανικές δυνάμεις όπως η ανάδευση ή επίσης ανισορροπίες και ελλείψεις στις συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών (όπως αζώτου, φωσφόρου και ιχνοστοιχείων) (71)(72).

Στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν είναι εφικτό να προσδιοριστεί ο παράγοντας που οδήγησε στην ευθυγράμμιση του μορίου, καθώς το δείγμα προήλθε από ανακαλλιέργειες. Σε κάθε περίπτωση, υπάρχει πάντα και οι πιθανότητα γενετικών παραγόντων και όχι εξωγενών, όπως γενετικές παραλλαγές και μεταλλάξεις που επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στη μορφολογία των ινών.



Εικόνα 6: Ελικοειδής ίνα του κυανοβακτηρίου *Arthrospira Platensis* μέσα από το μικροσκόπιο



Εικόνα 7: Το στελέχος *Arthrospira Platensis*, εικόνες από τη βιβλιογραφία

### 3.2 Παραγωγή θρεπτικού μέσου

Για την καλλιέργεια του στελέχους *Arthrospira Platensis* PCC 8005 παρασκευάστηκε μία εκδοχή του θρεπτικού μέσου Zarrouk. Το μέσο καλλιέργειας Zarrouk αναπτύχθηκε τη δεκαετία του 1960 και έκτοτε αποτελεί το πρότυπο μέσο για την καλλιέργεια κυανοβακτηρίων, τόσο σε εργαστήρια όσο και στα συστήματα παραγωγής σε μεγάλη κλίμακα. Το μέσο αυτό παρέχει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη του στελέχους, όπως άζωτο, κάλιο, φώσφορο, διάφορα ιχνοστοιχεία και τις απαραίτητες πηγές άνθρακα. Οι ποσότητες των συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν κατά την παρούσα πειραματική διαδικασία αναγράφονται στους επόμενους πίνακες και προέρχονται από την βιβλιογραφία (58) ως η ελάχιστη βέλτιστη σύσταση για την καλλιέργεια της *Arthrospira Platensis*. Ακόμα, το νερό που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του μέσου, ήταν υπερκάθαρο. Το περιβάλλον που δημιουργείται βάσει των συστατικών είναι αλκαλικό (pH ~ 9.5), το οποίο είναι ευνοϊκό για την ανάπτυξη του συγκεκριμένου στελέχους.



Πίνακας 2: Σύσταση μέσου Zarrouk που χρησιμοποιήθηκε για την καλλιέργεια του στελέχους *Arthrospira Platensis*

Constituents	g L <sup>-1</sup>
NaCl	1.0
CaCl <sub>2</sub>	0.03
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.0
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0.08
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
NaNO <sub>3</sub>	2.5
NaHCO <sub>3</sub>	10.5
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	7.6
EDTA	0.08
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0.01

Πίνακας 3: : Σύσταση διαλύματος ιχνοστοιχείων (1mL ανά λίτρο μέσου)

Constituents	g L <sup>-1</sup>
MnCl <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	0.23
ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0.11
CuSO <sub>4</sub> , 5 H <sub>2</sub> O	0.03

Πριν την χρήση του μέσου για καλλιέργεια (ή ανακαλλιέργεια) της βιομάζας, πραγματοποιείται κάθε φορά αποστείρωση<sup>4</sup>, ώστε να αποφευχθούν τυχόν επιμολύνσεις. Για τα πειράματα που έλαβαν χώρα στο Παν. Αιγαίου, η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση κλιβάνου, στους 121°C για 21 λεπτά και το μέσο χρησιμοποιήθηκε μετά από 24h. Στην περίπτωση των πειραμάτων στο ΕΜΠ, από την άλλη, η αποστείρωση έγινε με λάμπα UV για 45min. Κάθε μία από τις δύο μεθόδους αποτελεί ικανοποιητικό τρόπο αποστείρωσης του θρεπτικού μέσου, χωρίς να επηρεάζει τη σύστασή του.

### 3.3 Καλλιέργεια σε φωτοβιοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας με διοχέτευση αέρα (vertical surface airlift photoreactor, VSAPs) – Τμήμα Περιβάλλοντος Παν.Αιγαίου

Η βασική αρχή λειτουργίας ενός αντιδραστήρα VSAP περιλαμβάνει την κυκλοφορία της καλλιέργειας σε μία κάθετη επιφάνεια, μέσω ενός συστήματος αερισμού, με στόχο τη βελτιστοποίηση της ακτινοβολίας. Στο παρόν πείραμα, ο αντιδραστήρας που χρησιμοποιήθηκε κατασκευάζεται από την εταιρεία INFORS HT (μοντέλο Labfors 5 for phototropic organisms). Έχει όγκο λειτουργίας 1.8L και περιλαμβάνει πηγή φωτός Hybride LED, σε μορφή φωτεινού πάνελ. Το φως που διοχετεύεται είναι θερμό, λευκό και στο φάσμα του ορατού, προσομοιάζοντας το φυσικό φως της ημέρας. Για την παρακολούθηση της διεργασίας της

<sup>4</sup> Σε κάθε περίπτωση εκτός από το μέσο καλλιέργειας, αποστειρώθηκαν και τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια για την ανακαλλιέργεια (σιφώνια, κωνικές φιάλες).

φωτοσύνθεσης, ο αντιδραστήρας συνδέθηκε με ένα καταγραφικό αερίων, το οποίο πραγματοποιούσε μετρήσεις O<sub>2</sub> και CO<sub>2</sub> στην έξοδο, καθ' όλη τη διάρκεια λειτουργίας.

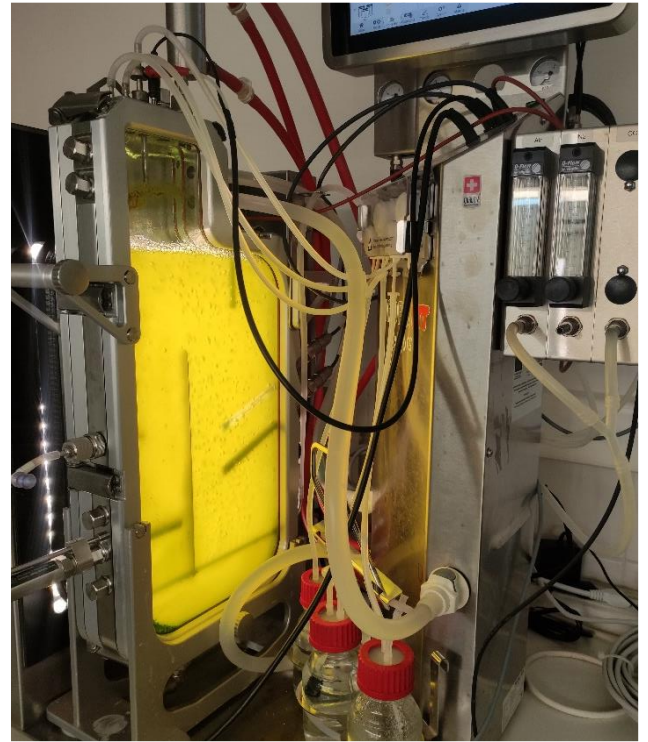
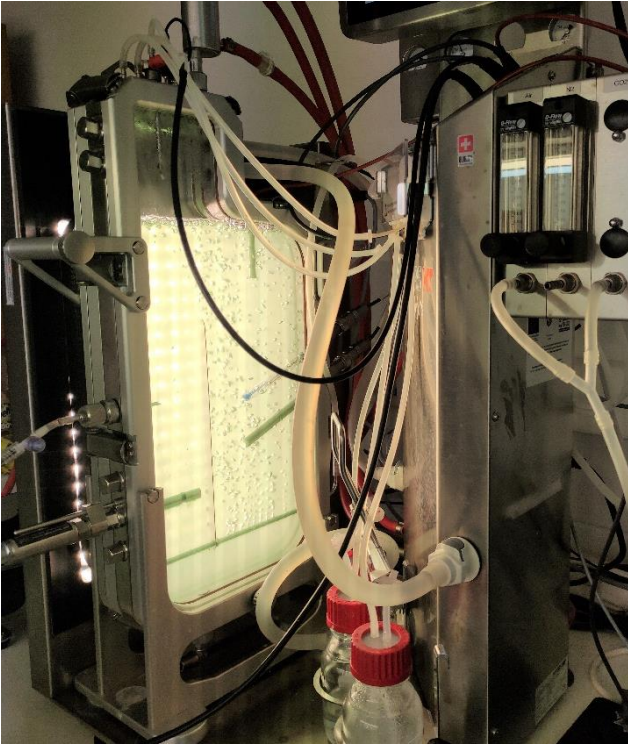
Στον αντιδραστήρα VASP, έλαβαν χώρα δύο πειράματα· το πρώτο είχε σκοπό την παρακολούθηση της ανάπτυξης της καλλιέργειας σε συγκεκριμένες συνθήκες, χωρίς την παροχή CO<sub>2</sub>, ενώ το δεύτερο περιλάμβανε, σε ίδιες συνθήκες λειτουργίας, παροχή 1 ml/min CO<sub>2</sub> από φιάλη αερίου. Και στα δύο πειράματα οι συνθήκες καλλιέργειας ήταν: pH= 9, θερμοκρασία T = 29°C, ένταση φωτός = 200 μmol photons/m<sup>2</sup>/s (ή 10810 lux), ενώ η λειτουργία για όσο διήρκεσε το κάθε πείραμα, ήταν συνεχής.

Πίνακας 4: Συγκεντρωτικός πίνακας συνθηκών υπό τις οποία διεξήχθησαν τα πειράματα στον αντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας

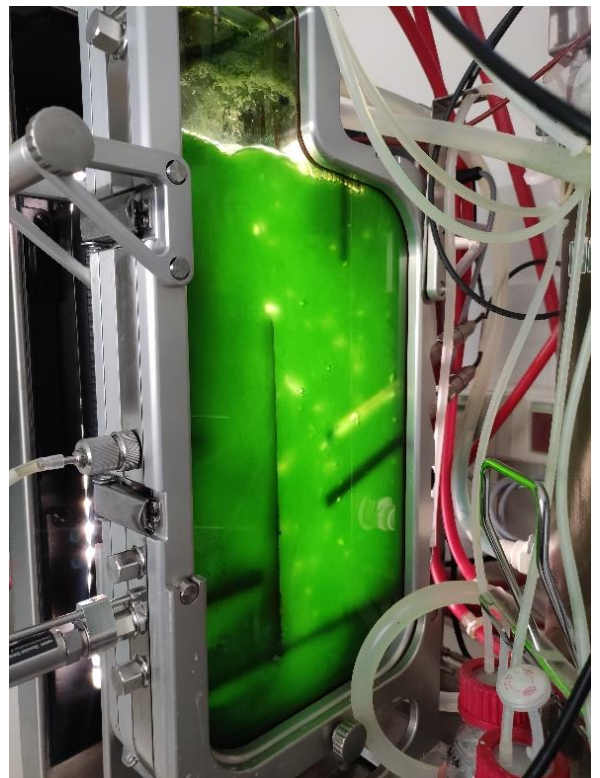
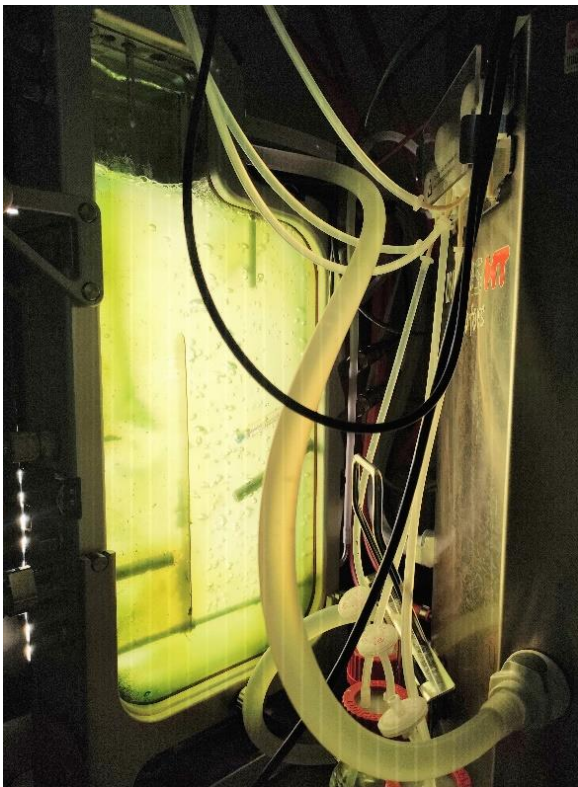
Αντιδραστήρας VSAP	1 <sup>ο</sup> Πείραμα	2 <sup>ο</sup> Πείραμα
Διάρκεια (hours)	76.75	72.70
pH	9	9
Θερμοκρασία T (°C)	29	29
Ένταση φωτεινής ακτινοβολίας (μmol photons/m <sup>2</sup> /s)	200	200
Διοχέτευση CO <sub>2</sub> (ml/min)	-	1

Για την εκκίνηση της καλλιέργειας, κατά το πρώτο και το δεύτερο πείραμα, στον αντιδραστήρα τοποθετήθηκαν 1400ml Zarrouk medium και 300ml έτοιμης καλλιέργειας του στελέχους (αναλογία 18:100). Η ρύθμιση του pH γινόταν καθ' όλη τη διάρκεια, αυτοματοποιημένα από τον αντιδραστήρα με τη χρήση διαλυμάτων οξέος (HCl 2N) και βάσης (NaOH 2N) ώστε να διατηρείται στο setpoint (pH = 9) που είχε οριστεί.

Καθημερινά, κατά τη διεξαγωγή και των δύο πειραμάτων, πραγματοποιούνταν μέτρησης της απορρόφησης δείγματος της καλλιέργειας, στα 750nm, με σκοπό την παρακολούθηση της αύξησης της οπτικής πυκνότητας. Η μέτρηση έγινε με τη χρήση φωτομέτρου, αρχικά στα 300ml έτοιμης καλλιέργειας και στη συνέχεια σε δείγμα από τον αντιδραστήρα ανά 24h. Η βαθμονόμηση του οργάνου γινόταν πριν από κάθε μέτρηση με ποσότητα θρεπτικού μέσου Zarrouk.



Εικόνα 8: 1ο Πείραμα - (Αριστερά) Η καλλιέργεια στον φωτοαντιδραστήρα την μέρα της εκκίνησης λειτουργίας τους (Δεξιά) Η καλλιέργεια κατά την 5η μέρα λειτουργίας του φωτοαντιδραστήρα



Εικόνα 9: Πείραμα 2ο με διοχέτευση CO<sub>2</sub> - (Αριστερά) Η καλλιέργεια στον φωτοαντιδραστήρα την μέρα της εκκίνησης λειτουργίας τους (Δεξιά) Η καλλιέργεια κατά την 5η μέρα λειτουργίας του φωτοαντιδραστήρα

### 3.4 Καλλιέργεια σε κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης (Modular Photochemical Development System, MPDS) – Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

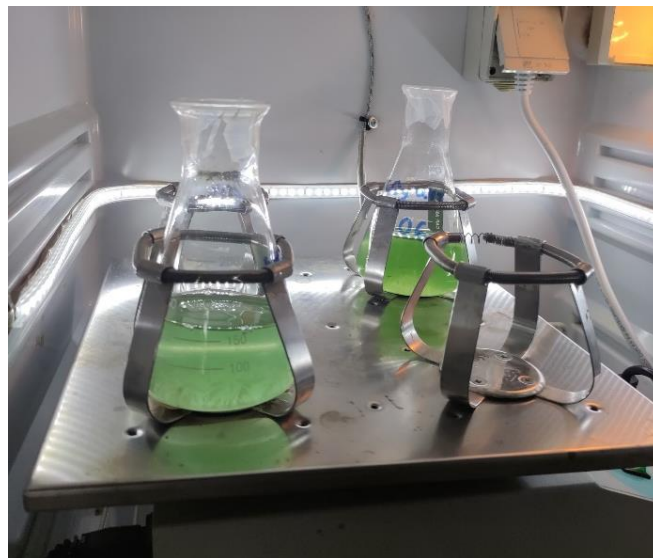
Η διάταξη του συγκεκριμένου φωτοαντιδραστήρα περιλαμβάνει ένα προστατευτικό εξωτερικό περίβλημα, μία μαγνητική/θερμαντική πλάκα και το βασικό κυλινδρικό δοχείο ανάμειξης. Σε αυτόν τον τύπο αντιδραστήρα, ο λαμπτήρας είναι τοποθετημένος εντός του αντιδραστήρα, στο κέντρο ενός κυλινδρικού δοχείου μικρότερης διαμέτρου, κατασκευασμένου από χαλαζία. Το κυλινδρικό σχήμα του φωτοβιοαντιδραστήρα αποτελεί ένα σημαντικό πλεονέκτημα στην καλλιέργεια μικροφυκών, αφού επιτρέπει ομοιόμορφη κατανομή του φωτός και συμβάλει στην ελαχιστοποίηση φαινομένων σκίασης, διασφαλίζοντας ότι το μεγαλύτερο τμήμα της καλλιέργειας λαμβάνει επαρκή ακτινοβολία για τη φωτοσύνθεση. Ο λαμπτήρας που χρησιμοποιήθηκε αρχικά στην παρούσα πειραματική διαδικασία ήταν λαμπτήρας ηλιακού τόξου με ξένο (arc solar Xe lamp), ισχύος 140Watt και φωτεινής ροής από 7000 lux (στα 2cm απόσταση από την πηγή), έως 3000-3500 lux (στα 6 cm). Οι λαμπτήρες ξένου αποτελούν εξειδικευμένες πηγές προσομοίωσης της φωτεινής ακτινοβολίας και έχουν σχεδιαστεί για να αναπαράγουν το ηλιακό φάσμα σε εργαστηριακές συνθήκες, μέσω ενός ηλεκτρικού τόξου που διέρχεται μέσα από ξένο σε αέρια μορφή. Παρόλα αυτά, δοκιμές που έγιναν με την συγκεκριμένη πηγή ακτινοβολίας έδειξαν ότι η ένταση της ακτινοβολίας ήταν υπερβολική για την επιβίωση της καλλιέργειας μικροφυκών και τελικά αντικαταστάθηκε από ταινία LED (1m) 10Watt και 3500K. Η ανάδευση στο σύστημα πραγματοποιείται με μαγνητικό αναδευτήρα, η οποία τεχνική όμως δεν ήταν απόλυτα αποδοτική (ειδικά για χαμηλές τιμές rpm) αφού δεν επιτυγχάνεται ομοιόμορφη ανάδευση των ανώτερων στρωμάτων της καλλιέργειας.



Εικόνα 10: Κυλινδρικός φωτοαντιδραστήρας από την Pechl Ultraviolet GmbH (Mainz –Germany)

Δεδομένου ότι δεν υπάρχει η δυνατότητα παρακολούθησης και ρύθμισης των συνθηκών του πειράματος στο εσωτερικό του συστήματος, η εξέλιξη της θερμοκρασίας παρακολούθηθηκε σε ένα διάστημα 12 ωρών πριν την εκκίνηση του. Ακόμα, κατά τους θερινούς μήνες, εφαρμόστηκε σύστημα ψύξης με νερό στο εξωτερικό τοίχωμα του λαμπτήρα για να αποφευχθεί ο κίνδυνος υπερθέρμανσης. Τα θερμοκρασιακά εύρη που καταγράφηκαν στο εσωτερικό του αντιδραστήρα ήταν από 29°C – 31.5°C κατά τους μήνες Ιούλιο – Αύγουστο (θερμοκρασία περιβάλλοντος ~ 32°C), ενώ κατά τους χειμερινούς, οι θερμοκρασίες κυμάνθηκαν από 20 °C έως 25 °C (θερμοκρασία περιβάλλοντος ~ 20°C).

Οι καλλιέργειες των μικροφυκών, διατηρούνταν εντός ενός επωαστήρα, σε σταθερές συνθήκες. Συγκεκριμένα, η θερμοκρασία παρέμενε στους 30°C,, η ακτινοβολήση ήταν συνεχής, μέσω ταινίας LED 10Watt, ενώ η ανάδευση γινόταν επίσης σταθερά, στα 120rpm, με τη χρήση περιστροφικού αναδευτήρα. Καθώς το στέλεχος παρελήφθη από την καλλιέργεια που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της πειραματικής διαδικασίας στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου σε ανοιχτό σύστημα και δεν είναι γνωστό κατά πόσο το δείγμα περιείχε αποκλειστικά *Arthrospira Platensis*, θεωρείτε ότι οι καλλιέργειες ήταν μεικτές.



Εικόνα 11: Διατήρηση διαλυμάτων μικροφυκών σε κωνικές φιάλες (κλειστές) εντός επωαστήρα υπό σταθερές συνθήκες

### 3.4.1 Παρακολούθηση ανάπτυξης μικροφυκών *Arthrospira Platensis* χωρίς παροχή CO<sub>2</sub>

Η παρακολούθηση της καλλιέργειας μικροφυκών περιλαμβάνει την αξιολόγηση διαφόρων παραμέτρων για την κατανόηση και βελτιστοποίηση της ανάπτυξής τους. Υπό αυτό το πρίσμα, πραγματοποιήθηκαν διάφορα πειράματα στον κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης που περιεγράφηκε παραπάνω, ώστε να κατανοηθεί ο τρόπος με τον οποίο αναπτύσσεται το στέλεχος *Arthrospira Platensis* υπό συγκεκριμένες συνθήκες και να εντοπιστούν τάσεις και πιθανοί περιοριστικοί παράγοντες. Σε όλα τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, η ακτινοβολήση δεν ήταν συνεχής, αλλά σε φωτοπεριόδους των 12 ωρών. Σε κάθε

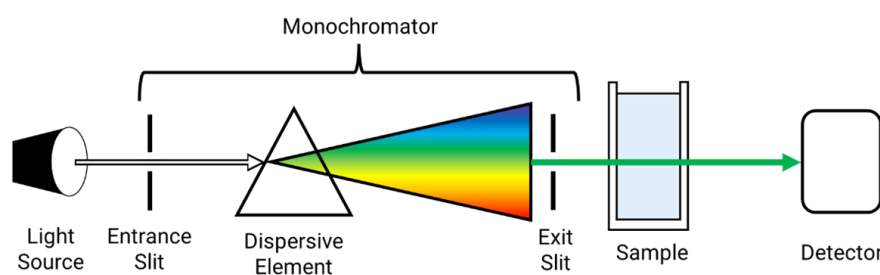
καλλιέργεια έγιναν μετρήσεις οπτικής πυκνότητας, θερμοκρασίας και pH ανά συγκεκριμένο διάστημα 24 ή 48 ωρών. Η θερμοκρασία μετρούνταν με θερμομέτρο υδραργύρου αμέσως μετά την εξαγωγή του δείγματος, ενώ το pH μέσω πεχαμέτρου με ηλεκτρόδια.

#### 3.4.1.1 Μετρήσεις αιωρούμενων στερεών

Για τον προσδιορισμό της παραγωγικότητας της βιομάζας, στην αρχή και στο τέλος της λειτουργίας της κάθε καλλιέργειας, έγινε προσδιορισμός ολικών αιωρούμενων στερεών (Total Suspended Solids, TSS) και πτητικών αιωρούμενων στερεών (Volatile Suspended Solids, VSS). Αρχικά, για τον διαχωρισμό της υγρής από τη στερεή φάση (βιομάζα) έγινε διήθηση υπό κενό<sup>5</sup>. Χρησιμοποιήθηκαν χάρτινοι ηθμοί (διάμετρος πόρων 0.45μm), οι οποίοι πριν τη διήθηση, τοποθετήθηκαν στους 550°C για 15 min, ώστε να απομακρυνθεί υγρασία και πιθανές ακαθαρσίες που ενδέχεται να επηρεάσουν τη μέτρηση και έπειτα ζυγίστηκαν. Παραλήφθηκε η στερεή φάση ενώ το διήθημα απορρίφθηκε. Ο ηθμός ξηράθηκε στους 105°C για 24h και έπειτα ζυγίστηκε. Θεωρείται ότι μετά την ξήρανση, μετρούνται τα ολικά αιωρούμενα στερεά. Για τον προσδιορισμό των πτητικών αιωρούμενων στερεών, ο ηθμός παρέμεινε στους 550°C για 15 min και ζυγίστηκε ξανά.

#### 3.4.1.2 Μετρήσεις Οπτικής Πυκνότητας – Φασματοφωτόμετρο

Η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας (OD) μίας καλλιέργειας μικροφυκών με τη χρήση φασματοφωτόμετρου είναι μία κοινή πρακτική για την παρακολούθηση της ανάπτυξης της βιομάζας, αφού αποτελεί μία έμμεση ένδειξη για την κυτταρική πυκνότητα εντός της καλλιέργειας. Η αρχή λειτουργίας του φασματοφωτόμετρου βασίζεται στην ακτινοβολία ενός δείγματος, με μία δέσμη φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος και μέτρηση του ποσοστού που απορροφάται ή σκεδάζεται από το δείγμα. Στα συγκεκριμένα πειράματα, χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού (UV-VIS) HACH LANGE DR-6000. Σε κάθε δείγμα έγινε σάρωση μήκους κύματος, στην περιοχή του ορατού, για τη λήψη φασμάτων απορρόφησης. Μέσα από την καμπύλη της σάρωσης, ήταν δυνατή και η εύρεση του μήκους κύματος μέγιστης απορρόφησης, όπου παρατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό απορρόφησης και είναι χαρακτηριστικό μέγεθος κάθε ουσίας. Κατά τη μέτρηση, ποσότητα καθαρού θρεπτικού μέσου εισάγεται σε κυψελίδα και στην συνέχεια τοποθετείται στη συσκευή, ώστε να γίνει βαθμονόμηση. Στη συνέχεια, εισάγεται στο όργανο εκ νέου, κυψελίδα με ποσότητα ελαιώδη μικροφυκών.

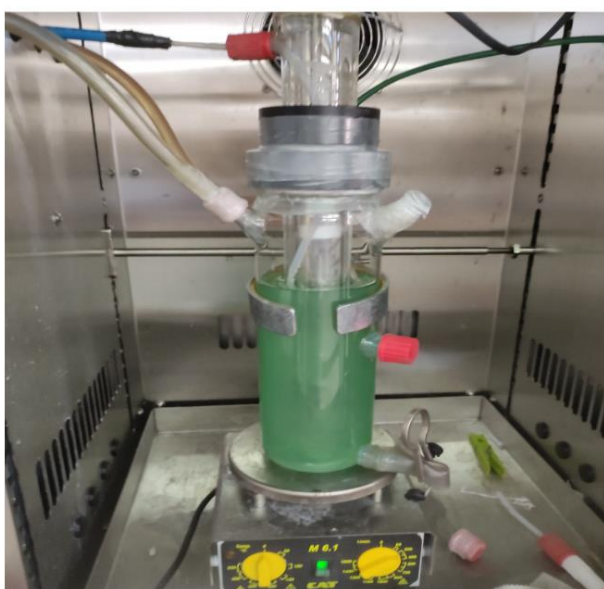


Εικόνα 12: Αρχή λειτουργίας φασματοφωτόμετρου - Η πορεία της δέσμης φωτός από την πηγή ακτινοβολίας, διαμέσου της κυψελίδας του δείγματος και τελικά στον ανιχνευτή

<sup>5</sup> Για τη δημιουργία του κενού (δηλαδή δημιουργία ελαττωμένης πίεσης) χρησιμοποιήθηκε υδραντλία. Το κενό κυμαίνεται από 10-20mmHg.

### Πείραμα 1<sup>ο</sup>

Ο αντιδραστήρας φορτώθηκε με 100 ml έτοιμης καλλιέργειας (από αυτές που διατηρούνταν στον επωαστήρα) και 500ml θρεπτικού Zarrouk medium (σύσταση Πίνακας 2 & Πίνακας 3). Σαν πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε ο λαμπτήρας ηλιακού τόξου με ξένον, ισχύος 140Watt, ο οποίος μέσω ενός αναλογικού χρονοδιακόπτη, τίθεντο σε λειτουργία ανά 12 ώρες. Το σύστημα παρέμεινε ανοιχτό στην ατμόσφαιρα, ενώ η ανάδευση ήταν συνεχής και καθ' όλη τη διάρκεια, ρυθμισμένη στα 600rpm. Λόγω των υψηλών θερμοκρασιών περιβάλλοντος που επικρατούσαν την περίοδο διεξαγωγής του πρώτου πειράματος, βρισκόταν συνεχώς σε λειτουργία το σύστημα ψύξης με νερό για την αποφυγή της υπερθέρμανσης. Η καλλιέργεια είχε διάρκεια 7 ημέρες. Κάθε 24 ώρες αντλούταν δείγμα 10ml από τον αντιδραστήρα με σύριγγα και μετρούταν η θερμοκρασία, το pH και η οπτική του πυκνότητα (μέσω μετρήσεων απορρόφησης). Καθώς το διάλυμα στο εσωτερικό του αντιδραστήρα ήταν συνεχώς υπό ανάδευση, θεωρείται ότι το δείγμα ήταν αντιπροσωπευτικό ως προς την περιεκτικότητά του σε βιομάζα.



Εικόνα 13: Πείραμα 1ο - (Αριστερά) Εκκίνηση φωτοαντιδραστήρα, μέρα 0, (Δεξιά) Παύση λειτουργίας, μέρα 7

### Πείραμα 2<sup>ο</sup>

Κατά το πρώτο πείραμα, η καλλιέργεια αυτολύθηκε και μειώθηκε η οπτική της πυκνότητα. Επομένως, το δεύτερο πείραμα επικεντρώθηκε στη βελτίωση των συνθηκών για την επιβίωση της καλλιέργειας. Οι παράμετροι που άλλαξαν ήταν η πηγή της φωτεινής ακτινοβολίας και η ανάδευση. Ο λαμπτήρας ηλιακού τόξου με ξένον αντικαταστάθηκε από ταινία διόδων εκπομπής φωτός (LEDs) 10Watt και ουδέτερου φωτισμού 3500K, ενώ η ανάδευση ρυθμίστηκε στα 100rpm. Ο αντιδραστήρας φορτώθηκε ξανά με 100 ml έτοιμης καλλιέργειας και 500ml θρεπτικού Zarrouk medium και λειτούργησε ανά φωτοπερίοδους 12 ωρών. Η καλλιέργεια στον φωτοαντιδραστήρα στο δεύτερο πείραμα διήρκησε 10 ημέρες, ενώ δείγμα 10ml για την πραγματοποίηση μετρήσεων λήφθηκε ανά 24h για τις μέρες 1 έως 4. Από εκεί και πέρα, μετρήσεις επαναλήφθηκαν την 8<sup>η</sup> και τη 10<sup>η</sup> μέρα.

### Πείραμα 3<sup>ο</sup>

Σκοπός του τρίτου πειράματος ήταν η επίτευξη πιο ομοιόμορφης ανάδευσης, γιατί τα 100rpm που ορίστηκαν δεν ήταν αρκετά για να αναδεύονται το ίδιο τα ανώτερα με τα κατώτερα στρώματα της καλλιέργειας. Για την αποφυγή πρόκλησης μηχανικού στρες στα κύτταρα των μικροφυκών, σε συνδυασμό με τη μηχανική ανάδευση (ρυθμισμένη στα 60rpm), χρησιμοποιήθηκε αντλία για ανάδευση με διοχέτευση ατμοσφαιρικού αέρα. Το σύστημα αυτή τη φορά παρέμεινε κλειστό ως προς το περιβάλλον και διήρκησε 10 ημέρες (λειτουργία σε φωτοπερίόδους των 12h). Μετρήσεις θερμοκρασίας, pH και οπτικής πυκνότητας έγιναν ανά 72h.

Πίνακας 5: Συγκεντρωτικός πίνακας συνθηκών υπό τις οποίες διεξήχθησαν τα πειράματα χωρίς διοχέτευση CO<sub>2</sub> στον κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης

Κυλινδρικός Αντιδραστήρας MPDS	1 <sup>ο</sup> Πείραμα (exp1)	2 <sup>ο</sup> Πείραμα (exp2)	3 <sup>ο</sup> Πείραμα (exp3)
Διάρκεια (hours)	168	240	240
Διακύμανση pH (αρχική – τελική μέτρηση)	10.39 - 10.43	10.22 - 10.70	10.3 - 10.57
Εύρος Θερμοκρασίας T (°C)	29.5°C - 30.5°C	25°C - 27°C	24 °C - 25 °C
Φωτοπερίοδος	12h	12h	12h
Πηγή φωτεινής ακτινοβολίας	arc solar Xe lamp (140Watt)	1m LED strip (10Watt)	LED (10Watt)
Ανάδευση	μηχανική ανάδευση 600rpm	μηχανική ανάδευση 100rpm	μηχανική ανάδευση 60 rpm & ανάδευση με αέρα

### 3.4.2 Παρακολούθηση ανάπτυξης μικροφυκών *Arthrospira Platensis* με παροχή CO<sub>2</sub>

Στη συγκεκριμένη διάταξη δεν ήταν δυνατή η συνεχής παροχή διοξειδίου του άνθρακα, επομένως για την μελέτη της απορρόφησης CO<sub>2</sub> από την καλλιέργεια, πραγματοποιήθηκαν δύο πειράματα με ένεση ποσότητας διοξειδίου στον κενό χώρο του αντιδραστήρα (headspace). Ο αντιδραστήρας και στις δύο περιπτώσεις φορτώθηκε με 100ml έτοιμης καλλιέργειας και 500ml θρεπτικού μέσου Zarouk, ενώ το σύστημα παρέμεινε κλειστό στην ατμόσφαιρα και υπό συνεχή μηχανική ανάδευση. Η ακτινοβολία γινόταν σε φωτοπερίόδους των 12h. Όπως και στα πειράματα που έγιναν χωρίς επιπλέον χορήγηση ποσότητας CO<sub>2</sub>, στην αρχή και στο τέλος της λειτουργίας της κάθε καλλιέργειας, έγινε προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών. Για την παρακολούθηση της σύστασης του αέρα στον κενό χώρο του αντιδραστήρα έγιναν δειγματοληψίες αέρα και στη συνέχεια το δείγμα αναλύθηκε με αέρια χρωματογραφία.



Το πρώτο πείραμα λειτούργησε συνολικά 96 ώρες ενώ η ποσότητα διοξειδίου (13% v/v CO<sub>2</sub>) χορηγήθηκε στον κενό χώρο του αντιδραστήρα τη στιγμή της εκκίνησης. Στις 48 ώρες λειτουργίας έγινε εκ νέου προσθήκη καλλιέργειας (100ml διαλύματος βιομάζας) και ποσότητας CO<sub>2</sub> (45% v/v CO<sub>2</sub>) χωρίς να σταματήσει η λειτουργία του αντιδραστήρα.

Το δεύτερο πείραμα που πραγματοποιήθηκε με χορήγηση ποσότητας CO<sub>2</sub> διήρκησε επίσης 96 ώρες ενώ έγιναν μετρήσεις των συνθηκών και της οπτικής πυκνότητας κατά την εκκίνηση του αντιδραστήρα και στο τέλος της λειτουργίας του. Η αρχική ποσότητα CO<sub>2</sub> ήταν 63.7% v/v, ενώ μετά από δύο εικοσιτετράωρα χορηγήθηκε επιπλέον ποσότητα διοξειδίου, διαμορφώνοντας τη σύσταση του αέρα στον κενό χώρο σε 81% v/v CO<sub>2</sub>. Με την ολοκλήρωση του πειράματος, δείγμα διαλύματος της καλλιέργειας αναλύθηκε με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας υψηλής ανάλυσης. Ακόμα έγινε φυγοκέντρηση ποσότητας καλλιέργειας (όγκου 120 ml) για 10 λεπτά στα 4400rpm. Η βιομάζα που παρελήφθη, ξηράθηκε στους 105°C για 24h και στη συνέχεια ζυγίστηκε.

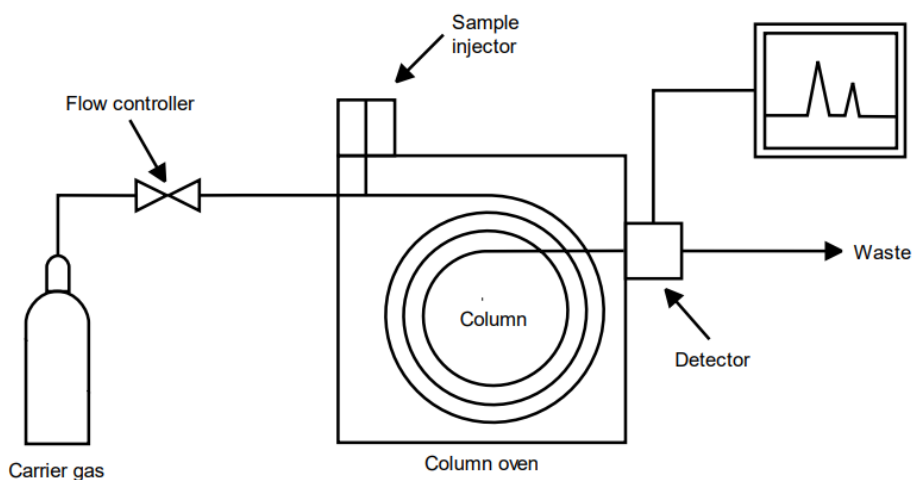
Πίνακας 6: Συγκεντρωτικός πίνακας συνθηκών υπό τις οποίες διεξήχθησαν τα πειράματα με χορήγηση CO<sub>2</sub> στον κυλινδρικό φωτοαντιδραστήρα

Κυλινδρικός Αντιδραστήρας MPDS	1 <sup>ο</sup> Πείραμα (exp1)	2 <sup>ο</sup> Πείραμα (exp2)
Διάρκεια (hours)	96	96
Διακύμανση pH (αρχική – τελική μέτρηση)	10.05 – 10.06	10.27 – 9.60
Εύρος Θερμοκρασίας T (°C)		
Φωτοπερίοδος	12h	12h
Πηγή φωτεινής ακτινοβολίας	LED (10Watt)	LED (10Watt)
Ανάδευση	μηχανική ανάδευση 120rpm	μηχανική ανάδευση 120rpm
Χορηγούμενη ποσότητα CO <sub>2</sub>	13% v/v (day 0)	63.7% v/v (day 0)
	45.5% v/v (day 2)	81% v/v (day 2)

#### 3.4.2.1 Ανάλυση με αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography)

Η αέρια χρωματογραφία είναι μία ευρέως χρησιμοποιούμενη αναλυτική τεχνική για τον ποσοτικό προσδιορισμό διαφόρων πτητικών ενώσεων σε δείγματα. Λειτουργεί βάσει της αρχής της χρωματογραφίας διαχωρισμού και βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ μιας κινητής αέριας (φέρον αέριο He, N<sub>2</sub> ή H<sub>2</sub>) και μιας στάσιμης φάσης (προσροφητικό υλικό). Κριτήριο επιλογής για το φέρον αέριο στην αέρια χρωματογραφία είναι να είναι σχετικά χημικά αδρανές. Το προς ανάλυση δείγμα εισέρχεται σε ένα θερμαινόμενο θάλαμο μέσω ένεσης και τα συστατικά του εξέρχονται σε διαφορετικούς χρόνους εξαιτίας της διαφοράς στους χρόνους κατακράτησης. Για την ανίχνευσή τους, οι τύποι ανιχνευτών που χρησιμοποιούνται είναι ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (FID), ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD) και ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD). Στη συνέχεια ταυτοποιούνται και προσδιορίζονται ποσοτικά (73).

Για τις ανάγκες του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε το σύστημα αέριας χρωματογραφίας *Shimadzu gas chromatographer GC-2014*



Εικόνα 14: Βασικά μέρη ενός συστήματος αέριας χρωματογραφίας

### 3.4.2.2 Ανάλυση με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Ανάλυσης (High Performance Liquid Chromatography)

Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Ανάλυσης βασίζεται στη χρήση αντλιών υψηλής πίεσης (ως 6000 psi ή 400 bar) που εξασφαλίζουν σταθερή παροχή χωρίς διακυμάνσεις στη ροή, καθώς το μικρό μέγεθος της στήλης προκαλεί αυξημένη αντίσταση στη ροή. Η στήλη πληρώνεται με κατάλληλο υλικό (πχ. σίλικα, αλούμινα, ρητίνες ή πολυμερή) του οποίου το είδος και το μέγεθος των σωματιδίων εξαρτάται από το διαχωριζόμενο μίγμα. Ένας διαλύτης (κινητή φάση) που ρέει συνεχώς προωθεί το δείγμα μέσα στη στήλη με το πληρωτικό υλικό (στατική φάση). Το μίγμα κατανέμεται μεταξύ στατικής και κινητής φάσης και μετακινείται με ρυθμό που εξαρτάται από τη σχετική αλληλεπίδραση του κάθε συστατικού με τις δυο φάσεις (73).

Στην παρούσα πειραματική διαδικασία, η μέθοδος HPLC χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων μεταβολιτών (πχ χρωστικές, συγκεκριμένα λιπαρά οξέα κτλ) ως ένδειξη της παρουσίας βακτηρίων στην καλλιέργεια.

## 4 Αποτελέσματα

### 4.1 Αποτελέσματα πειραμάτων σε φωτοβιοαντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας με διοχέτευση αέρα (vertical surface airlift photoreactor, VSAPs) – Τμήμα Περιβάλλοντος Παν.Αιγαίου

Αρχικά παρουσιάζονται οι μετρήσεις απορρόφησης που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας στον αντιδραστήρα και η αντιστοίχισή τους στην οπτική πυκνότητα των μικροφυκών. Η οπτική πυκνότητα μετρά την ικανότητα ενός μέσου να επιταχύνει ή να επιβραδύνει τη μετάδοση του φωτός και αντιστοιχεί ουσιαστικά στη ταχύτητα του φωτός διαμέσου του εναιωρήματος μικροφυκών. Επηρεάζεται από το μήκος κύματος του φωτεινού σήματος και μπορεί να υπολογιστεί μέσω του νόμου Beer – Lambert, όπου  $A$  η μετρούμενη απορρόφηση (σε Abs),  $C$  η συγκέντρωση του μικροοργανισμού στο διάλυμα,  $l$  η διαδρομή που κάνει η ακτινοβολία μέσα και  $\epsilon$  ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης (molar absorption coefficient)

$$A = \epsilon \cdot C \cdot l \quad [i]$$

Για την ακτινοβολία που διέρχεται διαμέσου της κυψελίδας ισχύει η σχέση:  $I = I_0 e^{-\alpha c l}$  [ii]

Όπου  $I_0$  η αρχική ένταση της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από την πηγή και  $I$  η ένταση της εξερχόμενης ακτινοβολίας. Ο λόγος  $\frac{I}{I_0}$  εκφράζει το μέγεθος της διαπερατότητας  $T$ . Επομένως η απορρόφηση μπορεί να εκφραστεί ως συνάρτηση της διαπερατότητας:  $A = -\log T$  [iii]

Όμως και η οπτική πυκνότητα αντιστοιχεί στον λογαριθμικό λόγο της προσπίπτουσας ακτινοβολίας προς τη διαδιδόμενη ακτινοβολία που διαπερνά το δείγμα και υπολογίζεται μέσω της σχέσης:  $OD = \log \frac{I_0}{I} = \log \frac{1}{T}$  [iv] Άρα στη συγκεκριμένη εφαρμογή, ισούται με την απορρόφηση που καταγράφει το φασματοφωτόμετρο.

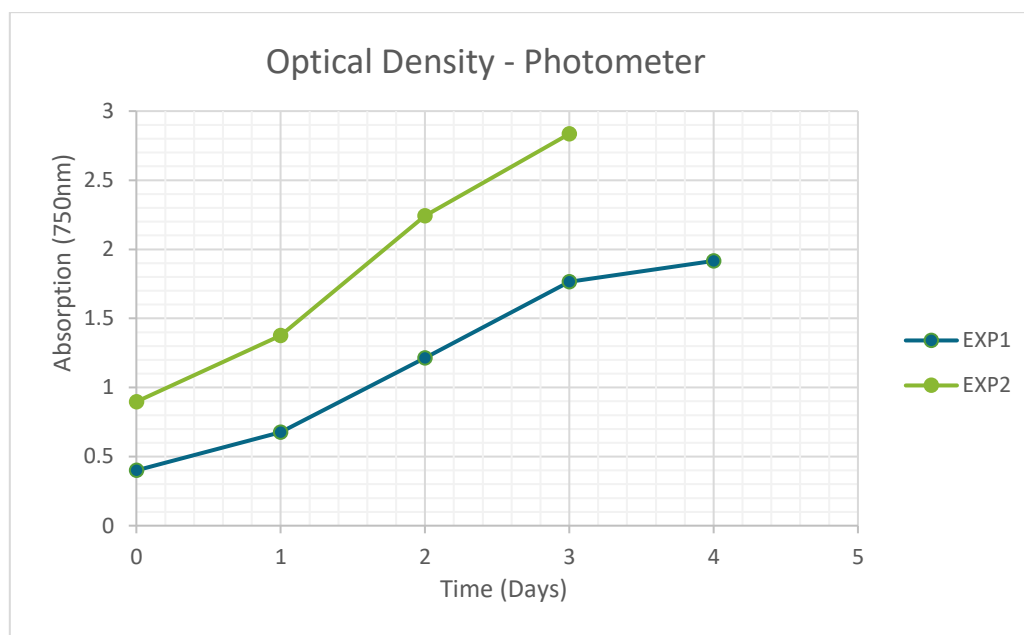
Έτσι, από τη σχέση της απορρόφησης με τη μετάδοση του φωτός, κατά την τελευταία μέρα των πειραμάτων, στην πρώτη περίπτωση η τιμή 1.916 ισοδυναμεί με το 14.7% του φωτός να μεταδίδεται τελικά διαμέσου της καλλιέργειας, ενώ στο τέλος του δεύτερου πειράματος, μόλις το 5.87%.

Πίνακας 7: Μετρήσεις Φωτομέτρου - Απορρόφηση δείγματος καλλιέργειας στα 750nm i) για το πείραμα καλλιέργειας χωρίς παροχή CO2 και ii) με παροχή CO2

Days	EXP1 (without CO2 feed)	EXP2 (with CO2 feed)
	Absorption (750nm)	Absorption (750nm)
0	0.4	0.897
1	0.677	1.375
2	1.214	2.243
3	1.764	2.835
4	1.916	-

Για την απορρόφηση του φωτός από τα κύτταρα των μικροφυκών, οφείλονται οι φωτοσυνθετικές χρωστικές, όπως η χλωροφύλλη. Καθώς η καλλιέργεια αναπτύσσεται, ο αριθμός των κυττάρων αυξάνεται (μέσω της κυτταρικής διαίρεσης), οδηγώντας ταυτόχρονα και σε αύξηση της χλωροφύλλης. Σε αυτή την αύξηση οφείλεται και η αντίστοιχη αύξηση στην απορρόφηση της φωτεινής ακτινοβολίας. Καθώς λοιπόν τόσο στην περίπτωση καλλιέργειας χωρίς παροχή διοξειδίου του άνθρακα όσο και στην περίπτωση καλλιέργειας με παροχή CO<sub>2</sub>, υπήρξε αύξηση της οπτικής πυκνότητας, συμπεραίνεται ότι υπήρξε αύξηση της βιομάζας εντός του αντιδραστήρα. Μάλιστα σύμφωνα με το *Διάγραμμα 6*, η αύξηση και στα δύο πειράματα μπορεί να θεωρηθεί εκθετική για τις μέρες 0 έως 3.

- Exp1 – without CO<sub>2</sub> feed:  $y = 0.41 e^{0.5036 x}$ ,  $R^2 = 0.9873$
- Exp2 – with CO<sub>2</sub> feed:  $y = 0.9265 e^{0.3942 x}$ ,  $R^2 = 0.9697$

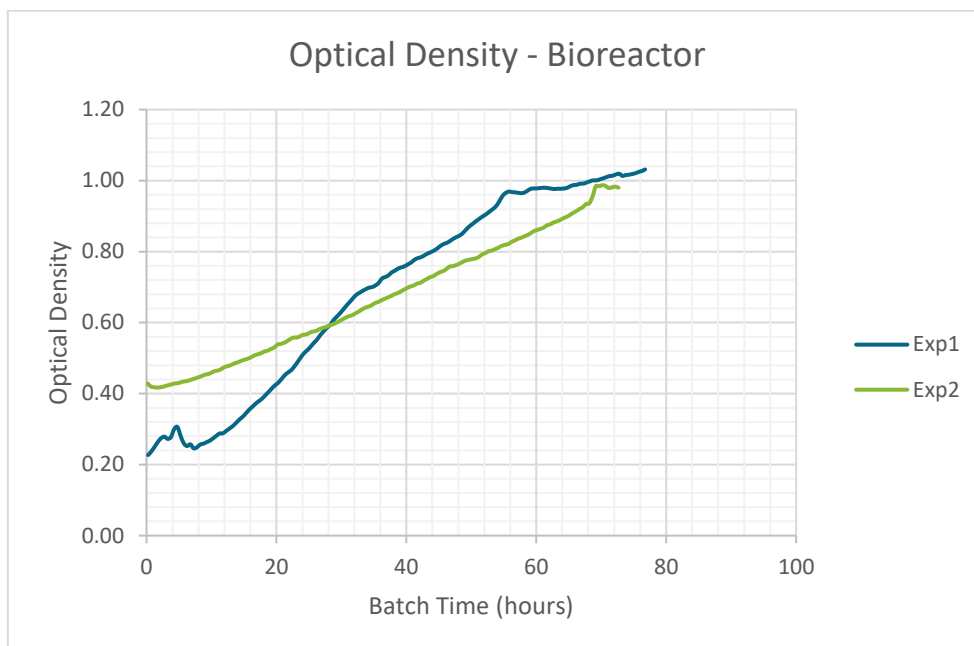


**Διάγραμμα 6:** Απεικόνιση μετρήσεων φασματοφωτομέτρου - Απορρόφηση δείγματος καλλιέργειας στα 750nm i) για το πείραμα καλλιέργειας χωρίς παροχή CO<sub>2</sub> και ii) με παροχή CO<sub>2</sub>

Δεν είναι γνωστό αν η καλλιέργεια έφθασε στο μέγιστο ρυθμό ανάπτυξής της, καθώς για ένα τέτοιο συμπέρασμα η καλλιέργεια θα έπρεπε να συνεχιστεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, τα στοιχεία δείχνουν μια επιθυμητή αύξηση της βιομάζας, πράγμα που σημαίνει ότι και στις δύο περιπτώσεις η καλλιέργεια ήταν επιτυχής. Ανατρέχοντας στο *Διάγραμμα 4* και θεωρώντας ότι η κυτταρική ανάπτυξη είναι ανάλογη της οπτικής πυκνότητας, συμπεραίνεται ότι οι καλλιέργειες βρίσκονται στην εκθετική φάση ανάπτυξης, όπου όλα τα κύτταρα αναπτύσσονται με σταθερούς ρυθμούς ως εκθετική συνάρτηση του χρόνου. Στη φάση αυτή η ένταση της ακτινοβολίας και η διαθεσιμότητα των θρεπτικών δεν λειτουργεί περιοριστικά για την ανάπτυξη.

Η εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας καταγράφηκε και από τους αισθητήρες του αντιδραστήρα και οι μετρήσεις παρουσιάζονται στο *Διάγραμμα 7*. Καθώς όμως δεν είναι γνωστό σε ποιο μήκος κύματος έγινε η μέτρηση της οπτικής πυκνότητας, δεν είναι δόκιμη η σύγκριση των δύο διαγραμμάτων. Πάντως και τα δύο επιβεβαιώνουν

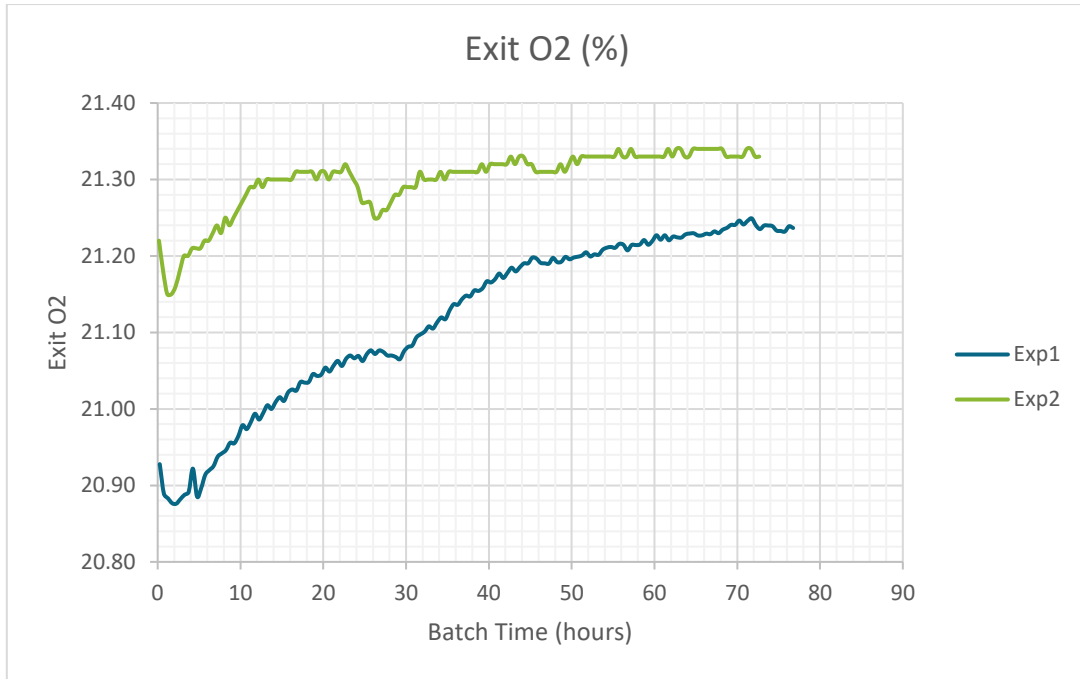
τη σταδιακή αύξηση της οπτικής πυκνότητας, η οποία αύξηση μάλιστα δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την παροχή CO<sub>2</sub>.



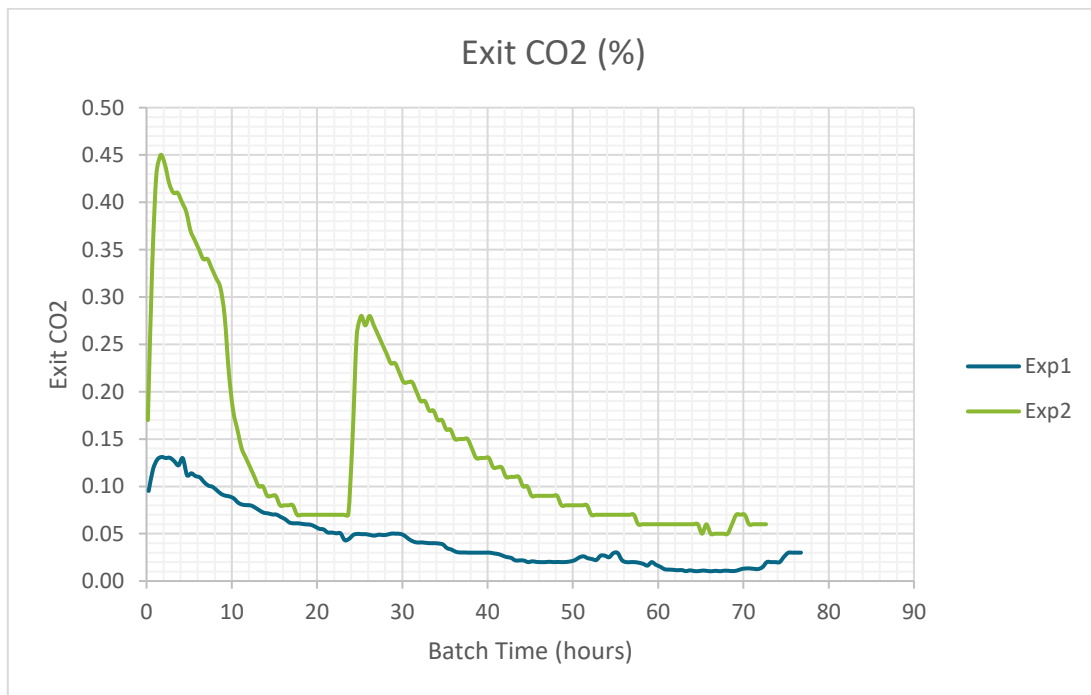
**Διάγραμμα 7:** Απεικόνιση μετρήσεων φωτοαντιδραστήρα οπτικής πυκνότητας - i) για το πείραμα καλλιέργειας χωρίς παροχή CO<sub>2</sub> και ii) με παροχή CO<sub>2</sub>

Εκτός από την εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας, ο αντιδραστήρας επίσης κατέγραψε μετρήσεις για τη διακύμανση της θερμοκρασίας, του pH και της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας. Υπενθυμίζεται ότι οι συνθήκες αυτές ήταν ρυθμισμένες σε σταθερά setpoints, με τη θερμοκρασία και το pH να παραμένουν στις καθορισμένες τιμές τους σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Η ένταση της ακτινοβολίας παρέμεινε επίσης στα 200 μmol photons/m<sup>2</sup>/s καθ' όλη τη διάρκεια, καθώς όμως η καλλιέργεια αναπτύσσεται, και η οπτική πυκνότητα αυξάνεται, το φως που έφτανε στον αισθητήρα, μειωνόταν με αντιστρόφως ανάλογο τρόπο.

Ιδιαίτερα σημαντική ήταν η παρακολούθηση της εξόδου του συστήματος μέσω καταγραφικού αερίων. Οι μετρήσεις της περιεκτικότητας της εξόδου σε CO<sub>2</sub> και O<sub>2</sub> παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα (Διάγραμμα 8 & Διάγραμμα 9). Καθώς εξελίσσεται η καλλιέργεια και συντελείται η διαδικασία της φωτοσύνθεσης εντός του αντιδραστήρα, το αναμενόμενο και επιθυμητό είναι η αύξηση της περιεκτικότητας του ρεύματος εξόδου σε O<sub>2</sub> και αντίστοιχα η μείωση σε CO<sub>2</sub>.

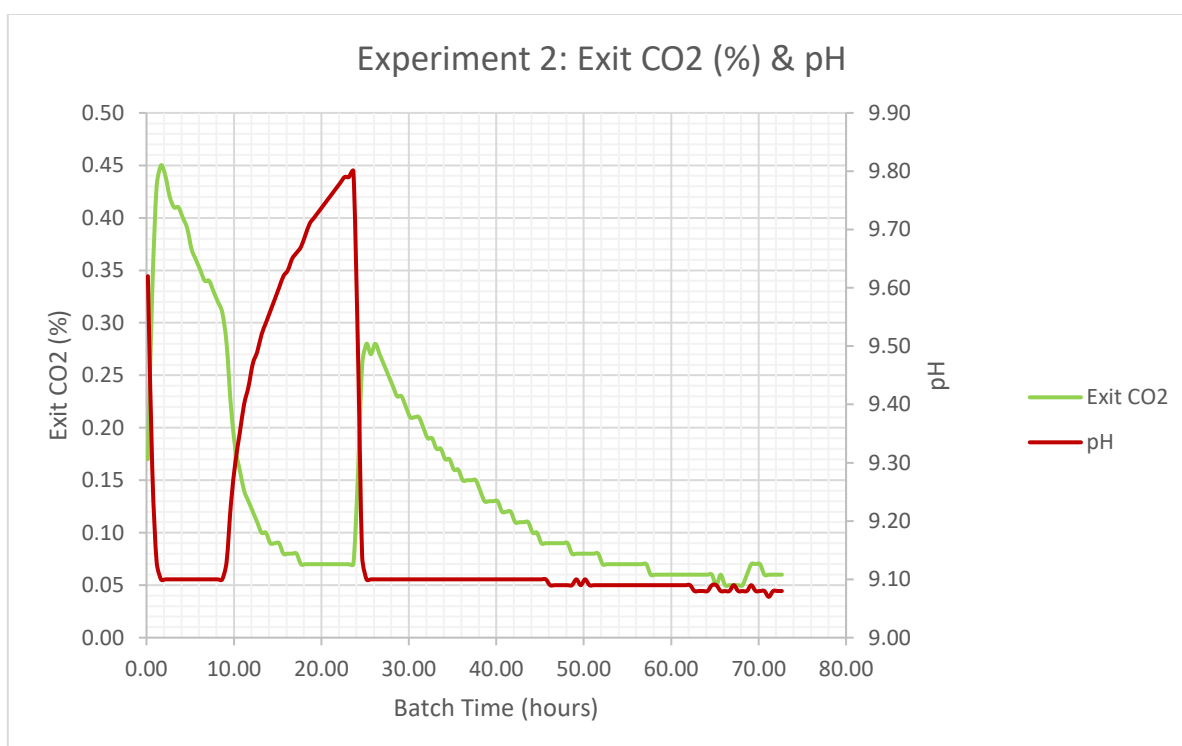


Διάγραμμα 8: Καταγραφή της περιεκτικότητας της εξόδου σε O2 για i) exp1 - καλλιέργεια χωρίς παροχή CO2, ii) exp2 - καλλιέργεια με παροχή CO2



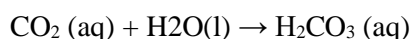
Διάγραμμα 9: Καταγραφή της περιεκτικότητας της εξόδου σε CO2 για i) exp1 - καλλιέργεια χωρίς παροχή CO2, ii) exp2 - καλλιέργεια με παροχή CO2

Βάσει της καμπύλης CO<sub>2</sub> για το exp2 στο Διάγραμμα 9 , το διοξείδιο εμφανίζεται ιδιαίτερα αυξημένο κατά τις πρώτες ώρες λειτουργίας του αντιδραστήρα. Αυτό εν μέρει, όπως και στο πείραμα της πρώτης εβδομάδας, οφείλεται στα ανιόντα HCO<sup>3-</sup> και CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> που υπήρχαν στο medium, πρέπει να ληφθεί υπόψιν όμως και η διοχέτευση διοξειδίου που έγινε στο συγκεκριμένο πείραμα. Καθώς η διοχέτευση ξεκίνησε στην εκκίνηση της καλλιέργειας, χρειάστηκε κάποιος χρόνος για να σταθεροποιηθούν οι συνθήκες και να διαλυτοποιηθεί το αέριο διοξείδιο στο μέσο καλλιέργειας. Επομένως μέχρι να επιτευχθεί αυτό, το διοχετευμένο διοξείδιο αυξάνει τη συνολική έξοδο CO<sub>2</sub> που καταγράφηκε. Η απότομη πτώση που εμφανίζεται στην ίδια καμπύλη σχετίζεται άμεσα με τις τιμές του pH που επικρατούσαν τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο στο εσωτερικό του αντιδραστήρα.



Διάγραμμα 10: Καλλιέργεια με παροχή CO<sub>2</sub> - καταγραφή περιεκτικότητας εξόδου σε CO<sub>2</sub> και διακυμάνσεων του pH σε συνάρτηση με τον χρόνο

Όταν το CO<sub>2</sub> εισαχθεί στο μέσο καλλιέργειας διαλυτοποιείται στην υγρή φάση εξαιτίας της διαφοράς στη μερική πίεση ανάμεσα στην υγρή και την αέρια φάση. Το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζεται από την αντίδραση μεταξύ του CO<sub>2</sub> και του νερού προς το σχηματισμό ανθρακικού οξέος:



Στη συνέχεια, το H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> μπορεί να δώσει είτε ένα είτε και τα δύο του πρωτόνια (H<sup>+</sup>) σχηματίζοντας:



Η αντίδραση μεταξύ CO<sub>2</sub> και νερού είναι αντιστρεπτή και εξαρτάται από το pH του διαλύματος. Καθώς το pH αυξάνεται (πιο αλκαλικές συνθήκες), η ισορροπία μετατοπίζεται προς τα αριστερά (προς το CO<sub>2</sub> και το H<sub>2</sub>O). Αυτό σημαίνει ότι περισσότερα μόρια CO<sub>2</sub> είναι διαθέσιμα στη διαλυμένη μορφή στο μέσο καλλιέργειας. Τα μικροφύκη χρησιμοποιούν το διαλυμένο CO<sub>2</sub> ως υπόστρωμα για τη φωτοσύνθεση. Όταν η συγκέντρωση του διαλυμένου CO<sub>2</sub> αυξάνεται λόγω της μετατόπισης της ισορροπίας, τα μικροφύκη έχουν περισσότερο διαθέσιμο CO<sub>2</sub> για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης και το φαινόμενο αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη φωτοσυνθετική δραστηριότητα και ανάπτυξη (64).

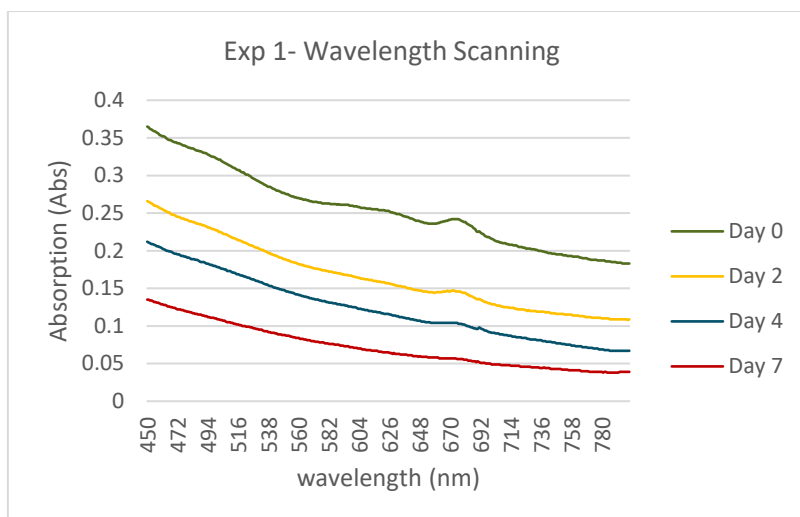
## 4.2 Αποτελέσματα πειραμάτων σε κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης (Modular Photochemical Development System, MPDS) – Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

### 4.2.1 Καλλιέργεια μικροφυκών *Arthrospira Platensis* χωρίς παροχή CO<sub>2</sub>

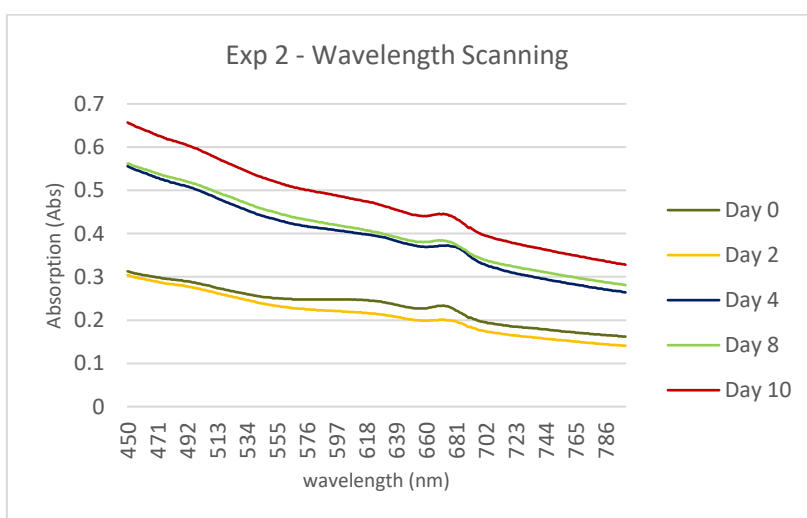
Από τη σάρωση μήκους κύματος των εναιωρημάτων μικροφυκών που πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του φασματοφωτομέτρου, προκύπτουν τα φάσματα απορρόφησης που παρατίθενται παρακάτω (Διάγραμμα 11, Διάγραμμα 12 και Διάγραμμα 13). Σε κάθε πείραμα, η μέγιστη απορρόφηση σύμφωνα με το όργανο εντοπίστηκε στα 625nm. Τα φάσματα απορρόφησης παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τις φωτοχρωστικές ουσίες που περιέχονται στα κύτταρα της καλλιέργειας, όπως οι χλωροφύλλες και τα καροτενοειδή. Για το στέλεχος *Arthrospira Platensis*, οι κύριες φωτοσυνθετικές χρωστικές είναι η χλωροφύλλη-α & β και διάφορες φυκοβιλιπρωτεΐνες, όπως η φυκοκυανίνη και η αλλοφυκοκυανίνη. Οι χλωροφύλλες εμφανίζουν μέγιστο σε δύο περιοχές του φάσματος: στα 430 – 470nm (μπλε περιοχή) και στα 640 – 660nm (ερυθρό). Αντίστοιχα η φυκοκυανίνη απορροφά στο μέγιστο στα 620 – 650 nm ενώ η αλλοφυκοκυανίνη στα 650 – 670nm (65)(66).

Σε όλα τα διαγράμματα, εντοπίζεται μία χαρακτηριστική κορυφή στα ~ 670nm. Η κορυφή αυτή οφείλεται στη συγκέντρωση της αλλοφυκοκυανίνης στα κύτταρα του μικροφύκου. Στα κυανοβακτήρια, όπως η *Arthrospira Platensis*, η αλλοφυκοκυανίνη αποτελεί το βασικό συστατικό των φυκοβιλισωματίων, των συμπλοκών που συλλέγουν τη φωτεινή ακτινοβολία και συνδέονται με τη θυλακοειδή μεμβράνη. Ακόμα, λόγω των ιδιοτήτων φθορισμού της, μπορεί να αξιοποιηθεί σε διάφορες βιοτεχνολογικές εφαρμογές (πχ ως φθορίζοντες ανιχνευτές στη βιοϊατρική έρευνα) (67).

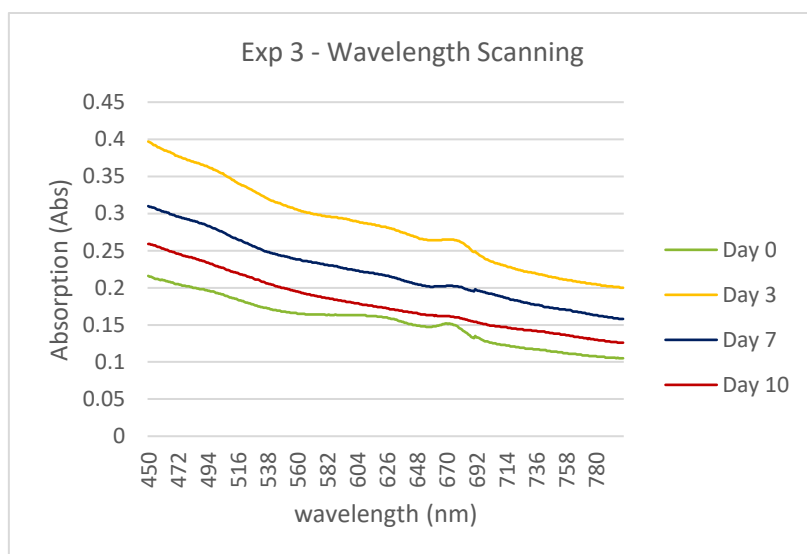




Διάγραμμα 11: Σάρωση μήκους κύματος - Πείραμα 1° (χωρίς παροχή CO2, λαμπτήρας ηλιακού τόξου με ξένον (140Watt), μηχανική ανάδευση)

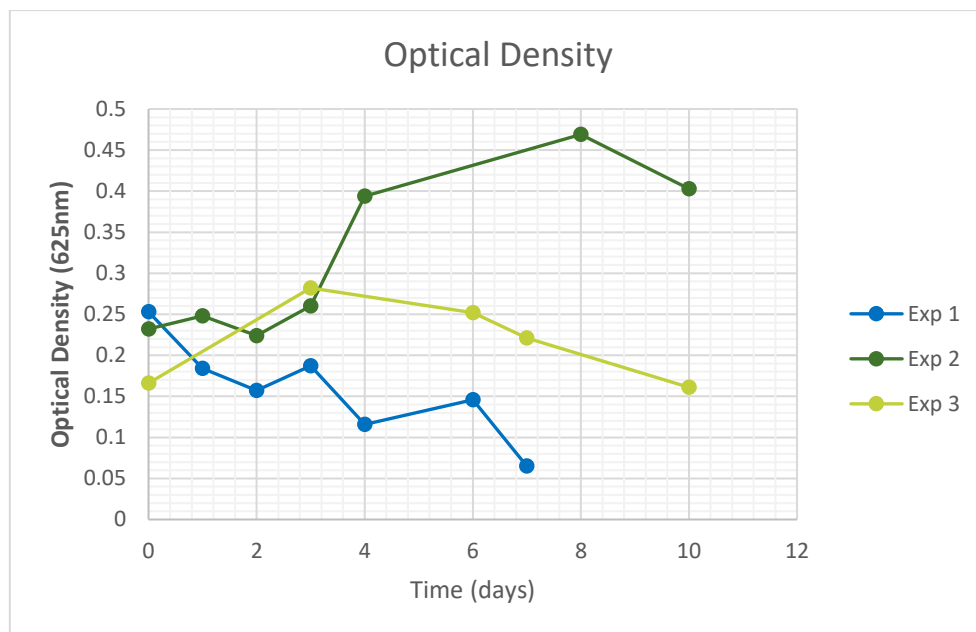


Διάγραμμα 12: Σάρωση μήκους κύματος - Πείραμα 2° (χωρίς παροχή CO2, ταινία LED (10 Watt), μηχανική ανάδευση)



Διάγραμμα 13: Σάρωση μήκους κύματος - Πείραμα 3° (χωρίς παροχή CO2, ταινία LED (10 Watt), μηχανική ανάδευση & ανάδευση με αέρα)

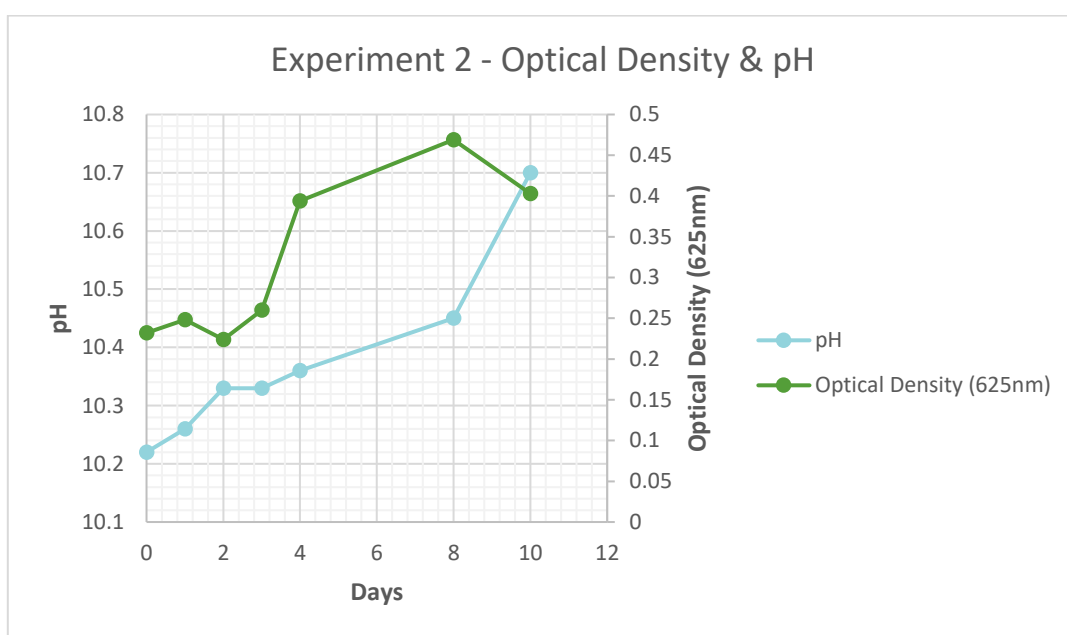
Κατά το πρώτο πείραμα και το τρίτο πείραμα, παρατηρείται μία σταδιακή μείωση στην οπτική πυκνότητα της καλλιέργειας. Ο κύριος παράγοντας που οδήγησε και στις δύο αυτές περιπτώσεις στην αυτόλυση των μικροφυκών, δηλαδή στη διαδικασία της αυτο- αποικοδόμησης ή της διάσπασης των κυτταρικών συστατικών, ήταν οι συνθήκες καλλιέργειας. Ανατρέχοντας στον Πίνακα 5, είναι εμφανές ότι ανάμεσα στο πρώτο και το δεύτερο πείραμα, οι δύο βασικές παράμετροι που διαφοροποιήθηκαν ήταν η πηγή της ακτινοβολίας και η ανάδευση. Ο λαμπτήρας ηλιακού τόξου με ξένο παρείχε υψηλής έντασης ακτινοβολία στα κύτταρα της καλλιέργειας, αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους. Επίσης, η έντονη μηχανική ανάδευση (600rpm) οδήγησε σε υπεροξυγόνωση και ανάπτυξη υψηλών διατμητικών τάσεων (μηχανικό στρες) καταστρέφοντας τα κύτταρα. Για να αντιμετωπιστούν οι περιορισμοί αυτοί, στα πλαίσια του δεύτερου πειράματος, ο λαμπτήρας ηλιακού τόξου αντικαταστάθηκε από μία ταινία LED και η ανάδευση ελαττώθηκε στα 100rpm. Αυτές οι συνθήκες λειτουργίας εμφανίζονται να είναι ευνοϊκότερες για την καλλιέργεια, συμπέρασμα που εξάγεται από τη σταδιακή αύξηση της οπτικής πυκνότητας σε συνάρτηση με το χρόνο. Από τη μέρα 0 έως τη μέρα 2, η καλλιέργεια βρίσκεται στη λανθάνουσα φάση της, όπου υπάρχει μία καθυστέρηση στην ανάπτυξη, εξαιτίας της προσαρμογής των κυττάρων στο νέο περιβάλλον. Μετά την περίοδο προσαρμογής, η καλλιέργεια περνάει στη φάση της εκθετικής ανάπτυξης, (2<sup>η</sup> έως 4<sup>η</sup> μέρα), ενώ από την 4<sup>η</sup> μέρα και μετά, είναι εμφανής η γραμμικότητα που εμφανίζει η ανάπτυξη πριν ακολουθήσει φθίνουσα πορεία (φάση θανάτου, 8<sup>η</sup> μέρα). Το φαινόμενο της φθίνουσας ανάπτυξης μπορεί να αποδοθεί σε διάφορους παράγοντες, όπως ο περιορισμός των θρεπτικών συστατικών (ανεπαρκείς συγκεντρώσεις), η συσσώρευση μεταβολικών παραπροϊόντων, η αυτοσκίαση και αλλαγές στα επίπεδα pH.



Διάγραμμα 14: Εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας με τον χρόνο (απορρόφηση στα 625nm) για καθ' ένα από τα τρία πειράματα που παρουσιάζονται

Καθώς το pH αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες στην καλλιέργεια μικροφυκών, το επόμενο διάγραμμα (Διάγραμμα 15) αποτυπώνει την εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας με την παράλληλη διακύμανση του pH για το χρόνο που λειτούργησε ο φωτοαντιδραστήρας.

Σημαντικές μεταβολές του pH (προς οποιαδήποτε κατεύθυνση) επηρεάζουν τη δραστηριότητα των ενζύμων, τη διαλυτότητα, τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών στο μέσο καλλιέργειας και συνολικά τις μεταβολικές διαδικασίες των κυττάρων, αναστέλλοντας τελικά την ανάπτυξη. Εδώ, δεν υπήρξε κάποια εξωτερική παρεμβολή στο pH, επομένως η διακύμανση του εξαρτάται αποκλειστικά από τις συγκεντρώσεις στο εσωτερικό του αντιδραστήρα (βιομάζας και θρεπτικών). Έτσι, καθώς η ανάπτυξη επιβραδύνει και τελικώς φθίνει, παρατηρείται απότομη αύξηση του pH. Η αύξηση αυτή μπορεί να οφείλεται στη φυσική αποικοδόμηση (αυτόλυση) της καλλιέργειας καθώς αυτή εισέρχεται στη φάση θανάτου της, αφού τα «νεκρά» κυτταρικά στοιχεία που απελευθερώνονται έχουν την τάση να κάνουν το διάλυμα πιο αλκαλικό. Εναλλακτικά, η αύξηση του pH με ταυτόχρονη μείωση της οπτικής πυκνότητας μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη παραγωγή ανθρακικού οξέος, λόγω εξάντλησης του διαλυμένου CO<sub>2</sub> στο μέσο.



Διάγραμμα 15: Πείραμα 2ο - Εξέλιξη της οπτικής πυκνότητας και του pH της καλλιέργειας για περίοδο 10 ημερών

Η παραγωγή της βιομάζας επιβεβαιώνεται και από τις μετρήσεις αιωρούμενων στερεών (ολικών και πτητικών). Στα ολικά αιωρούμενα στερεά (TSS) μετρήθηκε αύξηση ίση με 0.85 g/L ή κατά ~90%, ενώ στα πτητικά, ίση με 0.15 g/L ή αύξηση κατά ~37.5%. Η μέτρηση VSS αποτελεί ένα άμεσο μέτρο της συνολικής συγκέντρωσης της βιομάζας στο διάλυμα της καλλιέργειας και της παραγωγικότητας του συστήματος.

Η παραγωγικότητα της βιομάζας για το χρόνο λειτουργίας του πειράματος υπολογίζεται ως εξής (78):

$$P = \frac{\Delta VSS}{\Delta t} = \frac{x_t - x_0}{t - t_0} = \frac{0.57 \text{ g/L} - 0.42 \text{ g/L}}{10 \text{ days}} = 0.015 \text{ g/L/day} \quad \text{[I]}$$

Και ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (78):

$$\mu = \frac{\ln(x_t) - \ln(x_0)}{t - t_0} = 0.0305 \text{ days}^{-1} \quad \text{[II]}$$

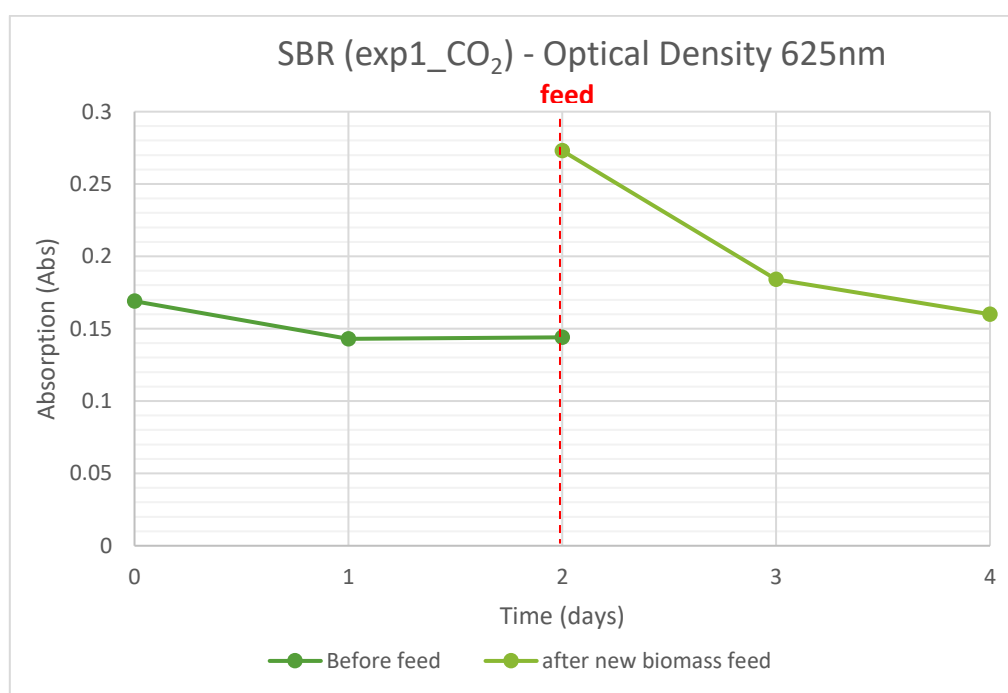
Δηλαδή, ο πληθυσμός των μικροφυκών αυξάνεται κατά 3.05% ανά ημέρα.

Οι υπολογισμοί αυτοί παρέχουν μία τιμή για τη μέση παραγωγικότητα βιομάζας και τον μέσο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης αντίστοιχα, για την καθορισμένη χρονική περίοδο. Για πιο αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα, θα έπρεπε να πραγματοποιηθούν μετρήσεις VSS σε διάφορες χρονικές στιγμές εντός της περιόδου καλλιέργειας. Παρόλα αυτά, τα παρόντα αποτελέσματα υποδηλώνουν μία αρκετά υγιή και αναπτυσσόμενη καλλιέργεια μικροφυκών.

Περνώντας τώρα στο τρίτο πείραμα που έγινε χωρίς παροχή διοξειδίου του άνθρακα και συγκρίνοντας το με τα δύο προηγούμενα, η νέα παράμετρος που εισάγεται στο σύστημα είναι η ανάδευση με διοχέτευση ατμοσφαιρικού αέρα (σε συνδυασμό με τη μηχανική ανάδευση). Επιπλέον αυτή τη φορά το σύστημα παραμένει κλειστό. Σύμφωνα με το *Διάγραμμα 14* (και το *Διάγραμμα 13*) η οπτική πυκνότητα παρουσίασε μία μικρή αύξηση τις πρώτες τρεις ημέρες καλλιέργειας, ενώ στη συνέχεια σχεδόν γραμμική μείωση. Συμπεραίνεται ότι η διοχέτευση αέρα οδήγησε σε υπερκορεσμό του διαλύματος σε οξυγόνο και δημιούργησε οξειδωτικό στρες στα κύτταρα των μικροφυκών. Τα αυξημένα επίπεδα  $O_2$  προκάλεσαν οξειδωτικό στρες, καταστρέφοντας τις κυτταρικές δομές και οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο.

#### 4.2.2 Καλλιέργεια μικροφυκών *Arthrospira Platensis* με παροχή CO<sub>2</sub>

Όπως περιεγράφηκε αναλυτικά στην ενότητα της πειραματικής διαδικασίας, στο πρώτο πείραμα που πραγματοποιήθηκε με παροχή CO<sub>2</sub> έγινε προσθήκη ποσότητας βιομάζας και αερίου διοξειδίου, πέρα από την εκκίνηση του φωτοβιοαντιδραστήρα και κατά την 2η μέρα λειτουργίας. Την ημέρα 0, αμέσως μετά τη χορήγηση CO<sub>2</sub>, ανάλυση δείγματος αέρα από τον κενό χώρο του αντιδραστήρα έδειξε ότι το αέριο μείγμα περιείχε 13% v/v CO<sub>2</sub>, 13.8% v/v O<sub>2</sub> και 58.5% N<sub>2</sub>, ενώ η οπτική πυκνότητα στα 625nm ήταν ίση με 0.169. Μετά από 48 ώρες, η περιεκτικότητα του κενού χώρου σε διοξείδιο του άνθρακα ήταν 1.55% v/v (μείωση κατά 88.08%), αλλά η οπτική πυκνότητα μειώθηκε στο 0.135. Έγινε εκ νέου προθήκη 100ml βιομάζας στην υπάρχουσα καλλιέργεια και χορηγήθηκαν 45.5% v/v CO<sub>2</sub>. Τα φάσματα απορρόφησης από τη σάρωση μήκους κύματος, καθώς και η διακύμανση της οπτικής πυκνότητας για το σύνολο της λειτουργίας του πειράματος παρουσιάζονται στα επόμενα διαγράμματα.

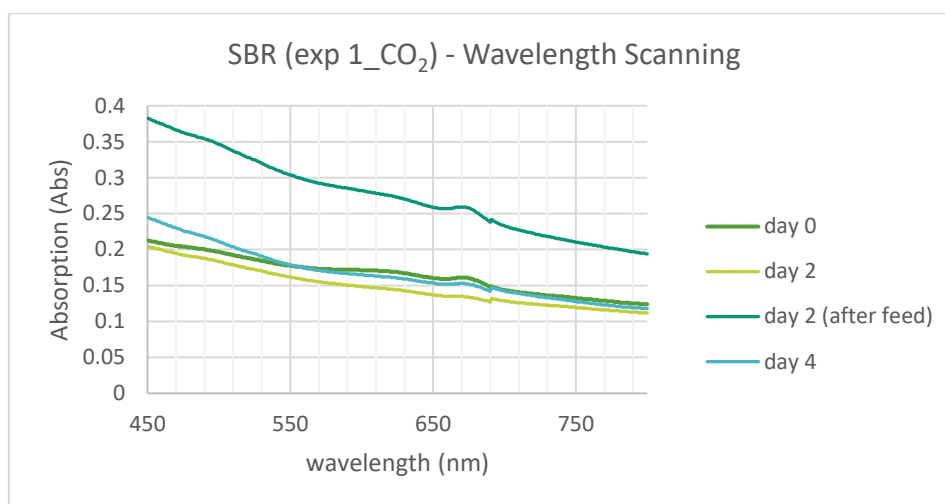


Διάγραμμα 16: 1<sup>ο</sup> Πείραμα με διοχέτευση CO<sub>2</sub> (SBR) - Εξέλιξη οπτικής πυκνότητας (απορρόφηση στα 625nm)

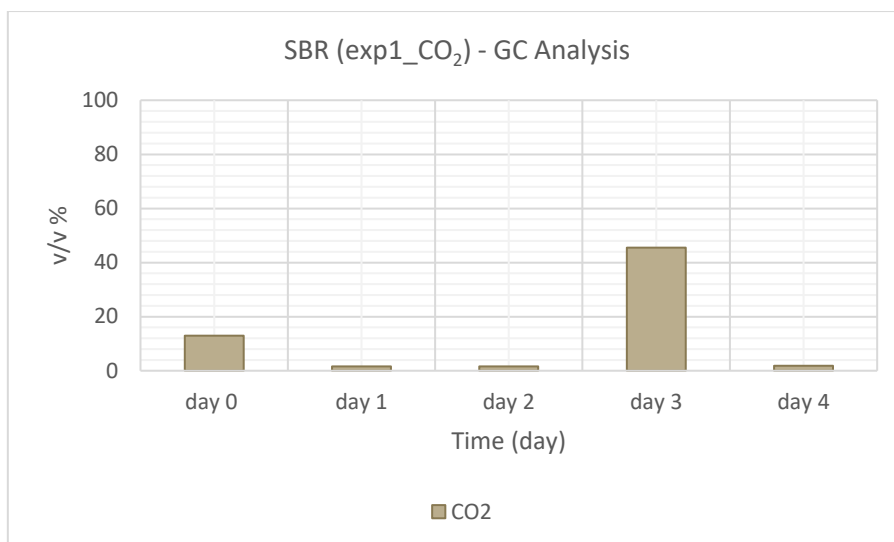
Παρόλο που η οπτική πυκνότητα εμφάνιζε μείωση από μέρα σε μέρα, οι μετρήσεις πτητικών αιωρούμενων στερεών VSS έδειξαν ότι υπήρξε αύξηση της συγκέντρωσης (g/L) της βιομάζας κατά 30.2% για το διάστημα των πρώτων 48 ωρών του πειράματος. Αντίστοιχα, από τις 48 ώρες μέχρι την ολοκλήρωση του πειράματος (after feed) τα VSS αυξήθηκαν κατά 15%. Οι αυξήσεις αυτές οφείλονται σε συσσώρευση κυτταρικού υλικού (οργανικών και ανόργανων στοιχείων).

Είναι πράγματι δυνατό η οπτική πυκνότητα να μειώνεται ενώ τα πτητικά αιωρούμενα στερεά στην καλλιέργεια να εμφανίζουν αύξηση. Η συσχέτιση ανάμεσα στα VSS και την οπτική πυκνότητα είναι πολύπλοκη και επηρεάζεται από διάφορες πτυχές, όπως τη φυσιολογία του στελέχους που καλλιεργείται, τις συνθήκες

καλλιέργειας και τη σύσταση του μέσου καλλιέργειας. Για παράδειγμα, αν τα μικροφύκη έχουν υποστεί αλλαγές στο μέγεθος ή το σχήμα τους, αυτόματα επηρεάζεται και ο τρόπος με τον οποίο το φως αλληλοεπιδρά με τα κύτταρα. Εάν ένα μέρος του πληθυσμού των μικροφυκών αυτολύεται, το ενδοκυτταρικό περιεχόμενο που απελευθερώνεται στο μέσο συμβάλλει στην αύξηση των VSS παρόλο που ο συνολικός αριθμός των «ακεραίων» κυττάρων (και συνεπώς η οπτική πυκνότητα) μειώνεται. Άλλος ένας παράγοντας που μπορεί να εξηγήσει το συγκεκριμένο φαινόμενο είναι η παρουσία επιμολύνσεων/ προσμίξεων, όπως μικροοργανισμών και βακτηρίων, η οποία θα επηρέαζε την απορρόφηση του φωτός από το δείγμα της καλλιέργειας, ενώ ταυτόχρονα θα αύξανε τα στερεά λόγω της πρόσθετης βιομάζας.



**Διάγραμμα 17:** Σάρωση μήκους κύματος για τις 4 μέρες λειτουργίας του φωτοαντιδραστήρα κατά το 1ο πείραμα με παροχή CO<sub>2</sub>. Από τις αναλύσεις αέριας χρωματογραφίας που πραγματοποιήθηκαν προκύπτει το επόμενο ραβδόγραμμα σχετικά με τη σύσταση του αέρα στο headspace του αντιδραστήρα για τη διάρκεια της καλλιέργειας. Η καλλιέργεια φαίνεται ότι βιοσυσσώρευσε αποτελεσματικά σχεδόν όλη την ποσότητα του CO<sub>2</sub> που χορηγήθηκε (εντός 24h, 12h ακτινοβολήση - 12h σκοτάδι)



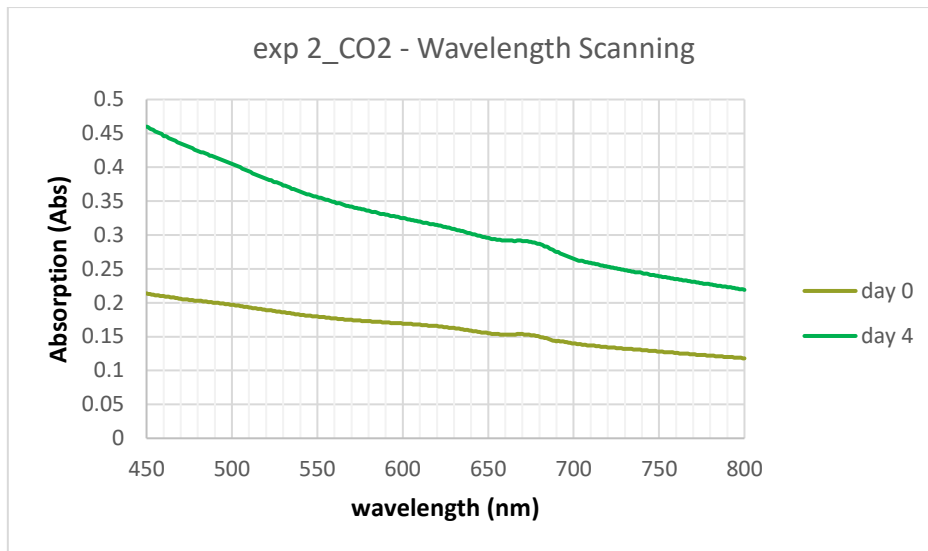
Διάγραμμα 18: Η περιεκτικότητα του αέρα σε CO<sub>2</sub> στον κενό χώρο του αντιδραστήρα ανά ημέρα (για το 1<sup>ο</sup> Πείραμα με χορήγηση CO<sub>2</sub>)

Η αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης του διοξειδίου του άνθρακα εντός 24 ωρών υπολογίζεται από την εξίσωση III (79) ίση με 87.6% για τις πρώτες 24h, ενώ για το εικοσιτετράωρο μετά την προσθήκη βιομάζας ίση με 95.9%.

$$\text{removal efficiency \%} = \frac{\text{influent of CO}_2 - \text{effluent of CO}_2}{\text{influent of CO}_2} \quad \text{[III]}$$

Η διοχέτευση CO<sub>2</sub> αναμενόμενα επηρέασε το pH του διαλύματος, το οποίο ξεκίνησε από τα 10.05, έφτασε την μέγιστη τιμή του (10.37) την 2η μέρα, αμέσως μετά την προσθήκη βιομάζας και τελικά μειώθηκε στα 10.06 κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Υψηλές συγκεντρώσεις CO<sub>2</sub> τείνουν να μειώσουν το pH εξαιτίας του σχηματισμού ανθρακικού οξέος, δημιουργώντας ένα πιο όξινο περιβάλλον. Εδώ, η προσθήκη CO<sub>2</sub> δεν επηρέασε το pH με τρόπο αρνητικό για την καλλιέργεια, μειώνοντας την τιμή του κάτω από τα επιθυμητά επίπεδα, αλλά έδρασε ρυθμιστικά.

Για την περαιτέρω μελέτη της συμπεριφοράς του στελέχους *Arthrospira Platensis* όταν αυτό σε βρίσκεται σε περιβάλλον με υψηλή συγκέντρωση CO<sub>2</sub> διεξήχθη ένα δεύτερο πείραμα. Η διάρκεια του πειράματος ήταν 96 ώρες (5 ημέρες) και δεν υπήρξε ενδιάμεση προσθήκη βιομάζας όπως στην προηγούμενη περίπτωση. Στην εκκίνηση, χορηγήθηκε ποσότητα CO<sub>2</sub> και η ανάλυση αέριας χρωματογραφίας έδειξε ότι στον κενό χώρο η περιεκτικότητα του αέρα σε διοξείδιο ήταν 63.7% v/v. Η αρχική οπτική πυκνότητα (στα 625nm) ήταν 0.164 και το pH 10.27. Μετά από 24h ώρες, η περιεκτικότητα είχε μειωθεί στο 1.8% v/v CO<sub>2</sub> ενώ στις 48h χορηγήθηκε εκ νέου CO<sub>2</sub> (81% v/v). Στο τέλος λειτουργίας του πειράματος, η οπτική πυκνότητα ήταν 0.312 (αύξηση κατά 47%) και το pH μειώθηκε στο 9.6.

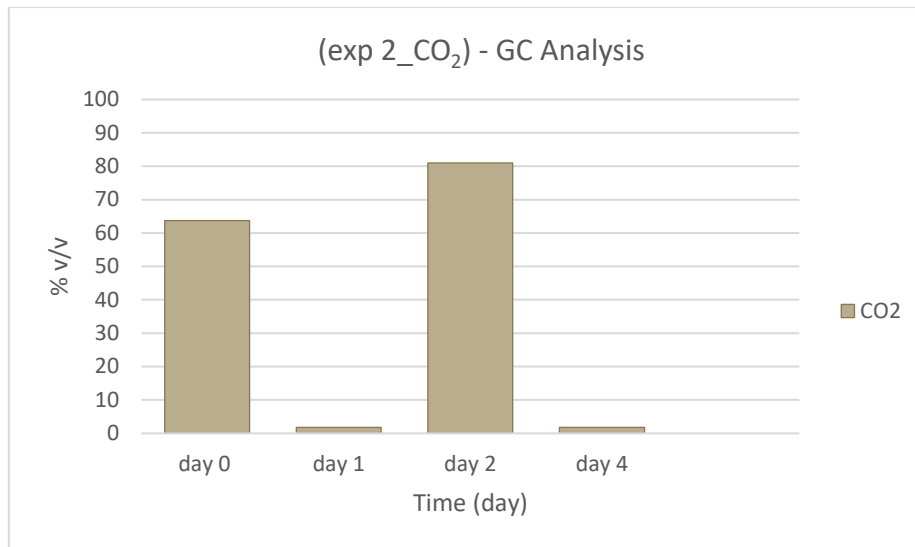


Διάγραμμα 19: Φάσμα Απορρόφησης i) για την εκκίνηση (day 0) του αντιδραστήρα και ii) για την τελευταία μέρα λειτουργίας (day 4)

Το φάσμα απορρόφησης (Διάγραμμα 19) που προκύπτει από τη σάρωση μήκους κύματος συνάδει με όλα τα προηγούμενα αντίστοιχα διαγράμματα που έγιναν βάσει των μετρήσεων του φασματοφωτομέτρου, τόσο στα πειράματα χωρίς επιπλέον παροχή CO<sub>2</sub>, όσο και στο πείραμα που παρουσιάστηκε παραπάνω. Το φάσμα αυτό είναι χαρακτηριστικό για το στέλεχος που χρησιμοποιήθηκε σε όλα τα πειράματα και επιβεβαιώνει ότι όλες οι καλλιέργειες περιείχαν το στέλεχος *Arthrospira Platensis*. Το μοτίβο αυτό που παρατηρείται στη σάρωση μήκους κύματος υποδηλώνει την παρουσία των ίδιων φωτοχρωστικών ουσιών σε κάθε καλλιέργεια.

Στο παρόν πείραμα, η καλλιέργεια μικροφυκών όχι μόνο απορρόφησε αποτελεσματικά όλη την ποσότητα CO<sub>2</sub> που χορηγήθηκε (day 0 & day 2) αλλά ταυτόχρονα παρατηρήθηκε αύξηση στην οπτική πυκνότητα και στη συγκέντρωση των αιωρούμενων στερεών στο διάλυμα.. Η αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης του διοξειδίου του άνθρακα εντός 24 ωρών υπολογίζεται (σύμφωνα με την εξίσωση I) περίπου ίση με 97% τόσο για τις πρώτες 24h, όσο και για τη δεύτερη χορήγηση CO<sub>2</sub>.





Διάγραμμα 20 Η περιεκτικότητα του αέρα σε CO<sub>2</sub> φστον κενό χώρο του αντιδραστήρα ανά ημέρα (για το 2<sup>ο</sup> Πείραμα με χορήγηση CO<sub>2</sub>)

Η παραγωγικότητα της βιομάζας για το χρόνο λειτουργίας του πειράματος υπολογίζεται από τις μετρήσεις VSS ίση με **P = 0.0298 g/L/day**, ενώ ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, **μ = 0.0668 days<sup>-1</sup>**. Επομένως, ο πληθυσμός των μικροφυκών αυξήθηκε κατά 6.68%. Η ανάπτυξη αυτή υποδεικνύει ότι η απορρόφηση του επιπλέον CO<sub>2</sub> ενίσχυσε τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα χωρίς να δράσει ανασταλτικά για την καλλιέργεια.

Για να διερευνηθεί κατά πόσο η μείωση του pH κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του αντιδραστήρα οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση CO<sub>2</sub> (και κατά συνέπεια στην αυξημένη παραγωγή ανθρακικού οξέος) ή στην ύπαρξη βακτηρίων, έγινε ανάλυση με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας υψηλής ανάλυσης (HPLC). Η ανάλυση δεν εντόπισε την ύπαρξη οξέων, ενδεικτικών για τον μεταβολισμό των βακτηρίων, επομένως μπορεί να θεωρηθεί ότι τα παρόντα αποτελέσματα αναφέρονται αποκλειστικά στη συμπεριφορά του στελέχους *Arthrospira Platensis* υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες.

## 5 Συμπεράσματα και μελλοντικές προτάσεις

---

Βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας, συμπεραίνεται ότι τα μικροφύκη και συγκεκριμένα το κυανοβακτήριο *Arthrospira Platensis*, είναι ικανά να δεσμεύσουν μεγάλες ποσότητες διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) σε κατάλληλες συνθήκες, χωρίς να επηρεαστεί αρνητικά η ανάπτυξή τους. Έτσι, για όγκο καλλιέργειας 1,7L σε αντιδραστήρα κάθετης επιφάνειας και συνθήκες pH 9.5 και T = 29 °C, παροχή CO<sub>2</sub> της τάξεως του 1ml/min απορροφήθηκε αποτελεσματικά από τα κύτταρα της καλλιέργειας.

Στον κυλινδρικό αντιδραστήρα φωτοχημικής ανάπτυξης, ισχύς της τάξεως των 140Watt και φωτεινή ροή από 7000lux – 3000lux, έδρασαν ανασταλτικά για την ανάπτυξη και οδήγησαν στο φαινόμενο της φωτοαναστολής, αποδομώντας τα κύτταρα της καλλιέργειας. Αντίστοιχα, η μηχανική ανάδευση σε τιμές άνω των 200rpm, δημιούργησε υψηλές διατμητικές τάσεις και συνέβαλλε στην καταστροφή των κυττάρων. Η διοχέτευση αέρα σε συνδυασμό με τη μηχανική ανάδευση από την άλλη πλευρά δημιούργησε υπεροξυγονομένες συνθήκες εντός του διαλύματος. Βάση των παραπάνω παρατηρήσεων, οι βέλτιστες συνθήκες εντός του συγκεκριμένου τύπου αντιδραστήρα για την καλλιέργεια του στελέχους *Arthrospira Platensis* ήταν η ακτινοβολήση μέσω διόδου εκπομπής φωτός με ισχύ 10Watt, μηχανική ανάδευση 100rpm και εύρος θερμοκρασίας 20 °C – 30°C και εύρος pH 10 – 10.5.

Το pH είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας αφού επηρεάζει τη διαλυτότητα των συστατικών, συμπεριλαμβανομένου του CO<sub>2</sub>, στο διάλυμα της καλλιέργειας. Η αύξηση της βιομάζας τείνει να αυξήσει το pH, αλλά η προσθήκη ποσότητας CO<sub>2</sub> έδρασε ρυθμιστικά διατηρώντας το σε κατάλληλες τιμές για την προώθηση της ανάπτυξης.

Η μέγιστη περιεκτικότητα CO<sub>2</sub>, έπειτα από χορήγηση, που διερευνήθηκε στον κυλινδρικό αντιδραστήρα, ήταν 81% v/v και η αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης ανήλθε στο 97.7% μέσα σε μία χρονική περίοδο 48 ωρών. Η βιοσυσσώρευση αυτή του CO<sub>2</sub> συνοδεύτηκε από αύξηση της οπτικής πυκνότητας και της παραγόμενης βιομάζας, γεγονός που υποδεικνύει τις δυνατότητες της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας.

## 5.1 Μελλοντικές Προτάσεις

### Αξιοποίηση της παραγόμενης βιομάζας *Arthrospira Platensis*

Το κυανοβακτήριο *Arthrospira Platensis* είναι γνωστό για την υψηλή περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες. Οι οργανικές αυτές ενώσεις, σε συνδυασμό με την απουσία λιγνίνης και τον υψηλό ρυθμό ανάπτυξης, καθιστούν την παραγόμενη βιομάζα του συγκεκριμένου μικροφύκου κατάλληλο υπόστρωμα για αναερόβια χώνευση, μία διαδικασία κατά την οποία οι μικροοργανισμοί διασπούν την οργανική ύλη, απουσία οξυγόνου, παράγοντας βιοαέριο. Η διαδικασία μετατροπής της βιομάζας του συγκεκριμένου στελέχους σε βιοαέριο αποτελεί μία βιώσιμη πρακτική για την αξιοποίηση των αποβλήτων και την παραγωγή ενέργειας (80).

Εναλλακτικά, η βιομάζα μπορεί να κατευθυνθεί και προς την παραγωγή βιοαιθανόλης. Η *Arthrospira Platensis* έχει δυνατότητα συσσώρευσης έως και 65% dry weight γλυκογόνου (πολυσακχαρίτης). Το γλυκογόνο σχηματίζεται εντός των θυλακοειδών μεμβρανών των κυττάρων και όταν υδρολυθεί, παράγει ενέργεια για τον μεταβολισμό τους. Μέσω ενζυμικής υδρόλυσης (σακχαροποίηση), το γλυκογόνο μπορεί να αποικοδομηθεί και να ζυμωθεί για παραγωγή βιοαιθανόλης (81)(82).

### Χρήση Εναλλακτικών Στελεχών για τη δέσμευση CO<sub>2</sub>

#### *Chlorella Vulgaris*

Ένα από τα πιο αξιόλογα είδη μικροφυκών είναι το πράσινο ευκαρυωτικό στέλεχος *C. Vulgaris*. Έχει υψηλής ποιότητας λιπιδικά έλαια, προσαρμόζεται εύκολα σε διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας και υποστρώματος και έχει τη δυνατότητα scale up. Έχει επίσης σύντομο κύκλο ανάπτυξης, επομένως ο χρόνος καλλιέργειας είναι πολύ μικρότερος. Το στέλεχος *Chlorella Vulgaris* έχει μελετηθεί εκτενώς για την αξιοποίησή του στην παραγωγή βιοκαυσίμων, όπως και για τη χρήση του ως συμπλήρωμα διατροφής, εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητάς του σε πρωτεΐνες και των αντιοξειδωτικών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων του. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας πολλά υποσχόμενος υποψήφιος για τη βιοαποκατάσταση (bioremediation) διαφόρων ρύπων όπως τα βαρέα μέταλλα και οι οργανικές ενώσεις (75). Ακόμα, ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι το συγκεκριμένο στέλεχος έχει υψηλή δυνατότητα δέσμευσης CO<sub>2</sub>, με ικανότητα να σταθεροποιεί (CO<sub>2</sub> fixation) περισσότερο από το 90% του CO<sub>2</sub> που παρέχεται υπό κατάλληλες συνθήκες.

#### Θαλάσσια μικροφύκη

Η ανεπάρκεια σε πόρους γλυκού νερού για την κάλυψη των ανθρώπινων και περιβαλλοντικών απαιτήσεων είναι μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις που καλείται να αντιμετωπίσει η ανθρωπότητα σήμερα. Το φαινόμενο της λειψυδρίας σύμφωνα με το Παγκόσμιο Οικονομικό Φόρουμ για το 2024 (76), αποτελεί έναν από τους πέντε μεγαλύτερους παγκόσμιους κινδύνους για την επόμενη δεκαετία. Σε αυτή την κατεύθυνση λοιπόν, η χρήση θαλάσσιων μικροφυκών και η καλλιέργεια σε θαλασσινό νερό αποτελεί μία ενδιαφέρουσα προοπτική. Το θαλασσινό νερό είναι μία φυσική πηγή θρεπτικών συστατικών για τα μικροφύκη, ελαχιστοποιώντας έτσι τις

απαιτήσεις τις καλλιέργειας και αυξάνοντας την απόδοση από πλευρά κόστους. Η καλλιέργεια των θαλάσσιων μικροφυκών στο φυσικό τους περιβάλλον εξαλείφει την ανάγκη προσαρμογής και τον κίνδυνο επιπλοκών όπως για παράδειγμα λόγω διακυμάνσεων της αλατότητας ή επιμολύνσεων. Ακόμα επιτρέπει τη δυνητική βιοεξυγίανση των θαλάσσιων περιβαλλόντων αφού ορισμένα είδη θαλάσσιων μικροφυκών έχουν την ικανότητα να απορροφούν και να απομακρύνουν ρύπους (77).

#### Φωτοαντιδραστήρα σε μορφή πάνελ – Παραγωγή Ηλεκτρικής Ενέργειας

Οι φωτοαντιδραστήρες κάθετης επιφάνειας (μορφή πάνελ) εμφανίζουν το πλεονέκτημα του μικρότερου πάχους, επιτυγχάνοντας έτσι καλύτερη κατανομή φωτός/ ακτινοβολίας, αποτελεσματικότητα στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης και βέλτιστη κυτταρική πυκνότητα. Τα μειονεκτήματα που έχει ο συγκεκριμένος τύπος είναι η δυσκολία στο scale up και στη ρύθμιση/ έλεγχο της θερμοκρασίας. Αυτή η εγκατάσταση όμως, μπορεί να συνδεθεί με φωτοβολταϊκό πάνελ παραγωγής ενέργειας (PV), διαμορφώνοντας έτσι έναν Insulated Glazed Photovoltaic Photobioreactor (IGP) για την συμπαραγωγή βιομάζας και ηλεκτρικής ενέργειας. Τα πάνελ, περιλαμβάνουν ημιδιαφανή, φασματικά εκλεκτικά φίλτρα, τα οποία τοποθετούνται πάνω από την καλλιέργεια, επιτρέποντας τη διόδο της ηλιακής ακτινοβολίας προς την καλλιέργεια στο απαιτούμενο μήκος κύματος (ορατό) και δεσμεύοντας το υπόλοιπο για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας. Ένα τέτοιο σύστημα μπορεί να παράξει έως και  $67\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$  ηλεκτρική ενέργεια (74).

## Βιβλιογραφία

---

- (1) International Energy Agency - IEA (2023), CO<sub>2</sub> Emissions in 2022, IEA, Paris <https://www.iea.org/reports/co2-emissions-in-2022>, Licence: CC BY 4.0
- (2) Manan, Z. A., Mohd Nawi, W. N. R., Wan Alwi, S. R., & Klemeš, J. J. (2017). Advances in Process Integration research for CO<sub>2</sub> emission reduction – A review. *Journal of Cleaner Production*, 167, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.08.138>
- (3) Pires, J. C. M., Martins, F. G., Alvim-Ferraz, M. C. M., & Simões, M. (2011). Recent developments on carbon capture and storage: An overview. *Chemical Engineering Research & Design: Transactions of the Institution of Chemical Engineers*, 89(9), 1446–1460. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2011.01.028>
- (4) Wilberforce, T., Baroutaji, A., Soudan, B., Al-Alami, A. H., & Olabi, A. G. (2019). Outlook of carbon capture technology and challenges. *The Science of the Total Environment*, 657, 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.424>
- (5) Leung, D. Y. C., & Yang, Y. (2012). Wind energy development and its environmental impact: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 1031–1039. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.024>
- (6) Thitakamol, B., Veawab, A., & Aroonwilas, A. (2007). Environmental impacts of absorption-based CO<sub>2</sub> capture unit for post-combustion treatment of flue gas from coal-fired power plant. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 1(3), 318–342. [https://doi.org/10.1016/s1750-5836\(07\)00042-4](https://doi.org/10.1016/s1750-5836(07)00042-4)
- (7) Gizer, S. G., Polat, O., Ram, M. K., & Sahiner, N. (2022). Recent developments in CO<sub>2</sub> capture, utilization, related materials, and challenges. *International Journal of Energy Research*, 46(12), 16241–16263. <https://doi.org/10.1002/er.8347>
- (8) McCabe, W.L, Smith, J.C.; Harriott, P, (2002); Βασικές Φυσικές Διεργασίες Μηχανικής, Εκδόσεις Τζιόλας, 6<sup>η</sup>
- (9) Wilberforce, T., Olabi, A. G., Sayed, E. T., Elsaid, K., & Abdelkareem, M. A. (2021). Progress in carbon capture technologies. *The Science of the Total Environment*, 761(143203), 143203. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143203>
- (10) Song, C., Liu, Q., Deng, S., Li, H., & Kitamura, Y. (2019). Cryogenic-based CO<sub>2</sub> capture technologies: State-of-the-art developments and current challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 101, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.018>

- (11) Hafeez, S., Safdar, T., Pallari, E., Manos, G., Aristodemou, E., Zhang, Z., Al-Salem, S. M., & Constantinou, A. (2021). CO<sub>2</sub> capture using membrane contactors: a systematic literature review. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 15(4), 720–754. <https://doi.org/10.1007/s11705-020-1992-z>
- (12) Ramezani, R., Di Felice, L. and Gallucci, F. (2022). A Review on Hollow Fiber Membrane Contactors for Carbon Capture: Recent Advances and Future Challenges. *Processes*, 10(10), p.2103. <https://doi.org/10.3390/pr10102103>
- (13) Dai, Y., Niu, Z., Luo, W., Wang, Y., Mu, P., & Li, J. (2023). A review on the recent advances in composite membranes for CO<sub>2</sub> capture processes. *Separation and Purification Technology*, 307(122752), 122752. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122752>
- (14) Pan, S.-Y., Chiang, P.-C., Pan, W., & Kim, H. (2018). Advances in state-of-art valorization technologies for captured CO<sub>2</sub>toward sustainable carbon cycle. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 48(5), 471–534. <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1469943>
- (15) Bhola, V., Swalaha, F., Ranjith Kumar, R., Singh, M., & Bux, F. (2014). Overview of the potential of microalgae for CO<sub>2</sub> sequestration. *International Journal of Environmental Science and Technology: IJEST*, 11(7), 2103–2118. <https://doi.org/10.1007/s13762-013-0487-6>
- (16) Singh, H. M., Kothari, R., Gupta, R., & Tyagi, V. V. (2019). Bio-fixation of flue gas from thermal power plants with algal biomass: Overview and research perspectives. *Journal of Environmental Management*, 245, 519–539. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.043>
- (17) Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2022b). *Algae: Anatomy, biochemistry, and biotechnology* (3rd ed.). CRC Press. <https://books.google.at/books?id=3RmbEAAAQBAJ>
- (18) Krienitz, L. (2018). The Algae. In *Lesser Flamingos* (pp. 19–36). Springer Berlin Heidelberg.
- (19) Guiry, M. D. (2012). How many species of algae are there? *Journal of Phycology*, 48(5), 1057–1063. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01222.x>
- (20) Azari, A., Noorpoor, A. R., & Bozorg-Haddad, O. (2019). Carbon footprint analyses of microalgae cultivation systems under autotrophic and heterotrophic conditions. *International Journal of Environmental Science and Technology: IJEST*, 16(11), 6671–6684. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2072-5>
- (21) Carlsson A., Van Beilen J., Moller R., Clayton D. (2007) Micro- and Macro-Algae: Utility for Industrial Applications *Outputs from the EPOBIO project September 200*, University of York, Published by: CPL Press, Tall Gables, The Sydings, Speen, Newbury, Berks RG14 1RZ, UK, ISBN 13: 978-1-872691-29-9
- (22) Garrido-Cardenas, J. A., Manzano-Agugliaro, F., Acien-Fernandez, F. G., & Molina-Grima, E. (2018). Microalgae research worldwide. *Algal Research*, 35, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.005>

- (23) Ampofo, J., & Abbey, Lord. (2022). Microalgae: Bioactive composition, health benefits, safety and prospects as potential high-value ingredients for the functional food industry. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(12), 1744. <https://doi.org/10.3390/foods11121744>
- (24) Jalilian, N., Najafpour, G. D., & Khajouei, M. (2020). Macro and micro algae in pollution control and biofuel production – A review. *ChemBioEng Reviews*, 7(1), 18–33. <https://doi.org/10.1002/cben.201900014>
- (25) Lüning, Klaus & Pang, Shaojun. (2003). Mass cultivation of seaweeds: Current aspects and approaches. *Journal of Applied Phycology*. 15. 115-119. 10.1023/A:1023807503255.
- (26) Larkum, A. W. D., Grossman, A. R., & Raven, J. A. (Eds.). (2020). *Photosynthesis in algae: Biochemical and physiological mechanisms*. Springer International Publishing.
- (27) Sudhakar, K., & Mamat, R. (2019). Artificial leaves: Towards bio-inspired solar energy converters. In *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier.
- (28) Mullineaux, C. W. (1999). The thylakoid membranes of cyanobacteria: structure, dynamics and function. *Functional Plant Biology: FPB*, 26(7), 671. <https://doi.org/10.1071/pp99027>
- (29) Hotos, George. (2020). Βιολογικές Χρωστικές & Φωτοσύνθεση. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.13148.54406/1>.
- (30) Moroney, J. V., & Somanchi, A. (1999). How do algae concentrate CO<sub>2</sub> to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation?1. *Plant Physiology*, 119(1), 9–16. <https://doi.org/10.1104/pp.119.1.9>
- (31) Wilson, R., & Whitney, S. (2015). Photosynthesis: Getting it together for CO<sub>2</sub> fixation. *Nature Plants*, 1(9), 1–3. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.130>
- (32) Masojidek, J., Torzillo, G., & Koblížek, M. (2013). Photosynthesis in Microalgae. In *Handbook of Microalgal Culture* (pp. 21–36). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch2>
- (33) Larkum, A. W. (2016). Photosynthesis and light harvesting in algae. In *The Physiology of Microalgae* (pp. 67–87). Springer International Publishing.
- (34) Halliday, D., Resnick, R., & Walker, J. (2020). *Halliday and resnick's principles of physics* (11th ed.). John Wiley & Sons.
- (35) Iluz, D., & Dubinsky, Z. (2013). Quantum yields in aquatic photosynthesis. In *Photosynthesis*. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/56539>
- (36) Skillman, J. B. (2007). Quantum yield variation across the three pathways of photosynthesis: not yet out of the dark. *Journal of Experimental Botany*, 59(7), 1647–1661. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern029>
- (37) Emerson R., Lewis C. (1943) M1943 The dependence of the quantum yield of Chlorella photosynthesis on wavelength of light. (n.d.). *American Journal of Botany*.

- (38) Ramawat, K. G., Mérillon, J.-M., & Shivanna, K. R. (2014). *Reproductive biology of plants (Chapter 1)*. CRC Press.
- (39) Tunay, D., Yildirim, O., Ozkaya, B., & Demir, A. (2022). Determination of photoautotrophic growth and inhibition kinetics by the Monod and the Aiba models and bioenergetics of local microalgae strain. *Chemosphere*, 292(133330), 133330. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133330>
- (40) Lee, E., Jalalizadeh, M., & Zhang, Q. (2015). Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Research*, 12, 497–512. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.004>
- (41) Zuccaro, G., Yousuf, A., Pollio, A., & Steyer, J.-P. (2020). Microalgae Cultivation Systems. In *Microalgae Cultivation for Biofuels Production* (pp. 11–29). Elsevier.
- (42) Chowdury, K. H., Nahar, N., & Deb, U. K. (2020). The growth factors involved in microalgae cultivation for biofuel production: A review. *Computational Water Energy and Environmental Engineering*, 09(04), 185–215. <https://doi.org/10.4236/cweee.2020.94012>
- (43) Masojídek, J., Ranglová, K., Lakatos, G. E., Silva Benavides, A. M., & Torzillo, G. (2021). Variables governing photosynthesis and growth in microalgae mass cultures. *Processes (Basel, Switzerland)*, 9(5), 820. <https://doi.org/10.3390/pr9050820>
- (44) Mayo, A.W. (1997). Effects of temperature and pH on the Kinetic Growth of Unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria. *Water Environ. Res.* 69, 64–72.
- (45) Q. Béchet, A. Shilton, B. Guieysse (2013) Modeling the effects of light and temperature on algae growth: state of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation, *Biotechnol. Adv.* 31 1648e1663.
- (46) Rosso et al., 1993 L. Rosso, J.R. Lobry, J.P. Flandrois An unexpected correlation between cardinal temperatures of microbial growth highlighted by a new model *Journal of Theoretical Biology*, 162 (4) (1993), pp. 447-463
- (47) Bernard, O., & Rémond, B. (2012). Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresource Technology*, 123, 520–527. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.022>
- (48) Gatamaneni, B. L., Orsat, V., & Lefsrud, M. (2018). Factors affecting growth of various microalgal species. *Environmental Engineering Science*, 35(10), 1037–1048. <https://doi.org/10.1089/ees.2017.0521>
- (49) Hallmann, A., & Rampelotto, P. H. (Eds.). (2019). *Grand Challenges in Algae Biotechnology*. Grand Challenges in Biology and Biotechnology. doi:10.1007/978-3-030-25233-5
- (50) Costa, J. A. V., Freitas, B. C. B., Santos, T. D., Mitchell, B. G., & Morais, M. G. (2019). Open pond systems for microalgal culture. *Biofuels from Algae*, 199–223. doi:10.1016/b978-0-444-64192-2.00009-3



- (51) Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1–3), 313–321. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(99)00083-8)
- (52) da Rosa, G. M., Moraes, L., Cardias, B. B., de Souza, M. da R. A. Z., & Costa, J. A. V. (2015). Chemical absorption and CO<sub>2</sub> biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. *Bioresource Technology*, 192, 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.020>
- (53) Alami, A. H., Alasad, S., Ali, M., & Alshamsi, M. (2021). Investigating algae for CO<sub>2</sub> capture and accumulation and simultaneous production of biomass for biodiesel production. *The Science of the Total Environment*, 759(143529), 143529. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143529>
- (54) Chen, C.-Y., Yeh, K.-L., Aisyah, R., Lee, D.-J., & Chang, J.-S. (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*, 102(1), 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.159>
- (55) Wollina, U., Voicu, C., Gianfaldoni, S., Lotti, T., França, K., & Tchernev, G. (2018). *Arthrospira platensis* – potential in dermatology and beyond. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(1), 176–180. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.033>
- (56) Masojádek J, Torzillo G (2008). "Mass Cultivation of Freshwater Microalgae". *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier. pp. 2226–2235. doi:10.1016/b978-008045405-4.00830-2. ISBN 9780080454054.
- (57) Thevarajah, B., Nishshanka, G. K. S. H., Premaratne, M., Nimarshana, P. H. V., Nagarajan, D., Chang, J.-S., & Ariyadasa, T. U. (2022). Large-scale production of *Spirulina*-based proteins and c-phycoerythrin: A biorefinery approach. *Biochemical Engineering Journal*, 185(108541), 108541. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108541>
- (58) Cogne, G., Lehmann, B., Dussap, C.-G., & Gros, J.-B. (2003). Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis* PCC 8005) under photoautotrophic conditions: Culture medium optimization. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(5), 588–593. <https://doi.org/10.1002/bit.10504>
- (59) Pisciotta, J. M., Zou, Y., & Baskakov, I. V. (2010). Light-dependent electrogenic activity of Cyanobacteria. *PloS One*, 5(5), e10821. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010821>
- (60) Mathur, S., Jain, L., & Jajoo, A. (2018). Photosynthetic efficiency in sun and shade plants. *Photosynthetica*, 56(SPECIAL ISSUE), 354–365. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0767-y>
- (61) Photosynthesis - light, Chloroplasts, carbon. (n.d.). In *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/photosynthesis/Energy-efficiency-of-photosynthesis>
- (62) Whitton, B. A., & Potts, M. (2012). Introduction to the Cyanobacteria. In *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 1–13). Springer Netherlands.

- (63) United Nations Environment Programme (2023). Emissions Gap Report 2023: Broken Record – Temperatures hit new highs, yet world fails to cut emissions (again). Nairobi. <https://doi.org/10.59117/20.500.11822/43922>.
- (64) Adnan AI, Ong MY, Nomanbhay S, Show PL. Determination of Dissolved CO<sub>2</sub> Concentration in Culture Media: Evaluation of pH Value and Mathematical Data. *Processes*. 2020; 8(11):1373. <https://doi.org/10.3390/pr8111373>
- (65) Banayan, S., Jahadi, M., & Khosravi-Darani, K. (2022). Pigment Productions by *Spirulina platensis* as a Renewable Resource. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 9(2), 614-621. doi: 10.30491/jabr.2021.292076.1406
- (66) Mary Leema, J. T., Kirubakaran, R., Vinithkumar, N. V., Dheenan, P. S., & Karthikayulu, S. (2010). High value pigment production from *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cultured in seawater. *Bioresource Technology*, 101(23), 9221–9227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.120>
- (67) Walter, Alfredo & De Carvalho, Júlio & Thomaz-Soccol, Vanete & Faria, Ana & Ghiggi, Vanessa & Soccol, Carlos. (2011). Study of Phycocyanin Production from *Spirulina platensis* Under Different Light Spectra. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 54. 675-682. 10.1590/S1516-89132011000400005.
- (68) Hirano, M., Asada, Y., Takahashi, M., Kajiuchi, T., & Miura, Y. (1998). Gasification of *Spirulina* and its potential application to waste treatment and resource recovery. *Biomass and Bioenergy*, 14(6), 517-524.
- (69) da Rosa, Gabriel & Moraes, Luiza & Souza, Michele & Costa, Jorge Alberto. (2015). *Spirulina* Cultivation with A CO<sub>2</sub> Absorbent: Influence on Growth Parameters and Macromolecule Production. *Bioresource Technology*. 200. 10.1016/j.biortech.2015.10.025.
- (70) Ye, C., Mu, D., Horowitz, N., Xue, Z., Chen, J., Xue, M., Zhou, Y., Klutts, M., & Zhou, W. (2018). Life cycle assessment of industrial scale production of spirulina tablets. *Algal Research*, 34, 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.013>
- (71) Vonshak, A. (2002). *Spirulina Platensis Arthrospira: Physiology, cell-biology and biotechnology*. CRC Press.
- (72) Van Eykelenburg, C. (1977). On the morphology and ultrastructure of the cell wall of *Spirulina platensis*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 43(2), 89–99. <https://doi.org/10.1007/bf00395664>
- (73) Crouch, S., Skoog, D., & Holler, F. (2017). *Principles of Instrumental Analysis* (7th ed.). CENGAGE Learning Custom Publishing.
- (74) Emeka G. Nwoba, David A. Parlevliet, Damian W. Laird, Kamal Alameh, Navid R. Moheimani, Pilot-scale self-cooling microalgal closed photobioreactor for biomass production and electricity generation, *Algal Research*, Volume 45, 2020, 101731, ISSN 2211-9264, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101731>

- (75) Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing, and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- (76) World Economic Forum (2024) The Global Risks Report, 19<sup>th</sup> Edition, *in partnership with Marsh McLennan and Zurich Insurance Group*, Cologny/Geneva Switzerland
- (77) Mathimani, T., Uma, L., & Prabakaran, D. (2018). Formulation of low-cost seawater medium for high cell density and high lipid content of *Chlorella vulgaris* BDUG 91771 using central composite design in biodiesel perspective. *Journal of Cleaner Production*, 198, 575–586. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.303>
- (78) Zhu, B., Shen, H., Li, Y., Liu, Q., Jin, G., Han, J., Zhao, Y., & Pan, K. (2020). Large-scale cultivation of *Spirulina* for biological CO<sub>2</sub> mitigation in open raceway ponds using purified CO<sub>2</sub> from a coal chemical flue gas. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00441> FZ
- (79) Klinthong, W., Yang, Y.H., Huang, C.H. and Tan, C.S. (2015). A Review: Microalgae and Their Applications in CO<sub>2</sub> Capture and Renewable Energy. *Aerosol Air Qual. Res.* 15: 712-742. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2014.11.0299>
- (80) Rodríguez, R., Espada, J. J., Moreno, J., Vicente, G., Bautista, L. F., Morales, V., Sánchez-Bayo, A., & Dufour, J. (2018). Environmental analysis of *Spirulina* cultivation and biogas production using experimental and simulation approach. *Renewable Energy*, 129, 724–732. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.05.076>
- (81) Gonzalez Bautista, E., & Laroche, C. (2021). *Arthrospira platensis* as a Feasible Feedstock for Bioethanol Production. *Applied Sciences (Basel, Switzerland)*, 11(15), 6756. <https://doi.org/10.3390/app11156756>
- (82) Markou, G., Angelidaki, I., Nerantzis, E., & Georgakakis, D. (2013). Bioethanol Production by Carbohydrate-Enriched Biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Energies*, 6(8), 3937–3950. <https://doi.org/10.3390/en6083937>
- (83) Henderson-sellers, A. (1989). What is the greenhouse effect. <https://climate.nasa.gov/faq/19/what-is-the-greenhouse-effect/>
- (84) UCAR Center for Science Education. (n.d.). The greenhouse effect. Ucar.edu. Retrieved February 10, 2024, from <https://scied.ucar.edu/learning-zone/how-climate-works/greenhouse-effect>

## Πηγές Εικόνων & Διαγραμμάτων:

**EIKONA 1:** Cheng, Acga & Lim, Wai & Lim, Phaik-Eem & Yang Amri, Affendi & Sze-Wan, Poong & Song, Sze-Looi & Ilham, Zul. (2022). Marine Autotroph-Herbivore Synergies: Unravelling the Roles of Macroalgae in Marine Ecosystem Dynamics. *Biology*. 11. 1209. [10.3390/biology11081209](https://doi.org/10.3390/biology11081209).

**EIKONA 2:** (N.d.).Nagwa.com. Retrieved February 10, 2024, from <https://www.nagwa.com/en/explainers/357165907648/>.

**EIKONA 3:** Lumen Learning Boundless, B. (now (2017, May 9). 5.12C: The Calvin cycle. *Biology LibreTexts*, Retrieved February 10, 2024, from [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology\\_%28Boundless%29/05%3A\\_Microbial\\_Metabolism/5.12%3A\\_Biosynthesis/5.12C%3A\\_The\\_Calvin\\_Cycle](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_%28Boundless%29/05%3A_Microbial_Metabolism/5.12%3A_Biosynthesis/5.12C%3A_The_Calvin_Cycle)

**EIKONA 4:** Roshdy, Ali. (2019). UTILIZING WASTEWATER AS A NUTRITION SOURCE FOR THE CULTIVATION OF CHLORELLA VULGARIS. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11708.49286>

**EIKONA 5:** Shareefdeen, Z., Elkamel, A., & Babar, Z. B. (2023). Recent developments on the performance of algal bioreactors for CO<sub>2</sub> removal: Focusing on the light intensity and photoperiods. *Biotech (Basel (Switzerland))*, 12(1), 10. <https://doi.org/10.3390/biotech12010010>

**EIKONA 7:** Yuniati, R., Zainuri, M., & Kusumaningrum, H. P. (2020). Qualitative tests of secondary metabolite compounds in ethanol extract of *Spirulina platensis* from Karimun Jawa Sea, Indonesia. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12, 343–349. <https://doi.org/10.15294/BIOSAINTIFIKA.V12I3.23153>

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1:** United Nations Environment Programme (2023). Emissions Gap Report 2023: Broken Record – Temperatures hit new highs, yet world fails to cut emissions (again). Nairobi. <https://doi.org/10.59117/20.500.11822/43922>.

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2:** Quarterly greenhouse gas emissions in the EU. (n.d.). Europa.Eu. Retrieved February 10, 2024, from [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Quarterly\\_greenhouse\\_gas\\_emissions\\_in\\_the\\_EU](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Quarterly_greenhouse_gas_emissions_in_the_EU)

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3:** Pires, J. C. M., Martins, F. G., Alvim-Ferraz, M. C. M., & Simões, M. (2011). Recent developments on carbon capture and storage: An overview. *Chemical Engineering Research & Design: Transactions of the Institution of Chemical Engineers*, 89(9), 1446–1460. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2011.01.028>

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 5:** Ferro, Lorenza. (2019). Wastewater treatment and biomass generation by Nordic microalgae Growth in subarctic climate and microbial interactions.