



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ  
Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας



## **Απομόνωση πολυσακχαριτών από καφέ μακροφύκη**

**ΓΕΩΡΓΙΑ Κ. ΓΕΩΡΓΟΥΛΑ**

Επιβλέπων καθηγητής: **Δημήτριος Κέκος**  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούλιος 2013

*Ευχαριστώ τον Καθηγητή Ε.Μ.Π. Δ.Κέκο, τη Δρ. Δ. Μαμμά, καθώς και όλο το ανθρώπινο δυναμικό του εργαστηρίου βιοτεχνολογίας για την πολύτιμη βοήθειά τους στη διεκπεραίωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.*

*Γεωργούλα Γεωργία*

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	i
<b>I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	1
<b>1. ΓΕΝΙΚΑ</b>	2
<b>2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΦΥΚΩΝ</b>	2
2.1 Ρυθμός φωτοσύνθεσης μακροφυκών	6
<b>3. ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ</b>	7
3.1 Καφέ φύκη	8
3.1.1 Χημική σύνθεση	8
3.2 Κόκκινα φύκη	14
3.3 Πράσινα φύκη	15
<b>4. ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ</b>	16
<b>5. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΑΚΡΟΦΥΚΩΝ</b>	17
5.1 Παγκόσμια παραγωγή μακροφυκών	17
5.2 Καλλιέργεια μακροφυκών	21
5.2.1 Χερσαία συστήματα καλλιέργειας	22
5.2.1.1 Καλλιέργεια μακροφυκών σε δεξαμενές	22
5.2.1.2 Καλλιέργεια μακροφυκών σε τεχνητές λίμνες	23
5.2.2 Θαλάσσιες καλλιέργειες μακροφυκών	24
5.2.2.1 Συστήματα καλλιέργειας	24
5.2.2.2 Συντήρηση των θαλάσσιων καλλιεργειών μακροφυκών	28
5.3 Συγκομιδή μακροφυκών	29
5.4 Κόστος παραγωγής φυκών	32
<b>6. ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΥΚΩΝ</b>	34
6.1 Τα φύκη ως συμπλήρωμα διατροφής	37
6.2 Υδροκολλοειδή	38
6.2.1 Αλγινικό νάτριο	38
6.2.2 Άγαρ	39
6.2.3 Καρραγενάνη	43
6.2.3.1 Εξευγενισμένη/Φιλτραρισμένη καρραγενάνη	43
6.2.3.2 Ημι-εξευγενισμένη καρραγενάνη και άλευρο μακροφυκών	45
6.3 Ζωοτροφή	47
6.4 Καλλυντικά	47
6.5 Βιολογικά δραστικά συστατικά των φυκών	48
6.5.1 Πολυσακχαρίτες	48
6.5.2 Πρωτεΐνες	49
6.5.3 Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs)	50
6.5.4 Χρωστικές	50
6.5.5 Πολυφαινόλες	50
6.5.6 Ορμόνες φυτών	50
6.5.7 Άλλα βιολογικά δραστικά συστατικά	51
<b>7. ΤΑ ΦΥΚΗ ΩΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΗΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ</b>	52
7.1 Γενικά	52
7.2 Βιοαιθανόλη	56
7.3 Βιοαέριο/Μεθάνιο	59
7.4 Βιοβουτανόλη	60
7.5 Βιοντίζελ	60

7.6 Βιοδρογόνο	61
7.7 Syngas (Συνθετικό αέριο)	62
7.8 Ανάλυση κόστους παραγωγής βιοκαυσίμων από μακροφύκη	64
<b>8. ΒΙΟΔΙΥΛΙΣΤΗΡΙΟ</b>	64
8.1 Γενικά	64
8.2 Βιοδιυλιστήριο φυκών	65
8.2.1 Προκατεργασία της βιομάζας φυκών και υδρόλυση των πολυσακχαριτών της βιομάζας των καφέ φυκών	67
8.2.2 Βιοδιυλιστήριο φυκών στο Sabah της Μαλαισίας	68
8.2.2.1 Εκτιμώμενη παραγωγική ικανότητα της TGB από βιοδιυλιστήριο φυκών	69
<b>II. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ</b>	72
1. Πρώτες ύλες και χημικά αντιδραστήρια	73
2. Όργανα	73
3. Προσδιορισμός σύστασης μακροφυκών	73
3.1 Προσδιορισμός υγρασίας	73
3.2 Προσδιορισμός τέφρας	74
3.3 Προσδιορισμός του οργανικώς δεσμευμένου αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl	75
3.4 Προσδιορισμός λιπαρών	76
3.5 Εκχύλιση πολυσακχαριτών	77
4. Μέτρηση αναγωγικών υδατανθράκων με τη μέθοδο DNS	79
5. Προσδιορισμός συγκέντρωσης γλυκόζης με τη χρήση ειδικού εμπορικού διαγνωστικού σκευάσματος (kit)	79
6. Ανάλυση στερεού υπολείμματος – Μέθοδος NREL	80
7. Επίδραση συγκέντρωσης στερεού, χρόνου και θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος <i>Saccharina longicruris</i>	80
8. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος <i>Saccharina longicruris</i>	81
<b>III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	83
1. Σύσταση των μακροφυκών	84
2. Επίδραση της συγκέντρωσης (αναλογία στερεού/υγρής φάσης) στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος <i>Saccharina longicruris</i>	87
3. Επίδραση της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος <i>Saccharina longicruris</i>	91
4. Επίδραση του χρόνου στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος <i>Saccharina longicruris</i>	94
5. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος <i>Saccharina longicruris</i>	98
6. Συμπεράσματα	102
<b>IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	104

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο (α) την βιβλιογραφική παρουσίαση των μακροφυκών και (β) τον προσδιορισμό των συστατικών των μακροφυκών *Laminaria digitata* και *Saccharina (laminaria) longicruris* καθώς και τη μελέτη των συνθηκών εκχύλισης της λαμιναρίνης. Τα μακροφύκη χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή τροφίμων και την εξαγωγή υδροκολλοειδών. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια παρουσιάζουν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον ως πρώτες ύλες παραγωγής βιοκαυσίμων και ιδίως για τη βιομετατροπή τους σε αιθανόλη, καθώς η λαμιναρίνη που περιέχουν είναι ένας πολυσακχαρίτης με δομική μονάδα τη γλυκόζη.

Αρχικά προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα των δύο καφέ μακροφυκών *Laminaria digitata* και *Saccharina (laminaria) longicruris* σε υγρασία, λιπαρά, πρωτεΐνες και τέφρα χρησιμοποιώντας πρότυπες μεθόδους ενώ για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πολυσακχαριτών τους ακολουθήθηκε συγκεκριμένο πειραματικό πρωτόκολλο. Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε λαμιναρίνη της τάξης του 4.14% (β/β, ξηρή βάση), που αποτελεί βασική προϋπόθεση για την παραγωγή αιθανόλης, παρατηρήθηκε στο μακροφύκος *Saccharina longicruris* (προερχόμενο από καλλιέργεια στον ωκεανό) το οποίο εκπλύθηκε πριν την έναρξη των πειραμάτων. Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του στερεού (φύκους), του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από τα μακροφύκη με νερό pH=2, η τιμή του οποίου ρυθμίστηκε με διάλυμα 2M HCl. Ειδικότερα μελετήθηκαν οι **αναλογίες στερεού/υγρής φάσης:** 1 % β/ο, 3 % β/ο, 5 % β/ο, 7 % β/ο, οι **θερμοκρασίες:** 35 °C, 45 °C, 55 °C, 65 °C, 75 °C και τέλος οι **χρόνοι εκχύλισης:** 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h. Προέκυψε ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του στερεού οδήγησε σε αύξηση του ποσοστού απομάκρυνσης λαμιναρίνης, η βέλτιστη θερμοκρασία εκχύλισης ήταν οι 65 °C όπου σημειώθηκε η μέγιστη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης, ενώ μέγιστη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης σημειώθηκε και σε χρόνο εκχύλισης 4 h.

Τέλος, ακολούθησε μελέτη της συνδυασμένης επίδρασης του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design). Το εύρος τιμών θερμοκρασίας ήταν 55-75 °C και οι χρόνοι εκχύλισης κυμάνθηκαν από 1-3 h. Η απομάκρυνση λαμιναρίνης φαίνεται ότι δεν επηρεάζεται μόνο γραμμικά από τη θερμοκρασία και το χρόνο εκχύλισης και ο συνδυασμός των δύο ανεξάρτητων μεταβλητών είναι τέτοιος που η εξαρτημένη μεταβλητή μεγιστοποιείται όσον αφορά στις αλλαγές στη μία ανεξάρτητη μεταβλητή και ελαχιστοποιείται όσον αφορά στις αλλαγές στην άλλη.

# **I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΓΕΝΙΚΑ

Τα φύκη είναι μία μεγάλη ομάδα οργανισμών η οποία εμφανίζει ποικιλία. Είναι ουσιαστικά τα απλούστερα φυτά χωρίς αγγειακό σύστημα και σχετικά μικρές διαφοροποιήσεις - ακόμη και τα τεράστια φύκη είναι λίγο μεγαλύτερα από συσσωματώσεις σχετικά ομοίων κυττάρων - και περιλαμβάνουν τους μικρότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (π.χ. ορισμένα είδη *Micromonas* έχουν διάμετρο περίπου 1 μm) καθώς και μερικούς από τους μεγαλύτερους οργανισμούς (τα γιγάντια φύκη μπορούν να φτάσουν τα 10 m σε μήκος). Όλα απαιτούν ένα ένυδρο περιβάλλον και μπορούν να αναπτυχθούν σε όλα τα «κατοικίσια» περιβάλλοντα από τις ερήμους μέχρι τους πόλους. Τα φύκη αποτελούν το μεγαλύτερο ποσοστό της παγκόσμιας βιομάζας και για το λόγο αυτό η σημασία τους είναι μεγάλη. Τα περισσότερα είναι φωτοσυνθετικά αλλά υπάρχουν και πολλά προαιρετικά ή υποχρεωτικά ετερότροφα. Υπάρχουν περίπου 30000 γνωστά είδη φυκών, αλλά ο πραγματικός αριθμός είναι πιθανόν σημαντικά μεγαλύτερος. Συνήθως με τα φύκη ταξινομούνται τα κυανοβακτήρια ή μπλε - πράσινα φύκη. Ενώ τα κυανοβακτήρια είναι φωτοσυνθετικά διαφέρουν από τα άλλα φύκη στο ότι είναι προκαρυωτικοί οργανισμοί (Cannell, 1993).

## 2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΦΥΚΩΝ

Η ανομοιογένεια των φυκών συνεπάγεται την μη σταθερή ταξινόμησή τους, η οποία πρέπει να ελέγχεται συνεχώς (Cannell, 1993).

Τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται από φυκολόγους για την ταξινόμηση των φυκών είναι ποικίλα. Γενικά ένας αριθμός χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται μαζί και κυμαίνονται από την εξωτερική μορφολογία, την υπερδομή, τον αριθμό χρωμοσωμάτων και τη μορφολογία τους, τη σύνθεση των χρωστικών, τη φύση των κυτταρικών αποθηκευτικών προϊόντων, έως τα ένζυμα, τα ισοένζυμα, την ομολογία του DNA, κλπ. Η ανάπτυξη νέων τεχνικών και η χρήση τους οδηγεί στον ακριβέστερο καθορισμό της συγγένειας (ή μη συγγένειας) οργανισμών που φαίνονται να σχετίζονται μεταξύ τους (Moore et al., 1996).

Τα φύκη πιο συχνά αναπτύσσονται στο νερό (φρέσκο, θαλασσινό ή υφάλμυρο) στο οποίο μπορούν να «ανεγερθούν» (**planktonic**) ή να προσκολληθούν και να ζήσουν στο βυθό (**benthic**). Μερικά φύκη ζούνε στην διεπιφάνεια νερού-ατμόσφαιρας και ονομάζονται **neustonic**. Το **πλαγκτόν** είναι κυρίως μικροσκοπικοί υδρόβιοι οργανισμοί που πλέουν ελεύθερα. Το **φυτοπλαγκτόν** αποτελείται από τα φύκη και μικρά φυτά, ενώ το **ζωοπλαγκτόν** αποτελείται τα ζώα και μη φωτοσυνθετικά πρώτιστα (Prescott et al., 2002).

Σύμφωνα με το σύστημα των πέντε βασιλείων του Whittaker, τα φύκη ανήκουν σε επτά διαίρεσεις που κατανέμονται μεταξύ δύο διαφορετικών βασιλείων (Πίνακας 1) (Prescott et al., 2002).

Η κλασική ταξινόμηση βασίζεται σε κυτταρικές, μη οργανικές ιδιότητες. Μερικές από τις πιο σημαντικές ιδιότητες περιλαμβάνουν: (1) τη χημεία και μορφολογία του κυτταρικού τοιχώματος (αν υπάρχει), (2) τη μορφή με την οποία αποθηκεύονται η τροφή ή τα αφομοιώσιμα προϊόντα της φωτοσύνθεσης, (3) τα μόρια χλωροφύλλης και

οι συμπληρωματικές χρωστικές που συνεισφέρουν στη φωτοσύνθεση, (4) ο αριθμός των μαστιγίων και η θέση εισαγωγής τους στα κινούμενα κύτταρα, (5) η μορφολογία των κυττάρων και/ή του σώματος (thallus), (6) το φυσικό περιβάλλον, (7) οι αναπαραγωγικές δομές, (8) τα πρότυπα ιστορίας της ζωής. Με βάση αυτές τις ιδιότητες η ταξινόμηση των φυκών ανά διαίρεση παρουσιάζεται στον Πίνακα 2 (Prescott et al., 2002).

Πίνακας 1: Κλασική ταξινόμηση των φυκών\* (Prescott et al., 2002).

<b>Διαίρεση (Κοινή ονομασία)</b>	<b>Βασίλειο</b>
<i>Chryshophyta</i> (κίτρινα-πράσινα και καφέ-χρυσά φύκη, διάτομα)	Πρώτιστα (μονοκύτταρα ή αποικιακά, ευκαρυωτικά)
<i>Euglenophyta</i> (φωτοσυνθετικά ευγλενοειδή μαστιγοφόρα)	Πρώτιστα
<i>Pyrrhophyta</i> (δινωμαστιγωτά)	Πρώτιστα
<i>Charophyta</i> (stoneworts)	Πρώτιστα
<i>Chlorophyta</i> (πράσινα φύκη)	Πρώτιστα
<i>Phaeophyta</i> (καφέ φύκη)	<i>Plantae</i> (πολυκύτταρα, ευκαρυωτικά)
<i>Rhodophyta</i> (κόκκινα φύκη)	<i>Plantae</i>

\*Σύστημα πέντε βασιλείων

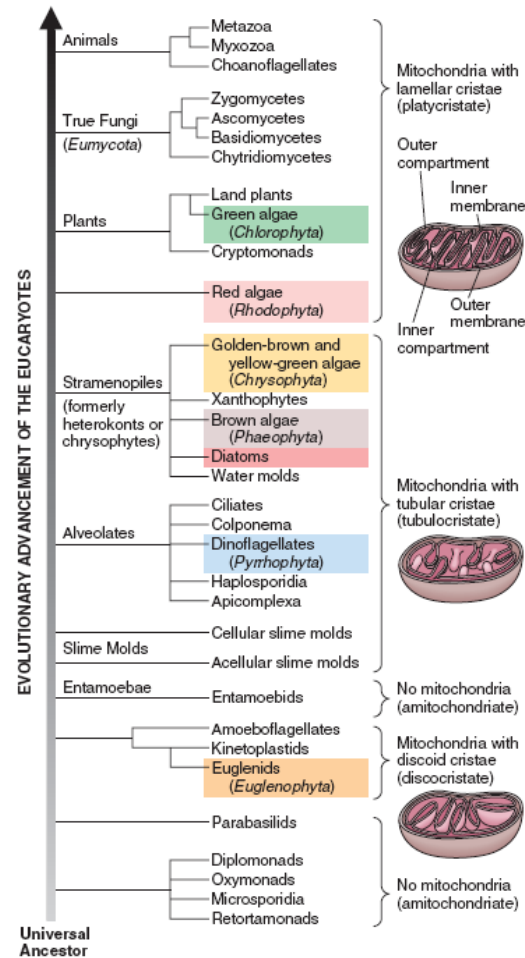
Μοριακά συστήματα (Εικόνα 1) έχουν «τοποθετήσει» μερικά από τα κλασικά φύκη με τα φυτά (πράσινα φύκη), κάποια ως μία ξεχωριστή κατηγορία (κόκκινα φύκη), μερικά στην κατηγορία ευκαρυωτικών οργανισμών stramenopiles (χρυσά-καφέ φύκη και κίτρινα-πράσινα φύκη, καφέ φύκη και διάτομα), μερικά στην κατηγορία ευκαρυωτικών οργανισμών alveolates (δινωμαστιγωτά) και άλλα με κάποια πρωτόζωα (euglenoids). Δύο από αυτές τις κατηγορίες, οι alveolates και stramenopiles, έχουν δημιουργηθεί πρόσφατα ως αποτέλεσμα των συγκρίσεων του rRNA και υπερδομικών μελετών (Prescott et al., 2002).

Οι υπερδομικές μελέτες αφορούν την υπερδομή των κυττάρων των φυκών, όπου το ευκαρυωτικό κύτταρο των φυκών (Εικόνα 2) περιβάλλεται από ένα λεπτό, άκαμπτο κυτταρικό τοίχωμα. Μερικά φύκη έχουν μια εξωτερική μήτρα που βρίσκεται έξω από το κυτταρικό τοίχωμα. Αυτή είναι συνήθως εύκαμπτη και ζελατινώδης, παρόμοια με τις βακτηριακές κάψουλες. Όταν είναι παρούσα, τα μαστίγια είναι τα κινητικά οργανίδια τους. Ο πυρήνας έχει ένα τυπικό πυρηνικό φάκελο με πόρους. Εντός του πυρήνα βρίσκεται ο πυρηνίσκος, η χρωματίνη και ο καρυόλυμφος (karyolymphe). Οι χλωροπλάστες έχουν σάκους που περιβάλλονται από μεμβράνη, ονομάζονται θυλακοειδή και επιτελούν τις αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης. Αυτά τα οργανίδια είναι ενσωματωμένα στο στρώμα όπου λαμβάνουν χώρα οι αντιδράσεις (απουσία φωτός) καθήλωσης του διοξειδίου του άνθρακα. Μία πυκνή πρωτεϊνούχα περιοχή, η πυρηνοειδής, που σχετίζεται με τη σύνθεση και αποθήκευση του αμύλου μπορεί να είναι παρούσα στους χλωροπλάστες (Prescott et al., 2002).

Η δομή των μιτοχονδρίων διαφέρει σε μεγάλο βαθμό στα φύκη. Μερικά (όπως τα euglenoids) έχουν δισκοειδή εσωτερικά διαμερίσματα (σηματίζονται από



την εσωτερική μεμβράνη ενός μιτοχονδρίου), μερικά πεταλοειδή εσωτερικά διαμερίσματα (πράσινα και κόκκινα φύκη) και τα υπόλοιπα (χρυσά-καφέ και κίτρινα-πράσινα, καφέ και διάτομα) έχουν σωληνοειδή εσωτερικά διαμερίσματα (Prescott et al., 2002).



Εικόνα 1: Με χρήση μοριακής συστημικής, οι οργανισμοί ομαδοποιούνται με βάση τη μοριακή φυλογένεια των πυρηνικών SSU rRNA γονιδίων και του τύπου των μιτοχονδρίων τους. Κατά συνέπεια τα φύκη έχουν εμφανιστεί σε πέντε διαφορετικές περιπτώσεις (Prescott et al., 2002).



Εικόνα 2: Μορφολογία φυκών. Σχηματικό διάγραμμα ενός τυπικού ευκαρυωτικού κυττάρου φύκους που δείχνει μερικά από τα οργανίδια και άλλες δομές (Prescott et al., 2002).

Πίνακας 2: Συγκριτική σύνοψη χαρακτηριστικών των φυκών (Prescott et al., 2002).

Διαίρεση	Αριθμός ειδών	Κοινή Ονομασία (Αντιπρόσωπος)	Χρωστικές			Θυλακοειδή ανά στοίβα στους χλωροπλάστες
			Χλωροφύλλη	Φυκοβιλίνες	Καροτενοειδή	
<i>Chlorophyta</i>	7500	Πράσινα φύκη ( <i>Chlamydomonas</i> )	<i>a, b</i>	-	β-καροτένιο, ±α καροτένιο, ξανθοφύλλες	3-6
<i>Charophyta</i>	250	<i>Stoneworts or brittleworts (Chara)</i>	<i>a, b</i>	-	α-,β-,τ- καροτένιο, ξανθοφύλλες	Αρκετά
<i>Euglenophyta</i>	500	Euglenoids ( <i>Euglena</i> )	<i>a, b</i>	-	β-καροτένιο, ξανθοφύλλες, ± καροτένιο	3
<i>Chryshophyta</i>	6000	Χρυσά-καφέ, κίτρινα-πράσινα φύκη, διάτομα ( <i>Cyclotella</i> )	<i>a, c<sub>1</sub>/c<sub>2</sub> σπάνια d</i>	-	α-,β-,ε-καροτένιο, ξανθοφύλλες, φουκοξανθίνη	3
<i>Phaeophyta</i>	1500	Καφέ φύκη ( <i>Sargassum</i> )	<i>a, c</i>	-	β-καροτένιο, ξανθοφύλλες, φουκοξανθίνη	3
<i>Rhodophyta</i>	3900	Κόκκινα φύκη ( <i>Corallina</i> )	<i>a, σπάνια d</i>	ε-φυκοκυανίνη, αλλοφυκοκυανίνη, φυκοερυθρίνη	ξανθοφύλλες, (β-καροτένιο, ζεαξανθίνη, ±α καροτένιο)	1
<i>Pyrrhophyta</i>	1100	Δινομαστιγωτά ( <i>Gymnodinium</i> )	<i>a, c<sub>1</sub>, c<sub>2</sub></i>	-	β-καροτένιο, φουκοξανθίνη, περιδινίνη, δινοξανθίνη	3

Ανάλογα με το χρωματισμό τους τα μακροφύκη ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες: α) τα καφέ φύκη (*Phaeophyceae*), β) τα κόκκινα φύκη (*Rhodophyceae*) και γ) τα πράσινα φύκη (*Chlorophyceae*), ενώ οι δύο τελευταίες κατηγορίες περιλαμβάνουν επίσης πολλά μικροφύκη (Carlsson et al., 2007).

## 2.1 Ρυθμός φωτοσύνθεσης μακροφυκών

Τα μακροφύκη είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί και ως εκ τούτου παράγουν και αποθηκεύουν επαρκείς ποσότητες οργανικών ενώσεων, κυρίως υδατανθράκων, που απαιτούνται για το βιοδιυλιστήριο χρησιμοποιώντας είτε  $\text{CO}_2$  ή  $\text{HCO}_3^-$  (Gao and McKinley, 1994). Τα περισσότερα μακροφύκη προσλαμβάνουν απευθείας  $\text{HCO}_3^-$  αντί  $\text{CO}_2$  για την ανάπτυξή τους επειδή ο ρυθμός διάχυσης του  $\text{CO}_2$  είναι εξαιρετικά αργός στο θαλασσινό νερό (Lobban et al., 1985). Ωστόσο, μερικά μπορούν να χρησιμοποιήσουν το  $\text{CO}_2$  ως άμεσο υπόστρωμα ή να επιταχύνουν τη μετατροπή μεταξύ του  $\text{CO}_2$  και  $\text{HCO}_3^-$  χρησιμοποιώντας ένζυμα όπως την RuBP καρβοξυλάση και την καρβονική ανυδράση (Lobban et al., 1985). Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται οι φωτοσυνθετικοί ρυθμοί των μακροφυκών.

Πίνακας 3: Ρυθμός φωτοσύνθεσης σε διάφορα μακροφύκη<sup>a</sup> (Jung et al., 2012).

Είδος	Ρυθμός φωτοσύνθεσης <sup>b</sup> ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{h}$ )
<b>Πράσινα μακροφύκη</b>	
<i>Acrosiphonia centralis</i>	468 g dry <sup>-1</sup>
<i>Cladophora rupestris</i>	30.5 g dry <sup>-1</sup>
<i>Codium fragile</i>	68.3 g dry <sup>-1</sup>
<i>Enteromorpha sp.</i>	1786 g dry <sup>-1</sup>
<i>Monostroma grevillei</i>	1466 g dry <sup>-1</sup>
<i>Ulva sp.</i>	48.7 g dry <sup>-1</sup>
<b>Κόκκινα μακροφύκη</b>	
<i>Asparagopsis taxiformis</i>	174 g dry <sup>-1</sup>
<i>Chondrus crispus</i>	21.2 g dry <sup>-1</sup>
<i>Delesseria sanguinea</i>	37.9 g dry <sup>-1</sup>
<i>Gracilaria sp.</i>	85 g dry <sup>-1</sup>
<i>Iridaea cordata</i>	29.4 g dry <sup>-1</sup>
<i>Porphyra sp.</i>	1808.7 g dry <sup>-1</sup>
<b>Καφέ μακροφύκη</b>	
<i>Alaria marginata</i>	109.3 g dry <sup>-1</sup>
<i>Cymathere triplicate</i>	58.5 g dry <sup>-1</sup>
<i>Dictyopteris sp.</i>	221 g dry <sup>-1</sup>
<i>Fucus sp.</i>	561 g dry <sup>-1</sup>
<i>Laminaria sp.</i>	124 g dry <sup>-1</sup>
<i>Macrocystis sp.</i>	171.8 g dry <sup>-1</sup>
<i>Sargassum sp.</i>	415 g dry <sup>-1</sup>

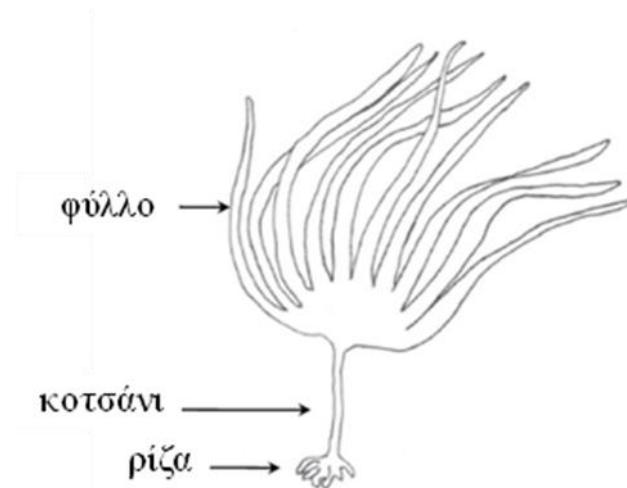
<sup>a</sup> Gao and McKinley (1994), Lobban and Wynne (1981), <sup>b</sup> Η εκτίμηση των  $\mu\text{mol CO}_2/\text{h}$  έγινε με βάση την ξηρή (g dry<sup>-1</sup>) ή νωπή (g wet<sup>-1</sup>) βιομάζα των φυκών

Αξίζει να σημειωθεί ότι το πράσινο φύκος *Enteromorpha* και το κόκκινο φύκος *Porphyra* έχουν τους υψηλότερους φωτοσυνθετικούς ρυθμούς, οι οποίοι είναι 1-2 τάξεις μεγέθους μεγαλύτεροι από αυτούς των καφέ φυκών. Θα πρέπει επίσης να

αναφερθεί ότι τα μακροφύκη έχουν υψηλότερους ρυθμούς παραγωγικότητας από τη χερσαία βιομάζα, όπως το καλαμπόκι και το γρασίδι (Chung et al., 2011). Οι Chung et al. εκτίμησαν ότι η καλλιέργεια μακροφυκών κατά μήκος των ακτών θα μπορούσε να δεσμεύσει περίπου 1 δισεκατομμύριο τόνους διοξειδίου του άνθρακα ετησίως. Ο Muraoka (2004) ανέφερε ότι στην Ιαπωνία περίπου 32000 τόνοι διοξειδίου του άνθρακα ετησίως μπορούν να απορροφηθούν από καλλιεργούμενα φύκη, όπως *Laminaria*, *Undaria*, *Hizikia*, *Gelidium*, *Porphyran spp* (Jung et al., 2012).

### 3. ΜΑΚΡΟΦΥΚΗ

Τα **μακροφύκη ή φύκη** είναι θαλάσσιοι πολυκύτταροι οργανισμοί οι οποίοι ανήκουν στα κατώτερα φυτά, αποτελούνται από ένα φύλλο (leaf-like) και μερικές φορές από ένα στέλεχος/κοτσάνι και μία ρίζα (Εικόνα 3) (Carlsson et al., 2007). Περιέχουν λιπίδια, είναι μια καλή πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών και μεταλλικών στοιχείων. Επίσης, περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων αντιοξειδωτικών και βιοενεργών πολυσακχαριτών όπως η φουκόζη και η λαμιναρίνη. Χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή τροφίμων και την εξαγωγή υδροκολλοειδών (Rioux et al., 2009).



Εικόνα 3: *Laminaria digitata* (Adams et al., 2011).

Στο φυσικό τους περιβάλλον, τα μακροφύκη αναπτύσσονται σε βραχώδη υποστρώματα και σχηματίζουν σταθερή, πολυεπίπεδη και πολυετή βλάστηση. Αναπτύσσονται γρήγορα και το μέγεθός τους μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 60 μέτρα σε μήκος. Εξαιτίας του ότι τα φύκη καθορίζονται από το υπόστρωμά τους, η αξία για μέγιστη παραγωγικότητα ίσως είναι 10 φορές υψηλότερη για ένα φύκος απ' ό τι για ένα πληθυσμό πλαγκτόν (Carlsson et al., 2007).

Τα μακροφύκη μέχρι σήμερα σπάνια έχουν θεωρηθεί ως πηγή βιομάζας για την παραγωγή ενέργειας και βιοκαυσίμων, αν και ιστορικά χρησιμοποιήθηκαν ως λίπασμα στη γεωργία και ως συστατικό στη βιομηχανία γυαλιού. Τέλος, είναι ικανά να αποδώσουν περισσότερα kg ξηρής βιομάζας ανά  $m^{-2} year^{-1}$  απ' ό τι γρήγορα αναπτυσσόμενες επίγειες καλλιέργειες, όπως το ζαχαροκάλαμο (Adams et al., 2011).

Η εμπορική καλλιέργεια των φυκών έχει μία μεγάλη ιστορία, ειδικά στην Ασία. Περίπου 200 είδη φυκών καλλιεργούνται παγκοσμίως, από τα οποία 10 περίπου καλλιεργούνται έντονα όπως τα καφέ φύκη *Laminaria japonica* και *Undaria pinnatifida*, τα κόκκινα φύκη *Porphyra*, *Eucheuma*, *Kappaphycus* και *Gracilaria* και τέλος τα πράσινα φύκη *Monostroma* και *Enteromorpha* (Lüning and Pang, 2003).

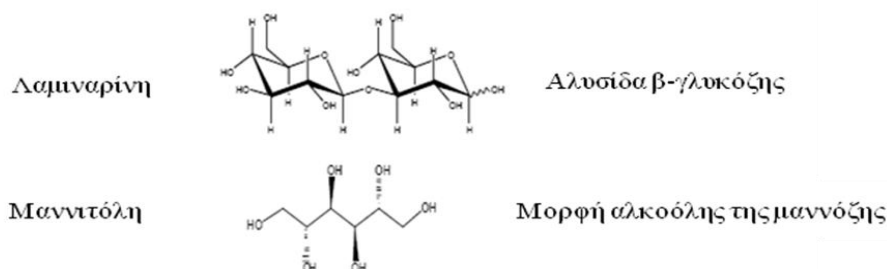
### 3.1 Καφέ φύκη

Τα καφέ φύκη διαιρούνται σε 9 κατηγορίες (orders), σε 265 γένη και σε περισσότερα από 1500 είδη. Απορροφούν μεσαίου μήκος κύματος πράσινο φως, κάτι το οποίο τα καθιστά ικανά να ζήσουν ακόμα και σε 30-50 m βάθος, αλλά η πλειοψηφία αυτών ζει στην παλιρροιακή και στη ανώτερη υποπαράλια ζώνη. Βυθισμένα στο νερό τα φύκη δεν έχουν καμία ανάγκη για εσωτερική μεταφορά θρεπτικών συστατικών ή νερού. Με αυτό τον τρόπο εξοικονομείται ενέργεια και πολλά μακροφύκη έχουν υψηλή παραγωγικότητα. Η παραγωγικότητα των μη καλλιεργούμενων καφέ φυκών κυμαίνεται από 3.3 έως 11.3 kg<sub>ξηρού βάρους</sub> m<sup>-2</sup>έτος<sup>-1</sup>. Έτσι τα καφέ φύκη έχουν υψηλό δυναμικό παραγωγής βιομάζας και καθήλωσης CO<sub>2</sub>, και αποτελούν μία ελκυστική και εναλλακτική πηγή για ενέργεια και χημικά (Gao and McKineley, 1993).

#### 3.1.1 Χημική σύνθεση

Η χημική σύνθεση των καφέ φυκών ποικίλλει αρκετά μεταξύ των διαφόρων ειδών κατά τη διάρκεια του έτους, καθώς και μεταξύ των φυσικών περιβαλλόντων. Τα καφέ φύκη ανάλογα με τις αλλαγές των εποχών συσσωρεύουν μαννιτόλη και λαμιναρίνη την «φωτεινή» περίοδο, από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο, και καταναλώνουν αυτούς τους υδατάνθρακες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους τη «σκοτεινή» περίοδο (Haug and Jensen, 1954).

Ο κύριος υδατάνθρακας χαμηλού μοριακού βάρους που συναντάται στα καφέ φύκη είναι η μαννιτόλη. Η μαννιτόλη είναι αλκοολοσάκχαρο που αντιστοιχεί στη μαννόζη (Εικόνα 4). Συνήθως, αποτελεί λιγότερο από το 10% του ξηρού βάρους του στελέχους τόσο του φύκους *Ascophyllum nodosum* όσο και του *Laminaria hyperborea*. Το φθινόπωρο, στα φύλλα της *L. hyperborea* παρ' όλα αυτά, η περιεχόμενη μαννιτόλη μπορεί να φτάσει και το 25% του ξηρού βάρους (Read et al., 1996).



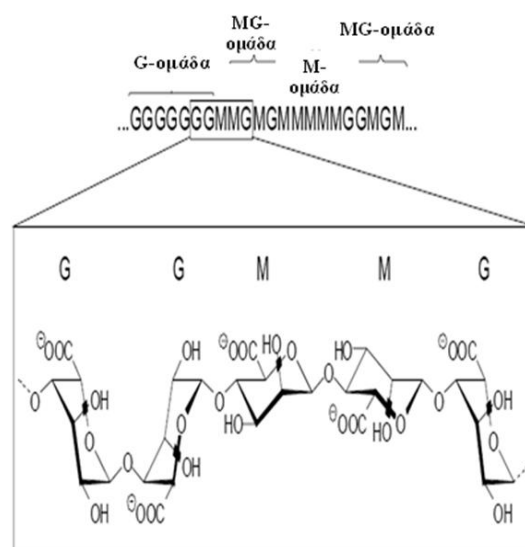
Εικόνα 4: Απεικόνιση κύριων αποθηκευτικών υδατανθράκων (Adams et al., 2011).

Η λαμιναρίνη, ο κύριος αποθηκευτικός πολυσακχαρίτης των μακροφυκών, είναι μία  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-γλουκάνη η οποία περιέχει περίπου 25 μόρια γλυκόζης (Percival and Ross, 1951). Παρ' όλα αυτά, όπως και πολλοί άλλοι πολυσακχαρίτες, η λαμιναρίνη εμφανίζει κάποιο βαθμό δομικής ετερογένειας. Ένα μικρό ποσοστό των μορίων λαμιναρίνης έχει στο άκρο του ένα αναγωγικό μόριο γλυκόζης και τα μόρια αυτά ονομάζονται G-αλυσίδες, ενώ η πλειονότητα αυτών τελειώνει με ένα μη αναγωγικό μόριο μαννιτόλης και ονομάζονται M-αλυσίδες. Γενικά, οι πλευρικές αλυσίδες αποτελούνται από μία γλυκόζη. Οι διαφοροποιήσεις στο βαθμό διακλάδωσης επηρεάζουν τη διαλυτότητα του πολυσακχαρίτη στο νερό. Ως εκ τούτου, η λαμιναρίνη που περιέχει μόνο  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) συνδεδεμένα μόρια είναι αδιάλυτη στο νερό, ενώ η διακλαδισμένη λαμιναρίνη τείνει να είναι υδατοδιαλυτή. Το μοριακό βάρος της λαμιναρίνης είναι 5000 Da (Rioux et al. 2007, Read et al. 1996).

Τα κύτταρα των καφέ φυκών είναι ενσωματωμένα σε ένα τρισδιάστατο συνεχές δίκτυο αλγινικού. Ο κύριος όγκος του αλγινικού βρίσκεται σε αυτό το διακυτταρικό πλέγμα που μπορεί να αποτελεί περισσότερο από το 80% της οργανικής ύλης (Kloareg et al., 1986).

Ενώ το αλγινικό είναι το κύριο σκελετικό συστατικό στη μεσοκυττάρια μήτρα, το κυτταρικό τοίχωμα των κυττάρων των καφέ φυκών αποτελείται από κυτταρίνη, αλγινικό, φουκόζη και πρωτεΐνη (Kloareg et al., 1986). Το αλγινικό συγκρατεί τα κύτταρα ενωμένα, δίνοντας τόσο μηχανική αντοχή όσο και ευκαμψία στον ιστό των φυκών (Andresen et al., 1977).

Τα αλγινικά είναι άλατα του αλγινικού οξέος, ενός γραμμικού συμπολυμερούς του  $\beta$ -1,4-D μανουρονικού οξέος και του  $\alpha$ -1,4-L γουλουρονικού οξέος. Τα δύο ουρονικά οξέα είναι οργανωμένα σε τμήματα πολυμανουρονικού (M-block) και πολυγουλουρονικού (G-block), καθώς επίσης και σε ετεροπολυμερικές αλληλουχίες των δύο ουρονικών οξέων (MG-block), όπως φαίνεται στην Εικόνα 5 (Smidsrød and Moe, 1995).



Εικόνα 5: Δομή αλγινικού (Smidsrød and Moe, 1995).

Τα αλγινικά άλατα των αλκαλικών μεταλλικών ιόντων είναι συνήθως διαλυτά. Παρ' όλα αυτά, στα φύκη τα πολυμερή συσσωρεύονται και δεσμεύουν ιόντα δισθενούς μετάλλου σχηματίζοντας πηκτώματα. Αυτά τα πηκτώματα λειτουργούν ως δομικά στοιχεία στα φύκη και σχηματίζονται με σύνδεση των δισθενών ιόντων όταν το πολυγουλουρονικό τμήμα υπερβαίνει ένα κρίσιμο μήκος (Stokke et al., 1991). Τα αλγινικά που είναι πλούσια σε γουλουρονικό οξύ, σχηματίζουν πηκτώματα με υψηλή μηχανική ακαμψία και μια καλή σταθερότητα έναντι ανταγωνιστικών ιόντων  $\text{Na}^+$  (Martinsen et al., 1989). Αντιθέτως, τα αλγινικά που είναι πλούσια σε μανουρονικό οξύ, σχηματίζουν μαλακότερα και πιο ελαστικά πηκτώματα. Λόγω της υψηλής εκλεκτικότητας του αλγινικού, για ορισμένα δισθενή μεταλλικά ιόντα οι αναλογίες των εν λόγω ιόντων στα φύκη διαφέρουν ριζικά από εκείνες στο θαλασσινό νερό. Το επικρατέστερο ιόν στις ζώνες διασταύρωσης του αλγινικού, τους ιστούς των μακροφυκών, είναι το ασβέστιο (Moen et al., 1997).

Τα φουκοειδή απαντώνται στα περισσότερα καφέ φύκη αλλά είναι περισσότερο άφθονα στα είδη τα οποία αναπτύσσονται στην διαπαλιρροιακή ζώνη. Ο όρος φουκοειδή χρησιμοποιείται για να περιγράψει μία οικογένεια θεικών πολυσακχαριτών που περιέχουν την L-φουκόζη ως έναν από τους κύριους μονοσακχαρίτες, καθώς και διάφορες ποσότητες γλουκουρονικού οξέος και ξυλόζης. Οι σημαντικές διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται στη δομή των φουκοειδών συνδέονται κυρίως με το είδος τους, τους τοπικούς κλιματικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες και τις μεθόδους εκχύλισης/καθαρισμού (Hennequant et al., 2004).

Το φουκοειδές που εκχυλίζεται από το φύκος *A. nodosum* αποτελείται κυρίως από φουκόζη η οποία είναι συνδεδεμένη με ένα  $\alpha(1,3)$  και  $\alpha(1,4)$  δεσμό (Chevolot et al. 1999, Chevolot et al. 2001, Daniel et al. 2001, Daniel et al. 1999, Marais and Joseleau 2001) και οι πλευρικές αλυσίδες αποτελούνται από ένα ή περισσότερα μόρια φουκοζυλίου με διακλάδωση στη θέση 4. Για το φύκος *Fucus vesiculosus*, οι Percival & McDowell (1967) έχουν προτείνει δύο πιθανές δομές του φουκοειδούς. Η πρώτη αποτελείται από φουκόζη συνδεδεμένη με ένα  $\alpha(1,2)$  δεσμό με θεικό άλας στη θέση 4. Η δεύτερη δομή είναι ίδια με την πρώτη, αλλά σε αυτή την περίπτωση τα μόρια φουκόζης συνδέονται με δεσμό  $\alpha(1,3)$ . Ποικίλα μοριακά βάρη έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία για το φουκοειδές. Μερικοί συγγραφείς εκτιμούν ότι το μοριακό βάρος του φουκοειδούς είναι περίπου 100 kDa (Patankar et al., 1993), ενώ άλλοι έχουν «υπολογίσει» το μοριακό βάρος ενός κλάσματος σε ένα δείγμα φουκοειδών 1600 kDa και ενός άλλου 43 kDa (Ruperez et al., 2002). Το φουκοειδές είναι διαλυτό στο νερό και σε όξινα διαλύματα (Ruperez et al, 2002).

Όταν εκτίθενται στην ατμόσφαιρα, κατά τη διάρκεια της άμπωτης, πολλά μακροφύκη εκκρίνουν ένα γλοιώδες υγρό που τα προστατεύει από την ξήρανση. Το γλοιώδες υγρό είναι μία πρωτεογλυκάνη όπου η φουκόζη είναι μία από τις δομικές μονάδες της (Painter, 1983).

Γενικά, η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των καφέ μακροφυκών είναι χαμηλή (3-15% ξηρού βάρους) συγκρινόμενη με αυτή των πράσινων και κόκκινων μακροφυκών (10-47% ξηρού βάρους). Για τα περισσότερα μακροφύκη, το ασπαρτικό και

γλουταμικό οξύ συνιστούν ένα μεγάλο μέρος του κλάσματος των αμινοξέων (Fleurence, 1999).

Τα χυμοτόπια κυττάρων στα καφέ μακροφύκη ονομάζονται physodes και περιέχουν πολυφαινόλες (Baardseth, 1958). Οι πολυφαινόλες των καφέ φυκών εμφανίζονται ως μια ενιαία δομική κατηγορία, τις φλοροταννίνες, οι οποίες σχηματίζονται από τον πολυμερισμό της φλορογλυκινόλης. Είναι ταννίνες με την έννοια ότι: είναι διαλυτές ενώσεις σχετικά υψηλού μοριακού βάρους και περιέχουν επαρκείς φαινολικές υδροξυλομάδες για να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ αυτών των ομάδων και των ομάδων  $-N$ ,  $-NH_2$ ,  $-OH$  στις πρωτεΐνες, καθώς και άλλα μακρομόρια δίνοντας επίσης μη διασπώμενες ενώσεις (Haslam 1979, Swain 1979). Οι ταννίνες αναστέλλουν την ανάπτυξη πολλών μικροοργανισμών (Scalbert, 1991), και είναι δραστικοί αναστολείς της μεθανογένεσης (Field and Lettinga, 1987).

Ευρέως γνωστά καφέ μακροφύκη είναι τα *L. digitata* (Εικόνα 6), *Saccharina (laminaria) longicruris* (Εικόνα 7) καθώς και τα είδη του *Sargassum* (Εικόνα 8) (Tzovenis, Προσωπική επικοινωνία).

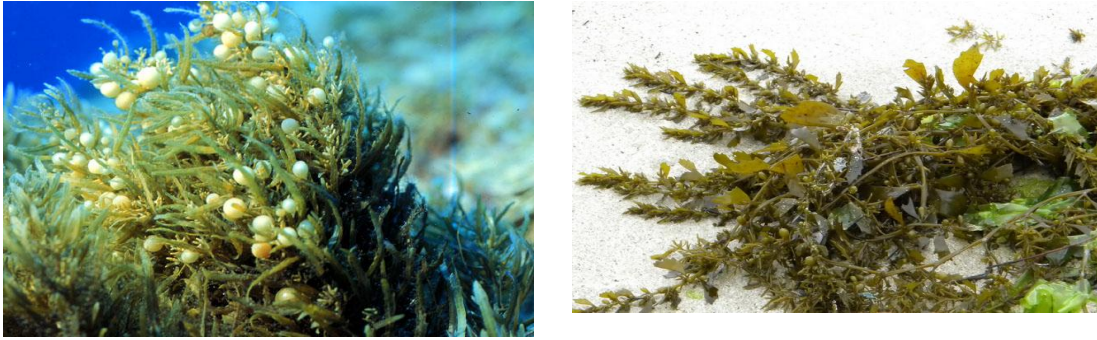


Εικόνα 6: *Laminaria digitata*.



Εικόνα 7: *Saccharina (laminaria) longicruris*.

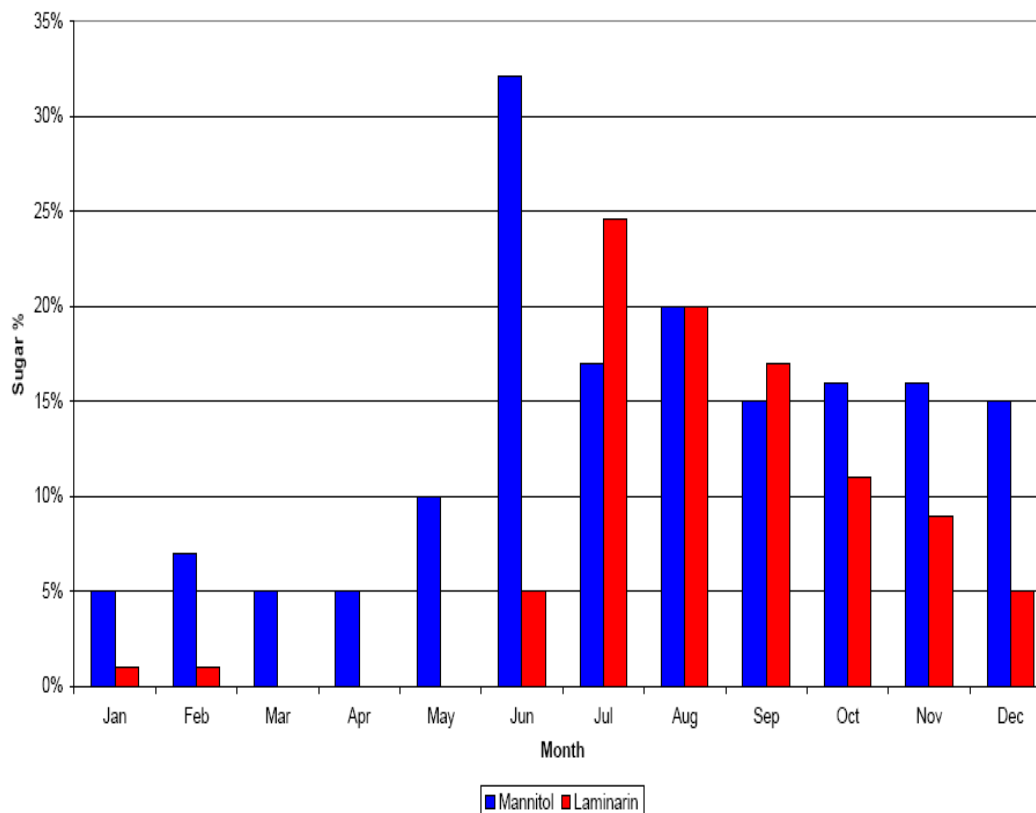




Εικόνα 8: *Sargassum sp.*

***Laminaria digitata*:** Η *L. digitata* είναι ένα καφέ φύκος το οποίο αναπτύσσεται μέχρι και 2 ή 3 m. Μπορεί να διακριθεί από την μάλλον παρόμοια *L. hyperborea*, από το πιο σκούρο χρώμα και το κοντότερο κοτσάνι/στελέχος που δεν θραύεται εύκολα όταν κάμπτεται (Tzovenis, Προσωπική επικοινωνία).

Στο Διάγραμμα 9 παρουσιάζεται για κάθε μήνα του έτους, το περιεχόμενο ποσοστό λαμιναρίνης και μαννιτόλης στη *L. digitata*.



Διάγραμμα 9: Ποσοστό λαμιναρίνης και μαννιτόλης στη *L. Digitata* (Lenstra et al., 2011).

***Saccharina(=laminaria) longicuris*:** είναι ένα φύκος που αναπτύσσεται σε κρύο νερό και καταλαμβάνει τις βορειοδυτικές ακτές του Ατλαντικού και τους ανατολικούς ωκεανούς της Αρκτικής. Στο χαμηλότερο μέρος του στελέχους του, το οποίο μπορεί να είναι μέχρι και 3 μέτρα, έχει μία ρίζα και στο υψηλότερο ένα μεγάλο φύλλο

περίπου 1 μέτρο (Tzovenis, Προσωπική επικοινωνία). Η σύσταση του φύκους αυτού για διάφορους μήνες παρουσιάζεται στον Πίνακα 4 (Rioux et al., 2009).

Πίνακας 4: Σύσταση του μακροφύκους *S. longicruris* (% β/β, ξηρή βάση) (Rioux et al., 2009).

Περίοδος συγκομιδής	Πρωτεΐνες (%)	Λιπίδια (%)	Τέφρα (%)
Μάιος	12.2 ± 0.6	0.8 ± 0.1	26.3 ± 0.5
Αύγουστος	5.0 ± 0.2	0.3 ± 0.1	22.6 ± 0.1
Νοέμβριος	9.3 ± 0.3	0.5 ± 0.1	30.5 ± 0.3
Ιανουάριος	10.9 ± 0.3	0.4 ± 0.1	31.2 ± 0.4

Η αντιπροσωπευτική περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση) των μακροφυκών του γένους *Laminaria* σε διάφορα συστατικά παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5: Περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση) των μακροφυκών του γένους *Laminaria* σε διάφορα συστατικά (Lenstra et al., 2011).

Συστατικό	Περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση)
Κυτταρίνη	6
Ημικυτταρίνη	0
Λιγνίνη	0
Λιπαρά	2
Πρωτεΐνες	12
Άμυλο	0
Αλγινικά άλατα	23
Λαμιναρίνη	14
Φουκοειδή	5
Μαννιτόλη	12
Συνολικά αναγωγικά σάκχαρα	60
Τέφρα	26

***Sargassum spp.*** Τα είδη του *Sargassum* συναντώνται συχνά στις τροπικές χώρες και είναι συχνά περισσότερο άφθονα στις ακτές και τις κοραλλιογενείς υφάλους. Περιλαμβάνουν μία ρίζα, ένα κοτσάνι και φύλλα (Tzovenis, Προσωπική επικοινωνία).

### 3.2 Κόκκινα φύκη

Τα κόκκινα φύκη, λόγω των κόκκινων χρωστικών ουσιών που προέρχονται από τις πρωτεΐνες που περιέχουν, συναντώνται σε μια ποικιλία αποχρώσεων του κόκκινου. Έτσι ορισμένα είδη είναι μοβ, πορτοκαλί ή ακόμα και κίτρινα. Αυτές οι χρωστικές επιτρέπουν στα κόκκινα φύκη να αναπτύσσονται σε πολύ μεγαλύτερο βάθος απ' ό,τι τα πράσινα και καφέ φύκη. Πιο συγκεκριμένα, μπορούν να φτάσουν μέχρι τα 200 m σε βάθος (Oilgae, 2010).

Επίσης, τα κόκκινα φύκη διαφέρουν από τα πράσινα και καφέ φύκη στη σύνθεση και στον τρόπο μεταβολισμού των υδατανθράκων. Υδατάνθρακες μοναδικοί στα κόκκινα φύκη είναι το άμυλο που ονομάζεται floridean starch και η 2-O- $\alpha$ -D-γαλακτοπυρανόζυλο γλυκερόλη (floridoside), οι οποίοι είναι όμοιοι με το κοινό άμυλο, αλλά δεν περιέχονται στα πράσινα και καφέ φύκη (Sze 1993, Yu et al. 2002). Το floridean starch είναι ένα ομοπολυμερές της γλυκόζης με  $\alpha$ -1,4-γλυκοζιδικούς δεσμούς και υπολογίζεται ότι αποτελεί μέχρι και το 80% του όγκου του κυττάρου (Yu et al., 2002). Επειδή έχει την ιδιότητα να «μειώνει» τη αντοχή του πηκτώματος, απομακρύνεται ως ακαθαρσία κατά την παραγωγή του άγαρ και της καρραγενάνης μέσω κατεργασίας με θερμοφιλή  $\alpha$ -αμυλάση (Yu et al., 2002).

Μερικά από τα πιο γνωστά κόκκινα μακροφύκη είναι:

(α) Η *Gracilaria*, ένα γένος κόκκινου μακροφύκους κυρίως γνωστό για την οικονομική του σημαντικότητα ως πηγή άγαρ, καθώς και για την χρήση τους ως ανθρώπινη τροφή (Hasan and Chatrabarti, 2009).

(β) Η *Gracilaria tikvahiae* (Εικόνα 10), ένα είδος κόκκινου φύκους το οποίο αναπτύσσεται σε κρύες θερμοκρασιακά περιοχές στον ανατολικό Ατλαντικό Ωκεανό αλλά και σε θερμές υποτροπικές περιοχές γύρω από τις ανατολικές και δυτικές ακτές της Φλόριδα καθώς και στην Καραϊβική. Συναντάται συχνά σε εκβολές και κόλπους. Η μορφολογία του ποικίλλει, με το χρώμα του να αλλάζει από σκοτεινό πράσινο σε αποχρώσεις κόκκινου και καφέ και με τα εξωτερικά τμήματά του να είναι επιμηκυμένα ή κυλινδρικά στο σχήμα. Αυτό το είδος αναπτύσσεται ελεύθερα ή προσκολλημένο σε βράχους και άλλα υποστρώματα και το ύψος του μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 30 cm. Αναπτύσσεται σε βάθος 10 μέτρων αλλά πιο συχνά συναντάται σε βάθος μικρότερο του 1 m (Tzovenis, Προσωπική επικοινωνία).

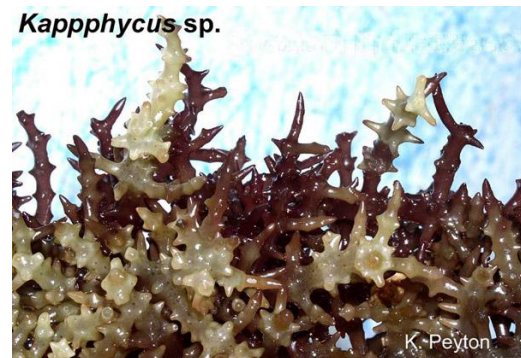


Εικόνα 10: *Gracilaria tikvahiae*.

(γ) Τα μακροφύκη των γενών **Eucheuma** και **Kappaphycus** τα οποία είναι συνήθως πολύ μεγάλα και αναπτύσσονται ραγδαία. Η ταξινόμηση αυτών είναι δύσκολη εξαιτίας της μορφολογικής τους πλαστικότητας, της έλλειψης επαρκών χαρακτηριστικών για την αναγνώριση ειδών και της χρήσης εμπορικών ονομάτων χάριν ευκολίας. Καλλιεργούνται ευρέως καθώς αποτελούν πηγή καρραγενάνης, η οποία χρησιμοποιείται στην παραγωγή τροφίμων για ανθρώπους καθώς και στην παραγωγή ζωοτροφών (Hasan and Chatrabarti, 2009).



Εικόνα 11: *Eucheuma cottonii*.



Εικόνα 12: *Kappaphycus* sp.

(δ) Το κόκκινο μακροφύκος **Porphyra**, ένα γένος με 100 περίπου είδη, το οποίο καλλιεργείται εκτεταμένα σε πολλές Ασιατικές χώρες και χρησιμοποιείται κυρίως για το σούσι (Hasan and Chatrabarti, 2009).



Εικόνα 13: *Porphyra* sp.

### 3.3 Πράσινα μακροφύκη

Υπάρχουν πάνω από 900 διαφορετικά είδη θαλάσσιων φυκών που απαρτίζουν το γένος *Chlorophyta*. Το πράσινο χρώμα στα θαλάσσια φύκη προκαλείται από την κυρίαρχη χρωστική ουσία, τη χλωροφύλλη. Τα χρώματα των διαφόρων ειδών διαφέρουν από το φωτεινό πράσινο μέχρι το σκούρο κίτρινο ή νεφρίτη. Τα πράσινα μακροφύκη είναι μία από τις πιο ποικίλες και άφθονες ομάδες μακροφυκών με εξαιρετικά ποικίλα σχήματα και χαρακτηριστικά. Εξαπλώνονται και αυξάνονται κατά δύο κύριες μεθόδους: με το θρυμματισμό και με την απελευθέρωση αναπαραγωγικών σπορίων. Η τελευταία είναι πιο προβληματική στο είδος *Caulerpa* και μπορεί να παρουσιάσει ορισμένες προκλήσεις στην επιτυχή διατήρηση αυτών μακροπρόθεσμα



στο

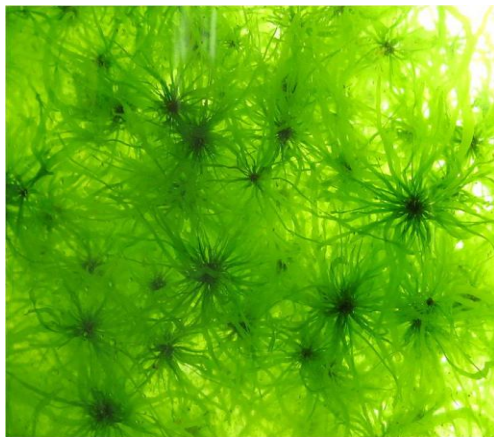
θαλάσσιο

ενυδρείο

(<http://marineplantbook.com/marineplantbookgreenalgae.htm>).

Τα πράσινα φύκη περιέχουν πολυσακχαρίτες με τη μορφή του αμύλου (δηλ. α-1,4-γλουκάνη) και λιπίδια, αλλά οι αναλογίες τους είναι μικρές (1-4% για το άμυλο και 0-6% για τα λιπίδια). Τα είδη *Ulva* και *Enteromorpha* περιέχουν τον υδατοδιαλυτό πολυσακχαρίτη ulvan και αδιάλυτη κυτταρίνη στα κυτταρικά τους τοιχώματα. Ο πολυσακχαρίτης ulvan, ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των πράσινων φυκών, αποτελείται κυρίως από D-γλουκουρονικό οξύ, D-ξυλόζη, L-ραμνόζη και θειικά άλατα (Jung et al., 2012).

Ένα από τα πιο κοινά πράσινα φύκη είναι το *Ulva lactuca* («μαρούλι της θάλασσας»), το οποίο σχηματίζει πράσινα φύλλα με διάμετρο μέχρι και 30 cm. Όπως υποδηλώνει η κοινή ονομασία του είναι βρώσιμο, όπως και το φύκος *Caulerpa brownie*. Το πράσινο φύκος *Enteromorpha intestinalis*, έχει επίσης υψηλή θρεπτική αξία (Oilgae, 2010).



Εικόνα 14: *Ulva*.



Εικόνα 15: *Caulerpa* sp.

#### 4. ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

Τα **μικροφύκη** είναι μικροσκοπικοί φωτοσυνθετικοί οργανισμοί οι οποίοι αναπτύσσονται σε θαλασσινό ή φρέσκο νερό. Ο φωτοσυνθετικός τους μηχανισμός είναι παρόμοιος με αυτόν των φυτών που αναπτύσσονται στο έδαφος αλλά εξαιτίας της απλής κυτταρικής τους δομής και του γεγονότος ότι είναι βυθισμένα σε θαλασσινό περιβάλλον όπου έχουν επαρκή «πρόσβαση» σε νερό, διοξείδιο του άνθρακα και άλλα θρεπτικά, είναι γενικά πιο αποτελεσματικοί στη μετατροπή ηλιακής ενέργειας σε βιομάζα (Carlsson et al. 2007, Adams et al. 2011).

##### Σύγκριση μακροφυκών και μικροφυκών

- Τα μικροφύκη έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε έλαια αλλά είναι δύσκολο να καλλιεργηθούν και να συλλεχθούν με έναν οικονομικά αποδοτικό τρόπο.
- Τα μακροφύκη, αντιθέτως, παρουσιάζουν δυνατότητες καλλιέργειας και συγκομιδής χαμηλού κόστους αλλά πολλά είδη έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια καθώς και υδατάνθρακες.
- Με διαδικασίες όπως η κυτταρική ζύμωση (για την εξαγωγή αιθανόλης), αεριοποίηση (για την εξαγωγή βιοντίζελ, αιθανόλης και ενός ευρύ φάσματος

υδρογονανθράκων), ή αναερόβια πέψη (για μεθάνιο ή την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας) είναι δυνατόν σήμερα να χρησιμοποιηθούν τα μακροφύκη ως πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

- Έτσι, μικροφύκη και μακροφύκη είναι δυναμική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοκαυσίμων (Oilgae, 2010).

## 5. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΑΚΡΟΦΥΚΩΝ

### 5.1 Παγκόσμια παραγωγή μακροφυκών

Η συγκομιδή των «άγριων» (φυσικά απαντώμενων στη φύση) αποθεμάτων φυκών αντιπροσώπευε περίπου τους 1.1 εκατομμύρια μετρικούς τόνους της ετήσιας παραγωγής νωπών μακροφυκών το 2006, ενώ η υδατοκαλλιέργεια περίπου τους 15.1 εκατομμύρια μετρικούς τόνους της νωπής ετήσιας παραγωγής (Πίνακας 6) ξεπερνώντας τη συγκομιδή των «άγριων» αποθεμάτων πάνω από δέκα φορές (Oilgae 2010, Roesijadi et al. 2010). Η ετήσια παραγωγή που συνδεόταν με συγκομιδή των «άγριων» αποθεμάτων ήταν πιο ομοιόμορφα κατανομημένη σε όλο τον κόσμο από την παραγωγή σε υδατοκαλλιέργειες. Ενώ οι δέκα πρώτες χώρες στη συγκομιδή «άγριων» αποθεμάτων περιελάμβαναν χώρες στην Ασία, τη Νότιο Αμερική, την Κεντρική Αμερική, την Ευρώπη και την Ισλανδία, συμπεριλαμβανομένης της Ρωσίας και της Αυστραλίας, η παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας ήταν επικεντρωμένη στην Ασία με μεγαλύτερη παραγωγό χώρα την Κίνα, η οποία αντιπροσώπευε το 72% της συνολικής παραγωγής και το 73% της συνολικής αξίας των καλλιεργημένων μακροφυκών. Οι υπόλοιπες δέκα μεγαλύτερες παραγωγές χώρες στην υδατοκαλλιέργεια μακροφυκών αντιπροσώπευαν το 28% της βασιζόμενης σε υδατοκαλλιέργεια παραγωγής. Οι χρηματικές αξίες για τα προϊόντα υδατοκαλλιέργειας, οι οποίες ήταν κατά μέσο όρο περίπου 477\$ ανά νωπό μετρικό τόνο (Πίνακας 6), αντανακλούσαν την κυριαρχία της Κινεζικής παραγωγής (Roesijadi et al., 2010).

Η παραγωγή μακροφυκών με βάση τις υδατοκαλλιέργειες, έχει επικεντρωθεί κυρίως στο γένος *Laminaria* (αναταξινομήθηκε ως *Saccharina* για ορισμένα είδη), *Undaria*, *Porphyra*, *Euchema* και *Gracilaria* (Πίνακας 7). Αυτά τα πέντε γένη αντιπροσώπευαν το 76% της συνολικής ποσότητας καλλιεργημένων μακροφυκών. Η Κίνα ήταν η μεγαλύτερη παραγωγός για όλα τα είδη εκτός από το *Euchema*, με συνδυασμένη παραγωγή 7.9 εκατομμύρια νωπών μετρικών τόνων για τα άλλα τέσσερα γένη. Οι Φιλιππίνες αντιπροσώπευαν το 91% των 1.26 εκατομμύρια νωπών μετρικών τόνων παραγωγής με υδατοκαλλιέργεια του γένους *Euchema*. Η συνολική χρηματική αξία της παραγωγής με υδατοκαλλιέργεια στον Πίνακα 6 για το 2006 αντανακλά αύξηση πάνω από αυτή που αναφέρθηκε το 2003, για το σύνολο της βιομηχανίας μακροφυκών (McHugh, 2003).

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι Ηνωμένες Πολιτείες συμβάλλουν ελάχιστα στην παραγωγή των μακροφυκών και δεν αναφέρονται ως παραγωγός από τον FAO (FAO, 2008). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η προμήθεια των μακροφυκών για ανθρώπινη κατανάλωση και παραγωγή υδροκολλοειδών εξαρτάται από τις εισαγωγές από τις χώρες παραγωγής (Roesijadi et al., 2010).

Πίνακας 6: Παγκόσμια παραγωγή (σε νωπούς μετρικούς τόνους) των «άγριων» αποθεμάτων μακροφυκών και των καλλιεργημένων μακροφυκών και χρηματική αξία των καλλιεργημένων (USD) το 2006 ανά χώρα (FAO, 2008).

Συγκομιδή «άγριων» αποθεμάτων			Καλλιέργεια φυκών				
Χώρα	Παραγωγή (μετρικοί τόνοι)	% της παγκόσμιας παραγωγής	Χώρα	Παραγωγή (μετρικοί τόνοι)	% της παγκόσμιας παραγωγής	Αξία	
						US\$1,000s	\$/μετρικό τόνο
<b>Παγκόσμια</b>	<b>1,143,273</b>	<b>100.00</b>	<b>Παγκόσμια</b>	<b>15,075,612</b>	<b>100.00</b>	<b>7,187,125</b>	<b>476.74</b>
Κίνα	323,810	28.32	Κίνα	10,867,410	72.09	5,240,819	482.25
Χιλή	305,748	26.74	Φιλιππίνες	1,468,905	9.74	173,963	118.43
Νορβηγία	145,429	12.72	Ινδονησία	910,636	6.04	127,489	140.00
Ιαπωνία	113,665	9.94	Νότιος Κορέα	765,595	5.08	269,657	352.22
Ρωσία	65,554	5.73	Ιαπωνία	490,062	3.25	1,051,361	2,145.36
Ιρλανδία	29,500	2.58	Βόρειος Κορέα	444,300	2.95	244,365	550.00
Μεξικό	27,000	2.36	Χιλή	33,586	0.22	52,394	1,560.00
Ισλανδία	20,964	1.83	Μαλαισία	30,000	0.20	4,500	150.00
Γαλλία	19,160	1.68	Βιετνάμ	30,000	0.20	15,000	500.00
Αυστραλία	15,504	1.36	Καμπότζη	16,000	0.11	4,000	250.00
Μαρόκο	14,870	1.30	Ταϊβάν	5,949	0.04	447	75.14
Νότιος Κορέα	13,754	1.20	Ινδία	4,668	0.03	467	100.04
Καναδάς	11,313	0.99	Κιριμπάτι	3,900	0.03	156	40.0
Ινδονησία	9,830	0.86	Νότια Αφρική	3,000	0.02	1,256	421.67
Νότιος Αφρική	6,600	0.58	Ρωσία	818	0.01	982	1,200.49
ΗΠΑ	6,238	0.55	Τανζανία	320	0.00	64	200.00
Μαδαγασκάρη	5,300	0.46	Νησιά Σολομωντα	120	0.00	6	50.00
Περου	3,434	0.30	Νησιά Φίτζι	119	0.00	65	546.22
Ιταλία	1,400	0.12	Μάλι	90	0.00	3	33.33
Ουκρανία	1,121	0.10	Ναμίμπια	70	0.00	65	928.57
Πορτογαλία	765	0.07	Γαλλία	45	0.00	16	355.56
Ισπανία	485	0.04	Μοζαμβίκη	15	0.00	23	1,533.00
Εσθονία	394	0.03	Μπουρκίνα Φάσο	2	0.00	1	500.00
Τόνγκα	356	0.03	Αγία Λουκία	1	0.00	16	16,000.00
Νησιά Φίτζι	350	0.03	Ισπανία	1	0.00	1	1,000.00
Φιλιππίνες	314	0.03					
Νέα Ζηλανδία	225	0.02					
Ταϊβάν	190	0.02					

Πίνακας 7: Παγκόσμια παραγωγή καλλιεργημένων μακροφυκών ανά είδος (σε νωπούς μετρικούς τόνους) το 2004 (Roesijadi et al., 2008).

Είδος φύκους	Κοινή Ονομασία	Χώρα	Μετρικοί τόνοι	Συνολικοί μετρικοί τόνοι ανά κατηγορία
<i>Laminaria japonica</i> <sup>1</sup>	Ιαπωνικό φύκος (Japanese kelp)	Κίνα	4,005,640	
<i>Laminaria japonica</i>	Ιαπωνικό φύκος (Japanese kelp)	Βόρειος Κορέα	444,295	
<i>Laminaria japonica</i>	Ιαπωνικό φύκος (Japanese kelp)	Ιαπωνία	47,256	
<i>Laminaria japonica</i>	Ιαπωνικό φύκος (Japanese kelp)	Νότιος Κορέα	22,510	4,519,701
<i>Plantae aquaticae</i> <sup>2</sup>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Κίνα	2,535,130	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Μαλαισία	30,957	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Καμπότζη	16,840	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Ιαπωνία	15,968	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Κίνα	3,230	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Νότια Αφρική	2,750	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Νότιος Κορέα	142	
<i>Plantae aquaticae</i>	Υδρόβιο φυτό (Aquatic plants)	Μάλι	90	2,605,107
<i>Undaria pinnatifida</i>	Φύκος (wakame)	Κίνα	2,196,070	
<i>Undaria pinnatifida</i>	Φύκος (wakame)	Νότιος Κορέα	261,574	
<i>Undaria pinnatifida</i>	Φύκος (wakame)	Ιαπωνία	62,236	
<i>Undaria spp.</i>	Φύκος (wakame)	Γαλλία	25	2,519,880
<i>Porphyra tenera</i>	Φύκος (Nori)	Κίνα	810,170	
<i>Porphyra tenera</i>	Φύκος (Nori)	Ιαπωνία	358,929	
<i>Porphyra tenera</i>	Φύκος (Nori)	Νότιος Κορέα	228,554	
<i>Porphyra tenera</i>	Φύκος (Nori)	Ταϊβάν	7	1,397,660
<i>Eucheuma cottonii</i> <sup>3</sup>	Zanzibar weed	Φιλιππίνες	1,069,599	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Κίνα	97,800	
<i>Eucheuma denticulatum</i>	Ακανθώδης <i>Eucheuma</i>	Φιλιππίνες	85,754	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Τανζανία	6,000	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Κιριμπάτι	3,904	
<i>Eucheuma cottonii</i>	Zanzibar weed	Τόνγκα	1,195	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Νησιά Σολομώντα	120	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Νησιά Φίτζι	45	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Αγία Λουκία	1	
<i>Eucheuma spp.</i>	Φύκος ( <i>Eucheuma</i> )	Ηνωμένες Πολιτείες της Μικρονησίας	0	1,264,438



<i>Gracilaria verrucosa</i>	Ακροχονδρονώδης <i>Gracilaria</i>	Κίνα	888,870	
<i>Gracilaria</i> spp.	Μακροφύκη <i>Gracilaria</i>	Βιετνάμ	30,000	
<i>Gracilaria</i> spp.	Μακροφύκη <i>Gracilaria</i>	Χιλή	19,714	
<i>Gracilaria verrucosa</i>	Ακροχονδρονώδης <i>Gracilaria</i>	Ταϊβάν	9,085	
<i>Gracilaria</i> spp	Μακροφύκη <i>Gracilaria</i>	Φιλιππίνες	389	
<i>Gracilaria</i> spp	Μακροφύκη <i>Gracilaria</i>	Νότιος Αφρική	95	
<i>Gracilaria verrucosa</i>	Ακροχονδρονώδης <i>Gracilaria</i>	Ταϊβάν	72	
<i>Gracilaria</i> spp	Μακροφύκη <i>Gracilaria</i>	Ναμίμπια	67	948,292
<i>Rhodophyceae</i>	Κόκκινα μακροφύκη	Ινδονησία	397,964	
<i>Rhodophyceae</i>	Κόκκινα μακροφύκη	Ινδονησία	12,606	410,570
<i>Sargassum fusiforme</i>	<i>Fusiform sargassum</i>	Κίνα	131,680	131,680
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Θαλάσσια βρύα Elkhorn	Φιλιππίνες	44,814	
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	Θαλάσσια βρύα Elkhorn	Μοζαμβίκη	92	44,906
<i>Phaeophyceae</i>	Καφέ μακροφύκη	Νότιος Κορέα	22,814	
<i>Phaeophyceae</i>	Καφέ μακροφύκη	Ρωσία	92	23,030
<i>Monostroma nitidum</i>	Πράσινη πορφύρα	Νότιος Κορέα	11,514	11,514
<i>Caulerpa</i> spp.	Μακροφύκη <i>Caulerpa</i>	Φιλιππίνες	4,252	4,252
<i>Enteromorpha prolifera</i>	Σκούρο πράσινο nori	Κίνα	3,280	3,280
<i>Gelidium amansii</i>	Ιαπωνικά isinglass	Κίνα	1,150	1,150
<i>Asparagopsis</i> spp.	Μακροφύκη Harpoon	Γαλλία	13	12
<b>ΣΥΝΟΛΟ</b>			13,885,497	13,885,497

<sup>1</sup>Αναταξινομήθηκε ως *Saccharina japonica*, <sup>2</sup> Επίσημη ονομασία άγνωστων υδρόβιων φυτών κατά την ορολογία του FAO, <sup>3</sup>Αναταξινομήθηκε ως *Kappaphycus alvarezii*

## 5.2 Καλλιέργεια μακροφυκών

Γενικότερα, μερικά μακροφύκη μπορούν να αναπτυχθούν με βλαστική αναπαραγωγή και άλλα μέσω ενός αναπαραγωγικού κύκλου με συμμετοχή εναλλαγής γενεών (Hasan and Chatrabarti, 2009).

Τα μακροφύκη έχουν μια μεγάλη ποικιλία περιβαλλοντικών απαιτήσεων οι οποίες διαφέρουν ανάλογα με τα είδη τους και την τοποθεσία. Οι πιο σημαντικές παράμετροι που ρυθμίζουν την ανάπτυξή τους είναι η ποιότητα και ποσότητα των θρεπτικών, το φως, το pH, η αλατότητα και η θερμοκρασία. Μακροθρεπτικά (όπως το πυριτικό, το φωσφορικό και το νιτρικό άλας) καθώς και μικροθρεπτικά (όπως ίχνη μετάλλων και οι βιταμίνες θυαμίνη, βιοτίνη και κυανοκοβαλαμίνη) είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυκών. Η ένταση του φωτός παίζει έναν σημαντικό ρόλο αλλά οι απαιτήσεις διαφέρουν ανάλογα με τον πληθυσμό των φυκών. Οι τιμές του pH συνήθως είναι 7 έως 9, με το μέγιστο εύρος να είναι 8.2-8.7. Το θαλάσσιο φυτοπλαγκτόν είναι ανθεκτικό στις αλλαγές της αλατότητας και στους τεχνητούς πληθυσμούς καλύτερη ανάπτυξη πραγματοποιείται σε τιμές αλατότητας χαμηλότερες από αυτές του φυσικού περιβάλλοντος. Βέλτιστες αλατότητες θεωρούνται οι 20-24 ppt (Hasan and Chatrabarti, 2009).

Στη **βλαστική αναπαραγωγή**, μικρά κομμάτια μακροφυκών τοποθετούνται σε περιβάλλον το οποίο θα διατηρήσει την ανάπτυξή τους. Όταν αποκτήσουν ένα κατάλληλο μέγεθος συλλέγονται είτε παίρνοντας ολόκληρο το φυτό, είτε παίρνοντας το περισσότερο από αυτό αλλά αφήνοντας ένα μικρό κομμάτι το οποίο θα αναπτυχθεί πάλι. Όταν όλο το φυτό αφαιρεθεί, μικρά κομμάτια κόβονται από αυτό και χρησιμοποιούνται ως σπόρος για περαιτέρω καλλιέργεια. Το κατάλληλο περιβάλλον πρέπει να ικανοποιεί τις απαιτήσεις της αλατότητας του νερού, των θρεπτικών, της ανάδευσης, της θερμοκρασίας του νερού και τέλος της έντασης του φωτός. Τα φύκη είναι δυνατόν να κρατηθούν σε αυτό το περιβάλλον με πολλούς τρόπους: κομμάτια αυτών μπορούν να δεθούν σε μακριά σκοινιά τα οποία είναι τοποθετημένα μέσα στο νερό ή να δεθούν με σκοινιά σε ένα πλωτό ξύλινο πλαίσιο. Μερικές φορές αντί των σκοινιών χρησιμοποιούνται δίχτυα και επίσης συχνά τα φύκη απλά τοποθετούνται στον βυθό λιμνών χωρίς να δεθούν με κάποιο τρόπο (Hasan and Chatrabarti, 2009).

Η καλλιέργεια μακροφυκών που περιλαμβάνει έναν **αναπαραγωγικό κύκλο** είναι απαραίτητη για πολλά μακροφύκη, κυρίως για τα καφέ όπως τα είδη *Laminaria*. Ο κύκλος ζωής αυτών περιλαμβάνει εναλλαγή μεταξύ ενός μεγάλου σπορόφυτου και ενός μικροσκοπικού γαμετόφυτου, δύο γενεές με αρκετά διαφορετικές μορφές. Το σπορόφυτο είναι ό,τι συλλέγεται ως μακροφύκος και για να αναπτυχθεί ένα καινούριο σπορόφυτο είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθεί μια σεξουαλική φάση που περιλαμβάνει το γαμετόφυτο. Τα ώριμα σπορόφυτα απελευθερώνουν σπόρους οι οποίοι βλαστούν και αναπτύσσονται σε μικροσκοπικά γαμετόφυτα. Τα γαμετόφυτα γίνονται γόνιμα και ελευθερώνουν σπέρμα και αυγά τα οποία συμμετέχουν στη δημιουργία εμβρυϊκών σπορόφυτων. Αυτά αργά αναπτύσσονται στα μεγάλα σπορόφυτα τα οποία συλλέγουμε. Οι βασικές δυσκολίες σε αυτό το είδος των καλλιεργειών βασίζονται στη διαχείριση των μεταβάσεων από σπόρο σε γαμετόφυτο και έπειτα σε εμβρυϊκό σπορόφυτο. Αυτές οι μεταβάσεις συνήθως

πραγματοποιούνται σε εδαφικές εγκαταστάσεις με προσεκτικό έλεγχο της θερμοκρασίας του νερού, των θρεπτικών και του φωτός. Τα υψηλά κόστη που εμπεριέχονται σε αυτή τη διαδικασία μπορούν να αντισταθμιστούν αν τα μακροφύκη πωληθούν ως τρόφιμα αλλά το κόστος για τη δημιουργία πρώτης ύλης για την παραγωγή αλγινικού είναι πολύ μεγάλο (Hasan and Chatrabarti, 2009).

Όταν η καλλιέργεια χρησιμοποιείται για την παραγωγή μακροφυκών για την βιομηχανία των υδροκολλοειδών (άγαρ και καρραγενάνη), χρησιμοποιείται κυρίως η πρώτη μέθοδος. Αντιθέτως, τα μακροφύκη τα οποία χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα παράγονται μέσω της δεύτερης προαναφερθείσας μεθόδου (Hasan and Chatrabarti, 2009).

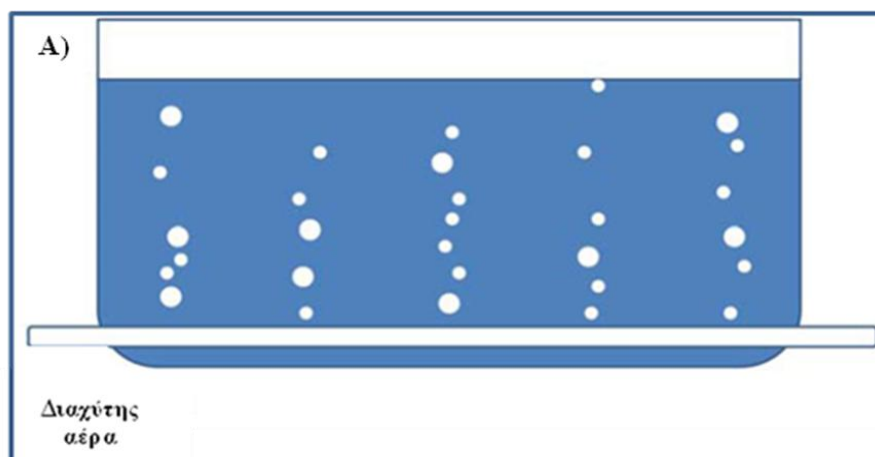
## 5.2.1 Χερσαία συστήματα καλλιέργειας

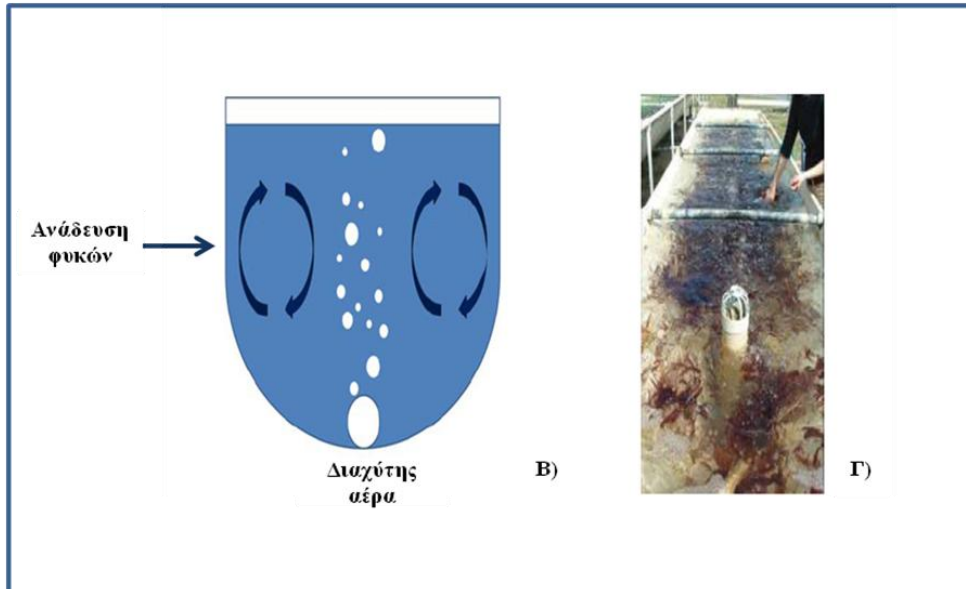
### 5.2.1.1 Καλλιέργεια μακροφυκών σε δεξαμενές

Η καλλιέργεια των φυκών πραγματοποιείται σε δεξαμενές όταν απαιτείται υψηλή ποιότητα προϊόντων όπως η πορφύρα και οι ζωοτροφές ή για τη βιοαποκατάσταση της εκροής του νερού από υδατοκαλλιέργειες (Wegeberg and Felby, 2010).

Για την επίδραση των μακροφυκών από την παραπάνω βιοαποκατάσταση, ώστε να επωφελούνται από την ανακύκλωση του νερού, οι δεξαμενές μπορούν να διασυνδέονται με σωλήνες νερού και να αερίζονται μεμονωμένα. Ο χρόνος παραμονής του ύδατος ρυθμίζεται ανάλογα με την ένταση του αερισμού. Τα στόμια προσαγωγής αέρα κάνουν την καλλιέργεια φυκών να περιστρέφεται για ενισχυμένη πρόσληψη θρεπτικών συστατικών καθώς και για να δέχεται την επιρροή από την κυμαινόμενη ένταση του φωτός (Εικόνα 16) (Pang and Lüning 2004, Oilgae 2010).

Για παράδειγμα το πράσινο φύκος *Ulva sp.* καλλιεργείται σε δεξαμενές στη Δανία (Εικόνα 17) με σκοπό την παραγωγή βιοενέργειας (Rasmussen et al., 2009). Η παραγωγή του φύκου *Ulva* εκτιμάται κατά μέσο όρο στους 45 τόνους ξηρού βάρους/εκτάριο σε ετήσια βάση (200 ημέρες με επαρκή φωτισμό) (Wegeberg and Felby, 2010).





Εικόνα 16: Καλλιέργειες μακροφυκών σε εξειδικευμένες δεξαμενές. Α) Τομή κατά μήκος της δεξαμενής με ένα σωλήνα ως διαχυτήρα αέρα στο κάτω μέρος. Β) Εργάτρια τομής της δεξαμενής. Γ) Καλλιέργεια της *Palmaria Palmata* (Wegeberg and Felby, 2010).



Εικόνα 17: Καλλιέργεια του φύκου *Ulva sp.* σε υπαίθριες δεξαμενές στο κέντρο οστρακοειδών της Δανίας (Wegeberg and Felby, 2010).

Η καλλιέργεια του μακροφύκου *Ulva sp.* σε δεξαμενές είναι κρίσιμη επειδή οι συχνά εμφανιζόμενες «εκδηλώσεις» σπορίωσης έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια ιστού των φυκών (Wegeberg and Felby, 2010).

#### 5.2.1.2 Καλλιέργεια μακροφυκών σε τεχνητές λίμνες

Τα μακροφύκη μπορούν επίσης να καλλιεργηθούν σε τεχνητές λίμνες. Ένα πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι το χαμηλό κόστος λειτουργίας. Η ανταλλαγή του νερού στις τεχνητές λίμνες επιτυγχάνεται με τη χρήση των πυλών παλίρροιας και οι αποδόσεις των φυκών είναι χαμηλές λόγω της έλλειψης κίνησης

του νερού. Τα συστήματα δεξαμενών είναι συνήθως μικρότερες λειτουργικές μονάδες που επιτρέπουν ένα προβλέψιμο πρόγραμμα συντήρησης. Εντούτοις μερικά βήματα μπορούν να είναι ρυθμισμένα ακριβώς ώστε να μειώνεται η απαίτηση εργασίας, αν και αυτό το είδος συστημάτων έχει υψηλό λειτουργικό κόστος. Σε αντίθεση με τα συστήματα δεξαμενών οι τεχνητές λίμνες είναι μεγαλύτερα συστήματα, και μια σημαντική ανάπτυξη επιφύτων ή άλλων ειδών γεμάτων με αγριόχορτα μπορεί να είναι πολύ δύσκολο να τεθεί υπό έλεγχο (Oilgae, 2010).

### 5.2.2 Θαλάσσιες καλλιέργειες μακροφυκών

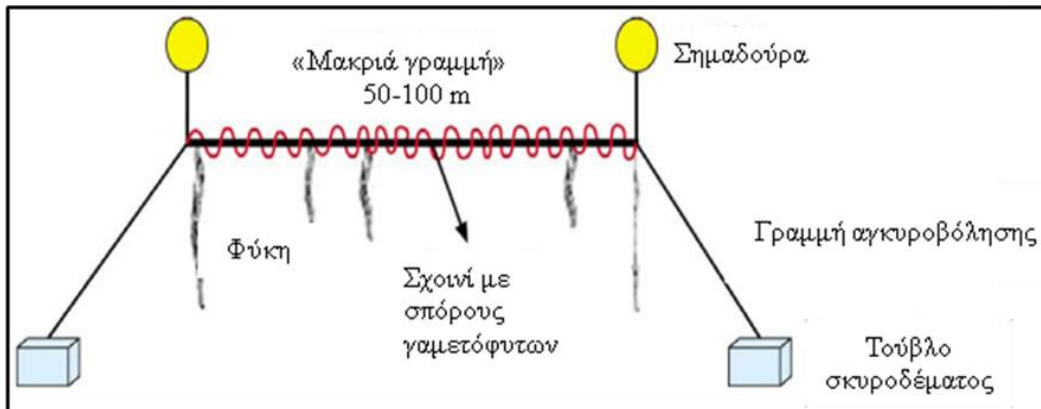
Οι μεγαλύτερες ποσότητες μακροφυκών προέρχονται από θαλάσσιες καλλιέργειες πάνω σε ξύλα ή σχοινιά, όπως είναι γνωστό από την Κίνα, την Ιαπωνία και τις Φιλιππίνες. Υπό το πρίσμα λοιπόν της αύξησης της ζήτησης της αγροτικής γης σε παγκόσμιο επίπεδο, έχει δοθεί έμφαση στην αξιοποίηση των πόρων της θάλασσας. Οι θαλάσσιες καλλιέργειες και η ανάπτυξη μεγάλης κλίμακας «αγροκτημάτων» φυκών, ίσως εκφώνει την απαιτούμενη παροχή της βιομάζας για την παραγωγή ενέργειας (Wegeberg and Felby, 2010).

Τα πρωτόκολλα αυτών των καλλιεργειών είναι γνωστά και τεκμηριωμένα από αρκετούς συγγραφείς (Blouin et al. 2007, Buch and Buchholz 2004, Lüning and Müller 1978, Lüning et al. 2008, Kraan and Guiry 1998, Mortensen and Wegeberg 2007, Shea and Chopin 2007) και συμπεριλαμβάνουν τα επόμενα βήματα :

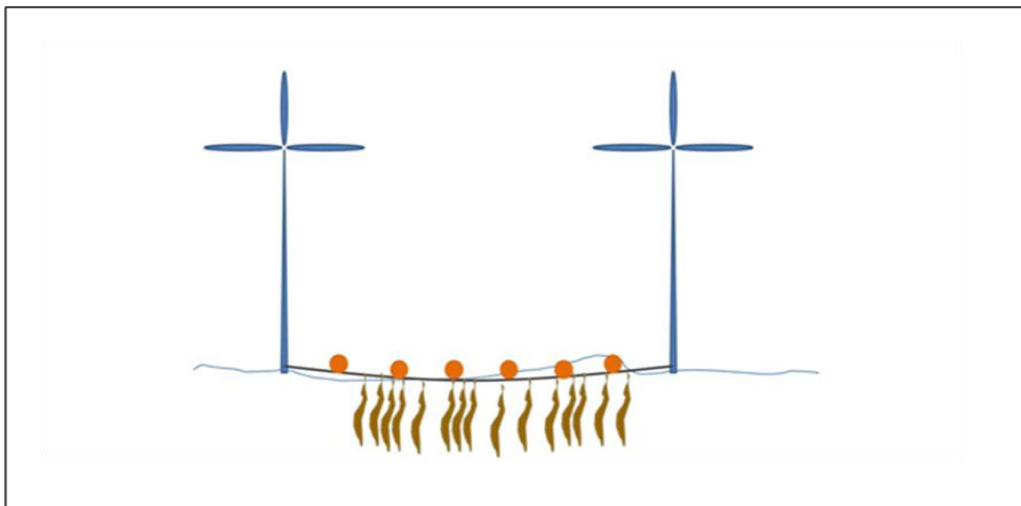
1. Συλλογή των «γόνιμων» δειγμάτων κατά τους χειμερινούς μήνες.
2. Σπορίωση και εμβολιασμός: απελευθέρωση των σπορίων τα οποία προστίθενται σε εμπλουτισμένο θαλασσινό νερό όπου περιέχονται στοιχεία για τη διευθέτηση (για παράδειγμα σε γραμμές).
3. Δημιουργία σπορόφυτων: επίτευξη του κύκλου ζωής κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες εργαστηρίου.
4. Ανάπτυξη των σπορόφυτων στη θάλασσα από το Φεβρουάριο/Μάρτιο μέχρι τη συγκομιδή το καλοκαίρι.
5. Συγκομιδή.

#### 5.2.2.1 Συστήματα καλλιέργειας

Πολλά σχέδια θαλάσσιων καλλιεργειών έχουν αναπτυχθεί και δοκιμαστεί. Το πιο απλό αλλά και το πιο εφαρμόσιμο και συνηθέστερα χρησιμοποιούμενο είναι η «μακριά γραμμή» (Buch and Buchholz 2004, Morrissey 2002) (Εικόνα 18, 19, 20, 21). Στη Γερμανία και την Ιρλανδία το λεγόμενο πλέγμα έχει δοκιμαστεί (Εικόνα 22) και στη Γερμανία αναπτύχθηκε επίσης μία καλλιέργεια «δακτύλιος» για τα νερά υψηλής θολερότητας (Εικόνα 23) (Buch and Buchholz 2004).



Εικόνα 18: Μοντέλο από μια πλωτή σχεδία που αποτελείται από γραμμή σπόρων (κόκκινο χρώμα στην εικόνα), με καλλιεργημένα φύκη στη «μακριά γραμμή» η οποία είναι αγκυροβολημένη με τούβλα σκυροδέματος και διατηρείται επιπλέον με σημαδούρες (Wegeberg and Felby, 2010, Oilgae 2010).



Εικόνα 19: Γραμμή με καλλιεργούμενα μακροφύκη αγκυροβολημένα μεταξύ ανεμογεννητριών, τα οποία διατηρούνται κάθετα με σημαδούρες (Wegeberg and Felby, 2010).

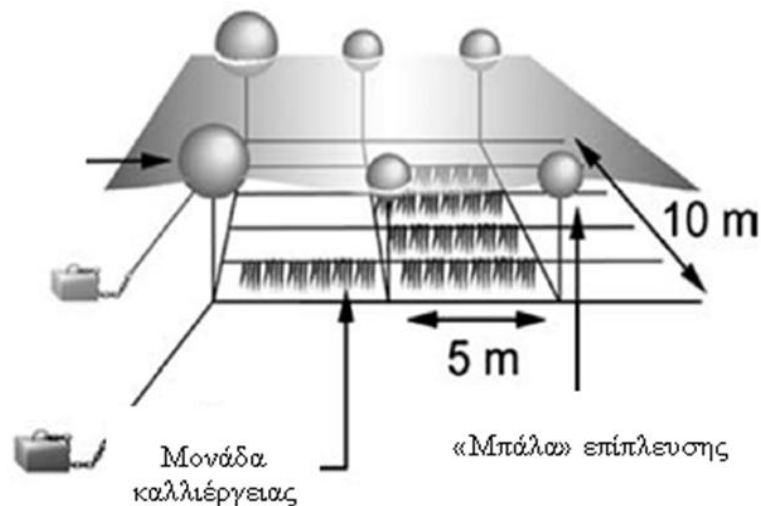


Εικόνα 20: «Μακριά γραμμή» με μία τυλιγμένη γραμμή σπόρων του φύκους *Saccharina latissima*, Δανία (Wegeberg and Felby, 2010).





Εικόνα 21: «Μακρινές γραμμές» με ώριμα φύκη *Saccharina japonica*, Κίνα (Wegeberg and Felby, 2010).

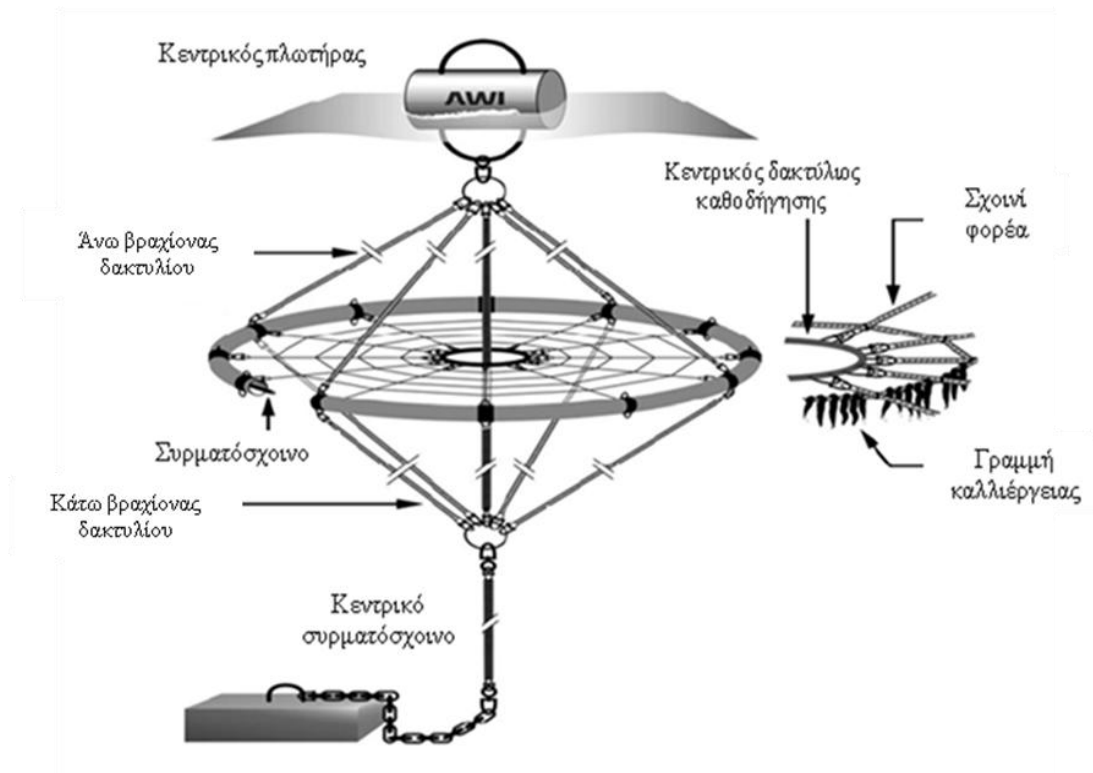


Εικόνα 22: Παράδειγμα του μοντέλου πλέγματος με σύστημα πλωτών σχεδίων (Wegeberg and Felby, 2010).

Τα συστήματα της «μακριάς γραμμής» και του πλέγματος αναπτύσσονται σε σχοινιά 16-18 mm πάχους δεμένα σε σκυρόδεμα, ή για παράδειγμα ανάμεσα σε ανεμόμυλους (Wegeberg and Felby, 2010). Στα συστήματα «μακριάς γραμμής» οι κύριες δυσκολίες που συναντώνται σχετίζονται με τον προσεκτικό έλεγχο της θερμοκρασίας του νερού, τα θρεπτικά συστατικά και το φως (Oilgae, 2010).

Η καλλιέργεια «δακτυλίδι» μακριά από την ακτή που αναπτύχθηκε από τους Buch & Buchholz (2004) έχει αποδειχθεί ανθεκτική σε δυσμενείς καιρικές συνθήκες και ταχύτητες νερού και επίσης επιτρέπει τον εύκολο χειρισμό (Εικόνα 23). Ο δακτύλιος που κατασκευάστηκε από αυτούς κρατούσε 84 m γραμμές σπόρων κάτω που οδηγούσε στη συγκομιδή περίπου 300 kg νωπού βάρους βιομάζας φυκών. Για τη

συγκομιδή από το δακτύλιο, αυτός μπορεί να σύρεται στην ακτή και να σηκώνεται με γερανό ή μπορεί να πραγματοποιηθεί η συγκομιδή στη θάλασσα με γεραμούς βασιζόμενους σε σκάφη. Ωστόσο, το κόστος ενός πλήρως συναρμολογημένου δακτυλίου είναι αρκετά υψηλό, περίπου 1000 ευρώ, όπως προτάθηκε από τους Buch & Buchholz (Wegeberg and Felby, 2010).

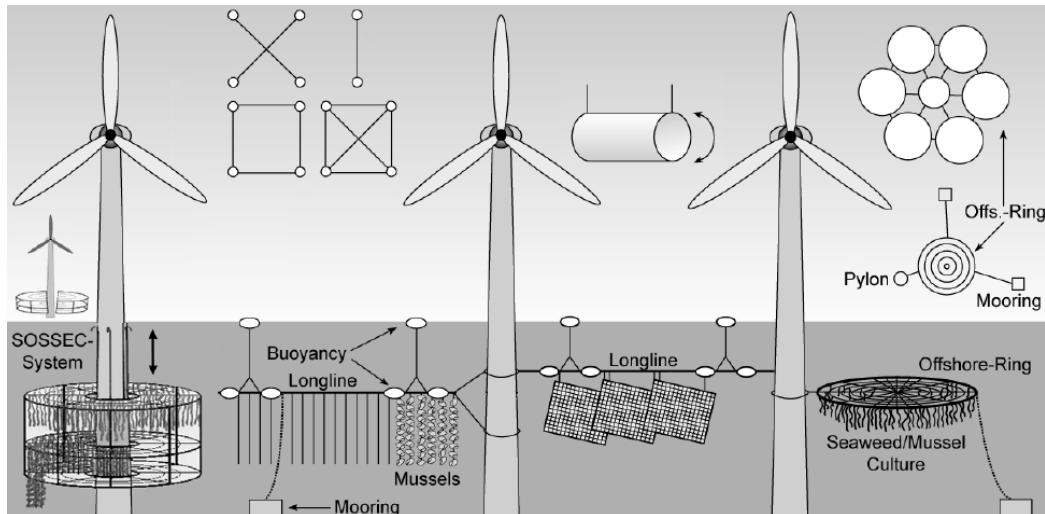


Εικόνα 23: Κατασκευή δαιτυλίου για την καλλιέργεια μακροφυκών (Wegeberg and Felby, 2010).

Το κόστος κεφαλαίου αυτών των τριών συστημάτων ποικίλλει ανάλογα με την τοποθεσία, το βάθος του νερού και τις τοπικές οικονομίες. Όσον αφορά στο λειτουργικό κόστος, ποικίλλει ως συνάρτηση της συχνότητας συγκομιδής και της διάρκειας ζωής των μακροφυκών στο περιβάλλον της εκάστοτε τοποθεσίας (Oilgae, 2010).

Μία πρόσφατη Ολλανδική μελέτη ερεύνησε τη δυνατότητα της χρήσης υποδομών αιολικών πάρκων μακριά από την ακτή (Reith et al., 2005), βασιζόμενων στο πρόγραμμα θαλάσσιας βιομάζας των Ηνωμένων Πολιτειών (Chynoweth, 2002) το οποίο «σχεδίασε» συστήματα καλλιέργειας στην ανοιχτή θάλασσα, καθώς και σε Γαλλικές (Pérez, 1997) και Γερμανικές μελέτες (Buch and Buchholz 2004). Μία απεικόνιση αυτών των αιολικών πάρκων παρουσιάζεται στην Εικόνα 24 (Carlsson et al. 2007, Lenstra et al. 2011).





Εικόνα 24: Πολλαπλή χρήση των αιολικών πάρκων μακριά από την ακτή για τη συν-καλλιέργεια φυκών και θαλασσινών (Carlsson et al. 2007, Lenstra et al. 2011).

Αυτή η Ολλανδική μελέτη εξετάζει λεπτομερώς τα διαφορετικά διαθέσιμα συστήματα και τις ποικίλες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί. Για παράδειγμα, οι δοκιμές από τους Buck & Buchholz (2004) έδειξαν ότι συστήματα καλλιέργειας έχουν καταστραφεί εύκολα, ωστόσο ένα μικρό σύστημα δακτυλίου (5 μέτρων διάμετρος) ήταν πιο κατάλληλο. Η ιδέα της χρήσης αιολικών πάρκων μακριά από την ακτή για πολλαπλών χρήσεων υδατοκαλλιέργειες φαίνεται πολλά υποσχόμενη, ωστόσο η συγκομιδή των φυκών είναι έντονη εργασία και τα οικονομικά αυτής της προσέγγισης θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω (Carlsson et al. 2007, Lenstra et al. 2011).

Για επιπλέοντα είδη φυκών όπως το *Sargassum* μπορεί να είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί επιπλέοντα καλλιέργεια και να εφαρμοστεί μια δομή που κρατά τα φύκη σε μια περιορισμένη περιοχή. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντική εξοικονόμηση κόστους σε σύγκριση με τα βασιζόμενα σε ευθεία γραμμή συστήματα (Carlsson et al. 2007, Lenstra et al. 2011).

### 5.2.2.2 Συντήρηση των θαλάσσιων καλλιέργειών μακροφυκών

Προκειμένου να συντηρούνται οι θαλάσσιες καλλιέργειες μακροφυκών πρέπει να ακολουθούνται τα επόμενα βήματα (Oilgae, 2010):

- Αχινοί, αστερίες, βράχια, νεκρά κοράλλια και άλλα «εμπόδια» που βρίσκονται στην περιοχή της καλλιέργειας πρέπει να αφαιρούνται κάθε μέρα.
- Δεδομένου ότι τα φύκη καλλιεργούνται στο ρηχό μέρος της θάλασσας, η διακύμανση της αλατότητας του νερού πρέπει να παρακολουθείται στενά διότι επηρεάζει την ποιότητα των φυκών.
- Μια βάρκα (με ή χωρίς κινητήρα) θα απαιτείται ανάλογα με την απόσταση από την κατοικία στο χώρο της καλλιέργειας.
- Οι αργά αναπτυσσόμενες μονάδες πρέπει να αντικαθίστανται αμέσως με ταχέως αναπτυσσόμενες.

- Η μονάδα δεν πρέπει να αναπτυχθεί περισσότερο από 5 kg γιατί τότε θα καταστραφεί από το ρεύμα του νερού.
- Όλα τα νοσώδη φύκη πρέπει να απομακρύνονται. Το φύκος *Eel grasses* καθώς και άλλα φύκη τείνουν να «συνωστίζονται» και γι' αυτό πρέπει να κόβονται συνεχώς.
- Τα δίχτυα πρέπει να είναι τεντωμένα και οι σπασμένες «μακριές γραμμές» και οι κατεστραμένοι πάσσαλοι πρέπει να επιδιορθώνονται.

### 5.3 Συγκομιδή μακροφυκών

Μόλις το επιθυμητό στέλεχος φυκών καλλιεργηθεί σε μεγάλη κλίμακα, το επόμενο βήμα είναι η συλλογή της βιομάζας φυκών. Επί του παρόντος, από τα περίπου 1.6 εκατομμύρια μετρικούς τόνους ξηρού βάρους των συνολικών φυκών που συλλέγονται σε παγκόσμιο επίπεδο, το 90% περίπου προέρχεται από καλλιεργημένες πηγές (Rojan et al. 2011, Roesijadi et al. 2010).

Η συγκομιδή των μακροφυκών χειρωνακτικά έχει χρησιμοποιηθεί από την προβιομηχανική εποχή και είναι όμοια τόσο για τα κοινά όσο και για τα καλλιεργούμενα μακροφύκη. Αυτή εξακολουθεί να χρησιμοποιείται για τη συλλογή φυσικών αποθεμάτων του *A. nodosum* και τα είδη *Fucus*, καθώς βρίσκονται στην παλιρροιακή ζώνη στην ακτή. Κατά την άμπωτη, επίγεια οχήματα μπορούν να έχουν πρόσβαση στην ακτή και τα μακροφύκη είναι προσιτά για χειρωνακτική συγκομιδή. Πρωτότυπα μηχανήματα για την συγκομιδή δοκιμάστηκαν στο παρελθόν αλλά κανένα δεν έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα (Bruton et al., 2009).

Η χειρωνακτική συγκομιδή εφαρμόστηκε για τα είδη *Laminaria* στην Γαλλία και τη Νορβηγία, αλλά η εμφάνιση μεγάλης κλίμακας εφαρμογών για υδροκολλοειδή οδήγησε στην ανάπτυξη μηχανικών συστημάτων. Έχουν αναπτυχθεί μηχανοποιημένες μέθοδοι συγκομιδής, οι οποίες μπορεί να περιλαμβάνουν κούρεμα με περιστρεφόμενες λεπίδες και αναρρόφηση (Bruton et al., 2009).



Εικόνα 25: Χειρωνακτική συγκομιδή του *Ascophyllum* (Bruton et al., 2009).

Μέθοδοι συγκομιδής που βασίζονται σε κούρεμα των φυσικών συστάδων του *Macrocystis pyrifera* με τη χρήση χορτοκοπτικών τα οποία είναι τοποθετημένα σε μεγάλα πλοία είχαν ήδη αναπτυχθεί στις αρχές του 1900. Τα φύκη αντλούνταν μέσω

ενός σωλήνα απευθείας σε παρακείμενα πλοία, τα οποία μεταφέρονταν απευθείας σε μονάδα επεξεργασίας με ρυμουλκό. Μηχανότρατες χρησιμοποιούνται στη Νορβηγία για να κόψουν τα μεγάλα μεγέθους φύκη, αφήνοντας τα μικρού μεγέθους προσκολλημένα στα βράχια. Η επαν-ανάπτυξη διεγείρεται από το αυξημένο φως που φθάνει τα μικρού μεγέθους φύκη. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα «δάση» μακροφυκών στη Νορβηγία είναι πολύ σταθερά ακόμη και σε περιοχές με υψηλή τάση συγκομιδής. Το σύστημα μηχανότρατας λειτουργεί από μια βάρκα (Roesijadi et al., 2010).

Ένα άλλο σύστημα που λειτουργεί με μια βάρκα χρησιμοποιείται στη Γαλλία και ονομάζεται Scoubidou (Εικόνα 26). Τυλίγει τα είδη *Laminaria* γύρω από ένα περιστρεφόμενο γάντζο και σπάζει τις ρίζες με έλξη. Το εργαλείο στη συνέχεια περιστρέφεται προς την αντίθετη διεύθυνση ώστε να «αδειάσει» τα φύκη στο εσωτερικό της βάρκας (Bruton et al., 2009).



Εικόνα 26: Σύστημα Scoubidou που χρησιμοποιείται στη Γαλλία (Bruton et al., 2009).

Χρησιμοποιώντας ένα δίχτυ ή το σύστημα Scoubidou χρειάζεται ένας άνθρωπος μέσα στη βάρκα για να συλλέξει μερικούς τόνους μακροφυκών σε μία μέρα. Αυτή είναι μία σημαντική βελτίωση σε σχέση με τη χειρωνακτική συγκομιδή. Αυτά τα δύο παραδείγματα είναι οι πιο ευρέως διαδεδομένες μηχανοποιημένες τεχνικές συγκομιδής που χρησιμοποιούνται σήμερα. Σύγχρονα σκάφη συλλογής μακροφυκών μπορούν να εξοπλιστούν με αντλίες για την άμεση συγκομιδή φυκών σε δίχτυα ή άλλες δομές συγκράτησης. Η συγκομιδή των μακροφυκών είναι μια εποχιακή δραστηριότητα στην Ευρώπη. Υπάρχει ανάγκη να βρεθεί μια άλλη χρήση του σκάφους κατά τη διάρκεια της περιόδου που δεν πραγματοποιείται συγκομιδή, διαφορετικά το κόστος της αδράνειας των σκαφών μπορεί να επηρεάσει μέχρι και την τιμή των φυκών (Bruton et al., 2009).

Σωροί μακροφυκών συλλέγονται στις παλιρροιακές ζώνες της παραλίας όπως φαίνεται στην Εικόνα 27.



Εικόνα 27: Συγκομιδή σωρών μακροφυκών στο Sacca di Goro στην Ιταλία (Bruton et al., 2009).

Οι παρακάτω εικόνες παρουσιάζουν τη μορφή των μακροφυκών στο βυθό της θάλασσας καθώς και τα διάφορα στάδια που συμπεριλαμβάνει η συγκομιδή αυτών:



Εικόνα 28: Μορφή μακροφυκών στο βυθό της θάλασσας και στάδια συγκομιδής αυτών.

#### 5.4 Κόστος παραγωγής φυκών

Το κόστος παραγωγής φυκών (Πίνακας 8) εξαρτάται κυρίως από (Reith et al., 2009):

- το κόστος που επενδύεται για τα συστήματα καλλιέργειας και συγκομιδής αυτών
- την παραγωγικότητα βιομάζας ανά μονάδα επιφάνειας

Συνεπώς υπάρχει μια σημαντική διαφορά μεταξύ του κόστους παραγωγής των καλλιεργούμενων φυκών και των φυσικά αναπτυσσόμενων φυκών, λόγω της διαφοράς στην παραγωγικότητα (Roesijadi et al., 2010).

Πίνακας 8: Κόστος παραγωγής φυκών (Lenstra et al., 2011).

Τύπος συστήματος καλλιέργειας	Παραγωγικότητα		Κόστος	
	ton daf/ ha.yr *	ton d.w./ ha.yr **	\$ ton daf	\$ (or €) / ton d.w.
<b>Χιλή: Συλλογή φυσικού πληθυσμού</b>	-	-	-	250
<b>Φιλιππίνες: Παραλιακή καλλιέργεια</b>	-	-	-	80-160
<b>Καλλιέργεια του <i>Macrocystis</i> κοντά στην ακτή</b>	34	57	67	40
	50	83	42	25
<b>Καλλιέργεια «μακριάς γραμμής» των <i>Gracillaria/Laminaria</i> (μακριά από την ακτή)</b>	11	14	538	409
	45	59	147	112
<b>Παλλιροϊκή επίπεδη καλλιέργεια των <i>Gracillaria/Ulva</i></b>	11	14	44	33
	23	30	28	21
<b>Επιπλέουσα καλλιέργεια του <i>Sargassum</i></b>	22	32	73	50
	45	66	37	25
<b>Πειραματική καλλιέργεια της <i>Laminaria</i> στη βόρεια θάλασσα με το σύστημα δακτυλίου(μακριά από την ακτή)</b>	-	20	-	2500€

\*τόνος ξηρής βιομάζας χωρίς την τέφρα/εκτάριο και έτος

\*\*τόνος ξηρής βιομάζας/εκτάριο και έτος

Μία ένδειξη του κόστους παραγωγής, συμπεριλαμβανομένου του κόστους κεφαλαίου και του λειτουργικού κόστους, λαμβάνοντας υπ' όψιν δημοσιευμένες μελέτες σχεδιασμού είναι η εξής: 50 € (κοντά στις ακτές / επιπλέουσες καλλιέργειες)

- 400 € (καλλιέργειες μακριά από την ακτή) ανά τόνο ξηρού βάρους. Το ετήσιο λειτουργικό κόστος και το κόστος συντήρησης αποτελείται από τη συντήρηση των γεωργικών εκμεταλλεύσεων (farm maintenance) και των καλλιεργειών των φυκών (Lenstra et al. 2011, Roesijadi et al. 2010).

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 8 το κόστος μειώνεται όταν η παραγωγικότητα ανά μονάδα επιφάνειας αυξάνεται. Αυτές οι τιμές είναι σε γενικές γραμμές προσέγγιση εκείνων που υπολογίσθηκαν από την εταιρεία Oilgae (2010), η οποία ανέφερε κόστη παραγωγής από 75 \$-150 \$ ανά ξηρό μετρικό τόνο, ως συνάρτηση του μεγέθους της παραγωγής (Oilgae, 2010). Ο Chynoweth (2002) επισήμανε ότι οι συγκρίσεις παραγωγικότητας δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για να δείχνουν ότι μια προσέγγιση είναι πιο αποδοτική οικονομικά από μία άλλη. Τα διαφορετικά θρεπτικά συστατικά, η κλίμακα, το γεωγραφικό κλίμα και η χώρα παραγωγής (πολλές Ασιατικές χώρες σε σχέση με αυτές στην Ευρώπη) είναι κάποιοι παράγοντες που σχετίζονται με τα διαφορετικά συστήματα παραγωγής φυκών. Έτσι, οι διαφορές είναι πολύ μεγάλες για να καταστεί δυνατή η σύγκριση σε μια συνηθισμένη κατάσταση (Lenstra et al. 2009, Roesijadi et al. 2010).

Ο πίνακας 9 απεικονίζει το κόστος παραγωγής των μακροφυκών συναρτήσει της χώρας ανάπτυξης τους και του γένους τους. Σε χώρες όπως η Ινδία, τα μακροφύκη καλλιεργούνται με κόστος περίπου 100 \$ ή λιγότερο ανά ξηρό τόνο, ενώ οι εκτιμήσεις της καλλιέργειας μακροφυκών στις δυτικές αναπτυσσόμενες χώρες κυμαίνονται μεταξύ 100 \$ - 300 \$ ανά ξηρό τόνο (Oilgae, 2010).

Πίνακας 9: Κόστος παραγωγής μακροφυκών σε ορισμένες χώρες ανά τον κόσμο (Oilgae, 2010).

Χώρα	Γένος	€/νωπό τόνο	€/ξηρό τόνο	Προέλευση	Συγκομιδή
Ιρλανδία	<i>Asco/Fucus</i>	50	333	Φυσικός Πληθυσμός	Χειρωνακτική
Γαλλία	<i>Laminaria</i>	40	267	Φυσικός Πληθυσμός	Μηχανική
Γαλλία	<i>Asco/Fucus</i>	30	200	Φυσικός Πληθυσμός	Χειρωνακτική
Φιλιππίνες	<i>Carrageen</i>		165	Καλλιεργημένα	Χειρωνακτική

Το ισχύον κόστος για την καλλιέργεια μακριά από την ακτή είναι πολύ υψηλό για την παραγωγή ενέργειας μόνο: ο συνδυασμός λοιπόν προϊόντων και καυσίμων μέσω του βιοδιωλιστηρίου μπορεί να είναι οικονομικά εφικτός (Reith et al., 2009).



## 6. ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα μακροφύκη συμμετέχουν στην εμπορική αγορά τόσο ως προϊόντα διατροφής αλλά και για τα βιοχημικά συστατικά τους. Τα προϊόντα διατροφής που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και συνδέονται κυρίως με την Ασιατική αγορά, αντιπροσωπεύουν το 83 έως 90% της συνολικής αξίας των μακροφυκών (Πίνακας 10). Τα φύκη χρησιμοποιούνται επίσης ως λιπάσματα, βελτιωτικά εδάφους και ως ζωοτροφές για τη γεωργία. Κατά τη διάρκεια του Α' Παγκοσμίου Πολέμου, το φύκος της Καλιφόρνια *M. pyrifera* συλλέχθηκε για την παραγωγή ποτάσας και ακετόνης για την κατασκευή της πυρίτιδας, μιας σημαντικής αλλά βραχύβιας βιομηχανίας (Neushul, 1989). Η συνολική χρηματική αξία των 6 δις \$ το 2003 (Πίνακας 10) είχε αυξηθεί σε πάνω από 7.1 δισεκατομμύρια \$ το 2006 (Πίνακας 6). Ωστόσο, η χρήση των μακροφυκών ως εμπορική πρώτη ύλη για την παραγωγή καυσίμων είναι σήμερα ανύπαρκτη. Έτσι, η παραγωγή μακροφυκών για τη μετατροπή σε καύσιμα θα αποτελέσει μια νέα περιοχή της αγοράς, ανεκμετάλλευτη μέχρι σήμερα σε όλο τον κόσμο (Roesijadi et al., 2010).

Πίνακας 10: Εκτιμώμενη συνολική αξία των προϊόντων φυκών ετησίως όπως αναφέρθηκε το 2003 (McHugh, 2003).

<b>Προϊόν</b>	<b>Αξία</b>
<b>Τρόφιμο</b> (Nori, aonori, kombu, wakame, κλπ.)	5 δις \$
<b>Υδροκολλοειδή</b>	
Άγαρ	132 εκατ. \$
Αλγινικό	213 εκατ. \$
Καρραγενάνη	240 εκατ. \$
<b>Άλλες χρήσεις</b>	
Λιπάσματα	5 εκατ. \$
Ζωοτροφή	5 εκατ. \$
Βιοκαύσιμα από μακροφύκη	---
<b>Σύνολο</b>	<b>5.5-6 δις. \$</b>

Επίσης κυανοβακτήρια έχουν χρησιμοποιηθεί για να αυξήσουν την απόδοση στην παραγωγή ρυζιού. Οι πολυσακχαρίτες των φυκών είναι το κύριο εμπορικό προϊόν αυτών. Ένα εύρος μοναδικών πολυσακχαριτών που προέρχονται από τα φύκη όπως το άγαρ, το αλγινικό οξύ, η καρραγενάνη, τα φουκοειδή και η πορφύρα χρησιμοποιούνται ως ιξοδωποιητές, γαλακτωματοποιητές και λιπαντικές ουσίες σε πολλές βιομηχανίες. Πιο συγκεκριμένα, στην Άπω Ανατολή τα φύκη ως πηγή τροφής και πολυσακχαριτών μαζί, αναπαριστούν μία πολλών εκατομμυρίων βιομηχανία στην οποία εργάζονται δεκάδες χιλιάδες ανθρώπων (Cannell 1993, Rojan et al. 2011).

Τα μακροφύκη είναι επίσης μία πηγή μερικών λιπαρών οξέων τα οποία δεν αποκτώνται ευρέως από άλλες πηγές. Αυτά περιλαμβάνουν συγκεκριμένα το γ-λινολενικό οξύ, το εικοσαπεντανοϊκό και το αραχιδινικό οξύ. Επίσης, παράγουν χρωστικές οι οποίες δεν αποκτώνται εύκολα από ψηλότερα φυτά ή από ζώα όπως το π-καροτένιο, η κανθαξανθίνη και η φυκοκιανίνη, οι οποίες χρησιμοποιούνται ως χρωστικές τροφίμων στα υγιεινά τρόφιμα και στις βιομηχανίες καλλυντικών. Μερικά

φύκη χρησιμοποιούνται στην παραγωγή της βιταμίνης C και E. Ωστόσο, εκτός από το α-καϊνικό οξύ και μερικές φυτοορμόνες, δεν υπάρχουν ακόμη παραδείγματα μεταβολιτών των φυκών οι οποίοι να χρησιμοποιούνται ως αγροχημικά ή φαρμακευτικά. Παρ' όλα αυτά, δεν μπορεί να ειπωθεί ότι τα φύκη δεν έχουν δυναμική σε αυτό τον τομέα, ή ότι δεν παράγουν βιολογικά ενεργές χημικές ενώσεις. (Cannell, 1993). Η Εικόνα 29 συνοψίζει τα βασικά προϊόντα των φυκών και ο Πίνακας 11 μερικές από τις κοινές χρήσεις των διαφόρων ειδών των μακροφυκών.



Εικόνα 29: Προϊόντα φυκών (Barbosa and Wijffels, 2009).

Πίνακας 11: Μερικές από τις κοινές χρήσεις των διαφόρων ειδών των μακροφυκών (Dhargalkar and Pereira, 2005).

A/A	Γένος	Τρόφιμο	Τροφή για ζώα	Βιομηχανικές Χρήσεις	Φάρμακο	Λίπασμα
1	<i>Ulva fasciata</i>	+	+	-	+	-
2	<i>Enteromorpha compressa</i>	+	+	-	+	-
3	<i>Monostroma oxyspermum</i>	+	+	-	-	-
4	<i>Cladophora fascicularis</i>	+	+	-	-	-
5	<i>Chaetomorpha media</i>	+	+	-	-	+
6	<i>Codium fragile</i>	+	+	-	+	-



7	<i>Caulerpa sertularioides</i>	+	+	-	-	-
8	<i>Dictyota dichotoma</i>	+	+	+	-	-
9	<i>Spatoglossum asperum</i>	-	-	+	-	+
10	<i>Hydroclathrus clathratus</i>	-	-	+	-	+
11	<i>Stoechospermum marginatum</i>	-	-	+	-	+
12	<i>Colpomenia sinuosa</i>	-	-	+	-	+
13	<i>Dictyopteris australis</i>	-	-	+	-	+
14	<i>Padina tetrastromatica</i>	-	-	+	-	+
15	<i>Sargassum cinereum</i>	-	-	+	+	+
16	<i>Sargassum ilicifolium</i>	-	+	+	+	+
17	<i>Laminaria digita</i>	-	-	+	+	
18	<i>Macrocystis pyrifera</i>	-	-	+	+	+
19	<i>Porphyra vietnamensis</i>	+	+	-	-	-
20	<i>Amphiroa fragilissima</i>	+	-	-	-	-
21	<i>Jania adhaerens</i>	-	-	-	+	-
22	<i>Gracillaria corticata</i>	+	+	+	-	-
23	<i>Hypnea musciformis</i>	+	+	+	-	-
24	<i>Centroceros clavulatum</i>	+	-	+	-	-
25	<i>Laurencia papillosa</i>	+	+	+	-	+
26	<i>Chondrus crispus</i>	+	-	+	-	-
27	<i>Eucheuma uncinatum</i>	+	+	+	-	-
28	<i>Gelidiella acerosa</i>	-	-	+	-	-

### 6.1 Τα φύκη ως συμπληρώματα διατροφής

Οι περισσότεροι άνθρωποι χρησιμοποιούν εν αγνοία τους προϊόντα φυκών καθημερινά με τη μορφή επεξεργασμένων ειδών διατροφής όπως κρέας και προϊόντα φρούτων, καθώς και με τη μορφή προϊόντων όπως η οδοντόκρεμα, στερεά αποσμητικά χώρου, καλλυντικά κλπ. Τα φύκη είναι εξαιρετική πηγή βιταμίνης Α, Β1, Β12, C, D και Ε, πηγή ριβοφλαβίνης, νιασίνης καθώς και μεταλλικών στοιχείων όπως το Ca, P, Na, K. Η περιεκτικότητά τους σε αμινοξέα είναι ισορροπημένη και περιέχει όλα ή τα περισσότερα από τα απαραίτητα αμινοξέα. Περιέχουν περισσότερα από 54 ιχνοστοιχεία τα οποία είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική λειτουργία του ανθρώπινου σώματος, σε ποσότητες που υπερβαίνουν σε μεγάλο βαθμό αυτές των λαχανικών και άλλων γήινων φυτών. Αυτά τα ουσιώδη ιχνοστοιχεία είναι σε χηλική, κολλοειδή, ιδανικά ισορροπημένη μορφή και ως εκ τούτου είναι βιο-διαθέσιμα (Dhargalkar and Pereira, 2005).

Η σημαντικότητα των φυκών στην ανθρώπινη διατροφή είναι γνωστή από το 300 π.Χ. στην Κίνα και την Ιαπωνία και γενικότερα στην Ασία, όπου από τότε άρχισαν να καταναλώνονται ως λαχανικά (Dhargalkar and Pereira, 2005). Κατά μέσο όρο, οι Ιάπωνες καταναλώνουν 1.4 kg φυκών ανά άτομο και ανά έτος. Αυτή η αρχαία παράδοση και η καθημερινή συνήθεια κατέστησε δυνατό ένα μεγάλο αριθμό επιδημιολογικών ερευνών που δείχνουν τα οφέλη για την υγεία που συνδέονται με την κατανάλωση φυκών (Teas 1981, Hiqashi et al. 1999, Funahashi et al. 1999). Η Γαλλία ήταν η πρώτη Ευρωπαϊκή χώρα που δημιούργησε μία ειδική ρύθμιση σχετικά με τη χρήση των φυκών για ανθρώπινη κατανάλωση ως μη παραδοσιακά τρόφιμα. Ειδικότερα, 12 μακροφύκη (6 καφέ μακροφύκη, 5 κόκκινα και 2 πράσινα) και 2 μικροφύκη επιτρεπόταν να χρησιμοποιούνται ως λαχανικά και καρυκεύματα. Αυτά παρουσιάζονται στον Πίνακα 12 (Burtin, 2003).

Πίνακας 12: Φύκη που επιτρέπεται στη Γαλλία να καταναλώνονται από τον άνθρωπο (Burtin, 2003).

<b>ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΦΥΚΟΥΣ</b>	<b>ΟΝΟΜΑ ΦΥΚΟΥΣ</b>
ΚΑΦΕ ΦΥΚΗ	<i>Ascophyllum nodosum</i>
	<i>Fucus vesiculosus</i>
	<i>Fucus serratus</i>
	<i>Himanthalia elongata</i>
	<i>Undaria pinnatifida</i>
ΚΟΚΚΙΝΑ ΦΥΚΗ	<i>Porphyra umbilicalis</i>
	<i>Palmaria palmata</i>
	<i>Cracilaria verrucosa</i>
	<i>Chondrus crispus</i>
ΠΡΑΣΙΝΑ ΦΥΚΗ	<i>Ulva sp.</i>
	<i>Enteromorpha spp.</i>
ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	<i>Spirulina sp.</i>
	<i>Odontella aurita</i>

Αυτά τα φύκη έπρεπε να τηρούν τους κανονισμούς ασφαλείας όσον αφορά στα τοξικολογικά και βακτηριολογικά κριτήρια (Πίνακας 13). Οι κανονισμοί αυτοί, εκτός

από τις πιθανές θρεπτικές ιδιότητες των φυκών, επέτρεπαν στη βιομηχανία τροφίμων να περιλαμβάνει τα φύκη ως πρώτη ύλη ή ημι-επεξεργασμένα υλικά στη διαμόρφωση των θαλασσιών προϊόντων. Τα έγγραφα αυτά ανέφεραν στοιχεία σχετικά με τις διατροφικές ιδιότητες των βρώσιμων φυκών (Burtin, 2003).

Πίνακας 13: Ποιοτικά κριτήρια που εφαρμόζονται για τα βρώσιμα φύκη που πωλούνται στη Γαλλία (Burtin, 2003).

ΚΡΙΤΗΡΙΑ	ΟΡΙΑ
Τοξικά μεταλλικά στοιχεία (mg/kg ξηρού υλικού)	Ανόργανο αρσενικό < 3.0 Μόλυβδος < 5.0 Κάδμιο < 0.5 Κασσίτερος < 5.0 Υδράργυρος < 0.1 Ιώδιο < 5.0
Βακτήρια (CFU/g)	Αερόβια < 100 Κολοβακτηριοειδή < 10 <i>Clostridium perfringens</i> < 1 Αναερόβια < 100

## 6.2 Υδροκολλοειδή

Τα τρία εμπορικά υδροκολλοειδή που παράγονται από τα φύκη είναι το άγαρ και η καρραγενάνη που προέρχονται από τα κόκκινα φύκη όπως η *Gracilaria*, η *Chondrus*, η *Hypnea* κλπ., και το αλγινικό νάτριο προερχόμενο από τα καφέ φύκη όπως η *Laminaria*, *Turbinaria*, *Sargassum* κλπ.. Η χημική σύνθεση των συγκεκριμένων προϊόντων είναι δύσκολη και κατά συνέπεια τα φύκη αποτελούν τις μόνες πηγές παραλαβής αυτών. Τα φυκοκολλοειδή χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές σε γαλακτοκομικά προϊόντα καθώς και σε φαρμακευτικές βιομηχανίες (Dhargalkar and Pereira, 2005).

### 6.2.1 Αλγινικό Νάτριο

Τα μακροφύκη αλέθονται και αναμιγνύονται με ένα θερμό διάλυμα αλκάλειας, συνήθως ανθρακικού νατρίου. Παραμένουν σε επαφή με το διάλυμα αλκάλειας για 2 περίπου ώρες. Κατά το χρονικό αυτό διάστημα το αλγινικό διαλυτοποιείται με τη μορφή αλγινικού νατρίου με αποτέλεσμα την αύξηση του ιξώδους του διαλύματος (πηκτός πολτός). Ακολουθεί απομάκρυνση των αδιάλυτων υπολειμμάτων του μακροφύκου. Λόγω όμως του υψηλού του ιξώδους το διάλυμα αραιώνεται με νερό προκειμένου να καταστεί δυνατή η διήθηση. Μετά την αραιώση, το διάλυμα ωθείται μέσω ενός υφασμάτινου φίλτρου σε ένα φίλτρο πίεσης. Παρ' όλα αυτά, τα κομμάτια του αδιάλυτου υπολείμματος είναι πολύ λεπτά και μπορούν γρήγορα να φράξουν το φίλτρο. Συνεπώς, πριν την έναρξη της διήθησης, χρησιμοποιείται ένα βοηθητικό φίλτρο, όπως γη διατομών, το οποίο συγκρατεί τα περισσότερα από τα λεπτά σωματίδια διευκολύνοντας έτσι το επόμενο στάδιο διήθησης. Παρ' όλα αυτά, το βοηθητικό φίλτρο είναι ακριβό και μπορεί να αυξήσει αρκετά το κόστος. Για να μειωθεί η ποσότητα της γης διατομών που πρέπει να χρησιμοποιηθεί, ορισμένες

βιομηχανίες διαβιβάζουν αέρα εντός του εκχυλίσματος καθώς αυτό αραιώνεται με νερό. Μικρές φυσαλίδες αέρα προσκολλώνται στα σωματίδια του υπολείμματος. Το αραιωμένο εκχύλισμα αφήνεται σε ηρεμία για αρκετές ώρες, ενώ ο αέρας ανεβαίνει προς την κορυφή λαμβάνοντας τα σωματίδια υπολείμματος με αυτό. Αυτό το αφρώδες μείγμα αέρα και υπολείμματος απομακρύνεται από την κορυφή και το διάλυμα απομακρύνεται από τον πυθμένα και οδηγείται προς το φίλτρο. Η βιομηχανική παραγωγή του αλγινικού απεικονίζεται στην Εικόνα 30.

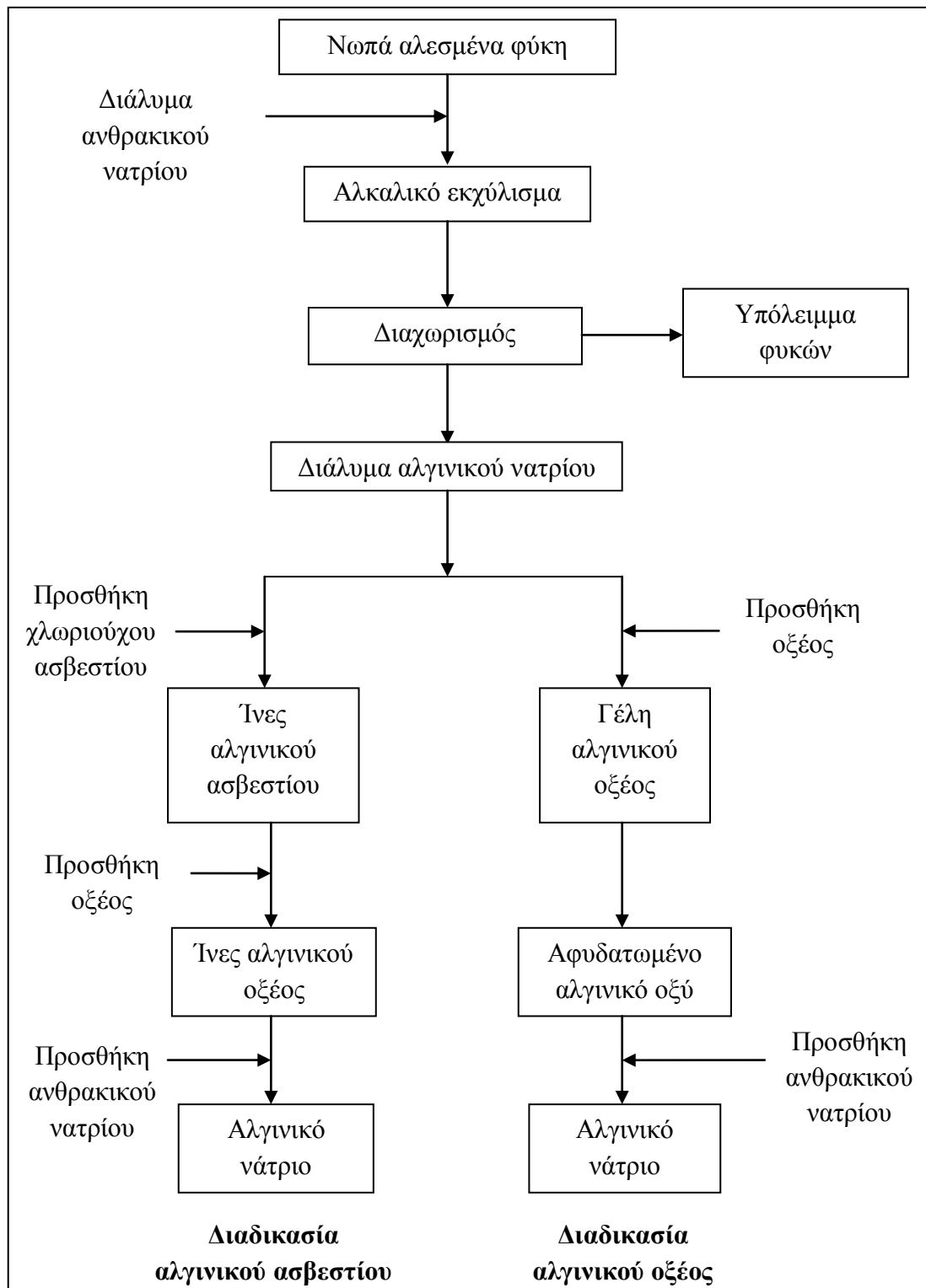
Το αλγινικό νάτριο πρέπει στη συνέχεια να ανακτηθεί από το υδατικό διάλυμα. Το διάλυμα είναι αρκετά αραιό και η εξάτμιση του νερού δεν είναι οικονομική, συνεπώς υπάρχουν δύο διαφορετικοί τρόποι για την ανάκτηση του αλγινικού νατρίου.

Ο **πρώτος** είναι η προσθήκη οξέος, το οποίο προκαλεί το σχηματισμό του αλγινικού οξέος. Αυτό δεν διαλύεται στο νερό και το υγρό αλγινικό οξύ διαχωρίζεται από το νερό με τη μορφή ενός μαλακού πήκτωματος και μία ποσότητα νερού πρέπει να αφαιρεθεί από αυτό. Έπειτα, στο αλγινικό οξύ προστίθεται αλκοόλη και στη συνέχεια ανθρακικό νάτριο με το οποίο μετατρέπει το αλγινικό οξύ σε αλγινικό νάτριο. Το αλγινικό νάτριο δεν διαλύεται στο μίγμα νερού/αλκοόλης κι έτσι μπορεί να διαχωριστεί από αυτό, να ξηρανθεί και να αλεσθεί σε μέγεθος το οποίο εξαρτάται από την εκάστοτε εφαρμογή του.

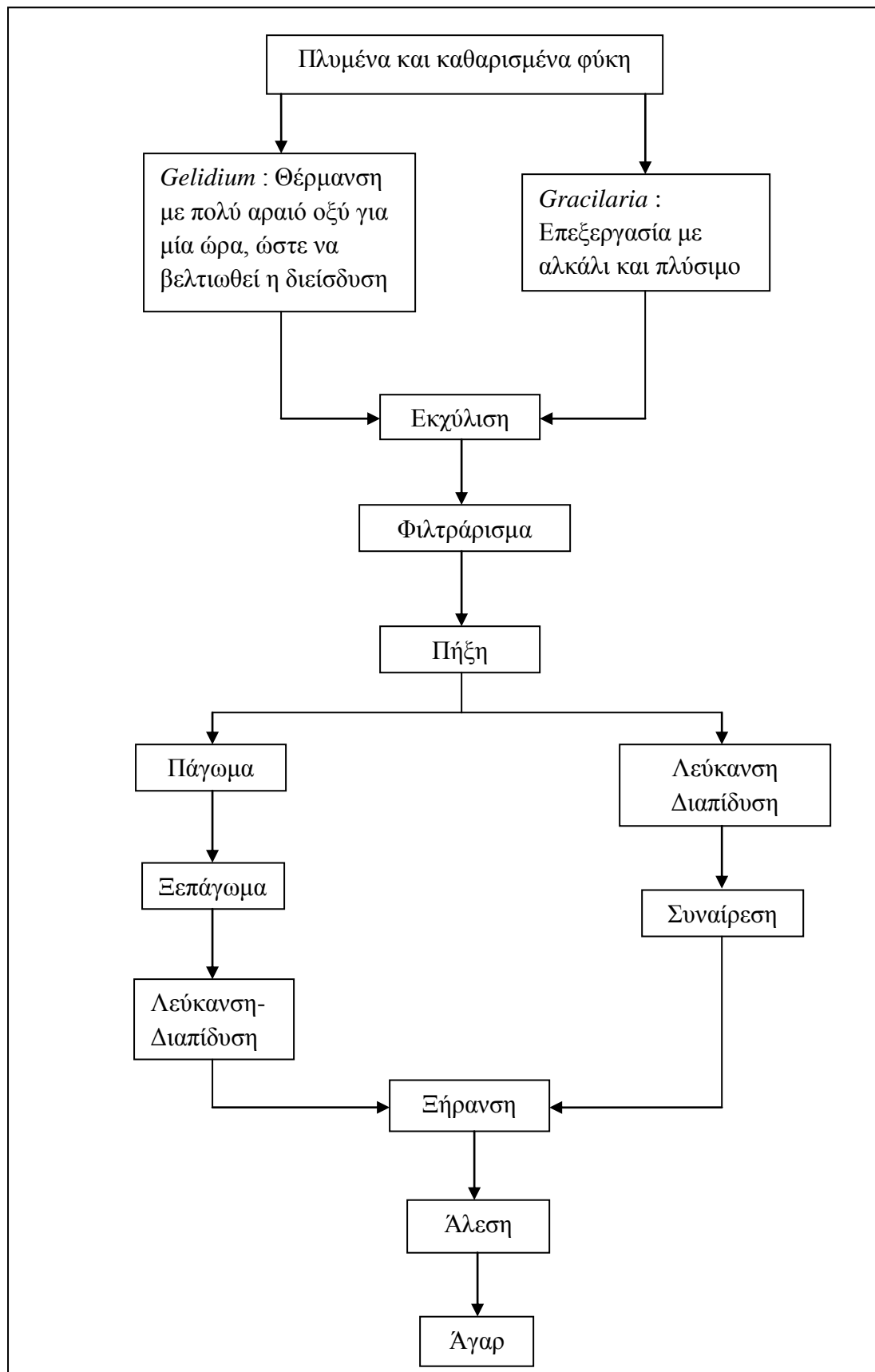
Ο **δεύτερος** τρόπος ανάκτησης του αλγινικού νατρίου από το διάλυμα είναι η προσθήκη ενός άλατος ασβεστίου. Αυτό προκαλεί το σχηματισμό του αλγινικού ασβεστίου το οποίο έχει ινώδη μορφή, είναι αδιάλυτο στο νερό και μπορεί να διαχωριστεί από αυτό. Μετά το διαχωρισμό επαναιωρείται σε νερό και προστίθεται οξύ για τη μετατροπή του σε αλγινικό οξύ. Το ινώδες αλγινικό οξύ διαχωρίζεται εύκολα, τοποθετούμενο σε ένα πλανητικού τύπου μίξερ με αλκοόλη, και ανθρακικό νάτριο προστίθεται βαθμιαία στην πάστα μέχρις ότου όλο το αλγινικό οξύ μετατραπεί σε αλγινικό νάτριο. Η πάστα του αλγινικού νατρίου συνήθως σχηματοποιείται σε σφαιρίδια, τα οποία στη συνέχεια ξηραίνονται και αλέθονται (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e08.htm>).

### 6.2.2 Άγαρ

Η εξαγωγή του άγαρ από τα μακροφύκη (Εικόνα 31) περιλαμβάνει τα εξής στάδια: τα μακροφύκη εκπλένονται προκειμένου να απομακρυνθούν τα ξένα σώματα και ύστερα θερμαίνονται με νερό για αρκετές ώρες. Το άγαρ διαλύεται στο νερό και το μείγμα διηθείται για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα των φυκών. Το θερμό διήθημα ψύχεται και σχηματίζει μία γέλη η οποία περιέχει περίπου 1% άγαρ. Το υπόλοιπο 99% είναι νερό το οποίο ίσως περιέχει άλατα, χρωστικές ουσίες και διαλυτούς υδατάνθρακες. Η γέλη κόβεται σε κομμάτια και μερικές φορές υπόκειται σε κατεργασία με λευκαντικό για τη μείωση κάθε χρώματος, πλένεται προς απομάκρυνση του λευκαντικού και αφήνεται να μουλιάσει στο νερό έτσι ώστε τα περισσότερα από τα άλατα να μπορέσουν να απομακρυνθούν με όσμωση. Το νερό απομακρύνεται από τη γέλη είτε με μια διαδικασία ψύξης-απόψυξης είτε με τη συμπίεση, ενώ το υπόλοιπο νερό απομακρύνεται με ξήρανση σε ένα φούρνο θερμού αέρα. Ακολουθεί άλεση του προϊόντος στο επιθυμητό μέγεθος σωματιδίων.



Εικόνα 30: Βιομηχανική παραγωγή αλγινικού νατρίου  
<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e08.htm>.



Εικόνα 31: Παραγωγή του άγαρ (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e06.htm>).

Υπάρχουν μερικές διαφορές στην προετοιμασία των μακροφυκών πριν την εκχύλιση, οι οποίες εξαρτώνται από το χρησιμοποιούμενο γένος. Το γένος *Gelidium* απλά πλένεται για την απομάκρυνση της άμμου, των αλάτων, των όστρακων και άλλων ξένων σωμάτων και στη συνέχεια τοποθετείται σε δεξαμενές για εκχύλιση με ζεστό νερό. Το γένος *Gracilaria* πλένεται επίσης αλλά πρέπει να υποστεί κατεργασία με άλκαλι πριν από την εκχύλιση. Αυτή η αλκαλική προκατεργασία προκαλεί μια χημική μεταβολή στο άγαρ, καταλήγοντας σε άγαρ με αυξημένη αντοχή. Χωρίς αυτή την αλκαλική προκατεργασία τα περισσότερα είδη *Gracilaria* αποδίδουν άγαρ με πολύ χαμηλή αντοχή για εμπορική χρήση. Για την αλκαλική κατεργασία, το μακροφύκος θερμαίνεται σε 2-5% υδροξειδίου του νατρίου στους 85-90 °C για 1 ώρα. Μετά την απομάκρυνση του αλκαλίου, το μακροφύκος πλένεται με νερό και μερικές φορές με πολύ ασθενές οξύ προς εξουδετέρωση τυχόν απομένοντος αλκάλειου.

Για την εκχύλιση με ζεστό νερό, το γένος *Gelidium* είναι πιο ανθεκτικό και η εκχύλιση υπό πίεση (105-110 °C για 2-4 ώρες) είναι γρηγορότερη και αποδοτικότερη. Το γένος *Gracilaria* εκχυλίζεται με νερό στους 95-100 °C για 2-4 ώρες.

Όσον αφορά στις μεθόδους απομάκρυνσης του νερού από τη γέλη, η πρότυπη μέθοδος απομάκρυνσής του είναι η διαδικασία ψύξης-απόψυξης. Η γέλη ψύχεται βραδέως έτσι ώστε σχηματίζονται μεγάλοι κρύσταλλοι πάγου. Η δομή της διασπάται κατά το πάγωμα έτσι ώστε όταν το υλικό τήκεται το μεγαλύτερο μέρος του ύδατος στραγγίζεται, αφήνοντας μία συμπυκνωμένη γέλη που περιέχει περίπου 10-12% άγαρ (αυτό σημαίνει ότι περίπου 90% του αρχικού περιεχόμενου νερού έχει αφαιρεθεί και μαζί με αυτό και ένα υψηλό ποσοστό των διαφόρων αλάτων, διαλυτών υδατανθράκων και πρωτεϊνών που μπορεί να ήταν παρόντα). Μερικές φορές αυτή η πηκτή τοποθετείται μεταξύ πορωδών υφασμάτων φίλτρων και συμπιέζεται με υδραυλική πρέσα για να απομακρυνθεί περισσότερο νερό. Ωστόσο, αυτή είναι μια αργή διαδικασία και συνήθως το τηγμένο υλικό απλά αποστραγγίζεται και τοποθετείται σε ένα ξηραντήρα θερμού αέρα. Λόγω του κόστους ψύξης, αυτή η διαδικασία παγώματος-ξεπαγώματος είναι σχετικά ακριβή, σε σύγκριση με την εναλλακτική λύση που περιγράφεται στη συνέχεια.

Η εναλλακτική μέθοδος βασίζεται στην συναίρεση. Αυτός είναι ο όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει το διαχωρισμό του υγρού από ένα πήκτωμα. Ένα κοινό παράδειγμα είναι ότι από ένα μερικώς χρησιμοποιημένο βάζο μαρμελάδας ή κονσέρβας, που αφήνεται σε ηρεμία για αρκετές ημέρες, «πισίνες» του υγρού μπορεί συχνά να εμφανιστούν στην επιφάνεια. Ωστόσο, για το άγαρ, εφαρμόζεται πίεση για την απομάκρυνση του υγρού.

Δύο μεταλλικές αυλακωμένες πλάκες καλύπτονται με πορώδες ύφασμα και η γέλη (1% άγαρ) τοποθετείται μεταξύ των υφασμάτων. Εφαρμόζεται πίεση στις μεταλλικές πλάκες η οποία αυξάνεται σταδιακά για διάστημα 24 ωρών, αναγκάζοντας το υγρό να απομακρυνθεί από τη γέλη. Ο συγκεκριμένος εξοπλισμός περιλαμβάνει περίπου πενήντα μονάδες συμπίεσης (όπως περιγράφονται παραπάνω) κατακόρυφα τοποθετημένες οι οποίες πιέζονται με τη βοήθεια ενός υδραυλικού εμβόλου. Μετά την πάροδο των 24 ωρών η πίεση απελευθερώνεται, οι μεταλλικές πλάκες



διαχωρίζονται και το υπόλοιπο πήκτωμα που τώρα περιέχει περίπου 20% άγαρ αποκολλάται από το πορώδες ύφασμα και τεμαχίζεται. Χωρίς να απαιτείται ψύξη η κατανάλωση ενέργειας είναι προφανώς πολύ χαμηλότερη από ότι για την μέθοδο ψύξης-απόψυξης και καθώς περισσότερο νερό έχει απομακρυνθεί λιγότερο διαλυτή ύλη παραμένει έτσι ώστε το άγαρ είναι πιο καθαρό. Λιγότερη ενέργεια απαιτείται επίσης στην διεργασία ξήρανσης εφόσον αφαιρείται λιγότερο νερό. Η διαδικασία που βασίζεται στη συναίρεση έχει υιοθετηθεί ευρέως από τους μεγάλους παραγωγούς άγαρ που μπορούν να αντέξουν οικονομικά τις υψηλότερες κεφαλαιουχικές δαπάνες για τον εξοπλισμό (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e06.htm>).

### 6.2.3 Καρραγενάνη

Υπάρχουν μερικά είδη καρραγενανών τα οποία διαφέρουν στη χημική τους δομή, στις χημικές ιδιότητες, καθώς και στις χρήσεις τους οι οποίες σχετίζονται με την ιδιότητά τους να σχηματίζουν πηκτό διάλυμα ή γέλη. Οι καρραγενάνες εμπορικού ενδιαφέροντος ονομάζονται γιώτα, κάπα και λάμδα.

Δύο διαφορετικές μέθοδοι διακρίνονται για την παραγωγή καρραγενάνης, οι οποίες βασίζονται σε διαφορετικές αρχές.

#### 6.2.3.1 Εξευγενισμένη/Φιλτραρισμένη καρραγενάνη

Η εξευγενισμένη/φιλτραρισμένη καρραγενάνη είναι η καρραγενάνη που μέχρι το τέλος του 1970 και τις αρχές του 1980 ονομαζόταν απλά καρραγενάνη.

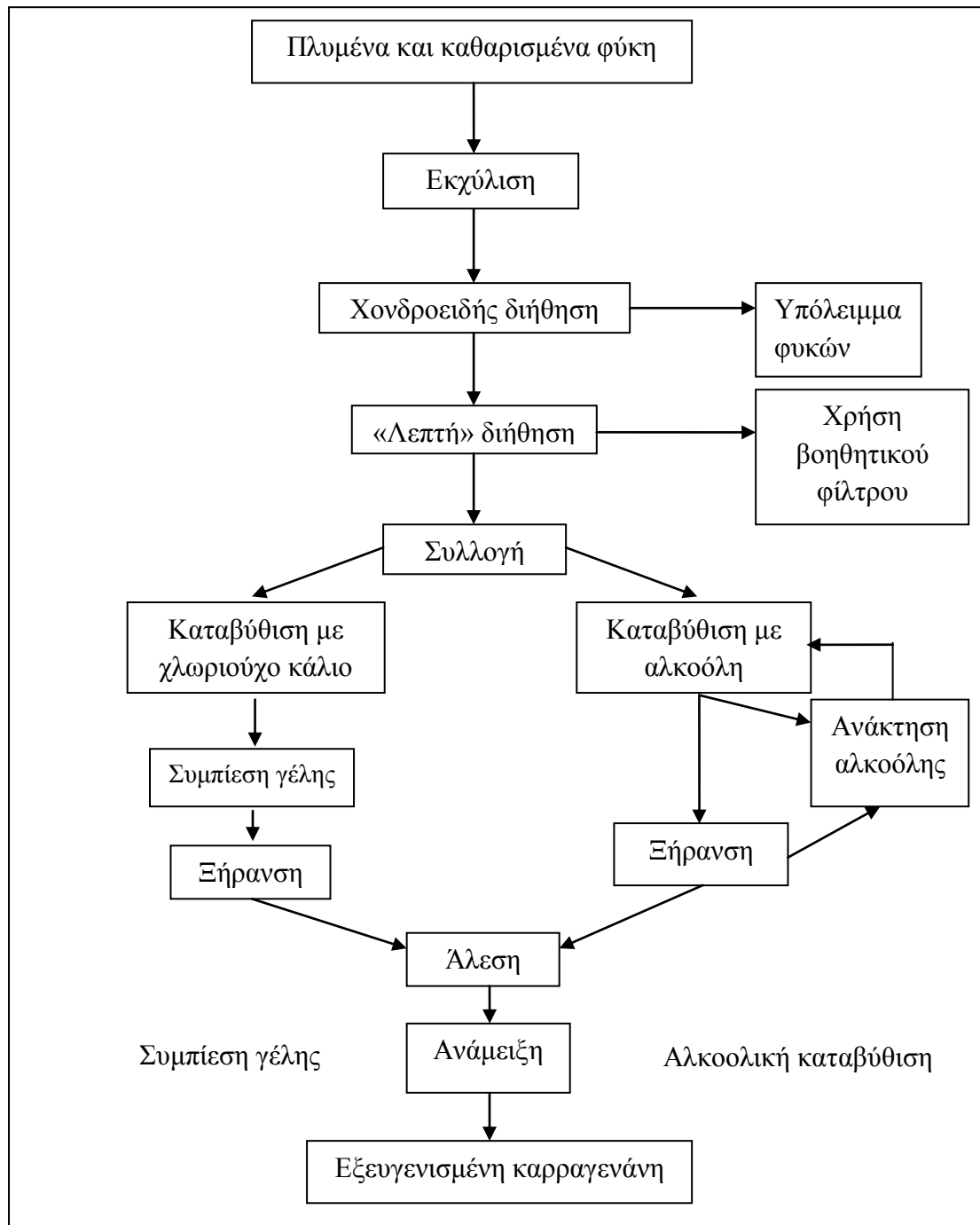
Στην πρότυπη αυτή μέθοδο παραγωγής καρραγενάνης (Εικόνα 32), το μακροφύκος πλένεται προς απομάκρυνση άμμου, αλάτων και άλλων ξένων υλών. Στην συνέχεια θερμαίνεται με νερό που περιέχει ένα αλκάλι, όπως υδροξείδιο του νατρίου, για μερικές ώρες. Ο χρόνος θέρμανσης εξαρτάται από το μακροφύκος που εκχυλίζεται και προσδιορίζεται από προηγούμενες μικρής κλίμακας δοκιμές ή εμπειρικά. Το αλκάλι χρησιμοποιείται επειδή προκαλεί μια χημική αλλαγή που οδηγεί σε αυξημένη αντοχή γέλης στο τελικό προϊόν. Το φύκος που δεν διαλύεται απομακρύνεται με φυγοκέντριση ή διήθηση, ή με ένα συνδυασμό αυτών.

Το διάλυμα στη συνέχεια διηθείται ξανά σε ένα φίλτρο πίεσης, χρησιμοποιώντας ένα ενισχυτικό φίλτρο το οποίο βοηθάει στην αποφυγή φραγής του υφασμάτινου φίλτρου από λεπτά, ζελατινώδη σωματίδια. Στο στάδιο αυτό, το διάλυμα περιέχει 1-2% καρραγενάνη και αυτό συνήθως συμπυκνώνεται σε 2-3% με απόσταξη υπό κενό και υπερδιήθηση.

Η ανάκτηση του τελικού προϊόντος από το διαυγές διάλυμα καρραγενάνης γίνεται:

α) με τη μέθοδο της καταβύθισης με αλκοόλη, η οποία μπορεί να εφαρμοστεί για κάθε τύπου καρραγενάνης. Προστίθεται ισοπροπανόλη μέχρις ότου όλη η καρραγενάνη καθιζάνει με τη μορφή ινώδους θρομβώματος το οποίο διαχωρίζεται με φυγοκέντριση ή διαβίβαση από κόσκινο (λεπτό κόσκινο). Το πήγμα πιέζεται ώστε να απομακρυνθεί ο διαλύτης και πλένεται με περισσότερη αλκοόλη για περαιτέρω αφυδάτωση. Στη συνέχεια ξηραίνεται και αλέθεται σε ένα κατάλληλο μέγεθος σωματιδίων, 80 mesh ή λεπτότερα. Η αλκοόλη πρέπει να ανακτάται τόσο από τα

υγρά όσο και από τον ξηραντήρα, και να ανακυκλώνεται ώστε η συνολική διαδικασία να είναι οικονομική.



Εικόνα 32: Διαδικασία παραγωγής εξευγενισμένης καρραγενάνης (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm>).

β) με τη μέθοδο γέλης, η οποία εφαρμόζεται μόνο για την κάπα-καρραγενάνη. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην ικανότητα της κάπα-καρραγενάνης να σχηματίζει μία γέλη με άλατα καλίου. Για την απομάκρυνση του νερού από τη γέλη πραγματοποιείται συμπύεση διάρκειας αρκετών ωρών. Ακολούθως, τα φύλλα της

γέλης τεμαχίζονται, ξηραίνονται σε ξηραντήρα θερμού αέρα και αλέθονται σε κατάλληλο μέγεθος σωματιδίων.

### 6.2.3.2 Ημι-εξευγενισμένη καρραγενάνη και άλευρο μακροφυκών

Ημι-εξευγενισμένη καρραγενάνη (SRC) ήταν το όνομα που δόθηκε στο προϊόν που παράγεται με τη μέθοδο που περιγράφεται παρακάτω, στην οποία η καρραγενάνη ποτέ δεν εξάγεται πραγματικά από τα μακροφύκη.

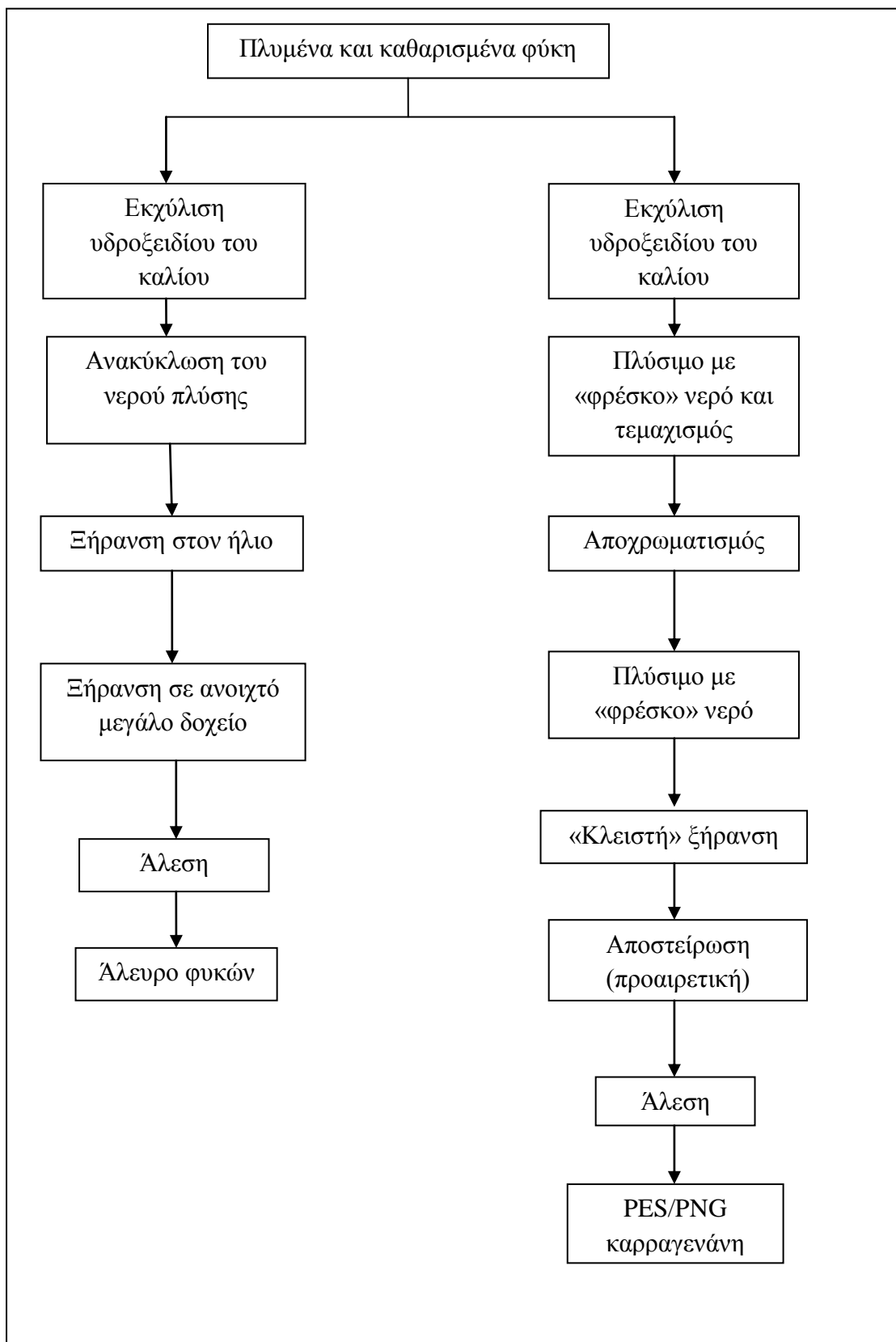
Η ημι-εξευγενισμένη καρραγενάνη (Εικόνα 33, διαδικασία παραγωγής αλεύρου φυκών), παράγεται κυρίως από το κόκκινο μακροφύκος *Karraphycus alvarezii*.

Το φύκος τοποθετείται σε ένα μεταλλικό καλάθι και θερμαίνεται παρουσία αλκαλικού διαλύματος υδροξειδίου του καλίου για περίπου δύο ώρες. Το υδροξύλιο του αντιδραστηρίου διεισδύει στο φύκος, μειώνει την ποσότητα του περιεχόμενου θεικού στην καρραγενάνη και αυξάνει την 3,6-άνυδρη γαλακτόζη (3,6-AG) έτσι ώστε η αντοχή της γέλης να είναι βελτιωμένη. Το κάλιο του αντιδραστηρίου αντιδρά με την καρραγενάνη παράγοντας μία γέλη που εμποδίζει τη διάλυση της καρραγενάνης στο θερμό διάλυμα. Οποιαδήποτε διαλυτή πρωτεΐνη, υδατάνθρακας ή άλας διαλύεται και απομακρύνεται όταν το διάλυμα αποστραγγίζεται από το φύκος. Το υπόλειμμα, πλένεται αρκετές φορές για την απομάκρυνση του αλκάλειου και οποιαδήποτε άλλης υδατοδιαλυτής ουσίας. Το επεξεργασθέν φύκος αφήνεται τώρα να ξηραθεί σε θερμά κλίματα, όπως στις Φιλιππίνες, συνήθως σε μια μεγάλη πλάκα σκυροδέματος (Εικόνα 34).

Μετά από περίπου δύο ημέρες τεμαχίζεται και τροφοδοτείται σε ένα μύλο άλεσης προς τη σκόνη που πωλείται ως SRC ή άλευρο φυκών.

Το άλευρο φυκών είναι έγχρωμο, συχνά περιέχει ένα υψηλό αριθμό βακτηρίων και δεν είναι κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση. Παρ' όλα αυτά, χρησιμοποιήθηκε άμεσα σε κονσερβοποιημένα τρόφιμα για κατοικίδια. Οι θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες κονσερβοποίησής του καταστρέφουν οποιαδήποτε βακτήρια κι έτσι η υψηλή περιεκτικότητα βακτηρίων στο SRC δεν αποτελεί πρόβλημα. Μερικές φορές το ξηρό προϊόν απλά κόβεται σε κομμάτια, δεν αλέθεται, και πωλείται ως πρώτη ύλη στους επεξεργαστές εξευγενισμένης καρραγενάνης.

Οι παραγωγοί στις Φιλιππίνες ανέπτυξαν ένα προϊόν καλύτερης ποιότητας, κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση, τροποποιώντας τη διαδικασία παραγωγής της ημι-εξευγενισμένης καρραγενάνης (Εικόνα 33, διαδικασία παραγωγής PES/PNG καρραγενάνης). Μετά την επεξεργασία με αλκάλι και την έκπλυση με νερό, το προϊόν τεμαχίζεται και κατεργάζεται με λευκαντικό για την απομάκρυνση του χρώματος. Μετά την έκπλυση για την απομάκρυνση τυχόν λευκαντικού, το προϊόν ξηραίνεται σε κλειστό ξηραντήρα. Αυτός ο τύπος ξηραντήρα συνήθως «κρατάει» το βακτηριακό φορτίο αρκετά χαμηλά ώστε το προϊόν να έχει ποιότητα ανθρώπινης τροφής. Αν απαιτείται μείωση των βακτηρίων το ξηρό υλικό μπορεί να αλεστεί, στη συνέχεια να εκπλυθεί με αλκοόλη (αιθανόλη) και τέλος να υποβληθεί σε εξάτμιση υπό κενό για την ανάκτηση της αλκοόλης. Μία απλούστερη μέθοδος είναι η επεξεργασία της αλεσμένης σκόνης με υπέρθερμο ατμό.



Εικόνα 33: Διαδικασία παραγωγής αλεύρου φυκών και PES/PNG καρραγενάνης (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm>).



Εικόνα 34: Πλάκα σκυροδέματος πάνω στην οποία ξηραίνεται το επεξεργασθέν φύκος (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm>).

Στη δεύτερη μέθοδο ανάκτησης καρραγενάνης, επειδή η καρραγενάνη δεν χρειάζεται να ανακτηθεί από το διάλυμα η διαδικασία είναι πολύ συντομότερη και φθηνότερη. Η απλότητα της διαδικασίας συνεπάγεται ότι το προϊόν είναι σημαντικά φθηνότερο από την εξευγενισμένη καρραγενάνη (<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm>).

### 6.3 Ζωοτροφή

Τα φύκη μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως συμπλήρωμα στο ημερήσιο σιτηρέσιο των βοοειδών, των πουλερικών και άλλων εκτρεφόμενων ζώων. Έχει αποδειχθεί ότι τα γεύματα φυκών αυξάνουν τη γονιμότητα και το ρυθμό γέννησης των ζώων και επίσης βελτιώνουν το χρώμα των κρόκων στα αυγά (Dhargalkar and Pereira, 2005).

### 6.4 Καλλυντικά

Η ομοιότητα μεταξύ των ιστών του ανθρώπινου δέρματος και της κυτταρικής δομής των φυκών βοήθησε στην επίλυση πολυάριθμων καλλυντικών και διαιτητικών προβλημάτων. Σήμερα, τα φύκη έχουν γίνει ένα βασικό συστατικό στα καλλυντικά προϊόντα όπως τα σαπούνια, οι πούδρες, οι κρέμες και τα σπρέι. Η Γαλλία και το Ηνωμένο Βασίλειο κάνουν εκτεταμένη χρήση των φυκών στα καλλυντικά προϊόντα. Ένας παραγωγός προϊόντων δέρματος έχει ανακαλύψει ότι τα φύκη είναι φυσικά αναζωογονητικά, ενυδατικά και περιλαμβάνουν αμινοξέα, μεταλλικά στοιχεία και βιταμίνες που τρέφουν το δέρμα. Εκχυλίσματα καφέ φυκών, όπως το *Fucus spp.*, χρησιμοποιούνται στη θαλασσοθεραπεία, μία θεραπεία με μασάζ, η οποία εξαλείφει ακαθαρσίες από το σώμα και ταυτόχρονα εξισορροπεί το pH του δέρματος. Μερικά φύκη περιέχουν μόρια όμοια με αυτά του κολλαγόνου, μία ουσία η οποία δίνει στο δέρμα ελαστικότητα και σταθερότητα. Τα φύκη είναι μία εναλλακτική λύση στα

χημικά καλλυντικά, εξαιτίας των θεραπευτικών τους ιδιοτήτων (Dhargalkar and Pereira, 2005).

### 6.5 Βιολογικά δραστικά συστατικά των φυκών

Λαμβάνοντας υπόψη τη μεγάλη ποικιλία που υπάρχει στην ταξινόμηση των μακροφυκών, οι έρευνες που σχετίζονται με την αναζήτηση νέων βιολογικά δραστικών ενώσεων από τα φύκη μπορούν να θεωρηθούν ως ένα σχεδόν απεριόριστο πεδίο. Υπάρχουν πολλές αναφορές για ενώσεις που προέρχονται από τα μακροφύκη με ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων, όπως αντιβακτηριδιακές, αντιυικές, αντιπηκτικές, αντιρρυπαντικές και τέλος δραστηριότητες ενάντια στους όγκους. Πιο συγκεκριμένα, ενώσεις με κυτταροστατικές, αντιυικές, αντιμυκητιακές και αντιβακτηριδιακές δραστηριότητες έχουν ανιχνευθεί σε πράσινα, καφέ και κόκκινα φύκη (Chanda et al., 2010).

#### 6.5.1 Πολυσακχαρίτες

Αρκετοί πολυσακχαρίτες και ολιγοσακχαρίτες που προέρχονται από τα μακροφύκη χρησιμοποιούνται για θεραπευτικές εφαρμογές λόγω της βιοδραστικότητάς τους. Θεικοί πολυσακχαρίτες αναστέλλουν την δραστηριότητα πολλών βακτηριακών ειδών, καθώς και πολλών ιών. Για παράδειγμα, τα φουκοειδή και η φουκάνη από τα καφέ φύκη, θεικοί πολυσακχαρίτες όπως η ulvan από τα πράσινα φύκη και τέλος θεικοί πολυσακχαρίτες όπως η καρραγενάνη και η γαλακτάνη από τα κόκκινα φύκη έχει αναγνωριστεί ότι έχουν αντιική δραστηριότητα (Smit 2004, Chojnacka et al. 2012, Hennequant et al. 2004).

Οι θεικοί πολυσακχαρίτες των κόκκινων φυκών παρουσιάζουν αντιική δράση έναντι εξαιρετικά μολυσματικών ιών. Οι Witvrouw et al. (1994) εξέτασαν μια θεική γαλακτάνη από το φύκος *A. tenera*, και οι Damonte et al. (1994) και Kolender et al. (1995) μία θεική ξυλομαννάνη από το φύκος *N. fastigiata* κατά του ιού ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), του ιού έρπητα (HSV) τύπου 1 και 2 και κατά του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού (RSV). Αυτοί οι πολυσακχαρίτες είναι ενεργοί κατά τη διάρκεια του πρώτου σταδίου της RNA αντιγραφής του ιού όταν ο ιός απορροφάται στην επιφάνεια του κυττάρου. Μία σημαντική απαίτηση ενός πολυσακχαρίτη με αντιική δράση, είναι ότι πρέπει να έχει πολύ χαμηλή κυτταροτοξική δράση έναντι των κυττάρων των θηλαστικών και οι περισσότερα από τους πολυσακχαρίτες των φυκών, ιδιαίτερα εκείνοι των *A. tenera* και *N. fastigiata*, έχουν αυτό το χαρακτηριστικό (Smit, 2004).

Οι καρραγενάνες παρουσιάζουν δυναμική σε *in vitro* αντιική δραστηριότητα. Οι Zeitlin et al. (1997) εξέτασαν μια σειρά αντιικών ουσιών για την πιθανή τους αποτελεσματικότητα ως κολπικό μικροβιοκτόνο κατά του έρπητα των γεννητικών οργάνων σε ποντικούς. Βρέθηκε ότι η καρραγενάνη και τα φουκοειδή ή η φουκοϊδίνη, είναι καλοί υποψήφιοι για περαιτέρω μελέτη. Καμία από αυτές τις μελέτες δεν έχει δείξει ότι οι καρραγενάνες εμφανίζουν σημαντικά επίπεδα κυτταροτοξικής ή αντιπηκτικής δραστηριότητας (Smit, 2004). Όσον αφορά στα φουκοειδή, έχουν ισχυρές αντιυικές ιδιότητες προς ιούς όπως RSV, HIV, HSV τύπων

1 και 2 καθώς και κατά των ανθρώπινων κυτταρομεγαλοϊών (Hennequant et al. 2004, Smit 2004). Οι αντιακές ιδιότητες των φουκοειδών φαίνεται να προέρχονται από την αναστολή της σύνδεσης του ιικού σωματιδίου στο κύτταρο ξενιστή. Έχουν επίσης, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αντιοξειδωτική δραστηριότητα (Smit, 2004).

Οι θειικοί πολυσακχαρίτες μπορούν να λειτουργήσουν ως προβιοτικά (ουσίες που διεγείρουν την ανάπτυξη των ωφέλιμων βακτηρίων στο πεπτικό σύστημα) καθώς και να προάγουν την ανάπτυξη και τη βελτίωση της υγείας. Πολλοί από αυτούς είναι διαλυτές φυτικές ίνες, οι οποίες έχουν θετική επίδραση στην πεπτικό σύστημα των ζώων (π.χ. το αλγινικό οξύ). Επίσης, οι πολυσακχαρίτες που προέρχονται από τα φύκη είναι αποτελεσματικά και μη τοξικά αντιοξειδωτικά. Η λαμιναρίνη είναι μια διαιτητική ίνα και μπορεί να λειτουργήσει ως προβιοτικό. Επίσης έχει αντιακές και αντιβακτηριακές ιδιότητες ενώ η αντιοξειδωτική δραστηριότητά της εξαρτάται από το μοριακό βάρος της και τη χημική δομή της. Τέλος, το αλγινικό οξύ έχει αντιβακτηριακή και αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα (Chojnacka et al., 2012).

Όσον αφορά στις δραστηριότητες που σχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη, τα φουκοειδή παρουσιάζουν μιτογονική δράση, αφού ενισχύουν το σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων διαμορφώνοντας την έκφραση των πρωτεϊνών επιφάνειας. Η λιπογονική δράση έχει αποδειχθεί σε απομονωμένα λιποκύτταρα αρουραίων και χάμστερ με λεκτίνες από το φύκος *Codium fragile*. Τα φουκοειδή θεωρούνται εξαιρετικοί υποψήφιοι για την ανάπτυξη κοιλιακού μικροβιοκτόνου με αντισυλληπτικές ιδιότητες. Είναι γνωστό ότι έχουν αντικαρκινικές, αντιμεταστατικές, ινωδολυτικές ιδιότητες σε ποντικούς, και επίσης έχουν την ικανότητα να μειώνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τέλος, τα φουκοειδή έχουν *in vivo* και *in vitro* αντιθρομβωτικές και αντιπηκτικές δραστηριότητες οι οποίες υποβοηθούνται από αναστολείς πήξης αίματος όπως η αντιθρομβίνη III. Η αντιπηκτική δραστηριότητα είναι το αποτέλεσμα της άμεσης αλληλεπίδρασης φουκάνης-θρομβίνης (Graufel et al., 1989), και συνήθως αυξάνεται με βαθμό θείωσης (Smit, 2004).

Μερικοί πολυσακχαρίτες μακροφυκών όπως το αλγινικό, η καρραγενάνη, η φουνοράνη, τα φουκοειδή, η λαμιναρίνη, η porphyran και η ulvan έχουν σημειωθεί για την παραγωγή υποχοληστερολαιμικών και υπολιπιδαιμικών αποκρίσεων που οφείλεται στη μειωμένη απορρόφηση της χοληστερόλης στο έντερο (Smit, 2004).

### 6.5.2 Πρωτεΐνες

Πολύ σημαντικές βιοενεργές πρωτεΐνες που μπορούν να εξαχθούν από τα μακροφύκη είναι οι λεκτίνες, οι οποίες συνδέονται με τους υδατάνθρακες και συμμετέχουν σε πολλές βιολογικές διαδικασίες όπως η μεσοκυττάρια επικοινωνία. Έχουν επίσης αντιβακτηριακή, αντιακές ή αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα (Chojnacka et al., 2012).

Η μιτογονική δραστηριότητα, η διέγερση δηλαδή της μίτωσης σε προηγουμένως μη διαιρούμενα κύτταρα, έχει αποδειχθεί σε λεμφοκύτταρα ποντικού χρησιμοποιώντας λεκτίνες από το μακροφύκος *Eucheuma serra* (Smit, 2004).



### 6.5.3 Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs)

Τα φωσφολιπίδια και τα γλυκολιπίδια είναι οι κύριες κατηγορίες των λιπιδίων που συναντώνται στα φύκη. Όταν παρατηρείται μείωση της περιβαλλοντικής θερμοκρασίας, τα φύκη μπορούν να συσσωρεύσουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs). Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα μακρίας αλυσίδας (LC-PUFA), τα οποία αποτελούνται από τουλάχιστον 20 άτομα άνθρακα με τουλάχιστον δύο διπλούς δεσμούς, παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον επειδή είναι πολύ σημαντικά για τη διατήρηση της ανθρώπινης υγείας και συντίθενται μόνο από τα φυτά (Chojnacka et al., 2012)

### 6.5.4 Χρωστικές

Οι χρωστικές που συναντώνται στα μακροφύκη, πιο συγκεκριμένα τα καροτενοειδή, είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά. Επίσης, οι φυκοβιλιπρωτεΐνες (phycobiliproteins), υδατοδιαλυτές χρωστικές που παράγονται κυρίως από τα κόκκινα φύκη, έχουν όχι μόνο αντιοξειδωτικές, αλλά επίσης και αντιφλεγμονώδεις, αντιικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες (Chojnacka et al., 2012).

### 6.5.5 Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες, όπως το βενζοϊκό οξύ, τα φαινολικά οξέα, οι ισοφλαβόνες κλπ., που παράγονται από τα μακροφύκη είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά. Τα φύκη παράγουν αυτές τις ενώσεις για την προστασία τους από τους εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Οι φλοροτανίνες (phlorotannins) είναι η ομάδα των τανινών, που ανήκουν στις πολυφαινολικές ουσίες. Αν και τανίνες είναι διαδεδομένες μεταξύ χερσαίων και θαλάσσιων φυτών, οι φλοροτανίνες, π.χ. η eckol ή dieckol, έχουν βρεθεί μόνο σε καφέ φύκη. Οι φλοροτανίνες είναι πολυφαινόλες που σχηματίζονται με πολυμερισμό μέσω του μεταβολικού μονοπατιού οξικού-μηλονικού. Αυτά τα πολυμερή έχουν πολλές βιολογικές δράσεις στους οργανισμούς, π.χ. εμπλέκονται στους μηχανισμούς άμυνας και εξαιτίας της μοναδικής τους δομής έχουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Έχουν επίσης ισχυρή αντι-μικροβιακή δράση. Μπορούν να επιτεθούν σε μικροβιολογικές πρωτεΐνες, κάτι το οποίο μπορεί να οδηγήσει στην αναστολή των βακτηρίων (Chojnacka et al., 2012)

### 6.5.6 Ορμόνες φυτών

Ορμόνες που αναπτύσσονται στα φυτά και βρέθηκαν σε εκχυλίσματα φυκών είναι κυρίως υπεύθυνες για τη διέγερση της ανάπτυξης των φυτών και την αύξηση της έντασης της φωτοσύνθεσης. Οι κυτοκινίνες (ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών) προστατεύουν τα φυτά από τις συνέπειες των αλλαγών της θερμοκρασίας και είναι υπεύθυνες για τον έλεγχο των καλύκων και της διαίρεσης των κυττάρων (Chojnacka et al., 2012).

Άλλες ορμόνες των φυτών που υπάρχουν στα εκχυλίσματα φυκών είναι οι αυξητικές ορμόνες, οι οποίες ξεκινούν το σχηματισμό των ριζών και αναστέλλουν την επιμήκυσή τους. Οι συγκεντρώσεις των αυξητικών ορμονών στα εκχυλίσματα φυκών είναι διαφορετικές και εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το είδος του φύκου.

Επίσης οι γιββερελλίνες έχουν ως βασικό ρόλο την έναρξη της βλάστησης των σπόρων (Chojnacka et al.,2012).

Το αμισικό οξύ (ABA) είναι ένας άλλος ρυθμιστής ανάπτυξης των φυτών. Το ABA είναι κυρίως υπεύθυνο για τη σύνθεση των πρωτεϊνών που απαιτούνται για την αντοχή στην ξηρασία. Αν και αυτό το οξύ υπάρχει σε πολλές ομάδες φυκών, σε ορισμένα εκχυλίσματα το λουνουλαρικό οξύ βρέθηκε ως μια ένωση που παίζει τον ίδιο ρόλο με το ABA στα ανώτερα φυτά (Chojnacka et al.,2012).

Τέλος οι βεταΐνες, οι οποίες δεν είναι συμβατικές φυτικές ορμόνες, βρέθηκαν επίσης σε εκχυλίσματα φυκών. Η λειτουργία τους είναι να προστατεύουν τα φυτά από την ξηρασία και τον παγετό. Εκτός αυτού, μπορούν να δράσουν ως πηγή αζώτου για τα φυτά. Ένας άλλος ρόλος της εν λόγω ουσίας είναι η ενίσχυση της περιεκτικότητας των φύλλων σε χλωροφύλλη μειώνοντας την αποδόμησή της (Chojnacka et al.,2012).

### 6.5.7 Άλλα βιολογικά δραστικά συστατικά

Το χονδριαμίδιο A (Chondriamide A) από το *Chondria Atropurpurea* δείχνει αντική δράση κατά του HSV τύπου II. Το δεσπιπεπτιδίο Kahalalide F που παράγεται από ένα είδος του *Bryopsis* έχει επίσης σημειωθεί ως προς την αποτελεσματικότητά του σε κάποιες μελέτες για το AIDS και οι ιδιότητές του κατά του ιού HIV μελετώνται περαιτέρω σε κλινικές δοκιμές. Επιπρόσθετα έχει αντινεοπλασματικές ιδιότητες και περιλαμβάνει ιχθυοτοξικές ενώσεις (Smit, 2004).

Οι αλογονωμένες ενώσεις όπως τα αλογονωμένα αλκάνια και αλκένια, οι αλκοόλες, οι αλδεΐδες, οι κετόνες και τέλος οι υδροκινόνες που συναντώνται στα φύκη παρουσιάζουν αντιβιοτική δράση. Ο κατάλογος των τερπενοειδών με αντιβιοτικές ιδιότητες είναι ιδιαίτερα μεγάλος και πολλά από αυτά είναι επίσης αλογονωμένα. Είναι επίσης γνωστά για τις επιπτώσεις τους στην γονιμοποίηση και την επακόλουθη ανάπτυξη των εμβρύων. Επίσης ετεροκυκλικές, φαινολικές ενώσεις και στερόλες μερικές φορές έχουν αντιβιοτικές ιδιότητες. Πολλές από αυτές θα μπορούσαν να αναπτυχθούν σε αντισηπτικά και καθαρά μέσα αλλά η αντιβιοτική τους δράση *in vivo* συχνά επιτυγχάνεται μόνο σε τοξικές συγκεντρώσεις (Smit, 2004). Ένας πολλά υποσχόμενος αντιβακτηριακός παράγοντας είναι η αλογονωμένη φουρανόνη (fimbrilide), που ανήκει σε μια κατηγορία λακτονών από το φύκος *Delisea pulchra*. Έχει εξεταστεί για την αποτελεσματικότητά της ως δραστικό συστατικό σε βακτηριακούς αντιρρυπαντικούς παράγοντες (Kjelleberg and Steinberg, 2001) και ως μία πιθανή θεραπεία για τη χρόνια λοίμωξη από *Pseudomonas aeruginosa*. Η λοίμωξη αυτή χαρακτηρίζεται από την παραγωγή βλενώδους αλγινικού και το σχηματισμό ενός «βιοφίλμ» στους πνεύμονες των πασχόντων από κυστική ίνωση (Høiby, 2002). Η αναστολή του βακτηριακού αποικισμού επιτυγχάνεται με την ανασταλτική επίδραση της φουρανόνης στο μηχανισμό αίσθησης των κυττάρων, λειτουργώντας ως ενδοκυττάριος σηματοδοτικός ανταγωνιστής (Rasmussen et al., 2000). Το αποτέλεσμα είναι μια διαταραχή της ενδο- και δια- επικοινωνιακής σχέσης μεταξύ των κυττάρων διαφορετικών ειδών (Rasmussen et al., 2000) και έχει παρατηρηθεί σε ένα ευρύ φάσμα Gram-αρνητικών βακτηρίων. Επιπτώσεις της αναστολής παρατηρούνται στην εξάπλωση του βακτηρίου

*Serratia liquefaciens* (Rasmussen et al., 2000) καθώς και στη βιοφωτεινότητα και την τοξικότητα σε μερικά είδη παθογόνων *Vibrio* (γένος Gram-αρνητικών βακτηρίων) (Manefield et al. 2000, Kjelleberg & Steinberg 2001).

## **7.ΤΑ ΦΥΚΗ ΩΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΗΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΩΝ**

### **7.1 Γενικά**

Η αναπόφευκτη εξάντληση των αποθεμάτων ορυκτών καυσίμων, η ανησυχία για ενεργειακή ασφάλεια και η ανάγκη αντίδρασης στην κλιματική αλλαγή έχουν οδηγήσει σε αυξανόμενο ενδιαφέρον για εναλλακτικές πηγές ενέργειας, όπως τα βιοκαύσιμα (Demirbas, 2009).

Τα φύκη μπορούν να προσφέρουν μια υψηλής απόδοσης πηγή βιοκαυσίμων χωρίς να τίθενται σε κίνδυνο οι παροχές τροφίμων στους ανθρώπους, τα τροπικά δάση ή η καλλιεργήσιμη γη αφού έχουν τη δυνατότητα να παράγουν υδατάνθρακες, λιπίδια και πρωτεΐνες κατά τη διάρκεια μιας σύντομης χρονικής περιόδου, τα οποία μπορούν στη συνέχεια να υποβληθούν σε επεξεργασία για την παραγωγή των βιοκαυσίμων (Πίνακας 14) (Rojan et al., 2011).

Ωστόσο, μερικά συστατικά τους είναι μοναδικά και η περιεκτικότητά τους διαφέρει μεταξύ των μεγάλων ταξινομικών ομάδων των μακροφυκών (π.χ. καφέ, πράσινα και κόκκινα φύκη). Αυτό δημιουργεί την ανάγκη για αξιολόγηση των επιπτώσεων που προκύπτουν από την επιλογή των ειδών των φυκών καθώς και των συναφών τεχνολογιών μετατροπής. Τα πράσινα φύκη περιέχουν υδατάνθρακες χαρακτηριστικούς των ανώτερων φυτών, ωστόσο έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη. Τα καφέ και κόκκινα φύκη περιέχουν μοναδικούς υδατάνθρακες αποκλείοντας την άμεση εφαρμογή τεχνολογιών που έχουν αναπτυχθεί για τη μετατροπή των βιοχημικών πρώτων υλών στα ανώτερα φυτά. Γενικότερα, τα μακροφύκη έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε κυτταρίνη και μέχρι πρόσφατα (Martone et al., 2009) πιστευόταν ότι δεν περιέχουν λιγνίνη. Ενώσεις όπως το αλγινικό, η καρραγενάνη και το άγαρ έχουν εμπορική αξία και αντιπροσωπεύουν πιθανά παραπροϊόντα στις υπάρχουσες αγορές. Αυτές οι ενώσεις είναι μοναδικές στα μακροφύκη και ορισμένες όπως τα αλγινικά, που συναντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα καφέ φύκη, θεωρούνται ανθεκτικές σε ζύμωση αφού η οξειδοαναγωγική ισορροπία ευνοεί τον σχηματισμό πυροσταφυλικού ως τελικό προϊόν (Forro, 1987). Οι πολυσακχαρίτες και τα αλκοολοσάκχαρα στα καφέ φύκη, π.χ. η λαμιναρίνη και η μαννιτόλη, αποτελούν πιθανές πρώτες ύλες για τη μετατροπή σε υγρά καύσιμα. Τα λιπίδια σε μια ποικιλία μακροφυκών είναι τυπικά λιγότερα από το 5% του συνολικού ξηρού βάρους (McDermid et al., 2003), περιεκτικότητα πολύ χαμηλή για τη μετατροπή σε βιοντίζελ, αν και συγκεντρώσεις που πλησιάζουν το 20% αναφέρονται σε μερικά είδη (Chu et al. 2003, McDermid et al. 2003). Λόγω των χαμηλών περιεκτικότητων των λιπιδίων, η παραγωγή βιοκαυσίμων από μακροφύκη αναμένεται να εξαρτηθεί από την μετατροπή των υδατανθράκων των πρώτων υλών αντί από την εξόρυξη των πλούσιων ενεργειακά ελαίων που μπορούν να υποβληθούν σε επεξεργασία για την παραγωγή βιοντίζελ ή υδρογονανθράκων.

Πίνακας 14: Υδατάνθρακες στα μακροφύκη, μικροφύκη και λιγνινοκυτταρινούχα βιομάζα (Jung et al., 2012).

Μακροφύκη <sup>a</sup>			Μικροφύκη <sup>b</sup>	Λιγνινο/ρινούχος Βιομάζα
Πράσινα	Κόκκινα	Καφέ		
<i>Πολυσακχαρίτες</i>			Άμυλο	Κυτταρίνη
Μαννάνη	Καρραγενάνη	Λαμιναρίνη	Ολικοί υδατάνθρακες	Ημικυτταρίνη
Ulan	Άγαρ	Μαννιτόλη	Αραβινόζη	Λιγνίνη
Άμυλο	Κυτταρίνη	Αλγινικό	Φουκόζη	
Κυτταρίνη	Λιγνίνη	Φουκοειδή	Γαλακτόζη	
		Κυτταρίνη	Γλυκόζη	
<i>Μονοσακχαρίτες</i>			Μαννόζη	
Γλυκόζη	Γλυκόζη	Γλυκόζη	Ραμνόζη	
Μαννόζη	Γαλακτόζη	Γαλακτόζη	Ριβόζη	
Ραμνόζη	Αγαρόζη	Φουκόζη	Ξυλόζη	
Ξυλόζη		Ξυλόζη		
Ουρονικό οξύ		Ουρονικό οξύ		
Γλουκουρονικό οξύ		Μαννουρονικό οξύ		
		Γουλουρονικό οξύ		
		Γλουκουρονικό οξύ		

<sup>a</sup> Από Jang et al. (2012), Roesijadi et al. (2010), Turvey and Christison (1967), Wegeberg and Felby (2010)

<sup>b</sup> Από Brown (1991)

Η σύνθεση των μακροφυκών συγκριτικά με αυτή της χερσαίας βιομάζας, συμπεριλαμβανομένων των ροκανιδιών, του γρασιδιού και του στελέχους καλαμποκιού, παρουσιάζονται στον Πίνακα 15 (Roesijadi et al., 2010).

Πίνακας 15: Σύσταση μακροφυικών και επιλεγμένων λιγνινοκυτταρινούχων πρώτων υλών (Roesijadi et al., 2010).

Σύσταση (%, β/β)	Macrocystis (Καφέ φύκος) <sup>1</sup>	Laminaria (καφέ φύκος) <sup>2</sup>	Gracilaria (κόκκινο φύκος) <sup>3</sup>	Ulva <sup>4,a</sup> (πράσινο φύκος)	Υβρίδιο λεύκας <sup>5</sup>	Γρασίδι <sup>5</sup>	Corn stover <sup>5</sup>
Υγρασία	88.2	88			6.9	13.3	6.1
Ολικά στερεά	11.8	12			93.1	86.7	93.9
Ανάλυση (% β/β, ξηρή βάση)							
Τέφρα	41.1	26	37.7 ± 3.6	30.2	2.7	2.7	5.1
Πτητικά στερεά	58.9	74	62.3 ± 3.6	69.8	84.8	82.9	80.9
Πρωτεΐνη	17.3	12	11.4 ± 2.3	13.6			
Λιπαρά	-	2		2.7			
Μαννιτόλη	20.2	12					
Λαμιναρίνη	0.8	14					
Αλγινικό	15.3	23					
Κυτταρίνη	5.2	6					
Φουκοειδή	0.2	5					
Στοιχειακή ανάλυση (% β/β, ξηρή βάση)							
C	28.0	34.6		31.6	50.2	47.5	46.8
H	3.92	4.7			6.06	5.8	5.74
O	24.3 <sup>b</sup>	31.2			40.4	43.6	41.4
N	1.86	2.4		2.18	0.6	0.36	0.66
S	1.09	1.0		3.1	0.02	0.05	0.11
P	0.33	0.35		0.2			
K	0.014	0.0096					
HHV (MJ/kg ξηρή βάση)	Μ.Δ.	13.2			19.0	18.6	18.4
LHV (MJ/kg ξηρή βάση)	11.0	12.1			17.7	17.3	16.8

<sup>a</sup>Μέσος όρος τιμών σύστασης σε διάφορους μήνες, <sup>b</sup>Ανάλυση με βάση την εμπειρική εξίσωση των Chynoweth and Srivastava (1980).

<sup>1</sup> Chynoweth and Srivastava, 1980, <sup>2</sup>Reith et al., 2005, <sup>3</sup>Msuya and Neori, 2002, <sup>4</sup>Briand and Morand, 1997, <sup>5</sup>Phyllis Database for Biomass waste: <http://ecnl.phyllis>.

Τα μακροφύκη γενικά έχουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε τέφρα και χαμηλότερες τιμές θερμογόνου δύναμης από τη χερσαία βιομάζα (11 έως 12 MJ / kg έναντι των 17 έως 18 MJ / kg). Η περιεκτικότητα των μακροφυκών σε μέταλλα (ειδικά σε μέταλλα αλκαλίων) είναι επίσης υψηλότερη από αυτή της χερσαίας βιομάζας όπως και αυτή του αλογόνου που κυμαίνεται στο εύρος 0.5 έως 11% στα φύκη ενώ στη χερσαία βιομάζα κυμαίνεται από 1 έως 1.5% (Ross et al., 2008). Η υψηλή περιεκτικότητα σε αλκάλια διεγείρει μια ανησυχία για την μη αποδόμηση των συστατικών των φυκών σε διάφορες διεργασίες βιομετατροπής τους. Αφού το περιεχόμενο των φυκών σε μεταλλικά στοιχεία ποικίλλει ανάλογα με τον κύκλο ανάπτυξής τους, η καλλιέργεια των φυκών μπορεί να διερευνηθεί και η συγκομιδή να προσαρμοστεί ώστε να ελέγχεται το επίπεδο των μεταλλικών στοιχείων (Ross et al., 2008). Τα μακροφύκη έχουν επίσης υψηλότερη περιεκτικότητα σε άζωτο, θείο και μεταλλικά στοιχεία. Η πολύ υψηλότερη περιεκτικότητα σε θείο των φυκών απαιτεί υψηλότερο κόστος απομάκρυνσης αυτού από τα μακροφύκη για την παραγωγή βιοκαυσίμων, απ' ό,τι από την πρώτη ύλη χερσαίας βιομάζας. Η υψηλή περιεκτικότητα σε άζωτο επίσης εγείρει ανησυχία και ίσως απαιτείται η απομάκρυνση του. Ένα πλεονέκτημα των μακροφυκών σε σύγκριση με τη χερσαία βιομάζα είναι η παρουσία μικρών ποσοτήτων υλικών τύπου λιγνίνης, κάτι το οποίο διατηρείται κατά την παραγωγή βιοκαυσίμων (Roesijadi et al., 2010).

Αναμένεται ότι την επόμενη δεκαετία θα γίνουμε μάρτυρες μιας τεράστιας ανάπτυξης και επέκτασης στην παγκόσμια αγορά των βιοκαυσίμων που προέρχονται από φύκη. Η αυξανόμενη ζήτηση για βιοκαύσιμα θα δημιουργήσει νέες ευκαιρίες για τα φύκη και άλλες μη διατροφικές πρώτες ύλες, να επιτύχουν τους φιλόδοξους στόχους για τις ανανεώσιμες πηγές βιοκαυσίμων καθώς και την αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων (Rojan et al., 2011). Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται τα τελικά προϊόντα παραγωγής από τα φύκη και η διαδικασία παραγωγής τους.

Πίνακας 16: Ενεργειακά «προϊόντα» από τα φύκη (Oilgae, 2010).

<b>Τελικό προϊόν</b>	<b>Διεργασίες</b>
Βιοντίζελ	Λήψη λιπαρών και μετεστεροποίηση
Αιθανόλη	Ζύμωση
Μεθάνιο	Αναερόβια χώνευση βιομάζας – Μεθανίωση του σύνθετου αερίου που παράγεται από τη βιομάζα
Υδρογόνο	Βιοχημική επεξεργασία φυκών – Αεριοποίηση/Πυρόλυση βιομάζας και επεξεργασία του παραχθέντος σύνθετου αερίου
Θερμότητα και Ηλεκτρική Ενέργεια	Άμεση καύση της βιομάζας φυκών – Αεριοποίηση βιομάζας
Άλλα καύσιμα υδρογονανθράκων	Αεριοποίηση – Πυρόλυση βιομάζας και επεξεργασία του παραχθέντος σύνθετου αερίου

Εκτός από την αναερόβια χώνευση η οποία θεωρείται ότι είναι οικονομικά εφικτή (Chynoweth et al. 2001) άλλες τεχνολογίες μετατροπής, ιδίως εκείνες που οδηγούν σε υγρά καύσιμα μεταφορών, βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο ή ακόμη δεν έχουν διερευνηθεί ενεργά. Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να ζυμώσουν τη λαμιναρίνη και τη μαννιτόλη της *L. hyperborea* σε αιθανόλη έχουν εντοπιστεί και χαρακτηριστεί μερικώς (Horn et al. 2000a, Horn et al. 2000b). Η θερμοχημική μετατροπή μπορεί να χρησιμοποιήσει τόσο τους υδατάνθρακες όσο και τα κλάσματα λιπιδίων ως υποστρώματα (Ross et al., 2008). Η υδροθερμική ρευστοποίηση ειδικότερα, μπορεί να είναι μια κατάλληλη τεχνολογία μετατροπής της βιομάζας που έχει υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (Peterson et al., 2008). Η καταλυτική υδρο-επεξεργασία μπορεί να μετατρέψει περαιτέρω τα βιοέλαια που παράγονται από την υδροθερμική ρευστοποίηση σε υδρογονανθρακικές ενώσεις οι οποίες είναι περισσότερο επιθυμητές για χρήση σε συμβατά υγρά καύσιμα μεταφορών (Elliott et al., 2009). Μελλοντικές προτεραιότητες θα πρέπει να περιλαμβάνουν προσεγγίσεις που οδηγούν στη μετατροπή των μακροφυκών σε προηγμένα καύσιμα όπως η βουτανόλη και χημικά προϊόντα με βάση τους υδρογονάνθρακες, στη μετατροπή των ανθεκτικών κύριων υποστρωμάτων στα φύκη π.χ. το αλγινικό και στην άμεση θερμική μετατροπή σε βιοέλαια και προϊόντα με βάση υδρογονάνθρακες. Η παραγωγή τέτοιων υγρών καυσίμων από τα μακροφύκη, μαζί με μία προσέγγιση για την παραγωγή πρώτης ύλης και το κόστος που απαιτείται για να επηρεάσει θετικά την οικονομία των βιοκαυσίμων είναι οι τρέχουσες προκλήσεις (Roesijadi et al., 2010).

## 7.2 Βιοαιθανόλη

Η βιοαιθανόλη κατέχει με διαφορά την πρώτη θέση στην παγκόσμια παραγωγή βιοκαυσίμων (Sánchez and Cardona, 2008). Οι πιο σημαντικές χώρες παραγωγής βιοαιθανόλης στον κόσμο είναι η Βραζιλία, οι ΗΠΑ και ο Καναδάς. Οι ιδιότητες της αιθανόλης την καθιστούν ένα σημαντικό εναλλακτικό καύσιμο για τον τομέα των μεταφορών. Η αιθανόλη αποδίδει πολύ καλά ως καύσιμο στα αυτοκίνητα, είτε σε καθαρή μορφή είτε ως μίγμα με βενζίνη. Τα μίγματα της βιοαιθανόλης κωδικοποιούνται συνδυάζοντας το γράμμα «E» (Ethanol) με το ποσοστό της βιοαιθανόλης και τα πιο συνηθισμένα είναι τα E85 (85% αιθανόλη-15% βενζίνη) και E10 (10% αιθανόλη-90% βενζίνη). Υπάρχουν επίσης το E100 (100% αιθανόλη) και το oxy-diesel, ένα μίγμα από 80% diesel, 10% αιθανόλη και 10% πρόσθετα και ενώσεις ανάμιξης (Gnansounou et al. 2005, Balat et al. 2008).

Εκτός από τις μηχανές εσωτερικής καύσης, η αιθανόλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε κυψέλες καυσίμων (fuel cells) με υψηλές ενεργειακές αποδόσεις και χαμηλές εκπομπές ρύπων. Για την ανάπτυξη και εμπορική εφαρμογή των πολλά υποσχόμενων κυψελών καυσίμων αιθανόλης απαιτείται ακόμα αρκετή έρευνα (Gnansounou et al., 2005).

Υπάρχει μία ποικιλία φυτικών πηγών που μπορούν να παρέχουν τα σάκχαρα για την παραγωγή βιοαιθανόλης και κατηγοριοποιούνται με βάση τη σύστασή τους σε: (α) σακχαρούχες (όπως σακχαρότευτλο και σακχαροκάλαμο), (β) αμυλούχες (όπως σίτος, αραβόσιτος και κριθάρι) και (γ) λιγνινοκυτταρινούχες (Sánchez and Cardona



2008, Balat et al. 2008, Tomás-Rejón et al. 2008). Στις τελευταίες κατατάσσονται τα υπολείμματα της υλοτομίας, της γεωργίας, της βιομηχανίας τροφίμων, τα αστικά στερεά λύματα καθώς και οι ενεργειακές καλλιέργειες (Sánchez and Cardona, 2008). Οι ενεργειακές καλλιέργειες (όπως σόργο και switch grass) φαίνεται να αποτελούν την μεγαλύτερη, πολλά υποσχόμενη, μελλοντική πηγή βιομάζας για παραγωγή βιοκαυσίμων (Tomás-Rejón et al., 2008).

Οι λιγνινοκυτταρινούχες πρώτες ύλες αποτελούν τον πιο άφθονο, ανανεώσιμο και φθηνό φυσικό πόρο στη Γη, αποτελώντας το 50% της παγκόσμιας βιομάζας. Η λιγνινοκυτταρινούχος βιομάζα αποτελεί σημαντική εναλλακτική πηγή για την παραγωγή «2ης γενιάς» βιοαιθανόλης, γιατί δεν ανταγωνίζεται τη βιομηχανία τροφίμων και είναι αρκετά πιο φθηνή από τις συμβατικές σακχαρούχες-αμυλούχες πρώτες ύλες (Balat et al., 2008).

Τα φύκη αρχίζουν να χρησιμοποιούνται ως μια εναλλακτική ανανεώσιμη πηγή βιομάζας για την παραγωγή βιοαιθανόλης, η οποία ταξινομείται στην κατηγορία των βιοκαυσίμων «τρίτης γενιάς». Οι ποσότητες βιοαιθανόλης που μπορούν να παραχθούν ποικίλλουν σημαντικά μεταξύ των ειδών των φυκών καθώς και μεταξύ στελεχών ίδιου είδους. Αυτό συμβαίνει επειδή είδη φυκών και στελέχη διαφέρουν σημαντικά όσον αφορά στο ρυθμό ανάπτυξης και παραγωγικότητας, στις απαιτήσεις θρεπτικών ουσιών και φωτός, στην ικανότητα να συσσωρεύουν λιπίδια ή άλλες επιθυμητές ενώσεις, στην ικανότητα προσαρμογής στις δυσμενείς συνθήκες, κ.λπ. Ως εκ τούτου, είναι σύνηθες να επιλέγονται στελέχη τα οποία έχουν τη δυνατότητα για την παραγωγή υψηλότερων ποσοτήτων βιοαιθανόλης, είτε άμεσα είτε μέσω της συσσώρευσης βιομάζας. Ωστόσο, η επιλογή ενός συγκεκριμένου στελέχους είναι μια επίπονη εργασία ιδιαίτερα όταν πρέπει να επιτευχθούν εμπορικά επαρκείς αποδόσεις βιοαιθανόλης. Η μεγαλύτερη πρόκληση στην παραγωγή βιοαιθανόλης από βιομάζα φυκών είναι ότι η διαδικασία πρέπει να είναι οικονομικά αποτελεσματική (Rojan et al., 2011).

Μία συγκεκριμένη κατηγορία μακροφυκών που ονομάζονται «kelps», χρησιμοποιούνται ιδιαίτερα στην παραγωγή βιοαιθανόλης για τους εξής λόγους (Rojan et al., 2011):

- Αποδεδειγμένες δοκιμές στη σπορά και ανάπτυξή τους.
- Γρήγοροι ρυθμοί ανάπτυξης.
- Χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες απ' ό,τι στα είδη φουκοειδών, κάτι το οποίο συνεπάγεται μεγαλύτερο δυναμικό βιομάζας ανά μονάδα επιφάνειας.
- Άμεση διαθεσιμότητα των αποθεμάτων της σποράς (πολλές περιοχές διαθέσιμες για συλλογή μέσα σε ακτίνα 20 μιλίων).

Τα καφέ φύκη είναι επίσης μία σημαντική πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Από τους πολυσακχαρίτες τους η λαμιναρίνη και η μαννιτόλη είναι οι πιο εύκολα χρησιμοποιούμενοι από συγκεκριμένους μικροοργανισμούς (Horn et al., 2000a,b). Οι Horn et al.(2000a,b) έδειξαν ότι η λαμιναρίνη και η μαννιτόλη από το

φύκος *L. hyperborea* ζυμώνονται για την παραγωγή βιοαιθανόλης. Επίσης, εξέτασαν την απόδοση της ζύμωσης αιθανόλης στα εκχυλίσματα καφέ φυκών χρησιμοποιώντας διάφορα βακτήρια και ζύμες. Το βακτήριο *Zymobacter palmae* μετέτρεψε μόνο τη μαννιτόλη σε αιθανόλη λόγω της έλλειψης του κατάλληλου ενζυμικού συστήματος για την υδρόλυση της λαμιναρίνης, ενώ δύο είδη ζύμης οι *Kluyveromyces marxianus* και *Pacchysolen tannophilus* μετέτρεψαν τη λαμιναρίνη αλλά όχι τη μαννιτόλη. Μόνο η ζύμη *Pichia angophorae* έχει χρησιμοποιήσει ταυτόχρονα τη λαμιναρίνη και τη μαννιτόλη για την παραγωγή αιθανόλης με απόδοση  $0.43 \text{ g αιθανόλης g υποστρώματος}^{-1}$ . Κόκκινα μακροφύκη όπως το *Gelidium amansii*, το οποίο αποτελείται από κυτταρίνη, γλουκάνη και γαλακτάνη, μπορεί επίσης να χρησιμοποιήσει ως δυναμική πρώτη ύλη για την παραγωγή αιθανόλης (Jung et al. 2012, Rojan et al. 2011, Roesijadi et al. 2010).

Η υδρόλυση των πολυσακχαριτών της βιομάζας των φυκών μπορεί να πραγματοποιηθεί με χημικά μέσα όπως με αραιό οξύ. Η βιομάζα μακροφύκους κατεργάζεται με 0.3-0.9 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> στους 100-140 °C (Meinita et al. 2012, Park et al. 2012). Στην όξινη υδρόλυση παράμετροι όπως η συγκέντρωση του οξέος και η ώρα της υδρόλυσης επηρεάζουν τη συνολική απόδοση αναγωγικών σακχάρων και αιθανόλης, ενώ βέλτιστες συνθήκες πρέπει να προσδιοριστούν για να μεγιστοποιηθούν οι συγκεντρώσεις μονοσακχαριτών και αιθανόλης (Meinita et al., 2012).

Εκτός από τη χημική υδρόλυση, η ενζυμική υδρόλυση είναι μία ήπια διαδικασία για τη σακχαροποίηση της βιομάζας μακροφυκών. Παρ' όλα αυτά, οι διαδικασίες της για υψηλή παραγωγικότητα αιθανόλης δεν έχουν ακόμα αναπτυχθεί πλήρως επειδή η ενζυμική δράση είναι συγκεκριμένη ανάλογα με το είδος των πολυσακχαριτών ενώ ακόμα και ένα μοναδικό είδος μακροφύκους αποτελείται από περισσότερα από ένα σύμπλοκα πολυσακχαριτών (Choi et al., 2009). Πολλές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει ειδικά ένζυμα για τα μακροφύκη, όπως η λαμιναρινάση και αγαράση, για τη σακχαροποίηση των πολυσακχαριτών όμως η αποτελεσματικότητα της υδρόλυσης ήταν μικρή. Συνεπώς, η κατεργασία των μακροφυκών απαιτεί πρόσθετη προκατεργασία ή βελτιωμένα ενζυμικά συστήματα (Adams et al., 2011).

Οι ενζυμικές και χημικές υδρολύσεις έχουν συνδυαστεί ώστε να επιτευχθεί πιο αποτελεσματική απομόνωση μονοσακχαριτών από τα μακροφύκη (Adams et al. 2011, Ge et al. 2011, Jang et al. 2012). Μία θερμική όξινη υδρόλυση και ενζυμική επεξεργασία εφαρμόστηκε στα γένη *Laminaria* και *Saccharina* (καφέ φύκη) για να ανακτηθούν εν δυνάμει ζυμώσιμα αναγωγικά σάκχαρα όπως το D-μανουρονικό οξύ, το L-γουλουρονικό οξύ, η L-φουκόζη, η D-γλυκόζη, η D-γαλακτόζη και η D-ξυλόζη (Ge et al. 2011, Jang et al. 2012). Τα κόκκινα μακροφύκη *Gelidium amansii* και *Kappaphycus alvarezii* ήταν πιο εύκολα ζυμώσιμα απ' ό,τι τα καφέ φύκη χρησιμοποιώντας χημικές και ενζυμικές υδρολύσεις (Park et al., 2012).

Πιο λεπτομερής έρευνα έχει πραγματοποιηθεί για τη διερεύνηση της βέλτιστης προεπεξεργασίας σε σχέση με τα χαρακτηριστικά των υδατανθράκων των ειδών των μακροφυκών. Οι Yanagisawa et al. (2011) έχουν προτείνει εξειδικευμένες μεθόδους σακχαροποίησης για την αύξηση της απόδοσης βιοαιθανόλης για τα πράσινα, κόκκινα και καφέ φύκη. Για το *Gymnothamnion*

*elegans* (κόκκινο φύκος) μια συνδυασμένη διαδικασία σακχαροποίησης που αποτελείται από όξινες και ενζυμικές υδρολύσεις χρησιμοποιήθηκε για να μετατρέψει τους αρχικούς πολυσακχαρίτες (όπως τη γαλακτάνη και τη γλυκάνη) προς γαλακτόζη και γλυκόζη (Lobban και Wynne, 1981). Αυτή η ειδική διαδικασία σακχαροποίησης οδήγησε σε αύξηση στη συγκέντρωση αιθανόλης (5.5% ο/ο ή 0.44 g<sub>αιθανόλης</sub> g<sub>γλυκόζης</sub><sup>-1</sup>) η οποία είναι υψηλότερη από την οικονομικά εφικτή συγκέντρωση (4-5%) για απόσταξη. Για τα πράσινα και καφέ φύκη *Ulva pertusa* και *Alaria crassifolia* αντίστοιχα, μία ενζυμική υδρόλυση ήταν αρκετή για τη σακχαροποίηση επειδή η γλυκάνη, ένας ενιαίος πολυσακχαρίτης στα δύο φύκη, μπορεί να υδρολυθεί προς γλυκόζη από το ένζυμο (Yanagisawa et al., 2011).

Η προκατεργασία των μακροφυκών πριν τη διαδικασία της σακχαροποίησης μπορεί να αναστείλει τη μικροβιακή ζύμωση λόγω παρεμποδιστικών ουσιών που σχηματίζονται και έτσι απαιτείται ένα στάδιο αποτοξικοποίησης για την αποτελεσματική χρήση της βιομάζας αυτών. Έχει διαπιστωθεί ότι η θερμική προκατεργασία σε συνδυασμό με διάφορες μεταβολές της τιμής του pH, δίνουν χαμηλότερες αποδόσεις βιοαιθανόλης όταν ως πρώτη ύλη παραγωγής χρησιμοποιείται το καφέ φύκος *Saccharina latissima*. Αν και η θερμική επεξεργασία χρησιμοποιείται για τη διαλυτοποίηση λαμιναρίνης μπορεί να δημιουργήσει παρεμποδιστικές ενώσεις. Επίσης, η επεξεργασία με οξύ μειώνει την απόδοση αιθανόλης του φύκου *S. latissima* κατά 40 έως 47%, πιθανώς εξαιτίας της διάσπασης των κυττάρων και της αναστολής της παραγωγής αιθανόλης από την παρουσία των αλάτων (Adams et al., 2009). Παρεμποδιστικές ουσίες που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της όξινης υδρόλυσης (ακόμα και με χρήση αραιού οξέος) είναι η φουρφουράλη, 5-υδροξυμεθυλφουρφουράλη, το λεβουλινικό και το καφεϊκό οξύ (Meinitta et al., 2012). Οι εν λόγω ενώσεις προκύπτουν κυρίως από την ξυλόζη και τη γαλακτόζη των μακροφυκών. Οι παρεμποδιστικές ενώσεις μπορούν να απομακρυνθούν μετά από κατεργασία με ανόργανες ενώσεις ασβεστίου (lime) ή ενεργό άνθρακα (Meinitta et al., 2012).

Άλλη αναστολή της μικροβιακής ζύμωσης μπορεί να προκύψει από τα μεταλλικά στοιχεία των μακροφυκών, τα οποία θα μπορούσαν να απευλευθερωθούν κατά τη διάρκεια της προκατεργασίας (Lee and Lee 2012, Ross et al. 2008).

### 7.3 Βιοαέριο/Μεθάνιο

Για την παραγωγή βιοαερίου, ιδιαίτερα μεθανίου, από ποικίλα είδη μακροφυκών όπως *Macrocystis*, *Laminaria*, *Gracilaria*, *Sargassum* και *Ulva* εφαρμόζεται αναερόβια χώνευση (Gunaseelan 1997, Chynoweth et al. 2001). Η παραγωγή βιοαερίου από μακροφύκη είναι τεχνικά βιώσιμη αλλά με υψηλό κόστος. Συνεπώς θα πρέπει να μειωθεί το κόστος της πρώτης ύλης κατά τουλάχιστον 75%, ώστε η διαδικασία παραγωγής βιοαερίου να καταστεί ανταγωνιστική στην τρέχουσα αγορά (Bruton et al., 2009). Οι αποδόσεις μεθανίου παρουσιάζονται στον Πίνακα 17 (Roesijadi et al., 2010).

Πίνακας 17: Αποδόσεις μεθανίου για διάφορα μακροφύκη<sup>1</sup>

Αποδόσεις	<i>Macrocystis</i>	<i>Laminaria</i>	<i>Gracilaria</i>	<i>Ulva</i>
% μείωση ξηρού βάρους απουσία τέφρας	34-80	46-60	50-85	62
Απόδοση μεθανίου (Mg- C/Mg VS <sup>a</sup> )	0.08-0.21	0.12-0.16	0.15-0.21	0.17
Απόδοση μεθανίου (m <sup>3</sup> /kg VS <sup>1,2</sup> )	0.14-0.40	0.23-0.30	0.25-0.31	0.22-0.33

<sup>a</sup>VS = ξηρό βάρος απουσία τέφρας (550°C), <sup>b</sup>Ο υπολογισμός έγινε με βάση την πυκνότητα του αερίου μεθανίου (0.656 kg/m<sup>3</sup> στους 25°C), <sup>c</sup> Ο υπολογισμός έγινε με βάση το κλάσμα των VS στην ξηρή βιομάζα φυκών που παρουσιάζεται στον Πίνακα 15.

<sup>1</sup>Chynoweth et al., (2001), <sup>2</sup>Gunaseelan (1997)

Ο Gunaseelan (1997) μελέτησε τα χαρακτηριστικά χώνευσης ξηρής και θαλάσσιας βιομάζας. Τα μακροφύκη παρουσίασαν υψηλότερους ρυθμούς παραγωγής μεθανίου απ' ότι η ξηρή βιομάζα (όπως το γρασίδι και το ξύλο) και η βιομάζα των θαλάσσιων φυκών (kelps) ήταν η μόνη που δεν απαιτούσε προκατεργασία αφού δεν περιείχε λιγνίνη. Πρέπει να αναφερθεί ότι η απόδοση αναερόβιας χώνευσης επηρεάζεται από το είδος και τη σύνθεση του μακροφύκου. Ο ρυθμός παραγωγής μεθανίου μπορεί να βελτιωθεί με ταυτόχρονη χώνευση μακροφυκών (*Ulva sp.*) με κοπριά και απόβλητα λάσπης (Jung et al., 2012). Οι αποδόσεις μεθανίου κυμαίνονται από 0.14 έως 0.40 m<sup>3</sup>/kg VS και είναι συγκρίσιμες με αυτές της λυματολάσπης, γεγονός που καθιστά τα μακροφύκη κατάλληλη πρώτη ύλη για αναερόβια χώνευση (Reith et al. 2005, Roesijadi et al. 2010).

#### 7.4 Βιοβουτανόλη

Η βιοβουτανόλη μπορεί να παραχθεί από μακροφύκη μέσω της ζύμωσης ακετόνης-βουτανόλης (AB) χρησιμοποιώντας αναερόβια βακτήρια όπως το *Clostridium sp.* Αυτό το βακτήριο είναι ικανό να παράγει βουτανόλη, ακετόνη, αιθανόλη και οργανικά οξέα από διάφορα υποστρώματα άνθρακα. Ωστόσο, δεν χρησιμοποιεί αποτελεσματικά μερικούς πολυσακχαρίτες με βάση τη γλυκόζη (όπως μαννιτόλη από τα καφέ φύκη), οι οποίοι προκαλούν αργό ρυθμό αντίδρασης και χαμηλή παραγωγικότητα των οργανικών οξέων και των διαλυτών (Huesemann et al., 2012).

#### 7.5 Βιοντίζελ

Ένα πιθανό προϊόν βιοκαυσίμων από φύκη είναι το βιοντίζελ. Οι Aresta et al. (2005) μελέτησαν την παραγωγή βιοντίζελ από το πράσινο μακροφύκος *Chaetomorpha Linum*. Εφάρμοσαν δύο διεργασίες εκχύλισης των λιπαρών: υδροθερμική ρευστοποίηση (hydrothermal liquefaction, HTL) και εκχύλιση με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα. Η υδροθερμική ρευστοποίηση

πραγματοποιήθηκε σε αντιδραστήρα υπό πίεση παρουσία καταλύτη χρησιμοποιώντας νωπή μάζα φυκών. Από τη διεργασία αυτή παράγονται δύο φάσεις η υδατική και η οργανική. Τα αποτελέσματα της εν λόγω μελέτης παρουσιάζονται στον Πίνακα 18 (Roesijadi et al., 2010).

Η ανθρακική αλυσίδα των κορεσμένων και ακόρεστων λιπαρών του φύκου *C. linum* κυμαίνεται από 14 έως 24 άτομα άνθρακα. Επιπλέον, το συγκεκριμένο φύκος παράγει υδρογονάνθρακες και φυτόλες. Η εκχύλιση με εφαρμογή υδροθερμικής ρευστοποίησης είναι αποτελεσματικότερη συγκρινόμενη με την εκχύλιση με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα όμως οι υψηλές θερμοκρασίες που εφαρμόζονται στην πρώτη μπορεί να οδηγήσουν σε αποδόμηση του ελαίου. Οι αποδόσεις και για τις δύο διεργασίες εκχύλισης είναι χαμηλές (Roesijadi et al., 2010).

Πίνακας 18: Βιοντίζελ από πράσινο μακροφύκος *Chaetomorpha Linum* (Roesijadi et al., 2010).

Διαδικασία	Υδροθερμική ρευστοποίηση	Εκχύλιση υπερκρίσιμου CO <sub>2</sub>
Συνθήκες	350 έως 395 °C	50°C και 2.60 MPa (7 h, μεθανόλη ως συνδιαλύτης)
Απόδοση	80 mg/g ξηρού στερεού	45 mg/g ξηρού στερεού

Ανάλογα με τις μεθόδους μετατροπής, είτε νωπά είτε ξηρά μακροφύκη μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Η αναερόβια ζύμωση ή η ρευστοποίηση μπορούν να χρησιμοποιήσουν άμεσα νωπή πρώτη ύλη (Roesijadi et al., 2010).

## 7.6 Βιουδρογόνο

Η βιομάζα όπως τα θαλάσσια μακροφύκη, στα οποία συμπεριλαμβάνονται τα κόκκινα, τα καφέ και μερικά πράσινα φύκη, μπορεί να αποδομηθεί βιολογικά παρουσία μικροοργανισμών (Park et al., 2009). Κατά τη διάρκεια της αναερόβιας αποδόμησης οργανικού υλικού μπορεί να παραχθεί υδρογόνο (Schink, 1997). Αυτό παρατηρείται και στο κυτταρικό τοίχωμα των καφέ φυκών όπου οι υδατάνθρακες που περιέχει καθιστούν τα καφέ φύκη μία δυναμική πηγή για την παραγωγή υδρογόνου (Kloareg et al., 1986).

Ενεργός ιλύς, κομπόστ και αναερόβια ιλύς βιοαντιδραστήρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως «εμβόλιο» (seed sludge) στην παραγωγή υδρογόνου μέσω μικτών καλλιέργειών (Fan et al., 2004). Αυτά τα «εμβόλια» περιέχουν διάφορα είδη μικροβίων συμπεριλαμβανομένων κάποιων βακτηρίων που παράγουν υδρογόνο και πιστεύεται ότι συγκροτούν μια μικροβιακή κοινότητα που ονομάζεται μικροχλωρίδα ή μικροβιακή κοινοπραξία. Στα «εμβόλια» αυτά είναι επίσης παρόντα και βακτήρια που καταναλώνουν υδρογόνο και αναστέλλουν την παραγωγή αυτού, με συνέπεια να απαιτείται εξάλειψη/καταστολή της δράσης των εν λόγω βακτηρίων προκειμένου να υπάρχει σταθερή παραγωγή υδρογόνου από μη αποστειρωμένες πρώτες ύλες (Park et al., 2009).

Η παραγωγή υδρογόνου με ζύμωση από μικτές καλλιέργειες έχει πραγματοποιηθεί σε μεσόφιλες (20-40 °C) και θερμοφιλες (50-60 °C) συνθήκες (Yokoyama et al., 2007). Τα βακτήρια του γένους *Clostridium* δημιουργούν προστατευτικά σπόρια όταν βρίσκονται σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (π.χ. περιβάλλον με υψηλή θερμοκρασία, εξαιρετικά υψηλή οξύτητα και αλκαλικότητα) ικανότητα την οποία δεν διαθέτουν τα μεθανογόνα βακτήρια. Τα μεθανογόνα βακτήρια είναι αναερόβια αρχαιοβακτήρια και όταν εκτίθενται σε αερόβιες συνθήκες το οξυγόνο μειώνει το ενεργειακό φορτίο των κυττάρων (ATP, ADP) και προκαλεί τον θάνατό τους. Τα γένη *Clostridium* και *Enterobacter* είναι προαιρετικά αναερόβια βακτήρια τα οποία μπορούν να αναπτυχθούν και να επιβιώσουν παρουσία οξυγόνου (Kim et al., 2008). Η επιβίωση της πλειοψηφίας των μεθανογόνων περιορίζεται σε ένα στενό εύρος τιμών pH (περίπου 7.0~8.0) ενώ τα περισσότερα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο μπορούν να αναπτυχθούν σε μεγαλύτερο εύρος τιμών pH. Επιπλέον, τα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο αναπτύσσονται ταχύτερα συγκριτικά με τα μεθανογόνα (Kim et al., 2008).

Έχουν αναφερθεί διάφορες μέθοδοι για την προετοιμασία των «εμβολίων» που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή υδρογόνου. Μία μέθοδος η οποία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως είναι η επεξεργασία θερμικού σοκ (Han and Shim, 2004). Οι παράμετροι αυτής της μεθόδου που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία διαφέρουν αρκετά, με τη θερμοκρασία να κυμαίνεται από τους 55 °C έως τους 105 °C και τους χρόνους έκθεσης από 5 min έως 120 min (Park et al., 2009).

### 7.7 Syngas (Συνθετικό αέριο)

Το συνθετικό αέριο αντιπροσωπεύει ένα από τα πιο φθηνά και ευέλικτα υποστρώματα για τη διαδικασία βιολογικής ζύμωσης, ώστε να παραχθεί μια ποικιλία ανανεώσιμων καυσίμων και χημικών προϊόντων. Μπορεί να παραχθεί από μια πληθώρα οργανικών υλικών συμπεριλαμβανομένης της βιομάζας. Είναι επίσης ένα φθινό υπόστρωμα, κοστίζοντας  $\leq 6$  \$ ανά εκατομμύριο BTU, με το κόστος πρώτης ύλης να είναι  $\leq 0.10$  \$/lb προϊόντος (Mohammadi et al., 2011).

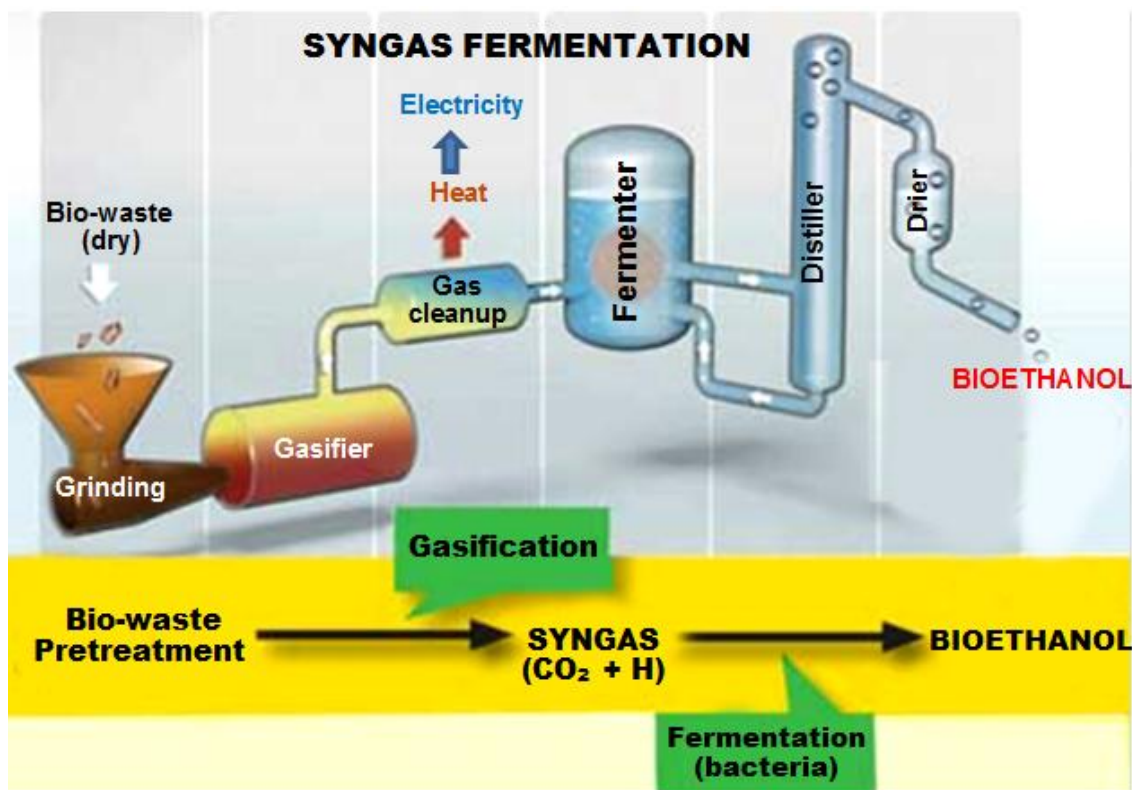
Υπάρχουν πολλαπλά μονοπάτια για τη μετατροπή του συνθετικού αερίου. Ωστόσο, οι περισσότεροι μετασχηματισμοί εκτελούνται μέσω μικροβιακών ή θερμοχημικών διεργασιών. Η ζύμωση του συνθετικού αερίου είναι πιθανή μικροβιακή πορεία στην οποία αναερόβιοι μικροοργανισμοί μεσολαβούν για τη βιο-καταλυτική μετατροπή των συστατικών του συνθετικού αερίου σε ποικίλα χρήσιμα βιοχημικά προϊόντα και βιοκαύσιμα (Mohammadi et al., 2011).

Αυτή η τεχνολογία χρησιμοποιεί την ακόλουθη διαδικασία τριών σταδίων που απεικονίζεται στην Εικόνα 35 (INEOS Bio, 2012):

1. Αεριοποίηση: Το οργανικό υλικό άνθρακα μετατρέπεται σε αέριο χρησιμοποιώντας μια ελεγχόμενη ποσότητα οξυγόνου για την παραγωγή αερίου σύνθεσης, ένα μείγμα μονοξειδίου του άνθρακα και υδρογόνου. Η διαδικασία αεριοποίησης και η λειτουργία της έχουν επιλεγεί προσεκτικά για να εμποδίσουν το σχηματισμό των διοξινών και φουρανίων και για την

εξάλειψη των πτητικών μετάλλων. Η ανακτημένη θερμότητα χρησιμοποιείται για να παράγει την ανανεώσιμη ενέργεια που απαιτείται από τη διαδικασία.

2. Ζύμωση: Το ψυχθέν και καθαρό συνθετικό αέριο διέρχεται σε μία διαδικασία ζύμωσης όπου μετατρέπεται επιλεκτικά σε αιθανόλη με φυσικώς απαντώμενα αναερόβια βακτήρια. Περιέχοντας τη σωστή ποσότητα και το είδος των θρεπτικών ουσιών, οι συνθήκες του περιβάλλοντος ζύμωσης είναι αυστηρά ελεγχόμενες έτσι ώστε τα βακτήρια να επιτυγχάνουν μια υψηλή απόδοση και εκλεκτικότητα σε αιθανόλη. Πρόσθετη χρήσιμη ενέργεια και θερμότητα παράγεται από το σχηματισμό του απαερίου της ζύμωσης.
3. Καθαρισμός: Το καθαρό και εξευγενισμένο διάλυμα αιθανόλης χρησιμοποιείται ως άνυδρη αιθανόλη (> 99.7% αιθανόλη).



Εικόνα 35: Διάγραμμα ροής παραγωγής βιοαιθανόλης από τις διεργασίες ζύμωσης του συνθετικού αερίου (syngas) (INEOS Bio. 2012).

Οι αναερόβιοι μικροοργανισμοί της ζύμωσης του συνθετικού αερίου μπορούν να χαρακτηριστούν ως αυτότροφοι ή μονοανθρακοτροφικοί (unicarbonotrophic). Οι αυτότροφοι χρησιμοποιούν τα C<sub>1</sub> συστατικά του συνθετικού αερίου συμπεριλαμβανομένων του CO και / ή του CO<sub>2</sub> ως πηγή άνθρακα και το H<sub>2</sub> ως πηγή ενέργειας ενώ οι μονοανθρακοτροφικοί (unicarbonotrophs) είναι σε θέση να χρησιμοποιούν τα C<sub>1</sub> συστατικά ως μοναδική πηγή άνθρακα καθώς και ως πηγή



ενέργειας. Πολλοί αναερόβιοι μικροοργανισμοί είναι γνωστό ότι μεταβολίζουν το συνθετικό αέριο σε διάφορα τελικά προϊόντα. Γενικότερα, η ζύμωση του συνθετικού αερίου μπορεί να παράγει υδρογόνο, αιθανόλη, βουτανόλη, οξικό οξύ, βουτυρικό οξύ, μεθάνιο, βιοπολυμεροί και μονοκύτταρη πρωτεΐνη (CSP) (Mohammadi et al., 2011).

### **7.8 Ανάλυση κόστους παραγωγής βιοκαυσίμων από μακροφύκη**

Η ανάλυση του κόστους βασίζεται εν μέρει σε αυτήν που αναπτύχθηκε για την αξιολόγηση της τεχνικής και οικονομικής εφικτότητας της καλλιέργειας φυκών στη Βόρεια Θάλασσα, σε συνδυασμό με το στόχο που είχε τεθεί για τη δημιουργία αιολικών πάρκων μακριά από την ακτή το 2020 και τη μετατροπή της βιομάζας φυκών σε βιοκαύσιμα (Reith et al., 2005). Οι Reith et al. (2005) αξιολόγησαν το κόστος για τη μετατροπή των καφέ φυκών *Laminaria* σε μεθάνιο, αιθανόλη και βιοέλαιο σε τοποθεσία κοντά στην ακτή σε κλίμακες των 100,000 ξηρών μετρικών τόνων και 500,000 ξηρών μετρικών τόνων. Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι η μετατροπή φυκών στην κλίμακα των 100,000 μετρικών τόνων / έτος είναι πολύ μικρή για εμπορική παραγωγή, συνεπώς προτιμάται μια κλίμακα 500,000 μετρικών τόνων / έτος. Το κόστος κεφαλαίου και το λειτουργικό κόστος για τη μετατροπή των φυκών σε μεθάνιο και αιθανόλη μέσω ζύμωσης και σε βιοέλαιο μέσω HTL, όπως πραγματοποιήθηκε από τους Reith et al. (2005), παρατίθενται στον Πίνακα 19. Να σημειωθεί ότι το κόστος παραγωγής φυκών δεν συμπεριλαμβάνεται (Roesijadi et al., 2010).

## **8. ΒΙΟΔΙΥΛΙΣΤΗΡΙΟ**

### **8.1 Γενικά**

Το βιοδιυλιστήριο είναι μία εγκατάσταση η οποία ενσωματώνει διαδικασίες μετατροπής βιομάζας και εξοπλισμό για την παραγωγή καυσίμων, ενέργειας και προστιθέμενης αξίας χημικών ουσιών, μία ιδέα ανάλογη των σημερινών διυλιστηρίων πετρελαίου τα οποία παράγουν πολλά καύσιμα και προϊόντα από ακατέργαστο πετρέλαιο (Taylor, 2008). Με άλλα λόγια το βιοδιυλιστήριο είναι η βιώσιμη επεξεργασία της βιομάζας σε ένα φάσμα εμπορεύσιμων προϊόντων και ενέργειας. Με την παραγωγή πολλαπλών προϊόντων ένα βιοδιυλιστήριο εκμεταλλεύεται τα διάφορα συστατικά της ακατέργαστης βιομάζας και τα ενδιάμεσα προϊόντα τους. Ένα βιοδιυλιστήριο θα μπορούσε για παράδειγμα να παράγει μικρές ποσότητες ενός ή περισσότερων υψηλής προστιθέμενης αξίας χημικών ή θρεπτικών προϊόντων και μεγάλες ποσότητες μικρότερης αξίας υγρών καυσίμων για τις μεταφορές, όπως το βιοντίζελ και η βιοαιθανόλη. Μερικά από αυτά τα βιοδιυλιστήρια θα μπορούσαν να παράγουν ηλεκτρική ενέργεια και θερμότητα για δική τους χρήση και ίσως αρκετή για την πώληση της ηλεκτρικής ενέργειας σε τοπικές επιχειρήσεις κοινής ωφέλειας (Subhadra et al. 2010, Reith et al. 2009).

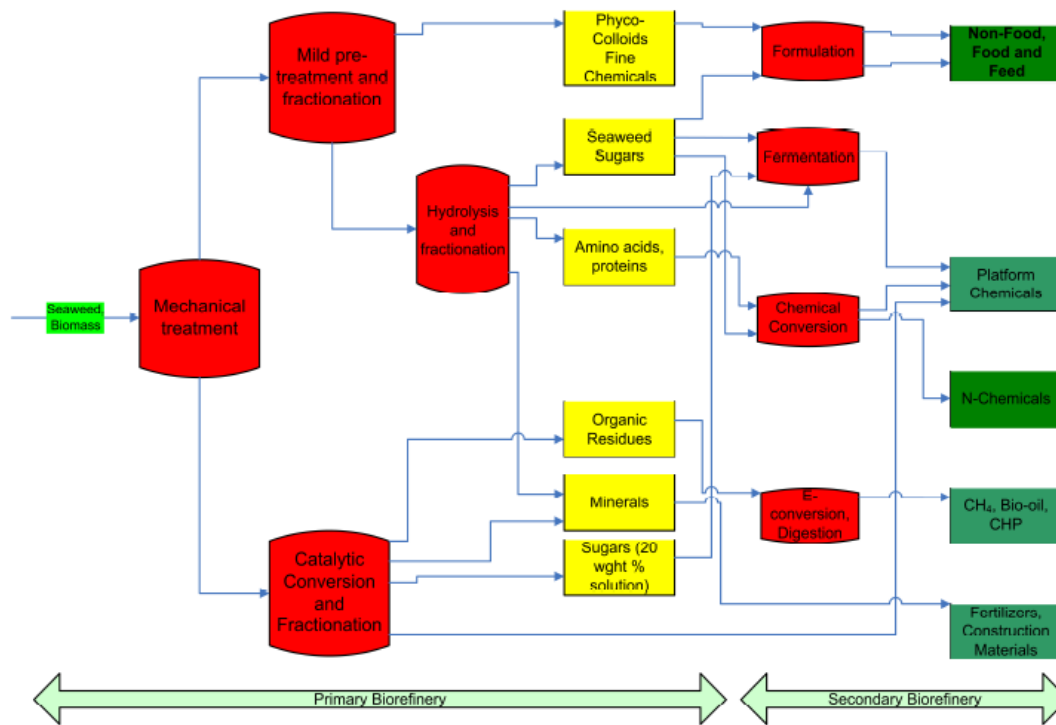
Πίνακας 19: Εκτιμώμενη παραγωγή και κόστος της μετατροπής φυκών σε βιοκαύσιμα<sup>1</sup> (Roesijadi et al., 2010).

<b>Προϊόντα</b>	<b>Μεθάνιο</b>	<b>Αιθανόλη</b>	<b>HTL βιοέλαιο</b>
Κλίμακα (μετρικοί τόνοι/έτος, ξηρή βάση)	500,000	500,000	500,000
Ρυθμός μετατροπής, ξηρά μακροφύκη	0.124 m <sup>3</sup> /kg	0.254 kg/kg	0.2278 kg/kg ελαφρύ κλάσμα 0.0976 kg/kg βαρύ κλάσμα
Παραπροϊόντα	Μη διαθέσιμο	Ηλεκτρισμός 212,778 MWh/yr	Μη διαθέσιμο
Επενδύσεις έργου, εκατομμύρια USD <sup>2</sup>	41.5	243	151.1
Λειτουργικό κόστος, εξαιρώντας το κόστος των φυκών, εκατομμύρια USD/yr <sup>2</sup>	4.2	29,3	19.1
«Καθαρή» παραγωγή (ανά έτος)	61.8 εκατομμύρια m <sup>3</sup>	127,000 μετρικοί τόνοι	113,900 μετρικοί τόνοι ελαφρύ κλάσμα 48,800 μετρικοί τόνοι βαρύ κλάσμα

<sup>1</sup>Βασισμένα στα καφέ φύκη, *Laminaria sp.*, <sup>2</sup> 1 Euro=1.3 USD [8]

## 8.2 Βιοδιωλιστήριο φυκών

Το περιεχόμενο των μακροφυκών σε νερό είναι αρκετά υψηλό (80-85%) κάνοντας τα μακροφύκη καταλληλότερα για μικροβιακή μετατροπή απ' ό τι για άμεση καύση ή θερμοχημικές διαδικασίες μετατροπής (Horn et al. 2000a, Ross et al. 2008). Οι υδατάνθρακες των φυκών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα για μικροβιακή παραγωγή ενός μεγάλου αριθμού καυσίμων και χημικών (Kraan, 2010).



Εικόνα 36: Σχηματική απεικόνιση του βιοδιυλιστηρίου φυκών (Kraan 2010, Reith et al. 2009).

Η ιδέα του βιοδιυλιστηρίου φυκών έχει προκύψει λαμβάνοντας υπόψη τη μεγάλη ποικιλία ειδών φυκών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοκαυσίμων και με σκοπό την προσέλκυση της προσοχής των ερευνητών σχετικά με την προοπτική της παραγωγής αιθανόλης από τα φύκη. Δεδομένου λοιπόν ότι τα βιοδιυλιστήρια των φυκών έχουν μεγάλη δυναμική τόσο στην ποσότητα όσο και στην ποιότητα, για την παραγωγή μιας ευρείας ποικιλίας μοναδικών χημικών ενώσεων και βιοενέργειας, ήδη υπάρχουν και εφαρμόζονται μεγάλης κλίμακας σχέδια ανάπτυξης αυτών (Kraan 2010, Reith et al. 2009).

Το βιοδιυλιστήριο φυκών μπορεί να παράγει διάφορα προϊόντα χρησιμοποιώντας για παράδειγμα διαφορετικές διαδικασίες μετατροπής των διαφορετικών υποστρωμάτων με τον πιο αποτελεσματικό τρόπο και με συμπαραγωγή ενώσεων με υψηλότερες τιμές από τα καύσιμα. Τα προϊόντα «στόχος», όπως φορείς ενέργειας σαν την αιθανόλη και τη βουτανόλη ή άλλα υλικά όπως ιτακονικό οξύ για τη βιομηχανία καυσίμων και πλαστικών, αντιπροσωπεύουν σημαντικά βιομηχανικά προϊόντα που μπορούν να αντικαταστήσουν ή να υποκαταστήσουν προϊόντα που σήμερα παράγονται από τις πηγές του πετρελαίου. Η παραγωγή αιθανόλης από εξόζες όπως γλυκόζη, σακχαρόζη κλπ. που προέρχονται για παράδειγμα από κοτσάνια καλαμποκιού ή από ζαχαροκάλαμο είναι μια γνωστή διαδικασία. Ωστόσο, οι πολυσακχαρίτες με βάση την εξόζη αποτελούν μόνο το 30-40% των υδατανθράκων στα φύκη. Το υπόλοιπο κλάσμα αποτελείται από C5 σάκχαρα που μέχρι τώρα δεν έχουν εφαρμοστεί ως υποστρώματα για βιομηχανικές διεργασίες μικροβιακής παραγωγής. Παρ' όλα αυτά, οι πρόσφατες ανακαλύψεις που έχουν γίνει στην

τεχνολογία ζύμωσης των C5 σακχάρων επιτρέπουν έως και 90% των διαθέσιμων υδατανθράκων να υποστεί ζύμωση (Kraan, 2010).

### **8.2.1 Προκατεργασία της βιομάζας φυκών και υδρόλυση των πολυσακχαριτών της βιομάζας των καφέ φυκών**

Τα νωπά συγκομισθέντα καφέ φύκη περιέχουν περίπου 15-20% υδατάνθρακες του συνολικού νωπού βάρους ποσοστό το οποίο ισούται με περίπου 200 g υδατάνθρακες ανά kg νωπού βάρους, η οποία είναι μία κατάλληλη συγκέντρωση υποστρώματος για μικροβιακές διεργασίες μετατροπής (Horn et al., 2000a). Η έλλειψη της λιγνίνης στα φύκη συνεπάγεται ότι η σκληρή προκατεργασία που εφαρμόζεται για την απελευθέρωση των ζυμώσιμων σακχάρων από τη λιγνοκυτταρινούχα βιομάζα δεν απαιτείται. Η λαμιναρίνη και η μαννιτόλη εκχυλίζονται εύκολα με νερό (Horn et al., 2000b). Τα αλγινικά άλατα είναι παρόντα στη βιομάζα μακροφυκών σε ποσοστό 30-40% (Honya et al. 1993, McHugh 2003) και το αλγινικό νάτριο μπορεί να απομακρυνθεί από το αρχικό διάλυμα εκχύλισης ακολουθώντας τη διαδικασία παραγωγής αλγινικού νατρίου που προαναφέρθηκε (Ενότητα 6.2.1) (Kraan, 2010).

Παραγωγή βιοαιθανόλης από κυτταρινικά υλικά μπορεί να επιτευχθεί εκτελώντας ταυτόχρονα ενζυμική υδρόλυση και ζύμωση. Για την νωπή βιομάζα φυκών η υδρόλυση δεν είναι τόσο εύκολη, λόγω των αλγινικών αλάτων τα οποία είναι δυσκολότερο να απελευθερωθούν από τη βιομάζα προκαλώντας ενζυμική αποικοδόμηση της μη επεξεργασμένης βιομάζας και καθιστώντας την υδρόλυση περιοριστικό στάδιο του ρυθμού αν συνδυαστεί με ζύμωση. Η υδρόλυση πρέπει επομένως να είναι ένα μέρος της προκατεργασίας της βιομάζας. Αυτή η υδρόλυση μπορεί να διεξάγεται μηχανικά μέσω εξοπλισμού άλεσης και γαλακτωματοποίησης, χημικά χρησιμοποιώντας οξύ ή αλκάλι ή ενζυμικά. Αρκετές μέθοδοι για μερική ή πλήρη αποικοδόμηση των αλγινικών αλάτων ως αναπόσπαστο τμήμα μηχανικής προκατεργασίας της βιομάζας είναι γνωστές. Η χημική υδρόλυση θα πρέπει να ακολουθεί τις υπάρχουσες τεχνολογίες π.χ. με τροποποίηση και προσαρμογή των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την προ-επεξεργασία της βιομάζας ξύλου με οξύ και αλκάλι και με συνδυασμό τους οξέος ή του αλκάλεως με κατεργασία με ατμό. Γενικότερα, ο πιο εύκολος και φιλικός προς το περιβάλλον τρόπος προκατεργασίας της βιομάζας φυκών είναι μέσω ενός συνδυασμού μηχανικής και ενζυμικής υδρόλυσης (Kraan, 2010).

Γενικότερα, πριν από μια επιτυχημένη εμπορική εφαρμογή ενός βιοδιυλιστηρίου με βάση την επεξεργασία των φυκών αναγνωρίζονται μια σειρά από ερωτήματα και αβεβαιότητες που πρέπει να επιλυθούν. Αυτές σχετίζονται με την καλλιέργεια και τη συγκομιδή των φυκών στην Ευρώπη αλλά και την επακόλουθη επεξεργασία των συγκομισθέντων φυκών για τη μετατροπή τους σε βιοπροϊόντα και βιοενέργεια. Ένα άλλο πολύ σημαντικό θέμα είναι η «θαλάσσια αδειοδότηση». Στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες η άδεια υδατοκαλλιέργειας ή η άδεια για καλλιέργεια στον αιγιαλό πρέπει να λαμβάνονται από την κυβέρνηση ώστε να εξασφαλίζεται επαρκής επιφάνεια του ωκεανού προκειμένου να αναπτυχθεί η απαιτούμενη βιομάζα. Σήμερα

η απόκτηση άδειας υδατοκαλλιέργειας είναι ένα τεράστιο εμπόδιο στην προσπάθεια ανάπτυξης των βιοδιυλιστηρίων φυκών (Kraan, 2010).

### **8.2.2 Βιοδιυλιστήριο φυκών στο Sabah της Μαλαισίας**

Η Εικόνα 37 δείχνει τη μετατροπή των φυκών σε βιοαιθανόλη τρίτης γενιάς (TGB) μέσω του βιοδιυλιστηρίου φυκών στην πολιτεία Sabah της Μαλαισίας. Αυτό αποτελεί μία «πράσινη» και μηδενικής ρύπανσης ιδέα. Η ενσωμάτωση του οικοτουρισμού με την καλλιέργεια φυκών και τη διύλιση θα ήταν μια σοφή ιδέα δεδομένου ότι είναι σύμφωνη με την αρχή της αειφόρου ανάπτυξης. Αποτελεί επίσης έναν εναλλακτικό πόρο ζωής για την παράκτια οικονομία (Goh and Lee 2010, Subhadra 2010).

#### **α) Συλλογή**

Η συλλογή των φυκών μπορεί να γίνει κατά μήκος των θαλάσσιων δρόμων. Για να ξεπεραστούν οι δυσκολίες στη μεταφορά της υγροσκοπικής αιθανόλης, τα ξηρά φύκη μεταφέρονται σε μια κατάλληλη θέση για την παραγωγή αιθανόλης και τη διύλιση (Goh and Lee, 2010).

#### **β) Εκχύλιση και καθαρισμός των πολυσακχαριτών**

Η παρουσία του αλατιού θα προκαλέσει πρόβλημα κατά τη διάρκεια του καθαρισμού συνεπώς πρέπει να πραγματοποιείται αφαλάτωση των φυκών. Διάφορες τεχνολογίες αφαλάτωσης μελετήθηκαν όπως η ηλιακή αφαλάτωση (Arjunan et al., 2009). Όσον αφορά στη μέθοδο της εκχύλισης της καρραγενάνης δεν είναι ευρέως διαδεδομένη. Μία καλή απόδοση της καρραγενάνης μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 23% και 36%. Τα αποξηραμένα φύκη στη συνέχεια θα επεξεργαστούν με ζεστό νερό και αλκάλι για την εξαγωγή των πολυσακχαριτών. Το εκχύλισμα καθαρίζεται μέσω διήθησης και φυγοκέντρησης. Αυτές οι διεργασίες είναι και οι κύριες δαπάνες. Επί του παρόντος, υπάρχουν δύο επιλογές για την απομάκρυνση του νερού μετά από καθαρισμό: ξήρανση δια ψεκασμού σε θερμαινόμενα με ατμό βαρέλια ή κατακρήμνιση με αλκοόλη (Doty, 2009).

#### **γ) Υδρόλυση**

Οι προκύπτοντες πολυσακχαρίτες μπορούν να μετατραπούν σε ζυμώσιμα σάκχαρα μέσω ενζυμικής υδρόλυσης ή ήπιας όξινης υδρόλυσης. Στην ήπια όξινη υδρόλυση θειικό οξύ θα προστεθεί στους 80 °C και θα θερμανθεί στους 100 °C για 3 ώρες. Η εξουδετέρωση μπορεί να διεξαχθεί με BaCO<sub>3</sub> (Lin et al., 2000). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν ακόμη δημοσιοποιημένες τεχνολογίες που υδρολύουν καρραγενάνη με τη χρήση ενζύμων. Ωστόσο, πιστεύεται ότι η προώθηση της γενετικής μηχανικής είναι ικανή να τροποποιήσει τα διαθέσιμα ένζυμα όπως η αμυλάση ώστε να διεξάγουν τη διαδικασία υδρόλυσης (Goh and Lee, 2010).

### δ) Ζύμωση

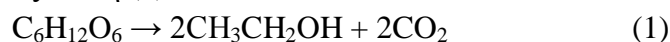
Μεγάλης κλίμακας ζύμωση γαλακτόζης προς αιθανόλη δεν είναι ακόμα διαθέσιμη. Στην πραγματικότητα η έρευνα για τη ζύμωση γαλακτόζης δεν είναι ακόμα επαρκής. Η γαλακτόζη έχει παρόμοια δομή με τη γλυκόζη και με έρευνες έχει αποδειχθεί ότι τα περισσότερα από τα μικρόβια που ήταν αποτελεσματικά στην οξειδωτική ζύμωση σε υπόστρωμα γλυκόζης είναι το ίδιο αποτελεσματικά στην οξειδωτική ζύμωση υποστρώματος γαλακτόζης (GB-Analysis Reports). Η ζύμη *Saccharomyces cerevisiae* είναι επίσης κατάλληλη για τη ζύμωση γαλακτόζης. Από την βιβλιογραφία ένα στέλεχος του *S. cerevisiae* βρέθηκε να εμφανίζει εξαιρετικές επιδόσεις στη ζύμωση της γαλακτόζης. Είναι ικανό να εξαντλήσει τα σάκχαρα σε σημαντικά μικρότερο χρονικό διάστημα (6 ώρες) από αυτό που τυπικά απαιτείται από άλλα στελέχη που δοκιμάστηκαν (10-24 h). Με τη χρήση του εν λόγω στελέχους, το μέγιστο όριο προϊόντος αιθανόλης ανά μονάδα υποστρώματος μπορεί να είναι 39% (Keating et al., 2004).

Οι Thomas et al. (Thomas et al., 2004) ανέφεραν τη ζύμωση γαλακτόζης από τα βακτήρια *Streptococcus lactis* και *Streptococcus cremoris*. Προτάθηκε ότι τα βακτήρια *Lactobacillus pentoceticus* είναι κατάλληλα για την παραγωγή αιθανόλης, δεδομένου ότι τείνουν να παράγουν κατά προτίμηση μεγάλες ποσότητες αιθανόλης από γαλακτόζη με μικρές ποσότητες οξικού οξέος (GB-Analysis Reports).

#### 8.2.2.1 Εκτιμώμενη παραγωγική ικανότητα της TGB από βιοδυλιστήρια φυκών

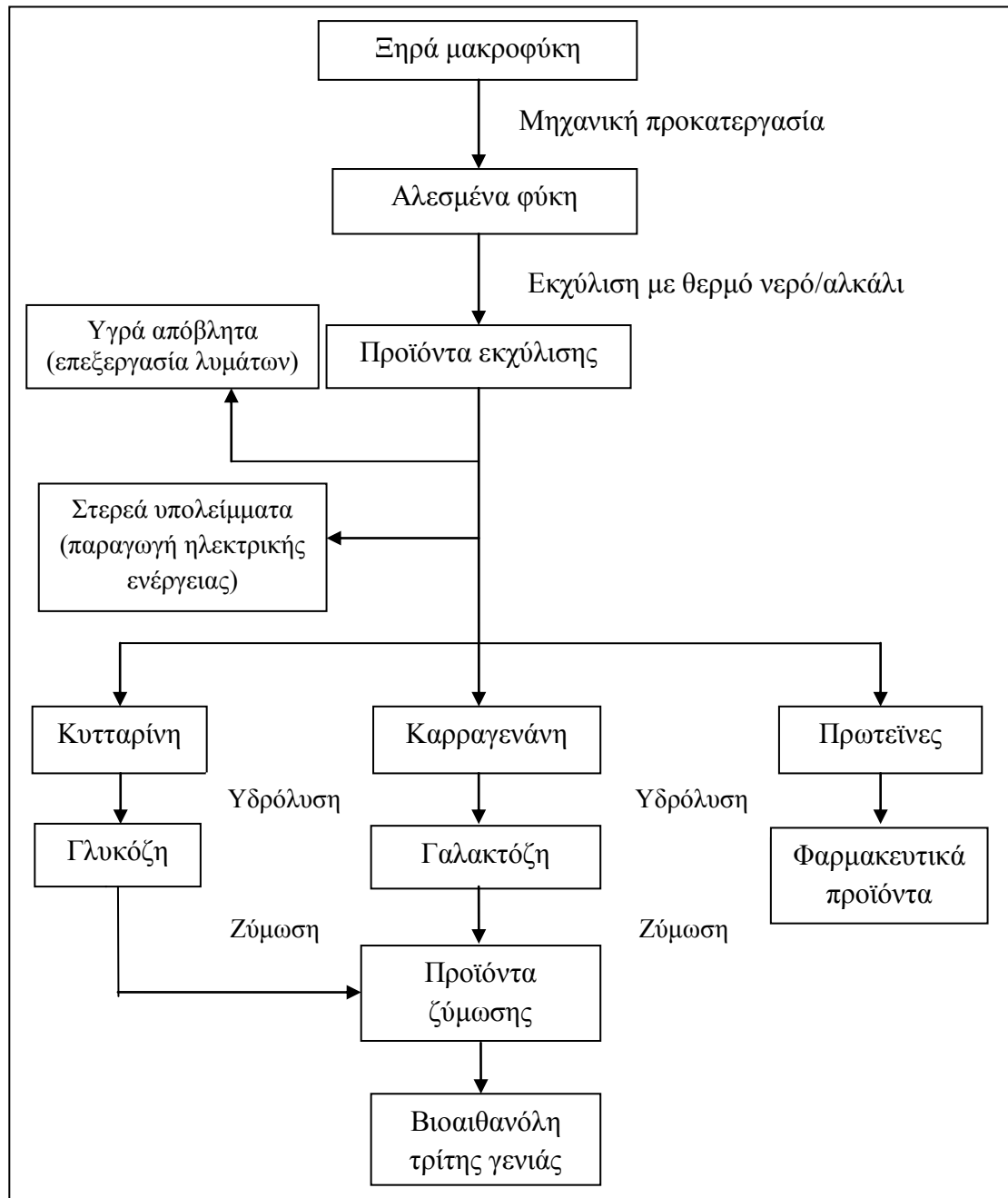
Για τον υπολογισμό της παραγωγικής ικανότητας της TGB από βιοδυλιστήρια φυκών χρησιμοποιείται η καλλιέργεια φυκών με τη μέθοδο της «μακριάς γραμμής». Δεδομένου λοιπόν ότι η επιφάνεια που χρειάζεται για μία γραμμή καλλιέργειας φυκών είναι 5 m<sup>2</sup>, ότι μία γραμμή παράγει 30 kg φυκών σε κάθε συγκομιδή και ότι το φύκος *Eucheuma spp* χρειάζεται 6-8 εβδομάδες ώστε να είναι έτοιμο για συγκομιδή συμπεραίνουμε ότι μπορούν να πραγματοποιηθούν 5 συγκομιδές σε ένα χρόνο. Εν ολίγοις, 3 kg φυκών μπορούν να συλλεχθούν από 1 m<sup>2</sup> επιφάνεια καλλιέργειας ετησίως (Goh and Lee, 2010).

Από τη βιβλιογραφία το γένος *Eucheuma spp.* περιέχει 70% υδατάνθρακες από τους οποίους το 56.2% της γαλακτόζης μπορεί να εξαχθεί από αυτούς. Ως εκ τούτου, μπορεί να υπολογιστεί ότι τα 0.3934 kg γαλακτόζης μπορούν να ληφθούν από 1 kg φυκών, που σημαίνει 1.18 kg από 1 m<sup>2</sup> της περιοχής καλλιέργειας ετησίως. Πιο συγκεκριμένα, στην πολιτεία Sabah η διαθέσιμη καλλιεργήσιμη έκταση εκτιμάται 102.413 ha. Με άλλα λόγια, 1,209 ktonnes γαλακτόζης μπορούν να παραχθούν στο Sabah ετησίως. Θεωρητικά, 1 kg γαλακτόζης αποδίδει 0.511 kg αιθανόλης σύμφωνα με την Εξίσωση (1).



Η απόδοση της ζύμωσης εκτιμάται ότι είναι 0.39. Με τη χρήση της Εξίσωσης (2) εκτιμάται η ετήσια απόδοση αιθανόλης από φύκη.

$$\text{Απόδοση αιθανόλης} = \text{Απόδοση γαλακτόζης} \times \text{Θεωρητική απόδοση} \times \text{Αποδοτικότητα ζύμωσης} \quad (2)$$



Εικόνα 37: Διάγραμμα ροής της μετατροπής των φυκών σε TGB χρησιμοποιώντας την ιδέα του βιοδιυλιστηρίου φυκών (Goh and Lee, 2010).

Η συνολική ποσότητα TGB που μπορεί να παραχθεί από τα φύκη εκτιμάται στους 241 κtonnes. Η ποσότητα θα αυξηθεί στο μέλλον με βελτιώσεις στην εκχύλιση και ζύμωση της γαλακτόζης. Χρησιμοποιώντας την καθαρή θερμογόνο δύναμη για την αιθανόλη 27 GJ / τόνο (Yeoh et al., 2000), η συνολική ενέργεια που δυνητικά είναι διαθέσιμη από την TGB είναι  $6.50 \times 10^6$  GJ. Με άλλα λόγια, η ενέργεια που παράγεται από την TGB μπορεί να εκπληρώσει περισσότερο από 88% της ενεργειακής ζήτησης στην πολιτεία. Εάν βιομάζα φυκών χρησιμοποιηθεί πλήρως για την παραγωγή TGB η υγρή βιοαιθανόλη έχει τη δυνατότητα να αντικαταστήσει εν



μέρει τα ορυκτά καύσιμα μέσω της χρήσης του gasohol (βενζίνη αναμειγμένη με οινόπνευμα) στα οχήματα ως ανανεώσιμη πηγή. Αυτό σημαίνει ότι το 35.5% της ζήτησης της χώρας σε ενέργεια μπορεί να εκπληρωθεί με μια καθαρότερη και βιώσιμη ανανεώσιμη πηγή ενέργειας (Goh and Lee, 2010).

## **II. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ**

## 1. Πρώτες ύλες

Η πρώτη ύλη που χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση των πειραμάτων ήταν μακροφύκη, τα οποία είτε ήταν διαθέσιμα στο εμπόριο είτε συλλέχθηκαν από τον Ατλαντικό Ωκεανό. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκαν τρία μακροφύκη εκ των οποίων εμπορικά διαθέσιμα ήταν: 1) η *Laminaria digitata* και 2) η *Saccharina (laminaria) longicruris* και το τρίτο που συλλέχθηκε από τον Ατλαντικό Ωκεανό ήταν επίσης του γένους *Saccharina (laminaria) longicruris*.

## 2. Όργανα

- Φωτόμετρο (Hitachi UV 2000)
- pH-μετρο 537 (WTW, Γερμανία)
- Ηλεκτρονικοί ζυγοί ακριβείας
- Υδατόλουτρο
- Συσκευή διήθησης υπό κενό
- Microplate reader (SpectraMax 250, Molecular Devices)

## 3. Προσδιορισμός σύστασης μακροφυκών

### 3.1 Προσδιορισμός υγρασίας (NREL/TP-510-42618)

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας των μακροφυκών η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

- Αρχικά «πιατάκια» αλουμινίου τοποθετήθηκαν στο φούρνο ξήρανσης (65°C) για τουλάχιστον 4 ώρες, ακολούθως μεταφέρθηκαν σε ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά, προκειμένου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβουν επιπλέον υγρασία και έπειτα ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό και καταγράφηκε το βάρος τους ( $Weight_{π.α.}$ ).
- Μία ποσότητα δείγματος τοποθετήθηκε στα «πιατάκια» αλουμινίου και καταγράφηκε το βάρος του ( $weight_{\text{δείγματος}}$ ) και έπειτα τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο φούρνο ξήρανσης (65°C) για 16 ώρες. Μετά το πέρας των 16 ωρών απομακρύνθηκαν από το φούρνο και μεταφέρθηκαν στον ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά προκειμένου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβουν επιπλέον υγρασία. Έπειτα καταγράφηκε το βάρος τους και η διαδικασία ξήρανσης επαναλήφθηκε μέχρι σταθερού βάρους ( $Weight_{π.α.ζ.δ.}$ ).

Το ποσοστό υγρασίας υπολογίστηκε με εφαρμογή της Εξίσωσης 1:

$$\% \text{Υγρασία} = 100 - \left( \frac{Weight_{π.α.ζ.δ.} - Weight_{π.α.}}{weight_{\text{δείγματος}}} \right) \times 100 \quad \text{Εξ. 1}$$

όπου,

$Weight_{π.α.}$  το ξηρό βάρος του «πιάτου» αλουμινίου (g),

$weight_{\text{δείγματος}}$  το βάρος δείγματος (g),

$Weight_{π.α.ζ.δ.}$  το βάρος του ξηρού «πιάτου» αλουμινίου συν το βάρος του ξηρού δείγματος (g).

### 3.2 Προσδιορισμός τέφρας (*ASTM E1755 – 01(2007) Standard Test Method for Ash in Biomass*)

Για τον προσδιορισμό της τέφρας των μακροφυκών η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής:

- Αρχικά πορσελάνινα χωνευτήρια αποτέφρωσης τοποθετήθηκαν σε κλίβανο τέφρας με ρύθμιση θερμοκρασίας στους  $575 \pm 25$  °C για τουλάχιστον 4 ώρες και ακολούθως μεταφέρθηκαν σε ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά, προκειμένου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβουν επιπλέον υγρασία. Έπειτα ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό και καταγράφηκε το βάρος τους ( $Weight_{\chi\omega\nu\nu\epsilon\upsilon\tau\eta\rho\iota\omicron\upsilon}$ ).
- Στα χωνευτήρια αποτέφρωσης τοποθετήθηκαν 0.5-2.0 g (με ακρίβεια 0.1 mg) δείγματος και καταγράφηκε το βάρος του ( $weight_{\delta\epsilon\iota\gamma\mu\alpha\tau\omicron\varsigma}$ ). Έπειτα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν στον κλίβανο αποτέφρωσης στους  $575 \pm 25$  °C για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών τα δείγματα απομακρύνθηκαν από τον κλίβανο και μεταφέρθηκαν στο ξηραντήρα (με silica gel) για τουλάχιστον 30 λεπτά, προκειμένου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβουν επιπλέον υγρασία και έπειτα καταγράφηκε το βάρος τους ( $Weight_{\chi.\tau.}$ ). Τα δείγματα επανατοποθετήθηκαν στον κλίβανο και ξηράνθηκαν μέχρι σταθερού βάρους ( $Weight_{\chi.\tau.}$ ).

Το ποσοστό τέφρας του δείγματος υπολογίστηκε με εφαρμογή της Εξίσωσης 2:

$$\% \text{ Τέφρα} = \left( \frac{Weight_{\chi.\tau.} - Weight_{\chi.}}{ODW} \right) \times 100 \quad \text{Εξ.2}$$

όπου,

$Weight_{\chi.}$  το ξηρό βάρος του χωνευτηρίου (g),

$Weight_{\chi.\tau.}$  το ξηρό βάρος του χωνευτηρίου συν το βάρος της τέφρας (g),

$ODW$  το ξηρό βάρος του δείγματος (g) όπως προσδιορίζεται από την Εξίσωση 3:

$$ODW = \left( \frac{Weight_{\delta\epsilon\iota\gamma\mu\alpha\tau\omicron\varsigma} \times \% \text{ ΣΥΝΟΛΙΚΉ ΣΤΕΡΕΉ}}{100} \right) \quad \text{Εξ.3}$$

όπου,

$$\% \text{ ΣΥΝΟΛΙΚΉ ΣΤΕΡΕΉ} = \left( \frac{Weight_{\pi.\alpha.\xi.\delta.} - Weight_{\pi.\alpha.}}{weight_{\delta\epsilon\iota\gamma\mu\alpha\tau\omicron\varsigma}} \right) \times 100 \quad \text{Εξ.4}$$

$Weight_{\pi.\alpha.}$  το ξηρό βάρος του «πιάτου» αλουμινίου (g),

$weight_{\delta\epsilon\iota\gamma\mu\alpha\tau\omicron\varsigma}$  το βάρος δείγματος (g),

$Weight_{\pi.\alpha.\xi.\delta.}$  το βάρος του ξηρού «πιάτου» αλουμινίου συν το βάρος του ξηρού δείγματος (g).

### 3.3 Προσδιορισμός του οργανικώς δεσμευμένου αζώτου με τη μέθοδο Kjeldahl (AOAC Method, 978.04)

Η μέθοδος Kjeldahl πραγματοποιήθηκε σε τρία στάδια: καύση του δείγματος, απόσταξη και τιτλοδότηση.

- α. Καύση.** Στον ειδικό σωλήνα καύσης της συσκευής Kjeldahl μεταφέρθηκαν διαδοχικά οι πυρήνες βρασμού, 10 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g ένυδρου CuSO<sub>4</sub>, η κατάλληλη ποσότητα δείγματος (~1.5-2.0 g μακροφυκών) και 25 mL π. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Το δείγμα τοποθετήθηκε στη συνέχεια στη συσκευή καύσης Kjeldahl. Η θέρμανση αρχικά ήταν ήπια (για 20 min) έως ότου αρχίσει ο αφρισμός, παρέμεινε ήπια για τουλάχιστον 15 min μέχρις ότου διαυγάστηκε το περιεχόμενο και έπειτα επικράτησαν συνθήκες έντονου βρασμού για 30 min. Ακολούθως, η φιάλη με το περιεχόμενό της αφέθηκε να ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- β. Απόσταξη.** Αφού ψύχθηκε ο σωλήνας προστέθηκαν αρχικώς 75 mL απιονισμένου νερού και στη συνέχεια 125 mL διαλύματος καυστικού νατρίου, 32% (β/β). Στη συνέχεια προσαρμόστηκε στην ειδική συσκευή απόσταξης Kjeldahl και το απόσταγμα διαβιβάστηκε σε 50 mL διαλύματος θεικού οξέος 0.5 N. Η διαδικασία της απόσταξης τερματίστηκε με τη συλλογή 200 mL αποστάγματος.
- γ. Τιτλοδότηση.** Τιτλοδοτήθηκε το υπολειπόμενο θεικό οξύ με διάλυμα καυστικού νατρίου 0.5 N και δείκτη ερυθρό μεθυλίου-μπλε μεθυλενίου (παρασκευή δείκτη: 0.125 g ερυθρό μεθυλίου + 0.08 g μπλε μεθυλενίου σε 100 mL αιθανόλης). Παράλληλα εκτελέστηκε και λευκός προσδιορισμός.

#### Υπολογισμός της περιεκτικότητας σε οργανικώς δεσμευμένο άζωτο και πρωτεΐνες

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε οργανικώς δεσμευμένο άζωτο υπολογίστηκε από την Εξίσωση 5:

$$\%N = 1.4007 \times \frac{(V_1 - V_2) \times N}{ODW} \quad \text{Εξ. 5}$$

όπου,

$V_1$  και  $V_2$  οι καταναλωθέντες όγκοι (mL) του προτύπου διαλύματος καυστικού νατρίου κατά τον λευκό και κυρίως προσδιορισμό αντιστοίχως,

$N$  η κανονικότητα του προτύπου διαλύματος καυστικού νατρίου,

$ODW$  το ξηρό βάρος του δείγματος (g).

Το ποσοστό του αζώτου στις περισσότερες πρωτεΐνες είναι 16% (β/β). Έτσι χρησιμοποιείται συνήθως ο συντελεστής 6.25 για να μετατρέψει την περιεκτικότητα του αζώτου σε περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη σύμφωνα με την Εξίσωση 6:

$$\% \text{ Protein} = 6.25 \times \% N \quad \text{Εξ. 6}$$

όπου,

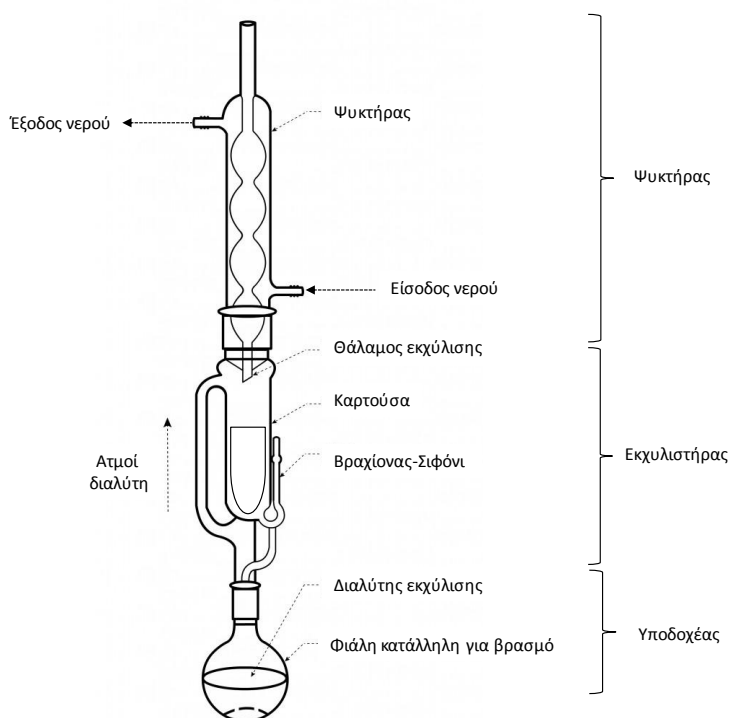
%Protein η εκατοστιαία κατά βάρος περιεκτικότητα του δείγματος σε πρωτεΐνη,

%N η εκατοστιαία κατά βάρος περιεκτικότητα του δείγματος σε άζωτο.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι μετρήσεις της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκαν στη συσκευή καύσης και απόσταξης Kjeldahl που διαθέτει το Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ.

### 3.4 Προσδιορισμός λιπαρών (AOAC Method 920.39C)

Για τον προσδιορισμό των λιπαρών χρησιμοποιήθηκε η ειδική συσκευή Soxhlet, η οποία αποτελείται από (α) τον υποδοχέα, (β) τον εκχυλιστήρα, (γ) το συμπυκνωτήρα/ψυκτήρα και απεικονίζεται αναλυτικά στην Εικόνα 1.



Εικόνα 1: Διάταξη συσκευής Soxhlet.

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των λιπαρών ήταν η εξής:

- Αρχικά οι καρτούσες τοποθετήθηκαν σε φούρνο ξήρανσης (65°C) για 16 ώρες, ακολούθως μεταφέρθηκαν σε ξηραντήρα για τουλάχιστον 30 λεπτά προκειμένου να έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς να επαναπροσλάβουν επιπλέον υγρασία και τέλος ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό και το βάρος τους καταγράφηκε (η διαδικασία ξήρανσης συνεχίστηκε μέχρι τη λήψη σταθερού βάρους).
- Έπειτα, τοποθετήθηκε συγκεκριμένη ποσότητα δείγματος στην ξηρή καρτούσα και το μικτό βάρος (καρτούσα συν δείγμα) καταγράφηκε.
- Στη συνέχεια, αφού η καρτούσα τοποθετήθηκε στο θάλαμο εκχύλισης και συγκεκριμένη ποσότητα οργανικού διαλύτη στον υποδοχέα, συναρμολογήθηκε η συσκευή Soxhlet και τέθηκε σε λειτουργία. Δηλαδή διαβιβάστηκε νερό στον ψυκτήρα και θερμάνθηκε ο υποδοχέας. Μετά το

πέρασ 6 ωρών απομακρύνθηκε η καρτούσα από τη συσκευή και εισήχθη σε φούρνο ξήρανσης (65°C) για 16 ώρες. Έπειτα μεταφέρθηκε σε ξηραντήρα για 30 λεπτά και ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό. Η διαδικασία ξήρανσης συνεχίστηκε μέχρι σταθερού βάρους.

Αρχικά υπολογίστηκε το βάρος του δείγματος από το οποίο επρόκειτο να εκχυλιστούν τα λιπαρά με εφαρμογή της Εξίσωσης 7:

$$Weight_{\text{δείγματος}} = Weight_{\xi, \kappa, \delta} - Weight_{\xi, \kappa} \quad \text{Εξ. 7}$$

όπου,

$Weight_{\text{δείγματος}}$  είναι το βάρος του δείγματος που θα εκχυλιστεί (g)

$Weight_{\xi, \kappa, \delta}$  είναι το συνολικό βάρος της ξηρής καρτούσας-δείγματος (g)

$Weight_{\xi, \kappa}$  είναι το βάρος της ξηρής καρτούσας (g).

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε λιπαρά υπολογίστηκε από την Εξίσωση 8:

$$\% \text{ λιπαρά} = \left( \frac{Weight_{\text{δείγματος}} - Weight_{\xi, \text{εκχ.}\delta}}{Weight_{\text{δείγματος}}} \right) \times 100 \quad \text{Εξ. 8}$$

όπου,

$Weight_{\xi, \text{εκχ.}\delta}$  είναι το ξηρό βάρος του εκχυλισμένου δείγματος (g).

### 3.5 Εκχύλιση πολυσακχαριτών

Η εκχύλιση των πολυσακχαριτών των μακροφυκών πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή της μεθόδου που περιγράφεται από τους Rioux et al., 2007. Στο μακροφύκος μη εμπορικού χαρακτήρα η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε μία φορά επιπλέον, για δείγματα αυτού τα οποία πρώτα εκπλύθηκαν. Η πειραματική διαδικασία συνοψίζεται στην Εικόνα 2.

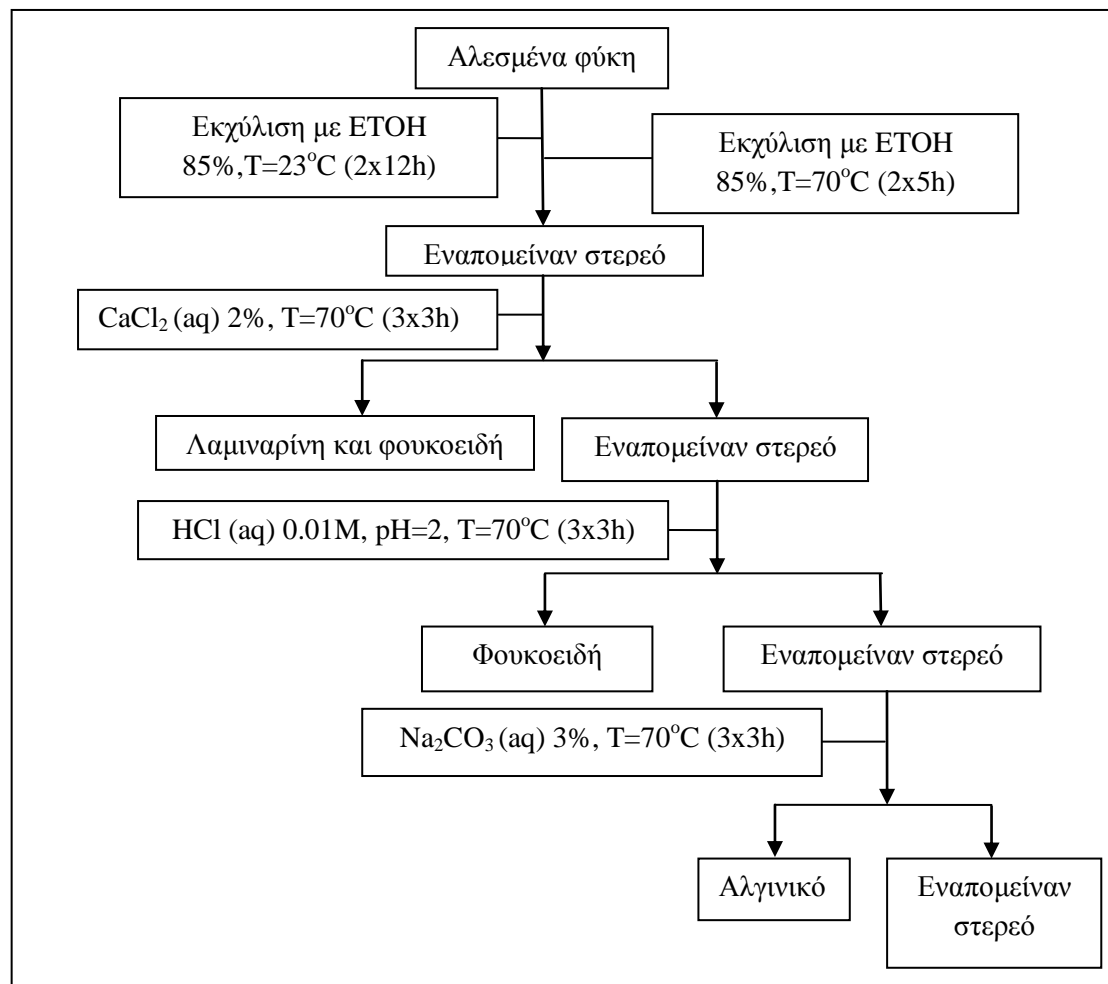
Πριν την έναρξη της πειραματικής διαδικασίας τα μακροφύκη αλέστηκαν στο κατάλληλο μέγεθος. Οι πολυσακχαρίτες εκχυλίστηκαν από τα αλεσμένα φύκη χρησιμοποιώντας εκλεκτικούς διαλύτες με σταθερή μηχανική ανάδευση 100 rpm και η θερμοκρασία ελεγχόταν με τη χρήση υδατόλουτρου.

**Απομάκρυνση χρωστικών και πρωτεϊνών:** 3 g αλεσμένου φύκους τοποθετήθηκαν σε κωνική φιάλη των 250 mL και προστέθηκαν 100 mL αιθανόλης (85% (o/o)). Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (23°C) για 12 h υπό ανάδευση. Μετά το πέρας των 12 ωρών απομακρύνθηκε η αιθανόλη με διήθηση υπό κενό και στο εναπομείναν στερεό προστέθηκε εκ νέου αιθανόλη και ακολούθησε η δεύτερη εκχύλιση στις ίδιες συνθήκες. Όταν ολοκληρώθηκε η εκχύλιση, συλλέχθηκε η αιθανόλη και το στερεό όπως παραπάνω. Το στερεό στη συνέχεια εκχυλίστηκε με 100 mL αιθανόλης (85% (o/o)) στους 70 °C για 5 h. Μετά το πέρας των 5 ωρών συλλέχθηκε η αιθανόλη και το στερεό υποβλήθηκε εκ νέου σε εκχύλιση, υπό τις ίδιες συνθήκες (70°C, 5 h). Μετά το πέρας της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε διήθηση υπό κενό σε προζυγισμένους γυάλινους ηθμούς, οι οποίοι στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στο φούρνο (65°C) για ξήρανση.

**Απομάκρυνση λαμιναρίνης και φουκοειδών:** τα ξηρά φύκη του προηγούμενου σταδίου υποβλήθηκαν σε εκχύλιση με  $\text{CaCl}_2$  2% (β/ο), σε αναλογία στερεού/υγρού 1/6, στους  $70^\circ\text{C}$  για 3 h. Μετά το πέρας των 3 ωρών πραγματοποιούνταν φυγοκέντριση και το στερεό υποβαλλόταν σε νέα εκχύλιση. Η διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές και μετά την ολοκλήρωσή της ακολούθησε διήθηση υπό κενό σε προζυγισμένους γυάλινους ηθμούς και ξήρανση του εναπομείναντος στερεού.

**Απομάκρυνση φουκοειδών:** τα εναπομείναντα στερεά κατεργάστηκαν με  $\text{HCl}$  0.01M,  $\text{pH}=2$  στους  $70^\circ\text{C}$  και αναλογία στερεού/υγρού 1/6. Μετά το πέρας των 3 ωρών πραγματοποιούνταν φυγοκέντριση και το στερεό υποβαλλόταν σε νέα εκχύλιση. Η διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές και μετά την ολοκλήρωσή της ακολούθησε διήθηση υπό κενό σε προζυγισμένους γυάλινους ηθμούς και ξήρανση του εναπομείναντος στερεού.

**Απομάκρυνση αλγινικού:** τα εναπομείναντα στερεά κατεργάστηκαν με  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  3% (β/ο), στους  $70^\circ\text{C}$  και αναλογία στερεού/υγρού 1/6. Μετά το πέρας των 3 ωρών πραγματοποιούνταν φυγοκέντριση και το στερεό υποβαλλόταν σε νέα εκχύλιση. Η διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές και μετά την ολοκλήρωσή της ακολούθησε διήθηση υπό κενό σε προζυγισμένους γυάλινους ηθμούς και ξήρανση του εναπομείναντος στερεού.



Εικόνα 2: Εκχύλιση πολυσακχαριτών με ειλεκτικούς διαλύτες.

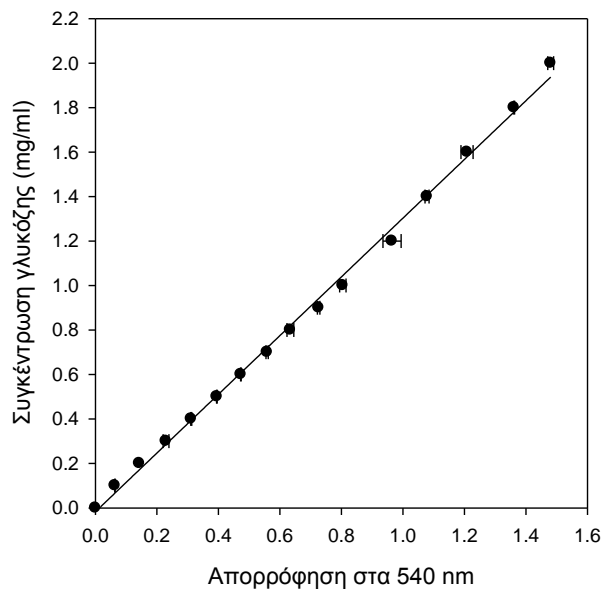


#### 4. Μέτρηση αναγωγικών υδατανθράκων με τη μέθοδο DNS

Η μέτρηση αναγωγικών υδατανθράκων πραγματοποιήθηκε με τη φωτομετρική μέθοδο του 3,5-δινιτροσαλικυλικού οξέος (DNS ή 2-υδρόξυ-3,5-δινιτροβενζοϊκό οξύ).

Σε δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετήθηκαν 0.5 mL δείγματος προς προσδιορισμό και 0.5 mL διαλύματος 3,5-δινιτροσαλικυλικού οξέος και το προκύπτον μίγμα αναμίχθηκε σε συσκευή vortex. Επιπλέον χρησιμοποιήθηκε ένα τυφλό δείγμα στο οποίο αντί για δείγμα προστέθηκε ίδια ποσότητα νερού. Ακολούθησε βρασμός για 5 min και έπειτα προστέθηκαν 4 mL απιονισμένου νερού και ακολούθησε ανάμιξη σε συσκευή vortex. Τα δείγματα φωτομετρήθηκαν σε μήκος κύματος 540 nm. Για το μηδενισμό του φωτόμετρου χρησιμοποιήθηκε το δείγμα που περιείχε απιονισμένο νερό. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν.

Τα αναγωγικά σάκχαρα εκφράστηκαν μέσω καμπύλης αναφοράς σε ισοδύναμα γλυκόζης. Η καμπύλη αναφοράς που χρησιμοποιήθηκε παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 1 και για την κατασκευή της πραγματοποιήθηκαν αραιώσεις με απιονισμένο νερό σε πρότυπο διάλυμα γλυκόζης συγκέντρωσης 2.0 mg/mL.

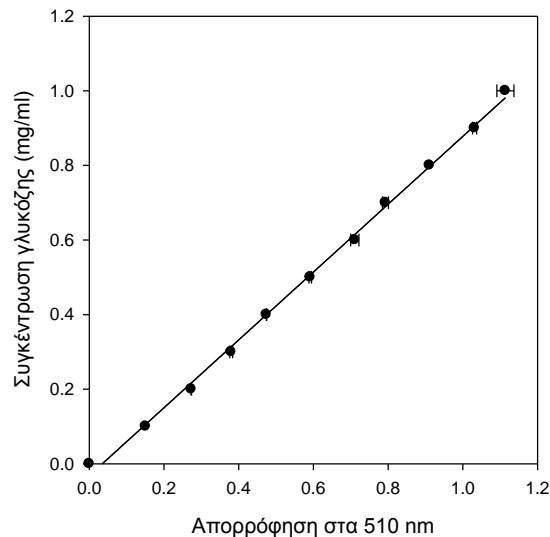


Διάγραμμα 1: Καμπύλη αναφοράς γλυκόζης με  
 $C_{\text{γλυκόζης}} \text{ (mg/mL)} = 1.3199 \cdot \text{ABS}_{540 \text{ nm}} - 0.0168$   
 $(R^2=0.997, p<0.0001)$

#### 5. Προσδιορισμός συγκέντρωσης γλυκόζης με τη χρήση ειδικού εμπορικού διαγνωστικού σκευάσματος (kit)

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της γλυκόζης έγινε με τη βοήθεια microplate reader (SpectraMax 250, Molecular Devices). Στην πλάκα μικροτιτλοδότησης τοποθετήθηκαν 10 μl του προς προσδιορισμό δείγματος και 240 μl του διαλύματος εργασίας. Ακολούθησε επώαση στους 37 °C για 15 min και μέτρηση σε μήκος κύματος 510 nm. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν. Η συγκέντρωση της γλυκόζης υπολογίστηκε με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς που παρουσιάζεται

στο Διάγραμμα 2, για την κατασκευή της οποίας πραγματοποιήθηκαν αραιώσεις σε πρότυπο διάλυμα γλυκόζης συγκέντρωσης 1.0 mg/mL με απιονισμένο νερό.



Διάγραμμα 2: Καμπύλη αναφοράς γλυκόζης με  
 $C_{\text{γλυκόζης}} \text{ (mg/mL)} = 0.9096 \cdot \text{ABS}_{510 \text{ nm}} - 0.0317$   
 $(R^2=0.998, p<0.0001)$

## 6. Ανάλυση στερεού υπολείμματος – μέθοδος NREL

Η ανάλυση των διαφόρων στερεών υπολειμμάτων έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο NREL (Sluiter, 2005). Συνοπτικά, περιλάμβανε την όξινη υδρόλυση 300 mg από το ξηρό δείγμα με 3 mL διαλύματος 72% (β/β) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> για 60 min στους 30 °C, έπειτα αραιώση με 84 mL απιονισμένο νερό και επώαση σε κλίβανο αποστείρωσης στους 121°C για 60 min. Μετά από εξουδετέρωση των διαλυμάτων με CaCO<sub>3</sub> και φυγοκέντριση (10 min, 10000 rpm), έγινε μέτρηση των συνολικών αναγωγικών σακχάρων και της γλυκόζης στο υπερκείμενο υγρό.

## 7. Επίδραση συγκέντρωσης στερεού, χρόνου και θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *Saccharina longicruris*

Για την εκχύλιση της λαμιναρίνης από την πρώτη ύλη ποσότητα αλεσμένου δείγματος ζυγίστηκε και τοποθετήθηκε σε κωνική φιάλη των 100 mL. Σε αυτή προστέθηκε η κατάλληλη ποσότητα νερού pH=2, η τιμή του οποίου ρυθμίστηκε με διάλυμα 2M HCl. Στη συνέχεια η κωνική φιάλη τοποθετήθηκε σε υδατόλουτρο στο οποίο με σταθερή διατηρούμενη θερμοκρασία πραγματοποιήθηκε η εκχύλιση. Η εκχύλιση έγινε εις διπλούν.

Ειδικότερα μελετήθηκαν:

**α) Αναλογία στερεού/υγρής φάσης:** 1 % β/ο, 3 % β/ο, 5 % β/ο, 7 % β/ο.

**β) Θερμοκρασία:** 35 °C, 45 °C, 55 °C, 65 °C, 75 °C.

**γ) Χρόνος εκχύλισης:** 0.5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h.

Μετά την ολοκλήρωση της εκάστοτε εκχύλισης ακολούθησε διήθηση υπό κενό του δείγματος και έκπλυση αυτού με απιονισμένο νερό. Μέσω της διήθησης διαχωρίστηκαν: το στερεό υπόλειμμα το οποίο συλλέχθηκε σε προζυγισμένο χαρτί

διήθησης και το εκχύλισμα. Το στερεό υπόλειμμα τοποθετήθηκε σε φούρνο ξήρανσης (65°C) για 16 h. Έπειτα μεταφέρθηκε σε ξηραντήρα για 30 λεπτά και ζυγίστηκε σε αναλυτικό ζυγό. Η διαδικασία ξήρανσης συνεχίστηκε μέχρι σταθερού βάρους. Από τη διαφορά αρχικού και τελικού βάρους του δείγματος, υπολογίστηκε η συνολική ποσοστιαία απώλεια βάρους.

Στο στερεό ξηρό υπόλειμμα της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε ανάλυση με τη μέθοδο NREL.

### 8. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *Saccharina longicuris*

Μελετήθηκε η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicuris* συγκέντρωσης 5% (β/ο), όπου ως υγρή φάση χρησιμοποιήθηκε ποσότητα νερού με τιμή pH=2 η οποία ρυθμίστηκε με διάλυμα 2M HCl. Μετά το στάδιο της εκχύλισης του υλικού πραγματοποιήθηκε διήθηση υπό κενό και έκπλυση αυτού με απιονισμένο νερό. Το στερεό υπόλειμμα οδηγήθηκε σε φούρνο ξήρανσης (65°C) για 16 ώρες. Έπειτα έγινε ανάλυση αυτού με τη μέθοδο NREL. Η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας εκτιμήθηκε με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design).

Η σχέση μεταξύ των κωδικοποιημένων τιμών των μεταβλητών και των πραγματικών τιμών περιγράφεται από την Εξίσωση 9:

$$X_i = \frac{(A_i - A_0)}{\Delta A} \quad \text{Εξ. 9}$$

όπου  $X_i$  είναι η κωδικοποιημένη τιμή της μεταβλητής,  $A_i$  η πραγματική τιμή της μεταβλητής,  $A_0$  η κεντρική τιμή της μεταβλητής  $A_i$  και  $\Delta A$  το βήμα μεταβολής των τιμών της μεταβλητής.

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται οι ανεξάρτητες μεταβλητές καθώς και τα επίπεδα των συγκεκριμένων μεταβλητών. Δημιουργήθηκε η μήτρα σχεδιασμού η οποία περιλαμβάνει 9 διακριτά πειράματα (Πίνακας 2).

**Πίνακας 1:** Μεταβλητές και επίπεδα πειραματικού σχεδιασμού.

Ανεξάρτητες μεταβλητές	Κωδικοποίηση	Επίπεδα		
		-1	0	1
Θερμοκρασία (°C)	$X_1$	55	65	75
Χρόνος (h)	$X_2$	1	2	3

**Πίνακας 2:** Μήτρα σχεδιασμού.

A/A	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
1	-1	-1
2	0	-1
3	1	-1
4	-1	0
5	0	0
6	1	0
7	-1	1
8	0	1
9	1	1

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται οι πραγματικές τιμές των δύο μεταβλητών (χρόνου και θερμοκρασίας).

**Πίνακας 3:** Πραγματικές τιμές μεταβλητών.

A/A	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
1	55	1
2	65	1
3	75	1
4	55	2
5	65	2
6	75	2
7	55	3
8	65	3
9	75	3

Το δευτεροβάθμιο μοντέλο στο οποίο προσαρμόστηκαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων περιγράφεται από την Εξίσωση 10:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \beta_{11} \cdot X_1^2 + \beta_{22} \cdot X_2^2 + \beta_{12} \cdot X_1 \cdot X_2 \quad \text{Εξ. 10}$$

όπου,

$Y$  η εξαρτημένη μεταβλητή,  $\beta_0$  σταθερά του μοντέλου,  $X_1$  και  $X_2$  οι ανεξάρτητες μεταβλητές,  $\beta_1$  και  $\beta_2$  οι συντελεστές των γραμμικών όρων,  $\beta_{11}$  και  $\beta_{22}$  οι συντελεστές των τετραγωνικών όρων και  $\beta_{12}$  ο συντελεστής αλληλεπίδρασης των δύο όρων.

### **III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### 1. Σύσταση των μακροφυκών

Για τον προσδιορισμό της σύστασης των μακροφυκών και πιο συγκεκριμένα της περιεκτικότητας σε υγρασία, λιπαρά, πρωτεΐνες και τέφρα χρησιμοποιήθηκαν πρότυπες μέθοδοι ενώ για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πολυσακχαριτών τους ακολουθήθηκε συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία (σύμφωνα με την περιγραφή στο κεφάλαιο Μέθοδοι & Υλικά).

Στους Πίνακες 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 παρουσιάζεται η σύσταση των μακροφυκών *L. digitata* και *S. longicuris*, όπως προσδιορίστηκε πειραματικά.

Πίνακας 1.1: Σύσταση μακροφύκου *Laminaria digitata*.

Συστατικό	Περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση)
Λιπαρά	4.39±0.15
Πρωτεΐνες	0.51±0.03
Τέφρα	17.11±0.83
Λαμιναρίνη	3.62±0.18
Αλγινικό	7.70±1.35
Χρωστικές	47.3±0.06
Φουκοειδή	17.46±0.08

\*Υγρασία: 9.22±0.02

Πίνακας 1.2: Σύσταση μακροφύκου *Saccharina longicuris*.

Συστατικό	Περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση)
Λιπαρά	3.17±0.83
Πρωτεΐνες	11.60±0.26
Τέφρα	23.58±2.67
Λαμιναρίνη	3.15±0.05
Αλγινικό	9.94±0.55
Χρωστικές	36.08±0.44
Φουκοειδή	6.46±0.18

\*Υγρασία: 6.05±0.07

Πίνακας 1.3: Σύσταση μακροφύκους *Saccharina longicuris* (με αλάτι).

Συστατικό	Περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση)
Λιπαρά	5.27±0.24
Πρωτεΐνες	13.12±0.00
Τέφρα	25.80±1.79
Λαμιναρίνη	2.31±0.06
Αλγινικό	2.49±0.04
Χρωστικές	34.53±0.24
Φουκοειδή	8.35±0.35

\*Υγρασία: 6.43±0.14

Πίνακας 1.4: Σύσταση μακροφύκους *Saccharina longicuris* (μετά από ξέπλυμα).

Συστατικό	Περιεκτικότητα (% β/β, ξηρή βάση)
Λιπαρά	7.99±0.45
Πρωτεΐνες	13.12±0.00
Τέφρα	10.17±0.11
Λαμιναρίνη	4.14±0.13
Αλγινικό	4.77±0.13
Χρωστικές	40.21±0.86
Φουκοειδή	11.51±0.17

\*Υγρασία: 5.63±0.16

Από τους Πίνακες 1.1-1.4 παρατηρούμε ότι η σύσταση του μακροφύκους *L. digitata* και *S. longicuris* διαφέρει όσον αφορά κυρίως στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, τέφρα, φουκοειδή και χρωστικές κάτι το οποίο είναι λογικό δεδομένου ότι διαφορετικό είδος φύκους συνεπάγεται και διαφορετική χημική σύνθεση (Haug and Jensen, 1954). Ειδικότερα, πρέπει να σημειωθεί ότι η χημική σύνθεση του μακροφύκους *S. longicuris* παρουσιάζει μικρές ομοιότητες με την αντιπροσωπευτική

των καφέ μακροφυκών η οποία αναφέρεται στη βιβλιογραφία (Ενότητα 3.1.1, Πίνακας 5). Η διαφοροποίηση της σύστασης των δύο μακροφυκών από την αντιπροσωπευτική που αναφέρεται στη βιβλιογραφία, οφείλεται στο γεγονός ότι η χημική σύνθεση των φυκών ποικίλλει αρκετά ανάλογα με την εποχή συγκομιδής τους καθώς και μεταξύ των φυσικών περιβαλλόντων. Η λαμιναρίνη είναι ο κύριος αποθηκευτικός πολυσακχαρίτης των καφέ φυκών άρα η περιεκτικότητά της ποικίλλει ανάλογα με τη χρονική περίοδο συγκομιδής. Παρατηρείται συσσώρευση αυτής από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο ενώ οι ελάχιστες περιεκτικότητες παρατηρούνται τους μήνες Νοέμβριο, Δεκέμβριο, Ιανουάριο και Φεβρουάριο (Haug and Jensen 1954, Lenstra et al. 2011). Μικρή περιεκτικότητα σε λαμιναρίνη παρουσιάζει τόσο το μακροφύκος *L. digitata* όσο και το *S. longicruris*.

Από τους Πίνακες 1.2-1.4 παρατηρείται ότι υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ της σύστασης του μακροφύκου *S. longicruris* του εμπορίου και αυτής του μακροφύκου που προέρχεται από καλλιέργεια στον ωκεανό. Ειδικότερα, το μακροφύκος που προέρχεται από καλλιέργεια στον ωκεανό και έχει υποστεί έκπλυση παρουσιάζει υψηλότερη περιεκτικότητα σε όλα τα συστατικά πλην της τέφρας και του αλγινικού απ' ότι το μακροφύκος του εμπορίου. Η αυξημένη περιεκτικότητα του μακροφύκου που υπέστη έκπλυση σε λιπαρά, λαμιναρίνη, αλγινικό, χρωστικές και φουκοειδή σε σχέση με αυτή του μη ξεπλυμένου φύκου πιθανώς οφείλεται στο ότι η παρουσία του αλατιού δυσχεραίνει την αποτελεσματική εκχύλιση των διαφόρων συστατικών από το μακροφύκος. Η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε τέφρα δικαιολογείται από το γεγονός ότι με την έκπλυση απομακρύνεται το αλάτι. Όσον αφορά στο μακροφύκος που προέρχεται από τον ωκεανό και δεν υπέστη έκπλυση, παρουσιάζει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λαμιναρίνη, αλγινικό και χρωστικές από αυτό του εμπορίου.

Στον Πίνακα 1.5 παρουσιάζεται η περιεκτικότητα των μακροφυκών σε συνολικά αναγωγικά σάκχαρα (εκτός της γλυκόζης), όπως αυτή υπολογίστηκε με την εφαρμογή της μεθόδου DNS στο υπερκείμενο υγρό που προκύπτει από τη μέθοδο NREL.

Πίνακας 1.5: Περιεκτικότητα (%) των μακροφυκών σε συνολικά αναγωγικά σάκχαρα (εκτός της γλυκόζης).

Μακροφύκος	Περιεκτικότητα (%) σε συνολικά αναγωγικά σάκχαρα (εκτός της γλυκόζης)
<i>Laminaria digitata</i>	28.87±0.96
<i>Saccharina(laminaria) longicruris</i> (εμπορίου)	22.66±0.13
<i>Saccharina(laminaria) longicruris</i> (με αλάτι)	23.00±0.08
<i>Saccharina(laminaria) longicruris</i> (μετά από ξέπλυμα)	36.84±0.32



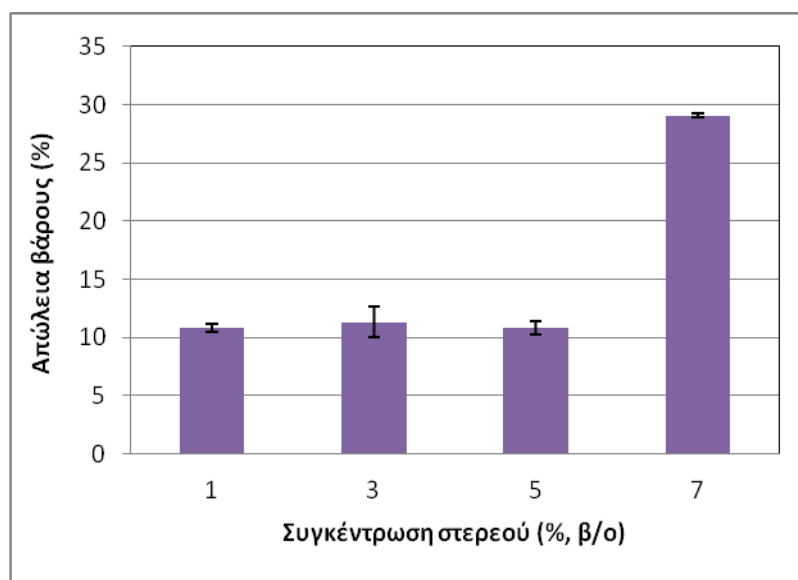
Από τον Πίνακα 1.5 συμπεραίνουμε ότι τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε συνολικά αναγωγικά σάκχαρα (εκτός της γλυκόζης) έχει το μακροφύκος *S. longicruris* το οποίο προέρχεται από καλλιέργεια σε ωκεανό και έχει υποστεί έκπλυση. Επίσης, η περιεκτικότητα αυτού είναι αρκετά μεγαλύτερη από την περιεκτικότητα που υπολογίστηκε για το μακροφύκος που δεν υπέστη έκπλυση, κάτι το οποίο πιθανώς οφείλεται στο γεγονός ότι η παρουσία του αλατιού δυσχέραινε την όξινη υδρόλυση του ξηρού δείγματος στη μέθοδο NREL ώστε να προσδιοριστεί η ακριβής περιεκτικότητα του μακροφύκους σε συνολικά αναγωγικά σάκχαρα.

Για τα περαιτέρω πειράματα χρησιμοποιήθηκε το μακροφύκος *S. longicruris* το οποίο είχε υποστεί έκπλυση.

## 2. Επίδραση της συγκέντρωσης (αναλογία στερεού/υγρής φάσης) στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *Saccharina longicruris*

Η εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 65 °C, για 1 h και παρουσία νερού pH=2 η τιμή του οποίου ρυθμίστηκε με διάλυμα 2M HCl. Μελετήθηκαν διάφορες συγκεντρώσεις του μακροφύκους (1, 3, 5 και 7% (β/ο)) στις προαναφερθείσες συνθήκες εκχύλισης.

Η απώλεια βάρους που παρατηρήθηκε μετά το πέρας των εκχυλίσεων των διαφορετικών συγκεντρώσεων του φύκους *S. longicruris*, σε χρονικό διάστημα 1 h και θερμοκρασία 65 °C παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 2.1 και στον Πίνακα 2.1.



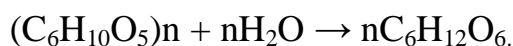
Διάγραμμα 2.1: Ποσοστιαία απώλεια βάρους μετά την εκχύλιση (1 h, 65 °C) συναρτήσει της συγκέντρωσης (% β/ο) του μακροφύκους *S. longicruris*.

Πίνακας 2.1: Ποσοστιαία απώλεια βάρους μετά την εκχύλιση (1 h, 65 °C) διαφορετικών συγκεντρώσεων (% β/ο) του μακροφύκου *S. longicurvus*.

Συγκέντρωση (% β/ο)	Ποσοστιαία Απώλεια Βάρους (%)
1	10.85±0.25
3	11.33±0.94
5	10.84±0.39
7	29.07±0.11

Η μέγιστη απώλεια βάρους (29.07%) παρατηρείται σε συγκέντρωση μακροφύκου 7% (β/ο). Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι υπήρχαν προβλήματα ρεολογίας στη συγκεκριμένη συγκέντρωση λόγω του υψηλού ιξώδους του αιωρήματος.

Το στερεό υπόλειμμα των εκχυλίσεων αναλύθηκε με την μέθοδο NREL και στο υπερκείμενο υγρό που προκύπτει από αυτή έγινε μέτρηση των συνολικών αναγωγικών σακχάρων και της γλυκόζης. Η λαμιναρίνη είναι πολυσακχαρίτης με δομική μονάδα τη γλυκόζη και για τη μετατροπή της λαμιναρίνης σε γλυκόζη ισχύει η παρακάτω εξίσωση:



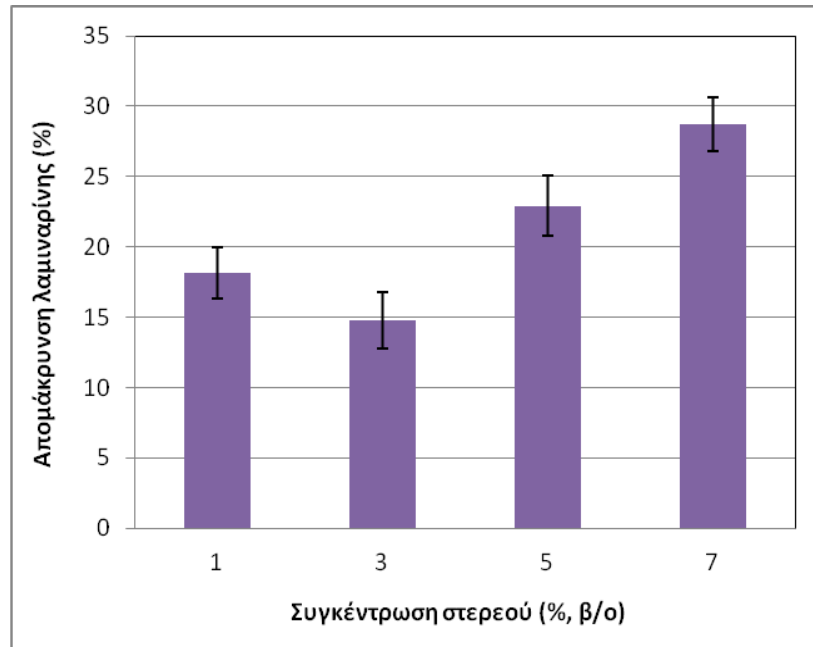
Δηλαδή, ο συντελεστής μετατροπής της γλυκόζης σε λαμιναρίνη είναι ίσος με 0.9.

Η συγκέντρωση λαμιναρίνης στο στερεό υπόλειμμα των εκχυλίσεων που αναλύθηκε με τη μέθοδο NREL ανήχθη στο αρχικό στερεό και παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.2.

Πίνακας 2.2: Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού) μετά το πέρας των εκχυλίσεων (1 h, 65 °C) διαφορετικών συγκεντρώσεων (% β/ο) του μακροφύκου *S. longicurvus*.

Συγκέντρωση (% β/ο)	Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού)
1	3.39±0.21
3	3.53±0.08
5	3.19±0.35
7	2.95±0.21

Η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης μετά το πέρας των εκχυλίσεων παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 2.2 και στον Πίνακα 2.3.



Διάγραμμα 2.2: Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (1 h, 65 °C) συναρτήσει της συγκέντρωσης αυτού (% β/ο).

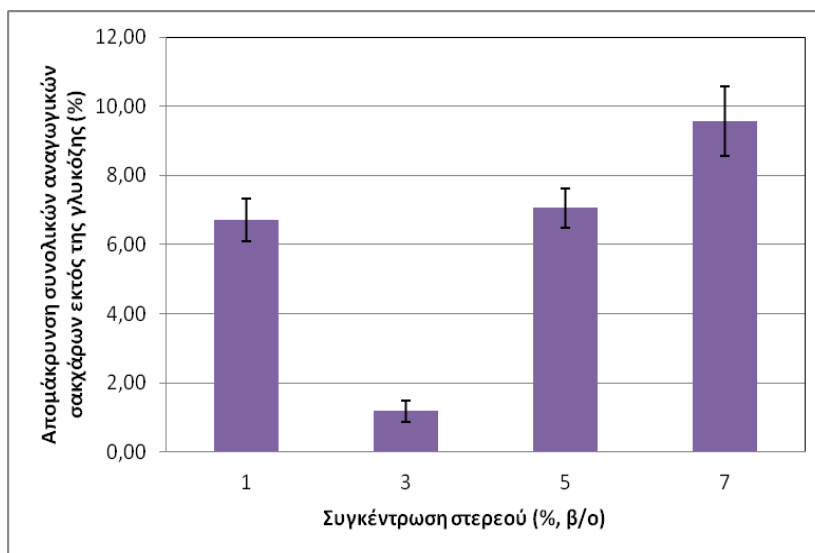
Πίνακας 2.3: Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (1 h, 65 °C) διαφορετικών συγκεντρώσεων αυτού (% β/ο).

Συγκέντρωση (% β/ο)	Ποσοστιαία Απομάκρυνση Λαμιναρίνης (%)
1	18.15±1.80
3	14.78±2.01
5	22.91±2.14
7	28.72±1.90

Από το Διάγραμμα 2.2 συμπεραίνουμε ότι η μεγαλύτερη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το φύκος *S. longicruris* επιτυγχάνεται με την εκχύλιση στερεού συγκέντρωσης 7% (β/ο), με την αμέσως χαμηλότερη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης να επιτυγχάνεται σε συγκέντρωση 5% (β/ο).

Μελετώντας τα Διαγράμματα 2.1 και 2.2 η συγκέντρωση (% β/ο) του μακροφύκους που επιλέχθηκε για την περαιτέρω μελέτη της εκχύλισης της λαμιναρίνης από αυτό ήταν : 5% (β/ο). Η επιλογή της συγκεκριμένης συγκέντρωσης έγινε με κριτήριο την ρεολογία του συστήματος. Παρότι η συγκέντρωση 7% (β/ο) οδήγησε σε μεγαλύτερη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης, το υψηλό ιξώδες του αιωρήματος οδήγησε σε προβλήματα μη ικανοποιητικής ανάδευσης κατά τη διάρκεια της εκχύλισης.

Η ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) μετά το πέρας των εκχυλίσεων συναρτῆσει της συγκέντρωσης του στερεού (% β/ο) παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 2.3 και στον Πίνακα 2.4. Στα συνολικά αναγωγικά σάκχαρα συμπεριλαμβάνονται όλα εκείνα τα σάκχαρα που είναι παρόντα στο μακροφύκος (εκτός της γλυκόζης) και έχουν ελεύθερο το ημιακεταλικό υδροξύλιο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το αλγινικό, συμπολυμερές του μανουρονικού και γουλουρονικού οξέος τα οποία ελευθερώνονται μετά την όξινη υδρόλυση και είναι αναγωγικά σάκχαρα και τα φουκοειδή.



Διάγραμμα 2.3: Ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicurvus* μετά από εκχύλιση (1 h, 65 °C) συναρτῆσει της συγκέντρωσης αυτού (% β/ο).

Πίνακας 2.4: Ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicurvus* μετά από εκχύλιση (1 h, 65 °C) διαφορετικών συγκεντρώσεων αυτού (% β/ο).

Συγκέντρωση (% β/ο)	Ποσοστιαία Απομάκρυνση Συνολικών Αναγωγικών Σακχάρων εκτός της γλυκόζης (%)
1	6.72±0.62
3	1.18±0.30
5	7.06±0.56
7	9.56±1.00

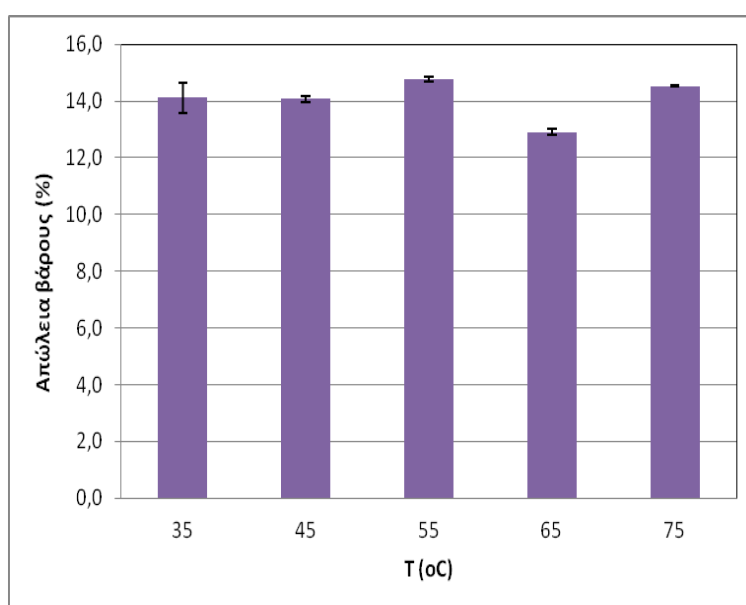
Από το Διάγραμμα 2.3 συμπεραίνουμε ότι η μεγαλύτερη ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το φύκος *S. longicurvus*, επιτυγχάνεται με την εκχύλιση στερεού συγκέντρωσης 7% (β/ο), με την αμέσως

χαμηλότερη ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) να επιτυγχάνεται σε συγκέντρωση 5% (β/ο).

### 3. Επίδραση της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *Saccharina longicruris*

Η εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος πραγματοποιήθηκε σε διάφορες θερμοκρασίες (35, 45, 55, 65, 75 °C), για 1h και παρουσία νερού pH=2 η τιμή του οποίου ρυθμίστηκε με διάλυμα 2M HCl. Η συγκέντρωση του στερεού ήταν 5% (β/ο).

Η απώλεια βάρους που παρατηρήθηκε μετά το πέρας των εκχυλίσεων του φύκους *S. longicruris* σταθερής συγκέντρωσης 5% (β/ο), σε χρονικό διάστημα 1 h και για διαφορετικές θερμοκρασίες παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.1 και στον Πίνακα 3.1.



Διάγραμμα 3.1: Ποσοστιαία απώλεια βάρους του μακροφύκους *S. longicruris* μετά την εκχύλιση (1 h, 5% (β/ο)) συναρτήσει της θερμοκρασίας εκχύλισης.

Πίνακας 3.1: Ποσοστιαία απώλεια βάρους μετά την εκχύλιση (1 h, 5% (β/ο)) του μακροφύκους *S. longicruris* σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

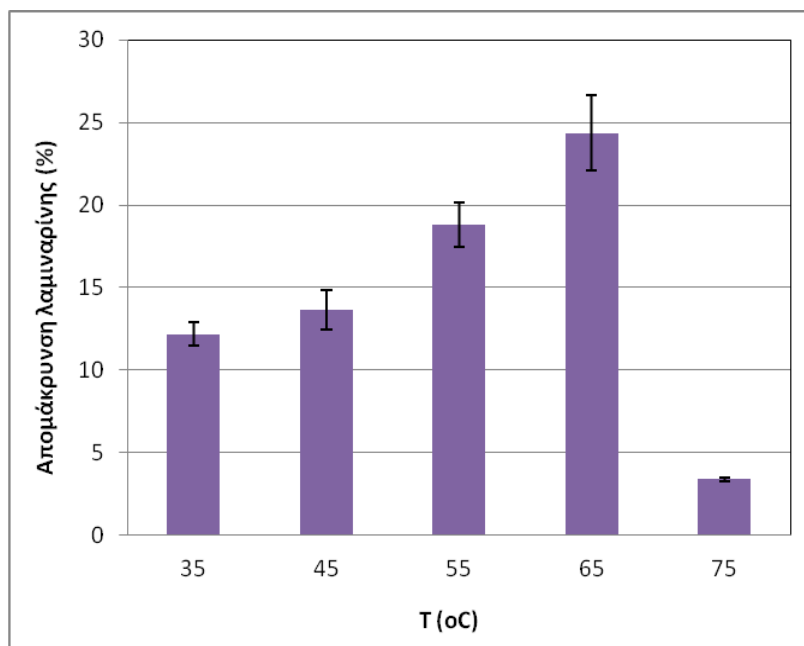
Θερμοκρασία (°C)	Ποσοστιαία Απώλεια Βάρους(%)
35	14.11±0.38
45	14.07±0.08
55	14.78±0.06
65	12.90±0.07
75	14.53±0.01

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της ανάλυσης του στερεού υπολείμματος των εκχυλίσεων με τη μέθοδο NREL υπολογίστηκε, ομοίως με παραπάνω (Ενότητα 2), η συγκέντρωση της λαμιναρίνης στο αρχικό στερεό (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού) η οποία παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνης/100g αρχικού στερεού) μετά το πέρας των εκχυλίσεων (1 h, 5% (β/ο)) του μακροφύκου *S. longicurvus* σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Θερμοκρασία (°C)	Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού)
35	3.63±0.03
45	3.22±0.14
55	3.36±0.13
65	3.13±0.33
75	4.00±0.00

Έπειτα υπολογίστηκε η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης μετά το πέρας των εκχυλίσεων η οποία παρουσιάζεται στο Διαγράμματα 3.2 και τον Πίνακα 3.3.



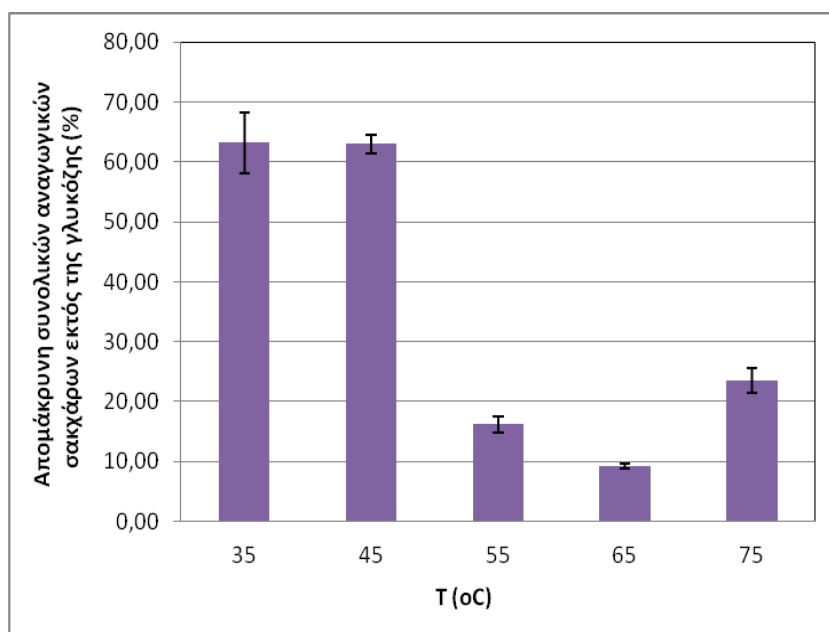
Διάγραμμα 3.2: Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicurvus* μετά από εκχύλιση (1 h, 5% (β/ο)) συναρτήσεως της θερμοκρασίας εκχύλισης.

Πίνακας 3.3: Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (1 h, 5% (β/ο)) σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

Θερμοκρασία (°C)	Ποσοστιαία Απομάκρυνση Λαμιναρίνης (%)
35	12.19±0.71
45	13.65±1.18
55	18.81±1.34
65	24.35±2.29
75	3.39±0.11

Από τα Διαγράμματα 3.1 και 3.2 προκύπτει ότι η απώλεια βάρους είναι παρόμοια σε όλες τις θερμοκρασίες εκχύλισης, με μία μικρή διαφοροποίηση να παρατηρείται στους 65 °C όπου σημειώνεται η ελάχιστη απώλεια βάρους ίση με 12.90%. Η απομάκρυνση όμως λαμιναρίνης φαίνεται να εξαρτάται από τη θερμοκρασία καθώς αύξηση αυτής μέχρι τους 65°C οδηγεί σε αύξηση του ποσοστού απομάκρυνσης λαμιναρίνης. Η μέγιστη τιμή απομάκρυνσης επιτυγχάνεται στους 65°C.

Η ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) μετά το πέρας των εκχυλίσεων συναρτήσε των διαφόρων θερμοκρασιών εκχύλισης παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 3.3 και στον Πίνακα 3.4.



Διάγραμμα 3.3: Ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (1 h, 5% (β/ο)) συναρτήσε της θερμοκρασίας εκχύλισης.

Πίνακας 3.4: Ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (1 h, 5% (β/ο)) σε διαφορετικές θερμοκρασίες.

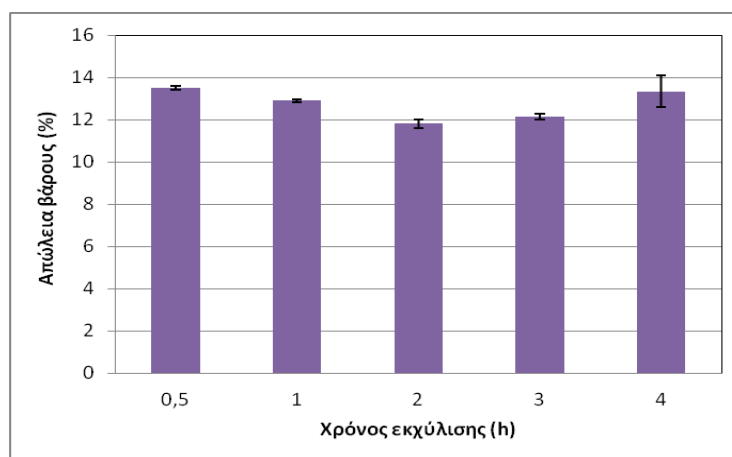
Θερμοκρασία (°C)	Ποσοστιαία Απομάκρυνση Συνολικών Αναγωγικών Σακχάρων εκτός της γλυκόζης (%)
35	63.17±5.01
45	62.96±1.64
55	16.17±1.34
65	9.21±0.45
75	23.53±2.13

Από το Διάγραμμα 3.3 συμπεραίνουμε ότι η μέγιστη ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicruris* επιτυγχάνεται με εκχύλιση στους 35°C και η ελάχιστη με εκχύλιση στους 65 °C.

#### 4. Επίδραση του χρόνου στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *Saccharina longicruris*

Η εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 65 °C, συγκέντρωση στερεού 5% (β/ο) και σε διάφορους χρόνους εκχύλισης (0.5, 1, 2, 3, 4 h) παρουσία νερού pH=2 η τιμή του οποίου ρυθμίστηκε με διάλυμα 2M HCl.

Η απώλεια βάρους που παρατηρήθηκε μετά το πέρας των εκχυλίσεων του μακροφύκου *S. longicruris* σταθερής συγκέντρωσης 5% (β/ο), σε θερμοκρασία T=65 °C και για διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 4.1 και στον αντίστοιχο Πίνακα 4.1.



Διάγραμμα 4.1: Ποσοστιαία απώλεια βάρους του μακροφύκου *S. longicruris* μετά την εκχύλιση (65 °C, 5% (β/ο)) συναρτήσει του χρόνου εκχύλισης.



Πίνακας 4.1: Ποσοστιαία απώλεια βάρους μετά την εκχύλιση του μακροφύκου *S. longicruris* (65 °C, 5% (β/ο)) σε διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης.

Χρόνος εκχύλισης (h)	Ποσοστιαία Απώλεια Βάρους (%)
0.5	13.50±0.09
1	12.90±0.07
2	11.81±0.19
3	12.14±0.15
4	13.34±0.75

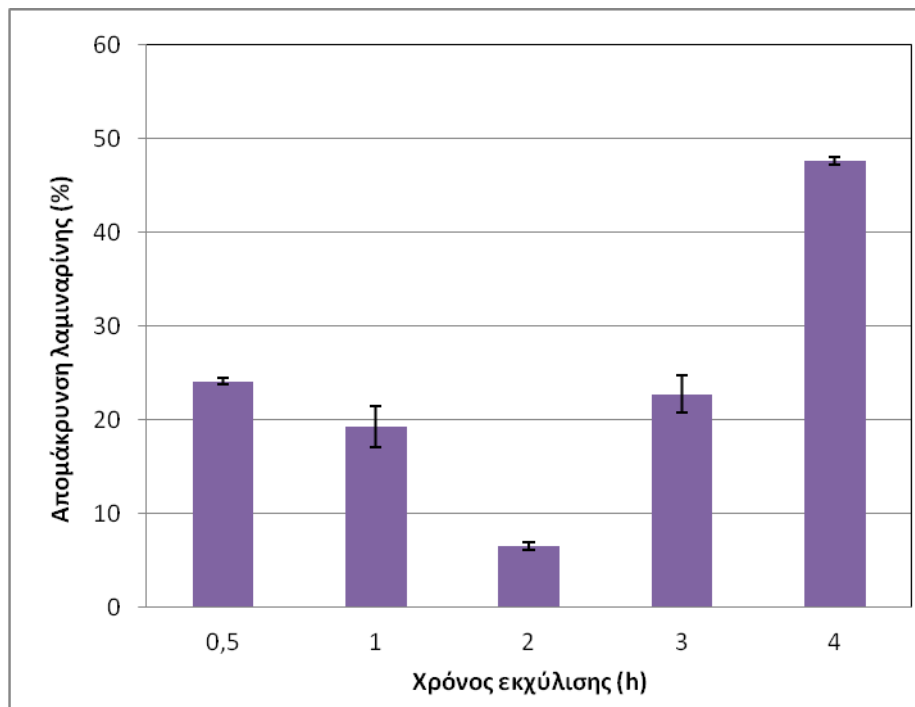
Από το Διάγραμμα 4.1 προκύπτει ότι υπάρχουν μικρές διαφοροποιήσεις στην απώλεια βάρους για διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης, με την ελάχιστη απώλεια βάρους (11.81%) να σημειώνεται σε χρόνο εκχύλισης 2 h.

Όσον αφορά στα αποτελέσματα της ανάλυσης του στερεού υπολείμματος των εκχύλισεων με τη μέθοδο NREL υπολογίστηκε, ομοίως με παραπάνω (Ενότητα 2), η συγκέντρωση της λαμιναρίνης στο αρχικό στερεό (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού) η οποία παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.2.

Πίνακας 4.2: Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνης/100g αρχικού στερεού) μετά το πέρας των εκχυλίσεων (65 °C, 5% (β/ο)) του μακροφύκου *S. longicruris* σε διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης.

Χρόνος εκχύλισης (h)	Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού)
0.5	3.97±0.83
1	3.43±0.09
2	3.87±0.15
3	3.20±0.15
4	2.16±0.02

Έπειτα υπολογίστηκε η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης μετά το πέρας των εκχυλίσεων η οποία παρουσιάζεται στο Διαγράμματα 4.2 και τον Πίνακα 4.3.



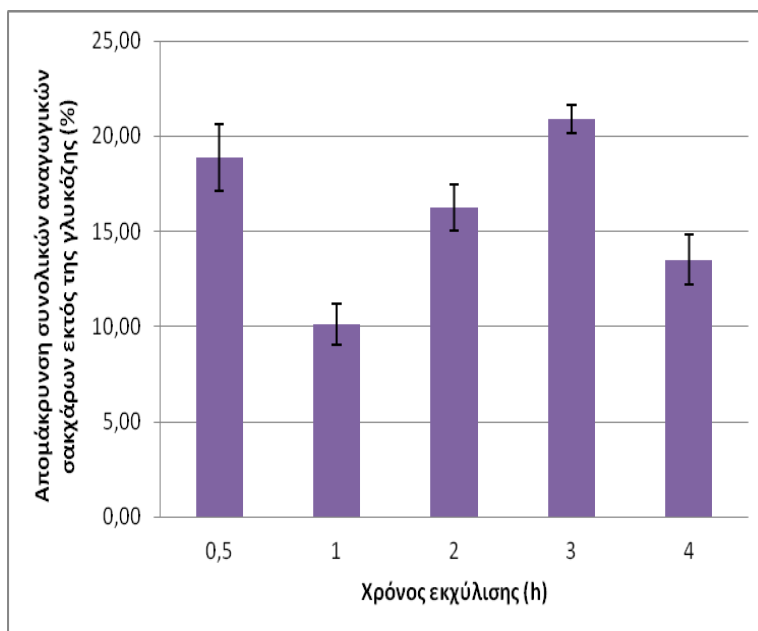
Διάγραμμα 4.2: Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (65 °C, 5% (β/ο)) συναρτήσει του χρόνου εκχύλισης.

Πίνακας 4.3: Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (65 °C, 5% (β/ο)) σε διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης.

Χρόνος εκχύλισης (h)	Ποσοστιαία Απομάκρυνση λαμιναρίνης (%)
0.5	24.12±0.34
1	19.31±2.23
2	6.55±0.42
3	22.77±2.02
4	47.69±0.41

Από το Διάγραμμα 4.2 προκύπτει ότι η απομάκρυνση λαμιναρίνης διαφοροποιείται στους διάφορους χρόνους εκχύλισης, με την ελάχιστη τιμή της να παρατηρείται σε χρόνο εκχύλισης 2 h και την μέγιστη σε χρόνο 4 h.

Η ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) συναρτήσει του χρόνου εκχύλισης παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 4.3 και στον Πίνακα 4.4.



Διάγραμμα 4.3: Ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (65 °C, 5% (β/ο)) συναρτήσει του χρόνου εκχύλισης.

Πίνακας 4.4: Ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicruris* μετά από εκχύλιση (65 °C, 5% (β/ο)) σε διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης.

Χρόνος εκχύλισης (h)	Ποσοστιαία Απομάκρυνση Συνολικών Αναγωγικών Σακχάρων εκτός της γλυκόζης (%)
0.5	18.88±1.78
1	10.12±1.10
2	16.24±1.23
3	20.90±0.75
4	13.51±1.32

Από το Διάγραμμα 4.3 προκύπτει ότι η μέγιστη ποσοστιαία απομάκρυνση συνολικών αναγωγικών σακχάρων (εκτός της γλυκόζης) από το μακροφύκος *S. longicruris* επιτυγχάνεται σε χρόνο εκχύλισης 3 h.

### 5. Συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *Saccharina longicruris*

Η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicruris* εκτιμήθηκε με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design). Οι συνθήκες θερμοκρασίας και χρόνου εκχύλισης που προέκυψαν από τον παραπάνω πειραματικό σχεδιασμό, η συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνης/100g αρχικού στερεού) καθώς και η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης (%) που προέκυψε για αυτές τις συνθήκες απεικονίζονται στον Πίνακα 5.1.

Πίνακας 5.1: Συγκέντρωση λαμιναρίνης και ποσοστιαία απομάκρυνσή της σε διάφορες συνθήκες χρόνου και θερμοκρασίας.

A/A	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Συγκέντρωση λαμιναρίνης (g λαμιναρίνη/100g αρχικού στερεού)	Ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης (%)
1	55	1	3.27±0.06	20.97±1.55
2	65	1	3.13±0.19	24.28±2.32
3	75	1	4.09±0.25	1.05±0.25
4	55	2	3.77±0.04	8.82±0.93
5	65	2	4.03±0.05	2.60±1.21
6	75	2	4.10±0.03	1.00±0.64
7	55	3	4.04±0.04	2.36±0.96
8	65	3	3.37±0.07	18.65±1.77
9	75	3	3.68±0.09	10.95±2.29

Η προσαρμογή των δεδομένων της ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης στο δευτεροβάθμιο μοντέλο (Εξ. 10, Ενότητα II) οδήγησε στην Εξίσωση 11:

$$C_{\text{λαμιναρίνης}} = -160.3209 + 8.82051 \cdot X_1 - 84.3374 \cdot X_2 - 0.0765 \cdot X_1^2 + 8.9034 \cdot X_2^2 + 0.7128 \cdot X_1 \cdot X_2$$

(R<sup>2</sup>=0.85, p=0.1712) (Εξ.11)

όπου,

C<sub>λαμιναρίνης</sub> η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης (%), X<sub>1</sub> η θερμοκρασία εκχύλισης (°C) και X<sub>2</sub> ο χρόνος εκχύλισης (h).

Από τη στατιστική επεξεργασία των συντελεστών της Εξίσωσης 11 απαλείφθηκαν αυτοί που εμφάνισαν  $P > 0.1$  (στατιστικά μη σημαντικοί). Προέκυψε το απλοποιημένο μαθηματικό μοντέλο της Εξίσωσης 12:

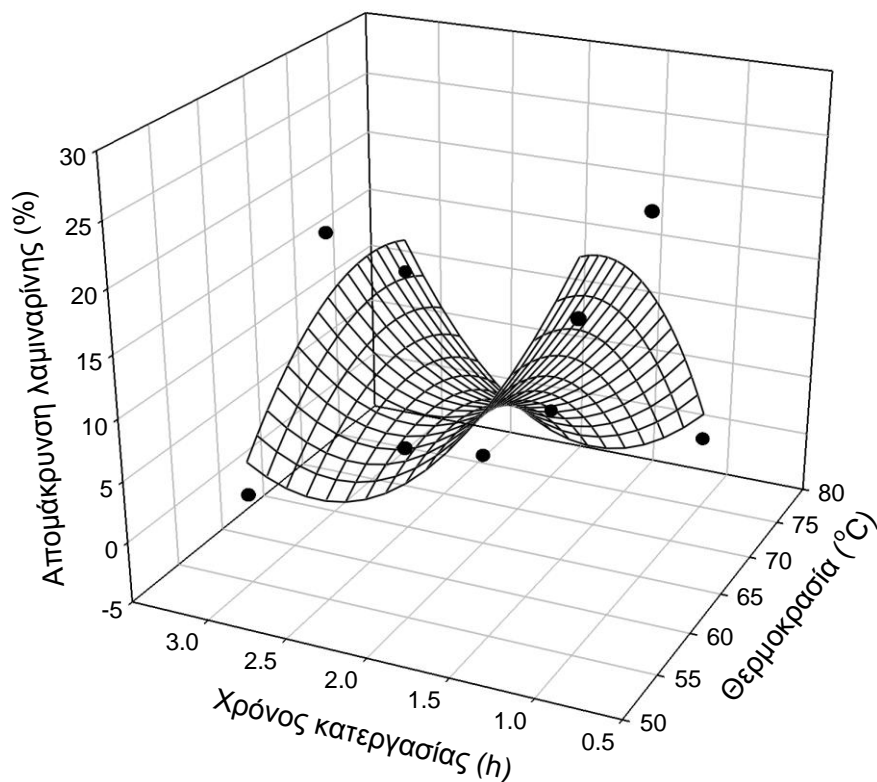
$$C_{\text{λαμιναρίνης}} = 3.3639 \cdot X_1 - 89.2369 \cdot X_2 - 0.0403 \cdot X_1^2 + 9.1937 \cdot X_2^2 + 0.7694 \cdot X_1 \cdot X_2$$

$$(R^2=0.81, p=0.09) \text{ (Εξ.12)}$$

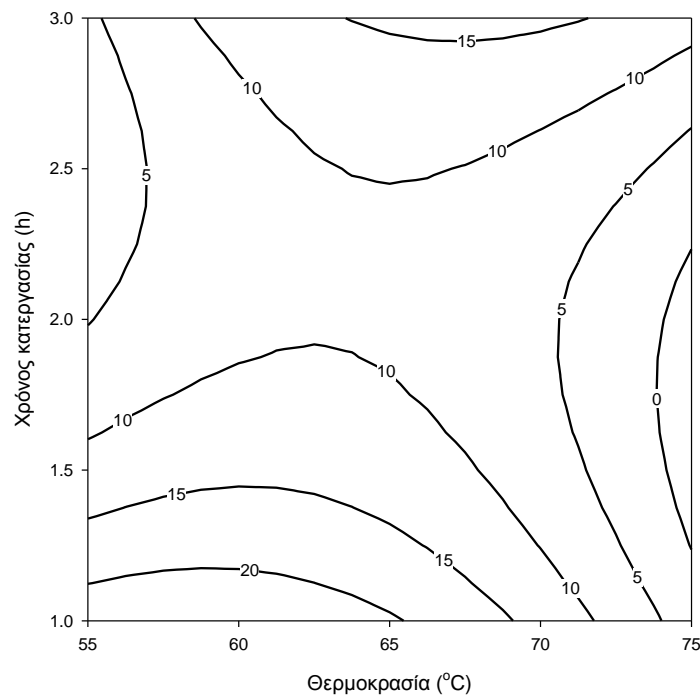
όπου,

$C_{\text{λαμιναρίνης}}$  η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης (%),  $X_1$  η θερμοκρασία εκχύλισης ( $^{\circ}\text{C}$ ) και  $X_2$  ο χρόνος εκχύλισης (h).

Η σχέση μεταξύ της εξαρτημένης μεταβλητής (ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης) και των ανεξάρτητων μεταβλητών (θερμοκρασία και χρόνος εκχύλισης) διερευνήθηκε περαιτέρω χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατη απεικόνιση και τις ισοϋψείς καμπύλες (Διάγραμμα 5.1 και 5.2 αντίστοιχα).



**Διάγραμμα 5.1:** Τρισδιάστατη απεικόνιση της ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicuris* συναρτήσεως των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού.



**Διάγραμμα 5.2:** Ισοϋψείς καμπύλες ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicuris* συναρτήσεως των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού.

Η επίλυση του μοντέλου (Εξ. 12) οδήγησε στο κάτωθι ζεύγος τιμών το οποίο αποτελεί το στάσιμο σημείο της συνάρτησης:

$$X_1=62.87 \text{ }^\circ\text{C}$$

$$X_2=2.21 \text{ h}$$

Η τιμή ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης που προκύπτει με αντικατάσταση του παραπάνω ζεύγους τιμών στην Εξ. 12 είναι 6.79 %.

Από την τρισδιάστατη απεικόνιση της ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης (%) συναρτήσεως των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού καθώς και των ισοϋψών καμπυλών ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης (%) συναρτήσεως αυτών, συμπεραίνουμε ότι το στάσιμο σημείο της συνάρτησης δύο μεταβλητών είναι ένα **σημείο σέλας**, δηλαδή όταν κινούμαστε προς μία κατεύθυνση οι ισοϋψείς αυξάνονται και σε μία κάθετη διεύθυνση (όχι απαραίτητως ακριβώς κάθετη) μειώνονται

(<http://calculus7.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/clssfctionlctr.pdf>).

Το όνομα του στάσιμου σημείου προέρχεται από το γεγονός ότι το πρωτότυπο παράδειγμα σε δύο διαστάσεις είναι μια επιφάνεια κυρτή προς τα πάνω στη μία διεύθυνση και κυρτή προς τα κάτω σε μια διαφορετική διεύθυνση, παρουσιάζοντας ομοιότητες με μία σέλα ή ένα πέρασμα βουνού. Σε όρους ισοϋψών καμπυλών ένα σημείο σέλας σε δύο διαστάσεις μπορεί να αναγνωριστεί από μία ισοϋψή που φαίνεται να τέμνει τον εαυτό της

(<http://amath.colorado.edu/courses/2350/2010Sum/R025Notes/week4.pdf>).

Ο **μαθηματικός ορισμός** του σημείου σέλας είναι ο εξής: μία διαφορίσιμη συνάρτηση  $f : D \subset \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}$  παρουσιάζει σημείο σέλας σε ένα εσωτερικό σημείο  $(a, b) \in D$ , αν σε κάθε ανοιχτό διάστημα στο  $D$  με κέντρο το  $(a, b)$  υπάρχουν πάντα σημεία  $(x, y)$  όπου  $f(a, b) < f(x, y)$  και άλλα σημεία  $(x, y)$  όπου  $f(a, b) > f(x, y)$  (<http://math.msu.edu/~gnagy/teaching/11-fall/mth234/L19-234-th.pdf>).

Πιο απλουστευμένα, το σημείο μία συνάρτησης ή μίας επιφάνειας το οποίο είναι ένα στάσιμο σημείο αλλά όχι ένα μέγιστο ή ελάχιστο ονομάζεται σημείο σέλας. Σε μία διάσταση ένα σημείο σέλας είναι ένα σημείο το οποίο είναι τόσο ένα στάσιμο σημείο όσο και ένα σημείο καμπής. Αφού είναι ένα σημείο καμπής δεν είναι ένα τοπικό ελάχιστο ή μέγιστο (<http://mathworld.wolfram.com/SaddlePoint.html> , <http://amath.colorado.edu/courses/2350/2010Sum/R025Notes/week4.pdf>).

Όσον αφορά στη **φυσική σημασία** του σημείου αυτού, μπορούμε να αναφέρουμε ότι το σημείο σέλας παρατηρείται όταν ο συνδυασμός των δύο ανεξάρτητων μεταβλητών είναι τέτοιος που η εξαρτημένη μεταβλητή μεγιστοποιείται όσον αφορά στις αλλαγές στη μία ανεξάρτητη μεταβλητή και ελαχιστοποιείται όσον αφορά στις αλλαγές στην άλλη ανεξάρτητη μεταβλητή (<http://www.dictionarcentral.com/definition/saddle-point.html>).

Ο τετραγωνικός όρος του μαθηματικού μοντέλου δείχνει μια πιθανή καμπυλότητα και μη γραμμική συσχέτιση μεταξύ μίας μεταβλητής και της λύσης της εξίσωσης, καθώς και την ύπαρξη ενός πιθανού ελάχιστου και / ή μέγιστου όταν οι γραμμικοί και οι τετραγωνικοί όροι έχουν διαφορετικό πρόσημο. Όταν για παράδειγμα το πρόσημο του γραμμικού όρου είναι θετικό και του τετραγωνικού αρνητικό, η τιμή της λύσης της εξίσωσης αυξάνεται με την αύξηση της μεταβλητής έως ένα κρίσιμο σημείο ή σημείο διακοπής της μεταβλητής μετά το οποίο μία περαιτέρω αύξηση οδηγεί σε μια μείωση της τιμής της λύσης.

Ειδικότερα στην Εξίσωση 12 ο συντελεστής του γραμμικού όρου της θερμοκρασίας ( $X_1$ ) είναι θετικός γεγονός που υποδηλώνει θετική επίδραση της συγκεκριμένης μεταβλητής στην ποσοστιαία απομάκρυνση της λαμιναρίνης. Όμως το αρνητικό πρόσημο του συντελεστή του τετραγωνικού όρου της θερμοκρασίας υποδηλώνει ότι υπάρχει μια κρίσιμη τιμή θερμοκρασίας πάνω από την οποία μειώνεται η ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης.

Ανάλογα, ο συντελεστής του γραμμικού όρου του χρόνου εκχύλισης ( $X_2$ ) είναι αρνητικός γεγονός που υποδηλώνει αρνητική επίδραση της συγκεκριμένης μεταβλητής στην ποσοστιαία απομάκρυνση της λαμιναρίνης. Ουσιαστικά αύξηση του χρόνου εκχύλισης οδηγεί σε μείωση της εκχυλιζόμενης λαμιναρίνης. Παρ' όλα αυτά, ο θετικός συντελεστής του τετραγωνικού όρου επισημαίνει ότι υπάρχει μία κρίσιμη τιμή χρόνου εκχύλισης μετά από την οποία αυξάνεται η απόδοση της εκχύλισης λαμιναρίνης.

Τέλος, ο θετικός συντελεστής του όρου αλληλεπίδρασης ( $X_1X_2$ ) δηλώνει τη θετική αλληλεπίδραση των δύο παραμέτρων στην ποσοστιαία απομάκρυνση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος.

## 6. Συμπεράσματα

Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο (α) την βιβλιογραφική παρουσίαση των μακροφυκών και (β) τον προσδιορισμό των συστατικών των μακροφυκών *Laminaria digitata* και *Saccharina (laminaria) longicruris* καθώς και τη μελέτη των συνθηκών εκχύλισης της λαμιναρίνης, ενός πολυσακχαρίτη με δομική μονάδα τη γλυκόζη, με σκοπό τη μετέπειτα βιομετατροπή του σε αιθανόλη.

Τα μακροφύκη ή φύκη είναι θαλάσσιοι πολυκύτταροι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί οι οποίοι ανήκουν στα κατώτερα φυτά, αποτελούνται από ένα φύλλο και μερικές φορές από ένα στέλεχος/κοτσάνι και μία ρίζα. Περιέχουν λιπίδια, είναι μια καλή πηγή πρωτεϊνών, βιταμινών και μεταλλικών στοιχείων. Επίσης περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένων αντιοξειδωτικών και βιοενεργών πολυσακχαριτών όπως η φουκόζη και η λαμιναρίνη. Χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή τροφίμων και την εξαγωγή υδροκολλοειδών. Μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα μακροφύκη τα τελευταία χρόνια ως πρώτες ύλες παραγωγής βιοκαυσίμων.

Αναμένεται ότι την επόμενη δεκαετία θα γίνουμε μάρτυρες μιας τεράστιας ανάπτυξης και επέκτασης στην παγκόσμια αγορά των βιοκαυσίμων που προέρχονται από φύκη. Ειδικότερα, στα βασικά ενεργειακά προϊόντα των φυκών συμπεριλαμβάνονται το βιοντίζελ, η αιθανόλη, το μεθάνιο, το υδρογόνο, η θερμότητα, η ηλεκτρική ενέργεια και τέλος άλλα καύσιμα υδρογονανθράκων. Κυρίαρχη θέση κατέχει η βιοαιθανόλη για την παραγωγή της οποίας τα καφέ φύκη αποτελούν μία σημαντική πρώτη ύλη, με μεγαλύτερη πρόκληση τη δημιουργία μίας οικονομικά αποτελεσματικής διαδικασίας παραγωγής.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα δύο καφέ μακροφυκών των *Laminaria digitata* και *Saccharina (laminaria) longicruris* σε υγρασία, λιπαρά, πρωτεΐνες και τέφρα χρησιμοποιώντας πρότυπες μεθόδους ενώ για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των πολυσακχαριτών τους ακολουθήθηκε συγκεκριμένο πειραματικό πρωτόκολλο. Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε λαμιναρίνη της τάξης του 4.14% (β/β, ξηρή βάση), που αποτελεί βασική προϋπόθεση για την παραγωγή αιθανόλης, παρατηρήθηκε στο μακροφύκος *Saccharina longicruris* (προερχόμενο από καλλιέργεια στον ωκεανό) το οποίο εκπλύθηκε πριν την έναρξη των πειραμάτων. Η περιεκτικότητα του μακροφύκου σε λαμιναρίνη είναι χαμηλή σε σχέση με αυτή που αναφέρεται σε βιβλιογραφικές πηγές, σύμφωνα με τις οποίες η αντιπροσωπευτική περιεκτικότητα των μακροφυκών του γένους *Laminaria* σε λαμιναρίνη είναι 14% (β/β, ξηρή βάση). Έτσι δεν είναι δυνατό να εξασφαλιστεί μεγάλη απόδοση στην παραγωγή αιθανόλης. Η μικρή περιεκτικότητα σε λαμιναρίνη πιθανώς οφείλεται στην περίοδο συγκομιδής του μακροφύκου, καθώς η χημική σύνθεση των φυκών ποικίλλει αρκετά ανάλογα με την εποχή συγκομιδής και μικρή περιεκτικότητα σε λαμιναρίνη παρατηρείται τους μήνες Νοέμβριο, Δεκέμβριο, Ιανουάριο και Φεβρουάριο.

Στις παραμέτρους που επηρεάζουν την εκχύλιση της λαμιναρίνης και μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία περιλαμβάνονται η συγκέντρωση του στερεού (φύκου) κατά την εκχύλιση, ο χρόνος και η θερμοκρασία εκχύλισης.



Η αύξηση της συγκέντρωσης του στερεού οδήγησε σε αύξηση του ποσοστού απομάκρυνσης λαμιναρίνης. Μέγιστο ποσοστό απομάκρυνσης παρατηρήθηκε στη μέγιστη χρησιμοποιηθείσα συγκέντρωση στερεού 7% (β/ο). Η υψηλή συγκέντρωση στερεού δημιουργεί προβλήματα ρεολογίας στο στάδιο της εκχύλισης (υψηλο ιξώδες, δυσκολία στην ανάμιξη του υλικού) και ως εκ τούτου επιλέχθηκε η συγκέντρωση 5% (β/ο) για τα επόμενα πειράματα.

Βέλτιστη θερμοκρασία εκχύλισης βρέθηκαν οι 65°C καθώς σε αυτή σημειώθηκε η μέγιστη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης της τάξης του 24.35%. Τέλος, η μέγιστη ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης παρατηρήθηκε σε χρόνο εκχύλισης 4 h και ήταν ίση με 47.69%.

Από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν σημαντικότερες είναι ο χρόνος και η θερμοκρασία εκχύλισης. Μελετήθηκε η συνδυασμένη επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας στην εκχύλιση της λαμιναρίνης από το μακροφύκος *S. longicuris* με τη βοήθεια Σύνθετου Πειραματικού Σχεδιασμού με Πλαισίωση Αστέρα (Box-Wilson Central Composite Design), ανεξάρτητες μεταβλητές το χρόνο και τη θερμοκρασία εκχύλισης και εξαρτημένη μεταβλητή την ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης. Τα αποτελέσματα προσαρμόστηκαν σε δευτεροβάθμιο μοντέλο.

Η λύση του μαθηματικού μοντέλου οδήγησε στον υπολογισμό του στάσιμου σημείου το οποίο αντιστοιχεί σε ποσοστιαία απομάκρυνση λαμιναρίνης από το μακροφύκος 6.79 % έπειτα από εκχύλιση στους 62.87 °C για 2.21 h. Από την τρισδιάστατη απεικόνιση της ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης (%) συναρτήσεως των μεταβλητών του πειραματικού σχεδιασμού καθώς και των ισοϋψών καμπυλών ποσοστιαίας απομάκρυνσης λαμιναρίνης (%) συναρτήσεως αυτών, συμπεράναμε ότι το στάσιμο σημείο της συνάρτησης δύο μεταβλητών είναι ένα **σημείο σέλας**. Ένα σημείο σέλας παρατηρείται όταν ο συνδυασμός των δύο ανεξάρτητων μεταβλητών είναι τέτοιος, που η εξαρτημένη μεταβλητή μεγιστοποιείται όσον αφορά στις αλλαγές στη μία ανεξάρτητη μεταβλητή και ελαχιστοποιείται όσον αφορά στις αλλαγές στην άλλη ανεξάρτητη μεταβλητή.

Συμπερασματικά, λαμβάνοντας υπόψη και τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, θα πρέπει να βελτιστοποιηθεί η κατεργασία της πρώτης ύλης ώστε να βελτιωθεί η απόδοσή της στην παραγωγή βιοαιθανόλης. Πρέπει δηλαδή να βρεθούν οι συνθήκες εκχύλισης οι οποίες θα οδηγήσουν στη μέγιστη δυνατή εκχύλιση λαμιναρίνης από το μακροφύκος. Επίσης πρέπει να γίνει μελέτη για την εύρεση των κατάλληλων ζυμών με τη βοήθεια των οποίων το παραπάνω εκχύλισμα θα ζυμωθεί προς βιοαιθανόλη, σε κατάλληλα σχεδιασμένους ζυμωτήρες.

## **IV. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

## Βιβλιογραφία

- Adams J., Gallagher J., Donnison I. (2009). Fermentation study on *Saccharina latissima* for bioethanol production considering variable pre-treatments, *Journal of Applied Phycology*, 21: 569–574.
- Adams J.M.M., Toop T.A., Donnison I.S., Gallagher J.A (2011). Seasonal variation in *Laminaria digitata* and its impact on biochemical conversion routes to biofuels, *Bioresource Technology*, 102: 9976-9984.
- Andresen IL., Skipnes O., Smidsrød O., Østgaard K., Hemmer PC. (1977). Some biological functions of matrix components in benthic algae in relation to their chemistry and the composition of seawater, *ACS Symposium Series*, 48: 361- 81.
- Aresta M., Dibenedetto A., Carone M., Colonna T. and Fragale C. (2005). Production of biodiesel from macroalgae by supercritical CO<sub>2</sub> extraction and thermochemical liquefaction, *Environmental Chemistry Letters*, 3(3): 136-139.
- Arjunan TV., Aybar HSE., Nedunchezian N. (2009). Status of solar desalination in India, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* , 13(9): 2408–18.
- Baardseth E. (1958). A method of estimating the physode content in brown algae. Rep. Norw.Inst. Seaweed Res. No. 20. Department of Biotechnology, Trondheim, Norway: 1-16.
- Balat M., Balat H., Öz C. (2008). Progress in bioethanol processing *Progress in Energy and Combustion Science*, 34 (5): 551-573.
- Barbosa Maria and. Wijffels Rene H. (2009). Marine biorefineries.
- Blouin N., Xiugeng F., Peng P., Yarish C., Brawley SH. (2007). Seeding nets with neutral spores of the red alga *Porphyra umbilicalis* (L.) Kützinger for use in integrated multi-trophic aquaculture (IMTA), *Aquaculture*, 270: 77–91
- Briand X. and Morand P. (1997). Anaerobic Digestion of *Ulva* Sp. 1. Relationship Between *Ulva* Composition and Methanisation, *Journal of Applied Phycology*, 9(6): 511-524.
- Brown M.R. (1991). The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 145: 79–99.
- Bruton Tom, Dr Lyons Henry, Dr Lerat Yannick, Dr Stanley Michele, Rasmussen Michael Bo (2009). A Review of the Potential of Marine Algae as a Source of Biofuel in Ireland.
- Buch BH., Buchholz CM. (2004). The offshore-ring: A new system for the open ocean aquaculture of macroalgae, *Journal of Applied Phycology*, 16: 355-368.
- Burtin Patricia (2003). Nutritional value of seaweeds, *Electronic journal of environmental, agricultural and food chemistry*: 498-503.
- Cannell Richard J. P. (1993). Algae as a source of biologically active products, *Journal of Pesticide Science*, 39: 147-153.
- Carlsson Anders S, Beilen Jan B van, Möller Ralf and Clayton David (2007). Micro- and Macro-algae: utility for industrial applications, EPOBIO project.

- Chanda S., Dave R, Kaneria M and Nagani K (2010). Seaweeds: A novel, untapped source of drugs from sea to combat Infectious diseases.
- Chang H., Kim N.-J., Kang J., Jeong C. (2010). Biomass-derived volatile fatty acid platform for fuels and chemicals, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15: 1–10.
- Chevolot L., Foucault A., Kervarec N., Siquin C., Fischer A. M. & Boisson-Vidal, C. (1999). Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity, *Carbohydrate Research*, 319: 154–165.
- Chevolot L., Mulloy B., Ratiskol J., Foucault A. & Collic-Jouault S. (2001). A disaccharide repeat unit is the major structure in fucoidans from two species of brown algae, *Carbohydrate Research*, 330: 529–535.
- Choi D., Sim H.S., Piao Y.L., Ying W., Cho H. (2009). Sugar production from raw seaweed using the enzyme method, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 15: 12–15.
- Chojnacka Katarzyna, Saeid Agnieszka, Witkowska Zuzanna and Tuhy Łukasz (2012). Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application, *The Open Conference Proceedings Journal*, 3: 20-28.
- Chu W.-L., Norazmi M. and Phang S. M. (2003). Fatty acid composition of some Malaysian seaweeds, *Malaysian Journal of Science*, 22: 21-27.
- Chynoweth D. P. and Srivastava V. J. (1980). Methane production from marine biomass. *International symposium on biogas, microalgae, and livestock wastes*, Taipei, Taiwan: 27.
- Chynoweth D. P., Owens J. M and Legrand R. (2001). Renewable methane from anaerobic digestion of biomass, *Renewable Energy*, 22(1-3): 1-8.
- Chynoweth DP. (2002). Review of biomethane from marine biomass.
- Daniel R., Berteau O., Chevolot L., Varenne A., Gareil P. & Goasdoue N. (2001). Regioselective desulfation of sulfated L-fucopyranoside by a new sulfoesterase from marine mollusc *Pecten maximus*: application to the structural study of algal fucoidan (*Ascophyllum nodosum*), *European Journal of Biochemistry*, 268: 5617–5628.
- Daniel R., Berteau O., Jozefonvicz J. & Goasdoue N. (1999). Degradation of algal (*Ascophyllum nodosum*) fucoidan by enzymatic activity contained in digestive glands of marine mollusc *Pecten maximus*, *Carbohydrate Research*, 322: 291–297.
- Demirbas A. (2001). Biomass resource facilities and biomass conversion processing for fuels and chemicals, *Energy Conversion and Management*, 42: 1357–1378
- Demirbas A., (2009). Biofuels securing the planet's future energy needs, *Energy Conversion and Management*, 50: 2239-2249.
- Dhargalkar V. K. and Pereira Neelam (2005). SEAWEED : Promising plant of the millennium, *Journal of science and culture*, 71: 60-66.
- Doty MS (2009). The production and use of *Eucheuma*. Available at: <http://www.fao.org/docrep/x5819e/x5819e06.htm>.
- Elliott D. C., Hart T. R., Neuenschwander G. G, Rotness L. J. and Zacher A. H. (2009). Catalytic Hydroprocessing of Biomass Fast Pyrolysis Bio-oil to Produce

- Hydrocarbon Products, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 28(3): 441-449.
- Fan Y., Li C., Lay J. J., Hou H., and Zhang G. (2004). Optimization of initial substrate and pH levels for germination of spring hydrogen-producing anaerobes in cow dung compost, *Bioresource Technology*, 91: 189-193.
- FAO (2008). 2006 Fishery and Aquaculture Statistics.
- Field JA., Lettinga G. (1987). The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of hydrolyzable tannin, *Water Research Journal*, 22: 367-374.
- Fleurence J. (1999). Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses, *Trends Food Science Technology*, 10: 25-28.
- Forro J. (1987). *Seaweed Cultivation for Renewable Resources*.
- Funahashi H., Imai T., Tanaka Y., Tsukamura K., Hayakawa Y., Kikumori T., Mase T., Itoh, T., Nishikawa M., Hayashi H., Shibata A., Hibi Y., Takahashi M., Narita T. (1999). Wakame seaweed suppresses the proliferation of 7,12 dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumours in rats, *Japanese Journal Of Cancer Research*, 90: 922-7.
- Gao K., McKinley K. (1994). Use of macroalgae for marine biomass production and CO<sub>2</sub> remediation: a review, *Journal of Applied Phycology*, 6: 45–60.
- Gao K., McKinley KR. (1993). Use of macroalgae for marine biomass production and CO<sub>2</sub> remediation: a review, *Journal of Applied Phycology*, 6: 45-60.
- GB-Analysts Reports. Fermentation technologies: galactose utilizing ethanol Fermentation (2009). Available at: <http://www.gbanalysts.com/Reading%20Room/Situation%20Analysis/EnergyTech%20Analysis/SubstratesUtilize/galactoseethanolferment.html>.
- Ge L., Wang P., Mou H. (2011). Study on saccharification techniques of seaweed wastes for the transformation of ethanol, *Renewable Energy*, 36: 84–89.
- Gnansounou E., A. Dauriat & C. E. Wyman (2005). Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China, *Bioresource Technology*, 96(9): 985-1002.
- Goh Chun Sheng, Lee Keat Teong (2010). A visionary and conceptual macroalgae-based third-generation bioethanol (TGB) biorefinery in Sabah, Malaysia as an underlay for renewable and sustainable development, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 842-848.
- Graufel V, Kloareg B, Mabeau S, Durand P, Jozefonvicz J (1989). New natural polysaccharides with potent antithrombic activity: fucans from brown algae, *Biomaterials*, 10: 363–368.
- Gunaseelan V. N. (1997). Anaerobic digestion of biomass for methane production: A review, *Biomass & Bioenergy*, 13(1-2): 83-114.
- Han H. K. and Shin H. S. (2004) Performance of an innovative two-stage process converting food waste to hydrogen and methane, *Journal of the Air and Waste Management Association*, 54: 242-249.

- Hasan Mohammad R. and Chakrabarti Rina (2009). Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture: A review, *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 531: 1-123.
- Haslam E. (1979). Vegetable tannins. In Swain T, Harborne JB, Van Sumere CF (eds) *Recent advances in phytochemistry: Biochemistry of plant polyphenolics*, Plenum Press (New York and London), 12: 475-523.
- Hennequant Franck, Elaine O' Connel, Spence John and Tuohy Maria G. (2004). Brown macro-algae, *Aqua Feeds: Formulation and Beyond*, 1: 14-17.
- Hiqashi, Okaj K., Otani S., Okai Y. (1999). Potent suppressive effect of a Japanese edible seaweed, *Enteromorpha prolifera* (Sujiao-nori) on initiation and promotion phases of chemically induced mouse skin tumorigenesis, *Cancer Letters Journal*, 140: 21-5.
- Høiby N. (2002). Understanding bacterial biofilms in patients with cystic fibrosis: current and innovative approaches to potential therapies, *Journal of Cystic Fibrosis*, 1: 249–254.
- Honya M., Kinoshita T., Ishikawa M., Mori H., Nisizawa K. (1993). Monthly determination of alginate M/G ratio, mannitol and minerals in cultivated *Laminaria japonica*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(2): 295–299.
- Horn S. J., Aasen I. M. and Ostgaard K. (2000b). Production of ethanol from mannitol by *Zymobacter palmae*, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 24(1): 51-57.
- Horn S. J., Aasen I. M and Ostgaard K. (2000a). Ethanol production from seaweed extract, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 25(5): 249-254.
- <http://amath.colorado.edu/courses/2350/2010Sum/R025Notes/week4.pdf>
- <http://calculus7.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/clssfctionlctr.pdf>
- <http://helm.lboro.ac.uk/pages/resources.html>
- <http://marineplantbook.com/marineplantbookgreenalgae.htm>
- <http://math.msu.edu/~gnagy/teaching/11-fall/mth234/L19-234-th.pdf>
- <http://mathworld.wolfram.com/SaddlePoint.html>
- <http://www.dictionarycentral.com/definition/saddle-point.html>
- <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e06.htm>
- <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e08.htm>
- <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm>
- <http://www.math.tamu.edu/~tkiffe/calc3/saddle/saddle.html>
- Huesemann M.H., Kuo L.-J., Urquhart L., Gill G.A., Roesijadi G. (2012). Acetonebutanol fermentation of marine macroalgae, *Bioresource Technology*, 108: 305–309.
- Swain T., Harborne JB. and Van Sumere CF (1979). *Recent advances in phytochemistry: biochemistry of plant polyphenolics*, Plenum Press (New York and London), 12: 617-640.
- INEOS Bio. 2012. INEOS Bio Ethanol technology. [http://www.ineosbio.com/61-INEOS\\_Bio\\_Ethanol\\_technology.htm](http://www.ineosbio.com/61-INEOS_Bio_Ethanol_technology.htm)

- Jang J.-S., Cho Y., Jeong G.-T., Kim S.-K. (2012). Optimization of saccharification and ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation (SSF) from seaweed *Saccharina japonica*, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35: 11–18.
- Jung Kyung A, Lim Seong-Rin, Yoori Kim , Jong Moon Park (2012). Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery, *Bioresource Technology*, 135: 182- 90.
- Keating JD., Robinson J., Bothast RJ., Saddler JN., Mansfield SD. (2004). Characterization of a unique ethanologenic yeast capable of fermenting galactose, *Enzyme and Microbial Technology*, 35: 242–53.
- Kim J. K., Nhat L., Chun Y. N., and Kim S. W. (2008). Hydrogen production conditions from food waste by dark fermentation with *Clostridium beijerinckii* KCTC, *Biotechnol. Bioprocess Engineering*, 13: 499-504.
- Kjelleberg S., Steinberg P. (2001). Surface warfare in the sea, *Microbiology Today*, 28: 134–135.
- Kloareg B., Demarty M., Mabeau S. (1986). Polyanionic characteristics of purified sulphated homofucans from brown algae, *International Journal of Biological Macromolecules*, 8: 380-386.
- Kraan S. & Guiry M. (1998). Strain selection in the edible brown seaweed *Alaria esculenta*: Genetic fingerprinting and hybridization studies under laboratory conditions, *Marine Resource Series*, 30.
- Kraan Stefan (2010). Mass-cultivation of carbohydrate rich macroalgae, a possible solution for sustainable biofuel production.
- Lee S.-M., Lee J.-H. (2012). Ethanol production from *Laminaria japonica*: effect of metal ion adsorption, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*.
- Lenstra Jip, Reith Hans, Jaap van Hal (2011). From seaweed to chemicals and fuels: Current activities in the Netherlands on seaweed cultivation and biorefinery.
- Lin L., Tako M., Hongo F. (2000). Isolation and Characterization of l-Carrageenan from *Eucheuma serra* (Togekirinsai), *Journal of Applied Glycoscience*, 47 (3–4): 303–10.
- Lobban C.S., Harrison P.J., Duncan M.J. (1985). *The Physiological Ecological of Seaweed*, Cambridge University Press.
- Lobban C.S., Wynne M.J. (1981). *The Biology of seaweeds*, first edition Blackwell, Scientific Publications.
- Lüning K., Kadel P., Pang SJ. (2008). Control of reproduction rhythmicity by environmental and endogenous signals in *Ulva pseudocurvata* (Chlorophyta), *Journal of Phycology*, 44: 866-873
- Lüning K., Müller DC. (1978). Chemical interaction in sexual reproduction of several laminariales (Phaeophyceae): release and attraction of spermatozooids, *Aquatic ecology: plant genetics and breeding*, 89: 333-341.
- Luning K., Pang SJ. (2003). Mass cultivation of seaweeds: current aspects and approaches, *Journal of Applied Phycology*, 15: 115-119.
- Manefield M., Harris L., Rice SA., De Nys R., Kjelleberg S. (2000). Inhibition of luminescence and virulence in the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) pathogen

- Vibrio harveyi* by intercellular signal antagonists, *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 2079–2084.
- Marais M.-F., & Joseleau J.-P. (2001). A fucoidan fraction from *Ascophyllum nodosum*, *Carbohydrate Research*, 336(2): 155–159.
- Martinsen A., Skjåk-Bræk G., Smidsrød O. (1989). Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads, *Biotechnology and Bioengineering*, 33: 79-89.
- Martone P. T., Estevez J. M., Lu F. C., Ruel K., Denny M. W., Somerville C. and Ralph J. (2009). Discovery of Lignin in Seaweed Reveals Convergent Evolution of Cell-Wall Architecture, *Current Biology*, 19(2): 169-175.
- Martone, P. T., Estevez J. M., Lu F. C., Ruel K., Denny M. W., Somerville C. and Ralph J. (2009). Discovery of Lignin in Seaweed Reveals Convergent Evolution of Cell-Wall Architecture, *Current Biology*, 19(2): 169-175.
- Matthias Heil. 2M1 - Q-stream, School of Mathematics, University of Manchester.
- Mcdermid K. J. and Stuercke B. (2003). Nutritional Composition of Edible Hawaiian Seaweeds, *Journal of Applied Phycology*, 15(6): 513-524.
- McHugh D.J. (2003). A Guide to the Seaweed Industry. Available from: <<http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e00.htm#Contents>>.
- Meinita M., Kang J.-Y., Jeong G.-T., Koo H., Park S., Hong Y.-K. (2012). Bioethanol production from the acid hydrolysate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (cottonii), *Journal of Applied Phycology*, 24: 857–862.
- Moen E., Østgaard K. (1997). Aerobic degradation of Ca-alginate gels as a model system of seaweed tissue degradation, *Journal of Applied Phycology*, 9: 261-267.
- Mohammadi Maedeh, Ghasem D. Najafpour, Habibollah Younesi, Pooya Lahijani, Mohamad Hekarl Uzir, Abdul Rahman Mohamed (2011). Bioconversion of synthesis gas to second generation biofuels: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15: 4255-4273.
- Moore Randy, Clark Dennis W., Stern Kingsley R., Vodopich Darrell (1996). Classification of algae, *Botany: Plant Diversity*, 5: 47-66.
- Morrissey J. (2002). Roaringwater Bay Pilot Seaweed Cultivation Project Phase I, Irish Seaweed Centre, full report, 90.
- Mortensen AM., Wegeberg S. (2007). Forsøgsdyrkning af *Alaria esculenta* på Færøerne, Rapport, 12.
- Msuya F. E. and Neori A. (2002). *Ulva reticulata* and *Gracilaria crassa*: Macroalgae That Can Biofilter Effluent from Tidal Fishponds in Tanzania, *Journal of Marine Science*, 1: 117-126.
- Muraoka D. (2004). Seaweed resources as a source of carbon fixation, *Bulletin / Fisheries Research Agency*, 1: 59–63.
- Neushul M. (1989). Seaweed for War: California's World War I Kelp Industry, *Technology and Cultures*, 30(3): 561-583.
- NREL/TP-510-42618 Technical Report. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass.
- Oilgae (2010). Oilgae guide to fuels from macroalgae. Tamilnadu, India.



- Painter TJ. (1983). Algal polysaccharides. In Aspinall OG (ed.) *The Polysaccharides*, Academic Press (New York): 195-285.
- Pang SJ., Lüning K. (2004). Breaking seasonal limitation: year-round sporogenesis in the brown alga *Laminaria saccharina* by blocking the transport of putative sporulation inhibitors, *Aquaculture*, 240: 531-541.
- Park J.-H., Hong J.-Y., Jang H.C., Oh S.G., Kim S.-H., Yoon J.-J., Kim Y.J. (2012). Use of *Gelidium amansii* as a promising resource for bioethanol: a practical approach for continuous dilute-acid hydrolysis and fermentation, *Bioresource Technology*, 108: 83–88.
- Park Jae-Il, Lee Jinwon, Sang Jun Sim, Lee Jae-Hwa (2009). Production of Hydrogen from Marina Macro-algae Biomass using Anaerobic Sewage Sludge Microflora, *Biotechnology and Bioprocessing Engineering*, 14: 307-315.
- Percival E., McDowell RH. (1967). *Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides*, Academic Press (London-New York 1967).
- Pérez R. (1997). Ces algues qui nous entourent. Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. Editions Efrimer.
- Peterson A. A., Vogel F., Lachance R. P., Froling M., Antal M. J and Tester J. W. (2008). Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: A review of sub- and supercritical water technologies, *Energy & Environmental Science*, 1(1): 32-65.
- Rasmussen MB., Fossing H., Markager S., Bruhn A. (2009). Anvendelse af marine algaer til fremstilling af biobrændstof. 15. Danske Havforsker møde, Helsingør, January 2009. Abstracts p.67.
- Rasmussen TB., Manefield M., Andersen JB., Eberl L., Anthoni U., Christophersen C., Steinberg P., Kjelleberg S., Givskov M. (2000). How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1, *Microbiology*, 146: 3237–3244.
- Read SM., Currie G., Bacic A. (1996) Analysis of the structural heterogeneity of laminarin by electrospray-ionisation-mass spectrometry, *Carbohydrate Research*, 281: 187-201.
- Reith Hans, Huijgen Wouter, Jaap van Hal, Lenstra Jip (2009). Seaweed potential in the Netherlands.
- Reith J. H., Deurwaarder E. P., Hemmes K., Curvers A. P. W. M., Kamermans P., Brandenburg W. and Zeeman G. (2005). Grootschalige teelt van zeewier in combinatie met offshore windparken in de Noordzee, Energy Commission of the Netherlands.
- Rioux L.-E., Turgeon S.L., Beaulieu M. (2007). Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds, *Carbohydrate Polymers*, 69: 530–537.
- Rioux Laurie-Eve, Turgeon Sylvie L., Beaulieu Martin (2009). Effect of season on the composition of bioactive polysaccharides from the brown seaweed *Saccharina longicuris*, *Phytochemistry*, 70: 1069-1075.
- Roesijadi G., Copping A. E., Huesemann M. H., Forster J. and Benemann J. R (2008). Techno-Economic Feasibility Analysis of Offshore Seaweed Farming for

- Bioenergy and Biobased Products, Battelle Pacific Northwest Division Report Number PNWD- 931.
- Roesijadi G., Jones S.B, Snowden-Swan L. J., Zhu Y. (2010). Macroalgae as a Biomass Feedstock: A Preliminary Analysis.
- Rojan P. John , Anisha G.S., Madhavan Nampoothiri K., Ashok Pandey (2011). Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol, *Bioresource Technology*, 102: 186-193.
- Ross A. B., Jones J. M., Kubacki M. L. and Bridgeman T. (2008). Classification of macroalgae as fuel and its thermochemical behavior, *Bioresource Technology*, 99(14): 6494-6504.
- Sánchez O.J., Cardona C.A. (2008). Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technology*, 99(13): 5270-5295.
- Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins, *Phytochemistry*, 30: 3875-883.
- Schink B. (1997). Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation, *Microbiology and Molecular Biology reviews*, 61: 262-280.
- Shea R., Chopin T. (2007). Effects of germanium dioxide, an inhibitor of diatom growth, on the microscopic laboratory cultivation stage of the kelp *Laminaria saccharina*, *Journal of Applied Phycology*, 19: 27-32.
- Sluiter A. (2005). Determination of structural carbohydrates and lignin biomass. Laboratory Analytical Protocol, National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO.
- Smidsrød O., Moe ST. (1995). *Biopolymerkjemi*. Tapir Forlag, Trondheim, Norway. [In Norwegian: Biopolymer Chemistry].
- Smit Albertus J. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review, *Journal of Applied Phycology*, 16: 245–262.
- Stokke BT., Smidsrød O., Bruheim P., Skjåk-Bræk G. (1991). Distribution of urinate residues in alginate chains in relation to alginate gelling properties, *Macromolecules*, 24: 4637-4645.
- Subhadra Bobban G. (2010). Sustainability of algal biofuel production using integrated renewable energy park (IREP) and algal biorefinery approach, *Energy Policy*, 38: 5892-5901.
- Sze P. (1993). *A Biology of the algae*, second edition Wm. C, Brown Publishers.
- Taylor G. (2008). Biofuels and biorefinery concept, *Energy Policy*, 36: 4406–4409.
- Teas J. (1981). The consumption of seaweed as a protective factor in the etiology of breast cancer, *Medical Hypotheses*, 7: 601-13.
- Thomas TD., Turner KW., Crow VL. (1980). Galactose fermentation by *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*: pathways, products, and regulation, *Journal of Bacteriology*, 144(2): 672–82.
- Tomás-Pejó E., Oliva J.M., Ballesteros M. (2008). Realistic approach for full-scale bioethanol production from lignocellulose: A review, *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67(11): 874-84.

- Turvey J.R., Christison J. (1967). The hydrolysis of algal galactans by enzymes from a *Cytophaga* species, *Biochemical Journal*, 105: 311–316.
- Wegeberg Susse and Felby Claus (2010). *Algae Biomass for Bioenergy in Denmark: Biological/Technical challenges and opportunities.*
- Yanagisawa M., Nakamura K., Ariga O., Nakasaki K. (2011). Production of high concentrations of bioethanol from seaweeds that contain easily hydrolysable polysaccharides, *Process Biochemistry*, 46: 2111–2116.
- Yeoh HH., Lim KO. (2000). Production of fuel ethanol from oil palm wastes, *International Energy Journal*, 1: 89–95.
- Yokoyama H., Waki M., Moriya N., Yasuda T., Tanaka Y., and Haga K. (2007). Effect of fermentation temperature on hydrogen production from cow waste slurry by using anaerobic microflora within the slurry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74: 474-483.
- Yu S., Blennow A., Bojko M., Madsen F., Olsen C.E., Engelsen S.B. (2002). Physicochemical characterization of floridean starch of red algae, *Starch*, 54: 66–74.