



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΕΛΑΙΑ ΑΠΟ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΚΩΤΣΙΑΡΙΔΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΣΑΡΡΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ

ΑΘΗΝΑ
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ, 2021

Εξεταστική Επιτροπή

Ιωάννης Σαρρής
Καθηγητής

Εμμανουήλ Προεστάκης
Λέκτορας Εφαρμογών

Ζωή Κανετάκη
Λέκτορας Εφαρμογών


ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/ηΙΩΑΝΝΗΣ
ΚΩΤΣΙΑΡΙΔΗΣ.....του.....ΜΑΡΚΟΥ.....
....., με αριθμό
μητρώου04059..... φοιτητής/τρια του
Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Μηχανικών του Τμήματος
Μηχανολόγων Μηχανικών, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα



Περίληψη

Η χρήση των μη ανανεώσιμων πηγών ενέργειας δεν θεωρείται πλέον εφαρμόσιμη. Αυτό οφείλεται από τη μια στην εξάντληση των ορυκτών καυσίμων τα οποία εξαντλούνται, στις ζημιογόνες περιβαλλοντικές επιπτώσεις που επιφέρει η χρήση τους και από την άλλη στην συνεχώς ανοδική τιμή τους. Συνεπώς είναι αναγκαία η χρήση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας (αιολική, υδροηλεκτρική, γεωθερμική, κλπ). Μεταξύ των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, μια από τις πιο αναπτυσσόμενες ενεργειακές πηγές στο κοντινό μέλλον φαίνεται να είναι η βιομάζα από την οποία μπορούν να προκύψουν βιοκαύσιμα. Τα καύσιμα αυτά έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν ως υποκατάστατα των συμβατικών καυσίμων.

Ένα από τα πιο ευρέως γνωστά βιοκαύσιμα είναι το βιοντίζελ, το οποίο μπορεί να υποκαταστήσει το ορυκτό ντίζελ. Οι αλκυλεστέρες των λιπαρών οξέων από τους οποίους αποτελείται το βιοντίζελ και οι ιδιότητές του προσομοιάζουν εκείνες του απλού ντίζελ. Συνεπώς η χρήση του στους πετρελαιοκινητήρες δεν θα απαιτήσει κάποια τροποποίησή τους. Για να παραχθεί απαιτείται αντίδραση μετεστεροποίησης τριγλυκεριδίων. Τα τριγλυκερίδια αυτά μπορούν να παραχθούν από μικροφύκη τα οποία έχουν υψηλό περιεχόμενο σε φυτικά έλαια και λίπη.

Τα μικροφύκη είναι απλοί φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούν την ηλιακή ενέργεια, το νερό το CO₂ και απλά θρεπτικά συστατικά όπως τα N, P και K για να συνθέσουν μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών, υδατανθράκων και λιπιδίων σε μικρό χρονικό διάστημα. Τα τριγλυκερίδια που παράγονται από τα λιπίδια τους, παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον για την παραγωγή βιοντίζελ.

Η μόνη βιώσιμη πηγή βιοντίζελ μέχρι στιγμής φαίνεται ότι είναι τα έλαια από μικροφύκη από τα οποία μπορούμε να παράξουμε μεγάλη ποσότητα καυσίμων για να εξυπηρετήσουμε την αυξημένη ανάγκη σε καύσιμα μεταφορών. Σε σχέση με τις ενεργειακές καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται μέχρι τις μέρες μας τα μικροφύκη έχουν την δυνατότητα να παράξουν ανά τετραγωνικό μέτρο μεγαλύτερη ποσότητα πρώτης ύλης για την παραγωγή βιοντίζελ. Πλεονεκτούν έναντι των άλλων καλλιεργειών καθώς μπορούν να ευδοκιμήσουν ακόμα και σε περιοχές που είναι ακατάλληλες για την καλλιέργεια εδάδιμων φυτών, αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να αξιοποιούνται απρόσφορες περιοχές για άλλες καλλιέργειες.

Τα μικροφύκη που πλεονεκτούν έναντι των υπολοίπων λόγω του υψηλού λιπιδιακού περιεχομένου τους και της μεγάλης παραγωγής βιομάζας προτιμούνται για την παραγωγή βιοντίζελ. Για να επιτευχθεί ο συνδυασμός των δύο παραπάνω χαρακτηριστικών απαιτείται η καλλιέργεια υπό ενδεδειγμένες συνθήκες ή η γενετική τροποποίηση των μικροφυκών.

Abstract

The use of non-renewable energy sources is no longer considered applicable. This is due, on the one hand, to the depletion of fossil fuels that are depleted, to the harmful environmental effects of their use, and, on the other hand, to their ever-increasing price. Therefore it is necessary to use renewable energy sources (wind, hydroelectric, geothermal, etc.). Among renewable energy sources, one of the most developing energy sources in the near future seems to be the biomass from which biofuels can be derived. These fuels can be used as substitutes for conventional fuels.

One of the most widely known biofuels is biodiesel, which can replace fossil diesel. The alkyl esters of the fatty acids that make up biodiesel and its properties are similar to those of ordinary diesel. Therefore its use in diesel engines will not require any modification. A triglyceride transesterification reaction is required to produce it.

Microalgae are composed of vegetable oils and animal fats which can be used as a source of triglycerides.

Microalgae are simple photosynthetic microorganisms that use solar energy, water, CO₂ and simple nutrients such as N, P and K to synthesize large amounts of protein, carbohydrates and lipids in a short time. The triglycerides produced by their lipids are of great interest for the production of biodiesel.

The only viable source of biodiesel so far seems to be microalgae oils which are able to meet the global demand for transport fuels. Compared to the energy crops used to date, microalgae have the ability to produce a larger amount of raw material per square meter for biodiesel production. They have an advantage over other crops as they can thrive even in areas that are unsuitable for growing edible plants, this results in the use of areas unsuitable for other crops.

Microalgae that have an advantage over the rest due to their high lipid content and high biomass production are preferred for biodiesel production. To achieve the combination of the two above characteristics requires the cultivation under appropriate conditions or the genetic modification of the microalgae.

Περιεχόμενα

| Κεφάλαιο | Σελίδα |
|---|--------|
| Πίνακες | 9 |
| Σχήματα | 11 |
| 1. Χημικές ενώσεις που αποτελούν το βιοντίζελ | 13 |
| 2. Ιδιότητες του βιοντίζελ | 14 |
| 3. Εκπομπές καυσαερίων | 18 |
| 4. Απόδοση βιοντίζελ | 24 |
| 5. Προδιαγραφές βιοντίζελ | 24 |
| 6. Σύγκριση συμβατικού ντίζελ-βιοντίζελ | 29 |
| 7. Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα βιοντίζελ | 30 |
| 8. Μέθοδοι παραγωγής βιοντίζελ | 31 |
| 8.1 Πυρόλυση | 32 |
| 8.2 Αραίωση | 33 |
| 8.3 Μικρογαλάκτωμα | 33 |
| 8.4 Μετεστεροποίηση | 33 |
| 8.4α Επίδραση εξωτερικών παραγόντων στην μετεστεροποίηση για την παραγωγή βιοντίζελ | 34 |
| 8.4β Βασικά καταλυόμενη μετεστεροποίηση | 35 |
| 8.4γ Όξινα καταλυόμενη μετεστεροποίηση | 36 |
| 8.4δ Μετεστεροποίηση με ένζυμα για καταλύτες | 36 |
| 9. Διεργασίες που ακολουθούν τη μετεστεροποίηση | 38 |
| 10. Πρώτες ύλες | 39 |
| 11. Βιολογία μικροφυκών | 40 |
| 12. Ιδιότητες που καθιστούν τα μικροφύκη κατάλληλα για την παραγωγή βιοντίζελ | 48 |
| 13. Επιλογή κατάλληλου στελέχους για την παραγωγή βιοντίζελ | 52 |
| 14. Τεχνολογίες παραγωγής βιομάζας μικροφυκών | 57 |
| 14.1 Φωτοαυτοτροφική παραγωγή | 57 |
| 14.1α Ανοιχτά συστήματα αβαθών λιμνών | 58 |
| 14.1β Φωτοβιοαντιδραστήρες | 61 |
| 14.1γ Σύγκριση των ανοιχτών συστημάτων αβαθών λιμνών και των | 68 |

| | | |
|-------|--|-----|
| | κλειστών συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων | |
| 14.1δ | Υβριδικά συστήματα | 69 |
| 14.2 | Ετεροτροφική παραγωγή | 70 |
| 14.3 | Μικτότροφος παραγωγή | 71 |
| 15. | Μέθοδοι διαχωρισμού των μικροφυκών | 72 |
| 15.1 | Κροκίδωση | 72 |
| 15.2 | Καθίζηση | 74 |
| 15.3 | Διήθηση | 74 |
| 15.4 | Άλλες μέθοδοι διαχωρισμού των μικροφυκών | 75 |
| 16. | Διαδικασίες μετά τη συγκομιδή των μικροφυκών: Ξήρανση - Εκχύλιση ελαίου | 75 |
| 17. | Έλαια των μικροφυκών | 78 |
| 17.1 | Χημική σύσταση των μικροφυκών | 78 |
| 17.2 | Περιεκτικότητα μικροφυκών σε λιπίδια | 80 |
| 17.3 | Σύσταση λιπιδίων | 81 |
| 18. | Παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγικότητα των φυκών ως προς τα λίπη και έλαια | 87 |
| 19. | Τρόποι βελτίωσης της απόδοσης των μικροφυκών σε έλαια | 99 |
| 20. | Αντίδραση μετεστεροποίησης των ελαίων από μικροφύκη | 102 |
| 21. | Άλλες μέθοδοι παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη | 104 |
| 21.1 | Διαδικασία Mcgyan | 104 |
| 21.2 | Μετεστεροποίηση in situ | 105 |
| 22. | Χαρακτηριστικά του βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών | 106 |
| 23. | Οικονομική ανάλυση | 108 |
| 24. | Τρόποι μείωσης του κόστους παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη | 109 |
| 25. | Βιωσιμότητα της μεθόδου παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη | 112 |
| 26. | Συμπεράσματα-Τελική πρόταση | 113 |
| | Βιβλιογραφία | 114 |

ΠΙΝΑΚΕΣ

| | |
|---|----|
| Πίνακας 1. Η σύσταση του βιοντίζελ που παράγεται από έλαια του μικροφύκους <i>Chlorella protothecoides</i> | 13 |
| Πίνακας 2. Επιλεγμένες ιδιότητες του βιοντίζελ που σχετίζονται με την καταλληλότητά του ως καυσίμου κίνησης | 15 |
| Πίνακας 3. Ιδιότητες που παρουσιάζουν οι αλκυλεστέρες που εμφανίζονται στα λιπαρά οξέα του βιοντίζελ | 17 |
| Πίνακας 4. Επίδραση των δομικών χαρακτηριστικών των αλκυλεστέρων των λιπαρών οξέων στις ιδιότητές τους. | 18 |
| Πίνακας 5. Εκπομπές καυσαερίων κατά τη χρήση καθαρού βιοντίζελ ή μιγμάτων ντίζελ. | 20 |
| Πίνακας 6. Προδιαγραφές του βιοντίζελ στις ΗΠΑ | 24 |
| Πίνακας 7. Προδιαγραφές του βιοντίζελ στην Ευρώπη | 25 |
| Πίνακας 8. Προδιαγραφές του βιοντίζελ στην Αυστραλία | 27 |
| Πίνακας 9. Παραγωγή ελαίων ανά εκτάριο για διάφορες ενεργειακές καλλιέργειες | 49 |
| Πίνακας 10. Απαιτούμενη έκταση για διάφορα είδη ενεργειακής καλλιέργειας | 50 |
| Πίνακας 11. Λιπιδιακό περιεχόμενο διαφόρων στελεχών μικροφυκών | 55 |
| Πίνακας 12. Βιοχημική σύσταση μικροφυκών | 79 |
| Πίνακας 13. Βιοχημική σύσταση του μικροφύκους <i>Chlorella protothecoides</i> υπό διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης | 79 |
| Πίνακας 14. Περιεκτικότητα σε έλαια και παραγωγικότητα σε λιπίδια διαφόρων στελεχών μικροφυκών | 80 |
| Πίνακας 15. Τυπική σύνθεση λιπαρών οξέων στα έλαια που προέρχονται από τα μικροφύκη | 81 |
| Πίνακας 16. Κύρια λιπαρά οξέα στις ομάδες των μικροφυκών | 82 |
| Πίνακας 17. Μεταβολές του συνολικού λιπιδιακού περιεχομένου μικροφυκών κατά τη διάρκεια των φάσεων ανάπτυξής τους | 83 |
| Πίνακας 18. Λιπιδιακή σύσταση διαφόρων θαλάσσιων μικροφυκών κατά το στάδιο της στατικής φάσης της καλλιέργειας | 83 |
| Πίνακας 19. Λιπιδιακό περιεχόμενο διαφόρων μικροφυκών | 85 |
| Πίνακας 20. Λιπιδιακή σύσταση διαφόρων στελεχών μικροφυκών | 87 |

| | |
|--|-----|
| Πίνακας 21. Επίδραση των πηγών άνθρακα στη συσσώρευση βιομάζας και στο λιπιδικό περιεχόμενο κατά την έναρξη της φάσης στασιμότητας | 88 |
| Πίνακας 22. Επίδραση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στη συσσώρευση βιομάζας και λιπιδίων του μικροφύκου <i>Chlorella sorokiniana</i> κατά το τέλος της φάσης εκθετικής ανάπτυξης της καλλιέργειας | 89 |
| Πίνακας 23. Επίδραση της θερμοκρασίας ξήρανσης στο λιπιδιακό περιεχόμενο των κυττάρων του μικροφύκου <i>Chlorella Vulgaris</i> | 91 |
| Πίνακας 27. Χαρακτηριστικά του βιοντίζελ από τα έλαια του μικροφύκου <i>Chlorella</i> | 106 |
| Πίνακας 25. Σύσταση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων στο βιοντίζελ από έλαια του μικροφύκου <i>Chlorella</i> | 107 |

ΣΧΗΜΑΤΑ

| | |
|---|----|
| Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση της διαδρομής 2 ηλεκτρονίων και μετακίνησης 4 πρωτονίων κατά τη λειτουργία των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης στη μεμβράνη του θυλακοειδούς | 43 |
| Σχήμα 2. Κύκλος του Calvin | 45 |
| Σχήμα 3. Σύνθεση λιπαρών οξέων στους χλωροπλάστες | 47 |
| Σχήμα 4. Απλοποιημένη διαδικασία σύνθεσης των τριγλυκεριδίων στα φύκη | 48 |
| Σχήμα 5. Παραγωγικότητα μικροφυκών ως προς τα λιπίδια | 56 |
| Σχήμα 6. Ανοιχτά συστήματα αβαθών λιμνών | 59 |
| Σχήμα 7. Σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες | 62 |
| Σχήμα 8. Επίπεδος φωτοβιοαντιδραστήρας | 62 |
| Σχήμα 9. Φωτοβιοαντιδραστήρες σε στήλες | 63 |
| Σχήμα 10. Ηλιακός συλλέκτης σε σχήμα φράχτη | 64 |
| Σχήμα 11. Διαδικασίες που ακολουθούν τη συγκομιδή των μικροφυκών | 76 |
| Σχήμα 12. Εκχύλιση ελαίων από μικροφύκη με υγροποιημένο διμεθυλαιθέρα | 79 |
| Σχήμα 13. Επίδραση της θερμοκρασίας ξήρανσης στο λιπιδιακό περιεχόμενο των κυττάρων του μικροφύκου <i>Chlorella Vulgaris</i> | 91 |
| Σχήμα 14. Συγκέντρωση της παραγόμενης βιομάζας σε συνάρτηση με τις ημέρες καλλιέργειας, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του CO ₂ στον αέρα της καλλιέργειας του <i>N. oculata</i> NCTU-3 | 94 |
| Σχήμα 15. Περιεχόμενο λιπίδια και παραγωγή λιπιδίων στο πράσινο μικροφύκος <i>Neochloris oleabundans</i> , το οποίο καλλιεργήθηκε σε διαφορετικά θρεπτικά μέσα που περιείχαν νιτρικό νάτριο, ουρία και διττανθρακικό αμμώνιο, σε συγκέντρωση 5mM | 95 |
| Σχήμα 20. Περιεχόμενο λιπιδίων στα κύτταρα, συνολική συγκέντρωση λιπιδίων και παραγωγή λιπιδίων στις καλλιέργειες μικροφυκών με διαφορετικές συγκεντρώσεις νιτρικού αζώτου. Η συνολική συγκέντρωση των λιπιδίων υπολογίστηκε με πολλαπλασιασμό του περιεχομένου των λιπιδίων στα κύτταρα με την αντίστοιχη μέγιστη συγκέντρωση της βιομάζας. Η παραγωγή των λιπιδίων υπολογίστηκε διαιρώντας τη συνολική συγκέντρωση των λιπιδίων με τον αριθμό των | 96 |

| | |
|---|-----|
| ημερών της καλλιέργειας | |
| Σχήμα 17. Περιεχόμενο λιπιδίων του <i>S. obliquus</i> σε σχέση με τη φάση ανάπτυξης | 97 |
| Σχήμα 18. Επίδραση της θερμοκρασίας στη συσσώρευση λιπιδίων | 98 |
| Σχήμα 19. Σχηματική ροή διαδικασίας παραγωγής βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών | 103 |
| Σχήμα 20. Εστεροποίηση ελεύθερων λιπαρών οξέων με όξινο καταλύτη | 104 |
| Σχήμα 21. Σχηματική διάταξη διαδικασίας Mcgyan | 105 |
| Σχήμα 26. Βιοδιυλιστήριο | 111 |

1. Χημικές ενώσεις που αποτελούν το βιοντίζελ

Από χημικής άποψης ο όρος βιοντίζελ αναφέρεται στο καύσιμο που αποτελείται από μονοαλκυλεστέρες λιπαρών οξέων μακρικής ανθρακικής αλυσίδας. Τα λιπαρά αυτά οξέα εμφανίζονται σε μη συμβατικές πρωτογενείς ύλες, όπως είναι τα φυτικά έλαια και τα ζωικά λίπη [69]. Στον Πίνακα 1 παρατίθενται, για παράδειγμα, οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων (FAME, fatty acid methyl-esters) από τους οποίους αποτελείται το βιοντίζελ που παράγεται από έλαια του μικροφύκου *Chlorella protothecoides*.

Πίνακας 1. Η σύσταση του βιοντίζελ που παράγεται από έλαια του μικροφύκου *Chlorella protothecoides* [34]

| Μοριακός τύπος | Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων | Σχετική περιεκτικότητα (%) |
|-------------------|---|----------------------------|
| $C_{15}H_{30}O_2$ | Τετραδεκανοϊκός μεθυλεστέρας | 1.31 |
| $C_{17}H_{34}O_2$ | Μεθυλεστέρας δεκαεξανοϊκού οξέος | 12.94 |
| $C_{18}H_{36}O_2$ | Μεθυλεστέρας δεκαεπτανοϊκού οξέος | 0.89 |
| $C_{19}H_{34}O_2$ | Μεθυλεστέρας 9,12-δεκαοκταδιενικού οξέος | 17.28 |
| $C_{19}H_{36}O_2$ | Μεθυλεστέρας του 9-δεκαοκτενικού οξέος | 60.84 |
| $C_{19}H_{38}O_2$ | Μεθυλεστέρας δεκαοκτανοϊκού οξέος | 2.76 |
| $C_{20}H_{38}O_2$ | Μεθυλεστέρας του 10-δεκαεννιαενικού οξέος | 0.36 |
| $C_{21}H_{40}O_2$ | Μεθυλεστέρας του 11-εικοσενοϊκού οξέος | 0.42 |
| $C_{21}H_{42}O_2$ | Μεθυλεστέρας του εικοσανοϊκού οξέος | 0.35 |

Αυτοί οι αλκυλεστέρες συνήθως σχηματίζονται με αντίδραση μετεστεροποίησης, στην οποία τα τριγλυκερίδια, τα οποία είναι πρώτες ύλες ζωικών λιπών και φυτικών

ελαίων, αντιδρούν με αλκοόλες (συνήθως μεθανόλη ή αιθανόλη) παρουσία καταλύτη.^[54] Τα τριγλυκερίδια, στις οποίες οι τρεις-OH ομάδες γλυκερόλης εστεροποιούνται με λιπαρά οξέα. Αυτά είναι μόρια που έχουν πολύ οξυγόνο στη δομή τους. Το ίδιο λιπαρό οξύ παράγει απλά τριγλυκερίδια, ενώ δύο ή τρία διαφορετικά λιπαρά οξέα παράγουν μικτά τριγλυκερίδια^[76]. Ανάλογα με την πηγή των λιπαρών οξέων, η σύνθεση των λιπών και των ελαίων θα ποικίλλει. Δεδομένου ότι διαφορετικά λιπαρά οξέα έχουν διαφορετικές φυσικές και χημικές ιδιότητες, η σύνθεσή τους μπορεί να είναι η πιο σημαντική παράμετρος, η οποία τελικά θα επηρεάσει τη σύνθεση και τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου βιοντίζελ. Ένα άλλο βασικό χαρακτηριστικό της χημικής σύνθεσης του βιοντίζελ είναι ότι δεν περιέχει θείο και αρωματικές ενώσεις.

2. Ιδιότητες του βιοντίζελ

Οι σπουδαιότερες ιδιότητες του βιοντίζελ είναι:

1. Κατώτατη θερμογόνος δύναμη
2. Αριθμός Κετανίου
3. Ειδικό βάρος
4. Σημείο βρασμού
5. Σημείο θόλωσης
6. Σημείο ροής
7. Ιξώδες
8. Πυκνότητα
9. Σημείο ανάφλεξης^[82].

Αυτές οι ιδιότητες του βιοντίζελ παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Επιλεγμένες ιδιότητες του βιοντίζελ που σχετίζονται με την καταλληλότητά του ως καυσίμου κίνησης^{[31][21][19]}

| Ιδιότητα | Τιμή |
|---|------------------------|
| Αριθμός Κετανίου | 48-65 |
| Κατώτατη θερμογόνος δύναμη (MJ/m ³) | 32.6 x 10 ³ |
| Ιξώδες στους 313K (mm ² /s) | 1.9-6.0 |
| Ειδικό βάρος στους 288.5K | 0.88 |
| Πυκνότητα στους 288K (kg/m ³) | 860-894 |
| Σημείο βρασμού (σε K) | 455-611 |
| Σημείο ανάφλεξης (σε K) | 373-443 |
| Σημείο θόλωσης (σε K) | 270-285 |
| Σημείο ροής (σε K) | 258-289 |

Λειτουργικότητα χαμηλής θερμοκρασίας

Η λειτουργικότητα χαμηλής θερμοκρασίας καθορίζεται από τέσσερις δείκτες:

- I. Το σημείο θόλωσης (cloud point, CP): ορίζεται ως η θερμοκρασία κάτω από την οποία αρχίζει ο διαχωρισμός ενός μίγματος σε δύο φάσεις. Αναφέρεται στη θερμοκρασία κάτω από την οποία αρχίζει η θόλωση που οφείλεται σε διαχωρισμό στερεών παραφινών (κηροί).
- II. Το σημείο ροής (pour point, PP): ορίζεται ως η χαμηλότερη θερμοκρασία στην οποία είναι δυνατή η άντληση ενός υγρού.
- III. Το σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου (cold filter plugging point, CFPP): ορίζεται ως η χαμηλότερη θερμοκρασία, στην οποία δεδομένη ποσότητα βιοντίζελ ρέει πλήρως υπό κενό μέσα από φίλτρο – πλέγμα, σε χρόνο 60s.
- IV. Τη δοκιμασία ροής χαμηλής θερμοκρασίας (low-temperature flow test, LTFT)

Οξειδωτική σταθερότητα

Τα προϊόντα των φυτικών ελαίων έχουν την ιδιότητα να αλλάζουν σύσταση όταν αλληλεπιδρούν με το οξυγόνο. Το ότι είναι ακόρεστα τα καθιστά επιρρεπή σε οξειδωτικό πολυμερισμό, γεγονός που οδηγεί στο σχηματισμό αδιάλυτων προϊόντων στο σύστημα καυσίμου, ειδικά στην αντλία έγχυσης ^[69]. Επομένως, η σταθερότητα

στην οξείδωση του βιοντίζελ είναι ένα πολύ σημαντικό χαρακτηριστικό. Προσδιορίζεται με μέτρηση του δείκτη σταθερότητας λαδιού (OSI, σε μονάδες μέτρησης: h). Ο δείκτης σταθερότητας λαδιού είναι ένας τρόπος προσδιορισμού της σχετικής αντίστασης του λαδιού στην οξείδωση.

Ιξώδες

Το ιξώδες είναι το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό του βιοντίζελ επειδή επηρεάζει τη λειτουργία του εγχυτήρα, ειδικά σε χαμηλές θερμοκρασίες που επηρεάζουν τη ρευστότητα του καυσίμου. Η διατήρηση χαμηλού ιξώδους καυσίμου είναι ευεργετική για την άντληση και τον ψεκασμό [19]

Αριθμός Κετανίου

Ο αριθμός κετανίου καυσίμου επηρεάζει διάφορες παραμέτρους που καθορίζουν την απόδοση του κινητήρα, όπως καύση, σταθερότητα, ευελιξία, εκπομπές λευκού καπνού, θόρυβο και εκπομπές CO και HC [69]. Αυτό το χαρακτηριστικό σχετίζεται με τον χρόνο καθυστέρησης ανάφλεξης μόλις το καύσιμο εισέλθει στο θάλαμο καύσης του κινητήρα ντίζελ. Όσο υψηλότερη είναι η τιμή κετόνης, τόσο μικρότερη είναι η καθυστέρηση ανάφλεξης.

Ενεργειακό περιεχόμενο

Το ενεργειακό περιεχόμενο είναι η θερμότητα που απελευθερώνεται κατά την καύση του καυσίμου. Οι παράμετροι που παίζουν ρόλο στο πόσο υψηλή θερμογόνο δύναμη θα έχει το βιοντίζελ είναι η περιεκτικότητα σε οξυγόνο και ο λόγος C / H στις ενώσεις που το συνθέτουν. Καθώς η περιεκτικότητα σε οξυγόνο των FAAEs αυξάνεται και η ακορεστότητά τους αυξάνεται, μπορεί να παρατηρηθεί ότι η ενεργειακή περιεκτικότητα του βιοντίζελ μειώνεται. Αντίθετα, σε FAAE με παρόμοιες αλυσίδες άνθρακα αλλά χαμηλότερη αναλογία C / H και σε αλκυλεστέρες με μεγαλύτερες αλκυλομάδες, παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργειακής περιεκτικότητας του βιοντίζελ λόγω της υψηλότερης αναλογίας άνθρακα προς οξυγόνο [75].

Λιπαντική ικανότητα

Διάφορα δομικά χαρακτηριστικά, όπως η παρουσία ετεροατόμων, το μήκος της αλυσίδας άνθρακα και ο βαθμός ακορεσμού θα επηρεάσουν την ικανότητα λίπανσης του βιοντίζελ. Το καύσιμο βιοντίζελ έχει τουλάχιστον δύο άτομα οξυγόνου στα μόρια

των συστατικών του ενώσεων, τα οποία εξηγούν σε μεγάλο βαθμό την υψηλότερη ικανότητα λίπανσης σε σύγκριση με το συμβατικό ντίζελ.

Ποιότητα ανάφλεξης

Η ποιότητα της ανάφλεξης προσδιορίζεται από

- τον αριθμό ιωδίου (είναι η περιεκτικότητα σε λιπαρά ακόρεστων οξέων.) και
- τον αριθμό σαπωνοποίησης (είναι η χαρακτηριστική σταθερά λιπαρών υλών που ισοδυναμεί στα mg KOH που απαιτούνται για την πλήρη σαπωνοποίηση των εστέρων και την εξουδετέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων 1g λίπους ή ελαίου)^[77].

Σημείο ανάφλεξης

Σημείο ανάφλεξης ενός καυσίμου αναφέρετε ως η χαμηλότερη θερμοκρασία στην οποία πρέπει να θερμανθεί έτσι ώστε να αναφλεχθούν αυτόματα οι ατμοί του όταν έλθουν σε επαφή με σε φλόγα ή σπινθήρα. Το σημείο ανάφλεξης του απλού ντίζελ είναι χαμηλότερο από αυτό του βιοντίζελ.^[69] Η τιμή του κυμαίνεται μεταξύ 420-450K.
[19]

Πίνακας 3. Ιδιότητες που παρουσιάζουν οι αλκυλεστέρες που εμφανίζονται στα λιπαρά οξέα του βιοντίζελ^[75]

| FAAE ¹ | Σημείο τήξης (°C) | Θερμότητα Καύσης (MJ/mol;MJ/kg) | Ιξώδες (ν, 40°C) (mm ² /s) | OSI (110°C) (h) | Αριθμός κετανίου | Λιπαντική ικανότητα (60°C) |
|-------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------|----------------------------|
| C 12:0 ME | 5 | 8.14/37.97 | 2.43 | >40 | 67 | 416 |
| C 12:0 EE | -2 | | 2.63 | >40 | | |
| C 14:0 ME | 19 | 10.67/39.45 | 3.30 | >40 | | 353 |
| C 14:0 EE | 12 | | 3.52 | >40 | | |
| C 16:0 ME | 31 | 10.67/39.45 | 4.38 | >40 | 86 | 357 |
| C 16:0 EE | 19 | | 4.57 | | 93 | |
| C 16:1 ME | -34 | 10.55/39.30 | 3.67 | 2.1 | 51 | 246 |
| C 16:1 EE | -37 | | | | | |
| C 18:0 ME | 39 | 11.96/40.07 | 5.85 | >40 | 101 | 322 |

| | | | | | | |
|-----------|-----|-------------|------|-----|----|-----|
| C 18:0 EE | 32 | | 5.92 | >40 | 97 | |
| C 18:0 BE | 28 | | 7.59 | | 92 | |
| C 18:1 ME | -20 | 11.89/40.09 | 4.51 | 2.5 | 59 | 290 |
| C 18:1 EE | -20 | | 4.78 | 3.5 | 68 | |
| C 18:1 BE | -26 | | 5.69 | | 62 | 303 |
| C 18:2 ME | -35 | 11.69/39.70 | 3.65 | 1.0 | 38 | 236 |
| C 18:2 EE | | | 4.25 | 1.1 | 40 | |
| C 18:3 ME | -52 | 11.51/39.34 | 3.14 | 0.2 | 23 | 183 |
| C 18:3 EE | | | 3.42 | 0.2 | 27 | |

¹ ME: μεθυλεστέρας, EE: αιθυλεστέρας, BE: βουτυλεστέρας [75]

Πίνακας 4. Επίδραση των δομικών χαρακτηριστικών των αλκυλεστέρων των λιπαρών οξέων στις ιδιότητές τους. [75]

| Δομικό χαρακτηριστικό | Σημείο τήξης | Θερμότητα Καύσης | Ιξώδες | OSI | Αριθμός κετανίου | Λιπαντική ικανότητα |
|-------------------------------------|----------------|------------------|--------|-----|------------------|---------------------|
| Μήκος ανθρακικής αλυσίδας | ↑ ^α | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | ↓ |
| Αριθμός διπλών δεσμών | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ | ↓ |
| cis διπλοί δεσμοί ^β | ↓ | -γ | ↓ | ↓ | γ ^δ | γ ^δ |
| Μεγαλύτερες αλκυλομάδες των εστέρων | ↓ | ↑ | ↑ | -γ | -γ | -γ |

^α ↑ υψηλότερη αριθμητική τιμή, ↓ χαμηλότερη αριθμητική τιμή. Για το σημείο τήξης, το ιξώδες και τη λιπαντική ικανότητα, ↓ δείχνει ότι η ιδιότητα βελτιώνεται. Για το OSI, τη θερμότητα καύσης και τον αριθμό κετανίου, ↓ δείχνει ότι η ιδιότητα επηρεάζεται αρνητικά.

^β σε σύγκριση με τους αντίστοιχους trans δεσμούς

^γ Αμελητέα ή καμία επίδραση

^δ Η επίδραση δεν έχει καταγραφεί [75]

3. Εκπομπές καυσαερίων

Όλες οι έρευνες που έχουν γίνει σχετικά με το βιοντίζελ, συγκλίνουν στο συμπέρασμα ότι η χρήση του ως καύσιμο έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των

εκπεμπόμενων καυσαερίων γενικά, ανεξάρτητα από τις πρώτες ύλες παραγωγής τους [91]. Το βιοντίζελ θεωρείται ουδέτερο ως προς τον άνθρακα, διότι όλο το CO₂ που παράγεται κατά την καύση του είχε απορροφηθεί από την ατμόσφαιρα κατά την ανάπτυξη των φυτών τα οποία χρησιμοποιούνται ως πρώτες ύλες για την παραγωγή του [51]. Εξαιτίας του ότι στη σύσταση του βιοντίζελ δεν περιλαμβάνεται θείο (ή περιλαμβάνονται ίχνη αυτού), κατά την καύση του, δεν παράγονται οξειδία του θείου ή η παραγόμενη ποσότητά τους είναι αμελητέα [17]. Η επίδραση της χρήσης βιοντίζελ στις εκπομπές καυσαερίων ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του βιοντίζελ. Το μήκος της αλυσίδας άνθρακα των συστατικών του δεν έχει σχεδόν καμία επίδραση στις εκπομπές σωματιδίων, αλλά έχει μεγαλύτερη επίδραση στους υδρογονάνθρακες και το μονοξείδιο του άνθρακα. Οι εκπομπές υδρογονανθράκων και μονοξειδίου του άνθρακα μειώνονται με την αύξηση του μήκους της αλυσίδας άνθρακα [19].

Όσον αφορά τα NO_x, η τάση της χρήσης βιοντίζελ για τη μείωση των εκπομπών καυσαερίων φαίνεται να είναι διαφορετική. Οι περισσότερες μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι κατά τη χρήση βιοντίζελ, οι εκπομπές NO_x θα αυξηθούν (έως 12-13%), κάτι που φαίνεται να οφείλεται στην περιεκτικότητα σε οξυγόνο στο βιοντίζελ [91]. Ωστόσο, Αμερικανοί ερευνητές που χρησιμοποιούν βιοντίζελ σε βαρέα οχήματα διαπίστωσαν ότι οι εκπομπές NO_x μειώθηκαν κατά 10% [42]. Επιπλέον, η έρευνα των Sahoo et al. [98] έδειξε ότι η χρήση βιοντίζελ από σπορέλαιο Polanga μπορεί να μειώσει τις εκπομπές NO_x κατά 4%. Αυτό οφείλεται στη διαφορετική γεωμετρία του κινητήρα, στην αναλογία συμπίεσης, στο μικρότερο χρόνο αντίδρασης και στη χαμηλότερη θερμοκρασία. Στην ίδια μελέτη, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των μη καύσιμων εκπομπών υδρογονανθράκων [91].

Ένας τρόπος αντιμετώπισης της αυξανόμενης τάσης των εκπομπών NO_x είναι να χρησιμοποιήσετε ένα μείγμα βιοντίζελ-ντίζελ. Αυτά τα μείγματα ονομάζονται Bxx, όπου το σύμβολο xx αντιπροσωπεύει την αναλογία του βιοντίζελ στο μείγμα [6]. Κατά τη χρήση τους σε κινητήρες ντίζελ, παρατηρείται όχι μόνο μείωση των εκπομπών NO_x, αλλά καθώς αυξάνεται το ποσοστό του βιοντίζελ στο μείγμα, μειώνονται επίσης και άλλες εκπομπές [19], [91], [75]. Παρατίθεται ενδεικτικός πίνακας με τα αποτελέσματα ερευνών που αφορούν στις εκπομπές καυσαερίων κατά τη χρήση καθαρού βιοντίζελ ή μιγμάτων με ντίζελ:

Πίνακας 5. Εκπομπές καυσαερίων κατά τη χρήση καθαρού βιοντίζελ ή μιγμάτων ντίζελ.

| Ερευνητές | Είδος καυσίμου | Επίδραση στις εκπομπές | | | | | | Βιβλιογραφική αναφορά | |
|------------------------|--|---|--------|---|--------|----------------------|---------------|---|--|
| | | NO _x | CO | CO ₂ | HC | Αιωρούμενα σωματίδια | Καπνός/αιθάλη | | |
| Machacon et al. Tan | Μίγμα ντίζελ/κοκοφοινικέλαιου | Αύξηση του ποσοστού του κοκοφοινικέλαιου οδηγεί σε χαμηλότερες εκπομπές | | Παρατηρείται μείωση στις καθαρές εκπομπές CO ₂ στα 77–104 g/MJ του ντίζελ που αντικαθιστάται από βιοντίζελ | | | | Αύξηση του ποσοστού του κοκοφοινικέλαιου οδηγεί σε χαμηλότερες εκπομπές | Machacon HTC, Shiga S, Karasawa T, Nakamura H. Performance and emission characteristics of a diesel engine fueled with coconut oil-diesel fuel blend. Biomass Bioenergy 2001;20:63–9, Tan RR, Culaba AB, Purvis MRI . Carbon balance implications of coconut biodiesel utilization in the Philippine automotive transport sector. Biomass Bioenergy 2004;26:579–85, [85] |
| Mittelbach et al. | Βιοντίζελ αποτελούμενο από μεθυλεστέρες του κραμβέλαιου (rape) | αύξηση | μείωση | | | | μείωση | | Mittelbach M, Tritthart P, Junck H. Diesel fuel derived from vegetable oil II: emission tests using rape oil methyl ester. Energy Agric 1985;4:207–15 [85] |
| Muray | Βιοντίζελ | μείωση | | | μείωση | | | μείωση | Tadashi Murayama, Young-taig Oh, Noboru Miyamoto, Takemi Chikahisa, |

| | | | | | | | | |
|------------------------------|--|---|--------------|--|--------|-----------------|--------------|--|
| ama et al Nwafor and Rice | αποτελούμενο από μεθυλεστέρες του κραμβέλαιου (rapeseed oil) | | | | | | | Nobukazu Takagi, Koichiro Itow. Low carbon flower buildup, low smoke and efficient diesel operation with vegetable oils by conversion to monoesters and blending with diesel oil or alcohols. SAE paper 841161., 2008-09-09 Nwafor OMI, Rice G. Performance of rapeseed methyl ester in diesel engine. Renewable Energy 1995;6:335-42., [4] |
| Graboski et al. | Μίγμα ντίζελ – βιοντίζελ (μεθυλεστέρες του σογιέλαιου) | Αύξηση του ποσοστού του βιοντίζελ οδηγεί σε υψηλότερες εκπομπές | | | | | | Graboski MS, Ross JD, McCormick RL. SAE Tech. Pap. Ser.; 1996 [No. 961166], [85] |
| Chang et al. | Μίγμα βιοντίζελ από μεθυλ- και ισοπροπυλεστέρες του σογιέλαιου με ντίζελ No2 | Αύξηση κατά 12 % | μείωση | | μείωση | μείωση | | Chang DYZ, Van Gerpen JH, Lee I, Johnson LA, Hammond EG, Marley SJ. Fuel properties and emissions of soybean oil esters as diesel fuel. J Am Oil Chem Soc 1996;73(11):1549. [85] |
| Scholl and | Βιοντίζελ αποτελούμενο | Μικρή μείωση | Μικρή μείωση | | | Μείωση κατά 50% | Μικρή μείωση | Scholl KW, Sorenson SC. Combustion of soybean oil methyl ester in a direct injection diesel engine. SAE paper 930934., [4] |

| | | | | | | | | |
|-------------------|--|------------------|-----------------|------------------|-------------------|---------------------------|------------------|---|
| Sorens on | από εστέρες του σογιέλαιου | | | | | | | |
| EPA, 2002 | Βιοντίζελ που βασίζεται στο σογιέλαιο | Αύξηση κατά 20% | Μείωση κατά 11% | | Μείωση κατά 21.1% | Μείωση κατά 10.1% | | [17] |
| Reyes JF et al. | Βιοντίζελ από λάδι σολομού | | | | | Μείωση των PM-10 κατά 50% | | Reyes JF, Sepilveda MA. PM-10 emissions and power of a Diesel engine fueled with crude and refined biodiesel from salmon oil. Fuel 2006;85:1714–9. [19] |
| Kalligeros et al. | Μίγμα βιοντίζελ από μεθυλεστέρες του ηλιέλαιου και συμβατικού ντίζελ | μείωση | μείωση | | μείωση | μείωση | | Kalligeros S, Zannikos F, Stournas S, Lios E, Anastopoulos G, Teas Ch, et al. An investigation of using biodiesel/marine diesel blends on the performance of a stationary diesel engine. Biomass and Bioenergy 2003;24:141–9. [4] |
| Dorado et al | Βιοντίζελ από μεθυλεστέρες χρησιμοποιημένου ελαιόλαδου | Μείωση κατά 32 % | μείωση κατά 59% | Μείωση κατά 8,6% | | | Σημαντική μείωση | Dorado MP, Ballesteros E, Arnal JM, Go´mez J, Lo´pez FJ. Exhaust emissions from a diesel engine fueled with transesterified waste olive oil. Fuel 2003; 82:1311–5. [4] |
| Rahem | Μίγμα | μείωση | μείωση | | | | μείωση | Raheman H, Phadatare AG. Diesel engine emissions and performance from |

| | | | | | | | | |
|-------------------|---|--------------|--------|--|--|--|--|--|
| an and Phadat are | βιοντίζελ από μεθυλεστέρες του φυτού karanja, με συμβατικό ντίζελ | | | | | | | blends of karanja methyl ester and diesel. Biomass and Bioenergy 2004; 27:393–7., [4] |
| Usta | Βιοντίζελ από μεθυλεστέρες του σπορέλαιου του καπνού | Μικρή αύξηση | μείωση | | | | | Usta N. An experimental study on performance and exhaust emissions of a diesel engine fuelled with tobacco seed oil methyl ester. Energy Conversion and Management 2005;46:2373–86., [4] |

4. Απόδοση βιοντίζελ

Αν και το αργό φυτικό λάδι παρουσίασε αρχικά καλή απόδοση όταν χρησιμοποιήθηκε σε κινητήρες ντίζελ, μετά από αρκετές ώρες λειτουργίας, οι εναποθέσεις άνθρακα σε διάφορα μέρη του κινητήρα εμπόδισαν ακόμη την ομαλή λειτουργία του κινητήρα και προκάλεσαν ζημιά σε αυτόν. Η ανάμιξη αυτών των λιπαντικών με συμβατικό ντίζελ μπορεί να ανακουφίσει το πρόβλημα σε κάποιο βαθμό, αλλά δεν εξαλείφει το πρόβλημα ^[85]. Επομένως, η μετεστεροποίηση πρέπει να πραγματοποιηθεί για τη μετατροπή λιπαρών οξέων σε αντίστοιχους αλκυλεστέρες και τη χρήση τους ως καυσίμου βιοντίζελ ή την ανάμειξή τους με συμβατικό ντίζελ. Η έρευνα για το βιοντίζελ ως καύσιμο δείχνει μέχρι στιγμής ότι η απόδοση του καθαρού ντίζελ και του συμβατικού ντίζελ είναι συνήθως παρόμοια με εκείνη του συμβατικού ντίζελ, επομένως είναι κατάλληλο για κινητήρες με μικρή ή καθόλου τροποποίηση. Η αυξημένη κατανάλωση παρατηρείται λόγω του οξυγόνου που περιέχεται στο μόριο των αλκυλεστέρων που το αποτελούν^[19].

Κάθε σημείο απόδοσης εξαρτάται από την πρώτη ύλη που προέρχεται από το βιοντίζελ και τις ερευνητικές συνθήκες. Έχουν γίνει πολλές έρευνες σε αυτό το θέμα.

5. Προδιαγραφές βιοντίζελ

Ακολουθούν πίνακες με τις προδιαγραφές του βιοντίζελ σε διάφορες περιοχές του πλανήτη.

Πίνακας 6. Προδιαγραφές του βιοντίζελ στις ΗΠΑ

| ASTM D6751(ΗΠΑ) ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ | | | |
|---|-----------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Ιδιότητα | Μέθοδος προσδιορισμού | Όρια | Μονάδα μέτρησης |
| Σημείο ανάφλεξης | D 93 | 130.0 min | ° C |
| Νερό και ίζημα | D 2709 | 0.050 max | % κατ' όγκο |
| Κινηματικό ιξώδες, 40°C | D 445 | 1.9-6.0 | mm ² /s |
| Περιεχόμενο τέφρας σε θειικά | D 874 | 0.020 max | % κατά βάρος |
| Θείο | D 5453 | 0.0015 max ή 0.05 max ¹ | % κατά βάρος |
| Διάβρωση λωρίδας χαλκού | D 130 | No. 3 max | |

| | | | |
|---|--------|-----------|--------------|
| Αριθμός Κετανίου | D 613 | 47 min | |
| Σημείο θόλωσης | D 2500 | Report | ° C |
| Υπόλειμμα άνθρακα (δείγμα 100%) | D 4530 | 0.050 max | % κατά βάρος |
| Αριθμός οξύτητας | D 664 | 0.80 max | mg KOH/g |
| Ελεύθερη γλυκερίνη | D 6584 | 0.020 max | % κατά βάρος |
| Συνολική γλυκερίνη | D 6584 | 0.240 max | % κατά βάρος |
| Περιεχόμενο σε φώσφορο | D 4951 | 0.001 max | % κατά βάρος |
| Θερμοκρασία απόσταξης, ατμοσφαιρική ισοδύναμη θερμοκρασία, με ανακτημένο το 90% | D 1160 | 360 max | ° C |

Πίνακας 7. Προδιαγραφές του βιοντίζελ στην Ευρώπη

| DIN EN 14214 | | | | |
|--|------------------------------|------|------|--------------------|
| Ιδιότητα | Μέθοδος προσδιορισμού | Όρια | | Μονάδα μέτρησης |
| | | min | max | |
| Περιεχόμενοι εστέρες | EN 14103 | 96.5 | | %(m/m) |
| Πυκνότητα στους 15°C | EN ISO 3675, EN ISO 12185 | 860 | 900 | kg/m ³ |
| Ιξώδες στους 40 °C | EN ISO 3104 ISO3105 | 3.5 | 5.0 | mm ² /s |
| Σημείο ανάφλεξης | EN ISO 3679 | 120 | | °C |
| Περιεχόμενο θείου | EN ISO 20846 EN ISO 20884 | | 10.0 | mg/kg |
| Ανθρακικό υπόλειμμα (σε 10% υπόλειμμα απόσταξης) | EN ISO 10370 | | 0.30 | %(m/m) |

| | | | | |
|--|-----------------------|-----|------|---------------|
| Αριθμός κετανίου | EN ISO 5165 | 51 | | |
| Περιεχόμενο τέφρας σε θειικά | ISO 3987 | | 0.02 | %(m/m) |
| Περιεχόμενο νερό | EN ISO 12937 | | 500 | mg/kg |
| Συνολική μόλυνση | EN 12662 | | 24 | mg/kg |
| Διάβρωση λωρίδας χαλκού (3h σε 50° C) | EN ISO 2160 | 1 | | |
| Οξειδωτική σταθερότητα στους 110° C | EN 14112 | 6.0 | | hr |
| Αριθμός οξύτητας | EN 14104 | | 0.50 | mg KOH/g |
| Βαθμός ιωδίου | EN 14111 | | 120 | g iodine/100g |
| Περιεχόμενο λινολενικό οξύ | EN 14103 | | 12 | %(m/m) |
| Περιεχόμενο μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων με ≥ 4 διπλούς δεσμούς | | | 1 | %(m/m) |
| Περιεχόμενο σε μεθανόλη | EN 14110 | | 0.20 | %(m/m) |
| Περιεχόμενο σε μονογλυκερίδια | EN 14105 | | 0.80 | %(m/m) |
| Περιεχόμενο σε διγλυκερίδια | EN 14105 | | 0.20 | %(m/m) |
| Περιεχόμενο σε τριγλυκερίδια | EN 14105 | | 0.20 | %(m/m) |
| Ελεύθερη γλυκερίνη | EN 14105, EN 14106 | | 0.02 | %(m/m) |

| | | | | |
|----------------------------|-----------------------|--|------|--------|
| Συνολική γλυκερίνη | EN 14105 | | 0.25 | %(m/m) |
| Μέταλλα αλκαλίων (Na+K) | EN 14108, EN 14109 | | 5.0 | mg/kg |
| Μέταλλα αλκαλικών γαιών | prEN 14538 | | 5.0 | mg/kg |
| Περιεχόμενο σε φώσφορο | EN 14107 | | 10.0 | mg/kg |

Πίνακας 8. Προδιαγραφές του βιοντίζελ στην Αυστραλία

| ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ (ΑΥΣΤΡΑΛΙΑ) | | | | | |
|---|---------------------------|------|------|--------------------|-------------------|
| Ιδιότητα | Μέθοδος προσδιορισμού | Όρια | | Μονάδα μέτρησης | Ημερομηνία ισχύος |
| | | Min | max | | |
| Θείο | ASTM D 5453 | | 50 | mg/kg | 18/09/2003 |
| | | | 10 | mg/kg | 01/02/2006 |
| Πυκνότητα, 15° C | ASTM D1298 EN ISO 3675 | 860 | 890 | kg/m ³ | 18/09/2003 |
| Απόσταξη T90 | ASTM D1160 | | 360 | ° C | 18/09/2003 |
| Περιεχόμενο τέφρας σε θειικά | ASTM D 874 | | 0.20 | % κατά βάρος | 18/09/2003 |
| Πυκνότητα 40° C | ASTM D445 | 3.5 | 5.0 | mm ² /s | 18/09/2003 |
| Σημείο ανάφλεξης | ASTM D93 | 120 | | ° C | 18/09/2003 |

| | | | | | |
|---|---|------|-------------------|--|------------|
| Υπόλειμμα άνθρακα Σε 10% υπόλειμμα απόσταξης Σε 100% δείγμα απόσταξης | EN ISO 10370 ASTM D4530 | | 0.30 ή 0.05 | % κατά βάρος % κατά βάρος | 18/09/2003 |
| Νερό και ίζημα | ASTM D2709 | | 0.50 | % κατ'όγκο | 18/09/2003 |
| Διάβρωση λωρίδας χαλκού | ASTM D130 | | No. 3 | | 18/09/2003 |
| Περιεχόμενο σε εστέρες | EN 14103 | 96.5 | | % (m/m) | 18/09/2003 |
| Φώσφορος | ASTM D4951 | | 10 | mg/kg | 18/09/2003 |
| Αριθμός οξύτητας | ASTM D664 | | 0.80 | mg KOH/g | 18/09/2003 |
| Συνολική μόλυνση | EN 12662 ASTM D 5452 | | 24 | mg/kg | 18/09/2004 |
| Ελεύθερη γλυκερόλη | ASTM D6584 | | 0.02 | % κατά βάρος | 18/09/2004 |
| Συνολική γλυκερόλη | ASTM D6584 | | 0.25 | % κατά βάρος | 18/09/2004 |
| Αριθμός κετανίου ASTM | EN ISO 5165 D 613 | | 51 | | 18/09/2004 |
| Σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου | TBA | | | | 18/09/2004 |
| Οξειδωτική σταθερότητα | EN 14112 ASTM D2274 (ανάλογα με το είδος του βιοντίζελ) | 6 | | ° C | 18/09/2004 |

| | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|--|---|-------|------------|
| Μέταλλα: ομάδα I (Na, K) | EN 14108 EN 14109 | | 5 | mg/kg | 18/09/2004 |
| Μέταλλα: ομάδα II (Ca, Mg) | prEN 14538 | | 5 | mg/kg | 18/09/2004 |

[54]

6. Σύγκριση συμβατικού ντίζελ-βιοντίζελ

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το βιοντίζελ προέρχεται από την επεξεργασία φυτικού ελαίου και ζωικού λίπους, επομένως είναι μία από τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Σε αντίθεση με το παραδοσιακό ντίζελ, το οποίο προέρχεται από ορυκτά καύσιμα, η διαθεσιμότητά του μειώνεται. Η χημική σύνθεση του βιοντίζελ διαφέρει από το συμβατικό ντίζελ. Το τελευταίο αποτελείται από ευθύγραμμους, διακλαδισμένους ή κυκλικούς υδρογονάνθρακες. Περιέχει 75% κορεσμένους υδρογονάνθρακες (κυρίως παραφίνες, συμπεριλαμβανομένων φυσιολογικών και ισοκυκλικών αλκανίων) και 25% αρωματικούς υδρογονάνθρακες (συμπεριλαμβανομένων ναφθαλενίου και κυκλοβενζολίου). Αντιθέτως, οι χημικές ουσίες που αποτελούν το βιοντίζελ είναι αλκυλεστέρες λιπαρών οξέων που περιέχονται σε φυτικά έλαια και ζωικά λίπη. Τα πιο κοινά λιπαρά οξέα στα φυτικά έλαια είναι στεατικό οξύ, παλμιτικό οξύ, ελαϊκό οξύ, λινελαϊκό οξύ και λινολενικό οξύ [85]. Επομένως, η σύνθεση του βιοντίζελ περιέχει 11% ατομικό οξυγόνο. Μια άλλη διαφορά από το παραδοσιακό ντίζελ είναι ότι δεν υπάρχει θείο στη σύνθεσή του [19], ή σύμφωνα με άλλους ερευνητές, η περιεκτικότητά του είναι χαμηλή (περίπου 20-50% της περιεκτικότητας σε θείο στο D2) [15]. Το άζωτο έχει επίσης ανιχνευθεί στη σύνθεση του βιοντίζελ, με περιεκτικότητα 1,3% [3].

Όπως συμβατικοί κινητήρες ντίζελ, το βιοντίζελ χρησιμοποιείται επίσης σε κινητήρες ανάφλεξης με συμπίεση λόγω των παρόμοιων χαρακτηριστικών τους. Όταν το βιοντίζελ αποτελείται από τον μεθυλεστέρα του φυτικού ελαίου, το ιξώδες του είναι ελαφρώς υψηλότερο από αυτό του D2 και όταν αποτελείται από τον αιθυλεστέρα του φυτικού ελαίου, η τιμή του ιξώδους του είναι σχεδόν διπλάσιο από το D2. Επιπλέον, το ειδικό βάρος του βιοντίζελ έχει υψηλότερη τιμή. Το ενεργειακό

περιεχόμενο του βιοντίζελ είναι συγκρίσιμο με το συμβατικό ντίζελ. Το HHV του συμβατικού ντίζελ είναι 42,7 MJ / kg, ενώ το HHV του βιοντίζελ κυμαίνεται από 39,5 MJ / kg (για το βιοντίζελ που εξάγεται από λάδι σπόρου) έως 41 MJ / kg (για το βιοντίζελ που προέρχεται από φύκια) [21]. Το βιοντίζελ έχει υψηλότερο σημείο ανάφλεξης από το συμβατικό ντίζελ (150oC και 77oC, αντίστοιχα), γεγονός που το καθιστά ασφαλέστερο.

Η παρουσία οξυγόνου στη σύνθετη δομή του βιοντίζελ έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της καύσης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ομοιογένεια του οξυγόνου στα μόρια καυσίμου κατά τη διάρκεια της διαδικασίας καύσης αυξάνεται [19], αλλά επίσης αυξάνει την κατανάλωση καυσίμου. Η απόδοση του βιοντίζελ είναι γενικά παρόμοια με το συμβατικό ντίζελ. Η δύναμη πέδησης είναι σχεδόν η ίδια, ενώ η παρατηρούμενη φθορά του κινητήρα είναι μικρή [15].

Ως προς τις εκπομπές καυσαερίων, η χρήση του βιοντίζελ εμφανίζεται γενικά ευνοϊκότερη, διότι παρατηρείται μείωση των εκπομπών των αιωρούμενων σωματιδίων, του μονοξειδίου του άνθρακα, των οξειδίων του θείου, των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (νιτρωμένων και μη) και εξαφάνιση του μαύρου καπνού [51]. Επίσης και οι καθαρές εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα είναι σημαντικά μικρότερες από εκείνες του συμβατικού ντίζελ [15]. Η μόνη αρνητική επίδραση της χρήσης του βιοντίζελ είναι η αύξηση των εκπομπών των NO_x σε σχέση με τη χρήση του ντίζελ

7. Πλεονεκτήματα-Μειονεκτήματα βιοντίζελ

Το βιοντίζελ είναι το μόνο εναλλακτικό καύσιμο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κινητήρες ντίζελ χωρίς καμία τροποποίηση. Είναι ένα καύσιμο που προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές ενέργειας (βιομάζα) και χαρακτηρίζεται από την άμεση διαθεσιμότητά του. Λόγω του τύπου παραγωγής της, η χρήση του μειώνει την εξάρτηση της χώρας από τις εισαγωγές αργού πετρελαίου και προωθεί την οικονομική της ανάπτυξη [56], [17]. Τα γεγονότα έχουν αποδείξει ότι η χρήση βιοντίζελ είναι πολύ φιλική προς το περιβάλλον επειδή μπορεί να μειώσει την εκπομπή αερίων ρύπων (εξαιρουμένων των οξειδίων του αζώτου). Το ενεργειακό ισοζύγιο ενός συστήματος παραγωγής βιοκαυσίμων μπορεί να οριστεί ως η σχέση μεταξύ της ενέργειας που παράγεται από κάθε μονάδα προϊόντος και της ενέργειας που καταναλώνεται. Το βιοντίζελ έχει θετικό ενεργειακό ισοζύγιο, το οποίο είναι στην

πραγματικότητα το υψηλότερο από όλα τα υγρά καύσιμα. Η παρουσία οξυγόνου στις ενώσεις που αποτελούν το βιοντίζελ θα οδηγήσει σε υψηλότερη απόδοση καύσης και υψηλότερη ικανότητα λίπανσης, μειώνοντας έτσι την ανάγκη συντήρησης του κινητήρα και παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής του ^[2]. Το υψηλότερο σημείο ανάφλεξης το καθιστά επίσης ένα ασφαλέστερο καύσιμο.

Η ευρεία χρήση του βιοντίζελ περιορίζεται κυρίως από οικονομικούς παράγοντες ^[17]. Λόγω της υψηλής τιμής των πρώτων υλών, η παραγωγή του εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται από υψηλό κόστος και οι πρώτες ύλες είναι φυτικά έλαια από τα οποία εξάγονται τριγλυκερίδια ^[80]. Επιπλέον, παρόλο που έχει χαρακτηριστεί ως φιλικό προς το περιβάλλον καύσιμο, έχει σημαντικό περιβαλλοντικό μειονέκτημα, δηλαδή αυξημένες εκπομπές NOx.

Το βιοντίζελ παρουσιάζει και σημαντικά λειτουργικά μειονεκτήματα, τα οποία θα πρέπει να αντιμετωπιστούν, όπως:

- τα προβλήματα που εμφανίζονται κατά την έναρξη λειτουργίας του κινητήρα σε ψυχρό περιβάλλον, λόγω πήξης του καυσίμου σε χαμηλές θερμοκρασίες ^{[85][19]}.
- το υψηλό ιξώδες του, πράγμα το οποίο δυσκολεύει την άντληση του, αυτό συνεπάγεται την μεγαλύτερη κατανάλωσή του ^[17].
- οι υψηλότερες τιμές των σημείων θόλωσης και ροής και υψηλότερη τιμή της διάβρωσης λωρίδας χαλκού.
- το μειωμένο ενεργειακό περιεχόμενο, το οποίο επίσης έχει ως συνέπεια αύξηση της κατανάλωσης του καυσίμου ^[85].

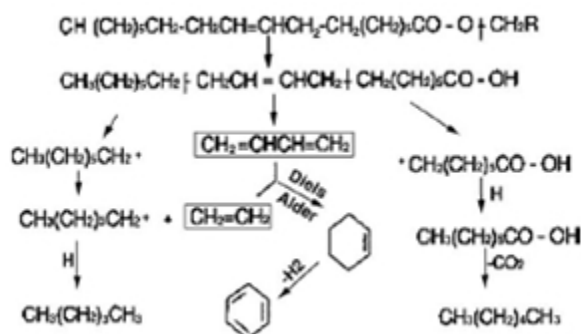
Η χρήση βιοντίζελ στον κινητήρα θα μειώσει την ταχύτητα λειτουργίας και την ισχύ του. Παρατηρήθηκε μείωση της ισχύος κατά 5%. Έχουν παρατηρηθεί επίσης εναποθέσεις άνθρακα σε μπεκ ψεκασμού καυσίμου, οδηγώντας σε γρηγορότερη φθορά του κινητήρα ^[17]. Επιπλέον, το βιοντίζελ έχει μειωμένη σταθερότητα στην οξείδωση ενώ ταυτόχρονα έχει σημαντική υγροσκοπικότητα. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά απαιτούν πολύ προσεκτικές συνθήκες αποθήκευσης για να αποφευχθεί η παραγωγή προϊόντων οξείδωσης, τα οποία είναι επιβλαβή για τον κινητήρα και την επαφή του με την υγρασία ^[85].

8. Μέθοδοι παραγωγής βιοντίζελ

Η χρήση τριγλυκεριδίων έχει πολλά πλεονεκτήματα τα οποία είναι: η χαμηλή περιεκτικότητα σε θείο και οι αρωματικές ενώσεις, η βιοαποικοδομησιμότητα και πολλά άλλα [19]. Ωστόσο, λόγω του υψηλού ιξώδους, της χαμηλής σταθερότητας της οξειδωσης (με αποτέλεσμα τον πολυμερισμό) και της χαμηλής πτητικότητας, δεν ήταν δυνατή η άμεση χρήση βιοντίζελ σε κινητήρες ντίζελ για μεγάλο χρονικό διάστημα. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά θα καταστρέψουν όλα τα μέρη του κινητήρα [94]. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο πρέπει να υποβληθεί σε επεξεργασία για να ληφθούν τα χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να χρησιμοποιηθούν σε αυτούς τους κινητήρες χωρίς την τροποποίηση τους. Πιθανές μέθοδοι θεραπείας είναι η ρωγμή, η αραίωση με συμβατικό πετρέλαιο ντίζελ, ο σχηματισμός μικρογαλακτώματος και η μετεστεροποίηση.

8.1 Πυρόλυση

Ο όρος πυρόλυση περιγράφει την αλλαγή της σύστασης ενός υλικού με θέρμανση απουσία φλόγας. Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους αποσύνθεσης, αυτή η μέθοδος είναι απλή, μη ρυπογόνα και αποτελεσματική. Λόγω των πολλών δομών και της πιθανής ποικιλίας αντίδρασης των μιγμάτων τριγλυκεριδίων, ο μηχανισμός θερμικής αποσύνθεσης των τριγλυκεριδίων μπορεί να είναι περίπλοκος. Τα αρωματικά παράγονται από την Diels-Alder στην οποία προστίθεται αιθυλένιο στο συζευγμένο διένιο που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης πυρόλυσης. Το καρβοξυλικό οξύ που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της ρωγμής του φυτικού ελαίου μπορεί να οφείλεται στην αποσύνθεση των ομάδων γλυκεριδίων [3]. Η διαδικασία φαίνεται στο σχήμα 1 [85]:



Σχήμα 1. Διάσπαση των τριγλυκεριδίων μέσω της πυρόλυσης

Η έρευνα του Ayhan Demirbas ^[16], έφτασε στο συμπέρασμα ότι η πυρόλυση υπερτερεί έναντι της μετεστεροποίησης. Οι χημικές ουσίες στο υγρό καύσιμο που παράγεται με πυρόλυση είναι παρόμοιες με αυτές του συμβατικού ντίζελ, επομένως τα προϊόντα της μπορούν να αντικαταστήσουν τα καύσιμα και είναι κατάλληλα για χρήση σε κινητήρες ^[16].

8.2 Αραιώση

Ένας τρόπος για την επίλυση του προβλήματος του υψηλού ιξώδους του φυτικού ελαίου είναι η αραιώση του φυτικού ελαίου με συμβατικό ντίζελ. Αυτή η διαδικασία είναι εύκολη στην πραγματοποίησή της, αυτό συμβαίνει γιατί δεν απαιτείται χημική αντίδραση κάτι το οποίο συνεπάγεται την ελάττωση των επιπλοκών στον κινητήρα, όπως εναποθέσεις άνθρακα στον εγχυτήρα και γενικώς οι εναποθέσεις άνθρακα ^[19]. Γενικά, μόνο σε μια συγκεκριμένη αναλογία και θερμοκρασία, το ιξώδες του μείγματος είναι κοντά σε αυτό του συμβατικού πετρελαίου ντίζελ ^[87], ^[3].

8.3 Μικρογαλάκτωμα

Τα μικρογαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά σταθερές ισοτροπικές διασπορές αναμίξιμων υγρών. Στο μικρογαλάκτωμα, τα διασπαρμένα σωματίδια είναι μικρότερα από το ένα τέταρτο του μήκους κύματος του ορατού φωτός ^[2]. Προκειμένου να μειωθεί το υψηλό ιξώδες των φυτικών ελαίων και να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικά καύσιμα για κινητήρες ντίζελ, γίνετε μίξη διάφορων υγρών. Ωστόσο, αναφέρθηκε μεγάλη ποσότητα εναποθέσεων άνθρακα, ατελής καύση και αυξημένο ιξώδες λιπαντικού ελαίου ^[30]. Από την άλλη πλευρά, η βραχυπρόθεσμη απόδοση του ιοντικού και μη ιοντικού υδατικού μικρογαλακτώματος μεθανόλης στο σογιέλαιο έχει αποδειχθεί πολύ κοντά σε εκείνη του ντίζελ No. 2 ^[3].

8.4 Μετεστεροποίηση

Η πιο κοινή μέθοδος μετατροπής φυτικών ελαίων και ζωικών λιπών σε βιοντίζελ είναι η μετεστεροποίηση ^[94]. Η αντίδραση μετεστεροποίησης είναι ένας γενικός όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει έναν τύπο αντίδρασης, στον οποίο ένα είδος εστέρα μετατρέπεται σε άλλο είδος εστέρα με ανταλλαγή αλκοξυλικών ομάδων ^[17].

8.4α Επίδραση εξωτερικών παραγόντων στην μετεστεροποίηση για την παραγωγή βιοντίζελ

1. Επίδραση των οξέων και του νερού

Τα οξέα (FFA) και η περιεκτικότητα φυτικού λίπους και ζωικού λίπους στο νερό είναι βασικές παράμετροι για τη σκοπιμότητα της μετεστεροποίησης, επειδή η παρουσία τους ενισχύει την αντίδραση σαπωνοποίησης. Το σαπούνι που προκύπτει αυξάνει το ιξώδες, παράγει γέλη και αφρό και καθιστά δύσκολο τον διαχωρισμό της γλυκερίνης [3].

2. Επίδραση του λόγου αλκοόλης/τριγλυκεριδίων

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της αντίδρασης μετεστεροποίησης είναι ο λόγος αλκοόλης / τριγλυκεριδίων. Η αναλογία αλκοόλης / τριγλυκεριδίων αυτής της αντίδρασης είναι 3:1. Ωστόσο, πρέπει να χρησιμοποιηθεί μεγάλη ποσότητα αλκοόλης για την ενίσχυση της διαλυτότητας και την αύξηση της επαφής μεταξύ μορίων αντιδρώντος, έτσι ώστε η αντίδραση να ολοκληρώνεται με ταχύτερο ρυθμό. [3]. Η καταλυόμενη από οξύ αντίδραση απαιτεί υψηλότερη γραμμομοριακή αναλογία αλκοόλης / τριγλυκεριδίων για να επιτευχθεί καλή απόδοση προϊόντος σε λογικό χρόνο.

Αν και πρέπει να υπάρχει επαρκής ποσότητα αλκοόλης στη μετεστεροποίηση για να σπάσει τους δεσμούς μεταξύ της γλυκερόλης και των λιπαρών οξέων στα μόρια τριγλυκεριδίων, διγλυκεριδίων και μονογλυκεριδίων, πρέπει να αποφεύγεται η προσθήκη υπερβολικής μεθανόλης. Η αύξηση του λόγου μεθανόλης / τριγλυκεριδίων δεν μεγαλώνει την απόδοση του προϊόντος, αλλά καθιστά την ανάκτηση του εστέρα ιδιαίτερα δύσκολη και ταυτόχρονα αυξάνει το κόστος της μεθόδου.

3. Επιπτώσεις της θερμοκρασίας

Η μετεστεροποίηση έχει την δυνατότητα να πραγματοποιηθεί σε διαφορετικές θερμοκρασίες, αναλόγως τον τύπο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται [2]. Όλοι οι ερευνητές πιστεύουν γενικά ότι υψηλή θερμοκρασία συνεπάγεται και θετική επίδραση στην μετεστεροποίηση [93],[3],[69]. Αυτό συμβαίνει επειδή η θερμοκρασία αυξάνεται, γεγονός που κάνει τα αντιδραστήρια να αναμιχθούν γρηγορότερα [39].

4. Επίδραση της ανάδευσης

Στην αντίδραση μετεστεροποίησης, η ανάμιξη των αντιδραστηρίων είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος, επειδή τα ζωικά λίπη και τα φυτικά έλαια είναι συνήθως μη αναμίξιμα με την αλκοόλη που χρησιμοποιείται, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό δύο στρωμάτων. Η έντονη ανάδευση επιταχύνει την ταχύτητα μεταφοράς μάζας, διασκορπίζοντας την αλκοόλη (με τη μορφή λεπτών σταγονιδίων) στη φάση των τριγλυκεριδίων. Αυτό αυξάνει την περιοχή επαφής μεταξύ των δύο μη αναμίξιμων φάσεων [39].

Πρωταρχικής σημασίας στην αντίδραση της μετεστεροποίησης είναι η επίδραση του είδους του καταλύτη και των ελαίων/λιπών που χρησιμοποιούνται. Η επίδραση των παραγόντων αυτών θα αναφερθεί εκτενώς, στη συνέχεια.

8.4β Βασικά καταλύσιμη μετεστεροποίηση

Οι βασικοί καταλύτες χρησιμοποιούνται πιο συχνά επειδή μπορούν να επιταχύνουν περαιτέρω την αντίδραση μετεστεροποίησης [56]. Αυτοί οι καταλύτες μπορεί να είναι αλκαλικά μέταλλα (κυρίως Na και K), αλκοξειδία ή υδροξειδία ανθρακικού νατρίου και ανθρακικού καλίου. Τα αλκοξειδία είναι πιο δραστηριοί καταλύτες, ακόμη και σε χαμηλές μοριακές συγκεντρώσεις (0,5 mol%), υψηλές αποδόσεις (> 98%) μπορούν να ληφθούν σε σύντομο χρονικό διάστημα (30 λεπτά) [39]. Ωστόσο, είναι πιο ακριβά από τα υδροξειδία και δεν είναι ιδιαίτερος εύκολα στη χρήση. Το υδροξειδίο είναι φθηνότερο αλλά λιγότερο ενεργό [39].

Ένα άλλο είδος που έχει μελετηθεί είναι και οι βασικοί καταλύτες, όπως ο βασικός ζεόλιθος (όπως ο ETS-10, ο οποίος είναι ένας μικροπορώδης ανόργανο ζεόλιθος που περιέχει λίθιο, το faujasite NaX, κ.λπ.), ο υδατικός ζεόλιθος ($Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$), αλκαλικά ανόργανα οξειδία, αλκαλικά ανόργανα άλατα στην πορώδη μήτρα (όπως K_2CO_3 , KF, $LiNO_3$ με βάση το $\gamma-Al_2O_3$, KF σε SnO , κ.λπ.) [40].

Προκειμένου να παραχθεί βιοντίζελ μέσω ουσιαστικά καταλύσιμη αντίδρασης μετεστεροποίησης, το νερό πρέπει πρώτα να απομακρυνθεί από το λάδι αυξάνοντας τη θερμοκρασία για 5-10 λεπτά [100]. Ο καταλύτης διαλύεται σε μεθανόλη υπό έντονη ανάδευση σε έναν μικρό αντιδραστήρα. Το προκύπτον μείγμα στη συνέχεια αναμιγνύεται με το έλαιο στον αντιδραστήρα βιοντίζελ και αναδεδεύεται έντονα για 2 ώρες στα 340K και πίεση περιβάλλοντος. Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση, θα εμφανιστούν δύο υγρές φάσεις: εστέρες και ακατέργαστη γλυκερόλη [3].

Το νερό πρέπει να αφαιρεθεί αρχικά, γιατί το νερό μπορεί να προκαλέσει σαπωνοποίηση. Το σαπούνι που προκύπτει αυξάνει το ιξώδες, τη γέλη και τον αφρό, καθιστώντας δύσκολη την ανάκτηση της γλυκερίνης [19].

8.4γ Οξίνα καταλυόμενη μετεστεροποίηση

Αν και οι καταλύτες οξέων δεν είναι τόσο δραστικοί όσο οι αλκαλικοί καταλύτες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αντιδράσεις μετεστεροποίησης όταν τα λίπη και τα έλαια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοντίζελ είναι πλούσια σε FFA, ενώ η ταυτόχρονη αντίδραση τριγλυκεριδίων και FFA μπορεί να διέλθει από ετερογενή καταλύτη οξέος για την προώθηση επίσης είναι πιο φιλικό προς το περιβάλλον στη χρήση. Επίσης επιτρέπουν το σχεδιασμό μιας πιο οικονομικής συνεχούς διαδικασίας για την παραγωγή βιοντίζελ [74].

Ο λόγος αλκοόλης/ελαίου είναι μια από τις σημαντικές παραμέτρους που επηρεάζουν την αντίδραση μετεστεροποίησης. Η υπερβολική αλκοόλη προάγει το σχηματισμό αλκυλεστέρων, ενώ η περίσσεια αλκοόλης καθιστά δύσκολη την ανάκτηση γλυκερόλης. Επομένως, η ιδανική μοριακή αναλογία σε κάθε περίπτωση καθορίστηκε με βάση την εμπειρία [17].

8.4δ Μετεστεροποίηση με ένζυμα για καταλύτες

Η χρήση ενζύμων μπορεί να αντιμετωπίσει προβλήματα που σχετίζονται με την ομοιογενή κατάλυση αντιδράσεων μετεστεροποίησης. Ο προτιμώμενος ενζυμικός καταλύτης που χρησιμοποιείται σε αυτή τη μέθοδο είναι η λιπάση, η οποία αντιδρά ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην αντίδραση μετεστεροποίησης των τριγλυκεριδίων και στην παραγωγή αλκυλεστέρων λιπαρών οξέων σε υδατικά και μη υδατικά περιβάλλοντα [82]. Η λιπάση μπορεί ή όχι να είναι δραστική στη διάσπαση ειδικών δεσμών τριγλυκεριδίων.

Οι ενδοκυτταρικές λιπάσες διατηρούνται στα κύτταρα που τις παράγουν, με αποτέλεσμα ολόκληρο το κύτταρο να χρησιμοποιείται ως βιοκαταλύτης. Επομένως, αφενός, το κόστος της ανακύκλωσης και του καθαρισμού τους εξαλείφεται, από την

άλλη πλευρά, γίνεται πολύ πιο εύκολη η διαδικασία διαχωρισμού και επαναχρησιμοποίησης τους μετά την ολοκλήρωση της αντίδρασης. Ωστόσο, το κύριο μειονέκτημα της ενδοκυτταρικής λιπάσης είναι η αργή μετεστεροποίηση ^[94].

Όπως με άλλες περιπτώσεις κατάλυσης αυτής της αντίδρασης, η αντίδραση μετεστεροποίησης στη σύνθεση βιοντίζελ που καταλύεται από ένζυμο ακολουθεί τρία διαδοχικά στάδια. Το πρώτο στάδιο της διαδικασίας είναι η μετατροπή των τριγλυκεριδίων σε διγλυκερίδια. Σε σχέση με τα FFA, η μέτρηση των αριθμών τους στη διαδικασία έδειξε ότι οι αριθμοί τους αρχικά αυξήθηκαν και στη συνέχεια μειώθηκαν. Αυτό σημαίνει ότι σε κάθε διαδοχική αναστρέψιμη αντίδραση, τα τριγλυκερίδια / διγλυκερίδια / μονογλυκερίδια υδρολύονται πρώτα σε FFA, και στη συνέχεια μετατρέπονται σε αλκυλεστέρες με εστεροποίηση με την αλκοόλη ^[81].

Η υψηλή αναλογία δέκτη ακυλίου προς έλαιο που χρησιμοποιείται στη διεργασία μετεστεροποίησης που καταλύεται από ένζυμο δείχνει αύξηση της παραγωγής βιοντίζελ και υψηλότερο ρυθμό αντίδρασης. Φυσικά, ο δέκτης ακυλίου δεν θα απενεργοποιήσει το ένζυμο ^[94]. Ωστόσο, ο συνηθέστερα χρησιμοποιούμενος δέκτης ακυλίου για την παραγωγή βιοντίζελ που καταλύεται από ένζυμο είναι η μεθανόλη, η οποία επηρεάζει την αλληλεπίδραση μεταξύ νερού και ενζύμων, απενεργοποιώντας έτσι τα ένζυμα. Προκειμένου να αντιμετωπιστεί αυτό το φαινόμενο, προτάθηκε η σταδιακή προσθήκη μεθανόλης για τη μείωση της συγκέντρωσής της στο μικροπεριβάλλον της αντίδρασης.

Φαίνεται ότι ένας άλλος παράγοντας που προκαλεί την απενεργοποίηση της λιπάσης κατά τη διαδικασία μετεστεροποίησης είναι η γλυκερόλη που παράγεται. Προκειμένου να επιλυθεί αυτό το πρόβλημα, προτάθηκε η εξάλειψή του με επιτόπια διάλυση ή εκχύλιση με ισοπροπανόλη. Ωστόσο, η πιο αποτελεσματική μέθοδος φαίνεται να είναι η μετεστεροποίηση για την παραγωγή τριτ-βουτανόλης, η οποία μπορεί να διαλύσει γλυκερίνη και να αυξήσει τη διαλυτότητα της μεθανόλης ^[94].

Το εύρος θερμοκρασίας στο οποίο μπορεί να διεξαχθεί η αντίδραση μετεστεροποίησης που καταλύεται από ένζυμο είναι 35 έως 70 ° C. Η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μείωση του ιξώδους, η οποία οδηγεί σε επιτάχυνση της μεταφοράς μάζας. Ωστόσο, πολύ υψηλή θερμοκρασία θα αναστέλλει τη δραστηριότητα των ενζύμων.

Ένας άλλος τρόπος αύξησης του ρυθμού μεταφοράς μάζας είναι η αλλαγή του ρυθμού ανάμιξης ή ανάδευσης ^[81].

Οι ενζυμικές αντιδράσεις χαρακτηρίζονται συνήθως από υψηλή ειδικότητα ^[2]. Το κύριο πλεονέκτημα της αντίδρασης μετεστεροποίησης που καταλύεται από ένζυμο είναι ότι λαμβάνει χώρα σε ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας, πράγμα που σημαίνει ότι καταναλώνει λιγότερη ενέργεια από άλλες μεθόδους. Η απόδοσή της δεν επηρεάζεται από την παρουσία FFA, επειδή μετατρέπονται σε μονοαλκυλεστέρες όπως τα τριγλυκερίδια, επιτρέποντας τη χρήση οποιουδήποτε ελαίου ως πρώτη ύλη, συμπεριλαμβανομένου του χρησιμοποιημένου λαδιού. Ομοίως, η ποσότητα αλκοόλης που χρησιμοποιείται είναι επίσης μικρότερη από εκείνη που αντιστοιχεί σε άλλες μετεστεροποιητικές διαδικασίες ^{[94], [81]}.

Το βασικό μειονέκτημα της ενζυμικής καταλύμενης είναι το μεγάλο κόστος της. Παρομοίως, η αντίδραση μετεστεροποίησης συνήθως επιβραδύνεται και υπάρχει πάντα ο κίνδυνος ο βιοκαταλύτης να απενεργοποιηθεί με την παραγωγή μεθανόλης ή γλυκερόλης ^[94] επίσης υπάρχει η πιθανότητα η μέθοδος ακινητοποίησης να περιλαμβάνει τοξικές χημικές ουσίες ^[48].

9. Διεργασίες που ακολουθούν τη μετεστεροποίηση

Αφού ολοκληρωθεί η αντίδραση μετεστεροποίησης, σχηματίζεται ένα μείγμα εστέρων, γλυκερόλης, αλκοόλης, καταλύτη και γλυκεριδίων που δεν αντέδρασαν ^[64]. Αρχικά, λόγω του υψηλού ιξώδους της γλυκερίνης, η γλυκερίνη πρέπει να απομακρυνθεί. Η γλυκερίνη μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί σε φαρμακευτικά προϊόντα, προϊόντα ομορφιάς και τρόφιμα. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή, ως πηγή άνθρακα, για πολυμερή, τασιενεργά και λιπαντικά ^[56]. Ο διαχωρισμός των φάσεων μπορεί να εμφανισθεί εντός 10 λεπτών και οι φάσεις είναι πλήρως διαχωρισμένες εντός 2 ωρών μετά τη διακοπή της ανάδευσης. Μετά το διαχωρισμό φάσεων, προστίθεται νερό σε αναλογία 5,5% κατ 'όγκο του μίγματος, και στη συνέχεια αναδεύεται για 5 λεπτά, και στη συνέχεια οι δύο φάσεις διαχωρίζονται ξανά. Στη συνέχεια απομακρύνεται η γλυκερίνη και παραμένει η στιβάδα εστέρα^[3].

10. Πρώτες ύλες

Οποιοδήποτε φυτικό έλαιο ή ζωικό λίπος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πηγή βιοντίζελ. Για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί μία πρώτη ύλη στην παραγωγή βιοντίζελ πρέπει: α) να έχει χαμηλές τιμές και β) τοπική διαθεσιμότητα. Σημαντικός δείκτης είναι και η περιεκτικότητα σε έλαιο και η παραγωγή ελαίου ανά εκτάριο αρόσιμης γης [82]. Στην Ευρώπη, οι κύριες πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοντίζελ είναι το κραμβέλαιο και το ηλιέλαιο, το φοινικέλαιο σε τροπικές χώρες και το σογιέλαιο και το ζωικό λίπος στις Ηνωμένες Πολιτείες [54].

Οι πρώτες ύλες για βιοντίζελ μπορούν να χωριστούν σε 3 κατηγορίες: φυτικό έλαιο (βρώσιμο και μη), ζωικό λίπος και εναλλακτικές πρώτες ύλες [3]. Στα φυτικά έλαια περιλαμβάνονται: Σόγια, ελαιοκράμβη, αγριοκράμβη, κριθάρι, ψίχα ινδικής καρύδας, βαμβακόσπορος, βρώμη, ρύζι, σόργο, σιτάρι, μάνγκο, αραβόσιτος, σουσάμι, αμάραντος, βερίκοκο, αγκινάρα, αβοκάντο, κουκουνάρι, ραπανάκι, σπόροι κόλιανδρου, σπόροι παπαρούνας, σπόροι καπνού, σπόροι λεμονιάς, σπόροι μπάμιας, κάνναβης, καουτσούκ, έλαιο κνήκου, φοινικέλαιο, έλαια από διάφορα είδη φιστικιού, δαφνέλαιο, ελαιόλαδο, έλαιο λιναρόσπορου, αμυγδαλέλαιο, αργανέλαιο, έλαια από τα φυτά: *Abutilon muticum*, *Andiroba*, *Babassu*, *Brassica carinata*, *B. napus*, *Camelina*, *Cumaru*, *Cynara cardunculus*, *Jatropha curcas*, *Jatropha nana*, *Jojoba*, *Pongamia glabra*, *Lesquerella fendleri*, *Mahua*, *Piqui*, *Pongamia Karanja*, *neem*, *havea brasiliensis*, *terminalia catappa*, *balanites aegyptiaca*, *moringa oleifera*, *melia azedarach*, *crambe*, *M. Indica*, *milk bush*. Στα ζωικά λίπη: λαρδί, λίπος, λίπος πουλερικών, ιχθυέλαια, έλαιο σολομού. Εναλλακτικές πρώτες ύλες: Βακτήρια, φύκη, μύκητες, μικροφύκη, κόμμι, χρησιμοποιημένα μαγειρικά λίπη και έλαια, αποθέματα σαπουνιών.

Από τις εναλλακτικές πρώτες ύλες που έχουν μελετηθεί, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα έλαια που προέρχονται από μικροφύκη.

Τα φύκια είναι φωτοσυνθετικοί φυτικοί οργανισμοί. Δεν έχουν μπουμπούκια, φύλλα, ρίζες και δεν σχηματίζουν σπόρους, λουλούδια ή φρούτα όπως τα υψηλότερα φυτά. Αντίθετα, έχουν μια πρωτόγονη οργάνωση, η οποία είναι πολύ απλή στην ομάδα κατώτερης ταξινόμησης και πιο περίπλοκη στην ομάδα ανώτερης ταξινόμησης. Σχηματίζουν σπόρια αντί για σπέρματα, και μερικά από αυτά έχουν πολύπλοκους βιολογικούς κύκλους (κύκλοι ζωής) ^[9]. Τα μικροφύκη είναι μια ευρέως διαφορετική ομάδα φωτοσυνθετικών ευκαρυωτικών οργανισμών, με απλές κυτταρικές δομές που κυμαίνονται από μονοκύτταρα έως πολυκυτταρικές μορφές. Μπορούν να αναπτυχθούν οπουδήποτε όπου συνυπάρχουν το ηλιακό φως και το νερό, ακόμη και σε πάγο, λίμνες, ποτάμια, θερμές πηγές και ωκεανούς. Οι διατροφικές τους απαιτήσεις είναι πολύ απλές (φως, ζάχαρη, CO₂, K, N, P) και μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες λιπιδίων, πρωτεϊνών και υδατανθράκων σε σύντομο χρονικό διάστημα ^[6]. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της απλής κυτταρικής τους δομής και διότι μπορούν να απορροφούν απευθείας τα διαλυμένα θρεπτικά συστατικά, από τα οποία μέσω βιοχημικών οδών παράγονται τα προϊόντα που προαναφέρθηκαν^[21].

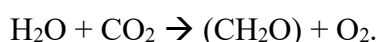
11. Βιολογία μικροφυκών

Τα μικροφύκη είναι πρωτόγονα μονοκύτταρα, κυρίως μικροσκοπικά και ευκαρυωτικά, αν και τα κυανοβακτήρια είναι προκαρυωτικά και συνήθως περιλαμβάνονται σε αυτά. Τα μικροφύκη είναι πολυφιλετικοί, μη κολλώδεις μικροοργανισμοί με μεγάλες διαφορές στη μορφολογία. Ονομάζονται επίσης θαλόφυτα φυτά. Μπορούν να είναι αυτοτροφικοί οργανισμοί ή ετερότροφοι οργανισμοί · οι πρώτοι απαιτούν για να αναπτυχθούν μόνο ανόργανα υλικά (όπως διοξείδιο του άνθρακα, αλάτι και φως), ενώ οι τελευταίοι είναι μη φωτοσυνθετικοί οργανισμοί και απαιτούν εξωτερικές οργανικές ενώσεις και άλλα θρεπτικά συστατικά ως πηγές ενέργειας ^[6].

Η ταξινόμηση των μικροφυκών είναι σύνθετη λόγω των συνεχών αναθεωρήσεων ως αποτέλεσμα των νέων δεδομένων που αφορούν τη γενετική και την υπερδομή τους. Τα μικροφύκη διαιρούνται σε δύο προκαρυωτικές συνομοταξίες (Cyanophyta και Prochlorophyta) και εννιά ευκαρυωτικές (Glaucophyta, Rhodophyta, Heterokontophyta, Haptophyta, Cryptophyta, Dinophyta, Euglenophyta, Chlorarachniophyta και Chlorophyta).^[21]

Τα μικροφύκη δεν υπάρχουν μόνο στα υδρόβια οικοσυστήματα, αλλά και στα χερσαία οικοσυστήματα, που αντιπροσωπεύουν μια ποικιλία ειδών που ζουν σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες [68]. Ευδοκούν σε αλμυρό, υφάλμυρο ή γλυκό νερό και μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε βιομάζα μέσω της φωτοσύνθεσης [21].

Φωτοσύνθεση: Η φωτοσύνθεση είναι η διαδικασία που ακολουθούν οι αυτοτροφικοί οργανισμοί για τη συλλογή της ηλιακής ενέργειας και την μετατροπή της σε άλλη μορφή ενέργειας άμεσα εκμεταλλεύσιμης από αυτούς. Η βασική εξίσωση της φωτοσύνθεσης είναι παραπλανητική. Το νερό και το διοξείδιο του άνθρακα ενώνονται για την παραγωγή υδατανθράκων και μοριακού οξυγόνου:



Στην εξίσωση αυτή, η ένωση (CH₂O) αντιπροσωπεύει υδατάνθρακα, κυρίως σακχαρόζη και άμυλο [76].

Η φωτοσύνθεση διακρίνεται σε 2 διαδικασίες: 1) τη φωτοχημική, που χρειάζεται την ηλιακή ενέργεια, 2) τη μη φωτοχημική, οπότε και γίνεται η σύνθεση υδατανθράκων και άλλων βιολογικών μορίων. Η πρώτη είναι μια σειρά αντιδράσεων που εκκινούν από την ηλιακή ακτινοβολία για την παραγωγή ATP (φωτοφωσφορυλίωση) και μειωμένων συνενζύμων (φωτοαναγωγή) Μετά από το στάδιο αυτό ξεκινούν αμέσως οι μη φωτοχημικές διεργασίες ή οι «σκοτεινές αντιδράσεις» που σχετίζονται με τη δέσμευση άνθρακα και την παραγωγή υδατανθράκων.

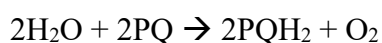
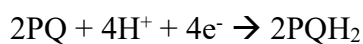
Ο βασικός παράγοντας της φωτοσύνθεσης είναι ορισμένες χρωστικές με βάση τη χλωροφύλλη. Οι συμπληρωματικές χρωστικές είναι καροτενοειδή (βρίσκονται στους περισσότερους φυτικούς οργανισμούς) και φυκοβιλίνες (βρίσκονται στα φύκια) [13]. Διαφορετικοί τύποι φυκών περιέχουν διαφορετικούς συνδυασμούς μορίων χλωροφύλλης: ορισμένα φύκια περιέχουν μόνο χλωροφύλλη Α, άλλα φύκια έχουν Α και Β και άλλα φύκια έχουν Α και Γ [63].

Ο μηχανισμός της φωτοσύνθεσης εμφανίζεται στον χλωροπλάστη του κυττάρου, πιο συγκεκριμένα στο θύλακα του χλωροπλάστη. Βασίζεται στην ικανότητα των μορίων χρωστικής να δρουν τόσο ως οξειδωτικός παράγοντας όσο και ως αναγωγικός παράγοντας.

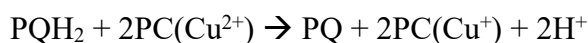
Υπάρχουν δύο συστήματα υπεύθυνα για τη ροή ηλεκτρονίων από το νερό στο NADP: το οπτικό σύστημα I (PS I) και το οπτικό σύστημα II (PS II). Η διαφορά μεταξύ τους είναι ιδιαίτερα ότι το PS I απορροφά φως με μήκη κύματος έως 710 nm,

γι' αυτό ονομάζεται P700, ενώ το PS II απορροφά φως με μήκη κύματος έως 680 nm, επίσης γνωστό ως P680.

Ο ρόλος του PS II είναι να παράγει μοριακό οξυγόνο από το νερό. Είναι μια αντίδραση οξειδοαναγωγής τεσσάρων ηλεκτρονίων από τέσσερα σύμπλοκα ιόντων μαγγανίου. Όταν τα φωτόνια απορροφώνται από το PS II, τα ηλεκτρόνια θα μετακινηθούν από το σύμπλεγμα μαγγανίου στο PS II. Αυτή η κίνηση συμβαίνει μέσω των ελεύθερων ριζών τυροσίνης που βρίσκονται στην πρωτεΐνη στο κέντρο της αντίδρασης. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, το μόριο O₂ απελευθερώνεται. Τα ηλεκτρόνια που εξάγονται από το νερό λαμβάνονται από το μόριο της πλαστοκινόνης (PQ). Τελικά η στοιχειομετρία της αντίδρασης του νερού έχει ως εξής:

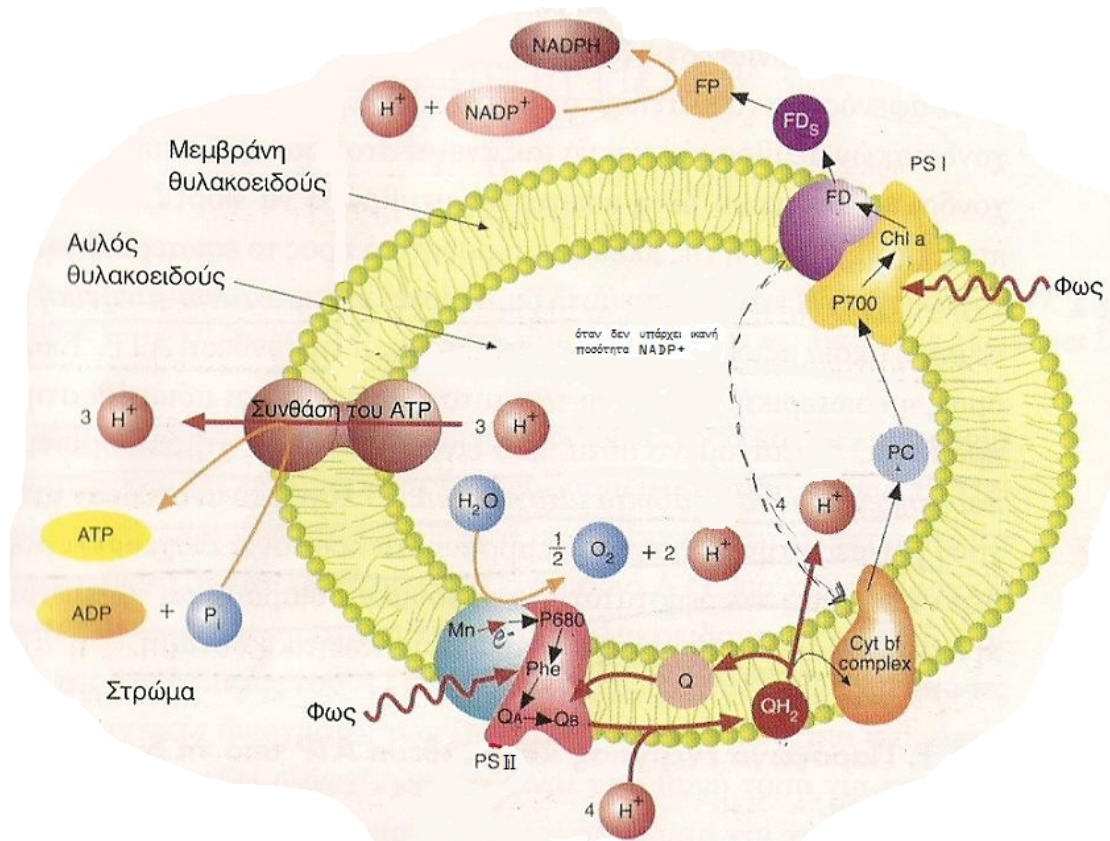


Τα ηλεκτρόνια από την πλαστοκινόλη (2PQH₂) μεταφέρονται μέσω του συμπλόκου κυττοχρωμάτων bf σε μια χαλκοπρωτεΐνη, την πλαστοκυανίνη (PC).



Στη συνέχεια, τα ηλεκτρόνια κατευθύνονται προς τη φερρεδοξίνη μέσω του PS I, μιας πρωτεΐνης χαμηλού μοριακού βάρους που περιέχει σίδηρο στην ενεργή θέση της και τελικά κατευθύνονται στο NADP⁺, το οποίο ανάγεται σε NADPH. Ωστόσο, όταν ο λόγος NADPH / NADP⁺ είναι μεγάλος, δηλαδή, όταν δεν υπάρχει μεγάλη ποσότητα NADP⁺ για αποδοχή ηλεκτρονίων, η φερρεδοξίνη το οδηγεί στο σύμπλεγμα bf cytochrome, αποκαθιστώντας έτσι την κυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων.

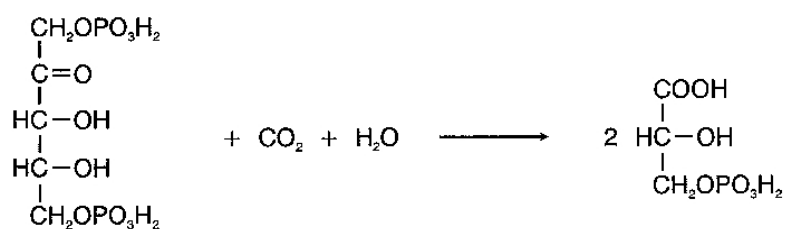
Στην περίπτωση που παρατηρούνται ηλεκτρόνια που ρέουν προς ενώσεις με χαμηλότερη ελεύθερη ενέργεια (ή αυξημένο δυναμικό οξειδοαναγωγής), η απελευθερούμενη ενέργεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση της ATP. Το ADP φωσφορυλιώνεται σε ATP και συνδυάζεται με κυκλική μεταφορά ηλεκτρονίων, η οποία ονομάζεται κυκλική φωτοφωσφορυλίωση. Ο όρος «φωτοφωσφορυλίωση» αναφέρεται συνήθως στη σύνθεση του ATP μέσω ADP και P_i, η οποία σχετίζεται με τον μηχανισμό της φωτοσύνθεσης [18].



Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση της διαδρομής 2 ηλεκτρονίων και μετακίνησης 4 πρωτονίων κατά τη λειτουργία των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης στη μεμβράνη του θυλακοειδούς^[18].

Η μη φωτοχημική διαδικασία (ή η σκοτεινή αντίδραση ή η μη εξαρτώμενη από το φως διαδικασία) σε συνδυασμό με την περιγραφόμενη φωτοχημική διαδικασία φωτοσύνθεσης μπορεί να χωριστεί σε τρία στάδια: α) δέσμευση CO₂ σε οργανικά μόρια με αντίδραση με πεντόζη, β) αναγωγή προϊόντων αντίδρασης και γ) αναγέννηση της πεντόζης. Δεδομένου ότι αυτή η διαδικασία είναι περιοδική (ξεκινώντας από πεντόζη και τελειώνει με πεντόζη), ονομάζεται επίσης κύκλος Calvin. Οι αντιδράσεις των τριών φάσεων έχουν ως ακολούθως:

α) Καθήλωση CO₂



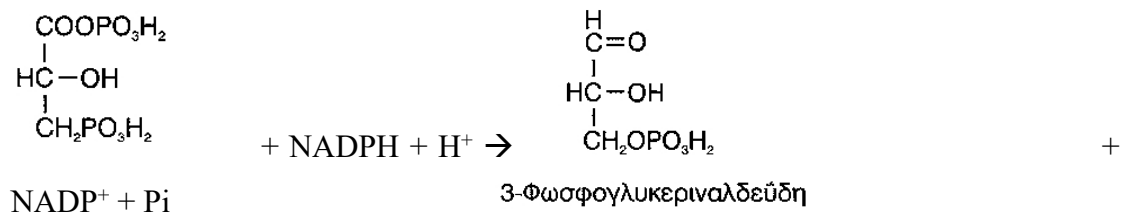
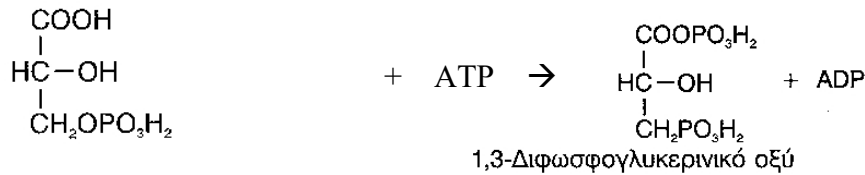
1,5-Διφωσφορική
ριβουλόζη

3-Φωσφογλυκερικό
οξύ

Το ένζυμο που καταλύει την πιο πάνω αντίδραση είναι η καρβοξυλάση της 1,5 διφωσφορικής ριβουλόζης. Ίσως είναι η πιο άφθονη πρωτεΐνη στον πλανήτη και αποτελείται από 8 μεγάλες (56000 D) και 8 μικρές (14000 D) υπομονάδες.

β) Αναγωγή του 3-φωσφογλυκερικού οξέος.

Το προϊόν της πιο πάνω αντίδρασης φωσφορυλιώνεται καταρχήν και ακολούθως ανάγεται:

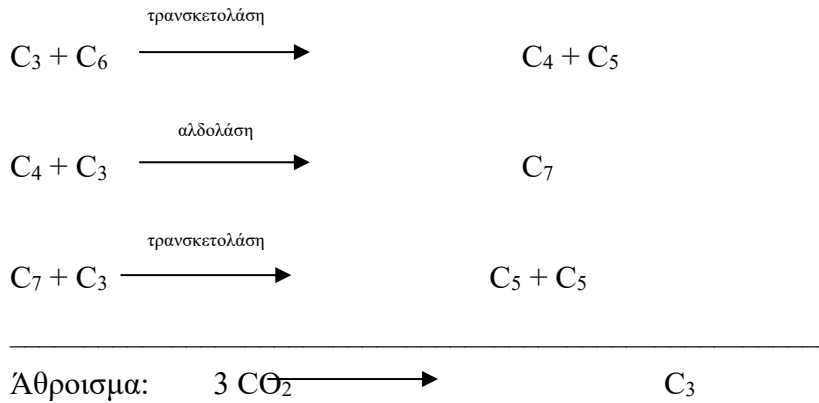


Από το σημείο αυτό και μετά το 1/6 των φωσφορικών τριοζών μετατρέπεται σε γλυκόζη και από εκεί σε άμυλο, ενώ τα 5/6 αναγεννούν τις πεντόζες.

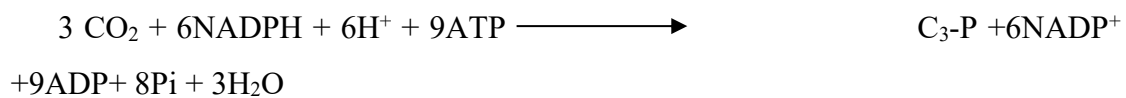
γ) Αναγέννηση της πεντόζης

Η πρώτη βασική αντίδραση της φωτοσύνθεσης είναι η ενσωμάτωση ανόργανου CO₂ στο οργανικό μόριο 3-φωσφογλυκερικό. Για αυτό, το σάκχαρο πεντόζης (1,5-διφωσφορική ριβόζη) καταναλώνεται κάθε φορά. Επομένως, είτε υπάρχει μια πλούσια πηγή πεντόζων κάπου, είτε πρέπει να υπάρχει ένας μηχανισμός για την αναγέννηση της πεντόζης. Το παρακάτω σχήμα δείχνει μόνο τον αριθμό ατόμων άνθρακα των ενώσεων και προϊόντων αντίδρασης, που δείχνει ότι εάν ξεκινήσουμε με τρεις πεντόζες και τρία μόρια CO₂, οι πεντόζες θα αναγεννηθούν και θα έχουμε το καθαρό όφελος των τρισακχαριτών. Όλα τα προϊόντα στην εικόνα είναι φωσφορυλιωμένα. Το C₃ είναι γλυκεραλδεύδη ή διυδροξυακετόνη, το C₆ είναι φρουκτόζη, το C₄ είναι τετρασακχαρίτης και το C₇ είναι επτόζη.

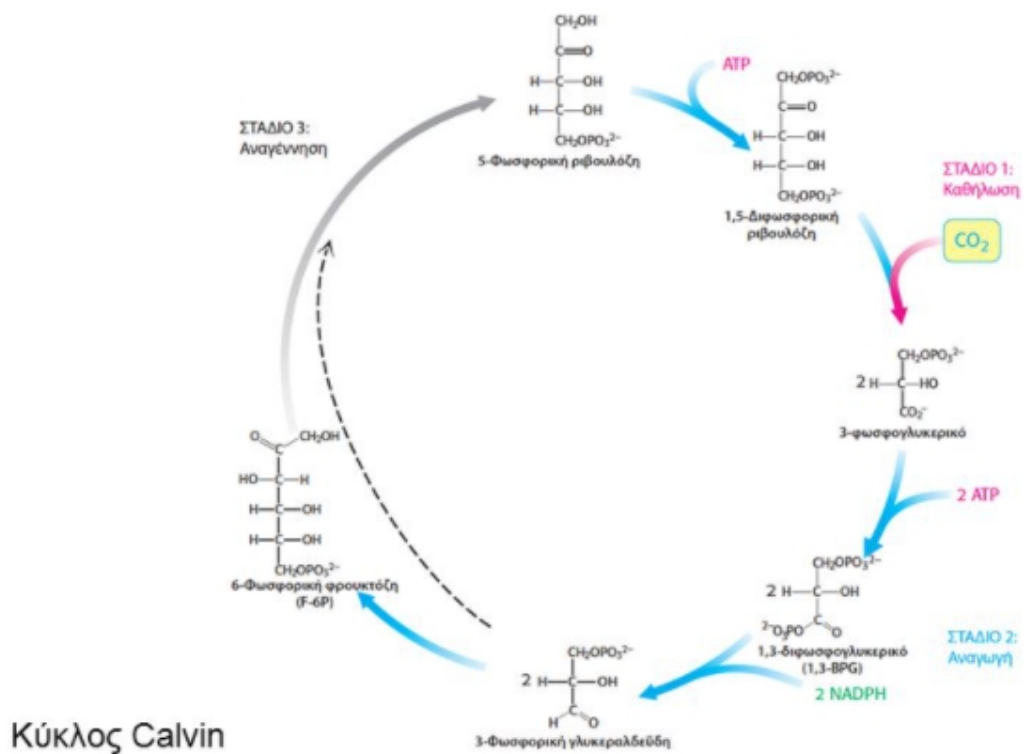




Η πραγματική στοιχειομετρία των πιο πάνω αντιδράσεων είναι :



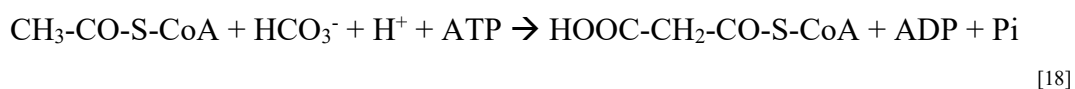
Στο ακόλουθο σχήμα απεικονίζεται ο κύκλος του Calvin:



Σχήμα 2. Κύκλος του Calvin [18]

Βιοσύνθεση λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων: Η βιομάζα μικροφυκών περιέχει τρία κύρια συστατικά: πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια [63]. Το τελευταίο είναι η πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντίζελ. Η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων και των τριγλυκεριδίων στα μικροφύκη ξεκινά με το σχηματισμό ακετυλο-CoA στο

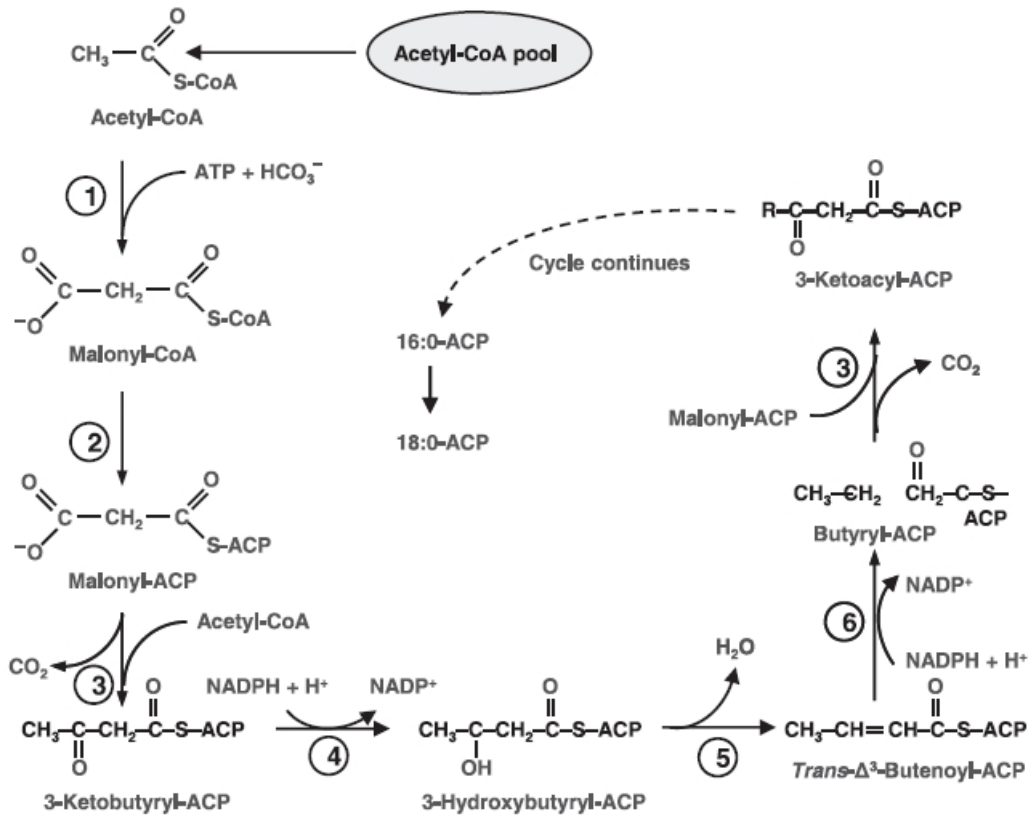
κυτταρόπλασμα [83]. Τα λιπαρά οξέα βιοσυντίθενται σε χλωροπλάστες, όπου παράγονται C16 ή C18 ή δύο λιπαρά οξέα, τα οποία στη συνέχεια χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση όλων των κυτταρικών μορίων που περιέχουν λιπίδια, όπως μεμβράνες και τριγλυκερίδια [99]. Ο πρόδρομος της σύνθεσης λιπαρών οξέων είναι το ακετύλιο-CoA, το οποίο αντιδρά με διττανθρακικό άλας και καταναλώνει ATP για την παραγωγή μηλονυλο-CoA:



Το ένζυμο που καταλύει την παραπάνω αντίδραση είναι η καρβοξυλάση του ακετυλοσυνένζυμου Α (ACCase) [44].

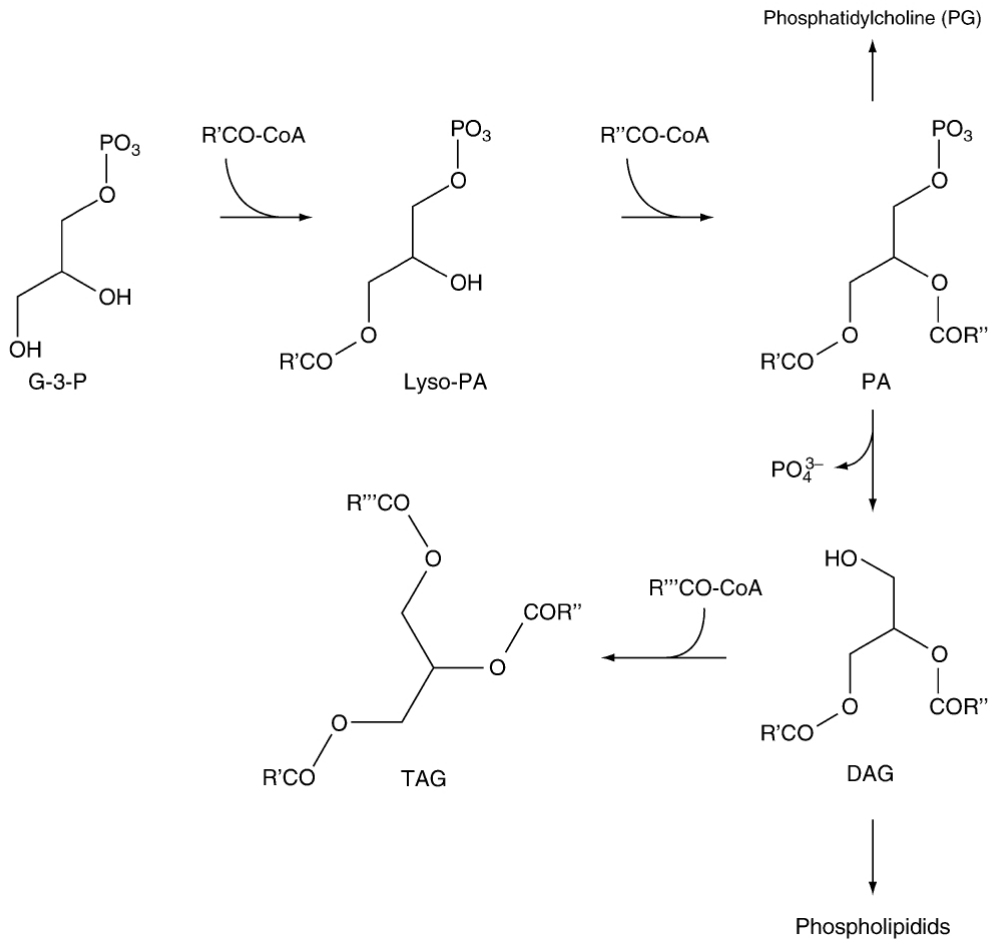
Στη συνέχεια η σύνθεση γίνεται σε κύκλους αντιδράσεων. Σε κάθε κύκλο ενσωματώνονται 2 άτομα άνθρακα. Κύριο ρόλο στη βιοσύνθεση των λιπιδίων παίζει η ακυλοφέρουσα πρωτεΐνη (acyl carrier protein, ACP-SH), με την οποία είναι εστεροποιημένο το τμήμα του μορίου του συνενζύμου Α που περιέχει τη σουλφυδρυλομάδα [18]. Η μηλονυλο-ομάδα μεταφέρεται από το συνένζυμο Α στην ACP και στη συνέχεια συμμετέχει σε μια σειρά αντιδράσεων συμπίκνωσης με δέκτες της ακυλοφέρουσας πρωτεΐνης ή του ακετυλοσυνένζυμου Α. Κατά την πρώτη αντίδραση, που καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση του 3-κετο-ακυλο ACP III (KAS III), προκύπτει προϊόν με τέσσερα άτομα άνθρακα. Ακολουθεί αναγωγή του προϊόντος (3-κετο-ακυλο-ACP), η οποία καταλύεται από την αναγωγάση του 3-κετο-ακυλο-ACP και παράγει κορεσμένο λιπαρό οξύ. Στη συνέχεια το προϊόν αφυδρογονώνεται από την αφυδρογονάση του υδροξυ-ακυλο-ACP και τέλος ανάγεται από το ένζυμο αναγωγάση του enoyl ACP. Με επαναλαμβανόμενους τέτοιους κύκλους αντιδράσεων παράγονται κορεσμένα λιπαρά οξέα με 16 ή 18 άτομα άνθρακα. Για την παραγωγή ακόρεστων λιπαρών οξέων εισάγεται στην ανθρακική αλυσίδα διπλός δεσμός με τη βοήθεια του ενζύμου δεσατουράση του στεατοϋλ-ACP. Η επιμήκυνση της ανθρακικής αλυσίδας σταματάει όταν απομακρύνεται η ακυλοομάδα από την ACP με το ένζυμο θειοεστεράση του ακυλο-ACP [44].

Το κρίσιμο βήμα της σύνθεσης των λιπαρών οξέων είναι η καρβοξυλίωση του ακετυλοσυνενζύμου Α σε μηλονυλοσυνένζυμο Α μέσω της καρβοξυλάσης του ακετυλοσυνένζυμου Α. Ακολουθεί ένα γενικό σχήμα της διαδικασίας:



Σχήμα 3. Σύνθεση λιπαρών οξέων στους χλωροπλάστες [44].

Η βιοσύνθεση των τριγλυκεριδίων πραγματοποιείται μέσω της μεταβολικής οδού της γλυκερόλης. Τα λιπαρά οξέα μεταφέρονται διαδοχικά από το συνένζυμο A στις θέσεις 1 και 2 της 3-φωσφορικής γλυκερόλης, σχηματίζοντας έτσι φωσφατιδικό οξύ. Η αποφωσφορυλίωση του φωσφατιδικού οξέος απελευθερώνει διγλυκερίδια. Το τρίτο μόριο του λιπαρού οξέος στη συνέχεια μεταφέρεται στη θέση 3 του διγλυκεριδίου, σχηματίζοντας έτσι το τριγλυκερίδιο. Η τελευταία αντίδραση καταλύεται από διακυλγλυκερόλη-ακυλτρανσφεράση [44].



Σχήμα 4. Απλοποιημένη διαδικασία σύνθεσης των τριγλυκεριδίων στα φύκη [99]

12. Ιδιότητες που καθιστούν τα μικροφύκη κατάλληλα για την παραγωγή βιοντίζελ

Σήμερα, λόγω της αύξησης των τιμών των ορυκτών καυσίμων, αφενός, και των ανησυχιών σχετικά με την υπερθέρμανση του πλανήτη που συνδέονται με τη χρήση τους από την άλλη, διεξάγεται εντατική έρευνα σχετικά με τη χρήση των μικροφυκών ως πηγή παραγωγής βιοντίζελ. Επιπλέον, η χαμηλή καθαρή φωτοσυνθετική απόδοση των γεωγραφικών καλλιεργειών (ή του εδάφους) έχει οδηγήσει σε αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση μικροφυκών ως εναλλακτικών ενεργειακών καλλιεργειών [62]. Τα μικροφύκη αναπτύσσονται και αναπαράγονται μέσω της φωτοσύνθεσης, μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε χημικές ουσίες και ολοκληρώνουν έναν πλήρη κύκλο ανάπτυξης κάθε λίγες ημέρες [11]. Τα μικροφύκη έχουν υψηλή απόδοση φωτοσύνθεσης, η οποία έχει αποδειχθεί μέσω της υψηλής παραγωγής βιομάζας ανά εκτάριο. Σύμφωνα με τη σύγχρονη έρευνα, εκτιμάται ότι τα μικροφύκη μπορούν να

μετατρέψουν έως και το 5% της ηλιακής ενέργειας σε βιομάζα ^[96]. Λόγω της έλλειψης βλαστών και ριζών, τα φύκια απορροφούν θρεπτικά συστατικά από ολόκληρη την επιφάνεια, επιτρέποντάς τους να αναπτύξουν βιομάζα γρηγορότερα από άλλα φυτά ^[5]. Συνήθως μπορούν να διπλασιάσουν τη βιομάζα εντός 24 ωρών. Ειδικά στην εκθετική φάση ανάπτυξης, ακόμη και εντός 3,5 ωρών, η βιομάζα της μπορεί να διπλασιαστεί ^[11]. Η παραγωγή μικροφυκών μπορεί να συλλεχθεί σε παρτίδες καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, παρέχοντας έτσι αξιόπιστη και συνεχή προμήθεια πρώτων υλών για την παραγωγή βιοντίζελ ^[96]. Ωστόσο, το πιο σημαντικό, πολλοί τύποι μικροφυκών θα συνθέσουν και θα συσσωρεύσουν μεγάλες ποσότητες λιπιδίων / ελαίων ^[51]. Η τυπική περιεκτικότητα λιπαρών / ελαίων των κυττάρων μικροφυκών είναι 20-50% του βάρους της ξηρής βιομάζας ^[6]. Σε ορισμένες περιπτώσεις, το περιεχόμενο υπερβαίνει το 80% ^[12]. Σε σύγκριση με τις παραδοσιακές ενεργειακές καλλιέργειες τα μικροφύκη παράγουν ανά εκτάριο 15-300 φορές περισσότερη πρώτη ύλη για την παραγωγή βιοντίζελ ^[11]. Για παράδειγμα, από καλλιέργεια μικροφυκών με περιεκτικότητα σε λάδι 30% του βάρους της ξηρής βιομάζας, μπορούν να παραχθούν περίπου 58.700 λίτρα ανά εκτάριο. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει την απόδοση λαδιού ανά εκτάριο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοντίζελ για διάφορες ενεργειακές καλλιέργειες ^[22].

Πίνακας 9. Παραγωγή ελαίων ανά εκτάριο για διάφορες ενεργειακές καλλιέργειες ^[68]

| Είδος ενεργειακής καλλιέργειας | Παραγωγή ελαίου (L/ha/year) | Παραγωγή βιοντίζελ (Kg/ha/year) |
|--|-----------------------------|---------------------------------|
| Αραβόσιτος | 172 | 152 |
| Κάνναβη | 363 | 321 |
| Σόγια | 636 | 562 |
| Jatropha | 741 | 656 |
| Camelina | 915 | 809 |
| Ελαιοκράμβη | 974 | 862 |
| Ηλιοτρόπιο | 1070 | 946 |
| Ρίκινος ο κοινός | 1307 | 1156 |
| Φοίνικας | 5366 | 4747 |
| Μικροφύκη με περιεκτικότητα 30% σε έλαια | 58700 | 51927 |

| | | |
|--|--------|--------|
| Μικροφύκη με περιεκτικότητα 50% σε έλαια | 97800 | 86515 |
| Μικροφύκη με περιεκτικότητα 70% σε έλαια | 136900 | 121104 |

Επιπλέον, η περιεκτικότητα των μικροφυκών σε λάδι ή άλλες ενώσεις μπορεί να αυξηθεί αλλάζοντας τις συνθήκες ανάπτυξης τους, για παράδειγμα, η υποβολή τους σε φυσική και χημική πίεση [6,13].

Λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε λάδι, για την παραγωγή ορισμένης ποσότητας βιοντίζελ, απαιτείται μικρότερη ποσότητα βιομάζας μικροφυκών σε σύγκριση με την αντίστοιχη ποσότητα βιομάζας από άλλες ενεργειακές καλλιέργειες. Επομένως, η περιοχή που απαιτείται για την ανάπτυξη μικροφυκών είναι πολύ μικρότερη από την έκταση που καταλαμβάνεται από άλλες ενεργειακές καλλιέργειες. Ακόμα κι αν οι ενεργειακές καλλιέργειες καλύπτουν όλες τις αρόσιμες εκτάσεις, η τρέχουσα ζήτηση για βιοντίζελ θα μειωθεί κατά το ήμισυ. Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε λάδι στα μικροφύκη μπορεί να αντιστρέψει αυτήν την κατάσταση [96]. Για παράδειγμα, εάν το βιοντίζελ αντικαθιστά όλα τα καύσιμα στις Ηνωμένες Πολιτείες, η ετήσια ζήτηση για βιοντίζελ θα είναι 530 εκατομμύρια κυβικά μέτρα. Προκειμένου να ικανοποιηθούν αυτές οι απαιτήσεις για φοινικέλαιο, απαιτείται έκταση περίπου 111 Mha, η οποία ισοδυναμεί με περίπου το 61% της αρόσιμης γης της χώρας, η οποία θα οδηγούσε σε σημαντική μείωση της περιοχής φύτευσης για βρώσιμα φυτά. Προκειμένου να καλυφθούν οι ειδικές ανάγκες του βιοντίζελ που προέρχεται από μικροφύκη, η απαιτούμενη έκταση είναι περίπου 5,4 Ma, ισοδύναμη με το 3% της καλλιεργούμενης γης. Ακόμα κι αν η περιεκτικότητα σε λάδι της βιομάζας των μικροφυκών είναι 15%, αυτή η εναλλακτική μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί^[11,12]. Εν ολίγοις, τα φύκια φαίνεται να είναι η μόνη πηγή βιοντίζελ που μπορεί να αντικαταστήσει πλήρως το ορυκτό ντίζελ [65].

Πίνακας 10. Απαιτούμενη έκταση για διάφορα είδη ενεργειακής καλλιέργειας^[68]

| Είδος ενεργειακής καλλιέργειας | Απαιτούμενη έκταση (m ² year/kg biodiesel) |
|--------------------------------|---|
| Αραβόσιτος | 66 |

| | |
|--|-----|
| Κάνναβη | 31 |
| Σόγια | 18 |
| Jatropha | 15 |
| Camelina | 12 |
| Ελαιοκράμβη | 12 |
| Ηλιοτρόπιο | 11 |
| Ρίκινος ο κοινός | 9 |
| Φοίνικας | 2 |
| Μικροφύκη με περιεκτικότητα 30% σε έλαια | 0.2 |
| Μικροφύκη με περιεκτικότητα 50% σε έλαια | 0.1 |
| Μικροφύκη με περιεκτικότητα 70% σε έλαια | 0.1 |

Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι τα φύκια μπορούν να αναπτυχθούν σε αλμυρό ή υφάλμυρο νερό και σε περιοχές που δεν είναι κατάλληλες για βρώσιμα φυτά, όπως έρημοι, βάλτοι και παράκτιες περιοχές ^[119,51]. Αυτό διασφαλίζει ότι δεν θα απειληθεί η παραγωγή τροφίμων, ζωοτροφών και άλλων καλλιεργειών ^[6,45].

Η ικανότητα καλλιέργειας μικροφυκών σε εδάφη που δεν χρησιμοποιούνται για γεωργία οφείλεται στην ικανότητά τους να αναπτύσσονται υπό αντίξοες συνθήκες και χαμηλές απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά ^[68]. Είναι επίσης δυνατό να χρησιμοποιηθεί νερό που δεν είναι κατάλληλο για κατανάλωση, όπως νερό από λύματα, το οποίο είναι πηγή αζώτου και φωσφόρου (NH₄⁺, NO₃⁻, PO₄³⁻). Με αυτόν τον τρόπο, αφενός, πραγματοποιείται η βιοαποκατάσταση των λυμάτων, αφετέρου, η ζήτηση για καθαρό νερό για την προστασία των καλλιεργειών μειώνεται σημαντικά. Γενικά, η καλλιέργεια μικροφυκών είναι μια σχετικά απλή διαδικασία και δεν απαιτεί τη χρήση ζιζανιοκτόνων ή φυτοφαρμάκων ^[68, 6, 51].

Ένα άλλο περιβαλλοντικό όφελος της καλλιέργειας μικροφυκών είναι ότι μπορεί να συνδυάσει την παραγωγή ουδέτερου καυσίμου διοξειδίου του άνθρακα με την απορρόφηση διοξειδίου του άνθρακα από το περιβάλλον ^[96]. Το CO₂ είναι η πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη μικροφυκών. Τα μικροφύκη απορροφούν διοξείδιο του άνθρακα από τα καυσαέρια των μονάδων παραγωγής ενέργειας από ορυκτά καύσιμα, μειώνοντας έτσι τις συνολικές εκπομπές των κύριων αερίων θερμοκηπίου (1 κιλό βιομάζας μικροφυκών απαιτεί περίπου 1,8 κιλά διοξειδίου του άνθρακα) ^[51]. Επιπλέον, το βιοντίζελ που προέρχεται από μικροφύκη είναι βιοαποικοδομήσιμο και

μη τοξικό ^[96]. Δεν περιέχει θείο και, όπως το κανονικό ντίζελ, βοηθά στη μείωση των σωματιδίων, των υδρογονανθράκων, των εκπομπών CO και SOx. Ωστόσο, σε ορισμένους τύπους κινητήρων, η χρήση βιοντίζελ μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένες εκπομπές NOx ^[68].

Ανάλογα με τον τύπο των μικροφυκών, εκτός από το λάδι, μπορούν να εξαχθούν και άλλα προϊόντα χρήσιμα σε διαφορετικούς βιομηχανικούς τομείς. Αυτά τα προϊόντα είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, φυσικά χρώματα, σάκχαρα, αντιοξειδωτικά, βιολογικά δραστικές ενώσεις υψηλής αξίας και άλλες ενώσεις. Παρομοίως, μετά την εξαγωγή του λαδιού που θα χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοντίζελ, η βιομάζα που παραμένει μπορεί να μετασχηματιστεί σε αιθανόλη, μεθάνιο, ζωοτροφές, οργανικά λιπάσματα μπορεί να υποβληθεί σε επεξεργασία (λόγω της υψηλής αναλογίας N: P), ή απλά να χρησιμοποιηθεί για συμπαραγωγή μέσω καύσης Η θερμότητα και παραγόμενη ενέργεια. ^[68]

13. Επιλογή κατάλληλου στελέχους για την παραγωγή βιοντίζελ

Η επιλογή κατάλληλων στελεχών από το φυσικό περιβάλλον είναι το κύριο και κρίσιμο βήμα για την αποτελεσματική καλλιέργεια μικροφυκών για παραγωγή βιοντίζελ. Είναι σημαντικό να αναγνωρίσουμε και να συλλέξουμε είδη που παράγουν μεγάλες ποσότητες λιπιδίων, μεγαλώνουν γρήγορα σε ένα πολυσύχναστο περιβάλλον και είναι εύκολα στη συγκομιδή.

Λόγω της τεράστιας βιοποικιλότητάς τους, διάφορα είδη μικροφυκών μπορούν να αναπτυχθούν σε γλυκό νερό, θαλασσινό νερό ή υφάλμυρο νερό. Μπορούν να ευδοκιμήσουν σε σχεδόν όλους τους τύπους υδάτινων οικοσυστημάτων, ακόμη και στα λύματα. Σύμφωνα με το περιβάλλον στο οποίο μεγαλώνουν, παρουσιάζουν συγκεκριμένες τάσεις στην ανάπτυξη και την περιεκτικότητα σε λιπαρά και άλλα βιομόρια. Κατά τη μελέτη της επιλογής των μικροφυκών για παραγωγή βιοντίζελ, πρέπει να συλλέγονται δείγματα από κάθε ενδιαίτημα σε διαφορετικούς χρόνους, έτσι ώστε να μπορούν να εντοπιστούν αυτές οι τάσεις.

Αφού συλλεχθεί το δείγμα από τον βίοτοπο, θα πρέπει να απομονωθεί ένα και μόνο κύτταρο προκειμένου να μελετηθεί συγκεκριμένο είδος μικροφύκου. Για το σκοπό αυτό έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές μέθοδοι, άλλες συμβατικές (μονοκυτταρική απομόνωση, απομόνωση με χρήση άγαρ, τεχνική ψεκασμού των κυττάρων σε άγαρ,

τεχνική διάλυσης, βαρυτομετρικός διαχωρισμός, εμπλουτισμός του μέσου ανάπτυξης) και άλλες πιο προηγμένες (μικροχειρισμοί, κυτταρομετρία ροής, διαλογή κυττάρων που ενεργοποιείται με φθορισμό ή με μαγνητισμό, διηλεκτροφόρηση, υδροδυναμικός διαχωρισμός, διαχωρισμός με χρήση υπερήχων κ.ά.).

Στη συνέχεια γίνεται ο έλεγχος των μικροφυκών, που στοχεύει στον εντοπισμό ειδών με τα απαιτούμενα χαρακτηριστικά (υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, υψηλή παραγωγικότητα βιομάζας, ταχύ ρυθμός ανάπτυξης και αντίσταση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες) Για να προσδιοριστεί η περιεκτικότητα λιπιδίων των μικροφυκών *in situ*, η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική είναι η χρήση της βαφής Red Nile. Το στερεό κυτταρικό τοίχωμα δεν επιτρέπει τη διείσδυση συγκεκριμένων χρωμάτων στα κύτταρα, γεγονός που υποδηλώνει έλλειψη λιπιδίων. Η χρήση του Nile Red μπορεί επίσης να διακρίνει μεταξύ ουδέτερων και πολικών λιπιδίων. Μια άλλη βαφή που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι το BODIPY 505/515. Τόσο η φασματοσκοπία FTIR όσο και η φασματοσκοπία φθορισμού PAM έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε λιπίδια. Ο ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός των λιπιδίων πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας πρότυπες τεχνικές (όπως TLC, HPLC και GC).

Είναι επίσης απαραίτητο να καταγραφεί ο τύπος των λιπιδίων που παράγονται από κάθε μικροφύκη, επειδή τα χαρακτηριστικά του βιοντίζελ που θα παραχθούν εξαρτώνται από αυτό. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, το μήκος της αλυσίδας άνθρακα και ο αριθμός των διπλών δεσμών λιπαρών οξέων και τριγλυκεριδίων καθορίζουν την αξία των διαφόρων χαρακτηριστικών του βιοντίζελ (αριθμός κετανίου, ιξώδες, πυκνότητα, σημείο αποκλεισμού του ψυχρού φίλτρου, σταθερότητα οξειδωσης, ικανότητα λίπανσης, σημείο ανάφλεξης, αριθμός ιωδίου, σημείο ροής και θολότητα, κ.λπ.)^[77].

Στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί πολλές παράμετροι και αυτές οι παράμετροι πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την επιλογή κατάλληλων στελεχών μικροφυκών για παραγωγή βιοντίζελ. Γενικά, πρέπει να έχει υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια και γρήγορη ανάπτυξη, ώστε με όσο το δυνατόν λιγότερη βιομάζα να έχει όσο το δυνατόν περισσότερη πρώτη ύλη. Ιδανικό θα ήταν επίσης να μπορεί αναπτυχθεί κάτω από διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες (διακυμάνσεις θερμοκρασίας και θρεπτικών συστατικών, παρουσία ανταγωνιστικών οργανισμών, αντίσταση σε παράγοντες που ενδέχεται να μολύνουν τις καλλιέργειες), έτσι ώστε να μην απαιτείται ειδική φροντίδα κατά τη διαδικασία φύτευσης, η οποία μειώνει το τελικό κόστος. Άλλα

χαρακτηριστικά που σχετίζονται με το κόστος του τελικού προϊόντος είναι το μέγεθος και η μορφολογία των κυττάρων. Η συγκομιδή και επεξεργασία μικροφυκών που έχουν μεγάλο μέγεθος κυττάρων ή έχουν νηματοειδή ή αποικιακή μορφολογία γίνεται ταχύτερα και ευκολότερα.

Όπως αναμενόταν, κανένας τύπος μικροφυκών δεν μπορεί να πληροί όλες τις παραπάνω προϋποθέσεις. Επομένως, σε κάθε περίπτωση, πρέπει να επιλέξουμε εκείνα τα χαρακτηριστικά που μπορούν να συνυπάρχουν υπό ορισμένες συνθήκες. Τα κύρια κριτήρια για τον προσδιορισμό των τύπων μικροφυκών που μπορούν να καλλιεργηθούν είναι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες. Στη συνέχεια, σκεφτόμαστε την υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, τον ταχύ ρυθμό ανάπτυξης και την αυξημένη απόδοση βιομάζας ειδών που μπορούν να ευδοκιμήσουν σε αυτό το περιβάλλον. Γενικά, απουσία ορισμένων θρεπτικών ουσιών (συνήθως αζώτου και πυριτίου), η περιεκτικότητα σε λιπίδια διαφόρων μικροφυκών θα αυξηθεί. Ωστόσο, υπό αυτές τις συνθήκες, ο ρυθμός ανάπτυξής τους μειώνεται και συνεπώς η απόδοση τους στη βιομάζα μειώνεται. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι τα στελέχη με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια έχουν χαμηλότερο ρυθμό ανάπτυξης, ενώ όταν η περιεκτικότητα τους σε λιπίδια είναι χαμηλότερη, παρουσιάζουν αυξημένο ρυθμό και παραγωγή βιομάζας [63]. Επομένως, φαίνεται δύσκολο να ικανοποιηθούν και τα δύο χαρακτηριστικά σε ένα είδος: αυξημένη παραγωγή βιομάζας και υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια.

Η υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια δεν είναι πάντα μια ασφαλής μέθοδος για την επιλογή κατάλληλων στελεχών για παραγωγή βιοντίζελ. Η σύνθεση λιπαρών οξέων θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να ελαχιστοποιεί τα προβλήματα της εύκολης οξείδωσης του τελικού προϊόντος, της αυξημένης θολότητας και του σημείου ροής. Επομένως, κατά την επιλογή μικροφυκών για παραγωγή βιοντίζελ, η αναλογία κορεσμένων λιπαρών οξέων προς ακόρεστα λιπαρά οξέα και το μήκος της αλυσίδας άνθρακα είναι πολύ σημαντικές παράμετροι [22].

Από τα παραπάνω, φαίνεται δύσκολο να βρεθεί το ειδικό στέλεχος ή τύπος μικροφυκών που είναι πιο κατάλληλος για παραγωγή βιοντίζελ. Ωστόσο, τα κύρια είδη που επιλέχθηκαν για αυτό το σκοπό είναι τα διάτομα και μετά τα πράσινα φύκια [21,22].

Στη μελέτη των Rodolfi L. et al^[95], που αφορούσε την επιλογή στελεχών κατάλληλων για παραγωγή βιοντίζελ, μελετήθηκαν 30 στελέχη μικροφυκών, τα οποία αναπτύχθηκαν σε φιάλες των 250 mL. Η φιάλη επώαστηκε σε περιστροφικό

αναδευτήρα υπό συνεχές φως στους 25 ° C υπό παροχή αέρα εμπλουτισμένου με CO₂. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τα αποτελέσματα σχετικά με την παραγωγικότητα βιομάζας και λιπιδίων και την περιεκτικότητα σε λιπίδια:

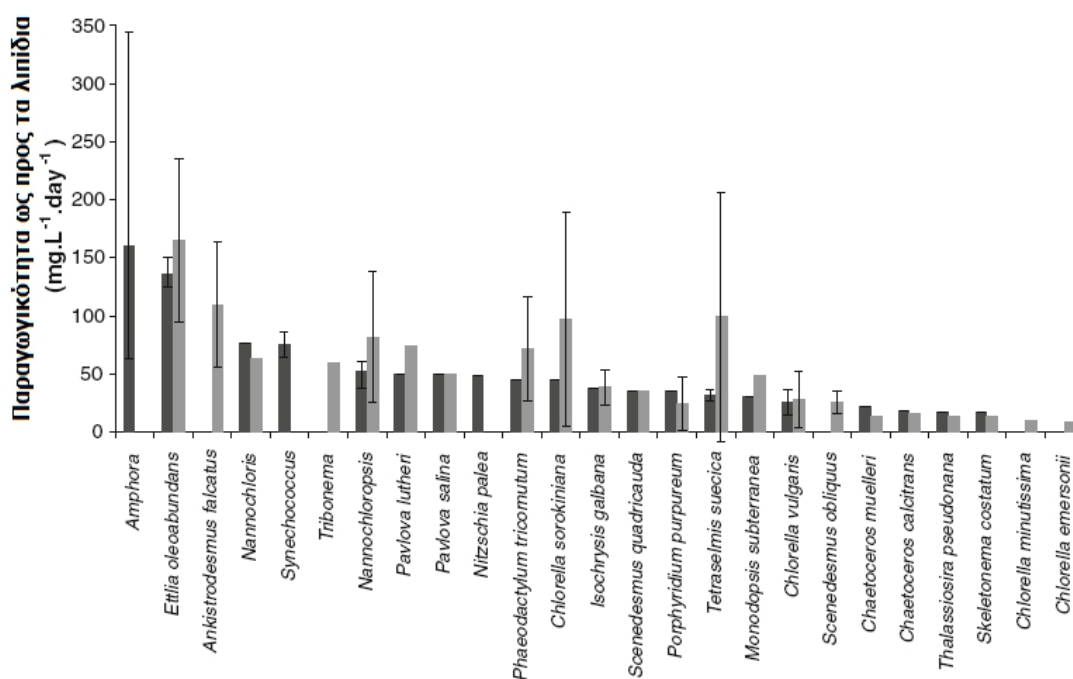
Πίνακας 11. Λιπιδιακό περιεχόμενο διαφόρων στελεχών μικροφυκών^[95]

| | Μικροφύκη | Παραγωγή βιομάζας (g/L/day) | Λιπιδιακό περιεχόμενο (% βιομάζας) | Παραγωγή λιπιδίων (mg/L/day) |
|--------------------------------------|--|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------|
| Θαλάσσια στελέχη | <i>Porphyridium cruentum</i> | 0.37 | 9.5 | 34.8 |
| | <i>Tetraselmis suecica</i> F&M-M33 | 0.32 | 8.5 | 27.0 |
| | <i>Tetraselmis</i> sp. F&M-M34 | 0.30 | 14.7 | 43.4 |
| | <i>Tetraselmis suecica</i> F&M-M35 | 0.28 | 12.9 | 36.4 |
| | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> F&M-M40 | 0.24 | 18.7 | 44.8 |
| | <i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M26 | 0.21 | 29.6 | 61.0 |
| | <i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M27 | 0.20 | 24.4 | 48.2 |
| | <i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M24 | 0.18 | 30.9 | 54.8 |
| | <i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M29 | 0.17 | 21.6 | 37.6 |
| | <i>Ellipsoidion</i> sp. F&M-M31 | 0.17 | 27.4 | 47.3 |
| | <i>Nannochloropsis</i> sp. F&M-M28 | 0.17 | 35.7 | 60.9 |
| | <i>Nannochloropsis</i> CS 246 | 0.17 | 29.2 | 49.7 |
| | <i>Isochrysis</i> sp. (T-ISO) CS 177 | 0.17 | 22.4 | 37.7 |
| | <i>Pavlova salina</i> CS 49 | 0.16 | 30.9 | 49.4 |
| | <i>Pavlova lutheri</i> CS 182 | 0.14 | 35.5 | 50.2 |
| | <i>Isochrysis</i> sp. F&M-M37 0.14 27.4 37.8 | 0.14 | 27.4 | 37.8 |
| | <i>Skeletonema</i> sp. CS 252 M33 | 0.09 | 31.8 | 27.3 |
| | <i>Thalassiosira pseudonana</i> CS 173 | 0.08 | 20.6 | 17.4 |
| | <i>Skeletonema costatum</i> CS 181 M35 | 0.08 | 21.1 | 17.4 |
| | <i>Chaetoceros muelleri</i> F&M-M43 F&M-M40 | 0.07 | 33.6 | 21.8 |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i> CS 178 | 0.04 | 39.8 | 17.6 | |
| Στελέχη γλυκού νερού | <i>Chlorococcum</i> sp. UMACC 112 | 0.28 | 19.3 | 53.7 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. DM | 0.26 | 21.1 | 53.9 |
| | <i>Chlorella</i> sp. F&M-M48 | 0.23 | 18.7 | 42.1 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. F&M-M19 | 0.21 | 19.6 | 40.8 |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> F&M-M49 | 0.20 | 18.4 | 36.9 |
| | <i>Scenedesmus quadricauda</i> | 0.19 | 18.4 | 35.1 |
| | <i>Monodus subterraneus</i> UTEX 151 | 0.19 | 16.1 | 30.4 |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> CCAAP 211/11b | 0.17 | 19.2 | 32.6 |

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η παραγωγικότητα βιομάζας των θαλάσσιων στελεχών είναι υψηλότερη, όπως φαίνετε από τα *Porphyromonas kluyveri* και τρία στελέχη των τετραβακτηρίων (0,28-0,37 g / L / ημέρα). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η περιεκτικότητα σε λιπίδια αυτών των μικροφυκών είναι εξαιρετικά χαμηλή. Επιπλέον, το θαλάσσιο είδος με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια (39,8%) είναι το *Chaetoceros calcitrans* CS 178, το οποίο έχει τη χαμηλότερη παραγωγή βιομάζας (0,04 g / L / ημέρα). Επομένως, ακολουθώντας την παραπάνω γενική τάση, τα στελέχη με υψηλή παραγωγικότητα βιομάζας έχουν χαμηλή περιεκτικότητα λιπιδίων, ενώ στελέχη με υψηλή περιεκτικότητα λιπιδίων έχουν χαρακτηριστικά χαμηλής παραγωγής βιομάζας. Επομένως, αυτά τα στελέχη δεν μπορούν να είναι κερδοφόρα ως καλλιέργειες για την παραγωγή βιοντίζελ. Αντίθετα, μεταξύ των στελεχών που καλλιεργούνται σε γλυκό νερό, το στέλεχος με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια έδειξε επίσης την υψηλότερη παραγωγή βιομάζας. Αυτά είναι *Chlorococcum* sp. UMACC 112, *Scenedesmus* sp. DM, *Sorokiniana Chlorella* IAM-212 και *Chlorella* sp. F και M-M48. Από όλα τα μικροφύκη που εξετάστηκαν σε αυτή τη μελέτη, αυτά που είναι πιο πιθανό να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή

βιοντίζελ είναι εκείνα που παρουσιάζουν υψηλή παραγωγικότητα στα λιπίδια. Αυτά είναι τρία στελέχη με περιεκτικότητα λιπιδίων 29,6-35,7% και απόδοση λιπιδίων 54,8-61,0 mg / L / ημέρα. Τα μικροφύκη αυτά είναι τα *Arabidopsis* και τα προαναφερθέντα στελέχη *Chlorococcum*, *Scenedesmus* και *Globulina Algae* [95].

Στη μελέτη των Melinda J. Griffiths και Susan T.L. Harisson [33] οι ερευνητές χρησιμοποίησαν την παραγωγή λιπιδίων μικροφυκών ως κριτήριο για την επιλογή κατάλληλων στελεχών παραγωγής βιοντίζελ. Η παραγωγικότητα των λιπιδίων εξαρτάται από την περιεκτικότητα λιπιδίων και την παραγωγικότητα βιομάζας των μικροφυκών. Τα δεδομένα σχετικά με 55 στελέχη μικροφυκών συλλέγονται από τη διεθνή βιβλιογραφία. Το παρακάτω σχήμα δείχνει τον μέσο όρο (γκρι) και τις υπολογισμένες τιμές (μαύρο) των ποσοστών παραγωγής βιομάζας. Οι γραμμές σφάλματος δείχνουν τις μέγιστες και ελάχιστες καταγεγραμμένες τιμές της παραγωγικότητας των λιπιδίων και τη διασπορά σφάλματος στην περίπτωση των υπολογισμένων τιμών.



Σχήμα 5. Παραγωγικότητα μικροφυκών ως προς τα λιπίδια [25]

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι τα είδη που έχουν αυξημένη παραγωγικότητα ως προς τα λιπίδια, είναι τα *Amphora*, *Ettlial oleoabundans*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorella sorokiniana* και *Tetraselmis suecica* [33].

Σύμφωνα με την έρευνα των Ayhan και Fatih Demirbas ^[21], ένα από τα προτιμώμενα είδη για την παραγωγή βιοντίζελ είναι το *Scenedesmus dimorphus*, το οποίο ανήκει στα πράσινα φύκια και είναι ένας μονοκύτταρος οργανισμός. Ωστόσο, αυτό το μικροφύκι είναι πολύ βαρύ, και εάν δεν αναδεύεται συνεχώς, είναι εύκολο να σχηματίσει ίζημα. Σύμφωνα με την ίδια μελέτη, το *Dunaliella Dunaliella* θεωρείται επίσης κατάλληλο στέλεχος, με απόδοση 37% σε λάδι και ιδιαίτερα γρήγορη ανάπτυξη ^[21].

14. Τεχνολογίες παραγωγής βιομάζας μικροφυκών

Υπό φυσικές συνθήκες ανάπτυξης, τα φωτοτροφικά φύκια απορροφούν την ηλιακή ακτινοβολία καθώς και CO₂ από τον αέρα και θρεπτικά συστατικά από άλλους υδρόβιους οργανισμούς. Ως εκ τούτου, κατά την καλλιέργεια φυκών, οι συνθήκες ανάπτυξής της πρέπει να είναι παρόμοιες με τις φυσικές συνθήκες.

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυκών και οι τεχνητές καλλιέργειες πρέπει να προσαρμοστούν σωστά ώστε να καταστούν μια ευνοϊκή λύση για την παραγωγή βιοκαυσίμων μεγάλης κλίμακας. Αυτοί διακρίνονται σε:

- Αβιοτικούς παράγοντες, όπως το φως (ποιότητα, ποσότητα), η θερμοκρασία, η περιεκτικότητα σε θρεπτικά, O₂, CO₂, το pH, η αλατότητα και τα τοξικά χημικά.
- Βιοτικούς παράγοντες, όπως παθογόνα (βακτήρια, μύκητες, ιοί) και ανταγωνισμός από άλλα φύκη.
- Λειτουργικούς παράγοντες, όπως η διάτμηση λόγω ανάδευσης, ο ρυθμός διαλυτοποίησης, το βάθος, η συχνότητα συγκομιδής και η προσθήκη διττανθρακικών.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται τρεις κυρίως διακριτοί μηχανισμοί παραγωγής μικροφυκών, οι οποίοι περιλαμβάνουν την φωτοαυτοτροφική, την ετεροτροφική και την μικτοτρόφο παραγωγή^[6, 68].

14.1 Φωτοαυτοτροφική παραγωγή

Στη φωτοσυνθετική καλλιέργεια θρεπτικών ουσιών, τα μικροφύκη χρησιμοποιούν το φως (για παράδειγμα, το ηλιακό φως) ως πηγή ενέργειας, ενώ ο ανόργανος άνθρακας (για παράδειγμα, διοξείδιο του άνθρακα) χρησιμοποιείται ως πηγή άνθρακα για την παραγωγή χημικής ενέργειας μέσω της φωτοσύνθεσης. Συγκεκριμένα,

παράγονται ενώσεις ως αποθήκες ενέργειας όπως οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και οι υδρογονάνθρακες. Μεταξύ αυτών των ενώσεων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοντίζελ, τα λιπίδια παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Στη φωτοτροφική καλλιέργεια, το ποσοστό των λιπιδίων στα μικροφύκη κυμαίνεται από 5% έως 68%, ανάλογα με τον τύπο των μικροφυκών. Το πιο σημαντικό πλεονέκτημα της χρήσης αυτοτροφικών καλλιεργειών για την παραγωγή βιοκαυσίμων από μικροφύκη είναι η κατανάλωση διοξειδίου του άνθρακα ως πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη των κυττάρων και την παραγωγή καυσίμων. Όταν το διοξείδιο του άνθρακα είναι η μόνη πηγή άνθρακα, τα φύκια μπορούν να αναπτυχθούν κοντά σε σταθμούς παραγωγής ενέργειας, οι οποίοι απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα κάθε μέρα. Η ιδέα του συνδυασμού μονάδων παραγωγής ενέργειας με καύση άνθρακα με την καλλιέργεια μικροφυκών μας παρέχει έναν εφικτό τρόπο ανακύκλωσης του διοξειδίου του άνθρακα από τη διαδικασία καύσης σε χρησιμοποιήσιμα υγρά καύσιμα. Επιπλέον, τα λύματα αυτών των φυτών μπορεί να περιέχουν πλούσια θρεπτικά συστατικά (όπως μέταλλα), τα οποία είναι επίσης απαραίτητα για την ανάπτυξη μικροφυκών.

Επί του παρόντος, η φωτοτροφική παραγωγή είναι η μόνη τεχνικά και οικονομικά εφικτή μέθοδος για παραγωγή μεγάλης κλίμακας βιομάζας μικροφυκών. Για το σκοπό αυτό, έχουν αναπτυχθεί δύο συστήματα: το σύστημα ανοικτής ρηχής λίμνης και το σύστημα κλειστού οπτικού αντιδραστήρα [6, 68, 9].

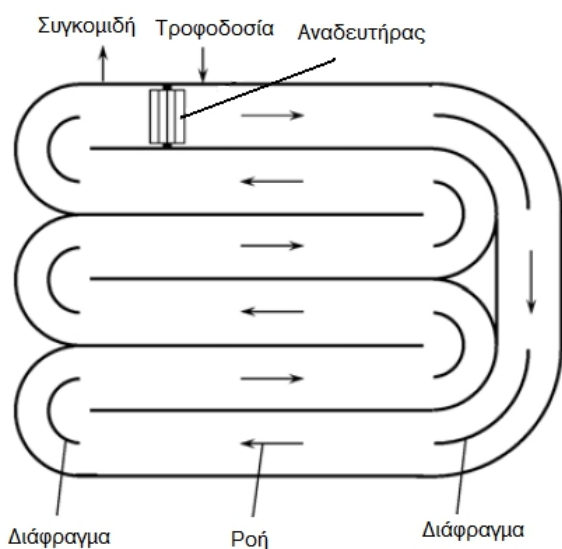
14.1α Ανοιχτά συστήματα αβαθών λιμνών

Τεχνικά χαρακτηριστικά των ανοιχτών συστημάτων αβαθών λιμνών: Από το 1950, η μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια φυκών πραγματοποιείται στο σύστημα ανοικτής ρηχής λίμνης για εμπορική ανάπτυξη. Οι λίμνες μπορεί να είναι είτε φυσικές είτε τεχνητές.

Ευνοϊκότερη είναι η επιλογή να του θαλασσινό νερού, των βιομηχανικών δεξαμενών λυμάτων ή μερικών λιμνών με ειδικές συνθήκες ως φυσικά συστήματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχουν τα είδη φυκών που είναι ανθεκτικά στο αλάτι και αναπτύσσονται στο θαλασσινό νερό.

Τα τεχνητά συστήματα ρηχών λιμνών διατίθενται σε διάφορα σχήματα και μεγέθη, με κυρίαρχο σχήμα έναν κλειστός βρόχος σε μια ορθογώνια μικρή λίμνη. Η κατασκευή των καναλιών γίνεται από τσιμέντο ή συμπαγές χώμα, και μπορεί να διαφέρουν σε διαστάσεις. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το βάθος του καναλιού

κυμαίνεται στο εύρος 0,15-0,5 m. Σε ένα τέτοιο βάθος, μπορεί να επιτευχθεί συγκέντρωση βιομάζας ίση με 1 g ξηράς ύλης / L και απόδοση 60 mg / L / ημέρα. Η ύπαρξη ενός αναδευτήρα επιτυγχάνει την κυκλοφορία και την ανάδευση που πρέπει να υπάρχει για την ελεγχόμενη ανάπτυξη των μικροφυκών. Η πορεία της καλλιέργειας ξεκινά μπροστά από τον αναδευτήρα και αφού κυκλοφορήσει επιστρέφει σε αυτό το σημείο εκκίνησης. Η συνεχής λειτουργία του αναδευτήρα αποτρέπει την εμφάνιση ιζημάτων.



Σχήμα 6. Ανοιχτά συστήματα αβαθών λιμνών ^{[11], [27]}

Ο αέρας εδάφους μπορεί να καλύψει τις ανάγκες των μικροφυκών για CO₂, αλλά για να αυξηθεί η απορρόφηση του CO₂ συνήθως εγκαθίστανται καταδυτικές αναπνευστικές συσκευές (συσκευές εμπλουτισμού διοξειδίου του άνθρακα). Σε μια ανοιχτή λίμνη, η ψύξη μπορεί να επιτευχθεί μόνο με εξάτμιση ^[6,11,51,86].

Πλεονεκτήματα των ανοιχτών συστημάτων αβαθών λιμνών: Το σύστημα ανοιχτής ρηχής λίμνης είναι ο φθηνότερος τρόπος χρήσης μικροφυκών για την παραγωγή βιομάζας σε μεγάλη κλίμακα. Αυτά τα συστήματα δεν χρειάζεται να ανταγωνιστούν τις υπάρχουσες καλλιέργειες για τη γη, διότι μπορούν να τοποθετηθούν σε περιοχές με το λιγότερο δυνατό (οριακό) δυναμικό για την παραγωγή καλλιεργειών. Επίσης το ποσό ενέργειας που απαιτείτε για τη λειτουργία τους είναι πολύ μικρό, τέλος η τακτική συντήρηση και καθαρισμός είναι ευκολότερα, οπότε είναι δυνατή η παράγωγή πολύ καθαρής ενέργειας. Το 2008, η παραγωγή της Dunalila (ένα από τα πιο κοινά μικροφύκη σε ανοιχτές λίμνες) κόστισε περίπου 2,55

ευρώ ανά χιλιόγραμμο ξηρής βιομάζας, το οποίο θεωρείται επαρκές για να δικαιολογήσει την παραγωγή βιοκαυσίμων [6].

Γενικά τα ανοιχτά συστήματα είναι συνήθως πιο οικονομικά, ως προς την κατασκευή και την λειτουργία τους, πιο ανθεκτικά και με μεγαλύτερη ικανότητα παραγωγής. Επιπλέον καθαρίζονται εύκολα μετά την καλλιέργεια και είναι ιδανικά για μαζική καλλιέργεια φυκών [68].

Μειονεκτήματα των ανοιχτών συστημάτων αβαθών λιμνών: Λόγω ακριβώς του ότι είναι ανοιχτά, στα συστήματα ανοιχτής ρηχής λίμνης, είναι σχεδόν αδύνατο να ελεγχθούν οι συνθήκες ανάπτυξης των μικροφυκών. Σε σύγκριση με ένα κλειστό σύστημα, αυτό θα οδηγήσει σε μείωση της αποτελεσματικότητας της παραγωγής βιομάζας, η οποία θα μελετηθεί παρακάτω. Πιο συγκεκριμένα, αν και η απώλεια υδάτινων μέσων είναι ο μόνος τρόπος ψύξης αυτών των συστημάτων, μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην ιοντική σύνθεση των μέσων ανάπτυξης, η οποία επηρεάζει δυσμενώς την ανάπτυξη των φυκών. Ένας άλλος παράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυκών είναι η θερμοκρασία του μέσου ανάπτυξης. Ωστόσο, στο ανοικτό σύστημα ρηχών λιμνών, είναι δύσκολο να ελεγχθούν οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας που προκαλούνται από τους ημερήσιους κύκλους και τις εποχιακές αλλαγές. Η διάχυση του διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα θα προκαλέσει ελλείψεις και η χαμηλή απόδοση χρήσης του διοξειδίου του άνθρακα θα οδηγήσει σε μείωση της παραγωγής βιομάζας. Παρομοίως, στην περίπτωση κακής ανάμιξης λόγω ανεπαρκούς μηχανισμού ανάδευσης, ο ρυθμός παροχής διοξειδίου του άνθρακα μπορεί να είναι χαμηλός, με αποτέλεσμα χαμηλότερη παραγωγή βιομάζας. Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της βιομάζας είναι ο περιορισμένος φωτισμός λόγω του πάχους της επιφάνειας της λίμνης. Ωστόσο, η ενίσχυση της παροχής φωτός μπορεί να επιτευχθεί μειώνοντας το πάχος του άνω στρώματος. Επομένως, η χρήση λεπτότερων κεκλιμένων στρωμάτων γεωργικών συστημάτων και η βελτιωμένη ανάμιξη μπορούν να αυξήσουν την παραγωγικότητα της βιομάζας.

Λόγω του εγγενούς κινδύνου ρύπανσης και του εγγενούς κινδύνου μόλυνσης από άλλα φύκια και πρωτόζωα, ένα ανοιχτό ρηχό σύστημα λίμνης είναι ένα πολύ επιλεκτικό περιβάλλον. Στην πράξη, το σύστημα αποτελείται συνήθως από 2 έως 6 είδη που έχουν πολλά εξελικτικά πλεονεκτήματα: ταχεία ανάπτυξη, αντίσταση σε είδη που μπορεί να προκαλέσουν μόλυνση και ανοχή σε υψηλά επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου. Ωστόσο, κάτω από ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες, μόνο λίγα είδη

μικροφυκών μπορούν να αναπτυχθούν. Τα είδη που ευδοκιμούν κάτω από ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες είναι τα: Chlorella (κατάλληλο για θρεπτικά μέσα πλούσια σε θρεπτικά μέσα), Dunaliella (κατάλληλο για υψηλή αλατότητα) και Spirulina (κατάλληλο για υψηλή αλκαλικότητα).

Ένα επίσης σημαντικό μειονέκτημα των συστημάτων αβαθών λιμνών είναι ότι αν και είναι ιδανικά για την οικονομικότερη μαζική παραγωγή μικροφυκών, συχνά ανταγωνίζονται για γη με τις γεωργικές καλλιέργειες, διότι απαιτούν μεγάλες εκτάσεις προκειμένου να παράγουν μεγάλες ποσότητες βιομάζας^[6, 49, 51, 68, 86].

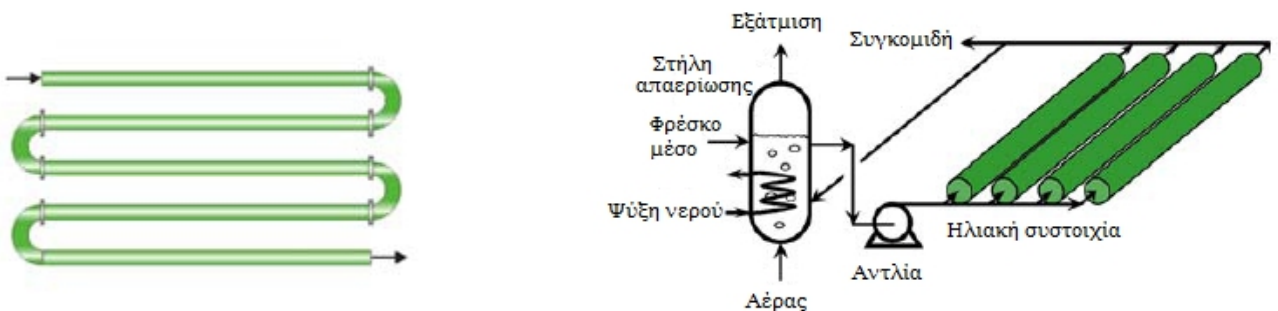
14.1β Φωτοβιοαντιδραστήρες

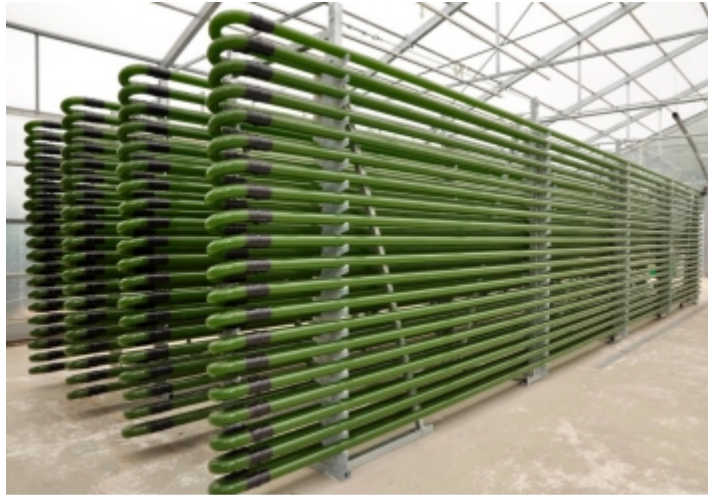
Τεχνολογία κλειστών συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων: Ο βιοαντιδραστήρας ορίζεται ως ένα σύστημα όπου λαμβάνει χώρα βιομετασχηματισμός. Επομένως, ένας φωτοβιοαντιδραστήρας είναι ένας αντιδραστήρας στον οποίο καλλιεργούνται ή χρησιμοποιούνται φωτοτροφικοί οργανισμοί (μικροοργανισμοί, φύκια και φυτικά κύτταρα) για φωτοχημικές αντιδράσεις.

Επιπλέον, σε αυτά τα συστήματα αποτρέπεται η άμεση ανταλλαγή αερίων ή άλλων στοιχείων (όπως διάφοροι μικροοργανισμοί, σκόνη κ.λπ.) χάρις στην ύπαρξη του τοιχώματος του φωτοβιοαντιδραστήρα. Επιπροσθέτως, το φως πρέπει να διέλθει από το διαφανές αυτό τοίχωμα προτού φτάσει στην καλλιέργεια.

Οι πιο κλασικοί τύποι φωτοαντιδραστήρων για την καλλιέργεια των μικροφυκών είναι:

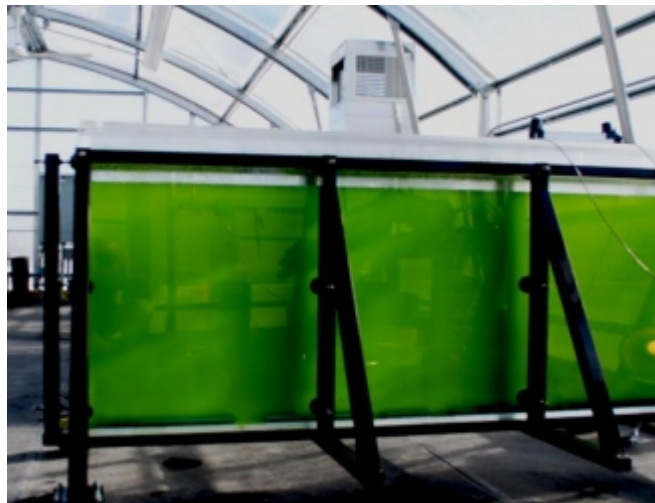
- Σωληνοειδείς αντιδραστήρες. Οι σωληνοειδείς αντιδραστήρες μπορεί να τοποθετηθούν σε οριζόντιο, κατακόρυφο ή κεκλιμένο επίπεδο ή να είναι σπειροειδής.





Σχήμα 7. Σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες [11,101]

■ Επίπεδοι φωτοβιοαντιδραστήρες



Σχήμα 8. Επίπεδος φωτοβιοαντιδραστήρας^[96]

- Φωτοβιοαντιδραστήρες σε στήλες (στήλες με φυσαλίδες και φιάλες αερομεταφοράς)



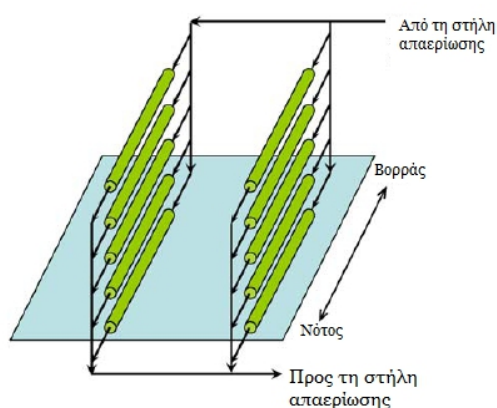
Σχήμα 9. Φωτοβιοαντιδραστήρες σε στήλες^[96]

Από την τοποθέτηση τους υπό κλίση μπορούν να προκύψουν εξελιγμένοι φωτοβιοαντιδραστήρες. Αυτό γίνεται για την καλύτερη εκμετάλλευση του προσπίπτοντος φωτός, το οποίο επηρεάζει σημαντικά την απόδοση.

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες κατασκευάζονται από ελαφριά υλικά. Έτσι τα μικροφύκη αναμιγνύονται μέσω αντλιών ή φυσαλίδων. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται και παίζουν σημαντικό ρόλο για την αποτελεσματικότητα του φωτοβιοαντιδραστήρα. είναι πλαστικές ή γυάλινες πλάκες, πτυσσόμενοι ή άκαμπτοι σωλήνες που πρέπει να είναι μη τοξικοί, να είναι διαφανείς, στιβαροί, χημικά σταθεροί και ταυτόχρονα να έχουν και χαμηλό κόστος. Η ευκολία καθαρισμού και η μείωση της διαφάνειας του πλαστικού που εκτίθεται σε εξωτερικούς χώρους είναι θέματα που πρέπει να ληφθούν υπόψη.

Οι σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες αποτελούνται από έναν αριθμό ευθειών γυάλινων ή πλαστικών σωλήνων. Οι σωλήνες αυτοί λειτουργούν ως ηλιακοί συλλέκτες και απορροφούν το φως του ήλιου για φωτοσύνθεση. Οι σωλήνες έχουν διάμετρος μικρότερη από 0,1 m, για να περιορίσουν τη διείσδυση το φωτός σε μεγάλο

μέρος των κυττάρων φυκών που βρίσκονται διάλυμα του σωλήνα. Το μείγμα μικροφυκών επανακυκλοφορεί μεταξύ της δεξαμενής νερού και των ηλιακών πάνελ. Ο προσανατολισμός των συλλεκτών είναι από βορρά προς νότο για την αύξηση της απόδοσής τους. Η χωροταξία των σωλήνων γίνεται είτε παράλληλα στο έδαφος, είτε σε μορφή φράκτη.



Σχήμα 10. Ηλιακός συλλέκτης σε σχήμα φράκτη^[11]

Η τυρβώδης ροή, που παράγεται με χρήση κάποια χαμηλής ισχύος αντλίας, αποτρέπει την συγκέντρωση ιζήματος βιομάζας στο εσωτερικό των σωλήνων.

Το οξυγόνο παράγεται με τη φωτοσύνθεση που λαμβάνει χώρα στους φωτοβολταϊκούς αντιδραστήρες. Όταν το επίπεδο οξυγόνου που έχει διαλυθεί στον φωτοβολταϊκό αντιδραστήρα είναι σημαντικό, η φωτοσύνθεση θα σταματάει και αυτό θα προκαλέσει φωτοοξειδωτική βλάβη στα κύτταρα των φυκών.

Επειδή το συσσωρευμένο οξυγόνο δεν μπορεί να αφαιρεθεί από τον σωλήνα του φωτοβιοαντιδραστήρα, το μέγιστο μήκος του σωλήνα συνεχούς ροής είναι περιορισμένο. Για την απομάκρυνση του οξυγόνου, οι καλλιέργειες πρέπει να επιστρέφουν τακτικά στην περιοχή απαέρωσης για να απομακρύνεται το συσσωρευμένο οξυγόνο. Γενικά, οι σωλήνες συνεχούς ροής δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 80 μέτρα. Για τον προσδιορισμό του μήκους πρέπει να ληφθούν υπόψιν διάφοροι παράγοντες, όπως η συγκέντρωση βιομάζας, η ταχύτητα της ροής και η τα ποσοστά οξυγόνου στην είσοδο.

Εκτός από την απομάκρυνση του συσσωρευμένου διαλυμένου οξυγόνου, όλες οι φυσαλίδες αέρα που περιέχονται στο μείγμα μικροφυκών πρέπει να αφαιρεθούν από στη ζώνη απαέρωσης πριν επιστρέψουν στον ηλιακό σωλήνα συλλογής. Η παρουσία πολλών φυσαλίδων στον ηλιακό σωλήνα θα επηρεάσει την απορροφητική ικανότητα

της φωτεινής ακτινοβολίας και θα μειώσει τη ροή του μείγματος στον σωλήνα. Ο όγκος της ζώνης απαέρωσης πρέπει να διατηρείται μικρός σε σύγκριση με εκείνον του ηλιακού συλλέκτη. Σε σύγκριση με τον ηλιακό σωλήνα συλλογής, η περιοχή απαέρωσης είναι συνήθως βαθύτερη, επομένως το φαινόμενο φωτισμού είναι χαμηλό, γεγονός που επηρεάζει δυσμενώς την ανάπτυξη μικροφυκών.

Το pH είναι ένας ακόμη παράγοντας που επιδρά στην απόδοση των φωτοβιοαντιδραστήρων. Κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης το CO₂ στον δοκιμαστικό σωλήνα μειώνεται, με συνέπεια την αύξηση του pH. Η επίλυση αυτού του προβλήματος βρίσκεται στη διοχέτευση διοξειδίου του άνθρακα στη ζώνη απαέρωσης για να δράσει ως ρυθμιστής pH. Βέβαια, είναι πιθανό να χρειάζεται η έγχυση επιπλέον διοξειδίου του άνθρακα σε ορισμένα διαστήματα κατά μήκος του αγωγού.

Ο φωτοβιοαντιδραστήρας πρέπει να ψυχθεί κατά τη διάρκεια της ημέρας. Απαιτείται επιπλέον ρύθμιση θερμοκρασίας τη νύχτα. Οι εξωτερικοί σωληνοειδής φωτοβιοαντιδραστήρες ψύχονται αποτελεσματικά και οικονομικά χρησιμοποιώντας εναλλάκτη θερμότητας, ο οποίος τοποθετείται στη ζώνη απαέρωσης ή στον βρόχο του σωλήνα. Σωλήνες ψεκασμού νερού μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την ψύξη και έχουν αποδειχθεί επιτυχημένοι σε ξηρά κλίματα.

Ο φωτοβιοαντιδραστήρας τουλάχιστον μία φορά το χρόνο και πρέπει να απενεργοποιηθεί για τη συνήθη συντήρηση και καθαρισμό. Εάν οι καλλιέργειες αποτύχουν λόγω ανεπιθύμητων φυκών και παρασιτικών λοιμώξεων, απαιτείται επίσης καθαρισμός και αποστείρωση. Οι εμπορικοί φωτοβιοαντιδραστήρες πρέπει να μπορούν να καθαρίζονται γρήγορα για να μειωθεί ο χρόνος διακοπής λειτουργίας. Για αυτό το σκοπό χρησιμοποιείται μια αυτόματη μέθοδος καθαρισμού και τοποθετούνται κατάλληλα όργανα όπου ο φωτοβολταϊκός αντιδραστήρας δεν χρειάζεται να αποσυναρμολογηθεί.

Ο κλειστός φωτοβιοαντιδραστήρας είναι ο πιο σύγχρονος τύπος. Λόγω της μεγάλης έκτασης που εκτίθεται στο φως και της υψηλής πυκνότητας φωτοτροφικών κυττάρων (> 80 g L⁻¹) που παρατηρούνται σε αυτόν, ο επίπεδος φωτοβιοαντιδραστήρας παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Είναι κατασκευασμένος από διαφανή υλικά έτσι ώστε τα μικροφύκη να απορροφούν την ηλιακή ενέργεια στο μέγιστο. Ταυτόχρονα σε ολόκληρη την πλάκα ρέει ένα λεπτό στρώμα πυκνής καλλιέργειας, επιτρέποντας την άμεση απορρόφηση της ακτινοβολίας.

Ο φωτοβιοαντιδραστήρας τύπου πύργου, ο κάθετος πύργος αερίζεται από τη βάση και φωτίζεται μέσω ενός διαφανούς τοίχου ή εσωτερικού. Η απόδοσή τους μπορεί να συγκριθεί με εκείνη των σωληνοειδών φωτοβολταϊκών αντιδραστήρων [6, 11, 12, 20, 43, 51, 68, 92, 100].

Πλεονεκτήματα κλειστών συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων: Οι κλειστοί φωτοβιοαντιδραστήρες μπορούν να καλλιεργήσουν ένα μόνο είδος για μεγάλο χρονικό διάστημα. Μπορούν να κατασκευαστούν σε οποιαδήποτε ανοιχτή περιοχή και ανάλογα με το σχήμα ή το σχεδιασμό τους, έχουν πολλά πλεονεκτήματα: μπορούν να ελέγχουν καλύτερα τις συνθήκες της καλλιέργειας και τις παραμέτρους ανάπτυξης (pH, θερμοκρασία, ανάμιξη, CO₂ και O₂, στοιχειομετρία θρεπτικών συστατικών). Αποτρέπουν την εξάτμιση (βοηθά για εξοικονόμηση νερού), μειώνουν την απώλεια διοξειδίου του άνθρακα (επειδή βοηθούν στην αποτελεσματική δέσμευση) και επιτρέπουν υψηλότερη πυκνότητα μικροφυκών ή συγκέντρωση κυττάρων (εισβάλλετε από ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς). Η παραγωγικότητα ενός κλειστού φωτοβιοαντιδραστήρα είναι πέντε φορές ο όγκος του κάθε αντιδραστήρα, επομένως η κατανάλωση νερού είναι χαμηλότερη. Όλα αυτά τα πλεονεκτήματα των κλειστών φωτοβιοαντιδραστήρων τους καθιστούν αντιδραστήρες επιλογής για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

Πιο συγκεκριμένα, οι σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες θεωρούνται οι πιο κατάλληλοι για υπαίθρια καλλιέργεια μικροφυκών, επειδή εκθέτουν την μεγαλύτερη περιοχή στον ήλιο. Επιπλέον, είναι σχετικά φθηνοί και έχουν καλή παραγωγικότητα βιομάζας. Το μεγαλύτερο κλειστό σύστημα ενός φωτοβολταϊκού αντιδραστήρα είναι σωληνοειδές.

Τα επίπεδα κλειστά συστήματα φωτοβιοαντιδραστήρων είναι κατάλληλα για μαζική καλλιέργεια των μικροφυκών λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου και της υψηλής φωτοσυνθετικής ικανότητας που επιτυγχάνεται σε σύγκριση με τους σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες, λόγω του ότι εκθέτουν μεγάλη επιφάνεια για την απορρόφηση του φωτός. Επιπλέον είναι κατάλληλα για υπαίθριες καλλιέργειες και για την ακινητοποίηση των μικροφυκών. Είναι συστήματα στα οποία τόσο η ρύθμιση της θερμοκρασίας τους, όσο και ο καθαρισμός και η αποστείρωσή τους γίνεται εύκολα. Ένα ακόμα σημαντικό πλεονέκτημά τους είναι ότι δεν έχουν σημεία όπου δεν φτάνει το φως (σκοτεινός όγκος), όπως συμβαίνει με τα μεγάλα συστήματα απαέρωσης και άλλους φωτοβιοαντιδραστήρες, με αποτέλεσμα να διατηρείται υψηλότερη πυκνότητα των καλλιεργούμενων κυττάρων κατά

περισσότερο από μία τάξη μεγέθους σε σύγκριση με άλλους φωτοβιοαντιδραστήρες. Και αυτά τα συστήματα είναι σχετικά οικονομικά ως προς την κατασκευή και τη λειτουργία τους.

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες σε στήλες (στήλες με φυσαλίδες και φιάλες μεταφοράς αέρα) έδειξαν την υψηλότερη απόδοση ανάμιξης βιομάζας με χαμηλή τάση διάτμησης, τον υψηλότερο ρυθμό μεταφοράς ογκομετρικής μάζας και τις καλύτερες ελεγχόμενες συνθήκες ανάπτυξης. Ως αποτέλεσμα, οι καλλιέργειες επηρεάζονται λιγότερο από τη φωτοαναστολή και τη φωτοοξειδωση. Αυτοί οι φωτοβιοαντιδραστήρες είναι φθηνοί, εύχρηστοι, ανθεκτικοί και εύχρηστοι. Άλλα θετικά χαρακτηριστικά είναι η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας, οι μεγάλες δυνατότητες επέκτασης, η εύκολη αποστείρωση και η εύκολη ρύθμιση θερμοκρασίας. Σε αυτά τα συστήματα, τα φύκια έχουν καλή ακινητοποίηση [6, 51, 68, 86, 92, 96, 100, 109].

Μειονεκτήματα κλειστών συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων: Λόγω της ανάγκης χρήσης τεχνητών πηγών φωτός και της απαίτησης μηχανικής συντήρησης, τα κύρια μειονεκτήματα όλων των τύπων φωτοβιοαντιδραστήρων είναι η υψηλή κατανάλωση ενέργειας και το λειτουργικό κόστος. Άλλοι κύριοι περιοριστικοί παράγοντες των φωτοβιοαντιδραστήρων είναι συνήθως: υπερθέρμανση, βιολογική μόλυνση, συσσώρευση οξυγόνου, δυσκολία διαστολής και βλάβη της μπαταρίας λόγω διατμητικής τάσης. Δεδομένου ότι η τυρβώδης ροή πρέπει να διατηρηθεί στο σύστημα ανάμιξης για να εξασφαλιστεί η βέλτιστη απόδοση φωτοσύνθεσης, απαιτείται επιπλέον παροχή ενέργειας.

Ειδικότερα, για σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες, τα κύρια προβλήματα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία είναι τα εξής: ζήτηση μεγάλης περιοχής, ρύπανση και καθαρισμός του εσωτερικού τοιχώματος και του εξωτερικού τοιχώματος του φωτοβιοαντιδραστήρα. Με την πάροδο του χρόνου, η συσσώρευση ρύπων (εξωτερικά) και φυκών (εσωτερικά) μπορεί να εμποδίσει το φως. Επιπλέον, η παρουσία διαλυμένου οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα κατά μήκος του αγωγού και το επίπεδο του pH είναι σημαντικά ζητήματα.

Όσον αφορά τις κατακόρυφες στήλες με φυσαλίδες και τις φιάλες αερομεταφοράς τα μειονεκτήματα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία είναι τα εξής: υψηλό κόστος, κυρίως λόγω του ότι η κατασκευή τους απαιτεί εξελιγμένα υλικά, ανάπτυξη διατμητικής τάσης στις καλλιέργειες των φυκών και μειωμένη επιφάνεια φωτισμού, η οποία μειώνεται ακόμα περισσότερο κατά τη διαδικασία μεγέθυνσης της κατασκευής. Επιπλέον εξαιτίας του ότι η διάμετρος και το ύψος τους δεν μπορεί να είναι κατά

πολύ αυξημένες, απαιτείται ένας μεγάλος αριθμός μονάδων για την κατασκευή μιας μονάδας εμπορικής εκμετάλλευσης.

Οι περιορισμοί που αναφέρονται για τους φωτοβιοαντιδραστήρες που έχουν τη μορφή επίπεδων πλακών περιλαμβάνουν: τη δυσκολία στον έλεγχο της θερμοκρασίας της καλλιέργειας, την ανάπτυξη μικροφυκών στα τοιχώματά τους και την πιθανότητα υδροδυναμικού στρες σε κάποια στελέχη φυκών. Ένα ακόμα μειονέκτημα που αναφέρεται σχετικά με την κατασκευή αυτού του είδους των φωτοβιοαντιδραστήρων είναι το ότι για την κλιμάκωση του μεγέθους τους απαιτούνται πολλά τμήματα και υποστηρικτικά υλικά. [6, 9, 68, 109].

14.1γ Σύγκριση των ανοιχτών συστημάτων αβαθών λιμνών και των κλειστών συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται χαρακτηριστικά των ανοικτών και κλειστών συστημάτων καλλιέργειας φυκών ώστε να διευκολυνθεί η σύγκρισή τους.

Πίνακας 14. Χαρακτηριστικά ανοιχτών και κλειστών συστημάτων καλλιέργειας φυκών^[68]

| Σύστημα καλλιέργειας μικροφυκών | Κλειστά συστήματα (φωτοβιοαντιδραστήρες) | Ανοιχτά συστήματα (αβαθείς λίμνες) |
|--|---|-------------------------------------|
| Έλεγχος επιμολύνσεων | εύκολος | δύσκολος |
| Κίνδυνος επιμολύνσεων | μειωμένος | υψηλός |
| Αποστείρωση | εφικτή | καμία |
| Έλεγχος της διαδικασίας | εύκολος | δύσκολος |
| Έλεγχος των ειδών | εύκολος | δύσκολος |
| Ανάμιξη | ομοιόμορφη | Πολύ πλημμελής |
| Σύστημα λειτουργίας | Σε παρτίδες ή ημισυνεχής λειτουργία | Σε παρτίδες ή ημισυνεχής λειτουργία |
| Χώρος που απαιτείται | Εξαρτάται από την επιθυμητή παραγωγικότητα | Φωτοβιοαντιδραστήρες~αβαθείς λίμνες |
| Αναλογία επιφάνειας/όγκου | Υψηλή (20 – 200 m ⁻¹) | Χαμηλή (5 – 10 m ⁻¹) |
| Πυκνότητα των κυττάρων των φυκών | Υψηλή | χαμηλή |
| Κόστος επένδυσης | υψηλό | Χαμηλό |
| Λειτουργικό κόστος | υψηλό | χαμηλό |
| Αποτελεσματικότητα στη χρησιμοποίηση του φωτός | υψηλή | χαμηλή |
| Έλεγχος της θερμοκρασίας παραγωγικότητα | Πιο ομοιόμορφη θερμοκρασία 3-5 φορές πιο παραγωγικοί | δύσκολος χαμηλή |
| Απώλειες νερού | Εξαρτάται από το σύστημα ψύξης | Φωτοβιοαντιδραστήρες~αβαθείς λίμνες |
| Υδροδυναμική διατημητική τάση στα φύκη | Χαμηλή - υψηλή | Πολύ χαμηλή |
| Εξάτμιση του μέσου ανάπτυξης | χαμηλή | υψηλή |

| Έλεγχος της ανταλλαγής αερίων | υψηλός | χαμηλός |
|---|---|---------------------------------------|
| Απώλειες CO ₂ | Εξαρτώνται από το pH, την αλατότητα κλπ | Φωτοβιοαντιδραστήρες-αβαθείς λίμνες |
| Εμπόδιση από τη συσσώρευση O ₂ | Το μεγαλύτερο πρόβλημα στους φωτοβιοαντιδραστήρες | Φωτοβιοαντιδραστήρες > αβαθείς λίμνες |
| Συγκέντρωση βιομάζας | 3 – 5 φορές μεγαλύτερη στους φωτοβιοαντιδραστήρες | Φωτοβιοαντιδραστήρες > αβαθείς λίμνες |
| Επεκτασιμότητα (κλιμάκωση) | δύσκολη | δύσκολη |

Υπάρχουν 3 παράμετροι που χρησιμοποιούνται ευρέως για την αξιολόγηση της παραγωγικότητας σε μονάδες καλλιέργειας μικροφυκών:

- Ογκομετρική παραγωγικότητα: η παραγωγικότητα ανά μονάδα όγκου του αντιδραστήρα (σε g/L d)
- Επιφανειακή παραγωγικότητα: παραγωγικότητα ανά μονάδα επιφάνειας που καταλαμβάνεται από τον αντιδραστήρα (g/m² d)
- Παραγωγικότητα της φωτιζόμενης επιφάνειας: παραγωγικότητα ανά μονάδα επιφάνειας του αντιδραστήρα που φωτίζεται.

Παρόλο που οι εσωτερικοί φωτοβιοαντιδραστήρες μπορούν να ελέγχουν καλύτερα το περιβάλλον της καλλιέργειας και συνιστώνται για την παραγωγή λιπαρών οξέων μακράς αλυσίδας με μεγάλη αξία, η χρήση τους δεν είναι οικονομικά εφικτή για φύκια που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή βιοντίζελ μεγάλης κλίμακας λόγω του υψηλού κόστους τους.

Οι ανοιχτές ρηχές λίμνες μπορεί να είναι καταλληλότερες για την ανάπτυξη μικροφυκών για παραγωγή βιοντίζελ, επειδή το κόστος λειτουργίας τους είναι σχετικά χαμηλό σε σύγκριση με τους φωτοβιοαντιδραστήρες κλειστού χώρου.

Εν ολίγοις, οι φωτοβιοαντιδραστήρες και οι δεξαμενές δεν πρέπει να θεωρούνται ανταγωνιστικές τεχνολογίες, αλλά πρέπει να υπάρχει ο σωστός συνδυασμός για την παραγωγή υβριδικών συστημάτων, παρέχοντας έτσι την πιο οικονομική και παραγωγική καλλιέργεια μικροφυκών για την παραγωγή βιοντίζελ.^[11, 45, 68, 109]

14.1δ Υβριδικά συστήματα

Σε ένα υβριδικό σύστημα, ο συνδυασμός μιας υπαίθριας λίμνης και ενός εσωτερικού φωτοβιοαντιδραστήρα μπορεί να επιτύχει τα καλύτερα αποτελέσματα. Αυτή είναι μια μέθοδος δύο σταδίων. Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει την καλλιέργεια των απαιτούμενων στελεχών μικροφυκών στον φωτοβιοαντιδραστήρα, όπου

υπάρχουν ελεγχόμενες συνθήκες που μπορούν να ελαχιστοποιήσουν τη μόλυνση άλλων οργανισμών. Στο δεύτερο στάδιο, η ανοιχτή λίμνη εμβολιάζεται με τα απαιτούμενα φύκια. Το μέγεθος του εμβολίου πρέπει να διασφαλίζει ότι το επιθυμητό είδος καθορίζεται πριν από τα ανεπιθύμητα ανταγωνιστικά είδη. Ο σκοπός αυτού του σταδίου είναι να τεθεί το κύτταρο σε ακραίες συνθήκες όσον αφορά τα θρεπτικά συστατικά, ενισχύοντας έτσι τη σύνθεση του επιθυμητού προϊόντος, το οποίο είναι ουσιαστικά λιπίδιο. Καθώς οι καλλιέργειες μεταφέρονται από φωτοβιοαντιδραστήρες σε λίμνες οδηγούνται σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες που οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή λιπιδίων.

Συμπεραίνεται από τα παραπάνω ότι ο συνδυασμός των δύο μεθόδων μπορεί να είναι η πιο λογική επιλογή για την οικονομική και αποτελεσματική φύτευση ειδών υψηλής απόδοσης για την παραγωγή βιοκαυσίμων και ως εκ τούτου την ανάπτυξη βιοντίζελ με βάση την τεχνολογία βιοσύνθεσης λιπιδίων φυκών^[6, 14, 44, 51].

14.2 Ετεροτροφική παραγωγή

Σε ετεροτροφικές καλλιέργειες, τα μικροφύκη χρησιμοποιούν τον οργανικό άνθρακα ως πηγή ενέργειας και άνθρακα. Αν και τα μικροφύκη μπορούν να χρησιμοποιήσουν αποτελεσματικά την φωτεινή ενέργεια, η φωτοτροφική τους ανάπτυξη είναι γενικά αργή λόγω του περιορισμού του φωτός που παρατηρείται σε υψηλές πυκνότητες κυττάρων σε καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας ή λόγω της δράσης των φωτοϋποδοχέων. Λαμβάνοντας υπόψη αυτά τα μειονεκτήματα που σχετίζονται με τη φωτοαυτοτροφική καλλιέργεια, η ετεροτροφική ανάπτυξη μικροφυκών σε συμβατικούς αντιδραστήρες θα πρέπει να θεωρείται πλεονεκτική. Σε αυτήν την περίπτωση, η ανάπτυξη φυκών είναι ανεξάρτητη από την φωτεινή ενέργεια, κάτι το οποίο μπορεί να οδηγεί σε μεγαλύτερη πιθανότητα επέκτασης επειδή μπορεί να χρησιμοποιηθεί μικρότερος λόγος επιφανείας αντιδραστήρα προς όγκο. Αυτά τα συστήματα δίνουν μεγαλύτερο βαθμό ελέγχου της ανάπτυξης καθώς επίσης και χαμηλότερο κόστος συγκομιδής εξαιτίας του ότι επιτυγχάνονται υψηλότερες πυκνότητες κυττάρων.

Ορισμένα είδη μικροφυκών παρουσιάζουν υψηλότερη περιεκτικότητα λιπιδίων κατά την ετεροτροφική ανάπτυξη. Η μελέτη των Miao και Wu ^[34] έδειξε ότι στην ετεροτροφική διεργασία του *Clostridium prototrophus*, η περιεκτικότητα των λιπιδίων στα κύτταρα μπορεί να είναι τόσο υψηλή όσο 55%, δηλαδή 4 φορές το λιπίδιο που

παρατηρείται σε αυτοτροφικά καλλιεργημένα κύτταρα υπό τις ίδιες συνθήκες που είναι 15%. Συνεπώς, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η ετεροτροφική καλλιέργεια μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερη παραγωγή βιομάζας και μεγαλύτερη συσσώρευση λιπιδίων στα κύτταρα.

Στην ετεροτροφική καλλιέργεια, τόσο η ανάπτυξη των κυττάρων όσο και η βιοσύνθεση του προϊόντος επηρεάζονται σημαντικά από την παρουσία θρεπτικών ουσιών και περιβαλλοντικών παραγόντων στο μέσο ανάπτυξης. Τα μικροφύκη μπορούν να απορροφήσουν διάφορες πηγές οργανικού άνθρακα (όπως γλυκόζη, οξική, γλυκερόλη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, λακτόζη, γαλακτόζη και μαννόζη) για να αναπτυχθούν.

Το άζωτο είναι επίσης σημαντικό για την παραγωγή λιπιδίων. Στην ετεροτροφική καλλιέργεια μικροφυκών, μια σύνθετη πηγή αζώτου μπορεί να είναι καλύτερη από μια απλή πηγή αζώτου, διότι μπορεί να παρέχει ταυτόχρονα αμινοξέα, βιταμίνες και αυξητικούς παράγοντες. [6, 9, 11, 45].

14.3 Μικτότροφος παραγωγή

Κατά τη μικτότροφο παραγωγή, ενώ τα μικροφύκη φωτοσυνθέτουν, χρησιμοποιούν οργανικές ενώσεις αλλά και ανόργανο άνθρακα (διοξείδιο του άνθρακα) ως πηγή άνθρακα που είναι απαραίτητος για την ανάπτυξή τους. Η ικανότητα των μικτότροφων φυκών να επεξεργάζονται και οργανικά υποστρώματα σημαίνει ότι η φωτοσύνθεση δεν είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει την ανάπτυξη των κυττάρων, με αποτέλεσμα η φωτεινή ενέργεια να μην είναι ο απόλυτος περιοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη. Η ανάπτυξη επηρεάζεται και από την περιεκτικότητα του μέσου σε οργανική πηγή άνθρακα, π.χ. γλυκόζη.

Η επιτυχής καλλιέργεια των μικτοτρόφων φυκών επιτρέπει την ολοκλήρωση και του φωτοσυνθετικού και του ετεροτροφικού τμήματος κατά τον ημερήσιο κύκλο. Αυτό περιορίζει τον αντίκτυπο της απώλειας της βιομάζας κατά τη διάρκεια της νυχτερινής αναπνοής και μειώνει το ποσό των οργανικών υλικών που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης.

Οι ρυθμοί ανάπτυξης των μικτότροφων καλλιεργειών συγκρίνονται με τους ρυθμούς ανάπτυξης των φωτοαυτοτροφικών καλλιεργειών, ενώ είναι πολύ χαμηλότεροι των ετεροτροφικών καλλιεργειών. Όμως σε σύγκριση με τις

φωτοτροφικές και ετεροτροφικές καλλιέργειες, η μικτότροφος καλλιέργεια σπάνια χρησιμοποιείται στην παραγωγή βιοκαυσίμων από μικροφύκη^[9,68].

15. Μέθοδοι διαχωρισμού των μικροφυκών

Μετά την καλλιέργεια μικροφυκών, διαχωρίζονται, για τον σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι. Το κόστος διαχωρισμού των μικροφυκών ισοδυναμεί με περίπου 20-30% του συνολικού κόστους παραγωγής βιομάζας. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση εξαρτάται από το είδος, την πυκνότητα των κυττάρων και τις συνήθειες συνθήκες καλλιέργειας^[20]. Οι συμβατικές μέθοδοι διαχωρισμού μικροφυκών που χρησιμοποιούνται είναι κροκίδωση, καθίζηση βαρύτητας ή φυγοκέντρωση και διήθηση. Οι παραπάνω μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό για να επιτευχθούν τα καλύτερα αποτελέσματα μειώνοντας το κόστος και το χρόνο της διαδικασίας.

15.1 Κροκίδωση

Η κροκίδωση είναι συνήθως το αρχικό στάδιο προετοιμασίας για το διαχωρισμό της βιομάζας μικροφυκών. Ο σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι να δημιουργήσει συστάδες κυττάρων άλγης των οποίων το μέγεθος θα τους επιτρέψει να διαχωριστούν εύκολα χρησιμοποιώντας άλλες μεθόδους^[6]. Η επιφάνεια των κυττάρων των μικροφυκών φορτίζεται αρνητικά και ως αποτέλεσμα σχηματίζεται μια απωθητική δύναμη μεταξύ τους, η οποία εμποδίζει τη φυσική τους συσσωμάτωση. Το αρνητικό τους φορτίο μπορεί να εξουδετερωθεί χρησιμοποιώντας συγκεκριμένες χημικές ουσίες για την συμπύκνωση των κυττάρων των φυκών χωρίς να αλλοιώνονται. Οι χημικές αυτές ενώσεις φέρουν την ονομασία κροκιδωτικά και είναι πολυακόρεστα μέταλλα ή κατιονικά πολυμερή^[92].

Μεταξύ των πολυσθενών μεταλλικών αλάτων, το θεικό αργίλιο $[Al_2(SO_4)_3]$, το χλωριούχο σίδηρο $[FeCl_3]$ και το θεικό σίδηρο $[Fe_2(SO_4)_3]$ είναι τα πλέον κατάλληλα για κροκίδωση κυττάρων μικροφυκών. Η αποτελεσματικότητα κάθε διαλύματος και η απαιτούμενη ποσότητα εξαρτάται από το φορτίο κροκιδωτικού, τον τύπο των μικροφυκών και άλλους παράγοντες που υπάρχουν στο διάλυμα.

Τα κατιονικά πολυμερή αποτελούν έναν άλλο τύπο κροκιδωτικού, τα οποία μπορούν να επιτύχουν τη φυσικής σύνδεση των κυττάρων μεταξύ τους. Ο τύπος του

πολυμερούς που επιλέγεται κάθε φορά έχει να κάνει με το φορτίο των μικροφυκών, ταυτόχρονα και με άλλες ιδιότητες όπως το pH και η συγκέντρωση της βιομάζας. Το φορτίο, το μοριακό βάρος και η συγκέντρωση είναι κατά κανόνα αυτά που καθορίζουν αν ένα πολυμερές είναι αποτελεσματικός κροκιδωτής ή όχι. Τα οργανικά κροκιδωτικά δεν επηρεάζονται από διακυμάνσεις του pH, και για αυτό μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ποικιλία εφαρμογών, χωρίς να απαιτούνται μεγάλες ποσότητες για να είναι αποδοτικά και αποτελεσματικά^[92].

Η χρήση κροκιδωτικών μέσων μπορεί να παρουσιάζεται από άποψη κόστους ως η πιο συμφέρουσα λύση, ωστόσο οι χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται αποδεικνύεται συχνά να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον. Η εξάλειψη αυτή της αρνητικής επίδρασης γίνεται μέσω της χρήσης υπερήχων ή της αυτοκροκίδωσης. Η χρήση υπερήχων μπορεί να αποτελέσει μέθοδο διαχωρισμού των μικροφυκών αν ακολουθείται από καθίζηση. Πρόκειται για μια συνεχή μέθοδο, που δεν προκαλεί διατμητική τάση στη βιομάζα (καθώς θα μπορούσε να καταστρέψει ορισμένους από τους μεταβολίτες) και δεν παράγει απόβλητα ^[6]. Η αυτοκροκίδωση επιτυγχάνεται όταν το σύστημα δεν τροφοδοτείται με CO₂. Όταν το σύστημα παύσει την εντατική κατανάλωση φωτοσυνθετικού CO₂, αυξάνεται το pH. Η αύξηση του pH οδηγεί το διάλυμα της καλλιέργειας σε κατάσταση υπερκορεσμού όσον αφορά τα ιόντα ασβεστίου και τα φωσφορικά^[70].

Η μικροβιακή κροκίδωση είναι μια εναλλακτική μέθοδος κροκίδωσης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον διαχωρισμό μικροφυκών. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή μικροοργανισμοί, κυρίως βακτήρια, χρησιμοποιούνται για την παραγωγή εξωκυτταρικών πολυμερών ενώσεων που δρουν ως βιοκροκιδωτικά μέσα. Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει το διαχωρισμό μικροοργανισμών και την εξαγωγή βιοκροκιδωτικών μέσων, έχει υψηλό κόστος, και η εφαρμογή της είναι μη επικερδής για την παραγωγή βιοντίζελ. Προκειμένου να αναπτυχθεί μια τεχνολογία διαχωρισμού θαλάσσιων μικροφυκών χαμηλού κόστους, η P. Carterae, Lee et al.^[55] μελέτησε την πιθανότητα κροκίδωσης που προκαλείται από τις φυσικές αποικίες μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε γλυκόζη, οξικό άλας ή γλυκερόλη. Σε αυτήν την περίπτωση, τα κύτταρα μικροφυκών δεν θα υποστούν βλάβη και θα διατηρήσουν την ακεραιότητά τους, και οι μέθοδοι κροκίδωσης και καθίζησης είναι προβλέψιμες και αξιόπιστες. Σε εφαρμογή μεγαλύτερης κλίμακας το μέσο μπορεί να ξαναχρησιμοποιηθεί, προκειμένου να μειωθούν τόσο το κόστος των θρεπτικών όσο

και οι ανάγκες σε νερό. Η μικροβιακή κροκίδωση ως μέθοδος παραγωγής του βιοντίξελ μπορεί να αποτελέσει στο μέλλον μια βελτιωμένη διαδικασία διαχωρισμού σε σύγκριση με τις μέχρι τώρα χρησιμοποιούμενες μεθόδους [55].

15.2 Καθίζηση

Από τις μεθόδους διαχωρισμού βιομάζας από μικροφύκη η πιο διαδεδομένη είναι αναμφίβολα η καθίζηση βαρύτητας. Βέβαια, η καθίζηση βαρύτητας μπορεί να εφαρμοστεί μόνο μια μικρομήκη μεγάλων σχετικά διαστάσεων και συγκεκριμένα μεγαλύτερων από 70 mm^[6]. Η φυγοκέντρωση περιλαμβάνει την εφαρμογή φυγοκεντρικής επιτάχυνσης για να διαχωρίσει τα μικροφύκη από το μέσο στο οποίο καλλιεργούνται. Από τη στιγμή που θα επιτευχθεί ο διαχωρισμός αρκεί η αποστράγγιση του υγρού μέσου για να μπορέσουν να συλλεχθούν. Φίλτρα μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σε αυτήν τη μέθοδο για να γίνει ο διαχωρισμός αυτός. Βασικό πρόβλημα της μεθόδου είναι η βλάβη που μπορεί να προκληθεί στα κύτταρα λόγω της ισχυρής δύναμη διάτμησης που δημιουργείται^[92]. Το μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η υψηλή κατανάλωση ενέργειας, η οποία οδηγεί σε αυξημένο κόστος διεργασίας και υψηλότερες απαιτήσεις συντήρησης εξοπλισμού ^[6]. Ωστόσο, η εφαρμογή αυτής της μεθόδου είναι κατάλληλη για γρήγορη συσσώρευση κάθε είδους μικροοργανισμών. Επιπλέον, η φυγόκεντρος μπορεί εύκολα να καθαριστεί ή να απολυμανθεί για να αποφευχθεί η μόλυνση από βακτήρια ή μόλυνση πρώτων υλών. [68].

15.3 Διήθηση

Η διήθηση είναι μια μέθοδος διαχωρισμού των μικροφυκών από το υγρό μέσο που αναπτύσσεται σε αυτό χρησιμοποιώντας μια κατάλληλη διεπαφή (που ονομάζεται μέσο φίλτρου ή φίλτρο ή μεμβράνη), και είναι ένα πορώδες και διαπερατό ρευστό μέσο. Για να εκτελεστεί αυτή η διαδικασία, πρέπει να εφαρμοστεί μια συγκεκριμένη κινητήρια δύναμη και στις δύο πλευρές της διεπαφής, η οποία μπορεί να είναι βαρύτητα, πίεση, φυγοκεντρική δύναμη ή κενό [14]]. Για τον διαχωρισμό μεγαλύτερων μικροφυκών (> 70 mm) όπως η σπιρουλίνα και το coelacanth χρησιμοποιούνται τεχνικές διήθησης, οι οποίες περιλαμβάνουν τις κλασικές τεχνικές καθώς και τεχνικές διήθησης κενού ή υπό πίεση. Η αποτελεσματικότητα των τυπικών λειτουργιών φιλτραρίσματος μπορεί να βελτιωθεί με τη χρήση βοηθητικών

φίλτρων (όπως κυτταρίνη). Όσον αφορά τα μικρότερα μικροφύκη (<30 mm), όπως π.χ. είναι οι *Dunaliella* και *Scenedesmus*, πρέπει να χρησιμοποιηθούν μέθοδοι όπου δεν καταστρέφουν τα κύτταρα που είναι εύθραυστα χρειάζονται κατάλληλες συνθήκες πίεσης και ταχύτητας ροής. Τέτοιες τεχνικές είναι η μικροδιήθηση και η υπερδιήθηση^[6]. Η απαίτηση όμως για αλλαγή του φίλτρου και γενικότερα οι αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις λόγω της άντλησης ανεβάζουν σημαντικά το κόστος των τεχνικών αυτών^[68].

15.4 Άλλες μέθοδοι διαχωρισμού των μικροφυκών

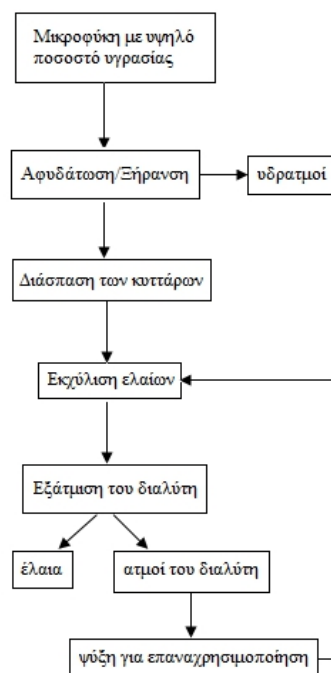
Ο διαχωρισμός των μικροφυκών μπορεί να επιτευχθεί και από μία σειρά εναλλακτικών μεθόδων που θα παρουσιαστούν στη συνέχεια. Μία από αυτές είναι η επίπλευση. Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο συμπεριλαμβάνονται κύτταρα μικροφυκών σε φυσαλίδες, οι οποίες διασπείρονται σε υγρό. Δεν γίνεται χρήση άλλων χημικών ουσιών, όπως γίνεται στην περίπτωση κροκίδωσης. Όταν η περιεκτικότητα σε λιπίδια ορισμένων μικροφυκών αυξάνεται, επιπλέουν. Αν και η επίπλευση ονομάζεται μέθοδος διαχωρισμού των μικροφυκών, δεν είναι εφικτή από οικονομική και τεχνική άποψη ^[6].

Πέρα από την επίπλευση, ενδιαφέρον παρουσιάζει και μία διαφορετική μέθοδος διαχωρισμού που χρησιμοποιεί τα μικροφύκη ως τροφή για την τιλάπια (Επ. ονομασία: *O. mosambicus*). Το πλεονέκτημα σε αυτή την περίπτωση είναι ότι το είδος αυτό δεν αφαιρεί τα θρεπτικά συστατικά που περιέχονται στα μικροφύκη. Επομένως, συγκεντρώνοντας τα περιττώματα που εναποτίθενται συνήθως σε έναν ιμάντα μεταφοράς μπορεί σχετικά εύκολα να διαχωριστεί και να συλλεχθεί η επιθυμητή βιομάζα μικροφυκών^[96].

16. Διαδικασίες μετά τη συγκομιδή των μικροφυκών:

Ξήρανση - Εκχύλιση ελαίου

Μετά τη συγκομιδή των μικροφυκών, οι διαδικασίες που ακολουθούνται περιγράφονται συνοπτικά στο σχήμα:



Σχήμα 11. Διαδικασίες που ακολουθούν τη συγκομιδή των μικροφυκών^[50]

- Ξήρανση

Το πρώτο βήμα στην επεξεργασία βιομάζας μικροφυκών είναι η απομάκρυνση του νερού με ξήρανση. Η επιλεγμένη μέθοδος ξήρανσης εξαρτάται από το τελικό προϊόν. Όταν το τελικό προϊόν είναι το βιοντίζελ, οι μέθοδοι αφυδάτωσης που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν ξήρανση ημέρας (ή ηλιακή ξήρανση), αυτο-

ξήρανση χαμηλής πίεσης, ξήρανση με ψεκασμό, ξήρανση σε στεγνωτήριο τυμπάνου, ξήρανση σε ρευστοποιημένη κλίνη και ρευστοποιημένη κλίνη^[6]. Αν και η ξήρανση από τον ήλιο είναι η πιο οικονομική μέθοδος, αυτή η μέθοδος δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία των μικροφυκών^[68]. Η ξήρανση με ψεκασμό έχει υψηλό κόστος, επομένως όταν η αξία του τελικού προϊόντος είναι χαμηλή, όπως το βιοντίζελ, δεν θεωρείται οικονομικά εφικτή μέθοδος. Μεγάλο κόστος έχει και η λυοφιλοποίηση ιδίως όταν χρησιμοποιείται για μεγάλη παραγωγή. Προτιμάται όμως καθώς είναι σχεδιασμένη ώστε να υποβοηθάται σε μεγάλο ποσοστό η εξαγωγή του λαδιού. Μια μέθοδος με χαμηλό κόστος είναι η ξήρανση σε ρευστοποιημένη κλίνη, η οποία όμως μπορεί να εφαρμοστεί σε μικροφύκη με μικρό περιεχόμενο υγρασίας.

Η θερμοκρασία στην οποία γίνεται η ξήρανση επηρεάζει την περιεκτικότητα σε λιπαρά και λάδια και το ρυθμό παραγωγής βιομάζας σε σχέση με αυτά. Για παράδειγμα, η ξήρανση της βιομάζας *Chlorella* στους 60 ° C θα παράγει σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε βιομάζα τριγλυκεριδίων, ενώ ταυτόχρονα μειώνει ελαφρά την παραγωγικότητα των λιπιδίων. Ωστόσο, όταν η θερμοκρασία ξήρανσης αυξάνεται περαιτέρω, δεν μειώνεται μόνο η παραγωγικότητα των λιπιδίων, αλλά και η περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια. ^[49].

Μετά την ξήρανση, τα κύτταρα σπάνε και εκχυλίζουν λάδι. Η εκχύλιση αυτή μπορεί να επιτευχθεί με έναν αριθμό φυσικών, μηχανικών ή χημικών μεθόδων. Από αυτές η πιο απλή μέθοδος εκχύλισης γίνεται με μηχανικό τρόπο και αφορά τη σύνθλιψη της βιομάζας με χρήση πρέσας. Η εφαρμογή αυτής της μεθόδου επιτρέπει την εξαγωγή έως και των ¾ του λαδιού που περιέχεται στα κύτταρα των μικροφυκών^[99]. Άλλες μέθοδοι που επιτυγχάνουν παρόμοια αποτελέσματα περιλαμβάνουν τη χρήση ομογενοποιητή υψηλής πίεσης, ενώ πιο πρόσφατα χρησιμοποιείται αρκετά η μέθοδος της ηλεκτροδιάτρησης, κατά την οποία επιτυγχάνεται διάτρηση του τοιχώματος των κυττάρων με την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου^[96].

- Εκχύλιση

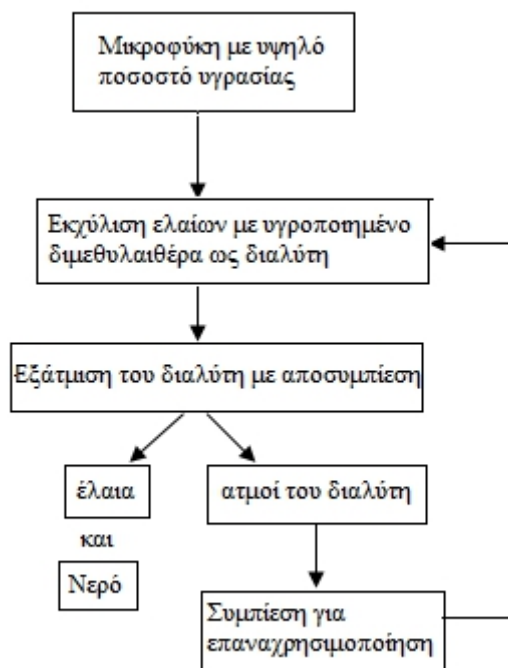
Η εκχύλιση ελαίου από κύτταρα μικροφυκών μπορεί να επιτευχθεί με προσθήκη ενός κατάλληλου διαλύτη στη λυοφιλοποιημένη βιομάζα. Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται για αυτόν τον σκοπό είναι χλωροφόρμιο, εξάνιο, αιθανόλη ή μείγμα εξανίου-αιθανόλης και ο ρυθμός εκχύλισης μπορεί να φτάσει έως και το 98% των καθαρών λιπαρών οξέων. Αν και η αιθανόλη θεωρείται πολύ καλός διαλύτης, μπορεί

να οδηγήσει στην εξαγωγή άλλων κυτταρικών συστατικών, όπως σάκχαρα, αμινοξέα, κ.λπ., κάτι που είναι ανεπιθύμητο^[68]. Αντιθέτως, η χρήση εξάνιου δεν ευνοεί την εξαγωγή ακαθαρσιών χωρίς λιπίδια, ενώ αυξάνει την επιλεκτικότητα σε ουδέτερα κλάσματα λιπιδίων. Το εξάνιο δεν είναι τόσο αποτελεσματικό όσο το χλωροφόρμιο στην εξαγωγή ελαίου από μικροφύκη, αλλά είναι λιγότερο τοξικό από το χλωροφόρμιο^[36].

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου εκχύλισης Soxhlet, το εξάνιο χρησιμοποιείται επίσης ως διαλύτης. Αυτή είναι μια μέθοδος συνεχούς εκχύλισης μέσω διήθησης και ανακύκλωσης με διαλύτη^[8]. Σύμφωνα με την έρευνα των Luisa Gouveia και Ana Cristina Oliveira, αυτή είναι η πιο αποτελεσματική τεχνολογία. Η προεπεξεργασία βιομάζας με προπανάλη έχει θετική επίδραση στην εκχύλιση^[35].

Ένας άλλος τρόπος για να εξαγωγής λαδιού από κύτταρα μικροφυκών είναι η χρήση υπερκρίσιμου CO₂. Κάτω από συγκεκριμένη πίεση και θερμοκρασία, το CO₂ έχει χαρακτηριστικά υγρού και αερίου, έτσι μπορεί να δρα ως διαλύτης στη διαδικασία εξαγωγής λαδιού [100]. Τα πλεονεκτήματα του υπερκρίσιμου CO₂ είναι η χαμηλή τοξικότητα, η ρυθμιζόμενη διαλυτότητα, η καλή ισορροπία μεταφοράς μάζας και η παραγωγή καθαρών εκχυλισμάτων (χωρίς διαλύτες). Το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι το υψηλό κόστος^[36].

Η εφαρμογή των παραπάνω μεθόδων εκχύλισης περιλαμβάνει πολλά ενεργοβόρα στάδια, καθώς επίσης και τη χρήση χημικών ενώσεων που απαιτούν προσοχή κατά τη χρήση τους, λόγω της τοξικότητάς τους (π.χ. εξάνιο). Οι Hideki Kanda και Peng Li^[50] προτείνουν μία νέα μέθοδο, κατά την οποία γίνεται χρήση υγροποιημένου διμεθυλαιθέρα. Η διαδικασία φαίνεται συνοπτικά στο σχήμα:



Σχήμα 12. Εκχύλιση ελαίων από μικροφύκη με υγροποιημένο διμεθυλαιθέρα^[50]

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι πρόκειται για μέθοδο απευθείας εκχύλισης των ελαίων, κατά την οποία παραλείπονται κάποια από τα στάδια της κλασικής μεθόδου (ξήρανση, διάσπαση των κυττάρων και θέρμανση του διαλύτη). Επιπλέον, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, ο ρυθμός εκχύλισης των ελαίων με διμεθυλαιθέρα ήταν υψηλότερος. Η συγκεκριμένη μελέτη έγινε για συγκεκριμένο στέλεχος μικροφύκων και πρέπει να αξιολογηθεί και σε άλλους τύπους μικροφύκων ^[50].

17. Έλαια των μικροφυκών

17.1 Χημική σύσταση των μικροφυκών

Η βιοχημική σύσταση ορισμένων μικροφυκών ως ποσοστό της ξηρής μάζας τους φαίνεται στον πίνακα 15:

Πίνακας 12. Βιοχημική σύσταση μικροφυκών^[63]

| Γένος | Πρωτεΐνες | Υδατάνθρακες | Λιπίδια | Νουκλεϊκό οξύ |
|-------------------------|-----------|--------------|---------|---------------|
| Scenedesmus obliquus | 50-56 | 10-17 | 12-14 | 3-6 |
| Scenedesmus quadricauda | 47 | - | 1.9 | - |

| | | | | |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 8-18 | 21-52 | 16-40 | - |
| <i>Chlamydomonas reinhardii</i> | 48 | 17 | 21 | - |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 51-58 | 12-17 | 14-22 | 4-5 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 57 | 26 | 2 | - |
| <i>Spirogyra</i> sp. | 6-20 | 33-64 | 11-21 | - |
| <i>Dunaliella bioculata</i> | 49 | 4 | 8 | - |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 32 | 6 | - |
| <i>Euglena gracilis</i> | 39-61 | 14-18 | 14-20 | - |
| <i>Prymnesium parvum</i> | 28-45 | 25-33 | 22-39 | 1-2 |
| <i>Tetraselmis maculata</i> | 52 | 15 | 3 | - |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 28-39 | 40-57 | 9-14 | - |
| <i>Spirulina platensis</i> | 46-63 | 8-14 | 4-9 | 2-5 |
| <i>Spirulina maxima</i> | 60-71 | 13-16 | 6-7 | 3-4.5 |
| <i>Synechococcus</i> sp. | 63 | 15 | 11 | 5 |
| <i>Anabaena cylindrica</i> | 43-56 | 25-30 | 4-7 | - |

Η σύσταση αυτή διαφοροποιείται όταν τα μικροφύκη αναπτύσσονται υπό αυτότροφες ή ετερότροφες συνθήκες. Για παράδειγμα η βιοχημική σύσταση του μικροφύκου *Chlorella protothecoides*, υπό διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης, σύμφωνα με την έρευνα των Xiaoling Miao και Qingyu Wu^[34] φαίνεται στον πίνακα 16:

Πίνακας 13. Βιοχημική σύσταση του μικροφύκου *Chlorella protothecoides* υπό διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης^[34]

| Συστατικό (%) | Αυτότροφη καλλιέργεια | Ετερότροφη καλλιέργεια |
|---------------|-----------------------|------------------------|
| Πρωτεΐνες | 52.64 ± 0.26 | 10.28 ± 0.10 |
| Υδατάνθρακες | 10.62 ± 0.14 | 15.43 ± 0.17 |
| Λιπίδια | 14.57 ± 0.16 | 55.20 ± 0.28 |

Όταν τα φύκια αναπτύσσονται υπό βέλτιστες συνθήκες, τα λιπίδια που περιέχονται στα φύκια είναι κυρίως γλυκολιπίδια, τα οποία είναι τα δομικά συστατικά της μεμβράνης. Αυτά τα γλυκολιπίδια προέρχονται από την εστεροποίηση λιπαρών οξέων και μπορούν να έχουν μέσο μήκος αλυσίδας άνθρακα (C10-C14), μακρά

αλυσίδα άνθρακα (C16-C18) και πολύ μεγάλη αλυσίδα άνθρακα (> C20). Ωστόσο, όταν οι συνθήκες ανάπτυξης είναι δυσμενείς, προτιμάται η μεταβολική οδός σύνθεσης ουδέτερων λιπιδίων (κυρίως τριγλυκεριδίων), η οποία δρα ως αποθήκευση άνθρακα και ενέργειας [51]. Τα τριγλυκερίδια αυτά είναι τα ίδια με αυτά που χρησιμοποιούνται στην παραγωγή βιοντίζελ.

17.2 Περιεκτικότητα μικροφυκών σε λιπίδια

Επομένως, είναι απαραίτητο να κατανοήσουμε την περιεκτικότητα λιπιδίων διαφορετικών τύπων μικροφυκών. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το περιεχόμενο δεν είναι σταθερό, αλλά ποικίλλει ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης. Ο Πίνακας 17 δείχνει το εύρος της περιεκτικότητας σε λιπίδια σε διάφορα μικροφύκη που μελετήθηκαν διεθνώς υπό διαφορετικές συνθήκες. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο πίνακας δείχνει την ελάχιστη και τη μέγιστη δυνατή περιεκτικότητα σε λιπίδια κάθε μικροφυκών. Αναφέρεται επίσης η παραγωγικότητα των λιπιδίων που μετράται σε mg / L / ημέρα, η οποία είναι μια άλλη σημαντική παράμετρος στη μελέτη στελεχών μικροφυκών κατάλληλων για καλλιέργεια παραγωγής βιοντίζελ.

Πίνακας 14. Περιεκτικότητα σε έλαια και παραγωγικότητα σε λιπίδια διαφόρων στελεχών μικροφυκών[11, 21, 22, 25, 29, 33, 41, 45, 51, 57, 68, 71, 77, 89].

| Μικροφύκος | Φυσικό περιβάλλον | Περιεκτικότητα σε έλαια (% κβ ξηρής βιομάζας) | Παραγωγικότητα σε λιπίδια (mg/L/day) | Μικροφύκος | Φυσικό περιβάλλον | Περιεκτικότητα σε έλαια (% κβ ξηρής βιομάζας) | Παραγωγικότητα σε λιπίδια (mg/L/day) |
|----------------------------------|----------------------------|---|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------|---|--------------------------------------|
| <i>Amphora</i> | θαλάσσιο | 40.0 | | <i>Isochrysis</i> sp. | θαλάσσιο | 7.00-33.0 | 37.8 |
| <i>Ankistrodesmus</i> sp. | γλυκό νερό | 24.0-31.0 | | <i>Monallanthus salina</i> | θαλάσσιο | 20.0-22.0 | |
| <i>Botryococcus braunii</i> | γλυκό νερό/εκβολές ποταμών | 25.0-75.0 | | <i>Monodus subterraneus</i> | γλυκό νερό | 16.0-16.1 | 30.4 |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i> | θαλάσσιο | 14.6-39.8 | 17.6 | <i>Nannochloris</i> sp. | θαλάσσιο | 20.0-56.0 | 60.9-76.5 |
| <i>Chaetoceros muelleri</i> | θαλάσσιο | 26.0-33.6 | 33.6 | <i>Nannochloropsis oculata</i> | θαλάσσιο | 22.0-29.7 | 84.0-142.0 |
| <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | γλυκό νερό | 21.0 | | <i>Nannochloropsis salina</i> | θαλάσσιο | 16.0 | |
| <i>Chlorella</i> | γλυκό νερό | 18.0-57.0 | 18.7 | <i>Nannochloropsis</i> sp. | θαλάσσιο | 12.0-68.0 | 37.6-90.0 |
| <i>Chlorella saccharophila</i> | γλυκό νερό | 46.7 | | <i>Neochloris oleoabundans</i> | γλυκό νερό | 29.0-65.0 | 90.0-134.0 |
| <i>Chlorella emersonii</i> | γλυκό νερό | 25.0-63.0 | 10.3-50.0 | <i>Nitzschia</i> sp. | θαλάσσιο | 16.0-47.0 | |
| <i>Chlorella minutissima</i> | γλυκό νερό | 57.0 | | <i>Oocystis pusilla</i> | γλυκό νερό | 10.5 | |
| <i>Chlorella protothecoides</i> | γλυκό νερό | 14.0-57.8 | 2.00-7.70 | <i>Pavlova lutheri</i> | θαλάσσιο | 35.0-35.5 | 40.2 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | γλυκό νερό | 2.00 | | <i>Pavlova salina</i> | θαλάσσιο | 30.0-30.9 | 49.4 |
| <i>Chlorella sorokiniana</i> | γλυκό νερό | 19.0-23.7 | 44.7 | <i>Phaeodactylum tricorutum</i> | θαλάσσιο | 18.0-57.0 | 44.8 |
| <i>Chlorella</i> sp. | γλυκό νερό | 10.0-48.0 | 42.1 | <i>Porphyridium cruentum</i> | θαλάσσιο | 9.00-60.7 | 34.8 |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | γλυκό νερό | 5.00-58.0 | 11.2-40.0 | <i>Pyrmnesium parvum</i> | υφάλμυρο νερό | 22.0-39.0 | |
| <i>Chlorococcum</i> sp. | γλυκό νερό | 19.3 | 53.7 | <i>Scenedesmus dimorphus</i> | γλυκό νερό | 16.0-40.0 | |
| <i>Cryptocodinium cohnii</i> | θαλάσσιο | 15.0-70.0 | | <i>Scenedesmus obliquus</i> | γλυκό νερό | 11.0-55.0 | |
| <i>Cyclotella cryptica</i> | θαλάσσιο | 24.0 | | <i>Scenedesmus quadricauda</i> | γλυκό νερό | 1.90-18.4 | 35.1 |
| <i>Cylindrotheca</i> sp. | θαλάσσιο | 16.0-37.0 | | <i>Scenedesmus</i> sp. | γλυκό νερό | 19.6-21.1 | 40.8-53.9 |
| <i>Dunaliella primolecta</i> | θαλάσσιο | 23.0-23.1 | | <i>Schizochytrium</i> sp. | θαλάσσιο | 50.0-77.0 | |
| <i>Dunaliella salina</i> | θαλάσσιο | 6.00-55.0 | 116.0 | <i>Skeletonoma costatum</i> | θαλάσσιο | 13.0-51.3 | 17.4 |
| <i>Dunaliella</i> sp. | θαλάσσιο | 17.0-67.0 | 33.5 | <i>Skeletonoma</i> sp. | θαλάσσιο | 13.3-31.8 | 27.3 |
| <i>Dunaliella tertiolecta</i> | θαλάσσιο | 16.0-71.0 | | <i>Spirulina maxima</i> | υφάλμυρο νερό | 4.00-9.00 | |
| <i>Ellipsoidon</i> sp. | θαλάσσιο | 27.0-27.4 | 47.3 | <i>Spirulina platensis</i> | υφάλμυρο νερό | 4.00-16.6 | |
| <i>Englena gracilis</i> | γλυκό νερό | 14.0-20.0 | | <i>Tetraselmis</i> sp. | θαλάσσιο | 12.6-14.7 | 43.4 |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | γλυκό νερό | 25.0 | | <i>Tetraselmis suecica</i> | θαλάσσιο | 8.5-23.0 | 27.0 |
| <i>Isochrysis galbana</i> | θαλάσσιο | 7.00-40.0 | | <i>Thalassionia pseudonana</i> | θαλάσσιο | 20.0-2.60 | 17.4 |
| | | | | <i>Zitzchia</i> sp. | | 45.0-47.0 | |

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα, παρατηρούμε ότι τη μεγαλύτερη παραγωγικότητα σε λιπίδια παρουσιάζουν τα *Nannochloropsis oculata* και *Neochloris oleoabundans* αν και δεν παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε έλαια.

17.3 Σύσταση λιπιδίων

Τα λιπαρά οξέα που συντίθενται σε κύτταρα μικροφυκών χρησιμεύουν ως βάση για το σχηματισμό διαφόρων λιπιδίων. Τα μήκη της ανθρακικής αλυσίδας ποικίλλουν, ο πιο κοινός αριθμός ατόμων άνθρακα είναι 16-18. Τα λιπαρά οξέα μπορούν να είναι κορεσμένα ή ακόρεστα (μονοακόρεστα ή πολυακόρεστα) και η θέση του ακόρεστου δεσμού ποικίλλει. [46].

Τα λιπαρά οξέα χαρακτηρίζονται από τον αριθμό ατόμων άνθρακα στην αλυσίδα άνθρακα και την παρουσία ακόρεστων δεσμών. Συνήθως εκφράζονται ως εξής: C_n: m, όπου n είναι ο αριθμός ατόμων άνθρακα που αποτελούν την αλυσίδα άνθρακα λιπαρού οξέος και m είναι ο αριθμός διπλών δεσμών στην αλυσίδα άνθρακα. Σύμφωνα με τη θέση του πρώτου διπλού δεσμού του μεθυλίου (x) στο τέλος της αλυσίδας άνθρακα, το λιπαρό οξύ μπορεί να είναι x3 (δηλαδή, στο τρίτο άτομο άνθρακα του τερματικού μεθυλίου λιπαρού οξέος), πολυακόρεστο λιπαρό οξύ (PUFA) ή x6 (δηλαδή, στο άκρο του έκτου ατόμου του λιπαρού οξέος) [46].

Στον Πίνακα 18 φαίνεται η τυπική σύνθεση λιπαρών οξέων στα έλαια που προέρχονται από τα μικροφύκη.

Πίνακας 15. Τυπική σύνθεση λιπαρών οξέων στα έλαια που προέρχονται από τα μικροφύκη^[99]

| Λιπαρά οξέα | Μήκος ανθρακικής αλυσίδας: αριθμός διπλών δεσμών | Σύσταση ελαίων (w/total lipid) |
|------------------|--|--------------------------------|
| Παλμιτικό οξύ | C16:0 | 12-21 |
| Παλμιτελαϊκό οξύ | C16:1 | 55-57 |
| Στεατικό οξύ | C18:0 | 1-2 |
| Ελαϊκό οξύ | C18:1 | 58-60 |
| Λινελαϊκό οξύ | C18:2 | 4-20 |
| Λινολενικό οξύ | C18:3 | 14-30 |

Από τον παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι τα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στα έλαια των μικροφυκών είναι κυρίως ακόρεστα, ενώ η αναλογία κορεσμένου στεατικού οξέος και παλμιτικού οξέος είναι σχετικά μικρή.

Κάθε ομάδα μικροφυκών αντιπροσωπεύει διαφορετικά ποσοστά διαφόρων λιπαρών οξέων που αποτελούν έλαια. Ο Πίνακας 19 δείχνει τους τύπους λιπαρών οξέων με υψηλότερο ποσοστό σε κάθε ομάδα μικροφυκών.

Πίνακας 16. Κύρια λιπαρά οξέα στις ομάδες των μικροφυκών ^[46]

| Μικροφύκη - Ομάδες | Λιπαρά οξέα |
|--------------------|---------------------|
| Bacillariophyceae | C16:0, C16:1 |
| Chlorophyceae | C16:0, C18:1 |
| Euglenophyceae | C16:0, C18:1 |
| Chrysophyceae | C16:0, C16:1, C18:1 |
| Cryptophyceae | C16:0, C20:1 |
| Eustigmatophyceae | C16:0, C18:1 |
| Prasinophyceae | C16:0, C18:1 |
| Dinophyceae | C16:0 |
| Prymnesiophyceae | C16:0, C16:1, C18:1 |
| Rhodophyceae | C16:0 |
| Xanthophyceae | C14:0, C16:0, C16:1 |
| Cyanobacteria | C16:0, C16:1, C18:1 |

Οι τύποι λιπαρών οξέων στο λάδι επηρεάζουν ορισμένα σημαντικά χαρακτηριστικά του βιοντίζελ που προέρχονται από αυτά. Επομένως, ένα υψηλό ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων με μακρές αλυσίδες άνθρακα οδηγεί σε αύξηση του σημείου νέφωσης και του σημείου ροής του παραγόμενου βιοντίζελ. Οι υψηλές τιμές αυτών των παραμέτρων προκαλούν προβλήματα στον κινητήρα, ειδικά σε κρύες περιοχές και εποχές. Από την άλλη πλευρά, όταν τα λιπαρά οξέα στο λάδι χαρακτηρίζονται από υψηλό βαθμό κορεσμού, το προκύπτον βιοντίζελ δεν έχει σχεδόν καθόλου αντιοξειδωτικές ιδιότητες, οδηγώντας σε αδιάλυτες εναποθέσεις, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη λειτουργία του κινητήρα. ^[21, 99].

Επομένως, είναι χρήσιμο να γνωρίζουμε εκ των προτέρων τη σύνθεση λιπαρών οξέων του ελαίου μικροφυκών που καλλιεργείται για παραγωγή βιοντίζελ. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η σύνθεση ποικίλλει ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης.

Σύμφωνα με την έρευνα των Claudio Fuentes-Grünewald et al.^[29], το συνολικό λιπιδιακό περιεχόμενο των μικροφυκών *Alexandrium catenella*, *Alexandrium minutum*, *Alexandrium andersoni*, *Karlodinium veneficum*, *Heterosigma akashiwo*, και *Tetraselmis suecica* παρουσίασε κατά τη διάρκεια των φάσεων ανάπτυξής τους τις εξής διακυμάνσεις:

Πίνακας 17. Μεταβολές του συνολικού λιπιδιακού περιεχομένου μικροφυκών κατά τη διάρκεια των φάσεων ανάπτυξής τους^[29]

| Μικροφύκος | Μεταβολές του συνολικού λιπιδιακού περιεχομένου |
|---------------------|---|
| <i>A.catenella</i> | -μείωση κατά 7% από τη φάση προσαρμογής στη φάση της εκθετική ανάπτυξης -αύξηση κατά 48% από τη φάση της εκθετική ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας |
| <i>A. minutum</i> | αύξηση κατά 97% από τη φάση προσαρμογής στη φάση της εκθετικής ανάπτυξης |
| <i>A. andersoni</i> | μείωση κατά 27% από τη φάση της εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας |
| <i>K. veneficum</i> | -αύξηση κατά 40% από τη φάση προσαρμογής στη φάση της εκθετικής ανάπτυξης -αύξηση κατά 97% από τη φάση της εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας |
| <i>H. akashiwo</i> | μείωση κατά 43% από τη φάση της εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας |
| <i>T. suecica</i> | μικρή πτώση κατά 7.8% στη φάση στασιμότητας |

Υψηλότερο συνολικό λιπιδιακό περιεχόμενο παρατηρήθηκε στο *K.veneficum* κατά τη διάρκεια της φάσης στασιμότητας, ενώ κατά την ίδια φάση χαμηλότερο συνολικό λιπιδιακό περιεχόμενο παρατηρήθηκε στο *T. suecica*.

Η λιπιδιακή σύσταση των παραπάνω μικροφυκών και των *Alexandrium insueturn*, *Chaetoceros affinis*, *Pseudo-nitzschia delicatissima* και *Scrippsiella trochoidea* φαίνεται στον Πίνακα 18.

Πίνακας 18. Λιπιδιακή σύσταση διαφόρων θαλάσσιων μικροφυκών κατά το στάδιο της στατικής φάσης της καλλιέργειας^[29]

| Λιπαρά οξέα | <i>A. catenella</i> | <i>A. minutum</i> | <i>A. andersoni</i> | <i>A. insueturn</i> | <i>K. veneficum</i> | <i>S.trochoidea</i> | <i>H.akashiwo</i> | <i>C.affinis</i> | <i>P.delicatissima</i> | <i>T.suecica</i> |
|-------------|---------------------|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|------------------|------------------------|------------------|
| | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|
| C12:0 | 0.6 | 0.8 | 0.8 | 0.3 | 0.6 | 0.2 | 0.7 | 0.1 | 0.3 | 1.2 |
| C13:0 | 1.6 | 1.6 | 1.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.1 | 0.0 | 0.1 | 1.3 |
| C14:1 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 0.2 | 0.6 | 0.2 | 0.5 | 0.3 | 0.2 | 0.6 |
| C14:0 | 5.2 | 3.4 | 2.6 | 2.1 | 6.5 | 3.2 | 7.1 | 8.6 | 4.5 | 7.7 |
| C15:1 | 1.2 | 1.4 | 1.2 | 1.0 | 1.2 | 1.1 | 1.3 | 1.2 | 1.2 | 1.2 |
| C15:0 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.8 | 0.5 | 0.4 | 0.9 |
| C16:1 | 0.7 | 0.9 | 1.0 | 0.7 | 0.0 | 0.8 | 0.5 | 0.3 | 0.6 | 1.2 |
| C16:0 | 11.5 | 11.7 | 10.7 | 9.5 | 11.3 | 9.5 | 10.4 | 7.8 | 6.0 | 10.4 |
| C17:1 | 7.7 | 7.5 | 7.5 | 5.8 | 8.5 | 7.1 | 8.7 | 8.5 | 4.0 | 9.8 |
| C17:0 | 0.9 | 0.9 | 0.8 | 0.6 | 0.9 | 0.7 | 0.7 | 0.8 | 0.3 | 0.8 |
| C18:3 | 1.4 | 2.1 | 0.9 | 5.0 | 1.9 | 2.0 | 2.1 | 1.6 | 0.8 | 2.2 |
| C18:2 | 0.1 | 0.4 | 0.4 | 0.6 | 0.2 | 0.5 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 1.6 |
| C18:1 | 1.4 | 1.4 | 1.7 | 1.8 | 1.0 | 1.1 | 1.2 | 1.3 | 0.7 | 2.0 |
| C18:0 | 19.8 | 19.0 | 18.2 | 15.2 | 19.3 | 15.1 | 15.5 | 13.5 | 9.8 | 16.9 |
| C20:5 | 0.5 | 0.3 | 0.5 | 0.5 | 0.4 | 0.4 | 0.5 | 0.9 | 0.3 | 0.5 |
| C20:4 | 1.8 | 0.4 | 1.6 | 2.5 | 1.3 | 2.2 | 1.5 | 2.5 | 2.2 | 1.7 |
| C20:3 | 6.0 | 2.8 | 4.8 | 4.8 | 4.4 | 5.6 | 5.0 | 6.4 | 3.2 | 5.8 |
| C20:2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 0.2 | 0.0 | 0.0 |
| C20:1 | 1.1 | 1.1 | 0.7 | 0.8 | 0.8 | 0.9 | 0.9 | 0.6 | 0.6 | 0.6 |
| C20:0 | 0.6 | 0.3 | 0.4 | 0.4 | 0.3 | 0.3 | 0.5 | 0.4 | 0.3 | 0.2 |
| C21:0 | 0.5 | 2.0 | 0.2 | 0.2 | 2.2 | 0.2 | 2.2 | 0.6 | 0.2 | 2.9 |
| C22:6 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.0 |
| C22:2 | 0.7 | 0.5 | 0.0 | 0.4 | 0.0 | 0.5 | 0.5 | 0.3 | 0.8 | 0.0 |
| C22:1 | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 0.2 | 0.0 | 0.1 | 0.0 | 0.4 | 0.1 | 0.0 |
| C22:0 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.1 | 0.5 | 0.0 | 0.4 | 0.1 | 0.2 | 0.0 |
| C23:0 | 1.3 | 1.8 | 1.3 | 0.2 | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.2 |
| C24:1 | 0.3 | 0.0 | 0.3 | 0.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.4 | 0.2 | 0.0 |
| C24:0 | 0.4 | 0.0 | 0.0 | 0.8 | 0.0 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.3 | 0.0 |

Από τον πίνακα αυτόν προκύπτει ότι τα λιπαρά οξέα που εμφανίζονται σε μεγαλύτερη αναλογία, στα συγκεκριμένα μικροφύκη, είναι τα C18:0, C16:0, C20:3, και C17:1. Υψηλότερα ποσοστά κορεσμένων λιπαρών οξέων περιέχουν τα *A.catenella* (42.3%), *A.minutum* (40.6%) και *K.veneficum* (39.7%). Η

περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA) ποικίλει από 5.8 έως 9.8%, ενώ από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA), σε μεγαλύτερο ποσοστό απαντώνται τα C18:5x3 (0.8-5.0%), C20:3x3(2.8-6.4%) και σε μικρότερο ποσοστό το C20:4x3 (0.4-2.5%) [29].

Το επί τοις εκατό λιπιδιακό περιεχόμενο των διαφόρων μικροφυκών σύμφωνα με τις μελέτες των Luisa Gouveia et al. [35,108] καθώς και με παλαιότερες μελέτες των W. H. Thomas et al.[70] φαίνεται στον Πίνακα 19. Στον Πίνακα 19 περιέχονται τα παρακάτω μικροφύκη με τις συντομογραφίες τους: Ankistrodesmus sp. (As), Botryococcus braunii (Bb), Chlorella vulgaris (Cv), Dunaliella bardawil (Db), Dunaliella salina (Ds), Dunaliella tertiolecta (Dt), Isochrysis sp (Is), Nannochloropsis sp. (Nas), Neochloris oleabundans (No), Nitzschia sp.(Nis), Spirullina maxima (Sm) και Scenedesmus obliquus (So).

Πίνακας 19. Λιπιδιακό περιεχόμενο διαφόρων μικροφυκών[35, 108, 114]

| Λιπαρά οξέα | Sm | Cv | Dt | So | Nas | No | As | Bb | Db | Ds | Is | Nis |
|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-----------|------|-----------|-----------|------|
| C12:0 | | | | | | | 3.1 | 1.1-3.4 | 5.6 | 1.5-4.0 | | 1.5 |
| C14:1 | | | | | | | 4.7 | 0.8-4.6 | 7.1 | 1.2-5.6 | 11.5-18.6 | 9.0 |
| C14:0 | 0.34 | 3.07 | 0.47 | 1.48 | 7.16 | 0.43 | | | | | | |
| C16:4 | 0.16 | 4.06 | 10.56 | 0.43 | | 7.24 | 13.8 | | | 3.3-7.4 | | |
| C16:3 | 0.42 | 1.27 | 1.24 | 0.68 | 0.48 | 0.96 | 1.2 | | 2.6 | 10.3-16.6 | | 5.9 |
| C16:2 | | | 3.03 | 3.96 | 0.39 | 1.74 | 1.4 | | | | | 7.9 |
| C16:1 | 9.19 | 5.25 | 0.88 | 5.95 | 26.87 | 1.85 | 3.4 | 0.9-2.0 | 0.9 | 0.7-1.9 | 2.9-6.3 | 20.7 |
| C16:0 | 40.16 | 25.07 | 17.70 | 21.78 | 23.35 | 19.35 | 13.1 | 12.3-18.1 | 46.2 | 11.7-21.0 | 1.4-11.7 | 10.4 |
| C17:0 | | | | | | | | 1.5-2.9 | 0.7 | | | |
| C18:4 | 0.08 | | | 0.21 | | 2.10 | 9.8 | 1.2 | | | 14.0-17.7 | 1.1 |
| C18:3 | 18.32 | 19.05 | 30.19 | 3.76 | | 17.43 | 28.6 | 10.7-19.6 | 8.1 | 28.4-38.0 | 4.4-6.3 | 0.91 |
| C18:2 | 17.89 | 7.19 | 12.37 | 21.74 | 1.21 | 12.99 | 5.4 | 2.4-12.3 | 7.9 | 6.2-11.3 | 3.7-4.3 | 1.7 |

| | | | | | | | | | | | | |
|-------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|-----------|------|---------|------------|------|
| C18:1 | 5.43 | 12.64 | 4.87 | 17.93 | 13.20 | 20.29 | 8.6 | 27.3-46.3 | 17.2 | 2.2-7.1 | 15.0-21.60 | 3.6 |
| C18:0 | 1.18 | 0.63 | | 0.45 | 0.45 | 0.98 | | | | | | 1.3 |
| C19:0 | | | | | | | | | | 1.0-1.9 | 0.90 | |
| C20:6 | | | | | | | | | | 1.6 | | 18.2 |
| C20:5 | 0.50 | 0.46 | | | 14.31 | | 1.30 | 2.7-7.6 | 2.1 | | 1.60 | |
| C20:4 | | 0.23 | | | 2.74 | | | | | | | |
| C20:3 | | 0.83 | | | | | | 1.1-3.4 | | | | 4.4 |
| C20:2 | 0.48 | | | | | | | | | | | |
| C20:1 | | 0.93 | | | | | | 1.20 | 1.2 | 1.20 | 1.10 | |
| C20:0 | 0.06 | 0.09 | | | | | | | | | | |
| C21:0 | | | | | | | | | | | 12.8-14.90 | |
| C22:4 | | | | | | | | | | | 1.3-6.0 | |

Παρατηρείται ότι τα λιπίδια των συγκεκριμένων μικροφυκών αποτελούνται κυρίως από ακόρεστα λιπαρά οξέα (50-65%) και στις περισσότερες περιπτώσεις και το παλμιτικό οξύ (C16:0) βρίσκεται σε μεγάλο ποσοστό. Η ανάπτυξη και καλλιέργεια των μικροφυκών και συγκεκριμένα των *Nannochloropsis* sp, *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleabundans*, *Scenedesmus obliquus*, *Dunaliella tertiolecta* και *Spirulina maxima* έγινε αρχικά σε βιοαντιδραστήρα, στη συνέχεια σε σάκους πολυαιθυλενίου με φυσαλίδες αέρα υπό χαμηλό φωτισμό και τέλος σε εξωτερικές αβαθείς λίμνες, για 4 μήνες. Ειδικά τα *Nannochloropsis* sp. και *Neochloris oleabundans* καλλιεργήθηκαν σε συνθήκες έλλειψης αζώτου. Για άλλα μικροφύκη, το ποσοστό τιμών λιπαρών οξέων που δίνεται οφείλεται στο γεγονός ότι αυτά τα μικροφύκη αναπτύσσονται υπό διαφορετικές συνθήκες (βέλτιστη, έλλειψη αζώτου, προστιθέμενο αλάτι) [35, 108, 114].

Από τις μελέτες των Mitsufumi Matsumoto et al.^[73], των Thi-Thai Yen Doan και J.P.Obbard^[24] και των Meng Chen et al.^[10], προκύπτει η λιπιδιακή σύσταση στελεχών των *Navicula* sp. και *Chlorella* sp. και των *Nannochloropsis* sp. και *Dunaliella Tertiolecta* που φαίνεται στον Πίνακα 23:

Πίνακας 20. Λιπιδιακή σύσταση διαφόρων στελεχών μικροφυκών^[10, 24, 73]

| Λιπαρά οξέα | Chlorella sp. | Navicula sp. | D.tertiolecta | Nannochloropsis sp. |
|-------------|---------------|--------------|---------------|---------------------|
| C14:0 | | | | 4.5-4.70 |
| C16:0 | 6.70 | 21.40 | 26.4-28.10 | 25.9-28.5 |
| C16:1 | 0.30 | 25.10 | | 24.5-26.5 |
| C16:2 | | | 2.3-2.80 | |
| C16:3 | | | 1.37-1.27 | |
| C18:0 | 1.10 | 0.30 | 0.60 | 2.7-3.40 |
| C18:1 | 9.10 | 0.50 | 16.8-19.30 | 4.1-4.70 |
| C18:2 | 2.40 | 0.30 | 13.07-14.67 | 2.3-3.30 |
| C18:3 | 15.5 | | 33.2-39.60 | |
| C20:4n-6 | | | | 6.3-7.50 |
| C20:5n-3 | | | | 24.4-26.9 |

Και σε αυτές τις περιπτώσεις παρατηρείται ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των λιπαρών οξέων είναι τα ακόρεστα και το παλμιτικό οξύ^[10, 24, 73].

18. Παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγικότητα των φυκών ως προς τα λίπη και έλαια

Τα μικροφύκη που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοντίζελ πρέπει να έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια για να είναι οικονομικά βιώσιμο για καλλιέργεια και επεξεργασία. Όσον αφορά το λάδι, υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγικότητα των μικροφυκών και διαφέρουν από είδος σε είδος. Ωστόσο, ορισμένες μεταβλητές επηρεάζουν επίσης την παραγωγή λιπιδίων σε κύτταρα μικροφυκών. Η κατάλληλη προσαρμογή αυτών των μεταβλητών μπορεί να συμβάλει στην προώθηση της παραγωγής λιπιδίων στο χαμηλότερο κόστος.

Ακολουθούν τα αποτελέσματα της μελέτης αυτών των μεταβλητών για διαφορετικά είδη μικροφυκών. Από αυτά, μπορούν να εξαχθούν γενικά συμπεράσματα σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγικότητα των μικροφυκών σε λίπη και έλαια.

- *Chlorella protothecoides*

Η μελέτη από τους Tamaris Heredia-Arroyo et al ^[41] αφορά τη συσσώρευση λαδιού στα κύτταρα του *Chlorella Protococcus*, οι ετεροτροφικές και μικροτροφικές

καλλιέργειες αυτού του οργανισμού έχουν καλύτερη απόδοση από τα φωτοτροφικά φυτά. Αυτό συμβαίνει επειδή μπορεί να επιτευχθεί υψηλή αναλογία άνθρακα προς άζωτο υπό αυτές τις συνθήκες, προωθώντας έτσι τη συσσώρευση λιπιδίων [41]. Πολλοί ερευνητές έχουν μελετήσει διάφορες πηγές άνθρακα στην καλλιέργεια stramenopiles *Chlorella*, όπως γλυκόζη, γλυκερόλη, οξικό νάτριο [41], υδρόλυση καλαμποκιού [34], γλυκό σόργο (που περιέχει ένα μείγμα γλυκόζης, φρουκτόζης και σακχαρόζης) με ζύμη [32] και κασάβα (*Manihot esculenta* Crantz) [61]. Μεταξύ αυτών, όσον αφορά τα λιπίδια των κυττάρων, η γλυκόζη είναι ικανοποιητική και είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη πηγή άνθρακα στην ετεροτροφική καλλιέργεια της *Chlorella* Protococcus. Δύο άλλοι βασικοί παράγοντες για τη βελτίωση της περιεκτικότητας των λιπιδίων στα κύτταρα είναι η έλλειψη αζώτου και το φως υψηλής έντασης. Η επίδραση του pH φαίνεται επίσης να είναι σημαντική, ειδικά όταν χρησιμοποιείται οξικό νάτριο ως πηγή άνθρακα. Σε αυτήν την περίπτωση, βρέθηκε ότι μια χαμηλότερη τιμή pH είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της περιεκτικότητας των λιπιδίων στα κύτταρα, αν και ανέστειλε τη συνολική ανάπτυξή τους. Άλλοι παράγοντες που έχουν θετική επίδραση στην αύξηση της περιεκτικότητας σε λιπίδια ενώ αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυττάρων είναι η χαμηλή θερμοκρασία, ο χαμηλός ρυθμός ανάδευσης της καλλιέργειας και η υψηλή συγκέντρωση αλατιού και σιδήρου. [41].

- *Chlorella sorokiniana*

Οι Hongjin Qiao και Guangce Wang [89] μελέτησαν την επίδραση των πηγών άνθρακα στην ανάπτυξη και τη συσσώρευση λιπιδίων στο στέλεχος *Sorokiniana Chlorella* CXNN01. Πρώτον, βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα λιπιδίων σε αυτοτροφικά καλλιεργημένα κύτταρα ήταν 4,27% του ξηρού βάρους βιομάζας, ενώ η περιεκτικότητα λιπιδίων σε ετεροτροφικά καλλιεργημένα κύτταρα ήταν 16,4% έως 28,7%. Η γλυκόζη, η φρουκτόζη και το οξικό νάτριο χρησιμοποιούνται ως πηγές άνθρακα σε ετεροτροφικές καλλιέργειες. Ο Πίνακας 24 δείχνει τις επιδράσεις αυτών των πηγών άνθρακα στη συσσώρευση βιομάζας και στην περιεκτικότητα λιπιδίων στην αρχή της περιόδου στασιμότητας των καλλιεργειών.

Πίνακας 21. Επίδραση των πηγών άνθρακα στη συσσώρευση βιομάζας και στο λιπιδικό περιεχόμενο κατά την έναρξη της φάσης στασιμότητας [89]

| Πηγή άνθρακα | Βιομάζα (g L ⁻¹) | Περιεχόμενο σε | Περιεχόμενο σε |
|--------------|------------------------------|----------------|----------------|
|--------------|------------------------------|----------------|----------------|

| | | λιπίδια (g g ⁻¹) | λιπίδια (g L ⁻¹) |
|--------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
| Φρουκτόζη | 0.320 ± 0.035 | 0.614 ± 0.013 | 0.053 ± 0.009 |
| Γλυκόζη | 1.147 ± 0.146 | 0.237 ± 0.026 | 0.272 ± 0.041 |
| Οξικό νάτριο | 1.007 ± 0.040 | 0.287 ± 0.018 | 0.288 ± 0.008 |

Όταν το μέσο περιέχει γλυκόζη ή οξικό νάτριο, τα κύτταρα αναπτύσσονται ταχύτερα από τη φρουκτόζη. Όταν η γλυκόζη ήταν η πηγή άνθρακα, παρατηρήθηκε η υψηλότερη συγκέντρωση βιομάζας, αλλά όταν το οξικό νάτριο χρησιμοποιήθηκε ως πηγή άνθρακα, η περιεκτικότητα λιπιδίων ήταν ελαφρώς υψηλότερη. Όταν χρησιμοποιείτε διαφορετικές πηγές άνθρακα, η διαφορά στην περιεκτικότητα σε βιομάζα και λιπίδια οφείλεται προφανώς στο γεγονός ότι το καθένα ακολουθεί διαφορετική μεταβολική οδό. Επομένως, το οξικό νάτριο με απλή δομή δύο ατόμων άνθρακα απορροφάται γρήγορα και παράγει ακετυλο-CoA, το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιείται σε διάφορες μεταβολικές διεργασίες συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής λιπαρών οξέων. Η γλυκόζη μετατρέπεται άμεσα σε 6-φωσφορική γλυκόζη, η οποία είναι ένα σημαντικό ενδιάμεσο, το οποίο συμμετέχει στον κύκλο γλυκόλυσης και φωσφορικής πεντόζης. Αντιθέτως, η φρουκτόζη δεν μπορεί να μετατραπεί άμεσα σε γλυκόζη στα μικροφύκη.

Από τις παραπάνω πηγές άνθρακα, η γλυκόζη έχει χαμηλό κόστος και μπορεί να ανακτηθεί από διάφορες πηγές, όπως τα λύματα. Επομένως, σε αυτή τη μελέτη, μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης γλυκόζης στην ανάπτυξη των κυττάρων και στη συσσώρευση λιπιδίων. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 25, όπου οι τιμές που αντιπροσωπεύουν το τέλος της εκθετικής φάσης ανάπτυξης των μικροφυκών:

Πίνακας 22. Επίδραση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στη συσσώρευση βιομάζας και λιπιδίων του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* κατά το τέλος της φάσης εκθετικής ανάπτυξης της καλλιέργειας^[89]

| Συγκέντρωση γλυκόζης (mmol L ⁻¹) | Βιομάζα (g L ⁻¹) | Περιεχόμενο σε λιπίδια (g g ⁻¹) | Περιεχόμενο σε λιπίδια (g L ⁻¹) | Ουδέτερα λιπίδια (Rf* per 10 ⁶ cells) |
|--|------------------------------|---|---|--|
| 0.2 | 0.085 ± 0.006 | 0.187 ± 0.027 | 0.016 ± 0.003 | 7.2 ± 0.8 |

| | | | | |
|-----|---------------|---------------|---------------|------------|
| 2 | 0.170 ± 0.007 | 0.250 ± 0.090 | 0.042 ± 0.014 | 4.1 ± 0.1 |
| 20 | 1.602 ± 0.054 | 0.105 ± 0.019 | 0.168 ± 0.025 | 20.4 ± 1.4 |
| 200 | 0.801 ± 0.019 | 0.236 ± 0.064 | 0.189 ± 0.048 | 2.5 ± 0.1 |

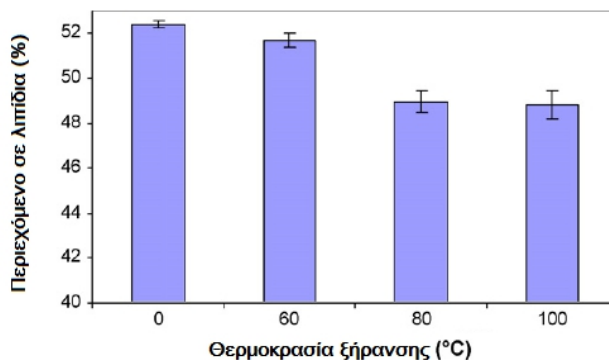
* Rf: relative fluorescence: σχετικός φθορισμός

Στο τέλος της εκθετικής φάσης ανάπτυξης, η βέλτιστη συγκέντρωση γλυκόζης για παραγωγή βιομάζας και ουδέτερου λιπιδίου είναι 20 mmol L⁻¹, αν και η συνολική περιεκτικότητα λιπιδίων είναι χαμηλότερη από εκείνη που παρατηρείται όταν η συγκέντρωση γλυκόζης είναι 200 mmol L⁻¹ περιεκτικότητα λιπιδίων. Προφανώς, η υψηλή περιεκτικότητα σε γλυκόζη αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων και τη συσσώρευση ουδέτερων λιπιδίων, ενώ ταυτόχρονα διευκολύνει την παραγωγή άλλων λιπιδίων. Στην αρχή της φάσης υστέρησης, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιπίδια σε κύτταρα με συγκέντρωση γλυκόζης 20 mmol L⁻¹ (σύμφωνα με τον Πίνακα 25). Ως εκ τούτου, οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η βέλτιστη συγκέντρωση γλυκόζης για την παραγωγή λιπιδίων είναι 20 mmol L⁻¹ και ο καταλληλότερος χρόνος συγκομιδής για τα φύκια για την παραγωγή βιοντίζελ είναι το αρχικό στάδιο της εκθετικής ανάπτυξης. [89].

- *Chlorella Vulgaris*

Οι Arief Widjaja et al. [49] μελέτησαν τη σύνθεση λιπιδίων του στελέχους *Chlorella Vulgaris* που αναπτύχθηκε σε γλυκό νερό. Οι παράμετροι που επηρεάζουν την τελική σύνθεση λιπιδίων είναι: α) η μέθοδος εκχύλισης λιπιδίων, β) η συγκέντρωση πηγών άνθρακα και αζώτου στη ροή αέρα της καλλιέργειας και του μέσου, και γ) ο χρόνος συλλογής μικροφυκών.

Η θερμοκρασία ξήρανσης στη διαδικασία εξαγωγής λιπιδίων από βιομάζα θα επηρεάσει τη σύνθεση λιπιδίων και την περιεκτικότητα λιπιδίων των κυττάρων, όπως φαίνεται στο Σχήμα 17 και στον Πίνακα 26:



Σχήμα 13. Επίδραση της θερμοκρασίας ξήρανσης στο λιπιδιακό περιεχόμενο των κυττάρων του μικροφύκου *Chlorella Vulgaris*^[49]

Πίνακας 23. Επίδραση της θερμοκρασίας ξήρανσης στο λιπιδιακό περιεχόμενο των κυττάρων του μικροφύκου *Chlorella Vulgaris*^[49]

| Είδη λιπιδίων | Σύσταση (%) | | | |
|---------------|-------------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 °C | 60 °C | 80 °C | 100 °C |
| C16 FFA | 0.85±0.1 | 0.51±0.07 | 0.72±0.15 | 0.57±0.1 |
| C18 FFA | 1.64±0.2 | 0.89±0.1 | 1.27±0.3 | 1.37±0.6 |
| Διγλυκερίδια | 3.61±0.1 | 5.23±1.1 | 3.53±1.9 | 5.32±1.2 |
| Τριγλυκερίδια | 83.73±2.3 | 85.56±3.4 | 58.23±2.4 | 44.26±1.8 |
| Άλλα | 10.16±1.2 | 7.79±2.5 | 34.44±2.5 | 47.46±3.1 |

Η ξήρανση στους 0 °C μπορεί να διατηρήσει την αρχική σύνθεση λιπιδίων στα μικροφύκια, ενώ η αύξηση της θερμοκρασίας θα μειώσει την περιεκτικότητα σε τριγλυκερίδια. Η ξήρανση στους 60 °C μπορεί επίσης να διατηρήσει τη σύνθεση των λιπιδίων, αλλά θα μειώσει ελαφρώς την περιεκτικότητα των λιπιδίων στα κύτταρα.

Κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας μικροφυκών υπό συνθήκες έλλειψης αζώτου, η συνολική περιεκτικότητα σε λιπίδια επίσης αυξήθηκε. Κατά τη διάρκεια 7-17 ημερών καλλιέργειας σε έλλειψη αζώτου, η περιεκτικότητα σε λιπίδια αυξήθηκε περισσότερο. Η έλλειψη αζώτου επηρεάζει επίσης τη σταδιακή μετατροπή της σύνθεσης λιπιδίων από ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) σε τριγλυκερίδια. Φυσικά, δεδομένου ότι αυτή η κατάσταση επιβραδύνει την ανάπτυξη μικροφυκών, είναι απαραίτητο να βρούμε τον κατάλληλο χρόνο για τη συλλογή μικροφυκών από τις καλλιέργειες προκειμένου να επιτευχθούν υψηλές τιμές περιεκτικότητας λιπιδίων.

Η αύξηση της συγκέντρωσης CO₂ μπορεί να αυξήσει την παραγωγικότητα των λιπιδίων. Όταν ο ρυθμός ροής του CO₂ είναι 0-20 mL / min, η απόδοση λιπιδίων υπό συνθήκες ανεπάρκειας αζώτου μπορεί να είναι υψηλότερη από αυτήν της γραμμικής φάσης υπό κανονικές θρεπτικές συνθήκες. Επίσης στην κανονική διατροφή, η αύξηση της συγκέντρωσης CO₂ οδηγεί σε υψηλότερη παραγωγικότητα λιπιδίων. Με τη μείωση του χρόνου επώασης υπό συνθήκες έλλειψης αζώτου και υψηλής

συγκέντρωσης CO₂, μπορεί να επιτευχθεί υψηλότερη παραγωγικότητα λιπιδίων και υψηλότερη περιεκτικότητα λιπιδίων [49].

Η μελέτη των Yanna Liang et al. [58] σε σχέση με την παραγωγή βιομάζας και λιπιδίων από το μικροφύκος *Chlorella vulgaris*, υπό διαφορετικές συνθήκες, έδειξε ότι η μικτοτρόφος ανάπτυξη του συγκεκριμένου στελέχους επέφερε υψηλότερη παραγωγή. Ως πηγή άνθρακα μπορεί να χρησιμοποιηθεί γλυκόζη ή γλυκερόλη σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1%). Συγκέντρωση γλυκερόλης 2% αυξάνει και το περιεχόμενο και την παραγωγικότητα σε λιπίδια. Περαιτέρω αύξηση της γλυκόζης ή της γλυκερόλης στο θρεπτικό υπόστρωμα δρα ανασταλικά στην παραγωγή λιπιδίων [58].

- *Chlorella zofingiensis*

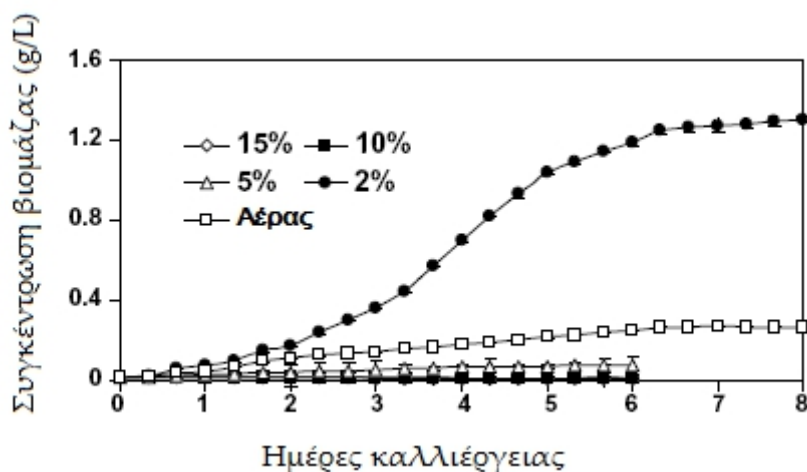
Στην έρευνα των Liu Jin et al. [59] το συμπέρασμα σχετικά με την παραγωγή λιπιδίων από φωτοαυτοτροφική και ετεροτροφική καλλιέργεια του στελέχους *Chlorella zofingiensis* είναι ότι η συγκέντρωση βιομάζας και η συνολική περιεκτικότητα σε λιπίδια είναι αμφότερα χαμηλά κατά τη διάρκεια της φωτοαυτοτροφικής καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, η ποσότητα λιπιδίων που συσσωρεύεται από ετεροτροφικά κύτταρα είναι διπλάσια, η συνολική ποσότητα λιπαρών οξέων είναι τριπλάσια από αυτή της γλυκερόλης και η ποσότητα των τριγλυκεριδίων είναι επτά φορές μεγαλύτερη. Η καταλληλότερη πηγή άνθρακα για αυτές τις καλλιέργειες είναι η γλυκόζη [59].

- *Dunaliella tertiolecta*

Η έρευνα των Meng Chen et al. [10] έδειξε ότι η παραγωγή λιπιδίων στα κύτταρα της *Dunaliella tertiolecta* αυξάνεται όταν καλλιεργείται υπό συνθήκες χωρίς άζωτο, σίδηρο και κοβάλτιο. Το στέλεχος καλλιεργήθηκε για 7 ημέρες και διαπιστώθηκε ότι μέχρι την τρίτη ημέρα, μια μεγάλη ποσότητα λιπιδίων είχε συσσωρευτεί στα κύτταρα. Ωστόσο, ο αριθμός των λιπιδίων είχε μειωθεί την 7^η ημέρα. Μια προσεκτική μελέτη της συσσώρευσης λιπιδίων υπό συνθήκες ανεπάρκειας αζώτου έδειξε ότι στα κύτταρα συσσωρεύτηκαν υψηλά επίπεδα ουδέτερων λιπιδίων την ημέρα 3 και έφτασαν στην μέγιστη συσσώρευση την ημέρα 4, μετά την οποία μειώθηκε η συσσώρευση των λιπιδίων. [10]

- *Nannochloropsis sp.*

Ο Qiu Shengyi και άλλοι ερευνητές ^[88] μελέτησαν την επίδραση της συγκέντρωσης CO₂ στην παραγωγή βιομάζας και τη συσσώρευση λιπιδίων στη μικροαλκίδα *Nannochloropsis oculata* σε ημι-συνεχή καλλιέργεια. Το Σχήμα 18 δείχνει τις αλλαγές στη συγκέντρωση βιομάζας με ημέρες καλλιέργειας υπό διαφορετικές συγκεντρώσεις CO₂ στον αέρα της καλλιέργειας:



Σχήμα 14. Συγκέντρωση της παραγόμενης βιομάζας σε συνάρτηση με τις ημέρες καλλιέργειας, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του CO₂ στον αέρα της καλλιέργειας του *N. oculata* NCTU-3^[88]

Όταν το ποσοστό διοξειδίου του άνθρακα στον αέρα είναι μικρό (2%), παρατηρείται υψηλότερη συγκέντρωση βιομάζας. Βλέπουμε ότι σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, η ανάπτυξη των μικροφυκών αναστέλλεται. Επομένως, το αρχικό στάδιο της προσαρμογής των μικροφυκών στο περιβάλλον με χαμηλή περιεκτικότητα σε CO₂ μπορεί να προωθήσει την ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε ημι-συνεχείς καλλιέργειες με υψηλή περιεκτικότητα σε CO₂.

Το περιεχόμενο των λιπιδίων στα κύτταρα του μικροφύκου στις διάφορες φάσεις ανάπτυξης έχει ως εξής:

| | |
|--------------------------|-------|
| Φάση εκθετικής ανάπτυξης | 30.8% |
| Πρώιμη φάση στασιμότητας | 39.7% |
| Φάση στασιμότητας | 50.4% |

Καθώς η περιεκτικότητα λιπιδίων αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της φάσης συνεχούς ανάπτυξης, καταγράφηκε αντίστοιχη μείωση της περιεκτικότητας σε άζωτο του μέσου. Όπως και άλλες καλλιέργειες μικροφυκών, καθώς αυξάνεται η περιεκτικότητα των λιπιδίων στα κύτταρα, μειώνεται επίσης η περιεκτικότητα σε άζωτο στο μέσο.

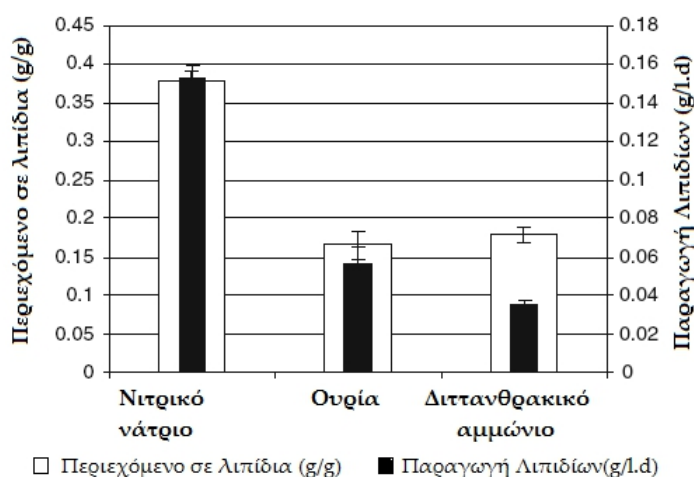
Κατά την αντικατάσταση του μισού μείγματος καλλιέργειας με φρέσκο μέσο κάθε μέρα, παρατηρήθηκε επίσης αύξηση της παραγωγής βιομάζας και λιπιδίων. Προφανώς, ο χρόνος συλλογής των μικροφυκών συμπίπτει με την περίοδο στάσης, όπου έχει την υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια.

Επομένως, προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η παραγωγή λιπιδίων των μικροφυκών *N. oculata* NCTU-3, θα πρέπει να καλλιεργούνται σε ημι-συνεχή καλλιέργεια και πρέπει να προστίθεται και να αντικαθίσταται καθημερινά ένα ρεύμα αέρα που περιέχει 2% διοξείδιο του άνθρακα [88].

Οι έρευνες του Thi-Thai Yen Doan και του Jeffrey Philip Obbard σχετικά με μεθόδους αύξησης της περιεκτικότητας σε λιπίδια του είδους *Nannochloropsis* έδειξαν ότι τα παλαιότερα κύτταρα αποθηκεύουν ενέργεια με τη μορφή τριγλυκεριδίων. Υπάρχουν επίσης διαφορές στη συσσώρευση πολικών λιπιδίων και ουδέτερων λιπιδίων κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται μεγαλύτερη συσσώρευση πολικών λιπιδίων κατά τη διάρκεια της εκθετικής φάσης ανάπτυξης, ενώ για ουδέτερα λιπίδια, η συγκέντρωση είναι υψηλότερη κατά τη φάση στασιμότητας. Στο ίδιο στάδιο, παρατηρήθηκε αύξηση της συνολικής περιεκτικότητας σε λιπίδια [24].

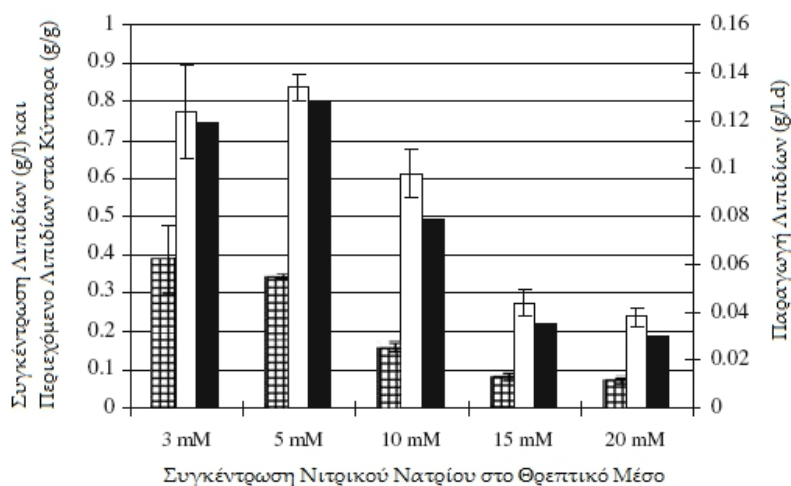
- *Neochloris oleoabundans*

Οι Li Yanqun et al. [57] μελέτησαν την επίδραση της πηγής αζώτου και τη συγκέντρωσή της στην ανάπτυξη και παραγωγή λιπιδίων των μικροφυκών *Neochloris oleoabundans*. Οι πηγές αζώτου που χρησιμοποιούν είναι όξινο ανθρακικό αμμώνιο, ουρία και νιτρικό νάτριο. Όταν προστέθηκε νιτρικό νάτριο στο μέσο, παρατηρήθηκε ταχύτερη ανάπτυξη κυττάρων, υψηλότερη περιεκτικότητα λιπιδίων και υψηλότερη παραγωγικότητα λιπιδίων, όπως φαίνεται στο σχήμα 15:



Σχήμα 15. Περιεχόμενο λιπίδια και παραγωγή λιπιδίων στο πράσινο μικροφύκος *Neochloris oleabundans*, το οποίο καλλιιεργήθηκε σε διαφορετικά θρεπτικά μέσα που περιείχαν νιτρικό νάτριο, ουρία και διττανθρακικό αμμώνιο, σε συγκέντρωση 5mM ^[57]

Με την αλλαγή της συγκέντρωσης NaNO_3 στο μέσο, είναι δυνατόν να ελέγχθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης αζώτου στην παραγωγικότητα των *Neochloris oleabundans* σε σχέση με τα λιπίδια. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις του NaNO_3 που μελετήθηκαν ήταν 3, 5, 10, 15 και 20 mM. Τα αποτελέσματα της μέτρησης φαίνονται στο Σχήμα 20:τη συγκέντρωση του NaNO_3 στο θρεπτικό μέσο. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις του NaNO_3 που μελετήθηκαν ήταν 3,5,10,15 και 20 mM. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων φαίνονται στο Σχήμα 16:



■ Περιεχόμενο λιπιδίων στα Κύτταρα (g/g) ■ Συνολική Συγκέντρωση Λιπιδίων (g/l) □ Παραγωγή Λιπιδίων(g/l.d)

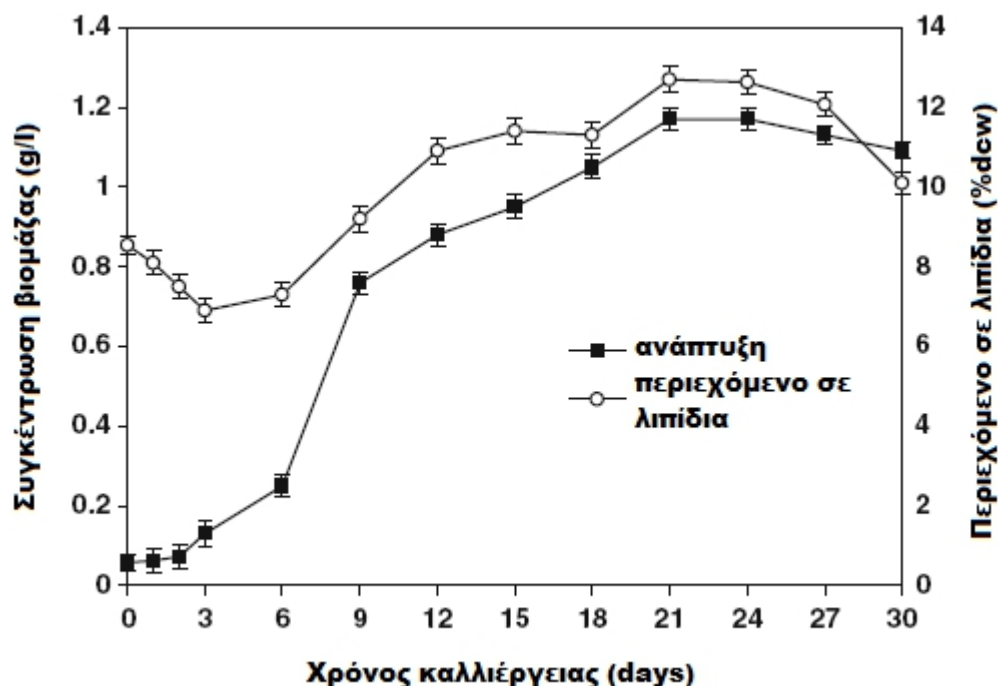
Σχήμα 16. Περιεχόμενο λιπιδίων στα κύτταρα, συνολική συγκέντρωση λιπιδίων και παραγωγή λιπιδίων στις καλλιέργειες μικροφυκών με διαφορετικές συγκεντρώσεις νιτρικού αζώτου. Η συνολική συγκέντρωση των λιπιδίων υπολογίστηκε με πολλαπλασιασμό του περιεχομένου των λιπιδίων στα κύτταρα με την αντίστοιχη μέγιστη συγκέντρωση της βιομάζας. Η παραγωγή των λιπιδίων υπολογίστηκε διαιρώντας τη συνολική συγκέντρωση των λιπιδίων με τον αριθμό των ημερών της καλλιέργειας^[57]

Η χαμηλότερη συγκέντρωση νιτρικού νατρίου (3 mM) έδειξε την υψηλότερη περιεκτικότητα λιπιδίων (0,40 g / g) στα κύτταρα. Όταν η συγκέντρωση NaNO_3 είναι 5 mM, η παραγωγή λιπιδίων στα κύτταρα είναι σημαντική (0,133 g • l⁻¹ • d⁻¹), η περιεκτικότητα λιπιδίων στα κύτταρα είναι 0,34 g / g και ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας είναι 0,40 g • l⁻¹ • d⁻¹. Τέλος, στην περίπτωση συγκέντρωσης NaNO_3 10

mM, η συγκέντρωση βιομάζας είναι 3,2 g / l και ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας είναι $0,63 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. [57].

- *Scenedesmous sp.*

Η μελέτη των Shovon Mandal και Nirurama Mallick [86] σχετικά με τα *Scenedesmous sp.* έδειξε ότι η συσσώρευση λιπιδίων σε κύτταρα μικροφυκών εξαρτάται από το χρόνο ανάπτυξης (Σχήμα 17):



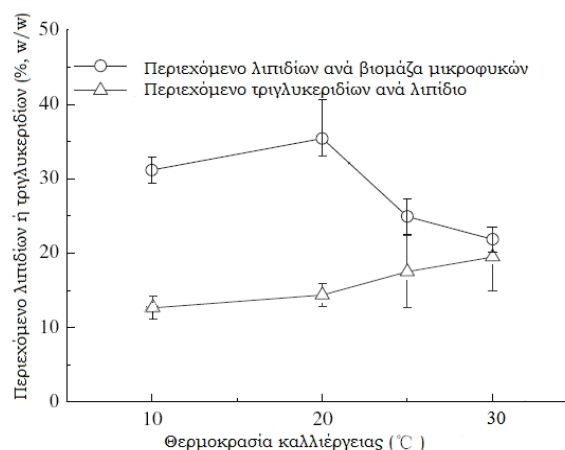
Σχήμα 17. Περιεχόμενο λιπιδίων του *S. obliquus* σε σχέση με τη φάση ανάπτυξης^[86]

Από το Σχήμα 17 φαίνεται ότι μέγιστη συσσώρευση λιπιδίων παρατηρείται κατά τη φάση στασιμότητας.

Η έλλειψη αζώτου και φωσφόρου στο μέσο διεγείρει τη διαδικασία συσσώρευσης λιπιδίων, αλλά ταυτόχρονα οδηγεί σε μείωση της βιομάζας. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η προσθήκη γλυκόζης στο μέσο οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής βιομάζας. Προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή λιπιδίων, η ποσότητα της προστιθέμενης γλυκόζης πρέπει να είναι τέτοια ώστε η συγκέντρωσή της στο υπόστρωμα να είναι 1,5% β / ο για 10 ημέρες. Η επίδραση της προσθήκης θειοθειικού νατρίου ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) στο μέσο είναι επίσης σημαντική. Όταν η συγκέντρωσή του ήταν 0,6 g / l, η περιεκτικότητα σε λιπίδια παρατηρήθηκε να αυξάνεται στο 30,4% (dcw). Η

περαιτέρω αύξηση του $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ έχει αρνητικό αντίκτυπο στην απόδοση των λιπιδίων της καλλιέργειας και της βιομάζας [86].

Τα αποτελέσματα της έρευνας των Li Xin et al. [43] σχετικά με τον ρόλο που παίζει η θερμοκρασία στο μικροφύκη *Scenesmus* sp. LX1 σχετικά με την συσσώρευση λιπιδίων φαίνεται στο σχήμα 18:



Σχήμα 18. Επίδραση της θερμοκρασίας στη συσσώρευση λιπιδίων^[43]

Μπορεί να φανεί ότι όταν καλλιεργείται σε θερμοκρασία 20 °C, επιτυγχάνεται η μέγιστη περιεκτικότητα λιπιδίων σε κύτταρα μικροφυκών. Μια περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μείωση των λιπιδίων στα κύτταρα. Επιπλέον, η μείωση της θερμοκρασίας συνοδεύεται από μείωση των τριγλυκεριδίων. Η θερμοκρασία επηρεάζει επίσης τον τύπο των συνθετικών λιπιδίων. Επομένως, σε χαμηλές θερμοκρασίες (≤ 25 °C), τα λιπαρά οξέα είναι κυρίως πολυακόρεστα, ενώ σε υψηλές θερμοκρασίες, είναι κυρίως κορεσμένα και μονοακόρεστα [43].

Σε άλλες έρευνες από τους ίδιους επιστήμονες στο *microalgae* *Scenesmus* sp. φάνηκε ότι περιορισμός του αζώτου ή του φωσφόρου οδηγεί σε αύξηση της περιεκτικότητας της βιομάζας στα λιπίδια, ενώ ταυτόχρονα μειώνει την παραγωγικότητα της βιομάζας [126]. Αντίθετα, η προσθήκη μικρής ποσότητας οξικού αιθυλεστέρα 2 ($\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_3$) μπορεί να αυξήσει τη συσσώρευση τριγλυκεριδίων χωρίς να επηρεάσει αρνητικά την παραγωγικότητα της βιομάζας [71].

- *Tetraselmis suecica*

Η τελευταία έρευνα των Mojtaba Azma et al. [1] σχετικά με την ετεροτροφική καλλιέργεια του *Tetraselmis suecica* έδειξε ότι τα θρεπτικά συστατικά παίζουν

σημαντικό ρόλο στη βελτιστοποίηση της ανάπτυξης των κυττάρων και της παραγωγής λιπιδίων. Τα θρεπτικά συστατικά που χρησιμοποιούνται ως πηγές άνθρακα είναι η γλυκόζη και το οξικό νάτριο, ενώ οι πηγές αζώτου είναι πρωτεΐνες, εκχυλίσματα ζύμης, κρέατος και βύνης, ουρία, νιτρικό νάτριο και νιτρικό αμμώνιο. Τέλος, τα θρεπτικά συστατικά που αποτελούνται από γλυκόζη, πρωτεΐνη *ert* και εκχύλισμα μαγιάς αποδείχθηκαν τα πιο κατάλληλα θρεπτικά συστατικά για την προώθηση της ανάπτυξης των κυττάρων, και απουσία αζώτου, η παραγωγή λιπιδίων αυξάνεται [1].

- *Nitzschia frustulum*

Οι Keungarp Ryu και Gregory L. Rorner^[97] μελέτησαν τις επιπτώσεις της θερμοκρασίας και της έλλειψης του πυριτίου στα θρεπτικά μέσα και την ολική περιεκτικότητα λιπιδίων στα φύκια *Nitzschia frustulum*. Η ταυτόχρονη βελτιστοποίηση αυτών των δύο αυξητικών παραγόντων μπορεί να προάγει την παραγωγή λιπιδίων στα διάτομα σε μεγαλύτερο βαθμό. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η μείωση της περιεκτικότητας σε Si στο μέσο είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της πυκνότητας των κυττάρων, ενώ η μείωση της θερμοκρασίας καλλιέργειας στους 12 ° C είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερη συγκέντρωση λιπιδίων στο λιπίδιο κύτταρο. [97].

- Συμπεράσματα

Από τα παραπάνω μπορεί να φανεί ότι ο βασικός παράγοντας για την αύξηση της παραγωγής λιπιδίων σε κύτταρα μικροφυκών είναι ο τρόπος ανάπτυξης της καλλιέργειας. Γενικά, οι ετεροτροφικές και μικτές μέθοδοι αναπαραγωγής μικροφυκών φαίνεται να είναι ανώτερες από τις φωτοτροφικές μεθόδους. Σε αυτήν την περίπτωση, η πηγή άνθρακα που χρησιμοποιείται στο θρεπτικό υπόστρωμα και η συγκέντρωσή του παίζουν σημαντικό ρόλο. Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη πηγή οργανικού άνθρακα είναι η γλυκόζη.

Ομοίως, ο περιορισμός ορισμένων θρεπτικών ουσιών (όπως N, P, Fe, Co, Si) φαίνεται να ενεργοποιεί αποτελεσματικά την ενίσχυση της συσσώρευσης λιπιδίων, όταν είναι διαθέσιμες πηγές άνθρακα (CO₂ ή άλλες πηγές οργανικού άνθρακα) και φωτός. Η έλλειψη αζώτου έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την περιεκτικότητα σε λιπίδια των κυττάρων, πιθανώς επειδή υπό αυτές τις συνθήκες, τα κύτταρα χρησιμοποιούν λιγότερο άζωτο και δεν μπορούν να συνθέσουν ένζυμα και βασικές κυτταρικές δομές.

Επομένως, ο άνθρακας που προέρχεται από CO₂ ή άλλες πηγές μετατρέπεται σε λιπίδια ή υδατάνθρακες αντί για πρωτεΐνες^[86]. Η ανεπάρκεια φωσφόρου διεγείρει τη διάσπαση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης σε ουδέτερα λιπίδια, χρησιμοποιώντας έτσι φωσφόρο, οδηγούμε τα κύτταρα σε συσσώρευση ουδέτερων λιπιδίων ^[90].

Η περιεκτικότητα σε λιπίδια των μικροφυκών εξαρτάται επίσης από την περίοδο ανάπτυξής τους. Το στάδιο στο οποίο τα κύτταρα έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε λιπίδια είναι διαφορετικό για κάθε τύπο μικροφυκών. Για να είναι σωστός ο χρόνος συγκομιδής των μικροφυκών, πρέπει να είναι γνωστή η χρονική περίοδος κατά την οποία είναι μεγαλύτερη η συσσώρευση λιπιδίων σε αυτά.

Άλλοι παράγοντες που έχουν μελετηθεί και φαίνεται να επηρεάζουν τη συσσώρευση λιπιδίων σε μικροφύκια είναι η θερμοκρασία, το pH, η ένταση του φωτός, ο ρυθμός ανάδευσης καλλιέργειας και η προσθήκη μικρών ποσοτήτων χημικών (όπως Na₂S₂O₃ και C₇H₁₂O₃).

Η αύξηση της συσσώρευσης λιπιδίων δεν οδηγεί πάντα σε αύξηση της παραγωγικότητας των λιπιδίων, επειδή η παραγωγικότητα της βιομάζας και η συσσώρευση λιπιδίων δεν σχετίζονται απαραίτητα.^[6]

19. Τρόποι βελτίωσης της απόδοσης των μικροφυκών σε έλαια

Προκειμένου να καταστεί το βιοντίζελ μικροφυκών οικονομικά ανταγωνιστικό, το κόστος της διαδικασίας παραγωγής του πρέπει να ελαχιστοποιηθεί. Επομένως, είναι απαραίτητο να καλλιεργούνται στελέχη μικροφυκών με την υψηλότερη δυνατή περιεκτικότητα και παραγωγικότητα λιπιδίων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί ελέγχοντας μεγάλο αριθμό φυσικών στελεχών, επιλέγοντας στελέχη με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά και προσαρμόζοντάς τα στο φυσικό ή τεχνητό περιβάλλον ανάπτυξης (φωτοαντιδραστήρας, ρηχή λίμνη). Η παραγωγή λιπιδίων μικροφυκών μπορεί επίσης να βελτιωθεί μέσω της εφαρμογής γενετικής μηχανικής και ελέγχου βιοσύνθεσης μέσω θρεπτικών ουσιών.

Ο δείκτης λιποφιλικότητας "Nile Red" μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή στελεχών με φυσική τάση για υψηλή παραγωγικότητα. Ο δείκτης βάφει τα λιπίδια στα κύτταρα κόκκινα. Σε ένα πλούσιο σε λιπίδια περιβάλλον, εκπέμπει επίσης έντονο

φθορισμό. Μια άλλη μέθοδος που αναπτύχθηκε για το σκοπό αυτό είναι η χρήση ενός κατάλληλα σχεδιασμένου φωτοβιοαντιδραστήρα που μπορεί να παρακολουθεί την ανάπτυξη μικροφυκών σε πραγματικό χρόνο. Αυτό επιτρέπει ακριβέστερη επιλογή στελεχών μικροφυκών με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά ^[90].

Μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος για τη βελτίωση των λιπιδικών ιδιοτήτων των μικροφυκών είναι η εφαρμογή της γενετικής μηχανικής. Σύμφωνα με τον Yusuf Chisti, η γενετική μηχανική μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μικροφύκη:

1. Βελτίωση της αποδοτικότητας της φωτοσύνθεσης για αύξηση της παραγωγής βιομάζας υπό επαρκείς συνθήκες φωτισμού
2. Αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης της βιομάζας
3. Αύξηση της περιεκτικότητας σε λάδι στη βιομάζα
4. Βελτίωση της ανοχής θερμοκρασίας ούτως ώστε να υπάρξει μείωση στο κόστος ψύξης
5. Μείωση στο φαινόμενο κορεσμού του φωτός, έτσι ώστε η ανάπτυξη να συνεχίζει να αυξάνεται καθώς αυξάνεται η στάθμη φωτός
6. Μείωση της φωτοαναστολής, εάν παρατηρηθεί υψηλή ένταση φωτός σε εύκρατες και τροπικές περιοχές, δεν θα μειώσει τον ρυθμό ανάπτυξης
7. Μείωση της ευαισθησίας στη φωτοοξείδωση που προκαλεί βλάβη στα κύτταρα^[11].

Η ολοκληρωμένη προσέγγιση για τη βελτίωση της παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη μέσω της γενετικής μηχανικής, συνδυάζει την τρανσκριπτομική, πρωτεομική και μεταβολισμική/μεταβολωμική ανάλυση. Αυτή η μέθοδος οδήγησε στον εντοπισμό διαφορετικά εκφρασμένων γονιδίων, πρωτεϊνών και μεταβολιτών, και παρέχει στοιχεία για εκείνα τα στοιχεία που μπορεί να οδηγήσουν σε βελτιωμένη παραγωγή λιπιδίων που απαιτείται για την παραγωγή βιοντίζελ^[96].

Στην περίπτωση των μικροφυκών που προορίζονται για την παραγωγή βιοντίζελ, ο κύριος στόχος των εφαρμογών γενετικής μηχανικής είναι να βελτιώσουν τη φωτοσυνθετική τους ικανότητα, αυξάνοντας έτσι την παραγωγή βιομάζας και ενισχύοντας τη βιοσύνθεση του πετρελαίου. Ο πρώτος στόχος επιτυγχάνεται μειώνοντας το μέγεθος του συμπλέγματος συλλογής φωτός (ή μηχανισμού συλλογής φωτός ή κεραίας συλλογής φωτός, LHC). Στην πραγματικότητα τα συστήματα αυτά αποτελούνται από συστοιχίες μορίων χλωροφύλλης άλλα και άλλων μορίων που έχουν την χαρακτηριστική ιδιότητα να απορροφούν το φως του ήλιου (αποτελούμενη από φωτόνια) και να μεταφέρουν με αυτόν τον τρόπο ενέργεια στα φωτοσυστήματα I

και II (PSI, PSII) [22, 62]. Η γενετική μηχανική μπορεί επίσης να βοηθήσει στην τροποποίηση της μεταβολικής οδού της πλαστοκετόνης (PQ) για περιπτώσεις όπου οι ένταση του φωτός είναι μεγάλη, μειώνοντας την ίδια την φωτοσύνθεση και αυξάνοντας ταυτόχρονα τη φωτοσυνθετική ικανότητα^[96].

Ο δεύτερος στόχος της γενετικής μηχανικής είναι η αύξηση της βιοσύνθεσης των ελαίων. Για να επιτευχθεί αυτός ο στόχος, είναι απαραίτητο να μελετηθούν οι μεταβολικές οδοί και τα ένζυμα που παίζουν βασικό ρόλο στη βιοσύνθεση των λιπιδίων. Τα γονίδια που κωδικοποιούν αυτά τα ένζυμα είναι εκείνα που πρέπει να τροποποιηθούν ή να εισαχθεί σε αυτά γενετικό υλικό από μικροφύκη που καλλιεργούνται για παραγωγή βιοντίζελ. Το κλειδί για τη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων είναι η μετατροπή του ακετυλο-ΟοΑ σε μηλονυλο-ΟοΑ, η οποία καταλύεται από την καρβοξυλάση της ακετυλο-ΟοΑ. Ένας άλλος τρόπος για τον έλεγχο της παραγωγής λιπιδίων είναι η μείωση της έκφρασης του γονιδίου UPP1, το οποίο θα οδηγήσει σε μείωση του ρυθμού μετατροπής του άνθρακα σε υδρογονάνθρακες, αυξάνοντας έτσι τη μετατροπή του σε λιπαρά οξέα. Σε αυτήν την περίπτωση, τα αποτελέσματα της έρευνας δεν είναι ενθαρρυντικά^[22].

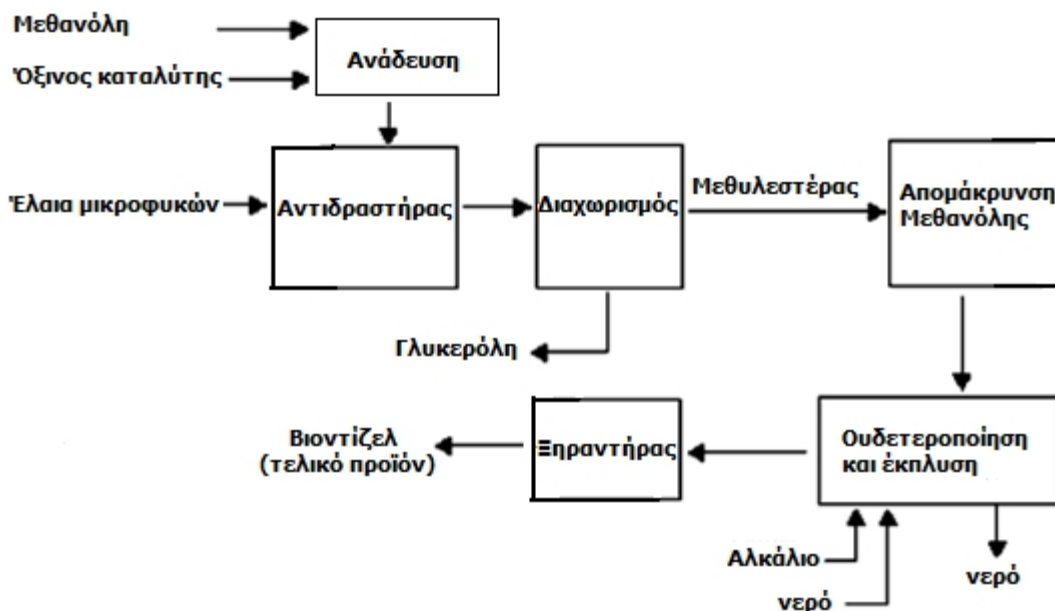
Ένας άλλος τρόπος να προσπαθήσουμε να βελτιώσουμε την απόδοση των μικροφυκών στα έλαια είναι ο έλεγχος της βιοσύνθεσης μέσω θρεπτικών ουσιών, επειδή η εφαρμογή της γενετικής μηχανικής οδήγησε στην παραγωγή μεταλλαγμάτων, η οποία προκάλεσε αντιδράσεις από πολλούς επιστήμονες και περιβαλλοντικούς οργανισμούς. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η μείωση ορισμένων θρεπτικών ουσιών (όπως άζωτο και φωσφόρος) οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής λιπιδίων, αλλά σε μείωση της παραγωγής βιομάζας. Το ζητούμενο λοιπόν είναι να επιτυγχάνονται υψηλές αποδόσεις λιπιδίων, χωρίς αυτό να είναι εις βάρος της απόδοσης βιομάζας. Για το λόγο αυτό, έχει αναπτυχθεί ένα σύστημα καλλιέργειας που αποτελείται από δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο αφορά την ανάπτυξη των μικροφύκων σε κατάλληλες συνθήκες περιβάλλοντος ώστε να εξασφαλίζεται και η τροφοδοσία τους με όλα τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να επιτευχθεί αυξημένος πληθυσμός κυττάρων, άρα και βιομάζας. Αφού έχει επιτευχθεί αυτό, έρχεται το δεύτερο στάδιο που περιέχει τη χρήση φωτοβιοαντιδραστήρα. Στα επόμενα στάδια και μετά την επίτευξη της μέγιστης δυνατής ποσότητας παραγωγής βιομάζας, η καλλιέργεια συνεχίζεται απουσία θρεπτικών ουσιών που θα ενισχύσουν την παραγωγή λιπιδίων. Σε αυτό το στάδιο, η εκτροφή μπορεί να πραγματοποιηθεί στην ανοιχτή ρηχή λίμνη.

Εκτός από την έλλειψη ορισμένων θρεπτικών ουσιών, είναι δυνατόν επίσης να γίνει αύξηση της παραγωγής λιπιδίων προσθέτοντας άλλες ουσίες. Σύμφωνα με έρευνα του Liu Zhiyong και άλλων ^[60] η προσθήκη σιδήρου ($1,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe}_3^+$) στο μέσο ανάπτυξης των μικροφυκών *Chlorella vulgaris*, αν και αρχικά μείωσε την ανάπτυξη των κυττάρων, οδήγησε στη συνέχεια σε αύξηση 56,6% της περιεκτικότητας σε λιπίδια.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η περιεκτικότητα σε λιπίδια των μικροφυκών ποικίλλει καθ' όλη τη διαδικασία καλλιέργειας. Επομένως, ένας τρόπος για να αυξηθεί η παραγωγικότητα των λιπιδίων είναι η απομάκρυνση τους από την καλλιέργεια στο στάδιο της ανάπτυξής τους όταν και παρατηρείται η υψηλότερη συγκέντρωση λιπιδίων.

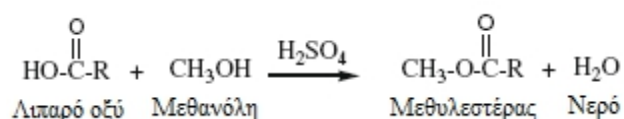
20. Αντίδραση μετεστεροποίησης των ελαίων από μικροφύκη

Το λάδι που ανακτάται από τα μικροφύκη με τον προαναφερθέντα τρόπο αποτελείται κυρίως από ενώσεις με μεγάλες αλυσίδες άνθρακα, έτσι το ιζώδες είναι σχετικά υψηλό. Προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο σε κινητήρες ντίζελ, πρέπει να υποστεί περαιτέρω επεξεργασία μέσω διεργασίας μετεστεροποίησης. ^[31]



Σχήμα 19. Σχηματική ροή διαδικασίας παραγωγής βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών^[34]

Σε αυτήν τη διαδικασία, η μεθανόλη χρησιμοποιείται ως αλκοόλη κυρίως λόγω του χαμηλού κόστους της. Μεταξύ των καταλυτών που μελετήθηκαν (βασικοί, όξινοι, ενζυματικοί), οι πιο κατάλληλοι καταλύτες για έλαιο μικροφυκών θεωρούνται οι όξινοι καταλύτες, αν και είναι γενικά λιγότερο δραστικοί από τους βασικούς καταλύτες. Αυτό συμβαίνει επειδή αυτά τα έλαια χαρακτηρίζονται από υψηλή περιεκτικότητα σε ελεύθερα λιπαρά οξέα, των οποίων η παρουσία μπορεί να προκαλέσει σαπωνοποίηση όταν ο καταλύτης είναι αλκαλικός. Όταν το ποσοστό των ελεύθερων λιπαρών οξέων είναι υψηλότερο από 5%, το προκύπτον σαπούνι θα εμποδίσει το διαχωρισμό του μεθυλεστέρα και της γλυκερίνης και θα σχηματίσει ένα γαλάκτωμα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας πλύσης. Για να αποφευχθεί αυτό μπορεί να μεθοδευτεί η μετατροπή των ελεύθερων λιπαρών οξέων σε μεθυλεστέρες μέσω προηγούμενης επεξεργασίας τους και η μείωση της περιεκτικότητας που έχουν σε λάδι.



Σχήμα 20. Εστεροποίηση ελεύθερων λιπαρών οξέων με όξινο καταλύτη

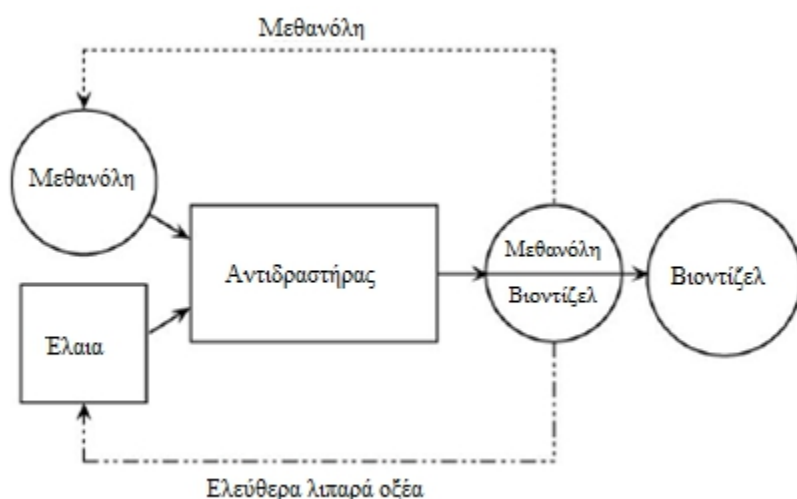
Στη συνέχεια, το λάδι με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα υφίσταται μετεστεροποίηση με τον αλκαλικό καταλύτη. Η δραστηριότητα του αλκαλικού καταλύτη είναι ισχυρότερη από εκείνη του όξινου (η ταχύτητα μετεστεροποίησης είναι 4000 φορές ταχύτερη).

Οι A. Carrero et al. [7] χρησιμοποίησαν το H₂SO₄ (ομογενής κατάλυση) και το ZSM-5 beta ζεόλιθο για να μετεστεροποιήσουν το έλαιο από το *Nannochloropsis microalgal*. Οι ζεόλιθοι που χρησιμοποιούνται ως ετερογενείς καταλύτες ήταν συμβατικοί και ιεραρχικοί. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι κατά τη χρήση του H₂SO₄ (90wt%), παρατηρήθηκε υψηλότερο ποσοστό FAME στο μείγμα προϊόντος. Το αντίστοιχο ποσοστό κατά τη χρήση του ζεόλιθου φτάνει το 50% κατά βάρος. Παρουσία ζεολίθου h-βήτα, παρατηρείται υψηλότερη απόδοση του FAME και ο ζεόλιθος h-Beta είναι ενεργός ξεκινώντας από θερμοκρασία 85 °C. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η παραγωγή του FAME αυξήθηκε με την αύξηση της θερμοκρασίας. Αν και το ποσοστό FAME που παράγεται με ζεόλιθο-β δεν είναι τόσο υψηλό όσο όταν χρησιμοποιείται το H₂SO₄, υπάρχει ακόμη περιθώριο βελτίωσης αλλάζοντας την αναλογία Si / Al σε ζεόλιθο [7].

21. Άλλες μέθοδοι παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη

21.1 Διαδικασία Mcgyan

Μια άλλη μέθοδος παραγωγής βιοντίζελ από έλαιο μικροφυκών είναι η μέθοδος Mcgyan, ένα απλοποιημένο διάγραμμα της οποίας φαίνεται στο σχήμα 25. Η αλκοόλη και το έλαιο εισέρχονται στο ρεύμα λιπιδίων υπό υψηλή πίεση και διέρχονται μέσω ενός αντιδραστήρα σταθερής κλίνης με θειικό μέταλλο προς καταλύτη σουλφιδίου σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση. Στον αντιδραστήρα, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα υφίστανται ταυτόχρονα μετεστεροποίηση και εστεροποίηση. Το μείγμα αποστάζεται για να ανακτηθεί η περίσσεια αλκοόλης και άλλων προϊόντων ενώ απομακρύνονται τα υπολείμματα ελεύθερων λιπαρών οξέων από το βιοντίζελ και αναδιανέμονται στον αντιδραστήρα.



Σχήμα 21. Σχηματική διάταξη διαδικασίας Mcgyan⁶³¹

Σύμφωνα με τους ερευνητές που ανέπτυξαν την παραπάνω μέθοδο, τα πλεονεκτήματα είναι αρκετά. Αυτή είναι μια πολύ γρήγορη διαδικασία και μπορεί να ολοκληρωθεί σε λίγα δευτερόλεπτα χωρίς την ανάγκη ισχυρών οξέων ή βάσεων. Δεδομένου ότι δεν επηρεάζεται από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και το νερό, μπορεί να εφαρμοστεί σε έλαια που προέρχονται από μια ποικιλία πρώτων υλών. Η τοποθέτηση του καταλύτη σε έναν αντιδραστήρα σταθερής κλίνης μειώνει την ανάγκη για συνεχή προσθήκη καταλύτη, η οποία βοηθά στη μείωση του κόστους και των αποβλήτων. Ένα άλλο πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι ο καταλύτης δεν δηλητηριάζεται

με την πάροδο του χρόνου ^[63]. Ωστόσο, το γεγονός ότι απαιτείται υψηλή πίεση και υψηλή θερμοκρασία οδηγεί σε αύξηση της κατανάλωσης ενέργειας, και ως αποτέλεσμα, το συνολικό ενεργειακό ισοζύγιο ολόκληρης της διαδικασίας μπορεί να είναι αρνητικό.

21.2 Μετεστεροποίηση in situ

Στην έρευνα των E.A. Ehimen et al. ^[25] εφαρμόστηκε in situ μετεστεροποίηση, χωρίς να προηγηθεί εκχύλιση των ελαίων από το μικροφύκος *Chlorella*. Για τη μετεστεροποίηση χρησιμοποιήθηκαν αποξηραμένα μικροφύκη και διάφοροι όγκοι μεθανόλης, ενώ ως καταλύτης χρησιμοποιήθηκε το θειικό οξύ. Η παραγωγή του βιοντίζελ ευνοείται σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και καλής ανάδευσης. Επίσης, αύξηση του όγκου της μεθανόλης, μέχρι μιας συγκεκριμένης τιμής δρα θετικά στην απόδοση της αντίδρασης. Περαιτέρω αύξηση του όγκου της μεθανόλης δεν επιφέρει σημαντική αλλαγή στα προϊόντα. Σημαντικό ρόλο παίζει και η υγρασία που έχει παραμείνει στη βιομάζα, αφού παρατηρείται ότι σε περίπτωση που αυτή είναι αυξημένη, η ισορροπία της αντίδρασης μετατοπίζεται προς τα αντιδρώντα με αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγή μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων. Το βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι οι μεγάλες ενεργειακές δαπάνες που απαιτούνται για την καλή ανάδευση και την ξήρανση της βιομάζας, την ανάκτηση της περίσσειας αλκοόλης και τον καθαρισμό του τελικού προϊόντος ^[25].

Στην έρευνα του P.D.Patil et al. ^[83] φάνηκε ότι με την προσθήκη υπερκρίσιμης μεθανόλης, επιτεύχθηκε η ταυτόχρονη εκχύλιση και μετεστεροποίηση υγρής βιομάζας μικροφυκών *Nannochloropsis*. Η χρήση νερού ως συν-διαλύτη επιτάχυνε τη μετατροπή του ελαίου στον αντίστοιχο μεθυλεστέρα. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, οι βέλτιστες συνθήκες είναι οι εξής: η αναλογία υγρών μικροφυκών προς μεθανόλη (βάρος / όγκος) είναι 1: 9 και η θερμοκρασία και ο χρόνος αντίδρασης είναι 225 °C και 25 λεπτά, αντίστοιχα. Εκτός από τον ρυθμό αντίδρασης, άλλα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου περιλαμβάνουν: μεγιστοποίηση της μετατροπής των τριγλυκεριδίων στους αντίστοιχους μεθυλεστέρες, εύκολος καθαρισμός προϊόντων και μειωμένη κατανάλωση ενέργειας, επειδή εκτός από το στάδιο εκχύλισης, το στάδιο ξήρανσης παραλείπεται επίσης.^[83]

Σε επόμενη μελέτη της ίδιας ομάδας, μελετήθηκε η επίδραση της ακτινοβολίας μικροκυμάτων στην ταυτόχρονη εκχύλιση και μετεστεροποίηση λαδιού από την ξηρή

ύλη του Nannochloropsis. Η χρήση ακτινοβολίας μικροκυμάτων μπορεί να απομακρύνει το λίπος από την ξηρή βιομάζα μικροφυκών σε μεγαλύτερο βαθμό και να το μετατρέψει σε βιοντίζελ πιο αποτελεσματικά. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, οι καλύτερες συνθήκες είναι: η αναλογία ξηρής βιομάζας προς μεθανόλη (κ.β.) είναι περίπου 1:12, η συγκέντρωση καταλύτη (KOH) είναι 2% κ.β. και ο χρόνος αντίδρασης είναι 4 λεπτά^[84].

22. Χαρακτηριστικά του βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών

Η ποιότητα και τα χαρακτηριστικά του βιοντίζελ που προέρχεται από έλαιο μικροφυκών είναι συγκρίσιμα με αυτά που προέρχονται από διαφορετικές πρώτες ύλες ^[52]. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τους Miao και Wu, τα χαρακτηριστικά του βιοντίζελ που παράγεται από έλαιο μικροφυκών *Chlorella* φαίνονται στον Πίνακα 27:

Πίνακας 24. Χαρακτηριστικά του βιοντίζελ από τα έλαια του μικροφύκου *Chlorella* συμβατικού ντίζελ και αντίστοιχες προδιαγραφές για το βιοντίζελ

| Ιδιότητες | Βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών | Συμβατικό ντίζελ | ASTM προδιαγραφές για το βιοντίζελ |
|--|--------------------------------|------------------|--|
| Πυκνότητα (kg/l) | 0.864 | 0.838 | 0.86 – 0.90 |
| Ιξώδες (mm ² s ⁻¹ , cSt στους 40° C) | 5.2 | 1.9 – 4.1 | 3.5 – 5.0 |
| Σημείο ανάφλεξης (°C) | 115 | 75 | min 100 |
| Σημείο τήξης (°C) | -12 | -50 έως 10 | - |
| Σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου (°C) | -11 | -3.0 (max -6.7) | κατά το καλοκαίρι max 0 κατά τον χειμώνα max < - 15 |
| Οξύτητα (mg KOH/g) | 0.374 | max 0.5 | max 0.5 |
| Θερμαντική αξία (MJ/kg) | 41 | 40-45 | - |
| Αναλογία H/C | 1.81 | 1.81 | - |

Αυτός ο πίνακας συγκρίνει την απόδοση του βιοντίζελ μικροφυκών με το συμβατικό ντίζελ. Τεκμηριώνονται επίσης οι προδιαγραφές ASTM για βιοντίζελ. Λαμβάνοντας υπόψη το σημείο ανάφλεξης του βιοντίζελ, παρατηρείται ότι είναι πιο σταθερό από το συμβατικό ντίζελ, γεγονός που το καθιστά ασφαλέστερο καύσιμο. Υπάρχει επίσης μια σημαντική διαφορά στην τιμή του σημείου αποκλεισμού του ψυχρού φίλτρου. Για το βιοντίζελ (-11oC), αυτή η τιμή είναι πολύ χαμηλότερη, γεγονός που του επιτρέπει να χρησιμοποιείται σε περιοχές όπου παρατηρούνται χαμηλότερες θερμοκρασίες.

Σε σύγκριση με το συμβατικό ντίζελ, παρατηρείται υψηλότερη ποιότητα βιοντίζελ λόγω της σύνθεσής του. Ο Πίνακας 28 δείχνει τη σύνθεση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων του βιοντίζελ που προέρχονται από έλαιο μικροφυκών *Chlorella* που αναπτύσσεται υπό διαφορετικές συνθήκες:

Πίνακας 25. Σύσταση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων στο βιοντίζελ από έλαιο του μικροφύκου *Chlorella* [37]

| Μεθυλεστέρες | % περιεκτικότητα σε μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων | | |
|--|--|--------------------------|------------------------------|
| | καλλιέργεια σε φιάλη | 5-1 αρχικής καλλιέργειας | 5-1 βελτιωμένης καλλιέργειας |
| C ₁₅ H ₃₀ O ₂ | 0.27 | 1.31 | 0.63 |
| C ₁₇ H ₃₄ O ₂ | 13.42 | 12.94 | 9.56 |
| C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 2.08 | 0.89 | 1.42 |
| C ₁₉ H ₃₄ O ₂ | 19.86 | 17.28 | 19.13 |
| C ₁₉ H ₃₆ O ₂ | 58.94 | 60.84 | 64 |
| C ₁₉ H ₃₈ O ₂ | 3.4 | 2.76 | 4.53 |
| C ₂₀ H ₃₈ O ₂ | 1.41 | 0.36 | - |
| C ₂₁ H ₄₀ O ₂ | - | 0.42 | 0.29 |
| C ₂₁ H ₄₂ O ₂ | 0.62 | 0.35 | 0.44 |

Τα είδη των μεθυλεστέρων που αποτελούν το συγκεκριμένο βιοντίζελ είναι κυρίως εννιά, ενώ τρεις από αυτούς (C₁₇H₃₄O₂, C₁₉H₃₄O₂, C₁₉H₃₆O₂) βρίσκονται σε μεγαλύτερη αναλογία [61].

23. Οικονομική ανάλυση

Προκειμένου η διαδικασία παραγωγής βιοντίζελ από λάδι μικροφυκών να είναι οικονομικά βιώσιμη, η τιμή του τελικού προϊόντος πρέπει να είναι ανταγωνιστική με την τρέχουσα τιμή του συμβατικού ντίζελ. Το κόστος παραγωγής βιομάζας των μικροφυκών δεν πρέπει να υπερβαίνει ένα συγκεκριμένο ποσό. Η μέθοδος υπολογισμού έχει ως εξής:

Θέτουμε τη βιομάζα του M (σε τόνους) που ισοδυναμεί με το ισοδύναμο ενέργειας ενός βαρελιού αργού πετρελαίου. Σύμφωνα με τον Yusuf Chisti ^[3], αυτή η ποσότητα υπολογίζεται σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση:

$$M = \frac{E_{\text{petroleum}}}{q(1-w)E_{\text{biogas}} + ywE_{\text{biodiesel}}}$$

όπου είναι:

$E_{\text{petroleum}}$: η ενέργεια που περιέχεται σε 1 βαρέλι αργού πετρελαίου (~6100 MJ)

q : ($\text{m}^3 \text{ ton}^{-1}$) ο όγκος βιοαερίου που παράγεται από την αναερόβια χώνευση της βιομάζας των μικροφυκών που απομένει (τυπική τιμή $400 \text{ m}^3 \text{ ton}^{-1}$)

w : το % κ.β. ποσοστό ελαίων στη βιομάζα

E_{biogas} : (MJ m^{-3}) η ενέργεια που περιέχεται στο βιοαέριο (τυπική τιμή 23.4 MJ m^{-3})

y : η απόδοση του βιοντίζελ από έλαια των μικροφυκών (τυπική τιμή 80%)

$E_{\text{biodiesel}}$: το μέσο ενεργειακό περιεχόμενο του βιοντίζελ (τυπική τιμή ~37 800 MJ ανά τόνο)

Χρησιμοποιώντας τυπικές τιμές, μπορούμε να υπολογίσουμε το M για οποιαδήποτε τιμή w . Υποθέτοντας ότι το κόστος μετατροπής 1 βαρελιού αργού πετρελαίου σε καύσιμο ισοδυναμεί με τη μετατροπή M τόνων βιομάζας μικροφυκών σε βιοενέργεια, το μέγιστο κόστος της βιομάζας δεν πρέπει να υπερβαίνει την τιμή πώλησης αργού πετρελαίου, δηλαδή:

$$\text{Αποδεκτή τιμή βιομάζας (\$/τόνο)} = \frac{\text{τιμή βαρελιού πετρελαίου (\$)}}{M}$$

Η τρέχουσα τιμή του αργού πετρελαίου είναι περίπου 100 \$ / βαρέλι (σύμφωνα με το <http://www.bloomberg.com/energy/>, η συγκεκριμένη τιμή στις 2 Μαρτίου 2020 ήταν 101,14 \$ / βαρέλι), επομένως η βιομάζα μικροφυκών με 55% πετρέλαιο περιεχόμενο Η τιμή εξόδου πρέπει να είναι μικρότερη από 340 \$ / τόνο.

Από τους φωτοβιοαντιδραστήρες και τις λίμνες, το εκτιμώμενο κόστος παραγωγής ενός κιλού βιομάζας από μικροφύκη είναι 2,95 δολάρια ΗΠΑ και 3,80 δολάρια ΗΠΑ αντίστοιχα, εξαλείφοντας έτσι το κόστος μηδενικού διοξειδίου του άνθρακα ^[11]. Αυτό σημαίνει ότι απαιτείται κατά μέσο όρο περίπου 3.000 \$ ανά τόνο βιομάζας μικροφυκών. Προφανώς, αυτή η τιμή πρέπει να μειωθεί κατά περίπου 9 φορές βελτιώνοντας την τεχνολογία παραγωγής και τη βιολογία των φυκών.

Εάν η ετήσια παραγωγή βιομάζας μικροφυκών φτάσει τους 10.000 τόνους, το κόστος παραγωγής ανά χιλιόγραμμο φωτοβιοαντιδραστήρων και δεξαμενών θα μειωθεί σε 0,47 US \$ και 0,60 US \$ αντίστοιχα. Υποθέτοντας ότι η περιεκτικότητα σε βιομάζα του παραγόμενου λαδιού είναι 30% κατά βάρος, το κόστος παραγωγής φωτοβιοαντιδραστήρων και δεξαμενών είναι 1,40 και 1,81 δολάρια ανά λίτρο λαδιού, αντίστοιχα ^[12].

Συνοπτικά, είναι απαραίτητο να μελετηθούν τρόποι μείωσης του συνολικού κόστους του βιοντίζελ που προέρχεται από μικροφύκη, προκειμένου να γίνει ευρέως αποδεκτό.

24. Τρόποι μείωσης του κόστους παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη

Η μείωση του κόστους του βιοντίζελ μπορεί να γίνει με βάση τα τρία παρακάτω σημεία:

1. μεγιστοποίηση της απόδοσης ελαίων από τα μικροφύκη,
2. παραγωγή βιοντίζελ με βάση τη στρατηγική παραγωγής βιοδιωλιστηρίου και
3. βελτίωση της τεχνολογίας των φωτοβιοαντιδραστήρων και των αβαθών λιμνών ^{[11][51]}

1. Μεγιστοποίηση της απόδοσης ελαίων από τα μικροφύκη

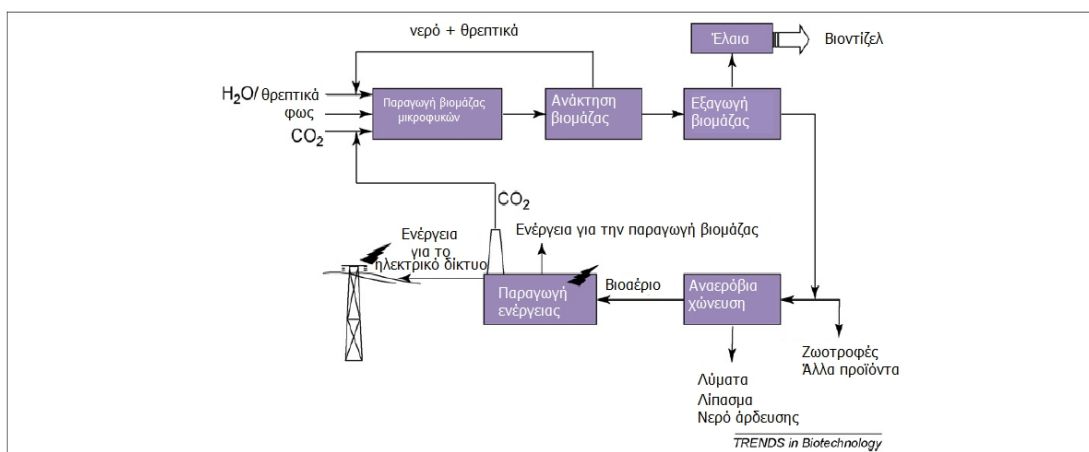
Όπως προαναφέρθηκε, αυτό μπορεί να επιτευχθεί επιλέγοντας κατάλληλα στελέχη, καλλιεργώντας τα υπό βέλτιστες συνθήκες και εφαρμόζοντας τεχνικές γενετικής μηχανικής.

2. Παραγωγή βιοντίζελ με βάση τη στρατηγική παραγωγής βιοδιωλιστηρίου

Σε ένα βιοδιωλιστήριο (Εικόνα 26), όλα τα συστατικά των πρώτων υλών πρέπει να χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων. Με αυτόν τον τρόπο,

το κόστος ολόκληρης της διαδικασίας μειώνεται [11]. Μετά την εξαγωγή του λαδιού που θα χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοντίζελ, η υπόλοιπη βιομάζα είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή ή να χρησιμοποιηθεί για τον εμπλουτισμό με άλλα συστατικά τις ζωοτροφές. [12] [26].

Επίσης μπορεί να υποστεί αναερόβια χώνευση για την παραγωγή βιοαερίου, το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για την κάλυψη των ενεργειακών αναγκών της παραγωγής βιομάζας από μικροφύκη [11]. Η παραγωγή του κύριου συστατικού του βιοαερίου που είναι το μεθάνιο επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους. Για παράδειγμα, αύξηση του υδραυλικού χρόνου παραμονής της βιομάζας σε συνδυασμό με τη μείωση της φόρτισής της στον αντιδραστήρα επιφέρει αύξηση της παραγωγής μεθανίου. Επίσης, η ενσωμάτωση της γλυκερόλης, που αποτελεί παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγή βιοντίζελ, στη διαδικασία αναερόβιας χώνευσης αυξάνει την παραγωγή του μεθανίου. Αν μάλιστα με την ταυτόχρονη χώνευση εναπομείνουσας βιομάζας και γλυκερόλης, αυξηθεί η αναλογία C/N στο υπόστρωμα σε 12.44 τότε η παρατηρούμενη αύξηση της παραγωγής του μεθανίου υπερβαίνει το 50% [26].



Σχήμα 22. Βιοδυλιστήριο [12]

Σύμφωνα με τον Yusuf Chisti, η ενεργειακή περιεκτικότητα του βιοαερίου που παράγεται με αυτόν τον τρόπο είναι 9.360 MJ / τόνο βιομάζας. Κατά το στάδιο της αναερόβιας πέψης, παράγονται λιπάσματα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και νερό που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για άρδευση. Η ανάπτυξη αυτών των προϊόντων μειώνει περαιτέρω το κόστος ολόκληρης της διαδικασίας [12].

Άλλα χρήσιμα προϊόντα που μπορούν να εξαχθούν από την εναπομένουσα βιομάζα μικροφυκών είναι πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, βιταμίνες, αντιοξειδωτικά, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, φυσικά χρώματα και χρωστικές ουσίες, σάκχαρα,

βιολογικά δραστικές ενώσεις υψηλής αξίας κ.λπ. Η απόδοση της βιομάζας στα παραπάνω συστατικά εξαρτάται από τον τύπο των μικροφυκών. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να υποστούν επεξεργασία και να χρησιμοποιηθούν στην ιατρική και στα προϊόντα ομορφιάς, συμβάλλοντας στη μείωση του κόστους παραγωγής βιοντίζελ.^[68]

3. Βελτίωση της τεχνολογίας των φωτοβιοαντιδραστήρων και των αβαθών λιμνών

Το βασικό πρόβλημα που πρέπει να λυθεί στους φωτοβιοαντιδραστήρες είναι ότι υπάρχει μια κεντρική περιοχή όπου το φως είναι δεν μπορεί να εισχωρήσει και έτσι η ένταση του φωτός σε αυτήν την περιοχή είναι πολύ κάτω από το επίπεδο κορεσμού, οπότε η βιομάζα των μικροφυκών δεν θα αυξηθεί στο μέγιστο. Αυτό το πρόβλημα επιλύεται με ανάδευση έτσι ώστε να εναλλάσσεται μεταξύ φωτεινών και σκοτεινών περιοχών. Προκειμένου να επιτευχθεί η μέγιστη παραγωγή βιομάζας, είναι απαραίτητο να προσδιοριστεί η συχνότητα αυτής της περιστροφής. Επιπλέον, η τεχνική ανάδευσης πρέπει να ελαχιστοποιεί τη βλάβη των κυττάρων μικροφυκών που προκαλείτε από το διατμητικό στρες. Ταυτόχρονα, θα πρέπει να προβλεφθεί με κάποιο τρόπο η απομόνωση της καλλιέργειας από το περιβάλλον, έτσι ώστε να μην πλήττονται από το εξωτερικό φως^[11].

Όσον αφορά τα συστήματα ανοιχτής ρηχής λίμνης, η τεχνολογία πρέπει να εφεύρει τεχνικές οι οποίες να βοηθούν στον περιορισμό της ανάπτυξης ανταγωνιστικών μικροφυκών ή άλλων μικροοργανισμών που ενδέχεται να μολύνουν τις καλλιέργειες. Επίσης, στην περίπτωση λιμνών, η ανάδευση πρέπει να διασφαλίζει ότι τα κύτταρα δεν θα υποστούν βλάβη λόγω της ανάπτυξης διατμητικής τάσης.

Ο συνδυασμός των σταθμών παραγωγής ενέργειας με καύση άνθρακα με τους σταθμούς βιοντίζελ από φύκια είναι ένας τρόπος ανακύκλωσης του διοξειδίου του άνθρακα. Ομοίως, για την καλλιέργεια μικροφυκών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί νερό από απόβλητα, το οποίο περιέχει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη της βιομάζας. Σε αυτή τη περίπτωση, η καλλιέργεια μικροφυκών βοηθά στην απομάκρυνση του αζώτου, του φωσφόρου και των μετάλλων από τα λύματα, συμβάλλοντας έτσι στον καθαρισμό τους. Επομένως, ο συνδυασμός επεξεργασίας λυμάτων και μείωσης διοξειδίου του άνθρακα παρέχει πρόσθετα οικονομικά κίνητρα λόγω της διατήρησης θρεπτικών ουσιών και καθαρού νερού. ^[51]

25. Βιωσιμότητα της μεθόδου παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη

Για να αξιολογηθεί η βιωσιμότητα της μεθόδου παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη μαζί με το κόστος της συνολικής διαδικασίας θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Ένα εργαλείο εκτίμησης των περιβαλλοντικών επιβαρύνσεων που συνδέονται με κάποιο προϊόν, μια διεργασία ή μια δραστηριότητα προσδιορίζοντας και ποσοτικοποιώντας την ενέργεια και τα υλικά που χρησιμοποιούνται, καθώς και τα απόβλητα που απελευθερώνονται στο περιβάλλον είναι η Ανάλυση Κύκλου Ζωής (Life Cycle Analysis, LCA).

Η μελέτη των A. L. Stephenson et al. ^[78] καλύπτει όλα τα στάδια της διαδικασίας παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη (*Chlorella vulgaris*) που αναπτύσσονται σε σωληνωτό βιοαντιδραστήρα με αντλία αέρα και ρηχές λίμνες. Σε αυτή τη μελέτη, μελετήθηκε το δυναμικό υπερθέρμανσης του πλανήτη (GWP) της παραπάνω διαδικασίας και η ενέργεια που απαιτείται για τα ορυκτά καύσιμα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, όταν η παραγωγικότητα λιπαρών μικροφυκών φτάνει τους 40 τόνους ανά εκτάριο ετησίως και τα μικροφύκη μεγαλώνουν στη λίμνη, η μέθοδος είναι περιβαλλοντικά βιώσιμη. Σε αυτήν την περίπτωση, το GWP μειώνεται κατά 80% σε σύγκριση με το ορυκτό ντίζελ ^[78].

Η μελέτη των Yang Jie et al. ^[28] ασχολείται με τις ανάγκες σε νερό και θρεπτικά συστατικά στην παραγωγή βιοντίζελ από μικροφύκη. Εάν αυτά τα υλικά δεν ανακυκλωθούν, απαιτούνται 3726 kg νερού, 0,33 kg αζώτου και 0,71 kg φωσφόρου για την παραγωγή 1 kg βιοντίζελ. Αντίθετα, η επαναχρησιμοποίηση νερού προϋπάρχουσας καλλιέργειας μειώνει τη χρήση καθαρού νερού και θρεπτικών ουσιών κατά 84% και 55%, αντίστοιχα, αυξάνοντας τις πιθανότητες αυτής της μεθόδου να είναι εφικτή. Επιπλέον, η χρήση θαλασσινού νερού ή λυμάτων μπορεί να μειώσει την κατανάλωση καθαρού νερού κατά 90%, ενώ εξαλείφει την ανάγκη για θρεπτικά συστατικά (εκτός από τον φωσφόρο) ^[28].

Η λύση στο πρόβλημα της κατανάλωσης ενέργειας στα διάφορα στάδια της παραγωγής βιοντίζελ από έλαιο μικροφυκών φαίνεται να είναι η χρήση μεθανίου που παράγεται από την αναερόβια πέψη της υπόλοιπης βιομάζας μετά την εξαγωγή λαδιού. Σύμφωνα με τους R. Harun et al. ^[38], η ηλεκτρική ενέργεια που παράγεται

από το μεθάνιο μπορεί να καλύψει όλα τα στάδια της παραγωγής βιοντίζελ και κάποια ενέργεια μπορεί να διανεμηθεί στο δίκτυο. Αυτή η λύση θεωρείται εφικτή μόνο όταν τα φύκια αναπτύσσονται σε ρηχές λίμνες. Ένα άλλο περιβαλλοντικό όφελος είναι ότι οι εκπομπές άνθρακα ολόκληρης της διαδικασίας μειώνονται κατά 75% [38].

26. Συμπεράσματα-Τελική πρόταση

Η τεχνολογία της παραγωγής βιοκαυσίμων από μικροφύκη βρίσκεται ακόμα σε πρώιμο επίπεδο αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η αποδοτικότητα των καλλιεργειών να μην είναι στο επιθυμητό επίπεδο κι έτσι οι υπόλοιπες διαδικασίες επεξεργασίας των μικροφυκών έως την εξαγωγή των λιπιδίων τους και εν τέλη την παραγωγή του βιοντίζελ να μην έχουν τον επιθυμητό βαθμό απόδοσης. Για την βελτιστοποίηση του θα πρέπει να ανακαλυφθούν καινοτόμες τεχνολογίες οι οποίες θα βοηθήσουν στη καλύτερη αξιοποίηση της βιομάζας των μικροφυκών, ούτως ώστε η παραγωγή βιοντίζελ από τα έλαια τους να γίνει βιώσιμη από οικονομική και περιβαλλοντική άποψη.

Όσον αφορά την Ελλάδα λόγω της γεωγραφικής της θέσης όσο και του κλίματος της που χαρακτηρίζετε από πολλούς μήνες ηλιοφάνειας τον χρόνο η ανάπτυξη καλλιεργειών μικροφυκών μπορεί να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική. Ωστόσο, οι μελέτες σχετικά με τα είδη των μικροφυκών που αναπτύσσονται στις θάλασσες της χώρας μας είναι περιορισμένες. Στην μελέτη των Anna Makri et al. [66], 16 στελέχη μικροφυκών συλλέχθηκαν από τις θάλασσες της Ελλάδας και ελέγχθηκαν για τα λιπίδια τους με απώτερο στόχο την παραγωγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) μέσω της υδατοκαλλιέργειας τους. Σύμφωνα με την έρευνα αυτή, τα συλλεχθέντα είδη χαρακτηρίζονται από χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, συνεπώς η καλλιέργεια τους θεωρείτε μη επικερδής για την παραγωγή βιοντίζελ. Επομένως, κρίνετε απαραίτητο να ενθαρρυνθεί η έρευνα προκειμένου να επικεντρωθεί στην εύρεση στελεχών με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια ή σε γενετικές και μεταβολικές τροποποιήσεις των υπαρχόντων στελεχών.

Παρόλα αυτά το μεγαλύτερο εμπόδιο για την ανάπτυξη της παραγωγής βιοντίζελ που παράγετε από έλαια μικροφυκών είναι το υψηλό επενδυτικό κόστος της ανάπτυξης της απαραίτητης υποδομής και το υψηλό κόστος ολόκληρης της

διεργασίας τους από το στάδιο της φύτευσης έως και τη διανομή του βιοντίζελ. Το κόστος της παραγωγικής διαδικασίας μπορεί να μειωθεί μέσω των διαφόρων μεθόδων που έχουν ήδη αναφερθεί, όπως η ανάπτυξη τεχνολογιών που αποσκοπούν στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των καλλιεργειών, της χρήσης αποβλήτων εργοστασίων και υγρών αποβλήτων ή τη χρήση του διοξειδίου του άνθρακα σε θαλασινό νερό για τη μείωση του κόστους των καλλιεργειών και της ανάπτυξης βιοδιυλιστηρίων.

Παρά τα εμπόδια, η έρευνα και η ανάπτυξη στον τομέα των βιοκαυσίμων είναι αναγκαίο να ενισχυθούν. Λόγω της αύξησης των τιμών των συμβατικών καυσίμων και της συνέχουσας πτώσης των αποθεμάτων τους η ανάγκη εύρεσης ανανεώσιμων πηγών ενέργειας όπως το βιοντίζελ από μικροφύκη έχει γίνει πιο μεγάλη από ποτέ.

Βιβλιογραφία

1. M. Azma, M.S. Mohamed, R. Mohamad, R.A. Rahim, A.B. Ariff, Improvement of medium composition for heterotrophic cultivation of green microalgae; *Tetraselmis suecica*; using response surface methodology, “Biochemical Engineering Journal” (2010), doi:10.1016/j.bej.2010.10.010
2. Balat Mustafa, Balat Havva, A critical review of bio-diesel as a vehicular fuel, “Energy Conversion and Management” 49 (2008) 2727–2741, doi:10.1016/j.enconman.2008.03.016
3. Balat Mustafa, Balat Havva, Progress in biodiesel processing, “Applied Energy” 87 (2010) 1815–1835, doi:10.1016/j.apenergy.2010.01.012
4. Basha Syed Ameer, Gopal K. Raja, Jebaraj S., A review on biodiesel production, combustion, emission and performance, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 13 (2009) 1628–1634, doi:10.1016/j.rser.2008.09.031
5. Berenblyum A. S., Danyushevsky V. Ya., Katsman E. A., Podoplelova T. A., Flid V. R., Production of Engine Fuels from Inedible Vegetable Oils and Fats,

- “Petroleum Chemistry”, 50 (4) (2010) 305–311, doi: 10.1134/S0965544110040080
6. Brennan Liam, Owende Philip, Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 14 (2010) 557–577, doi:10.1016/j.rser.2009.10.009
 7. A.Carrero, G. Vicente, R. Rodríguez, M. Linares, G.L. del Peso, Hierarchical zeolites as catalysts for biodiesel production from *Nannochloropsis* microalga oil, “Catalysis Today” (2010), doi:10.1016/j.cattod.2010.11.058
 8. http://www.chem.auth.gr/content/organic_lab/CHEM/EXTRACT.pdf
 9. www.phycology.gr
 10. Chen Meng, Tang Haiying, Ma Hongzhi, Holland Thomas C., Ng K.Y. Simon, Salley Steven O., Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*, “Bioresource Technology” (2010), doi 10.1016/j.biortech.2010.09.062
 11. Chisti Yusuf , Biodiesel from microalgae, “Biotechnology advances” 25 (2007) 294–306, doi:10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
 12. Chisti Yusuf , Biodiesel from microalgae beats bioethanol, “Trends in Biotechnology” (2008), doi:10.1016/j.tibtech.2007.12.002
 13. Μαρμάρας Β., Λαμπροπούλου-Μαρμάρα Μ., Κυτταρική Βιολογία, ΕΑΠ 2000
 14. Ζουμπούλης Α., Καραπάντσιος Θ., Μάτης Κ., Παύλος Μ., Στοιχεία Φυσικών Διεργασιών, Εκδόσεις Τζιόλα, 2009
 15. Demirbas Ayhan, Biofuels securing the planet’s future energy needs, “Energy Conversion and Management” 50 (2009) 2239–2249 , doi:10.1016/j.enconman.2009.05.010

16. Demirbas Ayhan, Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections, “Energy Conversion and Management” 49 (2008) 2106–2116, doi:10.1016/j.enconman.2008.02.020
17. Demirbas Ayhan, Importance of biodiesel as transportation fuel, “Energy Policy” 35 (2007) 4661–4670, doi:10.1016/j.enpol.2007.04.003
18. Demirbas Ayhan, New liquid biofuels from vegetable oils via catalytic pyrolysis, “Energy Education Science and Technology”, 21 (2008) 1-59.
19. Demirbas Ayhan, Progress and recent trends in biodiesel fuels, “Energy Conversion and Management” 50 (2009) 14–34, doi:10.1016/j.enconman.2008.09.001
20. Demirbas Ayhan, Use of algae as biofuel sources (2010), “Energy Conversion and Management” 51 (2010) 2738–2749 doi:10.1016/j.enconman.2010.06.010
21. Demirbas A, Fatih Demirbas M. Importance of algae oil as a source of biodiesel, “Energy Conversion and Management” (2010), doi:10.1016/j.enconman.2010.06.055
22. Deng Xiaodong, Li Yajun, Fei Xiaowen, Microalgae: A promising feedstock for biodiesel, “African Journal of Microbiology Research” 3(13) (2009) 1008-1014
23. Ziejewski M, Goettler H, Pratt GL, Comparative analysis of the long-term performance of a diesel engine on vegetable oil based alternative fuels, “Society of automotive engineers paper” no. 860301. SAE, Warrendale (PA);1986
24. Doan Thi-Thai Yen, Obbard Jeffrey Philip, Enhanced lipid production in *Nannochloropsis* sp. using fluorescence-activated cell sorting, “GCB Bioenergy” 3 (2011), doi: 10.1111/j.1757-1707.2010.01076.x
25. E.A. Ehimen, Z.F. Sun , C.G. Carrington, Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids, “Fuel” 89 (2010) 677–684, doi:10.1016/j.fuel.2009.10.011

26. E.A. Ehimen, Z.F. Sun, C.G. Carrington, E.J. Birch, J.J. Eaton-Rye, Anaerobic digestion of microalgae residues resulting from the biodiesel production process, “Applied Energy” (2010), doi:10.1016/j.apenergy.2010.10.020
27. L.D’Elia, A. Keyser, C. Young, Algae Biodiesel, (2010), Worcester Polytechnic Institute
28. Yang Jia, Xu Ming, Zhang Xuezhi, Hu Qiang, Sommerfeld Milton, Chen Yongsheng, Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance, “Bioresource Technology” 102 (2011) 159–165, doi:10.1016/j.biortech.2010.07.017
29. Fuentes-Grünewald Claudio, Garcés Esther, Rossi Sergio, Camp Jordi, Use of the dinoflagellate *Karlodinium veneficum* as a sustainable source of biodiesel production, “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” 36 (2009) 1215–1224, doi: 10.1007/s10295-009-0602-3
30. Fukuda Hideki, Kondo Akihiko, Noda Hideo, Biodiesel fuel production by transesterification of oils, “Journal of Bioscience and Bioengineering” 92 (5) (2001) 405-416.
31. Gallagher Brian J., The economics of producing biodiesel from algae, “Renewable Energy” (2010) 1-5, doi:10.1016/j.renene.2010.06.016
32. Gao Chunfang, Zhai Yan, Ding Yi, Wu Qingyu, Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga *Chlorella protothecoides*, “Applied Energy” 87 (2010) 756–761, doi:10.1016/j.apenergy.2009.09.006
33. Griffiths Melinda J., Harrison Susan T. L., Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production, “Journal of Applied Phycology” 21 (2009) 493–507, doi: 10.1007/s10811-008-9392-7
34. Xu Han, Miao Xiaoling, Wu Qingyu, High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters, “Journal of Biotechnology” 126 (2006) 499–507, doi:10.1016/j.jbiotec.2006.05.002

35. Gouveia Luisa, Oliveira Ana Cristina, Microalgae as a raw material for biofuels production , “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” 36 (2009) 269–274, doi:10.1007/s10295-008-0495-6
36. Halim Ronald, Gladman Brendan, Danquah Michael K., Webley Paul A., Oil extraction from microalgae for biodiesel production. “Bioresource Technology” (2010), doi:10.1016/j.biortech.2010.06.136
37. Xiong Wei, Li Xiufeng, Xiang Jinyi, Wu Qingyu, High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production, “Applied Microbiology and Biotechnology” 78 (2007) 29–36, doi: 10.1007/s00253-007-1285-1 Harun Razif, Davidson Michael, Doyle Mark, Gopiraj Rajprathab, Danquah Michael, Forde Gareth, Technoeconomic analysis of an integrated microalgae photobioreactor, biodiesel and biogas production facility, “Biomass and Bioenergy” (2010) 1-7, doi:10.1016/j.biombioe.2010.10.007
38. Z. Helwani, M.R. Othman, N. Aziz, W.J.N. Fernando, J. Kim Z., Technologies for production of biodiesel focusing on green catalytic techniques: A review, “Fuel Processing Technology” 90 (2009) 1502–1514, doi:10.1016/j.fuproc.2009.07.016
39. Z. Helwani, M.R. Othman, N. Aziz, J. Kim, W.J.N. Fernando, Solid heterogeneous catalysts for transesterification of triglycerides with methanol: A review, “Applied Catalysis A: General” 363 (2009) 1–10, doi:10.1016/j.apcata.2009.05.021
40. Heredia-Arroyo Tamarys, Wei Wei, Hu Bo, Oil Accumulation via Heterotrophic/Mixotrophic *Chlorella protothecoides*, “Biotechnology and Applied Biochemistry” (2010), doi: 10.1007/s12010-010-8974-4
41. Hoffman, Vern, Biodiesel fuel, (2003), NDSU Extension Service, North Dakota State University of Agriculture, Applied Science and US Department of Agriculture cooperating, Fargo, North Dakota

42. Hsieh Chih-Hung, Wu Wen-Teng, A novel photobioreactor with transparent rectangular chambers for cultivation of microalgae, "Biochemical Engineering Journal" 46 (2009) 300–305 doi:10.1016/j.bej.2009.06.004
43. Xin Li, Hong-ying Hu, Jia Yang, Yin-hu Wu, Enhancement effect of ethyl-2-methyl acetoacetate on triacylglycerols production, "Bioresource Technology" 101 (2010) 9819–9821, doi:10.1016/j.biortech.2010.07.103
44. Huang GuanHua, Chen Feng, Wei Dong, Zhang XueWu, Chen Gu, Biodiesel production by microalgal biotechnology, "Applied Energy" 87 (2010) 38–46, doi:10.1016/j.apenergy.2009.06.016
45. Hussain Khalid, Nawaz Khalid, Majeet Abdul, Lin Feng, Economically Effective Potential of Algae for biofuel production, "World Applied Sciences Journal" 9 (11) (2010) 1313-1323
46. Janaun Jidon, Ellis Naoko, Perspectives on biodiesel as a sustainable fuel, "Renewable and Sustainable Energy Reviews" 14 (2010) 1312–1320, doi:10.1016/j.rser.2009.12.011
47. Jegannathan Kenthorai Raman, Chan Eng-Seng, Ravindra Pogaku, Harnessing biofuels: A global Renaissance in energy production?, "Renewable and Sustainable Energy Reviews" 13 (2009) 2163–2168, doi:10.1016/j.rser.2009.01.012
48. Jorquera Orlando, Kiperstok Asher, Sales Emerson A., Embiruçu Marcelo, Ghirardi Maria L., Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors, "Bioresource Technology" 101 (2010) 1406–1413, doi:10.1016/j.biortech.2009.09.038
49. Xin Li, Hong-ying Hu, Yu-ping Zhang, Growth and Lipid Accumulation Properties of a Freshwater Microalga *Scenedesmus* sp. under Different Cultivation Temperature, "Bioresource Technology" 102 (2011) 3098–3102, doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.055
50. Khan Shakeel A., Rashmi, Hussain Mir Z., Prasad S., Banerjee U.C., Prospects of biodiesel production from microalgae in India, "Renewable and

- Sustainable Energy Reviews” 13 (2009) 2361–2372, doi:10.1016/j.rser.2009.04.005
51. Kim Dong-Geol, La Hyun-Joon, Ahn Chi-Yong, Park Yong-Ha, Oh Hee-Mock, Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures, “Bioresource Technology” 102 (2011) 3163–3168, doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.108
 52. Wang Yong, Ou Shiyi, Liua Pengzhan, Zhang Zhisen, Preparation of biodiesel from waste cooking oil via two-step catalyzed process , “Energy Conversion and Management” 48 (2007) 184–188, doi:10.1016/j.enconman.2006.04.016
 53. Knothe Gerhard, Jon Van Gerpen, Jürgen Krahl, The Biodiesel Handbook, (2005).
 54. Lee Andrew K., Lewis David M., Ashman Peter J., Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel, “Journal of Applied Phycology” 21 (2009) 559–567 doi:10.1007/s10811-008-9391-8
 55. Li Penglin, Miao Xiaoling, Li Rongxiu, Zhong Jianjiang, In Situ Biodiesel Production from Fast-Growing and High Oil Content *Chlorella pyrenoidosa* in Rice Straw Hydrolysate, “Journal of Biomedicine and Biotechnology” (2011), doi:10.1155/2011/141207
 56. Vijayaraghavan Krishnan, Hemanathan K., Biodiesel Production from Freshwater Algae, “Energy and Fuels” 23 (2009) 5448–5453, doi:10.1021/ef9006033
 57. Liang Yanna, Sarkany Nicolas, Cui Yi, Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions, “Biotechnology Letters” 31 (2009) 1043–1049, doi: 10.1007/s10529-009-9975-7
 58. Liu Jin, Huang Junchao, Sun Zheng, Zhong Yujuan, Jiang Yue, Chen Feng, Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: Assessment of algal oils for biodiesel production,

- “Bioresource Technology” 102 (2011) 106–110
doi:10.1016/j.biortech.2010.06.017
59. Liu Zhi-Yuan, Wang Guang-Ce, Zhou Bai-Cheng, Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*, “Bioresource Technology” 99 (2008) 4717–4722, doi:10.1016/j.biortech.2007.09.073
 60. Lu Yue, Zhai Yan, Liu Minsheng, Wu Qingyu, Biodiesel production from algal oil using cassava (*Manihot esculenta* Crantz) as feedstock, “Journal of Applied Phycology” (2009), doi: 10.1007/s10811-009-9496-8
 61. T.J.Lundquist, I.C. Woertz, N.W.T. Quinn, J.R. Benemann, A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production (2010), Energy Biosciences Institute, University of California, Berkeley, California.
 62. P.T. Vasudevan , Michael Briggs, Biodiesel production—current state of the art and challenges, “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” 35 (2008) 421–430, doi:10.1007/s10295-008-0312-2
 63. Umdu Emin Selahattin, Tuncer Mert, Seker Erol, Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga’s lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts, “Bioresource Technology” 100 (2009) 2828–2831, doi:10.1016/j.biortech.2008.12.027 2009-02-07
 64. Machacon HTC, Shiga S, KarasawaT, Nakamura H. Performance and emission characteristics of a diesel engine fueled with coconut oil-diesel fuel blend, “Biomass Bioenergy” 20 (2001) 63–9, doi:10.1016/S0961-9534(00)00059-3
 65. Um Byung-Hwan, Kim Young-Soo, Review:A chance for Korea to advance algal-biodiesel technology,“Journal of Industrial and Engineering Chemistry” 15 (2009) 1–7, doi:10.1016/j.jiec.2008.08.002
 66. J.M. Marchetti, V.U. Miguel, A.F. Errazu, Possible methods for biodiesel production, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 11 (2007) 1300–1311, doi:10.1016/j.rser.2005.08.006

67. Mata Teresa M., Martins Antonio A., Caetano Nidia. S., Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 14 (2010) 217–232, doi:10.1016/j.rser.2009.07.020
68. L.C. Meher, D. Vidya Sagar, S.N. Naik , Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 10 (2006) 248–268, doi:10.1016/j.rser.2004.09.002
69. L.C. Meher , Vidya S.S. Dharmagadda , S.N. Naik, Optimization of alkali-catalyzed transesterification of *Pongamia pinnata* oil for production of biodiesel, “Bioresource Technology” 97 (2006) 1392–1397, doi:10.1016/j.biortech.2005.07.03
70. W. H. Thomas, T. G. Tornabene, J. Weissman (1984), Screening for Lipid Yielding Microalgae: Activities for 1983
71. Miao Xiaoling, Wu Qingyu, Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil, “Bioresource Technology” 97 (2006) 841–846, doi:10.1016/j.biortech.2005.04.008
72. Mitsufumi Matsumoto, Hiroshi Sugiyama, Yoshiaki Maeda, Reiko Sato, Tsuyoshi Tanaka, Tadashi Matsunaga, Marine Diatom, *Navicula* sp. Strain JPCC DA0580 and Marine Green Alga, *Chlorella* sp. Strain NKG400014 as Potential Sources for Biodiesel Production, “Applied Biochemistry and Biotechnology” 161 (2010) 483–490, doi:10.1007/s12010-009-8766-x
73. Mo Xunhua, López Dora E., Suwannakarn Kaewta, Liu Yijun, Lotero Edgar, James G. Goodwin Jr., Lu Changqing, Activation and deactivation characteristics of sulfonated carbon catalysts, “Journal of Catalysis” 254 (2008) 332–338, doi:10.1016/j.jcat.2008.01.011
74. Moser Bryan R., Biodiesel production, properties, and feedstocks, “In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant” 45 (2009) 229–266, doi:10.1007/s11627-009-9204-z

75. Murillo S, Miguez JL, Porteiro J, Granada E, Moran JC, Performance and exhaust emissions in the use of biodiesel in outboard diesel engines, “Fuel” 86 (2007) 1765–1771, [doi:10.1016/j.fuel.2006.11.031](https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.11.031)
76. A. Sukenik, G. Shelef, Algal Autoflocculation-Verification and Proposed Mechanism, “Biotechnology and Bioengineering”, 25 (1984) 142-147, [doi:10.1002/bit.260260206](https://doi.org/10.1002/bit.260260206)
77. Nagy Máté, Kerr Brian J., Ziemer Cherie J., Ragauskas Arthur J., Phosphitylation and quantitative ³¹P NMR analysis of partially substituted biodiesel glycerols, “Fuel” 88 (2009) 1793–1797, [doi:10.1016/j.fuel.2009.01.020](https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.01.020)
78. L. Stryer, J. M. Berg, J. L. Tymoczko, Βιοχημεία, 2005
79. Palligarnai T. Vasudevan , Michael Briggs, Biodiesel production—current state of the art and challenges, “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” 35 (2008) 421–430, [doi: 10.1007/s10295-008-0312-2](https://doi.org/10.1007/s10295-008-0312-2)
80. Palligarnai T. Vasudevan, Boyi Fu, Environmentally Sustainable Biofuels: Advances in Biodiesel Research, “Waste and Biomass Valorization” 1 (2010) 47–63, [doi:10.1007/s12649-009-9002-1](https://doi.org/10.1007/s12649-009-9002-1)
81. Pardo Y., Sánchez E., and Kafarov V., Life cycle assessment of third generation biofuels production, “Chemical Engineering Transactions”, 21 (2010) 1177-1182, [doi: 10.3303/CET1021197](https://doi.org/10.3303/CET1021197)
82. Stephenson Anna L., Kazamia Elena, Dennis John S., Howe Christopher J., Scott Stuart A., Smith Alison G., Life-Cycle Assessment of Potential Algal Biodiesel Production in the United Kingdom: A Comparison of Raceways and Air-Lift Tubular Bioreactors, “Energy Fuels” 24 (2010) 4062–4077, [doi:10.1021/ef1003123](https://doi.org/10.1021/ef1003123)
83. Patil, P.D., Gude, V.G., Mannarswamy, A., Cooke, P., Munson-McGee, S., Nirmalakhandan, N., Lammers, P., Deng, S., Optimization of microwave-assisted transesterification of dry algal biomass using response surface methodology, “Bioresource Technology” 102 (2011) 1399–1405, [doi: 10.1016/j.biortech.2010.09.046](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.046)

84. Peterson CL, Reece DL, Hammond BJ, Thompson JC, Beck S, Commercialization of Idaho biodiesel (HySEE) from ethanol and waste vegetable oil. ASAE Paper No. 956738; 1995. St. Joseph, MI: ASAE.
85. Sivasamy Arumugam, Cheah Kien Yoo, Fornasiero Paolo, Kemausuor Francis, Zinoviev Sergey, Miertus Stanislav, Catalytic applications in production of biodiesel from vegetable oils ,“ChemSusChem” 2 (2009) 278 – 300, doi: 10.1002/cssc.200800253
86. da Silva Teresa Lopes, Reis Alberto, Medeiros Roberto, Oliveira Ana Cristina, Gouveia Luisa, Oil Production Towards Biofuel from Autotrophic Microalgae Semicontinuous Cultivations Monitorized by Flow Cytometry, “Applied Biochemistry and Biotechnology” 159 (2009) 568–578, doi: 10.1007/s12010-008-8443-5
87. Puhan Sukumar, Vedaraman N, Sankaranarayanan G, Boppana V, Bharat Ram, Performance and emission study of Mahua oil (*Madhuca indica* oil) ethyl ester in a 4-stroke natural aspirated direct injection diesel engine, “Renewable Energy” 30 (2005) 1269–1278, doi:10.1016/j.renene.2004.09.010
88. Shimada Yuji, Watanabe Yomi, Sugihara Akio, Tominaga Yoshio, Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing, “Journal of Molecular Catalysis B”, 17 (2002) 133–142, doi:10.1016/S1381-1177(02)00020-6
89. Raetz Kevin, Challenges and Advances in making microalgae biomass a cost efficient source of biodiesel, “Basic Biotechnology” 5 (2009), 37-43
90. Raheman H, Phadatare AG. Diesel engine emissions and performance from blends of karanja methyl ester and diesel, “Biomass Bioenergy” 27 (2004) 393–397, doi:10.1016/j.biombioe.2004.03.002
91. Sheng-Yi Chiu, Chien-Ya Kao, Ming-Ta Tsai, Seow-Chin Ong, Chiun-Hsun Chen, Chih-Sheng Lin, Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration, “Bioresource Technology” 100 (2009) 833–838 doi:10.1016/j.biortech.2008.06.061

92. J.F. Reyes, P.E. Malverde, P.S. Melin, J.P. De Bruijn, Biodiesel production in a jet flow stirred reactor, “Fuel” 89 (2010) 3093–3098, doi:10.1016/j.fuel.2010.06.002
93. Sharma Y.C., Singh B., Upadhyay S.N., Advancements in development and characterization of biodiesel: A review, “Fuel” 87 (2008) 2355–2373, doi:10.1016/j.fuel.2008.01.014
94. L. Rodolfi, G.C. Zittelli, N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini, M. R. Tredici, Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor “Biotechnology and Bioengineering” 102 (2009) 100-112, doi: 10.1002/bit.22033
95. Rupprecht Jens, From systems biology to fuel—*Chlamydomonas reinhardtii* as a model for a systems biology approach to improve biohydrogen production, “Journal of Biotechnology” 142 (2009) 10–20, doi:10.1016/j.jbiotec.2009.02.008
96. Schuchardt Ulf, Vargas Rogério Matheus, Gelbard Georges , Alkylguanidines as catalysts for the transesterification of rapeseed oil, “Journal of Molecular Catalysis A: Chemical” 99 (1995) 65-70, doi:10.1016/1381-1169(95)00039-9
97. Sahoo PK, Das LM, Babu MKG, Naik SN, Biodiesel development from high acid value polanga seed oil and performance evaluation in a CI engine, “Fuel” 86 (2007) 448–454, doi:10.1016/j.fuel.2006.07.025
98. A. Salis, M. Nicolo, S. Guglielmino, V. Solinas, Biodiesel from Microalgae, “Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology” (2010) 2827-2839, doi: 10.1007/978-3-540-77587-4_210,
99. Sarmidi Amin, Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae, “Energy Conversion and Management” 50 (2009) 1834–1840 doi:10.1016/j.enconman.2009.03.001
100. Schenk Peer M., Thomas-Hall Skye R., Stephens Evan, Marx Ute C., Mussnug Jan H, Posten Clemens, Kruse Olaf, Hankamer Ben, Second generation biofuels, high-efficiency microalgae for Biodiesel Production, “Bioenergy Research” 1 (2008) 20–43, doi:10.1007/s12155-008-9008-8

