



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ
ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΣΕ ΕΤΕΡΟΤΡΟΦΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ
ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Παναγιώτης Δημήτριος Βυρσωκινός

Επιβλέπωντας Επίκουρος καθηγητής Κακάβας Κωνσταντίνος

Λάρισα, Φεβρουάριος, 2025

Πίνακας περιεχομένων

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
1.1 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΒΙΩΣΙΜΕΣ ΛΥΣΕΙΣ	7
1.2. ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	8
1.2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ	8
1.2.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ	9
1.2.2.1 ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	9
1.2.2.2 ΕΥΚΑΡΙΩΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ	11
1.2.3. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ	13
1.2.3.1. ΑΝΟΙΧΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ	13
1.2.3.2 ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ	15
1.2.4.1 ΦΩΤΙΣΜΟΣ	16
1.2.4.2 ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ	18
1.2.4.3 ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ	19
1.2.4.4 pH	20
1.2.5 ΑΦΟΜΟΙΩΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ	23
1.2.5.1 ΑΝΘΡΑΚΑΣ	23
1.2.5.2 ΓΛΥΚΕΡΟΛΗ	25
1.2.5.3 ΓΛΥΚΟΖΗ	26
1.2.5.4 ΦΡΟΥΚΤΟΖΗ	27
1.2.5.5 ΑΙΘΑΝΟΛΗ	27
1.2.5.6 ΜΕΘΑΝΟΛΗ	28
1.2.5.7 ΑΖΩΤΟ	28
1.2.5.8 ΦΩΣΦΟΡΟΣ	31
1.2.5.9 ΘΕΙΟ	31
1.2.6. ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ	33
1.2.6.1 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ	33
1.2.6.2 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ	35
1.2.6.3 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ	37

1.2.6.4 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΟΝ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ	39
1.3 CHLORELLA SOROKINIANA.....	40
Εικόνα 9: Παραγωγή Βιοκαυσίμου μέσω του πράσινου μικροφύκου Chlorella sorokiniana	41
1.3.1 ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ CHLORELLA SOROKINIANA	41
1.3.1.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ ΚΑΙ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΟΥ	42
1.3.1.2 ΧΡΗΣΗ ΣΤΗΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	43
2. ΜΕΘΟΔΟΣ	45
2.1. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ CHLORELLA SOROKINIANA	45
2.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ABTS+	47
2.2.1 ABTS ⁺ SCAVENGING ASSAY.....	47
2.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	48
2.2.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ.....	49
2.3 ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH.....	49
2.4 ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN	50
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	51
3.1 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΞΕΤΑΣΤΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΕΡΕΥΝΑ.....	51
3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ CHLORELLA SOROKINIANA	52
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	57
4.1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ	57
4.2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	59
4.3 ΠΙΘΑΝΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΠΑΡΑΧΘΕΙΣΑΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΣ CHLORELLA SOROKINIANA.....	59
4.4 ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΟΠΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	60
4.4.1 ΟΛΙΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ	60
4.4.2 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΜΑΤΙΚΗ ΠΟΛΙΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ	61
4.4.3 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΕΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΕΣ	62
4.5 ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ.....	62
4.5.1 ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΩΝ.....	62
4.5.2 ΟΛΙΣΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ	62
Βιβλιογραφία	63

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Κακάβα για την πολύτιμη βοήθεια και χρόνο που αφιέρωσε για την εκπόνηση της πτυχιακής διατριβής μου καθώς για την ατελείωτη υπομονή που έδειξε καθ'όλη την διάρκεια του πειράματος. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον κ. Δημήτριο Λαδά για τις επιπρόσθετες κατευθυντήριες οδηγίες του.

Όλο αυτό δεν θα ήταν εφικτό χωρίς την διαρκή στήριξη και παρότρυνση των γονέων μου, οι οποίοι με βοήθησαν με κάθε δυνατό τρόπο.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη διερευνά την αξιοποίηση του αζώτου από διάφορες πηγές οργανικού υποστρώματος κατά την ετεροτροφική ανάπτυξη μικροφύκων και συγκεκριμένα του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana*. Στο πλαίσιο της μελέτης, πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια στελεχών του συγκεκριμένου μικροφύκου σε δεξαμενές με νερό και πέντε διαφορετικά οργανικά υποστρώματα: D-γλυκόζη, φρουκτόζη, γλυκερίνη, αιθανόλη και μεθανόλη. Παράλληλα, χρησιμοποιήθηκαν ανόργανα άλατα για την παροχή βασικών μακροθρεπτικών στοιχείων όπως ο φώσφορος και το κάλιο, ενώ διατηρήθηκε συνεχής παροχή αζώτου σε όλες τις δεξαμενές, για την διασφάλιση της ανάπτυξης. Καταγράφηκαν αναλυτικά οι παράμετροι καλλιέργειας, συμπεριλαμβανομένων των συνθηκών περιβάλλοντος και της σύνθεσης των υποστρωμάτων, ώστε να αξιολογηθεί η αποδοτικότητα του κάθε υποστρώματος τόσο στην παραγωγή βιομάζας όσο και στη βιοχημική του απόδοση.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η φρουκτόζη και η αιθανόλη ήταν τα πιο αποδοτικά υποστρώματα για την παραγωγή βιομάζας, αποδίδοντας 6,88 gr και 6,77 gr αντίστοιχα. Η γλυκερίνη ξεχώρισε για τη σημαντική αντιοξειδωτική της δράση, όπως φαίνεται από τις υψηλές τιμές αναστολής DPPH και ABTS, ενώ τα υποστρώματα D-γλυκόζη και μεθανόλη παρουσίασαν χαμηλότερες αποδόσεις τόσο στην παραγωγή βιομάζας όσο και στην βιοχημική τους απόδοση.

Συνολικά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η χρήση υποστρωμάτων, όπως η φρουκτόζη, η αιθανόλη και η γλυκερίνη, μπορεί να ενισχύσει τη βιωσιμότητα της παραγωγής βιομάζας. Τα ευρήματα υποδεικνύουν τη δυναμική αυτών των υποστρωμάτων για τη βιώσιμη ανάπτυξη του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* και τη χρήση σε βιομηχανικές εφαρμογές, συμβάλλοντας στη μείωση της εξάρτησης από ορυκτά καύσιμα.

Λέξεις Κλειδιά: Άζωτο, Βιομάζα, Μικροφύκη, Περιβάλλον, *Chlorella sorokiniana*, Αξιοποίηση

ABSTRACT

Investigation of Biomass Productivity in Heterotrophic Microalgae Cultivation

This study investigates the utilization of nitrogen from various sources of organic substrates during the heterotrophic growth of microalgae, specifically the microalga *Chlorella sorokiniana*. As part of the study, strains of this microalga were grown in tanks with water and five different organic substrates: D-glucose, fructose, glycerol, ethanol, and methanol. In parallel, inorganic salts were used to provide essential macronutrients such as phosphorus and potassium, while a continuous supply of nitrogen was maintained in all tanks to ensure growth. The cultivation parameters, including environmental conditions and substrate composition, were carefully recorded to assess the efficiency of each substrate in terms of biomass production and biochemical performance.

The results showed that fructose and ethanol were the most efficient substrates for biomass production, yielding 6.88 gr and 6.77 gr, respectively. Glycerol stood out for its significant antioxidant activity, as evidenced by high DPPH and ABTS inhibition values, while the substrates D-glucose and methanol showed lower yields both in biomass production and biochemical performance.

Overall, the results suggest that the use of substrates such as fructose, ethanol, and glycerol can enhance the sustainability of biomass production. The findings indicate the potential of these substrates for the sustainable development of *Chlorella sorokiniana* and their use in industrial applications, contributing to the reduction of dependence on fossil fuels.

Keywords: Nitrogen, Biomass, Microalgae, Environment, *Chlorella sorokiniana*, Utilization.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΒΙΩΣΙΜΕΣ ΛΥΣΕΙΣ

Η τεχνολογική εξέλιξη έχει αποδειχθεί καίρια για το ανθρώπινο είδος, με πολύ γνωστά οφέλη όπως η μοντέρνα ιατρική, η δημιουργία συγκοινωνιών και γενικότερα η άνεση που έχει προσφέρει ως τώρα. Όταν όμως λαμβάνονται υπόψη οι πόροι που χρησιμοποιούνται για την επίτευξη αυτής της πολυτέλειας, φανερό γίνεται η περιβαλλοντική επιβάρυνση με τους ρύπους οι οποίοι εκπέμπονται από την καύση των μηχανημάτων και βλάπτουν την ατμόσφαιρα και σαφώς τον άνθρωπο.

Η κακή διαχείριση των φυσικών πόρων αποτελεί μια από τις σημαντικότερες προκλήσεις που αντιμετωπίζει η ανθρωπότητα σήμερα. Είτε πρόκειται για νερό, δάση, ενέργεια ή μεταλλικά ορυκτά, η αλόγιστη χρήση και εκμετάλλευση των πόρων αυτών οδηγεί σε σοβαρές περιβαλλοντικές, οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις. Ένα κλασικό παράδειγμα κακής διαχείρισης είναι η υπεράντληση των υδάτινων πόρων. Σε πολλές περιοχές, η υπερβολική χρήση νερού για γεωργικούς και βιομηχανικούς σκοπούς έχει οδηγήσει στην αποξήρανση ποταμών και λιμνών, στην πτώση της στάθμης των υπόγειων υδροφορέων και στην υποβάθμιση της ποιότητας του νερού λόγω ρύπανσης. Η λίμνη Αράλη στην Κεντρική Ασία, για παράδειγμα, έχει σχεδόν εξαφανιστεί λόγω κακής διαχείρισης, επηρεάζοντας τη βιοποικιλότητα, την αλιεία και τις τοπικές κοινότητες (United Nations Environment Programme, 2021).

Παράλληλα, η κακή διαχείριση των δασών προκαλεί αποψίλωση, με αποτέλεσμα την απώλεια βιοποικιλότητας, τη διάβρωση των εδαφών και την απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα. Στην Ελλάδα, οι επαναλαμβανόμενες δασικές πυρκαγιές, σε συνδυασμό με την ανεπαρκή διαχείριση των δασικών πόρων, έχουν οδηγήσει σε σημαντικές περιβαλλοντικές καταστροφές. Επίσης, οι ανθρωπογενείς δραστηριότητες, όπως η παράνομη υλοτομία και η επέκταση αστικών περιοχών εις βάρος φυσικών οικοσυστημάτων, συμβάλλουν στην επιδείνωση της κατάστασης (WWF Ελλάς, 2022).

Η κακή διαχείριση των πόρων δεν περιορίζεται μόνο στις περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Έχει και σοβαρές οικονομικές συνέπειες. Η εξάντληση φυσικών πόρων αυξάνει το κόστος παραγωγής αγαθών, καθώς οι εταιρείες πρέπει να αναζητούν εναλλακτικές ή να εισάγουν πρώτες ύλες από άλλες περιοχές (Spoudai, 2017). Επιπλέον, η υπερεκμετάλλευση οδηγεί σε μείωση της παραγωγικότητας, όπως παρατηρείται στη γεωργία όπου η διάβρωση και η αλάτωση των εδαφών μειώνουν τις αποδόσεις καλλιεργειών. Αυτό έχει άμεσες επιπτώσεις στη διατροφική ασφάλεια και τις τοπικές οικονομίες, ιδιαίτερα σε χώρες που εξαρτώνται έντονα από τη γεωργία.

Από κοινωνική άποψη, η κακή διαχείριση των φυσικών πόρων επιδεινώνει τις ανισότητες. Οι κοινότητες που βασίζονται σε αυτούς για την επιβίωσή τους συχνά πλήττονται περισσότερο. Οι επιπτώσεις αυτές επιδεινώνουν τις κοινωνικές εντάσεις, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις οδηγούν ακόμη και σε βίαιες συγκρούσεις για τον έλεγχο των διαθέσιμων πόρων (FAO, 2021).

Η αναζήτηση βιώσιμων λύσεων για την αντιμετώπιση των περιβαλλοντικών προκλήσεων, και συγκεκριμένα, για την προαγωγή της ενεργειακής βιωσιμότητας, τη μείωση εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα, και βελτιστοποίηση της εκτεταμένης καύσης έχει οδηγήσει τους επιστήμονες να εξετάσουν τα μικροφύκη ως μια από τις πιο υποσχόμενες επιλογές για την παραγωγή προϊόντων φιλικών προς το περιβάλλον. Τα μικροφύκη μπορούν επίσης να αξιοποιηθούν στην παραγωγή πολύτιμων θρεπτικών συστατικών για την ενίσχυση της διατροφικής ασφάλειας και στην καθαρή επεξεργασία λυμάτων. Αυτή η πολυλειτουργική χρήση τα καθιστά ιδανική λύση για την ταυτόχρονη αντιμετώπιση περιβαλλοντικών και κοινωνικών προκλήσεων, συμβάλλοντας σε ένα πιο βιώσιμο μέλλον.

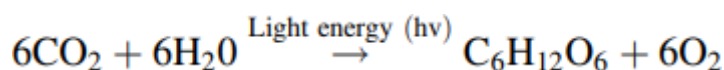
1.2. ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

1.2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα μικροφύκη είναι μικροσκοπικοί, ευκαρυωτικοί και προκαρυωτικοί, φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που ανήκουν στο φυτικό βασίλειο και διαδραματίζουν καίριο ρόλο στους φυσικούς κύκλους του πλανήτη μας. Αποτελούν μια από τις παλαιότερες μορφές ζωής στην Γη, με ιστορία που εκτείνεται σε δισεκατομμύρια χρόνια. Το μέγεθος τους κυμαίνεται από 0,2 μm έως και 100 μm ή και μεγαλύτερα (Chen κ.συν., 2013), και μπορούν να αναπτυχθούν σε ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες (Saini κ.συν., 2021). Πιο συγκεκριμένα, αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να βρεθούν σε διάφορα περιβάλλοντα, από γλυκά και θαλάσσια ύδατα μέχρι υγροτόπους και εδάφη, και είναι ικανά να προσαρμόζονται σε ακραίες συνθήκες, όπως υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού ή μεταβολές θερμοκρασίας (Wijffels & Barbosa, 2010).

Οι οργανισμοί αυτοί είναι πολυδιάστατοι και μπορούν να αναπτυχθούν με διάφορους τρόπους: αυτοτροφικά, αντλώντας διοξείδιο του άνθρακα από την ατμόσφαιρα παρουσία φωτός, ετερότροφα, αξιοποιώντας οργανικές ή ανόργανες πηγές άνθρακα σε σκοτεινές συνθήκες, και μικτοτροφικά, ανάλογα με τη διαθεσιμότητα φωτός (Mehariya κ.συν., 2021a). Πιο συγκεκριμένα, τα μικροφύκη κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης (εξίσωση 1, Zhou κ.συν., 2017) δεσμεύουν το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) από την ατμόσφαιρα και παράγουν οξυγόνο (O), συνεισφέροντας στην ισορροπία των οικοσυστημάτων και στη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου (Markou κ.συν., 2012). Επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε πολλά μικροφύκη έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται ετεροτροφικά, χρησιμοποιώντας οργανικές ή ανόργανες ενώσεις ως πηγή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών, γεγονός που τους επιτρέπει να καλλιεργούνται σε ποικίλες συνθήκες και υπό την απουσία φωτός (Christi, 2007). Ταυτόχρονα, άλλα μικροφύκη αναπτύσσονται μικτοτροφικά, αυτό επιτρέπει στους

οργανισμούς αυτούς να προσαρμόζονται σε συνθήκες φωτός και σκοταδιού, χρησιμοποιώντας είτε την φωτοσύνθεση (αυτοτροφικά) είτε οργανικές και ανόργανες πηγές άνθρακα (ετεροτροφικά). Αυτή η ευελιξία τους επιτρέπει να επιβιώνουν και να αναπτύσσονται σε ποικίλα περιβάλλοντα με διαφορετική διαθεσιμότητα φωτός (Mehariya κ.συν., 2021a).



Εξίσωση 1: Φωτοσύνθεση

Τα μικροφύκη διακρίνονται σε τέσσερις φάσεις ανάπτυξης: την φάση υστέρησης, τη λογαριθμική ή εκθετική φάση, τη στατική φάση και τη φάση λύσης ή πτώσης. Στην εκθετική φάση, η παραγωγή βιομάζας είναι ιδιαίτερα αυξημένη και τα κύτταρα μπορεί να φτάσουν μέχρι και 80% ξηρού βάρους βιομάζας (Bhatt κ.συν., 2014). Η βιομάζα αυτή περιέχει σημαντικές ποσότητες βιοδραστικών ουσιών, όπως λιπίδια, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, καροτενοειδή και νουκλεϊκά οξέα, τα οποία έχουν μεγάλες εμπορικές αξίες (Choo et al. 2020; Goswami et al. 2021a). Αυτές οι βιοδραστικές ενώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή προϊόντων υψηλής αξίας, όπως βιοκαύσιμα και άλλων μορίων προστιθέμενης αξίας (Mutanda et al. 2011).

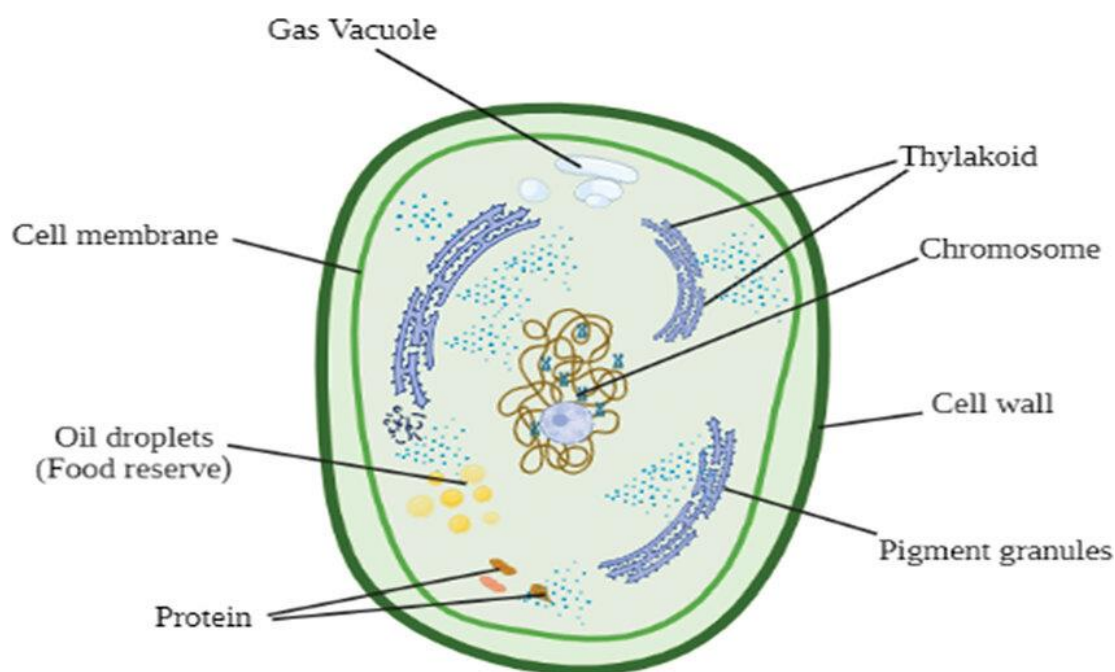
1.2.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Η ταξινόμηση των μικροφυκών μπορεί να γίνει με διαφορετικούς τρόπους και προσεγγίσεις, ανάλογα με τα χαρακτηριστικά που εξετάζονται. Αυτές οι προσεγγίσεις λειτουργούν συμπληρωματικά. Η πρώτη βασική διαίρεση των μικροφυκών αφορά τη δομή των κυττάρων, διακρίνοντας τα μικροφύκη σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά. Τα προκαρυωτικά μικροφύκη, γνωστά και ως κυανοβακτήρια, δεν διαθέτουν πυρήνα ή μεμβρανικά οργανίδια, ενώ τα ευκαρυωτικά μικροφύκη έχουν πυρήνα και οργανωμένα οργανίδια, όπως χλωροπλάστες (Whitton & Potts, 2012). Ταυτόχρονα, μια πιο εξειδικευμένη ταξινόμηση βασίζεται σε βιοχημικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως τα χρωστικά συστατικά, τον τύπο του αποθηκευτικού πολυσακχαρίτη και τη δομή του κυτταρικού τοιχώματος. Αυτή η προσέγγιση διακρίνει τα μικροφύκη σε πέντε κύριες κατηγορίες: τα Chlorophyta (πράσινα φύκη), τα Rhodophyta (κόκκινα φύκη), τα Phaeophyceae (καφέ φύκη), τα Bacillariophyta (διατομικά φύκη), και τα Cyanophyta (κυανοφύκη) (Hoek κ.συν., 1995). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα Cyanophyta ταυτίζονται με τα προκαρυωτικά κυανοβακτήρια, ενώ οι υπόλοιπες κατηγορίες ανήκουν στα ευκαρυωτικά μικροφύκη, υπογραμμίζοντας τη διασύνδεση των δύο συστημάτων ταξινόμησης (Graham κ.συν., 2016).

1.2.2.1 ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

Τα προκαρυωτικά μικροφύκη, γνωστά ως κυανοβακτήρια, συγκαταλέγονται στις παλαιότερες μορφές ζωής στη Γη, με την παρουσία τους να εκτείνεται σε μια χρονική περίοδο που αγγίζει τα 3,5 δισεκατομμύρια χρόνια (Whitton & Potts, 2012). Τα κυανοβακτήρια δεν διαθέτουν οργανωμένο πυρήνα, ενώ η απουσία μεμβρανικών

οργανιδίων τα διαφοροποιεί από άλλους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Το γενετικό τους υλικό είναι διασκορπισμένο στο κυτταρόπλασμα, γεγονός που τα κατατάσσει στην κατηγορία των προκαρυωτών. Παρά τη δομική τους απλότητα, διαδραματίζουν θεμελιώδη ρόλο στη διατήρηση της ζωής, καθώς αποτελούν βασικούς παραγωγούς οξυγόνου μέσω της φωτοσύνθεσης και συμμετέχουν ενεργά στη δέσμευση του αζώτου, συμβάλλοντας στην ισορροπία των οικοσυστημάτων.



Εικόνα 1: Δομή ενός κυανοβακτηρίου

Morya, Sonia & Chattu, Vijay Kumar & Khalid, Waseem & Khalid, Muhammad Zubair & Siddeeg, Azhari. (2023). Potential protein phycocyanin: an overview on its properties, extraction, and utilization. International Journal of Food Properties.

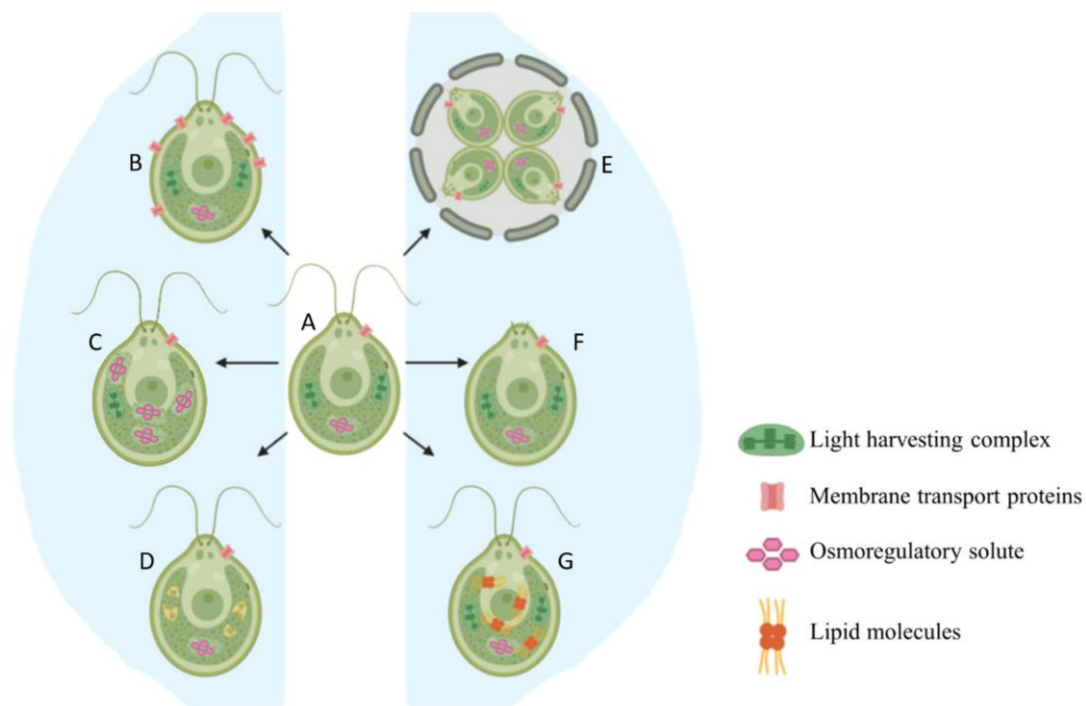
https://www.researchgate.net/publication/374902101_POTENTIAL_PROTEIN_PHYCOCYANIN_A_N_OVERVIEW_ON_ITS_PROPERTIES_EXTRACTION_AND_UTILIZATION

Τα κυανοβακτήρια (ή κυανοφύκη) αποτελούν μία από τις πιο αρχαίες και σημαντικές ομάδες προκαρυωτικών φυκών, ικανών να πραγματοποιούν οξυγονούχο φωτοσύνθεση (Paerl & Otten, 2013). Αν και αναγνωρίζονται ως βακτήρια, τα κυανοβακτήρια συχνά θεωρούνται φύκη λόγω των φωτοσυνθετικών τους ικανοτήτων. Συμβάλλουν καθοριστικά στον κύκλο του άνθρακα και του αζώτου και αναπτύσσονται σε ένα ευρύ φάσμα ενδιαιτημάτων, από θαλάσσια και γλυκά νερά έως εδάφη και ακραία περιβάλλοντα, όπως θερμές πηγές, οι οργανισμοί αυτοί αποδεικνύουν εξαιρετική προσαρμοστικότητα. Επιπλέον, έχουν αναγνωριστεί για τη δυνατότητά τους να παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων τοξικών ουσιών και αντιβιοτικών. Αυτές οι ιδιότητες τα καθιστούν ιδιαίτερα ενδιαφέροντα για τη φαρμακευτική και τη βιομηχανία βιοτεχνολογίας, όπου χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές όπως η παραγωγή βιοκαυσίμων και συμπληρωμάτων διατροφής. Ωστόσο, η ανάπτυξή τους σε υπερβολικές ποσότητες μπορεί να προκαλέσει ανθοφορίες που επηρεάζουν αρνητικά τη ποιότητα των υδάτων (Paerl & Otten, 2013, Whitton & Potts, 2012).

1.2.2.2 ΕΥΚΑΡΙΩΤΙΚΑ ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ

Τα ευκαρυωτικά μικροφύκη είναι μια ιδιαίτερα ποικιλόμορφη ομάδα οργανισμών, που ξεχωρίζουν για τη δομή τους και την παρουσία ενός οργανωμένου πυρήνα, ο οποίος περιέχει το γενετικό τους υλικό. Διαθέτουν εξειδικευμένα μεμβρανικά οργανίδια, όπως χλωροπλάστες για τη φωτοσύνθεση και μιτοχόνδρια για την παραγωγή ενέργειας, που τους επιτρέπουν να εκτελούν βιολογικές διεργασίες με υψηλή αποτελεσματικότητα (Graham κ.συν., 2016). Αυτή η δομική πολυπλοκότητα ενισχύει τη δυνατότητά τους να λειτουργούν ως πρωτογενείς παραγωγοί σε υδάτινα οικοσυστήματα, παίζοντας κρίσιμο ρόλο στη διατροφική αλυσίδα.

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει ποικίλες κατηγορίες μικροφυκών, όπως τα Chlorophyta (πράσινα φύκη), Rhodophyta (κόκκινα φύκη), και Phaeophyceae (καφέ φύκη), που διαφοροποιούνται μεταξύ τους βάσει των χρωστικών ουσιών που περιέχουν, του τρόπου αποθήκευσης ενέργειας και της δομής των κυτταρικών τους τοιχωμάτων. Τα ευκαρυωτικά μικροφύκη δεν είναι μόνο σημαντικά για τα οικοσυστήματα, αλλά έχουν επίσης τεράστια οικονομική αξία. Χρησιμοποιούνται στην παραγωγή βιοκαυσίμων, όπως βιοντίζελ και βιοιθανόλη, καθώς και σε προϊόντα υψηλής θρεπτικής αξίας, όπως πρωτεΐνες, ω-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικά. Ακόμη, αποτελούν τη βάση για καινοτόμες εφαρμογές, όπως η παραγωγή βιοπλαστικών, φαρμακευτικών προϊόντων και καλλυντικών. Η ευελιξία τους να καλλιεργούνται σε διάφορα περιβάλλοντα, είτε φωτοαυτότροφα είτε ετεροτροφικά, προσφέρει νέες δυνατότητες για τη βιώσιμη αξιοποίησή τους, καθιστώντας τα ευκαρυωτικά μικροφύκη πολύτιμα για τη βιομηχανία και την έρευνα (Graham κ.συν., 2016).



Εικόνα 2: Προσαρμοστικότητα πράσινων ευκαρυωτικών μικροφυκών

Shetty, P., Gitau, M. M., & Maróti, G. (2019). Salinity stress responses and adaptation mechanisms in eukaryotic green microalgae. *Cells*, 8(12), 1657. <https://doi.org/10.3390/cells8121657>

Πιο συγκεκριμένα, τα Chlorophyta (πράσινα φύκη) χαρακτηρίζονται από την παρουσία της χλωροφύλλης *a* και *b*, που τους επιτρέπει να διεξάγουν φωτοσύνθεση, όπως τα φυτά, παράγοντας οξυγόνο και οργανική ύλη (Zhu κ.συν., 2016). Τα πράσινα φύκη βρίσκονται κυρίως σε γλυκά νερά, ωστόσο ενδέχεται να αναπτύσσονται και σε θαλάσσια περιβάλλοντα. Σημαντικό χαρακτηριστικό τους είναι η ικανότητα αποθήκευσης αμύλου ως κύριου πολυσακχαρίτη, γεγονός που τους καθιστά δυνητικά χρήσιμους για τη βιομηχανία τροφίμων και την παραγωγή βιοκαυσίμων (Zhu κ.συν., 2016). Η οικολογική τους σημασία έγκειται στο ότι αποτελούν πρωτογενείς παραγωγούς σε υδάτινα οικοσυστήματα και σε πολλές περιπτώσεις συμβάλλουν στην απορρόφηση του διοξειδίου του άνθρακα από την ατμόσφαιρα.

Τα κόκκινα φύκη, μέλη της κατηγορίας Rhodophyta, είναι κυρίως θαλάσσια και αναπτύσσονται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές, αν και μπορούν να βρεθούν και σε ψυχρότερα νερά (Cai κ.συν., 2013). Χαρακτηρίζονται από την παρουσία της φυκοερυθρίνης και της φυκοκυανίνης, οι οποίες τους προσδίδουν το κόκκινο χρώμα και τους επιτρέπουν να φωτοσυνθέτουν σε βαθύτερα νερά, όπου άλλοι τύποι φυκών δεν μπορούν να επιβιώσουν. Τα κόκκινα φύκη διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην βιομηχανία τροφίμων και στη μικροβιολογία (Cai κ.συν., 2013). Το είδος αυτό είναι εξαιρετικά ανθεκτικό και προσαρμόζεται από σε διάφορες συνθήκες.

Τα Phaeophyceae (καφέ φύκη) είναι γνωστά για το χαρακτηριστικό καφέ χρώμα τους, το οποίο προέρχεται από την παρουσία της φουκοξανθίνης, μιας καροτενοειδούς χρωστικής (Bixler & Porse, 2011). Τα καφέ φύκη είναι κυρίως θαλάσσια, ζουν σε ψυχρότερα νερά, όπως αυτά του Ατλαντικού και του Ειρηνικού Ωκεανού και αναπτύσσονται συνήθως σε περιοχές με ισχυρούς κυματισμούς και υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού. Ορισμένα είδη, όπως το *Laminaria*, αξιοποιούνται στη βιομηχανία ως ουσίες που χρησιμοποιούνται ως πυκνωτικά και ζελατινώδη υλικά στη βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών (Bixler & Porse, 2011).

Η κατηγορία των διατόμων, γνωστή και ως Bacillariophyta, περιλαμβάνει μικροφύκη που ξεχωρίζουν λόγω του εξαιρετικά σκληρού πυριτικού κελύφους τους. Αυτό το χαρακτηριστικό τους προσφέρει προστασία και σταθερότητα, ενώ τα καθιστά εύκολα αναγνωρίσιμα. Τα διατομικά φύκη διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο ως πρωτοπαραγωγοί σε γλυκά και θαλάσσια νερά, όπου συμβάλλουν στην παραγωγή οργανικής ύλης και στη ρύθμιση του κύκλου του άνθρακα (Wang κ.συν., 2018). Αυτός ο ρόλος τους είναι θεμελιώδης για τα οικοσυστήματα, καθώς είναι βασικό στοιχείο της τροφικής αλυσίδας. Επιπλέον, οι διατόμοι χρησιμοποιούνται ευρέως ως δείκτες για την παρακολούθηση της ποιότητας του νερού, αφού η ποικιλία και η συχνότητά τους μπορούν να αποκαλύψουν την κατάσταση του υδάτινου περιβάλλοντος, όπως και την επίδραση της ρύπανσης (Wang κ.συν., 2018). Έχουν επίσης σημαντική εφαρμογή στην έρευνα για τη βιολογική αποκατάσταση των οικοσυστημάτων και για την παραγωγή βιοκαυσίμων, καθιστώντας τους πολύτιμους για την επιστημονική κοινότητα και τις περιβαλλοντικές εφαρμογές.

1.2.3. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Η καλλιέργεια των μικροφυκών μπορεί να πραγματοποιηθεί σε διαφορετικές συνθήκες και με διαφορετικές τεχνικές. Πιο συγκεκριμένα, τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε δύο διαφορετικά συστήματα, τα ανοιχτού και κλειστού τύπου. Στα ανοιχτά συστήματα τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε φυσικούς ή τεχνητούς περιέκτες, όπως είναι οι λίμνες, οι δεξαμενές ή οι νερόλακκοι, όπου η καλλιέργεια είναι εκτεθειμένη στις εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Αντίθετα, στις καλλιέργειες κλειστού τύπου, τα μικροφύκη καλλιεργούνται μέσα σε ειδικά σχεδιασμένα κλειστά συστήματα που ονομάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες παρέχουν προστασία στην καλλιέργεια, απομονώνοντάς την από εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες και πιθανούς κινδύνους (Pulz, 2001).

1.2.3.1. ΑΝΟΙΧΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα ανοιχτά συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών είναι τεχνητοί ή φυσικοί περιέκτες, όπως δεξαμενές, λίμνες ή νερόλακκοι, όπου τα μικροφύκη καλλιεργούνται σε επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον. Η καλλιέργεια μικροφυκών σε ανοιχτές καλλιέργειες αποτελεί μία από τις παλαιότερες, πιο οικονομικές μεθόδους παραγωγής βιομάζας. Επιπρόσθετα, αυτή η τεχνική προσφέρει αρκετές δυνατότητες για την παραγωγή βιομάζας σε μεγάλη κλίμακα (Jorquera et al., 2010).

Τα ανοιχτά συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών, όπως οι λεκάνες τύπου raceway, αποτελούν μία από τις πιο δημοφιλείς επιλογές για τη βιομηχανική παραγωγή μικροφυκών, πρόκειται για λεκάνες με βάθος 15–25 cm, ενισχύουν την ανάμειξη και τη διανομή φωτός, καθιστώντας τις κατάλληλες για τη μαζική παραγωγή μικροφυκών (Sanchez et al., 2011). Αυτά τα συστήματα περιλαμβάνουν αβαθείς λεκάνες στις οποίες τα μικροφύκη αναπτύσσονται σε νερό που αναδεύεται συνεχώς μέσω μηχανικών αναδευτήρων ή φυσικής κυκλοφορίας (Chisti, 2013). Τα ανοιχτά συστήματα έχουν το πλεονέκτημα του χαμηλού κόστους εγκατάστασης και λειτουργίας, γεγονός που τα καθιστά ιδανικά για την παραγωγή βιοκαυσίμων και άλλων προϊόντων χαμηλής προστιθέμενης αξίας. Επιπλέον, λόγω της απλότητας της δομής τους, μπορούν να εγκατασταθούν σε μεγάλης κλίμακας επιφάνειες, όπως περιοχές με άφθονο ηλιακό φως και διαθέσιμα υδάτινα αποθέματα (Borowitzka, 2005).



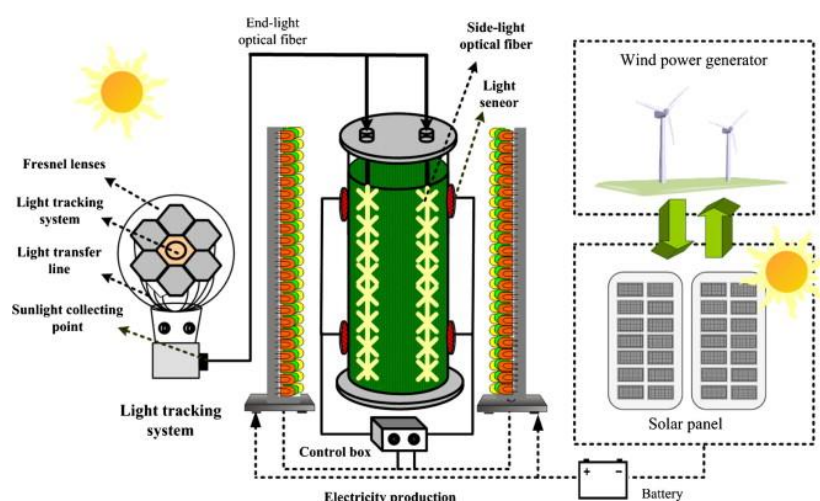
Εικόνα 3: Αντλία κενού και φίλτρο προκειμένου να συλλεχθεί η υγρή μάζα των νηματοειδών κυανοβακτηριακών μικροφυκών

Ωστόσο, τα ανοιχτά συστήματα έχουν σημαντικούς περιορισμούς. Η έκθεση στις περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως οι διακυμάνσεις στη θερμοκρασία, η ένταση του φωτός και η βροχόπτωση, μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη των μικροφυκών (Singh & Gu, 2010). Πιο συγκεκριμένα, τα κύρια προβλήματα των ανοικτών συστημάτων καλλιέργειας μικροφυκών είναι τα επακόλουθα. Αρχικά, στα ανοιχτά συστήματα υπάρχει απώλεια νερού λόγω της εξάτμισης του, αυτό οδηγεί στην αύξηση της συγκέντρωσης αλάτων η οποία έχει αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη των μικροφυκών περιορίζοντας την παραγωγικότητα τους (Bilanovic, et al., 2009). Επιπρόσθετα, οι μεγάλες αλλαγές τις θερμοκρασίας είναι συχνές και επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των μικροφυκών (Brennan and Owende, 2010). Η θερμοκρασία επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη, με πτώση παραγωγικότητας έως και 55% σε χαμηλές θερμοκρασίες (Slegers et al., 2013). Επιπλέον, στα ανοιχτά συστήματα η συγκέντρωση CO₂ είναι συχνά περιορισμένη και η αποδοτικότητα της αξιοποίησης του διοξειδίου του άνθρακα μειώνεται, επηρεάζοντας την ανάπτυξη των μικροφυκών και την παραγωγή βιομάζας (Brennan and Owende, 2010). Πρόβλημα αποτελεί και η αναποτελεσματική ανάδευση του υποστρώματος, Η ανάδευση είναι απαραίτητη για την αποφυγή της καθίζησης των μικροφυκών και την ομογενοποίηση των θρεπτικών ουσιών στο σύστημα. Στα ανοιχτά συστήματα, η ανάδευση δεν είναι πάντα επαρκής, με αποτέλεσμα την κακή κατανομή των θρεπτικών και του φωτός, γεγονός που επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροφυκών (Chaumont, 1993). Έρευνες έδειξαν ότι η υπερβολική ηλιακή ακτινοβολία μειώνει την παραγωγικότητα έως και 20% (Aly & Balasubramanian, 2016). Η κακή κατανομή του φωτός και η αναποτελεσματική χρήση της ηλιακής ενέργειας είναι ένα άλλο πρόβλημα των ανοικτών συστημάτων (Brennan and Owende, 2010). Τέλος, η επιμόλυνση από ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς αποτελεί συχνό πρόβλημα που επηρεάζει με αρνητικό τρόπο την ανάπτυξη και παραγωγή μικροφυκών (Pulz, 2001).

Παρά τα μειονεκτήματα, τα ανοιχτά συστήματα εξακολουθούν να θεωρούνται μία βιώσιμη επιλογή για εφαρμογές που δεν απαιτούν υψηλή καθαρότητα ή εξειδίκευση της παραγόμενης βιομάζας (Pulz, 2001). Η επίλυση των προβλημάτων των ανοιχτών συστημάτων καλλιέργειας μπορεί να επιτευχθεί μέσω της εφαρμογής εξειδικευμένων και ακραίων περιβαλλοντικών συνθηκών που δυσχεραίνουν την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, υπάρχουν συγκεκριμένα είδη μικροφυκών που ευδοκιμούν σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού, τέτοια ακραία περιβάλλοντα είναι ακατάλληλα για άλλους μικροοργανισμούς, επιτρέποντας τα συγκεκριμένα μικροφύκη να αναπτύσσονται χωρίς πρόβλημα. Επιπλέον, η καλλιέργεια μικροφυκών με γρήγορη ανάπτυξη, όπως η *Chlorella*, επιτρέπει την επικράτησή τους έναντι άλλων οργανισμών (Brennan and Owende, 2010).

1.2.3.2 ΚΛΕΙΣΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα κλειστά συστήματα καλλιέργειας, γνωστά ως φωτοβιοαντιδραστήρες, αποτελούν μία πιο εξελιγμένη και ελεγχόμενη προσέγγιση για την καλλιέργεια μικροφυκών. Αυτού του τύπου οι καλλιέργειες χαρακτηρίζονται από διάφορα επίπεδα ελέγχου των συνθηκών, ανάλογα με το αν είναι στεγασμένες ή βρίσκονται σε εξωτερικό χώρο. Στις υπαίθριες καλλιέργειες, παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η ένταση του φωτός δεν μπορούν να ρυθμιστούν πλήρως, ενώ στις στεγασμένες, οι συνθήκες είναι πιο ελεγχόμενες. Οι κλειστού τύπου καλλιέργειες διεξάγονται μέσα σε ειδικούς περιέκτες, τους φωτοβιοαντιδραστήρες. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες αυτοί παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία σε σχήματα και υλικά κατασκευής, συνήθως Αυτά είναι κατασκευασμένοι από ανθεκτικούς και διαφανείς γυάλινους ή πλαστικούς σωλήνες ή δεξαμενές, επιτρέποντας τον πλήρη έλεγχο των παραμέτρων καλλιέργειας (Brennan and Owende, 2010; Chisti, 2007; Pulz, 2001).



Εικόνα 4: Φωτοαντιδραστήρας σχεδιασμένος για την κλειστή καλλιέργεια μικροφυκών

Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production. (2011, January). Science Direct. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.159>

Το μεγάλο πλεονέκτημα των κλειστών συστημάτων καλλιέργειας είναι η άσκηση ελέγχου στις συνθήκες καλλιέργειας. Η θερμοκρασία, το pH, τα θρεπτικά συστατικά, η συγκέντρωση CO₂, και η ένταση του φωτός ελέγχονται με την χρήση των κλειστών συστημάτων (Tredici, 2004). Ο πλήρης έλεγχος των συνθηκών ανάπτυξης καθιστά τα κλειστά συστήματα ιδανικά για την παραγωγή εξειδικευμένων προϊόντων, όπως φαρμακευτικές ουσίες, βιοδραστικές ενώσεις και καλλυντικά υψηλής ποιότητας. Επιπρόσθετα, τα κλειστά συστήματα έχουν δείξει εντυπωσιακή αποδοτικότητα, με μελέτες να αναφέρουν ότι ξεπερνούν την παραγωγικότητα των ανοιχτών συστημάτων έως και 5,5 φορές (Raes et al., 2014)

Όπως προαναφέρθηκε, τα κλειστά συστήματα προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα όπως υψηλή απόδοση και καθαρότητα στη βιομάζα που παράγεται. Παρόλα αυτά, ένα από τα βασικά τους μειονεκτήματα είναι το αυξημένο κόστος κατασκευής και λειτουργίας τους, σε σύγκριση με τα ανοιχτά συστήματα (Chisti, 2007). Επίσης, ο σχεδιασμός και η συντήρησή τους απαιτούν εξειδικευμένες γνώσεις και τεχνολογία, γεγονός που περιορίζει την ευρεία εφαρμογή τους σε βιομηχανική κλίμακα (Richmond, 2004). Παρά τους περιορισμούς αυτούς, η δυνατότητα που προσφέρουν τα κλειστά συστήματα για την παραγωγή προϊόντων υψηλής αξίας, όπως φαρμακευτικές ουσίες ή συστατικά διατροφής, τα καθιστά ιδιαίτερα ελκυστικά για αγορές όπου η ποιότητα και η καθαρότητα της βιομάζας αποτελούν βασικές προτεραιότητες.

1.2.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Η ανάπτυξη των μικροφυκών εξαρτάται από έναν συνδυασμό περιβαλλοντικών, βιολογικών και χημικών παραγόντων, οι οποίοι διαμορφώνουν την δυνατότητα επιβίωσης και ανάπτυξης τους. Το φως, η θερμοκρασία, τα θρεπτικά συστατικά, το pH και η αλατότητα αποτελούν τους κύριους περιβαλλοντικούς παράγοντες και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο ενώ, σημαντική είναι και η παρουσία διοξειδίου του άνθρακα και οξυγόνου στο νερό. Παράλληλα, βιολογικοί παράγοντες, όπως ο ανταγωνισμός με άλλα είδη και η δράση θηρευτών, επηρεάζουν την ανάπτυξη και τη σύνθεση των πληθυσμών τους. Όλοι αυτοί οι παράγοντες συνδυάζονται και αλληλεπιδρούν με πολύπλοκο τρόπο, επηρεάζοντας το πώς και πόσο αναπτύσσονται τα μικροφύκη σε κάθε περιβάλλον.

1.2.4.1 ΦΩΤΙΣΜΟΣ

Ο φωτισμός αποτελεί θεμελιώδη παράγοντα για την ανάπτυξη των μικροφυκών, επηρεάζοντας άμεσα τη φωτοσυνθετική τους δραστηριότητα και, κατ' επέκταση, την παραγωγή βιομάζας και βιοδραστικών συστατικών. Η ένταση, η διάρκεια και το φάσμα του φωτός διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση των μεταβολικών διεργασιών των μικροφυκών. Σε βέλτιστες εντάσεις φωτός, τα μικροφύκη ευδοκιμούν. Ωστόσο, η υπερβολική ακτινοβολία μπορεί να οδηγήσει σε φωτοαναστολή, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη (Muñoz & Bernard, 2021). Το φως που χρησιμοποιούν

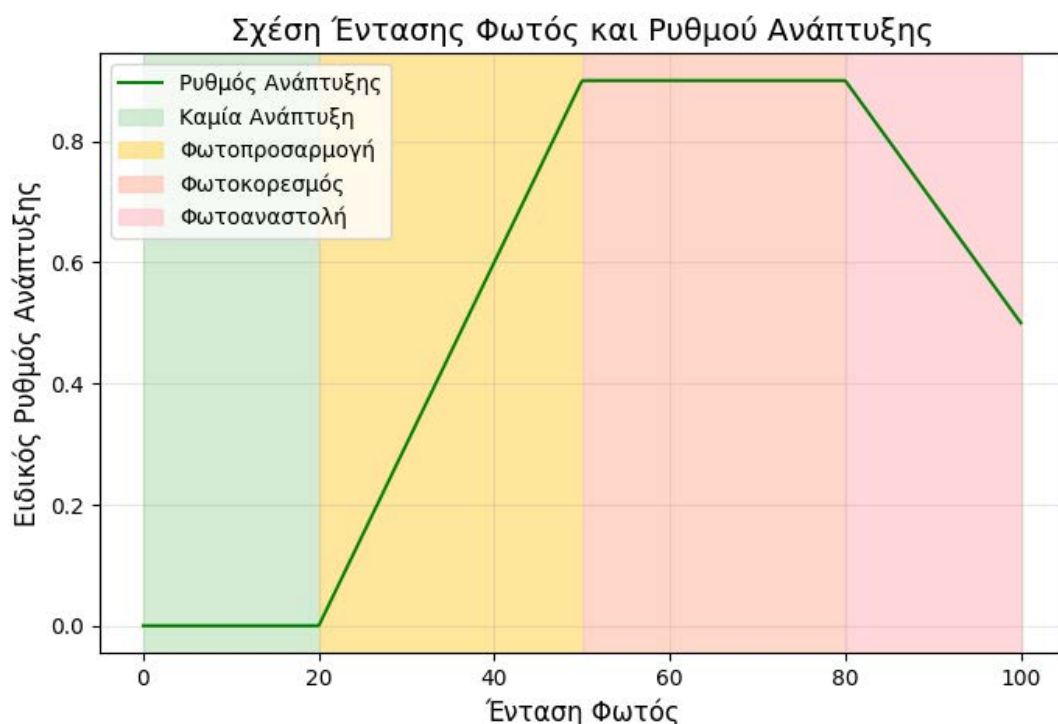
τα μικροφύκη για τη φωτοσύνθεση βρίσκεται στο φάσμα της ενεργής φωτοσυνθετικής ακτινοβολίας, δηλαδή μεταξύ 400 και 700 nm. Παρόλα αυτά, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι κάθε είδος μικροφυκών διαθέτει διαφορετικό συνδυασμό φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών, γεγονός που καθορίζει την απορρόφηση συγκεκριμένων μηκών κύματος του φωτός (Janssen, 2002; Suh & Lee, 2003).

Η πηγή του φωτός μπορεί να είναι είτε φυσική, δηλαδή φως από τον ήλιο, είτε τεχνητή, φωτισμός από λαμπτήρες. Αν και ο ήλιος αποτελεί τη φυσική πηγή φωτισμού στις ανοιχτές καλλιέργειες, η αστάθεια στις συνθήκες του φυσικού φωτός συχνά οδηγεί σε περιορισμούς. Αντίθετα, ο τεχνητός φωτισμός παρέχει δυνατότητα ακριβέστερης ρύθμισης, γεγονός που τον καθιστά ιδανικό για καλλιέργειες μικροφυκών υψηλής αξίας. Νεότερες τεχνολογίες, όπως τα LED με χαμηλή ενεργειακή κατανάλωση ή τα υβριδικά συστήματα που συνδυάζουν φυσικό και τεχνητό φωτισμό, ανοίγουν νέους δρόμους για τη βελτιστοποίηση της παραγωγής μικροφυκών (Chen et al., 2011; Wang et al., 2007)

Η ένταση και η ποιότητά φωτός ρυθμίζουν τη φωτοσυνθετική ικανότητα, επηρεάζοντας τη σύνθεση βασικών βιομορίων, όπως οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και τα λιπίδια. Σύμφωνα με τον Paparolymerou, G., οι αλλαγές στην ένταση του φωτός μπορούν να μεταβάλλουν την κυτταρική απόκριση των μικροφυκών, οδηγώντας σε διαφοροποιήσεις στη χλωροφυλλική σύνθεση και στη φωτοσυνθετική απόδοση. Παράλληλα, η ποιότητα του φωτός, δηλαδή το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, παίζει κρίσιμο ρόλο στην αποδοτικότητα της φωτοσύνθεσης, καθώς συγκεκριμένα φάσματα διεγείρουν διαφορετικές οδούς ενέργειας μέσα στο κύτταρο, βελτιστοποιώντας ή περιορίζοντας τον ρυθμό ανάπτυξης. Όπως αναφέρεται από τον ίδιο, η προσαρμογή των μικροφυκών στις μεταβαλλόμενες συνθήκες φωτισμού τους επιτρέπει να ρυθμίζουν την κατανομή των διαθέσιμων πόρων, ώστε να διασφαλίσουν τη μέγιστη επιβίωση και παραγωγικότητα. Η σωστή διαχείριση των παραμέτρων φωτισμού αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη βέλτιστη ανάπτυξη των μικροφυκών και τη μεγιστοποίηση της βιομάζας τους (Metsoviti et al., 2019).

Όπως προαναφέρθηκε, η ένταση του φωτός επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροφυκών, καθώς επηρεάζει τη φωτοσυνθετική τους δραστηριότητα και τη συνολική τους ανάπτυξη. Αυτή η επίδραση μπορεί να χωριστεί σε τρεις βασικές φυσιολογικές καταστάσεις: τον φωτοεγκλιματισμό ή φωτοπροσαρμογή (light limitation), τον φωτοκορεσμό ή κορεσμό φωτός (light saturation) και την φωτοαναστολή ή αναστολή φωτός (light inhibition). Κατά τη διάρκεια του φωτοεγκλιματισμού η ένταση του φωτός είναι περιορισμένη, τα μικροφύκη προσαρμόζονται και ο ρυθμός ανάπτυξής τους αυξάνεται καθώς η ένταση του φωτός ανεβαίνει. Στην συνέχεια, κατά τη διάρκεια του φωτοκορεσμού η ένταση του φωτός φτάνει σε ένα βέλτιστο επίπεδο, η φωτοσύνθεση φτάνει στο μέγιστο ρυθμό της και ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών σταθεροποιείται. Μετά από αυτά τα δύο στάδια ακολουθεί μια πτώση στην απόδοση της φωτοσύνθεσης, καθώς μόνο ένα μέρος της ενέργειας που απορροφάται χρησιμοποιείται στην παραγωγή ενέργειας, ενώ το υπόλοιπο διασκορπίζεται ως

θερμότητα (Janssen, 2016) (Εικόνα 1). Με περαιτέρω αύξηση του φωτός, η φωτοσύνθεση εξασθενεί σημαντικά και αυτή η διαδικασία ονομάζεται φωτοαναστολή (Gatamaneni et al, 2018).



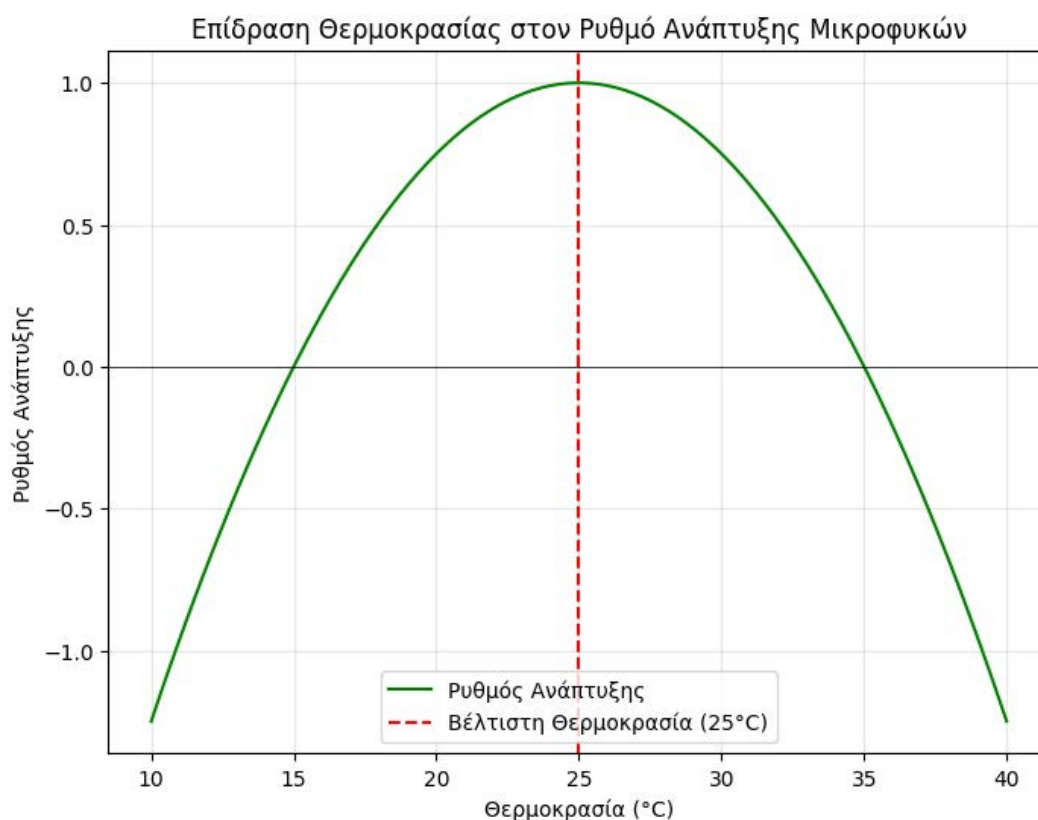
Εικόνα 5: Επίδραση του φωτός στον ρυθμό ανάπτυξη των μικροφυκών

1.2.4.2 ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ

Η θερμοκρασία αποτελεί κρίσιμο παράγοντα που επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροφυκών, επηρεάζοντας τόσο τον ρυθμό ανάπτυξης όσο και τη βιοχημική τους σύνθεση. Για τα περισσότερα βιομηχανικά σημαντικά στελέχη, η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης κυμαίνεται συνήθως μεταξύ 20°C και 30°C (εικόνα 2). Εντός αυτού του εύρους, τα μικροφύκη επιτυγχάνουν μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης και παραγωγής βιομάζας. Ωστόσο, αποκλίσεις από αυτές τις θερμοκρασίες μπορεί να οδηγήσουν σε μείωση του ρυθμού ανάπτυξης ή ακόμα και σε θάνατο των κυττάρων (Zhao et al., 2020). Πιο συγκεκριμένα, Παρόλο που η αύξηση της θερμοκρασίας γενικά ενισχύει την ανάπτυξη, η υπέρβαση ενός κρίσιμου σημείου μπορεί να οδηγήσει σε αποδόμηση των πρωτεϊνών, ιδιαίτερα εκείνων που εμπλέκονται στα φωτοσυστήματα και τη μεταφορά ηλεκτρονίων, επηρεάζοντας τελικά το μεταβολισμό των κυττάρων και πιθανώς προκαλώντας τον θάνατο τους (Muñoz & Bernard, 2021).

Επιπλέον, η θερμοκρασία επηρεάζει τη σύνθεση των λιπαρών οξέων στα μικροφύκη. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες, παρατηρείται αύξηση των κορεσμένων λιπαρών οξέων, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες αυξάνεται η παραγωγή ακόρεστων λιπαρών οξέων. Αυτές οι μεταβολές στη σύνθεση των λιπαρών οξέων μπορούν να επηρεάσουν την

ποιότητα των προϊόντων που προέρχονται από τα μικροφύκη, καθιστώντας τη ρύθμιση της θερμοκρασίας κρίσιμη για την επιθυμητή παραγωγή συγκεκριμένων λιπαρών οξέων. Επιπλέον, η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει το μέγεθος και το σχήμα των κυττάρων των μικροφυκών, με θερμικό στρες να οδηγεί σε βραδύτερο ρυθμό ανάπτυξης και πιθανές βλάβες στα οργανίδια των κυττάρων (Ahmad et al., 2019).



Εικόνα 6: Επίδραση θερμοκρασίας στο ρυθμό ανάπτυξης μικροφυκών

1.2.4.3 ΑΛΑΤΟΤΗΤΑ

Η αλατότητα αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει την ανάπτυξη και τη βιοχημική σύσταση των μικροφυκών (Haris et al., 2021). Η πλειονότητα των μικροφυκών αναπτύσσεται σε συγκεκριμένα εύρη αλατότητας, με την αύξηση της συγκέντρωσης αλάτων να έχει τόσο θετικές όσο και αρνητικές επιδράσεις, ανάλογα με το είδος και τις συνθήκες καλλιέργειας.

Κάθε είδος μικροφυκών έχει διαφορετική ανοχή στις συγκεντρώσεις αλατιού, με ορισμένα να ευδοκιμούν σε συνθήκες υψηλής αλατότητας, ενώ άλλα να αναπτύσσονται καλύτερα σε γλυκά ή αραιά αλμυρά νερά. Σε γενικές γραμμές, τα μικροφύκη που προέρχονται από θαλάσσια ή αλμυρά περιβάλλοντα έχουν εξελιχθεί να αντέχουν σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αλατότητας, ενώ τα γλυκόδερμα μικροφύκη προτιμούν χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Η υπερβολική αλατότητα μπορεί να προκαλέσει οσμωτική πίεση, οδηγώντας σε αφυδάτωση των κυττάρων και μειωμένη ανάπτυξη. Αντίθετα, σε ορισμένες περιπτώσεις, η αύξηση της αλατότητας

μπορεί να ενισχύσει τη σύνθεση βιοδραστικών ενώσεων, όπως οι πολυσακχαρίτες και οι πρωτεΐνες, βελτιώνοντας την ποιότητα της βιομάζας (Haris et al., 2021). Ειδικότερα, μικροφύκη όπως η *Dunaliella salina*, που προέρχεται από αλμυρά περιβάλλοντα, μπορεί να αναπτυχθεί σε υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού (20-24 g/l) και μάλιστα σε αυτές τις συνθήκες παρουσιάζουν την καλύτερη ανάπτυξή τους (Richmond, 2004). Από την άλλη, μικροφύκη όπως τα γένη *Chlorella*, *Spirulina* και *Porphyridium* είναι ανεκτικά σε αυξημένες συγκεντρώσεις αλατιού, αλλά δεν απαιτούν αυτές τις συνθήκες για την ανάπτυξή τους (Richmond, 2004; Haris et al., 2021).

Η κατάλληλη αλατότητα για την καλλιέργεια συγκεκριμένων ειδών μικροφυκών είναι ζωτικής σημασίας για τη βέλτιστη ανάπτυξή τους και τη βιοχημική τους παραγωγή. Η καταπόνηση από την αλατότητα μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη επηρεάζοντας παράγοντες όπως η αναπαραγωγή, η απορρόφηση θρεπτικών συστατικών και η παραγωγή βιομάζας. Επιπλέον, η διακύμανση της αλατότητας μπορεί να επηρεάσει τη μορφολογία των κυττάρων, τον ρυθμό φωτοσύνθεσης και την ανάπτυξη (Haris et al., 2021). Η αλατότητα, μάλιστα, μπορεί να προκαλέσει οσμωτικό στρες, το οποίο περιορίζει την ικανότητα των κυττάρων να διατηρήσουν τη σωστή ισορροπία νερού και ιόντων, οδηγώντας σε μειωμένη ανάπτυξη και μειωμένη παραγωγή σημαντικών μεταβολιτών, όπως λιπαρά οξέα και πρωτεΐνες. Οι προσαρμογές των μικροφυκών σε μεταβαλλόμενες συνθήκες αλατότητας περιλαμβάνουν την αλλαγή της σύνθεσης των λιπιδίων και την ενεργοποίηση μηχανισμών προστασίας των κυττάρων από την υπερβολική οσμωτική πίεση (Shetty et al., 2019).

1.2.4.4 pH

Το pH αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροφυκών, καθώς και την τοξικότητα διαφόρων ουσιών στα υδάτινα οικοσυστήματα. Οι αλλαγές στο pH, οι οποίες μπορεί να προκύψουν από φυσικές διεργασίες ή ανθρωπογενείς δραστηριότητες, μπορούν να έχουν σημαντικές επιπτώσεις τόσο στη φυσιολογία των μικροφυκών όσο και στη γενικότερη ισορροπία των υδάτινων οικοσυστημάτων (Rachlin & Grosso, 1991; Qiu et al., 2017). Επιπρόσθετα, Οι μεταβολές του pH επηρεάζουν επίσης τη χημική σύσταση του περιβάλλοντος, ιδιαίτερα τη μορφή και τη βιοδιαθεσιμότητα των κατιόντων και άλλων θρεπτικών συστατικών. Η διαθεσιμότητα βασικών στοιχείων, όπως ο φώσφορος και το άζωτο, μπορεί να μεταβληθεί δραματικά, επηρεάζοντας την ανάπτυξη των μικροφυκών (Rachlin & Grosso, 1991).

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, υπάρχουν τρία επίπεδα οξύτητας του pH, το όξινο, το αλκαλικό και το ουδέτερο pH (Rachlin & Grosso, 1991). Το όξινο pH αναφέρεται σε τιμές pH κάτω από το 7 και είναι χαρακτηριστικό περιβαλλόντων που έχουν υψηλή συγκέντρωση ιόντων υδρογόνου (H^+). Το αλκαλικό pH, από την άλλη, αναφέρεται σε τιμές pH πάνω από το 7. Στα αλκαλικά περιβάλλοντα υπάρχουν περισσότερα ιόντα υδροξυλίου (OH^-) από ιόντα υδρογόνου. Τέλος, το ουδέτερο pH είναι 7 και θεωρείται

ιδανικό για πολλούς οργανισμούς, καθώς η ισορροπία μεταξύ H^+ και OH^- δεν διαταράσσει τις φυσιολογικές τους λειτουργίες.

Έρευνες υποστηρίζουν ότι οι όξινες τιμές pH (3.0-5.0) έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των μικροφυκών, όπως στην περίπτωση της *Chlorella vulgaris*, όπου η ανάπτυξη μειώνεται σημαντικά σε όξινες συνθήκες. Το αυξημένο επίπεδο ιόντων υδρογόνου στο περιβάλλον επηρεάζει τη λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών και των μεταβολικών διεργασιών, οδηγώντας σε μειωμένη κυτταρική δραστηριότητα και παραγωγή βιομάζας. Επιπλέον, σε όξινο pH, παρατηρείται κινητοποίηση των μετάλλων από δεσμευμένες καταστάσεις σε ελεύθερες μορφές. Αυτό αυξάνει την τοξικότητα των μετάλλων, γεγονός που μπορεί να έχει καταστροφικές συνέπειες για τα μικροφύκη και άλλους υδρόβιους οργανισμούς (Rachlin & Grosso, 1991).

Αντίστοιχα, οι αλκαλικές τιμές pH (8.3-9.0) μπορούν επίσης να επιβραδύνουν την ανάπτυξη των μικροφυκών, αν και τα αποτελέσματα διαφέρουν ανάλογα με το είδος και τις συνθήκες καλλιέργειας. Σε πιο ήπιες αλκαλικές συνθήκες (pH 7.5-8.0), η ανάπτυξη των μικροφυκών, όπως η *Chlorella vulgaris*, φαίνεται να ευνοείται, ενώ σε υψηλότερες τιμές το περιβάλλον καθίσταται λιγότερο φιλόξενο για τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων (Rachlin & Grosso, 1991).

Αναφορικά με το μικροφύκος *Chlorella sorokiniana*, όπου μελετάται στην παρούσα έρευνα, προηγούμενες μελέτες έχουν συμπεράνει πως ανάπτυξη της *Chlorella sorokiniana* επηρεάζεται σημαντικά από το pH του περιβάλλοντος, με διαφορετικές τιμές να επηρεάζουν τόσο τη συγκέντρωση βιομάζας όσο και την αποδοτικότητα κατανάλωσης γλυκόζης. Σε όξινες συνθήκες με pH 5.0, δεν παρατηρείται καμία ανάπτυξη, γεγονός που δείχνει ότι το πολύ όξινο περιβάλλον είναι τοξικό και μη βιώσιμο για το μικροφύκος. Αυτό υποδεικνύει ότι σε ακραίες τιμές pH διακόπτονται κρίσιμες βιολογικές λειτουργίες, καθιστώντας αδύνατη την κυτταρική διαίρεση και παραγωγή βιομάζας (Zheng et al., 2013; Qiu et al., 2017).

Σε μέτρια όξινες συνθήκες, όπως το pH 6.0, το μικροφύκος αρχίζει να αναπτύσσεται, παράγοντας βιομάζα σε αξιόλογα επίπεδα. Παρόλα αυτά τα αποτελέσματα ερευνών είναι διφορούμενα. Οι Zheng και συνεργάτες υποστηρίζουν πως σε συνθήκες pH 6.0 η αποδοτικότητα της ανάπτυξης και η μετατροπή της γλυκόζης σε βιομάζα παραμένουν περιορισμένες, 2013. Αυτό σημαίνει ότι ενώ το περιβάλλον είναι πλέον υποστηρικτικό, οι ενεργειακές διαδικασίες του μικροφύκου δεν έχουν φτάσει την πλήρη δυναμικότητά τους. Ταυτόχρονα, η ίδια έρευνα υποστηρίζει ότι η ιδανική ανάπτυξη του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* παρατηρείται σε ουδέτερο pH 7.0, όπου οι φυσιολογικές διεργασίες του μικροφύκου λειτουργούν στο μέγιστο επίπεδο. Σε αυτή την τιμή pH, το μικροφύκος εκμεταλλεύεται τη διαθέσιμη γλυκόζη πιο αποτελεσματικά, παράγοντας τη μεγαλύτερη ποσότητα βιομάζας. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι το ουδέτερο περιβάλλον υποστηρίζει βέλτιστα τις μεταβολικές και κυτταρικές διεργασίες της *Chlorella sorokiniana*, επιτρέποντάς της να αναπτυχθεί με

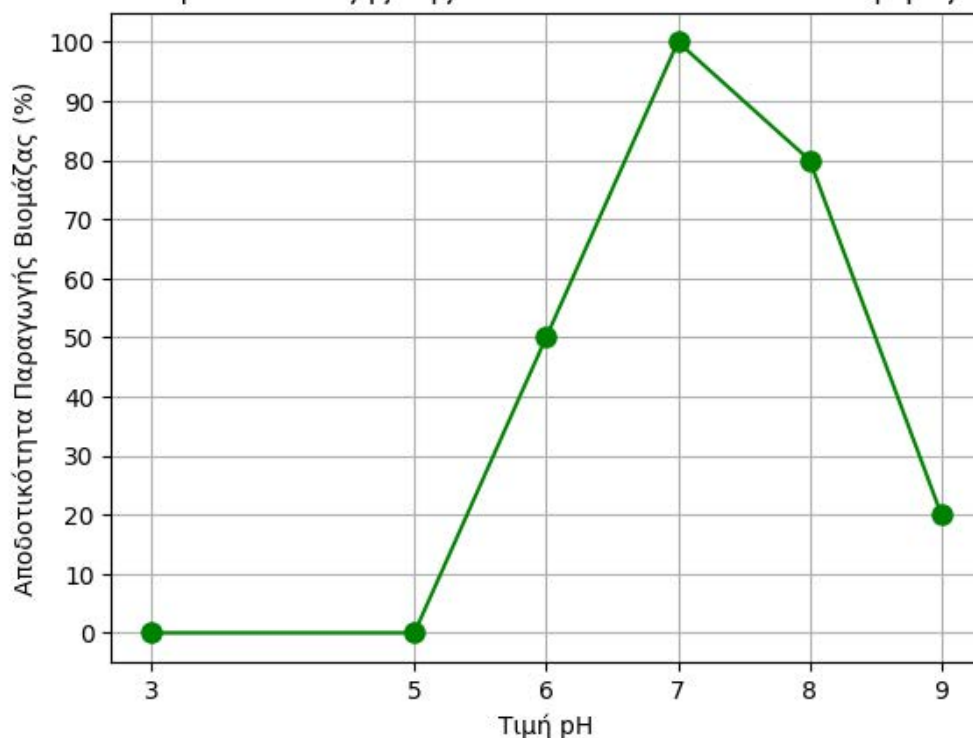
τον υψηλότερο ρυθμό και την καλύτερη ενεργειακή απόδοση (Zheng et al., 2013). Αντίθετα, σύμφωνα με τους Qui και συνεργάτες η βέλτιστη τιμή pH για την καλλιέργεια της *Chlorella* είναι κοντά στο 6, όπου το μικροφύκος αξιοποιεί τους διαθέσιμους πόρους πιο αποδοτικά και παράγει τη μέγιστη βιομάζα, 2017.

Καθώς το pH μετατοπίζεται προς τις αλκαλικές τιμές, όπως το pH 8.0, παρατηρείται μια μικρή μείωση στην αποδοτικότητα ανάπτυξης. Παρότι η βιομάζα που παράγεται παραμένει σε σχετικά υψηλά επίπεδα, το μικροφύκος καταναλώνει περισσότερους πόρους και δείχνει σημάδια μειωμένης προσαρμογής. Αυτό σημαίνει ότι οι συνθήκες παραμένουν υποστηρικτικές, αλλά όχι τόσο ευνοϊκές όσο στο ουδέτερο pH (Zheng et al., 2013, Qiu et al., 2017).

Σε πιο αλκαλικό περιβάλλον, όπως το pH 9.0, η ανάπτυξη μειώνεται δραματικά. Η παραγωγή βιομάζας και η κατανάλωση γλυκόζης είναι πλέον περιορισμένες, γεγονός που δείχνει ότι το μικροφύκος αντιμετωπίζει σημαντικό στρες. Το αλκαλικό περιβάλλον φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά βασικές βιοχημικές διεργασίες, μειώνοντας τη συνολική απόδοση και ανάπτυξη της *Chlorella sorokiniana* (Zheng et al., 2013, Qiu et al., 2017).

Συνολικά, το pH επηρεάζει την ανάπτυξη και τη μεταβολική απόδοση της *Chlorella sorokiniana* με πολύπλοκους τρόπους. Οι πιο όξινες συνθήκες ευνοούν την παραγωγή βιομάζας και τη σύνθεση λιπαρών οξέων υψηλής ποιότητας, ενώ οι αλκαλικές τιμές ενισχύουν την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Ωστόσο, η επιλογή της κατάλληλης τιμής pH εξαρτάται από τον στόχο της καλλιέργειας, είτε αυτός είναι η παραγωγή βιομάζας, λιπιδίων ή πρωτεϊνών (Qiu et al., 2017).

Αποδοτικότητα Ανάπτυξης της *Chlorella sorokiniana* σε διάφορες τιμές pH



Εικόνα 7: Το διάγραμμα αναπαριστά την αποδοτικότητα ανάπτυξης του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* σε διάφορες τιμές pH (από 3 έως 9).

1.2.5 ΑΦΟΜΟΙΩΣΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ

1.2.5.1 ΑΝΘΡΑΚΑΣ

Η αξιοποίηση των θρεπτικών συστατικών αποτελεί έναν από τους πιο κρίσιμους παράγοντες για την αποτελεσματική παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη. Τα μικροφύκη, ως φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί, βασίζονται στην παροχή βασικών θρεπτικών στοιχείων όπως το άζωτο, ο φώσφορος και ο άνθρακας για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό τους. Αυτά τα στοιχεία είναι υπεύθυνα για την σύνθεση κυτταρικών συστατικών, όπως οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και οι υδατάνθρακες, που αποτελούν τις κύριες πηγές ενέργειας και πρώτων υλών για διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές. Η ισορροπημένη παροχή θρεπτικών ουσιών όχι μόνο ενισχύει τη βιομάζα αλλά και βελτιστοποιεί τη χημική σύσταση των μικροφυκών, καθιστώντας τα κατάλληλα για χρήση σε καύσιμα, τρόφιμα και φαρμακευτικά προϊόντα.

Επιπλέον, η διαχείριση των θρεπτικών συστατικών προσφέρει ευκαιρίες για βιώσιμες πρακτικές στην παραγωγή βιομάζας. Για παράδειγμα, η ανακύκλωση αποβλήτων πλούσιων σε άζωτο και φώσφορο μπορεί να αποτελέσει μια οικονομικά αποδοτική και περιβαλλοντικά φιλική προσέγγιση για τη θρέψη των μικροφυκών. Παράλληλα, η προσαρμογή των επιπέδων θρεπτικών στοιχείων μπορεί να κατευθύνει τα μικροφύκη προς την παραγωγή συγκεκριμένων προϊόντων, όπως λιπίδια για βιοκαύσιμα ή

πρωτεΐνες για διατροφικούς σκοπούς. Έτσι, η στρατηγική χρήση των θρεπτικών συστατικών όχι μόνο υποστηρίζει την ανάπτυξη των μικροφυκών αλλά και ενισχύει τη βιωσιμότητα και την αποδοτικότητα της παραγωγικής διαδικασίας.

Ο άνθρακας είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη και παραγωγικότητα των μικροφυκών, καθώς αποτελεί τη βασική πηγή άνθρακα που χρειάζονται για τη φωτοσύνθεση. Στη διαδικασία αυτή, τα μικροφύκη χρησιμοποιούν το διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) και το φως του ήλιου για να παράγουν οργανικές ενώσεις και οξυγόνο. Το CO_2 , συγκεκριμένα, είναι απαραίτητο για τη λειτουργία του κύκλου του Calvin, μέσω του οποίου τα μικροφύκη μετατρέπουν ανόργανα μόρια σε οργανικές ουσίες, ενισχύοντας έτσι την ανάπτυξή τους και την παραγωγή βιομάζας.

Η συγκέντρωση του CO_2 στον περιβάλλοντα χώρο επηρεάζει άμεσα την απόδοση των μικροφυκών. Σύμφωνα με τον Wijffels και την Barbosa (2010), η αύξηση της διαθεσιμότητας CO_2 μπορεί να οδηγήσει σε ενισχυμένο ρυθμό φωτοσύνθεσης, αυξάνοντας την παραγωγή βιομάζας. Η παραγωγή αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία για τις βιομηχανικές εφαρμογές, καθώς τα μικροφύκη θεωρούνται μια από τις πιο ελπιδοφόρες πηγές βιοκαυσίμων και άλλων προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας. Η παροχή CO_2 σε καλλιέργειες μικροφυκών μπορεί να προέρχεται από φυσικές πηγές, αλλά και από ανακύκλωση βιομηχανικών εκπομπών CO_2 , γεγονός που συμβάλλει στη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου (Chisti, 2007).

Είναι ενδιαφέρον ότι οι καλλιέργειες μικροφυκών δεν περιορίζονται μόνο στη μείωση του CO_2 . Τα μικροφύκη απορροφούν το CO_2 μέσω των φωτοβιοαντιδραστήρων, παράγοντας βιομάζα που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρώτη ύλη για τη δημιουργία βιοκαυσίμων, λιπασμάτων, φαρμακευτικών προϊόντων και ζωοτροφών. Αυτή η χρήση των μικροφυκών ως μέσο ανακύκλωσης CO_2 παρέχει μια καινοτόμο και βιώσιμη λύση για την περιβαλλοντική διαχείριση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου. Με σωστή διαχείριση, η παροχή CO_2 μπορεί να βελτιστοποιηθεί για να εξασφαλίσει μέγιστη παραγωγικότητα χωρίς να δημιουργούνται προβλήματα στο περιβάλλον καλλιέργειας (Wijffels & Barbosa, 2010).

Παρά τα οφέλη, η υπερβολική συγκέντρωση CO_2 μπορεί να έχει και αρνητικές συνέπειες. Όταν το CO_2 διαλύεται στο νερό του περιβάλλοντος καλλιέργειας, σχηματίζει ανθρακικό οξύ, το οποίο μειώνει το pH. Σύμφωνα με τον Morais και τον Costa (2007), η πτώση του pH μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς συνθήκες για την ανάπτυξη ορισμένων ειδών μικροφυκών, μειώνοντας την αποτελεσματικότητά τους στην παραγωγή βιομάζας. Επιπλέον, οι συνθήκες χαμηλού pH μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά και την ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος, γεγονός που καθιστά τη σωστή παρακολούθηση των συνθηκών καλλιέργειας απαραίτητη για την επίτευξη των βέλτιστων αποτελεσμάτων.

Η θερμοκρασία είναι ένας ακόμη παράγοντας που σχετίζεται με την παραγωγικότητα των μικροφυκών. Σε συνδυασμό με τη συγκέντρωση CO_2 , η θερμοκρασία επηρεάζει τόσο την ταχύτητα της φωτοσύνθεσης όσο και τη γενική φυσιολογία των μικροφυκών.

Σε υψηλότερες θερμοκρασίες, ο ρυθμός φωτοσύνθεσης μπορεί να αυξηθεί, αλλά η υπερβολική θερμότητα μπορεί να οδηγήσει σε στρες στα κύτταρα των μικροφυκών, μειώνοντας την παραγωγικότητά τους. Αντίστοιχα, σε χαμηλές θερμοκρασίες, η φωτοσυνθετική δραστηριότητα μπορεί να επιβραδυνθεί σημαντικά, περιορίζοντας την ανάπτυξη (Wijffels & Barbosa, 2010).

Η εφαρμογή της τεχνολογίας φωτοβιοαντιδραστήρων και η ενσωμάτωση μικροφυκών σε βιομηχανικές διαδικασίες αποτελούν μερικές από τις πιο υποσχόμενες λύσεις για τη διαχείριση του CO₂. Σε τέτοιες ρυθμίσεις, το CO₂ από βιομηχανικές εκπομπές μπορεί να διοχετευθεί άμεσα στις καλλιέργειες μικροφυκών, μειώνοντας την περιβαλλοντική ρύπανση και παράγοντας πολύτιμα προϊόντα, όπως βιοκαύσιμα και λιπαρά οξέα. Αυτή η προσέγγιση ενισχύει την κυκλική οικονομία, μειώνοντας την εξάρτηση από ορυκτά καύσιμα και προσφέροντας μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για την παραγωγή ενέργειας (Chisti, 2007).

Η ισορροπία μεταξύ της αύξησης της συγκέντρωσης CO₂ και της διατήρησης ευνοϊκών περιβαλλοντικών συνθηκών είναι καθοριστικής σημασίας για τη μέγιστη παραγωγικότητα των μικροφυκών. Η ικανότητα αυτών των μικροσκοπικών οργανισμών να προσαρμόζονται στις μεταβολές της συγκέντρωσης CO₂ και των περιβαλλοντικών συνθηκών τους καθιστά μια εξαιρετική λύση για τη βιώσιμη ανάπτυξη και τη μείωση των αερίων του θερμοκηπίου.

1.2.5.2 ΓΛΥΚΕΡΟΛΗ

Η γλυκερόλη, ένα παραπροϊόν της βιομηχανίας βιοκαυσίμων και σαπουνιών, έχει αποκτήσει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον λόγω της δυνατότητάς της να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική πηγή άνθρακα σε διάφορες βιολογικές διεργασίες. Στον τομέα της μικροβιακής καλλιέργειας, η γλυκερόλη μπορεί να ενισχύσει την ανάπτυξη μικροφυκών, αυξάνοντας την παραγωγή βιομάζας και λιπιδίων, ενώ παράλληλα συμβάλλει στη φυτοαποκατάσταση μέσω της απομάκρυνσης ρύπων από το περιβάλλον (Gougoulas et al., 2021; Rana & Prajapati, 2021). Παράλληλα, η γλυκερόλη χρησιμοποιείται και στον ανθρώπινο μεταβολισμό, όπου φαίνεται να επηρεάζει θετικά την αθλητική απόδοση, προσφέροντας μεγαλύτερη αντοχή και μειώνοντας την κόπωση (Patlar et al., 2012). Αυτές οι διαφορετικές εφαρμογές δείχνουν τη σημασία της γλυκερόλης τόσο στη βιομηχανία όσο και στη βιολογία, καθιστώντας την ένα πολυλειτουργικό μόριο με πολλαπλές προοπτικές.

Η αξιοποίηση της γλυκερόλης στις μικροαλγικές καλλιέργειες έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα ευεργετική, καθώς λειτουργεί ως μια αποδοτική και οικονομικά συμφέρουσα πηγή άνθρακα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η γλυκερόλη μπορεί να αυξήσει τον ρυθμό ανάπτυξης και τη συσσώρευση λιπιδίων στις μικροάλγες, γεγονός που τη μετατρέπει σε ένα ελαστικό υπόστρωμα για την παραγωγή βιοκαυσίμων (Gougoulas et al., 2021; Rana & Prajapati, 2021). Επιπλέον, η παρουσία της σε υδατικά συστήματα έχει συνδεθεί με βελτιωμένη ικανότητα απορρόφησης θρεπτικών ουσιών και απομάκρυνσης ρύπων, ενισχύοντας την εφαρμογή των μικροφυκών στη διαχείριση

αποβλήτων (Rana & Prajapati, 2021). Ωστόσο, η συγκέντρωση της γλυκερόλης παίζει κρίσιμο ρόλο, καθώς υπερβολικές ποσότητες μπορεί να έχουν ανασταλτική δράση, επηρεάζοντας τον μεταβολισμό των μικροοργανισμών.

Στον ανθρώπινο οργανισμό, η γλυκερόλη φαίνεται να έχει επίσης σημαντικές φυσιολογικές επιδράσεις, ιδιαίτερα στον τομέα της αθλητικής απόδοσης. Έρευνες έχουν δείξει ότι η κατανάλωσή της μπορεί να ενισχύσει την αερόβια ικανότητα, καθυστερώντας την κόπωση και βελτιώνοντας τη διατήρηση των υγρών στο σώμα, στοιχεία κρίσιμα για αθλητές αντοχής (Patlar et al., 2012). Παράλληλα, μπορεί να συμβάλει στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος και να επιβραδύνει τη συσσώρευση γαλακτικού οξέος κατά την αναερόβια άσκηση, μειώνοντας έτσι την αίσθηση κόπωσης. Αυτά τα χαρακτηριστικά την καθιστούν έναν πιθανό εργογόνο παράγοντα, ιδιαίτερα σε αθλητικές δραστηριότητες που απαιτούν υψηλή αντοχή και παρατεταμένη προσπάθεια. Συνολικά, η γλυκερόλη αναδεικνύεται ως ένα πολυλειτουργικό μόριο με εφαρμογές που εκτείνονται από τη βιομηχανική βιοτεχνολογία μέχρι τη βελτίωση της ανθρώπινης απόδοσης, επιβεβαιώνοντας τη σημασία της στη σύγχρονη επιστημονική έρευνα.

1.2.5.3 ΓΛΥΚΟΖΗ

Η γλυκόζη αποτελεί μία από τις σημαντικότερες πηγές άνθρακα για την ανάπτυξη των μικροφυκών, ιδιαίτερα σε μικτές καλλιέργειες όπου συνδυάζονται φωτοαυτότροφες και ετεροτροφικές συνθήκες. Σύμφωνα με τη μελέτη των Cheirsilp και Torpee (2012), η προσθήκη γλυκόζης στο καλλιεργητικό μέσο μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική ενίσχυση της βιομάζας και της παραγωγής λιπιδίων στις μικροάλγες. Η γλυκόζη λειτουργεί ως εύκολα διαθέσιμο θρεπτικό συστατικό, επιτρέποντας στα κύτταρα να αναπτυχθούν γρηγορότερα ακόμη και σε χαμηλές συνθήκες φωτισμού, κάτι που είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε βιομηχανικές εφαρμογές όπου ο έλεγχος των περιβαλλοντικών παραγόντων μπορεί να είναι δύσκολος (Cheirsilp & Torpee, 2012). Παράλληλα, η συγκέντρωση της γλυκόζης παίζει καθοριστικό ρόλο, καθώς μέτριες ποσότητες φαίνεται να προάγουν τη μέγιστη απόδοση ανάπτυξης, ενώ υπερβολικές συγκεντρώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε ανασταλτικά φαινόμενα λόγω οσμωτικής πίεσης ή μεταβολικού στρες (Cheirsilp & Torpee, 2012). Επιπλέον, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η ένταση του φωτός αλληλεπιδρά με τη διαθεσιμότητα της γλυκόζης, επηρεάζοντας τον τρόπο που οι μικροάλγες εκμεταλλεύονται την ενέργεια για την ανάπτυξη και τη συσσώρευση λιπιδίων. Αυτή η παρατήρηση δείχνει ότι η γλυκόζη δεν δρα μεμονωμένα αλλά επηρεάζεται από άλλους παράγοντες, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών καλλιέργειας (Cheirsilp & Torpee, 2012). Συνολικά, η γλυκόζη αποτελεί μια εξαιρετική εναλλακτική πηγή άνθρακα, που μπορεί να αυξήσει την παραγωγικότητα των μικροφυκών και να τα καταστήσει πιο αποδοτικά για βιομηχανικές εφαρμογές, όπως η παραγωγή βιοκαυσίμων και η επεξεργασία αποβλήτων (Cheirsilp & Torpee, 2012).

1.2.5.4 ΦΡΟΥΚΤΟΖΗ

Η φρουκτόζη, ένα φυσικό σάκχαρο που βρίσκεται σε φρούτα και φυτά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα μικροφύκη ως εναλλακτική πηγή άνθρακα, ενισχύοντας τόσο την ανάπτυξή τους όσο και την παραγωγή λιπιδίων. Σύμφωνα με τη μελέτη των Lee et al. (2020), η φρουκτόζη μπορεί να βελτιώσει τη ροή του μεταβολισμού των υδατανθράκων, προάγοντας τη συσσώρευση λιπαρών οξέων. Αυτή η διεργασία καθιστά τη φρουκτόζη ιδιαίτερα χρήσιμη για τη βιομηχανική καλλιέργεια μικροφυκών, καθώς συμβάλλει στην αύξηση της παραγωγής λιπιδίων, τα οποία έχουν εφαρμογές σε τομείς όπως τα βιοκαύσιμα και τα βιοδραστικά προϊόντα (Lee et al., 2020). Παράλληλα, η διαθεσιμότητα της φρουκτόζης επηρεάζει σημαντικά τη συνολική φυσιολογία των μικροφυκών, καθώς η αυξημένη πρόσληψή της οδηγεί σε μεγαλύτερη αποθήκευση ενέργειας και αλλαγές στη λιπογένεση (Lee et al., 2020). Ωστόσο, η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται από τη συγκέντρωση, καθώς υψηλά επίπεδα μπορούν να μεταβάλλουν τη μεταβολική ισορροπία των κυττάρων. Συνολικά, η φρουκτόζη αναδεικνύεται ως μια αποδοτική πηγή άνθρακα που μπορεί να αξιοποιηθεί για την ενίσχυση της παραγωγής λιπιδίων στις καλλιέργειες μικροφυκών, ενισχύοντας τις βιοτεχνολογικές και ενεργειακές εφαρμογές τους.

1.2.5.5 ΑΙΘΑΝΟΛΗ

Η αιθανόλη αποτελεί μια σημαντική οργανική ένωση που μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό των μικροφυκών, είτε ως υπόστρωμα είτε ως τελικό προϊόν βιομετατροπής. Σύμφωνα με τη μελέτη των Lakatos et al. (2019), οι πολυσακχαρίτες που παράγονται από τα μικροφύκη μπορούν να υποστούν ζύμωση, οδηγώντας στην παραγωγή βιοαιθανόλης, η οποία αποτελεί μια βιώσιμη εναλλακτική πηγή ενέργειας. Τα μικροφύκη διαθέτουν την ικανότητα να καταναλώνουν αιθανόλη ως πηγή άνθρακα υπό ετεροτροφικές συνθήκες, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξή τους και τη βιοσύνθεση λιπιδίων (Lakatos et al., 2019). Παράλληλα, η αποδοτικότητα αυτής της διαδικασίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση της αιθανόλης, καθώς υψηλές ποσότητες μπορεί να λειτουργήσουν ανασταλτικά για την ανάπτυξη των κυττάρων λόγω τοξικότητας (Lakatos et al., 2019). Η χρήση της αιθανόλης σε μικροαλγικές καλλιέργειες παρουσιάζει ενδιαφέρον τόσο για τη βιοτεχνολογία όσο και για την παραγωγή βιοκαυσίμων, καθώς μπορεί να αξιοποιηθεί σε κυκλικά βιομηχανικά μοντέλα, όπου τα μικροφύκη παράγουν και καταναλώνουν αιθανόλη σε διαφορετικά στάδια του μεταβολισμού τους. Σπουδαίο ρόλο λαμβάνει στις μικροαλγικές βιοδιεργασίες, ενισχύοντας την ανάπτυξη υπό συγκεκριμένες συνθήκες αλλά και λειτουργώντας ως ενδιάμεσος μεταβολίτης για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

1.2.5.6 ΜΕΘΑΝΟΛΗ

Η μεθανόλη, ως ένας απλός οργανικός διαλύτης, μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό των μικροφυκών, είτε ως πηγή άνθρακα είτε ως παράγοντας που επηρεάζει τη σύνθεση βιοπροϊόντων. Σύμφωνα με τη μελέτη των Miazek et al. (2017), η παρουσία μεθανόλης σε μικροαλγικές καλλιέργειες μπορεί να έχει τόσο θετικές όσο και αρνητικές επιδράσεις, ανάλογα με τη συγκέντρωση και τις συνθήκες καλλιέργειας. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η μεθανόλη μπορεί να ενισχύσει τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης, διευκολύνοντας την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών και την αύξηση της βιομάζας (Miazek et al., 2017). Ωστόσο, υψηλότερες ποσότητες μπορεί να γίνουν τοξικές, διαταράσσοντας τη δομή των κυττάρων και αναστέλλοντας τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα. Επιπλέον, η μεθανόλη χρησιμοποιείται συχνά στη διαδικασία εκχύλισης βιοδραστικών ενώσεων από μικροφύκη, όπως λιπίδια και χρωστικές, γεγονός που την καθιστά σημαντική για τη βιομηχανική αξιοποίηση αυτών των οργανισμών (Miazek et al., 2017). Συνολικά, η μεθανόλη μπορεί να επηρεάσει ποικιλοτρόπως τις μικροαλγικές καλλιέργειες, λειτουργώντας τόσο ως υπόστρωμα για τον μεταβολισμό όσο και ως εργαλείο για την παραγωγή βιοπροϊόντων.

1.2.5.7 ΑΖΩΤΟ

Το άζωτο αποτελεί ένα από τα πιο κρίσιμα θρεπτικά συστατικά για τα μικροφύκη, καθώς παίζει κεντρικό ρόλο σε πολλές από τις βιολογικές τους λειτουργίες. Είναι απαραίτητο για τη σύνθεση πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και άλλων κυτταρικών συστατικών, γεγονός που το καθιστά βασικό παράγοντα για την ανάπτυξη, τη μεταβολική δραστηριότητα και την παραγωγή βιομάζας. Η διαθεσιμότητα αζώτου μπορεί να επηρεάσει τις φωτοσυνθετικές διαδικασίες, τη βιοχημική σύνθεση και τη γενικότερη φυσιολογία των μικροφυκών, προσδίδοντάς του ζωτική σημασία για την κατανόηση και αξιοποίηση αυτών των μικροοργανισμών.

Τα επίπεδα αζώτου στο περιβάλλον επηρεάζουν άμεσα την κυτταρική διαίρεση και τη συνολική ανάπτυξη των μικροφυκών. Υπό συνθήκες επάρκειας, τα μικροφύκη επιτυγχάνουν σε υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης και αυξημένη παραγωγή βιομάζας. Στην περίπτωση του μικροφύκου *Isochrysis galbana*, έχει παρατηρηθεί ότι η βέλτιστη διαθεσιμότητα αζώτου οδηγεί σε ταχεία ανάπτυξη και ενισχυμένη συσσώρευση βιομάζας (Zarrinmehr et al., 2019). Αντίθετα, όταν το άζωτο είναι περιορισμένο, η ανάπτυξη επιβραδύνεται, οδηγώντας σε στασιμότητα ή ακόμα και σε κυτταρική αποσύνθεση.

Η σύνδεση μεταξύ αζώτου και ανάπτυξης αποδίδεται στη σημασία του πρώτου για βασικές βιολογικές διεργασίες, όπως η σύνθεση αμινοξέων και νουκλεϊκών οξέων. Η επάρκεια αυτών των μορίων είναι κρίσιμη για τη λειτουργία των ενζύμων και τη διαίρεση των κυττάρων, γεγονός που εξηγεί γιατί η έλλειψη αζώτου οδηγεί σε μειωμένη παραγωγικότητα. Παρόλο που τα μικροφύκη μπορούν να προσαρμοστούν

σε συνθήκες χαμηλής διαθεσιμότητας αζώτου, αυτές οι προσαρμογές συνήθως περιλαμβάνουν αλλαγές που μειώνουν την αποδοτικότητα της ανάπτυξης.

Η φωτοσύνθεση αποτελεί τη βάση της ενεργειακής λειτουργίας των μικροφυκών και επηρεάζεται έντονα από τα επίπεδα αζώτου. Η επάρκεια αζώτου διασφαλίζει την ισορροπημένη λειτουργία των φωτοσυστημάτων, ενώ η ανεπάρκεια προκαλεί δυσλειτουργίες που μειώνουν την αποδοτικότητα της φωτοσύνθεσης. Σύμφωνα με έρευνες, η έλλειψη αζώτου επηρεάζει κυρίως το Φωτοσύστημα II (PSII), μειώνοντας τη λειτουργικότητά του σε μεγαλύτερο βαθμό από το Φωτοσύστημα I (PSI) (Berges et al., 1996). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, η οποία αποτελεί κρίσιμο μέρος της διαδικασίας παραγωγής ενέργειας στα μικροφύκη.

Η παραγωγή χλωροφύλλης, που είναι απαραίτητη για τη συλλογή φωτός κατά τη φωτοσύνθεση, μειώνεται επίσης σε συνθήκες περιορισμού αζώτου. Αυτή η μείωση επηρεάζει την ικανότητα των μικροφυκών να απορροφούν ηλιακή ενέργεια, με συνέπεια τη μείωση της φωτοσυνθετικής τους απόδοσης. Παράλληλα, η έλλειψη αζώτου μπορεί να προκαλέσει φωτοζημία, καθώς τα κύτταρα αδυνατούν να επιδιορθώσουν τις βλάβες στο PSII, οδηγώντας σε περαιτέρω μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας.

Η διαθεσιμότητα αζώτου καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τη βιοχημική σύνθεση των μικροφυκών, επηρεάζοντας τη συσσώρευση πρωτεϊνών, λιπιδίων και υδατανθράκων. Όταν το άζωτο είναι διαθέσιμο, τα μικροφύκη δίνουν προτεραιότητα στη σύνθεση πρωτεϊνών, οι οποίες είναι απαραίτητες για τις κυτταρικές λειτουργίες και την ανάπτυξη. Αντίθετα, σε συνθήκες περιορισμού, τα μικροφύκη αναπροσαρμόζουν τους μεταβολικούς τους πόρους για να ενισχύσουν τη συσσώρευση λιπιδίων και υδατανθράκων, τα οποία μπορούν να αποθηκευτούν και να χρησιμοποιηθούν ως πηγές ενέργειας σε περιόδους έλλειψης θρεπτικών συστατικών (Zarrinmehr et al., 2019).

Αυτές οι αλλαγές έχουν σημαντικές εφαρμογές στη βιομηχανία. Για παράδειγμα, η αυξημένη συσσώρευση λιπιδίων υπό συνθήκες περιορισμού αζώτου καθιστά τα μικροφύκη ιδανικούς οργανισμούς για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Ωστόσο, η αλλαγή αυτή συνοδεύεται συχνά από μείωση της συνολικής παραγωγικότητας, γεγονός που απαιτεί προσεκτική διαχείριση των επιπέδων αζώτου στις καλλιέργειες.

Η έλλειψη αζώτου επηρεάζει επίσης τη μορφολογία και τη φυσιολογία των μικροφυκών. Τα κύτταρα τείνουν να γίνονται μικρότερα, ενώ το κυτταρικό τους τοίχωμα παχαίνει, αυξάνοντας την ανθεκτικότητά τους σε μηχανικές πιέσεις και δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (Yap et al., 2016). Αν και αυτές οι αλλαγές βοηθούν τα μικροφύκη να επιβιώσουν, περιορίζουν τη συνολική τους απόδοση, καθώς η μικρότερη επιφάνεια κυττάρων μειώνει την απορρόφηση θρεπτικών ουσιών και η πάχυνση του κυτταρικού τοιχώματος δυσχεραίνει τη μεταβολική δραστηριότητα.

Οι επιδράσεις του αζώτου στα μικροφύκη έχουν σημαντικές επιπτώσεις σε διάφορες βιομηχανικές και περιβαλλοντικές εφαρμογές. Στην υδατοκαλλιέργεια, η επάρκεια αζώτου εξασφαλίζει την παραγωγή μικροφυκών υψηλής θρεπτικής αξίας, τα οποία χρησιμοποιούνται ως τροφή για ψάρια και οστρακοειδή. Η παραγωγή βιοκαυσίμων βασίζεται συχνά στη χρήση μικροφυκών για τη συσσώρευση λιπιδίων, μια διαδικασία που ενισχύεται από τον περιορισμό του αζώτου. Στην επεξεργασία λυμάτων, η διαθεσιμότητα αζώτου επηρεάζει την απορρόφηση φωσφόρου από τα μικροφύκη, με σημαντικές συνέπειες για την ανάκτηση θρεπτικών συστατικών και την προστασία του περιβάλλοντος (Beuckels et al., 2015).

Σύμφωνα με την έρευνα των Papapolymerou et al. (2023), η *Chlorella sorokiniana* παρουσίασε σημαντικές διακυμάνσεις στην ανάπτυξή της ανάλογα με τα επίπεδα αζώτου στο θρεπτικό της μέσο. Όταν οι συγκεντρώσεις αζώτου ήταν υψηλές, η βιομάζα αυξήθηκε, καθώς το άζωτο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση πρωτεϊνών και την κυτταρική διαίρεση. Ωστόσο, η υπερβολική παρουσία του δεν ευνόησε την παραγωγή λιπιδίων, καθώς τα κύτταρα προσανατολίζονταν περισσότερο στη βιοσύνθεση πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Αντίθετα, σε χαμηλές συγκεντρώσεις αζώτου, τα μικροφύκη εισήλθαν σε κατάσταση στρες, με αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού ανάπτυξής τους, αλλά την ταυτόχρονη αύξηση της παραγωγής λιπιδίων, γεγονός που ενισχύει την παραγωγικότητα των βιοκαυσίμων.

Η επίδραση του αζώτου στην ανάπτυξη και τη σύνθεση λιπιδίων των μικροφυκών έχει μελετηθεί και σε άλλα είδη, όπως η *Chlorella vulgaris*. Σύμφωνα με την έρευνα των Metsoviti et al. (2018), η καλλιέργεια της *Chlorella vulgaris* σε περιβάλλοντα με διαφορετικά επίπεδα αζώτου επηρέασε σημαντικά τη βιομάζα και την περιεκτικότητά της σε λιπίδια και πρωτεΐνες. Οι υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου οδήγησαν σε αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης, ωστόσο η σύνθεση λιπιδίων ήταν χαμηλή. Αντίθετα, σε συνθήκες χαμηλού αζώτου, η κυτταρική ανάπτυξη μειώθηκε, αλλά η συγκέντρωση λιπιδίων αυξήθηκε σημαντικά. Επιπλέον, η μελέτη έδειξε ότι μια δίσταδη στρατηγική καλλιέργειας, όπου αρχικά παρέχεται άφθονο άζωτο και στη συνέχεια μειώνεται, μπορεί να επιτύχει έναν ικανοποιητικό συμβιβασμό μεταξύ υψηλής βιομάζας και υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια.

Η σχέση μεταξύ του αζώτου και της παραγωγής βιομάζας είναι κρίσιμη για τη βιοτεχνολογική αξιοποίηση των μικροφυκών. Οι παραγωγοί βιοκαυσίμων επιδιώκουν τη βέλτιστη ισορροπία μεταξύ υψηλής βιομάζας και υψηλής περιεκτικότητας σε λιπίδια, κάτι που απαιτεί προσεκτική διαχείριση των θρεπτικών συστατικών. Η μελέτη των Papapolymerou et al. (2023) καταδεικνύει ότι η ρύθμιση των επιπέδων αζώτου μπορεί να βελτιστοποιήσει την αποδοτικότητα των μικροφυκών ως πηγής βιοκαυσίμων, ανάλογα με τον στόχο της παραγωγής. Για παράδειγμα, αν ο σκοπός είναι η μαζική καλλιέργεια μικροφυκών, τότε απαιτούνται υψηλά επίπεδα αζώτου, ενώ αν ο στόχος είναι η υψηλή απόδοση λιπιδίων για παραγωγή βιοντίζελ, τότε η μείωση της παροχής αζώτου μπορεί να αποτελέσει μια στρατηγική επιλογή. Αυτή η δυναμική

προσέγγιση στην καλλιέργεια μικροφυκών μπορεί να οδηγήσει σε πιο αποδοτικές και βιώσιμες πρακτικές στον τομέα των ανανεώσιμων πηγών ενέργειας.

1.2.5.8 ΦΩΣΦΟΡΟΣ

Τα μικροφύκη χρησιμοποιούν τον φώσφορο για τη δέσμευση ενέργειας μέσω της παραγωγής ATP, το οποίο αποτελεί βασικό μοριακό καταλύτη για πολλές κυτταρικές διεργασίες. Η έλλειψη φωσφόρου μπορεί να περιορίσει την κυτταρική διαίρεση, ενώ τα μικροφύκη που βρίσκονται σε περιβάλλοντα με χαμηλή διαθεσιμότητα φωσφόρου αναπτύσσουν μηχανισμούς αποθήκευσης ώστε να διαχειριστούν καλύτερα τους περιορισμούς αυτούς (Reynolds, 2006). Σε συνθήκες υψηλής συγκέντρωσης φωσφόρου, ωστόσο, οι ρυθμοί ανάπτυξης αυξάνονται εκθετικά, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική ανάπτυξη, ή αλλιώς ευτροφισμό, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση του οικοσυστήματος λόγω της εξάντλησης του οξυγόνου.

Η επάρκεια φωσφόρου είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη φωτοσυνθετική απόδοση των μικροφυκών. Ο φώσφορος εμπλέκεται στη σύνθεση του ATP και του NADPH, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη δέσμευση της ηλιακής ενέργειας και τη μετατροπή της σε οργανική ύλη (Schindler et al., 2008). Σε περιπτώσεις έλλειψης φωσφόρου, παρατηρείται μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας, γεγονός που επηρεάζει αρνητικά τη συνολική ανάπτυξη και την ενεργειακή απόδοση.

Όταν ο φώσφορος είναι περιορισμένος, τα μικροφύκη μεταβαίνουν σε εναλλακτικές μεταβολικές στρατηγικές. Μια από αυτές είναι η αυξημένη παραγωγή λιπιδίων, ιδιαίτερα τριακυλογλυκερολών (TAGs), οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή βιοκαυσίμων (Fargione et al., 2012). Αυτή η διαδικασία είναι σημαντική για βιομηχανικές εφαρμογές, καθώς μπορεί να αυξήσει την απόδοση λιπιδίων σε συνθήκες που διαφορετικά θα ήταν δυσμενείς για την ανάπτυξη. Ένα από τα σημαντικότερα περιβαλλοντικά οφέλη της μελέτης του φωσφόρου στα μικροφύκη είναι η δυνατότητα χρήσης τους για την απομάκρυνση περίσσειας ποσότητας φωσφόρου από τα λύματα. Τα μικροφύκη είναι αποτελεσματικά στην απορρόφηση θρεπτικών ουσιών, καθιστώντας τα χρήσιμα για τη μείωση της ευτροφικής ρύπανσης (Vymazal, 2007). Η χρήση μικροφυκών για την επεξεργασία λυμάτων συμβάλλει επίσης στη μείωση του κόστους παραγωγής βιομάζας.

1.2.5.9 ΘΕΙΟ

Το θείο είναι ένα ζωτικό θρεπτικό συστατικό για τα μικροφύκη, που συμμετέχει σε πολλές βιοχημικές διεργασίες, όπως η σύνθεση αμινοξέων, πρωτεϊνών, και λιπιδίων. Έχει σημαντική σημασία στην ανάπτυξη των μικροφυκών, καθώς είναι απαραίτητο για την παραγωγή συνενζύμων, όπως το συνένζυμο A, που συμμετέχει στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και των αμινοξέων (Giordano et al., 2005). Η διαθεσιμότητα του θείου σε ένα θρεπτικό μέσο είναι καθοριστική για την

παραγωγικότητα των μικροφυκών, καθώς επηρεάζει την ανάπτυξή τους και τη φωτοσυνθετική τους δραστηριότητα.

Η έλλειψη θείου επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη των μικροφυκών. Μελέτες έχουν δείξει ότι η στέρηση θείου οδηγεί σε σημαντική μείωση του ρυθμού ανάπτυξης της βιομάζας σε διάφορα είδη μικροφυκών. Σε πειράματα με το μικροφύκος *Chlorella sorokiniana*, παρατηρήθηκε ότι η στέρηση θείου οδήγησε σε μείωση της κυτταρικής ανάπτυξης, και η βιομάζα μειώθηκε σημαντικά (Wang et al., 2020). Αυτή η μείωση οφείλεται κυρίως στην αναστολή της σύνθεσης πρωτεϊνών και στη διαταραχή της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας, καθώς το θείο είναι απαραίτητο για την καλή λειτουργία των φωτοσυστημάτων των μικροφυκών (Melis et al., 2000). Παρόμοια, σε πειράματα με το μικροφύκος *Scenedesmus obliquus*, παρατηρήθηκε ότι η στέρηση θείου είχε ως αποτέλεσμα την πτώση των ρυθμών φωτοσύνθεσης και τη μειωμένη αποδοτικότητα του φωτοσυστήματος II (Melis et al., 2000).

Ωστόσο, η στέρηση θείου έχει και άλλες ενδιαφέρουσες συνέπειες στην παραγωγικότητα των μικροφυκών. Παρά την αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη, η έλλειψη θείου μπορεί να ενισχύσει τη συσσώρευση λιπιδίων στα μικροφύκη, κάτι που είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Η μελέτη του Sakarika και Kornaros (2017) έδειξε ότι η στέρηση θείου στο *Chlamydomonas reinhardtii* προκαλεί αύξηση της παραγωγής τριακυλογλυκερολών (TAG), ενώ η βιομάζα και οι ρυθμοί ανάπτυξης παρουσίασαν σημαντική μείωση. Αυτή η στρατηγική χρησιμοποιείται σε βιοτεχνολογικές εφαρμογές, όπου η αύξηση των λιπιδίων είναι επιθυμητή για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Παρόμοια, η έλλειψη θείου σε άλλα είδη μικροφυκών, όπως το *Scenedesmus obliquus*, οδηγεί σε συσσώρευση λιπιδίων, ενώ η αύξηση της λιπιδικής παραγωγής συνοδεύεται από μείωση της γενικής βιομάζας (Wang et al., 2020).

Επιπλέον, η στέρηση θείου προκαλεί μεταβολές στις αντιδράσεις άμυνας των μικροφυκών. Η έλλειψη θείου οδηγεί σε οξειδωτική πίεση, καθώς τα κύτταρα ενεργοποιούν αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς για να αντιμετωπίσουν το οξειδωτικό στρες που προκαλεί η έλλειψη αυτού του θρεπτικού συστατικού. Οι Salbitani, G. (2015) ανέφεραν ότι το *Chlorella* αυξάνει τη δραστηριότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων σε συνθήκες στέρησης θείου, υποδεικνύοντας την ενεργοποίηση μοριακών οδών που προστατεύουν τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες. Αυτή η αντίδραση υπογραμμίζει την ανάγκη για προσεκτική διαχείριση των επιπέδων θείου στις καλλιέργειες μικροφυκών, καθώς η υπερβολική οξειδωτική πίεση μπορεί να βλάψει τα κύτταρα και να περιορίσει την παραγωγικότητά τους.

Η φωτοσύνθεση, ως διαδικασία που εξαρτάται από την παρουσία θείου, επηρεάζεται επίσης από την ποσότητα του θείου στο περιβάλλον. Όπως αναφέρουν οι Melis et al. (2000), το θείο είναι απαραίτητο για την αποτελεσματική λειτουργία του φωτοσυστήματος II, το οποίο παίζει καθοριστικό ρόλο στην απορρόφηση και μεταφορά ενέργειας από το φως κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης. Χωρίς επαρκείς

ποσότητες θείου, η φωτοσυνθετική δραστηριότητα μειώνεται, περιορίζοντας την παραγωγή οργανικών ενώσεων από τα μικροφύκη. Συνεπώς, η διαθεσιμότητα του θείου επηρεάζει τη συνολική απόδοση της φωτοσύνθεσης, η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την παραγωγή βιομάζας.

Η διαχείριση του θείου στις καλλιέργειες μικροφυκών είναι κρίσιμη για τη βελτιστοποίηση της παραγωγικότητας και της βιομάζας, ιδιαίτερα όταν στοχεύουμε σε εφαρμογές βιοτεχνολογίας και παραγωγής βιοκαυσίμων. Η χρήση στρατηγικών στέρησης θείου μπορεί να είναι χρήσιμη για την αύξηση της παραγωγής λιπιδίων, αλλά πρέπει να διατηρείται μια ισορροπία για να αποφεύγονται οι αρνητικές επιπτώσεις στην ανάπτυξη και τη συνολική παραγωγικότητα των μικροφυκών.

1.2.6. ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ

Τα μικροφύκη έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια λόγω της δυνατότητάς τους να προσφέρουν βιώσιμες λύσεις σε κρίσιμες παγκόσμιες προκλήσεις, όπως η παραγωγή καθαρής ενέργειας, η εξασφάλιση τροφής και η περιβαλλοντική προστασία. Ειδικότερα, αποτελούν ιδανικούς οργανισμούς για την παραγωγή βιοκαυσίμων, καθώς είναι πλούσια σε λιπίδια, τα οποία μπορούν να μετατραπούν σε βιοντίζελ, μια φιλική προς το περιβάλλον μορφή ενέργειας (Chisti, 2007). Επιπλέον, η υψηλή περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες και βιταμίνες τα καθιστά εξαιρετικά χρήσιμα για τη διατροφή, είτε ως συμπλήρωμα τροφής είτε ως συστατικό ζωοτροφών (Wijffels & Barbosa, 2010).

1.2.6.1 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Τα μικροφύκη είναι μονοκύτταροι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί με τεράστια βιοποικιλότητα, που τα καθιστά πολύτιμη πηγή βιοδραστικών ενώσεων για τη βιομηχανία τροφίμων και διατροφής. Η βιομηχανία τροφίμων αξιοποιεί τα μικροφύκη ως πηγές υψηλής ποιότητας πρωτεϊνών, λιπιδίων, και βιταμινών. Είδη όπως η *Spirulina* και η *Chlorella* έχουν γίνει δημοφιλείς υπερτροφές, πλούσιες σε αντιοξειδωτικά και ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Η καλλιέργεια μικροφυκών είναι περιβαλλοντικά φιλική, καθώς απαιτεί λιγότερη γη και νερό σε σχέση με τις παραδοσιακές γεωργικές πρακτικές (Pulz & Gross, 2004).

Τα μικροφύκη, όπως η *Spirulina* και η *Chlorella*, είναι εξαιρετικά πλούσια σε πρωτεΐνες και άλλα θρεπτικά συστατικά που τα καθιστούν ιδανικά για τη διατροφή μας. Η *Spirulina*, για παράδειγμα, μπορεί να περιέχει μέχρι και 60% πρωτεΐνη, η οποία είναι γεμάτη από όλα τα απαραίτητα αμινοξέα που χρειάζεται το σώμα μας. Εκτός από την υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, τα μικροφύκη είναι πηγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως τα ωμέγα-3, τα οποία είναι σημαντικά για την υγεία της καρδιάς μας. Περιέχουν επίσης βιταμίνες, όπως η Βιταμίνη B12 και η C, που ενισχύουν το ανοσοποιητικό μας σύστημα και βοηθούν στην καλή λειτουργία του οργανισμού. Αυτό τα καθιστά μια εξαιρετική επιλογή για χορτοφάγους και vegans, που συχνά

δυσκολεύονται να βρουν αυτά τα θρεπτικά συστατικά από άλλες πηγές. Τα μικροφύκη είναι, λοιπόν, μια φυσική υπερτροφή, γεμάτη με θρεπτικά συστατικά που ενισχύουν την υγεία και τη διατροφή (Becker, 2007).

Αυτό που κάνει τα μικροφύκη ακόμη πιο ελκυστικά είναι η περιβαλλοντική τους αξία. Η καλλιέργειά τους απαιτεί λιγότερους πόρους σε σχέση με άλλες παραδοσιακές πηγές πρωτεΐνης, όπως η σόγια ή το κρέας, και μπορεί να γίνει σε περιοχές με περιορισμένους γεωργικούς πόρους. Έτσι, τα μικροφύκη δεν προσφέρουν μόνο εξαιρετική θρεπτική αξία για τον άνθρωπο, αλλά αποτελούν και μια βιώσιμη λύση για τη μελλοντική διατροφή του πλανήτη. Για παράδειγμα, η *Chlorella* δεν είναι μόνο πλούσια σε πρωτεΐνη και φυτικές ίνες, αλλά και σε αντιοξειδωτικά που βοηθούν στην προστασία του οργανισμού. Επομένως, τα μικροφύκη αποτελούν μία φιλική προς το περιβάλλον επιλογή για την παραγωγή τροφίμων με χαμηλό οικολογικό αποτύπωμα (Finkel et al., 2016).

Συνολικά, η βιομηχανία τροφίμων αξιοποιεί τα μικροφύκη σε διάφορες εφαρμογές. Τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται συχνά ως συμπληρώματα διατροφής. Η υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, βιταμίνες και αντιοξειδωτικά καθιστά τα μικροφύκη ιδανικά για συμπληρώματα διατροφής, ειδικά για άτομα που ακολουθούν χορτοφαγικές ή vegan δίαιτες, τα μικροφύκη μπορούν να προσφέρουν απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, όπως η βιταμίνη B12. Επιπρόσθετα, τα μικροφύκη αξιοποιούνται ως λειτουργικά τρόφιμα, ενσωματώνονται σε τρόφιμα για την ενίσχυση της θρεπτικής τους αξίας. Για παράδειγμα, η προσθήκη σπιρουλίνας σε αρτοσκευάσματα αυξάνει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και αντιοξειδωτικά. Τέλος, γνωστή είναι η χρήση τους και ως εναλλακτικές πρωτεΐνες, με την αυξανόμενη ζήτηση για βιώσιμες πηγές πρωτεΐνης, τα μικροφύκη προσφέρουν μια εναλλακτική λύση με χαμηλό περιβαλλοντικό αποτύπωμα.

Τα μικροφύκη είναι μια εξαιρετική πηγή βιοδραστικών ενώσεων που προσφέρουν σημαντικά οφέλη για την ανθρώπινη υγεία. Περιέχουν καροτενοειδή, φαινόλες και βιταμίνη C, που συμβάλλουν στην προστασία του οργανισμού από το οξειδωτικό στρες και την πρόληψη διαφόρων χρόνιων ασθενειών. Επιπλέον, ορισμένα είδη μικροφυκών έχουν αποδείξει τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους, βοηθώντας στη μείωση της φλεγμονής και ενισχύοντας το ανοσοποιητικό σύστημα. Ένα άλλο σημαντικό όφελος των μικροφυκών είναι η παρουσία διαιτητικών ινών και άλλων βιοδραστικών συστατικών, τα οποία μπορούν να βελτιώσουν τη μικροχλωρίδα του εντέρου, προάγοντας έτσι την υγεία του πεπτικού συστήματος (Barkia, Saari, & M'Rabet, 2019).

Από την άλλη, σύμφωνα με μια μελέτη που δημοσιεύθηκε στο περιοδικό *International Journal of Food Science & Technology*, οι βιοδραστικές ενώσεις των μικροφυκών έχουν αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση που ενισχύει τη γενική υγεία. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να ενσωματωθούν σε διάφορα προϊόντα διατροφής, ενισχύοντας το θρεπτικό τους προφίλ. Οι δυνατότητες χρήσης των μικροφυκών για τη δημιουργία

λειτουργικών τροφίμων και συμπληρωμάτων διατροφής είναι πολλές, καθώς βοηθούν στη στόχευση ειδικών προβλημάτων υγείας (Caki & Taskin, 2010).

1.2.6.2 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ

Η αυξανόμενη ζήτηση για βιώσιμες και φιλικές προς το περιβάλλον λύσεις ενέργειας έχει οδηγήσει στην αναζήτηση εναλλακτικών καυσίμων που μπορούν να αντικαταστήσουν τα παραδοσιακά ορυκτά καύσιμα. Τα βιοκαύσιμα, όπως το βιοντίζελ, αναδύονται ως μια πολλά υποσχόμενη λύση. Πρόκειται για καύσιμα που παράγονται από βιομάζα, δηλαδή από ανανεώσιμες πρώτες ύλες όπως φυτικά έλαια, ζωικά λίπη και αγροτικά απόβλητα. Με τη χρήση τους επιδιώκεται η μείωση των εκπομπών αερίων θερμοκηπίου και η αντιμετώπιση της ενεργειακής εξάρτησης από τα ορυκτά καύσιμα. Σύμφωνα με έρευνες, τα βιοκαύσιμα όχι μόνο μειώνουν το περιβαλλοντικό αποτύπωμα, αλλά συμβάλλουν και στη διαφοροποίηση του ενεργειακού μείγματος, καθιστώντας τα κρίσιμα για την ενεργειακή μετάβαση (Nigam & Singh, 2011).

Το βιοντίζελ αποτελεί μια βιώσιμη εναλλακτική καύσιμη ύλη που κερδίζει συνεχώς έδαφος στις παγκόσμιες αγορές ενέργειας. Η βασική του ιδιότητα είναι η δυνατότητα χρήσης του ως αντικατάσταση ή πρόσμιξη στο παραδοσιακό πετρέλαιο ντίζελ, προσφέροντας μειωμένες εκπομπές. Το βιοντίζελ μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συμβατικούς κινητήρες ντίζελ χωρίς σημαντικές τροποποιήσεις, γεγονός που ενισχύει τη δημοφιλία του (Demirbas, 2009).

Παρά τα πλεονεκτήματά του, η παραγωγή βιοντίζελ δεν είναι απαλλαγμένη από προκλήσεις. Ένα σημαντικό ζήτημα είναι η εκμετάλλευση καλλιεργήσιμων εκτάσεων για την παραγωγή πρώτων υλών, όπως η σόγια, ο φοίνικας και ο ηλίανθος. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ανταγωνισμό με την παραγωγή τροφίμων και την αποψίλωση δασών, επηρεάζοντας αρνητικά την παγκόσμια βιοποικιλότητα. Επιπλέον, η διαδικασία παραγωγής απαιτεί σημαντική ενέργεια και μπορεί να περιλαμβάνει τη χρήση χημικών ουσιών, γεγονός που ενδέχεται να περιορίσει την καθαρότητα και την περιβαλλοντική της απόδοση. Παρ' όλα αυτά, οι τεχνολογικές εξελίξεις, όπως η χρήση μικροφυκών και άλλων ανανεώσιμων πηγών ως πρώτες ύλες, υπόσχονται να ξεπεράσουν αυτά τα εμπόδια. Όπως τονίζεται σε έρευνα του European Bioenergy Research Institute, τα μικροφύκη μπορούν να αποδώσουν έως και 30 φορές περισσότερη βιομάζα ανά στρέμμα σε σχέση με τις παραδοσιακές καλλιέργειες, καθιστώντας τα μια από τις πιο βιώσιμες λύσεις για το μέλλον (Chisti, 2007).



Εικόνα 8: Συστήματα Καλλιέργειας Μικροφυκών για την Παραγωγή Βιοντίζελ.

Engineer, K. (2024, September 19). *Microalgae cultivation systems for biodiesel production*. Kenya Engineer. <https://www.kenyaengineer.co.ke/microalgae-cultivation-systems-for-biodiesel-production/>

Η οικονομική βιωσιμότητα του βιοντίζελ είναι ένας ακόμα παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη. Παρά την υψηλότερη αρχική επένδυση, οι μακροπρόθεσμες αποταμιεύσεις από τη μείωση των εισαγωγών ορυκτών καυσίμων και τις μειωμένες περιβαλλοντικές επιπτώσεις μπορούν να εξισορροπήσουν το κόστος. Ωστόσο, η έλλειψη υποδομών και η περιορισμένη διαθέσιμη τεχνογνωσία αποτελούν προκλήσεις για την ευρεία διάδοση της χρήσης του, ειδικά στις αναπτυσσόμενες χώρες. Με την ενίσχυση των πολιτικών επιδοτήσεων και την παροχή κινήτρων για την παραγωγή και χρήση βιοντίζελ, μπορεί να επιτευχθεί μια σημαντική αύξηση της παρουσίας του στην αγορά ενέργειας (Knothe, 2010).

Το βιοντίζελ συνεπώς πρόκειται για μια ελπιδοφόρα εναλλακτική πηγή ενέργειας, που μπορεί να συμβάλει σημαντικά στη μείωση των περιβαλλοντικών προβλημάτων και της εξάρτησης από τα ορυκτά καύσιμα. Με την ενσωμάτωση νέων μεθόδων παραγωγής και την ευαισθητοποίηση του κοινού, το βιοντίζελ έχει τη δυνατότητα να κατακτήσει έναν ακόμα πιο σημαντικό ρόλο στο ενεργειακό τοπίο του 21ου αιώνα.

Ταυτόχρονα η ανάπτυξη βιομάζας από μικροφύκη αποτελεί μια σημαντική και υποσχόμενη λύση στον τομέα της ανανεώσιμης ενέργειας, καθώς τα μικροφύκη είναι ικανά να παράγουν μεγάλες ποσότητες βιομάζας σε μικρό χρονικό διάστημα και με μικρές απαιτήσεις σε φυσικούς πόρους. Η υψηλή τους αποδοτικότητα στην παραγωγή ενέργειας οφείλεται στο γεγονός ότι τα μικροφύκη, σε αντίθεση με τις συμβατικές καλλιέργειες, δεν απαιτούν μεγάλες εκτάσεις γης ούτε τεράστιες ποσότητες νερού, ενώ μπορούν να αναπτυχθούν σε περιοχές ακατάλληλες για άλλες γεωργικές χρήσεις (Wijffels & Barbosa, 2010).

Τα μικροφύκη είναι επίσης ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην απορρόφηση του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) από την ατμόσφαιρα, γεγονός που τα καθιστά μια βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική πηγή βιομάζας. Επιπλέον, τα μικροφύκη περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις λιπιδίων, τα οποία μπορούν να μετατραπούν σε βιοκαύσιμα μέσω χημικών διαδικασιών, καθιστώντας τα μια αποδοτική και βιώσιμη πηγή για την παραγωγή βιοντίζελ (Chisti, 2007). Με την τεχνολογία και τις μεθόδους καλλιέργειας που εξελίσσονται διαρκώς, τα μικροφύκη προσφέρουν μια ελπιδοφόρα προοπτική για την ανάπτυξη εναλλακτικών πηγών ενέργειας, οι οποίες μπορούν να συμβάλουν στην ενεργειακή ανεξαρτησία και τη μείωση των εκπομπών CO₂ σε παγκόσμιο επίπεδο.

Ο μηχανισμός παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη βασίζεται στην εξαγωγή των λιπιδίων που παράγονται από τα φύκη, τα οποία στη συνέχεια υποβάλλονται σε χημική μετατροπή για να παράγουν μυκητοειδή εστέρες, όπως το βιοντίζελ (Sialve et al., 2009). Η χρήση μικροφυκών για την παραγωγή βιοντίζελ προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα, όπως η αποδοτικότητα στη χρήση πόρων και η χαμηλή εκπομπή αερίων του θερμοκηπίου σε σύγκριση με τα παραδοσιακά καύσιμα. Επιπλέον, η ανάπτυξή τους μπορεί να συμβεί σε περιοχές με ακατάλληλο έδαφος για άλλες γεωργικές δραστηριότητες, όπως έρημοι ή αλμυρές εκτάσεις, χωρίς να επηρεάζεται η παραγωγή τροφίμων ή άλλων καλλιεργειών (Pandey et al., 2024).

1.2.6.3 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Τα μικροφύκη είναι πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις με αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες. Αυτές οι ιδιότητες τα καθιστούν ιδανικά για χρήση στην παρασκευή καλλυντικών και φαρμακευτικών προϊόντων.

Συγκεκριμένα, το εκχύλισμα μικροφυκών χρησιμοποιείται σε προϊόντα περιποίησης δέρματος λόγω της ικανότητάς του να προστατεύει από την οξειδωτική βλάβη και την υπεριώδη ακτινοβολία (Kim et al., 2014). Παράλληλα, οι αντιμικροβιακές τους ιδιότητες ανοίγουν νέους δρόμους για την ανάπτυξη φυσικών αντιβιοτικών.

Τα μικροφύκη, μικροσκοπικοί φωτοσυνθετικοί οργανισμοί, αποτελούν σημαντική πηγή βιοδραστικών συστατικών που βρίσκουν εφαρμογές στη φαρμακευτική και την καλλυντική βιομηχανία. Η μοναδική τους σύνθεση, που περιλαμβάνει καροτενοειδή, πολυσακχαρίτες, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικά, καθιστά τα μικροφύκη ιδανικά για τη δημιουργία προϊόντων που προάγουν την υγεία και την ευεξία (Borowitzka, 2013).

Τα καροτενοειδή, όπως το β-καροτένιο και η ασταξανθίνη, είναι ευρέως γνωστά για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες. Το β-καροτένιο, που παράγεται κυρίως από το μικροφύκος *Dunaliella salina*, συμβάλλει στην προστασία από την υπεριώδη ακτινοβολία και την οξειδωτική βλάβη. Έρευνες έχουν δείξει ότι το β-καροτένιο μπορεί να μειώσει το ερύθημα που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία και να προστατεύσει από δυσλειτουργίες του αμφιβληστροειδούς (Heinrich et al., 2003; Stahl & Sies, 2012). Επιπλέον, η ασταξανθίνη, που παράγεται από το *Haematococcus pluvialis*, παρουσιάζει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες, προστατεύοντας τα κύτταρα

από την οξειδωτική καταπόνηση (Hamed, 2016). Οι πολυσακχαρίτες που προέρχονται από μικροφύκη, όπως οι καραγενάνες από το *Porphyridium cruentum*, έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικοί στην αναστολή παθογόνων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων της *Salmonella enteritidis* (Pina-Pérez et al., 2017). Αυτοί οι πολυσακχαρίτες βρίσκουν εφαρμογή τόσο σε καλλυντικά προϊόντα για την ενυδάτωση του δέρματος όσο και στη φαρμακευτική ως αντιμικροβιακοί παράγοντες. Τα μικροφύκη είναι πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA) και το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA), τα οποία έχουν αποδεδειγμένα οφέλη για την υγεία της καρδιάς, του εγκεφάλου και του δέρματος (de Morais et al., 2014). Επιπλέον, αυτά τα λιπαρά οξέα παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες, που τα καθιστούν πολύτιμα σε φαρμακευτικά προϊόντα. Όσον αφορά τα μικροφύκη είναι εξαιρετική πηγή βιταμινών, όπως οι A, B1, B2, B6, B12, C, E και K, οι οποίες είναι απαραίτητες για τη σωστή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού (Borowitzka, 2013). Η υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνες και αντιοξειδωτικά καθιστά τα μικροφύκη ιδανικά για τη δημιουργία προϊόντων που ενισχύουν την υγεία του δέρματος, προσφέροντας αντιγηραντική και προστατευτική δράση.

Στον τομέα των καλλυντικών, τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται ευρέως για την παραγωγή προϊόντων ενυδάτωσης, αντιγήρανσης και προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία. Τα εκχυλίσματα μικροφυκών, όπως αυτά του *Chlorella vulgaris* και του *Spirulina platensis*, είναι γνωστά για την ικανότητά τους να ενισχύουν την ελαστικότητα του δέρματος, να μειώνουν τις ρυτίδες και να προάγουν τη συνολική αναζωογόνηση του δέρματος (Vo & Kim, 2013). Συγκεκριμένα, η χρήση μικροφυκών σε προϊόντα περιποίησης δέρματος προσφέρει αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, προστατεύοντας το δέρμα από τη φθορά που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία και τη ρύπανση.

Επιπλέον, τα μικροφύκη βρίσκουν εφαρμογή στην ανάπτυξη προϊόντων που βοηθούν στην αποκατάσταση της υγρασίας του δέρματος. Οι πολυσακχαρίτες που εξάγονται από το *Porphyridium cruentum* λειτουργούν ως φυσικοί ενυδατικοί παράγοντες, δημιουργώντας ένα προστατευτικό φιλμ στο δέρμα που βοηθά στη συγκράτηση της υγρασίας (Lauritano et al., 2019). Τα καλλυντικά που περιέχουν μικροφύκη χρησιμοποιούνται επίσης για τη θεραπεία προβλημάτων όπως η ακμή και η ερυθρότητα, λόγω των αντιμικροβιακών και αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων τους (Hamed, 2016).

Η αυξημένη ζήτηση για φυσικά και φιλικά προς το περιβάλλον προϊόντα έχει ενισχύσει τη χρήση μικροφυκών σε καλλυντικές φόρμουλες, καθώς αυτά προσφέρουν βιοδιασπώμενες και βιώσιμες λύσεις. Οι καινοτομίες στον τομέα της βιοτεχνολογίας επιτρέπουν την απομόνωση και την ενίσχυση συγκεκριμένων συστατικών από μικροφύκη, ανοίγοντας νέους δρόμους για την ανάπτυξη καλλυντικών με εξειδικευμένες λειτουργίες.

Τα μικροφύκη έχουν ευρεία χρήση στη φαρμακευτική βιομηχανία, με εφαρμογές που περιλαμβάνουν τη δημιουργία αντιοξειδωτικών, αντιμικροβιακών και αντιφλεγμονωδών προϊόντων. Για παράδειγμα, οι πολυσακχαρίτες από το *Spirulina platensis* έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικοί στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και στη μείωση της φλεγμονής (Belay et al., 1993). Επιπλέον, τα λιπαρά οξέα από το *Nannochloropsis* έχουν χρησιμοποιηθεί σε έρευνες για τη μείωση των

συμπτωμάτων της κατάθλιψης και των φλεγμονωδών ασθενειών (Adarme-Vega et al., 2013). Τα μικροφύκη είναι επίσης πηγή πολυφαινολών, που παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες, ενώ μελέτες για την αντιική δράση μικροφυκών, όπως το *Chlamydomonas reinhardtii*, έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα έναντι ιών όπως ο HIV (Lauritano et al., 2019). Άλλες εφαρμογές περιλαμβάνουν τη χρήση των μικροφυκών στην παραγωγή βιοφίλτρων για την απομάκρυνση τοξικών ουσιών από το περιβάλλον, οι οποίες χρησιμοποιούνται στη συνέχεια για την ανάπτυξη φαρμακευτικών σκευασμάτων με αναγεννητική δράση. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες που εξάγονται από τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται στην παραγωγή ενζύμων για φαρμακευτικά προϊόντα, καθώς και στη θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα (Borowitzka, 2013).

1.2.6.4 ΜΙΚΡΟΦΥΚΗ ΣΤΟΝ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Η χρήση μικροφυκών για τον καθαρισμό αποβλήτων έχει αναδειχθεί ως μία υποσχόμενη λύση στην αντιμετώπιση της περιβαλλοντικής ρύπανσης και της διαχείρισης αποβλήτων. Τα μικροφύκη, τα οποία είναι μικροί οργανισμοί που φωτοσυνθέτουν, έχουν τη μοναδική ικανότητα να απορροφούν ρυπαντικές ουσίες, όπως βαρέα μέταλλα, οργανικές ενώσεις και θρεπτικά συστατικά, καθιστώντας τα ιδανικά για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων. Στην περίπτωση των αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων, η υπερβολική ποσότητα αζώτου και φωσφόρου προκαλεί την ευτροφισμό των υδάτων, μια κατάσταση που μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα, όπως η ανάπτυξη τοξικών φυκών και η μείωση της βιοποικιλότητας. Τα μικροφύκη απορροφούν αυτά τα θρεπτικά συστατικά και μειώνουν τη συγκέντρωσή τους στο νερό, συμβάλλοντας στη βελτίωση της ποιότητας του νερού (Mohan et al., 2020).

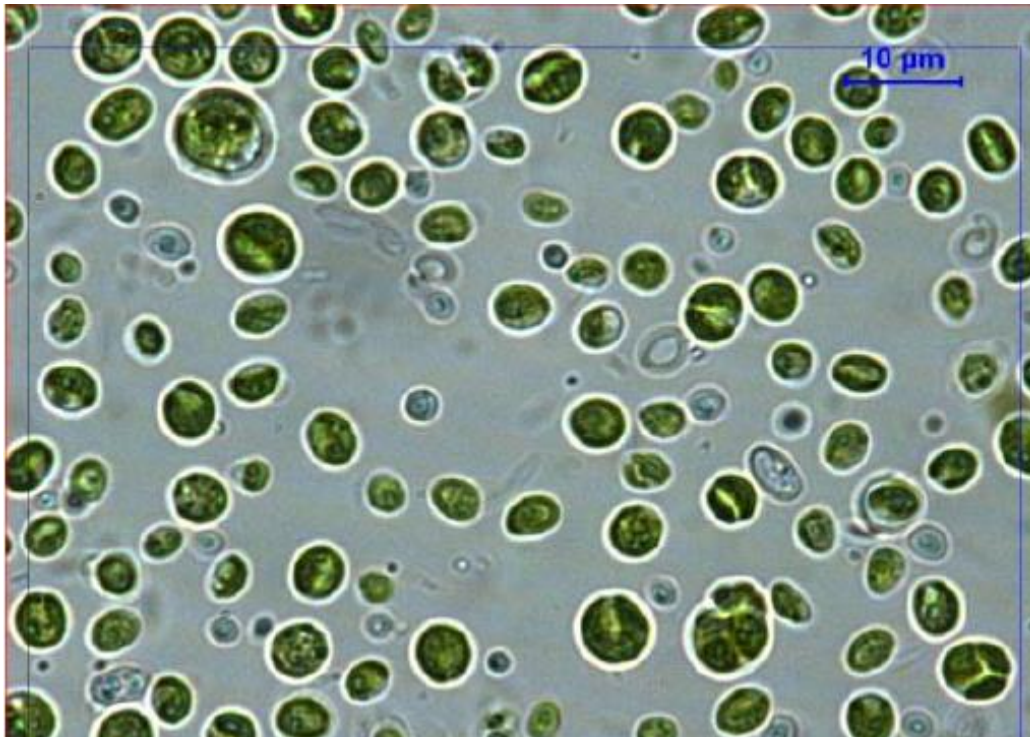
Η διαδικασία καθαρισμού των αποβλήτων μέσω μικροφυκών βασίζεται στη φυσική ικανότητα αυτών των οργανισμών να αναπτύσσονται σε περιβάλλοντα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά. Κατά τη διάρκεια αυτής της ανάπτυξης, τα μικροφύκη καταναλώνουν τις ρυπαντικές ουσίες, απορροφούν διοξείδιο του άνθρακα και παράγουν οξυγόνο μέσω της φωτοσύνθεσης, βελτιώνοντας έτσι τη χημική σύνθεση του νερού. Εντυπωσιακά, εκτός από την καθαριστική τους δράση, τα μικροφύκη παράγουν βιομάζα πλούσια σε θρεπτικά συστατικά, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή βιοκαυσίμων, ζωοτροφών ή άλλων βιοπροϊόντων, καθιστώντας τη διαδικασία αειφόρο και οικονομικά βιώσιμη (Jebali et al., 2020).

Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα της χρήσης μικροφυκών για την επεξεργασία αποβλήτων είναι η εξαιρετική τους ικανότητα να απορροφούν μεγάλες ποσότητες θρεπτικών συστατικών από το νερό με ελάχιστο ενεργειακό κόστος. Η τεχνολογία αυτή είναι πιο φιλική προς το περιβάλλον σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους επεξεργασίας, οι οποίες συχνά απαιτούν χημικά πρόσθετα και υψηλή κατανάλωση ενέργειας. Επιπλέον, η δυνατότητα παραγωγής βιομάζας από τα μικροφύκη προσφέρει νέες ευκαιρίες για τη βιώσιμη αξιοποίηση των πόρων και τη μείωση της ρύπανσης. Σύμφωνα με μελέτες, η εφαρμογή των μικροφυκών στον καθαρισμό των αποβλήτων είναι πιο αποτελεσματική και οικονομικά συμφέρουσα σε σύγκριση με άλλες μεθόδους επεξεργασίας, όπως οι χημικές μέθοδοι ή η επεξεργασία με ενεργό ιλύ (Mohan et al., 2020). Με την πρόοδο της τεχνολογίας και της έρευνας στον τομέα αυτό, η χρήση μικροφυκών μπορεί να διαδραματίσει κεντρικό ρόλο στην αντιμετώπιση των

περιβαλλοντικών προκλήσεων που προκύπτουν από τα απόβλητα και τις εκπομπές ρύπων.

1.3 CHLORELLA SOROKINIANA

Στην παρούσα έρευνα το μικροφύκος που εξετάζεται είναι η *Chlorella sorokiniana*. Η *Chlorella sorokiniana* είναι ένα μικροάλγος που ανήκει στο γένος *Chlorella* και ξεχωρίζει για την ικανότητά της να αναπτύσσεται γρήγορα και να προσαρμόζεται σε διάφορες συνθήκες (Bulynina κ.συν., 2023; Lizzul κ.συν., 2018). Ένα από τα χαρακτηριστικά της *C. sorokiniana* είναι το μικρό της μέγεθος, με διάμετρο κυττάρου που κυμαίνεται από 2 έως 4,5 μm, και η σφαιρική μορφολογία. Αυτό το είδος έχει αρχικά ταυτοποιηθεί ως θερμοάντοχη μετάλλαξη της *Chlorella pyrenoidosa*, αλλά μεταγενέστερες γενετικές αναλύσεις την κατέταξαν ως ξεχωριστό είδος (Lizzul κ.συν., 2018). Η *C. sorokiniana* είναι γνωστή για την ικανότητά της να αναπτύσσεται σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών, συμπεριλαμβανομένων των μικροτροφικών συνθηκών, όπου μπορεί να χρησιμοποιεί τόσο φως όσο και οργανικές πηγές άνθρακα, αυτό την καθιστά ιδιαίτερα ελκυστική για βιομηχανικές εφαρμογές, καθώς μπορεί να καλλιεργηθεί χρησιμοποιώντας απόβλητα και υποπροϊόντα (Lizzul κ.συν., 2018). Τα μικροφύκη όπως η *Chlorella sorokiniana*, έχουν αναδειχθεί ως μία υποσχόμενη βιολογική πηγή για την παραγωγή βιοκαυσίμων και άλλων χρήσιμων ενώσεων, λόγω της ικανότητάς τους να αναπτύσσονται σε ετεροτροφικές συνθήκες με τη χρήση βιομηχανικών εκροών (Papapolymerou et al., 2022a). Η ευελιξία τους να χρησιμοποιούν οργανικές πηγές άνθρακα για την ανάπτυξή τους τα καθιστά ιδανικά για εφαρμογές που σχετίζονται με την αποδοτική αξιοποίηση βιομηχανικών αποβλήτων και τη βιώσιμη παραγωγή εναλλακτικών καυσίμων. Παράλληλα, η υψηλή περιεκτικότητά τους σε λιπίδια και πρωτεΐνες τα καθιστά ελκυστικά τόσο για την παραγωγή βιοντίζελ όσο και για την ανάπτυξη ζωοτροφών και άλλων προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας (Papapolymerou et al., 2022b). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι είναι ανθεκτική σε συνθήκες που θα ήταν επιβλαβείς για άλλα είδη φυκών, όπως η υψηλή θερμοκρασία και η προσθήκη διοξειδίου του άνθρακα από καυσαέρια (Lizzul κ.συν., 2018).



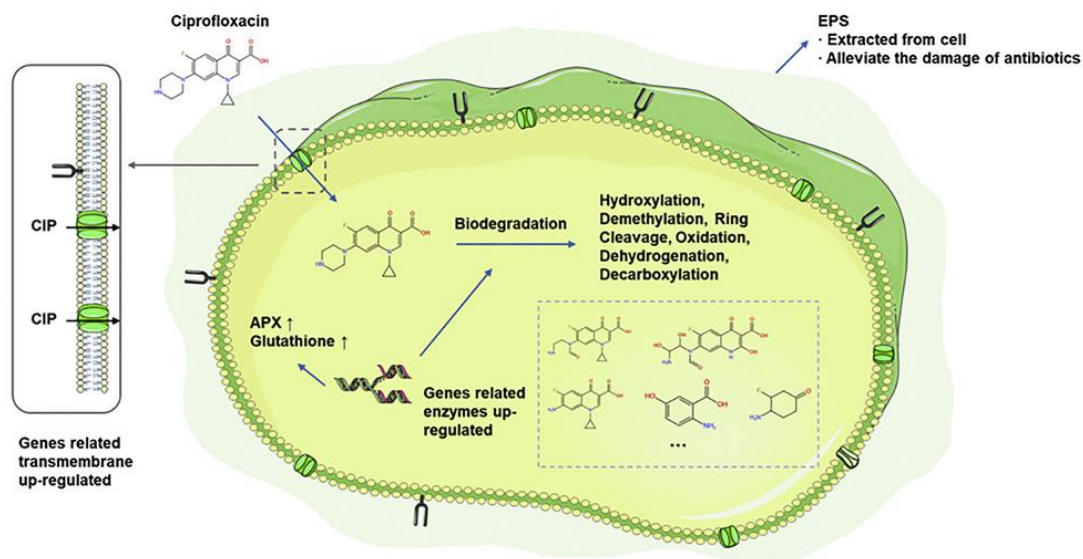
Εικόνα 9: Παραγωγή Βιοκαυσίμου μέσω του πράσινου μικροφύκου *Chlorella sorokiniana*

Samira, Chader & Mahmah, Bouziane & Chetehouna, Khaled & Mignolet, Eric. (2010). Biodiesel production using *Chlorella sorokiniana* a green microalga.

https://www.researchgate.net/publication/268327027_Biodiesel_production_using_Chlorella_sorokiniana_a_green_microalga

1.3.1 ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ *CHLORELLA SOROKINIANA*

Η *Chlorella sorokiniana* έχει αποκτήσει ιδιαίτερη σημασία σε περιβαλλοντικές και βιομηχανικές εφαρμογές χάρη στις μοναδικές της ιδιότητες. Είναι εξαιρετικά χρήσιμη στη διαχείριση αποβλήτων, αφού μπορεί να αφαιρέσει αποτελεσματικά θρεπτικά στοιχεία, όπως το άζωτο και ο φώσφορος, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση της ρύπανσης (Bulynina et al., 2023). Ταυτόχρονα, η καλλιέργειά της είναι βιώσιμη, καθώς μπορεί να αναπτυχθεί σε υπολείμματα και απόβλητα, μειώνοντας την ανάγκη για νέες πηγές ενέργειας ή θρεπτικών. Επίσης, λόγω της θρεπτικής της σύνθεσης, που περιλαμβάνει 40% πρωτεΐνες, 30-38% υδατάνθρακες και 18-22% λιπίδια, η *C. sorokiniana* είναι πολύτιμη για τη βιομηχανία τροφίμων και ζωοτροφών (Lizzul et al., 2018). Παράλληλα, η δυνατότητά της να χρησιμοποιεί οργανικές ενώσεις και να αναπτύσσεται σε δύσκολες συνθήκες την καθιστά εξαιρετική υποψήφια για την παραγωγή βιομάζας και βιοκαυσίμων. Με άλλα λόγια, η *C. sorokiniana* είναι ένας βιώσιμος οργανισμός που συνδυάζει την περιβαλλοντική διαχείριση με τη βιομηχανική αξιοποίηση.



Εικόνα 10: Η εικόνα περιγράφει έναν βακτηριακό μηχανισμό αποδόμησης, ο οποίος σχετίζεται με την μικροβιακή αντοχή.

Zhuo, L. (2022) *Physiological and transcriptomic responses of Chlorella sorokiniana to ciprofloxacin reveal molecular mechanisms for antibiotic removal.*

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589004222009105>

1.3.1.1 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΝΤΙΖΕΛ ΚΑΙ ΒΙΟΚΑΥΣΙΜΟΥ

Όπως προαναφέρθηκε η *Chlorella sorokiniana* έχει αναδειχθεί ως υποσχόμενος μικροοργανισμός για την παραγωγή βιοκαυσίμων, λόγω της ικανότητάς της να παράγει υψηλές ποσότητες βιομάζας και λιπιδίων (Li κ.συν, 2012). Η αποτελεσματικότητα του *Chlorella sorokiniana* στην παραγωγή λιπιδίων και στη διαμόρφωση των ιδιοτήτων του βιοντίζελ έχει μελετηθεί εκτενώς, με τα αποτελέσματα να δείχνουν ότι η χρήση αναερόβιου διηθήματος ως υπόστρωμα μπορεί να επηρεάσει θετικά την ποιότητα του παραγόμενου καυσίμου (Papapolymerou et al., 2022c). Επιπλέον, η ημι-ασυνεχής καλλιέργεια του μικροφύκου έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την αποδοτικότητα παραγωγής λιπαρών οξέων, καθιστώντας την διαδικασία πιο

βιώσιμη και οικονομικά αποδοτική (Papapolymerou et al., 2022b). Πιο συγκεκριμένα σύμφωνα με την μελέτη των Asadi και συνεργάτες, εξετάστηκαν δύο είδη μικροφυκών, η *Chlorella sorokiniana* και η *Chlorella vulgaris*, για την παραγωγή βιοντίζελ, χρησιμοποιώντας μη αποστειρωμένα απόβλητα από γαλακτοκομικές μονάδες ως μέσο καλλιέργειας, 2020. Τα ευρήματα της έρευνας ανέδειξαν σημαντικές δυνατότητες και για τα δύο είδη μικροφυκών. Η *C. sorokiniana* παρουσίασε υψηλότερο ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και παραγωγικότητα βιομάζας, ενώ η *C. vulgaris* ξεχώρισε για την περιεκτικότητά της σε λιπίδια, γεγονός που είναι κρίσιμο για την παραγωγή βιοντίζελ (Asadi κ.συν., 2020). Η χρήση μη αποστειρωμένων αποβλήτων γαλακτοκομικών μονάδων καθιστά τη διαδικασία ιδιαίτερα βιώσιμη, παρέχοντας ταυτόχρονα λύσεις για τη διαχείριση λυμάτων και την παραγωγή ανανεώσιμων καυσίμων.

Παρομοίως οι Hamidian και Zamani διερεύνησαν τη δυνατότητα χρήσης της *Chlorella sorokiniana* για την παραγωγή βιοντίζελ και βιομεθανίου, χρησιμοποιώντας μη επεξεργασμένα γαλακτοκομικά απόβλητα (DWW) ως οικονομική πηγή θρεπτικών συστατικών, 2021. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η *C. sorokiniana* είχε υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, καθιστώντας την εξαιρετικά κατάλληλη για παραγωγή βιοντίζελ υψηλής ποιότητας. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του παραγόμενου βιοντίζελ πληρούσαν τα διεθνή πρότυπα ποιότητας, με καλές τιμές για την οξειδωτική σταθερότητα, το ιξώδες και τον αριθμό κετανίου. Οι αναλύσεις FTIR και NMR επιβεβαίωσαν την παρουσία μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων, που αποτελούν βασικά συστατικά του βιοντίζελ (Hamidian & Zamani, 2021).

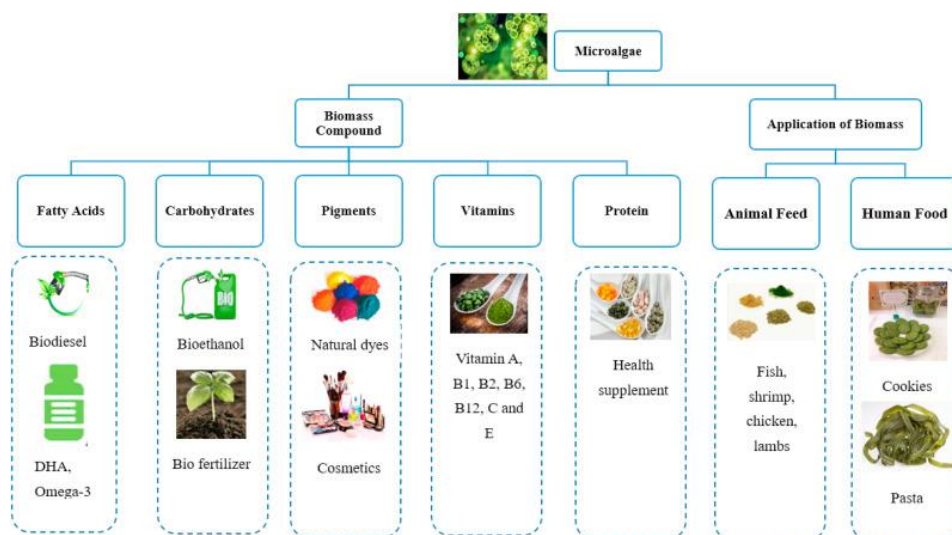
Παράλληλα, η *C. sorokiniana* έδειξε υψηλή απόδοση στην παραγωγή βιομεθανίου. Η ισορροπημένη της σύνθεση σε πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες την καθιστά κατάλληλη για αναερόβια πέψη, προσφέροντας βιώσιμη παραγωγή βιομεθανίου. Η χρήση μη επεξεργασμένων γαλακτοκομικών αποβλήτων ως μέσου καλλιέργειας μειώνει το κόστος θρεπτικών συστατικών και συμβάλλει στην επεξεργασία αποβλήτων, υποστηρίζοντας την κυκλική οικονομία. Συνολικά, η μελέτη ανέδειξε τη *C. sorokiniana* ως βιώσιμη επιλογή για την παραγωγή βιοκαυσίμων, συνδυάζοντας τη μείωση του περιβαλλοντικού αποτυπώματος με την προώθηση της οικονομικής αποδοτικότητας (Hamidian & Zamani, 2021).

1.3.1.2 ΧΡΗΣΗ ΣΤΗΝ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η μικροάλγη *Chlorella sorokiniana* έχει αναδειχθεί ως ένα πολύτιμο συστατικό στη βιομηχανία τροφίμων, λόγω της εξαιρετικής της θρεπτικής αξίας. Είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, βιταμίνες, απαραίτητα αμινοξέα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, μέταλλα, καροτενοειδή, ένζυμα και φυτικές ίνες. Όταν προστίθεται σε προϊόντα όπως το ψωμί χωρίς γλουτένη, ενισχύει σημαντικά τη διατροφική τους αξία, αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, καροτενοειδή και ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Εκτός από την ενίσχυση των τροφίμων, η *C. sorokiniana* χρησιμοποιείται επίσης ως συμπλήρωμα διατροφής για να βοηθήσει στην ενδυνάμωση του ανοσοποιητικού συστήματος και να προσφέρει αντιοξειδωτικά οφέλη. Η ενσωμάτωσή της σε διάφορα τρόφιμα προσφέρει

μια φυσική και υγιεινή πηγή θρεπτικών συστατικών, κάνοντάς τα πιο λειτουργικά και ωφέλιμα για την υγεία μας (Tsamesidis et al., 2024).

Επιπλέον, έρευνες έχουν εξετάσει τη χρήση της *Chlorella sorokiniana* για την ενίσχυση της διατροφικής ποιότητας διαφόρων τροφών. Σύμφωνα με τους Dīprat και συνεργάτες η προσθήκη σκόνης της μικροάλης σε τρόφιμα όπως το ψωμί χωρίς γλουτένη ενισχύει την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, καροτενοειδή και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, βελτιώνοντας έτσι τη διατροφική αξία των προϊόντων, 2020. Επιπλέον, η *C. sorokiniana* ενισχύει την περιεκτικότητα σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα και λουτεΐνη, προσφέροντας αντιοξειδωτικά οφέλη και συμβάλλοντας στη βελτίωση της υγείας. Παράλληλα, η μικροάλη επηρεάζει το χρώμα και την υφή του ψωμιού, καθιστώντας το πιο πορώδες, αν και εμφανίζει πρασινωπή απόχρωση λόγω των φυσικών χρωστικών της. Η έρευνα αναδεικνύει την μικροάλη ως μια φυσική και βιώσιμη επιλογή για την ανάπτυξη τροφίμων με αυξημένη θρεπτική αξία, καθιστώντας την ιδανική για εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων (Dīprat et al., 2020).



Εικόνα 11: Διάγραμμα ταξινόμησης μικροφυκών στη βιομηχανία τροφίμων

Kusmayadi, A., Leong, Y. K., Yen, H., Huang, C., & Chang, J. (2021). Microalgae as sustainable food and feed sources for animals and humans – Biotechnological and environmental aspects.

Chemosphere, 271, 129800. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129800>

Επιπρόσθετα σε πρόσφατη έρευνα προτείνεται προτείνοντας ένα κυκλικό σύστημα χρήσης της *Chlorella sorokiniana*. μια ολοκληρωμένη και βιώσιμη διαδικασία αξιοποίησης της μικροάλης για περιβαλλοντικούς και διατροφικούς σκοπούς (Politaeva et al., 2020). Αρχικά, η *C. sorokiniana* καλλιεργείται και από τη βιομάζα της εξάγονται λιπίδια που είναι πλούσια σε ωμέγα-3 λιπαρά οξέα. Τα λιπίδια αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε για διατροφικά προϊόντα είτε για την παραγωγή βιοντίζελ, συμβάλλοντας στην αξιοποίηση φυσικών πόρων για ενεργειακές και διατροφικές ανάγκες. Η υπόλοιπη βιομάζα, μετά την εξαγωγή των λιπιδίων, μετατρέπεται σε βιοαπορροφητικό υλικό, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την

απομάκρυνση βαρέων μετάλλων και άλλων ρύπων από το νερό. Με κατάλληλη επεξεργασία, αποκτά αυξημένες απορροφητικές ιδιότητες και είναι εύκολο στη χρήση. Αφού χρησιμοποιηθούν για την απορρόφηση ρύπων, τα βιοαπορροφητικά μπορούν να αξιοποιηθούν ως καύσιμο με υψηλή ενεργειακή απόδοση. Κατά την καύση τους, η τέφρα που απομένει περιέχει πολύτιμα μέταλλα και σπάνιες γαίες, τα οποία μπορούν να ανακτηθούν, κλείνοντας τον κύκλο χρήσης. Συνολικά, η διαδικασία αυτή μειώνει τα απόβλητα και προσφέρει πολλαπλά οφέλη, όπως η παραγωγή ενέργειας, η καθαριότητα του νερού και η ανάκτηση πρώτων υλών, ενώ ταυτόχρονα προάγει τη βιώσιμη ανάπτυξη (Politaeva et al., 2020).

2. ΜΕΘΟΔΟΣ

Για την πραγματοποίηση της παρούσας πειραματικής μελέτης και την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana*, ακολουθήθηκαν συγκεκριμένα πρωτόκολλα καλλιέργειας, επεξεργασίας και ανάλυσης. Στόχος της μεθοδολογίας ήταν η αξιολόγηση της επίδρασης διαφορετικών πηγών άνθρακα στην παραγωγή βιοδραστικών ενώσεων και η σύγκριση της αντιοξειδωτικής δράσης των εκχυλισμάτων.

2.1. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ CHLORELLA SOROKINIANA

Το μικροφύκος *Chlorella sorokiniana* καλλιεργήθηκε σε ετεροτροφικές συνθήκες, με σκοπό τη μελέτη της επίδρασης διαφορετικών θρεπτικών ουσιών με την παράλληλη παροχή αζώτου στη βιοσύνθεση αντιοξειδωτικών ουσιών. Οι πηγές άνθρακα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η φρουκτόζη (10 g/L), η D-γλυκόζη (11 g/L), η γλυκερίνη (50 mL/L), η αιθανόλη (9.7 mL/L) και η μεθανόλη (13.5 mL/L). Οι καλλιέργειες αναπτύχθηκαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες, με θερμοκρασία σταθεροποιημένη στους $25 \pm 2^\circ\text{C}$ κάτω από χαμηλή ένταση φωτός.

Εκτός από την παροχή διαφορετικών πηγών άνθρακα, εφαρμόστηκε επίσης μέσω διαφορετικών μηχανημάτων συνεχής πυροδότηση αζώτου. Η παρουσία αζώτου αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για την ανάπτυξη των μικροφυκών, καθώς συμμετέχει στη σύνθεση πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων, χλωροφύλλης και άλλων βιομορίων που είναι απαραίτητα για τον κυτταρικό μεταβολισμό. Η συνεχής παροχή αζώτου εξασφάλισε ότι τα κύτταρα δεν θα βρεθούν σε καταστάσεις έλλειψης του στοιχείου αυτού, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αλλαγές στον μεταβολισμό τους.



Εικόνα 12 : Πλαστικά δοχεία προετοιμασίας και αποθήκευσης διαλυμάτων για τις καλλιέργειες του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana*. Τα δοχεία χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία των θρεπτικών μέσων που περιέχουν τις διαφορετικές θρεπτικές ουσίες, καθώς και για τη διατήρηση των κατάλληλων πειραματικών συνθηκών.



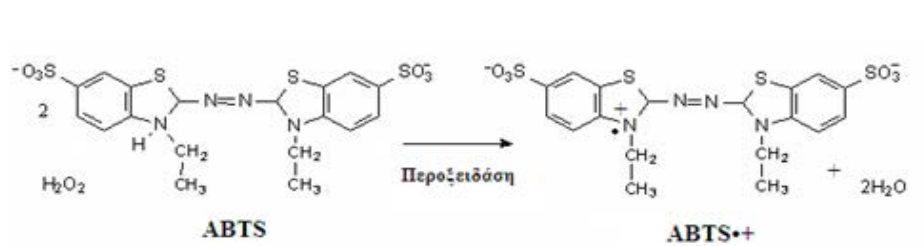
Εικόνα 13 : Καλλιέργεια του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* υπό ετεροτροφικές συνθήκες με διαφορετικές πηγές άνθρακα. Οι φιάλες συνδέονται με σύστημα συνεχούς παροχής αζώτου. Η πειραματική διάταξη βρίσκεται σε ελεγχόμενο περιβάλλον για τη διατήρηση σταθερών συνθηκών ανάπτυξης.

Η συγκομιδή της βιομάζας πραγματοποιήθηκε μέσω φυγοκέντρωσης. Με τον τρόπο αυτό, απομακρύνθηκε το υπερκείμενο διάλυμα και συλλέχθηκε η βιομάζα των κυττάρων. Στη συνέχεια, η βιομάζα ξηράνθηκε σε θερμοκρασία 60°C μέχρι να επιτευχθεί σταθερό βάρος, γεγονός που διασφάλισε την πλήρη απομάκρυνση της υγρασίας από τα δείγματα. Το τελικό ξηρό βάρος των καλλιιεργειών προσδιορίστηκε σε g/L, ώστε να πραγματοποιηθεί ποσοτική σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των διαφορετικών πηγών άνθρακα και να αξιολογηθεί η επίδραση της συνεχούς παροχής αζώτου στην παραγωγή βιομάζας.

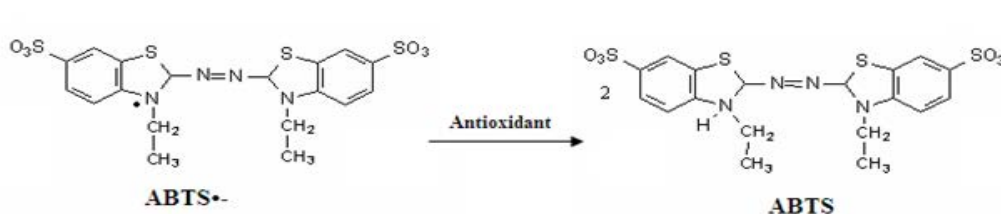
2.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΡΙΖΑΣ ABTS^{•+}

2.2.1 ABTS^{•+} SCAVENGING ASSAY

Η μέθοδος ABTS^{•+} scavenging assay χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας, βασιζόμενη στην ικανότητα αλληλεπίδρασης των μορίων με τη σταθερή ρίζα ABTS^{•+}. Η ρίζα του ABTS^{•+} παράγεται από την οξείδωση του 2,2'-Azino-bis-(3-ethyl-benzthiazoline-sulphonic acid) (ABTS) μέσω δράσης υπεροξειδάσης (HRP) στην παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂). Για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης μιας ουσίας, πρέπει πρώτα να προηγηθεί ο σχηματισμός της ρίζας (Εικόνα 3) και στη συνέχεια να ακολουθήσει η επώαση με την προς εξέταση ουσία. Η ρίζα του ABTS^{•+} είναι μια ουσία η οποία φέρει πράσινο χρώμα και απορροφά στα 730 nm. Όταν στο διάλυμα προστεθεί μια ουσία με αντιοξειδωτική δράση, τότε η ρίζα του ABTS^{•+} ανάγεται με την προσθήκη ενός ατόμου υδρογόνου, με αποτέλεσμα η οπτική απορρόφηση στα 730nm να ελαττώνεται (Εικόνα 4).



Εικόνα 14 : Παραγωγή της ρίζας του ABTS μέσω της δράσης περοξειδάσης παρουσία H₂O₂



Εικόνα 15 : Μηχανισμός αλληλεπίδρασης αντιοξειδωτική ουσίας με την ρίζα του ABTS^{•+}

Για την παρασκευή των διαλυμάτων, το ABTS παρασκευάζεται σε τελική συγκέντρωση 1 mM. Με βάση τη μοριακή μάζα του ABTS (548.68), για τελική συγκέντρωση 1 mM σε τελικό όγκο αντίδρασης 1 mL, φτιάχνουμε διάλυμα 2 mM. Για 10 mL διαλύματος, ζυγίζουμε 10.97 mg ABTS και το διαλύουμε στο νερό. Το διάλυμα αυτό προετοιμάζεται την ημέρα του πειράματος, καθώς είναι φωτοευαίσθητο και πρέπει να διατηρείται στον πάγο (20ml H₂O + 21.94mg ABTS).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) παρασκευάζεται σε τελική συγκέντρωση 30 μM. Για αυτό, φτιάχνουμε διάλυμα 600 μM από το stock διάλυμα H₂O₂ 30% (8.8 M), κάνοντας αραιώσεις 1/100 και 1/146 με νερό, και το διάλυμα διατηρείται επίσης στον πάγο και χρησιμοποιείται αμέσως πριν από την πειραματική χρήση (1^η αραιώση 1/100 10ul stock 30% + 990ul H₂O, 2^η αραιώση 1/146 68ul (1) + 9860ul H₂O).

Η περοξειδάση (HRP) είναι το ένζυμο που χρησιμοποιείται και παρασκευάζεται με διάλυση 1 mg σε 10 mL αποστειρωμένο νερό. Αυτό το διάλυμα μπορεί να διατηρηθεί στους +4°C για έως 2 μήνες, ενώ εάν δεν χρησιμοποιηθεί άμεσα, μπορεί να καταψυχθεί στους -80°C. Το διάλυμα HRP αραιώνεται σε αναλογία 1/20 και χρησιμοποιείται για την αντίδραση. Το διάλυμα προετοιμάζεται την ημέρα του πειράματος είναι φωτοευαίσθητο και διατηρείται στον πάγο. Μια καμπύλη με διαφορετικές συγκεντρώσεις ενζύμου μπορεί να κατασκευαστεί για καλύτερη ακρίβεια των μετρήσεων ή να γίνει απευθείας μέτρηση της απορρόφησης και αναγωγή με βάση τον συντελεστή απορρόφησης 1,201.

2.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διαφόρων συγκεντρώσεων της εξεταζόμενης ουσίας. Η αντίδραση πραγματοποιείται σε πλαστικά eppendorf 1.5 mL, σε όγκο 1 mL, ο οποίος περιέχει τα διαλύματα ABTS 1 mM, H₂O₂ 30 μM και HRP 6 μM. Τα διαλύματα προστίθενται με τη σειρά που αναγράφεται στον πίνακα 1. Τα διαλύματα αναδεύονται και επωάζονται στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 45 λεπτά. Στη συνέχεια, προστίθεται το εξεταζόμενο εκχύλισμα/ουσία σε διάφορες συγκεντρώσεις (π.χ. 0.5, 1, 5 mg/ml) όπως φαίνεται στον πίνακα 2. Ακολουθεί ανάδευση και μέτρηση της απορρόφησης στα 730 nm. Κάθε δείγμα εξετάζεται εις τριπλούν. Επιπλέον, είναι απαραίτητο να μετρηθεί η απορρόφηση της εξεταζόμενης ουσίας χωρίς την παρουσία του ενζύμου, επειδή υπάρχει πιθανότητα η ουσία να απορροφά στα 730 nm.

3x	Blank	Control	1(C ₁)	2(C ₂)	3(C ₃)	4(C ₄)	5(C ₅)
H ₂ O	450 μL	400 μL	400 μL	400 μL	400 μL	400 μL	400 μL
ABTS	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL
H ₂ O ₂	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL
HRP	-	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL
V _{τελ}	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Εκχύλισμα	-	-	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL

Πίνακας 1 : Πίνακας σειράς προσθήκης διαλυμάτων.

Επειδή υπάρχει πιθανότητα η εξεταζόμενη ουσία να απορροφά στα 730 nm, μετράται η απορρόφηση της κάθε εξεταζόμενης συγκέντρωσης χωρίς την παρουσία του ενζύμου.

3x	Blank	1(C ₁)	2(C ₂)	3(C ₃)	4(C ₄)	5(C ₅)
H ₂ O	450 μL	450 μL	450 μL	450 μL	450 μL	450 μL
ABTS	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL	500 μL
H ₂ O ₂	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL	50 μL
V _{τελ}	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Εκχύλισμα	-	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL	10 μL

Πίνακας 2 : Πίνακας προσθήκης διαλυμάτων καμπύλη ουσίας

2.2.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Η αντιοξειδωτική ικανότητα υπολογίζεται ως εξής:

$$\% RSC = \frac{\text{απορρόφηση control} - \text{απορρόφηση ουσίας}}{\text{απορρόφηση control}} \times 100$$

Όπου RSC (radical scavenging capacity), και απορρόφηση control είναι η απορρόφηση της ρίζας μόνη της.

2.3 ΜΕΘΟΔΟΣ DPPH

Η μέθοδος DPPH χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας της βιομάζας του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana*. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής, σε σωλήνες erpendorf 1 mL προστίθεται πρώτα η ουσία, έπειτα μεθανόλη και τελευταίο το DPPH για να φτάσουμε στην τελική συγκέντρωση των 100 μM. Η ανακίνηση του δείγματος γίνεται καλά με vortex, και η αντίδραση επωάζεται για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, μηδενίζουμε την συσκευή μέτρησης με blank που περιέχει μόνο μεθανόλη. Η απορρόφηση μετρείται στα 517 nm, με το χρονόμετρο να παρακολουθείται προσεκτικά, ώστε ο χρόνος προσθήκης του DPPH να είναι ίδιος με τον χρόνο μέτρησης των δειγμάτων. Για να έχουμε συγκρίσιμα αποτελέσματα, η απορρόφηση αναγωγίζεται σε μια τιμή αναφοράς.

Για τον υπολογισμό του IC₅₀, κατασκευάστηκε η καμπύλη % αναστολή/συγκέντρωση στο Excel και υπολογίστηκε η εξίσωση της καμπύλης από το πρόγραμμα. Ωστόσο, η εξίσωση θα πρέπει να υπολογιστεί μόνο από το γραμμικό τμήμα της καμπύλης, και οι τιμές που ανήκουν στο μη γραμμικό τμήμα θα πρέπει να αφαιρεθούν.

Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν το διάλυμα DPPH (stock 2 mM). Για την παρασκευή του, προσθέτουμε 20 mg DPPH σε 25,4 mL μεθανόλης, και αναδεύουμε το μείγμα σε ποτηράκι ζέσεως. Αφού διαλυθεί, καλύπτουμε το διάλυμα με αλουμινόχαρτο λόγω της φωτοευαισθησίας του και το διατηρούμε στους +4°C για έως και 3 ημέρες.

2.4 ΜΕΘΟΔΟΣ FOLIN

Η μέθοδο Folin χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας της βιομάζας του μικροφύκου *Chlorella Sorokiniana*. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του συνολικού φαινολικού περιεχομένου σε διάφορα δείγματα, όπως φυτικά εκχυλίσματα, τρόφιμα, ποτά ή άλλες βιολογικές ουσίες. Για τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, πρώτα παρασκευάζουμε το διάλυμα Na₂CO₃ 25% w/v, προσθέτοντας 2,5 gr Na₂CO₃ σε 10 mL H₂O. Μπορεί να χρειαστεί θέρμανση για να διαλυθεί το Na₂CO₃. Στην πειραματική διαδικασία, προσθέτουμε τα διαλύματα σύμφωνα με τον πίνακα 3.

	blank	Δείγμα	(-) control
H ₂ O	1,02ml	1ml	1,1ml
Folin	100ul	100ul	-
Δείγμα	-	20ul	20ul

Πίνακας 3 : Προσθήκη των διαλυμάτων.

Αφού προσθέσουμε τα διαλύματα, αναδεύουμε με vortex και επωάζουμε για 3 λεπτά στο σκοτάδι. Στη συνέχεια, προσθέτουμε τα επόμενα διαλύματα σύμφωνα με τον πίνακα 5.

	blank	Δείγμα	(-) control
Na ₂ CO ₃	280ul	280ul	280ul
H ₂ O	600ul	600ul	600ul

Πίνακας 4 : Προσθήκη των δεύτερων διαλυμάτων.

Αναδεύουμε με vortex και επωάζουμε για 1 ώρα στο σκοτάδι. Μετά την επώαση, πραγματοποιούμε φωτομέτρηση στα 765 nm.

Για την πρότυπη καμπύλη του gallic acid, παρασκευάζουμε το Stock gallic acid διάλυμα 50 mg/mL, προσθέτοντας 25 mg gallic acid και 500mL H₂O. Στη συνέχεια, κάνουμε διαδοχικές αραιώσεις, προσθέτοντας 200 μL από το stock διάλυμα και 200 μL H₂O. Οι εξεταζόμενες συγκεντρώσεις του gallic acid είναι οι εξής: 0, 31,25, 62,5, 125, 250 και 500 μg/mL. Ακολουθείται η παραπάνω διαδικασία και στο τέλος γίνεται φωτομέτρηση για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΞΕΤΑΣΤΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΕΡΕΥΝΑ

Η *Chlorella sorokiniana* είναι ένα μικροφύκος που έχει τραβήξει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας λόγω των εντυπωσιακών του ιδιοτήτων και της ευρείας εφαρμογής του σε διάφορους τομείς, από τη βιομηχανία μέχρι τη βιοτεχνολογία. Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση της προσθήκης συγκεκριμένων συστατικών στην ανάπτυξη και τη συμπεριφορά αυτού του μικροοργανισμού, με στόχο την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που επηρεάζουν τη φυσιολογία του.

Τα συστατικά που χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα περιλάμβαναν τη φρουκτόζη, τη D-γλυκόζη, τη γλυκερίνη, την αιθανόλη και τη μεθανόλη. Η επιλογή αυτών των ενώσεων έγινε για να διερευνηθεί πώς διαφορετικοί τύποι μορίων μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη και τη μεταβολική δραστηριότητα της *Chlorella sorokiniana*. Αναλυτικότερα, στη παρούσα έρευνα εξετάστηκαν οι εξής παράμετροι: το βάρος της παραγόμενης βιομάζας (σε γραμμάρια), το περιεχόμενο σε Folin, που εκφράζεται σε mg/g ξηρού βάρους ουσίας, η αναστολή ελεύθερων ριζών με τη μέθοδο DPPH (%), η αναστολή ελεύθερων ριζών με τη μέθοδο ABTS (%) και το περιεχόμενο σε φλαβανόλες (mg/g ξηρού βάρους ουσίας).

Αναλυτικότερα, στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε το βάρος της παραγόμενης βιομάζας (g). Η βιομάζα αναφέρεται στο σύνολο της οργανικής ύλης που παράγεται από τους μικροοργανισμούς κατά την καλλιέργεια τους. Το βάρος της βιομάζας μετράται σε γραμμάρια και αντιπροσωπεύει την ποσότητα κυττάρων που έχουν αναπτυχθεί σε ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα υπό συγκεκριμένες συνθήκες (Zhou et al. 2020). Το βάρος της βιομάζας χρησιμοποιείται ως δείκτης του ρυθμού ανάπτυξης και της απόδοσης του οργανισμού. Η υψηλή παραγωγή βιομάζας είναι ιδιαίτερα σημαντική σε εφαρμογές όπως η παραγωγή βιοκαυσίμων, πρωτεϊνών ή άλλων βιολογικών προϊόντων (Zhou et al. 2020; Goswami et al. 2020b).

Επιπρόσθετα, εξετάστηκε το περιεχόμενο σε Folin αναφέρεται στη συγκέντρωση φαινολικών ενώσεων που βρίσκονται στη βιομάζα και εκφράζεται σε χιλιοστόγραμμα ανά γραμμάριο ξηρής ουσίας. Οι φαινολικές ενώσεις είναι φυσικές οργανικές ενώσεις που βρίσκονται σε φυτικούς και μικροβιακούς οργανισμούς και χαρακτηρίζονται από τις αντιοξειδωτικές και προστατευτικές τους ιδιότητες (Lattanzio, 2013). Αυτές προστατεύουν τα κύτταρα από βλάβες που προκαλούνται από οξειδωτικό στρες. Σε βιομηχανικές εφαρμογές, αυτές οι ενώσεις έχουν σημασία για την παραγωγή καλλυντικών, φαρμάκων και τροφίμων.

Επιπλέον, στην συγκεκριμένη έρευνα μελετήθηκε η αναστολή ελεύθερων ριζών με την μέθοδο DPPH (%). Όπως προαναφέρθηκε στην ενότητα της μεθόδου η μέθοδος DPPH είναι μια κοινή μέθοδος για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας ενός δείγματος (Gulcin & Alwasel, 2023). Ο δείκτης αυτός είναι υψίστης σημασίας καθώς η υψηλή αναστολή δείχνει ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία είναι χρήσιμη για εφαρμογές που σχετίζονται με την υγεία, τη διατροφή και την καταπολέμηση του

οξειδωτικού στρες. Ταυτόχρονα, η αναστολή ελεύθερων ριζών μελετήθηκε και με την μέθοδο ABTS (%). Η μέθοδος αυτή είναι μια άλλη τεχνική μέτρησης της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας. Η μέθοδος ABTS έχει ευρύτερη εφαρμογή από τη DPPH, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για δείγματα υδατοδιαλυτών ή λιποδιαλυτών ουσιών (Martysiak-Żurowska, 2012).

Τέλος, εξετάστηκε το περιεχόμενο σε φλαβανόλες (mg/g ξηρού βάρους). Οι φλαβανόλες είναι μια κατηγορία φλαβονοειδών, που είναι φυσικές πολυφαινολικές ενώσεις με ισχυρή βιολογική δραστηριότητα. Η συγκέντρωσή τους εκφράζεται σε χιλιοστόγραμμα ανά γραμμάριο ξηρής ουσίας και μετράται μέσω ειδικών χημικών μεθόδων. Το περιεχόμενο σε φλαβανόλες αποτελεί ένδειξη της βιολογικής αξίας του οργανισμού ή του δείγματος. Οι φλαβανόλες είναι πολύτιμες για τη φαρμακευτική βιομηχανία και τη βιοτεχνολογία λόγω της ευεργετικής τους δράσης στην υγεία (Luo et al., 2022).

Συνολικά, οι παραπάνω παράμετροι επιτρέπουν την αξιολόγηση της ανάπτυξης του οργανισμού (μέσω του βάρους της βιομάζας) και της βιολογικής του δραστηριότητας (μέσω της αντιοξειδωτικής δράσης και του περιεχομένου σε φαινολικές ενώσεις ή φλαβανόλες). Αυτά τα δεδομένα είναι κρίσιμα για την κατανόηση του τρόπου με τον οποίο οι περιβαλλοντικές συνθήκες ή τα πρόσθετα συστατικά επηρεάζουν τον μεταβολισμό και τις βιομηχανικές εφαρμογές της *C. sorokiniana*.

3.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΥΣ CHLORELLA SOROKINIANA

Η μελέτη της επίδρασης διαφορετικών συστατικών στην ανάπτυξη και τις βιολογικές ιδιότητες της *C. sorokiniana* ανέδειξε σημαντικές διαφορές στις αντιδράσεις του μικροοργανισμού ανάλογα με την προσθήκη φρουκτόζης, D-γλυκόζης, γλυκερίνης, αιθανόλης και μεθανόλης.

Αναλυτικότερα, η φρουκτόζη αποτέλεσε μια αποτελεσματική πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη της *C. sorokiniana*, καθώς οδήγησε στην παραγωγή βιομάζας βάρους 6,88 g, μια από τις υψηλότερες τιμές που καταγράφηκαν. Το περιεχόμενο σε Folin ήταν 1,82 mg/g ξηρού βάρους, καταδεικνύοντας μέτρια παραγωγή φαινολικών ενώσεων. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα, όπως αξιολογήθηκε με τις μεθόδους DPPH και ABTS, ήταν 62,4% και 71,18% αντίστοιχα, υποδεικνύοντας υψηλή αποτελεσματικότητα στη δέσμευση ελεύθερων ριζών. Ωστόσο, το περιεχόμενο σε φλαβανόλες ήταν μόλις 0,052 mg/g, δείχνοντας ότι η φρουκτόζη προάγει άλλες κατηγορίες αντιοξειδωτικών ενώσεων. Συνολικά, η φρουκτόζη ενισχύει την ανάπτυξη και την αντιοξειδωτική δράση του μικροοργανισμού, χωρίς όμως να συμβάλλει σημαντικά στην παραγωγή φλαβανόλων.

Η D-γλυκόζη παρουσίασε την πιο περιορισμένη επίδραση στην ανάπτυξη της βιομάζας, με μόλις 1,2 g παραγόμενης βιομάζας. Παρόλα αυτά, το περιεχόμενο σε Folin ήταν το υψηλότερο από όλες τις δοκιμές, φτάνοντας τα 2,42 mg/g ξηρού βάρους, γεγονός που δείχνει ενισχυμένη παραγωγή φαινολικών ενώσεων. Η αντιοξειδωτική

δραστηριότητα ήταν χαμηλή, με την αναστολή DPPH και ABTS να φτάνουν το 40,2% και 39,77% αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκε παραγωγή φλαβανόλων. Τα αποτελέσματα αυτά υποδηλώνουν ότι η D-γλυκόζη δεν αποτελεί κατάλληλη πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού, αλλά προάγει την παραγωγή φαινολικών ενώσεων, πιθανώς λόγω του στρες που προκαλείται από τις χαμηλές συνθήκες ανάπτυξης.

Η γλυκερόλη παρουσίασε μέτρια αποτελέσματα ως προς την ανάπτυξη της βιομάζας, με βάρος 1,98 g. Το περιεχόμενο σε Folin ήταν 1,88 mg/g, δείχνοντας μέτρια παραγωγή φαινολικών ενώσεων. Ωστόσο, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα ήταν εξαιρετικά υψηλή, με την αναστολή DPPH να φτάνει στο 74,1% και την αναστολή ABTS στο 86,21%, τα υψηλότερα ποσοστά από όλες τις δοκιμές. Δεν καταγράφηκε παραγωγή φλαβανόλων. Συμπεραίνεται ότι η γλυκερίνη προάγει ιδιαίτερα την αντιοξειδωτική δράση της *C. sorokiniana*, παρά τη μέτρια ανάπτυξη της βιομάζας.

Η αιθανόλη ήταν αποτελεσματική στην προαγωγή της ανάπτυξης της βιομάζας, με βάρος 6,77 g, συγκρίσιμο με αυτό της φρουκτόζης. Το περιεχόμενο Folin μετρήθηκε στα 1,77 mg/g, λίγο χαμηλότερο από τη φρουκτόζη. Ωστόσο, η αντιοξειδωτική δραστηριότητα ήταν περιορισμένη, με την αναστολή DPPH και ABTS να φτάνουν το 36,2% και 44,81% αντίστοιχα. Από την άλλη, το περιεχόμενο σε φλαβανόλες ήταν το υψηλότερο από όλες τις δοκιμές, στα 0,1265 mg/g. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η αιθανόλη είναι αποτελεσματική για την ανάπτυξη της βιομάζας και την παραγωγή φλαβανόλων, αλλά δεν υποστηρίζει ιδιαίτερα την αντιοξειδωτική δραστηριότητα.

Η μεθανόλη είχε περιορισμένη επίδραση στην ανάπτυξη της βιομάζας, με βάρος 2,1 g. Ωστόσο, το περιεχόμενο Folin ήταν το υψηλότερο (2,66 mg/g), υποδεικνύοντας ενισχυμένη παραγωγή φαινολικών ενώσεων. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα ήταν μέτρια, με την αναστολή DPPH να φτάνει το 53,6% και την αναστολή ABTS το 56,42%. Το περιεχόμενο σε φλαβανόλες ήταν χαμηλό, στα 0,0396 mg/g. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι η μεθανόλη προάγει την παραγωγή φαινολικών ενώσεων, χωρίς όμως να υποστηρίζει ιδιαίτερα την ανάπτυξη της βιομάζας ή την παραγωγή φλαβανόλων.

C. Sorokiniana	BAPOS g	FOLIN mg/g ξηρου βάρους ουσίας	DPPH Αναστολή %	ABTS Αναστολή %	FLAVANOL CONTENT mg/g ξηρου βάρους ουσίας
Fructose 10 gr/lt	6,88	1,82	62,4	71,18	0,052
D-Glucose 11 gr/lt	1,2	2,42	40,2	39,77	-
Glycerol 50 ml/lt	1,98	1,88	74,1	86,21	-
Ethanol 9,7 ml/lt	6,77	1,77	36,2	44,81	0,1265
Methanol 13,5 ml/lt	2,1	2,66	53,6	56,42	0,0396

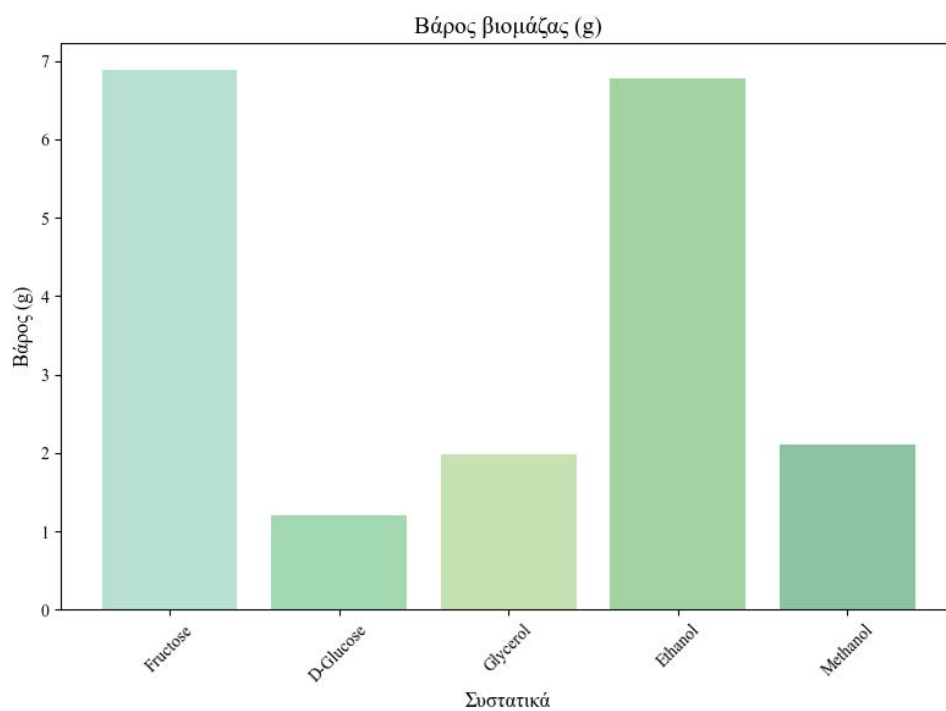
Πίνακας 5 : Επίδραση των διαφορετικών συστατικών (φρουκτόζη, D-γλυκόζη, γλυκερόλη, αιθανόλη και μεθανόλη) στην ανάπτυξη και τα χαρακτηριστικά της *Chlorella sorokiniana*.

Συνολικά, όσον αφορά το βάρος της βιομάζας (g), το οποίο δείχνει τη συνολική ποσότητα ξηρής ουσίας που παρήχθη σε κάθε συνθήκη. Οι τιμές κυμαίνονται από 1,2 g έως 6,88 g. Η μεγαλύτερη παραγωγή βιομάζας σημειώθηκε στην καλλιέργεια με φρουκτόζη 10 gr/lit, με βάρος 6,88 g. Αυτό υποδηλώνει ότι η φρουκτόζη αποτελεί εξαιρετική πηγή άνθρακα για την ανάπτυξη της *Chlorella sorokiniana*. Ενώ αντίθετα, Η χαμηλότερη παραγωγή παρατηρήθηκε στην καλλιέργεια με D-γλυκόζη 11 gr/lit, με βάρος 1,2 g. Παρά το ότι η γλυκόζη είναι κοινό θρεπτικό υπόστρωμα, η συγκεκριμένη συγκέντρωση φαίνεται να είναι λιγότερο αποδοτική για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού (εικόνα 12). Αναφορικά με το Folin (mg/g ξηρού βάρους), η περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις κυμαίνεται από 1,77 mg/g έως 2,66 mg/g. Η υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην καλλιέργεια με μεθανόλη 13,5 ml/lit, με συγκέντρωση 2,66 mg/g, καταδεικνύοντας την επίδραση της μεθανόλης στη βιοσύνθεση φαινολικών ενώσεων. Αντίθετα, Η καλλιέργεια με αιθανόλη 9,7 gr/lit παρουσίασε τη χαμηλότερη περιεκτικότητα, μόλις 1,77 mg/g (πίνακας 7)

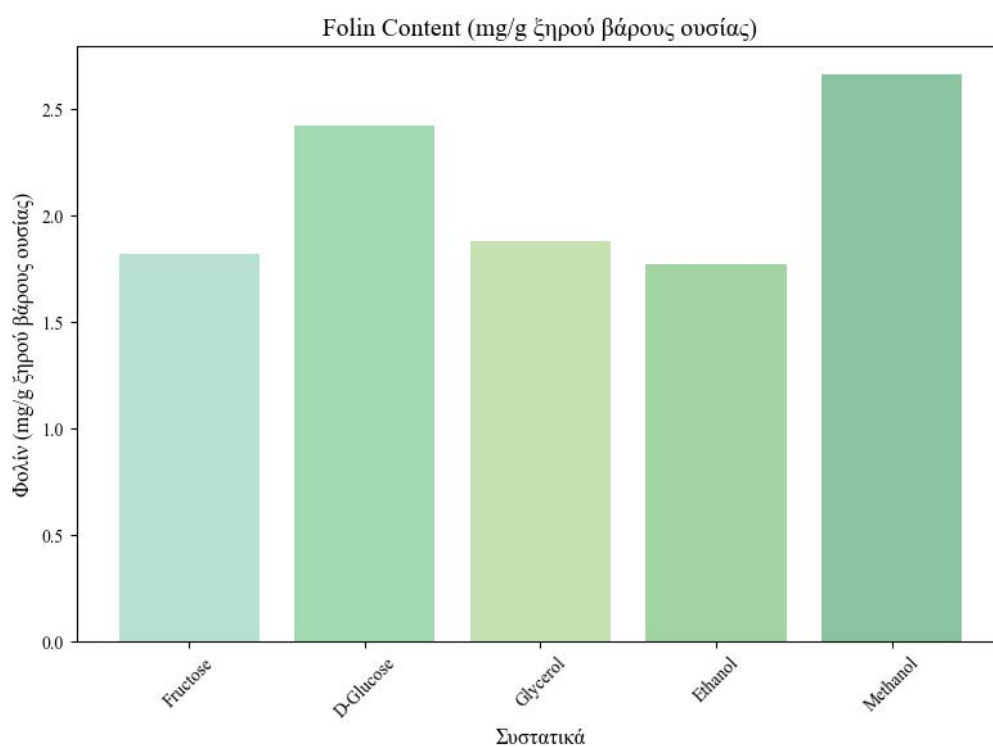
Αναφορικά με την αναστολή του DPPH, που δείχνει την αντιοξειδωτική ικανότητα, παρουσίασε διακυμάνσεις από 36,2% έως 74,1%. Η υψηλότερη τιμή Καταγράφηκε στην καλλιέργεια με γλυκερόλη 50 ml/lit, με αναστολή 74,1%, υποδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα της γλυκερόλης στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής δράσης. Η μικρότερη αναστολή παρατηρήθηκε στην καλλιέργεια με αιθανόλη 9,7 ml/lit, όπου η τιμή ήταν 36,2% (εικόνα 3). Επιπλέον, στην αναστολή του ABTS, οι τιμές κυμάνθηκαν από 39,77% έως 86,21%. Η μέγιστη αναστολή παρατηρήθηκε στην καλλιέργεια με γλυκερόλη 50 ml/lit, με ποσοστό 86,21%, ενώ η καλλιέργεια με D-γλυκόζη 11 gr/lit είχε τη χαμηλότερη αναστολή, μόλις 39,77% (εικόνα 9).

Τέλος, οι φλαβανόλες, που συμβάλλουν επίσης στην αντιοξειδωτική δράση, κυμάνθηκαν από 0,0396 mg/g έως 0,1265 mg/g. Υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην καλλιέργεια με αιθανόλη 9,7 ml/lit, με τιμή 0,1265 mg/g. Αντίθετα, η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε φλαβανόλες σημειώθηκε στην καλλιέργεια με μεθανόλη 13.5 ml/lit, με τιμή 0,0396 mg/g (εικόνα 10).

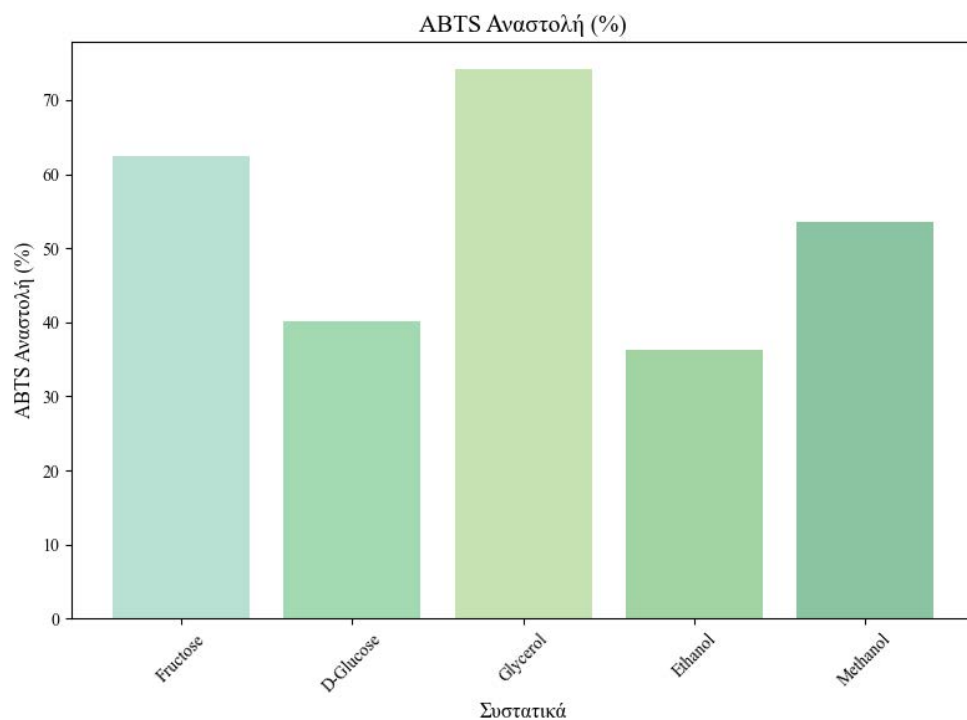
Βάσει των δεδομένων που παρουσιάστηκαν, είναι εμφανές ότι το θρεπτικό υπόστρωμα επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη της *Chlorella sorokiniana*, καθώς και την παραγωγή φαινολικών ενώσεων, την αντιοξειδωτική ικανότητα (DPPH, ABTS) και την περιεκτικότητα σε φλαβανόλες. Οι διακυμάνσεις μεταξύ των υποστρωμάτων αποδεικνύουν ότι κάθε συστατικό δημιουργεί μοναδικές συνθήκες για τον μεταβολισμό της μικροάλγης, επηρεάζοντας την παραγωγή βιοδραστικών ουσιών. Για παράδειγμα, για μέγιστη ανάπτυξη και παραγωγή φαινολικών ενώσεων, η φρουκτόζη είναι ιδανική. Αντίθετα, η γλυκερόλη είναι πιο κατάλληλη για αντιοξειδωτική δράση, ενώ η αιθανόλη μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή φλαβανολών.



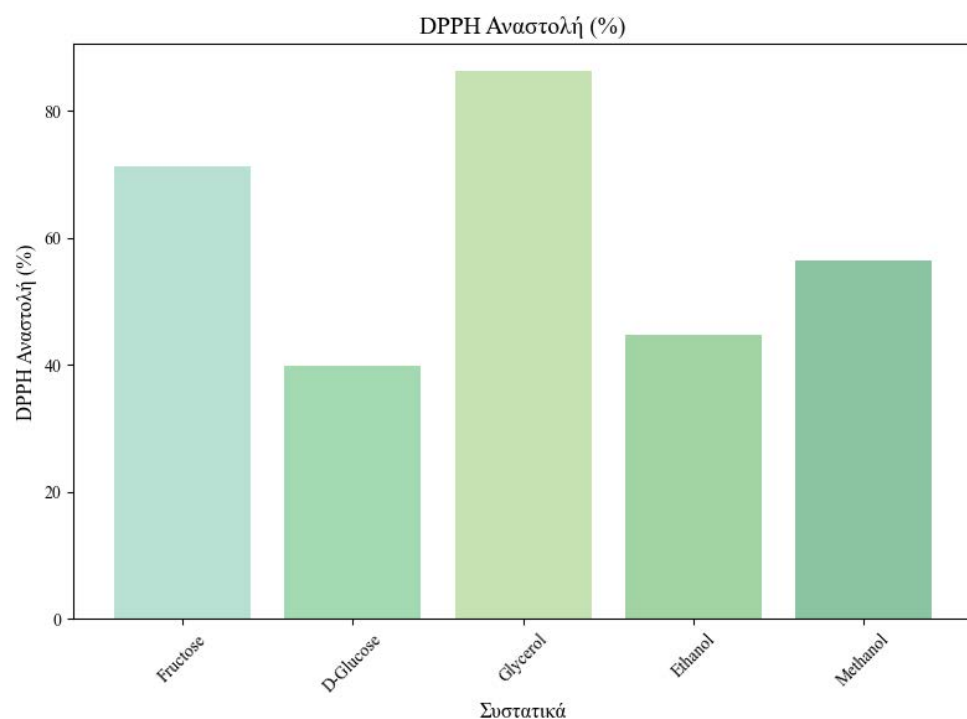
Πίνακας 6 : Το διάγραμμα απεικονίζει το βάρος της παραγόμενης βιομάζας για κάθε συστατικό (φρουκτόζη, D-γλυκόζη, γλυκερίνη, αιθανόλη και μεθανόλη).



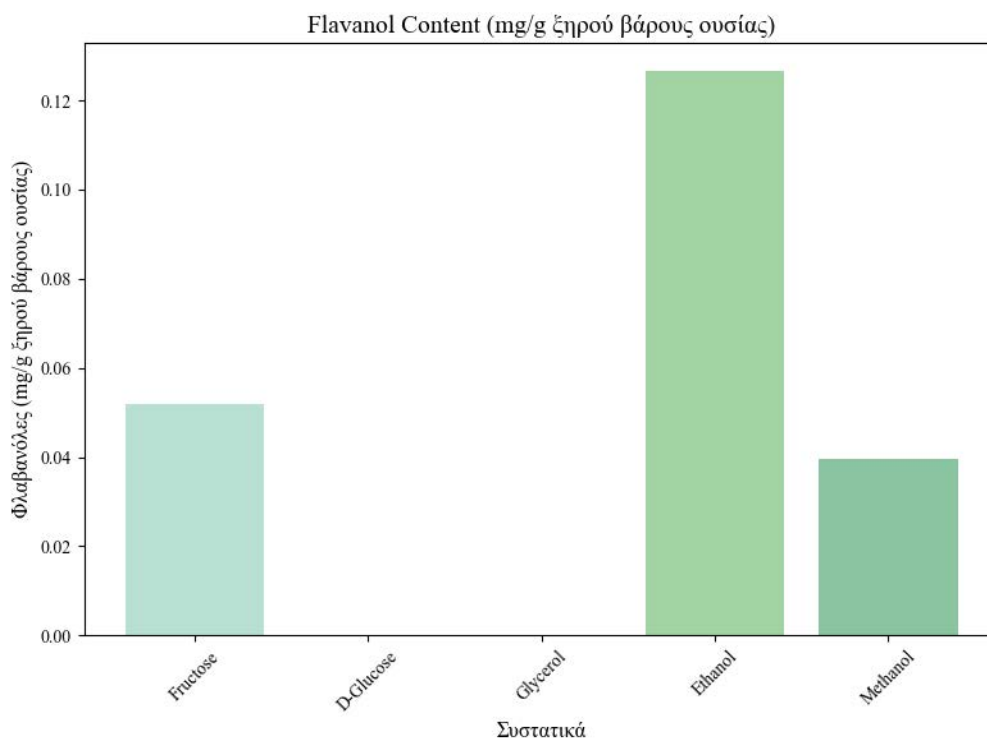
Πίνακας 7 : Το διάγραμμα αναπαριστά την περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις για κάθε συστατικό (φρουκτόζη, D-γλυκόζη, γλυκερόλη, αιθανόλη και μεθανόλη).



Πίνακας 8 : Στο διάγραμμα απεικονίζεται η ικανότητα των συστατικών (φρουκτόζη, D-γλυκόζη, γλυκερόλη, αιθανόλη και μεθανόλη) να αναστέλλουν την αντίδραση ABTS.



Πίνακας 9 : Το διάγραμμα απεικονίζει την ικανότητα των συστατικών (φρουκτόζη, D-γλυκόζη, γλυκερόλη, αιθανόλη και μεθανόλη) να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες DPPH.



Πίνακας 10 : Στο διάγραμμα απεικονίζεται η περιεκτικότητα σε φλαβανόλες για κάθε συστατικό (φρουκτόζη, D-γλυκόζη, γλυκερόλη, αιθανόλη και μεθανόλη).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία στοχεύει στην ανάλυση και αξιολόγηση της δυναμικής εφαρμογής του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* σε πολλαπλούς τομείς, όπως η παραγωγή βιομάζας, η παραγωγή βιοκαυσίμων, η διατροφή, καθώς και σε περιβαλλοντικές και φαρμακευτικές εφαρμογές. Μέσω της μελέτης αυτής, επιδιώκεται να αναδειχθεί το πλεονέκτημα του συγκεκριμένου οργανισμού ως πρότυπο για μελέτες βιοχημικών διεργασιών, αλλά και για βελτίωση βιώσιμων τεχνολογιών.

4.1. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στη *Chlorella sorokiniana*, ένα μικροφύκος με σημαντική βιολογική αξία και πολλές εφαρμογές στους τομείς της διατροφής, της βιοτεχνολογίας και της περιβαλλοντικής προστασίας. Η *Chlorella sorokiniana* διακρίνεται για την ικανότητά της να αναπτύσσεται γρήγορα σε ποικίλες περιβαλλοντικές συνθήκες, καθιστώντας την ιδανικό οργανισμό για παραγωγή βιομάζας σε ελεγχόμενα συστήματα καλλιέργειας. Εκτός από τη γρήγορη ανάπτυξή της, έχει εξαιρετική διατροφική αξία, περιέχοντας υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεϊνών, απαραίτητων αμινοξέων, βιταμινών, καροτενοειδών και μετάλλων, γεγονός που την καθιστά πολύτιμο συστατικό σε ανθρώπινη διατροφή και ζωοτροφές (Bulygina κ.συν., 2023). Επιπλέον, η παρουσία λιπιδίων και αντιοξειδωτικών ουσιών ενισχύει τις δυνατότητές της σε τομείς όπως η παραγωγή βιοκαυσίμων και φαρμακευτικών

προϊόντων. Η *Chlorella sorokiniana* εμφανίζει επίσης σημαντική προσαρμοστικότητα σε περιβάλλοντα με υψηλές συγκεντρώσεις διοξειδίου του άνθρακα, γεγονός που την καθιστά χρήσιμη για τη δέσμευση CO₂ και τη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, ενώ ταυτόχρονα έχει τη δυνατότητα να απορροφά θρεπτικά συστατικά από λύματα, συμβάλλοντας στην επεξεργασία αποβλήτων (Lizzul et al., 2018).

Από την άλλη, η αποτελεσματικότητα της καλλιέργειας μικροφυκών, όπως η *Chlorella sorokiniana*, εξαρτάται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η ένταση και η ποιότητα του φωτός, καθώς και η συγκέντρωση οξυγόνου. Η θερμοκρασία επηρεάζει τις μεταβολικές διεργασίες, καθώς πολύ χαμηλές ή υψηλές θερμοκρασίες μπορεί να επιβραδύνουν ή να καταστρέψουν τη φωτοσυνθετική ικανότητα του οργανισμού (Chisti, 2007). Παράλληλα, η σωστή ένταση και ποιότητα του φωτός είναι απαραίτητη για τη φωτοσύνθεση, και οι ανισορροπίες μπορούν να οδηγήσουν σε φωτοαναστολή ή βλάβες στα φωτοσυστήματα. Η συγκέντρωση οξυγόνου έχει επίσης σημαντικό ρόλο, καθώς υπερβολικές ποσότητες μπορεί να προκαλέσουν φωτοαναπνοή, ενώ χαμηλές συγκεντρώσεις επηρεάζουν αρνητικά τις αναερόβιες διεργασίες. Εξετάζοντας τις αλληλεπιδράσεις αυτών των παραμέτρων, η έρευνα εστιάζει στην επίτευξη βέλτιστης ανάπτυξης και απόδοσης βιομάζας, με σκοπό την αξιοποίηση της *Chlorella sorokiniana* τόσο σε διατροφικές εφαρμογές όσο και στη βιομηχανική παραγωγή ανανεώσιμων καυσίμων, όπως το βιοντίζελ, με σημαντικά περιβαλλοντικά οφέλη μέσω της δέσμευσης CO₂ και της μείωσης των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου (Hamidian & Zamani, 2021).

Η ετεροτροφική καλλιέργεια της *Chlorella sorokiniana* βασίζεται στην ικανότητα των μικροφυκών να χρησιμοποιούν οργανικές ενώσεις, όπως η φρουκτόζη και η αιθανόλη, ως πηγές άνθρακα για την ανάπτυξή τους. Αυτή η μέθοδος καλλιέργειας προσφέρει πλεονεκτήματα καθώς επιτρέπει την ανάπτυξη του μικροφύκου σε συνθήκες όπου το φως δεν είναι διαθέσιμο ή όπου η φωτοσύνθεση δεν είναι εφικτή λόγω εξωτερικών παραγόντων. Η φρουκτόζη, ως απλός υδατάνθρακας, και η αιθανόλη, λόγω της ευκολίας διαχείρισης και του χαμηλού κόστους, αποδεικνύονται ιδιαίτερα αποτελεσματικές στην αύξηση της βιομάζας, προσφέροντας αξιόπιστα αποτελέσματα. Η γλυκερίνη, αν και λιγότερο αποδοτική, παρουσιάζει ενδιαφέρον σε συνδυασμό με άλλες ενώσεις, ενώ η D-γλυκόζη και η μεθανόλη απαιτούν περαιτέρω βελτιστοποίηση των συνθηκών για να φτάσουν στην απόδοση άλλων οργανικών υποστρωμάτων. Η ετεροτροφική καλλιέργεια έχει σημαντικές εφαρμογές στη βιομηχανία, καθώς προσφέρει τη δυνατότητα παραγωγής βιομάζας σε ελεγχόμενες συνθήκες, μειώνοντας τις εξωτερικές αβεβαιότητες που σχετίζονται με την εξάρτηση από το φως και τις καιρικές συνθήκες. Αυτή η μέθοδος επιτρέπει την παραγωγή υψηλής ποιότητας βιομάζας σε μεγάλες ποσότητες, κάνοντάς την ιδανική για εφαρμογές όπως η παραγωγή βιοκαυσίμων, διατροφικών συμπληρωμάτων και άλλων βιολογικών προϊόντων. Ειδικά για βιομηχανικές εφαρμογές, η σταθερή και υψηλή απόδοση της ετεροτροφικής καλλιέργειας σε συνδυασμό με το χαμηλό περιβαλλοντικό αποτύπωμα

καθιστά αυτή τη μέθοδο ελκυστική για την ανάπτυξη βιώσιμων και οικονομικά αποδοτικών διαδικασιών παραγωγής.

4.2. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο κύριος στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση και αξιολόγηση της δυναμικής του μικροφύκου *Chlorella sorokiniana* ως μοντέλου για την παραγωγή βιομάζας και την απόδοση σε ετεροτροφικές συνθήκες καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, η έρευνα εστιάζει στην επίδραση διαφόρων οργανικών υποστρωμάτων – όπως η φρουκτόζη, η αιθανόλη, η γλυκερίνη, η D-γλυκόζη και η μεθανόλη – στην ανάπτυξη και στη βιοχημική απόδοση του μικροφύκου. Η ανάλυση αυτή στοχεύει να αναδείξει όχι μόνο την εφαρμοστικότητα του μικροφύκου στην παραγωγή βιομάζας και βιοκαυσίμων, αλλά και τη συμβολή του στην παραγωγή υψηλής ποιότητας διατροφικών προϊόντων και στην περιβαλλοντική αποκατάσταση μέσω της επεξεργασίας αποβλήτων. Με αυτόν τον τρόπο, η μελέτη επιδιώκει να προσφέρει λύσεις που συνδυάζουν τις ανάγκες της σύγχρονης ενεργειακής πολιτικής με την ανάγκη για βιώσιμες και οικολογικά φιλικές τεχνολογίες.

4.3 ΠΙΘΑΝΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΠΑΡΑΧΘΕΙΣΑΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ ΑΠΟ ΤΟ ΜΙΚΡΟΦΥΚΟΣ CHLORELLA SOROKINIANA

Η αξιοποίηση της βιομάζας που παράγεται από την *Chlorella sorokiniana* ανοίγει νέες προοπτικές στους τομείς της ενέργειας, των τροφίμων και της φαρμακευτικής, καθώς και της περιβαλλοντικής τεχνολογίας. Η δυνατότητα καλλιέργειας του μικροφύκου σε βιομηχανικά απόβλητα προσφέρει μια εξαιρετικά αποδοτική λύση για τη μείωση του κόστους παραγωγής βιομάζας, ενώ ταυτόχρονα μειώνει την περιβαλλοντική επιβάρυνση των αποβλήτων αυτών. Η ετεροτροφική καλλιέργεια της *Chlorella sorokiniana* χρησιμοποιεί οργανικά υποστρώματα, όπως φρουκτόζη και αιθανόλη, για να αυξήσει την παραγωγή βιομάζας και λιπιδίων, που στη συνέχεια μετατρέπονται σε βιοκαύσιμα, κυρίως βιοντίζελ. Η μετατροπή αυτή ενδυναμώνει τη βιωσιμότητα της παραγωγής ενέργειας και μειώνει την εξάρτηση από τα παραδοσιακά ορυκτά καύσιμα, συμβάλλοντας παράλληλα στη μείωση των εκπομπών CO₂, καθιστώντας την μια ιδανική εναλλακτική λύση για το μέλλον της ενέργειας.

Παράλληλα, η *Chlorella sorokiniana* μπορεί να αξιοποιηθεί για την παραγωγή διατροφικών συμπληρωμάτων, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε πρωτεΐνες και απαραίτητα θρεπτικά συστατικά. Αυτά τα προϊόντα ενσωματώνονται σε τελικές μορφές τροφίμων, προσφέροντας μια βιώσιμη λύση για την κάλυψη των διατροφικών αναγκών των ανθρώπων, είτε για ενίσχυση της καθημερινής διατροφής είτε για την υποστήριξη ειδικών ομάδων πληθυσμού, όπως αθλητές ή άτομα με αυξημένες διατροφικές ανάγκες. Επιπλέον, τα εκχυλίσματα από το μικροφύκος χρησιμοποιούνται στην παραγωγή καλλυντικών προϊόντων, εκμεταλλευόμενα τις

αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του για την προστασία και ανανέωση του δέρματος. Οι δυνατότητες για την ενσωμάτωσή της σε προϊόντα τόσο στον τομέα των τροφίμων όσο και της κοσμετολογίας παρέχουν μια πολλαπλή ωφέλεια για τη βιομηχανία και τους καταναλωτές, προσφέροντας φυσικά προϊόντα υψηλής ποιότητας και αποτελεσματικότητας.

Η καλλιέργεια και η χρήση της *Chlorella sorokiniana* ως πηγή βιομάζας και βιοκαυσίμων συνδυάζει τα οφέλη για την οικονομία και το περιβάλλον, ενισχύοντας τη βιωσιμότητα της παραγωγής μέσω της ενσωμάτωσης κυκλικών συστημάτων και της χρήσης ανακυκλωμένων υποστρωμάτων. Η συνεχής εξέλιξη της τεχνολογίας καλλιέργειας, όπως η βελτιστοποίηση των συνθηκών φωτισμού, θερμοκρασίας και CO₂, αναμένεται να βελτιώσει ακόμη περισσότερο την αποδοτικότητα παραγωγής και να μειώσει το κόστος. Η *Chlorella sorokiniana* συμβάλλει επίσης στην επεξεργασία αποβλήτων, προσφέροντας λύσεις για την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών και τη μείωση της ρύπανσης των υδάτων, επισημαίνοντας τη σημασία της για την προστασία του περιβάλλοντος. Στο μέλλον, αναμένεται να αναπτυχθούν ολοκληρωμένα βιομηχανικά συστήματα που θα συνδυάζουν παραγωγή ενέργειας, διατροφικών προϊόντων και καλλυντικών με την περιβαλλοντική αποκατάσταση, δημιουργώντας έτσι μια οικονομία που θα υποστηρίζει τη βιώσιμη ανάπτυξη και την ενεργειακή μετάβαση προς ανανεώσιμες πηγές ενέργειας.

4.4 ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΟΠΤΙΚΗ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Η ενσωμάτωση όλων των παραπάνω στοιχείων καταλήγει σε μια ολοκληρωμένη εικόνα για τη δυναμική εφαρμογή της *Chlorella sorokiniana*. Ο μικροοργανισμός αυτός διαθέτει τη δυνατότητα να εξυπηρετεί πολλούς τομείς, από την παραγωγή βιομάζας και βιοκαυσίμων έως την παραγωγή διατροφικών συμπληρωμάτων και καλλυντικών. Αυτή η ευελιξία τον καθιστά έναν από τους πιο υποσχόμενους μικροοργανισμούς για την ανάπτυξη βιώσιμων τεχνολογιών στο μέλλον. Η δυνατότητα της *Chlorella sorokiniana* να συμβάλει σε πλήθος βιομηχανικών εφαρμογών, από την ενέργεια μέχρι την υγεία, ανοίγει νέες προοπτικές για τη δημιουργία ενός ολοκληρωμένου και βιώσιμου παραγωγικού συστήματος, που θα συνεισφέρει στην οικονομία και το περιβάλλον.

4.4.1 ΟΛΙΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η εκμετάλλευση της βιομάζας από την *Chlorella sorokiniana* δημιουργεί νέες ευκαιρίες στους τομείς της ενέργειας, της διατροφής και της φαρμακευτικής, αλλά και στις τεχνολογίες που σχετίζονται με το περιβάλλον. Η δυνατότητα καλλιέργειας του μικροφύκου σε βιομηχανικά απόβλητα αποτελεί μια ιδιαίτερα αποδοτική προσέγγιση,

καθώς μειώνει το κόστος παραγωγής της βιομάζας ενώ ταυτόχρονα περιορίζει την περιβαλλοντική επιβάρυνση που προκαλούν τα απόβλητα αυτά.

Με την ετεροτροφική καλλιέργεια, που στηρίζεται στη χρήση οργανικών υποστρωμάτων όπως η φρουκτόζη και η αιθανόλη, ενισχύεται τόσο η παραγωγή βιομάζας όσο και αυτή των λιπιδίων. Τα λιπίδια αυτά μπορούν στη συνέχεια να μετατραπούν σε βιοκαύσιμα, κυρίως σε βιοντίζελ, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση της εξάρτησης από τα παραδοσιακά ορυκτά καύσιμα και ενισχύοντας τη βιωσιμότητα στην παραγωγή ενέργειας, μέσω της μείωσης των εκπομπών CO₂.

Επιπλέον, η *Chlorella sorokiniana* έχει τη δυνατότητα να αξιοποιηθεί για την παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε πρωτεΐνες και σημαντικά θρεπτικά συστατικά. Τα προϊόντα αυτά ενσωματώνονται σε τελικές μορφές τροφίμων, παρέχοντας βιώσιμες λύσεις για την κάλυψη των διατροφικών αναγκών, είτε πρόκειται για την ενίσχυση της καθημερινής διατροφής είτε για την υποστήριξη ειδικών ομάδων, όπως οι αθλητές ή άτομα με αυξημένες διατροφικές απαιτήσεις. Τα εκχυλίσματα επίσης του μικροφύκου χρησιμοποιούνται στην παραγωγή καλλυντικών προϊόντων, εκμεταλλευόμενα τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές του για την προστασία και ανανέωση του δέρματος. Η ενσωμάτωση του τόσο στον τομέα των τροφίμων όσο και στην κοσμετολογία προσφέρει πολυάριθμα οφέλη για τη βιομηχανία και τους καταναλωτές, με την παραγωγή φυσικών προϊόντων υψηλής ποιότητας και αποτελεσματικότητας.

Η καλλιέργεια και χρήση της *Chlorella sorokiniana* ως πηγή βιομάζας και βιοκαυσίμων συνδυάζει τα οικονομικά και περιβαλλοντικά οφέλη, ενισχύοντας τη βιωσιμότητα μέσω της εφαρμογής κυκλικών συστημάτων και της χρήσης ανακυκλωμένων υποστρωμάτων. Η συνεχιζόμενη βελτίωση των τεχνολογικών μεθόδων, όπως η βελτιστοποίηση των συνθηκών φωτισμού, θερμοκρασίας και συγκέντρωσης CO₂, αναμένεται να αυξήσει περαιτέρω την αποδοτικότητα της παραγωγής και να μειώσει το κόστος. Επιπλέον, ο ρόλος της *Chlorella sorokiniana* στην επεξεργασία αποβλήτων, μέσω της απορρόφησης θρεπτικών συστατικών και της μείωσης της ρύπανσης των υδάτων, επιβεβαιώνει τη σημασία της για την προστασία του περιβάλλοντος. Στο μέλλον, προβλέπεται η ανάπτυξη ολοκληρωμένων βιομηχανικών συστημάτων που θα συνδυάζουν την παραγωγή ενέργειας, τροφίμων και καλλυντικών με την περιβαλλοντική αποκατάσταση, δημιουργώντας έτσι μια οικονομία που θα στηρίζει τη βιώσιμη ανάπτυξη και την ενεργειακή μετάβαση προς ανανεώσιμες πηγές ενέργειας.

4.4.2 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΚΛΙΜΑΤΙΚΗ ΠΟΛΙΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ

Η δυνατότητα της *Chlorella sorokiniana* να απορροφά CO₂ και να παράγει βιομάζα καθιστά την εφαρμογή της σε συστήματα δέσμευσης CO₂ ένα σημαντικό εργαλείο για την αντιμετώπιση των προκλήσεων της κλιματικής αλλαγής. Μέσω της ενσωμάτωσής της σε βιομηχανικές εγκαταστάσεις και άλλες εφαρμογές, η *Chlorella sorokiniana*

μπορεί να συμβάλλει στη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου και στη μετάβαση σε μια πράσινη οικονομία.

4.4.3 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΕΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΕΣ

Οι μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να εστιάσουν σε δύο βασικούς τομείς: Η ανάπτυξη νέων φωτοβιοαντιδραστήρων και η ενσωμάτωση προηγμένων συστημάτων ελέγχου θα επιτρέψουν την περαιτέρω μείωση του κόστους και την αύξηση της απόδοσης παραγωγής βιομάζας. Επίσης, η εμβάθυνση στις φαρμακευτικές και διατροφικές ιδιότητες της *Chlorella sorokiniana*, καθώς και η ανάπτυξη νέων προϊόντων, θα ενισχύσουν τη θέση της στην αγορά και θα ανοίξουν νέες εφαρμογές της σε διάφορους τομείς.

4.5 ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Η μελέτη αυτή αναδεικνύει τη *Chlorella sorokiniana* ως έναν εξαιρετικά πολύπλευρο μικροοργανισμό, με δυνατότητες που εκτείνονται από την παραγωγή βιομάζας και βιοκαυσίμων μέχρι την εφαρμογή της σε διατροφικά και φαρμακευτικά προϊόντα. Η συνδυασμένη χρήση αυτών των ιδιοτήτων καθιστά την *Chlorella sorokiniana* έναν υποσχόμενο παράγοντα για τη βιώσιμη ενεργειακή και οικονομική ανάπτυξη, καθώς και για τη μείωση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων. Παρά την ανάγκη για περαιτέρω βελτιστοποίηση των διαδικασιών, η ανάπτυξη και η εφαρμογή της υποστηρίζουν τη μετάβαση προς μια πιο πράσινη και βιώσιμη οικονομία.

4.5.1 ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΩΝ

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των οργανικών υποστρωμάτων στην ετεροτροφική καλλιέργεια αποδεικνύουν τη σημασία της προσαρμογής των περιβαλλοντικών συνθηκών στις ανάγκες της *Chlorella sorokiniana*. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των διαφόρων υποστρωμάτων, με έμφαση στη φρουκτόζη και την αιθανόλη, παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για τη βελτίωση των καλλιεργητικών διαδικασιών και την επιλογή των πιο αποδοτικών υποστρωμάτων για συγκεκριμένες εφαρμογές.

4.5.2 ΟΛΙΣΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

Η ενσωμάτωση της *Chlorella sorokiniana* σε ολοκληρωμένα συστήματα παραγωγής μπορεί να αποτελέσει μια καινοτόμο κίνηση προς τη δημιουργία πράσινης οικονομίας. Η δυνατότητα μετατροπής των παραπροϊόντων σε χρήσιμα προϊόντα, η εφαρμογή της τεχνολογίας σε κλιματικές πολιτικές και η ενσωμάτωσή της σε βιομηχανικές διαδικασίες καθιστούν τη μελέτη αυτή απαραίτητη για τις μελλοντικές εφαρμογές στον κλάδο της ενέργειας και της επιστήμης.

Βιβλιογραφία

- AboliGhasemabadi, M., Mbarek, W. B., Cerrillo-Gil, A., Roca-Bisbe, H., Casabella, O., Blázquez, P., Pineda, E., Escoda, L., & Suñol, J. J. (2020). Azo-dye degradation by Mn–Al powders. *Journal of Environmental Management*, 258, 110012. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.110012>
- Adarme-Vega, T. C., Thomas-Hall, S. R., & Schenk, P. M. (2013b). Towards sustainable sources for omega-3 fatty acids production. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 14–18. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.08.003>
- Ahmad, S., Kothari, R., Shankarayan, R., & Tyagi, V. V. (2019). Temperature dependent morphological changes on algal growth and cell surface with dairy industry wastewater: an experimental investigation. *3 Biotech*, 10(1). <https://doi.org/10.1007/s13205-019-2008-x>
- Aly, N., & P, B. (2016). Effect of photoinhibition on microalgal growth in open ponds of NIT Rourkela, India. *Journal of Biochemical Technology*, 6(3), 1034–1039. <https://jbiochemtech.com/index.php/jbt/article/view/JBT643/pdf>
- Asadi, P., Rad, H. A., & Qaderi, F. (2020). Lipid and biodiesel production by cultivation isolated strain *Chlorella sorokiniana* pa.91 and *Chlorella vulgaris* in dairy wastewater treatment plant effluents. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 18(2), 573–585. <https://doi.org/10.1007/s40201-020-00483-y>
- Barkia, I., Saari, N., & M'Rabet, J. (2019). Utilization of bioactive compounds from microalgae in the food and cosmetic industries. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1200.
- Becker, E. (2006). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K., & Shimamatsu, H. (1993). Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology*, 5(2), 235–241. <https://doi.org/10.1007/bf00004024>
- Bellinger, E. G., & Sigee, D. C. (2010). *Freshwater algae*. <https://doi.org/10.1002/9780470689554>
- Berges, J. A., Charlebois, D. O., Mauzerall, D. C., & Falkowski, P. G. (1996). Differential effects of nitrogen limitation on photosynthetic efficiency of photosystems I and II in microalgae. *PLANT PHYSIOLOGY*, 110(2), 689–696. <https://doi.org/10.1104/pp.110.2.689> Beuckels, A., Smolders, E., & Muylaert, K.

- (2015). Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Research*, 77, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.03.018>
- Bhatt, N. C., Panwar, A., Bisht, T. S., & Tamta, S. (2014). Coupling of Algal Biofuel Production with Wastewater. *The Scientific World JOURNAL*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/210504>
- Bilanovic, D., Andargatchew, A., Kroeger, T., & Shelef, G. (2009). Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations – Response surface methodology analysis. *Energy Conversion and Management*, 50(2), 262–267. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.09.024>
- Bixler, H. J., & Porse, H. (2010). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 321–335. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9529-3>
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1–3), 313–321. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(99\)00083-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(99)00083-8)
- Brennan, L., & Owende, P. (2012). Biofuels from Microalgae: Towards Meeting Advanced Fuel Standards. In *Springer eBooks* (pp. 553–599). https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4_24
- Bulynina, S. S., Ziganshina, E. E., & Ziganshin, A. M. (2023). Growth Efficiency of *Chlorella sorokiniana* in Synthetic Media and Unsterilized Domestic Wastewater. *BioTech*, 12(3), 53. <https://doi.org/10.3390/biotech12030053>
- Cai, J., Wang, C., & Wu, Y. (2013). "Nutritional value and utilization of red algae." *Food Science and Biotechnology*, 22(2), 369–374.
- Caki, M., & Taskin, Z. (2010). Ανάπτυξη εκχυλισμάτων μικροφυκών και μελέτη της βιοδραστικότητάς τους. *Διεθνές Περιοδικό Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων*, 45(9), 1884–1890.
- Cheirsilp, B., & Torpee, S. (2012). Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*, 110, 510–516. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.125>
- Chaumont, D. (1993). Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *Journal of Applied Phycology*, 5(6), 593–604. <https://doi.org/10.1007/bf02184638>
- Chen, C., Zhao, X., Yen, H., Ho, S., Cheng, C., Lee, D., Bai, F., & Chang, J. (2013). Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal*, 78, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.006>

- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Demirbas, A. (2008). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management*, 50(1), 14–34. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.09.001>
- De Moraes, M. G., Da Silva Vaz, B., De Moraes, E. G., & Costa, J. a. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed Research International*, 2015, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/83576>
- Diprat, A. B., Thys, R. C. S., Rodrigues, E., & Rech, R. (2020). *Chlorella sorokiniana*: A new alternative source of carotenoids and proteins for gluten-free bread. *LWT*, 134, 109974. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109974>
- Fargione, J., Hill, J., Tilman, D., Polasky, S., & Hawthorne, P. (2008). Land clearing and the biofuel carbon debt. *Science*, 319(5867), 1235–1238. <https://doi.org/10.1126/science.1152747>
- Finkel, Z. V., Beardall, J., Flynn, K. J., Quigg, A., Rees, T. a. V., & Raven, J. A. (2009). Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry. *Journal of Plankton Research*, 32(1), 119–137. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbp098>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). *The state of world fisheries and aquaculture*. Retrieved from <https://www.fao.org>
- Gatamaneni, B. L., Orsat, V., & Lefsrud, M. (2018). Factors affecting growth of various microalgal species. *Environmental Engineering Science*, 35(10), 1037–1048. <https://doi.org/10.1089/ees.2017.0521>
- Giordano, M., Norici, A., Ratti, S., & Raven, J. A. (2008). Role of sulfur for algae: acquisition, metabolism, ecology and evolution. In *Advances in photosynthesis and respiration* (pp. 397–415). https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6863-8_20
- Goswami RK, Agrawal K, Mehariya S, Verma P (2021b) Current perspective on wastewater treatment using photobioreactor for *Tetraselmis* sp.: an emerging and foreseeable sustainable approach. In: *Environmental Science and Pollution Research*. Springer, Berlin, pp 1–33. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16860-5>
- Gougoulas, N., Papapolymerou, G., Mpesios, A., Kasiteropoulou, D., Metsoviti, M. N., & Gregoriou, M. E. (2021). Effect of macronutrients and of anaerobic digestate on the heterotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* grown with glycerol. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(20), 29638–29650. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17698-7>
- Graham, L. E., Graham, J. M., & Wilcox, L. W. (2016). *Algae*. Elsevier.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>

- Hamed, I. (2016). The Evolution and Versatility of Microalgal Biotechnology: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 1104–1123. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12227>
- Hamidian, N., & Zamani, H. (2021). Potential of *Chlorella sorokiniana* Cultivated in Dairy Wastewater for Bioenergy and Biodiesel Production. *BioEnergy Research*, 15(1), 334–345. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10338-5>
- Haris, N., Manan, H., Jusoh, M., Khatoon, H., Katayama, T., & Kasan, N. A. (2021). Effect of different salinity on the growth performance and proximate composition of isolated indigenous microalgae species. *Aquaculture Reports*, 22, 100925. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100925>
- Heinrich, U., Wiebusch, M., Tronnier, H., Gärtner, C., Eichler, O., Sies, H., & Stahl, W. (2003). Supplementation with β -Carotene or a Similar Amount of Mixed Carotenoids Protects Humans from UV-Induced Erythema. *Journal of Nutrition*, 133(1), 98–101. <https://doi.org/10.1093/jn/133.1.98>
- Hoek, C. V. D., Mann, D. G., & Jahns, H. M. (1995). *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press.
- Janssen, M. (2016). Microalgal photosynthesis and growth in mass culture. In *Advances in chemical engineering* (pp. 185–256). <https://doi.org/10.1016/bs.ache.2015.11.001>
- Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales, E. A., Embiruçu, M., & Ghirardi, M. L. (2009). Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresource Technology*, 101(4), 1406–1413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.038>
- Knothe, G. (2009). Biodiesel and renewable diesel: A comparison. *Progress in Energy and Combustion Science*, 36(3), 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2009.11.004>
- Lakatos, G. E., Ranglová, K., Manoel, J. C., Grivalský, T., Kopecký, J., & Masojídek, J. (2019). Bioethanol production from microalgae polysaccharides. *Folia Microbiologica*, 64(5), 627–644. <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00732-0>
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic Compounds: Introduction. In Springer eBooks (pp. 1543–1580). https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57
- Lee, B., Koo, K. M., Ryu, J., Hong, M. J., Kim, S. H., Kwon, S., Kim, J., Choi, J., & Ahn, J. (2020). Overexpression of fructose-1,6-bisphosphate aldolase 1 enhances accumulation of fatty acids in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Algal Research*, 47, 101825. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101825>

- Li, T., Zheng, Y., Yu, L., & Chen, S. (2012). High productivity cultivation of a heat-resistant microalga *Chlorella sorokiniana* for biofuel production. *Bioresource Technology*, 131, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.121>
- Lizzul, A. M., Lekuona-Amundarain, A., Purton, S., & Campos, L. C. (2018). Characterization of *Chlorella sorokiniana*, UTEX 1230. *Biology*, 7(2), 25. <https://doi.org/10.3390/biology7020025>
- Luo, Y., Jian, Y., Liu, Y., Jiang, S., Muhammad, D., & Wang, W. (2022). Flavanols from Nature: A Phytochemistry and Biological Activity Review. *Molecules*, 27(3), 719. <https://doi.org/10.3390/molecules27030719>
- Markou, G., Georgakakis, D., & Angelidaki, I. (2012). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1532–1542. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.002>
- Martysiak-Żurowska D. (2012). A comparison of abts and dpsh methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 11 (1), 83-89
- Mehariya S, Goswami R, Verma P, Lavecchia R, Zuorro A (2021a) Integrated approach for wastewater treatment and biofuel production in microalgae biorefineries. *Energies* 14(8):2282. <https://doi.org/10.3390/en14082282>
- Melis, A., Zhang, L., Forestier, M., Ghirardi, M. L., & Seibert, M. (2000b). Sustained Photobiological Hydrogen Gas Production upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *PLANT PHYSIOLOGY*, 122(1), 127–136. <https://doi.org/10.1104/pp.122.1.127>
- Metsoviti, M. N., Papapolymerou, G., Karapanagiotidis, I. T., & Katsoulas, N. (2019). Effect of Light Intensity and Quality on Growth Rate and Composition of *Chlorella vulgaris*. *Plants*, 9(1), 31. <https://doi.org/10.3390/plants9010031>
- Miazeck, K., Kratky, L., Sulc, R., Jirout, T., Aguedo, M., Richel, A., & Goffin, D. (2017). Effect of organic solvents on microalgae growth, metabolism and industrial bioproduct extraction: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1429. <https://doi.org/10.3390/ijms18071429>
- Mu, L., Zhang, L., Ma, J., Zhu, K., Chen, C., & Li, A. (2020). Enhancement of anaerobic digestion of phoenix tree leaf by mild alkali pretreatment: Optimization by Taguchi orthogonal design and semi-continuous operation. *Bioresource Technology*, 313, 123634. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123634>
- Muñoz, I. L., & Bernard, O. (2021). Modeling the influence of temperature, light intensity and oxygen concentration on microalgal growth rate. *Processes*, 9(3), 496. <https://doi.org/10.3390/pr9030496>

- Nigam, P. S., & Singh, A. (2010). Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37(1), 52–68. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2010.01.003>
- Paerl, H.W., Otten, T.G. Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microb Ecol* **65**, 995–1010 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y>
- Pandey, S., Narayanan, I., Selvaraj, R., Varadavenkatesan, T., & Vinayagam, R. (2024). Biodiesel production from microalgae: A comprehensive review on influential factors, transesterification processes, and challenges. *Fuel*, 367, 131547. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2024.131547>
- Papapolymerou, G., Gougoulas, N., Mpesios, A., Kokkalis, A., Spiliotis, X., Papadopoulou, A., Kasiteropoulou, D., & Metsoviti, M. (2022). Semi-batch heterotrophic cultivation of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella kessleri*: lipid and protein content, fatty acid distribution and FAME properties. *Desalination and Water Treatment*, 260, 216–224. <https://doi.org/10.5004/dwt.2022.28363>
- Papapolymerou, G., Gougoulas, N., Metsoviti, M., Kokkalis, A., Kasiteropoulou, D., Spiliotis, X., Mpesios, A., & Papadopoulou, A. (2022). FAME and bio-oil properties and carbon yield coefficients of *Chlorella sorokiniana* cultivated heterotrophically with industrial effluents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100879. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100879>
- Papapolymerou, G., Gougoulas, N., Metsoviti, M., Katsoulas, N., Karapanagiotidis, I., Kasiteropoulou, D., Mpesios, A., & Papadopoulou, A. (2023). FAME properties, bio-oil productivity and carbon yield coefficient of *Chlorella sorokiniana* grown with low and high initial nitrogen concentrations. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 35, 101179. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101179>
- Papapolymerou, G., Kokkalis, A., Kasiteropoulou, D., Gougoulas, N., Mpesios, A., Papadopoulou, A., Metsoviti, M. N., & Spiliotis, X. (2022). Effect of Anaerobic Digestate on the Fatty Acid Profile and Biodiesel Properties of *Chlorella sorokiniana* Grown Heterotrophically. *Sustainability*, 14(1), 561. <https://doi.org/10.3390/su14010561>
- Patlar, S., Yalçın, H., & Boyali, E. (2012c). The effect of glycerol supplements on aerobic and anaerobic performance of athletes and sedentary subjects. *Journal of Human Kinetics*, 34(1), 69–79. <https://doi.org/10.2478/v10078-012-0065-x>
- Politaeva, N., Smyatskaya, Y., Afif, R. A., Pfeifer, C., & Mukhametova, L. (2020). Development of Full-Cycle Utilization of *Chlorella sorokiniana* Microalgae Biomass for Environmental and Food Purposes. *Energies*, 13(10), 2648. <https://doi.org/10.3390/en13102648>

- Pulz, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* **57**, 287–293 (2001). <https://doi.org/10.1007/s002530100702>
- Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **65**(6), 635–648. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x>
- Qiu, R., Gao, S., Lopez, P. A., & Ogden, K. L. (2017). Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, **28**, 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>
- Rachlin, J. W., & Grosso, A. (1991). The effects of pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and its interactions with cadmium toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **20**(4), 505–508. <https://doi.org/10.1007/bf01065839>
- Raes, E. J., Isdepsky, A., Muylaert, K., Borowitzka, M. A., & Moheimani, N. R. (2013). Comparison of growth of *Tetraselmis* in a tubular photobioreactor (Biocoil) and a raceway pond. *Journal of Applied Phycology*, **26**(1), 247–255. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0077-5>
- Rana, M. S., & Prajapati, S. K. (2021). Stimulating effects of glycerol on the growth, phycoremediation and biofuel potential of *Chlorella pyrenoidosa* cultivated in wastewater. *Environmental Technology & Innovation*, **24**, 102082. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102082>
- Riccio, G., & Lauritano, C. (2019). Microalgae with Immunomodulatory Activities. *Marine Drugs*, **18**(1), 2. <https://doi.org/10.3390/md18010002>
- Richmond, A., & Hu, Q. (2003). Handbook of Microalgal Culture. In Wiley eBooks. <https://doi.org/10.1002/9780470995280>
- Richmond, A., 2004. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology/edited by Amos Richmond., Available at: <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=UMARPA.xis&method=post&formato=2&canti=120dad=1&expresion=mfn=004637>
- Saini, K. C., Yadav, D. S., Mehariya, S., Rathore, P., Kumar, B., Marino, T., Leone, G. P., Verma, P., Musmarra, D., & Molino, A. (2021). Overview of extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using CO₂ supercritical fluid extraction technology vis-a-vis quality demands. In *Elsevier eBooks* (pp. 341–354). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-823304-7.00032-5>
- Sakarika, M., & Kornaros, M. (2016). Effect of pH on growth and lipid accumulation kinetics of the microalga *Chlorella vulgaris* grown heterotrophically under sulfur limitation. *Bioresource Technology*, **219**, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.033>

- Salbitani, G., Vona, V., Bottone, C., Petriccione, M., & Carfagna, S. (2015). Sulfur Deprivation Results in Oxidative Perturbation in *Chlorella sorokiniana* (211/8k). *Plant and Cell Physiology*, 56(5), 897–905. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv015>
- Schindler, D. W., Hecky, R. E., Findlay, D. L., Stainton, M. P., Parker, B. R., Paterson, M. J., Beaty, K. G., Lyng, M., & Kasian, S. E. M. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32), 11254–11258. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805108105>
- Shetty, P., Gitau, M. M., & Maróti, G. (2019). Salinity stress responses and adaptation mechanisms in eukaryotic green microalgae. *Cells*, 8(12), 1657. <https://doi.org/10.3390/cells8121657>
- Sialve, B., Bernet, N., & Bernard, O. (2009). Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances*, 27(4), 409–416. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.03.001>
- Slegers, P., Lösing, M., Wijffels, R., Van Straten, G., & Van Boxtel, A. (2013). Scenario evaluation of open pond microalgae production. *Algal Research*, 2(4), 358–368. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2013.05.001>
- Spoudai Journal. (2017). *Η εξάντληση φυσικών πόρων και οι οικονομικές επιπτώσεις*. University of Piraeus. Retrieved from <https://spoudai.unipi.gr/index.php/spoudai/article/viewFile/966/1045>
- Stahl, W., & Sies, H. (2007). Carotenoids and Flavonoids Contribute to Nutritional Protection against Skin Damage from Sunlight. *Molecular Biotechnology*, 37(1), 26–30. <https://doi.org/10.1007/s12033-007-0051-z>
- Tsamesidis, I., Pappa, A., Charisis, A., Prentza, Z., Theocharis, K., Patsias, A., Foukas, D., Chatzidoukas, C., & Kalogianni, E. P. (2024). Impact of *Chlorella sorokiniana* feed additive on poultry growth health and oxidative stress in erythrocytes. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-76998-3>
- Vo, T., Ngo, D., & Kim, S. (2012). Potential targets for Anti-Inflammatory and Anti-Allergic activities of marine algae: An overview. *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 11(2), 90–101. <https://doi.org/10.2174/187152812800392797>
- Vymazal, J. (2006). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *The Science of the Total Environment*, 380(1–3), 48–65. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.09.014>
- United Nations Environment Programme. (2021). *Environmental challenges and solutions*. Retrieved from <https://www.unep.org>
- Wang, J., Li, Y., & Chen, W. (2018). "Diatom-based biofuels: Perspectives and challenges." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 1894–1904.

- Wang, Y., Xu, H., Yang, J., Zhou, Y., Wang, X., Dou, S., Li, L., Liu, G., & Yang, M. (2022b). Effect of sulfur limitation strategies on glucose-based carbohydrate production from *Chlorella sorokiniana*. *Renewable Energy*, 200, 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.09.106>
- Whitton, B. A., & Potts, M. (Eds.). (2012). *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Springer.
- Wijffels, R. H., & Barbosa, M. J. (2010). An outlook on microalgal biofuels. *Science*, 329(5993), 796–799. <https://doi.org/10.1126/science.1189003>
- WWF Ελλάς. (2022). *Διαχείριση δασών και περιβαλλοντική προστασία στην Ελλάδα*. Retrieved from <https://www.wwf.gr>
- Yap, B. H. J., Crawford, S. A., Dagastine, R. R., Scales, P. J., & Martin, G. J. O. (2016). Nitrogen deprivation of microalgae: effect on cell size, cell wall thickness, cell strength, and resistance to mechanical disruption. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 43(12), 1671–1680. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1848-1>
- Zarrinmehr, M. J., Farhadian, O., Heyrati, F. P., Keramat, J., Koutra, E., Kornaros, M., & Daneshvar, E. (2019). Effect of nitrogen concentration on the growth rate and biochemical composition of the microalga, *Isochrysis galbana*. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(2), 153–158. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.11.003>
- Zhao, T., Han, X., & Cao, H. (2020). Effect of temperature on biological macromolecules of three microalgae and application of FT-IR for evaluating microalgal lipid characterization. *ACS Omega*, 5(51), 33262–33268. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04961>
- Zheng, Y., Li, T., Yu, X., Bates, P. D., Dong, T., & Chen, S. (2013). High-density fed-batch culture of a thermotolerant microalga *Chlorella sorokiniana* for biofuel production. *Applied Energy*, 108, 281–287. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.02.059>
- Zhou, W., Wang, J., Chen, P., Ji, C., Kang, Q., Lu, B., Li, K., Liu, J., & Ruan, R. (2017). Bio-mitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 1163–1175. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.065>
- Zhou X, Jin W, Wang Q, Guo S, Tu R, Han SF, Chen C, Xie G, Qu F, Wang Q (2020) Enhancement of productivity of *Chlorella pyrenoidosa* lipids for biodiesel using co-culture with ammoniaoxidizing bacteria in municipal wastewater. *Renew Energy* 151:598–603
- Zhu, L., Li, G., & Zhang, Y. (2016). "Chlorophyta: The key organisms in algae biofuels and their applications." *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 55.