

**ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΑΝΟΙΚΤΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**  
**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ**  
**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**« ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΚΑΤΑΛΥΣΗ ΓΙΑ ΑΝΤΙΡΥΠΑΝΣΗ ΚΑΙ**  
**ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΑΘΑΡΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ»**

**ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Παραγωγή βιοντίζελ από μικροφύκη μέσω  
μετεστεροποίησης λιπιδίων**

-

**ΒΑΛΜΑ ΓΕΩΡΓΙΑ**

Επιβλέπων καθηγητής : Ιωάννης Βάκρος

Πρέπει να βάλεις αρίθμηση στα διάφορα κεφάλαια.

## Περιεχόμενα

1.Βιοκαύσιμα.....	5
1.1Τι είναι τα βιοκαύσιμα.....	5
1.2 Βιοντίζελ.....	7
1.3 Βιοαιθανόλη.....	7
1.4 Βιοκαύσιμα δεύτερης και επόμενης γενιάς.....	8
2.Βιοντίζελ.....	9
2.1 Χημικές ενώσεις που αποτελούν το βιοντίζελ.....	9
2.2 Ιδιότητες του βιοντίζελ.....	10
2.2.1 Λειτουργικότητα χαμηλής θερμοκρασίας.....	11
2.2.2 Οξειδωτική σταθερότητα.....	12
2.2.3 Ιξώδες.....	12
2.2.4 Αριθμός κετανίου.....	12
2.2.5 Ενεργειακό περιεχόμενο.....	12
2.2.6 Λιπαντική ικανότητα.....	12
2.2.7 Ποιότητα ανάφλεξης.....	13
2.3 Εκπομπές καυσαερίων.....	14
2.4 Απόδοση βιοντίζελ.....	17
2.5 Προδιαγραφές βιοντίζελ.....	18
2.6 Σύγκριση βιοντίζελ – συμβατικό ντίζελ.....	21
2.7 Μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα του βιοντίζελ.....	22
3. Μέθοδοι παραγωγής βιοντίζελ.....	23
3.1 Πυρόλυση.....	23
3.2 Μικρογαλάκτωμα.....	24
3.3 Μετεστεροποίηση.....	24
3.3.1 Αντίδραση μετεστεροποίησης βασικής κατάλυσης.....	25
3.3.2 Όξινα καταλύσιμη μετεστεροποίηση.....	26
3.3.3 Ένζυμικοί καταλύτες.....	27
3.4 Παράγοντες που επηρεάζουν στην μετεστεροποίηση.....	27
3.4.1 Επίδραση ελεύθερων λιπαρών οξέων και υγρασίας.....	27
3.4.2 Επίδραση λόγου αλκοόλης τριγλυκεριδίων.....	28
3.4.3 Θερμοκρασία.....	29
3.4.4 Ανάδευση.....	29
4.Μικροφύκη.....	29
4.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	29

4.1.2 Βασική δομή.....	30
4.1.3 Μεταβολισμός φυκών.....	32
4.1.4 Ιστορική αναδρομή.....	33
4.2 Εφαρμογές και χρήσεις μικροφυκών.....	34
4.3 Τεχνολογία παραγωγής μικροφυκών.....	34
4.4 Φωτοαυτοτροφική παραγωγή.....	35
4.5 Συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών.....	35
4.5.1 Κλειστά συστήματα ( φωτοβιοαντιδραστήρες/ Photobioreactors– PBRs).....	35
4.5.2 Ανοικτά συστήματα.....	37
4.5.3 Στατικές συνεχείς καλλιέργειες.....	39
4.6 Σύγκριση συστημάτων παραγωγής βιομάζας μικροφυκών.....	40
4.7 Επίδραση φυσικοχημικών και βιοτικών παραγόντων στη μικροβιακή αύξηση.....	41
4.7.1 Είδος.....	41
4.7.2 Φωτισμός και ηλιακή ακτινοβολία.....	41
4.7.3 Θρεπτικά συστατικά.....	42
5 Καύσιμα και μικροφύκη.....	42
5.1 Βιοκαύσιμα και μικροφύκη.....	42
5.2 Επιλογή κατάλληλου στελέχους για την παραγωγή βιοντίζελ.....	45
5.3 Διαχωρισμός μικροφυκών.....	47
5.3.1 Κροκίδωση.....	48
5.3.2 Καθίζηση.....	49
5.3.3 Διήθηση.....	49
5.3.4 Ξήρανση.....	49
5.4 Χημική σύσταση των μικροφυκών.....	50
5.5 Περιεκτικότητα φυκών σε λιπίδια.....	52
5.5.1 Λιπίδια.....	53
5.5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή λιπών και ελαίων των μικροφυκών.....	55
5.5.3 Συμπεράσματα.....	64
5.6 Αντίδραση μετεστεροποίησης.....	64
5.6.1 Όξινη ομογενής καταλυτική μετεστεροποίηση.....	66
5.6.2 Αλκαλική ομογενής καταλυτική Μετεστεροποίηση.....	68
5.7 Καταλύτες διεργασίας.....	69
5.7.1 Ετερογενής καταλυτική Μετεστεροποίηση.....	71
5.7.2 Οξείδια μετάλλων.....	73
5.7.2.1 Οξείδιο του μαγνησίου MgO.....	73
5.7.2.2 Οξείδιο του ασβεστίου ( CaO).....	73
5.7.3 Υδροταλκίτες.....	73

5.7.4 Μεικτά οξείδια μετάλλων.....	74
5.7.5 Ζεόλιθοι.....	75
5.7.6 Υποστηριζόμενα αλκαλιμέταλλα/Ιόντα μετάλλων που χρησιμοποιούνται ως καταλύτες.....	75
5.7.7 Στερεοί οργανικοί καταλύτες.....	76
5.8 Καταλύτες που χρησιμοποιούνται στην μετεστεροποίηση ελαίων από μικροφύκη.....	76
5.9 Παράμετροι που επηρεάζουν την μετεστεροποίηση λιπιδίων μικροφυκών.....	79
5.10 Η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου στην in situ μετεστεροποίηση μικροάλγων.....	83
5.10 Οι εστέρες λιπαρών οξέων κατά την διάρκεια της μετεστεροποίησης.....	87
6. In situ μετεστεροποίηση από υγρά μικροφύκη.....	90
6.1 Η κινητική και η θερμοδυναμική στην υγρή βιομάζα μικροφυκών στην μετεστεροποίηση.....	93
6.3 Κινητική της αντίδρασης.....	94
6.4 Μαθηματικές εξισώσεις της αντίδρασης μετεστεροποίησης.....	98
6.6 Η μετεστεροποίηση in situ μικροάλγων για παραγωγή βιοντίζελ μεγάλης κλίμακας.....	100
7. Χαρακτηριστικά του βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών.....	101
7.1 Οικονομική ανάλυση.....	102
7.2 Τρόποι μείωσης του κόστους παραγωγής.....	104
7.3 Αξιολόγηση της μεθόδου παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη.....	106
8. Συμπεράσματα.....	107
Βιβλιογραφία.....	109

## 1. Βιοκαύσιμα

Σήμερα, πρωταρχικός στόχος των βιομηχανικά αναπτυγμένων χωρών είναι η ενεργειακή αυτονομήσή τους και η εξασφάλιση της επάρκειας των καυσίμων με την αξιοποίηση των ανανεώσιμων ενεργειακών πόρων αντί των ορυκτών.

Βιομάζα θεωρείται το αποτέλεσμα της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης των φυτικών οργανισμών, με βασικές πρώτες ύλες το νερό, ανόργανα άλατα και διοξείδιο του άνθρακα. Η αξιοποίηση της βιομάζας οδηγεί στην παραγωγή βιοκαυσίμων, τα οποία μπορεί να είναι στερεά, υγρά ή αέρια. Τα παραπάνω θεωρούνται ικανά να αντικαταστήσουν το πετρέλαιο και την βενζίνη που είναι υπεύθυνα για το πρόβλημα της κλιματικής αλλαγής, αλλά και ως τρόπο διαχείρισης στη μείωση των ορυκτών αποθεμάτων.

Στις επόμενες παραγράφους γίνεται προσπάθεια συνοπτικής παρουσίασης των βιοκαυσίμων και η κατηγοριοποίησή τους.

### 1.1 Τι είναι τα βιοκαύσιμα

Σύμφωνα με το υπουργείου περιβάλλοντος και ενέργειας η βιομάζα ορίζεται ως το βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα προϊόντων, αποβλήτων και υπολειμμάτων (residues) βιολογικής προέλευσης από τη γεωργία (φυτικές και ζωικές ουσίες), τη δασοκομία και τους συναφείς κλάδους βιομηχανικών δραστηριοτήτων (related industries), συμπεριλαμβανομένης της αλιείας και της υδατοκαλλιέργειας καθώς και βιοαποικοδομήσιμο κλάσμα των βιομηχανικών και αστικών αποβλήτων και απορριμμάτων (industrial and municipal waste).

Βιοκαύσιμα ονομάζονται τα στερεά, υγρά ή αέρια τα οποία παράγονται από βιομάζα και χρησιμοποιούνται ως καύσιμα. Τα υγρά χρησιμοποιούνται κυρίως στις μεταφορές, τα στερεά για την παραγωγή θερμότητας και ηλεκτρικής ενέργειας και τα αέρια έχουν πολλές χρήσεις, όπως πχ την παρασκευή χημικών.

Τα βιοκαύσιμα κατατάσσονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα πρωτογενή (primary biofuels) και τα δευτερογενή (secondary biofuels). Στα πρωτογενή ανήκουν καυσόξυλα, ροκανίδια, πριονίδια και χρησιμοποιούνται χωρίς επεξεργασία. Από την άλλη, τα δευτερογενή, στα οποία ανήκουν η βιοαιθανόλη, βιοντίζελ, DME, παράγονται μετά από χημική ή βιοχημική

επεξεργασία της βιομάζας. Με τη σειρά τους τα δευτερογενή βιοκαύσιμα διακρίνονται σε πρώτης, δεύτερης και τρίτης γενιάς ανάλογα με την τεχνολογία και την ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τους.

Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς παράγονται από σάκχαρα, το άμυλο, φυτικά ή ζωικά λίπη με συμβατικές μεθόδους (Cherubini, 2010). Τα βασικότερα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς εμφανίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1) με τα πιο διαδεδομένα να είναι το βιοντίζελ και η βιοαιθανόλη που χρησιμοποιούνται σε μίγμα με ορυκτά καύσιμα κίνησης ντίζελ και βενζίνη (Βασάλος κ.α. στο Όγδοο Εθνικό Συνέδριο για τις Ήπιες Μορφές Ενέργειας, 2006)

Πίνακας 1 Βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς

Ονομασία	Τύπος Βιοκαυσίμου	Διεργασία
Φυτικό έλαιο	Φυτικό έλαιο	Πίεση, εκχύλιση, διύλιση
Βιοντίζελ	Βιοντίζελ από σπόρους	Μετεστεροποίηση ελαίων
Βιοντίζελ	Βιοντίζελ από απόβλητα ή χρησιμοποιημένα έλαια	Διύλιση, μετεστεροποίηση
Βιοαιθανόλη	Αιθανόλη από ζακχαρώδη φυτά	Ζύμωση, απόσταξη
Βιοαιθανόλη	Αιθανόλη από αμυλωδη φυτά	Υδρόλυση, ζύμωση, απόσταξη
Βιοϋδρογόνο	Υδρογόνο από βιοαέριο	Χώνευση, wgs, απομάκρυνση CO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O

Πηγή: Βασάλος κ.ά στο Όγδοο Εθνικό Συνέδριο για τις Ήπιες Μορφές Ενέργειας, 2006.

## 1.2 Βιοντίζελ

Το βιοντίζελ παράγεται από την μετεστεροποίηση των λιπαρών οξέων φυτικών ελαίων και είναι γνωστό ως FAME (fatty Acid Methy Esters). Αντικαθιστά το ντίζελ κίνησης και σαν πρώτες ύλες έχει τα φυτικά σπορέλαια από ηλιόσπορους, βαμβάκι, ελαιοκράμβη, καλαμπόκι,

κλπ και τα χρησιμοποιημένα φυτικά έλαια. Την μεγαλύτερη παραγωγή στην Ευρώπη έχουν η Γερμανία, η Γαλλία και η Ιταλία από ελαιοκράμβη.

Η διαδικασία παραγωγής βιοντίζελ είναι η επαφή των φυτικών ελαίων με μεθανόλη για την αντίδραση της μετεστεροποίησης παρουσία βασικού ή όξινου καταλύτη. Τα τριγλυκερίδια που υπάρχουν στα φυτικά έλαια αντιδρούν με τη μεθανόλη και παράγονται οι αντίστοιχοι μεθυλ-εστέρες των λιπαρών οξέων και γλυκερόλη . Για την ποσοτική μετατροπή των τριγλυκεριδίων σε μεθυλ-εστέρες απαιτείται η παρουσία καταλύτη. Το μίγμα χωρίζεται, οι εστέρες καθαρίζονται και αποθηκεύονται καθώς δίνουν το βασικό προϊόν βιοντίζελ και το παραπροϊόν γλυκερόλης καθαρίζεται και χρησιμοποιείται στη φαρμακοβιομηχανία.

### 1.3 Βιοαιθανόλη

Η βιοαιθανόλη χρησιμοποιείται σαν πρόσθετη ουσία ή υποκατάστατο της βενζίνης. Προσλαμβάνεται από τα αέρια της βιομηχανίας βιομαζών, όπως συγκομιδές ζαχαροκάλαμων, σακχαρότευτλων και αμύλου. Η παραγωγή της βασίζεται στην υδρόλυση του αμύλου και την παραγωγή αιθανόλης από γλυκόζη, γίνεται από την αλκοολική ζύμωση σακχαρούχων, κυτταρινούχων και αμυλούχων πρώτων υλών. Τα επόμενα χρόνια ίσως εξέλιξη της τεχνολογίας επιτρέψει την παραγωγή της από ξύλο, χλόη, άχυρο και πράσινων αποβλήτων. (Demirbas, 2009/ Nigam και Singh, 2010).

Αξιοσημείωτο είναι πως η έρευνα στρέφεται προς την εύρεση ενζύμων που μετατρέπουν όλο και μεγαλύτερα ποσοστά της βιομάζας σε βιοαιθανόλη. Στο μέλλον αναμένεται μεγάλη αύξηση στην παραγωγή της λόγω της εξέλιξης στην βιοτεχνολογία. (Βασάλος κ..ά στο Ογδοο Εθνικό Συνέδριο για τις Ήπιες Μορφές Ενέργειας, 2006.)

## 1.4 Βιοκαύσιμα δεύτερης και επόμενης γενιάς

Τα βιοκαύσιμα πρώτης γενιάς πιθανολογείται ότι δεν είναι ικανά να αντικαταστήσουν πλήρως τα ορυκτά καύσιμα τόσο λόγω της μικρής απόδοσης τους όσο και το ότι είναι ανταγωνιστικά ως προς τα βρώσιμα φυτά. Λόγω αυτού το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί στην ανάπτυξη της τεχνολογίας βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς που παράγονται από μη βρώσιμα φυτά.

Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς δεν λειτουργούν ανταγωνιστικά προς τα βρώσιμα φυτά αφού η παραγωγή τους βασίζεται σε υπολείμματα γεωργικών και δασικών προϊόντων όπως άχυρο, κλαδοδέματα, ξύλο).

Στην κατηγορία της δεύτερης γενιάς βιοκαυσίμων ανήκουν αυτά που παράγονται από θερμοχημικές και καταλυτικές διεργασίες όπως αεριοποίηση, διεργασία Fischer – Tropsch και πυρόλυση. Στην κατηγορία των βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς ανήκει η βιοαιθανόλη, το βιοαέριο, και το υδρογόνο από αέριο σύνθεσης, με τα δύο τελευταία να είναι τα κυριότερα αέρια της ομάδας. Στον Πίνακα 2 ανακεφαλαιώνονται τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς.

Πίνακας 2 Βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς

Τύπος βιοκαυσίμου	Ονομασία	Διεργασία
Συνθετικά βιοκαύσιμα	Fischer Tropsch	Εξαέρωση, wgs, HDC, σύνθεση
	Βιοντίζελ	Fischer- Tropsch
	Αλκοόλη από αέριο σύνθεσης	Εξαέρωση, σύνθεση Fischer- Tropsch
	HTU ντίζελ	HTU, HDO, διύλιση
	Ντίζελ πυρόλυσης	Πυρόλυση, HDO , διύλιση
Βιομεθανόλη	Μεθανόλη	Εξαέρωση, wgs, σύνθεση Fischer- Tropsch
Βιοαιθανόλη	Αιθανόλη από κυτταρίνη	Υδρόλυση, ζύμωση, απόσταξη
Βιο– MTBE	MTBE	Σύνθεση Fischer- Tropsch
Βιοδιμύθυλαιθέρας	DME	Εξαέρωση, wgs, σύνθεση Fischer- Tropsch
Βιοϋδρογόνο	Υδρογόνο από αέριο σύνθεσης	Εξαέρωση wgs, απομάκρυνση CO <sub>2</sub>
Βιοαέριο	Φυσικό αέριο από αέριο σύνθεσης	Εξαέρωση wgs, σύνθεση Fischer- Tropsch απομάκρυνση



		CO <sub>2</sub> – H <sub>2</sub> O
Βιοαέριο	Συνθετικό φυσικό αέριο	Εξαέρωση

Πηγή : Βασάλος κ.ά. στο Όγδοο Εθνικό Συνέδριο για τις Ήπιες Μορφές Ενέργειας, 2006.

Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς είναι φιλικότερα προς το περιβάλλον διότι παράγονται από φυτικές πρώτες ύλες που χρησιμοποιούν λιγότερο γόνιμα αγροτεμάχια και νερό που έχει χρησιμοποιηθεί από κτηνοτροφικές μονάδες ή εργοστάσια, τέλος έχουν χαμηλές απαιτήσεις σε φυτοφάρμακα και λιπάνσεις. Παρ' αυτά το κόστος των βιοκαυσίμων δεύτερης γενιάς παραμένει ακόμη υψηλό παρότι υπάρχει σημαντική πρόοδος και εξέλιξη τα τελευταία χρόνια.

Τέλος η τρίτη κατηγορία είναι τα βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς, τα οποία παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά με αυτά της δεύτερης γενιάς με βάση την επεξεργασία της κυτταρίνης προερχόμενη από ενεργειακές καλλιέργειες. Όμως υπάρχει η ιδέα της αξιοποίησης μικροοργανισμών για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Το Δεκέμβριο του 2008 στην Καλιφόρνια δημιουργήθηκε το συνθετικό κωλοβακτηρίδιο E. Coli από ερευνητές, που μπορεί να συνδράμει στην παραγωγή καλύτερων βιοκαυσίμων. Οι ερευνητές επενέβησαν στην γενετική δομή του βακτηρίου και το έκαναν να παράγει άμεσα βιοντίζελ. Το παραπάνω αποτέλεσε θετικό βήμα για την παραγωγή βιοκαυσίμων από μικροοργανισμούς.

## 2.Βιοντίζελ

### 2.1 Χημικές ενώσεις που αποτελούν το βιοντίζελ

Από χημικής πλευράς ο όρος βιοντίζελ αναφέρεται στο καύσιμο που περιέχει μονοαλκυλεστέρες λιπαρών οξέων μακριάς ανθρακικής αλυσίδας, τα οποία εμφανίζονται σε μη συμβατικές πρώτες ύλες όπως ζωικά και φυτικά έλαια (L.C. Meher et al, 2006). Στον επόμενο πίνακα (Πίνακας 3) φαίνονται οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων FAME από τους οποίους αποτελείται το βιοντίζελ που παράγεται από έλαια μικροφυκών και συγκεκριμένα του στελέχους *Chlorella protothecoides*.

Πίνακας 3 Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων

Μοριακός τύπος	Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων	Σχετική περιεκτικότητα %
C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Τετραδεκανοϊκός	1.31

	μεθυλεστέρας	
$C_{17}H_{34}O_2$	Μεθυλεστέρας δεκαεξανοικού οξέος	12.94
$C_{18}H_{36}O_2$	Μεθυλεστέρας δεκαεπτανοικού οξέος	0.89
$C_{19}H_{34}O_2$	Μεθυλεστέρας 9,12– δεκαοκταδιενικού οξέος	17.28
$C_{19}H_{36}O_2$	Μεθυλεστέρας του – δεκαοκτενικού οξέος	60.84
$C_{19}H_{38}O_2$	Μεθυλεστέρας δεκαοκτανικού οξέος	2.76
$C_{20}H_{38}O_2$	Μεθυλεστέρας του 10– δεκαεννιαενικού οξέος	0.36
$C_{21}H_{40}O_2$	Μεθυλεστέρας του 11– εικοσενικού οξέος	0.42
$C_{21}H_{42}O_2$	Μεθυλεστέρας του εικοσανοικού οξέος	0.35

Οι αλκυλεστέρες σχηματίζονται με αντίδρασης μετεστεροποίησης των τριγλυκεριδίων, που προέρχονται από φυτικά ή ζωικά έλαια, αντιδρούν με αλκοόλες παρουσία καταλύτη (Lee Andrew K., et al., 2009). Τα τριγλυκερίδια που έχουν –OH ομάδες γλυκερόλης εστεροποιούνται σε λιπαρά οξέα. Ανάλογα με την πηγή των λιπαρών οξέων που έχουν, διαφέρουν στις χημικές και φυσικές ιδιότητες. Η σημαντικότερη παράμετρος που διαμορφώνει τελικά και τις ιδιότητες του βιοντίζελ είναι η σύνθεση των λιπαρών οξέων. Τέλος το βιοντίζελ δεν περιέχει αρωματικές ενώσεις και θείο.

## 2.2 Ιδιότητες του βιοντίζελ

Οι σημαντικότερες ιδιότητες του βιοντίζελ είναι ο αριθμός κετανίου, θερμογόνος δύναμη, ειδικό βάρος, σημείο βρασμού, σημείο θόλωσης, σημείο ροής, ιξώδες, πυκνότητα, σημείο ανάφλεξης. Οι τιμές των παραπάνω χαρακτηριστικών φαίνονται στον πίνακα 4.

*Πίνακας 4 Ιδιότητες βιοντίζελ που αφορούν την καταλληλότητά τους ως καύσιμο κίνησης ( Dermirbas Ayhan, et al. 2008), ( Balat Mustafa et al., 2008).*

Ιδιότητα	Τιμή
Αριθμός Κετανίου	48–65

Κατώτατη θερμογόνος δύναμη (MJ/m <sup>3</sup> )	32.6 10 <sup>3</sup>
Ιξώδες στους 313K (mm <sup>2</sup> /s)	1.9 – 6.0
Ειδικό βάρος στους 288.5 K	0.88
Πυκνότητα στους 288 K ( kg/m <sup>3</sup> )	860 –894
Σημείο βρασμού ( K)	455– 611
Σημείο ανάφλεξης ( K)	373 – 443
Σημείο θόλωσης (K)	270– 285
Σημείο ροής (K)	258 – 289

### 2.2.1 Λειτουργικότητα χαμηλής θερμοκρασίας

Το πόσο λειτουργικό θα είναι το παραγόμενο βιοντίζελ ορίζεται από τέσσερις δείκτες:

*Το σημείο θόλωσης CP (cloud point), ορίζεται η θερμοκρασία κάτω από την οποία ξεκινά ο διαχωρισμός του μίγματος σε δύο φάσεις, στερεές παραφίνες και υγρά.*

*Το σημείο ροής PP (pour point), ορίζεται ως η χαμηλότερη θερμοκρασία που είναι δυνατή η άντληση υγρού.*

*Το σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου CFPP (cold filter plugging point), είναι η χαμηλότερη θερμοκρασία, στην οποία το βιοντίζελ ρέει πλήρως υπό κενό μέσα από φίλτρο σε χρόνο ενός λεπτού.*

*Η δοκιμασία ροής χαμηλής θερμοκρασίας LTFT ( low temperature flow test).*

### 2.2.2 Οξειδωτική σταθερότητα

Τα φυτικά έλαια και τα προϊόντα τους όταν αλληλοεπιδρούν με το οξυγόνο αλλάζουν σύσταση. Η ακόρεστη σύστασή τους τα καθιστά επιρρεπή στον οξειδωτικό πολυμερισμό, που οδηγεί στο σχηματισμό αδιάλυτων προϊόντων στο σύστημα καυσίμου. Άρα η σταθερότητα στην οξείδωση του βιοντίζελ είναι σημαντικό χαρακτηριστικό. Υπολογίζεται με μέτρηση του δείκτη σταθερότητας του λαδιού OSI με μονάδες μέτρησης h. Ο δείκτης σταθερότητας είναι ο τρόπος να προσδιοριστεί η αντίστασή του λαδιού στην οξείδωση ( L.C. Meher et al , 2006).

### 2.2.3 Ιξώδες

Το ιξώδες είναι χαρακτηριστικό του βιοντίζελ διότι επηρεάζει τη λειτουργία των μπεκ, ιδιαίτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες που η ρευστότητα του καυσίμου μειώνεται. Η διατήρηση

χαμηλής τιμής του ιξώδους καθιστά εύχρηστο το καύσιμο διότι είναι εύκολη η άντλησή του και ο ψεκασμός τους.

#### 2.2.4 Αριθμός κετανίου

Ο αριθμός κετανίου επηρεάζει την ευελιξία, τις εκπομπές καπνού, τον θόρυβο, τις εκπομπές μονοξειδίου του άνθρακα και HC ( L.C. Meher, et al., 2006) που συνολικά επηρεάζουν την απόδοση του κινητήρα. Τα παραπάνω σχετίζονται με τον χρόνο καθυστέρησης ανάφλεξης, μόλις το καύσιμο εισέλθει στο χώρο καύσης του κινητήρα. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός κετανίου τόσο μικρότερος είναι ο χρόνος καθυστέρησης.

#### 2.2.5 Ενεργειακό περιεχόμενο

Η θερμότητα που ελευθερώνεται κατά την καύση αποτελεί το ενεργειακό περιεχόμενο του καυσίμου. Οι παράμετροι που καθορίζουν το ενεργειακό περιεχόμενο είναι ο λόγος άνθρακα/υδρογόνου στις ενώσεις που το συνθέτουν, η περιεκτικότητα σε οξυγόνο και η περιεκτικότητα σε οξυγόνο των FAAEs όσο αυξάνεται η περιεκτικότητα σε οξυγόνο παρατηρείται μείωση στο ενεργειακό περιεχόμενο του βιοντίζελ. Από την άλλη πλευρά σημειώθηκε αύξηση του ενεργειακού περιεχομένου όσο η περιεκτικότητα των FAAE σε αναλογία C/H μειωνόταν (Murillo S. et al, 2007).

#### 2.2.6 Λιπαντική ικανότητα

Το μήκος της αλυσίδας, ο βαθμός κορεσμού και η παρουσία ετεροατόμων επηρεάζουν την λιπαντική ικανότητα του βιοντίζελ. Η υψηλότερη ικανότητα λίπανσης σε σχέση με το συμβατικό βιοντίζελ οφείλεται στην παρουσία των δύο ατόμων οξυγόνου στα μόρια των ενώσεων.

#### 2.2.7 Ποιότητα ανάφλεξης

Προσδιορίζεται από:

Τον αριθμό ιωδίου, την περιεκτικότητα σε λιπαρά ακόρεστων οξέων και τον αριθμό σαπωνοποίησης που είναι η σταθερά λιπαρών υλών που ισοδυναμεί στα mg KOH που απαιτούνται για την πλήρη σαπωνοποίηση των εστέρων και την εξουδετέρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων 1g λίπους ή ελαίων (Nagy Mate et al, 2009).

#### Σημείο ανάφλεξης

Ορίζεται η χαμηλότερη θερμοκρασία στην οποία πρέπει να θερμανθεί το καύσιμο ώστε να αναφλεχθούν αυτόματα οι ατμοί του όταν έρθουν σε επαφή με σπινθήρα. Το απλό ντίζελ έχει χαμηλότερο σημείο ανάφλεξης από του βιοντίζελ (με την τιμή να κυμαίνεται από 420 έως 450K (L.C. Meher et al, 2006)

Μερικές ιδιότητες των αλκυλεστέρων παρουσιάζονται στον Πίνακα 5, ενώ στον πίνακα 6 παρουσιάζεται η επίδραση διαφόρων παραμέτρων στις ιδιότητές τους.

Πίνακας 5 Ιδιότητες αλκυλεστέρων που εμφανίζονται στα λιπαρά οξέα του βιοντίζελ

FAAE	Σημείο τήξης (°C)	Θερμότητα καύσης (MJ/mol : MJ/kg)	Ιξώδες 40°C (mm <sup>2</sup> /s)	OSI 110°C (h)	Αριθμός κετανίου	Λιπαντική ικανότητα 60° C
C12 : 0 ME	5	8.14/37.7	2.43	>40	67	416
C12 : 0 EE	−2		2.63	>40		
C14 : 0 ME	19	10.67/39.45	3.30	>40		353
C12 : 0 EE	12		3.52	>40		
C16 : 0 ME	31	10.67/39.45	4.38	>40	86	357
C16 : 0 EE	19		4.57		93	
C16 : 1 ME	−34	10.55/39.30	3.67	2.1	51	246
C16: 1 EE	−37					
C18 : 0 ME	39	11.96/40.07	5.85	>40	101	322
C18 : 0 EE	32		5.2	> 40	97	
C18 : 0 BE	28		7.59		92	
C18 : 1 ME	−20	11.98/40.09	4.51	2.5	59	290
C18 : 1 EE	−20		4.78	3.5	68	
C18 : 1 BE	−26		5.69		62	303
C18 : 2 ME	−35	11.69/39.70	3.65	1.0	38	236
C18 : 2 EE			4.25	1.1	40	
C18 : 3 ME	−52	11.51/39.34	3.14	0.2	23	183
C18 : 3 EE			3.42	0.2	27	

EE: αιθυλεστέρας, BE: βουτυλεστέρας, ME: μεθυλεστέρας

Πίνακας 6 Επίδραση των δομικών στοιχείων στις ιδιότητες των λιπαρών οξέων

Δομικό χαρακτηριστικό	Σημείο	Θερμότητα	Ιξώδες	OSI	Αριθμός	Λιπαντική
--------------------------	--------	-----------	--------	-----	---------	-----------

ό	τήξης	Καύσης			κετανίου	ικανότητα
Μήκος ανθρακικής αλυσίδας	↑	↑	↑	↑	↑	↓
Διπλοί δεσμοί	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Cis διπλοί δεσμοί	↓	- (1)	↓	↓	- (2)	- (2)
Μεγαλύτερες αλκυλομάδες των εστέρων	↓	↑	↑	- (1)	- (1)	- (1)

(1) Αμελητέα ή καμία αντίδραση (2) δεν έχει καταγραφεί επίδραση

## 2.3 Εκπομπές καυσαερίων

Όλες οι έρευνες καταλήγουν πως η χρήση του βιοντίζελ ως καύσιμο θα μειώσει την εκπομπή καυσαερίων, ανεξάρτητα από τη σύσταση της βιομάζας. Το βιοντίζελ είναι ουδέτερο σε σχέση με τον άνθρακα, καθώς το διοξείδιο του άνθρακα που παράγεται κατά την καύση του είχε απορροφηθεί από την ατμόσφαιρα κατά την ανάπτυξη των φυτικών οργανισμών (Kim Dong– Geol et al, 2010), οπότε το ισοζύγιο είναι μηδενικό. Επίσης στη σύσταση του βιοντίζελ δεν περιλαμβάνεται πουθενά το θείο ή αν περιλαμβάνεται είναι ίχνη αυτού επομένως κατά την καύση του δεν παράγονται οξείδια του θείου (Demirbas Ayhan et al, 2007). Οι ρύποι που παράγονται από την καύση του βιοντίζελ επηρεάζονται από το μήκος της αλυσίδας του άνθρακα που δεν επηρεάζει άμεσα στις εκπομπές σωματιδίων αλλά στους υδρογονάνθρακες και στο μονοξείδιο του άνθρακα. Οι εκπομπές των παραπάνω μειώνονται με την αύξηση του μήκους της αλυσίδας (Demirbas Ayhan et al, 2009).

Για τις εκπομπές οξειδίων του αζώτου οι μελέτες καταλήγουν πως θα αυξηθούν έως 12–13% κάτι που οφείλεται στην περιεκτικότητα οξυγόνου στο βιοντίζελ (Sheng – Yi Chiu et al, 2009). Παρά τα αποτελέσματα των μελετών, ερευνητές διαπίστωσαν πως οι εκπομπές NOx μειώθηκαν κατά 10% με τη χρήση βιοντίζελ σε βαρέα οχήματα (A. Salis et al, 2010). Επιπλέον η χρήση βιοντίζελ από σπορέλαιο Polanga μειώνει τις εκπομπές κατά 4% (Sahoo et al, 2007). Τα αποτελέσματα των πρακτικών εφαρμογών εξηγούνται εξαιτίας της διαφορετική αναλογία συμπίεσης, στη χαμηλότερη θερμοκρασία, στην διαφορετική γεωμετρία του κινητήρα ταυτόχρονα σημειώθηκε και μείωση εκπομπών μη καυσίμων υδρογονανθράκων (Sheng – Yi Chiu et al, 2009).

Η γενική αντιμετώπιση της αύξησης των NO<sub>x</sub> είναι η χρήση μείγμα βιοντίζελ – ντίζελ. Τα μείγματα αυτά ονομάζονται Bxx, με το xx να αναπαριστά την αναλογία βιοντίζελ στο μείγμα. Με τη χρήση του μείγματος σε κινητήρες παρατηρήθηκαν μείωση των NO<sub>x</sub> αλλά και άλλων ουσιών. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) φαίνονται αναλυτικά οι εκπομπές καυσαερίων.

Πίνακας 7 Προσδιορισμένες εκπομπές καυσαερίων από μείγματα βιοντίζελ – συμβατικού ντίζελ

Ερευνητές	Κάυσιμο	NO <sub>x</sub>	CO	CO <sub>2</sub>	HC	Αιωρούμενα σωματίδια	Καπνός/ αιθάλη
Machacon et al Tan	Μίγμα ντίζελ/ κοκοφοινικέλαιο	Αύξηση του ποσοστού κοκοφοινικέλαιου οδηγεί σε χαμηλότερες εκπομπές		Μείωση στις εκπομπές CO <sub>2</sub> στα 77–104 g/MJ του ντίζελ που αντικαθίσταται από βιοντίζελ			Αύξηση του ποσοστού κοκοφοινικέλαιου οδηγεί σε χαμηλότερες εκπομπές
Mittelbach et al.	Βιοντίζελ από μεθυλεστέρες κραμβέλαιο (rape)	Αύξηση	Μείωση			Μείωση	
Murray amma et al Nwafor and Rice	Βιοντίζελ αποτελούμενο από μεθυλεστέρες του κραμβέλαιου (rapeseed oil)	Μείωση			Μείωση		Μείωση

Graboski et al	Μίγμα βιοντίζελ μεθυλ – και ισοπροπυλεστέρες σογιέλαιου με ντίζελ	Αύξηση 12%	Μείωση		Μείωση	Μείωση	
Scholl and Sorenson	Βιοντίελ αποτελούμενο από εστέρες σογιέλαιου	Μικρή μείωση	Μικρή μείωση			Μείωση κατά 50%	Μικρή μείωση
EPA 2002	Βιοντίζελ από σογιέλαιο	Αύξηση 20%	Μείωση 11%		Μείωση 21.1%		
Reyes JF et al	Μίγμα βιοντίζελ από μεθυλεστέρες του ηλιέλαιου και συμβατικού ντίζελ	Μείωση	Μείωση		Μείωση	Μείωση	
Kalligeros et al.	Μίγμα βιοντίζελ από μεθυλεστέρες του ηλιέλαιου και συμβατικό ντίζελ	Μείωση	Μείωση		Μείωση	Μείωση	
Dorado et al	Βιοντίζελ μεθυλεστέρες χρησιμοποιημένου ελαιολάδου	Μείωση 32%	Μείωση 5%	Μείωση 8.6%			Σημαντική μείωση
Raheman and Phadatare	Μίγμα βιοντίζελ μεθυλεστέρες karanja με συμβατικό ντίζελ	Μείωση	Μείωση				Μείωση
Usta	Βιοντίζελ από μεθυλεστέρες σπορέλαιου	Μικρή αύξηση	Μείωση				

## 2.4 Απόδοση βιοντίζελ

Αρχικά το φυτικό έλαιο παρουσίασε καλή απόδοση σε κινητήρες που χρησιμοποιήθηκε, μετά από ώρες λειτουργίας όμως οι εναποθέσεις άνθρακα σε μέρη του κινητήρα προκάλεσαν ζημιά σε αυτόν. Η κατάσταση βελτιώθηκε όταν το φυτικό έλαιο αναμείχθηκε με συμβατικό ντίζελ, όμως το πρόβλημα δεν λύθηκε (Sivasamy Arumugam et al, 2009). Οπότε η μετεστεροποίηση των λιπαρών οξέων πρέπει να πραγματοποιηθεί για την μετατροπή τους σε αλκυλεστέρες



ώστε να χρησιμοποιηθεί το παραγόμενο βιοντίζελ απευθείας σαν καύσιμο ή για την ανάμειξη του με συμβατικό. Οι μελέτες μέχρι τώρα καταδεικνύουν πως η απόδοση του καθαρού ντίζελ και του συμβατικού είναι παρόμοιες, επομένως είναι κατάλληλο για κινητήρες χωρίς ιδιαίτερη τροποποίηση.

## 2.5 Προδιαγραφές βιοντίζελ

Οι πίνακες που ακολουθούν (Πίνακες 8–10) καταγράφουν τις προδιαγραφές του βιοντίζελ σε διάφορες περιοχές του πλανήτη.

Πίνακας 8 Προδιαγραφές βιοντίζελ στις ΗΠΑ ASTM D6751

Ιδιότητα	Μέθοδος προσδιορισμού	Όρια
Σημείο ανάφλεξης (°C)	D93	130.0 ελάχιστο
Νερό και ίζημα (%v/v)	D2709	0.050 μέγιστο
Κινηματικό ιξώδες στους 40° C mm <sup>2</sup> /s	D445	1.9 – 6.0
Περιεχόμενο τέφρας σε θειικά (% w/w)	D874	0.020 μέγιστο
Θείο (% w/w)	D5453	0.0015 μέγιστο
Διάβρωση λωρίδας χαλκού	D130	No 3 μέγιστο
Αριθμός Κετανίου	D 613	47 ελάχιστο
Σημείο θόλωσης (°C)	D 2500	
Υπόλειμμα άνθρακα (% κατά βάρος)	D4530	0.050 μέγιστο
Αριθμός οξύτητας mg KOH/g	D 664	0.80 μέγιστο
Ελεύθερη γλυκερόλη ( % κατά βάρος)	D6584	0.020 μέγιστο
Συνολική γλυκερόλη (% κατά βάρος)	D 6584	0.240 μέγιστο

Περιεχόμενο σε φώσφορο (% κατά βάρος)	D4951	0.001 μέγιστο
Θερμοκρασία απόσταξης ισοδύναμη ατμοσφαιρική θερμοκρασία με	D 1160	360 μέγιστο

Πίνακας 9 Προδιαγραφές του βιοντίζελ στην Ευρώπη

Ιδιότητα	Μέθοδος προσδιορισμού	Τιμές
Περιεχόμενοι εστέρες ( % m/m)	EN 14103	96.5 ελάχιστο
Πυκνότητα στους 15°C (kg/m <sup>3</sup> )	EN ISO 3675, EN ISO 12185	860 – 900
Ιξώδες στους 40° C ( mm <sup>2</sup> /s)	EN ISO 3104 ISO 3105	3.5 – 5.0
Σημείο ανάφλεξης ( °C)	EN ISO 3679	120 ελάχιστο
Περιεχόμενο θείο (mg/kg)	EN ISO 20846 EN ISO 20884	10.0 μέγιστο
Ανθρακικό υπόλειμμα ( σε 10% υπόλειμμα απόσταξης) % m/m)	EN ISO 10370	0.30 μέγιστο
Αριθμός κετανίου	EN ISO 5165	51 ελάχιστο
Περιεχόμενο τέφρας σε θειικά (% m/m)	ISO 387	0.02 μέγιστο
Περιεχόμενο νερό (mg/kg)	EN ISO 1237	500 μέγιστο
Συνολική μόλυνση (mg/kg)	EN 12662	24 μέγιστο
Διάβρωση λωρίδας χαλκού (3 ώρες σε 50° C)	EN ISO 2160	1 ελάχιστο
Οξειδωτική σταθερότητα στους 110° C (h)	EN 14112	6.0 ελάχιστο

Αριθμός οξύτητα ( mg KOH/g)	EN 14104	0.50 μέγιστο
Βαθμός ιωδίου ( g iodine /100 g)	EN 14111	120 μέγιστο
Περιεχόμενο λινολενικό οξύ ( % m/m)	EN 14104	12 μέγιστο
Μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων με > 4 διπλούς δεσμούς ( % m/m)		1 μέγιστο
Περιεχόμενο σε μεθανόλη ( % m/m)	EN14110	0.2 μέγιστο
Περιεχόμενο σε μονογλυκερίδια ( % m/m)	EN 14105	0.8 μέγιστο
Περιεχόμενο σε διγλυκερίδια (% m/m)	EN 14105	0.2 μέγιστο
Περιεχόμενο σε τριγλυκερίδια (% m/m)	EN 14105	0.2 μέγιστο
Ελεύθερη γλυκερόλη ( % m/m)	EN 14105 EN 14106	0.2 μέγιστο
Συνολική γλυκερόλη ( % m/m)	EN 14105	0.25 μέγιστο
Μέταλλα αλκαλίων (Na, K) (mg/kg)	EN 14108 EN 14109	5.0 μέγιστο
Μέταλλα αλκαλικών γαιών (mg/kg)	PrEN 14538	5.0 μέγιστο
Περιεχόμενο σε φώσφορο (mg/kg)	EN 14107	10.0

Πίνακας 10 Προδιαγραφές του βιοντίζελ στην Αυστραλία, (Lee Andrew K et al, 2009)

Ιδιότητα	Μέθοδος προσδιορισμού	Τιμές	Ημερομηνία ισχύος
Θείο ( mg/kg)	ASTM D 5453	50 μέγιστο 10 μέγιστο	18/09/2003 01/02/2006
Πυκνότητα στους 15° C (kg/m <sup>3</sup> )	ASTM D1298	860 – 890	18/09/2003

	EN ISO 3675		
Απόσταξη T90 (°C)	ASTM D1160	360 μέγιστο	18/09/2003
Περιεχόμενο τέφρας σε θειικά (% κατά βάρος)	ASTM D 874	0.20 μέγιστο	18/09/2003
Πυκνότητα στους 40° C (mm <sup>2</sup> /s)	ASTM D445	3.5 – 5.0	18/09/2003
Σημείο ανάφλεξης ( °C)	ASTM D 93	120 ελάχιστο	18/09/2003
Υπόλειμμα άνθρακα 10% υπόλειμμα απόσταξης σε 100% δείγμα απόσταξης (% κατά βάρος)	EN ISO 10370 ASTM D4530	0.30 0.05 μέγιστο	18/09/2003
Νερό και ίζημα (% κατά όγκο)	ASTM D2709	0.50 μέγιστο	18/09/2003
Διάβρωση λωρίδας χαλκού	ASTM D130	No. 3	18/09/2003
Περιεχόμενο σε εστέρες (% mg/kg)	EN 14103	96.5 ελάχιστο	18/09/2003
Φώσφορος (mg/kg)	ASTM D4951	10 μέγιστο	18/09/2003
Αριθμός οξύτητας (mg KOH/g)	ASTM D664	0.80	18/09/2003
Συνολική μόλυνση ( mg/kg)	EN 12662 ASTM D 5452	24 μέγιστο	18/09/2004
Ελεύθερη γλυκερόλη (% κατά βάρος)	ASTM D 6584	0.02 μέγιστο	18/09/2004
Συνολική γλυκερόλη ( % κατά βάρος)	ASTM D6584	0.25 μέγιστο	18/09/2004
Αριθμός κετανίου	EN ISO 5165	51 μέγιστο	18/09/2004
Σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου	TBA		18/09/2004
Οξειδωτική σταθερότητα (°C)	EN 14112 ASTM D2274	6 ελάχιστο	18/09/2004
Μέταλλα ομάδα I (Na, K) (mg/kg)	EN 14108 EN 14109	5 μέγιστο	18/09/2004
Μέταλλα ομάδα II (Ca, Mg) (mg/kg)	prEN 14538	5 μέγιστο	18/09/2004

## 2.6 Σύγκριση βιοντίζελ – συμβατικό ντίζελ

Το συμβατικό ντίζελ προέρχεται από ορυκτά καύσιμα που η διαθεσιμότητά τους εξαντλείται. Αποτελείται από ευθύγραμμους, διακλαδισμένους ή κυκλικούς υδρογονάνθρακες, περιέχει 75% κορεσμένους υδρογονάνθρακες και 25% αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Το βιοντίζελ προέρχεται από την επεξεργασία φυτικών ή ζωικών ελαίων, οπότε ανήκει στις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Οι χημικές ουσίες που αποτελούν το βιοντίζελ είναι αλκυλεστέρες οξέων με πιο κοινά λιπαρά οξέα το στεατικό οξύ, παλμιτικό, ελαϊκό, λινελαϊκό και λινολενικό οξύ (Sivasamy Arumugam, et al, 2009). Το παραδοσιακό ντίζελ περιέχει θείο στην σύνθεσή του ενώ το βιοντίζελ όχι.

Το βιοντίζελ χρησιμοποιείται σε κινητήρες ανάφλεξης με συμπίεση όπως και το συμβατικό εξαιτίας των παρόμοιων χαρακτηριστικών τους. Όταν το βιοντίζελ αποτελείται από τον μεθυλεστέρα του φυτικού ελαίου, το ιζώδες του είναι λίγο υψηλότερο από το D2, ενώ όταν αποτελείται από τον αιθυλεστέρα του φυτικού ελαίου τότε η τιμή του ιζώδους είναι διπλάσια από το D2. Ακόμη το ειδικό βάρος του βιοντίζελ είναι μεγαλύτερο από το συμβατικό. Το ενεργειακό περιεχόμενο του βιοντίζελ μπορεί να συγκριθεί με του συμβατικού. Του βιοντίζελ κυμαίνεται από 3.5 έως 41 MJ/kg ελάχιστη τιμή από σπορέλαιο ενώ η μέγιστη από έλαιο μικροφύκων και θερμιδική ικανότητα του συμβατικού είναι 42.7 MJ/kg (Demirbas A et al, 2010). Το σημείο ανάφλεξης του συμβατικού ντίζελ είναι 77° C ενώ του βιοντίζελ σημαντικά υψηλότερο 150° C χαρακτηριστικό που το καθιστά ασφαλέστερο.

Στο πράσινο ντίζελ η ύπαρξη οξυγόνου στη δομή του βοηθά στα αποτελέσματα της καύσης. Η απόδοση των δύο ντίζελ είναι παρόμοια ενώ η φθορά του κινητήρα είναι πολύ μικρή (Demirbas et al, 2009). Ως προς τις εκπομπές, με τη χρήση του βιοντίζελ παρατηρείται μικρότερη εκπομπή αιωρούμενων σωματιδίων, οξειδίων του θείου, πολυκυκλικών υδρογονανθράκων με και χωρίς άζωτο, μαύρος καπνός, μονοξειδίο του άνθρακα (Kim Dong-Geol, et al., 2011). Επιπρόσθετα οι εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα είναι πολύ μικρότερες σε σχέση με το συμβατικό ντίζελ. Η μόνη αρνητική σημείωση είναι η αύξηση των εκπομπών NOx σε σχέση με το συμβατικό.

## 2.7 Μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα του βιοντίζελ

Βασικό πλεονέκτημα που εμφανίζει το ανανεώσιμο ντίζελ είναι πως μπορεί να χρησιμοποιηθεί από κινητήρες συμβατικού ντίζελ χωρίς τροποποίηση. Προέρχεται από ανανεώσιμες πηγές οπότε είναι άμεσα διαθέσιμο και λόγω του τόπου και τρόπου παραγωγής του η χρήση του καθιστά τις χώρες αυτόνομες οικονομικά και ενεργειακά (Demirbas Ayhan et al, 2007). Όλες οι έρευνες που έχουν γίνει συγκλίνουν στο ότι είναι φιλικό προς το

περιβάλλον καθώς μειώνει όλες τις εκπομπές εκτός των οξειδίων του αζώτου. Το ενεργειακό ισοζύγιο στην παραγωγή βιο-καυσίμων ορίζεται ως η σχέση μεταξύ της ενέργειας που παράγεται από κάθε μονάδα προϊόντος και της καταναλωθείσας ενέργειας. Το ισοζύγιο του βιοντίζελ έχει θετικό πρόσημο και είναι υψηλότερο από όλα τα ορυκτά καύσιμα. Η παρουσία του οξυγόνου οδηγεί σε καλύτερες αποδόσεις και καλύτερη ικανότητα λίπανσης παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής του κινητήρα (Balat Mustafa et al, 2010). Ενώ ως προς την ασφάλεια το υψηλό σημείο ανάφλεξης το καθιστά ασφαλέστερο.

Η περιορισμένη χρήση του βιοντίζελ οφείλεται σε οικονομικούς λόγους. Το μεγάλο κόστος των πρώτων υλών που απαιτούνται για την παραγωγή του ανεβάζει το κόστος παραγωγής του, μη μπορώντας να ανταγωνιστεί την τιμή στην αγορά του συμβατικού ντίζελ.

Το βιοντίζελ όμως παρουσιάζει και κάποια λειτουργικά μειονεκτήματα που απαιτούν αντιμετώπιση όπως την πήξη του καυσίμου σε χαμηλές θερμοκρασίες που εμποδίζει την έναρξη της λειτουργίας του κινητήρα (Sivasamy Arumugam et al, 2009). Η δυσκολία άντλησης λόγω του μεγάλου ιξώδους .Εμφανίζει υψηλό σημείο θόλωσης και ροής αλλά και υψηλή τιμή της διάβρωσης του χαλκού. Τέλος το μικρότερο ενεργειακό περιεχόμενο που αυξάνει την κατανάλωσή του καυσίμου (Sivasamy Arumugam et al, 2009).

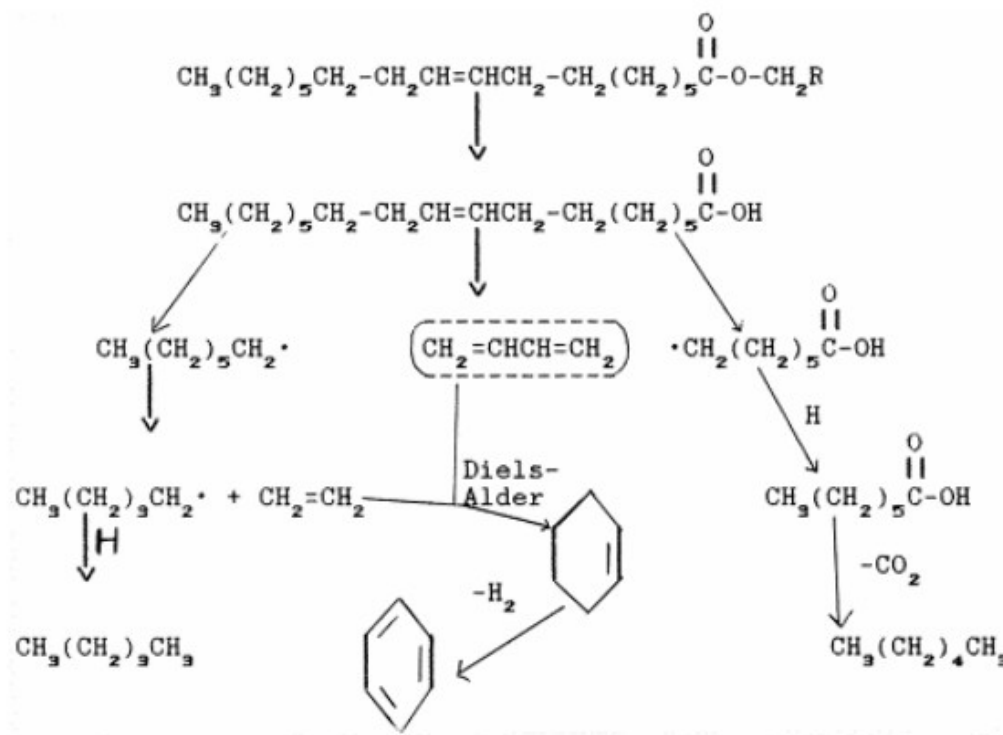
Επιπλέον σημειώνεται πως η χρήση βιοντίζελ θα μειώσει την ισχύ του κινητήρα κατά 5%. Ενώ έχει παρατηρηθεί ως η εναπόθεση άνθρακα στα ψεκαστικά του είναι μεγαλύτερη άρα προκαλούνται φθορές πιο γρήγορα (Demirbas Ayhan et al, 2007). Ακόμη το βιοντίζελ δεν παρουσιάζει σταθερότητα στην οξείδωση. Όλα τα παραπάνω απαιτούν προσοχή στις συνθήκες αποθήκευσης ώστε να μην συμβεί οξείδωση γιατί τα προϊόντα που παράγονται είναι επιβλαβή για τον κινητήρα (Sivasamy Arumugam et al , 2009).

### 3. Μέθοδοι παραγωγής βιοντίζελ

Τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει η χρήση τριγλυκεριδίων είναι η χαμηλή περιεκτικότητα σε θείο και αρωματικές ενώσεις και βιοαποικοδομησιμότητα. Όμως, λόγω των μειονεκτημάτων όπως χαμηλή σταθερότητα οξείδωσης, χαμηλή πτητικότητα η χρήση βιοντίζελ για μεγάλο χρονικό διάστημα δεν ήταν δυνατή, διότι τίθεται σε κίνδυνο ο κινητήρας. Τα παραπάνω είναι ο λόγος που πρέπει να υποστεί περεταίρω επεξεργασία. Πιθανές μέθοδοι είναι η μετεστεροποίηση, η πυρόλυση και ο σχηματισμός μικρογαλακτωμάτος.

### 3.1 Πυρόλυση

Με τον όρο πυρόλυση περιγράφεται η μετατροπή σύστασης ενός υλικού με θέρμανση απουσία φλόγας. Η μέθοδος είναι απλή, αποτελεσματική και δεν παράγει ρύπους. Βέβαια στην περίπτωση των τριγλυκεριδίων λόγω της περίπλοκης δομής τους είναι πιο περίπλοκη η διαδικασία. Από την αντίδραση Diels – Alder παράγονται τα αρωματικά με προσθήκη αιθυλενίου στο διένιο το οποίο σχηματίζεται κατά την διάρκεια της πυρόλυσης. Το καρβοξυλικό οξύ σχηματίζεται όταν διασπάται το φυτικό έλαιο. (Εικόνα 1).



Εικόνα 1 Διάσπαση τριγλυκεριδίων μέσω πυρόλυσης

Μάλιστα το συμπέρασμα ερευνών είναι ότι η πυρόλυση υπερτερεί σε σχέση με τη μετεστεροποίηση. Οι ουσίες στο καύσιμο που παράγονται μέσω πυρόλυσης είναι παρόμοιες με του συμβατικού ντίζελ, άρα τα προϊόντα της μπορούν να αντικαταστήσουν τα συμβατικά καύσιμα στους κινητήρες (Demirbas Ayhan et al, 2008).

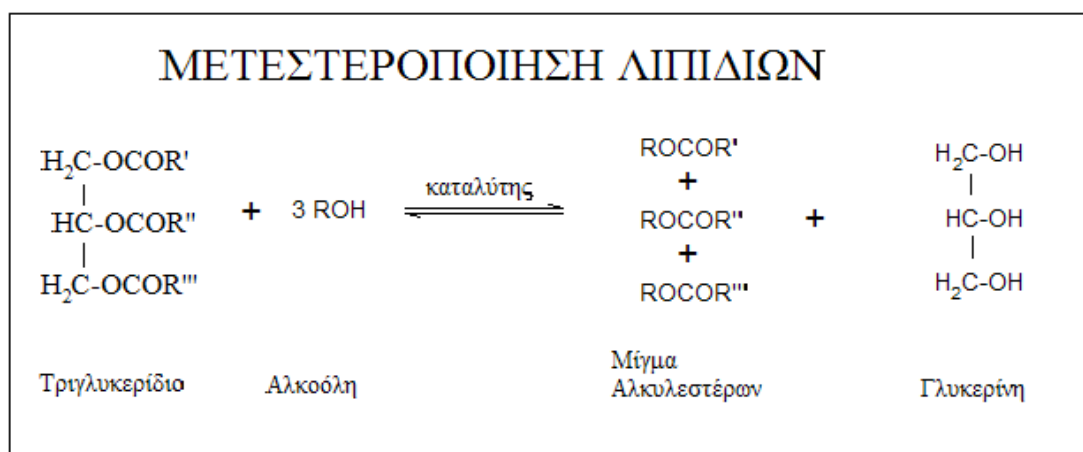
### 3.2 Μικρογαλάκτωμα

Είναι σταθερές θερμοδυναμικά ισοτροπικές διασπορές αναμιγζιμων υγρών. Τα σωματίδια που διασπείρονται είναι μικρότερα από το ένα τέταρτο του μήκους κύματος του ορατού φωτός. (Balat Mustafa, et al 2008). Στόχος είναι να μειωθεί το υψηλό ιξώδες των φυτικών ελαίων ώστε να χρησιμοποιηθούν ως καύσιμα γίνεται μίξη διαφόρων υγρών. Όμως σημειώθηκε

μεγάλη εναπόθεση άνθρακα στον κινητήρα, λόγω του αυξημένου ιξώδους λιπαντικού ελαίου (Fukuda Hideki et al, 2001).

### 3.3 Μετεστεροποίηση

Αλκοόλυση ή μετεστεροποίηση είναι η διεργασία παραγωγής εστέρων και γλυκερόλης από ένα τριγλυκερίδιο με αλκοόλη. Η αντίδραση της μετεστεροποίησης περιγράφεται στην παρακάτω εικόνα, (Εικόνα 2).



Εικόνα 2 Εξίσωση μετεστεροποίησης τριγλυκεριδίων

Στο μηχανισμό της εικόνας 2, το τριγλυκερίδιο αντιδρά με μια αλκοόλη και παράγεται μίγμα εστέρων λιπαρών οξέων. Αλκοόλες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την διεργασία είναι η μεθανόλη, η προπανόλη και η βουτανόλη, με βασικότερη τη μεθανόλη λόγω χαμηλού κόστους. Η μετεστεροποίηση συμβαίνει σε τρία στάδια. Πρώτο στάδιο τα τριγλυκερίδια (TGs) αντιδρούν με τη μεθανόλη και παράγονται μεθυλεστέρες (MEs) και διγλυκερίδια (DGs) με τη σειρά τους αυτά αντιδρούν με τη μεθανόλη και παράγονται μεθυλεστέρες και μονογλυκερίδια (MGs). Τέλος αυτά αντιδρούν με την μεθανόλη και δίνουν μεθυλεστέρες και γλυκερόλη (GL).

Η στοιχειομετρία της αντίδρασης είναι 1 mol τριγλυκεριδίου και 3 mol αλκοόλης. Στην πραγματικότητα χρησιμοποιείται περίσσεια αλκοόλης για την μεγιστοποίηση της απόδοσης. Η αντίδραση συμβαίνει παρουσία καταλύτη για καλύτερη ταχύτητα και μεγαλύτερη απόδοση. Το είδος των καταλυτών που συμμετέχουν είναι όξινοι ή βασικοί.



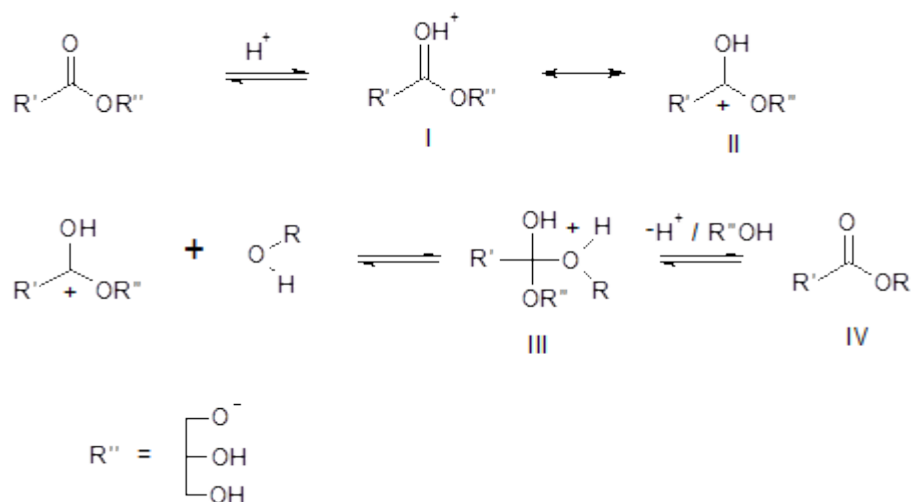
### 3.3.1 Αντίδραση μετεστεροποίησης βασικής κατάλυσης

Η βασικά καταλυόμενη μετεστεροποίηση είναι πιο γρήγορη από την όξινη. Οι καταλύτες μπορεί να είναι αλκαλικά μέταλλα (Na, K) αλκοξείδια ή υδροξείδια ανθρακικού νατρίου και ανθρακικού καλίου. Τα αλκοξείδια είναι αποδοτικότερα (>98%) ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, οι υψηλές αποδόσεις μπορούν να ληφθούν σε μικρό χρονικό διάστημα (30 λεπτά). Όμως τα υδροξείδια είναι πιο διαδεδομένα λόγω του μικρότερου κόστους που παρουσιάζουν αν και λιγότερο ενεργά (Helwani Z. et. al 2009). Στην πραγματικότητα ο βασικός καταλύτης υδροξειδίου αντιδρά με την μεθανόλη παράγοντας το αλκοξείδιο. Άλλος βασικός καταλύτης που μελετάται είναι ο βασικός ζεόλιθος, όπως ο ETS-10, που είναι ανόργανος ζεόλιθος με λίθιο και είναι μικροπορώδης και ο υδατικός ζεόλιθος (Heredia-Arroyo Tamaris, 2010).

Για να συμβεί η παραγωγή βιοντίζελ μέσω μετεστεροποίησης με τη χρήση βασικού καταλύτη, αρχικά πρέπει να απομακρυνθεί το νερό από το λάδι το οποίο επιτυγχάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας για λίγα λεπτά (5–10 λεπτά). Πρέπει να αφαιρεθεί διότι μπορεί να προκαλέσει σαπωνοποίηση, το σαπούνι να αυξήσει το ιξώδες τον αφρό και τη γέλη με αποτέλεσμα να δυσχεραίνει την ανάκτηση του τελικού προϊόντος (Demirbas A, 2009). Ο καταλύτης αναμειγνύεται σε μεθανόλη με έντονη ανάδευση σε μικρό αντιδραστήρα. Στην συνέχεια το μείγμα αυτό αναμειγνύεται με το έλαιο και για 2 ώρες σε 340 K και περιβαλλοντική πίεση αναδεύεται έντονα. Με την ολοκλήρωση της αντίδρασης υπάρχουν δύο φάσεις εστέρες και γλυκερόλη ( Balat M. et al 2008).

### 3.3.2 Όξινα καταλυόμενη μετεστεροποίηση

Η μετεστεροποίηση μπορεί να καταλυθεί και από όξινο καταλύτη, με επικρατέστερους να είναι το θειικό οξύ ( $H_2SO_4$ ) και το υδροχλωρικό οξύ (HCl). Το πλεονέκτημα που παρουσιάζει αυτού το είδος η κατάλυση είναι ότι οι όξινι καταλύτες δεν αντιδρούν με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) που ενδεχομένως να υπάρχουν στην πρώτη ύλη. Επιπλέον μπορεί να καταλύσει αντιδράσεις εστεροποίησης και μετεστεροποίησης ταυτόχρονα (Loterio et al, 2005). Σύμφωνα με μελέτες ο όξινος καταλύτης ενδείκνυται όταν η πρώτη ύλη έχει μεγάλη συγκέντρωση FFA ( > 1% κ.β. λαδιού). Πρακτικά όμως η χρήση τους είναι περιορισμένη εξαιτίας του χαμηλού ρυθμού αντίδρασης, της μεγάλης αναλογίας αλκοόλης – ελαίου, περιβαλλοντικά προβλήματα διάβρωσης που εμφανίζονται και της υψηλής θερμοκρασίας που απαιτείται. ( Lam et al, 2014). Ο μηχανισμός της μετεστεροποίησης με την χρήση όξινου καταλύτη για μονογλυκερίδιο φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 3 Μηχανισμός όξινα καταλυόμενης μετεστεροποίησης (  $R''$  : γλυκερόλη,  $R'$ : ανθρακική αλυσίδα λιπαρού οξέος,  $R$ : αλκύλιο αλκοόλης) (Schuchardt et al, 1998)

Η καρβοξυλομάδα του εστέρα πρωτονιώνεται και οδηγεί στο καρβοκατιόν II, το με την προσθήκη της αλκοόλης παράγει το τετραεδρικό ενδιάμεσο III. Έπειτα απομακρύνεται η γλυκερόλη, σχηματίζεται ο εστέρας IV και αναγεννάται ο καταλύτης  $H^+$ . ( Schuchardt et al, 1998)

### 3.3.3 Ένζυμικοί καταλύτες

Η μετεστεροποίηση με ενζυμικούς καταλύτες μοιάζει με αυτή των αλκαλικών καταλυτών. Διαφορές υπάρχουν στην αναλογία (καταλύτη– διαλύματος), στο χρόνο ανάδευσης και ότι χρησιμοποιούνται λιπάσες ως καταλύτες.

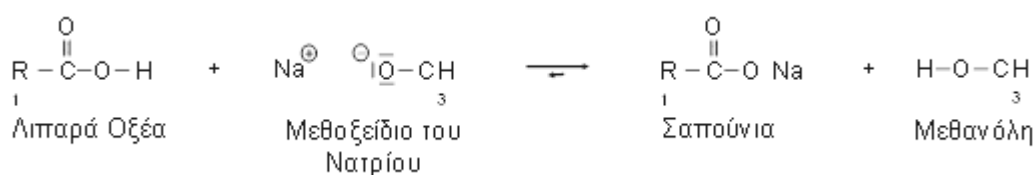
Τα λιπίδια υδρολύονται από τις λιπάσες σε οξέα και γλυκερόλη. Οι λιπάσες είναι εξαιρετικές στην κατάλυση μετεστεροποίησης και εμφανίζουν σταθερότητα στα μη υδατικά διαλύματα, κάτι που κάνει εύκολη την εστεροποίηση και μετεστεροποίηση του βιοντίζελ. Γενικά οι λιπάσες δρουν καλύτερα πάνω σε μακριές αλυσίδες λιπαρών οξέων από ότι σε μικρές, με αποτέλεσμα η απόδοση τη μετεστεροποίησης με μεθανόλη να είναι χαμηλότερη από ότι αν χρησιμοποιούνταν αιθανόλη.

Η μετεστεροποίηση με την χρήση χημικών καταλυτών στη βιομηχανία παρά τις υψηλές αποδόσεις περιορίζεται λόγω της δυσκολίας ανάκτησης της γλυκερόλης, ο σχηματισμός πηγμάτων και αφρού και η απαίτηση για εξευγενισμένα έλαια. Όλα τα παραπάνω μειώνουν την ποιότητα του βιοντίζελ. Η χρήση λιπασών για την παραγωγή βιοντίζελ εξαλείφει τα παραπάνω διότι μπορούν να ανακτηθούν εύκολα και να διαχωριστούν εύκολα από το προϊόν. Η ενζυμική κατάλυση πραγματοποιείται από  $20 - 60^\circ C$ . Η μικρή περίσσεια αλκοόλης οδηγεί σε μεγάλη απόδοση και ο καταλύτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί πάνω από μια φορά.

### 3.4 Παράγοντες που επηρεάζουν στην μετεστεροποίηση

#### 3.4.1 Επίδραση ελεύθερων λιπαρών οξέων και υγρασίας

Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA) και η υγρασία είναι καθοριστικές για την διαδικασία της μετεστεροποίησης. Όταν χρησιμοποιείται βασικός καταλύτης στην μετεστεροποίηση αυτός μπορεί να αντιδράσει με τα FFA και να δημιουργήσει σάπωνες ή και νερό, που είναι ανεπιθύμητα καθώς μειώνεται η απόδοση σε εστέρες, αυξάνεται το ιξώδες του προϊόντος και εμποδίζει το διαχωρισμό βιοντίζελ από γλυκερόλη, τέλος δεσμεύεται ο καταλύτης άρα απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα. (Leung et al,2010).



Εικόνα 4 Αντίδραση σαπωνοποίησης με βασικό καταλύτη

Μετά από μελέτες προκύπτει πως για να είναι επιτυχημένη η βασική κατάλυση πρέπει η περιεκτικότητα σε FFA δεν πρέπει να ξεπερνά το 1% (Liu et al, 1994), ενώ η περιεκτικότητα πάνω από 3% είναι απαγορευτική (Meher L.C., et al ,2006). Επιπλέον το 2008 μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης των FFA από τους Naik et al παρατήσαν ότι η απόδοση σε μεθυλεστέρες από 97% σε 6% όταν το ποσοστό των FFA από 0,3% έγινε 5,3%.

Αντίθετα, παρά την σταθερότητα της παρουσία FFA, η όξινη κατάλυση δεν χρησιμοποιείται γιατί παρουσιάζει χαμηλή ταχύτητα η αντίδραση. Ο συνδυασμός των δύο καταλυτών δηλαδή μετεστεροποίηση σε δύο στάδια είναι μια αποτελεσματική μέθοδος. Αρχικά η πρώτη ύλη με μεγάλη συγκέντρωση σε FFA και τη χρήση όξινου καταλύτη μετατρέπεται σε εστέρες μέσω εστεροποίησης. Όταν η συγκέντρωση των FFA είναι κατάλληλη (<1%) η αντίδραση συνεχίζεται με βασικό καταλύτη (Lam et al, 2010). Το μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το προϊόν πρέπει να διαχωριστεί από δύο καταλύτες. Ο όξινος καταλύτης της πρώτης φάσης μπορεί να αντιδράσει (εξουδετέρωση) με τον βασικό καταλύτη της δεύτερης φάσης, ο επιπλέον βασικός καταλύτης που απαιτείται αυξάνει το κόστος του βιοντίζελ (Kulkarni & Dalai, 2006).

Η παρουσία νερού που μπορεί να προέρχεται από την πρώτη ύλη ή να παράγεται μπορεί να επηρεάσει την παραγωγή εστέρων έως και να την αναστείλει τελείως (> 5%) . Η παρουσία του νερού καθυστερεί την μετεστεροποίηση γιατί γίνεται υδρόλυση των τριγλυκεριδίων προς διγλυκερίδια και ελεύθερα λιπαρά οξέα FFA (Leung et al,2010). Μελέτες έδειξαν πως η επίδραση της παρουσίας του νερού σε όξινη καταλυτική διαδικασία ήταν μεγαλύτερη από ότι

στο βασικό καταλύτη. Με τη χρήση  $H_2SO_4$  η απόδοση σε εστέρες από 6% με την προσθήκη νερού έγινε 5%. Ενώ στην βασική κατάλυση η απόδοση υπολογίστηκε στο 70% κατά την προσθήκη ίδιας ποσότητας νερού (Kusdiana & Saka, 2004).

### 3.4.2 Επίδραση λόγου αλκοόλης / τριγλυκεριδίων

Από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την απόδοση της μετεστεροποίησης είναι ο λόγος της αλκοόλης προς τα τριγλυκερίδια. Η στοιχειομετρική αναλογία είναι 3 προς 1. Ωστόσο για να ενισχυθεί η διαλυτότητα των μορίων μεταξύ των αντιδρώντων χρησιμοποιείται μεγαλύτερη ποσότητα αλκοόλης και η αντίδραση ολοκληρώνεται με μεγαλύτερο ρυθμό (Balat Mustafa et al, 2008). Η όξινα καταλυόμενη αντίδραση απαιτεί μεγαλύτερη αναλογία αλκοόλης τριγλυκεριδίων ώστε να επιτευχθεί καλύτερη απόδοση σε μικρότερο χρονικό διάστημα.

Ενώ συνίσταται η περίσσεια αλκοόλης, συνήθως μεθανόλης, στο πρώτο στάδιο για να διασπαστούν τα λιπαρά οξέα από την γλυκερόλη στα επόμενα στάδια δεν προτείνεται η υπερβολική χρήση αλκοόλης διότι δεν αυξάνει την απόδοση της αντίδρασης αλλά καθιστά την ανάκτηση του εστέρα δύσκολη και ταυτόχρονα ανεβάζει το κόστος τα διαδικασίας.

### 3.4.3 Θερμοκρασία

Ανάλογα τον τύπο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή βιοντίζελ η θερμοκρασία αντίδρασης έχει μεγάλο εύρος τιμών. Οι περισσότεροι ερευνητές συγκλίνουν στην άποψη πως η υψηλότερη θερμοκρασία αυξάνει και την απόδοση της αντίδρασης, εξαιτίας της μεγαλύτερης κινητικότητας των μορίων άρα ευκολότερη ανάμιξη των αντιδρώντων (Z. Helwani et al , 2009). Συνήθως περιορίζεται από το σημείο ζέσεως του μείγματος.

### 3.4.4 Ανάδευση

Όπως αναφέρθηκε η ανάδευση των αντιδρώντων είναι σημαντική παράμετρος στην αντίδραση μετεστεροποίησης, διότι τα έλαια ζωικά και φυτικά δεν είναι αναμίξιμα με την αλκοόλη με αποτέλεσμα σχηματισμό δύο στρωμάτων. Ο έντονος ρυθμός ανάδευσης διασκορπίζει την αλκοόλη με την μορφή σταγονιδίων, στην φάση των τριγλυκεριδίων. Έτσι αυξάνεται η περιοχή επαφής μεταξύ των μη αναμίξιμων φάσεων ( Z. Helwani et al , 2009). Στην ουσία η αντίδραση μετεστεροποίησης πραγματοποιείται στη διαφανική περιοχή μεταξύ αλκοόλης και λιπαρής φάσης, οπότε η ανάδευση είναι σημαντική για την απόδοση της διεργασίας.

## 4.Μικροφύκη

### 4.1 Γενικά χαρακτηριστικά

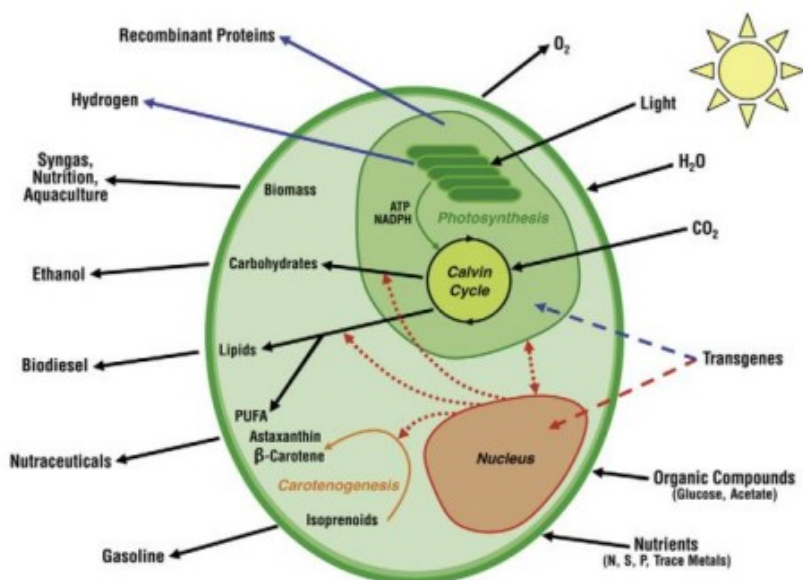
Τα φύκη ή αλλιώς άλγες από την λατινική λέξη *algae*, είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί ευκαρυωτικοί ή προκαρυωτικοί, οι οποίοι βρίσκονται σε αλμυρά ή γλυκά νερά. Εξαιτίας της απλότητας της δομής τους αναπτύσσονται γρήγορα και επιβιώνουν σε όλες τις συνθήκες. Πρόκειται για αυτότροφους φωτοσυνθετικούς, κατά βάση είναι υδρόβιοι μικροοργανισμοί, όμως υπάρχουν είδη που παρατηρήθηκαν να αναπτύσσονται στο έδαφος. Για να αναπτυχθούν χρησιμοποιούν την ηλιακή ακτινοβολία, το διοξείδιο του άνθρακα και θρεπτικά συστατικά. Η μεγάλη φωτοσυνθετική τους ικανότητα τα καθιστά πολύ σημαντικά για τη φύση, καθώς συνεισφέρουν περίπου στο 40 με 50% του οξυγόνου της ατμόσφαιρας (Andersen, 2005). Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης συμβαίνει μέσα στους χλωροπλάστες, δηλαδή σε πράσινα καφέ ή κόκκινα οργανίδια με εσωτερικές μεμβράνες. Τα φύκη δεν έχουν κλωνάρια, ρίζες, δεν βγάζουν άνθη και δεν έχουν φύλλα. Έχει αποδειχθεί πως η ανάπτυξη μερικών φυκών επηρεάζεται από τις ποσότητες των θρεπτικών συστατικών του νερού (π.χ. άζωτο), τη διάρκεια και διακύμανση της ηλιακής ακτινοβολίας και τη θερμοκρασία (Mata et al. 2010).

Ανάλογα με το μέγεθός τους τα φύκη διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τα μακροφύκη (*macroalgae*) και τα μικροφύκη (*microalgae*). Τα μικροφύκη έχουν μήκος μερικά μικρόμετρα, συνήθως τα μονοκύτταρα 0,2 με 50  $\mu\text{m}$ , τα πολυκύτταρα 100 με 200  $\mu\text{m}$ . Τα μακροφύκη έχουν μήκος μερικών εκατοστών με μερικές περιπτώσεις να φτάνει τα 50 με 70 μέτρα όπως τα γιγάντια Φαιοφύκη (Barsanti and Gualtieri, 2010). Οι βασικότερες ομάδες μικροφυκών είναι τα Πρασινοφύκη (*Prasinophytes*), τα ετεροκοντόφυτα (*Heterokontophyta*) με βασικές υποδιαιρέσεις τα χρυσοφύκη (*Chrysophyceae*), τα Διάτομα (*Bacillariophyceae* ή *Diatomeae*), τα Ευστιγματοφύκη (*Eustigmatiphyceae*), τα Ραφιδοφύκη (*Raphidophytes*), τα Κρυπτοφύκη (*Cryptophyceae*), τα Απτόφυτα (*Haptophytes*, *Prymnesiophyceae*), τα Κυανοβακτήρια (*Cyanobacteria* – blue-green algae) και τα Διναμομαστιγωτά (*Dinophyta*) (Barsanti and Gualtieri, 2010; Metting, F.B, 1996; Waterbury, 2006). Επίσημα έχουν καταγραφεί πάνω από 120.000 είδη αλλά ο πραγματικός αριθμός του υπολογίζεται κατά πολύ μεγαλύτερος (Metting, F.B, 1996).

#### 4.1.2 Βασική δομή

Τα στελέχη των μικροφυκών εμφανίζουν αρκετές διαφορές στην κυτταρική δομή τους. Οι άλγες είναι μονοκύτταροι οργανισμοί. Τα επιφανειακά συγκροτήματα που δημιουργούνται μοιάζουν να είναι μακροσκοπικοί πολυκύτταροι οργανισμοί, όμως πρόκειται για έναν μεγάλο μονοκύτταρο με πολλούς πυρήνες.

Χαρακτηριστικό τους είναι πως τα αναπαραγωγικά τους κύτταρα δεν καλύπτονται από επικαλυπτικά κύτταρα, ενώ βασική φωτοσυνθετική τους ουσία είναι η χλωροφύλλη α. Κάποια στελέχη μικροφυκών αναπαράγονται με σπόρια ενώ κάποια άλλα μέσο μιτωτικών διαιρέσεων.



Εικόνα 5 Απεικόνιση των κυτταρικών δομών που παίρνουν μέρος στη βιοσύνθεση προϊόντων από μικροφύκη

Παρά τις διαφορές όλα τα φύκη παρουσιάζουν κάποια κοινά στοιχεία στα κύτταρά τους. Το κυτταρικό τοίχωμα, τα περισσότερα έχουν κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο προκύπτει από μικρές ίνες κυτταρίνης. Όμως σημειώνονται διαφορές στο πάχος του τοιχώματος και στον προσανατολισμό του. Ανάλογα με το είδος μπορεί να αποτελείται από βλεννώδη πηκτίνη, αλγινικό οξύ, φουκοϊδίνη, φουκίνη, ανθρακικό ασβέστιο, διοξείδιο του πυριτίου, ημικυτταρίνη με διάφορες στη σύσταση και τους συνδυασμούς.

Μαστίγια νηματοειδής σχηματισμοί τα οποία εμφανίζονται σε όλα τα φύκη εκτός από τα κυανοφύκη και τα ροδοφύκη. Όμως ανάλογα το είδος διαφέρει η θέση που είναι τοποθετημένο, το μήκος του αλλά και ο αριθμός τους. Βοηθούν στην κίνηση του κυττάρου.

**Πρωτοπλάστης:** βρίσκεται στο εσωτερικό των κυττάρων, στα ευκαριωτικά φύκη περιβάλλεται από λιποπρωτεϊνικό τοίχωμα, την κυτταρική μεμβράνη. Αποτελείται από το κυτταρόπλασμα και από πυρήνες έναν ή παραπάνω σχήματος σφαίρας ή έλλειψης. Στο εσωτερικό του κυττάρου υπάρχει ένα παχύρρευστο υγρό, το κυτταρόπλασμα που συγκρατεί όλα τα οργάνδια, τα προστατεύει και αναπληρώνει το κενό χώρο. Η κυτταρική μεμβράνη είναι λεπτή ελαστική και ελέγχει τη διέλευση υλικών από το κύτταρο προς το περιβάλλον και το αντίθετο.

*Πυρήνας*: βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου έχει σχήμα έλλειψης ή σφαίρας. Περιβάλλεται από την πυρηνική μεμβράνη που αποτελείται από δύο στρώματα. Μέσω της μεμβράνης ο πυρήνας επικοινωνεί με το κυτταρόπλασμα. Στο εσωτερικό του πυρήνα υπάρχει το γενετικό υλικό δηλαδή τα χρωμοσώματα.

*Χλωροπλάστες*: είναι οργάνδια που είναι υπεύθυνα για την φωτοσύνθεση και την παραγωγή ενζύμων. Περιβάλλονται από διπλή μεμβράνη και μέγεθος 3 έως 6  $\mu\text{m}$ , ενώ το σχήμα τους είναι δισκοειδές, κύπελου κ.α ποικίλει ανάλογα με την ομάδα που ανήκουν.

### 4.1.3 Μεταβολισμός φυκών

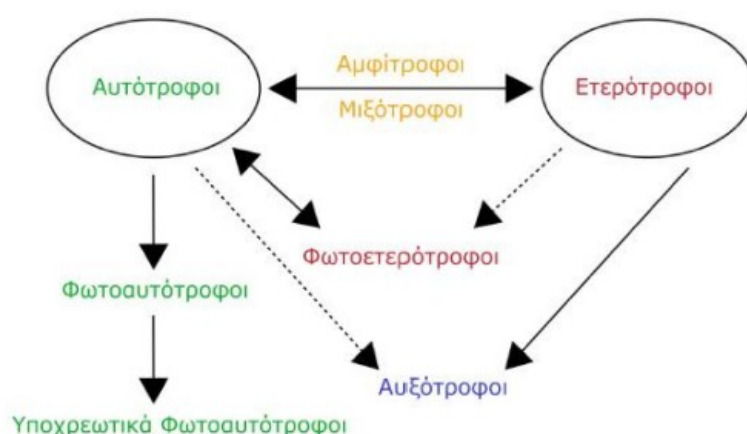
Τα φύκη φωτοσυνθέτουν δηλαδή προσλαμβάνουν άνθρακα από το διοξείδιο του άνθρακα και ηλιακή ενέργεια. Παρατηρούνται διαφορετικοί τύποι μηχανισμών ανάλογα τις ομάδες φυκών. (Εικόνα 6.) Σημειώθηκαν τέσσερις τύποι μεταβολισμού

*Φωτοαυτοτρόφος* είναι ο πιο διαδεδομένος και μοιάζει με τον τρόπο λειτουργίας των φυτών. Τα φύκη δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια άνθρακα από το διοξείδιο του άνθρακα.

*Ετερότροφος* είναι ομάδες φυκών που δεν παίρνουν ενέργεια από τον ήλιο αλλά απορροφούν τον άνθρακα από διάφορες οργανικές ουσίες.

*Μιζότροφος* ο μεταβολισμός σε αυτήν την περίπτωση διαφοροποιείται ανάλογα τις συνθήκες. Ουσιαστικά πρόκειται για συνδυασμό των δύο προηγούμενων τρόπων μεταβολισμού.

*Φωτοετερότροφος* τα φύκη αυτής της κατηγορίας προσλαμβάνουν ενέργεια από τον ήλιο και άνθρακα από οργανικές ενώσεις.



Εικόνα 6 διάφοροι τύποι μεταβολισμού φυκών



Γίνεται κατανοητό πως ο φωτοαυτότροφος και φωτοετερότροφος τύπος απαιτούν πρόσβαση στο ηλιακό φως ώστε να αναπτυχθούν. Σε καλλιέργειες με μεγάλη πυκνότητα όπου τους θερινούς μήνες η ένταση του φωτός είναι μεγάλη χρησιμοποιείται φωτοπαρεμπόδιση για την προστασία των φυκών. Σε αυτές τις περιπτώσεις ένα μέρος της καλλιέργειας δεν μπορεί να φωτοσυνθέσει.

#### 4.1.4 Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη χρήση φυκών έγινε στην Κίνα πριν από περίπου 2000 χρόνια. Χρησιμοποιούνταν το είδος *Nostoc* για την επιβίωση του πληθυσμού σε περιόδους λιμού. Η μελέτη της φυσιολογίας ξεκινά στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, και οι βιοτεχνολογικές εφαρμογές ξεκινούν στα μέσα του 20<sup>ου</sup> αιώνα (Spolaore et al., 2006).

Η πρώτη καλλιέργεια ενός είδους μόνο (ομοιόμορφη καλλιέργεια), της *Chlorella vulgaris*, έγινε το 1890 από τον Beijerinck. Αρχικά αυτές οι καλλιέργειες όπως και το 1919 στο Warburg της Γερμανίας χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της φυσιολογίας των μικροφυκών. Η μαζική καλλιέργεια τους ξεκίνησε το 1948 στο πανεπιστήμιο Stanford των ΗΠΑ, το Essen της Γερμανίας και το Τόκιο της Ιαπωνίας με. Η πρώτη πιλοτική μονάδα ανάπτυξης μικροφυκών φτιάχτηκε το MIT των ΗΠΑ το 1951 από την εταιρεία του Arthur D. Little με τη χρήση του στελέχους *Chlorella pyrenoidosa*, με στόχο τη μελέτη των συνθηκών ανάπτυξης, της αποτίμησης της οικονομικής βιωσιμότητας και τη χρήση των προϊόντων της καλλιέργειας (Borowitzka 1999, Burlew, 1953).

Στη δεκαετία του 1950 λόγω της ραγδαίας αύξησης του πληθυσμού οι έρευνες στράφηκαν στην εύρεση νέας πηγής πρωτεϊνών, ιδανική πηγή θεωρήθηκαν τα φύκη. Την ίδια περίοδο γινόταν έρευνες για τις βιολογικά ενεργές ουσίες και ως αντιβιοτικά. Ενώ τέλος ενδιαφέρον είχε και η χρήση τους ως φωτοσυνθετικοί εναλλάκτες αερίων στις αποστολές στο διάστημα (Spolaore et al. 2006).

Η πρώτη εκτεταμένη καλλιέργεια έγινε στην Ιαπωνία το 1960 από την Nihon Chlorella, το είδος που καλλιεργήθηκε ήταν το *Chlorella*. Το 1970 εξαιτίας της πετρελαϊκής κρίσης και στην αναζήτηση εναλλακτικής πηγής ενέργειας το ενδιαφέρον στράφηκε στα μικροφύκη. Την ίδια περίοδο έγινε συλλογή και καλλιέργεια του είδους *Arthrospira* στη λίμνη Texcoco στην πόλη του Μεξικού στο εργοστάσιο της Sosa Texcoco S.A. Ταυτόχρονα στην Ασία τα επόμενα 10 χρόνια είχαν αναπτυχθεί 46 μονάδες παραγωγής μικροφυκών, με παραγωγή 1000 κιλά μικροφυκών ανά μήνα. Η παραγωγή μικροφυκών είχε αναπτυχθεί και στην Αυστραλία μέχρι το 1986 από τις εταιρίες Western Biotechnology και Betatene. Ενώ την ίδια εποχή το Ισραήλ και οι ΗΠΑ ξεκίνησαν την παραγωγή μικροφυκών, καθώς και η παραγωγή



κυανοβακτηρίων στην Ινδία. Η Ινδία είχε ήδη αρκετές μονάδες παραγωγής του μικροφύκου *Haematococcus pluvialis* το οποίο είναι η βασική πηγή ασταξανθίνης, η οποία χρησιμοποιείται ως χρωστική τροφίμων. (Mata et al, 2010).

Στις μέρες μας η ενεργειακή κρίση είναι πιο έντονη από ποτέ, ταυτόχρονα με τον υποβιβασμό της ποιότητας του περιβάλλοντος λόγω εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, η αναζήτηση νέων πηγών ενέργειας είναι πλέον επιτακτική ανάγκη. Τα παραπάνω αυξάνουν το ενδιαφέρον προς την επεξεργασία των μικροφυκών για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Πολλές εταιρίες έχουν αρχίσει να κατασκευάζουν αντιδραστήρες για την παραγωγή βιοκαυσίμων από μικροφύκη (PBRs) (Spolaore et al., 2006).

## 4.2 Εφαρμογές και χρήσεις μικροφυκών

Τα φύκη βρίσκουν σημαντική εφαρμογή στην χημική και φαρμακευτική βιομηχανία. Μελέτες δείχνουν πως πολλά είδη φυτών έχουν φαρμακευτική αξία είτε επειδή είναι αντιοξειδωτικά, επειδή ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα ανθρώπων και ζώων είτε λόγω ιοστατικής δράσης (Brennan and Owende, 2010; Harun et al, 2010; Pulz and Gross, 2004).

Ακόμα η βιομηχανία καλλυντικών χρησιμοποιεί εκτεταμένα τα είδη *Arthrospira* και *Chlorella*. Με βασικές εφαρμογές σε κρέμες, σαμπουάν, αντηλιακά από την επεξεργασία των πρωτεϊνών καθώς και ουσιών υψηλής αξίας που εξάγονται από τα μικροφύκη (Spolaore et al., 2006).

Επιπρόσθετα τα φύκη βρίσκουν εφαρμογή στην βιομηχανία τροφίμων. Κάποια είδη ως εδώδιμα, κάποια χρησιμοποιούνται ως γαλακτοματοποιητές στην παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων ενώ άλλα αντικαθιστούν το άμυλο (Mata et al., 2010). Επιπλέον κάποια είδη αναμειγνύονται με διάφορα τρόφιμα όπως ζυμαρικά, καραμέλες, σνακ, τσίχλες και ροφήματα. Ενώ κάποια λόγω των ιδιοτήτων τους χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα είτε ως φυσική πηγή χρωστικής για τον χρωματισμό τροφίμων. Με εφαρμογές να βρίσκουν κυρίως τα *Arthrospira*, *Chlorella*, *Dunaliella salina* και *Aphanizomenon flos-aquae* (Spolaore et al., 2006).

Τέλος σημαντικός τομέας χρήσης των φυκών είναι η επεξεργασία λυμάτων. Το 1960 προτάθηκε η καλλιέργεια μικροφυκών για την επεξεργασία αστικών λυμάτων και βιομηχανικών αποβλήτων (Oswald, 2003). Η χρήση των φυκών έχει ως αποτέλεσμα την απορρόπηση των αποβλήτων καθώς μειώνεται η συγκέντρωση οργανικών και ανόργανων στοιχείων αλλά και γιατί παράγεται βιομάζα που μπορεί να χρησιμοποιηθεί (Pittman et al., 2011). Η παραγόμενη βιομάζα εξαρτάται από το είδος των αποβλήτων και του μικροφυκού. Η επεξεργασία των λυμάτων με μικροφύκη μπορεί να μειώσει τα θρεπτικά ανόργανα στοιχεία από 70 έως 90% και των οργανικών έως και 70%. (Pittman et al., 2011).

### 4.3 Τεχνολογία παραγωγής μικροφυκών

Υπό φυσικές συνθήκες ανάπτυξης τα φύκη χρησιμοποιούν την ηλιακή ακτινοβολία, το διοξείδιο του άνθρακα του αέρα και θρεπτικά συστατικά. Οπότε οι συνθήκες ανάπτυξης των φυτών πρέπει να είναι παρόμοιες με τις φυσικές.

Ωστόσο οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των άλγων είναι πολλές και σε τεχνητές καλλιέργειες οι παράγοντες πρέπει να ελέγχονται ώστε να δώσουν το μεγαλύτερο δυνατό αποτέλεσμα. Οι παράγοντες διακρίνονται σε:

*Βιοτικούς παράγοντες* όπως ανταγωνιστικά είδη φυκών, παθογόνοι μικροοργανισμοί, βακτήρια, μύκητες, ιοί.

*Λειτουργικοί παράγοντες*, συχνότητα συγκομιδής, διαλυτοποίηση, το βάθος, προσθήκη διττανθρακικών, διάτμηση λόγω ανάδευσης.

*Αβιοτικοί παράγοντες* όπως η ποσότητα και η ποιότητα του φωτός, θερμοκρασία, περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , τα τοξικά χημικά, η αλατότητα και το pH.

Οι μηχανισμοί παραγωγής μικροφυκών είναι τρεις, η ετεροτροφική παραγωγή, η φωτοτροφική και η μικτή.

### 4.4 Φωτοαυτοτροφική παραγωγή

Τα μικροφύκη χρησιμοποιούν το φως ως πηγή ενέργεια, ενώ ο άνθρακας που υπάρχει στο διοξείδιο του άνθρακα χρησιμοποιείται για την παραγωγή χημικής ενέργειας μέσω φωτοσύνθεσης. Ειδικότερα παράγονται ενώσεις οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες, οι υδρογονάνθρακες και τα λιπίδια που λειτουργούν ως αποθήκες ενέργειας. Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον για την παραγωγή ντίζελ έχουν τα λιπίδια. Το ποσοστό λιπιδίων στην φωτοαυτοτροφική καλλιέργεια είναι από 5% έως 68%. Σημαντικό πλεονέκτημα είναι πως η πηγή άνθρακα είναι το διοξείδιο του άνθρακα, συνήθως μεγάλη παραγωγή  $\text{CO}_2$  υπάρχει κοντά σε βιομηχανίες παραγωγής ενέργειας. Ο συνδυασμός μονάδας παραγωγής ενέργειας και καλλιέργειας μικροφυκών λειτουργεί ως ανακύκλωση του διοξειδίου του άνθρακα από τη διαδικασία καύσης σε υγρά καύσιμα.

Προς το παρόν η μόνη οικονομικά και τεχνικά βιώσιμη μέθοδος παραγωγής μικροφυκών είναι η φωτοτροφική παραγωγή. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί δύο συστήματα: το σύστημα ανοιχτής αβαθούς λίμνης και το σύστημα κλειστού οπτικού αντιδραστήρα.

## 4.5 Συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών

### 4.5.1 Κλειστά συστήματα ( φωτοβιοαντιδραστήρες/ Photobioreactors– PBRs)

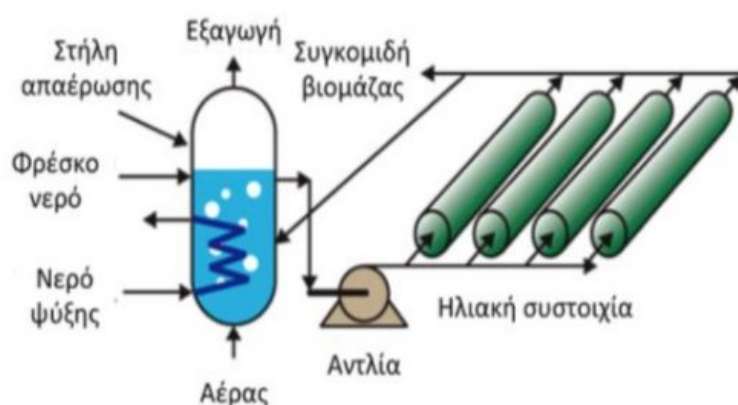
Στα κλειστά συστήματα οι καλλιέργειες γίνονται μέσα σε δεξαμενές οι οποίες μπορεί να είναι απλές γυάλινες μέχρι πιο πολύπλοκες κατασκευές που ονομάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες. Διαχωρίζονται σε συνεχείς ή στατικές καλλιέργειες και σε στεγασμένες ή υπαίθριες. Οι δεξαμενές που αναπτύσσονται οι καλλιέργειες κατασκευάζονται από διάφανα υλικά με σκοπό τη είσοδο του ηλιακού φωτός, ακόμη παρουσιάζουν υψηλό λόγο επιφάνειας προς όγκο. Το πιο δημοφιλές μοντέλο αντιδραστήρα είναι αυτό με τη σωληνοειδούς μορφή. Πιο συγκεκριμένα οι σωλήνες έχουν διάμετρο μικρότερη των 10 cm ώστε να είναι μέγιστο το ηλιακό φως που εισέρχεται. Το υγρό μετακινείται με τη βοήθεια αντλίας στους σωλήνες, εκτίθεται στον ήλιο ώστε να γίνει η φωτοσύνθεση και μεταβαίνει στη δεξαμενή αποθήκευσης. Μειονέκτημα του είδους είναι πως οι ακαθαρσίες που δημιουργούνται στα τοιχώματα μπορεί να αναστείλουν την ανάπτυξη των φυτών.



Εικόνα 7 Αυλωτός αντιδραστήρας καλλιέργειας μικροφυκών

Μέρος των φυκών συλλέγεται αφού περάσει από τους αντίστοιχους σωλήνες, με αυτόν τον τρόπο γίνεται η συνεχή καλλιέργεια μικροφυκών. Σε κάποιες περιπτώσεις οι σωλήνες τοποθετούνται με σχηματισμό έλικας (ελικο– σωληνοειδείς φωτοβιοαντιδραστήρες). Λόγω του ιδιαίτερου σχηματισμού απαιτείται συνήθως τεχνητό φως με αποτέλεσμα να ανεβαίνει το κόστος παραγωγής (Zhiyou and Johnson, 2009).

Κατά το στάδιο της φωτοσύνθεσης παράγεται οξυγόνο το οποίο σε υψηλές συγκεντρώσεις αναστείλει τη δράση των μικροφυκών. Συνεπώς τα μικροφύκη τοποθετούνται σε ζώνη απαερίωσης (degassing), όπου φυσαλίδες αέρα διαπερνούν το υγρό μίγμα ώστε να απομακρυνθεί το οξυγόνο από το σύστημα (Zhiyou and Johnson, 2009). Ακόμη σημαντικός παράγοντας που πρέπει να ελέγχεται είναι η θερμοκρασία, αυτό γίνεται με ψύξη κατά τις πρωινές ώρες και συνεχίζεται καθόλη τη διάρκεια. Η ρύθμιση επιτυγχάνεται με εναλλάκτες θερμότητας στις σωληνώσεις του αντιδραστήρα.



Εικόνα 8 Παράδειγμα αυλωτού φωτοβιοαντιδραστήρα με παράλληλους οριζόντιους σωλήνες

Το κλειστό σύστημα πλεονεκτεί καθώς δεν εξατμίζεται το νερό της καλλιέργειας ενώ επιτυγχάνει και καλύτερο έλεγχο των συνθηκών (Chen,1996). Τα δεδομένα δείχνουν πως η παραγωγή σε κλειστά συστήματα είναι 13 φορές μεγαλύτερη έναντι των ανοιχτών και η συγκέντρωση των μικροφυκών είναι 30 φορές μεγαλύτερη. Ακόμη η συλλογή των μικροφυκών είναι εύκολη και έχει μικρό κόστος σε σχέση με τα ανοιχτά (Zhiyou and Johnson, 2009). Υπάρχουν βέβαια και οι κλειστού τύπου καλλιέργειες που δεν είναι όλα ελεγχόμενα. Είναι οι υπαίθριες καλλιέργειες, που οι παράγοντες όπως ένταση φωτός και θερμοκρασία δεν ελέγχονται.

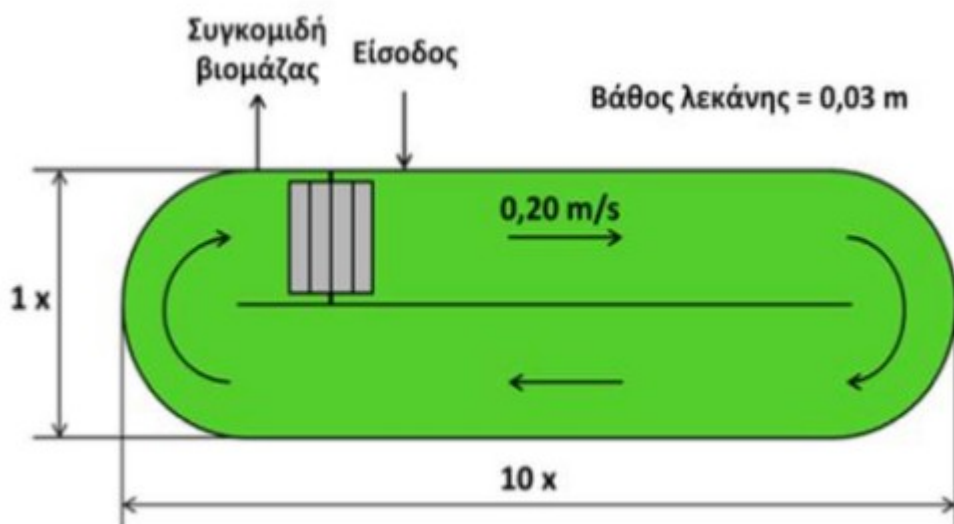
Παρά τα πλεονεκτήματα το αυξημένο κόστος της κατασκευής και λειτουργίας καθώς και η αδυναμία κατασκευής μεγάλης κλίμακας εγκαταστάσεων είναι από τα βασικότερα μειονεκτήματα των κλειστών συστημάτων.

#### 4.5.2 Ανοικτά συστήματα

Τα ανοικτά συστήματα open ponds (ανοιχτές λίμνες) είναι τα πιο απλά και παλιά συστήματα μαζικής καλλιέργειας μικροφυκών, αναπτύχθηκαν ήδη από το 1950 τα πιο απλά. Χρησιμοποιήθηκαν περισσότερο γιατί δεν έχουν ιδιαίτερες απαιτήσεις και είναι οικονομικά

εύκολο να δημιουργηθούν. Σημαντικό ρόλο στις ανοικτές δεξαμενές έχει το βάθος, το οποίο δεν πρέπει να είναι πολύ μεγάλο ώστε να μπορεί να φτάσει το φως, αλλά όχι πολύ μικρό γιατί η εξάτμιση του νερού αλλάζει τη συγκέντρωση των ιόντων του υποστρώματος. Το ιδανικό βάθος είναι από 20 έως 30 cm, με διακυμάνσεις ανάλογα το είδος του μικροφύκου που καλλιεργείται (Borowitzka, 1999). Τα μικροφύκη δέχονται συνεχώς θρεπτικά συστατικά και μέσω του αέρα γίνεται ανταλλαγή αερίων.

Η ανάπτυξη τέτοιων συστημάτων γίνεται σε φυσικούς σχηματισμούς όπως λίμνες, θάλασσα, λιμνοθάλασσες αλλά και σε τεχνητές δεξαμενές. Το σχήμα των δεξαμενών είναι κυκλικό ή πίστας αγώνων ταχύτητας (raceway), σε αυτά τα συστήματα οι συνθήκες μοιάζουν πολύ με τις φυσικές συνθήκες ανάπτυξης των φυκών. Το υλικό που χρησιμοποιείται είναι χυτό τσιμέντο. (Zhiyou and Johnson, 2009). Στις κυκλικές δεξαμενές μια κινούμενη ακτίνα προκαλεί ανάδευση συνεχώς. Στις ελλειψοειδείς δεξαμενές μηχανικά προκαλείται ανάδευση και τέλος στις επικλινείς δεξαμενές η ανάδευση γίνεται μέσω άντλησης και μέσω της βαρύτητας. Ο τρόπος ανάδευσης έχει σημαντική θέση στις καλλιέργειες ανοικτού τύπου καθώς κινδυνεύουν να δημιουργηθούν συσσωματώματα. Η καλή ανάδευση επίσης αξιοποιεί καλύτερα το φως και την δημιουργία ομογενούς υποστρώματος (D. Chaumont, 1993).



Εικόνα 9 Απεικόνιση ανοικτής δεξαμενής

Το βασικό πλεονέκτημα του ανοικτού συστήματος έναντι του κλειστού είναι το μικρότερο κόστος της εγκατάστασης και της λειτουργίας με σχετικά καλά ποσοστά στη μαζική καλλιέργεια. Ενώ το μεγάλο μειονέκτημα είναι ότι η καλλιέργεια κινδυνεύει να προσβληθεί από άλλα στελέχη μικροφυκών, βακτηριδίων ή μικροοργανισμών διότι η καλλιέργεια είναι εκτεθειμένη στους περιβαλλοντικούς παράγοντες (Day et al, 2012). Τέλος ένα πρόβλημα που



αντιμετωπίζουν οι ανοιχτές καλλιέργειες είναι η αύξηση της συγκέντρωσης αλάτων σε βαθμό που να λειτουργεί ανασταλτικά στην ανάπτυξη των φυκών λόγω της εξάτμισης του νερού, το οποίο πρέπει να αναπληρώνεται σε τακτά χρονικά διαστήματα. (Zhiyou and Johnson, 2009).



*Εικόνα 1 ανοιχτό σύστημα καλλιέργειας στη Cynanotech Χαβάη*

Στη μαζική παραγωγή βιομάζας μικροφυκών χρησιμοποιούνται ανοιχτά συστήματα καλλιέργειας από χώρες όπως ΗΠΑ, Κίνα και Ισραήλ. Αντίθετα χώρες όπως Ταϊβάν, Ινδονησία και Ιαπωνία χρησιμοποιούν κυκλικού τύπου δεξαμενές. Στις ΗΠΑ βρίσκεται η μεγαλύτερη εγκατάσταση παραγωγής μικροφυκών, με στόχο την παραγωγή κυανοβακτηρίων για συμπληρώματα διατροφής (Spoladore et al, 2006). Σε χώρες με ηλιοφάνεια όπως είναι η Ελλάδα ευδοκιμούν οι ανοιχτού τύπου καλλιέργειες, ενώ σε χώρες με ψυχρότερα κλίματα και περιορισμένη ηλιοφάνεια οι καλλιέργειες είναι χρονικά περιορισμένες.

Οι εγκαταστάσεις μαζικής παραγωγής βιομάζας χρησιμοποιούν κυρίως λόγος του χαμηλού κόστους τόσο σαν αρχικό κεφάλαιο όσο και συντήρησης της καλλιέργειας. Ακόμη τέτοιου είδους καλλιέργειες δεν απαιτούν καθημερινή παρακολούθηση. Όμως απαιτείται μεγάλη έκταση γης και μεγάλες ποσότητες νερού.

#### **4.5.3 Στατικές συνεχείς καλλιέργειες**

Αυτού του είδους οι καλλιέργειες χρησιμοποιούνται συνήθως για την συντήρηση ή για έρευνα στον τομέα της μαζικής παραγωγής βιομάζας. Οι βασικότεροι παράμετροι που ερευνώνται είναι ο ρυθμός ανάπτυξης και οι φάσεις ανάπτυξης κατά την διαδικασία.

Συνήθως η ανάπτυξη στις στατικές καλλιέργειες έχει σταθερό ρυθμό και εξελίσσεται χωρίς παρέμβαση από το προσωπικό. Σημαντικό ρόλο έχει ο τρόπος μεταφοράς των κυττάρων μέσα στο μέσο ανάπτυξης διότι από αυτόν εξαρτάται η αποδοτικότητα της καλλιέργειας.

Η αύξηση των άλγων με το χρόνο συνδέεται με το χρόνο και εκφράζεται από τη σχέση

$$\mu = \frac{\ln \frac{N_1}{N_0}}{t_1 - t_0}$$

όπου N είναι μια μεταβλητή όπως ο αριθμός κυττάρων ή η συγκέντρωση χλωροφύλλης α ή η πυκνότητα κ.λπ. N<sub>0</sub> η παράμετρος σε χρόνο t<sub>0</sub> και N<sub>1</sub> η ίδια παράμετρος σε χρόνο t<sub>1</sub>.

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

$$G = \frac{\ln 2}{\mu}.$$

Να σημειωθεί πως όταν τοποθετηθούν τα κύτταρα στο μέσο απαιτείται κάποιος χρόνος ώστε να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Το διάστημα αυτό ορίζεται ως χρόνος προσαρμογής ή φάση υστέρησης. Έπειτα ανάλογα τους παράγοντες που επηρεάζουν την καλλιέργεια μπορεί να αναπτυχθεί με γρήγορο ρυθμό ή μικρό.

Πέρα από τις στατικές καλλιέργειες κλειστού τύπου υπάρχουν και οι καλλιέργειες παρατεταμένης διάρκειας, ή αλλιώς συνεχείς καλλιέργειες. Σε αυτές κατά διαστήματα αφαιρούνται ποσότητες καλλιέργειας και αντικαθιστούνται από θρεπτικά συστατικά. Έτσι εξασφαλίζεται πιο γρήγορος ρυθμός ανάπτυξης. Τέτοιου τύπου καλλιέργειας χρησιμοποιούνται στη φαρμακοβιομηχανία (Βουλτσιάδου et al, 2015).

#### 4.6 Σύγκριση συστημάτων παραγωγής βιομάζας μικροφυκών

Μέχρι τώρα δεν έχει δημιουργηθεί τέλειο σύστημα για την παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη. Τα συστήματα εμφανίζουν ανάλογα με την κατηγορία που ανήκουν πλεονεκτήματα αλλά και πολλά μειονεκτήματα.

Ενώ η ανοιχτές δεξαμενές εμφανίζουν χαμηλός κόστος λειτουργίας και κατασκευής, δεν είναι ανταγωνιστικές με τα καλλιεργήσιμα εδάφη, διότι αναπτύσσονται κυρίως σε υδάτινα μέρη. Έχουν εύκολη συντήρηση και δεν απαιτούν καθημερινή επίβλεψη. Όμως είναι αδύνατο να ελέγχονται οι συνθήκες καλλιέργειας, ακόμη οι καλλιέργειες είναι εκτεθειμένες σε άλλα στελέχη μικροφυκών, παράσιτα και μικροοργανισμούς. Λόγω των παραπάνω ο ρυθμός παραγωγής σε ανοιχτές δεξαμενές είναι μικρός, λόγω των απωλειών από εξάτμιση, κακή ανάδευση, θερμοκρασία, έλλειψη διοξειδίου του άνθρακα (L. Brennan, 2010).

Οι κλειστές δεξαμενές παρουσιάζουν πολύ μεγάλο κόστος κατασκευής και λειτουργίας. Όμως οι φωτοβιοαντιδραστήρες έχουν θετικά σχετικά με τις συνθήκες καλλιέργειας διότι προσφέρουν απόλυτο έλεγχο, έλεγχος κίνησης αερίων, περιορισμός στην εξάτμιση, καλή θερμική κατανομή, οι καλλιέργειες προστατεύονται από μολύνσεις.

Συγκρίνοντας άμεσα τους δύο τύπους καλλιέργειών ο κλειστού τύπου λόγω της μεγαλύτερης παραγωγικότητας θα παράγει βιομάζα έως και 13 φορές μεγαλύτερη από το ανοιχτό σύστημα (F. Lehr et al, 2009).

## 4.7 Επίδραση φυσικοχημικών και βιοτικών παραγόντων στη μικροβιακή αύξηση

### 4.7.1 Είδος

Τα φύκη είναι ετερότροφα ή αυτότροφα. Ορισμένα είδη φυκών μπορούν να αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας οργανικό άνθρακα όταν υπάρχει έλλειψη φωτός. Αυτό το είδος καλλιέργειας ονομάζεται ετερότροφη. Με αυτόν τον τρόπο αποφεύγονται τα προβλήματα με την έλλειψη φωτισμού. Βασικό πλεονέκτημα είναι η υψηλή παραγωγή βιομάζας, ενώ το συχνότερο πρόβλημα που αντιμετωπίζουν είναι η μόλυνση από βακτηρίδια, που για την ανάπτυξή τους χρησιμοποιούν σάκχαρα ως πηγή άνθρακα (Chen et al.,2010).

Τα αυτότροφα φύκη είναι ο πιο κοινός τύπος καλλιέργειας, εξασφαλίζουν τις ενώσεις που είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη τους μέσω της φωτοσύνθεσης. Η φωτοσύνθεση των φυκών είναι παρόμοια με αυτή των φυτικών οργανισμών του εδάφους. Η μόνη διαφορά είναι πως τα μικροφύκη είναι μέρος του υδάτινου συστήματος. Το βασικό πλεονέκτημα αυτού του είδους φυκών είναι η μετατροπή της ηλιακής ενέργειας σε βιομάζα (Gouveia, 2011). Ακόμη, το νερό εμπλουτίζεται με οξυγόνο, στη φύση τόσο σε γλυκά όσο και σε αλμυρά νερά τα φύκη είναι η βάση της τροφικής αλυσίδας (Ελληνική φυκολογική εταιρία, 2008).

### 4.7.2 Φωτισμός και ηλιακή ακτινοβολία

Κρίσιμοι παράγοντες για την ανάπτυξη των μικροφυκών σε εσωτερικούς και εξωτερικούς χώρους είναι ο φωτισμός και η ηλιακή ακτινοβολία. Ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης των φυκών αυξάνεται με την αύξηση της ακτινοβολίας έως ένα βαθμό. Αν ξεπεραστεί αυτό το όριο ο ρυθμός παραμένει σταθερός και μετά μειώνεται λόγω της ζημιάς των κυττάρων από τη φωτοοξειδωση (Carvalho et al., 2009). Στην αντίθετη περίπτωση, που η ακτινοβολία του ηλίου δεν είναι επαρκής χρησιμοποιούνται τεχνητές πηγές φωτός, όμως απαιτείται ηλεκτρική ενέργεια για τη λειτουργία που αυξάνει το κόστος της μονάδας, για αυτό δεν προτιμάται (Darzins et al., 2010). Αν ο σκοπός της καλλιέργειας είναι η παραγωγή βιοκαυσίμου, το τεχνητό φως είναι προτιμότερο διότι αυξάνεται η απόδοση των μικροφυκών σε λιπίδια, λόγω της σταθερότητας της έντασης του τεχνητού φωτός για όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας. Σε εργαστηριακή κλίμακα για τη μελέτη των φυκών χρησιμοποιούνται λάμπες φθορισμού για



φωτισμό με μεγάλο ενεργειακό κόστος ανά φωτοσυνθετική ενεργή ακτινοβολία (Photosynthetically active radiation, PAR).

#### 4.7.3 Θρεπτικά συστατικά

Τα μικροφύκη για να αναπτυχθούν απαιτούν ανόργανα στοιχεία για τις μεταβολικές κυτταρικές διεργασίες. Τα πιο βασικά είναι το άζωτο (N), φωσφόρος (P) και κάλιο (K). Με κάποιες μελέτες να δίνουν συγκεκριμένη σύνθεση του θρεπτικού μέσου για την παραγωγή λιπιδίων από μικροφύκη. Η συνολική απόδοση των μικροφυκών σε βιοκαύσιμα εξαρτάται και από την περιεκτικότητα μεμονωμένων κυττάρων σε λιπίδια. Γενικά παρατηρήθηκε πως όταν η παραγωγικότητα μειώνεται αυξάνεται η συγκέντρωση λιπιδίων σε συνθήκες καταπόνησης. Όπως για παράδειγμα η έλλειψη αζώτου ή φωσφορικών μειώνει την ανάπτυξη των κυττάρων όμως αυξάνονται παράλληλα την περιεκτικότητα σε λιπίδια.

Το 2008 μελέτες έδειξαν πως στο είδος *C. Vulgaris* αυξάνονται τα λιπίδια με την υψηλή συγκέντρωση σιδήρου (Liu et al., 2008). Ακόμη παρατηρήθηκε πως η μείωση αζώτου στο θρεπτικό υπόστρωμα αυξάνει την περιεκτικότητα λιπιδίων σε όλα τα είδη *Chlorella* (Illman et al., 2000). Τα θρεπτικά συστατικά για την παραγωγή παρουσιάζουν το μεγαλύτερο κόστος μιας μονάδας καλλιέργειας. Ενώ αποτελεσματικός τρόπος μείωσης του κόστους είναι η χρήση λυμάτων (Pate et al., 2010).

## 5 Καύσιμα και μικροφύκη

### 5.1 Βιοκαύσιμα και μικροφύκη

Τα μικροφύκη είναι πηγή άνθρακα που βρίσκεται στο αργό πετρέλαιο και φυσικό αέριο αλλά και των ορυκτών καυσίμων. Έχουν γίνει πολλές μελέτες για όλες τα στάδια παραγωγής βιοκαυσίμων από μικροφύκη τους τρόπους και τα συστήματα καλλιέργειας (Chaumont, 1993; Andersen, 2005; Mata et al., 2010), τους παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της βιομάζας (Oswald et al., 1955; Schwimmer and Schwimmer, 1995; Chaumont, 1993; Andersen, 2005; Markou και Georgakakis, 2011), τις εμπορικές εφαρμογές (Schwimmer 1955; Spolaore et al., 2006; Mata et al., 2010) και τις οικονομικές επιπτώσεις (Spolaore et al., 2006). Στην Ουάσιγκτον το Ίδρυμα Carnegie το 1953 δημοσίευσε την εργασία «Algal culture from laboratory to pilot plant» στην οποία μελετήθηκαν στοιχεία καλλιέργειας φυκών εκτεταμένης κλίμακας, τις περιόδους πριν, κατά την διάρκεια του Β παγκόσμιου Πόλεμου και λίγο μετά (Chaumont 1993; Schwimmer 1995). Η προτεινόμενη χρήση τους ήταν ως συμπλήρωμα διατροφής ή και ως αντικαταστάτης ζωικών πρωτεϊνών από τον άνθρωπο. Τις

επόμενες δεκαετίες 60 και 70 πολλές ερευνητικές ομάδες από Γερμανία ΗΠΑ, Ισραήλ, Γαλλία, Ιαπωνία, συνέχισαν αυτό το έργο. Με την ενεργειακή κρίση που ξεκίνησε λίγο αργότερα το ενδιαφέρον των ερευνητών στράφηκε στα μικροφύκη ως πηγή βιομάζας για παραγωγή μεθανίου. Ιδιαίτερα την δεκαετία του 90 που προτάθηκαν ως πηγή πρώτης ύλης για παραγωγή βιοκαυσίμων (Chaumont, 1993).

Από τα φύκη μπορούν να παραχθούν βιοντίζελ, βιοαιθανόλη, μεθάνιο και υδρογόνο. Οι τύποι με τις πιο πολλές έρευνες είναι αυτοί του βιοντίζελ που παράγεται μέσω μετεστεροποίησης των λιπιδίων από τη βιομάζα των μικροφυκών και το μεθάνιο που συνδέεται με την αναερόβια χώνευση της βιομάζας (Oilgae, 2013). Η περιεκτικότητα των λιπιδίων διαφέρει μεταξύ των ειδών, επίσης επηρεάζεται από τις συνθήκες καλλιέργειας (Schwimmer and Schwimmer, 1955; Mata et al., 2010).

Η περιεκτικότητα των φυκών σε λιπίδια επηρεάζεται κυρίως από τις διαφορετικές συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών και από συνθήκες καλλιέργειας και φάσεις ανάπτυξης. Σε έρευνες το 1950 παρατηρήθηκε ότι το *Chlorella* περιείχε 20 έως 25% λιπίδια αλλά σε καταστάσεις στέρησης αζώτου η περιεκτικότητα έφτασε το 86%. Ακόμη κατά τον Β' παγκόσμιο πόλεμο, οι Γερμανοί καλλιεργούσαν *Chlorella*, *Nitzschia* και *Scenedesmus*, κατάφεραν αποδόσεις σε λιπίδια 40 έως 70% με σκοπό χρήσης των μικροφυκών ως πηγή λιπιδίων στην διατροφή του ανθρώπου (Schwimmer and Schwimmer, 1955). Εταιρίες σε πειραματικό στάδιο πριν την συγκομιδή τοποθετούν τα φύκη σε δεξαμενές αναμονής 48 ωρών, ώστε να επιτευχθεί η κατάσταση στέρησης αζώτου για την αύξηση της περιεκτικότητας λιπιδίων (Christensons and Sims, 2011).

Η διαχείριση των καλλιεργειών των μικροφυκών είναι ο βασικός οικονομικός περιορισμός για την παραγωγή προϊόντων χαμηλού κόστους, όπως ζωοτροφές, τρόφιμα, καύσιμα. Από το 1987 και για τρία χρόνια στο Roswell του Νέου Μεξικού λειτούργησαν 2 λίμνες 1000 m<sup>2</sup>. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως ενώ ήταν εφικτή η παραγωγή βιοντίζελ χαμηλού κόστους από τα μικροφύκη, όμως απαιτείται επιπλέον μελέτη για υψηλή μακροπρόθεσμη παραγωγικότητα που απαιτείται (Mata et al., 2010).

Η ανάγκη για αντικατάσταση των ορυκτών καυσίμων γίνεται πιο έντονη τα τελευταία χρόνια γίνεται όλο και πιο έντονη τα τελευταία χρόνια τόσο για οικονομικούς λόγους όσο και περιβαλλοντικούς. Ακόμη η εξασθένιση των αποθεμάτων του πετρελαίου κάνουν ελκυστικότερα τα βιοκαύσιμα και τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Η χρήση των παραπάνω βοηθά στην προστασία του περιβάλλοντος καθώς δεν είναι τοξικά και οι εκπομπές σε CO, SO<sub>x</sub> δεν επηρεάζουν στο φαινόμενο του θερμοκηπίου (Demirbas, 2007).

Όπως είναι ήδη γνωστό τα βιοκαύσιμα χωρίζονται σε κατηγορίες πρώτης γενιάς με στόχο την παραγωγή βιοκαυσίμων από πρώτες ύλες όπως σπόρους, σακχαρότευτλα, σακχαροκάλαμα.

Με βασικό μειονέκτημα τους να είναι ανταγωνιστικά προς τις ύλες που χρησιμοποιούνται στη διατροφή. Τα βιοκαύσιμα δεύτερης γενιάς που χρησιμοποιούν πρώτες ύλες που δεν είναι βρώσιμες, πλούσιες σε κυτταρίνη, όπως γλυκό σόργο, γεωργικά παραπροϊόντα άχυρα, φύλλα, κελύφη από καρπούς και άλλα οργανικά απόβλητα υπολείμματα και παραπροϊόντα (Ahmad et al., 2011).

Με τα βιοκαύσιμα τρίτης γενιάς τίθεται σαν στόχος η αύξηση της απόδοσης παραγωγής πρώτων υλών, πρώτη ύλη για την παραγωγή των βιοκαυσίμων χρησιμοποιούνται τα μικροφύκη. Κυριότερο βιοκαύσιμο τρίτης γενιάς είναι το βιοντίζελ. Τα μικροφύκη υπολογίζεται πως αποδίδουν 30 φορές περισσότερη ενέργεια ανά μονάδα καλλιεργούμενης έκτασης σε σχέση με τις υπόλοιπες πηγές παραγωγής βιοκαυσίμου (Ahmad et al., 2011). που Η χρήση μικροφυκών για την παραγωγή βιοκαυσίμων εμφανίζει πλεονεκτήματα όπως τα ακόλουθα: (Gouveina, 2011) :

- Είναι μικροοργανισμοί που υπό ευνοϊκές συνθήκες ακολουθούν απλό κύκλο κυτταρικής διαίρεσης.
- Είναι απλοί οργανισμοί, χωρίς πολύπλοκα αναπαραγωγικά όργανα των οποίων μπορεί να αξιοποιηθεί ολόκληρη η βιομάζα.
- Μπορούν να καλλιεργηθούν σε γλυκό ή αλμυρό νερό.
- Κατά την ανάπτυξή τους δεν δημιουργούνται παραπροϊόντα που πρέπει να απομακρύνονται.
- Μπορεί να γίνει η χρήση αζώτου και φωσφόρου από υγρά απόβλητα που να προέρχονται από αγροτικές, βιομηχανικές, κτηνοτροφικές και αστικές δραστηριότητες.
- Μεγάλη μετατροπή φωτονίων από την ηλιακή ακτινοβολία 3,8% ενώ οι φυτικοί οργανισμοί στη Γη 0,5%
- Μεγάλη δέσμευση CO<sub>2</sub>
- Χρησιμοποιούνται μη καλλιεργήσιμες εκτάσεις, οπότε δεν είναι ανταγωνιστικά με τις καλλιεργήσιμες εκτάσεις.
- Παραγωγή καθόλη τη διάρκεια του έτους.
- Οι καλλιέργειες δεν χρησιμοποιούν λιπάσματα και φυτοφάρμακα, αποφεύγεται η ρύπανση
- Παράγονται παραπροϊόντα υψηλής αξίας όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες, βαφές κ.α.

**Πίνακας 11. Απαιτούμενη έκταση για διάφορα είδη ενεργειακής καλλιέργειας (L.C. Meher et.al, 2006)**

<b>Είδος ενεργειακής καλλιέργειας</b>	<b>Απαιτούμενη έκταση (m<sup>2</sup> year/kg biodiesel)</b>
Αραβόσιτος	66
Κάνναβη	31
Σόγια	18
Jatropha	15
Camelina	12
Ελαιοκράμβη	12
Ηλιοτρόπιο	11
Ρίκινος ο κοινός	9
Φοίνικας	2
Μικροφύκη με περιεκτικότητα 30% σε έλαια	0.2
Μικροφύκη με περιεκτικότητα 50% σε έλαια	0.1
Μικροφύκη με περιεκτικότητα 70% σε έλαια	0.1

## 5.2 Επιλογή κατάλληλου στελέχους για την παραγωγή βιοντίζελ

Κρίσιμο βήμα για την αποτελεσματική καλλιέργεια μικροφυκών με στόχο την παραγωγή βιοντίζελ είναι η επιλογή κατάλληλων στελεχών. Σκοπός είναι να επιλεγούν είδη που παράγουν μεγάλες ποσότητες λιπιδίων, αναπτύσσονται γρήγορα σε συνωστισμό και είναι εύκολα στη συγκομιδή.

Τα μικροφύκη είναι ικανά να αναπτυχθούν σε γλυκό, αλμυρό και υφάλμυρο νερό. Έχουν την δυνατότητα να ευδοκιμήσουν σε πολλά είδη υδάτινων οικοσυστημάτων και σε λύματα. Ανάλογα με το περιβάλλον που μεγαλώνουν παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανάπτυξη σε λιπαρά και άλλα μόρια. Συνίσταται κατά την μελέτη επιλογής μικροφυκών να παίρνονται δείγματα σε διαφορετικούς χρόνους και σημεία ώστε να εντοπίζονται οι συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη των επιθυμητών μορίων.

Όταν το δείγμα συλλεχθεί, απομονώνεται σε ένα μόνο κύτταρο ώστε να μελετηθεί το είδος του μικροφύκου. Μέθοδοι για την απομόνωση είναι η μονοκυτταρική απομόνωση με άγαρ, ψεκασμός κυττάρων με άγαρ, τεχνική διάλυσης, αλλά και πιο σύγχρονες μικροχειρισμοί, κυτταρομετρία ροής κ.α. Στην συνέχεια ελέγχεται για τον εντοπισμό των επιθυμητών χαρακτηριστικών. Γενικά τα χαρακτηριστικά που πρέπει να έχει για την σύνθεση βιοντίζελ είναι μεγάλη περιεκτικότητα σε λιπίδια, γρήγορη ανάπτυξη με τη μικρότερη δυνατή βιομάζα μεγαλύτερη παραγωγή πρώτης ύλης. Να είναι ικανό να αναπτυχθεί χωρίς να επηρεάζεται από τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης των συστατικών, να μην δρουν ανταγωνιστικά με τους άλλους οργανισμούς, να είναι ανθεκτικό στις μολύνσεις.

Η περιεκτικότητα σε λιπαρά στα μικροφύκη έχει εύρος από 4.5% έως 80% κατά βάρος (μετά την ξήρανση). Η περιεκτικότητα λιπαρών συνδέεται απευθείας με την ποσότητα παραγωγής βιοντίζελ, τα λιπαρά των μικροφυκών αποτελούνται από «πολωμένα» λιπίδια και τριγλυκερίδια (TAG) που είναι τα πιο επιθυμητά στην παραγωγή βιοντίζελ. Η ποσότητα και η ποιότητα των λιπιδίων είναι σημαντικό κριτήριο για την παραγωγή βιοντίζελ. Τα TAGs είναι εστέρες που αποτελούνται από γλυκερόλη και τρία λιπαρά οξέα. Τα λιπαρά οξέα αποτελούνται από ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA), μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (MUFA), πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, (PUFA) και κορεσμένα λιπαρά οξέα (SUA). Ο συνδυασμός των μονοακόρεστων και των κορεσμένων επιδρά στην ενεργειακή απόδοση του και στο βαθμό οκτανίων του τελικού προϊόντος. Όμως τα υψηλά ποσοστά θα οδηγήσουν σε προϊόν χωρίς καλές ιδιότητες στο κρύο.

Αντίθετα ποσότητες με υψηλά ποσοστά σε PUFA θα δώσουν υψηλότερο βαθμό οξείδωσης με καλύτερη συμπεριφορά στο κρύο. Η υψηλή περιεκτικότητα σε FFA προκαλεί σαπωνοποίηση κατά τη διάρκεια της μετεστεροποίησης των ελαίων με αποτέλεσμα παραγωγή βιοντίζελ χαμηλής απόδοσης.

Όλα τα παραπάνω συντελούν στην μείωση του κόστους του εγχειρήματος καθώς δεν απαιτείται ειδική φροντίδα της καλλιέργειας. Τέλος το κόστος μειώνεται επίσης από το μέγεθος και τη μορφολογία των κυττάρων, είναι πιο εύκολη και γρήγορη η διαδικασία της συγκομιδής όταν το τελικό προϊόν έχει μεγάλο μέγεθος ή νηματοειδή μορφή ή μορφή αποικίας.

Βέβαια όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά δεν μπορούν να καλύπτονται από ένα τύπο μικροφυκών. Η λύση είναι η επιλογή εκείνων που μπορούν να συνυπάρξουν, με προτεραιότητα τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, έπειτα την υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια, γρήγορο ρυθμό ανάπτυξης, μεγάλη απόδοση. Συνήθως απουσία αζώτου και πυριτίου παρατηρείται η αύξηση στην περιεκτικότητα των λιπιδίων, ταυτόχρονα ο ρυθμός ανάπτυξης μειώνεται οπότε μειώνεται και η απόδοση. Ακόμη παρατηρήθηκε ότι ο ρυθμός ανάπτυξης με

την περιεκτικότητα σε λιπίδια είναι αντιστρόφως ανάλογα. Οπότε είναι αρκετά δύσκολο να ικανοποιηθούν όλα τα χαρακτηριστικά σε ένα είδος.

Η μεγάλη περιεκτικότητα λιπιδίων για παραγωγή βιοντίζελ δεν είναι κατάλληλη πάντα μέθοδος επιλογής μικροφυκών. Το τελικό προϊόν θα πρέπει να μην οξειδώνεται εύκολα το οποίο αυτό έχει να κάνει με τη σύνθεση των λιπαρών οξέων. Συμπερασματικά η επιλογή μικροφυκών για παραγωγή βιοντίζελ πρέπει να γίνεται με βάση τις παραμέτρους το μήκος της αλυσίδας άνθρακα, αναλογία ακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα.

**Πίνακας 12 περιεκτικότητας λιπιδίων και ελεύθερων λιπαρών οξέων σε διάφορα είδη μικροφυκών ( Talebi et al., 2013; Nascimento et al. 2013; Deshmukh et al., 2019)**

Είδος μικροφυκών	Περιεκτικότητα % σε λιπίδια
Botryococcus braunii	44.97
Chlorella vulgaris	28.07
Chlamydomonas sp.	15.07
Desmodesmus brasiliensis	17.99
Scenedesmus obliquus	16.73
Botryococcus terribilis	49.00
Coelastrum microporum	20.55
Kirchneriella lunaris	17.30
Chlamydocapsa bacillus	13.52
Pseudokirchneriella subcapitata	28.43
Ankistrodesmus	20.66
Fusidormis	
Ankistrodesmus falcatus	16.49
Dunaliella sp.	22
Chlorella emersonii	18.6
Amphora sp.	24

### 5.3 Διαχωρισμός μικροφυκών

Αφού καλλιεργηθούν τα μικροφύκη πρέπει να διαχωριστούν, κάτι που επιτυγχάνεται με διάφορες μεθόδους. Η συγκέντρωση των μικροφυκών στον όγκο του υγρού είναι από 0,3 έως 0,5 g/L, αυτή η χαμηλή αναλογία πρέπει να φτάσει τα 300–400 g/L σε επίπεδο μαζικής παραγωγής (Coward et. al., 2013). Υπολογίζεται πως το κόστος διαχωρισμού αντιστοιχεί με το 20–30% του συνολικού κόστους παραγωγής (Molina Grima et.al, 200). Οι συμβατικές

μέθοδοι διαχωρισμού των μικροφυκών είναι η κροκίδωση, καθίζηση βαρύτητας ή φυγοκέντρωση και διήθηση. Για καλύτερα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν και συνδυαστικά ανάλογα με την περίπτωση και τα χαρακτηριστικά κάθε καλλιέργειας. Συνήθως καλλιέργειες με μικροφύκη που αναπτύσσονται γρήγορα έχουν μικρό μέγεθος και παρουσιάζουν δυσκολία στην συγκομιδή. Το φιλτράρισμα είναι η πιο κοινή μέθοδος με ανεβασμένο κόστος διότι η αντικατάσταση του εξοπλισμού είναι ακριβή (Coward al. et., 2003). Η φυγοκέντρωση είναι η πιο γρήγορη διαδικασία, μειονεκτεί όμως στο ενεργειακό κομμάτι καθώς η κατανάλωση είναι αρκετά υψηλή 3000 kWh/t (Coward al. et., 2003). Η κροκίδωση δεν είναι συμφέρουσα σε βιομηχανικό επίπεδο. Η καθίζηση απαιτεί μεγάλη έκταση γης ώστε να τοποθετηθούν οι λίμνες και οι δεξαμενές ανεβάζοντας το κόστος της διαδικασίας. Η μέθοδος που θα επιλεγεί σε κάθε περίπτωση πρέπει να είναι ενεργειακά αποδοτική και οικονομικά όχι απαγορευτική.

### 5.3.1 Κροκίδωση

Η κροκίδωση γίνεται στο αρχικό στάδιο για τον διαχωρισμό, σκοπός της διαδικασίας είναι να δημιουργηθούν συστάδες μικροφυκών που με αυτό το μέγεθος θα μπορέσουν να διαχωριστούν στη συνέχεια ευκολότερα. Η επιφάνεια των φυτών φορτίζεται αρνητικά με αποτέλεσμα να απωθούνται μεταξύ τους οπότε δεν δημιουργούνται συσσωματώματα. Το αρνητικό φορτίο εξουδετερώνεται με κροκιδωτικά, που είναι το θειικό αργίλιο  $[Al_2(SO_4)_3]$ , ο χλωριούχος σίδηρος ( $FeCl_3$ ), ο θειικός σίδηρος  $[Fe_2(SO_4)_3]$ , χωρίς να αλλοιώνουν τα φύκη.

Ακόμη σαν κροκιδωτικά χρησιμοποιούνται και κάποια πολυμερή που επιλέγονται ανάλογα με το φορτίο των μικροφυκών συνυπολογίζοντας το pH και την συγκέντρωση της βιομάζας. Τα δεδομένα που χαρακτηρίζουν ένα κροκιδωτικό αποτελεσματικό είναι το μοριακό βάρος, το φορτίο και η συγκέντρωση.

Ενώ τα κροκιδωτικά είναι οικονομική λύση, ωστόσο η χρήση τους έχει αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον, οι αρνητικές επιπτώσεις αντιμετωπίζονται μέσω υπερήχων ή τη μέθοδο της αυτοκροκίδωσης. Οι υπερήχοι αν ακολουθούνται από καθίζηση μπορεί να είναι μέθοδος διαχωρισμού. Η αυτοκροκίδωση μπορεί να επιτευχθεί όταν η καλλιέργεια δεν τροφοδοτείται με  $CO_2$ , τότε αυξάνεται το pH και το διάλυμα οδηγείται σε κορεσμό όσον αφορά τα ιόντα ασβεστίου και φωσφορικά.

Η κροκίδωση μέσω μικροβίων είναι εναλλακτική μέθοδος, σύμφωνα με την οποία βακτήρια παράγουν εξωκυτταρικές ενώσεις πολυμερών που λειτουργούν ως βιο- κροκιδωτικά. Επειδή η μέθοδος μετά τον διαχωρισμό περιλαμβάνει και την εξαγωγή των βιο-κροκιδωτικών η εφαρμογή της έχει μεγάλο κόστος και χαρακτηρίζεται ως μη επικερδής. Με σκοπό να

υπάρξει πιθανότητα να γίνει η μέθοδος επικερδής μελετήθηκε η περίπτωση κροκίδωσης από φυσικές αποικίες οργανισμών που παράγουν γλυκόζη, οξικό άλας ή γλυκερόλη. Στην παραπάνω περίπτωση τα μικροφύκη διατηρούν την ακεραιότητά τους. Στο μέλλον η κροκίδωση ως μέθοδος παραγωγής μπορεί να είναι μια βελτιωμένη μέθοδος διαχωρισμού.

### 5.3.2 Καθίζηση

Ο διαχωρισμός μέσω βαρυτικής καθίζησης είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος, όμως μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε μήκη μεγαλύτερα από 70 χιλιοστών. Μέσω φυγοκέντρωσης διαχωρίζονται τα μικροφύκη από το μέσο που καλλιεργούνται, και με τη χρήση φίλτρων αποστραγγίζονται τα υγρά. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι η μεγάλη κατανάλωση ενέργειας που οδηγεί σε υψηλό κόστος του εξοπλισμού.

### 5.3.3 Διήθηση

Η διήθηση είναι τρόπος διαχωρισμού του υγρού από τα μικροφύκη με τη χρήση φίλτρου ή μεμβράνης. Για να συμβεί η διαδικασία πρέπει να ασκηθεί δύναμη και στις δύο πλευρές όπως βαρύτητα, πίεση, φυγόκεντρος δύναμη ή κενό.

Άλλες μέθοδοι διαχωρισμού μικροφυκών είναι η επίπλευση σύμφωνα με την οποία τα κύτταρα των μικροφυκών είναι μέσα σε φυσαλίδες και διασπείρονται στο υγρό. Όταν η περιεκτικότητα των λιπιδίων αυξηθεί οι φυσαλίδες επιπλέουν. Αν και θεωρείται τρόπος διαχωρισμού δεν είναι βιώσιμη τόσο από τεχνικής όσο και από οικονομικής άποψης.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει όταν τα μικροφύκη χρησιμοποιούνται για τροφή τους τιλάπια (Ο. Mosambicus). Το είδος αυτό δεν αφαιρεί τα συστατικά των μικροφυκών αλλά αυτά συγκεντρώνονται στα περιττώματά τους.

### 5.3.4 Ξήρανση

Το επόμενο βήμα μετά την συγκομιδή είναι η ξήρανση, δηλαδή η απομάκρυνση της υγρασίας. Όταν το τελικό προϊόν είναι το βιοντίζελ τότε επιλέγεται η ξήρανση ημέρας ή ηλιακή ξήρανση, ξήρανση με ψεκασμό, με στεγνωτήριο τυμπάνου, ξήρανση με χαμηλή πίεση ή ξήρανση σε ρευστοποιημένη κλίνη. Ποιο οικονομική μέθοδος είναι η ξήρανση από τον ήλιο, δεν θεωρείται πολύ πετυχημένη λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε υγρασία. Η χρήση ψεκασμού ανεβάζει πολύ το κόστος, άρα η αξία του τελικού προϊόντος πέφτει, οπότε απορρίπτεται σαν μέθοδος. Οικονομική μέθοδος ξήρανσης είναι αυτή σε ρευστοποιημένη κλίνη, όμως είναι κατάλληλη για μικροφύκη με μικρό ποσοστό υγρασίας. Άλλη μια μέθοδος



που εμφανίζει υψηλό κόστος είναι η λυοφιλοποίηση ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται για μεγάλες ποσότητες, προτιμάται όμως διότι συνεισφέρει στην εξαγωγή λαδιού.

Η θερμοκρασία που γίνεται η ξήρανση συνδέεται με την περιεκτικότητα των λιπαρών των ελαίων και του ρυθμού παραγωγής βιομάζας. Έπειτα η ξηρή πλέον βιομάζα σπάει και τα κύτταρα εκχυλίζουν λάδι. Η εκχύλιση μπορεί να επιτευχθεί μηχανικά, χημικά ή φυσικά, με πιο απλό τρόπο την σύνθλιψη με πρέσα. Το ποσοστό εξαγωγής είναι  $\frac{3}{4}$  του λαδιού που περιέχεται στα κύτταρα.

Η εκχύλιση ακόμη μπορεί να επιτευχθεί με χρήση διαλύτη μετά την διαδικασία λυοφιλοποίησης. Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι χλωροφόρμιο, εξάνιο, αιθανόλη ή μίγμα εξανίου– αιθανόλης. Ο ρυθμός εκχύλισης των λιπαρών οξέων μπορεί να φτάσει και το 98%. Βέβαια η αιθανόλη μπορεί να προκαλέσει εξαγωγή σακχάρων, αμινοξέων κ.α. κάτι που δεν πρέπει να συμβαίνει (L.C. Meher, et.al, 2006). Από την άλλη το εξάνιο εξάγει ουδέτερα κλάσματα λιπιδίων. Το αποτελεσματικότερο όλων είναι το χλωροφόρμιο όμως θεωρείται τοξικό (Halim Ronald et al., 2010). Πιο αποτελεσματική μέθοδος εκχύλισης χαρακτηρίζεται η συνεχή εκχύλιση μέσω διήθησης και ανακύκλωση με διαλύτη.(Gouveina Luisa et.al, 2009)

Οι μέθοδοι διαχωρισμού κατηγοριοποιούνται σε αυτές που βασίζονται στο κόστος και σε αυτές που βασίζονται στην απόδοση (Linkon I et. al., 2008). Οι πρώτες χρησιμοποιούν μια διάταξη με τις πιο οικονομικές να δίνουν τα λιγότερο επιθυμητά αποτελέσματα ενώ οι περισσότεροι ακριβές δίνουν καλύτερη ποιότητα. Η επιλογή γίνεται ανάμεσα στα επιθυμητά αποτελέσματα και το διαθέσιμο κεφάλαιο (Keely JW. et. al., 2005). Από την άλλη πλευρά οι μέθοδοι που βασίζονται στην απόδοση επιλέγονται με βάση την πληρότητα σε πολλά κριτήρια.

## 5.4 Χημική σύσταση των μικροφυκών

Τα μικροφύκη μετά την ξήρανσή τους αποτελούνται από πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια και νουκλεϊκό οξύ. Στον πίνακα που ακολουθεί εμφανίζεται η σύσταση ορισμένων.

Πίνακας 13 βιομηχανική σύσταση μικροφυκών

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

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

Η σύσταση παρουσιάζει διαφορές ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης των φυκών, και τις συνθήκες αν είναι αυτότροφες ή ετερότροφες. Σε έρευνα των Xiaoling Miao και Qingyu Wu φαίνεται η διαφορετική βιομηχανική σύσταση που παρουσιάζει το είδος *Chlorella protothecoides* ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης.

Πίνακας 14 βιομηχανική σύσταση του είδους *Chlorella protothecoides* σε διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης

Συστατικό %	Αυτότροφη καλλιέργεια	Ετερότροφη καλλιέργεια
Πρωτεΐνες	52.64 ± 0.26	10.28 ± 0.10
Υδατάνθρακες	10.62 ± 0.14	15.43 ± 0.17

Λιπίδια	14.57 ± 0.16	55.20 ± 0.28

Όταν τα φύκια αναπτυχθούν σε άριστες συνθήκες για αυτά τότε τα λιπίδια που περιέχουν είναι κυρίως γλυκολιπίδια, που αποτελούν δομικά στοιχεία της μεμβράνης τους, που προέρχονται από την εστεροποίηση των λιπαρών οξέων. Έχουν μέσο μήκος αλυσίδας άνθρακα C10 – C14, μακρά αλυσίδα θεωρείται από 16–18 άνθρακες και πολύ μεγάλη μεγαλύτερη των 20. Όταν οι συνθήκες δεν είναι οι ιδανικές συντίθενται ουδέτερα λιπίδια κυρίως τριγλυκερίδια που λειτουργούν ως αποθήκες άνθρακα και ενέργειας (Pardo Y. Et. al., 2010).

### 5.5 Περιεκτικότητα φυκών σε λιπίδια

Η περιεκτικότητα των μικροφυκών σε λιπίδια ποικίλει ανάλογα τον τύπο των φυκών. Ο πίνακας που ακολουθεί παραθέτει το εύρος της περιεκτικότητας σε λιπίδια για διάφορα μικροφύκη που έχουν μελετηθεί σε διάφορες συνθήκες. Αναγράφονται η μέγιστη και η ελάχιστη περιεκτικότητα λιπιδίων, η παραγωγικότητα η οποία μετράτε σε mg/L/ ημέρα.

Πίνακας 15 περιεκτικότητα σε έλαια και παραγωγικότητα σε λιπίδια μικροφυκών

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

Από τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον πίνακα 15, πιο παραγωγικά στελέχη εμφανίζονται να είναι το *Nannochloropsis oculata*, το *Neochloris oleoabundans* και το *Dunaliella salina*.

### 5.5.1 Λιπίδια

Τα λιπαρά οξέα που δημιουργούνται από τα μικροφύκη είναι χρήσιμα για τον σχηματισμό των λιπιδίων. Το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας ποικίλλει με μέσο αριθμό ατόμων άνθρακα τα 16–18. Τα λιπαρά οξέα μπορεί να είναι ακόρεστα, με το διπλό δεσμό να εμφανίζεται σε διάφορες θέσεις αλλά και κορεσμένα (Janaun Jidon, et.al., 2010).

Τα λιπαρά οξέα μπορεί να αποτελούνται από διάφορους αριθμούς ατόμων άνθρακα με ή χωρίς διπλούς δεσμούς. Χαρακτηρίζονται από Cx:y όπου x είναι ο αριθμός των ατόμων άνθρακα της ανθρακικής αλυσίδας και y το πλήθος των διπλών δεσμών στην ανθρακική αλυσίδα.

Πίνακας 3 Σύνθεση λιπαρών οξέων που προέρχονται από μικροφύκη

Λιπαρά οξέα	Μήκος ανθρακικής αλυσίδας: αριθμός διπλών	Σύσταση ελαίων (w/total lipid)
-------------	---	--------------------------------

	δεσμών	
Παλμιτικό οξύ	C16: 0	12–21
Παλμιτελαϊκό οξύ	C16:1	55–57
Στεατικό οξύ	C18:0	1–2
Ελαιικό οξύ	C18:1	58–60
Λινελαϊκό οξύ	C18:2	4–20
Λινολενικό οξύ	C18:3	14–30

Από τα δεδομένα του πίνακα παρατηρείται πως τα λιπαρά οξέα είναι κυρίως ακόρεστα και μικρότερη αναλογία παρουσιάζουν το στεατικό οξύ με περιεκτικότητα 1–2 και το Λινελαϊκό οξύ με περιεκτικότητα 4–20.

Κάθε στέλεχος μικροφυκών αποτελείται από διαφορετικά λιπαρά οξέα που αποτελούν τα έλαια. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι τύποι λιπαρών οξέων με το υψηλότερο ποσοστό σε κάθε στέλεχος.

Μικροφύκη – Ομάδες	Λιπαρά οξέα
Bacillariophyceae	C16 :0, C16:1
Chlorophyceae	C16 :0, C18 :1
Euglenophyceae	C16 :0, C18 :1
Chrysophyceae	C16 :0, C16:1 ,C18 :1
Cryptophyceae	C16 :0, C20 :1
Eustigmatophyceae	C16 :0, C18 :1
Prasinophyceae	C16 :0, C18 :1
Dinophyceae	C16 :0
Prymnesiophyceae	C16 :0, C16:1 ,C18 :1
Rhodophyceae	C16 :0

Xanthophyceae	C14:0,C16 :0, C16 :1
Cyanobacteria	C16 :0, C16:1,C18 :1

Το βιοντίζελ που παράγεται επηρεάζονται τα χαρακτηριστικά του από τους τύπους των λιπαρών οξέων που περιέχονται στα έλαια. Μεγάλο ποσοστό κορεσμένων λιπαρών οξέων με μεγάλες ανθρακικές αλυσίδες οδηγεί σε αύξηση του σημείου νέφωσης και του σημείου ροής το βιοντίζελ. Οι υψηλές τιμές αυτών προκαλούν προβλήματα στους κινητήρες σε χαμηλές θερμοκρασίες που επικρατούν σε κάποιες περιοχές. Αντίθετα οξέα με μεγάλο βαθμό κορεσμού δεν εμφανίζουν καθόλου αντιοξειδωτικές ιδιότητες με αποτέλεσμα την δυσκολία της λειτουργίας του κινητήρα (Sarmidi Amin et. al., 2009). Σύμφωνα με τα παραπάνω κρίνεται πολύ χρήσιμο να είναι γνωστή η σύνθεση λιπαρών οξέων εκ των προτέρων.

Ακόμη η περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα παρουσιάζει διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια των διάφορων φάσεων ανάπτυξης στα μικροφύκη : *Alexandrium catenella*, *Alexandrium minutum*, *Alexandrium andersoni*, *Tetraselmis suecica*, *Karlodinium veneficum*, *Heterosigma akashiwo* (Claudio Fuentes– Grunewald et. al.2009)

Πίνακας 4 Μεταβολές λιπιδιακού περιεχομένου σε διάφορες φάσεις των μικροφυκών

Μικροφύκος	Μεταβολές λιπιδιακού περιεχομένου
A.Catenella	Μείωση κατά 7% από τη φάση προσαρμογής στη φάση εκθετικής ανάπτυξης Αύξηση κατά 48% από τη φάση της εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας
A. minutum	Αύξηση κατά 97% από την φάση προσαρμογής στη φάση εκθετικής ανάπτυξης
A.andersoni	Μείωση κατά 27% από τη φάση εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας
K. veneficum	Αύξηση κατά 40% από τη φάση προσαρμογής στη φάση εκθετικής ανάπτυξης Αύξηση κατά 97% από τη φάση εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας
H. akashiwo	Μείωση κατά 43% από τη φάση της εκθετικής ανάπτυξης στη φάση στασιμότητας
T. suecica	Μικρή μείωση κατά 7.8% στη φάση στασιμότητας.

### 5.5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή λιπών και ελαίων των μικροφυκών

Τα μικροφύκη που είναι ιδανικότερα να χρησιμοποιηθούν για παραγωγή βιοντίζελ είναι αυτά που έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε λιπίδια ώστε να είναι οικονομικά βιώσιμο το εγχείρημα. Φαίνεται πως διάφοροι είναι οι παράγοντες που επιδρούν στην παραγωγικότητα των φυκών, αφορά τόσο το στέλεχος όσο και τα στάδια ανάπτυξής του. Παρακάτω παρατίθενται μεταβλητές για κάποια είδη μικροφυκών ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγικότητα τους.

#### *Chlorella sorokiniana*

Οι ερευνητές Hongjin Qiao και Guangce Wang μελέτησαν την συσσώρευση λιπιδίων στο στέλεχος *Sorokiniana Chlorella CXNN01* και τη σχέση που έχει με τις πηγές άνθρακα κατά την ανάπτυξη του. Διαπιστώθηκε πως σε αυτοτροφικά καλλιεργημένα κύτταρα η περιεκτικότητα των λιπιδίων ήταν 4.27% του ξηρού βάρους της βιομάζας ενώ σε ετεροτροφικά καλλιεργημένα κύτταρα ήταν από 16,4% και έφτανε έως 28,7%. Οι ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως πηγές άνθρακα στις ετεροτροφικές καλλιέργειες είναι η γλυκόζη, φρουκτόζη και το οξικό νάτριο. Στο πίνακα 9 φαίνεται η επίδραση των πηγών άνθρακα και στην περιεκτικότητα λιπιδίων στην αρχή της περιόδου στασιμότητας των καλλιεργειών.

Πίνακας 5 Επίδραση πηγών άνθρακα στη συγκέντρωση λιπιδίων

Πηγή άνθρακα	Βιομάζα g/L	Περιεχόμενο σε λιπίδια g/g	Περιεχόμενο σε λιπίδια g/L
Φρουκτόζη	0.32 ± 0.035	0.614 ± 0.013	0.053 ± 0.009
Γλυκόζη	1.147 ± 0.146	0.237 ± 0.026	0.272 ± 0.041
Οξικό νάτριο	1.007 ± 0.040	0.287 ± 0.018	0.288 ± 0.008

Όταν τα κύτταρα έχουν σαν πηγή άνθρακα γλυκόζη ή οξικό νάτριο αυξάνονται γρηγορότερα από όταν χρησιμοποιείται φρουκτόζη. Ακόμη το οξικό νάτριο προκαλεί υψηλότερη συγκέντρωση βιομάζας από την φρουκτόζη. Όταν αλλάζει η πηγή άνθρακα η διαφορά στην περιεκτικότητα οφείλεται στο γεγονός ότι καθένα ακολουθεί διαφορετική μεταβολική οδό. Η γλυκόζη μετατρέπεται σε 6- φωσφορική γλυκόζη, η οποία συμμετέχει στο κύκλο γλυκόλυσης και φωσφορικής πεντόζης. Το οξικό νάτριο με δομή δύο ατόμων άνθρακα απορροφάται και

παράγεται ακετυλο–ΟοΑ, που στη συνέχεια συμμετέχει στη παραγωγή λιπαρών οξέων. Τέλος η φρουκτόζη δεν μπορεί να μετατραπεί σε γλυκόζη στα μικροφύκη.

Συνοψίζοντας από τις πηγές άνθρακα το χαμηλότερο κόστος το έχει η γλυκόζη και μπορεί να βρεθεί από πολλές πηγές, όπως τα λύματα. Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μελέτης της επίδρασης της γλυκόζης στην ανάπτυξη των φυκών και στη συσσώρευση λιπιδίων.

Πίνακας 6 επίδραση γλυκόζης στη συσσώρευση λιπιδίων σε *Chlorella sorokiniana*

Συγκέντρωση γλυκόζης (mmol/L)	Βιομάζα (g/L)	Περιεχόμενο σε λιπίδια g/g	Περιεχόμενο σε λιπίδια g/L	Ουδέτερα λιπίδια (Rf per 10 <sup>6</sup> cells)
0,2	0,085 ± 0,006	0,187 ± 0,027	0,016 ± 0,003	7,2 ± 0,8
2	0,170 ± 0,007	0,250 ± 0,090	0,042 ± 0,014	4,1 ± 0,1
20	1,602 ± 0,054	0,105 ± 0,019	0,168 ± 0,025	20,4 ± 1,4
200	0,801 ± 0,01	0,236 ± 0,064	0,189 ± 0,048	2,5 ± 0,1

Rf : relative fluorescence : σχετικός φθορισμός

Με το τέλος της εκθετικής φάσης ανάπτυξης η καλύτερη συγκέντρωση γλυκόζης και του ουδέτερου λιπιδίου είναι 20 mmol/L, η συγκέντρωση των λιπιδίων είναι μικρότερη όταν η συγκέντρωση γλυκόζης είναι 200 mmol/L. Είναι φανερό πως η υψηλή περιεκτικότητα γλυκόζης αναστέλλει την συσσώρευση λιπιδίων και ανάπτυξη κυττάρων, ενώ διευκολύνει την παραγωγή άλλων λιπιδίων. Στο αρχικό τμήμα κατά τη φάση υστέρησης σημειώθηκε μεγάλη περιεκτικότητα σε λιπίδια με τη γλυκόζη 20 mmol/L. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η καλύτερη συγκέντρωση γλυκόζης για την παραγωγή λιπιδίων είναι τα 20 mmol/L και καταλληλότερη χρονική στιγμή συγκομιδής των μικροφυκών με στόχο την παραγωγή βιοντίζελ το αρχικό στάδιο της εκθετικής φάσης (Raehtz Kevin al et.,2009).

*Chlorella protothecoides*



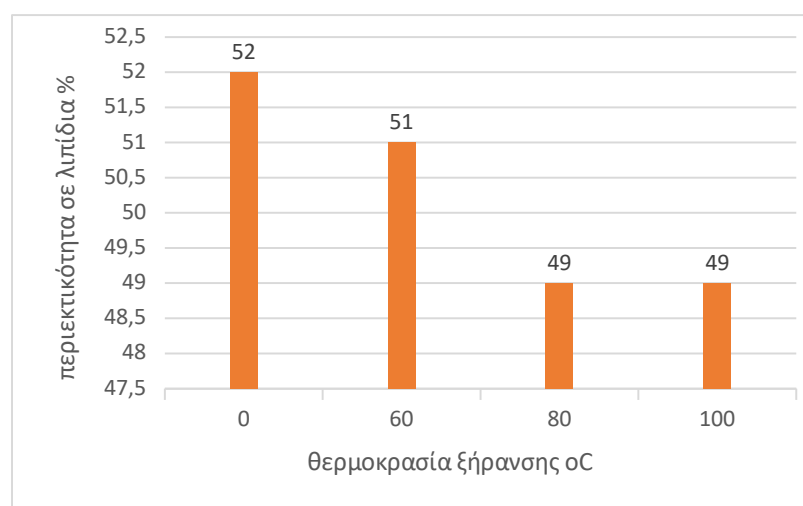
Οι ετεροτροφικές και μικροτροφικές καλλιέργειες αυτού του στελέχους έχουν σημειώσει καλύτερα αποτελέσματα από τα φωτοτροφικά φυτά. Συμβαίνει διότι επιτυγχάνεται υψηλή αναλογία άνθρακα προς άζωτο προωθώντας με αυτόν τον τρόπο την συσσώρευση λιπιδίων.

Το συγκεκριμένο στέλεχος έχει μελετηθεί από πολλούς ερευνητές με διάφορες πηγές άνθρακα όπως γλυκόζη οξικό νάτριο, υδρόλυση καλαμποκιού, γλυκό σόργο ζύμη, κασάβα και γλυκερόλη. Η γλυκόζη είναι η πιο συχνή επιλογή καθώς είναι ικανοποιητικά τα αποτελέσματα της. Άλλοι δύο παράγοντες που βελτιώνουν την περιεκτικότητα λιπιδίων είναι η έλλειψη αζώτου και το φως υψηλής έντασης.

### *Chlorella Vulgaris*

Ένα ακόμη στέλεχος που μελετήθηκε είναι το *Chlorella Vulgaris* που καλλιεργήθηκε σε γλυκό νερό. Οι παράμετροι που κατέχουν σημαντικό ρόλο στην σύνθεση των λιπιδίων είναι η συγκέντρωση του αζώτου, του άνθρακα και του μέσου καλλιέργειας, ο χρόνος που συλλέγονται τα μικροφύκη και η μέθοδος εκχύλισης των λιπιδίων.

Κατά την διαδικασία ξήρανσης η θερμοκρασία επηρεάζει την σύνθεση των λιπιδίων και την περιεκτικότητα των κυττάρων σε αυτά, όπως φαίνονται στο επόμενο διάγραμμα σε θερμοκρασία ξήρανσης 0°C η περιεκτικότητα σε λιπίδια είχε την μέγιστη τιμή ενώ όσο η θερμοκρασία αυξανόταν η περιεκτικότητα μειώθηκε (Εικόνα 11), (Xin Li et. al., 2010).



Εικόνα 2. Επίδραση της θερμοκρασίας στην περιεκτικότητα λιπιδίων

Πιο συγκεκριμένα σύμφωνα με την ίδια πηγή η θερμοκρασία επιδρά στο λιπιδιακό περιεχόμενο των κυττάρων του μικροφυκού (Πίνακας 20).

Πίνακας 20 επίδραση θερμοκρασίας ζήρασης στο λιπιδιακό περιεχόμενο των κυττάρων του *Chlorella Vulgaris*

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

Από τα δεδομένα σημειώνεται πως η ζήραση στους 0 °C κρατά αναλλοίωτη την αρχική σύνθεση των λιπιδίων, ενώ με την αύξηση της θερμοκρασίας η περιεκτικότητα των τριγλυκεριδίων ελαττώνεται. Ακόμη η ίδια διαδικασία στους 60 °C δεν θα επηρεάσει τη σύνθεση των λιπιδίων αλλά θα μειώσει την περιεκτικότητα των λιπιδίων στα κύτταρα.

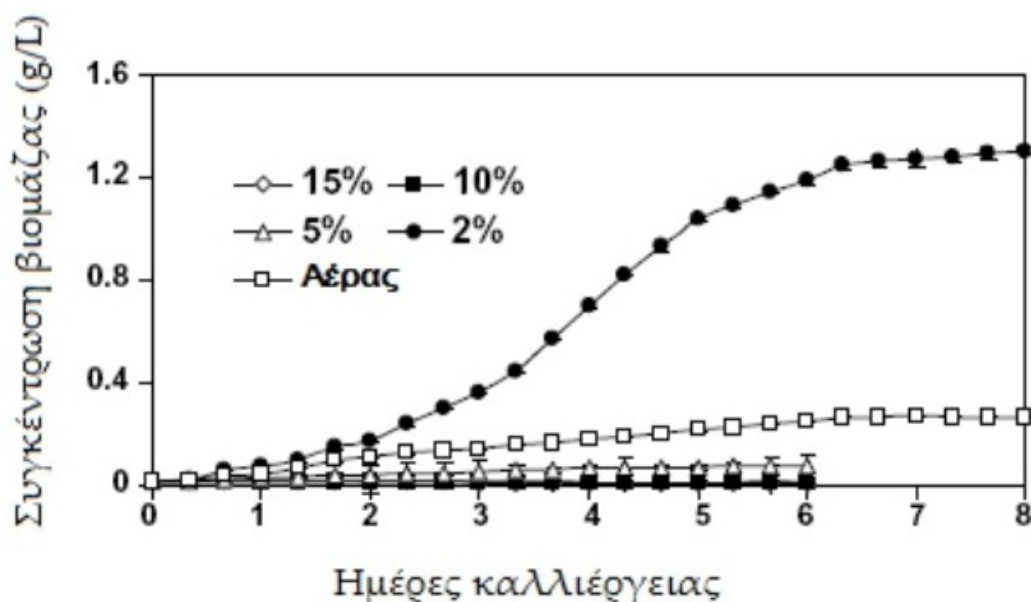
Όταν υπήρχε έλλειψη αζώτου στην καλλιέργεια η περιεκτικότητα σε λιπίδια αυξήθηκε, η αύξηση έγινε ακόμη μεγαλύτερη όταν η στέρηση αζώτου διήρκεσε 7 –17 ημέρες. Θετικά ήταν τα αποτελέσματα και στην σύνθεση λιπιδίων από FFA ελεύθερα λιπαρά οξέα σε τριγλυκερίδια. Ταυτόχρονα η παραπάνω κατάσταση επιβραδύνει την ανάπτυξη της καλλιέργειας επομένως πρέπει να βρεθεί το κατάλληλο χρονικό διάστημα για την συλλογή για να επιτευχθούν οι μέγιστες δυνατές τιμές της περιεκτικότητας.

Σημειώνεται πως η αύξηση του διοξειδίου του άνθρακα CO<sub>2</sub> αυξάνει την παραγωγή λιπιδίων. Με ρυθμό ροής CO<sub>2</sub> 0–20 mL /min η απόδοση σε έλλειψη αζώτου είναι υψηλότερη από αυτήν της γραμμικής φάσης με κανονικές συνθήκες. Όταν ο χρόνος επώασης μειωθεί, υπό έλλειψη αζώτου και υψηλή συγκέντρωση CO<sub>2</sub>, επιτυγχάνεται υψηλή παραγωγή λιπιδίων και υψηλή συγκέντρωση τους (Xin Li et. al., 2010).

Συνοψίζοντας μελέτες έδειξαν πως η παραγωγή λιπιδίων από *Chlorella vulgaris* επιτεύχθηκε σε μικτότροφο ανάπτυξη. Ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιήθηκε γλυκερόλη ή γλυκόζη σε συγκέντρωση 1%. Όταν η συγκέντρωση της γλυκερόλης είναι 2% αυξάνει την παραγωγικότητα και το περιεχόμενο σε λιπίδια, ενώ επιπλέον αύξηση των πηγών άνθρακα δρα ανασταλτικά στην παραγωγή λιπιδίων (Liu Jin et. al., 2010).

*Nannochloropsis sp.*

Ερευνητές μελέτησαν της επίδραση της συγκέντρωσης του CO<sub>2</sub> στην ανάπτυξη και στη συσσώρευση λιπιδίων στο στέλεχος *Nannochloropsis oculata* σε ημισυνεχή καλλιέργεια. Το διάγραμμα παρακάτω αναπαριστά την συγκέντρωση της βιομάζας και τις μεταβολές της σε σχέση με το χρόνο υπό διαφορετικές συγκεντρώσεις διοξειδίου του άνθρακα στο περιβάλλον της καλλιέργειας.



Εικόνα 3 συγκέντρωση βιομάζας συνάρτηση των ημερών και των συγκεντρώσεων του CO<sub>2</sub>.

Όταν η παρουσία CO<sub>2</sub> είναι 2% σημειώνεται υψηλότερη συγκέντρωση βιομάζας. Επιπλέον οι υψηλότερες τιμές αναστέλλουν την ανάπτυξη των μικροφυκών. Αρχικά στο στάδιο προσαρμογής των φυκών στις συνθήκες του περιβάλλοντος όταν αυτές έχουν χαμηλά ποσοστά CO<sub>2</sub> προωθείται η ικανότητά τους να αναπτύσσονται σε ημι συνεχείς καλλιέργειες με υψηλή περιεκτικότητα σε CO<sub>2</sub>.

Τα κύτταρα του μικροφύκου περιέχουν λιπίδια ανά τις διάφορες φάσεις της ανάπτυξής τους ως εξής :

Φάση εκθετικής ανάπτυξης	30,8%
Πρώιμη φάση στασιμότητας	39,7%
Στάσιμη φάση	50,4 %

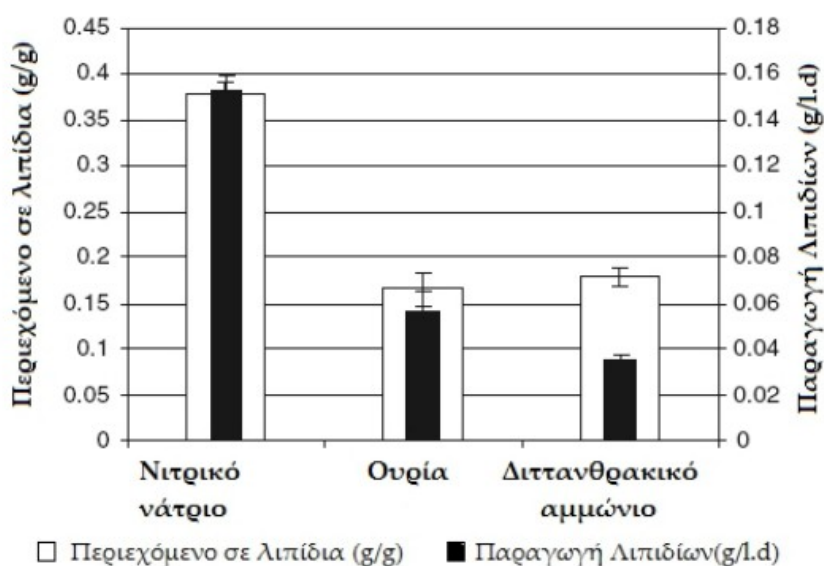
Όταν η περιεκτικότητα των λιπιδίων αυξήθηκε στη φάση της συνεχούς ανάπτυξης η περιεκτικότητα σε άζωτο του μέσου μειώθηκε. Ακόμη καθημερινά γίνεται αντικατάσταση του μισού μέσου καλλιέργειας με νέο, τότε παρατηρήθηκε αύξηση της παραγωγής βιομάζας και λιπιδίων.

Από τις μετρήσεις προκύπτει πως η βέλτιστη παραγωγή λιπιδίων από *N. oculata* NCTU-3 επιτυγχάνεται σε ημισυνεχή καλλιέργεια με καθημερινή αντικατάσταση αέρα με περιεκτικότητα σε διοξείδιο του άνθρακα 2%. (Shimada Yuji, et. al).

Οι ερευνητές Thi Thai Yen Doan και Jeffrey Philip Obbard έδειξαν πως τα παλαιότερα κύτταρα του *Nannochloropsis* αποθηκεύουν ενέργεια με μορφή τριγλυκεριδίων. Ακόμη εμφανίζονται διαφορές στην συσσώρευση πολικών και ουδέτερων λιπιδίων κατά την καλλιέργεια. Ειδικότερα κατά την εκθετική φάση υπάρχει μεγαλύτερη συσσώρευση πολικών λιπιδίων ενώ η συγκέντρωση των ουδέτερων λιπιδίων αυξάνεται στη στάση στασιμότητας (Doan Thi Thai Yen et. al. 2011).

#### *Neochloris oleoabundans*

Η επιστημονική ομάδα του Li Yanqun (Li Yanwun et al.) ερεύνησε την επίδραση της συγκέντρωσης του αζώτου στην ανάπτυξη και παραγωγή λιπιδίων του μικροφύκου *Neochloris oleoabundans*. Ως πηγές αζώτου χρησιμοποιήθηκαν η ουρία, νιτρικό νάτριο και το όξινο ανθρακικό αμμώνιο. Με την πρόσθεση νιτρικού νατρίου στο μέσο σημειώθηκε ταχύτερη ανάπτυξη κυττάρων, μεγαλύτερη περιεκτικότητα λιπιδίων και μεγαλύτερη παραγωγικότητα λιπιδίων.

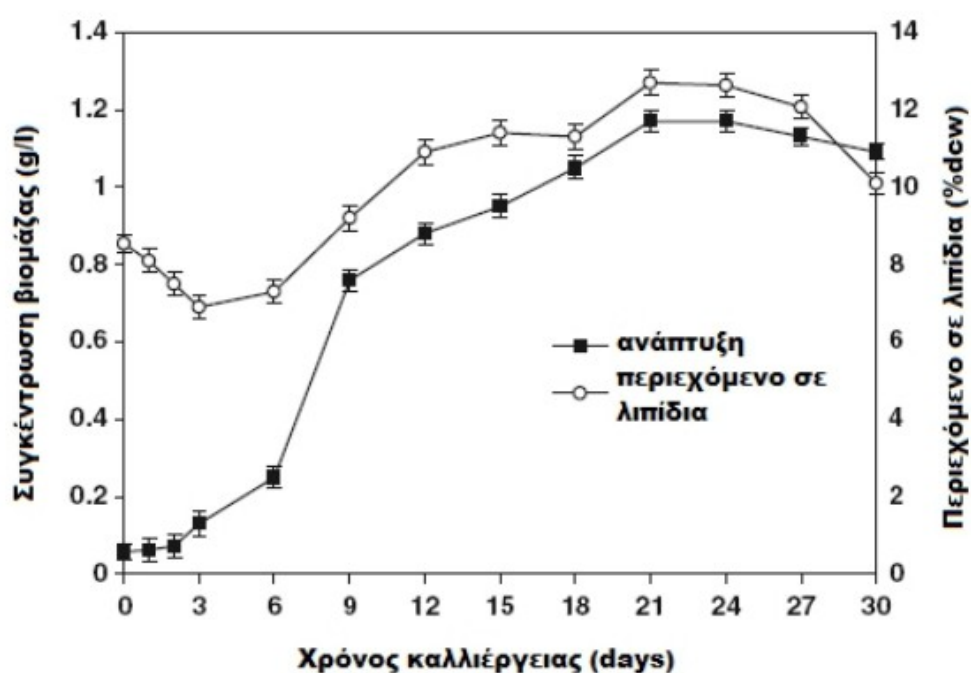


Εικόνα 4 Περιεχόμενο σε λιπίδια και παραγωγή λιπιδίων σε διάφορα θρεπτικά μέσα

Υψηλότερη περιεκτικότητα λιπιδίων 0,40 g/g σημειώθηκε όταν το νιτρικό νάτριο είχε την χαμηλότερη συγκέντρωση 3mM. Όταν το NaNO<sub>3</sub> ήταν στα 5mM η παραγωγή λιπιδίων από τα κύτταρα έφτασε τα 0,34 g/g και ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας ήταν 0,40 g/d. Όταν η συγκέντρωση του NaNO<sub>3</sub> έφτασε τα 10 mM η συγκέντρωση της βιομάζας έγινε 3,2 g/L με ρυθμό παραγωγής 0,63 g/d (Liang Yanna et al, 2009).

*Scendesmous sp.*

Οι Shovon Mandal και Nirupama Mallick έδειξαν πως η συσσώρευση λιπιδίων σχετίζεται με τον χρόνο ανάπτυξης.



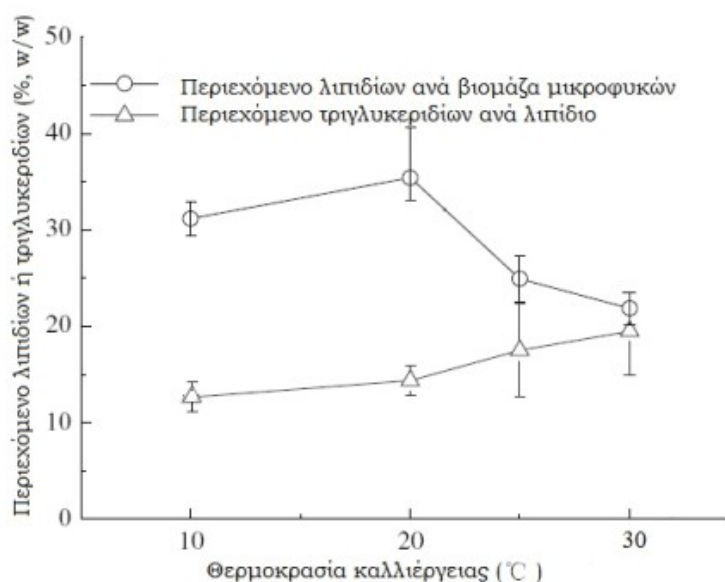
Εικόνα 5 λιπίδια του *S. obliquus* σε σχέση με το χρόνο ανάπτυξης

Από το παραπάνω διάγραμμα (Εικόνα 14) φαίνεται πως μεγαλύτερη συσσώρευση λιπιδίων γίνεται κατά τη φάση στασιμότητας.

Κατά την έλλειψη φωσφόρου και αζώτου ξεκινά η συσσώρευση λιπιδίων ταυτόχρονα όμως μειώνεται η βιομάζα. Σημειώνεται πως η προσθήκη γλυκόζης αυξάνει την παραγωγή βιομάζας, για να πετύχει η προσθήκη πρέπει να είναι τέτοια ώστε η συγκέντρωσή της στο υπόστρωμα να είναι για 10 μέρες 1,5% . Η προσθήκη Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> σε συγκέντρωση 0,6 g/L προκαλεί αύξηση στην περιεκτικότητα λιπιδίων στο 30,4% . Η επιπλέον αύξηση του Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

έχει αρνητικά αποτελέσματα στην καλλιέργεια της βιομάζας (da Silva Teresa Lopes et al. 2009).

Από τους Li Xin et al. μελετήθηκε η σημασία της θερμοκρασίας στη συσσώρευση λιπιδίων στο στέλεχος *Scenedesmus* sp. LX1.



Εικόνα 6 Συσσώρευση λιπιδίων συνάρτηση θερμοκρασίας

Γίνεται ξεκάθαρο από το διάγραμμα πως σε θερμοκρασία 20° C επιτυγχάνεται η μέγιστη περιεκτικότητα λιπιδίων. Μεγαλύτερη αύξηση προκαλεί μείωση των λιπιδίων. Ενώ η πτώση της θερμοκρασίας φέρνει μείωση των τριγλυκεριδίων. Σε θερμοκρασίες μικρότερες των 25°C τα λιπαρά οξέα είναι κυρίως πολυακόρεστα, ενώ σε υψηλές είναι κυρίως κορεσμένα ή μονοακόρεστα (Xin Li et al. 2010).

Από τους ίδιους επιστήμονες σημειώθηκε πως στο ίδιο στέλεχος ο περιορισμός αζώτου ή φωσφόρου αυξάνει τα λιπίδια αλλά μειώνει την παραγωγικότητα της βιομάζας. Τέλος μικρή προσθήκη οξικού αιθυλεστέρα αυξάνει την συσσώρευση τριγλυκεριδίων χωρίς να μειώσει την παραγωγή βιομάζας (Miao Xiaoling et al, 2006).

#### *Tetraselmis suecica*

Η επιστημονική ομάδα των Mojtaba Azma et al. μελέτησε την ετεροτροφική καλλιέργεια του *Tetraselmis suecica* και έδειξε πως τα συστατικά έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των κυττάρων και της παραγωγής λιπιδίων. Σαν πηγές άνθρακα χρησιμοποιούνται η γλυκόζη, το οξικό νάτριο και ως πηγές αζώτου οι πρωτεΐνες, εκχυλίσματα ζύμης, κρέατος και βύνης

ουρία νιτρικό νάτριο και αμμώνιο. Καταλληλότερα έδειξαν να είναι η γλυκόζη, πρωτεΐνη και τα εκχυλίσματα μαγιάς.

### 5.5.3 Συμπεράσματα

Από τα δεδομένα όλων των παραπάνω μελετών σημαντικότερος παράγοντας για την αύξηση της παραγωγής λιπιδίων στα κύτταρα μικροφυκών φαίνεται να είναι ο τρόπος ανάπτυξης της καλλιέργειας. Καλύτερα αποτελέσματα δίνουν στο σύνολό τους οι ετεροτροφικές και οι μικτές μέθοδοι από ότι οι φωτοτροφικές μέθοδοι. Σημαντικό ρόλο κατέχει η πηγή άνθρακα που χρησιμοποιείται και η συγκέντρωσή της που υπάρχει στο θρεπτικό υπόστρωμα, με πιο διαδεδομένη πηγή την γλυκόζη.

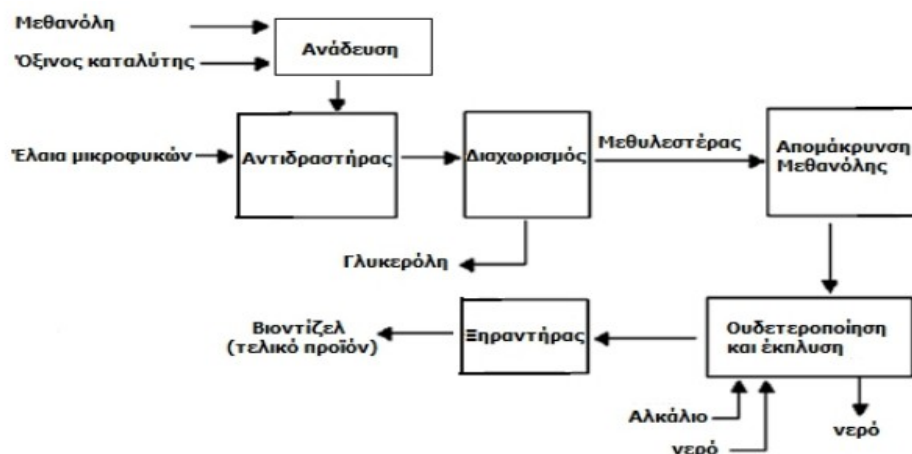
Επιπλέον η μείωση κάποιων ουσιών όπως άζωτο φώσφορο, σίδηρο φαίνεται να ενισχύει την συσσώρευση λιπιδίων όταν έχουν στη διάθεσή τους άνθρακα. Η έλλειψη αζώτου αποδείχθηκε πως αυξάνει την περιεκτικότητα σε λιπίδια επειδή σε αυτές τις συνθήκες τα κύτταρα χρησιμοποιούν λιγότερο άζωτο και δεν μπορούν να συνθέσουν ένζυμα και άλλες κυτταρικές δομές. Έτσι ο διαθέσιμος άνθρακας μετατρέπεται σε λιπίδια ή υδατάνθρακες. Το μη επαρκές φώσφορο οδηγεί στη διάσπαση φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης σε ουδέτερα λιπίδια με αποτέλεσμα την συσσώρευση ουδέτερων λιπιδίων (Raheman H et al., 2004).

Το στάδιο της ανάπτυξης των κυττάρων που εμφανίζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα διαφέρει ανά στέλεχος. Για να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση πρέπει να είναι γνωστή η χρονική περίοδος κατά την οποία κάθε είδος συσσωρεύει περισσότερα λιπίδια.

Άλλοι παράγοντες που κατέχουν ρόλο είναι το pH, η ένταση του φωτός, η θερμοκρασία, ο ρυθμός ανάδευσης και η προσθήκη μικρών ποσοτήτων άλλων χημικών όπως  $C_7H_{12}O_3$  και  $Na_2S_2O_3$ . Τέλος η αύξηση της συσσώρευσης των λιπιδίων δεν επιτυγχάνει πάντα αύξηση της παραγωγικότητας αυτών, επειδή η παραγωγικότητας της βιομάζας και η συσσώρευση δεν είναι αλληλένδετα.

### 5.6 Αντίδραση μετεστεροποίησης

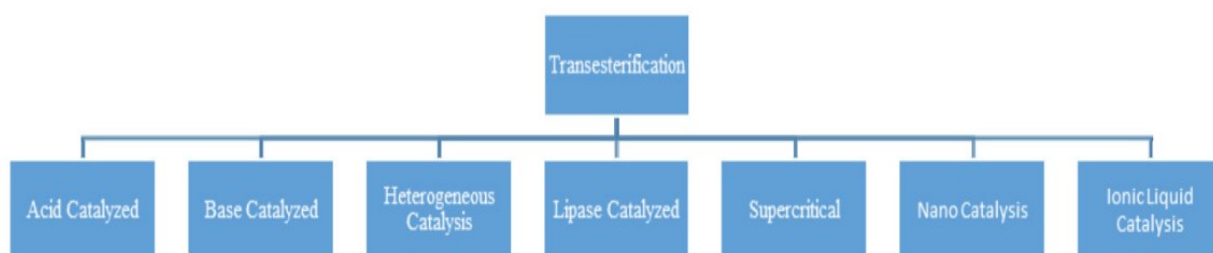
Αφού το λάδι συλλεχθεί από τις καλλιέργειες μικροφυκών αποτελείται από μεγάλες αλυσίδες άνθρακα, που έχουν μεγάλο ιξώδες. Για να είναι κατάλληλο το τελικό προϊόν ως καύσιμο σε κινητήρες πρέπει να υποστεί επεξεργασία μέσω της μετεστεροποίησης (Gallagher Brian J. et al., 2010).



Εικόνα 7 Διάγραμμα ροής παραγωγής βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών

Όπως αναφέρθηκε στην αρχή μετεστεροποίηση είναι μια σειρά διαδοχικών αμφίδρομων αντιδράσεων στις οποίες τα τριγλυκερίδια μετατρέπονται σταδιακά σε διγλυκερίδια, μονογλυκερίδια και τελικά σε γλυκερόλη, με τη βοήθεια καταλυτών. Για να γίνει η μετατροπή ενός μορίου τριγλυκεριδίου σε γλυκερόλη απαιτούνται τρία μόρια αλκοόλης. Λόγω των αμφίδρομων αντιδράσεων όλες οι αντιδράσεις συμβαίνουν με περίσσεια αλκοόλης. Η μεθανόλη χρησιμοποιείται ως αλκοόλη εξαιτίας του μικρού της κόστους και των ιδιοτήτων της (πολική ένωση με την μικρότερη ανθρακική αλυσίδα). Όμως η χρήση της επιβαρύνει το περιβάλλον καθώς κατά την παραγωγή της πρώτη ύλη είναι το αργό πετρέλαιο.

Για την παραγωγή βιοντίζελ μέσω μετεστεροποίησης ακολουθούνται διάφορες διεργασίες όπως η όξινη κατάλυση, αλκαλική καταλυτική διεργασία, ετερογενής κατάλυση, υπερκρίσιμη, νανοκαταλύτες και ιοντικοί καταλύτες.



Εικόνα 8 Κυριότερες διεργασίες μετεστεροποίησης

Ακολουθούνται δύο κύριες προσεγγίσεις, η υπερκρίσιμη μετεστεροποίηση μεθανόλης και η καταλυτική μετεστεροποίηση.



Κατά την καταλυτική μετεστεροποίηση οι εστέρες και η γλυκερόλη δημιουργούνται όταν τα τριγλυκερίδια αντιδράσουν με μια αλκοόλη παρουσία κάποιου καταλύτη. Τα χαρακτηριστικά του παραγόμενου βιοντίζελ καθορίζονται από τα χαρακτηριστικά των τριγλυκεριδίων που αυτά με τη σειρά τους ορίζονται από τη φύση των λιπαρών οξέων.

Η λιπαρή ουσία θερμαίνεται σε δοχείο ώστε να αφαιρεθεί το νερό που περιέχεται σε αυτό με συνεχή ανάδευση. Το έλαιο αντιδρά με την αλκοόλη παρουσία καταλύτη και σχηματίζεται μείγμα ελαίου / εστέρων περίπου στους 60° C, υπό συνεχή ανάδευση. Όταν αρχίσουν να διαχωρίζονται γλυκερόλη και εστέρες τότε σταματά η ανάδευση και θεωρείται ολοκληρωμένη η διαδικασία.

Η καταλυτική μετεστεροποίηση διαχωρίζεται ανάλογα το είδος του καταλύτη στις επόμενες κατηγορίες: όξινη καταλυτική μετεστεροποίηση, βασική καταλυτική μετεστεροποίηση, ενζυμική καταλυτική μετεστεροποίηση, μετεστεροποίηση παρουσία μετάλλων μετάπτωσης και τέλος μετεστεροποίηση με χρήση πυριτικών ορυκτών.

Η επιλογή καταλύτη εξαρτάται από την περιεκτικότητα του ελαίου σε λιπαρά οξέα με τους όξινους καταλύτες να είναι απαραίτητοι σε μείγματα που η λιπαρή ουσία έχει μεγάλη οξύτητα. Επίσης, μπορεί να είναι ομογενής ή ετερογενής διεργασία, ανάλογα αν καταλύτης και αντιδρώντα είναι στην ίδια φάση (υγρή) ή σε διαφορετική φάση, δηλαδή στερεός καταλύτης και υγρά αντιδρώντα. Οι πιο σημαντικοί παράμετροι λειτουργίας στις καταλυτικές διεργασίες μετεστεροποίησης είναι ο χρόνος αντίδρασης, αλλά και ο χρόνος και η διαδικασία διαχωρισμού του μίγματος από τον καταλύτη.

### 5.6.1 Όξινη ομογενής καταλυτική μετεστεροποίηση

Ομογενής χαρακτηρίζεται η διεργασία όταν αντιδρώντα και καταλύτες βρίσκονται στην ίδια φάση, υγρή στην συγκεκριμένη περίπτωση. Όξινη καταλυτική μετεστεροποίηση ήταν η πρώτη μέθοδος παραγωγής βιοντίζελ και οφείλεται στην αντίδραση τριγλυκεριδίου με την αλκοόλη παρουσία όξινου καταλύτη για τον σχηματισμό εστέρων και γλυκερόλης (J. Van Gerpen et al., 2010).

Η μέθοδος αυτή προτιμάται όταν το περιεχόμενο των πρώτων υλών είναι πλούσιο σε ελαιούχες και λιπαρές ουσίες. Αν και είναι οικονομικά βιώσιμη μέθοδος απαιτεί μεγαλύτερο χρόνο αντίδρασης και υψηλότερη θερμοκρασία σε σχέση με άλλες.

Η διεργασία αρχίζει με μίξη του ελαίου με όξινη αλκοόλη (δηλαδή να περιέχει ποσοστό οξέος) ώστε ο διαχωρισμός και η μετεστεροποίηση να γίνουν σε ένα στάδιο. Η αλκοόλη δρα

σαν διαλύτης και ταυτόχρονα ως αντιδραστήριο εστεροποίησης. Η αντίδραση πρέπει να συμβαίνει απουσία νερού ώστε να μην σχηματιστούν καρβοξυλικά οξέα (σάπωνες) τα οποία μειώνουν την απόδοση των αλκυλεστέρων.

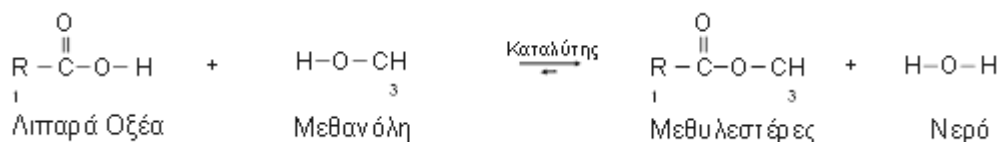
Έρευνες έδειξαν πως η ύπαρξη νερού επιβραδύνει τον ρυθμό εστεροποίησης των οξέων. Η αναλογία FAME που μελετήθηκε ήταν έλαιο – μεθανόλη 1:3 και 1:6 και σε θερμοκρασίες αντίδρασης 60° C και 80° C.

Επειδή η μετεστεροποίηση είναι αντίδραση ισορροπίας πρέπει η αλκοόλη να είναι πάντα σε περίσσεια ώστε να προωθείται η αντίδραση πλήρους μετατροπής του ελαίου σε αλκυλεστέρα. Ακόμη η ποσότητα του όξινου καταλύτη και η θερμοκρασία έχουν σημαντικό ρόλο στον ρυθμό και την απόδοση της αντίδρασης. Όμως ποσότητες αλκοόλης μεγαλύτερο από το προβλεπόμενο καταφέρνουν μόνο να αυξήσουν το κόστος διαχωρισμού, έτσι απαιτείται η βέλτιστη αναλογία αλκοόλης – ελαίου.

Οι καταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το θειικό οξύ, το σουλφονικό οξύ, το φωσφορικό οξύ και το υδροχλωρικό οξύ. Η χρήση εναλλακτικών οξέων μπορεί να επηρεάσει την απόδοση της αντίδρασης (S.N. Gebremariam et al., 2017)

Το μεγαλύτερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι η μεγάλη ποσότητα γλυκερόλης που υπάρχει στο βιοντίζελ, το ποσό αυτό ξεπερνά το προβλεπόμενο όριο ASTM. Ακόμη μειονεκτήματα είναι η απαίτηση υψηλών θερμοκρασιών, ο μεγάλος χρόνος αντίδρασης και τέλος η διάβρωση του εξοπλισμού. Παρά τα μειονεκτήματα η όξινη καταλυτική μετεστεροποίηση είναι ανεξάρτητη από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFAs) πράγμα που κάνει καταλληλότερους τους όξινους καταλύτες όταν οι πρώτες ύλες προέρχονται από φυτικά έλαια που σχετίζονται με υψηλή περιεκτικότητα λιπαρών οξέων.

Καταλληλότεροι καταλύτες θεωρούνται οι όξινοι καταλύτες για έλαιο μικροφυκών αν και είναι λιγότερο δραστικοί από τους βασικούς καταλύτες. Τα έλαια που προέρχονται από μικροφύκοι είναι πλούσια σε ελεύθερα λιπαρά οξέα κάτι που μπορεί να προκαλέσει σαπωνοποίηση όταν ο καταλύτης είναι αλκαλικός. Όταν το ποσοστό ξεπερνά το 5% το σαπούνι που σχηματίζεται (Σάπωνας: μετά νατρίου ή καλίου άλας του λιπαρού οξέος) εμποδίζει το διαχωρισμό του μεθυλεστέρα και τις γλυκερόλης και σχηματίζει γαλάκτωμα κατά την πλύση. Για να αποφευχθεί αυτό μπορεί να μετατραπούν τα ελεύθερα λιπαρά οξέα σε μεθυλεστέρες μέσω επεξεργασίας και να μειωθεί η περιεκτικότητά τους στο λάδι.



Εικόνα 18 Μετεστεροποίηση ελεύθερων λιπαρών οξέων με όξινο καταλύτη

Έπειτα το λάδι με μικρή περιεκτικότητα σε λιπαρά οξέα μετεστεροποιείται παρουσία αλκαλικού καταλύτη. Η ταχύτητα της αντίδρασης παρουσία αλκαλικού καταλύτη είναι 4000 φορές μεγαλύτερη από ότι παρουσία όξινου καταλύτη.

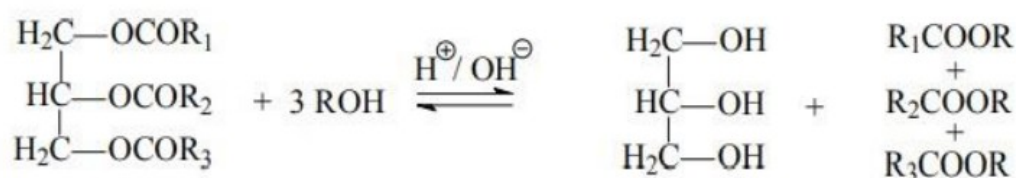
### 5.6.2 Αλκαλική ομογενής καταλυτική Μετεστεροποίηση

Κατά αυτή την διαδικασία ένα τριγλυκερίδιο αντιδρά με αλκοόλη παρουσία αλκαλικού καταλύτη όπως αλκαλικά αλκοξειδία μετάλλων, ανθρακικό κάλιο ή νάτριο και υδροξειδία ώστε να σχηματιστούν εστέρες και γλυκερόλη.

Αυτού του είδους η κατάλυση είναι πολύ πιο γρήγορη σε σχέση με την όξινη και προκαλεί πολύ μικρότερη διάβρωση στον εξοπλισμό. Με τα δύο παραπάνω πλεονεκτήματα να την κάνουν εμπορικότερη έναντι της όξινης αντίστοιχης διεργασίας.

Οι αλκαλικοί καταλύτες έχουν καλύτερα αποτελέσματα όταν οι πρώτες ύλες είναι ελεύθερα λιπαρά οξέα σε συγκέντρωση μικρότερη του 1% κ.β. και υγρασία μικρότερη του 0.5% κ.β. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα με περίσσεια μεθανόλης, σε θερμοκρασίες 60– 65° C υπό ατμοσφαιρική πίεση.

Βέβαια σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα της διεργασίας κατέχουν πέρα από την ποιότητα της πρώτης ύλης η αναλογία αλκοόλης – ελαίου, η θερμοκρασία αντίδρασης, ο χρόνος αντίδρασης, η συγκέντρωση του καταλύτη και ο ρυθμός ανάδευσης . Η αναλογία αλκοόλης – καταλύτη είναι 6:1, η οποία είναι τρεις φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη αναλογία που αναγράφεται στην παρακάτω αντίδραση (στοιχειομετρική).



Εικόνα 19 μηχανισμός αντίδρασης διγλυκεριδίων και μονογλυκεριδίων σε μονογλυκερίδιο και γλυκερόλη με αλκαλικό καταλύτη

Η αναλογία αλκοόλης ελαίου που πρέπει να χρησιμοποιηθεί για να αυξηθεί η μετατροπή σε μονογλυκερίδιο και γλυκερόλη είναι 3:1. Χαμηλότερα ποσοστά μεθανόλης οδηγεί σε μείωση του ρυθμού αντίδρασης άρα και σε χαμηλότερη απόδοση. Αντίθετα αν αυξηθεί η ποσότητα μεθανόλης πέρα του μέγιστου δυνατού τότε ο διαχωρισμός της γλυκερόλης στο τέλος θα είναι δύσκολος. Το οποίο οφείλεται στο ότι η μεθανόλη μαζί με μια υδροξυλομάδα λειτουργεί σαν γαλακτωματοποιητής και ενισχύει τη δημιουργία γαλακτωμάτων ( S.V. Ranganathan, et al., 2008).

## 5.7 Καταλύτες διεργασίας

Κατά την αλκαλική καταλυτική μετεστεροποίηση χρησιμοποιούνται αλκοξείδια μετάλλων, ανθρακικό κάλιο και νάτριο. Όπως και αλκαλικών υδροξειδίων ( NaOH,KOH), η αντίδραση με την χρήση αλκοξειδίων είναι η πιο αποτελεσματική καθώς είναι οι πιο δραστικοί καταλύτες αφού μπορεί να επιτευχθεί σε χρόνο 30 λεπτών απόδοση σε FAME μεγαλύτερη του 98%.

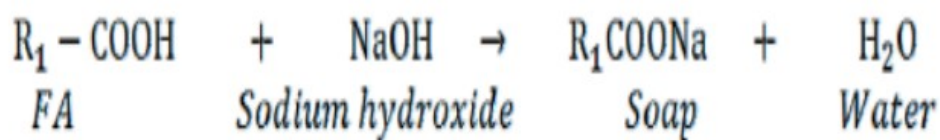
Τα αλκαλικά υδροξείδια έχουν μικρότερο κόστος αλλά και μικρότερη δραστηριότητα. Η απόδοσή τους σε FAME μπορεί να αυξηθεί λίγο με αύξηση των αλκαλικών υδροξειδίων κατά 1–2 % mol ως προς το έλαιο. Κάτι που τα κάνει καλή εναλλακτική σε σχέση με τα ακριβότερα αλκαλικά αλκοξείδια.

Συνήθως προτιμάται υδροξείδιο του νατρίου εξαιτίας του χαμηλού κόστους και της ενδιάμεσης καταλυτικής δραστηριότητάς του. Ερευνητές συγκρίναν τρεις καταλύτες ως προς το ποσοστό απόδοσης και τη μέγιστη περιεκτικότητα εστέρων. Όλες οι μεταβλητές διατηρήθηκαν σταθερές σε όλες τις περιπτώσεις. Βρέθηκε ότι καλύτερη περιεκτικότητα σε εστέρα είχε το υδροξείδιο του νατρίου ενώ το μεθοξείδιο του νατρίου είχε την υψηλότερη απόδοση. (D.Y.C. Leung et al. 2010).

Η συγκέντρωση των καταλυτών για τη μέγιστη απόδοση εξαρτάται από την πρώτη ύλη. Όσον αφορά το διάλυμα μεθανόλης – καταλύτη, προτείνεται να παρασκευάζεται λίγο πριν τη χρήση ώστε να μην απορροφά την υγρασία του περιβάλλοντος και έτσι μειώνεται η δραστηριότητα του καταλύτη. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το ποσοστό της απόδοσης που επιτυγχάνεται με χρήση 1%κ.β. KOH. Η αναλογία αλκοόλης – ελαίου ήταν 6:1 σε θερμοκρασία 40° C, ταχύτητα ανάδευσης 320 rpm. Η απόδοση άγγιξε το 99,5%. ( A. Demirbas, 2009).

Με τη χρήση βασικών καταλυτών δεν παρατηρούνται φαινόμενα διάβρωσης στον εξοπλισμό όπως με τη χρήση των όξινων. Ταυτόχρονα, η ταχύτητα της διεργασίας είναι μεγαλύτερη. Σε βιομηχανική κλίμακα οι αλκαλικοί καταλύτες χρησιμοποιούνται όταν τα έλαια έχουν χαμηλή

περιεκτικότητα σε FFAs ώστε να αποφεύγονται φαινόμενα σαπωνοποίησης. Η δημιουργία σάπωνα δυσχεραίνει το διαχωρισμό γλυκερόλης από το μείγμα της αντίδρασης αλλά και το καθαρισμό των FAMES με νερό. Ακόμη η απομάκρυνση των σαπωνοποιημένων καταλυτών είναι τεχνικά δύσκολη πράγμα που ανεβάζει το κόστος της διεργασίας. Αντίδραση σαπωνοποίησης φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 20).



Εικόνα 9 Αντίδραση σαπωνοποίησης

Κατά την αντίδραση σαπωνοποίησης παράγεται και νερό που αναστέλλει την αντίδραση διότι υδρολύει τα τριγλυκερίδια και δημιουργούνται περισσότερα FFAs που στην αλκαλική κατάλυση δεν είναι επιθυμητά.

Γενικότερα οι βασικοί καταλύτες εκδηλώνουν μεγαλύτερα δραστικότητα όμως και μεγάλη εκλεκτικότητα, θεωρούνται ιδανικοί για διεργασίες με χαμηλή περιεκτικότητα σε FFAs. Η βασική κατάλυση δίνει υψηλά ποσοστά μετεστεροποίησης σε μικρό χρονικό διάστημα. Η διαδικασία απαιτεί παροχή ενέργειας, και ο καταλύτης πρέπει να αφαιρεθεί από το προϊόν. Σε περιπτώσεις μεγάλης περιεκτικότητα σε FFAs > 5%, προστίθεται ένα βήμα ακόμη, εστεροποίησης κάτι που ανεβάζει το κόστος γιατί απαιτείται προσθήκη μονάδας και εξοπλισμού για την διαδικασία της εστεροποίησης (W. Parawira, 2010).

### 5.7.1 Ετερογενής καταλυτική Μετεστεροποίηση

Η χρήση στερεών καταλυτών είναι μια εναλλακτική μέθοδος για την παραγωγή βιοντίζελ. Τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει είναι η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του καταλύτη, κατά τη διαδικασία δεν χρησιμοποιείται καθόλου νερό, ο διαχωρισμός του καταλύτη από τους μεθυλεστέρες ή αιθυλεστέρες και γλυκερόλη είναι εύκολη. Η γλυκερόλη στην μετεστεροποίηση με ομογενείς καταλύτες είναι χαμηλής ποιότητας και απαιτεί επιπλέον επεξεργασία με αποτέλεσμα να αυξάνεται το κόστος παραγωγής (Chouhan & Sarma, 2011).

Εξαιτίας των πλεονεκτημάτων τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται οι στερεοί καταλύτες, παρότι η χρήση τους παρουσιάζει και μειονεκτήματα. Ειδικότερα οι ετερογενή κατάλυση απαιτεί συνθήκες υψηλών πιέσεων και θερμοκρασίας και η απόδοση είναι χαμηλότερη από την ομογενή (Refaat, 2009). Επιπλέον πρόβλημα των ετερογενών καταλυτών είναι η απενεργοποίηση των στερεών καταλυτών λόγω συσσωμάτωσης, δηλητηρίασης και

Εικόνα 10 μηχανισμός μετεστεροποίησης με τη χρήση βασικού καταλύτη  $\text{CaO}$ ,  $\text{R1,R2,R3}$  ανθρακική αλυσίδα λιπαρών οξέων,  $\text{R4}$  αλκύλιο της αλκοόλης

Κατά το 1<sup>ο</sup> στάδιο τα βασικά κέντρα του καταλύτη παίρνουν ένα πρωτόνιο από την μεθανόλη και σχηματίζεται κατιόν μεθοξειδίου. Στο 2<sup>ο</sup> στάδιο το ανιόν προσβάλλει το καρβονύλιο στο μόριο του τριγλυκεριδίου. Κατά το 3<sup>ο</sup> στάδιο σχηματίζονται μεθυλεστέρες και το ανιόν του διγλυκεριδίου. Στο τελευταίο στάδιο 4<sup>ο</sup> το κατιόν μεθοξειδίου έλκει το ανιόν και σχηματίζεται το διγλυκερίδιο. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για το R2 και R3 ( Lam et al., 2010).

Οι βασικοί καταλύτες διακρίνονται σε έξι κατηγορίες : υδροταλκίτες, μικτά οξείδια μετάλλων, υποστηριζόμενα αλκαλιμέταλλα/ ιόντα μετάλλων, οξείδια μετάλλων, ζεόλιθοι, στερεοί οργανικοί καταλύτες.

## 5.7.2 Οξείδια μετάλλων

### 5.7.2.1 Οξείδιο του μαγνησίου MgO

Η βασικότερη εφαρμογή της μαγνησίας (MgO) είναι στην βιομηχανία παραγωγής πυρίμαχων υλικών, επιπλέον χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα διατροφής, λίπασμα, καταλύτης και βιομηχανία ελαστικών, πλαστικών και χαρτιού.

Η μαγνησία εμπορικά διατίθεται σε τρεις τύπους: την δίπυρη, την καυστική και την τετηγμένη. Η καυστική παράγεται με θέρμανση μαγνησίτη σε θερμοκρασία μικρότερη των 900° C και έχει συνολική επιφάνεια μεγαλύτερη των 25 m<sup>2</sup>/g. Η δίπυρος είναι λιγότερο ενεργή από την καυστική και παράγεται σε θερμοκρασία υψηλότερη των 1200° C. Τέλος η τετηγμένη παράγεται με πύρωση είναι πυρίμαχο υλικό υψηλής ποιότητας και παράγεται σε θερμοκρασία πάνω από 2800° C (Canterford, 1985).

Τα τελευταία χρόνια διαπιστώθηκε πως η μαγνησία λειτουργεί ως καταλύτης στην αντίδραση μετεστεροποίησης για την παραγωγή βιοντίζελ. Το 2006 το ποσοστό ανάκτησης μεθυλεστέρων με χρήση καταλύτη μαγνησίας σε θερμοκρασία 180° C έφτασε το 92% ( Di Serio et al., 2006). Την επόμενη χρονιά αναφέρεται πως σε υπερκρίσιμες θερμοκρασίες κατά την μετεστεροποίηση σογιέλαιου παρουσίασε υψηλή καταλυτική δράση (Wang & Yang, 2007).

### 5.7.2.2 Οξείδιο του ασβεστίου ( CaO)

Το οξείδιο του ασβεστίου είναι ο δημοφιλέστερος καταλύτης για την παραγωγή βιοντίζελ λόγω της χαμηλής τιμής του, της υψηλής διαθεσιμότητας και της μη τοξικότητας του (Lee et al., 2009). Η δραστηριότητά του βελτιώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας και της

αναλογίας μεθανόλης – ελαίου ( Demirbas, 2007). Τα ενεργά κέντρα στην επιφάνεια του CaO μπορεί να δηλητηριαστούν από υγρασία και κυρίως, από το διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας σχηματίζοντας ανθρακικό ασβέστιο. Για τη βελτίωση της δραστηρότητάς του πρέπει να ψηθεί σε υψηλές θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 700° C πριν την αντίδραση ώστε να απομακρυνθούν οι ρύποι από την επιφάνειά του .

### 5.7.3 Υδροταλκίτες

Οι υδροταλκίτες είναι φυλλόμορφα διπλά υδροξείδια που έχουν γενικός τύπος της μορφής  $[M_x^{2+}M_y^{3+}(OH)_{2(x+y)}]^{b+} [(A^{n-})_{b/n}] \times mH_2O$ , όπου M είναι μονοσθενές ή δισθενές ιόν ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , M' τρισθενές μεταλλικό ιόν όπως  $Al^{3+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Mn^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{3+}$  ή  $La^{3+}$  και  $A^{n-}$  ανιόν συνήθως  $CO_3^{2-}$ . Χρησιμοποιούνται συνήθως ως ιονικά ιοντοανταλλακτικά υλικά δηλαδή για να απομακρύνουν τοξικά ανιόντα  $NO_3^-$  και ως καταλύτες σε αντιδράσεις οξείδωσης (Di Cosimo et al., 1998). Τα τελευταία χρόνια ο πυρωμένος Mg –Al αποτελεί τον πιο χρησιμοποιημένο καταλύτη στις αντιδράσεις μετεστεροποίησης (Zeng et al., 2008, Deng et al., 2011).

Στους πυρωμένους υδροταλκίτες υπάρχουν τρία είδη βασικών κέντρων. Υπάρχουν ασθενείς βασικές περιοχές που έχουν σχέση με το  $OH^-$ , ενδιάμεσες βασικές περιοχές που σχετίζονται με τα  $O^-$  και τις ισχυρές βασικές περιοχές που αναφέρονται σε  $O^{2-}$  ανιόντα. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τις ιδιότητες του καταλύτη είναι η αναλογία Mg/Al και η θερμοκρασία πύρωσης. Η αναλογία Mg/Al σε αντίδραση μετεστεροποίησης είναι από 2 έως 4 με πιο συνηθισμένη αναλογία 3/1 ( Zeng et al., 2008; Deng et al., 2011). Αν αλλάξει η αναλογία μεταβάλλονται και οι θέσεις των όξινων– βασικών κέντρων και αλλαγής περιβάλλοντος των κατιόντων (Di Cosimo et al., 1998).

Μέσω της πύρωσης των υδροταλκίτων σε υψηλή θερμοκρασία απομακρύνεται η υγρασία και προκαλείται αποϋδροξίλωση του ενδιάμεσου ανθρακικού άλατος σε  $CO_2$ , με αποτέλεσμα τον σχηματισμό πορώδους δομής και ειδικής επιφάνειας που κυμαίνεται από 200 έως 300  $m^2/g$  (McKenzie et al., 1992).

Με την προσθήκη άλλων μετάλλων η δραστηρότητα του καταλύτη στην αντίδραση μετεστεροποίησης μπορεί να αυξηθεί. Παρουσία καταλύτη KF/Mg–Al υδροταλκίτη 3% κ.β, η απόδοση σε μεθυλεστέρες φοινικέλαιου έφτασε το 88,7% με αναλογία μεθανόλης – ελαίου 12:1, σε θερμοκρασία 65° C και χρόνο αντίδρασης 5 ώρες, ενώ στις ίδιες συνθήκες ο μη εμπλουτισμένος υδροταλκίτης παρουσίασε απόδοση 44,7% (Gao et al., 2008). Όμοια αύξηση της απόδοσης σημειώθηκε με την προσθήκη τρισθενούς σιδήρου σε Mg/Al υδροταλκίτη, όπου ορισμένα ιόντα  $Al^{3+}$  αντικαταστάθηκαν από  $Fe^{3+}$  (Macala et al., 2008).



Το βασικότερο πλεονέκτημα αυτών των καταλυτών είναι ότι έχουν υψηλές αποδόσεις σε αντιδράσεις μετεστεροποίησης παρουσία υγρασίας και ελεύθερων λιπαρών οξέων FFAs (Santacesaria et al., 2012). Μάλιστα σε μελέτες μετεστεροποίησης σογιέλαιου με καταλύτη οξειδίου Mg–Al παρουσία 1% νερού η απόδοση του καταλύτη δεν επηρεάστηκε καθόλου (Di Serio et al., 2006).

#### 5.7.4 Μεικτά οξείδια μετάλλων

Τα μεικτά οξείδια δημιουργούνται λόγω της αυξημένης βασικότητας σε σχέση με τα απλά οξείδια. Ακόμη παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην έκπλυση λόγω της ισχυρής αλληλεπίδρασης μεταξύ των οξειδίων και αντοχή στην παρουσία υγρασίας και ελεύθερων λιπαρών οξέων (Santacesaria et al., 2012).

Για την αντίδραση μετεστεροποίησης έχουν ληφθεί θετικά αποτελέσματα από καταλύτες όπως  $\text{Al}_2\text{O}_3 - \text{SnO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3 - \text{ZnO}$  (Macedo et al., 2006) και  $\text{MgO} - \text{La}_2\text{O}_3$  (Babu et al., 2008). Άλλοι καταλύτες περιλαμβάνουν μίγματα οξειδίων αλκαλικών γαιών κυρίως  $\text{CaO}$ , γαιών La και μεταλλικών οξειδίων μετάπτωσης (Ti, Mn, Fe, Zr, Ce) (Kawashina et al., 2008). Σε κάποιες περιπτώσεις το  $\text{CaO}$  εναποτέθηκε σε  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$  και  $\text{ZnO}$  για αύξηση της αντίστασης στην έκπλυση και στην μηχανική αντοχή του καταλύτη (Yan et al., 2008; Alba Rubio et al., 2010).

#### 5.7.5 Ζεόλιθοι

Είναι μικροπορώδη αργιλοπυριτικά πετρώματα. Χρησιμοποιούνται για φιλτράρισμα διαφόρων αποβλήτων, ως προσροφητές υγρασίας και ως καταλύτες στην πετροχημεία (Sharma et al., 2011). Οι συμπεριφορά των ζεόλιθων ως καταλύτες καθορίζονται από την χημική σύστασή τους, το μέγεθος των πόρων και την κατανομή τους και τις ιοντοανταλλακτικές ιδιότητές τους. Η όξινη – βασική συμπεριφορά τους ρυθμίζεται από την ποσότητα και το είδος των ιοντοανταλλακτικών ιόντων και από την αναλογία Si/Al. Για την παρασκευή τους χρησιμοποιήθηκε ιοντοανταλλαγή με αλκαλικά μεταλλικά ιόντα ( $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ) ή εμποτισμός της εσωτερικής επιφάνειας των πόρων με βασικά σωματίδια. Η δεύτερη τεχνική δημιούργησε ισχυρότερα βασικά κέντρα (Hattori, 1995).

#### 5.7.6 Υποστηριζόμενα αλκαλιμέταλλα/Ιόντα μετάλλων που χρησιμοποιούνται ως καταλύτες

Τα αλκάλια επιλέγονται σαν ενεργά βασικά μέρη καταλύτη για αντιδράσεις μετεστεροποίησης. Τα οξείδια αλουμινίου παρότι είναι όξινα με την προσθήκη βασικών στοιχείων μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βασικοί καταλύτες. Τα Na, K, Li, Ba, Mg

χρησιμοποιούνται στη μεταλλική τους μορφή ή σε ιοντικές μορφές αλογόνων, υδρογόνου, νιτρικών και ανθρακικών αλάτων.

Το πόσο δραστικοί θα είναι οι καταλύτες αυτής της κατηγορίας εξαρτάται πιο πολύ από τη βασικότητα της επιφάνειας παρά από την ειδική επιφάνεια και το μέγεθος των πόρων. Την υψηλότερη βασικότητα, άρα και δραστηριότητα μετεστεροποίησης, την εμφανίζουν οι καταλύτες που περιλαμβάνουν αλογόνα (Lee et al., 2009). Σε μελέτη με καταλύτες  $\text{KF}/\text{Al}_2\text{O}_3$  και  $\text{KI}/\text{Al}_2\text{O}_3$  τα ποσοστά ανάκτησης μεθυλεστέρων σε σογιέλαιο ήταν μεγαλύτερα από τους καταλύτες  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{KOH}/\text{Al}_2\text{O}_3$   $\text{KNO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$  (Xie & Li, 2006).

Θετικά αποτελέσματα έδωσε ο καταλύτης  $\text{Na}/\text{NaOH}/\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  με συνδυασμό εξανίου. Οι αποδόσεις μετεστεροποίησης σογιέλαιου ήταν παρόμοιες με εκείνες ομογενούς κατάλυσης σε ίδια θερμοκρασία  $60^\circ\text{C}$ , χρόνος 2 ωρών, αναλογία μεθανόλης λαδιού 9:1 και ταχύτητα ανάδευσης 300 rpm (Kim et al., 2004). Το μειονέκτημα των παραπάνω είναι η έκπλυση του εμποτισμένου μετάλλου στο μίγμα της αντίδρασης (Sharma et al., 2011).

#### 5.7.7 Στερεοί οργανικοί καταλύτες

Η  $\text{CNH}(\text{NH}_2)_2$  είναι κρυσταλλικό υλικό με βασική τιμή pKa. Το αλκυλιωμένο μόριο είναι ισχυρή μη ιοντική βάση κοντά σε ισχύ με το NaOH και ικανό να καταλύει αντιδράσεις μετεστεροποίησης (Lee et al., 2009). Οι οργανικές ενώσεις εμφανίζουν πλεονέκτημα έναντι των άλλων καταλυτών μετεστεροποίησης διότι ο διαχωρισμός βιοντίζελ – γλυκερόλης είναι εύκολη διαδικασία (δεν υπάρχουν σάπωνες και γαλακτώματα και είναι αποτελεσματικές στη διεργασία μετεστεροποίησης όξινων μη ραφινρισμένων λαδιών (Schuchardt et al., 1995).

Η παρασκευή ετερογενών καταλυτών περιλάμβανε δέσμευση γουανιδίνης σε πολυστυρένιο και ενθυλάκωση του TCG σε ζεόλιθο Y (Sercheli et al., 1999) και παγίδευση της TBD και TCG σε sol gel στρώματα  $\text{SiO}_2$  και MCM-41 (Sercheli et al., 1999). Οι αποδόσεις των καταλυτών ήταν παρόμοιες με των ομογενών. Όμως παρουσιάστηκαν προβλήματα κατάρρευσης του υποστρώματος, αντίσταση στη διάχυση τριγλυκεριδίων στους πόρους, έκπλυση της γουανιδίνης, με αποτέλεσμα να χαρακτηριστούν μη αποδεκτοί ως καταλύτες για εμπορική χρήση. (Schuchardt et al., 1996, Sercheli et al., 1999).

### 5.8 Καταλύτες που χρησιμοποιούνται στην μετεστεροποίηση ελαίων από μικροφύκη

Οι καταλύτες που χρησιμοποιούνται στη διεργασία μετεστεροποίησης ελαίων από μικροάλγη είναι οι όξινοι  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) και  $\text{HCl}$  (35%), και οι αλκαλικοί  $\text{KOH}$  και  $\text{NaOH}$ . Έχει αναφερθεί πως οι όξινοι καταλύτες είχαν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με τους

αλκαλικούς. Σε μελέτη του *Chlorella sorokiniana*, ο καταλύτης  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98%) είχε μεγαλύτερη απόδοση από τους  $\text{HCl}$ ,  $\text{NaOH}$  (Kumar V, et.al., 2014). Η καλύτερη απόδοση του όξινου καταλύτη είναι εξαιτίας της ανθεκτικής φύσης στα ελεύθερα λιπαρά οξέα FFAs, που περιέχουν τα κύτταρα των μικροφυκών. Αν χρησιμοποιούνταν βασικός καταλύτης τότε η αντίδραση με τα FFAs θα έδινε σαπούνη όπως έχει αναφερθεί και πιο πάνω, κάτι που θα ελάττωνε την απόδοση. Το περιεχόμενο σε FFA από *Chlorella sorokiniana* και *Chlorella sp.* ήταν 46,85 wt% ( Dong T et al.,2013) και 41,25 wt%( Lemoes JS, et al., 2016) αντίστοιχα, κάτι που ήταν υψηλό σε σχέση με βρώσιμα φυτά που περιείχαν 0,5 με 10 %.

Πιο πρόσφατες έρευνες για την επίδραση του όξινου καταλύτη στην μετεστεροποίηση έδειξαν ότι η απόδοση των FAME αυξήθηκε όσο αυξανόταν η ποσότητα του όξινου καταλύτη μέχρι μια μέγιστη τιμή. Η ποσότητα του καταλύτη ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) που χρειάστηκε για να επιτευχθεί μεγάλη απόδοση ήταν 50 με 4000 wt% του λιπιδίου (Lemoes JS et al. 2016). Παράλληλα η απαιτούμενη ποσότητα βασικού καταλύτη για την επίτευξη της ίδιας απόδοσης είναι 5 με 125 wt% του λιπιδίου. Όμως η μέγιστη τιμή της απόδοσης FAME που αποκτήθηκε με βασικό καταλύτη ήταν 30 με 90% χαμηλότερη από ότι με χρήση όξινου καταλύτη (Rawat I et al., 2011).

Με το πέρασμα των χρόνων οι χημικοί καταλύτες προτιμώνται σε βιομηχανική κλίμακα για την παραγωγή βιοντίζελ εξαιτίας της γρήγορης αντίδρασης και του χαμηλού κόστους. Στην μετεστεροποίηση μικροφυκών για την παραγωγή βιοντίζελ οι χημικοί καταλύτες αντικαταστάθηκαν από βιολογικούς καταλύτες ή ένζυμα όπως λιπάση ή μαγνητικά νανοσωματίδια είναι οι εναλλακτικές που βοηθάνε την ελάττωση του νερού κατά την διαδικασία της έκπλυσης. Παρότι οι ενζυμικοί καταλύτες είναι φιλικότεροι προς το περιβάλλον, δεν είναι τοξικοί και έχουν μεγάλη προσαρμοστικότητα συγκρίνονται με τους χημικούς καταλύτες (Thangaraj et al., 2019). Σε πρόσφατη μελέτη η λιπάση χρησιμοποιήθηκε ως καταλύτης σε μετεστεροποίηση *in situ* της *Chlorella emersonii* στους  $40^\circ\text{C}$  για 72 ώρες, η απόδοση που επιτεύχθηκε ήταν 24%. Η χαμηλή απόδοση ήταν εξαιτίας της αργής εξαγωγής λιπιδίων από την μεθανόλη και του αργού ρυθμού κατάλυσης από τη λιπάση. Σε άλλη περίπτωση, η λιπάση χρησιμοποιήθηκε για τη μετεστεροποίηση του *Nannochloropsis* με απόδοση σε FAME που προσέγγιζε το 100 % και βουτανόλης αντί για μεθανόλη με αναλογία 1:2:0,5 σε χρόνο αντίδρασης 12 ωρών στους  $25^\circ\text{C}$ . Η δραστηριότητα των ενζύμων είχε διατηρηθεί πάνω από 95% μετά από 110 διεργασίες αντιδράσεων, κάτι που έδειξε πως η υψηλή απόδοση μπορεί να δοθεί και πάλι.

Πίνακας 21 Η επίδραση του καταλύτη στην απόδοση τη αντίδρασης μετεστεροποίησης

Στέλεχος	Καταλύτης	Όγκος	$\text{H}^+$ ή	Συνθήκες	απόδοση
----------	-----------	-------	----------------	----------	---------

μικροφύκους			OH <sup>-</sup>		
Nannochloropsis salina	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%)	0,015 0,025 0,035 0,05	12,6 20,9 29,3 41,8	200mg ξηρής μάζας, περιεκτικότητα υγρασίας 76,5 wt%, 2mL MeOH, 105° C, 1 ώρα	75 91 94 98
Chlorella sorokiniana	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%) KOH	0,1 0,2 0,2	9,4 0,35 0,7	1g ξηρής μάζας 4mL MeOH, 90° C, 70 λεπτά	61 27 42
Chlorella sp.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%) HCl (35%) NaOH	1,0 1,0 1,0	133,7 116,8 35,6	30mg ξηρή μάζα, 1mL MeOH, 90° C, 150 rpm ανάμειξη, 40 λεπτά	7,0 5,0 2,0
Nannochloropsis oceanica	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%)	0,1 0,2 0,3 0,4	234 469 703 938	70mg ξηρής μάζας, 65wt % υγρασία, 2mL MeOH 95° C, 2 ώρες	83 83 91 91
Chlorella pyrenoidosa	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%)	—	178	100mg ξηρή μάζα, 90wt% υγρασία 4mL MeOH, 90° C, 2 ώρες	91
Nannochloropsis gaditana	HCl (35%)	0,1 0,3 0,5 0,7	68 203 338 473	150mg ξηρή μάζα, 80wt% υγρασία, 1mL MeOH 95°C, 2 ώρες	<99 <99 <99 99
Nannochloropsis gaditana	Acetylchloride (98%)	1.0 1.9 3.8	50 99 208	7.6 – 8.3g ξηρή μάζα 75wt% υγρασία 36.2 – 39 mL MeOH	85 96 90

				100° C 200rpm, 2 ώρες	
Chlorella sp.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%)	–	30.4	50gr ξηρή μάζα, 150mL MeOH, 65° C, 240 min	94

## 5.9 Παράμετροι που επηρεάζουν την μετεστεροποίηση λιπιδίων μικροφυκών

Η πιο συνηθισμένη αλκοόλη που χρησιμοποιείται κατά την διεργασία παραγωγή βιοντίζελ είναι η μεθανόλη, με στοιχειομετρία 1 mol ελαίου προς 3 mol μεθανόλης (Sakdasri W, et al., 2021). Σε μετεστεροποίηση *in situ* η μεθανόλη λειτουργεί ως αντιδρών και διαλύτης (Coone M. et al, 2009). Η απαραίτητη ποσότητα μεθανόλης είναι πολύ μεγαλύτερη από την στοιχειομετρική αναλογία. Παρακάτω φαίνονται τα αποτελέσματα πρόσφατων ερευνών μετεστεροποίησης σε σχέση με την απόδοση και την ποσότητα της μεθανόλης.

Πίνακας 22 Η επίδραση της μεθανόλης σε *in situ* μετεστεροποίηση

Στέλεχος μικροφύκους	Όγκος μεθανόλης (mL )	Μεθανόλη/ λιπίδιο (mol/mol)	Συνθήκες	FAME απόδοση wt%
Nannochloropsis gaditana	0,1	116	150mg ξηρή μάζα, 80wt% υγρασία 0,5mL CHCl <sub>3</sub> , 0,3mL HCl, 95° C, 2 ώρες	38
	2,0	2331		100
Nannochloropsis salina	0,5	284	200mg ξηρή μάζα, υγρασία 76,5% , 50μL	62
	1,0	558	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%)	73
	1,5	837	105° C, 1 ώρα	100
	2,0	1116		100
	2,5	135		100
Chlorella sp.	2,8	600	1g ξηρή μάζα, 2,6μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%) 60° C 450 rpm, 1 ώρες	93

Nanochloropsis oculata	3,4	600	1g ξηρή μάζα, 5,0μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 60°C 450 rpm, 19 ώρες	73
Chlorella sorokiniana	4	655	1g ξηρή μάζα, 38,26μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%) 90°C, 70 λεπτά	61
Chlorella pyrenoidosa	4	1786	100mg ξηρή μάζα, υγρασία 90% 266–290 μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90°C, 120 λεπτά	91
Chlorella sp.	150	547	50g ξηρή μάζα 5,55mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%) 65°C, 24 ώρες	94

Οι πιο πρόσφατες έρευνες μελέτησαν σε εργαστηριακή κλίμακα μικρές ποσότητες βιομάζας και μεθανόλης από 0,1 έως 4 mL . Επιπρόσθετα η αναλογία μεθανόλης ελαίου που μελετήθηκε ήταν από 116 έως 2331 mol/mol, η οποία είναι πολύ παραπάνω από την στοιχειομετρική αναλογία (3 mol/mol) που απαιτούνταν. Συνήθως η απόδοση FAME αυξανόταν όταν αυξανόταν η ποσότητα μεθανόλης μέχρι μία μέγιστη ποσότητα ( Kim TH et al.,2015).

Έχει σημειωθεί πως η διαλυτότητα των ελαίων από βαμβακόσπορο, φιστίκι κ.α σε αλκοόλη ήταν στο 10 wt% σε θερμοκρασία δωματίου, αυτά τα ελαία ήταν μη αναμίξιμα κατά 95– 98% σε αλκοόλη σε υψηλότερη θερμοκρασία. Τα εξαγόμενα λίπη σε in situ μετεστεροποίηση ήταν τα συνολικά έλαια των κυττάρων των μικροφυκών που περιλαμβάναν ουδέτερα λιπίδια (τριγλυκερίδια) και πολικά λιπίδια( φωσφολιπίδια, γλυκόλη). Τα πολικά λιπίδια μπορούσαν να εξαχθούν καλύτερα από διαλύτες όπως μεθανόλη και αιθανόλη. Ακόμη η δομή των πολικών λιπιδίων αποτελείται από πολικές κεφαλές και μη πολικές ουρές (Halim R et al., 2012), που συνεισφέρουν με την ενεργή επιφάνεια για την εξαγωγή των ουδέτερων λιπιδίων από την μεθανόλη. (Wu C et al.,2017). Ακόμη η μεθανόλη μπορεί να μειώσει την κυτταρίνη

και να διακόψει τη διαδικασία μεθανόλυσης των κυττάρων. Συνεπώς τα λίπη των μικροφυκών ελευθερώνονται από τα κύτταρα που έγινε εξαγωγή μέσω μεθανόλης.

Η στοιχειομετρική αναλογία μεθανόλης λιπιδίων διέφερε από είδος σε είδος. Η δομή του κυτταρικού τοιχώματος είναι ο βασικός παράγοντας που επηρεάζει την απαιτούμενη ποσότητα της μεθανόλης στην μετεστεροποίηση. Η δομή εξαρτάται από το είδος των μικροφυκών καθώς και την κατάσταση της καλλιέργειας. Καταγράφηκαν οι εξής αναλογίες μεθανόλης –ελαίου 547 mol/mol για *Chlorella* sp. 600 (Lemoes JS et al., 2016), 600 mol/mol *Chlorella* sp. (Martinez N, et al. 2015), 600 mol/mol *N. oculata* (Martinez N, et al. 2015), 655 mol/mol *C. sorokiniana* (Dong T et al., 2013), 837 mol/mol *N. salina* (Kim TH, et al., 2015), 1786 mol/mol *C. pyrenoidosa* (Cao H et al., 2013), 2331 mol/mol *N. gaditana* (Kim B. et al., 2015).

Ο σκοπός που προστίθεται στην *in situ* διαδικασία διάλυμα είναι για να μειωθεί η αλκοολική αντίδραση και να βελτιωθεί η απόδοση σε μικρό χρονικό διάστημα. Το διάλυμα όπως το εξάνιο μπορεί να βοηθήσει στην εξαγωγή των λιπιδίων από τη βιομάζα και να βοηθήσει την αλκοόλη μετεστεροποίησης, βελτιώνοντας τη διάχυση των λιπιδίων στο κυτταρικό τοίχωμα. Με την υποστήριξη του εξανίου η απαιτούμενη ποσότητα αλκοόλης μπορεί να μειωθεί και να φτάσουμε σε υψηλότερα ποσοστά μετατροπής των λιπιδίων (Shult SH et al., 2010).

Πρόσφατα μελετήθηκε η επίδραση των διαλυμάτων πετρελαιοαιθέρας, εξάνιο, ανθρακικός τετραχλωρίδιο, αιθυλαιθέρας, βουτανόλη, χλωροφόρμιο και ακετόνη στο είδος *Chlorella* spp. Οι υψηλότερες αποδόσεις σημειώθηκαν από τον πετρελαιοαιθέρα, εξάνιο και χλωροφόρμιο που ξεκινούν από 48% έως 90% (Zhang Y et al., 2015). Άλλη μελέτη στη μετεστεροποίηση των λιπιδίων του μικροφύκου *Enteromorpha compressa* η χρήση του τετραυδροφουράνιο έδωσε έξοχα αποτελέσματα συγκρίσιμα με διαλύματα όπως βενζίνη, εξάνιο χλωροφόρμιο, πετρελαιοαιθέρα και διχλωρομεθάνιο (Suganya T et al., 2014). Επιπρόσθετα η επίδραση στην συγκέντρωση του διαλύτη εξετάστηκε με διαφορετικούς όγκους από 10 έως 50 % της μεθανόλης. Η αύξηση της απόδοσης σημειώθηκε από 36.5 σε 56,4 wt% όταν το τετραυδροφουράνιο αυξήθηκε από 10 σε 30 vol% της μεθανόλης (Suganya T et al., 2014).

Παρότι το εξάνιο έδωσε τα χαμηλότερα αποτελέσματα σε σχέση με τα άλλα μπορεί να παράγει καθαρότερα FAME διότι έχει ελάχιστη ευαισθησία στα μη λιπαρά συστατικά και υψηλή εκλεκτικότητα στα ουδέτερα λίπη (Dianursanti et al., 2015). Η *in situ* μετεστεροποίηση από υγρή *Chlorella pyrenoidosa* μελετήθηκε με διαφορετικές ποσότητες εξανίου: 2, 4, 6, 8, 10 mL. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως όσο αυξάνεται το εξάνιο από 2 σε 10 mL η απόδοση αυξήθηκε από 16,6 σε 94,5 wt% (Im H et al, 2014). Επίσης το εξάνιο χρησιμοποιήθηκε και για το στέλεχος *Nannochloropsis* sp. με αύξηση απόδοσης 5 wt% (Dianursanti Rp., et al., 2015). Στην μετεστεροποίηση λιπιδίων του *Chlorella* sp. για να

επιτευχθεί υψηλή απόδοση με τη χρήση διαλύματος διαιθυλαιθέρα η ποσότητα της απαιτούμενης μεθανόλης μειώθηκε . Ο διαιθυλαιθέρας κατάφερε απόδοση 92.8% με αναλογία 26:1 μεθανόλης/ ελαίου (mol/mol) ενώ χωρίς το διάλυμα απαιτούνταν αναλογία 79 προς 1 (Ehimen EA et al., 2012).

Γενικά το κόστος παραγωγής του βιοντίζελ και της γλυκερόλης επηρεάζεται από την χρήση αλκοόλης και διαλυμάτων. Η μετεστεροποίηση απαιτεί πλεόνασμα αλκοόλης και διαλυμάτων όμως το υπερβολικό πλεόνασμα προκαλούν δυσκολίες στην φάση διαχωρισμού γλυκερόλης, βιοντίζελ διαλύματος και αλκοόλης στο τέλος της αντίδρασης. Τα πολλαπλά στάδια διαχωρισμού και ξήρανσης που πρέπει να περιλαμβάνει η διαδικασία έχει ως απόρροια την αύξηση του κόστους παραγωγής βιοντίζελ.

Πίνακας 23 επίδραση διαλυμάτων στην απόδοση FAME in situ μετεστεροποίηση

Στέλεχος μικροφυκών	Διάλυμα	Συνθήκες	Απόδοση FAME (wt % )
Chlorella sp.	Πετρελαιοθέρας	0,3g ξηρή βιομάζα,	90
	Εξάνιο	6mL διαλύτης (1:2	89
	Άνθρακας	vol αναλογία 75%	64
	Αιθυλαιθέρας	αιθανόλης)	73
	Βουτανόλη	0,6mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90°	45
	Χλωροφόρμιο	C, 2 ώρες	90
	Ακετόνη		84
Enteromorpha compressa	Βενζόλιο	Μεθανόλη σε ξηρή	22
	Εξάνιο	βιομάζα 4:5:1	<20
	Τετραϋδροφουράνιο	διαλύματος 20 vol%	49
	Χλωροφόρμιο	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 12wt %	<20
	Πετρελαιοαιθέρας	500rpm 50° C για	36
	Διχλωρομεθάνιο	2ώρες	20
Chlorella sp.	Διαιθυλεθαίρας	15g, 5mL	80
	πεντάνιο	διαλύματος 0.04mol H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 60°C, 2 ώρες αναλογία μεθανόλης: ελαίου 26:1	75
Nannochloropsis gaditana	Χλωροφόρμιο	0,15g μικροφυκών,	90
	Εξάνιο	0,1mL διαλύματος, 0,3mL HCl ,	70



		υγρασία 80% 95° C, 2 ώρες	
Chlorella pyrenoidosa	Εξάνιο 2mL 4mL 6mL 8mL 10mL	100mg βιομάζας περιεκτικότητας λιπαρών 47%, υγρασία 90% 4mL μεθανόλης 0,5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 120° C, 2 ώρες	17 67 84 91 95

### 5.10 Η επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου στην in situ μετεστεροποίηση μικροάλγων

Η θερμοκρασία μετεστεροποίησης έχει εύρος από 50° C ( Macias Sanchez, et al 2015) έως 500° C (Kusdiana D, et al., 2001) εξαρτάται από τον καταλύτη, την αλκοόλη και τα έλαια. Η συνηθέστερη θερμοκρασία είναι 65° C για να αποφεύγεται η εξάτμιση της αλκοόλης όταν φτάσει στο σημείο βρασμού. Μπορεί η αύξηση της θερμοκρασίας της αντίδρασης να προκαλέσει απώλεια αλκοόλης από το σύστημα και να μειώσει την απόδοση της αντίδρασης (Kusdiana D, et al., 2001). Η αύξηση της θερμοκρασίας αντίδρασης απαιτεί πολύπλοκους αντιδραστήρες και είναι ένα ζήτημα της διαδικασίας.

Με σκοπό να μείνει χαμηλότερα από 65° C η θερμοκρασία της αντίδρασης, η βολικότερη θερμοκρασία μετεστεροποίησης είναι 60– 65° C ( Zhang L. et al., 2022). Η θερμοκρασία μελέτης ήταν πολύ παραπάνω από το εύρος των βιομηχανικών θερμοκρασιών 60 με 65° C. Για τις in situ μετεστεροποιήσεις η θερμοκρασία είναι από 50 και 150° C. Η μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στα μικροφύκη κατά την μετεστεροποίηση ήταν τμήμα της έρευνας. Τα μικροφύκη που μελετήθηκαν ήταν N. gaditana, N. oceanica, N. Salina, C. Pyrenoidosa. Οι έρευνες περιλάμβαναν την αύξηση της απόδοσης FAME για διάφορες θερμοκρασίες. Παράλληλα υπάρχουν μελέτες που δείχνουν πως υψηλές αποδόσεις FAME 93 –94 wt% μπορούν να επιτευχθούν σε χαμηλές θερμοκρασίες (Velasquez – Orta SB, et al., 2013).

Η θερμοκρασία επηρεάζει πολύ την απόδοση της αντίδρασης των μικροάλγων για παραγωγή βιοντίζελ. Ενώ στην in situ μετεστεροποίηση η θερμοκρασία στους 60° C έδινε απόδοση 93 wt% η αύξηση της θερμοκρασίας πάνω από το σημείο βρασμού της αλκοόλης μείωσε την απόδοση εξαιτίας της μείωσης της ποσότητας αλκοόλης λόγω εξάτμισης (Cao H et al., 2013). Εκτός αυτού η απόδοση FAME επηρεάζεται από παράγοντες όπως την περιεκτικότητα

λιπιδίων που περιέχεται σε διάφορα είδη μικροφυκών σε παρόμοιες θερμοκρασίες 60 – 65° C, όπως *Nannochloropsis gaditana* (40 – 49 %), *Nannochloropsis oceanica* 49%, *Nannochloropsis salina* 68% και *Chlorella* sp. 93 – 94%.

Πίνακας 23 Η επίδραση της θερμοκρασία στην απόδοση FAME στην *in situ* μετεστεροποίηση

Είδος μικροφύκους	Θερμοκρασία αντίδρασης	Συνθήκες	Απόδοση FAME wt%
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	50	8g υγρής μάζας 11,1wt%	38
	60	λιπίδια, υγρασία 75%	40
	70	38,1 mL MeOH, 1,9mL	56
	80	ακετυλογλωρίδιο 98%	82
	90	200 rpm, 120 λεπτά	90
	100		97
<i>Chlorella</i> sp.	60	1g ξηρής μάζας λιπίδια 5.04% 3.4 mL MeOH, 2,6μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (98%) 450rpm για 19 ώρες	93
<i>Chlorella</i> sp.	65	50g ξηρή μάζα λιπίδια 11.5%, 150mL MeOH, 5.55mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90λεπτά	49
			68
			82
			91
<i>Nannochloropsis oceanica</i>	65	70mg ξηρή μάζα	49
	75	Λιπίδια 19.17% υγρασία	68
	85	65%	82
	95	2mL MeOH 0.3mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90λεπτά	91
<i>Nannochloropsis Salina</i>	75	200mg ξηρή μάζα υγρασία	68
	90	76,5%	82
	105	2mL MeOH	98
	120	50μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 60 λεπτά	99
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	90	100g ξηρή μάζα	86
	120	Λιπίδια 47%	91
	150	4mL MeOH	71

		266–290 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 120 λεπτά	
--	--	--	--

Επιπλέον ο χρόνος είναι παράμετρος που έχει απασχολήσει πολλούς ερευνητές. Σε πολλές μελέτες η αύξηση της απόδοσης επιτεύχθηκε με την αύξηση του χρόνου αντίδρασης από 30 σε 300 λεπτά. Καταγράφηκε πως η υψηλή απόδοση μετεστεροποίησης πάνω από 99% των *N. Oceanica*, (Macias – Sanchez et al., 2015) *N. Salina* (Kim TH et al., 2015), *N. Gaditana* (Kim B et al., 2015), *C. Pyrenoidosa* (Im H et al, 2015) και *Chlorella* sp. (Cao H et al. 2013) είχε εύρος τιμών από 75 έως 120 λεπτά. Σημειώθηκε μικρή μείωση της απόδοσης της τάξης του 6% όταν ο χρόνος αυξήθηκε στα 240 λεπτά, ενώ παρατηρήθηκε σημαντική μείωση από 94 σε 75% όταν ο χρόνος αυξήθηκε στα 300 λεπτά (Cao H et al, 2013).

Ακόμη ο μεγάλος χρόνος αντίδρασης των 1140 λεπτών μελετήθηκε για τα μικροφύκη *Chlorella* sp. και *N. oculata* με 93 και 73 wt % της απόδοσης να επιτυγχάνονται αντίστοιχα. Αυτή η επιπλέον αύξηση του χρόνου πέρα από το μέγιστο δεν αύξησε την απόδοση. Εξαιτίας της θερμότητας και της οξείδωσης που προκύπτει στο μείγμα της αντίδρασης έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία αλυφατικής αλκοόλης, μεθανικού οξέος, οξικό οξύ, προπιονικό οξύ και λιπαρά οξέα μικρής αλυσίδας (Kirrolia A et al, 2013). Μπορεί η μείωση της απόδοσης να οφείλεται στο ότι η μετεστεροποίηση είναι αναστρέψιμη διαδικασία και να επιστρέφει σε τριγλυκερίδια και αλκοόλη.

Η έρευνα της παραμέτρου μελετήθηκε σε *in situ* μετεστεροποίηση χρησιμοποιώντας την μελέτη Box Behnken που καταγράφηκε από τον Chamola et al (2019). Βρέθηκε πως με τη χρήση 8:1 (w/w) μεθανόλης σε ξηρά μικροφύκη, με συγκέντρωση  $\text{H}_2\text{SO}_4$  3,361% , 60,443 λεπτά για χρόνο αντίδρασης στους 50° C καταγράφηκε η μέγιστη απόδοση 89,583%. Ακόμη η ίδια αναλογία μεθανόλης σε ξηρά μικροφύκη με συγκέντρωση 3.499% NaOH, 73.637 λεπτά χρόνου αντίδρασης στους 50° C η απόδοση που σημειώθηκε ήταν η ίδια (Chamola R et al., 2019). Μια ακόμη ενδιαφέρουσα μελέτη μετεστεροποίησης του στελέχους *Scenedesmus* sp. χρησιμοποιώντας στερεό όξινο καταλύτη, ζιρκόνια έδειξε ότι η μέγιστη παραγωγή βιοντίζελ μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση 4wt% ζιρκονίας σε θερμοκρασία 80° C με αναλογία μεθανόλης : λιπιδίων 45:1 (Guldhe A, et al, 2014).

Επιπρόσθετα η αντίδραση με μεμβράνη διαχωρισμού είναι βασική μέθοδος που μπορεί να βοηθήσει σε μελλοντικές μελέτες στην *in situ* μετεστεροποίηση. Τα επόμενα χρόνια οι καταλυτικοί αντιδραστήρες μεμβράνης (catalytic membrane reactor CMR) ή αντιδραστήρες εσωτερικής μεμβράνης (inner membranes reactor IMRCF) μπορούν να βοηθήσουν εξαιτίας της εύκολης και χαμηλού κόστους τεχνολογίας διαχωρισμού των προϊόντων μετεστεροποίησης (Bahtia SK. Et al, 2021).

Πίνακας 23 Επίδραση του χρόνου στην απόδοση της αντίδρασης μετεστεροποίησης *in situ*

Είδος μικροφύκους	Χρόνος αντίδρασης (min)	Συνθήκες	Απόδοση FAME Wt%
Nannochloropsis oceanica	30	70mg ξηρής μάζας	66
	60	λιπίδια 1,17%	85
	90	Υγρασία 65 wt%,	91
	120	2mL MeOH, 0,3mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% 95° C	91
Nannochloropsis salina	30	200mg ξηρή μάζα	91
	45	λιπίδια 18,8 wt%,	97
	60	υγρασία 76,5%	98
	75	2mL MeOH,	99
	90	50mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% ,105°C	96
Nannochloropsis Gaditana	120	150mg ξηρή μάζα λιπίδια 12,05 wt% υγρασία 80 wt%, 2mL MeOH διάλυμα 0,5 mL CHCl <sub>3</sub> 0,3HCl 35% 95°C	100
Chlorella sp.	240	50g ξηρή μάζα λιπίδια 11,5 % 150mL MeOH, 5,55mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98%, 65°C	94
Chlorella sp.	1140 19 ώρες	1g ξηρή μάζα 5,04 wt%, 3,4 mL MeOH 2,6 μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% 60°C 450 rpm	93
Nannochloropsis Oculata	1140 19 ώρες	1g ξηρής μάζας 4.08% λιπίδια, 2.8mL MeOH, 5	73

		μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% 60°C 450 rpm	
--	--	---	--

### 5.10 Οι εστέρες λιπαρών οξέων κατά την διάρκεια της μετεστεροποίησης

Σύγχρονες μελέτες των μικροφυκών σε in situ μετεστεροποίηση εστίασαν στην υψηλή απόδοση FAME. Η διαδικασία εν συντομία περιλαμβάνει τον διαχωρισμό των FAME, την ανάλυσή τους και τον υπολογισμό τους. Οι περισσότερες έρευνες χρησιμοποίησαν μικρά δείγματα μικροφυκών σε εργαστηριακή κλίμακα της τάξης 50 έως 300 mg (Makekghasemi S, et al., 2021). Η αλκοόλη και ο καταλύτης αναμείχθηκαν πριν προστεθούν στον αντιδραστήρα, επιπλέον διαλύματα δεν ήταν απαραίτητα, όμως χρησιμοποιήθηκαν για να αυξηθεί η απόδοση ή να μειωθεί η ποσότητα της αλκοόλης. Η θερμοκρασία αντίδρασης ελέγχθηκε από όργανα όπως λουτρό ελαίου ή μέσω συστήματος παλινδρόμησης (Lemoes JS et al., 2016). Τα FAMEs που παράχθηκαν από το εξάνιο ή το χλωροφόρμιο έπειτα έγινε έκπλυση με απιονισμένο νερό ή χλωριούχο νάτριο και τα διαλύματα αναλύθηκαν από CG–FID (Nautiyal P, et al, 2015).

Μέθοδος μετεστεροποίησης μικροφυκών in situ	Διαχωρισμός FAME και ανάλυση	Υπολογισμός FAME	Ευρήματα
200mg N. salina 76,5% υγρασία, 0,5–2,5mL αλκοόλης MeOH και EtOH, 15–35μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 75 – 120°C 30–90 λεπτά Άμεση ψύξη με κρύο νερό	Εξαγωγή FAME με προσθήκη χλωροφορμίου και απιονισμένο νερό, φυγοκέντριση 4000 στροφές/λεπτό Ανάλυση με GC– FID	Καθορισμός λιπιδίων από την μετεστεροποίηση 10mg ξηρού N.Salina , 2mL χλωροφόρμιο– διάλυμα αλκοόλης 2:1 v/v 1mL MeOH, 300μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C για 30λεπτά. Υπολογισμός απόδοσης	Η μελέτη έδειξε τα βέλτιστα αποτελέσματα της in situ μετεστεροποίησης υγρού N. salina
150mg N.gaditana υγρασίας 89wt%, 0,1–0,2mL διάλυμα	Εξαγωγή FAME με χλωροφόρμιο και φυγοκέντριση στους	Μέγιστη απόδοση FAME δόθηκε από τις συνθήκες 10–20 mg ξηρής N. gaditana, 2 mL	Βρέθηκε πως το HCl έδωσε υψηλότερη απόδοση FAME σε υγρό μικροάλγος

χλωροφορμίου ή εξανίου, 0,1 – 1,5mL HCl, 65– 95°C για 2 ώρες ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου	3700στροφές/λεπτό για 10 λεπτά Ανάλυση με GC– FID	χλωροφορμίου–αλκοόλης 2:1 v/v 1mL MeOH, 300μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 100°C 30 min	παρουσία H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Αντιδραστήρας 500mL , 4,2 –16,6g N.gaditana υγρασίας 75%, 3,8 –1,0mL καταλύτη, 200 στροφές/λεπτό ανάδευση 105–300 λεπτά ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου	Εξαγωγή FAME με προσθήκη εξανίου 20mL ανάδευση για 10 λεπτά, φυγοκέντρωση 7000στροφές/ λεπτό για 13 λεπτά Ανάλυση με GC– FID	Σαπωνοποιημένα λίπη SLs εντοπίστηκαν μετά την μετεστεροποίηση $SLs \% = \frac{Max\ FAME\ mg}{\xi\eta\rho\acute{\eta}\ \beta\iota\omicron\mu\acute{\alpha}\zeta\alpha\ mg}$ FAME εξάνιο % = $\frac{FAME\ \mu\epsilon\ \epsilon\acute{\xi}\acute{\alpha}\nu\iota\omicron\ mg}{\xi\eta\rho\acute{\eta}\ \beta\iota\omicron\mu\acute{\alpha}\zeta\alpha\ mg}$ Απόδοση FAME % = $\frac{FAME\ \mu\epsilon\ \epsilon\acute{\xi}\acute{\alpha}\nu\iota\omicron\ \%}{SLs\ \%}$	Υψηλή απόδοση FAME με υψηλή μεθανόλη εξαιτίας της υψηλής περιεκτικότητας σε υγρασία της βιομάζας
25mL κυλινδρικό δοχείο, 0,3g ξηρή Chlorella spp. 2– 18mL EtOH 75%, 3–9mL διαλύματος 0,2 –1,0 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 60–100°C για 0,5 – 2,5 ώρες	Λιπαροί μεθυλεστέρες FAEE εξάχθηκαν με την προσθήκη διαλύματος εξανίου και NaCl ανάμειξη και φυγοκέντρωση	Μέγιστη απόδοση FAEE υπό συνθήκες 0,3g βιομάζας, 11,4 mL διαλύματος χλωροφορμίου μεθανόλης νερού 1:2:0.8 v/v/v Αντίδραση 6mL EtOH 300μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90°C για 2 ώρες	Καταγράφηκε η θετική επίδραση του εξανίου στην απόδοση FAEE στην οποία το τοξικό χλωροφόρμιο αποφεύχθηκε
250mL κυλινδρικό δοχείο 50g ξηρή Chlorella sp. 150mL MeOH ή EtOH 10 g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 65°C ανάδευση για 4 ώρες	Διαχωρισμός FAEE με προσθήκη εξανίου φιλτράρισμα στέγνωμα με MgSO <sub>4</sub> FAEE καθαρίστηκαν με λεπτό στρώμα χρωματογράφου	Μέγιστη απόδοση σε FAEE σε απευθείας μετεστεροποίηση υπό συνθήκες 0,3g Chlorella spp. 6mL EtOH, 300μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90°C για 2 ώρες FAEE % = $\frac{a\ \acute{\rho}\acute{o}\kappa\eta\sigma\eta\ FAEE\ mg}{\pi\alpha\rho\alpha\gamma\omega\gamma\acute{\eta}\ biodisel\ mg}$	Η υψηλότερη απόδοση σε FAEE δόθηκε σε απευθείας μετεστεροποίηση

	αναλύθηκαν από GC-FID	FAEE% = $\frac{\text{απόκτηση FAEE mg}}{\text{μέγιστη FAEE mg}}$	
300L αντιδραστήρας, 20kg υγρού N. gaditana 4 kg υγρό μικροάλγος 16L νερό, 36,4L MeOH, 18,2L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 98% 95–100°C για 2 ώρες ψύξη 30–34°C με αποσυμπίεση	Εξαγωγή FAME με προσθήκη εξανίου, νερό, φυγοκέντρηση FAME ανάλυση με χρωματογράφο αερίου	FAME % = $\frac{\text{εξαγωγή FAME mg}}{\text{ακατέργαστο βιοντίζελ mg}}$	Η έρευνα έδειξε ότι η απόδοση FAME και η ποιότητα του βιοντίζελ αυξήθηκε με απόσταξη βιοντίζελ υπό κενό.
5mL αντίδραστήρα, 50mg C. vulgaris, MeOH βασικός καταλύτης 85°C για 6 ώρες Ψύξη σε θερμοκρασία δωματίου	Εξαγωγή FAME με προσθήκη εξανίου, Ανάμιξη για 1 λεπτό, ανάδευση 10λεπτά για 1000 στροφές/λεπτό Ανάλυση με GC-FID	Μέγιστο περιεχόμενο FAME με απευθείας μετεστεροποίηση υπό συνθήκες: 10mg C. Vulgaris, 300μL 0,6M HCl με μεθανόλη, 200μL χλωροφόρμιο: μεθανόλη 2:1 v/v, 85°C για 60 λεπτά	Η έρευνα έδειξε ότι το φωσφόριο καρβοξυλικό υγρό ήταν καλός καταλύτης

## 6. In situ μετεστεροποίηση από υγρά μικροφύκη

Η υγρή πάστα μικροφυκών μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε in situ μετεστεροποίηση για να εξαιλεφθούν τα ενδιάμεσα στάδια στεγνώματος και την παραγωγή βιοντίζελ από μικροάλγη για εμπορική χρήση (Xu L. et al., 2017). Η πιο συχνή περιεκτικότητα σε υγρασία των μικροφυκών ήταν από 65 έως 90 wt% πριν τη ξήρανση (Macias Sanchez MD, et al., 2015). Η χαμηλότερη απόδοση FAME καταγράφηκε όταν η πάστα των μικροάλγων που χρησιμοποιήθηκε είχε υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία (Liu B et al., 2007). Αν και κάποιες μελέτες κατέγραψαν αποδόσεις πάνω από 90% , η γενικότερη εικόνα για την υγρασία είναι περιορισμένη.

Τα μικροφύκη αναπτύσσονται σε υγρό περιβάλλον από το οποίο συλλέγονται υγρά. Οι δύο κυριότερες περιεκτικότητες σε υγρασία των μικροφυκών είναι κάτω από 10 wt% και από 65 έως 90 wt%. Στην περιεκτικότητα κάτω από 10% το νερό θα δεσμεύσει την υγρασία του κυτταρικού τοιχώματος ή των πόρων, και είναι η πιο ενεργοβόρα διαδικασία (Velasquez Orta

et al., 2013) . Η δεύτερη σημαντικότερη περιεκτικότητα σε υγρασία είναι 65 με 90% που είναι η περιεκτικότητα μετά την απομάκρυνση των κυττάρων από το υδατικό περιβάλλον με φυγοκέντριση ή καθίζηση (Kim B et al.,2015).

Οι περισσότερες έρευνες έδειξαν πως η υγρασία επιδρά αρνητικά στην διεργασία της μετεστεροποίησης. Μόνο λίγες μελέτες έδειξαν πως υπάρχει δυνατότητα μεγάλης παραγωγής βιοντίζελ με μεγάλη περιεκτικότητα νερού στη βιομάζα των μικροφυκών (Kim B et al.,2015).

Πίνακας 7 Περιεκτικότητα υγρασίας και απόδοση FAME σε *in situ* μετεστεροποίηση

Είδος μικροφύκους	Απόδοση FAME wt %	Περιεκτικότητα υγρασία wt%	Άλλες συνθήκες
Chlorella sp.	94	0	50g ξηρή μάζα 11,5wt% 150mL MeOH, 5,55 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ( 98%) 65°C για 240 λεπτά
Chlorella sorokiniana	61	0	1g ξηρή μάζα λιπιδιακή περιεκτικότητα 12,83 wt% 4mL MeOH, 38,26 μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98%, 90°C για 70 λεπτά
Chlorella sp.	92 80 62	0 1,5 10	1 g ξηρή μάζα λιπιδιακή περιεκτικότητα 5,04% 3,4mL MeOH, 2,6μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 8%, 60°C 450 στροφές / λεπτό για 19 ώρες
Chlorella pyrenoidosa	89 69 62 52 43 25 15 10 7	0 5 10 20 30 50 70 80 90	100mg ξηρή μάζα λιπιδιακή περιεκτικότητα 47 wt% 4 mL MeOH, 266–290 μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% 0,5mol/L H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 90°C για 120 λεπτά
Nannochloropsis gaditana	100	75	5,2g υγρή μάζα λιπιδιακής περιεκτικότητας 11,1 wt% 38,1mL MeOH, 1,9mL



			ακετυλοχλωρίδιο 98%, 100°C, 200 στροφές/ λεπτό για 120 λεπτά
Nannochloropsis Gaditana	100	80	150mg ξηρή βιομάζα περιεκτικότητας 12,05%, 2 mL MeOH, 0,3mL HCl 95°C για 120 λεπτά
Nannochloropsis salina	100 95 70	76,4 81.9 90.8	200mg ξηρή βιομάζας λιπιδιακής περιεκτικότητας 18,8% 2mL MeOH, 50μL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 98% 105°C για 60 λεπτά

Στον πίνακα παραπάνω φαίνονται τα αποτελέσματα από πρόσφατες έρευνες σε σχέση με την επίδραση της περιεκτικότητας υγρασίας στην απόδοση FAME σε *in situ* μετεστεροποίηση. Όταν τα δείγματα δεν περιέχουν υγρασία *Chlorella* sp. και *Chlorella sorokiniana*, η απόδοση είναι 94 και 61% αντίστοιχα. (Gan YY et al., 2021).

Οι πιο πρόσφατες έρευνες που χρησιμοποίησαν υγρή πάστα μικροφυκών σε μετεστεροποίηση *in situ* έχουν σημειώσει πρόοδο, όμως σε κλίμακα εργαστηριακή. Το βασικότερο πλεονέκτημα της χρήσης υγρής πάστας είναι η ελάττωση της απαιτούμενης ενέργειας για την παραγωγή βιοντίζελ. Ο κύκλος παραγωγής του *C vulgaris* μελετήθηκε σε υγρή και ξηρή κατάσταση με δύο διαφορετικά λιπιδιακά περιεχόμενα 38,5 και 17,5 % αντίστοιχα. Μελετήθηκε χαμηλό λιπιδιακό περιεχόμενο –ξηρά, χαμηλό λιπιδιακό περιεχόμενο– υγρά, υψηλό λιπιδιακό περιεχόμενο– ξηρά και υψηλό λιπιδιακό περιεχόμενο– υγρά. Τα υγρά μικροφύκη έδειξαν ότι δεν είχαν υψηλές απαιτήσεις σε παροχή ενέργειας. Ειδικότερα για 1kg βιοντίζελ η ενεργειακές ανάγκες είναι 106,4, 41,4, 48,9, 19,9 MJ για χαμηλά λιπίδια – ξηρά, χαμηλά λιπίδια – υγρά , υψηλά λιπίδια – ξηρά , υψηλά λιπίδια – υγρά αντίστοιχα. Το ενεργειακό ισοζύγιο ήταν 2,6, 105, 12 και 66 MJ για χαμηλά λιπίδια –ξηρά, χαμηλά λιπίδια – υγρά , υψηλά λιπίδια – ξηρά , υψηλά λιπίδια – υγρά αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά για την υγρά μικροφύκη να χρησιμοποιηθούν εμπορικά (Lardon L et al., 2009).

Από την άλλη πλευρά οι έρευνες εντόπισαν την μείωση της απόδοσης FAME εξαιτίας της παρουσίας υγρασίας ( Ehimen EA , et al, 2010). Για παράδειγμα στην περίπτωση *Chlorella* sp. με 10% υγρασία τα αποτελέσματα ήταν 20 % μείωση της απόδοσης FAME σε σχέση με την ξηρή βιομάζα ( Velasquez orta SB et al., 2013). Σε άλλη μελέτη του ίδιου στελέχους η

υγρασία της βιομάζας ανέστειλε την διεργασία και δεν εντοπίστηκαν καθόλου FAME αν η περιεκτικότητα ήταν 72,5 wt% ( Ehimen EA et al., 2010).

Η οικονομική ανάλυση απέδειξε πως περισσότερο από το 80% του κόστους παραγωγής βιοντίζελ προέρχονται από τα ακατέργαστα υλικά (Kim et al, 2019). Άρα το κόστος μειώνεται αν χρησιμοποιηθούν οικονομικότερα υλικά όπως μεθανόλη. Αν και οι διαλύτες ανακυκλώνονται, η ενεργειακή κατανάλωση επηρεάζει την συνολική ενέργεια της διαδικασίας (Ejim CE et al, 2006).

Με στόχο να αναπτυχθεί μια αποτελεσματική στρατηγική για την *in situ* μετεστεροποίηση προτάθηκε να παράγεται ταυτόχρονα με το βιοντίζελ και διμεθλαιθέρας (DME) και τα υπολείμματα των μικροφυκών να χρησιμοποιηθούν για παραγωγή μεθανίου. Όμως οι νέες συνθήκες μετεστεροποίησης δεν απαιτούν τη χρήση καταλύτη και παρέχει ανοχή στα ελεύθερα λιπαρά οξέα στην βιομάζα. Συγκριτικά με την συμβατική *in situ* μετεστεροποίηση η συνολική ενέργεια που απαιτείται στην καινούργια διαδικασία είναι ελαττωμένη κατά 93% (Hasimoglu C et al., 2008). Επομένως με τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων της αντίδρασης μπορεί να αναπτυχθεί μια βιώσιμη μέθοδος *in situ* μετεστεροποίησης.

## 6.1 Η κινητική και η θερμοδυναμική στην υγρή βιομάζα μικροφυκών στην μετεστεροποίηση

Η κινητική της αντίδρασης μετεστεροποίησης καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τους σημαντικότερους παράγοντες της διεργασίας που περιλαμβάνουν καταλύτη, μεθανόλη, θερμοκρασία και χρόνο αντίδρασης. Οι διαθέσιμες κινητικές και θερμοδυναμικές μελέτες έχουν επικεντρωθεί μόνο στην εξαγωγή ελαίων μετεστεροποίησης από καστορέλαιο, ελαιοκράμβη και φοινικέλαιο (Asakuma Y et al. 2009). Οι μελέτες και οι έρευνες που έχουν ασχοληθεί με την κινητική για μετεστεροποίηση λιπιδίων από μικροφύκη είναι περιορισμένες.

Επιπρόσθετα η κινητική και η θερμοδυναμική της αντίδρασης είναι παράμετροι όπως η τάξη αντίδρασης, η τιμή της κινητικής σταθεράς της αντίδρασης, η ενθαλπία, η εντροπία και η ενέργεια Gibbs είναι σημαντικά δεδομένα και για το σχεδιασμό αντιδραστήρων (Butt JB et al, 2000). Η *in situ* μετεστεροποίηση είναι διαφορετική από μετεστεροποίηση ελαίων στην οποία η αλκοόλη αντιδρά με κυτταρικά λιπίδια όπως τα ουδέτερα λιπίδια, ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια και γλυκολιπίδια (Gorro G, et al., 2014). Συνεπώς η κινητική και η θερμοδυναμική της αντίδρασης μπορεί να επηρεαστεί εξαιτίας λιπιδίων που υπάρχουν στο μείγμα της αντίδρασης. Η κινητική και η θερμοδυναμική της *in situ* διεργασίας μετεστεροποίησης υγρών μικροφυκών είναι απαραίτητο να κατανοηθεί η φύση της αντίδρασης και τον σχεδιασμό αντιδραστήρων μεγαλύτερης κλίμακας για μελέτη.

Γενικά το βιοντίζελ και τα FAME παράγονται από μετεστεροποίηση των τριγλυκεριδίων φυτικών ή ζωικών λιπών με αλκοόλη παρουσία βασικού, όξινου ή ενζυματικού καταλύτη. Η διαδικασία είναι συνεχής και αναστρέψιμη. Η πρώτη αντίδρασης τα τριγλυκερίδια TG αντιδρούν με την αλκοόλη σε αιθέρες και δίνει διγλυκερίδια DG και λιπαρούς αιθυλεστέρες ME. Στην δεύτερη αντίδραση τα διγλυκερίδια αντιδρούν με την αλκοόλη σε μονογλυκερίδια MG και το δεύτερο μόριο λιπαρού όξινου εστέρα. Στην τρίτη αντίδραση μονογλυκερίδια αντιδρούν με την αλκοόλη και παράγεται γλυκερόλη G και το τρίτο μόριο λιπαρού όξινου εστέρα.



Η όλη διαδικασία μπορεί να περιγραφεί από 4 βήματα. Όταν η συγκέντρωση των FFA στο έλαιο είναι υψηλή, απαιτείται ένα στάδιο προετοιμασίας μετεστεροποίηση για να μετασχηματιστεί ένα μόριο μεθυλαιστέρα και ένα μόριο νερού, όπως φαίνεται στο σχήμα 5.

Αν η αλκοόλη και τα τριγλυκερίδια είναι αναμίξιμα σε θερμοκρασία δωματίου πάντα προκύπτει το φαινόμενο μεταφοράς μάζας στην αντίδραση. Η προτεινόμενη μέθοδος για αποφυγή της μεταφοράς μάζας είναι η άριστη μίξη, και η πρόσθεση διαλύτη (Trejo– Zarraga F et al., 2018).

### 6.3 Κινητική της αντίδρασης

Για τον ομογενή καταλύτη όξινο ή βασικό, υπάρχει η μεταφορά μάζας από τον μη αναμειγμένο καταλύτη στο μίγμα. Για αυτό το λόγο ο καταλύτης πρέπει να διαλύεται πρώτα σε αλκοόλη πριν την επαφή με το έλαιο. Το πιο απαιτητικό είναι η μεταφορά μάζας μεταξύ της φάσης της αλκοόλης και του ελαίου. Παλαιότερες μελέτες υποδεικνύουν πως η ταχύτητα μίξης πάνω από 700 στροφές ανά λεπτό μπορεί να αποφύγει το φαινόμενο και να πετύχει υψηλή απόδοση FAME πάνω από 95% (Encinar JM, et al., 2016). Άλλη προτεινόμενη μέθοδος είναι η χρήση αναμειξιμων διαλυμάτων για να μετασχηματιστεί σε ομογενές το μίγμα. Σε προηγούμενη μελέτη, τετραϋδροφουράνιο THF, διμεθυλαιθέρας και μεθυλοτετραβουτύλοιθέρας MTBE προτείνονται για να βελτιώσουν την ανάμιξη αλκοόλης και ελαίου (Boocock DGB, et al,1998). Άλλη έρευνα επιβεβαιώνει ότι βελτιώνεται η μεταφορά μάζας από την πρόσθεση διαλυμάτων όπως ακετόνη, διαιθυλεθέρες,

διβουτυλαιθέρες, μεθυλαιθέρα, διβουτυλαιθέρας, τετραυδροφουράνιο (Encinar JM, et al., 2016).

Υπάρχουν δύο μηχανισμοί μετεστεροποίησης με χρήση όξινου, βασικού ή ενζυμικού καταλύτη. Στην περίπτωση του αλκαλικού καταλύτη η αντίδραση έχει γρήγορο ρυθμό, το πρώτο βήμα είναι μετατροπή ενός αλκοξειδίου που είναι ισχυρό πυρηνόφιλο που αλληλεπιδρά με ηλεκτρόφιλο άνθρακα σε μια καρβονυλική ομάδα του τριγλυκεριδίου. Αυτό μετατρέπει το καρβονύλιο σε τατραεδρικό ενδιάμεσο, αυτό αποτελεί το δεύτερο βήμα. Στο τρίτο βήμα ο τετραεδρικός άνθρακας χωρίζεται από το ενδιάμεσο και μετατρέπεται σε αλκυλεστέρα. Η αποπρωτονίωση του καταλύτη αναγεννά το αλκάλιο, το πρωτόνιο προσκολλάται στο ανιόν διγλυκεριδίου και αποτελεί το τέταρτο βήμα. Ο καταλύτης μπορεί να επιδράσει με άλλο μόριο αλκοόλης και η διαδικασία που περιεγράφηκε προηγουμένως επαναλαμβάνεται (Rathore V, et al. 2015).

Η περιεκτικότητα των λιπαρών οξέων κατέχει σημαντική θέση στην αλκαλική ή όξινη κατάλυση. Για την αλκαλική η περιεκτικότητα σε FFA πρέπει να είναι λιγότερη από 3% για να αποφευχθεί η σαπωνοποίηση που θα προκαλέσει σημαντική μείωση στην απόδοση (Trejo – Zarraga F, et al, 2018). Ο όξινος καταλύτης επιλέγεται στην περίπτωση της υψηλής περιεκτικότητας σε FFA, με πιο συνηθισμένους το υδροχλωρικό οξύ, φωσφορικό οξύ, σουλφονικό οξύ, με πιο αποτελεσματικά το υδροχλώριο και το θειικό οξύ με συγκέντρωση 2.25M (Al– Widyan MI et al, 2002). Άλλη έρευνα έδωσε καλύτερα αποτελέσματα στα 0,78M θειικού οξέος (Muhammad AB et al, 2017). Η κατάλυση με αλκοξείδιο του νατρίου είχε έδωσε πολύ υψηλά ποσοστά απόδοσης με μικρή ποσότητα καταλύτη όμως απαιτούνται άνυδρες συνθήκες. Όσο πιο υψηλή συγκέντρωση του καταλύτη τόσο μεγαλύτερη η απόδοση της αντίδρασης, όμως η υπερβολική χρήση καταλύτη μπορεί να οδηγήσει σε σαπωνοποίηση και να μειώσει την απόδοση (Meher LC. et al, 2006).

Στοιχειομετρικά 3 mol μεθανόλης απαιτούνται για 1 mol τριγλυκεριδίου. Η περίσσεια μεθανόλης οδηγεί σε ισορροπία ανάμεσα στα προϊόντα. Κάποιες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην μελέτη της μεθανόλης πως επηρεάζει την αντίδραση και βρέθηκε πως αυξάνει την απόδοση όταν η αναλογία μεθανόλης και ελαίου αυξήθηκε (Encinar MJ , et al, 2016). Η αναλογία μεθανόλης – ελαίου αυξήθηκε από 6:1 σε 16:1. Από την άλλη πλευρά η θερμοκρασία καθορίζει την κινητική και την ισορροπία της αντίδρασης. Η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει την τιμή της αντίδρασης. Όμως η αύξηση της θερμοκρασίας μπορεί να μειώσει το ιξώδες των προϊόντων και να προκαλέσει φαινόμενο μεταφορά μάζας (Trejo– Zarraga F., et al., 2018). Η αλκαλική κατάλυση είναι πιο σύντομη από την όξινη, η αλκαλική απαιτεί λιγότερο από 90 λεπτά για να φτάσει σε ισορροπίας ενώ η όξινη χρειάζεται κάποιες ώρες (Noureddini H, et al., 1997).

Μελετήθηκε η κινητική και η θερμοδυναμική της μετεστεροποίησης ελαίων που προέρχονται από βρώσιμα έλαια (καρύδα, λιναρόσπορο, σόγια, ηλιοτρόπιο), μη βρώσιμα έλαια (καστορέλαιο) και μαγειρεμένα έλαια, με βασικό καταλύτη και μεθανόλη. Η θερμοκρασία της αντίδρασης ήταν από 15° C έως 500° C, ο χρόνος αντίδρασης μελετήθηκε από 10 δευτερόλεπτα έως 480 λεπτά. Η ενέργεια ενεργοποίησης για κάθε περίπτωση ήταν από 11,7 έως 105,5 kJ/mol. Η διαφορετικές ενέργειες ήταν εξαιτίας των διαφορετικών ελαίων και τις διαφορετικές ιδιότητες και παραμέτρους. Η θερμοδυναμική μελέτη της μετεστεροποίησης που υπήρχε στη βιβλιογραφία ήταν η ενθαλπία από 19,6– 31,4 kJ/mol η εντροπία από 0,23 – 0,18 kJ/Kmol και η ενέργεια Gibbs 75.3 – 153.6 kJ/mol. Βασιζόμενοι στη βιβλιογραφία η μετεστεροποίηση είναι ενδόθερμη ( $\Delta H > 0$ ) αντίδραση, αυθόρμητη  $\Delta G > 0$ , και  $\Delta S < 0$ . Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον επόμενο πίνακα.

Πίνακας 8 σειρά αντίδρασης, ενέργεια ενεργοποίησης θερμοδυναμικές μεταβλητές στην μετεστεροποίηση διαφόρων ελαίων

Έλαια	Μέθοδος	Τάξη αντίδρασης	Ενέργεια ενεργοποίησης $E_A$ (kJ/mol)	Ενθαλπία $\Delta H$ (kJ/mol)	Εντροπία, $\Delta S$ (kJ/molK)	Ενέργεια Gibbs (kJ/mol)
Λιναρέλαιο Καστορέλαιο	Αναλογία mol MeOH/ ελαίου 10:1 – 70:1 200– 350° C 200 bar, 10–300 λεπτά	1,0	46,5 35	–	–	–
Φοινικέλαιο	500g KOH 1wt%, MeOH / έλαιο 6:1, 60° C, 60 λεπτά, 600 rpm	2,0	–	–	–	–
Φοινικέλαιο	42,35g ελαίου, KOH 2.5–12,5wt %,ανθρακικός διμεθυλαιθέρας: έλαιο 3:1–15:1, 65–67°C, 20–480 λεπτά	1,0	79,1	–	–	–
Ελαιοκράμβη	250g ελαίου, KOH 0.5–1.0 wt%, MeOH/έλαιο 6:1–12:1, διάλυμα/ μεθανόλη 2:1–0.5:1, 20–40° C, 120 λεπτά, 500–1100 στροφές/λεπτό	1,0	21,9	19,6	–0,19	75,3 – 79,1
Ελαιοκράμβη	MeOH/ έλαιο 3,5:1– 42:1, 200–500° C, 10–	1,0	–	–	–	

	7200 δευτερόλεπτα					
Σογιέλαιο	CH <sub>3</sub> ONa 0,5–1,5 %, MeOH/έλαιο 23:1 – 69:1, 150 – 250° C, 20 λεπτά, 50–60 στροφές/λεπτό	1,5	27,0	23,2	–0,22	137,4
Σογιέλαιο	250g, NaOH 0,6–0,9%, MeOH/έλαιο 4,5:1–9:1, 55–60° C 1ώρα, 600 rpm	1,0	31,0	28,3	–0,18	83,3–87,7
Καστορέλαιο	NaOH 0,25–0,5%, MeOH/ έλαιο 4:1–8:1, 25–80° C 2 ώρες, 250 –600 rpm	1,0	–	–	–	–
Έλαιο Jatropha	KOH 2–12%, ανθρακικός	1,0	66,4	–	–	–
Έλαιο karanja	διμεθυλεστέρας 3:1–12:1 60–80° C, 30–480 λεπτά	1,0	54,5	–	–	–
Έλαιο Jatropha	NaOH 1%, MeOH/έλαιο 3:1–6:1, 30–60° C 15–180 λεπτά, 200rpm	1,0	19,1–34	–	–	–
Έλαιο Karanja	KOH 0,25–1,25%, MeOH/έλαιο 3:1–12:1, 15–65° C, 15–60min , 600rpm	1,0	105,5	–	–	–
Τηγανέλαια	NaOH 0,4–11,5% MeOH/έλαιο 3:1–12:1, 25–75° C 3–35λεπτά, 600rpm	1,0	11,7	–	–	–
Απορρίμματα βυρσοδεγίου	MeOH/έλαια 40:1, 250– 325° C, 12MPa, 2–10 λεπτά	1,0	36,0	31,4	–0,23	153,6

Μελέτες κινητικής και θερμοδυναμικής στην μετεστεροποίηση μικροφυκών

Παρά τις αρκετές μελέτες της κινητικής και θερμοδυναμικής για την μετεστεροποίηση διαφόρων προελεύσεων ελαίων, οι μελέτες για την μετεστεροποίηση μικροφυκών είναι περιορισμένες, ιδιαίτερα από υγρά μικροάλγη. Υπάρχει μια έρευνα για την κινητική της μετεστεροποίησης της *Chlorella protothecoides*. Η μελέτη της κινητικής έγινε υπό άριστες συνθήκες συγκέντρωσης αλκαλικού καταλύτη NaOH, θερμοκρασίας 30–70° C, αναλογία MeOH/ ελαίου 3:1–10:1 και χρόνο αντίδρασης από 5– 300 λεπτά. Δεν υπάρχουν δεδομένα για την ενέργεια ενεργοποίησης και τις θερμοδυναμικές παραμέτρους της αντίδρασης (Kumar M. Et al, 2016).

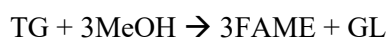
Η κινητική και η θερμοδυναμική της μετεστεροποίησης του στελέχους *Spirulina platensis* μελετήθηκε υπό βέλτιστες συνθήκες, πιο συγκεκριμένα 90λεπτά στέγνωμα, 4:1 αναλογία μεθανόλης: ελαίου, 60wt% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/ ξηρά μικροφύκη, 450 στροφές/λεπτό ανάδευση, 37–75° C και χρόνος αντίδρασης 10–80 λεπτά. Βρέθηκε πως ο βαθμός αντίδρασης ήταν 0.001/ λεπτό και η ενέργεια ενεργοποίησης 14,5kJ/ mol. Η ΔH = 16,3 KJ/mol, ΔS= 0,23 kJ/mol.K και τελικά ΔG = 92,7 kJ/mol (Nautiyal P. et al., 2014).

Επιπρόσθετα υπάρχει μόνο μια μελέτη για την κινητική της *in situ* μετεστεροποίησης του στελέχους *Chlorella vulgaris* που περιέχει υγρασία. Οι συνθήκες ήταν 600:1 και 925:1 μεθανόλης: ελαίου, ρυθμός ανάδευσης 450 rpm, 60° C θερμοκρασία, 24–96 wt% NaOH/ ελαίου, υγρασία 0–20 wt%. Όμως δεν υπάρχουν δεδομένα για την ενέργεια ενεργοποίησης και τις θερμοδυναμικές παραμέτρους (Salam KA., et al., 2016).

## 6.4 Μαθηματικές εξισώσεις της αντίδρασης μετεστεροποίησης

Η μελέτη έγινε για την *in situ* μετεστεροποίηση ελαίων μικροφυκών. Οι καταλύτες που μελετήθηκαν ήταν ετερογενή κατάλυση ομογενή με αλκαλικό καταλύτη (Asakuma Y, et al. 2009) , ομογενής κατάλυση με όξινο καταλύτη (Nautiyal P. et al., 2014). Η χαμηλή διακύμανση της θερμοκρασίας της αντίδρασης ήταν 30–70° C ενώ η υψηλή διακύμανση 150–250° C (Asakuma Y. et al.,2009). Ο χρόνος αντίδρασης για τα δεδομένα της κινητικής ήταν από 1–5 λεπτά (Asakuma Y., et al., 2009) έως 180 λεπτά (Kumar M., et al.2016).

Οι περισσότερες μελέτες ανέπτυξαν το παρακάτω μοντέλο κινητικής.



Η ανάδευση που χρησιμοποιήθηκε εξασφάλισε την κινητική δραστηριότητα της περιοχής (Salam KA et al. 2015). Η σχέση που αναπτύχθηκε προήλθε από την εξίσωση και την θεωρία. Για κάποιες μελέτες η αντίδραση περιγράφεται από την σχέση 1

$$\frac{d X_{TG}}{dt} = k C_{TG} (1 - X_{TG}) \quad (1)$$

Ενώ άλλες μελέτες περιλαμβάνουν τον βαθμό αντίδρασης σαν άγνωστο όπως στην εξίσωση 2.

$$- \frac{dC_{TG}}{dt} = k C_{TG}^a \quad (2)$$

Ο βαθμός της αντίδρασης μετατράπηκε σε συνάρτηση με την μετατροπή των τριγλυκεριδίων ή της απόδοσης της αντίδρασης σε FAME εξίσωση 3.

$$\frac{dX_{TG}}{dt} = k C_{TG}^{a+\beta-1} (1 - X_{TG})^a (\theta_{Me} - 3 X_{TG})^\beta \quad (3)$$

Με  $C_{TG0}$  και  $C_{TG}$  να είναι η συγκέντρωση των εστεροποιημένων λιπιδίων σε χρόνο  $t_0$  και  $t$  (mol/L) αντίστοιχα,  $t$  ο χρόνος της αντίδρασης σε λεπτά,  $X_{TG}$  είναι η μετατροπή των τριγλυκεριδίων,  $k$  είναι η σταθερά της αντίδρασης,  $a$  και  $\beta$  η τάξη της αντίδρασης με τη σειρά εστεροποιημένων λιπιδίων και μεθανόλη αντίστοιχα.

Στην περίπτωση της πρώτης τάξης αντίδρασης έπρεπε να υπολογιστεί η μετατροπή σε γραμμική εξίσωση η εξίσωση που προέκυψε είναι

$$\ln(1 - X_{TG}) = -kt \quad (4)$$

Στην περίπτωση που είναι άγνωστη η τάξη της εξίσωσης υπάρχουν δύο λύσεις. Η πρώτη είναι οι πιθανές τάξεις της αντίδρασης 0 έως 2, τότε ο πιο σημαντικός παράγοντας υπολογίζοντας από τη γραμμική εξίσωση όπως της εξίσωσης (4). Η τάξη της εξίσωσης ήταν 0 για το MeOH και 1 το TG. (Singh AK., et al., 2007). Τα δεδομένα για την μετατροπή των τριγλυκεριδίων  $X_{TG}$  εισέρχονται και αυτά στη γραμμική εξίσωση για να υπολογιστεί ο βαθμός της αντίδρασης ως την κλίση της ευθείας. Στην δεύτερη περίπτωση ο άγνωστος υπολογιζόταν ως σταθερά στην γραμμική εξίσωση σύμφωνα με τη σχέση 5.

$$\ln \frac{dX_{TG}}{dt} = a \ln [C_{TG0} (1 - X_{TG})] + \ln \frac{k}{C_{TG0}} \quad (5)$$

Η εξίσωση Arrhenius (6) χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστεί η ενέργεια ενεργοποίησης και η εξίσωση Eyring – Polanyi (7) για τον υπολογισμό  $\Delta H$ , και  $\Delta S$  (8)

$$K = A e^{\frac{-E_A}{kT}} \quad (6)$$

$$\ln \left( \frac{k}{T} \right) = - \frac{\Delta H}{R} \left( \frac{1}{T} \right) + [ \ln k + \ln \left( \frac{k_B}{h} \right) + \frac{\Delta S}{R} ] \quad (7)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (8)$$

Όπου  $E_A$  η ενέργεια ενεργοποίησης μετρούμενη σε J/mol



A συντελεστής R σταθερά των αερίων J/ mol .K, T θερμοκρασία αντίδρασης σε K

K συντελεστής μετάδοσης ,  $K_B$  σταθερά Boltzmann  $1.38 \cdot 10^{-23}$  J/K,  $h$  σταθερά του Plank  $6,63 \cdot 10^{-34}$  J.s

## 6.6 Η μετεστεροποίηση in situ μικροάλγων για παραγωγή βιοντίζελ μεγάλης κλίμακας

Οι ιδιότητες του βιοντίζελ είναι σημαντικές γιατί αργότερα καθορίζουν την ζωή του κινητήρα. Όμως οι μελέτες που υπάρχουν μέχρι στιγμής για την in situ μετεστεροποίηση είναι λίγες, και οι περισσότερες εστιάζουν σε παραμέτρους όπως η απόδοση FAME και στην παραγωγή παρά προϊόντων (Im H, et al., 2015). Αν και υπάρχουν μερικές μελέτες σχετικές με την απόδοση FAME, υπάρχουν και κάποιες που επικεντρώνονται στον χαρακτηρισμό των λιπαρών οξέων και τη σύνθεση τους από μικροάλγη (Im H, et al., 2015). Πολλές έρευνες δεν σχετίζουν τις παραμέτρους την σύνθεση FAME με τις παραμέτρους της αντίδρασης (Malekghasemi S et al., 2021). Τελικά σε αυτό το πεδίο ερευνών το κενό που υπάρχει είναι η σχέση ανάμεσα στην σύνθεση των FAME κατά την in situ μετεστεροποίηση από μικροφύκη.

Ακόμη λίγα είναι τα ευρήματα και για την in situ μετεστεροποίηση της υγρής πάστας μικροφυκών. Η υγρή βιομάζα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μειώσει το επιπρόσθετο βήμα της ξήρανσης και της εξαγωγής λιπιδίων, το οποίο μπορεί να συνεισφέρει στο 90% της συνολικής απαιτούμενης ενέργειας για την παραγωγή βιοντίζελ (Xu L et al.2011). Ωστόσο η χαμηλή απόδοση FAME σημειώθηκε όταν η περιεκτικότητα υγρασίας ήταν υψηλή στην βιομάζα ( Velasquez – Orta SB., et al., 2013). Από την άλλη υπάρχουν κάποιες μελέτες που κατέγραψαν υψηλή απόδοση FAME που επιτεύχθηκε από υγρή πάστα μικροφυκών, όμως οι έρευνες δεν ήταν περιεκτικές ως προς τις παραμέτρους της αντίδρασης, αλλά και ως προς τον μηχανισμό υγρασίας (Amaro HM. et al., 2011). Ακόμη σε αυτές τις έρευνες η θερμοκρασία ξεπερνούσε το σημείο βρασμού της μεθανόλης ( Kim TH, et al., 2015), με αποτέλεσμα να προκαλείται εξάτμιση της μεθανόλης και να απαιτείται αντιδραστήρας υψηλών πιέσεων για βιομηχανική παραγωγή. Το κενό που υπάρχει προς το παρόν στην in situ μετεστεροποίηση των υγρών μικροφυκών είναι πως επηρεάζουν οι χαμηλές θερμοκρασίες  $<65^\circ \text{C}$  της απόδοσης FAME καθώς και τη διαχείριση της υγρασίας κατά την αντίδραση.

Επιπλέον η αξία της θερμοδυναμικής και της κινητικής της αντίδρασης είναι διαφορετική σε κάθε περίπτωση εξαιτίας των διαφορετικών συστατικών που παίρνουν μέρος στην αντίδραση όπως ελεύθερα λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια, γλυκολιπίδια (Corro G. Et al, 2014). Οι διαθέσιμες έρευνες εστίασαν μόνο στην εξαγωγή λιπιδίων μετεστεροποίησης από πηγές

όπως ελαιοκράμβης, σόγιας, και μαγειρεμένα έλαια. Δεδομένα για τη μετεστεροποίηση ελαίων μικροφυκών είναι ελάχιστα.

Τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για την νανοτεχνολογία των μικροφυκών για να βελτιωθεί η παραγωγή λιπιδίων και η παραγωγή χρησιμων ενζύμων και πρωτεϊνών από τα μικροφύκη. Είναι γνωστό πως τα μικροφύκη περιέχουν νανοσωματίδια και νανοϋλικά όπως πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, αντιοξειδωτικά, φαινόλες που μπορούν να συνεισφέρουν στην μελλοντική ανάπτυξη της νανοτεχνολογίας των άλγων. Επιπρόσθετα η νανοτεχνολογία προσφέρει πλεονέκτημα διότι είναι φιλική προς το περιβάλλον, έχει χαμηλή τοξικότητα και δεν είναι ενεργοβόρα. Η πιο πολλά υποσχόμενη νανοτεχνολογία είναι αυτή που περιλαμβάνει την εκμετάλλευση νανο-χημικών από φύκη όπως καφέ, κόκκινη, πράσινη άλγη και κυανοβακτήρια (Chan SS, et al, 2022). Η εφαρμογές των μικρούλικών φαίνονται είναι σε τομείς όπως άμυνας και προστασίας, φάρμακα, ηλεκτρονικά, καλλυντικά, γεωργία και υφαντουργία. Ιδιαίτερα στον κλάδο της γεωργίας εξαιτίας της ικανότητάς τους να βελτιώσουν, να αναπτύξουν και να προστατέψουν τις καλλιέργειες.

## 7. Χαρακτηριστικά του βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών

Τα χαρακτηριστικά και η ποιότητα του βιοντίζελ που παράγεται από μικροφύκη είναι συγκρίσιμα με αυτά που προέρχονται από άλλες πρώτες ύλες. Ειδικότερα τα χαρακτηριστικά του βιοντίζελ που προήλθε από έλαιο στελέχους *Chlorella* αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 9 χαρακτηριστικά βιοντίζελ από έλαιο *Chlorella* ,συμβατικού βιοντίζελ και οι προδιαγραφές για το βιοντίζελ

Ιδιότητες	Βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών	Συμβατικό βιοντίζελ	Προδιαγραφές βιοντίζελ ASTM
Πυκνότητα kg/L	0,864	0,838	0,86 – 0,90
Ιξώδες (mm <sup>2</sup> /s, cSt στους 40° C)	5,2	1,9– 4,1	3,5–5,0
Σημείο ανάφλεξης °C	115	75	Ελάχιστο 100
Σημείο τήξης °C	–12	–50 έως 10	–
Σημείο απόφραξης ψυχρού φίλτρου °C	–11	–3,0 μέγιστο – 6,7	Το καλοκαίρι μέγιστο 0 Το χειμώνα μέγιστο <

			-15
Οξύτητα mg KOH/g	0,374	Μέγιστο 0,5	Μέγιστο 0,5
Θερμαντική αξία MJ/kg	41	40– 45	–
Αναλογία H/C	1,81	1,81	–

Στον πίνακα 25 συγκρίνεται η απόδοση του συμβατικού βιοντίζελ με αυτό των μικροφυκών. Παρατηρώντας το σημείο ανάφλεξης , είναι εμφανές πως του βιοντίζελ από μικροφύκη παρουσιάζει σταθερότητα κάτι που το κάνει πιο ασφαλές σαν καύσιμο. Ακόμη το σημείο απόφραξης φίλτρου έχει πολύ χαμηλότερη τιμή από το συμβατικό κάτι που του επιτρέπει να χρησιμοποιείται σε περιοχές με χαμηλές θερμοκρασίες.

## 7.1 Οικονομική ανάλυση

Για να μπορέσει η διαδικασία παραγωγής βιοντίζελ από μικροφυκή να αναπτυχθεί και να είναι οικονομικά βιώσιμη πρέπει η τιμή του τελικού προϊόντος να είναι ανταγωνιστική σε σχέση με του συμβατικού. Το κόστος παραγωγής της βιομάζας δεν θα πρέπει να ξεπερνά ένα συγκεκριμένο ποσό. Για να το ορίσουμε ακολουθούμε την παρακάτω διαδικασία.

Έστω  $M$  η ποσότητα της βιομάζας μετρημένη σε τόνους που ισοδυναμεί με το ισοδύναμο ενέργειας ενός βαρελιού αργού πετρελαίου. Η ποσότητα υπολογίζεται από την σχέση

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

Όπου  $E_{\text{petroleum}}$  η ενέργεια που περιέχεται σε 1 βαρέλι αργού πετρελαίου περίπου 6100MJ

$Q$  ο όγκος μετρημένος σε  $\text{m}^3/\text{ton}$  του βιοαερίου που παράγεται από την αναερόβια χώνευση της βιομάζας των μικροφυκών που απομένει περίπου  $400 \text{ m}^3 / \text{ton}$ .

$W$  το w.t %, ποσοστό ελαίων στη βιομάζα,  $E_{\text{biogas}}$  MJ/ $\text{m}^3$  η ενέργεια που περιέχεται στο βιοαέριο, τυπική τιμή  $23.4 \text{ MJ}/\text{m}^3$ ,  $y$  η απόδοση του βιοντίζελ από άλγη τυπικά 80%

$E_{\text{biodiesel}}$  το μέσο ενεργειακό περιεχόμενο του βιοντίζελ τυπική τιμή  $37800 \text{ MJ} / \text{τόνο}$ .

Για να υπολογίσουμε το  $M$  για οποιαδήποτε τιμή  $w$  μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τις τυπικές τιμές. Θεωρώντας πως το κόστος μετατροπής 1 βαρελιού αργού πετρελαίου σε καύσιμο ισοδυναμεί με την μετατροπή  $M$  τόνων μικροφυκών σε βιοενέργεια, το μέγιστο κόστος δεν πρέπει να υπερβαίνει την τιμή πώλησης του αργού πετρελαίου.

Δηλαδή αποδεκτή τιμή βιομάζας \$ ανά τόνο =  $\frac{\text{τιμή βαρελιού πετρελαίου \$}}{M}$

Η τιμή αργού πετρελαίου είναι περίπου 75 δολάρια ανά βαρέλι, επομένως η βιομάζα με 55% πετρέλαιο περιεχόμενο η τιμή της πρέπει να μην ξεπερνάει τα 260 \$/ τόνο.

Από τις λίμνες και τους φωτοβιοαντιδραστήρες υπολογίζεται το κόστος παραγωγής για ένα κιλό βιομάζας μικροφυκών να είναι 3.80\$ και αντίστοιχα 2.95\$. Αυτό σημαίνει ότι απαιτείται κατά προσέγγιση 3000 \$ ανά τόνο βιομάζας μικροφυκών. Αυτή η τιμή πρέπει να μειωθεί πάνω από 9 φορές για να είναι ανταγωνιστική στην αγορά.

Αν η παραγωγή βιομάζας μικροφυκών ανά έτος φτάσει τους 10.000 τόνους, το κόστος παραγωγής ανά κιλό βιοαντιδραστήρων και δεξαμενών θα μειωθεί σε 0,47 \$ και 0,60\$ αντίστοιχα. Αν υπολογίσουμε ότι η περιεκτικότητα του παραγόμενου ελαίου είναι 30% κ.β. το κόστος παραγωγής των φωτοβιοαντιδραστήρων και δεξαμενών υπολογίζεται 1,40 και 1,81 \$ ανά λίτρο αντίστοιχα. (Chisti Yusuf, 2007). Βέβαια το να μελετηθούν τρόποι μείωσης του κόστους παραγωγής μικροφυκών κρίνεται απαραίτητο.

## 7.2 Τρόποι μείωσης του κόστους παραγωγής

Το να μειωθεί το κόστος παραγωγής βιοντίζελ από έλαια άλγων μπορεί να επιτευχθεί με τους παρακάτω τρόπους:

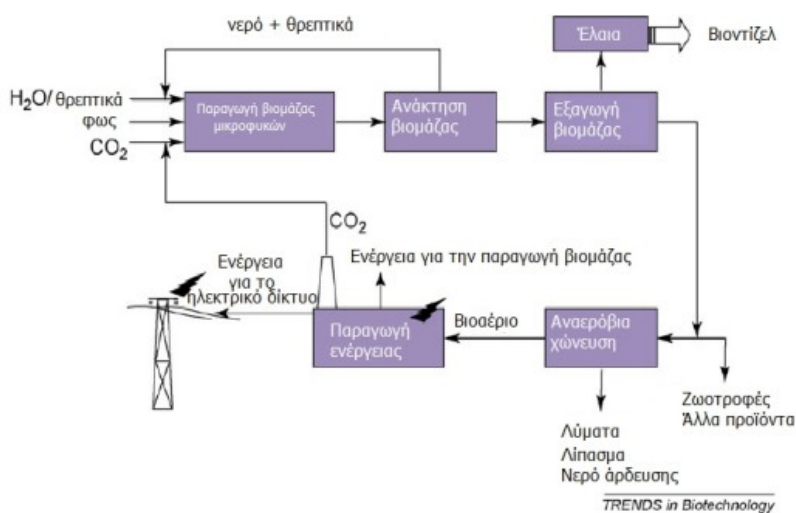
- τη μεγιστοποίηση απόδοσης ελαιών από τα μικροφύκη,
- παραγωγή βιοντίζελ με στρατηγική παραγωγής βιοδιυλιστηρίου
- βελτιστοποίηση τεχνολογίας φωτοβιοαντιδραστήρων και λιμνών.

Η μεγιστοποίηση της απόδοσης ελαιών από μικροφύκη μπορεί να πραγματοποιηθεί επιλέγοντας κατάλληλα στελέχη μικροφυκών, καλλιεργώντας τα σε ιδανικές συνθήκες και εφαρμόζοντας τις καταλληλότερες τεχνικές σύμφωνα με τα ερευνητικά δεδομένα που υπάρχουν και τα δεδομένα από τις μελλοντικές μελέτες.

Σε ένα βιοδιυλιστήριο όλες οι πρώτες ύλες χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων. Έτσι το κόστος ολόκληρης της διαδικασίας μειώνεται (Chisti Yusuf, 2007). Αφού γίνει η εξαγωγή του ελαίου από τα μικροφύκη, η υπόλοιπη βιομάζα είναι χρήσιμη διότι είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή ή για τον εμπλουτισμό ζωοτροφών (Chisti Yusuf, 2007).

Επιπλέον μπορεί να γίνει αναερόβια χώνευση για την παραγωγή βιοαερίου το οποίο θα καλύψει τις ενεργειακές ανάγκες τις καλλιέργειας και ανάπτυξη των μικροφυκών (Chisti

Yusuf, 2007). Το κύριο συστατικό του βιοαερίου είναι το μεθάνιο το οποίο επηρεάζει πολλές παραμέτρους. Ένα από αυτά είναι η αύξηση του υδραυλικού χρόνου παραμονής της βιομάζας στον αντιδραστήρα καθώς και την μείωση της φόρτισής της, τα δύο παραπάνω συντελούν στην αύξηση της παραγωγής μεθανίου. Επιπλέον η γλυκερόλη είναι παραπροϊόν της διαδικασίας παραγωγής βιοντίζελ, όμως στην αναερόβια χώνευση αυξάνει την παραγωγή μεθανίου. Έρευνες σημειώνουν πως αν με την χώνευση της βιομάζας και γλυκερόλης αυξηθεί η αναλογία άνθρακα/ άζωτο σε 12,44 τότε η αύξηση της παραγωγής μεθανίου μπορεί να ξεπεράσει το 50% (E.A. Ehimen, et al., 2010).



Εικόνα 11 γραμμή παραγωγής βιοδιυλιστήριου

Η ενεργειακή περιεκτικότητα του βιοαερίου που παράγεται με τον τρόπο που περιγράφεται φτάνει τα 9360 MJ/ τόνο βιομάζας. Στο στάδιο της αναερόβιας πέψης παράγονται λιπάσματα πλούσια σε νερό και θρεπτικά συστατικά, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για άρδευση (Yusuf Chisti, 2007).

Χρήσιμα προϊόντα που μπορούν να εξαχθούν από την βιομάζα που προκύπτει μετά την εξαγωγή των ελαίων είναι πρωτεΐνες από τα κύτταρα των μικροφυκών, βιταμίνες, αντιοξειδωτικά, φυσικά χρώματα και χρωστικές, σάκχαρα, ενώσεις υψηλής αξίας, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Η περιεκτικότητα των παραπάνω ενώσεων εξαρτάται από το στέλεχος του μικροφυκού που χρησιμοποιήθηκε και τις συνθήκες καλλιέργειας. Επιπλέον αυτές οι ενώσεις με επεξεργασία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά ,σε προϊόντα ομορφιάς και στην ιατρική, συμβάλλοντας στη μείωση του κόστους παραγωγής βιοντίζελ (L.C. Meher, et al 2006).

#### Βελτίωση της τεχνολογίας των φωτοαντιδραστήρων και των αβαθών λιμνών

Το σημαντικότερο πρόβλημα που πρέπει να λυθεί στους φωτοαντιδραστήρες είναι ότι το φως δεν μπορεί να εισχωρήσει με αποτέλεσμα την χαμηλή ένταση του φωτός σε κάποιες περιοχές,

χαμηλότερο από το επίπεδο κορεσμού, άρα η βιομάζα δεν θα αυξηθεί στο μέγιστο. Το παραπάνω πρόβλημα αντιμετωπίζεται με ανάδευση ώστε να εναλλάσσονται φωτεινές και σκοτεινές περιοχές. Για να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση πρέπει ο ρυθμός ανάδευσης να είναι συγκεκριμένος, ακόμη ο τρόπος που γίνεται η ανάδευση πρέπει να μην καταστρέφει τα κύτταρα των μικροφυκών. Τέλος θα πρέπει να μπορεί να απομονωθεί η καλλιέργεια από το εξωτερικό περιβάλλον ώστε να μην επηρεάζεται από το εξωτερικό φως. (Yusuf Chisti, 2007).

Στην περίπτωση της ανοιχτής λίμνης, κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη τεχνικών για τον περιορισμό της ανάπτυξης ανταγωνιστικών μικροφυκών ή μικροοργανισμών ως προς την καλλιέργεια. Και στις λίμνες απαιτείται ανάδευση με όμοια χαρακτηριστικά με των αντιδραστήρων.

Σε κάποιες περιπτώσεις γίνεται συνδυασμός των σταθμών παραγωγής ενέργειας με καύση άνθρακα με σταθμούς βιοντίζελ από μικροφύκη. Είναι ένας τρόπος ανακύκλωσης του διοξειδίου του άνθρακα. Ακόμη ένας τρόπος ανακύκλωσης των λυμάτων είναι πως μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη της βιομάζας. Η καλλιέργεια βοηθά στην απομάκρυνση αζώτου, μετάλλων, φωσφόρου από τα λύματα συμβάλλοντας έτσι στον καθαρισμό τους. Επομένως η μείωση του διοξειδίου του άνθρακα και ο καθαρισμός των λυμάτων μπορούν να αποτελούν μέρος μια κερδοφόρας διαδικασίας (Kim Dong – Geol et al, 2010).

### 7.3 Αξιολόγηση της μεθόδου παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη

Για να μπορέσει να κριθεί η μέθοδος παραγωγής βιοντίζελ από μικροφύκη συνολικά θα πρέπει να συνεκτιμηθεί πέρα από το κόστος παραγωγής και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις που έχει η μέθοδος. Μέθοδος αξιολόγησης είναι η Ανάλυση Κύκλου Ζωής (Life Cycle Analysis, LCA) η μέθοδος θα συνυπολογίσει την επιβάρυνση του περιβάλλοντος που έχουν σχέση με το προϊόν, προσδιορίζοντας την ποσότητα της ενέργειας και των υλικών που χρησιμοποιούνται μαζί με τα απόβλητα που απελευθερώνονται στο περιβάλλον.

Στη μελέτη παραγωγής βιοντίζελ από *Chlorella vulgaris* σε σωληνωτό αντιδραστήρα και σε ρηχές λίμνες εξετάστηκε το δυναμικό υπερθέρμανσης του πλανήτη της παραπάνω διαδικασίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η παραγωγή λιπιδίων ανά έτος από τα μικροφύκοι είναι έως 40 τόνοι ανά εκτάριο όταν τα μικροφύκη αναπτύσσονται στη λίμνη, οι αριθμοί δείχνουν πως η μέθοδος είναι περιβαλλοντικά βιώσιμη. Στην ίδια περίπτωση το δυναμικό υπερθέρμανσης του πλανήτη μειώθηκε κατά 80% συγκριτικά με το συμβατό ντίζελ (L. Stryer et al, 2005).

Άλλη μελέτη με επίκεντρο την ανάγκη σε νερό και θρεπτικά συστατικά στην παραγωγή ντίζελ από μικροφύκη έδειξε πως εάν τα υλικά ανακυκλωθούν για την παραγωγή 1kg ντίζελ απαιτούνται 3726 kg νερού, 0,33 kg αζώτου και 0,71 kg φωσφόρου. Αντίθετα, η χρήση χρησιμοποιημένου νερού από προϋπάρχουσα καλλιέργεια μειώνει τις απαιτήσεις σε καθαρό νερό και θρεπτικά συστατικά κατά 84% και 55% και ταυτόχρονα αυξάνονται οι πιθανότητες βιωσιμότητας της μεθόδου. Ακόμη η χρήση λυμάτων ή θαλασσινού νερού μειώνει τη χρήση καθαρού νερού 90% ενώ δεν είναι απαραίτητα θρεπτικά συστατικά εκτός από το φωσφόρο (Yang Jia, et al, 2011).

Φαίνεται να δίνει λύση στο πρόβλημα της αυξημένης κατανάλωσης ενέργειας η χρήση μεθανίου που παράγεται από την αναερόβια πέψη της υπόλοιπης βιομάζας αφού έχει προηγηθεί η εξαγωγή λαδιού. Οι ανάγκες σε ηλεκτρική ενέργεια καλύπτονται από το μεθάνιο με περίσσεια αφού κάποιο μέρος μπορεί να διανεμηθεί στο δίκτυο. Ο τρόπος αυτός είναι εφικτός όταν τα μικροφύκη αναπτύσσονται σε ρηχές λίμνες. Τέλος πλεονέκτημα είναι η μείωση των εκπομπών άνθρακα κατά 75% ( Z. Helwani, 2009).

## 8. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα των μέχρι τώρα ερευνών στο πλαίσιο της παραγωγής βιοντίζελ από καλλιέργειες μικροφυκών δείχνουν πως ακόμα είναι σε πολύ πρώιμο στάδιο. Η αποτελεσματικότητα και η απόδοση των καλλιεργειών άλγων δεν είναι σε ανταγωνιστικό στάδιο ακόμη. Για να μπορέσουν να αναπτυχθούν και να ξεπεράσουν τις δυσκολίες που αντιμετωπίζουν πρέπει να ανακαλυφθούν τεχνολογίες που θα βοηθήσουν στην ανάπτυξη της βιομάζας των μικροφυκών, σε τέτοιο βαθμό ώστε η παραγωγή βιοντίζελ από έλαια μικροφυκών να γίνει οικονομικά βιώσιμη.

Σε σχέση με την Ελλάδα εξαιτίας του κλίματος με τους πολλούς μήνες ηλιοφάνειας η καλλιέργεια μικροφυκών μπορεί να είναι αποτελεσματική. Βέβαια οι πληροφορίες σε σχέση με τα είδη των άλγων που αναπτύσσονται στις θάλασσες της Ελλάδος είναι περιορισμένες. Μέχρι στιγμής διάφοροι ερευνητές έχουν συλλέξει 16 στελέχη μικροφυκών από τις Ελληνικές θάλασσες, τα οποία στη συνέχεια καλλιεργήθηκαν για παραγωγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Ακόμη τα αυτά στελέχη έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια οπότε δεν προτείνονται για παραγωγή ντίζελ. Άρα οι έρευνες πρέπει να συνεχίσουν προκειμένου να βρεθούν στελέχη με υψηλή περιεκτικότητα λιπιδίων ή να τροποποιηθούν γενετικά τα ήδη υπάρχοντα στελέχη.

Ο μεγαλύτερος ανασταλτικός παράγοντας στην παραγωγή ντίζελ είναι το υψηλό επενδυτικό κόστος, υψηλό κόστος έχει η εμφύτευση των μικροφυκών έως και η διανομή του ντίζελ. Το



κόστος μειώνεται μέσω μεθόδων που αναφέρθηκαν προηγουμένως ή μέσω της ανάπτυξης της τεχνολογίας με στόχο την ανάπτυξη της αποτελεσματικότητας των καλλιεργειών.

Τέλος παρά τα εμπόδια και τις δυσκολίες οι έρευνες είναι απαραίτητο να συνεχισθούν και να ενισχυθούν. Η αύξηση των τιμών των συμβατών καυσίμων και η συνεχής πτώση των αποθεμάτων των ορυκτών καυσίμων καθιστά αναγκαία την εύρεση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας.

## Βιβλιογραφία

### Ελληνική Βιβλιογραφία

Βασάλος κ.α. Όγδοο Εθνικό Συνέδριο για τις Ήπιες Ενέργειες, 2006,

<https://solarinstitute.gr/wp-content/uploads/pdf/IHT%208o%20Synedrio%20A%20Tomos.pdf>

Βουλτσιάδου, Ε., Αμπατζόπουλος, Θ., Αντωνοπούλου, Ε., Γκάνιας, Κ., Γκέλης, Σ., Στάικου, Α., Τριανταφυλλίδης, Α., 2015. Υδατοκαλλιέργειες. [ηλεκτρ. βιβλ.] Κεφάλαιο 8 Καλλιέργεια δίθυρων μαλακίων. Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών. Διαθέσιμο στο: <http://hdl.handle.net/11419/5083>

Ελληνική φυκολογική εταιρία, 2008, [www.phycology.gr](http://www.phycology.gr)

### Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

Ahmad, L.A., Yasin, M.H.N., Derek, C.J.C., Lim, K.J. (2011). Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews

Amaro HM, Guedes AC, Malcata FX. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. Appl Energy 2011; 88(10):3402–10.

Andersen, R.A., Ed. (2005) Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press, New York, 578 p.

Asakuma Y, Maeda K, Kuramochi H, Fukui K. Theoretical study of the transesterification of triglycerides to biodiesel fuel. Fuel 2009; 88:786–91.

Azma M.S. Mohamed, R. Mohamad, R.A. Rahim, A.B. Ariff, Improvement of medium composition for heterotrophic cultivation of green microalgae; Tetraselmis suecica; using response surface methodology, “Biochemical Engineering Journal” (2010), doi:10.1016/j.bej.2010.10.010

Balat Mustafa, Balat Havva, A critical review of bio – diesel as a vehicular fuel, “Energy Conversion and Management” 49 (2008) 2727–2741, doi:10.1016/j.enconman.2008.03.016

Balat Mustafa, Balat Havva, Progress in biodiesel processing, “Applied Energy” 87 (2010) 1815–1835, doi:10.1016/j.apenergy.2010.01.012

Barsanti, L., Gualtieri P., (2010). Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology, Second Edition, CRC Press, Taylor & Francis Group, New York.

Boocock DGB, Konar SK, Mao V, Lee C, Buligan S. Fast formation of high-purity methyl esters from vegetable oils. J Am Oil Chem Soc 1998; 75:1167–72.



- Borowitzka, A.M. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70. 1999
- Brennan L., Owende, P., 2010. Biofuels from microalgae –A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustain Energy Rev* 2010; 14:557-77
- Burlew, J.S. Algal culture: from laboratory to pilot plan. Carnegie Institution of Washington. 1593
- Canterford, J.H. (1985) Sulphuric Acid Leaching of Cobalt Bearing Manganese Wad. *Hydrometallurgy*, 14, 35-46. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-386X\(85\)90004-0](http://dx.doi.org/10.1016/0304-386X(85)90004-0)
- Cao H, Zhang Z, Wu X, Miao X. Direct Biodiesel production from wet microalgae biomass of *Chlorella pyrenoidosa* through in situ transesterification. *BioMed Res Int* 2013;2013:e930686.
- Carvalho, A., Monteiro, C., Malcata, F. (2009). Simultaneous effect of irradiance and temperature on biochemical composition of the microalga *Pavlova lutheri*. *Journal of Applied Phycology*, 10: 543-552.
- Chamola R, Khan MF, Raj A, Verma M, Jain S. Response surface methodology based optimization of in situ transesterification of dry algae with methanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and NaOH. *Fuel* 2019; 239:511–20.
- Chan SS, Low SS, Chew KW, Ling TC, Rinklebe J, Juan JC, et al. Prospects and environmental sustainability of phyconanotechnology: a review on algae mediated metal nanoparticles synthesis and mechanism. *Environ Res* 2022; 212: 113140.
- Chaumontm D. 1993. Biotechnology of Algal Biomass Production: A Review of Systems for outdoor Mass Culture. *Journal of Applied Phycology*, 5:593-604.
- Chen Meng, Tang Haiying, Ma Hongzhi, Holland Thomas C., Ng K.Y. Simon, Salleey StevenO., Effecti of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*, “Bioresource Technology” (2010), doi 10.1016/j.biortech.2010.09.062
- Cherubini, F. (2010) «The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals». *Energy Conversion and Management*, Vol. 51, pp. 1412–1421.
- Chisti Yusuf , Biodiesel from microalgae, “Biotechnology advances” 25 (2007) 294–306, doi:10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- Christenson, L., Sims, R. (2011). Production and Harvesting of Microalgae for Wastewater Treatment, Biofuels, and Bioproducts. *Biotechnology Advances*, 29: 686–702.
- Corro G, Banuelos ~ F, Vidal E, Cebada S. Measurements of surface acidity of solid catalysts for free fatty acids esterification in *Jatropha curcas* crude oil for biodiesel production. *Fuel* 2014; 115:625–8.
- Cooney, M., Young, G., Nagle, N., 2009. Extraction of Bio-oils from microalgae. *Sep. Purif. Rev.* 38 (4), 291–325.
- Coward T, Lee JGM, Caldwell GS. Development of a foam flotation system for harvesting microalgae biomass. *Algal Res* 2013; 2:135–44
- Day J. G. Slocombe, S. P., Stanley, M.S. 2012. Overcoming biological constraints to enable the exploitation of microalgae for biofuels. *Bioresource Technology*, 109 : 245-251.

Darzins, A., Pienkos, P., Edye, L. (2010). Current status and potential for algal biofuels production. National Renewable Energy Laboratory NREL, A Report to Bioenergy Task 39, Report T39.

Dianursanti RP, Wijanarko A. Utilization of n-hexane as co-solvent to increase biodiesel yield on direct transesterification reaction from marine microalgae. *Procedia Environ Sci* 2015; 23:412–20.

Dianursanti RP, Wijanarko A. Utilization of n-hexane as co-solvent to increase biodiesel yield on direct transesterification reaction from marine microalgae. *Procedia Environ Sci* 2015; 23:412–20.

Demirbas Ayhan, Importance of biodiesel as transportation fuel, “Energy Policy” 35 (2007) 4661–4670, doi:10.1016/j.enpol.2007.04.003

Demirbas Ayhan, Progress and recent trends in biodiesel fuels, “Energy Conversion and Management” 50 (2009) 14–34, doi :10.1016/j.enconoman. 2008.09.001

Demirbas Ayhan, Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections, “Energy Conversion and Management” 49 ( 2008) 2106–2116, doi:10.1016/j.enconman.2008.02.020

Demirbas Ayhan, Biofuels securing the planet’s future energy needs, “Energy Conversion and Management” 50 (2009) 2239–2249, doi:10.1016/j.enconman.2009.05.010

Demirbas Ayhan, Use of algae as biofuel sources (2010), “Energy Conversion and Management” 51 (2010) 2738–2749 doi:10.1016/j.enconman.2010.06.010

Doan Thi-Thai Yen, Obbard Jeffrey Philip, Enhanced lipid production in *Nannochloropsis* sp. Using fluorescence- activated cell sorting, “GCB Bioenergy” 3 (2011), doi: 10.1111/j.1757-1707.2010.01076.x

Dong T, Wang J, Miao C, Zheng Y, Chen S. Two-step in situ biodiesel production from microalgae with high free fatty acid content. *Bioresour Technol* 2013; 136: 8–15.

Ehimen EA, Sun Z, Carrington CG. Variables affecting the in-situ transesterification of microalgae lipids. *Fuel* 2010; 89:677–84.

Ehimen EA, Sun Z, Carrington GC. Use of ultrasound and co-solvents to improve the in-situ transesterification of microalgae biomass. *Procedia Environ Sci* 2012; 15:47–55

Ejim CE, Fleck BA, Amirfazli A. Analytical study for atomization of biodiesels and their blends in a typical injector: surface tension and viscosity effects. *Fuel* 2006; 86:1534–44.

Encinar JM, Pardal A, Sánchez N. An improvement to the transesterification process by the use of co-solvents to produce biodiesel. *Fuel* 2016; 166:51–8.

Fukuda Hideki, Kondo Akihiko, Noda Hideo, Biodiesel fuel production by transesterification of oils, “Journal of Bioscience and Bioengineering” “ 92 (5) (2001) 405–416.

Gan YY, Chen W-H, Ong HC, Lin Y-Y, Sheen H-K, Chang J-S, et al. Effect of wet torrefaction on pyrolysis kinetics and conversion of microalgae carbohydrates, proteins, and lipids. *Energy Convers Manage* 2021; 227:113609.

Gallagher Brian J., The economics of producing biodiesel from algae, “Renewable Energy” (2010) 1–5, doi: 10.1016/j.renene.2010.06.016.

- S. N. Gebremariam and J. M. Marchetti, Biodiesel production technologies: Review, vol. 5, no. 3. 2017.
- J. Van Gerpen et al., The Biodiesel Handbook: Second Edition, Gerhard, K. Elsevier Inc., 2010.
- Gouveia Luisa, Oliveira Ana Cristina, Microalgae as a raw material for biofuels production, "Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology" 36 (2009) 269–274, doi: 10.1007/s10295-008-0495-6.
- Gouveia, L. (2011). Microalgae as a Feedstock for Biofuels. Springer Briefs in Microbiology, pp. 1-5.
- Guldhe A, Singh B, Rawat I, Bux F. Synthesis of biodiesel from *Scenedesmus* sp. by microwave and ultrasound assisted in situ transesterification using tungstated zirconia as a solid acid catalyst. Chem Eng Res Des 2014; 92(8):1503–11.
- Halim Ronald, Gladman Brendan, Danquah Michael K., Webley Paul A., Oil extraction from microalgae for biodiesel production. "Bioresource Technology" (2010), doi:10.1016/j.biortech.201
- Halim Ronald, Danquah Michael K., Webley Paul A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review. Biotechnol Adv 2012; 30:709–32.
- Harun R., Singh M., Forde G.M. and Danquah M. K. (2010) "Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products". Renewable and Sustainable Energy Reviews, Vol 14, pp. 1037-1047.
- Hattori, H. (2001) Solid Base Catalysts: Generation of Basic Sites and Application to Organic Synthesis. Applied Catalysis A: General, 222, 247-259.
- Helwani Z., Othman M.R., Aziz N., Fernando W.J.N., Kim J.Z., Technologies for production of biodiesel focusing on green catalytic techniques: A review, "Fuel Processing Technology" 90 (2009) 1502–1514, doi:10.1016/j.fuproc.2009.07.01
- Heredia – Arroyo Tamarys, Wei Wei, Hu Bo, Oil Accumulation via Heterotrophic/Mixotrophic *Chlorella protothecoides*, "Biotechnology and Applied Biochemistry" (2010) doi: 10.1007/s12010-010-8974-4
- Illman A.M., Scragg A.H., Shales S.W., (2000). Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. Enzyme and Microbial Technology, 27: 631–635. ISO 7890/1. (1986). Water quality - determination of nitrate - part 1: 2,6-dimethylphenol spectrometric method. Geneva, International Organization for Standardization (ISO 7890-1:1986).
- Im H, Lee H, Park MS, Yang JW, Lee JW. Concurrent extraction and reaction for the production of biodiesel from wet microalgae. Bioresour Technol 2014; 152 (534–537)
- Janaun Jidon, Ellis Naoko, Perspectives on biodiesel as a sustainable fuel, "Renewable and Sustainable Energy Reviews" 14, (2010) 1312–1320, doi:10.1016/j.rser.2009.12.011.
- Keely JW. Culvert pipe liner guide and specifications: Chapter 5 – Multicriteria decision analysis software. Publication No. FHWA – CFL/TD – 05 – 003; 2005. p. 87–101.
- Kim B, Im H, Lee JW. In situ transesterification of highly wet microalgae using hydrochloric acid. Bioresour Technol 2015;185:421–5.

Kim Dong-Geol, La Hyun-joon, Ahn Chi-Yong, Park Yong – Ha, Oh Hee-Mock, Harvest of *Scenedesmus* sp. With bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high – density cultures, “Bioresource Technology” 102 (2011) 3163–3168, doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.108.

Kim TH, Suh WI, Yoo G, Mishra SK, Farooq W, Moon M. Development of direct conversion method for microalgal biodiesel production using wet biomass of *Nannochloropsis salina*. *Bioresour Technol* 2015; 191:438–44.

Kumar M, Sharma MP. Kinetics of *Chlorella protothecoides* microalgal oil using base catalyst. *Egypt J Pet* 2016; 25:375–82.

Kusdiana D, Saka S. Kinetics of transesterification in rapeseed oil to biodiesel fuel as treated in supercritical methanol. *Fuel* 2001; 80:693–8

Kulkarni, M.G. and Dalai, A.K. (2006) Waste Cooking Oil—An Economical Source for Biodiesel, a Review. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45, 2901–2913.

M. K. Lam, K. T. Lee, and A. R. Mohamed, “Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 28, no. 4, pp. 500–518, 2010

Lam MK, Lee KT. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in a pilot- scale sequential – baffled column photobioreactor for biomass and biodiesel production. *Energy Convers Manag*, 2014

Lardon L, H’elias A, Sialve B, Steyer JP, Bernard O. Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae. *Environ Sci Technol* 2009; 43:6475–81.

Lee Andrew K., Lewis David M., Ashman PeterJ., Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel, “*Journal of Applied Phycology*” 21 (2009) 559–567 doi:10.1007/s10811-008-9391-8

Lemoes JS, Alves Sobrinho RCM, Farias SP, de Moura RR, Primel EG, Abreu PC. Sustainable production of biodiesel from microalgae by direct transesterification. *Sustain Chem Pharm* 2016;3:33–8.

Leung DY, Wu X, Leung MKH. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Appl Energy* 2010; 87:1083–95.

Liang Yanna, Sarkany Nicolas, Cui Yi, Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions, “*Biotechnology Letters*” 31 (2009) 1043–1049, doi: 10.1007/s10529-009-9975-7.

Linkov I, Steevens J. Appendix A: multi-criteria analysis. *Advances in experimental medicine and biology; Cyanobacterial harmful algal blooms; state of the science and research needs Symposium* 2008; 619:815–830 [chapter 35].

Liu B., Zhao Z (Kent). Biodiesel production by direct methanolysis of oleaginous microbial biomass. *J Chem Technol Biotechnol* 2007; 82:775–780.

Liu Zhin- Yuan, Wang Guang-Ce, Zhou Bai-Cheng, Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*, “*Bioresource Technology*” 99, (2008) 4717–4722, doi:10.1016/j.biortech.2007.09.073.

- Lotero, E., Liu, Y., Lopez, D. E., Bruce, D. A., Jr., J. G., & Suwarnnakarn, K. (2005). Synthesis of biodiesel via acid catalysis. *Industrial & Engineering Chemical Research*, 44, 5353-5363.
- Macías-Sánchez MD, Robles-Medina A, Hita-Pena E, Jiménez-Callejón MJ, Estéban-Cerdán L. Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification. *Fuel* 2015; 150:14–20.
- Malekghasemi S, Kariminia HR, Plechkova NK, Ward VCA. Direct transesterification of wet microalgae to biodiesel using phosphonium carboxylate ionic liquid catalysts. *Biomass Bioenergy* 2021; 150:106126.
- Mata Teresa M., Martins Antonio A., Caetano Nidia. S., Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 14 (2010) 217–232, doi:10.1016/j.rser.2009.07.020.
- Markou, G., Georgakakis, D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Applied Energy*, 88: 3389–3401.
- Martínez N, Callejas N, Morais E, Costa JA, Jachmanian I, Vieitez I. Obtaining biodiesel from microalgae oil using ultrasound-assisted in-situ alkaline transesterification. *Fuel* 2017;202:512–9.
- Miao Xiaoling, Wu Qingyu, Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil, “Bioresource Technology” 97, (2006) 841–846, doi:10.1016/j.biortech.2005.04.008.
- Meher L.C., Vidya Sagar D, Naik SN. Technical aspects of biodiesel production by transesterification a review. *Renew Sustain Energy Rev* 2006; 10:248-68.
- Meher L.C., D. Vidya Sagar, S.N. Naik, Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review, “Renewable and Sustainable Energy Reviews” 10 (2006) 248–268, doi:10.1016/j.rser.2004.09.002.
- Meher L.C., Vidya S.S. Dharmagadda, S.N. Naik, Optimization of alkaline catalyzed transesterification of *Pongamia pinnata* oil for production of biodiesel, “Bioresource Technology” 97 (2006) 1392–1397, doi:10.1016/j.biortech.2005.07.03.
- Metting, F. B. (1996). Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*, 17: 477-489.
- Murillo S, Miguez JL, Porteiro J, Granada E, Moran JC, Performance and exhaust emissions in the use of biodiesel in outboard diesel engines, “Fuel” 86, (2007) 1765–1771, doi:10.1016/j.fuel.2006.11.031
- Mo Xunhuan, Lopez Dora E., Suwannakarn Kaewta, Liu Yijun, Loreto Edgar, James G. Goodwin Jr., Lu Changqing Activation and deactivation characteristics of sulfonated carbon catalysts, “Journal of Catalysis” 254 (2008) 332–338, doi:10.1016/j.jcat.2008.01.011
- Molina Grima E, Belarbi E, Acien FG, Robles Medina A, Chisti Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol Adv* 2003;20 (7–8):491–515.
- Muhammad AB, Obianke M, Gusau LH, Aliero AA. Optimization of process variables in acid catalysed in situ transesterification of *Hevea brasiliensis* (rubber tree) seed oil into biodiesel. *Biofuels* 2017; 8:585–94.

Nautiyal P, Subramanian KA, Dastidar MG. Kinetic and thermodynamic studies on biodiesel production from *Spirulina platensis* algae biomass using single stage extraction–transesterification process. *Fuel* 2014; 13:228–34

Nagy Mate, Kerr Brian J., Ziemer Cherie J., Ragauskas Arthur J., Phosphitylation and quantitative P NMR analysis of partially substituted biodiesel glycerols, “*Fuel*” 88 ( 2009) 1793–1797, doi:10.1016/j.fuel.2009.01.020

Nguyen Tien Thanh, Marhaini Mostapha, Man Kee Lam, Yaleeni Kanna Dasan, Jun Wei Lim, Inn Shi Tan, Sie Yon Lau, Bridgid Lai Fui Chin, Tony Hadibarata, Fundamental understanding of in- situ transesterification of microalgae biomass to biodiesel : A critical review, 2022

Nigam, P., Singh, A. (2010) «Production of liquid biofuels from renewable resources». *Progress in Energy and Combustion Science*, pp. 1-17.

Noureddini H, Zhu D. Kinetics of transesterification of soybean oil. *J Am Oil Chem Soc* 1997; 74:1457–63.

Oilgae, (2013). *Oilgae Guide to Algae-based Wastewater Treatment*, Oilgae, Talminadu, India.

Oswald, J.W., Asce, A.M., Gotaas, H.B., Asce, M. (1955). Photosynthesis in sewage treatment, *American Society of Civil Engineers Transactions*, Paper No.2849.

Oswald, W. J. (2003). My sixty years in applied algology. *Journal of Applied Phycology*, 0: 99-106

Parawira W., “Biodiesel production from *Jatropha curcas* : A critical review, “*Sci. Res. Essays* Vol.5, vol5, pp. 1796-1808, 2010

Parawira W., “Biodiesel production from *Jatropha curcas* : A critical review, “*Sci. Res. Essays* Vol.5, vol5, pp. 1796-1808, 2010

Pardo Y., Sanchez E and Kafarov V., Life cycle assessment of third generation biofuels production, “*Chemical Engineering Transactions*”, 21 (2010) 1177-1182, doi: 10.3303/CET1021197

Pittman, J.K., Dean, A. P., Osundeko, O. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*, 102: 17-25.

Pulz, O., Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 7: 635-648.

S. V. Ranganathan, S. L. Narasimhan, and K. Muthukumar, “An overview of enzymatic production of biodiesel,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 10, pp. 3975–3981, 2008.

Raetz Kevin, Challenges and Advances in making microalgae biomass a cost efficient source of biodiesel, “*Basic Biotechnology*” 5, (2009), 37-43.

Raheman H, Phadatare AG. Diesel engine emissions and performance from blends of karanja methyl ester and diesel, “*Biomass Bioenergy*” 27 (2004) 393–397, doi:10.1016/j.biombioe.2004.03.002

Rathore V, Tyagi S, Newalkar B, Badoni RP. *Jatropha* and *Karanja* oil derived DMC biodiesel synthesis: a kinetics study. *Fuel* 2015; 140:597–608.

Rawat I, Ranjith Kumar R, Mutanda T, Bux F. Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Appl Energy* 2011;88(10):3411–24

Refaat AA. Correlation between the chemical structure of biodiesel and its physical properties. *Int J Environ Sci Technol* 2009; 6(4):677–94.

Salam, K.A., Velasquez-Orta, S.B., Harvey, A.P., 2016a. A sustainable integrated in situ transesterification of microalgae for biodiesel production and associated co-products – A review. *Renew. Sustain. Energ. Rev.* 65, 1179–1198.

Sarmidi Amin, Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae, “Energy Conversion and Management” 50, (2009) 1834–1840 doi:10.1016/j.enconman.2009.03.001.

Sahoo PK, Das LM, Babu MKG, Naik SN, Biodiesel development from high acid value polanga seed oil and performance evaluation in a CI engine, “Fuel” 86 (2007) 448–454, doi:10.1016/j.fuel.2006.07.025

Salis A., Nicolo M. Guglielmino S., Solinas V, Biodiesel from Microalgae, “Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology” (2010) 2827–2839, doi: 10.1007/978-3-540-77587-4\_210,

Sakdasri W, Ngamprasertsith S, Saengsuk P, Sawangkeaw R. Supercritical reaction between methanol and glycerol: The effects of reaction products on biodiesel properties. *Energy Convers Manage: X* 2021; 12:100145.

Santacesaria E., Turco R., Tortorelli M., Russo V., Di Serio M., Tesser R.; 2012b, Biodiesel process intensification: the role of the liquid-liquid interface area in the achievement of a complete conversion in few seconds; *Green Process Synth.* 1,181-189.

Seng- Yi Chiu, Chien – Ya Kao, Ming- Ta Tsai, Seow – Chin Ong, Chim – Hsun Chen, Chih – Sheng Lin, Lipid accumulation and CO<sub>2</sub> utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO<sub>2</sub> aeration, “Bioresource Technology” 100 (2009) 833–838 doi:10.1016/j.biortech.2008.06.061

Shimada Yuji, Watanabe Yomi, Sugihara Akio, Tominaga Yoshio, Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing, “Journal of Molecular Catalysis B” 17, (2002) 133–142, doi:10.1016/S1381-1177(02)00020-6

da Silva Teresa Lopes, Reis Alberto, Medeiros Roberto, Oliveira Ana Cristina, Gouveia Luisa, Oil Production Towards Biofuel from Autotrophic Microalgae Semicontinuous Cultivations Monitorized by Flow Cytometry, “Applied Biochemistry and Biotechnology” 159 (2009) 568–578, doi: 10.1007/s12010-008-8443-5

Sivasamy Arumugam, Cheah Kien Yoo, Fornasiero Paolo, Kemausuor Francis, Zinoviev Sergey, Miertus Stanislav, Catalytic applications in production of biodiesel from vegetable oils, “ChemSusChem” 2 (2009) 278 – 300, doi: 10.1002/cssc.200800253.

Schwimmer, M. and Schwimmer, D. 1955 The role of algae and plankton in medicine, Grune and Stratton, New York, U.S.A.

Schuchardt U, Sercheli R, Vargas RM. Transesterification of vegetable oils: a review. *J Braz Chem Soc* 1998;9:199-210

Spolaore, P., Joannis- Cassan, C. Duran, E., Isambert, A. 2006 Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101 : 87-96

Stryer L., J.M. Berg, J. L. Tymoczko, Βιοχημεία, 2005

Suganya T, Kasirajan R, Renganathan S. Ultrasound-enhanced rapid in situ transesterification of marine macroalgae *Enteromorpha compressa* for biodiesel production. *Bioresour Technol* 2014; 156:283–90.

Thangaraj B, Solomon PR, Muniyandi B, Ranganathan S, Lin L. Catalysis in biodiesel production—a review. *Clean Energy* 2019; 3(1):2–23

Trejo-Z' arraga F, Hernandez-Loyo ' FJ, Chavarría-Hern' andez JC, Sotelo-Boyas ' R. Kinetics of transesterification processes for biodiesel production. *Biofuels - State Dev* 2018.

Velasquez-Orta SB, Lee JGM, Harvey AP. Evaluation of FAME production from wet marine and freshwater microalgae by in situ transesterification. *Biochem Eng J* 2013;76:83–9.

Waterbury, J. B. (2006). The Cyanobacteria—Isolation, Purification and Identification. In: M. Dworkin eds. *The Prokaryotes - A Handbook on the Biology of Bacteria*, pp. 1053– 1073.

Al-Widyan MI, Al-Shyoukh AO. Experimental evaluation of the transesterification of waste palm oil into biodiesel. *Bioresour Technol* 2002; 85:253–6.

Wu C, Xiao Y, Lin W, Zhu J, De la Hoz SH, Zong M. Surfactants assist in lipid extraction from wet *Nannochloropsis* sp. *Bioresour Technol* 2017;243:793–9.

Xin Li, Hong- Ying Hu, Jia Yang, Yin-hu Wu, Enhancement effect of ethyl-2-methyl acetoacetate on triacylglycerols production, “*Bioresource Technology*” 101, (2010) 9819–9821, doi:10.1016/j.biortech.2010.07.103

Xu Han, Miao Xiaoling Wu Qingyu, High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters, “*Journal of Biotechnology*” 126 (2006) 499-507, doi:10.1016/j.jbiotec.2006.05.002

Yang Jia, Xu Ming, Zhang Xuezhi, Hu Qiang, Sommerfeld Milton, Chen Yongsheng, Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance, “*Bioresource Technology*” 102 (2011) 159–165, doi:10.1016/j.biortech.2010.07.017

Zhang L., Lee JT., Ok YS ., Dai Y., Tong YW. Enhancing microbial lipids yield for biodiesel production by oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* fermentation: a review. *Biores Technol* 2022; 344:126294.

Zhiyou, W., Johnson, B.M. 2009. Microalgae as a feedstock for biofuel production. Virginia Cooperative Extension, Virginia State University, Publication 442 – 886



