



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Ταμείο  
Περιφερειακής Ανάπτυξης

ΕΠΑΝΕΚ 2014-2020  
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ  
ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ  
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

**ΔΡΑΣΗ ΕΘΝΙΚΗΣ ΕΜΒΕΛΕΙΑΣ:  
«ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ»**



**Αξιοποίηση υγρών αποβλήτων για καλλιέργεια μικροφυκών και  
χρησιμοποίηση αυτών προς παραγωγή βιοντίζελ και συμπληρωμάτων  
ιχθυοτροφών**

**«Alga4Fuel&Aqua»**

 Alga for Fuel & Aqua

**Παραδοτέο 11: Ενδιάμεση Έκθεση εξάρτησης της κινητικής ανάπτυξης & της  
ποιότητας των ΜΦ από τις συνθήκες καλλιέργειας**

*Έκδοση 1.0.: Πρώτη έκδοση που δημιουργήθηκε στις 08-07-2020*

*Έκδοση 2.0.: Δεύτερη έκδοση που δημιουργήθηκε στις 08-01-2021*

Αυτό το έργο χρηματοδοτήθηκε από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα  
«Ανταγωνιστικότητα – Επιχειρηματικότητα - Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ) 2014-2020,  
Δράση Εθνικής Εμβέλειας «Ερευνώ-Δημιουργώ-Καινοτομώ», με Κωδικό Έργου  
Τ1ΕΔΚ-01580



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ  
ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ & ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΕΠΑ & ΤΕ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ



ΓΓΕΤ  
ΓΕΝΙΚΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ  
ΕΡΕΥΝΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ



ΕΠΑΝΕΚ 2014-2020  
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ  
ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ  
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Λεπτομέρειες Έργου:

Πρόγραμμα: **ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ – ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ (ΕΠΑΝΕΚ) 2014-2020**

Τίτλος Έργου: **Αξιοποίηση υγρών αποβλήτων για καλλιέργεια μικροφυκών και χρησιμοποίηση αυτών προς παραγωγή βιοντήζελ και συμπληρωμάτων ιχθυοτροφών**

Ακρωνύμιο Έργου: **Alga4Fuel&Aqua**

Αριθμός Πρότασης: **Τ1ΕΔΚ-01580**

Συντονιστής: **Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**

Διάρκεια: **09/07/2018 – 08/10/2022**

Λεπτομέρειες Παραδοτέου

ΕΕ3: Παραγωγή ΜΦ για ιχθυοτροφή

Εργασία ΥΕ 3.3.: Επίδραση των συνθηκών ανάπτυξης στην παραγωγή ΜΦ

Εργασία ΥΕ 3.4.: Μελέτη της ποιότητας των παραγόμενων ΜΦ

Τίτλος Παραδοτέου: Ενδιάμεση Έκθεση εξάρτησης της κινητικής ανάπτυξης & της ποιότητας των ΜΦ από τις συνθήκες καλλιέργειας

Συντονιστής: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Συμμετέχοντες Εταίροι: ΤΕΙ ΘΕΣ , BioMar

## Περιεχόμενα

1.	Περίληψη .....	8
2.	Εισαγωγή.....	10
2.1	A) Κύκλος πειραμάτων στο εργαστήριο .....	10
2.2	Κύκλος πειραμάτων στις εγκαταστάσεις καλλιέργειας μικροφυκών μεγάλης κλίμακας στο αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.....	11
3.	Υλικά και Μέθοδοι .....	12
3.1	Μικροοργανισμός.....	12
3.2	Προετοιμασία θρεπτικών μέσων .....	12
3.3	Καλλιέργειες μικροφυκών .....	14
3.4	Πειραματικές μεταχειρίσεις στο εργαστήριο .....	18
3.5	Πειραματικές μεταχειρίσεις στις πιλοτικές εγκαταστάσεις καλλιέργειας μικροφυκών μεγάλης κλίμακας .....	22
3.6	Μέθοδοι συγκομιδής, Αναλύσεων και μετρήσεων .....	26
3.7	Στατιστική Ανάλυση.....	31
4.	Αποτελέσματα .....	32
4.1	Πείραμα 1. Επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων ακατέργαστης γλυκερόλης και οργανικού αζώτου σε σταθερή θερμοκρασία θρεπτικού μέσου ανάπτυξης.....	32
4.2	Πείραμα 2. Επίδραση διαφορετικών θερμοκρασιών ανάπτυξης καλλιεργώντας στις βέλτιστες συγκεντρώσεις άνθρακα και αζώτου .....	34
4.3	Πείραμα 3. Αντικατάσταση πηγών οργανικού αζώτου και ιχνοστοιχείων, με εκροές βιοαερίου.....	35
4.4	Πείραμα 4. Επίδραση διαφορετικών επιπέδων pH του θρεπτικού διαλύματος ανάπτυξης.....	40
4.5	Πείραμα 5. Πειράματα κινητικής ανάπτυξης με εκροές βιολιπάσματος και ακατέργαστη γλυκερόλη.....	46
4.6	Πείραμα 6. Αξιολόγηση πιλοτικού βιοαντιδραστήρα για την παραγωγή εμβολίου μεγάλης κλίμακας.....	50

4.7 Πείραμα 7. Καλλιέργεια μικροφυκών σε μεγάλη κλίμακα με ακατέργαστη γλυκερόλη και εκροές βιολιπάσματος.....	51
4.8 Πείραμα 8 Καλλιέργεια μικροφυκών σε μεγάλη κλίμακα σε διαφορετικές θερμοκρασίες θρεπτικού μέσου ανάπτυξης.....	53
6.Βιβλιογραφικές αναφορές .....	55

## Κατάλογος Εικόνων

<b>Εικόνα 3-1.</b> Καλλιέργεια των μικροφυκών στο εργαστήριο.....	17
<b>Εικόνα 3-2.</b> Ετεροτροφική καλλιέργεια μικροφύκους <i>Schizochytrium limacinum</i> SR 21 για την παραγωγή συμπληρωμάτων ιχθυοτροφών (DHA), αξιοποιώντας υγρά απόβλητα της βιομηχανίας βιοκαυσίμων (ακατέργαστη γλυκερόλη και εκροές από παραγωγή βιοαερίου από γεωργοκτηνοτροφικά υπολείμματα).....	23
<b>Εικόνα 4-1.</b> Επίδραση των διαφόρων συνδυασμών συγκεντρώσεων οργανικού άνθρακα και αζώτου στην παραγωγή ξηρής βιομάζας του μικροφύκους <i>Schizochytrium limacinum</i> .....	33
<b>Εικόνα 4-2.</b> Επίδραση των διαφορετικών θερμοκρασιών ανάπτυξης της καλλιέργειας του μικροφύκους <i>Schizochytrium limacinum</i> , στη βέλτιστη συγκέντρωση οργανικού άνθρακα και αζώτου στην παραγωγή ξηρής βιομάζας και ολικών λιπών.....	34
<b>Εικόνα 4-3.</b> Επίδραση της αντικατάστασης ποσοστού του τεχνητού θαλασσινού νερού από βιολίπασμα στην παραγωγή ξηρής βιομάζας του μικροφύκους <i>Schizochytrium limacinum</i> . Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων .....	35
<b>Εικόνα 4-4.</b> Επίδραση της αντικατάστασης τεχνητού θαλασσινού νερού από βιολίπασμα στη βιοσύνθεση των ολικών λιπών του μικροφύκους <i>Schizochytrium limacinum</i> . Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο των ολικών λιπών ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....	36
<b>Εικόνα 4-5.</b> Επίδραση της αντικατάστασης τεχνητού θαλασσινού νερού από βιολίπασμα στη βιοσύνθεση πρωτεϊνών του μικροφύκους <i>Schizochytrium limacinum</i> .	

Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ποσοστού των ολικών πρωτεϊνών,  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....37

**Εικόνα 4-6.** Επίδραση της αντικατάστασης τεχνητού θαλασσινού νερού από βιολίπασμα στη αφομοίωση οργανικού άνθρακα του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum*. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο των ολικών λιπών  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....38

**Εικόνα 4-7.** Επίδραση του pH στην παραγωγή ξηρής βιομάζας του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 48% (v/v). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....41

**Εικόνα 4-8.** Επίδραση του pH στη βιοσύνθεση των ολικών λιπών του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 48% (v/v) . Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο των ολικών λιπών  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....42

**Εικόνα 4-9.** Επίδραση του pH στη βιοσύνθεση πρωτεϊνών του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 48% v/v. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ποσοστού των ολικών πρωτεϊνών,  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.  
.....43

**Εικόνα 4-10.** Επίδραση του pH στη αφομοίωση ακατέργαστης γλυκερίνη του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 48% v/v . Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο των ολικών λιπών  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων. ....44

**Εικόνα 4-11.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* όσον αφορά την παραγωγή ξηρής βιομάζας που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 60% v/v και συμβατικών εμπορικών σκευασμάτων ιχνοστοιχείων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....46

**Εικόνα 4-12.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* όσον αφορά τη βιοσυνθετική ικανότητα παραγωγής ολικών λιπών, που



αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 60% v/v και συμβατικών εμπορικών σκευασμάτων ιχνοστοιχείων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....47

**Εικόνα 4-13.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* όσον αφορά την βιοσύνθεση πρωτεϊνών, που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 60% (v/v) και συμβατικών εμπορικών σκευασμάτων ιχνοστοιχείων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....48

**Εικόνα 4-14.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* όσον αφορά την παραγωγή ξηρής βιομάζας που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με προσθήκη συμβατικών εμπορικών σκευασμάτων ιχνοστοιχείων στον βιοαντιδραστήρα αερόβιας ζύμωσης με κατευθυνόμενη δίνη. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....51

**Εικόνα 4-15.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum*, όσον αφορά στην παραγωγή ξηρής βιομάζας, που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με μεταβαλλόμενες συγκεντρώσεις εκρών βιοαερίου. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....52

**Εικόνα 4-16.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum*, όσον αφορά την αφομοίωση αμμωνίας, που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με μεταβαλλόμενες συγκεντρώσεις εκρών βιοαερίου. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....53

**Εικόνα 4-17.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum*, όσον αφορά την παραγωγή ξηρής βιομάζας, που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση βιολιπάσματος 12,5 % σε τρία επίπεδα θερμοκρασιών : 15 C°, 20 C° και 30 C° συγκεντρώσεις εκρών βιοαερίου. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας ± το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων .....54

## Κατάλογος Πινάκων

**Πίνακας 3-1.** Χημική σύσταση α' δείγματος βιολιπάσματος εκρών βιοαερίου αναερόβιας ζύμωσης που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα στο εργαστήριο..... 14

**Πίνακας 3-2.** Χημική σύσταση β' δείγματος βιολιπάσματος εκρών βιοαερίου αναερόβιας ζύμωσης που χρησιμοποιήθηκε στις καλλιέργειες μεγάλης κλίμακας. .. 14

**Πίνακας 3-3.** Μεταχειρίσεις με διαφορετικές συγκεντρώσεις ( $g L^{-1}$ ) ακατέργαστης γλυκερόλης και ολικών αζωτούχων ενώσεων από εκχύλισμα μαγιάς και πεπτόνης ετεροτροφικής καλλιέργειας του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum*..... 19

**Πίνακας 4-1.** Περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, υγρασία, τέφρα, και θερμιδική αξία της βιομάζας του *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικά διαλύματα (μεταχειρίσεις) στα οποία αντικαταστάθηκε διαφορετικό ποσοστό (%) του θαλασσινού νερού του θρεπτικού διαλύματος (v/v) από βιολίπασμα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο,  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων. .... 39

**Πίνακας 4-2.** Προφίλ λιπαρών οξέων της βιομάζας του *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικά διαλύματα (μεταχειρίσεις) στα οποία αντικαταστάθηκε διαφορετικό ποσοστό (%) του θαλασσινού νερού του θρεπτικού διαλύματος (v/v) από βιολίπασμα. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο κάθε λιπαρού οξέος,  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων. .... 40

**Πίνακας 4-3.** Περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, υγρασία, τέφρα, και θερμιδική αξία της βιομάζας του *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικά διαλύματα σε διαφορετικές τιμές pH (μεταχειρίσεις) και συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 48% (v/v). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο,  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων..... 44

**Πίνακας 4-4.** Προφίλ λιπαρών οξέων της βιομάζας του *Schizochytrium limacinum* που αναπτύχθηκε σε θρεπτικά διαλύματα σε διαφορετικές τιμές pH (μεταχειρίσεις) και συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 48% v/v. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο,  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων. .... 45

**Πίνακας 4-5.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum* όσον αφορά την περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, υγρασία, τέφρα, και θερμιδική



αξία της βιομάζας, που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συγκέντρωση επεξεργασμένου βιολιπάσματος 60% (v/v). Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....49

**Πίνακας 4-6.** Κινητική ανάπτυξης του μικροφύκου *Schizochytrium limacinum*, όσον αφορά την περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, υγρασία, τέφρα, και θερμιδική αξία της βιομάζας, που αναπτύχθηκε σε θρεπτικό μέσο με συμβατικά εμπορικά σκευάσματα ιχνοστοιχείων. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν το μέσο όρο του ξηρού βάρους της βιομάζας  $\pm$  το τυπικό σφάλμα των τριών επαναλήψεων.....50



## 1. Περίληψη

Στο Παραδοτέο Π10, διερευνήθηκε η επίδραση της ακατέργαστης γλυκερόλης (crude glycerol) στην παραγωγή βιομάζας και στη βιοσυνθετική ικανότητα παραγωγής λιπιδίων των μικροοργανισμών *Schizochytrium limacinum* SR21 και *Nannochloropsis occulata*. Διεξήχθησαν δύο διαφορετικά πειράματα ετεροτροφικής καλλιέργειας με μεταβαλλόμενες συγκεντρώσεις οργανικού άνθρακα στο θρεπτικό διάλυμα, ενώ τα υπόλοιπα μικροστοιχεία και ιχνοστοιχεία παρέμειναν σε σταθερές συγκεντρώσεις. Λόγω της χαμηλής παραγωγής βιομάζας του είδους *Nannochloropsis occulata* όταν καλλιεργήθηκε ετεροτροφικά, τα επόμενα πειράματα διεξήχθησαν με το είδος *Schizochytrium limacinum*, ενώ για το μικροφύκος *Nannochloropsis* θα διεξαχθούν στη συνέχεια πειράματα μικτοτροφικής καλλιέργειας, με την ανάπτυξη της καλλιέργειας σε θρεπτικό διάλυμα με οργανικό άνθρακα και άζωτο αλλά και παρουσία φωτός.

Με το μικροφύκος *Schizochytrium limacinum* διεξήχθη ο πρώτος κύκλος πειραμάτων στο εργαστήριο με πειραματικές μεταχειρίσεις που περιλάμβαναν την ετεροτροφική καλλιέργεια του μικροφύκου σε διαφορετικούς συνδυασμούς αβιοτικών παραγόντων, με στόχο να αξιολογηθούν ως προς τη βέλτιστη παραγωγή βιομάζας, ολικών λιπών και παραγωγής DHA. Συγκεκριμένα διερευνήθηκαν 24 διαφορετικοί συνδυασμοί συγκεντρώσεων ακατέργαστης γλυκερόλης ως πηγής άνθρακα και ολικού αζώτου στη μορφή μαγιάς και πεπτόνης για τον προσδιορισμό της βέλτιστης συγκέντρωσης άνθρακα και αζώτου, της επίδρασης διαφορετικών θερμοκρασιών και pH στο θρεπτικό διάλυμα ανάπτυξης, διερευνήθηκε η δυνατότητα αντικατάστασης των υψηλού κόστους πηγών οργανικού αζώτου και ιχνοστοιχείων με προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων εκρών βιολιπάσματος από την παραγωγή βιοαερίου και ανόργανο άζωτο σε θρεπτικό διάλυμα που περιέχει ως πηγή οργανικού άνθρακα ακατέργαστη γλυκερόλη, έγιναν πειράματα κινητικής ανάπτυξης του μικροφύκου σε ετεροτροφικές καλλιέργειες με τις βέλτιστες συγκεντρώσεις βιολιπάσματος, ανόργανης πηγής αζώτου και pH για το χρονικό προσδιορισμό της μεγαλύτερης βιοσύνθεσης ολικών λιπών και αξιολογήθηκε ο πιλοτικός βιοαντιδραστήρας αερόβιας ζύμωσης κατευθυνόμενης



δίνης τύπου airlift, ως προς την καταλληλότητα του για την παραγωγή εμβολίου σε υψηλές ποσότητες για τον εμβολιασμό των βιοαντιδραστήρων μεγάλης κλίμακας.

Στη συνέχεια ο δεύτερος κύκλος πειραμάτων περιλάμβανε πειραματικές μεταχειρίσεις στις εγκαταστάσεις πιλοτικής παραγωγής μικροφυκών σε μεγάλη κλίμακα στις εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο αγρόκτημα στο Βελεστίνο και συγκεκριμένα την ετεροτροφική καλλιέργεια του μικροφύκου με προσθήκη ακατέργαστης γλυκερόλης ως πηγή οργανικού άνθρακα στη συγκέντρωση που προσδιορίστηκε στο πείραμα 1 και διαφορετικών συγκεντρώσεων επεξεργασμένου βιολιπάσματος χωρίς την προσθήκη ανόργανου αζώτου, για τον προσδιορισμό του βέλτιστου λόγου άνθρακα και αζώτου για την παραγωγή βιομάζας και λίπους σε καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας και η επίδραση διαφορετικών θερμοκρασιών και τιμών pH του θρεπτικού μέσου ανάπτυξης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της παραγόμενης βιομάζας.