



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»

Παραδοτέο 8: Έκθεση επιλογής μικροφυκών για ιχθυοτροφές

Έκδοση 1.0.: Πρώτη έκδοση που δημιουργήθηκε στις 08-01-2019

Έκδοση 2.0.: Δεύτερη έκδοση που δημιουργήθηκε στις 08-07-2020

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 ΕΣΠΑ & ΤΕ
ΕΙΔΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΕΠΑΝΕΚ



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 βιοντίζελ και συμπληρωμάτων ιχθυοτροφών**

Ακρωνύμιο Έργου: **Alga4Fuel&Aqua**

Αριθμός Πρότασης: **T1ΕΔΚ-01580**

Συντονιστής: **Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας**

Διάρκεια: **09/07/2018 – 08/10/2022**

Λεπτομέρειες Παραδοτέου

ΕΕ 3: Παραγωγή ΜΦ για ιχθυοτροφή

ΥΕ3.1: Μελέτη βάσης δεδομένων και επιλογή μικροφυκών

Τίτλος Παραδοτέου: Έκθεση επιλογής ΜΦ για ιχθυοτροφές

Συντονιστής: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Συμμετέχοντες Εταίροι: ΤΕΙ ΘΕΣ , BioMar

Λίστα Περιεχομένων

1.	Περίληψη	7
2.	Εισαγωγή.....	9
2.1	Ο ρόλος των ιχθύων στην ανθρώπινη διατροφή και στην επισιτιστική ασφάλεια 10	
2.2	Ο ρόλος της υδατοκαλλιέργειας στην προσφορά ιχθυηρών για τον άνθρωπο 12	
2.3	Η σημασία των ιχθυοτροφών στην υδατοκαλλιέργεια	15
2.4	Ιχθυοτροφές και βιώσιμη ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών	18
2.5	Η σημασία των μικροφυκών στην παραγωγή ιχθυοτροφών	22
2.6	Τα γένη των μικροφυκών Schizochytrium και Nannochloropsis.....	25
3.	Τεχνικά χαρακτηριστικά καλλιέργειας μικροφυκών	28
3.1	Είδη Μεταβολισμού μικροφυκών	28
3.2	Μέθοδοι Καλλιέργειας μικροφυκών	29
4.	Παράμετροι που επηρεάζουν τη βιομάζα-παραγωγικότητα-κινητική των μικροφυκών	39
4.1	Γενικά.....	39
4.2	Μικροφύκη των γενών Schizochytrium και Nannochloropsis-Τύποι καλλιέργειας και παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή λιπιδίων ή πρωτεϊνών	47
5.	Θρεπτική σύσταση μικροφυκών και παράγοντες που την επηρεάζουν	55
5.1	Περιεκτικότητα μικροφυκών σε ολικές πρωτεΐνες και αμινοξέα.....	55
5.2	Περιεκτικότητα μικροφυκών σε λιπίδια και λιπαρά οξέα.....	0
6.	Επιλογή μικροφυκών για χρήση στις ιχθυοτροφές του έργου.....	5
7.	Αναφορές.....	8
8.	Παράρτημα Ι-.....	18

Λίστα Εικόνων

Εικόνα 2-1. Κατανάλωση ιχθυηρών από το 1950 έως σήμερα (Πηγή: FAO, 2018).....	12
Εικόνα 2-2. Αλιευτική κατάσταση των παγκόσμιων ιχθυοαποθεμάτων (Πηγή: FAO, 2018)	13
Εικόνα 2-3. Παγκόσμια παραγωγή ιχθυηρών κατά έτος (Πηγή: FAO, 2018).	14
Εικόνα 2-4. Παγκόσμια υδατοκαλλιεργητική παραγωγή ειδών που απαιτούν χορήγηση τροφής (Πηγή: FAO, 2018).....	16
Εικόνα 2-5. Παγκόσμια παραγωγή βιομηχανικά παρασκευασμένων ιχθυοτροφών (Πηγή: Connolly, 2018).....	17
Εικόνα 2-6. Παγκόσμια ετήσια παραγωγή ιχθυαλεύρων (μπλε γραμμή) και ιχθυελαίων (κόκκινη γραμμή) (Πηγή: (IFFO, 2016).....	18
Εικόνα 2-7. Διάφορα είδη μικροφυκών.....	24
Εικόνα 2-8. Φωτομικρογραφία των μικροφυκών (A) <i>Schizochytrium sp.</i> και (B) <i>Nannochloropsis sp.</i> , (Πηγή: Winwood, 2013)	25
Εικόνα 3-1. Ροή Ενέργειας και ροή άνθρακα διαμέσου των μικροφυκών.....	29
Εικόνα 3-2 Ανοικτά συστήματα φωτοαυτοτροφικής καλλιέργειας (πηγή: Chisti, 2007).30	
Εικόνα 3-3. Διάφοροι τύποι Φωτοβιοαντιδραστήρων για την καλλιέργεια μικροφυκών σε κλειστά συστήματα φωτοαυτοτροφικής καλλιέργειας (Πηγή: Chisti, 2007)	31
Εικόνα 3-4. Παραγωγή του μικροφύκου <i>Nannochloropsis</i> σε φωτοβιοαντιδραστήρες (Πηγή: Hullat et al., 2017).....	32
Εικόνα 3-5 Βιοαντιδραστήρας ημι-ασυνεχούς τροφοδοσίας θρεπτικού διαλύματος (fed- batch) για την ετεροτροφική καλλιέργεια μικροφυκών.....	33
Εικόνα 3-6. Σύστημα μιξοτροφικής καλλιέργειας μικροφυκών σε βιοαντιδραστήρα ημι- ασυνεχούς τροφοδοσίας θρεπτικού διαλύματος.....	36
Εικόνα 4-1. Ξηρό Βάρος Βιομάζας (DW) και συγκέντρωση γλυκερόλης που μεταβάλλεται με το χρόνο για διάφορες δόσεις γλυκερόλης και διαφορετικά μίγματα που περιέχουν γλυκερόλη (M1, M2) από απόβλητα της βιομηχανίας τροφίμων. Μεταχείριση (a) με μίγμα γλυκερόλης M1 στα 25 g/l; (b) με M1 στα 35 g/l; (c) με M1 στα 50 g/l; (d) με καθαρή γλυκερόλη στα 55 g/l; (e) με ανεπεξέργαστο μίγμα M1 στα 23 g/l; (f) με M2 στα 26 g/l (Πηγή Liang et al.2010).....	41



Εικόνα 4-2. Αποτελέσματα καλλιέργειας του μικροφύκου *S. limacinum* SR21 σε διαφορετικά επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου (DO) α) Πυκνότητα κυττάρων β) ξηρό βάρος κυττάρου γ) βάρος σώματος κυττάρου υπολογισμένο με βάση τη διαίρεση του μέσου ξηρού βάρους με τον αριθμό των κυττάρων (Πηγή Chi et al., 2009).....45

Εικόνα 4-3. Χρονοσειρές της κυτταρικής ανάπτυξης, της κατανάλωσης άνθρακα για το *Schizochytrium* sp. LU310 σε ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης. Τα ανοικτά σύμβολα και οι μαύρες μπάρες απεικονίζουν το μάρτυρα, τα κλειστά σύμβολα και οι πράσινες μπάρες με τη σίτιση (Πηγή Ling et al., 2015).....48

Εικόνα 4-4. Σύγκριση ξηρού βάρους κυττάρου (CDW), παραγωγής λιπιδίων και περιεχόμενου λιπιδίων (A) και παραγωγή DHA και περιεχόμενο των λιπιδίων σε DHA (B) του μικροφύκου *f Schizochytrium* sp. HX-308 σε διάφορες συνθήκες περιορισμού θρεπτικών (non-L, non- limitation; MSG-L, monosodium glutamate limitation; P-L, phosphate limitation; D-L, monosodium glutamate and phosphate limitation; NH₄ + -L, ammonium sulfate limitation) (Πηγή Sun et al., 2014).....49

Εικόνα 5-1. Χαρακτηριστικά επίπεδα (% των ολικών λιπαρών οξέων) του DHA, EPA και αραχιδονικού οξέος (AA) διαφόρων ειδών μικροφυκών που χρησιμοποιούνται στις υδατοκαλλιέργειες (Πηγή: Atkinson, 2013)..... 4

Λίστα Πινάκων

Πίνακας 2-1. Είδη μικροφυκών και η χρήση τους στις υδατοκαλλιέργειες (Becker, 2007).....26

Πίνακας 3-1. Σύγκριση χαρακτηριστικών διαφορετικών μεθόδων καλλιέργειας μικροφυκών (από (Perez-Garcia et al., 2011b; Zhou et al., 2015).....28

Πίνακας 3-2. Περιορισμοί και Προκλήσεις στην έρευνα για την ανάπτυξη των μικροφυκών (Πηγή:Perez-Garcia et al., 2011b)38

Πίνακας 4-1 Ενδεικτικές συνταγές εμπορικά διαθέσιμων θρεπτικών διαλυμάτων σε gr L⁻¹ (Πηγή: Grobbelaar and Bornman, 2004).....43

Πίνακας 5-1. Χαρακτηριστική σύσταση διαφόρων ειδών μικροφυκών σε πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια (Πηγή: (Becker, 2007).....56



Πίνακας 5-2. Χαρακτηριστική σύσταση (% ξηρής ουσίας) σε chlorophyll a, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπίδια διαφόρων ειδών μικροφυκών που χρησιμοποιούνται στις υδατοκαλλιέργειες (Πηγή: (Brown, 1991). 57

Πίνακας 5-3. Χαρακτηριστική σύσταση διαφόρων ειδών μικροφυκών σε αμινοξέα (% των ολικών πρωτεϊνών) (Πηγή: Becker, 2007). 57

Πίνακας 5-4. Χαρακτηριστικά επίπεδα (% των ολικών λιπαρών οξέων) διαφόρων ειδών μικροφυκών (Πηγή: Xue et al., 2018). 2



1. Περίληψη

Σήμερα, η παγκόσμια κοινότητα αντιμετωπίζει μία πιεστική ανάγκη ικανοποίησης της διατροφής ενός ολοένα και αυξανόμενου ανθρώπινου πληθυσμού, διαθέτοντας ωστόσο περιορισμένους φυσικούς πόρους. Τα ιχθυηρά ανέκαθεν αποτελούσαν ένα σημαντικό κομμάτι της ανθρώπινης διατροφής, ενώ και ο ρόλος τους στη συμβολή μιας υγιεινής διατροφής είναι καθολικά αναγνωρισμένος. Δεδομένης της στασιμότητας των φυσικών αλιευτικών αποθεμάτων, λόγω τόσο της υπεραλίευσης και της μη αποδοτικής μέχρι σήμερα διαχείρισης τους σε παγκόσμιο επίπεδο, οι υδατοκαλλιέργειες διαδραματίζουν ολοένα και σημαντικότερο ρόλο στην προσφορά ιχθυηρών και στην αντιμετώπιση της αυξανόμενης ζήτησης αυτών.

Καθώς η υδατοκαλλιέργεια γίνεται ο σημαντικότερος προμηθευτής ιχθυηρών για τον άνθρωπο, η ζήτηση για βιομηχανικά παρασκευασμένες ιχθυοτροφές αυξάνεται διαρκώς. Ένας από τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες, ο οποίος μάλιστα απειλεί και την ίδια τη βιωσιμότητα του τομέα, είναι η εξάρτηση αυτού στα ιχθυάλευρα (fishmeals, FM) και ιχθυέλαια (fish oils, FO) που αποτελούν τις κύριες πηγές πρωτεϊνών και λιπών, αντίστοιχα, για τη βιομηχανική παρασκευή ιχθυοτροφών. Τα FM και FO παράγονται από συγκεκριμένα αλιευμένα ιχθυαποθέματα, τα οποία πλέον έχουν φτάσει στα όρια της βιωσιμότητας τους. Η συμβατική χρήση αυτών, λοιπόν, πέραν του ότι απειλεί τη βιωσιμότητα των φυσικών ιχθυαποθεμάτων απειλεί και την περαιτέρω ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών. Ταυτόχρονα, η παγκόσμια παραγωγή τους είναι στάσιμη, εκτινάσσοντας έτσι το κόστος παρασκευής ιχθυοτροφών και της ιχθυοκαλλιέργειας. Προκειμένου οι υδατοκαλλιέργειες να προσφέρουν αειφορικά παραγόμενο ψάρι στην παγκόσμια κοινότητα θα πρέπει ο τομέας να μειώσει περαιτέρω την εξάρτηση του στα ιχθυάλευρα και ιχθυέλαια και να εξακολουθήσει να υιοθετεί πρακτικές που αποσκοπούν στην παραγωγή βιώσιμων ιχθυοτροφών.

Τα μικροφύκη αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη πηγή θρεπτικών συστατικών για χρήση τους στις ιχθυοτροφές ως υποκατάστατα των ιχθυελαίων και ιχθυαλεύρων έχοντας προσελκύσει έντονο ερευνητικό και επιχειρηματικό ενδιαφέρον. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα μικροφύκη είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί που έχουν τη δυνατότητα να μετατρέψουν την τεράστια ποσότητα ενέργειας της ηλιακής ακτινοβολίας σε πρωτεΐνες,



λιπίδια και θρεπτικά συστατικά. Γενικά, τα μικροφύκη περιέχουν ένα υψηλό ποσοστό πρωτεϊνών που κυμαίνεται από 30 έως 75% με καλό προφίλ αμινοξέων ταιριαστό στις απαιτήσεις των ιχθύων, ενώ είναι και πλούσια σε λιπίδια. Κάποια είδη μικροφυκών είναι ιδιαίτερα πλούσια σε ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, και συγκεκριμένα σε EPA ή/και DHA, τα οποία αφενός απαιτούνται από τα ψάρια για τη σωστή ανάπτυξη και υγεία τους και αφετέρου προσδίδουν υψηλή διατροφική αξία στα ψάρια. Στο Παραδοτέο αυτό περιγράφεται αναλυτικά η θρεπτική σύσταση διαφόρων ειδών μικροφυκών, και ιδιαίτερα των γενών *Schizochytrium* και *Nannochloropsis*, τα οποία παρουσιάζουν και τις μεγαλύτερες προοπτικές για να υποκαταστήσουν τα ιχθυέλαια στις ιχθυοτροφές, και ως εκ τούτου παρουσιάζουν το υψηλότερο ερευνητικό και παραγωγικό ενδιαφέρον

Τα μικροφύκη κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τον τρόπο που προσλαμβάνουν και μεταβολίζουν πηγές άνθρακα ώστε να καλύψουν τις ενεργειακές ανάγκες τους για αύξηση και ανάπτυξη σε α) Φωτοαυτότροφους 2) Ετερότροφους και 3) Μικτότροφους. Κάθε τύπος καλλιέργειας έχει τα δικά του τεχνικά χαρακτηριστικά, πλεονεκτήματα και περιορισμούς που αναλύονται εκτενώς στο παρόν σύγγραμμα. Επίσης, στο Παραδοτέο αυτό περιγράφονται οι παράμετροι που επηρεάζουν τη βιομάζα-παραγωγικότητα-κινητική των μικροφυκών όπως οι θρεπτικές τους ανάγκες και οι παράμετροι του αβιοτικού περιβάλλοντος του μέσου καλλιέργειας τους. Ιδιαίτερη, αναφορά γίνεται στις παραμέτρους που επηρεάζουν την παραγωγικότητα των γενών *Schizochytrium* και *Nannochloropsis*, τα οποία εν τέλει η Ομάδα Έργου επέλεξε για την πειραματική τους καλλιέργεια με σκοπό τη μετέπειτα χρήση τους ως συστατικά ιχθυοτροφών.