



Τεχνολογικό
Πανεπιστήμιο
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών
Επιστημών και Διαχείρισης
Περιβάλλοντος

Πτυχιακή εργασία

**Παραγωγή βιομάζας και λιπιδίων από υγρό απόβλητο
επεξεργασίας ελιάς με τη χρήση *Scenedesmus obliquus* σε
στρατηγική καλλιέργειας δύο σταδίων υπό συνθήκες στρες**

Δέσποινα Κωνσταντίνου

Λεμεσός, Μάιος 2024

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

Πτυχιακή εργασία

Παραγωγή βιομάζας και λιπιδίων από υγρό απόβλητο
επεξεργασίας ελιάς με χρήση *Scenedesmus obliquus* σε
στρατηγική καλλιέργειας δύο σταδίων υπό συνθήκες στρες

της

Δέσποινας Κωνσταντίνου

Επιβλέπων Καθηγητής

Δρ. Μιχαήλ Κουτίνας

Λεμεσός, Μάιος 2024

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Δέσποινα Κωνσταντίνου, 2024

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της πτυχιακής εργασίας από το Τμήμα Χημικών Μηχανικών του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον καθηγητή μου, Δρ. Μιχαήλ Κουτίνα για την καθοδήγη και την επιστημονική του στήριξη κατά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας. Θα ήταν παράληψη μου, να μην αναφερθώ στην υποψήφια διδάκτορ του τμήματος Χημικών Μηχανικών, Αντωνία Νικοδήμου για την άψογη συνεργασίας μας, την προθυμία της καθώς και την πολύτιμη βοήθεια που μου πρόσφερε κατά την διάρκεια υλοποίησης της παρούσας εργασίας, γι' αυτό και την ευχαριστώ θερμά. Συνοδοιπόρος μου όλα αυτά τα χρόνια, η συμφοιτήτρια μου Παντελίτσα Πετεινού, που παρά τις δυσκολίες, εκπληρώσαμε τους στόχους μας με επιτυχία. Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου για τη συνεχή στήριξη που μου παρείχε κατά την διάρκεια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διατριβή ενίσχυσε την καλλιέργεια του *Scenedesmus obliquus* μέσω βελτιστοποίησης των αναλογιών C/N (C:Carbon/N:Nitrogen, Άνθρακας/Άζωτο) και C/P (C:Carbon/P:Phosphorus, Άνθρακας/Φώσφορος) σε συνθετικό βιομέσο και αξιολόγησης μιας στρατηγικής καλλιέργειας δύο σταδίων μέσω της εφαρμογής του στρες αλατότητας με τη χρήση υγρού αποβλήτου που προκύπτει από την εκχύλιση ελαιόλαδου. Ο *S. obliquus* με αναλογία 40/1 C/N παρουσίασε παραγωγικότητα βιομάζας και λιπιδίων που έφτασε τα 0.15 και 34.1 mg L⁻¹ d⁻¹ αντίστοιχα, επιδεικνύοντας υψηλή απόδοση κατανάλωσης γλυκόζης. Η εφαρμογή της στρατηγικής καλλιέργειας δύο σταδίων που χρησιμοποιεί 0, 10, 20 και 30 g L⁻¹ NaCl κατά τη διάρκεια του δεύτερου σταδίου της βιοδιεργασίας είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη παραγωγικότητα βιομάζας (0.14 – 0.19 g L⁻¹ d⁻¹), η οποία μειώθηκε κατά τη λειτουργία διαλείποντος έργου αποδίδοντας 0.11 g L⁻¹ d⁻¹. Η καλλιέργεια δύο σταδίων πυροδότησε υψηλότερη παραγωγικότητα λιπιδίων (4.2% – 156.9%) μετά την 3^η και 6^η ημέρα από την έναρξη του δεύτερου σταδίου (42.7 – 55.2 mg L⁻¹ d⁻¹) σε σύγκριση με τις συνθήκες διαλείποντος έργου, ενώ η κατανάλωση των αναγωγικών σακχάρων στα υγρά απόβλητα έφτασε το 53.6% – 61.2%. Η προλίνη, η γλυκερόλη και οι δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) συσσωρεύτηκαν σε σημαντικά επίπεδα χρησιμοποιώντας 20 και 30 g L⁻¹ NaCl, υποδεικνύοντας ότι ο *S. obliquus* παρουσίασε κυτταρικό στρες υπό αυξημένη περιεκτικότητα αλατιού, ενώ δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές χρησιμοποιώντας 10 g L⁻¹ NaCl. Η χρήση υγρών αποβλήτων επεξεργασίας ελιάς σε μια στρατηγική καλλιέργειας δύο σταδίων υπό συνθήκες στρες επιτρέπει τη μελλοντική ανάπτυξη συστημάτων βιοδιύλιση των φυκών για την παραγωγή βιομάζας και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων ως προϊόντων υψηλής προστιθέμενης αξίας από βιοαπόβλητα.

Λέξεις κλειδιά: *Scenedesmus obliquus*, Υγρό απόβλητο επεξεργασίας ελιάς, Στρες αλατότητας, Καλλιέργεια δύο σταδίων, Λιπίδια, Προλίνη

ABSTRACT

This thesis enhanced *Scenedesmus obliquus* cultivation via optimization of C/N (C:Carbon/N:Nitrogen) and C/P (C:Carbon/P:Phosphorus) ratios in synthetic media and evaluation of a two-stage cultivation strategy through application of salinity stress in olive processing wastewater-based feedstocks. *S. obliquus* under 40/1 C/N ratio performed biomass and lipid productivity that reached 0.15 and 34.1 mg L⁻¹ d⁻¹ respectively, demonstrating high glucose removal efficiency. Application of a two-stage cultivation strategy employing 0, 10, 20 and 30 g L⁻¹ NaCl during the second bioprocess segment resulted in elevated biomass productivity (0.14 – 0.19 g L⁻¹ d⁻¹), which was reduced under batch mode yielding 0.11 g L⁻¹ d⁻¹. Two-stage cultivation triggered higher lipid productivity (4.2% – 156.9%) following 3 and 6 days upon the onset of the second stage (42.7 – 55.2 mg L⁻¹ d⁻¹) as compared to batch conditions, while the utilization of reducing sugars in exhausted olive pomace hydrolysates and table olive processing wastewater reached 53.6% – 61.2%. Proline, glycerol, and reactive oxygen species (ROS) accumulated at considerable levels employing 20 and 30 g L⁻¹ NaCl, indicating that *S. obliquus* expressed cellular stress under elevated salinity content, which was not notably stimulated using 10 g L⁻¹ NaCl. The use of olive processing wastewater in a two-stage cultivation strategy under stress conditions enables future development of algal biorefinery systems for production of *S. obliquus* biomass and polyunsaturated fatty acids as high added-value products from biowaste.

Keywords: *Scenedesmus obliquus*, Olive processing wastewater, Salt stress, Two-stage cultivation, Lipids, Proline

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	v
ABSTRACT.....	vi
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	vii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	x
1 Εισαγωγή	1
1.1 Μικροάλγη.....	3
2 Μεθοδολογία Έρευνας.....	6
2.1 Πρώτες ύλες και χημικά	6
2.2 Στέλεχος μικροφυκών και συνθήκες ανάπτυξης	6
2.3 Καλλιέργεια δύο σταδίων του <i>S. obliquus</i>	7
2.4 Αναλύσεις	7
2.4.1 Προσδιορισμός αναγωγικών σακχάρων – Μέθοδος DNS.....	7
2.4.2 Προσδιορισμός γλυκόζης, ξυλόζης και γλυκερόλης – Χρήση HPLC.....	8
2.4.3 Προσδιορισμός οπτικής πυκνότητας βιομάζας και ξηρού βάρους.....	8
2.4.4 Εκχύλιση και ποσοτικοποίηση λιπιδίων – Μέθοδος Folch	9
2.4.5 Προφίλ λιπαρών οξέων.....	10
2.4.6 Προσδιορισμός περιεκτικότητας πρωτεϊνών – Μέθοδος Lowry.....	10
2.4.7 Ποσοτικοποίηση υδατανθράκων	11
2.4.8 Προσδιορισμός προλίνης, ROS και γλυκερόλης.....	11
2.4.9 Προσδιορισμός NH ₄ -N και NO ₃ -N.....	12
2.4.10 Προσδιορισμός φωσφορικού φωσφόρου PO ₄ -P – Μέθοδος ασκορβικού οξέος	12
2.4.11 Προσδιορισμός πολυφαινολικών - Μέθοδος Folin-Ciocalteu.....	13

2.4.12	COD	13
3	Αποτελέσματα – Σχολιασμός	14
3.1	Επίδραση των αναλογιών C/N και C/P σε καλλιέργειες <i>S. obliquus</i>	14
3.2	Καλλιέργεια δύο σταδίων του <i>S. obliquus</i>	17
3.2.1	Παραγωγή βιομάζας μικροφυκών	18
3.2.2	Βιοχημική σύσταση του <i>S. obliquus</i>	20
3.2.3	Προφίλ λιπαρών οξέων <i>S. obliquus</i>	24
3.2.4	Πρόσληψη θρεπτικών ουσιών από τα υγρά απόβλητα.....	28
3.2.5	Συσώρευση συμβατών διαλυμένων ουσιών και ROS υπό συνθήκες αλατότητας.....	32
4	Συμπεράσματα	37
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	49