

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ, ΟΔΗΓΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ. ΜΠΑΝΗΣ

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2021



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ, ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ, ΟΔΗΓΗΣΗΣ ΚΑΙ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΜΑΓΝΗΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Κ. ΜΠΑΝΗΣ

Συμβουλευτική επιτροπή:

Ευάγγελος Χριστοφόρου Κωνσταντίνα Νικήτα Δημήτριος - Διονύσιος Κουτσούρης

Εγκρίθηκε από την επταμελή εξεταστική επιτροπή τη
ν 5^{η} Νοεμβρίου 2021.

Ευάγγελος Χριστοφόρου

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αφροδίτη Κτενά Καθηγήτρια Ε.Κ.Π.Α.

K. S.NSZ

Κωνσταντίνα Νικήτα

Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

Παναγιώτης Τσαραμπάρης Επίκουρος Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Κωνσταντίνος Καλκάνης Επίκουρος Καθηγητής ΠΑ.Δ.Α.

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2021

Δημήτριος - Διονύσιος Κουτσούρης

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Γεωργία Βαλσαμή Καθηγήτρια Ε.Κ.Π.Α.

F. Mairon

.....

Γεώργιος Κ. Μπάνης

Διδάκτωρ Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π

Copyright © Γεώργιος Κ. Μπάνης, 2021.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Περίληψη

Ο στόχος της διατριβής είναι η μελέτη της συμπεριφοράς μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων. Η έρευνα ξεκίνησε με τη μαγνητική τροποποίηση μικροφυκών. Υπάρχει πληθώρα μεθόδων τροποποίησης κυττάρων αλλά αυτή πραγματοποιείται με μη συνεχή τρόπο. Στο πλαίσιο της διατριβής και του ερευνητικού έργου Horizon 2020 Valuemag (No 745695) ήταν απαραίτητη η παραγωγή μεγάλης ποσότητας μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Με αυτόν το γνώμονα, σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε μια συσκευή ηλεκτροδιάτρησης η οποία επιτρέπει τη μαγνητική τροποποίηση μικροφυκών με συνεχή τρόπο. Κατ' επέκταση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εισαγωγή μορίων, φαρμάκων ή άλλων βιολογικών οντοτήτων μέσα στο κυτταρόπλασμα όπου απαιτείται παραγωγή μεγάλης ποσότητας τροποποιημένων κυττάρων. Στη συνέχεια επιχειρήθηκε ο διαχωρισμός των μαγνητικών μικροφυκών από αυτά που δεν τροποποιήθηκαν. Οι υφιστάμενες μεθοδολογίες αφορούν το διαχωρισμό είτε πολύ μικρών ποσοτήτων μαγνητικού υλικού από διαλύματα με χρήση MEMS, είτε ορυκτών σε μεταλλευτικές εγκαταστάσεις. Στο πλαίσιο της διατριβής μελετήθηκε ο διαχωρισμός μαγνητικών κυττάρων από διάλυμα. Από τη διαδικασία εύρεσης τρόπου διαχωρισμού των μικροφυκών, προέκυψε μια διάταξη η οποία μπορεί να διαχωρίσει οποιοδήποτε μαγνητικό υλικό βρίσκεται διαλυμένο σε μορφή σκόνης σε κάποιο διάλυμα. Η διάταξη αυτή σχεδιάστηκε έτσι ώστε να μπορεί να λειτουργεί με συνεχή τρόπο, επιτρέποντας έτσι το διαχωρισμό μεγάλης ποσότητας μορίων, κυττάρων αλλά ακόμα και βαρέων μετάλλων από μολυσμένα ύδατα. Έχοντας αναλύσει τις παραμέτρους διαχωρισμού, φυσική συνέχεια ήταν ο περαιτέρω έλεγχος των μαγνητικών σωματιδίων. Η έρευνα στράφηκε στη μελέτη οδήγησης μαγνητικού υλικού. Αναπτύχθηκε μια διάταξη η οποία μπορεί να ωθεί παραμαγνητικό υλικό παράγοντας μαγνητικά πεδία περίπλοκης βάθμωσης. Αυτή η διάταξη δίνει λύση στο βασικό πρόβλημα οδήγησης τροποποιημένων κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα καθώς επιτρέπει την ώθηση σε σημεία όπου εναλλακτικά θα απαιτείτο σημαντικά ισχυρότερο πεδίο. Ένα βήμα παραπέρα, αναπτύχθηκε ένα σύστημα 4 ηλεκτρομαγνητών οι οποίοι βασιζόμενοι σε ένα σύστημα κλειστού βρόγχου μπορούν να οδηγούν μια παραμαγνητική σταγόνα σε προκαθορισμένη από το χρήστη τροχιά. Έπειτα, το ερευνητικό ενδιαφέρον στράφηκε στο χαρακτηρισμό παραμαγνητικού υλικού με μία καινοτόμο μέθοδο μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας, χαμηλού κόστους. Αναπτύχθηκε η διάταξη όσο και ο αλγόριθμος υπολογισμού της επιδεκτικότητας μαγνητικού υλικού. Τέλος, αναπτύχθηκαν τρεις βιοαντιδραστήρες για τη μελέτη της καλλιέργειας των μαγνητικών μικροφυκών. Η μέθοδος καλλιέργειας που επιλέχτηκε ήταν η ακινητοποίηση των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών στην επιφάνεια κωνικού αντιδραστήρα πάνω στην οποία ρέει φιλμ νερού. Έμφαση δόθηκε στην ανάπτυξη του συστήματος ελέγχου των συνθηκών και στην κατανομή του ρευστού πάνω στην επιφάνεια του αντιδραστήρα καθώς τα υπόλοιπα κομμάτια της έρευνας (τα οποία παρατίθενται αλλά δεν αναλύονται ενδελεχώς) πραγματοποιήθηκαν από άλλα μέλη της ομάδας.

Λέξεις κλειδιά

Μαγνητικά νανοσωματίδια, Μαγνητική οδήγηση, Μαγνητικός βιοαντιδραστήρας, Μικροφύκη

Abstract

The aim of the dissertation is to study the behavior of magnetically modified cells. The research began with the magnetic modification of microalgae. There are a variety of cell modification methods but these are done in a non-continuous way. In the context of the dissertation and research project Horizon 2020 Valuemag (No 745695) it was necessary to produce a large amount of magnetically modified microalgae. Therefore, an electroporation device was designed and developed that allows the magnetic modification of microalgae in a continuous manner. It can therefore be used to introduce molecules, drugs or other biological entities into the cytoplasm of cells where the production of large quantities of modified cells is required. An attempt was then made to separate the magnetic microalgae from the unmodified ones. Existing methodologies concern the separation of either very small amounts of magnetic material from solutions using MEMS, or minerals in mining facilities. In the dissertation, the separation of magnetic cells from solution was studied. From the process of finding a way to separate the microalgae, a device emerged that can separate any magnetic material that is dissolved in powder form in a solution. Again, due to the needs of the dissertation and the Valuemag program, this device was designed to be able to operate continuously, thus allowing the separation of large quantities of molecules, cells and even heavy metals from contaminated water. Having analyzed the separation parameters, a natural continuation was the further control of the magnetic particles. The research focused on the study of driving magnetic material. A device has been developed which can push paramagnetic material producing magnetic fields of complex gradience (magnets can only attract paramagnetic materials). This device solves the basic problem of driving modified cells in the human body as it allows pushing in places where a significantly stronger field would otherwise be required. One step further, a system of 4 electromagnets has been developed which, based on an automatic control system, can drive a ferromagnetic drop (ferrofluid) into a predetermined trajectory. The research then turned to the characterization of paramagnetic material with an innovative, low-cost method of measuring magnetic susceptibility. The device and the algorithm for calculating the susceptibility of magnetic material were developed. The discrepancies resulting from comparative measurements are significant and further research is required to optimize the layout. Finally, three bioreactors were developed to study the culture of magnetic microalgae. The culture method selected in the Valuemag project was the immobilization of the magnetically modified microalgae on the surface of a conical reactor on which a film of water flows. Emphasis was given on the development of the conditions' control system and the distribution of the fluid on the surface of the reactors as the other parts of the research (which are given but not thoroughly analyzed) were performed by other team members.

Keywords

Magnetic nanoparticles, Magnetic driving, Magnetic transformation, Magnetic bioreactor, Microalgae

Στους γονείς μου Κωνσταντίνο και Χαρίκλεια και στον αδερφό μου Αλέκο, με όλη μου την αγάπη

Ευχαριστίες

Μέσα στα πέντε χρόνια της διατριβής μου είχα την τύχη να συνεργαστώ με μοναδικούς ανθρώπους που μου προσέφεραν γνώση, με βοήθησαν να εξελιχθώ και στους οποίους χρωστάω κάτι παραπάνω από ευγνωμοσύνη.

Αρχικά, θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου Ευάγγελο Χριστοφόρου που με δέχτηκε στην ομάδα του και που μου έδωσε την ευκαιρία να εργαστώ στο εργαστήριο το οποίο διευθύνει. Τον ευχαριστώ για τις γόνιμες συζητήσεις που με έκαναν να αγαπήσω την έρευνα και να αποκτήσω κριτική σκέψη. Τον ευχαριστώ και για τη στήριξη που μου παρείχε σε όλες τις δύσκολες στιγμές.

Ευχαριστώ επίσης, τους καθηγητές Κωνσταντίνα Νικήτα, Δημήτριο Κουτσούρη, Αφροδίτη Κτενά, Παναγιώτη Τσαραμπάρη, Γεωργία Βαλσαμή και Κωνσταντίνο Καλκάνη, τα μέλη της επιτροπής, που παρακολουθούσαν την πορεία της διατριβής μου και μου έδωσαν πολύτιμες συμβουλές.

Ευχαριστώ τον Angelo Ferraro που επέβλεψε τη διατριβή μου ως μεταδιδακτορικός ερευνητής του εργαστηρίου. Νιώθω τυχερός που αντιμετώπισα μαζί του όλα τα τεχνικά ζητήματα της διατριβής μου καθώς, το γεγονός ότι είναι βιολόγος με βοήθησε να αναπτύξω πολυπρισματική προσέγγιση σε κάθε βήμα της διατριβής.

Ακόμα, ευχαριστώ τους υποψήφιους διδάκτορες του εργαστηρίου (Χριστοφορόπαιδα) και τα υπόλοιπα μέλη της ομάδας για την άψογη συνεργασία, για το κλίμα συναγωνισμού, για τη στήριξη και όλες τις όμορφες στιγμές που μου χαρίσανε και γιατί αναπτύξαμε φιλίες που θα μείνουν.

Ευχαριστώ και τον κ. Αργύρη Ζερβουλάκο για τη στήριξη που μου παρείχε στην ανάπτυξη του συστήματος ελέγχου της ενότητας 3.4.2.

Ευχαριστώ επίσης του φοιτητές που με εμπιστεύτηκαν για την επίβλεψη της προπτυχιακής ή μεταπτυχιακής τους εργασίας. Ορισμένα από τα αποτελέσματα αυτών των εργασιών έχουν ενσωματωθεί στη διατριβή. Για τις μετρήσεις στο κεφάλαιο 3.2.4 ευχαριστώ τον Αντώνη Γεωργά, για τις μετρήσεις του κεφαλαίου 3.3 ευχαριστώ το Βασίλη Μανουρά, για την ενότητα 3.4.2 τον Κωνσταντίνο Τυροβολά, για τον κώδικα και το σύστημα ελέγχου στην ενότητα 3.4.3 το Δημήτρη Σπυρόπουλο και για τις μετρήσεις στην ενότητα 3.5 τον Πάνο Μπέτσιο και το Φίλιππο Παντελεάκη.

Ευχαριστώ τους φίλους μου (Φ.Κ.) που ήταν δίπλα μου στην πορεία της διατριβής μου και με βοήθησαν να κρατήσω τις ισορροπίες.

Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου Κωνσταντίνο και Χαρίκλεια για την αγάπη που μου δίνουν συνεχώς και εμπράκτως και τον αδερφό μου Αλέκο που είναι πάντα δίπλα μου.

Ευχαριστώ και τους Led Zeppelin για την έμπνευση που μου έδωσαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων και κατά τη συγγραφή της διατριβής.

Περιεχόμενα

1.	Εισαγωγή		5
1	.1.	Ανάγκη για περισσότερους πόρους	5
1	.2.	Στροφή σε νέες μορφές πόρων	5
1	.3.	Βιομάζα	5
	1.3.1	. Αξιοποίηση της βιομάζας μικροφυκών	6
	1.3.2	. Η δυναμική της παραγωγής και χρήσης βιομάζας μικροφυκών στο μέλλον	7
1	.4.	Στόχος	8
2.	Θεα	ρρητικό πλαίσιο	11
2	2.1.	Βιολογία των φυκών	11
	2.1.1	. Φύκη – άλγες	11
	2.1.2	2. Κυτταρική δομή φυκών	12
	2.1.3	. Είδη φυκών	14
	2.1.4	. Μικροφύκη	15
	2.1.5	. Ιδιότητες των φυκών και η σημασία τους για τον άνθρωπο	16
2	2.2.	Συστήματα Καλλιέργειας	
	2.2.1	. Γενικά για τα συστήματα	18
	2.2.2	2. Ανοικτά συστήματα	19
	2.2.3	. Κλειστά συστήματα	22
	2.2.4	. Σύγκριση μεταξύ συστημάτων παραγωγής βιομάζας μικροφυκών	27
2	2.3.	Συνθήκες καλλιέργειας	
	2.3.1	. Γενικά για τις συνθήκες	
	2.3.2	2. Κατηγορίες καλλιεργειών	
	2.3.3	. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροφυκών	
	2.3.4	. Επίδραση του φωτός στα συστήματα καλλιέργειας	
2	2.4.	Θεωρία μαγνητισμού	
	2.4.1	. Μαγνήτες και Ηλεκτρομαγνήτες	
	2.4.2	2. Εξισώσεις Maxwell	40
	2.4.3	. Μαγνητικά Κυκλώματα	42
	2.4.4	. Μαγνητισμός υλικών	44
2	2.5.	Μαγνητικά νανοσωματίδια και βιοϊατρικές εφαρμογές	
	2.5.1	. Γενικά	
	2.5.2	2. Δυνάμεις στα μαγνητικά νανοσωματίδια	53
	2.5.3	. Εφαρμογές μαγνητικών νανοσωματιδίων στη βιοϊατρική	54
	2.5.4	. Θεωρία μαγνητικού διαχωρισμού	
2	2.6.	Ηλεκτροδιάτρηση	67

2.6.1.	Εισαγωγή	67
2.6.2.	Κυτταρική Μεμβράνη	67
2.6.3.	Βιολογικό κύτταρο σε Ηλεκτρικό Πεδίο	69
2.7. @	Θεωρία ρευστών	71
2.7.1.	Εισαγωγή	71
2.7.2.	Βασικές ιδιότητες ρευστών	71
2.7.3.	Είδη ροής	75
3. Пегро	αματικό Μέρος	78
3.1. H	Ξισαγωγή	78
3.2. Σ	Ευσκευή Ηλεκτροδιάτρησης	79
3.2.1.	Υφιστάμενη μεθοδολογία	79
3.2.2.	Ρύθμιση των παραμέτρων του συστήματος	
3.2.3.	Σχεδιασμός κυβέτας συνεχούς ροής	
3.2.4.	Κατασκευή κυβέτας συνεχούς ροής και χαρακτηρισμός της	
3.2.5.	Πειραματική διάταξη	91
3.2.6.	Αποτελέσματα	
3.2.7.	Συμπεράσματα	94
3.3. N	Μαγνητικός διαχωρισμός	96
3.3.1.	Εισαγωγή	96
3.3.2.	Θεωρητική προσέγγιση προβλήματος - ισορροπία δυνάμεων	96
3.3.3.	Πειραματική διάταξη	
3.3.4.	Προσομοιώσεις: ANSYS - fluent	
3.3.5.	Αρχικά αποτελέσματα	116
3.3.6.	Μαγνητικός διαχωριστής συνεχούς ροής	117
3.3.7.	Συμπεράσματα	
3.4. (Οδήγηση μαγνητικών σωματιδίων	
3.4.1.	Υφιστάμενη Μεθοδολογία	
3.4.2.	Μαγνητικό σύστημα	
3.4.3.	Αυτοματοποιημένη οδήγηση	
3.4.4.	Συμπεράσματα	
3.5. N	Μαγνητικός χαρακτηρισμός	
3.5.1.	Εισαγωγή	
3.5.2.	Μέθοδοι και όργανα μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας	
3.5.3.	Πειραματική διάταξη	
3.5.4.	Αποτελέσματα	
3.5.5.	Συμπεράσματα	
3.6. H	3ιοντιδραστήρες	

7.	Παράρτημα	202
6.	Βιβλιογραφία	
5.	Συμπεράσματα	
4.	Ανακεφαλαίωση	184
	3.7.4 Συμπεράσματα	
	3.6.4 Επίπεδος mPBR	176
	3.6.3. Αποτελέσματα	
	3.6.2. Κωνικός mPBR	
	3.6.1. Εργαστηριακός PBR	164

1. <u>Εισαγωγή</u>

1.1. Ανάγκη για περισσότερους πόρους

Κατά τον 20° αιώνα η αύξηση του πληθυσμού, ο οποίος σύμφωνα με τις εκτιμήσεις αναμένεται να ξεπεράσει τα εννέα δισεκατομμύρια μέχρι το 2050, από τα ~7,834 δισεκατομμύρια που αριθμεί σήμερα, η εξαπλούμενη αστικοποίηση και διαφοροποίηση του τρόπου ζωής συνέβαλαν στην εντατικοποίηση της εκμετάλλευσης των φυσικών πόρων. Ο κίνδυνος εξάντλησής τους οδήγησε στην ανάγκη για την ανεύρεση βιώσιμων τρόπων αξιοποίησης και διαχείρισης των υπαρχόντων ή νέων πιθανόν φυσικών πόρων σε παγκόσμιο επίπεδο. Όροι όπως αειφόρος ανάπτυξη (sustainable development) και βιώσιμη χρήση των φυσικών πόρων (sustainable use of natural resources) μπήκαν στην ατζέντα των διεθνών οργανισμών με την χάραξη ανάλογων στρατηγικών. Στόχος τους είναι η μείωση των επιπτώσεων στο περιβάλλον από την χρήση των πόρων σε ένα περιβάλλον οικονομικής ανάπτυξης.

Σε αυτό το πλαίσιο αναπτύσσονται νέες τεχνολογίες που αποσκοπούν ακριβώς στην αξιοποίηση και διαχείριση των υδάτινων πόρων, των φυσικών μορφών ενέργειας, την δημιουργία εδαφών κατάλληλων για καλλιέργεια ή διατροφικών υλών σε εργαστήρια και άλλα, ώστε να καλυφθούν οι ανάγκες της ανθρώπινης διαβίωσης στο μέλλον, αλλά και να αποφευχθούν τυχόν οικονομικές αναταράξεις από την έλλειψη ή μείωσή τους. [1–3]

1.2. Στροφή σε νέες μορφές πόρων

Ένα από τα θέματα που απασχολεί την διεθνή κοινότητα είναι η λεγόμενη «αποδοτικότητα των πόρων», δηλαδή, η κατά το δυνατόν μεγαλύτερη παραγωγή από λιγότερο πρωτογενές υλικό και συνεπώς και λιγότερο ενεργειακό ή οικολογικό αποτύπωμα, βάσει μιας ορθής διαχείρισης από την πηγή μέχρι την μεταποίηση, την κατανάλωση και την διαχείριση των αποβλήτων. Σε αυτό το πλαίσιο έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια, υπό την αιγίδα διεθνών οργανισμών, έρευνες π.χ. για την αύξηση της ποσότητας πόσιμου νερού μέσω αφαλατώσεων ή καθαρισμού υπαρχόντων πηγών, για την μείωση των διαφόρων μορφών αποβλήτων και παραπροϊόντων με μεθόδους ανακύκλωσης και άλλα.

Η ενέργεια, ως απαραίτητο συστατικό της λειτουργίας των σύγχρονων κοινωνιών, υπήρξε το πρώτο «θύμα» της ανεξέλεγκτης χρήσης και υπερεκμετάλλευσης των φυσικών πόρων με αποτέλεσμα και την ανάπτυξη μεθόδων αναπλήρωσης των αρχικών πόρων ενέργειας με άλλες εναλλακτικές μορφές, όπως με την αξιοποίηση ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, γεωθερμικής, ηλιακής και αιολικής ή την παραγωγή εναλλακτικών καυσίμων, όπως το βιοαέριο και η βιοαιθανόλη. Η έρευνα για την αξιοποίηση της βιομάζας έχει αναπτυχθεί ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια. [4–6]

1.3. Βιομάζα

Η βιομάζα είναι βιολογικό υλικό από ζωντανούς ή πρόσφατα ζωντανούς οργανισμούς, συνήθως φυτά ή υλικά φυτικής προέλευσης, ως αποτέλεσμα της της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Παράγεται από

ξύλα, δασικά προϊόντα, ακόμα και υπολείμματα καλλιεργειών, κτηνοτροφικά απόβλητα και απόβλητα βιομηχανιών. Μετά από επεξεργασία η βιομάζα μπορεί να διοχετευθεί στην παραγωγή διάφορων αγαθών, κυρίως στην ενέργεια, ως δευτερογενής ηλιακή ενέργεια, αλλά και σε άλλα προϊόντα, όπως σε τρόφιμα, φάρμακα, λιπάσματα κλπ.

Τα συστήματα παραγωγής βιομάζας χωρίζονται σε χερσαία και υδάτινα, το πρώτο εκ των οποίων έχει ήδη αναπτυχθεί αρκετά και αποτελεί πλέον κοινή πρακτική. Ωστόσο, τα μειονεκτήματα της παραγωγής και διαχείρισης της χερσαίας βιομάζας, όπως η ενεργειακή αξιοποίησή της και τα υψηλά κόστη τα οποία απαιτεί δεν διευκολύνουν την ευρύτερη υιοθέτησή της ως βασικό πόρο παραγωγής ενέργειας.

Αντίθετα, η παραγωγή υδάτινης βιομάζας φαίνεται ότι έχει μεγαλύτερες δυνατότητες και ως εκ τούτου η έρευνα έχει στραφεί στην ανάπτυξη διαφόρων τεχνολογιών για την πλήρη εκμετάλλευσή της. Μία εξ' αυτών είναι η παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη. Πρόκειται για μια μορφή βιομάζας η οποία, αν και παρουσιάζει δυσκολίες στην παραγωγή και την επεξεργασία, εν τούτοις έχει προσελκύσει τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον της έρευνας και της βιομηχανίας για τις δυνατότητες αξιοποίησής της στην παραγωγή μιας σειράς προϊόντων. Τα μικροφύκη θεωρούνται ως μια πολλά υποσχόμενη αειφόρος πηγή βιομάζας για την παραγωγή ενέργειας, τροφής, και άλλων προϊόντων περιέχουν πολλές χρήσιμες ουσίες, όπως πρωτεΐνες, βιταμίνες, χρωστικές, αντιοξειδωτικά και κυρίως σάκχαρα και λιπίδια, τις πρώτες ύλες για την παραγωγή βιοκαυσίμων. Παράλληλα, συνδυάζουν και άλλες ιδιότητες που τα καθιστούν μια πρώτης τάξεως επιλογή αξιοποιήσιμης πηγής. Αναπτύσσονται ταχύτατα και συνεπώς δίνουν την δυνατότητα μεγάλης παραγωγής, δεν καταλαμβάνουν χώρο από καλλιεργήσιμα εδάφη, απορροφούν το διοξείδιο του άνθρακα και συμβάλλουν στον καθαρισμό των υδάτινων αποβλήτων. [7–9]

1.3.1. Αξιοποίηση της βιομάζας μικροφυκών

Η έρευνα που διεξάγεται τα τελευταία χρόνια, αν και με αρκετά προβλήματα, [7–9] έχει αναδείξει πολλές χρήσεις της βιομάζας από άλγες σε προϊόντα τροφής και συμπληρωμάτων διατροφής, κοσμετολογίας κα φαρμακευτικής, ενώ χρησιμοποιείται και στην βιομηχανία για την παραγωγή χρωστικών, λιπασμάτων και άλλων. Η αξιοποίησή της ως βιοκαύσιμο ωστόσο αποτελεί μία από τις πλέον υποσχόμενες χρήσεις της.

Η βιομάζα από άλγες θεωρείται ως μια καθαρή ανανεώσιμη πηγή ενέργειας που δεν μολύνει τα οικοσυστήματα, ενώ τα παραγόμενα βιοκαύσιμα, βιο-αιθανόλη, βιο-μεθανόλη, βιο-βουτανόλη, βιοντίζελ, βιομεθάνιο, βιο-υδρογόνο και τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζουν έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον της έρευνας και της βιομηχανίας. Ωστόσο παρά τις μέχρι τώρα εξελίξεις στον τομέα αυτόν, η μάλλον περιορισμένη μικρή παραγωγή βιομάζας, λόγω της έλλειψης εντατικοποιημένων μεθόδων συγκομιδής, καθώς και το κόστος της μετατροπής σε βιοκαύσιμο εξακολουθούν να δημιουργούν προβλήματα για την ευρύτερη χρήση της για την παραγωγή ενέργειας. Οι μεγάλες ευκολίες όμως καλλιέργειας και οι μικρές απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά - αυτοφυή ή μη, μπορούν να

καλλιεργηθούν παντού, ιδιαίτερα σε νερά, αρκεί να υπάρχει ήλιος και διοξείδιο του άνθρακα - είναι βασικοί παράγοντες για την συνέχιση των ερευνών.

Η παγκόσμια ετήσια παραγωγή σε βιομάζα μικροφυκών υπολογίζεται στους 9.000 τόνους με μέση εμπορική αξία περίπου 240€ ανά κιλό.

Στο πλαίσιο της ευρύτερης πολιτικής για το περιβάλλον και την βιώσιμη χρήση των φυσικών πόρων τόσο της Ευρωπαϊκής Ένωσης όσο και των Ηνωμένων Εθνών (United Nations Environment Programme (UNEP)) η διεθνής έρευνα και η βιομηχανία επενδύουν τα τελευταία χρόνια στην μελέτη της εκμετάλλευσης των μικροφυκών σε διάφορους τομείς, η δε αμερικανική Algal Biomass Organization προβλέπει την ανάπτυξη συνολικά 220.000 θέσεων εργασίας στον τομέα αυτόν από το στάδιο της έρευνας και της υλοποίησης μέχρι την διάθεσή των προϊόντων στην αγορά.

Η καλλιέργεια διαφοροποιείται σχετικά με το σκοπό που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί και για αυτό μπορεί να αποτελέσει ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία. Δεν απαιτείται λίπασμα για την ανάπτυξη των μικροφυκών και ο ρυθμός ανάπτυξης και ωρίμανσης είναι αρκετά μεγάλος.

Πολύ σημαντικό είναι και το γεγονός ότι δεν καταλαμβάνουν εκτάσεις που χρησιμοποιούνται για την καλλιέργεια άλλων αγαθών που προορίζονται για διατροφή. Καλλιεργούνται παντού, ιδιαίτερα σε νερά, γλυκά ή αλμυρά αρκεί να υπάρχει ήλιος και διοξείδιο του άνθρακα. [10-13]

1.3.2. Η δυναμική της παραγωγής και χρήσης βιομάζας μικροφυκών στο μέλλον

Είναι προφανές ότι τα πολλαπλά οφέλη που παρέχει η βιομάζα μικροφυκών και το ενδιαφέρον της βιομηχανίας και της συνεπακόλουθης έρευνας δείχνουν ότι οι προοπτικές για την ανάπτυξη των καλλιεργειών και της εκμετάλλευσης των μικροφυκών είναι ενθαρρυντικές και θα οδηγήσουν και στην λύση πολλών προβλημάτων που αντιμετωπίζονται τώρα.

Οι δυνατότητες που έχει για την παραγωγή καθαρής ενέργειας άλλωστε την καθιστούν ιδιαίτερα ελκυστική στο πλαίσιο της βιώσιμης ανάπτυξης και φαίνεται ότι θα αποτελέσει μία από τις κύριες πηγές ενέργειας στο μέλλον. Προς αυτήν την κατεύθυνση, οι έρευνες στις ΗΠΑ έχουν επικεντρωθεί στην ταυτοποίηση των ποικιλιών εκείνων που μπορούν να έχουν γρήγορη ανάπτυξη και να παρέχουν μεγάλη ποσότητα καυσίμου. Γενετικά τροποποιημένες άλγες με αυτά τα χαρακτηριστικά έχουν ήδη παραχθεί σε εργαστήρια. Το πρόβλημα της διαδικασίας της μεταποίησης από πρώτη ύλη σε τελικό προϊόν φαίνεται ότι έχει επίσης αντιμετωπιστεί καθώς νέες μέθοδοι έχουν μειώσει σε πολύ μικρό χρόνο την μετατροπή της βιομάζας σε καύσιμο και άλλα υποπροϊόντα. Ενώ παράλληλα προωθείται η ανάπτυξη τεχνολογίας για την παραγωγή μεγαλύτερων ποσοτήτων καυσίμου.

Τα μικροφύκη μετατρέπουν το φως του ήλιου σε ενέργεια, αποθηκεύοντάς το με τη μορφή φυσικών ελαίων που μπορούν να εξαχθούν σε καύσιμα για αεροπλάνα, αυτοκίνητα και τρένα. Υπολογίζεται ότι υπό τις σωστές συνθήκες, τα φύκια θα μπορούσαν να παράγουν έως και 60 φορές περισσότερο έλαιο ανά στρέμμα από τα χερσαία φυτά. Δεδομένου ότι τα φύκια χρειάζονται διοξείδιο του άνθρακα για να

αναπτυχθούν, αφαιρούν αέρια θερμοκηπίου από την ατμόσφαιρα, καθιστώντας τα σχεδόν ουδέτερα ως προς τον άνθρακα. Επιπλέον, τα μικροφύκη μπορούν να αναπτυχθούν σε διάφορα περιβάλλοντα - συμπεριλαμβανομένων τεχνητών λιμνών, υφάλμυρου νερού και λυμάτων.[14]

Ένα από τα μεγαλύτερα εμπόδια στο να καταστούν τα βιοκαύσιμα φυκών πιο προσιτά είναι η καλλιέργεια του σωστού είδους άλγης που μπορεί να αποφέρει μεγάλες ποσότητες ελαίων και να αναπτυχθεί αρκετά γρήγορα για να μειώσει το κόστος παραγωγής. Πρόσφατα, ερευνητές στο Scripps Institution of Oceanography έχουν γενετικά τροποποιήσει μικροφύκη για να ενισχύσουν την ποσότητα των μορίων αποθήκευσης ενέργειας που είναι απαραίτητα για την παραγωγή ελαίων, σηματοδοτώντας μια σημαντική ανακάλυψη στην παραγωγή βιοκαυσίμων φυκών.[15]

Η παραγωγή οποιουδήποτε τύπου καυσίμου απαιτεί πολλαπλές διαδικασίες και συστήματα που μετατρέπουν την πρώτη ύλη σε τελικό προϊόν. Για την παραγωγή βιοκαυσίμων φυκών, αυτό περιλαμβάνει διαδικασίες όπως η συγκομιδή, η αφυδάτωση και η συμπύκνωση υλικών φυκών, έτσι ώστε να μπορεί να υποστεί προεπεξεργασία και τελικά να ραφιναριστεί σε καύσιμο. Αυτό μπορεί να είναι ακριβό και χρονοβόρο - αλλά το Υπουργείο Ενέργειας βρίσκει νέους τρόπους για τον εξορθολογισμό της εφοδιαστικής και τη μείωση του κόστους παραγωγής βιοκαυσίμων φυκών.

Τα βιοκαύσιμα φυκών παράγονται σε μεγαλύτερη κλίμακα από ποτέ με τη βοήθεια ολοκληρωμένων βιοκαλλιεργητών. Μεταξύ αυτών είναι η Sapphire Energy στο Νέο Μεξικό, η οποία παράγει έλαια φυκών που μπορούν εύκολα να μεταποιηθούν σε ντίζελ και άλλα καύσιμα μέσω των συνεργατών διύλισης, των Phillips 66 και Tesoro. Όταν κατασκευαστεί πλήρως, το εργοστάσιο θα παράγει έως 1 εκατομμύριο γαλόνια βιοκαυσίμων με βάση τα μικροφύκη κάθε χρόνο.

Η ανάπτυξη των παραπάνω τεχνολογιών θα βοηθήσει και στην βελτίωση και αύξηση της παραγωγής και για τις άλλες χρήσεις. Από την διατροφή και τα πρόσθετα διατροφής και την κοσμετολογία και φαρμακευτική μέχρι τα εδαφοβελτιωτικά και τα λιπάσματα. Παράλληλα, θα αυξηθεί η σημασία τους για την προστασία του περιβάλλοντος, καθώς θα τα μικροφύκη τρέφονται με τοξικά απόβλητα και καταναλώνουν διοξείδιο του άνθρακα αποδίδοντας οξυγόνο στην ατμόσφαιρα.

Όπως φαίνεται, η τάση ως προς την βιομάζα από μικροφύκη είναι εξελικτική και κατά συνέπεια πολλά οικονομικά και τεχνικά προβλήματα που εμποδίζουν την πιο διαδεδομένη χρήση της θα αποδεκτή. [14-17]

1.4. Στόχος

Το έργο Valuemag (grant agreement No 745695) στο πλαίσιο Horizon 2020 εντάσσεται στην ευρύτερη έρευνα που γίνεται διεθνώς για την καλύτερη διαχείριση και βελτιστοποίηση των συνθηκών καλλιέργειας μικροφυκών, ώστε να μειωθεί το κόστος και ο χρόνος παραγωγής βιομάζας.

Στο πλαίσιο του έργου και της διατριβής, μελετήθηκε μια καινοτόμος μέθοδος καλλιέργειας βιομάζας με τη χρήση μαγνητικών νανοσωματιδίων. Εισάγοντας μαγνητικά νανοσωματίδια στο κυτταρόπλασμα

των μικροφυκών, δίνεται η δυνατότητα διαχείρισης των με αποτέλεσμα να μπορούν να ελεγχθούν με ακρίβεια και να βελτιστοποιηθούν οι απαραίτητες συνθήκες καλλιέργειας ρίχνοντας έτσι το κόστος και το χρόνο παραγωγής βιομάζας. Παράλληλα, ανοίγονται προοπτικές για την οδήγηση μικροφυκών υπό την επιβολή μαγνητικών πεδίων για την παράδοση φαρμάκου μέσα στο ανθρώπινο σώμα.

2. <u>Θεωρητικό πλαίσιο</u>

2.1. Βιολογία των φυκών

2.1.1. Φύκη - άλγες

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιούνται παράλληλα οι όροι φύκη και άλγες. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν διαφορετικές απόψεις ως προς το αν πρόκειται για βιολογικά ίδια ή διαφορετικά είδη, ωστόσο ο όρος algae έχει καθιερωθεί στην διεθνή βιβλιογραφία όσον αφορά στην παραγωγή και εκμετάλλευση βιομάζας. Αντίστοιχη διχογνωμία ανάμεσα σε βοτανολόγους και υδροβιολόγους φαίνεται να υπάρχει και ως προς το αν θεωρούνται φυτά ή όχι. Σύμφωνα με τους υδροβιολόγους, αν και τα φύκη χρησιμοποιούν την φωτοσύνθεση δεν είναι φυτά - δεν έχουν ρίζες, φύλλα και αγγειώδη βλαστό – και διαφέρουν σημαντικά από τα άλλα σπερματόφυτα της θάλασσας, όπως η Ποσειδωνία, η Κυμοδόχη και η Ζωστέρα, ή της ξηράς.

Τα φύκη (λατινικά alga, πλ. algae) είναι ευκαρυωτικοί υδρόβιοι κυρίως οργανισμοί, απαντώνται όμως και στο έδαφος, χιόνι, βράχους και δένδρα και μπορούν να αναπτυχθούν παντού όπου υπάρχει υγρασία. [13,18] Έχουν καταγραφεί περί τα 40.000 είδη, παρουσιάστηκαν δε πριν 500 εκατομμύρια χρόνια.

Ορίζονται ως «θαλλόφυτα (φυτά χωρίς ρίζες, βλαστούς και φύλλα) που έχουν ως κύρια φωτοσυνθετική χρωστική τη χλωροφύλλη α» αλλά και χλωροφύλλες c, d & e (που δεν υπάρχουν σε άλλα φυτά) «και τα αναπαραγωγικά τους κύτταρα δεν περιβάλλονται από άγονα επικαλυπτικά κύτταρα». Είναι κυρίως φωτοαυτότροφα, που μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε χημική μέσω φωτοσύνθεσης, αλλά υπάρχουν και ετερότροφα. Η φωτοσύνθεση, απορρόφηση νερού και θρεπτικών ουσιών γίνονται στα κύτταρά τους που αποτελούν τον θαλλό (η όλη δομή, το σώμα του φύκους).

Συνήθως επιπλέουν στα ύδατα (φυτοπλαγκτό) ή είναι προσκολλημένοι σε επιφάνειες, στον βυθό ή σε βράχους (περίφυτο) και αποτελούν την βάση της τροφικής αλυσίδας.

Χωρίς πολύπλοκη κυτταρική δομή μπορεί να είναι μονοκύτταρα ή πολυκύτταρα και διακρίνονται ανάλογα με το μέγεθός τους σε μακροφύκη (macroalgae ή seaweeds) που μπορούν να φτάσουν σε ορισμένα είδη ακόμα και στα 50-70 μέτρα και τα μικροφύκη (microalgae) μήκους από μερικά μικρόμετρα (0.2-50 μm τα μονοκύτταρα, μέχρι 100-200 μm οι νηματώδεις πολυκύτταροι σχηματισμοί) έως και 1-2.000 μm.

Η μορφολογία τους ποικίλλει. Πολλά μονοκύτταρα είδη, κοκκοειδή, έχουν τη μορφή μικρών σφαιρών Άλλα σχηματίζουν αποικίες δύο έως χιλιάδες κυττάρων σε χαλαρή ή πιο αυστηρή σύνθεση, γενετικά καθορισμένη, τα κοινόβια. Από τα πλέον συχνά είναι τα νηματώδη που αποτελούνται από μία, δύο ή περισσότερες γραμμικές σειρές ενωμένων κυττάρων. Στα μακροφύκη, οι θαλλοί μπορεί να έχουν διαφορετική μορφολογία, άλλοτε ως κοινοκυτικοί (ένα πολύ μεγάλο πολυπύρηνο κύτταρο), άλλοτε ως παρεγχυματώδεις (τρισδιάστατες σειρές κυττάρων) ή ως ψευδοπαρεγχυματώδεις (φαίνεται να συντίθενται από ιστό, αλλά κατά βάση είναι νηματοειδείς).

Τα φύκη αναπαράγονται αγενώς με μιτωτικές διαιρέσεις των βλαστητικών τους κυττάρων από τα οποία προκύπτουν δύο θυγατρικά κύτταρα, ή εγγενώς με σπόρια.

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των φυκών τα καθιστούν πρώτης τάξεως πρώτες ύλες για την παραγωγή διαφόρων προϊόντων, από θεραπευτικές πρωτεΐνες μέχρι βιοκαύσιμα, ενώ είναι ιδιαίτερα κατάλληλα για διατροφικές και ιατρικές εφαρμογές. [19,20]

2.1.2. Κυτταρική δομή φυκών

Το τυπικό φωτοτροφικό ευκαρυωτικό κύτταρο αποτελείται από πυρήνα, μιτοχόνδρια, και χλωροπλάστες. Το κύτταρο περιβάλλεται από κυτταρική ή κυτταροπλασματική μεμβράνη, μέσω της οποίας εισέρχονται σε αυτό τα θρεπτικά συστατικά και οι υπόλοιπες ουσίες που του χρειάζονται και εξέρχονται άλλες άχρηστες. Εξωτερικά της κυτταρικής μεμβράνης βρίσκεται ένα σχετικά απλό στη δομή του κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο προσδίδει αντοχή στο κύτταρο. Αποτελείται από ένα ινώδες μέρος από μικροϊνίδια κυτταρίνης κυρίως, αλλά και άλλες ουσίες σε ορισμένα είδη (ημικυτταρίνη, βλεννώδη, πηκτίνη καθώς και αλγινικό οξύ, φουκοϊδίνη, φουκίνη, ανθρακικό ασβέστιο, διοξείδιο του πυριτίου κ.α., σε διαφορετική σύσταση και συνδυασμούς) και ένα άμορφο συστατικό που σχηματίζει την μήτρα μέσα στην οποία εκτείνεται το ινώδες μέρος. [10,21–28]

- Ο Πυρήνας βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου και το σχήμα του μπορεί να είναι σφαιρικό ή ελλειπτικό. Περιβάλλεται από την πυρηνική μεμβράνη, η οποία αποτελείται από δύο στρώματα και ελέγχει την επικοινωνία του πυρήνα με το κυτταρόπλασμα. Το εξωτερικό κομμάτι της πυρηνική μεμβράνης είναι συνέχεια του ενδοπλασματικού δικτύου. Στο εσωτερικό κάθε πυρήνα υπάρχουν ένας ή περισσότεροι πυρηνίσκοι, αριθμός που ποικίλει ανάλογα με την ομάδα φυκών στην οποία ανήκει, ενώ ανάλογα ποικίλει και ο αριθμός των χρωμοσωμάτων που περιέχει.
- Τα μιτοχόνδρια είναι επιμήκη, σφαιρικά ή ωοειδή και περιβάλλονται από μια διπλή μεμβράνη και υπάρχουν σε όλες τις ομάδες φυκών εκτός από τα κυανοφύκη. Ο αριθμός τους ποικίλει καθώς στα περισσότερα είδη υπάρχουν παραπάνω από ένα, ενώ στα χλωροφύκη υπάρχει μόνο ένα.
- Στο εσωτερικό των κυττάρων βρίσκεται ο πρωτοπλάστης. Στα ευκαρυωτικά φύκη έχει ένα λιποπρωτεϊνικό τοίχωμα γύρω του, την κυτταρική μεμβράνη. Αποτελείται από το κυτταρόπλασμα και από έναν ή περισσότερους σφαιρικούς ή ελλειψοειδείς πυρήνες. Όλο το εσωτερικό του κυττάρου, από την εξωτερική πλευρά του πυρήνα μέχρι την εσωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης περιέχει ένα παχύρευστο υλικό, το κυτταρόπλασμα, που συγκρατεί τα διάφορα οργανίδια που υπάρχουν μέσα στο κύτταρο, τα προστατεύει και αναπληρώνει τον

κενό χώρο. Η κυτταρική μεμβράνη είναι λεπτή, ελαστική και επιλεκτικά διαπερατή ώστε να ελέγχει τη διέλευση υλικών στο εσωτερικό αλλά και αντίστροφα.

Στο εσωτερικό των ευκαρυωτικών κυττάρων, αναγνωρίζονται επίσης:

- Το ενδοπλασματικό δίκτυο. Πρόκειται για ένα μεγάλο δίκτυο μεμβρανών στα κύτταρα των φυκών που αποτελείται από σωληνάρια και δεξαμενές που συνδέονται μεταξύ τους.
- Το Δικτυόσωμα ή σύμπλεγμα Golgi: Λειτουργεί ως ενδιάμεσος μεταξύ της πλασματικής μεμβράνης και του ενδοπλασματικού δικτύου και υπάρχει σε όλα τα ήδη φυκών εκτός από τα κυανοφύκη. Είναι πολύ μικρό σε μέγεθος και παρατηρείται μόνο με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Βρίσκεται οπουδήποτε μέσα στο κύτταρο, τον πυρήνα, σε πλαστίδια ή αλλού. Αποτελείται από 2 έως 20 επίπεδα κυστιδίων σε στοίβες, τα δικυτοσώματα . Όλα τα δικτυοσώματα μαζί αποτελούν το σύμπλεγμα Golgi μέσω του οποίου γίνεται η μεταφορά διαφόρων ουσιών εκτός του κυττάρου και η διατήρηση της κυτταρικής μεμβράνης.
- Eye Spots ή Στίγματα: Πρόκειται για χρωστικές κηλίδες σε διάφορα μέρη των κινητήριων φυτικών ή αναπαραγωγικών δομών των φυκών που μετέχουν άμεσα ή έμμεσα στην αντίληψη του φωτός.
- Τα χυμοτόπια ή κενοτόπια υπάρχουν σχεδόν σε όλα τα κύτταρα των φυκών εκτός από τα κυανοφύκη, και ο αριθμός τους ποικίλει ανάλογα με το είδος. Περιορίζονται από διακριτές μεμβράνες, τους τονοπλάστες.
- Οι χλωροπλάστες τέλος είναι οργανίδια του κυττάρου χαρακτηριστικά σε φωτοσυνθετικούς οργανισμούς. Περιέχουν χλωροφύλλη η οποία περικλείεται σε μια διαπερατή εξωτερική μεμβράνη και σε μια λιγότερο διαπερατή εσωτερική μεμβράνη, με αναδιπλώσεις. Θυλακοειδή σε δύο στιβάδες (κοκκία), στα πράσινα φύκη, στην εσωτερική μεμβράνη, περιέχουν την χλωροφύλλη και τα απαραίτητα ένζυμα φωτοσύνθεσης, όπως το ένζυμο rubisco και παράγουν γλυκόζη που αποθηκεύουν ως άμυλο.. Ο αριθμός, το σχήμα, το μέγεθος (από 3 έως 6 μm) και η θέση των χλωροπλαστών ποικίλλουν ανά είδος. Χαρακτηρίζονται από βασικές δομές, κοινές στους περισσότερους φυτικούς οργανισμούς:
- Πυρηνοειδές σωμάτιο: Πρόκειται για πρωτεϊνούχα μέρη των χλωροπλαστών και βοηθούν στη σύνθεση και την αποθήκευση του αμύλου. Είναι δυνατόν να υπάρχει ένα ή και περισσότερα τέτοια σωμάτια σε κάθε χλωροπλάστη.
- Μια διπέταλη μεμβράνη με κενό χώρο ανάμεσα στα δύο πέταλα.
- Ένα κινητό στρώμα όπου βρίσκονται τα διαλυτά ένζυμα για το μεταβολισμό, τη σύνθεση των πρωτεϊνών και την αποθήκευση αμύλου.
- Τις ελασματοειδείς μεμβράνες που περιέχουν χρωστικές και βοηθούν στη δέσμευση ενέργειας και τη μεταγωγή της.

Στα κυανοφύκη, τα θυλακοειδή σχηματίζουν χλωροπλάστες ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα. Αντίθετα η χλωροφύλλη-α και διάφορες βοηθητικές χρωστικές περικλείονται στα θυλακοειδή. Η κίνηση των κυττάρων επιτυγχάνεται μέσω των μικρών νηματοειδών μαστιγίων. Υπάρχουν σε όλες τις ομάδες φυκών εκτός από τα κυανοφύκη και τα ροδοφύκη. Ανάλογα με την ομάδα διαφέρει το μήκος τους και η θέση στην οποία βρίσκονται, ενώ ποικίλει και ο αριθμός τους.

2.1.3. Είδη φυκών

Η κατηγοριοποίηση των φυκών είναι γενικά αρκετά δύσκολη λόγω της μεγάλης ποικιλίας. Οι περισσότερες ομάδες διαφέρουν μεταξύ τους μορφολογικά, στον τρόπο αναπαραγωγής τους ή ακόμα και στις χρωστικές που έχουν. Συνήθως οι μεγάλες ομάδες μπορούν να διακριθούν με βάση το μέγεθος σε μακροφύκη και μικροφύκη, αλλά και με διάφορα βιοχημικά κριτήρια.

МАКРОФҮКН	МІКРОФҮКН
Χλωροφύκη	Κυανοβακτήρια
(Chlorophyta)	(Cyanobacteria/Cyanophyta)
Ροδοφύκη (Rhodophyta)	Χλωροφύκη (Chlorophyta)
Φαιοφύκη (Phaeophyta)	Χρυσοφύκη (Chrysophyceae)
	Διάτομα (Bacillariophyceae)
	Ευστιγματοφύκη (Eustigmatophyceae)
	Ραφιδοφύκη (Raphidophyceae)
	Απτόφυτα (Haptophyta ή
	Prymnesiophyceae)
	Κρυπτοφύκη (Cryptophyceae)
	Δινοφύκη (Dinophyta)

Σχήμα 2.1.1: Κατηγορίες φυκών

Χλωροφύκη: Είναι μια μεγάλη ομάδα με περισσότερα από 400 γένη και 6.000 είδη, από τα οποία κάποιοι είναι μονοκύτταροι και άλλοι πολυκύτταροι οργανισμοί. Έχουν ευκαρυωτικά κύτταρα με σχηματοποιημένο πυρήνα και έναν ή περισσότερους χλωροπλάστες, ενώ και από μορφολογικής πλευράς παρουσιάζουν αρκετά μεγάλη ποικιλία. Διακρίνονται από πράσινο χρώμα και αναπαράγονται αγενώς και εγγενώς.

Ροδοφύκη: Αναπτύσσονται κυρίως στη θάλασσα, αν και έχουν παρατηρηθεί και σε γλυκά νερά. Έχουν χαρακτηριστικό ρόδινο χρώμα και οι θαλλοί τους θυμίζουν μικρούς θάμνους και είναι ορατά με γυμνό μάτι, αν και έχουν σχετικά μικρές διαστάσεις. Έχουν αρκετά πολύπλοκη δομή και περιλαμβάνουν περίπου 4.000 είδη. [13,18,29–31]

Φαιοφύκη: Τα φαιοφύκη είναι μια ομάδα που ζει και αναπτύσσεται σε θαλάσσια νερά, ενώ μόνο τρία γένη, από τα περίπου 250 που ανήκουν στην ομάδα, αναπτύσσονται σε γλυκά νερά. Το καστανό τους χρώμα εξηγείται από τη χρωστική ουσία φουκοξανθίνη, η οποία υπερτερεί σε σχέση με τη χλωροφύλλη-α. Είναι πολυκύτταρα με μεγάλη ποικιλία στη μορφή και τη δομή τους και περιλαμβάνουν περίπου 2.000 είδη.

Κυανοφύκη ή κυανοβατήρια: Πρόκειται για μικροσκοπικούς, προκαρυωτικούς, φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που δεν έχουν τα χαρακτηριστικά ενός πρότυπου ευκαρυωτικού κυττάρου. Έχουν κυανοπράσινο χρώμα λόγω μιας χρωστικής και αναπαράγονται αγενώς με κυτταρική διαίρεση. Αποτελούν βασική ομάδα του φυτοπλαγκτού και ο ρόλος τους είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς ορισμένα έχουν την ικανότητα να συγκρατούν ατμοσφαιρικό άζωτο. Περιλαμβάνουν περίπου 2.000 είδη και στην κατηγορία αυτή ανήκει η Spirulina που είναι από τα πλέον γνωστά φύκη.

Χρυσοφύκη: Τα Χρυσοφύκη (Chrysophyceae) ή χρυσόφυτα (Chrysophytes) απαντούν κυρίως σε γλυκά νερά. Πήραν το όνομά τους από το κύριο φωτοσυνθετικό καροτενοειδές τους, τη φυκοξανθίνη (fucoxanthin) που τους δίνει το χαρακτηριστικό καστανο-κίτρινο χρώμα. Όπως και τα διάτομα έτσι και τα χρυσοφύκη παράγουν πυρίτιο το οποίο συσσωρεύεται σε ειδικά κυτταρικά κυστίδια.

Διάτομα: Τα Διάτομα είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί πολύ μικρού μεγέθους. Αποτελούνται από ένα μόνο κύτταρο και έχουν χαρακτηριστικό πυριτικό κυτταρικό τοίχωμα. Χαρακτηρίζονται από κύτταρα με καστανή χροιά και τοιχώματα από διοξείδιο του πυριτίου. Περιλαμβάνουν περίπου 16.000 είδη.

Δινοφύκη, Δινομαστιγωτά, Πυρροφύκη: Πρόκειται για ευκαρυωτικούς οργανισμούς που αποτελούνται από μόνο ένα κύτταρο και κινούνται με τη βοήθεια μαστιγίων. Στα περισσότερα είδη τα μαστίγια βρίσκονται μέσα σε αυλάκια που σχηματίζονται στο κύτταρο. Αποτελούνται από 800 περίπου είδη με 100 από αυτά να ζουν αποκλειστικά σε γλυκά νερά. Τα Δινοφύκη έχουν καστανά κύτταρα με αυλάκια και κυτταρικό τοίχωμα από πλάκες.

Χαροφύκη: Σχηματίζουν νήματα που στερεώνονται στο υπόστρωμα. Αναπαράγονται εγγενώς και τα αναπαραγωγικά τους όργανα είναι αρκετά πολύπλοκα, είτε πρόκειται για αρσενικά, είτε για θηλυκά. Αναπτύσσονται συνήθως σε καθαρά νερά, λίμνες και ρυάκια.

2.1.4. Μικροφύκη

Τα μικροφύκη ή μικροάλγες είναι μονοκύτταροι μικροοργανισμοί όπου αναπτύσσονται μεμονωμένα, σε αλυσίδες ή ομάδες. Το μέγεθος τους κυμαίνεται, ανάλογα με το είδος τους, μεταξύ 1-200 μm και μπορεί να έχουν κοκκοειδείς, μαστιγωτές ή παλμελοειδείς μορφές και τριχώματα, αλλά και μεγάλους αποικιακούς σχηματισμούς με νήματα, μικροθαλλούς ή πιο περίπλοκες δομές. [14] Η σχετικά απλή δομή τους τους επιτρέπει γρήγορο ρυθμό πολλαπλασιασμού και ανάπτυξης. Ο χρόνος διπλασιασμού ενός κυττάρου είναι μόνο 1-4 ημέρες, ενώ χρειάζονται μόνο δύο με πέντε μέρες για να διπλασιάσουν τη βιομάζα τους. Επιπλέον, περιέχουν 30% λιπίδια σε κάθε κύτταρο τους.

Καθώς τα τελευταία χρόνια η αναζήτηση πρώτων υλών και νέων υλικών έφερε στο προσκήνιο τη λεγόμενη μπλε βιοτεχνολογία, εστιάζοντας στους υδρόβιος μικροοργανισμούς, οι δυνατότητες που έχουν τα μικροφύκη σαν πρώτη ύλη για την παραγωγή προϊόντων έχουν μπει στο μικροσκόπιο, καθώς αποδεικνύεται ότι είναι τεράστιες και σε μεγάλο βαθμό ανεκμετάλλευτες. Η μέχρι τώρα έρευνα έχει ήδη δείξει ότι τα μικροφύκη αποτελούν την καλύτερη ίσως λύση για την παραγωγή βιομάζας και έχει πλέον στραφεί στην αναζήτηση μεθόδων παραγωγής χαμηλού κόστους. [32–36]

2.1.5. Ιδιότητες των φυκών και η σημασία τους για τον άνθρωπο

Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των φυκών και των μικροφυκών και οι τεράστιες δυνατότητες που προσφέρουν ως πρώτη ύλη για την παραγωγή προϊόντων παραμένουν σε μεγάλο βαθμό ανεκμετάλλευτες, αν και οι προσπάθειες για την διευρυμένη χρήση τους εντείνονται διεθνώς, γιατί τα οφέλη από αυτήν είναι σημαντικά σε πολλούς τομείς.

• Διατροφική και ιαματική αξία

Η ευκολία πρόσβασης στα φύκη, καθώς και η υψηλή διατροφική αξία, τα έκαναν μέρος της ανθρώπινης διατροφής από την αρχαιότητα, οι παλαιότερες αναφορές ανάγονται στο 2700 π.Χ. στην Κίνα, ενώ πολλοί, παραλίμνιοι συνήθως, πληθυσμοί είχαν εντάξει τα φύκη στην καθημερινή τους διατροφή. Υπάρχουν σχετικές ενδείξεις για τους Αζτέκους, τους Ινδιάνους της νότιας Αμερικής, αλλά και πολλές κοινότητες στην Αφρική και την Ασία μέχρι σήμερα.

Οι ιαματικές τους ιδιότητες ήταν επίσης πολύ σημαντικές για τις αρχαίες ή πρωτόγονες κοινωνίες. Το ιώδιο που είναι απαραίτητο για την λειτουργία του θυρεοειδούς αδένα απαντά σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις (έως και 1.500 ppm) στη βιομάζα ορισμένων μακροφυκών, όπως και το άγαρ και τα αλγινικά άλατα που έχουν εφαρμογές και στην φαρμακολογία. Η ανακάλυψη λοιπόν μιας σειράς χρήσιμων ουσιών στην βιομάζα, διατροφικών, ιαματικών και άλλων, όπως προαναφέρθηκε, πυροδότησε την συστηματική καλλιέργεια των φυκών την τελευταία ιδιαιτέρως πεντηκονταετία.

Σήμερα είναι γνωστό ότι περιέχουν πολύτιμα συστατικά, όπως ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία, ενώ ορισμένα είδη, όπως το Ροδοφύκος Porphyra φέρεται να έχει κάποια στοιχεία που βοηθούν στην πρόληψη ασθενειών, καθώς άτομα που το ενέταξαν στη διατροφή τους εμφάνισαν σπανιότερα ορισμένα είδη ασθενειών σε σχέση με άλλους. Πολύ δημοφιλές είναι και το κυανοφύκος Spirulina που συγκαταλέγεται στις τροφές του μέλλοντος.

• Περιβάλλον

Η επίδραση των φυκών στη διαμόρφωση του κλίματος και της ποιότητας της ζωής είναι πολύ σημαντική, καθώς τα κυανοφύκη αποτέλεσαν τους πρώτους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που δημιουργήθηκαν πάνω στη Γη και συνέβαλαν ουσιαστικά στην δημιουργία μεγάλης ποσότητας οξυγόνου. Τα φύκη παράγουν το 50-70 % του O2 της βιόσφαιρας, ενώ παράλληλα απορροφούν το 50% του CO2, και παράγουν Όζον (O3). Λόγω αυτής της ικανότητας που έχουν να καταναλώνουν το διοξείδιο του άνθρακα και να παράγουν οξυγόνο μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό της ατμόσφαιρας κοντά σε βιομηχανικές περιοχές.

Ως βάση της της τροφικής αλυσίδας σε γλυκά και αλμυρά νερά αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες του υδάτινου βιοσυστήματος ενώ βοηθούν (ιδίως το πλαγκτόν) στον καθαρισμό του θαλασσινού νερού από τα βακτήρια που προέρχονται από λύματα (τα σκοτώνουν σε ποσοστό 99,9% μετά από 48ωρη παραμονή στο θαλασσινό νερό), ενώ απορροφούν ως θρεπτικές για τα ίδια ουσίες πολλά συστατικά των αποβλήτων. Λόγω του ότι χρησιμοποιούν τοξίνες και λοιπά απόβλητα σαν τροφή μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό υδάτων σε λίμνες και ποτάμια όπου καταλήγουν τα απόβλητα διαφόρων εργοστασίων και πόλεων. Κάποια φύκη χρησιμοποιούνται σαν βιοδείκτες, δείχνουν δηλαδή την ποιότητα του νερού.

• Άλλα προϊόντα και χρήσεις στην βιομηχανία και την μεταποίηση

Το εμπορικό ενδιαφέρον για τα φύκη αναπτύχθηκε όταν έγινε αντιληπτή η αξία όχι μόνον του ιωδίου, αλλά και των φυκοκολλοειδών και οι εφαρμογές τους στον δευτερογενή τομέα.

Σαν πρώτη ύλη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή διαφόρων κολλοειδών προϊόντων, τα οποία έχουν πολλές εφαρμογές στην ιατρική, τη φαρμακευτική και πολλούς άλλους κλάδους, ενώ μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί ανάλογα υλικά με παρόμοιες ιδιότητες. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν στην κοσμετολογία για σύσταση καλλυντικών, αφού είναι πλούσια σε ιχνοστοιχεία, προβιταμίνες, μεταλλικά άλατα κλπ. Ουσίες, όπως το καρραγηνό ή τα αλγινικά άλατα χρησιμοποιούνται για την σταθεροποίηση χρωμάτων, καλλυντικών και τροφίμων, ενώ προϊόντα επεξεργασίας μικροφυκών χρησιμοποιείται για την παραγωγή φαρμάκων, αντιβιοτικών, εμβολίων κλπ.

Τα φύκη αναπτύσσονται πολύ γρήγορα. Αυτό σχετίζεται με ορισμένες αυξητικές ορμόνες που περιέχουν, και με βάση αυτές, παράγονται λιπάσματα ή βελτιωτικά του εδάφους που βοηθούν στην ανάπτυξη των φυτών και την προστασία τους.

Η περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες τα καθιστά επίσης κατάλληλα για ζωοτροφές και τροφές για ιχθυοκαλλιέργειες.

Χρωστικές ουσίες μπορούν επίσης να παραχθούν από τα φύκη. Οι ουσίες αυτές παράγουν υλικά τα οποία λειτουργούν σαν πρόδρομες ουσίες της βιταμίνης Α, αλλά και σαν αντιοξειδωτικά συστατικά στη βιομηχανία χρωμάτων και αλλού.

• Βιοκαύσιμα

Το μεγαλύτερο όμως ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην παραγωγή βιοκαυσίμων και νέων μορφών ανανεώσιμων πηγών ενέργειας (ΑΠΕ), καθώς έχουν υψηλή θερμιδική αξία. [13,37]

2.2. Συστήματα Καλλιέργειας

Ο μηχανισμός του μεταβολισμού των φυκών, ο οποίος μπορεί να αλλάζει ανάλογα με τις πηγές ενέργειας και άνθρακα στο περιβάλλον τους, είναι εκείνος που ενδιαφέρει ιδιαίτερα την σύγχρονη έρευνα γιατί επηρεάζει την καλλιέργεια τους και συνεπώς και την παραγωγή βιομάζας.

Οι μεταβολικοί τύποι τους διακρίνονται σε: (α) φωτοαυτότροφο: η πιο συνηθισμένη μορφή, κατά την οποία τα φύκη αναπτύσσονται αξιοποιώντας το ηλιακό φως και το CO2. (β) ετερότροφο: στην περίπτωση αυτή προσλαμβάνουν ενέργεια από τα ζώα, και άνθρακα από διάφορες οργανικές ουσίες όπως γλυκόζη, οξικό οξύ, γλυκερίνη, κ.λπ. (γ) μιξότροφο: αποτελεί συνδυασμό των δύο προηγούμενων περιπτώσεων. Πολλά μικροφύκη μπορούν να αυξάνονται είτε ως φωτοαυτότροφοι είτε ως ετερότροφοι οργανισμοί. Ορισμένα είδη μάλιστα μπορούν να εναλλάσσουν τον μεταβολισμό τους μεταξύ αυτοτροφίας και ετεροτροφίας. (δ) φωτοετερότροφο: στον τύπο αυτό ορισμένα μικροφύκη χρησιμοποιούν ως πηγή ενέργειας τη φωτεινή ενέργεια και ως πηγή άνθρακα τις οργανικές ενώσεις. Ο ετερότροφος και μιξότροφος μεταβολισμός ευνοούν την καλλιέργεια καθώς έτσι αντιμετωπίζεται το πρόβλημα της αξιοποίησης του φωτός σε καλλιέργειες με μεγάλη πυκνότητα ή σε καλλιέργειες με φωτοπαρεμπόδιση (κατά τους καλοκαιρινούς μήνες), ενώ η προσθήκη οργανικού άνθρακα δίνει μεγαλύτερη συγκέντρωση βιομάζας σε σχέση με τις φωτοαυτότροφες. Επιπλέον, ο μιξότροφος μεταβολισμός δίνει μεγαλύτερους ρυθμούς ανάπτυξης και μεγαλύτερη τελική παραγωγή σε βιομάζα σε σχέση με τους άλλους τρεις τύπους. Καθώς σε αυτές τις περιπτώσεις ετερότροφων ή μιζότροφων καλλιεργειών δε είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν οργανικά απόβλητα του παραγωγικού τομέα, άρα να μειωθεί το κόστος των θρεπτικών υλικών, ενώ παράλληλα δεν επιβαρύνεται ο υδροφόρος ορίζοντας, είναι προφανές ότι οι καλλιέργειες υπό αυτές τις συνθήκες έχουν μεγάλη απήχηση (κεφάλαιο 2.3.2).

2.2.1. Γενικά για τα συστήματα

Ήδη από το 1950 εντοπίζεται να αναπτύσσονται τα πρώτα συστήματα καλλιέργειας μικροφυκών, με σκοπό τότε, την εκμετάλλευσή τους σαν πηγή πρωτεΐνης για τον όλο και αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό. Αργότερα, από το 1970 περίπου ξεκίνησε να διερευνάται το κατά πόσο μπορεί η βιομάζα μικροφυκών να χρησιμοποιηθεί και σαν πηγή ενέργειας.

Τα τελευταία χρόνια η παραγωγή βιομάζας από μικροφύκη έχει αναπτυχθεί αρκετά και μπορεί να αναπτυχθεί ακόμα περισσότερο φέρνοντας επανάσταση σε διάφορους τομείς, όπως η διατροφή, η φαρμακευτική και άλλοι. Παρόλα αυτά εξακολουθεί να έχει μεγαλύτερο κόστος οικονομικά σε σχέση με την αντίστοιχη των φυτών. Είναι πολύ σημαντικό λοιπόν να αναπτυχθεί ένα σύστημα καλλιέργειας που να είναι αρκετά αποδοτικό οικονομικά.

Ένα σύστημα καλλιέργειας, εκτός από οικονομικό θα πρέπει να παρέχει και ορισμένες άλλες συνθήκες για να είναι αποδοτικό. Πρέπει να υπάρχει επαρκής σύνδεση της καλλιέργειας με νερό, θρεπτικά συστατικά αλλά και ορισμένες κλιματολογικές και γεωφυσικές συνθήκες.

Κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας μικροφυκών είναι πολύ σημαντική η ταχύτητα με την οποία αυτά φωτοσυνθέτουν και κατ' επέκταση παράγεται βιομάζα. Γίνεται λοιπόν σαφές πως θα παραχθεί πολύ πιο γρήγορα, περισσότερη βιομάζα αν η φωτοσύνθεση γίνεται όλο το εικοσιτετράωρο, από ότι αν γίνεται μόνο κατά τις φωτεινές ώρες της ημέρας. Γι' αυτό θα πρέπει να τροφοδοτούνται τα μικροφύκη με ηλιακή ενέργεια καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας.

Άλλοι σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να ρυθμίζει ένα σύστημα καλλιέργειας είναι η θερμοκρασία και η ανταλλαγή αερίων. Η ιδανική θερμοκρασία για την ανάπτυξη των περισσότερων τύπων μικροφυκών κυμαίνεται μεταξύ 20 και 30 °C.

Τα συστήματα καλλιέργειας διαφέρουν αρκετά ανάμεσα σε μακροάλγη και μικροάλγη. Στα μικροφύκη, λόγω του ότι είναι πολύ μικρά, επιβάλλονται συστήματα καλλιέργειας που έχουν φτιαχτεί αποκλειστικά για αυτά. Διαφορές στα συστήματα εντοπίζονται και ανάμεσα στα είδη μικροφυκών καθώς χρειάζονται διαφορετικά χαρακτηριστικά.

Οι δυο βασικές κατηγορίες συστημάτων καλλιέργειας είναι τα ανοικτά και τα κλειστά συστήματα και το πρώτο πράγμα που πρέπει να προσεχθεί είναι ποιος από τους δύο τύπους θα επιλεγεί. Στη συνέχεια γίνεται σχεδιασμός του συστήματος καλλιέργειας με βάση το εκάστοτε είδος μικροάλγης. Τα συστήματα εγκαθίστανται είτε πάνω στο νερό, είτε σε χερσαίο έδαφος. [38]

Παράλληλα, ιδιαίτερα σημαντική είναι και η σωστή επιλογή του μικροφύκους που θα καλλιεργηθεί για να είναι όσο το δυνατόν αποδοτικότερη η καλλιέργεια με το μικρότερο δυνατό κόστος. Παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη είναι :

- η παραγωγικότητα βιομάζας,
- η περιεκτικότητα σε διάφορα θρεπτικά στοιχεία που περιέχει το μικροφύκος,
- η αντοχή σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες,
- η ικανότητα δέσμευσης διοξειδίου του άνθρακα,
- η ευκολία διαχωρισμού της παραγόμενης βιομάζας,
- η πιθανότητα επιπλέον χρήσεων.

Όλα τα παραπάνω μαζί με το σωστό εξοπλισμό και σχεδιασμό του συστήματος θα καθορίσουν το πόσο αποδοτική θα είναι η καλλιέργεια και πόσο κερδοφόρα τα αποτελέσματα. [11,39]

2.2.2. Ανοικτά συστήματα

Είναι τα πρώτα συστήματα που αναπτύχθηκαν για τη μαζική καλλιέργεια φυκών και ταυτόχρονα τα πιο απλά. Διαδόθηκαν από την αρχή περισσότερο από τα υπόλοιπα καθώς έχουν λιγότερες απαιτήσεις, είναι πολύ πιο εύκολο να φτιαχτούν και είναι πιο οικονομικά, ειδικά τα θαλάσσια. [40]

Στα συστήματα αυτά, τα μικροφύκη τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά ενώ η ανταλλαγή αερίων γίνεται με τον αέρα και το ηλιακό φως. Μπορούν να αναπτύσσονται σε φυσικά συστήματα όπως λίμνες, λιμνοθάλασσες και στη θάλασσα αλλά και σε τεχνητές δεξαμενές. Οι δεξαμενές αυτές βέβαια, δεν έχουν καλή σταθερότητα και εμφανίζουν χαμηλή συγκέντρωση βιομάζας (μεταξύ 0,1-1,5 g/L).

Τα ανοικτά συστήματα καλλιέργειας χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες :

- ελλειψοειδείς δεξαμενές, όπου μετακινούμενα μηχανικά συστήματα προκαλούν συνεχόμενη ανάδευση,
- κυκλικές δεξαμενές, όπου μια κινούμενη ακτίνα προκαλεί συνεχόμενη ανάδευση,
- επικλινείς δεξαμενές, όπου μέσω της άντλησης και στη συνέχεια της βαρύτητας επιτυγχάνεται η ανάδευση. [41]

Το σύστημα της ανάδευσης έχει βαρύνουσα σημασία στις καλλιέργειες ανοικτού τύπου καθώς είναι αναγκαίο για τη μη δημιουργία συσσωμάτωσης και καθίζησης των μικροφυκών. Παράλληλα, η καλή ανάδευση βοηθά στην καλύτερη αξιοποίηση του φωτός και στην ομογενοποίηση του υποστρώματος. [42]

Στις καλλιέργειες ανοικτού τύπου μπορεί να υφίσταται το πλεονέκτημα του χαμηλού κόστους και της εύκολης λειτουργίας, όμως τα φύκη βρίσκονται εκτεθειμένα στο περιβάλλον όπου ακραία καιρικά φαινόμενα μπορούν να δυσχεράνουν την παραγωγή ή ακόμα και να την καταστρέψουν. Παράλληλα, είναι πιθανό τα μικροφύκη να επιμολυνθούν από άλλα είδη μικροφυκών, βακτηρίων ή άλλων μικροοργανισμών.

Τέτοιες επιμολύνσεις μπορούν να διαφοροποιήσουν τη σύσταση των μικροφυκών, να υποβαθμίσουν την ποιότητα αλλά και να μειώσουν την παραγωγή καθώς εκτός από το προσδοκώμενο είδος μικροφύκους θα παραχθούν και άλλα. Σε ορισμένες περιπτώσεις με πολύ έντονη επιμόλυνση μπορεί ακόμα και να αποτύχει η καλλιέργεια, είτε λόγω εμφάνισης παρασιτικών ασθενειών, είτε γιατί μπορεί να επικρατήσει κάποιο άλλο είδος. Μεγάλος είναι και ο κίνδυνος οι επιμολύνσεις αυτές να αποβούν επικίνδυνες για την υγεία των καταναλωτών, όπως για παράδειγμα στην καλλιέργεια της σπιρουλίνας, από άλλα κυανοβακτήρια που παράγουν ορισμένες τοξίνες.

Ένα άλλο πρόβλημα που προκύπτει σε τεχνητές δεξαμενές στις καλλιέργειες τέτοιου είδους είναι η εξάτμιση του νερού καθώς πρέπει συνεχώς αυτό να αναπληρώνεται. Στις περιπτώσεις με σημαντική εξάτμιση χάνονται μεγάλες ποσότητες νερού και αυξάνεται η συγκέντρωση των αλάτων, η οποία όταν ξεπεράσει κάποιο όριο αρχίζει και δρα ανασταλτικά στην ανάπτυξη των μικροφυκών. [43,44]

Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων, που επηρεάζουν τις καλλιέργειες ανοικτού τύπου σχεδιάζονται ειδικά συστήματα, συγκεκριμένων συνθηκών, ξεχωριστά για κάθε είδος μικροφύκους. Αν για παράδειγμα καλλιεργηθεί ένα συγκεκριμένο μικροφύκος που απαιτεί πολύ μεγάλη περιεκτικότητα σε αλατότητα ή κάποια ακραία τιμή pH τότε αυτό συνήθως δεν κινδυνεύει από την

παρουσία άλλων μικροφυκών. Επιπροσθέτως, για να μη μειονεκτήσουν έναντι άλλων μικροοργανισμών, θα πρέπει να επιλεγούν μικροφύκη με υψηλό ρυθμό ανάπτυξης. [15,25,45,46]

Συνήθως τα συστήματα αυτά είναι είτε κυκλικές δεξαμενές είτε υδατοδιάδρομοι (raceway ponds) ή επιμήκεις λεκάνες. Οι δεξαμενές αυτές αποτελούν τα συστήματα που προτιμώνται περισσότερο σε τέτοιου τύπου καλλιέργειες. Πρόκειται για ένα κλειστό κύκλωμα καναλιών ανακύκλωσης με ωοειδές σχήμα στο οποίο παρέχεται με συνεχή τρόπο ανάμειξη και κυκλοφορία. Οι δεξαμενές αυτές αυτές κατασκευάζονται συνήθως από σκυρόδεμα, το οποίο επενδύεται από πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC). Οι διαστάσεις τους κυμαίνονται μεταξύ 10-100 μέτρα μήκος, 1-10 μέτρα πλάτος και 10-50 εκατοστά βάθος. Στις δεξαμενές αυτές η ανάδευση επιτυγχάνεται μέσω ενός τροχού με πτερύγια, ενώ στις κυκλικές δεξαμενές μέσω ενός κινούμενου βραχίονα. [47]



Σχήμα 2.2.1: Ανοιχτό σύστημα καλλιέργειας μικρφοφυκών τύπου raceway pond [47]



Σχήμα 2.2.2: Ανοιχτό σύστημα καλλιέργειας μικροφυκών στη Χαβάη [48]

Πολύ σημαντικό για την απόδοση του συστήματος καλλιέργειας είναι το βάθος των δεξαμενών καθώς δε θα πρέπει να είναι πολύ μεγάλο για να μπορεί το ηλιακό φως να φτάνει μέχρι τον πάτο, καθώς το φως εξασθενεί μέσα σε υγρά μέσα, αλλά ούτε και πολύ μικρό για να μην αλλάζει εύκολα η συγκέντρωση των ιόντων με την εξάτμιση του νερού. Επίσης, αρκετά σημαντικό είναι να αναπληρώνεται επαρκώς το διοξείδιο του άνθρακα που χάνεται στην ατμόσφαιρα. Ανάλογα βέβαια με το είδος του μικροφύκους και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν, το ιδανικό βάθος μπορεί να ποικίλει. [45]

Η εμπειρία και η γνώση που υπάρχει πλέον στη μαζική παραγωγή βιομάζας μικροφυκών είναι αρκετά μεγάλη, καθώς χώρες όπως το Ισραήλ, οι ΗΠΑ και η Κίνα χρησιμοποιούν τη συγκεκριμένη τεχνολογία. Αντίθετα χώρες όπως οι Ιαπωνία, Ταϊβάν και Ινδονησία έχουν αναπτύξει και χρησιμοποιούν κυκλικού τύπου δεξαμενές. Στις ΗΠΑ και πιο συγκεκριμένα στην Calipatria βρίσκεται η μεγαλύτερη εγκατάσταση παραγωγής βιομάζας μικροφυκών, όπου παράγονται κυανοβακτήρια για συμπληρώματα διατροφής. [35]

Σε γενικές γραμμές οι καλλιέργειες ανοικτού τύπου ευδοκιμούν σε χώρες με αρκετή ηλιοφάνεια όπως η Ελλάδα. Αντίθετα σε χώρες με χαμηλές θερμοκρασίες και μικρή ηλιοφάνεια οι περίοδοι καλλιέργειας είναι πολύ περιορισμένες.

Οι μεγάλες βιομηχανικές εγκαταστάσεις παραγωγής βιομάζας χρησιμοποιούν ανοικτά συστήματα καλλιέργειας κυρίως λόγω του χαμηλού επενδυτικού κεφαλαίου που χρειάζεται και του εξίσου χαμηλού πάγιου κόστους που αυτά έχουν, ενώ στα θετικά συγκαταλέγεται και το γεγονός ότι δε χρειάζεται καθημερινή παρακολούθηση της καλλιέργειας. Οι καλλιέργειες αυτού του τύπου όμως χρειάζονται μεγάλες εκτάσεις και ποσότητες νερού, ενώ δεν έχουν μεγάλη παραγωγικότητα. Στα αρνητικά και το γεγονός ότι δεν μπορούν να ρυθμιστούν παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η ηλιακή ακτινοβολία και το διοξείδιο του άνθρακα, ενώ χρειάζεται και αρκετή ενέργεια για τη συνεχή ανάμειξη.

2.2.3. Κλειστά συστήματα

Στα συστήματα αυτά, τα φύκη καλλιεργούνται σε κλειστά μέσα που μπορεί να είναι από απλές γυάλινες ή πλαστικές φιάλες και δεξαμενές, μέχρι πολύπλοκες κατασκευές που ονομάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες. Χωρίζονται σε συνεχείς ή στατικές καλλιέργειες και σε στεγασμένες ή υπαίθριες.



Σχήμα 2.2.3: Σωληνωτός βιονατιδραστήρας της Spiralps στη Γερμανία [11]

Οι συνθήκες ελέγχονται καλύτερα, αναλογικά και με το σύστημα που χρησιμοποιείται, αν είναι στεγασμένη ή υπαίθρια η καλλιέργεια, ενώ τα φύκη δεν έρχονται σε άμεση επαφή με τις εξωτερικές συνθήκες. Με τον τρόπο αυτό προστατεύονται από ενδεχόμενες μεταβολές των συνθηκών καλλιέργειας και από ακραία φυσικά φαινόμενα που θα μπορούσαν να καταστρέψουν την παραγωγή.

Οι στεγασμένες καλλιέργειες πραγματοποιούνται μέσα σε φωτοβιοαντιδραστήρες όπου οι συνθήκες είναι πλήρως ελεγχόμενες. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες χρησιμοποιούνται περισσότερο σήμερα για ερευνητικούς σκοπούς σε μικρή κλίμακα ή για την παραγωγή προϊόντων υψηλής αξίας καθώς αυξάνεται αισθητά το κόστος παραγωγής και συντήρησης.

Υπάρχουν βέβαια και οι κλειστού τύπου καλλιέργειες όπου δεν είναι όλες οι συνθήκες απόλυτα ελεγχόμενες. Πρόκειται για τις υπαίθριες καλλιέργειες, στις οποίες, παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η ένταση του φωτός δεν μπορούν να ελεγχθούν.

Παράλληλα, υπάρχουν και τα κλειστά συστήματα δεξαμενών από πλεξιγκλάς που μοιάζουν πολύ με τα θερμοκήπια. Στα συστήματα αυτά όπως και στους φωτοβιοαντιδραστήρες είναι πιο εύκολο να ελεγχθούν οι συνθήκες καλλιέργειας και ως εκ τούτου μπορούν να καλλιεργηθούν περισσότερα είδη μικροφυκών, ενώ και η περίοδος καλλιέργειας είναι μεγαλύτερη. [15,49–51]

2.2.3.1. Στατικές – συνεχείς καλλιέργειες

Οι στατικές καλλιέργειες χρησιμοποιούνται συνήθως για συντήρηση ή την περαιτέρω έρευνα στον τομέα της μαζικής παραγωγής βιομάζας μέσω της καλλιέργειας μικροφυκών. Τα κύρια κομμάτια που ερευνώνται αφορούν κυρίως το ρυθμό ανάπτυξης αλλά και τις διάφορες φάσεις που εμφανίζονται κατά τη διαδικασία.

Στις στατικές καλλιέργειες η ανάπτυξη έχει συνήθως ένα σταθερό ρυθμό και πραγματοποιείται χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση από την αρχή μέχρι το τέλος, ενώ λαμβάνουν χώρα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, κωνικές φιάλες, σάκους πολυαιθυλενίου και άλλα.

Πολύ σημαντική για τις καλλιέργειες τέτοιου τύπου είναι η διαδικασία της μεταφοράς ζωντανών κυττάρων μέσα στο μέσο ανάπτυξης, καθώς θα καθορίσει σε μεγάλο βαθμό την αποδοτικότητα της καλλιέργειας. Ο τρόπος και η ποσότητα της απόθεσης παίζουν μεγάλο ρόλο, ενώ χρειάζονται και οι κατάλληλες εγκαταστάσεις.

Ο τρόπος αύξησης των φυκών με το χρόνο συνδέεται μη γραμμικά με το χρόνο και εκφράζεται από τη σχέση :

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{N_1}{N_0}\right)}{t_1 - t_0} \tag{2.1.1}$$

Όπου:

Ν είναι μια παράμετρος, π.χ. αριθμός κυττάρων, συγκέντρωση χλωροφύλλης-α, οπτική πυκνότητα κ.λπ.,

 N_0 η παράμετρος στο χρόνο $t = t_0$

 N_{I} η παράμετρος στο χρόνο $t = t_{I}$

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

$$G = \frac{ln2}{\mu} \tag{2.1.2}$$

Σημειώνεται ότι από τη στιγμή της απόθεσης των ζωντανών κυττάρων στο μέσο ανάπτυξης μεσολαβεί ένα χρονικό διάστημα μέχρι αυτά να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Το διάστημα αυτό είναι ένα διάστημα προσαρμογής και καλείται φάση υστέρησης.

Στην πορεία και ανάλογα με τους παράγοντες που την επηρεάζουν, είτε λόγω μείωσης θρεπτικών συστατικών, είτε λόγω διάφορων τοξικών παραγόντων που ελευθερώνονται, η καλλιέργεια μπορεί να αναπτύσσεται με μικρότερο ρυθμό ή ακόμα και να σταματήσει πλήρως η ανάπτυξη της.

Εκτός από τις στατικές καλλιέργειες, στα κλειστού τύπου συστήματα υπάρχουν και οι παρατεταμένης διάρκειας, οι λεγόμενες συνεχείς καλλιέργειες. Στις καλλιέργειες αυτές αφαιρούνται κατά διαστήματα ποσότητες καλλιέργειας οι οποίες αντικαθίστανται από θρεπτικά συστατικά. Έτσι εξασφαλίζεται πολύ πιο γρήγορος ρυθμός ανάπτυξης.

Τέτοιες καλλιέργειες βοηθούν για τη μετάβαση από μια μικρότερη σε μεγαλύτερης κλίμακας καλλιέργεια, ενώ χρησιμοποιούνται αρκετά και σε πειραματικές εγκαταστάσεις για χρήση στη φαρμακοβιομηχανία. [10]

2.2.3.2. Φωτοβιοαντιδραστήρες

Οι περισσότερες καλλιέργειες κλειστού τύπου λαμβάνουν χώρα σε κλειστά συστήματα που ονομάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες. Οι φωτοβιοαντιδραστήρες σχεδιάστηκαν για την αποφυγή
αρκετών προβλημάτων που παρουσιάστηκαν στις ανοιχτού τύπου καλλιέργειες, όπως μολύνσεις και διάφορα άλλα. Υπάρχει πλήθος υλικών τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη δημιουργία ενός φωτοβιοαντιδραστήρα, ενώ και το σχήμα τους μπορεί να πάρει αρκετές μορφές. Τα συνηθέστερα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι το πλαστικό και το γυαλί.

Απλές κατασκευές αποτελούν οι σάκοι πολυαιθυλενίου, ενώ υπάρχουν ακόμα, επίπεδοι φωτοβιοαντιδραστήρες που μοιάζουν με ηλιακούς συλλέκτες, είτε κατακόρυφοι είτε κεκλιμένοι, ελικοειδούς μορφής ή κυλινδρικοί με επιμήκης αγωγούς. [15,17] [49–51]



Σχήμα 2.2.4: Σύστημα καλλιέργειας μικροφυκών κλειστού τύπου [52]

Η δημιουργία ενός φωτοβιοαντιδραστήρα δεν είναι εύκολη και απαιτείται ιδιαίτερα καλή γνώση φυσικής και βιολογίας για το σχεδιασμό του. Ένας φωτοβιοαντιδραστήρας αποτελείται από κάποια υποσυστήματα, τα κυριότερα των οποίων είναι :

- σύστημα φωτισμού,
- σύστημα εμπλουτισμού CO₂,
- σύστημα ανάδευσης,
- σύστημα απομάκρυνσης αερίων,
- σύστημα θέρμανσης/ψύξης,
- σύστημα παροχής θρεπτικών συστατικών. [51] [53,54]

Ορισμένα συστήματα στην προσπάθεια μείωσης του κόστους χρησιμοποιούν την ηλιακή ενέργεια αντί για σύστημα φωτισμού και θέρμανσης. Τα συστήματα αυτά όμως χαρακτηρίζονται από διακυμάνσεις, βάση των μεταβολών στα επίπεδα του φωτός και των εποχών.

Τα συστήματα φωτοβιοαντιδραστήρων που χρησιμοποιούνται περισσότερο είναι οι αυλωτοί ή σωληνοειδείς και οι επίπεδοι (flat panel PBRs) φωτοβιοαντιδραστήρες, με τα πρώτα να είναι τα πιο ευρέως διαδεδομένα για μεγάλες σχετικά καλλιέργειες.

Οι αυλωτοί φωτοβιοαντιδραστήρες δημιουργούνται από γυαλί ή πλαστικό και είναι κατασκευές που αποτελούνται από έναν μεγάλο αριθμό σωληνώσεων. Μέσω των σωληνώσεων αυτών δεσμεύεται η ηλιακή ενέργεια που χρειάζεται η καλλιέργεια. Σημειώνεται ότι η διάμετρος τους δεν πρέπει να είναι μεγάλη για να μπορεί το φως να τα διαπερνά ακόμα και σε καλλιέργειες μικροφυκών υψηλής πυκνότητας.

Στις κατασκευές αυτές, η βιομάζα κυκλοφορεί συνήθως με τη βοήθεια αντλιών. Στο κομμάτι αυτό αξίζει να τονιστεί, ότι αυτή η κατηγορία συστημάτων φωτοβιοαντιδραστήρων έχει και αρκετά λειτουργικά προβλήματα όπως οι ακαθαρσίες που μαζεύονται στα τοιχώματα των σωληνώσεων που μπορεί να έχουν ανασταλτική λειτουργία στην ανάπτυξη των μικροφυκών.

Η πιθανότητα καθίζησης όπως και η αυξημένη συγκέντρωση σε οξυγόνο ή διοξείδιο του άνθρακα στο εσωτερικό των σωληνώσεων είναι επίσης προβλήματα προς επίλυση για την καλύτερη λειτουργία τους. Αν για παράδειγμα τα επίπεδα του οξυγόνου είναι μεγαλύτερα του επιτρεπτού τότε παρεμποδίζεται η φωτοσύνθεση και κατ' επέκταση η ανάπτυξη της καλλιέργειας.

Για τους λόγους αυτούς το μήκος ενός συνεχόμενου σωλήνα δεν πρέπει να ξεπερνά τα 80 μέτρα, και η διάμετρός του τα 10 εκατοστά. Επισημαίνεται βέβαια πως οι διαστάσεις που πρέπει να έχει ένας σωλήνας καθορίζονται από μια σειρά παραγόντων, όπως η ένταση του φωτός, η συγκέντρωση της βιομάζας και η ταχύτητα ροής και εισόδου του οξυγόνου. [53]

Βέβαια, από τα πρώτα κλειστά συστήματα καλλιέργειας που φτιάχτηκαν είναι οι επίπεδοι φωτοβιοαντιδραστήρες, στο κομμάτι των οποίων έχει στραφεί αρκετά μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Στα συστήματα αυτά μια σχεδιαστική παράμετρος είναι η μεγάλη επιφάνεια, με σκοπό τη δέσμευση της ηλιακής ενέργειας στο μέγιστο βαθμό.

Είναι σταθερά συστήματα, εύκολα στο χειρισμό και έχουν σχετικά χαμηλό κόστος λειτουργίας, ενώ χαρακτηρίζονται από παραγωγή βιομάζας μικροφυκών με μεγάλη πυκνότητα.

Κατασκευάζονται από διαφανή υλικά, ούτως ώστε να μπορούν να απορροφούν την ηλιακή ενέργεια και για το λόγο αυτό εμφανίζουν υψηλότερη φωτοσυνθετική απόδοση σε σύγκριση με άλλου τύπου φωτοβιοαντιδραστήρες. Παράλληλα διατηρούν χαμηλά τη συγκέντρωση του οξυγόνου. Από την άλλη, δεν μπορεί να επιτευχθεί πλήρης έλεγχος της θερμοκρασίας, ενός παράγοντα πολύ σημαντικού για την ανάπτυξη των μικροφυκών. [54]

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες στήλης αποτελούν το τρίτο είδος φωτοβιοαντιδραστήρων και η απόδοσή τους είναι σε συγκρίσιμα μεγέθη σε σχέση με τα άλλα δύο είδη, ενώ γενικά παρουσιάζουν τα ίδια προβλήματα ως προς την κλιμάκωση μεγέθους. Κύρια χαρακτηριστικά τους είναι οι καλύτερα ελεγχόμενες συνθήκες, η αποδοτική ανάμειξη και η καλύτερη μεταφορά μάζας.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι όλα τα συστήματα φωτοβιοαντιδραστήρων οφείλουν να σταματούν τη λειτουργία τους ανά τακτά χρονικά διαστήματα για καθαρισμό και συντήρηση. Επιπροσθέτως, σε περίπτωση αποτυχίας μιας καλλιέργειας είναι απαραίτητο μετά να καθαριστεί ο φωτοβιοαντιδραστήρας, καθώς κατάλοιπα μολύνσεων μπορούν να αποβούν επιβλαβή σε νέες καλλιέργειες.

Είναι πολύ σημαντικό για έναν φωτοβιοαντιδραστήρα να μπορεί να καθαρίζεται εύκολα και σε όσο το δυνατόν πιο σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίς να απαιτείται διάλυση και επανασυναρμολόγησή του, καθώς όλο αυτό κοστίζει σε χρόνο, φθορά αλλά και παραγωγή. [55–57]

2.2.4. Σύγκριση μεταξύ συστημάτων παραγωγής βιομάζας μικροφυκών

Δυστυχώς μέχρι σήμερα δεν έχει ακόμα εμφανιστεί το τέλειο σύστημα για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. Τα συστήματα που χρησιμοποιούνται στις μέρες μας, ανάλογα με την κατηγορία στην οποία ανήκουν, εμφανίζουν σαφέστατα πλεονεκτήματα αλλά και αρκετά μειονεκτήματα.

Οι ανοικτές δεξαμενές εμφανίζουν πολύ χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας για τη μαζική παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. Καθαρίζονται και συντηρούνται σχετικά εύκολα. Παράλληλα, δεν επιβάλλεται καθημερινή παρακολούθηση της καλλιέργειας.

Βέβαια, είναι αδύνατο να ελεγχθούν οι συνθήκες καλλιέργειας, για αυτό και απαιτούν για τη λειτουργία τους ένα περιβάλλον που πρέπει να επιλεγεί πολύ προσεκτικά. Οι καλλιέργειες είναι απροστάτευτες από ενδεχόμενες μολύνσεις από άλλα μικροφύκη, μικροοργανισμούς ή παράσιτα.

Επιπροσθέτως, οι ανοικτές δεξαμενές μειονεκτούν στο ρυθμό παραγωγής βιομάζας, κάτι που μπορεί να οφείλεται σε αρκετούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, απώλειες από εξάτμιση, έλλειψη διοξειδίου του άνθρακα, κακή ανάδευση, περιορισμένο φως. [15]

Από την άλλη, οι φωτοβιοαντιδραστήρες έχουν πολύ υψηλό κόστος ως προς την κατασκευή και τη λειτουργία τους, ενώ δεν μπορούν να κατασκευαστούν σε μεγάλης κλίμακας εγκαταστάσεις.

Οι φωτοβιοαντιδραστήρες βέβαια έχουν αρκετά θετικά στοιχεία σε σχέση με τα υπόλοιπα συστήματα καλλιέργειας :

- σχετικά υψηλή απόδοση ανάπτυξης της καλλιέργειας,
- εγκαθίστανται σχετικά εύκολα,
- προσφέρουν μεγαλύτερο έλεγχο ως προς τις συνθήκες,
- δυνατότητα καλλιέργειας διαφορετικών τύπων μεταβολισμού,
- ορισμένοι τύποι φωτοβιοαντιδραστήρων δίνουν καλύτερο έλεγχο κίνησης των αερίων,
- περιορίζουν την εξάτμιση του νερού,
- προσφέρουν καλύτερη θερμική κατανομή,
- έχουν μεγαλύτερο λόγο επιφάνειας/όγκου,
- προστατεύουν από μολύνσεις από άλλα μικροφύκη, μικροοργανισμούς και παράσιτα.

Κάνοντας μια σύγκριση μιας επιμήκους λεκάνης και ενός κλειστού φωτοβιοαντιδραστήρα, λόγω της μεγαλύτερης παραγωγικότητας που παρουσιάζει το δεύτερο σύστημα, θα παράγει περισσότερη βιομάζα ανά επιφάνεια σε σχέση με την αντίστοιχη παραγωγή του ανοιχτού συστήματος, με ίδια ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα. [12,25,53,58]

2.3. Συνθήκες καλλιέργειας

2.3.1. Γενικά για τις συνθήκες

Οι συνθήκες που επικρατούν σε ένα σύστημα καλλιέργειας είναι πολύ σημαντικές για την πορεία και την επιτυχία της καλλιέργειας αλλά και το ρυθμό ανάπτυξης των μικροφυκών. Οι συνθήκες αυτές επηρεάζουν ένα σύνολο παραγόντων επιδρώντας θετικά ή αρνητικά στην πορεία ανάπτυξης της καλλιέργειας.



Σχήμα 2.3.1: Ζώνες φωτισμού σωληνωτού αντιδραστήρα [59]

Η επάρκεια του ηλιακού φωτός, μερικών θρεπτικών συστατικών και καλής θερμοκρασίας, αποτελούν τους σημαντικότερους παράγοντες σε ένα σύστημα καλλιέργειας. Παράλληλα, το pH, η αλατότητα, το σύστημα ανάδευσης, ο αερισμός, η παρουσία ή όχι άλλων μικροοργανισμών παίζουν κι αυτά πολύ σημαντικό ρόλο στην πορεία μιας καλλιέργειας.

Οι ιδανικές συνθήκες καλλιέργειας βέβαια δεν είναι ίδιες για όλα τα είδη μικροφυκών καθώς αλλάζουν ανάλογα με το είδος το οποίο θα καλλιεργηθεί και το μεταβολισμό που αυτό έχει, ενώ άλλα επηρεάζονται περισσότερο κι άλλα λιγότερο από τις συνθήκες που επικρατούν.

Η αλήθεια είναι βέβαια ότι όλα τα συστήματα καλλιέργειας δεν προσφέρουν τη δυνατότητα πλήρους ελέγχου των συνθηκών καλλιέργειας. Ειδικά στα ανοιχτά συστήματα, η πορεία ανάπτυξης ποικίλει συνεχώς και ανάλογα με την εποχή και τις συνθήκες που επικρατούν.

Σε πολλές περιπτώσεις και λόγω ακραίων συνθηκών μπορεί ακόμα και να προκληθεί κατάπτωση μιας καλλιέργειας.

2.3.2. Κατηγορίες καλλιεργειών

Υπάρχουν τέσσερις κύριοι τύποι συνθηκών καλλιέργειας μικροφυκών, οι οποίοι καθορίζονται από τους παραπάνω παράγοντες :

- Φωτοτροφική καλλιέργεια: Πρόκειται για την πιο ευρέως διαδεδομένη καλλιέργεια για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. Είναι η καλλιέργεια στην οποία τα μικροφύκη για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, χρησιμοποιούν το ηλιακό φως σαν πηγή ενέργειας και σαν πηγή άνθρακα το διοξείδιο του άνθρακα. Λόγω της ικανότητας που έχουν να μην επιτρέπουν εύκολα μολύνσεις από άλλους μικροοργανισμούς, οι φωτοτροφικές καλλιέργειες προτιμώνται από άλλες στα υπαίθρια συστήματα.
- Ετερότροφη καλλιέργεια: Είναι η καλλιέργεια στην οποία τα μικροφύκη χρησιμοποιούν σαν πηγή άνθρακα αλλά και ενέργειας τον οργανικό άνθρακα. Η καλλιέργεια αυτού του τύπου θα μπορούσε να δώσει τη λύση στο πρόβλημα του φωτισμού, ώστε να μη διακόπτεται η φωτοσύνθεση των μικροφυκών. Λόγω αυτού, φαίνεται να μπορεί να παραχθεί μεγαλύτερη ποσότητα βιομάζας σε ετεροτροφικές συνθήκες. Παρόλα αυτά δεν προτιμάται σαν καλλιέργεια λόγω του ότι συχνά αντιμετωπίζει προβλήματα μόλυνσης.
- Μιξότροφη καλλιέργεια: Οι καλλιέργειες αυτού του τύπου αποτελούν ένα συνδυασμό φωτοτροφικών και ετερότροφων καλλιεργειών, καθώς τα μικροφύκη χρησιμοποιούν σαν πηγή άνθρακα είτε οργανικό είτε ανόργανο. Στις καλλιέργειες αυτές, ακόμα και το διοξείδιο του άνθρακα που ελευθερώνεται κατά την αναπνοή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ξανά σαν πηγή άνθρακα. Μιξότροφες καλλιέργειες χρησιμοποιούνται σπάνια και για ερευνητικούς κυρίως σκοπούς.
- Φωτοετερότροφη καλλιέργεια: Στην κατηγορία αυτή τα μικροφύκη χρειάζονται φως για την αφομοίωση οργανικών ουσιών σαν πηγή άνθρακα. Σάκχαρα και φως χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα για την παραγωγή βιομάζας. Η φωτοετερότροφη καλλιέργεια χρησιμοποιείται επίσης σπάνια, όπως και η μιξότροφη.

Συγκρίνοντας τους τέσσερις αυτούς τύπους καλλιέργειας μεταξύ τους, είναι σαφές, ότι η ετερότροφη καλλιέργεια μπορεί να δώσει μεγαλύτερη παραγωγή. Αν και όπως γίνεται αντιληπτό, προσελκύει μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της δυνατότητας αυτής που δίνει για παραγωγή περισσότερης βιομάζας, οι ετερότροφες καλλιέργειες αντιμετωπίζουν αρκετά προβλήματα μολύνσεων, πράγμα που τις κάνει ακατάλληλες για ανοικτά συστήματα. Παράλληλα, η χρησιμοποίηση άνθρακα σαν πηγή φωτός ανεβάζει αισθητά το κόστος, κάτι που κάνει ασύμφορη την όλη διαδικασία.

Όλα αυτά έχουν οδηγήσει τη φωτοτροφική καλλιέργεια στο να είναι η πιο ευρέως διαδεδομένη τεχνική καλλιέργειας, καθώς βολεύει περισσότερο σε μεγάλα συστήματα.

Παράλληλα, το χαμηλό κόστος που απαιτεί η φωτοτροφική καλλιέργεια σε συνδυασμό με το ρίσκο της μόλυνσης που έχουν και οι τρεις άλλες κατηγορίες αλλά και οι απαιτήσεις σε φως που έχουν η μιξότροφη και η φωτοετερότροφη καλλιέργεια, την καθιστούν ως την πλέον κατάλληλη για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. [11,26,60,61]

Σύγκριση χαρακτηριστικών των συνθηκών καλλιέργειας							
Συνθήκες Καλλιέργειας	Πηγή Ενέργειας	Πηγή Άνθρακα	Πυκνότητα Κυττάρων	Κλιμάκωση Μεγέθους	Κόστος	Προβλήματα Κλιμάκωσης Μεγέθους	
Φωτοτροφική	Φως	CO ₂	Χαμηλή	Ανοικτή δεξαμενή	Χαμηλό	Χαμηλή πυκνότητα κυττάρων	
Ετερότροφη	Οργανική	Οργανικός Άνθρακας	Υψηλή	Συμβατικός Επωαστήρας	Μέτριο	Μολύνσεις, Υψηλό Κόστος	
Μιξότροφη	Φως / Οργανική	Οργανικός Άνθρακας / CO2	Μέτρια	Κλειστός Φωτοβιοαντιδ ραστήρας	Υψηλό	Μολύνσεις, Υψηλό Κόστος	
Φωτοετερότρο φη	Φως	Οργανικός Άνθρακας	Μέτρια	Κλειστός Φωτοβιοαντιδ ραστήρας	Υψηλό	Μολύνσεις, Υψηλό Κόστος	

Σχήμα 2.3.2: Σύγκριση χαρακτηριστικών των συνθηκών καλλιέργειας [11]

2.3.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των μικροφυκών

Η καλλιέργεια μικροφυκών δεν είναι εύκολη διαδικασία, ενώ μοιάζει αρκετά με αυτή των ανώτερων φυτών, όπου ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν, καθορίζεται και η πορεία τους.

Παρακάτω θα αναλυθούν εν συντομία οι κυριότεροι παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό παραγωγής βιομάζας μικροφυκών.

2.3.3.1. <u>Φως</u>

Αποτελεί κατά γενική ομολογία το σημαντικότερο παράγοντα στην ανάπτυξη των μικροφυκών όπως και στα ανώτερα φυτά, καθώς είναι ζωτικής σημασίας για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Βέβαια, όσο απαραίτητο κι αν είναι, ο ανεξέλεγκτος φωτισμός μπορεί να έχει και αρνητικές επιδράσεις στην πορεία ανάπτυξης της καλλιέργειας, αποτελώντας ανασταλτικό παράγοντα. Η διάρκεια, η ένταση αλλά και η ποιότητα της φωτεινής δέσμης που φτάνει στο σύστημα καλλιέργειας αποτελούν καθοριστικά χαρακτηριστικά.

Στις ανοικτού τύπου καλλιέργειες για παράδειγμα, όπου η πηγή φωτός είναι ο ήλιος, τα χαρακτηριστικά αυτά δεν μπορούν να ελεγχθούν. Ειδικότερα σε περιόδους με άσχημες καιρικές συνθήκες αλλά και κατά τη διάρκεια της νύχτας, στις καλλιέργειες αυτές δεν υπάρχει φωτισμός, οπότε και η ανάπτυξη των μικροφυκών επιβραδύνεται.

Τα διάφορα είδη μικροφυκών αξιοποιούν καλύτερα, διαφορετικά μήκη κύματος του φωτός. Το φάσμα που αξιοποιούν τα μικροφύκη για τη φωτοσύνθεσή τους κυμαίνεται από 400 έως 700 nm. [55,59]

Ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών μεταβάλλεται ανάλογα με τα την ένταση του φωτός που φτάνει σε αυτά. Βέβαια, μετά από ένα όριο η περαιτέρω αύξηση του φωτισμού δεν βοηθά στην αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης της καλλιέργειας, ενώ μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα κύτταρα λόγω φωτοοξείδωσης.

Ο ρυθμός ανάπτυξης διαφέρει ανάλογα με το είδος μικροφύκους αλλά συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 200 – 400 μE/m*s. Βέβαια, αυτό επηρεάζεται και από την πυκνότητα της καλλιέργειας. [53,56,63]

Υπάρχουν διάφορες πηγές φωτός, είτε φυσικές όπως ο ήλιος, είτε τεχνητές όπως διάφοροι λαμπτήρες. [59,62,64]

2.3.3.2. <u>Θερμοκρασία</u>

Ο δεύτερος πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το ρυθμό ανάπτυξης μετά το φως είναι η θερμοκρασία. Ως επί το πλείστον, τα μικροφύκη αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες από 20 έως 30 βαθμούς Κελσίου, αν και υπάρχουν είδη μικροφυκών, τα θερμόφιλα, που αναπτύσσονται ακόμα και σε θερμοκρασίες μέχρι και τους 40 °C ή άλλα που αντέχουν σε χαμηλές θερμοκρασίες έως 15 °C.



Σχήμα 2.3.4: Φωτοβιοαντιδραστήρες βυθισμένοι σε λίμνη νερού ψύζης [53]

Η εύρεση της ιδανικής θερμοκρασίας για κάθε είδος μικροφύκους, αλλά και η διατήρησή της, κατά την καλλιέργεια είναι πολύ σημαντική για την επίτευξη του ιδανικού ρυθμού παραγωγής βιομάζας.

Είναι σημαντικό γιατί σε ορισμένα μικροφύκη, μικρή αλλαγή της θερμοκρασίας, κατά 2 – 4 °C προς τα πάνω, μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη ή ακόμα και να προκαλέσει πλήρη κατάπτωση της καλλιέργειας.

Για το λόγο αυτό στα κλειστά συστήματα καλλιέργειας υπάρχει ένα σύστημα ψύξης, το οποίο εφαρμόζεται όταν υπάρχει ανάγκη. Στα ανοικτά συστήματα, η ψύξη αυτή επιτυγχάνεται μέσω της εξάτμισης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σε χαμηλές θερμοκρασίες συνήθως μειώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών καθώς επιβραδύνονται ορισμένες κυτταρικές διεργασίες. Δε θα υπάρξει κατάπτωση της καλλιέργειας όμως, μέχρι να παγώσει το νερό. [65–68]

2.3.3.3. <u>pH και αλατότητα</u>

Τα μικροφύκη, ανάλογα με το είδος, αναπτύσσονται καλύτερα είτε σε αλμυρά είτε σε γλυκά νερά, ενώ πολλά αντέχουν και σε σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις αλάτων χωρίς να είναι αυτές αναγκαίες για την ανάπτυξή τους. Υπάρχουν βέβαια και είδη μικροφυκών που δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε μεγάλες συγκεντρώσεις αλάτων.

Για κάθε είδος μικροφύκους υπάρχει συγκεκριμένη, ιδανική τιμή συγκέντρωσης αλάτων όπου αναπτύσσεται καλύτερα. Η αυξημένη αλατότητα βέβαια, επηρεάζει αρνητικά το ρυθμό ανάπτυξης της καλλιέργειας.

Το pH στο οποίο συνήθως αναπτύσσονται τα φύκη κυμαίνεται από 7 μέχρι 9, αν και υπάρχουν ορισμένα οξεόφιλα και άλλα αλκαλόφιλα είδη μικροφυκών που αναπτύσσονται σε πιο ακραίες τιμές pH.

Η τιμή του pH αυξάνεται με διάφορες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε μια καλλιέργεια. Βέβαια, απότομες αλλαγές στο pH μπορεί να προκαλέσουν ανεπανόρθωτες καταστροφές σε μια καλλιέργεια και για το λόγο αυτό συνήθως χρησιμοποιούνται ρυθμιστικά διαλύματα.

Τα είδη μικροφυκών που αντέχουν και αναπτύσσονται σε ακραίες τιμές αλατότητας ή pH είναι αυτά που προτιμώνται πολλές φορές καθώς οι καλλιέργειες τους είναι πολύ δύσκολο να επιμολυνθούν και να κυριαρχήσει κάποιος άλλος μικροοργανισμός ή βακτήριο. [30,44,45,69,70]

2.3.3.4. <u>Θρεπτικά συστατικά</u>

Τα μικροφύκη όπως και τα ανώτερα φυτά, χρειάζονται και ορισμένα θρεπτικά συστατικά προκειμένου να αναπτυχθούν και να πολλαπλασιαστούν. Τα κυριότερα στοιχεία που απαιτούνται είναι ο άνθρακας (C), το άζωτο (N), ο φώσφορος (P) και το κάλιο (K). Λιγότερο βέβαια, ίσως χρειάζονται και πυρίτιο (Si), θείο (S), σίδηρο (Fe), μαγνήσιο (Mg), ασβέστιο (Ca), αλλά και μερικά ακόμα μέταλλα. Τα υδατικά συστήματα περιέχουν τα περισσότερα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία, για την ανάπτυξη των μικροφυκών, αλλά όχι στην απαιτούμενη ποσότητα και αναλογία. Αν λοιπόν δεν προστεθούν με κάποιο τρόπο οι ποσότητες που χρειάζονται, τότε η ανάπτυξη τους περιορίζεται και δεν λαμβάνεται το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Ανάλογα βέβαια με το είδος του μικροφύκους που καλλιεργείται, απαιτούνται διαφορετικές ποσότητες και αναλογίες θρεπτικών συστατικών, ούτως ώστε να επιτευχθεί ο ιδανικός ρυθμός ανάπτυξης. [70]

Τα τρία βασικά στοιχεία λοιπόν που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροφυκών είναι ο άνθρακας, το άζωτο και ο φώσφορος :

- <u>Άνθρακας</u>: Όπως και στα ανώτερα φυτά, έτσι και στα μικροφύκη η βασική διεργασία που λαμβάνει χώρα κατά την ανάπτυξή τους είναι η φωτοσύνθεση. Κατά τη διαδικασία αυτή μετατρέπεται η ηλιακή ενέργεια και ο ανόργανος άνθρακας (CO₂) σε οργανικό άνθρακα (γλυκόζη). Υπάρχουν βέβαια και είδη μικροφυκών που χρησιμοποιούν οργανικό άνθρακα σαν πηγή άνθρακα, ή άλλα που είναι μη φωτοσυνθετικά είδη. Στην ατμόσφαιρα η συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα αγγίζει τα 360-400 ppmv (0,036-0,040 %), το οποίο αποδεδειγμένα δεν είναι αρκετό για υψηλούς ρυθμούς ανάπτυξης των μικροφυκών. Για το λόγο αυτό παρέχεται στις καλλιέργειες με ποικίλους τρόπους. Κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεση, παράγονται ιόντα OH- τα οποία τείνουν να ανεβάζουν την τιμή του pH της καλλιέργειας. Το CO₂ όμως τα δεσμεύει κρατώντας το pH στα θεμιτά επίπεδα, αποφεύγοντας έτσι δυσάρεστες συνέπειες για την καλλιέργεια. [39,71–77]
- <u>Άζωτο</u>: Πρόκειται για ένα στοιχείο που είναι πολύ σημαντικό για την ανάπτυξη των μικροφυκών που μπορεί να φτάσει ακόμα και στο 10% κ.β. της βιομάζας των μικροφυκών. Απορροφάται πιο εύκολα από τα φύκη αν είναι σε αμμωνιακή μορφή καθώς δε χρειάζεται να το μετατρέψουν, αλλά μπορεί να προληφθεί και σε άλλες μορφές όπως σε νιτρική ή νιτρώδη μορφή ή ακόμα και με δέσμευση μοριακού αζώτου από την ατμόσφαιρα για ορισμένα είδη μικροφυκών. Μάλιστα, μελέτες έχουν δείξει ότι η πρόσληψη αζώτου σε νιτρική μορφή έχει καλύτερα αποτελέσματα, ενώ μεγάλες συγκεντρώσεις αμμωνίας δρουν τοξικά με αποτέλεσμα να δρα ανασταλτικά στην ανάπτυξη της καλλιέργειας. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην προσπάθεια μείωσης του κόστους, παρουσιάζει η χρήση ουρίας (CH₄N₂O) στην οποία το άζωτο βρίσκεται σε οργανική μορφή και υδρολύεται προς αμμώνιο. Παρόλα αυτά, το παραγόμενο αμμώνιο, ειδικά σε αλκαλικά υποστρώματα, μπορεί να χαθεί. [39,78–83]
- <u>Φώσφορος</u>: Ο φώσφορος αποτελεί κι αυτό αρκετά σημαντικό θρεπτικό στοιχείο για την ανάπτυξη των φυκών, παρόλο που δεν ξεπερνά το 1% κ.β. στη βιομάζα τους. Αποτελεί βέβαια περιοριστικό παράγοντα στην ανάπτυξή τους, ειδικά στο φυσικό περιβάλλον. Απορροφάται από τα μικροφύκη με τη μορφή ορθοφωσφορικών ριζών, ενώ όταν προσλαμβάνεται σε οργανική μορφή, τότε μετατρέπεται σε ορθοφωσφορικό με τη βοήθεια φωσφατάσων που

εκκρίνονται. Τα μικροφύκη έχουν επίσης τη δυνατότητα αποθήκευσης μεγάλων ποσοτήτων φωσφόρου για την κάλυψη αναγκών για δύο ή ακόμα και τρεις γενιές. Αυτό συμβαίνει συνήθως όταν υπάρχει χαμηλή συγκέντρωση φωσφόρου στο περιβάλλον. [84–87]

2.3.4. Επίδραση του φωτός στα συστήματα καλλιέργειας

Το φως αποτελεί τον κατά γενική ομολογία σημαντικότερο παράγοντα στην πορεία ανάπτυξης μιας καλλιέργειας μικροφυκών. Όπως και στα ανώτερα φυτά, η πηγή και η ένταση του φωτός έχουν μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη των μικροφυκών, είτε πρόκειται για κλειστά, είτε για ανοικτά συστήματα καλλιέργειας. Ο ήλιος αποτελεί την κυριότερη πηγή φωτός για τα υπαίθρια συστήματα, ενώ για τα κλειστά συστήματα έχουν αναπτυχθεί ορισμένες καινοτόμες τεχνητές πηγές φωτός που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον. [88]

2.3.4.1. <u>Ο ήλιος σαν πηγή φωτός</u>

Το ηλιακό φως αποτελεί την κυρίαρχη πηγή φωτός καθώς παρέχεται ελεύθερα, σε μεγάλες ποσότητες και χωρίς κόστος, ενώ παράλληλα, παρέχει το πλήρες φάσμα της φωτεινής ενέργειας και με ένα φίλτρο υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) επιλέγεται το κατάλληλο μήκος κύματος.

Η ακτινοβολία του παρέχει ροή ενέργειας περίπου 5,7 * 1024 J ετησίως, που είναι περίπου ίση με 10.000 φορές μεγαλύτερη από τη συνολική ενέργεια που καταναλώνει ο άνθρωπος σε ένα χρόνο.

Είναι αλήθεια βέβαια, ότι δεν υπάρχει η ίδια αφθονία του ηλιακού φωτός σε όλα τα μέρη τη γης. Ορισμένα μέρη, έχουν μικρή περίοδο το χρόνο ηλιοφάνεια, ενώ άλλα μέρη, όπως η Ελλάδα, έχουν αρκετά μεγάλη περίοδο ηλιοφάνειας. Παράλληλα, το ηλιακό φως δεν έχει την ίδια ένταση καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας. Η μεγαλύτερη τιμή φτάνει τα 1100 W/m², πολύ μεγαλύτερη από αυτή που χρειάζονται τα μικροφύκη για την ανάπτυξή τους.

Γίνεται κατανοητό λοιπόν, ότι η 100% εκμετάλλευση του ηλιακού φωτός θα μπορούσε να δώσει πολλές λύσεις στην καλλιέργεια μικροφυκών, και κατ' επέκταση σε πολλούς άλλους τομείς. Παρόλα αυτά, οι μεγάλες αλλαγές στην ένταση του κατά τη διάρκεια της ημέρας αποτελούν δυσεπίλυτο πρόβλημα για την ώρα. [57,89,90]

2.3.4.2. Τεχνητές πηγές φωτός

Δύο είναι οι κύριες τεχνητές πηγές φωτός που είναι κατάλληλες για χρήση στην καλλιέργεια μικροφυκών. Οι λαμπτήρες LED και η διέγερση μέσω οπτικών ινών είναι δύο επιλογές που μπορούν να φανούν αρκετά χρήσιμες σαν πηγές φωτός.

Μια πηγή φωτός θα πρέπει να έχει υψηλή απόδοση και να είναι ανθεκτική και αξιόπιστη χωρίς να αυξάνει το κόστος, ούτως ώστε να είναι αποδοτική και να επιτυγχάνεται ικανοποιητικός ρυθμός ανάπτυξης στις καλλιέργειες.

Παράλληλα, επειδή το κάθε είδος μικροφύκους απαιτεί συγκεκριμένο μήκος κύματος, μια πηγή φωτός που εκπέμπει ένα συγκεκριμένο φάσμα στα πλαίσια του φάσματος που απορροφάται κατά τη φωτοσύνθεση θα βοηθήσει στην αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης.



Σχήμα 2.3.5: Φωτοβιοαντιδραστήρας με ενσωματωμένες λυχνίες LED για την παραγωγή βιομάζας μικροφυκών. [11]

- Λαμπτήρες LED: Τα LED είναι ουσιαστικά τα μόνα που πληρούν όλα τα παραπάνω κριτήρια καθώς έχουν μια στενή φασματική εκπομπή φωτός στα 20-30 nm. Το φάσμα αυτό ταιριάζει τις ανάγκες της φωτοσύνθεσης, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι διαφορετικό χρώμα καλύπτει καλύτερα τις ανάγκες συγκεκριμένων ειδών μικροφυκών. Παράλληλα, είναι αρκετά μικρά για να χωράνε σε όλα τα είδη φωτοβιοαντιδραστήρων, έχουν αρκετά μεγάλο κύκλο ζωής, μεγάλη αντοχή και παράγουν πολύ μικρές ποσότητες ενέργειας.
- Οπτικές Ίνες: Οι οπτικές ίνες μεταδίδουν την ακτινοβολία από άκρη σε άκρη. Δίνουν ομοιόμορφη κατανομή φωτός και παρέχουν τη δυνατότητα να μπουν μέσα στο σύστημα καλλιέργειας, ενώ δεν παράγουν θερμότητα. Παράλληλα οι οπτικές ίνες πλευρικού φωτισμού με την κατάλληλη διέγερση μπορούν δώσουν ακτινοβολία διαφορετικού μήκους κύματος για εσωτερική πηγή φωτός σε φωτοβιοαντιδραστήρες. [11,91]

2.3.4.3. Ανάπτυζη τεχνητών πηγών φωτός στην καλλιέργεια μικροφυκών

Η αποδοτικότητα των φωτοβιοαντιδραστήρων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την πηγή φωτός και την απόδοση που αυτή έχει. Υπάρχουν όμως αρκετά προβλήματα και περιορισμοί που πρέπει να ξεπεραστούν.

Αρχικά, η ένταση του φωτός πολύ γρήγορα αρχίζει να μειώνεται μέσα στο σωλήνα, είτε λόγω της πυκνότητας των μικροφυκών, είτε διάφορων στρωμάτων που σχηματίζονται σε διάφορα σημεία του φωτοβιοαντιδραστήρα.

Παράλληλα, πρόβλημα αποτελεί και το γεγονός ότι οι σωλήνες των φωτοβιοαντιδραστήρων έχουν σχετικά μικρή διάμετρο και ενώ αυτό θεωρητικά θα έπρεπε να ευνοεί έναν αυξημένο ρυθμό ανάπτυξης, τελικά δυσκολεύει την τοποθέτηση τεχνητών πηγών φωτός στην καλλιέργεια, καθώς εκλύεται θερμότητα.

Η παρακάτω εξίσωση συνδέει την ένταση του φωτός με την απόσταση των τοιχωμάτων και τις συγκεντρώσεις των κυττάρων του παραγόμενου προϊόντος :

$$\frac{I_L}{I_o} = e^{-\gamma L} \tag{2.3.1}$$

Όπου:

 I_L είναι η ένταση του φωτός σε μήκος L,

Ιο είναι η πραγματική ένταση,

γ η θολερότητα.

Έχουν αναπτυχθεί και σχεδιαστεί αρκετοί φωτοβιοαντιδραστήρες με διαφορετικούς τρόπους φωτισμού προκειμένου να ξεπεραστούν τα προβλήματα αυτά και έχοντας στόχο έναν καλύτερο ρυθμό παραγωγής βιομάζας μικροφυκών.

Παρόλα αυτά, παραμένουν σημαντικά εμπόδια, όπως το πολύ υψηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας, και η κλιμάκωση μεγέθους για μεγαλύτερη παραγωγή. [13,92]

2.3.4.4. Σύγκριση διαφορετικών πηγών φωτός

Ένα σύστημα καλλιέργειας λοιπόν μπορεί να φωτιστεί με ποικίλους τρόπους, είτε με το φως του ήλιου, είτε ακόμα και με τεχνητά μέσα. Είναι ακόμα δυνατό να υπάρχουν συστήματα με συνδυασμό του ηλιακού φωτός και τεχνητών μέσων.

Στα συστήματα αυτά η καλλιέργεια έχει σαν πηγή φωτός τον ήλιο, αλλά όταν η ένταση του πέσει κάτω από μία τιμή, ενεργοποιείται αυτόματα ένα τεχνητό σύστημα φωτισμού ούτως ώστε να μην μειωθεί καθόλου ο ρυθμός ανάπτυξης των μικροφυκών.

Τα συστήματα φωτισμού που βασίζονται στη LED τεχνολογία έχουν καταφέρει να μειώσουν την απαιτούμενη ηλεκτρική ενέργεια που χρειάζονται οι φωτοβιοαντιδραστήρες εργαστηριακής κλίμακας στο μισό.

Παράλληλα, τα συστήματα που βασίζονται στην τεχνολογία οπτικών ινών μπορούν να συνδυαστούν με ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, δίνοντας μια πλήρως ανανεώσιμη διαδικασία και μειώνοντας την κατανάλωση ηλεκτρικής ενέργειας.

Είναι δεδομένο ότι τα συστήματα με τεχνητό φωτισμό μπορούν να διατηρήσουν έναν ιδανικό ρυθμό καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας παραγωγής βιομάζας μικροφυκών αλλά είναι επίσης δεδομένο ότι αυτό απαιτεί πολύ υψηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας. Τα συστήματα που βασίζονται στον

ήλιο ως μοναδική πηγή φωτός παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις στο ρυθμό ανάπτυξης ανάλογα με την ένταση της ηλιακής ενέργειας.

Ένα σύστημα λοιπόν που θα απορροφά το ηλιακό φως όταν αυτό υπάρχει σε αφθονία και θα έχει και μια τεχνητή πηγή φωτός, με χαμηλές απαιτήσεις ηλεκτρικής ενέργειας, θα μπορούσε να είναι αρκετά αποδοτικό καθώς θα κρατούσε το κόστος λειτουργίας σχετικά χαμηλά, ενώ θα διατηρούσε ένα πολύ υψηλό ρυθμό ανάπτυξης για όλη τη διάρκεια της ημέρας. Ακόμα καλύτερο ενδεχομένως θα ήταν ένα σύστημα που θα αποθήκευε ηλιακή ενέργεια, την οποία θα χρησιμοποιούσε κατά τις βραδινές ώρες. Έτσι δε θα μειωνόταν ο ρυθμός παραγωγής βιομάζας. [11,12]

2.4. Θεωρία μαγνητισμού

2.4.1. Μαγνήτες και Ηλεκτρομαγνήτες

Ως μαγνήτης ορίζεται ένα αντικείμενο το οποίο μπορεί να δημιουργήσει μαγνητικό πεδίο στο χώρο γύρω του και κατά συνέπεια ασκεί ελκτικές ή απωστικές δυνάμεις σε άλλους μαγνήτες ή συγκεκριμένα μέταλλα.

Ένας μαγνήτης αποτελείται από δύο πόλους, το βόρειο και το νότιο πόλο, μεταξύ των οποίων δημιουργείται το μαγνητικό πεδίο. Ο προσδιορισμός του πεδίου στο χώρο γίνεται διανυσματικά με βάση την ένταση και την κατεύθυνσή του, ενώ η απεικόνισή του επιτυγχάνεται μέσω των μαγνητικών δυναμικών γραμμών. Σε κάθε σημείο μιας μαγνητικής γραμμής η ένταση του πεδίου είναι εφαπτόμενη σε αυτήν. Οι μαγνητικές γραμμές ξεκινούν από το βόρειο πόλο και καταλήγουν στο νότιο απεικονίζοντας έτσι τη φορά της έντασης του πεδίου. Η πυκνότητά τους είναι ανάλογη της έντασης του πεδίου.

Υπάρχουν φυσικοί και τεχνητοί μαγνήτες. Οι φυσικοί μαγνήτες προέρχονται από τον ορυκτό μαγνητίτη. Οι τεχνητοί μαγνήτες, οι οποίοι διακρίνονται σε μόνιμους και παροδικούς, είναι κράματα σιδήρου με άλλα μέταλλα και αποκτούν μαγνητικές ιδιότητες όταν τους επιβάλλεται εξωτερικό μαγνητικό πεδίο. Ένας ηλεκτρομαγνήτης, στην απλούστερη μορφή του, είναι ένα σύρμα με μία ή και παραπάνω σπείρες, γνωστό και ως σωληνοειδές (πηνίο). Όταν το σύρμα διαρρέεται από ηλεκτρικό ρεύμα δημιουργείται μαγνητικό πεδίο. Για την ενίσχυση αυτού του πεδίου τοποθετείται πυρήνας από σίδηρο στο εσωτερικό του πηνίου. Η φορά του μαγνητικού πεδίου που δημιουργείται σ' έναν ηλεκτρομαγνήτη ορίζεται από τον κανόνα του δεξιού χεριού, όπως απεικονίζεται στο σχήμα 2.4.1. [93]



Σχήμα 2.4.1: Απεικόνιση δυναμικών γραμμών μαγνητικού πεδίου που προκύπτει από τη διέλευση ρεύματος μέσα από κυκλικό βρόχο [93]

Σε αποστάσεις πολύ κοντινές στο βρόχο, το πεδίο είναι ίδιο με αυτό που θα σχηματιζόταν από έναν ευθύγραμμο αγωγό, λόγω των σχετικών αποστάσεων των σημείων του βρόχου. Το μαγνητικό πεδίο δημιουργείται από το διανυσματικό άθροισμα των επιμέρους κινούμενων φορτίων και δίνεται από τον τύπο των Biot-Savart:

$$d\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{Id\vec{l} \times \hat{r}}{r^2} \tag{2.4.1}$$

dl: αγωγός απειροστού μήκους

r: το διάνυσμα ενός στοιχείου του αγωγού σε κάποιο σημείο

Για να λυθεί αριθμητικά η εξίσωση 2.4.1 για οποιοδήποτε σχήμα αγωγού αρκεί να ληφθούν απειροστά μήκη αγωγού και κατόπιν να συναθροιστούν οι συνεισφορές του καθενός. Για τον προσδιορισμό, λοιπόν, του ολικού μαγνητικού πεδίου αρκεί να ολοκληρωθεί αυτή η εξίσωση σε όλα τα τμήματα $d\vec{l}$ που διαρρέονται από ρεύμα:

$$\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{I d\vec{l} \times \hat{r}}{r^2}$$
(2.4.2)

Όταν το σύρμα σχηματίζει σπείρες τοποθετημένες συνεκτικά δημιουργείται ένα πηνίο, το οποίο όταν διαρρέεται από ρεύμα παράγει μαγνητικό πεδίο. Η ένταση του πεδίου σε ένα κυλινδρικό πηνίο μεγάλου μήκους εξαρτάται από τον αριθμό N των σπειρών και δίνεται από τη σχέση:

$$B_{\chi} = \frac{\mu_0 N I}{2\alpha} \tag{2.4.3}$$

α: ακτίνα πηνίου

Η σχέση αυτή δίνει την τιμή της έντασης του πεδίου στο κέντρο του βρόχου του πηνίου. Σε οποιοδήποτε άλλο σημείο του χώρου έξω από το πηνίο η ένταση του πεδίου είναι μικρότερη.

Ένα σωληνοειδές συνιστάται από ένα σύρμα ελικοειδώς περιτυλιγμένο σ' έναν κύλινδρο. Σε κάθε σημείο του χώρου το μαγνητικό πεδίο προσδιορίζεται από το διανυσματικό άθροισμα των πεδίων που δημιουργούν οι επί μέρους σπείρες. Οι μισές δυναμικές γραμμές εξέρχονται από τα άκρα του σωληνοειδούς και οι υπόλοιπες διαφεύγουν μέσα από τις σπείρες μεταξύ του μέσου και των άκρων. Στο εσωτερικό του σωληνοειδούς οι δυναμικές γραμμές είναι παράλληλες μεταξύ τους, άρα το πεδίο στο κέντρο του είναι ομοιογενές, ενώ στο χώρο έξω από το σωληνοειδές η πυκνότητα των γραμμών είναι πιο αραιή και το πεδίο γίνεται πιο ασθενές.

Για να αυξηθεί το μαγνητικό πεδίο και να περιοριστεί γεωμετρικά, χρησιμοποιούνται πυρήνες σιδήρου στο εσωτερικό των πηνίων. Το ρεύμα που δημιουργείται από το πηνίο εξαναγκάζει τα μαγνητικά δίπολα του πυρήνα να προσανατολιστούν σε τέτοια κατεύθυνση, ώστε το πεδίο που δημιουργείται να ενισχύεται. Έτσι, το υλικό μαγνητίζεται. Η διαδικασία μαγνήτισης περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 2.4.4, (εξίσωση 2.4.23).

Στους ηλεκτρομαγνήτες σε πυρήνες μετασχηματιστών, σε κινητήρες και γεννήτριες, είναι απαραίτητη η δημιουργία ισχυρού μαγνητικού πεδίου για δεδομένη ένταση ρεύματος, συνεπώς προτιμάται η χρήση πυρήνα από σιδηρομαγνητικό υλικό. Λόγω του στενού βρόχου υστέρησης, τα μαλακά σιδηρομαγνητικά υλικά απαιτούν λιγότερη ενέργεια για τη μαγνήτισή τους. Για παράδειγμα, ο μαλακός σίδηρος είναι κατάλληλος γι' αυτές τις εφαρμογές, γιατί έχει μεγάλη διαπερατότητα και μικρή υστέρηση. Αντιθέτως, οι μόνιμοι μαγνήτες έχουν πλατύ βρόχο υστέρησης και απαιτείται ισχυρό ανάστροφο πεδίο για την απομαγνήτισή τους.

Το πεδίο που παράγεται από ένα πηνίο είναι ευθέως ανάλογο του αριθμού στροφών N του σύρματος και του ρεύματος που το διαρρέει. Η ωμική αντίσταση του πηνίου είναι ευθέως ανάλογη του αριθμού στροφών. Αυτή η αντίσταση αποτελεί εμπόδιο στη διέλευση του ρεύματος και έχει σαν συνέπεια την αύξηση της θερμοκρασίας του πηνίου εξαιτίας του φαινομένου Joule. Για την αποφυγή ανάπτυξης υψηλών θερμοκρασιών στο πηνίο, πρέπει να γίνει επιλογή κατάλληλης διατομής σύρματος ανάλογα και με το επιθυμητό πεδίο. Ο υπολογισμός της ωμικής αντίστασης, με δεδομένες τις διαστάσεις του πηνίου και του σύρματος, γίνεται μέσω της σχέσης [94]:

$$R = \rho \frac{L}{A} = \frac{8nlR\rho}{d^2} \tag{2.4.4}$$

R: αντίσταση (Ohm)

N: συνολικός αριθμός περιελίξεων = nl

L: συνολικό μήκος (m) = $N(2\pi R) = 2\pi n l R$

A: επιφάνεια διατομής = $\pi d^2/4$

s: διατομή σύρματος (m)

2.4.2. Εξισώσεις Maxwell

Οι νόμοι του ηλεκτρομαγνητισμού συνοψίζονται στις 4 εξισώσεις του Maxwell που περιγράφουν την ύπαρξη ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων τα οποία διαδίδονται με την ταχύτητα του φωτός.

2.4.2.1. Νόμος Gauss για το ηλεκτρικό πεδίο

Σύμφωνα με το νόμο αυτό η ροή μέσα από οποιαδήποτε επιφάνεια που περιβάλλει όλα τα φορτία είναι ανάλογη του συνολικού έγκλειστου σ΄ αυτή την επιφάνεια φορτίου *Q*_{εγκ}, δηλαδή ισχύει:

$$\Phi = \oiint \vec{E} * \vec{da} = \frac{Q_{\epsilon\gamma\kappa}}{\varepsilon_0}$$
(2.4.5)

Η εξίσωση 2.4.5 συνιστά την ολοκληρωτική μορφή του νόμου Gauss. Η διαφορική μορφή αυτού του νόμου είναι η εξής:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\varepsilon_0} \tag{2.4.6}$$

2.4.2.2. Νόμος Gauss για το μαγνητικό πεδίο

Σύμφωνα με το νόμο αυτό η μαγνητική ροή που περνά μέσα από μια κλειστή επιφάνεια είναι πάντα μηδέν. Αυτό συμβαίνει γιατί δεν υπάρχουν μαγνητικά μονόπολα στη φύση, δηλαδή οι μαγνητικές δυναμικές γραμμές είναι κλειστές. Η ολοκληρωτική μορφή του νόμου αυτού είναι:

$$\Phi = \oint \vec{B} \cdot \vec{da} = 0 \tag{2.4.7}$$

Η διαφορική μορφή του νόμου [95] δίνεται από τη σχέση:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \tag{2.4.8}$$

2.4.2.3. <u>Νόμος Faraday ή νόμος επαγωγής</u>

Σύμφωνα με το νόμο της επαγωγής ένα χρονικά μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο δημιουργεί ηλεκτρικό πεδίο. Η ηλεκτρεγερτική δύναμη αυτού του πεδίου κατά μήκος μιας κλειστής διαδρομής ισούται με τον αρνητικό ρυθμό μεταβολής της μαγνητικής ροής μέσα από μια επιφάνεια που ορίζει αυτή η διαδρομή. Η ολοκληρωτική μορφή του νόμου επαγωγής είναι:

$$\oint \vec{E} \cdot \vec{dl} = -\frac{d\Phi_B}{dt} \tag{2.4.9}$$

Η διαφορική μορφή του νόμου δίνεται από τη σχέση:

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \tag{2.4.10}$$

Η φυσική ερμηνεία του νόμου επαγωγής είναι ότι ένα χρονικά μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο δημιουργεί ένα χωρικά μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο.

2.4.2.4. <u>Νόμος Ampere-Maxwell</u>

Ο νόμος αυτός δείχνει ότι το ρεύμα αγωγιμότητας *i*_c μαζί με το ρεύμα μετατόπισης, που οφείλεται στη μεταβολή της ηλεκτρικής ροής, δρουν ως πηγές του μαγνητικού πεδίου:

$$\oint \vec{B} \cdot \vec{dl} = \mu_0 (i_c + \varepsilon_0 \frac{d\Phi_E}{dt})$$
(2.4.11)

Η διαφορική μορφή του νόμου δίνεται από τη σχέση:

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_0 (\vec{J} + \varepsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t})$$
 (2.4.12)

Ο νόμος Ampere-Maxwell συνδέει το μαγνητικό πεδίο με το ηλεκτρικό πεδίο και την πυκνότητα ρεύματος. Ο δεύτερος όρος στις εξισώσεις είναι η συνεισφορά του Maxwell και αντιπροσωπεύει το ρεύμα μετατόπισης, το οποίο εξηγεί γιατί το χρονικά μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο δημιουργεί μαγνητικό πεδίο. [95–97]

2.4.3. Μαγνητικά Κυκλώματα

Ως μαγνητικό κύκλωμα ορίζεται το σύνολο σιδηρομαγνητικών υλικών που καθοδηγούν τη μαγνητική ροή μέσα από κλειστές διαδρομές. Στο σχήμα 2.4.2 φαίνεται ένα τέτοιο μαγνητικό κύκλωμα καθώς και ένα ηλεκτρικό ανάλογό του. Ο προσδιορισμός των μαγνητικών μεγεθών γίνεται σε πλήρη αντιστοίχιση με αυτά του ηλεκτρικού κυκλώματος, όπως φαίνεται στο σχήμα 2.4.3.



Σχήμα 2.4.2: Μαγνητικό κύκλωμα και το ηλεκτρικό ανάλογό του [95]

Μαγνητικά Μεγέθη	Σύμβολο	Μονάδες	Ηλεκτρικό Ανάλογο	
Ροή	Φ	Wb	Ρεύμα	
ΜΕΔ	F _m =Ni	At	Τάση	
Μαγνητική Αντίσταση	R _m	At/Wb	Αντίσταση	
Διαπερατότητα	μ	Wb/Atm	Συντελεστής Αγωγιμότητας	
Μαγνητική Επαγωγή	В	Т	Πυκνότητα Ρεύματος	
Ένταση Μαγνητικού Πεδίου	Ξνταση Μαγνητικού Πεδίου		Ένταση Ηλεκτρικού Πεδίου	

Σχήμα 2.4.3: Μαγνητικά μεγέθη και τα αντίστοιχα ηλεκτρικά

2.4.3.1. Μαγνητεγερτική Δύναμη (ΜΕΔ) ή διάρρευμα

Η μαγνητεγερτική δύναμη ορίζεται ως το γινόμενο της έντασης του ρεύματος *i* με τον αριθμό των σπειρών *N*. Το ηλεκτρικό ρεύμα αποτελεί την αιτία δημιουργίας μαγνητικής ροής γύρω από έναν αγωγό. Κατ΄ επέκταση, η μαγνητική ροή σ ένα πηνίο οφείλεται στη ΜΕΔ της οποίας μονάδα μέτρησης είναι οι αμπεροστροφές *At* και δίνεται από τη σχέση:

$$F_m = Ni \tag{2.4.13}$$

2.4.3.2. Ενταση μαγνητικού πεδίου

Ως ένταση του μαγνητικού πεδίου σε ένα σημείο ορίζεται η μαγνητεγερτική δύναμη ανά μονάδα μήκους της μαγνητικής γραμμής που περνά από αυτό το σημείο και δίνεται από τη σχέση:

$$H = \frac{F_m}{l} \tag{2.4.14}$$

Στο εσωτερικό του πηνίου κοντά στο κέντρο του η ένταση έχει την ίδια τιμή σε κάθε σημείο και η μονάδα μέτρησής της είναι η αμπεροστροφή ανά μέτρο *At/m*.

2.4.3.3. Μαγνητική διαπερατότητα

Η μαγνητική διαπερατότητα είναι ο λόγος της έντασης της μαγνητικής επαγωγής προς την ένταση του μαγνητικού πεδίου σε ένα σημείο του χώρου (διαφορετική για κάθε υλικό), η οποία καθορίζει πόσο εύκολα ή δύσκολα περνούν οι μαγνητικές γραμμές μέσα από ένα υλικό. Για το κενό είναι σταθερά, συμβολίζεται ως μ₀ και ισούται με 4π*10⁻⁷ H/m.

2.4.3.4. Μαγνητική Αντίσταση

Συνιστά την ιδιότητα ενός υλικού να παρουσιάζει αντίσταση στη δημιουργία μαγνητικού πεδίου στο εσωτερικό του. Είναι ανάλογη του μήκους διαδρομής των γραμμών, αντιστρόφως ανάλογη της μαγνητικής διαπερατότητας και του εμβαδού της διατομής του υλικού και δίνεται από τη σχέση:

$$R_m = \frac{l}{\mu * S} \tag{2.4.15}$$

Οι μονάδες μέτρησης της μαγνητικής αντίστασης είναι *At/Wb*, ενώ η αντίστροφη ποσότητα ονομάζεται μαγνητική αγωγιμότητα και ορίζεται ως:

$$P_m = \frac{1}{R_m} \tag{2.4.16}$$

2.4.3.5. <u>Μαγνητική ροή</u>

Η μαγνητική ροή είναι ανάλογη της ΜΕΔ και αντιστρόφως ανάλογη της αντίστασης, δηλαδή δίνεται από τη σχέση:

$$\Phi = \frac{F_m}{R_m} \tag{2.4.17}$$

και μονάδες μέτρησής της είναι Wb. Η θετική φορά της μαγνητικής ροής καθορίζεται από τον κανόνα του δεξιού χεριού.

Η μαγνητική αγωγιμότητα του αέρα είναι 10⁴ φορές μικρότερη από αυτήν των μαγνητικών υλικών και γι' αυτό το λόγο μερικές μαγνητικές γραμμές κλείνουν μέσω του αέρα και όχι μέσω του μαγνητικού υλικού.

$$\Phi = \Phi_m + \Phi_{air} \tag{2.4.18}$$

Οι νόμοι του Kirchoff ισχύουν και για τα μαγνητικά κυκλώματα σε πλήρη αντιστοιχία με τα ηλεκτρικά, δηλαδή:

$$\sum_{n=1}^{N} \Phi_n = 0 (\operatorname{a \phi o \acute{v}} \nabla B = 0)$$
(2.4.19)

&

$$\sum_{n=1}^{N} \Phi_n * R_m = F_m (νόμος διαρρεύματος)$$
(2.4.20)

που αντιστοιχούν σε:

$$\sum_{n=1}^{N} I_n = 0$$
(νόμος ρευμάτων) (2.4.21)

&

$$\sum_{n=1}^{N} I_n * R_n = E (νόμος τάσεων)$$
(2.4.22)

Σημειώνεται ότι το επιφανειακό ολοκλήρωμα χωρίζεται σε N περιοχές κάθε μία από τις οποίες συμβολίζεται με n. Εν αντιθέσει με τα ηλεκτρικά κυκλώματα, στα σιδηρομαγνητικά υλικά η μαγνητική αντίσταση δεν είναι σταθερή, διότι μεταβάλλεται η μαγνητική διαπερατότητα η οποία είναι εξαρτώμενη της έντασης του πεδίου (μη γραμμικά κυκλώματα). Σημειώνεται πως οι εξισώσεις αυτές αποτελούν απλοποίηση των εξισώσεων του Maxwell.

2.4.4. Μαγνητισμός υλικών

2.4.4.1. <u>Γενικά</u>

Ο μαγνητισμός των υλικών οφείλεται στα ηλεκτρόνια των ατόμων τους, τα οποία είναι κινούμενα ηλεκτρικά φορτισμένα σωματίδια και γι' αυτό δημιουργούν μαγνητικό πεδίο γύρω τους. Κάθε ηλεκτρόνιο έχει μαγνητική ροπή η οποία συνιστά το διάνυσμα της έντασης του μαγνητικού πεδίου λόγω της κίνησης του ηλεκτρονίου. Το ηλεκτρόνιο περιστρέφεται γύρω από τον πυρήνα του ατόμου και γύρω από τον άξονά του (ιδιοπεριστροφή). Η συνισταμένη μαγνητική ροπή μπορεί να είναι μηδέν ή διάφορη του μηδενός. Από την ενεργειακή κατανομή των ηλεκτρονίων στα άτομα στο τροχιακό κάθε ενεργειακού επιπέδου υπάρχουν μέχρι 2 ηλεκτρόνια που περιστρέφονται με αντίθετη φορά γύρω από τον άξονά τους. Έχουν, δηλαδή, αντίθετους κβαντικούς αριθμούς spin και αντίθετη μαγνητική ροπή. Άρα, όταν τα τροχιακά είναι πλήρη, η συνολική μαγνητική ροπή του ατόμου είναι μηδέν. Στην

περίπτωση που ο αριθμός των ηλεκτρονίων ενός ατόμου είναι περιττός, τότε και πάλι η συνολική μαγνητική ροπή είναι μηδέν, καθώς το μονήρες ηλεκτρόνιο είναι ηλεκτρόνιο σθένους και αλληλεπιδρά με ηλεκτρόνια σθένους άλλων ατόμων σχηματίζοντας χημικούς δεσμούς. Στα στοιχεία μετάπτωσης του περιοδικού πίνακα, τα οποία έχουν μερικώς συμπληρωμένα τα τροχιακά 3d και παράλληλα διαθέτουν ηλεκτρόνια στην 4^η στοιβάδα, η συνολική μαγνητική ροπή δεν είναι μηδέν [98].

Η απόκριση στην επιβολή μαγνητικού πεδίου *Η* σ' ένα υλικό ονομάζεται μαγνητική επαγωγή *B* και η σχέση που συνδέει τα δύο αυτά μεγέθη είναι η εξής:

$$\vec{B} = \mu_0 (\vec{H} + \vec{M})$$
 (2.4.23)

όπου μ₀ η μαγνητική διαπερατότητα του κενού και M η μαγνήτιση του μέσου. Ως μαγνήτιση ορίζεται το πεδίο ενός υλικού παρουσία εξωτερικού πεδίου και ισούται με τη μαγνητική ροπή \vec{m} ανά μονάδα όγκου V:

$$\vec{M} = \frac{\vec{m}}{v} \tag{2.4.24}$$

Μαγνήτιση είναι η πυκνότητα των προσανατολισμένων μαγνητικών διπολικών ροπών στη διεύθυνση του μαγνητικού πεδίου και προκύπτει από την ηλεκτρονική δομή του στερεού. Εξαρτάται από τις επιμέρους μαγνητικές ροπές των ιόντων, ατόμων ή μορίων και από τον τρόπο που αυτές αλληλοεπιδρούν. Επομένως, αποτελεί ιδιότητα του υλικού.

Η απόκριση των υλικών εξαρτάται από την ατομική τους δομή, τη θερμοκρασία και το πεδίο. Με επιβολή μαγνητικού πεδίου οι μαγνητικές ροπές των ατόμων τείνουν να προσανατολιστούν παράλληλα με το πεδίο, αλλά οι θερμικές κινήσεις αντιτίθενται σε αυτή τη μεταβολή. Για τον προσδιορισμό του βαθμού απόκρισης ενός υλικού σε μαγνητικό πεδίο εισάγεται ο όρος μαγνητική επιδεκτικότητα $\chi_{(\vec{H})}$ που εκφράζεται από το νόμο Curie-Weiss [99]:

$$\chi_{(\vec{H})} = \frac{M}{H} \tag{2.4.25}$$

2.4.4.2. Κατηγορίες Μαγνητισμού

Τα υλικά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη συμπεριφορά του υλικού στην επίδραση εξωτερικού μαγνητικού πεδίου:

- Σε αυτά που μαγνητίζονται μόνο κατά την επιβολή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, όπως τα παραμαγνητικά και τα διαμαγνητικά.
- Σε αυτά που διατηρούν τη μαγνητική τους κατάσταση ακόμα και κατά την απουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, όπως τα σιδηρομαγνητικά, τα αντισιδηρομαγνητικά και τα σιδηριμαγνητικά.

Ακολουθεί μια σύντομη ανάλυση των δύο αυτών κατηγοριών μαγνητισμού.

<u>Διαμαγνητισμός</u>

Ο διαμαγνητισμός αποτελεί ασθενή μορφή μαγνητισμού και διατηρείται όσο εφαρμόζεται εξωτερικό πεδίο. Οι μαγνητικές ροπές που οφείλονται στα ηλεκτρονιακά spin και στην τροχιακή κίνηση των ηλεκτρονίων είναι μηδέν όταν δεν εφαρμόζεται εξωτερικό πεδίο. Όταν όμως εφαρμόζεται, τα τροχιακά των ηλεκτρονίων των ατόμων μεταβάλλονται σύμφωνα με το νόμο του Laplace, κατά τον οποίο όταν ένα ηλεκτρικό φορτίο κινείται εντός μαγνητικού πεδίου, αποκλίνει από την πορεία του. Η μεταβολή στα τροχιακά και στις μαγνητικές ροπές προκαλεί το σχηματισμό μαγνητικών διπόλων που αντιτίθενται στο εξωτερικό μαγνητικό πεδίο. Κατ' επέκταση, τα διαμαγνητικά υλικά απωθούνται από μόνιμους μαγνήτες. Η μαγνητική διαπερατότητα των διαμαγνητικών υλικών είναι θετική και λίγο μικρότερη της μονάδας, ενώ η μαγνητική επιδεκτικότητα είναι αρνητική και μικρή.

<u>Παραμαγνητισμός</u>

Στα παραμαγνητικά υλικά, απουσία μαγνητικού πεδίου, οι μαγνητικές ροπές που προκύπτουν από τα ηλεκτρονιακά σπιν δεν αλληλοαναιρούνται, με αποτέλεσμα κάθε άτομο να έχει μαγνητική ροπή τυχαίας κατεύθυνσης. Μακροσκοπικά όμως, και σε στατιστικά μεγαλύτερη περιοχή, το υλικό εμφανίζει μηδενική μαγνήτιση και μαγνητική ροπή. Παρουσία εξωτερικού μαγνητικού πεδίου οι μαγνητικές ροπές των ηλεκτρονίων των ατόμων προσανατολίζονται στην κατεύθυνση του πεδίου αυξάνοντας την έντασή του. Η μαγνητική διαπερατότητα των παραμαγνητικών υλικών είναι λίγο μεγαλύτερη της μονάδας και η μαγνητική επιδεκτικότητα είναι θετική με πολύ μικρή τιμή. Τα παραμαγνητικά υλικά έλκονται ελαφρά από μόνιμους μαγνήτες.

<u>Σιδηρομαγνητισμός</u>

Τα άτομα των σιδηρομαγνητικών υλικών υπό κανονικές συνθήκες έχουν ισχυρές μαγνητικές ροπές λόγω ασύζευκτων ηλεκτρονιακών σπιν στα 3d τροχιακά τους. Οι ροπές αυτές συνδυάζονται και κατά συνέπεια δημιουργούνται στο υλικό μαγνητικές περιοχές, που ονομάζονται Weiss, με ομόρροπα σπιν. Τα όρια των περιοχών Weiss ονομάζονται τοιχώματα Bloch και σε αυτά πραγματοποιείται σταδιακή μεταβολή στην κατεύθυνση των μαγνητικών ροπών. Σε μεγαλύτερη κλίμακα, επειδή ο προσανατολισμός των περιοχών Weiss είναι τυχαίος, οι μαγνητικές τους ροπές αλληλοαναιρούνται και η συνολική μαγνήτιση στο υλικό είναι μηδέν απουσία μαγνητικού πεδίου. Υπό την εφαρμογή εζωτερικού μαγνητικού πεδίου οι περιοχές Weiss προσανατολίζονται στην κατεύθυνση του πεδίου με αποτέλεσμα το υλικό να παρουσιάζει υψηλή μαγνητική επιδεκτικότητα. Η διαφορά των σιδηρομαγνητικών υλικών με τα παραμαγνητικά και τα διαμαγνητικά έγκειται στο γεγονός ότι παρουσιάζουν μαγνήτιση ακόμα και με παύση εφαρμογής μαγνητικού πεδίου, καθώς ο προσανατολισμός των περιοχών Weiss δεν έχει λόγο να μεταβληθεί. Το μαγνητικό πεδίο συναρτήσει της μαγνήτισης σχηματίζουν ένα βρόχο υστέρησης.



Σχήμα 2.4.4: Προσανατολισμός περιοχών Weiss απουσία (αριστερά) και παρουσία μαγνητικού πεδίου (δεξιά)

<u>Υπερπαραμαγνητισμός</u>

Σ' ένα υλικό, τομέας ονομάζεται ένα σύνολο ιδιοπεριστροφών με ίδια κατεύθυνση μαγνητικών ροπών που αντιδρούν με τον ίδιο τρόπο σε μαγνήτιση. Οι τομείς του υλικού χωρίζονται μεταξύ τους από τοιχώματα συγκεκριμένου πάχους κι ενέργειας τα οποία είναι χαρακτηριστικά του κάθε υλικού. Τα τοιχώματα αυτά αποτελούν εμπόδιο στη μαγνήτιση. Σ' ένα μεγάλο σωματίδιο η δομή αποτελείται από πολλούς τομείς και πολλά τοιχώματα. Καθώς μειώνεται το μέγεθος ενός σωματιδίου και τείνει προς μία κρίσιμη τιμή διαμέτρου D_c τα τοιχώματα καθίστανται δυσμενή από ενεργειακή άποψη ως προς την ύπαρξή τους. Οι δομές που αποτελούνται από έναν μόνο τομέα καλούνται σωματίδια μονού τομέα. Ενδεικτικά, για το σίδηρο η κρίσιμη διάμετρος είναι 14nm, για το μαγνητίτη 128nm και για το μαγκεμίτη 166nm.



Σχήμα 2.4.5: Συνεκτικό πεδίο συναρτήσει μεγέθους των σωματιδίων (αριστερά) και μαγνήτιση για διάφορα μεγέθη συναρτήσει του εφαρμοζόμενου πεδίου (δεζιά) [100]

Για τιμές της διαμέτρου μικρότερες της κρίσιμης, τα σπιν επηρεάζονται από τις θερμικές διακυμάνσεις και τα σωματίδια παρουσιάζουν υπερπαραμαγνητισμό. Σ' αυτές τις περιπτώσεις οι θερμικές

διακυμάνσεις δεν επιτρέπουν τη σταθεροποίηση της μαγνήτισης και κατά συνέπεια το H_c τείνει να μηδενιστεί.

Στον υπερπαραμαγνητισμό έχει δειχθεί πειραματικά ότι δεν υπάρχει υστέρηση στην καμπύλη μαγνήτισης και ότι σε διάφορες θερμοκρασίες οι καμπύλες μαγνήτισης υπερκαλύπτονται σε γραφήματα *M* συναρτήσει του *H*.

Ο χρόνος ηρεμίας της μαγνήτισης ενός μαγνητικού σωματιδίου δίνεται από τη σχέση:

$$\tau = \tau_0 e^{\frac{\Delta E}{K_B T}} \tag{2.4.26}$$

ΔΕ: ο ενεργειακός φραγμός στη μεταβολή της μαγνητικής ροπής

*K*_B*T*: η θερμική ενέργεια

 $\tau_0: 10^{-12} - 10^{-10} s$

Για τον ενεργειακό φραγμό συνήθως ισχύει:

$$\Delta E = KV \tag{2.4.27}$$

Κ: πυκνότητα ενέργειας της ανισοτροπίας του σχήματος

V: ο όγκος του σωματιδίου

Για σωματίδια μικρού μεγέθους το ΔE είναι παραπλήσιο του K_BT . Ο χρόνος κατά τον οποίο το σωματίδιο παραμένει υπερπαραμαγνητικό μεταβάλλεται συναρτήσει της μαγνήτισης. [100]

2.4.4.3. <u>Βρόχος υστέρησης</u>

Υπό την εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου \vec{H} σε φερρομαγνητικό υλικό που μαγνητίζεται για πρώτη φορά, αυξάνεται η μαγνητική επαγωγή \vec{B} προς την κατεύθυνση του πεδίου. Τα σύνορα των περιοχών Weiss μετατοπίζονται και η μαγνήτιση αυξάνεται, καθώς αυξάνεται η ένταση του εφαρμοζόμενου πεδίου. Φτάνοντας στο σημείο a (σχήμα 2.4.6) περαιτέρω αύξηση του πεδίου \vec{H} επηρεάζει ελάχιστα την επαγωγή \vec{B} και τη μαγνήτιση M του υλικού, καθώς όλες οι μαγνητικές ροπές έχουν ευθυγραμμιστεί πλήρως με το εφαρμοζόμενο πεδίο. Σ' αυτό το σημείο η μαγνητική επαγωγή είναι B_s (επαγωγή κόρου) και η μαγνήτιση M_s (μαγνήτιση κόρου), η οποία εξαρτάται από τη μαγνητική διπολική ροπή των ατόμων του υλικού και από τον αριθμό των ατόμων ανά μονάδα όγκου. Έπειτα, καθώς μειώνεται το \vec{H} , η καμπύλη μετατοπίζεται προς το σημείο b όπου το εξωτερικό πεδίου έναι πλέον μηδενικό λειτουργεί σα μόνιμος μαγνήτις, καθώς υπάρχει παραμένουσα μαγνήτιση M_r χωρίς την εφαρμογή εξωτερικού πεδίου. Με εφαρμογή πεδίου αντίθετης κατεύθυνσης η μαγνητική επαγωγή μειώνεται και η καμπύλη μετατοπίζεται προς το σημείο το υλικούσα τιμή B_r . Σ' αυτό το σημείο το υλικό λειτουργεί σα μόνιμος μαγνήτης, καθώς υπάρχει παραμένουσα μαγνήτιση M_r χωρίς την εφαρμογή εξωτερικού πεδίου. Με εφαρμογή πεδίου αντίθετης κατεύθυνσης η μαγνητική επαγωγή μειώνεται και η καμπύλη μετατοπίζεται προς το σημείο το που το εξωτερικού πεδίου. Και δίου. Με εφαρμογή πεδίου αντίθετης κατεύθυνσης η μαγνητική επαγωγή μιώνεται και η καμπύλη μετατοπίζεται προς το σημείο το που η επαγωγή έχει μηδενιστεί (B=0) και το υλικό έχει απομαγνητιστεί. Σ' αυτό το σημείο το εξωτερικό πεδίο έχει τιμή - H_c και ονομάζεται

συνεκτικό πεδίο. Περαιτέρω αύξηση του πεδίου σ' αυτή την κατεύθυνση μετατοπίζει την καμπύλη προς το σημείο d στο οποίο το υλικό φτάνει σε μαγνήτιση κόρου. Στη συνέχεια, με ελάττωση του εξωτερικού πεδίου η καμπύλη φτάνει στο σημείο e, όπου η ένταση του πεδίου είναι μηδέν και η παραμένουσα μαγνητική επαγωγή είναι -B_r. Τέλος, με εφαρμογή πεδίου στην αρχική κατεύθυνση η καμπύλη διέρχεται από το σημείο f στο οποίο η μαγνητική επαγωγή είναι μηδέν, ενώ το πεδίο είναι συνεκτικό με τιμή H_c. Η καμπύλη του βρόχου υστέρησης σχηματίζει επιφάνεια της οποίας το εμβαδόν ισούται με την ενέργεια που αποθηκεύεται στο υλικό ανά μονάδα όγκου.



Σχήμα 2.4.6: Βρόχος υστέρησης φερρομαγνητικού υλικού [100]

Τα φερρομαγνητικά υλικά χωρίζονται σε σκληρά και μαλακά ανάλογα με την τιμή του συνεκτικού πεδίου. Τα σκληρά μαγνητικά υλικά έχουν ευρύ βρόχο υστέρησης και μεγάλο συνεκτικό πεδίο. Συνεπώς μαγνητίζονται και απομαγνητίζονται δύσκολα άρα χρειάζεται να εφαρμοστούν ισχυρά πεδία. Χρησιμοποιούνται ως μόνιμοι μαγνήτες. Αντιθέτως, στα μαλακά μαγνητικά υλικά ο βρόχος υστέρησης είναι στενός και το συνεκτικό πεδίο χαμηλό και κατ' επέκταση μαγνητίζονται και απομαγνητίζονται εύκολα και χρειάζεται να εφαρμοστεί μικρότερο πεδίο.

Στα σιδηριμαγνητικά υλικά, υπό την επίδραση πεδίου, οι μαγνητικές ροπές των ιόντων προσανατολίζονται αντιπαράλληλα μεταξύ τους, αλλά η συνισταμένη μαγνητική ροπή είναι μη μηδενική, καθώς τα μεγέθη των ιόντων διαφέρουν. Τέτοια υλικά είναι οι φερρίτες, δηλαδή οξείδια του σιδήρου με άλλα μέταλλα. Αυτά ισχύουν σε θερμοκρασίες χαμηλότερες μιας κρίσιμης τιμής, της θερμοκρασίας Curie. Σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες το υλικό γίνεται παραμαγνητικό.

Στα αντισιδηρομαγνητικά υλικά με επιβολή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου οι ατομικές μαγνητικές ροπές προσανατολίζονται αντιπαράλληλα κι έτσι η συνολική μαγνητική ροπή τείνει στο μηδέν. Η διαφορά τους με τα σιδηριμαγνητικά έγκειται στο γεγονός ότι εδώ τα γειτονικά άτομα αντιτίθενται αντί να ενισχύονται.

Ο μαγνητίτης (Fe₃O₄), ο αιματίτης (Fe₂O₃) και ο βουστίτης (FeO) συγκροτούν την κατηγορία των φερριτών και είναι κεραμικά οξείδια. Ο μαγνητίτης διαθέτει ιόντα σιδήρου σε δισθενή και τρισθενή οξειδωτική βαθμίδα κι έτσι μπορεί να έχει οξειδωτικό ή αναγωγικό χαρακτήρα. Κρυσταλλώνεται σε ολοεδρία στο κυβικό σύστημα. Ο μαγκεμίτης (γ-Fe₂O₃) έχει περίπου ίδια δομή με τη διαφορά ότι τα

5/6 των τετραεδρικών και οκταεδρικών θέσεων καταλαμβάνονται από άτομα σιδήρου και τα κατιόντα σιδήρου βρίσκονται όλα στην τρισθενή κατάσταση (Fe³⁺).

2.4.4.4. Μαγνητική ανισοτροπία

Η μαγνητική ανισοτροπία άπτεται της σχέσης της εσωτερικής ενέργειας με την κατεύθυνση της αυθόρμητης μαγνήτισης. Συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση σπιν-τροχιάς στο υλικό επιφέρει την εγγενή ανισοτροπία, την επιφανειακή ανισοτροπία και την ανισοτροπία μαγνητικής στένωσης, ενώ η διπολική σύζευξη των μαγνητικών ροπών προκαλεί την ανισοτροπία σχήματος. Όσο μεγαλύτερη η ασυμμετρία τόσο μεγαλύτερη κι η ενέργεια ανισοτροπίας και αντίστροφα. Η ενέργεια ανισοτροπίας υπολογίζεται από τη σχέση:

$$E = KV \sin^2 \theta \tag{2.4.28}$$

Κ: η συνολική ενέργεια της μονοαξονικής ανισοτροπίας ανά μονάδα όγκου

V: ο όγκος των σωματιδίων

θ: η γωνία μεταξύ της "συνολικής" μαγνητικής ροπής και της "ενεργής" κατεύθυνσης της μονοαξονικής ανισοτροπίας

Η αλληλεπίδραση σπιν-τροχιάς στο υλικό και η διπολική σύζευξη των μαγνητικών ροπών δημιουργούν τον εύκολο και το δύσκολο άξονα μαγνήτισης και από τους δύο άξονες προτιμάται ο εύκολος.

2.4.4.5. Θεμελιώδη μαγνητικά μήκη

Οι μαγνητικές ιδιότητες των νανοϋλικών διαφέρουν από εκείνες των υλικών σε μεγαλύτερη κλίμακα. Όταν το κρίσιμο μήκος στο οποίο πραγματοποιούνται ορισμένα φαινόμενα είναι παραπλήσιο του μεγέθους των νανοσωματιδίων, ξεπερνιέται ένα ενεργειακό φράγμα κι έτσι παρουσιάζονται αλλαγές στη μαγνήτιση του υλικού. Για τα μαγνητικά υλικά, τα θεμελιώδη μαγνητικά μήκη είναι το μήκος κρυσταλλικής ανισοτροπίας *I_k*, το μήκος εφαρμοζόμενου πεδίου *I_H* και το μαγνητοστατικό μήκος *I_s*:

$$I_K = \sqrt{\frac{J}{K}} \tag{2.4.29}$$

$$I_H = \sqrt{\frac{2J}{HM_s}} \tag{2.4.30}$$

$$I_s = \sqrt{\frac{J}{2\pi M_s^2}} \tag{2.4.31}$$

Κ: η σταθερά ανισοτροπίας του υλικού που οφείλεται στην κυρίαρχη ανισοτροπία

J: η πυκνότητα ενέργειας εντός κόκκου του υλικού, ισούται με $\frac{3k_BT_c}{ZS(S+1)}$, με k_B τη σταθερά Boltzman, *Z*, ο αριθμός των γειτονικών ατόμων (πχ για κυβικό πλέγμα *Z* = 6) και S ο κβαντικός αριθμός spin (που αναφέρεται στην ιδιοπεριστροφή του ηλεκτρονίου.

Αν υπάρχουν παραπάνω από ένα είδος φραγμού, τότε αυτό που καθορίζει τις μαγνητικές ιδιότητες του υλικού είναι το μικρότερο χαρακτηριστικό μήκος. [101]

2.5. Μαγνητικά νανοσωματίδια και βιοϊατρικές εφαρμογές

2.5.1. Γενικά

Σε αυτό το κεφάλαιο αναλύεται η θεωρία για τα μαγνητικά νανοσωματιδία και τις εφαρμογές στη βιοϊατρική σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία. [102–107]

Τα νανοσωματίδια είναι σωματίδια με διαστάσεις (τουλάχιστον η μία από αυτές) μικρότερες των 100nm, τα οποία μαγνητίζονται ελεγχόμενα ώστε να καταστούν κατάλληλα για πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές. Οι μαγνητικές ιδιότητες των νανοσωματιδίων εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες όπως το μέγεθός τους και η διασπορά τους και έχουν αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνών τα τελευταία χρόνια. Το μέγεθος των νανοσωματιδίων μπορεί να ελεγχθεί και να γίνει συγκρίσιμο με αυτό των κυττάρων (10-100μm), των ιών (20-450nm), των πρωτεϊνών (5-50nm) και των γονιδίων (2nm πλάτος και 10-100nm μήκος), γι' αυτό βρίσκουν μεγάλη εφαρμογή στη βιοϊατρική. Επίσης, παρέχουν τη δυνατότητα επικάλυψης από βιολογικά μόρια, καθιστώντας δυνατή την αλληλεπίδραση και την πρωσκόλληση σε κάποια βιολογική οντότητα.

Τα νανοσωματίδια υπακούν στο νόμο του Coulomb, επειδή είναι μαγνητικά, κι έτσι μπορούν να προσανατολιστούν και να καθοδηγηθούν από εξωτερικά εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο. Μία από τις βασικές εφαρμογές τους είναι η στοχευμένη παράδοση ενός φαρμάκου υπό την επίδραση εξωτερικού πεδίου. Συγκεκριμένα, δημιουργείται ένα σύμπλοκο φάρμακο-μαγνητικό νανοσωματίδιο μέσω της προσκόλλησης του φαρμάκου στο μαγνητικό νανοσωματίδιο με διάφορες τεχνικές, το οποίο υπό την εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου κατευθύνεται στον επιθυμητό ιστό.

Μία εξίσου σημαντική εφαρμογή των μαγνητικών νανοσωματιδίων είναι η ικανότητα μεταφοράς ενέργειας από το περιβάλλον στο νανοσωματίδιο. Κατά συνέπεια, καθίσταται δυνατή η καταστροφή καρκινικών κυττάρων χάρη στη μαγνητικά επαγόμενη υπερθερμία. Αυτό συμβαίνει επειδή ένα μεταλλικό υλικό θερμαίνεται όταν βρίσκεται σε εναλλασσόμενο πεδίο. Κατ' επέκταση, με τη χρήση αντισωμάτων ή μαγνητικού πεδίου, τα μαγνητικά νανοσωματίδια προσδένονται στα καρκινικά κύτταρα, των οποίων η θερμοκρασία αυξάνεται στους 50°C υπό την εφαρμογή εναλλασσόμενου μαγνητικού πεδίου, με αποτέλεσμα την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων χωρίς, όμως, να επηρεάζονται τα υγιή κύτταρα. Τέλος, με κατάλληλη επεξεργασία χορήγησής τους, τα νανοσωματίδια συνεισφέρουν στη βελτίωση των αποτελεσμάτων της μαγνητικής τομογραφίας όσον αφορά την αντίθεση στην εικόνα εξόδου, καθώς γίνεται δυνατή η εκμετάλλευση της μαγνητικής τους ροπής.

Σε τεχνικές διάγνωσης και θεραπείας χρησιμοποιούνται ευρέως ο μαγνητίτης (Fe₃O₄) και ο μαγκεμίτης (Fe₂O₃), τα οποία συνιστούν σιδηρομαγνητικά υλικά πολύ μικρών διαστάσεων (μικρότερες από λίγα μm) και είναι υπερπαραμαγνητικά.

Δύο βασικές παράμετροι στη βιοϊατρική είναι η συμβατότητα των μαγνητικών σωματιδίων με τον ανθρώπινο οργανισμό και η μηδενική μαγνήτιση που παρουσιάζεται, όταν δεν εφαρμόζεται πια εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, η οποία έχει ως συνέπεια την έλλειψη συσσωματώσεων που δημιουργούνται από υλικά πολλών μαγνητικών περιοχών μετά την έκθεσή τους σε μαγνητικό πεδίο.

2.5.2. Δυνάμεις στα μαγνητικά νανοσωματίδια

Το μαγνητικό πεδίο που απαιτείται για την οδήγηση των μαγνητικών νανοσωματιδίων οφείλει να πληροί κάποιες προϋποθέσεις. Το πεδίο δε γίνεται να είναι ομοιόμορφο, γιατί παρότι δημιουργεί ροπή, δε μπορεί να προκαλέσει κίνηση. Για να υπάρξει κίνηση απαιτείται βάθμωση του πεδίου.

Η μαγνητική δύναμη που ασκείται σε ένα σημείο του πεδίου δίνεται από την εξής σχέση:

$$\vec{F}_m = (\vec{m} \cdot \nabla)\vec{B} \tag{2.5.1}$$

και αποδίδει γεωμετρική διαφόριση στη διεύθυνση του $\vec{B} = (B_x, B_y, B_z)$.

Όταν το μαγνητικό νανοσωματίδιο είναι διαλυμένο σε ασθενές διαμαγνητικό μέσο, όπως το αίμα ή το νερό, η μαγνητική του ροπή δίνεται από τη σχέση:

$$\vec{m} = \vec{M}V_m \tag{2.5.2}$$

Όπου V_m ο όγκος του νανοσωματιδίου και M η ογκομετρική μαγνήτισή του που ισούται με:

$$\vec{M} = \chi_{(\vec{H})} \vec{H} \tag{2.5.3}$$

 $\chi = \chi_m - \chi_{w/b}$: ενεργός επιδεκτικότητα του σωματιδίου σε σχέση με το νερό ή το αίμα

Η: ένταση του εξωτερικά εφαρμοζόμενου πεδίου

Όταν τα νανοσωματίδια είναι διαλυμένα στο νερό, η συνολική συμπεριφορά του συστήματος εκφράζεται μέσω της σχέσης:

$$\vec{B} = \mu_o \vec{H} \tag{2.5.4}$$

Η εξίσωση 2.5.1 με βάση τις 2.5.2, 2.5.3 και 2.5.4 μετατρέπεται στην:

$$\overrightarrow{F_m} = \frac{V_m}{\mu_0} \chi_{(\overrightarrow{H})} (\overrightarrow{B} \cdot \nabla) \overrightarrow{B}$$
(2.5.5)

Λαμβάνοντας υπ' όψιν και την εξίσωση του Gauss για την απόκλιση του μαγνητικού πεδίου, η μαγνητική δύναμη δίνεται από τη σχέση:

$$\overrightarrow{F_m} = V_m \chi_{(\overrightarrow{H})} \nabla(\frac{B^2}{2\mu_0})$$
(2.5.6)

ενώ εισάγοντας και τη σχέση 2.5.4 στην 2.5.6, ισχύει:

$$\overrightarrow{F_m} = V_m \chi_{(\overrightarrow{H})} \nabla(\frac{1}{2} \overrightarrow{B} \overrightarrow{H})$$
(2.5.7)

Στην εξίσωση 2.5.7 φαίνεται ότι η μαγνητική δύναμη είναι ευθέως ανάλογη του διαφορισμού της πυκνότητας ενέργειας του μαγνητοστατικού πεδίου, $\frac{1}{2}\vec{B}\vec{H}$. Αν $\chi_{(\vec{H})}>0$, η μαγνητική δύναμη θα ασκηθεί

προς την κατεύθυνση της πιο έντονης αύξησης του βαθμωτού πεδίου πυκνότητας ενέργειας. Για να τεθεί σε κίνηση ένα σωματίδιο συγκεκριμένου όγκου και καθορισμένης μαγνήτισης και μαγνητικής επιδεκτικότητας, αυτή είναι η δύναμη που απαιτείται να δράσει σε αυτό. Στη συγκεκριμένη εξίσωση βασίζονται διάφορες βιοϊατρικές εφαρμογές. [108,109]

2.5.3. Εφαρμογές μαγνητικών νανοσωματιδίων στη βιοϊατρική

2.5.3.1. <u>Οδήγηση φαρμάκου (in vivo)</u>

Το μεγαλύτερο μειονέκτημα των κλασικών χημειοθεραπειών για την αντιμετώπιση συστηματικών παθήσεων στον ανθρώπινο οργανισμό είναι ότι οι περισσότερες από αυτές δεν είναι στοχευμένες. Αυτό συμβαίνει διότι τα φάρμακα παρέχονται ενδοφλεβίως, άρα πραγματοποιείται (συστημική) διανομή του φαρμάκου σε όλο τον οργανισμό μέσω του κυκλοφορικού συστήματος. Κατά συνέπεια, όμως, το φάρμακο επηρεάζει και τα υγιή κύτταρα εκτός από τα νοσούντα, με κίνδυνο πρόκλησης σοβαρών παρενεργειών. Αντιθέτως, κατά τη στοχευμένη θεραπεία, που βασίζεται στο γεγονός ότι η γενετική σύσταση των καρκινικών κυττάρων είναι διαφορετική από τα υγιή κύτταρα, τα χορηγούμενα φάρμακα αποδίδουν τα μέγιστα στους πάσχοντες ιστούς, μειώνοντας ταυτόχρονα τις παρενέργειες των κλασικών θεραπειών.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα συνιστούν οι παρενέργειες των αντιφλεγμονωδών φαρμάκων σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνια αρθρίτιδα, οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε διακοπή της θεραπείας. Με στοχευμένη ενδοφλέβια χορήγηση (διανομή) του φαρμάκου, η θεραπεία θα μπορούσε να είναι πιο αποτελεσματική, χωρίς την πρόκληση παρενεργειών και χωρίς τον κίνδυνο της ενδοαρθρικής έγχυσης.

Από τη δεκαετία του '70 η ανάγκη αυτή οδήγησε, μεταξύ άλλων, στη χρήση μαγνητικών φορέων για τη στοχευμένη χορήγηση φαρμάκου σε συγκεκριμένους στόχους και κυρίως καρκινικούς όγκους. Με αυτή τη μέθοδο, εκτός από την αποφυγή παρενεργειών, μειώνεται η απαιτούμενη δοσολογία φαρμάκου. Τα νανοσωματίδια σιδήρου μπορούν να οδηγηθούν στον επιθυμητό στόχο μέσα στο σώμα, μέσω της κυκλοφορίας αίματος, με εφαρμογή ενός μαγνητικού πεδίου.

Στη μαγνητικά στοχευμένη θεραπεία το φάρμακο δεσμεύεται με το φορέα, ο οποίος είναι ένα βιοσυμβατό μαγνητικό νανοσωματίδιο. Τα σύμπλοκα αυτά, συνήθως, παρέχονται στον οργανισμό ενδοφλέβια σε μορφή βιοσυμβατού υγρού. Όταν το σύμπλοκο (φάρμακο-μαγνητικός φορέας) εισαχθεί στη ροή του αίματος, εφαρμόζεται εξωτερικό μαγνητικό πεδίο μεγάλης βάθμωσης, για να συγκεντρώσει το φάρμακο στο στόχο. Εκεί πραγματοποιείται απελευθέρωση του φαρμάκου είτε με ενζυμική δράση είτε με αλλαγές στις φυσιολογικές συνθήκες, όπως το pH, η όσμωση, η θερμοκρασία είτε ακόμα και χάρη στο ίδιο το μαγνητικό πεδίο (EVAC).

Η αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης στοχευμένης θεραπείας εξαρτάται από διάφορες φυσικές παραμέτρους, όπως η δύναμη και η βάθμωση του πεδίου, αλλά και από υδροδυναμικές παραμέτρους, όπως η ροή του αίματος και το μέγεθος των αρτηριών ή του στόχου, από τη συγκέντρωση του

φαρμάκου, την απόσταση του στόχου από την εστία του πεδίου, αλλά ακόμα και το χρόνο και τη διαδρομή που θα ακολουθήσει το φάρμακο μέχρι το στόχο. Επομένως, είναι φανερό ότι υπάρχουν πολλές παράμετροι που επηρεάζουν την παράδοση του φαρμάκου, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη μοντελοποίηση, τη μεθόδευση και οποιαδήποτε γενίκευση.

Σε γενικές γραμμές, πιο αποτελεσματικός έλεγχος της οδήγησης επιτυγχάνεται σε μεγαλύτερα σωματίδια (π.χ. διαμέτρου 1μm) σε σχέση με νανοσωματίδια. Στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιείται μόνιμος ισχυρός μαγνήτης σπάνιων γαιών, όπως Nd-Fe-B, που τοποθετείται επιδερμικά πάνω από το στόχο. Από προηγούμενες μελέτες [108,109] που έχουν διεξαχθεί, έχει βρεθεί ότι για την υπερνίκηση της ροής του αίματος και την ακινητοποίηση του συμπλόκου (φάρμακομαγνητικός φορέας) απαιτείται ένταση πεδίου της τάξης των 0.3T και βάθμωσης 13T/m για μία μέσης διαμέτρου αρτηρία. Είναι κατανοητό, λοιπόν, πως η στοχευμένη θεραπεία είναι πιο εύκολα εφαρμόσιμη όπου υπάρχει σχετικά μικρή ροή αίματος και όταν ο στόχος βρίσκεται κοντά στην επιδερμίδα και άρα στην πηγή του πεδίου.

Ως μαγνητικοί φορείς χρησιμοποιούνται μαγνητικά νανοσωματίδια επικαλυμμένα με κάποιο βιοσυμβατό πολυμερές ή κεραμικό που χρησιμεύει στην απομόνωση του μαγνητικού σωματιδίου από το περιβάλλον του. Επιπλέον, οι επικαλύψεις μπορούν να επενδυθούν με μόρια, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν ως σημεία πρόσδεσης με τα κύτταρα στόχους ή με αντισώματα που χρησιμοποιούνται για τη στοχευμένη δέσμευση με τα κύτταρα στόχους.

Δομικά, οι φορείς μπορούν να έχουν δύο μορφές. Η μία είναι ένα μαγνητικό σωματίδιο από μαγνητίτη ή μαγκεμίτη επικαλυμμένο με το βιοσυμβατό πολυμερές και η άλλη είναι ένα πορώδες πολυμερές, στους πόρους του οποίου τοποθετείται το μαγνητικό υλικό. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται εξελίσσονται συνεχώς και γίνονται μελέτες για την εύρεση των καταλληλότερων υλικών για την εκάστοτε περίπτωση [110].

2.5.3.2. Μαγνητικός διαχωρισμός (in vitro)

Ο διαχωρισμός βιολογικών οντοτήτων από τον περιβάλλοντα χώρο τους είναι χρήσιμος για αναλύσεις και επιτυγχάνεται με τη βοήθεια του μαγνητικού διαχωρισμού. Χρησιμοποιούνται βιοσυμβατά νανοσωματίδια και η διαδικασία περιλαμβάνει αρχικά την ένωση της βιολογικής οντότητας με το μαγνητικό υλικό και στη συνέχεια την απομάκρυνση του συμπλόκου που δημιουργείται με τη βοήθεια ειδικής συσκευής.

Η ένωση του μαγνητικού υλικού με τη βιολογική οντότητα γίνεται συνήθως χάρη σε βιοσυμβατές επικαλύψεις. Αυτές οι επικαλύψεις περιέχουν αντισώματα ή άλλα μακρομόρια που είναι υπεύθυνα για τη στοχευμένη ένωση με συγκεκριμένα σημεία του κυττάρου-στόχου.

Ένας τρόπος για το διαχωρισμό είναι η συγκέντρωση του μαγνητικού υλικού που έχει συνδεθεί με τη βιολογική οντότητα-στόχο με τη χρήση μόνιμου μαγνήτη στα τοιχώματα του δοκιμαστικού σωλήνα και παράλληλα με αφαίρεση του αδέσμευτου υγρού. Αυτή η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί για αργές ταχύτητες ροής. Για μεγαλύτερες ταχύτητες απαιτείται μεγαλύτερη διαχωριστική ικανότητα και αυτή επιτυγχάνεται με βάθμωση πεδίου. Για τη βάθμωση απαιτείται η τύλιξη του σωλήνα με κάποιο μαγνητικό σύρμα. Με την άντληση του υγρού μέσα από το σωλήνα, τα μαγνητικά νανοσωματίδια συγκρατούνται από το πεδίο που δημιουργείται από το σύρμα.

Για διαφορικό διαχωρισμό ανάλογα με την ποσότητα μαγνητικού υλικού χρησιμοποιείται μια διάταξη από 4 μόνιμους μαγνήτες κάθετα μεταξύ τους και περιφερειακά από το σωλήνα από τον οποίο διέρχεται το υγρό. Με αυτή τη μέθοδο επιτυγχάνεται μεγάλη ευαισθησία ως προς το διαχωρισμό μικρού πληθυσμού κυττάρων-στόχων. [107]

2.5.3.3. <u>Υπερθερμία (in vivo)</u>

Υπερθερμία είναι ο καταβολισμός όγκων με τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών. Η διαδικασία που ακολουθείται περιλαμβάνει τη χρήση μαγνητικών νανοσωματιδίων στα οποία προσδένονται αντισώματα που χρησιμεύουν στη δέσμευση του συμπλόκου αυτού με τα καρκινικά κύτταρα. Με εφαρμογή εναλλασσόμενου μαγνητικού πεδίου συγκεκριμένης έντασης και συχνότητας, τα σωματίδια θερμαίνονται. Η κρίσιμη θερμοκρασία πάνω από την οποία καταστρέφονται τα καρκινικά κύτταρα είναι 42°C και ο ελάχιστος απαιτούμενος χρόνος η μισή ώρα. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ιστοί και το αίμα αντιτίθενται στη θέρμανση και παράλληλα καθιστούν δυσμενή τη μοντελοποίηση. Μέχρι σήμερα η εφαρμογή σε πειραματόζωα παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα, αλλά η εφαρμογή τέτοιου πεδίου σε ανθρώπινο οργανισμό θα τον έθετε σε κίνδυνο. Με προσαρμογή της έντασης και της συχνότητας σε επίπεδα που θεωρούνται ασφαλή για τον ασθενή, το μαγνητικό υλικό δεν αντιδρά με τον επιθυμητό τρόπο και έτσι η απαιτούμενη θερμοκρασία δεν προσεγγίζεται.

Πρόσφατα, οι έρευνες έχουν στραφεί σε υπερθερμία με τη χρήση μαγνητικού υγρού (ferrofluid), όπου το μαγνητικό υλικό απαρτίζεται από υπερπαραμαγνητικά νανοσωματίδια, έτσι ώστε απουσία μαγνητικού πεδίου, η μαγνήτιση να μηδενίζεται χάρη στην περιβάλλουσα θερμική ενέργεια. [107]

2.5.3.4. Ενίσχυση αντίθεσης μαγνητικής τομογραφίας (MRI) (in vivo)

Η μαγνητική τομογραφία βασίζεται στο γεγονός ότι κάθε πρωτόνιο των ιστών έχει μια πολύ μικρή μαγνητική ροπή η οποία, παρουσία έντονου μαγνητικού πεδίου και δεδομένου του υπερβολικά μεγάλου αριθμού πρωτονίων, είναι μετρήσιμη. Συγκεκριμένα, το πεδίο του τομογράφου εξαναγκάζει τα άτομα υδρογόνου των ιστών να ευθυγραμμιστούν με τον κατακόρυφο άξονα του σώματος. Ένας παλμός στη συχνότητα των ραδιοκυμάτων εκπέμπεται από το μηχάνημα και διαταράσσει το ομοιογενές μαγνητικό πεδίο που έχει δημιουργηθεί. Με την άρση του παλμού οι πυρήνες των ατόμων υδρογόνου επιστρέφουν στην προηγούμενη κατάσταση εκπέμποντας μια μικρή ποσότητα ενέργειας, η οποία καταγράφεται και απεικονίζεται στον Η/Υ.

Τα μαγνητικά νανοσωματίδια χρησιμεύουν στην ελάττωση του χρόνου χαλάρωσης (ο χρόνος που απαιτείται για να επανέλθουν οι πυρήνες των ατόμων υδρογόνου στην κατακόρυφη κατεύθυνση που επιβάλλει το πεδίο, μετά τον παλμό). Κάθε ιστός απορροφά διαφορετική ποσότητα νανοσωματιδίων, προκαλώντας έτσι πιο έντονη αντίθεση μεταξύ διαφορετικών ιστών στην τελική απεικόνιση. Ο αναλυτικός μηχανισμός ξεφεύγει από τους στόχους της συγκεκριμένης εργασίας. [107]

2.5.4. Θεωρία μαγνητικού διαχωρισμού

Το ζήτημα του μαγνητικού διαχωρισμού από υγρό μέσο είναι ένα υπαρκτό πρόβλημα σε διάφορες βιομηχανίες, μία εκ των οποίων είναι και η βιομηχανία παραγωγής βιομάζας από μικροφύκη.

Το ενδιαφέρον για μεθόδους με χαμηλό κόστος και υψηλή απόδοση έχει αναζωπυρωθεί, καθώς γίνεται μία προσπάθεια στροφής σε πηγές ενέργειας οι οποίες είναι είτε ανανεώσιμες, όπως η αιολική, είτε καλλιεργήσιμες, όπως τα βιο-καύσιμα που προέρχονται από μικροφύκη. Η παραγωγή όμως μεγάλων ποσοτήτων προϋποθέτει η πρώτη ύλη να βρίσκεται σε αρκετά συμπυκνωμένη μορφή. Η συγκομιδή των μικροαλγών που παράγονται αποτελεί πρόκληση, καθώς το μέγεθος τους είναι μικρό, ενώ η πυκνότητά τους μέσα στο υγρό στο οποίο καλλιεργούνται είναι σχετικά μικρή, με αποτέλεσμα να υπάρχει ανάγκη για αφαίρεση μεγάλων ποσοτήτων νερού, προκειμένου να ληφθεί μία επαρκής ποσότητα βιομάζας. [111]

Στις μεθόδους μαγνητικού διαχωρισμού, το πρόβλημα εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων που υπόκεινται στο μαγνητικό πεδίο. Τα μικρά σωματίδια αποδεικνύεται θεωρητικά και πειραματικά ότι έλκονται με ασθενή τρόπο από το πεδίο, [112] με αποτέλεσμα η μαγνητική έλξη να μην αρκεί για να υπερνικηθούν οι υπόλοιπες δυνάμεις που ασκούνται στα σωματίδια, όπως οι δυνάμεις Van der Waals ή η τυχαία κίνηση Brown. [113] Τα παραπάνω προβλήματα πηγάζουν από το μικρό μέγεθος των σωματιδίων, με αποτέλεσμα την αύξηση της επίδρασης του μαγνητικού πεδίου και την ταυτόχρονη μείωση των φαινομένων που εξαρτώνται από το μέγεθος. [112–114]

Ο μαγνητικός διαχωρισμός επιτυγχάνεται με τη βοήθεια νανοσωματιδίων μαγνητίτη με ή χωρίς επικάλυψη. Οι συνηθέστερες επικαλύψεις των νανοσωματιδίων είναι με χυτοζάνη ή διοξείδιο του πυριτίου. Οι επικαλύψεις αυτές βοηθούν στη μικροδιασπορά των νανοσωματιδίων στο μείγμα και την ευκολότερη προσκόλλησή τους πάνω στα κύτταρα. [111] Το μειονέκτημα των επικαλλυμένων νανοσωματιδίων είναι η δραματική αύξηση του χρόνου συγκομιδής τους, καθώς με την επικάλυψη αυξάνεται το μέγεθος του σωματιδίου, αλλά όχι το μέγεθος του μαγνητικού πυρήνα, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεγαλύτερη αντίσταση από το υγρό μέσο. Επίσης, η ίδια επικάλυψη που επιτρέπει τη μικροδιασπορά των σωματιδίων δρα αρνητικά ως προς τη συσσωμάτωσή τους, καθώς το επιφανειακό φορτίο που αποκτούν τα νανοσωματίδια τα κάνει να απωθούνται μεταξύ τους. [114]

Για μεγέθη μικρότερα των 40nm ο μαγνητικός διαχωρισμός θεωρείται ότι δεν είναι πρακτικός, λόγω των δυνάμεων που ασκούνται στο σωματίδιο [112], η χρήση ισχυρά μαγνητικών υλικών καθώς και πεδίων με πολύ υψηλή βάθμωση βελτιώνουν τις αποδόσεις του διαχωρισμού, ακόμα και για τέτοια μεγέθη.

Η συχνότερη μορφή διαχωρισμού είναι με τη χρήση πεδίων υψηλής βάθμωσης (high gradient magnetic field) τα οποία διαχωρίζουν τα νανοσωματίδια, μαζί με τα κύτταρα στα οποία έχουν προσκολληθεί,

μέσω της μεγάλης μαγνητικής έλξης που ασκούν σε αυτά. Ο διαχωρισμός συνήθως γίνεται σε μικρές ταχύτητες ροής, περί το 1ml/min.

Γενικότερα οι μαγνητικοί διαχωριστές αποτελούνται από δύο υποκατηγορίες [114]:

A) Μαγνητικοί διαχωριστές υψηλής βάθμωσης (High-gradient magnetic separators- HGMS)

$\nabla B > 1000 T/m$

- + Μπορούν να διαχωρίσουν σωματίδια από μερικά μικρά έως μερικά νανόμετρα σε μέγεθος
- Υψηλό κόστος εγκατάστασης
- Παράγουν ανομοιογενές πεδίο

B) Μαγνητικοί διαχωριστές χαμηλής βάθμωσης (Low-gradient magnetic separators-LGMS)

$\nabla B < 100 \, T/m$

- + Το εξωτερικώς επιβαλλόμενο πεδίο προάγει την συσσωμάτωση των μαγνητικών σωματιδίων και στη συνέχεια ελκύει τα συσσωματώματα, στα οποία το πεδίο έχει πολύ μεγαλύτερη επίδραση, λόγω μεγέθους.
- Στα κολλοειδή διαλύματα στα οποία τα νανοσωματίδια είναι καλά διεσπαρμένα, λόγω ηλεκτροστατικών δυνάμεων το αρχικό στάδιο της συσσωμάτωσης δεν επιτυγχάνεται με αποτέλεσμα η τελική απόδοση να είναι πολύ χαμηλότερη από την προσδοκώμενη.

Οι HGMS διαχωριστές δίνουν καλύτερα αποτελέσματα για χαμηλές συγκεντρώσεις μαγνητικών νανοσωματιδίων, ενώ οι LGMS είναι οικονομικότεροι όταν υπάρχει αρκετά μεγάλος όγκος μαγνητικών νανοσωματιδίων ώστε να δημιουργηθούν μεγάλα συσσωματώματα, ώστε να μπορούν να τα διαχωρίσουν από το υγρό μέσο. [116] Γενικότερα ισχύει ότι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων δίνουν υψηλότερες αποδόσεις διαχωρισμού, καθώς παρουσιάζεται το φαινόμενο της συνεργατικής μαγνητοφόρησης, κατά το οποίο όταν προσανατολίζονται τα μαγνητικά δίπολα των νανοσωματιδίων ως προς μία κατεύθυνση, τότε τα ίδια αυτά δίπολα δρουν και ως αναμεταδότες του πεδίου, τραβώντας τα κοντινά τους νανοσωματίδια προς την κατεύθυνση του πεδίου.

2.5.4.1. Δυνάμεις που ασκούνται

Τελικά το πρόβλημα του μαγνητικού διαχωρισμού καταλήγει να είναι ένα πρόβλημα ισορροπίας δυνάμεων, με διάφορους παράγοντες να ευνοούν τη μία ή την άλλη μεριά της ευαίσθητης αυτής ισορροπίας. Παρακάτω θα αναλυθούν όλες οι δυνάμεις που επιδρούν πάνω σε ένα σωματίδιο το οποίο κινείται εντός υγρού μέσου και θα γίνει και επιλογή των δυνάμεων που επιδρούν σε μεγαλύτερο βαθμό, ή θα αγνοηθούν άλλες προκειμένου να απλοποιηθεί το πρόβλημα. [112]

Βαρυτική έλξη (gravitational force)

Η βαρυτική έλξη που ασκείται σε ένα σωματίδιο είναι:

$$F_g = \rho_p V g \tag{2.5.8}$$

Όπου:

ρ_p: η πυκνότητα σωματιδίου,

V: ο όγκος του σωματιδίου,

g: η επιτάχυνση της βαρύτητας.

<u>Άνωση (buoyant force)</u>

Η άνωση που ασκείται από το ρευστό στο σωματίδιο είναι:

$$F_b = -\rho_l V g \tag{2.5.9}$$

Όπου V και g, είναι τα ίδια με παραπάνω, ενώ ρ_i : είναι η πυκνότητα του ρευστού.

Στην περίπτωση της παρούσας εργασίας οι δυνάμεις αυτές θα αγνοηθούν διότι ασκούνται κάθετα στην κίνηση του ρευστού, άρα δεν επηρεάζουν τον άξονα ο οποίος επηρεάζει την κίνηση του σωματιδίου. Η πυκνότητα του μαγνητίτη είναι 5g/cm³ ενώ η πυκνότητα του νερού είναι 1g/cm³, δηλαδή η F_g=5F_b.

<u>Αντίσταση (Drag force)</u>

Η αντίσταση στην κίνηση σε ρευστό μέσο προκύπτει από την επίλυση της εξίσωσης Navier-Stokes για σφαιρικά σωματίδια και μικρούς αριθμούς Reynolds. [112, 114, 117]

$$F_D = 6\pi\mu r\nu \tag{2.5.10}$$

Όπου η: το ιξώδες του ρευστού, r: η ακτίνα του σωματιδίου και v: η σχετική ταχύτητα του ρευστού ως προς το σωματίδιο. Η F_D ασκείται στο σωματίδιο ως δύναμη αντίστασης του υγρού στην κίνηση του σωματιδίου.

<u>Μαγνητική δύναμη (Magnetic force)</u>

Η μαγνητική έλξη που αντιλαμβάνεται ένα σφαιρικό σωματίδιο σε ένα εξωτερικώς επιβαλλόμενο πεδίο δίνεται από την παρακάτω εξίσωση [117]:

$$\overline{F_m} = (\overline{m} \cdot \nabla)\overline{B} \tag{2.5.11}$$

$$\vec{m} = V\overline{M} \tag{2.5.12}$$

Όπου F_m: η μαγνητική δύναμη που δέχεται το σωματίδιο, B: το εξωτερικώς επιβαλλόμενο πεδίο, m: η μαγνητική ροπή, V: ο όγκος του σωματιδίου και M: η μαγνήτιση του σωματιδίου.

Από έρευνα στη βιβλιογραφία [118] αποδεικνύεται ότι για μαγνητίτη ισχύει:
$$\vec{M} = \frac{3\chi}{\chi_{(\vec{H})} + 3} \vec{H}$$
(2.5.13)

Άρα:

$$\vec{m} = \frac{3\chi}{\chi_{(\vec{H})} + 3} V \vec{H}$$
(2.5.14)

Συνεπώς η μαγνητική δύναμη, λαμβάνοντας υπόψη ότι *B*=μ₀*H* όπως αναφέρθηκε παραπάνω, θα είναι:

$$\overrightarrow{F_m} = V \frac{\mu_0 \chi_{(\overrightarrow{H})}}{1 + \frac{\chi_{(\overrightarrow{H})}}{3}} \overrightarrow{H} \nabla \overrightarrow{H}$$
(2.5.15)

Η αλλιώς στην τελική της μορφή για σωματίδια σφαιρικού όγκου:

$$\overline{F_m} = \frac{4}{3}\pi\alpha^3 \frac{\mu_0\chi_{(\overline{H})}}{1+\frac{\chi_{(\overline{H})}}{3}} \overrightarrow{H}\nabla\overrightarrow{H}$$
(2.5.16)

Όπου α: η ακτίνα του σωματιδίου και $\chi_{(\vec{H})}$: η μαγνητική επιδεκτικότητα του σωματιδίου.

Η μαγνητική επιδεκτικότητα $\chi_{(\vec{H})}$ έχει μία συμπεριφορά όπου αυξάνει σταδιακά ανάλογα με το πεδίο στο οποίο υποβάλλεται μέχρι να φτάσει την τιμή κορεσμού της για το εκάστοτε υλικό.

Δυνάμεις Van der Waals

Οι δυνάμεις Van der Waals αποτελούν σημαντικό στοιχείο για την συσσωμάτωση νανοσωματιδίων και για τη σύσταση αιωρημάτων σε υγρό μέσο.

Η δύναμη Van der Waals για δύο σφαίρες που τις χωρίζει απόσταση *l* μπορεί να υπολογιστεί από την φόρμουλα του Hamaker [112][120]:

$$\overline{F_w} = -\frac{A(16\lambda^3)}{3(\alpha_1 + \alpha_2)} \times \left[\frac{S}{(1 + \lambda)^2 (S^2 - 4)^2 (S^2(1 + \lambda)^2 - 4(1 - \lambda)^2)^2} \right] \overline{e_r}$$
(2.5.17)

Όπου:

α1,2:ακτίνες αλληλεπιδρώντων σωματιδίων,

Α: σταθερά Hamaker,

 $\lambda = \alpha 2 / \alpha_1$

και
$$S = \frac{2(l+a_1+a_2)}{a_1+a_2}$$
,

με l: απόσταση μεταξύ των σωματιδίων.

Η σταθερά Hamaker για σφαίρες μαγνητίτη που αλληλοεπιδρούν σε μακροσκοπική φάση (νερό) υπολογίζεται ως:

$$A = \frac{3}{4} KT \left(\frac{\varepsilon_1 + \varepsilon_2}{\varepsilon_1 - \varepsilon_2}\right)^2 + \frac{2h\nu_e}{8\sqrt{2}} \times \frac{\left(n_1^2 - n_2^2\right)^2}{\left(n_1^2 + n_2^2\right) \cdot \left(2\sqrt{n_1^2 + n_2^2}\right)}$$
(2.5.18)

Όπου:

ει: διηλεκτρική σταθερά μαγνητίτη,

ε2: διηλεκτρική σταθερά νερού,

η1: δείκτης διάθλασης νερού,

n2: δείκτης διάθλασης μαγνητίτη,

h: σταθερά Planck,

ν_e: συχνότητα απορρόφησης ηλεκτρονίων στη UV περιοχή.

Οι δυνάμεις Van der Waals είναι γενικά ασθενείς και επικρατούν επί των άλλων δυνάμεων σε ένα σύστημα μόνο όταν τα σωματίδια έχουν έρθει πολύ κοντά. Σε οποιαδήποτε περίπτωση, οι αλληλεπιδράσεις Van der Waals ανάμεσα στα σωματίδια στην περίπτωση της παρούσης εργασίας θα θεωρούνται αμελητέες, καθώς:

α) Οι δυνάμεις που θα ασκούνται στα σωματίδια από το μαγνητικό πεδίο είναι πολύ μεγαλύτερες

β) Τα σωματίδια θα είναι επικαλυμμένα, καθιστώντας το μέγεθός τους μεγαλύτερο από το εύρος στο οποίο οι δυνάμεις Van der Waals αρχίζουν να αποτελούν σημαντικό παράγοντα απόκλισης στους υπολογισμούς.

Ηλεκτροστατικές δυνάμεις

Οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις ανάμεσα σε δύο σωματίδια θα αγνοηθούν κατά τη διάρκεια των υπολογισμών για τον ίδιο λόγω με τις δυνάμεις Van der Waals, καθώς για τα σχετικά μεγάλα επικαλυμμένα σωματίδια μαγνητίτη δεν θα αποτελούν αρκετά μεγάλο παράγοντα ώστε να αξίζουν τον υπολογισμό.

Αλληλεπίδραση μαγνητικών δίπολων

Η αλληλεπίδραση μαγνητικών δίπολων είναι η άμεση αλληλεπίδραση ανάμεσα σε δύο μαγνητικά δίπολα. Το εύρος μαγνητικής αλληλεπίδρασης νανοσωματιδίων μαγνητίτη θα είναι αντίστοιχο με τις δύο παραπάνω περιπτώσεις αλληλεπίδρασης μεταξύ σωματιδίων. Δεν θα αποτελέσει μέρος των υπολογισμών για τις ανάγκες τις εργασίας, αλλά η επίδρασή της θα είναι θετική ως προς το τελικό αποτέλεσμα, αφού θα προκαλεί συσσωμάτωση, άρα ταχύτερη συντονισμένη κίνηση των νανοσωματιδίων, με αποτέλεσμα μεγαλύτερη απόδοση του συστήματος διαχωρισμού, αφού θα αυξάνεται η φαινόμενη μαγνητική δύναμη. [121] Αναμένεται μία απόκλιση ανάμεσα στις θεωρητικές και τις πειραματικές τιμές εξαιτίας αυτής της αλληλεπίδρασης, καθώς η δημιουργία συσσωματωμάτων λόγω μαγνητικού πεδίου μεγαλώνει την φαινόμενη ακτίνα, άρα και την επίδραση του πεδίου.

Όπως αναλύθηκε παραπάνω, όλες οι διαμοριακές δυνάμεις, θα θεωρηθούν αμελητέες για τις ανάγκες της εργασίας, ειδικά αφού φαίνεται ότι η μαγνητική αλληλεπίδραση θα είναι μεγαλύτερη από τις άλλες δύο και θα επιδρά γενικά θετικά ως προς το επιθυμητό αποτέλεσμα. [112] Απόδειξη για την αμελητέα επίδραση των διαμοριακών δυνάμεων μπορεί να βρεθεί στη δημοσίευση των Hinda Ezzaier και λοιπών, [113] όπου αναφέρεται ότι για μέτριας έντασης πεδία από 4.8 έως και 13.5 kA/m οι λοιπές διαμοριακές δυνάμεις είναι αμελητέες. Παρακάτω θα αποδειχθεί ότι οι τιμές πεδίου στην παρούσα έρευνα ξεπερνάνε αυτές τις τιμές, οπότε οι δυνάμεις αυτές δεν μπορούν να επηρεάσουν την παρούσα έρευνα.

Brownian motion

Η κίνηση Brown είναι μία τυχαία κίνηση που προκαλείται σε σωματίδια μεγεθών υπό του μικρού από τις συγκρούσεις των σωματιδίων με τα μόρια του ρευστού στο οποίο βρίσκονται, στη συγκεκριμένη περίπτωση του νερού. Η κίνηση Brown εξαρτάται από την απόλυτη θερμοκρασία και από το μέγεθος των σωματιδίων.

Μία απλή εξήγηση της κίνησης Brown είναι ότι με τη σύγκρουση των μορίων πάνω στα σωματίδια γίνεται μία "μεταφορά" ορμής από τα μόρια στο σωματίδιο αναγκάζοντάς το να κινηθεί. Όταν το σωματίδιο είναι πολύ μεγαλύτερο από τα μόρια, τότε συγκρούεται ταυτόχρονα με τα μόρια του ρευστού σε όλες τις πλευρές του, δίνοντας ένα άθροισμα δυνάμεων ίσο με το μηδέν, με αποτέλεσμα φαινομενικά να μην κινείται και να φαίνεται σαν να μην επηρεάζεται από την κίνηση Brown. Όταν το σωματίδιο έχει συγκρίσιμο μέγεθος με τα μόρια του ρευστού, τότε δεν είναι αρκετά μεγάλο ώστε να πέσουν πάνω του αρκετά μόρια ταυτόχρονα, ώστε να προκληθεί ένας στατιστικός μηδενισμός της δύναμης που θα δεχθεί, με αποτέλεσμα το σωματίδιο να κάνει τυχαίες κινήσεις στο χώρο. Το πρόβλημα της κίνησης Brown δεν μπορεί να λυθεί για κάθε σωματίδιο ξεχωριστά και συνήθως η επίλυση τέτοιων προβλημάτων γίνεται με στατιστικό τρόπο.

Τα σωματίδια που χρησιμοποιούνται σε αυτή την εργασία έχουν ένα μέγεθος το οποίο δεν μπορεί να επηρεαστεί από την κίνηση Brown. Η κίνηση Brown είναι ένας από τους σημαντικότερους λόγους που ο διαχωρισμός μαγνητικών σωματιδίων μικρότερων από 40 nm δεν είναι πρακτικός.

Στο σημείο αυτό εισάγεται ο αδιάστατος αριθμός Peclet. Ο οποίος χρησιμεύει ώστε να χαρακτηριστεί η εξάρτηση της κίνησης των νανοσωματιδίων από την διάχυση λόγω της κίνησης Brown. [112–114]

<u>Αριθμός Peclet</u>

Ο αριθμός Peclet είναι αδιάστατος και δίνει την επίδραση της κίνησης Brown σε ένα σωματίδιο που βρίσκεται μέσα σε ένα ρευστό. Η έκφραση του αριθμού αυτού δίνεται από την ταχύτητα του σωματιδίου λόγω μαγνητικής δύναμης U_{mag}, σε συνδυασμό με το συντελεστή διάχυσης Brown D_n:

$$Pe = \frac{U_{mag}d_{pt}}{D_n} \tag{2.5.19}$$

Όπου:

$$U_{mag} = \frac{2r_{pt}^2}{9\mu} (M\nabla)B , d_{pl} = \deltaιάμετρος σωματιδίου και Dn = \frac{K_b T}{6\pi\mu r_{pt}} [122]$$

Αντικαθιστώντας τις εκφράσεις στην εξίσωση προκύπτει τελικά:

$$Pe = \frac{6\pi\mu r_{pt}{}^{2}U_{mag}}{K_{b}T}$$
(2.5.20)

Όπου KbT: Η σταθερά Boltzmann πολλαπλασιασμένη επί την απόλυτη τιμή της θερμοκρασίας.

Ο αριθμός Peclet για αποτελέσματα πολύ μεγαλύτερα του ενός σημαίνει ότι η κίνηση του σωματιδίου εξαρτάται από τη μαγνητική δύναμη που επιβάλλει το πεδίο και όχι από την διάχυση λόγω κίνησης Brown. Για αριθμούς κάτω από 1 κυριαρχεί η τυχαία θερμική κίνηση Brown, ενώ για αριθμούς κοντά στο 1 συνυπάρχουν οι δύο δυνάμεις με αποτέλεσμα να πρέπει να υπολογιστεί ακριβώς η επίδρασή τους στο σωματίδιο. Στην περίπτωση αυτής της εργασίας η κίνηση Brown, κατόπιν υπολογισμών με βάση τον αριθμό Peclet αποδεικνύεται ότι είναι αμελητέα σε σχέση με τη κίνηση που προκαλεί το μαγνητικό πεδίο, οπότε δεν θα χρειαστεί υπολογισμός της στο πειραματικό κομμάτι.

Πιθανοί παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν το διαχωρισμό στο στάδιο του διαχωρισμού κυττάρων από υγρό μέσο είναι η χημική κροκίδωση, ενώ για όλες τις περιπτώσεις διαχωρισμού που αναλύονται στο πειραματικό μέρος παράγοντας που επηρεάζει θετικά είναι η συσσωμάτωση λόγω μαγνητοφόρησης. Για τις περιπτώσεις σωματιδίων μαγνητίτη η μαγνητική κροκίδωση έχει ενεργό ρόλο στο διαχωρισμό των σωματιδίων.

<u>Κροκίδωση</u>

Κροκίδωση ονομάζεται η διαδικασία κατά την οποία γίνεται συμπύκνωση των διαχωριζόμενων σωματιδίων σε μεγαλύτερες μονάδες, τις επονομαζόμενες κροκίδες. Αυτή η διαδικασία έχει ως στόχο την επαύξηση κάποιων ιδιοτήτων της κροκίδας, όπως αυξημένο ειδικό βάρος ή αυξημένη μαγνήτιση, με αποτέλεσμα να διευκολύνεται ο διαχωρισμός της από το περιβάλλον μέσο. Η κροκίδωση μπορεί να εμφανιστεί αυτόματα, λόγω ισχυρών διαμοριακών δυνάμεων, όπως σε μη επικαλυμμένα νανοσωματίδια, ή λόγω εξωτερικών παραγόντων, όπως μαγνητικό πεδίο, στην περίπτωση της μαγνητικής κροκίδωσης και χημικών ενώσεων, όπως στην περίπτωση της χημικής κροκίδωσης.

Ξεκινώντας με την ανάλυση της μαγνητικής κροκίδωσης, είναι η περίπτωση κατά την οποία ισχυρά μαγνητικά ή υπερπαραμαγνητικά υλικά δέχονται τις επιδράσεις των κολλοειδών διαμοριακών δυνάμεων που αναφέρθηκαν παραπάνω οι οποίες τα μετατρέπουν σε ένα συσσωμάτωμα, γνωστό ως κροκίδα, αφού πρώτα τα σωματίδια έρθουν αρκετά κοντά λόγω του μαγνητικού πεδίου. [112] Η δημιουργία κροκίδας δεν είναι πάντα αυτόματη. Όπως προαναφέρθηκε, οι δυνάμεις αυτές δεν έχουν από μόνες τους τη δυνατότητα να ξεπεράσουν το ενεργειακό φράγμα που έχει επιβληθεί στα σωματίδια μέσω είτε κάποιου αντιδραστηρίου διασποράς, όπως το ολεϊκό οξύ στην περίπτωση των καθαρών

νανοσωματιδίων μαγνητίτη, είτε των επικαλύψεων των νανοσωματιδίων, που τα κάνουν να αναπτύσσουν απωστικές δυνάμεις. Η δημιουργία μαγνητικής κροκίδας συμβαίνει μόνο κατόπιν επιβολής εξωτερικού μαγνητικού πεδίου ώστε να αναγκαστούν τα σωματίδια να ξεπεράσουν τις απωστικές δυνάμεις και να έρθουν σε επαφή. Η περίπτωση της μαγνητικής κροκίδωσης δε θα αποτελέσει παράγοντα για την περίπτωση των αλγών, καθώς τα σωματίδια στο εσωτερικό τους θα χωρίζονται από το υλικό των κυττάρων και δεν θα τους επιτρέπεται τέτοιου είδους κροκίδωση. Η επίδραση της μαγνητικής κροκίδωσης στα naked και στα επικαλυμμένα νανοσωματίδια θα γίνει αντιληπτή με την απομάκρυνση των νανοσωματιδίων από το υγρό μέσο με μικρότερη μαγνητική δύναμη από την υπολογισμένη, άρα έχει ένα ενεργειακά ωφέλιμο αποτέλεσμα. Αναμένονται διαφορές αυτές θα εξηγηθούν με τη χρήση ενός παράγοντα κροκίδωσης και θα ποσοτικοποιηθεί η διαφορά που προκαλεί μία ηλεκτροστατική επικάλυψη στην επιφάνεια σωματιδίων μαγνητίτη. [115–121]

Ως χημική κροκίδωση χαρακτηρίζεται η περίπτωση όπου γίνεται χρήση κάποιας χημικής ένωσης ή συστατικού προκειμένου να επιτευχθεί δημιουργία κροκίδων. Στην περίπτωση του μαγνητικού διαχωρισμού κυττάρων η κροκίδωση των μαγνητικών νανοσωματιδίων δεν είναι εφικτή καθώς βρίσκονται στο εσωτερικό αυτών, με αποτέλεσμα να πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένας παράγοντας που θα προκαλέσει την κροκίδωση των ίδιων των κυττάρων, τα οποία θα περιέχουν το μαγνητικό υλικό.

Τα κροκιδωτικά που χρησιμοποιούνται για αυτή τη διαδικασία πρέπει να είναι συμβατά με τα κύτταρα, δηλαδή να μην είναι τοξικά, ώστε αυτά να μην πεθάνουν κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού. Η επιφάνεια των αλγών είναι αρνητικά φορτισμένη σε ουδέτερο pH, [122] η φόρτιση αυτή είναι ο λόγος για τον οποίο τα κύτταρα δεν συμπυκνώνονται από μόνα τους όταν βρίσκονται σε υγρό μέσο καθώς και η αιτία της καλής διασποράς τους σε αυτό. [123] Ο στόχος των κροκιδωτικών είναι η εξουδετέρωση του επιφανειακού φορτίου με αποτέλεσμα όταν τα κύτταρα βρίσκονται υπό την επίδραση εξωτερικώς επιβαλλόμενου πεδίου να έρχονται σε επαφή καθώς τα νανοσωματίδια στο εσωτερικό τους έλκονται από το μαγνητικό πεδίο. Η εξουδετέρωση του αρνητικού φορτίου προϋποθέτει τη χρήση κροκιδωτικών που είναι εγγενώς θετικά φορτισμένα. [124]

Με βάση τα παραπάνω, οι δύο συχνότερες επιλογές κροκιδωτικών για μικροφύκη που πληρούν τις προϋποθέσεις, φιλικά προς τα κύτταρα και θετικά φορτισμένα, είναι το κατιονικό άμυλο [123,124] και η χυτοζάνη. [123]

Το άμυλο είναι ένας υδρογονάνθρακας που αποτελείται από επαναλαμβανόμενα μόρια γλυκόζης ως βασικό μονομερές. Το κατιονικό άμυλο είναι τροποποιημένο άμυλο με τέτοιο τρόπο ώστε να προστίθενται θετικά φορτισμένες αμινοομάδες στη βασική αλυσίδα και να αποκτά ένα θετικό φορτίο. [125] Το κατιονικό άμυλο θεωρείται ένα πολύ καλό κροκιδωτικό για μικροφύκη, και συγκεκριμένα για το γένος scenedesmus, καλύτερο από τη χυτοζάνη, και έχει χαμηλό κόστος. Η προσθήκη του συνήθως γίνεται σε αναλογία 0.03% του βάρους της βιομάζας των αλγών.

65

Η χυτοζάνη είναι ένας πολυσακχαρίτης οποίος παράγεται από τη χιτίνη που βρίσκεται στο κέλυφος της γαρίδας και άλλων αρθρόποδων. Η χυτοζάνη είναι βιοσυμβατή και δεν μολύνει τη βιομάζα των κυττάρων. [125] Η χυτοζάνη περιέχει θετικά φορτισμένες αμινοομάδες στο νερό, [123] οι οποίες βοηθάνε στην εξουδετέρωση του επιφανειακού φορτίου των κυττάρων, όπως και το άμυλο, με αποτέλεσμα την κροκίδωση των αλγών.

Με τη βοήθεια των παραπάνω κροκιδωτικών μέσων μπορεί να επιτευχθεί κροκίδωση των κυττάρων υποβοηθούμενη από το μαγνητικό πεδίο, με αποτέλεσμα εάν δημιουργηθούν αρκετά μεγάλες κροκίδες να αρχίσει να επιδρά με θετικό τρόπο στο διαχωρισμό ακόμα και η δύναμη της βαρύτητας πάνω σε αυτές.

2.5.4.2. Συνεργατική Μαγνητοφόρηση

Μαγνητοφόρηση αποκαλείται η κίνηση σωματιδίων προς το σημείο όπου έχει μεγαλύτερη βάθμωση το πεδίο. Η επίδραση μαγνητικού πεδίου οδηγεί στη δημιουργία αναστρέψιμης συσσωμάτωσης σωματιδίων τα οποία αποκτούν μια μαγνητοφορητική κίνηση συμπαρασέρνοντας τα σωματίδια που βρίσκονται στη διαδρομή που θα ακολουθήσουν, μεγαλώνοντας το συσσωμάτωμα, άρα και τη φαινόμενη μαγνητική δύναμη που δέχονται. [114] Αυτός ο μηχανισμός επιτρέπει τη συσσώρευση των μαγνητικών στοιχείων, άρα και την έλξη τους από πεδία μικρότερης δυναμικότητας από ότι θα γρειαζόταν για κάθε σωματίδιο ξεγωριστά. Η παραπάνω συμπεριφορά ονομάζεται συνεργατική μαγνητοφόρηση (cooperative magnetophoresis). [114] Η κύρια διαφορά της με την κροκίδωση είναι ότι οι δομές που δημιουργούνται συνήθως δεν είναι σφαιρικά συσσωματώματα αλλά βελονοειδείς μορφολογίες. Προκειμένου να δημιουργηθεί ένας πυρήνας νανοσωματιδίων ικανός να μεγαλώσει μέσω μαγνητοφορητικής κίνησης θα πρέπει αρχικά να υπάρχει μεγάλη βάθμωση πεδίου ώστε να συμπυκνωθούν τα πρώτα νανοσωματίδια. Ένας παράγοντας που επηρεάζει αυτό το φαινόμενο είναι η κολλοειδής συμπεριφορά του διαλύματος, δηλαδή εάν τα σωματίδια, είτε πρόκειται για απλό μαγνητίτη, είτε για μαγνητικά ενισχυμένα μικροφύκη, έχουν ισχυρές απωστικές δυνάμεις μεταξύ τους. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η συνεργατική μαγνητοφόρηση συνδυάζεται πολύ καλά με τη χρήση κροκιδωτικών ή με την χρήση διαλύματος με μεγαλύτερη συγκέντρωση σωματιδίων. [114]

Σε χαμηλές συγκεντρώσεις χωρίς κροκιδωτικό η χρήση μαγνητικών πεδίων υψηλής βάθμωσης (HGMS) είναι μονόδρομος, ενώ για υψηλή συγκέντρωση οι συνθήκες είναι αρκετά ευνοϊκές ώστε να λάβει χώρα διαχωρισμός με μαγνητικά πεδία χαμηλής βάθμωσης (LGMS). [122]

Η ταχύτητα του διαχωρισμού, στην περίπτωση των μαγνητικών σωματιδίων επηρεάζεται και από το σχήμα τους, καθώς τα σωματίδια με σχήμα ράβδου έχουν μεγαλύτερη ταχύτητα λόγω ανισοτροπίας σχήματος και σχηματίζουν μεγαλύτερα συσσωματώματα, αυξάνοντας έτσι την ταχύτητα διαχωρισμού [126].

2.6. Ηλεκτροδιάτρηση

2.6.1. Εισαγωγή

Κάθε κύτταρο του ανθρώπινου σώματος περιβάλλεται από την πλασματική του μεμβράνη. Η μεμβράνη αποτελείται από ένα διπλό στρώμα λιπιδίων, πάχους περίπου 5nm. Η σύστασή της είναι κάτι ανάμεσα σε ζελέ και υγρό και ο ρόλος της είναι να απομονώνει και να προστατεύει το εσωτερικό του κυττάρου από οτιδήποτε υπάρχει στον περιβάλλοντα χώρο. Στο εσωτερικό του στρώματος των λιπιδίων υπάρχουν ενσωματωμένες διάφορες πρωτεΐνες, που λειτουργούν ως κανάλια και αντλίες και επιτρέπουν την είσοδο συγκεκριμένων μορίων εντός της μεμβράνης. Χωρίς αυτές τις πρωτεΐνες, η μεμβράνη θα ήταν ένα αδιαπέραστο φράγμα.

Ηλεκτρικά, η κυτταρική μεμβράνη μπορεί να αντιμετωπιστεί ως ένα λεπτό μονωτικό φύλλο, περιτριγυρισμένο κι από τις δύο μεριές από υδατικό διάλυμα ηλεκτρολυτών. Όταν εκτίθεται σε ισχυρό ηλεκτρικό πεδίο, η μεμβράνη παθαίνει ηλεκτρική κατάρρευση, γεγονός που την καθιστά διαπερατή από μόρια που βρίσκονται στον περιβάλλοντα χώρο και δεν θα μπορούσαν να την διαπεράσουν σε διαφορετική περίπτωση. Η διαδικασία με την οποία καθίσταται η κυτταρική μεμβράνη διαπερατή, ονομάζεται ηλεκτροδιάτρηση.

Οι πρώτες σχετικές δημοσιεύσεις την δεκαετία του '60, ανέφεραν ότι η εφαρμογή ενός εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου μπορεί να προκαλέσει τη δημιουργία υψηλού δυναμικού στους δύο πόλους του κυττάρου. Τότε, ήταν ήδη γνωστό, ότι ηλεκτρικό πεδίο υψηλής έντασης μπορούσε να προκαλέσει καταστροφή του κυττάρου.

Κατά την επόμενη δεκαετία, οι σχετικές μελέτες εστίασαν στον προσδιορισμό της κρίσιμης τιμής του επαγόμενου δυναμικού, όπου προκαλείται διηλεκτρική κατάρρευση της μεμβράνης. Άρχισε επίσης να συζητιέται έντονα η ιδέα του σχηματισμού "μεμβρανικών πόρων" διαμέσου της μεμβρανικής αποσταθεροποίησης.

Την ίδια περίπου εποχή βρέθηκε ότι αν το πεδίο εφαρμοζόταν με τη μορφή παλμού πολύ μικρής διάρκειας, τα κύτταρα ήταν δυνατό να επανέλθουν από την ηλεκτρική κατάρρευση. Το γεγονός αυτό υποδείκνυε ότι οι ηλεκτρικά επαγόμενοι μεμβρανικοί "πόροι" ήταν δυνατό να ξανακλείσουν και μπορούσαν, άρα, να δημιουργηθούν χωρίς να προκαλέσουν μόνιμη βλάβη στο κύτταρο.

Στις αρχές της δεκαετίας του '80, άρχισε να εμφανίζεται πληθώρα αναφορών, που ανέφεραν πως πολλά μικρά μόρια μπορούσαν να περάσουν μέσα από αυτούς τους ηλεκτρικά επαγόμενους "μεμβρανικούς πόρους", σε πολλά διαφορετικά είδη κυττάρων.

2.6.2. Κυτταρική Μεμβράνη

Τα κύρια συστατικά κάθε κυτταρικής μεμβράνης είναι τα λιπίδια. Τα συνηθέστερα είναι τα φωσφολιπίδια, αλλά οι τυπικές βιολογικές μεμβράνες περιέχουν και γλυκολιπίδια και χοληστερίνη. Και

οι τρεις αυτές κατηγορίες λιπιδίων αποτελούνται από δύο τμήματα, ένα υδροφιλικό και ένα υδροφοβικό. Το υδροφιλικό τμήμα είναι πιο συμπαγές και αποκαλείται το "κεφάλι" του λιπιδίου, ενώ το υδροφοβικό τμήμα είναι επιμηκυμένο και ονομάζεται "ουρά" (σχήμα 2.6.1).



Σχήμα 2.6.1: Διπλό Στρώμα Λιπιδίων[127]

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2.6.1, αυτή η δομή οδηγεί τα λιπίδια στον αυθόρμητο σχηματισμό ενός διπλού στρώματος, ενός λεπτού μονωτικού φύλλου με πάχος 2 μορίων, όπου οι υδροφοβικές ουρές έχουν κατεύθυνση "προς τα μέσα", ενώ οι υδροφιλικές κεφαλές κατευθύνονται "προς τα έξω".

Έτσι, οι κεφαλές έρχονται σε επαφή με το νερό και τα διαλυμένα ιόντα που περιτριγυρίζουν το διπλό στρώμα. Τα λιπίδια είναι ενωμένα με ασθενείς δεσμούς, με αποτέλεσμα η επαρκής αύξηση της θερμοκρασίας να οδηγεί το διπλό στρώμα σε συμπεριφορά υγρού. Σε αυτή την περίπτωση, τα λιπίδια αρχίζουν να κινούνται κατά μήκος του ενός στρώματος, ενώ σπάνια μετακινούνται στο απέναντι στρώμα.

Παρά τη σχετική αδυναμία των ασθενών δεσμών μεταξύ των λιπιδίων, η συνεργατική φύση αυτών των δεσμών καθιστά το διπλό στρώμα μια αρκετά συμπαγή δομή. Μια δομή όμως, που υπό ορισμένες συνθήκες, όπως η υψηλή θερμοκρασία και η υψηλή τάση στην επιφάνεια, μπορεί να σχηματίσει πολύ μικρούς υδάτινους πόρους πάνω στο τοίχωμα των λιπιδίων, με ακτίνα μικρότερη του ενός νανομέτρου (nm) και διάρκεια ζωής μικρότερη του ενός νανοσεκόντ (ns).

Οι πόροι που σχηματίζονται και ξανακλείνουν λόγω των θερμικών και μηχανικών διακυμάνσεων, χωρίς την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου, είναι εκ φύσεως ασταθείς. Η βελτιστοποίηση του σχηματισμού των προαναφερθέντων πόρων, γίνεται με εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου στην κυτταρική μεμβράνη. Το ηλεκτρικό πεδίο αυξάνει σημαντικά την αγωγιμότητα και επιτρεπτότητα-διαπερατότητα της μεμβράνης.

Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται ηλεκτροδιάτρηση της μεμβράνης, ενώ μερικές φορές στη διεθνή βιβλιογραφία συναντάται και ως ηλεκτροπερατότητα (electropermeabilization). [127]

Στην φωτογραφία (σχήμα 2.6.2) απεικονίζεται η χρήση ηλεκτρικών παλμών για την επιλεκτική εισαγωγή μορίων στο κύτταρο.



Σχήμα 2.6.2: Επιλεκτική εισαγωγή μορίων στο κύτταρο με χρήση ηλεκτρικών παλμών [127]

Για τον εντοπισμό της τάσης κατάρρευσης του τοιχώματος των λιπιδίων, δηλαδή της τάσης με την οποία εμφανίζονται οι υδάτινοι πόροι στη μεμβράνη, εφαρμόζονται στην επιφάνεια της μεμβράνης γραμμικά αυξανόμενα σήματα ρεύματος ή τάσης, έως ότου η μεμβράνη καταστεί διαπερατή.

Σε αντίθεση με τους στερεούς μονωτές, όπου η ηλεκτρική κατάρρευση σημαίνει και μόνιμες αλλαγές στη δομή τους, η κυτταρική μεμβράνη μετά από μικρό χρονικό διάστημα μπορεί να επανέλθει αυθόρμητα στη δομή που είχε πριν την κατάρρευση.

Για την ακρίβεια, αν η έκθεση στο ηλεκτρικό πεδίο είναι αρκετά σύντομη και η επαναφορά στην προηγούμενη κατάσταση αρκετά γρήγορη ώστε το κύτταρο να μπορέσει να επιβιώσει, η ηλεκτροδιάτρηση ονομάζεται αντιστρεπτή. Διαφορετικά ονομάζεται μη-αντιστρεπτή και αποτυγχάνει να επιφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα.

2.6.3. Βιολογικό κύτταρο σε Ηλεκτρικό Πεδίο

Κατά την πειραματική διεργασία, η διπλοστιβάδα των λιπιδίων σχηματίζεται συνήθως ανάμεσα σε δύο δοχεία, γεμισμένα με υδατικό διάλυμα ηλεκτρολύτη.

Η διπλοστιβάδα λοιπόν, είναι συνδεδεμένη σε σειρά με τους 2 ηλεκτρολύτες και η τάση κατά μήκος της δημιουργείται με την βύθιση ενός ζεύγους ηλεκτροδίων, τοποθετώντας το ένα άκρο σε κάθε υδατικό διάλυμα (Σχήμα 2.6.3Α).

Οι ηλεκτρολύτες είναι πολύ πιο αγώγιμοι από την διπλοστιβάδα, οπότε η τάση που αναπτύσσεται κατά μήκος της είναι πολύ μικρή, ελαφρώς μικρότερη από την διαφορά τάσης μεταξύ των ηλεκτροδίων.

Και φυσικά, όσο δεν έχουν σχηματιστεί πόροι, η τάση έχει την ίδια τιμή σε όλο το μήκος της διπλοστιβάδας, με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα πολύ σταθερό και ασφαλές περιβάλλον για τη μελέτη του φαινομένου της ηλεκτροδιάτρησης.

Στα βιολογικά κύτταρα, ένα ανάλογο αποτέλεσμα μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση δυο γυάλινων μικροπιπετών, που περιέχουν ηλεκτρόδια, με την μία μικροπιπέτα να σφραγίζει στεγανά ένα τμήμα της μεμβράνης και την άλλη να διαπερνά την μεμβράνη, στην απέναντι μεριά του κυττάρου (Σχήμα 2.6.3B).

Έτσι, το κύριο μέρος της τάσης εμφανίζεται στην επιπωμάτωση (σφράγιση) και κατανέμεται με ίση τιμή σε όλο το μήκος της κυτταρικής μεμβράνης, δημιουργώντας ένα ελεγχόμενο περιβάλλον για μελέτη της ηλεκτροδιάτρησης.



Σχήμα 2.6.3: Δημιουργία διαφοράς τάσης στην κυτταρική μεμβράνη (Α) στην γενική περίπτωση (Β) σε βιολογικό κύτταρο [128]

2.7. Θεωρία ρευστών

2.7.1. Εισαγωγή

Τα ρευστά διακρίνονται σε υγρά και αέρια. Η βασική διαφορά τους οφείλεται στις δυνάμεις συνοχής που αναπτύσσονται μεταξύ των μορίων τους. Τα υγρά καταλαμβάνουν ορισμένο όγκο και έχουν μεταβλητό σχήμα ενώ τα αέρια καταλαμβάνουν τον όγκο και το σχήμα των δοχείων που τα περιέχουν. Χαρακτηριστικό των ρευστών είναι ότι θα παραμορφώνονται διαρκώς όσο βρίσκονται υπό την επίδραση διατμητικής τάσης. Μόνο όταν βρεθούν σε κατάσταση ισορροπίας θα σταματήσει η παραμόρφωσή τους.

Δομική μονάδα των ρευστών είναι άτομα οργανωμένα σε μόρια. Ακόμα και σε μια πολύ μικρή ποσότητα ρευστού ο αριθμός τους είναι τεράστιος. Η δυναμική μελέτη των ρευστών προϋποθέτει την αντιμετώπισή τους ως συνεχή. Εφόσον δηλαδή η ποσότητα του ρευστού έχει τέτοιο μέγεθος ώστε οι μετακινήσεις μορίων να μην είναι ανιχνεύσιμες μακροσκοπικά, το ρευστό θεωρείται ομοιογενές, συνεχώς κατανεμημένο σε όλη την έκτασή του.

Στη συνέχεια, θα εξεταστούν οι βασικές ιδιότητες των ρευστών, τα είδη ροής τους καθώς και η αλληλεπίδραση ενός σφαιρικού σώματος μέσω μιας ροής. [129]

2.7.2. Βασικές ιδιότητες ρευστών

2.7.2.1. <u>Πυκνότητα</u>

Πρόκειται για την ιδιότητα σύμφωνα με την οποία κρίνεται η εγκυρότητα της συνεχούς κατανομής ενός ρευστού. Ορίζεται ως ο λόγος της μάζας *m* μιας μονάδας όγκου *V*, προς τον αντίστοιχο όγκο:

$$\rho = \frac{m}{V} \text{ (kg/m^3)} \tag{2.7.1}$$

Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί μείωση της πυκνότητας των ρευστών. Εξαίρεση αποτελεί το νερό το οποίο με την αύξηση της θερμοκρασίας του από 0 έως 4°C η πυκνότητά του μειώνεται. [129]

2.7.2.2. Πίεση «Ρ» και διατμητική τάση «τ»

Η δύναμη dF που ασκείται στην επιφάνεια dA ενός ρευστού αναλύεται σε μια δύναμη dF_n , κάθετη στην επιφάνεια και μια δύναμη dF_s , παράλληλη στην επιφάνεια.

Η πίεση *P* στην επιφάνεια ενός ρευστού ορίζεται ως ο λόγος της δύναμης *dF_n* προς την αντίστοιχη επιφάνεια *dA*:

$$P = \frac{dF_n}{dA} (N/A^2 \acute{\eta} Pa)$$
(2.7.2)

Η διατμητική τάση «τ» στην επιφάνεια ενός ρευστού ορίζεται ως ο λόγος της παράλληλης στην επιφάνεια δύναμη dFs προς την αντίστοιχη επιφάνεια dA [129]:

$$\tau = \frac{dF_s}{dA} (N/A^2 \acute{\eta} Pa)$$
 (2.7.3)

2.7.2.3. <u>Ιζώδες</u>

Το ιξώδες αφορά άμεσα αυτή την εργασία και πρόκειται για μια από τις σπουδαιότερες ιδιότητες των ρευστών στη δυναμική τους μελέτη. Περιγράφει την ιδιότητα των ρευστών που καθορίζει πόσο γρήγορα αυτά ρέουν υπό την επίδραση μιας διατμητικής τάσης. Μπορεί να θεωρηθεί και ως το μέτρο της εσωτερικής τριβής ή ως το βαθμό συνεκτικότητας μεταξύ των μορίων ενός ρευστού.

Θεωρώντας ένα ρευστό που ρέει εντός ευθύγραμμου αγωγού με κατεύθυνση τον θετικό άξονα του x, τότε το μοριακό στρώμα ρευστού που βρίσκεται σε επαφή με τα τοιχώματα του αγωγού έχει μηδενική ταχύτητα. Όσο τα μόρια νερού απομακρύνονται από τα τοιχώματα του αγωγού κατά την διεύθυνση +y, η ταχύτητα αυξάνει. Εξετάζοντας τις διαδρομές των μορίων σε ένα κοινό επίπεδο xy, φαίνεται πως διανύουν άνισα διαστήματα σε ίσους χρόνους. Η διατμητική τάση στη οποία οφείλεται η σχετική κίνηση των μορίων ενός ρευστού εκφράζεται και μέσω της εξίσωσης:

$$\tau = \eta * \frac{du_x(y)}{dy} \tag{2.7.4}$$

Όπου:

τ: η διατμητική τάση (N/m²)

η: το δυναμικό ιξώδες (N*s/m²)

 $du_x(y)$: η ταχύτητα με κατεύθυνση τον θετικό ημιάξονα του x, κατά μήκος του άξονα y (m/s)

dy: η κάθετη απόσταση από τον άξονα x (m)

Ο λόγος $\frac{du_x(y)}{dy}$ αποτελεί τον ρυθμό μεταβολής της ταχύτητας ή τον ρυθμό διάτμησης κατά τον άξονα y.

Το ιξώδες οφείλεται σε δύο παράγοντες. Στις δυνάμεις συνοχής και στο ρυθμό μεταφοράς της ορμής μεταξύ των μορίων του ρευστού. Στα υγρά οι δυνάμεις συνοχής είναι ισχυρές και αποτελούν τον κυρίαρχο παράγοντα του ιξώδους. Η αύξηση της θερμοκρασίας χαλαρώνει τις δυνάμεις συνοχής μειώνοντας το ιξώδες του ρευστού. Αντιθέτως, στα αέρια, οι δυνάμεις συνοχής είναι αμελητέες ώστε

η αντίστασή τους στις διατμητικές τάσεις να οφείλεται κυρίως στη μεταφορά της ορμής μεταξύ των μορίων. Η αύξηση της θερμοκρασίας στα αέρια προκαλεί εντονότερη μεταφορά της ορμής μεταξύ των μορίων, με αποτέλεσμα την αύξηση του ιξώδους τους.

Τα ρευστά των οποίων η διατμητική τάση «τ» είναι ανάλογη του ρυθμού μεταβολής της ταχύτητάς τους ονομάζονται Νευτώνια (Newtonian) και η μεταβολή του ιξώδους τους σε σχέση με τον ρυθμό μεταβολής της ταχύτητας είναι γραμμική. Άλλα ρευστά των οποίων η μεταβολή της ταχύτητας και το ιξώδες τους συνδέονται με μη γραμμική σχέση ονομάζονται μη Νευτώνια (non Newtonian).

Ο λόγος του δυναμικού ιξώδους η προς τη πυκνότητα ρ του ρευστού ορίζει το κινηματικό ιξώδες ν [129]:

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \, (\mathrm{m/s^2}) \tag{2.7.5}$$

Μέθοδοι μέτρησης ιξώδους

Το ιξώδες ενός ρευστού δε μπορεί να μετρηθεί άμεσα αλλά μόνο μέσω μιας δυναμικής δοκιμασίας. Τα όργανα που υποβάλλουν τα ρευστά σε τέτοιες δοκιμασίες ονομάζονται ιξωδόμετρα.

Το ιξωδόμετρο ροής μετράει το ιξώδες ενός ρευστού χρησιμοποιώντας την εξίσωση Hagen-Poiseuille. Το ρευστό εντός ενός δοχείου ρέει μέσω αγωγού και εξέρχεται μεταξύ δύο χαραγών. Κύριοι παράγοντες για τη μέτρησή του είναι η διαφορά πίεσης μεταξύ ρευστού στον αγωγό και ατμόσφαιρας καθώς και η παροχή του ρευστού μέσω του αγωγού. Χρησιμοποιείται για ρευστά χαμηλού ιξώδους.

Για ρευστά υψηλού ιξώδους χρησιμοποιούνται τα ιξωδόμετρα ελεύθερα βυθιζόμενης σφαίρας. Η μέθοδος αυτή μετράει το ιξώδες μέσω του νόμου του Stokes που θα αναφερθεί σε επόμενο κεφάλαιο. Μια σφαίρα γνωστής διαμέτρου και πυκνότητας αφήνεται ελεύθερη να βυθιστεί σε κυλινδρικό δοχείο με το ρευστό προς μέτρηση. Όταν η σφαίρα αποκτήσει σταθερή ταχύτητα η συνισταμένη των δυνάμεων που της ασκούνται (βάρος, άνωση αντίσταση) ισούται με μηδέν. Τότε μετράται ο χρόνος που απαιτείται για να περάσει μεταξύ δύο προκαθορισμένων σημείων γνωστής κατακόρυφης απόστασης. Μέσω της εξίσωσης των δυνάμεων βρίσκεται το ιξώδες του ρευστού.

Ένας ακόμα τρόπος μέτρησης του ιξώδους είναι χρησιμοποιώντας ένα περιστρεφόμενο ιξωδόμετρο. Ένα τέτοιο όργανο αποτελείται από δύο ομοαξονικούς κυλίνδρους το κενό μεταξύ των οποίων πληρείται με το ρευστό προς εξέταση. Για να μετρηθεί το ιξώδες του ρευστού ο κύλινδρος με τη μεγαλύτερη ακτίνα περιστρέφεται αφού του ασκηθεί μια γνωστή ροπή στρέψης. Λόγω της παρουσίας του ρευστού ασκείται και μια ροπή στρέψης στον εσωτερικό κύλινδρο. Συγκρίνοντας τις δύο ροπές στρέψης μετράται το ιξώδες του ρευστού. [129–131]



Σχήμα 2.7.1: Σχηματική αναπαράσταση ενός ιζωδόμετρου ροής [129]



Σχήμα 2.7.2: Σχηματική αναπαράσταση ενός ιζωδόμετρου ελευθέρας βυθιζόμενης σφαίρας εφοδιασμένο με δύο αισθητήρες που μετράνε το χρόνο που η σφαίρα απαιτεί ώστε να διανύσει την απόσταση L [130]

2.7.2.4. <u>Επιφανειακή τάση</u>

Η επιφανειακή τάση των υγρών οφείλεται στις συνεκτικές δυνάμεις μεταξύ των μορίων τους. Κάθε μόριο δέχεται ελκτικές δυνάμεις από τα γειτονικά του μόρια. Ένα μόριο στο εσωτερικό του ρευστού, περιβάλλεται εξ ολοκλήρου από μόρια. Δέχεται έτσι ελκτικές δυνάμεις από όλες τις κατευθύνσεις ώστε η συνισταμένη τους να είναι μηδέν. Αντιθέτως, ένα μόριο στην επιφάνεια του υγρού δέχεται ελκτικές δυνάμεις μόνο προς τις κατευθύνσεις που ορίζουν τα γειτονικά μόρια. Λόγω της αλληλεπίδρασης αυτής των μορίων, τα επιφανειακά μόρια έχουν μεγαλύτερη δυναμική ενέργεια από τα εσωτερικά μόρια και τείνουν να μετακινηθούν προς το εσωτερικό της υγρής μάζας ώστε να μειώσουν την ενέργειά τους. Η τάση αυτή των επιφανειακών μορίων έχει ως αποτέλεσμα τα υγρά να τείνουν να μειώσουν όσο το δυνατόν την εξωτερική επιφάνειά τους. Ο λόγος της συνισταμένης δύναμης dF που δέχεται μια στοιχειώδης επιφάνεια προς ένα στοιχειώδες μήκος της dS της επιφάνειας αυτής, ονομάζεται επιφανειακή τάση σ [129]:

$$\sigma = \frac{dF}{dS}$$
(N/m) (2.7.6)

2.7.2.5. <u>Τάση ατμών</u>

Ένα υγρό εντός ενός δοχείου θα εξατμίζεται έως ότου ο ρυθμός εξάτμισης εξισωθεί με τον ρυθμό συμπύκνωσής του. Όταν επέλθει ισορροπία, οι παραγόμενοι ατμοί ονομάζονται κορεσμένοι και η πίεση που ασκούν στην επιφάνεια του υγρού ονομάζεται τάση κορεσμένων ατμών.

Η τάση των παραγόμενων ατμών ενός υγρού εξαρτάται από το είδος του υγρού και τη θερμοκρασία του. Όταν η τάση ατμών ενός υγρού εξισωθεί με την εξωτερική πίεση *P* τότε εκδηλώνεται το φαινόμενο της σπηλαίωσης που παρατηρείται με τη τοπική παραγωγή φυσαλίδων στο εσωτερικό της μάζας του ρευστού. [129]

2.7.2.6. <u>Συμπιεστότητα</u>

Η συμπιεστότητα αναφέρεται στη αυξομείωση του όγκου ενός ρευστού υπό την επίδραση μιας εξωτερικής πίεσης υπό σταθερή θερμοκρασία και υπολογίζεται από τον τύπο:

$$B = -\frac{dP}{dv/_V} \tag{2.7.7}$$

όπου dP η μεταβολή της πίεσης και dv/V η σχετική μεταβολή του όγκου.

Για παράδειγμα, η αύξηση της πίεσης σε ένα ρευστό που βρίσκεται εντός ενός δοχείου προκαλεί την μείωση του όγκου του και συνεπώς την αύξηση της πυκνότητάς του. Σε αυτή την εργασία τα υγρά θεωρούνται ασυμπίεστα, δηλαδή δε μεταβάλλουν την πυκνότητά τους όταν η εξωτερική πίεση μεταβάλλεται. Οι περισσότερες εφαρμογές της συμπιεστότητας έχουν εφαρμογή στα αέρια. [129]

2.7.3. Είδη ροής

Θα εξεταστεί η ροή ενός ρευστού εντός ευθύγραμμου αγωγού κυκλικής και σταθερής διατομής. Η περίπτωση αυτή είναι η συνηθέστερη και αφορά άμεσα την εργασία. Ως «ροή ρευστού» εννοείται η κατάσταση όπου ένα ασυμπίεστο υγρό έχει αναπτύξει πλήρως τη ροή του.

Ο προσδιορισμός του είδους ροής ενός ρευστού γίνεται μέσω της συσκευής Reynolds και υπολογίζεται από τον τύπο [129]:

$$Re = \frac{\rho * u * d}{\eta} \tag{2.7.8}$$

Όπου:

ρ: η πυκνότητα του ρευστού (kg/m³)
u: η ταχύτητα του ρευστού (m/s)
d: η διάμετρος του σωλήνα (m)
η: το δυναμικό ιξώδες του ρευστού (kg/m*s)
Για Re<2300 η ροή είναι στρωτή
Για Re>4000 η ροή είναι τυρβώδης
Για 2300<Re<4000 η ροή είναι μεταβατική

2.7.3.1. <u>Στρωτή ροή</u>

Στρωτή ροή ρευστού ονομάζεται η ροή κατά την οποία τα μόρια του ρευστού κινούνται κατά στρώματα ανεξάρτητα από τη θέση τους εντός του αγωγού και με σταθερή ταχύτητα κατά τη διεύθυνση της ροής τους. Τα μόρια που ανήκουν σε κάθε στρώμα δεν αναμειγνύονται με αυτά των γειτονικών στρωμάτων. Η ανταλλαγή ορμής μεταξύ των στρωμάτων γίνεται σε μοριακό επίπεδο μέσω διάχυσης και κάθε τάση του ρευστού για αστάθεια και δημιουργία στροβίλων εξισορροπείται από ιξώδεις διατμητικές τάσεις.

Η ταχύτητα του ρευστού που διαρρέει έναν αγωγό κυκλικής διατομής μεταβάλλεται κάθετα προς την διεύθυνση ροής, σύμφωνα με τον τύπο:

$$u_x = u_{max} * (1 - \frac{y^2}{R^2}) \tag{2.7.9}$$

Όπου:

 u_x : η ταχύτητα του ρευστού με κατεύθυνση τον θετικό ημιάξονα του x (m/s)

umax: η μέγιστη ταχύτητα του ρευστού που αναπτύσσεται στο μέσον του αγωγού (m/s)

y: η απόσταση από το μέσον του αγωγού (m)

R: η ακτίνα του αγωγού (m)

Για y=0 τότε $u_x = u_{max}$. Ακόμα, αποδεικνύεται πως $\bar{u} = u_{max}/2$, όπου \bar{u} η μέση ταχύτητα του ρευστού. Στην εργασία αυτή η ροή των ρευστών θεωρείται στρωτή. [129]

Κίνηση σφαιρικού σωματιδίου εντός στρωτής ροής ρευστού – Νόμος του Stokes

Στην περίπτωση της στρωτής ροής ενός υγρού, η δύναμη που δέχεται ένα σφαιρικό σώμα λόγω της αντίστασής του στη ροή, περιγράφεται από τον νόμο του Stokes όπως δόθηκε στην εξίσωση 2.5.10.

Η δύναμη *F_{Stokes}* φαίνεται να είναι ανάλογη του ιξώδους και της ταχύτητας του ρευστού καθώς και με την ακτίνα του σφαιρικού σώματος. [129]

2.7.3.2. <u>Τυρβώδης ροή</u>

Τυρβώδης ροή ρευστού ονομάζεται η ροή κατά την οποία τα μόρια του ρευστού κινούνται ακανόνιστα και τυχαία προς όλες τις κατευθύνσεις. Η μεταφορά της ορμής μεταξύ των μορίων του είναι αντίστοιχα ακανόνιστη και τυχαία. Ως αποτέλεσμα, οι ιδιότητες του ρευστού μεταβάλλονται διαρκώς σε κάθε σημείο του και για πρακτικούς λόγους περιγράφονται με μέσες τιμές. [129,132]



Σχήμα 2.7.3: Αναπαράσταση στρωτής και τυρβώδους ροής. Στη στρωτή ροή τα μόρια του ρευστού κινούνται σε στρώματα χωρίς να πραγματοποιούν κάθετες μετατοπίσεις και με σταθερή ταχύτητα. Στη τυρβώδη ροή τα μόρια του ρευστού πραγματοποιούν τυχαίες κινήσεις

3. Πειραματικό Μέρος

3.1. Εισαγωγή

Το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε 4 κεφάλαια. Όπως περιεγράφηκε στο Σκοπό της εργασίας, πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων για τη μελέτη της μαγνητικής τροποποίησης, το διαχωρισμό, την οδήγηση, το χαρακτηρισμό καθώς και την καλλιέργεια κυττάρων.

Το πρώτο βήμα ήταν η μαγνητική μετατροπή μικροφυκών. Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε περιγράφεται στο κεφάλαιο 3.2. Για τη μαγνητική μετατροπή κατασκευάστηκε μια πρωτότυπη συσκευή ηλεκτροδιάτρησης που επιτρέπει τη μετατροπή μεγάλου όγκου κυττάρων με συνεχή τρόπο.

Στη συνέχεια, δόθηκε έμφαση στο διαχωρισμό των επιτυχώς μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων από τα κύτταρα που δεν μετατράπηκαν σε μαγνητικά. Για την επίτευξη αυτού του σκοπού κατασκευάστηκε μια πρωτότυπη συσκευή η οποία δύναται να διαχωρίσει μαγνητικά σωματίδια από ένα υδατικό διάλυμα με συνεχή τρόπο, επιτρέποντας έτσι τον καθαρισμό μεγάλων όγκων μαγνητικού υλικού με συνεχή τρόπο.

Παράλληλα, εφαρμόζοντας τις ίδιες αρχές, κατασκευάστηκε μια διάταξη ηλεκτρομαγνητών οι οποίοι δίνουν τη δυνατότητα ώθησης και οδήγησης μιας μαγνητικής σφαίρας. Σημειώνεται ότι τα παραμαγνητικά υλικά μπορούν μόνο να κατευθυνθούν προς ένα μαγνήτη. Εν προκειμένω, δημιουργώντας έντονες ανισοτροπίες στη βάθμωση του πεδίου, επιτεύχθηκε η ώθηση του σωματιδίου. Επιπροσθέτως, σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε μια νέα διάταξη αποτελούμενη από 4 ηλεκτρομαγνήτες η οποία με αυτοματοποιημένο τρόπο μπορεί να μετακινεί μια παραμαγνητική σταγόνα σε προκαθορισμένη τροχιά, βασιζόμενη στην οπτική ανατροφοδότηση του συστήματος μέσω κάμερας.

Επόμενο βήμα ήταν ο μαγνητικός χαρακτηρισμός των σφαιρών. Συγκεκριμένα, αναπτύχθηκε μια οικονομική, γρήγορη μέθοδος μέτρησης επιδεκτικότητας μαγνητικού υλικού. Περαιτέρω ανάπτυξη απαιτείται για να καταστεί η μέθοδος ακόμη πιο αξιόπιστη και ακριβής.

Τέλος, τα μαγνητικά κύτταρα τοποθετήθηκαν στον πρωτότυπο μαγνητικό φωτο-βιοαντιδραστήρα που κατασκευάστηκε με στόχο τη μελέτη της απόδοσης της καλλιέργειας τους. Ο αντιδραστήρας κατασκευάστηκε με στόχο την ελαχιστοποίηση του νερού και τη μεγιστοποίηση της επιφάνειας όπου τα μικροφύκη καλλιεργούνται ώστε να έχουν όσο το δυνατόν περισσότερη πρόσβαση σε φως και διοξείδιο του άνθρακα.

3.2. Συσκευή Ηλεκτροδιάτρησης

Πρώτο βήμα για την επίτευξη του στόχου παραγωγής βιομάζας με τη μέθοδο που συζητήθηκε είναι η παραγωγή μεγάλης ποσότητας μικροφυκών «νοθευμένα» με μεταλλικά σωματίδια, μέσω συνεχούς ηλεκτροδιάτρησης. Στο παρόν κεφάλαιο θα ακολουθήσει η πλήρης περιγραφή της συσκευής ηλεκτροδιάτρησης που κατασκευάστηκε, θα αναλυθεί η τοπολογία της και η κεντρική λειτουργία αυτής, καθώς και τα επιμέρους συστήματα που απαιτούνται για να λειτουργήσει η συσκευή με τον επιθυμητό τρόπο.

3.2.1. Υφιστάμενη μεθοδολογία

Για την εισαγωγή βιολογικών οντοτήτων στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων υπάρχουν διάφορες μέθοδοι. Μια συνηθισμένη είναι η χρήση ιών η οποία όμως μπορεί να προκαλέσει μεταλλάξεις στο κύτταρο, το γενετικό φορτίο που μπορεί να μεταφερθεί είναι σχετικά μικρό και έχει υψηλό κόστος. Άλλες μέθοδοι είναι η χρήση υπερήχων (sonoporation) και η χρήση μηχανικών τάσεων (mechanoporation). Ωστόσο, αυτές οι μέθοδοι δεν είναι εύκολα παραμετροποιήσιμες και δεν είναι εύκολο να παράγουν μεγάλες ποσότητες τροποποιημένων κυττάρων.

Εμπορικά διατίθενται διάφορες συσκευές που χρησιμοποιούνται για την ηλεκτροδιάτρηση κυττάρων. Ωστόσο, η ηλεκτροδιάτρηση πραγματοποιείται σε σταθερό όγκο με τη χρήση κυβετών (cuvettes) (Σχήμα 3.2.1).



Σχήμα 3.2.1: Κυβέτες ηλεκτροδιάτρησης της Bio-Rad

Οι κυβέτες αυτές αποτελούνται από ένα πλαστικό δοχείο με πώμα και 2 ενσωματωμένα μεταλλικά ελάσματα εκατέρωθεν του δοχείου. Μέσα στο δοχείο τοποθετείται το διάλυμα με τα κύτταρα προς ηλεκτροδιάτρηση και τα μεταλλικά ελάσματα έρχονται σε επαφή με τα ηλεκτρόδια της γεννήτριας από όπου προέρχεται ο ηλεκτρικός παλμός.

Το σύστημα «MicroPulser» της Bio-Rad χρησιμοποιείται για την ηλεκτροδιάτρηση βακτηρίων και άλλων μικροοργανισμών. Το «MicroPulser» περιέχει έναν πυκνωτή, ο οποίος κατά τα γνωστά φορτίζεται σε υψηλή τάση και στη συνέχεια εκφορτίζεται στο φορτίο που έχει τοποθετηθεί.



Σχήμα 3.2.2 Το σύστημα "MicroPulser" που αποτελείται από μια γεννήτρια παλμών κι έναν δοκιμαστικό θάλαμο, με ενσωματωμένα ηλεκτρόδια [133]

3.2.2. Ρύθμιση των παραμέτρων του συστήματος

Η μέθοδος που επιλέχτηκε για την τροποποίηση των μικροφυκών είναι η ηλεκτροδιάτρηση γιατί οι παράμετροι του συστήματος μπορούν να τροποποιηθούν, ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη αποτελεσματικότητα. Συγκεκριμένα, μπορούν να τροποποιηθούν η πεδιακή ένταση *E*, η χρονική σταθερά *τ* και το πλάτος του φθίνοντος εκθετικού παλμού. Η πεδιακή ένταση, που είναι και η πιο εύκολα ελεγχόμενη παράμετρος, μπορεί να τροποποιηθεί με 2 τρόπους. Αρχικά, τάσεις από 200-3000 Volt μπορούν να οριστούν κατευθείαν στο MicroPulser. Αλλιώς, διαφορετικές εντάσεις μπορούν να επιτευχθούν αλλάζοντας την απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων. Για την ηλεκτροδιάτρηση μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται συνήθως αποστάσεις των 0.1 ή 0.2 cm. Η διαδικασία εναλλαγής της επιβαλλόμενης τάσης, και ενώ οι υπόλοιπες παράμετροι διατηρούνται σε σταθερή τιμή είναι η βάση για τις περισσότερες διαδικασίες βελτιστοποίησης παραμέτρων ηλεκτροδιάτρησης.

Η χρονική σταθερά τ, μπορεί να τροποποιηθεί αλλάζοντας την αντίσταση του φορτίου. Αυξάνοντας το άλας ή τη συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος μειώνεται η αντίσταση του φορτίου, και αντίστροφα.

To MicroPulser έχει και τη δυνατότητα να «κόψει» τον εκθετικό παλμό πριν να ολοκληρωθεί, αρκεί το πλάτος του παλμού να υπερβαίνει τα 600 Volt, όπως στο συγκεκριμένο πείραμα. Στη συσκευή επιλέγεται σε ποιο χρονικό σημείο επιθυμεί ο χρήστης να διακόψει τον παλμό κι έτσι η τάση εφαρμόζεται στο φορτίο μόνο για το χρονικό διάστημα που επιλέχθηκε. Στο παράδειγμα της παρακάτω εικόνας (Σχήμα 3.2.3), ο παλμός τερματίζεται στα 2.5 ms. [134,135]



Σχήμα 3.2.3: "Κόψιμο" του παλμού στα 2.5ms με το microPulser [133]

Η λειτουργία του «MicroPulser»:

- Το υδατικό διάλυμα των κυττάρων και των μαγνητικών σωματιδίων τοποθετείται στη συσκευή ηλεκτροδιάτρησης. Επειδή η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη συχνότητα μετασχηματισμού, είναι σημαντικό το πείραμα να διεξάγεται σε συνθήκες δωματίου.
- Η κυψελίδα τοποθετείται στο δοκιμαστικό θάλαμο, προσεκτικά ώστε να κάνει καλή επαφή με τα ηλεκτρόδια του θαλάμου.
- Για να φορτιστεί ο πυκνωτής και να δημιουργηθεί ο επιθυμητός παλμός, αρκεί να πατηθεί το κίτρινο κουμπί «Pulse» (Σχήμα 3.2.2). Έτσι μετά από μικρό χρονικό διάστημα θα παραχθεί ο παλμός και θα ακουστεί ένας ήχος επιβεβαίωσης. Μετά την παραγωγή του παλμού, αν πιεστεί το κουμπί «Measurements», εμφανίζεται στην οθόνη της συσκευής η χρονική σταθερά και το πραγματικό πλάτος της τάσης του παλμού. Η τάση δίνεται σε kV, ενώ ο χρόνος σε millisecond.
- Η κυψελίδα μπορεί να αφαιρεθεί από το θάλαμο, ώστε να πραγματοποιηθεί η επεξεργασία του δείγματος, καθώς η ηλεκτροδιάτρηση έχει ολοκληρωθεί.

3.2.3. Σχεδιασμός κυβέτας συνεχούς ροής

Για τις ανάγκες της εφαρμογής, σχεδιάστηκε μια κυβέτα η οποία μπορεί να διαχειριστεί μεγάλους όγκους κυττάρων με συνεχή τρόπο και μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη συσκευή Micropulser.

Το σχέδιο της κυβέτας φαίνεται στο σχήμα 3.2.4. Αποτελείται από μία οδοντωτή δομή που σχηματίζει ένα κανάλι μέσα από το οποίο διέρχεται το υγρό με τα κύτταρα. Εκατέρωθεν της πλαστικής δομής, τοποθετούνται 2 πλάκες ανωδιομένου αλουμινίου που έρχονται σε επαφή με τα ηλεκτρόδια του Micropulser. Σχεδιάστηκαν δύο κυβέτες στις οποίες πραγματοποιήθηκε μελέτη με πεπερασμένα στοιχεία στο πρόγραμμα ANSYS Electric και στο Fluent με στόχο τη σύγκριση των δυο διατάξεων και την επιλογή της βέλτιστης γεωμετρίας.



Σχήμα 3.2.4: Σχέδιο κυβέτας συνεχούς ηλεκτροδιάτρησης

Οι διαστάσεις του εσωτερικού καναλιού είναι 2x2mm. Παρομοίως και οι διαστάσεις της πλαστικής δομής που σχηματίζει ένα κανάλι όγκου ~1.5ml. Επομένως, αντλώντας το ρευστό με τη χρήση περισταλτικής αντλίας, κάθε 1.5ml που βρίσκεται ανάμεσα στις πλάκες αλουμινίου μπορεί να δέχεται τον ηλεκτρικό παλμό. Υπολογίζοντας λοιπόν, το χρόνο που χρειάζεται για να διασχίσει 1.5ml την κυβέτα, μπορεί να υπολογιστεί ακριβώς ο χρόνος κατά τον οποίο πρέπει να παρέχεται ηλεκτρικός παλμός από τη γεννήτρια ώστε η διαδικασία να είναι συνεχής.

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις στο πρόγραμμα ANSYS Electric δίνοντας το πεδίο που σχηματίζεται ανάμεσα στις πλάκες στο κανάλι. Στο σχήμα 3.2.5 παρατηρείται η κατανομή της συνολικής έντασης του πεδίου εκφρασμένη σε V/m.



Σχήμα 3.2.5: Κατανομή έντασης ηλεκτρικού πεδίου στο κανάλι με τις ορθές γωνίες

Λόγω όμως της γεωμετρίας, στις γωνίες δημιουργούνται αποστάσεις μεγαλύτερες των 2mm και αυτό δημιουργεί ανομοιογένειες στο ροϊκό πεδίο.



Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις στο ANSYS Fluent με στόχο τη μελέτη της ροής στο κανάλι (Σχήμα 3.2.6).

Σχήμα 3.2.6: Τα χαρακτηριστικά της ροής στο κανάλι με τις ορθές γωνίες

Παρατηρείται ότι δημιουργούνται τύρβες στις γωνίες οι οποίες είναι ανεπιθύμητες καθώς μπορούν να προκαλέσουν παγίδευση κυττάρων και επομένως αλλοίωση μέχρι και φραγμό της ροής στο κανάλι. Για την προσπέλαση αυτού του προβλήματος, σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε κυβέτα με στρογγυλεμένες γωνίες.



Σχήμα 3.2.7: Κατανομή έντασης ηλεκτρικού πεδίου στο κανάλι με τις στρογγυλεμένες γωνίες

Επιπλέον, για ίδια ταχύτητα ροής, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της ροής στο κανάλι, δίνοντας λιγότερες τύρβες και πιο στρωτή ροή όπως φαίνεται στο σχήμα 3.2.8, καθιστώντας τη συγκεκριμένη γεωμετρία πιο κατάλληλη για την εφαρμογή.



Σχήμα 3.2.8: Τα χαρακτηριστικά της ροής στο κανάλι με τις στρογγυλεμένες γωνίες

Οι αναλύσεις αυτές ανέδειξαν την κατάλληλη γεωμετρία η οποία στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα.

3.2.4. Κατασκευή κυβέτας συνεχούς ροής και χαρακτηρισμός της

Τα σχέδια της κυβέτας με τις στρογγυλεμένες γωνίες εκτυπώθηκαν σε PLA με τη χρήση του εκτυπωτή Flashforge Creator Pro και παρουσιάζονται στο σχήμα 3.2.9.



Σχήμα 3.2.9: Εκτυπωμένη κυβέτα α) στεγανοποίηση με χρήση τεφλόν και υλικό εκτύπωσης PLA β) στεγανοποίηση με χρήση δυο πλαστικών μπαρών με βίδες, παζιμάδια για σύσφιζη και Ninjaflex ως υλικό εκτύπωσης

Εκατέρωθεν του εκτυπωμένου καναλιού επικολλώνται οι δυο πλάκες αλουμινίου με τη βοήθεια ταινίας τεφλόν για την αποφυγή διαρροών (εικόνα 3.2.9α). Έπειτα από ανασχεδιασμό της διάταξης, τοποθετήθηκαν πλαστικές μπάρες με βίδες και παξιμάδια και χρησιμοποιήθηκε πιο ελαστικό πλαστικό προκειμένου να στεγανοποιηθεί η συσκευή στην εικόνα 3.2.9β. Επίσης, ακροφύσια τοποθετήθηκαν στην είσοδο και στην έξοδο του καναλιού ώστε να μπορούν να συνδεθούν με το σωλήνα.

Η συσκευή ηλεκτροδιάτρησης έχει συμπεριφορά πυκνωτή, καθώς η τάση που εφαρμόζεται στις πλάκες της δημιουργεί πτώση τάσης και ηλεκτρικό πεδίο στο εσωτερικό της. Στο εργαστήριο επιχειρήθηκε μια προσέγγιση της χωρητικότητας, της επιτρεπτότητας και της εμπέδησης της συσκευής.

Δεν ενδιαφέρει ο υπολογισμός των ακριβών τιμών των στοιχείων της συσκευής, καθώς δεν αποτελεί ιδανικό πυκνωτή, αν και προσομοιάζει την συμπεριφορά του, και οι τιμές αλλάζουν σημαντικά ανάλογα με τη συχνότητα. Αυτό που ενδιαφέρει κυρίως είναι το κατά πόσο αλλάζει η χωρητικότητα με την εισαγωγή του υγρού στο δοκίμιο και η τάξη μεγέθους της σύνθετης αντίστασης. Ιδίως το δεύτερο επιβάλλεται να είναι γνωστό, αφού στις πλάκες εφαρμόζεται υψηλή τάση και υπάρχει σοβαρός κίνδυνος καταστροφής της συσκευής.

Θεωρητικά, είναι γνωστό πως:

$$C = \varepsilon_0 \times \varepsilon \mathbf{r} \times A \div d \tag{3.2.1}$$

Όπου :

 $\varepsilon_0 \times \varepsilon$ r η επιτρεπτότητα της συσκευής,

Α το εμβαδόν της, και

d η απόσταση μεταξύ των 2 πλακών.

Υπολογίστηκε:

• $A = 43,28 \times 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ kai } d = 3 \text{ mm}$

Για τη σχετική επιτρεπτότητα ε_r , είναι γνωστό πως θα μεταβάλλεται ανάλογα με τη συχνότητα και αφού το διηλεκτρικό που παρεμβάλλεται μεταξύ των πλακών αποτελείται από PLA και αέρα, γίνεται η υπόθεση πως στις χαμηλές συχνότητες $\varepsilon_r \sim 20$, ενώ όσο αυξάνεται η συχνότητα το ε_r θα μειώνεται και θα φτάνει τελικά $\varepsilon_r \sim 5$ στις πολύ υψηλές συχνότητες. [133]

Από την εξίσωση (3.2.1) είναι εμφανές πως η χωρητικότητα θα είναι κάποια pF, ενώ μένει να παρατηρηθεί πειραματικά πώς μεταβάλλεται.

Για την εμπέδηση, είναι γνωστό πως:

$$Xc = -j \div (\omega \times C) \tag{3.2.2}$$

όπου ω η συχνότητα.

Συνεπώς, λόγω της χαμηλής τάξης μεγέθους της χωρητικότητας, αναμένεται η εμπέδηση να κινείται σε πολύ υψηλές τιμές.

Η μέτρηση των στοιχείων έγινε σε μηχάνημα ακριβείας RLC meter στο εργαστήριο, υπό μικρή τάση (~1V) (σχήμα 3.2.10).



Σχήμα 3.2.10: Μέτρηση χωρητικότητας του δοκιμίου με διάκενο 3 mm

Από τις μετρήσεις στο παραπάνω μηχάνημα συλλέχτηκαν δείγματα για 100 τιμές της χωρητικότητας και της σύνθετης αντίστασης σε 100 διαφορετικές συχνότητες.

Έτσι προέκυψαν τα παρακάτω διαγράμματα (σχήμα 3.2.11, 3.2.12):



Σχήμα 3.2.11: Χωρητικότητα και γωνία απωλειών συναρτήσει της συχνότητας, όταν στον πυκνωτή δε ρέει υγρό



Σχήμα 3.2.12: Σύνθετη αντίσταση και γωνία θ συναρτήσει της συχνότητας, όταν στον πυκνωτή δε ρέει υγρό

Στο πρώτο διάγραμμα (σχήμα 3.2.11) φαίνεται το εσωτερικό κύκλωμα του πυκνωτή, που σύμφωνα με τον κατασκευαστή του LCR meter αποτελείται από μια χωρητικότητα παράλληλα συνδεδεμένη με ένα κύκλωμα μιας αντίστασης παράλληλη με έναν πυκνωτή. Με λεπτή γραμμή απεικονίζεται η μεταβολή της χωρητικότητας και της επιτρεπτότητας, ανάλογα με τη μεταβολή της συχνότητας. Με την παχιά γραμμή απεικονίζεται η γωνία απωλειών tanδ. Από αυτό το διάγραμμα φαίνεται πως σε λογαριθμική κλίμακα η χωρητικότητα μεταβάλλεται σχεδόν γραμμικά. Φυσικά, ο ακριβής υπολογισμός της χωρητικότητας συναρτήσει της συχνότητας C(f) είναι πολύ δύσκολος. Επιχειρήθηκε όμως μια προσέγγιση της C(f) με πολυώνυμο πέμπτου βαθμού στο Matlab (Σχήμα 3.2.13).



Σχήμα 3.2.13: Προσέγγιση της C(f) με πολυώνυμο πέμπτου βαθμού, όταν στον πυκνωτή δε ρέει υγρό

Στο Σχήμα 3.2.13 φαίνονται με τελείες τα σημεία της C(f), ενώ με την συνεχή γραμμή φαίνεται η ιδιαίτερα ακριβής προσέγγιση που έγινε με το πολυώνυμο πέμπτου βαθμού f(x).

Η ακριβής εξίσωση *f*(*x*), με την οποία μπορεί να προσεγγιστεί η τιμή της χωρητικότητας για κάποια τιμή της συχνότητας είναι :

$$f(x) = p1 \times x^5 + p2 \times x^4 + p3 \times x^3 + p4 \times x^2 + p5 \times x + p6$$
(3.2.3)

Όπου:

$$\begin{split} p_1 &= -6.381e^{-5} \left(-7.358 \ e^{-5}, \ -5.405 \ e^{-5}\right), \\ p_2 &= 0.003117 \ (0.002664, \ 0.00357), \\ p_3 &= -0.05698 \ (-0.06511, \ -0.04884), \\ p_4 &= 0.4787 \ (0.4084, \ 0.5491), \\ p_5 &= -1.977 \ (-2.269, \ -1.684), \\ p_6 &= -24.41 \ (-24.88, \ -23.95). \end{split}$$

Στο δεύτερο διάγραμμα (Σχήμα 3.2.12) φαίνεται με την (σχεδόν) ευθεία γραμμή η μεταβολή της τιμής της σύνθετης αντίστασης ανάλογα με τη συχνότητα, η οποία μάλιστα είναι γραμμική σε λογαριθμική κλίμακα. Με την καμπύλη φαίνεται η μεταβολή της γωνίας.

Στη συνέχεια, εισήχθη υγρό διάλυμα μικροφυκών και μαγνητικών σωματιδίων στη συσκευή κι επαναλήφθηκαν οι μετρήσεις. Το αναμενόμενο ήταν να αυξηθεί η επιτρεπτότητα του διηλεκτρικού και λόγω της εξίσωσης (3.2.1) να αυξηθεί η χωρητικότητα.

Όπως και προηγουμένως, επιχειρείται μια προσέγγιση της *C*(*f*) με πολυώνυμο πέμπτου βαθμού (Σχήμα 3.2.14).



Σχήμα 3.2.14: Προσέγγιση της C(f) με πολυώνυμο πέμπτου βαθμού, όταν στον πυκνωτή ρέει υγρό

Η ακριβής εξίσωση *f(x) του πολυωνύμου*, με την οποία μπορεί να προσεγγιστεί η τιμή της χωρητικότητας για κάποια τιμή της συχνότητας είναι:

$$f(x) = p1' \times x^5 + p2' \times x^4 + p3' \times x^3 + p4' \times x^2 + p5' \times x + p6'$$
(3.2.4)

Όπου:

 $p_{1'} = 0.00041840.0003401, 0.0004967),$

 $p_{2'} = -0.00638 (-0.007299, -0.00546),$

 $p_{3'} = 0.02663 \ (0.02378, \ 0.02948),$

 $p_{4'}=0.03172\;(0.02598,\,0.03745),$

 $p_{5'} = -0.9317 (-0.9453, -0.918),$

$$p_{6'} = 2.61 \ (2.596, \ 2.624)$$

Σημειώνεται ότι η συνάρτηση 3.2.4 δεν έχει φυσική σημασία αλλά επιτρέπει τον προσδιορισμό της χωρητικότητας.

Έτσι λοιπόν, επιβεβαιώνεται η αναμενόμενη αύξηση της επιτρεπτότητας του διηλεκτρικού και συνεπώς άυξηση της χωρητικότητας μετά την εισαγωγή του υγρού. Από την εξίσωση (3.2.2), λόγω της αύξησης της χωρητικότητας, επιβεβαιώνεται και η αντίστοιχη μείωση της εμπέδησης, όπως ήταν αναμενόμενο.

Η τιμή όμως της εμπέδησης παραμένει αρκετά υψηλή, ώστε να μην υπάρχει κίνδυνος καταστροφής τμήματος της συσκευής.

Αξίζει να σημειωθεί πως οι παραπάνω πειραματικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν, ώστε να δωθεί μια εικόνα σχετικά με την συμπεριφορά της συσκευής υπό τάση. Σε καμία περίπτωση όμως δεν μπορεί να θεωρηθεί πως αποτελούν ακριβή προσέγγιση της συμπεριφοράς της, αφού:

- πραγματοποιήθηκαν μόνο υπό χαμηλή τάση ~1V και είναι βέβαιο πως όσο αυξάνεται η επιβάλουσα τάση, θα υπάρχουν διαφοροποιήσεις στη συμπεριφορά της συσκευής.
- Αν και είναι γνωστό πως η κύρια αρμονική της συχνότητας είναι στα 333.3 Ηz (αφού η περίοδος του παλμού T = 3ms), δεν είναι γνωστό σε τι βαθμό επηρεάζουν οι υπόλοιπες αρμονικές.

3.2.5. Πειραματική διάταξη

Στο σχήμα 3.2.15 παρουσιάζεται ολοκληρωμένη η διάταξη ηλεκτροδιάτρησης που χρησιμοποιήθηκε για τη μαγνητική μετατροπή των μικροφυκών.



Σχήμα 3.2.15: Συνολική διάταζη ηλεκτροδιάτρησης 1) μικροφύκη και μαγνητικά νανοσωματίδια βρίσκονται στο δοχείο από όπου 2) η περισταλτική αντλία τα μεταφέρει 3) στην κυβέτα ηλεκτροδιάτρησης. 4) το μείγμα καταλήγει στο δοχείο συλλογής. 5) Οι παλμοί δίνονται χειροκίνητα 6) η κάτοψη της κυβέτας

Η λειτουργία του microPulser είναι πολύ απλή, όπως φαίνεται και από τα παραπάνω, καθώς απ' την στιγμή που θα παραχθεί το μίγμα και θα τοποθετηθεί στη συσκευή ηλεκτροδιάτρησης, αρκεί να τοποθετηθεί η συσκευή στο δοκιμαστικό θάλαμο και να πατηθεί ένας διακόπτης, για να πραγματοποιηθεί η ηλεκτροδιάτρηση. Το βασικό μειονέκτημα είναι πως δεν προβλέπεται κάποια μέθοδος, ώστε η διαδικασία της ηλεκτροδιάτρησης να είναι συνεχής. Έτσι, αν υπάρχει η ανάγκη να παραχθεί μια μεγάλη ποσότητα κυττάρων εμπλουτισμένων με μαγνητικά σωματίδια, πρέπει να

βρίσκεται κάποιος πάνω από την διάταξη για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα, ώστε να ανανεώνει το υγρό εντός της συσκευής ηλεκτροδιάτρησης και να πατάει συνεχώς το διακόπτη «Pulse». Είναι προφανές λοιπόν, πως αν αυτή η διαδικασία γινόταν συνεχής, θα εξασφάλιζε πολύ μεγαλύτερη ταχύτητα παρασκευής τροποποιημένων κυττάρων και φυσικά θα γλύτωνε πολύ ανθρώπινο κόπο.

Η συνεχής ροή του υγρού εντός της συσκευής ηλεκτροδιάτρησης επιτυγχάνεται, με τη βοήθεια της αντλίας και του σωλήνα.

Έτσι, μένει το τελευταίο πρόβλημα, που είναι το πως θα παράγονται οι παλμοί ανά συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, χωρίς την διαμεσολάβηση του χρήστη. Η απάντηση δόθηκε εύκολα με την σύνδεση ενός μικροελεγκτή ATmega2560 στο microPulser, ο οποίος κάθε 28 second δίνει την εντολή να παραχθεί παλμός περιόδου 5 ms.

Ο κώδικας του μικροελεγκτή είναι πολύ απλός και φαίνεται παρακάτω (σχήμα 3.2.16).



Σχήμα 3.2.16: Ο κώδικας του μικροελεγκτή

3.2.6. Αποτελέσματα

Τα κύτταρα μετά τη διαδικασία τροποποίησης αφέθηκαν σε επωαστήρα για μερικές μέρες με στόχο την παρατήρηση της ανάπτυξης τους. Ως προεργασία, επειδή η κυτταρική μεμβράνη των μικροαλγών είναι σκληρή, δοκιμάστηκαν 2 μέθοδοι για τη διευκόλυνση της ηλεκτροδιάτρησης. Η μια μέθοδος ήταν η προσθήκη ενζύμου με σελουλάση και η άλλη μέθοδος ήταν με μηχανική καταπόνηση της μεμβράνης. Η επώαση και η επεξεργασία της επιφάνειας των κυττάρων πραγματοποιήθηκε από το εργαστήριο βιοτεχνολογίας των Χημικών Μηχανικών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο σχήμα 3.2.17.



Σχήμα 3.2.17: Καμπύλες ανάπτυξης μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών του είδους S. Almeriensis μετά από ενζυματική τροποποίηση και μηχανική καταπόνηση της μεμβράνης σε διαφορετικά εμπλουτισμένα θρεπτικά μέσα. Στον κάθετο άζονα δίνεται η οπτική πυκνότητα του δείγματος για 680nm και στον οριζόντιο οι ημέρες επώασης

Για την επιβεβαίωση της μαγνητικής τροποποίησης, χρησιμοποιήθηκε η χρωστική Prussian blue η οποία είναι ένα αντιδραστήριο το οποίο όταν έρχεται σε επαφή με σίδηρο, προκύπτει μπλε χρώμα. Στο οπτικό μικροσκόπιο παρατηρείται ότι τα κύτταρα προσλαμβάνουν στο εσωτερικό τους τα μαγνητικά σωματίδια ενώ σε κάποια άλλα τα νανοσωματίδια δεν έχουν εισέλθει και προσκολλώνται στο εξωτερικό των κυττάρων.



Σχήμα 3.2.18: Εικόνες από οπτικό μικροσκόπιο με χρήση Prussian Blue α,β,γ) Μαγνητικά τροποποιημένα κύτταρα με νανοσωματίδια στο εσωτερικό τους δ) κύτταρο που δεν ηλεκτροδιατρήθηκε επιτυχώς με μαγνητικά νανοσωματίδια στο εζωτερικό του

Ακόμη μια δοκιμή που πραγματοποιήθηκε ήταν αντί για τη χρήση νανοσωματιδίων η χρήση μιας φωσφορίζουσας ουσίας (Hoechst) η οποία εισήχθη στους πυρήνες των κυττάρων μέσω των παροδικών οπών που προκλήθηκαν από την ηλεκτροδιάτρηση (Σχήμα 3.2.19).



Σχήμα 3.2.19: Εικόνες από συνεστιακό μικροσκόπιο α) μικροφύκη με το φως στο μικροσκόπιο να παρέχεται κάτω από το δείγμα β) οι πυρήνες των κυττάρων έχουν «λεκιαστεί» από τη φθωρίζουσα ουσία Hoechst (κυανό χρώμα) γ) τα ολιγοπεπτίδια RNA εκπέμπουν πράσινο χρώμα. Τα κόκκινα στίγματα προκαλούνται από τον αυτοφθωρισμό των κυττάρων

Τελική δοκιμή, πιο απλή αλλά και πιο σημαντική ήταν η δοκιμή με μαγνήτη. Όπως φαίνεται στο σχήμα 3.2.20, τοποθετήθηκε μαγνήτης στο εξωτερικό ενός Eppendorf tube όπου είχαν τοποθετηθεί τα μαγνητικά κύτταρα και αυτά όπως φαίνεται πλησιάζουν το μαγνήτη. Σε δεύτερο στάδιο, τα μαγνητικά κύτταρα τοποθετήθηκαν σε δοχείο στο πίσω μέρος του οποίου είχε προσκολληθεί μαγνητικό φύλλο. Όπως φαίνεται, τα κύτταρα προσκολλήθηκαν στην πλευρά που βρίσκεται ο μαγνήτης και μετά από λίγες μέρες παρατηρήθηκαν νέα μη μαγνητικά κύτταρα στο κάτω μέρος του δοχείου τα οποία ενδεχομένως, προέκυψαν από τα αρχικά μαγνητικά κύτταρα.



Σχήμα 3.2.20: α) Μαγνήτης έλκει τα μαγνητικά τροποποιημένα μικροφύκη β) μαγνητικά κύτταρα σε δοχείο όπου έχει τοποθετηθεί μαγνητικό φύλλο

3.2.7. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν πως η συσκευή συνεχούς ηλεκτροδιάτρησης που κατασκευάστηκε, πράγματι κατέστησε δυνατή τη μαγνητική μετατροπή των μικροφυκών. Περαιτέρω μελέτες μπορούν να πραγματοποιηθούν για τον αναλυτικότερο προσδιορισμό της κατανομής των νανοσωματιδίων μέσα στα κύτταρα (όπως ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης SEM).

Μια σημαντική παράμετρος, είναι η απόδοση τροποποίησης, δηλαδή συγκεκριμένα, πόσα από τα αρχικά κύτταρα μετατρέπονται μαγνητικά με τη συγκεκριμένη διάταξη.

Σημειώνεται πως για την εν λόγω κυβέτα συνεχούς ροής, έχει υποβληθεί αίτηση για Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας και τα αποτελέσματα θα δημοσιευτούν αμέσως μετά.

Μέρος της δουλειάς έχει δημοσιευτεί ως εξής:

Savvidou M., Banis G., Ferraro A., Molino A., Karatza D., Chianese S., Musmarra D., Kolisis F., Hristoforou E., 2019, Production of Magnetic Modified Microalgae Using Iron Oxide Nanoparticles and Electroporation Technique, Chemical Engineering Transactions, 73, 13-18.

Στο επόμενο κεφάλαιο γίνεται ανάλυση του μαγνητικού διαχωριστή που χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση αυτή.

3.3. Μαγνητικός διαχωρισμός

3.3.1. Εισαγωγή

Στις επόμενες ενότητες θα αναλυθεί η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την επίλυση του προβλήματος του μαγνητικού διαχωρισμού των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών από αυτά που δεν τροποποιήθηκαν επιτυχώς.

Στον τομέα της βιοτεχνολογίας είναι σημαντικό να υπάρχει η δυνατότητα διαχωρισμού μιας μοριακής οντότητας από κάποιο διάλυμα με άλλες ουσίες. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι διαχωρισμού όπως η αέρια χρωματογραφία οι οποίες χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό, οι οποίες παρουσιάζουν μειονεκτήματα όπως η αδυναμία συνεχούς λειτουργίας, το ακριβό κόστος συντήρησης και λειτουργίας και η δυσκολία καθαρισμού της συσκευής, ειδικά όταν πρόκειται για εφαρμογές όπου απαιτούνται στείρες συνθήκες λειτουργίας.

Μια μέθοδος που εξυπηρετεί αυτόν το σκοπό είναι ο διαχωρισμός με τη χρήση μαγνητικών πεδίων. Συγκεκριμένα, μαγνητικά νανοσωματίδια επικαλύπτονται με επιφανειοδραστικές ουσίες οι οποίες δύναται να προσκολλώνται αμφιμονοσήμαντα πάνω σε μοριακές οντότητες. Με αυτόν τον τρόπο, το σύμπλοκο μαγνητικού νανοσωματιδίου – μοριακής οντότητας είναι δυνατό να απομονωθεί από το διάλυμα στο οποίο βρίσκεται με χρήση ενός εξωτερικά επιβαλλόμενου μαγνητικού πεδίου. Ωστόσο, η διαδικασία αυτή δεν είναι συνεχής και σε περιπτώσεις που οι οντότητες που πρέπει να απομονωθούν βρίσκονται στο διάλυμα σε μεγάλες ποσότητες, η απόδοση του διαχωρισμού υποβαθμίζεται και η διαδικασία μπορεί να καταστεί αδύναμη.

Στο κεφάλαιο που ακολουθεί, στο πρώτο τμήμα παρουσιάζεται μια απλή διάταξη η οποία χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των παραμέτρων που καθορίζουν την αποτελεσματικότητα του μαγνητικού διαχωρισμού και στο δεύτερο τμήμα παρουσιάζεται μια διάταξη που κατασκευάστηκε με στόχο να καταστήσει τη διαδικασία συνεχή. Η συνεχής λειτουργία ενός τέτοιου συστήματος εξοικονομεί χρόνο και ενέργεια δίνοντας τη δυνατότητα να διαχωρίζονται μεγάλες ποσότητες πολύτιμων ουσιών από διαλύματα ή τον καθαρισμό διαλυμάτων από ανεπιθύμητα στοιχεία όπως βαρέα μέταλλα.

3.3.2. Θεωρητική προσέγγιση προβλήματος - ισορροπία δυνάμεων

Με βάση τις δυνάμεις που επιδρούν σε ένα κύτταρο ή νανοσωματίδιο κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού, οι οποίες αναλύθηκαν στο κεφάλαιο 2.5.4, δημιουργήθηκε ένα φύλλο excel για να διευκρινιστεί ο παράγοντας *H*∇*H* στις εξισώσεις μαγνητικής δύναμης.

Οι υπολογισμοί έγιναν αρχικά για την πιο απλή περίπτωση, η οποία ήταν ο μαγνητικός διαχωρισμός μαγνητικών σωματιδίων μεγέθους 100 έως 250 νανόμετρα που κατασκευάστηκαν στο εργαστήριο. Εν
συνεχεία, επεκτάθηκε η χρήση των εξισώσεων και σε μαγνητικά νανοσωματίδια που βρίσκονται εντός κυττάρων.

Αρχικά έγινε ο προσδιορισμός των παρακάτω σταθερών:

- Ακτίνα σωλήνα ροής ρευστού: 2mm
- Ιξώδες ρευστού, η:

Νερό	0.9 mPas	$0.0009 \frac{kg}{ms}$
Αιθανόλη	0.987 mPas	$0.000987 \frac{kg}{ms}$

• Ακτίνα σωματιδίου για εξίσωση αντίστασης, R:

Ελάχιστη ακτίνα νανοσωματιδίων εργαστηρίου	50 nm
Μέγιστη ακτίνα νανοσωματιδίων εργαστηρίου	500 nm
Ακτίνα μικροφυκών	1 µm

- Μαγνητική διαπερατότητα κενού: $\mu_0 = 4\pi 10^{-7} H/m$
- Ακτίνα μαγνητικών σωματιδίων, α:

Ελάχιστη ακτίνα νανοσωματιδίων εργαστηρίου	50 nm
Μέγιστη ακτίνα νανοσωματιδίων εργαστηρίου	500 nm
Ακτίνα μαγνητικών σωματιδίων εντός των μικροφυκών	460 nm

Ο υπολογισμός του συνόλου των μαγνητικών σωματιδίων στο εσωτερικό των μικροφυκών έγινε με βάση το βάρος τους πριν και μετά τη διαδικασία της εισαγωγής των μαγνητικών σωματιδίων σε αυτά, σε συνδυασμό με μία θεωρητική υπόθεση ότι το κύτταρο μπορεί να χωρέσει μέχρι 10% του αρχικού του όγκου σε νανοσωματίδια. Μετά την εισαγωγή των νανοσωματιδίων, τα οποία θα είναι επικαλυμμένα με λιπίδια, στο εσωτερικό του κυττάρου, η αυτόματη αντίδραση του κυττάρου σε αυτά, εφόσον δεν τα αναγνωρίσει ως εχθρικά είναι να τα τοποθετήσει όλα μαζί σε δομές που καλούνται λιποσώματα. Θεωρήθηκε ότι τα σωματίδια μαγνητίτη που βρίσκονται στο εσωτερικό του "κελύφους" λιπιδίων, θα ομαδοποιηθούν σε μία ενιαία σφαίρα μαγνητίτη.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, εισάγονται στο εσωτερικό των κυττάρων περίπου 10 pg μαγνητικών σωματιδίων επικαλυμμένων με λιπίδια, με πυκνότητα 25 mg/ml, όπως ορίζει η εταιρεία που τα κατασκευάζει (Chemicell Gmbh). Υπολογισμοί με βάση την πυκνότητα και το βάρος που προστίθεται στα κύτταρα δίνουν ~1360 επικαλυμμένα νανοσωματίδια ανά κύτταρο. Με βάση την αναμενόμενη

αντίδραση του κυττάρου και όπως φάνηκε στα αποτελέσματα του προηγούμενου κεφαλαίου, τα νανοσωματίδια θα ομαδοποιηθούν και θα σχηματίσουν ένα σφαιρικό σωματίδιο διαμέτρου 460nm. Μπορεί αυτά να μην εφάπτονται, αλλά καθώς θα βρίσκονται εντός της απόστασης μαγνητικής αλληλεπίδρασης, θα θεωρούνται ως ένα σώμα για τις ανάγκες των μαγνητικών υπολογισμών.

Με βάση την αιτιολόγηση που δόθηκε στο θεωρητικό μέρος, οι υπολογισμοί έγιναν μόνο μεταξύ της μαγνητικής δύναμης και της αντίστασης που προκαλεί στα σώματα το ρευστό.

Στο excel δημιουργήθηκε η εξίσωση ισορροπίας και υπολογίστηκε πόσο πρέπει να είναι το γινόμενο του μαγνητικού πεδίου και της βάθμωσης του *H*∇*H* για ταχύτητες ροής από 1 έως 10 ml/min για σωλήνα διαμέτρου 4mm.

Η εξίσωση που δημιουργήθηκε είναι:

$$H\nabla H = \frac{6\pi\mu Rv}{\frac{4}{3}\pi\alpha^{3}(\frac{\mu_{0}\chi_{(\vec{H})}}{\chi_{(\vec{H})}})}_{1+\frac{\pi}{3}}}$$
(3.3.1)

Η ταχύτητα ν υπολογίστηκε σε m/s ώστε να μπορεί να εισαχθεί στον παραπάνω τύπο:

Ρυθμός ροής (cm ³ /min)	v (m/s)
1	0.001326964
2	0.002653928
3	0.003980892
4	0.005307856
5	0.00663482
6	0.007961783
7	0.009288747
8	0.010615711
9	0.011942675
10	0.013269639

Σχήμα 3.3.1: Αντιστοιχία ρυθμού ροής με ταχύτητα ρευστού σε σωλήνα διατομής 0.1256 cm² (Φ =4mm)

Με τον προσδιορισμό όλων των παραπάνω παραμέτρων είναι πλέον δυνατό να υπολογισθεί για τις ταχύτητες αυτές η μαγνητική δύναμη που είναι απαραίτητη για να αντισταθεί το σωματίδιο, είτε

πρόκειται για κύτταρο είτε για νανοσωματίδιο, στην κίνηση που προκαλεί το ρευστό μέσο. Θεωρήθηκε ότι τα ελεύθερα νανοσωματίδια σιδήρου θα δημιουργήσουν συσσωματώματα περίπου γύρω στο 1μm, καθώς δεν υπάρχει προστατευτική επικάλυψη ώστε να σταματήσει η συσσωμάτωση τους. Παρακάτω δίνονται αποτελέσματα για τις περιπτώσεις μεμονωμένων και συσσωματωμένων σωματιδίων.

Ρυθμός ροής (cm ³ /min)	Η∇Η για σωματίδια ακτίνας 50nm (Fe ₃ O ₄ εργαστηρίου) (A ² /m ³)	Η∇Η για σωματίδια ακτίνας 500nm (Fe₃O₄ εργαστηρίου) (A²/m³)	Η∇Η για επικαλυμένα Νανοσωματίδια (A²/m³)
1	7.19508E+14	7.19508E+12	6.56086E+14
2	1.43902E+15	1.43902E+13	1.31217E+15
3	2.15852E+15	2.15852E+13	1.96826E+15
4	2.87803E+15	2.87803E+13	2.62435E+15
5	3.59754E+15	3.59754E+13	3.28043E+15
6	4.31705E+15	4.31705E+13	3.93652E+15
7	5.03656E+15	5.03656E+13	4.59261E+15
8	5.75607E+15	5.75607E+13	5.24869E+15
9	6.47557E+15	6.47557E+13	5.90478E+15
10	7.19508E+15	7.19508E+13	6.56086E+15

Σχήμα 3.3.2: Απαιτούμενο πεδίο πολλαπλασιασμένο επί τη βάθμωση για να ισχύει η συνθήκη ισορροπίας

Είναι εμφανές ότι η σχέση που συνδέει την ταχύτητα των σωματιδίων με το απαιτούμενο μαγνητικό πεδίο είναι γραμμική και αποτυπώνεται στο διάγραμμα σχήμα 3.3.3.



Σχήμα 3.3.3: Αντιστοιχία Μαγνητικού πεδίου επί τη βάθμωση του πεδίου-ροής ρευστού

Το παραπάνω θα ισχύει και για την περίπτωση των κυττάρων που περιέχουν μαγνητικά σωματίδια. Τα μικροφύκη έχουν διάμετρο 2μm, ενώ η ακτίνα του μαγνητικού πυρήνα είναι περίπου 460 nm. Επαναλαμβάνοντας τους παραπάνω υπολογισμούς, αλλά αυτή τη φορά για ακτίνα μικροφυκών και ακτίνα μαγνητικού πυρήνα λήφθηκαν τα αποτελέσματα του σχήμα 3.3.4.

Ρυθμός ροής (cm ³ /min)	$H\nabla H$ για μικροφύκη με μαγνητικά NPs(A ² /m ³)
1	1.68511E+13
2	3.37021E+13
3	5.05532E+13
4	6.74043E+13
5	8.42554E+13
6	1.01106E+14
7	1.17958E+14
8	1.34809E+14
9	1.5166E+14
10	1.68511E+14

Σχήμα 3.3.4: Απαιτούμενο πεδίο πολλαπλασιασμένο επί τη βάθμωση για να ισχύει η συνθήκη ισορροπίας για μικροφύκη

Κατά αντίστοιχο τρόπο με το σχήμα 3.3.3 η σχέση ταχύτητας-ροής είναι γραμμική. Όπως είναι εμφανές από τους παραπάνω υπολογισμούς, οι τιμές πεδίου είναι μεγαλύτερες από τις τιμές των προσομοιώσεων για την αναίρεση της κίνησης που προκαλείται από το ρευστό.

Προτάθηκε και υπολογίστηκε μία διαφορετική προσέγγιση στο πρόβλημα, η άσκηση της μαγνητικής δύναμης κάθετα στην κίνηση. Όταν εφαρμόζεται μαγνητική δύναμη λόγω πεδίου κάθετα στον άξονα της κίνησης, τότε το σωματίδιο ή κύτταρο εκτελεί μία κατά προσέγγιση διαγώνια κίνηση προς τα τοιχώματα του σωλήνα όπου η ταχύτητα είναι χαμηλότερη. Για την επίτευξη του σκοπού αυτού θεωρήθηκε ένα σύστημα XY όπου η κίνηση του πεδίου γίνεται στον X άξονα ενώ το διάνυσμα της μαγνητικής ταχύτητας που αποκτά λόγω μαγνητικής δύναμης είναι στο Y άξονα, όπως φαίνεται με γραφικό τρόπο στο σχήμα 3.3.5.



Σχήμα 3.3.5: Άσκηση δυνάμεων στο σωματίδιο

Υπολογισμός μαγνητοφορητικής ταχύτητας σωματιδίου έγινε με βάση τη μέση τιμή πεδίου πολλαπλασιασμένη επί τη μέση τιμή βάθμωσης του εκάστοτε ηλεκτρομαγνήτη και απεικονίζεται στο σχήμα 3.3.6.

Μαγνητοφορητική ταχύτητα (m/s)				
	Μαγνητικά τροποποιημένη μικροφύκη			
Μαγνητ. Ταχ. Ηλεκτρομαγνήτη	5.16353 E-06	5.16353 E-04	2.01039 E-04	

Σχήμα 3.3.6: Μαγνητοφορητική ταχύτητα υπολογισμένη για κάθε υλικό ξεχωριστά

Οι παραπάνω ταχύτητες ισχύουν για κίνηση κάθετα στον άξονα της κίνησης των σωματιδίων. Οι υπολογισμένες ταχύτητες έχουν μία μικρή απόκλιση από την πραγματικότητα καθώς στο θεωρητικό μοντέλο δεν έχει συνυπολογιστεί η συνεργατική μαγνητοφόρηση και η μαγνητική κροκίδωση. Στην περίπτωση της μαγνητοφορητικής ταχύτητας μικροφυκών, η τιμή επιδέχεται μικρότερη διόρθωση από τους παραπάνω παράγοντες, λόγω απουσίας μαγνητικής κροκίδωσης, άρα είναι πιο κοντά στην πραγματικότητα καθώς επηρεάζεται μόνο από τη συνεργατική μαγνητοφόρηση.

3.3.3. Πειραματική διάταξη

Για τις ανάγκες τις παρούσης εργασίας θεωρείται ότι το πεδίο είναι αρκετά μεγάλο ώστε να προκαλεί τον άμεσο κορεσμό της μαγνητικής επιδεκτικότητας και συνεπώς για όλους τους υπολογισμούς που ακολουθούν θα θεωρηθεί η μαγνητική επιδεκτικότητα σταθερή και ίση με 3.4.

Μία ακόμα παραδοχή που ισχύει στην περίπτωση αυτής της εργασίας είναι ότι τα νανοσωματίδια λόγω του πολύ μικρού μεγέθους αποκτούν την ταχύτητα ισορροπίας τους σχεδόν αμέσως μόλις ασκηθεί σε αυτά κάποια δύναμη, οπότε μπορεί να αγνοηθεί η αδράνειά τους. [118]

Για τη μοντελοποίηση του διαχωρισμού και την ποσοτικοποίηση των παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε ένας ηλεκτρομαγνήτης ικανός να συγκρατήσει τα μαγνητικά κύτταρα έναντι της ροής του ρευστού στο οποίο βρίσκονται τα κύτταρα.

Ο ηλεκτρομαγνήτης είναι κατασκευασμένος από στοιβαγμένα φύλλα ηλεκτρικού χάλυβα τα οποία συγκρατούνται με βίδες στη θέση τους ώστε να μην μετακινούνται από το μεγάλο μαγνητικό πεδίο που παράγεται. Γύρω από αυτά τα φύλλα έχουν τυλιχθεί δυο πηνία το κάθε ένα από τα οποία αποτελείται από 850 περιελίξεις σύρματος χαλκού πάχους 0.1cm. Ο ηλεκτρομαγνήτης αυτός έχει μέγεθος 15cm x 15cm x 3cm και λόγω του μεγέθους του έχει μεγάλη επιφάνεια για απαγωγή θερμότητας επιτρέποντάς του να διαρέεται από ρεύματα έντασεως 5A για τουλάχιστον 25 λεπτά πριν αρχίσει να θερμαίνεται αισθητά. Ακόμα και σε περίπτωση παρατεταμένης χρήσης δεν ανεβαίνει η θερμοκρασία τόσο ώστε να κινδυνεύουν τα κύτταρα που περνάνε από το εσωτερικό του σωλήνα. Παρακάτω φαίνεται ο ηλεκτρομαγνήτης (σχήμα 3.3.7). Επίσης παρατίθεται ο πίνακας μέγιστων τιμών έντασης πεδίου Η συναρτήσει της έντασης ρεύματος, σύμφωνα με την προσομοίωση.



Σχήμα 3.3.7: Πειραματική διάταξη αποτελούμενη από τον ηλεκτρομαγνήτη και το σωλήνα από όπου διέρχονται τα μικροφύκη μέσω της περισταλτικής αντλίας

Ένταση ρεύματος (Α)	Μέγιστη ένταση μαγνητικού πεδίου (A/m ²)
0.5	65267
1	1.181e+005
1.5	1.5502e+005
2	1.8699e+005
2.5	2.1618e+005
3	2.4357e+005
3.5	2.6979e+005
4	2.95e+005
4.5	3.1928e+005
5	3.4285e+005

Σχήμα 3.3.8: Μέγιστες τιμές έντασης πεδίου Η συναρτήσει της έντασης ρεύματος

Από το Σχήμα 3.3.7 φαίνεται ότι όταν ο σωλήνας θα περάσει κοντά από την άκρη του ηλεκτρομαγνήτη, τα σωματίδια στο εσωτερικό θα βρίσκονται εντός πεδίου *Η* με τιμές από 261 kA/m έως 340 kA/m.

Από το πρόγραμμα ANSYS λήφθηκαν οι τιμές του πεδίου και της βάθμωσης του πεδίου για διάφορες αποστάσεις από τον πυρήνα του ηλεκτρομαγνήτη και παρουσιάζονται στον πίνακα:

Απόσταση (m)	Ένταση πεδίου (A/m)	Βάθμωση πεδίου(A/m ²)	$H\nabla H (A^2/m^3)$
0	276500	4E+06	1.1E+12
0.001	259800	1E+06	3E+11
0.002	260000	5E+06	1.2E+12
0.003	264000	7E+06	1.8E+12
0.004	273120	8E+06	2.2E+12
0.005	282200	9E+06	2.4E+12
0.006	280000	8E+06	2.3E+12
0.007	278000	8E+06	2.1E+12

0.008	276000	7E+06	1.9E+12
0.009	256800	6E+06	1.6E+12
0.01	244710	6E+06	1.5E+12
0.011	229400	6E+06	1.5E+12
0.012	211360	8E+06	1.6E+12
0.013	185700	1E+07	1.8E+12
0.014	162660	1E+07	2.2E+12
0.015	144590	2E+07	2.7E+12
0.016	127800	3E+07	3.3E+12
0.017	117100	3E+07	4E+12
0.018	109320	5E+07	5E+12
0.019	101490	6E+07	6E+12
0.02	93353	8E+07	7.1E+12

Σχήμα 3.3.9: Ένταση πεδίου συναρτήσει απόστασης από τον ηλεκτρομαγνήτη

Στο σχήμα 3.3.10 παρουσιάζεται η διάταξη με τον ηλεκτρομαγνήτη, πριν την έναρξη πειραμάτων με μικροφύκη.



Σχήμα 3.3.10: Διάταξη διαχωρισμού κυττάρων

Η πρώτη δοκιμή που έγινε με μαγνητικά μικροφύκη έγινε σε μικρή ποσότητα από αυτά (10ml), και για την πραγματοποίησή της χρειαζόταν αραίωση. Δημιουργήθηκε ένα διάλυμα 100 ml, αραιώνοντας την παραπάνω ποσότητα με 90 ml απιονισμένου νερού.

Στη συνέχεια, έγινε δοκιμή διαχωρισμού για ρυθμούς ροής 1, 2 και 3 ml/min και ένταση ρεύματος 2.5 Α. Κρατήθηκαν πέντε δείγματα ανά δοκιμή, ένα ανά 20 ml που περνούσαν από τη διάταξη, ένα δείγμα από το αρχικό διάλυμα καθώς και ένα από τα τελικά προϊόντα του διαχωρισμού (διαχωρισθέντα και παρακρατηθέντα).

Παρατίθενται εικόνες από τα τελικά προϊόντα καθώς και από το σημείο της παγίδευσης σωματιδίων. Στο σχήμα 3.3.11 είναι εμφανής η διαφορά ανάμεσα στο συμπύκνωμα και στο παραπροϊόν του διαχωρισμού. Στο σχήμα 3.3.12 φαίνεται η συσσώρευση των αλγών, με μεγαλύτερα συσσωματώματα να έχουν παγιδευτεί στην αρχή του πεδίου, ενώ τα μικρότερα, να έχουν ταξιδέψει πιο βαθιά στο πεδίο μέχρι να επιβραδυνθούν και να σταματήσουν πάνω στα τοιχώματα. Στη συνέχεια παρατίθεται επίσης πίνακας αποτελεσμάτων από τις μετρήσεις οπτικής πυκνότητας των ληφθέντων δειγμάτων.



Σχήμα 3.3.11: Συμπύκνωμα, δεξιά, και παραπροϊόν, αριστερά, για δοκιμή με ηλεκτρομαγνήτη



Σχήμα 3.3.12: Σημείο ακινητοποίησης αλγών

Το σχήμα 3.3.13 με τις μετρήσεις οπτικής πυκνότητας δείχνει το διαχωρισμό των μαγνητικών κυττάρων από τα μη μαγνητικά. Το μηχάνημα οπτικής πυκνότητας ακτινοβολούσε το δείγμα στα 680nm, τιμή που χρησιμοποιείται για μετρήσεις κυττάρων, ενώ έγινε μηδενισμός με δείγμα απιονισμένου νερού. Το αρχικό δείγμα μετά την αραίωση 1:10 με απιονισμένο νερό είχε τιμή 0.467. Ως τελικό "καθαρό" δείγμα θεωρείται το δείγμα 5, καθώς είναι το τελευταίο που λήφθηκε, άρα η τελική απόδοση διαχωρισμού υπολογίζεται με βάση αυτό. Το τελικό % καθαρού δείχνει το ποσοστό διαχωρισμού που έγινε σε σχέση με το αρχικό δείγμα. Το ποσοστό αυτό επηρεάζεται, από μη μαγνητικά κύτταρα τα οποία βρίσκονται στο διάλυμα, από κύτταρα με μικρή μαγνήτιση που ξέφυγαν από το διαχωριστή καθώς και από κύτταρα που απέκτησαν ταχύτητα διαφυγής ενώ βρίσκονταν εντός του μαγνητικού πεδίου. Το τελικό συμπυκνωμένο διάλυμα είχε τιμή 1.589 που υποδεικνύει μία περίπου τετραπλάσια πυκνότητα από το αρχικό.

ρυθμός ροής	δείγμα 1	δείγμα 2	δείγμα 3	δείγμα 4	δείγμα 5	% Καθαρό
1 (ml/min)	0.044	0.056	0.081	0.133	0.152	67.45182013
2 (ml/min)	0.063	0.071	0.073	0.087	0.165	64.66809422
3 (ml/min)	0.087	0.133	0.137	0.143	0.2	57.17344754

Σχήμα 3.3.13: Μετρήσεις οπτικής πυκνότητας δειγμάτων πρώτης δοκιμής διαχωρισμού ηλεκτρομαγνήτη

Το χαμηλό σχετικά ποσοστό διαχωρισμού σε αυτήν την περίπτωση αποδόθηκε σε δύο παράγοντες. Στο ότι η ένταση του μαγνητικού πεδίου δεν ήταν αρκετή και στο ότι το διάλυμα ήταν πολύ αραιό με αποτέλεσμα η συνεργατική μαγνητοφόρηση να μην μπορεί να επηρεάσει επαρκώς το δείγμα ώστε να παρασυρθούν από το πεδίο περισσότερα μικροφύκη. Επίσης, όπως φαίνεται και από το σχήμα 3.3.13 από τα 40 ml διαχωρισμού και πάνω υπάρχει αύξηση στην περιεκτικότητα σε κύτταρα, άρα πιθανότατα έχει φτάσει σε κρίσιμο μέγεθος η μάζα που βρίσκεται στα εσωτερικά τοιχώματα του σωλήνα.

Για τους παραπάνω λόγους, αποφασίστηκε η επανάληψη του πειράματος στα 5A με 100 ml πυκνού δείγματος μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Ο διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε σε πέντε μέρη, ανά 20 ml άδειαζε ο σωλήνας σε δοχείο που περιείχε το συμπύκνωμα.

Τελικά, προέκυψε περίπου 1.5 ml συμπυκνώματος ανά 20ml διαλύματος που τοποθετήθηκαν σε ένα λεπτό σωλήνα Eppendorf και τα υπόλοιπα "καθαρά" παραπροϊόντα τοποθετήθηκαν σε δύο σωλήνες Eppendorf χωρητικότητας 50 ml έκαστος. Στο σχήμα 3.3.14 διακρίνονται οι δύο σωλήνες στο φως του ήλιου την επομένη μετά τα πειράματα, με τα κύτταρα στον αριστερά να έχουν σχηματίσει ένα βιοφιλμ, ενώ στο δεξιά να παραμένουν σε συσσωματώματα. Αυτό είναι πιθανότατα ενδεικτικό του ότι τα κύτταρα στον αριστερά σωλήνα δεν περιέχουν μαγνητικά σωματίδια και έτσι δημιουργούν μία μεμβράνη ενώ τα δεξιά επηρεαζόμενα από το μαγνητικό πεδίο δημιούργησαν συσσωματώματα και έμειναν κολλημένα και μετά την αφαίρεση του πεδίου, λόγω ηλεκτροστατικών πιθανότατα δυνάμεων.



Σχήμα 3.3.14: Αριστερά, παραπροϊόν διαχωρισμού με ηλεκτρομαγνήτη, δεξιά, συμπύκνωμα μαγνητικών κυττάρων



Σχήμα 3.3.15: Σημείο εναπόθεσης μικροφυκών, δοκιμή ηλεκτρομαγνήτη, Ένταση 5Α, ροή 1ml/min

Από τη δοκιμή με ροή 1ml/min κρατήθηκαν ένα δείγμα από το αρχικό διάλυμα, ένα από το καθαρό διάλυμα και ένα από το συμπύκνωμα. Οι οπτικές πυκνότητές τους αναγράφονται στο σχήμα 3.3.16. Είναι σημαντικό σε αυτό το σημείο να τονισθεί, ότι το διαχωρισθέν διάλυμα ήταν τόσο πυκνό ώστε να μην μπορεί να μετρηθεί από το μηχάνημα οπτικής πυκνότητας, οπότε αραιώθηκε αυτό και το δείγμα από το καθαρό και προσδιορίστηκε η οπτική του πυκνότητα σε σχέση με την οπτική πυκνότητα του καθαρού δείγματος προ αραίωσης.

Αρχικό	Καθαρό	αραιωμένο συμπύκνωμα	αραιωμένο καθαρό	Κανονικοποιημένο συμπύκνωμα
0.916	0.463	1.689	0.179	4.368

Σχήμα 3.3.16: Αποτελέσματα οπτικής πυκνότητας δοκιμής ηλεκτρομαγνήτη, 1ml/min ροή

Στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν γίνεται να χρησιμοποιηθούν οι παραπάνω τιμές για προσδιορισμό ποσοστού καθαρισμού, καθώς όπως φαίνεται στο σχήμα 3.3.14 το διάλυμα είναι θολό εξαιτίας ύπαρξης ουσιών που χρησιμοποιούνται για τη θρέψη των κυττάρων. Θεωρείται ότι λήφθηκε το 100% των μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων, καθώς αυτά που κατέληξαν στο καθαρό δείγμα δεν επιδεικνύουν καμία απολύτως ανταπόκριση σε οποιοδήποτε μαγνητικό πεδίο. Επίσης μέσω αυτού του πειράματος ποσοτικοποιείται και η αποδοτικότητα του συστήματος που χρησιμοποιείται για μαγνητική τροποποίηση των αλγών σε περίπου 90%.

Τα αποτελέσματα αυτά και συγκεκριμένα η διαφορά που προκύπτει από την πυκνότητα του δείγματος αποδεικνύει ότι οι θεωρητικοί υπολογισμοί που γίνονται με επίκεντρο το ένα σωματίδιο απέχουν από την πραγματική εικόνα όπου παρατηρείται το φαινόμενο της συνεργατικής μαγνητοφόρησης αλλά και της μαγνητικής κροκίδωσης. Βιβλιογραφικά [114] έχει αποδειχθεί ότι οι ταχύτητες που αναπτύσσουν τα σωματίδια είναι μέχρι και 65 φορές μεγαλύτερες από τις θεωρητικές προβλέψεις, λόγω συνεργατικής μαγνητοφόρησης, και στη συγκεκριμένη περίπτωση αυτό αποδεικνύεται έμπρακτα.

3.3.4. Προσομοιώσεις: ANSYS - fluent

Κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού, δεδομένων των τιμών που έχουν υπολογιστεί για το απαιτούμενο μαγνητικό πεδίο αλλά και το παραγόμενο πεδίο από τους ηλεκτρομαγνήτες, είναι αναμενόμενο ότι στο σημείο όπου θα παγιδεύονται τα σωματίδια, θα δημιουργηθεί μία απόθεση από αυτά. Η δημιουργία αυτής της μάζας θα έχει δύο επιπτώσεις στο διαχωρισμό, η πρώτη είναι ότι θα μειωθεί η διατομή του σωλήνα, με αποτέλεσμα αύξηση του προφίλ ταχύτητας στο σημείο της απόθεσης, ενώ η δεύτερη είναι ότι όσο πιο κοντά έρχεται η μάζα αυτή στο κέντρο του σωλήνα, θα αποτρέπει τα εισερχόμενα σωματίδια από το να ακολουθήσουν μία παραβολική κίνηση προς τα τοιχώματα, επηρεασμένα από το μαγνητικό πεδίο.

Πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις ροής στο ANSYS (fluent) για ρυθμούς ροής 1 έως 10 ml/min και αποθέσεις ύψους 0.5 έως και 1.5 mm.

Αρχικά δημιουργήθηκαν στο πρόγραμμα Solidworks τρεις αγωγοί οι οποίοι φέρουν στο κέντρο τους μία μεταβολή στη διάμετρο η οποία αυξάνεται ομαλά σε ύψος και αντιπροσωπεύει τη θεωρητική εναπόθεση στο σωλήνα. Οι τρεις περιπτώσεις αντιπροσωπεύουν εναποθέσεις ύψους 0.5, 1 και 1.5mm. Παρακάτω φαίνεται στο σχήμα 3.3.16 ο σχεδιασμός τους στο Solidworks.



Σχήμα 3.3.16: Δημιουργία μοντέλων μεταβαλλόμενης διατομής στο Solidworks

Κατόπιν δημιουργίας των τριών μοντέλων, ορίστηκαν οι παράμετροι στο ANSYS, με ταχύτητες ρευστού από 1ml/min έως 10 ml/min για κάθε μία από τις 3 περιπτώσεις, άρα τελικά προσομοιώθηκαν 30 διαφορετικές περιπτώσεις των οποίων τα αποτελέσματα θα αναλυθούν στη συνέχεια.

Ρυθμός ροής (ml/min)	Ταχύτητα (m/s)	Ρυθμός ροής (ml/min)	Ταχύτητα (m/s)
1	0.001326964	6	0.007961783
2	0.002653928	7	0.009288747
3	0.003980892	8	0.010615711
4	0.005307856	9	0.011942675
5	0.00663482	10	0.013269639

Σχήμα 3.3.17: Ταχύτητα ρευστού συναρτήσει παροχής

3.3.4.1. Εναποθέσεις για ροή 1ml/min.

Προσομοιώθηκε η ροή για 1ml/min, δηλαδή μέση ταχύτητα 0.0013m/s, με βάση τη διατομή του σωλήνα, και τα αποτελέσματα φαίνονται στο σχήμα 3.3.18, με ένα εύρος τιμών από 0 έως 0.003 m/s.

Η ταχύτητα του ρευστού αυξάνει σταδιακά μόλις αρχίσει η μείωση της διατομής, ενώ αποκτά ένα μέγιστο στο κέντρο που η διατομή έχει την ελάχιστη τιμή. Όταν αρχίζει να μεγαλώνει η διατομή δημιουργείται ένα σημείο όπου η ροή είναι τυρβώδης, που σημαίνει ότι οποιοδήποτε σωματίδιο ξεφύγει από το μαγνήτη, μόλις μπει στην τυρβώδη περιοχή θα αποκτήσει μεγάλη ταχύτητα και θα είναι πλέον δύσκολη η συγκομιδή του.



Σχήμα 3.3.18: Προσομοίωση ροής σε σωλήνα με εναπόθεση 0.5mm ύψος και ρυθμό ροής 1ml/min, τομή στον XZ άζονα

Στο σχήμα 3.3.19 εμφανίζονται τρεις τομές του αγωγού στο επίπεδο (YZ) κάθετα στον άξονα της κίνησης (X). Οι τομές αυτές λήφθηκαν από την αρχή τη μέση και το τέλος του αγωγού και έχουν ως στόχο τη σύγκριση των προφίλ της ταχύτητας πριν την εναπόθεση, στο μέγιστό της, καθώς και μετά από αυτή.



Σχήμα 3.3.19: Τομές του αγωγού κάθετα στον άξονα Χ, σε διάφορα σημεία του μήκους του

Σημείο τομής	Μέγιστη Ταχύτητα m/s
Αρχή	0.002365
Μέση	0.0027
Τέλος	0.002313

Σχήμα 3.3.20: Μέγιστη ταχύτητα των τομών του σχήματος 3.3.19

Επαναλήφθηκαν οι προσομοιώσεις για ίδια ροή και διαφορετικά ύψη εναποθέσεων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα παρακάτω σχήματα, 3.3.20 και 3.3.21. Χρησιμοποιήθηκαν ίδιες χρωματικές κλίμακες για να φαίνεται η διαφορά ανάμεσα στις δύο περιπτώσεις.



Σχήμα 3.3.20: Τομή στο επίπεδο ΧΖ της προσομοίωσης ροής για εναπόθεση 1mm



Σχήμα 3.3.21: Τομή στο επίπεδο ΧΖ της προσομοίωσης ροής για εναπόθεση 1.5mm

Αντίστοιχα παρακάτω, στα σχήματα 3.3.22 και 3.3.23, φαίνονται οι δύο περιπτώσεις με τομές στο ΥΖ επίπεδο, κάθετα στον άξονα Χ.



Σχήμα 3.3.22: Τομές του αγωγού κάθετα στον άζονα Χ, σε διάφορα σημεία του μήκους του για εναπόθεση Imm ύψος



Σχήμα 3.3.23: Τομές του αγωγού κάθετα στον άζονα Χ, σε διάφορα σημεία του μήκους του για εναπόθεση 1.5mm ύψος

Από τις τρεις παραπάνω περιπτώσεις δημιουργήθηκε ένας συγκεντρωτικός πίνακας για τη μεταβολή της ταχύτητας κατά μήκος του αγωγού.

Ύψος εμποδίου	Ταχύτητα (αρχή) (m/s)	Ταχύτητα (μέση) (m/s)	Ταχύτητα (τέλος) (m/s)
0.5 mm	0.002365	0.0027	0.002313
1 mm	0.0023	0.002975	0.00234
1.5 mm	0.0233	0.003725	0.0232

Σχήμα 3.3.24: Μεταβολή ταχύτητας κατά μήκος του αγωγού για τις τρεις εναποθέσεις

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η αλλαγή της ταχύτητας είναι τοπική, όπως αναμένεται, αφού και η μεταβολή της διατομής είναι τοπική. Τα αποτελέσματα λοιπόν που αξίζει να αναλυθούν από αυτές τις προσομοιώσεις είναι η μέγιστη ταχύτητα που θα έχουν τα σωματίδια στο σημείο όπου η διατομή ελαχιστοποιείται.

Κατόπιν ανάλυσης των δεδομένων και ομαδοποίησής τους στο excel, δημιουργήθηκε το σχήμα 3.3.25, που συμπεριλαμβάνει τις αλλαγές στην ταχύτητα ροής, μαζί με τις εξισώσεις τους, ομαδοποιημένες ανά κατηγορία.



Σχήμα 3.3.25: Μεταβολή ταχύτητας ροής για όλες τις εναποθέσεις και τους πιθανούς ρυθμούς ροής

Κατά σειρά από κάτω προς τα πάνω, αρχικά φαίνεται η ταχύτητα εισαγωγής ρευστού στο σωλήνα, δεδομένου ότι εισάγεται ομοιόμορφα το υγρό και ακόμα δεν έχει δημιουργηθεί το τυπικό προφίλ ταχύτητας. Μετά εμφανίζεται η ταχύτητα στο κέντρο του αγωγού λόγω δημιουργίας προφίλ ταχύτητας στρωτής ροής. Αυτό σημαίνει ότι η αυξημένη ταχύτητα στο κέντρο συνεπάγεται μειωμένη ταχύτητα στα τοιχώματα, άρα εφόσον το μαγνητικό πεδίο καταφέρει να εκτρέψει το σωματίδιο από το κέντρο, θα καταφέρει και να το συλλέξει. Οι επόμενες τρεις παραστάσεις δείχνουν την αλλαγή στην ταχύτητα ανάλογα με το εμπόδιο που θα βρεθεί στην πορεία του ρευστού. Αυτές οι εξισώσεις είναι ανεξάρτητες του εμβαδού του αγωγού, διότι σε οποιοδήποτε αγωγό στον οποίο υπάρχει στρωτή ροή τοποθετηθεί ένα εμπόδιο το οποίο καταλαμβάνει ένα ποσοστό του εμβαδού, θα προκύψει αντίστοιχη αύξηση ταχύτητας. Αυτό μπορεί να φανεί χρήσιμο σε μελλοντικές εργασίες με διαφορετικά μεγέθη αγωγών.



Σχήμα 3.3.26: Αναμενόμενη αύζηση ταχύτητας ανάλογα με το ύψος της εναπόθεσης

Είναι εμφανές ότι η ταχύτητα αυξάνεται γραμμικά ανάλογα με το ύψος του εμποδίου που βρίσκει το ρευστό. Σε μεγαλύτερους ρυθμούς ροής παρατηρείται ότι η τελική ταχύτητα μπορεί να είναι μέχρι και μιάμιση φορά μεγαλύτερη από την αρχική. Τέτοιες αλλαγές στην ταχύτητα δεν θα επιτρέψουν στα σωματίδια που βρίσκονται μέσα στο ρευστό να ταξιδέψουν προς τα τοιχώματα και να προσκολληθούν σε αυτά λόγω του μαγνητικού πεδίου.

3.3.5. Αρχικά αποτελέσματα

Κατόπιν ολοκληρώσεως των πειραμάτων έγινε απολογισμός της διαδικασίας μαγνητικού διαχωρισμού και προέκυψαν συμπεράσματα με βάση τα αποτελέσματα του. Έγινε επίσης σύγκριση θεωρητικών και πειραματικών αποτελεσμάτων η οποία κατέληξε σε μία προσπάθεια κατανόησης των φαινομένων μαγνητοφόρησης σε ρευστά μέσα καθώς και αναγνώρισης παραγόντων που αυξάνουν την απόδοση του διαχωρισμού.

Πρώτη παρατήρηση που έγινε κατά τη διάρκεια των υπολογισμών είναι ότι η δύναμη που χρειάζεται προκειμένου να μείνει σε αιώρηση ένα μαγνητικό σωματίδιο στο κέντρο του σωλήνα, κόντρα στη ροή, είναι πολύ μεγαλύτερη, κατά δύο τάξεις μεγέθους, από αυτή που χρειάζεται προκειμένου το σωματίδιο να εκτραπεί και να καθοδηγηθεί σταδιακά στο τοίχωμα του σωλήνα, ώστε να μην επηρεάζεται πλέον από την ταχύτητα της ροής.

Η κίνηση που κάνει ένα σωματίδιο προς την άκρη του σωλήνα είναι στην πραγματικότητα παραβολική. Η παρατήρηση αυτή έγινε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, αλλά για λόγους απλούστευσης των υπολογισμών θεωρήθηκε ότι είναι κατά προσέγγιση απλά διαγώνια ως προς τα δύο διανύσματα ταχύτητας που υφίσταται το σωματίδιο μέσα στη ροή. Αποδεικνύεται με βάση τα πειράματα ότι είναι εφικτός ο πλήρης διαχωρισμός μαγνητικών σωματιδίων από συνεχές μέσο, εάν ισχύουν οι κατάλληλες συνθήκες.

Για περιπτώσεις όπου δεν υπάρχουν ηλεκτροστατικές δυνάμεις που να δυσχεραίνουν τη διαδικασία της κροκίδωσης, ο παράγοντας αύξησης συνεργατικής μαγνητοφόρησης φαίνεται να πολλαπλασιάζει την αρχική ταχύτητα, δίνοντας δεκαπλάσια τελική ταχύτητα συσσωματωμάτων.

Για περιπτώσεις όπου υπάρχουν ηλεκτροστατικοί παράγοντες που αποτρέπουν τη συσσωμάτωση, αλλά υπάρχει αρκετά μεγάλη συγκέντρωση σωματιδίων, όπως στην περίπτωση των μαγνητικών κυττάρων, φαίνεται να προκύπτει μία σταθερά συνεργατικής μαγνητοφόρησης που διπλασιάζει την αρχικά υπολογισμένη ταχύτητα.

Κατόπιν των δύο παραπάνω συμπερασμάτων είναι εφικτός και ο υπολογισμός της έκτασης μαγνητικής κροκίδωσης στην περίπτωση των επικαλυμμένων σωματιδίων.

Εφόσον φαίνεται ότι η μαγνητική κροκίδωση εν απουσία απωθητικών ηλεκτροστατικών δυνάμεων οδηγεί σε μαγνητικά σωματίδια με δεκαπλάσια ακτίνα (αύξηση 1000%), εμφανές από τη δημιουργία συσσωματωμάτων 500nm ακτίνας από τα νανοσωματίδια μαγνητίτη, μπορεί να υπολογιστεί για τη μαγνητική κροκίδωση που ισχύει για την περίπτωση των επικαλυμμένων σωματιδίων, η οποία φαίνεται να διπλασιάζει την ενεργό ακτίνα των σωματιδίων.

Με βάση το διπλασιασμό ακτίνας ο παράγοντας συνεργατικής μαγνητοφόρησης που ισχύει για τα μαγνητικά κύτταρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τα επικαλυμμένα νανοσωματίδια, με αποτέλεσμα τον παρατηρούμενο μερικό διαχωρισμό. Θεωρείται ότι η συνεργατική μαγνητοφόρηση εξαρτάται από τη συγκέντρωση των σωματιδίων, άρα εάν αυξηθεί η συγκέντρωση των επικαλυμμένων σωματιδίων, τότε θα αυξηθεί και το ποσοστό διαχωρισμού τους από το διάλυμα.

Από τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων της ροής, προκύπτει πως είναι αναγκαία η κατασκευή μιας διάταξης η οποία θα μπορεί να λειτουργεί με συνεχή τρόπο ώστε η συσσώρευση μαγνητικού υλικού στα τοιχώματα του σωλήνα να μην αλλοιώνει την αποτελεσματικότητα του διαχωρισμού σε μεγάλους όγκους.

3.3.6. Μαγνητικός διαχωριστής συνεχούς ροής

Λαμβάνοντας όλα τα προηγούμενα υπόψιν, κατασκευάστηκε ένας μαγνητικός διαχωριστής συνεχούς ροής, χρησιμοποιώντας βαλβίδες και μαγνήτες που στοχεύουν στο διαχωρισμό μαγνητικών από μη μαγνητικά σωματίδια διασπαρμένα σε ένα υγρό μίγμα. Η διαδικασία είναι φαινομενικά συνεχής γεγονός που υποδηλώνει ότι μεγάλες ποσότητες μαγνητικών σωματιδίων από διάλυμα μπορούν να διαχωριστούν χωρίς διακοπή, καθιστώντας τη συσκευή κατάλληλη για χρήση σε περιβαλλοντικές ή βιοϊατρικές εφαρμογές.

3.3.6.1. Σχεδιασμός μαγνητικού διαχωριστή

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα ήδη υπάρχοντα συστήματα είναι MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) τα οποία μπορούν να διαχωρίσουν τα μίγματα σύμφωνα με τις μαγνητικές ιδιότητες των διαλυτών, ωστόσο μπορούν να επεξεργαστούν μικρές ποσότητες. Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζονται υπάρχουσες διατάξεις που επιτελούν αυτόν το σκοπό.

Μέθοδος	Περιγραφή	Σχήμα	Αναφορά
Χρήση μόνιμου μαγνήτη για συνεχή διαχωρισμό	Η ομάδα της Pamme σχεδίασε ένα σύστημα με μόνιμο μαγνήτη σε μια μικρορροϊκή συσκευή που οδηγεί τα σωματίδια σε διαφορετικές εξόδους ανάλογα με τη μαγνητική τους επιδεκτικότητα. Διαχωρίζει επίσης τα μαγνητικά κύτταρα ανάλογα με τη μαγνητική ροπή τους και το μέγεθος των σωματιδίων.	M(a) M(a) M(a) M(a) M(a) M(a) M(a) M(a), M(b)	[136]
Μαλακά μαγνητικά στοιχεία για τον συνεχή μικρορροϊκό διαχωρισμό σωματιδίων	Οι Afshar et al. κατασκεύασαν ένα σύστημα που χρησιμοποιεί μαλακούς μαγνητικούς πόλους που μαγνητίζονται από εξωτερικό πηνίο και βρίσκονται σε ένα μικρορροϊκό κανάλι, οδηγώντας τα σωματίδια σε συγκεκριμένες θέσεις της συσκευής.		[137]
	Οι Han et al., χρησιμοποίησαν ένα σιδηρομαγνητικό σύρμα μαγνητισμένο εξωτερικά για να διαχωρίσει τα ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια που τα οδηγούσαν σε διαφορετικές εξόδους.	Magnetic field 420µm Inlet 50µm 30mm 50µm 42 Ferromagnetic wire (width: 120µm)	[138], [139]

PDMS sidewall buffer + beads o um	[142], [100]
Free Outlet 1 0 Utlet 1 0 Utlet 1 0 Utlet 1 0 Utlet 1 0 Utlet 1 0 Utlet 2 0 Utlet 1 0 Utlet 2 0 Utle	[143]
0.1	



Σχήμα 3.3.6.1 Τελευταία λέζη της τεχνολογίας στο μαγνητικό διαχωρισμό

Σε μεγαλύτερη κλίμακα, στις μεταλλευτικές εφαρμογές, ο διαχωρισμός των μαγνητικών μεταλλευμάτων μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση περιστρεφόμενων μαγνητών ή μαγνητικών μεταφορικών ταινιών ωστόσο, υπάρχει κατώτατο όριο μεγέθους ορυκτών, κάτω από το οποίο ο διαχωρισμός δεν είναι εφικτός, καθιστώντας έτσι ακατάλληλες αυτές τις συσκευές για περιβαλλοντικές και βιοϊατρικές εφαρμογές.

Η βασική αρχή λειτουργίας της προτεινόμενης συσκευής στηρίζεται στη χρήση ηλεκτρομαγνητών που συγκρατούν μαγνητικά σωματίδια στα τοιχώματα ενός σωλήνα που οδηγεί το μη μαγνητικό διάλυμα σε μια δεξαμενή. Τα μαγνητικά σωματίδια στη συνέχεια ξεπλένονται προς μια άλλη δεξαμενή. Χρησιμοποιώντας βαλβίδες και ηλεκτρομαγνήτες, η διαδικασία του μαγνητικού διαχωρισμού μπορεί να γίνει με συνεχή τρόπο.

Για την επιτυχή συγκράτηση και διαχωρισμό του διαλύματος, η μαγνητική δύναμη που εφαρμόζεται στα σωματίδια πρέπει να είναι μεγαλύτερη από τη δύναμη του Stokes.

Η δύναμη που απαιτείται για την ακινητοποίηση ενός μαγνητικού σωματιδίου στο κέντρο του σωλήνα ροής είναι πολύ μεγαλύτερη (~ δύο τάξεις μεγέθους) από εκείνη που απαιτείται για την καθοδήγηση του σωματιδίου προοδευτικά στο τοίχωμα του σωλήνα έτσι ώστε να μην επηρεάζεται πλέον από την ταχύτητα ροής.

Οι ηλεκτρομαγνήτες κατασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας έναν πυρήνα και δύο πηνία για τον καθένα. Τα πηνία είναι κατασκευασμένα από χάλκινο σύρμα διαμέτρου 0,8mm που έχει τυλιχτεί σε 140 στροφές. Το υλικό του πυρήνα είναι ηλεκτρικός χάλυβας SA1008.

Οι προσομοιώσεις στο ANSYS πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να εκτιμηθεί η ένταση του παραγόμενου μαγνητικού πεδίου καθώς και η βάθμωση του μαγνητικού πεδίου στην περιοχή ανάμεσα στους πόλους του πυρήνα, όπου βρίσκεται ο σωλήνας.

Έχοντας εκτιμήσει θεωρητικά την ελάχιστη τιμή *H*∇*H*, που απαιτείται για να διατηρηθούν τα μαγνητικά τροποποιημένα κύτταρα, είναι δυνατόν να εκτιμηθεί το ελάχιστο ρεύμα που απαιτείται για την τροφοδοσία των πηνίων.



Σχήμα 3.3.6.2: Προσομοίωση μαγνητικού πεδίου του ηλεκτρομαγνήτη που χρησιμοποιήθηκε

Το μαγνητικό πεδίο που παράγεται από τον ηλεκτρομαγνήτη προσελκύει τα μαγνητικά σωματίδια προς τα τοιχώματα του σωλήνα όπου η ταχύτητα του ρευστού ελαχιστοποιείται λόγω του προφίλ της στρωτής ροής και έτσι τα μαγνητικά σωματίδια συσσωρεύονται εκεί.

Λόγω της συχνής εναλλαγής των δύο ηλεκτρομαγνητών, το φαινόμενο Joule δεν προκαλεί υπερθέρμανση των πηνίων.

Ένα τροφοδοτικό GWD INSTEK GPD 2303S DC χρησιμοποιήθηκε για την τροφοδοσία των πηνίων με ρεύματα από 0.5 έως 3A ανάλογα με την ταχύτητα του ρευστού.

Η προτεινόμενη συσκευή αποτελείται από 4 βαλβίδες 2 οδών, 2 βαλβίδες 3 οδών, 2 πηνία, 2 αντλίες και ένα σύστημα ελέγχου βασισμένο σε μικροελεγκτή.

Το μείγμα αντλείται από τη δεξαμενή 1, μέσω της βαλβίδας 3-οδών 1, στο πηνίο 1 που ενεργοποιείται και τα μαγνητικά σωματίδια συγκρατούνται στο σωλήνα. Το καθαρό διάλυμα συλλέγεται στη δεξαμενή 3. Μετά από ένα ορισμένο διάστημα, η βαλβίδα 3 κατευθύνει την ροή προς το πηνίο 2 όπου επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία και το καθαρό διάλυμα οδηγείται επίσης στη δεξαμενή 3. Παράλληλα, το πηνίο 1 απενεργοποιείται και αντλείται νερό (ή άλλο διάλυμα) από τη δεξαμενή 2 μέσω του πηνίου 1 που καταλήγει στη δεξαμενή 4 (μέσω της βαλβίδας 3) προκειμένου να ξεπλυθούν τα συγκρατημένα μαγνητικά σωματίδια. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται συνεχώς και όλο το μαγνητικό υλικό συλλέγεται στη δεξαμενή 4. Για μεγαλύτερη απόδοση, σε εφαρμογές ανάμειξης ή σε περιπτώσεις πυκνών μαγνητικών διαλυμάτων, είναι δυνατό να προστεθούν περισσότεροι κλάδοι στο σύστημα είτε παράλληλα, είτε σε σειρά.



Σχήμα 3.3.6.3: Σχηματική αναπαράσταση διάταξης

Στο διάγραμμα, παρουσιάζεται ποιες βαλβίδες και πηνία ενεργοποιούνται αυτόματα ταυτόχρονα:

Component	Phase 1	Phase 2
Valve 1	OFF	ON
Valve 2	ON	OFF
Valve 3	OFF	ON
Valve 4	ON	OFF
3-way valve 1	UP	DOWN
3-way valve 2	UP	DOWN
Coil 1	ON	OFF
Coil 2	OFF	ON
Pump 1	ON	ON
Pump 2	ON	ON

Σχήμα 3.3.6.4: Διάγραμμα βαλβίδων και ενεργοποιητών για τις δύο φάσεις λειτουργίας

Η ενεργοποίηση των βαλβίδων 3-οδών ρυθμίζεται ώστε να αλλάζει σε κατάλληλα χρονικά διαστήματα που είναι αρκετά σύντομα για να αποφευχθεί το μπλοκάρισμα των σωλήνων από τη συσσώρευση σωματιδίων. Το μέγεθος των ηλεκτρομαγνητών καθώς και η τρέχουσα τροφοδοσία τους μπορούν να επιλεγούν σύμφωνα με τις μαγνητικές ιδιότητες του διαλύματος και την πυκνότητα των μαγνητικών σωματιδίων στο διάλυμα. Το μήκος των σωλήνων πρέπει να είναι το ελάχιστο για να επιτευχθεί η μέγιστη πυκνότητα διαλύματος στο δοχείο 4. Επίσης, ανάλογα με την εφαρμογή, η δεξαμενή 2 και η αντλία 2 μπορούν να παραλειφθούν και το μίγμα από τη δεξαμενή 1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διάλυμα πλύσης.

Το σύστημα ελέγχου αποτελείται από έναν μικροελεγκτή ATmega2560 προγραμματισμένο να ενεργοποιεί τον κατάλληλο συνδυασμό βαλβίδων και πηνίων σε κάθε φάση (όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.3.6.4) μέσω 5 ρελέ.

3.3.6.2. Πειραματική διαδικασία

Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του συστήματος πραγματοποιήθηκε με τρία πειράματα. Ο διακόπτης της βαλβίδας ρυθμίστηκε σε 3 δευτερόλεπτα και τα πηνία τροφοδοτήθηκαν με 3 Amperes έκαστο. Ολόκληρη η συσκευή παρουσιάζεται στο σχήμα 3.3.6.5.



Σχήμα 3.3.6.5: Πειραματική διάταζη

Για το πρώτο πείραμα, χρησιμοποιήθηκαν 2 αρχικές δεξαμενές με 100 ml αιθανόλης κάθε φορά, 0,25 ml ελαϊκού οξέος και μόνο στη δεξαμενή # 2 προστέθηκαν 0.03 g Fe₃O₄ μαγνητικά νανοσωματίδια. Οι περισταλτικές αντλίες ρυθμίστηκαν και οι δύο σε 10 RPM και το διάλυμα διήλθε μέσω του συστήματος.

Στο Σχήμα 3.3.6.6 φαίνονται τα αρχικά διαλύματα (δεξαμενή # 1 και # 2), καθώς και το αποτέλεσμα του διαχωρισμού (δεξαμενές # 3 και # 4)



Σχήμα 3.3.6.6: Αποτελέσματα διαχωρισμού πρώτης δοκιμής

Στο διάγραμμα που ακολουθεί, εμφανίζονται οι μετρήσεις ΟD για τις 4 δεξαμενές:

Tank	#1	#2	#3	#4
OD	100	180.1	162.9	180.1

Σχήμα 3.3.6.7: Μετρήσεις OD

Για το δεύτερο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν και πάλι δύο αρχικές δεξαμενές αλλά αυτή τη φορά, οι αντλίες ρυθμίστηκαν στις 10 RPM για την περισταλτική αντλία που χρησιμοποιήθηκε για τη δεξαμενή # 1 και 5 RPM για την αντλία που χρησιμοποιήθηκε για τη δεξαμενή # 2 προκειμένου να ληφθεί συμπυκνωμένο διάλυμα στη δεξαμενή # 4.



Σχήμα 3.3.6.8: Αποτελέσματα διαχωρισμού δεύτερης δοκιμής

Στο διάγραμμα που ακολουθεί, εμφανίζονται οι μετρήσεις ΟD για τις 4 δεξαμενές:

Tank	#1	#2	#3	#4
OD	100	175.5	144.2	96.3

Σχήμα 3.3.6.9: Μετρήσεις OD

Για το τρίτο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν μόνο τρεις δεξαμενές. Το δοχείο # 1 περιείχε το συνολικό διάλυμα 200 ml με την αιθανόλη, το ελαϊκό οξύ και τα μαγνητικά νανοσωματίδια και οι δύο περισταλτικές αντλίες ρυθμίστηκαν στις 5 και 10 RPM.



Σχήμα 3.3.6.10: Αποτελέσματα διαχωρισμού τρίτης δοκιμής

Η αρχική δεξαμενή # 1 και οι δεξαμενές # 3 και # 4 μετά τον διαχωρισμό φαίνονται στο σχήμα 3.3.6.10 και οι μετρήσεις OD παρουσιάζονται στο διάγραμμα.

Tank	#1	#2	#3
OD	100	97.3	85.6

Σχήμα 3.3.6.11: Μετρήσεις OD

3.3.7. Συμπεράσματα

Η διάταξη που παρουσιάστηκε μπορεί να λειτουργεί με συνεχή τρόπο και έτσι μπορεί να διαχωρίσει μαγνητικό υλικό από μεγάλους αρχικούς όγκους. Ωστόσο, είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν ισχυρότεροι μαγνήτες προκειμένου η αποτελεσματικότητα της συγκράτησης να βελτιωθεί. Η διάταξη δεν περιορίζεται στον κλάδο της βιοτεχνολογίας αλλά μπορεί να εφαρμοστεί ακόμα και σε καθαρισμό υδάτων όπως λίμνες μολυσμένες με βαρέα μέταλλα. Το σύστημα είναι υπό διαδικασία βελτιστοποίησης και έχει υποβληθεί αίτημα για την κατοχύρωση των πνευματικών δικαιωμάτων.

Τμήματα του κεφαλαίου αυτού έχουν δημοσιευτεί ως εξής:

- Banis G. et al. (2017) "An Innovative Application of Super-Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Magnetic Separation", Chemical Engineering Transactions Vol. 60. DOI: 10.3303/CET176001
- Banis G. et al. (2018) "High-Flow System to Trap and Separate Magnetic Particles from Liquid Mixtures", J Bioprocess Biotech 8:5, DOI: 10.4172/2155-9821.1000340
- Banis, G. et al. (2019) "Magnetic Particles Retaining on Open and Closed Systems." Key Engineering Materials, vol. 826, Trans Tech Publications, Ltd., Oct., pp. 25–29. Crossref, doi:10.4028/www.scientific.net/kem.826.25.

3.4. Οδήγηση μαγνητικών σωματιδίων

Το κεφάλαιο 3.4 αποτελεί ένα ξεχωριστό τμήμα της συνολικής διατριβής καθώς δε σχετίζεται άμεσα με την καλλιέργεια μικροφυκών. Ωστόσο, κρίθηκε σημαντικό να πραγματοποιηθεί μελέτη σχετικά με τη δυνατότητα οδήγησης μαγνητικών σωματιδίων με απώτερο στόχο την οδήγηση μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα. Συγκεκριμένα, σε μεταγενέστερη φάση, θα χρησιμοποιηθούν μαγνητικά τροποποιημένα μικροφύκη είτε για την οδήγηση φαρμάκου σε ιστούς στόχους ή για μαγνητική υπερθερμία με στόχο τη νέκρωση καρκινικών κυττάρων. Με γνώμονα αυτήν την κατεύθυνση, κατασκευάστηκαν δύο διατάξεις για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας της οδήγησης. Η πρώτη διάταξη σχεδιάστηκε με στόχο την ώθηση και την αλλαγή της πορείας παραμαγνητικού υλικού και η δεύτερη διάταξη σχεδιάστηκε με στόχο την ωτοματοποίηση του ελέγχου.

3.4.1. Υφιστάμενη Μεθοδολογία

Για τη θεραπεία διαφόρων ασθενειών είναι υποχρεωτική η χορήγηση ενός φαρμάκου σε ένα πολύ συγκεκριμένο σημείο στο ανθρώπινο σώμα, με στόχο την αύξηση της αποδοτικότητας ή την αποφυγή πιθανών παρενεργειών σε άλλα όργανα του ανθρώπινου σώματος. Η στοχευμένη παράδοση φαρμάκου είναι ένα εξελισσόμενο και υποσχόμενο επιστημονικό πεδίο, το οποίο χρησιμοποιεί διάφορες τεχνικές, ώστε να πετύχει τοπική χορήγηση.

Ο απομακρυσμένος χειρισμός μικροσωματιδίων έχει προσελκύσει ερευνητές από διάφορα επιστημονικά πεδία με το μαγνητισμό να είναι ο καταλληλότερος υποψήφιος για το εγχείρημα αυτό. Εξωτερικά εφαρμοζόμενα μαγνητικά πεδία είναι ικανά να οδηγήσουν «οχήματα», φάρμακα ή μόρια, σεσημασμένα με μαγνητικά νανοσωματίδια, μέσα στα αιμοφόρα αγγεία και σε άλλα σημεία του σώματος. Κατά συνέπεια, μπορούν να προσφέρουν στοχευμένες θεραπείες. Παρόλα αυτά, τα περισσότερα συστήματα ενεργοποίησης μπορούν μόνο να προσελκύσουν μαγνητικά σωματίδια σε μια σχετικά μικρή περιοχή, περιορίζοντας την πιθανή εφαρμογή μόνο σε επιφανειακούς ιστούς, χωρίς εναλλακτικές για περιπτώσεις βαθιών στόχων.

Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο, παρουσιάζεται ένα ηλεκτρομαγνητικό σύστημα ενεργοποίησης, το οποίο έχει την ικανότητα να απωθήσει και να οδηγήσει μαγνητικά σωματίδια σε αποστάσεις της τάξεως των 10cm. Κατά συνέπεια, παρέχει τη δυνατότητα χειρισμού και χορήγησης φαρμάκων σε ιστούς, στους οποίους δεν υπήρχε η δυνατότητα θεραπείας από την τοπική στόχευση φαρμάκου. Η διάταξη αποτελείται από 4 πηνία, 2 πυρήνες, 4 τροφοδοτικά ρεύματος και ένα σύστημα ελέγχου. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα και προσομοιώσεις, ώστε να αποδειχθεί η αποτελεσματικότητα της προτεινόμενης διάταξης.

Οι εφαρμογές των μαγνητικών σωματιδίων ποικίλουν και είναι πολύτιμες για τη στοχευμένη παράδοση φαρμάκων σε όγκους [105,145,146], λοιμώξεις [147] ή θρομβώσεις [148]. Επιπλέον, μπορούν να

επιτρέψουν την τοπική χορήγηση φαρμάκων [149], λιποσωμάτων [150], βλαστικών κυττάρων [151– 153] και γονιδίων [154,155].

Όσον αφορά τους όγκους, η μαγνητική χορήγηση φαρμάκου θα μπορούσε να επιτρέψει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα της θεραπείας, ελαχιστοποιώντας τις παρενέργειες της χημειοθεραπείας. Με την κατάλληλη επικάλυψη φαρμάκων-σεσημασμένων με νανοσωματίδια- με μόρια στόχους ικανά να αλληλεπιδράσουν με συγκεκριμένους υποδοχείς όγκων, είναι δυνατό να οδηγηθεί το φάρμακο αποκλειστικά στον όγκο [156].

Ένα άλλο σημαντικό πεδίο εφαρμογών θεωρείται η μαγνητική οδήγηση των βλαστικών κυττάρων. Τα βλαστοκύτταρα παίζουν ιδιαίτερο ρόλο στην ανανέωση και την επιδιόρθωση ιστών και οργάνων που έχουν υποστεί βλάβη. Ωστόσο, ένα μεγάλο εμπόδιο σε τέτοιες θεραπείες είναι η αδυναμία διατήρησης των βλαστικών κυττάρων στην επιθυμητή τοποθεσία. Προκειμένου να διατηρηθούν τα βλαστοκύτταρα στις περιοχές-στόχους, μαγνητικά νανοσωματίδια μπορούν να εισαχθούν στα βλαστικά κύτταρα, ώστε να ακινητοποιηθούν σε έναν ιστό με τη χρήση εξωτερικά εφαρμοζόμενων μαγνητικών πεδίων. Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατόν να αποφευχθεί το πρόβλημα της ενσωμάτωσης κυττάρων βραχείας διάρκειας σε ένα όργανο ή ιστό μετά την ένεση.

Μία εφαρμογή βλαστοκυττάρων που παρουσιάζει σημαντικές ευκαιρίες στον τομέα της νευροχειρουργικής είναι η θεραπεία των τραυματισμών του νωτιαίου μυελού (spinal cord injuries). Οι τραυματισμοί του νωτιαίου μυελού (SCI) ορίζονται ως πολύπλοκες παθοφυσιολογικές βλάβες που προκαλούνται από τραυματισμούς στη σπονδυλική στήλη και υπάρχουν περισσότερα από 700.000 περιστατικά ανά έτος παγκοσμίως.

Η παθοφυσιολογία SCI αποτελείται από δύο ξεχωριστές φάσεις. Ο πρωταρχικός τραυματισμός αναφέρεται στην αρχική διάτμηση ή συμπίεση του ιστού του νωτιαίου μυελού. Η μηχανική δύναμη της πρωταρχικής βλάβης προκαλεί αιμορραγία, διαταραχή της ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης και ανισορροπία ιόντων και νευροδιαβιβαστών που εκθέτει άμεσα τη νευρική λειτουργία. Η δευτερογενής βλάβη σχετίζεται με την προοδευτική φλεγμονώδη, ισχαιμική και διαδοχική απόπτωση που ακολουθεί την αρχική μηχανική επίθεση. Οι θεραπείες βλαστοκυττάρων για SCI επιδιώκουν να ελαχιστοποιήσουν την εξάπλωση δευτερογενών βλαβών, να αυξήσουν τη λειτουργία των υπολειπόμενων κυτταρικών πληθυσμών και να διευκολύνουν την αναγέννηση των νευρωνικών και νευρογλοιακών πληθυσμών.

Η κυτταρική μεταμόσχευση μπορεί να ενισχυθεί με ένα συνδυασμό αυξητικών παραγόντων, ικριωμάτων ή άλλων βιοϋλικών που βελτιώνουν την επιβίωση των κυττάρων, την ενσωμάτωση και τη διαφοροποίηση. Η ενδοσπονδυλική εφαρμογή αυτών των θεραπειών οδηγεί σε ενσωμάτωση μεταμοσχευμένων κυττάρων, τα οποία μπορούν να προάγουν την νευρική αναγέννηση μέσω διάφορων προτεινόμενων μηχανισμών [157]. Η ενσωμάτωση σε συγκεκριμένες θέσεις μπορεί να αυξηθεί αποτελεσματικά με τη χρήση μαγνητικώς τροποποιημένων βλαστικών κυττάρων. Έχουν διεξαχθεί διάφορες μελέτες σχετικά με την παράδοση μαγνητικώς τροποποιημένων βλαστοκυττάρων σε στόχους όπως το μυοκάρδιο ή στο σπονδυλικό σωλήνα, αλλά η στόχευση σε όλες αυτές τις μελέτες είναι ακόμα σε πρώιμα στάδια. [158].

Μια ακόμη πιθανή εφαρμογή θα μπορούσε να αποτελέσει και η οδήγηση μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών, στα οποία έχει εισαχθεί σύνολο μικρομορίων ή φαρμάκων τα οποία θα μπορούσαν να αποδεσμευτούν στον ιστό-στόχο.

Για το χειρισμό μαγνητικών νανοσωματιδίων μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνιμοι μαγνήτες ή ηλεκτρομαγνήτες. Οι μόνιμοι μαγνήτες παράγουν μαγνητικά πεδία υψηλής βάθμωσης, ικανά να συγκρατούν μαγνητικά σωματίδια σε σχετικά μικρές αποστάσεις (μέχρι 5 εκατοστά), αλλά η ένταση του πεδίου που διαδίδουν δε μπορεί να ρυθμιστεί. Έτσι, οι κλινικές εφαρμογές τους περιορίζονται μόνο σε περιπτώσεις συγκράτησης σε μικρές αποστάσεις [156].

Ο άλλος τρόπος μαγνητικού χειρισμού είναι η χρήση ηλεκτρομαγνητών που επιτρέπει τη δυνατότητα ενεργοποίησης/απενεργοποίησης ή ρύθμισης του παραγόμενου μαγνητικού πεδίου. Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες για χειρισμό μαγνητικών φορέων για κλινικούς σκοπούς, όπως το Octomag [159] ή το σύστημα Mag-μBot [160]. Ωστόσο, όλα αυτά τα συστήματα μπορούν να προσελκύσουν μόνο μαγνητικά σωματίδια λόγω της παραμαγνητικής τους φύσης. Επιπλέον, ένα ακόμα εμπόδιο στην οδήγηση φαρμακευτικών φορέων σε βαθείς στόχους και όργανα είναι το μέγεθος του ανθρώπινου σώματος ^[18]. Προκειμένου να προσεγγιστούν βαθείς στόχοι και, ταυτόχρονα, να δοθεί η δυνατότητα χειρισμού φαρμακευτικών φορέων, «οχημάτων» και μορίων, είναι απαραίτητη η μαγνητική απώθηση αυτών βαθιά μέσα στο ανθρώπινο σώμα (μαγνητική έγχυση). Αυτό, θεωρητικά, μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση διαμαγνητικών υλικών, αλλά η πολύ χαμηλή μαγνητική επιδεκτικότητά τους καθιστά σχεδόν αδύνατη αυτή την πράξη.

Χρησιμοποιώντας μόνιμους μαγνήτες με συγκεκριμένη διαμόρφωση, ο Sarwar και οι συνεργάτες του κατάφεραν με επιτυχία να ωθήσουν τα μαγνητικά σωματίδια στο εσωτερικό των αυτιών ποντικών, διατηρώντας τη συσκευή σε απόσταση εργασίας από το ανθρώπινο κεφάλι [161,162]. Η λειτουργική απόσταση μεταξύ της διάταξης που δημιουργεί μαγνητικό πεδίο και των σωματιδίων που πρόκειται να καθοδηγηθούν είναι βασική παράμετρος, διότι για να δημιουργηθεί μια δύναμη ώθησης προς τα έξω στα παραμαγνητικά σωματίδια[161], η ένταση του μαγνητικού πεδίου πρέπει να αυξάνεται καθώς η απόσταση αυξάνεται από τους μαγνήτες. Για να επιτευχθεί αυτό, είναι απαραίτητο να δημιουργηθεί ένα τοπικό ελάχιστο του μαγνητικού πεδίου σε κάποια απόσταση. Πράγματι, με συγκεκριμένη διάταξη μαγνητών, τα μαγνητικά πεδία προστίθενται σε ένα συγκεκριμένο σημείο και λόγω της γραμμικότητας των εξισώσεων Μαxwell, ακυρώνουν το ένα το άλλο, δημιουργώντας ένα ελάχιστο μαγνήτες, μετά από αυτό το ελάχιστο όπου και θα δημιουργήσει απωθητικές δυνάμεις. Στην πραγματικότητα, οι

μαγνητικές γραμμές σε αυτό το σημείο ελαχίστου του πεδίου συναντιούνται μεταξύ τους με αντίθετες κατευθύνσεις των διανυσμάτων, αλλά με τις ίδιες τιμές απόλυτης έντασης πεδίου. Δεδομένου ότι τα μαγνητικά πεδία δεν ακυρώνονται σε άλλα σημεία, αυτό το σημείο είναι μια μοναδική θέση τοπικού ελαχίστου της έντασης του μαγνητικού πεδίου. Οι δυνάμεις κατευθύνονται από χαμηλές σε υψηλές βαθμώσεις έντασης μαγνητικού πεδίου, επομένως στην περιοχή πέρα από το σημείο ακύρωσης θα ωθούν τα σωματίδια μακριά από το μαγνητικό σύστημα (Σχήμα 3.4.1).



Σχήμα 3.4.1: Απεικόνιση ακύρωσης μαγνητικών πεδίων σε διάφορες διατάζεις μαγνητών [161]

3.4.2. Μαγνητικό σύστημα

Για να επιτευχθεί μια αυξανόμενη βάθμωση του μαγνητικού πεδίου που ωθεί τα μαγνητικά σωματίδια, οι μαγνητικές γραμμές πρέπει να ακυρώνονται (να συναντώνται σε 180°) σε ένα επιθυμητό σημείο και μετά από αυτό το σημείο, οι γραμμές πρέπει να συναντηθούν ξανά με μη συμμετρικό τρόπο. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος πεπερασμένων στοιχείων μέσω ANSYS 17 για τη μελέτη διάφορων σχεδίων ηλεκτρομαγνητών σε διάφορες γωνίες και σε διάφορους τρέχοντες συνδυασμούς για να βελτιστοποιηθούν όλες αυτές οι παράμετροι. Οι διαστάσεις του μαγνητικού πυρήνα είναι 60x60x170mm κατασκευασμένες από ηλεκτρικό χάλυβα SA1008 και τα εσωτερικά και εξωτερικά πηνία περιελίσσονται σε 350 και 540 στροφές αντιστοίχως με χάλκινο σύρμα διαμέτρου 2mm. Σε κάθε πυρήνα, δύο πηνία είναι τυλιγμένα (Σχήμα 3.4.2). Οι μαγνητικοί πυρήνες περιβάλλονται από ξύλινες θήκες και συνδέονται με ρυθμιζόμενη ξύλινη ράβδο, η οποία επιτρέπει τη ρύθμιση της γωνίας μεταξύ των ηλεκτρομαγνητικών στοιχείων.

3.4.2.1. <u>Σύστημα ελέγχου</u>

Το σύστημα ελέγχου σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε για να παρέχει τη δυνατότητα ελέγχου των χαρακτηριστικών του σήματος τροφοδοσίας, σε κάθε πηνίο, ξεχωριστά.

Για να επιτευχθεί αυτό, το σύστημα ελέγχου βασίζεται στην τεχνική Pulsed Width Modulation (PWM), σύμφωνα με την οποία η διαμόρφωση του πλάτους (διάρκεια) ενός παλμικού σήματος έχει ως αποτέλεσμα τη ρύθμιση του πλάτους της τάσης εξόδου. Ως αποτέλεσμα, το σχεδιασμένο σύστημα ελέγχου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη ρύθμιση του πλάτους ρεύματος, καθώς και του πλάτους παλμών (duty cycle) που παρέχεται σε κάθε πηνίο.

Το σχεδιασμένο κύκλωμα αποτελείται από τέσσερα κανάλια, καθένα από τα οποία μπορεί να συνδεθεί σε διαφορετικό πηνίο. Κάθε κανάλι ελέγχεται από ένα ρυθμιστή ροής ρεύματος (TS3843B). Η έξοδος κάθε ελεγκτή μπορεί να ρυθμιστεί με ένα ποτενσιόμετρο, το οποίο βρίσκεται στο επάνω πλαίσιο του συστήματος ελέγχου. Χρησιμοποιείται ένας πέμπτος ρυθμιστής για τον έλεγχο της διάρκειας των παλμών μέσω της επιλογής μεταξύ 12 διαφορετικών δικτύων πυκνωτών, τα οποία συνδέονται με τον ελεγκτή μέσω ενός μετατροπέα σκανδάλης Schmitt (74HC14). Τέλος, η έξοδος του προσαρμοσμένου ελεγκτή τροφοδοτείται στην πύλη ενός MOSFET ισχύος (IRFP3306PbF), το οποίο επιτρέπει στο ρεύμα να ρεύσει στο συνδεδεμένο πηνίο.

Το σχεδιασμένο κύκλωμα κατασκευάστηκε σε μια πλακέτα PCB, έχοντας τους απαιτούμενους ακροδέκτες για τη σύνδεση των πηνίων. Τέσσερα τροφοδοτικά με μέγιστη ισχύ εξόδου 600W (24V, 25A) το καθένα, χρησιμοποιήθηκαν για να παρέχουν επαρκή ισχύ στα πηνία.

3.4.2.2. <u>Νανοσωματίδια</u>

Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε ένα μικροσταγονίδιο υπερπαραμαγνητικών νανοσωματιδίων. Το προϊόν (LiquidMAG-Lipid, κωδικός: 4119-5) αγοράστηκε από την Chemicell GmbH, Germany. Ο πυρήνας ήταν μαγνητίτης επικαλυμμένος με φωσφατιδυλοχολίνη με αποτέλεσμα μια υδροδυναμική διάμετρο 100 nm. Το επιφανειοδραστικό είναι υδρόφιλο, έτσι για το πείραμα χρησιμοποιήθηκε ελαϊκό οξύ για να αναγκάσει τα νανοσωματίδια να σχηματίσουν ένα μικροσταγονίδιο.

Το ηλεκτρομαγνητικό σύστημα καθώς και το σύστημα ελέγχου που ρυθμίζει το ρεύμα σε κάθε πηνίο κατασκευάστηκαν στο εργαστήριο. Η επικύρωση του σχεδιασμού έγινε με χρήση αισθητήρα Hall, προκειμένου να συγκριθεί το πεδίο που δημιουργήθηκε με τις τιμές από τις προσομοιώσεις. Μετρήσεις και προσομοιώσεις ελήφθησαν για 18Α στα εξωτερικά πηνία και 6Α στα εσωτερικά πηνία. Στο Σχήμα 3.4.3 παρουσιάζεται ολόκληρη η συσκευή και συγκρίνονται τα αποτελέσματα προσομοιώσης καθώς και πειραματικές μετρήσεις όπου μπορεί να παρατηρηθεί μια πολύ μικρή απόκλιση μεταξύ τους.



Σχήμα 3.4.2: a) Η συνολική διάταξη απεικονίζεται i) το μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση της κίνησης της σταγόνας ii) οι ηλεκτρομαγνήτες iii) το σύστημα ελέγχου iv) τα τροφοδοτικά β) Προσομοιώσεις της έντασης του μαγνητικού πεδίου που παράγεται από τους ηλεκτρομαγνήτες και τα διανύσματα του πεδίου. Φαίνεται η περιοχή ακύρωσης του πεδίου σε απόσταση από τους μαγνήτες γ) Η ένταση του μαγνητικού πεδίου μετρημένη από αισθητήρα Hall (πορτοκαλί γραμμή) σε σύγκριση με τα αποτελέσματα της προσομοίωσης στο ANSYS (μπλε γραμμή). Οι τιμές έχουν ληφθεί στην κεντρική ευθεία ξεκινώντας από το τέλος των πυρήνων

Στο σχήμα 3.4.2β, η ένταση μαγνητικού πεδίου που μεταδίδεται σε ευθεία γραμμή από τη μέση των πυρήνων απεικονίζεται για 18Α στα εξωτερικά πηνία και 6Α στα εσωτερικά πηνία. Σε απόσταση 7.5 cm από τους πυρήνες, για τις συγκεκριμένες τιμές ρεύματος στα πηνία, η ένταση του μαγνητικού πεδίου ελαχιστοποιείται λόγω της αντίθετης κατεύθυνσης των διανυσμάτων σε αυτό το σημείο.

Πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικές δοκιμές για την επαλήθευση της αποτελεσματικότητας του συστήματος και την αξιοπιστία των προσομοιώσεων. Μία παραμαγνητική σφαίρα ακτίνας 4 mm τοποθετήθηκε σε μια ράγα αλουμινίου στα 9 cm ανάλογα με τα αποτελέσματα προσομοίωσης όπως φαίνεται στο σχήμα 3.4.3. Στη συνέχεια, με την τροφοδοσία των πηνίων στα 18Α (εξωτερικά πηνία) και 6Α (εσωτερικά πηνία) η σφαίρα δέχθηκε μαγνητική ώθηση που την μετακίνησε περίπου 10 cm από το σημείο ακύρωσης (σχήμα 3.4.3).



Σχήμα 3.4.3: Μια παραμαγνητική σφαίρα ωθείται από τα 9 στα 19cm πάνω σε αλουμινένια ράγα

Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος επιβεβαίωσαν την ακρίβεια των προσομοιώσεων καθώς και τις μετρήσεις με τον αισθητήρα Hall. Ωστόσο, δεδομένου ότι ο στόχος της μελέτης ήταν να εξεταστεί αν είναι δυνατό να ωθηθούν μαγνητικά μικροσωματίδια στο ανθρώπινο σώμα, πραγματοποιήθηκε ένας δεύτερος γύρος πειραμάτων. Σε αυτήν την περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ένα μικροσταγονίδιο 10 μl ferrofluid επικαλυμμένο με επιφανειοδραστικό που το καθιστά υδρόφιλο το οποίο τοποθετήθηκε σε 100% ελαϊκό οξύ (Σχήμα 3.4.4). Το δισκίο (petri disk) που περιείχε τη μικροσταγόνα νανοσωματιδίων και ελαϊκού οξέος τοποθετήθηκε σε συγκεκριμένη απόσταση από τους πυρήνες προκειμένου να ευθυγραμμιστεί το μικροσταγονίδιο με το σημείο ακύρωσης στα 9cm (σχήμα 3.4.4) και οι ηλεκτρομαγνήτες ενεργοποιήθηκαν όπως περιεγράφηκε προηγουμένως.


Σχήμα 3.4.4: Φερρομαγνητική σταγόνα ωθείται σε ολεϊκό οξύ

Λόγω του υψηλού ιξώδους του ολεϊκού οξέος και του μεγέθους του δείγματος, η κίνηση της μικροσταγόνας περιορίστηκε μόνο σε λίγα χιλιοστά όπως φαίνεται στο σχήμα 3.4.4. Παρόλα αυτά, αυτή η μαγνητική ώθηση που λήφθηκε από το μικροσταγονίδιο αποδεικνύει ότι είναι δυνατός ο απομακρυσμένος έλεγχος παραμαγνητικού υλικού.

Αφού επιβεβαιώθηκε η αξιοπιστία των προσομοιώσεων, το επόμενο βήμα ήταν να δοκιμαστεί η δυνατότητα στρέψης της σταγόνας. Για να γίνει αυτό, η σταγόνα τοποθετήθηκε στο ίδιο σημείο εκκίνησης, και τα πηνία τροφοδοτήθηκαν με ρεύμα όπως φαίνεται στο γράφημα που ακολουθεί (σχήμα 3.4.5).



Σχήμα 3.4.5: a) Η θέση της σταγόνας για t=0sec at t=6 sec και at t=12 sec b) Προσομοιώσεις της έντασης του μαγνητικού πεδίου και διανύσματα του πεδίου για ρεύματα (από αριστερά προς τα δεξιά) 15.5, 4, 4, 13Α που προκάλεσαν κίνηση της σταγόνας στον -Χ άζονα c) η θέση της σταγόνας για t=24 sec, t=32 sec και t=48 sec d) Προσομοιώσεις της έντασης του μαγνητικού πεδίου και διανύσματα του πεδίου για ρεύματα (από αριστερά προς τα δεξιά) 17.5, 4, 4, 11Α που προκάλεσαν κίνηση της σταγόνας στον Υ άζονα

Η ταχύτητα του σταγονιδίου υπολογίστηκε επίσης ότι είναι περίπου 135 μm / sec. Η απωθητική δύναμη που ασκείται στο μαγνητικό σωματίδιο αυξάνεται καθώς αυξάνει η βάθμωση του πεδίου σε σημεία του επιπέδου πέρα από τον κόμβο ακύρωσης. Αυτός ο σχεδιασμός ανοίγει το δρόμο για την οδήγηση των φαρμακευτικών παραγόντων, σε βαθείς στόχους στο ανθρώπινο σώμα και λόγω του γεγονότος ότι χρησιμοποιούνται ηλεκτρομαγνήτες, καθιστά δυνατή την ώθηση, το στρίψιμο ή την έλξη των μαγνητικών σωματιδίων ανάλογα με κάθε συγκεκριμένη εφαρμογή.

H ενότητα αυτή έχει δημοσιευθεί στο MDPI ως: Banis, G.; Tyrovolas, K.; Angelopoulos, S.; Ferraro, A.; Hristoforou, E. Pushing of Magnetic Microdroplet Using Electromagnetic Actuation System. Nanomaterials 2020, 10, 371.

3.4.3. Αυτοματοποιημένη οδήγηση

3.4.3.1. <u>Εισαγωγή</u>

Έχοντας πετύχει τη μαγνητική ώθηση της μικροσταγόνας, το ερευνητικό ενδιαφέρον στράφηκε στον έλεγχο της οδήγησης. Σχεδιάστηκε ένα σύστημα οδήγησης παραμαγνητικού υλικού, το οποίο είναι αυτόματο και διασφαλίζει την ορθή πορεία του υλικού στο χώρο. Το τελευταίο επιτυγχάνεται με τη χρήση συστήματος ελέγχου κλειστού βρόγχου μέσω οπτικής ανάδρασης.

3.4.3.2. <u>Πειραματική διάταζη</u>

Αναλυτικότερα, η διάταξη είναι ικανή να οδηγήσει σταγόνα από μαγνητικά νανοσωματίδια (fluidMAG-Lipid 4119 Chemicell GmbH) μέσω μαγνητικού πεδίου που παράγεται από πηνία. Ο έλεγχος του πεδίου πραγματοποιείται με τη χρήση ενός κυκλώματος ελέγχου, το οποίο καθορίζει την τιμή του ρεύματος που διαρρέει τα πηνία. Το κύκλωμα αυτό συνδέει τα πηνία με Arduino, και τελικά με υπολογιστή, μετατρέποντας την όλη διαδικασία σε πλήρως αυτόματη. Για να διασφαλιστεί η ορθή λειτουργία της διάταξης η οδήγηση της σταγόνας παρακολουθείται από οπτικό μικροσκόπιο, το οποίο ενημερώνει το σύστημα για τυχόν αποκλίσεις στη διαδρομή και αυτό με τη σειρά του τις διορθώνει.



Σχήμα 3.4.6: Πειραματική διάταζη αποτελούμενη από τροφοδοτικό, μικροσκόπιο, 4 ηλεκτρομαγνήτες, σύστημα ελέγχου και υπολογιστή

Προκειμένου να υπάρξει πλήρης κατανόηση της διάταξης στα επόμενα δύο κεφάλαια παρουσιάζεται αναλυτικά τόσο το υλικό (hardware) όσο και το λογισμικό (software) που αναπτύχθηκε.

3.4.3.3. <u>Υλικό διάταζης (hardware)</u>

Για την υλοποίηση της διάταξης χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα πηνία, τέσσερεις πυρήνες, ένα τροφοδοτικό, ένα οπτικό μικροσκόπιο, ένας μικροελεγκτής Arduino, ένα κύκλωμα ελέγχου, για τη σύνδεση του Arduino με τα πηνία, και ένας υπολογιστής για τον προγραμματισμό και την εκτέλεση του συστήματος.

- i. Πηνία και πυρήνες: Τα πηνία που χρησιμοποιήθηκαν αποτελούνται από N = 860 σπείρες σύρματος χαλκού, διαμέτρου d = 80 mm και αντίστασης R = 3 Ω. Οι πυρήνες αποτελούνται από φύλλα ηλεκτρικού χάλυβα SA 1008. Συνδυαστικά, δημιούργησαν τέσσερεις ηλεκτρομαγνήτες, οι οποίοι παρήγαγαν το απαραίτητο μαγνητικό πεδίο για την οδήγηση της σταγόνας.
- Τροφοδοτικό: Τα τροφοδοτικό που παρείχε τάση και ρεύμα στα πηνία είναι το Instek GPD-2303S, ισχύος 180W. Σε κάθε πηνίο εφαρμόστηκε σταθερή τάση 25 Volt, μέσω κοινής τροφοδοσίας.
- iii. Οπτικό μικροσκόπιο: Το οπτικό μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε στη διάταξη είναι το Bresser junior DM400, και είναι φτιαγμένο από πλαστικό διασφαλίζοντας έτσι ότι αποφεύγονται παρεμβολές με το μαγνητικό πεδίο. Το μικροσκόπιο αποτελεί την είσοδο του συστήματος, καθώς από αυτό εξάγεται η θέση της σταγόνας και έτσι καθορίζεται η πορεία της.



Σχήμα 3.4.7: Τροφοδοτικό με τάση εξόδου 25 V



Σχήμα 3.4.8: Πηνία, πυρήνες και οπτικό μικροσκόπιο

iv. Arduino: Το Arduino είναι ένας μικροελεγκτής μονής πλακέτας, δηλαδή μια απλή μητρική πλακέτα ανοιχτού κώδικα με ενσωματωμένο μικροελεγκτή και εισόδους/εξόδους, η οποία μπορεί να προγραμματιστεί με τη γλώσσα Wiring (πρόκειται για τη γλώσσα προγραμματισμού C++ και ένα σύνολο από βιβλιοθήκες, υλοποιημένες επίσης στην C++). Το Arduino μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη διάφορων συστημάτων, όπως για παράδειγμα αυτό της συγκεκριμένης εργασίας. Το Arduino συνδέει τον υπολογιστή με το κύκλωμα ελέγχου και επομένως, μεταφέρει τα κατάλληλα σήματα για να αλλάξει τα ρεύματα των πηνίων.



Σχήμα 3.4.9: Arduino microcontroller

V. Κύκλωμα ελέγχου: Το κύκλωμα ελέγχου είναι αυτό που συνδέει μεταξύ τους όλα τα προηγούμενα μέρη της διάταξης, εκτός από το μικροσκόπιο. Σκοπός του είναι ο έλεγχος των πηνίων, και συγκεκριμένα μεταφράζει τα σήματα που δέχεται από το Arduino, σε κατάλληλα

σήματα που καθορίζουν το πότε ανοίγουν, πότε κλείνουν και πόσο ρεύμα τα διαρρέει. Έτσι, είναι δυνατόν να υπάρχει πλήρης έλεγχος του μαγνητικού πεδίου που δημιουργείται. Το κύκλωμα που σχεδιάστηκε αποτελείται από τέσσερα Mosfet (IRLB8743), τέσσερεις διόδους (1N4007), τέσσερεις αντιστάσεις των 10 KOhm και την απαιτούμενη καλωδίωση. Η παραπάνω σύνδεση έγινε πάνω σε πλακέτα, όπως απεικονίζεται και στο σχήμα 3.4.10.



Σχήμα 3.4.10: Κύκλωμα ελέγχου



Σχήμα 3.4.11: Σχηματική αναπαράσταση σύνδεσης κυκλώματος ελέγχου με τα πηνία, την τροφοδοσία και το Arduino

Τέτοιες διατάξεις χρησιμοποιούνται συχνά για επαγωγικά φορτία, όπως είναι και το πηνίο. Το Mosfet λειτουργεί ως ένας διακόπτης. Έχει τρεις ακροδέκτες, που αντιστοιχούν σε είσοδο (Source/πηγή), έξοδο (Drain/απαγωγός) και έλεγχο (Gate/πύλη). Όταν δοθεί ένα σήμα στην πύλη, το Mosfet κλείνει και επιτρέπει τη διέλευση ρεύματος μεταξύ εισόδου και εξόδου. Το πλεονέκτημα του Mosfet είναι ότι αποτελεί μια διάταξη ελεγχόμενη από τάση, η οποία δεν απαιτεί μεγάλα ρεύματα οδήγησης, όπως οι αντίστοιχες διπολικές διατάξεις. Έτσι, αποτελεί το ιδανικό στοιχείο για σύνδεση με Arduino, το οποίο δίνει ως έξοδο 20 με 40 mA. Στη συγκεκριμένη διάταξη, η μία άκρη του πηνίου συνδέεται στην τροφοδοσία, η άλλη στην έξοδο του τρανζίστορ, και η πηγή του τρανζίστορ στη γείωση. Συνεπώς, όταν στέλνεται σήμα από το Arduino στην πύλη, η πηγή συνδέεται με την έξοδο και τελικά το πηνίο με τη γείωση, οπότε και διαρρέεται από ρεύμα.

Η πύλη του κάθε τρανζίστορ είναι συνδεδεμένη σε μία έξοδο PWM (Pulse Width Modulation) του Arduino. Η διαμόρφωση πλάτους παλμού (PWM) είναι μια μέθοδος μείωσης της μέσης ισχύος που παρέχεται από ένα ηλεκτρικό σήμα, κόβοντάς το σε ξεχωριστά μέρη. Η μέση τιμή τάσης και ρεύματος που τροφοδοτείται στο φορτίο, ελέγχεται με ενεργοποίηση και απενεργοποίηση του διακόπτη μεταξύ τροφοδοσίας και φορτίου, με γρήγορο ρυθμό. Όσο περισσότερο είναι ενεργοποιημένος ο διακόπτης σε σύγκριση με τις περιόδους απενεργοποίησης, τόσο μεγαλύτερη είναι η συνολική ισχύς που παρέχεται στο φορτίο. Ελέγχοντας λοιπόν το χρόνο ενεργοποίησης σε σχέση με την περίοδο του σήματος, το duty cycle, είναι δυνατόν να ελέγχεται η παρεχόμενη τάση και ρεύμα. Συνεπώς, με τη σύνδεση της πύλης του τρανζίστορ στην PWM έξοδο του Arduino, επιτυγχάνεται η διαμόρφωση πλάτους της τάσης και του ρεύματος του πηνίου.

Όταν το πηνίο διαρρέεται από ρεύμα, λόγω της αυτεπαγωγής, δημιουργούνται ρεύματα αντίθετης φοράς, τα οποία μπορεί να περάσουν στο Mosfet και να το κάψουν. Τοποθετώντας τη δίοδο με την αντίθετη φορά από αυτή της τροφοδοσίας προστατεύεται το τρανζίστορ και το υπόλοιπο κύκλωμα.

Τέλος, η 10 KOhm αντίσταση που είναι συνδεδεμένη μεταξύ γείωσης και πύλης, λειτουργεί ως pull-down αντίσταση. Δηλαδή, διασφαλίζει ότι όταν η έξοδος του Arduino είναι ασαφής, για παράδειγμα όταν ανοίγει, η πύλη θα είναι συνδεδεμένη στη γείωση και δε θα ενεργοποιηθεί το τρανζίστορ.

vi. Υπολογιστής: Ο υπολογιστής αποτελεί τον εγκέφαλο του συστήματος, καθώς σε αυτόν αναπτύχθηκε το λογισμικό που αναλαμβάνει την υλοποίησή του. Για τον προγραμματισμό χρησιμοποιήθηκε η γλώσσα MATLAB. Η γλώσσα αυτή κρίθηκε ως η καταλληλότερη, εφόσον παρέχει βιβλιοθήκες για επεξεργασία εικόνας, που είναι απαραίτητη για την οπτική ανάδραση του συστήματος, και για τη χρήση Arduino.

3.4.3.4. <u>Λογισμικό διάταξης (software)</u>

Το λογισμικό που αναπτύχθηκε είναι ικανό να υλοποιήσει το σύστημα παράγοντας την επιθυμητή έξοδο. Για να γίνει κατανοητή η λειτουργία του, αρχικά, παρουσιάζεται ένα ολικό διάγραμμα ροής (flowchart) του προγράμματος, και στη συνέχεια αναλύεται βήμα-βήμα ο τρόπος εκτέλεσής του, επισυνάπτοντας τα σημαντικότερα σημεία του κώδικα.

Προκειμένου να λειτουργήσει σωστά ο κώδικας, ο χρήστης πρέπει να έχει τοποθετήσει κάτω από το μικροσκόπιο και ανάμεσα από τους ηλεκτρομαγνήτες, ένα μιλιμετρέ χαρτί και ένα δισκίο με μαγνητική σταγόνα. Σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιήθηκε μία μικροσταγόνα ferrofluid 10μL διαμορφωμένη σε νερό (νανοσωματίδια μαγνητίτη καλυμμένα με δεξτράνη), που τοποθετήθηκε σε 100% ολεϊκό οξύ.



Σχήμα 3.4.12: Διάγραμμα ροής προγράμματος

1° βήμα: Λήψη εικόνας από το μικροσκόπιο και επεξεργασία της

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, το μικροσκόπιο αποτελεί την είσοδο του συστήματος, καθώς από αυτό εξάγεται η θέση της σταγόνας και ελέγχεται η πορεία της. Αρχικά, λαμβάνεται μια εικόνα και στη συνέχεια γίνεται η απαραίτητη επεξεργασία. Για την επεξεργασία αυτή χρησιμοποιήθηκε το εργαλείο Image Acquisition Toolbox του Matlab. Συγκεκριμένα, μία εικόνα είναι ένας τρισδιάστατος πίνακας μεγέθους όσα και τα πίξελ της. Κάθε διάσταση του πίνακα αντιστοιχεί σε ένα από τα βασικά χρώματα, κόκκινο, πράσινο και μπλε. Επομένως, κάθε πίξελ της εικόνας αναπαρίσταται από μία τιμή για κάθε χρώμα, δηλαδή για μια εικόνα μεγέθους 640x480 υπάρχει ένας τρισδιάστατος πίνακας με 640x480x3 = 921600 τιμές. Ο χειρισμός τέτοιων πινάκων, κρίθηκε χρονοβόρος και δύσκολος, οπότε προτιμήθηκε η μετατροπή της εικόνας στην αντίστοιχη δυική, δηλαδή σε ασπρόμαυρη. Έτσι, ο νέος πίνακας είναι μονοδιάστατος και αποτελείται από τιμές 0 (μαύρο) και 1 (άσπρο). Για να γίνει σωστά η μετατροπή σε δυική μορφή η εικόνα χωρίστηκε σε δύο, μία για την αναγνώριση της σταγόνας και μια για την αναγνώριση του μιλιμετρέ χαρτιού. Αφού γίνεται η κατάλληλη επεξεργασία, οι εικόνες ενώνονται και πάλι σε μία. Τα παραπάνω κατανοούνται μέσω παραδείγματος. Η αρχική εικόνα από το μικροσκόπιο είναι η εξής:



Σχήμα 3.4.13: Λήψη εικόνας από μικροσκόπιο. Επιλέχτηκε ως εικόνα η ίδια του προηγούμενου πειράματος (κεφάλαιο 3.4.1)

Στη συνέχεια, η αρχική εικόνα χωρίζεται σε δύο, όπου γίνεται επεξεργασία των χρωμάτων τους και μετατρέπονται σε δυική μορφή. Ύστερα από επανασχεδίαση της εικόνας με το μιλιμετρέ χαρτί, οι εικόνες συνδυάζονται και πάλι και τέλος, κλείνονται οι ανοιχτές περιοχές, δηλαδή τα μη ολοκληρωμένα ορθογώνια.



Σχήμα 3.4.14:α) Εικόνα μόνο με μιλιμετρέ β) Εικόνα μόνο με σταγόνα γ) Τελική εικόνα δ) Τελική εικόνα που αποτελείται μόνο από κλειστά ορθογώνια

Στη συνέχεια, από την τελική εικόνα δημιουργείται ένας πίνακας με διαστάσεις όσο και αυτές του πίνακα που έχει δημιουργηθεί από το μιλιμετρέ χαρτί. Ο πίνακας αυτός λαμβάνει τιμή 1 στη θέση της σταγόνας. Για να εντοπιστεί η σταγόνα, χρησιμοποιείται η έτοιμη συνάρτηση BlobAnalysis και έπειτα υπολογίζεται η θέση της με βάση το κέντρο συμμετρίας της.

2° βήμα: Καθορισμός της περιοχής κίνησης της σταγόνας

Αφού η εικόνα που έχει ληφθεί από το μικροσκόπιο έχει αναγνωριστεί πλήρως, το πρόγραμμα αναδύει νέο παράθυρο, όπου ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να επιλέξει τη διαδρομή που θα ακολουθήσει η σταγόνα. Στο νέο παράθυρο ο χρήστης βλέπει ένα χάρτη, ο οποίος έχει δημιουργηθεί με βάση το μιλιμετρέ χαρτί, και πατώντας πάνω στα τετράγωνα, μπορεί να ορίσει μια συνεχόμενη διαδρομή.

File Edit View Insert Tools Desktop Window Help	• • • • •
〕≝⊌ĕ⊧≷≪⊘⊘₹⊀·Ğ□≣≡⊐	
	Contract - D ×
	• How To Lies
	End
	Remake

Σχήμα 3.4.15: Αναδυόμενο παράθυρο χάραζης διαδρομής σταγόνας

Στο παράθυρο υπάρχουν τρία κουμπιά. Πατώντας το πρώτο, How To Use, εμφανίζεται ο τρόπος λειτουργίας της εφαρμογής.

\star Но	w to use			-		X
First se select a remake	lect the rout again the end the route hi	e you want to ding position a t the "Remake	make. If you v and hit the "En a" button.	vant to si d" button	ubmit the I. If you w	route, e vant to

Σχήμα 3.4.16: Κουμπί How To Use

Το δεύτερο κουμπί, End, πρέπει να το πατήσει ο χρήστης για να καταχωρηθεί η διαδρομή της σταγόνας στο σύστημα. Όταν χαράξει τη διαδρομή που επιθυμεί, αναδύεται παράθυρο που ειδοποιεί τον χρήστη πως πρέπει να πατήσει το συγκεκριμένο κουμπί.



Σχήμα 3.4.17: Ειδοποίηση για πάτημα κουμπιού End

Τέλος, πατώντας το κουμπί Remake ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να επανασχεδιάσει τη διαδρομή.

3° βήμα: Μετακίνηση σταγόνας

Εφόσον έχει οριστεί η πορεία της σταγόνας το επόμενο βήμα είναι η μετακίνησή της. Για να επιτευχθεί αυτό, ανάλογα με την κατεύθυνση που πρέπει να ακολουθηθεί, ενεργοποιείται η κατάλληλη έξοδος του Arduino, και επομένως ο αντίστοιχος ηλεκτρομαγνήτης. Με τον όρο ενεργοποίηση της εξόδου εννοείται η ρύθμιση του duty cycle. Όσο πιο μεγάλο είναι, τόσο μεγαλύτερο ρεύμα διαρρέει το πηνίο και τόσο μεγαλύτερο μαγνητικό πεδίο αναπτύσσεται. Όταν, για παράδειγμα, η σταγόνα πρέπει να μετακινηθεί προς τα δεξιά, ενεργοποιείται η έξοδος 5, η οποία είναι συνδεδεμένη με το δεξί πηνίο. Το duty cycle ορίζεται στο 40%, το πηνίο τραβάει ρεύμα και η σταγόνα μετακινείται. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι οι έξοδοι του Arduino είναι προγραμματισμένες ώστε να δίνουν σήμα ανά ένα δευτερόλεπτο. Με τον τρόπο αυτό, το ρεύμα που διαρρέει τα πηνία γίνεται παλμικό και έτσι αποφεύγεται η περίπτωση υπερθέρμανσης.

Ένα πολύ σημαντικό κομμάτι για την ορθή λειτουργία του συστήματος, είναι η ζωντανή οπτική ανάδραση. Αναλυτικότερα, το μικροσκόπιο έχει προγραμματιστεί για λήψη φωτογραφίας ανά ένα δευτερόλεπτο. Από την εικόνα αυτή εξάγεται η θέση της σταγόνας και ελέγχεται σε σχέση με τη δοσμένη πορεία. Σε περίπτωση που έχει υπάρξει απόκλιση, το πρόγραμμα ενημερώνει την έξοδο του Arduino που απαιτείται και τελικά επαναφέρει τη σταγόνα στη σωστή θέση. Πλέον, γίνεται κατανοητό γιατί το σύστημα χαρακτηρίστηκε ως σύστημα ελέγχου κλειστού βρόγχου. Η ανάδραση παρατηρείται και στο διάγραμμα ροής (σχήμα 3.4.12).

Ο χρήστης μπορεί να παρακολουθεί την πορεία της σταγόνας, καθ΄ όλη τη διάρκεια μετακίνησής της. Αφού φτάσει στην τελική θέση, το πρόγραμμα τερματίζεται.



Σχήμα 3.4.18: Ζωντανή παρακολούθηση πορείας σταγόνας

3.4.3.5. <u>Προσομοίωση</u>

Πριν σχεδιαστεί η τελική διάταξη, που παρουσιάστηκε εκτενώς παραπάνω, προηγήθηκε πείραμα για την επιβεβαίωση της ορθής λειτουργίας του συστήματος, δηλαδή του υλικού και του λογισμικού. Για το πείραμα αυτό σχεδιάστηκε το κύκλωμα ελέγχου σε breadboard και συνδέθηκαν σε αυτό δύο πηνία. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος μόνο στο υλικό μέρος της διάταξης, δίνοντας απλά τιμές στις εξόδους του Arduino, μέσω του προγράμματος Arduino IDE. Παρατηρήθηκε πως όντως, όταν δίνεται σήμα από το Arduino στην πύλη του Mosfet, το πηνίο διαρρέεται από ρεύμα και ασκεί ελκτικές δυνάμεις. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι το ρεύμα που τραβάει το πηνίο, είναι ανάλογο του Duty Cycle. Συγκεκριμένα, έγινε η μέτρηση του ρεύματος για τιμές του Duty Cycle από 1% μέχρι 25%. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο παρακάτω γράφημα.

Στη συνέχεια, η διάταξη συνδέθηκε με τον υπολογιστή και επιβεβαιώθηκε η σωστή λειτουργία του προγράμματος.

Εφόσον το πείραμα παρουσίασε τα αναμενόμενα αποτελέσματα, ακολούθησε η σχεδίαση της τελικής διάταξης και η εκτέλεση προσομοιώσεων. Μια σταγόνα ferrofluid 10μL τοποθετήθηκε σε ολεϊκό οξύ ανάμεσα στα τέσσερα πηνία. Από πάνω τοποθετήθηκε το οπτικό μικροσκόπιο, και μαζί με το Arduino, συνδέθηκε στον υπολογιστή. Τα αποτελέσματα της προσομοίωσης παρουσιάζονται παρακάτω. Σημειώνεται πως το ανοιχτό μπλε χρώμα αντιστοιχεί στην αρχική θέση, ενώ το σκούρο μπλε στην τελική θέση. Επίσης, με την πράσινη γραμμή σχεδιάζεται η πορεία της σταγόνας μέχρι εκείνη τη στιγμή.



Σχήμα 3.4.19: Στο σχήμα Α φαίνεται η αρχική θέση της σταγόνας για t=0s και στο B για t=6s.

Στη συνέχεια, κατά την πορεία της σταγόνας προς τα δεξιά, αρχίζει να αποκλίνει από την επιθυμητή θέση, και για t = 12s βρίσκεται στην από κάτω θέση. Ο αλγόριθμος αναγνωρίζει το λάθος και στο επόμενο δευτερόλεπτο, για t = 13s, επαναφέρει τη σταγόνα στη θέση της.



Σχήμα 3.4.20: Θέση της σταγόνας για: t=12s (Γ) και για t=13s (Δ)

Για τον υπόλοιπο χρόνο η κίνηση της σταγόνας είναι φυσιολογική και δε χρειάζονται διορθώσεις.



File Edit View Insert Tools Desitop Window Help

ΣΤ



Σχήμα 3.4.21: Θέση της σταγόνας για: t=71s (E) και για t=86s (ΣT)

3.4.4. Συμπεράσματα

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η ανάπτυξη ενός αυτοματοποιημένου συστήματος οδήγησης μαγνητικών μικροσωματιδίων για χρήση στη θεραπευτική ιατρική. Η έρευνα εστίασε στην εύρεση του κατάλληλου συστήματος, τόσο από πλευρά υλικού όσο και λογισμικού. Μελλοντικά, ύστερα από δοκιμές και βελτιώσεις, ένα τέτοιο σύστημα θα μπορούσε να στηρίξει μία πληθώρα βιοϊατρικών εφαρμογών.

Για να διαπιστωθεί η εγκυρότητά του διεξήχθησαν προσομοιώσεις. Αρχικά, ελέγχθηκε η διάταξη. Παρατηρήθηκε πως μέσω της PWM εξόδου ενός Arduino και ενός τρανζίστορ Mosfet, μπορεί κάποιος να ορίσει το ρεύμα που διαρρέει ένα πηνίο και επομένως να ασκήσει ελκτικές δυνάμεις σε παραμαγνητικό υλικό. Στη συνέχεια, ελέγχθηκε η λειτουργία του προγράμματος που αναπτύχθηκε και διαπιστώθηκε πως είναι ορθή. Τελικά, σχεδιάστηκε η τελική διάταξη και ακολούθησαν προσομοιώσεις. Σε αυτές επιτεύχθηκε έλεγχος μικροσταγόνας ferrofluid, αποτελούμενης από νανοσωματίδια μαγνητίτη, και οδήγηση αυτής με μέση ταχύτητα 151μm/s στο επίπεδο xy. Επίσης, το σύστημα διαθέτει τη δυνατότητα για ζωντανή οπτική ανάδραση, δηλαδή για αυτόματη διόρθωση της θέσης της σταγόνας, σε περίπτωση που βγει εκτός πορείας. Συνεπώς, κάθε προσομοίωση είχε επιτυχία 100%.

3.5. Μαγνητικός χαρακτηρισμός

3.5.1. Εισαγωγή

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζεται μια νέα πιθανή μέθοδος μέτρησης της μαγνητικής επιδεκτικότητας των υλικών. Βασίζεται σε ένα πείραμα το οποίο, χρησιμοποιώντας κατάλληλη διάταξη, στοχεύει στη μέτρηση της μαγνητικής επιδεκτικότητας σφαιρικών δειγμάτων, που περιέχουν σκόνη μαγνητίτη, σε ρευστό περιβάλλον. Πέρα από αυτή τη βασική λειτουργία, γνωρίζοντας τη μαγνητική επιδεκτικότητα των δειγμάτων, υπάρχει δυνατότητα υπολογισμού του ιξώδους ενός άγνωστου ρευστού μετά την εφαρμογή του στο πείραμα. Επιπλέον, γνωρίζοντας τη μαγνητική επιδεκτικότητα, το ιξώδες του ρευστού και την ακτίνα των κόκκων του μαγνητίτη, υπάρχει δυνατότητα υπολογισμού του μαγνητική επιδεκτικότητα υπολογισμού του πλήθους των κόκκων του εντός του δείγματος. Η διάταξη που προτείνεται είναι απλούστερη, λιγότερο κοστοβόρα από τα καθιερωμένα όργανα μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας που είναι διαθέσιμα στα εργαστήρια και έχει τη δυνατότητα μέτρησης τριών διαφορετικών φυσικών μεγεθών.

Ο υπολογισμός της μαγνητικής επιδεκτικότητας δια μέσω του πειράματος πραγματοποιείται λαμβάνοντας μετρήσεις τη στιγμή της εξίσωσης δύο δυνάμεων που ασκούνται στο δείγμα: της δύναμης Stokes που ασκείται από τη ροή του ρευστού και της μαγνητικής δύναμης *F_{Mag}* που ασκείται από το μαγνητικό πεδίο ενός πηνίου. Προσομοιώσεις του μαγνητικού πεδίου πραγματοποιούνται με την υπολογιστική εφαρμογή ANSYS. Η μέτρηση της μαγνητικής επιδεκτικότητας των σφαιρικών δειγμάτων πραγματοποιείται και μέσω Vibrating Sample Magnetometer (VSM). Οι πειραματικές μετρήσεις αναλύονται ώστε να κατασκευαστούν τα κατάλληλα διαγράμματα.

Οι εξαγόμενες από το πείραμα τιμές μαγνητικής επιδεκτικότητας συγκρίνονται με τις αντίστοιχες που μετρήθηκαν μέσω VSM. Ακόμα, μετρήσεις ιξώδους διαφόρων ρευστών συγκρίνονται με τις αντίστοιχες βιβλιογραφικές τιμές τους.

Οι συγκρίσεις δείχνουν πως η διάταξη υπολογίζει με σχετική ακρίβεια τις ζητούμενες ποσότητες. Σημειώνεται πως παρότι τα αρχικά αποτελέσματα είναι υποσχόμενα, απαιτείται περαιτέρω βελτίωση της διάταξης για την αύξηση της αξιοπιστίας της.

3.5.2. Μέθοδοι και όργανα μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας

Η μαγνητική επιδεκτικότητα ενός υλικού μπορεί να μετρηθεί άμεσα ή έμμεσα παρατηρώντας όποια άλλη φυσική ποσότητα συνδέεται μαζί της. Τα όργανα που ανιχνεύουν αυτές τις ποσότητες εκμεταλλευόμενα τα διάφορα φαινόμενα που εμφανίζονται όταν ένα υλικό δείγμα βρίσκεται υπό την επίδραση ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Παρακάτω θα εξεταστούν κάποια όργανα που μετράνε τη μαγνητική επιδεκτικότητα των υλικών, εκμεταλλευόμενα τη μαγνητική δύναμη που τους ασκείται από ένα εξωτερικό μαγνητικό πεδίο, την ηλεκτρομαγνητική επαγωγή και τη κβαντική συμβολή.

3.5.2.1. Ζυγός του Gouy

Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται τη δύναμη που ένα μαγνητικό πεδίο ασκεί στο υλικό δείγμα. Το δείγμα τοποθετείται εντός ενός κυλινδρικού δοχείου σε μορφή ομοιογενούς σκόνης και αναρτάται από τον ζυγό μιας ζυγαριάς ακριβείας. Η ανάρτηση γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε το κατώτερο τμήμα του κυλινδρικού δοχείου να βρίσκεται μεταξύ των πόλων δύο ηλεκτρομαγνητών. Οι πόλοι τους έχουν κατάλληλη γεωμετρία ώστε μεταξύ τους να παράγεται ομοιογενές πεδίο. Το ανώτερο τμήμα της ράβδου βρίσκεται εκτός πεδίου, η περιοχή δηλαδή γύρω από το δείγμα χαρακτηρίζεται από ανομοιογενές μαγνητικό πεδίο. Η εφαρμογή του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου προκαλεί την άσκηση μιας κάθετης δύναμης στο δείγμα, μεταβάλλοντας το φαινόμενο βάρους του. Αν το δείγμα είναι παραμαγνητικό ή σιδηρομαγνητικό η δύναμη είναι προς τα κάτω και το φαινόμενο βάρος αυξάνεται. Αντιθέτως, αν το υλικό είναι διαμαγνητικό η δύναμη ασκείται προς τα πάνω και το φαινόμενο βάρος μειώνεται.



Σχήμα 3.6.1: Σχηματική αναπαράσταση ενός ζυγού Gouy. Διακρίνονται ο ζυγός, οι πόλοι των ηλεκτρομαγνητών, το αναρτημένο κυλινδρικό δείγμα μεταξύ των πόλων και ένα θερμόμετρο που μετράει τη θερμοκρασία στο κλειστό περιβάλλον ζυγού-δοκιμίου [163]

Η διαδικασία μέτρησης έχει τρία στάδια. Αρχικά, μετράται το αντικειμενικό βάρος του δείγματος χωρίς την εφαρμογή εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Στη συνέχεια μετράται το φαινόμενο βάρος του δείγματος μετά την εφαρμογή του πεδίου. Τέλος, γίνεται σύγκριση των δύο αποτελεσμάτων. Η ασκούμενη στο δείγμα δύναμη, συναρτήσει της μαγνητικής επιδεκτικότητας του υλικού προς εξέταση, εκφράζεται από τον τύπο:

$$F = A * \frac{\mu_0 * \chi_v}{2} * (H_1^2 - H_2^2)$$
(3.5.1)

Όπου:

Α: η επιφάνεια διατομής της κυλινδρικής συσκευασίας του δείγματος

μο: η μαγνητική διαπερατότητα του κενού

χν: η μαγνητική επιδεκτικότητα όγκου του υλικού δείγματος

*H*₁: η ένταση του μαγνητικού πεδίου στο κατώτερο τμήμα του κυλινδρικού δοκιμίου, διαμέσω των ηλεκτρομαγνητικών πόλων

H₂: η ένταση του μαγνητικού πεδίου στο ανώτερο τμήμα του κυλινδρικού δοκιμίου, εκτός των ηλεκτομαγνητικών πόλων

Η περιοχή γύρω από τους πόλους των ηλεκτρομαγνητών όπου τοποθετείται και το δείγμα, είναι ελεγχόμενη. Βρίσκεται εγκλεισμένη εντός γυάλινου δοχείου ώστε να μην επηρεάζονται οι μετρήσεις από τα ρεύματα αέρα ενώ υπάρχει και ένα θερμόμετρο για τη μέτρηση της θερμοκρασίας.

Ενώ ένας μόνιμος μαγνήτης έχει το πλεονέκτημα της οικονομικής τιμής και της απλότητας, δύο ηλεκτρομαγνήτες είναι αναμφισβήτητα πιο χρήσιμοι. Το εύρος των μαγνητικών επιδεκτικοτήτων στα παραμαγνητικά υλικά είναι τέτοιο που ένα μαγνητικό πεδίο σταθερής έντασης είναι είτε πολύ χαμηλό ώστε να παράγει κάποιο αποτέλεσμα ακριβείας για τις χαμηλές επιδεκτικότητες ή πολύ ισχυρό ώστε να αποτρέψει την οριζόντια μετακίνηση του δείγματος προς τον έναν πόλο στην περίπτωση των σιδηρομαγνητικών υλικών. Η τελευταία δυσκολία αντιμετωπίζεται χρησιμοποιώντας πιο βαριά κυλινδρικά δοχεία και μικρότερο δείγμα αυξάνοντας όμως την απαίτηση για ομοιομορφία του υλικού. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα χρήσης ηλεκτρομαγνητών είναι ότι λόγω της δυνατότητας επιβολής μαγνητικού πεδίου διαφόρων εντάσεων, μπορούν να παραχθούν γραφήματα χ_ν-Η για τα σιδηρομαγνητικά υλικά των οποίων η μαγνητική επιδεκτικότητα είναι μεταβαλλόμενη. Ακόμη, αν το υλικό είναι παραμαγνητικό μπορεί έτσι να ληφθεί υπόψη η πιθανότητα μόλυνσης του δείγματος.



Σχήμα 3.5.2: Σχηματική αναπαράσταση της γεωμετρίας των ηλεκτρομαγνητικών πόλων και της συσκευασίας του δείγματος στον ζυγό του Gouy. Το πεδίο μεταζύ των πόλων είναι ομοιογενές. Το πεδίο γύρω από το δείγμα όμως, είναι ανομοιογενές [163]

Πρόκειται για τον πιο συνηθισμένο και απλό τρόπο μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας. Έχει το βασικό πλεονέκτημα της απλής, σχετικά φτηνής και ανθεκτικής συσκευής ενώ μπορεί να μετρήσει μεγάλο εύρος μαγνητικών επιδεκτικοτήτων.

[163-166]

3.5.2.2. Ζυγός του Faraday

Παρομοίως με την μέθοδο του Gouy, η μέθοδος του Faraday εκμεταλλεύεται την κάθετη δύναμη που ασκείται σε ένα υλικό δείγμα όταν βρίσκεται εντός ανομοιογενούς μαγνητικού πεδίου. Φαίνεται από την εξίσωση του Gouy για τον υπολογισμό της δύναμης, πως αν ο όγκος του δείγματος είναι αρκετά μικρός τότε το γινόμενο *H**(*dH*/*dI*) στην περιοχή του δείγματος είναι σταθερό. Αυτή η συνθήκη αποτελεί τη βάση για την μέθοδο του Faraday όπου χρησιμοποιούνται δείγματα μερικών mg.

Η εξίσωση για τον υπολογισμό της δύναμης που ασκείται στο δείγμα σε ένα ζυγό Faraday είναι:

$$F = \mu_o * \chi_v * V * H * \frac{dH}{dx}$$
(3.5.2)

Όπου:

μο: η μαγνητική διαπερατότητα του κενού

χν: η μαγνητική επιδεκτικότητα όγκου του υλικού δείγματος

V: ο όγκος του υλικού δείγματος

 $H * \frac{dH}{dx}$: το σταθερό γινόμενο έντασης του μαγνητικού πεδίου και της βάθμωσής του

Οι πόλοι των δύο ηλεκτρομαγνητών σε αυτήν την περίπτωση, έχουν τέτοια γεωμετρία ώστε μεταξύ τους να δημιουργείται ανομοιογενές μαγνητικό πεδίο γνωστής βάθμωσης.

Επειδή χρησιμοποιείται πολύ μικρότερο δείγμα, μόνο ένα μικρό μέρος του παραγόμενου πεδίου αλληλοεπιδρά μαζί του και οι αναπτυσσόμενες δυνάμεις είναι πολύ πιο αδύναμες από αυτές στη μέθοδο του Gouy. Γι' αυτό το λόγο απαιτούνται πιο ευαίσθητες τεχνικές μέτρησης βάρους και χρησιμοποιούνται ζυγαριές συστροφής (ευαισθησία τάξης 10-⁷g) ή δακτυλίου Sucksmith. Το υλικό τοποθετείται κονιορτοποιημένο εντός μικρού δοχείου από χαλαζία εσωτερικής διαμέτρου περίπου 1mm, αναρτημένο στη ζυγαριά. [163-167]



Σχήμα 3.5.3: α) Φωτογραφία ενός ζυγού Faraday. [167] β) Σχηματική αναπαράσταση της γεωμετρίας των ηλεκτρομαγνητικών πόλων και της συσκευασίας του δοκιμίου σε έναν ζυγό Faraday. Το πεδίο μεταξύ των πόλων και γύρω από τη περιοχή του δοκιμίου είναι ανομοιογενές, η βάθμωση του πεδίου είναι γνωστή [164]

3.5.2.3. <u>VSM – Vibrating Sample Magnetometer</u>

Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται το φαινόμενο της ηλεκτρομαγνητικής επαγωγής. Το δείγμα εισάγεται στην περιοχή μεταξύ των πόλων δύο ηλεκτρομαγνητών μέσω μιας μονάδας που δύναται να ταλαντωθεί. Οι ηλεκτρομαγνητικοί πόλοι έχουν συγκεκριμένη γεωμετρία ώστε να παράγεται μεταξύ τους ομοιογενές μαγνητικό πεδίο. Το δείγμα προς μέτρηση υπόκειται σε περιορισμούς μάζας και όγκου και πρέπει να έχει κατάλληλη γεωμετρία ώστε να τοποθετηθεί πάνω στη ταλαντευόμενη μονάδα. Με την επιβολή του μαγνητικού πεδίου το δείγμα μαγνητίζεται. Η ακόλουθη ταλάντωση του δείγματος διαταράσσει το εξωτερικό μαγνητικό πεδίο με αποτέλεσμα την επαγωγή ρεύματος σε γειτονικά ευαίσθητα πηνία. Από την ανάλυση του επαγόμενου ρεύματος εξάγονται αποτελέσματα για τις μαγνητικές ιδιότητες του υλικού δείγματος.

Μεγάλη σημασία έχει το σωστό καλιμπράρισμα της εν λόγω συσκευής ώστε να γίνεται σαφής διάκριση μεταξύ του ρεύματος που επάγεται από τις διαταραχές πεδίου προερχόμενες από την ταλάντωση του δείγματος, σε σχέση με αυτό που επάγεται από τις διαταραχές του πεδίου των ηλεκτρομαγνητών.

Πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η μέτρηση της επιδεκτικότητας του δείγματος υπό διάφορες γωνίες μεταβάλλοντας τη θέση των ηλεκτρομαγνητών. [167,168]



Σχήμα 3.5.4: Σχηματική αναπαράσταση των βασικών εξαρτημάτων ενός VSM. Διακρίνονται το σύστημα ταλάντωσης του δείγματος, το δείγμα, οι ηλεκτρομαγνήτες και τα πηνία-ανιχνευτές [168]





3.5.2.4. <u>Μαγνητόμετρο SQUID-Superconductive Quantum Interference Device</u>

Το μαγνητόμετρο SQUID εκμεταλλεύεται το φαινόμενο της ηλεκτρομαγνητικής επαγωγής, της υπεραγωγιμότητας και της κβαντικής συμβολής. Ακολουθώντας τις εξισώσεις που καθιέρωσε το 1962 ο Brian David Josephson για την περιγραφή της συμπεριφοράς των υπεραγωγών, φαίνεται πως η

πυκνότητα ρεύματος που διέρχεται διαμέσω μιας «ασθενούς επαφής» υπεραγωγών (επαφή Josephson), εξαρτάται από τη διαφορά φάσης $\Delta \varphi$ των ηλεκτρονιακών κυματομορφών τους. Ο χρόνος που αντιστοιχεί στο $\Delta \varphi$ σχετίζεται με τη διαφορά δυναμικού που αναπτύσσεται στην ένωση Josephson. Σε έναν υπεραγώγιμο βρόχο η διαφορά φάσης επηρεάζεται επιπλέον από την μαγνητική ροή Φ διερχόμενη από μέσα του.

Μια διάταξη που συνδυάζει έναν υπεραγώγιμο βρόχο και επαφές Josephson χρησιμοποιείται ώστε να μετρηθεί η μαγνήτιση και ακολούθως οι μαγνητικές ιδιότητες των υλικών. Το υλικό δείγμα τοποθετείται σε ελεγχόμενο περιβάλλον στο κέντρο της διάταξης όπου η θερμοκρασία διατηρείται πολύ χαμηλή και αναπτύσσονται πεδία έως και 7 Tesla. Στη συνέχεια, το δείγμα ταλαντώνεται με αποτέλεσμα την διαταραχή του εξωτερικού πεδίου και την επαγωγή αντίστοιχου ρεύματος στις επαφές Josephson διαμέσω του υπεραγώγιμου βρόχου. Η ανάλυση του ρεύματος εξ επαγωγής δίνει αποτελέσματα για τις μαγνητικές ιδιότητες του υλικού.

Υπάρχουν δύο είδη μαγνητομέτρων SQUID. Το SQUID ραδιοσυχνότητας (RF) περιέχει έναν υπεραγώγιμο βρόχο με μια επαφή Josephson. Το SQUID συνεχούς ρεύματος (DC) αποτελείται από έναν υπεραγώγιμο βρόχο με δύο επαφές Josephson. Αυτό το είδος μαγνητομέτρου SQUID είναι πολύ πιο ευαίσθητο από το πρώτο. Οι δύο επαφές Josephson βρίσκονται σε παράλληλη διάταξη ούτως ώστε το πέρασμα των ηλεκτρονίων να χαρακτηρίζεται από κβαντική συμβολή. Η διαφορά φάσης Δφ των ηλεκτρονιακών κυματομορφών καθορίζει τη μέτρηση.

Η μαγνητομετρία μέσω SQUID είναι μια από τις πιο κοστοβόρες, αποδοτικές και ευαίσθητες μεθόδους για τη μέτρηση της μαγνητικής επιδεκτικότητας των υλικών. Η ευαισθησία ενός τέτοιου οργάνου στον εντοπισμό μαγνητικών διαταραχών είναι της τάξης του 1.26*10⁻¹⁰ T ή 10⁻¹² μαγνητόνων του Bohr. [167-173]



Σχήμα 3.5.6: Φωτογραφία ενός μαγνητομέτρου SQUID [168]



Σχήμα 3.5.7: Αναπαράσταση της διάταξης υπεραγώγημου βρόχου και επαφών Josephson σε ένα μαγνητόμετρο DC SQUID, Στο εσωτερικό του ταλαντώνεται το υλικό δείγμα διαταράσσοντας το μαγνητικό πεδίο. [169]

3.5.3. Πειραματική διάταξη

Η προτεινόμενη μέθοδος βασίζεται στην ισορροπία της μαγνητικής δύναμης και της δύναμης Stoke's που εφαρμόζονται σε ένα σφαιρικό παραμαγνητικό δείγμα το οποίο βρίσκεται σε ένα σωλήνα γύρω από τον οποίο είναι τυλιγμένο ένα πηνίο (σχήμα 3.5.8).





Το δείγμα βρίσκεται σε ένα σωλήνα και ακινητοποιείται λόγω του μαγνητικού πεδίου που δημιουργείται από το πηνίο έναντι της ροής του ρευστού (νερό). Η ταχύτητα ροής αυξάνεται σταδιακά (από την αντλία) και όταν το μαγνητικό πεδίο δεν είναι αρκετά ισχυρό συγκριτικά με τη δύναμη του ρευστού, το δείγμα παρασύρεται. Αυτή τη στιγμή, η μαγνητική και η δύναμη ρευστού είναι ίσες. Έτσι, γνωρίζοντας όλες τις άλλες παραμέτρους που διέπουν την ισορροπία, είναι δυνατόν να προσδιοριστεί η μαγνητική επιδεκτικότητα.

Εάν το δείγμα έχει γνωστή φαινομενική μαγνητική επιδεκτικότητα, είναι δυνατόν να προσδιοριστεί το ιζώδες ενός υγρού με άγνωστες ιδιότητες.

Η δύναμη του μαγνητικού πεδίου στη σφαίρα δίνεται από την εξίσωση 2.5.16.

Χρησιμοποιώντας ένα πηνίο με καθορισμένα χαρακτηριστικά, είναι δυνατόν να υπολογιστεί με ακρίβεια η ένταση του μαγνητικού πεδίου και η βάθμωση του που εφαρμόζεται στο δείγμα, αφήνοντας έτσι μόνο το χ απροσδιόριστο.

Από την άλλη πλευρά, ο νόμος του Stoke ορίζει τη δύναμη που ασκείται από ένα υγρό σε μια σφαίρα και δίνεται από την εξίσωση 2.5.10.

Στην περίπτωση δείγματος σκόνης, οι κόκκοι περιβάλλονται από άλλους κόκκους, παρόμοιους με αυτόν. Επιβολή ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου "*H*_{appl}", προκαλεί μαγνήτιση *M* για κάθε ξεχωριστό κόκκο. Καθώς κάθε κόκκος λειτουργεί τώρα ως ξεχωριστό μαγνητικό δίπολο δημιουργεί ένα δευτερεύον μαγνητικό πεδίο γύρω από αυτό και σε αντίθεση με την περίπτωση ενός μεμονωμένου κόκκου, επιπλέον λόγω της πυκνής τους διάταξης, τα γειτονικά δευτερεύοντα μαγνητικά πεδία αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Με τέτοιον τρόπο, η ένταση του μαγνητικού πεδίου "*H*" μέσα σε κάθε κόκκο δεν είναι ίδια με την ένταση του εξωτερικά επιβληθέντος μαγνητικού πεδίου αλλά ποικίλλει ανάλογα με την εξίσωση:

$$\boldsymbol{H} = \boldsymbol{H}_{\boldsymbol{appl}} - \boldsymbol{N} * \boldsymbol{M} \tag{3.5.3}$$

Όπου:

Ν: παράγοντας απομαγνήτισης του υλικού

Ο παράγοντας απομαγνήτισης "N" ενός δείγματος σκόνης αφορά την αλληλεπίδρασή του με ένα μαγνητικό πεδίο " H_{appl} " που επιβάλλεται εξωτερικά. Εξαρτάται από τη γεωμετρία του καθώς και από τη γεωμετρία των γειτονικών σωματιδίων. Για πυκνή σφαιρική διάταξη σωματιδίων, ο συντελεστής είναι N = 1/3.

Για τη δοκιμή της συσκευής, κατασκευάστηκαν σφαιρίδια διαμέτρου 2mm από πλαστικό ABS με διάφορες συγκεντρώσεις (5, 10, 20, 30, 40%) μαγνητικών νανοσωματιδίων (Fe₃O₄) στη μήτρα τους.



Σχήμα 3.5.9: Προσομοίωση ροής στο σωλήνα της διάταξης

Πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις στο ANSYS fluent προκειμένου να καθοριστεί η ροή του υγρού και να δοθούν πληροφορίες σχετικά με την ταχύτητα στο κέντρο του πηνίου.

Ένα πηνίο 240 στροφών τυλίχθηκε γύρω από ένα σωλήνα σιλικόνης 3mm. Η διάμετρος του σύρματος είναι 0.5mm και τυλίγεται σε 24 στρώσεις με 10 στροφές σε κάθε στρώση με αποτέλεσμα ένταση μαγνητικού πεδίου όπως φαίνεται στο σχήμα 3.5.9.

Πραγματοποιήθηκαν προσομοιώσεις του μαγνητικού πεδίου στο ANSYS προκειμένου να καθοριστούν οι μαγνητικές ιδιότητες της διάταξης. Τα μαγνητικά αποτελέσματα επαληθεύτηκαν με τη χρήση αισθητήρα Hall.



Σχήμα 3.5.9: Το πηνίο που χρησιμοποιήθηκε και διατομή στην προσομοίωση της έντασης του μαγνητικού πεδίου

Κάθε σφαίρα εισήχθη στο σωλήνα και ξεκινώντας από χαμηλά μαγνητικά πεδία που δημιουργήθηκαν από το πηνίο, η ταχύτητα του ρευστού αυξανόταν μέχρι το σημείο που το δείγμα παρασύρθηκε από τη ροή. Η διαδικασία επαναλήφθηκε για υψηλότερες εντάσεις μαγνητικού πεδίου προκειμένου να ληφθούν επαρκείς τιμές για τα γραφήματα *H*-χ.

3.5.4. Αποτελέσματα

Για κάθε δείγμα, το πηνίο τροφοδοτήθηκε με τιμές από 0.5 έως 3Α δημιουργώντας γραμμικά μια ένταση μαγνητικού πεδίου και μια βάθμωση.

Για κάθε δείγμα το γράφημα χ-Η που προέρχεται από τη μέτρηση VSM απεικονίζεται στο σχήμα 3.5.10.



Σχήμα 3.5.10: Μετρήσεις VSM για τα δοκίμια

Στα παρακάτω γραφήματα, οι μετρήσεις VSM συγκρίνονται με τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας:



Σχήμα 3.5.11: Σύγκριση μετρήσεων VSM (μπλε) με πειραματικές μετρήσεις (πορτοκαλί)

Η απόκλιση είναι σημαντική όπως φαίνεται. Ένας λόγος είναι ότι το VSM υπέβαλε το υλικό σε διαφορετικά εύρη τιμών πεδίου εξ ου και οι διαφορές στον οριζόντιο άξονα. Όσον αφορά τις διαφορές στην επιδεκτικότητα, παρατηρείται εντονότερη απόκλιση σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Επίσης, η διάταξη στην παρούσα κατάσταση δεν έχει τη δυνατότητα μέτρησης σε πολύ χαμηλές τιμές πεδίου.

3.5.4.1. <u>Μετρήσεις ιζώδους</u>

Η κατεύθυνση της επίλυσης στράφηκε προς τη μέτρηση του ιξώδους του υγρού χρησιμοποιώντας τη σφαίρα με 30% Fe₃O₄ που ακινητοποιήθηκε στο σωλήνα. Το πηνίο τροφοδοτήθηκε με 3A. Έχοντας ήδη ορίσει τη μαγνητική επιδεκτικότητα του δείγματος για τις αντίστοιχες τιμές έντασης μαγνητικού πεδίου, η μόνη απροσδιόριστη παράμετρος της εξίσωσης είναι τώρα το ιξώδες η. Η διαδικασία δεν επαναλήφθηκε για διάφορες εντάσεις μαγνητικού πεδίου καθιστώντας τη μέτρηση ακόμη πιο γρήγορη από την προηγούμενη διαδικασία.

Χρησιμοποιήθηκε ολεϊκό οξύ, ολεϊκό οξύ με αιθανόλη, απιονισμένο νερό και αιθανόλη σε θερμοκρασία δωματίου. Η ταχύτητα των υγρών αυξανόταν μέχρι το σημείο που το σφαιρικό δείγμα παρασύρθηκε. Η μόνη απροσδιόριστη παράμετρος της εξίσωσης είναι το ιξώδες όπως φαίνεται στην εξίσωση:

$$\eta = \frac{2r^2 \mu_0 \chi}{9\vec{u}(1+\chi/3)} \vec{H} \frac{d\vec{H}}{d\vec{x}}$$
(3.5.4)

Για το δείγμα, η ένταση και η βάθμωση του μαγνητικού πεδίου είναι σταθερές καθώς και η ακτίνα, και η επιδεκτικότητα, απλοποιώντας έτσι τη μεθοδολογία μέτρησης δίνοντας μια εξίσωση της μορφής η = const. / u.

	Αναμενόμενες	Experimental values		
	τιμές (mPa.s)	(mPa.s)		
Ολεϊκό οξύ με αιθανόλη	1.329	1.35		
Απιονισμένο νερό	0.89	0.71		
Ολεϊκό οξύ	0.59	0.53		

Η σύγκριση των πειραματικών αποτελεσμάτων με τις αναμενόμενες θεωρητικές τιμές στους 20°C φαίνεται στο σχήμα 3.5.12.

Σχήμα 3.5.12: Μετρήσεις ιζώδους συγκριτικά με αναμενόμενες βιβλιογραφικές τιμές



Σχήμα 3.5.13: Διάγραμμα παροχής της αντλίας – ιζώδους (λαμβάνοντας την τιμή RPM κατά την οποία η σφαίρα απομακρύνεται, για συγκεκριμένο πεδίο και δείγμα συγκεκριμένης μαγνητικής επιδεκτικότητας, μπορεί να υπολογιστεί το ιζώδες του ρευστού) (με μπλε δίνονται οι βιβλιογραφικά αναμενόμενες τιμές ενώ με πορτοκαλί οι πειραματικές τιμές)

Μπορεί να φανεί ότι τα πειραματικά αποτελέσματα δεν έχουν σημαντική διαφορά από τις αναμενόμενες τιμές.

3.5.5. Συμπεράσματα

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τη μέτρηση της μαγνητικής ευαισθησίας των υλικών που το καθένα έχει μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα. Οι μέθοδοι υψηλής ακρίβειας είναι δαπανηρές, ενώ οι μέθοδοι χαμηλότερου κόστους έχουν άλλα μειονεκτήματα όπως συζητήθηκε προηγουμένως. Επιπλέον, οι μετρήσεις ιξώδους είναι επίσης δύσκολο να εφαρμοστούν κατά τη διάρκεια μιας πειραματικής διεργασίας και αδύνατο να πραγματοποιηθούν σε δείγματα που πρέπει να βρίσκονται σε υγρό περιβάλλον όπως βιολογικές οντότητες. Ωστόσο, με μια απλή συσκευή χαμηλού κόστους, μπορεί να οριστεί τόσο η μαγνητική ευαισθησία των σφαιρικών δειγμάτων όσο και το ιξώδες των υγρών. Είναι δυνατόν να ληφθούν μετρήσεις από την ισορροπία των δυνάμεων χωρίς να υπάρξει παρεμβολή στη

διεξαγωγή ενός πειράματος, καθώς μπορεί να αποκτηθεί μη επεμβατικά σε μια πειραματική εγκατάσταση. Η τεχνική μπορεί να παρέχει επαρκή ευαισθησία για χαμηλές τιμές μαγνητικής ευαισθησίας ανοίγοντας το δρόμο για μετρήσεις επιδεκτικότητας μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων.

Αρχικά αποτελέσματα έχουν παρουσιαστεί προφορικά στο συνέδριο "12th European Conference on Magnetic Sensors and Actuators (EMSA) 2018" με τίτλο παρουσίασης A simple magnetic susceptibility measuring technique.

Eπίσης, η ενότητα έχει δημοσιευτεί ως: Banis G, Tselou P, Ferraro A, Hristoforou E, Mamalis A. (2018). A Simple Magnetic Susceptibility Measuring Technique. In F. Kongoli, A. G. Mamalis, K. Hokamoto (Eds.), Sustainable Industrial Processing Summit SIPS2018 Volume 4. Mamalis Intl. Symp. / Advanced Manufacturing (pp. 141-142). Montreal, Canada: FLOGEN Star Outreach

3.6. Βιοντιδραστήρες

Για την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας, απαιτήθηκε η κατασκευή ενός αντιδραστήρα για τη μελέτη της παραγωγικότητας των μικροφυκών συναρτήσει κάποιων παραμέτρων.

Ως βιοαντιδραστήρας, ορίζεται μια συσκευή στην οποία πραγματοποιείται μια βιολογική διεργασία με στόχο την καλλιέργεια κυττάρων. Στην προκειμένη εργασία, τα κύτταρα που καλλιεργούνται είναι φωτοσυνθετικά, επομένως στο βιοαντιδραστήρα χρησιμοποιείται φως. Τέτοιου είδους αντιδραστήρες ovoμάζονται φωτοβιοαντιδραστήρες (photobioreactors PBR) και αποτελούν ένα τεχνητό περιβάλλον ιδανικό για την πλήρως ελεγχόμενη αναπαραγωγή των μικροφυκών. Στην προκειμένη έρευνα, για την καλλιέργεια μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών, χρησιμοποιήθηκαν μαγνητικά φύλλα στις επιφάνειες του PBR με στόχο την ακινητοποίηση των μικροφυκών. Για αυτόν το λόγο, στο εξής, οι αντιδραστήρες θα αναφέρονται ως μαγνητικοί φωτοβιοαντιδραστήρες (magnetic photobioreactor mPBR).

Ο τύπος καλλιέργειας που επιλέχτηκε ήταν ο συνεχής, χωρίς διακοπές στη διαδικασία. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, χρησιμοποιήθηκε περισταλτική αντλία για την ανατροφοδότηση του ρευστού στο οποίο βρίσκονται τα μικροφύκη.

Σημειώνεται πως ένας στόχος της ενότητας ήταν η κατασκευή ενός συστήματος ελέγχου των συνθηκών καλλιέργειας σε μικρή κλίμακα ώστε οι αρχές αυτού του συστήματος να μεταφερθούν στον τελικό αντιδραστήρα από την Ισπανική εταιρεία IRIS. Επίσης, στόχος της ενότητας ήταν και η μελέτη της ροής του ρευστού πάνω στην επιφάνεια του αντιδραστήρα ώστε να προσδιοριστούν οι κινητικές συνθήκες του συστήματος. Στο πλαίσιο του Ευρωπαϊκού προγράμματος Horizon 2020 Valuemag (grant agreement No 745695), το κομμάτι της κατασκευής του αντιδραστήρα αλλά και της καλλιέργειας ήταν παραδοτέο άλλων εργαστηρίων και φορέων παρά ταύτα παρατίθενται τα αποτελέσματα για λόγου πληρότητας.

3.6.1. Εργαστηριακός PBR

Για τον προσδιορισμό της συμπεριφοράς των μαγνητικών μικροφυκών υπό συνθήκες ροής κατασκευάστηκε ένας εργαστηριακός φωτοβιοαντιδραστήρας. Με βάση αυτόν, σχεδιάστηκαν και κατασκευάστηκαν τα υποσυστήματα που αφορούν το διοξείδιο του άνθρακα, το φως, την κυκλοφορία του ρευστού και τη θερμοκρασία, τα οποία, υπό κλίμακα, χρησιμοποιήθηκαν και στον κωνικό αντιδραστήρα.

Για την πειραματική διάταξη κατασκευάστηκε ένα κλειστό σύστημα καλλιέργειας όπου μέσα τοποθετήθηκαν τα μικροφύκη για την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή τους. Το σύστημα αυτό ήταν ένας αεροστεγής θάλαμος από πλαστικό PP. Για την παρακολούθηση των συνθηκών καλλιέργειας χρησιμοποιήθηκαν ένας αισθητήρας DHT11 για τη μέτρηση και τον έλεγχο της θερμοκρασίας και της

σχετικής υγρασίας, ένας αισθητήρας πίεσης MPX4250, όπως και ένας αισθητήρας MH-Z16 για τη μέτρηση της συγκέντρωσης του CO2.

Παράλληλα για τον έλεγχο της θερμοκρασίας εντός του θαλάμου χρησιμοποιήθηκε ένα θερμοηλεκτρικό στοιχείο (thermoelectric cooler, tec) Peltier, που λειτουργεί σαν αντλία θερμότητας, όπως επίσης και μια περισταλτική αντλία για τη συνεχή ροή των κυττάρων στη μία μέθοδο καλλιέργειας, ώστε να έρχονται όλα σε άμεση επαφή με το διοξείδιο του άνθρακα.

Για το φωτισμό της καλλιέργειας χρησιμοποιήθηκαν λαμπτήρες LED, ενώ στο σύστημα τοποθετήθηκαν και δύο βαλβίδες για την είσοδο και έξοδο των αερίων. Χρησιμοποιήθηκε επίσης ένας ανεμιστήρας για τη συνεχή ανακατανομή και ομοιογένεια της ατμόσφαιρας στο θάλαμο.

Το σύστημα και όλοι οι αισθητήρες ήταν συνδεδεμένα με μια κάρτα μνήμης SD για τη συνεχή καταγραφή και αποθήκευση των δεδομένων.



Σχήμα 3.6.1: Εργαστηριακός αντιδραστήρας

Με τη χρήση των αισθητήρων πίεσης, CO₂, θερμοκρασίας και υγρασίας ελέγχονταν συνεχώς οι συνθήκες στο θάλαμο, ούτως ώστε να μην παρεκκλίνουν από αυτές που επιλέχθηκαν κατά τη σχεδίαση του πειράματος.

Στο σύστημα τοποθετήθηκαν δύο βαλβίδες, η μία ήταν για να εισχωρεί το διοξείδιο του άνθρακα στο σύστημα και η άλλη για εκτόνωση. Κάθε φορά λοιπόν που η πίεση έφτανε τα 18 psi, άνοιγε η βαλβίδα εξόδου αφήνοντας τον αέρα να βγει έξω. Στη συνέχεια άνοιγε πάλι η βαλβίδα εισόδου μέχρι να φτάσει η συγκέντρωση του CO₂ στο επιθυμητό επίπεδο ή η πίεση στα 18 psi.

Η βαλβίδα εισόδου ήταν συνδεδεμένη με μια φιάλη διοξειδίου του άνθρακα για το συνεχή εφοδιασμό της καλλιέργειας. Στο σύστημα τοποθετήθηκε κι ένας ανεμιστήρας για την καλύτερη κατανομή των

αερίων. Η περισταλτική αντλία, το θερμοστατικό στοιχείο, οι λαμπτήρες και ο ανεμιστήρας βρισκόντουσαν σε λειτουργία συνεχώς, καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιέργειας.

Μέσα στο θάλαμο τοποθετήθηκε κυλινδρική γυάλινη κατασκευή στην επιφάνεια της οποίας πραγματοποιήθηκε η ανακυκλοφόρηση του υγρού με τη χρήση περισταλτικής αντλίας.



Σχήμα 3.6.2: Κυλινδρική δομή στην επιφάνεια της οποίας κυκλοφορήθηκαν τα μικροφύκη

3.6.2. Κωνικός mPBR

Στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος VALUEMAG H2020 – 745695, σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε στην Κύπρο μια μεταλλική κωνική δομή διαμέτρου και ύψους 6 μέτρων στο κέντρο της οποίας βρίσκεται ένας αγωγός μέσα από τον οποίο ανακυκλοφορείται νερό. Η επιφάνεια του κώνου είναι καλυμμένη με μαγνητικά φύλλα πάνω στα οποία ακινητοποιούνται τα μαγνητικά τροποποιημένα κύτταρα πάνω από τα οποία ρέει λεπτό στρώμα νερού προερχόμενο από τον αγωγό στο κέντρο του κώνου. Για την κατασκευή της δομής πραγματοποιήθηκε δομοστατική ανάλυση με τη χρήση πεπερασμένων στοιχείων στο πρόγραμμα ANSYS.

Για το σχεδιασμό της δομής, ο mPBR χωρίζεται σε δύο δομές α) τον κεντρικό αγωγό στην κορυφή του οποίο υπάρχει μια μικρή κυλινδρική δεξαμενή και β) η κωνική κατασκευή τριγύρω από τον αγωγό η οποία προσφέρει την κατάλληλη κλίση στην κατασκευή καθώς και στήριξη στον κεντρικό αγωγό, στα μαγνητικά φύλλα και στην πλαστική υδρόφιλη μεμβράνη που καλύπτει τα μαγνητικά φύλλα.

3.6.2.1. Σχεδιασμός κεντρικού αγωγού

Προκειμένου να προσδιοριστεί η αντοχή του κεντρικού αγωγού σε καμπτικές τάσεις πραγματοποιήθηκε ανάλυση με χρήση πεπερασμένων στοιχείων. Το ύψος του αγωγού είναι 5800mm, το υλικό είναι δομικός χάλυβας και το μέτρο ελαστικότητας είναι 210 GPa. Το κρίσιμο φορτίο λυγισμού (κρίσιμο φορτίο Euler) δίνεται από τον τύπο 1:

$$P_{cr} = \frac{\pi^{2} \cdot E \cdot I}{(K \cdot L)^{2}}$$
(3.6.1)

Όπου P_{cr} είναι το κρίσιμο φορτίο Euler (το κατακόρυφο φορτίο στο μέλος), E είναι το μέτρο ελαστικότητας της κατασκευής, l είναι η ροπή αδράνειας επιφάνειας της διατομής του μέλους, L είναι το μη υποστηριζόμενο μήκος του μέλους, και K ο συντελεστής ενεργού μήκους μέλους, του οποίου η τιμή εξαρτάται από τις συνθήκες της στήριξης του αγωγού. Η ελάχιστη ροπή αδράνειας της διατομής υπολογίζεται από τον τύπο 2 όπου A είναι η επιφάνεια διατομής και t το πάχος του αγωγού.

$$I = \frac{\pi}{4} \cdot (r_{out}^4 - r_{in}^4) \tag{3.6.2}$$

Προκειμένου μια κατασκευή να αντέξει καμπτικά φορτία, πρέπει το κρίσιμο φορτίο Euler να είναι μικρότερο από το όριο διαρροής του υλικού. Με τη χρήση της εξίσωσης 3.6.1 προσδιορίστηκε η μέγιστη τιμή της ελάχιστης ροπής αδράνειας και στη συνέχεια με χρήση της εξίσωσης 3.6.2 προσδιορίστηκε η ελάχιστη τιμή διαμέτρου του κεντρικού αγωγού καθώς και το πάχος του.

Στον πίνακα (σχήμα 3.6.3) παρουσιάζονται τα ελάχιστα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του κεντρικού αγωγού:

Μέγεθος	Μονάδες	Τμή			
L	mm	5800			
d	mm	135			
t	mm	1.5			
Α	mm ²	630			
Ι	mm^4	1354793			

Σχήμα 3.6.3: Γεωμετρικά χαρακτηριστικά αγωγού

Στον πίνακα (σχήμα 3.6.4) παρουσιάζονται οι μηχανικές ιδιότητες του δομικού χάλυβα:

E	MPa	210000
σy	MPa	250

Σχήμα 3.6.4: Μηχανικές ιδιότητες δομικού χάλυβα

Οι τελικές διαστάσεις του κεντρικού αγωγού προσδιορίστηκαν με βάση τις πιο κοντινές τυποποιημένες διαστάσεις αγωγών (d=150 mm and t = 1.5 mm).

Στον πίνακα που ακολουθεί (σχήμα 3.6.5) παρουσιάζονται διάφορες τιμές για τον παράγοντα *K* ανάλογα με τη χρήση διαφορετικών στηρίξεων στα δυο άκρα του κεντρικού αγωγού μαζί με τις τιμές κρίσιμου φορτίου Euler και τις τάσεις που προκύπτουν:

Column effective length factor	Value	Pcr (N)	σcr (MPa)
K1 (Both ends fixed)	0.65	272859.8	389.9168
K2 (Lower end fixed – upper end free)	2.1	26141.33	37.35597
K3 (Lower end fixed – upper end free rotation)	0.707	230636.1	329.5792

Σχήμα 3.6.5: Παράγοντας Κ συναρτήσει κρίσιμων τιμών φορτίου Euler

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε στατική ανάλυση στον αγωγό λαμβάνοντας υπόψιν την πίεση του νερού (0.03 MPa) που βρίσκεται στη δεξαμενή στην κορυφή του αγωγού. Στο σχήμα 3.6.8 παρουσιάζεται η επιφάνεια που δέχεται τις υψηλότερες τιμές τάσεων Von Mises (96 MPa), τιμές σημαντικά χαμηλότερες από το όριο διαρροής του υλικού (250MPa).



Σχήμα 3.6.8: Επιφάνεια όπου ασκούνται οι περισσότερες τάσεις

3.6.2.2. Σχεδιασμός και μηχανική ανάλυση κωνικής δομής

Ο βασικός σκοπός της κωνικής δομής είναι η δημιουργία επιφάνειας με κλίση προκειμένου να μπορεί να ρέει το νερό πάνω από τα μαγνητικά φύλλα και τις υδρόφιλες μεμβράνες, αλλά και η παροχή στήριξης στον κεντρικό αγωγό. Προκειμένου να στηριχτεί η κωνική δομή στα 6m, απαιτούνται 4 δακτύλιοι σε διάφορα ύψη από το έδαφος. Ο 1°ς δακτύλιος τοποθετείται στο χαμηλότερο σημείο του αγωγού, ο 2°ς δακτύλιος 2m πιο ψηλά, ο 3°ς μετά από 2m και ο 4°ς 5.7m πάνω από το έδαφος όπως φαίνεται στο σχήμα 3.6.9.


Σχήμα 3.6.9: Δισδιάστατο σχέδιο στήριζης

Επιπλέον μεταλλικές ράβδοι χρησιμοποιήθηκαν για να αποτρέψουν τη δομή να είναι επιρρεπής σε στρεπτικές καταπονήσεις όπως φαίνεται στο σχήμα 3.6.10.



Σχήμα 3.6.10: Στήριξη κώνου με ράβδους περιορισμού στρεπτικών καταπονήσεων

Η ανάλυση που παρουσιάστηκε στα κεφάλαια 3.6.2.1 και 3.6.2.2, πραγματοποιήθηκε από την ερευνήτρια Κλειώ Βόσσου η οποία συμμετείχε στο έργο και παρατίθεται για λόγους πληρότητας.

3.6.2.3. Ανάλυση κατανομής ρευστού στην κωνική επιφάνεια

Ένα αναλυτικό μοντέλο αναπτύχθηκε προκειμένου να προσδιοριστεί η συνεχής ροή νερού στην επιφάνεια του κώνου συναρτήσει της κλίσης για κάθε απόσταση από την κορυφή του κώνου.

Απαιτείται σε κάθε σημείο του κώνου το πάχος του ρευστού να είναι τουλάχιστον δ=200μm προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι τα κύτταρα είναι επαρκώς καλυμμένα με νερό και παράλληλα να συντηρείται η δυνατότητα ανταλλαγής αεριών με το περιβάλλον. Το πάχος του ρευστού είναι ανάλογο της παροχής του ρευστού w, της γωνίας του κώνου β και της απόστασης από την κορυφή του κώνου s όπως φαίνεται από τη σχέση 3.6.3:

$$\delta = \sqrt[3]{\frac{3\mu w}{\pi \rho^2 g L \sin 2\beta s}}$$
(3.6.3)

Όπου η είναι το ιξώδες του ρευστού, (0.0008kg/m.s στους 30°C) και ρ η πυκνότητα του νερού (1000kg/m³).



Σχήμα 3.6.11: Σχέδιο δομής με τα χαρακτηριστικά ροής

Χρησιμοποιώντας την εξίσωση 3.6.3 προκύπτει ότι για να καλυφθεί ο κώνος με ένα φιλμ νερού πάχους τουλάχιστον 200μm (ο πιο λεπτός δακτύλιος βρίσκεται στο πιο απομακρυσμένο από την κορυφή κομμάτι του κώνου) απαιτείται παροχή w=0.565kg/s για τις συγκεκριμένες διαστάσεις κώνου. Το μέγιστο πάχος ρευστού βρίσκεται στην κορυφή του κώνου και ελαττώνεται εκθετικά όσο η απόσταση s αυξάνεται. Η συμπεριφορά του πάχους του ρευστού δ σε σχέση με την απόσταση από την κορυφή του κώνου s δίνεται στο σχήμα 3.6.12.



Σχήμα 3.6.12: Κατανομή στρώσης νερού συναρτήσει απόστασης από την κορυφή του κώνου

Προκειμένου να υπολογιστεί ο όγκος του νερού που βρίσκεται στον κώνο αφού αυτό έχει αναπτυχθεί πλήρως, ανά μονάδα χρόνου, απαιτείται η διατμηματοποίηση του κώνου σε απειροστούς δακτύλιους.

Ο όγκος ρευστού σε κάθε δακτύλιο ισούται με την επιφάνεια του δακτυλίου (m²) επί το πάχος ρευστού (δ). Το άθροισμα αυτών των δακτυλίων δίνει όγκο ρευστού ίσο με 15.7L στην επιφάνεια του κώνου για τη συγκεκριμένη παροχή.

Έπειτα από την πλήρη ανάπτυξη της ροής, η επιφάνεια του κώνου καλύπτεται από μικροφύκη τα οποία για να ακινητοποιηθούν στην επιφάνεια πρέπει η δύναμη του μαγνητικού πεδίου να είναι μεγαλύτερη από τη δύναμη του ρευστού που τους ασκείται.

Προσεγγιστικοί υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της δύναμης που δέχονται τα μικροφύκη από το ρευστό σε ύψος 10μm από την επιφάνεια του κώνου (η διάμετρος του κυττάρου είναι ~10μm). Η δύναμη του ρευστού σε κάθε κύτταρο δίνεται από το νόμο του Stoke's. Η ταχύτητα του ρευστού σε απόσταση y = 10μm από την επιφάνεια του κώνου δίνεται από την εξίσωση 3.6.4:

$$u = \frac{\gamma \sin\beta}{\mu} \left(y\delta + \frac{1}{2}y^2 \right) \tag{3.64}$$

Όπου γ είναι το ειδικό βάρος του ρευστού (δηλαδή η πυκνότητα ρ επί την επιτάχυνση λόγω βαρύτητας g) και y είναι η κατακόρυφη απόσταση από την επιφάνεια του κώνου (10μm).

Έτσι, για κάθε απόσταση s από την κορυφή του κώνου προκύπτει η ταχύτητα του ρευστού σε ύψος 10μm από την επιφάνεια και επιπλέον, μπορεί να υπολογιστεί η δύναμη του ρευστού στα κύτταρα. Για τη μικρότερη ταχύτητα ρευστού που συναντάται στο κατώτερο σημείο του κώνου (0,01m/s) αντιστοιχεί δύναμη στα κύτταρα ~0,009N. Στο σχήμα 3.6.13 δίνεται η δύναμη του ρευστού στα κύτταρα σε απόσταση 10μm από την επιφάνεια του κώνου, συναρτήσει της απόστασης από το ανώτερο σημείο του κώνου για παροχή w=0,565kg/s.



Σχήμα 3.6.13: Κατανομή δύναμης του ρευστού στα κύτταρα σε απόσταση 10μm από την επιφάνεια του κώνου

3.6.2.4. <u>Κατασκευή κώνου</u>

Η κωνική δομή κατασκευάστηκε με στόχο τη μελέτη της συμπεριφοράς του ρευστού καθώς και των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών πάνω στην επιφάνεια του κώνου.

Την κατασκευή επιμελήθηκε εξειδικευμένο συνεργείο. Στην επιφάνεια του κώνου προσδίνονται μαγνητικές ιδιότητες λόγω εύκαμπτων μαγνητικών φύλλων. Αυτά αποτελούνται από μαγνητική πούδρα και θερμοπλαστικό συνδέτη. Η μαγνητική πούδρα μπορεί να είναι φερρίτης, νεοδήμιο ή σαμάριο-κοβάλτιο. Για την παρασκευή τους, όσο το υλικό βρίσκεται σε υψηλή θερμοκρασία, ένας ηλεκτρομαγνήτης προσανατολίζει τη μαγνητική πούδρα σε λωρίδες (~1mm) εναλλασσόμενης πολικότητας δίνοντας έτσι στο φύλλο ένα ισχυρό πεδίο λόγω της υψηλής βάθμωσης, σε μικρή απόσταση από την επιφάνεια. Το πάχος του φύλλου μπορεί να είναι από 0,7-5mm και διατηρεί τις ιδιότητες του σε θερμοκρασίες από -40 μέχρι 100°C. Στην πειραματική κατασκευή χρησιμοποιήθηκε φύλλο πάχους 1,5mm που μπορεί να ασκήσει δύναμη ~450g/cm², η οποία εγγυάται αρκετή μαγνητική ροπή για να συγκρατηθούν τα κύτταρα στην επιφάνεια του κώνου. Για την προστασία του μαγνητικό φύλλου από τη διάβρωση αλλά και για την επαύξηση της υδροφιλικότητας της επιφάνειας, τα μαγνητικά φύλλα καλύφθηκαν με υδρόφιλες μεμβράνες εγκεκριμένες για χρήση σε εφαρμογές τροφίμων.



Σχήμα 3.6.14: Κωνική κατασκευή. Φαίνεται ο σκελετός, τα μαγνητικά φύλλα και η υδρόφιλη μεμβράνη

Πέρα από την κωνική κατασκευή, απαιτήθηκε και η ανάπτυξη ενός μηχανικού υποσυστήματος και ενός κέντρου ελέγχου. Χρησιμοποιήθηκε ένα σύνολο από αισθητήρες, βαλβίδες, κλιματιστικό και λαμπτήρες για την εξασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών στο θάλαμο του αντιδραστήρα. Η συνεργασία των υποσυστημάτων σχεδιάστηκε ώστε να είναι πλήρως αυτοματοποιημένη από την Ισπανική εταιρεία IRIS και την Κυπριακή Nomasico με βάση το σύστημα ελέγχου που παρουσιάστηκε στο κεφάλαιο 3.6.1.

Οι αισθητήρες καλιμπρατίστηκαν κατάλληλα και κυκλοφορήθηκε απιονισμένο νερό προκειμένου να προσδιοριστούν και να βελτιστοποιηθούν οι συνθήκες ροής στον κωνικό αντιδραστήρα προτού

τοποθετηθούν τα μαγνητικά μικροφύκη. Επίσης, παρατηρήθηκε σταθερή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα στο 3% γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαρροές στο θάλαμο.

3.6.3. Αποτελέσματα

Στον κωνικό αντιδραστήρα τοποθετήθηκαν μη μαγνητικά μικροφύκη προκειμένου να μελετηθεί και σε αυτόν η συμπεριφορά τους κατά την ανακυκλοφόρηση τους στο κύκλωμα. Δεδομένου πως η συγκομιδή της βιομάζας είχε προγραμματιστεί να πραγματοποιείται κάθε 24-36 ώρες επομένως ήταν κρίσιμο να προσδιοριστεί η αντοχή των κυττάρων στις καταπονήσεις που προκαλούνται κατά την ανακυκλοφόρηση.

Χρησιμοποιήθηκαν 500gr κυττάρων διαλυμένα σε 70 L νερού τα οποία ανακυκλοφορήθηκαν στον αντιδραστήρα για 48 ώρες. Δημιουργήθηκε λεπτό στρώμα νερού στην επιφάνεια του κώνου το οποίο δεν αλλοιώθηκε κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η πορεία της ανάπτυξης της καλλιέργειας παρακολουθείτο με τη χρήση αισθητήρα οπτικής πυκνότητας στο σωλήνα στην έξοδο του αντιδραστήρα. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε δύο φορές και παρατηρήθηκε μικρή αύξηση στην οπτική πυκνότητα, γεγονός που σηματοδοτεί πως τα κύτταρα επιβίωσαν και αναπτύχθηκαν στον αντιδραστήρα.

Η επόμενη δοκιμή που πραγματοποιήθηκε έγινε με τη χρήση μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων. Το είδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Scenedesmus Almeriansis. Τα μαγνητικά τροποποιημένα μικροφύκη εμβολιάστηκαν στο ρευστό. Συγκεκριμένα, 600gr μικροφυκών αραιώθηκαν σε 70L υγρού τα οποία και ακινητοποιήθηκαν στην επιφάνεια του μαγνητικού κώνου. Σημειώνεται ότι κατά τη διάρκεια του πειράματος, ο θάλαμος παραμένει σφραγισμένος και υπάρχει δυνατότητα παρατήρησης μόνο έμμεσα με τη χρήση αισθητήρων.

Τις πρώτες 3 ώρες παρατηρήθηκε ελάττωση της οπτικής πυκνότητας κατά 80% γεγονός που σε σύγκριση με το πρώτο πείραμα εξασφαλίζει ότι τα μικροφύκη ακινητοποιήθηκαν στην επιφάνεια του κώνου. Τα κύτταρα ήταν καλυμμένα με φιλμ νερού για 7 μέρες, κατά τις οποίες υπήρχε κατάλληλη ρύθμιση της θερμοκρασίας στους 24°C και παροχή διοξειδίου του άνθρακα με στόχο τη σταθεροποίηση της περιεκτικότητας σε 3%. Παρατηρήθηκε πάλι αύξηση της οπτικής πυκνότητας.

Το πείραμα επαναλήφθηκε αυτή τη φορά με 800gr μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Και πάλι η οπτική πυκνότητα ελαττώθηκε κατά 80% στις 3 πρώτες ώρες. Το πείραμα διήρκησε 12 μέρες και η συγκομιδή έγινε την 8^η και τη 12^η μέρα.

Η ποσότητα των μικροφυκών που παράχθηκαν στα δύο πειράματα ήταν 268 και 320gr. Χρησιμοποιήθηκε μαγνήτης νεοδημίου για να ελεγχθεί αν τα μικροφύκη της συγκομιδής είναι μαγνητικά τα οποία όμως δεν αποκρίθηκαν στο μαγνητικό πεδίο. Ιδανικά, περεταίρω μελέτες θα έπρεπε να διεξαχθούν αλλά λόγω πανδημίας αυτό δεν κατέστη δυνατό. Συγκεκριμένα, θα έπρεπε να συλλεχθεί όλη η ποσότητα της βιομάζας, να φυγοκεντριστεί και να υπολογιστεί η βιομάζα που παράχθηκε, καθώς θα έπρεπε να πραγματοποιηθούν και αναλύσεις με οπτικό μικροσκόπιο και μικροσκόπιο SEM για τη μελέτη των βιολογικών χαρακτηριστικών των κυττάρων έπειτα από τις καταπονήσεις. Σημειώνεται ότι ποσότητα μικροφυκών παρέμεινε στις σωληνώσεις επομένως εικάζεται πως η πραγματική παραγωγικότητα ήταν μεγαλύτερη από αυτή που μετρήθηκε.

Όσον αφορά το διοξείδιο του άνθρακα, παρακολουθήθηκε η κατανάλωση του κατά τη διάρκεια των πειραμάτων με στόχο την έμμεση εκτίμηση της ανάπτυξης της καλλιέργειας. Όπως αναφέρθηκε, στο πείραμα με το απιονισμένο νερό, δεν υπήρχε ελάττωση της συγκέντρωσης. Αντίθετα, στα δύο πειράματα με μικροφύκη παρατηρήθηκε ελαφριά ελάττωση μέχρι την 6^η μέρα η οποία όμως αυξήθηκε σημαντικά την 7^η και την 8^η μέρα (στο 2° πείραμα) μετά την πρώτη συγκομιδή και παρατηρήθηκε και πάλι αύξηση της κατανάλωσης την 11^η και τη 12^η μέρα πριν τη 2^η συγκομιδή.

Οι δυο αντιδραστήρες όπου πραγματοποιήθηκε η καλλιέργεια του S. Almeriensis έγινε σε όγκους 28.0 L, με V/S = 56.5 L/m², και 1.2 L, με V/S = 11.5 L/m² αντίστοιχα με διαφορετικές παροχές διοξειδίου του άνθρακα (0.0, 0.5, 1.5 and 3.0 %v/v) οι οποίες αναμείχθηκαν με N₂ και O₂. Το υγρό μέσο στο οποίο καλλιεργήθηκαν τα μικροφύκη βασίστηκε στο ASP9 των Provasoli & McLaughlin με τις μετατροπές που προτείνονται από τους Mann & Myers και Molina Grima.[173]

Το αέριο μείγμα αποτελείτο από 21%v/v O₂ ενώ οι συγκεντρώσεις του CO₂ και N₂ μεταβάλλονταν. Στο μεγάλο αντιδραστήρα η παροχή ρυθμίστηκε στα 300ml/min ενώ στο μικρό στα 50ml/min. Οι αντιδραστήρες φωταγωγήθηκαν με 4500Lux ψυχρό λευκό φως μέσω συστοιχιών LED τα οποία μετρήθηκαν στην επιφάνεια των αντιδραστήρων.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης της βιομάζας πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ενός σπεκτοφωτόμετρου Varian Cary 1E UV/Visible. Η ποσοτικοποιοτική ανάλυση έγινε στα 400 και 750nm καθώς η χλωροφύλλη μπορεί να απορροφήσει συγκεκριμένα μήκη κύματος (420 και 690nm για τη χλωροφύλλη α και 480 και 620 nm για τη χλωροφύλλη β). Η μέτρηση της πυκνότητας στηρίζεται στη δυνατότητα της απορρόφησης του φωτός σε διαφορετικά μήκη κύματος από τα δύο είδη χλωροφύλλης. Οι μετρήσεις οπτικής πυκνότητας πραγματοποιήθηκαν πριν την εισαγωγή του εμβολίου στους αντιδραστήρες και μετρήσεις λαμβάνονται κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Κάθε φασματογραφία είχε 4 κορυφές (δύο για τη χλωροφύλλη α στα 420 και 690nm και δύο για τη χλωροφύλλη β στα 480 και 620nm). Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της βιομάζας χωρίς να είναι γνωστός ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του γένους S. Almeriensis προσδιορίστηκε η γραμμή βαθμονόμησης μεταξύ της απορρόφησης και της συγκέντρωσης. Η ανάπτυξη πραγματοποιήθηκε για 2-3 βδομάδες με σταθερή παροχή CO2. Στο υγρό μέσο πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των θρεπτικών συστατικών (Mg(2+), SO4(2-), Na(+), NO3 (-), NO2(-), Ca(2+), Cl(-), K(+), PO4(3-), Fe(2+) and Mn(2+)) που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του γένους S. Almeriensis. Η μέτρηση έγινε με ιοντική χρωματογραφία υγρών δειγμάτων από την καλλιέργεια. Από τα πειράματα παρατηρήθηκε ότι κάτω από τις ίδιες συνθήκες καλλιέργειας (θερμοκρασία, φως, θρεπτικά συστατικά) συγκεντρώσεις 3 και 1.5% v/v CO₂ οδήγησαν σε μεγαλύτερη παραγωγικότητα βιομάζας (0.91 και 0.94g/L) σε σχέση με 0.5 και 0% (0.71 και 0.07g/L). Σημειώνεται ότι στον μικρό αντιδραστήρα όπου η παροχή ήταν μικρότερη, η παραγωγικότητα ήταν μεγαλύτερη (3.7, 2.3, 1.0, 0.18g/L για 3, 1.5, 0.5 και 0%v/v CO₂). Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο ότι μεγαλύτερη παροχή μπορεί να προκαλέσει καταπονήσεις στα μικροφύκη και να αποτελέσει εμπόδιο στο φως που αυτά προσλαμβάνουν.

Επίσης, όσον αφορά τα θρεπτικά συστατικά στο υγρό μέσο, μετρήθηκε ο ρυθμός απορρόφησης τους από τα μικροφύκη. Όπως ήταν αναμενόμενο, κατά τη φάση ανάπτυξης, η κατανάλωση αυξανόταν με την πάροδο του χρόνου. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις CO₂ οδήγησαν σε μεγαλύτερο ρυθμό κατανάλωσης των θρεπτικών συστατικών. Στο μικρό αντιδραστήρα τα NO₃ (-) and PO₄(3-) καταναλώθηκαν πλήρως στα πειράματα όπου υπήρχε παροχή CO₂ ενώ στα πειράματα χωρίς CO₂ η κατανάλωση τους ήταν 16.4 και 62% αντίστοιχα. Αντίστοιχη ήταν και η κατανάλωση στο μεγάλο αντιδραστήρα. Είναι φανερό ότι τα θρεπτικά καθώς και το CO₂ επηρεάζουν άμεσα την παραγωγικότητα της βιομάζας. Τα θρεπτικά που καταναλώθηκαν λιγότερο ήταν τα Cl(-), Na(+) και SO₄ (2-). Η ανάλυση της υγρής φάσης ανέδειξε ότι μετά την πρώτη φάση της ανάπτυξης, το μέσο μπορεί να ανακυκλωθεί και να χρησιμοποιηθεί για τη δεύτερη φάση ανάπτυξης με συμπλήρωμα νιτρικού άλατος και φωσφόρου.

Ο φωτοσυνθετικός ρυθμός ήταν σταθερός μετά την πρώτη βδομάδα καλλιέργειας και τα επίπεδα της χλωροφύλλης α και β διατηρήθηκαν σταθερά καθόλη τη διάρκεια του πειράματος. Ο μικρός αντιδραστήρας έδωσε παραγωγή βιομάζας 2.2, 2.0 και 1.1g/L για 3, 1.5 και 0.5%v/v CO₂ αντίστοιχα. Το γεγονός ότι αυξημένα ποσοστά CO₂ οδηγούν σε αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης βιομάζας είναι σημαντικό καθώς αντιδραστήρες καλλιέργειας μικροφυκών μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη βαριά βιομηχανία για την απορρόφηση διοξειδίου.

3.6.4 Επίπεδος mPBR

Έχοντας αποκομίσει πολύτιμη πληροφορία όσον αφορά την παραγωγικότητα βιομάζας χρησιμοποιώντας την τεχνολογία που προτείνεται παραπάνω, σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε νέος βιοαντιδραστήρας λαμβάνοντας όλες τις παραμέτρους υπόψιν.

Το νέο σύστημα αποτελείται από ένα κέλυφος που συνεισφέρει στον έλεγχο των περιβαλλοντικών συνθηκών, από τον αντιδραστήρα και από το σύστημα ελέγχου που ρυθμίζει τις συνθήκες λειτουργίας.

Ο αντιδραστήρας απαρτίζεται από αλουμινένιες πλάκες σε κλίση, καλυμμένες με μαγνητικό φύλλο και υδρόφιλη μεμβράνη, όπου το νερό κυκλοφορεί με τη βοήθεια μιας περισταλτικής αντλίας από την πρώτη πλάκα στην τελευταία, από την οποία επιστρέφει ξανά στην πρώτη. Με αυτό τον τρόπο,

εξασφαλίζεται συνεχής ροή των κυττάρων της καλλιέργειας, ώστε να έρχονται όλα σε επαφή με το διοξείδιο του άνθρακα και την ηλιακή ενέργεια, χωρίς διακοπές στη διαδικασία.

Στο φωτοβιοαντιδραστήρα συνδέθηκαν τεχνητοί λαμπτήρες LED, ώστε τα μικροφύκη να τροφοδοτούνται συνεχώς με φως, ακόμα και τις βραδινές ώρες, και κατά τους χειμερινούς μήνες.

Χρησιμοποιήθηκαν επίσης εντός του θαλάμου ένας ανεμιστήρας για τη συνεχή ανακατανομή και ομοιογένεια της ατμόσφαιρας και δύο βαλβίδες για την είσοδο και έξοδο των αερίων.

Τέλος, στο φωτοβιοαντιδραστήρα τοποθετήθηκαν αισθητήρες πίεσης, διοξειδίου του άνθρακα, θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας. Οι αισθητήρες συνδέθηκαν με ένα μικροελεγκτή Arduino και προγραμματίστηκαν με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή. Η καταγραφή των δεδομένων πραγματοποιείται με τη βοήθεια μιας κάρτας μνήμης SD. Ο μικροελεγκτής λαμβάνει τα δεδομένα των αισθητήρων και στη συνέχεια γίνονται οι απαραίτητες ενέργειες για τη διατήρηση των συνθηκών που έχουν επιλεγεί για την καλλιέργεια.

Το πρώτο βήμα για το σχεδιασμό του αντιδραστήρα ήταν ο υπολογισμός της ροής στις πλάκες και συγκεκριμένα πόσα λίτρα νερού ανά λεπτό θα διέρχονται από την αντλία, η ταχύτητα του νερού καθώς και ο συνολικός όγκος ρευστού στον αντιδραστήρα.



Σχήμα 3.6.14 Σκίτσο πλάκας υπό κλίση όπου υποδεικνύονται το ύψος του ρευστού και η γωνία κλίσης

Έστω σταθερή ροή σε ένα κεκλιμένο επίπεδο, όπου το νερό κινείται μόνο στον άξονα χ, και σχηματίζει ένα ομοιόμορφο στρώμα ύψους h, όπως φαίνεται στο σχήμα 6.3.14.

Το ύψος του στρώματος του νερού πάνω στις πλάκες υπολογίζεται από τον τύπο:

$$h = \left(\frac{3uQ}{gsina}\right)^{\frac{1}{3}} \tag{3.6.5}$$

Όπου:

Qείναι η ροή του νερού στις πλάκες,

ν είναι το κινηματικό ιξώδες του νερού,

g είναι η επιτάχυνση της βαρύτητας,

και α είναι η κλίση που έχουν οι πλάκες, η οποία ορίστηκε ως 1° .

Ως ύψος στρώματος ροής απαιτήθηκε να είναι τουλάχιστον h= 0,001m, επομένως λύνοντας την εξίσωση 3.6.5, προκύπτει πως η ροή του νερού στις πλάκες είναι Q= 3,42 lt/min.

Η ταχύτητα του νερού στις πλάκες υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$V = \frac{dQ}{dH} = \frac{Gh^2}{\mu} = \left(\frac{9Q^2gsina}{v}\right)^{1/3}$$
(3.6.4)

Μετά τους υπολογισμούς προκύπτει ότι η ταχύτητα V του νερού είναι 0,17 m/s.

Τέλος, πρέπει να υπολογιστεί ο συνολικός όγκος του αντιδραστήρα. Συνολικά επιλέχθηκαν 2 πλάκες (n), οι οποίες θα έχουν τις διαστάσεις του αντιδραστήρα, δηλαδή 60cm μήκος και 50 cm πλάτος. Ο συνολικός όγκος υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$v = h \times LG \times WG \times n \tag{3.6.5}$$

Λύνοντας την εξίσωση προκύπτει ότι ο συνολικός όγκος βιομάζας που απαιτείται για να επιτευχθεί αυτή η ροή είναι 0,6 λίτρα. Ωστόσο, υπολογίστηκε ότι χρειάζονται ακόμη 0,5lt για την πλήρωση των σωλήνων και του συστήματος ψύξης που θα περιγραφεί στη συνέχεια.

Επόμενο βήμα ήταν ο σχεδιασμός της διάταξης. Με βάση τις διαστάσεις των πλακών που επιλέχτηκαν, σχεδιάστηκε ένας μεταλλικός σκελετός από ντίζες και πλαστικοί σύνδεσμοι που δίνουν την ελευθερία κίνησης των πλακών, ρύθμισης της κλίσης τους καθώς και τη δυνατότητα εύκολης προσθαφαίρεσης τους. Στη δεύτερη πλάκα σχεδιάστηκε μια δομή σε σχήμα χωνιού από όπου η καλλιέργεια ανακυκλοφορείται μέσω της περισταλτικής αντλίας.

Αφού σχεδιάστηκε η διάταξη, στη συνέχεια οι πλάκες διαμορφώθηκαν σε μηχανουργείο και οι πλαστικοί σύνδεσμοι εκτυπώθηκαν και πραγματοποιήθηκε η συναρμολόγηση.



Σχήμα 3.6.15 Σχέδιο CAD του αντιδραστήρα

Η διάταξη τοποθετήθηκε σε ειδικό θάλαμο που κατασκευάστηκε από plexiglass και γωνιές αλουμινίου. Η μια πλευρά του θαλάμου έχει τη δυνατότητα να ανοιγοκλείνει ώστε να υπάρχει πρόσβαση στη διάταξη.

Στο θάλαμο τοποθετήθηκαν οι λαμπτήρες LED, αισθητήρες θερμοκρασίας, υγρασίας, πίεσης, CO₂ και το σύστημα ελέγχου που ρυθμίζει τις βαλβίδες ρύθμισης του CO₂.



Σχήμα 3.6.16 Θάλαμος ελέγχου συνθηκών και αντιδραστήρας εν λειτουργία

Επίσης, προστέθηκε μια παράλληλη διάταξη που εξυπηρέτησε την διατήρηση της θερμοκρασίας της καλλιέργειας σταθερή στους 25°C. Η διάταξη αποτελείται από ένα σπειροειδή σωλήνα μέσα από τον οποίο μεταφέρεται η καλλιέργεια και από ένα θάλαμο γύρω από το σπειροειδή σωλήνα μέσα από τον οποίο διέρχεται απιονισμένο νερό η θερμοκρασία του οποίου ελέγχεται από ένα λουτρό.



Σχήμα 3.6.17 Σπειροειδής σωλήνας ρύθμισης θερμοκρασίας καλλιέργειας

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση με πεπερασμένα στοιχεία με στόχο την εύρεση της κατάλληλης θερμοκρασίας του νερού στο λουτρό ώστε η καλλιέργεια να διατηρείται στους 26°C.

Μετρήθηκε με αισθητήρες η θερμοκρασία κορεσμού εισόδου του ρευστού στον αντιδραστήρα στους 30°C. Αυτή η θερμοκρασία χρησιμοποιήθηκε ως θερμοκρασία εισόδου και στο σπειροειδή σωλήνα και υπολογίστηκε πως η θερμοκρασία του νερού στο λουτρό πρέπει να είναι 14°C με ταχύτητα ρευστού στο σωλήνα 1m/s προκειμένου στην έξοδο του να είναι 26°C.



Σχήμα 3.6.18 Αποτελέσματα ανάλυσης πεπερασμένων στοιχείων στο σπειροειδή σωλήνα. Η θερμοκρασία εισόδου είναι 30°C και προκύπτει θερμοκρασία εξόδου 26°C με επιβεβλημένη θερμοκρασία στα τοιχώματα (θερμοκρασία νερού στο λουτρό) 14°C και ταχύτητα εισόδου 1m/s

Αφού ολοκληρώθηκε η κατασκευή του φωτοβιοαντιδραστήρα, πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων με μη μαγνητικά τροποποιημένα μικροφύκη για τον έλεγχο της παραγωγικότητας και της αξιοπιστίας του συστήματος.

Στον αντιδραστήρα προστέθηκε ένας μαγνητικός αναδευτήρας προκειμένου το διάλυμα με τα μικροφύκη να είναι όσο το δυνατό πιο ομοιογενές, ώστε η δειγματοληψία να είναι αντιπροσωπευτική.



Σχήμα 3.6.19 Μαγνητικός αναδευτήρας στην έζοδο του αντιδραστήρα

Το πείραμα επαναλήφθηκε 2 φορές και διήρκησε από 10 μέρες κατά τις οποίες παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων που ελήφθησαν. Υπογραμμίζεται πως σε αυτή τη σειρά πειραμάτων δε χρησιμοποιήθηκαν μαγνητικά τροποποιημένα μικροφύκη και πραγματοποιήθηκε απλά ανακυκλοφόρηση όλης της καλλιέργειας. Ωστόσο, λόγω αστοχιών κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, δεν ελήφθησαν ολοκληρωμένα αποτελέσματα.

3.7.4 Συμπεράσματα

Παρουσιάστηκε η λειτουργία των δύο αντιδραστήρων και τα αποτελέσματα της καλλιέργειας των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Παράλληλα, παρουσιάστηκαν αρχικά αποτελέσματα διαφορετικού τύπου αντιδραστήρα που σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε χωρίς τη χρήση μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Αποδείχτηκε ότι τα μικροφύκη παρά τις καταπονήσεις που δέχονται, είναι ικανά να φωτοσυνθέτουν και να αναπαράγονται. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών (φως, διοξείδιο του άνθρακα, θρεπτικό μέσο) ωφελεί την παραγωγικότητα και μπορεί να μειώσει το κόστος της παραγωγής καθώς αυτοί οι πόροι δύναται να χρησιμοποιηθούν πιο στοχευμένα και προσαρμοσμένα στις ανάγκες της καλλιέργειας λόγω της ύπαρξης φιλμ νερού σε αντίθεση με άλλους τύπους αντιδραστήρων.

Μέσα από αυτή τη διατριβή αναδεικνύεται πως η καινοτόμα μέθοδος καλλιέργειας με τη χρήση μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών μπορεί να αποτελέσει μια εναλλακτική μέθοδο στις υπάρχουσες τεχνολογίες καθώς συνδυάζει τα πλεονεκτήματα τους και παρακάμπτει τα μειονεκτήματα τους.

4. Ανακεφαλαίωση

Ο στόχος της διατριβής ήταν η μελέτη της συμπεριφοράς μαγνητικά τροποποιημένων κυττάρων.

Η έρευνα ξεκίνησε με τη μαγνητική τροποποίηση μικροφυκών. Υπάρχει πληθώρα μεθόδων τροποποίησης κυττάρων αλλά αυτή πραγματοποιείται με μη συνεχή τρόπο. Στο πλαίσιο της διατριβής και του ερευνητικού έργου Horizon 2020 Valuemag (No 745695) ήταν απαραίτητη η παραγωγή μεγάλης ποσότητας μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Με αυτόν το γνώμονα, σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε μια συσκευή ηλεκτροδιάτρησης η οποία επιτρέπει τη μαγνητική τροποποίηση μικροφυκών με συνεχή τρόπο. Κατ' επέκταση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εισαγωγή μορίων, φαρμάκων ή άλλων βιολογικών οντοτήτων μέσα στο κυτταρόπλασμα κυττάρων όπου απαιτείται παραγωγή μεγάλης ποσότητας τροποποιημένων μέσα στο κυτταρόπλασμα κυττάρων όπου απαιτείται

Στη συνέχεια επιχειρήθηκε ο διαχωρισμός των μαγνητικών μικροφυκών από αυτά που δεν τροποποιήθηκαν. Οι υφιστάμενες μεθοδολογίες αφορούν το διαχωρισμό είτε πολύ μικρών ποσοτήτων μαγνητικού υλικού από διαλύματα με χρήση MEMS, είτε ορυκτών σε μεταλλευτικές εγκαταστάσεις. Στο πλαίσιο της διατριβής μελετήθηκε ο διαχωρισμός μαγνητικών κυττάρων από διάλυμα. Από τη διαδικασία εύρεσης τρόπου διαχωρισμού των μικροφυκών, προέκυψε μια διάταξη η οποία μπορεί να διαχωρίσει οποιοδήποτε μαγνητικό υλικό βρίσκεται διαλυμένο σε μορφή σκόνης σε κάποιο διάλυμα. Και πάλι λόγω των αναγκών της διατριβής και του προγράμματος Valuemag, η διάταξη αυτή σχεδιάστηκε έτσι ώστε να μπορεί να λειτουργεί με συνεχή τρόπο, επιτρέποντας έτσι το διαχωρισμό μεγάλης ποσότητας μορίων, κυττάρων αλλά ακόμα και βαρέων μετάλλων από μολυσμένα ύδατα.

Έχοντας αναλύσει τις παραμέτρους διαχωρισμού, φυσική συνέχεια ήταν ο περαιτέρω έλεγχος των μαγνητικών σωματιδίων. Η έρευνα στράφηκε στη μελέτη οδήγησης μαγνητικού υλικού. Αναπτύχθηκε μια διάταξη η οποία μπορεί να ωθεί παραμαγνητικό υλικό παράγοντας μαγνητικά πεδία περίπλοκης βάθμωσης (οι μαγνήτες μπορούν μόνο να έλκουν παραμαγνητικά υλικά). Αυτή η διάταξη δίνει λύση στο βασικό πρόβλημα οδήγησης τροποποιημένων κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα καθώς επιτρέπει την ώθηση σε σημεία όπου εναλλακτικά θα απαιτείτο σημαντικά ισχυρότερο πεδίο. Ένα βήμα παραπέρα, αναπτύχθηκε ένα σύστημα 4 ηλεκτρομαγνητική σταγόνα (ferrofluid) σε προκαθορισμένη από το χρήστη τροχιά.

Έπειτα, το ερευνητικό ενδιαφέρον στράφηκε στο χαρακτηρισμό παραμαγνητικού υλικού με μία καινοτόμο μέθοδο μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας χαμηλού κόστους. Αναπτύχθηκε η διάταξη όσο και ο αλγόριθμος υπολογισμού της επιδεκτικότητας μαγνητικού υλικού. Η ίδια μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τη μέτρηση ιξώδους ενός ρευστού. Σημειώνεται πως οι αποκλίσεις που προέκυψαν από συγκριτικές μετρήσεις είναι αξιόλογες και απαιτείται περεταίρω έρευνα για τη βελτιστοποίηση της διάταξης.

Τέλος, αναπτύχθηκαν τρεις βιοαντιδραστήρες για τη μελέτη της καλλιέργειας των μαγνητικών μικροφυκών. Η μέθοδος καλλιέργειας που επιλέχτηκε στο πλαίσιο του έργου Valuemag ήταν η ακινητοποίηση των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών στην επιφάνεια κωνικού αντιδραστήρα πάνω στην οποία ρέει φιλμ νερού. Έμφαση δόθηκε στην ανάπτυξη του συστήματος ελέγχου των συνθηκών και στην κατανομή του ρευστού πάνω στην επιφάνεια του αντιδραστήρα καθώς τα υπόλοιπα κομμάτια της έρευνας (τα οποία παρατίθενται αλλά δεν αναλύονται ενδελεχώς) πραγματοποιήθηκαν από άλλα μέλη της ομάδας.

5. <u>Συμπεράσματα</u>

- Η συσκευή ηλεκτροδιάτρησης που αναπτύχθηκε, μπορεί να προκαλέσει μαγνητική τροποποίηση μικροφυκών με συνεχή τρόπο σε μεγάλες ποσότητες και αποτελεσματικότητα ~90%
- Η διάταξη διαχωρισμού των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών από αυτά που δεν τροποποιήθηκαν προκάλεσε διαχωρισμό με αποτελεσματικότητα ~100%
- Η διάταξη συνεχούς διαχωρισμού που αναπτύχθηκε, μπορεί να διαχωρίσει παραμαγνητικά νάνο- και μίκρο- σωματίδια από διάλυμα με συνεχή τρόπο, ανεξαρτήτως αρχικής ποσότητας
- Η διάταξη μαγνητικής οδήγησης που κατασκευάστηκε, αποτελούμενη από ηλεκτρομαγνήτες
 και σύστημα ελέγχου, μπορεί να οδηγήσει και να ωθήσει σταγόνα ferrofluid
- Κατασκευάστηκε σύστημα αυτόματου ελέγχου, αποτελούμενο από ηλεκτρομαγνήτες έναν μικροελεγκτή και ένα μικροσκόπιο το οποίο μπορεί να οδηγήσει σταγόνα ferrofluid σε προκαθορισμένη τροχιά βασιζόμενη σε σύστημα ανατροφοδότησης μέσω της εικόνας που λαμβάνεται από το μικροσκόπιο
- Η πρωτότυπη διάταξη μέτρησης μαγνητικής επιδεκτικότητας ή ιξώδους ρευστού που αναπτύχθηκε έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα δεδομένου του χαμηλού της κόστους.
 Απαιτείται περεταίρω ανάπτυξη για να θεωρηθεί αξιόπιστη
- Κατασκευάστηκαν τρεις αντιδραστήρες για τη μελέτη της παραγωγικότητας των μαγνητικά τροποποιημένων μικροφυκών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι είναι δυνατή η παραγωγή μικροφυκών με τη μέθοδο που προτείνεται αλλά απέχει ακόμη από την ελάττωση του κόστους παραγωγής βιομάζας. Η μέθοδος που προτείνεται δίνει τη δυνατότητα ελέγχου των συνθηκών καλλιέργειας σε σημαντικότερο βαθμό από τις υφιστάμενες μεθόδους, ανοίγοντας δρόμους για το τρίπτυχο που αποτελεί κινητήριο δύναμη της μηχανικής: smarter, faster, better.

6. <u>Βιβλιογραφία</u>

[1] "https://www.worldometers.info/world-population/." (2020).

[2] United Nations, Department of Economic and Social Affairs Population Division. "World Population Prospects 2019: Highlights." (2019).

[3] Pimentel, David and Pimentel, Marcia. "Global environmental resources versus world population growth." *Ecological Economics* Vol. 59 No. 2 (2006): pp. 195–198. DOI 10.1016/j.ecolecon.2005.11.034.

[4] Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (25th 1996).

[5] Tursi A. "A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion." *Biofuel Research Journal* Vol. 6 No. 2 (2019): pp. 962–979. DOI 10.18331/BRJ2019.6.2.3.

[6] Kuiper, J. A., Hlava, K.Greenwood H., and Carr, A. "Renewable energy atlas of the United States.". DOI 10.2172/1039875.

[7] Graziani G., Schiavo S., Nicolai M. A., Buono S., Fogliano V., Pinto G., and Pollio A., "Microalgae as human food: chemical and nutritional characteristics of the thermo-acidophilic microalga Galdieria sulphuraria." *Food & function* Vol. 4 No. 1 (2013): pp. 144–152. DOI 10.1039/c2fo30198a.

[8] Gimpel, Javier A., Specht, Elizabeth A., Georgianna, D. Ryan, and Mayfield, Stephen P. "Advances in microalgae engineering and synthetic biology applications for biofuel production." *Current opinion in chemical biology* Vol. 17 No. 3 (2013): pp. 489–495. DOI 10.1016/j.cbpa.2013.03.038.

[9] Lembi C. A., Waaland J. R., Ed. Algae and Human Affairs (2007).

[10] Opiyo M. A., Marijani E., Muendo P., Odede R., Leschen W., and Charo-Karisa H., "A review of aquaculture production and health management practices of farmed fish in Kenya." *International journal of veterinary science and medicine* Vol. 6 No. 2 (2018): pp. 141–148. DOI 10.1016/j.ijvsm.2018.07.001.

[11] Χριστακόπουλος Π., Τόπακας Ε., "Βιοτεχνολογική Παραγωγή Βιοκαυσίμων, 2ης & 3ης ΓενιάςΒιοκαύσιμα." (2015).

[12] Yusuf C., "Biodiesel from microalgae." *Biotechnology advances* Vol. 25 No. 3 (2007): pp. 294–306. DOI 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001.

 [13] Milano J., Ong H. C., Masjuki H. H., Chong, W. T., Lam M. K., Loh P. K., and Vellayan, V.,
 "Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 58 (2016): pp. 180–197. DOI 10.1016/j.rser.2015.12.150.

[14] Nerantzis E., Tzovenis I., Markou G., "Μικροφύκη: καλλιέργεια και βιομηχανικές εφαρμογές: (Microalgae: cultivation and applications).".

[15] Brennan L. and Owende P., "Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 14 No. 2 (2010): pp. 557–577. DOI 10.1016/j.rser.2009.10.009.

[16] Harun R., Singh M., Forde G. M., and Danquah M. K. "Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 14 No. 3 (2010): pp. 1037–1047. DOI 10.1016/j.rser.2009.11.004.

[17] Pulz O. and Gross W., "Valuable products from biotechnology of microalgae." *Applied microbiology and biotechnology* Vol. 65 No. 6 (2004): pp. 635–648. DOI 10.1007/s00253-004-1647x.

[18] Rosenberg J. N., Oyler G. A., Wilkinson L., and Betenbaugh M. J., "A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution." *Current opinion in biotechnology* Vol. 19 No. 5 (2008): pp. 430–436. DOI 10.1016/j.copbio.2008.07.008.

[19] Franklin S. E. and Mayfield S. P. "Prospects for molecular farming in the green alga Chlamydomonas." *Current opinion in plant biology* Vol. 7 No. 2 (2004): pp. 159–165. DOI 10.1016/j.pbi.2004.01.012.

[20] Gantar M. and Svirčev Z., "MICROALGAE AND CYANOBACTERIA: FOOD FOR THOUGHT(1)." *Journal of phycology* Vol. 44 No. 2 (2008): pp. 260–268. DOI 10.1111/j.1529-8817.2008.00469.x.

[21] Nickelsen, J. and Kück, U. "The unicellular green alga Chlamydomonas reinhardtii as an experimental system to study chloroplast RNA metabolism." *Die Naturwissenschaften* Vol. 87 No. 3 (2000): pp. 97–107. DOI 10.1007/s001140050686.

[22] Chojnacka K. and Facundo-Joaquin M. "Kinetic and Stoichiometric Relationships of the Energy and Carbon Metabolism in the Culture of Microalgae." *Biotechnology(Faisalabad)* Vol. 3 No. 1 (2003): pp. 21–34. DOI 10.3923/biotech.2004.21.34.

[23] Abreu A. P., Fernandes B., Vicente A. A., Teixeira J., and Dragone G., "Mixotrophic cultivation of Chlorella vulgaris using industrial dairy waste as organic carbon source." *Bioresource technology* Vol. 118 (2012): pp. 61–66. DOI 10.1016/j.biortech.2012.05.055.

[24] Andrade M.R. and Costa J.A.V. "Mixotrophic cultivation of microalga Spirulina platensis using molasses as organic substrate." *Aquaculture* Vol. 264 1-4 (2007): pp. 130–134. DOI 10.1016/j.aquaculture.2006.11.021.

[25] Chen F. "High cell density culture of microalgae in heterotrophic growth." *Trends in Biotechnology* Vol. 14 No. 11 (1996): pp. 421–426. DOI 10.1016/0167-7799(96)10060-3.

[26] Chojnacka K. and Zielińska, A., "Evaluation of growth yield of Spirulina (Arthrospira) sp. in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures." *World journal of microbiology & biotechnology* Vol. 28 No. 2 (2012): pp. 437–445. DOI 10.1007/s11274-011-0833-0.

[27] Gao C., Zhai Y., Ding Y., and Wu Q., "Application of sweet sorghum for biodiesel production by heterotrophic microalga Chlorella protothecoides." *Applied Energy* Vol. 87 No. 3 (2010): pp. 756– 761. DOI 10.1016/j.apenergy.2009.09.006.

[28] Pooja K., "Mixotrophic Cultivation of Botryococcus Braunii for Biomass and Lipid Yields with Simultaneous CO2 Sequestration." Vol. 4 No. 10 (2014): pp. 151–156.

[29] Heimann K. and Huerlimann R., "Microalgal Classification.": pp. 25–41. DOI 10.1016/B978-0-12-800776-1.00003-0.

[30] Wehr J. D. "Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology by Barsanti, L. & Gualtieri,P." *Journal of phycology* Vol. 43 No. 2 (2007): pp. 412–414. DOI 10.1111/j.1529-8817.2007.00335.x.

[31] Darley W., Ed. *Algal Biology: A Physiological Approach: (Basic microbiology).* Blackwell Science Inc (1982).

[32] Frenz J. L., Kohl A. C., and Kerr R. G. "Marine natural products as therapeutic agents: Part 2." *Expert Opinion on Therapeutic Patents* Vol. 14 No. 1 (2004): pp. 17–33. DOI 10.1517/13543776.14.1.17.

[33] Salama E.S, Kurade M. B., Abou-Shanab, R.A.I., El-Dalatony, Marwa M., Yang I-S, Min, B., and Jeon B-H. "Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 79 (2017): pp. 1189–1211. DOI 10.1016/j.rser.2017.05.091.

[34] Metting, F. B. "Biodiversity and application of microalgae." *Journal of Industrial Microbiology* & *Biotechnology* Vol. 17 5-6 (1996): pp. 477–489. DOI 10.1007/BF01574779.

[35] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, and Isambert A. "Commercial applications of microalgae." *Journal of bioscience and bioengineering* Vol. 101 No. 2 (2006): pp. 87–96. DOI 10.1263/jbb.101.87.

[36] Rosenberg E., Ed. The Prokaryotes: Actinobacteria. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2014).

[37] Gouveia, L.. "Microalgae as a Feedstock for Biofuels.": pp. 1–69. DOI 10.1007/978-3-642-17997-6_1.

[38] Gikonyo B. Advances in Biofuel Production: Algae and Aquatic Plants. CRC Press (2013).

[39] Grobbelaar, J. U. "Algal Nutrition - Mineral Nutrition.": pp. 95–115. DOI 10.1002/9780470995280.ch6.

[40] Jorquera O., Kiperstok A., Sales E. A., Embiruçu M., and Ghirardi M. L. "Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors." *Bioresource technology* Vol. 101 No. 4 (2010): pp. 1406–1413. DOI 10.1016/j.biortech.2009.09.038.

[41] Marsullo M., Mian A., Ensinas A. V., Manente G., Lazzaretto A., and Marechal F., "Dynamic Modeling of the Microalgae Cultivation Phase for Energy Production in Open Raceway Ponds and Flat Panel Photobioreactors." *Frontiers in Energy Research* Vol. 3 (2015). DOI 10.3389/fenrg.2015.00041.

[42] Chaumont D., "Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture." *Journal of Applied Phycology* Vol. 5 No. 6 (1993): pp. 593–604. DOI 10.1007/BF02184638.

[43] Day J. G., Slocombe S. P., and Stanley M. S. "Overcoming biological constraints to enable the exploitation of microalgae for biofuels." *Bioresource technology* Vol. 109 (2012): pp. 245–251. DOI 10.1016/j.biortech.2011.05.033.

[44] Bilanovic D., Andargatchew A., Kroeger T., and Shelef G., "Freshwater and marine microalgae sequestering of CO2 at different C and N concentrations – Response surface methodology analysis." *Energy Conversion and Management* Vol. 50 No. 2 (2009): pp. 262–267. DOI 10.1016/j.enconman.2008.09.024.

[45] Borowitzka M. A. "Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters." *Journal of Biotechnology* Vol. 70 1-3 (1999): pp. 313–321. DOI 10.1016/S0168-1656(99)00083-8.

[46] Ugwu, C. U., Aoyagi, H., and Uchiyama, H. "Photobioreactors for mass cultivation of algae." *Bioresource technology* Vol. 99 No. 10 (2008): pp. 4021–4028. DOI 10.1016/j.biortech.2007.01.046.

[47] Richmond A. "Open systems for the mass production of photoautotrophic microalgae outdoors: physiological principles." *Journal of Applied Phycology* Vol. 4 No. 3 (1992): pp. 281–286. DOI 10.1007/BF02161213.

[48] "Cyanotech.".

[49] Pulz, O. "Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms." *Applied microbiology and biotechnology* Vol. 57 No. 3 (2001): pp. 287–293. DOI 10.1007/s002530100702.

[50] Carvalho A. P., Meireles L. A., and Malcata F. X., "Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances." *Biotechnology progress* Vol. 22 No. 6 (2006): pp. 1490–1506. DOI 10.1021/bp060065r.

[51] Yusuf C. and Jauregui-Haza U.J. "Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors." *Biochemical Engineering Journal* Vol. 10 No. 2 (2002): pp. 143–153. DOI 10.1016/S1369-703X(01)00174-7.

[52] Zhiyou W. "Microalgae as a Feedstock for Biofuel Production.".

[53] Molina, E., Fernández, J., Acién, F. G., and Chisti, Y. "Tubular photobioreactor design for algal cultures." *Journal of Biotechnology* Vol. 92 No. 2 (2001): pp. 113–131. DOI 10.1016/s0168-1656(01)00353-4.

[54] Eriksen N. T. "The technology of microalgal culturing." *Biotechnology letters* Vol. 30 No. 9 (2008): pp. 1525–1536. DOI 10.1007/s10529-008-9740-3.

[55] Suh I.S. and Lee C-G. "Photobioreactor engineering: Design and performance." *Biotechnology and Bioprocess Engineering* Vol. 8 No. 6 (2003): pp. 313–321. DOI 10.1007/BF02949274.

[56] Carvalho A. P., Silva S.O., Baptista J. M., and Malcata F. X., "Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects." *Applied microbiology and biotechnology* Vol. 89 No. 5 (2011): pp. 1275–1288. DOI 10.1007/s00253-010-3047-8.

[57] Chen C-Y, Yeh K-L., Aisyah R., Lee D-J, and Chang J-S., "Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review." *Bioresource technology* Vol. 102 No. 1 (2011): pp. 71–81. DOI 10.1016/j.biortech.2010.06.159.

[58] Lehr F. and Posten C., "Closed photo-bioreactors as tools for biofuel production." *Current opinion in biotechnology* Vol. 20 No. 3 (2009): pp. 280–285. DOI 10.1016/j.copbio.2009.04.004.

[59] Janssen, M., "Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield." (2002)."(2002).

[60] Xu H., Miao X., and Wu Q., "High quality biodiesel production from a microalga Chlorella protothecoides by heterotrophic growth in fermenters." *Journal of Biotechnology* Vol. 126 No. 4 (2006): pp. 499–507. DOI 10.1016/j.jbiotec.2006.05.002.

[61] Liang Y., Sarkany N., and Cui Y., "Biomass and lipid productivities of Chlorella vulgaris under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions." *Biotechnology letters* Vol. 31 No. 7 (2009): pp. 1043–1049. DOI 10.1007/s10529-009-9975-7.

[62] Acién F. F. G., García C. F., and Yusuf. C., "Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup." Vol. 35: pp. 231–247. DOI 10.1016/S0079-6352(99)80118-0.

[63] Fernandes B. D., Dragone G. M., Teixeira J. A., and Vicente A. A. "Light regime characterization in an airlift photobioreactor for production of microalgae with high starch content." *Applied biochemistry and biotechnology* Vol. 161 1-8 (2010): pp. 218–226. DOI 10.1007/s12010-009-8783-9.

[64] Wang C-Y, Fu C-C, and Liu Y-C., "Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of Spirulina platensis." *Biochemical Engineering Journal* Vol. 37 No. 1 (2007): pp. 21–25. DOI 10.1016/j.bej.2007.03.004.

[65] Richmond, A. "Physiological principles and modes of cultivation in mass production of photoautotrophic microalgae." *Chemicals from Microalgae* (1999): pp. 353–386.

[66] Carvalho A. P., Monteiro C. M., and Malcata F. X., "Simultaneous effect of irradiance and temperature on biochemical composition of the microalga Pavlova lutheri." *Journal of Applied Phycology* Vol. 21 No. 5 (2009): pp. 543–552. DOI 10.1007/s10811-009-9415-z.

[67] Jensen S. and Knutsen G., "Influence of light and temperature on photoinhibition of photosynthesis inSpirulina platensis." *Journal of Applied Phycology* Vol. 5 No. 5 (1993): pp. 495–504. DOI 10.1007/BF02182508.

[68] Lukavsky, J. "Vonshak, A. (Ed.): Spirulina platensis (Arthrospira). Physiology, Cell Biology and Biotechnology." *Photosynthetica* Vol. 38 No. 4 (2000): p. 552. DOI 10.1023/A:1012498515734.

[69] Borowitzka M.A. "Limits to Growth.": pp. 203–226. DOI 10.1007/978-3-662-10863-5_12.

[70] Richmond A. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK (2003).

[71] Badger M. R. and Price G. D. "CO2 concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution." *Journal of experimental botany* Vol. 54 No. 383 (2003): pp. 609–622. DOI 10.1093/jxb/erg076.

[72] Giordano M., Beardall J., and Raven J.A. "CO2 concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution." *Annual review of plant biology* Vol. 56 (2005): pp. 99–131. DOI 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144052.

[73] Brennan L. and Owende P. "Biofuels from Microalgae: Towards Meeting Advanced Fuel Standards.": pp. 553–599. DOI 10.1007/978-1-4614-3348-4_24.

[74] Doucha J., Straka F., and Lívanský K., "Utilization of flue gas for cultivation of microalgae Chlorella sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor." *Journal of Applied Phycology* Vol. 17 No. 5 (2005): pp. 403–412. DOI 10.1007/s10811-005-8701-7.

[75] Ferreira, L. S., Rodrigues, M. S., Converti, A., Sato, S., and Carvalho, J.C.M. "Arthrospira (Spirulina) platensis cultivation in tubular photobioreactor: Use of no-cost CO2 from ethanol fermentation." *Applied Energy* Vol. 92 (2012): pp. 379–385. DOI 10.1016/j.apenergy.2011.11.019.

[76] Wang B., Li Y., Wu N., and Lan C. Q. "CO(2) bio-mitigation using microalgae." *Applied microbiology and biotechnology* Vol. 79 No. 5 (2008): pp. 707–718. DOI 10.1007/s00253-008-1518y.

[77] Perez-Garcia O., Escalante F.M. E., de-Bashan L. E., and Bashan Y. "Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products." *Water research* Vol. 45 No. 1 (2011): pp. 11–36. DOI 10.1016/j.watres.2010.08.037.

[78] Boussiba, S. "Ammonia translocation in cyanobacteria." *FEMS Microbiology Letters* Vol. 88
No. 1 (1991): pp. 1–14. DOI 10.1016/0378-1097(91)90692-4.

[79] Vieira C., Jorge A., Cozza, K.L., Oliveira L., and Magagnin G., "Different nitrogen sources and growth responses of Spirulina platensis in microenvironments." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* Vol. 17 No. 5 (2001): pp. 439–442. DOI 10.1023/A:1011925022941.

[80] Azov, Y. and Goldman, J. C. "Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures." *Applied and environmental microbiology* Vol. 43 No. 4 (1982): pp. 735–739. DOI 10.1128/aem.43.4.735-739.1982.

[81] Danesi, E.D.G, O. Rangel-Yagui, C. de, Carvalho, J.C.M de, and Sato, S. "An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by Spirulina platensis." *Biomass and Bioenergy* Vol. 23 No. 4 (2002): pp. 261–269. DOI 10.1016/S0961-9534(02)00054-5.

[82] Hsieh C-H, and Wu W-T., "Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation." *Bioresource technology* Vol. 100 No. 17 (2009): pp. 3921–3926. DOI 10.1016/j.biortech.2009.03.019.

[83] Matsudo M. C., Bezerra R. P., Sato S., Perego P., Converti A., and Carvalho J. C. M. "Repeated fed-batch cultivation of Arthrospira (Spirulina) platensis using urea as nitrogen source." *Biochemical Engineering Journal* Vol. 43 No. 1 (2009): pp. 52–57. DOI 10.1016/j.bej.2008.08.009.

[84] Roderick O.L. and Ganf G.G. "Freshwater Blooms.": pp. 149–194. DOI 10.1007/0-306-46855-7_6.

[85] Stal L. J. "Cyanobacterial Mats and Stromatolites.": pp. 61–120. DOI 10.1007/0-306-46855-7_4.

[86] Roderick O.L., Hamilton D.P., Brookes J.D., and Ganf G.G. "Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria.": pp. 155–194. DOI 10.1007/978-94-007-3855-3_6.

[87] Powell N., Shilton, A., Pratt, S., and Chisti, Y. "Luxury uptake of phosphorus by microalgae in full-scale waste stabilisation ponds." *Water science and technology a journal of the International Association on Water Pollution Research* Vol. 63 No. 4 (2011): pp. 704–709. DOI 10.2166/wst.2011.116.

[88] Mata T. M., Martins A.A., and Caetano N. S. "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 14 No. 1 (2010): pp. 217–232. DOI 10.1016/j.rser.2009.07.020.

[89] Miyake J, Wakayama T., Schnackenberg J., Arai, Takaaki, and Asada, Yasuo. "Simulation of the daily sunlight illumination pattern for bacterial photo-hydrogen production." *Journal of bioscience and bioengineering* Vol. 88 No. 6 (1999): pp. 659–663. DOI 10.1016/s1389-1723(00)87096-6.

[90] Ogbonna J.C. and Tanaka H., "Cyclic autotrophic/heterotrophic cultivation of photosynthetic cells: A method of achieving continuous cell growth under light/dark cycles." *Bioresource technology* Vol. 65 1-2 (1998): pp. 65–72. DOI 10.1016/S0960-8524(98)00018-2.

[91] Yeh N. and Chung J-P. "High-brightness LEDs—Energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 13 No. 8 (2009): pp. 2175–2180. DOI 10.1016/j.rser.2009.01.027.

[92] Chen, C., Saratale, G., Lee, C., Chen, P., and Chang, J. "Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers." *International Journal of Hydrogen Energy* Vol. 33 No. 23 (2008): pp. 6886–6895. DOI 10.1016/j.ijhydene.2008.09.014.

[93] David J. *Introduction to magnetism and magnetic materials*. Boca Raton CRC Press, Taylor & Francis Group (2016).

[94] Callaghan E. E. Maslen S. H. *The Magnetic Field of a Finite Solenoid*. NASA (1960).

[95] "A Dictionary of Physics." (2009). DOI 10.1093/acref/9780199233991.001.0001.

[96] Poyser A.W. Magnetism and Electricity: A Manual for Students in Advanced Classes. Longmans, Green, & Company (1892).

[97] "VIII. A dynamical theory of the electromagnetic field." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* Vol. 155 (1865): pp. 459–512. DOI 10.1098/rstl.1865.0008.

[98] Jackson J.D., *Classical Electrodynamics*. John Wiley & Sons (1999).

[99] Kittel C., *Introduction to Solid State Physics*. John Wiley and Sons (1956).

[100] Shevkoplyas S.S., Siegel A.C., Westervelt R.M., Prentiss M.G., and Whitesides G.M. "The force acting on a superparamagnetic bead due to an applied magnetic field." *Lab on a chip* Vol. 7 No. 10 (2007): pp. 1294–1302. DOI 10.1039/b705045c.

[101] Coey, J. M. D. "Magnetism and Magnetic Materials." (2012). DOI 10.1017/CBO9780511845000.

[102] Ankamwar B. "Size and Shape Effect on Biomedical Applications of Nanomaterials.". DOI 10.5772/46121.

[103] Ahmad M., Minhas M., Sohail, Muhammad F. Muhammad, and Rashid H., "Comprehensive Review on Magnetic Drug Delivery Systems: A Novel Approach for Drug Targeting." *Journal of Pharmacy and Alternative Medicine* Vol. 2 (2013).

[104] Polyak B., Fishbein, I., Chorny M., Alferiev I., Williams D., Yellen B., Friedman G., and Levy R.J. "High field gradient targeting of magnetic nanoparticle-loaded endothelial cells to the surfaces of steel stents." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* Vol. 105 No. 2 (2008): pp. 698–703. DOI 10.1073/pnas.0708338105.

[105] Lübbe, A. S., Alexiou, C., and Bergemann, C. "Clinical applications of magnetic drug targeting." *The Journal of surgical research* Vol. 95 No. 2 (2001): pp. 200–206. DOI 10.1006/jsre.2000.6030.

[106] Price P.M., Mahmoud W.E., Al-Ghamdi, A.A., and Bronstein L.M. "Magnetic Drug Delivery: Where the Field Is Going." *Frontiers in chemistry* Vol. 6 (2018): p. 619. DOI 10.3389/fchem.2018.00619.

[107] Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., and Dobson, J. "Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine." *Journal of Physics D: Applied Physics* Vol. 36 No. 13 (2003): R167-R181. DOI 10.1088/0022-3727/36/13/201.

[108] Kayal S., Bandyopadhyay D., Mandal T.K, and Ramanujan R.V. "The flow of magnetic nanoparticles in magnetic drug targeting." *RSC Advances* Vol. 1 No. 2 (2011): p. 238. DOI 10.1039/C1RA00023C.

[109] Yuh A.L. et al. "Formation of high electromagnetic gradients through a particle-based microfluidic approach." *J. Micromech. Microeng.* 17 1299 (2007).

[110] Nacev, A., Beni, C., Bruno, O., and Shapiro, B. "Magnetic nanoparticle transport within flowing blood and into surrounding tissue." *Nanomedicine (London, England)* Vol. 5 No. 9 (2010): pp. 1459–1466. DOI 10.2217/nnm.10.104.

[111] Hu Y-R, Guo C., Xu L., Wang F., Wang S-K, Hu Z, and Liu C-Z. "A magnetic separator for efficient microalgae harvesting." *Bioresource technology* Vol. 158 (2014): pp. 388–391. DOI 10.1016/j.biortech.2014.02.120.

[112] Luo L. and Nguyen A.V. "A review of principles and applications of magnetic flocculation to separate ultrafine magnetic particles." *Separation and Purification Technology* Vol. 172 (2017): pp. 85–99. DOI 10.1016/j.seppur.2016.07.021.

[113] Hinda E, Marins J.A., Schaub S., Amara A.B.H, Kuzhir P. "CAPTURE OF MAGNETIC NANOPARTICLES ON ORDERED MAGNETIZABLE ARRAYS: A PARAMETRIC STUDY." *Moscow International Symposium on Magnetism (MISM)*.

[114] Lim JK, Yeap SP, and Low SC. "Challenges associated to magnetic separation of nanomaterials at low field gradient." *Separation and Purification Technology* Vol. 123 (2014): pp. 171–174. DOI 10.1016/j.seppur.2013.12.038.

[115] Rogers H.B., Anani T., Choi Y.S, Beyers R.J., and David A.E. "Exploiting Size-Dependent Drag and Magnetic Forces for Size-Specific Separation of Magnetic Nanoparticles." *International journal of molecular sciences* Vol. 16 No. 8 (2015): pp. 20001–20019. DOI 10.3390/ijms160820001.

[116] Forbes, Z. G., Yellen, B. B., Barbee, K. A., and Friedman, G. "An approach to targeted drug delivery based on uniform magnetic fields." *IEEE Transactions on Magnetics* Vol. 39 No. 5 (2003): pp. 3372–3377. DOI 10.1109/TMAG.2003.816260.

[117] Lim JK, Yeap S.P. Leow C.H., Toh P.Y., and Low S. C., "Magnetophoresis of iron oxide nanoparticles at low field gradient: the role of shape anisotropy." *Journal of colloid and interface science* Vol. 421 (2014): pp. 170–177. DOI 10.1016/j.jcis.2014.01.044.

[118] Tasci, T. O., Johnson, W. P., and Gale, B. K. "Cyclical magnetic field flow fractionation." *Journal of Applied Physics* Vol. 111 No. 7 (2012): 07D128. DOI 10.1063/1.3679156.

[119] Hamaker, H. C. "The London—van der Waals attraction between spherical particles." *Physica* Vol. 4 No. 10 (1937): pp. 1058–1072. DOI 10.1016/S0031-8914(37)80203-7.

[120] Kowalczyk B., Lagzi I., and Grzybowski B.A. "Nanoseparations: Strategies for size and/or shape-selective purification of nanoparticles." *Current Opinion in Colloid & Interface Science* Vol. 16 No. 2 (2011): pp. 135–148. DOI 10.1016/j.cocis.2011.01.004.

[121] Chen.H., "Brownian Diffusion in a Dilute Dispersion of Droplets." *Journal of colloid and interface science* Vol. 209 No. 1 (1999): pp. 31–43. DOI 10.1006/jcis.1998.5828.

[122] Toh P.Y., Yeap S.P, Kong L.P., Ng B.W., Chan D.J.C., Ahmad,A.L., and Lim J.K. "Magnetophoretic removal of microalgae from fishpond water: Feasibility of high gradient and low gradient magnetic separation." *Chemical Engineering Journal* 211-212 (2012): pp. 22–30. DOI 10.1016/j.cej.2012.09.051.

[123] Lee K., Lee S.Y., Na J-G., Jeon S.G., Praveenkumar R., Kim D-M., Chang W-S., and Oh Y-K. "Magnetophoretic harvesting of oleaginous Chlorella sp. by using biocompatible chitosan/magnetic nanoparticle composites." *Bioresource technology* Vol. 149 (2013): pp. 575–578. DOI 10.1016/j.biortech.2013.09.074.

[124] Wang S-K, Stiles A.R., Guo C., and Liu C-Z., "Harvesting microalgae by magnetic separation: A review." *Algal Research* Vol. 9 (2015): pp. 178–185. DOI 10.1016/j.algal.2015.03.005.

[125] Vandamme D., Foubert I., Meesschaert B., and Muylaert K.. "Flocculation of microalgae using cationic starch." *Journal of Applied Phycology* Vol. 22 No. 4 (2010): pp. 525–530. DOI 10.1007/s10811-009-9488-8.

[126] Lim J.K., Chieh D.C.J, Jalak S.A., Toh P.Y., Yasin N.H.M., Ng B.W., and Ahmad, Abdul Latif.
"Rapid magnetophoretic separation of microalgae." *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*Vol. 8 No. 11 (2012): pp. 1683–1692. DOI 10.1002/smll.201102400.

[127] Tsong, T. Y. "Electroporation of cell membranes." *Biophysical Journal* Vol. 60 No. 2 (1991):
 pp. 297–306. DOI 10.1016/S0006-3495(91)82054-9.

[128] Kotnik, T., Kramar, P., Pucihar, G., Miklavcic, D., and Tarek, M. "Cell membrane electroporation- Part 1: The phenomenon." *IEEE Electrical Insulation Magazine* Vol. 28 No. 5 (2012): pp. 14–23. DOI 10.1109/MEI.2012.6268438.

[129] Αυλωνίτης Δ. Α. Αυλωνίτης Σ.Α. Μηχανική Των Ρευστών. Ίων (2006).

[130] Abbas K.A, Mohammed A., Saleh, A.M, and Ebrahimian, M. "Suitability of viscosity measurement methods for liquid food variety and applicability in food industry - A review." *Journal of Food Agriculture and Environment* Vol. 8 (2010): pp. 100–107.

[131] Σιανούδης, Ι. Προσδιορισμός του συντελεστή εσωτερικής τριβής (ιζώδους) με τη μέθοδο της πτώσης μικρών σφαιρών.

[132] Πάντζαλης. Μηχανική των Ρευστών (2008).

[133] "MicroPulser[™] Electroporation Apparatus Operating Instructions and Applications Guide.".

[134] Ding R. and Bowler N. "Permittivity and electrical breakdown response of nylon 6 to chemical exposure." *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation* Vol. 22 No. 2 (2015): pp. 1151–1160. DOI 10.1109/TDEI.2015.7076817.

[135] Jordan E.T., Collins M., Terefe J., Ugozzoli L., and Rubio T. "Optimizing Electroporation Conditions in Primary and Other Difficult-to-Transfect Cells." *Journal of Biomolecular Techniques JBT* Vol. 19 No. 5 (2008): pp. 328–334.

[136] Pamme N., Eijkel J., and Manz A.. "On-chip free-flow magnetophoresis: Separation and detection of mixtures of magnetic particles in continuous flow." *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* Vol. 307 (2006): pp. 237–244. DOI 10.1016/j.jmmm.2006.04.008.

[137] Afshar, R., Moser, Y., Lehnert, T., and Gijs, M.A.M. "Magnetic particle dosing and size separation in a microfluidic channel." *Sensors and Actuators B: Chemical* Vol. 154 No. 1 (2011): pp. 73–80. DOI 10.1016/j.snb.2009.08.044.

[138] Han, Ki-Ho and Frazier, A. B. "Diamagnetic capture mode magnetophoretic microseparator for blood cells." *Journal of Microelectromechanical Systems* Vol. 14 No. 6 (2005): pp. 1422–1431. DOI 10.1109/JMEMS.2005.859097.

[139] Han, K-H and Frazier B., A. "Continuous magnetophoretic separation of blood cells in microdevice format." *Journal of Applied Physics* Vol. 96 No. 10 (2004): pp. 5797–5802. DOI 10.1063/1.1803628.

[140] Inglis D. W., Riehn, R., Austin, R. H., and Sturm, J. C. "Continuous microfluidic immunomagnetic cell separation." *Applied Physics Letters* Vol. 85 No. 21 (2004): pp. 5093–5095. DOI 10.1063/1.1823015.

[141] Inglis D.W., Riehn R., Sturm, James C., and Austin, R.H. "Microfluidic high gradient magnetic cell separation." *Journal of Applied Physics* Vol. 99 No. 8 (2006): 08K101. DOI 10.1063/1.2165782.

[142] Derec C., Wilhelm C., Servais J., and Bacri J-C. "Local control of magnetic objects in microfluidic channels." *Microfluidics and Nanofluidics* Vol. 8 No. 1 (2010): pp. 123–130. DOI 10.1007/s10404-009-0486-6.

[143] Adams J. D., Kim U., and Soh H.T., "Multitarget magnetic activated cell sorter." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* Vol. 105 No. 47 (2008): pp. 18165–18170. DOI 10.1073/pnas.0809795105.

[144] Fulcrand R., Bancaud A., Escriba C., He Q., Charlot S., Boukabache A., and Gué A-M. "On chip magnetic actuator for batch-mode dynamic manipulation of magnetic particles in compact lab-onchip." *Sensors and Actuators B: Chemical* Vol. 160 No. 1 (2011): pp. 1520–1528. DOI 10.1016/j.snb.2011.08.011.

[145] Chertok B., Moffat B.A., David A.E., Yu F., Bergemann C., Ross B.D., and Yang V.C. "Iron oxide nanoparticles as a drug delivery vehicle for MRI monitored magnetic targeting of brain tumors." *Biomaterials* Vol. 29 No. 4 (2008): pp. 487–496. DOI 10.1016/j.biomaterials.2007.08.050.

[146] Wu M. and Huang S. "Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery and treatment." *Molecular and clinical oncology* Vol. 7 No. 5 (2017): pp. 738–746. DOI 10.3892/mco.2017.1399.

[147] Taylor E.N. and Webster, T.J. "Multifunctional magnetic nanoparticles for orthopedic and biofilm infections." *International Journal of Nanotechnology* Vol. 8 1/2 (2011): p. 21. DOI 10.1504/IJNT.2011.037168.

[148] Li, Q., Liu X., Chang M., and Lu Z., "Thrombolysis Enhancing by Magnetic Manipulation of Fe₃O₄ Nanoparticles." *Materials (Basel, Switzerland)* Vol. 11 No. 11 (2018). DOI 10.3390/ma11112313.

[149] McBain S.C., Yiu H.H. P., and Dobson J., "Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery." *International journal of nanomedicine* Vol. 3 No. 2 (2008): pp. 169–180. DOI 10.2147/ijn.s1608.

[150] Toro-Cordova A., Flores-Cruz M., Santoyo-Salazar J., Carrillo-Nava E., Jurado R., Figueroa-R., Pavel A., Lopez-Sanchez P., Medina, L.A., and Garcia-Lopez P. "Liposomes Loaded with Cisplatin and Magnetic Nanoparticles: Physicochemical Characterization, Pharmacokinetics, and In-Vitro Efficacy." *Molecules (Basel, Switzerland)* Vol. 23 No. 9 (2018). DOI 10.3390/molecules23092272.

[151] Cores J., Caranasos T.G., and Cheng K., "Magnetically Targeted Stem Cell Delivery for Regenerative Medicine." *Journal of functional biomaterials* Vol. 6 No. 3 (2015): pp. 526–546. DOI 10.3390/jfb6030526.

[152] Labusca, L.H., Dumitru D., and Mashayekhi, K., "Stem cells as delivery vehicles for regenerative medicine-challenges and perspectives." *World journal of stem cells* Vol. 10 No. 5 (2018): pp. 43–56. DOI 10.4252/wjsc.v10.i5.43.

[153] Snider, E. J., Kubelick, K. P., Tweed, K., Kim, R. K., Li, Y., Gao, K., Read, A. T., Emelianov,
S., and Ethier, C. R. "Improving Stem Cell Delivery to the Trabecular Meshwork Using Magnetic Nanoparticles." *Scientific reports* Vol. 8 No. 1 (2018): p. 12251. DOI 10.1038/s41598-018-30834-7.

[154] Majidi S., Zeinali S., Fatemeh S., Mohammad M., Morteza A., Elham D., Kianoosh K., and Akbarzadeh A., "Magnetic nanoparticles: Applications in gene delivery and gene therapy." *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology* Vol. 44 No. 4 (2016): pp. 1186–1193. DOI 10.3109/21691401.2015.1014093.

[155] Kami D., Takeda S., Itakura Y., Gojo S., Watanabe M., and Toyoda M.. "Application of magnetic nanoparticles to gene delivery." *International journal of molecular sciences* Vol. 12 No. 6 (2011): pp. 3705–3722. DOI 10.3390/ijms12063705.

[156] Kheirkhah P., Denyer S., Bhimani A.D., Arnone G.D., Esfahani D.R., Aguilar T., Zakrzewski J., Venugopal I., Habib N., Gallia G.L., Linninger A., Charbel F.T., and Mehta A.I. "Magnetic Drug Targeting: A Novel Treatment for Intramedullary Spinal Cord Tumors." *Scientific reports* Vol. 8 No. 1 (2018): p. 11417. DOI 10.1038/s41598-018-29736-5.

[157] Jin M.C., Medress Z.A., Azad T.D., Doulames V.M., and Veeravagu A., "Stem cell therapies for acute spinal cord injury in humans: a review." *Neurosurgical focus* Vol. 46 No. 3 (2019): E10. DOI 10.3171/2018.12.FOCUS18602.

[158] Santoso M.R. and Yang P.C. "Magnetic Nanoparticles for Targeting and Imaging of Stem Cells in Myocardial Infarction." *Stem cells international* Vol. 2016 (2016): p. 4198790. DOI 10.1155/2016/4198790.

[159] Kummer M.P., Abbott J.J., Kratochvil B.E., Borer R., Sengul A., and Nelson Bradley J.
"OctoMag: An Electromagnetic System for 5-DOF Wireless Micromanipulation." *IEEE Transactions* on *Robotics* Vol. 26 No. 6 (2010): pp. 1006–1017. DOI 10.1109/TRO.2010.2073030.

[160] Nelson, B. "Nelson, B. "Making Microrobots Move." ICINCO (2010)." ICINCO (2010).

[161] Shapiro B., Dormer K., and Rutel I.B. "A Two-Magnet System to Push Therapeutic Nanoparticles." *AIP conference proceedings* Vol. 1311 No. 1 (2010): pp. 77–88. DOI 10.1063/1.3530064.

[162] Sarwar A., Lee R., Depireux, D.A., and Shapiro B.. "Magnetic Injection of Nanoparticles Into Rat Inner Ears at a Human Head Working Distance." *IEEE Transactions on Magnetics* Vol. 49 No. 1 (2013): pp. 440–452. DOI 10.1109/TMAG.2012.2221456.

[163] Carlin. A., Magnetochemistry. Berlin: Springler, 1986.

[164] Earnshaw. Introduction to Magnetochemistry. Leeds: Academic Press, 1968.

[165] Indian Institute of Technology Madras, Department of Physics. Magnetic Suscebtibility Using a Gouy Balance. Chennai, India: Indian Institute of Technology Madras, n.d.

[166] Marcon O., Overview of Methods for Magnetic Susceptibility Measurement . Kuala Lumpur, Malaysia: PIERS Proceedings , 2012.

[167] Murgulescu, K., Institute of Physical Chemistry Ilie. Romanian Academy Institute of Physical Chemistry Ilie Murgulescu. <u>http://old.icf.ro/lab9/RFCS.html</u>

[168] Iramis. H.,, "Saclay Institute of Matter and Radiation". Vibrating sample magnetometry. 19 3 2010. 2019 7 19

[169] Shah S.A.H., Vibrating Sample Magnetometery: Analysis and Construction . Lahore, Pakistan: Department of Physics, Syed Babar Ali School of Science and Engineering, LUMS , 2013.

[170] Θεοδωρακόπουλος. Διαμόρφωση Υυπεραγωγών Υψηλών και Χαμηλών Θερμοκρασιών. Αθήνα: Ε.Μ.Π., 2014.

[171] Instituto Superior Técnico-Campus Tecnologico e Nuclear, Universidade de Lisboa. SQUID Magnetometer Facility . 22 1 2013. 1 7 2019

[172] Walther-Meißner-Institute. SQUID Magnetometry. 15 1 2019. 1 7 2019

[173] Provasoli L, Mclaughlin Jj, Droop Mr. The development of artificial media for marine algae. Arch Mikrobiol. 1957;25(4):392-428. doi: 10.1007/BF00446694. PMID: 13403656.

E

7. <u>Παράρτημα</u>

%% Load image from camera or by yourself	%% Make the collumns
hCamera = webcam(1, 'Resolution', '640x480');	count1 = 0;
<pre>pause(5); % in order to stabilize the camera</pre>	$\operatorname{count2} = 0;$
Iload = snapshot(hCamera);	for j=1:c
Iload = flipdim(Iload ,1);	for i=1:r
Iload = flipdim(Iload ,2);	if I3(i, j) == 0
imshow(Iload);	count1 = count1 + 1;
	end
%% Threshold the image	end
	if count1 >= (r - 0.25*r)
Iload1 = Iload;	count2 = count2 + 1;
I1 = DropletThreshold(Iload1);	if count2 <= linewidth
I2 = CoordinatesThreshold(Iload1);	for k=1:r
I3 = I2;	I3(k, j) = 0;
[r, c] = size(I1);	end
	else
%% Make the rows	for k=1:r
	I3(k, j) = 1;
count1 = 0;	end
count2 = 0;	end
linewidth = 5;	elseif count2 >= 1 && count2 <= linewidth
for i=1:r	for k=1:r
for j=1:c	I3(k, j) = 0;
if $I2(i, j) == 0$	end
$\operatorname{count1} = \operatorname{count1} + 1;$	count2 = count2 + 1;
end	else

end	for k=1:r
if count1 >= (c - 0.25*c)	I3(k, j) = 1;
$\operatorname{count2} = \operatorname{count2} + 1;$	end
if count2 <= linewidth	$\operatorname{count} 2 = 0;$
for k=1:c	end
I2(i, k) = 0;	count1 = 0;
end	end
else	%imshow(I3);
for k=1:c	
I2(i, k) = 1;	%% Make the Image
end	
end	If = I1 + I2 + I3;
elseif count2 >= 1 && count2 <= linewidth	for i=1:r
for k=1:c	for j=1:c
I2(i, k) = 0;	$if (If(i, j) == 1 \parallel If(i, j) == 2)$
end	If(i, j) = 0;
$\operatorname{count2} = \operatorname{count2} + 1;$	elseif If(i, j) == 3
else	If(i, j) = 1;
for k=1:c	end
I2(i, k) = 1;	end
end	end
$\operatorname{count} 2 = 0;$	I = If;
end	%imshow(I);
count1 = 0;	
end	%% Clear the border
%imshow(I2);	
	I = imclearborder(I); % clears the edges of not full cells
	%imshow(I);

Σχήμα 3.5.18: Κώδικας επεξεργασίας εικόνας

<pre>function [xpos, ypos] = DropletPosition(objCentroid,</pre>	end
bboxOut, Itable, linewidth)	end

```
for i=bboxright:-1:x
xpos = 0;
ypos = 0;
                                                            if Itable(i, y + linewidth) == 1
x = round(objCentroid(1, 2));
                                                            posr = posr + 1;
                                                           elseif Itable(i, y + linewidth) == 0
y = round(objCentroid(1, 1));
bboxup = bboxOut(1, 1);
                                                            break
bboxleft = bboxOut(1, 2);
                                                           end
bboxright = bboxOut(1, 2) + bboxOut(1, 4);
                                                           end
bboxdown = bboxOut(1, 2) + bboxOut(1, 3);
                                                           if max(posu, posd) == posu
posl = 0;
                                                           y = bboxup;
posr = 0;
                                                           else
                                                           y = bboxdown;
posu = 0;
posd = 0;
                                                           end
if Itable(x, y) == 0
                                                           if max(posl, posr) == posl
 if Itable(x + linewidth, y) == 0 && Itable(x, y +
                                                           x = bboxleft;
linewidth) == 0
                                                           else
 for i=bboxup:y
                                                           x = bboxright;
  if Itable(x + linewidth, i) == 1
                                                           end
  posu = posu + 1;
                                                          elseif Itable(x + linewidth, y) == 0
  elseif Itable(x + linewidth, i) == 0
                                                           for i=bboxup:y
  break
                                                           if Itable(x, i) == 1
  end
                                                            posu = posu + 1;
 end
                                                           elseif Itable(x, i) == 0
 for i=bboxdown:-1:y
                                                            break
  if Itable(x + linewidth, i) == 1
                                                           end
  posd = posd + 1;
                                                           end
  elseif Itable(x + linewidth, i) == 0
                                                           for i=bboxdown:-1:y
  break
                                                           if Itable(x, i) == 1
  end
                                                            posd = posd + 1;
 end
                                                           elseif Itable(x, i) == 0
 for i=bboxleft:x
                                                            break
  if Itable(i, y + linewidth) == 1
                                                           end
   posl = posl + 1;
                                                           end
```
```
elseif Itable(i, y + linewidth) == 0
                                                           if max(posu, posd) == posu
                                                           y = bboxup;
 break
end
                                                          else
                                                           y = bboxdown;
elseif Itable(x, y + linewidth) == 0
for i=bboxleft:x
                                                          end
 if Itable(i, y) == 1
                                                          if max(posl, posr) == posl
                                                           x = bboxleft;
 posl = posl + 1;
 elseif Itable(i, y) == 0
                                                          else
 break
                                                           x = bboxright;
 end
                                                          end
end
                                                          end
for i=bboxright:-1:x
                                                         end
 if Itable(i, y) == 1
                                                         for j=1:y
 posr = posr + 1;
                                                         if (Itable(x, j) == 1 \&\& Itable(x, (j - 1)) == 0)
 elseif Itable(i, y) == 0
                                                          ypos = ypos + 1;
 break
                                                          end
 end
                                                         end
                                                         for i=1:x
                                                         if (Itable(i, y) == 1 \&\& Itable((i - 1), y) == 0)
                                                          xpos = xpos + 1;
                                                         end
                                                         end
                                                         end
```

Σχήμα 3.5.19: Συνάρτηση εύρεσης θέσης σταγόνας

if orient == [0, 1]	set(hShow,'CData',Tel);
while OneCellMove == 0	set(hShow1,'CData',MapImg);
%right movement	drawnow;
writePWMDutyCycle(a, 'D5', 0.4);	if x == xpos && (y + 1) == ypos
pause(1);	OneCellMove = 1;
writePWMDutyCycle(a, 'D5', 0);	x = xpos;

```
pause(1);
                                                        y = ypos;
                                                         Table(x, y) = 1;
                                                         writePWMDutyCycle(a, 'D5', 0.15);
 rightpos = 0;
 % Acquire an image from the webcam
                                                         pause(1);
                                                         writePWMDutyCycle(a, 'D5', 0);
 vid_img = snapshot(hCamera);
 vid_img = flipdim(vid_img ,1);
                                                         pause(1);
 vid_img = flipdim(vid_img ,2);
                                                        elseif (x - 1) == xpos \&\& y == ypos
 I1 = DropletThreshold(vid_img);
                                                         while rightpos == 0
                objCentroid,
 [objArea,
                                  bboxOut]
                                                         %down movement
                                                  =
BlobAnalysisOfDroplet(I1);
                                                         writePWMDutyCycle(a, 'D6', 0.2);
 [xpos, ypos] = DropletPosition(objCentroid,
                                                         pause(1);
bboxOut, Itable, linewidth);
                                                         writePWMDutyCycle(a, 'D6', 0);
 mask = cast(Itable, class(Iload)); % ensure the types
                                                         pause(1);
are compatible
                                                         if x == xpos && y == ypos
 Tel = vid_img .* repmat(mask, [1 1 3]); % apply the
mask
                                                         rightpos = 1;
 Tel = insertShape(Tel, 'FilledRectangle', bboxOut,
                                                         end
'Color', 'green', 'Opacity', 0.1);
                                                         end
  while rightpos == 0
                                                        elseif (x + 1) == xpos \&\& y == ypos
  %up movement
                                                      elseif (x + 1) == xpos \&\& (y + 1) == ypos
  writePWMDutyCycle(a, 'D3', 0.2);
                                                         while rightpos == 0
  pause(1);
                                                         %up movement
  writePWMDutyCycle(a, 'D3', 0);
                                                         writePWMDutyCycle(a, 'D3', 0.2);
  pause(1);
                                                         pause(1);
  if x == xpos && y == ypos
                                                         writePWMDutyCycle(a, 'D3', 0);
   rightpos = 1;
                                                         pause(1);
  end
                                                         if x == xpos && (y + 1) == ypos
  end
                                                          rightpos = 1;
  elseif (x - 1) == xpos \&\& (y + 1) == ypos
                                                          OneCellMove = 1;
  while rightpos == 0
                                                         x = xpos;
  %down movement
                                                         y = ypos;
  writePWMDutyCycle(a, 'D6', 0.2);
                                                          Table(x, y) = 1;
  pause(1);
                                                         end
```

writePWMDutyCycle(a, 'D6', 0);	end
pause(1);	elseif $(y + 2) == ypos$
if x == xpos && (y + 1) == ypos	%left movement
rightpos = 1;	writePWMDutyCycle(a, 'D9', 0.2);
OneCellMove = 1;	pause(1);
x = xpos;	writePWMDutyCycle(a, 'D9', 0);
y = ypos;	pause(1);
Table(x, y) = 1;	end
end	end
end	

Σχήμα 3.5.24: Κώδικας για δεξιά κίνηση, μαζί με τον κώδικα διόρθωσης