



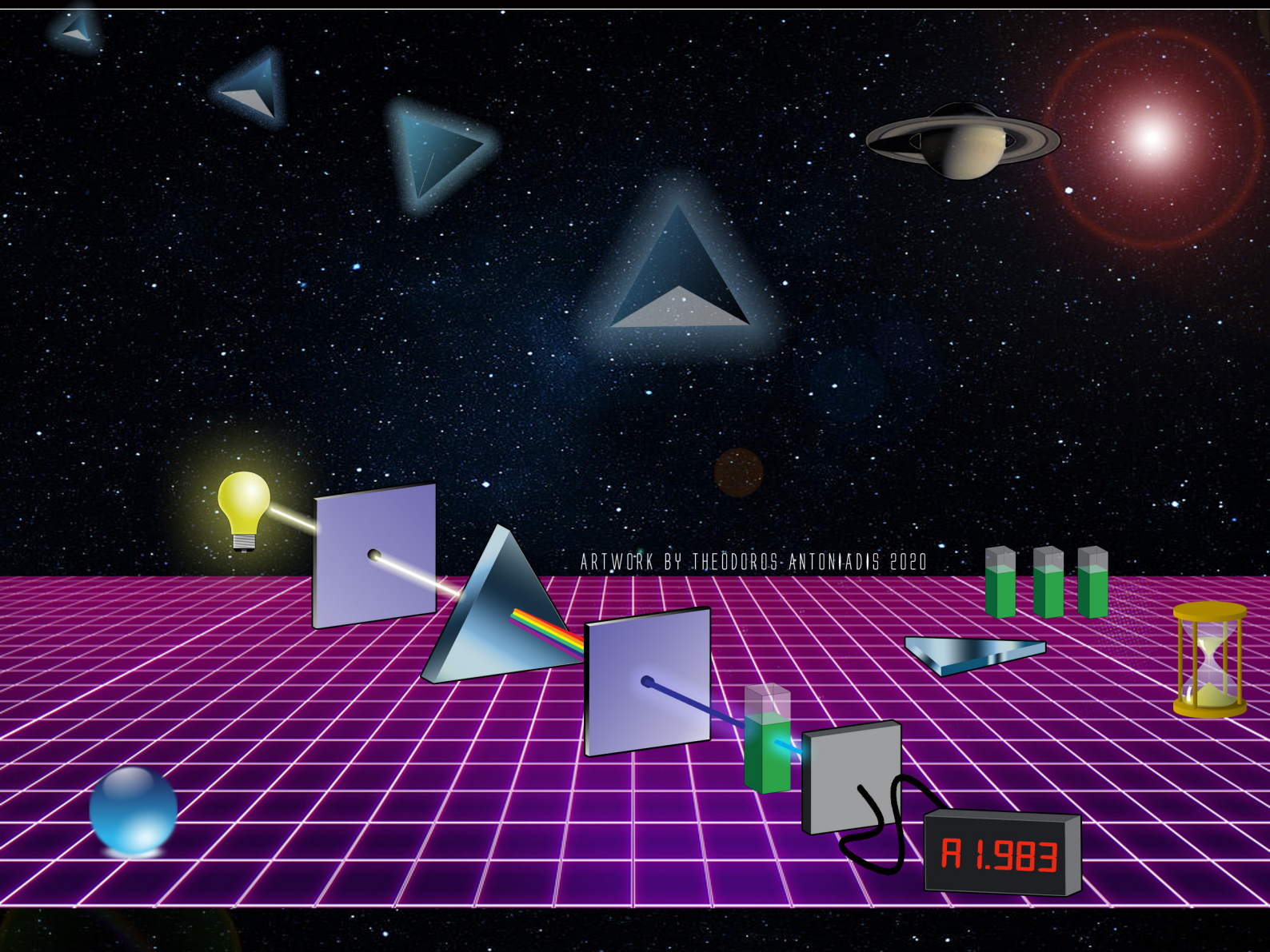
ΤΜΗΜΑ ΖΩΙΚΗΣ
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΑΛΙΕΙΑΣ
& ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ



UNIVERSITY OF
PATRAS
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βέλτιστο μήκος κύματος για τη σχέση οπτικής
απορρόφησης & πυκνότητας κυττάρων φυτοπλαγκτού ανά ml



ΑΝΤΩΝΙΑΔΗΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ (Α.Μ. 12434)

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΧΩΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΜΠΕΚΙΑΡΗ ΒΛΑΣΟΥΛΑ



ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2020

Βέλτιστο μήκος κύματος για τη σχέση οπτικής απορρόφησης & πυκνότητας κυττάρων φυτοπλαγκτού ανά ml



ARTWORK BY THEODOROS ANTONIADIS 2020

ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Γεώργιος Χώτος^{1,3}, Καθηγητής, Τμήματος Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών.

Βλασούλα Μπεκιάρη^{2,3}, Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήματος Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών.

Αλέξιος Ράμφος³, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήματος Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών.

¹ Επιβλέπων καθηγητής

² Συνεπιβλέπων καθηγητής

³ Μέλη της εξεταστικής επιτροπής

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το παρόν τεύχος αποτελεί την Πτυχιακή Εργασία που εκπονήθηκε στο Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Πατρών και αναφέρεται στο βέλτιστο μήκος κύματος για τη σχέση οπτικής απορρόφησης και πυκνότητας κυττάρων φυτοπλαγκτού ανά ml και αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω θερμά εκείνους που συνέλαβαν στην υλοποίηση της.

Ξεκινώντας θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα Καθηγητή κ. Γεώργιο Χώτο, έναν εξαιρετικά ενδιαφέρον άνθρωπο και χαρισματικό επιστήμονα με ακούραστη δράση, που προσφέρει αδιάκοπα και απλόχερα τις σκέψεις, τις ιδέες και τους προβληματισμούς του στην επιστήμη, καθώς επίσης για την συνεχή και αμέριστη καθοδήγηση του κατά τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την Συνεπιβλέποντα Επίκουρη καθηγήτρια κ. Βλασούλα Μπεκιάρη, για τη γέννηση της ιδέας που καθόρισε το περιεχόμενο και τη δημιουργική ανάπτυξη της πτυχιακής, καθώς επίσης την εκμάθηση του μηχανισμού λειτουργίας της φασματοφωτομετρίας και καθοδήγηση της πραγματοποίησης της εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή και μέλος της επιτροπής κ. Αλέξιο Ράμφο, μια προσωπικότητα με λαχτάρα για εξερεύνηση και αναζήτηση της θάλασσας, του βυθού και της υπέροχης σιωπής που κρύβει ο μυστηριώδης μαγικός κόσμος κάτω από την επιφάνεια των ωκεανών.



Αντωνιάδης Θεόδωρος

antoniadistheodoros@hotmail.com

Ιούνιος 2020

Περίληψη

Η παρούσα Πτυχιακή Εργασία αναφέρεται στο βέλτιστο μήκος κύματος για τη σχέση οπτικής απορρόφησης & πυκνότητας κυττάρων φυτοπλαγκτού ανά ml. Στοχεύει στην εις βάθος γνώση ώστε ο αναγνώστης και η αναγνώστρια, που θα περιπλανηθούν στις σελίδες της, να γνωρίσουν τη φυσιολογία και τη σπουδαιότητα των μικροφυκών όταν συνδυάζονται με φασματοφωτομετρικές μεθόδους, με αποτέλεσμα την εύρεση μιας σχέσης που συνδέει τη μετρηθείσα πυκνότητα του δείγματος φυτοπλαγκτού (σε κύτταρα/ml) με την απορρόφηση (absorption σε αυθαίρετες μονάδες) από την ένδειξη του φασματοφωτόμετρου σε ένα ορισμένο μήκος κύματος (nm).

Η πλούσια και παραστατική εικονογράφηση φιλοδοξεί να κάνει την ανάγνωση μια απολαυστική εμπειρία που συμβάλλει στη φαντασία δηλαδή την ικανότητα σχηματισμού εικόνων που ξεπερνάνε την πραγματικότητα, η οποία πρέπει να τιθασεύεται και όχι να εκμηδενίζεται.

Η ανάπτυξη του θέματος γίνεται σε τέσσερα κεφάλαια. Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται περιγραφή του φυτικού και φυκικού κυττάρου, της φωτοσύνθεσης και αναφέρονται, επίσης τα οκτώ χρησιμοποιηθέντα μικροφύκη, τα οποία ταξινομούνται συστηματικώς. Στο τέλος του κεφαλαίου αναλύονται η φασματοφωτομετρία και η φασματοσκοπία, ακολουθούμενες από την περιγραφή του φασματοφωτόμετρου.

Στο δεύτερο κεφάλαιο αναφέρονται αναλυτικά τα υλικά και οι μέθοδοι και στο τρίτο κεφάλαιο δίνονται τα αποτελέσματα της φασματοφωτομετρίας στα διάφορα μήκη κύματος.

Το σπουδαιότερο συμπέρασμα που προκύπτει από την παρούσα εργασία είναι ότι σε όλα τα μήκη κύματος και για όλα τα μικροφύκη η συσχέτιση μεταξύ της απορρόφησης και της πυκνότητας των κυττάρων είναι εξόχως ισχυρή, συνεπώς οποιοσδήποτε μήκος κύματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για να δίνει αντιπροσωπευτικές τιμές της πυκνότητας των φυτοπλαγκτονικών κυττάρων.

Λέξεις – Κλειδιά

Μικροφύκη, πυκνότητα κυττάρων, φασματοφωτομετρία, φασματοφωτόμετρο, μήκη κύματος, καμπύλες βαθμονόμησης, φωτοσύνθεση, *Asteromonas gracilis*, *Dunaliella salina*, *Rhodomonas salina*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis marina*, *Amphidinium carterae*, *Nephroselmis sp.*

Abstract

The following thesis refers to the optimal wavelength in relation to visual absorption and phytoplankton cell density per ml. The aim of the study is the in-depth knowledge in order for the reader to become accustomed with the concepts and importance of the physiology of microalgae when combined with spectrophotometric methods, resulting in a correlation of the measured density of the phytoplankton sample (in cells/ml), with the absorption (arbitrary units), based on measurements from spectrophotometer on a certain wavelength (nm).

The included illustrated material is presented in a way to make reading an enjoyable experience that contributes to imagination, which is the ability to form concepts and images that transcend our reality, which should be tamed not eliminated.

The thesis consists of four chapters. In the first chapter we describe the plant and algae cell, as well as photosynthesis, and we refer to the eight utilized microalgae that are classified systematically. In the end of the chapter the spectrophotometry and spectroscopy are analyzed, followed by the description of the spectrophotometer.

In the second chapter, there is a detailed report of the materials and methods used, while in the third chapter we present the results of the spectrophotometry in various wavelengths.

The main conclusion of this study is that there is a strong correlation between all wavelengths and microalgae and the absorption and cell density. Therefore, we can conclude that every wavelength can be safely used in order to reliably give the same values for the density of the phytoplankton cells.

Keywords

Microalgae, cell density, spectrophotometry, spectrophotometer, wavelengths, calibration curves, photosynthesis, *Asteromonas gracilis*, *Dunaliella salina*, *Rhodomonas salina*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis marina*, *Amphidinium carterae*, *Nephroselmis sp.*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

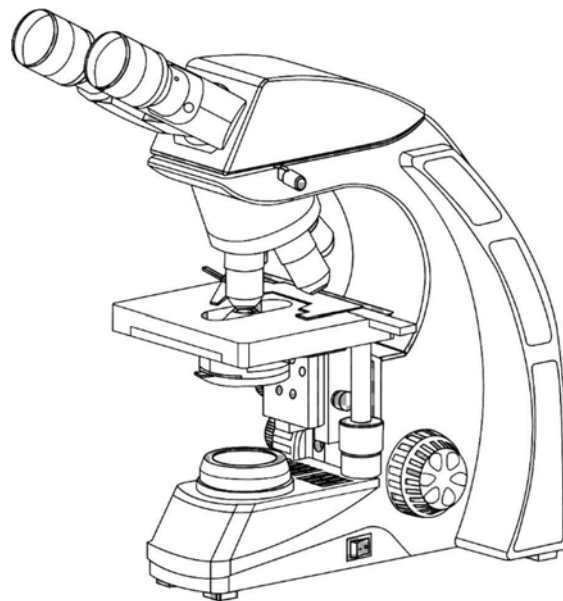
ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Φυτικό και φυκικό κύτταρο.....	4
1.2 Φωτοσύνθεση.....	7
1.3 Μικροφύκη.....	9
1.3.1 <i>Asteromonas gracilis</i>	9
1.3.2 <i>Dunaliella salina</i>	9
1.3.3 <i>Rhodomonas salina</i>	11
1.3.4 <i>Isochrysis galbana</i>	11
1.3.5 <i>Tetraselmis suecica</i>	13
1.3.6 <i>Tetraselmis marina</i>	13
1.3.7 <i>Amphidinium carterae</i>	15
1.3.8 <i>Nephroselmis sp</i>	15
1.4 Φασματοσκοπία και φασματοφωτομετρία.....	17
1.4.1 Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία.....	17
1.4.2 Φασματοσκοπία υπεριώδους και ορατού.....	17
1.4.3 Νόμος των Lambert – Beer (Ιστορική αναδρομή).....	19
1.4.4 Νόμος απορρόφησης των Lambert – Beer	21
1.4.5 Φασματοφωτόμετρο.....	23
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	25
2.1 Όργανα.....	25
2.2 Πειραματική διαδικασία.....	25
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	30
3.1 <i>Amphidinium carterae</i>	31
3.2 <i>Asteromonas gracilis</i>	33

3.3 <i>Tetraselmis marina</i>	35
3.4 <i>Isochrysis galbana</i>	37
3.5 <i>Rhodomonas salina</i>	39
3.6 <i>Tetraselmis suecica</i>	41
3.7 <i>Dunaliella salina</i>	45
3.8 <i>Isochrysis galbana</i>	47
3.9 <i>Asteromonas gracilis</i>	49
3.10 <i>Nephroselmis sp.</i>	51
3.11 Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης	53
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	57
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	59



1. Εισαγωγή

Η παρούσα πτυχιακή εργασία προέκυψε από την αρχική μου επιθυμία να ασχοληθώ με χημικής φύσεως πειραματισμούς στο υδάτινο περιβάλλον. Απευθύνθηκα στην καθηγήτρια της χημείας κα Βλασούλα Μπεκιάρη η οποία με μεγάλη προθυμία δέχθηκε να με κατευθύνει και αναλύοντάς μου τις δυνατότητες του υπάρχοντος ερευνητικού εξοπλισμού αμέσως το ενδιαφέρον μου εστιάστηκε στις φασματοφωτομετρικές μεθόδους.

Η κα Μπεκιάρη μου εξήγησε το μηχανισμό λειτουργίας της φασματοφωτομετρίας και η μεγάλη επιστημονική της πείρα ενίσχυσε ακόμα περισσότερο την επιθυμία μου να βρούμε ένα χρήσιμο θέμα σχετικό με την ειδικότητά μου και τα μαθήματα που διδάχτηκα. Η κα Μπεκιάρη πρότεινε να εξετάσουμε φασματοφωτομετρικά καλλιέργειες φυκών και να απευθυνθούμε στον καθηγητή κ. Χώτο που διευθύνει το εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού με τη μεγάλη συλλογή καλλιεργούμενων μικροφυκών.

Ο κ. Χώτος μετά χαράς δέχτηκε η πτυχιακή αυτή να εκτελεστεί στο εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού και μου πρότεινε να ασχοληθώ με τη συσχέτιση της πυκνότητας φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας με την απορρόφηση του φωτός που θα παρουσίαζε το εκάστοτε μετρούμενο δείγμα στο φασματοφωτόμετρο, με απώτερο σκοπό τη δημιουργία καμπύλης βαθμονόμησης. Δηλαδή την εύρεση μιας σχέσης που θα συνδέει την μετρηθείσα πυκνότητα του δείγματος φυτοπλαγκτού (σε κύτταρα/ml) με την απορρόφηση (absorption σε αυθαίρετες μονάδες) που θα έδινε ως ένδειξη το φασματοφωτόμετρο σε ένα ορισμένο μήκος κύματος (nm). Το χρήσιμο επιστημονικό προϊόν μιας τέτοιας βαθμονόμησης είναι η ευκολία και η πρακτικότητα που θα αποκομίσουν οι καλλιεργούντες μικροφύκη τόσο στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς όσο και σε ποικίλες άλλες φυκοκαλλιέργειες.

Είναι γνωστό σε όλους αυτούς το πόσο εργοβόρος και χρονοβόρος είναι η διαδικασία παρακολούθησης της αύξησης μιας φυκοκαλλιέργειας με τη χρήση της φωτονικής καταμέτρησης με τη βοήθεια αιμοκυττομέτρου (Χώτος, 2016). Πρόκειται για μια διαδικασία η οποία πολλές φορές είναι εξαντλητική ιδιαίτερα όταν καθημερινώς χρειάζεται να ελεγχθούν πολλές καλλιέργειες και μάλιστα με επαναλήψεις (για πιστότητα) η κάθε μία. Αν αυτή η διαδικασία μπορούσε να αντικατασταθεί με κάποια άλλη πρακτική και γρήγορη σίγουρα θα αποτελούσε μεγάλη βοήθεια για τους καλλιεργητές και απελευθέρωση εργατικών πόρων. Όμως για να μπορέσει να υπάρξει αυτή η γρήγορη μέθοδος θα πρέπει πρώτα να επενδυθεί

εκτενής και προσεκτικά οργανωμένη πειραματική διαδικασία η οποία όταν τελειώσει θα αποζημιώσει εφεξής με το παραπάνω τον εκτελεστή της.

Η φασματοφωτομετρία στις φυκοκαλλιέργειες προσφέρει διάφορα πλεονεκτήματα όπως ταχύτητα, απλότητα, ακρίβεια και απουσία αντιδραστηρίων. Απλώς επιλέγεται το επιθυμητό μήκος κύματος (nm), το όργανο μηδενίζεται πρώτα με εισαγωγή κυψελίδας που περιέχει νερό χωρίς φύκος και κατόπιν εισάγεται η κυψελίδα που περιέχει το δείγμα του φυτοπλαγκτού και καταγράφεται η τιμή της οπτικής απορρόφησης (absorbance). Αν γνωρίζουμε την πυκνότητα του δείγματος φυτοπλαγκτού που εξετάζουμε (σε κύτ./ml) μέσω της προ ηγηθείσας καταμέτρησης των κυττάρων στο φωτονικό μικροσκόπιο και αυτό επαναληφθεί για διαφορετικές πυκνότητες φυτοπλαγκτού, τότε τα προκύπτοντα ζεύγη τιμών απορρόφησης-πυκνότητας μπορούν μέσω γραμμικής παλινδρόμησης να βγάλουν την επιθυμητή εξίσωση -σχέση που συνδέει αυτά τα δύο μεγέθη. Αν αυτό γίνει για καλλιέργειες διαφόρων ειδών μικροφυκών ο κάθε καλλιεργητής θα μπορεί πλέον να παρακολουθεί την εξέλιξη κάθε καλλιέργειας μέσω απλής εισαγωγής μικρού δείγματός της στο φασματοφωτόμετρο και αντιστοιχώντας την ένδειξη της απορρόφησης σε πυκνότητα κυττάρων βάσει της υπάρχουσας σχέσης θα καταγράψει την πορεία της αύξησης.

Παρόλη την πρακτικότητα της μεθόδου δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία συστηματοποιημένες και εφαρμόσιμες εργασίες που να αποτελούν οδηγό χρήσης για τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είδη φυτοπλαγκτού στις υδατοκαλλιέργειες (π.χ. *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Rhodomonas*, *Dunaliella*, κ.ά.). Από τις λίγες εργασίες που υπάρχουν (Gaigalas et al. 2009; Rodrigues et al. 2011; Almomani & Ormecı, 2018) δεν προκύπτουν στοιχεία που να μπορούν να εφαρμοστούν στα συνήθη φυτοπλαγκτονικά είδη που χρησιμοποιούνται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς, ούτε έχει αναλυθεί πλήρως το θέμα του καλύτερου μήκους κύματος με το οποίο θα μετρηθεί η απορρόφηση. Πραγματικά επειδή η μετρούμενη απορρόφηση στο φασματοφωτόμετρο επηρεάζεται από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές των κυττάρων (Χώτος, 2020) και επειδή η κάθε χρωστική παρουσιάζει το δικό της μέγιστο απορρόφησης σε ένα (ή και δεύτερο) ορισμένο μήκος κύματος, η επιλογή του κατάλληλου μήκους κύματος είναι υψίστης σημασίας ως προς το ότι αυτό που θα επιλεγεί να δίνει την καλύτερη συσχέτιση απορρόφησης-πυκνότητας κυττάρων. Εξυπακούεται ότι άπαξ και αποδειχθεί το πιο είναι το καλύτερο μήκος κύματος για το συγκεκριμένο εξεταζόμενο φύκος, αυτό (το μήκος κύματος) πλέον θα πρέπει να χρησιμοποιείται και από άλλους ερευνητές που χρησιμοποιούν την εξίσωση που καθιέρωσε την πρώτη φορά ο επιχειρήσας τον πειραματισμό.

Τα διάφορα είδη των φυκών διαφέρουν ως προς τη σύνθεση των φωτοσυνθετικών χρωστικών τους και συνεπώς παρουσιάζεται ποικιλία στις αποκρίσεις της απορρόφησης στα διάφορα μήκη κύματος που επιλέγονται στο φασματοφωτόμετρο. Συνήθως σε τέτοιες δραστηριότητες εκτίμησης της φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας με φασματοφωτόμετρο χρησιμοποιούνται διάφορα μήκη κύματος στο εύρος 540-685 nm (Ugwu et al. 2007; Wang et al. 2010; Oh et al. 2010; Rodrigues et al. 2011) αλλά αυτό δεν αποκλείει και τη χρησιμοποίηση και άλλων μηκών κύματος. Στην πραγματικότητα αυτό που επιδιώκουμε είναι να βρούμε ένα χρηστικό και αξιόπιστο μήκος κύματος για το κάθε φύκος. Δεν αποκλείεται βέβαια η αναζήτηση αυτή να μην έχει τόση σημασία όση εξ' αρχής μπορεί κάποιος να υποθέσει μια και η απορρόφηση στην ουσία είναι έκφραση της "θολερότητας" της προκαλούμενης λόγω της πυκνότητας των αιωρούμενων κυττάρων των μικροφυκών και η έντασή της (της απορρόφησης) εξαρτάται από την πυκνότητα αυτή καθαυτή. Όμως αυτό πρέπει να αποδειχθεί και αυτός ακριβώς είναι ο σκοπός της παρούσας εργασίας. Ανακεφαλαιώνοντας, με την παρούσα εργασία επιδιώκουμε να απαντήσουμε στα παρακάτω:

1. Μπορεί η φασματοφωτομετρία να δώσει ικανοποιητική συσχέτιση μεταξύ απορρόφησης και πυκνότητας κυττάρων σε ένα είδος φυτοπλαγκτού;
2. Αν ναι ποιο είναι το πιο καλό μήκος κύματος για το συγκεκριμένο είδος φυτοπλαγκτού;
3. Μπορεί η φασματοφωτομέτρηση να βρει εφαρμογή σε όλα τα είδη φυτοπλαγκτού;

Με αυτό το σκεπτικό δεν περιοριστήκαμε μόνο στα είδη φυτοπλαγκτού που αναφέρθηκαν παραπάνω και που χρησιμοποιούνται ευρέως στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς αλλά και σε άλλα τα οποία πρόσφατα απομονώθηκαν από τη λιμνοθάλασσα Μεσολογίου και από τις αλυκές και των οποίων τη βιολογία μελετά η επιστημονική ομάδα του κ. Χώτου.

Η φιλοδοξία μου είναι να παραχθεί ένα χρήσιμο προϊόν εφαρμογής στις καλλιέργειες των μικροφυκών με το οποίο ασχολείται η παρούσα εργασία και οι εφαρμόζοντες τα αποτελέσματα αυτής να είναι σίγουροι ότι οι μετρήσεις που παίρνουν ως προς την πυκνότητα της καλλιέργειας είναι ακριβείς.

1.1 Φυτικό & φυκικό κύτταρο

Η βασική δομική μονάδα της ζωής είναι το κύτταρο. Όλοι οι οργανισμοί αποτελούνται από ένα ή περισσότερα κύτταρα. Τα κύτταρα περιέχουν όλα τα μόρια που είναι απαραίτητα για τη ζωή, πακεταρισμένα μέσα σε ένα ζωντανό περιτύλιγμα που ονομάζεται κυτταρική μεμβράνη. Αυτή η μεμβράνη απομονώνει το ζελατινώδες περιεχόμενο του κυττάρου, ή κυτταρόπλασμα, από τον εξωτερικό κόσμο. Η κυτταρική μεμβράνη επιτρέπει σε ορισμένες σε ορισμένες ουσίες να περάσουν μέσα ή έξω, αλλά εμποδίζει ορισμένες άλλες.

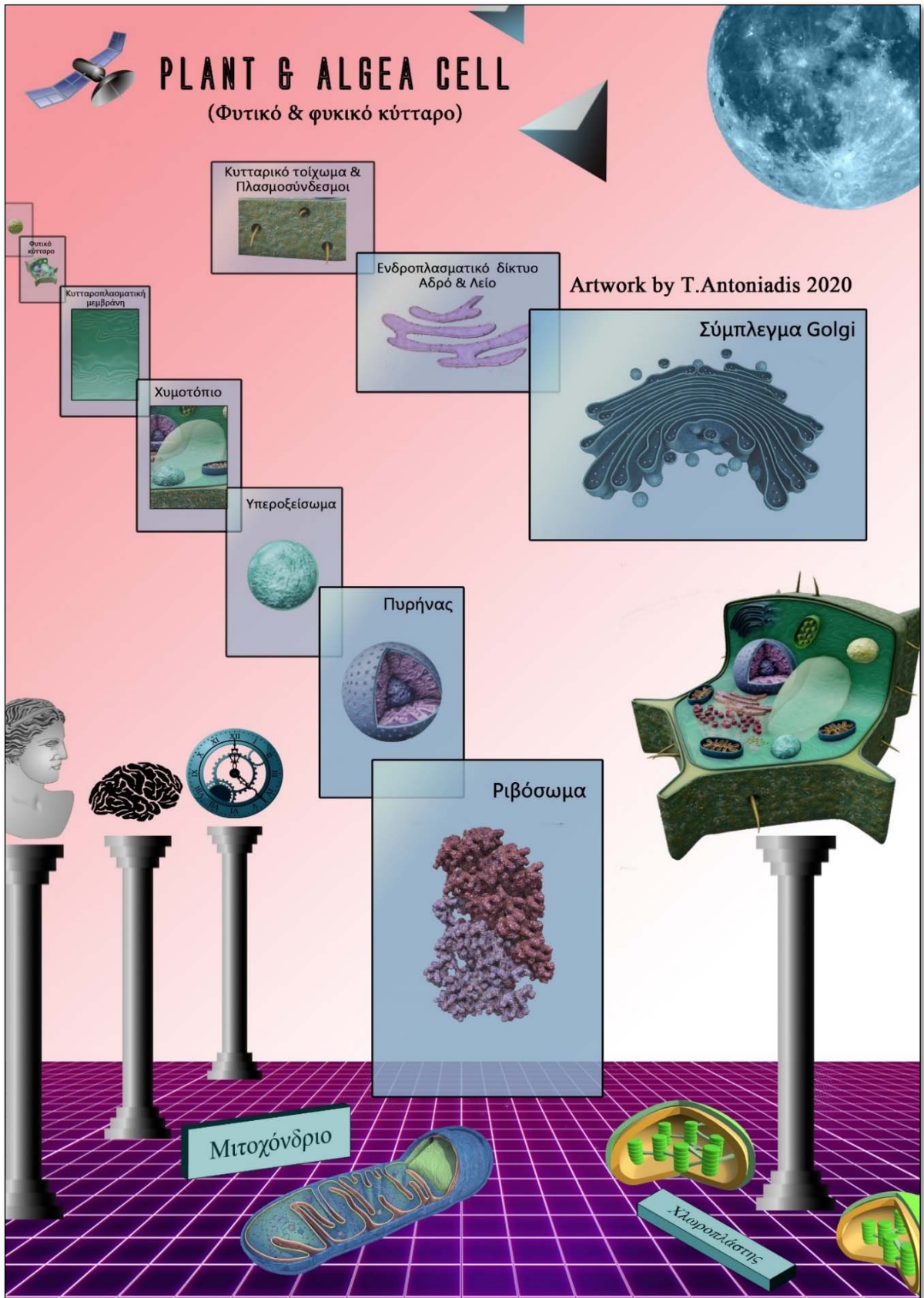
Μέσα στο κυτταρόπλασμα υπάρχουν ορισμένες δομές. Από τις πιο σημαντικές είναι κάποιες μεμβράνες, όμοιες με την εξωτερική κυτταρική μεμβράνη. Αυτές οι εσωτερικές μεμβράνες λειτουργούν ως χώροι όπου πραγματοποιούνται χημικές διεργασίες, όπως φωτοσύνθεση και η κυτταρική αναπνοή. Οι μεμβράνες μπορούν επίσης να διαμερισματοποιούν το κύτταρο σε χώρους που φιλοξενούν ακόμη πιο πολύπλοκες δομές, εξειδικευμένες για επί μέρους λειτουργίες. Αυτές οι δομές, που είναι περιτυλιγμένες με μεμβράνη ονομάζονται οργανίδια.

Τα κύτταρα διαθέτουν επίσης ένα πολύπλοκο εσωτερικό σκελετό από ινίδια πρωτεΐνης, που ονομάζονται κυτταρικός σκελετός. Αυτός ο σκελετός στηρίζει το κύτταρο, του επιτρέπει να κινείται και να αλλάζει σχήμα και το βοηθά στη διαίρεση.

Το **φυτικό & φυκικό κύτταρο** (Εικ.1.3.1) αποτελείται από τα εξής οργανίδια:

1) **Πυρήνας**. Φυλάσσει, διπλασιάζει, και συνθέτει το γενετικό υλικό. Αποτελείται από:

- **Πυρηνικός φάκελος**, διπλή μεμβράνη που περιβάλλει τον πυρήνα και είναι διάστικτη από πόρους. Ο πυρηνικός φάκελος επικοινωνεί με το ενδοπλασματικό δίκτυο.
- **Πυρηνίσκος**, οργανίδιο χωρίς μεμβράνη που μετέχει στην παραγωγή των ριβοσωμάτων. Σε κάθε πυρήνα υπάρχουν ένας ή περισσότεροι πυρηνίσκοι.
- **Χρωματίνη**, υλικό που αποτελείται από DNA & πρωτεΐνες. Στα διαιρούμενα κύτταρα, η χρωματίνη οργανώνεται σε χρωμοσώματα.



Εικόνα 1.1.1: Φαντασική απεικόνιση τυπικού φυτικού κυττάρου & των οργανιδίων του κάπου στον χρόνο (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης)

- 2) **Ενδοπλασματικό δίκτυο (Αδρό & Λείο).** Δίκτυο μεμβρανικών σάκων και σωλήνων. Μετέχει στη σύνθεση των μεμβρανών και σε άλλες βιοσυνθετικές και μεταβολικές διεργασίες. Ορισμένες περιοχές του είναι αδρές (βρίθουν ριβοσωμάτων), ενώ άλλες είναι λείες.
- 3) **Σύμπλεγμα Golgi.** Οργανίδιο που μετέχει στη σύνθεση, τροποποίηση, αποθήκευση και έκκριση των κυτταρικών προϊόντων.
- 4) **Μιτοχόνδριο.** Οργανίδιο όπου συντελείται η κυτταρική αναπνοή και παράγεται η μεγαλύτερη ποσότητα ATP.
- 5) **Ριβοσώματα.** Συμπλέγματα όπου γίνεται η πρωτεϊνοσύνθεση. Υπάρχουν είτε ελεύθερα (στο κυτταρόπλασμα) είτε δεσμευμένα πάνω στην επιφάνειά του αδρού ΕΔ και του πυρηνικού περιβλήματος.
- 6) **Κεντρικό χυμοτόπιο.** Το εμφανέστερο οργανίδιο του ώριμου φυτικού κυττάρου. Στις λειτουργίες του ανήκουν η υδρόλυση μακρομορίων & η αποθήκευση & διάσπαση απόβλητων ουσιών. Η μεγέθυνση του χυμοτοπίου είναι ο κυριότερος μηχανισμός αύξησης στα φυτά.
- 7) **Χλωροπλάστες.** Φωτοσυνθετικά οργανίδια. Μετατρέπουν την ενέργεια του ηλιακού φωτός σε χημική ενέργεια που αποθηκεύεται στα μόρια των σακχάρων.
- 8) **Πλασμοσύνδεσμοι.** Διάυλοι που διαπερνούν τα κυτταρικά τοιχώματα και συνδέουν τα κυτταροπλάσματα γειτονικών κυττάρων.
- 9) **Κυτταρικό τοίχωμα.** Εξωτερικό τοίχωμα που στηρίζει το κυτταρικό σχήμα και προστατεύει το κύτταρο από μηχανικές βλάβες. Αποτελείται από κυτταρίνη, άλλους πολυσακχαρίτες & πρωτεΐνες.
- 10) **Κυτταροπλασματική μεμβράνη.** Η μεμβράνη που περιβάλλει το κύτταρο.
- 11) **Υπεροξείσωμα.** Οργανίδιο με διάφορες εξειδικευμένες μεταβολικές λειτουργίες. Στο εσωτερικό του παράγεται ως παραπροϊόν, υπεροξείδιο του υδρογόνου και κατόπιν μετατρέπεται σε νερό.

Το φυτικό κύτταρο διαθέτει τα περισσότερα χαρακτηριστικά ενός ζωικού κυττάρου, καθώς και ορισμένα πρόσθετα μεμβρανικά οργανίδια, τα πλαστίδια. Σημαντικότερος τύπος πλαστηριών οι Χλωροπλάστες, τα οργανίδια που επιτελούν την φωτοσύνθεση.

1.2 Φωτοσύνθεση

Οι περισσότεροι ζωντανοί οργανισμοί λαμβάνουν την ενέργεια τους από τον ήλιο. Με την φωτοσύνθεση τα φύκη, τα φυτά και οι άλλοι οργανισμοί δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια και τη χρησιμοποιούν για να συνθέσουν τη γλυκόζη, ένα απλό σάκχαρο, μέρος του οποίου μετατρέπεται σε άλλες οργανικές χημικές ενώσεις.

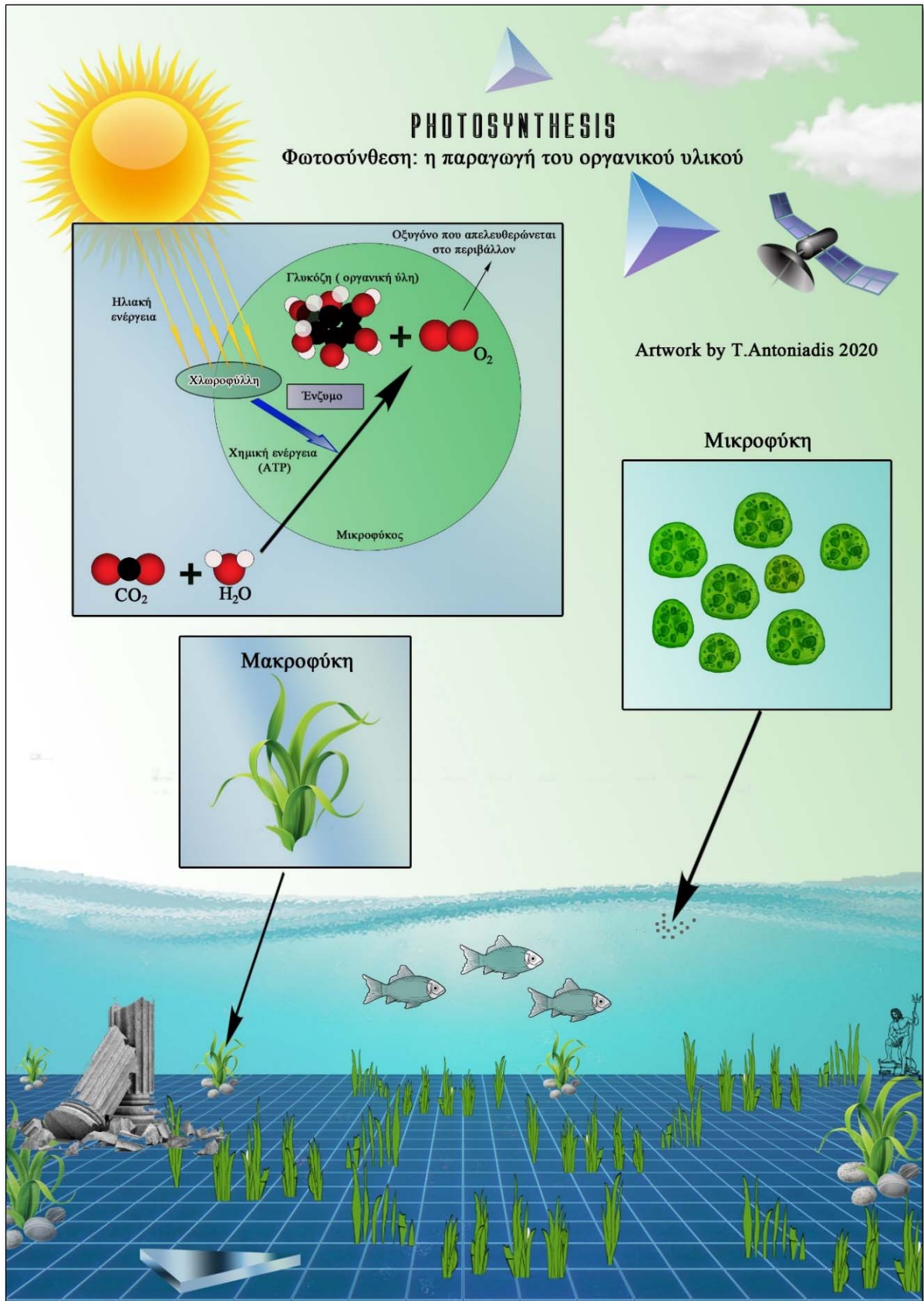
Για να γίνει η φωτοσύνθεση (Εικ. 1.2.1) στα φυτά, τα φύκη, τα κυανοβακτήρια και σε ορισμένα φωτοσυνθετικά βακτηρίδια πρέπει να δεσμευτεί η ενέργεια του φωτός. Αυτό επιτυγχάνεται με τις **φωτοσυνθετικές χρωστικές** που είναι μεγάλα μόρια που βρίσκονται είτε στις εσωτερικές μεμβράνες (θυλακοειδή) των χλωροπλαστών που διαθέτουν στα κύτταρα τους τα φυτά και τα ευκαρυωτικά φύκη, είτε σε ειδικές μεμβράνες στο κύτταρο τους στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Οι πιο σημαντικές χρωστικές είναι οι **χλωροφύλλες** (χλωροφύλλη -a-b-c-d). Στα μέρη του κυττάρου όπου βρίσκονται οι χλωροφύλλες υπάρχουν και άλλες φωτοσυνθετικές χρωστικές τα **καρωτενοειδή**, τα οποία μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες τα **καρωτένια** και τις **ξανθοφύλλες** και επίσης σε ορισμένα ευκαρυωτικά φύκη (ροδοφύκη & κρυπτοφύκη) υπάρχουν και άλλες ιδιαίτερες φωτοσυνθετικές χρωστικές οι **βιλιπροτεΐνες**.

Με μια μεγάλη σειρά ενζυμικών αντιδράσεων, η ηλιακή ενέργεια που δεσμεύεται από τη χλωροφύλλη και τις άλλες χρωστικές μετατρέπεται σε χημική ενέργεια, με μορφή **ATP** και έπειτα χρησιμοποιείται για να παραχθεί γλυκόζη, από το **διοξείδιο του άνθρακα** (CO₂) και **νερό** (H₂O) ως αρχικά υλικά.

Επομένως στην περίπτωση των φυκών και των αυτότροφων φυτών, όπου δότης ηλεκτρονίων είναι το νερό, η πλήρης εξίσωση της φωτοσύνθεσης είναι η εξής:



Η φωτοσύνθεση παράγει αέριο **οξυγόνο** (O₂), το οποίο απελευθερώνεται ως παραπροϊόν. Όλο το αέριο οξυγόνο της Γης, τόσο της ατμόσφαιρας που αναπνέουμε όσο και του ωκεανού, έχει παραχθεί από φωτοσυνθετικούς οργανισμούς που αναπληρώνουν το οξυγόνο της Γης.



Εικόνα 1.2.1: Φαντασική απεικόνιση της φωτοσύνθεσης στα φύκη (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης)

1.3 Μικροφύκη

1.3.1 *Asteromonas gracilis*

Τα κύτταρα του είδους *Asteromonas gracilis* (Εικ.1.3.1) είναι πράσινα, ελευθέρα χωρίς κυτταρικό τοίχωμα και έχουν μήκος 12-22 μm, πλάτος 8-16 μm και διαθέτουν δύο μεγάλα μαστίγια που τους προσδίδουν έντονη κινητικότητα. Η εμφάνιση του είναι επιμήκους σχήματος με 6 κατασκευές εν είδη «καρίνας» να διατρέχουν κατά τον επιμήκη άξονα κύτταρο.

Η *Asteromonas gracilis* αντέχει και σε θαλασσινό και σε πολύ υπεράλυμο νερό, πολλαπλασιάζεται σε κάθε αλατότητα και η καλλιέργεια της παραμένει σφριγηλή για πάρα πολύ καιρό.

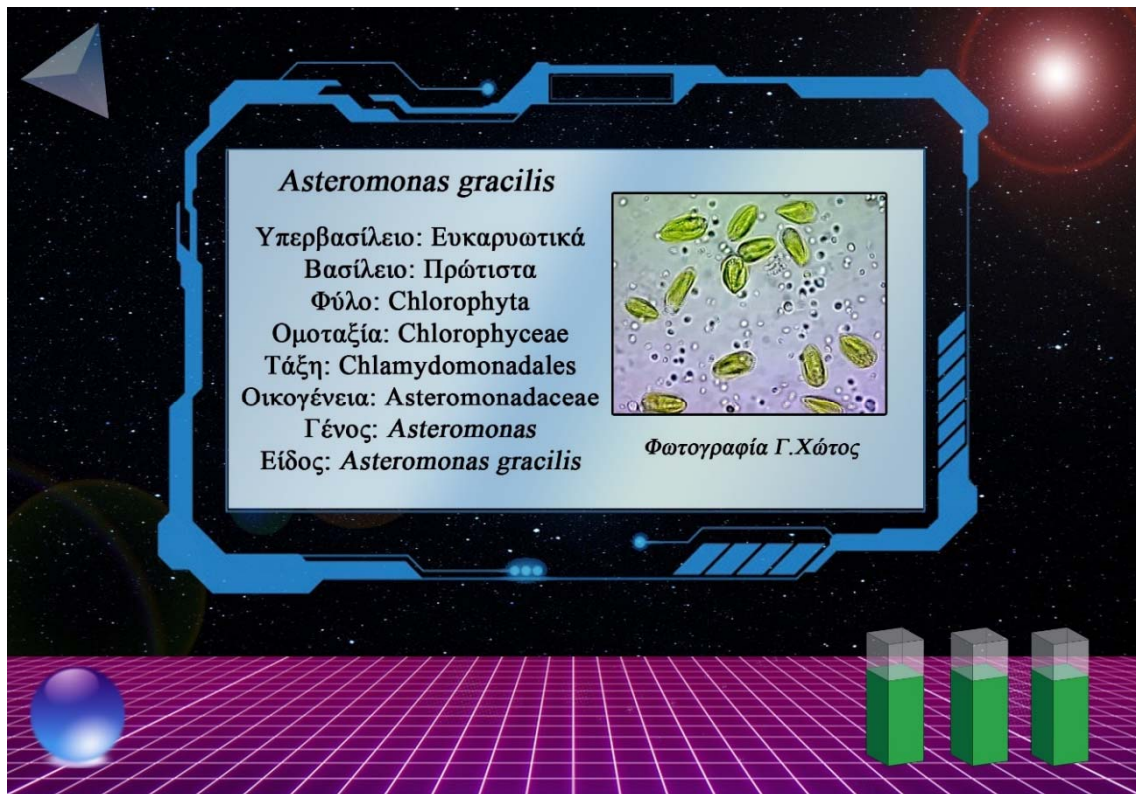
Σε πειραματικές καλλιέργειες παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα: α) απομονώνεται εύκολα από μίγμα ειδών (χρήση υπεραλατότητας), β) δεν απαιτεί έντονο φωτισμό και αερισμό, γ) δεν απαιτεί βιταμίνες, δ) δεν «καταρρέει» ούτε απότομα ούτε εύκολα, ε) δεν παρουσιάζει μακρά αρχική φάση καθυστέρησης ζ) μπορεί να διατηρηθεί σε υγρό αλάτι για χρόνια.

Είναι ιδανική τροφή για τροχόζωα, πρωτόζωα, κωπήποδα και την *Artemia* και αναπαράγεται με απλή κυτταρική διαίρεση.

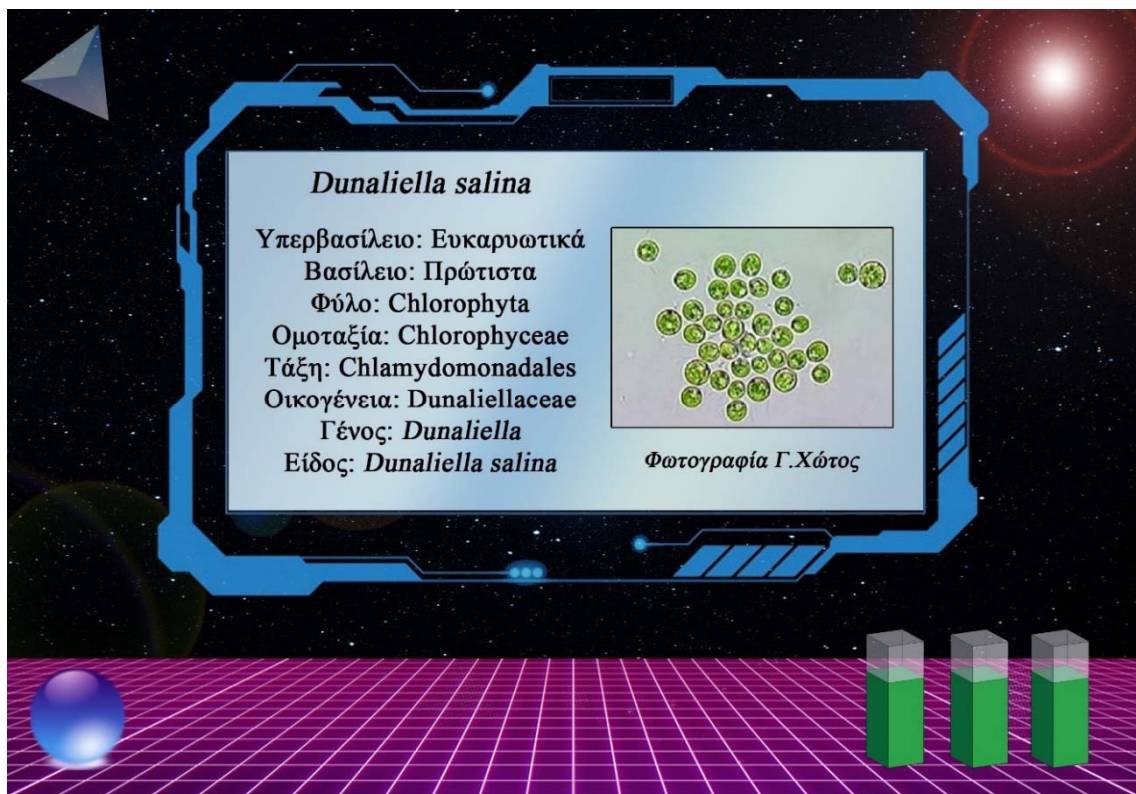
1.3.2 *Dunaliella salina*

Τα κύτταρα του είδους *Dunaliella salina* (Εικ.1.3.2) έχουν μήκος 8-10 μm, πάχος 4-5 μm και παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλότητα. Το τυπικό τους σχήμα είναι αχλαδοειδές αλλά μπορεί να γίνεται κυλινδρικό, οβάλ, ελλειψοειδές, ατρακτοειδές ή σφαιρικό ανάλογα με τις μεταβολές των συνθηκών (θερμοκρασία, θρεπτικά, αλατότητα). Είναι μονοκύτταρο είδος με δύο ισομεγέθη μαστίγια και δεν διαθέτει κυτταρικό τοίχωμα.

Η *Dunaliella salina* χαρακτηρίζεται από μεγάλη αντοχή ως προς τις διακυμάνσεις της αλατότητας (3-310 ppt), pH (1-11) και θερμοκρασίες (0-40°C). Το αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό είναι η συσσώρευση εντός του χλωροπλάστη τους μεγάλων ποσοτήτων της χρωστικής β-καρωτένιο η οποία υπό μορφή σταγονιδίων καταλαμβάνει την περιφέρεια του χλωροπλάστη και χρωματίζει το κύτταρο πορτοκαλο-κόκκινο. Επίσης είναι εξαιρετική τροφή για τα τροχόζωα στις υδατοκαλλιέργειες καθώς έχει ικανοποιητική περιεκτικότητα και σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.



Εικόνα 1.3.1: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Asteromonas gracilis* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φαντασική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).



Εικόνα 1.3.2: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Dunaliella salina* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φαντασική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).

1.3.3 *Rhodomonas salina*

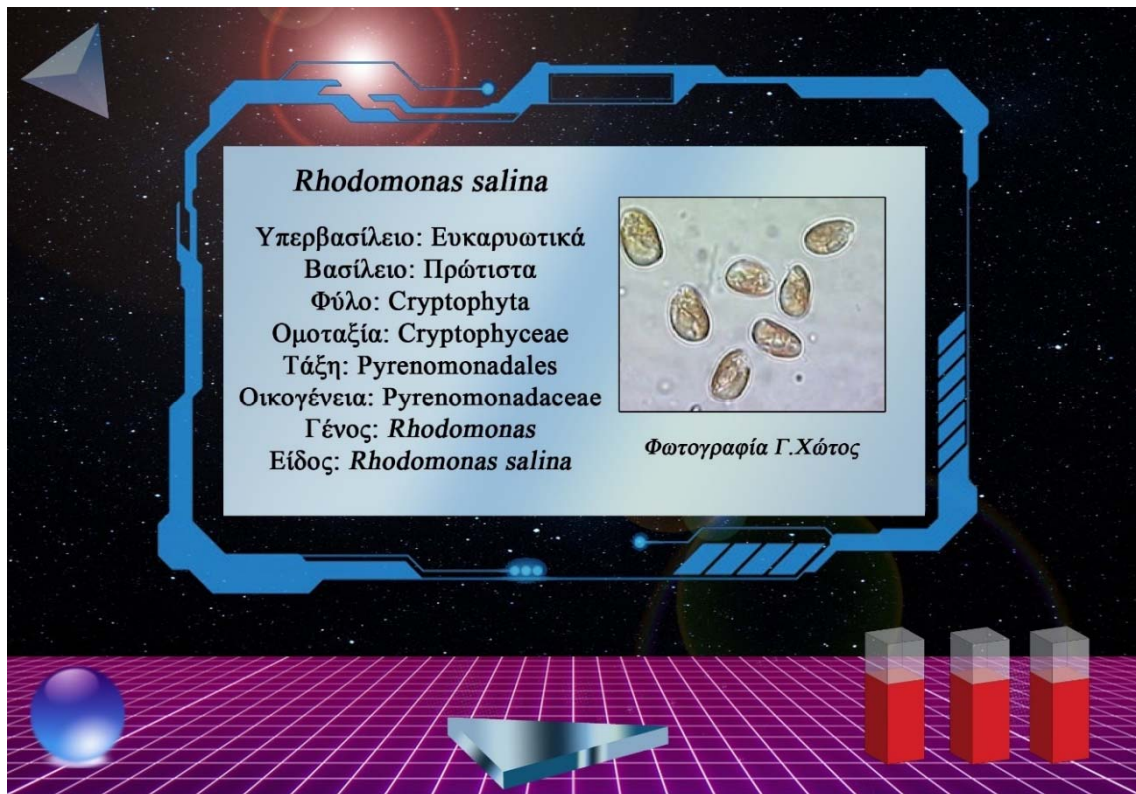
Το είδος *Rhodomonas salina* (Εικ. 1.3.3) ανήκει στο Βασίλειο Πρώτιστα και στο φύλο κρυπτόφυτα (Cryptophyta). Τα κρυπτόφυτα ευδοκιμούν σε όλα τα υδάτινα ενδιαιτήματα, θαλάσσια, υφάλμυρα και γλυκά νερά. Ως φωτοσυνθετικοί οργανισμοί συνεισφέρουν στη δέσμευση του διοξειδίου του άνθρακα και ως μη τοξικά, αποτελούν σημαντικό θήραμα στην τροφική αλυσίδα. Τα κρυπτόφυτα περιέχουν χλωροφύλλη a και c₂, καρωτενοειδή χρωστικές (α και β καροτένιο) και βιλιπρωτεΐνες. Διαφορετικοί συνδυασμοί και συγκεντρώσεις αυτών των χρωστικών προκαλούν μια ποικιλία από καφέ, κοκκινωπές και μπλε αποχρώσεις στα κύτταρα των κρυπτοφυκών.

Τα κύτταρα του είδους *Rhodomonas salina* είναι ελεύθερα ωσειδή μεγέθους 5-13 μm και πάχους 6-8 μm, πεπλατυσμένα με μια πρόσθια αύλακα με δυο ελαφρώς άνισα μαστίγια, τα οποία προσφέρουν κινητική ικανότητα. Το χρώμα τους ποικίλει από σκούρο κόκκινο έως κόκκινο-καφέ. Διακρίνονται από την παρουσία εξειδικευμένων εξωσωμάτων που ονομάζονται εξολκυσώματα (ejectisomes) τα οποία αποτελούνται από δύο άνισες συνδεδεμένες σπειροειδείς ταινίες, που αδειάζουν το περιεχόμενο τους, αν το κύτταρο διαταραχθεί από μηχανικό ή χημικό στρες, προωθώντας το κύτταρο μακριά από την διαταραχή.

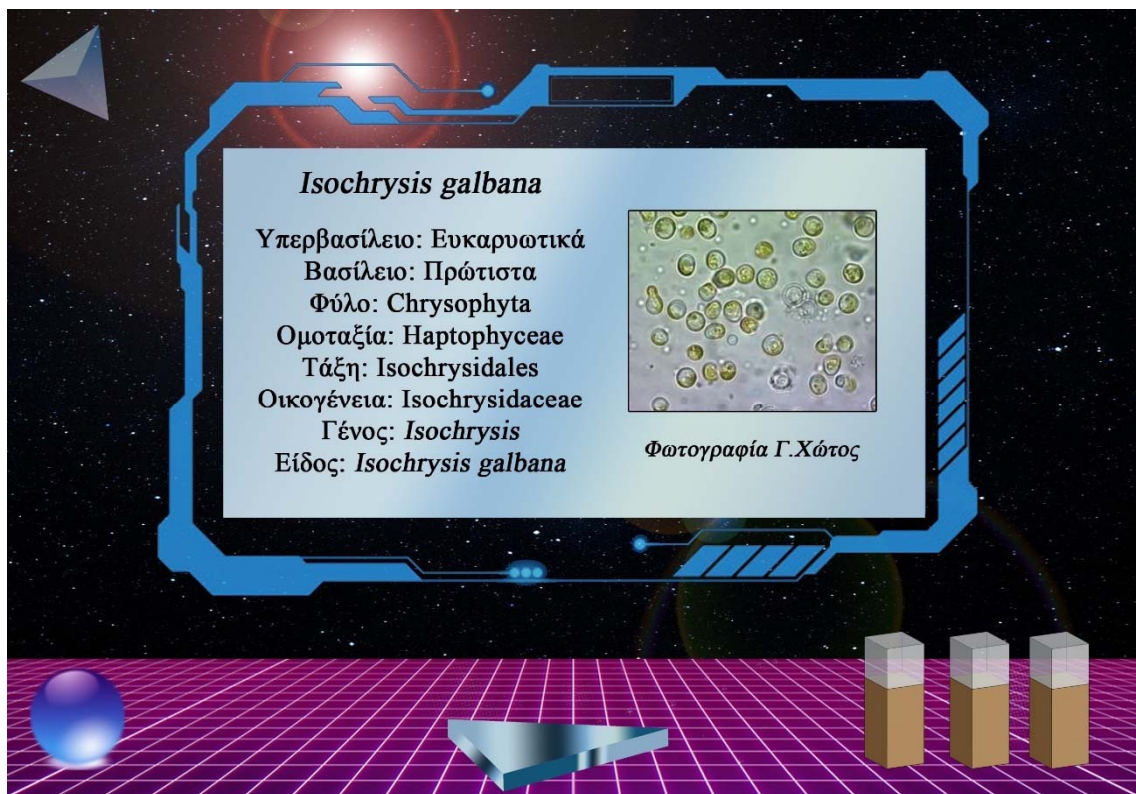
1.3.4 *Isochrysis galbana*

Το είδος *Isochrysis galbana* (Εικ. 1.3.4) ανήκει στο Βασίλειο Πρώτιστα και στο φύλο χρυσόφυτα (Chrysophyta). Κύριο φωτοσυνθετικό καρωτενοειδές στα χρυσόφυτα είναι η φυκοξανθίνη, η οποία βρίσκεται συσσωρευμένη στους χλωροπλάστες δίνοντας έτσι το χαρακτηριστικό χρυσο-καφετί χρώμα στα κύτταρα. Επίσης περιέχουν χλωροφύλλη a, c₁ και c₂.

Τα κύτταρα του είδους *Isochrysis galbana* είναι ελεύθερα, μεγέθους 5-7 μm με δύο ισομεγέθη μαστίγια. Χρησιμοποιείται ευρέως στις υδατοκαλλιέργειες λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα πολυακόρεστα είναι απαραίτητα για την επιβίωση, την αντοχή στο στρες και την καλή ανάπτυξη του εγκεφάλου και των ματιών των εκτρεφόμενων νυμφών των ψαριών στα ιχθυοεκκολαπτήρια.



Εικόνα 1.3.3: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Rhodomonas salina* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φαντασική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).



Εικόνα 1.3.4: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Isochrysis galbana* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φαντασική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).

1.3.5 *Tetraselmis suecica*

Τα κύτταρα του είδους *Tetraselmis suecica* (Εικ.1.3.5) είναι πράσινα, χωρίς κυτταρικό τοίχωμα, με 4 ισομεγέθη μαστίγια τα οποία του προσδίδουν γρήγορη κίνηση. Μέγεθος 7-10 μm με κύτταρα ωοειδó-κυλινδρικά με χαρακτηριστικό βαθούλωμα στο εμπρόσθιο μέρος όπου εκφύονται τα μαστίγια.

Είναι εξαιρετική τροφή για τα τροχόζωα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια και βιταμίνη C. Επίσης αποτελεί εξαιρετική τροφή για τις προνύμφες και τα ενήλικα άτομα των μαλακίων καθώς, και για τα καρκινοειδή (*Artemia*, κωπήποδα, γαρίδες) και τα κοράλλια.

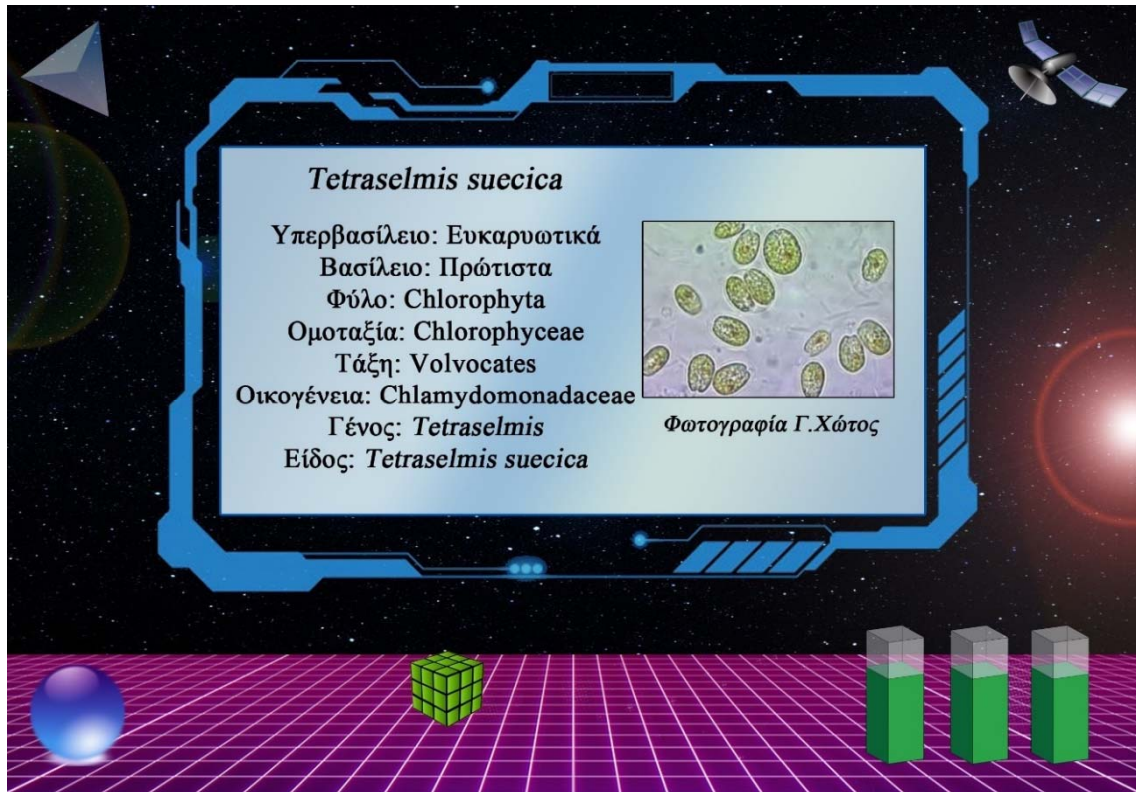
Σε κακές συνθήκες καλλιέργειας (έλλειψη θρεπτικών, υπερβολική αλατότητα κ.α.) τα κύτταρα του χάνοντας τα μαστίγια περιβάλλονται από μια διαφανή κύστη και παραμένουν σε διάπαυση για πολύ καιρό μέχρι οι συνθήκες να καλυτερέψουν. Το στάδιο αυτό λέγεται παλμελλοειδές (palmella stage) και ενίοτε μέσα στην κύστη αυτή παρατηρούνται κυτταρικές διαιρέσεις.

1.3.6 *Tetraselmis marina*

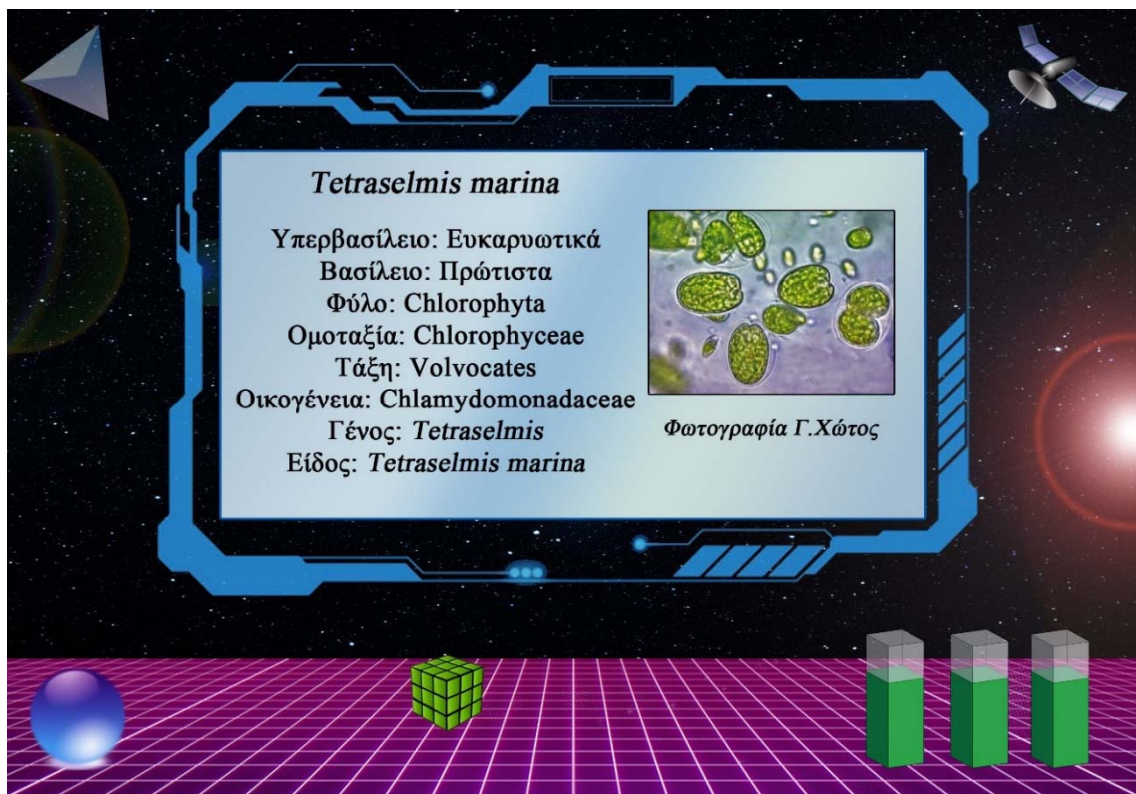
Το συγγενές είδος του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* είναι το είδος *Tetraselmis marina* (Εικ.1.3.6) που είναι πολύ μεγαλύτερου μεγέθους (~23 μm), απαντάται σε πολύ αλμυρά νερά (80-150 ppt) και παρουσιάζει έντονη παλμελλοποίηση.

Ο βιολογικός κύκλος των μικροφυκών του γένους *Tetraselmis* αποτελείται από τουλάχιστον τρεις φάσεις: (α) μαστιγοφόρα κινητά κύτταρα, (β) βλαστητικά ακίνητα κύτταρα και (γ) μη μαστιγοφόρες κύστες περιβαλλόμενες από παχύ διακοσμητικό τοίχωμα. Τα μαστιγοφόρα κύτταρα του *Tetraselmis* δομικά είναι όμοια με τα ακίνητα βλαστητικά κύτταρα με την εξαίρεση ότι τα πρώτα περιβάλλονται από μόνο ένα κυτταρικό τοίχωμα ενώ τα δεύτερα από περισσότερα.

Τα κύτταρα περιστρέφονται περί τον άξονα τους κατά την κίνηση τους και τα περισσότερα είδη κολυμπούν σε ευθεία γραμμή για αρκετά μεγάλη απόσταση αλλάζοντας κατεύθυνση ξαφνικά και χωρίς να σταματούν (Norris et al, 1980).



Εικόνα 1.3.5: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φανταστική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).



Εικόνα 1.3.6: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Tetraselmis marina* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φανταστική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).

1.3.7 *Amphidinium carterae*

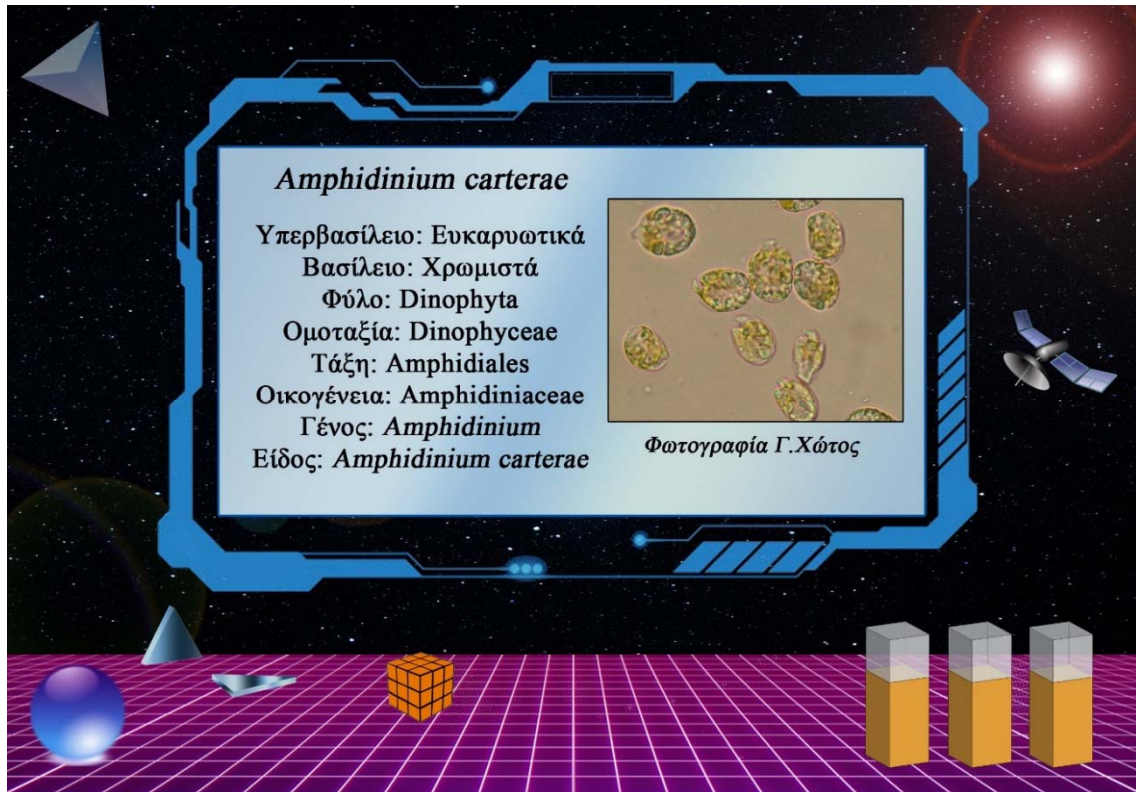
Το είδος *Amphidinium carterae* (Εικ. 1.3.7) ανήκει στο Βασίλειο Χρωμιστά και στο φύλο Δινόφυτα (Dinophyta) που είναι η κύρια ομάδα των Δινομαστιγωτών. Τα περισσότερα δινόφυτα ανήκουν στο θαλάσσιο πλαγκτόν, αλλά υπάρχουν και αρκετά που απαντώνται στο γλυκό νερό λιμνών ή ποταμών. Οι πληθυσμοί τους κατανέμονται ανάλογα με τη θερμοκρασία, την αλατότητα και το βάθος. Περίπου τα μισά από όλα τα δινομαστιγωτά είναι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί και πρωτογενείς παραγωγοί και αποτελούν σημαντικό μέρος της τροφικής αλυσίδας του νερού. Περιέχουν χλωροφύλλη a και c₂ και καρωτενοειδή χρωστικές (κύριες : φυκοξανθίνη και περιδινίνη και δευτερεύουσες: δινοξανθίνη, διατοξανθίνη, διαδινόξανθίνη, ασταξανθίνη, α-β καρωτένιο και φυτοφλοένιο).

Τα κύτταρα του είδους *Amphidinium carterae* έχουν μήκος 12-18 μm, πλάτος 8-10 μm και είναι ένας φωτοσυνθετικός οργανισμός που μπορεί να καλλιεργηθεί στο εργαστήριο υπό κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτός. Επίσης είναι ένα τοξικό είδος που μπορεί να προκαλέσει βλάβες σε άλλους οργανισμούς, όταν δημιουργεί την «ερυθρή παλίρροια». Οι παραγόμενες ουσίες προφανώς δεν είναι τοξικές για τους οργανισμούς που το παράγουν, αλλά συσσωρεύονται σε διηθηματοφάγα οστρακοειδή, ζωοπλαγκτό και φυτοφάγα ψάρια και μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας σε ανώτερα τροφικά επίπεδα.

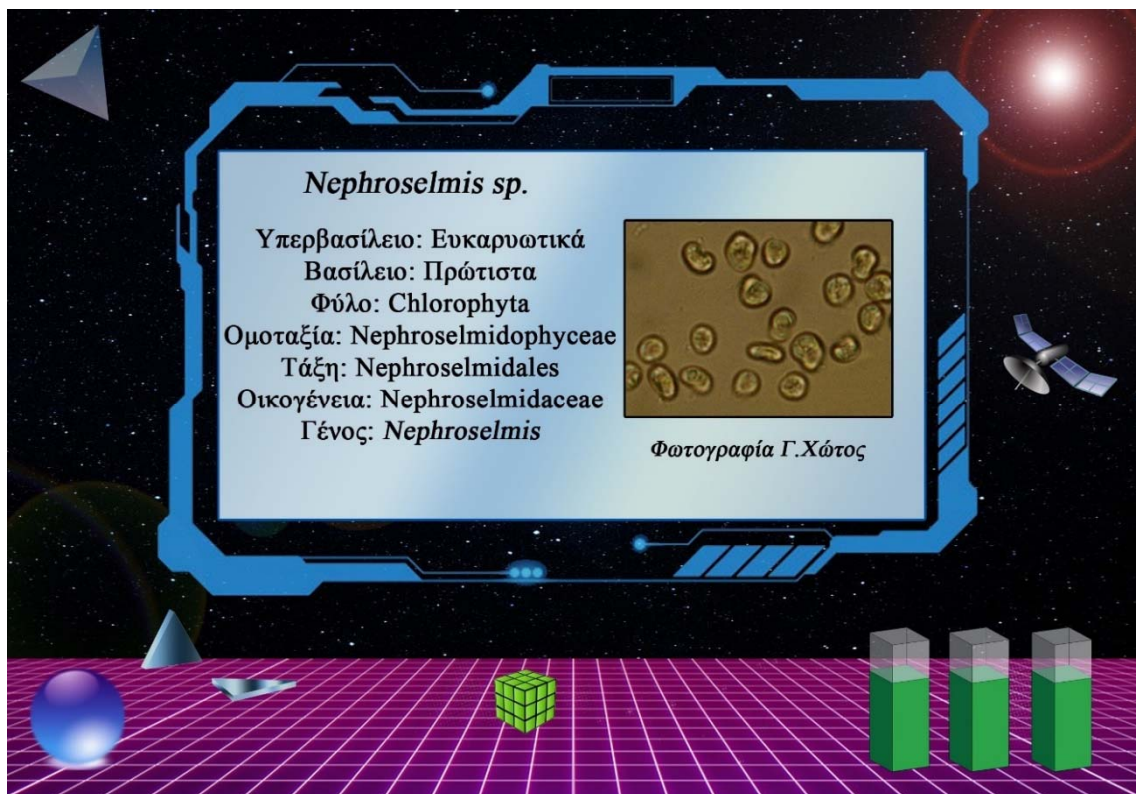
1.3.8 *Nephroselmis sp.*

Το γένος *Nephroselmis sp.* (Εικ. 1.3.8) ανήκει στο Βασίλειο Πρώτιστα και στο φύλο χλωρόφυτα (chlorophyta). Τα χλωρόφυτα συνήθως έχουν πράσινο χρώμα λόγω της επικράτησης των χρωστικών, χλωροφύλλης a και b, αλλά αυτό μπορεί να τροποποιείται λόγω της έντονης παρουσίας άλλων χρωστικών καροτενοειδών (β-καροτένιο, α – καροτένιο, λουτεΐνη, νεοξανθίνη, βιολαξανθίνη και ζεαξανθίνη).

Τα κύτταρα του είδους *Nephroselmis sp.* έχουν μήκος 8-11 μm και πλάτος 6.5-8 μm και είναι ένας φωτοσυνθετικός οργανισμός που μπορεί να καλλιεργηθεί στο εργαστήριο υπό κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτός.



Εικόνα 1.3.7: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Amphidinium carterae* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φανταστική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).



Εικόνα 1.3.8: Συστηματική ταξινόμηση του μικροφύκου *Nephroselmis sp.* (Εικόνα μικροφύκου Γ.Χώτος, φανταστική απεικόνιση Θ.Αντωνιάδης).

1.4 Φασματοσκοπία & φασματοφωτομετρία

1.4.1 Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία

Η ανάλυση του φωτός το οποίο εκπέμπεται ή απορροφάται από τις ουσίες αποτελεί το αντικείμενο της φασματοσκοπίας (spectroscopy). Το φως είναι μια μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (electromagnetic radiation), η οποία αποτελείται από ταλαντούμενα (χρονικά μεταβαλλόμενα) ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία που ταξιδεύουν στο κενό με ταχύτητα περίπου $3 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, ή λίγο μεγαλύτερη 670 εκατομμύρια μίλια ανά ώρα.

Το ορατό φως, τα ραδιοκύματα, τα μικροκύματα και οι ακτίνες -X είναι όλα μορφές της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Όλες αυτές οι μορφές ακτινοβολίας μεταφέρουν ενέργεια από μια περιοχή του διαστήματος στην άλλη.

Τα διαφορετικά μήκη κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας αντιστοιχούν σε διαφορετικές περιοχές του φάσματος. Το ανθρώπινο μάτι ανιχνεύει την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με μήκη κύματος στην περιοχή από 700nm (ερυθρό φως) έως 400nm (ιώδες φως). Η ακτινοβολία σε αυτό το εύρος ονομάζεται **ορατό φως** και η συχνότητα του ορατού φωτός καθορίζει το χρώμα της. Η **υπεριώδη ακτινοβολία** έχει υψηλότερη συχνότητα από το ιώδες φως, το μήκος κύματος του είναι μικρότερο από, περίπου 400nm. Αυτό το μέρος της ακτινοβολίας είναι υπεύθυνο για το ηλιακό έγκαυμα και το μαύρισμα. Η **υπέρυθρη ακτινοβολία**, η οποία αντιμετωπίζεται ως συχνότητα, έχει μικρότερη συχνότητα και μεγαλύτερο μήκος κύματος από το ερυθρό φως, το μήκος κύματος του οποίου είναι μεγαλύτερο από 800 nm περίπου.

1.4.2 Φασματοσκοπία υπεριώδους & ορατού.

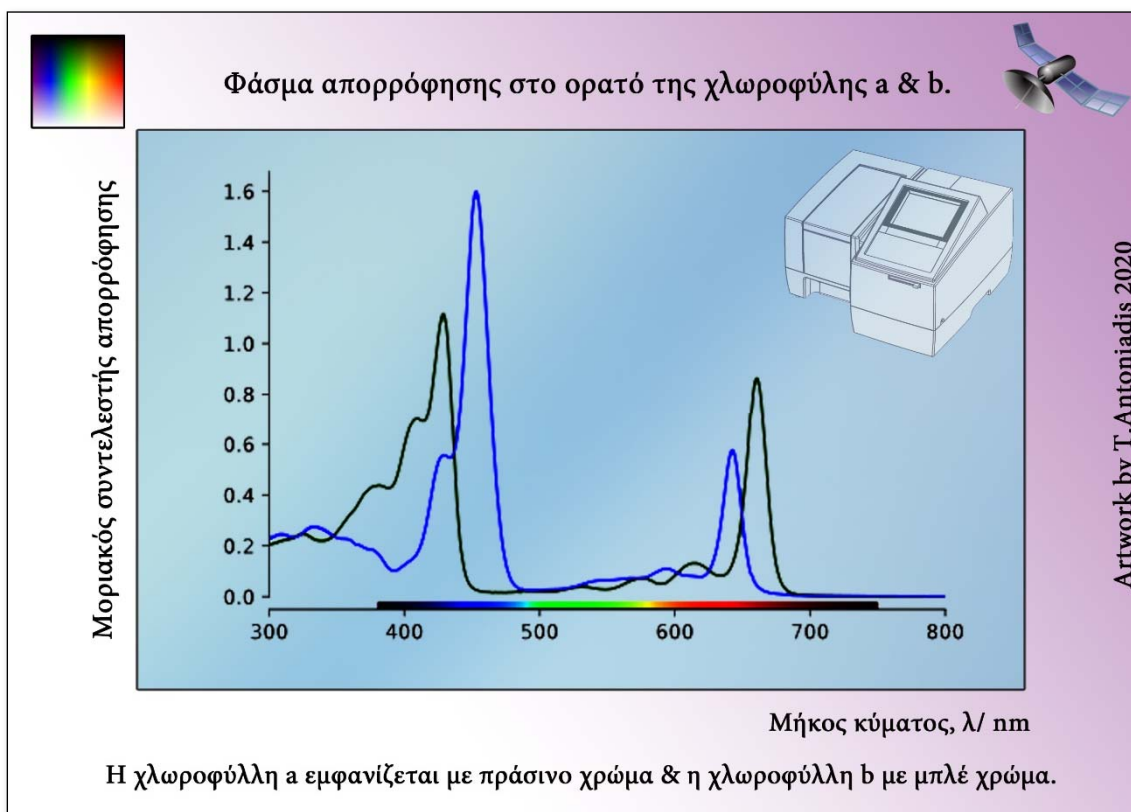
Όταν η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία πέφτει πάνω σε ένα μόριο, τα ηλεκτρόνια στο μόριο μπορούν να διεγερθούν σε μια υψηλότερη ενεργειακή κατάσταση. Ακτινοβολία συχνότητας ν μπορεί να αυξήσει την ενέργεια κατά ποσό ΔE , όπου h είναι η σταθερά του **Plank**.

$$\Delta E = h \cdot \nu$$

Στη διαδικασία αυτή η ενέργεια απορροφάται, με την προϋπόθεση ότι υπάρχει ένα κενό τροχιακό με τη σωστή ενέργεια. Για πολλά μόρια, κάθε φωτόνιο υπεριώδους ακτινοβολίας (με μήκη κύματος 100 έως 400 nm) και ορατού φωτός (με μήκος κύματος γύρω στα 500 nm) έχει

αρκετή ενέργεια για να διεγείρει ένα ηλεκτρόνιο σε διαφορετικό ενεργειακό επίπεδο. Επομένως, η ορατή και η υπεριώδης απορρόφηση δίνουν πληροφορίες σχετικά με τα ηλεκτρονικά επίπεδα των μορίων.

Τα φάσματα απορρόφησης του ορατού και του υπεριώδους καταγράφονται με τη χρήση φασματοφωτόμετρου απορρόφησης. Η πηγή παράγει ορατό φως ή υπεριώδη ακτινοβολία και τα μήκη κύματος επιλέγονται με φράγμα περίθλασης. Η προσπίπτουσα δέσμη αποτελείται από ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος, αλλά η ενισχυτική συμβολή μεταξύ ακτίνων του ίδιου μήκους κύματος έχει ως αποτέλεσμα ακτίνες που ταξιδεύουν σε διαφορετικές κατευθύνσεις από το φράγμα περίθλασης. Επομένως, καθώς ο προσανατολισμός του φράγματος περίθλασης αλλάζει, ακτινοβολία συγκεκριμένου μήκους κύματος διέρχεται μέσω του δείγματος.



Εικόνα 1.4.2: Φάσμα απορρόφησης στο ορατό της χλωροφύλλης a & b (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

Μια σημαντική διαφορά από τα υπέρυθρα φάσματα είναι ότι η ηλεκτρονική διέγερση που προκαλείται από το ορατό φως ή την υπεριώδη ακτινοβολία μεταβάλλει τις δυνάμεις που δρουν στους πυρήνες των ατόμων και τα οποία αντιδρούν με δονητικές μεταπτώσεις. Σε ένα διάλυμα, οι συγκρούσεις των μορίων του διαλύτη με το μόριο που απορροφά, διευρύνει αυτές τις

γραμμές τόσο πολύ ώστε να συγχωνεύονται μεταξύ τους. Ως αποτέλεσμα, το φάσμα απορρόφησης αποτελείται από μια σειρά από ευρείες ζώνες και όχι από επιμέρους γραμμές.

Ένα τυπικό φάσμα απορρόφησης, αυτό της χλωροφύλλης (Εικ. 1.4.2). Παρατηρούμαι ότι η χλωροφύλλη απορροφά τόσο το κόκκινο όσο και το μπλε φως, που υπάρχει στο λευκό φως. Γι' αυτό η περισσότερη βλάστηση φαίνεται πράσινη.

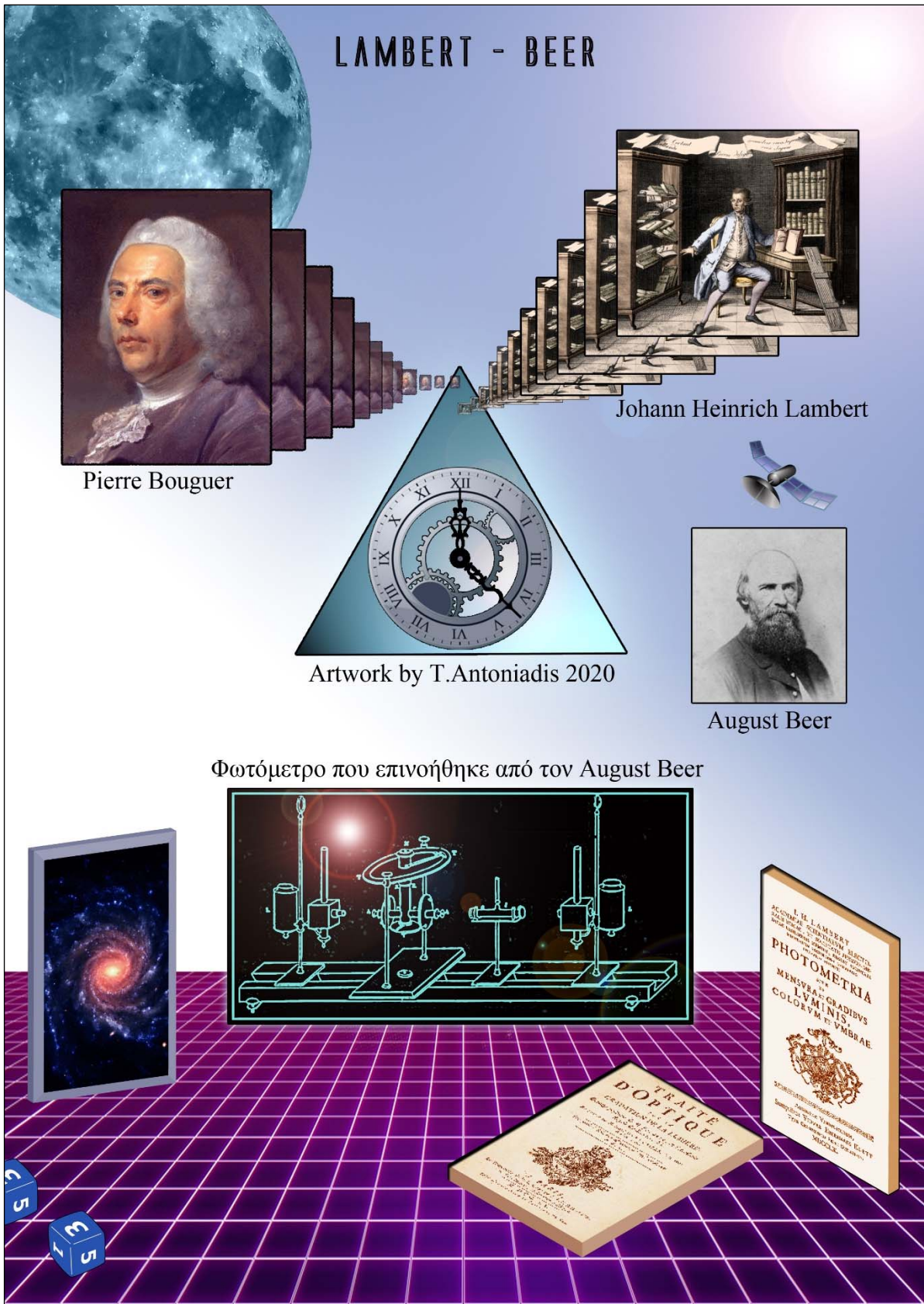
Η παρουσία ορισμένων ζωνών απορρόφησης σε φάσματα υπεριώδους και ορατού φωτός μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία χαρακτηριστικών ομάδων ατόμων στα μόρια. Αυτές οι ομάδες ατόμων ονομάζονται χρωματοφόρες.

1.4.3 Νόμος των Lambert – Beer (Ιστορική αναδρομή)

Η **φωτομετρία** είναι τεχνική της αστρονομίας, ιδιαίτερα κατά τον προσδιορισμό της φωτεινότητας ορισμένων ουράνιων αντικειμένων, όπως μεταβλητά αστέρια, δευτερεύοντες πλανήτες (δορυφόροι), ενεργοί γαλαξιακοί πυρήνες (αστροφυσικά αντικείμενα τα οποία συνδέονται με τα κέντρα γαλαξιών στα οποία παρατηρούνται φαινόμενα μη αστρικής προέλευσης) & σούπερνοβα.

Ο λεγόμενος «πατέρας της φωτομετρίας» ήταν ο **Pierre Bouguer**, ένας Γάλλος μαθηματικός, αστρονόμος και γεωφυσικός του 18ου αιώνα, ο οποίος έκανε μερικές από τις πρώτες καταγεγραμμένες μετρήσεις στη φωτομετρία.

Στη κυματική οπτική, ο νόμος Beer-Lambert, γνωστός και ως νόμος Beer-Lambert-Bouguer (που ονομάστηκε έτσι από τους August Beer, Johann Heinrich Lambert και Pierre Bouguer) αφορά την εξασθένιση του φωτός λόγω των ιδιοτήτων του υλικού μέσα στο οποίο ταξιδεύει. Ο νόμος ανακαλύφθηκε από τον Pierre Bouguer το 1729, στην εργασία **“Bouguer's Essai d'Optique sur la Gradation de la Lumiere”**. Ο **Johann Heinrich Lambert** ανέφερε τα δοκίμια του Bouguer σε ένα από τα άρθρα του στην πραγματεία του **Photometria**, που δημοσιεύθηκε το 1760, και έχει αποδοθεί εσφαλμένα ως το πρωτότυπο έργο του Lambert. Το 1852, ο **August Beer** επέκτεινε αυτόν τον εκθετικό νόμο απορρόφησης για να ενσωματώσει τη συγκέντρωση των διαλυμάτων στον συντελεστή απορρόφησης (Εικ 1.4.3).



Εικόνα 1.4.3: Φανταστική απεικόνιση των Pierre Bouguer, Johann Heinrich Lambert & το φωτόμετρο του August Beer κάπου στον χρόνο (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης).

1.4.4 Νόμος απορρόφησης των Lambert – Beer

Όταν μονοχρωματική ακτινοβολία διέρχεται από διάλυμα, που περιέχει την ουσία X, το οποίο απορροφά, η ισχύς της ακτινοβολίας ελαττώνεται προοδευτικά κατά μήκος της διαδρομής, λόγω απορροφήσεως της από την ουσία X. Η ελάττωση της ισχύος ($I < I_0$), εξαρτάται από την συγκέντρωση της ουσίας X και από την απόσταση που διάνυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα.

Οι σχέσεις αυτές εκφράζονται από τον νόμο απορρόφησης των *Lambert – Beer* (Εικ. 1.4.4.1 & 1.4.4.2) και έχουμε:

$$A = -\log T = -\log(I/I_0) = \varepsilon \times L \times c$$

A απορρόφηση (absorbance).

T η % διαπερατότητα (transmittance) του δείγματος.

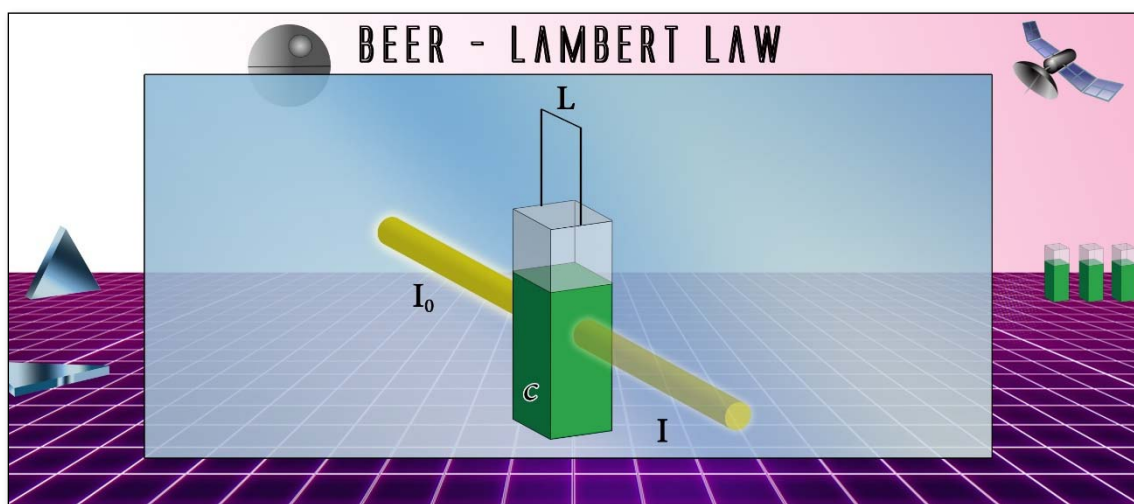
I₀ η ισχύς της μονοχρωματικής ακτινοβολίας που προσπίπτει στο διάλυμα.

I η ισχύς της ακτινοβολίας που εξέρχεται από το διάλυμα.

L το μήκος της διαδρομής της ακτινοβολίας στο διάλυμα.

c η συγκέντρωση της ουσίας που αναλύεται.

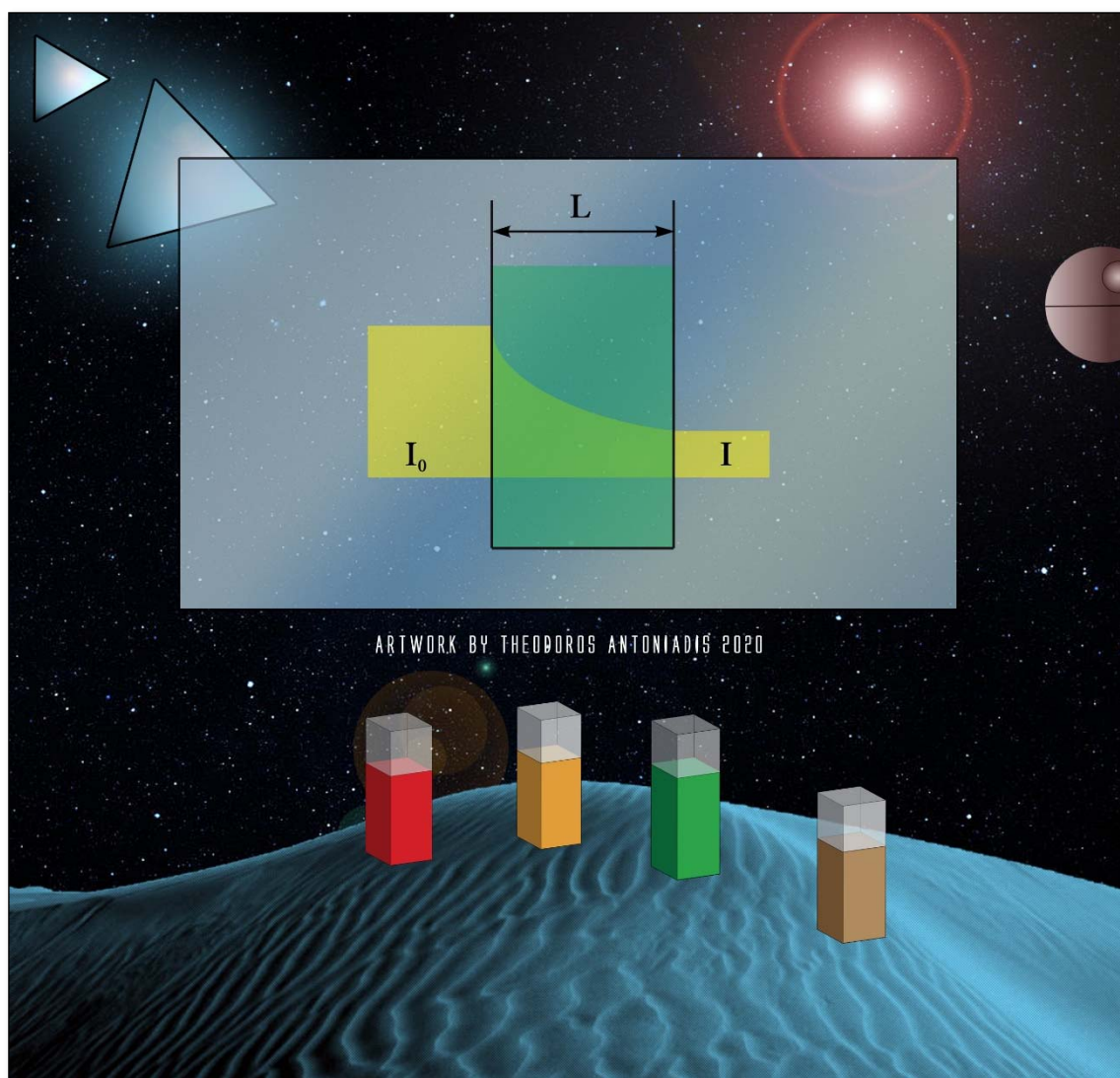
ε η μοριακή απορροφητικότητα της ουσίας.



Εικόνα 1.4.4.1: Φαντασική απεικόνιση του νόμου των Lambert -Beer κάπου στον χρόνο (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης).

Σύμφωνα με την εξίσωση, το γράφημα της απορρόφησης συναρτήσει της μοριακής συγκέντρωσης είναι ευθεία γραμμή, με κλίση εL , οπότε το ε μπορεί να προσδιοριστεί για το

μήκος κύματος, το οποίο χρησιμοποιείται. Με γνωστό το ϵ , η μετρούμενη απορρόφηση του διαλύματος είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του είδους στο δείγμα. Η τεχνική ονομάζεται **φασματοφωτομετρία** (spectrophotometry) και χρησιμοποιείται ευρύτατα στην αναλυτική χημεία.



Εικόνα 1.4.4.2: Φαντασική απεικόνιση της απορρόφησης ενός δείγματος με μήκος διαδρομής L , όπου I_0 και I είναι οι εντάσεις του προσπίπτοντος και του διερχόμενου φωτός αντίστοιχα (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης).

1.4.5 Φασματοφωτόμετρο

Τα όργανα που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της απορρόφησης της μονοχρωματικής ακτινοβολίας είναι τα φασματοφωτόμετρα (Εικ. 1.4.5) .

Τα φασματοφωτόμετρα διακρίνονται σε διάφορους τύπους, όπως για παράδειγμα στα απλής ή διπλής δέσμης. Ανεξάρτητα από τον τύπο του φασματοφωτόμετρου, τα βασικά του μέρη είναι τα εξής:

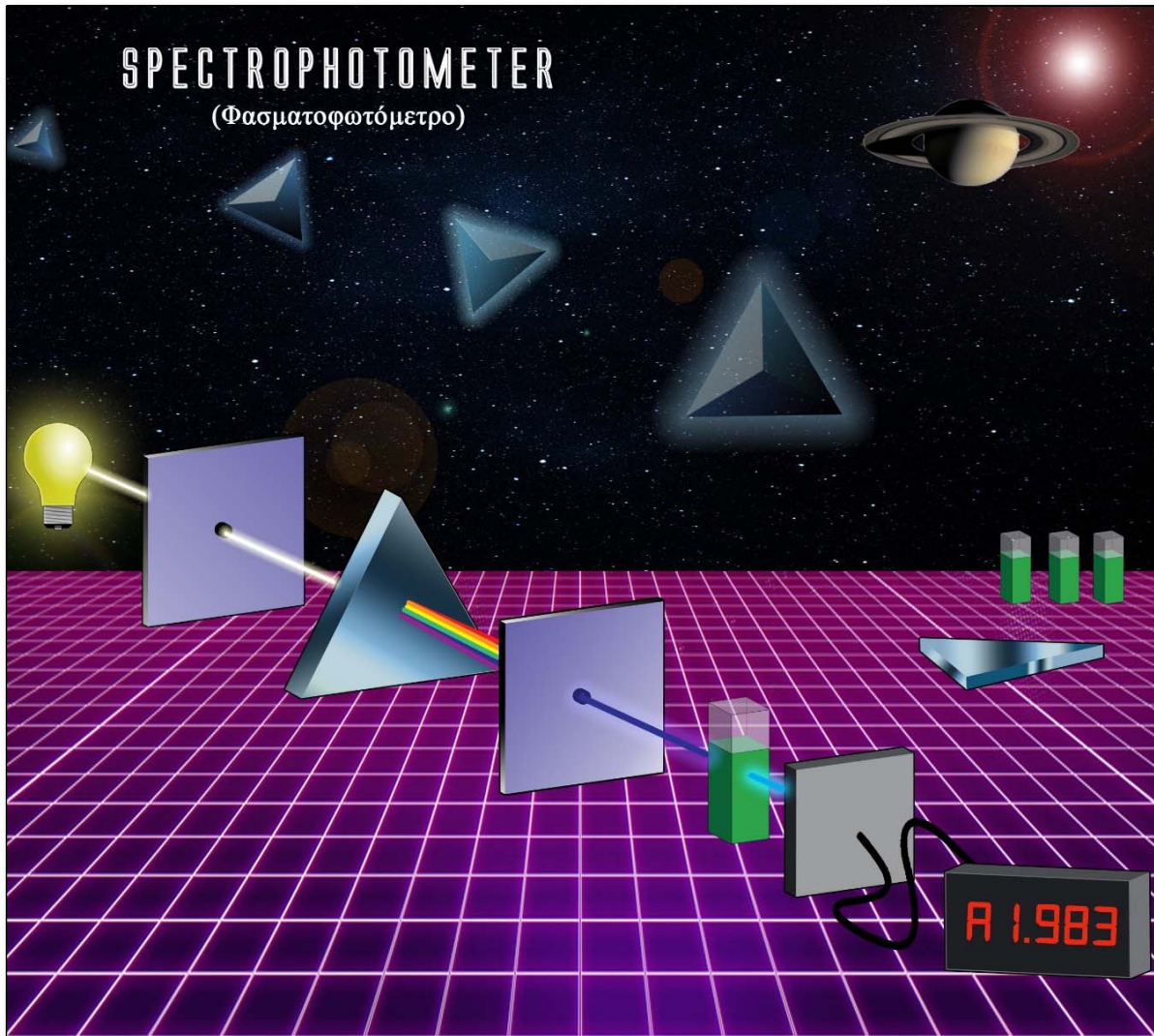
Η πηγή ακτινοβολίας, που εκπέμπει ακτινοβολία επαρκούς ισχύος στην επιθυμητή περιοχή του φάσματος. Για την περιοχή υπεριώδους, χρησιμοποιούνται συνήθως λυχνίες εκκένωσης υδρογόνου ή δευτερίου. Για την περιοχή, χρησιμοποιούνται λυχνίες πυράκτωσης με νήμα βολφραμίου.

Επιλογή μήκους κύματος. Η απομόνωση της επιθυμητής στενής περιοχής μηκών κύματος από τη συνεχή πολυχρωματική ακτινοβολία που εκπέμπει η πηγή, επιτυγχάνεται με φίλτρα, τα οποία απομονώνουν περιοχές 20-50 nm. Η απομόνωση μιας μονοχρωματικής ακτινοβολίας μπορεί να γίνει ακριβέστερα (πλάτος ζώνης 0,01nm) με μονοχρωμάτορες πρίσματος ή φράγματος.

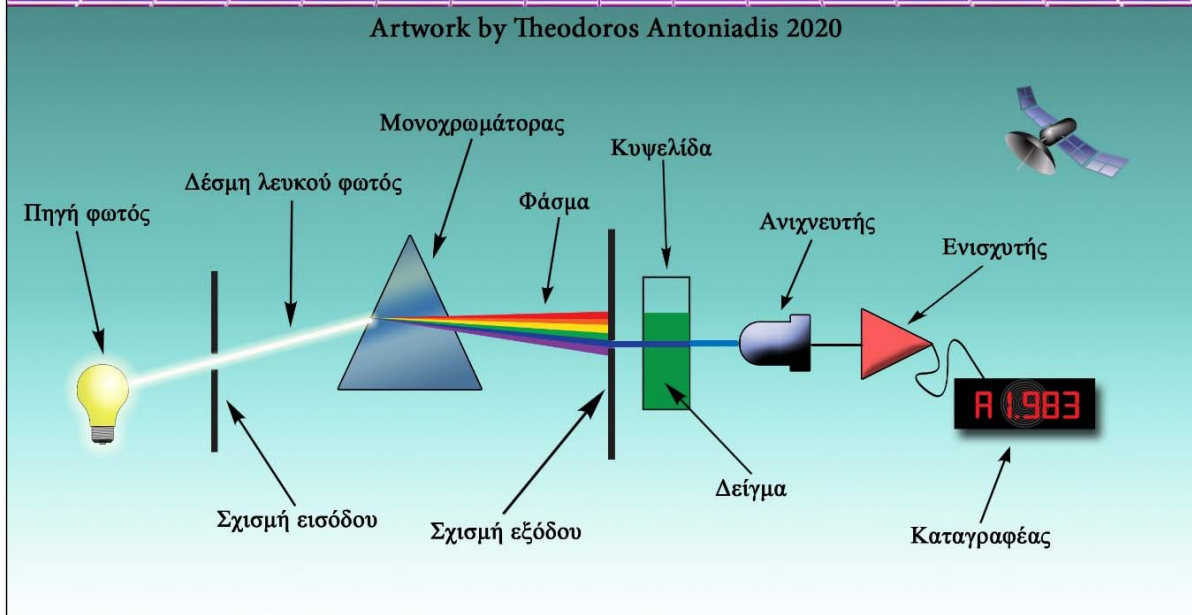
Κυψελίδες. Οι κυψελίδες έχουν συνήθως ορθογώνιο σχήμα και είναι κατασκευασμένες από χαλαζία, εφόσον χρησιμοποιούνται στην υπεριώδη περιοχή ή από γυαλί στην ορατή περιοχή

Ανιχνευτές. Ως ανιχνευτές χρησιμοποιούνται φωτολυχνίες, φωτοπολλαπλασιαστές και φωτοδιόδοι. Η αρχή λειτουργίας των ανιχνευτών αυτών είναι η εξής: τα φωτόνια της ορατής και υπεριώδους ακτινοβολίας έχουν ενέργεια ικανή να απελευθερώσει ηλεκτρόνια, όταν προσκρούσουν σε επιφάνειες κατεργασμένες με ειδικές ενώσεις. Επίσης μπορούν να προκαλέσουν τη μετακίνηση μη αγώγιμων ηλεκτρονίων παράγεται σε ζώνες αγωγιμότητας. Και στις δύο περιπτώσεις παράγεται ηλεκτρικό ρεύμα, ανάλογο με την ισχύ της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

Ενισχυτής & καταγραφέας. Το ηλεκτρικό σήμα στην έξοδο του ανιχνευτή ενισχύεται και η ανάγνωση του μετρητή (διαπερατότητα στα εκατό ή απορρόφηση) δείχνεται στο φασματοφωτόμετρο ως ένδειξη μιας κλίμακας ή υπό ψηφιακή μορφή ή καταγράφεται σε ποτενσιομετρικό καταγράφεα.



Artwork by Theodoros Antoniadis 2020



Εικόνα 1.4.5: Φαντασική & σχηματική απεικόνιση για φασματοφωτόμετρο (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης).

2. Υλικά & Μέθοδοι

2.1 Όργανα

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία συνοψίζονται παρακάτω :

- Φασματοφωτόμετρο UV mini-1240, της Shimadzu, μονής δέσμης.
- Πλαστικές κυψελίδες
- Μικροσκόπιο με 4 φορές περιστρεφόμενη μονάδα φακού.
- 1 Πιπέτα μηχανική μεταβλητού όγκου & πλαστικές μύτες για την πιπέτα.
- 1 πιπέτα διαφανής 1ml πλαστική.
- Κωνικές φιάλες Erlenmeyer των 250ml
- Αιμοκυττόμετρα τύπου Fuchs-Rosenthal & Neubauer.
- Αντίστοιχες καλυπτρίδες από γυαλί καλής ποιότητας για τα αιμοκυττόμετρα.
- Γυάλινες πιπέτες Παστέρ με ανοιχτό άκρο.
- Γυάλινα ποτήρια ζέσεως.
- Αναλογικός μετρητής χειρός με 4 ψηφία SPM 1314.
- Πλαστικοί σωλήνες φυγοκέντρωσης των 15 & 50 ml.
- Στατό για τους δοκιμαστικούς σωλήνες φυγοκέντρωσης.

2.2 Πειραματική διαδικασία

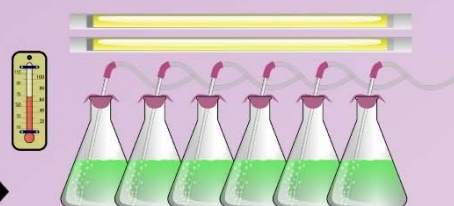
Η πειραματική διαδικασία (Εικ.2.2.1) πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο καλλιέργειας πλαγκτού του τμήματος Ζωικής Παραγωγής Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών στο Μεσολόγγι υπό την καθοδήγηση και οργάνωση του διευθυντή του εργαστηρίου καθηγητή Γ. Χώτου την περίοδο 05/02/2020 έως 03/03/2020.

Από τις καλλιέργειες των μικροφυκών οι οποίες διατηρούνται συνεχώς στο εργαστήριο και οι οποίες έχουν προέλθει από μικροφύκη που συλλέχθηκαν κατά καιρούς από το πέριξ φυσικό τους αλμυρό περιβάλλον, απομονώθηκαν με διάφορες τεχνικές και κατόπιν καλλιεργήθηκαν

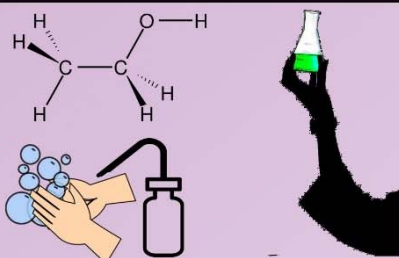
Πειραματική διαδικασία



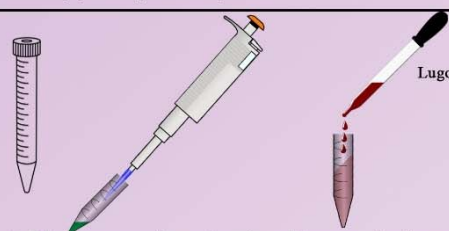
1. Τα μικροφύκη συλλέγονται από το φυσικό τους περιβάλλον.



2. Καλλιεργούνται υπό άριστες συνθήκες στο εργαστήριο πλαγκτού.



3. Πλύσιμο των χεριών με αιθανόλη, για αποφυγή μόλυνσης των καλλιεργειών & επιλογή δείγματος σε φιάλη Erlenmeyer.



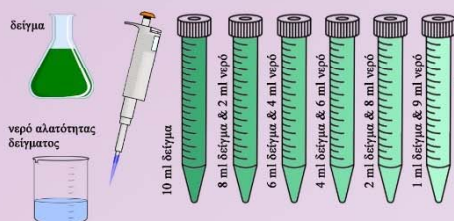
4. Με μηχανική πιπέτα λαμβάνεται διαδοχική ποσότητα δείγματος και τοποθετείται σε σωλήνα φυγοκέντρησης. Στη συνέχεια προστίθεται μικρή ποσότητα διαλύματος Lugol, για την ακινητοποίηση του δείγματος & ανακινείται πολύ καλά.



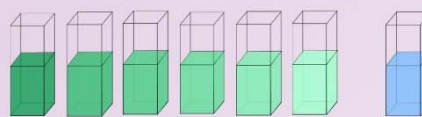
5. Μικρή ποσότητα δείγματος μεταφέρεται στην επιφάνεια των αιμοκυττομέτρων.



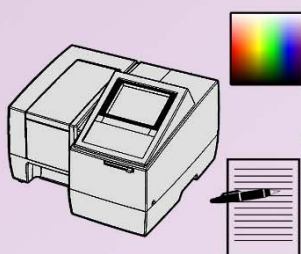
6. Τοποθέτηση των αιμοκυττομέτρων στην τράπεζα του μικροσκόπιου για παρατήρηση, καταμέτρηση & καταγραφή των αριθμών των κυττάρων.



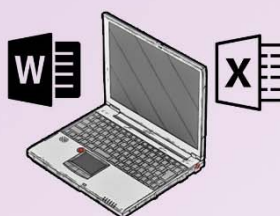
7. Στάδιο αραιώσης.



8. Τα δείγματα μεταφέρονται σε πλαστικές κυψελίδες. Για τυφλό δείγμα χρησιμοποιείται το νερό αλατότητας του δείγματος.



9. Οι κυψελίδες τοποθετούνται στο φασματοφωτόμετρο και καταγράφονται οι απορροφήσεις τους.



10. Τα αποτελέσματα μεταφέρονται στο word & excel, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης.



11. Συζήτηση & συμπεράσματα.



Εικόνα 2.2.1: Στάδια πειραματικής διαδικασίας (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης)

στο εργαστήριο υπό σταθερές βέλτιστες συνθήκες (φως, θερμοκρασία, pH, αλατότητα, αερισμός, θρεπτικά κ.α.), επιλέχθηκαν τα εξής είδη για τα οποία δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία στοιχεία σχέσεων οπτικής απορρόφησης-πυκνότητας κυττάρων.

1. *Rhodomonas salina* (Cryptophyta)
2. *Isochrysis galbana* (Haptophyta)
3. *Tetraselmis suecica* (Chlorophyta)
4. *Dunaliella salina* (Chlorophyta)
5. *Asteromonas gracilis* (Chlorophyta)
6. *Tetraselmis marina* (Chlorophyta)
7. *Nephroselmis* sp. (Chlorophyta)
8. *Amphidinium carterae* (Dinophyta)

Όλα τα παραπάνω είδη διατηρούνταν σε νερό κατάλληλης αλατότητας σύμφωνα με αδημοσίευτα στοιχεία πειραματισμών του κ. Χώτου (*Rhodomonas*, *Isochrysis*, *Tetraselmis suecica*, *Amphidinium*, 35ppt, *Dunaliella*, *Asteromonas*, *T. marina*, 85ppt, *Nephroselmis* 52ppt), φωτισμού ~3000 lux, pH ~8,2, θερμοκρασίας ~ 21 °C και σταθερής παροχής αέρα. Οι καλλιέργειες από τις οποίες λήφθηκαν τα δείγματα διατηρούνταν σε υάλινα κυλινδρικών δοχεία Erlenmeyer με 500 ml νερό λιπασμένο με συνταγή Walne (Χώτος, 2016).

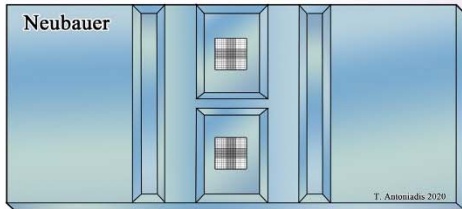
Κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των καλλιεργειών και από την εκθετική φάση αύξησης αυτών λήφθηκαν δείγματα 50 ml σε φιάλες Erlenmeyer των 250ml για παρατήρηση στο μικροσκόπιο, για την καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

Με την χρήση μηχανικής πιπέτας, ρυθμισμένη σε όγκο λήψης 1ml, ελήφθησαν διαδοχικές ποσότητες δείγματος και τοποθετήθηκαν σε σωλήνες φυγοκέντρησης των 15 ml. Όσα δείγματα ήταν πυκνά αραιώθηκαν σε νερό αντίστοιχης αλατότητας, που παρασκευάστηκε στο εργαστήριο. Στη συνέχεια προστέθηκε μικρή ποσότητα διαλύματος Lugol για άμεση ακινητοποίηση των δειγμάτων, βιδώσαμε το καπάκι και ανακινήσαμε πολύ καλά.

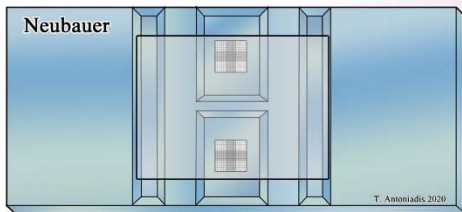
Με τη χρήση γυάλινης πιπέτας Παστέρ με ανοικτό άκρο, μεταφέρθηκε μικρή ποσότητα δείγματος επάνω στην επιφάνεια των αιμοκυττομέτρων τύπου Fuchs-Rosenthal & Neubauer και τοποθετήσαμε τις αντίστοιχες γυάλινες καλυπτρίδες (Εικ.2.2.2). Στη συνέχεια τοποθετήσαμε τα αιματοκυττόμετρα στην τράπεζα του μικροσκοπίου και με την χρήση του

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων

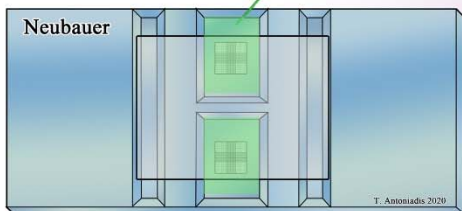
1. Αιμοκυττόμετρο τύπου Neubauer.



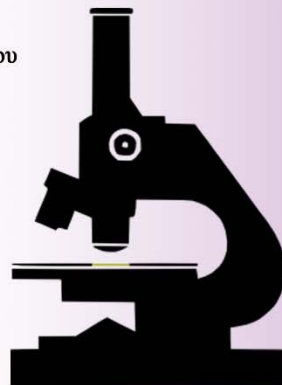
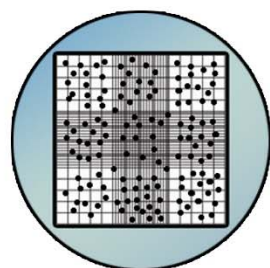
2. Τοποθέτηση της αντίστοιχης καλυπτρίδας από γυαλί.



3. Μικρή ποσότητα δείγματος μεταφέρεται στην επιφάνεια του αιμοκυττομέτρου με τη χρήση γυάλινης πιπέτας τύπου Pasteur με ανοικτό άκρο.

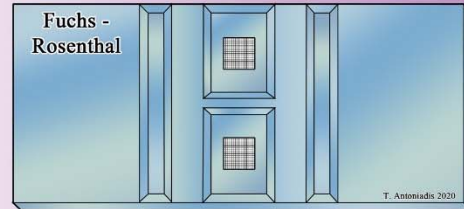


4. Τοποθέτηση του αιμοκυττομέτρου στην τράπεζα του μικροσκοπίου.

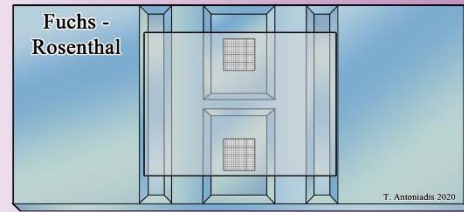


4.

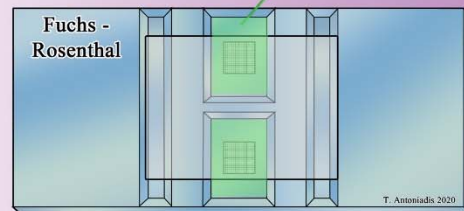
1. Αιμοκυττόμετρο τύπου Fuchs-Rosenthal.



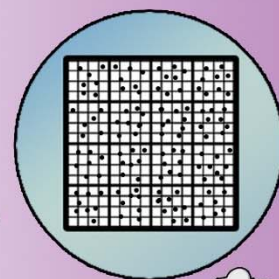
2.



3.



4.



5.

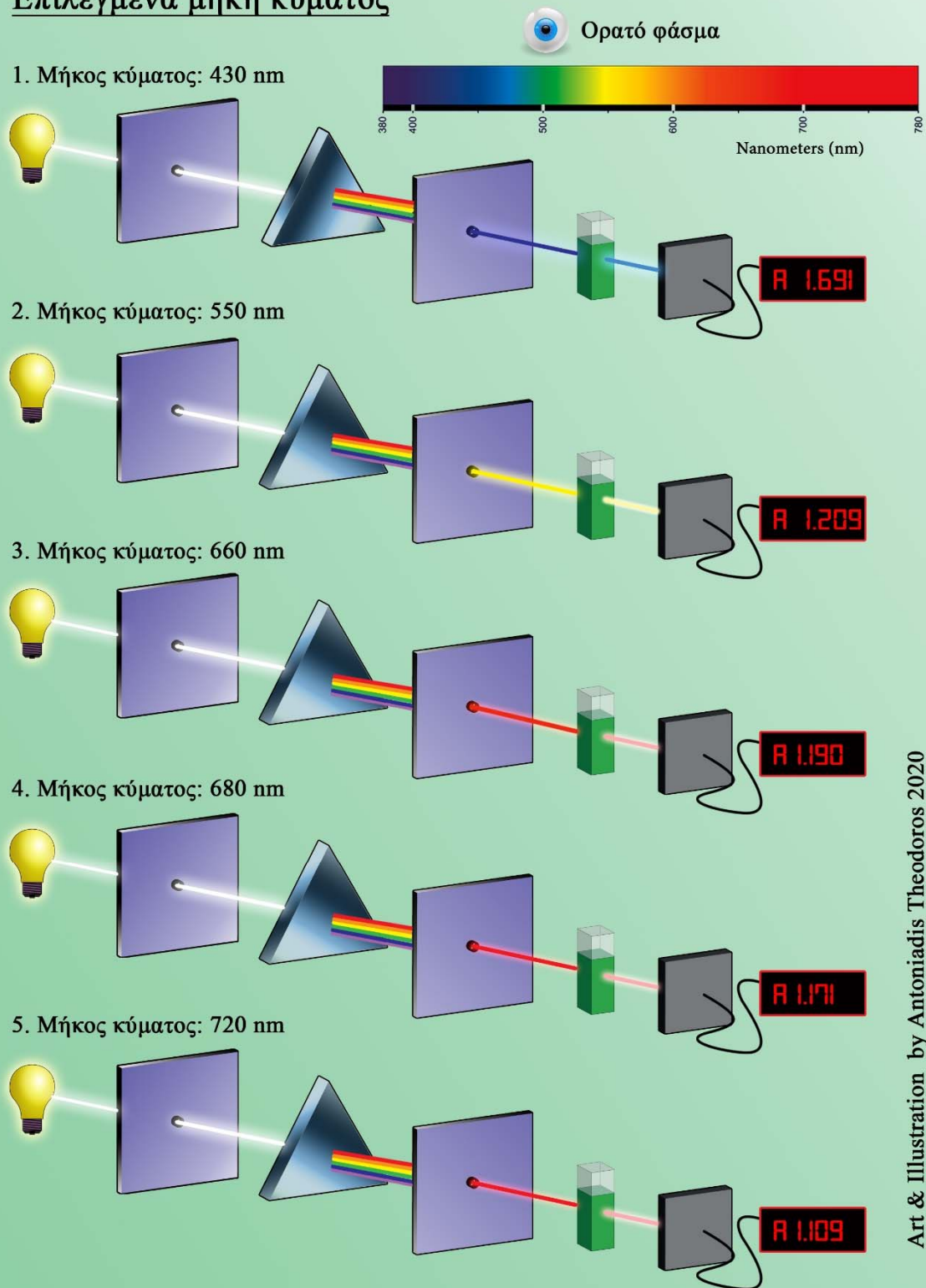
5. Παρατήρηση & καταμέτρηση των κυττάρων με τη χρήση αναλογικού μετρητή χειρός.



Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020.

Εικόνα 2.2.2: Σχηματικές απεικονίσεις αιμοκυττομέτρων τύπου Neubauer & Fuchs-Rosenthal (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης).

Επιλεγμένα μήκη κύματος



Εικόνα 2.2.3: Σχηματικές απεικονίσεις των επιλεγμένων μηκών κύματος (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης).

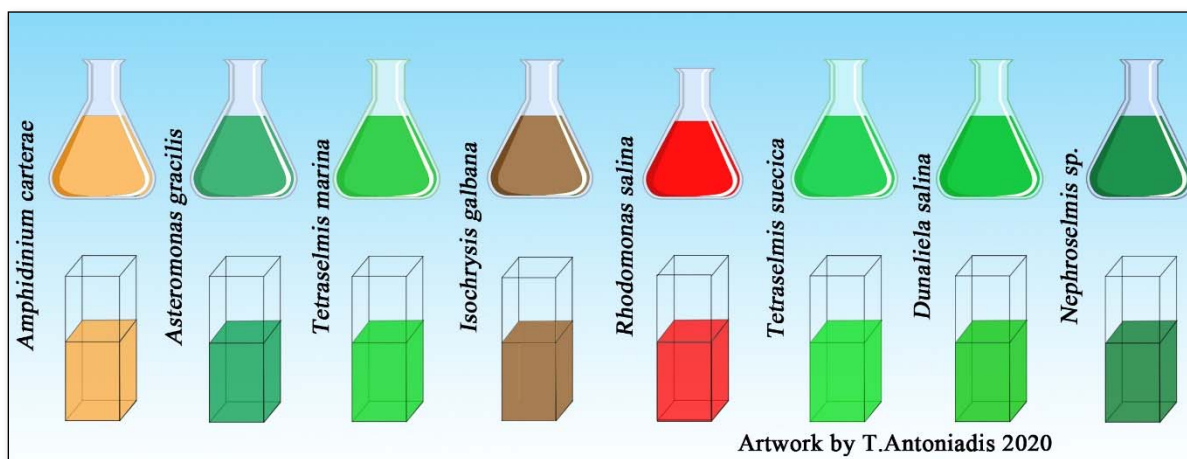
αναλογικού μετρητή χειρός SPM 1314, παρατηρήσαμε, μετρήσαμε, καταγράψαμε και υπολογίσαμε τον αριθμό των κυττάρων.

Ακολούθησε το στάδιο της αραιώσης, όπου για κάθε δείγμα, χρησιμοποιήθηκαν 6 πλαστικοί σωλήνες φυγοκέντρησης των 15 ml. Τοποθετήσαμε ποσότητα των 10-8-6-4-2-1 ml δείγματος, και νερό αλατότητας 0-2-4-6-8-9 ml αντίστοιχα (δηλαδή ο κάθε σωλήνας περιείχε ποσότητα των 10 ml). Αφού ανακινήσαμε πολύ καλά τα δείγματα, τα μεταφέραμε σε πλαστικές κυψελίδες και τοποθετήθηκαν στο φασματοφωτόμετρο για την καταγραφή των απορροφήσεων.

Για τυφλό δείγμα χρησιμοποιήθηκε το νερό αλατότητας του δείγματος, με το οποίο μηδενίζαμε το όργανο πριν από κάθε μέτρηση. Τα μήκη κύματος που επιλέχθηκαν ήταν 430, 550, 660, 680 και 720nm (Εικ.2.2.3). Τέλος αφού καταγράφηκαν οι μετρήσεις απορροφήσεων, μαζί με τις μετρήσεις των αριθμών των κυττάρων, μεταφέρθηκαν σε αρχεία word & excel για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης, τα συμπεράσματα και τα θέματα για συζήτηση.

3. Αποτελέσματα

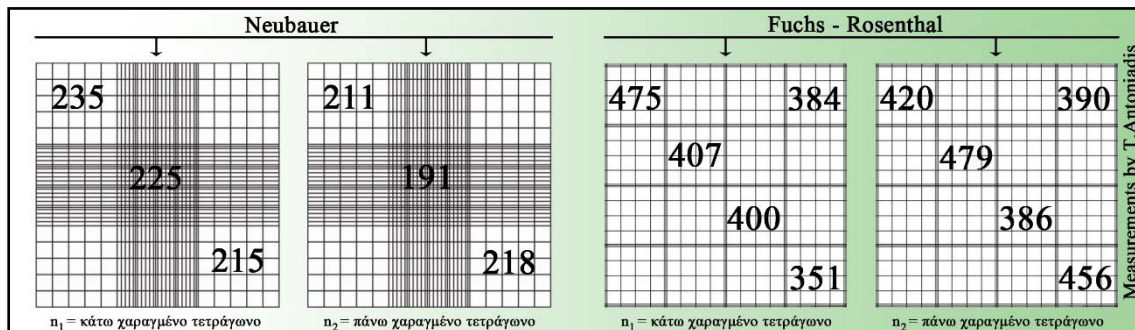
Για το κάθε μικροφύκος (Εικ.3.1) αναλύονται παρακάτω λεπτομερώς τα αποτελέσματα της φασματοφωτομετρίας στα διάφορα μήκη κύματος.



Εικόνα 3.1 : Επιλεγμένα μικροφύκη πειράματος (Εικόνα Θ.Αντωνιάδης)

3.1 *Amphidinium carterae*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.1.1).



Εικόνα 3.1.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Amphidinium carterae* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγματος : 1ml νερού) - 34 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{235+225+215}{3} = 225 \quad , \quad n_2 = \frac{211+191+218}{3} = 206,6 \approx 207 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

Επομένως $n = \frac{225+207}{2} \times 10^4 \times 2 \Leftrightarrow$

$$n = 4.320.000 \text{ κύτταρα/ml}$$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 475 + 407 + 400 + 351 + 384 = 2017 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 420 + 479 + 386 + 456 + 390 = 2131$$

Επομένως $n = \frac{2017+2131}{2} \times 10^3 \times 2 \Leftrightarrow$

$$n = 4.148.000 \text{ κύτταρα/ml}$$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

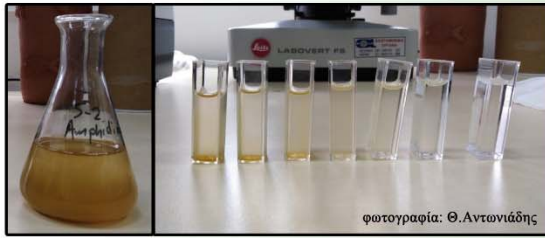
$$\bar{x} = \frac{4.320.000+4.148.000}{2} = 4.234.000 \text{ άρα}$$

$$n = 4.234.000 \text{ κύτταρα/ml}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του *Amphidinium carterae*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.1.2).

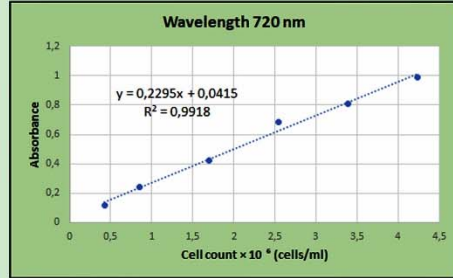
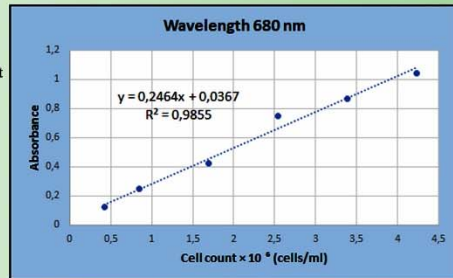
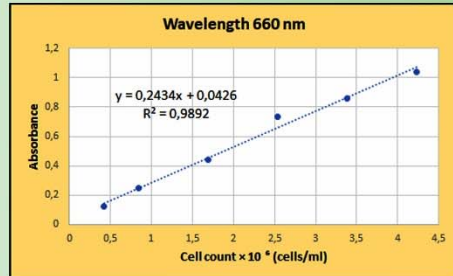
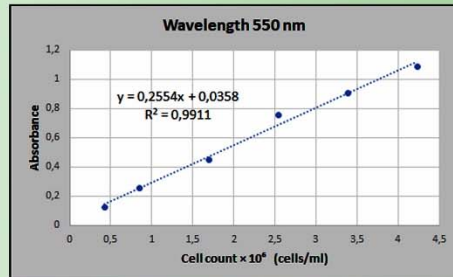
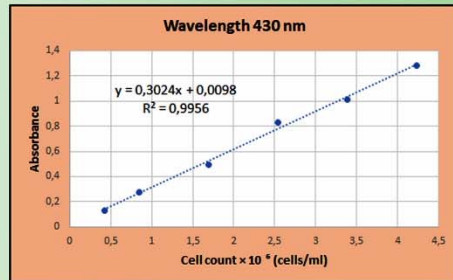
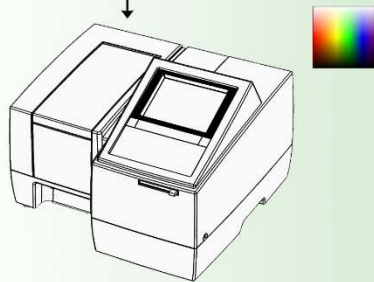
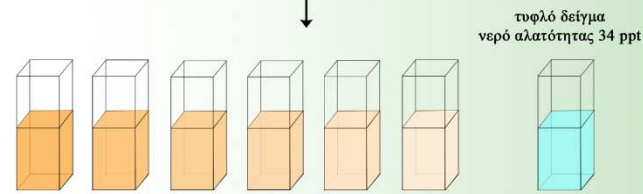
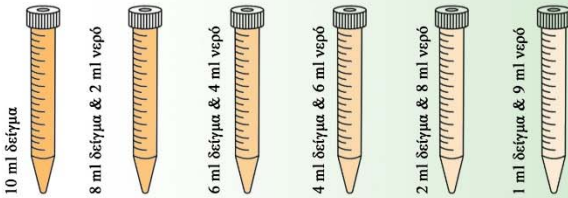
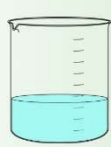
Amphidinium carterae

Ημερομηνία: 05-02-2020 n = 4.234.000 cells/ml



δείγμα *Amphidinium carterae*

νερό αλατότητας 34 ppt



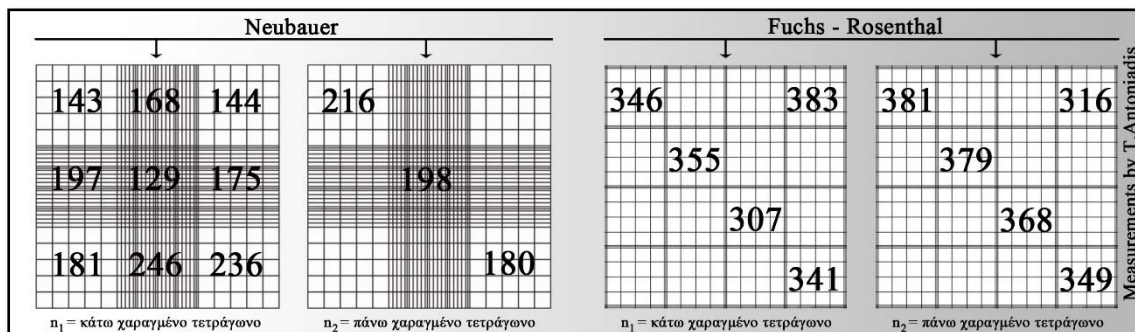
	κύτταρα / ml $\times 10^6$	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	4,234	1,284	1,083	1,042	1,044	0,992
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	3,3872	1,015	0,905	0,86	0,87	0,807
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	2,5404	0,832	0,752	0,734	0,747	0,685
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	1,6936	0,492	0,449	0,442	0,423	0,421
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	0,8468	0,275	0,252	0,25	0,248	0,239
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,4234	0,13	0,126	0,122	0,122	0,118

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.1.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Amphidinium carterae* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης)

3.2 *Asteromonas gracilis*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.2.1).



Εικόνα 3.2.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Asteromonas gracilis* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγματος) - 83 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{143+168+144+197+129+175+181+246+236}{9} = 179,88 \approx 180 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{216+198+180}{3} = 198$$

Επομένως $n = \frac{180+198}{2} \times 10^4 \times 1 \Leftrightarrow$

$$n = 1.890.000 \text{ κύτταρα/ml}$$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 346 + 355 + 307 + 341 + 383 = 1732 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 381 + 379 + 368 + 349 + 316 = 1793$$

Επομένως $n = \frac{1732+1793}{2} \times 10^3 \times 1 \Leftrightarrow$

$$n = 1.762.500 \text{ κύτταρα/ml}$$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

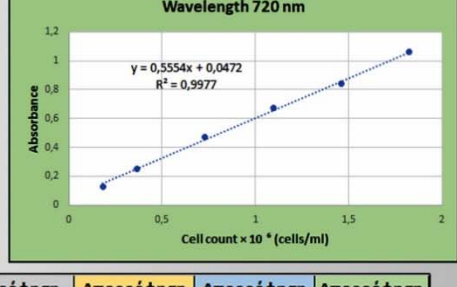
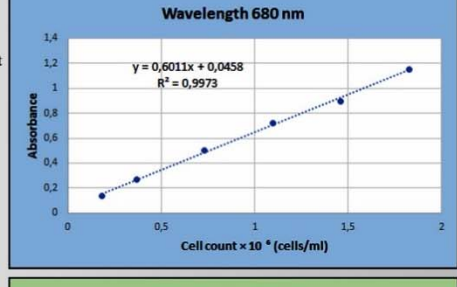
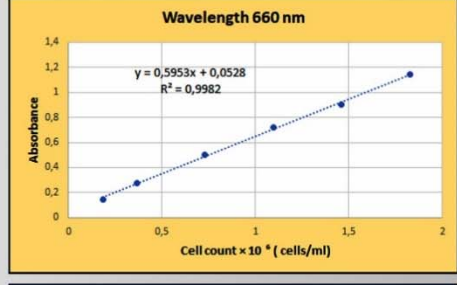
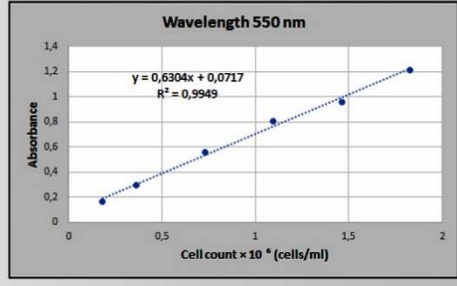
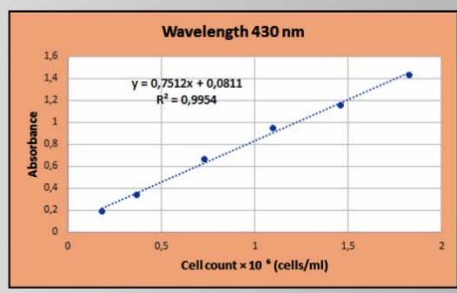
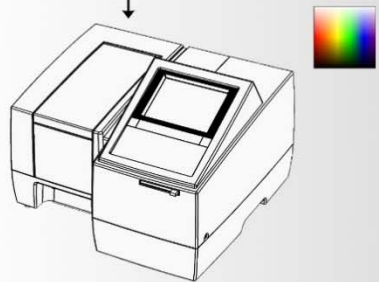
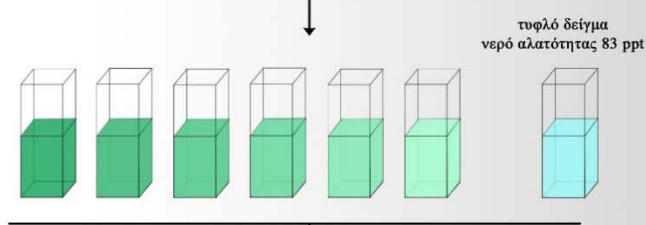
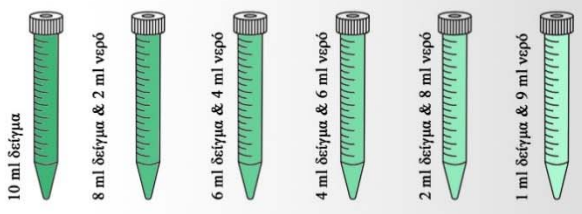
$$\bar{x} = \frac{1.890.000+1.762.500}{2} = 1.826.250 \text{ άρα}$$

$$n = 1.826.250 \text{ κύτταρα/ml}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Asteromonas gracilis*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.2.2).

Asteromonas gracilis

Ημερομηνία 06-02-2020 n = 1.826.250 cells/ml



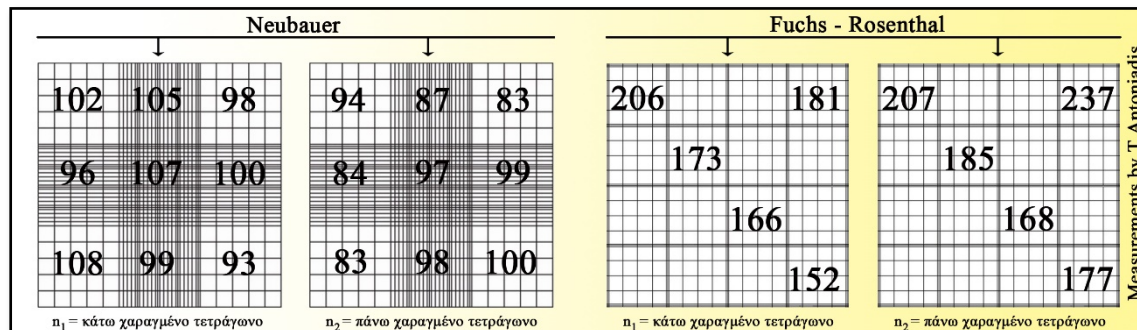
	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	1,82625	1,432	1,215	1,143	1,151	1,06
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	1,461	1,159	0,962	0,9	0,894	0,839
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	1,09575	0,95	0,806	0,72	0,72	0,675
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	0,7305	0,667	0,556	0,505	0,505	0,471
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	0,36525	0,339	0,299	0,274	0,271	0,253
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,182625	0,192	0,161	0,145	0,137	0,13

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.2.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Asteromonas gracilis* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης)

3.3 *Tetraselmis marina*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.3.1).



Εικόνα 3.3.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Tetraselmis marina* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ. Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 1 ml νερό) - 52 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{102+105+98+96+107+100+108+99+93}{9} = 100.88 \approx 101 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{94+87+83+84+97+99+83+98+100}{9} = 91.66 \approx 92$$

Επομένως $n = \frac{101 + 92}{2} \times 10^4 \times 2 \Leftrightarrow \boxed{n = 1.930.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 206 + 173 + 166 + 152 + 181 = 878 \quad (n_2 - n_1 \leq 10\%)$$

$$n_2 = 207 + 185 + 168 + 177 + 237 = 974$$

Επομένως $n = \frac{878+974}{2} \times 10^3 \times 2 \Leftrightarrow \boxed{n = 1.852.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

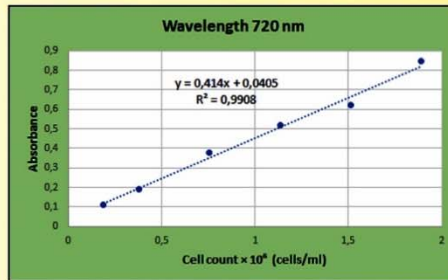
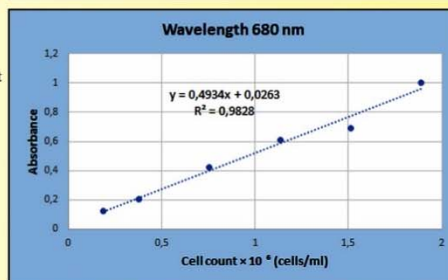
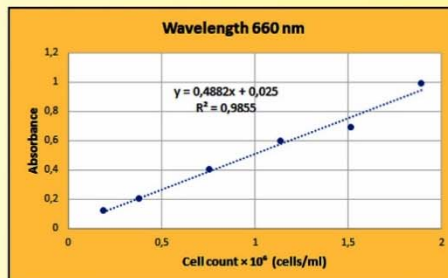
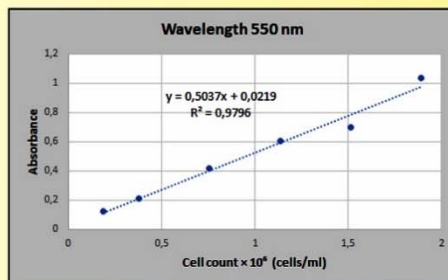
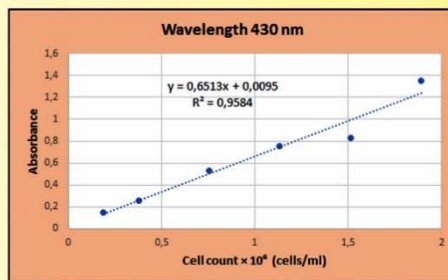
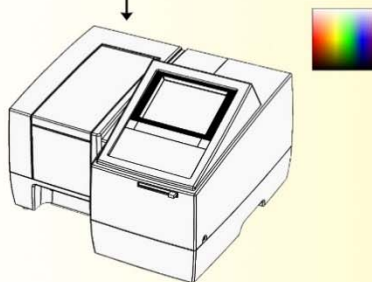
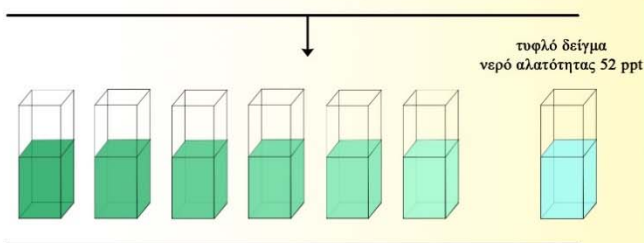
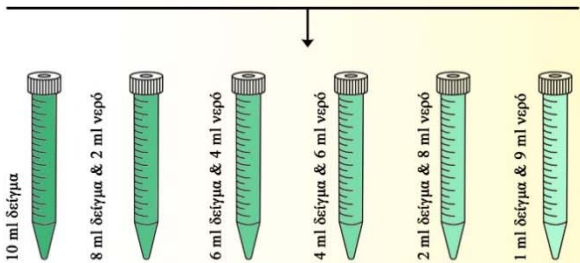
Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

$$\bar{x} = \frac{1.930.000+1.852.000}{2} = 1.891.000 \text{ άρα } \boxed{n = 1.891.000 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Tetraselmis marina*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.3.2).

Tetraselmis marina

Ημερομηνία 07-02-2020 n = 1.891.000 cells/ml



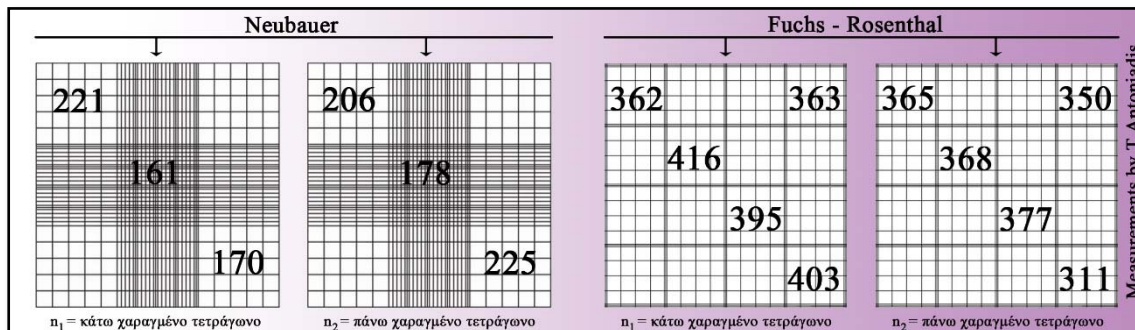
	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	1,891	1,355	1,033	0,99	1,001	0,845
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	1,5128	0,833	0,696	0,691	0,693	0,621
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	1,1346	0,755	0,603	0,6	0,612	0,521
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	0,7564	0,527	0,416	0,405	0,42	0,38
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	0,3782	0,256	0,212	0,204	0,204	0,191
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,1891	0,149	0,124	0,122	0,12	0,112

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.3.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου Tetraselmis marina (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.4 *Isochrysis galbana*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.4.1).



Εικόνα 3.4.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Isochrysis galbana* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ. Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 9 ml νερό) - 51 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{221+161+170}{3} = 184 \quad , \quad n_2 = \frac{206+178+225}{3} = 203 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

Επομένως $n = \frac{184 + 203}{2} \times 10^4 \times 10 \Leftrightarrow n = 19.350.000 \text{ κύτταρα/ml}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 362 + 416 + 395 + 403 + 363 = 1939 \quad (n_1 - n_2 \leq 10\%)$$

$$n_2 = 365 + 368 + 377 + 311 + 350 = 1771$$

Επομένως $n = \frac{1939+1771}{2} \times 10^3 \times 10 \Leftrightarrow n = 18.550.000 \text{ κύτταρα/ml}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

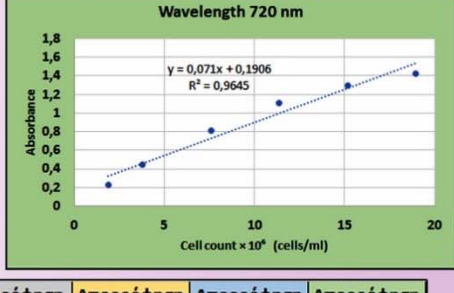
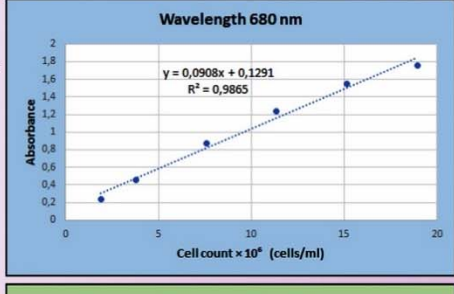
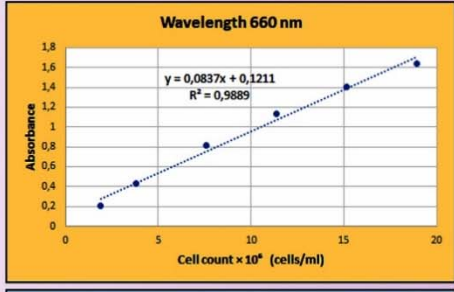
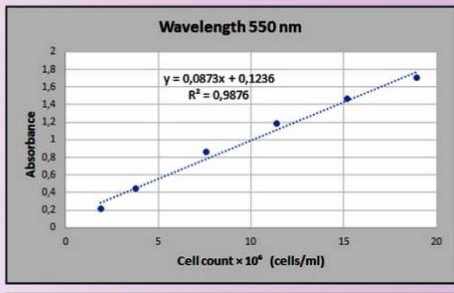
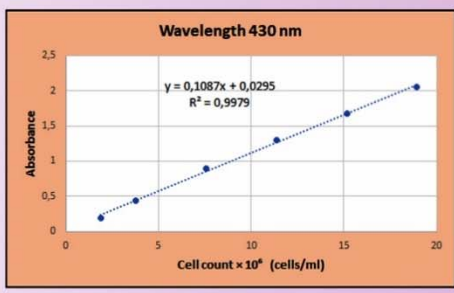
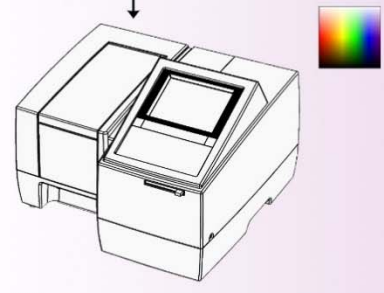
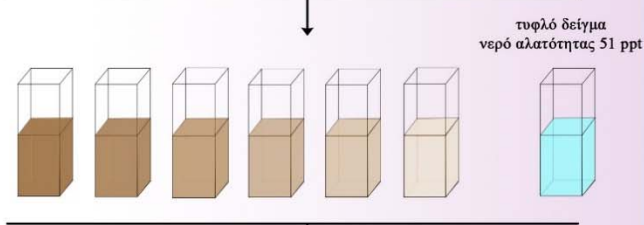
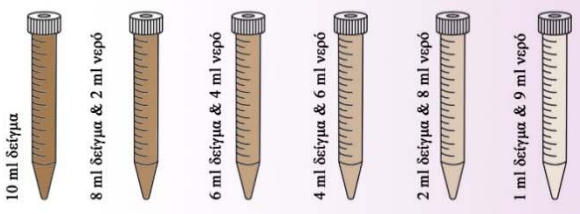
Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

$$\bar{x} = \frac{19.350.000+18.550.000}{2} = 18.950.000 \text{ άρα } n = 18.950.000 \text{ κύτταρα/ml}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Isochrysis galbana*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.4.2).

Isochrysis galbana

Ημερομηνία 11-02-2020 n = 18.950.000 cells/ml



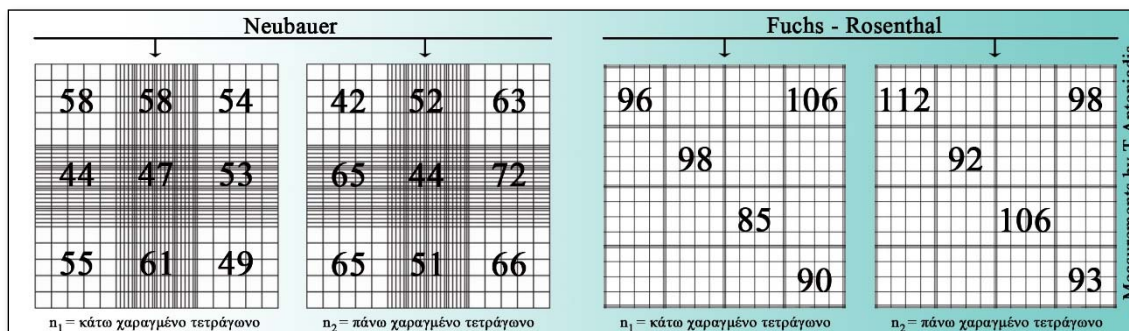
	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	18,95	2,056	1,704	1,642	1,757	1,427
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	15,16	1,68	1,463	1,404	1,55	1,298
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	11,37	1,303	1,181	1,135	1,238	1,108
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	7,58	0,891	0,859	0,819	0,874	0,808
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	3,79	0,438	0,445	0,435	0,46	0,445
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	1,895	0,197	0,215	0,21	0,232	0,23

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.4.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Isochrysis galbana* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.5 *Rhodomonas salina*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.5.1).



Εικόνα 3.5.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Rhodomonas salina* στα αιμοκυττόμετρα (σχήμα Θ.Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 9 ml νερό) - 37 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{58+58+54+44+47+53+55+61+49}{9} = 53,22 \approx 53 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{42+52+63+65+44+72+65+51+66}{9} = 57,77 \approx 58$$

Επομένως $n = \frac{53+58}{2} \times 10^4 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 5.550.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 96 + 98 + 85 + 90 + 106 = 475 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 112 + 92 + 106 + 93 + 98 = 501$$

Επομένως $n = \frac{475+501}{2} \times 10^3 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 4.880.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

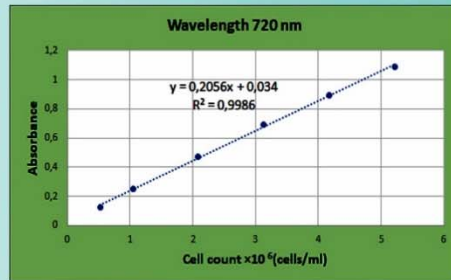
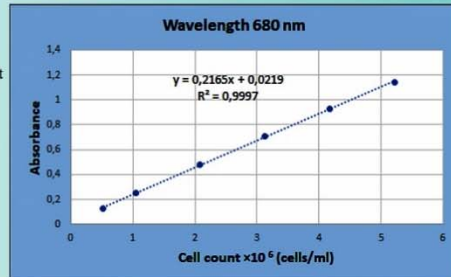
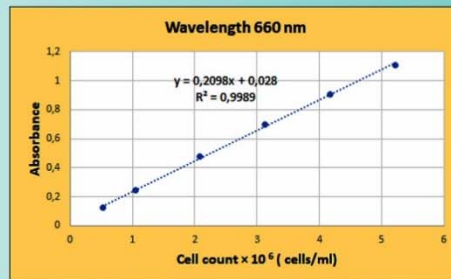
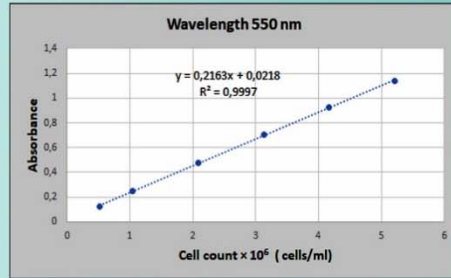
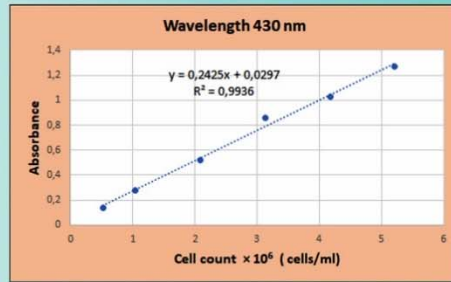
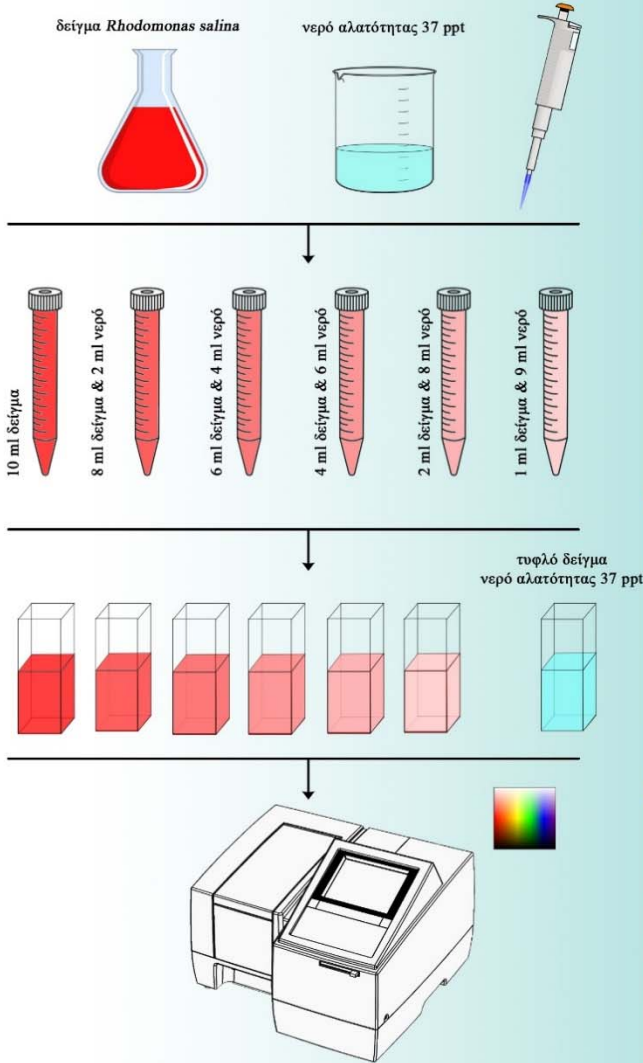
$$\bar{x} = \frac{5.550.000+4.880.000}{2} = 5.215.000 \text{ άρα } \boxed{n = 5.215.000 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Rhodomonas salina*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.5.2).

Rhodomonas salina

Ημερομηνία 17-02-2020

n = 5.215.000 cells/ml



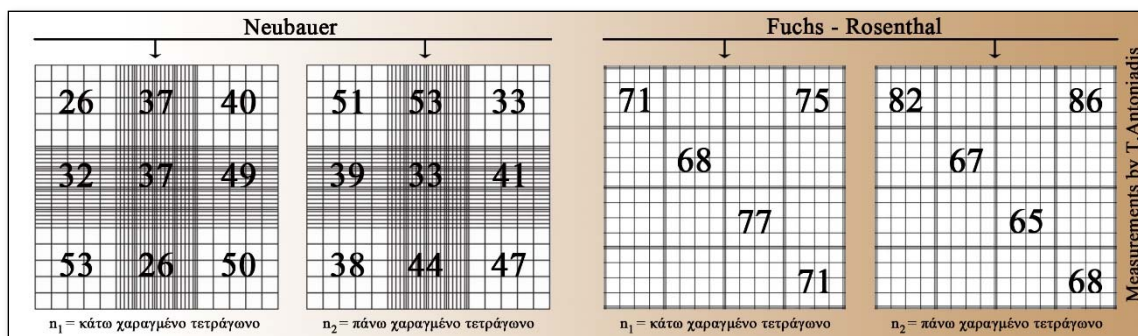
	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	5,215	1,272	1,142	1,107	1,145	1,09
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	4,172	1,027	0,927	0,907	0,925	0,896
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	3,129	0,86	0,706	0,701	0,706	0,694
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	2,086	0,519	0,478	0,476	0,481	0,474
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	1,043	0,279	0,248	0,245	0,25	0,249
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,5215	0,142	0,127	0,124	0,125	0,125

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

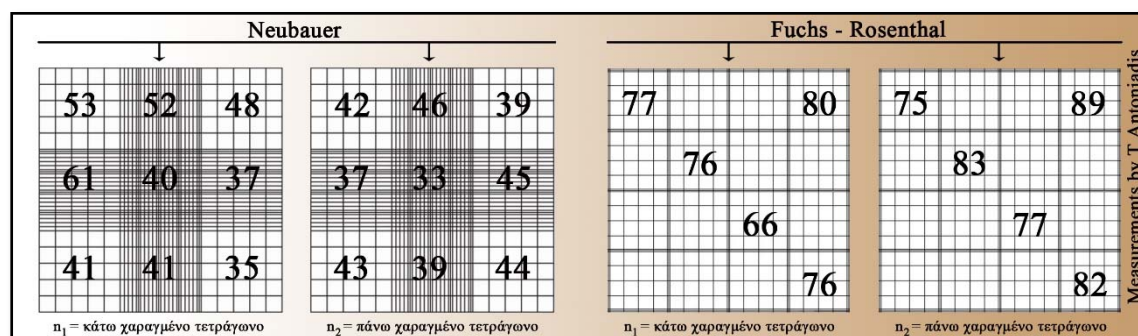
Εικόνα 3.5.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Rhodomonas salina* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.6 *Tetraselmis suecica*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε σε 2 μετρήσεις με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.6.1 & 3.6.2).



Εικόνα 3.6.1 : Σχηματική απεικόνιση 1^{ης} μέτρησης των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).



Εικόνα 3.6.2 : Σχηματική απεικόνιση 2^{ης} μέτρησης των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

1^η Μέτρηση

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 9 ml νερό) - 37 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{26+37+40+32+37+49+53+26+50}{9} = 38,88 \approx 39 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{51+53+33+39+33+41+38+44+47}{9} = 42,11 \approx 42$$

Επομένως $n = \frac{39+42}{2} \times 10^4 \times 10 \Leftrightarrow$

$n = 4.050.000 \text{ κύτταρα/ml}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 71+68+77+71+75 = 362 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 82+67+65+68+86 = 368$$

$$\text{Επομένως} \quad n = \frac{362+368}{2} \times 10^3 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 3.650.000 \text{ κύτταρα/ml}}$$

2^η Μέτρηση

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 9 ml νερό) - 37 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{53+52+48+61+40+37+41+41+35}{9} = 45,33 \approx 45 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{42+46+39+37+33+45+43+39+44}{9} = 40,88 \approx 41$$

$$\text{Επομένως} \quad n = \frac{45 + 41}{2} \times 10^4 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 4.300.000 \text{ κύτταρα/ml}}$$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 77+76+66+76+80 = 375 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 75+83+77+82+89 = 406$$

$$\text{Επομένως} \quad n = \frac{375+406}{2} \times 10^3 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 3.905.000 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων και στις 2 μετρήσεις ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

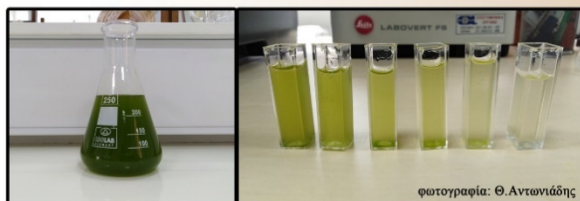
$$\bar{x} = \frac{4.050.000+3.650.000+4.300.000+3.905.000}{4} = 3.976.250 \text{ άρα} \quad \boxed{n = 3.976.250 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* (Εικόνα 3.6.4), στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.6.3).

Tetraselmis suecica

Ημερομηνία: 19-02-2020

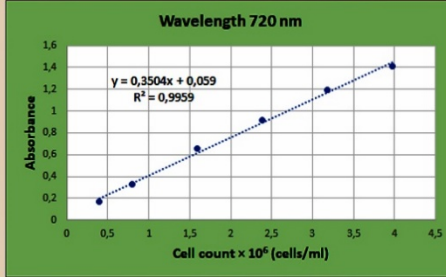
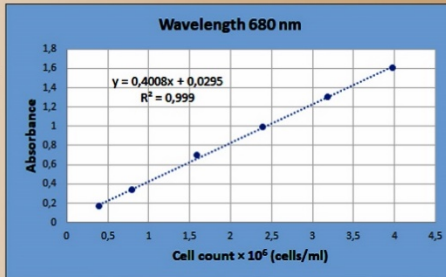
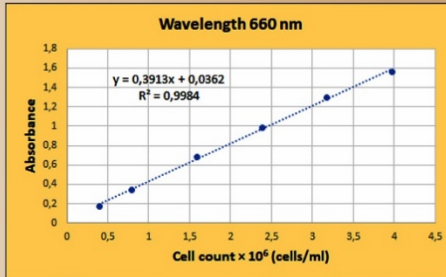
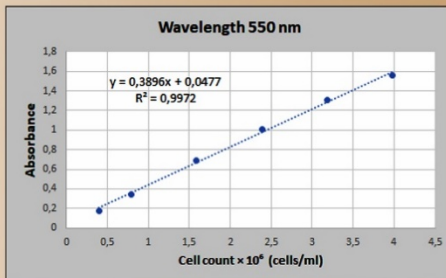
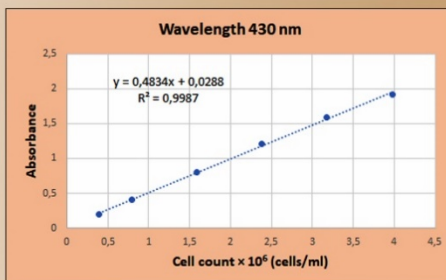
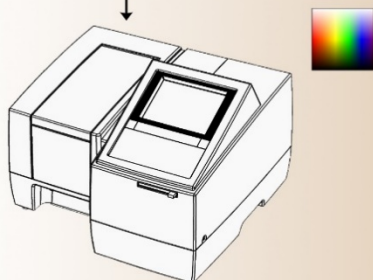
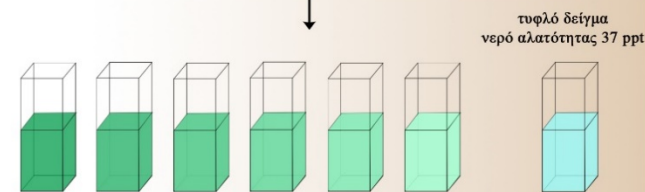
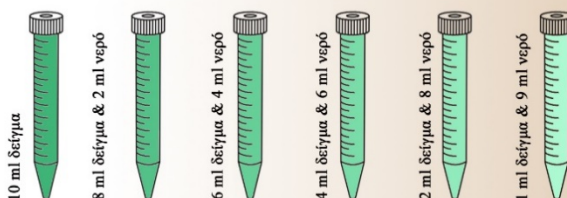
n = 3.976.250 cells/ml



φωτογραφία: Θ. Αντωνιάδης

δείγμα *Tetraselmis suecica*

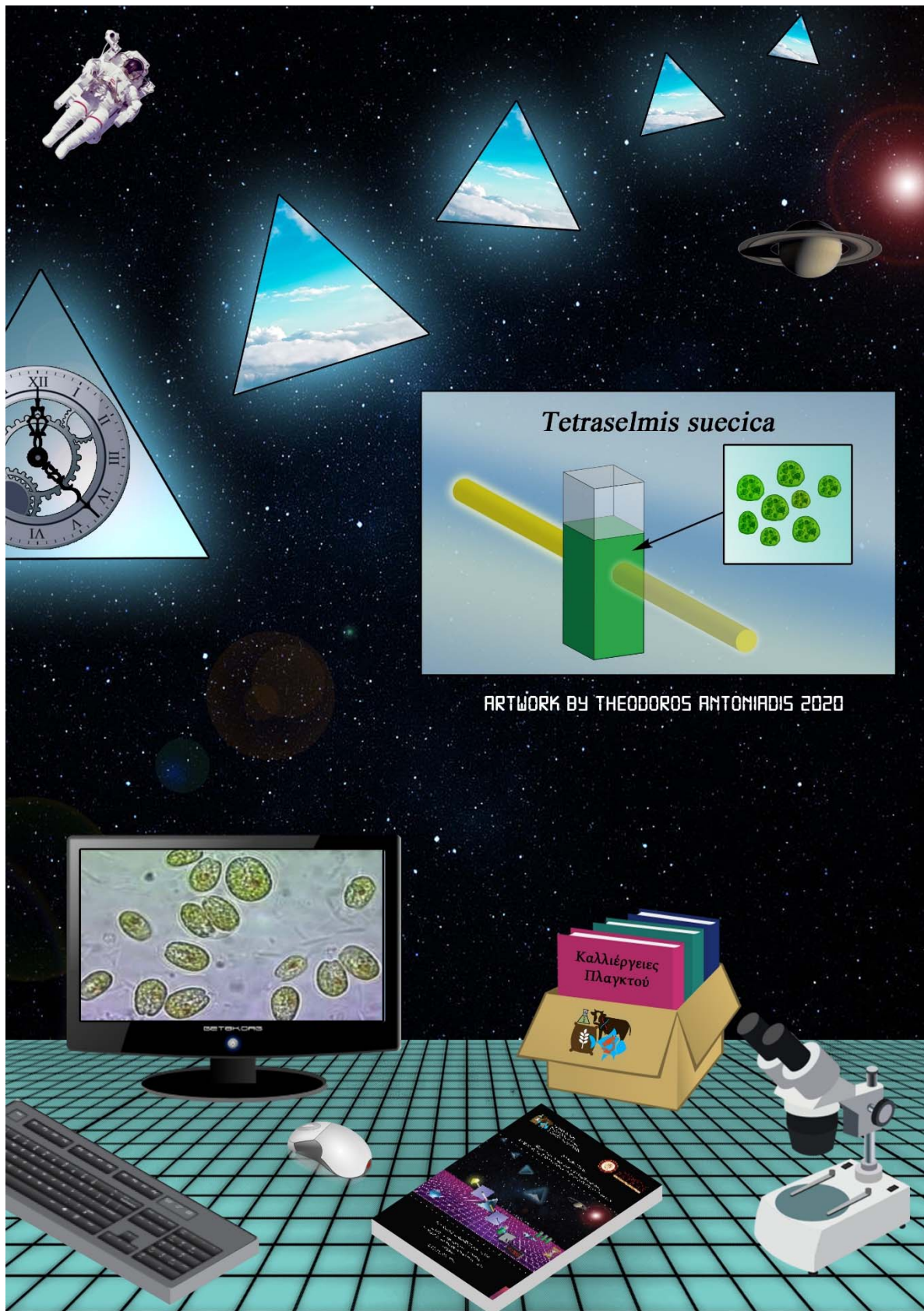
νερό αλατότητας 37 ppt



	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	3,97625	1,917	1,559	1,563	1,608	1,414
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	3,181	1,585	1,303	1,297	1,306	1,193
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	2,38575	1,215	1,012	0,988	0,995	0,915
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	1,5905	0,802	0,69	0,681	0,696	0,654
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	0,79525	0,409	0,347	0,341	0,344	0,332
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,397625	0,203	0,178	0,171	0,169	0,165

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

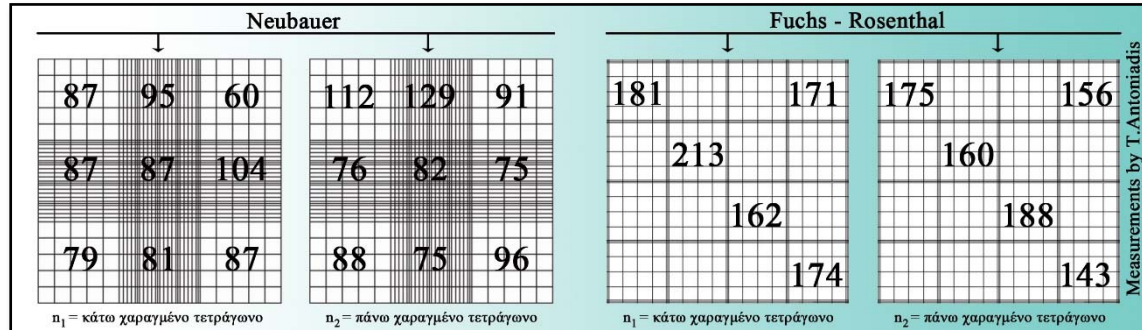
Εικόνα 3.6.3 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).



Εικόνα 3.6.4 : Φαντασική απεικόνιση του μικροφύκου *Tetraselmis suecica* κάπου στον χρόνο. (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.7 *Dunaliella salina*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.7.1).



Εικόνα 3.7.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Dunaliella salina* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 9 ml νερό) - 52 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{87+95+60+87+87+104+79+81+87}{9} = 85,22 \approx 85 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{112+129+91+76+82+75+88+75+96}{9} = 91,55 \approx 92$$

Επομένως $n = \frac{85+92}{2} \times 10^4 \times 10 \Leftrightarrow n = 8.850.000 \text{ κύτταρα/ml}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 181+213+162+174+171 = 901 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

$$n_2 = 175+160+188+143+156 = 822$$

Επομένως $n = \frac{901+822}{2} \times 10^3 \times 10 \Leftrightarrow n = 8.615.000 \text{ κύτταρα/ml}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

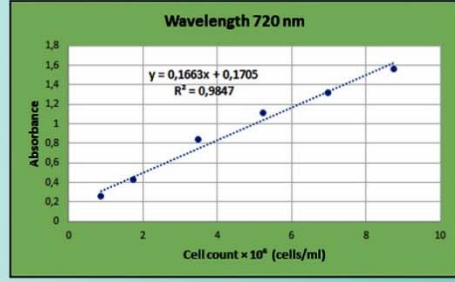
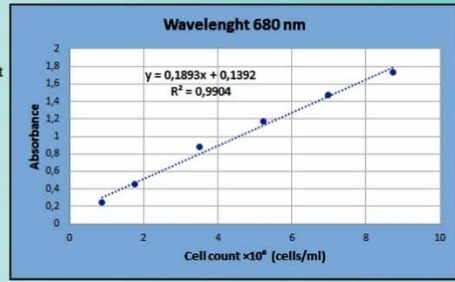
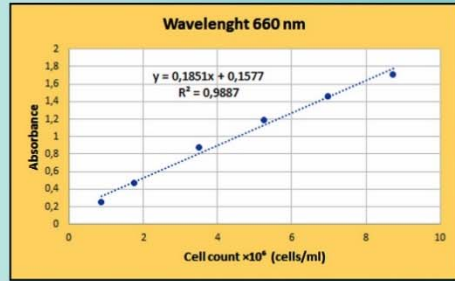
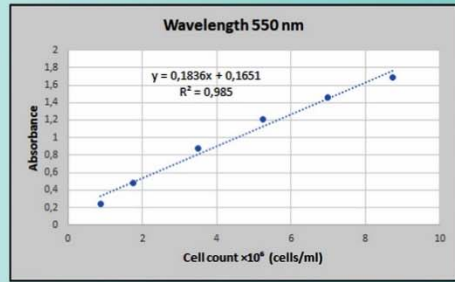
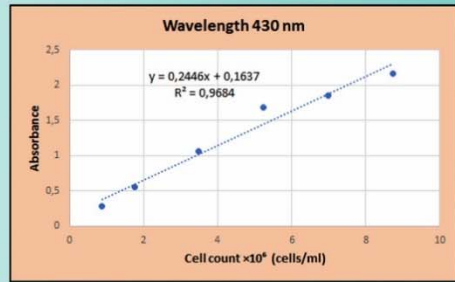
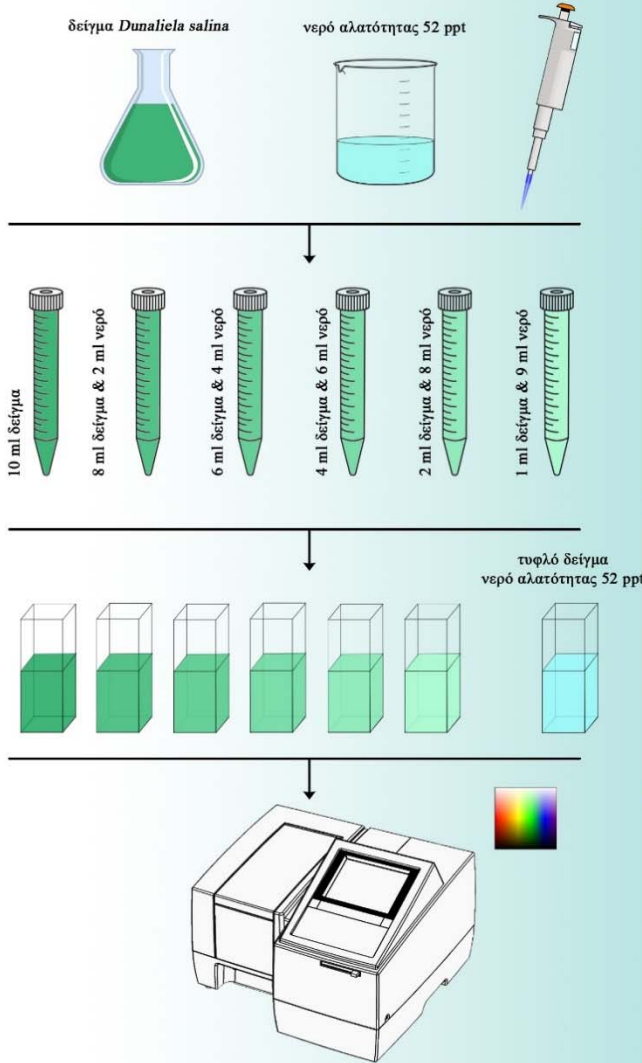
$$\bar{x} = \frac{8.850.000+8.615.000}{2} = 8.732.500 \text{ άρα } n = 8.732.500 \text{ κύτταρα/ml}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Dunaliella salina*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.7.2).

Dunaliella salina

Ημερομηνία: 21-02-20

n = 8.732.500 cells/ml



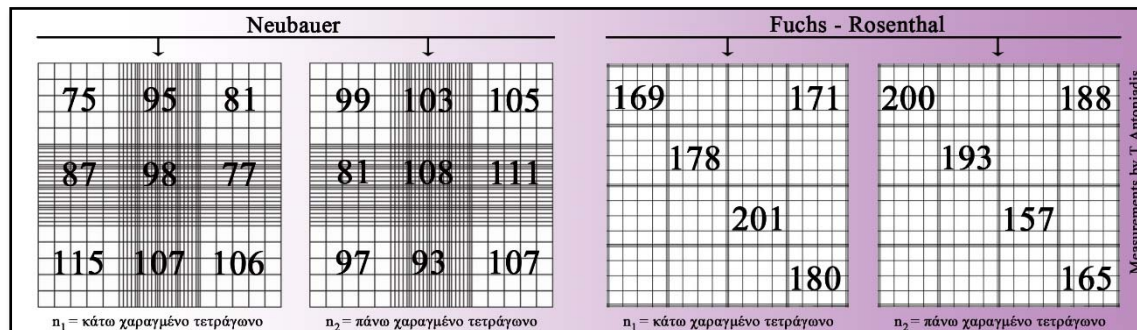
	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	8,7325	2,166	1,692	1,71	1,737	1,567
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	6,986	1,858	1,458	1,459	1,47	1,322
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	5,2395	1,691	1,209	1,19	1,171	1,109
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	3,493	1,056	0,875	0,877	0,885	0,84
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	1,7465	0,549	0,481	0,47	0,457	0,427
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,87325	0,283	0,245	0,251	0,24	0,259

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.7.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Dunaliella salina* (Εκ. Θ.Αντωνιάδης).

3.8 *Isochrysis galbana*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.8.1).



Εικόνα 3.8.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Isochrysis galbana* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα: 29 ml νερό) - 51 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{87+95+81+87+98+77+115+107+106}{9} = 94,77 \approx 95 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{99+103+105+81+108+111+97+93+107}{9} = 100,44 \approx 100$$

Επομένως $n = \frac{95 + 100}{2} \times 10^4 \times 30 \Leftrightarrow \boxed{n = 29.250.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 169+178+201+180+171 = 899 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 200+193+157+165+188 = 903$$

Επομένως $n = \frac{899+903}{2} \times 10^3 \times 30 \Leftrightarrow \boxed{n = 27.030.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

$$\bar{x} = \frac{29.250.000+27.030.000}{2} = 28.140.000 \text{ άρα } \boxed{n = 28.140.000 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Isochrysis galbana*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.8.2).

Isochrysis galbana

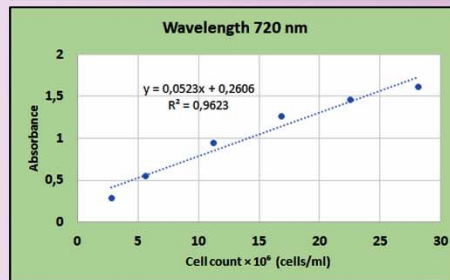
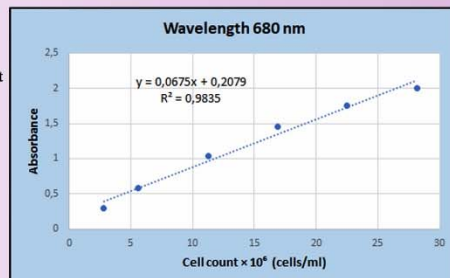
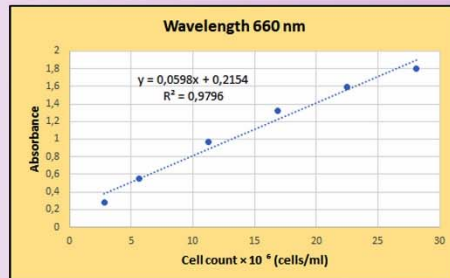
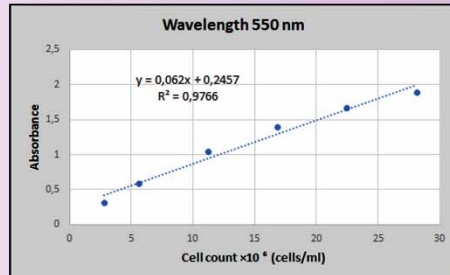
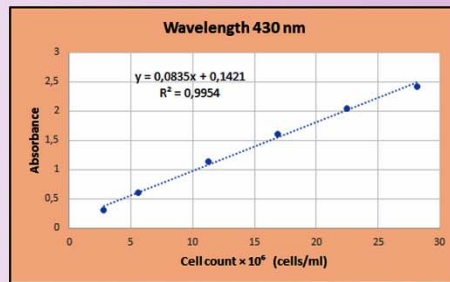
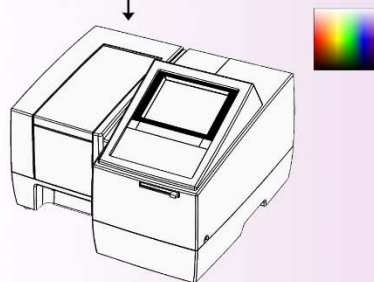
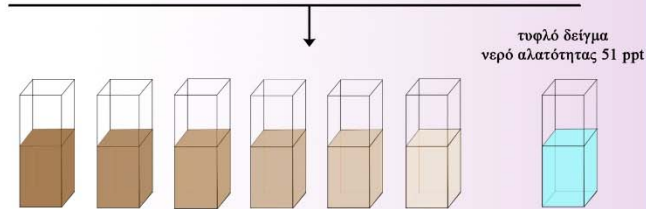
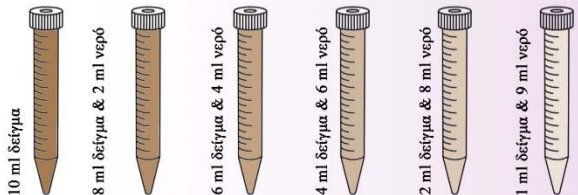
Ημερομηνία: 28-02-20

n = 28.140.000 cells/ml



δείγμα *Isochrysis galbana*

νερό αλατότητας 51 ppt



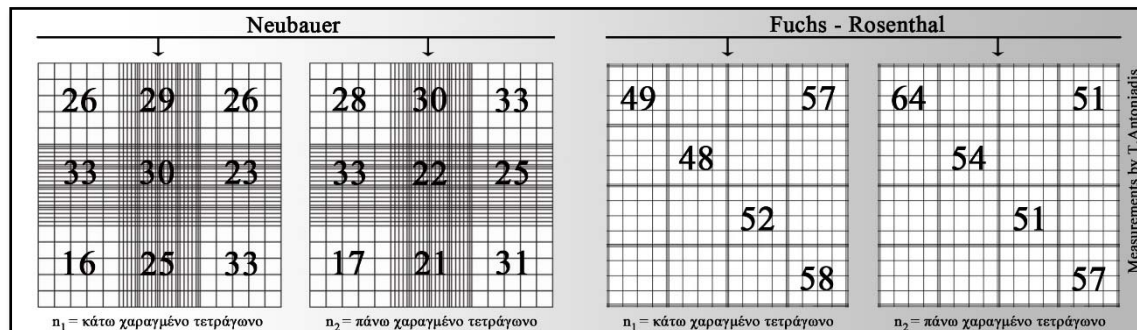
	κύτταρα / ml x 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	28,14	2,422	1,88	1,796	2,004	1,616
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	22,512	2,045	1,67	1,59	1,757	1,464
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	16,884	1,61	1,394	1,32	1,451	1,264
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	11,256	1,135	1,041	0,965	1,041	0,945
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	5,628	0,606	0,584	0,55	0,582	0,55
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	2,814	0,315	0,313	0,285	0,302	0,29

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.8.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Isochrysis galbana* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.9 *Asteromonas gracilis*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.9.1).



Εικόνα 3.9.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Asteromonas gracilis* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ. Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα : 9 ml νερό) - 83 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{26+29+26+33+30+23+16+25+33}{9} = 26,77 \approx 27$$

$$n_2 = \frac{28+30+33+33+22+25+17+21+31}{9} = 26,66 \approx 27$$

Επομένως $n = \frac{27+27}{2} \times 10^4 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 2.700.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 49+48+52+58+57 = 264 \quad (n_2 - n_1 < 10\%)$$

$$n_2 = 64+54+51+57+51 = 277$$

Επομένως $n = \frac{264+277}{2} \times 10^3 \times 10 \Leftrightarrow \boxed{n = 2.705.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

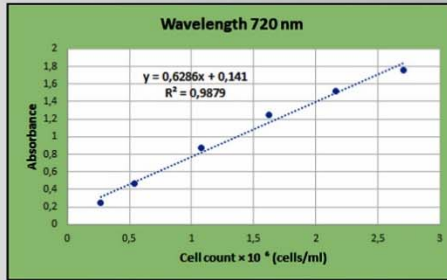
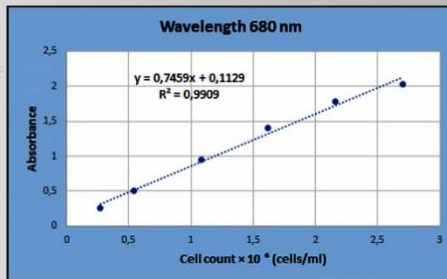
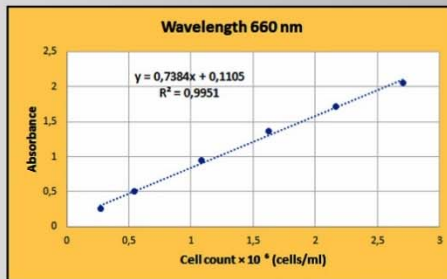
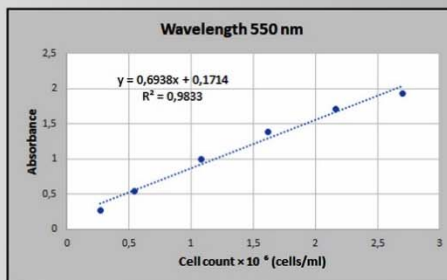
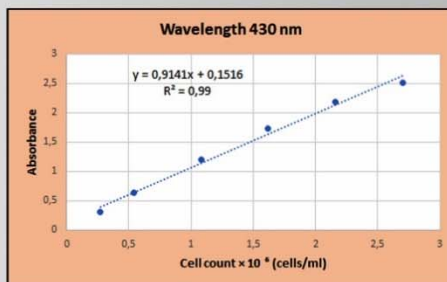
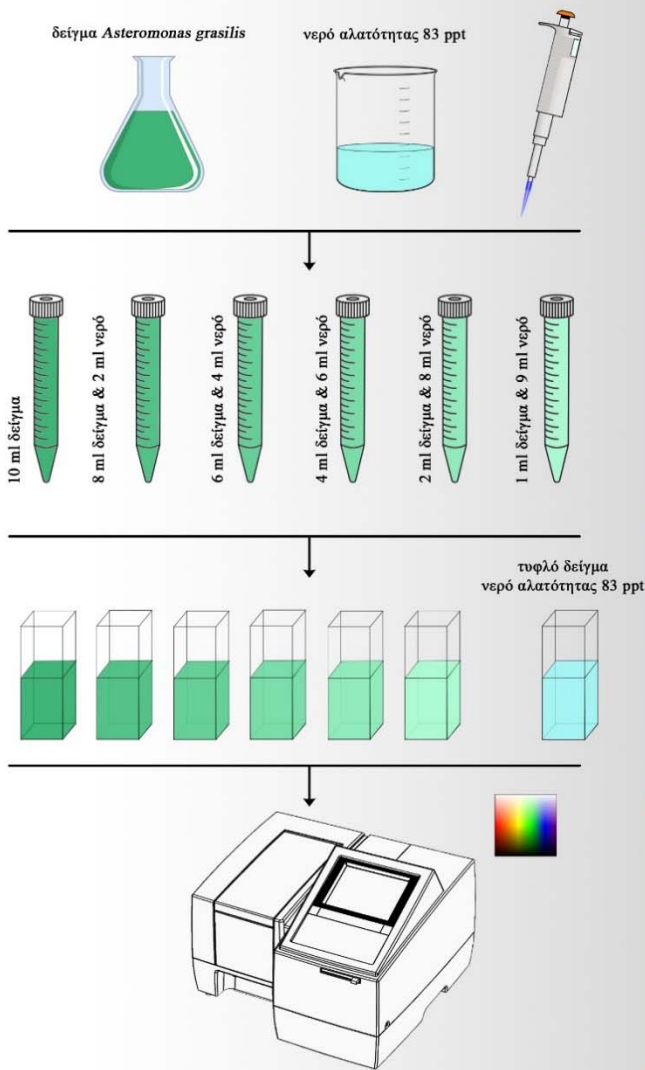
Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

$$\bar{x} = \frac{2.700.000+2.705.000}{2} = 2.702.500 \text{ άρα } \boxed{n = 2.702.500 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Asteromonas gracilis*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.9.2).

Asteromonas gracilis

Ημερομηνία: 28-02-2020 n = 2.702.500 cells/ml



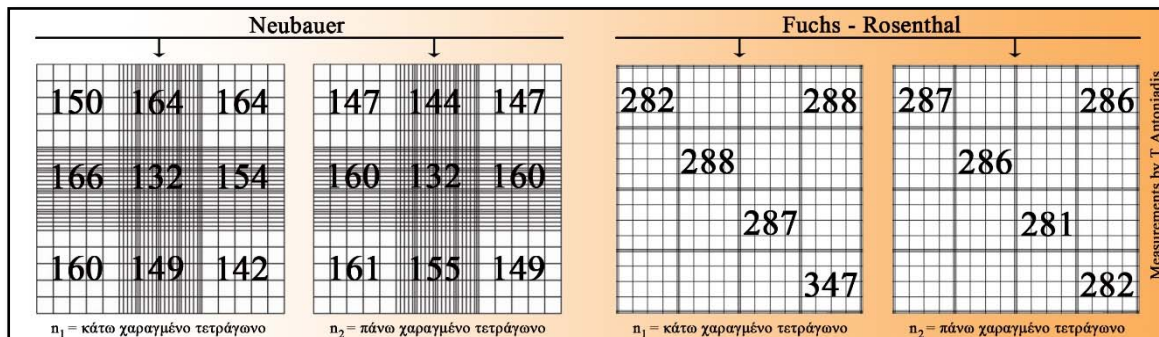
	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	2,7025	2,505	1,937	2,048	2,034	1,76
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	2,162	2,185	1,715	1,721	1,78	1,521
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	1,6215	1,733	1,393	1,368	1,399	1,245
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	1,081	1,194	0,99	0,952	0,953	0,873
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	0,5405	0,641	0,538	0,502	0,506	0,47
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	0,27025	0,31	0,268	0,258	0,255	0,243

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.9.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Asteromonas gracilis* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.10 *Nephroselmis sp.*

Ο Προσδιορισμός του αριθμού των κυττάρων πραγματοποιήθηκε με την χρήση αιμοκυττόμετρου τύπου Neubauer & τύπου Fuchs – Rosenthal (Εικόνα 3.10.1).



Εικόνα 3.10.1 : Σχηματική απεικόνιση των αριθμών των κυττάρων του μικροφύκου *Nephroselmis sp.* στα αιμοκυττόμετρα (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

Καταμέτρηση του αριθμού των κυττάρων.

(1 ml δείγμα : 44 ml νερό) - 51 ppt

1) Neubauer

$$n_1 = \frac{150+164+164+166+132+154+160+149+142}{9} = 153,44 \approx 153 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

$$n_2 = \frac{147+144+147+160+132+160+161+155+149}{9} = 150,5 \approx 151$$

Επομένως $n = \frac{153+151}{2} \times 10^4 \times 45 \Leftrightarrow \boxed{n = 68.400.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

2) Fuchs – Rosenthal

$$n_1 = 282+288+287+347+288 = 1492 \quad (n_1 - n_2 < 10\%)$$

$$n_2 = 287+286+281+282+286 = 1422$$

Επομένως $n = \frac{1492+1422}{2} \times 10^3 \times 45 \Leftrightarrow \boxed{n = 65.565.000 \text{ κύτταρα/ml}}$

Παρατηρήσαμε ότι τα αποτελέσματα των δύο αιμοκυττόμετρων ήταν πολύ κοντά. Αυτό δηλώνει τη σωστή καταμέτρηση των κυττάρων.

Υπολογισμός της μέσης τιμής του αριθμού των κυττάρων.

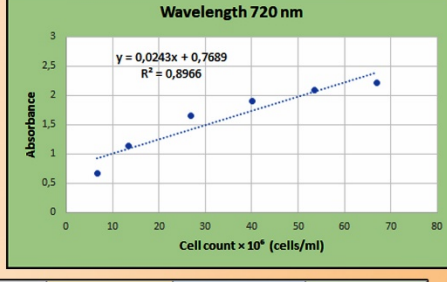
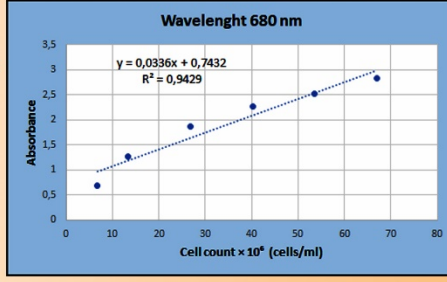
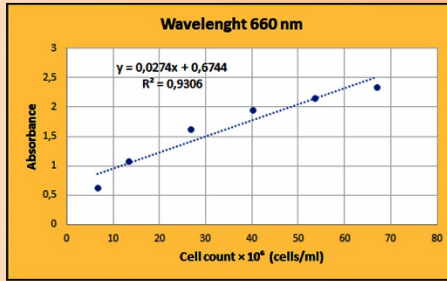
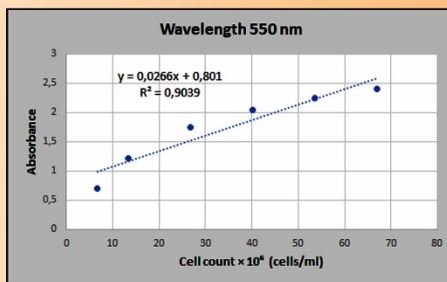
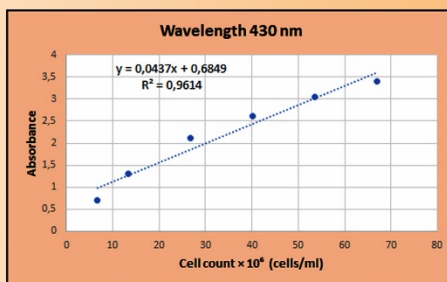
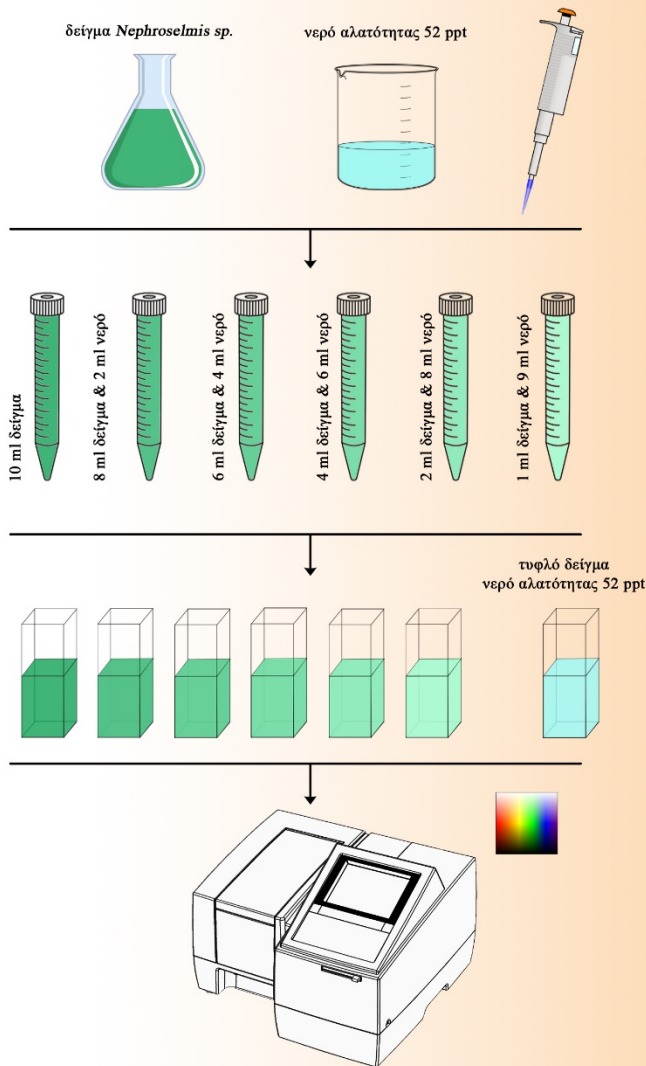
$$\bar{x} = \frac{68.400.000+65.565.000}{2} = 66.982.500 \text{ άρα } \boxed{n = 66.982.500 \text{ κύτταρα/ml}}$$

Στο φασματοφωτόμετρο UV mini-1240 μετρήθηκαν οι απορροφήσεις του μικροφύκου *Nephroselmis sp.*, στις αντίστοιχες αραιώσεις και στα επιλεγμένα μήκη κύματος, για να προκύψουν οι καμπύλες βαθμονόμησης (Εικόνα 3.10.2).

Nephroselmis sp.

Ημερομηνία: 03-03-2020

n = 66.982.500 (cells/ml)



	κύτταρα / ml × 10 ⁶	Απορρόφηση 430 nm	Απορρόφηση 550 nm	Απορρόφηση 660 nm	Απορρόφηση 680 nm	Απορρόφηση 720 nm
10 ml δείγματος	66,9825	3,415	2,394	2,342	2,828	2,217
8 ml δείγματος & 2 ml νερού	53,586	3,048	2,246	2,15	2,528	2,088
6 ml δείγματος & 4 ml νερού	40,1895	2,61	2,04	1,938	2,267	1,901
4 ml δείγματος & 6 ml νερού	26,793	2,107	1,752	1,616	1,86	1,658
2 ml δείγματος & 8 ml νερού	13,3965	1,305	1,213	1,066	1,26	1,136
1 ml δείγματος & 9 ml νερού	6,69825	0,7	0,694	0,624	0,69	0,665

Measurements, Art & Illustration by Theodoros Antoniadis 2020

Εικόνα 3.10.2 : Σχηματική απεικόνιση αραιώσεων, μετρήσεων απορρόφησης & καμπύλων βαθμονόμησης του μικροφύκου *Nephroselmis sp.* (Εικ. Θ.Αντωνιάδης).

3.11 Εξισώσεις Γραμμικής Παλινδρόμησης

Οι εξισώσεις της γραμμικής παλινδρόμησης που προέκυψαν για κάθε φύκος στο εκάστοτε χρησιμοποιούμενο μήκος κύματος με Y = απορρόφηση (absorbance) σε αυθαίρετες μονάδες και X = πυκνότητα κυττάρων φυτοπλαγκτού σε κύτταρα/ml είναι οι παρακάτω. Για την κάθε εξίσωση δίδεται και ο συντελεστής συσχέτισης (R υψωμένος στο τετράγωνο ως R^2) των μεταβλητών (Y & X) ο οποίος μαρτυρά την ένταση της συσχέτισης μεταξύ των.

Amphidinium cartarea – 05/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,3024x + 0,0098$	$R^2 = 0,9956$
550 nm	$y=0,2554X + 0,0358$	$R^2 = 0,9911$
660 nm	$y= 0,2434X + 0,0426$	$R^2 = 0,9892$
680 nm	$y= 0,2464X + 0,0367$	$R^2 = 0,9855$
720 nm	$y= 0,2295X + 0,0415$	$R^2 = 0,9818$

Πίνακας 3.11.1 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Amphidinium carterae*.

Asteromonas gracilis – 06/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,7512x + 0,0811$	$R^2 = 0,9954$
550 nm	$y=0,6304X + 0,0717$	$R^2 = 0,9949$
660 nm	$y= 0,5953X + 0,0528$	$R^2 = 0,9982$
680 nm	$y= 0,6011X + 0,0458$	$R^2 = 0,9973$
720 nm	$y= 0,5554X + 0,0472$	$R^2 = 0,9977$

Πίνακας 3.11.2 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Asteromonas gracilis*.

Tetraselmis marina – 07/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,6513x + 0,0095$	$R^2 = 0,9584$
550 nm	$y=0,5037X + 0,0219$	$R^2 = 0,9796$
660 nm	$y= 0,4882X + 0,025$	$R^2 = 0,9855$
680 nm	$y= 0,4934X + 0,0263$	$R^2 = 0,9828$
720 nm	$y= 0,414X + 0,0405$	$R^2 = 0,9908$

Πίνακας 3.11.3 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Tetraselmis marina*.

IsochrYSIS galbana – 11/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,1087x + 0,0295$	$R^2 = 0,9979$
550 nm	$y=0,0873X + 0,1236$	$R^2 = 0,9876$
660 nm	$y= 0,0837X + 0,1211$	$R^2 = 0,9889$
680 nm	$y= 0,0908X + 0,1291$	$R^2 = 0,9865$
720 nm	$y= 0,071X + 0,1906$	$R^2 = 0,9645$

Πίνακας 3.11.4 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *IsochrYSIS galbana*.

Rhodomonas salina – 17/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,2425x + 0,0297$	$R^2 = 0,9936$
550 nm	$y=0,2136X + 0,0218$	$R^2 = 0,9997$
660 nm	$y= 0,2098X + 0,028$	$R^2 = 0,9989$
680 nm	$y= 0,2165X + 0,0219$	$R^2 = 0,9997$
720 nm	$y= 0,2056X + 0,034$	$R^2 = 0,9986$

Πίνακας 3.11.5 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Rhodomonas salina*.

Tetraselmis suecica – 19/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,4834x + 0,0288$	$R^2 = 0,9987$
550 nm	$y=0,3896X + 0,0477$	$R^2 = 0,9972$
660 nm	$y= 0,3913X + 0,0362$	$R^2 = 0,9984$
680 nm	$y= 0,4008X + 0,0295$	$R^2 = 0,999$
720 nm	$y= 0,3504X + 0,059$	$R^2 = 0,9959$

Πίνακας 3.11.6 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Tetraselmis suecica*.

Dunaliella salina – 21/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,2446x + 0,1637$	$R^2 = 0,9684$
550 nm	$y=0,1836X + 0,1651$	$R^2 = 0,9850$
660 nm	$y= 0,1851X + 0,1577$	$R^2 = 0,9887$
680 nm	$y= 0,1893X + 0,1392$	$R^2 = 0,9904$
720 nm	$y= 0,1663X + 0,1705$	$R^2 = 0,9847$

Πίνακας 3.11.7 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Dunaliella salina*.

Isochrysis galbana – 28/02/20

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,0835x + 0,1421$	$R^2 = 0,9954$
550 nm	$y=0,062X + 0,2457$	$R^2 = 0,9766$
660 nm	$y=0,0598X + 0,2154$	$R^2 = 0,9796$
680 nm	$y=0,0675X + 0,2079$	$R^2 = 0,9835$
720 nm	$y=0,0523X + 0,2606$	$R^2 = 0,9623$

Πίνακας 3.11.8 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Isochrysis galbana*.

Asteromonas gracilis – 28/02/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,9141x + 0,1516$	$R^2 = 0,99$
550 nm	$y=0,6938X + 0,1714$	$R^2 = 0,9833$
660 nm	$y=0,7384X + 0,1105$	$R^2 = 0,9951$
680 nm	$y=0,7459X + 0,1129$	$R^2 = 0,9909$
720 nm	$y=0,6286X + 0,141$	$R^2 = 0,9879$

Πίνακας 3.11.9 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Asteromonas gracilis*.

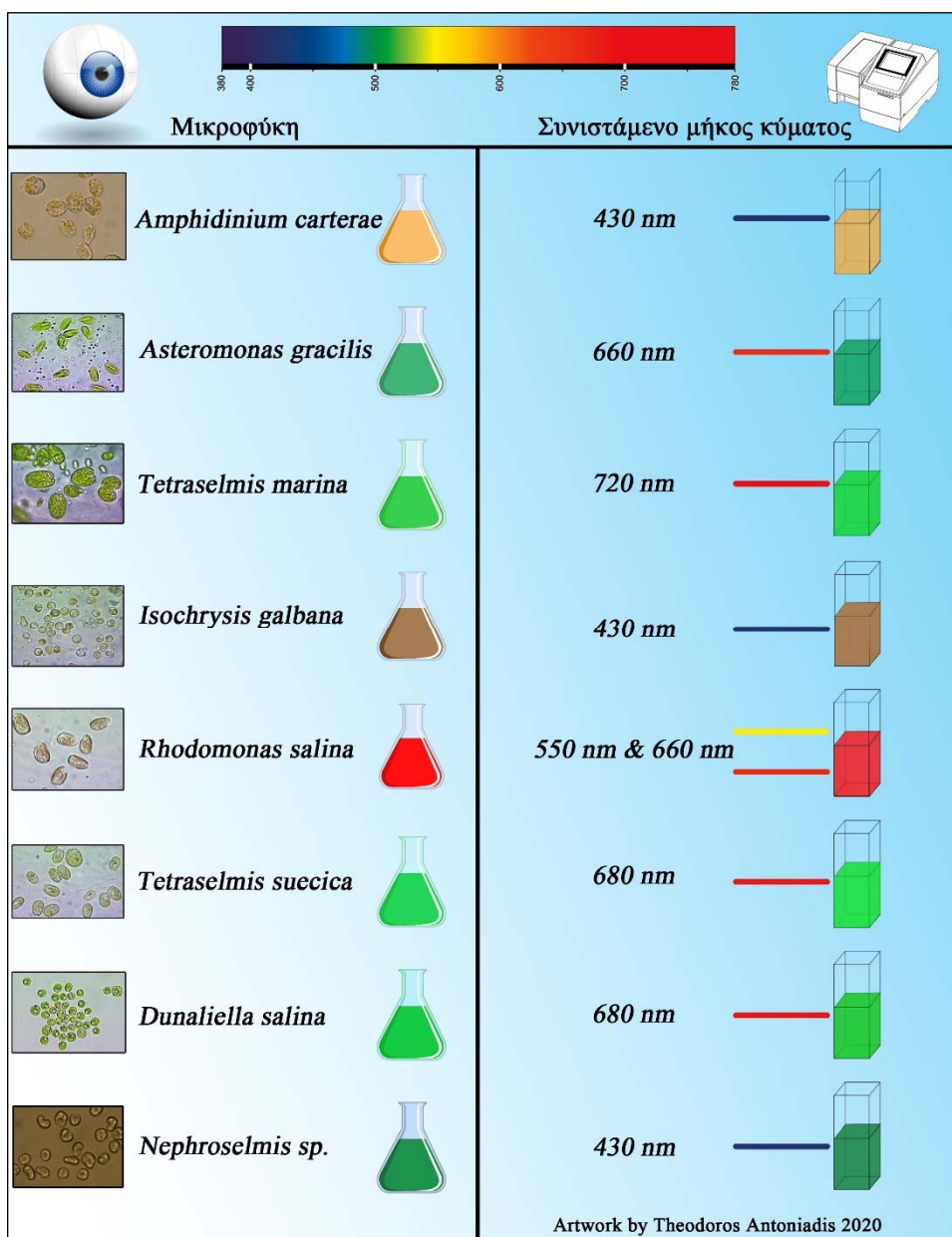
Nephroselmis sp. – 03/03/2020

Μήκος κύματος	Εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης	Συντελεστής Συσχέτισης
430 nm	$y=0,0437x + 0,6849$	$R^2 = 0,9614$
550 nm	$y=0,0266X + 0,801$	$R^2 = 0,9039$
660 nm	$y=0,0274X + 0,6744$	$R^2 = 0,9306$
680 nm	$y=0,0336X + 0,7432$	$R^2 = 0,9429$
720 nm	$y=0,0243X + 0,7684$	$R^2 = 0,8966$

Πίνακας 3.11.10 : Εξισώσεις γραμμικής παλινδρόμησης & συντελεστές συσχέτισης στα εκάστοτε μήκη κύματος για το μικροφύκος *Nephroselmis sp.*

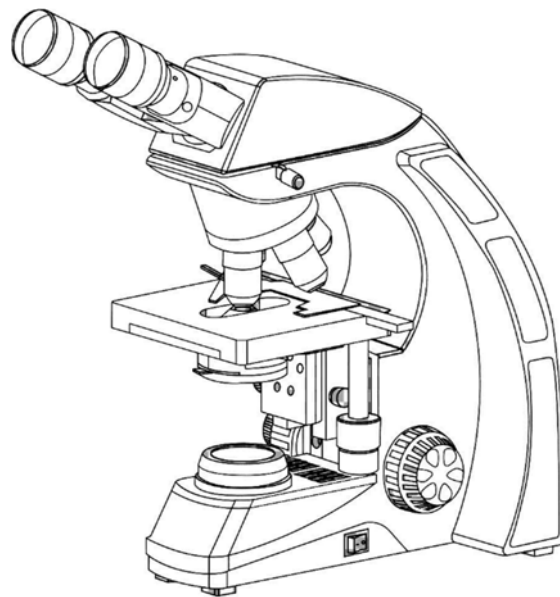
4. Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι σε όλα τα μήκη κύματος και για όλα τα μικροφύκη η συσχέτιση μεταξύ της απορρόφησης και της πυκνότητας των κυττάρων είναι εξόχως μεγάλη, συνεπώς οποιοσδήποτε μήκος κύματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για να δίνει αντιπροσωπευτικές τιμές της πυκνότητας των φυτοπλαγκτονικών κυττάρων. Για να είμαστε όμως ιδιαίτερα ακριβείς επιστημονικώς συνιστούμε τη χρησιμοποίηση του μήκους κύματος εκείνου που δίνει τη μεγαλύτερη τιμή R^2 για το κάθε είδος. Έτσι για το κάθε είδος (Εικ. 4.1) συνιστούμε να χρησιμοποιούνται τα παρακάτω μήκη κύματος.



Εικόνα 4.1: Συνιστάμενο μήκος κύματος για κάθε μικροφύκος (Εικόνες μικροφυκών Γ.Χιώτος, Artwork Θ.Αντωνιάδης)

Η παρούσα εργασία αποδεικνύει ξεκάθαρα ότι η συζήτηση για το καταλληλότερο μήκος κύματος προκειμένου να υπολογίζεται φασματοφωτομετρικώς η πυκνότητα μιας φυτοπλαγκτονικής καλλιέργειας στερείται ουσιαστικού περιεχομένου. Όλα τα μήκη κύματος πρακτικώς είναι αξιόπιστα με την προϋπόθεση βεβαίως ότι άπαξ και επιλεγεί κάποιο αυτό θα πρέπει να χρησιμοποιείται σταθερά για όλους τους υπολογισμούς χρησιμοποιώντας τις εξισώσεις της παρούσας εργασίας, σε διαφορετική περίπτωση τα νούμερα θα είναι εσφαλμένα.



Βιβλιογραφία

- 1) Peter Atkins, Loretta Jones, Lerou Laverman, (2016). Chemical Principles: The Quest for insight, New York, w.h. freeman Macmillan Learning.
- 2) Gaigalas, A. K., He, H.-J., & Wang, L. (2009). Measurement of absorption and scattering with an integrating sphere detector: application to microalgae. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*, 114(2), 69–81.
- 3) Rodrigues, L. H. R., Arenzon, A., Raya-Rodriguez, M. T., & Fontoura, N. F. (2011). Algal density assessed by spectrophotometry: A calibration curve for the unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3(8), 225–228.
- 4) Ugwu, C. U., Aoyagi, H., & Uchiyama, H. (2007). Influence of irradiance, dissolved oxygen concentration, and temperature on the growth of *Chlorella sorokiniana*. *Photosynthetica*, 45(2), 309–311.
- 5) Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., W., Ang, Y., Ruan, R. (2010). Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(4), 1174–1186.
- 6) Oh, S. H., Kwon, M. C., Choi, W. Y., Seo, Y. C., Kim, G. B., Kang, D. H., Lee, S. H., & Lee, H. Y. (2010). Long-term outdoor cultivation by perfusing spent medium for biodiesel production from *Chlorella minutissima*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(2), 194–200.
- 7) Χώτος, Γ., 2016. «Καλλιέργειες Πλαγκτού». Τ.Ε.Ι. Δυτικής Ελλάδας. Research Gate, DOI: 10.13140/RG.2.2.24664.03849.

8)Χώτος, Γ. 2020. Βιολογικές χρωστικές και φωτοσύνθεση. Research Gate. DOI: 10.13140/RG.2.2.13148.54406/1

9) Almomani, F. A. & B., Örmeci (2018). Monitoring and measurement of microalgae using the first derivative of absorbance and comparison with chlorophyll extraction method. *Environmental Monitoring Assessment*, 190: 90, <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6468-y>.

10) Peter Castro, Michael E.Huber (2015) *Θαλάσσια Βιολογία*, εκδ. Utopia.

