

מיקרואצות כמקור לביודיזל



ינואר 2008

יעלי אטשטיין

מבוא

מגמת עלייה כללית במחירי הדלק ותוצריו הולכת ומהווה בעיה רצינית ובלתי נמנעת ככל שאוזלים מקורות האנרגיה השמישים כיום. במצב כזה הולכת וגדלה ההתעניינות באנרגיה מתחדשת³. במיוחד גדלה התעניינות בדלקים ממקור ביולוגי בשל מודעות הולכת וגדלה לבעיית החימום הגלובלי עקב הפרה של מאזן הפחמן העולמי בעיקר בשל שריפת דלקי מאובנים, מאגרי פחמן שהיו קבורים באדמה במשך מיליוני שנים.

טבלה 1: השוואה בין מקורות ביודיזל שונים

Crop	Oil yield (L/ha)	Land area needed (M ha) ^a	Percent of existing US cropping area ^a
Corn	172	1540	846
Soybean	446	594	326
Canola	1190	223	122
Jatropha	1892	140	77
Coconut	2689	99	54
Oil palm	5950	45	24
Microalgae ^b	136,900	2	1.1
Microalgae ^c	58,700	4.5	2.5

ביודיזל הינו מקור דלק טבעי לחלוטין אשר ניתן להשתמש בו כתחליף בכל מקום בו נעשה שימוש בדיוזל רגיל. כיום מיוצר ביודיזל בצורה מסחרית משמנים של צמחי יבשה, תירס וסויה בעיקר, ושומן בע"ח¹. בקצב הצריכה הנוכחי של דלקים בתעבורה בארה"ב בלבד, מעבר לשימוש בביודיזל יצריך ייצור של 53×10^{11} מ"ק ביודיזל כל שנה. גידולי שדה, שומן בע"ח ופסולת מבישול אינם יכולים לעמוד בדרישה זו במציאות, שכן יהא צורך להקצות שטחי אדמה עצומים ל"חקלאות דלק", כפי העולה מטבלה 1.

התרחיש משתנה בצורה דרמטית כאשר רוצים להפיק ביודיזל ממיקרואצות. 1%-3% משטחי החקלאות בארה"ב יוכלו לספק מספיק ביומסה של אצות אשר תוכל להחליף 50% מתצרוכת הדלק השנתית¹. אצות כמיקרואורגניזמים פוטואוטוטרופים, טומנות בחובן יתרונות רבים. ניתן להסתכל עליהן כעל מפעלים קטנטנים המקיימים את עצמם בצורה כמעט מלאה. מופעלים ע"י אור השמש ומשתמשים בפחמן דו חמצני מן האוויר כמקור הפחמן המקובע לפחממות בפוטוסינתזה. יש לכך חשיבות כלכלית ומנהלתית גדולה, כיוון שגידולם אפקטיבי הרבה יותר מגידול מיקרואורגניזמים הטרוטרופיים שצריכים אספקה של פחמן אורגני ממקור חיצוני על מנת לייצר ביודיזל. יתרה מזאת, אצות גדלות בצורה מהירה ביותר ולרבות מהן תכולת שמן גבוהה ביותר. כהכללה מכפילות האצות את הביומסה שלהן תוך 24 שעות (תוך 3 שעות במצב הגידול האקספוננציאלי) ותכולת השמן נעה בין 20% ל-50% ויכולה אף להגיע ל-80%¹. אצות בעלות יצרנות גבוהה של שמן הן הרצויות עבור תעשיית הביודיזל.

Botryococcus braunii, מין של מיקרואצה ירוקה, משכה אליה תשומת לב רבה במשך שנים רבות בשל היכולת להפיק ממנה תרכובות ביוטכנולוגיות חשובות בכמויות גדולות, במיוחד סוגים שונים של פחממנים אשר יכולים לשמש כמקור אנרגיה חלופי. מדובר במיקרואצה של מים מתוקים, הגדלה באגמים ומאגרי מים בתפוצה עולמית ונצפית כמשטחים גדולים הצפים על פני המים בזמן פריחתה. האצה מסוגלת לייצר כמות גדולה של פחממנים בטווח של 15-76% משקלה היבש, חלקם יכול לעבור תהליך של המרה כימית לבנזין, דיזל וסוגים שונים של נוזלים או גזים פחממניים עתירי אנרגיה.

על מנת להפוך את תהליך הגידול והפקת האנרגיה למשתלם ככל האפשר יש ראשית להגדיר את השפעתם של פרמטרים חיצוניים שונים אשר ייצרו יחד את סביבת הגידול האופטימלית עבור האצה בתנאי גידול מבוקרים. המחקר על האצה *B. braunii* כלל גידול של זן ספציפי במגוון צירופים של תנאי גידול, תוך בידוד פרמטר שונה כל פעם, על מנת לקבוע את העמידות הסביבתית של האצה, התנאים בהם קצבי הגידול וייצור השומנים מיטביים וכיצד משפיעים גורמים סביבתיים על תכולת השמן³. שלב חשוב נוסף בייצור תהליך הייצור הוא התאמת טכנולוגיית הגידול למקום בו מערכת הגידול ממוקמת. נכון להיום, השיטות המעשיות היחידות לגידול מסיבי של אצות הן ייצור בבריכות סחרור (raceway ponds) וצינורות פוטוביוראקטורים¹, עליהם ארחיב בהמשך. מטרת העבודה היא להוכיח שייצור ביודיזל ממיקרואצות ישים מבחינה טכנולוגית ויהווה המקור המתחדש היחידי שיוכל להחליף לגמרי את הנפט ונגזרותיו.

1. קביעת תנאי גידול אופטימליים³

בחרתי להציג מחקר אוסטרלי שהתמקד בחקר האצה *B. braunii* בשל התאמותיה לבית גידול זה והפוטנציאל הגדול שטמון בה כמקור ביודיזל חשוב. בהתחשב בדמיון הגבוה הקיים בין אזור הנגב לאזורים המדוברים באוסטרליה מבחינת זמינות שטחי אדמה, שפע מאגרי מים מליחים ושטף קרינה סולרית גבוה, נראה כי לאצה זו פוטנציאל מסחרי גבוה גם בישראל.

המחקר התמקד בזן ספציפי מסין (China strain 1) של *B. braunii*. תרביות זרעי האצה הודגרו בטמפרטורה של 25°C וכל שבוע נזרעו 10 מ"ל מתוכם במדיום נוזלי חדש אשר עבר טלטול והוחזק תחת תנאים אנטיבאקטריאליים במשך כל הניסוי.

הפרמטרים השונים שנבדקו היו משך החשיפה היממית לאור, טמפרטורה, עוצמת הארה ומליחות:

1. משך חשיפה לאור – נבחנו ארבעה זמני הארה שונים: (1) 4 שעות הארה ו-20 שעות חושך, (2) 8 שעות הארה ו-16 שעות חושך, (3) 12 שעות הארה ו-12 שעות חושך, (4) 24 שעות הארה.
2. טמפרטורה – בניסוי נבחנו 5 רמות שונות של טמפרטורה: 20, 23, 25, 27 ו-30°C.
3. עוצמת הארה – נבחנו שני טווחי עוצמת הארה, עוצמה נמוכה (8, 12, 20 ו-30 W/m²) וגבוהה (30, 60, 100, 150, 200 ו-300 W/m²).
4. מליחות – נבחנו 6 רמות מליחות שונות (0, 0.15, 0.25, 0.35, 0.5 ו-0.7 מולר של NaCl).

פעמיים בשבוע נלקחה כמות קבועה של נוזל מתוך כל מבחנה למדידת צפיפות אופטית (OD) על מנת למדוד את קצב גידול האצות ביחס לכמות ההתחלתית שנמדדה בזמן 0. מדידת הצפיפות שימשה כאמצעי לחישוב קצב ההתרבות וזמן הדור בכל אחת מהתרביות.

בסוף כל ניסיון נקצרה ביומסת האצות מכל מבחנה, עברה תהליך של ייבוש ונשקלה על מנת לקבוע את רמת המתאם בין הצפיפות האופטית לבין המשקל היבש של הזן.

על מנת לקבוע את תכולת השומנים באצות השתמשו בצבע נייל אדום (Nile red), חומר בעל זיקה לליפידים אשר חודר את דפנות התאים וצובע טיפות שמן תוך תאיות. החומר מאופיין גם בזהירה פלורוסנטית חזקה בצבע זהוב בסביבה ליפידית עשירה ומשמש ככלי מהיר, פשוט ורגיש בעל יעילות גבוהה למדידת תכולת שומנים².

1.1 אבחנות המחקר

הטמפרטורה הטובה ביותר לגדילה של זן סיני 1 הייתה 23°C , על אף שמחקרים רבים הראו כי הטמפרטורה האידאלית עבור מרבית זני *B. braunii* הייתה 25°C . נמצא כי האצה מראה עמידות גם לטמפרטורה של 30°C , אך מציגה קצבי גדילה נמוכים יותר. ניכר כי הזן המסוים הנ"ל הוא זן של מים קרים יחסית. המחקר הראה כי הביומסה הכללית ותכולת השמן בתאי האצה צנחו כשהטמפרטורה עלתה מעל 23°C , תוצאות הנוגדות מחקר אחר שנעשה על האצות *Spirulina maxima* ו-*Spirulina platensis* אשר הראו ירידה בייצור חלבונים ועלייה בייצור פחממות ושומנים בטמפרטורה גבוהה (Oliveira et al. 1999), למרות שמחקרים על *B. braunii* נערכים כבר כמה עשורים, דיווחים על עמידות לטמפרטורה גבוהה נדירים, דבר המעיד כי השינוי בהרכב הכימי של מיקרואצות עקב השפעת טמפרטורה הוא ספציפי לכל מין. אורך תקופת הארה יממתית כבר דווחה במחקרים קודמים כבעלת השפעה על ייצור חומצות שומן במיקרואצות ימיות. מחקר זה מראה שלא ניכר הבדל משמעותי בקצב הגידול בין משך חשיפה של 12 ו-24 שעות, אך תקופת הארה קצרה של 4 ו-8 שעות לא הייתה מספקת על מנת לקיים גידול. תאי אצות שנמצאו בקצות התרבית ונחשפו במשך 24 שעות ביממה לאור, הפכו חומים בעוד שבתרבית אשר נחשפה למשך 12 שעות לא נצפתה תופעה שכזו. לכן נקבעה המסקנה כי משטר הארה יממתי של 12 שעות הארה ו-12 שעות חושך טוב יותר עבור זן זה של *B. braunii* ומאפשר הרצה של הפרויקט בסביבה החיצונית. מבחינת עוצמת הארה, נמצא כי הזן הסיני מותאם לתנאי אור חלשים של $30\text{--}100\text{ W/m}^2$, בניגוד למינים רבים של מיקרואצות. מתחת ל- 30 W/m^2 נצפה עיכוב בגידול האצות ומעל ל- 100 W/m^2 התרחשה פוטואינהיביציה. כמו כן חלה ירידה בתכולת השמן הן בשל ירידה בביומסה והן בשל ירידה בכמות טיפות השמן התוך תאיות. הניסוי קבע כי עוצמות ההארה אופטימליות של הזן הן בסביבות $30\text{--}60\text{ W/m}^2$. בנוגע למליחות, לא רק שהאצה *B. braunii* מסוגלת לשרוד במים מתוקים, יש לה את היכולת להתאים עצמה למגוון רחב של מליחויות, עד 3M NaCl . המחקר מראה כי לרמות המליחות השפעה משמעותית על גדילת האצות ותכולת השמן בהן. ביומסה וייצור שמן מרביים התקבלו במליחות בריכוז של 0.15M . הזן הסיני לא הצליח לגדול במליחת גבוהה מ- 0.5M (מליחות מי ים) ומעליה נצפתה תמותה גדולה של תאים. ב- 0.5M כמות האברונים בתאי האצות וכמות החלוקות שכל תא מבצע ירדו, בשל העובדה כי האצה מפנה את משאביה להתמודדות עם הלחץ האוסמוטי ולא מסוגלת לאגור שומנים בתוך התא. עלייה מתונה במליחות (קטנה מ- 0.25M) מעוררת גידול מהיר יותר וייצור גדול של שומן, לכן יכולה המליחות לשמש ככלי לשליטה בכמות הביומסה והרכב שומנים רצויים. משמעות הדבר היא שגידול במים מליחים ייתכן ויהיה המוצלח ביותר.

2. מערכת הגידול

בדרך כלל עולה הרבה יותר לייצר יבול גדול של אצות מאשר של גידולי שדה. הגדילה הפוטוסינתטית דורשת אור, CO_2 , מים, מינרלים אנאורגניים וטמפרטורה קבועה של 20°C – 30°C . על מנת לצמצם את ההוצאות, חייב ייצור הביודיזל להתבסס על מערכת גידול חיצונית המסתמכת על CO_2 מן האוויר ואור השמש, למרות השינויים היממתיים והעונתיים ברמות האור.

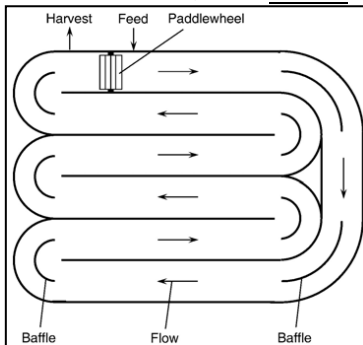
מצע הגידול חייב להכיל בתוכו יסודות אנאורגניים הכרחיים לבניית מרכיבי התא, בהם נתרן, זרחן, ברזל ובמקרה של דיאטומאות גם צורן. מי ים בתוספת דישון עם ניטראט, פוספאט ויסודות קורט נוספים הם מצע הגידול העיקרי בו נעשה שימוש במערכות הגידול ומהווה מרכיב זול בה. מתוך הרצון לעשות שימוש במים המליחים של הנגב יש לבחון ראשית את הרכבם ולקבוע את תוספי המינרלים הנחוצים. הדרישות המינימליות יכולות להיקבע ע"י הנוסחא המתייחסת ליחסי היסודות בביומסה של מיקרואצות,

$$\text{CO}_{0.48}\text{H}_{1.83}\text{N}_{0.11}\text{P}_{0.01}$$

כאמור, השיטות המעשיות כלכלית לגידול מסיבי של אצות הן בריכות סחרור וצינורות פוטוביוראקטורים.

2.1 בריכות סחרור

תמונה 1: מבט עילי של בריכת סחרור



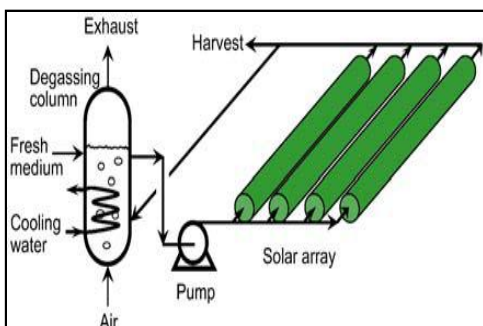
בריכת סחרור זו תעלה טבעתית בעומק ממוצע של 0.3 מטר, בה מתרחש סחרור חוזר של המים. זרימת המים נוצרת באמצעות גלגל מניפות ממונע וזו מונחית דרך פיתולי המבנה ע"י לוחות ויסות הממוקמים לאורך קירות התעלה (תמונה 1). בריכות סחרור נבנות מבטון או אדמה דחוסה וניתן לצפותן בפלסטיק לבן. הזרימה בהן רציפה ובלתי פוסקת זאת בכדי למנוע שקיעה של אצות וחומרי הזנתן. ההזנה מתרחשת במהלך היום בצורה רציפה כאשר האוכל מוחדר בראשיתה של הזרימה, מול גלגל המניפות. את קציר תערובת האצות עושים מאחורי גלגל הסחרור בסימומו של מחזור סחרור.

בריכות סחרור הן מערכות גידול פתוחות הנתונות לשינויים יממתיים ועונתיים. משמעות הדבר היא חוסר יציבות של טמפרטורת הגידול במיוחד לאור העובדה כי חל אובדן משמעותי של מים דרך אידוי הגורר קירור של מצע הגידול. מערכת פתוחה לאוויר מאופיינת גם במעבר גזים לשמירת שווי משקל כימי, בין המצע הנוזלי לאוויר, עובדה שהופכת בריכות סחרור למערכת המקבעת פחמן ביעילות נמוכה בהשוואה לצינורות פוטוביוראקטורים. בנוסף לכך מושפעת היצרנות גם מזיהומים של אצות בלתי רצויות ומיקרואורגניזמים הניזונים מהן ונושמים את תוצרי הפוטוסינתזה.

בריכות סחרור נתפסות כמערכת גידול פחות יקרה בשל עלויות בנייה ותפעול נמוכות, אך יש להתייחס לעובדה כי היצרנות בהן נמוכה ביחס לצינורות פוטוביוראקטורים, בשל העובדה כי הערבול דל והאזור האופטי קטן יותר.

2.2 פוטוביוראקטורים

תמונה 2: מערכת צינורות פוטוביוראקטוריים בהרצה מקבילה¹.



בניגוד למערכות גידול פתוחות, פוטוביוראקטורים מאפשרים גידול של מין יחיד של מיקרואצה למשך זמן ארוך.

פוטוביוראקטור צינורי מורכב ממערך צינורות ישרים ושקופים העשויים בדרך כלל מפלסטיק או זכוכית, אשר משמשים כקולטי הקרינה הסולרית (תמונה 2). הקוטר הסטנדרטי של צינור שכזה הוא 0.1 מטר. הגבלה הנובעת מהעובדה כי אור השמש אינו חודר כ"כ עמוק כאשר תערובת האצות מגיעה לצפיפות הרצויה

מבחינה מסחרית. תערובת האצות יוצאת ממאגר ומסתחררת דרך מערך קולטי הקרינה בצורה רציפה ובלתי פוסקת גם כאן. הצינורות הסולריים מכוונים לתפיסה מקסימלית של האור השמש, תמיד לאורך ציר צפון-

דרום. הסידור המקובל הוא סידור מקביל של הצינורות בצורה מאוזנת מעל הקרקע ולעתים מאונכת בניסיון להגדיל את מספר הצינורות המאכלסים שטח נתון. האדמה מתחת לקולטים נצבעת רבות בלבן או מכוסה ביריעות פלסטיק לבנות בכדי להגדיל את כמות הקרינה שמגיעה אליהם עקב החזרה רבה יותר מן האדמה. שקיעה של ביומסה לאורך הצינורות נמנעת ע"י שמירה על קצב זרימה גבוה יחסית הנוצר ע"י משאבה מכאנית או משאבת אוויר עדינה יותר.

פוטוסינתזה מייצרת חמצן, בממוצע של 10 גר' חמצן למ"ק בדקה במערכת שכזו, בקרינה חזקה. כמות גדולה מידי של חמצן מומס בתוך מערכת סגורה שכזו, גוררת הצטברות אל מעל לדרגת הרוויה של המים אשר יוצרת בועות אוויר. הללו יכולות לגרום לחסימת הצנרת ולעיקוב תהליך הפוטוסינתזה (עיקוב אנזים המפתח בתהליך). בנוסף לכך, שילוב רמות גבוהות של חמצן עם קרינה חזקה גורם ליצירתם של רדיקלים חופשיים שגורמים להרס תאי האצות. נוצר הצורך להסיר את החמצן מתוך המערכת אך לא ניתן לעשות זאת מתוך הצינורות עצמן אלא במיכל הגזה בקצה המסלול. עובדה זו יוצרת הגבלה באורך המקסימלי של צינורות ההרצה, אורך שנקבע כתלות בריכוז הביומסה, עוצמת ההארה, קצב הזרימה וריכוז החמצן בתחילת הצינורית. על מנת לשחרר את החמצן העודף, התערובת חייבת לחזור תקופתית למיכל, בו מבעבעים אוויר דרכה. נפחו של מיכל ההגזה חייב להישמר קטן מכיוון שזהו אזור המואר במעט קרינה ולא מתרחש בו גידול של אצות. תפקיד נוסף של מרכיב זה במערכת הוא בקרת ה-pH. CO_2 , אשר נצרך ע"י האצות, מוסר מהמערכת וגורם לעלייה ברמת החומציות. ה- CO_2 החסר מוזרק למיכל ההגזה ולעתים לנקודות הזרקה נוספות על למנוע הגבלת פחמן ועלייה ב-pH.

פוטוביוראקטורים זו מערכת שדורשת קירור במהלך היום ובקרת טמפרטורה בלילה. כך למשל, יכולה הנמכת הטמפרטורה בלילה לעזור בהורדת אובדן הביומסה לנשימה. מערכות הממוקמות בחוץ מקוררות בצורה אפקטיבית עם משחלפי חום או באמצעות אידוי מים שמוזזים על הצנרת בשעות היום.

על מנת לבחור את שיטת הגידול האופטימלית עבור גידול ביומסת מיקרואצות לביודיזל יש להשוות בין היכולות של כל מערכת. ההשוואה נעשית עבור אותה כמות ייצור שנתית, בתנאי הגידול האופטימליים שיכולה לספק כל אחת מן המערכות. כפי העולה מטבלה 2 ניתן לראות שתפוקת השמן להקטר בגידול בפוטוביוראקטור גדולה הרבה יותר מזו שמתקבלת בבריכות הסחרור, כאשר כמות של CO_2 נצרכת בכל אחת. הדבר נובע בעיקר מהעובדה כי הביומסה המתקבלת ליחידת נפח בפוטוביוראקטורים גדולה פי 13 בהשוואה לבריכות. עלות ההוצאה של הביומסה מתוך תערובת הגידול לצורך הפקת השמן משמעותית ביותר. עלות הוצאת הביומסה מתערובות שגודלו בפוטוביוראקטורים עולה הרבה פחות מעלות ההוצאה מבריכות, זאת בשל העובדה כי צפיפות הביומסה בהן קטנה פי 30. לפיכך יכול פוטוביוראקטור לעבד ולספק את אותה כמות ביומסה מנפח קטן יותר של תערובת.

3. שיפורים ביולוגיים באצות

לשיפורים גנטיים ומטאבוליים צפויה להיות ההשפעה הגדולה ביותר על עלויות הייצור של ביודיזל ממיקרואצות. הנדסה גנטית של מיקרואצות קיבלה עד היום מעט מאוד תשומת לב אך זו יכולה לעזור בתחומים שונים: הגברת היעילות הפוטוסינטטית על מנת לקבל תפוקה גדולה יותר של ביומסה ליחידת אור וזמן, הגברת קצב הגידול של הביומסה, הגדלת תכולת השמן בביומסה, הקניית עמידות לטמפ' על מנת להוריד עלויות קירור, הפחתת פוטואינהיביציה בעוצמות תאורה חזקות על מנת להגביר את תגובת האצות לאור, הפחתת פגיעות לפוטואוקסידציה ועוד.

לסיכום

כפי שהודגם בעבודה יש תחומי מחקר ופיתוח שמתמקדים בייצור ביודיזל ממיקרואצות בנוסף לקיומן של טכנולוגיות גידול מסחריות לייצור המוני של ביומסה של מיקרואצות. גם בריכות הסחרור וגם מערכות פוטוביוראקטוריות הן שיטות ייצור ישימות שנעשה בהן כבר שימוש מסחרי נרחב עבור תעשיות שונות כמו תעשיית הקוסמטיקה ותוספי המזון.

השוק הכלכלי של ייצור ביודיזל ממיקרואצות חייב להשתפר בצורה משמעותית על מנת שיוכל להתחרות בגזרות הנפט, אך מידת השיפור הנחוצה בהחלט ברת השגה. הוזלת עלויות ייצור ביודיזל מצריך בראש ובראשונה שיפורים גנטיים ומטאבוליים של ביולוגיית תאי האצות. יציבות של זנים מהונדסים ושיטות להשגת יציבות במערכות ייצור תעשייתיות הם נושאים בעלי חשיבות גבוהה שעדיין נבחנים בקושי בחקלאות של מיקרואצות.

לאור היצרנות הגבוהה הרבה יותר שלהם, צינורות פוטוביוראקטורים מתאימים הרבה יותר בייצור הכמות הדרושה של ביומסה אצות שתוכל להחליף את הדרישה לנפט. פוטוביוראקטורים מספקים סביבה מבוקרת שניתן לעצב לפי דרישות ייחודיות של המגדל והסביבה בה מוקמת המערכת, במטרה להפיק כמות טובה וקבועה של שמן מיקרואצות בשנה.

אישית אני חושב שביודיזל חייב להפוך מציאותי מהר ככל האפשר, בעיקר בשל תרומתו האקולוגית המונעת המשך פגיעה באיכות הסביבה. יש להשקיע את כל המשאבים הקיימים על מנת לשפר את מערכות הגידול הקיימות, במיוחד את מערך הגידול בצינורות פוטוביוראקטורים במדינה כמו שלנו. מדינת ישראל חייבת לנצל את היותה מדינה שטופת שמש ולרתום את האנרגיה הסולרית במערכות גידול פוטיות בשטחי האדמה הנרחבים של אזורים כמו הערבה והנגב. הוזלת עלויות תתכן גם בעזרת שימוש בלוחות סולריים על מנת להפיק חשמל לקירור ואוורור.

ביבליוגרפיה

1. Chisti Y. (2007). Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, 25: 294–306.
2. Lee S.J., Yoon B.D and Oh H.M. (1998). Rapid methods for the determination of lipid from the green *Botryococcus braunii*. **Biotechnology Techniques**, 12 (7): 553-556.
3. Oliveira M. A. S., Monteiro M. P., Robbs P. G. Et al. (1999). Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. **Aquaculture. Int.** 7: 261-275.
4. Qin J. (2005). BioHydrocarbons from Algae Impacts of temperature, light and salinity on algae growth. **RIRDC Publication**, No. 05/025.