

Karolina DZIOSA, Monika MAKOWSKA

e-mail: karolina.dziosa@itee.radom.pl

Instytut Technologii Eksploatacji – Państwowy Instytut Badawczy (Radom)

Wpływ temperatury na przyrost biomasy mikroalg słodkowodnych hodowanych w bioreaktorach laboratoryjnych

Wstęp

W ciągu ostatnich lat znacznie wzrosło wykorzystanie biomasy alg, stając się ważną gałęzią ogólnostwiatowego przemysłu o zróżnicowanym obszarze zastosowań (m. in. w medycyna, farmacja, kosmetologia, przemysł spożywczy, rolnictwo) [Posten i in., 2009].

Biomasa pozyskana z hodowli algowych stanowi odnawialny surowiec dla gospodarki. Produkcja i wykorzystanie tych organizmów może prowadzić do dostarczenia pokarmu, paszy, suplementów diety, kosmetyków, barwników, substratów energetycznych. Według prognoz, w ciągu najbliższej dekady, wiele innowacyjnych rozwiązań, w których wykorzystuje się biomasę pozyskaną z alg zostanie wprowadzonych na rynek [Schroeder i in., 2013].

W naszych warunkach klimatycznych najpowszechniej występującym oraz najczęściej hodowanym w warunkach laboratoryjnych (ze względu na adaptację do zmiennych warunków hodowli), gatunkiem glonów jest *Chlorella sp.* [Krzemińska i in., 2012]. Występuje ona w wodnym i wilgotnym środowisku - w wodach słodkich, w wilgotnej korze i ziemi oraz we wnętrzu innych organizmów. Jest to glon jednokomórkowy o zielonej barwie i kulistym lub elipsoidalnym kształcie. Zawiera w swoich komórkach zielony barwnik chlorofil. Rozmnaża się przez podział komórki na autospory, które wydostają się na zewnątrz po rozerwaniu ściany komórkowej komórki macierzystej. *Chlorella sp.* jest organizmem, który ze względu na szybkie tempo wzrostu, wysoką wydajność fotosyntetyczną oraz zdolność do akumulacji dużych ilości lipidów stanowi cenne źródło biomasy energetycznej, m in. do produkcji biopaliw trzeciej generacji oraz biogazu [Berny., 2012].

Wydajność namnażania biomasy w czasie trwania hodowli laboratoryjnej zależy przede wszystkim od [Krzemieniewski i in., 2009]:

- konstrukcji fotobioreaktora,
- dostępności składników pokarmowych,
- natężenia światła,
- stężenia CO₂,
- temperatury.

Hodowle prowadzone w bioreaktorach w sposób ciągły wymagają naświetlania sztucznego. Komórki glonów do wzrostu potrzebują składników mineralnych, takich jak azot, żelazo, fosfor oraz krzem. Składniki te zawarte są w większości w pożywce, której skład opisuje odpowiednia formuła cząsteczkowa, opracowana przez Grobbellaara [2004]: CO_{0,48}H_{1,83}N_{0,11}P_{0,01}.

Innym czynnikiem, warunkującym odpowiedni rozwój alg, jest pH. Większość gatunków glonów jest zdolna do wzrostu w podłożach hodowlanych, których pH mieści się w granicach 7÷9 [Frąc i in., 2009].

Ważnym czynnikiem jest także mieszanie, zapobiegające sedymentacji, i umożliwiające utrzymanie jednakowych warunków w całym zbiorniku hodowlanym. Mieszanie zapewnia wszystkim komórkom porównywalny dostęp do światła i pożywki w czasie prowadzenia hodowli oraz lepszą wymianę gazową pomiędzy powietrzem a cieczą [Krzemieniewski i in., 2009].

Niezwykle istotnym czynnikiem wpływającym na efektywność przyrostu biomasy jest temperatura [Bechet i in., 2013]. Optymalna temperatura wzrostu alg jest cechą charakterystyczną dla danego gatunku i mieści się w granicach 20÷30°C. Temperatura < 16°C powoduje spowolnienie wzrostu komórek alg, natomiast >35°C jest zazwyczaj temperaturą letalną [Melis., 2002; Sanchez i in., 2003].

Celem pracy było określenie wpływu temperatury na wydajność produkcji biomasy alg słodkowodnych hodowanych w bioreaktorach laboratoryjnych.

Badania doświadczalne

Organizmy i metodyka

Hodowla została zaszczepiona przez glony z gromady zielenic: *Chlorella sp.* Inokulum pochodziło z Kolekcji Kultur Glonów Bałtyckich (Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii w Gdyni). Do zainicjowania hodowli laboratoryjnych stosowano 15 cm³ alg w roztworze wodnym. Do reaktorów, w odstępie 3÷6 dni dostarczano pożywkę syntetyczną Walne's [Guillard i Ryther, 1962] oraz roztwór witamin B₁, B₁₂, H.

Efektywność namnażania glonów w podłożu hodowlanym oceniano na podstawie przyrostu biomasy alg, za pomocą metody wagowej. Co 3÷6 dni pobierano do badań próbki o objętości ok. 20 cm³. Umieszczano je na jednorazowych szalkach aluminiowych w wagsuszarce, w warunkach: standardowy profil suszenia, temp. 105°C, automatyczne zakończenie suszenia w przypadku braku zmiany masy 0,001 g w przedziale 60 s. Wynik podawano w mg/dm³.

Aparatura

Hodowle alg słodkowodnych *Chlorella s.p.* prowadzona była w trzech szklanych reaktorach laboratoryjnych o pojemności ok. 3 dm³. Na rys. 1 przedstawiono stanowisko badawcze, z wykorzystaniem którego prowadzono hodowle alg.

W tab. 1 podano parametry prowadzonych badań. Ustalone warunki zapewniały efektywny przyrost biomasy alg.

Tab. 1. Parametry prowadzenia laboratoryjnej hodowli alg

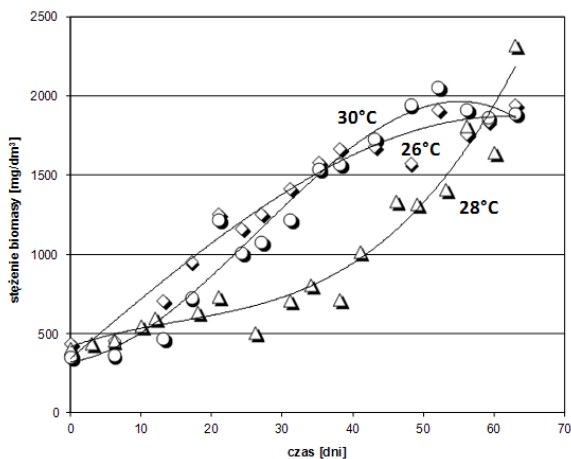
Parametr	Wartość
Temperatura, °C	26, 28, 30
Mieszanie, [obr/min]	260
Natężenie światła, [lux]	870
Czas hodowli, [doba]	63



Rys. 1. Stanowisko laboratoryjne do prowadzenia hodowli alg

Wyniki i dyskusja

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono na rys. 2. Stwierdzono, że największą namnażania biomasy uzyskano w temperaturze 28°C, gdy w ciągu 63 dni nastąpił blisko sześciokrotny przyrost zawartości biomasy (z 410 do 2325 mg/dm³). Najniższą efektywność stwierdzono w temperaturze 26°C (zawartość biomasy wzrosła ok. czterokrotnie z 440 do 1945 mg/dm³).



Rys. 2. Przyrost stężenia biomasy alg w różnych warunkach termicznych

W tab. 2 zestawiono maksymalne procentowe wydajności hodowli. W temperaturze 26°C wydajność wynosiła 442,05%, a w temperaturze 28°C wynosiła 567,10%, natomiast w temperaturze 30°C – 533,80%. Wzrost temperatury powyżej 28°C nie powodował zwiększenia produktywności biomasy.

Tab. 2. Wydajność hodowli alg słodkowodnych w reaktorach laboratoryjnych

Temperatura, [°C]	Zawartość biomasy, [mg/dm ³]		Maksymalna wydajność hodowli, [%]
	min	maks.	
26	440	1945	442,05
28	410	2325	567,10
30	355	1895	533,80

W tab. 3 przedstawiono wartości maksymalnego dobowego przyrostu biomasy. Najwyższą wartość osiągnął on w temperaturze 28°C (226,60 mg·dm⁻³·doba⁻¹). W temperaturze 26°C najwyższy przyrost biomasy w ciągu doby wynosił 75,00 mg·dm⁻³·doba⁻¹ i był niższy niż w temperaturze 30 °C (123,75 mg·dm⁻³·doba⁻¹). Maksymalną efektywność hodowli w temperaturze 26°C oraz 30 °C uzyskano w przedziale czasowym między 17 a 21 dniem, natomiast w temperaturze 28°C najistotniejszy wzrost miał miejsce dopiero po 60 ÷ 63 dniach.

Hodowla alg prowadzona w reaktorach laboratoryjnych przebiega według schematu pięciu faz: adaptacja, intensywny wzrost, spowolnienie, stacjonarna oraz zamieranie [Kozieł i Włodarczyk, 2011]. Faza adaptacji w czasie prowadzenia hodowli we wszystkich zadanych temperaturach trwała do ok. 5 dnia. W tym czasie nastąpiło zwiększenie rozmiarów komórek mikroalg. Do ok. 17 dnia przyrost biomasy w reaktorach zadaną temperaturą 26°C i 30°C był niewielki. Po upływie tego czasu hodowle przeszły w fazę intensywnego wzrostu która trwała do ok. 21 dnia, po upływie tego czasu hodowle przeszły w fazę stacjonarną, charakteryzującą się stałą liczbą żywych komórek w hodowli.

W reaktorze z zadaną temperaturą 28°C faza intensywnego wzrostu trwała do 63 dnia. W przeprowadzonym eksperymencie hodowle zakończono w 63 dniu, aby nie dopuścić do fazy zamierania w której pogarszają się warunki tlenowa oraz dochodzi do obumierania komórek.

Tab. 3. Maksymalny dobowy przyrost biomasy alg w reaktorach laboratoryjnych

Temperatura [°C]	Czas [dni]	Maksymalny dobowy przyrost biomasy, [mg·dm ⁻³ ·doba ⁻¹]
26	17÷21	75,00
28	60÷63	226,60
30	17÷21	123,75

Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu można stwierdzić, że najbardziej intensywny wzrost komórek algowych nastąpił w hodowli z zadaną temperaturą 28°C.

Wnioski

Na podstawie analizy uzyskanych wyników badań stwierdzono, że niewielki (czterokrotny) przyrost biomasy następował przy prowadzeniu hodowli już w temperaturze 26°C.

Najbardziej efektywny przyrost biomasy uzyskano w temperaturze 28°C. Podwyższenie temperatury do 30°C nie spowodowało zwiększenia produktywności biomasy, a jedynie podwyższyło koszty samej hodowli.

LITERATURA

- Béchet Q., Shilton A., Guieysse B., 2013. Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnol. Adv.*, **31**, 1648-1663. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.08.014
- Berny, D. (2012). Algi w produkcji biodiesla. *Czysta energia*, nr 7-8, 33-35
- Frać M., Jezierska-Tys W., Tys J., 2009. Algi – energia jutra (Biomasa, Biodiesel). *Acta Agrophysica.*, **13**(3), 627-638
- Grobelaar, J. U. (2004). *Algal Nutrition – Mineral Nutrition*. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology, 95-115
- Guillard R. R. L., Ryther J. H., 1962. Studies of marine planktonic diatoms. *Can J. Microbiol.*, **8**, 229-239
- Kozieł W., Włodarczyk T., 2011. Glony – produkcja biomasy. *Acta Agrophysica.*, **17**(1), 105-116
- Krzemieniewski M., Dębowski M., Zieliński M., 2009. Glony jako alternatywa dla lądowych roślin energetycznych. *Czysta Energia.*, nr 9, 27-29
- Krzemińska J., Tys J., 2012. Mikroglony jako źródło biomasy. *Chemik*, nr 12, 1294-1297
- Melis A., 2002. Green alga hydrogen production: progress, challenges and properties. *Int. J. Hydrogen Energy.*, **27**, 1217-1228
- Posten C., Shaub G., 2009. Microalgae and terrestrial biomass as source for fuel – a process review. *J. Biotechnol.*, **142**, 64 – 69. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.03.015
- Sanchez A., Ceron M-C., Contreas A., Garcia, Molina E., Chisti Y., 2003. Shear stress tolerance and biochemical characterizations of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. *Biochem. Eng.*, **16**, 287-297. DOI: 10.1016/S1369-703X(03)00072-X
- Schroeder G., Messyas B., Łęska B., Fabrowski J., 2013. Pikosz M., Rybak A.: Biomasa alg słodkowodnych surowcem dla przemysłu i rolnictwa. *Przem. Chem.*, **92**, nr 7, 1380-1384

Praca została wykonana w ramach Programu Strategicznego pn. „Innowacyjne systemy wspomagania technicznego zrównoważonego rozwoju gospodarki” w Programie Operacyjnym Innowacyjna Gospodarka.