

Paulina ŁOBODZIN, Marian GRĄDKOWSKI

e-mail: paulina.lobodzina@itee.radom.pl

Zakład Biotechnologii Przemysłowych w Radomiu, Instytut Technologii Eksploatacji PIB, Warszawa

Zastosowanie technik membranowych do separacji biomasy glonów oraz ich metabolitów

Wstęp

Alternatywnym źródłem energii o zerowym wskaźniku emisji CO₂ jest biomasa. Wykorzystuje się ją m.in. do produkcji biodiesla. Jego producenci mają jednak z problemem z dostępem do taniego surowca oraz z niewystarczającą podażą olejów roślinnych.

Potencjalnym źródłem surowca do produkcji biodiesla są autotroficzne mikroalgi. Produktywność biomasy alg wielokrotnie przewyższa produktywność roślin. Problemem jest jednak separacja biomasy i pozyskanie z niej najcenniejszego metabolitu, jakim są triglicerydy.

W pracy dokonano identyfikacji i analizy sposobów zagęszczania biomasy algowej oraz potencjalnych metod wydzielania z niej metabolitów, ze szczególnym uwzględnieniem możliwości ciśnieniowych technik membranowych.

Zagęszczanie biomasy

Mikroalgi to jednokomórkowe organizmy żyjące w wodach słonych i słodkich [Scott i in., 2010; Demirbas i Demirbas, 2011]. Oprócz CO₂, światła i wody wymagają one dostępu do prostego źródła azotu (amoniak, azotany) oraz pierwiastków, takich jak P, K, Mg, Fe, S [Ratledge i Cohen, 2008]. Biomasa alg słodkowodnych, ze względu na szybki przyrost, dużą zawartość lipidów (do 77% s.m.), białek, węglowodanów i innych metabolitów stanowi cenny surowiec dla wielu gałęzi przemysłu [Rawat i in., 2011]. Prace dotyczące mikroalg skoncentrowane są na sposobach hodowli, metodach zwiększania produktywności lipidów i sposobach ich wykorzystania [Dziosa 2013; Dziosa i in., 2014]. Nieliczne badania dotyczą zateżniania biomasy, a następnie separacji z niej metabolitów.

Zagęszczanie biomasy to najkosztowniejsze etapy przetwórstwa glonów. Najczęściej stosuje się sedymentację, flotację, wirowanie i flokulację [Zakrzewski, 2011; Suali i Sarbatly, 2011; Rawat i in., 2011]. Wydajność flokulacji i sedymentacji można zwiększać poprzez użycie flokulantów. Pomimo tego uzyskiwana biomasa ma niskie stężenie (<10%). Oznacza to konieczność zastosowania efektywniejszych, ale bardziej kosztownych metod, np. wirowania. Jednak towarzyszące temu przeciążania często powodują niszczenie komórek i wzrost kosztów procesu [Zhang i in., 2010].

Alternatywą dla mało efektywnych metod zateżniania biomasy jest filtracja membranowa, głównie mikrofiltracja (MF) i ultrafiltracja (UF), realizowane techniką *cross-flow* [Nurra i in., 2014]. MF można zastosować na etapie odwadniania biomasy, natomiast UF – do separacji metabolitów. Siłą napędową procesu jest ciśnienie. Nie ma potrzeby użycia dodatkowych chemikaliów. Koszt procesu to głównie energia potrzebna do wytworzenia ciśnienia oraz okresowa wymiana membran [Rickman i in., 2012; Discart i in., 2013].

Proces membranowego zagęszczania biomasy algowej techniką MF można podzielić na kilka etapów: doboru membrany, ustalenia prędkości liniowej nadawy oraz optymalnego jej ciśnienia i ciśnienia transmembranowego. Zbyt wysokie ciśnienie lub szybkość przepływu mogą powodować uszkodzenia i lizę komórek oraz wydzielanie egzopolisacharydów (EPS) i materii organicznej [Ahmad i in., 2012] – skutkuje to *foulingiem*. Ci sami autorzy wskazali na znaczenie ruchliwości elektroforetycznej komórek alg, która jest zależna od fazy rozwoju komórek i przekłada się na efektywność membranowego zagęszczania biomasy.

Istotnym czynnikiem, wpływającym na retencję jest stężenie nadawy [Rios i in., 2012]. Babel i Takizawa [2011] badali MF alg przy stężeniu nadawy 15–240 mg/L. Stwierdzili, że gdy stężenie nadawy było niskie, to strumień filtracji był wysoki, a opór bardzo mały. Przy wyższych stężeniach alg, opory wzrastały o rząd wielkości.

Znaczący spadek strumienia permeatu i wzrost ciśnienia transmembranowego podczas procesu w wyniku powstawania placka

filtracyjnego jest problemem podczas filtracji membranowej [Ahmad i in., 2012]. Zazwyczaj prekursorem tego procesu jest *fouling*. Na powierzchni komórek gromadzi się materia organiczna o różnych właściwościach. Pojawia się także polaryzacja stężeniowa membrany. Dużą rolę odgrywają w tym procesie polisacharydy (aminocukry) i proteiny. Babel i Takizawa [2011] stwierdzili, że opór placka filtracyjnego dla alg *Chlorella vulgaris* nie zależy od materiału używanej membrany. W wielu pracach [Ahmad i in., 2012; Rickman i in., 2012; Discart i in., 2013] wykazano, że ujemny ładunek komórek alg powoduje ich izolowanie. Zjawisko to można wykorzystać do przeciwdziałania *biofoulingowi*.

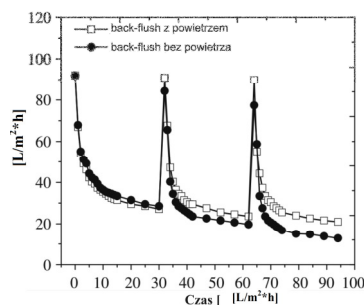
Jeżeli znana jest zależność potencjału zeta od *pH* (ze wzrostem *pH* spada potencjał zeta) [Nurra i in., 2014], to możliwe jest usprawnienie procesu przez dobór odpowiedniego *pH*. Pozwala to zredukować *fouling* i zmniejszyć prawdopodobieństwo formowania placka filtracyjnego.

Znaczną redukcję *biofoulingu* można osiągnąć poprzez wzrost prędkości liniowej nadawy [Rios i in. 2012] (turbulencje i wzrost współczynnika transportu masy). *Biofouling* jest bardziej uciążliwy w przypadku membran hydrofobowych niż hydrofilowych i często charakteryzuje się nieodwracalnością. Membrany o hydrofilowej powierzchni i ujemnym ładunku zapewniają lepszą filtrację. Hydrofilowa powierzchnia membrany odpycha lipofilowe zanieczyszczenia, dzięki czemu płukanie wodą demineralizowaną pozwala przywrócić pierwotne wartości strumienia filtracji [Babel i Takizawa, 2010].

Zwiększenie strumienia filtracji (Rys. 1) można uzyskać dzięki zrywaniu warstwy *foulingowej* poprzez zastosowanie interwałowego mycia zwrotnego (*back-flush*), które nie może być jednak stosowane do membran kompozytowych. Im krótszy czas pomiędzy kolejnymi cyklami mycia, tym rezultat jest lepszy. Użycie powietrza poprawia skuteczność mycia zwrotnego (skuteczność oczyszczania 99%). Bez użycia powietrza skuteczność operacji nie przekracza 90–92% [Zhang i in., 2010].

Mycie chemiczne CIP (*Clean in Place*) z użyciem kąpieli aktywnych o specjalnym składzie może przywrócić sprawność membrany w sytuacji, gdy strumień permeatu spada poniżej 60%. Parametry procesu uwarunkowane są rodzajem materiału membrany oraz charakterem i reaktywnością składników cieczy wcześniej filtrowanej. W przypadku zagęszczania biomasy do mycia chemicznego stosowane są rozcieńczone roztwory wodorotlenku sodu, kwasu cytrynowego i podchlorynu sodu. CIP umożliwia odzyskanie nawet 99% początkowej wartości strumienia [Zhang i in., 2010].

Ciśnienie transmembranowe jest ważnym parametrem decydującym o wydajności procesu zagęszczania komórek algowych. Gdy wzrasta ciśnienie, następuje nieznaczne zwiększenie strumienia permeatu. Oznacza to, że szybciej wzrasta opór membrany niż transport masy przez nią. Zwiększenie ciśnienia przyspiesza blokowanie porów, sprzyja wzrostowi polaryzacji stężeniowej oraz intensyfikacji *foulingu* [Ahmad i in., 2012]. Nie należy zatem zwiększać ciśnienia transmembranowego ponad optymalną wartość, zapewniającą stabilność strumienia filtracji.



Rys. 1. Wpływ powietrza na płukanie zwrotne [Zhang i in., 2010]

Wydzielanie metabolitów z biomasy

Po zagęszczeniu biomasy można przystąpić do wydzielania z niej pożądaných metabolitów. Wydzielanie metabolitów z biomasy glonów możliwe jest poprzez bezpośrednią ekstrakcję rozpuszczalnikową. W zależności od gatunku alg, budowa ściany komórkowej wykazuje pewne zróżnicowanie (wynikające z obecności różnych makrocząsteczek, głównie polisacharydów, lipidów oraz białek) co znacząco wpływa na ekstrakcję wewnętrznych składników, a czasami ją uniemożliwia [Choi i in., 2014].

Większość badaczy stara się przede wszystkim pozyskać z alg tłuszcze. Jednak część z nich prowadzi bardziej zaawansowane badania, w których oprócz głównego metabolitu pozyskują m.in.: chlorofil a, białka czy glukozę [Giorno i in., 2013]. Do tego celu wykorzystują proces ultrafiltracji na różnych rodzajach polimerowych membran płaskich. Obecność rozerwanych komórek i innych substancji uwalnianych z pożywki może współdziałać z materiałem membrany, co z kolei negatywnie wpływa na wydajność membrany. Kolejną filtrację przeprowadzono po wcześniej sonifikacji hodowli alg. Autorzy stwierdzili, że uzyskane wyniki są zbliżone do rezultatów uzyskanych bez sonifikacji; ponadto uzyskano wysoką przepuszczalność wody.

Innym sposobem może być hybrydowy system powstały w wyniku połączenia fotobioreaktora z procesem ultrafiltracji [Rossignol i in., 1999]. System został opracowany w celu ciągłego odzyskiwania pigmentu z mikroalg *Haslea ostrearia*. Hodowla była stabilna przez okres trzech tygodni; w tym czasie autorom udało się utrzymać stały strumień permeatu, a uzyskana regeneracja pigmentu była trzy razy większa niż w przypadku prowadzenia hodowli w konwencjonalnym reaktorze okresowym.

Ważnym czynnikiem wpływającym na skład metabolitów uzyskanych z alg jest więc stopień ich dezintegracji. Jednym z jej sposobów jest dezintegracja mikrofalowa. Wcześniej algi należy zamrozić i liofilizować w temperaturze -70°C . Po dezintegracji komórek możliwa jest ekstrakcyjna separacja lipidów za pomocą rozpuszczalników organicznych. Konieczność użycia rozpuszczalników ogranicza użycie metody ekstrakcyjnej ze względów ekologicznych [Lee i in. 2010].

Inną metodą lizy komórek jest sonikacja - ultradźwięki niszczą kawitacyjnie błonę komórkową i struktury wewnątrzkomórkowe. Dzięki temu możliwe jest dotarcie czynnika ekstrahującego do trudno dostępnych struktur komórki [Lee i in., 2010].

Interesującym sposobem jest ekstrakcja w stanie nadkrytycznym. Medium stosowanym w tym procesie jest CO_2 . CO_2 w stanie nadkrytycznym jest skutecznym rozpuszczalnikiem. Ekstrakcja w stanie nadkrytycznym jest efektywna, a produktów nie zanieczyszczają toksyczne rozpuszczalniki. Skuteczność ekstrakcji w stanie nadkrytycznym metabolitów z alg determinowana jest warunkami realizacji procesu [Mendes, 2003].

Rozwiązaniem idealnym byłaby możliwość wydzielania metabolitów bez konieczności lizy komórek. Badania nad tego typu technologiami prowadzi kilka ośrodków. Efektem tych eksperymentów jest, między innymi, wykorzystanie impulsów elektrycznych do spowodowania, aby algi pozbyły się lipidów [Reep i Green, 2012].

Racjonalnym rozwiązaniem wydaje się separacja pożądaných metabolitów z biomasy algowej za pomocą technik membranowych po wcześniejszej dezintegracji komórek. Prace w tym zakresie są dopiero inicjowane, a do rozwiązania pozostaje wiele problemów, warunkujących skuteczność procesu separacji, jak i technicznych uwarunkowań ich realizacji.

Podsumowanie

Mikroalgi stanowią jedno z najbardziej obiecujących odnawialnych źródeł energii i chemikaliów. Efektywne ich wykorzystanie jest możliwe dopiero po zagęszczeniu biomasy i separacji z niej użytecznych metabolitów. Zastosowanie w tym celu membranowej filtracji krzyżowej stwarza możliwość zwiększenia skuteczności tych procesów i obniżenia ich kosztów. Proces zagęszczania biomasy poprzez odfiltrowanie wody staje się coraz bardziej powszechny, w związku z tym podejmowane są próby w skali technicznej. Większe trudności

występują podczas separacji i oczyszczania metabolitów. Prace w tym zakresie są dopiero inicjowane. Rozwiązania wymaga wiele problemów związanych z opanowaniem *biofoulingu*, powodowanego przez uwalnianie (w wyniku lizy komórek alg) metabolity o różnych właściwościach.

LITERATURA

- Ahmad A.L., Mat Yasin N.H., Derek C.J.C., Lim J.K., 2012. Crossflow microfiltration of microalgae biomass for biofuel production. *Desalination*, **302**, 65-70. DOI: 10.1016/j.desal.2012.06.026
- Babel S., Takizawa S., 2011. Microfiltration membrane fouling and cake behavior during algal filtration. *Desalination*, nr 261, 46-51. DOI: 10.1016/j.desal.2010.05.038
- Choi S-A., Oh Y-K., Jeong M-J., Kim S.W., Lee J-S., 2014. Effects of ionic liquid mixtures on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. *Renewable Energy*, **65**, 169-174. DOI: 10.1016/j.renene.2013.08.015
- Demirbas A., Demirbas M.F., 2011. Importance of algae oil as a source of biodiesel. *Energy Conv. Manag.*, **52**, 163-170. DOI: 10.1016/j.enconman.2010.06.055
- Discart V., Bilal M.R., Vandamme D., Foubert I., Muylaert K., Vankelecom I.F.J., 2013. Role of transparent exopolymeric particles in membrane fouling: *Chlorella vulgaris* broth filtration. *Bioresource Technology*, nr **129**, 18-25. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.11.034
- Dziosa K., 2013. Właściwości smaru oleju z alg w skojarzeniu stal-stal. *Tribologia*, nr 5, 21-32
- Dziosa K., Makowska M., Grądkowski M.C., 2014. Właściwości tribologiczne elementów pokrytych powłokami WC/C smarowanych podczas tarcia olejem z alg. *Tribologia*, nr 6, 23-31
- Giorno F., Mazzei R., Giorno L., 2013. Purification of triacylglycerols for biodiesel production from *Nannochloropsis* microalgae by membrane technology. *Biores. Technol.*, **140**, 172-178. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.04.073
- Lee J-Y., Yoo C., Jun S-Y., Chi-Yong Ahn C-Y., Oh H-M., 2010. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Biores. Technol.*, **101**, Suppl. 75-s77. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.03.058
- Mendes R. L., Nobre B. P., Cardoso M. T., Pereira A. P., Palavra A. F., 2003. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae. *Inorg. Chem. Acta*, **356**, 328-334. DOI: 10.1016/S0020-1693(03)00363-3
- Nurra C., Clavero E., Salvadó J., Torras C., 2014. Vibrating membrane filtration as improved technology for microalgae. *Bioresource Technol.*, **157**, 247-253. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.01.115
- Ratledge C., Cohen Z., 2008. Microbial and algal oils: Do they have a future for biodiesel or as commodity oils? *Lipid Technology*, **20**, 155-160. DOI: 10.1002/lite.200800044
- Rawat I., Kumar R.R., Mutanda T., Bux F., 2011. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Appl. Energy*, **88**, 3411-3424. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.11.025
- Reep P., Green M.P., 2012. *Procedure for extracting of lipids from algae without cell sacrifice*. Patent US20120040428 A1
- Rickman M., Pellegrino J., Davis R., 2012. Fouling phenomena during membrane filtration of microalgae. *J. Membr. Sci.*, **423-424**, 33-42. DOI: 10.1016/j.memsci.2012.07.013
- Rios S.D., Salvadó J., Farriol X., Torras C., 2012. Antifouling microfiltration strategies to harvest microalgae for biofuel. *Biores. Technol.*, **119**, 406-418. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.05.044
- Rossignol, N., Vandanjon, L., Jaouen, P., 1999. Membrane technology for the continuous separation microalgae/culture medium: compared performances of cross-flow microfiltration and ultrafiltration. *Aquacult. Eng.*, **20**, 191-208. DOI: 10.1016/S0144-8609(99)00018-7
- Scott S.A., Davey M.P., Dennis J.S., Horst L., Howe C.J., Lea-Smith D.J., Smith A.G., 2010. Biodiesel from algae: Challenges and prospects. *Curr. Op. Biotechnol.*, **21**, 277-286. DOI: 10.1016/j.copbio.2010.03.005
- Suali E., Sarbatly R., 2012. Conversion of microalgae to biofuel. *Renew. Sust. Energy Rev.*, **16**, 4316-4342. DOI: 10.1016/j.rser.2012.03.047
- Zakrzewski T., 2011. Biomasa mikroalg – obiecujące paliwo przyszłości, *Czysta energia*, nr 2, 27-28
- Zhang X., Hu Q., Sommerfeld M., Puruhito E., Chen Y., 2010. Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes. *Biores. Technol.*, 2010, 101, 5297-53004. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.02.007

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