

Agnieszka PATYNA, Małgorzata PŁACZEK, Stanisław WITCZAK

e-mail: s.witczak@po.opole.pl

Katedra Inżynierii Procesowej, Wydział Mechaniczny, Politechnika Opolska, Opole

Charakterystyka procesu sedymentacji mikroglonów *Chlorella vulgaris***Wstęp**

Biomasa glonów coraz częściej uważana jest za potencjalny surowiec mogący służyć do produkcji biopaliw, energii elektrycznej oraz ciepłej. Ze względu na ograniczone zasoby ropy naftowej, niestabilne ceny paliw kopalnych oraz wzrost zanieczyszczenia środowiska prowadzone są intensywne badania w zakresie wykorzystania biomasy alg jako źródła energii odnawialnej. Niezależnie od stosowanej techniki hodowli alg (hodowla w systemach otwartych lub zamkniętych) wskaźnik produkcji tego typu biomasy jest dużo wyższy niż efektywność produkcji roślin polowych traktowanych jako typowy surowiec do produkcji biopaliw. W związku z tym obserwuje się stały wzrost zainteresowania efektywności i opłacalną ekonomicznie produkcją tych mikroorganizmów w skali przemysłowej. Warto przy tym nadmienić, że w dużym stopniu o ekonomii produkcji biomasy alg nie decydują jedynie koszty związane z ich hodowlą (koszty podłoża hodowlanego, sztucznego oświetlenia, doprowadzania CO₂, energii elektrycznej zużywanej na mieszanie cieczy) ale także koszty związane z separacją biomasy od medium hodowlanego.

Separacja alg

Procesy polegające na zagęszczaniu biomasy, zalicza się do wysoko kosztownych etapów w całym cyklu przetwórstwa glonów. Szacuje się, że koszt odwodnienia alg na cele energetyczne stanowi ok. 20÷30% całkowitych kosztów wytwarzania biopaliw [Rawat i in., 2013]. Dążąc do obniżenia kosztów pozyskiwania alg prowadzi się obecnie wiele prac badawczych zmierzających do znalezienia ekonomicznie korzystnych technik separacji mikrocząstek alg z płynu hodowlanego w różnej skali. Na szczególną uwagę zasługują tutaj prace badawcze obejmujące swym zakresem określenie efektywności wydzielenia glonów na drodze wirowania, flokulacji, filtracji, sedymentacji, flotacji czy też elektroforezy. Prowadzi się także obszerne prace badawcze nad wykorzystaniem w tym celu filtracji membranowej, tj. mikrofiltracji i ultrafiltracji. Zastosowanie konkretnej metody zagęszczania biomasy alg często podyktowane jest także stopniem technicznego opanowania tej metody w skali przemysłowej. W związku z tym w procesach technologicznych przetwarzania biomasy glonów dominują metody, które sprawdziły się, np. w technologii oczyszczania wody z zanieczyszczeń organicznych.

Sedymentacja jako metoda zapewniająca niskie koszty eksploatacyjne nabiera coraz większego znaczenia wśród wymienionych metod separacji alg. Wśród wymienionych metod separacji alg uwagę zwraca sedymentacja, która postrzegana jest jako metoda zapewniająca niskie koszty eksploatacyjne. Metoda ta ma jednak pewne ograniczenia, m.in. jest metodą wolną (prędkość opadania cząstek wynosi średnio $2,77 \cdot 10^{-6} \div 7,22 \cdot 10^{-6}$ m/s) oraz fakt, że jest bardziej efektywna w przypadku komórek o większym rozmiarze [Rawat i in., 2013].

Flokulacja. Uwzględniając jednak niewielki koszt sedymentacji w porównaniu do kosztów innych dostępnych metod wydzielenia oraz możliwość kontroli procesu, często w celu zwiększenia efektywności i skrócenia czasu trwania separacji grawitacyjnej przeprowadza się wstępny proces flokulacji glonów, w efekcie którego zwiększają się rozmiary opadających cząstek. Wymaga to jednak użycia odpowiednich związków chemicznych, takich jak Al₂(SO₄)₃, FeCl₃, Fe₂(SO₄)₃, na co wskazują m.in. opracowania [Brennan i Owende, 2010; Uduman i in., 2010; Rawat i in., 2013; Chatsungnoen i Chisti, 2016].

Autoflokulacja. Wiele szczepów alg podlega procesowi autoflokulacji, której intensywność zależy od warunków hodowli [Moreno i in., 1998; Wilén i Balmér, 1999; Zhang i in., 2012; Tran i in., 2017]. Proces autoflokulacji związany jest najczęściej z elektrostatycznym oddziaływaniem pomiędzy ujemnie naładowaną powierzchnią

komórek, a dodatnio naładowanymi jonami w cieczy hodowlanej (neutralizowanie ładunków), produkcją osadów soli lub zewnątrzkomórkowych związków polimerowych. Może także występować w przypadku łączenia się mikroalg z bakteriami (flokulacja typu *sweep*).

Wiele prac wskazuje również na wytwarzanie zewnątrzkomórkowych substancji polimerowych w warunkach zmiany natężenia światła, w efekcie zmiany temperatury [Moreno i in., 1998; Tran i in., 2017] czy też zmiany stężenia rozpuszczonego w cieczy hodowlanej tlenu [Wilén i Balmér, 1999]. Warto przy tym podkreślić, że w hodowlach okresowych, proces autoflokulacji związany jest z efektem starzenia się komórek, a najlepsze warunki do sedymentacji występują pod koniec fazy wzrostu wykładniczego oraz w fazie stacjonarnej [Zhang i in., 2012].

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki własnych badań eksperymentalnych dotyczących wykorzystania procesu sedymentacji do odzysku alg z płynu hodowlanego. Badania te obejmowały swym zakresem określenie wpływu początkowego stężenia zawiesiny alg na przebieg procesu sedymentacji. Wyniki badań i ich analiza pozwoliły także wskazać na możliwość wykorzystania zjawiska autoflokulacji do poprawy efektywności sedymentacji.

Badania doświadczalne

Materiały. W celu określenia wpływu stężenia komórek mikroglonów na przebieg sedymentacji przeprowadzono badania eksperymentalne obejmujące sedymentację dwóch szczepów jednokomórkowych glonów *Chlorella vulgaris* BA 002 oraz BA 167 (szczepy pozyskano z Kolekcji Kultur Glonów Bałtyckiego Instytutu Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego). Szczepy te nieznacznie różnią się między sobą wielkością komórek oraz ich morfologią. Algi hodowane były w fotobioreaktorze zbiornikowym na standardowym medium F/2 w temperaturze 26°C.

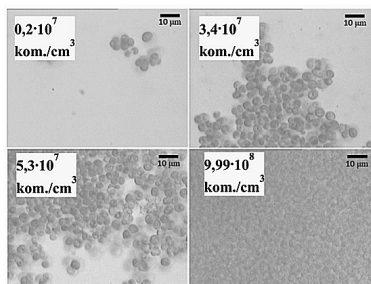
Metodyka. Analiza próbek pobranych w trakcie hodowli była prowadzona z wykorzystaniem mikroskopu odwróconego Motic AE2000T oraz oprogramowania do analizy obrazu i pozwoliła wyznaczyć rozkład wielkości komórek glonów w zawiesinie. Stężenie zawiesiny (liczbę komórek znajdujących się w jednostce objętości płynu) wyznaczano dwiema metodami, tj. w badaniach mikroskopowych oraz za pomocą spektrofotometru *Aquamate 8000 UV VIS*. Ponadto dla każdej z analizowanych próbek wyznaczono suchą masę wykorzystując wagosuszarke Radwag MA.X2.A o dokładności pomiarowej 0,1 mg.

Testy sedymentacyjne zawiesin alg o różnym stężeniu początkowym prowadzono w cylindrach miarowych o pojemności 100 cm³. W trakcie testów mierzono przyrost warstwy sklarowanej oraz warstwy osadu w przedziale czasowym co 5, 15 bądź 30 minut. Jednocześnie, w celu określenia stężenia komórek w każdej ze stref sedymentującej zawiesiny pobierano próbki do obserwacji mikroskopowych z klaru, osadu oraz zawiesiny o zmiennym stężeniu, dla których określano liczbę komórek oraz zawartość suchej masy.

W celu określenia zmian stanu zawiesiny w trakcie sedymentacji przeprowadzano pomiary wielkości tworzących się w czasie sedymentacji aglomeratów cząstek, będących efektem autoflokulacji. W badaniach tych wykorzystano mikroskop cyfrowy *Dino-lite AM7515MT8A* sprzężony z komputerem wyposażonym w oprogramowanie do rejestracji i analizy obrazu. Pozwalało to w czasie rzeczywistym obserwować i rejestrować cząstki.

Wyniki badań i ich analiza

W wyniku badań mikroskopowych stwierdzono, że średnia wielkość komórek dla obu szczepów wynosiła 4 μm. Obrazy przykładowych preparatów mikroskopowych zawiesin o różnych stężeniach przedstawiono na rys. 1. Wyniki badań wskazują, że w każdej ze stref wyodrębnionych w sedymentującej zawiesinie występuje różna liczba komórek, a w strefie



Rys. 1. Obrazy mikroskopowe próbek zawiesiny alg *Chlorella vulgaris* BA 002 pobranych w trakcie procesu sedimentacji

zawiesiny o zmiennej koncentracji szczególnie widoczne jest zróżnicowanie stężenia komórek. W wyniku odwodnienia i osuszenia próbek zawiesiny o różnym stężeniu glonów dokonano powiązania stężenia objętościowego komórek z ich stężeniem masowym, a także wartością absorpcji. Wszystkie wyznaczone parametry wykorzystywano w ocenie efektywności sedimentacji, a przykładowe relacje pomiędzy tymi wielkościami, dla glonów *Chlorella vulgaris* BA 002, zawarto w tab. 1.

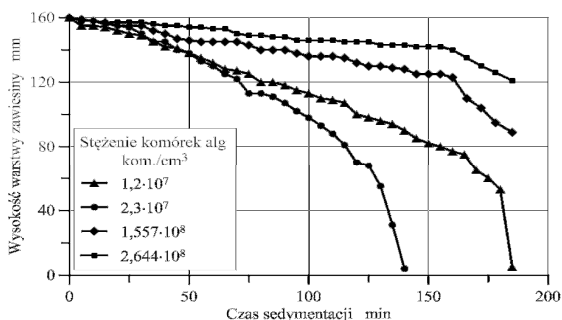
Tab. 1. Wielkości pomiarowe zawiesiny alg *Chlorella vulgaris* BA 002

Liczba komórek [kom./cm ³]	Koncentracja [g/dm ³]	Absorbancja [-]
5·10 ⁶	0,437	0,185
10 ⁷	0,733	0,456
10 ⁸	6,063	5,342
5·10 ⁸	29,750	27,06

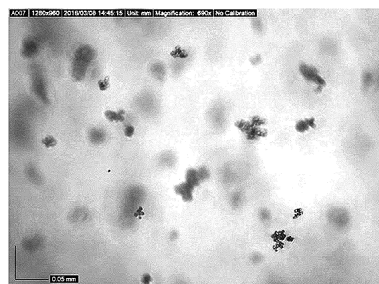
W oparciu o uzyskane wyniki badań opracowano krzywe sedimentacyjne określające zmiany położenia linii podziału między poszczególnymi strefami w sedimentującej zawieszynie. Z uwagi na to, że wysokość osadu była bardzo mała i wynosiła średnio 1÷3 mm. Aby zapewnić czytelność rysunku zdecydowano się przedstawić jedynie zmiany położenia strefy pomiędzy cieczą sklarowaną a zawieszyną. Przykładowe wyniki przebiegu procesu sedimentacji glonów *Chlorella vulgaris* BA 002 przedstawiono na rys. 2.

Z analizy danych na rys. 2 wynika, że prędkość tworzenia się strefy cieczy czystej jest zmienna w czasie i zależna od wartości wyjściowego stężenia danej zawiesiny. W początkowym okresie sedimentacji obserwuje się praktycznie liniowy jej przebieg, natomiast po upływie około 120 minut prędkość sedimentacji ulega zwiększeniu.

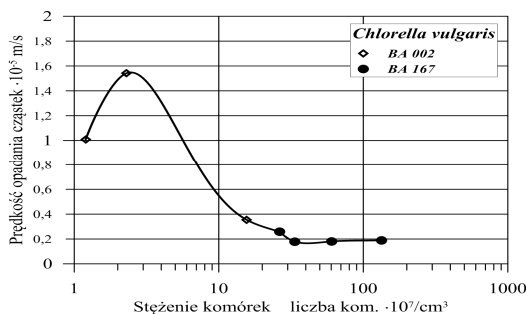
Na rys. 3 pokazano cząstki opadające wzdłuż ściany cylindra. Zaobserwowano, że średnia wielkość tworzących się aglomeratów komórek (flokul) wynosiła 20÷50 µm i była wielokrotnie większa od pojedynczych komórek glonów (3÷5 µm). Przeprowadzone pod tym kątem badania wykazały, że efekt aglomeracji komórek nie występuje przy bardzo małych ich stężeniach w zawieszynie oraz występuje w ograniczonym stopniu przy stężeniach dużych. W konsekwencji polidispersyjnego charakteru zawiesiny (cząstki o zróżnicowanej wielkości) uzyskuje się różne prędkości ich opadania, co przedstawiono na rys. 4. Z danych na wykresie wynika, że cząstki alg zarówno przy małych jak i dużych stężeniach zawiesiny mają niższe prędkości opadania, niż w przypadku zawiesin o średnich wartościach stężeń.



Rys. 2. Krzywe opadania komórek alg – *Chlorella vulgaris* BA 002



Rys. 3. Obraz mikroskopowy zawiesiny alg – *Chlorella vulgaris* BA 002 o stężeniu początkowym 1,3·10⁷ kom./cm³, (911 mg/dm³)



Rys. 4 Prędkości opadania cząstek glonów *Chlorella vulgaris* BA 002 i BA 167

Stwierdzona osobliwość zmian prędkości sedimentacji jest konsekwencją różnego wzajemnego oddziaływania cząstek, które w zależności od stanu chemicznego cieczy hodowlanej mogą się wzajemnie odpychać (jako cząstki obdarzone ujemnym ładunkiem elektrostatycznym) lub ulegać aglomeracji. Wyjaśnienie tego zjawiska wymaga dalszych systematycznych badań.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania potwierdziły możliwość efektywnego wykorzystania sedimentacji do pozyskania alg z medium hodowlanego. Wykazały również istotny wpływ początkowego stężenia zawiesiny oraz warunków prowadzenia hodowli na prędkość sedimentacji. Przyspieszenie procesu separacji glonów tą techniką dla określonych stężeń alg w zawieszynie następuje jedynie w efekcie zjawiska autoflokulacji. Celem pełniejszego opisu procesu, pod kątem stwierdzonych osobliwości, planuje się kontynuację prac, co pozwoli określić parametry technologiczne zapewniające efektywne wykorzystanie tego typu metody odzysku alg w warunkach przemysłowych.

LITERATURA

Brennan L., Owende P., (2010). Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sus. Energy Rev.*, 14, 557-577. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.009

Chatsungnoen T., Chisti Y., (2016). Harvesting microalgae by flocculation-sedimentation. *Algal Research*, 13, 271-283. DOI: 10.1016/j.algal.2015.12.009

Moreno J., Vargas M. A., Olivares H., Rivas J., Guerrero M. G., (1998). Exopolysaccharide production by the cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047 in batch and continuous culture. *J. Biotechnol.* 1998, 60, 175-182. DOI: 10.1016/S0168-1656(98)00003

Rawat I., Ranjith Kumar R., Mutanda T., Bux F., (2013). Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*, 103,444-467. DOI:10.1016/j.apenergy.2012.10.004

Tran N. T., Seymour J. R., Siboni N., Evenhuis C. R., Tamburic B., (2017). Photosynthetic carbon uptake induces autoflocculation of the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Algal Res.*, 26, 302-311. DOI: 10.1016/j.algal.2017.08.005

Uduman N., Qi Y., Danquah M. K., Forde G. M., Hoadley S., (2010). Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. *J. Renew. Sust. Energy*, 2, 1-15. DOI: 10.1063/1.3294480

Wilén B. M., Balmér P., (1999). The effect of dissolved oxygen concentration on the structure., size and size distribution of activated sludge flocs. *Water Research*, 33(2), 391-400. DOI: 10.1016/S0043-1354(98)00208-5

Zhang X., Amendola P., Hewson J. C., Sommerfeld M., Hu Q., (2012). Influence of growth phase on harvesting of *Chlorella zofingiensis* by dissolved air flotation. *Biores. Technol.*, 116, 477-478. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.04.002