

PRODUKCJA BIOMASY MIKROGLONÓW NA BAZIE ŚCIEKÓW POCHODZĄCYCH Z PRZEMYSŁU MLECZARSKIEGO

Marcin Dębowski¹, Marcin Zieliński¹, Magdalena Rokicka¹

¹ Katedra Inżynierii Środowiska, Wydział Nauk o Środowisku, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Warszawska 117, 10-720 Olsztyn, e-mail: marcin.debowski@uwm.edu.pl; marcin.zielinski@uwm.edu.pl; magdalena.rokicka@uwm.edu.pl

Streszczenie

Celem badań było określenie możliwości hodowli biomasy glonów o wysokiej zawartości oleju na bazie ścieków pochodzących z zakładów mleczarskich. Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem fotobioreaktorów zamkniętych o orientacji pionowej. Stwierdzono, iż najlepszymi właściwościami charakteryzują się ścieki wstępnie podczyszczone w reaktorze beztlenowym. Zastosowanie tego rodzaju substratu pokarmowego pozwoliło na uzyskanie koncentracji mikroglonów w reaktorze na poziomie 3490 mg s.m./dm³, przy średniej szybkości przyrostu biomasy wynoszącej 176 mg s.m./dm³·d. Zawartość oleju w biomacie glonów była bliska wartości 20%.

Słowa kluczowe: biomasa glonów, bioolej, ścieki mleczarskie, fotobioreaktory.

MICROALGAE BIOMASS PRODUCTION BASED ON WASTEWATER FROM DAIRY INDUSTRY

ABSTRACT

The goal of this study was to determine the feasibility of culturing high-oil algae biomass based on wastewater from dairy processing plants. The experiments were conducted in laboratory scale with tubular photobioreactor using. The best technological properties were demonstrated for eluates from an anaerobic reactor treating dairy wastewater. The use of a substrate of this type yielded algae biomass concentration at a level of 3490 mg d.m./dm³, with the mean rate of algae biomass growth at 176 mg d.m./dm³·d. The mean content of oil in the proliferated biomass of algae approximated 20%.

Keywords: algae biomass, biooil, dairy wastewater, photobioreactors.

WSTĘP

Polityka Energetyczna Polski do 2030 r., wyznacza jako jeden z priorytetów osiągnięcie przez Polskę w 2020 r. co najmniej 15% udziału energii z odnawialnych źródeł w zużyciu energii finalnej brutto. Zobowiązanie osiągnięcia powyższego celu wynika bezpośrednio z dyrektywy 2009/28/WE w sprawie promowania stosowania energii ze źródeł odnawialnych zmieniającej i w następstwie uchylającej dyrektywy 2001/77/WE oraz 2003/30/WE, zwanej dalej „RED”. Wkład w realizację celów biopaliwowych wyznaczonych dla Polski Dyrektywą RED, czyli 10% udziału energetycznego biopaliw w 2020 roku na poziomie

kraju mają głównie spółki energetyczne i koncerny paliwowe.

Obecnie najważniejszym surowcem wykorzystywanym do produkcji biodiesla na terenie UE jest rzepak. Jednak istotny wzrost produkcji i zużycia biokomponentów wytworzonych na bazie typowych roślin oleistych może prowadzić do wzrostu ilości gazów wprowadzanych do atmosfery oraz negatywnie wpłynąć na globalną podaż żywności i istotny wzrost jej cen. Zwiększenie obszarów przeznaczonych na produkcję lądowych roślin oleistych stanowi również zagrożenie dla środowiska naturalnego. Zjawisko to może doprowadzić do zniszczenia cennych przyrodniczo siedlisk flory i fauny oraz zwiększyć

ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do gleby, wód podziemnych i powierzchniowych.

Istnieje zatem uzasadniona potrzeba poszukiwania alternatywnych źródeł biomasy, której wykorzystanie na cele energetyczne będzie uzasadnione z ekonomicznego i ekologicznego punktu widzenia. Biorąc pod uwagę bardzo wysoką efektywność fotosyntetyczną, szybkie tempo przyrostu biomasy, odporność na różnego rodzaju zanieczyszczenia oraz możliwość zagospodarowania terenów, które nie mogą zostać wykorzystane na inne cele, alternatywą dla typowych roślin energetycznych mogą być glony. W przeprowadzonych dotychczas badaniach stwierdzono, iż wiele szczepów mikroalg posiada zdolności do kumulowania znacznej ilości lipidów w komórkach, która może dochodzić do 20–50% suchej masy. Istnieją również doniesienia, które dokumentują technologie pozwalające na stymulowanie i intensyfikowanie procesu magazynowania związków tłuszczowych poprzez kontrolę stężenia związków azotu w medium hodowlanym, optymalizację sposobu dostarczania energii świetlnej, sterowania warunkami temperaturowymi oraz koncentracją CO₂ [Qin 2005, De Morais 2007, Hu i in. 2008, Chiu i in. 2009].

Opracowanie i wdrożenie technologii produkcji biopaliw na bazie lipidów kumulowanych w komórkach biomasy glonów jest istotne ze względu na konieczność realizacji celów biopaliwowych, czyli Narodowego Celu Wskaźnikowego – zapewnienia udziału biokomponentów w ogólnej ilości sprzedawanych paliw i biopaliw ciekłych, które wynika bezpośrednio z Rozporządzenia Rady Ministrów z 23 lipca 2013 r. w sprawie Narodowych Celów Wskaźnikowych (NCW) na lata 2013–2018 – czyli udziału biokomponentów w latach 2014–2016 na poziomie 7,10% energ., natomiast w latach 2017 i 2018 odpowiednio 7,8% energ. i 8,5% energ., ale przede wszystkim wynika ze świadomości ochrony klimatu, a co za tym potrzeby redukcji GHG.

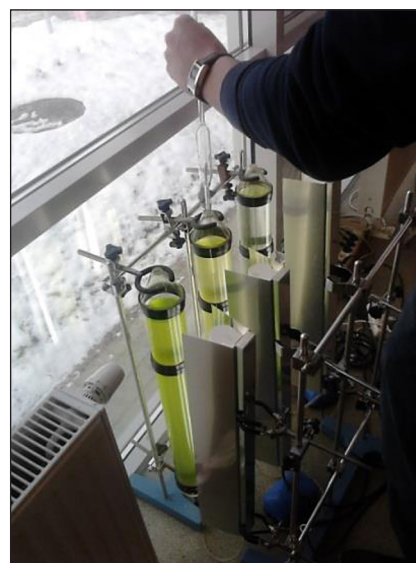
Rozwiązania technologiczne oparte na wykorzystywaniu glonów stosowane są najczęściej jako trzeci stopień oczyszczania ścieków komunalnych oraz przemysłowych w stawach tlenowych lub fakultatywnych [Oswald 2003]. W procesie fotosyntezy organizmy te uwalniają 1,50–1,92 kg O₂/kg¹ wyprodukowanej biomasy, natomiast prędkość utleniania osiągnięta przy degradacji zanieczyszczeń organicznych kształtuje się w zakresie od 0,48–1,85 kg O₂/m³·d¹ [Grobelaar 2000, Muñoz i in. 2004]. Glony asymilu-

ją również znaczną ilość substancji biogenych zawartych w ściekach, ponieważ wymagają dużych ilości azotu i fosforu niezbędnych w procesach wewnątrzustrojowej syntezy białek, których koncentracja w suchej masie kształtuje się w zakresie od 20% do 60%, w zależności od gatunku. Przystawiane związki biogenne wykorzystywane są również do budowy kwasów nukleinowych i fosfolipidów [Oswald 2003].

Celem badań było określenie możliwości namnażania i hodowli biomasy glonów o wysokiej zawartości oleju na bazie ścieków pochodzących z sektora mleczarskiego.

METODYKA BADAŃ

Do namnażania testowanych w mikroglonów wykorzystano fotobioreaktory rurowe o pojemności czynnej 2,5 dm³. Wykonane zostały one z przezroczystego szkła organicznego o średnicy 7,6 cm i wysokości czynnej 55,0 cm. Od dołu do reaktorów, w sposób ciągły, doprowadzono sprężone powietrze z wydajnością 250 dm³/h. Umożliwiło to odpowiednie wymieszanie medium hodowlanego, jednorodność warunków w całej objętości reaktora oraz umożliwił wprowadzanie do hodowli CO₂ zawartego w powietrzu. Reaktory były stale naświetlane światłem białym o natężeniu wynoszącym 700 lux. Temperatura hodowli wynosiła 22,0 ± 2,0 °C. Warunki termiczne były stale monitorowane poprzez zainstalowane w eksploatowanych reaktorach czujki temperatury. Eksploatowane w trakcie tej części badań fotobioreaktory zaprezentowano na rysunku 1.



Rys. 1. Stanowisko badawcze
Fig. 1. Experimental stand

Inokulum zaszczipiającym była mieszana kultura glonów, w której 70% stanowiły glony z rodzaju *Chlorella sp.* i 30% glony z rodzaju *Sceenedesmus sp.*. Początkowe zawartość suchej masy glonów w reaktorach wynosiła 540 mg s.m./dm³, w tym koncentracja suchej masy organicznej wynosiła 460 mg s.m.o./dm³. Na początku cyklu technologicznego do każdego z eksploatowanych fotobioreaktorów wprowadzono po 200 cm³ testowanych pożywek. Badania prowadzono dla pięciu wariantów technologicznych, których kryterium wyodrębnienia były wykorzystane substancje pokarmowe: wariant I – pożywka na bazie odczynników chemicznych, wariant II – odciek z reaktora fermentacyjnego oczyszczającego ścieki mleczarskie, wariant III – modelowe, surowe ścieki mleczarskie spreparowane na bazie mleka w proszku, wariant IV – surowe ścieki mleczarskie pochodzące ze zbiornika wyrównawczego, wariant V – odciek z reaktora fermentacyjnego oczyszczającego ścieki mleczarskie poddany wstępnej pasteryzacji. Charakterystykę substratów pokarmowych stosowanych podczas realizacji II etapu badań zaprezentowano w tabeli 1.

W trakcie prowadzonych badań analizowano efektywność przyrostu biomasy glonów, jej skład jakościowy oraz zawartość tłuszczu w pozyskiwanej biomacie (metoda Soxhleta). Koncentrację suchej masy biomasy glonów oznaczano również metodą wagową bezpośrednią wg PN-EN 872:2002. Identyfikację taksonomiczną fitoplanktonu dokonywano na podstawie preparatów nietrwałych lub półtrwałych. Analizę jakościową biomasy glonów prowadzono również przy użyciu BBE Alage OnLine Analyser firmy Moldaenke.

WYNIKI

Uzyskana koncentracja oraz szybkość przyrostu biomasy glonów była zależna bezpośrednio od testowanych substratów pokarmowych i

kształtowała się w zakresie od 842,9 mg s.m./dm³ w przypadku stosowania modelowych ścieków mleczarskich do 3521,2 mg s.m./dm³ w przypadku wykorzystania typowej pożywki dla hodowli glonów (rys. 2).

Najwyższe efekty technologiczne uzyskano w wariacie, w którym jako substrat pożywkowy w procesie namnażania biomasy glonów zastosowano odciek z reaktora beztlenowego oczyszczającego ścieki mleczarskie, który poddano procesowi wstępnej pasteryzacji. W tym przypadku uzyskana koncentracja biomasy glonów w fotobioreaktorze wynosiła około 3490 mg s.m./dm³, natomiast średnia szybkość przyrostu glonów kształtowała się na poziomie 176 mg s.m./dm³·d (rys. 3).

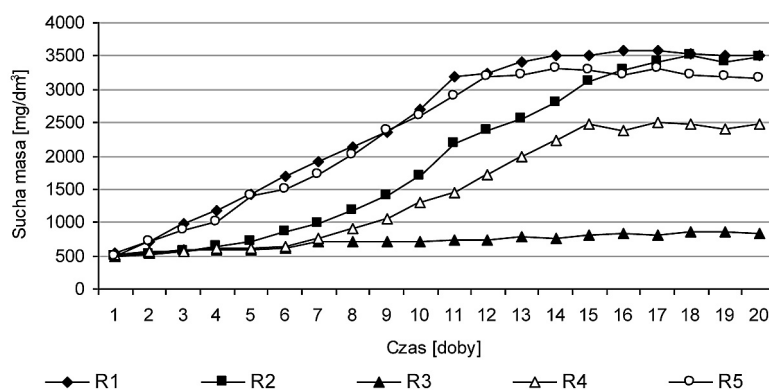
Uzyskane wysokie sprawności namnażania biomasy glonów spowodowane były składem jakościowym testowanego medium tzn. relatywnie niskim stężeniem związków organicznych oraz wysokimi stężeniami azotu w formie amonowej i fosforu mineralnego. Stwierdzono, iż wprowadzenie do ciągu technologicznego procesu pasteryzacji odcieku po procesie beztlenowego oczyszczania ścieków mleczarskich skutkowało ograniczeniem ilości bakterii w namnażanej biomacie od 18,3% do 3,1%. Zabieg ten wpłynął istotnie na zwiększenie udziału glonów z rodzaju *Chlorella sp.* od poziomu 66,7% w przypadku testowania odcieku surowego do wartości 72,0% po zastosowaniu procesu pasteryzacji (rys. 4). Średnia zawartość oleju w namnażanej biomacie glonów mieściła się w przedziale od 21,3% w układzie technologicznym, w którym wykorzystywano pożywkę syntetyczną do 9,4% w przypadku testowania modelowych ścieków mleczarskich (tab. 2).

DYSKUSJA

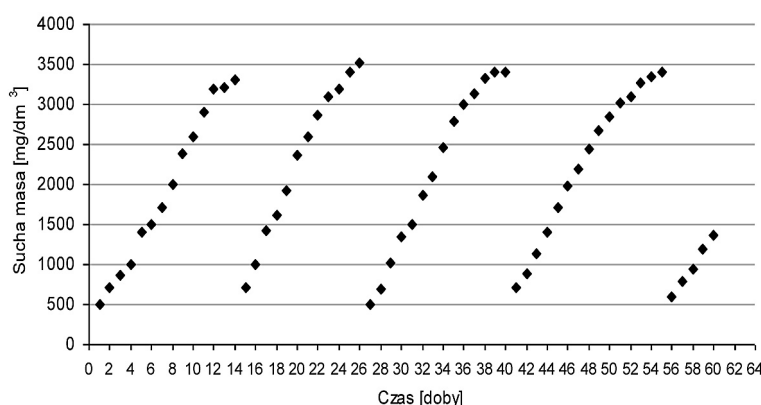
Biomasa glonów może być potencjalnym źródłem wielu rodzajów biopaliw. Zaliczyć do nich

Tabela 1. Charakterystyka substratów pokarmowych
Table 1. Characteristics of feeding substrates

Wariant	Wskaźnik								
	BZT ₅ , mg O ₂ /dm ³	ChZT, mg O ₂ /dm ³	BZT ₅ /ChZT	pH	Zaw. og., mg/dm ³	Nog., mg/dm ³	N-NH ₄ , mg/dm ³	Pog, mg/dm ³	P-PO ₄ , mg/dm ³
I	32,11	113,26	0,28	6,19	138,53	51,84	47,43	49,98	42,31
II	319,09	633,47	0,50	7,42	418,2	229,06	207,89	62,61	49,19
III	403,12	937,02	0,43	7,89	971,21	56,07	1,23	27,19	19,54
IV	1713,42	3788,9	0,40	8,21	1026,5	53,13	7,34	40,52	21,22
V	337,19	702,05	0,48	7,39	206,13	274,93	216,86	65,04	52,03

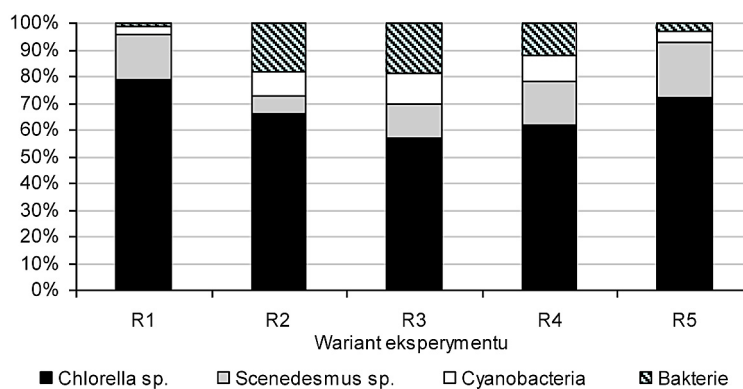


Rys. 2. Zmiany koncentracji biomasy glonów w fotobioreaktorach w zależności od wariantu technologicznego
Fig. 2. Changes of the algae biomass concentration in photobioreactor depending on the technological variant



Rys. 3. Zmiany koncentracji biomasy glonów przy zastosowaniu jako pożywki odcieku z reaktora beztlenowego oczyszczającego ścieki mleczarskie po wstępnej pasteryzacji (20 min./temp. 90 °C).

Fig. 3. Changes of the algal biomass concentration when the pasteurized effluent from the anaerobic reactor as a medium was used (20 min./temp. 90 °C).



Rys. 4. Skład jakościowy biomasy glonów
Fig. 4. Qualitative composition of the algae biomass

Tabela 2. Procentowa zawartość oleju w biomacie pozyskiwanej z fotobioreaktorów w zależności od wariantu eksperymentu

Table 2. The percentage content of oil in the biomass acquired from photobioreactors depending on the experimental variant

Wartość	Wariant eksperymentu				
	I	II	III	IV	V
Średnia	21,3	12,9	9,4	11,2	17,8
Min.	18,1	11,2	6,3	9,4	19,8
Max.	23,7	15,1	10,6	13,1	15,3
Odchylenie std.	2,8	2,0	2,2	1,9	2,3

można biogaz powstający w procesach beztlenowego rozkładu biomasy, biodiesel produkowany z lipidów kumulowanych w komórkach glonów, wodór pochodzący z przemian fotobiologicznych lub pozyskiwana biomasa glonów może być przeznaczona do bezpośredniego spalania [Patil i in. 2008, Li i in. 2008, Pienkos i Drzins 2009].

W przeprowadzonych dotychczas badaniach stwierdzono, iż wiele szczepów mikroalg posiada zdolności do kumulowania znacznej ilości lipidów w komórkach, która może dochodzić do 20% - 50 % suchej masy. Istnieją również doniesienia, które dokumentują technologie pozwalające na stymulowanie i intensyfikowanie procesu magazynowania związków tłuszczowych poprzez kontrolę stężenia związków azotu w medium hodowlanym, optymalizację sposobu dostarczania energii świetlnej, sterowania warunkami temperaturowymi oraz koncentracją CO₂ [Qin 2005, De Morais 2007, Hu i in. 2008, Chiu i in. 2009]. Dotychczasowe badania udowodniły, iż skutecznym sposobem wpływającym nie tylko na zwiększenie poziomu kumulacji lipidów w komórkach mikroglonów, lecz również na ich skład jakościowy głównie pod kątem zawartości trójglicerydów jest limitowanie koncentracji azotu w medium hodowlanym [Widjaja i in. 2009, Meng i in. 2009]. Kumulacja trójglicerydów ma istotne znaczenie w przypadku konwersji oleju pozyskanego z biomasy glonów do biodiesla [Meng i in. 2009].

W prezentowanych badaniach w celu namnożenia biomasy glonów o wysokiej koncentracji oleju wykorzystano odciek pochodzący z komór fermentacyjnych. Zastosowanie tego rodzaju odpadu ograniczało możliwość stymulowania procesu kumulowania biooleju w komórkach glonów poprzez limitowanie dostępu do związków azotu. Związki azotu, głównie w formie amonowej występowały w wysokich stężeniach w tego rodzaju substracie pożywkowym. Zbyt wysoka koncentracja azotu w pożywce była prawdopodobnie przyczyną osiągniętego poziomu zawartości biooleju w biomacie na poziomie bliskim 20%.

Wu i Hsieh [2008] analizowali wpływ zasolenia, stężenia azotu i intensywności światła na wydajność produkcji lipidów. Udowodniono, iż w wariantach optymalnych koncentracja związków tłuszczowych w komórkach mikroglonów była wyższa o ponad 76,0% w stosunku do hodowli prowadzonej w warunkach konwencjonalnych. Weldy i Huesemann [2007]

stwierdził, iż limitowanie ilości związków azotu w medium hodowlanym wpływa bezpośrednio na wzrost procentowej zawartości lipidów w komórkach mikroglonów, jednocześnie obniża tempo przyrostu biomasy. Udowodniono, iż w przypadku testowania pełnowartościowej pożywki ilość produkowanych lipidów kształtowała się na poziomie 0,46 g/dm³·d, natomiast w wariacie ograniczonego dostępu do związków azotu wynosiła 0,12 g/dm³·d. Chiu i in. [2009] udowodnili, iż utrzymanie koncentracji CO₂ na poziomie 2,0% było wariantem optymalnym pod kątem kumulowania lipidów przez glony z gatunku *Nannochloropsis oculata*. Wydajność przyrostu biomasy glonów kształtowała się na poziomie 0,46 g/dm³·d, natomiast produktywność lipidów wynosiła od 0,14 g/dm³·d do 0,46 g/dm³·d.

Istotnym elementem warunkującym opłacalność produkcji biopaliwa jest opracowanie ekonomicznie uzasadnionych technologii separacji i zagęszczania biomasy glonów oraz metod pozyskiwania oleju [Li i in. 2008]. Ważnym czynnikiem, który bezpośrednio wpływa na jakość oraz ilość pozyskiwanego oleju jest temperatura, w której prowadzony jest proces ekstrakcji [Widjaja i in. 2009]. Prowadzenie procesu w temperaturze do 60 °C pozwala na zachowanie wysokiej koncentracji trójglicerydów w oleju oraz ogranicza straty oleju. W pracach badawczych realizowanych w ramach projektu strategicznego proces separacji biomasy glonów skutecznie prowadzono metodami koagulacji, mikrofiltracji oraz z wykorzystaniem technik membranowych.

WNIOSKI

Biorąc pod uwagę charakterystykę i skład produktów odpadowych pochodzących z zakładów branży mleczarskiej stwierdzono, iż najlepszymi właściwościami pod kątem wykorzystania w procesach produkcji biomasy glonów charakteryzują się odcieki pochodzące z reaktora beztlenowego oczyszczającego ścieki mleczarskie.

Zastosowanie tego rodzaju substratu pożywkowego pozwoliło na uzyskanie koncentracji biomasy glonów na poziomie 3490 mg s.m./dm³, przy średniej szybkości przyrostu glonów wynoszącej 176 mg s.m./dm³·d w fotobioreaktorze eksploatowanym w warunkach laboratoryjnych. Średnia zawartość oleju w namnażanej biomacie glonów była bliska wartości 20%.

LITERATURA

1. Chiu S.-Y., Kao C.-Y., Tsai M.-T., Ong S.-C., Chen C.-H., Lin C.-S. 2009. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nanochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration. *Bioresource Technology*, 100(2), 833–841.
2. De Morais M.G., Costa J.A.V. 2007. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Conversion and Management*, 48(7), 2169–2173.
3. Dębowski M., Zieliński M., Krzemieniewski M. 2009. Wpływ składu jakościowego substratów oraz obciążenia komory ładunkiem związków organicznych na skład i ilość uzyskiwanego biogazu. *Roczniki Ochrony Środowiska*, 11, 1179–1190.
4. Grobbelaar J.U. 2000. Physiological and technological considerations for optimising mass algal cultures. *J. Appl. Phycol.*, 12, 201–206.
5. Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E., Ghirardi M.L., Posewitz M.C., Seibert M. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production. *The Plant Journal*, 54, 621–639.
6. Li Y., Horsman M., Wu N., Lan C., Dubois-Calero N. 2008. Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*, 24(4), 815–820.
7. Meng X., Yang J., Xu X., Zhang L., Nie Q., Xian M. 2009. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. *Renewable Energy*, 34(1), 1–5.
8. Muñoz R., Kollner C., Guieysse B., Mattiasson B. 2004. Photosynthetically oxygenated salicylate biodegradation in a continuous stirred tank photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 87(6), 797–803.
9. Oswald W.J. 2003. My sixty years in applied algology. *J. Appl. Phycol.*, 15, 99–106.
10. Patil V., Tran K.-Q., Giselrad H.R., 2008. Towards sustainable production of biofuels from microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(7), 1188–1195.
11. Pienkos P., Darzins A. 2009. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels Bioprod. Biorefin.*, 3(4), 431–440.
12. Qin J. 2005. Bio-hydrocarbons from algae-impacts of temperature, light and salinity on algae growth. Barton, Australia: Rural Industries Research and Development Corporation.
13. Weldy C.S., Huesemann M. 2007. Lipid production by *Dunaliella salina* in batch culture: effects of nitrogen limitation and light intensity. *US Department of Energy Journal of Undergraduate Research*, 7(1), 115–122.
14. Widjaja A., Chien C.-C., Ju Y.-H. 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 40(1), 13–20.
15. Wu W.-T., Hsieh C.-H. 2008. Cultivation of microalgae for optimal oil production. *Journal of Biotechnology*, 136(1), 521–1521.