

12. Streszczenie

Biomasa mikroglonów jest źródłem cennych substancji, które mogą być wykorzystywane w sektorze biopaliw, medycynie, farmacji, a także w branży nawozowej, paszowej oraz sektorze spożywczym. Jednym z ograniczeń powszechnego, przemysłowego stosowania glonów jest brak dostępnych rozwiązań technologicznych, które w sposób uzasadniony ekonomicznie pozwalają na wytwarzanie tego rodzaju substratu. Jednym z elementów, który istotnie wpływa na koszty eksploatacyjne systemów produkcji mikroglonów są komponenty medium hodowlanego. Istnieje zatem uzasadniona potrzeba poszukiwania i opracowania metod, które będą stanowiły konkurencyjną alternatywę dla obecnie istniejących rozwiązań. Jednym z kierunków jest opracowanie technologii, w których jako podstawowy komponent pożywki stosowane będą substraty odpadowe.

Wykorzystanie odpadowego glicerolu jako źródła węgla w hodowli mikroalg może nie tylko ograniczyć koszty eksploatacyjne, ale także wpłynąć na zmniejszenie poziomu emisji gazów cieplarnianych. Biomasa heterotroficznych mikroalg z rodzaju *Schizochytrium sp.* charakteryzuje się wysoką zawartością kwasu DHA oraz zdolnością do wzrostu na różnorodnych źródłach węgla, dlatego też celowe jest opracowanie metody hodowli tej biomasy z wykorzystaniem odpadowego glicerolu.

Celem badań było określenie wpływu parametrów technologicznych na proces wytwarzania kwasu dokozaheksaenowego (DHA) przez mikroglony z rodzaju *Schizochytrium sp.* z wykorzystaniem odpadowej gliceryny technicznej pochodzącej z produkcji biodiesla.

Prace badawcze wykonane w ramach realizacji pracy podzielono na cztery etapy. W etapie pierwszym dokonano identyfikacji kluczowych parametrów technologicznych wpływających na proces hodowli biomasy *Schizochytrium sp.* zdolnej do wytwarzania kwasu DHA z wykorzystaniem gliceryny technicznej. W etapie drugim określono kinetykę wzrostu mikroglonów z rodzaju *Schizochytrium sp.*, wydajność kumulacji lipidów i DHA w komórkach oraz szybkość zużycia gliceryny technicznej w hodowli okresowej, okresowej z zasilaniem oraz ciągłej. W etapie trzecim dokonano modyfikacji warunków hodowli w celu uzyskania najwyższych rezultatów technologicznych w skali pilotażowej. W etapie czwartym określono, która z wartości k_L powoduje najwyższy przyrost biomasy, stężenia lipidów w komórkach oraz kwasu DHA.

Stwierdzono, iż najistotniejszymi parametrami fizykochemicznymi wpływającymi na przebieg procesu hodowli *Schizochytrium sp.* oraz wytwarzania kwasu DHA jest stężenie gliceryny technicznej w medium hodowlanym, temperatura procesu, stężenie tlenu w

bioreaktorze oraz stężenie peptonu jako źródło azotu. Dla każdego z wymienionych wyżej parametrów określono ściśle ich wartości oraz typ hodowli, które pozwalają na uzyskanie najwyższego stężenia biomasy oraz DHA w jak najkrótszym czasie.

Udowodniono, iż hodowla okresowa pozwoliła na uzyskanie najwyższego stężenia biomasy *Schizochytrium sp.* w układzie technologicznym na poziomie $103,44 \pm 1,50 \text{ g/dm}^3$ oraz stężenia DHA w komórkach wynoszącego $21,98 \pm 0,36 \text{ g/dm}^3$. Powiększanie skali hodowli *Schizochytrium sp.* wpłynęło na obniżenie wartości stężenia uzyskanej biomasy do poziomu $78,53 \pm 6,63 \text{ g/dm}^3$ oraz kwasu DHA do wartości $17,72 \pm 1,15 \text{ g/dm}^3$. Udowodniono, iż mikroglony z rodzaju *Schizochytrium sp.* zdolne są do wytwarzania EPS zbudowanych z monomerów cukrów, do których należą glukoza, galaktoza, mannoza, fukoza oraz ksyloza, a najwyższe stężenie EPS, wynoszące $8,73 \pm 0,09 \text{ g/dm}^3$ obserwuje się w stacjonarnej fazie wzrostu biomasy. Wytworzone przez mikroglony EPS powodują znaczny wzrost lepkości hodowli, która przyczynia się do ograniczenia dostępu tlenu do komórek, zmniejszając wydajność całej hodowli. Zastosowanie w hodowli *Schizochytrium sp.* współczynnika $k_L a$ na poziomie 750 1/h pozwoliło na osiągnięcie najwyższego stężenia DCW wynoszącego $149,03 \pm 3,31 \text{ g/dm}^3$, najwyższego stężenia lipidów kształtującego się na poziomie $71,53 \pm 1,59 \text{ g/dm}^3$ oraz stężenia kwasu DHA w biomacie równego $32,19 \pm 0,71 \text{ g/dm}^3$.

13. Summary

The biomass of microalgae is a source of valuable substances which may be used in biofuels, medicine, pharmacy, fertilizer industry, feed and food industry. One of the limitations of the universal industrial application of algae is the lack of available technology that reasonably economically allow for the production of this type of substrate. One of the elements, which significantly affects the operational costs of microalgae production systems are the growth medium components. Therefore, there is a justified need to seek and develop methods that will provide a competitive alternative to existing solutions. One of the directions is to develop a technology in which a core component of the medium will be waste substrate.

The use of waste glycerol as a carbon source in the microalgae culture can not only reduce operating costs but also contribute to reductions in greenhouse gas emissions. Biomass of heterotrophic microalgae of the genus *Schizochytrium sp.* is characterized by a high content of DHA as well as ability to grow on various carbon sources. Therefore, it is expedient to develop a culture method using that biomass and waste glycerol.

The aim of the study was to assess the technological parameters of the manufacturing process of docosahexaenoic acid (DHA) by microalgae of the genus *Schizochytrium sp.* using technical glycerine as a waste from the production of biodiesel.

Research carried out as part of the study was divided into four stages. In the first step, the key technological parameters influencing the biomass of *Schizochytrium sp.* cultivation have been identified. *Schizochytrium sp.* were capable to produce DHA, growing on a technical glycerine. In a second step, the growth kinetics of microalgae of the genus *Schizochytrium sp.*, lipid and DHA production yield, and the technical glycerine consumption rate in batch, fed-batch and continuous culture mode have been defined. In the third stage, modifications in culture conditions were made in order to achieve the highest technological results in a pilot scale. In a fourth step, it has been set which k_{La} value causes the highest increase in biomass, lipid and DHA concentration in cells.

It was found that the most important physicochemical parameters affecting the course of the culture process of *Schizochytrium sp.* and DHA concentration in cells are the concentration of technical glycerine in culture medium, process temperature, the concentration of oxygen in the bioreactor and the concentration of peptone as a nitrogen source. For each of the above parameters it has been set their strict value and the culture mode, which allow to obtain a high concentration of biomass and the DHA concentration in the shortest possible time.

It has been proven that the batch culture allows to obtain the highest biomass concentration of *Schizochytrium sp.* in the technological system at $103.44 \pm 1.50 \text{ g/dm}^3$ and the concentration of DHA in the cells at $21.98 \pm 0.36 \text{ g/dm}^3$. Scale-up of the *Schizochytrium sp.* culture contributed to a decrease in the biomass concentration to a level of $78.53 \pm 6.63 \text{ g/dm}^3$ and decrease of DHA concentration to a value of $17.72 \pm 1.15 \text{ g/dm}^3$. It has been shown that the microalgae of the genus *Schizochytrium sp.* are capable of producing EPS consisting of monomers of sugars, which include glucose, galactose, mannose, fucose and xylose. The highest concentration of EPS amounting to $8.73 \pm 0.09 \text{ g/dm}^3$ has been observed in the stationary phase of growth. EPS produced by microalgae significantly increase the viscosity of the culture, which contributes to the reduction of oxygen to the cells, reducing the overall performance of the culture. Using k_{La} coefficient at 750 1/h in *Schizochytrium sp.* culture enables to achieve the highest concentration of DCW amounting to $149.03 \pm 3.31 \text{ g/dm}^3$, the highest lipid concentration at a level of $71.53 \pm 1.59 \text{ g/dm}^3$, the DHA concentration in the biomass equals to $32.19 \pm 0.71 \text{ g/dm}^3$.