

11. Streszczenie

Dotychczas opracowane i wdrażane systemy produkcji biopaliw charakteryzowały się złożonością technologiczną oraz niską efektywnością ekonomiczną, co istotnie ogranicza możliwość ich dynamicznego rozwoju. Konieczne jest zatem poszukiwanie alternatywnych i konkurencyjnych rozwiązań, których zastosowanie będzie uzasadnione zarówno pod względem inwestycyjnym i eksploatacyjnym. Jednym z perspektywicznych kierunków rozwoju technologii wytwarzania biopaliw jest zastosowanie odpadów z różnych sektorów gospodarki oraz heterotroficznych hodowli mikroalg. Inspiracją do podjęcia prezentowanych w pracy prac badawczych była powszechnie sygnalizowana w literaturze uzasadniona celowość wykorzystania odpadowego glicerołu technicznego oraz konieczność optymalizacji produkcji biomasy mikroglonów o wysokim stężeniu lipidów w komórkach.

Celem badań było określenie wpływu oddziaływania promieniowania UV oraz metanosulfonianu etylu na przyrost biomasy mikroglonów *Schizochytrium limacinum* oraz wewnątrzkomórkową kumulację lipidów w heterotroficznej hodowli z wykorzystaniem gliceryny technicznej jako źródła węgla.

Prace badawcze podzielono na trzy etapy. Kryteriami wyodrębniania poszczególnych etapów były zastosowane parametry technologiczne hodowli. W każdym etapie dążono do zwiększenia wydajności hodowli charakteryzowanej efektywnością przerostu suchej masy oraz kumulacji lipidów w komórkach. Wyniki uzyskane podczas pierwszej części badań pozwoliły na określenie wpływu UV oraz EMS na wydajność hodowli wyrażoną jako r_{LIP} oraz $r_{S.M.}$. Ponadto przeprowadzono badania przesiewowe w celu selekcji szczepu o najwyższych parametrach produkcji suchej masy oraz kumulacji lipidów. W kolejnym etapie badań wykorzystano metody chemometryczne (Placett-Burman Design oraz Central Composite Design) do ustalenia optymalnych parametrów fizyko-chemicznych hodowli. W ostatnim etapie badań wykorzystano strategię hodowli dwufazowej w celu podniesienia końcowych parametrów technologicznych procesu.

Stwierdzono, iż najwyższą efektywnością przyrostu biomasy na poziomie $0,054 \text{ gs.M./dm}^3 \times \text{h}$, wydajnością kumulowania biooleju w komórkach wynoszącą $0,021 \text{ g/dm}^3 \times \text{h}$ oraz najkorzystniejszym profilem kwasów tłuszczowych we frakcji lipidowej charakteryzował się szczep *S. limacinum* E22, który uzyskano poprzez inkubację szczepu referencyjnego w EMS przez okres 20 min. Na podstawie przeprowadzonych zabiegów optymalizacyjnych można stwierdzić, iż wartości wyselekcjonowanych parametrów pozwalające na uzyskanie najwyższej wydajności przyrostu biomasy *S. limacinum* E22 wynoszą - temperatura $27,3 \text{ }^\circ\text{C}$, stężenie gliceryny $249,0 \text{ g/dm}^3$, stężenie tlenu w hodowli 26%, stężenie ekstraktu drożdżowego $45,0$

g/dm³. Optymalne wartości wyselekcjonowanych parametrów technologicznych procesu produkcji lipidów w hodowli *S. limacinum* E22 wynoszą - temperatura 24,2°C, stężenie gliceryny 223,0 g/dm³, stężenie tlenu w hodowli 10%, stężenie ekstraktu drożdżowego 10,0 g/dm³. Z uwagi na odmienne warunki zapewniające uzyskanie wysokich efektów końcowych związanych z przyrostem biomasy w układzie oraz kumulacją lipidów w strukturach komórkowych, zasadnym jest prowadzenie dwustopniowego procesu hodowli, który pozwolił na uzyskanie szybkości syntezy lipidów na poziomie 0,41 g/dm³ x h.

12. Abstract

Developed and implemented systems for the production of biofuels were characterized by technological complexity and low economic efficiency, which significantly reduces the possibility of their dynamic development. It is therefore necessary to search for alternative and competitive solutions, the use of which is justified both in terms of investment and exploitation. One of the promising directions of development of manufacturing technology of biofuels is to use waste from various sectors of industry and heterotrophic cultivation of microalgae. An inspiration to take the presented research was commonly indicated in the literature, reasonable purposefulness of using waste technical glycerol and the need of optimization of microalgae biomass production with high concentration of lipids in the cells.

The aim of the study was to determine the effect of UV radiation and ethyl methanesulfonate (EMS) to increase the biomass concentration of microalgae *Schizochytrium limacinum* and intracellular accumulation of lipids in the heterotrophic culture with the use of technical glycerine as a carbon source.

The research was divided into three stages. Applied technological parameters of cultivation were division criteria for individual stages. At each stage, research aimed for increasing the culture productivity, which was characterised by effectiveness of increase of dry matter and accumulation of cell lipids. The results obtained during the first part of the study allowed us to determine the effect of UV and EMS for culture productivity expressed as R_{LP} or $R_{S.M.}$.

In addition, a screening was made in order to select a strain with the capacity of the highest dry matter production and accumulation of lipid. In the next stage of the research chemometric methods were used (Plackett-Burman Design and Central Composite Design) to determine the optimal physico-chemical culture conditions. In the last stage of the research there was used a two-phase culture strategy in order to raise the final parameters of the technological process.

It was found that the highest efficiency biomass growth at $0,054 \text{ g}_{S.M.}/\text{dm}^3 \times \text{h}$, yield of bio-oil accumulation in the cells at $0,021 \text{ g}/\text{dm}^3 \times \text{h}$, and most preferably profile of fatty acids in the lipid fraction, characterized a strain of *S. limacinum* E22, which was obtained by incubating a reference strain with EMS for 20 min. Based on the optimization procedures, it can be concluded that the values of selected parameters that allowed to achieve the highest yield of biomass growth of *S. limacinum* E22 are: temperature $27,3^\circ\text{C}$, the concentration of glycerin $249,0 \text{ g}/\text{dm}^3$, the oxygen concentration in the culture 26%, yeast extract concentration $45,0 \text{ g}/\text{dm}^3$. The optimal values of selected technological parameters of the lipid production process

in the culture of *S. limacinum* E22 are: temperature 24,2°C, the glycerin concentration 223,0 g/dm³, the oxygen concentration in the culture 10%, yeast extract concentration 10,0 g/dm³. Due to the different conditions which ensure obtaining the increase of biomass concentration in the system or accumulation of lipids in cellular structures, it is appropriate to carry out a two-stage culturing process, which allows to achieve a rate of lipid synthesis at 0.41 g/dm³ x h.