

**TERESA NOGA**<sup>1</sup><sup>1</sup>Zakład Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, Uniwersytet Rzeszowski; e-mail: [moga@ur.edu.pl](mailto:moga@ur.edu.pl)

## WYBRANE TAKSONY GLONÓW WYKORZYSTYWANE W PRODUKCJI BIOPALIW

*Koncepcja wykorzystania glonów jako surowca do produkcji biopaliw w ostatnich latach zyskuje na popularności w związku z rosnącymi cenami ropy naftowej, szybko malejącymi naturalnymi zasobami ropy, a także problemami z globalnym ociepleniem (spowodowanym spalaniem paliw kopalnych). Glony zawierają 20-70% lipidów i wykazują znaczny potencjał w uprawach jako organizmy energetyczne. Z glonów wytwarzane są różne biopaliwa, m.in.: biodiesel, bioetanol, biobutanol, metan i biogaz. Głównymi czynnikami wpływającymi na wzrost glonów są: dostępność i intensywność światła, temperatura, stężenie składników odżywczych i dostępność CO<sub>2</sub>. Hodowlę mikroglonów prowadzi się w systemach otwartych (stawach) lub zamkniętych (fotobioreaktorach), makroglony natomiast uprawiane są w strefie przybrzeżnej mórz lub w podobnych zbiornikach wodnych. Wśród mikroglonów taksonami produkującymi znacznie ilości oleju są m.in. *Botryococcus braunii* i *Chlorella vulgaris*, natomiast makroglonem powszechnie uprawianym i wykorzystywanym do produkcji biopaliw jest m.in. *Macrocystis pyrifera*.*

**Słowa kluczowe:** biopaliwa, *Chlorella*, *Botryococcus braunii*, *Macrocystis pyrifera*

### I. WSTĘP

Wzrost zużycia ropy naftowej związany jest niewątpliwie z rozwojem gospodarczym świata a przyczynia się do tego w największym stopniu transport drogowy (blisko połowa popytu na ropę naftową), który jednocześnie odpowiada za 30% emisji CO<sub>2</sub>. Mając na uwadze niebezpieczeństwa związane z globalnym ociepleniem i wyczerpywaniem się zasobów paliw kopalnych, nie należy się dziwić, że w ostatnich latach coraz większego znaczenia nabiera rozwój produkcji biopaliw. Są one wytwarzane z odnawialnych surowców i są przyjazne dla środowiska. Przyczyniają się do redukcji efektu cieplarnianego, emisji toksycznych związków i są biodegradowalne. Mogą także zmniejszyć zależność gospodarki światowej od paliw kopalnych, a ponadto mogą wpływać na rozwój obszarów wiejskich, przez powstawanie nowych miejsc pracy, tworzonych np. przez sektory usługowe zajmujące się logistyką i produkcją biopaliw [Rosiak i in. 2011].

Terminem „biopaliwo” określamy paliwa wytwarzane bezpośrednio lub pośrednio z surowca „biomasowego”, natomiast biomasa definiowana jest jako materiały biologiczne będące uprawami energetycznymi, odpadami i produktami ubocznymi rolnictwa i leśnictwa, obornikiem lub stałymi odpadami komunalnymi, albo jakimkolwiek innym materiałem zawierającym biomasę mikrobiologiczną. Ogólnie można stwierdzić, że biomasa jest masą materii organicznej, zawartej w organizmach roślinnych i zwierzęcych.

Powstaje w procesie fotosyntezy, podczas której CO<sub>2</sub> w chlorofilu łączy się z H<sub>2</sub>O w węglowodany (cukry), natomiast energia promieniowania słonecznego, przekształcona zostaje w energię chemiczną. Węgiel drzewny, drewno opałowe, bioetanol, biometan, biowodór i biodiesel to tylko niektóre przykłady biopaliw znajdujących się w produkcji ciągłej [Kozieł i Włodarczyk 2011, Saladini i in. 2016, Chye i in. 2018].

Obecnie wyróżniamy najczęściej trzy generacje biopaliw. Biopaliwa pierwszej generacji (bioetanol, biobutanol, biodiesel) można wytwarzać albo poprzez wykorzystanie surowca w drodze fermentacji skrobi z roślin uprawnych, takich jak: pszenica, jęczmień, ziemniaki, kukurydza, buraki cukrowe i trzcina cukrowa (najczęściej używane), albo chemicznie, m.in. z rzepaku, słonecznika, soi. Istotną cechą biopaliw pierwszej generacji jest możliwość mieszania z paliwami na bazie ropy naftowej oraz ich wydajność w silnikach spalinowych. Jednak zasadniczą wadą, wykorzystania roślin spożywczych jako surowca, jest wzrost cen żywności na skutek ukrytego kryzysu niedoborów żywności. Rośliny uprawiane z przeznaczeniem do produkcji biopaliw wymagają dużych areałów gruntów rolnych, co stwarza konkurencję między produkcją żywności a produkcją biopaliw. Biopaliwa drugiej generacji (bioetanol, biodiesel) produkowane są głównie z niejadalnej biomasy lignocelulozowej a głównymi surowcami do ich produkcji są odpady rolne i leśne, stałe odpady komunalne oraz obornik. Niektórzy uważają, że paliwa te mają przewagę nad swoimi odpowiednikami pierwszej generacji, ponieważ nie konkurują bezpośrednio z produkcją żywności a do ich wytwarzania stosuje się rośliny uprawiane specjalnie na cele bioenergetyczne, które są niejadalne i dobrze sobie radzą na jałowych glebach [Naik i in. 2010, Maity i in. 2014, Aro 2016, Lavoie 2016, Chye i in. 2018, Lomeu i in. 2023].

W ramach poszukiwania opłacalnych alternatyw dla paliw kopalnych prowadzone są badania nad pozyskaniem biomasy z glonów – biopaliwa trzeciej generacji (m. in. biometan, biodiesel, biowodór). Poszczególne gatunki glonów (mikro- lub makroglony) można modyfikować genetycznie, tak aby szlak metabolizmu węgla ułatwiał wytwarzanie ważnych produktów końcowych, takich jak np. etanol. Glony, w porównaniu do innych surowców, charakteryzują się wysokim stosunkiem zawartości celulozy do ligniny. Porównując biopaliwa trzeciej generacji z biopaliwami pierwszej generacji, można obserwować korzyści, jakie wynikają z efektywnego wykorzystania gruntów i braku konkurencji z uprawami na cele spożywcze w tym pierwszym przypadku. Algi mają zdolność do wytwarzania większej ilości energii na akr ziemi w porównaniu z innymi konwencjonalnymi uprawami, np. trzciny cukrowej czy kukurydzy. Z tego względu mikroglony rekomenduje się jako biomasę o maksymalnym potencjale zastąpienia ropopochodnego oleju napędowego w transporcie, bez negatywnego wpływu na dostawy żywności i inne produkty roślinne [Chisti 2008, Carneiro i in. 2017, Gaurav i in. 2017, Chye i in. 2018, Lomeu i in. 2023].

Ponad 50 lat temu po raz pierwszy zaproponowano koncepcję wykorzystania glonów jako źródła pożywienia, paszy i energii. W czasie kryzysu energetycznego, w latach 70. XX wieku, kiedy uruchomiono programy produkcji paliw gazowych (wodoru i metanu), produkcja metanu z glonów znacznie wzrosła [Mahmooda i in. 2023]. Istnieje wiele gatunków glonów o różnych właściwościach, dlatego badane są najpopularniejsze systemy uprawy, nakłady i warunki niezbędne do ich uprawy oraz analizowane są różnorodne możliwości wytwarzania energii z alg. Systemy hodowli makroglonów (morskich wodorostów) i mikroglonów bardzo się różnią. Mikroglony ze względu na niewielkie rozmiary (µm) należy hodować w specjalnie do tego przeznaczonych systemach (umieszczane na łodzi lub unoszące się na wodzie), natomiast wodorosty morskie można uprawiać bezpośrednio na otwartym morzu [FAO 2009]. Do produkcji biopaliw niezbędna

jest produkcja lipidów z dużą szybkością wzrostu, z tego względu istotna jest inżynieria metaboliczna mikroglonów, umożliwiająca wytwarzanie dużych ilości lipidów bez uszczerbku dla ich wzrostu. Mikroglony rosną najszybciej i produkują najwięcej oleju w porównaniu do innych surowców roślinnych. Pomimo, że przeprowadzają fotosyntezę w podobny sposób jak inne rośliny, zazwyczaj efektywniej wykorzystują energię słoneczną w związku ze stosunkowo prostą budową komórkową, zdolnością do wzrostu w zawiesinach wodnych, łatwym dostępem do podstawowych składników odżywczych (m.in. azot, fosfor i żelazo), wody i CO<sub>2</sub> oraz zdolnością do optymalnego wzrostu w temperaturze od 20°C do 30°C. Uprawa glonów nie wymaga żyznych gleb, ponieważ może się odbywać w dowolnym miejscu z dostępem do odpowiedniego światła słonecznego i wody. Glony można uprawiać w ściekach, oszczędzając w ten sposób zasoby świeżej wody. Produkcja biopaliwa z mikroglonów obejmuje kilka etapów: hodowlę, zbiór i dalsze przetwarzanie w celu ekstrakcji metabolitów z biomasy [Ullah i in. 2015, Tan, Lee 2016, Correa i in. 2017, Mahmooda i in. 2023].

Glony namnażane są zazwyczaj albo w systemach otwartych (stawy hodowlane) albo zamkniętych (fotobioreaktory, np. kolumnowe, panelowe, cylindryczne, i in.). Obydwie metody różnią się kosztami utrzymania, wydajnością oraz możliwościami uprawy. Hodowle glonów mogą być oświetlane zarówno światłem słonecznym jak i sztucznym, albo jednocześnie dwoma rodzajami światła [Kozieł i Włodarczyk 2011].

Stawy hodowlane otwarte mogą być naturalne (stawy, jeziora, laguny) lub sztuczne (stawy, inne zbiorniki). Najczęściej wykorzystywane są: 1) stawy płytkie, 2) stawy specjalne w formie pętli recyrkulacyjnej lub 3) zbiorniki sztuczne. Kanał tworzący pętlę jest stosunkowo płytki (około 0,3 m) a zawiesina glonów wprawiana jest w ruch za pomocą specjalnych turbin, dzięki którym niwelowana jest sedimentacja glonów w zbiorniku. Akwakultura jest zasilana w sposób ciągły z przedniej części koła łopatkowego, gdzie rozpoczyna się przepływ i dostarczane są pierwiastki nieorganiczne, m.in.: azot, fosfor, żelazo i krzem. Główną zaletą takich stawów jest prosta konstrukcja i obsługa, natomiast do wad można zaliczyć zjawisko dyfuzji CO<sub>2</sub> do atmosfery, parowanie wody ze zbiornika, zajmowanie znacznej powierzchni pod uprawę, a ponadto brak możliwości kontrolowania warunków hodowli i niezbyt wydajną produkcję biomasy. Istnieje także ryzyko skażenia ze źródeł zewnętrznych (np. zwierzęta, inne mikroglony, bakterie żerujące na glonach lub pogoda). Tylko nieliczne gatunki glonów są na tyle dominujące, aby utrzymać się w systemie otwartym [Ugwu i in. 2008, FAO 2009, Kozieł i Włodarczyk 2011, Narala i in. 2016, Chye i in. 2018].

Fotobioreaktory (PBR) charakteryzują się znacznie wyższą wydajnością produkcji biomasy w porównaniu do otwartych stawów hodowlanych. Umożliwiają także kontrolowanie warunków w nich panujących, jednak są kosztowniejsze w utrzymaniu i budowie. Fotobioreaktory, to systemy, w których hodowle kultur glonowych ograniczone są przezroczystym materiałem. Odznaczają się różnymi kształtami i rozmiarami (rury, płaskie panele, fermentatory lub w postaci plastikowych toreb). Najbardziej popularne, stosunkowo proste i tanie w utrzymaniu, są pionowe rury o dużej powierzchni względem objętości. Do największych zalet fotobioreaktorów można zaliczyć wysoką produktywność na jednostkę powierzchni i możliwość łatwej kontroli parametrów hodowlanych (m.in. temperatury, pH, intensywności światła) oraz odporność na zanieczyszczenia. Pozwalają na oszczędzanie wody i środków chemicznych oraz na zapobieganie zbyt intensywnemu namnażaniu się komórek glonów. Fotobioreaktory mogą być instalowane zarówno wewnątrz, jak i na zewnątrz budynków, a oświetlane są światłem słonecznym lub sztucznym (ewentualnie używa się dwóch opcji oświetlenia jednocześnie). Podczas

hodowli glonów, jako źródło sztucznego światła, wykorzystuje się oświetlenie wolframowe i fluorescencyjne, a ostatnio coraz częściej także światło LED (diody emitujące światło). To ostatnie jest energooszczędne a podczas pracy generuje małe ilości ciepła i może emitować fale świetlne zbliżone do promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR). Badania prowadzone w ostatnich latach wskazują, że długość fali światła ma istotny wpływ zarówno na produkcję biomasy, jak i lipidów [Kozieł i Włodarczyk 2011, Leite i in. 2013, Patyna i Witczak 2016].

Fotobioreaktory panelowe najczęściej wykonuje się z tworzyw przezroczystych, które pozwalają wykorzystać maksymalnie energię słoneczną. Ich główną zaletą jest duża powierzchnia naświetlenia hodowli, dają możliwość osiągnięcia wysokowydajnej fotosyntezy. Akumulują mniej tlenu w porównaniu do fotobioreaktorów cylindrycznych. Do prowadzenia hodowli glonów na zewnątrz najbardziej odpowiednim typem są fotobioreaktory kolumnowe, zbudowane najczęściej ze szkła bądź plastiku, które mają postać poziomych rur lub serpentyn, pionowych albo pochyłonych rur. Biomasa namnażająca się w rurach ulega cyrkulacji wewnątrz systemu, którą wywołują pompy powietrzne lub system powietrzny. Jedną z podstawowych wad tych fotobioreaktorów jest mało wydajna produkcja biomasy, spadająca wraz ze zwiększaniem się skali systemu. Problemem jest także zjawisko fotoinhibicji oraz trudności w kontroli temperatury hodowli. Fotobioreaktory cylindryczne zajmują niewielką powierzchnię, są stosunkowo łatwe w obsłudze i tanie w eksploatacji. Wydają się być także dobrym narzędziem do produkcji glonów na skalę przemysłową. Szczegółowe opisy różnych typów fotobioreaktorów (PBR) można znaleźć w wielu pracach naukowych [m.in.: Dragone i in. 2010, Kozieł i Włodarczyk 2011, Patyna i Witczak 2016, Chye i in. 2018, Mahmooda i in. 2023].

Nieco inaczej przedstawiają się techniki uprawy morskich wodorostów, które opracowywano w oparciu o lokalne warunki, często wykorzystując płytkie i zaciszne obszary przybrzeżne, łatwo dostępne i bezpieczne. Są to techniki pracochłonne i z tego względu ograniczone są zazwyczaj do regionów o najniższych dochodach. Uprawa makroglonów koncentruje się na gatunkach, które można przyczepić do podwodnych lin lub innych konstrukcji podpierających. Systemy mogą być pływające lub zakotwiczone w morzu, niestety podczas takiej uprawy zdarzają się problemy z uszkodzeniami konstrukcji linowych i wypłukaną biomasą. Wybierając miejsca do uprawy morskich makroglonów ważnym kryterium w lokalizacji uprawy jest odległość od brzegu, ponieważ wiąże się to z energią i czasem spędzonym na transporcie. Świeże makroglony zawierają duże ilości wody (do 90%), a to oznacza dużą ilość masy przy stosunkowo niskiej zawartości energii. Kolejnym kryterium jest dostępność istniejącej infrastruktury morskiej. Warto zwrócić uwagę, np. na morskie platformy naftowe lub gazowe, ponieważ zapewniają punkt kotwiczenia, lądowisko dla łodzi i helikopterów, zakwaterowanie dla personelu, itp. [Chynoweth 2002, FAO 2009].

Glony, akumulują w swych komórkach znaczne ilości materiałów zapasowych, które można przekształcać w energię różnymi sposobami. Biomasę glonów można wykorzystać na cele energetyczne (tj. do produkcji biodiesla, metanu, bioetanolu) dzięki dużej zawartości substancji zapasowych (m.in. skrobia i lipidy) i budulcowych (białko), które gromadzą się w komórkach różnych glonów. Niektóre gatunki zielenic, np.: *Botryococcus*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*, *Spirogyra* gromadzą lipidy w warunkach laboratoryjnych (głównie triacyloglicerole) w ilości ponad 70% s.m. W optymalnych warunkach, w czasie niespełna doby, mikroglony mogą podwoić swoją liczebność, a także masę pożądanego surowca. Teoretycznie nie ma lepszego surowca od glonów, do pozyskania paliwa pochodzenia biologicznego, dlatego w ostatnich latach prowadzone są

tak intensywne badania nad ich wykorzystaniem [Posten i Shaub 2009, Dębowski i in. 2011, Zhang i in. 2013, Błaszak 2014].

Celem pracy było zebranie i przeanalizowanie najnowszego piśmiennictwa dotyczącego produkcji biopaliw z glonów oraz charakterystyka wybranych taksonów glonów wykorzystywanych do produkcji różnych typów biopaliw III generacji.

## II. METODA PRACY

Dokonano przeglądu dostępnej literatury, a następnie podsumowano informacje dotyczące uprawy i wykorzystania wybranych glonów do produkcji biopaliw (z rodzajów: *Chlorella*, *Botryococcus* i *Macrocyctis*). Powyższe taksony wybrano do szczegółowego przeglądu literaturowego, m.in. z tego względu, że są powszechnie uprawiane w wielu krajach i produkują znaczne ilości oleju. Dane literaturowe zamieszczone w pracy wyszukiwano w dostępnych bazach danych, w tym m.in. Google Scholar i Scopus, uwzględniając zarówno prace oryginalne, jak i przeglądowe. Podczas przeglądania i wyszukiwania danych literaturowych zwrócono szczególną uwagę na najnowsze piśmiennictwo, tj. opublikowane w ostatnim dwudziestolecu.

## III. CHLORELLA

Biopaliwa z glonów nadal nie zostały skomercjalizowane, pomimo że mają wiele zalet. Istotną barierą są zbyt wysokie koszty produkcji w porównaniu z paliwami kopalnymi. Olej z mikroglonów jest dobrym surowcem do produkcji biodiesla, jednak jego zawartość w biomacie często jest niewystarczająca do celów przemysłowych. Istnieją gatunki mikroglonów, które gromadzą duże ilości lipidów, ale ich tempo wzrostu jest na ogół bardzo powolne. Zawartość lipidów różni się w zależności od gatunku i warunków hodowli. Średnie wartości wahają się od 20% do 70% suchej masy komórek. Przy ocenie potencjału mikroalg do produkcji biodiesla ważna jest nie tylko ilość lipidów w ich komórkach, ale także zawartość odpowiednich kwasów tłuszczowych (FA), jako bezpośrednich prekursorów do produkcji biopaliw trzeciej generacji [Hawrot-Paw i in. 2021 oraz literatura tam zawarta].

Mikroglony wykorzystywane są powszechnie do produkcji biopaliw, a wśród nich m.in. *Chlorella vulgaris*. Jest to jednokomórkowa, słodkowodna zieleńca (z gromady Chlorophyta) o kulistym kształcie i średnicy od 2 do 10  $\mu\text{m}$ . Dokładną charakterystykę morfologiczno-ekologiczną chlorelli wraz z wykorzystaniem w przemyśle rolno-spożywczym opisują Noga i Kochman-Kędziora [2023]. Nazwa *Chlorella* pochodzi z języka greckiego (*chloro* oznacza zielony, natomiast łaciński przyrostek *ella* – mały). Przebadano setki szczepów mikroglonów zdolnych do wytwarzania dużej ilości lipidów i scharakteryzowano ich metabolizm. W optymalnych warunkach wzrostu, mikroglony są w stanie wytworzyć do 15 000 galonów oleju na akr rocznie i są najszybciej rosnącymi organizmami fotosyntetyzującymi. Mogą zakończyć cały cykl wegetacyjny w ciągu kilku dni, mając do 54% zawartości oleju w komórkach [Sheehan i in. 1998, Xu i in. 2001, Nwanya i in. 2021].

*Chlorella vulgaris* ma ogromny potencjał jako surowiec do produkcji biodiesla ze względu na szybszy wzrost i łatwiejszą uprawę w porównaniu do innych glonów. Jednakże zawartość lipidów u tego gatunku w ogólnych warunkach wzrostu jest zbyt mała (do ~20% s.m.) i nie jest w stanie spełnić standardowych wymagań przemysłowych. Tempo wzrostu i zawartość lipidów zależą od optymalnych warunków uprawy poszczególnych gatunków glonów, np. stężenia  $\text{CO}_2$ , temperatury, warunków świetlnych, pH czy rodzaju fotobioreaktora do hodowli. Prowadzone badania wykazały, że optymalny zakres temperatur do produkcji biomasy dla *Chlorella vulgaris* wynosi około 30°C, przy

podwyższonej zawartości CO<sub>2</sub> do 6%. Podwyższanie temperatury prowadzi do spadku tempa wzrostu a nawet do jego nagłego przerwania (>38°C). Maksymalną szybkość wzrostu uzyskano przy pH pomiędzy 6,3 a 6,8. Glony z rodzaju *Chlorella* wykazują ogromny potencjał wychwytywania CO<sub>2</sub>. Rosną w szybkim tempie i tolerują wyższe stężenie CO<sub>2</sub> w powietrzu (optymalne stężenie około 10%). Stwierdzono także, że niskie stężenia azotu mogą stymulować wzrost glonów. Maksymalną produkcję biomasy uzyskano przy 0,0 g/L wodorowęglanu sodu, 10,0 g/L NaCl, 18,0 µmol/L żelaza i w temperaturze 30±2°C [Ugwu i in. 2008, Al-Lwayzy i in. 2014, Blinová i in. 2015].

Kraje o dużej zależności od węgla (m.in. Chiny czy Indie) aktywnie angażują się w badania nad redukcją emisji CO<sub>2</sub> pochodzącego z gazów spalinyowych i jego zastosowaniem w uprawach mikroglonów. Celem takich badań jest osiągnięcie redukcji emisji CO<sub>2</sub> i wykorzystanie wytworzonej biomasy mikroalg jako surowca do produkcji biopaliw [Kuo i in. 2021 oraz literatura tam zamieszczona].

Das i współautorzy [2019] prowadzili badania nad zwiększeniem zawartości biomasy i lipidów w *Chlorella* sp. i wykazali, że stosowanie KNO<sub>3</sub> w pożywce wzrostowej dla mikroglonów zwiększa produkcję lipidów. Wytworzone lipidy zostały przekształcone w biodiesel przy użyciu CaO jako katalizatora, który został przygotowany z odpadowych skorupki jaj. Stwierdzono, że stężenie w pożywce 17 mM KNO<sub>3</sub> jest najkorzystniejsze dla zwiększonej produkcji lipidów i najszybszego wzrostu komórek *Chlorella* sp.

We wschodniej Kolumbii prowadzono hodowlę *Chlorella* sp. w dwóch rodzajach ścieków pochodzących z gospodarstwa doświadczalnego, przed i po procesie biologicznego oczyszczania. Wzrost i produkcja lipidów w komórkach *Chlorella* sp. była korzystniejsza w wodzie uzdatnionej niż w surowych ściekach, głównie ze względu na ograniczenie zawartości fosforu i wyższe stężenie N-NO<sub>3</sub> w wodzie uzdatnionej. Uzyskane wyniki wskazywały na potencjalną opłacalność wykorzystania ścieków, wytwarzanych w gospodarstwie San Pablo do produkcji biomasy zawierającej lipidy, w celu otrzymania biodiesla. Stwierdzono, że stężenie składników odżywczych (głównie azotu), ma duży wpływ na metabolizm mikroglonów w zakresie akumulacji lipidów [Urbina-Suarez i in. 2021].

*Chlorella vulgaris* wykorzystywana jest do produkcji biodiesla, którego ocena parametrów paliwowych wykazuje podobieństwa we właściwościach paliwa do konwencjonalnego oleju napędowego. Przeprowadzone badania wykazały, że mieszanie w różnych proporcjach biodiesla uzyskanego z chlorelli, z petrodieslem, daje parametry paliwowe podobne do petrodiesla. W związku z powyższym oleje z *Chlorella vulgaris* mogłyby być odpowiednim surowcem do produkcji biodiesla, ponieważ nie są jadalne, a ich stosowanie nie będzie miało wpływu na kryzys żywnościowy [Nwanya i in. 2021]. Biodiesle produkowane m.in. z *Chlorella vulgaris* wykazują zwiększoną sprawność cieplną hamulca silnikowego przy stosowaniu rozcieńczonego biodiesla w porównaniu z olejem napędowym i nierozcieńczonym biodieslem (100%), zwiększając w ten sposób atomizację paliwa i poprawiając efektywność spalania. Biodiesle z glonów (m.in. *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp. i *Botryococcus braunii*) charakteryzują się niższą emisją CO<sub>2</sub>, HC i NO<sub>x</sub> oraz niższą emisją dymu w porównaniu do kopalnego oleju napędowego. Ogólnie rzecz biorąc, właściwości biodiesla z glonów są bardzo korzystne w przypadku stosowania go jako paliwa silnikowego [Al-Lwayzy i Yusaf 2017, Hossain i in. 2019, Kuo i in. 2021].

#### IV. BOTRYOCOCCUS BRAUNII

*Botryococcus braunii* jest zielenicą (z klasy Trebouxiophyceae), występującą w wodach słonawych i słodkich w formie kolonii (zagęszczenie  $1,4 \times 10^6$  kolonii/L). Jest gatunkiem szeroko rozpowszechnionym w środowiskach słodkowodnych, może tworzyć gęste zakwity

w jeziorach, zbiornikach i stawach, zazwyczaj w regionach subtropikalnych i tropikalnych. Badania paleobotaniczne sugerują, że jest jednym z największych źródeł węglowodorów w złożach bogatych w ropę naftową, datowanych na okres ordowiku. Jest także jedynym mikroglonem kolonijnym, który gromadzi i wydziela płynne węglowodory [Banerjee i in. 2002, Tanabe i in. 2015].

*Botryococcus braunii* ma kilka wyjątkowych cech w porównaniu do innych mikroglonów produkujących olej. Akumuluje węglowodory ropopochodne do 70% swojej suchej masy. Badania geologiczne sugerują, że *B. braunii* jest jednym z organizmów wytwarzających paliwa kopalne, takie jak ropa naftowa i łupki bitumiczne. Ponadto organizm ten gromadzi swój olej węglowodorowy poza ścianą komórkową, co może umożliwić pozyskiwanie węglowodoru bez zabijania glonów. Słabym punktem w hodowli *B. braunii* jest powolne tempo wzrostu (typowy czas podwojenia to 3–4 dni), co sprawia, że masowa uprawa tych glonów na świeżym powietrzu jest trudna do kontrolowania, ze względu na możliwość zanieczyszczenia szybciej rosnącymi gatunkami [Metzger i Largeau 2005, Jackson i in. 2017, Kawamura i in. 2020 i literatura tam zamieszczona].

Chociaż większość olejów wytwarzanych w glonach to triacyloglicerole, interesującym i dobrze zbadanym wyjątkiem jest „olej” ekstrahowany z chlorofilu *Botryococcus braunii*. Organizm ten ma największy potencjał do produkcji biodiesla. Zamiast gromadzić acylolipidy, gatunek ten gromadzi szereg liniowych i monocyklicznych terpenów, zwanych botryokokami (*botryococenes*), do poziomu sięgającego 70% [Griffiths i in. 2021].

Na wzrost i produkcję lipidów u *Botryococcus braunii* wpływa kilka czynników, takich jak: odżywianie, temperatura, zasolenie, pH, CO<sub>2</sub>, i zmętnienie. Optymalne warunki wzrostu powodują wytwarzanie dużej ilości biomasy, węglowodorów, chlorofilu, fosforanów, białek i karotenoidów. Również pH jest ważnym czynnikiem wpływającym na produkcję biomasy i węglowodorów (optymalne pH dla *B. braunii* wynosi 6,5) [Cheng i in. 2019, Nugroho i in. 2020 i literatura tam zamieszczona]. W Indonezji podjęto próbę wyizolowania *B. braunii* ze środowiska słodkowodnego i poddano go hodowli. Doświadczenie wykazało, że optymalny wzrost kultury w celu uzyskania wysokiego plonu suchej biomasy, węglowodorów, chlorofilu i karotenoidów miał miejsce przy pH 7–8 i 4% stężeniu CO<sub>2</sub>. Stwierdzono, że *Botryococcus braunii* może być wykorzystywany jako potencjalny surowiec odnawialny do produkcji biodiesla lub lipidów [Nugroho i in. 2020].

Gani i współautorzy [2016] prowadzili badania nad *Botryococcus* sp. zebranych w południowym regionie Półwyspu Malezyjskiego, celem wykorzystania mikroglonów do fitoremediacji ścieków i potencjalnej produkcji biodiesla. W różnych seriach badań zastosowano pionowe zamknięte fotobioreaktory, które uzupełniano ściekami bytowymi i ściekami z przemysłu spożywczego. Wykazano, że usuwanie zanieczyszczeń i składników odżywczych obecnych w obydwu rodzajach ścieków spada proporcjonalnie do wydłużania się czasu uprawy. Zmniejszyła się zawartość fosforu całkowitego, całkowitego węgla organicznego oraz ChZT. Wyniki analizy oleju uzyskanego z *Botryococcus* okazały się porównywalne z konwencjonalnym biodieslem na bazie oleju palmowego. Na tej podstawie naukowcy twierdzą, że glony z rodzaju *Botryococcus* mają ogromny potencjał w usuwaniu zanieczyszczeń i produkcji biodiesla na rzecz rozwoju energii odnawialnej. Zdecydowanie więcej pracy będzie wymagało przeprowadzenie procesu transestryfikacji po uzyskaniu surowego biooleju do produkcji standardowego biodiesla.

## VI. MACROCYSTIS PYRIFERA

*Macrocystis pyrifera* (wielkomorszcz gruszkonośny), należący do brunatnic (Phaeophyta), jest największym na świecie makroglonem i jednym z najszybciej rosnących

wielokomórkowych autotrofów na Ziemi, którego masa w sprzyjających warunkach wzrasta średnio o 3,5% dziennie. Plechy jego mogą dorastać do 30 metrów i są barwy zielonkawo-brązowej lub brązowo-żółtej, co wynika z dużej zawartości ksantofili, w tym fukoksantyny i flawoksantyny. Występuje w całym północnym Pacyfiku, od Meksyku po Alaskę, na wybrzeżach Ameryki Południowej od Peru po Argentynę, w odizolowanych regionach, takich jak RPA, Australia i Nowa Zelandia oraz na wyspach subantarktycznych [Rassweiler i in. 2018, Amaya Apaza i in. 2022, Diesel i in. 2023].

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie makroglonami olbrzymimi a światowy rynek akwakultury glonów w 2020 roku wyprodukował 35 milionów ton alg o wartości 16,5 miliarda dolarów. Organizmy te są jednym z głównych komercyjnych źródeł alginianu, stosowanego w żywności jako zagęszczacz oraz w medycynie jako hydrożel. Mają także szereg innych zastosowań, np.: jako żywność dla ludzi, pasza dla zwierząt oraz składniki kosmetyków, farmaceutyków i nawozów. Ponadto, ze względu na szybkie tempo wzrostu i niewielką zawartość ligniny i celulozy, makroglony zostały wytypowane jako potencjalna uprawa morska na biopaliwo [Diesel i in. 2023 i literatura tam zamieszczona]. Plechy *Macrocystis pyrifera* są wykorzystywane także do produkcji bioetanolu. Specjalne badania i projekt realizowany w Chile miały na celu przetestować i zaadaptować technologię produkcji bioetanolu jako pierwszą próbę zwiększenia skali tego procesu przy użyciu 75-litrowej fermentacji genetycznie zmodyfikowanych *Escherichia coli* [Camus i in. 2016].

Badania nad produkcją biopaliwa z plech *M. pyrifera* prowadzone są m.in. w Peru. Wykazano, że biomasa z *M. pyrifera* nadaje się do pozyskania wysokiej jakości biopaliwa o właściwościach spełniających peruwiańską normę techniczną i inne międzynarodowe standardy dotyczące paliw. Biopaliwo to stanowi realną alternatywę przynoszącą korzyści w zakresie ochrony środowiska poprzez emisję niewielkiej ilości substancji zanieczyszczających, co stanowi rozwiązanie problemu niedoborów energii i przyszłej zmiany matrycy energetycznej na odnawialne źródła energii [Amaya Apaza i in. 2022].

## VI. PODSUMOWANIE

Biopaliwo musi być przystępne cenowo i zawsze będzie porównywane z paliwem na bazie ropy naftowej, zarówno pod względem kosztów, jak i ogólnej wydajności. Obecnie produkcja glonów (m.in. do celów spożywczych, farmakologicznych) jest ekonomiczna, jednak istnieje szereg kosztowych wyzwań, które ograniczają ich wykorzystanie jako surowca paliwowego, np. kwestie kluczowe związane z dostarczaniem składników odżywczych, zbiorem i odwadnianiem plech. Biorąc pod uwagę szeroki zakres zmienności składu chemicznego glonów, możliwe jest wygenerowanie z nich różnorodnych rodzajów biopaliw: bioetanol, biowodór, biometan, bioolej i biodiesel. Wszystkie glony łączy jednak jedna wspólna cecha, tj. wysoka zawartość wody, która stanowi niepożądany składnik w jakimkolwiek typie paliwa. Technologie oparte na niskiej zawartości wody, np. szybka piroliza stosowana do wytwarzania bioolejów, stają się więc wyzwaniem ekonomicznym, ze względu na koszty związane z suszeniem materiału. Mikroglony, w przeciwieństwie do makroglonów, często charakteryzują się dużą zawartością lipidów i dlatego nadają się do produkcji biodiesla. Aby konkurować z ropą naftową, należy dokonać redukcji kosztów o rząd wielkości. Oceny ekonomiczne dotyczące uprawy mikroalg faworyzują wykorzystanie źródeł wody niezdatnej do picia, np. wody morskiej, słonawej lub ścieków, szczególnie pochodzących z przemysłu spożywczego, które zawierają składniki odżywcze i obniżyłyby koszty produkcji.



Prognozuje się, że do 2025 roku światowa produkcja glonów osiągnie 30,2 miliarda dolarów w porównaniu z 6 miliardami dolarów w 2014 roku (FAO, Organizacja ds. Wyżywienia i Rolnictwa), przy czym 95% tej produkcji pochodzi z krajów azjatyckich. Na same Chiny przypada 57% światowej produkcji alg (w 2018 roku), a jednym z głównych producentów jest też Indonezja (29%). Aktualnie wykorzystuje się i zbiera ponad 500 gatunków glonów ze stu różnych rodzajów, z których tylko 33 rodzaje (głównie krasnorosty i brunatnice) są zbierane i/lub hodowane komercyjnie na całym świecie.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Al-Lwayzy S.H., Yusaf T. 2017. Diesel engine performance and exhaust gas emissions using microalgae *Chlorella protothecoides* biodiesel. *Renew. Energy*. 101. 690-701.
2. Al-Lwayzy S.H., Yusaf T., Al-Juboori R.A. 2014. Biofuels from the fresh water microalgae *Chlorella vulgaris* (FWM-CV) for diesel engines. *Energies*. 7 (3). 1829-1851.
3. Amaya Apaza K.M., Castaneda-Olivera C.A., Acosta Suasnabar E., Del Pilar Lopez Padilla R., Tomanguilla L.C., Benites Alfaro E. 2022. Biofuel obtained from benthic marine flora *Macrocyctis pyrifera* and its characterization. *Chem. Engineering Transactions*. 92. 175-180.
4. Aro E.-M. 2016. From first generation biofuels to advanced solar biofuels. *Ambio*. 45. 24-31.
5. Banerjee A., Sharma R., Chisti Y., Banerjee U.C. 2002. *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical Rev. in Biotechnology*. 22. 245-279.
6. Blinová L., Bartošová A., Gerulová K. 2015. Cultivation of microalgae (*Chlorella vulgaris*) for biodiesel production. *Faculty of Materials Science and Technology in Trnava*. 23 (36). 87-95.
7. Błaszak M. 2014. The use of algae for energy: current state and perspectives. *Archiwum Gospodarki Odpadami i Ochrony Środowiska*. 16 (4). 141-152.
8. Camus C., Ballerino P., Delgado R., Olivera-Nappa A., Leyton C., Buschmann A.H. 2016. Scaling up bioethanol production from the farmed brown macroalga *Macrocyctis pyrifera* in Chile. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 10. 673-685.
9. Carneiro M.L.N.M., Pradelle F., Braga S.L., Gomes M.S.P., Martins A.R.F.A., Turkovics F., Pradelle R.N.C. 2017. Potential of biofuels from algae: comparison with fossil fuels, ethanol and biodiesel in Europe and Brazil through life cycle assessment (LCA). *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 73. 632-653.
10. Cheng P., Muylaert K., Cheng J.J., Liu H., Chen P., Addy M., Zhou C., Yan X., Ruan R. 2019. Cobalt enrichment enhances the tolerance of *Botryococcus braunii* to high concentration of CO<sub>2</sub>. *Biores. Technol.* 297. 122385. DOI:10.1016/j.biortech.2019.122385.
11. Chisti Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*. 26. 126-131.
12. Chye J.T.T., Jun L.Y., Yon L.S., Pan S., Danquah M.K. 2018. Biofuel production from algal biomass. [In:] Konur O. (ed.), *Bioenergy and biofuels*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 87-120.
13. Chynoweth D.P. 2002. Review of biomethane from marine biomass. Gainesville, Florida, USA. Department of Agricultural and Biological Engineering, University of Florida.
14. Correa D.F., Beyer H.L., Possingham H.P., Thomas-Hall S.R., Schenk P.M. 2017. Biodiversity impacts of bioenergy production: microalgae vs. first generation biofuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 74. 1131-1146.

15. Das V., Devi A., Das R., Kalita M.C., Deka D. 2019. Microalgal lipid augmentation of *Chlorella* sp. and algal biodiesel production using CaO as catalyst-A green outlook. *J. Algal Biomass Utiln.* 10 (1). 43-53.
16. Dębowski M., Zieliński M., Krzemieniewski M. 2011. Wydajność produkcji biomasy glonowej w reaktorze otwartym. *Roczniki Ochrony Środowiska.* 13. 1743-1752.
17. Diesel J., Molano G., Montecinos G.J., De Weese K., Calhoun S., Kuo A., Lipzen A., Salamov A., Grigoriev I.V., Reed D.C., Miller R.J., Nuzhdin S.V., Alberto F. 2023. A scaffolded and annotated reference genome of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*). *BMC Genomics.* 24. 543. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09658-x>.
18. Dragone G., Fernandes B.D., Vicente A., Teixeira J.A. 2010. Third generation biofuels from microalgae. [In:] A. Mendez-Vilas (ed.), *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology.* Formatex, Portugal, pp. 1355-1366.
19. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2009. *Algae-based biofuels: a review of challenges and opportunities for developing countries.* Italy, 49 pp.
20. Gani P., Sunar N.M., Matias-Peralta H.M., Latiff A.A.A., Parjo U.K., Embong Z., Khalid A., Tajudin S.A.A. 2016. The potential of biodiesel production from *Botryococcus* sp. biomass after phycoremediation of domestic and industrial wastewater. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 160. 012048. doi:10.1088/1757-899X/160/1/012048.
21. Gaurav N., Sivasankari S., Kiran G.S., Ninawe A., Selvin J. 2017. Utilization of bioresources for sustainable biofuels: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 73. 205-214.
22. Griffiths G., Hossain A.K., Sharma V., Duraisamy G. 2021. Key targets for improving algal biofuel production. *Clean Technol.* 3. 711-742.
23. Hawrot-Paw M., Ratomski P., Koniuszy A., Golimowski W., Teleszko M., Grygier A. 2021. Fatty acid profile of microalgal oils as a criterion for selection of the best feedstock for biodiesel production. *Energies.* 14. 7334. DOI:10.3390/en14217334.
24. Hossain F.M., Nabi M.N., Brown R.J. 2019. Investigation of diesel engine performance and exhaust emissions of microalgae fuel components in a turbocharged diesel engine. *Energy Convers. Manag.* 186. 220-228.
25. Jackson B.A., Bahri P.A., Moheimani N.R. 2017. Repetitive non-destructive milking of hydrocarbons from *Botryococcus braunii*. *Renew. Sustain. Ener. Rev.* 79. 1229-1240.
26. Kawamura K., Hirano K., Ardianor, Nugroho R.A. 2020. The oil-producing microalga *Botryococcus braunii*: a method for isolation from the natural environment and perspectives on the role of ecological studies in algal biofuel production. *Journal of Ecosystem and Ecography.* 10 (3). 274.
27. Kozieł W., Włodarczyk T. 2011. Glony – produkcja biomasy. *Acta Agroph.* 17 (1). 105-116.
28. Kuo C.-M., Sun Y.-L., Lin C.-H., Lin C.-H., Wu H.-T., Lin C.-S. 2021. Cultivation and biorefinery of microalgae (*Chlorella* sp.) for producing biofuels and other byproducts: a review. *Sustainability.* 13. 13480. <https://doi.org/10.3390/su132313480>.
29. Lavoie J.-M. 2016. Implementing 2nd generation liquid biofuels in a fossil fueldominated market: making the right choices. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry.* 2. 45-47.
30. Leite G.B., Abdelaziz A.E.M., Hallenbeck P.C. 2013. Algal biofuels: challenges and opportunities. *Bioresource Technology.* 145. 134-141.
31. Lomeu A.A., de Mendonça H.V., Mendes M.F. 2023. Microalgae as raw material for biodiesel production: perspectives and challenges of the third generation chain.

- Engenharia Agricola. 43. e20220087. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v43nepe.20220087/2023>.
32. Mahmooda T., Hussain N., Shahbaz A., Mulla S.I., Iqbal H.M.N., Bilal M. 2023. Sustainable production of biofuels from the algae-derived biomass. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 46. 1077-1097.
  33. Maity J.P., Bundschuh J., Chen C.-Y., Bhattacharya P. 2014. Microalgae for third generation biofuel production, mitigation of greenhouse gas emissions and wastewater treatment: present and future perspectives – a mini review. *Energy*. 78. 104-113.
  34. Metzger P., Largeau C. 2005. *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66. 486-496.
  35. Naik S.N., Goud V.V., Rout P.K., Dalai A.K. 2010. Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14. 578-597.
  36. Narala R.R., Garg S., Sharma K., Schenk P.M. 2016. Comparison of microalgae cultivation in photobioreactor, open raceway pond, and a two-stage hybrid system. *Frontiers in Energy Research*. 4 (29). 1-10.
  37. Noga T., Kochman-Kędziora N. 2023. Mikroglony najczęściej wykorzystywane w przemyśle rolno-spożywczym. *Polish Journal for Sustainable Development*. 27 (1). 23-35.
  38. Nugroho R.A., Subagyono D.J.N., Arung E.T. 2020. Isolation and characterization of *Botryococcus braunii* from a freshwater environment in Tenggara, Kutai Kartanegara, Indonesia. *Biodiversitas*. 21 (5). 2331-2336.
  39. Nwanya K.O., Okoye P.A.C., Ajiwe V.I.E. 2021. Biodiesel potentials of *Chlorella vulgaris* oil. *Nigerian Research Journal of Chemical Sciences*. 9 (2). 36-46.
  40. Patyna A., Witczak S. 2016. Przegląd fotobioreaktorów do produkcji biodiesla. *Chemik*. 70 (10). 634-643.
  41. Posten C., Shaub G. 2009. Microalgae and terrestrial biomass as source for fuel – a process review. *Journal of Biotechnology*. 142. 64-69.
  42. Rassweiler A., Reed D.C., Harrer S.L., Nelson J.C. 2018. Improved estimates of net primary production, growth, and standing crop of *Macrocystis pyrifera* in Southern California. *Ecology*. 99 (9). 2132-2132.
  43. Rosiak E., Łopaciuk W., Krzemiński M. (red.) 2011. Produkcja biopaliw i jej wpływ na światowy rynek zbóż oraz roślin oleistych i tłuszczów roślinnych. Wyd. Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – Państwowy Instytut Badawczy. Warszawa. 119 pp.
  44. Saladini F., Patrizi N., Pulselli F.M., Marchettini N., Bastianoni S. 2016. Guidelines for energy evaluation of first, second and third generation biofuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 66. 221-227.
  45. Sheehan J.T., Dunahay J., Bennerman H., Roessler P. 1998. A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae prepared for U.S. Department of Energy's office of fuels Development, by National Renewable Energy Laboratory. New York, pp. 42-48.
  46. Tan K.W.M., Lee Y.K. 2016. The dilemma for lipid productivity in green microalgae: importance of substrate provision in improving oil yield without sacrificing growth. *Biotechnol Biofuels*. 9 (1). 255. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0671-2>.
  47. Tanabe Y., Okazaki Y., Yoshida M., Matsuura H., Kai A., Shiratori T., i in. 2015. A novel alphaproteobacterial ectosymbiont promotes the growth of the hydrocarbon-rich green alga *Botryococcus braunii*. *Scientific Reports*. 5. 10467. DOI: 10.1038/srep10467.

48. Ugwu C.U., Aoyagi H., Uchiyama H. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*. 99. 4021-4028.
49. Ullah K.A., Ahmad V.K., Sofia, Sharma V.K., Lu P., Harvey A., Zafar M., Sultana S. 2015. Assessing the potential of algal biomass opportunities for bioenergy industry: a review. *Fuel*. 143. 414-423.
50. Urbina-Suarez N.A., Barajas-Solano A.F., Garcia-Martinez J.B., Lopez-Barrera G.L., Gonzalez-Delgado A.D. 2021. Cultivation of *Chlorella* sp. for biodiesel production using two farming wastewaters in eastern Colombia. *Journal of Water and Land Development*. 50 (6-9). 141-149.
51. Xu N., Zhang X., Fan X., Han L. 2001. Effects of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Chlorella vulgaris* sp. *Journal of Applied Phycology*. 13. 463-469.
52. Zhang J., Chen W.T., Zhang P., Luo Z., Zhang Y. 2013. Hydrothermal liquefaction of *Chlorella pyrenoidosa* in sub- and supercritical ethanol with heterogeneous catalysts. *Bioresource Technology*. 133. 389-397.

## SELECTED ALGAE TAXA USED IN THE PRODUCTION OF BIOFUELS

### *Summary*

*The concept of using algae as a raw material for biofuel production has been gaining popularity in recent years due to the surging cost of crude oil, the rapidly declining natural resources of oil, and issues related to global warming (caused by the burning of fossil fuels). Algae, characterized by lipid contents ranging from 20 to 70%, exhibit considerable potential as energy crops in cultivation. Various biofuels are produced from algae, including biodiesel, bioethanol, biobutanol, methane, and biogas. The main factors influencing algae growth are the availability and intensity of light, temperature, nutrient concentration, and CO<sub>2</sub> availability. Microalgae are grown in open systems (ponds) or closed systems (photobioreactors). Macroalgae, on the other hand, are cultivated in coastal zones of seas or similar aquatic reservoirs. Among microalgae, *Botryococcus braunii* and *Chlorella vulgaris* are taxa that produce significant amounts of oil, while the macroalgae commonly cultivated and used for biofuel production is *Macrocystis pyrifera*.*

**Keywords:** biofuels, *Chlorella*, *Botryococcus braunii*, *Macrocystis pyrifera*