

Bartłomiej OCH, Grażyna ŁASKA\*

## **MIKROALGI SUBSTRATEM DO PRODUKCJI BIOPALIW**

Niniejsza praca dotyczy otrzymywania biopaliw trzeciej generacji takich jak biodiesel, bioetanol oraz biometan z mikroglonów z krótkim omówieniem poszczególnych etapów ich produkcji od zbioru do finalnego produktu. Zwrócono szczególną uwagę na charakterystykę tych mikroorganizmów oraz sposób ich hodowli w systemach zamkniętych – fotobioreaktorach, uwzględniając konkretne czynniki mające znaczenie dla wydajnej produkcji biomasy.

### **1. WSTĘP**

Wykorzystywany obecnie biodiesel produkowany jest z roślin oleistych, takich jak rzepak, soja, olejowiec gwinejski, kukurydza, jatrofa [4, 7], czy też ze zużytego oleju konsumpcyjnego [7]. Jakkolwiek wykorzystanie zużytych olei roślinnych wydaje się działaniem trafnym, to wykorzystanie olei czystych powoduje niekorzystną z punktu widzenia sektora rolniczego i przemysłu spożywczego konkurencję o zasoby ziemi [4, 11, 12]. Paliwa pozyskiwane z roślin uprawnych mogących stanowić pożywienie lub paszę i wyzwalające wspomnianą konkurencję, która w konsekwencji prowadzi do wzrostu cen żywności, uznawane są obecnie za biopaliwa pierwszej generacji [4, 11]. W 1950 roku w raporcie projektu MIT (Massachusetts Institute of Technology) pojawiła się sugestia, dotycząca wykorzystania wcześniej nie branych pod uwagę jako źródło paliw, mikroorganizmów roślinnych – alg, w szczególności ze względu na syntetyzowany przez nie w znacznych ilościach lipidowy materiał zapasowy [1], który został uznany za jeden z głównych prekursorów współczesnych ogromnych, lecz skończonych pokładów ropy naftowej [24]. Od lat 70 ubiegłego wieku, kiedy to miały miejsce bardzo znaczące wzrosty cen ropy naftowej, algi wykorzystywane wcześniej w gospodarce człowieka w nielicznych gałęziach przemysłu spożywczego, kosme-

---

\* Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok, bartlomiej.och@gmail.com

tycznego i farmaceutycznego [20], trafiły na afisz jako mikroskopijne fabryki wytwarzające substraty do produkcji biopaliwa [11]. Celem pracy jest przegląd i przedstawienie aktualnych poglądów dotyczących produkcji biopaliw trzeciej generacji oraz czynników wpływających na wydajność produkcji.

## 2. ALGI – RODZAJE HODOWLI, CHARAKTERYSTYKA I PRODUKCJA BIOMASY

Algi są organizmami żyjącymi w środowiskach wilgotnych bądź wodnych [11]. Zaliczamy tu organizmy o zróżnicowanej budowie – jednokomórkowe, proste wielokomórkowe – nitkowate (mikroalgi) i plechowe (makroalgi) [4, 11, 12], organizmy prokariotyczne (sinice), jak również eukariotyczne (zielenice) [4, 15]. Do wzrostu potrzebują soli mineralnych (fosforu, żelaza, krzemu itd.), dwutlenku węgla, światła [7, 14] oraz azotu pochodzącego z procesów rozkładu (najchętniej w postaci mocznika [4]), czy jak w przypadku sinic, pobieranego wprost z atmosfery [4]. Zapotrzebowanie na nutrieny wyraża się wzorem  $\text{CO}_{0.48}\text{H}_{1.83}\text{N}_{0.11}\text{P}_{0.01}$  opracowanym przez Grobbelaar'a [7, 11, 13]. Algi asymilują dwutlenek węgla z atmosfery (zawiera ona 360 ppmv  $\text{CO}_2$  [4], ilość nie wystarczającą do utrzymania produkcji biomasy na najwyższym poziomie [15]),  $\text{CO}_2$  rozpuszczony w medium wzrostowym, bądź ewentualnie z rozpuszczonych w medium związków węgla (przy odżywianiu heterotroficznym z asymilowanych organicznych związków węgla, pochodzących z resztek organizmów) [4]. Większość alg toleruje bardzo duże stężenia  $\text{CO}_2$ , nawet do 150,000 ppmv [4]. Aby wytworzyć 100 g biomasy, algi potrzebują zasymilować około 183 g dwutlenku węgla [4]; węgiel stanowi wówczas średnio 50% ich suchej masy [7, 11, 14]. Optymalne temperatury wzrostu dla większości mikroalg kształtują się w zakresie od 20 do 30°C [7, 11, 14], a niektórzy autorzy określają ją w granicach 16–26°C, z maksymalnym wzrostem przy 23°C i minimalnym przy 7°C [15]. Generalnie jednak, optymalna temperatura jest zależna od gatunku. Dla osiągnięcia maksymalnej wydajności produkcji, temperatura hodowli powinna mieścić się w optimum danego gatunku. Kultury glonów hodowane w temperaturach 35°C i wyższych obumierają i wykazują wysoki stopień fotoinhibicji [9, 10, 21]. Natężenie światła jest czynnikiem wpływającym na przyrost biomasy, jak i na jakość frakcji lipidowej. Generalnie optymalne wartości gęstości strumienia fotonów mieszczą się w granicach od 100 do 600  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ , jednak optimum podanego wskaźnika, silnie zależy od gatunku glonu (nawet konkretnego szczepu) oraz od zastosowanego systemu hodowli [15]. Zawartość oleju w algach zawiera się zwykle w przedziale 20–50% [4], ale może przekroczyć nawet 80% [7]. W skład zapasowego oleju z alg wchodzi niepolarne trójglicerydy, których akumulacja zwiększa się, gdy komórki poddamy stresowi azotowemu (obniżona zawartość azotu w medium) [4, 11, 12, 15]. Oprócz tego, materiał tłuszczowy mogą stanowić

lipidy polarne, neutralne oraz w różnym stopniu nasycone kwasy tłuszczowe. Algi potrafią przeprowadzać procesy fotosyntetyczne z bardzo dużą wydajnością i zwiększać swoją liczebność z dużą szybkością w wykładniczej fazie wzrostu populacji [11], dlatego też stanowią cenny dla gospodarki człowieka materiał hodowlany.

W hodowli mikroalg możemy wyróżnić dwie główne, obecnie praktykowane metody, są to hodowle otwarte (stawy hodowlane – naturalne i sztuczne) i zamknięte (hodowle w fotobioreaktorach). Wymienione systemy hodowli różnią się w szczególności wydajnością, kosztami budowy i utrzymania, warunkują również możliwość hodowli konkretnych gatunków glonów.

Otwarte stawy są to tworzące pętle kanały (w celu najbardziej optymalnego wykorzystania powierzchni), umożliwiające recyrkulację napędzanego turbiną medium hodowlanego, o głębokości od 0,2 do 0,5 m [4], a przeważnie 0,3 m [7] i o dnie wyłożonym materiałem o wyższym albedo niż ziemia (np. białym tworzywem [11, 14]). Takie systemy są stosunkowo tanie w budowie i utrzymaniu, proste w obsłudze i kontrolowaniu parametrów życiowych medium, typu temperatura, nasycenie tlenem i odczyn pH, ale cechują się znaczną utratą wody i dwutlenku węgla z układu [4, 22] oraz znacznym zanieczyszczeniem i skażeniem medium np. organizmami żerującymi na hodowanych glonach. Wymagają również dość znacznych powierzchni produkcyjnych i są zależne od klimatu [8, 14, 22]. Najczęściej uprawianymi z powodzeniem gatunkami glonów w otwartych stawach są glony z rodzaju *Spirulina*, *Chlorella* i *Dunaliella*. Pomimo, że trudne jest utrzymanie w nich monokultury (braku skażenia innymi organizmami), nie jest to niemożliwe, bo zapewniając medium selektywne cechy np. wysokie pH, które dobrze toleruje np. *Arthrospira* (*Spirulina*), możemy skutecznie uniemożliwiać wzrost organizmów towarzyszących, co ma szczególne znaczenie przy produkcji wysokocennych produktów dla przemysłu farmaceutycznego [4, 8, 21].

Fotobioreaktory zapewniają dużą wydajność produkcji [3, 4], która musi niwelować wysokie koszty budowy i utrzymania [5] (w szczególności kosztowne są materiały konstrukcyjne). Znane są fotobioreaktory o różnorodnej geometrii i konstrukcji – panelowe, kolumnowe, cylindryczne [11], stanowiące zamknięte worki z tworzywa [3, 5, 7], helikalne, ale również koncepcyjne alfa – cylindryczne [18], silnie zapętlone cylindryczne [6, 9, 18], helikalne o stożkowatym kształcie [23]. W każdym z nich, medium hodowlane odizolowane jest od środowiska zewnętrznego za pomocą transparentnych dla promieni światła ścian. Ich różnej wielkości fotoaktywna powierzchnia stanowi – w zależności od geometrii fotobioreaktora, rodzaju i kierunku oświetlenia – o jakości i wielkości produkcji. Może również stanowić barierę dla światła, gdy jest zanieczyszczona z zewnątrz (zapyłona, pokryta osadem), bądź wewnątrz komórkami glonów tworzącymi biofilm [15]. Jednak w obu wypadkach, należy podjąć często kosztowne kroki, w celu ich oczyszczenia, aby nie utracić plonów. W dużej mierze skutecznym i powszechnie stosowanym sposobem zapobiegania powstawania biofilmu, ale także niepożądaney sedymentacji komórek, jest wprowadzanie medium hodowlanego w silny turbulentny przepływ [7, 11]. Przepływ medium w bioreaktorze

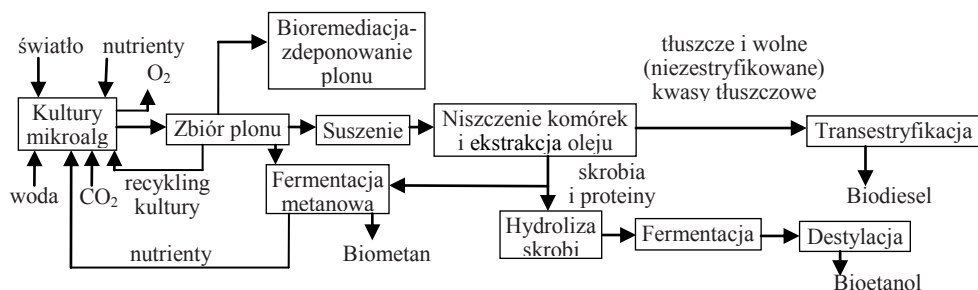
charakteryzuje liczba Reynoldsa ( $Re$ ), będąca kryterium stateczności przepływu. Zakres liczby  $Re$  podawany w literaturze, a stosowany w badaniach jest różny. Prowadzone badania produktywności *Spirulina* w różnych przepływach, wykazały, że przy minimalnych liczbach Reynoldsa zbliżonych do przepływu laminarnego ( $Re < 1100$ ), produktywność była dużo mniejsza niż przy przepływie turbulentnym ( $Re = 2680$ ) i w pełni turbulentnym ( $Re = 4200$ ), przy którym uzyskiwano największe przyrosty biomasy [6]. Dalsze zwiększanie przepływu i poziomu turbulencji (jeszcze większe liczby  $Re$ ), prowadziło już do spadku produktywności. Oznacza to, że ustalenie właściwego dla danego gatunku alg i rodzaju fotobioreaktora przepływu, ma istotny wpływ na wydajność produkcji. Przyczyną wzrostów produkcji, może być też lepsze dostarczanie składników odżywczych do komórek glonów przy zwiększonym przepływie [15]. Innym czynnikiem występującym przy przepływie turbulentnym zawiesiny, jest pojawianie się cyklu wzajemnych zacienień poszczególnych komórek, jak również naświetleń, gdy zacienienie sąsiednią komórką ustępuje [7, 10, 19, 21]. Jak dowodzą badania, cykl ten ma ogromne znaczenie dla prawidłowej fotosyntezy w komórkach i ograniczenia fotoinhibicji [7, 19]. Ograniczenie wydajności przy bardzo dużych  $Re$ , może być spowodowane dalekim od optymalnego cyklem zacienień i naświetleń komórek, mechanicznym uszkodzeniem komórek poddawanych naprężeniom podczas turbulencji [7], czy też przez duże różnice ciśnień spowodowane przepływem turbulentnym, które prowadzą do wyzwalania zjawiska kawitacji (np. przy wirnikach używanych do napędzania medium). Mechaniczne niszczenie komórek może następować także z powodu stosowania pomp mechanicznych [7, 11]. Poza tym, właściwe oświetlenie fotobioreaktora, ma również kluczowe znaczenie dla utrzymania pożądanej produktywności. System można oświetlać światłem naturalnym bądź sztucznym [11, 22]. Oświetlając naturalnie bioreaktor musimy wziąć pod uwagę zarówno zmienne w ciągu dnia natężeniem światła, jak też kąt jego padania oraz brak światła w ciągu nocy. Jakość oświetlenia naturalnego jest także w dużej mierze uzależniona od strefy klimatycznej (strefy oświetlenia), warunków pogodowych oraz rodzaju fotobioreaktora i może być nieadekwatna do potrzeb hodowli. Przy oświetleniu sztucznym występuje większa dowolność rozwiązań technicznych. Źródło światła może być zainstalowane wewnątrz bądź z zewnątrz bioreaktora [14, 15, 22], może to być również emiter o różnym w zależności od potrzeby spektrum. Przewagą oświetlenia sztucznego jest możliwość oświetlania ciągłego. Posiada ono też wady, w postaci konieczności dostosowania spektrum do maksimum absorpcji barwników fotosyntetycznych komórek, w celu uzyskania optymalnego przebiegu procesu fotosyntezy [15]. W celu właściwego oświetlenia kultury, już na etapie projektu, należy dobrać odpowiedni stosunek powierzchni fotoaktywnej fotobioreaktora, do jego objętości właściwej [15, 19]. Niewłaściwe dobranie tego wskaźnika, może prowadzić do niepożądanego zacienienia najniżej położonych komórek, szczególnie gdy kultura jest nieodpowiednio mieszana [22]. Sztuczne oświetlenie stosowane w rozwiązaniach badawczych, to lampy fluorescencyjne (świełówki) [2, 14, 22], lampy metalohalogenkowe,

wysokosprawne lampy sodowe [2], diody elektroluminescencyjne (LED) [12, 15, 16]. W rzeczywistość wiele z tych rozwiązań było by zbyt kosztowne, a wiele watów energii nieodwracalnie utracona (zużycie energii elektrycznej, emisja ciepła przez źródła światła). Częściowe odzyskanie emitowanej energii świetlnej, która przechodząc przez układ nie zostanie zabsorbowana, bądź go ominie, jest możliwa poprzez odbicie go ponowne w stronę fotobioreaktora. Działanie takie powinno dodatkowo oświetlać powierzchnię bioreaktora, ustawioną przeciwnie do głównego źródła światła, dostarczając komórkom najdalej od niego położonym porcje fotonów. Odbicie światła można uzyskać poprzez zastosowanie materiałów o wysokim albedo. Zastosowanie źródła światła o zbyt wysokiej gęstości fotonów (w zależności od optimum danego gatunku), może powodować efekt fotoinhibicji [15] (poprzez niszczenie części aparatu fotosyntetycznego), konsekwencją czego jest obniżenie przyrostu populacji [14]. Dla właściwej hodowli niezbędne jest utrzymanie odpowiedniego pH, które może się wahać przez procesy naturalnie zachodzące w kulturze, takie jak pobieranie CO<sub>2</sub> lub jego produkcja (szczególnie przy braku oświetlenia). Ubytek CO<sub>2</sub> z medium będzie podnosił pH, a jego dostarczanie, również w postaci gazu suplementującego (napowietrzanie – najlepiej efektywne w pobliżu elektrociepłowni emitujących CO<sub>2</sub>, sprężony CO<sub>2</sub>), będzie odczyn pH obniżało. Ważna jest weryfikacja poziomu pH wzdłuż systemu i ewentualna jego korekcja, ponieważ w miarę jak komórki zużywają CO<sub>2</sub>, a produkują i wydzielają O<sub>2</sub>, może występować gradient tego parametru wzdłuż kierunku przepływu [21]. Nadmierna saturacja O<sub>2</sub> prowadzi również do fotooksydacji [15], wzmoczenia procesów fotooddechowych i oddechowych (poprzez kompetycję O<sub>2</sub> z CO<sub>2</sub> do Rubisco [21]; w ciemności, poniżej świetlnego punktu kompensacyjnego – ze stratami biomasy) oraz destrukcyjnego wpływu aktywnych form tlenu. W takim wypadku, niezbędne jest stosowanie jako elementu konstrukcji wymienników gazu (stref wymiany gazowej), gdzie nadmiar tlenu może być oddany do atmosfery [15, 21]. Zamknięte systemy wykazują lepszy transfer masy pomiędzy fazą gazową i cieczą oraz są mniej narażone na zakażenie niepożądanymi organizmami [22]. Fotobioreaktory mogą zajmować stosunkowo niewiele przestrzeni i mogą powstawać na terenach nieprzydatnych rolniczo, nie konkurując z uprawami roślin na paszę i pożywienie [11, 12].

### 3. ZBIÓR, WSTĘPNA OBRÓBKA PLONU I PRODUKCJA BIOPALIW

Plonowania alg można dokonać niezależnie od pory roku, gdy gęstość zawiesiny komórek w medium hodowlanym osiągnie odpowiednią wartość. Należy zwrócić jednak uwagę, aby populacja mikroorganizmów nie osiągnęła stacjonarnej fazy wzrostu (pozostawała w fazie wykładniczej wzrostu). Znane są następujące sposoby zbioru alg: sedymentacja grawitacyjna (odpowiednia dla dużych komórek glonów  $\geq 70\mu\text{m}$ ),

sedymentacja odśrodkowa (opad wspomagany wirowaniem), filtracja (nieodpowiednia dla małych komórek ( $\leq 30\mu\text{m}$ ) oraz kosztowna ze względu na wymianę membran filtracyjnych), odwirowanie, agregacja wywołana akustycznie, flokulacja (agregacja komórek wywołana środkami chemicznymi np. poprzez zmianę wypadkowego ładunku błonowego komórek), bądź flotacja (wykorzystująca naturalną zdolność komórek do unoszenia się na powierzchni lub odłów komórek złapanych przez mikro pęcherzyki powietrza) [4, 12]. Wykorzystana w praktyce metoda musi być na tyle mało kosztowna, aby nie podnosić ceny produktu końcowego i tym samym nie zmniejszać opłacalności produkcji. Powinna to być również metoda, która w momencie zbioru plonu nie będzie wpływała na jego wielkość. Należy tu zaznaczyć, że w trakcie zbiorów komórki glonów nadal żyją i oddychają, a zużywając cenny materiał zapasowy – substrat biopaliw, obniżają plon właściwy. W związku z tym, obiecującą jest metoda chemicznej lub biologicznej flokulacji komórek, przy czym nadal niezbędne jest odnalezienie oraz przebadanie najskuteczniejszych i najtańszych czynników flokulujących. Jeśli celem hodowli jest bioremediacja atmosfery z  $\text{CO}_2$  (Rys. 1), wówczas zebrany plon najlepiej zdeponować tak, aby nie podlegał rozkładowi np. w wiecznej zmarzlinie.



Rys. 1. Schemat procesu produkcji biopaliw trzeciej generacji z uwzględnieniem bioremediacji  $\text{CO}_2$  (za [8] –zmodyfikowany)

Kolejnym etapem procesu produkcji biopaliw z biomasy alg jest suszenie (Rys. 1). Może być ono bardzo kosztowne ze względu na wkład energii elektrycznej, i mniej kosztowne przy użyciu energii słonecznej. Wykorzystywanymi metodami suszenia są: wspomniane suszenie na słońcu (czasochłonne i mogące powodować straty pożądanych substratów), liofilizacja, suszenie rozpyłowe, bębnowe, fluidyzacyjne oraz technologia Refractance Window™ [4]. Suszenie jest szczególnie istotne, jeżeli produktem końcowym ma być biodiesel, ponieważ podczas reakcji transestryfikacji wilgotny półprodukt powoduje przechylenie równowagi reakcji w stronę mydeł, jako jednego z produktów końcowych. Produkcja biometanu nie wymaga tego etapu, gdyż otrzymany plon trzeba bezpośrednio poddać beztlenowej fermentacji metanowej z otrzymaniem biogazu, po wstępnej hydrolizie biomasy [4]. Jednak przeznaczenie biomasy

alg bezpośrednio do trawienia beztlenowego jest działaniem nieopłacalnym, ze względu na dużo tańsze substraty, np. odpadki organiczne [7]. Pozostałości po metanogenezie są bogatym w nutrieny materiałem, który może być użyty ponownie jako pożywka [4]. Możliwe jest również przeznaczenie materiału organicznego po wyekstrahowaniu lipidów do metanogenezy, produkując jednocześnie biogaz i biodiesel. Podobna sytuacja ma miejsce przy produkcji bioetanolu. Tu możemy również na początku odzyskać materiał tłuszczowy, a następnie pozostałą część biomasy (bogata w cukry i białka) poddać fermentacji alkoholowej i produkować bioetanol, destylując sfermentowaną biomasę [4]. Bioetanol już teraz używany jest nawet w 10% (w USA), jako dodatek do paliwa konwencjonalnego (oleju napędowego). Niszczenie komórek glonów w celu łatwiejszego wydobycia pożądaných substratów, jest osiąganе najczęściej przy pomocy ultradźwięków, a samo wydobycie w procesie ekstrakcji. Transestryfikacja frakcji lipidowej, najlepiej z jak najmniejszą zawartością wolnych kwasów tłuszczowych (by ograniczyć reakcję saponifikacji [11]), prowadzona jest w temperaturze 60°C, tuż poniżej temperatury wrzenia metanolu (alkohol preferowany ze względu na niską cenę). Dużą wydajność reakcji (98%), uzyskujemy stosując nadmiar metanolu, aby przesunąć równowagę reakcji w stronę estrów metylowych [7, 11]. Przyspieszenie tej reakcji jest możliwe przez stosowanie katalizatorów, takich jak wodorotlenki (np. KOH, NaOH), kwasy, bądź enzymy (lipazy). Oczyszczanie i izolacja biodiesla odbywa się poprzez wyplukiwanie wodą metanolu i glicerolu, który jest produktem ubocznym [7] (w celu odzyskania części kosztów produkcji, glicerol należy oczyścić i sprzedać). Otrzymany biodiesel jest mieszaniną monoalkilowych estrów kwasów tłuszczowych. Niestety z powodu zawartości w oleju alg wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, produkt podczas przechowywania, może ulegać stosunkowo szybko (w porównaniu z olejem napędowym) utlenianiu [4, 11], hydrolizie i polimeryzacji, co prowadzi również do zmiany jego lepkości [11]. Poziom nienasycenia oleju wskazuje liczba jodowa, która według standardu europejskiego EN 14214 [4, 7], powinna wynosić nie więcej niż 120 g jodu/100 g biodiesla [7]. Dozwołoną zawartość estrów metylowych kwasów tłuszczowych z czterema lub większą ilością wiązań podwójnych w biodieslu, standard ten określa na nie większą niż 1% mola [7]. Nadmierny poziom nienasycenia można zniwelować saturując olej z alg wodorem [7].

#### LITERATURA

- [1] BENEMANN J.R., *Overview: Algae Oil to Biofuels (annotated presentation)*, źródło internetowe: [www.nrel.gov/biomass/pdfs/benemann.pdf](http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/benemann.pdf).
- [2] BENSON B. CH., *Optimization of the light dynamics in the hydraulically integrated serial turbidostat algal reactor (HISTAR)*, praca doktorska Louisiana State University 2003.
- [3] BOROWITZKA M. A., *Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters*, Journal of Biotechnology, 1999, Vol. 70, 313–321.

- [4] BRENNAN L., OWENDE P., *Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2009, RSER-805, 1–21.
- [5] CARLOZZI P., *Closed Photobioreactor Assessments To Grow, Intensively, Light Dependent Microorganisms: A Twenty-Year Italian Outdoor Investigation*, The Open Biotechnology Journal, 2008, Vol. 2, 63–72.
- [6] CARLOZZI P., TORZILLO G., *Productivity of Spirulina in a strongly curved outdoor tubular photobioreactor*, Applied Microbiology and Biotechnology, 1996, Vol. 45, 18–23
- [7] CHISTI Y., *Biodiesel from microalgae*, Biotechnology Advances, 2007, Vol.25, 294–306.
- [8] DRAGONE G. i in., *Third generation biofuels from microalgae*, [w:] Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology pod red. A. Méndez-Vilas, FORMATEX 2010, Vol. 2, ISBN-13: 978-84-614-6195-0, 1355–1366.
- [9] FERNANDEZ F. G. A. i in., *Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance*, Chemical Engineering Science, 2001, Vol. 56, 2721–2732.
- [10] FERNANDEZ F. G. A. i in., *Outdoor production of Phaeodactylum tricornutum biomass in a helical reactor*, Journal of Biotechnology, 2003, Vol.103, 137–152.
- [11] FRĄC M., JEZIEŃSKA-TYS S., TYS J., *Microalgae for biofuels production and environmental applications: A review*, African Journal of Biotechnology, 2010, Vol. 9 (54), 9227–9236.
- [12] GEORGIANNA D. R., MAYFIELD S. P., *Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels*, Nature, 2012, Vol. 488, 329–335.
- [13] GROBBELAAR J. U., *Algal nutrition, Mineral Nutrition*, [w:] Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, pod red. A. Richmond, Oxford 2004, 97–115.
- [14] KOZIEŁ W., WŁODARCZYK T., *Glony – produkcja biomasy*, Acta Agrophysica, 2011, Vol. 17, No. 1, 105–116.
- [15] KUMAR A. i in., *Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions*, Trends in Biotechnology, 2010, Vol. 28, 371–380.
- [16] LEE CH.-G., PALSSON B. Ø., *High-Density Algal Photobioreactors Using Light-Emitting Diodes*, Biotechnology and Bioengineering, 1994, Vol. 44, 1161–1167.
- [17] LEE Y-K i in., *Design and performance of an α-type tubular photobioreactor for mass cultivation of microalgae*, Journal of Applied Phycology, 1995, Vol. 7, 47–51.
- [18] MOLINA E. i in., *Tubular photobioreactor design for algal cultures*, Journal of Biotechnology, 2001, Vol. 92, 113–131.
- [19] PUPO O. R., *Conceptual design of photobioreactor for algae cultivation*, Proceedings of the ASME 2011 International Mechanical Engineering Congress & Exposition IMECE 2011, November 11–17, 2011, Denver, Colorado, USA, 1–6.
- [20] SPOLAORE P. i in., *Commercial applications of microalgae*, Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, Vol. 101, 87–96.
- [21] STEPHENS E. i in., *Future prospects of microalgal biofuel production systems*, Trends in Plant Science, 2010, TRPLSC-802, 1–11.
- [22] UGWU C.U., AOYAGI H., UCHIYAMA H., *Photobioreactors for mass cultivation of algae*, Bioresource Technology, 2008, Vol. 99, 4021–4028.
- [23] WATANABE Y., HALL D. O., *Photosynthetic CO<sub>2</sub> conversion technologies using a photobioreactor incorporating microalgae-energy and material balances*, Energy Convers. Mgmt, 1996, Vol. 37, Nos 6-8, 1321–1326.
- [24] WEISS F.J., *The useful algae*, Scientific American, 1952, Vol. 187, No. 6, 15–17.



## MICROALGAE AS SUBSTRATE FOR BIOFUEL PRODUCTION

This paper concerns the third generation of biofuels such as biodiesel, bioethanol and biomethane from microalgae with a brief discussion of the various stages of their production from harvest to final product. Special attention is paid to the characteristics of these microorganisms and how they are cultivated in closed systems – photobioreactors, taking into account specific factors relevant to the efficient production of biomass.