



RĪGAS TEHNISKĀ
UNIVERSITĀTE

Baiba Ieviņa

MIKROAĻĢU AUDZĒŠANAS TEHNOĻĪJAS INTEGRĀCIJA BIOGĀZES STACIJĀS

Promocijas darba kopsavilkums



RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Dabaszinātņu un tehnoloģiju fakultāte
Vides aizsardzības un siltuma sistēmu institūts

Baiba Ieviņa

Doktora studiju programmas “Vides inženierija” doktorante

MIKROAĻĢU AUDZĒŠANAS TEHNOLOĢIJAS INTEGRĀCIJA BIOGĀZES STACIJĀS

Promocijas darba kopsavilkums

Zinātniskais vadītājs
profesors *Dr. sc. ing.*
FRANCESCO ROMAGNOLI

RTU Izdevniecība
Rīga 2024

Ieviņa B. Mikroaļģu audzēšanas tehnoloģijas integrācija biogāzes stacijās. Promocijas darba kopsavilkums. – Rīga: RTU izdevniecība, 2024, 41 lpp.

Publicēts saskaņā ar promocijas padomes “RTU P-19” 2024. gada 25. janvāra lēmumu, protokols Nr. 185.

Promocijas darba pētījumu finansējusi Latvijas Zinātnes padome, projekts “*Integrated CO₂ biofilter and microalgae biomass production technology for biogas plants using novel Stacked Modular Open Raceway Pond approach (SMORP)*”, projekta Nr. LZP-2018/1-0232.



Vāka attēla autore Baiba Ieviņa

<https://doi.org/10.7250/9789934370663>
ISBN 978-9934-37-066-3 (pdf)

PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS ZINĀTNES DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2024. gada 20. jūnijā plkst. 14:30 Rīgas Tehniskās universitātes Dabaszinātņu un tehnoloģiju fakultātē, Āzenes ielā 12/1, 116. auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Profesors *Dr. sc. ing.* Gatis Bažbauers,
Rīgas Tehniskā universitāte

Profesore *Ph. D. Yagut Allahverdiyeva-Rinne*,
Turku Universitāte, Somija

Ph. D. Enrico Doria,
Pāvijas Universitāte, Itālija

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē zinātnes doktora (*Ph. D.*) grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Baiba Ieviņa (paraksts)

Datums:

Promocijas darbs ir uzrakstīts angļu valodā, tajā ir ievads, trīs nodaļas, secinājumi, literatūras saraksts, 60 attēli un 12 tabulas, kopā 236 lappuses. Literatūras sarakstā ir 292 nosaukumi.

SATURS

IEVADS	5
Promocijas darba aktualitāte	5
Mērķis un uzdevumi	6
Zinātniskā novitāte	6
Praktiskā vērtība	6
Promocijas darba struktūra	7
Promocijas darba zinātniskā aprobācija	7
1. Pētījuma metodika	10
1.1. Jaunas kultivēšanas sistēmas izstrāde un konstruēšana	10
1.2. Laboratorijas testi	10
1.3. Mikroaļģu testi pilota mēroga kultivēšanas sistēmā	13
2. Rezultāti un diskusija	14
2.1. Jaunās kultivēšanas sistēmas koncepts un dizains	14
2.2. Mikroaļģu celmu atlase	19
2.3. Zemas temperatūras celma novērtēšana	20
2.4. Gaismas intensitātes ietekme uz mikroaļģu augšanu	22
2.5. Gaismas spektra ietekme uz mikroaļģu augšanu	23
2.6. Oglekļa dioksīda ietekme uz mikroaļģu kultūrām	24
2.7. Digestāts kā barības vielu avots	26
Priekšapstrāde ar centrifugēšanu un filtrēšanu	26
Priekšapstrāde ar aktivēto ogli	28
2.8. Mikroaļģu testi izstrādātajā SMORP kultivēšanas sistēmā	30
Kultivēšanas apstākļu monitorings	30
Mikroaļģu augšana un barības vielu uzņemšana	31
SECINĀJUMI	36
LITERATŪRA	38

IEVADS

Promocijas darba aktualitāte

Fosilo resursu izsīkšana, industrializācija un pieaugošais pasaules iedzīvotāju skaits ir izraisījis enerģijas krīzi, kas liek pievērsties alternatīvu enerģijas avotu meklēšanai. Turklāt pieaugošā oglekļa dioksīda koncentrācija atmosfērā ir izraisījusi klimata pārmaiņas ar smagām sekām, tādām kā izmainīti laikapstākļi un izjaukts dabas līdzsvars. Šajā kontekstā mikroaļģes ir piesaistījušas pasaules uzmanību, izvirzot tās par potenciālu risinājumu gan ilgtspējīgas enerģijas, gan CO₂ sekvestrācijas jomā. Mikroaļģu biomasa ar savām izcilajām īpašībām, piemēram, straujo augšanu, augsto oglekļa dioksīda absorbcijas spēju, noturību pret skarbiem apstākļiem un iespēju nepārtraukti ražot biomasu visa gada garumā, ir pārāka par citām tradicionālajām bioenerģijas izejvielām. Atšķirībā no pirmās paaudzes biomasas, piemēram, kukurūzas vai cukurniedrēm, mikroaļģes nekonkurē ar pārtikas ražošanu, jo to audzēšanai nav nepieciešama auglīga aramzeme. Mikroaļģu biomasu var pārvērst dažādos enerģijas veidos, tostarp biogāzē, biodīzeļdegvielā un bioetanolā. Turklāt tās satur augstvērtīgus savienojumus ar lielu potenciālu pārtikas, dzīvnieku barības, uztura bagātinātāju, kosmētikas un medicīnas jomā. Papildus jau esošajiem mikroaļģu izmantošanas veidiem mikroaļģu potenciāls tiek pētīts arī citās jaunās jomās, tostarp notekūdeņu attīrīšanā, biostimulantu, biopesticīdu un bioķīmisko vielu ražošanā [1].

Neraugoties uz mikroaļģu biomasas plašo potenciālu, tās pašreizējā izmantošana aprobežojas ar dažiem produktiem un lietojuma veidiem, jo lielā mēroga biomasas ražošana ir saistīta ar ievērojamām problēmām, tostarp lielām kapitālizmaksām un uzturēšanas izmaksām, zemu biomasas produktivitāti, sistēmas mēroga palielināšanas problēmām, kā arī augstām biomasas novākšanas un pārstrādes izmaksām [2]. Pēdējā laikā daudz pūļu veltīts mikroaļģu kultivēšanas ekonomiskā potenciāla uzlabošanai, tostarp bioreaktoru projektēšanas apsvērumiem [3] audzēšanas apstākļu optimizācijai [4]–[6], jaunu, produktīvāku mikroaļģu celmu meklēšanai [7], [8] un jaunu biomasas novākšanas metožu testēšanai, lai samazinātu kopējās ražošanas izmaksas un palielinātu novākšanas efektivitāti [9], [10].

Lai vēl vairāk samazinātu biomasas ražošanas izmaksas, pēdējā laikā tiek plaši pētīta dažādu notekūdeņu kā lētu barības vielu avota izmantošana mikroaļģu audzēšanai [11]. Digestātu, kas ir ar barības vielām bagāts anaerobās fermentācijas blakusprodukts, patlaban izmanto kā mēslojumu lauksaimniecībā, tomēr vairākas ar digestāta apsaimniekošanu saistītas problēmas ierobežo tā izmantošanu. Turklāt pieaugošais biogāzes staciju skaits Eiropā rada digestāta pārprodukciju, kas apdraud vidi un cilvēku veselību. Biogāzes ražošanas savienošana ar mikroaļģu kultivēšanu var sniegt dažādas priekšrocības, tostarp digestāta barības vielu apriti un dūmgāzēs esošā CO₂ sekvestrāciju.

Lielākā daļa liela mēroga mikroaļģu kultivēšanas sistēmu ir izvietotas siltos dienvidu reģionos, piemēram, Izraēlā, Austrālijā un ASV dienvidos [12], taču biomasas ražošana augstākos platuma grādos joprojām ir liels izaicinājums. Tomēr vairāki jaunākie pētījumi pierāda, ka mikroaļģu audzēšanu zemas temperatūras vidē var nodrošināt visu gadu, ja tiek izmantoti vietējam klimatam piemēroti vietējie mikroaļģu celmi [13]. Tomēr pētījumu par

mikroaļģu audzēšanu zemas temperatūras reģionos ar izteiktu ziemu ir ārkārtīgi maz. Zinātniskās publikācijas par mikroaļģu kultivēšanu Latvijas klimatiskajos apstākļos visa gada garumā nav atrastas.

Mērķis un uzdevumi

Promocijas darba mērķis ir izstrādāt jaunu mikroaļģu biomasas ražošanas tehnoloģiju biogāzes stacijām, integrējot biogāzes atkritumu plūsmas. Lai sasniegtu mērķi, tika definēti vairāki uzdevumi.

1. Atlasīt Latvijas klimatam piemērotas potenciālās mikroaļģu sugas.
2. Novērtēt mikroaļģu kultivēšanu ietekmējošos faktorus.
3. Testēt lauksaimniecības digestātu kā zemu izmaksu barības vielu avotu mikroaļģēm.
4. Testēt palielinātas CO₂ koncentrācijas potenciālu, lai uzlabotu biomasas ražošanu.
5. Izstrādāt jaunu uzlabotu mikroaļģu kultivēšanas sistēmu.
6. Testēt izstrādāto sistēmu biogāzes stacijā, integrējot biogāzes ražošanas blakusproduktus.

Zinātniskā novitāte

Promocijas darba zinātniskā novitāte ir attiecināma uz vairākiem aspektiem, kas saistīti ar digestāta apsaimniekošanu un mikroaļģu biomasas ražošanu. Tika izveidota jauna mikroaļģu kultivēšanas sistēma, lai novērstu esošo sistēmu trūkumus, tostarp nodrošinot labāku gaismas pieejamību mikroaļģu šūnām, samazinot nepieciešamo zemes platību un nodrošinot audzēšanu visu gadu. Tika atlasītas un pārbaudītas mikroaļģu sugas, kas piemērotas audzēšanai augstu platuma grādu klimatiskajos apstākļos, piedāvājot iespēju biomasas ražošanai un notekūdeņu attīrīšanai Latvijas klimatiskajos apstākļos. Zemākas biomasas ražošanas izmaksas var panākt, izmantojot biogāzes ražošanas atkritumproduktus digestāta un dūmgāzu veidā. Tika pierādīts, ka atlasītās mikroaļģes ar augstu efektivitāti var atdalīt barības vielas no lauksaimniecības digestāta zemā temperatūrā, tādējādi piedāvājot alternatīvu digestāta apsaimniekošanas ceļu tradicionālajai izmantošanai lauksaimniecībā. Pēc autores rīcībā esošās informācijas nav veikti citi pētījumi mikroaļģu biomasas ražošanai Latvijas klimatiskajos apstākļos visa gada garumā.

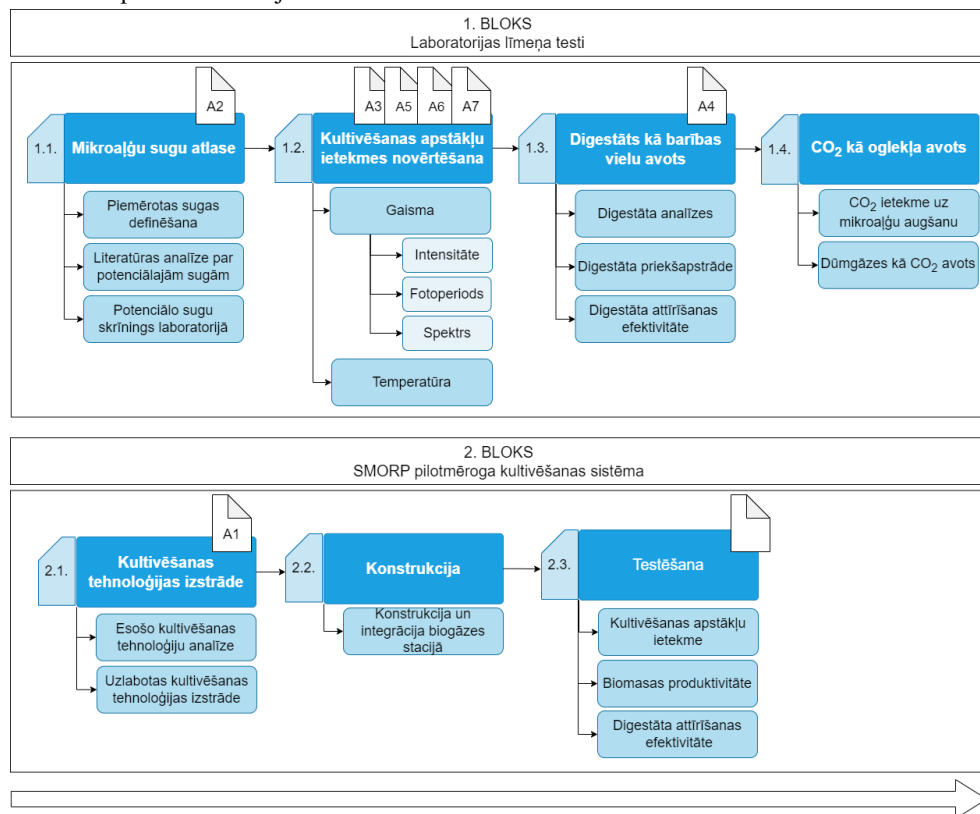
Praktiskā vērtība

Tika izstrādāta un izveidota jauna mikroaļģu kultivēšanas sistēma, kas ļauj biogāzes operatoriem potenciāli iekļaut mikroaļģu audzēšanu biogāzes staciju ikdienas darbībā, lai palielinātu biomasas pieejamību, samazinātu biomasas transportēšanas izmaksas un piedāvātu alternatīvu digestāta apsaimniekošanas veidu, lai risinātu pārprodukcijas problēmu.

Izstrādātā tehnoloģija bija pamats Latvijas Republikas Patentu valdes patenta saņemšanai, kas tika piešķirts par jaunas mikroaļģu audzēšanas sistēmas izstrādi.

Promocijas darba struktūra

Pētījumu veidoja divi bloki – (1) laboratorijas līmeņa testi un (2) SMORP pilotmēroga kultivēšanas sistēma – un septiņi posmi, proti: (1.1.) mikroaļģu sugu atlase; (1.2.) kultivēšanas apstākļu ietekmes novērtēšana; (1.3.) digestāts kā barības vielu avots; (1.4.) CO₂ kā oglekļa avots; (2.1.) kultivēšanas tehnoloģijas izstrāde; (2.2.) pilotmēroga iekārtas būvniecība un integrēšana biogāzes stacijā; (2.3.) jaunās kultivēšanas sistēmas testēšana. Pētījuma struktūra redzama 1. attēlā. Katram posmam tika veikts literatūras apskats, un 1.2., 1.3. un 1.4. posmiem tika veikti plaši laboratorijas testi.



1. att. Promocijas darba struktūra.

Promocijas darba zinātniskā aprobācija

Promocijas darba pamatā ir septiņas zinātniskās publikācijas. Trīs citas zinātniskās publikācijas uzrakstītas promocijas darba izstrādes laikā, tās promocijas darbā nav iekļautas. Rezultāti prezentēti piecās starptautiskās zinātniskās konferencēs. Izstrādātajai jaunajai kultivēšanas sistēmai ir piešķirts Latvijas Republikas Patentu valdes patents.

Zinātniskās publikācijas, kurās balsīts promocijas darbs

1. Romagnoli F., Ievina B., Perera W. A. A. R. P., Ferrari D. Novel Stacked Modular Open Raceway Ponds for Microalgae Biomass Cultivation in Biogas Plants: Preliminary Design and Modelling. *Environmental and Climate Technologies*, 2020, vol. 24, no. 2, pp. 1–19.
2. Ievina B., Romagnoli F. The potential of *Chlorella* species as a feedstock for bioenergy production: A review. *Environmental and Climate Technologies*, 2020, vol. 24, no. 2, pp. 203–220.
3. Ievina B., Romagnoli F. Effect of light intensity on the growth of three microalgae in laboratory batch cultures, 2020, European Biomass Conference and Exhibition Proceedings, pp. 169–174.
4. Ievina B., Mantovani M., Marazzi F., Mezzanotte V., Romagnoli F. Application of activated carbon treated agricultural digestate for microalgae cultivation, 2021, European Biomass Conference and Exhibition Proceedings, pp. 124–131.
5. Romagnoli F., Weerasuriya-Arachchige A. R. P. P., Paoli R., Feofilovs M., Ievina B. Growth Kinetic Model for Microalgae Cultivation in Open Raceway Ponds: A System Dynamics Tool. *Environmental and Climate Technologies* 2021, vol. 25, no. 1, pp. 1317–1336.
6. Ievina B., Romagnoli F. Microalgae *Chlorella vulgaris* 211/11j as a promising strain for low temperature climate. *Journal of Applied Phycology*, 2024.
7. Ievina B., Romagnoli F. Unveiling the underlying factors for light spectrum preference for enhanced microalgae growth. (*Algal Research*. Tiek recenzēta).

Citas zinātniskās publikācijas par promocijas darba tēmu

1. Mezzanotte V., Romagnoli F., Ievina B., Mantovani M., Invernizzi M., Ficara E., Collina E. LCA of Zero Valent Iron Nanoparticles Encapsulated in Algal Biomass for Polishing Treated Effluents. *Environmental and Climate Technologies* 2022, pp. 1196–1208.
2. Romagnoli F., Thedy A., Ievina B., Feofilovs M. Life Cycle Assessment of an Innovative Microalgae Cultivation System in the Baltic Region: Results from SMORP Project. *Environmental and Climate Technologies* 2023, vol. 27, no. 1, pp. 117–136.
3. Romagnoli F., Spaccini F., Boggia A., Paoli R., Feofilovs M., Ievina B., Rocchi R. Microalgae cultivation in a biogas plant: Environmental and economic assessment through a life cycle approach. *Biomass and Bioenergy* 2024, 182: 107116.

Dalība zinātniskajās konferencēs

1. Romagnoli F., Ievina B., Perera W. A. A. R. P., Ferrari D. Novel Stacked Modular Open Raceway Ponds for Microalgae Biomass Cultivation in Biogas Plants: Preliminary Design and Modelling. CONECT 2019, 15.–17. maijs, 2019, Rīga, Latvija.
2. Ievina B., Romagnoli F. The potential of *Chlorella* species as a feedstock for bioenergy production: A review. CONECT 2020, 13.–15. maijs, 2020, Rīga, Latvija.

3. Ievina B., Romagnoli F. Effect of light intensity on the growth of three microalgae in laboratory batch cultures, 28th European Biomass Conference and Exhibition, 6.–9. jūlijs, 2020, tiešsaistē.
4. Ievina B., Mantovani M., Marazzi F., Mezzanotte V., Romagnoli F. Application of activated carbon treated agricultural digestate for microalgae cultivation, 29th European Biomass Conference and Exhibition, 26.–29. aprīlis, 2021, tiešsaistē.
5. Romagnoli F., Weerasuriya-Arachchige A. R. P. P., Paoli R., Feofilovs M., Ievina B. Growth Kinetic Model for Microalgae Cultivation in Open Raceway Ponds: A System Dynamics Tool. CONECT 2021, 12.–14. maijs, 2021, Rīga, Latvija.

Patents

Romagnoli F., Dzikēvičs M., Ieviņa B. Atvērta tipa modulāra mikroaļģu kultivēšanas baseinu sistēma. Patenta numurs 15742, 12.06.2023.

1. PĒTĪJUMA METODIKA

1.1. Jaunas kultivēšanas sistēmas izstrāde un konstruēšana

Esošo mikroaļģu kultivēšanas sistēmu priekšrocību un trūkumu definēšanai tika veikts plašs literatūras apskats. Lai pārvarētu esošo kultivēšanas tehnoloģiju ierobežojumus, tika izstrādāta jauna kultivēšanas sistēma.

Jaunās kultivēšanas sistēmas plānošanā un projektēšanā tika ņemti vērā apsvērumi par iekārtas atrašanās vietu un izvietojumu, baseinu lielumu un konfigurāciju, hidrauliku, maisīšanas sistēmas dizainu un baseinu konstrukcijas materiāliem. Izstrādājot konstrukciju, tika pētīti vairāki aspekti, tostarp ģeometriskā konstrukcija attiecībā uz virsmas laukuma un tilpuma attiecību, kā arī gaismas sadalījums, barības vielu nodrošināšana un gāzu pārnese. Lai veiktu konstrukcijas apsvērumus, ir nepieciešama izpratne par konkrēto mikroaļģu morfoloģiju un fizioloģiju. Turklāt ir nepieciešamas zināšanas par biomasas ražošanas un vides parametru sarežģīto mijiedarbību [14]. Galvenais jaunās kultivēšanas sistēmas mērķis ir nodrošināt ieguvumus attiecībā uz: (1) nepieciešamās platības samazināšanu; (2) lielāku gaismas pieejamību; (3) mazākiem ieguldījumiem.

1.2. Laboratorijas testi

Tika veikti vairāki laboratorijas testi, lai novērtētu dažādu vides un kultivēšanas apstākļu ietekmi uz izvēlēto mikroaļģu kandidātcelmu augšanas ātrumu un biomasas produktivitāti. Laboratoriski tika pārbaudīta temperatūras, gaismas intensitātes, fotoperioda, gaismas spektrālā sastāva un CO₂ koncentrācijas ietekme uz mikroaļģu augšanas ātrumu. Turklāt tika novērtēts digestāts kā barības vielu avots mikroaļģu audzēšanai.

Ja vien attiecīgajā nodaļā nav norādīts citādi, mikroaļģes tika kultivētas 500 ml Erlenmeijera kolbās ar kokvilnas aizbāžņiem, kurās bija 200 ml *BG-11* vai *TAP* barotnes ar sākotnējo pH 7,5. Testi tika veikti dzesējamā inkubatorā (*Friocell Eco line*, *MMM* grupa, Vācija) ar baltu (4000 K) lineāru 10 W *LED* apgaismojumu (*V-TAC*, *Samsung*). Kultūru aerācija tika nodrošināta, izmantojot orbitālo kratītāju (*Elmi*, Latvija) ar ātrumu 150 apgr./min. Sākotnējā mikroaļģu kultūru koncentrācija bija aptuveni 2×10^6 šūnas mL⁻¹. Visi testi tika veikti trīs atkārtojumos. Aļģes tika audzētas 24 °C temperatūrā ar 16 : 8 h (gaisma : tumsa) fotoperiodu 10 dienu garumā. Katru dienu tika ņemti paraugi augšanas ātruma novērtēšanai. Mikroaļģu augšanas kontrolei katru dienu ar pH mērītāju (*Hanna*, ASV) manuāli tika nolasīti pH rādījumi. Biomasas produktivitāte tika novērtēta, pamatojoties uz šūnu sausnas svaru kultivēšanas beigās.

Mikroaļģu celmu atlase un uzturēšana

Potenciālo mikroaļģu celmu atlase audzēšanai Latvijas klimatiskajos apstākļos tika veikta, pamatojoties uz plašu literatūras apskatu par publicētajiem zinātniskajiem pētījumiem. Laboratorijas testiem tika izvēlētas trīs mikroaļģes. Mikroaļģes *Chlorella vulgaris* 211-11j, *Chlorella sorokiniana* 211-8k un *Chlamydomonas reinhardtii* 11-32b tika iegūtas no *SAG* aļģu kultūras kolekcijas Getingenes Universitātē (Vācija) un *The Culture Collection of Algae and Protozoa* Skotijas Jūras institūtā (Skotija, Apvienotā Karaliste).

Augšanas novērtēšanas metodes

Lai novērtētu dažādu parametru ietekmi uz biomasas ražību, tika izmantotas vairākas augšanas un produktivitātes novērtēšanas metodes, kā aprakstīts turpmāk.

1. Šūnu skaitīšana ar hemocitometru un šūnu blīvuma (šūnas mL^{-1}) aprēķināšana.
2. Optiskā blīvuma noteikšana ar UV/VIS spektrofotometru pie 750 nm.
3. Īpatnējā augšanas ātruma (μ) aprēķināšana.
4. Sausā svara noteikšana (g L^{-1}).
5. Biomasas produktivitāte dienā ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$).

Zemas temperatūras mikroaļģu celma novērtēšana

Chlorella vulgaris 2011-11j tika izvēlēta kā potenciāls zemas temperatūras tolerants celms audzēšanai Latvijas apstākļos aukstākajos gadalaikos. Visaptverošu ziņojumu par šī celma prasībām attiecībā uz temperatūru atrast neizdevās, tāpēc, lai noteiktu optimālo kultivēšanas temperatūru un zemāko un augstāko temperatūras robežu *C. vulgaris 2011-11j* tika kultivēta plašā temperatūras diapazonā – no 8 °C līdz 32 °C. Kultūras tika audzētas 8 °C, 12 °C, 16 °C, 20 °C, 24 °C, 28 °C un 32 °C temperatūrā 10 dienas. Apgaismojums tika nodrošināts ar dabiski baltu (4000 K) LED apgaismojumu ar gaismas intensitāti aptuveni 2800 luksu jeb 50 μmol fotonu $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ un fotoperiodu 16 : 8 h (gausma : tumsa).

Gaismas intensitātes testi

Gaismas intensitātes ietekme uz mikroaļģu *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* augšanu un biomasas veidošanos tika novērtēta, izmantojot dažādas intensitātes apgaismojumu no 50 μmol līdz 200 μmol fotonu $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mikroaļģēm specifiskā gaismas intensitāte tika panākta, pielāgojot LED gaismu skaitu un to attālumu no kultivēšanas kolbām.

Gaismas spektra testi

Gaismas spektra testos tika izmantotas atlasītās mikroaļģes *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* un *Chlamydomonas reinhardtii*. Lai atrastu optimālo gaismas spektru izvēlēto mikroaļģu augšanai, mikroaļģes tika audzētas sarkano + zilo viļņu LED apgaismojumā un salīdzinātas ar biomasas ražīgumu pilna spektra baltā LED apgaismojumā. Pamatojoties uz literatūras apskatu, sarkanās un zilās gaismas apvienojums tika izvēlēts kā daudzsološa spektra kombinācija, kas uzlabo mikroaļģu augšanu. Turklāt tika pārbaudīta arī gaismas intensitātes ietekme uz vēlamo spektru, jo ir zināms, ka gaismas intensitātei ir liela ietekme uz optimālo spektrālo sastāvu. Tika pārbaudītas trīs dažādas gaismas intensitātes, pielāgojot kultivēšanas kolbu attālumu no gaismas avota. 1. līmenis – 40 cm attālumā no gaismas avota, 2. līmenis – 30 cm attālumā no gaismas avota un 3. līmenis – 20 cm attālumā no gaismas avota.

Oglekļa dioksīda testi

Tika novērtēta paaugstinātas CO_2 koncentrācijas ietekme uz potenciālo aļģu *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* un *Chlamydomonas reinhardtii* celmu augšanu. Tika izmantoti trīs dažādi iestatījumi: (1) kultivēšana bez papildu CO_2 padeves; (2) 5 % CO_2 maisījums; (3) 10 % CO_2 maisījums ar gaisu. Kultivēšana tika veikta 24 °C temperatūrā un 50 μmol fotonu $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Digestāts kā barības vielu avots

Šķidrāis digestāts pēc cietās frakcijas atdalīšanas tika iegūts SIA "Agro Iecava" biogāzes stacijā. Ņemot vērā ļoti augsto duļķainību, ko rada suspendētās vielas, un augsto optisko blīvumu (*OD*), neapstrādāts digestāts nebija piemērots mikroaļģu kultivēšanai. Pirms izmantošanas mikroaļģu audzēšanai tika izmantotas dažādas priekšapstrādes metodes, lai atdalītu suspendētās daļiņas, tādējādi samazinot duļķainību un nodrošinot gaismas iekļūšanu kultūrā.

Lai uzlabotu digestāta īpašības, tika izmantotas un pārbaudītas vairākas priekšapstrādes metodes:

- (1) centrifugēšana ar 10 000 apgriezieniem minūtē;
- (2) vakuumfiltrēšana caur 1,6 μm mikrošķiedras filtru;
- (3) filtrācijas centrifugēšana ar 10 000 apgriezieniem minūtē;
- (4) aktivētās ogles adsorbēcija.

Pēc priekšapstrādes tika veikta digestāta raksturošana katrai no priekšapstrādes metodēm, tostarp suspendēto vielu, kopējā slāpekļa, kopējā fosfora, amonija slāpekļa, nitrātu un ķīmiskā skābekļa potenciāla (*ĶSP*) noteikšana, lai novērtētu priekšapstrādes efektivitāti. Analīzes tika veiktas kā ārpalpojums Vides audita laboratorijā.

Pēc tam iepriekš apstrādātais digestāts tika izmantots mikroaļģu augšanas testiem (vairāk informācijas – promocijas darba pilnajā tekstā).

Digestāta apstrāde ar aktivēto ogli

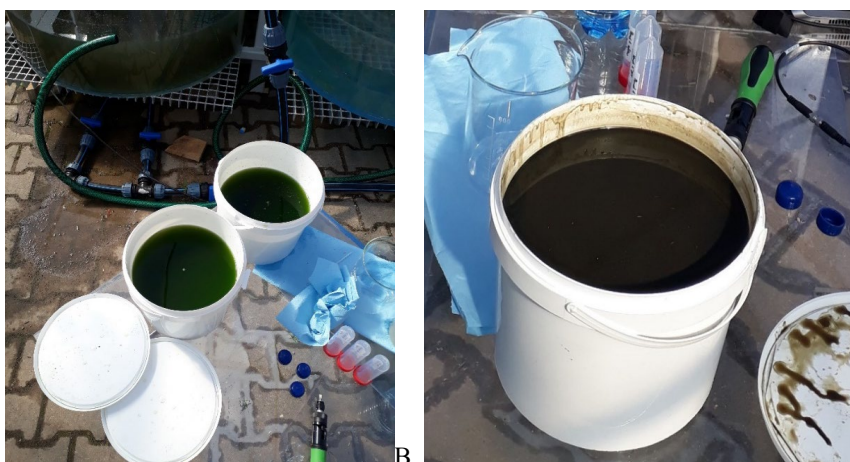
Šajā sadaļā aprakstītie testi tika veikti Milānas Bikokas universitātes (*University of Milano Bicocca*, Itālija) Zemes un vides zinātņu katedrā *Erasmus*⁺ apmaiņas programmas laikā. Lai gan iepriekšējā nodaļā aprakstītās izmantotās priekšapstrādes metodes ļāva ievērojami uzlabot digestāta īpašības attiecībā uz kopējām cietajām vielām un duļķainību, galvenā problēma joprojām bija tumšā krāsa, kas ierobežoja digestāta izmantošanu. Lai samazinātu *OD*, tika veikta priekšapstrāde ar aktivētās ogles adsorbēciju.

Aktivētajai oglei ir liels potenciāls kā efektīvai un lētai metodei, lai samazinātu duļķainību, optisko blīvumu un smagos metālus digestātā, jo tā spēj adsorbēt dažādas vielas. Lai gan aktivētā ogle tiek izmantota komunālo notekūdeņu attīrīšanā, tā ir jauna digestāta priekšattīrīšanas metode, un tās faktiskais potenciāls vēl nav zināms. Lai atrastu efektīvākos attīrīšanas apstākļus, tika pārbaudītas vairākas aktivētās ogles koncentrācijas un dažādi adsorbācijas ilgumi. Tika testētas 3 g, 10 g, 20 g un 40 g aktīvās ogles koncentrācijas uz litru. Šķidrāis digestāts tika inkubēts kopā ar aktivēto ogli, izmantojot rotācijas kratītāju (200 apgr./min.) 5 min., 10 min., 30 min. un 180 min. un pēc tam centrifugēts (13 000 apgr./min.), lai atdalītu aktivētās ogles daļiņas. Pēc priekšapstrādes tika izmērīts *OD* un aprēķināts *OD* samazinājums. Pēc tam tika izvēlēta visefektīvākā aktivētās ogles koncentrācijas un adsorbācijas laika kombinācija digestāta priekšapstrādei mikroaļģu augšanas testiem, pamatojoties uz visefektīvāko *OD* samazinājumu, lai novērtētu mikroaļģu augšanu apstrādātā digestātā (nav iekļauta promocijas darba kopsavilkumā).

1.3. Mikroaļģu testi pilotmēroga kultivēšanas sistēmā

Mikroaļģu kultivēšana tika veikta, lai testētu jauno kultivēšanas tehnoloģiju reālā vidē, kas integrēta esošā biogāzes stacijā. Šķidrās digestāts tika iegūts Iecavas biogāzes stacijā un izmantots kā barības vielu avots mikroaļģu audzēšanai jaunajā aļģu audzēšanas sistēmā. Digestāts kultivēšanai sagatavots, centrifugējot ar filtrācijas centrifūgu. Pirms inokulācijas tika veikta digestāta ķīmiskā analīze, lai novērtētu barības vielu un piesārņotāju līmeni mikroaļģu audzēšanas sākumā. Kopējā slāpekļa, kopējā fosfora, amonija slāpekļa, nitrātu un ķīmiskā skābekļa patēriņa noteikšana tika pasūtīts kā ārpalpojums.

C. sorokiniana kultūra aļģu baseina inokulācijai tika audzēta 5 L fotobioreaktorā RTU Biosistēmu laboratorijā. Mikroaļģu baseins tika piepildīts ar krāna ūdeni 20 cm dziļumā, pēc tam tika pievienoti 2 L iepriekš apstrādāta digestāta un pievienota iepriekš kultivēta *C. sorokiniana* biomasa ~ 1,5 % apjomā (2. A un B att.). CO₂ ievadīšana baseinā tika īstenota, burbuļojot dūmgāzes, kas uztvertas no biogāzes stacijas motora skursteņa.



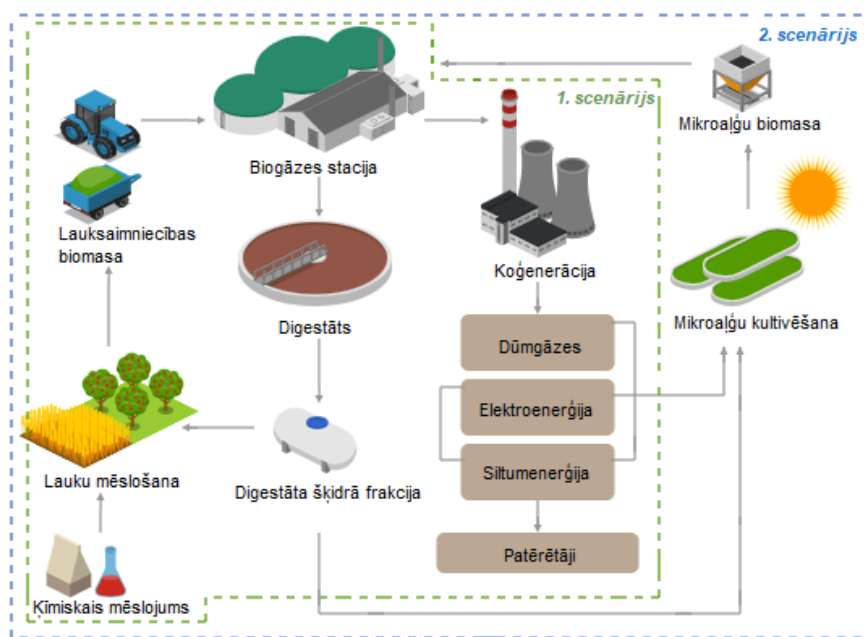
2. att. Sagatavots inokulāts (A) un iepriekš apstrādāts šķidrās digestāts (B) kultivēšanas baseina inokulācijai.

Tika uzstādītas zondes ar temperatūras, pH un *PAR* sensoriem, kas tika izmantoti audzēšanas apstākļu monitoringam. Tika kontrolēta ūdens temperatūra kultivēšanas baseinā, siltumnīcas un āra gaisa temperatūra. Tika reģistrēta *PAR* gaismas intensitāte ūdens līmenī. Paraugi barības vielu noņemšanai un biomasas analīzei tika ņemti ik pēc trīs dienām. Paraugos tika analizēts barības vielu un suspendēto vielu saturs un optiskais blīvums. Kopējā slāpekļa, kopējā fosfora, amonija slāpekļa, nitrātu un ķīmiskā skābekļa patēriņa analīzes tika veiktas ārējā laboratorijā, pārējās analīzes tika veiktas RTU Biosistēmu laboratorijā. Kultivēšanas laikā netika pievadītas barības vielas un netika atdalīta biomasa, tāpēc kultivēšanas testa laikā bija iespējams aprēķināt patērēto barības vielu daudzumu un noteikt digestāta attīrīšanas pakāpi. Mikroaļģu kultivēšana tika iesākta 21.04.2021. un turpinājās 16 dienas.

2. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

2.1. Jaunās kultivēšanas sistēmas koncepts un dizains

Biogāzes ražošanas savienošana ar mikroaļģu kultivēšanu var veicināt digestāta barības vielu bioremediāciju, kā arī CO₂ sekvestrāciju no biogāzēm, piedāvājot abpusēju izdevīgumu. Izveidotās sistēmas galvenā koncepcija redzama 3. attēlā. 1. scenārijs parāda tradicionālo biogāzes ražošanas un digestāta apsaimniekošanas veidu. Sistēma ar biogāzes atkritumu plūsmām digestāta un dūmgāzu veidā, kas integrētas mikroaļģu audzēšanā, ir parādīta 2. scenārijā. Tradicionālā prakse ietver radītā digestāta uzglabāšanu un potenciālu izmantošanu lauksaimniecības lauku mēslošanai. Dūmgāzes, kas rodas biogāzes sadegšanas laikā, parasti tiek izvadītas atmosfērā, iegūtā elektroenerģija un siltumenerģija tiek piegādāta patērētājiem. Ja mikroaļģu audzēšana ir integrēta biogāzes ražošanas procesā, digestāts tiek izmantots mikroaļģu audzēšanai kā barības vielu avots un dūmgāzes – kā CO₂ avots. Turklāt daļu no saražotās elektroenerģijas izmanto mikroaļģu audzēšanas baseinu darbības uzturēšanai, savukārt siltumu var izmantot baseinu apsildīšanai aukstajā sezonā.



3. att. Vienkāršs shematisks mikroaļģu audzēšanas integrācijas koncepcijas attēlojums. 1. scenārijā attēlota tradicionālā biogāzes stacija; 2. scenārijā – mikroaļģu audzēšanas integrācija.

Radītā progresīvā kultivēšanas sistēma ir integrēta biogāzes stacijā, izmantojot biogāzes blakusproduktus šķidrā digestāta un dūmgāzu veidā kā barības vielu avotus mikroaļģu audzēšanai. Mikroaļģes no digestāta uzņem barības vielas, piemēram, fosforu un slāpekli, lai ražotu biomasu, vienlaikus attīrot arī no citiem piesārņotājiem, piemēram, smagajiem metāliem,

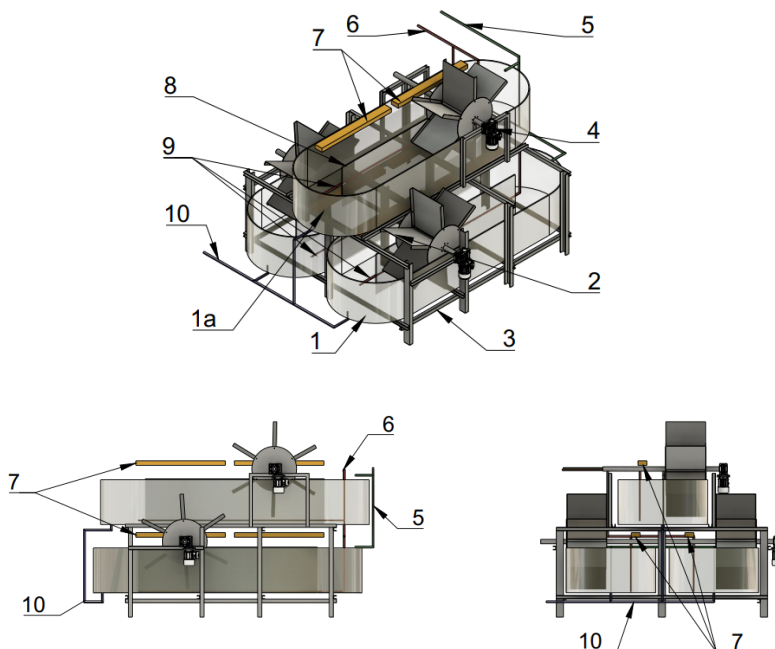
farmācijas līdzekļiem un personīgās higiēnas produktiem. Līdz ar to līdztekus biomasas ražošanai vienlaikus notiek arī notekūdeņu attīrīšana, tādējādi samazinot izmaksas, kas saistītas gan ar mikroaļģu barības vielām, gan notekūdeņu attīrīšanu. Turklāt mikroaļģes uzņem oglekļa dioksīdu no dūmgāzēm, kas rodas, sadedzinot biogāzi, un izmanto to kā oglekļa avotu augšanai, tādējādi radot iespēju oglekļa dioksīda biokvestikācijai. Iegūtā mikroaļģu biomasa tiek novirzīta anaerobai fermentācijai, tādējādi radot barības vielu izmantošanas aprites ciklu. Šī integrētā pieeja ne tikai samazina ar mikroaļģu biomasas ražošanu saistītās izmaksas, izmantojot atkritumu plūsmas kā lētas barības vielas, bet arī palielina mikroaļģu produktivitāti, uzlabojot audzēšanas apstākļus. Turklāt tā nodrošina alternatīvu ceļu digestāta apsaimniekošanai un oglekļa dioksīda sekvestrāciju. Jaunajā *SMORP* sistēmā mikroaļģes darbojas kā biofiltrs šķidrā digestāta un biogāzes ražotnes koģenerācijas iekārtas dūmgāzu attīrīšanai, piedāvājot alternatīvu biogāzes ražošanas atkritumu plūsmu apsaimniekošanas metodi. Šis risinājums ļauj pārveidot anaerobās fermentācijas galvenos vides trūkumus, kas saistīti ar digestāta apsaimniekošanu, kā arī augstām CO₂ emisijām, vērtīgā slēgta cikla tehnoloģiskā sistēmā. Kopējā *SMORP* pilotprojekta tehnoloģiskā shēma nodrošina slēgtu ciklu, kas ļauj biogāzes operatoram ražot enerģiju no mikroaļģu biomasas, radot ieguvumus no atkritumu produktu un emisiju (t. i., digestāta un CO₂) apsaimniekošanas. Tajā pašā laikā mikroaļģu biomasas ražošana gūst labumu no lētām barības vielām, ko iegūst no biogāzes atkritumu plūsmām. Šī koncepcija piedāvā risinājumu digestāta uzglabāšanas un transportēšanas jautājumam, piedāvājot alternatīvu digestāta valorizācijas veidu. Tas var ievērojami palīdzēt samazināt enerģijas izmaksas kopējā ražošanas vadības un darbības sistēmā.

Galvenais izaicinājums ir izstrādāt masveida mikroaļģu biomasas ražošanas sistēmu ar augstu produktivitāti un vienlaikus zemām elektroenerģijas izmaksām. Pašreizējie pētījumi šajā jomā liecina par vairākām nepilnībām, kas saistītas ar optimālu mikroaļģu audzēšanas apstākļu nodrošināšanu, kā arī ar plašu zemes izmantošanu atvērtās kultivēšanas baseinos. Doktorantūras studiju laikā tika izveidota jauna veida mikroaļģu audzēšanas sistēma *Stacked Modular Open Raceway Ponds (SMORP)*. *SMORP* princips ir apvienot jau esošo sistēmu priekšrocības, radot hibrīdu starp atvērtām un slēgtām audzēšanas sistēmām. Jaunā tehnoloģija ir balstīta tradicionālajā atvērto baseinu konstrukcijā, bet tai ir pievienotas slēgto fotobioreaktoru funkcijas, piemēram, mākslīgais apgaismojums, apsilde un dzesēšana. Izmantojot jauno konstrukciju, ir pārvarēti tādi iespējamie ierobežojošie faktori, kas rodas atklātos baseinos, kā gaismas un temperatūras ierobežojumi. Galvenā *SMORP* koncepcija ir piramīdveida konstrukcija, kas ļauj ietaupīt zemes platību, kas viens no galvenajiem esošo konstrukciju ierobežojumiem. Turklāt ar papildu mākslīgā apgaismojuma sistēmu, modulāro konstrukciju un caurspīdīga materiāla izmantošanu piedāvātajai tehnoloģijai ir ievērojamas priekšrocības, salīdzinot ar patlaban pieejamajām tehnoloģijām.

Izstrādātajā sistēmā trīs mikroaļģu audzēšanas baseini ir izvietoti piramīdas formā, novietojot trešo baseinu virs diviem apakšējiem baseiniem. Caurspīdīga materiāla izmantošana un papildu *LED* apgaismojums palīdz mazināt radīto noņojuma efektu. Piedāvātajā koncepcijā tiek izmantota kombinēta saules gaismas un mākslīgā *LED* apgaismojuma sistēma, kas patērē maz enerģijas, un nodrošina atbilstošu gaismas viļņa garumu, lai līdzsvarotu gaismas svārstības

un noēnojumu, ko rada augšējie baseini, kompensējot to ar lielāku biomasas ražīgumu. Turklāt tehnoloģiskie risinājumi, tostarp dūmgāzu un digestāta kā CO₂ un barības vielu avotu integrēšana, būtiski veicina mikroaļģu biomasas ražošanas vides un tehnoloģisko iespējamību.

Viens no svarīgākajiem aspektiem bija baseiniem piemērotākā materiāla atrašana. Ņemot vērā vēlamās īpašības, *SMORP* pilotprojektam tika izvēlēts akrils. Akrila materiālu var viegli pielāgot noapaļotai ģeometrijai. Izmantojot caurspīdīgu materiālu, var maksimāli palielināt dabiskās gaismas piekļuvi, palielinot gaismas iekļūšanu sistēmā, atšķirībā no parastajām atvērtajām baseinu konstrukcijām, kur tradicionāli tiek izmantots necaurspīdīgs materiāls.



4. att. Jaunās konstrukcijas kultivēšanas baseinu shematiskais attēlojums.

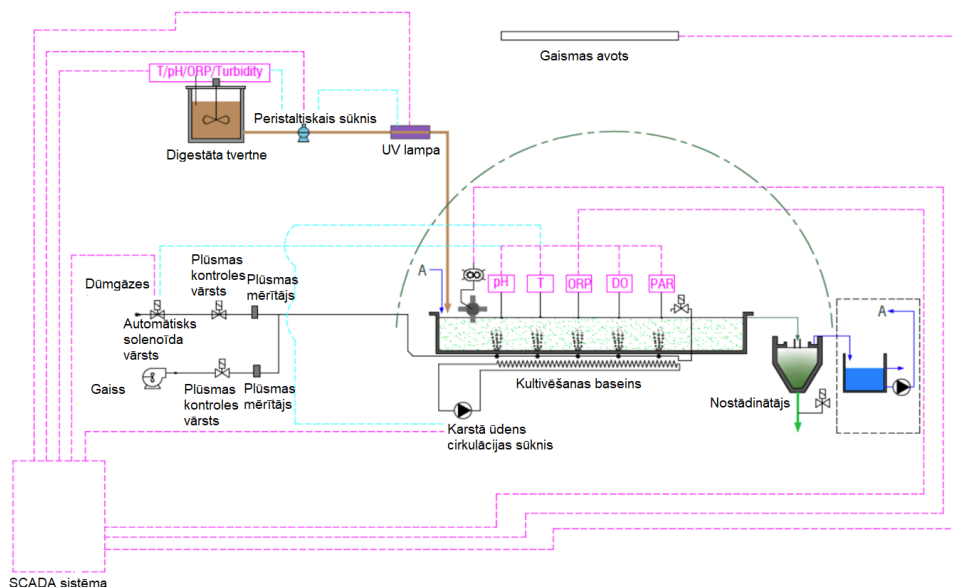
Katrs baseins ir viens modulis, un tos var izvietot neierobežotā līmeņu skaitā, veidojot modulāru mikroaļģu audzēšanas baseinu sistēmu. Modulārā konstrukcija nodrošina vieglu uzstādīšanu un fleksibilitāti, pielāgojot atsevišķu moduļu skaitu un izmēru vienā konstrukcijas vienībā. Viena modulārā vienība ir iegarenas formas sekls baseins, kura garuma un platuma attiecība ir 3 (t. i., garums = 3 m, platums = 1 m), platība – 3,6 m², augstums – 50 cm. Tilpums ir atkarīgs no izvēlēta mikroaļģu kultūras dziļuma.

SMORP pilotprojekta koncepcija redzama 4. attēlā. Mikroaļģu audzēšana notiek caurspīdīgos, ovālos atvērto baseinos (1), kas izvietoti piramīdas formā viens virs otra. Baseini (1) ir izvietoti uz atbalsta konstrukcijas (3). Atbalsta konstrukcija ir veidota tā, lai baseini būtu pēc iespējas mazāk aizēnoti, izmantojot metāla režģus, kas laiž cauri gaismu. Mikroaļģu kultūras tiek nepārtraukti maisītas ar lāpstveida maisītāju (2) palīdzību, ko darbina motordzinējs (4). Mikroaļģu kultūras ar barības vielām baro automātiski vai manuāli,

izmantojot barības vielu padevi (5). Dūmgāzes, kas satur oglekļa dioksīdu, baseinos ievada, izmantojot oglekļa dioksīda padevi (6). Virs katra baseina ir izvietotas *LED* audzēšanas lampas (7). Mikroaļģu kultūru plūsmu ierobežo katra baseina vidū novietotā akrila atdalošā siena (8). Gāze katrā baseinā tiek vienmērīgi sadalīta, izmantojot perforētu oglekļa dioksīda difuzoru (9) baseina apakšā. Tas nodrošina arī labu oglekļa dioksīda šķīdību ūdenī. Biomasas savākšanai baseinu apakšā ir ieplūdes un izplūdes atveres (10).

SMORP tehnoloģiskā shēma redzama 5. attēlā. Turpmāk tekstā ir aprakstītas galvenās sastāvdaļas.

- Šķidrās digestāts kā barības vielu avots. Digestātu baseinā var ievadīt ar automātiski vadāmu peristaltisko sūkni vai manuāli. Piegādes apjoms ir atkarīgs no digestāta īpašībām. Nepārtraukti tiek kontrolēti tādi svarīgākie digestāta raksturlielumi kā pH, oksidēšanās un reducēšanās potenciāls, duļķainība un temperatūra.



5. att. *SMORP* tehnoloģijā shēma.

- Dūmgāzes kā oglekļa avots. No biogāzes koģenerācijas iekārtas izdalītās dūmgāzes tiek izmantotas kā oglekļa avots mikroaļģu biomasas ražošanai. Dūmgāzu temperatūra, izejot no dzinēja, ir ap 400 °C. Gāzes dzesēšana tiek īstenota, gāzi transportējot pa vara caurulēm ar zemu caurplūdes ātrumu, kas nodrošina to, ka gāzei ir daudz laika atdzist, kamēr tā plūst pa cauruli.

- Mikroaļģu kultūras sajaukšanas mehānisms. Lai nodrošinātu mikroaļģu šūnu suspendētu stāvokli, gāzu apmaiņu starp kultūru un gaisu un vienmērīgu gaismas piekļūvi mikroaļģu šūnām, ir nepieciešama atbilstoša sajaukšana. Dīķos sajaukšanu nodrošina lāpstveida maisīšana sistēma.

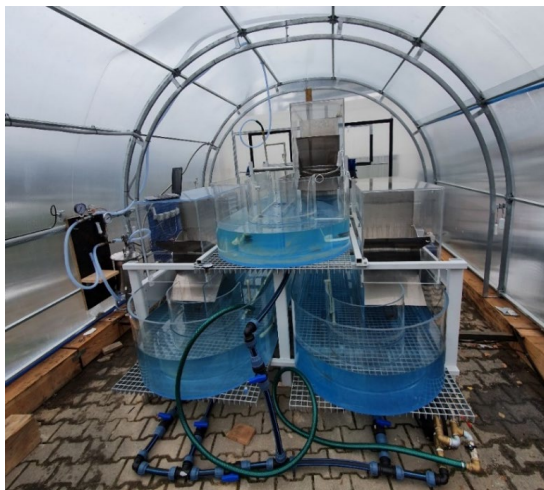
- Gaismas avots. Kultivēšanas sistēmā ir uzstādīts energoefektīvs *LED* apgaismojums, kas nodrošina papildu apgaismojumu suboptimāla dabiskā apgaismojuma apstākļos. *LED* gaismas paneļi izstaro zilu gaismu ar viļņu garumu 450 nm, sarkanu gaismu ar viļņu garumu 630 nm

un 660 nm un tālo sarkano gaismu ar viļņu garumu 735 nm. Pateicoties kombinētajai saules gaismas un mākslīgā apgaismojuma sistēmai, ir iespējams optimizēt dienas un sezonālo apgaismojuma ciklu. Lai gan mākslīgā apgaismojuma iekļaušana palielina kopējos kapitālieguldījumus un audzēšanas izmaksas, to var attaisnot biomasas produktivitātes pieaugums. Turklāt papildu *LED* apgaismojums tiek izmantots tikai nepieciešamības gadījumā, lai nodrošinātu optimālus gaismas apstākļus un maksimālu mikroaļģu augšanu un saglabātu vienmērīgu biomasas ražīgumu. Papildus *LED* apgaismojums var tikt izmantots, lai mazinātu dabiskās diennakts un sezonālās svārstības, piemēram, zemu gaismas intensitāti mākoņainās dienās, īsu dienas garumu ziemas sezonā vai ļoti blīvu mikroaļģu kultūras gadījumā.

- Galveno parametru monitorings. Baseinos ir uzstādīti sensori, lai mērītu svarīgākos parametrus, kas ietekmē mikroaļģu augšanu, piemēram, pH, *PAR*, temperatūru (āra temperatūra, gaisa temperatūra siltumnīcā un baseina ūdens temperatūra) un izšķīdušā skābekļa (*DO*) līmeni. Fizikāli ķīmisko parametru uzraudzībai un mērījumu datu iegūšanai tika uzstādīta *Aranet* attālinātas datu reģistrēšanas sistēma ar bezvadu temperatūras, apgaismojuma, pH un *DO* sensoriem, kā arī *web* kamera, lai nodrošinātu attālinātu vizuālo novērošanu.

- Siltumnīca. Baseinu konstrukcija ir izvietota siltumnīcā, kas veidota no caurspīdīgām polikarbonāta plāksnēm. Siltumnīca palīdz ierobežot iespējamo bioloģisko piesārņojumu, piemēram, baktērijas, vīrusus un rotiferus, kas var izraisīt kultūras bojāeju [24]. Tomēr lielākais siltumnīcas ieguvums ziemeļu reģionos ir iespēja apsildīt vai dzesēt vidi atkarībā no gadalaika. Papildu elektroenerģijas izmaksas var attaisnot ar lielāku ražīgumu.

- Apsilde ir nepieciešama aukstajos gadalaikos, kad temperatūra noslīd zem optimālās temperatūras diapazona, un tai izmanto siltumu, kas rodas, dzesējot biogāzes stacijas koģenerācijas dzinējus. Apsilde tiek nodrošināta, izmantojot gaisa pūtēja siltummaini. Karstais ūdens tiek sūknēts uz siltumnīcu, izmantojot cirkulācijas sūkni. Tad tas iet caur siltummaini, kas aprīkots ar gaisa pūtēju.



6. att. *SMORP* pilotprojekta konstrukcija un integrēšana Iecavas biogāzes stacijā.

SMORP pilotprojekta būvniecība notika 2020./2021. gada ziemas sezonā. Pēc tam sistēma tika testēta un pielāgota. Uzstādītā SMORP kultivēšanas sistēma ar siltumnīcu redzama 6. attēlā.

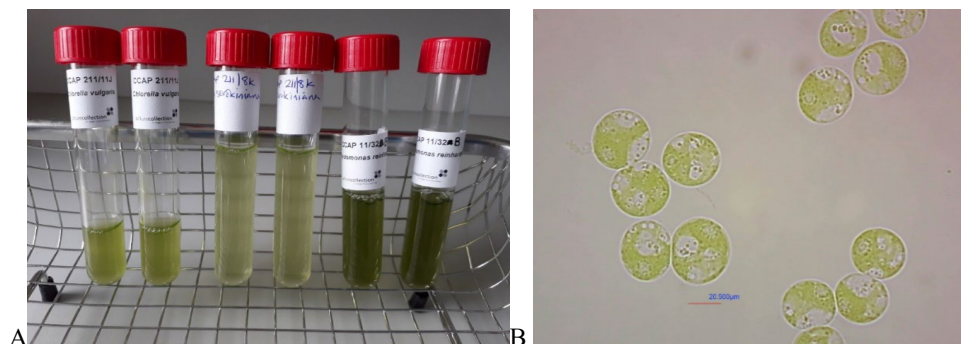
2.2. Mikroaļģu celmu atlase

Pēc plašas literatūras analīzes tika atlasītas trīs mikroaļģes kā kandidāti masveida biomasas ražošanai Latvijas klimatiskajos apstākļos – *Chlorella vulgaris* 211-11j, *Chlorella sorokiniana* 211-8k un *Chlamydomonas reinhardtii* 11-32b.

Ir konstatēts, ka *Chlorella* ģints sugas ir vienas no dominējošajām sugām, kas dabiski sastopamas notekūdeņu dīķos [25], [26] un tās var izdzīvot dažādās notekūdeņu plūsmās, liecinot par augstu fleksibilitāti [25], [27]–[29]. Turklāt ir ziņots, ka *Chlorella* ir viena no astoņām ģintīm, kas vislabāk panes piesārņojošas vielas [26], pierādot šīs ģints pārākumu pār citām mikroaļģēm un liecinot par tās potenciālu notekūdeņu attīrīšanā. Turklāt, salīdzinot ar citām sugām, *Chlorella spp.* ir izrādījušās izturīgākas pret augstu amonija koncentrāciju [31].

Ņemot vērā iepriekšminēto, kā potenciālās mikroaļģes masveida kultivēšanai tika izvēlētas divas *Chlorella* ģints sugas, izmantojot digestātu kā barības vielu avotu. Mikroaļģe *C. vulgaris* pēc plašas literatūras analīzes tika izvēlēta kā viena no daudzsološākajām sugām liela mēroga audzēšanai āra apstākļos, jo tā ir elastīgas audzēšanas apstākļos, spēj tolerēt augstu CO₂ koncentrāciju un tai ir augsts specifiskais augšanas ātrums. *C. vulgaris* celms 211-11j tika izvēlēts tā ziemeļu izcelsmes (Zviedrija) dēļ, jo tam ir potenciāls audzēšanai ziemeļu apstākļos. Par šo *C. vulgaris* celmu ir ļoti maz zinātnisko pētījumu, tāpēc bija nepieciešams novērtēt šīs sugas optimālos audzēšanas apstākļus, ietverot gan optimālo augšanas temperatūru, gan minimālo un maksimālo temperatūras izturību, lai novērtētu tās potenciālu audzēšanai Latvijā.

Chlorella sorokiniana ir uzrādījusi izcilus rezultātus notekūdeņu attīrīšanā [32]. Turklāt tā ir labāk pielāgojusies fizioloģiskajam stresam nekā dažas citas zaļo mikroaļģu sugas [33]. Tās lietošanu var īpaši novērtēt augstas temperatūras apstākļos, kas var būt vasarā, jo ir pierādīts, ka *C. sorokiniana* ir izturīga pret temperatūru līdz 42 °C [34]. *C. sorokiniana* tika izvēlēta šim pētījumam, jo tā ir izturīga pret augstām audzēšanas temperatūrām un spilgtu apgaismojumu, kas parasti novērojams vasarā.



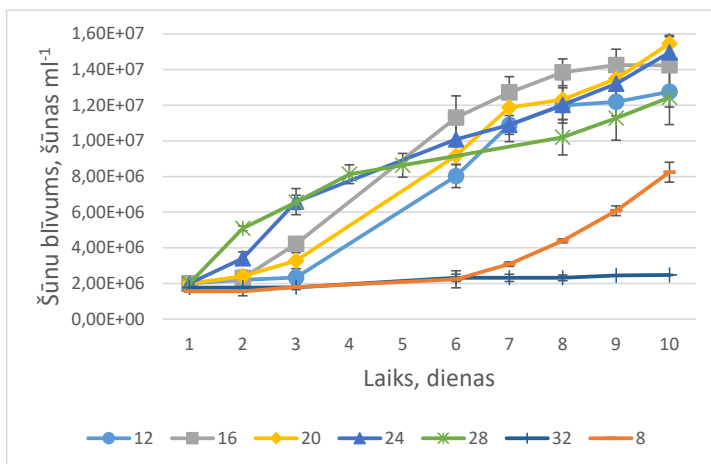
7. att. Mikroaļģu kultūras no CCAP kultūru kolekcijas (A), *C. reinhardtii* gaismas mikroskopā (B).

Chlamydomonas reinhardtii ir fotosintezējoša biflagelātu mikroaļģe, kas jau vairāk nekā 30 gadu tiek pētīta kā modeļorganisms fundamentālajā un lietišķajā fizioloģijā un bioķīmijā, un tā ir viena no visvairāk pētītajām mikroaļģēm [35]. Turklāt *C. reinhardtii* bija pirmā sekvenētā zaļā mikroaļģe, kas deva iespēju to izmantot ģenētiskām manipulācijām [36]. *Chlamydomonas* sugas bieži sastopamas arī notekūdeņos [30], kas liecina par to piemērotību pretoties skarbiem apstākļiem un spēju izmantot barības vielas no notekūdeņiem.

Mikroaļģu celmi *Chlorella vulgaris* 211-11j, *Chlorella sorokiniana* 211-8k un *Chlamydomonas reinhardtii* 11-32b tika iegūti no references kultūru kolekcijām CCAP un SAG (7. A un B att.). Laboratorijas testos tika novērtēti dažādi audzēšanas aspekti, tostarp optimālā un minimālā temperatūra, gaismas prasības, izturība pret CO₂, spēja augt un uzņemt barības vielas no šķīdriā lauksaimniecības digestāta.

2.3. Zemas temperatūras celma novērtēšana

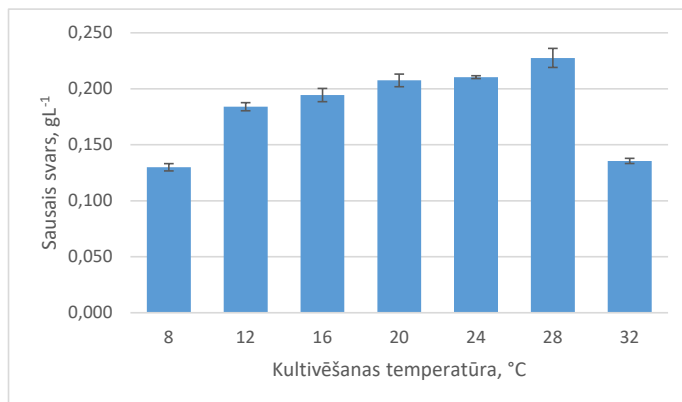
Pēc plašas literatūras analīzes *C. vulgaris* 211-11j tika izvēlēta kā potenciālā suga audzēšanai zemās temperatūrās. Lai novērtētu optimālo temperatūras diapazonu, kā arī minimālo un maksimālo temperatūras toleranci, celms tika audzēts temperatūrā no 8 °C līdz 32 °C. Tika novērots, ka kultūras labi aug visās pārbaudītajās temperatūrās, izņemot 32 °C temperatūru (8. att.).



8. att. *C. vulgaris* kultūras šūnu blīvums un augšanas līknes dažādās temperatūrās. Vertikālās līnijas parāda standartnovirzi (n = 3).

Lai gan vislielākais mikroaļģu šūnu skaits tika novērots 20 °C un 24 °C temperatūrā, vislielākais biomasas uzkrājums (sausnas svārs, g L⁻¹) tika sasniegts, audzējot kultūras 28 °C temperatūrā – 0,228 g L⁻¹ (9. att.). Mikroaļģu, kas audzētas 8 °C un 32 °C temperatūrā, sausnas svārs bija līdzīgs, attiecīgi 0,130 g L⁻¹ un 0,136 g L⁻¹, savukārt šūnu blīvums bija daudz lielāks 8 °C temperatūrā audzētām kultūrām – 8,24 × 10⁶ šūnas mL⁻¹. Biomasas iznākums 24 °C un 20 °C temperatūrā bija 92,5 % un 91,1 % no maksimālās produktivitātes, kas novērota 28 °C temperatūrā. Tomēr 12 °C un 16 °C temperatūrā kultivēto kultūru produktivitāte sasniedza

attiecīgi 80,7 % un 85,4 % no maksimālās produktivitātes. Ievērojami zemāka biomasas ražība tika novērota 8 °C temperatūrā, sasniedzot 57 % no maksimālās produktivitātes.



9. att. *C. vulgaris* biomasas ražīgums dažādās kultivēšanas temperatūrās audzēšanas beigās. Vertikālās līnijas parāda standartnovirzi ($n = 3$).

Maksimālais *C. vulgaris* 211/11j biomasas iznākums tika novērots 28 °C temperatūrā, tāpēc šī temperatūra tiek uzskatīta par optimālu šī celma kultivēšanai konkrētajos eksperimenta apstākļos. Turklāt temperatūru no 20 °C līdz 28 °C var uzskatīt par optimālo diapazonu šā celma kultivēšanai, jo netika novērotas būtiskas produktivitātes atšķirības.

Lai gan ir daudzi pētījumi, kuros novērtēta optimālā un maksimālā *C. vulgaris* augšanas temperatūra, ir tikai daži pētījumi, kuros analizēta zema temperatūra. Promocijas darbā tika pētīta *C. vulgaris* augšana zemā temperatūrā (16 °C, 12 °C un 8 °C). Lai gan 8 °C temperatūrā augšanas ātrums samazinājās par gandrīz 43 %, salīdzinot ar maksimālo produktivitāti 28 °C temperatūrā, 16 °C un 12 °C temperatūrā produktivitāte joprojām bija tuvu 85 % un 81 % no maksimālās, attiecīgi, 16 °C un 12 °C temperatūrā, kas liecina par šī celma labu spēju augt mērenā temperatūrā un ievērojamu izturību pret zemu temperatūru. Lai gan 8 °C temperatūrā kultivētās mikroaļģu kultūras kultivēšanas beigās nenodrošināja augstu biomasas ražību, šūnas aktīvi dalījās, kā rezultātā kultūras blīvums palielinājās pēc ilgās adaptācijas fāzes, kas ilga sešas dienas. Kultivēšanas beigās kultūras 8 °C temperatūrā joprojām palielināja savu blīvumu, tāpēc ir nepieciešams ilgāks kultivēšanas laiks, lai pilnībā novērtētu šī celma potenciālu ļoti zemā temperatūrā. Tomēr šie rezultāti ir ļoti daudzsoļi un liecina, ka 8 °C temperatūrā kultivētās kultūras pēc aklimatizācijas zemā temperatūrā var sasniegt labus augšanas rādītājus.

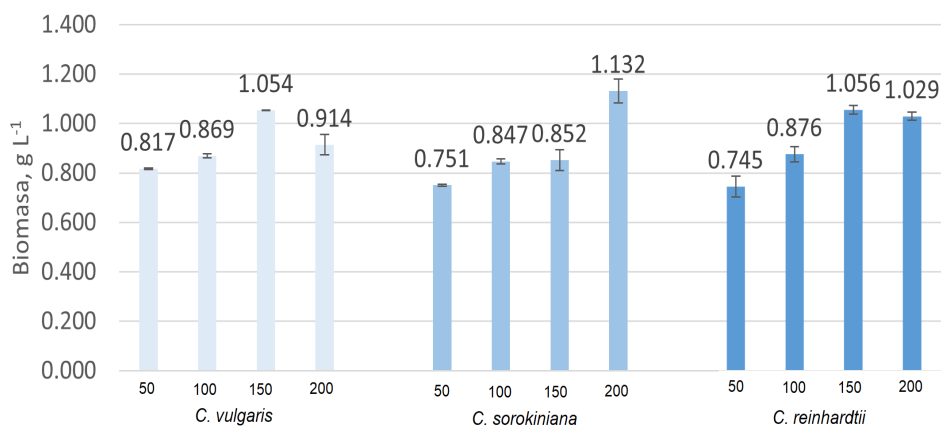
Izvēlētajam celmam ir zemāka optimālā audzēšanas temperatūra nekā daži citiem *C. vulgaris* celmiem. Turklāt tolerance pret zemām temperatūrām padara *C. vulgaris* 211-11j par potenciālu kandidātu biomasas ražošanai vēsākos laikapstākļos. Plašs optimālās temperatūras diapazons ir piemērots ļoti mainīgiem āra apstākļiem, kas bieži sastopami augstāku platuma grādu reģionos, kur diennakts temperatūras svārstības pat vasarā var būt lielas. Šīs īpašības dod priekšrocības, salīdzinot ar citiem celmiem audzēšanai brīvā dabā vēsākā klimatā, tāpēc šo celmu var izvēlēties kā kandidātu biomasas ražošanai Latvijā. *Gong un Bassi* pētījumā [37] tika pierādīts, ka to pašu *C. vulgaris* celmu var veiksmīgi izmantot luteīna ražošanai zemā

temperatūrā, kas liecina par novāktās biomasas potenciālo lietojumu, atbalstot biorafinēšanas koncepciju.

2.4. Gaismas intensitātes ietekme uz mikroaļģu augšanu

Papildu LED apgaismojums ir integrēts jaunajā audzēšanas sistēmā, tāpēc ir jāsaprot, kādos apstākļos tas ir jāizmanto. Lai atrastu optimālus apgaismojuma apstākļus trīs kandidātmikroaļģu celmiem, proti, *C. vulgaris* 211-11j, *C. sorokiniana* 211-8k un *C. reinhardtii* 11-32b, tika novērtēts augšanas ātrums un biomasas produkcija piecos dažādos gaismas intensitātes līmeņos: 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ un 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Biomasas iznākums (g L^{-1}) bija līdzīgs visiem pētītajiem mikroaļģu celmiem (10. att.). Palielinoties gaismas intensitātei, *C. vulgaris* un *C. reinhardtii* biomasā palielinājās līdz 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, *C. sorokiniana* – līdz 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Vislielāko biomasas ražu *C. sorokiniana* ieguva pie gaismas intensitātes 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (1,13 g L^{-1}). Savukārt *C. vulgaris* un *C. reinhardtii* visvairāk biomasas saražoja, audzējot pie 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, attiecīgi 1,05 g L^{-1} un 1,06 g L^{-1} . Vismazākais biomasas iznākums tika reģistrēts pie 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gaismas intensitātes visiem trim pētītajiem mikroaļģu celmiem – 0,75 g L^{-1} *C. reinhardtii* un *C. sorokiniana* un 0,82 g L^{-1} *C. vulgaris*.



10. att. *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* maksimālā biomasas ražība pie gaismas intensitātes 50–200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Skaitlis virs sugas nosaukuma norāda gaismas intensitāti ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Biomasas ražošanas rezultāti liecina, ka optimālā gaismas intensitāte *C. vulgaris* un *C. reinhardtii* ir aptuveni 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, savukārt *C. sorokiniana* piemērotāka ir lielāka gaismas intensitāte – aptuveni 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Šie rezultāti apstiprina citus ziņojumus, ka *C. sorokiniana* ir augsta gaismas intensitātes izturīga aļģe [38], līdz ar to optimālās gaismas intensitātes prasības ir augstākas nekā citām mikroaļģēm. Pretēji tam, *C. vulgaris* biomasā

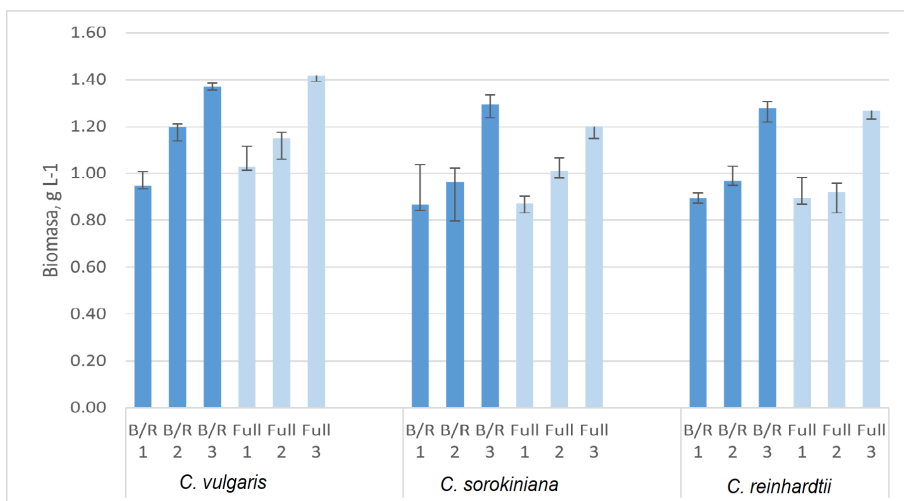
samazinājās pie $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, kas liecina, ka šī gaismas intensitāte varētu būt pārāk augsta, un fotoinhibīcijas process varēja samazināt ražīgumu pie $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Literatūrā aprakstītā *C. vulgaris* optimālā gaismas intensitāte ļoti atšķiras un ir robežās no $62,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ [39] un $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ [40] līdz $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ [41]. Tomēr visbiežāk gaismas intensitāte ap $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tiek minēta kā optimāla [42], [43]. Šajā pētījumā izmantotajam *C. vulgaris* celmam ir zemākas gaismas intensitātes prasības, ko varētu saistīt ar tā ziemeļvalstu izcelsmi, un to var labi pielāgot zemākas gaismas intensitātes apstākļiem, kādi ir novērojami lielākos platuma grādos.

Pētījums tika veikts, lai izpētītu gaismas intensitātes ietekmi uz trīs mikroaļģu celmu augšanas ātrumu un biomasas ražošanu, kas paredzēti audzēšanai āra baseinos, kas papildināti ar mākslīgo LED apgaismojumu. Rezultāti liecina, ka gaismas intensitātei ir liela nozīme maksimālas mikroaļģu produktivitātes nodrošināšanā. Visām testētajām sugām bija līdzīgs augšanas ātrums un biomasas produktivitāte izvēlētajās gaismas intensitātēs. Parādīts, ka gaismas intensitāte $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ir pārāk zema, lai uzturētu maksimālo augšanas ātrumu pētītajiem mikroaļģu celmiem. Tomēr *C. vulgaris* bija pārāks par citiem celmiem vājas gaismas apstākļos ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), tādējādi liecinot par tā pārākumu ierobežota apgaismojuma apstākļos, kas var būt īpaši noderīgs Ziemeļvalstīs. Rezultāti arī liecina, ka *C. sorokiniana* ir augstākas gaismas prasības, salīdzinot ar *C. vulgaris* un *C. reinhardtii*, kas piedāvā priekšrocības augstas gaismas intensitātes apstākļos, piemēram, vasaras vidū. Lielākā biomasas raža iegūta, ja gaismas intensitāte ir $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ *C. vulgaris* un *C. reinhardtii* un $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ *C. sorokiniana*. Ja dabiskais apgaismojums nesasniedz maksimālajai ražībai nepieciešamo optimālo intensitāti, var tikt ieslēgts integrētais papildu LED apgaismojums.

2.5. Gaismas spektra ietekme uz mikroaļģu augšanu

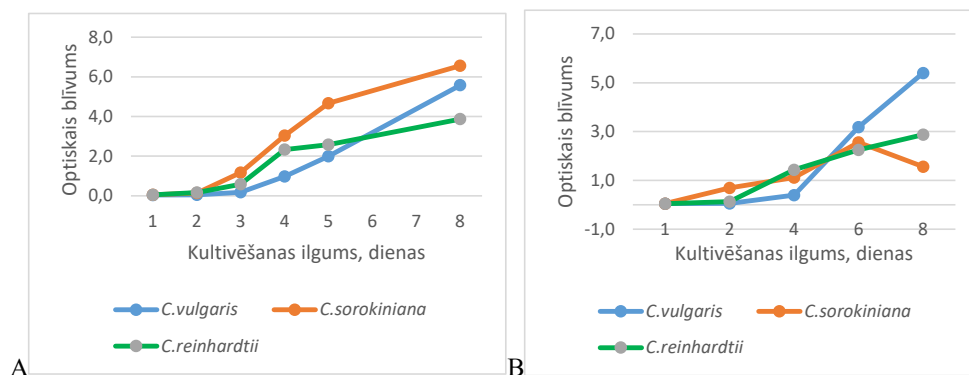
Zinātniskajā literatūrā minēts, ka sarkanās un zilās gaismas spektrālais diapazons uzlabo zaļo mikroaļģu biomasas iznākumu, salīdzinot ar balto gaismu. Tāpēc šajā pētījumā mikroaļģu audzēšanai tika izmantots sarkano + zilo viļņu garums, salīdzinot to ar pilna spektra balto gaismu izvēlētajiem kandidātcelmiem. Tika novērotas līdzīgas augšanas tendences, kā arī būtiskas kultūras blīvuma atšķirības starp zilo + sarkano LED apgaismojumu un pilna spektra gaismu netika novērotas nevienai no pētītajām sugām. Attiecībā uz biomasas ražīgumu netika konstatētas būtiskas atšķirības starp audzēšanu zilā + sarkanā spektra vai pilna spektra LED apgaismojumā, tomēr gaismas intensitāte lielā mērā ietekmēja kopējo biomasas ražu (11. att.). Testētajām mikroaļģu sugām maksimālais biomasas ražīgums tika novērots visaugstākajā gaismas intensitātē. Promocijas darba pētījums atklāja, ka *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* augšanas ātrumu un biomasas ražošanu būtiski neietekmēja izmantotais gaismas spektra diapazons, bet gan vairāk gaismas intensitāte.



11. att. *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* biomasas produktivitāte zilā + sarkanā (B/R) un pilna spektra (Full) apgaismojumā dažādās gaismas intensitātes apstākļos.

2.6. Oglekļa dioksīda ietekme uz mikroaļģu kultūrām

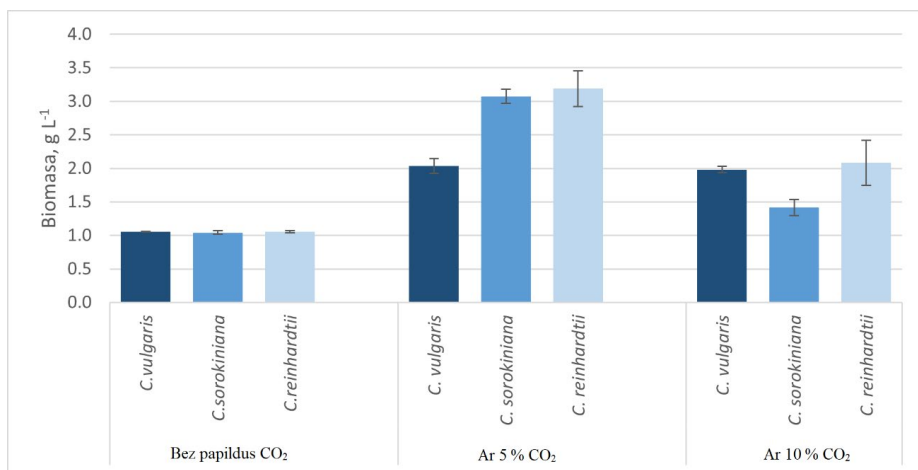
Ziņots, ka paaugstināts CO₂ līmenis, salīdzinot ar CO₂ saturu, atmosfērā palielina mikroaļģu augšanas ātrumu un produktivitāti. Lai pārbaudītu izvēlēto mikroaļģu celmu maksimālo CO₂ toleranci un šo mikroaļģu potenciālu CO₂ sekvestrācijai no dūmgāzēm, laboratorijā tika veikti audzēšanas testi ar atšķirīgu CO₂ koncentrāciju. *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* augšanas līknes pie 5 % un 10 % CO₂ redzamas attiecīgi 12. A un B attēlā. Visām mikroaļģu sugām audzēšanas sākumā bija lēnāks augšanas ātrums pie 10 % CO₂, salīdzinot ar 5 % CO₂ maisījuma. Novērotā ilgākā lag fāze, visticamāk, ir saistīta ar aklimatizācijas nepieciešamību jaunajos augšanas apstākļos ar augstāku CO₂ koncentrāciju.



12. att. *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* optiskais blīvums 5 % (A) un 10 % (B) CO₂ maisījumā ar gaisu.

Lai gan visās kultūrās tika novērota līdzīga augšana pie 5 % CO₂, tika novērota limitēta *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* augšana pie 10 % CO₂. Pēc sestās dienas tika novērota ievērojama *C. sorokiniana* kultūras blīvuma samazināšanās.

Biomases produktivitāte tika mērīta audzēšanas beigās kā šūnas sausais svars. *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* biomasas raža pie CO₂ padeves 5 % sasniedza attiecīgi 2,0 g L⁻¹, 3,1 g L⁻¹ un 3,2 g L⁻¹ (13. att.). Visražīgākā suga bija *C. reinhardtii* ar līdzīgu biomasas ražu kā *C. sorokiniana*, tomēr *C. vulgaris* uzrādīja zemāko biomasas produktivitāti no visām trim pārbaudītajām sugām.



13. att. Mikroaļģu biomasas ražīguma salīdzinājums dažādās CO₂ koncentrācijās.

Papildu CO₂ pievade ievērojami uzlaboja biomasas produktivitāti, salīdzinot ar audzēšanu bez papildu CO₂. *C. vulgaris* dubultoja biomasu pie 5 % CO₂ piegādes, salīdzinot ar audzēšanu ar atmosfēras CO₂ koncentrāciju. Savukārt *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* produktivitāti trīskārvoja pie 5 % CO₂ piegādes, sasniedzot attiecīgi 3,1 g L⁻¹ un 3,2 g L⁻¹. Kad CO₂ līmenis CO₂/gaisa maisījumā tika paaugstināts līdz 10 %, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* biomasas raža būtiski samazinājās; tomēr CO₂ līmeņa pieaugums būtiski nemainīja *C. vulgaris* produktivitāti. Šie rezultāti liecina, ka *C. vulgaris* var būt augstāka rezistence pret augstu CO₂ koncentrāciju nekā pārējām divām pārbaudītajām sugām. Audzēšanas testu beigās lielākā daļa kultūru bija eksponenciālā augšanas stadijā, kas liecināja, ka izvēlētais audzēšanas laiks bija pārāk īss, lai sasniegtu stacionāro fāzi, tāpēc, lai novērtētu sugas reālo potenciālu un sasniegtu maksimālo biomasas produktivitāti, audzēšanas laiks ir jāpagarina.

Audzēšanas testa rezultāti ar dažādas koncentrācijas CO₂ pievadi liecina, ka CO₂ līmeņa paaugstināšanās līdz 5 % ievērojami palielināja biomasas ražu visām trim pārbaudītajām mikroaļģēm – *C. vulgaris*, *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii*. Tika konstatēts, ka pārāk augsts CO₂ līmenis var kavēt noteiktu mikroaļģu augšanu. Gaisa maisījums ar 10 % CO₂ saturu samazināja *C. sorokiniana* un *C. reinhardtii* augšanas ātrumu un biomasas produktivitāti, savukārt *C. vulgaris* produktivitāte netika ietekmēta, liecinot par šī mikroaļģu celma spēju panest augstāku CO₂ līmeni, un varētu būt īpaši noderīga CO₂ sekvestrācijai no dūmgāzēm.

2.7. Digestāts kā barības vielu avots

Priekšapstrāde ar centrifugēšanu un filtrēšanu

Digestāts tika iegūts SIA "Agro Iecava" biogāzes stacijā, lai noteiktu tā piemērotību mikroaļģu audzēšanai kā zemu izmaksu barības vielu avotu. Lauksaimniecības digestāta neapstrādātā šķidrā frakcija nebija piemērota mikroaļģu audzēšanai, jo tika konstatēta ļoti liela kopējā cieto vielu klātbūtne un augsts optiskais blīvums, kas vizuāli bija redzams kā melns necaurspīdīgs šķidrums. Lai palielinātu digestāta piemērotību mikroaļģu audzēšanai, parasti izmanto šķidrā digestāta atšķaidīšanu. Promocijas darba pētījumā tika pārbaudītas citas pirmapstrādes metodes, lai palielinātu digestāta izmantošanas ilgtspējību. Lai uzlabotu digestāta īpašības, kā sākotnējā pirmapstrādes metode tika izmantota centrifugēšana un filtrēšana. Suspendēto cieto daļiņu daudzums neapstrādātā šķidrā digestātā bija 9 g L^{-1} . Dažādas pirmapstrādes metodes ievērojami uzlaboja digestāta piemērotību mikroaļģu audzēšanai. Salīdzinot ar neapstrādātu digestātu, suspendēto cieto daļiņu daudzums iepriekš apstrādātā digestātā ievērojami samazinājās (1. tab.). Suspendēto cieto daļiņu, ŪSP, kopējā slāpekļa, kopējā fosfora, nitrātu slāpekļa, amonjaka slāpekļa un duļķainības daudzums mainījās atkarībā no izmantotās pirmapstrādes metodes. Filtrācija, salīdzinot ar centrifugēšanu, kā pirmapstrāde bija efektīvāka visu pārbaudīto parametru samazināšanā. Filtrācijas centrifugēšana efektīvāk samazināja slāpekļa un ŪSP daudzumu, salīdzinot ar centrifugēšanu un filtrēšanu. Tomēr šajā gadījumā fosfora un amonjaka slāpekļa saturs bija lielāks nekā abās pārējās priekšapstrādes metodēs. Filtrēšana, izmantojot $1,6 \mu\text{m}$ mikrošķiedru filtru, vēl vairāk samazināja cietās daļiņas, tomēr šī metode nav piemērota risinājums liela apjoma digestāta priekšapstrādei.

1. tabula

Digestāta ķīmiskais sastāvs, izmantojot dažādas pirmapstrādes metodes. *NA* – nav pieejams.

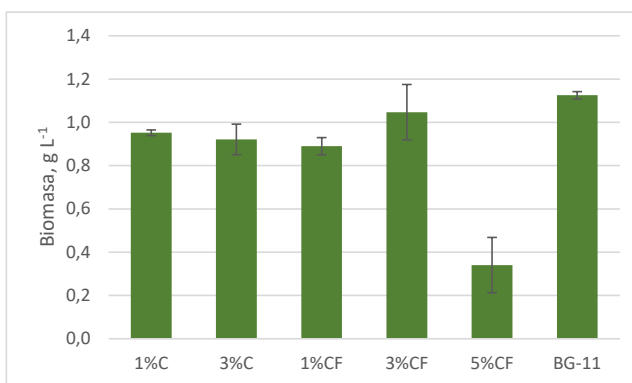
Rādītājs	Vienība	Neapstrādāts digestāts	Centrifugācija	Filtrācija	Filtrācijas centrifugācija
Suspendētās vielas	mg L^{-1}	9080	2450	1700	<i>NA</i>
ŪSP	mg L^{-1}	<i>NA</i>	23210	9580	3630
Kopējais N	mg L^{-1}	<i>NA</i>	11770	6780	6180
Kopējais P	mg L^{-1}	<i>NA</i>	319	157	602
Nitrātu N	mg L^{-1}	<i>NA</i>	< 0,07	< 0,07	< 0,3
Amonija N	mg L^{-1}	<i>NA</i>	3080	2460	3360
Duļķainība	mg L^{-1}	<i>NA</i>	<i>NA</i>	7840	<i>NA</i>
Optiskais blīvums	<i>NA</i>	10,68	<i>NA</i>	<i>NA</i>	<i>NA</i>

Iepriekš apstrādāts digestāts pēc tam tika testēts kā mikroaļģu audzēšanas barības vielu avots. Lai gan pirmapstrāde ievērojami samazināja cieto daļiņu daudzumu, liels optiskais blīvums joprojām bija šķērslis, tāpēc optiskā blīvuma samazināšanai tika izmantota digestāta atšķaidīšana. Mikroaļģes *C. vulgaris* tika kultivētas (1) centrifugētā un (2) filtrētā digestātā, kas atšķaidīts ar destilētu ūdeni, veidojot 1 %, 3 % un 5 % atšķaidījumu (14. att.).



14. att. *C. vulgaris* kultivēšana dažādos digestāta atšķaidījumos.

Vislielākā biomasas produktivitāte tika novērota ar 3 % digestātu pēc filtrēšanas priekšapstrādes (15. att.). Tomēr relatīvi augstās atkārtojumu standartnovirzes dēļ šis rezultāts jāuztver piesardzīgi. Šķidrā digestāta izmantošana par barības vielu avotu mikroaļģu audzēšanā ir sarežģīta. Dažos testos tika sasniegti daudzsoļi rezultāti, tomēr digestāts satur dažādus dzīvus mikroorganismus, kas mijiedarbojas ar mikroaļģēm, radot ļoti sarežģītu bioloģisko sistēmu. Turklāt digestāta ķīmiskais un mikroorganismu sastāvs mainās atkarībā no anaerobās fermentācijas temperatūras, izejvielām un anaerobās fermentācijas parametriem. Rezultāti liecina, ka centrifugēšana, kam sekoja digestāta filtrēšana, bija vispiemērotākā metode digestāta pirmapstrādei pirms mikroaļģu audzēšanas, jo tā samazināja kopējo cieto daļiņu klātbūtni digestātā un tika novērots vislielākais *C. vulgaris* augšanas ātrums. Tomēr, domājot par liela apjoma mikroaļģu audzēšanu, šis risinājums nav dzīvotspējīgs. Lai nodrošinātu ātru liela tilpuma digestāta filtrēšanu, tika testēta filtrācijas centrifugēšana.



15. att. *C. vulgaris* biomasas ražīgums, audzējot 1 %, 3 % un 5 % iepriekš apstrādātā digestātā. Parauga nosaukumā pirmais cipars apzīmē atšķaidījuma pakāpi, C – centrifugēts, CF – filtrēts. Vertikālās līnijas parāda standartnovirzi ($n = 3$).

Lai gan mikroaļģes var augt iepriekš apstrādātā atšķaidītā digestātā, biomasas raža bija ievērojami zemāka nekā kontroles substrātam. Tas varētu liecināt, ka kādas digestāta īpašības ierobežo mikroaļģu augšanu. Digestāta augstais optiskais blīvums var potenciāli limitēt gaismas pieejamību šūnām, samazinot augšanu, tāpēc tika pārbaudīta jauna priekšapstrādes metode optiskā blīvuma samazināšanai.

Priekšapstrāde ar aktivēto ogli

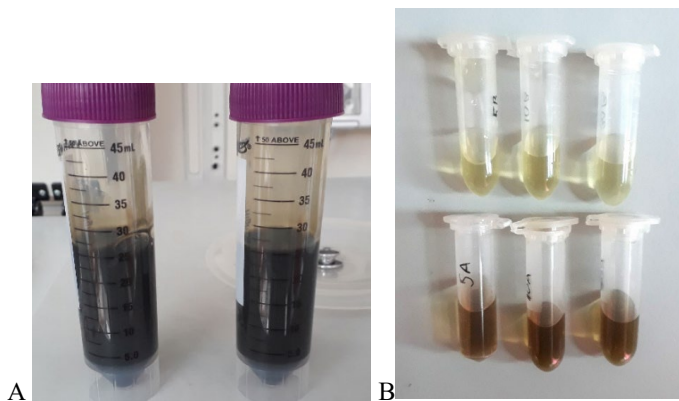
No SIA “Agro Iecava” biogāzes stacijas priekšapstrādei ar aktivēto ogli tika iegūta jauna digestāta partija. Pirms apstrādes tika noteikts digestāta ķīmiskais raksturojums (2. tab.). Kopējais cieto daļiņu saturs neapstrādātā šķidrā digestātā sasniedza 23 g L^{-1} , liecinot par ārkārtīgi augstu duļķainumu (7840 mg L^{-1}) un zemu gaismas pieejamību mikroaļģu šūnām, kā arī potenciāli inhibējošu ietekmi uz fotosintētisko potenciālu.

2. tabula

Neapstrādāta lauksaimniecības digestāta šķidrās frakcijas raksturojums pēc pirmapstrādes ar 3 g L^{-1} un 40 g L^{-1} aktivēto ogli ar adsorpcijas laiku 10 minūtes (*TS* – kopējās daļiņas, *SS* – suspendētās daļiņas, *VS* – gaistošās daļiņas, *DS* – izšķīdušās daļiņas, *TN* – kopējais slāpekļis)

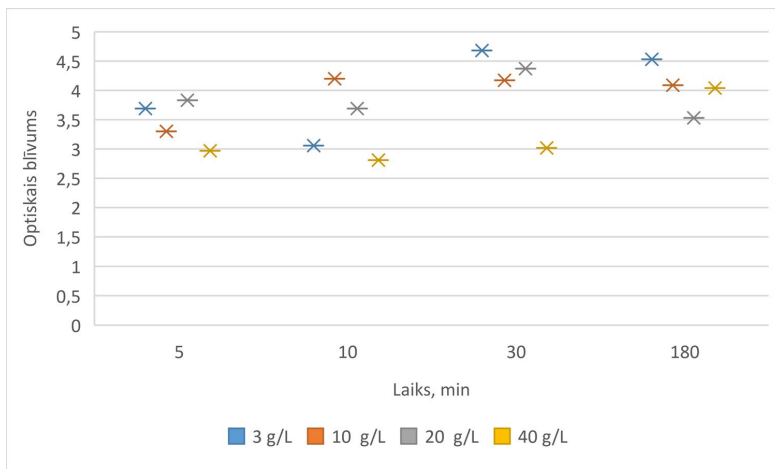
Rādītājs	Vienība	Neapstrādāts digestāts	Apstrādāts digestāts	
			3 g L^{-1}	40 g L^{-1}
<i>TS</i>	g L^{-1}	22,9	<i>NA</i>	<i>NA</i>
<i>SS</i>	g L^{-1}	5,1	<i>NA</i>	<i>NA</i>
<i>VS</i>	g L^{-1}	4,25	<i>NA</i>	<i>NA</i>
<i>DS</i>	–	17,83	<i>NA</i>	<i>NA</i>
<i>OD</i>	–	13,03	3,06	2,81
pH	–	8,17	<i>NA</i>	<i>NA</i>
Duļķainība	mg L^{-1}	7840	<i>NA</i>	<i>NA</i>
<i>COD</i>	mg L^{-1}	6840	6540	4960
<i>TN</i>	mg L^{-1}	5950	<i>NA</i>	<i>NA</i>
$\text{NH}_4\text{-N}$	mg L^{-1}	3600	3000	2667
$\text{NO}_3\text{-N}$	mg L^{-1}	47,5	<i>NA</i>	<i>NA</i>
$\text{PO}_4\text{-P}$	mg L^{-1}	490	338	278,4

Turklāt tika reģistrēts ārkārtīgi augsts digestāta optiskais blīvums (*OD* 13), ko, visticamāk, ir izraisījis organiskais materiāls un humīnvielas (16. A att.). Augstais optiskais blīvums liecināja, ka gaismas iekļūšana neapstrādātā šķidrā digestātā nav pietiekama mikroaļģu augšanas nodrošināšanai. Tādēļ tika lietota jauna metode digestāta *OD* samazināšanai, lai palielinātu gaismas piekļuvi un samazinātu digestāta atšķaidīšanai nepieciešamo ūdens daudzumu.



16. att. Neapstrādāta digestāta šķidrā frakcija (A) un pēc iepriekšējas apstrādes ar aktīvo ogli divās dažādās koncentrācijās (B).

Lai samazinātu optisko blīvumu, neapstrādātam šķidrajam digestātam tika veikta aktīvās ogles priekšapstrāde. Aktīvās ogles koncentrācija no 3 g L^{-1} līdz 40 g L^{-1} tika piemērota dažādā adsorbcijas ilgumā – no piecām minūtēm līdz 180 minūtēm (17. att.). Lielākais *OD* samazinājums par 78 % tika sasniegts pēc 10 minūšu adsorbcijas ar 40 g L^{-1} , 77 % samazinājums – ar 40 g L^{-1} pēc piecu minūšu, ar 3 g L^{-1} pēc 10 minūšu un ar 40 g L^{-1} pēc 30 minūšu adsorbcijas.



17. att. Iepriekš apstrādāta digestāta optiskais blīvums, pamatojoties uz aktīvās ogles koncentrāciju un adsorbcijas laiku.

Līdz ar *OD* samazināšanos samazinājās arī dažu barības vielu un ĶSP koncentrācija (2. tab.). Šajā pētījumā tika sasniegts augsts *OD* samazinājums ar aktivētās ogles adsorbciju, ko varēja novērot arī vizuāli (16. B att.), pierādot tā potenciālu digestāta tīrīšanā mikroaļģu audzēšanai.

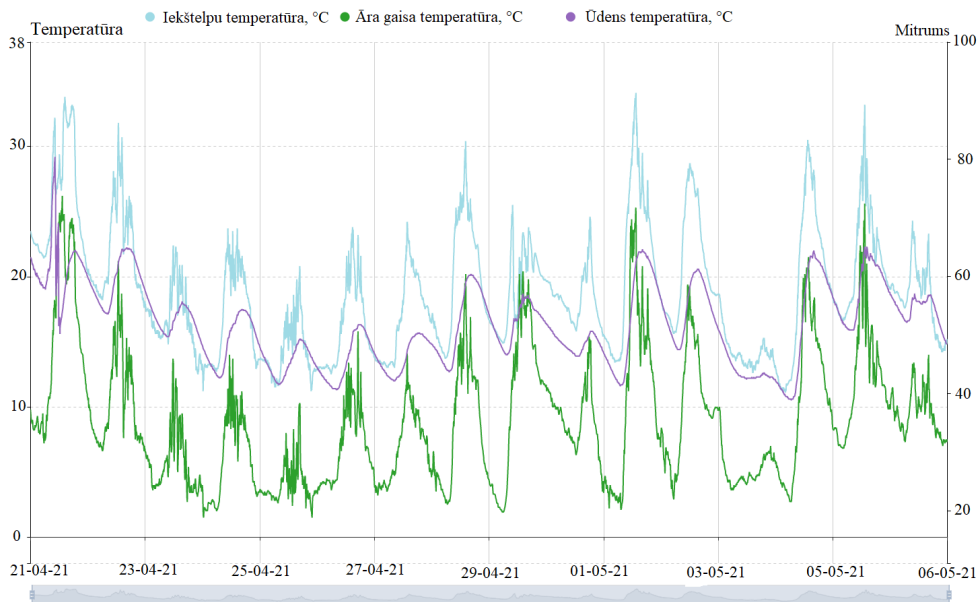
2.8. Mikroaļģu testi izstrādātajā *SMORP* kultivēšanas sistēmā

Jaunā *SMORP* kultivēšanas sistēma ar siltumnīcu tika uzstādīta un integrēta SIA “Agro Iecava” biogāzes stacijā, izmantojot biogāzes stacijas blakusproduktus – šķidro digestātu un dūmgāzes kā barības vielu un CO₂ avotus. Mikroaļģu kultivēšana tika veikta, lai novērtētu tehnoloģijas potenciālu pilotprojekta mērogā. Kultivēšanas tests tika veikts 2021. gada aprīļa beigās, tas ilga 16 dienas. Sākotnējiem izmēģinājuma testiem *SMORP* sistēmā tika izvēlēts mikroaļģu celms *Chlorella sorokinana 211-8k*, ņemot vērā tā noturību pret augstu gaismas intensitāti un pamatojoties uz laboratorijas mēroga testiem, kas liecina par tā elastīgumu, jo eksperimenti notika pavasarī, kad dabiskā gaismas intensitāte ir tuvu maksimumam, bet temperatūra ir ļoti svārstīga.

Kultivēšanas apstākļu monitorings

Mikroaļģu kultivēšana ārā ir ļoti atkarīga no laikapstākļiem, kas savukārt mainās atkarībā no atrašanās vietas un sezonas. Pavasara laikapstākļi parasti ir dinamiski, un temperatūras svārstības nav ideāli piemērotas mikroaļģu audzēšanai. Mikroaļģu audzēšanas izmēģinājuma tests *SMORP* kultivēšanas sistēmā bija sarežģīts, jo laikapstākļi bija nestabili un mainīgi, kas raksturīgs pavasara sezonai Latvijas klimatiskajos apstākļos. Tomēr bija iespējams novērtēt izvēlēto mikroaļģu veikspēju suboptimālos apstākļos. Tika izmantoti temperatūras, pH un *PAR* sensori, lai reģistrētu audzēšanas apstākļus un novērtētu to ietekmi uz biomasas ražīgumu un digestāta attīrīšanu.

Pavasārī dienas temperatūra var ievērojami atšķirties dienu no dienas, un starpība starp dienas un nakts temperatūru var būt ļoti liela. Patiešām, mikroaļģu audzēšanas laikā reģistrētās temperatūras svārstības bija lielas. Temperatūra kultivēšanas baseinā tika nepārtraukti uzraudzīta, turklāt tika reģistrēta arī gaisa temperatūra siltumnīcā un āra gaisa temperatūra. Vidējā temperatūra baseinā kultivēšanas laikā svārstījās no aptuveni +15 °C līdz +22 °C (18. att.). Augstākā reģistrētā ūdens temperatūra dienas laikā bija aptuveni +22 °C, savukārt zemākā dienas temperatūra tika reģistrēta 3. maijā, kad diņas temperatūra sasniedza tikai +12 °C. Naktī ūdens temperatūra ievērojami pazeminājās zemās āra gaisa temperatūras ietekmē, un parasti bija no +10 °C līdz +16 °C. Baseina ūdens temperatūras svārstības atkarībā no āra temperatūras un temperatūras siltumnīcā redzamas 18. attēlā. Augšanas testa laikā reģistrētā zemākā āra gaisa temperatūra bija aptuveni +2 °C naktī. Lielāko daļu audzēšanas perioda nakts temperatūra ārā saglabājās tikai dažus grādus virs nulles. Pēdējā aprīļa dekādē temperatūra bija par 3,2 °C zemāka nekā vidēji parasti 1981.–2010. gadā un par 4,1 °C zemāka nekā parasti 1991.–2020. gadā [53], kas ietekmēja mikroaļģu augšanu. Aukstākajās naktīs baseina temperatūra nesamazinājās zemāk par +10 °C, kas liecina par siltumnīcas nozīmi mikroaļģu temperatūras uzturēšanā pieļaujamā līmenī vēsākos vides apstākļos. Siltumnīca varēja nodrošināt par aptuveni 10 °C augstāku temperatūru nekā ārā.



18. att. Āra temperatūra, siltumnīcas iekštempu temperatūra un baseina ūdens temperatūra biomasas audzēšanas testa laikā. Zaļā līnija – āra temperatūra, violetā līnija – temperatūra baseinā, zilā līnija – temperatūra siltumnīcā.

Dūmgāzu siltuma devums bija nenozīmīgs, ņemot vērā plūsmas ātrumu. Dūmgāzu temperatūra mainījās āra temperatūras izmaiņu dēļ, jo dūmgāzu pārvades caurules atrodas ārpus siltumnīcas, lai atdzesētu dūmgāzes, kas nāk no biogāzes motora telpas. Pēc sajaukšanās ar gaisu maksimālā dūmgāzu temperatūra, kas nonāca baseinā, bija 45 °C.

Mikroaļģu augšana un barības vielu uzņemšana

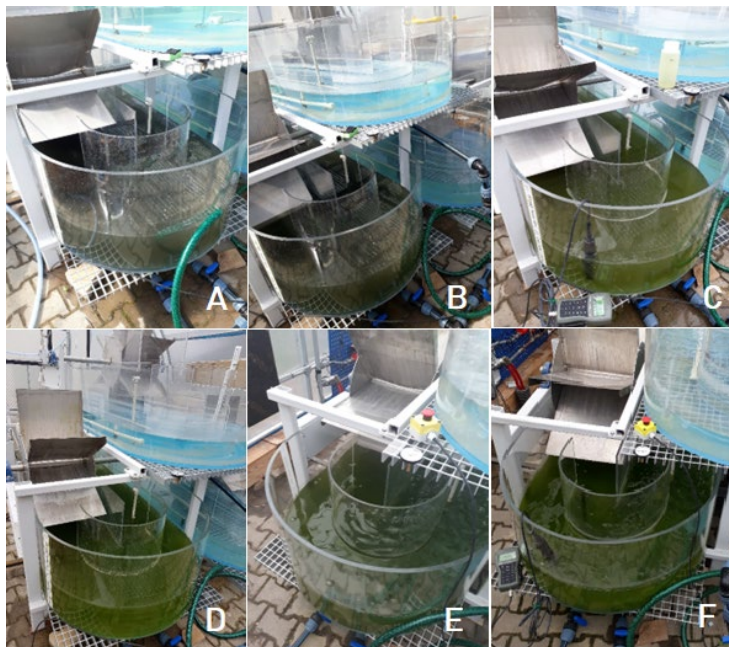
No SIA “Agro Iecava” biogāzes ražotnes savāktā lauksaimniecības digestāta šķidrā frakcija pirms ievadīšanas mikroaļģu baseinā tika iepriekš apstrādāta ar filtrācijas centrifugēšanu, lai atdalītu liekās cietās daļiņas. Iepriekš apstrādātajam digestātam tika noteikts cietao vielu, ŪSP un barības vielu saturs. Digestāta ķīmiskās analīzes rezultāti apkopoti 3. tabulā. Kopējais slāpekļa saturs digestātā bija augsts – vairāk nekā 6000 mg L⁻¹. Vairāk nekā puse no kopējā slāpekļa bija amonija slāpekļa veidā (3360 mg L⁻¹). Nitrātu saturs bija niecīgs (< 0,3 mg L⁻¹). Tika konstatēts ŪSP 36300 mg L⁻¹, kas liecina par ļoti augstu organiskā satūra slodzi. Digestāts tika atšķaidīts ar krāna ūdeni, lai samazinātu barības vielu slodzi, optisko blīvumu un duļķainību. Pirms baseina inokulācijas tika analizēts arī krāna ūdens, kas uzrādīja ļoti zemu barības vielu un piesārņotāju līmeni (3. tab.). Uzturvielu saturs atšķaidītajā digestātā, kas tika izmantots mikroaļģu audzēšanai, norādīts 3. tabulas pēdējā ailē (Augšanas vide).

Iepriekš apstrādāta digestāta un atšķaidīšanai izmantotā ūdens ķīmiskā analīze

Rādītājs	Vienība	Krāna ūdens	Digestāts	Augšanas vide
Kopējais slāpeklis	mg L ⁻¹	0,235	6180	12,7
Kopējais fosfors	mg L ⁻¹	0,011	602	1,21
Amonija slāpeklis, N-NH ₄	mg L ⁻¹	< 0,3	3360	8,4
Nitrātu slāpeklis, N-NO ₃	mg L ⁻¹	< 6	< 0,3	< 0,3
Ķīmiskais skābekļa patēriņš, ĶSP	mg L ⁻¹	0,114	36300	56

Paraugi no baseina tika ņemti ik pēc trīs dienām, lai uzraudzītu mikroaļģu augšanu un barības vielu uzņemšanu no augšanas vides. Audzēšanas baseins tika pārbaudīts arī vizuāli (19. att.).

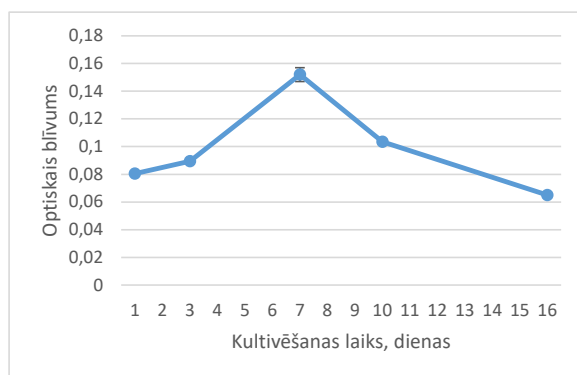
Pēc baseina inokulēšanas ar *Chlorella sorokiniana* kultūra sākumā auga lēnāk, bet no trešās līdz septītai dienai tā atradās eksponenciālās augšanas fāzē (20. att.). Kultūras blīvums sāka samazināties pēc septītās dienas, liecinot, ka ir bijuši kādi ierobežojoši faktori. Pēc tam kultūras blīvums turpināja samazināties līdz kultivēšanas beigām. Kultivēšanas eksperimenta laikā kultūras augšanu varēja ietekmēt vairāki faktori. Daži no vides apstākļiem kultivēšanas laikā nebija optimāli. Lielāko kultivēšanas laiku baseina temperatūra bija ievērojami zemāka par sugas optimālo temperatūru. Kultivēšanas tests tika veikts pavasarī, kad gaisa temperatūra ievērojami svārstās.



19. att. Vizuālā pārbaude. A) Krāna ūdens + digestāts, pirmā diena; B) digestāts + mikroaļģes, pirmā diena; C) trešā diena.; D) septītā diena; E) 10. diena; F) 16. diena.

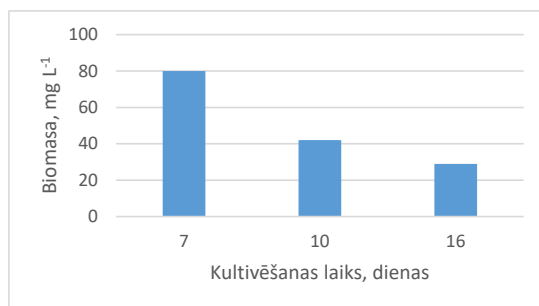
Saule pavasarī var būt diezgan spēcīga, dienas laikā uzsildot siltumnīcu, savukārt naktī temperatūra var pazemināties tuvu nullei. Mikroaļģes varēja augt ļoti mainīgos svārstīgas temperatūras apstākļos. Baseina temperatūra septītajā dienā pazeminājās līdz +12 °C, to var uzskatīt par vienu no iespējamiem iemesliem, kāpēc nākamajās dienās mikroaļģu augšana samazinājās. Literatūrā ir dati par ārkārtīgi zemu *C. sorokiniana* produktivitāti suboptimālā temperatūrā [54]. Ļoti iespējams arī tas, ka suboptimāla temperatūra samazināja gaismas enerģijas vajadzības un tāpēc pavasara maksimālais apgaismojums bija pārmērīgs, kas izraisīja fotoinhibīciju un augšanas palēnināšanos.

C. sorokiniana kultūras optiskais blīvums testa kultivēšanas laikā redzams 20. attēlā. Augstākais blīvums tika sasniegts septītajā dienā, un pēc tam tika novērots straujš augšanas samazinājums. To pašu var novērot ar biomasas iznākumu, kas 10. dienā samazinājās uz pusi, salīdzinot ar septīto dienu, un pēc tam turpināja kristies (21. att.).



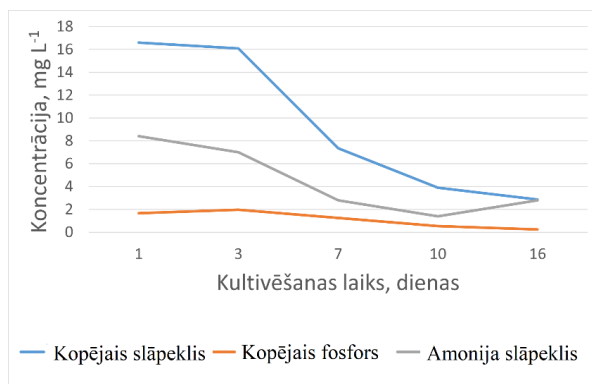
20. att. *C. sorokiniana* kultūras blīvums audzēšanas testa laikā SMORP izmēģinājuma sistēmā. Vertikālās līnijas parāda standartnovirzi ($n = 2$).

Lai gan mikroaļģu produktivitāte nebija augsta, jāņem vērā, ka sākotnējā izmēģinājuma laikā *C. sorokiniana* kultivēšanas apstākļi nebija optimāli negaidīti zemās temperatūras dēļ. Pēc septītās dienas novērotais augšanas ātruma samazinājums varētu būt saistīts ar vairākiem iemesliem, tostarp ar ierobežotu barības vielu un gaismas pieejamību, salīdzinoši augstu pH vai citiem faktoriem. Lielāka dūmgāzu plūsmas pievadīšana varētu veicināt pH pazemināšanos. Turklāt apsildes sistēmas ieslēgšana varētu būt lietderīga, kad temperatūra nokrīt zem optimālās, bet šajā izmēģinājumā tas netika izmantots.



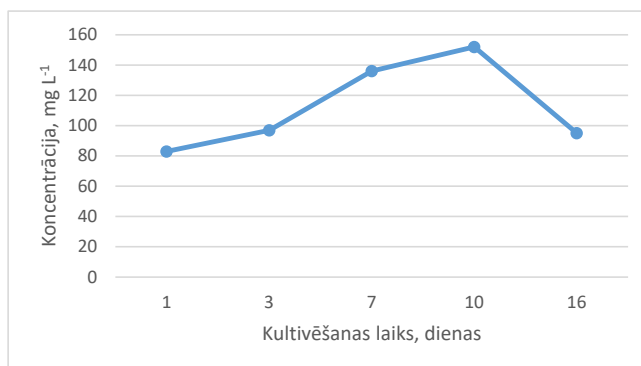
21. att. Saražotā biomasa kultivēšanas testa laikā.

Lai gan kultivēšanas testa laikā tika sasniegta salīdzinoši zema biomasas produktivitāte, barības vielu uzņemšanas ātrums šķiet ļoti daudzsološs. Pirmajās trīs dienās kopējā slāpekļa, kopējā fosfora un amonija nitrātu atdalīšana no digestāta bija neliela, visticamāk, mikroaļģu pielāgošanās jaunajiem augšanas apstākļiem dēļ (22. att.). Pēc sākotnējās lag fāzes barības vielu atdalīšana ievērojami palielinājās. Amonija slāpekļa koncentrācija atkal nedaudz paaugstinājās pēdējā audzēšanas posmā.



22. att. Kopējā slāpekļa, kopējā fosfora un amonija slāpekļa samazinājums kultivēšanas laikā.

Attiecība starp ĶSP notekūdeņos un mikroaļģu augšanu ir sarežģīta, un to ietekmē dažādi faktori, tostarp ĶSP koncentrācija un mikroaļģu suga [55]. Ir zināms, ka mikroaļģes augšanas laikā var samazināt ĶSP notekūdeņos. Tomēr, ņemot vērā to, ka mikroaļģes kultivēšanas laikā izdala organiskos savienojumus, faktiskais ĶSP kultivēšanas vidē var palielināties. *C. sorokiniana* audzēšanas laikā ĶSP palielinājās (23. att.).



23. att. Ķīmiskais skābekļa patēriņš *C. sorokiniana* audzēšanas laikā.

Kultivēšanas beigās tika sasniegta augsta barības vielu atdalīšanas efektivitāte (4. tab.). Kopumā *C. sorokiniana* audzēšanas laikā no augšanas vides tika atdalīti 83 % slāpekļa, 85 % fosfora un 83 % amonija slāpekļa. Tika sasniegta kopējā slāpekļa koncentrācija 2,86 mg L⁻¹, kas atbilst Ministru kabineta noteikumiem attiecībā uz notekūdeņu attīrīšanas prasībām [56]. Aglomerācijās, kurās ir mazāk nekā 100 000 iedzīvotāju, pieļaujamā kopējā

slāpekļa koncentrācija attīrītos notekūdeņos ir 15 mg L⁻¹, aglomerācijās ar vairāk nekā 100 000 iedzīvotājiem pieļaujamā kopējā slāpekļa koncentrācija ir 10 mg L⁻¹. Attiecībā uz fosforu aglomerācijās, kurās ir mazāk par 100 000 iedzīvotājiem, ir atļauta fosfora koncentrācija 2 mg L⁻¹, aglomerācijās ar vairāk nekā 100 000 iedzīvotājiem – 1 mg L⁻¹. Pēc digestāta apstrādes ar mikroaļģēm augšanas vidē palika 0,25 mg L⁻¹ fosfora. Var secināt, ka digestāta attīrīšana ar mikroaļģēm uzstādītajos eksperimentālajos apstākļos atbilst attīrīšanas noteikumiem.

4. tabula

Barības vielu atdalīšana no atšķaidīta digestāta *C. sorokiniana* audzēšanas laikā

Rādītājs	Sākotnējais līmenis baseinā, mg L ⁻¹	Uzņemšana, mg L ⁻¹	Samazinājums, %
Kopējais slāpeklis, <i>TN</i>	16,6	13,74	82,8
Kopējais fosfors, <i>TP</i>	1,67	1,416	84,8
Amonija slāpeklis, N-NH ₄	8,4	7	83,3
Nitrātu slāpeklis, N-NO ₃	< 0,3	<i>NA</i>	<i>NA</i>
Ķīmiskais slāpekļa patēriņš, <i>ĶSP</i>	83	-12	-14,5

Izstrādātā tehnoloģija šķiet daudzsolīga attiecībā uz digestāta apstrādi Latvijas klimatā zemas gaisa temperatūras apstākļos. Tomēr jāņem vērā, ka liela optiskā blīvuma dēļ digestāts pirms izmantošanas tika daudzkārtīgi atšķaidīts. Kā tika parādīts, aktīvās ogles adsorbēcija kā digestāta pirmsapstrādes metode ir ļoti daudzsolīga *OD* samazināšanas metode, tomēr tā vēl ir jāattīsta, lai to varētu izmantot digestāta apstrādei lielā mērogā, tāpēc tā netika izmantota sākotnējā izmēģinājumā jaunajā audzēšanas sistēmā. Var prognozēt, ka ar aktivēto ogli iepriekš apstrādātam digestātam būtu nepieciešama zemāka atšķaidījuma pakāpe, palielinot tā ilgtspējas rādītājus. Turklāt varētu sagaidīt augstāku mikroaļģu ražīgumu un attiecīgi labāku barības vielu uzņemšanu un digestāta attīrīšanu. Atlasītais *C. sorokiniana* celms ir jāpārbauda sugai optimālos kultivēšanas apstākļos, kas atbilst vasaras temperatūrai Latvijas klimatiskajos apstākļos. Sagaidāma augstāka produktivitāte, salīdzinot ar biomasas ražīgumu, kas tika sasniegts sākotnējā kultivēšanas testa laikā. Turklāt atlasītais zemas temperatūras tolerantais celms *C. vulgaris 211-11j* ir jāpārbauda zemas temperatūras laikapstākļos, kas varētu nodrošināt augstāku biomasas produktivitāti, nekā tika iegūts ar *C. sorokiniana* celmu. Nākotnes pētījumi ietver visu atlasīto kandidātsugu kultivēšanu *SMORP* sistēmā, novērtējot biomasas produktivitāti un digestāta attīrīšanas efektivitāti dažādos gadalaikos. Tāpat ir jāizvērtē arī kokultivācijas iespēja, kultivējot kopā vairākas atlasītās mikroaļģu sugas.

SECINĀJUMI

Promocijas darbā aplūkoti galvenie enerģētikas ilgtspējības aspekti un vides aizsardzības izaicinājumi. Ir prezentēta jauna mikroaļģu audzēšanas tehnoloģija integrācijai biogāzes stacijās, lai uzlabotu mikroaļģu biomasas ražošanu, vienlaikus nodrošinot CO₂ sekvestrāciju un barības vielu apriti. Pētījumā veiksmīgi tika izstrādāta un patentēta mikroaļģu audzēšanas sistēma, kas optimizēta aukstākam klimatam, identificēti piemēroti mikroaļģu celmi un pierādīta sistēmas savienošanas iespējamība ar esošo biogāzes staciju darbību, izmantojot tās atkritumu plūsmas.

Promocijas darbs piedāvā visaptverošu ietvaru jaunas mikroaļģu audzēšanas sistēmas integrēšanai esošajās biogāzes stacijās. Šī integrācija var uzlabot biomasas pieejamību, samazināt transportēšanas izmaksas un nodrošināt inovatīvu pieeju digestāta pārprodukcijas risināšanai. Rezultāti sniedz būtisku ieguldījumu atjaunojamās enerģijas un aprites ekonomikas jomā, piedāvājot alternatīvu pieeju atkritumu plūsmu piesaistei enerģijas ražošanai. Pētījumā uzsvērts mikroaļģu kā ilgtspējīga resursa potenciāls ne tikai biogāzes ražošanai, bet arī vērtīgu savienojumu iegūšanai. Neskatoties uz tādām problēmām kā ražošanas mēroga palielināšanas sarežģītība un tieša atkarība no klimata, pētījums paver iespējas un risinājumus biogāzes staciju ilgtspējības uzlabošanai. Tāpēc promocijas darbs sniedz vērtīgas atziņas un rīkus bioekonomikas virzīšanai uz ilgtspējīgāku aprites modeli.

Galvenie rezultāti, kas tika identificēti saistībā ar promocijas darba struktūras 1. un 2. bloku

1. Izstrādāta un patentēta jauna sistēma, kas paredzēta mikroaļģu audzēšanai aukstākā klimatā. Šī sistēma pārvar tradicionālo audzēšanas sistēmu ierobežojumus, piedāvājot daudzsološu risinājumu biomasas ražošanai visa gada garumā reģionos ar izaicinošu klimatu, piemēram, Latvijā.
2. Identificēti Latvijas klimatam piemēroti mikroaļģu celmi. *C. vulgaris 211-11j*, *C. sorokiniana 211-8k* un *C. reinhardtii 11-32b* ir perspektīvi celmi audzēšanai āra apstākļos Latvijas klimatā. Šie celmi uzrāda augstu biomasas ražošanas potenciālu, izmantojot lauksaimniecības digestātu, kas ir solis tuvāk efektīvu mikroaļģēs balstītu bioenerģijas risinājumu izstrādē.
3. *C. vulgaris 211-11j* tika identificēts kā potenciāls zemas temperatūras tolerants celms biomasas ražošanai vēsās sezonas laikā Latvijas klimatiskajos apstākļos.
4. Pierādīts, ka dažādi vides un audzēšanas apstākļi spēcīgi ietekmē mikroaļģu biomasas produkciju un optimālie apstākļi lielākoties ir sugai specifiski.
5. Pierādīts, ka optimālā CO₂ koncentrācija, kas nepieciešama maksimālai augšanai, ir sugai raksturīga. Augstāka CO₂ koncentrācija nekā atmosfērā (ar 5 % CO₂ saturu) palielina visu pētīto mikroaļģu biomasas ražību, piedāvājot potenciālu instrumentu CO₂ biosekvestrācijai no biogāzes ražošanas dūmgāzēm.
6. Pētījums demonstrēja lauksaimniecības digestāta un biogāzes staciju dūmgāzu efektīvu izmantošanu kā zemu izmaksu barības vielu un oglekļa avotu mikroaļģu kultivēšanai. Šī pieeja samazina ar mikroaļģu audzēšanu saistītās izmaksas, veicina barības vielu apriti un siltumnīcefekta gāzu mazināšanu.

7. Tika demonstrēts, ka *C. sorokiniana* var efektīvi izvadīt barības vielas no digestāta āra apstākļos, veicot digestāta attīrīšanu, kas atbilst notekūdeņu standartiem attiecībā uz slāpekļa un fosfora koncentrāciju.

Promocijas darba atzinumi paver vairākas iespējas turpmākai izpētei, īpaši tādās jomās kā sistēmas optimizēšana dažādiem vides apstākļiem, liela mēroga ražošanas ekonomiskā potenciāla izpēte un mikroaļģu produktu ar pievienoto vērtību izpēte. Turklāt šis darbs veido pamatu praktiskam lietojumam, mudinot biogāzes iekārtu operatorus apsvērt mikroaļģu kultivēšanas integrāciju savā darbībā kā dzīvotspējīgu stratēģiju ilgtspējīgai izaugsmei.

Promocijas darbs sniedz būtisku ieguldījumu pārejai uz ilgtspējīgāku bioekonomiku, uzsverot inovatīvu tehnoloģiju lielo nozīmi atkritumu pārveidošanā vērtīgos resursos.

LITERATŪRA

- [1] F. G. A. Fernández, A. Reis, R. H. Wijffels, M. Barbosa, V. Verdelho, and B. Llamas, “The role of microalgae in the bioeconomy,” *N. Biotechnol.*, vol. 61, pp. 99–107, 2021, doi: 10.1016/j.nbt.2020.11.011.
- [2] J. Rajesh Banu, Preethi, S. Kavitha, M. Gunasekaran, and G. Kumar, “Microalgae based biorefinery promoting circular bioeconomy-techno economic and life-cycle analysis,” *Bioresour. Technol.*, vol. 302, no. November 2019, p. 122822, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.122822.
- [3] I. Ahmad, N. Abdullah, I. Koji, A. Yuzir, and S. Eva Muhammad, “Evolution of Photobioreactors: A Review based on Microalgal Perspective,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 1142, no. 1, p. 012004, 2021, doi: 10.1088/1757-899x/1142/1/012004.
- [4] J. Y. Hu and T. Sato, “A photobioreactor for microalgae cultivation with internal illumination considering flashing light effect and optimized light-source arrangement,” *Energy Convers. Manag.*, vol. 133, pp. 558–565, 2017, doi: 10.1016/j.enconman.2016.11.008.
- [5] H. Lu *et al.*, “Exploration of flashing light interaction effect on improving biomass, protein, and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment,” *J. Clean. Prod.*, vol. 348, no. August 2021, p. 131304, 2022, doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131304.
- [6] S. P. Singh and P. Singh, “Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 50, pp. 431–444, 2015, doi: 10.1016/j.rser.2015.05.024.
- [7] R. A. I. Abou-Shanab, M. K. Ji, H. C. Kim, K. J. Paeng, and B. H. Jeon, “Microalgal species growing on piggery wastewater as a valuable candidate for nutrient removal and biodiesel production,” *J. Environ. Manage.*, vol. 115, pp. 257–264, 2013, doi: 10.1016/j.jenvman.2012.11.022.
- [8] L. R. Dahlin *et al.*, “Down-selection and outdoor evaluation of novel, halotolerant algal strains for winter cultivation,” *Front. Plant Sci.*, vol. 871, no. October, pp. 1–10, 2018, doi: 10.3389/fpls.2018.01513.
- [9] F. Fasaai, J. H. Bitter, P. M. Slegers, and A. J. B. van Boxtel, “Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems,” *Algal Res.*, vol. 31, no. November 2017, pp. 347–362, 2018, doi: 10.1016/j.algal.2017.11.038.
- [10] Z. Zhao, M. Mertens, Y. Li, K. Muylaert, and I. F. J. Vankelecom, “A highly efficient and energy-saving magnetically induced membrane vibration system for harvesting microalgae,” *Bioresour. Technol.*, vol. 300, no. November 2019, p. 122688, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2019.122688.
- [11] K. Li *et al.*, “Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review,” *Bioresour. Technol.*, vol. 291, no. June, p. 121934, 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121934.
- [12] M. A. Borowitzka, “Commercial-Scale Production of Microalgae for Bioproducts,” in *Blue Biotechnology: Production and use of marine molecules*, Vol. 1., S. La Barre and S. Bates, Eds. Weinheim: Wiley-VCH, 2018, pp. 33–85.
- [13] O. Cheregi, S. Ekendahl, J. Engelbrektsson, N. Strömberg, A. Godhe, and C. Spetea, “Microalgae biotechnology in Nordic countries – the potential of local strains,” *Physiol. Plant.*, vol. 166, no. 1, pp. 438–450, 2019, doi: 10.1111/ppl.12951.
- [14] P. L. Gupta, S. M. Lee, and H. J. Choi, “A mini review: photobioreactors for large scale algal cultivation,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 31, no. 9, pp. 1409–1417, 2015, doi: 10.1007/s11274-015-1892-4.
- [15] R. Y. Stanier, R. Kunisawa, M. Mandel, and G. Cohen-Bazire, “Purification and

- properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales).,” *Bacteriol. Rev.*, vol. 35, no. 2, pp. 171–205, 1971, doi: 10.1128/mmbr.35.2.171-205.1971.
- [16] E. H. Harris, *The Chlamydomonas Sourcebook: A comprehensive guide to biology and laboratory use*. San Diego: Academic Press, 1989.
- [17] G. R. L. and S. M. S., “Counting Cells in Cultures with the Light Microscope,” in *Algal Culturing Techniques*, Andersen R. A, Ed. Elsevier, 2005, p. 589.
- [18] R. Baird and L. Bridgewater, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 23rd editi. Washington, D.C: American Public Health Association, 2017.
- [19] E. M. Zetsche and F. J. R. Meysman, “Dead or alive? Viability assessment of micro- and mesoplankton,” *J. Plankton Res.*, vol. 34, no. 6, pp. 493–509, 2012, doi: 10.1093/plankt/fbs018.
- [20] M. Bellucci *et al.*, “Assessment of anammox, microalgae and white-rot fungi-based processes for the treatment of textile wastewater,” *PLoS One*, vol. 16, no. 3 March, pp. 1–20, 2021, doi: 10.1371/journal.pone.0247452.
- [21] A. Pandey, C. Larroche, S. . Ricke, C.-G. Dussap, and E. Gnansounou, *Biofuels- Alternative Feedstocks and Conversion Processes*. Oxhord: Elsevier Academic Press, 2011.
- [22] S. Katuwal, “Designing and Development of a Photobioreactor for Optimizing the Growth of Micro Algae and Studying Its Growth Parameters,” *Electron. Theses Diss.*, 2017, doi: <https://www.proquest.com/openview/351f8ed46ea06068931e5279f3e920b8/1?cb1=18750&pq-origsite=gscholar&parentSessionId=JdeGFj%2B9nRRNHyrVtdhMXBfeGHmn0UFFq1RGAws1Esk%3D>.
- [23] B. A. Pessi, E. Pruvost, A. Talec, A. Sciandra, and O. Bernard, “Does temperature shift justify microalgae production under greenhouse?,” *Algal Res.*, vol. 61, no. December 2021, 2022, doi: 10.1016/j.algal.2021.102579.
- [24] J. G. Day, Y. Gong, and Q. Hu, “Microzooplanktonic grazers – A potentially devastating threat to the commercial success of microalgal mass culture,” *Algal Res.*, vol. 27, no. September, pp. 356–365, 2017, doi: 10.1016/j.algal.2017.08.024.
- [25] W. Zhou, Y. Li, M. Min, B. Hu, P. Chen, and R. Ruan, “Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 13, pp. 6909–6919, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.04.038.
- [26] C. M. Palmer, “A composite rating of algae tolerating organic pollution,” *J. Phycol.*, vol. 5, no. 1, pp. 78–82, 1969, [Online]. Available: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84984087167&origin=inward&txGid=1a96bff0c2985304e35bbc4869454697>.
- [27] L. Wang *et al.*, “Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella sp.*,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 8, pp. 2623–2628, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.10.062.
- [28] M. P. Caporgno *et al.*, “Microalgae cultivation in urban wastewater: Nutrient removal and biomass production for biodiesel and methane,” *Algal Res.*, vol. 10, pp. 232–239, 2015, doi: 10.1016/j.algal.2015.05.011.
- [29] M. Franchino, E. Comino, F. Bona, and V. A. Riggio, “Growth of three microalgae strains and nutrient removal from an agro-zootechnical digestate,” *Chemosphere*, vol. 92, no. 6, pp. 738–744, 2013, doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.04.023.
- [30] C. M. Palmer, “Algae in american sewage stabilization’s ponds,” *Rev. Microbiol.*, vol. 5, no. 4, pp. 75–80, 1974, [Online]. Available: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0->

- 0016134205&origin=inward&txGid=2ead986bf6d16a747a64596e48b9e322.
- [31] J. M. Ayre, N. R. Moheimani, and M. A. Borowitzka, "Growth of microalgae on undiluted anaerobic digestate of piggery effluent with high ammonium concentrations," *Algal Res.*, vol. 24, pp. 218–226, 2017, doi: 10.1016/j.algal.2017.03.023.
- [32] C. E. Santos, R. N. de Coimbra, and S. P. Bermejo, "Comparative assessment of pharmaceutical removal from wastewater by the microalgae *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*," in *Biological Wastewater Treatment and Resource Recovery*, 2017, p. 99.
- [33] S. K. Gupta, F. A. Ansari, A. Shrivastav, N. K. Sahoo, I. Rawat, and F. Bux, "Dual role of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus obliquus* for comprehensive wastewater treatment and biomass production for bio-fuels," *J. Clean. Prod.*, vol. 115, pp. 255–264, 2016, doi: 10.1016/j.jclepro.2015.12.040.
- [34] T. Li, Y. Zheng, L. Yu, and S. Chen, "High productivity cultivation of a heat-resistant microalga *Chlorella sorokiniana* for biofuel production," *Bioresour. Technol.*, vol. 131, pp. 60–67, 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2012.11.121.
- [35] M. A. Scaife, G. T. D. T. Nguyen, J. Rico, D. Lambert, K. E. Helliwell, and A. G. Smith, "Establishing *Chlamydomonas reinhardtii* as an industrial biotechnology host," *Plant J.*, vol. 82, no. 3, pp. 532–546, 2015, doi: 10.1111/tj.12781.
- [36] M. A. Scranton, J. T. Ostrand, F. J. Fields, and S. P. Mayfield, "Chlamydomonas as a model for biofuels and bio-products production," *Plant J.*, vol. 82, no. 3, pp. 523–531, 2015, doi: 10.1111/tj.12780.
- [37] M. Gong and A. Bassi, "Investigation of *Chlorella vulgaris* UTEX 265 Cultivation under Light and Low Temperature Stressed Conditions for Lutein Production in Flasks and the Coiled Tree Photo-Bioreactor (CTPBR)," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 183, no. 2, pp. 652–671, 2017, doi: 10.1007/s12010-017-2537-x.
- [38] L. E. de-Bashan, A. Trejo, V. A. R. Huss, J. P. Hernandez, and Y. Bashan, "Chlorella sorokiniana UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater," *Bioresour. Technol.*, vol. 99, no. 11, pp. 4980–4989, 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.09.065.
- [39] Z. A. Khoeyi, J. Seyfabadi, and Z. Ramezanzpour, "Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*," *Aquac. Int.*, vol. 20, no. 1, pp. 41–49, 2012, doi: 10.1007/s10499-011-9440-1.
- [40] A. Khalili, G. D. Najafpour, G. Amini, and F. Samkhaniyani, "Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris*," *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 20, no. 2, pp. 284–290, 2015, doi: 10.1007/s12257-013-0845-8.
- [41] C. Yan, Y. Zhao, Z. Zheng, and X. Luo, "Effects of various LED light wavelengths and light intensity supply strategies on synthetic high-strength wastewater purification by *Chlorella vulgaris*," *Biodegradation*, vol. 24, no. 5, pp. 721–732, 2013, doi: 10.1007/s10532-013-9620-y.
- [42] Q. He, H. Yang, L. Wu, and C. Hu, "Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae," *Bioresour. Technol.*, vol. 191, pp. 219–228, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.05.021.
- [43] A. L. Gonçalves, J. C. M. Pires, and M. Simões, "The effects of light and temperature on microalgal growth and 2 nutrients removal: an experimental and mathematical approach," *RSC Adv.*, no. 27, pp. 22896–22907, 2016.
- [44] D. Das, *Algal Biorenewry: An Integrated Approach*. Springer, 215AD.
- [45] A. Xia and J. D. Murphy, "Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems," *Trends Biotechnol.*, vol. 34, no. 4, pp. 264–275, 2016,

- doi: 10.1016/j.tibtech.2015.12.010.
- [46] T. Cai, S. Y. Park, and Y. Li, "Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 19, pp. 360–369, 2013, doi: 10.1016/j.rser.2012.11.030.
- [47] M. Singh, D. L. Reynolds, and K. C. Das, "Microalgal system for treatment of effluent from poultry litter anaerobic digestion," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 23, pp. 10841–10848, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.09.037.
- [48] E. Uggetti, B. Sialve, E. Latrille, and J. P. Steyer, "Anaerobic digestate as substrate for microalgae culture: The role of ammonium concentration on the microalgae productivity," *Bioresour. Technol.*, vol. 152, pp. 437–443, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2013.11.036.
- [49] F. Marazzi *et al.*, "A novel option for reducing the optical density of liquid digestate to achieve a more productive microalgal culturing," *Algal Res.*, vol. 24, pp. 19–28, 2017, doi: 10.1016/j.algal.2017.03.014.
- [50] J. Park, H. F. Jin, B. R. Lim, K. Y. Park, and K. Lee, "Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp.," *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 22, pp. 8649–8657, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.142.
- [51] T. Cai, S. Y. Park, R. Racharaks, and Y. Li, "Cultivation of *Nannochloropsis salina* using anaerobic digestion effluent as a nutrient source for biofuel production," *Appl. Energy*, vol. 108, pp. 486–492, 2013, doi: 10.1016/j.apenergy.2013.03.056.
- [52] J. Xu, Y. Zhao, G. Zhao, and H. Zhang, "Nutrient removal and biogas upgrading by integrating freshwater algae cultivation with piggery anaerobic digestate liquid treatment," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 99, no. 15, pp. 6493–6501, 2015, doi: 10.1007/s00253-015-6537-x.
- [53] LVĢMC, "Laikapstākļu apskati, Gads, 2021," 2021.
- [54] M. C. Franco, M. F. Buffing, M. Janssen, C. V. Lobato, and R. H. Wijffels, "Performance of *Chlorella sorokiniana* under simulated extreme winter conditions," *J. Appl. Phycol.*, vol. 24, no. 4, pp. 693–699, 2012, doi: 10.1007/s10811-011-9687-y.
- [55] F. A. Almomani and B. Örmeci, "Performance Of *Chlorella Vulgaris* , *Neochloris Oleoabundans* , and mixed indigenous microalgae for treatment of primary effluent , secondary effluent and centrate," *Ecol. Eng.*, vol. 95, pp. 280–289, 2016, doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.06.038.
- [56] M. Kabinets, "Ministru kabineta noteikumi Nr.34," *Noteikumi par piesārņojošo vielu emisiju ūdenī*, 2002. <https://likumi.lv/ta/id/58276-noteikumi-par-piesarnojoso-vielu-emisiju-udeni>.



Baiba Leviņa dzimusi 1986. gadā Rīgā. Latvijas Universitātē ieguvusi dabaszinātņu bakalaura grādu (2007) un maģistra grādu (2009) bioloģijā. Kopš 2018. gada ir Rīgas Tehniskās universitātes Vides aizsardzības un siltuma sistēmu institūta pētniece un lektore. Pētniecības intereses saistītas ar dabas resursu ilgtspējīgu apsaimniekošanu, biomasu kā resursu un atkritumu pārvēršanu vērtīgos resursos saskaņā ar aprites ekonomikas un bioekonomikas koncepciju.