



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Arvydas Ramanauskas

**AUGINIMO SĄLYGŲ ĮTAKA MIKRODUMBLIŲ
(*CHLORELLA VULGARIS* L.) BIOMASĖS, BIOAKTYVIŲ
MEDŽIAGŲ IR ALIEJŲ KIEKIUI**

Baigiamasis magistro darbas

Vadovas

doc. dr. Ilona Jonuškienė

Kaunas, 2015

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS
ORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA**

TVIRTINU

Padalinio vadovas

prof. dr. Vytas Martynaitis

**AUGINIMO SĄLYGŲ ĮTAKA MIKRODUMBLIŲ
(*CHLORELLA VULGARIS* L.) BIOMASĖS,
BIOAKTYVIŲ MEDŽIAGŲ IR ALIEJŲ KIEKIUI**

baigiamasis magistro darbas

Studijų programa Cheminė inžinerija (kodas 621H81004)

Darbą atliko

Arvydas Ramanauskas

Vadovas

doc. dr. Ilona Jonuškienė

Recenzentas

dr. Ingrida Tumosienė

Kaunas, 2015



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Arvydas Ramanauskas

Studijų programa Cheminė inžinerija (kodas 621H81004)

Baigiamojo darbo „Auginimo sąlygų įtaka mikrodumblių (*Chlorella vulgaris* L.) biomasės, bioaktyvių medžiagų ir aliejų kiekiui

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2015 m. gegužės mėn. 19 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Arvydo Ramanausko** baigiamasis darbas tema „Auginimo sąlygų įtaka mikrodumblių (*Chlorella vulgaris* L.) biomasės, bioaktyvių medžiagų ir aliejų kiekiui“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(studento vardas ir pavardė, įrašyti ranka)

(parašas)

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Tvirtinu:
Cheminių technologijų fakulteto dekanas
Prof. E. Valatka

Suderinta:
katedros vedėjas prof. V. Martynaitis

Dekano įsakymas Nr. ST17-F-02-3
2015 m. balandžio mėn. 16 d.

2015 m. balandžio mėn. 16 d.

MAGISTRINIO BAIGIAMOJO DARBO UŽDUOTIS

Išduota studentui (-ei) **Arvydas Ramanauskas**

1. Darbo tema: „Auginimo sąlygų įtaka mikrodumblių (*Chlorella vulgaris* L.) biomasės, bioaktyvių medžiagų ir aliejų kiekiui“.
2. Darbo tikslas ir uždaviniai:
 1. Optimizuoti mikrodumblių (*Chlorella vulgaris* L.) auginimą ir įvertinti bioaktyvias medžiagas bei aliejaus kiekį;
 2. Paruošti maitinamąsias terpes mikrodumblių auginimui ir optimizuoti jų auginimą; įvertinti maistinių medžiagų įtaka mikrodumblių augimui; nustatyti bioaktyvias medžiagas ir sudaryti aliejų gavimo iš mikrodumblių principinę technologinę schemą.
3. Darbo sudėtinės dalys:
 - 3.1. Įžangoje pateikti darbo aktualumą, darbo tikslą ir uždavinius.
 - 3.2. Literatūros apžvalgos dalyje apžvalgą apie mikrodumblius bei jų aktyvias medžiagas.
 - 3.3. Medžiagų ir tyrimų metodų dalyje pateikti pagrindinius rezultatus, susijusius su bioaktyvių junginių išskyrimu iš mikrodumblių.
 - 3.4. Rekomendacijų dalyje pateikti aliejaus gamybos iš mikrodumblių technologinę schemą.
 - 3.5. Išvadų dalyje pateikti pagrindines išvadas.
 - 3.6. Literatūros sąrašė pateikti mokslinės literatūros ir kitų informacijos šaltinių sąrašą.

Užduoties išdavimo data 2014 m. vasario mėn. 3 d.

Užbaigto darbo pateikimo terminas 2015 m. gegužės 19 d.

Vadovas: doc. Ilona Jonuškienė
(vardas, pavardė)

2015-04-16 _____
(parašas, data)

Užduotį gavau: Arvydas Ramanauskas
(studento vardas, pavardė)

2015-04-16 _____
(parašas, data)

Ramanauskas A. (2015) The influence of growth conditions on microalgae (*Chlorella vulgaris* L.) biomass, quantities of bioactive materials and oil. Master's Work in Chemical Engineering. Study Programme M1136K31. Supervisor de. I. Jonuškienė. Kaunas: Faculty of Chemical Technology, University of Technology.

SUMMARY

The growing demand of energy resources of fossil natural resources and the unstable situation in the international market of raw materials obligate to the search for alternative sources. How one of the renewing of alternatives energy sources could be the very fastly growing and synthesizing lipids *Chlorella vulgaris* algae. Already made technologies, that can make biogas of growing biomass and oils which are in algae to convert biodiesel fuel, bioethanol, methane, hydrogen gas. What is more, algae biomass has large sustenance, which could be used such as animals, fish feed additives, manure in agricultural economy.

Decreasing fresh water, petroleum resources and increasing people population in the earth, the products got of microalgae will become necessity. Due to the high microalgae variety and modern, rapidly developing technologies, including genetic engineering, these microorganisms will become very important searching news for various people needs necessary bioproducts.

Laboratory conditions at Kaunas university of Technology in biotechnology laboratory were examine the influence of the input air flow to the nutrient medium and NaNO₃ concentration in nutrient medium for *Chlorella vulgaris* algae biomass, bioactive substances and oils.

The carbon, hydrogen, nitrogen, sulphuric and oxygen amounts in algae were investigated at Lithuanian Energy Institute, thermal equipment research and testing laboratory. Using these datas were calculated proteins, carbohydrates and lipids amounts in *Chlorella vulgaris* algae. It was also presented the lipid extraction technology of alga

Ramanauskas Arvydas. (2015). Auginimo sąlygų įtaka mikrodumblių (*Chlorella vulgaris* L.) biomasės, bioaktyvių medžiagų ir aliejų kiekiui. Chemijos inžinerijos (621H81004) magistro darbas. Studijų programa M1136K31. Darbo vadovė Dr. Ilona Jonuškienė. Kaunas: Cheminės technologijos fakultetas, Kauno technologijos universitetas.

SANTRAUKA

Didėjantis energetinių resursų poreikis iš iškastinių gamtinių išteklių bei nestabili situacija tarptautinėje energetinių žaliavų rinkoje įpareigoja ieškoti alternatyvių šaltinių. Kaip viena atsinaujinančių energijos šaltinių alternatyvų gali būti labai greitai augantys ir lipidus sintetinantys *Chlorella vulgaris* dumbliai. Jau yra sukurtos technologijos, galinčios iš auginamos biomasės gaminti biodujas ir dumbliuose esančius aliejus paversti biodyzelinu, bioetanoliu, metanu, vandenilio dujomis. Taip pat dumblių biomasei būdingas didelis maistingumas, kuris gali būti naudojamas kaip gyvulių, žuvų pašarų priedas, trąšos žemės ūkyje.

Žemėje mažėjant gėlojo vandens, naftos išteklių ir didėjant žmonių populiacijai, iš šių mikrodumblių gauti produktai taps būtinybe. Dėl didelės mikrodumblių įvairovės ir šiuolaikinių, sparčiai besivystančių technologijų, apimančių ir genų inžineriją, šie organizmai taps labai svarbūs ieškant naujų, įvairioms žmogaus reikmėms reikalingų bioproduktų.

Laboratorinėmis sąlygomis Kauno technologijos universitete biotechnologijos laboratorijoje buvo ištirta tiekiamo oro srauto į maitinamąją terpę ir NaNO₃ koncentracijos maitinamojoje terpėje įtaka *Chlorella vulgaris* dumblių biomasei, bioaktyviųjų medžiagų ir aliejų kiekiui.

Lietuvos energetikos instituto Šiluminių įrenginių tyrimo ir bandymų laboratorijoje ištirta dumblių visuminiai anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekiai. Naudojantis šiais duomenimis apskaičiuoti baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekiai *Chlorella vulgaris* dumbliuose. Taip pat pateikta lipidų ekstrakcijos iš dumblių technologija.

TURINYS

SUMMARY	6
SANTRAUKA	5
PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS.....	9
LENTELIŲ SĄRAŠAS.....	11
ĮVADAS.....	12
1. LITERATŪROS APŽVALGA	13
1.1 Dumbliai	13
1.2 Dumblių rūšys ir jų nauda	15
1.2.1 <i>Chlorella vulgaris</i> rūšis.....	16
1.1 pav. <i>Chlorella vulgaris</i>	17
1.3 Mikrodumblių panaudojimas.....	17
1.4 Biodegalai.....	18
1.5 Dumblių auginimo sistemos	20
1.5.1 Auginimo sąlygos	21
2. METODINĖ DALIS	22
2.1 <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių auginimo schema	22
2.2 Mitybinių terpių gamyba	23
2.3 Autoklavas	23
2.4 Laminaras	24
2.5 <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių auginimas.....	25
2.5.1 Skirtingas tiekiamo oro srautas	25
2.5.2 Skirtinga mitybinės terpės sudėtis	26
2.6 Šviesos sugerties matavimas	27
2.6.1 Sausos žaliavos kiekio nustatymas	27
2.7 Nusodinimas ir džiovinimas	27
2.8 Chlorofilo <i>a</i> ir <i>b</i> bei karotinoidų įvertinimas.....	27
2.9 Antioksidacinis aktyvumas prieš DPPH.....	28
2.10 Bendras fenolių ir taninų nustatymas Folino – Kiokalto metodu	29
2.11 Baltymų ekstrakcija iš <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių.....	30
2.12 Visuminio, anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekio nustatymas.....	31
2.12.1 Baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekis <i>Chlorella vulgaris</i> dumbliuose.....	32
3. Rezultatai.....	34
3.1 Tiriamoji medžiaga.....	34
3.2 Skirtingas tiekiamo oro srautas į mitybinę terpę	34

3.2.1	Augimo intensyvumo įvertinimas.....	34
3.2.2	Sausos žaliavos kiekio nustatymas	35
3.2.3	Chlorofilo <i>a</i> ir <i>b</i> bei karotinoidų įvertinimas	36
3.2.4	Antioksidacinis aktyvumas prieš DPPH įvertinimas	37
3.2.5	Bendras fenolių ir taninų įvertinimas Folino – Kiokalto metodu	38
3.2.6	Baltymų kiekio įvertinimas	39
3.2.7	Visuminio anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekių nustatymo dumbliuose rezultatai	40
3.2.8	Baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekis <i>Chlorella vulgaris</i> dumbliuose	41
3.3	Skirtinga NaNO ₃ koncentracija maitinamojoje terpėje	42
3.3.1	Sausos žaliavos kiekio nustatymas	42
3.3.2	Chlorofilo <i>a</i> ir <i>b</i> bei karotinoidų įvertinimas	44
3.3.3	Antioksidacinis aktyvumas prieš DPPH įvertinimas	44
3.3.4	Bendras fenolinių ir taninų įvertinimas Folino – Kiokalto metodu	45
3.3.5	Baltymų kiekio įvertinimas	46
3.3.6	Visuminio anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekių nustatymo dumbliuose rezultatai	46
3.3.7	Baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekis <i>Chlorella vulgaris</i> dumbliuose	47
4.	REKOMENDACIJOS.....	49
	IŠVADOS.....	52
	LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	53

PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1.1. pav. <i>Chlorella vulgaris</i>	17
1.2 pav. Dumblių auginimui naudojami išteklių ir produkcijos panaudojimas.....	18
1.3. pav. Dumblių atviro tipo auginimo sistemos	20
1.4. pav. Dumblių uždaro tipo auginimo sistemos.....	20
2.1 pav. <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių auginimo aparatūra (1 l kolbose).....	26
2.2 pav. <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių auginimo aparatūra (200 ml kolbose).....	26
2.3. pav. Radikalo DPPH redukcijos reakcija su antioksidantu	28
3.1. pav. <i>Chlorella vulgaris</i> šviesos sugerties priklausomybė nuo auginimo laiko tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę.....	34
3.2. pav. Teorinė išdžiovintų <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę	35
3.3. pav. Teorinis išdžiovintų <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių biomasės prieaugis (g), kuris augintas 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę.....	35
3.4. pav. Teorinė (matuojant šviesos sugertį 9 tyrimo savaitę) ir praktinė (po 9 savaičių auginimo išdžiovinta žaliava) <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę.....	36
3.5 pav. Dumblių chlorofilo <i>a</i> ir <i>b</i> bei karotinoidų kiekių palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę.....	37
3.6. pav. Dumblių antioksidantinio aktyvumo palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę	37
3.7. pav. Kalibracinė kreivė bendram fenolinių junginių ir taninų nustatymui	38
3.8. pav. Dumblių fenolinių junginių ir taninų kiekių palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę	38
3.9. pav. Kalibracinė kreivė baltymų kiekiui nustatyti	39
3.10. pav. Dumblių baltymų kiekių palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę.....	39
3.11. pav. Baltymų, lipidų, angliavandenių kiekių dumbliuose palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę.....	41
3.12. pav. Teorinė išdžiovintų <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais, skirtingose mitybinėse terpėse.....	42
3.13. pav. Teorinis išdžiovintų <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių biomasės prieaugis (g), kuris augintas 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais, skirtingose mitybinėse terpėse	43

3.14. pav. Teorinė (matuojant šviesos sugertį 4 tyrimo savaitę) ir praktinė (po 4 savaitių auginimo išdžiovinta žaliava) <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje	43
3.15. pav. Dumblių chlorofilo <i>a</i> ir <i>b</i> bei karotinoidų kiekių palyginimas naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas mitybinėje terpėje	44
3.16. pav. Dumblių antioksidantinio aktyvumo palyginimas naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje	45
3.17. pav. Dumblių fenolinių junginių ir taninų kiekių palyginimas naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje	45
3.18. pav. Baltymų kiekių palyginimas dumbliuose, naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje	46
3.19. pav. Baltymų, lipidų, angliavandenių kiekių dumbliuose palyginimas, naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje	48
4.1. pav. Aliejaus išskyrimo principinė technologinė schema iš <i>Chlorella vulgaris</i> dumblių.....	50

LENTELIŲ SĄRAŠAS

1.1. lentelė. Augalinių aliejų, gautų iš plačiausiai vartojamų augalų sėklų/vaisių ir dumblių, išėigos.....	15
1.2. lentelė. Dumblių sausos biomasės cheminė sudėtis (%).....	16
2.1. lentelė. Maitinamųjų Bold's Basal Medium BBM, BBM2, BBM3 terpių sudėtis	23
2.2. lentelė. Certoclav techniniai duomenys	24
2.3. lentelė. Laminaro techniniai duomenys	25
3.1. lentelė. Visuminiai anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekiai tiekiant įmaitinamąją terpę skirtingus oro srautus.....	40
3.2. lentelė. Dumblių, kuriems auginti buvo naudojamas skirtingas oro srautas, redukcinė reikšmė	41
3.3. lentelė. Visuminiai anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekiai naudojant skirtingas NaNO ₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje	47
3.4. lentelė. Dumblių, kuriems auginti buvo naudojamos skirtingos NaNO ₃ koncentracijos, redukcinės reikšmės	47
4.1. lentelė. Technologinės schemos prietaisų žymėjimai ir pavadinimai.....	51

IVADAS

Biotechnologijos prasmė – tai biologija pagrįsta technologija [1]. Biotechnologiją galima būtų apibrėžti ir kaip organizmų valdymą, atliekant praktines užduotis ir kuriant naudingus produktus [2].

Pasaulyje dėl senkančių iškastinio kuro šaltinių, aplinko sauginių, augančio energijos poreikio ir kitų problemų, pastaruoju metu yra ypač padidėjęs žaliavų (riebalų, baltymų, polisacharidų) poreikis įvairiose srityse, todėl intensyviai plečiama jų paieška [3].

Dumbliai pirmą kartą panaudoti žmonių mityboje prieš 2000 metų Kinijoje bado metu. Tačiau dumblių biotechnologija tobulėti pradėjo tik XX a. viduryje. Mokslininkų dėmesį patraukė mikrodumbliai dėl unikalių savybių, tokių kaip gebėjimas greitai augti, kaupti aliejų ir kitas vertingas medžiagas, fiksuoti anglies dioksidą bei valyti nuotekas. Dumbliai tampa vis įdomesne ir patrauklesne biodegalų gamybos žaliava [4].

Šiuo laikotarpiu yra daug dumblių panaudojimo sričių. Dumbliai, dėl jų cheminės sudėties, gali būti naudojami maistinių produktų ir pašarų maistinės vertės padidinimui, jie yra itin svarbūs akvakultūroje bei gali įeiti į kosmetikos gaminių sudėtį. Pavyzdžiui, dumblių polinesočiųjų riebalų rūgščių aliejų yra įdedami į kūdikiams skirtus pieno mišinius ir maisto papildus, o pigmentai yra svarbūs kaip natūralūs dažikliai. Stabilūs biocheminiai izotopai padeda tiriant medžiagų apykaitą tyrimuose ir nustatant junginių struktūras. Viena pagrindinė panaudojimo sritis yra dumblių aliejaus perdirbimas į biodegalus [5].

Tyrimo tikslas – optimizuoti mikrodumblių (*Chlorella vulgaris*) auginimą ir įvertinti bioaktyviausias medžiagas bei aliejų kieki.

Tikslui pasiekti iškelti šie uždaviniai:

- Sukonstruoti tyrimams reikalingą aparatūrą.
- Paruošti *Chlorella vulgaris* dumbliams skirtingos sudėties mitybines terpes.
- Ištirti tiekiamo oro srauto į maitinamąją terpę įtaką dumblių auginimui, biomasės kaupimui, dumbliuose kaupiamų aliejų ir bioaktyviųjų medžiagų kiekiui.
- Ištirti NaNO₃ koncentracijos mitybinėje terpėje įtaką dumblių auginimui, biomasės kaupimui, kaupiamų aliejų ir bioaktyviųjų medžiagų kiekiui.
- Parinkti tinkamiausias dumblių auginimo sąlygas, siekiant gauti didžiausią aliejų išeią.
- Pateikti aliejaus gamybos iš mikrodumblių technologinę schemą.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Dumbliai

Dumbliais (*Algae*) vadinami vienaląsčiai ir daugialąsčiai eukariotiniai organizmai, turintys chloroplastus ir chlorofilus, atliekantys fotosintezę ir išskiriantys deguonį. Jie priskirti žemesniems augalams. Šie augalai labai paplitę gamtoje, kurie randami upėse, jūrose, ežeruose, pelkėse, dirvoje ir kt.

Dumblių būna labai įvairių formų ir dydžių. Be mikroskopinių vienaląsčių, yra kolonijinių (kolonijos būna kamuolėlių ar siūlų pavidalo), taip pat daugialąsčių, kurių gniužulas savo išvaizda primena augalų stiebus ir lapus. Tačiau daugelis dumblių yra vienaląsčiai mikroskopinio dydžio: smulkūs, plūduriuojantys ir skendintys vandenyje, planktono (gr. *planktos* – klajojantis) sudedamoji dalis, aptinkama ir dirvožemyje [6].

Dumblių ląstelės apsuptos sienele, susidedančia iš celiuliozės ir pektininių medžiagų. Vienu dumblių ląstelių sienelė apsupta storu lipnių medžiagų dangalu, kiti dumbliai turi silicinį dangalą. Judrieji dumbliai juda ląstelių išaugomis, kurios esti: laikinosios – rizopodijos (ilgos, plonos), pseudopodijos (primenančios čiuptuvėlius, su sutankėjusiu ašiniu siūlu) bei žiuželiai. Ląstelės citoplazmoje yra vienas ar keli branduoliai, mitochondrijos, endoplazminis tinklas, vakuolių, intarpų ir chloroplastų. Iš pigmentų yra chlorofilų (*a*, *b*, *c₁*, *c₂*, *d*), karotinoidų. Kai kuriuose dumbluose yra fikobilinų – fikocianino ir fikoeritrinų. Fotosintetinių pigmentų sudėtis yra vienas iš svarbiausių požymių, pagal kuriuose dumbliai skirstomi į skyrius. Dumbluose yra daug naudingų medžiagų: baltymų, riebalų, angliavandenių, vitaminų, krakmolo, ypatingojo polisacharido paramilono, tirpiojo polisacharido laminarino [7].

Dumbliams būdinga trys dauginimo būdai: vegetatyvinis, nelytinis ir lytinis. Vegetatyviškai vienaląsčiai dumbliai dauginasi dalydamiesi į dvi dalis, daugialąsčiai ir kolonijiniai – atskylant gniužulo (vegetatyvinio kūno) dalims. Nelytiškai dauginasi specializuotomis ląstelėmis – sporomis. Dalijasi ląstelės protoplastas, ir dalijimosi produktai iš motininės ląstelės apvalkalėlio patenka į aplinką. Sporos esti dvejopos: judriosios (zoosporos) su vienu, dviem, keturiais ir daugiau žiuželių bei nejudriosios (aplanosporos). Lytinio dauginimosi metu susilieja dvi ląstelės ir susidaro zigota. Dažniausiai dumblių lytinio dauginimosi būdas – gametogamija, kai susilieja specializuotos lytinės ląstelės – gametos [8].

Dumblių klasifikacija grindžiama šiais požymiais: ląstelės sienelės chemine sudėtimi, judrių judėjimo organų sandara ir išsidėstymu, fotosintetinių pigmentų sudėtimi, gaminamomis atsarginėmis medžiagomis. Dumbliai skirstomi į kelias stambias grupes (skyrius): žaliadumblius (*Chlorophyta*), gelsvadumblius (*Xanthophyta*), titnagdumblius arba diatomėjas (*Baccillariophyta*), raudondumblius (*Rhodophyta*), euglendumblius (*Euglenophyta*),

auksadumbliai (*Chrysophyta*). Iš jų euglendumbliai turi ir augalų, ir gyvūnų savybių. Dauguma mikroskopinių dumblių priklauso žaliadumbliams ir titnagdumbliams [9].

Plačiausia yra žaliadumblių grupė (skyrius), jungiantis tiek vienaląstes, tiek daugialąstes formas. Jų ląstelė turi celiuliozinę sienelę, vakuolę, vieną ar kelis branduolius bei žalios spalvos chloroplastus. Dauguma rūšių turi žiuželius, nors yra ir nejudrių, dauginasi skilimu ir nelytinių sporų susidarymu bei lytiškai – dviejų ląstelių susiliejimu ir lytinių sporų susidarymu. Iš vienaląsčių žaliadumblių paminėtas valkčiadumblis (*Chlamydomonas*), aptinkamas nedideliuose organinėmis medžiagomis užterštuose vandens telkiniuose. Tokiuose vandens telkiniuose, filtracijos ir laistymo laukuose, biofiltruose randama ir maurakulinių dumblių (*Volvox* gentis), kurių kolonijos – tai gleivėti kamuolėliai, sudaryti iš 200 ar daugiau ląstelių, išsidėsčiusių vienu sluoksniu, o kamuolėlio vidus pripildytas gleivių. Gėlo ir sūraus vandens telkiniuose dažnai aptinkamas pūslis (*Oocystis*), kurio elipsiškos ląstelės sudaro nedideles (10 – 20 ląstelių) kolonijas. Siūliniams žaliadumbliams priskiriamas ulotriksas (*Ulothrix* gentis). Jaunųjų dumblių siūlai paprastai būna prisitvirtinę prie substrato, o senesniųjų – laisvai plaukioja vandenyje.

Dumbliai sudaro ir ekologines grupes:

- planktoniniai – laikosi vandens sluoksnyje, ypač paviršiniame;
- neustoniniai – vystosi paviršinėje vandens plėvelėje;
- bentosiniai – laisvai plaukioja arba būna prisitaikę gyventi vandens telkinio dugne prie grunto arba įvairių ten esančių gyvų ir negyvų substratų;
- antžeminiai – gyvena įvairių substratų (medžių, kamienų, žolinių augalų, lapų, akmenų, uolų) paviršiuje;
- dirvožemio – auga dirvožemyje arba jo paviršiuje, sudarydami išplitusią gleivėtą plėvelę;
- sūriųjų vandenu (jūros);
- gėlųjų vandenu [10].

Vandenyse dumbliai yra svarbiausieji organinių medžiagų producentai ir gyvūnų maistas. Fitoplanktonu minta smulkūs organizmai: zooplanktonas, žuvų jaunikliai ir pačios žuvys. Dirvožemio dumbliai svarbūs dirvožemio struktūrai, kaupia organines medžiagas, fiksuoja atmosferos azotą, išskiria deguonį, fiziologiškai aktyvias medžiagas ir didina derlingumą. Daugelis dumblių yra nuotekų biologinio filtro komponentai. Kai kurie dumbliai naudojami kaip vandens užterštumo bioindikatoriai. Fitoplanktonas, būdamas pirmąja grandimi mitybinių santykių (mitybos) grandinėje, greičiausiai reaguoja į aplinkos sąlygų pokyčius, ypač cheminę vandens sudėtį, todėl vienos ar kitos dumblių rūšies išplitimas planktone rodo tam tikrą vandens baseine susidariusių sąlygų kompleksą, vandens užterštumo laipsnį, o tos rūšys vadinamos vandens saprobiškumo indikatoriais. Pagal dumblių sudėtį ir gausumą galima nustatyti vandens telkinio švarumo laipsnį.

Dumbliai labai svarbūs savaiminiam vandens apsivalymui. Fotosintezės metu išsiskyres deguonis dalyvauja organinės medžiagos mineralizacijoje, bet masiškai augdami dumbliai tampa biologinio užterštumo faktoriumi, sukelia vadinamąjį „vandens žydėjimą“ – antrinį vandens užterštumą, o tai yra vandens telkinio savireguliacijos procesų sutrikimo rezultatas. Dėl „žydėjimo“ sutrinka dujinis režimas, pablogėja vandens kokybė, didėja spalvotumas, mažėja skaidrumas, kaupiasi toksiškos gyvūnams medžiagos, nes, prasidėjus žuvusių dumblių puvimo procesams, atsiranda deguonies trūkumas, dėl to gali žūti žuvis, išgėrę tokio vandens, gali apsinuodyti gyvuliai, užsikimšti valymo įrenginiai ir kt [11].

1.2 Dumblių rūšys ir jų nauda

Dumbliai yra vieni seniausių žemėje atsiradusių augalų, bet dėl primityvių gyvenimo sąlygų kai kurie iš jų iki šiol išliko nepakitę. Gamtoje yra tūkstančiai dumblių rūšių – nuo mikroskopinių iki 60 m ilgio. Dėl to jų struktūra gali būti įvairi: vienaląsčiai, daugialąsčiai. Daugelis jų rūšių esant tinkamoms sąlygoms per dieną gali pasidauginti dvigubai. Dumblių paplitimas gamtoje priklauso nuo įvairių aplinkos faktorių [12]. Svarbiausi iš jų yra drėgmė, šviesa, temperatūra bei mineralinių medžiagų kiekis. Dumbliai yra svarbiausi organinės medžiagos kūrėjai vandenyse, kurių biomasė dešimt kartų didesnė už visų sausumos augalų. Be to, intensyvios fotosintezės metu jie išskiria milžiniškus kiekius deguonies, todėl susidaro palankios sąlygos vandens gyvūnams [13].

Daugelis pasaulio mokslininkų ieško, kas galėtų pakeisti iškastinį kurą. Šiandien manoma, kad viena geriausių galimybių – dumblių aliejaus perdirbimas į biokurą. Palankiomis sąlygomis dumbliai auga nepaprastai greitai ir sukaupia iki 50% aliejaus nuo bendro savo svorio. Kai kurių mokslininkų nuomone per metus iš vieno hektaro galima surinkti 100 tonų dumblių biomasės. Viena didelė aliejaus gamybos bendrovė apskaičiavo, kad per metus iš vieno hektaro dumblių naudmenų galima gauti 50 tonų aliejaus. Tai 10 – 12 kartų daugiau, nei įmanoma gauti aliejaus iš aliejinių palmių hektaro [14] (1.1 lentelė).

1.1. lentelė. Augalinių aliejų, gautų iš plačiausiai vartojamų augalų sėklų/vaisių ir dumblių, išėigos

Aliejingi augalai	Aliejaus išėiga (litrais/arui/per metus)
Kukurūzai	1,77
Sojos pupelės	4,75
Judros	8,02
Saulėgrąžos	10,08
Rapsai	12,55
Palmės	62,78
Dumbliai	494,32 – 1482,95

Mokslininkai mėgina sukurti palankiausias sąlygas dumbliams auginti. Šiuo metu mokslininkai tyrinėja keletą pasirinktų dumblių rūšių, bandydami išsiaiškinti kokios sąlygos jiems augti palankiausios, kokios jų rūšys galėtų atnešti daugiausiai naudos (1.2 lentelė) [15, 16].

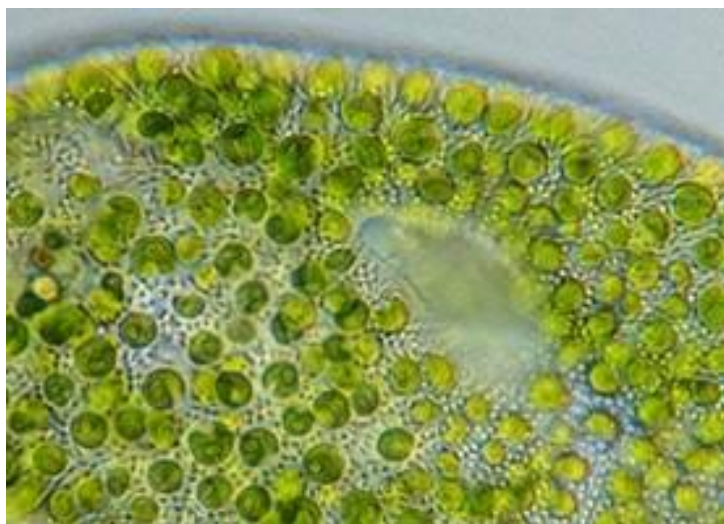
1.2. lentelė. Dumblių sausos biomasės cheminė sudėtis (%)

Dumblių kamienas	Baltymai	Angliavandeniai	Nukleorūgštys
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50 – 56	10 – 17	3 – 6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	–	–
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8 – 18	21 – 52	–
<i>Chlamydomonas reinhardii</i>	48	17	–
<i>Chlorella vulgaris</i>	51 – 58	12 – 17	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	–
<i>Spirogyra</i> sp.	6 – 20	33 – 64	–
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	–
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	–
<i>Euglena gracilis</i>	39 – 61	14 – 18	–
<i>Prymnesium parvum</i>	28 – 45	25-33	1 – 2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	–
<i>Porphyridium cruentum</i>	28 – 39	40-57	–
<i>Spirulina platensis</i>	46 – 63	8 – 14	2 – 5
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13 – 16	3 – 4,5
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43 – 56	25 – 30	–

Mokslininkai taip pat tiria, kaip dumbliai reaguoja į stresus, pavyzdžiui, kai visiškai nebegauna maisto medžiagų. Tyrimai rodo, kad dumbliai kovodami dėl išlikimo liaujasi daugintis, tačiau ima gausiau gaminti aliejų. Vis dar atrandama naujų dumblių rūšių. Pavyzdžiui, kai kurie dumbliai gamina vandenilį, o vandenilis – puikūs degalai. Iš dumblių gaunamas aliejus ir krakmolas gali būti naudojami pramonėje. Abi šios medžiagos gana lengvai perdirbamos į skystus degalus, bioetanolį ar biodyzeliną. Šalutinius dumblių aliejaus ar krakmolo produktus taip pat galima panaudoti: perdirbti į biodujas, pašarų papildus ar žemės ūkio trąšas. Kai kurios bendrovės ketina auginti mikrodumblius, o kai kurios – jūržoles ar raudondumblius. Vieni specialistai mano, kad dumblius geriausia auginti uždaroje patalpose, kiti teigia, kad sąlygos palankiausios dideliuose ir atviruose baseinuose [17].

1.2.1 *Chlorella vulgaris* rūšis

Chlorella vulgaris yra vienaląstis dumblis, kūno forma bei ląstelės struktūra panašus į chlorokolą (1.1 pav.)



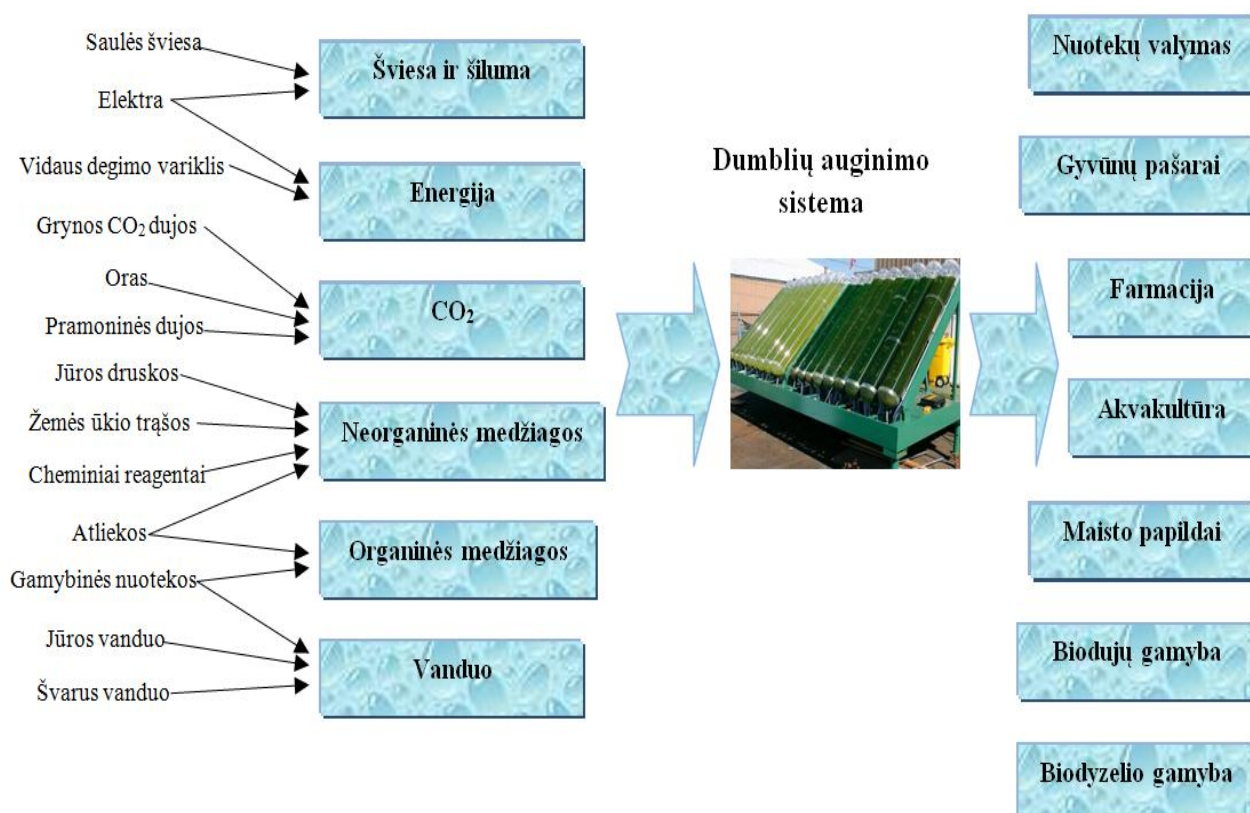
1.1. pav. *Chlorella vulgaris*

Chlorelas savo ląstelėse sukaupia labai daug baltymų – apie 50 % visos masės. Be baltymų sudėtyje aptinkama 6 % chlorofilo, 12 % angliavandenių, 10 – 22 % lipidų, taip pat gausu vitaminų A, B2, K, PP, C (vitamino C kiekis didesnis, palyginus jo kiekį citrinoje), įvairių mikroelementų. Be to, šiame žaliajame organizme rasta antibiotiko chlorelino [18]. Šie vienaląsčiai organizmai geriausiai auga šilto klimato sąlygomis, be to, jiems reikia gana daug saulės šviesos. Todėl chlorela pramoniniu būdu auginama atviruose baseinuose pripildytuose specialios mitybinės terpės vidurio Azijos šalyse ir Pietų Amerikoje. Nuo auginimo sąlygų labai priklauso gaunamo derliaus kiekis ir kokybė. Yra žinoma, kad keičiant auginimo sąlygas, chlorelas ląstelėse vykstančius biosintezės procesus galima nesunkiai reguliuoti ir paspartinti pageidaujimų junginių sintezę. Taip galima priversti šiuos dumblius sintetinti daugiausiai arba baltymų, arba sacharidų, arba tam tikrų vitaminų [19].

1.3 Mikrodumblių panaudojimas

Dumblių biotechnologijos pramonė, per metus užaugina 10^7 tonų dumblių produkcijos įvairiems tikslams. Produkcijos panaudojimas įeina į maisto ir pašarų gamybą (baltyminis maistas, papildai), žaliavos šaltiniai farmacijos, chemijos pramonės šakoms (antibiotikai, vitaminai) [20]. Dėl jūroje augančių žaliųjų organizmų, dumblių biotechnologija kartais vadinama mėlynąja biotechnologija. Nepaisant to, kad biotechnologijos ar genų technologijų panaudojimas dumblių auginimui, skirtų vartoti žmonėms, neatitinka saugos taisyklių, tačiau jau yra keletas tinkamų taikymo sričių. Prekyboje atsirado *Chlorella* ir *Spirulina* rūšių dumbliai, kurie kaupia didelį kiekį baltymų ir turi didelę energetinę vertę. Šių dumblių biomasė yra parduodama skysčių, tablečių ir kapsulių formomis. Produkcijoje yra dideli kiekiai vitaminų, mineralinių medžiagų, riebalų rūgščių, kurie teigiamai veikia žmogaus sveikatą [21]. Daugelis tyrimų parodė, kad dumblių biomasė tinkama naudoti, kaip gyvūnų maisto papildas [22].

Spirulina ir tam tikros rūšies *Chlorella* mikrodumbliai naudojami daugelio gyvūnų: kačių, šunų, akvariumo žuvų, dekoratyvinių paukščių, arklių, karvių ir veislinių bulių pašarams gaminti, kuris skatinantis prieaugį, karvių pieningumą, mažinantis gyvulių bei paukščių kritimą [23]. Dumблиuose rasta ir kitų vertingų junginių, kurie įeina į farmacinių preparatų gamybą: dokozaheksaeno rūgštis, γ -linoleno rūgštis, arachidono rūgštis (omega – 3 riebalų rūgštys). Taip pat jų komponentai dažnai naudojami kosmetikoje, kaip tirštikliai, vandenį surišantys agentai ir antioksidantai. Labiausiai naudojamas komponentas – hialurono rūgštis, kuri turi senėjimą stabdančių savybių. Tačiau pagrindinis mikrodumблиų panaudojimas – biodyzelio ir biodujų gamyba (1.2 pav.).



1.2 pav. Dumблиų auginimui naudojami ištekliai ir produkcijos panaudojimas

1.4 Biodegalai

Mažėjant iškastinio kuro atsargoms bei didėjančio globalinio atšilimo, biodyzelio gamyba iš mikrodumблиų yra daug žadanti alternatyva. Tam tikrų rūšių dumблиai turi didelį kiekį riebiųjų molekulių, kurios labai panašios į augalinį aliejų. Šias molekules galima paversti į biokurą, kuris gali būti naudojamas kaip priedas benzolinui ar dyzelinui. Iš pradžių dumблиai buvo auginami dideliuose sekliuose tvenkiniuose reikalaujančio didelio vandens kiekio. Tačiau įmonės surado naujas technologijas, kurios neleidžia išgaruoti vandeniui bei kuriose 85 % vandens yra

perdirbama kartu su maistingų medžiagų pertekliumi bei CO₂. Degalai, gaminami iš dumblių, pasižymi šiais privalumais ir trūkumais.

Privalumai:

- Kaip ir dauguma kitų biodegalų rūšių, dumbliai yra neutralūs anglies požiūriu. Nors dumbliai degimo metu išskiria CO₂, tačiau taip pat jį ir sugeria augimo metu (kaip ir visi augalai), o tai reiškia, kad grynasis CO₂ skaičius yra lygus nuliui;
- Gali būti pakaitalu tradiciniams degalams;
- Yra natūraliai atsinaujinantys;
- Tiek CO₂, tiek nuotekos gali būti naudojami kaip dumblių maistinės medžiagos;
- Auginami dideliais kiekiais, pasižymi didesniu energijos kiekiu nei kitų rūšių biodegalai;
- Skirtingai nei kukurūzai, skirti bioetanolio gamybai, ar sojos pupelės, skirtos biodyzelino gamybai, dumbliai gali būti auginami vietose, kurios nėra tinkamos maisto produktų auginimui. Tokiu būdu galima panaudoti ir neariamąją žemę, naudingųjų medžiagų neturinčią (mažai turinčią) žemę, kuri paprastai nenaudojama žemės ūkyje;
- Dumblius labai paprasta auginti: jie gali būti auginami tvenkiniuose, talpyklose, vamzdžiuose, tačiau su sąlyga, kad dumbliai gautų tinkamą kiekį vitaminų, mineralų bei šviesos. Dumbliai nereikalauja net šviežio vandens. Skirtingai nei grūdinės kultūros, kurios yra priklausomos nuo auginimo sezono, dumbliai gali būti auginami bet kuriuo metų laiku, nes idealios jų auginimo sąlygos gali būti lengvai sukuriamos.

Trūkumai:

- Dumbliai privalo būti auginami, kontroliuojant temperatūros sąlygas;
- Augimui dumbliai reikalauja didelio kiekio vandens;
- Dumbliai reikalauja ir fosforo, kuris naudojamas kaip trąša, o jo išteklių riboti (kai kurių mokslininkų teigimu žemės fosforo atsargos turėtų išsekti per 50 – 100 metų). Todėl akivaizdu, kad būtina surasti būdus, kaip sumažinti fosforo naudojimą biodegalams, gaminamiems iš dumblių, ir kaip būtų galima fosforą panaudoti pakartotinai;
- Biodegalai, pagaminti iš dumblių, susiduria su sunkumais, esant žemai temperatūrai, todėl reikalingos modifikacijos;
- Didelė gamybos kaina [24].

1.5 Dumblių auginimo sistemos

Auginimo sistemos būna atviro ir uždaro tipo. Atviro tipo sistemos pavaizduotos 1.3 paveiksle. Tai gali būti ežerai, baseinai, dirbtinai iškasti tvenkiniai.



1.3. pav. Dumblių atviro tipo auginimo sistemos

Pasirinkus tokį auginimo būdą jis yra paprastas, pigus tačiau gaunamas mažas biomasės kiekis. Be to, atviro tipo sistemos dumbliams auginti nėra tinkamos mūsų klimato sąlygomis. Uždaros auginimo sistemos vadinamos foto – bioreaktoriais (PBR) (1.4 pav.), jie gali būti įvairių formų: plokštieji, kolonų, piramidės ir kt. formų.



1.4. pav. Dumblių uždaro tipo auginimo sistemos

Uždaro tipo sistemos yra labiau stabilios, lengviau valdyti augimo procesą ir palaikyti monokultūrą, o tai leidžia užauginti didesnę biomasės kiekį. Naudojantis šiomis sistemomis gaunamos didelės išlaidos [25], todėl tokius dumblių auginimo cechus galima įrengti prie tiesioginių maitinamosios terpės komponentų šaltinių – vandens valyklų, buitinių nuotekų talpyklų, paukštininkystės ir gyvulininkystės ūkių. Atsiranda puiki galimybė sukurti uždarą ciklą – atliekinės medžiagos panaudojamos dumblių auginimui, o dumblių produktai – kaip įvairios paskirties atsinaujinanti žaliava įvairioms pramonės šakoms [26]. Mokslininkų, technologų ir

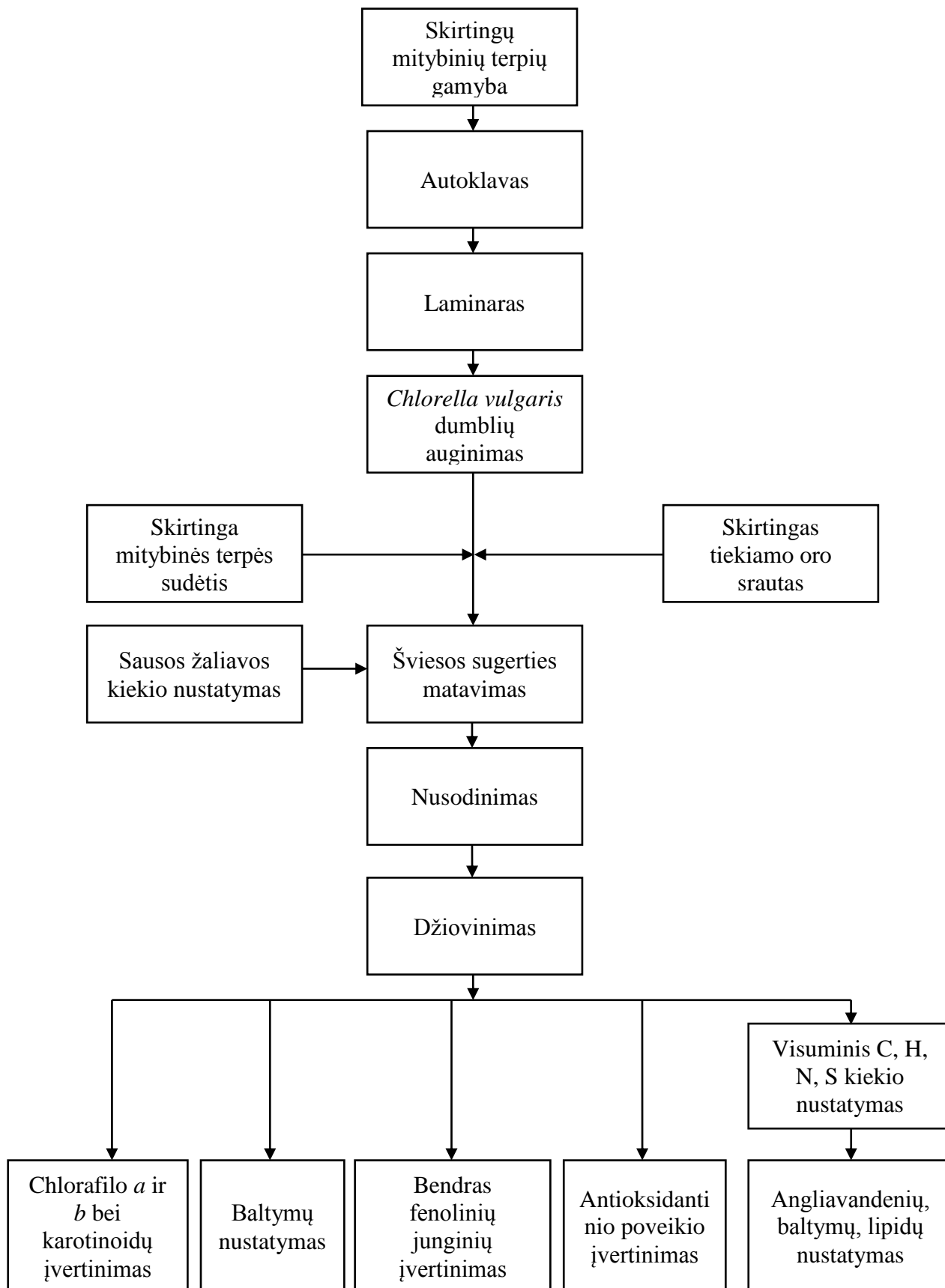
konstruktorių, dirbančių bioreaktorių kūrimo ir tobulinimo srityje, pagrindinė užduotis yra sukurti ne tik naujo dizaino, bet ir ilgalaikes, pigias, lengvai aptarnaujamas, nereikalaujančias didelių priežiūros ir eksploatacijos išlaidų, o svarbiausia, leidžiančias pasiekti kuo didesnę dumblių biomasės išeigą sistemas [27].

1.5.1 Auginimo sąlygos

Šviesos šaltinis ir jos intensyvumas atlieka svarbiausią vaidmenį norint užauginti dumblius. Kitas kritinis faktorius yra CO₂ dujos ir jų kiekio tiekimas į sistemą stipriai padidina mikrodumblių augimą. Jeigu mitybinėje terpėje yra pakankamas kiekis nitratų, mikrodumbliai sintetina mažus kiekius trigliceridų (TAGs). Norint padidinti sintezuojamų trigliceridų kiekius, reikia sumažinti nitratų kiekį terpėje. Tuo metu mikrodumbliai intensyviai absorbuoja organinę anglį, kurią paverčia lipidais. Tokia stadija, vadinama streso būseną, sumažina mikrodumblių biomasės augimą. Jos metu esantys dumbliai taip pat pakeičia sintetinamų lipidų sudėtį t.y. vietoje laisvųjų rūgščių sintetinami trigliceridai, o jie labiau tinkami biodyzelio gamybai. Fosfatų kiekis yra kitas faktorius nulemiantis biomasės augimą ir lipidų sintezę. Suaktyvinti lipidų gamyba dumblių ląstelėje galima ir kitomis aplinkos sąlygomis: intensyvia šviesa, temperatūra, druskingumu, pH ir CO₂ kiekiu [28].

2. METODINĖ DALIS

2.1 *Chlorella vulgaris* dumblių auginimo schema



2.2 Mitybinių terpių gamyba

Dumblių *Chlorella vulgaris* kultūros kultivavimui būtina maitinamoji terpė ir išorinės aplinkos faktoriai (šviesa, temperatūra, tiekiamo CO₂ kiekis, maišymas). Didelę įtaką dumblių auginimui turi azoto, fosforo kiekiai maitinamojoje terpėje. Tyrimas vykdomas naudojant tris skirtingas BBM (Bold's Basal Medium), BBM2, BBM3 mitybines terpes, kurių sudėtis (2.1 lentelė) skiriasi makroelemento NaNO₃ koncentracija [29].

2.1. lentelė. Maitinamųjų Bold's Basal Medium BBM, BBM2, BBM3 terpių sudėtis

Reagentai	Reagentų kiekiai reikalingi 1 l terpės, ml	Koncentracija BBM terpėje, mg/l	Koncentracija BBM2 terpėje, mg/l	Koncentracija BBM3 terpėje, mg/l
Tirpalas A				
KH ₂ PO ₄	60	75	75	75
K ₂ HPO ₄		175	175	175
MgSO ₄ ·7H ₂ O		75	75	75
NaNO ₃		250	500	1000
CaCl ₂ ·2H ₂ O		25	25	25
NaCl		25	25	25
Tirpalas B				
EDTA	3	50	50	50
KOH		31	31	31
FeSO ₄ ·7H ₂ O		4,98	4,98	4,98
H ₃ BO ₃ *		11,42	11,42	11,42
Tirpalas C				
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	1,412	1,412	1,412
MnCl ₂ ·4H ₂ O		0,232	0,232	0,232
CuSO ₄ ·5H ₂ O		0,252	0,252	0,252
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O		0,08	0,08	0,08
NaMoO ₄ ·2H ₂ O		0,192	0,192	0,192

* Ištirpintą esant ~ 50 – 60 °C temperatūrai.

Kiekvienas tirpalas paruoštas atskirai naudojant distiliuotą vandenį. Visos cheminės medžiagos svertos ant aliuminio folijos. Tirpalas A (1 – 6) yra tinkamas naudoti 3 mėnesius, tirpalas B ir C (7 – 14) – 12 mėnesių nuo paruošimo datos. Tirpalus išautoklavavus jų naudojimo laikas yra neribotas. Paruoštos maitinamosios terpės pH turi būti 6,7 ± 0,3, jei pH neatitinka nustatytų normų, tuomet terpės gamintos iš naujo [30].

2.3 Autoklavas

Autoklavas – slėginis prietaisas, skirtas medžiagoms ir įrankiams sterilizuoti, kaitinant tirpalus virš jų virimo temperatūros. Sterilizacija garais – tai yra mikroorganizmų sunaikinimas šiluma, naudojant drėgmės (garų), laiko ir temperatūros derinį. Tai metaliniai indai su izoliuotomis durimis arba dangčiu, kurios aukšta temperatūra pasiekama garų ir slėgio

pagalba, vandeniui verdant susidarę garai neišeina, o susitelkę uždaroje ertmėje didina slėgį. Šiame darbe autoklavas yra naudotas mitybinių terpių paruošimui, kurio techniniai duomenys pateikti 2.2 lentelėje.

2.2. lentelė. Certoclav techniniai duomenys

Pavadinimas	Certoclav EL 12l
Tūris	12 litrų
Temperatūra / slėgis	140 °C – 2,7 bar 125 °C – 1,4 bar 121 °C – 1,2 bar 115 °C – 0,7 bar
Bandymo slėgis	4,1 bar
Ventiliacija	Nuolatinė, oro
Medžiaga	Aliuminis 3103, atitinka DIN 1725
Saugos įrankiai	Apsauga nuo slėgio
Maitinimo šaltinis	230 VAC, 50/60 Hz
Kaitinimo galia	1900 W
Temperatūros indikatorius	Aukšto tikslumo termometras
Slėgio indikatorius	Aukšto tikslumo monometras
Matmenys:	
Skersmuo	24 cm
Aukštis	40 cm
Įstrižainė	46,5 cm
Svoris	9 kg

Visą autoklavo ciklą sudaro: šildymo laikas, slėgio susidarymas (kuris trunka apytiksliai 3 min.), sterilizacija (tęsiasi 15 – 20 min.), ir atvėsinimo trukmė, kuri priklauso nuo autoklavuojamos medžiagos. Kieti instrumentai gali būti išimti iškart po slėgio sumažėjimo, stiklas 80 °C temperatūroje maždaug po 30 min, skysčiai 70°C temperatūroje maždaug po 40 min. Paruoštos mitybinės terpės autoklavuojamos 2,7 bar 140°C temperatūroje 30 min. Po autoklavavimo terpės padedamos laminare atvėsinimui.

2.4 Laminaras

Darbe naudotas TELSTAR BV-100 vertikalaus oro srauto laminaras, kurio charakteristikos pateiktos 2.3 lentelėje. Laminare oras pučiamas per aukšto efektingumo HEPA (High-Efficiency Particulate Air) filtrus. Orui praėjus per HEPA filtrus susidaro laminarinis srautas, kuris nusodina ore tvyrančias daleles, bakterijas ir kt., o nusodintos dalelės pašalinamos iš darbinės aplinkos per stalviršyje esančias ertmes. Įprastai laminarai gaminami iš nerūdijančio plieno be jokių tarpų ir suvirinimo siūlų, kad nebūtų sudarytos sąlygos kauptis bakterijoms, virusams ir būtų patogų išvalyti bei dezinfekuoti darbo vietą darbo pabaigoje. Taigi laminaras užtikrina patikimą darbo apsaugą nuo mikroorganizmų ir oro teršalų ir sukuria tinkamas sąlygas darbui su biologiniais mėginiais, ląstelių ir audinių kultūromis. Laminarinėse traukos spintose

įprastai montuojamos UV lempos, kurios įjungiamos 15 min laminaro sterilizavimui prieš darbą. Naudojant 70 % etanolį yra kruopščiai nuvalomi visi laminare esantys instrumentai.

Iš autoklavo išimtos paruoštos mitybinės terpės patalpintos laminare atvėsti. Atvėsusios terpės išpilstomos į foto – bioreaktorius.

2.3. lentelė. Laminaro techniniai duomenys

Laminaro BV-100 charakteristikos	Vienetai	Duomenys
Išoriniai matmentys	IxPxA	1565x845x1290
Vidiniai matmenys	IxPxA	1535x670x700
Oro debitas / Greitis	m ³ /h – m/s	1300 – 0,40
Galia / Svoris	kW / kg	1,0 / 140
Apšvietimas	lux	> 800
Triukšmo lygis	dB (A)	< 60
Filtrai	HEPA/UPLA H14	Efektyvumas: >99.99 %
Ventiliatoriai		Išcentrinis didelio efektyvumo su greičio reguliatoriumi
Maitinimas		220 V – 50 Hz

2.5 *Chlorella vulgaris* dumblių auginimas

2.5.1 Skirtingas tiekiamo oro srautas

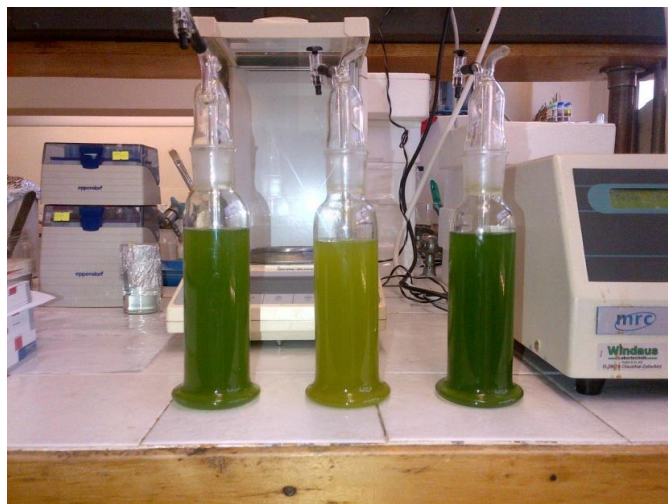
Tyrimui atlikti naudota įranga pavaizduota 2.1 paveiksle. Į tris skirtingas 1 l kolbas supiltos maitinamosios terpės (kurioje yra 0,5 g/l NaNO₃ koncentracija) ir po 5 ml *Chlorella vulgaris* dumblių koncentrato. Naudojantis oro pompomis akvariumui “MOUSE 1” 1,3 l/min ir “JENECA[®]” 4,2 l/min į kolbas per 0,22 μm švirkštinius filtrus tiekto skirtingas oro srautas (0,2 l/min; 0,48 l/min; 0,8 l/min). Tyrimas vykdytas 9 savaites, kurių metu lygintas dumblių augimo intensyvumas ir nustatytas teorinis sausos žaliavos kiekis, po to dumblių terpė centrifuguota ir gauta biomasė yra džiovinta 21 °C temperatūroje. Iš džiovintos medžiagos atlikti lipidų ir bioaktyviųjų medžiagų tyrimai.



2.1 pav. *Chlorella vulgaris* dumblių auginimo aparatūra (1 l kolbose)

2.5.2 Skirtinga mitybinės terpės sudėtis

Auginimo eksperimentas buvo vykdytas 200 ml kolbose (žr. 2.2 pav.), patalpintose inkubatoriuje ~ 21 °C temperatūroje apšviečiant liuminiscencinėmis lempomis TUNGSRAM 18W 24V 20x50. Mitybinės terpės, su skirtingomis NaNO_3 koncentracijomis (0,25 g/l; 0,5 g/l; 1 g/l), ir 10 ml *Chlorella vulgaris* dumblių koncentratu, supiltos į auginimo kolbas. Per 0,22 μm švirkštinius filtrus su „MOUSE 1 1,3 l/min“ akvariumui skirta pompa tiekto vienodas oro srautas ~ 0,16 l/min. Dumblių auginimo tyrimas vykdytas 4 savaites, po to dumblių terpė yra centrifuguota ir gauta biomasė yra džiovinta 21 °C temperatūroje. Po to iš džiovintos biomasės atliekami bioaktyvių medžiagų ir aliejų kiekio tyrimai [31].



2.2 pav. *Chlorella vulgaris* dumblių auginimo aparatūra (200 ml kolbose)

2.6 Šviesos sugerties matavimas

Šviesos sugerties matavimas naudotas nustatant dumblių auginimo intensyvumą. Tyrimui atlikti naudotas spektrofotomentras. Tiriamasis mėginys analizuotas kiekvieną tyrimo savaitę. Paimtas mėginys skiestas su maitinamąją terpę santykiu 1:10 ir su spektrofotometru matuota šviesos sugertis prie 440 nm bangos ilgio.

2.6.1 Sausos žaliavos kiekio nustatymas

Sausos dumblių žaliavos kiekio tyrimas paremtas šviesos sugerties (658 nm) matavimu naudojant spektrofotometrą. Tarp sausos žaliavos masės ir šviesos sugerties esanti tiesinė priklausomybė (koreliacijos koeficientas lygus 0,9962) leidžia apskaičiuoti teorinį išdžiovintų *Chlorella vulgaris* rušies dumblių masę (g/l) pagal formulę [32]:

$$\text{Sausos žaliavos masė } \left(\frac{g}{l}\right) = 0,4818 \cdot A_{658}; \quad R^2 = 0,9962 \quad (1)$$

Čia: A_{658} – Šviesos sugertis prie 658 nm bangos ilgio;

2.7 Nusodinimas ir džiovinimas

Baigus *Chlorella vulgaris* auginimo tyrimą, dumbliai su maitinamąje terpe išpilstyti į 50 ml talpos mėgintuvėlius. Mėginiai centrifuguoti 9000 aps/min 10 minučių. Po centrifugavimo viršutinis maitinamosios terpės sluoksnis išpiltas ir paliktas tik apatinis dumblių sluoksnis. Dumbliai džiovinti 21 °C temperatūroje.

2.8 Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų įvertinimas

Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų nustatymas augalų audiniuose paremtas optinio tankio nustatymu spektrofotometru esant bangos ilgiams:

- Chlorofilui *a* (662 nm);
- Chlorofilui *b* (644 nm);
- Karotinoidams (441 nm).

Chlorofilo *a* ir *b* kiekio nustatymui 1 g išdžiovintų *Chlorella vulgaris* dumblių susmulkinami grūstuvėlyje. Įpilta 15 ml 50 % C_2H_5OH , sumaišoma iki vientisos masės ir filtruojama. Pigmentų išskyrimas vykdytas etanoliu, tol kol filtratas prašviesėja. Nufiltruoto ekstrakto tūris (30–40 ml) išmatuoti cilindru. Vėliau ekstraktai praskiesti etanoliu tol, kol šviesos sugertis praskiestų tirpalų būtų nuo 0,1 A iki 0,8 A. Filtratas supiltas į matavimo kiuvetę ir

matavimai atlikti spektrofotometru esant 662 nm (chlorofilo *a*), 644 nm (chlorofilo *b*) ir 441 nm (karotinoidams) bangų ilgiams [33].

Pigmentų koncentracija (mg l^{-1}) apskaičiuota pagal formules:

Chlorofilo *a* koncentracija (mg l^{-1}):

$$C_a = 9,784 \cdot D_{662} - 0,99 \cdot D_{644}; \quad (2)$$

Chlorofilo *b* koncentracija (mg l^{-1}):

$$C_b = 21,426 \cdot D_{644} - 4,65 \cdot D_{662}; \quad (3)$$

$$C_a + C_b = 5,134 \cdot D_{662} + 20,436 \cdot D_{644}; \quad (4)$$

Karotinoidų koncentracija (mg l^{-1}):

$$C_{\text{karotinoidai}} = 4,695 \cdot D_{441} - 0,268 \cdot (C_a + C_b); \quad (5)$$

Pigmentų kiekis $\text{mg}/100\text{g}$ apskaičiuotas:

$$X = \frac{c \cdot V \cdot V_2 \cdot 100}{n \cdot V_1 \cdot 1000} \quad (6)$$

Čia: *C* – pigmentų koncentracija, mg/l (pvz., 2,895);

V – pradinis ekstrakto tūris, ml (pvz., 83 ml);

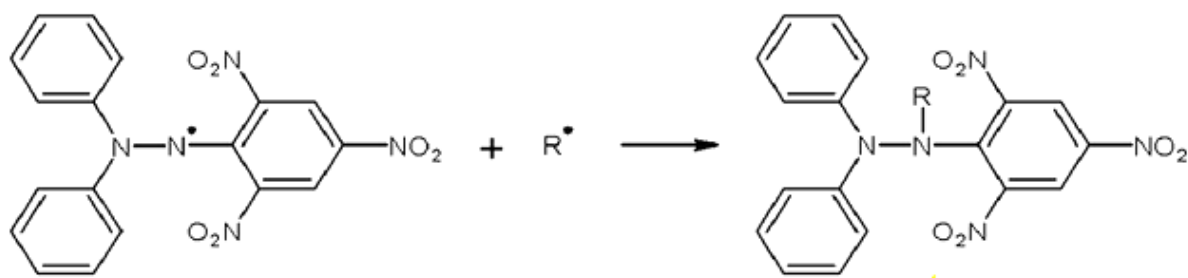
*V*₁ – pradinis ekstrakto tūris, ml , paimtas praskiedimui (pvz., 1 ml);

*V*₂ – praskiesto ekstrakto tūris, ml (pvz., 25 ml);

n – dumblio masė g (pvz., 5 g).

2.9 Antioksidacinis aktyvumas prieš DPPH

Dumblių antiradikalinis aktyvumas įvertintas matuojant, kiek procentų stabilaus 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH) radikalo neutralizuoja fenoliniai junginiai.



2.3. pav. Radikalo DPPH redukcijos reakcija su antioksidantu

Fenoliniams junginiam būdingas antioksidacinis aktyvumas dėl jų gebėjimo išaktyvinti laisvuosius radikalus. Reakcijos metu (žr. 2.3 pav.) antioksidantas atiduoda vandenilį ir taip išaktyvina laisvuosiu radikalus ir jie tampa stabiliais DPPH – H tipo junginiais [34].

Ant 1 g susmulkintų *Chlorella vulgaris* dublių žaliavos užpilta 10 ml metanolio ir homogenizuota 10 min. Homogenatas centrifuguotas 9000 aps/min 10 minučių ir supernatantas surinktas.

Mėgintuvėlio turinys sumaišytas ir po 15 minučių laikymo tamsoje pamatuotas tirpalo šviesos sugertis esant 515 nm bangos ilgiui.

Palyginamasis tirpalas ruoštas į mėgintuvėlį įpilant 0,077 ml metanolio ir 3 ml DPPH etaloninio tirpalo. Etaloninis DPPH tirpalas ruoštas 0,0024 g DPPH radikalo tirpinant metanolyje 100 ml talpos matavimo kolbutėje.

Chlorella vulgaris dumblių antioksidantų kiekis apskaičiuotas pagal 7 formulę:

$$\% \text{ slopinimas} = \frac{(A_B - A_A)}{A_B} \cdot 100 \quad (7)$$

Čia: A_B – palyginamojo tirpalo absorbcijos dydis;

A_A – tiriamojo tirpalo absorbcijos dydis.

2.10 Bendras fenolių ir taninų nustatymas Folino – Kiokalto metodu

Tanino rūgšties tirpalas (0,1 mg/ml) paruošiamas ištirpinant 25 mg tanino rūgšties 25 ml distiliuotame vandenyje (25 ml) ir tada praskiedžiama 1:10 distiliuotu vandeniu (visada naudotas naujai paruoštas reagentas).

Darbo eiga:

0,05 g sausa, susmulkinta dumblių žaliava suberta į 25 ml tūrio stiklinę; 10 ml vandeninio acetono (70 %) yra pridėta į stiklinę ir maišyta kratytuve 20 min kambario temperatūroje. Kolbos turinys perpiltas į centrifuginį mėgintuvėlį ir centrifuguota 10 min 9000 aps./min, -4°C temperatūroje. Supernatantas surinktas ir laikytas ant ledo [35].

Kalibravimo kreives parengimas. Imama 0; 10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80; 90; 100 μl standartinio tanino rūgšties tirpalo į 5 ml mėgintuvėlius. Tada pridedama distiliuoto vandens, kad kiekis mėgintuvėliuose būtų 500 μl . Į šį tirpalą pridėti 250 μl Folino – Kiokalto reagento ir 1,25 ml natrio karbonato tirpalo (galutinis tūris turi būti 2 ml, o koncentracija nuo 0 iki 10 μg). Sumaišomas turinys ir inkubuota kambario temperatūroje tamsoje. Po 40 min išmatuoti absorbciją prieš tuščia mėginį.

Bendras fenolinių junginių kiekio nustatymas. Imama paruošto ekstrakto ir praskiesta vandeniu iki 500 μl . Pridėta į jį 250 μl Folino – Kiokalto reagento, o tada įpilta 1,250 ml natrio karbonato tirpalo. Sumaišoma ir matuota absorbcija tirpalo, esant 725 nm po 40 min laikymo tamsoje. Apskaičiuoti bendrą fenolių kiekį pagal tanino rūgštį (pagal kalibravimo kreivę).

Bendras taninų nustatymas. Pasverti 100 mg PVPP mėgintuvėlyje. Pridėti 1 ml distiliuoto vandens ir pavyzdžio ekstrakto. Maišyta ir laikyta mėgintuvėlyje 4°C 15min., maišyta ir centrifuguota 9000 aps./min 10 min. Surenkamas supernatantas turi tik paprastus fenolius.

Bendras fenolių kiekis mg/100 mg apskaičiuotas pagal 8 formulę:

$$X = \frac{a \cdot V \cdot 100}{n \cdot V_1} \quad (8)$$

Čia: a – tanino rūgšties koncentracija iš kalibravimo kreivės, mg;

V – pradinis ekstrakto tūris, ml;

V₁ – pradinis ekstrakto tūris, ml, paimtas praskiedimui;

n – dublių masė, mg.

Netaniniai fenoliai mg/100mg apskaičiuojami pagal 9 formulę:

$$X = \frac{a \cdot V \cdot V_2 \cdot 100}{n \cdot V_1} \quad (9)$$

Čia: a – tanino rūgšties koncentracija iš kalibravimo kreivės, mg;

V – pradinis ekstrakto tūris, ml;

V₁ – pradinis ekstrakto tūris, ml, paimtas praskiedimui;

V₂ – praskiesto ekstrakto tūris, ml;

n – dublių masė, mg.

Taninai (mg/100 mg) = bendras fenolinių kiekis (mg/100 mg) – netaniniai fenoliai (mg/100 mg)

2.11 Baltymų ekstrakcija iš *Chlorella vulgaris* dumblių

Baltymų kiekio nustatymas remiasi Bradfordo metodu. Metodas pagrįstas specifine baltymų sąveika su Kumasi briliantiniu mėliu (Coomassie brilliant blue R250) ir susidariusios kompleksio koncentracijos matavimu spektrofotometriškai esant 595 nm bangos ilgiui [36].

Augalinė medžiaga užpilta buferiniais tirpalais ir maišyta vieną valandą bei po to nucentrifuguota 9000 aps./min 20 min esant –4 °C. Baltymų kiekis apskaičiuotas iš kalibravimo kreivės, kuri sudaryta pagal albumino tirpalo 1 mg/ml koncentracijas.

Baltymų ekstrakcijai naudojami buferiai:

- 1) 0,1 M Glicinas – HCl pH=2,6.
- 2) 0,1 M Natrio acetatas pH=4,0;
0,1 M CH₃COOH;
0,1 M Natrio acetatas.
- 3) 0,1 M Natrio acetatas pH=6,0;
0,1 M CH₃COOH;
0,1 M Natrio acetatas.
- 4) 0,1 M Tris – HCl pH=8,0;
100 ml 0,1 M Tris ir 0,1 M HCl.

5) 0,1 M Natrio boratas pH=10;

Visi turi 0,15 M NaCl.

Kiekvieno buferinio tirpalo imta po 2 ml, po centrifugavimo paimti 100 µl ekstrakto, pridėti Bradfordo reagento (2 ml). Po 2 minučių matuota šviesos sugertis. Bendras baltymų kiekis X (mg/100 mg) apskaičiuotas pagal (10) formulę:

$$X = \frac{a \cdot V \cdot 100}{n \cdot V_1} \quad (10)$$

Čia: a – baltymo koncentracija iš kalibravimo kreivės, mg;

V – pradinis ekstrakto tūris, ml;

V₁ – pradinis ekstrakto tūris, ml, paimtas praskiedimui;

n – dublių masė, mg.

2.12 Visuminio, anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekio nustatymas

Bandymo sąlygos

Bandymo metu turi būti tenkinamos šios sąlygos:

- aplinkos temperatūra 15 – 35 °C;
- santykinis oro drėgnumas 30 – 85 %;
- atmosferos slėgis 86 – 106 kPa;
- pagrindas po įranga turi būti tvirtas, stabilus ir horizontalus;
- įranga neturi būti veikiamą vibracijos ir smūgių;
- įranga neturi būti veikiamą tiesioginių saulės spindulių, stiprių skersvėjų bei didelių temperatūros svyravimų.

Dumblių visuminio anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekio nustatymas atliktas automatizuotu elementų analizatoriumi Flash 2000. Dumblių mėginys, elektroninėmis svarstyklėmis XP6, pasveriamas alavo ar sidabro taroje. Pasvertas bandinys dėtas į pagrindinį elementų analizatorių Flash 2000 ir sudegintas ypač oksiduojančioje aplinkoje esant 1800 °C temperatūros. Nustatinėjant deguonies kiekį, ėminys išskaidomas pirolizės būdu. Po degimo ar pirolizės proceso susidaręs dujų mišinys patenka į chromatografinę kolonėlę, kurioje komponentai išskirstomi ir patenka į šiluminio laidumo detektorių. Pagal detektoriaus signalus programinė įranga Eager Xperience nustato anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies elementų kiekį bandinyje masės dalies procentais.

Visuminio anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekio skaičiavimai

Sauso mėginio visuminiai anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekiai apskaičiuoti pagal 11 – 15 formules [37]:

$$C_d = C_{ad} \cdot \frac{100}{100 - M_{ad}}, \%; \quad (11)$$

$$H_d = \left(H_{ad} - \frac{M_{ad}}{8,937} \right) \cdot \frac{100}{100 - M_{ad}}, \%; \quad (12)$$

$$N_d = N_{ad} \cdot \frac{100}{100 - M_{ad}}, \%; \quad (13)$$

$$S_d = S_{ad} \cdot \frac{100}{100 - M_{ad}}, \%; \quad (14)$$

$$O_d = \left(O_{ad} - \frac{M_{ad}}{1,126} \right) \cdot \frac{100}{100 - M_{ad}}, \%; \quad (15)$$

Čia: $C_{ad}, H_{ad}, N_{ad}, S_{ad}, O_{ad}$ – analizatoriumi nustatyti elementų kiekiai, %;

M_{ad} – bendrosios analizės mėginio drėgmė, %.

2.12.1 Baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekis *Chlorella vulgaris* dumbliuose

Iš visuminio anglies, vandenilio, azoto, deguonies, pelenų kiekio galima žymiai lengviau suskaičiuoti baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekius lyginant su tradiciniais analizavimo metodais. Akivaizdu, kad dumbliai, vykstant junginių sintezei, turi pasisavinti didelį kiekį deguonies iš anglies dvideginio (CO_2) ir vandens (H_2O). Cheminiu požiūriu, tai redukcijos procesas, kurio metu sunaudota energija yra fiksuojama sintezės metu susidariusiuose junginiuose. Anglies redukcijos laipsnis (R vertė) susijęs su vandenilio ir deguonies kiekiais organiniuose junginiuose. Žinoma, kad oksidacijos ir redukcijos procesai yra priešingi vienas kitam, todėl daugiausiai oksiduotas anglies junginys (anglies dioksidas) gali tik redukuotis iki kitos anglies formos. Metanas – labiausiai redukuotas anglies junginys, jis turi didžiausią anglies redukcijos laipsnį $R = 100$, anglies dioksido – $R=0$ [38].

R vertė organiniuose junginiuose gali būti apskaičiuojama ir matuojant junginio oksidacijos laipsnį, konvertuojant anglį į anglies dioksidą ir vandenilį į vandenį. Nes energijos kiekis, kuris išsiskiria degimo metu, lygus energijai, kuri būtų reikalinga redukuoti iki to pačio junginio. R vertė dumbliuose apskaičiuojama žinant visuminį anglies, vandenilio, azoto ir deguonies kiekį.

Išreiškta bendra formulė R vertei apskaičiuoti:

$$R = \frac{[(C \% \cdot 2,664) + (H \% \cdot 7,936) - O \%] \cdot 100}{398,9} \quad (16)$$

Siera ir fosforas taip pat įeina į dumblių sudėtį ir turi įtakos redukcinei vertei. Tačiau jų kiekis žaliavoje labai mažas, todėl jų kiekiai R vertei nereikšmingi (jei aptinkama žaliavoje 1 % sieros, tai R vertė pakinta per 0,4).

Apskaičiavus redukcinę vertę ir turint visuminio anglies, vandenilio, azoto, deguonies kiekius, galime apskaičiuoti baltymų (B), angliavandenių (A) ir lipidų (L) kiekius išdžiovintoje žaliavoje pagal lygtis:

$$(A \% \cdot 28) + (B \% \cdot 42) + (L \% \cdot 67,5) = R \cdot 100 \quad (17)$$

$$A \% + B \% + L \% = 100 \quad (18)$$

$$N \% \cdot 6,25 = B \% \quad (19)$$

Čia: R – Redukcinė vertė;

A – angliavandenių kiekis sausoje žaliavoje, %;

B – Baltymų kiekis sausoje žaliavoje, %;

L – Lipidų kiekis sausoje žaliavoje, %;

N – Azoto kiekis sausoje žaliavoje, %.

3. Rezultatai

3.1 Tiriamoji medžiaga

Magistrinio darbo tyrimai atlikti Kauno technologijos universitete, Cheminės technologijos fakulteto Biotechnologijos laboratorijoje.

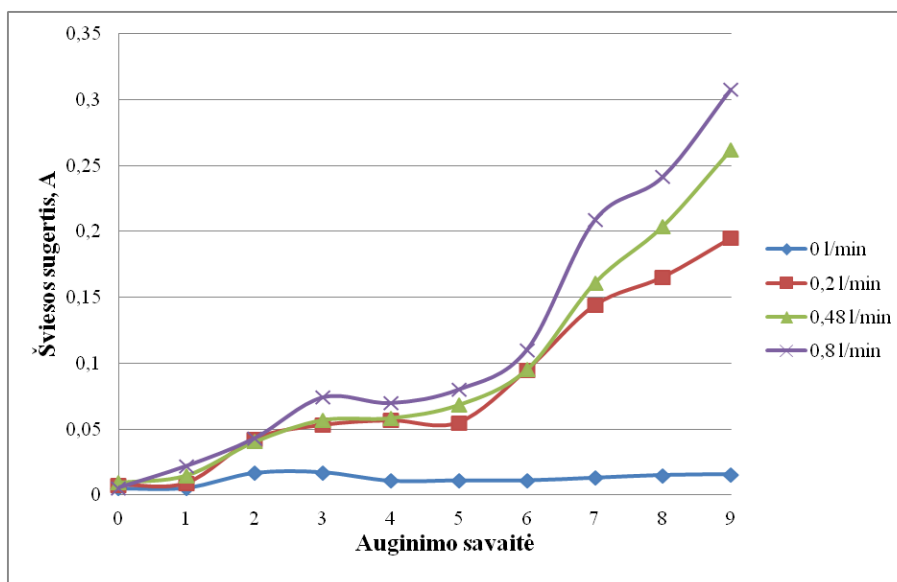
Tiriamoji medžiaga: *Chlorella vulgaris* rūšies dumbliai gauti iš Vilniaus universiteto. Siekiant nustatyti efektyviausias dumblių auginimo sąlygas buvo atliktas tyrimas, naudojant skirtingus tiekiamo oro srautus ir nitratų kiekius maitinamoje terpėje.

3.2 Skirtingas tiekiamo oro srautas į mitybinę terpę

Skirtingas tiekiamo oro srauto tyrimas atliktas naudojantis 2.5.1 metodika. Pastebėjus, kad 4 tyrimo savaitę sparčiai mažėja *Chlorella vulgaris* dumblių teorinis masės prieaugis, nuspręsta maitinamąsias terpes papildyti tirpalais: 10 ml tirpalu A, 1 ml tirpalu B ir 0,1 ml tirpalu C (skaityti 2.2 metodiką).

3.2.1 Augimo intensyvumo įvertinimas

Augimo intensyvumas nustatytas šviesos sugerties matavimu esant 440 nm bangos ilgio. Tiriamasis mėginys iš auginimo reaktoriaus paimamas nustatytu laiku. Rezultatai pavaizduoti 3.1 paveiksle.

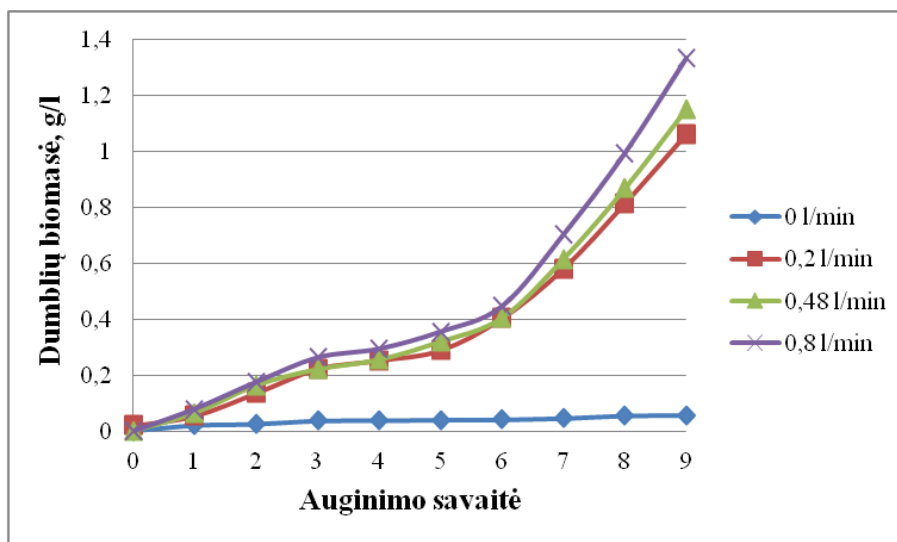


3.1. pav. *Chlorella vulgaris* šviesos sugerties priklausomybė nuo auginimo laiko tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Iš gautų rezultatų (žr. 3.1 pav.) matyti, kad dumblių auginimo intensyvumas tiesiogiai priklauso nuo tiekiamo oro srauto į maitinamąją terpę. O didžiausi augimo intensyvumai (0,3078 A, 0,262 A) priklauso tiekiant į sistemą 0,8, 0,48 l/min oro srautus.

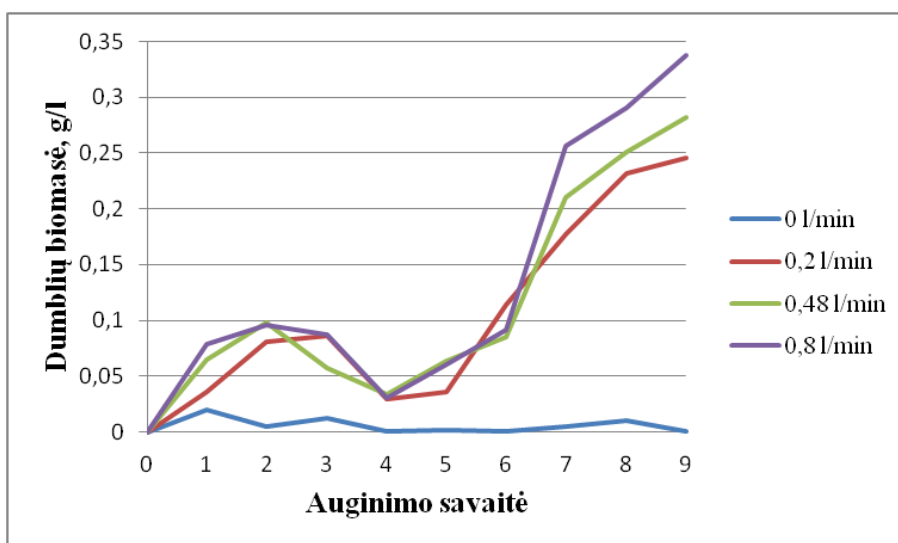
3.2.2 Sausos žaliavos kiekio nustatymas

Sausos dumblių žaliavos kiekio tyrimas paremtas šviesos sugerties (658 nm) matavimu naudojant spektrofotometrą. Koreliacijos koeficientas lygus 0,9962, tai rodo, kad galima patikimai apskaičiuoti teorinę išdžiovintų *Chlorella vulgaris* rūšies dumblių masę augimo metu, neišdžiovinant pačios auginamosios masės. Rezultatai pavaizduoti 3.2 paveiksle.



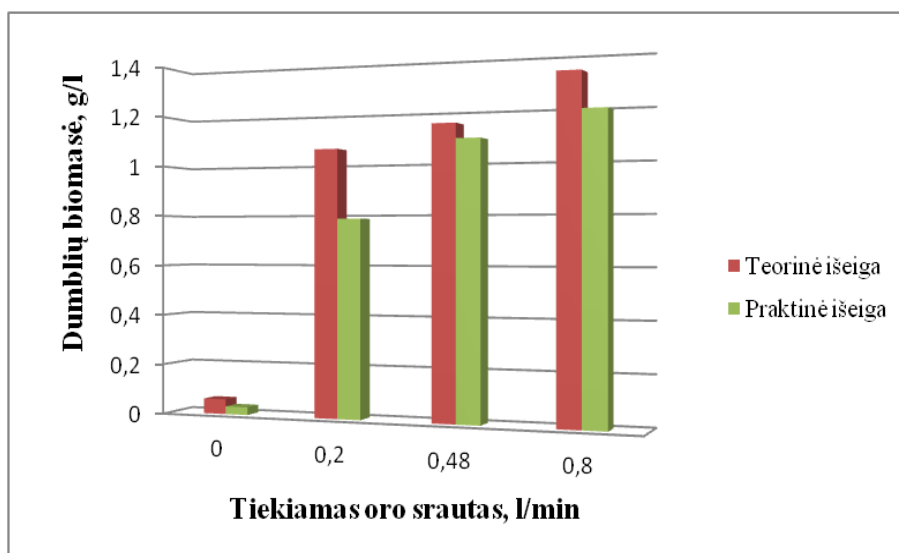
3.2. pav. Teorinė išdžiovintų *Chlorella vulgaris* dumblių biomasė (g), kuri auginama 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Iš grafiko (žr. 3.2 pav.) matyti, kad didžiausi teoriniai išdžiovintų dumblių kiekiai (1,331, 1,149 g/l), susidarė, kai į maitinamąją terpę buvo tiekiami 0,8, 0,48 l/min oro srautai. Taip pat netiekiant į auginimo sistemą oro, per 9 auginimo savaites teorinė išdžiovintų dumblių masė padidėjo nuo 0,0029 g/l iki 0,059 g/l.



3.3. pav. Teorinis išdžiovintų *Chlorella vulgaris* dumblių biomasės prieaugis (g), kuris auginamas 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Iš gautų rezultatų (3.3 pav.) matyti, kad didžiausi teoriniai išdžiovintų dumblių prieaugio kiekiai (0,338, 0,282 g/l) susidarė, kai į maitinamąją terpę buvo tiekiami 0,8, 0,48 l/min oro srautai. Taip pat neaprupinus auginimo sistemos oru, per 9 auginimo savaites teorinė išdžiovintų dumblių masė padidėjo tik 0,0571 g/l. 2 tyrimo savaitę dumblių prieaugio mažėjimą sukėlė per maži maistingų medžiagų kiekiai maitinamojoje terpėje, todėl 4 auginimo savaitę, papildyta maitinamoji terpė mineralų kiekiais.

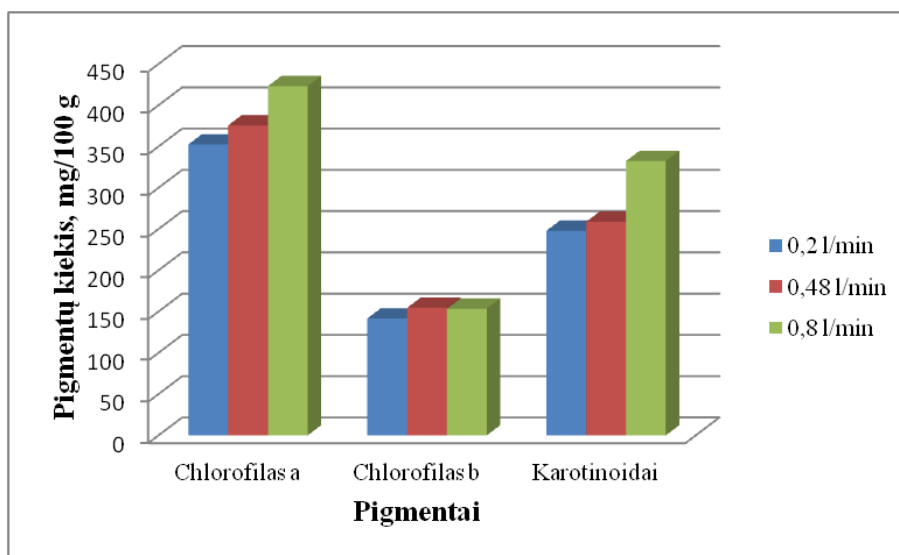


3.4. pav. Teorinė (matuojant šviesos sugertį 9 tyrimo savaitę) ir praktinė (po 9 savaitžių auginimo išdžiovinta žaliava) *Chlorella vulgaris* dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Iš grafiko (3.4 pav.) matyti, kad teorinė išdžiovintų dumblių biomasė tiekiant į sistemą skirtingus oro srautus, yra didesnė negu praktinė (pvz.: tiekiant 0,8 l/min, teorinė išeiga lygi 1,331 g/l, o praktinė – 1,189 g/l). Teoriniais skaičiavimais negalima pasitikėti (paklaidos: tiekiant 0,8 ml/l – 10,7 %; 0,48 l/min – 5,1 %; 0,2 l/min – 25,%; 0 l/min – 47,5 %), tačiau teorinius išdžiovintų dumblių masės pokyčius galima naudoti proceso stebėjimui ir analizavimui.

3.2.3 Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų įvertinimas

Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekiai buvo nustatyti dumbliuose po 9 savaitžių auginimo, tiekiant į auginimo reaktorių skirtingus oro srautus. Rezultatai pavaizduoti 3.5 paveiksle.

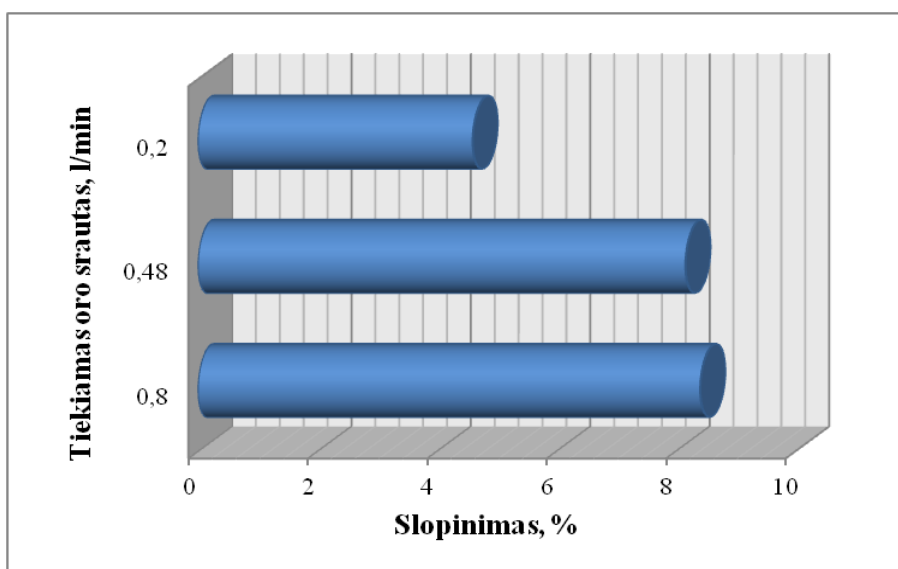


3.5 pav. Dumblių chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekių palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Iš diagramos (3.5 pav.) duomenų matyti, jog dumbliai pasižymi dideliu chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekiais, o didžiausiu kiekiu (chlorofilas *a* – 423,22 mg/100 g; chlorofilas *b* – 153,56 mg/100 g; karotinoidai – 332,467 mg/100 g) pasižymėjo, kai į maitinamąją terpę buvo tiekiamas 0,8 l/min oro tūrio srautas.

3.2.4 Antioksidacinis aktyvumas prieš DPPH įvertinimas

Antioksidantinis poveikis dumблиuose buvo nustatytas pagal 2.9 metodiką, o rezultatai pavaizduoti 3.6 paveiksle.

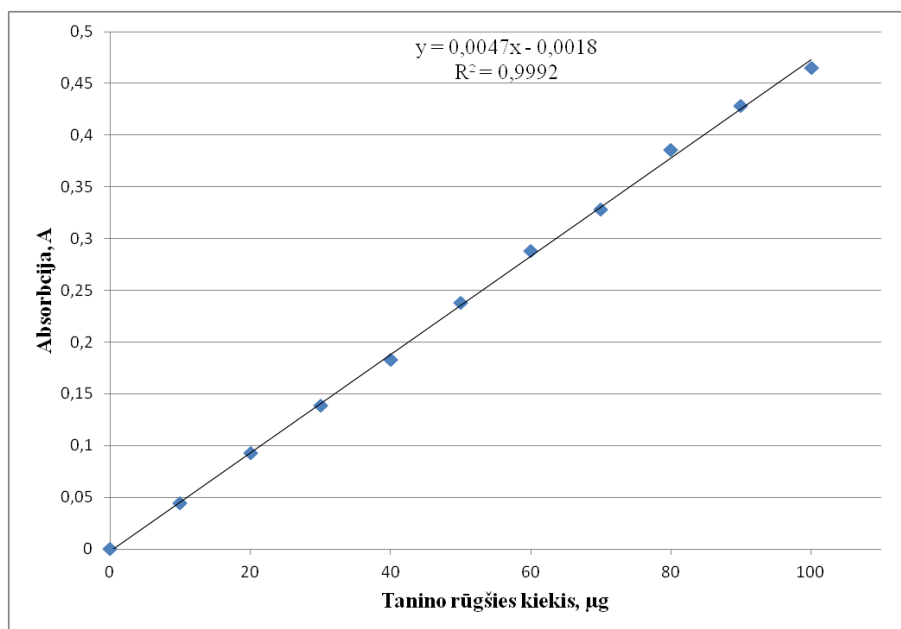


3.6. pav. Dumblių antioksidantinio aktyvumo palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Pagal diagramos (3.6 pav.) duomenis matyti, kad didžiausią antioksidantinį poveikį (8,416 %) turi dumbliai, kurie buvo auginti tiekiant į maitinamąją terpę 0,8 l/min oro srautą.

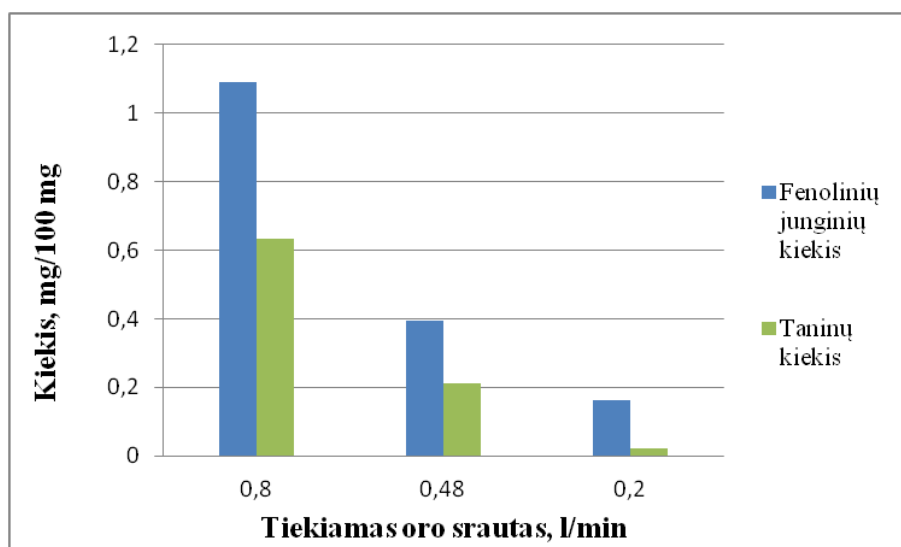
3.2.5 Bendras fenolių ir taninų įvertinimas Folino – Kiokalto metodu

Bendrajam fenolinių junginių ir taninų kiekiui nustatyti buvo pagamintas 0,1 mg/ml tanino rūgšties tirpalas ir sudaryta kalibracinė kreivė, pagal kurią buvo apskaičiuoti fenolinių junginių bei tanininių junginių kiekiai. 3.7 paveiksle yra pateikta kalibracinė kreivė, kurios koreliacijos koeficientas lygus 0,9992. Šis skaičius labai artimas idealiam koreliacijos koeficientui, todėl galime naudotis kalibracine kreive ir atlikti tolimesnius veiksmus.



3.7. pav. Kalibracinė kreivė bendram fenolinių junginių ir taninų nustatymui

Pasinaudojus kalibracinės kreivės gauta lygtimi, buvo apskaičiuota fenolinių junginių ir taninų kiekiai dumbluose (3.8 pav.).

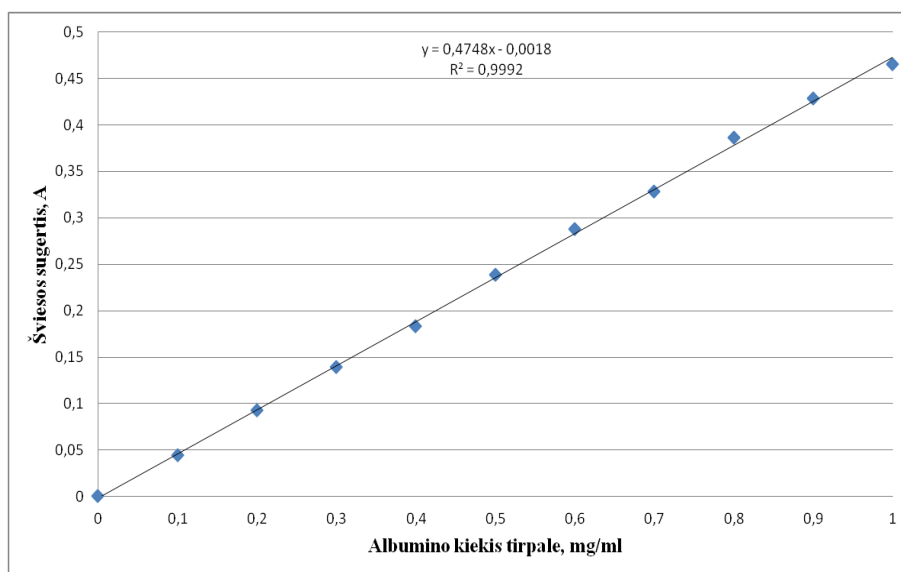


3.8. pav. Dumplių fenolinių junginių ir taninų kiekių palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

3.8 paveiksle matyti, kad fenolinių junginių kiekiai yra didesni nei taninų kiekiai. O didžiausiais fenolinių junginių (1,091 mg/100 mg) ir taininų (0,632 mg/100 mg) kiekiais pasižymėjo dumbliai, kuriems auginti buvo naudojama 0,8 l/min oro srautas.

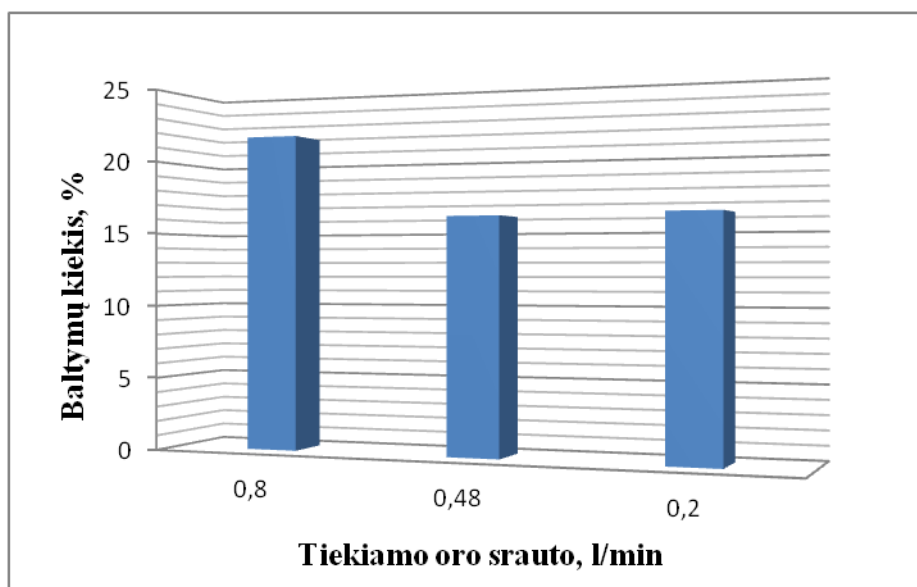
3.2.6 Baltymų kiekio įvertinimas

Baltymų nustatymui naudojama kalibracinė kreivė, jai gauti buvo naudojamas standartinis albumino tirpalas, kur albumino kiekis tirpale buvo nuo 0 iki 1 mg/ml. Sudarytos kalibracinės kreivės koreliacijos koeficientas lygus 0,9992, tai reiškia, kad kalibraciniai tirpalai buvo paruošti teisingai ir kreive galima pasikliauti tolimesnėms baltymų analizėms (3.9 pav).



3.9. pav. Kalibracinė kreivė baltymų kiekiui nustatyti

Baltymų kiekiai buvo apskaičiuoti naudojant kalibracinės kreivės lygtį $x = \frac{(y+0,0018)}{0,4748}$ ir gauti tikslūs rezultatai pateikti sekančioje diagramoje (3.10 pav.).



3.10. pav. Dumblų baltymų kiekių palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

Nustačius dumbliuose esančius baltymų kiekius, pagal diagramos duomenis (žr. 3.10 pav.) galime daryti išvadą, jog didžiausiu baltymų kiekiu (20,5 %) pasižymėjo dumbliai, kuriems auginti buvo naudojama 0,8 l/min oro srautas.

3.2.7 Visuminio anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekių nustatymo dumbliuose rezultatai

Po 9 savaičių auginimo *Chlorella vulgaris* dumblių terpės (į kurias tiekiamas skirtingas oro srautas) buvo centrifuguojamos ir džiovinamos 21 °C temperatūroje. Sausa masė buvo susmulkinta ir naudojantis Flash 2000 analizatoriumi ir programine įranga Eager Xperience buvo nustatyti anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies elementų kiekiai bandinyje masės dalies procentais. Rezultatai pateikti 3.1 lentelėje.

3.1. lentelė. Visuminiai anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekiai tiekiant į maitinamąją terpę skirtingus oro srautus

Oro tūrio srautas, l/min	0	0,2	0,48	0,8
Cheminis elementas				
Azotas (N)	7,597	2,523	2,572	3,014
	7,510	2,436	2,554	3,523
	7,551	2,481	2,552	3,255
Vidurkis	7,553	2,480	2,560	3,264
Anglis (C)	47,274	51,556	53,308	54,641
	47,478	51,658	52,997	55,684
	47,346	51,602	53,144	54,264
Vidurkis	47,366	51,605	53,149	54,863
Vandenilis (H)	6,967	7,876	8,112	8,002
	7,001	7,939	8,114	7,956
	6,975	7,906	8,104	7,897
Vidurkis	6,981	7,907	8,110	7,952
Siera (S)	0,571	0,173	0,145	0,123
	0,572	0,125	0,144	0,248
	0,571	0,149	0,145	0,185
Vidurkis	0,571	0,149	0,145	0,185
Deguonis (O)	37,591	37,872	35,863	34,220
	37,438	37,842	36,192	32,589
	37,557	37,862	36,055	34,400
Vidurkis	37,529	37,859	36,037	33,736

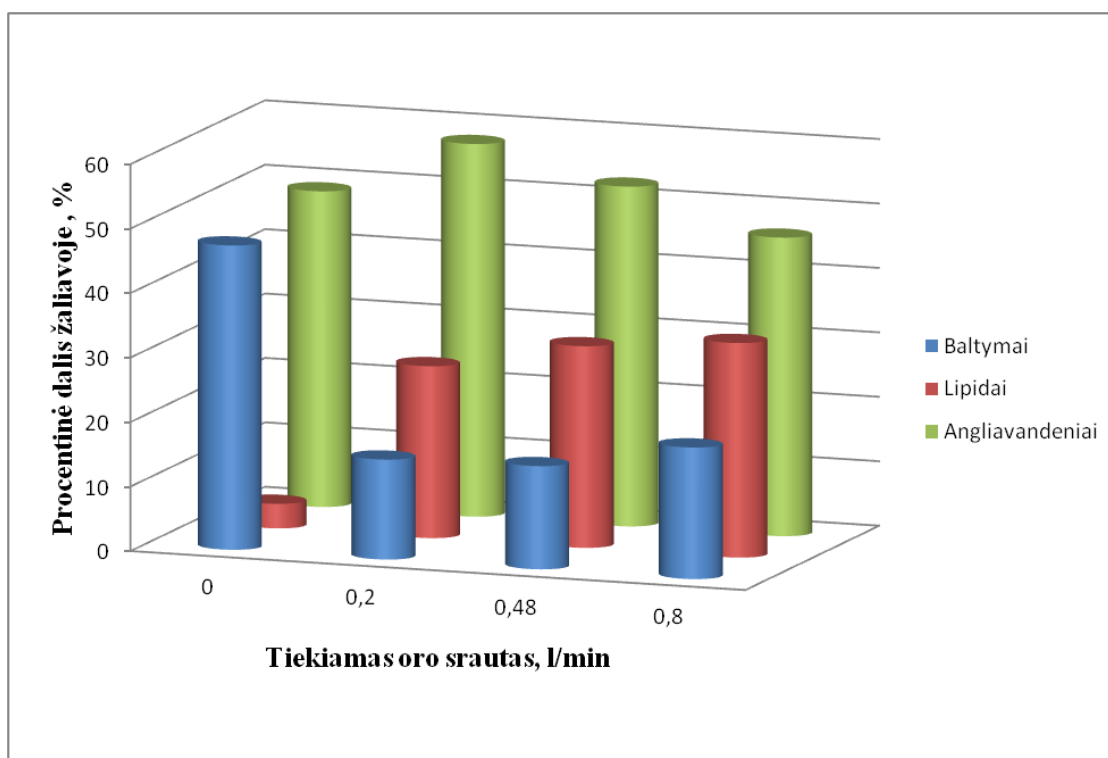
3.2.8 Baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekis *Chlorella vulgaris* dumbliuose

Iš visuminio anglies, vandenilio, azoto, deguonies kiekio galima apskaičiuoti baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekius. Pirmiausiai yra apskaičiuojama redukcinė reikšmė (R reikšmė) naudojantis 16 formule. Pagal 2.12.1 metodiką, sieros kiekis *Chlorella vulgaris* dumbliuose yra nereikšmingas, todėl skaičiavimuose jo nenaudosime. Rezultatai pateikti 3.2 lentelėje.

3.2. lentelė. Dumblių, kuriems auginti buvo naudojamas skirtingas oro srautas, redukcinė reikšmė

Oro tūrio srautas, l/min	0	0,2	0,48	0,8
R reikšmė	36,11	40,70	42,60	44,00

Apskaičiavus redukcinę vertę ir žinant azoto kiekį, galime apskaičiuoti baltymų (B), angliavandenių (A) ir lipidų (L) kiekius išdžiovintoje žaliavoje pagal 2.12.2 metodiką.



3.11. pav. Baltymų, lipidų, angliavandenių kiekių dumbliuose palyginimas tiekiant skirtingus oro srautus į maitinamąją terpę

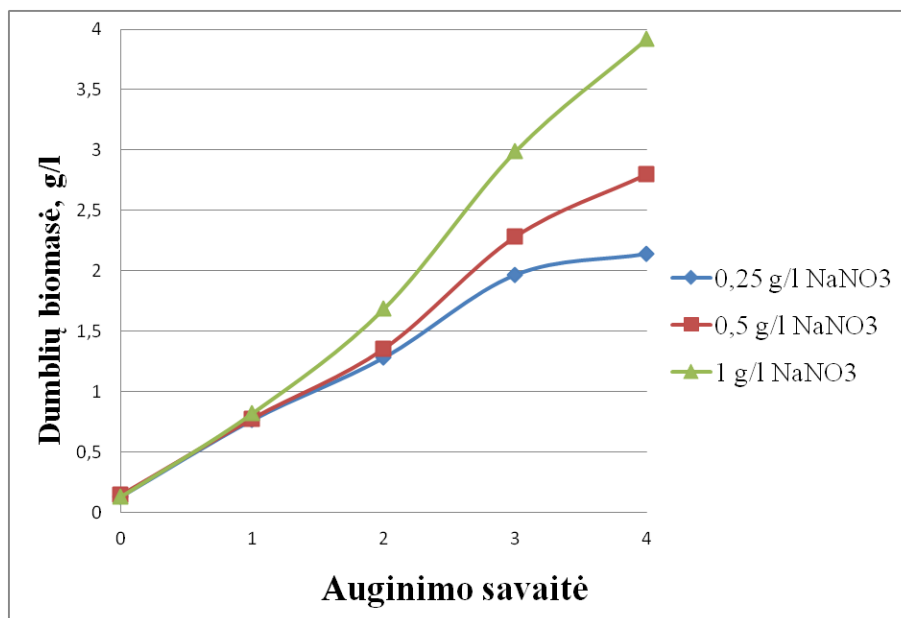
Iš diagramos (3.11 pav.) matyti, kad didėjant tiekiamo oro srautui, baltymų ir lipidų kiekiai didėja, o angliavandenių kiekiai mažėja (neatsižvelgiama į dumblius, kurie buvo auginami netiekiant oro srauto, nes masės prieaugis tesiekė 0,0517 g/l). Didžiausi baltymų (20,40 %) ir lipidų (33,28 %) kiekiai susidarė, naudojant 0,8 l/min oro srautą. O didžiausi angliavandenių (57,83 %) kiekiai – 0,2 l/min oro srautą.

3.3 Skirtinga NaNO₃ koncentracija maitinamojoje terpėje

Šio tyrimo metu žalieji dumbliai buvo auginami 4 savaites, 200 ml kolbose, į jas tiekiant ~0,16 l/min oro srautą ir naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas (0,25, 0,5, 1 g/l) maitinamojoje terpėje. Pastebėjus, kad 2 tyrimo savaitę, sparčiai mažėja *Chlorella vulgaris* dumblių teorinis sausos biomasės prieaugis, nuspręsta visas auginimo terpės papildyti atitinkamais paruoštų mitybinių terpių tirpalais: 10 ml tirpalu A, 1 ml tirpalu B ir 0,1 ml tirpalu C (skaityti 2.2 metodiką).

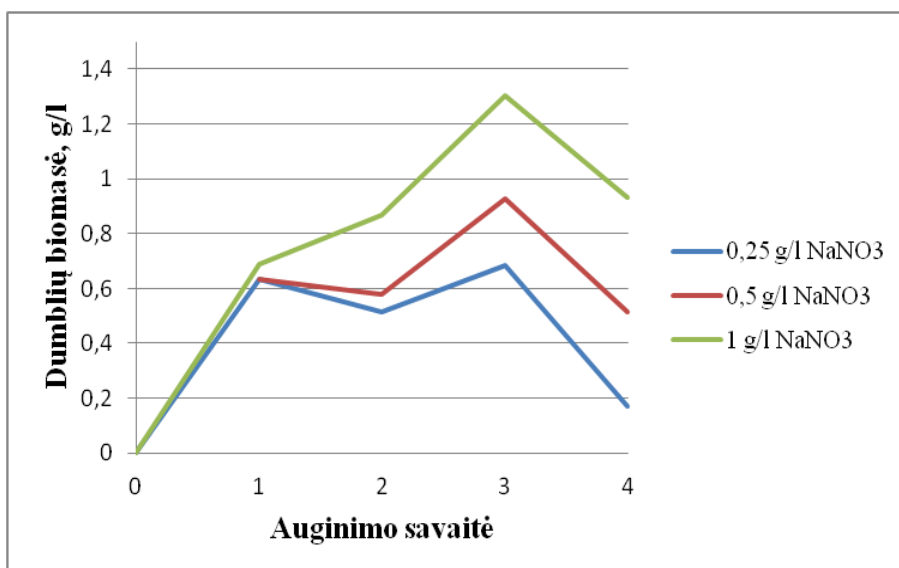
3.3.1 Sausos žaliavos kiekio nustatymas

Sausos dumblių žaliavos kiekio nustatymas vykdyta pagal 2.6.1 metodiką. Koreliacijos koeficientas lygus 0,9962, rodo, kad galima patikimai apskaičiuoti teorinę išdžiovintų *Chlorella vulgaris* rūšies dumblių masę augimo metu, neišdžiovinant pačios auginamosios masės. Rezultatai pavaizduoti 3.12 paveiksle.



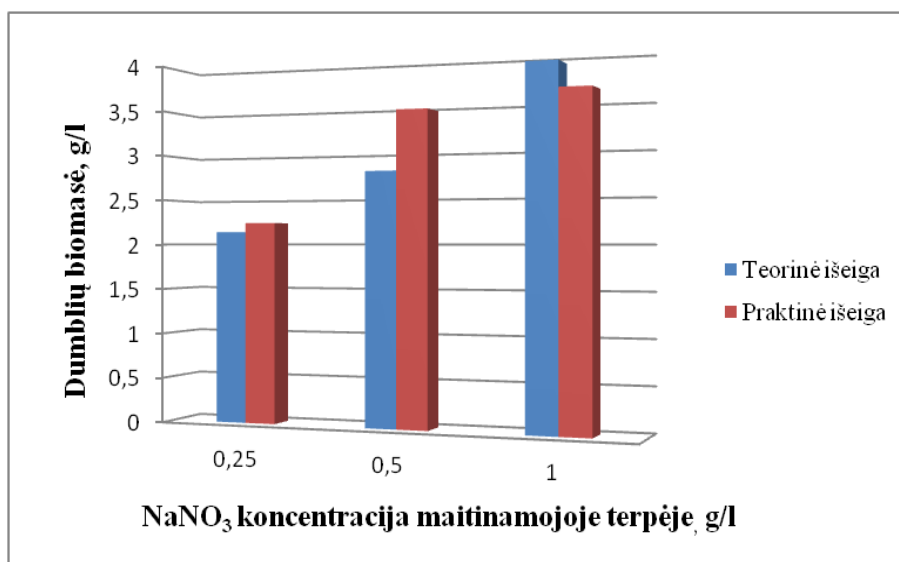
3.12. pav. Teorinė išdžiovintų *Chlorella vulgaris* dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais, skirtingose mitybinėse terpėse

Iš grafiko (3.12 pav.) matyti, kad didžiausi teoriniai išdžiovintų dumblių kiekiai (3,922, 2,800 g/l) susidarė, kai maitinamojoje terpėje buvo 1, 0,5 g/l NaNO₃ koncentracija.



3.13. pav. Teorinis išdžiovintų *Chlorella vulgaris* dumblių biomasės prieaugis (g), kuris augintas 1 l tūryje, skirtingais auginimo laikotarpiais, skirtingose mitybinėse terpėse

Iš gautų rezultatų (3.13 pav.) matyti, kad didžiausi teoriniai išdžiovintų dumblių prieaugio kiekiai (0,932, 0,516 g/l) susidarė, kai maitinamojoje terpėje buvo 1, 0,5 g/l NaNO₃ koncentracija. 1 ir 3 tyrimo savaitę sausos biomasės prieaugio mažėjimą sukėlė per maži mineralinių medžiagų kiekiai maitinamojoje terpėje, todėl 2 auginimo savaitę maitinamoji terpė buvo papildyta mineralų kiekiais.



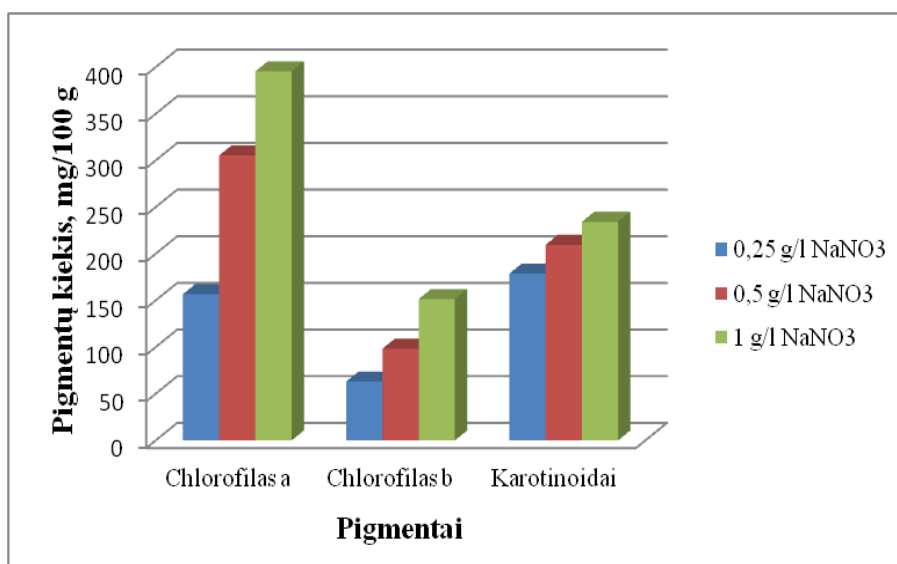
3.14. pav. Teorinė (matuojant šviesos sugertį 4 tyrimo savaitę) ir praktinė (po 4 savaičių auginimo išdžiovinta žaliava) *Chlorella vulgaris* dumblių biomasė (g), kuri auginta 1 l tūryje, naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje

Iš grafiko (3.14 pav.) matyti, kad teorinė išdžiovintų dumblių biomasė (2,80, 2,14 g/l), kai buvo naudojama 0,25, 0,5 g/l NaNO₃ koncentracijos maitinamojoje terpėje, yra mažesnė negu praktinė (2,24, 3,45 g/l). O naudojant maitinamojoje terpėje 1 g/l NaNO₃ koncentracija, teorine išeiga (3,92 g/l) gavome didesnę, nei praktinę (3,64 g/l). Teoriniais skaičiavimais negalima

pasitikėti (paklaidos: naudojant 0,25 g/l NaNO₃ – 4,51 %, 0,5 g/l – 19,08 %, 1 g/l – 7,19 %), tačiau teorinius dumblių masės pokyčius galima naudoti proceso stebėjimui ir analizavimui.

3.3.2 Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų įvertinimas

Chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekiai buvo nustatyti dumbliuose po 4 tyrimo savaičių naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje. Rezultatai pavaizduoti 3.15 paveiksle.

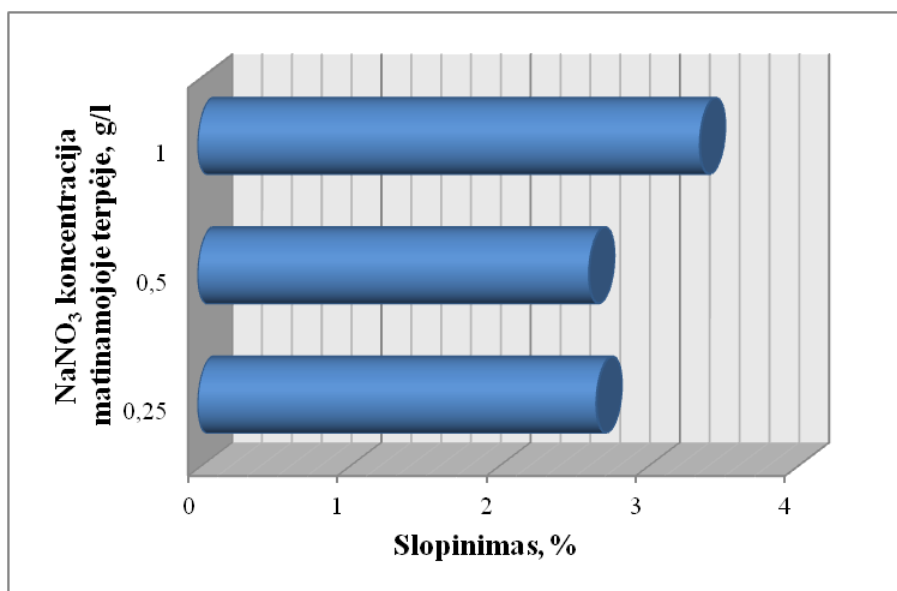


3.15. pav. Dumblių chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekių palyginimas naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas mitybinėje terpėje

Iš diagramos (žr. 3.15 pav.) duomenų matyti, jog dumbliai pasižymėjo dideliais chlorofilo *a* ir *b* bei karotinoidų kiekiais, o didžiausiu kiekiu (chlorofilas *a* – 390,52 mg/ 100g; chlorofilas *b* – 151,46 mg/100 g; karotinoidai – 234,30 mg/100 g) pasižymėjo, kai maitinamojoje terpėje buvo 1 g/l NaNO₃ koncentracija.

3.3.3 Antioksidacinis aktyvumas prieš DPPH įvertinimas

Antioksidantinis poveikis dumbliuose buvo nustatytas pagal 2.9 metodiką, o rezultatai pavaizduoti 3.16 paveiksle.

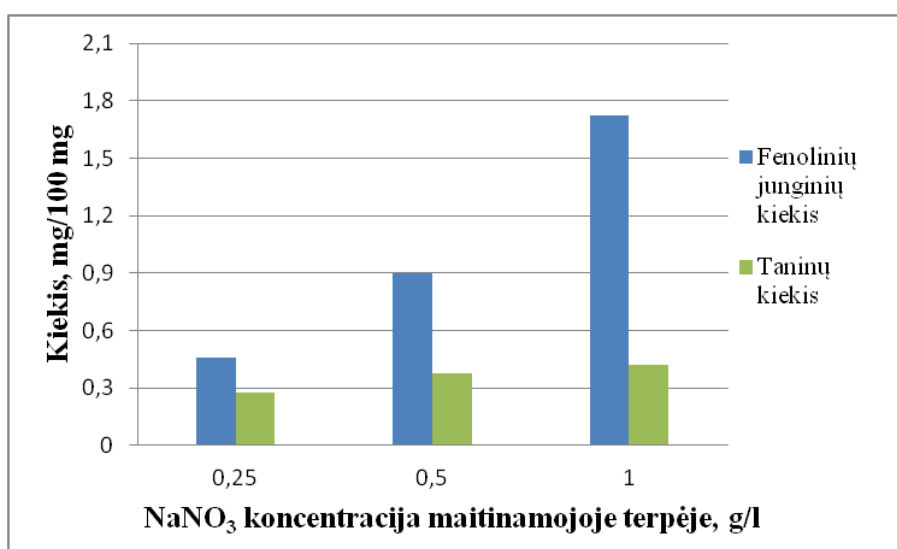


3.16. pav. Dumблиų antioksidantinio aktyvumo palyginimas naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje

Pagal diagramos (3.16 pav.) duomenis matyti, kad didžiausią antioksidantinę poveikį (3,37 %) turi dumблиai, kurie buvo auginti naudojant 1 g/l NaNO₃ koncentracija maitinamojoje terpėje.

3.3.4 Bendras fenolinių ir taninų įvertinimas Folino – Kiokalto metodu

Naudojantis kalibracine kreive, kurios patikimumas lygus 0,9992 buvo nustatytas bendras fenolinių junginių kiekis, o rezultatai pavaizduoti 3.17 paveiksle.

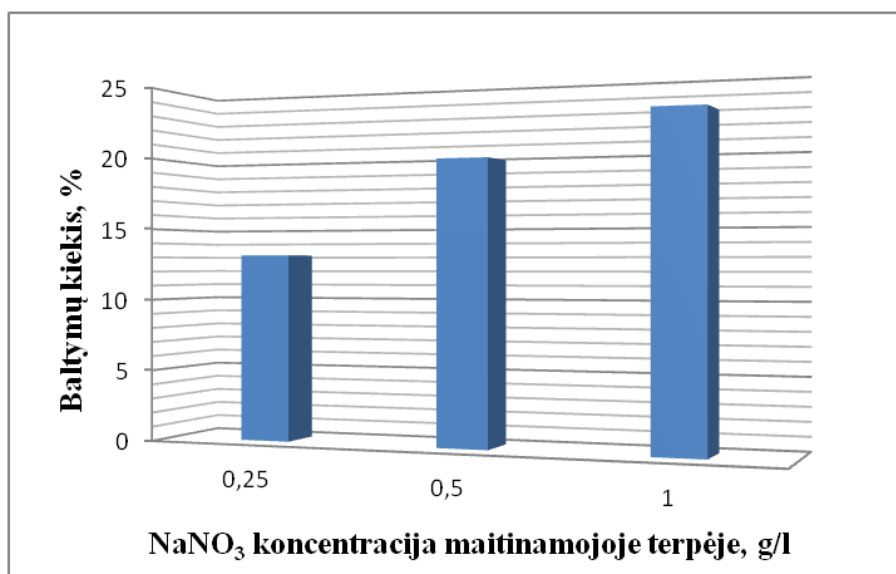


3.17. pav. Dumблиų fenolinių junginių ir taninų kiekių palyginimas naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje

3.17 paveiksle matyti, kad fenolinių junginių kiekiai yra didesni nei taninų kiekiai. Didžiausiu fenolinių junginių (1,722 mg/100 mg) ir taninų (0,421 mg/100 mg) kiekiais pasižymėjo dumbliai, kurie buvo auginti maitinamojoje terpėje su 1 g/l NaNO₃ koncentracija.

3.3.5 Baltymų kiekio įvertinimas

Baltymų kiekis *Chlorella vulgaris* dumbliuose buvo nustatytas pagal 2.11 metodiką, o rezultatai pavaizduoti 3.18 paveiksle.



3.18. pav. Baltymų kiekių palyginimas dumbliuose, naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje

Nustačius baltymų kiekius, pagal diagramos duomenis (3.18 pav.) galime daryti išvadą, jog didžiausiu baltymų kiekiu (22,75 %) pasižymėjo dumbliai, auginti maitinamojoje terpėje, esant 1 g/l NaNO₃ koncentracijai.

3.3.6 Visuminio anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekių nustatymo dumbliuose rezultatai

Po 4 savaičių tyrimo *Chlorella vulgaris* dumblių terpės (kuriose buvo skirtingos NaNO₃ koncentracijos) buvo centrifuguojamos ir džiovinamos 21 °C temperatūroje. Sausa masė buvo susmulkinta ir naudojantis Flash 2000 analizatoriumi ir programine įranga Eager Xperience buvo nustatyti anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies elementų kiekiai bandinyje masės dalies procentais. Rezultatai pateikti 3.3 lentelėje.

3.3. lentelė. Visuminiai anglies, vandenilio, azoto, sieros ir deguonies kiekiai naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas

NaNO ₃ koncentracija terpėje, g/l	0,25	0,5	1
Cheminis elementas			
Azotas (N)	1,922	3,093	3,642
	2,076	3,262	3,267
	1,989	3,176	3,564
Vidurkis	1,996	3,177	3,491
Anglis (C)	54,877	51,167	51,087
	54,444	51,302	51,360
	54,653	51,221	52,214
Vidurkis	54,658	51,230	51,554
Vandenilis (H)	8,408	7,739	6,985
	8,282	7,580	6,952
	8,312	7,747	6,824
Vidurkis	8,334	7,855	6,920
Siera (S)	0,453	0,296	0,284
	0,481	0,302	0,332
	0,452	0,298	0,308
Vidurkis	0,462	0,299	0,308
Deguonis (O)	34,340	37,605	38,002
	34,717	37,254	38,089
	34,594	37,458	37,091
Vidurkis	34,550	37,439	37,727

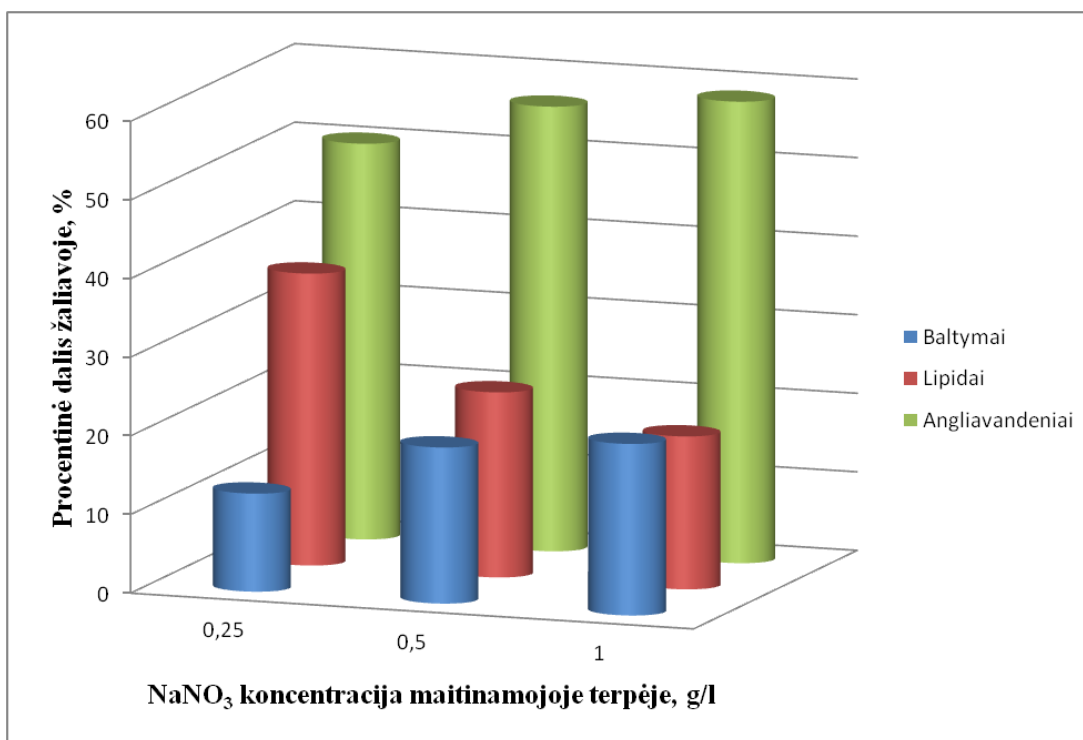
3.3.7 Baltymų, angliavandenių ir lipidų kiekis *Chlorella vulgaris* dumbliuose

Redukcinė reikšmė (R reikšmė) apskaičiuota naudojantis 16 formulę ir rezultatai pateikti 3.4 lentelėje.

3.4. lentelė. Dumblių, kuriems auginti buvo naudojamos skirtingos NaNO₃ koncentracijos, redukcinės reikšmės

NaNO ₃ koncentracija terpėje, g/l	0,25	0,5	1
R reikšmė	44,42	40,08	38,74

Apskaičiavus redukcinę vertę ir turint azoto kiekį, galime apskaičiuoti baltymų (B), angliavandenių (A) ir lipidų (L) kiekius išdžiovintoje žaliavoje pagal 2.12.2 metodiką.



3.19. pav. Baltymų, lipidų, angliavandenių kiekių dumbliuose palyginimas, naudojant skirtingas NaNO₃ koncentracijas maitinamojoje terpėje

Iš diagramos (3.19 pav.) matyti, kad didėjant NaNO₃ koncentracijai, baltymų ir angliavandenių kiekiai mažėja, o lipidų – didėja. Naudojant mitybinę terpę su 1 g/l NaNO₃ koncentracija gauta didžiausi baltymų (21,82 %) ir angliavandenių (58,73 %) kiekiai, o didžiausi lipidų kiekiai (37,15 %) gauti naudojant mažiausia NaNO₃ koncentracija – 0,25 g/l.

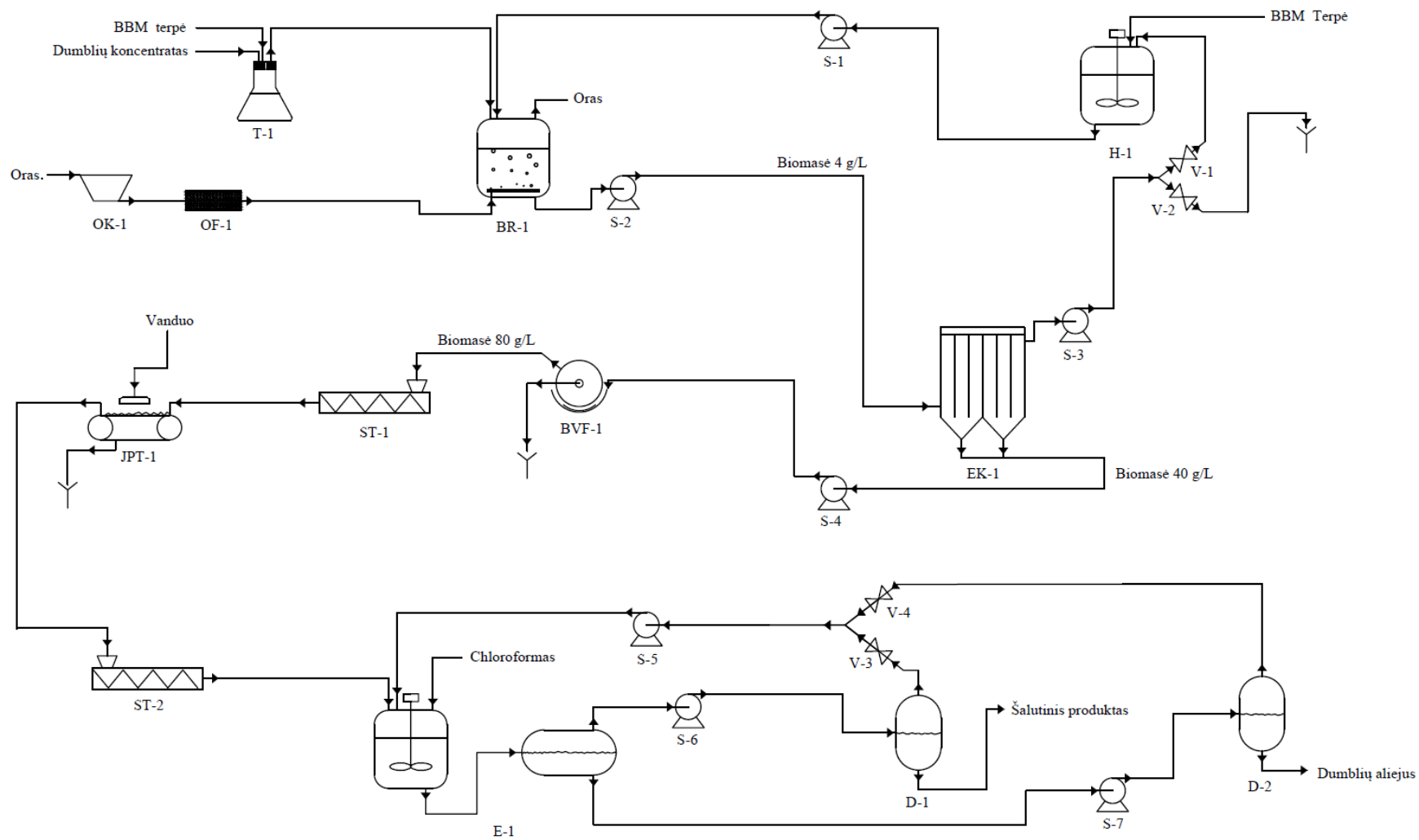
REKOMENDACIJOS

Gauti rezultatai nusako efektyvias *Chlorella vulgaris* dumblių auginimo sąlygas. Kurios gali būti panaudotos auginant pramoniniu būdu. Šie dumbliai gali būti naudojami farmacinių preparatų, gyvūnų pašarų ir net biokuro gamybai.

Remiantis atliktais tyrimais, išanalizuota mokslinė literatūra, publikacijomis ir kitais šaltiniais galima nubraižyti aliejaus išskyrimo iš *Chlorella vulgaris* dumblių principinę technologinę schemą.

Aliejaus išskyrimo iš dumblių principinę technologinę schema pavaizduota 4.1 paveiksle. Ją sudarančių įrenginių sąrašas su paaiškinimais pateikti 4.1 lentelėje. Pateikta schema apima dumblių biomasės auginimo ir aliejaus išskyrimo iš jos etapus.

Pirmiausiai į talpyklą T – 1 yra tiekiamas dumblių koncentratas ir BBM terpė. Talpoje T – 1 užaugusi biomasė rankiniu būdu yra supilama į bioreaktorių BR – 1 ilgalaikiui bioamsės auginimui. Į bioreaktorių BR – 1 papildomai išcentrinu siurbliu S – 1 iš homogenizatoriaus H – 1 yra tiekama BBM mitybinė terpė. Užtikrinant efektyvų dumblių auginimą į bioreaktorių BR – 1 oro kompresorius K – 1 per filtrą OF – 1 tiekia išvalytą orą. Užauginta biomasė išcentrinu siurbliu S – 2 yra tiekama į elektrokoalescencerį EK – 1, kuriame biomasė atskiriama nuo mitybinės terpės. Panaudota mitybinė terpė išcentrinu siurbliu S – 3 pagal poreikį tiekiamą į homogenizatorių H – 1 per vožtuvą V – 1 arba per vožtuvą V – 2 patenka į tolimesnį valymą. Naudojantis homogenizatoriumi H – 1 panaudota mitybinė terpė yra maišoma su naujai paruošta BBM terpe. Iš elektrokoalescencoriaus išskirta dumblių suspensija išcentrinu siurbliu S – 4 tiekama į būgninį vakuuminį filtrą BVF – 1, kuriame biomasė yra sukoncentruojama – pašalinama dalis drėgmės, esančioje biomasėje. Iš BVF – 1 dalinai išdžiovinta biomasė sraiginiu transporteriu TR – 1 tiekama juostinį praplovimo transporterį JPT – 1, išplaunant likusę mitybinę terpę iš dumblių. Toliau biomasė sraiginiu transporteriu T – 2 tiekama į ekstraktorių E – 1, į kurį taip pat yra tiekiamas chloroformas. Šioje talpoje dumblių masė yra sumaišoma su ekstrahentu chloroformu. Ekstraktoriuje E – 1 viršutinėje rafinatos suspensijoje išekstrahuota dumblių biomasė išcentrinu siurbliu S – 6 yra tiekama į distiliatorių D – 1, kuriame iš žaliavos pašalina likusį kiekį chloroformo. Chloroformas išcentrinu siurbliu S – 5 per vožtuvą V-3 yra grąžinamas į ekstraktorių E – 1. Ekstrakto tirpalas (Dumblių aliejus ir chloroformas) susidaręs ekstraktoriuje E – 1 išcentrinu siurbliu S – 7 yra tiekiamas į distiliatorių D – 2, kuriame vykdomas galutinis aliejaus išskyrimas. Distiliacijos metu chloroformas išcentrinu siurbliu S-5 per vožtuvą V – 4 yra grąžinamas į ekstraktorių E – 1.



0.1 pav. Aliejaus išskyrimo principinė technologinė schema iš *Chlorella vulgaris* dumblių

4.1. Technologinės schemos prietaisų žymėjimai ir pavadinimai

Prietaiso žymėjimas	Prietaiso pavadinimas
OK – 1	Oro kompresorius
OF – 1	Oro filtras
T – 1	Talpa
BR – 1	Bioreaktorius
S – 1 , S – 2 , S – 3 , S – 4 , S – 5 , S – 6 , S – 7	Išcentriniai siurbliai
H – 1	Homogenizatorius
V – 1 , V – 2 , V – 3 , V – 4	Vožtuvas
EK – 1	Elektrokoalescenceris
BVF – 1	Būgninis vakuuminis filtras
ST – 1 , ST – 2	Sraigtinis transporteris
JPT – 1	Juostinis praplovimo transporteris
E – 1	Ekstraktorius
D – 1 , D – 2	Distiliatorius

IŠVADOS

1. Įvertinta, kad didžiausi sausos biomasės (teorinė – 1,331 g/l, praktinė – 1,189 g/l) ir bioaktyvių medžiagų (chlorofilo *a* – 423,218 mg/100 g; chlorofilo *b* – 153,556 mg/100 g; karotinoidų – 332,467 mg/100g; antioksidantinis aktyvumas – 8,416 %; fenolinių junginių – 1,091 mg/100 g;; baltymų – 20,4 %, lipidų – 33,28 %) kiekiai, gaunami tiekiant 0,8 l/min oro srautą į maitinamąją terpę.
2. Nustatyta, kad didžiausias angliavandenių (57,83 %) kiekis buvo gautas, tiekiant 0,2 l/min oro srautą.
3. Eksperimentų rezultatai parodė, kad didžiausi sausos biomasės (teorinė – 2,8 g/l ir praktinė – 3,45 g/l) ir bioaktyvių medžiagų (chlorofilo *a* – 390,521 mg/100 g; chlorofilo *b* – 151,456 mg/100 g; karotinoidų – 234,298 mg/100g; antioksidantinis aktyvumas – 3,366 %; fenolinių junginių – 1,722 mg/100 g; baltymų – 21,82, angliavandenių 57,83 %) kiekiai gauti naudojant 1 g/l NaNO₃ koncentraciją maitinamojoje terpėje.
4. Ištirta, kad didžiausi lipidų (37,152 %) kiekiai gauti naudojant 0,25 g/l NaNO₃ koncentraciją maitinamojoje terpėje.
5. Naudojant 1 g/l NaNO₃ koncentraciją maitinamojoje terpėje gauta 3,64 g/l sausos biomasės (iš kurios lipidų kiekiai sudaro 33,28 %), o naudojant 0,25 g/l NaNO₃ koncentraciją – 2,24 g/l sausos biomasės (iš kurios lipidų kiekiai sudaro 37,15 %).
6. Siekiant gauti didžiausią aliejų išėigą nustatyta, kad geriausios auginimo sąlygos buvo naudojant 0,25 g/l NaNO₃ koncentraciją maitinamojoje terpėje, nes aliejaus išėiga 0,83 g/ iš 2,24 g sausos biomasės.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. **Raudytė D.** // Biotechnologijos – žemės ūkio ateitis? 2009. P. 2 – 3.
2. **Grinius L., Matulis D., Serva S., Misiūnas D., Valiokas R.** Modernios biotechnologijos saugaus naudojimo ir vystymo perspektyvos Lietuvoje. Vilnius, 2007.
3. LT 6018 B. Lietuva, 2012.
4. **Makarevičienė V., Skorupskaitė V., Sendžikienė E., Stašytė V.** // Žalioji energija iš mikrodumblių – daug žadantis alternatyvus ateities kuras. 2012. Nr. 3, P. 1 – 3.
5. **Gouveia L., Batista A. P., Sausa I., Raymundo A., Bandarra N. M.** // Microalgae in Novel Food Products. 2008. Vol 2, P. 20 – 30.
6. **Fred S.** // Pond fertilization: initiating an algal bloom. 2000. Vol. 104 P. 7 – 9.
7. **Sabater S., Buchaca T., Cambra J., Catalan J., Guasch H.** // Structure and function of benthic algal communities in an extremely acid river. 2002. Vol 93, N 3. P. 481 – 489.
8. Weetland Plants and Algae. Peržiūrėta 2015, gegužės 15, adresu: https://www.msu.edu/course/plb/423/lecture%20notes/WPA_lecture5a_algal_growth_.pdf.
9. **Steneck R. S.** // A functional group approach to the structure of algal-dominated communities. 2003. Vol 69, N. 3. P. 1 – 24.
10. **Masteikienė R. R.** Maisto produktų mikrobiologija. Kaunas, 2002.
11. **Bellinger E. G., Sugee D. C.** Algae as Bioindicators. Paerl, 2010.
12. Vienas iš alternatyvių augalų pramonei – dumbliai. Peržiūrėta 2015, gegužės 14, adresu: <http://www.ukioklubas.lt/straipsniai/lietuvos-zemes-ukis/vienas-is-alternatyviu-augalu-pramonei-dumbliai-3008>.
13. Dumblių reikšmė. Peržiūrėta 2015, gegužės 15, adresu: <http://mokslo darbai.lt/referatas/dumbliu-reiksme>.
14. **Kumar K., Dasgupta C. N., Nayak B., Lindblad P.** // Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. 2011. Vol 102. P. 1 – 9.
15. US 7905049 B2. United States, 2011.
16. **Becker E. W.** Microalgae – Biotechnology and Microbiology. Australia, 1995.
17. **Shalaby E. A.** Algal Biomass and Biodiesel Production. Egypt, 2011.
18. **Mansson S.** Cultivation of *Chlorella vulgaris* in nutrient solution from greenhouse tomato production. (Master's thesis). Alnarp, 2012.
19. Mikroskopiniai dumbliai. Peržiūrėta 2015, gegužės 9, adresu: <http://www.asu.lt/nm/l-projektas/mikroorganizmubio/7.htm>.
20. **Becker E. W.** // Micro-algae as a source of protein. 2007. Vol. 25. P. 207 – 210.

21. **Hallmann A.** // Algal Transgenics and Biotechnology. 2007. Vol. 1, N. 1. P. 81 – 89.
22. **Becker W.** Microalgae in human and animal nutrition. Australia, 2004.
23. **Spolaore P., Cassan C. J., Duran E., Isambert A.** // Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2006. Vol. 101, N. 2. P. 87 – 96.
24. Biodegalai kas tai? Peržiūrėta 2015, balandžio 20, adresu: <http://www.biofuels.lt/lt/biodegalai-kas-tai/kita.html>.
25. **Ugwu C. U., Aoyagi H., Uchiyama H.** // Photobioreactors for mass cultivation of algae. 2007. Vol. 99, N. 10. P. 42 – 45.
26. **Chisti Y.** // Do biofuels from microalgae beat biofuels from terrestrial plants? 2008. Vol. 26, N. 7. P. 50 – 56.
27. Dumbliai ir melsvabakterės: nuo aplinkos valymo iki bioproduktų. Peržiūrėta 2015, gegužės 2, adresu: http://www.jaunasis-tyrejas.lt/index.php?option=com_content&view=article&id=341:dumbliai-ir-melsvabakteres-nuo-aplinkos-valymo-iki-bioprodukt&catid=18:mokslo-naujienos&Itemid=57.
28. **Gikonyo B.** Advances in biofuel production: algae and aquatic plants. New Jersey, 2014.
29. Dumblių biotechnologija. Peržiūrėta 2015, gegužės 19, adresu: <http://www.ecoinstitute.eu/lt/mtep-veikla/dumbliu-biotechnologija>.
30. Culturing of *Chlorella vulgaris* – standard operating procedure. Peržiūrėta 2015, gegužės 5, adresu: https://www.reading.ac.uk/web/FILES/biosci/Culturing_Chlorella_156KB.pdf.
31. **Converti A., Casazza A. A., Ortiz E. Y., Perego P., Del Borghi M.** Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. (Bachelor's thesis). Italy, 2009.
32. **Ming J., Cheng L., Zhang X. Xu, L., Chen H.** // Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. 2010. Vol. 101, N. 17. P. 12 – 20.
33. **Daunoras G.** Farmakopėjos straipsnių rinkinys. Kaunas, 2001.
34. **Kruger N. J.** The Bradford Method for Protein Quantitation. Totowa, 2009.
35. **Slinkard K.** Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. Vitic. 1997.
36. **Brand – Williams W., Cuvelier M. E., Berset C.** // Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. 1995. Vol. 28. P. 25 – 30.
37. Lietuvos standartas LST EN 15104:2011. Kietasis biokuras. Visuminio anglies, vandenilio ir azoto kiekio nustatymas.

38. **Spoehr H. A., Milner H. W.** // The chemical composition of *Chlorella vulgaris* effect of environmental conditions. 2004. Vol. 24, N. 1. P. 120 – 149.