

SZAKDOLGOZAT

Lebedovszkij Sophie

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

Biomérnöki alapképzési szak

**HIDROGÉNTERMELŐ ÉDESvíZI ZÖLDALGÁK ALKALMAZÁSA
ÜZEMANYAGCELLÁBAN**

Belső konzulens: Dr. Kohári-Farkas Csilla
egyetemi adjunktus

Belső konzulens

intézete/tanszéke: Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet,
Biomérnök és Erjedésipari
Technológiai Tanszék

Készítette: Lebedovszkij Sophie

Budapest

2024

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	5
2. MUNKA CÉLJA.....	6
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
3.1. Algák általános jellemzése	7
3.1.1. Mikroalgák tenyésztése	8
3.2. A mikroalgák hasznosítási lehetőségei.....	10
3.2.1. Környezetvédelem	10
3.2.2. Élelmiszeripari hasznosítás	11
3.2.3. Gyógyszerészet és orvostudomány	12
3.2.4. Kozmetika	12
3.2.5. Mezőgazdaság	13
3.2.6. Bioenergetika	13
3.3. Hidrogén jellemzése és előállítási lehetőségei	14
3.3.1. A hidrogén.....	14
3.3.2. Ipari hidrogén előállítás.....	15
3.4. Biológiai hidrogéntermelés	16
3.4.1. Enzimek a hidrogéntermelésben.....	17
3.4.2. Mikroalgák hidrogéntermelése.....	18
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	21
4.1. Anyagok.....	21
4.1.1. Mikroorganizmusok.....	21
4.1.2. Tápközegek.....	21
4.2. Módszerek.....	23
4.2.1. Sejtszám meghatározás	23
4.2.2. Hidrogéntermelés gyors kimutatása	24
4.2.3. Energiacella konstrukció	25

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	28
5.1. Direkt fotolízis	28
5.2. Kén-megvonásos indirekt hidrogéntermelés	29
5.3. Sötét fermentáció növényi biomasszán	31
5.4. Alga-baktérium energiacella.....	33
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	35
7. ÖSSZEFOGLALÁS	36
IRODALMI HIVATKOZÁS.....	37
INTERNETES HIVATKOZÁSOK	43
TÁBLÁZAT JEGYZÉK	44
ÁBRAJEGYZÉK	44
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	45

1. BEVEZETÉS

A jelenkor környezeti és energetikai kihívásai előtérbe helyezik a fenntarthatóbb technológiák kutatásának szükségességét. Ezen a téren a mikroalgák kiemelkedő potenciállal bírnak, hiszen ezek a mikroszkopikus szervezetek értékes metabolit termékeiknek (szénhidrátok, lipidek és zsírok, fehérjék stb.) köszönhetően alapot szolgáltathatnak innovatív biotechnológiai alkalmazásoknak. Különösen figyelemre méltó a mikroalgák bioenergetikai felhasználásának területe, amely magában foglalja a bio-hidrogén történő előállítását is.

A biohidrogén tiszta és környezetbarát üzemanyagként jelentős előnyökkel rendelkezik a hagyományos fosszilis alapú energiahordozókkal szemben, mivel előállítása során nem keletkeznek káros kibocsátások. Az alga-alapú biohidrogén fotoszintetikus és fermentációs eljárásokkal (direkt fotolízis, indirekt fotolízis és sötét fermentáció) állítható elő, amelyek minimalizálják a környezeti terhelést és integrálhatók a meglévő, valamint fejlesztések alatt álló energetikai rendszerekbe, mint az energicellákba is. Ez utóbbi esetén a mikrobiális energiacellákban az elektrogén baktériumokkal (bioanód) együttműködésben hidrogéntermelő mikroalgák (biokatód) segíthetik az áram termelését. A mikrobiális energiacella ezáltal lehetőséget nyújthat az igény szerinti energiatermelésre: áram fejlesztésére és hidrogéntermelésre is. A szakdolgozati munkám a mikroalgák új és újszerű energetikai hasznosításának megismerésére és tudományos alapokra helyezésére, különös tekintettel a hidrogéntermelési technikák feltérképezésére irányul.

A kutatás eredményei nem csak a tudományos közösség számára biztosítanak új ismereteket, hanem hozzájárulnak a zöld energiaforrások szélesebb körű alkalmazásához is. A biohidrogén és bioáram, mint megújuló energia, jelentős mértékben képes csökkenteni a fosszilis üzemanyagoktól való függőséget, és elősegítheti a környezeti fenntarthatóság növelését.

2. MUNKA CÉLJA

A mikroalgák energetikai rendszerekben történő hasznosítási lehetőségeire egyre nagyobb érdeklődés irányul. A mikroalgák előnyös tulajdonságaiknak köszönhetően kulcsfontosságú szerepet tölthetnek be a környezetbarátabb és hosszabb távon fenntartható energiahordozók előállításában.

A mikrobiális energiacellában a mikroalga (biokatód) és az elektrogén baktérium (bioanód) együttműködésének eredményeként áram fejleszthető. A mikrobiális energiacella kétirányú hasznosításának ma még gátat szab a rendszer alacsony hatékonysága, ami további fejlesztéseket és kutatásokat igényel.

Kutatómunkám során az alábbi célokat tűztem ki:

1. Édesvízi zöldalgák gáztermelő (hidrogén) tulajdonságának megismerése
 - a. direkt fotolízis,
 - b. indirekt (kénmegvonásos) fotolízis, és
 - c. sötét fermentáció során.
2. A szelektált mikroalga gáztermelésének tesztelése eltérő növényi présle koncentráció esetén, sötét fermentációs rendszerben.
3. A szelektált mikroalga és az elektrogén baktérium alkalmazhatóságának tesztelése energiacellában. A mikrobiális energiacella teljesítményének értékelése.

Kutatásaimat az Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Biomérnök és Erjedéssipari Technológiai Tanszéken, a Fermentációs és a Hallgatói Laboratóriumban végeztem.

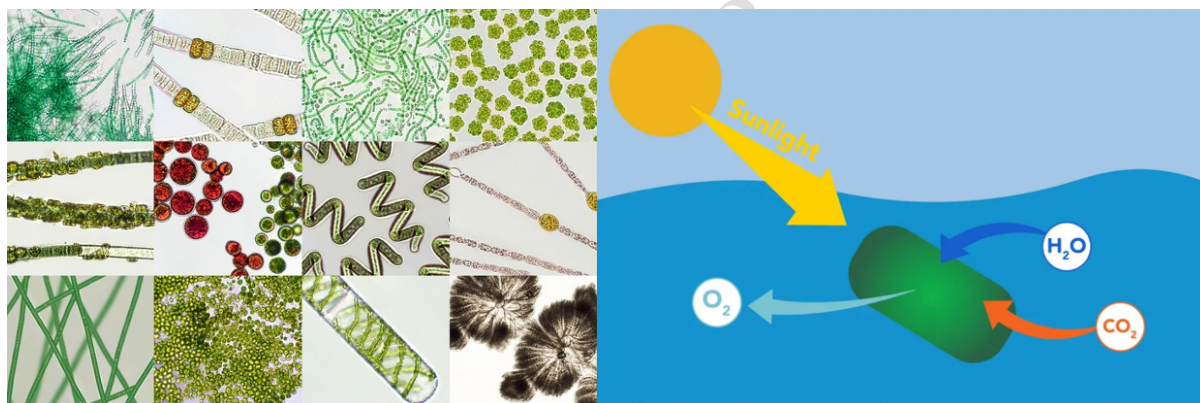
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Algák általános jellemzése

Az algák (moszatok) egyszerű szerveződésűek, azonban igen heterogén csoportot alkotnak az élővilágban. A méretük nagyban eltérő, az egysejtű algáktól egészen a magasabb rendű, telepes szerveződésű moszatokig is előfordulhatnak. Az algák jellemzően nedves környezetben, vizekben (tengerekben, édesvízi tavakban, patakokban stb.), de akár talaj felszínén, kövek repedéseiben, fákön is megtelepedhetnek (Parker, 2008).

Az algák rendszerezése színük, pigmentösszetételük szerint is történhet. Összesen 9 osztály különböztethető meg, amelyek közül a legtöbb eddig ismert alga a zöldalgák, a 2 vörösalgák és a barnaalgák osztályába sorolható (Hemaiswarya, 2013).

1. ábra: Az algák mikroszkópos sokszínűsége és a fotoszintézis folyamata
(Forrás: Internet 1. és 2.)



A fényelnyelő (fotoszintetikus) pigmenteknek köszönhetően az algák képesek a napenergiát, a vizet és a szén-dioxidot hasznosítani az anyagcsere folyamatok fenntartásához, az algabiomassza és az oxigén termeléséhez. A fotoszintézis mechanizmusa a mikroalgákban hasonlít a szárazföldi növényekéhez, azonban az egysejtű szerkezet és víz alatti életmód miatt hatékonyabban hasznosítják a napenergiát, és nagyobb hatékonysággal alakítják át azt biomasszává. A fotoszintézis lehetővé teszi az algák számára, hogy szén-dioxidot és vizet oxigénné és cukorra alakítsák át. Az algák a termelt cukrokat energiaforrásként fogyasztják el. Fontos megjegyezni, hogy a fotoszintézis kissé eltér az algafajok között, mivel különböző pigmentációjuk van a szárazföldi növényekhez képest. A klorofillok kék és piros fényt, a karotinoidok kék és zöldet, a fikobiliproteinek pedig kéket vagy pirosat nyelnek el, így egyes algák több fényenergiát tudnak hasznosítani a szárazföldi növényeknél (Andersen és Lewin

2021). A fotoszintézis során az algák oxigént is termelnek. Becslések alapján a légköri oxigén közel fele az algáknak köszönhető. Az oxigéntermelés nappal történik, amikor a fény intenzitása nagyobb. Az oxigént a légkörbe szabadítják fel. Éjszaka az algák oxigént fogyasztanak, mivel fény hiányában a fotoszintézis nem zajlik. Az éjszakai oxigénfogyasztás általában jóval kevesebb, mint amennyit nappal termelnek. Az oxigéntermelés azonban több tényezőtől is függ, például a fényintenzitástól, az oxigén szinttől, a vízhőmérséklettől és az alga fajtól (Cardozo *et al.* 2007).

A mikroalgák a táplálkozási igényük szerint lehetnek autotróf, heterotróf vagy mixotróf szervezetek. Az autotróf mikroalgák a fotoszintézis energiáját használják fel növekedésükhöz. A heterotróf mikroalgák sötétben is növekedhetnek, ekkor a környezetben található szerves vegyületeket hasznosítják energiaforrásként. A mixotróf mikroalgák a szerves természetű energiaforrásokat és a fényenergiát is hasznosítani tudják a termesztésük során (Klamczynska és Mooney, 2017; Koo *et al.* 2013; Dreesen *et al.* 2010).

3.1.1. Mikroalgák tenyésztése

Nyílt rendszer

A mikroalgák nagyüzemi tenyésztése számos módon megvalósulhat, amelyek közül a nyílt tavi tenyésztésen alapuló megközelítés az egyik legrégebbi és legegyszerűbb is. Ennek lényege, hogy a mikroalgákat nyitott, kevertetett medencékben (mesterséges tavakban) tenyésztik. A környezeti tényezők ingadozása, mint a hőmérséklet, a természetes megvilágítás hatékonysága (napsugárzás intenzitása és a fénylimit), a fény és sötét ciklusok aránya, az idegen szervezetek (mikroorganizmusok) megjelenése és elszaporodása (befertőződés kockázata) stb. nehezen szabályozható a nyitott tenyészládákban, ezért azok igen jelentős hatást fejthetnek ki a mikroalgák növekedésére és minőségére (Borowitzka, 1990; Stark, 2012). A tenyésztés során párolgással, ezáltal a tenyészet bekonzentrálódásával is számolni kell, ezért fontos a víz rendszeres pótlása (Costa, 2014; Sun, 2016; Tredici 2004).

A nyitott kádás rendszerekben, mint például a „raceway pond” (versenypálya medence) kialakításánál lehetőség van a víz hőmérsékletének és az áramlási sebességének (lapátkerekekkel történő anyagmozgatás) a monitorozására (Ugwu, 2012). A versenypálya medence energiahatékony működése miatt ígéretes lehet a nagyüzemi alga-tenyésztésben, és

már sikeresen alkalmazzák ezt a módszert egyes nagyobb gazdaságokban (mint Amerikai Egyesült Államokban) is (Rogers, 2014; White, 2015).

Zárt rendszer

A mikroalgák tenyésztése zárt környezetben, fényátersztő falú reaktorokban is történhet. A fotobioreaktorok számos előnnyel rendelkeznek a nyílt tókultúrákhoz képest. A helyigényük kisebb és nem igényelnek földhasználatot. A zárt rendszer szabályozott növekedési feltételeket biztosít a mikroalgák számára, ami tiszta mikroalga tenyészetek előállítását teszi lehetővé lényegesen rövidebb időtartam alatt. A befertőződés esélye minimálisra csökkenthető. A rendszerben kedvezőbbek az anyagátadási folyamatok, ami magasabb algabiomassza-termelést eredményez. Azonban ezeknek a rendszereknek is vannak korlátjai, mint például a fotobioreaktor méretezése, vagy a reaktor fényátersztőképessége. Ez utóbbi esetén gondot okozhat a reaktor külső falán a szennyeződés (szálló por), a belső falon pedig a megvilágításból adódóan az algasejtek ülepedése (Posten, 2009; Gupta, 2015; Mishra, 2019).

2. ábra: A nyílt és a zárt rendszer ábrája
(Forrás: Internet 3.)



A fotobioreaktoroknak ma már számos kialakítása ismert, amelyek között említők a csőreaktorok és a „flat panel” (lapos) fotobioreaktorok is. A csőreaktorokban szivattyúval keringtetik az algatenyészetet, a megfelelő intenzitású megvilágítás érdekében mesterséges fényforrást alkalmaznak. Gyakran szén-dioxid betáplálással segítik elő a nagyobb algabiomassza hozam elérését. A lapos fotobioreaktorok két üvaglap közötti keskeny rekeszekből állnak, amelyeket szintén mesterséges fénnel világítanak (Tamburic, 2011; Yan, 2016; Sierra, 2018).

3.2. A mikroalgák hasznosítási lehetőségei

A mikroalgák ipari szintű hasznosítása az 1970-es években kezdődött a β -karotin előállításával. Ma már egyre nő a mikroalgák ipari hasznosítási lehetőségeinek a száma, köszönhetően az algabiomassza összetételének és az értékes metabolit termékeiknek.

3.2.1. Környezetvédelem

A mikroalgák kulcsfontosságú szerepet töltenek be a klímaváltozás elleni küzdelemben, az ökoszisztéma egyensúlyának helyrehozatalában és fenntartásában. A mikroalgák bioremediációs célokra, mint a vízszennyezés kezelésében és a szennyvíztisztításban (települési, ipari és mezőgazdasági szennyvizek) hatékonyan alkalmazhatók. A mikroalgák képesek a szennyezett vizek nitrogén- és foszfortartalmát csökkenteni, a toxikus fémeket, az antibiotikumokat, festékanyagokat stb. eltávolítani. A biotisztítási folyamat nem csupán a környezetbarát, gazdaságos és fenntartható vízkezelési megoldásokat tesz lehetővé, ugyanis a mikroalga-technológia által csökkenthető a szennyvíztisztítók terhelése és növelhető a tisztítási hatékonyság. A mikroalgák természetes módon segíthetik a talaj szennyeződéseinek lebontását és tisztítását is.

A szennyező anyagok eltávolításának három mechanizmusa ismert: a biodegradáció (a szennyező anyag enzimes lebontása és ártalmatlanítása), a bioszorpció (a sejtek felületükön adszorbeálják a szennyező anyagokat) és a bioakkumuláció (a sejtekben történő felhalmozódás). A mikroalgák biotisztítási alkalmazhatóságának megismerésére számos tanulmány irányult (és irányul napjainkban is), amelyekben többnyire a *Chlorella*, a *Scenedesmus*, a *Phormidium*, a *Botryococcus*, a *Chlamydomonas* és *Arthrospira* mikroalgák tenyésztetőségét követik nyomon ipari és modell szennyvizekben (Hoffmann, 1998; Olguí, 2003; Chinnasamy *et al.* 2010; Kong *et al.* 2010; Stephens *et al.* 2010; Pittman *et al.* 2011).

Ma már több kereskedelmi forgalomban elérhető algakészítmény található. Az *Ascophyllum nodosum*, azaz a barna hínárból készült Biocomplex W gazdag nyomelemekben, poliuronsavban, vitaminokban, aminosavakban és alginsavban. Az alga készítmény kiválóan támogatja a talaj mikroorganizmusainak munkáját. Az algák segítik a hidrokarbonok lebontását, felgyorsítják a biodegradációt, és minimalizálják a környezeti terhelést, így kiváló választást jelentenek a fenntartható talajtisztítási projektek számára (Durakovic, 2014).

A mikroalgák a fotoszintézis során szén-dioxidot használnak fel és oxigént termelnek. Ezáltal segítik a légkör szén-dioxid tartalmának és az üvegházhatású gázok kibocsátásának csökkentését. A mikroalgák hatékonyan tudják megkötni a szén-dioxidot, továbbá a gyors növekedési rátájuk, hatékony fotoszintézisük és alkalmazkodóképességük a légszennyezés csökkentésében tovább növeli a technológiai értéküket. A becslések szerint 1 tonna algabiomassza előállításához a légkörből körülbelül 1,83 tonna szén-dioxidot hasznosít. A mikroalgák növekedését nagy mennyiségű szén-forrás és nitrogén-forrás felvétele kíséri, emiatt a szén-tartalmú gázok mellett a nitrogén-tartalmú hulladék gázok eliminálására is alkalmasak (Wang és Yin, 2018, Peilun, 2023).

A tisztítási folyamatok során keletkezett algabiomassza (annak minőségétől függően) további ipari ágazatokban hasznosítható, mint például bioüzemanyagok, bio-trágyák, akár állati takarmányok előállításánál is. Az algabiomassza ezen irányú visszaforgatása szintén segíti a vízkészleteink és termőterületeink védelmét (Sisman-Aydin, 2022).

Az alga-technológia nemcsak a környezetvédelemben aknázza ki az algák előnyös tulajdonságait, hanem az élelmiszeriparban, takarmányozásban, energetikai szektorban, gyógyszeriparban, orvostudományban, kozmetikai iparban, sőt a bioműanyagok előállításánál is.

3.2.2. Élelmiszeripari hasznosítás

A mikroalgák számos értékes anyagot, mint fehérjéket, pigmenteket (klorofilokat, karotinoidokat stb.), aminosavakat, vitaminokat (E-vitamint), ásványi anyagokat, többszörösen telítetlen zsírsavakat tartalmaznak. A beltartalmi összetételük és tápanyagsűrűségük miatt az algákat ígéretes, és egyben a világ legnagyobb élelmiszer tartalékaként tartják számon. Fehérjékben igen gazdagok, egyes mikroalgák fehérjetartalma a szárazanyagtartalom 60 %-át is elérheti. Az algafehérjék könnyen emészthetőek, az aminosav-összetételük kiegyensúlyozott (Ciani, 2022). A vastartalmuk igen magas. A mikroalgák olyan esszenciális zsírsavakat is tartalmaznak, amelyek az állati eredetű húsokban nem találhatók. Az omega-3 zsírsavak eikozapentaénsav (EPA) és dokozahexaénsav (DHA) formájában vannak jelen. Kiváló táplálékforrásként a mikroalgákat a funkcionális élelmiszertermékek széles palettáján (sütemények, snackek, kenyerek stb.) is hasznosítják (Montoya-Arayo, 2022; Blanco-Llamero, 2021). A magas, hozzáadott értékű mikroalga-termékek, mindamellett, hogy alternatív táplálékot biztosítanak, az emberi szervezetre jótékony hatást is fejtenek ki. A kutatások és

termékfejlesztések középpontjában túlnyomórészt a *Spirulina* és a *Chlorella* nemzetség képviselői állnak (Villaró, 2021).

3.2.3. Gyógyszerészet és orvostudomány

A mikroalgák nagyobb mennyiségben képesek bioaktív komponenseket, antioxidáns hatású vegyületeket termelni (polifenolok, flavonoidok, peptidek stb.), amelyek miatt a mikroalga-termékek az immunrendszer erősítésére, a daganatos betegségek kockázatának csökkentésére, valamint kezelésére (in vitro és in vivo kísérletekkel alátámasztottan) is hatékonyan alkalmazhatók. A mikroalgáknál, mint a *Chlamydomonas reinhardtii* esetén is kimutatták, hogy egyes metabolit termékeik akár az antibiotikumokat is helyettesíthetik. Néhány mikroalga, mint a *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Dunaliella* és *Scenedesmus* nemzetség egyes képviselői is jól alkalmazhatóak rekombináns fehérjék, antitestek termelésére, vakcinák előállítására (Khavari, 2021).

3.2.4. Kozmetika

A mikroalgákat gyakran hozzáadják szépségápolási termékekhez, például bőrápoló krémekhez és samponokhoz, mivel tápanyagokban és antioxidáns vegyületben gazdagok. A mikroalgákból származó bioaktív vegyületek, az exopoliszacharidok és fehérjék, nemcsak hidratálóként szolgálnak, hanem kollagénszintézist is serkentenek, és védőhatásokkal rendelkeznek, amelyek hozzájárulnak a bőr struktúrájának és funkciójának javításához. Ezen felül, a klorofill a és b természetes festékanyagként és adalékanyagként is felhasználható, például kellemetlen szagok elrejtésében különböző kozmetikai készítményekben. A β -karotin, a fikobiliprotein (fehérje-pigment komplexek: fikoeritrin, fikocianin, allofikocianin, fikoeritrocianin), az astaxantin, a lutein, a likopin és a violaxantin szintén természetes festékanyagként használhatók a kozmetikumokban (textiliparban is) környezetbarát alternatívaként.

A kozmetikai iparban alkalmazott mikroalgákat a belőlük kinyert hidratáló és regeneráló hatású vegyületek alapján csoportosíthatjuk. Például a *Chlorella vulgaris* mikroalgából származó kollagén, a *Cladosiphon okamuranus* és a *Codium tomentosum* mikroalgából kinyert poliszacharidok vagy a *Scenedesmus rubescens* mikroalgából kinyert zsírsavak a széles körben használtak (Bernaerts, 2019; Urbanelli, 2019; Adamo, 2021; Martinez-Ruiz, 2022).

3.2.5. Mezőgazdaság

Az algákat szerves biotrágyaként és talajkondicionálóként és növényvédőszerként egyaránt alkalmazzák. Az algabiomassza a termés minőségének és hozamának javításában, valamint a növényvédelemben fejti ki a hatását. Ez utóbbi esetén az algák által kiválasztott anyagok (elicitor hatásúak) a növények ellenállóképességét növelik, a betegségekre való hajlamot csökkentik, sőt a környezetben jelenlévő károkozók (mint penészgombák) szaporodását is vissza tudják szorítani (Hodai, 2015).

A mikroalgák tápanyagokat szállítanak és szimbiotikus kapcsolatokat alakítanak ki a növények gyökereivel és más talajmikroorganizmusokkal. Ezáltal nemcsak a talaj állapotát javítják, hanem támogatják a növények egészséges növekedését is (Camargo, 2006). Uyar és munkatársai (2022) a mikroalgák és növények közötti kapcsolat pozitív hatásait vizsgálták hidroponikus környezetben. Megállapították, hogy a menta termesztésére (növekedésére, az új hajtások fejlődésére, a fotoszintetikus pigmentek mennyiségére) jótékony hatást fejtett ki, a környezet stresszhatásait csökkentette a *Chlorella vulgaris* mikroalga jelenléte (Özer, 2022).

3.2.6. Bioenergetika

Ezen túlmenően, ahogyan a mikroalgák biotechnológiai alkalmazásai tovább fejlődnek, új lehetőségek is nyílnak. A bioüzemanyagok, bio-termékek és szerves bio-trágyák terén például a mikroalgák olyan források lehetnek, amelyek segítik a fenntarthatóbb energia előállítását, valamint környezetbarátabb vegyipari folyamatok fejlesztésének adnak teret (Fernandez, 2021).

A mikroalgák a raktározott szénhidrát- és lipidtartalmuknak köszönhetően potenciálisan bioüzemanyag alapanyagként hasznosíthatók. A mikroalgák szén-lábnyoma kedvező, a termesztésük kis helyet igényel, jellemzően zárt fotobioreaktorokban történik, ezáltal nem vesznek el helyet a növénytermesztéstől és az állattenyésztéstől sem. A mikroalgák egész évben rendelkezésre állnak, a gyors szaporodásuknak köszönhetően rövid időn belül hasznosíthatók.

Az algabiomassza etanol célú hasznosítása terén a mikroalgák szénhidráttartalma, azon belül is a tartalék tápanyagként raktározott a keményítő (poliszacharid) emelhető ki. A lipidek között poláris (amfifil) és semleges természetű lipidek találhatók. A biodízel az olajnövényeken kívül jó hatásfokkal állítható elő nagy lipidtartalmú mikroalgákból is. A *Nannochloropsis* sp., a *Chlorella sorokiniana* és *Chlorella protothecoides* mikroalgafajok szárazanyagtartalmuknak a 15 és 40 %-át elérheti a lipidtartalom. A mikroalgák által szintetizált

zsírsavak igen sokfélék, egyesek inkább rövid, míg mások hosszú láncú zsírsavakat képesek előállítani. Az algaolajok minőségét gyakran a C16 és C18 zsírsavak tartalma szerint értékelik. A transzészterezési folyamat előtt a gátló hatású foszfort és vizet az algaolajból el kell távolítani. A biodízel előállítás során katalizátorként jellemzően lúgokat (a reakció sebessége nagyobb), savakat és lipolitikus enzimeket alkalmaznak. Az előállított biodízelt tisztítják, a glicerint, a metanolt és egyéb alga-metabolit (mint pigmentek) eltávolítása érdekében (Chen *et al.* 2012).

A mikroalgák által termelt hidrogén iránti kereskedelmi érdeklődés egyre nő, mivel ígéretes, tiszta üzemanyag alternatívát jelent, megbízható és megújuló energiaforrásnak számít. Az alga-alapú hidrogéntermelés gazdasági fenntarthatósága érdekében intenzív kutatások irányulnak a nagyobb hatékonyságú üzemi hidrogéntermelő algareaktorok fejlesztésére (Khetkorn, 2017).

3.3. Hidrogén jellemzése és előállítási lehetőségei

3.3.1. A hidrogén

A hidrogén normál állapotban színtelen, szagtalan, szobahőmérsékleten gáz-halmazállapotú kémiai elem. Az univerzum anyagának 75 %-át alkotja. A jelenléte a bolygónkon is megfigyelhető, elvileg korlátlan mennyiségben áll rendelkezésre, azonban nem elemi vagy kétatomos gáz formájában, hanem más kémiai elemekkel alkotott vegyületeiben (vízben, biomasszában, szerves vegyületekben) fordul elő (Jolly, 2024).

A hidrogén nem toxikus, nem korrozív, nem rákkeltő és nem fejt ki üvegházhatást (égése során csak vízgőz keletkezik), ellenben gyúlékony és robbanásveszélyes, a levegő oxigénjével robbanásszerűen egyesül és vízzé ég el. Apoláros természetű, alacsony olvadási- és forrásponttal rendelkezik. Fűtőértéke igen kedvező, azonban a sűrűsége a levegőnél jóval kisebb (körülbelül 14-szer), ezért a térfogategységre jutó energiasűrűsége igen csekély (Internet 4.).

Becslések alapján napjainkban mintegy 70-80 millió tonna/év hidrogént állítanak elő, amelyet többnyire az ammóniagyártás és kőolajfinomítás hasznosít. Magyarországon is több hidrogén-előállító üzem található, többek között Százhalombattán, Kazincbarcikán, Budapesten is. A hidrogén termelése jellemzően vegyipari célokat szolgál, azonban az energetikai és a közlekedési szektorban (fűzési erőmű, motorhajtóüzemanyag, üzemanyagcella), sőt az űrkutatásban is utat tört a hidrogén-technológia alkalmazása. Az

energiakihívások egyre sürgetőbbek, ezáltal a hidrogénnek a szerepe az fenntarthatóbb energiatermelési és energiátárolási rendszerekben egyre nagyobb teret hódít (Internet 6.). A hidrogén ma már több alapanyagforrásból és különböző eljárásokkal állítható elő. A hidrogén tárolása történhet nagy nyomás alatt tartályban, alacsony hőmérsékleten cseppfolyós állapotban, valamilyen anyagban (mint fémekben) elnyelve, valamint adszorbeált formában (Jolly, 2024).

3.3.2. Ipari hidrogén előállítás

Szürke hidrogén

A gőzreformálás (steam methane reforming, SMR) a legelterjedtebb módszer a hidrogén ipari méretekben történő előállítására. A hidrogén 90 %-át ezzel az eljárással termelik. A fosszilis alapanyagokat (földgáz, metán, szén) magas hőmérsékleten gőzzel reagáltatják, amelynek eredményeként szintézisgáz jön létre. Mivel a hidrogén mellett ekkor szén-dioxid is felszabadul, ezért a szürke hidrogén használata jelentős üvegházhatású gázkibocsátással jár (Internet 5., Internet 6.).

Kék hidrogén

A szürke hidrogén előállításakor keletkező szén-dioxid leválasztását és tárolását követően (carbon capture and storage, CCS) kék hidrogén keletkezik. A szén-dioxid jelentős részét, 85-95 %-át megkötik és hasznosítják (vegyiparban és műanyagiparban). Az előállítási technológia során a szén-dioxid 5-15 %-a továbbra is kikerül a légkörbe, emellett a felhasznált metán is szivároghat, amely erőteljesebb üvegházhatású gáz, mint a szén-dioxid. A kék hidrogén előállítása ugyan a szén-dioxid kibocsátást csökkenti, azonban teljes mértékben továbbra sem felel meg a nettó nulla kibocsátásnak (Internet 6., Internet 7.).

Türkiz hidrogén

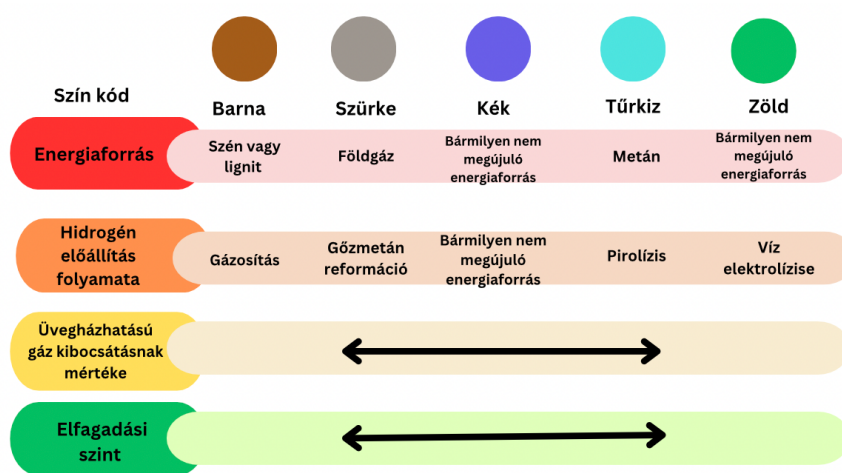
A hidrogén előállítása a metán pirolízisével történik. A folyamat során a hidrogén mellett szén keletkezik, szén-dioxid kibocsátás nélkül. Napjainkban a türkiz hidrogén előállítása még kutatási szakaszban tart (Internet 6.).

Zöld hidrogén

A zöld hidrogént vízbontással állítják elő, megújuló energiaforrásokból származó villamos energia segítségével. A vízbontás, vagy másnéven elektrolízis, folyamata során az

elektromos energia a vízmolekulákat hidrogénre és oxigénre bontja, mivel az elektrokémiai hatás megtöri a kötéseket. Ez az eljárás nem jár helyi szennyezőanyag-kibocsátással, karbonsemleges és a keletkezett hidrogén hasznosítási is ezáltal környezetbarátabb. Becslések szerint a zöld hidrogén 2050-ig a világ energiaigényének akár 25 %-át is fedezni tudná. A megújuló energiatermelés azonban drága, emiatt a szélesebb körű elterjedése még várat magára (Internet 7.).

3. ábra: Az ipari hidrogén előállítás lehetőségei
(Forrás: Internet 8.)



3.4. Biológiai hidrogéntermelés

A biológiai úton történő hidrogéntermelés mikroorganizmusok segítségével történik, amelynek számos előnye van a hagyományos hidrogén-technológiákkal szemben. A mikrobiális sejtek olcsó biokatalizátorok, a termelési folyamat jellemzően környezeti hőmérsékleten és nyomáson zajlik. A hidrogén termelés nem terheli a környezetet (karbonsemleges), a globális felmelegedést és annak következményeit nem segíti elő, továbbá a termelése nem okoz országok közötti konfliktusokat. Az előállítás nagyságrendekkel kevesebb energiát igényel (Sołowski, 2018).

A hidrogéntermelő szervezetek között találhatóak az algák és a cianobaktériumok is. Az eljárás ugyan utat nyithat a kimeríthetetlen és tiszta megújuló energiatermelésnek, azonban a mainál hatékonyabb hidrogén-reaktorokat, üzemanyagcella konstrukciókat, a termelési folyamat optimalizálását (hidrogéntermelő szervezettől függően eltérő környezeti igénnyel rendelkeznek) igényel (Hallenbeck, 2012; Chandrasekha, 2015).

3.4.1. Enzimek a hidrogéntermelésben

A hidrogenáz és a nitrogenáz enzimek kulcsfontosságú szerepet töltenek be a biológiai hidrogéntermelésben (Winkler *et al.* 2009). A hidrogenáz enzimek jellemzően a zöld mikroalgákban és a cianobaktériumokban, míg a nitrogenáz enzimek csak a cianobaktériumokban találhatóak (Carrieri *et al.* 2011; Kim és Kim, 2011).

A hidrogenáz enzimek két fő osztályba, a hidrogénfelvevő és a reverzibilis hidrogenázok közé sorolhatók. A hidrogénfelvevő hidrogenázok a hidrogén oxidációját katalizálják, míg a reverzibilis hidrogenázok a hidrogén előállítására és oxidációjára is képesek a környezeti hatásoktól függően. A hidrogenáz enzimek között az aktív centrumban elhelyezkedő fém atom alapján megkülönböztetünk [FeFe], [NiFe] és [Fe] hidrogenázokat. A hidrogenázok szerkezetileg jelentős mértékben eltérnek egymástól. A nitrogenáz enzimekkel szemben nagyságrendileg gyorsabban működnek, az általuk katalizált átalakítási folyamat pedig nem igényel ATP-t. A [FeFe] hidrogenázok jellemzően monomer felépítésűek és egy katalitikus egységet tartalmaznak. Érzékenyek az oxigén jelenlétére, ami nehezíti a hidrogén termelését (Rumpel *et al.* 2015; Vogt *et al.* 2008). A [NiFe] hidrogenázok két (kis és nagy) alegységből állnak, heterodimert képeznek. A nagy alegység egyedülálló két fématomos aktív centrumot foglal magába. A vasatomhoz nem-fehérje természetű kétatomos ligandok (két CN - és egy CO molekula) is kötődnek. A kis alegységben található vas-kén centrumok vesznek részt az elektronok transzport folyamatában (Tamagnini *et al.* 2007; Aubert-Jousset *et al.* 2011).

A nitrogenáz kétkomponensű fehérjerendszerek, amelyeknek fő építőelemei a Mo-, Fe- és V-tartalmú fehérjék. A nitrogenázok átalakítási sebessége kicsi, a hidrogéntermelés energiát és ATP-t igényel, ezért ez az útvonal nem tesz lehetővé kedvező hidrogéntermelést (Meyer, 2007; Srirangan *et al.* 2011).

3.4.2. Mikroalgák hidrogéntermelése

Az algák hidrogéntermelése igen összetett folyamat. Ma már számos technológia és azok továbbfejlesztett formái ismertek.

1. táblázat: Mikroalgák hidrogéntermelése, a termelési lehetőségek
(Forrás: Ahmed, 2021)

Módszer	Mechanizmus	Folyamat	Kihívás
Direkt (közvetett) biofotolízis	$2H_2O + \text{fényenergia} = 2H_2 + O_2$	A mikroalgák és cianobaktériumok napfény energiáját hasznosítják a vízmolekulák fotolízisével hidrogénre és oxigénre bontásával.	Alacsony hidrogénhozam, magas előállítási költségek
Indirekt (közvetlen) biofotolízis	$12H_2O + 6CO_2 + \text{fényenergia} \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2$ $C_6H_{12}O_6 + 12H_2O + \text{fényenergia} \rightarrow 12H_2 + 6CO_2$	Az indirekt biofotolízis kétlépéses módszerrel működik, ahol először aerob fázisban fotoszintézis révén szerves anyagokat termelnek, majd anaerob fázisban ezekből hidrogén képződik.	Alacsony fénykonverziós és hidrogéntermelési ráta, korlátozott hidrogéntermelési hatékonyság az aerob fázisban felhalmozott tartaléktápanyag mennyisége miatt.
Sötét fermentáció	$C_6H_{12}O_6 + 6H_2O = \rightarrow 2CH_3COOH + 4H_2 + 2CO_2$	A sötét fermentáció során anaerob körülmények között, szerves anyagokból, például szennyvíziszapból vagy élelmiszeripari hulladékokból hidrogén, szén-dioxid és más szerves metabolitok képződnek.	Alacsony hidrogénhozam, bár a folyamat nagyobb gázképződést eredményez az oxigénképződés hiánya miatt.

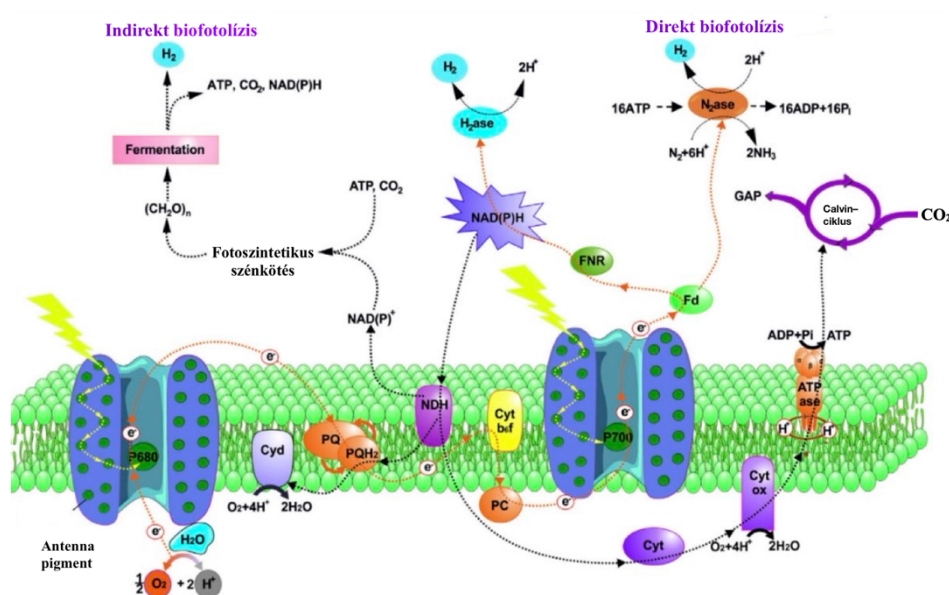
Direkt (közvetett) biofotolízis

A mikroalgák hidrogéntermelésének alaptechnológiája a direkt biofotolízis, ahol az algák a napfény energiáját hasznosítják és a vízmolekulákat fotolízis során hidrogénre és oxigénre bontják. Ezt a folyamatot csak a zöldalgák (mint *Chlamydomonas reinhardtii*, *Scenedesmus obliquus* stb.) és cianobaktériumok alkalmazzák, ezáltal tiszta és zöld energiát állítanak elő. A direkt fotolízis során két különböző, egymást követő fotokémiai rendszer vesz részt. A PSII fotokémiai rendszer oxidálja a vizet, létrehozva protonokat, elektronokat és oxigént. Az elektronok a PSI fotokémiai rendszeren keresztül a ferredoxin molekulára vándorolnak és azt redukálják, majd az innen származó elektronok és a vízbontásból keletkezett

protonok hidrogénné egyesülnek. A hidrogenáz enzimek igen érzékenyek az oxigénre, így az oxigéntartalmat a hidrogéntermelés során alacsony szinten (0.1 % alatt) kell tartani. Az oxigéntolerancia és a hidrogéntermelés hatékonyságának növelése érdekében fehérjemérnöki eljárásokat (oxigéntoleráns hidrogenázok és mutáns törzsek) alkalmaznak (Rahul, 2021; Bakonyi, 2012). Jelenleg a direkt fotolízis még nem elég gazdaságos nagyipari méretekben történő hidrogéntermeléshez, részben az alacsony hidrogénhozam miatt, részben az extrém magas előállítási költségek miatt.

4. ábra: A direkt és az indirekt biofotolízis folyamata

(Forrás: Martino, 2021)



Indirekt (közvetlen) biofotolízis

Az indirekt biofotolízis egy olyan folyamat, amelyet a direkt biofotolízis oxigén gátlásának nehézségeinek elkerülése érdekében fejlesztettek ki. Az indirekt fotolízis egy kétlépéses módszer. A folyamat során egymástól elkülönített módon (időben és néha térben is) megy végbe a biomassza termelése, valamint a hidrogén előállítása. Az első szakaszban (aerob fázisban) a fotoszintetikus rendszer vízből és szén-dioxidból, oxigént és szerves anyagot (glükózt) termel, amelyet tartalék tápanyag formájában tárol. Az algáknál és a cianobaktériumoknál ez jellemzően a keményítő és a glikogén. A második szakaszban (anaerob fázisban) fermentatív úton hasznosul a raktározott energiakészlet. A keletkező elektronok és protonok az aktivált hidrogéntermelő enzimek segítségével hidrogénné alakulnak. Magas hozamú indirekt biofotolízis akkor valósulna meg, ha a fényátalakítás hatékonysága elérné a 10-15% -ot. Jelenleg a fénykonverziós és hidrogéntermelési ráta alacsony. A környezeti

tényezők mellett az aerob fázisban felhalmozott tartaléktápanyag mennyisége is korlátozza a hidrogéntermelés hatékonyságát (Rahul, 2021, Rashid ,2013)

Sötét fermentáció

A sötét fermentáció a biohidrogén termelés egy folyamata, amelynek során nem a napenergiából nyerik az energiát, hanem a környezetben található szerves anyagokból, anaerob körülmények között termelnek hidrogént, szén-dioxidot és egyéb szerves metabolitokat. A szerves anyagok származhatnak akár szennyvíziszapból, élelmiszeripar hulladékokból is. A szerves anyag lebontása során piruvát és NADH keletkezik. A piruvátból a piruvát-formát liáz (PFL) útvonalon a ferredoxin redukálásával acetyl-CoA és formát, a piruvát-ferredoxin oxidoreduktáz (PFR) útvonalon acetyl-CoA és szén-dioxid keletkezik. Az acetyl-CoA a továbbiakban foszfo-transzacetiláz és acetát-kináz útvonalakon keresztül acetáttá alakul. A hidrogén, mint a melléktermék, a szén-dioxid, az etanol és egyéb szerves savak között található. A fermentatív termékek arányát a termelő szervezet és a környezeti hatások is befolyásolják. Az eljárás előnye, hogy igen nagy a hasznosítható szerves anyagok köre, a mezőgazdasági és egyéb ipari hulladékok, szennyvizek is bevonhatók. A folyamat nem jár oxigénképződéssel, ezáltal nagyobb gázképzős érhető el, azonban továbbra is alacsony a hidrogén hozam (Rashid, 2013; Bakonyi, 2012).

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Anyagok

4.1.1. Mikroorganizmusok

Kutatómunkám során az alábbi édesvízi zöldalga izolátumokat használtam:

- *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25
MATE, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Gödöllő
- *Desmodesmus subspicatus* CCAP 276/20
MATE, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Gödöllő
- *Raphidochelis subcapitata* NIVA-CHL1
MATE, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet, Gödöllő
- *Scenedesmus rubescens* BEA D01_12
Albitech Kft., Budapest

Kutatómunkám során az alábbi elektrogén baktériumot használtam:

- *Shewanella xiamenensis* NCAIM B.02566
MATE, Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye, Budapest

4.1.2. Tápközegek

A mikroalgák léptéknövelt tenyésztése és a gáztermelés nyomon követése szervesen természetű (szintetikus) BG-11 tápoldatban és növényi présleiben történt.

2. táblázat: A BG-11 ásványi tápoldat összetétele

NaNO ₃	1,5 g
KH ₂ PO ₄	0,04 g
MgSO ₄ * 7H ₂ O	0,075 g
CaCl ₂ * 2H ₂ O	0,036 g
Citromsav-monohidrát	0,006 g
Ammónium-vas(III)-citrát	0,006 g
Na ₂ EDTA	0,001 g
Na ₂ CO ₃	0,02 g
Nyomelem oldat (A5)	1 ml
Desztillált víz	1000 ml

3. táblázat: Az A5 nyomelemoldat összetétele

ZnSO ₄ * 7H ₂ O	0,022 g
MnCl ₂ * 4H ₂ O	0,181 g
Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	0,039 g
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0,008 g
Co(NO ₃) ₂ * 6H ₂ O	0,005 g
Desztillált víz	1000 ml

A növényi présle kommunális maradványokból, mint almahéjból, répahéjból, karalábészárból és salátalevelből készült. A présle előállítása laboratóriumi présgéppel történt. A léptéknövelt tenyésztéshez és a gáztermelés vizsgálatához 5 (v/v) % léptékenként 5-30 (v/v) % közötti koncentrációjú présleveket készítettem.

Mind az ásványi sóoldat és a növényi présle kémhatását pH 7 értékre, 0,1 n NaOH oldat segítségével állítottam be. A mikroalgák fenntartásához a BG-11 tápoldatot 25 ml-ként 50 cm³-es Falcon csövekbe osztottam szét. A mikroalgákat a léptéknövelt tenyésztésükhöz 350 ml-ként 500 cm³-es csavaros üvegedényekbe osztottam szét. A sterilizés 121 °C-on, 15 percen át autoklávbán történt. A mikroalgákat havonta oltottam át steril körülmények között, lamináris fülke alatt. A léptéknövelt tenyésztés aerob környezetben, szűrt levegő tápoldatba történő befűtatása mellett történt 20-25 °C-on. A tenyésztés során állandó, fehér fényű LED megvilágítást (1500 lumen) biztosítottam.

Az elektrogén baktérium fenntartása nyomelemekben és ásványi anyagokban gazdag Marine tápagaron, a léptéknövelt (10-50 ml) tenyésztése pedig Luria-Bertani tápoldatban, anaerob környezetben, 30°C-on történt.

4. táblázat: A Marine tápagar összetétele

Pepton	5 g
Élesztő kivonat	1 g
Fe(III)-citrát	0,1 g
NaCl	19,4 g
MgCl ₂	5,9 g
Na ₂ SO ₄	3,24 g
CaCl ₂	1,8 g
KCl	0,55 g
NaHCO ₃	0,16 g
KBr	0,08 g
SrCl ₂	34 mg
H ₃ BO ₃	22 mg
Na-szilikát	4 mg
NaF	2,4 mg
(NH ₄) ₂ NO ₃	1,6 mg
Na ₂ HPO ₄	8 mg
Agar	15 g
Desztillált víz	1000 ml

5. táblázat: A Luria-Bertani (LB) tápoldat összetétele

Trypton	10 g
Élesztő kivonat	5 g
NaCl	10 g
Agar	15 g
Desztillált víz	1000 ml

A tápközegek kémhatását pH 7 értékre, 0,1 n NaOH oldattal állítottam be. A sterilizés 121 °C-on, 15 percen át autoklávban történt.

4.2. Módszerek

4.2.1. Sejtszám meghatározás

A mikroalga sejtszám meghatározása Bürker-kamrás módszerrel, 40-szeres objektív alatt, fénymikroszkóppal történt. A baktérium esetén a felszaporított tiszta tenyészetből 10 tagú hígítási sorozatot készítettem. A ml-kénti telepképző egységek (TKE) meghatározása lemezöntéses módszerrel történt. A megdermedt agarlemezeket 24-48 órán át anaerob jarban 30 °C-on inkubáltam.

A mikroalgákat a gáztermelésnél és az energiacella-katód terében 10^5 - 10^7 sejt/ml, a baktériumot az energiacella-anód terében a 10^7 - 10^8 TKE/ml koncentráció elérést követően használtam.

4.2.2. Hidrogéntermelés gyors kimutatása

A mikroalgák hidrogén (biogáz) termelését vízkiszorítás elvén alapuló módszer segítségével három fermentációs technika esetén teszteltem.

5. ábra: BioH₂ reaktor konstrukció szemléltetése
(Forrás: Saját kép)



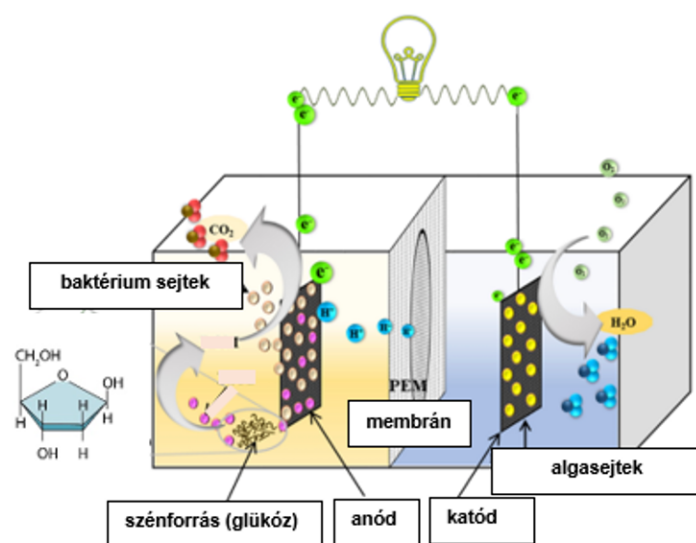
A mikroalgák 28 napos levegőztetett tenyésztését követően a hidrogéntermelés anaerob környezetben történt. A bioreaktor gázteréből szilikon csövet vezettem ki, amelyen keresztül a termelődött gáz egy vízbe süllyesztett mérőhengerbe áramlott. A gáz a saját térfogatával egyenlő vizet szorít ki a mérőhengerből, amelynek mennyiségét mérőhenger skálájának segítségével mértem le. Így a keletkezett gáztérfogatot normál állapotra számítottam (15 °C, 1 bar) Gay-Lussac 2. törvénye alapján.

Az alga alapú hidrogéntermelés dinamikájának és a különböző algafajok hidrogéntermelési hatékonyságának nyomon követése direkt fotolízis, az indirekt fotolízis és a sötét fermentáció esetén történt. A direkt és az indirekt (kénmegvonásos) fotolízist ásványi sóoldatban, állandó megvilágítás (1500 lumen fényerősség) mellett követtem nyomon 14 napon át. A sötét fermentáció különböző koncentrációjú növényi préslevekben, sötétített (fóliázott) reaktorokban történt, ahol a mikroalgák a szénforrásban kötött energiát hasznosították. Minden esetben az 500 cm³ űrtartalmú anaerob bioreaktorok 350 ml tápoldatot tartalmaztak.

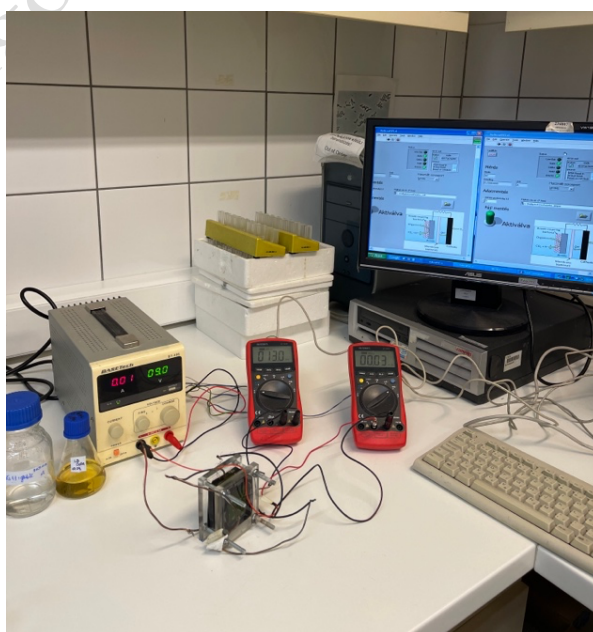
4.2.3. Energiacella konstrukció

A kétkamrás energiacella anód terében hidrogél gyöngyökbe rögzített baktérium sejtek, a katód terében pedig hidrogél gyöngyökbe rögzített mikroalga sejtek találhatók. A két kamrát protonszelektív membrán választja el, amelyen keresztül az elektrogén baktérium számára a mikroalga által termelt hidrogén átjutása biztosított.

6. ábra: Mikrobiális energiacella felépítésének sematikus ábrája
(Forrás: Moradian, 2021 alapján)



7. ábra: Energiacella összekapcsolása a számítógépes programmal
(Forrás: Saját kép)

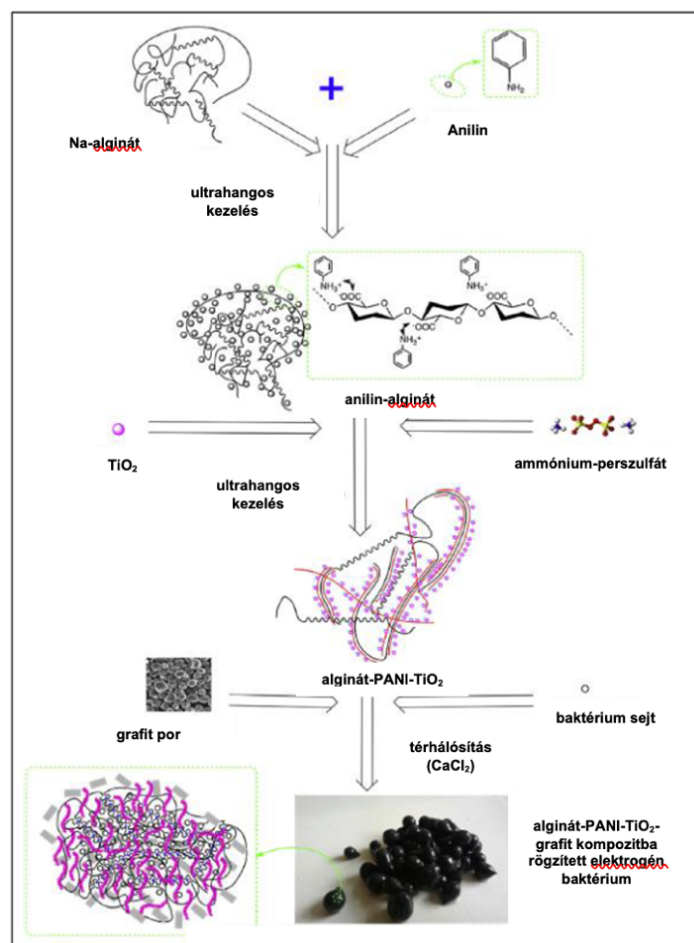


Az anód holt terét 1 (m/v) % glükóz tartalmú BG11 ásványi sóoldattal, a katód holt terét LB tápoldattal töltöttem fel. Az energiacellát a számítógéphez csatlakoztatott digitális multimérő műszerekkel kötöttem össze, ezáltal a feszültség (mV) és az áramerősség (mA) alakulását egyidőben követtem nyomon. A mérés automatikusan történt, a számítógépes program az értékeket 5 másodpercenként rögzítette.

Hidrogél-anód készítése

Szöllősi (2015) kísérletei alapján az anód teret elektromosság vezető hidrogélből hoztam létre. A gél elkészítéséhez első lépésben 2 (m/v) %-os Na-alginát gélét készítettem, ekkor 0,2 g Na-alginátot 10 ml desztillált vízben oldottam fel folyamatos kevertetés és melegítés (60 °C) mellett. A lehűtött gélhez intenzív keverés mellett 0,4 (m/v) % koncentrációban anilint adagoltam. Az anilin-alginát gélhálózatot 10 °C-on 2 órás ultrahangos kezeléssel, 42 kHz frekvencián alakítottam ki. Ezután 0,2 (m/v) % koncentrációban titán-dioxidot és 1 (m/v) % koncentrációban ammónium-perszulfátot adtam az elegyhez és ismételt ultrahangos kezelést indítottam el 2 órán keresztül 10 °C-on. A nanokompozit végső kialakításához 5 (m/v) % koncentrációban grafit port adtam az elegyhez, valamint 1 ml lecentrifugált és fiziológiás sóoldatban visszaoldott elektrogén baktérium kultúrát. Majd ezt az elegyet 20 mM-os kalcium-klorid oldatba csepegtettem fecskendő segítségével (Szöllősi, 2015).

8. ábra: Hidrogél-anód
(Forrás: Szöllősi, 2015)



A folyamat eredményeképpen 0,5-0,8 cm átmérőjű kompozit hidrogél gyöngyök alakultak ki. Az energiacella anód terét a hidrogélbe rögzített elektrogén baktériumokkal és 1 (m/v) %-ban glükózt tartalmazó LB táplevelessel töltöttem fel (Szöllősi, 2015).

Hidrogél-katód készítése

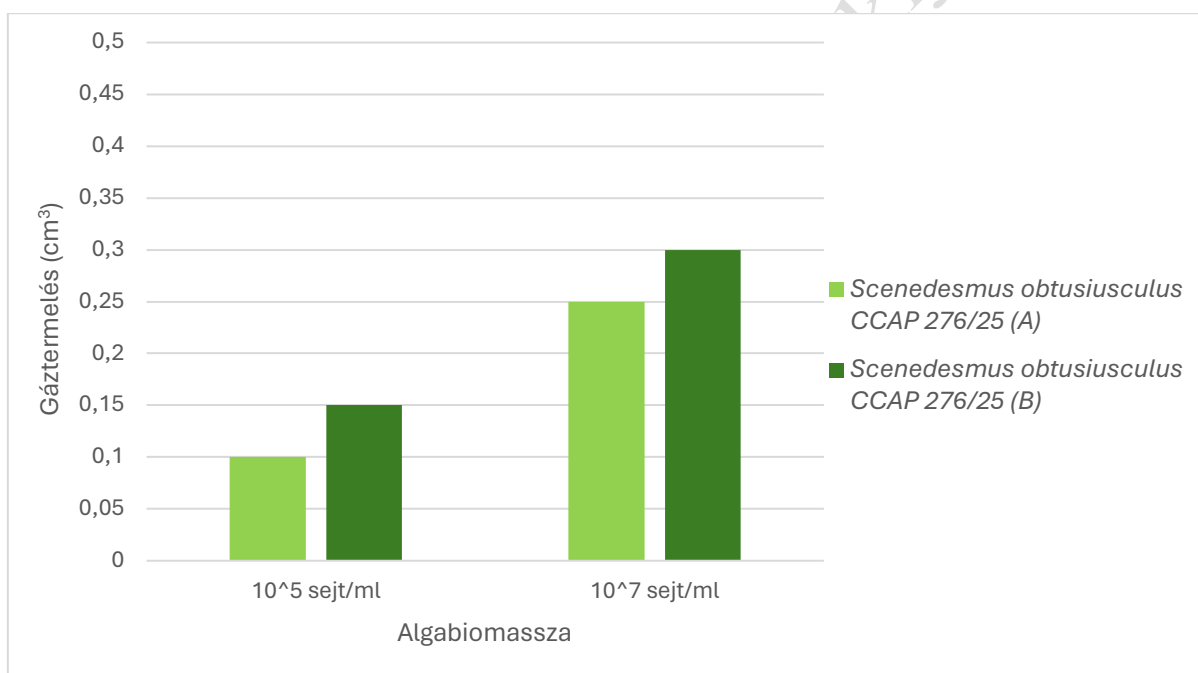
A katód tér kialakításához a hidrogéntermelő algatörzset hidrogél gyöngyökbe rögzítettem. A gél készítése során szintén 2 (m/v) %-os g Na-alginát oldatot készítettem folyamatos kevertetés és melegítés (60 °C) mellett. A lehűtött gélhez 1 ml lecentrifugált és fiziológiás sóoldatban szuszpendált algakultúrát és 1 ml 10 (m/v) % glükózt tartalmazó BG-11 ásványi sóoldatot adtam. Ezt az elegyet 20 mM-os kalcium-klorid oldatba csepegtettem állandó kevertetés mellett fecskendő segítségével. A folyamat eredményeként 0,2-0,3 cm átmérőjű hidrogél gyöngyök alakultak ki. Az energiacella katód terét a hidrogélbe rögzített algával és 1 (m/v) % glükóz tartalmú BG-11 ásványi sóoldattal töltöttem fel.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

5.1. Direkt fotolízis

Az édesvizi zöldalgák gáztermelő képességének vizsgálata elsőként direkt (közvetett) fotolízis útján történt. A 4 mikroalga izolátum gáztermelését 10^5 sejt/ml, valamint nagyobb, 10^7 sejt/ml sejtkoncentráció esetén is teszteltem. A mikroalgák közül egyedül a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 esetén tapasztaltam a folyadék szint csökkenését, amit a termelt gázok (hidrogén) okoztak. A mikroalga gáztermelése anaerob környezetben 96 órában tetőzött. A gáztermelés hatékonysága nagyobbaknak mutatkozott, amikor az aerob, növekedési szakaszt követően nagyobb sejtszámmal indítottam el az anaerob, gáztermelési szakaszt.

9. ábra: A *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 gáztermelése az algabiomassza koncentráció függvényében (25 °C, 96. óra)



A gáztermelési kísérletet két párhuzamosban indítottam el, a mért eredményeket az 9. ábra szemlélteti. A 10^5 sejt/ml sejtkoncentráció esetén 0,1-0,15 cm³, a 10^7 sejt/ml sejtkoncentráció esetén 0,25-0,3 cm³ gáztermelést mértem.

Az alábbi 6. táblázat néhány mikroalga esetén szemlélteti a hidrogéntermelési hatékonyságot (ml/l/nap) direkt fotolízis esetén.

6. táblázat: A direkt fotolízis eredményeinek összehasonlítása nemzetközi kutatásokkal

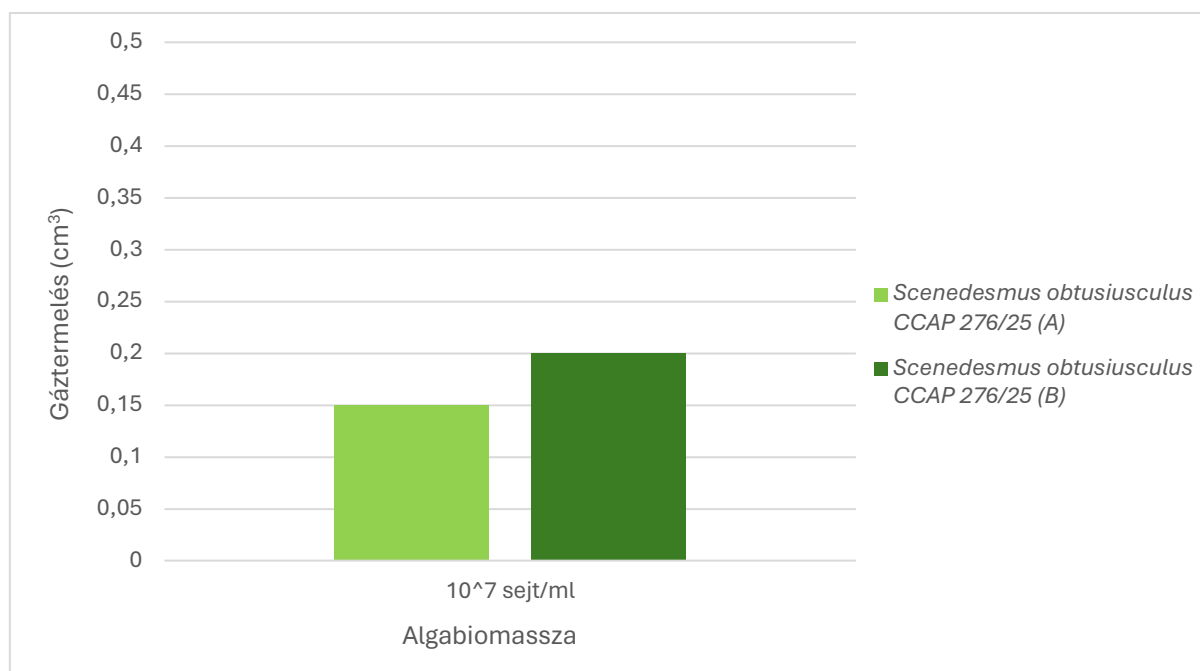
Mikroorganizmus	Hidrogén termelés mennyisége	Környezeti tényezők	Hivatkozás
<i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25	0,18-0,22 ml/L/nap	25 °C, 96. óra	Saját munka
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1,2 ml/L/nap	28-32 °C, 72 óra	(Arimbrathodi <i>et al.</i> 2023)
<i>C. pyrenoidosa</i>	4,4 ml/L/nap	35 °C, 120 óra	(Mithuna <i>et al.</i> 2013)
<i>C. vulgaris</i> YSL01	0,48 ml/L/nap	27 °C, 96 óra	(Hwang <i>et al.</i> 2014)
<i>C. vulgaris</i> YSL06	0,3 ml/L/nap	27 °C, 96 óra	(Hwang <i>et al.</i> 2014)

A továbbiakban a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 gáztermelését és a termelési technikák összehasonlítását nagyobb sejtkoncentráció esetén indítottam el.

5.2. Kén-megvonásos indirekt hidrogéntermelés

Az alga-kutatások során leírásra került, hogy a hidrogéntermelő mikroalgák teljesítménye és a hidrogéntermelési szakasz időtartama stresszhatások révén hosszabbítható. A stresszhatásnak tekinthető az állandó megvilágítás (fény ciklus) és a kén-megvonás is. Az aerob tenyésztési szakaszt követően az algabiomasszát centrifugálással (10000 rpm, 10 perc) elválasztottam, és ezt követően két-három centrifugálási ciklusban desztillált vízben átmosást végeztem a tápoldat komponensek maradéktalan eltávolítási érdekében. Az algabiomasszát kénmentes BG-11 ásványi tápoldatba oltottam le. A gáztermelési tesztet növelt, 10^7 sejt/ml koncentráció mellett indítottam el.

10. ábra: A *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 gáztermelése kén-megvonásos indirekt hidrogéntermelés során (25 °C, 96. óra)



A gáztermelési kísérletet szintén két párhuzamosban indítottam el, a mért eredményeket az 10. ábra szemlélteti. A gáztermelés hatékonysága növekedést nem eredményezett, a 10⁷ sejt/ml sejtkoncentráció esetén a 96. órában a 0,15-0,2 cm³ értéket értem el.

Az algasejtek színe a gáztermelési teszt során az erős zöld árnyalatból sárga színre váltott át, ami az algasejtek elpusztulását jelezte. A kén hiányos környezet erős stresszként hatott a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 algasejtre. Wykoff és munkatársai (1998) kutatásuk során alátámasztották, hogy a kénmentes környezetben más biokémiai útvonalak kerülnek előtérbe, ekkor az algák túlnyomórészt olyan fehérjéket szintetizálnak, amelyek az életbenmaradásukat segíti. Emiatt ugyan az alga oxigéntermelése háttérbe szorul, azonban a gáztermelés szempontjából a kén rendszerből történő teljes kizárása nem fejt ki kedvező hatást. Ghirardi és munkatársai (2000) részben növelni tudták az indirekt eljárás hatékonyságát, azáltal, hogy a rendszerhez időközönként adagoltak megfelelő mennyiségben ként.

Az alábbi 7. táblázat táblázat különböző mikroalgák és környezeti tényezők mellett összehasonlítja az indirekt fotolízis hatékonyságát más nemzetközi kutatási eredményekkel.

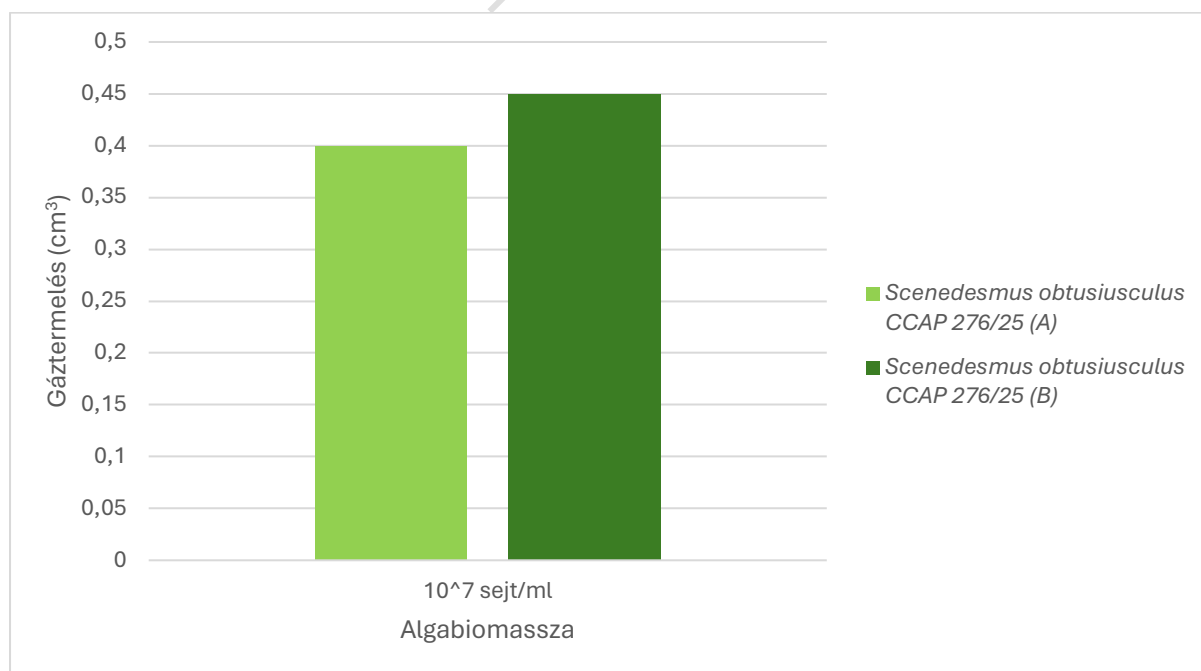
7. táblázat: Indirekt fotolízis eredmények összehasonlítása nemzetközi kutatásokkal

Mikroalga	Termelési hatékonyság	Környezeti tényezők	Hivatkozás
<i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25	0,1-0,14 ml/L/nap	25 °C, 96. óra	Saját munka
<i>C. reinhardtii</i>	1,13 ± 0,26 ml/L/nap	28 ± 1,5 °C, 140. óra	(Kosourov <i>et al.</i> 2002)

5.3. Sötét fermentáció növényi biomasszában

A következő kísérletsorozatban arra kerestem a választ, hogy megvilágítás nélküli anaerob környezetben, szerves természetű tápoldatban a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 törzs mutat-e gáztermelést, és ha igen, akkor a szerves anyag tartalom növelése milyen hatást fejt ki a gáztermelési-profiljára. Az aerob tenyésztési szakaszt követően, az indirekt fotolízis előkészületi lépésével azonos módon, az algabiomasszát centrifugálással elválasztottam és a megfelelő sejtkoncentráció eléréséhez a nedves algabiomasszát a növényi préslemben szuszpendáltam. A növényi présle hatását 5 % (v/v) léptékenként, 5 és 30 % (v/v) között teszteltem.

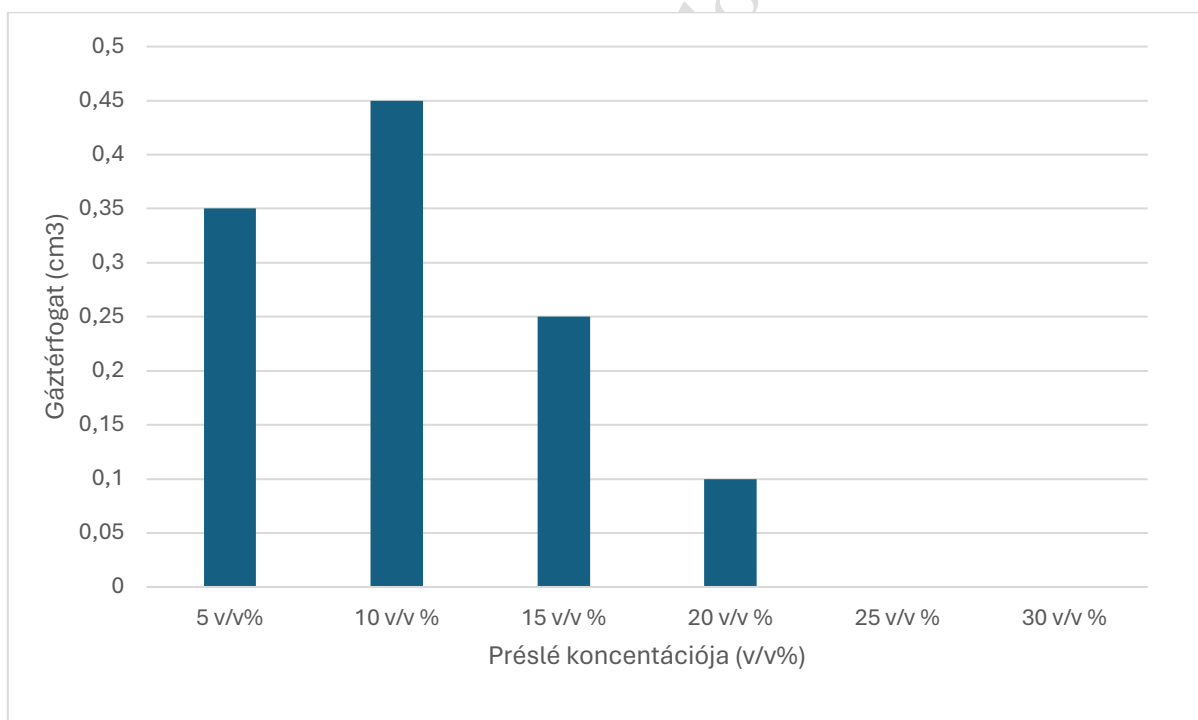
11. ábra: A *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 sötét fermentációs során (25 °C, 96. óra)



A gáztermelési kísérlet eredményeit az 11. és 12. ábra szemlélteti. A gáztermelés hatékonysága a direkt és az indirekt fotolízishez képest növekedést eredményezett. A 10 % (v/v)-os növényi préselésben, a korábbi eredményekkel összehasonlítva, közel kétszeres mennyiségben termelődtek gázok.

A préselés koncentráció növelése eltérő hatást fejtett ki a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 gáztermelésére. Az 5 % (v/v)-os növényi préselésben 0,35 cm³, a 10 % (v/v)-os növényi préselésben 0,45 cm³ gáz termelődött a 10⁷ sejt/ml sejtkoncentráció esetén a 96. órában. Amennyiben a növényi préselés koncentrációt növeltem, az 10 % (v/v) felett már kedvezőtlen hatást eredményezett. Az algasejtek gáztermelése csökkent. Ekkor a 15 % (v/v)-os növényi préselésben 0,25 cm³ gáztermelődést, a 20 % (v/v) %-os növényi préselésben pedig csupán 0,1 cm³ gáztermelődést tapasztaltam. A 25 % (v/v)-os és a 30 % (v/v)-os növényi préselésben a mikroalga gáztermelt nem mutatott 25 °C-on.

12. ábra: A *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 gáztermelése a növényi préselés koncentráció függvényében (25 °C, 96. óra)



Az alábbi 8. táblázat különböző mikroalgák és környezeti tényezők mellett összehasonlítja a sötét fermentáció hatékonyságát más nemzetközi kutatási eredményekkel.

8. táblázat: Sötét fermentáció eredmények összehasonlítása nemzetközi kutatásokkal

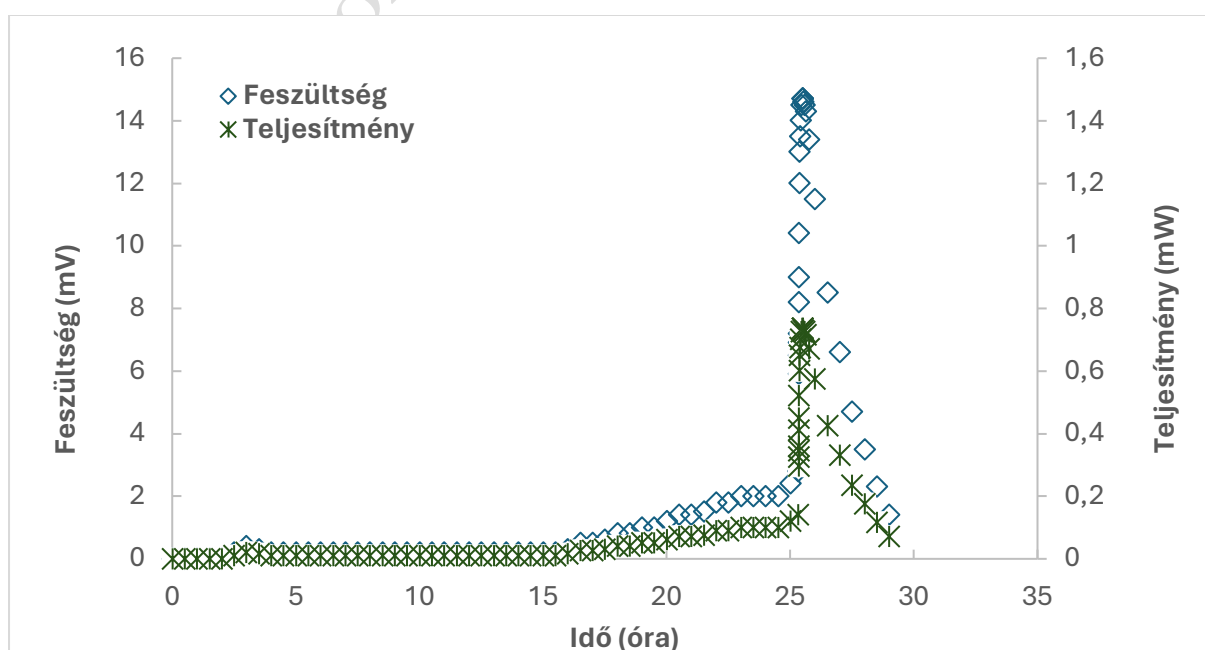
Mikroalga	Termelési hatékonyság	Környezeti tényezők	Hivatkozás/
<i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25	0,32 ml/L/nap	25 °C, 96. óra	Saját munka
<i>C. reinhardtii</i>	0,07 ml/L/nap	28 °C, 168. óra	(Cheng, 2023)
<i>C. reinhardtii</i>	0,13 ml/L/nap	28 °C, 168. óra	(Cheng, 2023)

Ezen eredmények alapján következtethetünk arra, hogy a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 mikroalga hatásosabban képes gázt (hidrogént) termelni, különösen a megfelelő présle koncentráció, szerves anyag tartalom jelenlétében. Ez azt sugallja, hogy az édesvízi zöldalga ígéretes jelölt lehet a biohidrogén előállításában.

5.4. Alga-baktérium energiacella

A továbbiakban a *Scenedesmus obtusiusculus* CCAP 276/25 törzs energiacellában történő alkalmazásának lehetőségét teszteltem. Az energiacella hidrogél anód tere $3,2 \cdot 10^7$ TKE (telepképzőegység)/ml elektrogén baktérium sejtet, az hidrogél katód tere pedig $3,75 \cdot 10^7$ sejt/ml édesvízi zöldalgát tartalmazott.

13. ábra: A mikrobiális energiacella feszültsége és teljesítménye



Az energiacella által előállított elektromos feszültséget és a szakaszos rendszer teljesítményét az idő függvényében az 13. ábra szemlélteti. A baktérium és a mikroalga rögzített formában (hidrogél anód és hidrogél katód) történő alkalmazása sikeresnek bizonyult, ugyanis az energiacellához kapcsolt multiméter elektromos feszültséget mutatott. A szakaszos rendszerben körülbelül a 16 órától jelentkezett elektromos feszültség, amely 0.3 mV értékről a 25. óráig 2.5 mV értékre nőtt. A rögzített sejtek maximális aktivitásukat a 25-26 óra között érték el, ekkor az energiacella által előállított feszültség 14.7 mV értékre nőtt.

A tápközegben és a rögzített sejtekben a hozzáférhető szénforrás (glükóz) gyors hasznosítását, valamint az mikroalgák hidrogenáz aktivitásának csökkenése miatt a 26 órát követően a feszültség értékek csökkenni kezdtek. A 29. órában a feszültség csupán 1.4 mV volt.

9. táblázat: A szakaszosan üzemeltetett energiacellában mért feszültség értékek (16. és 40. óra között)

Idő (óra)	Feszültség (mV)
16	7,2
26	6,8
40	3,2

Az áramerősség az energiacella hatékonyságának nyomon követése során 0,01 és 0,04 mA között ingadozott.

Az energiacella teljesítménye fokozatosan nőtt, amely a 25. órában elérte a 0,735 mW értéket. A termelt elektromos energia csökkenését követően a teljesítmény nullához közelített

Az eredmények alapján a kísérlet sikeresnek tekinthető, és fontos információkkal szolgálhat a további kutatásokhoz, az igény szerinti biogáz (biohidrogén) és bioáram termelés terén.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A szakdolgozatom során végzett kutatásaim a hidrogéntermelő édesvízi zöldalgák alkalmazhatóságát vizsgálták üzemanyagcellákban. Az eredményeim alapján számos konklúziót és javaslatot fogalmazhatok meg a jövőbeli kutatások és alkalmazások szempontjából.

Egyértelművé vált, hogy az algák által termelt hidrogén potenciális alternatívája lehet a hagyományos fosszilis üzemanyagoknak. A kutatásom során azonban szembesültem azzal, hogy az algák hidrogéntermelése jelenleg még nem elég hatékony, és számos kihívást jelent az ipari méretekben történő alkalmazás. A direkt és indirekt biofotolízis módszerei, bár ígéretesek, magas költségeket és alacsony hidrogénhozamot eredményeznek. Ezzel szemben a sötét fermentáció, magasabb hidrogénhozamot érhet el, de itt is jelentkeznek technológiai korlátok.

A jövőbeli kutatások két irányba ágaznak: a mikroalgák hidrogéntermelésének megismerésére és a hidrogéntermelési technikák optimalizálására, valamint a genetikailag módosított termelő törzsek fejlesztésére.

A szakdolgozatom által nyújtott betekintés rávilágított arra is, hogy a hidrogéntermelő mikroalgák nemcsak a tiszta energia előállításában, hanem a bioremediáció területén is jelentős szerepet játszhatnak. A mikroalgák képesek a szennyezett vizek tisztítására, a szerves tápanyagok hasznosítása során pedig az energiacellában hidrogént termelnek, vagy az elektrogén baktériumokkal együttműködésben áram termelnek. A modern szennyvízkezelési technológia fejlesztése több előnyt is hordoz a környezetvédelem és az energiahatékonyság szempontjából.

A hidrogéntermelő zöldalgák kutatása és alkalmazása kulcsfontosságú lehet a jövő tiszta és fenntartható energiarendszereinek kialakításában. Ezáltal nemcsak a környezetvédelmi céljaink eléréséhez járulhatunk hozzá, hanem a globális energiaigények kielégítéséhez is. A kutatásaim során szerzett tapasztalatok és a kapott eredmények motiválnak a további munkára ezen a területen.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A szakdolgozatom keretében részletesen elemeztem az édesvízi zöldalgák hidrogéntermelő képességeit és ennek alkalmazhatóságát üzemanyagcellákban. Az algák hidrogéntermelési folyamatainak - direkt biofotolízis, indirekt biofotolízis és sötét fermentáció - elemzése mellett kiemelten foglalkoztam az alga-baktérium energiacella innovatív lehetőségeivel is.

Kutatásom során három különböző hidrogéntermelési technikát teszteltem: direkt biofotolízist, indirekt biofotolízist és sötét fermentációt. Az indirekt biofotolízis során megfigyeltem, hogy az algák hidrogént termelnek az aerob és anaerob fázisok váltakozása során. Ez a technika ugyan nagyobb hidrogéntermelést eredményezett, de a technológiai korlátok és a fénykonverzió alacsony hatékonysága kihívásokat jelentett a módszer skálázhatósága szempontjából. A sötét fermentáció esetében a hidrogéntermelés napsugárzástól függetlenül zajlott, ami lehetővé tette, hogy ezt a technikát napfényben szegényebb területeken is alkalmazzam. Az eredmények szerint a mikroalgák növényi biomassza jelenlétében jelentősen növelték a hidrogéntermelést, ami azt sugallja, hogy az ipari melléktermékek értékes energiahordozóvá konvertálására nyílik lehetőség.

A kétkamrás mikrobiális üzemanyagcella (MÜC) áramtermelésének vizsgálata során a hidrogélbe ágyazott édesvízi zöldalga a katód térben, a hidrogélbe ágyazott elektrogén baktérium pedig az anód térben helyezkedett el. A két teret protonszelektív membrán választotta el. A mikroalga hatékony oxigenátor szerepet töltött be, a fényenergia felvételével javítani tudta a katód rész oxigén redukciós reakció hatékonyságát. Az alga-baktérium együttműködés az energiacella működtetésének költségeit lényegesen csökkentheti és megoldási lehetőséget kínálhat a fenntarthatóbb megújuló energiaforrások piacán.

Összességében kutatásom jelentős betekintést nyújtott az algák hidrogéntermelési folyamataiba és azok alkalmazhatóságába az energiaellátás terén. Az eredmények rámutatnak, hogy az egyes fejezetekben leírt technológiák és beállítások egymásra épülve nyújtanak választ a megújuló energiaforrások iránti növekvő igényre, valamint kiemelik az egyes technikák közötti szinergiákat és azok potenciális alkalmazási területeit.

IRODALMI HIVATKOZÁS

1. Adamo, G.; Fierli, D.; Romancino, D.P.; Picciotto, S.; Barone, M.E.; Aranyos, A.; Božič, D.; Morsbach, S.; Raccosta, S.; Stanly, C. Nanoalgosomes: Introducing extracellular vesicles produced by microalgae. *J. Extracell. Vesicles* **2021**, *10*, e12081.
2. Ahmed SF, Rafa N, Mofijur M, Badruddin IA, Inayat A, Ali MS, Farrok O and Yunus Khan TM (2021) Biohydrogen Production From Biomass Sources: Metabolic Pathways and Economic Analysis. *Front. Energy Res.* 9:753878. doi: 10.3389/fenrg.2021.753878
3. Ahmed SF, Rafa N, Mofijur M, Badruddin IA, Inayat A, Ali MS, Farrok O and Yunus Khan TM (2021) Biohydrogen Production From Biomass Sources: Metabolic Pathways and Economic Analysis. *Front. Energy Res.* 9:753878. doi: 10.3389/fenrg.2021.753878
4. Aubert-Jousset E, Cano M, Guedeney G, Richaud P, Cournac L. Role of HoxE subunit in *Synechocystis* PCC6803 hydrogenase. *FEBS J.* 2011 Nov;278(21):4035-43. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08308.x. Epub 2011 Sep 15. PMID: 21848671.
5. Bakonyi Péter (2012)- A biohidrogén *Escherichia coli*-val megvalósított előállításának és membrános szeparálásának vizsgálata, Doktori (Ph.D) Értekezés
6. Bernaerts, T.M.M.; Gheysen, L.; Foubert, I.; Hendrickx, M.E.; Van Loey, A.M. The potential of microalgae and their biopolymers as structuring ingredients in food: A review. *Biotechnol. Adv.* **2019**, *37*, 107419.
7. Blanco-Llamero C., García-García P., Señoráns F.J. Combination of Synergic Enzymes and Ultrasounds as an Effective Pretreatment Process to Break Microalgal Cell Wall and Enhance Algal Oil Extraction. *Foods.* 2021;10:1928. doi: 10.3390/foods10081928.
8. Song, C. Xie, M., Qiu, Y., Liu, Q., Sun, L., Wang, K., Kansha, Y. Integration of CO₂ absorption with biological transformation via using rich ammonia solution as a nutrient source for microalgae cultivation *Energy.*, 179 (2019), pp. 618-627
9. Camargo J.A., Alonso Á. Ecological and Toxicological Effects of Inorganic Nitrogen Pollution in Aquatic Ecosystems: A Global Assessment. *Environ. Int.* 2006;**32**:831–849. doi: 10.1016/j.envint.2006.05.002.
10. Cardozo KHM, Guaratini T, Barros MP, Falcão VR, Tonon AP, Lopes NP, Campos S, Torres MA, Souza AO, Colepicolo P, Pinto E. Metabolites from algae with economical impact. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2007 Jul-Aug;146(1-2):60-78. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.05.007. Epub 2006 Jun 29. PMID: 16901759.

11. Carrieri, Damian & Wawrousek, Karen & Eckert, Carrie & Maness, Pin-Ching. (2011). The role of the bidirectional hydrogenase in cyanobacteria. *Bioresource technology*. 102. 8368-77. 10.1016/j.biortech.2011.03.103.
12. Chandrasekhar, Kuppam, Yong-Jik Lee, and Dong-Woo Lee. 2015. "Biohydrogen Production: Strategies to Improve Process Efficiency through Microbial Routes" *International Journal of Molecular Sciences* 16, no. 4: 8266-8293. <https://doi.org/10.3390/ijms16048266>
13. Chen, Y.-H.; Huang, B.-Y.; Chiang, T.-H.; Tang, T.-C. A mikroalgák (*Chlorella protothecoides*) olajos biodízel üzemanyag tulajdonságai és kőolaj-dízel keverékei. *Üzemanyag* **2012** , 94 , 270–273.
14. Cheng Chen, Qianwen Shi, Akang Tong, Liyun Sun, Jianhua Fan, Screening of microalgae strains for efficient biotransformation of small molecular organic acids from dark fermentation biohydrogen production wastewater, *Bioresource Technology*,
15. Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R. W., and Das, K. (2010). Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresour. Technol.* 101, 3097–3105. doi: 10.1016/j.biortech.2009.12.026
16. Ciani M., Lippolis A., Fava F., Rodolfi L., Niccolai A., Tredici MR Microbes: Food for the Future. *Élelmiszerek*. 2021; 10 :971. doi: 10.3390/foods10050971.
17. Costa JAV, de Moraes MG.. An open pond system for microalgal cultivation. In: Pandey A, Lee D-J, Chisti Y, Soccol CR, editors. *Biofuels from Algae*. Elsevier; 2014. p. 1–22. DOI: 10.1016/B978-0-444-59558-4.00001-2
18. Dreesen I. A. J., Hamri G. C. E., Fussenegger M. (2010). Heat-stable oral alga-based vaccine protects mice from *Staphylococcus aureus* infection. *J. Biotechnol.* 145 273–280. 10.1016/j.jbiotec.2009.12.006
19. Ebru G., Uyar Ö., Nurdan M. Symbiotic Association of Microalgae and Plants in a Deep Water Culture System. *PeerJ*. 2022;**10**:e14536. doi: 10.7717/peerj.14536.
20. Fernandez-Valenzuela, Saúl & Ruvalcaba, Francisca & Beltrán-Rocha, Julio & Claudio, Pilar & Reyna, Gustavo. (2021). Isolation and Culturing Axenic Microalgae: Mini–Review. *The Open Microbiology Journal*. 15. 111-119. 10.2174/1874285802115010111
21. Ghirardi, M. L., Zhang, L., Lee, J. W., Flynn, T., Seibert, M., Greenbaum, E., & Melis, A.(2000). Microalgae: a green source of renewable H₂. *Trends in Biotechnology*, 18(12), 506-511.

22. Gupta PL, Lee S-M, Choi H-J. A mini review: photobioreactors for large scale algal cultivation. *World J Microbiol Biotechnol*. 2015;31(9):1409–1417.
23. Hallenbeck PC, Abo-Hashesh M, Ghosh D. Strategies for improving biological hydrogen production. *Bioresour Technol*. 2012 Apr;110:1-9. doi: 10.1016/j.biortech.2012.01.103. Epub 2012 Jan 28. PMID: 22342581.
24. Hemaiswarya, Shanmugam & Raja, Rathinam & Ravikumar, R. & Carvalho, Isabel. (2013). Microalgae taxonomy and breeding. *Biofuel Crops: Production, Physiology and Genetics*. 44-53.
25. Hodai Zoltán , Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Bócsi Róbert Mikroalga Technológia Alkalmazhatóságának Lehetőségei. XX. Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka, 2015. Kolozsvár, 163–166. DOI: 10.33895/mtk-2015.03. 33
26. Hoffmann, J. P. (1998). Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *J. Phycol*. 34, 757–763. doi: 10.1046/j.1529-8817.1998.340757.x
27. Hwang, Jae-Hoon & Church, Jared & Lee, Seung-Jin & Park, Jungsu & Lee, Woo. (2016). Use of Microalgae for Advanced Wastewater Treatment and Sustainable Bioenergy Generation. *Environmental Engineering Science*. 33. 10.1089/ees.2016.0132.
28. Jolly, W. L. "Hydrogen". *Encyclopedia Britannica*, 19 2024, <https://www.britannica.com/science/hydrogen>.
29. Khavari F, Saidijam M, Taheri M, Nouri F. Microalgae: therapeutic potentials and applications. *Mol Biol Rep*. 2021;48:4757–4765. doi: 10.1007/s11033-021-06422-w.
30. Khetkorn W, Rastogi RP, Incharoensakdi A, Lindblad P, Madamwar D, Pandey A, Larroche C. Microalgal hydrogen production - A review. *Bioresour Technol*. 2017 Nov;243:1194-1206. doi: 10.1016/j.biortech.2017.07.085. Epub 2017 Jul 17. PMID: 28774676.
31. Klamczynska B., Mooney W. D. (2017). Heterotrophic microalgae: a scalable and sustainable protein source. South San Francisco, CA: TerraVia Holdings Inc.
32. Kong, Q.-X., Li, L., Martinez, B., Chen, P., and Ruan, R. (2010). Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 160, 9–18. doi: 10.1007/s12010-009-8670-4
33. Koo J., Park D., Kim H. (2013). Expression of bovine lactoferrin N-lobe by the green alga, *Chlorella vulgaris*. *ALGAE* 28 379–387. 10.4490/algae.2013.28.4.379
34. Kosourov, S., Tsygankov, A., Seibert, M., Ghirardi, M.L., 2002. Sustained hydrogen photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii*: effects of culture parameters. *Biotechnol. Bioeng*. 78, 731-740.

35. Kim, M.S. Kim D.H., Lee, J.K.. Biohydrogen. In: Comprehensive biotechnology, 2nd edn. Academic Press, Burlington, MA, pp. 115-25 (2011).
36. Martínez-Ruiz M, Martínez-González CA, Kim D-H, Santiesteban-Romero B, Reyes-Pardo H, Villaseñor-Zepeda KR, Meléndez-Sánchez ER, Ramírez-Gamboa D, Díaz-Zamorano AL, Sosa-Hernández JE, et al. Microalgae Bioactive Compounds to Topical Applications Products—A Review. *Molecules*. 2022; 27(11):3512.
37. Martino, Marco, Concetta Ruocco, Eugenio Meloni, Pluton Pullumbi, and Vincenzo Palma. 2021. "Main Hydrogen Production Processes: An Overview" *Catalysts* 11, no. 5: 547.
38. Meyer J (2007) [FeFe] hydrogenases and their evolution: a genomic perspective. *Cell Mol Life Sci* 64(9):1063-1084
39. Mirnes Duraković, Sanela Beganović, Mirjana Halilović, Semir Šećerović, Sabahudin Pašalić - The results of research into bioremediation of soil using "biocomplex-w" solution, institute for the protection of ecology, Laboratory Measurement Of Environmental Pollution
40. Mishra AK, Kaushik MS, Tiwari D.. Nitrogenase and hydrogenase: enzymes for nitrogen fixation and hydrogen production in cyanobacteria. In: Mishra AK, Tiwari DN, A.N. Rai AN, editors. *Cyanobacteria*. Academic Press; 2019. p. 173–191. DOI: 10.1016/B978-0-12-814667-5.00008-8
41. Mithuna, S., Mubarakb, M., Shaijac, A., Suchitrad, T.V., 2013. Experimental investigation of biohydrogen production from indigenous algae and *Chlorella Pyrenoidosa*. 2013 Int. Conf. Energy Effic. Technol. Sustain. ICEETS 2013, 334–337.
42. Montoya-Arroyo A., Lehnert K., Muñoz-González A., Schmid-Staiger U., Vetter W., Frank J. Tocochromanol Profiles in *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis limnetica* and *Tetraselmis suecica* Confirm the Presence of 11'- α -Tocomonoenol in Cultured Microalgae Independently of Species and Origin. *Foods*. 2022;11:396. doi: 10.3390/foods11030396.
43. Montoya-Arroyo A., Lehnert K., Muñoz-González A., Schmid-Staiger U., Vetter W., Frank J. Tocochromanol Profiles in *Chlorella sorokiniana*, *Nannochloropsis limnetica* and *Tetraselmis suecica* Confirm the Presence of 11'- α -Tocomonoenol in Cultured Microalgae Independently of Species and Origin. *Foods*. 2022;11:396. doi: 10.3390/foods11030396.

44. Moradian, J.M., Fang, Z. & Yong, YC. Recent advances on biomass-fueled microbial fuel cell. *Bioresour. Bioprocess.* **8**, 14 (2021). <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00365-7>
45. Naim Rashid, Muhammad Saif Ur Rehman, Sheeraz Memon, Zia Ur Rahman, Kisay Lee, Jong-In Han, Current status, barriers and developments in biohydrogen production by microalgae, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 22, 2013, Pages 571-579, ISSN 1364-0321, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.01.051>.
46. Olguí, E. J. (2003). Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnol. Adv.* **22**, 81–91. doi: 10.1016/S0734-9750(03)00130-7
47. Özer Uyar GE, Mısmıl N. Symbiotic association of microalgae and plants in a deep water culture system. *PeerJ.* 2022 Dec 7;10:e14536. doi: 10.7717/peerj.14536. PMID: 36523481; PMCID: PMC9745926.
48. Parker, Micaela S.; Mock, Thomas; Armbrust, E. Virginia (2008). "Genomic Insights into Marine Microalgae". *Annual Review of Genetics.* **42**: 619 - 645. doi:10.1146/annurev.genet.42.110807.091417. PMID 18983264.
49. Peilun Xu, Jun Li, Jun Qian, Bang Wang, Jin Liu, Rui Xu, Paul Chen, Wenguang Zhou, Recent advances in CO₂ fixation by microalgae and its potential contribution to carbon neutrality, *Chemosphere*, Volume 319, 2023, 137987, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137987>.
50. Pittman, J. K., Dean, A. P., and Osundeko, O. (2011). The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresour. Technol.* **102**, 17–25. doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.035
51. Posten C. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng Life Sci.* 2009;9(3):165–177.
52. Rahul Gautam, Jagdeep K. Nayak, Neil V. Ressa, Robert Steinberger-Wilckens, Uttam Kumar Ghosh, Bio-hydrogen production through microbial electrolysis cell: Structural components and influencing factors, *Chemical Engineering Journal*, Volume 455, 2023, 140535, ISSN 1385-8947, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.140535>.
53. Rogers JN, Rosenberg JN, Guzman BJ, et al. A critical analysis of paddlewheel-driven raceway ponds for algal biofuel production at commercial scales. *Algal Res.* 2014;4:76–88.
54. Sierra E, Acien FG, Fernández JM, et al. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chem Eng J.* 2008;138(1–3):136–147.

55. Sisman-Aydin, G. (2022). Comparative study on phycoremediation performance of three native microalgae for primary-treated municipal wastewater. *Environmental Technology & Innovation*, 28, 102932. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102932>
56. Sołowski, Gawęł. (2018). Biohydrogen Production - Sources and Methods: A Review. 10.20911/IJBBT-101..
57. Srirangan K, Pyne ME, Perry Chou C. Biochemical and genetic engineering strategies to enhance hydrogen production in photosynthetic algae and cyanobacteria. *Bioresour Technol.* 2011 Sep;102(18):8589-604. doi: 10.1016/j.biortech.2011.03.087. Epub 2011 Mar 31. PMID: 21514821.
58. Stephens, E., Ross, I. L., Mussnug, J. H., Wagner, L. D., Borowitzka, M. A., Posten, C., et al. (2010). Future prospects of microalgal biofuel production systems. *Trends Plant Sci.* 15, 554–564. doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.003
59. Sun Z, Liu J, Zhou Z-G.. Algae for biofuels: an emerging feedstock. In: Luque R, Lin CSK, Wilson K, Clark J, editors. *Handbook of biofuels production*. Woodhead Publishing; 2016. p. 673–698. DOI: 10.1016/B978-0-08-100455-5.00022-9
60. Szőllősi Attila (2015) Mikrobiális üzemanyagcella teljesítményének növelése, Doktori értekezés
61. Tamagnini P, Leitão E, Oliveira P, Ferreira D, Pinto F, Harris DJ, Heidorn T, Lindblad P. Cyanobacterial hydrogenases: diversity, regulation and applications. *FEMS Microbiol Rev.* 2007 Nov;31(6):692-720. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00085.x. Epub 2007 Sep 26. PMID: 17903205.
62. Tamburic B, Zemichael FW, Crudge P, et al. Design of a novel flat-plate photobioreactor system for green algal hydrogen production. *Int J Hydrogen Energy.* 2011;36(11):6578–6591.
63. Tien Thanh, N.; Mostapha, M.; Lam, MK; Ishak, S.; Kanna Dasan, Y.; Lim, JW; Tan, IS; Lau, SY; Chin, BLF; Hadibarata, T. A mikroalgák biomassájának biodizellé in situ átváltásának alapvető megértése: Kritikai áttekintés. *Energy Convers. Manag.* **2022** , 270 , 116212.
64. Tredici MR. Mass production of microalgae: photobioreactors. *Handbook Microalgal Culture.* 2004;1:178–214.
65. Urbanelli, L.; Buratta, S.; Tancini, B.; Sagini, K.; Delo, F.; Porcellati, S.; Emiliani, C. The Role of Extracellular Vesicles in Viral Infection and Transmission. *Vaccines* 2019, 7, 102.

66. Villaró S., Ciardi M., Morillas-españa A., Sánchez-zurano A., Acién-fernández G., Lafarga T. Microalgae Derived Astaxanthin: Research and Consumer Trends and Industrial Use as Food. *Foods*. 2021;10:2303. doi: 10.3390/foods10102303.
67. Wang, J., Yin, Y. Fermentative hydrogen production using pretreated microalgal biomass as feedstock. *Microb Cell Fact* **17**, 22 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0871-5>
68. White RL, Ryan RA. Long-term cultivation of algae in open-raceway ponds: lessons from the field. *Ind Biotechnol*. 2015;11(4):213–220.
69. Wykoff, D. D., Davies, J. P., Melis, A., & Grossman, A. R. (1998). The regulation of photosynthetic electron transport during nutrient deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*, 117(1), 129-139.
70. Yan C, Zhang Q, Xue S, et al. A novel low-cost thin-film flat plate photobioreactor for microalgae cultivation. *Biotechnol Bioprocess Eng*. 2016;21(1):103–109.

INTERNETES HIVATKOZÁSOK

Megtekintés dátuma: 2024 január – április

1. Internet 1: <https://www.feednavigator.com/Article/2023/11/08/research-on-microalgae-as-feed-additives>
2. Internet 2: <https://atlas-scientific.com/blog/does-algae-produce-oxygen/>
3. Internet 3: https://www.researchgate.net/figure/Cultivation-of-microalgae-open-and-closed-systems_fig11_236899331
4. Internet 4: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/element/Hydrogen#section=Uses>
5. Internet 5: <https://www.lindegas.hu/hu/hidrogen/hidrogen.html>
6. Internet 6: https://www.irena.org/-/media/Files/IRENA/Agency/Publication/2020/Nov/IRENA_Green_hydrogen_policy_2020.pdf
7. Internet 7: https://www.parlament.hu/documents/10181/39233854/Infojegyzet_2021_59_megujulo_hidrogen.pdf/93610d14-eace-c56f-afac-fec66c036a47?t=1632390644160
8. Internet 8: <https://enerdatix.com/blog/types-of-hydrogen/>

TÁBLÁZAT JEGYZÉK

1. táblázat: Mikroalgák hidrogéntermelése, a termelési lehetőségek	18
2. táblázat: A BG-11 ásványi tápoldat összetétele.....	21
3. táblázat: Az A5 nyomelemoldat összetétele	22
4. táblázat: A Marine tápagar összetétele	23
5. táblázat: A Luria-Bertani (LB) tápoldat összetétele	23
6. táblázat: Direkt fotolízis eredmények összehasonlítása nemzetközi kutatásokkal.....	29
7. táblázat: Indirekt fotolízis eredmények összehasonlítása nemzetközi kutatásokkal	31
8. táblázat: Sötét fermentáció eredmények összehasonlítása nemzetközi kutatásokkal.....	33
9. táblázat: A szakaszosan üzemeltetett energiacellában mért feszültség értékek (16. és 40. óra között)	34

ÁBRAJEGYZÉK

1. ábra: Az algák mikroszkópos sokszínűsége és a fotoszintézis folyamata	7
2. ábra: A nyílt és a zárt rendszer ábrája	9
3. ábra: Az ipari hidrogén előállítás lehetőségei	16
4. ábra: A direkt és az indirekt biofotolízis folyamata.....	19
5. ábra: BioH ₂ reaktor konstrukció szemléltetése	24
6. ábra: Energiacella felépítésének sematikus ábrája.....	25
7. ábra: Energiacella összekapcsolása a számítógépes programmal.....	25
8. ábra: Hidrogén-anód	27
9. ábra: A <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25 gáztermelése az algabiomassza koncentráció függvényében (25 °C, 96. óra).....	28
10. ábra: A <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25 gáztermelése kén-megvonásos indirekt hidrogéntermelés során (25 °C, 96. óra)	30
11. ábra: A <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25 sötét fermentációs során (25 °C, 96. óra)	31
12. ábra: A <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> CCAP 276/25 gáztermelése a növényi présle koncentráció függvényében (25 °C, 96. óra).....	32
13. ábra: A mikrobiális energiacella feszültsége és teljesítménye.....	33

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőm, Dr. Kohári – Farkas Csilla (Egyetemi adjunktus) felé, aki szakmai tudásával és önzetlen segítségével támogatott a dolgozatom elkészítése során.

Továbbá köszönöm szépen a Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék valamennyi oktatójának és dolgozójának odaadó munkáját és támogatását.

A kutatás a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal „A körforgásos gazdaság megvalósíthatósága a honvédelmi tevékenységek során” című, TKP2021-NVA-22 azonosítószámú Témaerületi Kiválósági Program támogatásával valósult meg.

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Lebedovszkij Sophie
A Hallgató Neptun kódja: NSD4IM
A dolgozat címe: Hidrogéntermelő édesvízi zöldalgák alkalmazása
üzemanyagcellában
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai intézet
A konzulens tanszékének a neve: Biomérnök és Erjedéssipari Technológiai Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió² egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

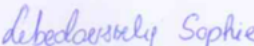
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Budapest, 2024.04.22


Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Lebedovszkij Sophie (hallgató Neptun azonosítója: NSD4IM) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Budapest, 2024. április 16.


belső konzulens