

# SZAKDOLGOZAT

Farkas Luca

Farkas Luca

2024



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Budai Campus**

**Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék  
Biomérnöki alapképzési szak**

**SZAKASZOSAN RÁZATOTT ÉS KEVERTETETT-LEVEGŐZTETETT  
TENYÉSZTÉS HATÁSA NÉHÁNY ÉDESVÍZI ZÖLDALGA  
INTRACELLULÁRIS BIOAKTÍV KOMPONENSÉNEK  
TERMELÉSÉRE**

**Belső konzulens:** Dr. Kohári-Farkas Csilla  
egyetemi adjunktus

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

**Készítette:** Farkas Luca

**Budapest  
2024**

**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**  
**Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet**

**Szak neve:** BSc Biomérnöki

**Modul neve:** Alkalmazott biotechnológiai

**Modul szerinti tanszék:** Biomérnöki és Erjedésipari Technológia Tanszék

**Szakedolgozat készítés helye:** Biomérnöki és Erjedésipari Technológia Tanszék

Hallgató: Farkas Luca

A szakedolgozat címe: Szakaszosan rázatott és kevertetett-levegőztetett tenyésztés hatása néhány édesvízi zöldalga intracelluláris bioaktív komponensének termelésére

Konzulens: Dr. Kohári-Farkas Csilla

Beadás dátuma: 2024. november 5.

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>1</b>	<b>BEVEZETÉS</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1</b>	<b>Algák</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2</b>	<b>Mikroalgák tenyésztése</b> .....	<b>6</b>
2.2.1	<i>Desmodesmus</i> nemzetség .....	7
2.2.2	<i>Raphidocelis</i> nemzetség .....	8
2.2.3	<i>Scenedesmus</i> nemzetség.....	9
<b>2.3</b>	<b>A mikroalga metabolitok és ipari hasznosításuk</b> .....	<b>9</b>
2.3.1	Élelmiszeripar.....	10
2.3.2	Gyógyszeripar és kozmetika .....	11
2.3.3	Állati takarmányozás.....	11
2.3.4	Növénytermesztés .....	12
2.3.5	Bioenergetika.....	12
<b>2.4</b>	<b>Bioaktív komponensek</b> .....	<b>13</b>
2.4.1	Polifenolok és flavonoidok.....	13
2.4.2	Pigmentek.....	14
<b>3</b>	<b>ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1</b>	<b>Anyagok</b> .....	<b>17</b>
3.1.1	Édesvízi mikroalga izolátumok .....	17
3.1.2	Tápanyagok.....	17
<b>3.2</b>	<b>Módszerek</b> .....	<b>18</b>
3.2.1	Mikroalgák laboratóriumi tenyésztése .....	18
3.2.2	Az algasejtszám meghatározása .....	19
3.2.3	Liofilizálás.....	19
3.2.4	Sejtfeltárás és extrakció.....	19
3.2.5	Bioaktív komponensek mérése.....	20
3.2.5.1	Teljes polifenol tartalom .....	20
3.2.5.2	Teljes flavonoid tartalom .....	20
3.2.5.3	Antioxidáns kapacitás mérése .....	21
3.2.5.4	Pigmenttartalom meghatározás.....	21
<b>4</b>	<b>EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK</b> .....	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<b>Mikrohullámmal közvetített szerves oldószeres extrakció hatása</b> .....	<b>22</b>
4.1.1	Alga-kivonatok polifenol és flavonoid tartalmának alakulása .....	22
4.1.2	Alga-kivonatok antioxidáns kapacitása.....	23
4.1.3	Alga-kivonatok klorofill tartalmának alakulása .....	24
<b>4.2</b>	<b>Mikroalga tenyésztés időtartamának hatása</b> .....	<b>26</b>
4.2.1	Alga-kivonatok polifenol és flavonoid tartalmának alakulása .....	26
4.2.2	Alga-kivonatok antioxidáns kapacitása.....	28
4.2.3	Alga-kivonatok klorofill tartalmának alakulása .....	29
<b>4.3</b>	<b>A <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> izolátum levegőztetett-kevertetett tenyésztésének hatása</b> .	<b>32</b>
4.3.1	Alga-kivonatok polifenol és flavonoid tartalmának alakulása .....	32
4.3.2	Alga-kivonatok klorofill tartalmának alakulása .....	33
<b>5</b>	<b>ÖSSZEFOGLALÁS</b> .....	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>IRODALOMJEGYZÉK</b> .....	<b>37</b>

# 1 BEVEZETÉS

A XXI. század első negyedében világszinten megjelentek a környezettel kapcsolatos égető kérdések és cselekvési tervek. Ahhoz, hogy most ilyen mértékű környezetterheléssel és a környezetterhelés által indított természeti láncreakcióval (szélsőséges időjárási viszonyok, élővilág biodiverzitásának csökkenése stb.) nézünk szembe, kellett egy kiváltó ok, ami több száz évre, az ipari forradalomhoz vezethető vissza. Ettől kezdődően az emberiség a természetben fellelhető nem megújuló energiaforrásokat (kőolaj, földgáz, szén stb.) elkezdte hasznosítani, amely rohamos ütemben nőtt és napjainkban inkább már környezetünk kizsákmányolására váltott át.

A környezeti és gazdasági problémák enyhítésére mind az ipari ágazatok és a társadalmunk is egyre erősebb igényt mutat a fenntarthatóság és a termékek/szolgáltatások fenntarthatóbb megoldásai iránti. A törekvések a nem megújuló energiaforrás hasznosítás mérséklésére és hatékonyabb, környezetkímélőbb technológiával történő hasznosítására, valamint a megújuló, hosszabb távon fenntartható energiaforrások, alapanyagkészletek kutatására és fejlesztésére irányulnak.

A természet biomassza készletében az algák olyan élő szervezetek, amelyekről a kutatások során is bizonyosságot nyert, miszerint az algák és az általuk termelt anyagcseretermékek (fehérjék, zsírok és lipidek, szénhidrátok, pigmentek, polifenolok, flavonoidok, stb.) az élet számos területén, mint az élelmiszeriparban, a gyógyászatban, a kozmetikai szektorban, a biopolimerek előállításában, a bioüzemanyag gyártásban, és nem utolsósorban a modern hulladékkezelésben is nagy potenciált mutat. Elsősorban fontos megemlíteni, hogy az élőlények körében ezek az organizmusok azok, amelyek szaporodása az egyik leggyorsabb és leghatékonyabb, hiszen akár egy nap alatt képesek a saját tömegüket megduplázni. Az optimált környezetet tenyésztésük nem igényli, emellett pedig igen nagy tűrőhatárral rendelkeznek.

A mikroalgák tenyésztésére már a múlt században is voltak laboratóriumi szintű törekvések, amelyek ugyan még nem teljesen steril körülmények között zajlottak le, azonban megfelelőek voltak arra, hogy letegyék az *in vitro* tenyésztés alapjait. Az mikroalgák tenyésztése ma már jellemzően zárt rendszerben, fotobioreaktorokban történik, amely a szaporodáshoz fényt és megfelelő anyagáramot biztosít. A mikroalgák tenyésztése során szem előtt kell tartanunk a mikroalga típusát és a termelni kívánt terméket, amely lehet maga az

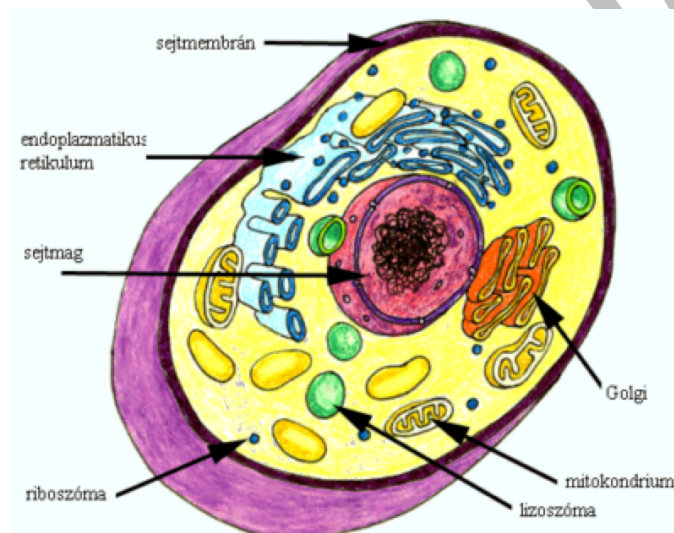
algabiomassza (többek között humán táplálkozási, állati takarmányozási, szennyvíztisztítási célokra, stb.), vagy valamilyen extracelluláris/intracelluláris anyagcseretermék (többek között élelmiszer adalékanyagként antioxidáns hatású vegyületek, pigmentek, stb.), és a minél kedvezőbb hozam elérése érdekében a tenyésztési körülményeket. Ehhez kapcsolódóan szakdolgozati munkám során eltérő tenyésztési technikák esetén követtem nyomon néhány édesvízi mikroalga izolátum bioaktív komponenseinek termelését, minőségi és mennyiségi alakulását és a szaporodási dinamikát. Az alábbi részfeladatok megvalósítását és az elért eredmények értékelését tűztem ki célul:

- A mikrohullámú kezeléssel közvetített szerves oldószeres (etanol és metanol) extrakció hatékonyságának összehasonlítása liofilizált algatenyészetek esetén
- A tenyésztési időtartam hatása a bioaktív komponensek minőségi és mennyiségi alakulására
- A szakaszosan rázatott és levegőztetett-kevertetett tenyésztés hatása a *Scenedesmus obtusiusculus* alga izolátum bioaktív komponenseire és a szaporodási dinamikára
- Bioaktív komponens kinyerési profil összehasonlítása különböző etanol-metanol arányok alkalmazása esetén

## 2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1 Algák

Az algák a rendszertani világban moszatok néven is közismertek. Ezek az élőlények több milliárd évvel ezelőtt jelentek meg a Földön, a legősibbek és több ezer fajt ismerünk mostanra. Előfordulás tekintetében két nagy csoportjukat különböztetjük meg, az édesvízi és a sósvízi (tengeri) algákat. Léteznek kivételek természetesen, amelyek a talajban, növényeken vagy sziklákon élnek. Akár csak előfordulásuk szerint, méretük alapján is szélsőségesek, hiszen az egysejtű, mikroszkopikus méretű algáktól kezdődően egészen több méter hosszú telepeket alkotó tengeri algák is léteznek.



1.ábra: Az algasejt szerveződése (Internet 1.)

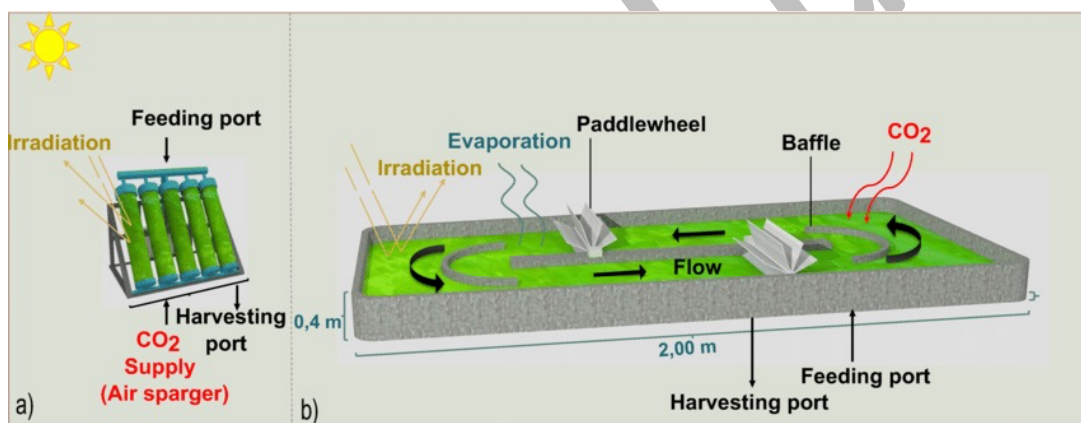
Általánosságban az algák vízi életmódúak, fototrófok és olyan eukarióta szervezetek, amelyek rendelkeznek sejtmaggal, viszont nincsenek és nem is képesek valódi növényi részek kialakítására. A magasabb rendű moszatok nagy ugrást jelentettek a valódi növények kialakulása felé, hiszen már sejttársulásokat hoztak létre. A morfológiájukat illetően a sejt védelmét egy szilárd sejtfal biztosítja. A sejten belül pedig található egy önálló sejtmag, a kettős membránnal határolt mitokondrium, a kloroplasztisz (zöld színtest) és a többi sejtorganelum (mint Golgi-készülék, Golgi-vezikulum, riboszómák, periszómák), amelyek közötti teret a citoplazma tölti ki (Bocsi, 2016).

Földünk élete szempontjából az algák szerepe nagyon sokrétű, amelyek közül a legfontosabb az oxigén előállító képességük. Emellett táplálék forrásként, valamint táplálék kiegészítőként is szolgálhatnak az állatok és az emberek számára. A vízi ökoszisztémákban

bizonyos algafajok tisztító szerepet töltenek be, hiszen bizonyos szerves szennyeződések és toxikus hatású anyagokat tudnak lebontani, ilyen például a tributil-ón is, ami egy a szervezetre rendkívül káros növényvédőszer (Klátyik, 2021).

## 2.2 Mikroalgák tenyésztése

A mikroalgák tenyésztése két módon is megvalósulhat, nyitott, valamint zárt rendszerben. A nyitott rendszerben való termesztés nagy léptéket biztosít a kádak mérete miatt is. Az alga szaporítása mesterségesen előállított „alga tavakban” történik, amelyek műanyag burkolatúak és keverőlapátokkal vannak ellátva. Az ilyen kultúrákban nagyon fontos a kevertetés biztosítása, a termelékenység és a megvilágítás miatt is. A szaporodásukhoz szükség van napfényre, amely egyenletes eljuttatása a kádak kialakítása miatt nehezen kivitelezhető. Emellett további problémát okoz egyéb technológiai tényezők (mint hőmérséklet) szabályozása is (Xu et al. 2009).

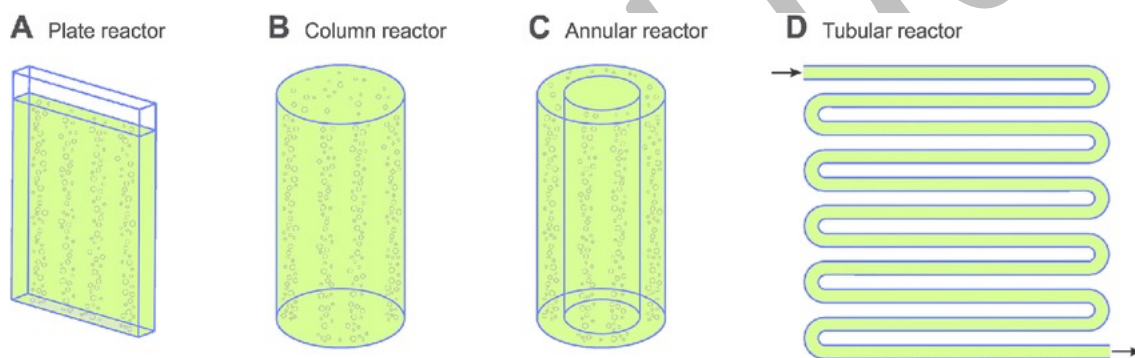


2. ábra: Nyitott rendszerű algatenyésztés (Oliveira *et al.* 2021, Internet 2,)

A zárt rendszerekben történő algatenyésztéssel a befertőződés kockázata csökkenthető, továbbá a tenyésztés könnyen nyomon követhető és szabályozható. A fotobioreaktorok mellett szól a kisebb helyigény, valamint, hogy rövid időn belül nagy mennyiségű algabiomassza állítható elő. Többféle típusa ismert a zárt rendszereknek. A kialakításuk többek között függ az algafajtól, a tenyésztés céljától (algabiomassza, alga-metabolitok), a megvilágítás módjától, szubsztrátum ellátástól, a keverési módtól.

- csőreaktorok (tubular photobioreactors)
- flat panel foto-bioreaktorok (flat plate photobioreactors)
- buborékkolonás foto-bioreaktorok (airlift and bubble-column bioreactors)
- kevert tartályos reaktorok (stirred tank reactors)

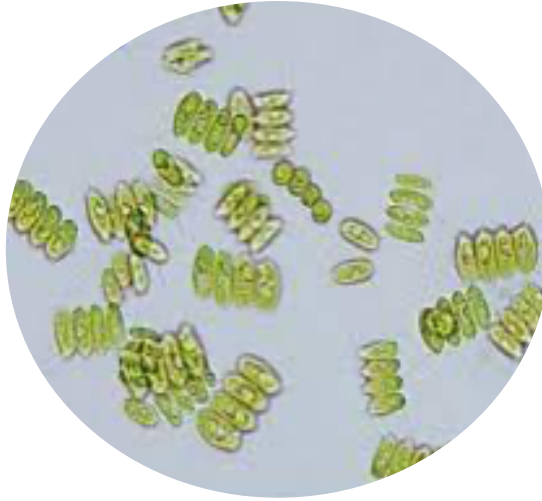
A zárt reaktor tervezések mindegyike rendelkezik előnyökkel és hátrányokkal is, valamint technikai kihívásokat is rejtenek magukban. A csőreaktorok előnye az, hogy kiváló szén-dioxid és oxigén cserét biztosít, azonban ez egyben a hátránya is, ugyanis a reaktorok átmérője és hosszúsága korlátozott, aminek következtében a rendszer oxigénben túl dúsulhat. A flate panel fotobioreaktorok a nagy felület a fotoszintézis hatékonyságát növeli. A panelek optimális elhelyezkedésének köszönhetően tökéletes a napfény befogadására. Hátránya, hogy nem szabályozható a hőmérséklet, illetve technikai nehézségként lép, hogy az algák a panelek falán könnyen megtapadnak, eltávolításuk nehéz. Az airlift és buborékkolonás rendszerek legnagyobb előnye az, hogy működtetésnek nincsenek nagy költségei és könnyen kezelhető. Hátránya ezeknek a rendszereknek, hogy a gázokra érzékenyen reagálnak. A kevert tartályos bioreaktorok hátrulütője, hogy jelenleg nem valósítható meg nagyobb léptékben, csak kisebb laboratóriumi körülmények között.



3.ábra: Zárt rendszerű alga tenyésztés (bioreaktor konstrukciók) (Hallmann *et al.* 2015, Internet 4.)

### 2.2.1 *Desmodesmus* nemzetség

A nemzetség rendszertanilag a *Chlorophyta* törzsébe, a *Chlorophyceae* osztályába sorolható, azon belül pedig a *Schaeropleales* rendjébe és *Scenedesmaceae* családjába tartozik. Autotróf szervezetek. A nemzetség tagjai egysejtűek, azonban többsejtű kolóniákban is élhetnek, ahol 2,4, vagy akár 16 sejt is alkothat egy csoportot (ekkor az alakjuk hosszúkássá válik). Alakjuk gyakran ovális, de lehet megnyúlt is. Kis nyúlványokkal (tüskékkel) rendelkeznek, amelyek alapvetően védelmet célt szolgálnak, valamint a lebegésben van szerepük. Sejtfaluk többrétegű, jellemzően cellulózból épül fel.

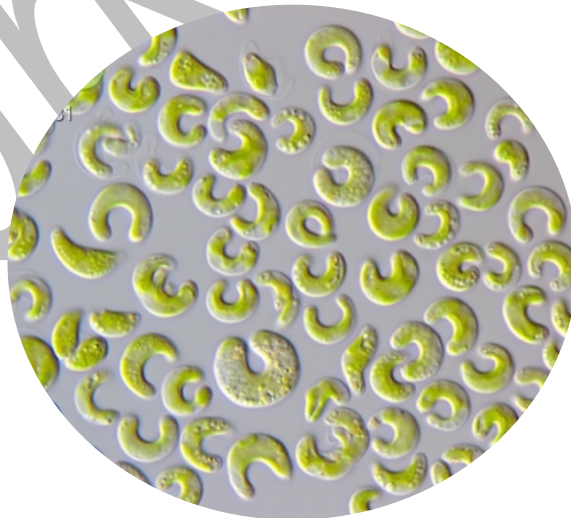


4.ábra: A *Desmodesmus* nemzetség mikroszkópikus nézete (Chung et al. 2018)

Autotróf szervezetek. A nemzetség tagjai egysejtűek, azonban többsejtű kolóniákban is élhetnek, ahol 2,4, vagy akár 16 sejt is alkothat egy csoportot (ekkor az alakjuk hosszúkássá válik). Alakjuk gyakran ovális, de lehet megnyúlt is. Kis nyúlványokkal (tüskékkel) rendelkeznek, amelyek alapvetően védelmet célt szolgálnak, valamint a lebegésben van szerepük. Sejtfaluk többrétegű, jellemzően cellulózból épül fel.

### 2.2.2 *Raphidocelis* nemzetség

A nemzetség rendszertanilag a *Chlorophyta* törzsébe tartozik, azon belül a *Selenastraceae* család tagja.

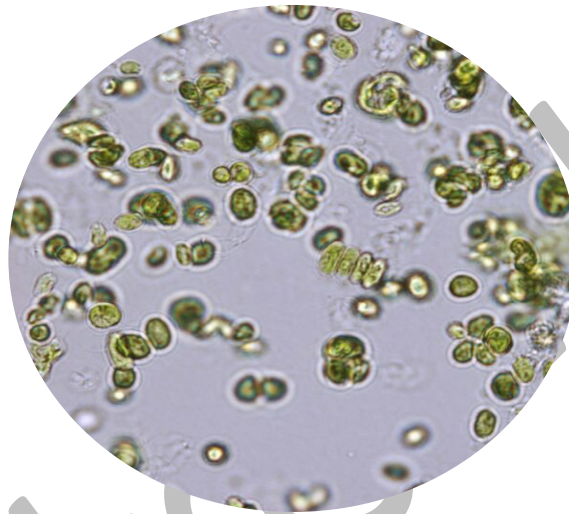


5.ábra: *Raphidocelis* nemzetség mikroszkópikus nézete (Internet 4.)

Autotróf szervezetek. Általánosságban a sejtek kokkoid vagy enyhén hosszúkás alakúak és legtöbb esetben kolóniákba rendeződnek. A nemzetség egyes tagjait a gyakorlatban környezeti/biológiai tesztekben alkalmazzák, mint például vízminőség, toxikus anyagok jelenlétének felmérésében.

### 2.2.3 *Scenedesmus* nemzetség

A nemzetség rendszertanilag a *Chlorophyta* törzsön belül a Chlorophyceae osztályba, a *Sphaeropleales* rendbe és a *Scenedesmaceae* családba sorolható.



6.ábra: *Scenedesmus* nemzetség mikroszkópikus nézete

A sejtek átmérője 2-10  $\mu\text{m}$ . Édesvizekben kolóniákba rendeződve élnek, amelyet gyakorta 4-8 sejt alkot (Muñoz és Fernandez, 2017). A nemzetségre ivartalan szaporodás jellemző. A sejtfal merev, többrétegű és cellulózban, hemicellulózban gazdag. A belső sejtfal kitint is tartalmaz. A külső sejtfal rétegben jellemzően pektin található, ami részt vesz a szomszédos sejtekkel való összeolvadásban, továbbá a sejtnek védelmet is biztosít. Az algasejtek az intracelluláris térben nagyobb mennyiségben tartalmazhatnak fehérjéket, zsírokat és szénhidrátokat is.

## 2.3 A mikroalga metabolitok és ipari hasznosításuk

A mikroalgák ipari szinten történő hasznosítása a változatos tulajdonságaiknak, egyszerűbb kivitelezésű (zárt rendszerek) és gyors tenyészthetőségüknek, valamint összetételüknek és metabolit tárházuknak (szénhidrátok, lipidek, zsírsavak, fehérjék, ásványi anyagok, vitaminok stb.) köszönhetően igen sokszínű. A mikroalgák nagyobb léptékű tenyésztése és a bennük rejlő lehetőségek (megújuló alapanyagforrás) ipari kiterjesztésére

irányuló törekvések komolyabban a 21. század elejétől kezdődtek el. Hazánkban az egyetemek tudományos műhelyeiben, kutatóintézetekben (MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézete, Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft., stb.) és ipari létesítményeknél, cégeknél is (Albitech Kft., stb.) a kutatások, fejlesztések folyamatosan haladnak előre, hasznosítási területtől függően. Gazdasági szempontból az alábbi főbb hasznosítási területek emelhetők ki:

- vegyipari alapanyagok: növényi tápanyagok, biopolimerek, növényvédő szerek
- gyógyászati alapanyagok és kozmetikai alapanyagok: gyógyhatású készítmények
- energiahordozók: motorhajtó üzemanyag, hő- és villamos energia előállítás
- állati takarmányok és humán élelmiszerek: funkcionális élelmiszerek, akvakultúrák és kérődzők takarmánya, takarmánykiegészítói
- környezeti minták (mint talaj és talajvizek) *in situ* kármentesítése, bioremedáció

### 2.3.1 Élelmiszeripar

Az algákat kezdetekben éhínség idején élelmiszerként fogyasztották, majd használatuk egészségre kifejtett jótékony hatásuknak köszönhetően egyre elterjedtebbé vált az élelmiszeripari termékek (péksütemények, snackek, tészták, italok stb.) és táplálékkiegészítők gyártásánál. Az algák élelmiszeripari használata mellett szól az is, hogy Földünk lakossága folyamatosan növekszik, ami már napjainkban is, de leginkább a közel jövőben okozhat komolyabb élelmiszerellátási problémát. A demográfiai előrejelzések szerint 25 év múlva elérhetjük a 10 milliárd főt, amelynek következtében a termőterületek, vízkészletek nem szolgálják ki a fogyasztói igényeket. Mindez ahhoz vezet, hogy az emberek számára az állati eredetű, fehérjében gazdag húsok is nehezebben lesznek elérhetőek. A probléma enyhítésére megoldást nyújthatnak az alternatív tápanyagforrások. A mikroalgák nem csupán fehérjét, hanem az emberi táplálkozás szempontjából fontos más tápanyagokat is tartalmaznak. Az algabiomassza fehérje tartalma elérheti akár a 60-65%-ot is (Koppányiné 2021). Szénhidrát esetén ez az érték 6-54% között mozog, míg a lipid tartalma 4-74% lehet, ez a tenyésztési körülmények függvényében változik. Az emberi szervezet nem képes előállítani többszörösen telítetlen zsírsavakat, ezért ezeket külső forrásból szükséges pótolnunk. Mindemellet poliszacharidokat, fotoszintetikus pigmenteket (klorofillok, karotinoidok, fikobilinok), tokoferolokat, szterolokat, vitaminokat, ásványi anyagokat és antioxidánsokat (polifenolok, flavonoidok) is tartalmaznak. Egyre több mikroalga élettani hatására terjednek ki a kutatások. Gross és munkatársai az édesvízi *Scenedesmus obtusiusculus* zöldalga esetében támasztották alá, hogy az alultáplált gyermekek és felnőttek étrendjébe beillesztett algakivonat segítette a



astaxanthin esetében kimutatásra került, hogy a húsoknak és a tojásnak színét, tehát azok érzékszervi tulajdonságait is képes javítani (Póti 2014).

#### **2.3.4 Növénytermesztés**

A mikroalgák a növénytermesztésben célzatosan hasznosíthatók, mivel képesek növekedést szabályzó és növényvédő hatású anyagokat, hormonokat termelni, amelyeknek köszönhetően jobb terméshozam érhető el (Ördög 2014). Másik megközelítésben az algákkal egy kedvezőbb tápanyagkörforgást érhetünk, hiszen alkalmazhatók komposztként, valamint biotrágyaként is. Ami két szempontból is kedvező, hiszen egyrészt a szerves hulladékok modern újrahasznosítása érhető el, másrészt az ezekben felhalmozódott nitrogén és foszfor is visszanyerhető. A növénytermesztésben az algák tudatos használatával energiafüggetlenséget érhetünk el, ami egy fenntarthatóbb gazdálkodást eredményez. Nem utolsó sorban pedig nagymennyiségű szén-dioxidot képesek az algák megkötni, így a mezőgazdaság környezetre gyakorolt hatásának mérsékléséhez járulnak hozzá.

#### **2.3.5 Bioenergetika**

Az ágazaton belül a bioenergetikai kutatások, a fenntarthatóbb megvalósítások igen nagyléptékben haladnak előre, azonban a megújuló alga-alapú energetikai rendszerek alkalmazásának széleskörű elterjedése még nem tapasztalható. Az egyik oka ennek az, hogy ameddig a Föld termőterületei kimeríthetetlenül szolgáltatják a cukrokban és keményítőben gazdag növényeket (kukorica, búza, burgonya stb.) az élelmezési, takarmányozási és energetikai szektor irányába, továbbá a primer erőforrások (kőolaj, földgáz, szén) elérhetőek, addig az újabb generációs fejlesztések nehezen tudnak világszinten előtérbe kerülni. Az algák szénhidrát és lipid tartalmuk miatt hasznosíthatók motorhajtó üzemanyagként, továbbá hő- és villamosenergia előállítására is. Laurens és munkatársai a (2017) is leírták, hogy az energetikai terméktől függően, a mikroalgák tenyésztése, az anyagcserefolyamatok szabályozása a technológia kritikus eleme lehet, ugyanis míg például a bioetanol előállításnál szénhidrátban gazdag algabiomassza elérése a cél, addig a biodízel esetében a kutatók az algabiomassza magas lipidtartalmára törekednek. A számítások alapján 1 kg biodízel előállításához a tenyésztésnél el kell érni az 5 kg (literenkénti 1 g sejtsűrűség esetén 5000 liter vizet igényel) 20 %-os lipidtartalmú algabiomassza hozamot. A vízhasználati igény zárt fotoreaktorok alkalmazásával, valamint összetettebb tápanyagtartalmú szennyvizeknek szubsztrátumként történő hasznosításával csökkenthető. További egyszerű és olcsó tenyésztési módszer érhető el ipari

szerves maradványokon (mint például élelmiszeriparban visszamaradt gyümölcsök és zöldségeken) is.

## **2.4 Bioaktív komponensek**

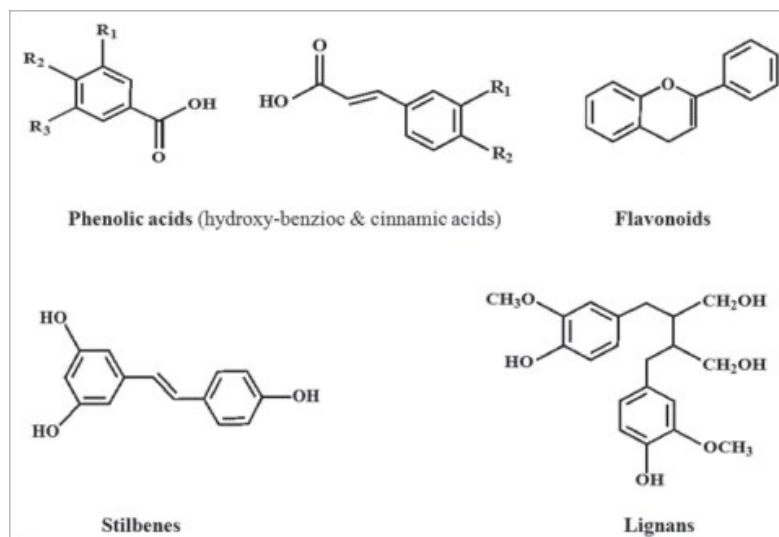
A bioaktív komponensek olyan szerves vegyületek, amelyek az anyagcsere-folyamatok másodlagos termékeiként keletkeznek. Rendelkeznek biológiai aktivitással, amely a metabolit milyenségétől, mennyiségétől és biológiai hozzáférhetőségtől függően az adott élő szervezetre nézve kifejezhető kedvező hatást, valamint előfordulhat, hogy kedvezőtlen funkcionális tulajdonságokat mutatnak. Már számos alap kutatásnál és alga-alapú termékfejlesztéseknél leírásra kerültek bizonyos bioaktív komponensek egészségre gyakorolt jótékony hatásai, mint a daganatellenes, a gombaellenes és az antioxidáns hatás is (Herrero et al 2012). A mikroalgák által termelt bioaktív komponensek többsége jellemzően a sejten belüli (intracelluláris) térben található, tehát túlnyomórészt nem kerülnek a sejten kívüli (extracelluláris) térbe kiválasztásra. Az édesvízi zöldalgák fajonként és törzsenként is igen eltérő bioaktív komponens profilt mutatnak, amelyre további hatást fejtenek ki a termesztési körülmények (pl. stressz hatások, mint tápanyagmegvonás, fényintenzitás változása stb.) is. Kutatásaim során az édesvízi zöldalga izolátumok polifenol tartalmát, a flavonoid tartalmát és a pigment tartalmát (klorofill-a és klorofill-b) követtem nyomon.

### **2.4.1 Polifenolok és flavonoidok**

A polifenolok szerves vegyületek, természetes eredetű másodlagos anyagcsere-termékek. A molekulacsalád igen nagy változatosságot mutat. Kémiai szerkezetükben egyaránt található egy benzol-gyűrű (aromás), amelyhez egy (vagy több) hidroxil-csoport kapcsolódik.

A polifenolok különböző alosztályokba sorolhatóak, amelyek között ismertek a fenolsavak, a flavonoidok, a stilbének és a lignánok (7. ábra).

A polifenolok az algasejtekben (mint minden élő szervezetben) elsősorban védelmi szerepet töltenek be. A különböző stresszhatásokra a sejten belüli térben (intracellulárisan) nagyobb mennyiségben termelődhetnek. Az algák nagyon eltérően, de sokszínűen termelnek polifenolokat. A polifenolok a sejten belül, szoros kapcsolatban a sejtfa alkotó szénhidrátokkal, kötött állapotban helyezkednek el (Besednova et al 2020).



7.ábra: A polifenol vegyületek kémiai szerkezete (Internet 5.)

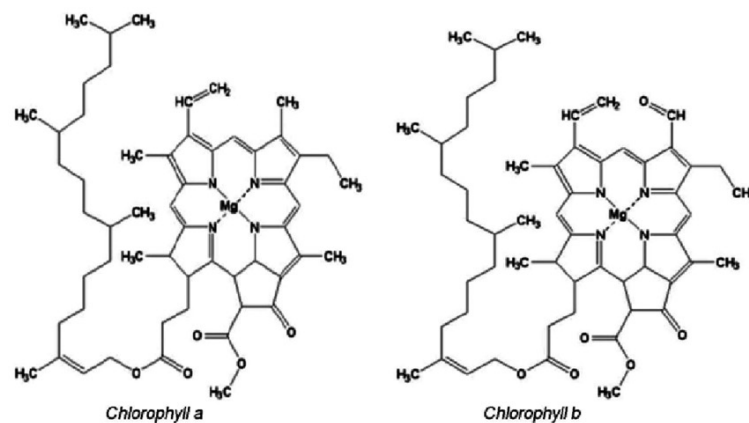
Ennek oka, hogy a polifenolok nehezebben nyerhetőek ki. A sejtfeltárás és extrakció összetett, többlépcsős műveletet igényel. Az eddigi kutatások körében többféle kivonatolási technikát teszteltek és hasonlítottak össze, amelyek között említhető az oldószeres extrakció (metanol, etanol, propanol, hexán), a szuperkritikus szén-dioxid extrakció, az enzimes kezelés. A szuperkritikus állapotú szén-dioxiddal végzett extrakció során a leadó fázis egy folyadék, míg az extraháló oldószer a nagynyomású gáz. Az enzimes módszer során az sejtfal szerkezet adott enzimekkel/enzimkészítményekkel (cellulóz-, hemicellulóz-, lignin-, pektinbontó enzimekkel) feltárásra kerül, ezáltal a polifenolok és a szénhidrát polimerek közötti kapcsolat meg bomlik. Széleskörben a szerves oldószeres extrakció alkalmazása terjedt el, amelyet a hatékonyság, a kivonat hozam és minőség növelése érdekében fizikai, besugárzásos (ultrahang, mikrohullám) technikákkal együtt alkalmaznak (Besednova et al 2020).

Minden esetben az értékes komponensek tisztítását, szükség esetén (eljárástól függően) pedig az oldószer regenerálását is be kell iktatni (Bánvölgyi, 2023). A polifenolok széleskörű biológiai aktivitással rendelkeznek, valamint jótékony tulajdonságaik is vannak, méghozzá az antioxidáns és antimikrobiális hatások terén.

#### 2.4.2 Pigmentek

A pigmentek színes kémiai vegyületek. Az algákban, mint minden autotróf szervezetben, a pigmentek segítségével a fotoszintézishez szükséges napfény energiája megkötésre kerül. Az algák többféle színű pigmenteket előállíthatnak elő, amelyek a látható fényt hullámhosszuknak megfelelő szelektivitással nyelik el. Minél nagyobb az algák színspektruma, annál nagyobb

mértékű a napfény energiájának megkötése. A pigmentek három alosztálya a klorofilok, a karotinoidok és a fikobilinek. Kutatómunkám során az édesvízi zöldalga izolátumok klorofill (klorofill-a és klorofill-b) tartalmát követtem nyomon. A klorofilok a fotoszintetizáló szervezetek legfontosabb pigmentjei. A klorofilok általánosságban egy stabil porfirin gyűrűből és egy fitol-láncból állnak, a kloroplasztiszban (zöld színtestben) oszlanak el. A zöldek színű pigmentnek különböző típusai ismertek. A természetben gyakrabban megtalálható a klorofill-a, a klorofill-b, a klorofill-c, és a klorofill-d, ezen kívül ritkábban a klorofill-f.



9.ábra: A klorofill-a és klorofill-b kémiai szerkezete (Pai és Nair, 2015, Internet 6.)

A klorofill-a és klorofill-b jellemzően a zöldalgákban, míg a további klorofill típus jellemzően a barna-, vörös algákban vagy más algacsoportokban fordulnak elő. Az alábbi 1. táblázat a főbb típusokat, előfordulásukat és fizikai-kémiai tulajdonságaikat tartalmazza (Satpati és Pal,2020).

A klorofilleken kívül a karotinoidok (vörös, narancssárga és sárga pigmentek), és a fikobilinek kiegészítő pigmentek, amelyek közvetlenül nem tudják átvinni a napfény energiáját a fotoszintetikus útra, hanem az általuk abszorbeált energiát a klorofiloknak adják át. Ezen pigmentek segítséget nyújtanak a különbözőbb környezeti feltételekhez való alkalmazkodásban, továbbá csökkentik a fény okozta degradáció mértékét is.

1.táblázat: Algák által termelt klorofilok és azok fizikai-kémiai tulajdonságai fordítva (Satpati és Pal, 2020, Internet 7.)

Főbb klorofilok az algákban	Algacsoportok	Oldhatóság	Molekulaképlet	Abszorpció	Funkció
<b>Klorofil a</b>	Minden fotoszintetizáló alga	Szerves oldószerekben - alkohol, dietil-éter, benzol, aceton, kivéve petroléter	$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$	Vörös fény abszorpciós sáv - 663 nm; Egyéb - 430 nm	Fényreceptor a fotoszintézis I. fényszakaszában
<b>Klorofil b</b>	Chlorophyta, Euglenophyta, Charophyta	Leginkább acetonban és metanolban oldódik	$C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$	645 nm és 435 nm	Fénygyűjtő pigment, amely az elnyelt fény energiáját klorofil a-hoz továbbítja
<b>Klorofil c<sub>1</sub></b>	Heterokontophyta	Éter, aceton, metanol, etil-acetát	$C_{35}H_{30}O_5N_4Mg$	634 nm, 583 nm és 440 nm	Segédpigment a fotoszintézis II. fázisához
<b>Klorofil c<sub>2</sub></b>	Dinophyta, Cryptophyta, Phaeophyta, Heterokontophyta	Éter, aceton, metanol, etil-acetát	$C_{35}H_{28}O_5N_4Mg$	635 nm, 586 nm és 452 nm	Segédpigment a fotoszintézis II. fázisához
<b>Klorofil d</b>	Cyanobacteria, Rhodophyta	Dietil-éter, benzol, aceton, metanol	$C_{54}H_{70}O_6N_4Mg$	696 nm, 456 nm és 400 nm, valamint 710 nm (infravörös fény)	Energia befogása a napfényből
<b>Klorofil f</b>	Cyanobacteria, Xanthophyta	Dietil-éter, benzol, aceton, metanol	$C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$	>700 nm (infravörös fény)	Energiaátvitel és töltésszeparáció

### 3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1 Anyagok

##### 3.1.1 Édesvízi mikroalga izolátumok

A kísérleteim során 4 édesvízi zöldalga izolátumot: *Desmodesmus sp.*, *Raphidocelis subcapitata*, *Scenedesmus obtusiusculus* és *Scenedesmus rubescens*. Az izolátumokat az Albitech Kft. (Budapest) és a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet (Gödöllő) biztosította.

##### 3.1.2 Tápoldatok

Az izolátumok tenyésztése minden esetben szervesen természetű, BG11 ásványi sóoldatban történt (2. táblázat).

2.táblázat: BG11 ásványi sóoldat összetétele

Komponens (mg/l)	
NaNO <sub>3</sub>	1500
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	40
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	36
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	75
Ammónium-vas(III)-citrát	6
Citromsav-monihidrát	6
Na <sub>2</sub> EDTA	1
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20
Mikroelem törzsoldat	1 ml
Desztillált víz	999 ml

Mikroelem törzsoldat (mg/l)	
ZnSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	222
MnCl <sub>2</sub> * 4H <sub>2</sub> O	1810
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	390
CuSO <sub>4</sub> * 5H <sub>2</sub> O	80
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> * 6H <sub>2</sub> O	49,4
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2860
Desztillált víz	1000 ml

Az ásványi sóoldatot 300 ml-ként osztottam szét 500 ml-es Erlenmeyer lombikokba és csavaros üvegedényekbe. Az Erlenmeyer lombikok száját vattadugóval és fóliával zártam le. A tápoldatok sterilizése 121 °C-on, 15 percen át autoklávban történt.

## 3.2 Módszerek

### 3.2.1 Mikroalgák laboratóriumi tenyésztése

A mikroalgák tenyésztésénél két technikát alkalmaztam. A szakaszosan ráztatott és a levegőztetett-kevertetett fotobioreaktor kialakítást az alábbi 10. ábra szemlélteti.



10.ábra: Szakaszosan ráztatott (a) és levegőztetett-kevertetett (b) laboratóriumi alga reaktor

Mind a két esetben az előtenyésztett izolátumokat közel  $10^5$  algasejt/ml koncentrációban oltottam át ásványi tápoldatba és indítottam el a tenyésztési technikának és tenyésztési időnek megfelelően (14, 28 és 56 nap) az izolátumok szaporítását. A folyamat alatt állandó megvilágítást biztosítottam (1500 lumen, meleg fehér fényű led lámpa). A szakaszosan ráztatott tenyészetek esetén adott időközönként (naponta kétszer) manuális ráztatással (naponta kétszer) kevertettem és levegőztettem át a rendszert. A levegőztetett-kevertetett reaktorok esetében mágneses keverőelem segítette a folytonos kevertetést, míg a perisztaltikus pumpa segítségével biztosítottam az oldott oxigént az algasejtek számára. Az algák szaporítása szobahőmérsékleten (18-25 °C) történt. A sejtszám nyomon követése érdekében a mintavételezést lamináris fülke alatt, 3-4 naponta végeztem el.

### 3.2.2 Az algasejtszám meghatározása

A tenyésztés megfelelőségének ellenőrzése érdekében az alga sejtszám időbeni alakulását Bürker-kamrás módszerrel, fénymikroszkóp 40-szeres objektíve alatt vizsgáltam.

### 3.2.3 Liofilizálás

A szaporítást követően a bioaktív komponensek kinyeréséhez víztelenített algabiomasszára volt szükségem, amelynek eléréséhez a fagyasztva szárítást, másnéven liofilizálást alkalmaztam. A liofilizálást minden esetben megelőzte az algatenyésztet (14., 28. és 56. napos tenyészetek) több sorozatban végzett tisztítási lépése. Első lépésben az algabiomasszát centrifugálással elválasztottam a tápoldattól és a tápoldat komponenseitől (10000 fordulat/perc, 10 perc), majd a centrifugacső alján maradt nedves algabiomasszát 100 ml desztillált vízben oldottam vissza, majd az atmoszfért újbóli centrifugálással ismétlem. A tápoldat komponensek maradéktalan eltávolítása érdekében az atmoszfért még kétszer ismétlem. A liofilizálás előtt a már tisztának tekinthető nedves algabiomasszát egy csekély mennyiségű desztillált vízben (körülbelül 10-15 ml) oldottam vissza és fagyasztóba (-18°C) helyeztem. A liofilizálás a Christ Alpha LSC Plus (Martin Christ GmbH, Németország) típusú berendezésben történt. A szárítókamra hőmérséklete 18°C. A liofilizálás a minta fagyasztott állapotában veszi kezdetét, a szárítás vákuummal történik (0,25 mbar). Az algatenyészetek liofilizálása, mintamennyiségtől függően, esetemben közel 24-48 órát vett igénybe.

### 3.2.4 Sejtfeltárás és extrakció

A liofilizált algasejtek feltárása és a bioaktív komponensek kinyerése mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres technikával történt. A korábbi szakdolgozati kísérletek során Kotz (2023) megállapította, hogy a *Scenedesmus rubescens* izolátum esetén a mikrohullámú kezelés (1000 W, 4\*30 másodperc jégágyon) etanol és víz 3:1 arányú elegyének alkalmazásával hatásosabb sejtroncsolást eredményezett, mint ugyanezen szerves oldószer jelenlétében indított ultrahanggal egybekötött kezelés. A kísérleteim során szerves oldószerként szintén az etanolt és a metanolt használtam, valamint különböző arányú keverékek formájában is teszteltem azok hatását. Minden esetben 500 µg liofilizátumot 500 µl szerves oldószer (etanol, metanol) vizes elegyében szuszpendáltam és indítottam el a minták besugárzását jégágyon. A szerves oldószereket 3:1 arányú vizes elegyként, míg a keverékeket a 3:1 arányú vizes elegyek 75:25 és 50:50 arányában alkalmaztam. A sejtfeltárást és extrakciót követően a kivonatokat centrifugáltam (10000 fordulat/perc, 5 perc) és a bioaktív komponensek méréséhez a

továbbiakban a felülúszót használtam. Az alábbi 11. ábra a mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres extrakció hatását szemlélteti.

### **3.2.5 Bioaktív komponensek mérése**

#### **3.2.5.1 Teljes polifenol tartalom**

A teljes polifenol tartalom (TPC, Total Polyphenol Content) meghatározása Folin-Ciocalteu reaktivitásának meghatározásával történt. A módszer lényege, hogy a Folin-Ciocalteu reagens reakcióba lép a szerves oldószeres extraktumban található antioxidáns tulajdonságú vegyületekkel, amely során a molibdén (VI) ion elektronokat vesz fel. Ennek eredményeként kékes színű molibdén (V) ion képződik, amely spektrofotometriás úton, 760 nm hullámhosszon jól mérhető.

A méréshez a szerves oldószeres extraktumból (felülúszó) 200 µl-t (hígított) 10-szeresen hígított 800 µl Folin-Ciocalteu reagenshez mértem, majd az elegyet gyengéd homogenizálást követően 5 percen keresztül szobahőmérsékleten pihentettem. Az idő leteltével az elegyhez 1 ml 7,5 (m/v) %-os Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> oldatot pipettáztam. A mintákat a mérést megelőzően sötét helyen 1,5 órán át pihentettem. A minták mellett vak mintát is készítettem. A minták reaktivitásának meghatározása galluszsavra felállított kalibráció segítségével történt. A minták reaktivitását galluszsav egyenértékben (mg GA E/g algabiomassza) határoztam meg.

#### **3.2.5.2 Teljes flavonoid tartalom**

A teljes flavonoid tartalom méréshez (TFC, Total Flavonoid Content) 200 µl (hígított) felülúszóhoz 800 µl desztillált vizet és 60 µl 5 (m/v) %-os NaNO<sub>2</sub> oldatot adtam. Óvatos homogenizálást követően az elegyet 5 percig pihentettem szobahőmérsékleten. Ezek után 60 µl 10 (m/v) %-os AlCl<sub>3</sub> oldatot pipettáztam hozzá és gyengéd összerázás után ismételtén 5 percig pihentettem. A mérés megkezdése előtt 400 µl 1M NaOH oldatot és 480 µl desztillált vizet adtam az elegyhez. Az elkészült minták és a vak minta abszorbancia értékét spektrofotometriás úton, 510 nm-en mértem. A flavonoid tartalom meghatározásához kvercetinre felállított kalibrációt alkalmaztam. A minták flavonoid tartalmát kvercetin egyenértékben (mg QE/g algabiomassza) határoztam meg.

### 3.2.5.3 *Antioxidáns kapacitás mérése*

Az algakivonatok esetében még az antioxidáns kapacitásának a meghatározását is szerettem volna elvégezni, ehhez pedig a DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) módszert alkalmaztam. Maga a módszer a DPPH lila színű szabadgyök megkötésén alapul. A mintákban jelenlévő antioxidánsok reagálnak a szabadgyökkel, aminek hatására az erőteljes lila szín csökkenést mutat, akár el is tűnhet. A szabadgyök gátlásnak mértékét, spektrofotometriás úton 517 nm-en mértem.

A méréshez 0,00142 g DPPH-t 100 ml metanolban oldottam fel. 100 µl (hígított) felülúszóhoz 3,9 ml DPPH oldatot pipettáztam, majd sötét helyen, szobahőmérsékleten 30 percen át pihentettem A minták és a vak minta abszorbanciájának ismeretében a gátlási % könnyen számítható.

$$\text{Gátlási\%} = \frac{(\text{Avakminta} - \text{Aminta})}{\text{Avakminta}} * 100$$

### 3.2.5.4 *Pigmenttartalom meghatározás*

Az algakivonatok pigmenttartalmának mérése spektrofotometriás úton, 665 nm-en és 652 nm-en történt. Ezt követően a mért abszorbancia értékeket *Lichtenthaler és Buschmann* egyenletébe helyettesítettem és számítottam a klorofill-a és klorofill-b tartalmat.

$$c_a(\mu\text{g/ml}) = 16,72_{A665} - 9,16_{A652}$$

$$c_b(\mu\text{g/ml}) = 34,09_{A652} - 15,28_{A665}$$

ahol,

$c_a$ : klorofill-a tartalom

$c_b$ : klorofill b tartalom

A pigmenttartalmat µg/g liofilizált algabiomassza egységre számítottam át.

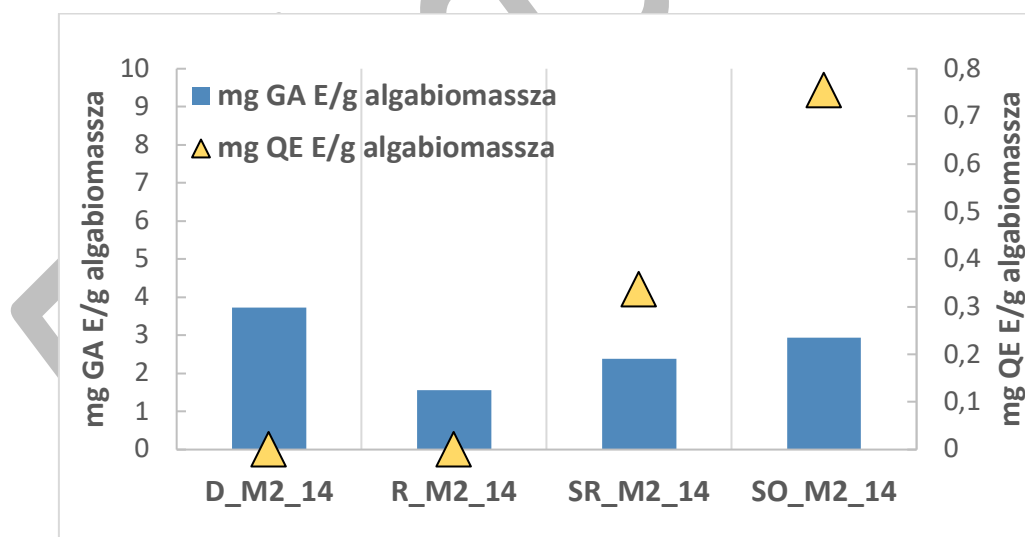
## 4 EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 4.1 Mikrohullámmal közvetített szerves oldószeres extrakció hatása

A mikroalga izolátumok szaporítása az első kísérletsorozatban szakaszosan rázatott rendszerben történt. Az algabiomasszát a 14 napot követően centrifugálással elválasztottam és liofilizálással kíméletesen szárítottam. A sejtfeltárás és extrakció mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres technika alkalmazásával történt. A mérés során arra kerestem a választ, hogy a mikroalga izolátumokból milyen mennyiségben nyerhető ki bioaktív komponens (polifenolok, flavonoidok, pigmentek), az alga-kivonatok milyen antioxidáns kapacitást mutatnak, továbbá a szerves oldószerként használt metanol és etanol milyen mértékben segíti a mikrohullám hatását.

#### 4.1.1 Alga-kivonatok polifenol és flavonoid tartalmának alakulása

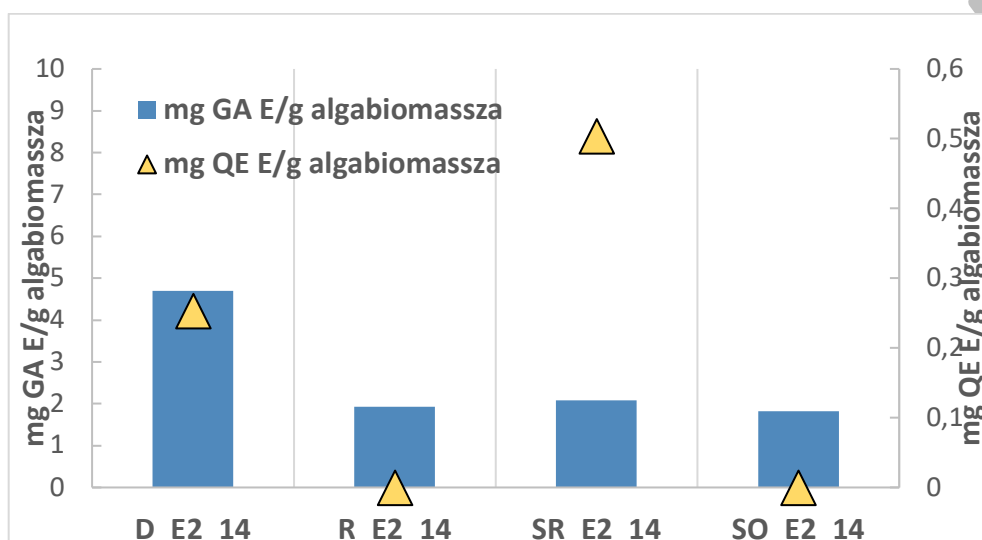
A mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres extrakció alkalmazásával az alga liofilizátumokból kinyert polifenolok és flavonoidok mennyiségét az alábbi 12. ábra és 13. ábra szemlélteti.



12.ábra: A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (14. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött metanolos extrahálását követően

A metanol esetében a *Desmodesmus* sp. izolátum kivonata mutatott nagyobb polifenol tartalmat, amely 3,7 mg GA E/g algabiomassza volt. Ezt követte a *Scenedesmus obtusiusculus*,

a *Scenedesmus rubescens* és a *Raphidocelis subscapitata* izolátum kivonata, ahol 2,9 mg GA E/g algabiomassza, 2,4 mg GA E/g algabiomassza és 1,6 mg GA E/g algabiomassza értéket mértem. A flavonoid tartalom profilja nem tükrözte a polifenol tartalomnál mért értékeket, azonban jól látható, hogy minden kivonat igen alacsony mennyiségben tartalmazott flavonoidokat. A *Scenedesmus obtusiusculus* kivonata esetében 0,8 mg QE E/g algabiomassza értéket mértem, amelyet a *Scenedesmus rubescens* kivonata követett, ahol közel kétszeresére csökkent a flavonoid tartalom. A másik két alga-kivonat esetében nem mutattam ki flavonoid tartalmat.



**13.ábra:** A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (14. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött etanolos extrahálását követően

Az etanol alkalmazása során a kivonatok polifenol profilja közel hasonlóan alakult. A *Desmodesmus sp.* kivonata esetében 4,7 mg GA E/g algabiomassza értéket mértem. A *Scenedesmus obtusiusculus*, a *Scenedesmus rubescens* és a *Raphidocelis subscapitata* izolátum kivonataiban a polifenol tartalom 2,1 GA E/g és 1,8 GA E/g algabiomassza és algabiomassza között volt. A flavonoid tartalom továbbra is igen kis mennyiségben volt mérhető, azonban etanol hatására már a *Desmodesmus sp.* kivonataiban is 0,3 mg QE E/g algabiomassza értékben kimutatásra került. A *Raphidocelis subscapitata* kivonataiban sem metanol, sem etanol alkalmazása esetén flavonoid tartalmat nem mértem.

#### 4.1.2 Alga-kivonatok antioxidáns kapacitása

Az alga-kivonatokban mért DPPH szabadgyök gátlási értékeket az alábbi 3. táblázat szemlélteti.

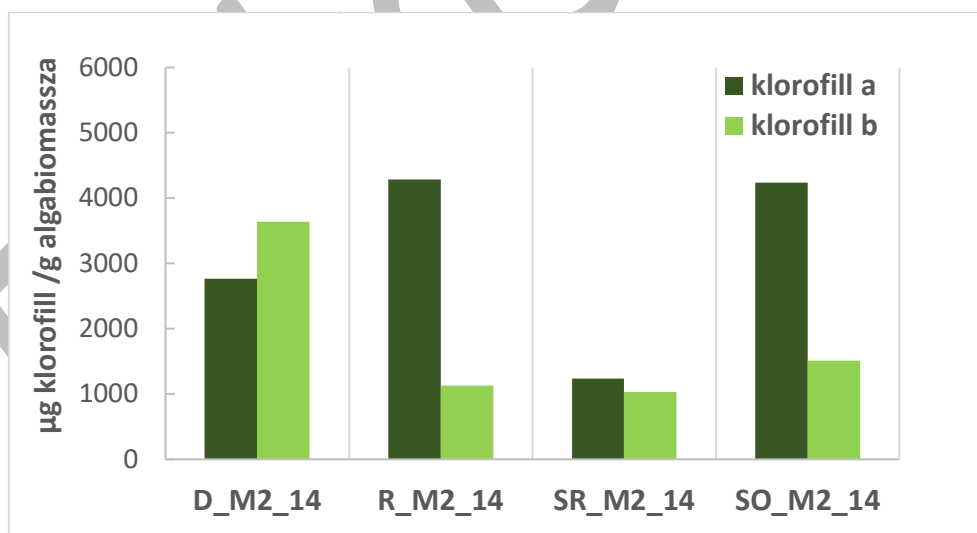
**3.táblázat:** Az algakivonatokban mért DPPH szabadgyök gátlási % értékek

DPPH %	<i>Desmodesmus sp.</i>	<i>Raphidocelis subscapitata</i>	<i>Scenedesmus rubescens</i>	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>
etanol:víz (3:1 arány)	19,68	11,25	6,78	16,52
metanol:víz (3:1 arány)	19,00	16,52	8,37	20,81

Mind a metanol, mind az etanol esetében az algakivonatok közül a *Desmodesmus sp.* esetében mértem nagyobb gátlási értékeket, amely 19 % és 19,7 % között alakult. Ezt követte a *Scenedesmus obtusiusculus* 20,8 % és 16,5 % értékkel, a *Raphidocelis subscapitata* 16,5 % és 11,3 % értékkel. Az alga-kivonatok közül a *Scenedesmus rubescens* esetében csupán 8,4 % és 6,8 % értéket mértem, amely több mint kétszer kisebb, mint amit a *Scenedesmus obtusiusculus* kivonata eredményezett.

#### 4.1.3 Alga-kivonatok klorofill tartalmának alakulása

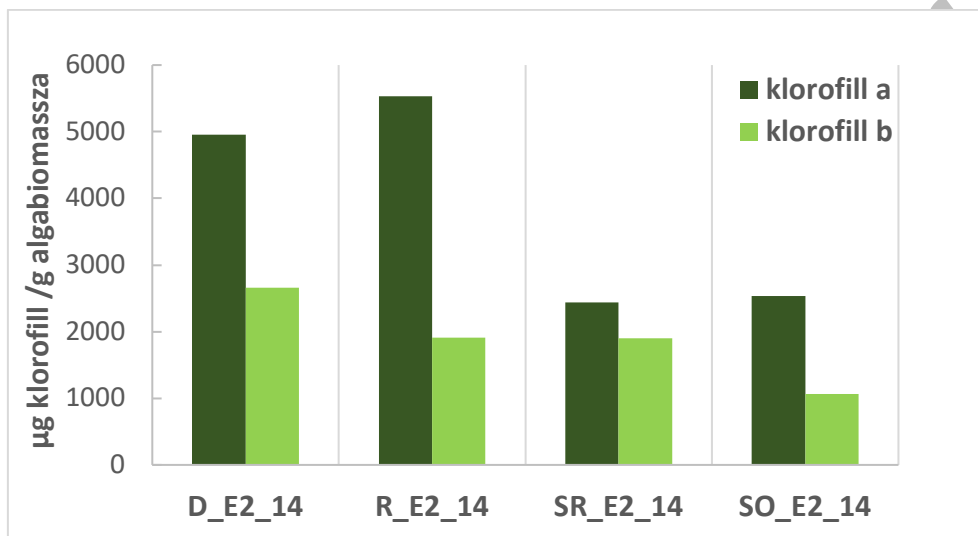
A méréseim során az alga-kivonatok klorofill-a és klorofill-b tartalmának alakulását 14. ábra és a 15. ábra szemlélteti.



**14.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (14. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött metanolos extrahálását követően

A klorofill tartalom esetén a metanol és az etanol igen nagyban tért el egymástól. A *Raphidocelis subscapitata* és a *Scenedesmus obtusiusculus* metanolos kivonatainál a klorofill-a tartalom 4240 és 4287 µg/g algabiomassza érték között, a klorofill-b tartalom pedig 1131 és

1510 µg/g algabiomassza érték között alakult. A *Desmodesmus* sp. esetén a metanolos extrakció a klorofill-b pigmentek kinyerését segítette, míg a *Scenedesmus rubescens* esetén a kivonatokban mért klorofill-a és klorofill-b pigmentek mennyisége igen kis mennyiségben volt kimutatható. Az etanol lényegesen növelte a kivonatok klorofill-a tartalmát. A *Desmodesmus* sp. kivonatában ekkor a klorofill-a pigmentek mennyisége elérte a 4952 µg/g algabiomassza értéket, míg a *Raphidocelis subscapitata* esetében meghaladta az 5500 µg/g algabiomassza értéket.



**15.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (14. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött etanolos extrahálását követően

A kísérletsorozat eredményei alapján megállapítható, hogy a szerves oldószerek részben eltérő hatást fejtettek ki a bioaktív komponensek kinyerésére. Jellemzően az etanol jelenléte a kivonatok polifenol tartalmát és klorofill tartalmát növelte, míg a metanol jelenléte az antioxidáns kapacitás mérését segítette. A kivonatok bioaktív komponens tartalmának növelése, valamint a szerves oldószerek hatásának alátámasztása érdekében a továbbiakban eltérő időtartamig tenyésztett izolátumok extrakciós hatékonyságát hasonlítottam össze.

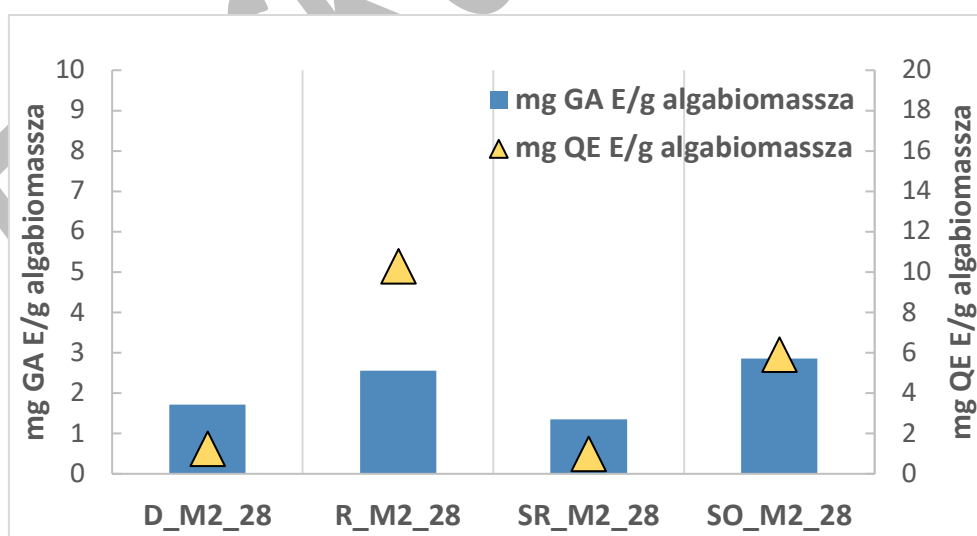
## 4.2 Mikroalga tenyésztés időtartamának hatása

Az alga izolátumokat az előzőkhez hasonló beállítások mellett, szubmerz, rázatott módon, ásványi oldatban tenyésztettem. A kísérlet során a tenyésztési időtartamot növeltem és hasonlítottam össze 28 napot és 56 napot követően liofilizált algabiomasszából kinyerhető bioaktív komponensek mennyiségét. A sejtfeltárás és extrakció mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres (metanol, etanol 3:1 arányú vizes elegye) technika alkalmazásával történt.

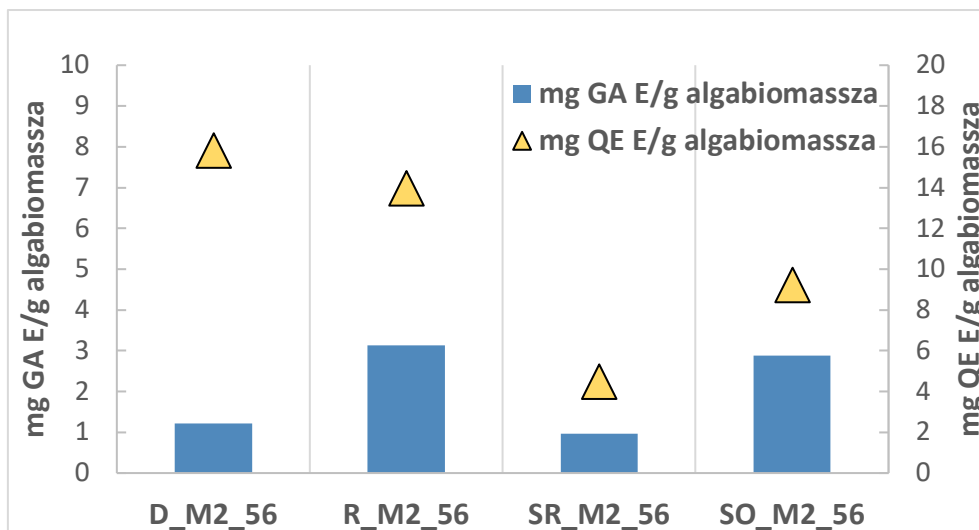
### 4.2.1 Alga-kivonatok polifenol és flavonoid tartalmának alakulása

A 28 napos algatenyészetek liofilizálását követően a kivonatokban mért polifenolok és flavonoidok mennyiségét az alábbi 16., 17., 18. és 19. ábra szemlélteti.

Az izolátumok metanolos kivonataiban a polifenol tartalom közel azonos trendet mutatott. A *Raphidocelis subscapitata* és a *Scenedesmus obtusiusculus* 28 napos tenyészetének liofilizátuma esetén a kivonatokban 2,6 mg GA E/g algabiomassza értéket és 2,86 mg GA E/g algabiomassza értéket mértem. Ezt követte a *Desmodesmus* sp. és a *Scenedesmus obtusiusculus* kivonata, amelyekben 2 mg GA E/g algabiomassza érték alatti polifenol tartalmat értem el. Nagyobb polifenol tartalmat a *Raphidocelis subscapitata* és a *Scenedesmus obtusiusculus* izolátum tenyésztési időtartamának növelése esetén tapasztaltam. Ekkor az 56 napos tenyészetek kivonataiban a polifenolok mennyisége 3,1 mg GA E/g algabiomassza és 2,9 GA E/g algabiomassza érték között alakult.

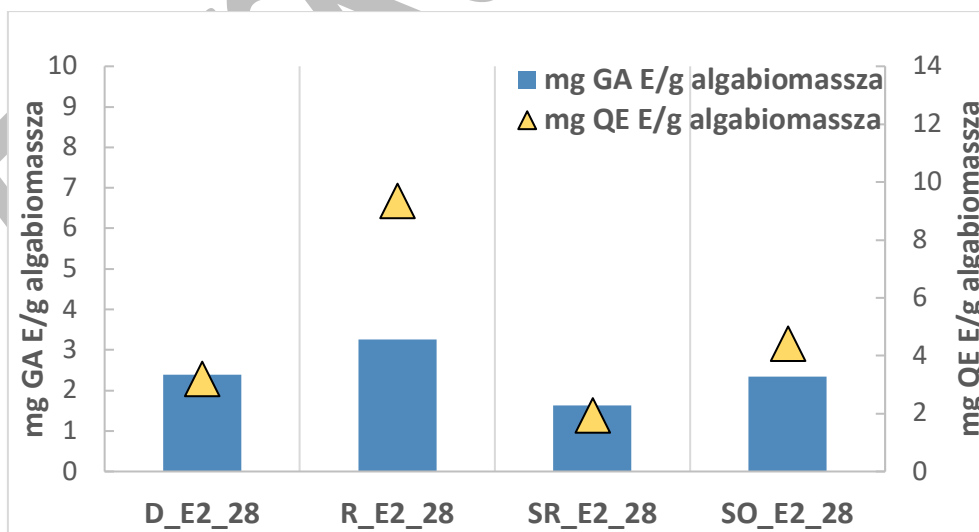


16.ábra A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött metanolos extrahálását követően



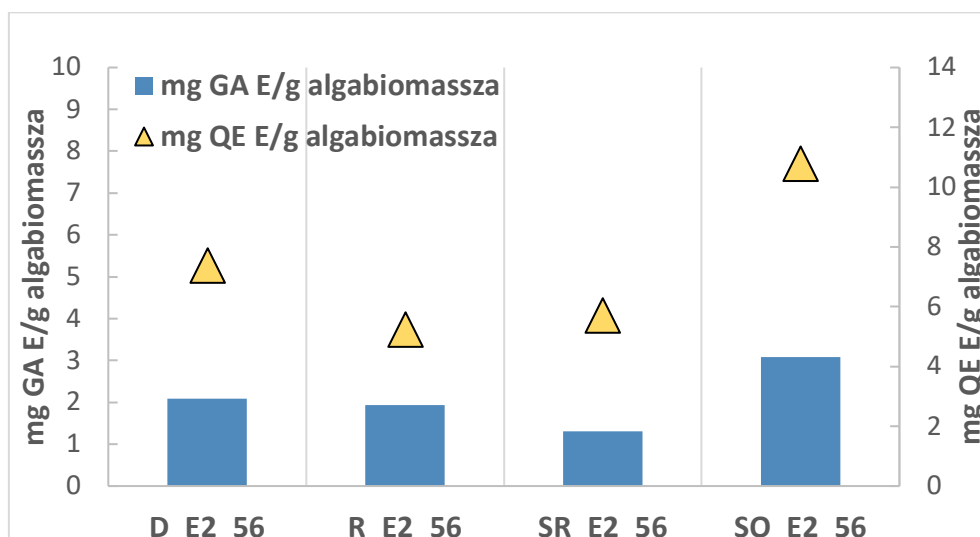
17.ábra A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (56. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött metanolos extrahálását követően

A flavonoidok mennyisége lényegesen nőtt a tenyésztési időtartam növelésének hatására, ugyanis a 28 napos tenyészeteknél, a *Scenedesmus obstusiusculus* esetén a 6 mg QE E/g algabiomassa értéket közelítette, míg a *Raphidocelis subscapitata* esetén meghaladta a 10 mg QE E/g algabiomassa értéket. Az 56 napos tenyészeteknél a *Raphidocelis subscapitata* kivonata mellett a *Desmodesmus* sp. kivonata is igen magas flavonoid tartalmat eredményezett, amely elérte a 15 mg QE E/g algabiomassa értéket. Flavonoid tartalomban kisebb léptékű növekedést a *Scenedesmus rubescens* kivonata mutatott.



18.ábra A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött etanolos extrahálását követően

Az etanolos kivonatokban a polifenol tartalom jelentősebb változást nem mutatott. A 28 napos tenyészetek kivonatainak összehasonítása során szintén a *Raphidocelis subscapitata* és a *Scenedesmus obtusiusculus* mutatott nagyobb polifenol tartalmat, amely 3,6 mg GA E/g algabiomassza és 2,3 mg GA E/g algabiomassza érték volt. A tenyésztési időtartam növelése esetén egyedül a *Scenedesmus obtusiusculus* esetén mértem a polifenol mennyiségben növekedést, amely ekkor meghaladta a 3 mg GA E/g algabiomassza értéket.



19.ábra A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (56. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött etanolos extrahálását követően

A 28 napos tenyészetek etanolos kivonataiban mért flavonoid tartalom a metanolos kivonatokban mért értékekhez hasonlóan alakult. A *Raphidocelis subscapitata* kivonatában 9,3 QE E/g algabiomassza értéket mértem, amelyet a *Scenedesmus obtusiusculus*, a *Desmodesmus* sp. és a *Scenedesmus rubescens* kivonata követett. Az 56 napos tenyészetek etanolos kivonatainál a *Scenedesmus obtusiusculus* esetén a flavonoidok mennyisége meghaladta a 10 mg QE E/g algabiomassza értéket.

Látható, hogy a tenyésztés időtartama lényegi hatást elsősorban a flavonoid tartalom alakulására fejtett ki.

#### 4.2.2 Alga-kivonatok antioxidáns kapacitás

A kivonatok DPPH szabadgyök gátlási képességét az alábbi 4. és 5. táblázat szemlélteti. A tenyésztési időtartam növelése az antioxidáns kapacitást csökkentette, amely valószínűsíthetően a kivonatokban mérhető bioaktív komponensek mennyiségének csökkenésével hozható összefüggésbe. Előfordulhat, hogy ennek háttérében a tenyésztési

körülmények hatására kialakuló a sejtfalvastagodás, ezáltal az értékes metabolitok nehezebb kivonatólása áll, másrészt pedig a sejtek szaporodási szakaszának hanyatlása és a bioaktív komponensek inaktiválódása okozhat még ilyen mértékű csökkenést.

**4.táblázat:** Az algakivonatokban mért DPPH szabadgyök gátlási % értékek

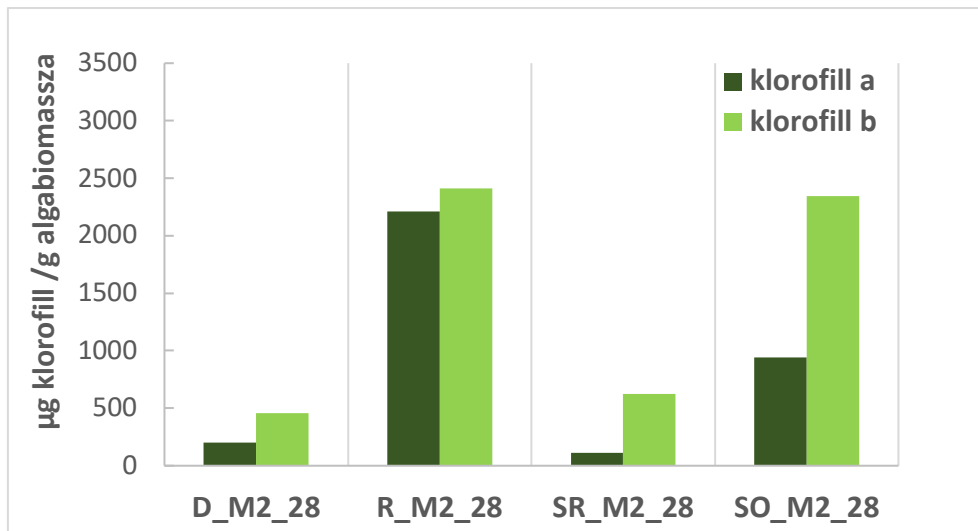
<b>DPPH % 28. nap</b>	<i>Desmodesmus sp.</i>	<i>Raphidocelis subscapitata</i>	<i>Scenedesmus rubescens</i>	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>
etanol:víz (3:1 arány)	6,83	11,25	4,06	10,52
metanol:víz (3:1 arány)	16,05	6,46	2,40	16,42

**5.táblázat:** Az algakivonatokban mért DPPH szabadgyök gátlási % értékek

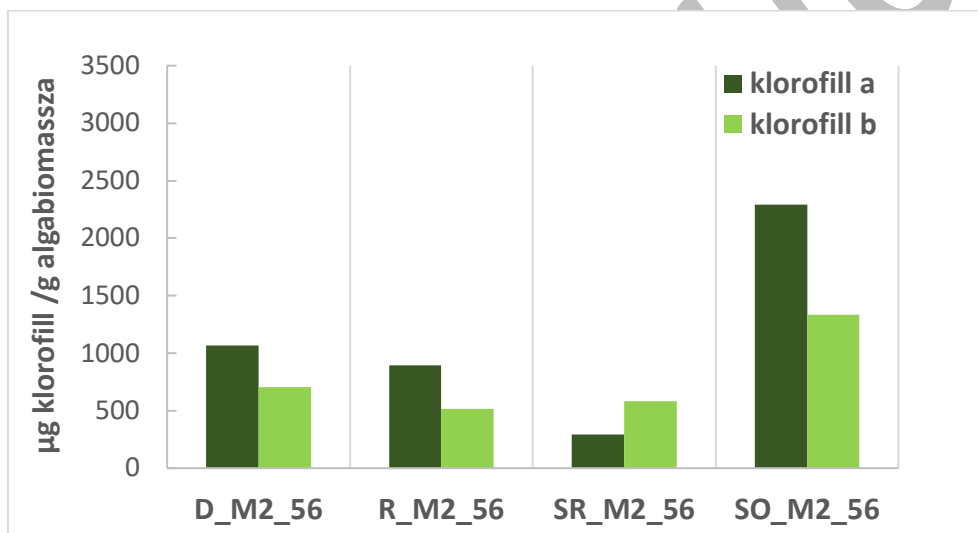
<b>DPPH % 56. nap</b>	<i>Desmodesmus sp.</i>	<i>Raphidocelis subscapitata</i>	<i>Scenedesmus rubescens</i>	<i>Scenedesmus obtusiusculus</i>
etanol:víz (3:1 arány)	8,16	4,69	1,04	6,77
metanol:víz (3:1 arány)	9,89	4,51	0,00	10,94

#### 4.2.3 Alga-kivonatok klorofill tartalmának alakulása

A kivonatokban mért klorofill-a és klorofill-b tartalom alakulását a 20., 21., 22. és 23. ábra szemlélteti. A 28 napos és az 56 napos tenyészetek liofilizátumainak metanolos kivonatólása igen eltérő klorofill-a és klorofill-b profilt eredményezett. A 28 napos tenyészetek esetén a kinyert klorofill-b mennyisége minden esetben nagyobb értéket mutatott, mint a klorofill-a. A *Raphidocelis subscapitata* kivonatában 2213 µg klorofill-a/g algabiomassza és 2410 µg klorofill-a/g algabiomassza értéket mértem. Hasonlóan magas klorofill-b tartalmat a *Scenedesmus obtusiusculus* kivonatában értem el. A *Desmodesmus sp.* és a *Scenedesmus rubescens* esetén kinyert klorofill-a és klorofill-b csupán az 500 µg/g algabiomassza értéket közelítette. A tenyésztési időtartam növelése egyedül a *Scenedesmus obtusiusculus* klorofill-a tartalmát növelte nagyobb mértékben, amely így sem érte el a 14. napon mért értéket.

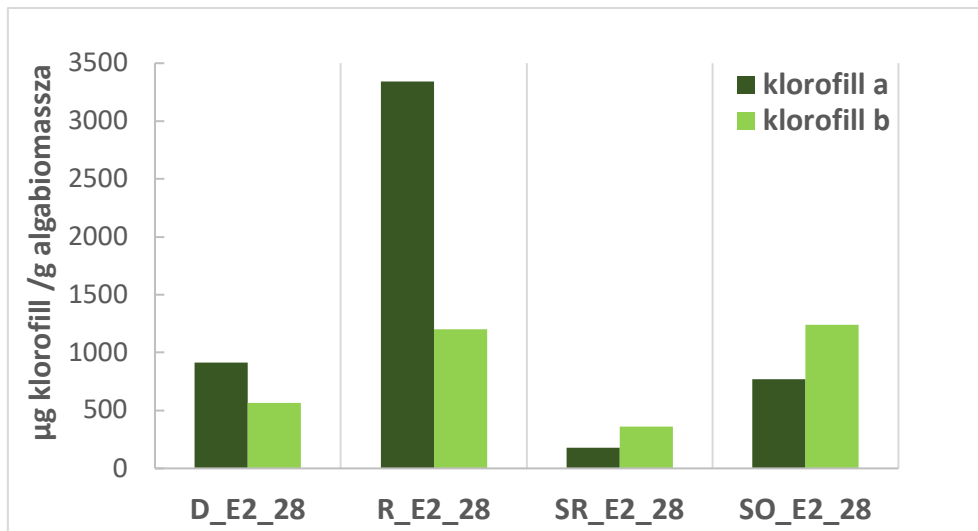


**20.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött metanolos extrahálását követően

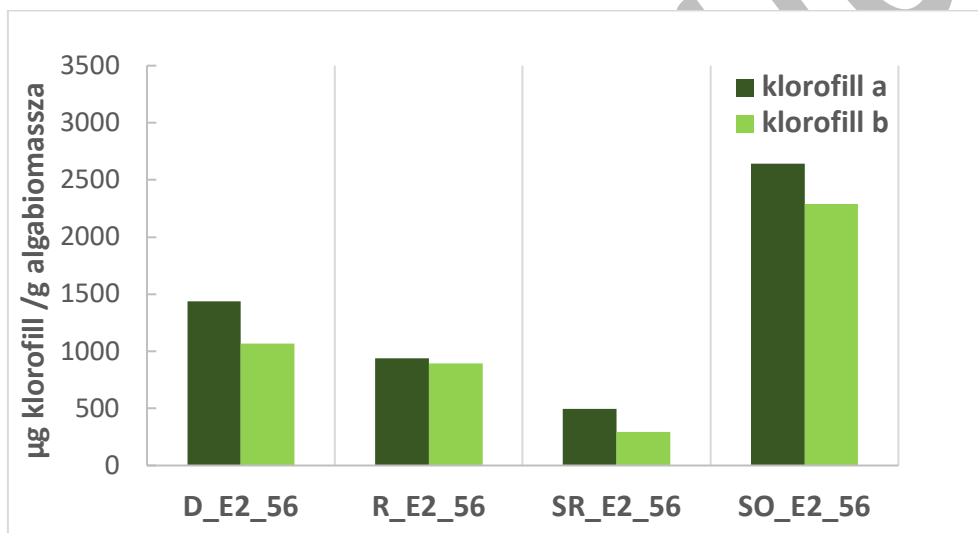


**21.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (56. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött metanolos extrahálását követően

A 28 napos tenyészetek etanolos kivonatainál a *Scenedesmus rubescens* és a *Scenedesmus obtusiusculus* esetén szintén nagyobb klorofill-b tartalmat, míg a *Desmodesmus sp.* és a *Raphidocelis subscapitata* esetén nagyobb klorofill-a tartalmat mértem. Ezen szerves oldószer alkalmazása esetén is a *Raphidocelis subscapitata* kivonatában mértem nagyobb klorofill mennyiséget, amely 3342 µg klorofill-a/g algabiomassza és 1200 µg klorofill-b/g algabiomassza érték volt. A tenyésztési időtartam növelése során szintén a *Scenedesmus obtusiusculus* kivonata mutatott lényegesen nagyobb klorofill tartalmat.



**22.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött etanolos extrahálását követően



**23.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a szakaszosan rázatott algatenyészetek (56. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött etanolos extrahálását követően

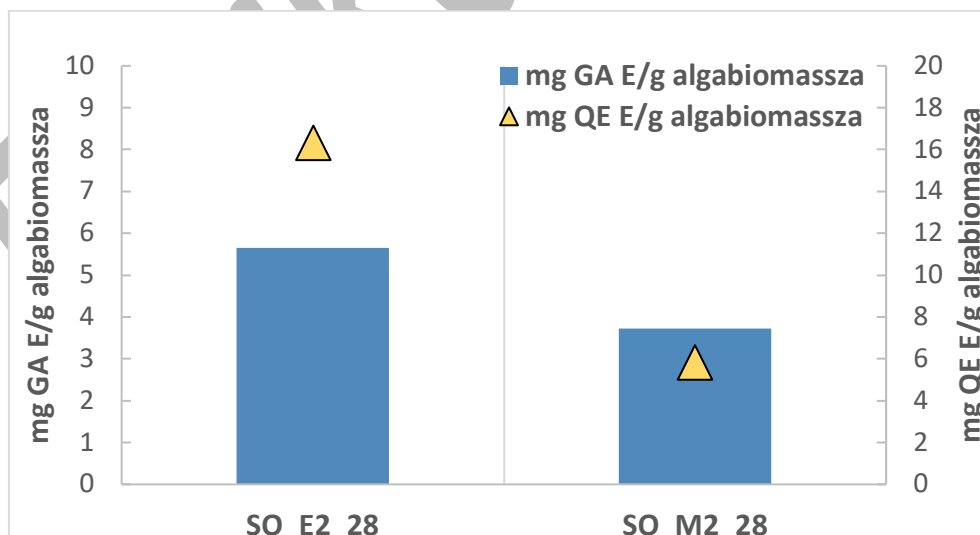
Az eredmények alapján a továbbiakban a *Scenedesmus obtusiusculus* izolátum kevertetett és levegőztetett tenyésztésének hatását követtem nyomon a biokatív komponensek termelésére vonatkozóan.

### 4.3 A *Scenedesmus obtusiusculus* izolátum levegőztetett-kevertetett tenyésztésének hatása

A mikroalga tenyésztése kevertetett-levegőztetett fotobioreaktorban, állandó megvilágítás mellett, 28 napon át történt. A kivonatolás során a szerves oldószereket külön-külön, valamint különböző arányú keverékek formájában is alkalmaztam és vizsgáltam. A kísérlet során arra kerestem a választ, hogy az intenzívebb levegőztetés milyen hatást fejt ki az izolátumokból kinyerhető bioaktív komponensek mennyiségére, továbbá a szerves oldószerek keverékek alkalmazása növeli-e a mikrohullámú kezelés teljesítményét.

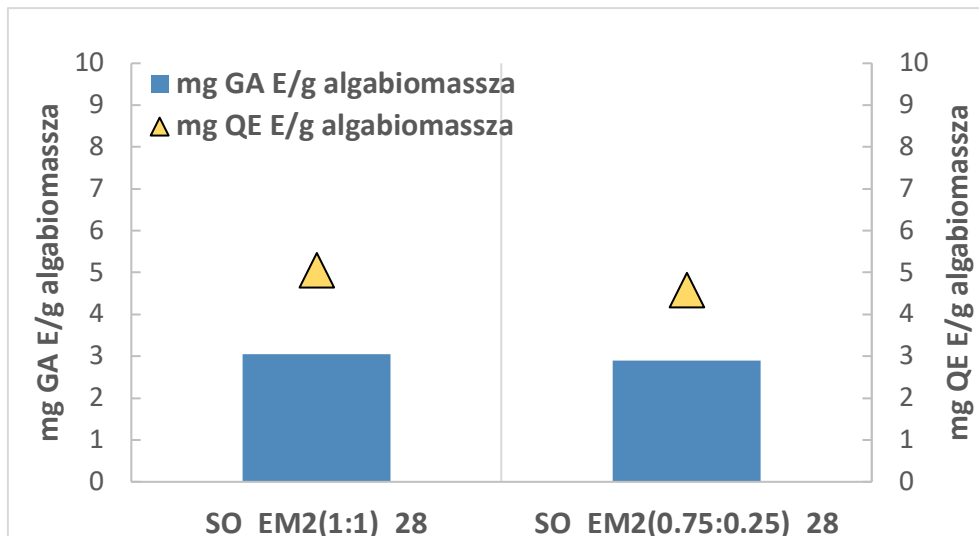
#### 4.3.1 Alga-kivonatok polifenol és flavonoid tartalmának alakulása

A kivonatokban mért polifenol és flavonoid tartalmat az alábbi 24. és 25. ábra szemlélteti. A kevertetett és levegőztetett tenyésztés segítségével sikeresen növeltem a kivonatokban mérhető polifenol és flavonoid tartalmat. A szerves oldószerek közül az etanol kedvezett mind a két bioaktív komponens kinyerésének, ugyanis a polifenolok mennyisége 5,7 mg GA E/g algabiomassa értéket mutatott, ami közel kétszer több, mint amit a szakaszosan rázatott *Scenedesmus obtusiusculus* kivonatában mértem. A kivonat flavonoid tartalma 16,3 mg QE E/g algabiomassa értéket mutatott, ami pedig közel négyszer több, mint amit a szakaszosan rázatott *Scenedesmus obtusiusculus* kivonatában mértem. A méréseknél a metanolos kivonatok lényegesen kisebb mennyiségben tartalmaztak polifenolokat és flavonoidokat.



24.ábra: A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a kevertett és levegőztetett algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres extrahálását követően

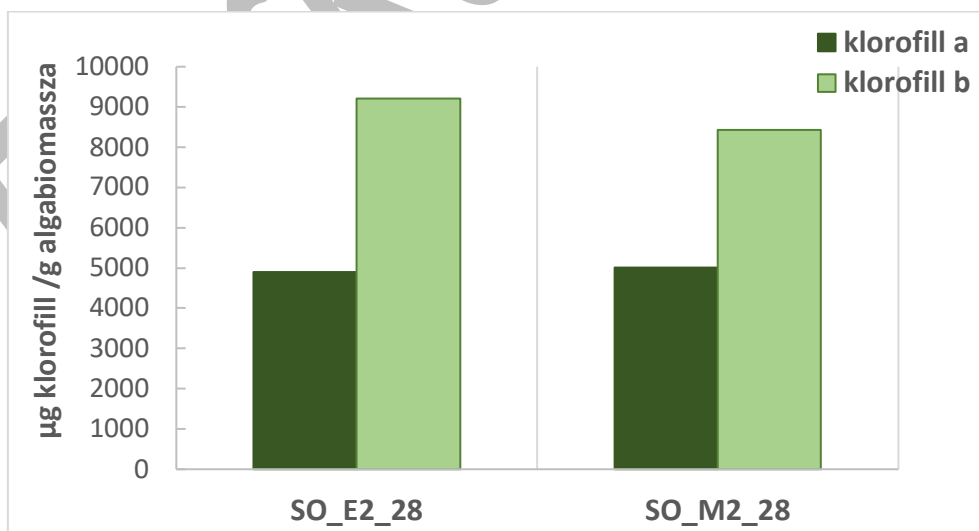
Az etanol és metanol különböző arányú keveréke nem segítette a polifenolok és a flavonoidok hatékonyabb kinyerését. Mind a két keverék esetében a polifenol mennyisége 3 mg GA E/g algabiomassza érték körül, míg a flavonoidok mennyisége 5 mg QE E/g érték körül alakult.



**25.ábra:** A polifenol (TPC) és flavonoid (TFC) tartalom alakulása a kevertett és levegőztetett algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres (keverékek) extrahálását követően

#### 4.3.2 Alga-kivonatok klorofill tartalmának alakulása

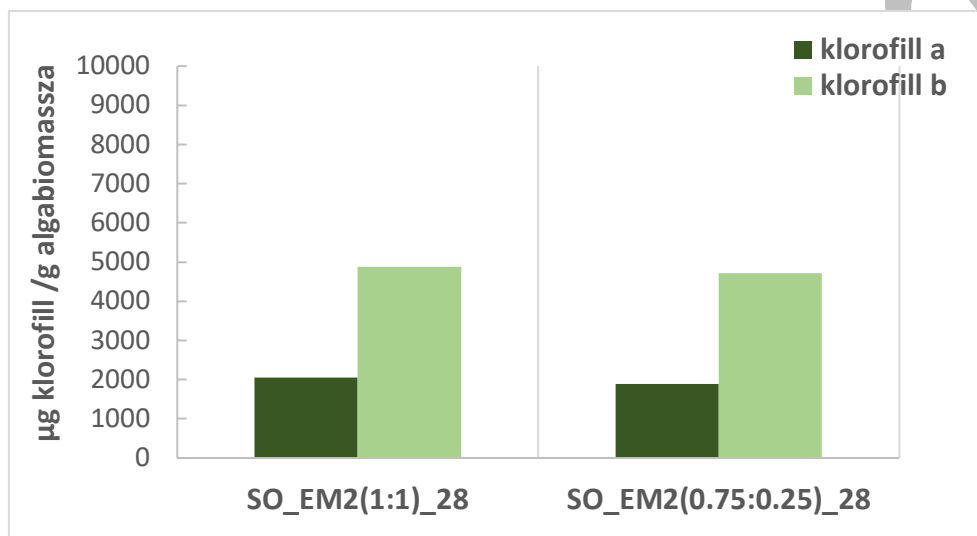
A kivonatokban mért klorofill tartalmat a 26. és 27. ábra szemlélteti.



**26.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a kevertett-levegőztetett algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres extrahálását követően

A levegőztetett és kevertetett tenyészetek kivonataiban, mind az etanol és metanol, mind pedig azok keverékeinek alkalmazása esetén a klorofill-b tartalom lényegesen nagyobb mennyiséget mutatott. Az etanolos és metanolos kivonatokban 9200 és 8428  $\mu\text{g}$  klorofill-b/g algabiomassza értéket mértem. A klorofill-a tartalom 5004 és 4906  $\mu\text{g}/\text{g}$  algabiomassza érték között alakult.

A szerves oldószer keverékeknél, a polifenol és flavonoid mérésnél tapasztalt csökkenéshez hasonlóan, a kinyert klorofill-a és klorofill-b mennyisége szintén csökkenést mutatott.



**27.ábra:** A klorofill tartalom alakulása a kevertetett-levegőztetett algatenyészetek (28. nap, BG11) liofilizátumainak mikrohullámmal egybekötött szerves oldószeres (keverékek) extrahálását követően

A kivonatok antioxidáns kapacitása növekedést nem mutatott, sem az etanol, sem a metanol, sem pedig a szerves oldószeres keverékeiben. Az etanolos kivonatokban mértem egyedül 9,8 % gátlási értéket, amely közelített a szakaszosan rázatott tenyészet kivonatában mért 10,5 % körüli értéket.

## 5 ÖSSZEFOGLALÁS

A mai világban egyre sürgetőbbé válik az, hogy a Földünk által kínált lehetőségekkel tudatosan, környezetünkre kímélően gazdálkodjunk. Ilyen az is, hogy megújuló energiaforrásokat részesítsük előtérben a nem megújulókkal szemben. Fontosnak tartottam, hogy a tanulmányaim végén olyan tématerületen folytassak szakdolgozati kutatómunkát, amellyel részt vehetek valami magasztosabb törekvésben. Az algák, mint élő szervezetek az élet számos területén hozhatnak egy üde fenntarthatóbb megoldást régi rossz megszokásokkal szemben.

A szakdolgozati kutatómunkám az édesvízi zöldalgák biotechnológiai potenciáljának megismerésére, azon belül is a szakaszosan rázatott és levegőztetett-kevertetett tenyésztési mód és a kivonatolási technikák bioaktív komponensekre (polifenolok, flavonoidok, pigmentek) gyakorolt hatásának vizsgálatára irányult. A fizikai besugárzásos technikák és szerves oldószerek együttes alkalmazásánál sok esetben eredményesebb kivonatolást írnak le, mint a hagyományos extrakciós technikáknál. Az alga liofilizátumok esetén választásom a mikrohullámmal kezeléssel közvetített szerves oldószeres extrakcióra esett, amelynek hatékonyságát etanol, metanol, valamint azok eltérő arányú keverékeiben követtem nyomon.

Az alábbi eredményeket értem el a kutatásaim során:

1. A szerves oldószerek részben eltérő hatást fejtettek ki a bioaktív komponensek kinyerésére. Az etanol és víz 3:1 arányú elegyének alkalmazása a kivonatok polifenol tartalmát és klorofill tartalmát növelte, míg a metanol és víz 3:1 arányú elegyének alkalmazása az antioxidáns kapacitás mérését segítette.
2. A szakaszosan rázatott tenyésztés időtartamának növelése igen eltérő bioaktív komponens profilt eredményezett. A *Raphidocelis subscapitata* és a *Scenedesmus obtusiusculus* izolátum 28 napos tenyészteteinek etanolos kivonataiban a polifenol tartalom esetén 3,6 és 2,3 mg GA E/g algabiomassza értéket, flavonoid tartalom esetén pedig 9,3 és 4,4 QE E/g algabiomassza értéket mértem. Az 56 napos tenyészetek etanolos kivonataiban egyedül a *Scenedesmus obtusiusculus* esetén mértem a polifenol és flavonoid mennyiségben növekedést, amely ekkor meghaladta a 3 mg GA E/g algabiomassza és a 10 QE E/g algabiomassza értéket. Ez a két törzs mutatott szintén nagyobb klorofill-a és klorofill-b tartalmat. Nagyobb klorofill-a értéket jellemzően az etanolos kivonatokban, míg klorofill-b értéket a metanolos kivonatokban értem el. A kivonatok nagyrésznél a mért antioxidáns kapacitás a 28 napos tenyészetek esetén mutatott lényegesen nagyobb értékeket.

3. A laboratóriumi alga-tenyésztési technikák közül egyértelműen a levegőztetett-kevertetett mód bizonyult kedvezőbbnek, ugyanis a *Scenedesmus obtusiusculus* esetén a 28 napos tenyészet etanolos kivonatában a polifenolok mennyisége 5,65 mg GA E/g algabiomassza volt, ami több mint kétszerese a szakaszosan rázatott módon tenyésztett alga kivonatában mért polifenol tartalomnak. A flavonoid tartalom is igen nagy, 16,34 QE E/g algabiomassza értéket mutatott. A klorofill-a tartalom elérte a 9000 µg/g algabiomassza értéket, a klorofill-b tartalom pedig a 4900 µg/g algabiomassza értéket.

Összeségében elmondható, hogy az édesvízi zöldalga izolátumok igen nagy eltérést mutatnak bioaktív komponensek terén, aminek valószínűsíthető oka, hogy sejtfalszerkezetükben eltérnek, valamint a környezeti körülmények változásának hatására eltérő módon reagálhatnak (sejfal vastagodás), ami nehezíti a kivonatot. Másrészt a környezeti hatásokra más bioszintézis útvonalak kerülhetnek előtérbe, ezáltal a bioaktív komponensek termelése háttérbe szorulhat. Az elért eredmények biztatóak és kellő alapot adnak a kísérletek további folytatásához és az algák adta lehetőségek szélesebbkörű megismeréséhez.

## 6 IRODALOMJEGYZÉK

1. Baudelet, P. H., Ricochon, G., Linder, M., & Muniglia, L. (2017). A new insight into cell walls of Chlorophyta. *Algal Research*, 25, 333-371.
2. Bell, K. E., Snijders, T., Zulyniak, M., Kumbhare, D., Parise, G., Chabowski, A., & Phillips, S. M. (2017). A whey protein-based multi-ingredient nutritional supplement stimulates gains in lean body mass and strength in healthy older men: A randomized controlled trial. *PloS one*, 12(7), e0181387.
3. Besednova, N. N., Andryukov, B. G., Zaporozhets, T. S., Kryzhanovsky, S. P., Kuznetsova, T. A., Fedyanina, L. N., ... & Zvyagintseva, T. N. (2020). Algae polyphenolic compounds and modern antibacterial strategies: Current achievements and immediate prospects. *Biomedicines*, 8(9), 342.
4. Bocsi, R. (2017). Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban= Microalgae cultivation in laboratory and outdoor flat panel photobioreactors (Doctoral dissertation, Pannon Egyetem).
5. Burgel, G., Ribas, P. G., Ferreira, P. C., Passos, M. F., Santos, B., Savi, D. C., ... & Kava, V. M. (2022). Morphology, molecular phylogeny and biomass evaluation of *Desmodesmus abundans* (Scenedesmaceae-Chlorophyceae) from Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e265235.
6. Cannell, R. J. P. (1990). Algal biotechnology. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 26, 85-105.
7. Cichoński, J., & Chrzanowski, G. (2022). Microalgae as a source of valuable phenolic compounds and carotenoids. *Molecules*, 27(24), 8852.
8. Corrêa, P. S., Morais Junior, W. G., Martins, A. A., Caetano, N. S., & Mata, T. M. (2020). Microalgae biomolecules: Extraction, separation and purification methods. *Processes*, 9(1), 10.
9. Dr. Bánvölgyi Szilvia (2023): Vegyipari Műveletek II. egyetemi jegyzet, MATE Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
10. Fu, W., Nelson, D. R., Yi, Z., Xu, M., Khraiweh, B., Jijakli, K., ... & Salehi-Ashtiani, K. (2017). Bioactive compounds from microalgae: Current development and prospects. *Studies in natural products chemistry*, 54, 199-225.
11. Guaadaoui, A., Benaicha, S., Elmajdoub, N., Bellaoui, M., & Hamal, A. (2014). What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(3), 174-179.
12. Herrero, M., Mendiola, J. A., Plaza, M., & Ibañez, E. (2013). Screening for bioactive compounds from algae. *Advanced biofuels and bioproducts*, 833-872.

13. Hlavova, M., Turoczy, Z., & Bisova, K. (2015). Improving microalgae for biotechnology—From genetics to synthetic biology. *Biotechnology advances*, 33(6), 1194-1203
14. Hodai, Z. (2015). *Alga biomassza kinyerése foto-bioreaktorokban termesztett mikroalga szuszpenziókból= Extraction of algae biomass from microalgae suspensions grown in photobioreactors* (Doctoral dissertation, Pannon Egyetem).
15. Hodai, Z., Rippelné Pethő, P. D., Horváth, G., Hanák, L., & Bocsi, R. (2015). Mikroalga technológia alkalmazhatóságának lehetőségei. *Műszaki Tudományos Közlemények*, (3), 163-166.
16. Juhász, L., Vári, A., Szalka, É., & Molnár, Z. (2018). Az alga-kutatások irányai–nemzetközi kitekintés. *Acta Agronomica Óváriensis*, 59(1), 125-140.
17. Kannah, R. Y., Kavitha, S., Karthikeyan, O. P., Rene, E. R., Kumar, G., & Banu, J. R. (2021). A review on anaerobic digestion of energy and cost effective microalgae pretreatment for biogas production. *Bioresource technology*, 332, 125055.
18. Klátyik, S. (2021). *Mezőgazdasági eredetű kémiai szennyezők ökotoxikológiai vizsgálatai alacsonyabb rendű vízi szervezeteken*(Doctoral dissertation, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem).
19. Krisztina, F., & Gyula, Ó. (2017). A mikroalgák felhasználási lehetőségei a biodízel üzemanyagok előállításában. *Repüléstudományi közlemények*, 29(2), 119-136.
20. Laurens, L. M. (2017). State of technology review—algae bioenergy. *IEA Bioenergy*, 10.
21. Mulluye, K., Bogale, Y., Bayle, D., & Atnafu, Y. (2023). Review on microalgae potential innovative biotechnological applications. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 20(1), 35-43.
22. Neyrinck, A. M., Taminiau, B., Walgrave, H., Daube, G., Cani, P. D., Bindels, L. B., & Delzenne, N. M. (2017). Spirulina protects against hepatic inflammation in aging: an effect related to the modulation of the gut microbiota?. *Nutrients*, 9(6), 633.
23. Oukarroum, A. (2016). Change in photosystem II photochemistry during algal growth phases of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*. *Current microbiology*, 72, 692-699.
24. Ovando, C. A., Carvalho, J. C. D., Vinícius de Melo Pereira, G., Jacques, P., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2018). Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from Spirulina: A review. *Food reviews international*, 34(1), 34-51.
25. Ördög, V. (2015). *Mikroalgák biotechnológiai alkalmazása a növénytermesztésben és növényvédelemben* (Doctoral dissertation, Nyugat-magyarországi Egyetem).

26. Ördög, V., Stirk, W. A., Bálint, P., Aremu, A. O., Okem, A., Lovász, C., ... & van Staden, J. (2016). Effect of temperature and nitrogen concentration on lipid productivity and fatty acid composition in three *Chlorella* strains. *Algal Research*, 16, 141-149.
27. Satpati, G. G., & Pal, R. (2020). Photosynthesis in algae. *Applied Algal Biotechnology*, Nova Science Publishers, Inc, 49-68.
28. Soeder, C. J., & Bolze, A. (1981). Sulfate deficiency stimulates release of dissolved organic matter in synchronous cultures of *Scenedesmus obliquus*. *Physiologia Plantarum*, 52(2), 233-238.
29. Szabó, E., & Takács, K. (2021). Mikroalgák előnyös tulajdonságainak kiaknázása élelmiszeripari és takarmányozási felhasználásra. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 67(4), 3619-3633
30. Szabó, P. G. (2017). *Anaerob fermentációs folyamatok optimalítása a mikroalga alkalmazhatóság továbbá a mikroelem adagolás tekintetében* (Doctoral dissertation, nyme).
31. Vasas, G. (2018). Mikroalgák mint természetes hatóanyagforrások= Microalgae as the source of natural products. *Orvosi Hetilap*, 159(18), 703-708.
32. Vonshak, A. (2017). Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In *Handbook of microalgal mass culture (1986)* (pp. 117-146). CRC Press.
- 33.
34. Weide, R., Elissen, H., van Dijk, W., Huurman, S., & van Krimpen, M. VALORISING SIDE STREAMS IN CIRCULAR ANIMAL FEED AND ADDITIVES: OPPORTUNITIES AND CHALLENGES.
35. Xu, L., Weathers, P. J., Xiong, X. R., & Liu, C. Z. (2009). Microalgal bioreactors: challenges and opportunities. *Engineering in life sciences*, 9(3), 178-189.

## Internetes hivatkozások

Megtekintve 2023 március, 2023 október-november)

Internet 1: [https://www.google.com/url?sa=i&url=https://www.algazona.hu/mi-az-optimalis-eties-trend-kiegeszito&psig=AOvVaw3\\_yfQgTyZ7yDFcVdQDiHoY&ust=1708705647378000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBiQjRxqFwoTCNCj4dquv4QDFQAAAAAdAAAAABAE](https://www.google.com/url?sa=i&url=https://www.algazona.hu/mi-az-optimalis-eties-trend-kiegeszito&psig=AOvVaw3_yfQgTyZ7yDFcVdQDiHoY&ust=1708705647378000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBiQjRxqFwoTCNCj4dquv4QDFQAAAAAdAAAAABAE) (megtekintve 2023 március)

Internet 2: [https://www.researchgate.net/figure/Main-systems-of-microalgae-cultivation-a-PBRs-closed-systems-and-b-raceway-ponds\\_fig1\\_353142531](https://www.researchgate.net/figure/Main-systems-of-microalgae-cultivation-a-PBRs-closed-systems-and-b-raceway-ponds_fig1_353142531) (megtekintve 2023 október)

Internet 3: [https://www.researchgate.net/figure/Fig-4-Examples-of-common-closed-photobioreactor-geometries-A-Plate-reactor-B\\_fig3\\_284206744](https://www.researchgate.net/figure/Fig-4-Examples-of-common-closed-photobioreactor-geometries-A-Plate-reactor-B_fig3_284206744) (megtekintve 2023 november)

Internet 4: [https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str\\_number=61.81](https://sagdb.uni-goettingen.de/detailedList.php?str_number=61.81) (megtekintve 2023 október)

Internet 5: [https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-the-different-classes-of-polyphenols-Polyphenols-are-classified\\_fig2\\_45694943](https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-the-different-classes-of-polyphenols-Polyphenols-are-classified_fig2_45694943) (megtekintve 2023 október)

Internet 6: [https://www.researchgate.net/figure/Molecular-structure-of-chlorophyll-a-and-chlorophyll-b\\_fig1\\_283281046](https://www.researchgate.net/figure/Molecular-structure-of-chlorophyll-a-and-chlorophyll-b_fig1_283281046) (megtekintve 2023 október)

Internet 7:

[https://www.researchgate.net/publication/341175855\\_In\\_Applied\\_Algal\\_Biotechnology\\_PHOTOSYNTHESIS\\_IN\\_ALGAE](https://www.researchgate.net/publication/341175855_In_Applied_Algal_Biotechnology_PHOTOSYNTHESIS_IN_ALGAE) (megtekintve 2023 október)

Farkas Luca

## Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani elsősorban a témavezetőmnek, Dr. Kohári-Farkas Csilla egyetemi adjunktusnak, aki lehetővé tette azt, hogy ebben a témában végezzem a kutatásaim, valamint nem utolsó sorban szakmai tudásával segített végig ezen az úton.

Az általam használt törzsek meglétét a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet (Gödöllő) és az Albitech Kft. (Budapest) biztosította, amiért hálás vagyok.

Végezetül pedig köszönettel tartozom a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet Biomérnök és Erjedésipari Technológiai Tanszékének, hogy a munkám zavartalanul és segítőkész környezetben zajlott.

Farkas Luca

## NYILATKOZAT

**Farkas Luca** (hallgató Neptun azonosítója: J9WVST) 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. október 31.

*Dr. Koldán-Farkas Csilla*

belső konzulens

## NYILATKOZAT

### a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Farkas Luca  
A Hallgató Neptun kódja: J9WVST  
A dolgozat címe: Szakaszosan rázatott és kevertetett-levegőztetett tenyésztés hatása néhány édesvízi zöldalga intracelluláris bioaktív komponens termelésére  
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/portfólió<sup>1</sup> 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.

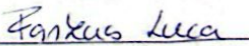
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

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 MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumába. 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 MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumában.

Kelt: Budapest, 2024.11.05.

  
Hallgató aláírása