

SZAKDOLGOZAT

Zsuppán Mercédesz

2025



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök alapképzési szak

**AZ ÉDESvíZI MIKROALGÁK KLOROFILL- ÉS
FEHÉRJETARTALMÁNAK VÁLTOZÁSA ELTÉRŐ
KÁLIUM-NITRÁT KONCENTRÁCIÓK HATÁSÁRA**

Belső konzulens: Dr. Kohári-Farkas Csilla
Egyetemi adjunktus
Sipiczki Gizella
Egyetemi tanársegéd
Dr. Bujna Erika
Egyetemi docens

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

Készítette: Zsuppán Mercédesz

Budapest

2025

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	3
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1. Algák és mikroalgák: taxonómiai helyzetük és előfordulásuk	5
2.2. A Chlorophyta (zöld alga) sejtek általános felépítése	6
2.3. A mikroalgák biotechnológiai és ipari felhasználása	8
2.3.1. Élelmiszer- és takarmányipar	9
2.3.2. Bioüzemanyag gyártás	10
2.3.3. Környezetvédelmi törekvések, szennyvíz tisztítás	11
2.3.4. Kozmetikai ipar	12
2.4. Mikroalga törzsek által termelt bioaktív komponensek	12
2.4.1. A pigmentek és jellemzésük	13
2.4.2. A nitrogén koncentrációjának hatása, mint környezeti stressz faktor	14
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	16
3.1. Tanulmányozott mikroalgák	16
3.2. Tápoldatok	16
3.3. Módszerek	17
3.3.1. Mikroalgatenyészetek felszaporítása	17
3.3.2. Mikroalga tenyészetek fermentációja	17
3.3.3. Szaporodás kinetika nyomon követése	18
3.3.4. Algabiomassza előállítása liofilizálással	20
3.3.5. Az alkalmazott sejtfeltárási módszer	20
3.3.6. Bioaktív komponensek mérése	21
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	23
4.1. Szaporodás kinetika	23
4.2. A KNO ₃ koncentráció hatása a vizsgált mikroalgák fehérjetartalmára	24
4.2.1. <i>Scenedesmus rubescens</i>	24

4.2.2. <i>Raphidocelis subcapitata</i>	26
4.2.3. <i>Desmodesmus subspicatus</i>	27
4.2.4. A klorofill-tartalom mérés eredményeinek összegzése	28
4.3. Különböző KNO ₃ koncentráció hatása a vizsgált mikroalgák klorofill-A és klorofill-B tartalmára.....	28
4.3.1. <i>Scenedesmus rubescens</i>	28
4.3.2. <i>Raphidocelis subcapitata</i>	31
4.3.3. <i>Desmodesmus subspicatus</i>	33
4.3.4. A fehérjetartalom mérés eredményeinek összegzése.....	35
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	36
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	38
IRODALOM JEGYZÉK.....	40
TÁBLÁZATOK ÉS ÁBRÁK JEGYZÉKE.....	44

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A XXI. század egyik legnagyobb globális kihívása olyan új nyersanyagforrások és energiahordozók felfedezése, melyek fenntartható alternatívát nyújthatnak a jelenleg alkalmazott véges forrásokkal szemben. Egy lehetséges megoldást nyújtanak erre az algák tágas csoportján belül a mikroalgák, amelyek különösen jelentős kutatási területet képviselnek. Ennek oka, hogy gyors növekedésűek, egyszerű a tenyésztésük és magas biológiai értékű anyagcsere termékeik számos ipari és környezetvédelmi alkalmazás alapjául szolgálhatnak.

A globális népességnövekedés következtében az ipari szereplők egyre leterheltebbé válnak, hogy kiszolgálhassák a modern társadalmak növekvő erőforrásigényeit. Különösen érintett az élelmiszer – és takarmányipar. Soha nem volt még a Földön annyi élelemre szükség, mint jelen századunkban. Ezt súlyosbítja, hogy a táplálék elosztása nem egyenletes. A mennyiségi éhezésen túl egyre dominánsabb jelenléttel bír a minőségi éhezés is, ami azt jelenti, hogy sokan hiába jutnak megfelelő mennyiségű táplálékhoz, annak minősége nem kielégítő, így az érintetteknek egy idő után különböző hiánybetegségekkel kell szembenézniük. A jelenség részben orvosolható, amennyiben az élelmiszerek, illetve a takarmányok tápanyagsűrűségét funkcionális szintre dúsítani tudják.

A mikroalgák kiváló alapanyagként szolgálnak ez esetben is, mivel gazdagok esszenciális aminosavakban, telítetlen zsírsavakban, vitaminokban, antioxidáns vegyületekben, illetve egyéb ásványi anyagokban. Ezen tulajdonságaiknak köszönhetően egyre gyakrabban használják őket kiegészítő komponensként az élelmiszer- és takarmányiparban. Humán táplálkozásra szánt készítményekben leginkább fehérjepótlóként, antioxidánsként és természetes színezőanyagként hasznosítják őket, míg állati takarmányok gyártása során az állatok növekedésének segítése és immunrendszerük erősítése érdekében alkalmazzák a mikroalgákat.

Munkám során három különböző édesvízi mikroalga faj klorofill- és fehérje-tartalmának változását követem nyomon úgy, hogy a tenyésztés során különböző koncentrációban biztosítom számukra a szerves nitrogén forrást BG-11 tápközegben. A környezeti stresszhatást KNO_3 tartalom módosításával generálom. A különböző nitrogénellátottság befolyással lehet a sejtek anyagcsere folyamataira.

Vizsgálataim során arra keresem a választ, hogy:

1. Milyen tendencia szerint változik a KNO_3 koncentráció hatására a fehérje tartalom a különböző mikroalga törzsek esetén.
2. Milyen tendencia szerint változik a KNO_3 koncentráció hatására a klorofill-A és klorofill-B tartalom a stresszhatás következtében.

A kísérlet sorozat 56 napon, vagyis 8 héten át zajlik, mely idő alatt háromszor történik mintavétel. A különböző mintavételi időpontoknak köszönhetően nyomon követhetővé válik a vizsgált anyagok változása a fermentáció során. A kapott eredmények hozzájárulhatnak a további algakutatások eredményességéhez is.

Kutatásaimat a Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék laboratóriumaiban végeztem.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

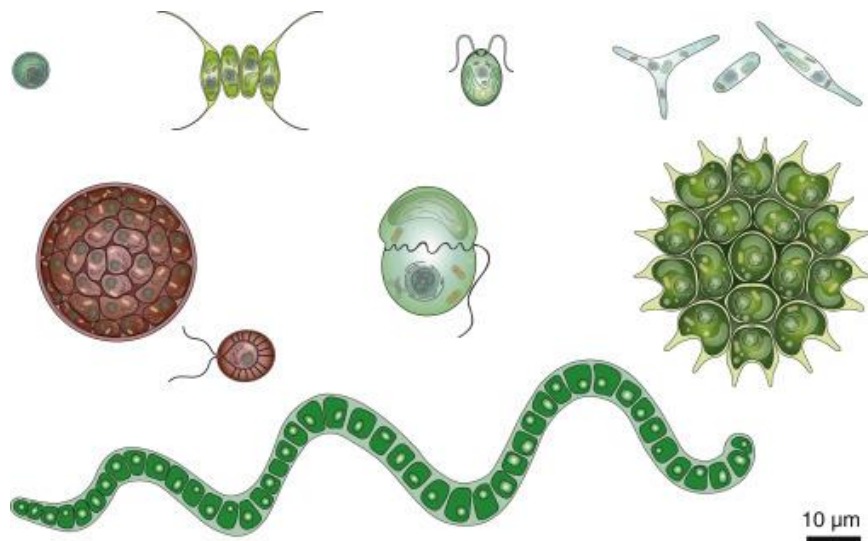
2.1. Algák és mikroalgák: taxonómiai helyzetük és előfordulásuk

Az algák egymástól igen eltérő, sokszínű taxonómiai egység alkotóiként ismertek ma a biológiában. Csoportjuk nem tekinthető külön rendszertani kategóriának, azonban van pár közös jellemzőjük, amelyek iránymutatásként szolgálhatnak, amikor el akarjuk őket helyezni a rendszertani osztályok között. Algáknak nevezzük azokat a fotoszintézisre képes élőlényeket, amelyek valódi gyökérrel, szárral, levéllel és virággal nem rendelkeznek (Kiss, 2024). Méretük különböző lehet. A több méteres növény-szerű (tengeri fajokra jellemző) társulások mellett számos faj ismert, melyek csupán néhány μm -esek és társulások létrehozása helyett szabadon úszó sejtekként találkozhatunk velük. Korábban az algákat nem taxonómiailag, hanem méretük szerint osztották a két csoportba, makro-és mikroalgákra (Chew et al., 2017). A különbség köztük, hogy amíg a makroalgák a vizes élőhelyük aljzatához rögzülve nőnek és szabad szemmel is jól látható társulásokat hoznak létre, addig a mikroalgák a vízben lebegve, vagy tárgyak és környezeti elemek felületére kitapadva élnek. Ez utóbbi kategóriába tartozik az algák többsége (Borowitzka, 2018).

Napjainkban már a kutatók igyekeznek az evolúciós elágazások és proteomikai, illetve filogenetikai vizsgálatok eredményei alapján besorolni az algákat különböző taxonokba. A vizsgálatok alapján szintén két csoportot különítettek el. Az egyik csoport a prokariótáké (cianobaktériumok), a másik pedig az eukariótáké. Ezen kategóriák alapján megállapítható, hogy a különböző algák között igen jelentős sejtszerkezetbeli különbségek vannak (Borowitzka, 2018). Az eukariótákon belül főbb csoportot alkot többek között a *Chlorophyta* (zöld alga), *Rhodophyta* (vörös alga), *Glaucophyta*, *Euglenophyta* (ostoros moszatok), *Chlorarachniophyta*, *Heterokontophyta* (Sárgamoszatok), *Haptophyta* (haptonémás moszatok), *Cryptophyta* (egybarázdás moszatok) és a *Dinophyta* (két barázdás moszatok) (Kiss, 2024).

Az 1. ábrán a különböző társulások morfológiája látható. A legfelső sorban balról jobbra a következő zöld alga törzsekre jellemző társulás látható: *Chlorella*, *Desmodesmus*, *Chlamydomonas*. A kép jobb oldalán középen pedig a *Pediastrum* zöld alga kolóniájának ábrája tanulmányozható (Thoré et al., 2023). A sejtek alkothatnak egy vékony füzért, aggregálódhatnak kisebb és nagyobb mértékben, illetve lemez szerű társulási formák is ismertek.

1. ábra: Az alga társulások morfológiai és méretbeli diverzitása
(Forrás: Thoré et al., 2023)



Az algákra tökéletesen illik a kozmopolita élőlény fogalma. Megtalálhatóak a Föld szinte bármely pontján: sós vagy édesvízben, hőforrásokban, jeges felületeken, a talajban, illetve akár egyes sziklák felsőbb rétegeiben is (Koppányiné és Takács, 2021) Ökológiai jelentőségük kiemelkedő, hiszen részt vesznek az oxigén-, szén-, nitrogén-, foszfor-, szilícium-, és a kén körforgásában is (Barsanti és Gualtieri, 2022).

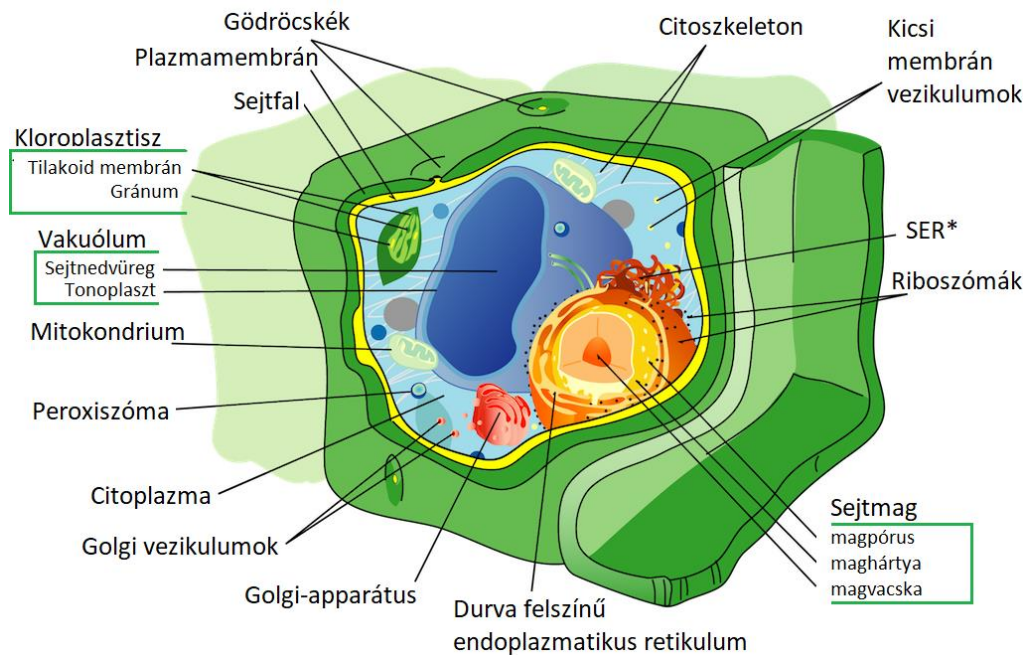
2.2. A Chlorophyta (zöld alga) sejtek általános felépítése

A zöld algák felépítésére jellemző, hogy nem rendelkeznek komplex szaporodási struktúrával, valamint szövetek hiányában, külön szervekkel sem (Barsanti és Gualtieri, 2022). Sejtmagjukat membrán veszi körül, és sejtjeikben különféle sejtalkotók is megtalálhatóak (Kiss, 2024).

Egyik legmeghatározóbb jellemzőjük, aminek köszönhetően igencsak sokszor állnak a kutatások középpontjában, hogy rendelkeznek kloroplasztisszal, melynek segítségével a sejtek képesek önállóan előállítani azt a kémiai energiát, amely az anyagcserefolyamataikhoz szükséges. Ennek a sejtservecskének a segítségével biokémiai folyamatok útján képesek megkötni a fényenergiát és kémiai energiává konvertálni azt. Ez azért lehetséges, mivel a kloroplasztisz tartalmazza a fotoszintézishez szükséges fényérzékeny vegyületeket, melyeket hétköznapi nevükön csak pigmenteknek hívunk. A kloroplasztisz jelenléte, illetve annak membránnal való határoltsága, evolúciós jelentőségű. Ennek a sejtalkotónak a segítségével tudjuk meghatározni az algák megjelenésének idejét a földtörténeti korokon belül (Bocsi,

2016). A szintesteken túl számos más sejszerkezeti elem is megtalálható bennük. Ezeket a sejtalkotókat a 2. ábra szemlélteti.

2. ábra: Az algasejtek általános felépítése
(Forrás: Kotz, 2022)



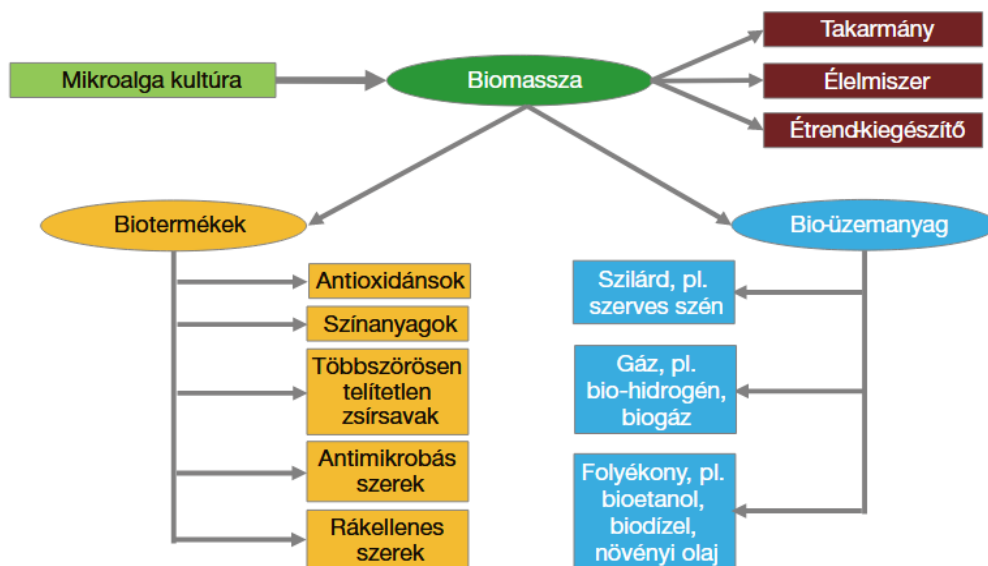
Az endoszimbionta elmélet szerint, a kloroplasztiszhoz nagyon hasonló módon alakult ki a mitokondrium nevű sejszervecske is, melyet általában csak a sejt energiaközpontjaként emlegetnek. A sejt élettani folyamatait a maghártyával elhatárolt sejtmag irányítja, melyen belül a sejt örökítőanyaga található. A maghártya közvetlenül kapcsolódik a durvafelszínű endoplazmatikus retikulumhoz (DER), melynek felszínén riboszómák ülnek és a fehérjeszintézis második szakaszáért felelnek. A DER folytatása a sima felszínű endoplazmatikus retikulum (SER), mely többek között a lipidszintéziséért felel. Szorosan kötődik működésükhöz a Golgi-apparátus, ugyanis ez a sejszervecske felel a szintetizált fehérjék és lipidek szortírozásáért és poszttranszlációs módosításaikért. Segítségével a sejt által előállított molekulák a későbbi rendeltetési helyükre kerülnek (Darvas és László, 2005). A citoszkeleton nem más, mint fehérjefonalak strukturált elrendezése a sejten belül. Egy olyan vázszerkezet, mely nem merev, sokkal inkább képes a dinamikus változásokra, átrendeződésekre. Fenntartja a sejtek alakját, lehetővé teszi az amőboid mozgást, illetve a sejten belüli transzportfolyamatok jelentős része is ezen fehérjefonalak mellett valósul meg (Pálfia és Kristóf, 2013).

A plazmamembrán és a sejtfal védi a sejtet a külső behatásoktól, ugyanakkor kapcsolatot is teremt a külső – és a belső környezet között. A sejtmembrán foszfolipid kettősrétege szabályozza a transzportfolyamatokat és nagyban felel a homeosztázis fenntartásáért. Az anyagcserefolyamatok során számos termék keletkezik, amelyeket a sejtek nem használnak fel. Ennek oka, hogy az adott anyag vagy tartaléktápanyagként funkcionál, vagy toxicitással bír. Ezeket a sejt elzárva, úgynevezett vakuólumokban tárolja. Végül pedig az előregedett sejtalkotókat, felesleges anyagokat a peroxiszómák segítségével bontja le. Ezek a kis buborékok különböző oxidatív enzimeket tartalmaznak, melyek bontják a peroxiszómákba bekerült anyagokat (Darvas és László, 2005).

2.2.1. A mikroalgák biotechnológiai és ipari felhasználása

A mikroalgákból előállított biomassa az egyik legpotenciálisabb nyersanyagforrása a XXI. századnak, mivel számos iparág számára hasznosítható komponensekben gazdag (Brennan és Owende, 2010). A 3. ábra összefoglalja a mikroalgák által termelt biomasszát hasznosító iparágakat, illetve általánosságban jelöli az adott szektor által felhasznált alapanyagot.

3. ábra: Mikroalgák felhasználási lehetőségei
(Forrás: Koppányné és Takács, 2021)



A mikroalgák sokoldalúságukat leginkább annak köszönhetik, hogy kitűnő forrásai számos szerves szénvegyületnek. Fehérjetartalmuk 9-77% között képes változni, a szénhidrát tartalmuk 6-54% között, míg a lipidtartalmuk 4-74% közötti értéket vehet fel. Felhasználhatóak különböző funkcionális élelmiszerek, vagy étrendkiegészítők gyártásához, illetve használatuk elterjedt a gyógyszer- és kozmetikaiparban is, míg a bioenergetikai és bioremediációs kutatásokban is jelentős figyelmet fordítanak rájuk (Koppányné és Takács 2021). Kiemelten fontos hangsúlyozni, hogy a mikroalgák ipari alkalmazása csak akkor válhat jövedelmezővé, amennyiben előállításuk megfelelő hozamot ér el. A mikroalgákból leggyakrabban előállított biotermékek poliszacharidok, lipidek, pigmentek, fehérjék, vitaminok, bioaktív vegyületek és antioxidánsok lehetnek (Brennan és Owende, 2010).

2.2.2. Élelmiszer- és takarmányipar

Az élelmiszer- és takarmányiparban elsősorban az olyan mikroalga törzsek jelentősek, melyek egységnyi tömegükhöz képest igen magas fehérjetartalommal bírnak. Ilyen a *Spirulina platensis*, illetve a *Chlorella pyrenoidosa* is, melyeknek nemcsak a fehérje, hanem esszenciális aminosav, illetve antioxidáns tartalmuk is igen magas. Az alga fehérjékről elmondható, hogy a különböző gabonáknál, mint a rizs vagy a búza, jobb tápértékkel bírnak. Ebből adódóan gyakran alternatív fehérjeforrásként, vagy fehérjetartalom kiegészítésként jelennek meg a vegán sporttáplálkozásban, illetve a különféle takarmányokban (Grden és Sotowiej, 2022).

Az emberi fogyasztásra szánt funkcionális élelmiszerekben gyakran használják az adott termék antioxidáns tartalmának növelésére, illetve prebiotikus hatásukat is egyre több tanulmány támasztja alá. A leggyakrabban erre a célra is a *Spirulina sp.* és a *Chlorella sp.* fajokat alkalmazzák (Zhou et al., 2022). Ilyen termékek a különböző smoothiek, tejtermékek vagy akár péksütemények. A mikroalgák fogyasztásával könnyedén bejuttathatók az emberi szervezetbe az eikozapentaénsav és a dokozahexaénsav omega-3 zsírsavak, amelyek gyulladáscsökkentő hatásuk mellett kiemelt szerepet töltenek be a szív- és érrendszer, a retina, és az idegrendszer megfelelő működésében és védelmében (Camacho et al., 2019).

Ipari állattartás esetén gazdasági szempontból az állatok növekedésének üteme kritikus pontnak számít. Egyes mikroalga törzsek magas arányban tartalmaznak lizint és metionint. Ezen esszenciális aminosavak jelenléte a takarmányban kedvezően hat az állatok növekedésének ütemére (Vanthoor-Koopmans et al., 2013). Az ipar számára kiemelten fontos, hogy a húsupért tartott állatok egészségesek legyenek. Egy-egy betegség vagy járvány hatalmas pusztítást és anyagi kárt tud okozni a telepeknek. Erre részben megoldást kínálnak már a különböző

prebiotikumokkal kiegészített takarmányok. A mikroalgákban található többszörösen telítetlen zsírsavak, a karotinoidok, az oligoszacharidok, illetve a β -glükán az állati egészségre is kedvező hatást gyakorolnak. Ennek köszönhetően a mikroalgák felhasználási lehetőségeit nemcsak a funkcionális humán ételmiszer fejlesztés során, hanem az állati takarmányok fejlesztésében is figyelembe veszik (Camacho et al., 2019).

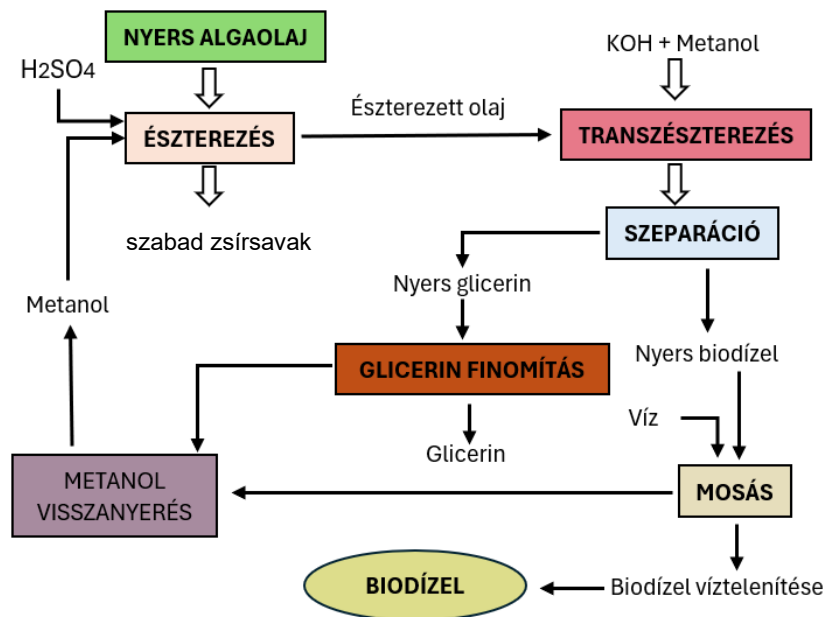
2.2.3. Bioüzemanyag gyártás

Napjainkban egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek a biodízel, és a bioetanol gazdaságos előállításának fejlesztésére. Ez a technológia jelenleg különféle mezőgazdasági haszonnövények feldolgozásán alapszik. Ahhoz azonban, hogy globálisan, nagy hozammal alkalmazható legyen, más alternatív alapanyag forrást kell találni. Ez azért is fontos kritérium, mivel az egyre népesebb emberi populáció ételmezési ellátása már napjainkban is komoly kihívást jelent. Amennyiben az olyan haszonnövények egy részét, mint a repce, a cukornád, a kukorica vagy a búza, kivonjuk az ételmiszerpiacról a bioüzemanyag előállításának érdekében, az növeli az éhínségek előfordulásának kockázatát. Igen jelentős földterületek esnének ki az ételmezéssel foglalkozó mezőgazdasági művelés alól is. Az alternatív üzemanyag gyártás csak abban az esetben válik fenntartható megoldássá, amennyiben a szükséges alapanyag kis helyigénnyel és gyors reprodukcióval előállítható (Grossmann et al, 2019).

Az arányaiban nagy keményítő- és lipidtartalmú mikroalgák megoldást nyújthatnak erre a problémára, amennyiben megfelelő tömegű biomasszát vagyunk képesek előállítani. Ennek oka, hogy a mikroalgákban felhalmozódó lipidek javarészt triacilglicerinekből (TAG) állnak, a foszfolipidek, valamint a poláros glikolipidek mellett. A mikroalgák anyagcseréjének egyik legfőbb energiatároló vegyületei a triacilglicerinek, melyek manapság már az újgenerációs biodízel előállításának alapjául szolgálnak (Xin et al., 2017).

A 4. ábra a mikroalgákból történő biodízel előállításának folyamatát mutatja be. A folyamat során a mikroalga biomasszából nyert lipidek és szénhidrogének átészterezése történik. Ilyenkor a kinyert lipideket, elsősorban triglicerideket, metanollal (MetOH) vagy etanollal (EtOH) reagáltatják lúgos katalizátor (pl. NaOH vagy KOH) jelenlétében. Az észterezés folyamatának melléktermékei a szabad zsírsavak (free fatty acids, FFA).

4. ábra: Biodízelgyártás folyamatábrája
(Saját ábra: Hossen et al, 2019 nyomán)



A reakció eredményeként zsírsav-metil- vagy etil-észterek (FAME/FAEE) képződnek, amelyek a biodízel fő alkotórészei. A technológia melléktermékeként glicerin keletkezik (Hoang et al., 2022).

Az átészterezés mellett a mikroalga biomassa nagy szénhidrát tartalmának fermentációja során is állíthatunk elő bioüzemanyagot bioetanol, biobutanol, illetve biohidrogén formában. A mikroalga sejtek komplex szénhidrátjait, mint a cellulózt és a keményítőt, különböző, specifikus élesztők vagy baktériumok hidrolízissel egyszerű cukrokká bontják, majd második lépésként a kapott egyszerű cukrokat alkoholokká alakítják. A mikroalgákból így többféle folyékony bioüzemanyag is előállítható, amelyek megújuló és környezetkímélő alternatívaként tarthatóak számon a fosszilis üzemanyagokkal szemben (Hoang et al., 2022).

2.2.4. Környezetvédelmi törekvések, szennyvíz tisztítás

Több kutatás is alátámasztotta már a tényt, hogy a mikroalgák megfelelően alkalmazhatóak különböző forrásból származó szennyvizek kezelésére is. Igen sok szennyezőanyagot képesek eltávolítani, továbbá a víztisztítás folyamata során keletkező biomassa felhasználható trágyázásra, vagy más egyéb ipari alapanyagként is hasznosíthatják. A mikroalgák bioremediációs tulajdonságaira alapozva ígéretes fejlesztési irány lehet a mikroalga alapú szennyvíztisztítási eljárások kifejlesztése és terjesztése (Figler, 2022; Abdelfattah et al, 2023).

A hagyományos szennyvíztisztítási rendszerek jellemzője, hogy költségesek, energiaigényesek, és sokszor ennek ellenére sem hatékonyak. A mikroalgák igen kecses alternatívát jelentenek, mivel képesek csökkenteni a nitrogén- és foszfortartalmat, valamint más toxikus komponenseket is, mint a nehézfémek és a gyógyszermaradványok. Mivel energiaforrásuk a Napból származó fényenergia, így költségkímélő megoldást nyújtanak, illetve csökkentik a folyamat szénlábnymát is. A technológia elterjedését leginkább a mikroalga sejtek szennyvíztől történő elválasztásának nehézsége okozza. Ez az elválasztási lépés jelenti a technológia legmagasabb költségét, ami miatt jelenleg a szennyvíztisztítás ezen módja nem versenyképes a piacon (Plöhn et al., 2021).

2.2.5. Kozmetikai ipar

A mikroalgák napjainkban egyre nagyobb figyelmet kapnak a kozmetikai iparban is, mivel természetes, fenntartható bioaktív alapanyagforrások. Magas tápanyagtartalmuknak és anyagcseretermékeik sokféleségének köszönhetően számos értékes vegyületet tartalmaznak. A kozmetikai iparban legfőképp a lipideket, karotinoidokat, fehérjéket, vitaminokat és poliszacharidokat alkalmazzák, amelyek kedvező hatásúak a bőrre és a hajra. A mikroalga-lipideket leginkább a hidratáló, bőrlágyító, antioxidáns és gyulladáscsökkentő készítményekben használják fel, mivel ezen tulajdonságaik révén hozzájárulnak a bőr védelméhez és regenerációjához. Továbbá már számos mikroalga fajban kimutattak antimikrobiális és UV-szűrő hatású vegyületeket is (De Luca et al., 2021). A mikroalga-alapú kozmetikai készítmények iránti kereslet ezáltal az utóbbi évtizedben jelentősen növekedett. A jelenlegi drága extrakciós megoldások végett napjainkban a magasabb árkategóriájú termékekben találkozhatunk velük. Ilyen a „kozmetikai-gyógyászati” termékek piaca is, ahol a cél a biológiailag aktív összetevők felhasználása a bőr egészségének támogatására és az öregedési folyamatok lassítására (De Luca et al., 2021).

2.2.6. Mikroalga törzsek által termelt bioaktív komponensek

A mikroalgák számos bioaktív vegyület szintézisére képesek. Az alapanyagcsere termékeiken túl, mint a különböző fehérjék, poliszacharidok és lipidek, megtalálható bennük számos fotoszintetikus pigment is. Ilyen pigmentek a klorofillok, a karotinoidok és a fikobilinok. Emellett jelentős mértékben tartalmaznak tokoferol és szterol vegyületeket, B vitaminokat, folsavat, C vitamint és különböző antioxidáns tulajdonsággal bíró vegyületet (Koppányné és Takács, 2021).

2.2.7. A pigmentek és jellemzésük

A pigmentek olyan biológiai molekulák, amelyek jellegzetes színüket a bennük található konjugált kettős kötésrendszernek vagy aromás szerkezetnek köszönhetik, és képesek meghatározott hullámhosszúságú fény elnyelésére. Biokémiai szempontból nem egyetlen vegyületcsaládot alkotnak, hanem többféle kémiai típusba tartozhatnak, például tetrapirrolok (pl. klorofilok, hemek), terpén-származékok (karotinoidok), polifenolok (flavonoidok) vagy heteropolimerek (melaninok). A közös bennük, hogy színük révén fontos szerepet töltenek be a fényenergia hasznosításában, a biológiai folyamatok szabályozásában, vagy épp a szervezetek védelmében. Az algák esetében a pigmentek elsődleges jelentősége a fotoszintézis folyamatában van: a klorofilok biztosítják a fényenergia megkötését, a karotinoidok kiegészítik a fényelnyelést és védik a sejteket a fotooxidatív károsodástól, míg a fikobiliproteinek (pl. fikocianin, fikoeritrin) lehetővé teszik, hogy a különböző algacsoportok a vízben eltérő fényviszonyokhoz alkalmazkodjanak. Ennek köszönhetően az algák pigmentjei nemcsak színt adnak a sejteknek, hanem kulcsfontosságúak az energiaátalakításban és az ökológiai szerepükben is. Az 1. táblázat összefoglalja a legkutatottabb pigmenteket, illetve azok felhasználási lehetőségeit.

1. táblázat: Mikroalgák által termelt természetes pigmentek bioaktivitása
(Forrás: Saját táblázat Sun et al, 2023 nyomán)

Pigment	Termelő organizmus	Bioaktivitás
Klorofill	<i>Chlorella sp.</i> <i>Monoraphidium dybowskii</i> <i>Scenedesmus dimorphus</i> <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <i>Pavlova lutheri</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Immunerősítő Magas antioxidáns tartalom Antikarcinogén
β -karotin	<i>Dunaliella salina</i> <i>Dunaliella bardawil</i>	Rákellenes Magas antioxidáns tartalom Természetes fényvédelem Magas A vitamin tartalom Inzulin válasz javítása
Asztaxantin	<i>Chlorella sp.</i> <i>Chlorella zofingiensis</i>	Antimikrobiális Rákellenes Metabolizmus javítása Antioxidáns

Pigment	Termelő organizmus	Bioaktivitás
Lutein	<i>Chlorella protothecoides</i> <i>Muriellopsis sp.</i> <i>Scenedesmus almerienses</i> <i>Dunaliella salina</i> <i>Spinacia oleracea</i>	Immunerősítő Gyulladáscsökkentő Neuroprotektív Keringési rendszer védelme
Fukoxantin	<i>Mallomonas sp.</i> <i>Nitzschia laevis</i> <i>Cylindrotheca closterium</i> <i>Odontella aurita</i>	Csökkenti a vér triglicerid tartalmát Védi a bőrt az oxidatív károsodásoktól Gyulladáscsökkentő Citokinek termelődését serkenti
Fikobiliprotein	<i>Spirulina platensis</i> <i>Geitlerinema</i> <i>Porphyridium sp.</i>	Alzheimer-kór kialakulásának megelőzése Antioxidáns Citotoxikus hatás

A klorofilok a legfontosabb említésre méltó pigmentek a zöldalgák esetében. Lényegében ezek a pigmentek a fő fotoreceptorok, melyek nélkül a fotoszintézis nem jöhet létre. Szerkezetüket tekintve négy darab porfirin gyűrűből állnak, amelyeket metén hidak kapcsolnak össze. A két fő klorofill típus a klorofill-A és a klorofill-B. Míg a klorofill-A molekula hét darab metil csoportot tartalmaz, addig a klorofill-B esetében a metil csoportok helyén formil csoportok találhatóak. A különböző funkciócsoportok miatt a napfényt is eltérő hullámhosszokon nyelik el. Emellett a klorofill-A és klorofill-B kifejezetten zsírolékony (lipofil) molekulákként vannak számontartva, amit a fitol-oldalláncuk jelenléte befolyásol (Begum et al., 2016).

2.2.8. A nitrogén koncentrációjának hatása, mint környezeti stressz faktor

Magasabbrendű növények esetében már tanulmányozták, hogy kémiai összetételükre a természeti körülmények képesek hatást gyakorolni. Nincs ez másképp az algák esetében sem. Tenyésztési módjuk jelentősen képes befolyásolni és szabályozni biokémiai összetételüket. Napjainkban számos kutatás irányul arra, hogy hogyan reagálnak a mikroalgák különféle stresszhatásoknak kitéve. Ilyen stresszeltető paraméter lehet az adott hőmérséklet, a megvilágítás hossza és gyakorisága, a tápközeg pH tartománya és a rendelkezésre álló nitrogénforrás, valamint ásványianyag tartalma. Ezenkívül a CO₂ ellátottság, illetve a keverési sebesség lehet még befolyásoló tényező (Chen et al., 2017; Liu et al., 2022).

A nitrogén egy esszenciális makrotápanyag a mikroalgák növekedéséhez. Fontos szerepet játszik a fehérjék, lipidek és szénhidrátok szintézisében. Általánosságban elmondható, hogy a nitrogén koncentráció jelentősen befolyásolja a mikroalgák növekedését és biokémiai

összetételét is, viszont amennyiben a tenyésztőközegben a nitrogén forrás kimerül, a tenyészet növekedése megáll. A stresszhatás alatt tartott mikroalgák a nitrogéntartalmú vegyületeik lebontásával igyekeznek fenntartani a minimális anyagcsere-folyamatokhoz szükséges nitrogénkészletet (Liu et al., 2022). Ezzel szemben azonban érdemes tudni, hogy a nitrogénkorlátozás gyakran vezet a lipidtartalom és a szénhidrátartalom növekedéséhez (Yaakob et al., 2021). Kisebb szerves nitrogén koncentráció esetében a pigment koncentrációk alacsonyabbak voltak, míg a nagyobb nitrogén koncentrációjú tápközegekben tenyésztett törzsek pigmenttartalma között nem találtak jelentős eltérést (Liu et al., 2022).

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Tanulmányozott mikroalgák

A dolgozatom készítése során három különböző nemzetségből származó édesvízi zöldalga izolátummal dolgoztam. A Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem gödöllői Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézete biztosította a *Desmodesmus subspicatus*, illetve a *Raphidocelis subcapitata* izolátumokat. A harmadik, *Scenedesmus rubescens* törzssel pedig a budapesti Albitech Kft. jóvoltából dolgozhattam.

3.2. Tápoldatok

A tenyésztés és a törzsfenntartás szervesetlen BG-11 ásványi sóoldatban, illetve agarlemezen történt. A sóoldat receptjét a 2. táblázat részletezi.

2. táblázat: BG-11 ásványi sóoldat komponensei

(Forrás: Saját táblázat)

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

3. táblázat: Mikroelem törzsoldat komponensei

Komponens	Mennyiség [mg/l]
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	222
MnCl ₂ * 4H ₂ O	1810
Na ₂ MoO ₄ * 2 H ₂ O	390
CuSO ₄ * 5H ₂ O	80
Co(NO ₃) ₂ * 6H ₂ O	49,4
H ₃ BO ₃	2860
Desztillált víz	1000 ml

A BG-11 sóoldat szilárd alkotórészeit desztillált vízben oldottam fel. A szilárd ásványi anyagokon túl az oldat része egy mikroelem törzsoldat is, amelyet külön készítettem el a 3. táblázat alapján. A tápközeget 121°C-on 15 percig steriliztem.

3.3. Módszerek

3.3.1. Mikroalgatenyészetek felszaporítása

A kísérletek megkezdéséhez első lépésként az alga izolátumok felszaporítása volt szükséges. Ehhez az izolátumokból egy-egy cseppet Petri-csészében lévő BG-11 agarlemezekre szélesztettem, majd szobahőmérsékleten inkubáltam 10 napon keresztül. A 10 napos inkubációt követően steril körülmények között 10%-os beoltással 15 ml-es kémcsövekben BG-11 táplevesben folytattam a tenyésztést szobahőmérsékleten, jól megvilágított körülmények között. A kémcsövekbe történő átoltás célja a léptéknövelés volt. A továbbiakban a munkám során mindig figyeltem arra, hogy friss tenyészetekkel dolgozzak.

3.3.2. Mikroalga tenyészetek fermentációja

Erlenmeyer-lombikokba 150 ml BG-11 ásványi sóoldatot készítettem el, mely különböző koncentrációkban tartalmazta a szervesetlen nitrogén forrást. A kísérletek során alkalmazott KNO₃ koncentrációkat a 4. táblázat foglalja össze. A fermentációt a mikroalga tenyészetek

10%-os beoltásával indítottam el. A steril munkavégzés érdekében mindezt biztonsági fülke alatt végeztem.

4. táblázat: KNO₃ koncentrációk összefoglaló táblázata

(Forrás: Saját táblázat)

A kísérletekhez használt tápközegek KNO ₃ koncentrációja					
Mértékegység: [g/100 ml]					
0,00	0,05	0,10	0,15	0,25	0,5

A fermentáció összesen 56 napon át zajlott, a mintavételezés pedig a 14., a 28., illetve az 56. napon történt. A tenyészeteket lámpa és természetes fényhatás érte, valamint szobahőmérsékleten történt a fermentáció. Az 5. ábra a 14., 28. és 56. napos mikroalga tenyészetekről készült képeket mutatja be. Látható, hogy a fermentáció előrehaladtával a lombikok színe egyre sötétebbé válik.

5. ábra: Mikroalga tenyészetek. Balról jobbra: 14. nap, 28. nap, 56. nap

(Forrás: Saját képek)



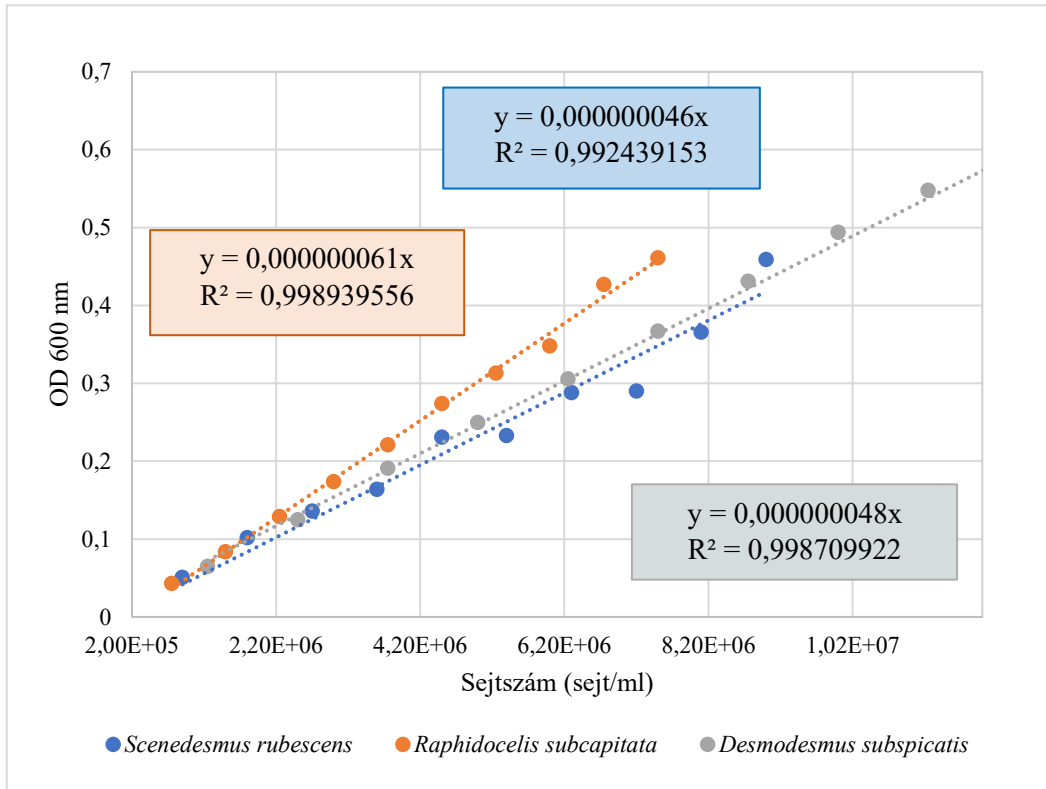
3.3.3. Szaporodás kinetika nyomon követése

Mindhárom törzs szaporodását optikai denzitás méréssel követtem nyomon. A spektrofotometriás méréseket 600 nm hullámhosszon végeztem. A 0,7-es, vagy annál magasabb abszorbancia értékű mintákat további hígításnak vettem alá. Ennek oka, hogy a mérési összefüggés egyéb esetben már nem értelmezhető lineáris tartományban.

A sejtszám és az optikai denzitás közötti összefüggés meghatározásához kalibrációt készítettem mindhárom mikroalga törzs esetében. Az 5. táblázat által meghatározott értékekkel hígítási sort készítettem az algasuszpenziókból és minden hígítási tag optikai denzitás értékét megmértem.

A hígítási tagok sejtszámát az abszorbancia függvényében ábrázoltam. A diagramot a 6. ábra prezentálja.

6. ábra: Optikai denzitás (600 nm) és az algasejtszám közötti összefüggés
(Forrás: Saját ábra)



5. táblázat: Szaporodás kinetika meghatározásához készített kalibrációs hígítási sor

Sorszám	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
Törzsoldat (ml)	5	4,5	4	3,5	3	2,5	2	1,5	1	0,5
Desztillált víz (ml)	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5

A sejtszámot Bürker-kamrás módszer segítségével, fénymikroszkóp 40-szeres nagyítása mellett, a következő képlet alkalmazásával állapítottam meg:

$$\text{Sejtkoncentráció} = \text{Sejtszám}_{\text{átlag}} \times (\text{Hígítás}) \times C$$

ahol,

Sejtkoncentráció: 1 ml oldatban található sejtek száma [db/ ml]

Sejtszám: 10 db nagy Bürker-kamrában számolt sejtek átlaga (db)

Hígítás: Amennyiben az optikai denzitás méréshez a minta hígítása szükséges volt, abban az esetben a hígítás mértékével kell korrigálni a számolást. Abban az esetben, ha hígítás nem történt, értéke=1.

C: konstans állandó, melynek értéke $2,5 \cdot 10^5$ a Bürker-kamra nagy négyzeteiben történő számolás esetén.

3.3.4. Algabiomassza előállítása liofilizálással

A fehérje, illetve a klorofill tartalom meghatározásához liofilizált mintákat használtam. A fagyasztva szárítást Christ Alpha LSC PLUS (Martin Christ GmbH, Németország) berendezéssel végeztem el, mely során a szárítókamra 18°C-os hőmérsékletű a kíméletes szárításhoz alkalmazott vákuum értéke pedig 0,25 Mbar volt. Az előzetesen -18°C-on lefagyasztott algaminták térfogata 50 ml volt. A teljes száradás 72 órát vett igénybe.

3.3.5. Az alkalmazott sejtfeltárási módszer

Az értékes biokomponensek kinyeréséhez komplex sejtfeltárási technikákat alkalmaztam Bilik 2024-es kutatási eredményei alapján, a következők szerint: 10 mg liofilizált alga biomasszát mértem be 1,5 ml-es Eppendorf csőbe, majd 1 ml 3:1 arányú propanol – desztillált víz elegyet pipettáztam rá. Ezt követően minden mintát mikrohullámos kezelésnek vettem alá. A sejtfeltárást 630 watt-on zajlott 12 x 30 másodpercig. A megfelelő feltárást érdekében minden mintát jégágyon helyeztem el és 30 másodpercenként pótoltam az elolvadt jeget, hogy a kinyerni kívánt komponensek bioaktivitása sértetlen maradjon.

Utolsó lépésként 5 percen keresztül centrifugáltam minden mintát 14000 rpm-en, ügyelve arra, hogy a kitapadt sejttörmelék ne szennyezze vissza a mintákat, majd a felülúszót új, tiszta Eppendorf csövekbe töltöttem át. A különböző vizsgálatokhoz ezt a felülúszót használtam a továbbiakban.

3.3.6. Bioaktív komponensek mérése

Fehérjetartalom meghatározás Bradford módszer segítségével

A fehérjetartalom meghatározását a Bradford módszer segítségével végeztem. Lényege, hogy a festékmolekula (Coomassie Brilliant Blue G 250) a fehérjék arginin és lizin oldalláncaihoz kapcsolódva egy fehérje-festék komplexet hoz létre. Ennek a komplexnek a fényelnyelése 575-615 nm hullámhosszon leolvasható. Maximális fényelnyelése pedig 595 nm hullámhosszon detektálható (Bradford, 1976).

A fehérjetartalom méréséhez először kalibrációt készítettem 5 mg/ml koncentrációjú marhaszérum albumin (BSA) törzsoldattal. Használat előtt a törzsoldatot 10-szeresére hígítottam, és a hígított oldatból készítettem a 6. táblázat alapján a hígítási sort.

6. táblázat: A kalibrációhoz használt hígítási sor
(Forrás: saját táblázat)

Hígítási sorozat	1.	2.	3.	4.	5	6.
BSA (µl)	0	5	10	20	25	100
Desztillált víz (µl)	100	95	90	80	75	0

A hígítási sort Eppendorf csövekben készítettem elő. Minden hígítási tagból 20 µl-t mértem be egy microplate zsebeibe, majd mindegyik taghoz 200 µl Bradford reagenst pipettáztam. Az abszorbanciát spektrofotométerrel 595 nm-en mértem. A hígítási sorból készített kalibrációs egyenest a 7. ábra szemlélteti, mely segítségével kiszámoltam a fehérjetartalmat az alábbi képlet segítségével:

$$\text{Fehérjetartalom} \left[\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right] = \frac{[(A_m - A_v) \times h]}{a}$$

ahol,

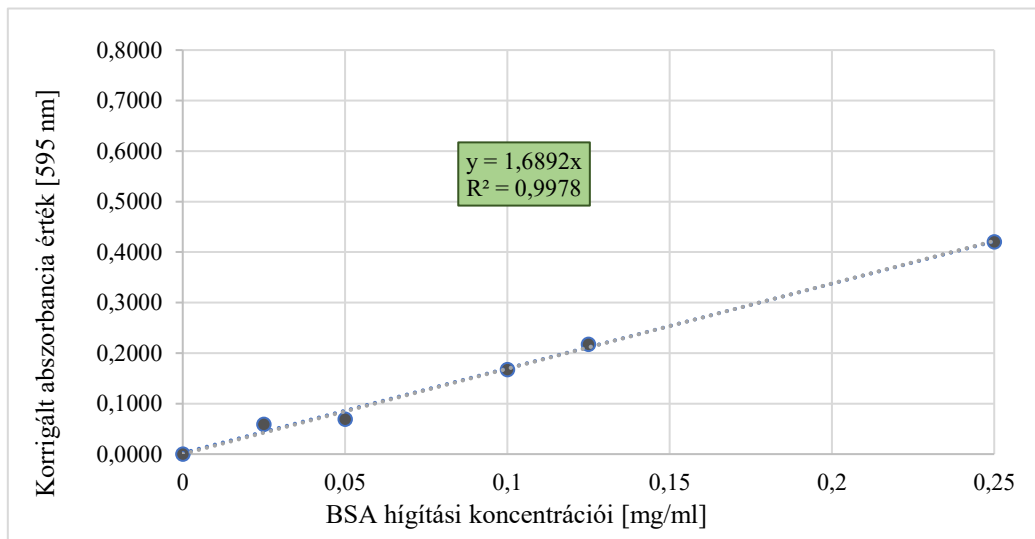
A_m= A minta abszorbanciája [-]

A_v= Vakminta abszorbanciája [-]

h= Hígítás mértéke [-]

a= A kalibrációs egyenes meredeksége [-]

7. ábra: A fehérjetartalom méréshez felállított kalibrációs egyenes és egyenlete
(Forrás: Saját ábra)



Klorofill tartalom meghatározás

A sejtfeltárást követően egy tiszta mikrolemes mélyedéseibe 200 μ l mintát mértem be pipetta segítségével. Vakmintaként desztillált vizet használtam szintén 200 μ l térfogatban.

Ezt követően spektrofotométerrel mértem a minták abszorbanciáját 665 nm, illetve 652 nm hullámhosszon. A klorofill tartalmat Lichtenthaler és Buschmann (2001) által meghatározott képlet alapján számoltam:

$$C_a = 16,72 * A_{665} - 9,16 * A_{652}$$

$$C_b = 34,09 * A_{652} - 15,28 * A_{665}$$

ahol,

C_a = Klorofill-A koncentrációja [μ g/ml]

C_b = Klorofill-B koncentrációja [μ g/ml]

A_{665} = A mért abszorbancia érték 665 nm hullámhosszon

A_{652} = A mért abszorbancia érték 652 nm hullámhosszon

A számítások során a vak mintára kapott értékkel korrigáltam az abszorbancia adatokat.

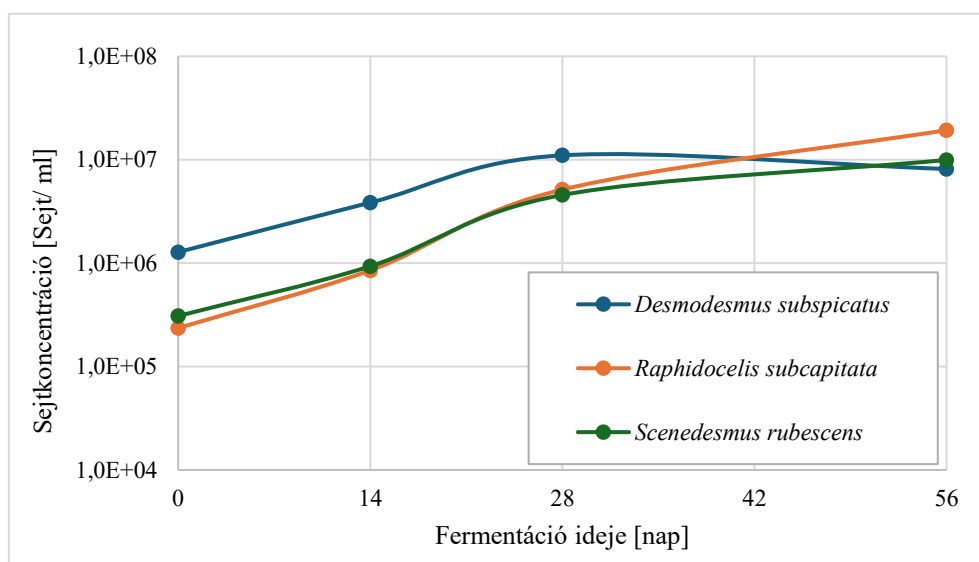
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Szaporodás kinetika

A *Scenedesmus rubescens*, *Raphidocelis subcapitata* és a *Desmodesmus subspicatus* törzsek szaporodását optikai denzitás (600 nm) méréssel követtem az 56 napos fermentáció során, mintavétel a 14. 28 és az 56. napon történt. Minden esetben azokkal a mintákkal dolgoztam, amelyek tápközege nem kapott szervesen nitrogén kiegészítést. A 6. ábrán látható kalibráció segítségével meghatároztam a sejtszámokat a különböző algák esetén. Az eredményeket a 8. ábrán mutatom be, ahol a különböző mikroalga törzsek szaporodási görbéi láthatóak.

8. ábra: Különböző mikroalga törzsek szaporodása az 56 napos fermentáció során a BG-11 tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



Az eredményekből látható, hogy a *Desmodesmus subspicatus* bár nagyobb kiindulási sejtszámmal rendelkezett, szaporodási sebessége a másik két mikroalgához hasonló. A 28. napon a törzs elérte szaporodásának maximumát, amely értéke $1,1 \cdot 10^7$ sejt/ml volt. Ezt követően az utolsó mintavételi eredmények alapján a tenyészet növekedése megállt. Ez javarészt tápanyaghiánnyal magyarázható (Khan et al., 2018). A *Desmodesmus subspicatus* algasejtekről szakirodalom alapján elmondható, hogy környezetükből könnyedén felveszik a tápanyagot (Long-zao et al., 2019), azonban a szaporodásuk esetén előbb jelentkeztek a limitáló tényezők, mint a többi vizsgált törzs esetében.

A *Raphidocelis subcapitata* és a *Scenedesmus rubescens* esetében láthatjuk, hogy fermentáció folyamán végig növekvő tendenciát mutat a sejtszaporodás, s egyforma a két törzs görbéjének lefutása a 28. napig. A *R. subcapitata* esetén az 56. napon mért optikai denzitás értékek is olyan magasak voltak, hogy az adatpontokra illesztett egyenes alapján a tenyészet még a szaporodás exponenciális szakaszában tartott. A legnagyobb értéket is ebben az esetben mértem $1,93 \cdot 10^7$ sejt/ml koncentrációval. Benasla és munkatársai (2021) kutatása alapján feltételezhető, hogy a törzs jobban képes adaptálódni az egyre csökkenő tápanyagmennyiséghez.

A *Scenedesmus rubescens* esetében a fermentáció 56. napján mértem a legmagasabb sejtkoncentráció értéket, ami $9,96 \cdot 10^6$ sejt/ml volt, közel azonos a *Desmodesmus subspicatus*. végső sejtszámával.

4.2. A KNO_3 koncentráció hatása a vizsgált mikroalgák fehérjetartalmára

A mikroalgák számára a nitrogén elengedhetetlen az életfolyamataik megfelelő működéséhez (Liu et al., 2022). Bilik (2024) munkája során a gyakorlatban elterjedt NaNO_3 helyett KNO_3 biztosította a szervetlen nitrogén forrást BG-11 tápközegben, s úgy találta, hogy kedvezőbb hatást gyakorol a mikroalga izolátum tenyésztésére és bioaktív komponenseinek termelődésére. Ezen szakirodalmi adatok alapján a kísérletem során az alábbi KNO_3 koncentrációkat alkalmaztam: 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,5% és 5,0%, s vizsgáltam hatásukat a fehérjetartalomra.

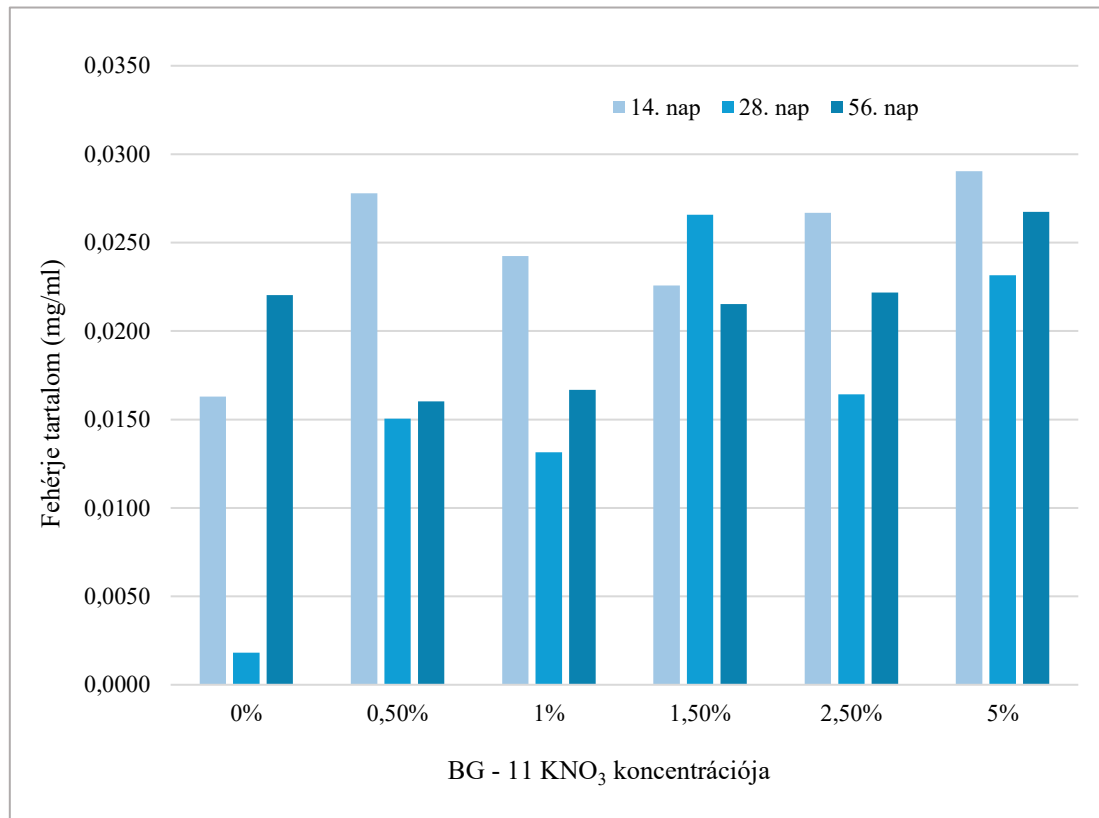
4.2.1. *Scenedesmus rubescens*

A *Scenedesmus rubescens* fehérjetartalmát a különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegekben történő szaporítás során a 9. ábra prezentálja. A 14. napon a legtöbb kísérleti beállításnál magasabb értékek voltak mérhetőek, mint a fermentáció előrehaladtával. Továbbá rövid távon

a legnagyobb szerves nitrogén koncentrációjú tápközeg (5%) alkalmazása eredményezte a legnagyobb fehérje tartalmat.

9. ábra: *Scenedesmus rubescens* fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak alatt különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegekben

(Forrás: Saját ábra)



A 28. napra azonban a fehérje tartalom szinte minden alkalmazott koncentrációnál visszaesett, egyedül a 1,5% KNO₃ koncentrációjú beállítás mellett emelkedett tovább. Ebben az egy esetben haladta meg a fehérjetartalom az adott koncentrációnál 14. napon mért értéket.

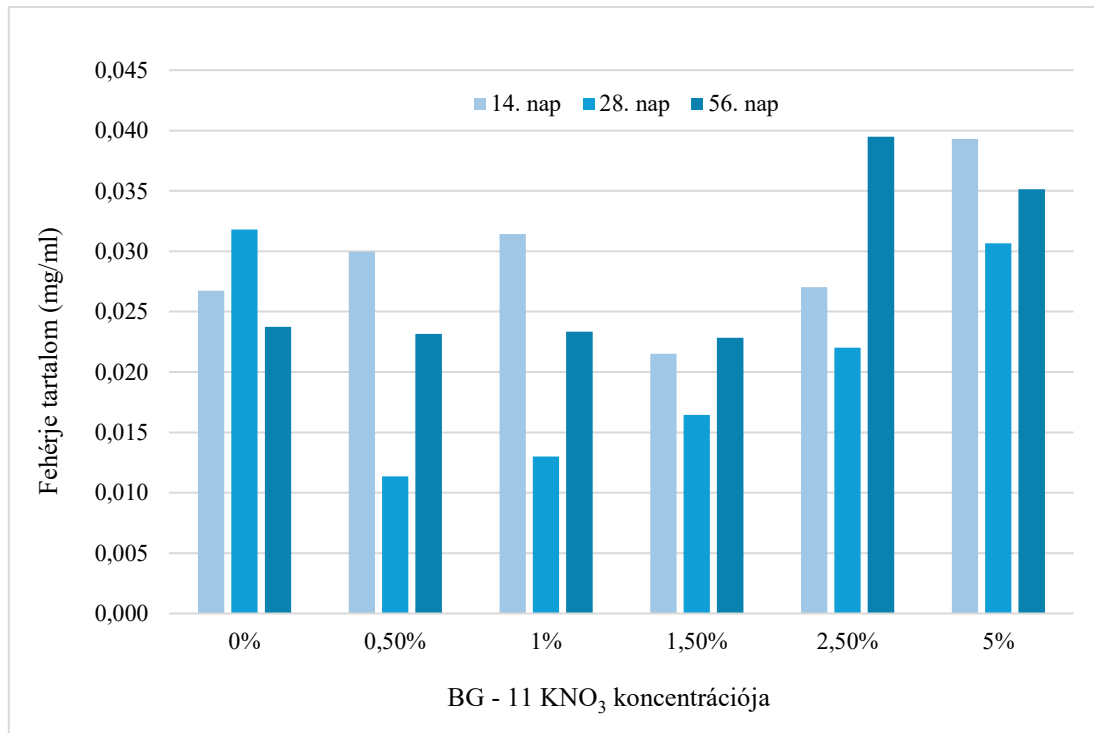
A 0,5%, 1%, 2,5% és 5% kálium-nitrát tartalmú tápközegek esetén a 4 hetes értékekhez képest, az 56. napos fehérje tartalomban növekedés figyelhető meg. Ez alól egyedül az előbb már kiemelt 1,5%-os beállításnál kapott adat kivétel. Bár a kálium-nitrátot nem tartalmazó tápközegben is nagyobb a fehérje tartalom az 56 napos minta esetén, itt ez tekinthető maximális értéknek szemben a többi beállítással, ahol a 14 nap után már nem növekedett a fehérje koncentráció. A legnagyobb fehérjetartalom a 14. napon 5% kálium-nitrát koncentráció esetében volt mérhető, a 28. napon a 1,5%-os beállítás adta a legmagasabb eredményt.

4.2.2. *Raphidocelis subcapitata*

A *Raphidocelis subcapitata* fehérjetartalmának változását a 10. ábra segítségével követhetjük nyomon.

10. ábra: *Raphidocelis subcapitata* fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak alatt különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



Hasonlóan, mint a *Scenedesmus rubescens* mikroalgánál, a vizsgált időszak alatt először visszaesést mutat a fehérjetartalom, majd növekedést. Kivétel a kálium-nitrátot nem tartalmazó kontroll minta. Ebben az esetben pontosan fordított tendencia figyelhető meg. Először a fehérjetartalom koncentrációja növekszik, ami a 28. napon éri el a csúcsát, majd az 56. napon már látható, hogy csökken a protein mennyisége a mintában.

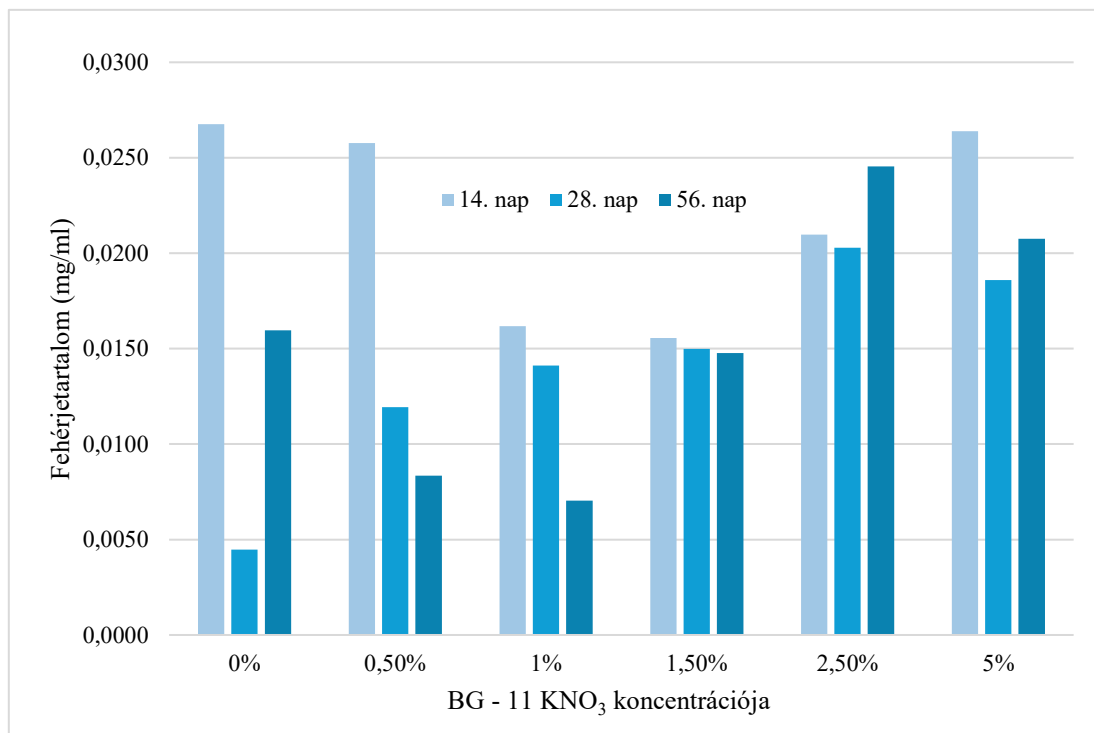
A KNO₃-tal kiegészített tápközegek közül a nagy koncentrációval rendelkezők (2,5 – 5%) esetében mértünk nagy fehérjetartalom értékeket. Ugyanakkor az is megállapítható, hogy a kálium-nitrát koncentráció 2,5%-ról 5%-ra való növelése a szaporítási idő negyedére csökkenését eredményezi, 56 nap helyett 14 nap elegendő 0,039 mg/ml fehérje elérésére.

4.2.3. *Desmodesmus subspicatus*

A *Desmodesmus sp.* fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak során eltérően alakult a különböző KNO₃ koncentrációk mellett. A vizsgálat során kapott eredményeket a 11. ábra szemlélteti.

11. ábra: *Desmodesmus subspicatus* fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak alatt különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



A 14. napon jól látható, hogy a fehérjetartalom elsősorban a szélsőséges koncentrációknál – vagyis a nitrogénmentes és az 5%-os KNO₃-tartalmú tápközegben – volt nagy, míg a közepes koncentrációk mellett jóval kisebb értékek jelentkeztek. A 28. napra általános csökkenés figyelhető meg, a legtöbb beállításnál mérsékelt vagy kis fehérjetartalommal. A kísérlet végére, az 56. napon ismét emelkedett a fehérjetartalom, azonban ez csak a nagyobb KNO₃-koncentrációjú közegekben (2,5 és 5%) volt egyértelműen kimutatható, míg a kisebb nitrát-ellátottságú variánsokban nem történt számottevő emelkedés. A trendek tehát arra utalnak, hogy a *Desmodesmus sp.* fehérjetermelése kezdetben a nitrogénhiányos és a nitrogénben bőséges tápközegekben volt a legerőteljesebb, hosszabb távon pedig csak a nagyobb KNO₃-koncentráció biztosított tartós fehérjefelhalmozódást.

4.2.4. A fehérjetartalom mérés eredményeinek összegzése

A vizsgált mikroalga törzsek különbözően reagáltak a felhasznált szerves nitrogén forrás mennyiségére a fermentáció során. Bilik (2024) munkája során úgy találta, hogy a KNO_3 koncentráció növelésével a fehérjetartalom csökkenést mutat a *Scenedesmus obtusiusculus* mikroalga esetén. A saját eredményeim alapján ez egyáltalán nem jelenthető ki, hiszen 5%-os koncentráció alkalmazása mellett mind a három általam vizsgált törzsnél magas protein tartalmat detektáltam.

A 7. táblázatban láthatóak a különböző mikroalgák esetén mért legnagyobb fehérjetartalom értékek. A *Raphidocelis subcapitata* fehérje szintézise volt a legeredményesebb, 2,5% kálium-nitrát kiegészítéssel, 56 napos fermentációs során 0,039 mg/ml fehérje állítható elő alkalmazásával.

7. táblázat: Különböző mikroalgák KNO_3 tartalmú tápközegben elért legjobb fehérje értékeinek összehasonlítása

(Forrás: Saját táblázat)

Vizsgált mikroalga faj	Kálium-nitrát (%)	Fermentációs idő (nap)	Fehérje tartalom (mg/ml)
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	0,0	14	0,0268
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	2,5	56	0,0395
<i>Scenedesmus rubescens</i>	5,0	14	0,0290

4.3. Különböző KNO_3 koncentráció hatása a vizsgált mikroalgák klorofill-A és klorofill-B tartalmára

Elvégeztem a különböző KNO_3 -koncentrációk (0,5; 1,0; 1,5; 2,5 és 5,0 g/100ml) mikroalgák pigmenttartalmára gyakorolt hatásának vizsgálatát a fehérjetartalom nyomon követése mellett. A kísérlet 56 napon át zajlott, és a Klorofill-A, illetve Klorofill-B termelődésének mértékét detektáltam.

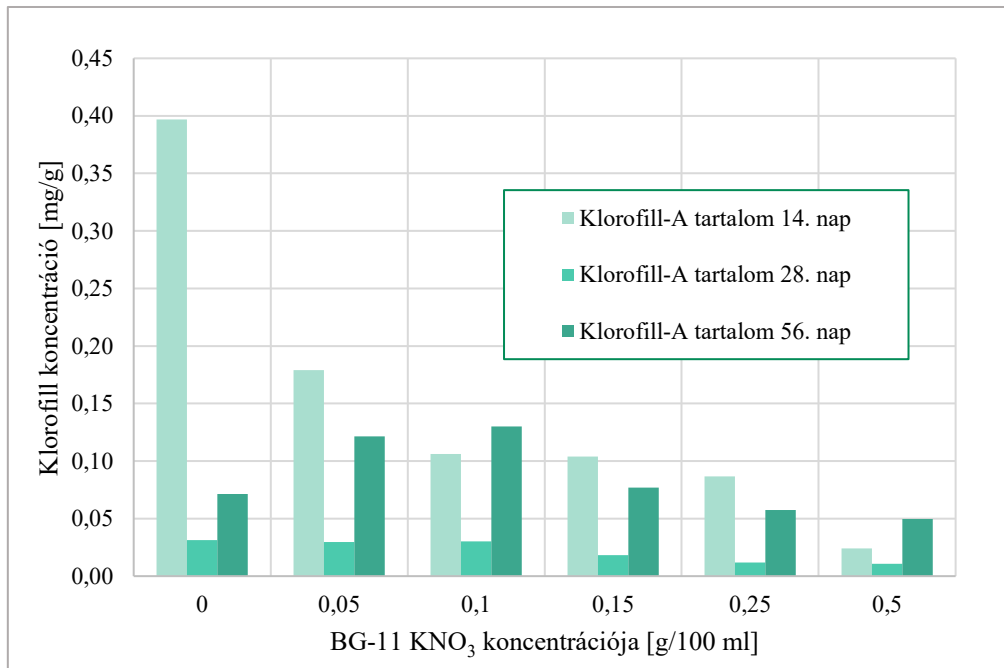
4.3.1. *Scenedesmus rubescens*

A klorofill-A pigment koncentrációjának változása a 12. ábrán tekinthető meg. A 14. napon a legnagyobb klorofill-A koncentráció egyértelműen a kontroll mintában volt mérhető, közel 0,40 mg/g értékkel. Ez az érték jelentősen meghaladja a többi kísérleti beállítás eredményeit, ahol a

klorofill-A tartalom már jóval alacsonyabb értékeket vett fel 0,05–0,20 mg/g tartományban. Lényegében megfigyelhető, hogy a KNO_3 koncentráció emelésével, csökkent a pigment tartalom a *Scenedesmus rubescens* esetén a 14. napos mintákban.

12. ábra: A *Scenedesmus rubescens* klorofill-A tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)

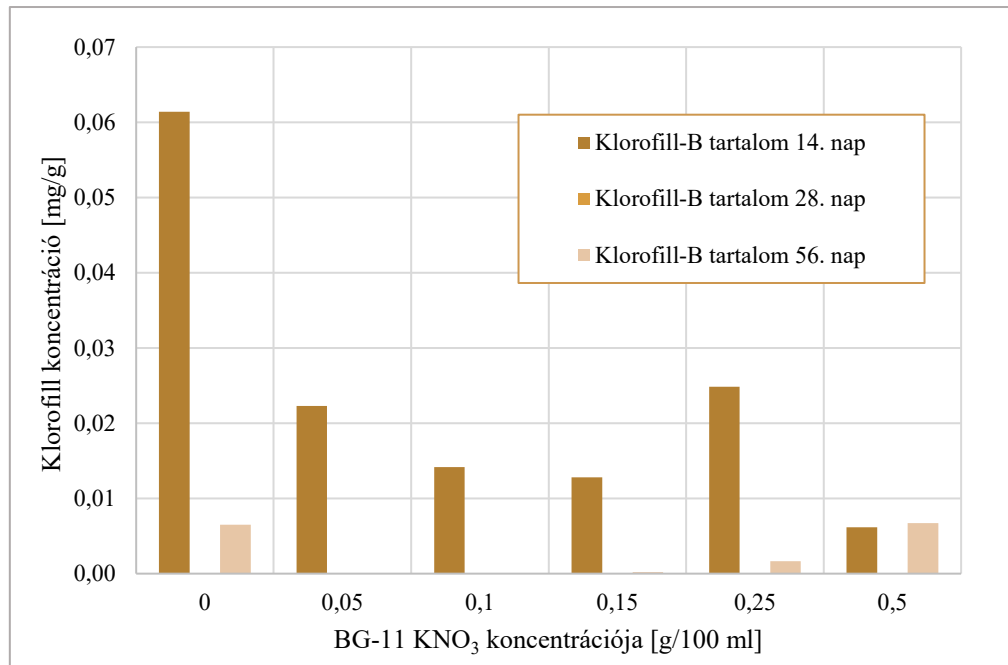


Ahogy a fehérjetartalom vizsgálatok is több esetben megfigyelhettük, itt is látszik, hogy a 28. napos minták eredményei drasztikusan alacsonyabbak a 14. napon mértékhez képest. A 0,05 mg/ g értéket sem érik el. Viszont, az 56. napra ismét emelkedett értékeket kaptunk, melyek minimum kétszeresei a 28. nap eredményeinek, viszont jellemzően nem haladják meg a 14. napos értékeket. Rövid távon a legnagyobb klorofill-A értékeket a kezeletlen kontroll minta esetében mértem, míg hosszú távon a 0,1 g/100 ml KNO_3 koncentráció esetében, ahol a klorofill-A értéke 0,13 mg/g volt.

Ha a klorofill-B tartalmat vizsgáljuk, akkor a 13. ábrán követhetjük nyomon a változásokat *Scenedesmus rubescens* mikroalga szaporítása során. Általánosságban elmondható, hogy nagyságrenddel alacsonyabb Klorofill-B pigment termelődött a fermentáció során, mint Klorofill-A, az összes alkalmazott KNO_3 koncentrációnál. Szintén megfigyelhető, hogy e pigment esetében is a kontroll mintában mértük a legnagyobb értéket a 14 napon 0,067 mg/grammos eredménnyel.

13. ábra: A *Scenedesmus rubescens* klorofill-B tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



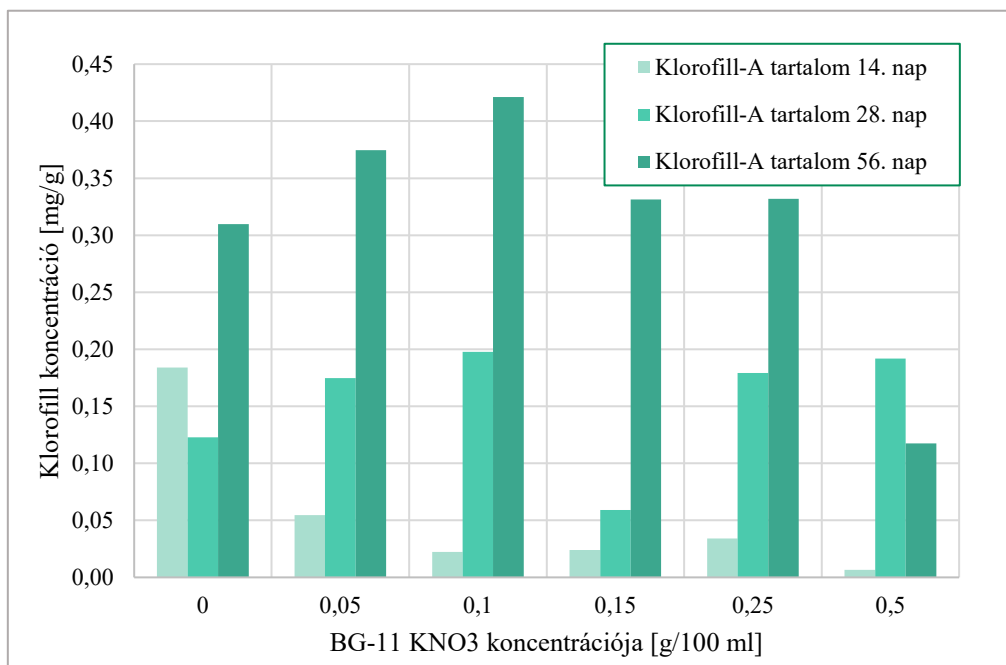
A 28. napos méréseknél egyáltalán nem volt kimutatható a klorofill-B jelenléte. Minden kísérleti beállítás esetén 0,0 mg/g koncentrációt kaptam eredményként. Az 56. napon csak minimális pigmenttartalom volt mérhető, egyik esetben sem közelítették meg még csak a 0,01 mg/grammot sem. A legnagyobb mért érték 0,0067 mg/g volt 0,5 g/100 ml KNO₃ koncentráció esetében. A kis klorofill-B tartalom oka lehet a nem elégséges mértékű feltárási folyamat.

4.3.2. *Raphidocelis subcapitata*

A *Raphidocelis* törzs pigmentkoncentrációjának változása teljesen eltérő a *Scenedesmus rubescens* mikroalgához képest az azonos kísérleti beállítások és körülmények ellenére. A 14. ábrán látható, hogy a 14. napon mért klorofill-A tartalom a kontroll mintában volt a legnagyobb 0,18 mg/g értékkel, ezt követően pedig a KNO₃ koncentráció függvényében csökkent a minták pigmenttartalma. Egyedüli kivétel ez alól a 0,25 g/100 ml-es beállítás, ahol nagyon enyhe emelkedés figyelhető meg.

14. ábra: A *Raphidocelis subcapitata* klorofill-A tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



A 28. napon a kontroll minta esetében az előzőekben már megszokott visszaesés figyelhető meg, azonban minden további kísérleti beállításnál jócskán nőtt a klorofill-A koncentrációja. A legnagyobb értéket a 0,1 g/100 ml-es beállításnál mértem, ami 0,198 mg/g volt, míg a legkisebb, 0,06 mg/grammos értéket 0,15 g/100 ml koncentrációnál kaptam.

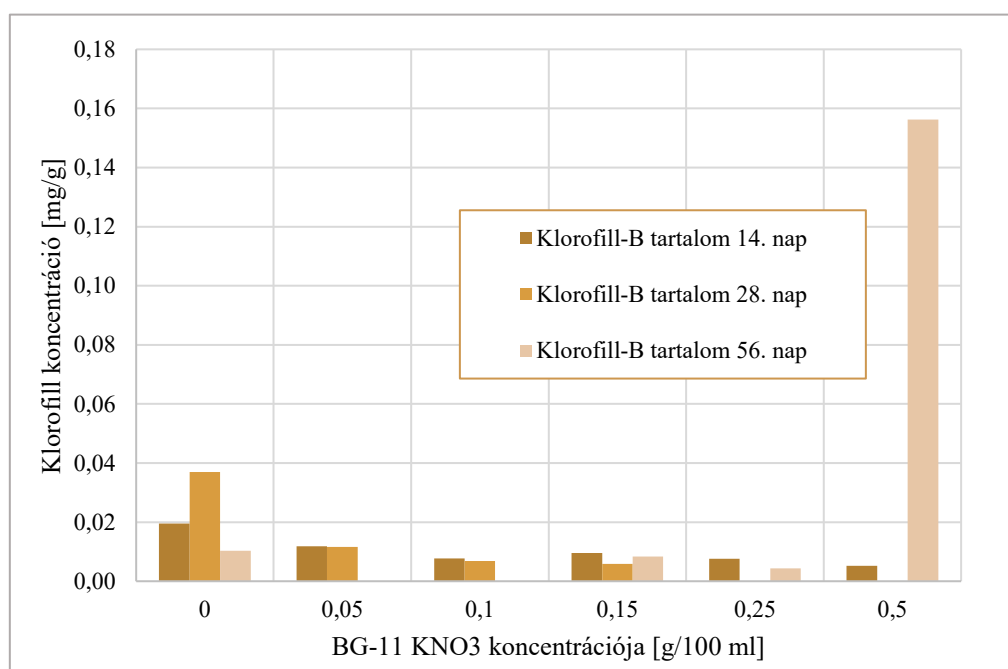
Végezetül az 56. napon kapott eredmények szinte minden esetben túlszárnyalták az addig mért pigment koncentrációkat. Ez alól egyedül a 0,5 g/100 ml-es kísérleti beállítás a kivétel, ahol a legnagyobb értéket a 28. napon kaptuk. A további esetekben az 56. napos minták klorofill-A koncentrációja 0,3 és 0,43 mg/g között mozgott. Ezek közül is kiemelkedik a 0,05 g/100 ml-es

és a 0,1 g/100 ml-es kísérleti beállítás, ahol a két maximális értéket mértem. Ez előbbi esetben 0,37 mg/g, míg utóbbiban 0,42 mg/g volt. Kiemelhető még a 0,15 g/100 ml-es beállítás is, ugyanis itt az 56. napon kapott érték a 14. napos eredményhez képest közel 15-szörösére nőtt.

A klorofill-B molekula szintézisére teljesen máshogy hatott *Raphidocelis subcapitata* esetében a szervesetlen nitrogén forrás változtatása. Ez látható a 15. ábrán is.

15. ábra: A *Raphidocelis subcapitata* klorofill-B tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú közegekben

(Forrás: Saját ábra)



A 14. napon mindegyik mintában elég magas volt a pigmenttartalom ahhoz, hogy kimutatható legyen, de ennek értéke egyik esetben sem érte el a 0,02 mg/grammot. Továbbá, a legnagyobb érték is a kontroll mintában volt jelen 0,037 mg/g mennyiséggel. A többi kísérleti beállítás esetében megfigyelhető, hogy a KNO₃ tartalom növelésével csökkent a pigment koncentráció. A 0,25 g/100 ml és a 0,5 g/100 ml kálium-nitrát tartalmú közegek tenyészetek esetében ki sem lehetett mutatni, annyira lecsökkent az értéke.

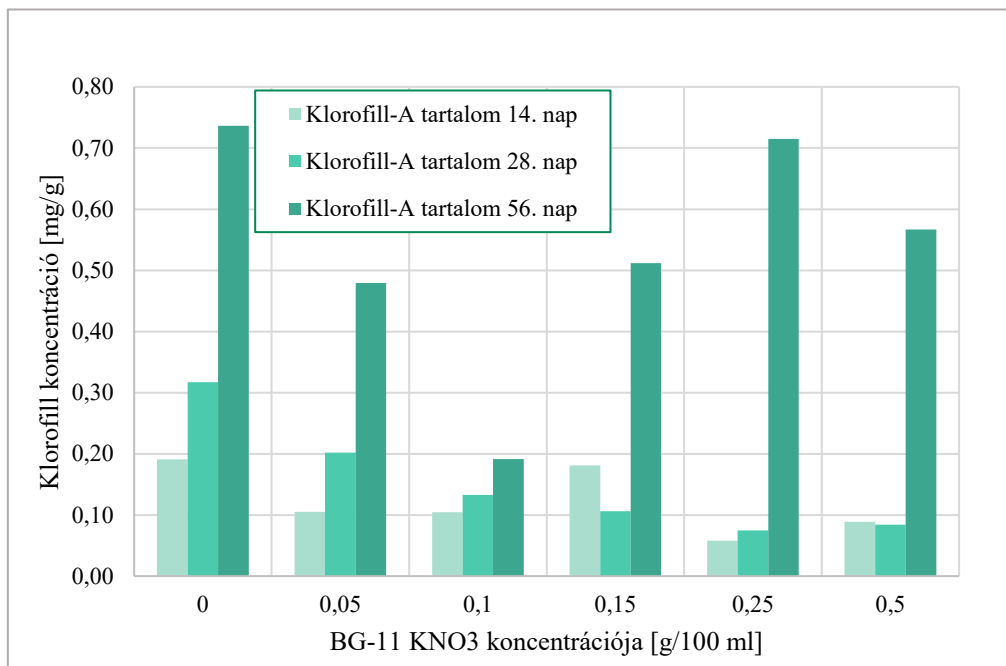
Egyedülálló az 56. napon mért klorofill-B értéke, mely a legnagyobb vizsgált nitrogén koncentrációjú tápközegben meghaladta a 0,15 mg/g mennyiséget. Ez a tény azért is érdekes, mert a klorofill-A értékét is meghaladja ugyan ebben a beállításban.

4.3.3. *Desmodesmus subspicatus*

A *Desmodesmus* törzsre jellemző klorofill-A termelés változásait a 16. ábrán szemléltetem. A 14. napon mért értékek 0,05-0,2 mg/g között mozogtak. Ezek közül a kontroll minta pigmenttartalma volt a legnagyobb 0,19 mg/g klorofill-A mennyiséggel, és a 0,25 g/100 ml KNO₃ koncentrációt tartalmazó tenyészeté a legkisebb 0,057 mg/g értékkel.

16. ábra: A *Desmodesmus subspicatus* klorofill-A tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



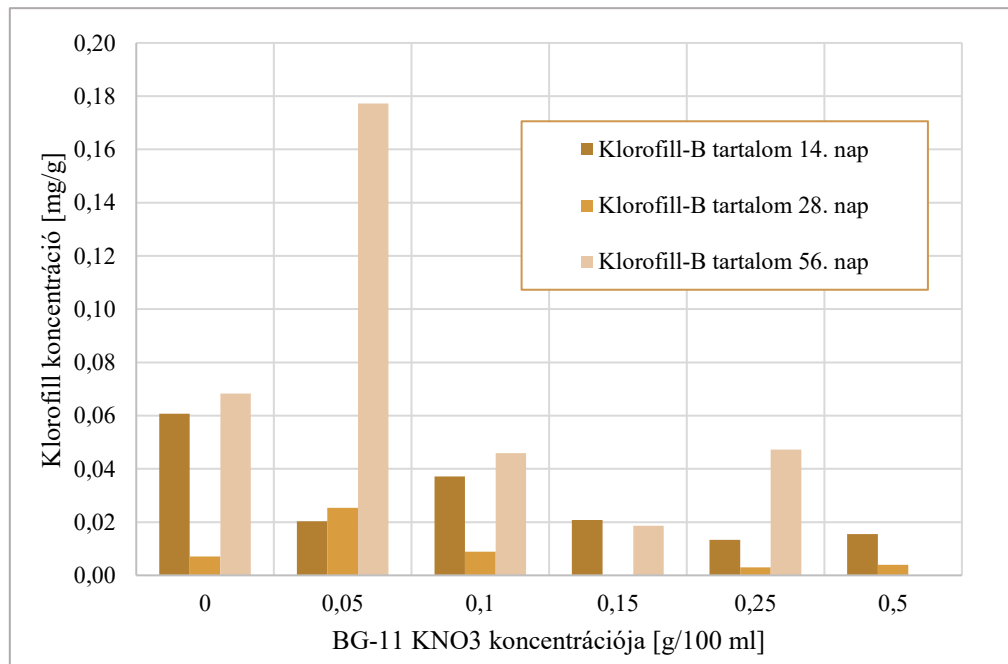
A 28. napon vett minták összességében nagyobb arányban tartalmazták a pigmentet, de ebben az esetben is a kontroll minta, vagyis a KNO₃-ot nem tartalmazó beállítás esetén mértem a legnagyobb értéket, ami 0,317 mg/g volt.

Végül az 56. napon vett minták klorofill-A tartalma bizonyult minden beállítás esetében a legnagyobbaknak, melynek értéke 0,736 mg/g volt a kontroll minta esetében. Ez volt egyébként a legmagasabb mért mennyiség az egész kísérlet alatt. Ettől kissé ugyan elmarad, de hasonlóan kiemelkedő eredményt mutat a 0,25 g/100 ml kálium-nitrátot tartalmazó kísérleti beállítás, ahol a klorofill-A pigmentet 0,715 mg/grammnak mértem.

Ugyan a klorofill-B molekula értékei elmaradnak a klorofill-A esetén mért értékektől, összességében fontos kiemelni, hogy a *Desmodesmus sp.* törzs esetében kaptuk a legmagasabb eredményeket ezen pigment esetében is, amit a 17. ábra szemléltet.

17. ábra: A *Desmodesmus subspicatus* klorofill-B tartalmának változása különböző káliumnitrát tartalmú tápközegben

(Forrás: Saját ábra)



Egyértelmű tendencia nem figyelhető meg a *Desmodesmus subspicatus* klorofill-B tartalmának változásban. A 14. napon a kontroll minta esetében 0,06 mg/g értéket mértem. A többi esetben, ahol a tápközeget plusz szerves nitrogén forrással egészítettem ki, ezek az értékek nem érték el a 0,04 mg/g-ot sem. A 28. napon a pigment csak minimálisan volt kimutatható, általában nem közelítette meg a 0,02 mg/g-ot sem. Ez alól egyedül a 0,05 g/100 ml-es kísérleti beállítás kivétel, ahol 0,025 mg/g értéket mérhettünk. A legnagyobb klorofill-B értéket az 56. napon mértem szintén a 0,05 g/100 ml kísérleti beállítás esetén, ami 0,177 mg/g volt.

Ezekből az adatokból jól látszik, hogy a *Desmodesmus sp.* törzs esetében mérhettük a legnagyobb pigment koncentrációkat 8 hetes tenyésztési időszak alatt. Amennyiben a rövidtávú adatokat is megfigyeljük (14. és 28. napos minták eredményi), akkor ennél jóval árnyaltabb képet kapunk.

4.3.4. A klorofill-tartalom mérés eredményeinek összegzése

A 8.táblázat összefoglalja az 56 nap alatt mért legnagyobb pigment koncentrációkat klorofill-A és klorofill-B esetében is. Mindkét esetben a *Desmodesmus subspicatus* mikroalga fermentációja során mértem a legmagasabb értékeket 56 napos fermentációs idővel. A kálium-nitrát tartalom tekintetében elmondható, hogy nem szükséges a tápközeg kiegészítése hatékony klorofill-A szintézishez, de a *Raphidocelis subcapitata* kivételével a többi alga klorofill-B szintéziséhez sem vagy nagyon kis mennyiségben.

8. táblázat: Különböző mikroalgák KNO₃ tartalmú tápközegben elért legjobb klorofill-A és klorofill-B értékeinek összehasonlítása

(Forrás: Saját táblázat)

Vizsgált mikroalga faj	Kálium-nitrát (g/100ml)	Fermentációs idő (nap)	Klorofill-A
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	0,0	56	0,737
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	0,1	56	0,421
<i>Scenedesmus rubescens</i>	0,0	14	0,397
	Kálium-nitrát (g/100ml)	Fermentációs idő (nap)	Klorofill-B
<i>Desmodesmus subspicatus</i>	0,05	56	0,177
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	0,5	56	0,156
<i>Scenedesmus rubescens</i>	0,0	14	0,061

Liu és munkatársai (2022) kutatásában a stresszhatás alkalmazása jelentős klorofilltartalom-csökkenést eredményezett, miközben megnőtt a karotinoid mennyisége. Ez alapján arra következtethetünk, hogy a klorofill-A részben lebomlik nitrogén hiány esetén, és a bomlásból felszabaduló nitrogént a sejtek "újrahasznosítják" növekedési folyamataik során. A *Scenedesmus rubescens* 14. napon mért klorofill-A értékei esetében szintén jelentős csökkenés volt megfigyelhető munkám során, azonban hosszabb fermentációs idő esetén, vagy más törzseknél nem volt jelen ilyen egyértelmű csökkenés.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Munkám során három különböző édesvízi mikroalga faj klorofill- és fehérjetartalmának változását követtem nyomon úgy, hogy a tenyésztés során különböző koncentrációban biztosítottam számukra a szerves nitrogén forrást a BG-11 tápközegben.

A fermentáció során a tesztelt mikroalgák közül a *Raphidocelis subcapitata* esetében mértem a legmagasabb sejtkoncentrációt ($1,93 \cdot 10^7$ sejt/ml), így a három vizsgált törzs közül számára voltak a legjobbak a fermentáció körülményei.

A fehérjeszintézis vizsgálata során a legeredményesebb törzs szintén a *Raphidocelis subcapitata* volt, a legjobb beállításnak a 2,5% kálium-nitrát kiegészítés bizonyult, s megállapítható, hogy 56 napos fermentációs során 0,039 mg/ml fehérje állítható elő alkalmazásával.

Desmodesmus subspicatus és *Scenedesmus rubescens* mikroalgák esetén nem szükséges a tápközeg kiegészítése kálium-nitráttal a hatékony klorofill-A, valamint klorofill-B szintézishez, ugyanis a kontroll tápközeg (KNO₃ kiegészítést nem tartalmazó) esetében mértem a legnagyobb klorofill-A pigmenttartalmat mind a két törzs esetében. A *Desmodesmus* törzsnél 0,736 mg/g a *Scenedesmus* mikroalgánál pedig 0,39 mg/g maximumot detektáltam. A klorofill-B pigment termelésénél a *Scenedesmus rubescens* szintén a KNO₃ mentes tápközeg bizonyult optimálisnak 0,061 mg/g értékkel, míg a *Desmodesmus subspicatus*nál a 0,05 g/100ml-es koncentrációt tartalmazó tápközeg adta a legkedvezőbb eredményt, 0,177 mg/g-ot.

A *Raphidocelis subcapitata* esetében mind a két pigment szintézisére jótékony hatással van a felhasznált szerves nitrogénforrás koncentrációjának növelése. A klorofill-A tartalom 0,1 g/100ml a klorofill-B mennyisége pedig 0,5 g/100ml-es koncentráció alkalmazása mellett volt a legmagasabb. Előbbi esetében 0,42 mg/g míg utóbbinál 0,15 mg/g maximum értékeket mértem.

Amennyiben munkám alapján további kutatásokra kerülne sor, a következő javaslatokat tenném:

Érdeemes lenne a *Raphidocelis subcapitata* törzs esetében a megnövelt kálium-nitrát koncentráció hatását megvizsgálni biomassza szintézis szempontjából.

A *Desmodesmus subspicatus* mikroalgánál javasolnám a fermentációs idő növelését a hatékony klorofill-A termelés végett. Emellett indokolt lenne további környezeti paraméterek (megvilágítás intenzitása, hőmérséklet, pH) optimálást is elvégezni.

A klorofill-B tartalom változását a szerves nitrogén koncentráció változtatása helyett más egyéb stresszhatást előidéző környezeti paraméter függvényében is érdemes volna tovább vizsgálni, ezen felül a kinyerési metódus optimálást javasolt volna elvégezni e metabolit esetében.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A fenntartható fejlődés és a funkcionális táplálkozás iránti növekvő igény egyre inkább ösztönzi az új, alternatív, biológiai eredetű nyersanyagforrások felkutatását és használatát. A mikroalgák kis energia – és helyigénnyel szaporíthatók, így megújuló energiaforrásként tekinthetünk rájuk.

A sejtekben felhalmozódó bioaktív komponensek használata és még effektívebb termeltetésük egyre több kutatás középpontjába kerül, ugyanis számos ipar alapanyagául szolgálhatnak. Az élelmiszer – és takarmányipar leginkább magas fehérje – és antioxidánstartalmuk miatt alkalmazza őket, a bioenergetikai kutatások a bennük található lipidek hasznosítására fektetik a hangsúlyt, míg a környezetvédelmi törekvések bioremediációs képességeik felhasználását szorgalmazzák.

A mikroalgák által szintetizált bioaktív tulajdonsággal bíró molekulák mennyisége befolyásolható a környezeti tényezők változtatásával. Ennek oka, hogy külső stresszhatásra az anyagcsere-folyamatok módosulnak, amelynek következtében megfigyelhető ezen molekulák feldúsulása. Ilyen környezeti stresszhatást idézhet elő a fényintenzitás változtatása, a hőmérséklet, a tápközeg pH értéke, illetve az eltérő tápanyag-összetétel is.

Három édesvízi mikroalga faj (*Raphidocelis subcapitata*, *Desmodesmus subspicatus*, *Scenedesmus rubescens*) biomassza hozamát, valamint klorofill – és fehérjetartalmát vizsgáltam 56 napon keresztül. Munkám során különböző koncentrációkban állítottam be a kiindulási szerves nitrogén mennyiségét a tenyészetek tápközegében, amely BG-11 ásványi sóoldat volt. Fehérjetartalom mérés esetén 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,5% és 5,0% koncentrációkat alkalmaztam, pigment szintézis nyomon követésénél pedig 0,5; 1,0; 1,5; 2,5 és 5,0 g/100ml mennyiségeket. Szerves nitrogén forrásként KNO_3 alkalmazása mellett döntöttem, mivel korábbi egyetemi kutatások úgy találták, hogy hatásosabb stresszhatást képes előidézni, mint az általánosan használt NaNO_3 . A nyolc hetes fermentációs időszak alatt három mintavétel történt a 14., a 28., illetve az 56. napon.

A fehérjék és a pigmentek is intracelluláris biotermékek, így megfelelő vizsgálatukhoz elengedhetetlen egy sejtfeltárási lépés a mérések megkezdése előtt. A liofilizált sejteket propanol – desztillált víz 3:1 arányú elegyében mikrohullámos kezelés segítségével tártam fel 600 watt-on 12 x 30 másodperc alatt. Hogy az értékes molekulák bioaktivitása ne roncsolódjon hő hatására, a kezelés során a feltárni kívánt mintákat jégágyon tartottam. A jeget folyamatosan pótoltam, az olvadt vizet pedig eltávolítottam. A bioszeparációt centrifuga végezte. A

fehérjetartalmat Bradford módszerével, míg a klorofill-A és klorofill-B pigmenttartalmat Lichtenthaler és Buschmann által kidolgozott módszer segítségével határoztam meg.

Elsőként szaporodáskinetika vizsgálatot hajtottam végre mind a három mikroalga törzs esetében, KNO₃ mentes tápközegben. A legnagyobb sejtszaporulatot a *Raphidocelis subcapitata* mikroalgánál detektáltam, $1,93 \cdot 10^7$ sejt/ml-t.

Ezt követően a bioaktív komponensek szintézisét követtem nyomon. Mind a három mikroalga faj teljesen különböző válaszreakciót adott, fehérje – és klorofill-tartalom mérés esetében egyaránt, így egységes tendencia nehezen határozható meg. Míg a *Raphidocelis subcapitata* esetében a legnagyobb fehérjehozamot 0,039 mg/ml-t mérhettük 2,5% kálium-nitrát kiegészítés mellett, addig a *Desmodesmus subspicatus* a pigmenttartalom mérés során mutatta a legjobb eredményeket. E törzsnél 0,736 mg/g klorofill-A és 0,177 mg/g klorofill-B pigmentmennyiséget detektáltam; az előbbi maximumot a kontroll, míg az utóbbit a 0,05 g/100 ml koncentrációjú tápközegben mértem. A *Scenedesmus rubescens* pedig kifejezetten érzékenynek bizonyult a magasabb nitrogén koncentrációra, főleg pigmentszintézis szempontjából.

Összességében kijelenthető, hogy a környezet befolyásolja a mikroalgák anyagcsere folyamatait és ez által a bioaktív komponensek dúsítása irányíthatóvá válik, ahogy ez a szakirodalomban is olvasható. A tápanyag-összetétel egyik esszenciális eleme a nitrogén, melynek jelenléte számos biomolekula szintéziséhez elengedhetetlen, így nem meglepő, hogy a mikroalgák anyagcsere folyamatai is manipulálhatóak általa. Azonban a kísérletek egyértelműen kimutatták, hogy a KNO₃ kiegészítés *Desmodesmus subspicatus* és *Scenedesmus rubescens* esetén nem szükséges a hatékony klorofill-A, valamint klorofill-B szintézishez. Ellenben a *Raphidocelis subcapitata* törzs esetében a megnövelt nitrogén koncentráció pozitív befolyással bírt a pigment- és a fehérjeszintézisre egyaránt.

Az általam elért eredmények biztatóak és megfelelő kiindulópontot jelentenek a kísérletek további folytatásához, valamint az algák nyújtotta lehetőségek átfogóbb feltárásához.

IRODALOM JEGYZÉK

- Abdelfattah, A. – Ali, S. S. – Ramadan, H. – El-Aswar, E. I. – Eltawab, R. – Ho, S.-H. – Elsamhay, T. – Li, S. – El-Sheekh, M. M. – Schagerl, M. – Kornaros, M. – Sun, J. (2023): Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. *Environmental Science and Ecotechnology*, 13, 100205, 15, DOI: 10.1016/j.ese.2022.100205
- Barsanti L., Gualtieri P., (2022): *Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. 3rd Edition. Boca Raton: CRC Press
- Begum, H. – Yusoff, F. M. – Banerjee, S. – Khatoon, H. – Shariff, M. (2016): Availability and utilization of pigments from microalgae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2209-2222. DOI: 10.1080/10408398.2013.764841
- Benasla, A. – Hausler, R. (2021): A two-step cultivation strategy for high biomass production and lipid accumulation of *Raphidocelis subcapitata* immobilized in alginate gel. *Biomass*, 1(2), 94–104. DOI: 10.3390/biomass1020007.
- Bilik P. B., (2024): Szervetlen nitrogénforrások hatása a *Scenedesmus obtusiusculus* édesvízi zöldalga izolátum bioaktív komponenseire. Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem Budai Campus Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Budapest, Szakdolgozat
- Bocsi R. (2017): Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel foto bioreaktorokban. Pannon Egyetem Vegyészmérnöki – és Anyagtudományok Doktori Iskola, Veszprém, Egyetemi doktori értekezés. DOI: 10.18136/PE.2016.641
- Borowitzka, M. A. (2018): *Biology of microalgae. Microalgae in Health and Disease Prevention*. Academic Press, p. 23–72. DOI: 10.1016/B978-0-12-811405-6.00003-7
- Bradford, M. M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1–2), 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Brennan, L. – Owende, P. (2010): Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), pp. 557–577. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.009

- Camacho, F. – Macedo, A. – Malcata, F. (2019): Potential Industrial Applications and Commercialization of Microalgae in the Functional Food and Feed Industries: A Short Review. *Marine Drugs*, 17(6), 312, DOI: 10.3390/md17060312
- Chen, B. – Wan, C. – Mehmood, M. A. – Chang, J.-S. – Bai, F. – Zhao, X. (2017): Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value – added products – A review. *Bioresource Technology*, 244(2), 1198–1206. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.05.170
- Chew, K, W. – Yap, J, Y. – Show, P, L. – Suan, N, H. – Juan, J, C. – Ling, T, C. – Lee, D, J. – Chang, J, S. (2017): Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresource Technology*, 229, 53–62. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.01.006
- Darvas Zs., László V. (2005): *Sejtbiológia*. Budapest: Semmelweis Kiadó
- De Luca, M. – Pappalardo, I. – Limongi, A. R. – Viviano, E. – Radice, R, P. – Todisco, S. – Martelli, G. – Infantino, V. – Vassallo, A. (2021): Lipids from microalgae for cosmetic applications. *Cosmetics*, 8(2), Paper 52, 21 p. DOI: 10.3390/cosmetics8020052
- Figler A. (2022): Zöld mikroalgák sótoleranciája és sótelenítő képessége. Debreceni Egyetem Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola, Debrecen, Egyetemi doktori értekezés
- Grdeń, A. – Sotowiej, B. G. (2022): Most promising alternative protein sources possible to use in sports nutrition – A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(6), 3343–3351. DOI: 10.1111/ijfs.15742
- Grossmann, L. – Hinrichs, J. – Weiss, J. (2019): Solubility and aggregation behavior of protein fractions from the heterotrophically cultivated microalga *Chlorella protothecoides*. *Food Research International*, 116, 283–290. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.08.037
- Hoang A. T. – Sirohi, R. – Pandey, A. – Nižetić, S. – Lam, S. S. – Chen, W.-H. – Luque, R. – Thomas, S. – Arıcı, M. – Pham, V. V. (2023): Biofuel production from microalgae: challenges and chances. *Phytochemistry Reviews*, 22, 1089–1126. DOI: 10.1007/s11101-022-09819-y
- Hossen, I., - Saha, R. – Bhuiya, M.M.K. – Hoque, N.M. (2025): Third-generation biodiesel development in Bangladesh: a review of recent trends, prospects, and economic analysis. *Future Energy*, 4 (3), 48–58. DOI: 10.55670/fpll.fuen.4.3.5

- Khan, M. I. – Shin, J. H. – Kim, J. D. (2018): The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 36. DOI: 10.1186/s12934-018-0879-x
- Kiss B. (2024): Mikroalga tenyésztési és detektálási módszerek kialakítása, fejlesztése. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék Budapest, Egyetemi doktori értekezés
- Koppányné Szabó E., Takács K. (2021): Mikroalgák előnyös tulajdonságainak kiaknázása élelmiszeripari és takarmányozási felhasználásra. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 67(4). DOI: 10.52091/EVIK-2021/4-1-HUN
- Kotz E. P. (2022): Édesvízi zöldalga bioaktív komponenseinek vizsgálata. Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem Budai Campus Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet Budapest, Szakdolgozat:
- Lichtenthaler, H. K. – Buschmann, C. (2001): Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001(1), Paper F4.3.1–F4.3.8, DOI: 10.1002/0471142913.faf0403s01
- Liu, T. – Chen, Z. – Xiao, Y. – Yuan, M. – Zhou, C. – Liu, G. – Fang, J. – Yang, B. (2022): Biochemical and Morphological Changes Triggered by Nitrogen Stress in the Oleaginous Microalga *Chlorellila vulgaris*. *Microorganisms*, 10(3), Paper 566. DOI: 10.3390/microorganisms10030566
- Long-zao L. – Shao, Y. – Luo, S. – Zeng, F. – Tian, G. (2019): Nutrient removal from piggery wastewater by *Desmodesmus sp.* CHX1 and its cultivation conditions optimization. *Environmental Technology*, 40(21), 2739–2746. DOI: 10.1080/09593330.2018.1449903
- Pálfia Zsolt, Dr. Kristóf Zoltán (2013): *A sejtbológia alapjai*. Budapest: Eötvös Lóránd Tudományegyetem
- Plöhn, M. – Spain, O. – Sirin, S. – Silva, M. – Escudero-Oñate, C. – Ferrando-Climent, L. – Allahverdiyeva, Y. – Funk, C. (2021): Wastewater treatment by microalgae. *Physiologia Plantarum*, 173(1), paper 568-578. DOI: 10.1111/ppl.13427

- Sun, H. – Wang, Y. – He, Y. – Liu, B. – Mou, H. – Chen F. – Yang, S. (2023): Microalgae-Derived Pigments for the Food Industry. *Mar. Drugs*. 21(2), 82, DOI: 10.3390/md21020082
- Thoré, E.S.J. – Muylaert, K. – Bertram M.G. – Brodin, T. (2023): Microalgae. *Current Biology*, 33(3), 91–R95. DOI: 10.1016/j.cub.2022.12.032
- Vanthoor-Koopmans, M. – Wijffels, R. H. – Barbosa, M. J. – Eppink, M. H. (2013): Biorefinery of microalgae for food and fuel. *Bioresource Technology*, 135, 142–149. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.135
- Xin, Y. – Lu, Y. – Lee, Y. Y. – Wei, L. – Jia, J. – Wang, Q. – Xu, J. (2017): Producing designer oils in industrial microalgae by rational modulation of co-evolving type-2 diacylglycerol acyltransferases. *Molecular Plant*, 10(12), 1523–1539. DOI: 10.1016/j.molp.2017.10.011
- Yaakob, M. A. – Mohamed, R. M. S. R. – Al-Gheethi, A. – Aswathnarayana Gokare, R. – Ambati, R. R. (2021): Influence of Nitrogen and Phosphorus on Microalgal Growth, Biomass, Lipid, and Fatty Acid Production: An Overview. *Cells*, 10, (2) 393, 22. DOI: 10.3390/cells10020393
- Zhou, L. – Li, K. – Duan, X. – Hill, D. – Barrow, C. – Dunshea, F. – Martin, G. – Suleria, H. (2022): Bioactive compounds in microalgae and their potential health benefits. *Food Bioscience*, 49, DOI: 10.1016/j.fbio.2022.101932

ÁBRÁK ÉS TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

1. ábra: Az alga társulások morfológiai és méretbeli diverzitása.....	6
2. ábra: Az algasejtek általános felépítése.....	7
3. ábra: Mikroalgák felhasználási lehetőségei	8
4. ábra: Biodízelgyártás folyamatábrája	11
5. ábra: Mikroalga tenyészetek. Balról jobbra: 14. nap, 28. nap, 56. nap.....	18
6. ábra: Optikai denzitás (600 nm) és az algasejtszám közötti összefüggés.....	19
7. ábra: A fehérjetartalom méréshez felállított kalibrációs egyenes és egyenlete.....	22
8. ábra: Különböző mikroalga törzsek szaporodása az 56 napos fermentáció során a BG-11 tápközegben.....	23
9. ábra: <i>Scenedesmus rubescens</i> fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak alatt különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegekben.....	25
10. ábra: <i>Raphidocelis subcapitata</i> fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak alatt különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben.....	26
11. ábra: <i>Desmodesmus subspicatus</i> fehérjetartalmának változása a vizsgált időszak alatt különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben.....	27
12. ábra: A <i>Scenedesmus rubescens</i> klorofill-A tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben	29
13. ábra: A <i>Scenedesmus rubescens</i> klorofill-B tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben	30
14. ábra: A <i>Raphidocelis subcapitata</i> klorofill-A tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben.....	31
15. ábra: A <i>Raphidocelis subcapitata</i> klorofill-B tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú közegekben.....	32
16. ábra: A <i>Desmodesmus subspicatus</i> klorofill-A tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben.....	33
17. ábra: A <i>Desmodesmus subspicatus</i> klorofill-B tartalmának változása különböző kálium-nitrát tartalmú tápközegben.....	34
1. táblázat: Mikroalgák által termelt természetes pigmentek bioaktivitása.....	13
2. táblázat: BG-11 ásványi sóoldat komponensei.....	16
3. táblázat: Mikroelem törzsoldat komponensei.....	17
4. táblázat: KNO ₃ koncentrációk összefoglaló táblázata.....	18

5. táblázat: Szaporodás kinetika meghatározásához készített kalibrációs hígítási sor	19
6. táblázat: A kalibrációhoz használt hígítási sor	21
7. táblázat: Különböző mikroalgák KNO_3 tartalmú tápközegben elért legjobb fehérje értékeinek összehasonlítása.....	28
8. táblázat: Különböző mikroalgák KNO_3 tartalmú tápközegben elért legjobb klorofill-A és klorofill-B értékeinek összehasonlítása.....	35

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Zsuppán Mercédesz
A Hallgató Neptun kódja: IDIJ0J
A dolgozat címe: Az édesvízi mikroalgák klorofill-és fehérjetartalmának változása eltérő kálium-nitrát koncentrációk hatására
A megjelenés éve: 2025
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem. Továbbá kijelentem, hogy a dolgozat elkészítése során alkalmazott mesterséges intelligencia-eszközök (pl. szöveggenerálás, nyelvi javítás, fordítás, adatelemzés) használata nem helyettesítette a saját kutatási és alkotói munkámat, azok alkalmazását a források között vagy a módszertani részben feltüntettem, és a szakmai-etikai elvárásoknak megfelelően jártam el.

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 tulajdonkezelési 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, 2025. október 28.



Hallgató aláírása

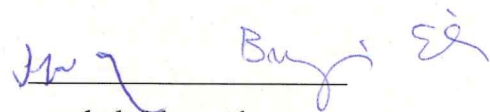
NYILATKOZAT

Zsuppán Mercédesz (Neptun azonosítója: IDIJ0J) 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**¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: Budapest, 2025 október 28.


belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Zsuppán Mercédesz
Neptun-kódja:	IDIJ0J
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	X BSc/BA <input type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	Szakdolgozat készítés 2./ ELTUD157N
A munka címe:	Az édesvízi mikroalgák klorofill-és fehérjetartalmának változása eltérő kálium-nitrát koncentrációk hatására

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)

B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
Fordítás, nyelvi korrektúra,	OpenAI ChatGPT 5	

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve, verziója, elérhetősége	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok: -

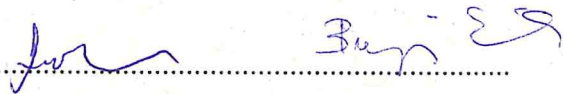
4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Budapest, 2025. október 28.



Hallgató aláírása



Konzulens/Témavezető aláírása