
Szakmai publikáció a DAOP-1.3.1-12-2012-0008 kódszámú pályázatban végzett munkához kapcsolódva

2014.03.31

Napjaink társadalmának gazdasága nem megújuló fosszilis energiahordozók felhasználásán (kőolaj, szén, földgáz) alapszik, melyek energiefelhasználásunk 80%-át teszik ki. Ha a gazdaságosan kiaknázzható fosszilis energiahordozó készletek az eddigi ütemet követve fogynak, rövidesen elérkezik a pont, amikor már nem fogják tudni kielégíteni a fogyasztók energiaszükségletét. Emellett a fosszilis energiahordozók kitermelésének drágulása miatt egyre inkább versenyképességüket fogják veszíteni. Ezért a kutatók figyelme a jelenlegi energiahordozókat kiváltó alternatív, megújuló energiahordozók felkutatása, felhasználásának fejlesztése felé irányul. Számos kutatás foglalkozik ilyen alternatívákkal, melyekben közös pont az, hogy az energia teljes mértékben megújuló forrásból származik, azaz az alkalmazott alapanyag a felhasználás mértékében újratermelődik. Ezeknek a megújuló energiahordozóknak a használata csökkenthetné a káros anyag kibocsátást, ami a klímaváltozás elleni küzdelmet is elősegítené. Az egyik ilyen alternatíva például a biogáz.

A legegyszerűbb és legelterjedtebb hasznosítása a biogáznak a gáz elégetése, mely egyszerre hőt és elektromos energiát termel. A keletkező fermentációs maradékot pedig műtrágyázásra hasznosíthatjuk magas tápanyagtartalma miatt. A biogáz legnagyobb részét a metán adja, mely fermentációs alapanyagtól függően a gáz 50-75%-át teszi ki, ezen kívül ugyancsak alapanyagtól függően szén-dioxidot (28-48%), és ~1-2%-ban egyéb gázt, kénhidrogént, nitrogén vegyületeket tartalmaz. A földgáz több mint 90%-a metán, mely a fűtőértékének kb. 70%-át adja. Ezt az értéket a biogáz esetén is elérhetjük, ha a keletkezett biogázból a szén-dioxidot eltávolítjuk. Tisztítás után a biogáz gyakorlatilag a földgázzal egyenértékű fűtőértékkel rendelkezhet, így a gáz akár a földgázhálózatba is táplálható.

A biogáz képződése anaerob folyamat, azonban a szerves anyagok bontásában fakultatív anaerob szervezetek is részt vesznek. A fermentáció során a különböző anyagok anaerob átalakítása bonyolult biokémiai folyamatok hálózata, mely az erjesztésre kerülő anyag összetételétől, minőségétől függően változó összetételű mikroorganizmus közösségek segítségével történik. A fermentáció során felhasznált baktériumok tevékenysége

lépésenként egymásra épül, meghatározott sorrendben követi egymást és minden lépésért más-más mikroba csoport felelős. A sikeres metán termelés akkor tud végbemenni és folyamatosan működni, ha a baktériumok egy speciális kombinációban szerepelnek a fermentáció során, melyben mindegyik faj hosszabb távú fennmaradása biztosított, valamint az általuk termelt anyagok egy másik mikroba csoportnak táplálékul szolgálhatnak. A biogáz termelés tehát összetett mikrobiológiai folyamat, melyben a biogáz termelő mikroorganizmusok bonyolult hálózatot építenek fel, melynek végtermékeként keletkezik a biogáz. A folyamatban részt vevő mikroorganizmusokat azonosítására már számos lehetőség rendelkezésünkre áll, mely ismeretek segítenek a folyamat hatékonyabbá tételében is. Ilyen jellegű információkat a baktérium közösségről metagenomikai módszerekkel kaphatunk, mely a mikroorganizmusok közösségeinek genetikai analízisét jelenti. Ilyen vizsgálatok kivitelezéséhez napjainkban rendelkezésre állnak a „második” vagy „Next Generation Sequencing” (NGS), valamint a legújabb „harmadik generációs” („Third Generation Sequencing -TGS”) szekvenáló technológiák. Ezek az eljárások új utat nyitnak a mikrobiális közösségek vizsgálatában.

A biogáz gyártás alapanyagaként a könnyen előállítható, nagy biomasszát biztosító élőlények preferáltak, így komoly lehetőségek rejlenek a napenergiát hasznosító mikroorganizmusok felhasználásában. Az elmúlt időben a figyelem középpontjába kerültek a mikroalgák, melyek mikroszkópikus autotróf organizmusok nagy és diverz csoportjai. Számos előnnyel jár a fermentációjuk: bizonyos fajaik képesek megduplázni biomasszájukat 24 óra alatt, így jóval nagyobb mennyiségű biomasszát nyerünk, mint bármely más földön termesztett növényel. A mikroalga biomassza anaerob fermentációjának további előnye, hogy a keletkezett biogáz minősége jobb (60-75% metán tartalom, míg kukorica szilázs esetében 50-55%). Egy igen előnyös további potenciális lehetőség is felmerült a mikroalga felhasználással kapcsolatban: a biogáz elégetése során keletkező szén-dioxid mentesítés, ugyanis az élő mikroalga fotoszintézis útján a CO₂-ot ismét felveheti saját biomasszájának növelésére. Az eljárások ilyen kombinációja sokkal több energiát termelhet ugyanabból a biomasszából.

Kísérleteink során mikroalga keveréket és egy mikroalga faj tiszta tenyészetét használtuk fel biogáz termelésre, továbbá az alga sejtfal roncsolásának leghatékonyabb lehetőségeit vetettük össze.

Módszerek

A fermentációs kísérleteket 5 literes biogáz termelésre kifejlesztett fermentorokban végeztük. A szubsztrát maximális biogáz hozamának megállapítására batch típusú fermentációt végeztünk nemzetközileg követett szabvány alapján. A biogáz összetételét gázkromatográf segítségével állapítottuk meg. A fermentáció különböző paramétereit nyomon követtük pH mérő, összes szerves sav és pufferkapacitást mérő automata titrátor, spektrofotometriás elven működő analitikai munkaállomás, és automata szén és nitrogénmérő berendezésekkel segítségével. A kevert mikroalga biomasszáját nem steril körülmények között TAP (Tris-acetát-foszfát) tápoldatban tenyésztettük. Tiszta mikroalga vonalat is felhasználtunk a kísérleteinkhez: *Scenedesmus obliquus* mikroalgát az Első Magyar Algatechnika Kft. biztosította. A kísérletsorozatok során a fermentorok metagenomikai vizsgálatait újgenerációs szekvenátorok felhasználásával végeztük. A ligálás alapon működő Applied Biosystem SOLiD típusú szekvenátorból származó adatokat CLC Bio Genomics Workbench 4.6 bioinformatikai program segítségével, kontigok összeállítása után, a Life Technologies Ion Torrent PGM újgenerációs szekvenátora segítségével kapott leolvasásokat közvetlenül, kontig összeszerelés nélkül használtuk filogenetikai vizsgálatokra. Az adatok kiértékelését a MG-RAST szoftver csomag segítségével végeztük.

Eredmények

Az első kísérlet során a fermentációban mikroalga keveréket és azok szintrófjait használtuk fel biogáz előállításra. A vizsgálat eredménye szerint a mikroalga keverékből termelt biogáz mennyisége elmarad az általános használt másik szubsztrát, a kukorica szilázshoz képest, melynek oka az alacsony szén/nitrogén aránya. De összehasonlítva a két alapanyagból kapott biogázt a mikroalga szubsztrátból származó gáz minősége jobbnak bizonyult. A fermentációs elegyben két hónap elteltével ammónium halmozódott fel, mely szintén az eltolódott szén/nitrogén aránnyal magyarázható. Ennek a problémának a megoldását jelentheti a

kukorica szilázs és mikroalga keverék együttes felhasználása. A metagenom eredmények alapján a mikroalgával együtt bevitt szintróf organizmusok kiszorítják, illetve elfedik a fermentorban élő természetes közösséget.

A kísérleteinkben felhasználtunk egy mikroalga vonal tiszta tenyészetét is: a *Scenedesmus obliquus* mikroalga fajt. A fermentáció során, melyben kizárólag ezt a fajt adagoltuk alapanyagként, a szén/nitrogén arány eltolódás kevésbé volt megfigyelhető. A tiszta alga biomasszából keletkezett biogáz mennyisége és minősége körülbelül megegyezik a mikroalga keverékével. A fermentációk a három hónapos működési idő alatt is stabilnak bizonyultak. A fermentáció teljes ideje alatt az Archaea-k közé tartozó Methanosarcinales rend dominanciáját figyeltük meg, mely a metánképződéshez vezető anyagcsere útvonalak sokféleségét támasztják alá.

A *Sc. obliquus* vastag sejtfallal rendelkezik, melynek a roncsolása a fermentáció hatékonyságát is növelheti. Többféle előkezelési technológia ismeretes a mikroalgák feltárására, sejtfaluk lazítására. Eddigi eredmények alapján a mikrohullámmal, illetve autoklávval (magas hőmérséklet és nyomás) történő kezelés a leghatékonyabb. A mikroalga sejtfal roncsolása nem volt teljes, mindkét kezelés során maradtak épen maradt sejtek. A feltárt mikroalgák sejt tartalmát a fermentor mikroba közössége gyorsan és hatékonyan képes felhasználni. Az előkezelések hatékonysága batch fermentációban mérsékelt, ugyanis az egységnyi mikroalgára vonatkoztatott C/N arány és szervesanyag tartalom nem változik, csak a fermentorban élő mikrobák számára tesszük könnyebben hozzáférhetővé az értékes tápanyagokat.