

Mikroalgák termesztése
laboratóriumi és szabadtéri flat panel
foto-bioreaktorokban

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

DOI: 10.18136/PE.2016.641

Készítette: Bocsi Róbert
okleveles vegyészmérnök

Témavezetők: Dr. Horváth Géza
ny. egyetemi docens
Rippelné Dr. Pethő Dóra
egyetemi adjunktus

Pannon Egyetem
Vegyészmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskola
Veszprém
2016.

**MIKROALGÁK TERMESZTÉSE LABORATÓRIUMI ÉS SZABADTÉRI
FLAT PANEL FOTO-BIOREAKTOROKBAN**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:
Bocsi Róbert

Készült a Pannon Egyetem Vegyészmérnöki és Anyagtudományok Doktori Iskola
programja/alprogramja keretében

Témavezető: Dr. Horváth Géza,

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

Témavezető: Rippelné Dr. Pethő Dóra

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton%-ot ért el,

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: Dr. Keresztényi István

igen /nem

.....

(aláírás)

Bíráló neve: Dr. Varga Károly

igen /nem

.....

(aláírás)

***Bíráló neve:

igen /nem

.....

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Veszprém,

.....

a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....

Az EDHT elnöke

Megjegyzés: a * közötti részt az egyéni felkészülők, a ** közötti részt a képzésben
résztevők használják, *** esetleges

Kivonat

A szerző kutató munkája során ipari léptékű algatermesztési kísérletek előkészítését végezte el. Megtervezett és megépített egy nagylaboratóriumi szabadtéri foto-bioreaktor rendszert.

Alapkísérleteket végzett sztenderdnek tekinthető tápoldatvizsgáló rendszerrel a rendelkezésre álló algafajok termesztési körülményeinek vizsgálatára.

A négy vizsgált algakultúra termesztéséhez tápoldat-optimalizálást hajtott végre, melynek eredményeképpen adott feltételek mellett a biomassa termelékenységét maximalizálta. Vizsgálta a nitrogénforrás anyagi minőségének hatását laboratóriumi vegyszerek és savanyúvíz (modellszennyvíz) alkalmazása mellett is.

A kísérleti tapasztalatok alapján a MOL százhalombattai telephelyén egyenként 180 dm³ térfogatú flat reaktorokat tervezett és épített, amelyek az előzetes várakozásnak megfelelően működtek. Egyben előkészítette egy elsősorban ipari szennyvizek feldolgozására alkalmas nyitott reaktorrendszer létesítéséhez szükséges alapadatokat.

Kidolgozta a száraz alga elemzési módszerek adaptációjával a biomassa lipid, fehérje és szénhidrát-tartalom mérési módszereit.

Extrakciós kísérleteket végzett tradicionális oldószerek és oldószer elegyek felhasználásával. Az üzemanyag célú felhasználás esetére vegyipari benzinnel is végzett extrakciót, s ezáltal legalább akkora oleintartalmú terméket tudott előállítani, mint a referenciaként használt n-hexánnal.

Abstract

During his research, the author performed preparations for industrial scale algae cultivation experiments. As a result of the project, a large laboratory scale outdoor photobioreactor system was designed and built.

Basic experiments were conducted for the investigation of the cultivation circumstances of available algae species using a nutrient analysis system that is considered standard.

Medium optimization was carried out for growing the four examined algae cultures, for maximizing, biomass productivity under the given conditions. The effects of the quality of the nitrogen source were examined in the presence of laboratory chemicals and acidic water (model wastewater) as well.

Based on the research results, he designed and built 180 dm³ flat reactors at MOL's site in Százhalombatta which operated in accordance with the prior expectations. Basic data required for establishing an open reactor system primarily suitable for industrial wastewater processing were also compiled.

By adapting methods used for the analysis of dry algae, methods for measuring the lipid, protein and carbohydrate content of biomass were developed.

Extraction experiments were carried out using conventional solvents and solvent mixtures.

For fuel use, extraction was also performed using industrial gasoline, yielding a product of olein content at least as high as obtained by the use of n-hexane as reference.

Auszug

Der Verfasser führte im Laufe seiner Forschungsarbeit die Vorbereitung von Experimenten zur Algenproduktion im industriellen Maßstab durch. Er entwarf und baute einen Photobioreaktor für ein Großlaboratorium im Freien.

Er führte standardgemäße Basisexperimente mit einem Nährlösungen untersuchenden System durch, um die Zuchtfaktoren der zur Verfügung stehenden Algenarten zu untersuchen.

Er führte eine Nährlösungsoptimalisierung für die vier untersuchten Algenkulturen durch, wodurch die Produktivität der Biomasse bei gegebenen Bedingungen maximalisiert wurde. Er untersuchte auch den Effekt der materiellen Qualität der Stickstoffquelle bei der Verwendung von Laborchemikalien und Sauerwasser (Modellabwasser) untersucht.

Anhand der aus den Versuchen stammenden Erfahrungen plante und errichtete der Autor an der MOL-Niederlassung in Százhalombatta Flachplattenreaktore mit einem Volumen von jeweils 180 dm^3 , die den Erwartungen entsprechend funktionierten. Zugleich bereitete er die Basisangaben vor, die für die Errichtung eines vor allem zur Verarbeitung von industriellen Abwässern geeigneten offenen Reaktors erforderlich sind.

Er erarbeitete die Messmethoden zum Lipid-, Eiweiß- und Kohlenhydratgehalt der Biomasse mit Adaptierung der Analysemethoden trockener Algen.

Er führte Extraktionsexperimente unter Verwendung herkömmlicher Lösemittel und Lösemittelmischungen durch. Für den Fall der Verwendung für Kraftstoffzwecke führte er auch Experimente mit chemischem Benzin durch und konnte auf diese Art ein Produkt herstellen, das mindestens denselben Gehalt an Ölsäure hat, wie das als Referenzprodukt gebrauchte n-Hexan.

Tartalomjegyzék

Bevezetés	1
1 Irodalmi összefoglaló	3
1.1 Mikroalgák és összetételük	3
1.1.1 Mikroalgák	3
1.1.2 Lipidek	3
1.2 Az algatechnológia bemutatása	6
1.3 Mikroalgák termesztése	8
1.3.1 Az elsődleges algatermesztési stratégia	8
1.3.2 Algaszaporodási karakterisztika.....	10
1.4 A mikroalga termesztést befolyásoló tényezők	11
1.4.1 Megvilágítás	11
1.4.2 A szuszpenzió hőmérséklete	16
1.4.3 A szénforrás	16
1.4.4 Keverés.....	17
1.4.5 Tápanyagok	18
1.5 Termesztő berendezések	19
1.5.1 Nyílt- és zárt termesztés	20
1.5.2 A foto-bioreaktorok típusai	23
1.5.3 Kereskedelmi forgalomban kapható reaktorok	24
1.6 A termesztőrendszer energetikai státusza	26
1.7 A mikroalgák minősítése	27
1.7.1 Algaszuszpenziók jellemzése.....	30
1.7.2 Alga szárazanyag jellemzése.....	30
1.7.3 Algaösszetétel vizsgálata extrakcióval.....	31
2 Kísérleti berendezések és alkalmazott módszerek.....	48
2.1 Kísérleti berendezések	49
2.1.1 Tápoldatvizsgáló rendszer.....	49
2.1.2 Extrakciós vizsgálatok	51
2.1.3 Laboratóriumi foto-bioreaktor rendszer mesterséges megvilágítással..	52
2.1.4 Nagylaboratóriumi kültéri foto-bioreaktor rendszer	56
2.2 A vizsgált algafajok	59
2.2.1 <i>Chlorella vulgaris</i> Beij. (0-jelű törzs)	59

2.2.2	<i>Scenedesmus acutus Meyen</i> (31-jelű törzs).....	59
2.2.3	Bioplasma.....	60
2.3	A termesztési kísérletekhez felhasznált alap tápoldat.....	61
2.4	Alkalmazott vizsgálati módszerek	62
2.4.1	Szaporodás követése fotometriás módszerrel	62
2.4.2	A termeszto'közeg kémhatásának (pH) mérése	64
2.4.3	Mikroszkópos vizsgálatok.....	65
2.4.4	Száranyag-tartalom meghatározása	66
3	Kísérletek és értékelésük	68
3.1	Tápoldat vizsgálatok	68
3.1.1	A maximális biomassza koncentráció értelmezése	68
3.1.2	Mikro- és makroelemek hatása	71
3.1.3	Tápanyagforrás vizsgálatok	73
3.2	Nagylaboratóriumi kísérletek	81
3.2.1	Indító kultúra készítése	81
3.2.2	Természetes fény hatásának vizsgálata	85
3.3	Az algaszuszpenzió feldolgozása.....	88
3.4	Algaextraktumok előállítása	88
3.4.1	Oldószerrendszer kiválasztása	88
3.4.2	Algaextraktum összetétele	91
3.5	Előkísérletek a különböző forrásból származó algaminták minősítésére	95
3.5.1	Nedvességtartalom meghatározása	95
3.5.2	Hamutartalom meghatározása	96
3.5.3	Fehérjetartalom meghatározása.....	96
3.5.4	Lipidtartalom meghatározása	97
3.5.5	Szénhidráttartalom meghatározása.....	97
3.6	Különbözö' tartási körülmények között termesztett szuszpenziók összetételének meghatározása.....	98
3.6.1	Előkísérletek.....	98
3.6.2	Több extraktum összehasonlítása.....	101
	Összefoglalás.....	103
	Tézispontok	106
	Theses	107
	Publikációk.....	108

Köszönetnyilvánítás	117
Mellékletek	118
1. sz melléklet: A Veszprémben telepített reaktor-rendszerek üzemeltetési tapasztalatai alapján készült reaktortípusok.....	118
2. sz melléklet: HAGA KD48D2 univerzális önhangoló szabályzó jellemzői.....	119
3. sz. melléklet ADAM 5000/TCP DAC jellemzői	120
4. sz. melléklet: CHNS elemzés Carlo erba EA1108 elemanalizátorral.....	122
5. sz. melléklet: A szabadtéri foto-bioreaktor-rendszer műszerezési terve	123
6. sz. melléklet: Az algák szaporodásának követése fotometriás módszerrel	124
7. sz. melléklet: GC-MS regisztrátumok az összetétel meghatározáshoz.....	125
8. sz. melléklet: A TV18 kísérletekhez tartozó szaporodási görbék.....	132
Irodalomjegyzék	135

Bevezetés

A nyersolaj világpiaci árának korábbi növekedése által hajtott bioüzemanyagok iránti kereslet és a szén-dioxid befogás igénye találkozásaként autotróf szervezetek termesztése került az energiakutatók figyelmének középpontjába. A természetben működnek olyan spontán folyamatok, amelyeket alapul véve a kibocsátásra váró CO₂ széntartalmát biológiai rendszerbe visszavezethetjük. Ezáltal számos értékes termék nyerhető, többek között lipidek is, így a környezetterhelés mérséklése mellett bizonyos megtérülésre is számítani lehet.

Az algatermesztés a nagy reprodukciós arány és a kis fajlagos területszükséglet miatt a lehetőségek közül a legígéretesebb megoldás.

Növény	Olaj, dm ³ /(10 ⁴ m ² év)
Szója	440
Napraforgó	900
Repce	1.150
Olajpálma	5.700
Mikroalga	40.000* -----135.000** * 30 (m/m)% lipid, ** 70 (m/m)% lipid

1. táblázat Fajlagos olajkihozatal különböző olajnövényekből [1]

A világ összes bioüzemanyag termelése 2011-ben megközelítette a 60 Mtoe (~2,5 EJ) éves mennyiséget, melynek 27,5 %-a biodízel volt. A BP által készített tanulmány szerint az éves bioüzemanyag termelés 2010-2011 időszakban 0,7 %-kal nőtt, ezért is indokolt az algák illetően felhasználási lehetőségeinek kutatása, a jelenleg alkalmazott technológiák fejlesztése.[2]

Az algatermesztéssel már a múlt század első felében foglalkoztak. Akkoriban az algafarmok létesítésében látták a jövő élelmiszerforrását. Bár a terv támogatottság hiányában meghiúsult, de a laboratóriumi, tiszta tenyészkultúrák fenntartását, és a célirányos termesztés körülményeinek meghatározását sikerült megalapozni. A múlt század ötvenes éveiben került szóba először az algák felhasználása bioüzemanyagok előállítására. Az energiatermelő algák termesztésére az 1970-es évek elejére már üzemi méretű berendezések is rendelkezésre álltak. Ezt követően az 1980-as évek elején került előtérbe az algaolaj termelése, amely a XXI. században reneszánszát éli. [3], [4], [5]

A megfelelő algatermesztő rendszer kialakításához sorra kell venni, melyek a termesztésbe bevonható fajok és milyen paraméterek befolyásolják az algák fejlődését. A termesztési paraméterek helyes megválasztása alapvetően befolyásolja a teljes folyamat sikerességét. Algákból számos terméket állíthatunk elő, ezek közül üzemanyag előállításra elsősorban a lipidek a megfelelő vegyületek. A lipidek számos alkalmazásban előfordulnak. Tisztítás, ill. átalakítás után kozmetikai cikkek, élelmiszerek összetevői vagy akár motorhajtóanyagok biokomponensei is lehetnek.[6], [7]

A vizsgálatok elvégzéséhez tovább fejlesztettem a már meglévő laboratóriumi hátteret, kiegészítettem egy szabadtéri rendszer tervezésével és építésével. Ezt követően nyílt lehetőség arra, hogy vizsgálatok kezdődjenek foto-bioreaktorok szabadtéri üzemeltetésére. A felépített rendszerhez elemzési háttér biztosítása szükséges volt. Az elemzési feladatok nemcsak a szuszpenzió (köztitermék) jellemzőire korlátozódtak, hanem a kinyerhető alga szárazanyag vizsgálataira is kiterjedtek.

1 Irodalmi összefoglaló

1.1 Mikroalgák és összetételük

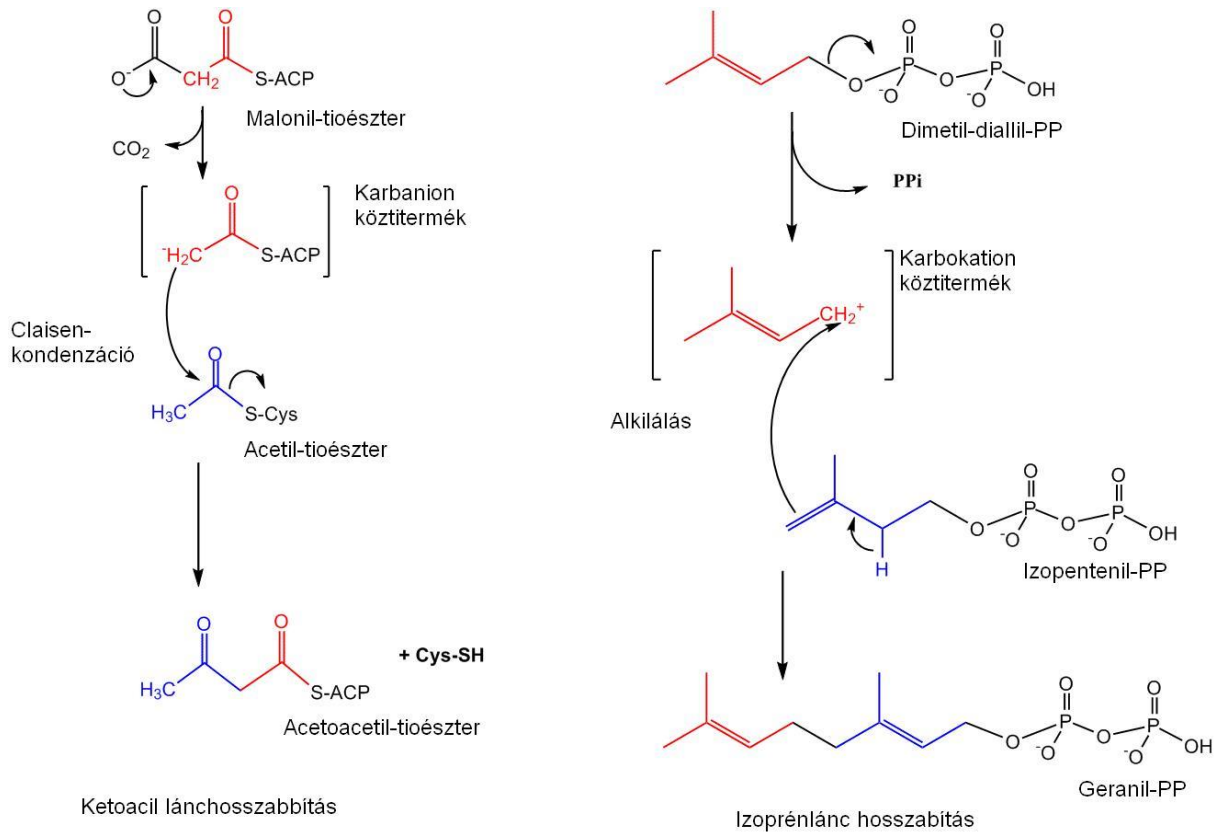
1.1.1 Mikroalgák

Az algák csoportja nem rendszertani besorolás. Azokat az eukarióta, autotróf, egyszerű egysejtű (2-10 μm) szervezeteket értik ezen, amelyek fajtától függően édes vagy sós vízben gyorsan növekednek és akár telepekbe tömörülve is előfordulnak. A valódi algák önálló sejtmagját sejtmembrán veszi körül. A sejten belül található a kloroplasztiszok, amelyek a fotoszintézishez felhasznált foto-bioaktív vegyületeket membránnal körülhatároltan tartalmazzák. Ezek a vegyületek a klorofilok, amelyek funkciója a napfény energiájának befogása és konvertálása biokémiai reakciók számára.

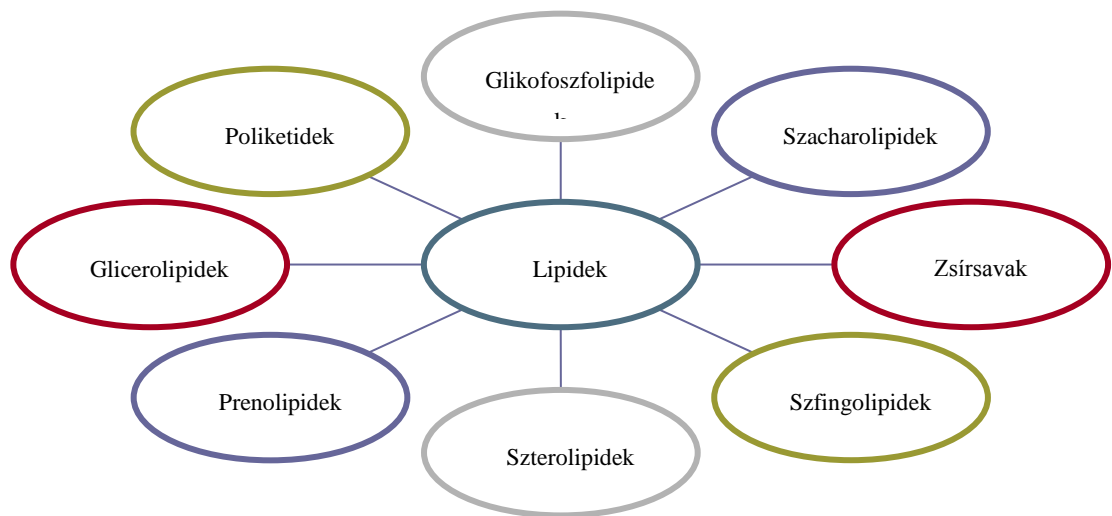
1.1.2 Lipidek

A biológiai rendszerekből számos olyan vegyület származik, amelyek a lipidek közé sorolhatóak.

A lipidek tágabb értelemben vett definíciójuk szerint olyan molekulák, amelyek szerkezete részben vagy teljes egészében kisebb hidrofil vagy amfifil molekulák karbanion bázisú tioészter kondenzációja és/vagy karbokation bázisú izoprén kondenzációja révén vezethető le. [8] (1. ábra) E definíció alapján ezek a molekulák nyolc fő csoportra oszthatók (2. ábra)



1. ábra A lipidek kémiai felépítése [9]



2. ábra A lipidek csoportosítása

Ebbe a nyolc csoportba, biológiai folyamatokban betöltött szerepe, ipari hasznosíthatósága miatt számos fontos vegyület tartozik. A következő szakaszban olyan vegyületeket ismertetek, amelyek algákból is kinyerhetők és piaci potenciállal rendelkeznek.

Energetikai hasznosítás szempontjából az algák zsírsav- és a glicerolipid tartalma fontos. Ezek kiindulási anyagok lehetnek zsírsav metil-észterek előállításához, amelyek az EN 14105 (B100) vagy EN 14214 szabványoknak való megfelelés esetén biodízelnként vagy biodízel keverőkomponensekként alkalmazhatók. A legelterjedtebb technológiai megoldásokat zsírsav trigliceridek feldolgozására optimálták, de számos megoldást találunk a viszonylag nagy szabad zsírsav tartalmú algaextraktumok feldolgozására is.[10], [11], [12]

1.1.2.1 Zsírsavak

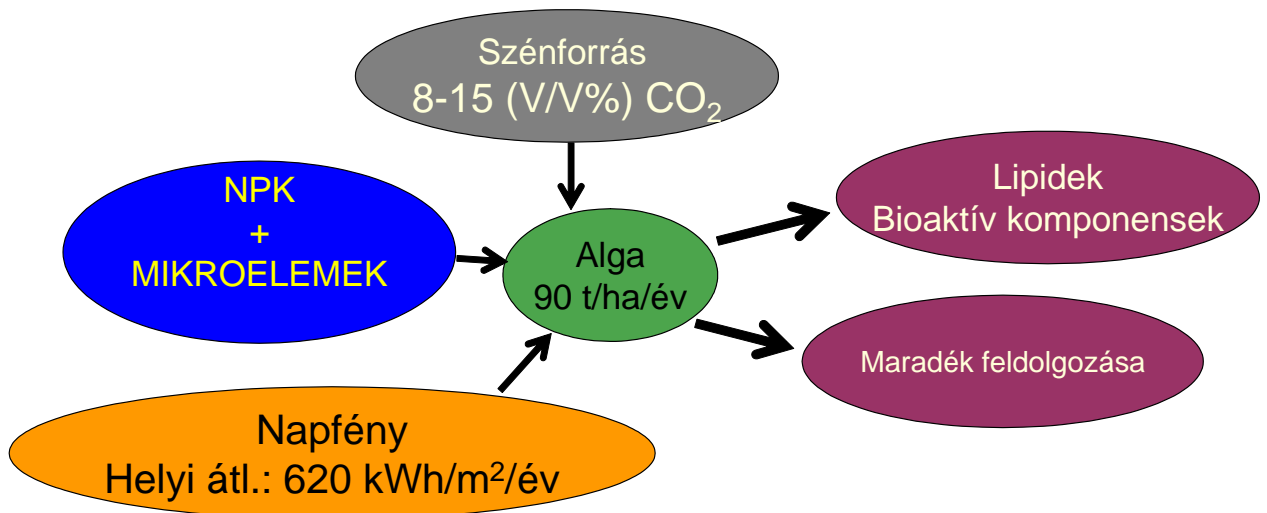
Emberi fogyasztásra, gyógyászati céllal napjainkban számos algából származó vegyületet használnak. Nagy jelentőségűek a többszörösen telítetlen zsírsavak (PUFA), melyek közül négy, a köztudatban is ismert vegyületet emelek ki. Az eikozapentaénsav (EPA), a dokozahexaénsav (DHA), gamma-linolénsav (GLA) és az arachidonsav (AA). A mikroalgák elsődleges forrásai ezeknek az esszenciális zsírsavaknak. Ezek a jelenleg nagy mennyiségben forgalmazott halolajban megtalálható zsírsavak az állat által elfogyasztott algából származnak. Ha ezeket a komponenseket közvetlenül algából állítjuk elő, akkor csecsemőtáplálásra, vegetáriánus diétára közvetlenül is alkalmas terméket kapunk. A közvetlen emberi fogyasztás mellett érdemes még megemlíteni, hogy léteznek olyan farmok, ahol szárnyasokat etetnek algákkal a tojásban akkumulálódó PUFA komponensek miatt. Általánosságban az érrendszeri betegségek megelőzésére, valamint diétás kiegészítőként használják ezeket a vegyületeket [13], [14], [15]

1.1.2.2 Klorofill

A klorofill a zöldalgák alkotója. Porfirinvázis, zsírban oldódó vegyület, amely a sejtekben, a kloroplasztiszokban található. Fontos szerepe van a napfény energiájának befogásában. Főként élelmiszeripari színezékként használják (E 140), de számos kozmetikai cikknek is alkotója. Algafajtól függően többféle típusa fordul elő a sejtekben, de a legnagyobb mennyiségben az *a* és a *b* típus nyerhető ki. [16]

1.2 Az algatechnológia bemutatása

A fotoszintetizáló élőlények a növekedésükhöz, szaporodásukhoz CO₂-ot használnak fel, melynek átalakításához szükséges energiát napfényből nyerik. A lipidtermelésre használt mikroalgák a szervezetük felépítéséhez szükséges anyagokat vizes oldatból vesznek fel. Természetes környezetben a levegő (0,03-0,04 (v/v)%) CO₂-tartalmát használják. Mesterséges környezetben biztosítaniuk kell számukra egyrészt a tápoldatban lévő szervesen oldható sókat és egyszerű szerves vegyületeket, másrészt a CO₂-ot, oldott- vagy hidrogénkarbonát formában. Míg előbbieket bizonyos szennyvizekből pótolni lehet, addig a szén-dioxid forrása lehet füstgáz (8-15 (v/v)%) CO₂), olajkitermeléskor keletkező kiegészítő gáz, de származhat nagynyomású technológiákból is. Az algák szaporodása intenzifikálható, ha megnöveljük a számukra elérhető CO₂ mennyiségét.



3. ábra Az algák alapvető szükségletei

A mikroalgák átlagos növekedési ciklusa néhány napig tart, és (biomassza)tömegüket 24 óránál rövidebb idő alatt akár meg is kétszerezhetik, olaj-tartalmuk pedig meghaladhatja az 50 (m/m)%-ot is (szárazanyag tartalomra vonatkoztatva).

Nagy volumenű termesztésre azok az édesvízi- vagy tengeri algafajok alkalmasak, amelyek a rendelkezésre álló periódusidő alatt tömegük minél nagyobb hányadát lipidekké alakítják.

Mikroalga	Protein	Szénhidrát	Lipidek	Nukleinsav
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Spirogyra sp.</i>	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38	1-2
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7	3-4,5

2. táblázat Néhány algafaj összetevői tömegszázalékban [17]

1.3 Mikroalgák termesztése

Az algatermesztés kezdő lépése a céljainknak megfelelő algafaj kiválasztása. A faj fiziológiai szükségleteinek megfelelő termesztési feltételek esetén sűrítésre alkalmas algaszuszpenzió nyerhető. Sok algafaj képes egyszerűbb szénvegyületek felvételére (pl. bizonyos *Chlorella* fajták), ezek gyenge megvilágítás mellett is képesek szaporodni.

1.3.1 Az elsődleges algatermesztési stratégia

Az elsődleges termesztési stratégiát a rendelkezésre álló szénforrás ismeretében kell megtervezni. Ennek megfelelően az algatermesztést négy csoportba lehet sorolni.

1.3.1.1 Autotróf (fototróf) tartás

A fototróf algatermesztés esetében a szénforrás szervesetlen szén formájában (CO_2 , karbonátok) áll rendelkezésre. A beépülés energiaigényét a mesterséges vagy természetes fényforrással biztosítjuk. A módszer előnye, hogy széndioxid kibocsátó forrást nagyon könnyű találni, és így a széndioxid szinte korlátlan mennyiségben rendelkezésre áll. Előnye, hogy nyitott rendszerben is megvalósítható. Hátránya, hogy az összes többi tartási módhoz képest az elérhető biomassza koncentráció a legkisebb.

1.3.1.2 Heterotróf tartás

Számos algafaj képes kisebb szerves molekulákat felvenni és azokat hasznosítani (glükóz, fruktóz, galaktóz, glicerin). Előnyös ez a módszer, ha ezek bármelyike hulladék áramból rendelkezésre áll (pl. szennyvíz), így nagyobb biomassza koncentráció érhető el hagyományos fermentorok alkalmazásával, mint fototróf tartás esetén. Hátránya, hogy a beadagolt szerves anyagokat más mikroorganizmusok is képesek felhasználni, ezért a befertőződés lehetőségét el kell kerülni. [18]

1.3.1.3 Mixotróf tartás

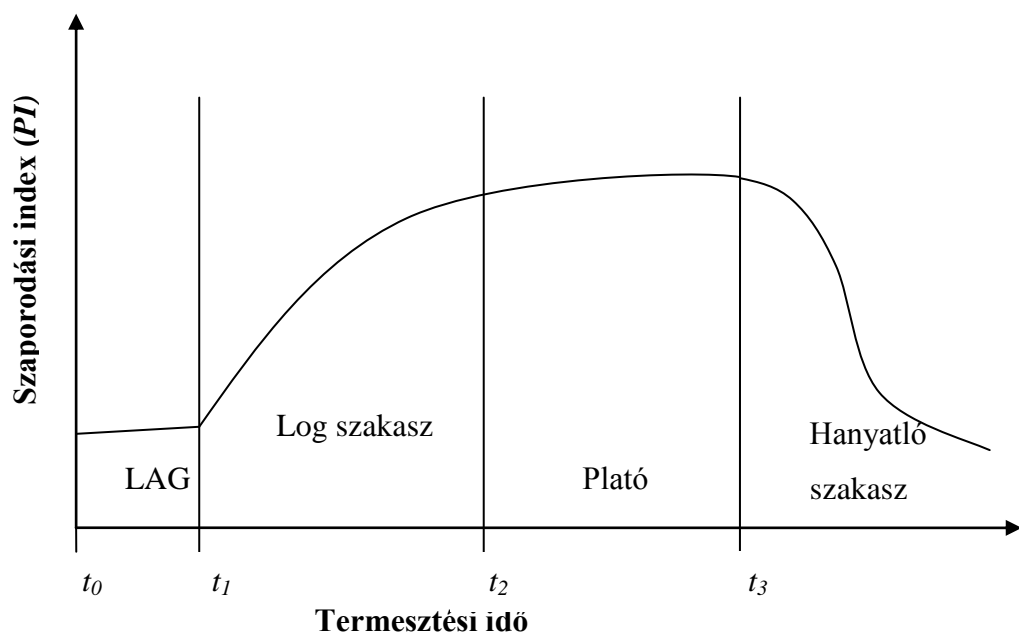
Mixotróf tartás esetén kombináljuk az autoróf- és a heterotróf tartás előnyeit. A rendelkezésre álló fényt az ún. fény szakaszban az alga fotoszintézisre fordítja, míg a sötét szakaszban a tápoldatba adagolt szerves molekulák felhasználásával szaporodik tovább. A heterotróf termesztési ciklusban keletkező szén-dioxid a fény szakaszban hasznosítható. Ahol a szén-dioxidon kívül olcsó szerves szubsztrátok is rendelkezésre állnak ez a termesztési módszer jól alkalmazható.

1.3.1.4 Ftoheterotróf tartás

Ftoheterotróf tartás esetében a szubsztrát feldolgozásához szükséges energiát a besugárzott fény adja. Ez specifikus algafajok esetében alkalmazható (pl. *Ettlia texensis*). Hátránya hogy a termesztés során a tápkomponenseken kívül további vegyszeres kezelés szükséges a monokultúra megtartása érdekében (pl. antibiotikum adagolás). [19]

1.3.2 Algaszaporodási karakterisztika

Az algaszaporításnál egy új törzs bevezetése esetén a törzs fejlődése jellegzetesen három szakaszon megy át (4. ábra). Az első a lag fázis, mely alatt megtörténik az akklimatizálódás. Hozzászoknak az algák az új tápközeghez és fényviszonyokhoz. Ennek időtartama néhány óra és néhány nap között lehet (t_0-t_1). A következő a log szakasz, melyben a szaporodási sebesség maximális (t_1-t_2). A maximális biomassza koncentráció elérése után (plató fázis, t_2-t_3), csökkenni kezd a biomassza koncentráció valamely tápkomponens limitációja miatt ($t_i>t_3$).



4. ábra Szaporodási fázisok algák fed-batch típusú termesztésében [20]

A felszaporított algaszuszpenziót először sűríteni kell. Ezt követi a szárítás, melynek során algaport nyerünk. Az alga szárazanyagból általában mixer-settler típusú extraktorokban állandó hőmérsékleten nyerjük az extraktumot. Minden egyes lépés energiaigényét vizsgálni kell, különösen akkor, ha energiatermelésre termesztjük az algákat.

A feldolgozás energetikai szempontból kritikus lépései a sűrítés és az extrakció.

Az extrakciónál a keverés, a temperálás valamint az extraktum oldószer-mentesítésére kell nagy mennyiségű energiát befektetni.

Ez utóbbi lépés elkerülésére olyan oldószert célszerű alkalmazni, amelyet a kereskedelmi forgalomba kerülő termék önmagában is tartalmaz és nem rontja annak minőségét.

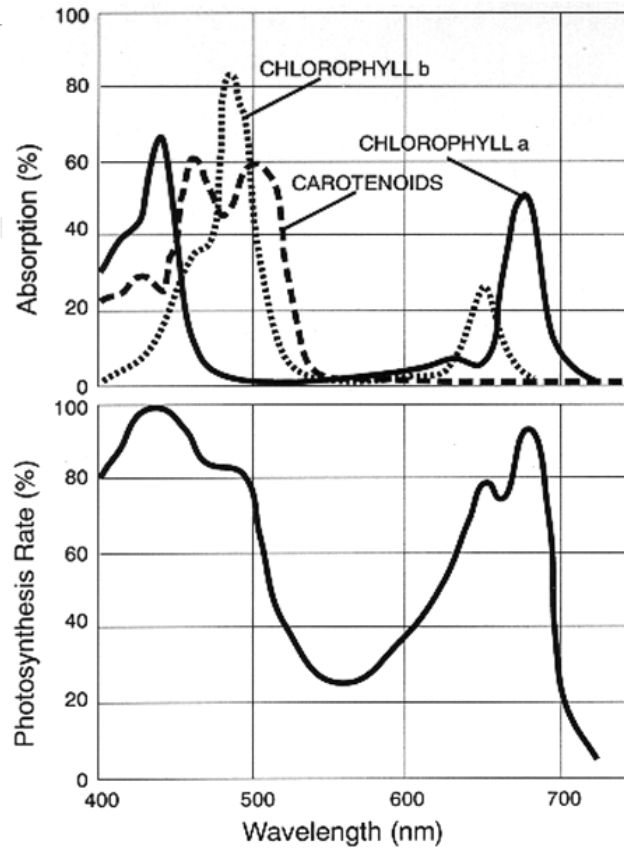
1.4 A mikroalga termesztést befolyásoló tényezők

A termesztési paraméterek helyes megválasztása alapvetően befolyásolja a teljes folyamat sikerességét. Fontos megjegyezni, hogy a termesztési periódus alatt elért biomassa-koncentráció és lipidtartalom értékek a termesztési technika, a környezeti valamint az ésszerűen szabályozható működési paraméterek függvényében jelentős különbségeket mutathatnak. Ezzel összefüggésben a nagy lipidtartalom nem feltétlenül jár együtt a nagy szaporodó képességgel. A termesztési kísérleteket autotróf tartásban végeztem. Ennek megfelelően ebben a fejezetben a fototróf algatermesztést befolyásoló tényezők háttérét mutatom be.

1.4.1 Megvilágítás

A kultúra számára elérhető fény mennyisége és minősége a fotoszintetizáló szervezetek számára egy alapvetően korlátozó tényező. Fontos azonban megjegyezni, hogy nem minden algafaj képes 24 órás megvilágításban szaporodási sebességének maximumát elérni. A legtöbb faj úgy tudja biomassa termelékenységének maximumát adni, ha világos és sötét szakaszok váltják egymást. Ezt természetes fénynél nem, csak mesterséges megvilágítás esetén fontos figyelembe venni.

Fotoszintézisre a napfény spektrumából csak a 400-700 nm közötti hullámhossz intervallum hasznosítható, ez a tartomány a teljes napfény spektrum 42,3%-a. Ebbe a hullámhossz tartományba eső sugárzást a szakirodalomban fotoszintetikusán aktív sugárzás (PAR) tartományaként említik. [21]



5. ábra Fotoszintézisre hasznosítható hullámhossz tartomány (PAR) [22]

Megadható a fotoszintézis maximális, elméleti energetikai hatásfoka (photosynthetic efficiency, PE).

A fotonok átlagos energia tartalma ebben a hullámhossz intervallumban: 218 kJ/(mol foton). Ezekből az adatokból meghatározhatjuk a fotoszintézis maximális, elméleti energetikai hatásfokát /photosynthetic efficiency, PE /, :

$PE = (\text{a keletkezett biomassa kémiai (hő) energiája}) / (\text{a felhasznált fény energia}) * 100\%$

Elméletileg, minimálisan, 14 mól foton szükséges 1 mól CO_2 beépülésére a fenti biomassa formációba /ez az algákra is jellemző/. 1 mol CO_2 -ből 1 mol „biomassa” keletkezik, amelynek a móltömege: 21,25 g/mol, égéshője: 547,8kJ/mol biomassa ill.

$$(547,8 \text{ kJ / mol}) / (21,25 \text{ g / mol}) = 25,8 \text{ kJ/(g biomassa)}.$$

Ez tehát a napfény teljes spektrumára: $PE_{\text{teljes}} = 9 \%$,

míg a PAR tartományra: $PE_{\text{PAR}} = 21,4 \%$.

Ennek megfelelően a megvilágításnak is ebben a tartományban kell leadnia a betáplált energia lehető legnagyobb részét. Ha a megvilágítás spektruma szűk tartománybeli

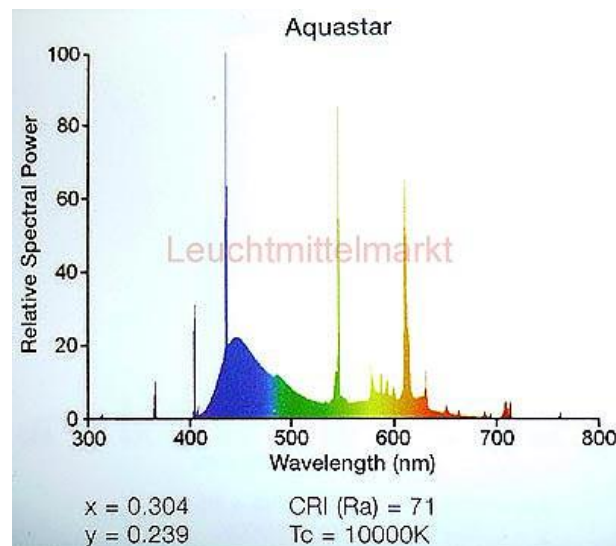
emissziós csúcsot mutat, azoknak minél közelebb kell lennie az alga abszorbancia maximumaihoz.

1.4.1.1 Mesterséges fényforrások

Laboratóriumi körülmények között az algák szaporodásának vizsgálatához szükséges mesterséges fényforrások alkalmazása.

A törzstenyészetek fenntartásához gyakran olyan fényforrást használnak, amely minimális mértékben elégíti ki a fényigényt (pl. Cool White fénycső).

Chang és mtsai. TL5 típusú fénycsővel világították meg a *Chlorella vulgaris* ESP-31-ből álló szuszpenziót, amelyben 1000 mg/dm^3 NaCO_3 -tartalom és 9 W/m^2 energiaigény mellett $0,029 \text{ g/(dm}^3 \cdot \text{nap)}$ termelékenységet értek el. [23]



6. ábra Sylvania Aquastar fénycső emissziós spektruma [24]

Ha szaporító rendszert akarunk megvilágítani, olyan fényforrásra van szükség, ami az algaközösség igényeit a lehető legjobban kielégíti (pl. Sylvania Aquastar fénycső).

A fent említett Sylvania Aquastar speciális fénycsövet kimondottan vízi növények szaporításához tervezték. A fényforrás spektrumának kék és vörös tartományában lévő intenzitás maximumok kedveznek az algák szaporodásának.

Fényforrás	Színhőmérséklet (Kelvinben)
Gyertyaláng	1800
Villanykörte (izzószál)	2500-3050
Meleg fehér színű fénycső	3000
Hideg fehér "Cool White" fénycső	4100
LED	
- melegfehér	<3500
- középfehér	3500-5500
- hidegefehér	>5500
Nappali fény	6500
Napfény délben	5500
Északi ég fénye	7500
Felhős ég	7000
Teljesen tiszta ég	10000-30000

1. táblázat

Néhány fényforrás színhőmérséklete.

Érdeemes megemlíteni a led-ek potenciális alkalmazhatóságát. Előnyük, hogy névleges fogyasztásuk a hagyományos fényforrások töredéke. Fontos azonban kiemelni, hogy viszonylag szűk spektrumbeli fényemissziójuk miatt gondosan meg kell választani, melyiket is építjük be. Használhatóságát korlátozza, hogy a led-ek többsége csak 40° szögben sugároz (0,378 sr), ami azt jelenti, hogy több száz led-et kellene felhasználnunk egy viszonylag kis felület megvilágításához, ami megdrágítja ezt a technológiát. [25],[26],[27]

1.4.1.2 Termesztés természetes fényben

Ha természetes megvilágítású rendszer megvalósítását tervezzük, figyelembe kell venni az éghajlati jellemzőkön túl a környező tereptárgyak árnyékoló hatását is.

Adott földrajzi koordinátákra vonatkozó, átlagos napsugárzási sűrűségi adatokból (ezek az adatok megmérhetők, megtalálhatók meteorológiai állomások adatai között, ill.

interneten is elérhető, pl. <http://re.jrc.ec.europa.eu/pvgis/apps4/pvest.php#> vagy Veszprémre: <http://idojaras.veszprem.hu/>) becsülhető a maximális, elméletileg elérhető biomassza termelékenység. [28],[29], [30],[31]

1.4.2 A szuszpenzió hőmérséklete

Mint minden biológiai rendszer esetében, fontos paraméter a reaktor hőmérséklete.

Hong-ying és mtsai. a 10-30 °C között vizsgálták a *Scenedesmus sp. LX1* (Collection No. CGMCC 3036 in China General Microbiological Culture Collection Center) algaszuszpenzió szaporodásának ütemét és megállapították, hogy 20 °C-on a szaporodásnak és a lipidtermelésnek is optimuma van, bár a biomassa termelékenysége a hőmérséklet növekedésével nő. [32]

Y. Zheng és mtsai. *C. sorokiniana* (UTEX 1602) algafajt termesztettek, amelynél pH szabályzás és mixotróf tartás mellett 37 °C-os szaporodási maximumot mértek.

Tehát az algák szaporodási tulajdonságai jelentős mértékben függenek a szuszpenzió hőmérsékletétől.

Mivel a beeső fénynek csak kevesebb, mint 10 %-a hasznosul, egy sűrű szuszpenzió (3-4 g alga szárazanyag/dm³) melegedése természetes fényben jelentős. Emiatt a reaktor hőmérséklete hűtés nélkül, intenzív napsugárzás esetén a léghőmérsékletnél jóval magasabb is lehet. Az algák optimális szaporodóképessége 20-40 °C hőmérséklettartományban tartható meg. Ez alatt anyagcseréjük és ezzel együtt szaporodásuk jelentősen lelassul, míg e tartomány feletti hőmérsékleten jelentősen nő a hősokk okozta algapusztulás veszélye. Az optimális tartományon belül exponenciális növekmény tapasztalható a biomassa tömegben. Éppen ezért a temperáló rendszert mindig az adott termesztő rendszer konstrukciójához illesztik.

1.4.3 A szénforrás

Autotróf termesztés esetén a szénforrás beadagolása füstgázból, tiszta szén-dioxidból vagy annak kémiaiilag kötött formájából történik (Na₂CO₃, NaHCO₃). [33],[34]

Ha a szén-dioxid beadagolása gázkeverék formájában történik, koncentrációját forrástól függően 2-30 (V/V)% között szokták tartani, ami függ az algafajtól, tápoldattól és a hőmérsékletétől is. A felhasznált gázkeverék ideális esetben tartalmaz még nitrogént, valamint oxigént is, melynek jelenléte a sötét szakaszban fontos. A kívánt betáplálási gázösszetétel beállítása levegő hozzákeverésével történik. A szénforrás biztosítása megoldható karbonát sókkal is, de akkor is figyelembe kell venni azt, hogy tápkomponensek karbonát formában kicsapódhatnak, ezzel megváltoztatva azok oldatbeli koncentrációját.

A fotoszintézisnek van egy előnyös mellékterméke az élővilág számára: az oxigén. Annak érdekében, hogy az algasejtek a lehető legtöbb szén-dioxidot fel tudják használni, a szuszpenzióból a keletkezett oxigént el kell távolítanunk, mert az a fotoszintézis inhibitora. Zárt foto-bioreaktorokban az oxigén inhibíciót kell elkerülnünk, míg nyitott rendszer esetében a CO₂ limitáció hatását kell minimalizálnunk. Ez utóbbi akkor lép fel, ha a szén-dioxid folyadék feletti parciális gáznyomása az elvárt egyensúlyi értéknél kisebb. A szén-dioxid – hidrogénkarbonát – karbonát egyensúly a szuszpenzió hőmérsékletétől és pH-jától egyaránt függ.

Azáltal, hogy a CO₂ koncentrációját egy, a légkörinél esetleg magasabb értéken tartjuk, szelekciós előnyt biztosítunk olyan fajok számára, amelyek ebben a környezetben gyorsabban szaporodnak. Ez utóbbi miatt kiemelt fontosságú, hogy a reaktortérben ne legyen jelentős CO₂ koncentráció gradiens. [35]

Basu és mtsai. természetes környezetből *Scenedesmus obliquus* (KC733762) algafajt izoláltak és 10 nap alatt módosított BG11 tápon, 40°C-on, közel 14 (V/V)% szén-dioxid tartalom mellett 4,975 g/dm³ biomassza koncentrációt értek el.[36]

Szélsőséges példa az algatermesztési vizsgálatokra, amikor A. Concas és mtsai. tiszta CO₂-ot vezettek *Chlorella vulgaris* (Centro per lo Studio dei Microorganismi Autotrofici di Firenze, Italy) szuszpenzióba, és 25 °C-on még akkor is tudtak szaporodást mérni, bár a szuszpenzió algakonzentrációja nem haladta meg a 0,5 g/dm³-t. [37]

Chih-Sheng Lin és mtsai. speciális szénforrással, kéntelenített biogázzal is kísérleteztek. Vizsgálataikhoz tajvani gyűjteményből mutációval a *Chlorella sp. MM-2* törzset állították elő, és azt szabadtéri zárt foto-bioreaktorban, mesterséges tengervízzel előállított, nitrogénben gazdag tápon, 20 (V/V)% CO₂ tartalmú biogáz adagolása mellett szaporították. Az így elért maximális biomassza koncentráció meghaladta a 2,5 g/dm³-t, ha a kén-hidrogén koncentrációt 100 ppm alá csökkentették. [38]

1.4.4 Keverés

A keveréssel az a célunk, hogy homogén algaszuszpenziót állítsunk elő. Ezzel biztosíthatjuk a szuszpenzióban lévő egyes sejtek azonos megvilágítását, csökkenteni tudjuk a sejtek felületre tapadásának esélyét, valamint az aggregátumok kialakulásának is gátat szabhatunk. Az aggregátumok kialakulása azért előnytelen, mert a leárnyékolat sejtek nem jutnak hozzá sem elég fényhez, sem elég tápanyaghoz, és befertőződés forrásaivá válhatnak.

Túlságosan erős kevertetés a fellépő nagy nyíróerők miatt az algasejtek károsodását, pneumatikus keverés esetében pedig a sejtek kiflotálódását okozhatja. [39],[40]

1.4.5 Tápanyagok

Az algák sokféleségével együtt jár az alkalmazható tápoldatok sokfélesége. Bár általánosan meg lehet szabni az egyes törzsek igényeit, az alap tápoldatot minden egyes kultúrához az egyedi működési paramétereknek megfelelően modifikálni kell.

A fenti megállapítások mellett érdemes megjegyezni, hogy a makro- és a mikroelemek optimális tápoldatbeli koncentrációja - első közelítésben - az algákban mérhető szárazanyagbeli koncentrációval becsülhető. [41], [42], [43], [44],[45]

1.4.5.1 A tápoldat komponensei

Nitrogén (10-2000 mg/l): A nitrogén a növekedéshez szükséges alapvető tápelem, ezért elsősorban a tenyésztés első felében kiemelt jelentőségű a növény számára. Az intenzív növekedés folyamán fokozatosan növekvő mennyiségre van szükség. Ezt attól függően, hogy milyen algafajt, milyen közegben kívánunk tartani, számos formában biztosíthatjuk. A nitrát-ion forma a legdrágább, de bizonyos esetben más vegyülettel nehezen helyettesíthető. Ammónia vagy karbamid formában való bejuttatás esetében figyelemmel kell lenni a tápközeg többi összetevőjével való kölcsönhatásra. A nitrogéntartalom szabályozásával befolyásolhatjuk az algák lipidtermelését. Léteznek olyan fajok, amelyek nitrogénhiányos környezetben lipidet halmoznak fel, melynek mennyisége az eredeténél akár 40-50%-kal is több lehet.

[46]

Foszfor (10-500 mg/l): a foszfor-forrást általában hidrogénfoszfát-ion formában biztosítjuk. Figyelemmel kell lenni arra, hogy a tápoldat többi komponense is felvehető formában maradjon, mert a foszfátok vízzoldhatósága korlátozott. A foszfortartalom manipulációja algafajtól függően hasonló előnyökkel járhat, mint a nitrogénlimitáció.

Y.-H.Wu és mtsai. *Scenedesmus sp. LXI* és különböző *Chlorella* fajták foszforfelvételét vizsgálták. Még egy fajon belül is közel 600%-os különbséget mértek az egységnyi biomassza termelésre jutó foszfor felhasználásban. [47], [48], [49], [50], [51], [52]

Kálium, nátrium: nélkülözhetetlenek a sejtek vízháztartásának szabályozásában, a kálium bizonyos enzimek aktivitásáért is felelős.

Magnézium: a klorofill és más bioaktív vegyületek alkotója.

Kalcium: sejtfa felépítésében, működésében van jelentősége.

Mikroelemek:

Olyan tápkomponensek, melyek sejtbeli koncentrációja 0,1-10 ppm közötti érték, de fontos építőkövei a sejteknek (enzimaktivátorok, enzimoszszetevők).

Vas: Hiánya a sejtbeli klorofilltartalom csökkenéséhez vezet. [53]

Cink: jelenléte a nitrogén-anyagcserét befolyásolja.

Réz: a fehérjeszintézisben és a szénhidrát anyagcserében van szerepe.

Mangán: enzimaktivátor, fehérjeszintézisben, fotoszintézisben van szerepe.

Molibdén: számos létfontosságú enzim aktivátora (hidrogenáz, a nitrogenáz és a nitrátreduktáz).

Bór: az osztódó sejtek működésében jelentős szereppel bír. Hiánya akadályozza a sejtfa kialakulását és a szénhidrátok képződését.

Kelatizáló komponensek: komplexképző vegyületek, amelyek oldatban tartják a mikroelemeket és ezáltal hozzáférhetőek maradnak a tápközeg kismértékű változása esetén. [54]

Az algák termesztésére gyakran és eléggé általánosan használható termeszítő közeg az *BG-11* tápoldat, melynek összetevőit a 2.3 bekezdés 5. táblázat és az 6. táblázat tartalmazza. Ezt a receptúrát kékalgák vizsgálatára fejlesztették ki (blue-green algae) [55]

1.5 Termeszítő berendezések

A mikroalgák ökológiai változatosságuknak és fiziológiai alkalmazkodóképességüknek köszönhetően csaknem valamennyi életközösségben megtalálhatók. Ez a változatosság ad magyarázatot arra, hogy manapság többféle technológia van elterjedőben. Szinte mindenki, aki mikroalga termesztéssel foglalkozik, saját technikai megoldást fejlesztett ki a tömegtermesztésre.[56],[57]

Fontosnak tartom kiemelni, hogy a jelenlegi trendek elsősorban nem a reaktorrendszer fejlesztését célozzák, hanem genetikai módosítással „szuperalgák” létrehozását tűzték ki célul. A speciális algák különleges körülményeket igényelnek, ami a rendszer üzemeltetési költségeit jelentősen megnöveli. [58]

1.5.1 Nyílt- és zárt termesztés

A legnagyobb volumenű termesztés nyílt tavi rendszerben képzelhető el. Itt a klimatikus viszonyoknak ellenálló fajokat lehet termeszteni, amit az esetleges invazív algafajok megjelenésének elkerülésére célszerű olyan paraméterek mellett tartani, amelyek az utóbbiak számára kedvezőtlenek. A levegőztetés és a keverés fenntartására többnyire mechanikus keverést alkalmaznak. [59], [60]



7. ábra A leggyakrabban alkalmazott szabadtéri rendszer a „Raceway” medence [61]

A nyílt termesztés másik formája a csatornás rendszer, amelyben a kis sebességgel áramló algaszuszpenzióban 100-500 mm rétegvastagság és szakaszonkénti CO₂ adagolás mellett történik a szaporítás.

A nyitott rendszerek alternatívája lehet a zárt termesztés, amely fényáteresztő falú reaktorban történik. Ennél a típusnál a fénybevezetés a kritikus pont. Ahhoz, hogy a rendelkezésre álló hasznos fény mennyiségből a legtöbbet juttassunk be a reaktorba, a fénybevezetési felületnek nagy áteresztőképességűnek kell lenni. A felület külső oldalára a rászálló szennyeződések valamint az esetleges külső hűtésből származó szennyeződések léphetnek fel, a belső oldalon pedig a termesztési feltételek kedvezőtlen alakulása miatti algaülepedés okozhat gondot. A zárt rendszer nagy előnye mégis az, hogy a telepített algakultúra befertőződésének esélye, az alkalmazott technikai megoldások, ill. tápanyagforrások függvényében, minimálisra csökkenthető.

Az optimális termesztési körülmények biztosításához speciális foto-bioreaktorokat alkalmaznak. Ezekkel a reaktorokkal szemben követelmény, hogy a napfény fotoszintézishez megfelelő spektrumát az algák számára hozzáférhetővé tegye, jól

mérhető és biztonságos szén-dioxid- gázelegy be- és kivezetéseket tartalmazzon, és műszakilag ellenálló legyen a természeti hatásokkal szemben. [62], [63], [64]

A berendezéseket úgy kell kialakítani, hogy a helyi mikroklímának megfeleljen. A reaktor geometriáját elsősorban az előírányzott termelési volumen határozza meg.

A nyitott és zárt rendszerek összehasonlítását az 3. táblázat foglalja össze

Paraméter	Nyitott medence	Zárt rendszer (PBR)
Szennyeződés, befertőződés esélye	Rendkívül nagy	Kicsi
Fajlagos helyszükséglet	Nagy	Kicsi
Vízvesztés	Rendkívül nagy	Kiküszöbölhető
CO ₂ -vesztés	Nagy	Minimális
A biomassza minőségére nézve	Nem érzékeny	Érzékeny
Termeszthető fajválaszték	A termesztési lehetőségek néhány algafajra korlátozódnak	Szinte minden mikroalga változat termeszthető
Termelés volumen rugalmassága	A termelési volumen változtatása jelentős szerkezeti átalakításokat igényel	A termelés változtatása probléma mentes
Termelési paraméterek reprodukálhatósága	Kicsi, külső feltételek függvénye	Bizonyos határok között jól reprodukálható
Folyamat irányíthatóság	Nehéz	Könnyű
Termesztés Standardizációja	Korlátozott, nem lehetséges	Lehetséges
Függőség az időjárástól	Teljes mértékben függő, például esőben nincs termelés	Nem szignifikáns
Névleges kapacitás eléréséhez szükséges idő	Hosszú, 6-8 hét	Viszonylag rövid, 2-4 hét
Biomassza koncentráció a termelés alatt	Kicsi, 0.1-0.2 g/l	Nagy, 2-8 g/l
Feldolgozási folyamatok hatékonysága	Kicsi, kis algakoncentráció miatt nagy térfogatokat kell mozgatni	Nagy algakoncentráció miatt kis térfogatok

3. táblázat A nyitott és zárt termesztőrendszerek összehasonlítása [65]

1.5.2 A foto-bioreaktorok típusai

Foto-bioreaktorok gyártásával számos cég foglalkozik. Mindegyikük teljes, az összes kiszolgáló egységgel együtt szállított, rendszert kínál. Ezek előnye, hogy terméktámogatást nyújtanak hozzá (akár távfelügyeletet is), hátránya a magas ár.

A fő tervezési bázis:

- Algafaj
- Elsődleges termesztési stratégia
- Beltéri- vagy kültéri alkalmazás
- Mesterséges vagy természetes megvilágítás
- Fényabszorpciós felület és a beeső fénysugarak által bezárt szög .[66]
- Hűtés- vagy fűtésigény
- Szubsztrát ellátás
- Keverési mód

Két egymástól geometriailag jelentősen eltérő konstrukciót alkalmaznak. [67],[68]

A reaktorok üzemanyag célú termesztésbe történő bevonását alapvetően két paraméter befolyásolja. Az egyik a bekerülési költség, a másik pedig a fajlagos energiafelhasználás. Ez utóbbi áttekintése az 1.6 fejezetben olvasható.

1.5.2.1 Csőreaktorok

Az egyik a csöves rendszer, amelyben a fotoabszorpciós felület a fényáteresztő csövek felülete (8. ábra).



8. ábra IGV cég által forgalmazott mobil csöves foto-bioreaktor rendszer [69]

de Morais és mtsai. egymás után sorba kötött függőleges csőreaktorokat használtak *Spirulina sp.* és *Scenedesmus obliquus* algák szaporodásának vizsgálatára. A megvilágítást a cső palástja felől, a gáz betáplálást az oszlopok alján oldották meg. [70]

Pegallapati és mtsai. olyan cső a csőben típusú reaktorban végeztek vizsgálatokat, melynek megvilágítását belülről építették ki. [71],

Scragg és mtsai. szintén csőreaktort alkalmaztak, de itt a csövek spirálisak. [72]

1.5.2.2 Flat típusú reaktorok

A flat panel foto-bioreaktorok egy kis optikai úthosszt biztosító keskeny hasázból állnak. A betáplált gázkeverék egyúttal a szuszpenzió intenzív keverését is elvégzi. [73], [74], [75]

Az anyagátadás intenzifikálása érdekében bizonyos konstrukciókban a gázáram útjába statikus keverőelemeket építenek be. [76]

1.5.2.3 Egyéb konstrukciók

Az újabb reaktorkonstrukciók, az előző típusok valamelyikébe besorolhatók. Lényeges különbség az alaptípusokhoz képest az, hogy valamely hátrányos tulajdonságot egy új technikai megoldással kiküszöbölik.

Például a temperálás problémáját a Solix Biofuels berendezésében úgy oldják meg, hogy a szuszpenziót tartalmazó zsákokat tóba merítve hűtik.[77],[78]

1.5.3 Kereskedelmi forgalomban kapható reaktorok

Az alábbiakban két „kulcsrakész”, beszerezhető berendezést ismertetek.

1.5.3.1 Biofence

A Biofence rendszer zárt. Az algákat átlátszó műanyag csövekben termesztik, ezért a rendszer a palást irányából tud fényenergiát felvenni, ezzel növelve a hatékonyságot. A vizet alul táplálják be a csőreaktorba, ami fölül az alga recirkulációs tartályba torkollik. Ebben a tartályban adják hozzá a vízhez a tápanyagokat, amit utána újból visszanyomnak a reaktorba hozzáadott CO₂-vel együtt.

A rendszer hibája hogy az alga le tud rakódni a csövek belső felületére, ezzel megakadályozva a fény behatolását. A probléma kiküszöbölésére ennek a konstrukciónak van egy öntisztító rendszere, ami tisztító gyöngyökből áll. Ezek az abbrazív elemek a tápközeggel együtt folyamatosan cirkulálnak. Ezen kívül az áramlási

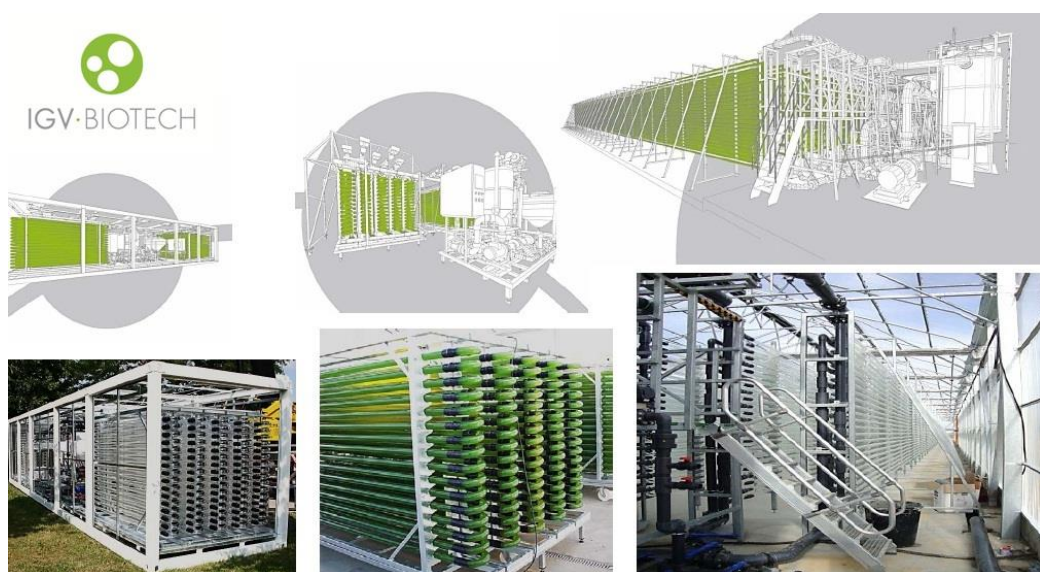
sebességet is úgy állítják be, hogy turbulens áramlás jöjjön létre, ami csökkenti az algák lerakódását. Ez egy automatizált öntisztító rendszer.



9. ábra Biofence rendszer [79]

1.5.3.2 IGV

Az IGV GmbH - IGV Biotech nevű nuthetali (Németország) székhelyű cég - saját biotechnológiai laboratóriumára támaszkodva - foto-bioreaktorok széles palettáját kínálja kislaboratóriumi $0,5 \text{ dm}^3$ -tól az akár 160 m^3 -es térfogattal rendelkező termelő berendezésekig. Az algafajtól kezdve a termelésen át a feldolgozásig minden lépésre kínálnak megoldásokat. Tevékenységüket főként kozmetikai, élelmiszeripari hasznosításra fókuszálják.



10. ábra IGV Biotech által forgalmazott rendszerek [80]

1.6 A termesztőrendszer energetikai státusza

Mivel a megtermelt alga-biomasszát energetikai célra tervezzük felhasználni, már a pilot méretű alga-telep esetén is fontos jellemző az ún. energiafogyasztás arány (energy consumption ratio, ECR), amit az alábbiak szerint definiálhatunk:

$ECR = (\text{egységnyi tömegű biomassa előállításához szükséges külső energia befektetés}) / (\text{egységnyi tömegű biomasszából kinyerhető energia})$.

A szakirodalmi adatok alapján az algák tömeg-termesztésére is alkalmasnak tűnő, nagyméretű, pilot, esetleg termelő (55 dm³---25 m³ tartomány) bioreaktorok működtetéséhez szükséges energia-fajlagosok az alábbiak:

Nyitott medencék, „raceway” változat, 25-35 cm vastagság:	150-250 W/m ³ ,
Csőreaktor, horizontális, szuszpenzió szivattyúzása:	2200-2500 W/m ³ ,
Csőreaktor, vertikális, szuszpenzió szivattyúzása:	600-800 W/m ³ ,
Csőreaktor, helikális, szuszpenzió szivattyúzása:	1800-2000 W/m ³ ,
„Flat Panel”-ek, gázárammal történő keverés:	50-100 W/m ³ ,
Subitec „Flat Panel” megoldások, sztatikus keverő elemekkel:	150-250 W/m ³ .

Ezekhez a reaktor térfogat-egységre vonatkoztatott energia-fajlagos értékekhez még hozzá kell tennünk az egyes reaktor-konstrukciókra általánosan jellemző reaktor térfogat-egységre vonatkoztatott alga-termelékenységet. Ez utóbbi természetesen számos paraméter, műveleti jellemző /általában erős kölcsönhatásban/ függvénye, de többé-kevésbé mégiscsak jellemző az adott reaktor-konstrukcióra.

Így jó közelítéssel meghatározhatjuk azt az energia mennyiséget, amelyet be kell fektetnünk egységnyi alga-tömeg előállításához.

Pl. 1kg alga előállításához szükséges külső mechanikai energia-fajlagosra a fenti reaktorkonstrukciók esetén az alábbi értékek adódnak:

Nyitott medence, „raceway” változat:	40-60 MJ/kg alga,
Csőreaktor, horizontális:	60-80 MJ/kg alga,
Csőreaktor, vertikális:	120-140 MJ/kg alga,
Csőreaktor, helikális:	140-160 MJ/kg alga,
„Flat Panel” kivitelek:	10-15 MJ/kg alga,
Subitec fejlesztésű, „Flat Panel”:	8-15 MJ/kg alga.

Mivel 1 kg alga energia tartalma (az összetételétől függően) 20-26 MJ/ kg alga, a fenti adatokból következik, hogy az alga-szuszenzió közvetlen mechanikus mozgatásának

„mechanikai” energia igénye (lapátkerekkel, szivattyúval) többszöröse az algák által megtermelhető „kémiai” energiának. Egyedül az ún. „Flat Panel” konstrukciók alkalmasak energia-többlet termelésre, természetesen a helyi sugárzási viszonyokat figyelembe véve.

Magyarországon az évi átlagos napsugárzási energia kb. $145\text{-}150\text{ W/m}^2$, ebből elméleti felső határként is csak kb. 9 %-ot ($150 \times 0,09 = 13,5\text{ W/m}^2$) képesek az algák hasznosítani. Ha az elméleti érték 50%-át vesszük a gyakorlatban is elérhető hatásfoknak, ez nem több, mint ~4,5 % -a a teljes sugárzásnak, ami a közlemények alapján jól tervezett és üzemeltetett foto-bioreaktorokban is elérhető. Ebből $6,5\text{-}7,0\text{ W/m}^2$ érték lehet az, amit az algák kémiai energiává alakítanak, de 3%-os hatásfok esetén már csak kb. 5 W/m^2 értéket érhetünk el. Ezek az adatok nem tűnnek nagy értékeknek, különösen akkor, ha figyelembe vesszük az 1 m^2 terület működtetéséhez szükséges energia igényt, és a szuszpenzió további feldolgozását.

A fenti teljesítmény sűrűségekkel Magyarországon is megtermelhető biomassza éves mennyisége hektáronként egyébként igen vonzó:

Elméleti, 9%-os hatásfokkal ($13,5\text{ W/m}^2$ mellett):	210 tonna/év/hektár
Gyakorlati 4,5%-os hatásfokkal (7 W/m^2 mellett):	100 tonna/év/hektár
Gyakorlati 3 %-os hatásfokkal (5 W/m^2 mellett):	80 tonna/év/hektár.

A fenti elérhető biomassza hozamokat 30 (m/m)% olajtartalmú alga-biomassza energia tartalmával (20 MJ/kg) becsültem, ami biodízel előállításához már elfogadható, kisebb olaj-és így energia-tartalom esetén magasabb biomassza hozamok adódnak.

[81], [82], [83], [84], [85]

1.7 A mikroalgák minősítése

A biotechnológia területén a különféle mikroorganizmusok szaporodásának mérési módszerei az alábbiak:

Számlálás

- mikroszkópos számlálás (manuális vagy képfeldolgozó szoftver segítségével): főleg mikrobiológiai területen, inoculum készítése során, híg szuszpenziók esetén használatos
 élő + nem élő sejtszám
- lemezelés pl. agaron (CFU = colony forming unit)

- Coulter counter (gépi számlálás)
 - elektromos ellenállásmérés
 - élő + nem élő sejtszámméreteloszlást is ad: 0,5...200 μm
- optikai sűrűség (OD) mérés, optikai elnyelés adott fényhullámhosszon: közvetett mérés, kalibrációs görbék sejtsűrűsége (sejt szám/ dm^3 minta), nedves alga-sejt tömeg tartalomra, száraz alga-sejt tömeg tartalomra,
- Turbiditás
 - élő, nem élő sejtek + egyebek
 - 1 OD (optical density) $\approx 0,5$ g száraz sejt/ dm^3 minta
- Flow citometria: kapillárison áramoltatott szuszpenzió megvilágítása monokromatikus fényel, szóródás detektálása
- Flow-image analízis: modern képalkotási műveletek, a flow citometria továbbfejlesztése
 - élő, nem élő sejtek
 - még nem standardizált
- Egyéb optikai mérés (pl. fluoreszcencia) [86]

Biomassza koncentráció mérése gravimetriás módszerrel

- Nedves tömeg (PCW = packed cell weight): Nedves anyag (nedves alga-sejt tömeg) tartalom közvetlen meghatározása: adott térfogatú szuszpenzió szűrése, vagy centrifugálása, esetleg közbeiktatott mosással (adott térfogat, pH, ionerősség, stb. mosóoldat),
kb. 5 cm^3 sejt/ dm^3 minta ≈ 1 g száraz sejt/ dm^3 minta
- Szárastömeg (DCW = dry cell weight): Száranyag (száraz alga-sejt tömeg) tartalom közvetlen meghatározása: adott térfogatú szuszpenzió szűrése, vagy centrifugálása, esetleg közbeiktatott mosással (adott térfogat, pH, ionerősség, stb. mosóoldat), a nedves anyag tömegállandóságig történő szárítása adott hőmérsékleten.[87]

Az utóbbi kettő főleg az algák tömegtermesztése területén használatos.

Újabban alkalmazott technikák:

Metabolikus aktivitás, táp és termék koncentráció tranziensek

Fermentációs hő (mikrokalorimetria)

Kapacitás, dielektromos állandó, vezetőképesség mérés

Az alábbiakban bemutatok néhány, a kapcsolódó közleményekben ismertett alga-szaporodásra kidolgozott mérési módszert:

- Optikai sűrűség mérése *Chlorella sp.*-re[1]:
 - Hullámhossz: $\lambda = 682 \text{ nm}$,
 - Maximális abszorbancia: $A_{\max.}=1,0$; nagyobb sűrűségű alga-szuszpenziók hígítása $A = 0,1 \dots 1,0$ tartományba.
 - Kalibrációs görbe:
 - Sejtsűrűség: $(106 \text{ sejt} / \text{cm}^3 \text{ minta}) = 14,969 \times A(682 \text{ nm}) - 0,042$
 - Szárazanyag tartalom: $\text{g biomassza} / \text{dm}^3 = 0,206 \times A_{682}$
- Optikai sűrűség mérése *Chlorella vulgaris* algára [88]:
 - Hullámhossz: $\lambda = 500 \text{ nm}$,
 - Kalibrációs görbe:
 - Sejtsűrűség: $(\text{sejt} / \text{cm}^3 \text{ minta}) = 2 \times 107A_{500}$
- Optikai sűrűség mérése különböző algákra:
 - Hullámhossz: $\lambda = 750 \text{ nm}$. [89]
- Nedves anyag (nedves alga-sejt tömeg) tartalom közvetlen meghatározása [90]:
 - Centrifugálás: 1500 g, 25 °C,
 - Mosás: desztillált vízzel,
 - Centrifugálás: 1500 g, 25 °C.
- Szárazanyag tartalom közvetlen meghatározása[91]:
 - Centrifugálás: 1500 g, 25 °C,
 - Mosás: desztillált vízzel,
 - Centrifugálás: 1500 g, 25 °C,
 - Szárítás 60 °C-on tömegállandóságig.
- Szárazanyag tartalom közvetlen meghatározása [92]:
 - Centrifugálás,
 - Mosás: desztillált vízzel,
 - Centrifugálás,
 - Szárítás: 105 °C-on, 16 óra, tömegállandóságig.
- Szárazanyag tartalom közvetlen meghatározása [93]:
 - Centrifugálás, 6000 1/s, 10 min.
 - Szárítás: fagyasztva szárítás, tömegállandóságig.
- Szárazanyag tartalom, hamumentes, közvetlen meghatározása [94]:

- Szűrés: 10 cm³ minta szűrése előzetesen 560 °C-on kiizzított, lemért GF/C Whatman szűrőn,
- Mosás: 10 cm³ desztillált vízzel, pH = 4,
- Szárítás, égetés: 560 °C, 1 óra
- Hűtés: min. 2 óra, szilikagél fölött.
- Tömegmérés hamutartalom meghatározására.

[95], [96], [97], [98],

1.7.1 Algaszuszpenziók jellemzése

Az algaszuszpenziókat elsősorban a bennük lévő kulcskomponens, a megtermelt biomassza koncentrációja alapján minősítjük. Ennek számos módja lehetséges.

A legegyszerűbb megoldás, ha a szuszpenziót fotometriás vizsgálat alá vetem, és egy kitüntetett hullámhosszon meghatározom az optikai sűrűségét, amelyhez egy alkalmas kalibrációs görbe alapján biomassza koncentrációt lehet becsülni. Ez a módszer közelítő koncentrációk meghatározására alkalmas, de kis térfogatú, kis koncentrációjú szuszpenziók vizsgálatára is alkalmas, gyors mérés. [99]

Egy másik elterjedt módszer, hogy 0,45 µm-es szűrőn átszűrve a szárazanyag tartalmat 105 °C-on tömegállandóságig történt szárítás után meghatározzák.

Elterjedt módszer még a szuszpenzió centrifugálással történő sűrítés utáni szárítás alkalmazása.

1.7.2 Alga szárazanyag jellemzése

A száraz algát többféle szempont szerint szokták jellemezni. Az általános jellemzésre az elemi összetétel és a hamutartalom meghatározása szolgál.

A hamutartalom meghatározása már az előző szakaszban szerepelt.

Az elemi összetételt, azaz a négy meghatározó elem mennyiségét elemanalizátor berendezés segítségével szokták meghatározni. Ez a készülék (pl. Carlo Erba CHNS-O 1108) az előkészített mintát magas hőmérsékleten (>900 °C) elégeti, és a képződött termékeket katalitikus úton átalakítja, majd a csatolt gázkromatográf segítségével mennyiségüket megméri. A kapott adatok alapján C, N, H, S tartalmat lehet meghatározni. A módszer azért fontos, mert a kapott nitrogéntartalom alapján irodalmi adatokból meg lehet határozni a minta nyersfehérje tartalmát (algák esetében protein tartalom = nitrogén tartalom x 6,25).

1.7.3 Algaösszetétel vizsgálata extrakcióval

1.7.3.1 Módszerek lipidek kinyerésére mikroalgákból

1.7.3.1.1 Szerves oldószer keverékek alkalmazása

Zsírok, olajok, lipidek kinyerésére biológiai eredetű mintákból (állati, növényi, gombák, baktériumok, algák) általánosan alkalmazott extrakciós eljárás Bligh és Dyer 1959-ben publikált módszere.

Számos módosított, előnyösen továbbfejlesztett változatát közölték és használják rutinszerűen általában analitikai célokra, de gyakran preparatív méretekben is.

A módszer alapgondolata a következő:

A mintához kétkomponensű szerves oldószer-elegyet adnak, az eredeti közleményben metanol-kloroform elegyet. A polárosabb komponense, amely vízzel elegyedik, jól oldja a poláros lipideket, így egyúttal megbontja a sejtmembránban a lipid-protein kötéseket is, permeábilis lesz a sejtmembrán, felveszi a sejt belsejében lévő vizet, így a sejt belsejében lévő neutrális lipidekhez hozzáférhet és oldhatja azokat az oldószer-elegy apoláris komponense (kloroform).

A művelet befejezéseként a szilárd anyagot kiszűrjük, majd vizet adnak a szűrlethez; ennek hatására az előző, a folyadékfázist tekintve, egyfázisú rendszer kétfázisúvá válik; az alsó, kloroformos fázis tartalmazza a kiextrahált lipideket, a felső, vizes-metanolos fázis pedig az extraktum hidrophil részét. A fázisokat szétválasztják, a kloroformos fázist bepárolják, bepárlási maradékként pedig megkapják a kiextrahált lipideket.

Mikroalgák extrahálására továbbfejlesztett változatok az alábbi területekre fókuszálnak:

- az oldószer-elegy lipid felvevő kapacitásának növelése,
- az oldószer-elegy lipid szelektivitásának növelése,
- kevésbé illékony és mérgező oldószer-elegyek, „zöld” oldószerek alkalmazása.

Így számos esetben előnyösebbek lehetnek az alábbi oldószer elegyek:

- hexán - izopropanol
- petroléter - DMSO
- hexán - etanol
- etanol, 1-butanol.

A hexán-alkoholos, vagy tiszta alkoholos, vagy tiszta hexános extrakciók lipid kihozatala általában kisebb, mint a kloroform-metanol eleggyel végzett műveletek lipid

kihozatala, csak a legjobb esetekben éri el az utóbbi kb. 90%-át. A különbségeket, az egyéb paramétereiktől, körülményektől eltekintve, az oldószerek polaritásbeli különbségével is magyarázzák. A kloroform-metanol elegy sok lipid-jellegű komponenst, lipidekben jól oldódó komponenseket is kivon a mintából, ami nem feltétlenül előnyös a következő feldolgozási lépésekben. Az eredeti recepturát, illetve ennek módosított változatait általában analitikai módszerként használják. A fél-preparatív és preparatív extrakciókhoz inkább egykomponensű (hexán, aceton vagy alkohol), esetleg kétkomponensű (hexán és alkohol) oldószert használnak.

Az alábbiakban néhány, mikroalgákra kidolgozott és alkalmazott recepturát mutatok be:

1. módszer

Minta: 203 mg szárított *Chlorella protothecoides*, 2 (m/m)% víz,

Oldószerelegy: 5 ml kloroform+10 ml metanol+4 ml víz (1:2:0,8 V/V

arány)

Hőmérséklet: 25°C

Nyomás: 1 bar

Keverés: folyamatos, enyhe

Idő: 4 óra

Ezután a homogén folyadékfázisból kiszűrjük a biomasszát és a szűrlethez újból kloroformot és vizet adnak, hogy beállítsák a végső kloroform:metanol:víz térfogatarányt (2:2:1,8). Ez az elegy szétválk egy vizes-metanolos felső fázisra és egy kloroformos alsó fázisra. Fázisszétválasztás után a kloroformos fázist bepárolják és a maradékot, a kiextrahált lipideket, tömegállandóságig szárítják 40°C-on vákuumban, majd lemérik a tömegét.

Az eredmények alapján a minta alga 15 (m/m)% (a fenti módszerrel kiextrahálható) lipidet tartalmaz.

2. módszer

Az 1. módszerhez hasonló, de az oldószerek komponenseket (kloroform, metanol, víz) külön-külön egymás után adják az alga mintához.

Minta: 1,0 g szárított *Nanochloropsis* alga

Oldószerek komponensek adagolásának sorrendje:

A: víz---metanol---kloroform: lipid tartalom: 18,5 (m/m)%

B: kloroform ---metanol--- víz: lipid tartalom: 21,0 (m/m)%.

Az eredmények egyrészt azt mutatják, hogy van szerepe az oldószer komponensek külön-külön egymás utáni adagolásának; előnyösebbnek tűnik növekvő polaritásuk szerinti adagolásuk (B változat), másrészt az is valószínűsíthető, hogy víztartalmú alga massa is feldolgozható, bár ebben az esetben a lipid kihozatal kisebb (A változat).

3. módszer

A 2. módszer B változatával megegyező, de az alga mintákat különböző módon előkezelik, sejt-roncsolást, sejt-feltárást végeznek.

Minta: *Nanochloropsis sp.*, *Tetraselmis sp.*; nedves és szárított formában

Előkezelések:

ozmotikus sokk

hangfrekvenciás kezelés

üveggyöngyös őrlés, sejtfeltárási (bead beating)

fagyasztás folyékony nitrogénben és dörzsözősárban finomra

porítás

fagyasztás szárazjégben és dörzsözősárban finomra porítás

lúgos sejtfeltárási; 0,001M---1M nátrium-hidroxid

hidrogén-peroxidos kezelés; 0,3 %-os oldat

detergens vizsgálat; Triton-X, CTAB

Az előkezelések eredményét mikroszkóp alatt, vizuálisan értékelték. Csak a fagyasztás folyékony nitrogénben és dörzsözősárban történő finom porítás tűnt hatékonyak, a sejtek 90-100 %-át szétroncsolta. A *Tetraselmis* alga érzékenyebben reagált a kezelésekre, mint a *Nanochloropsis*.

Az alábbi eredményeket *Nanochloropsis* alga minta extrahálásával kapták és 1,0 g száraz algára vonatkoznak. A szárított alga 2 (m/m)% vizet, a nedves alga 80 (m/m)% vizet tartalmazott. Az alga mintával bevitt vizet az extrakcióhoz felhasznált víz mennyiségéhez hozzászámították. Az előkezelések hatásán túlmenően vizsgálták az extrahálás időtartamának szerepét is.

Előkezelés; (extrahálás ideje),	lipid tartalom, (m/m)%
A: szárított alga (2 óra),.....	14,8
B: szárított alga és őrölt (2 óra),.....	21,3
C: neves alga folyékony N ₂ -ben porított (2 óra),.....	20,0
D: neves alga szárazjégben porított (2 óra),.....	18,7
E: nedves alga kezelés nélkül (2 óra),.....	16,3
F: szárított alga és őrölt (20 óra),.....	21,5

Meglepő, hogy a kezelés nélküli nedves algamassza extrahálásával nagyobb lipid kihozatalt értek el, mint a kezelés nélküli szárított algamintával. A szárított alga őrlése, finomra porítása mindenképpen előnyös a jó lipid kihozatal szempontjából, az extrakció utáni fázis-szétválasztást azonban ez megnehezítheti (szűrés pl. 1,2µm-es GFC Whatman szűrőn).

4. módszer

Kis szárazanyag tartalmú, előkezelt alga szuszpenziók extrahálása.

Több közlemény is foglalkozik az algasejtek előkezelésével, és az előkezeléseknek a lipid kihozatalra, esetleg a kiextrahált lipidek összetételére gyakorolt hatásával.

Az alábbiakban összehasonlító vizsgálatok eredményeit mutatom, be 3 algafajra vonatkozóan [100]. A vizsgált algák: *Botryococcus sp.*, *Chlorella vulgaris*, és *Scenedesmus sp.* Az algák termesztése: 9 literes bioreaktorokban, BG-11 tenyészközegben, 0,3 V/V/min levegőbetáplálás mellett, mesterséges megvilágítással: 150 µmol m⁻² s⁻¹.

Termesztési idők:

Botryococcus sp.: 14 nap

Chlorella vulgaris: 7nap

Scenedesmus sp.: 7nap.

Algaszuszpenzió feldolgozása: centrifugálás, majd a nedves algamassza fagyasztása egy éjszakán át -70 °C-on, végül fagyasztva szárítás vákuumban -70 °C-on.

Algaminta készítése az előkezelésekhez: 0,5 g alga szárazanyag (fagyasztva szárított)
+ 100 ml desztillált vízből készített szuszpenziók.

Előkezelések:

1. hőkezelés, 125°C, 1,5 MPa, 5 min.,
2. üveggyöngyös sejtroncsolás: /bead beating/

üveggyöngy átmérő: 0.1 mm, fordulatszám: 2800 1/min., 5 min

készülék: BioSpec Products Inc., USA.,

3. mikrohullámos kezelés: mikrohullámú sütőben, 2450 MHz, kb.100°C, 5 min.,

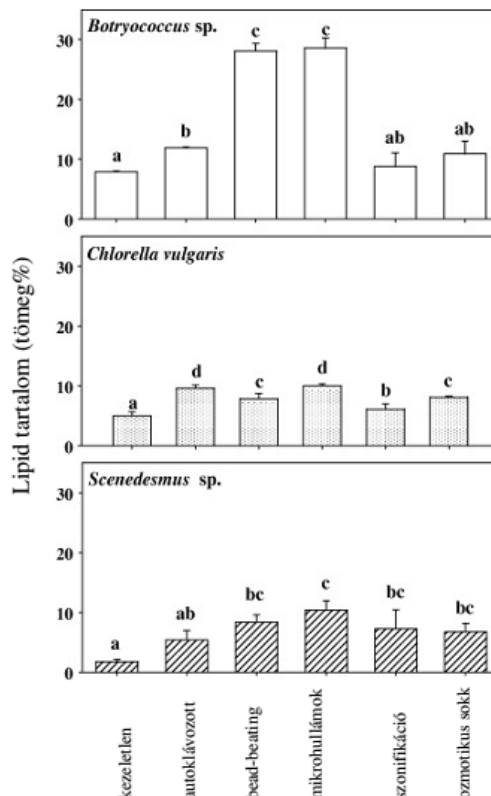
4. (ultra)hangos kezelés: 10 kHz-es rezonancia frekvencián, 5 min kezelés
készülék: sonicator (Sonic and Materials Inc., USA),

5. ozmotikus sokk: 10% NaCl oldat, keverés (vortex), 1 min., majd 48 óráig állni hagyták a szuszpenziót.

Lipid extrakció: módosított Bligh and Dyer-féle (1959) megoldás:

Az előkezelt, ill. az előkezelés nélküli szuszpenziókat (5 g alga szárazanyag + 100 ml víz) 1:1 térfogat arányban összekeverték kloroform-metanol 1:1 térfogatarányban készített oldószerrel. A keveréket választótölcsérbe töltötték, majd 5 percig rázták. A lipid-tartalmú kloroformos fázist elválasztották, az oldószer rotadeszt-en eltávolították, a maradék a nyers lipid termék.

Az eredmények:



11. ábra Lipidek extrakciója különböző algákból, a különböző előkezelések hatása (Lee Y-T. és mtsai)

Az eredményeknél figyelembe kell venni, hogy a kiindulási alga minta $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő fagyasztással, majd fagyasztva szárítással készült. Az extrakció során nagy víztartalmú szuszpenziót (5 g biomassa/100 ml víz) használnak, aminek szintén hatása lehet a lipidkivonás hatékonyságára. A mikrohullámú technika tűnik a leghatékonyabbnak az előkezelésre.

5. módszer

Preparatív léptékű extrakció alga-olaj előállítására [101]

Alga faj: *Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis okulata* tiszta kultúrák; „vad” édesvízi algakeverék: a stabil egyensúlyi alga-populáció: többségében *Chlorella sp.*, de kisebb arányban tartalmaz *Scenedesmus sp.* és *Chlamydomonas sp.* fajokat is

Termesztés: 350 literes szabadtéri foto-bioreaktorokban,

Alga kinyerése, előkészítése:

folyamatos üzemű centrifugával,
15-20 % szárazanyag tartalom, azonnali fagyasztás,
szárítás: vákuum-szárítószekrényben 70°C -on, 500 torr,
tárolás: -150°C -on.

A szárított alga előkészítése az extrakcióhoz:

a darabos alga aprítása darálóban,
az alga dara finom őrlése golyós malomban 5 napig!!!

A finom algapor extrahálása:

Soxhlet-extrakció, hexánnal
24-48 óra (amíg az extraktum szintelen nem lesz.)
az extraktum bepárlása rotadeszten

Termék I: sötét színű hexánban oldható lipid-keverék, „crude oil”

Termék tisztítás: a „crude oil” újra oldása hexánban és szűrés aktívszenes szűrőn

Termék II: átlátszó, világossárga-sárga színű, neutrális lipidek keveréke.

Eredmények:

	Alga szárazanyag lipidtartalma, m/m%		
Lipidek	„vad” alga	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	<i>Nannochloropsis okulata</i>
Totál lipid*	15,8	19,0	18,0
„Crude oil”	8,5	15,7	13,1
Neutrális lipid	4,5	5,6	9

* meghatározása Bligh és Dyer módszerével.

4. táblázat Preparatív extrakciós vizsgálatok eredményei (Krohn B.J. és mtsai)

Az eredmények alapján, a vizsgált alga fajok esetén, a teljes lipid tartalomnak csak a fele ill. a harmada a neutrális lipid frakció.[102], [103], [104], [105], [106], [107], [108], [109], [110], [111]

1.7.3.1.2 Szuperkritikus fluidumok alkalmazása

Szuperkritikus fluidumok alkalmazása mikroalgák lipid tartalmának kivonására viszonylag új technika. Számos anyagot említenek a közlemények szuperkritikus körülmények között alkalmazható extrahálószerként (víz, metanol, etán, bután, pentán, szén-dioxid), azonban a vizsgálatok igen nagy részében szén-dioxidot használnak előnyös tulajdonságai miatt (kritikus hőmérséklete és nyomása: 31,1°C ill. 72,9 bar, kémiaiilag inert, alacsony toxicitású, stb.). Az extrakció nyomásán és hőmérsékletén túl különböző adalékanyagokkal ún. ko-szolvensekkel előnyösen változtatható az oldóképessége, szelektivitása és polaritása. Ehhez a technikához csak szárított alga használható.

1.7.3.1.2.1 *Chlorella* sp. szuperkritikus extrakciója

Mendes és mtsai [112] különböző extrakciós módszerekkel kapott összehasonlító vizsgálatok eredményeit közlik *Chlorella vulgaris* algára vonatkozóan. Az algát „aratás” után ülepitették, centrifugálták, fagyasztva szárították, majd felhasználásig -20 °C-on, nitrogén atmoszférában tárolták.

Az alkalmazott vizsgálatok:

1. Bligh és Dyer módszere:

Minta: 150 mg alga

Oldószerkelet: 5 ml kloroform+10 ml metanol+4 ml víz (1:2:0,8 v/v arány)

Hőmérséklet: 25°C

Nyomás: 1 bar

Keverés: folyamatos, enyhe

Idő: 4 óra

Szűrés; szűrlet + 5 ml kloroform + 4 ml víz

Fázisszétválasztás, kloroformos fázis bepárlása

2. n-hexános extrakció: 3-szor egymás után friss oldószerrel

Minta: 400 mg porított alga

Oldószerkelet: 3 x 50 ml

Hőmérséklet: 25°C

Nyomás: 1 bar

Keverés: folyamatos

Idő: 3 x 24 óra

Szűrés; szűrlet bepárlása

3. acetonos extrakció: 3-szor egymás után friss oldószerrel

Minta: 400 mg porított alga

Oldószerkelet: 3 x 50 ml

Hőmérséklet: 25°C

Nyomás: 1 bar

Keverés: folyamatos

Idő: 3 x 24 óra

Szűrés; szűrlet bepárlása

4. szuperkritikus extrakció

Minta: 5 g alga (a. egész sejtek, b. porított sejtek)

Fluidum: szén-dioxid (ko-szolvensek nélkül vizsgálták)

Vizsgált paraméterek: nyomás/hőmérséklet,

20 MPa/ 40°C, 20 MPa/ 55°C, 35 MPa/ 40°C, 35 MPa/ 55°C

Lipid kihozatalok:

1. Bligh és Dyer módszere: 25,5 m/m%
2. n-hexános extrakció: 18,5 m/m%
3. acetonos extrakció: 16,8 m/m%
4. szuperkritikus extrakció: /legmagasabb érték a 35 MPa/ 55°C paraméterek mellett, kb.150 liter CO₂ felhasználásnál/
 - a. egész alga-sejtek: 5 m/m% (\approx 250 mg lipid)
 - b. porított alga-sejtek: 13,3 m/m% (\approx 660 mg lipid).

1.7.3.1.2.2 Spirulina maxima szuperkritikus extrakciója

Egy másik közleményében Mendes és munkatársai [113] az előzőhöz hasonló extrakciós módszerekkel kapott összehasonlító vizsgálatok eredményeit közlik Spirulina maxima algára vonatkozóan. A szuperkritikus extrakciós vizsgálatok egy részénél etanolt is alkalmaztak ko-szolvensként.

Az algát „aratás” után szűrték, fagyasztva szárították, majd felhasználásig -20°C-on nitrogén atmoszférában tárolták. A vizsgálatokhoz az algát megőrölték és a 0,2 mm alatti szemcsefrakciót használták.

Az alábbi vizsgálatokat végezték:

1. szerves oldószeres extrakció
(500 mg alga, 150 ml oldószer, 250°C, 2 óra, keverés)
 - a) Bligh és Dyer módszer: kloroform, metanol, víz
 - b) Etanol
 - c) Aceton
 - d) Hexán
2. szuperkritikus extrakció (Minta: 5 g alga)
 - a) szén-dioxid, 250 bar/50°C
 - b) szén-dioxid (90 mol%) + etanol (10 mol%), 250 bar/50°C.

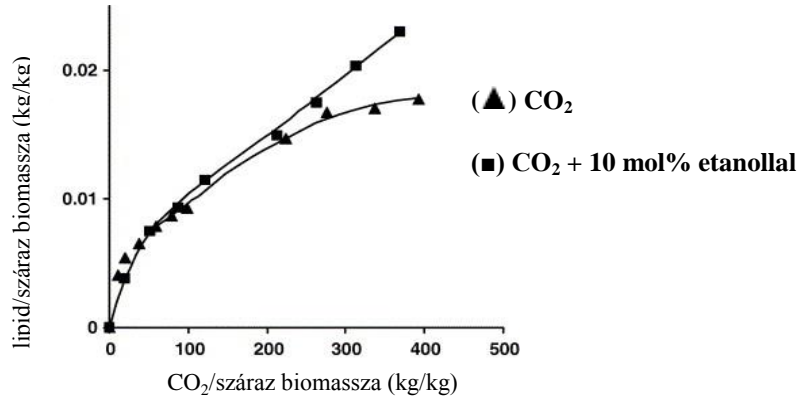
Az eredmények:

oldószer	kiextrahált lipid/alga szárazanyag, m/m%
Bligh és Dyer elegy	7,8
hexán	2,6
etanol	5,7
aceton	4,7
CO ₂ (250 bar/50°C, 1,4 kg CO ₂)	2,5

CO₂+ etanol(250 bar/50°C, 1,3 kg CO₂) 3,1

CO₂+ etanol(250 bar/60°C, 1,2 kg CO₂) 2,2

A szuperkritikus vizsgálatok eredményeiből meghatározták az 1 kg száraz algából kiextrahált lipidek mennyiségét a felhasznált „szuperkritikus fluidum” tömegének függvényében (12. ábra).



12. ábra Lipidek extrakciója *Spirulina maxima* algából a szuperkritikus oldószer függvényében, 250 bar és 50 C értékek mellett, fajlagos értékek.

Az eredmények alapján az adott alga szárazanyag 1 kg-jának extrahálásakor kb. 400 kg szén-dioxid felhasználásával kb. 20-22 g lipidet nyerhetünk ki, így 1kg lipid kinyeréséhez kb. 20 tonna CO₂ szükséges!

1.7.3.1.2.3 *Isochrysis galbana* LB2307 szuperkritikus extrakciója

Szintén összehasonlító vizsgálatok eredményeit mutatják be közleményükben Richter és Mtsai [114].

A vizsgált algát (*Isochrysis galbana* LB2307) 3 napos, foto-bioreaktorban történő szaporítása után „aratták” és egy részét centrifugálással (cream separator), másik részét flokkulálással (80 mg/l vas(III)-klorid adagolás mellett) kezelték, majd liofilizálták.

Extrakciós vizsgálatok az alábbiak:

Szerves oldoszeres Soxhlet extrakció, standard AOCS Ai 3-75 metódus szerint (5 g minta, 90 ml oldószer, 6 óra)

Oldószer: n-hexán

petroléter

kloroform/metanol 1/1 V/V arány

Szuperkritikus extrakció:

szén-dioxid (tisztá)

szén-dioxid +etanol (5 V/V%), / 0,038 etanol móltört/

Paraméterek: nyomás, (bar)/ hőmérséklet, (°C): 300/40, 690/40, 690/50

A vizsgálatok első részében adott ideig sztatikus (10 és 60 min), majd dinamikus extrakciót végeztek 1-2 cm³/min (cseppfolyós szén-dioxid) térfogat áram mellett 240 min-ig.

Az alábbi eredményeket kapták centrifugált mintákra vonatkozóan:

Oldószer és körülmények bar/ °C	lipid kihozatal, g/100g alga szárazanyag
n-hexán	15,84
petroléter	14,48
kloroform/etanol 1/1	27,45
CO ₂ , tiszta, 10 min.sztat., 300/40	9,86
CO ₂ , tiszta, 10 min.sztat., 690/40	10,4
CO ₂ , tiszta, 60 min.sztat., 690/40	9,67
CO ₂ , tiszta, 10 min.sztat., 690/50	9,95
*CO ₂ , +5% etanol, 10 min.sztat., 690/40	9,65
**CO ₂ , +5% etanol, 10 min.sztat., 690/50	11,15

* cseppfolyós oldószer, ** szuperkritikus oldószer

Az alábbi eredményeket kapták flokkulált mintákra vonatkozóan:

Oldószer és körülmények: bar/ °C	lipid kihozatal, g/100g alga szárazanyag
n-hexán	4,93
petroléter	4,70
kloroform/etanol 1/1	15,05
CO ₂ , tiszta, 10 min.sztat., 300/40	4,39
CO ₂ , tiszta, 10 min.sztat., 690/40	3,74
CO ₂ , tiszta, 60 min.sztat., 690/40	3,21
CO ₂ , tiszta, 10 min.sztat., 690/50	4,33
*CO ₂ , +5% etanol, 10 min.sztat., 690/40	1,92
**CO ₂ , +5% etanol, 10 min.sztat., 690/50	5,24

* cseppfolyós oldószer, ** szuperkritikus oldószer

Kecsegtető az algakinyerés módjának hatása, centrifugálás vs. flokkulálás. A flokkulálással kinyert minták esetén a lipid kihozatal drasztikus csökkenését a szerzők a

vas(III)-klorid koaguláló hatásával és ezen keresztül az oldószer által hozzáférhető felület csökkenésével magyarázzák.

1.7.3.1.3 Ipari léptékű extrakciós technikák

1.7.3.1.3.1 Ultrahangos sejtfeltárás

(www.hielscher.com/ultrasonics/algae)

A Hielscher cég (Németország) inline ultrahangos módszert fejlesztett ki / www.hielscher.com/ultrasonics/algae // kifejezetten mikroalgákból történő bio-olaj extrakcióra. A megoldás alapja az, hogy nagyenergiájú ultrahanggal történő besugárzáskor az algaszuszpenzióban „akusztikus kavitáció” lép fel, ami mechanikusan széttroncsolja a sejteket, kedvezően befolyásolva a következő szerves oldószeres (ált. hexános) extrakciós műveletet. Az ultrahangos egység energia igénye az algaszuszpenzió térfogatáramától függ. A legkisebb egység 1 kW teljesítményű és a kapacitása 20-100 liter algaszuszpenzió/óra, míg 6 db 16 kW-os egység 2-10 m³ algaszuszpenzió feldolgozására képes óránként. Az ultrahangos egységek recirkulációs üzemmódban is működtethetők.

1.7.3.1.3.2 Sejtfeltárás elektromágneses térben

(www.originoils.com)

Az OriginOil's „Single-Step Extraction” technikája mikrohullám alkalmazásával oldja meg a sejtfeltárást, a mikrohullámú besugárzás mellett szén-dioxidot is adagolnak az algaszuszpenzióhoz. Állításuk szerint a foto-bioreaktorban megtermelt algaszuszpenzió közvetlenül feldolgozható. A roncsolás után az elegy gravitációs fázisszétválasztóba kerül, felül a lipideket, középen a használt tápoldatot, - amit visszavezetnek a fotobioreaktorba - alul pedig sűrű zagyként a maradék biomasszát kapják. Az energiaigénye az egész rendszernek csak 10%-a az egyéb, jelenleg használatos technológiáknak. A fejlesztők ennél az extrakciós technikánál „nem látnak” méretnövelési határt, ami energetikai alkalmazásra különösen alkalmassá teszi.

1.7.3.1.4 (Alap)kutatási stádiumban levő extrakciós technikák

Oldószeres extrakció emelt hőmérsékleten és nyomáson (50 - 200°C, 3,5 – 20 bar)

(Accelerated solvent extraction (ASE)).

A hőmérséklet emelése gyorsítja az extrakció műveletét és javítja az oldószer-fajlagost. Magasabb hőmérsékleten nagyobb a termékek degradációjának veszélye. Nyomásálló berendezések alkalmazása, tömegáramok mozgatása, fűtés-hűtés energia igénye miatt mikroalgákra, a teljes lipidtartalom extrahálására, nagyipari méretekben nem tűnik gazdaságos eljárásnak. Mind az oldószerek, oldószer elegyek választéka, mind a műveleti paraméterek széles intervalluma lehetőséget biztosít a művelet szelektivitásának változtatására, hangolására. Ez különösen egyedi komponensek izolálásánál előnyös, pl. gyógyszeripari alkalmazásoknál.[124]

Szerves oldószer helyett vizet használ a „nyomás alatti forró vizes extrakciós eljárás” (Pressurized hot water extraction)

Mikroalgákra való alkalmazás esetén az extrakció hőmérsékletével célszerű megközelíteni víz kritikus hőmérsékletének az értékét, a nyomást pedig természetesen olyan nagyra kell választani, hogy a víz folyadék fázis legyen. Mikroalgákra történő alkalmazása az extrém körülmények, berendezések, a nagy energia igény miatt még abban az esetben sem tűnik gazdaságosnak, hogy a nedves algamassza víztelenítése, szárítása elhagyható. [115]

Nagy víztartalmú algaszuszpenziók feldolgozása

A foto-bioreaktorból termékként elvett algaszuszpenzió ált. 1-2 g alga/dm³ koncentrációjú, ez az érték kb. 10-szeresére növelhető ülepítéssel, esetleg flokkulálással elősegítve. Az így kapott sűrű algaszuszpenzió térfogata már csak 1/10-e az eredeti térfogatnak.

Ilyen „elősírtett” szuszpenzió feldolgozására javasolt technika az alábbi:

A szuszpenziót (nagynyomású) homogenizátoron átvezetve víz-lipid-biomassza emulziót-suszpenziót kapunk, ehhez (forró) bio-olajat adunk extraháló szolvensként, majd az így kapott elegyet centrifugában olajra, vízre és biomasszára bontjuk. A műveletben igen nagy mennyiségű (forró) bio-olajra van szükség a nagyon kis mennyiségű alga-lipid kiextrahálásához.[116]

„Cell milking” technika:

Hejazi [117] 2002-ben publikált olyan vizes-szerves fázisból (víz-oktanol) összeállított kétfázisú rendszert, amelyben a vizes fázisban a *Dunaliella salina* alga életképes marad, miközben a szerves fázisba karotinoidok kerülnek át az algasejtéből. Tartamkísérletekről

(milyen hosszú ideig marad életképes az alga) ugyan nem számoltak be, de ígéretes technikának tartják. Trigliceridek, szabad zsírsavak extrakciójához dekánt és dodekánt javasolnak.

Extracelluláris lipidtermelés:

Genetikailag modifikált mikroorganizmusok (recombinant *E. coli*, mikroalgák) képesek extracelluláris lipidtermelésre, a sejtmembránon keresztül a tenyészközegbe juttatják a lipideket, ahonnan ezek folyamatosan kinyerhetők [118]. A „Renewable Petroleum” néven említett eljárás heterotróf mikroorganizmusokat alkalmaz a steril fermentációhoz és glükóz a tápkomponens.

Cseppfolyós dimetil-éter alkalmazása szolvensként

Cseppfolyósított dimetil-étert javasolnak extraháló ágensként japán kutatók [119]. A folyékony dimetil-éter vízzel és olajjal (nagyon jól oldja az olajat) is elegyedek, és így víztartalmú kék-zöld algákból szobahőmérsékleten magas kihozattal képes a lipideket kiextrahálni. Nincs szükség a vizes alga-massza víztelenítésére, szárítására. A dimetil-éter nem képez peroxidokat, nem toxikus, környezetbarát szolvensnek tekinthető a kutatók szerint. A forráspontja 1 bar nyomáson -25°C , az előkísérletekhez cseppfolyósított formában, 20°C -on és 5 bar nyomáson használták.

Alga minta: kék-zöld alga keverék, nagyrészt *Microcystis sp.* aránnyal, természetes környezetből gyűjtött (Hirosawa Pond in Kyoto City). A begyűjtött algaszuszpenziót centrifugálták, eredményül 6,65 g nedves algamasszát kaptak, 91 (m/m)% víztartalommal. A masszát oszlopba töltötték és $10\text{ cm}^3/\text{min}$. térfogatárammal cseppfolyós dimetil-étert áramoltattak rajta keresztül. Az extrakció eredménye 4,12 g víz és 0,24 g lipid („Green Crude Oil”) a dimetil-éter elpárologtatása után. Az analízis szerint a termék móltömege 200-400 Dalton intervallumban van, égéshője 45,6 kJ/g.

Tradicionalis módszerrel is extrahálták az előző algát szárítás után, csak 0,60 (m/m)% extrahált lipidet kaptak, szemben az általuk vizsgált módszerrel kapott $(0,24\text{g lipid}) / (6,65 \times 0,09\text{ g alga szárazanyag}) * 100\text{ (m/m)\%} = 40,1\text{ (m/m)\%}$ értékkel.

A kutatók igen ígéretes módszernek tartják, energetikailag is kedvező, ha a cseppfolyós dimetil-éter elpárologtatásához $\approx 50^{\circ}\text{C}$ -os „hulladék hő” is rendelkezésre áll. A kutatás folytatásaként az előkísérletekre alapozva az extrakció optimalizálására szisztematikus kísérlet-sorozatot és az így körvonalazódó eljárás méretnövelésével kapcsolatos feladatokat említik.

Alga-lipidek közvetlen átészterezése és extrakciója [120]

Abban az esetben, ha az alga-lipidekből végtermékként metil-, vagy etil-észtereket állítanak elő (pl. biodízel, egyedi zsírsavak előállítás, stb.) előnyös lehet a közvetlen átészterezés és extrakció.

Néhány (fél)preparatív receptúrát mutatok be az alábbiakban:

Alga fajok: *Monodus subterraneus*, *Phaeodactylum tricorneratum*.

Algák termesztése: szabadban, zárt foto-bioreaktorban, folyamatos termesztéstechnológiával.

Algaszuszpenzió feldolgozása és előkészítése:

Alga kinyerése: centrifugálással

Az alga-massza egy részét fagyasztoóban tárolták a feldolgozásig, másik részét fagyasztova szárítással készítették elő.

I. Fagyasztova szárított minták feldolgozása:

100 g *Phaeodactylum tricorneratum*, vagy

70 g *Monodus subterraneus*.

+500 ml metanol

+25 ml acetyl-klorid

+500 ml hexán.

A zagyot egy 2 literes, saválló, nyomásálló edénybe töltötték, majd ultrahangos fürdőbe merítették 10 percre. Ezután az edényt forróvízes fürdőbe helyezték, ha a belső nyomás elérte a maximális 3,5 bar értékét, ezen a hőmérsékleten tartották még 30 percig. Ezután a saválló edényt hidegvízes fürdőben környezeti hőmérsékletre hűtötték. A biomassza zagyot szűrőpapírral ellátott Büchner-tölcsérbe öntötték, a saválló edényt 500 ml hexánnal kiöblítették, és ezt is a tölcsérbe öntötték. A szűrletet választótölcsérbe töltötték, és 15 percig állni hagyták. A felső, hexános réteget kinyerték, rotadeszten argon védőgáz alatt 100 ml-re pározták.

Ilyen módon 70 g *Monodus subterraneus* fagyasztova szárított algából 500 ml metanol, 25 ml acetyl-klorid, 1000 ml hexán felhasználásával 6,85 g metil-észtert (különböző zsírsavak metil-észtere) nyertek ki.

II. Nedves alga-massza feldolgozása:

500 g *Phaeodactylum tricorneratum*, víztartalma 82 m/m%.

+1000 ml metanol

+50 ml acetyl-klorid.

A zagyot egy 2 literes, saválló, nyomásálló edénybe töltötték, majd ultrahangos fürdőbe merítették 10 percre. Ezután az edényt forróvízes fürdőbe helyezték, miután a belső nyomás elérte a maximális 2,5 bar értékét, ezen a hőmérsékleten tartották még 120 percig. Ezután a saválló edényt hideg vizes fürdőben környezeti hőmérsékletre hűtötték és a zagyhoz 1000 ml hexánt adtak. 10 percet kevertették, majd egy éjszakára 4°C-os hűtőszekrénybe tették. A következő nap a felső, hexános réteget perisztaltikus pumpával leszívatták a leülepedett szilárd anyagot tartalmazó vizes rétegről, majd óvatosan 500 ml friss hexánt adagoltak a vizes réteg tetejére, 15 perc állás után ezt a hexános réteget is leszívatták. A két hexános frakciót egyesítették, szűrték, majd rotadeszten argon védőgáz alatt 30-35°C-on lepárolták.

Ilyen módon 500 g nedves *Phaeodactylum tricornutum* alga masszából (víztartalma 82 m/m%) 1000 ml metanol, 50 ml acetil-klorid, 1500 ml hexán felhasználásával 8,37 g metil-észtert (különböző zsírsavak metil-észtere) nyertek ki.

Végül felsorolom az alga-biomassza energiacélú hasznosítására kutatott technikákat, eljárásokat, ezeket azonban ebben a szakirodalmi áttekintésben nem részletezem [121].

1. Termokémiai konverziók:

Elgázosítás

Termokémiai cseppfolyósítás

Pirolízis

Égetés

2. Biokémiai konverzió:

Anaerob fermentáció

Alkoholos fermentáció

Fotobiológiai hidrogén termelés

1.7.3.2 Különböző extrakciós technikák jellemzői:

Preparatív (nem analitikai célra) alga-olaj előállításához célszerű az alábbiakat figyelembe venni:

1. Az alga kivonása a tenyészközegből, flokkuláló szerek alkalmazhatóságának vizsgálata, a nedves biomassza tárolása, még élő sejtek, fertőződés veszély; a „leeratott” algaszuszpenziót max. egy nap alatt fel kell dolgozni.

2. Az alga-massza víztartalma:

Víztartalmú algából csak vízzel elegyedő oldószerrel (ez viszont ált. kevésbé oldja a lipideket), ill. ilyen oldószer-komponenst is tartalmazó extrahálószerrel lehet hatékonyan kivonni a lipideket.

Így az algában levő vizet is „extraháljuk”, és az megjelenik a folyadékfázisban, az oldószer visszanyerésnél ez pótlólagos műveletet és energia-felhasználást jelent. A nedves algamassza víztartalma, pl. centrifugálás után, 80-85 m/m%, ennek eltávolítása meglehetősen energia igényes, de mindenképpen célszerű. Az algasejt komponensei, a lipidek is, érzékenyek a szárítás hőmérsékletére és atmoszférájára /oxidáció/.

3. Az alga előkezelése, sejtfeltárás. Nincs univerzális módszer, erősen függ az algafajtól, a sejtfa jellemzőitől, a termesztés körülményeitől is. A méretnövelésre gondolva célszerű a biotechnológiai iparban is használatos technikák közül az adott feladatra hatékony módszert választani.

4. Oldószer kiválasztása. Az oldószer visszaforgatásra is gondolva a legjobb választás egykomponensű (hexán, aceton, etanol) szolvens alkalmazása.

A „tradicionális” követelmények a szolvens kiválasztására:

- legyen szelektív, jó oldóképességű,
- legyen /egyszerűen/ visszaforgatható,
- ne legyen korrozív, tűz- és robbanásveszélyes,
- ne legyen mérgező,
- legyen hozzáférhető és gazdaságos.

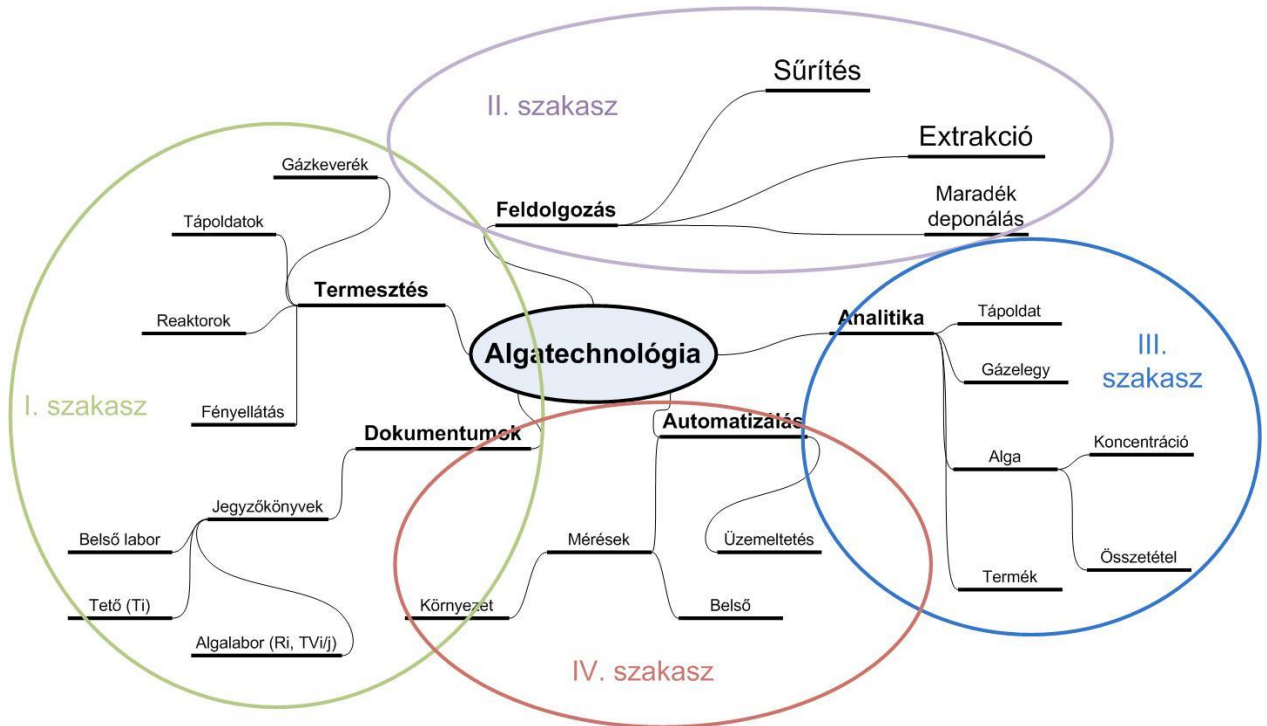
5. Extrakciós technika: A lipid-extrakció területén a Soxhlet extrakciós technika rutinszerűen alkalmazott, újabb fejlesztésű változataik még vonzóbbá teszik alkalmazásukat.

2 Kísérleti berendezések és alkalmazott módszerek

A Pannon Egyetem Vegyipari Műveleti Intézeti Tanszékén algatechnológiai kutató munkába már kezdetben bekapcsolódtam.

Jelen vizsgálatok célja, hogy a laboratóriumban beüzemelt foto-bioreaktorok konstrukciós-, és üzemeltetési tapasztalatai alapján a szabadtéri termesztéshez kialakításra kerüljön egy flat panel foto-bioreaktor rendszer, mely adatokat szolgáltat a pilot modulok tervezéséhez, építéséhez.

A kísérleti munkát a 13. ábra szerinti felosztásban 4 szakaszra osztottam.



13. ábra A fotobioreaktor rendszer üzemeltetésekor felmerülő feladatok

Az első szakasz az alapkísérletek, a reaktor prototípusok és a dokumentációs rendszer kialakítását tartalmazza. Ez a szakasz jellemzően a termesztés kérdéskörével foglalkozik.

A második szakaszban a feldolgozási műveletek szerepelnek. Ide azok a feladatok tartoznak, amelyek a reaktorból kijövő szuszpenziótól az termékek kinyerésén át a maradék-hasznosításig valamely feldolgozási művelet kapcsán felmerülhetnek.

A harmadik szakasz az analitikai feladatokat tartalmazza. Ebben szerepelnek az algaszuszpenzió minősítése, a reaktorok bemeneti-, kimeneti áramainak vizsgálata, az alga- és a termékösszetétel vizsgálatok.

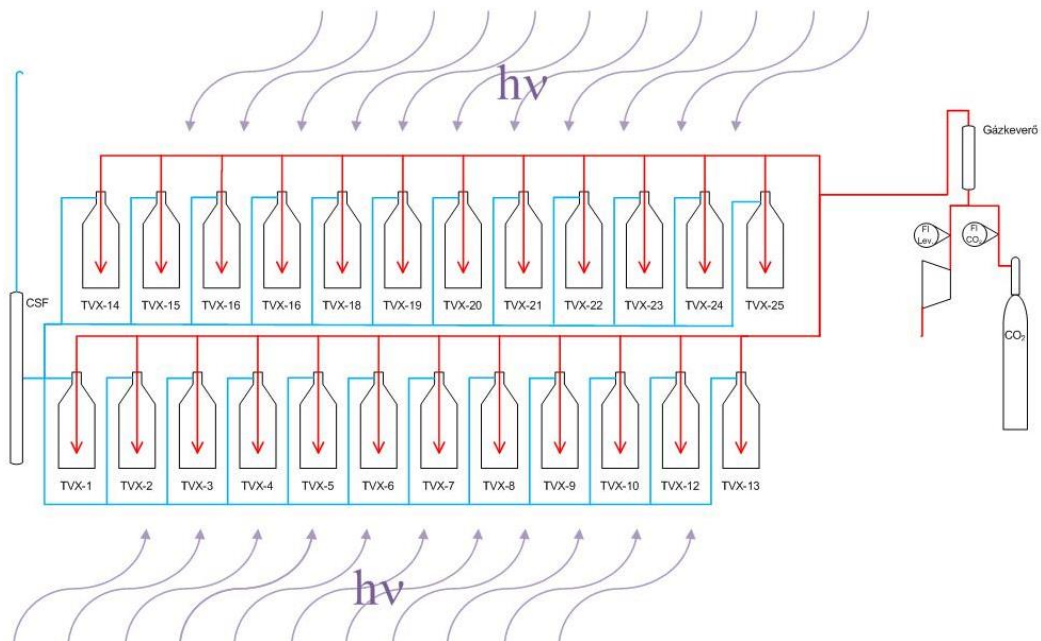
A negyedik szakasz az automatizálhatóság lehetőségeit tartalmazza.

2.1 Kísérleti berendezések

Fontosnak tartom azonban itt kiemelni, hogy az algákat a termesztés során autotróf tartásban szaporítottuk. A Veszprémben telepített reaktor-rendszerek üzemeltetési tapasztalatai alapján további két reaktortípus készült. Ismertetésük az 1. sz. mellékletben található (118. oldal).

2.1.1 Tápoldatvizsgáló rendszer

Ahhoz, hogy a termesztést nagyobb méretű berendezésekben is el tudjuk kezdeni, laboratóriumi screening kísérletekre volt szükség a megfelelő tápoldatösszetétel kialakítása érdekében. A készülékek felépítésében döntő volt, hogy minél nagyobb mintaszámot lehessen párhuzamosan együtt vizsgálni, de az installáció költsége is minél kisebb legyen. Ezért a TV jelű tápoldatvizsgáló reaktoraink falát használt PET palackból alakítottuk ki. Ennek köszönhetően nagyobb eszmei értéket képviselt a rendszer, hiszen a reaktor újrahasznosított anyagból készült. A fényforrások olyan armatúrák, amelyekben Sylvania Aquastar fénycsövet használtam.



14. ábra A tápoldatvizsgáló (TV) rendszer vázlata

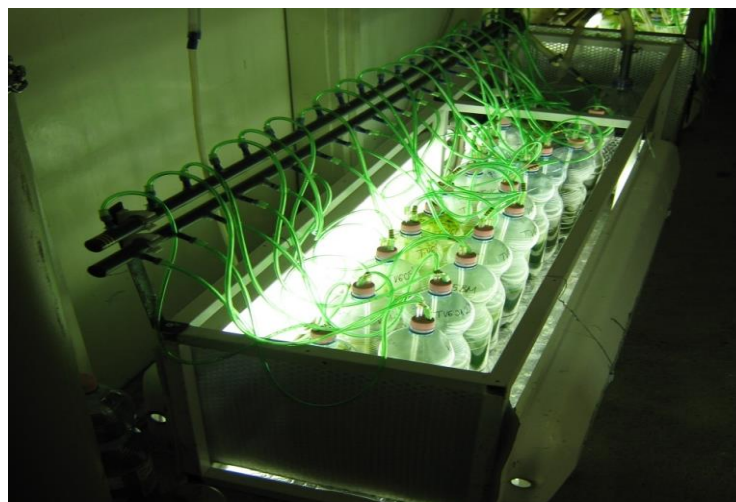
Az alábbiakban összefoglalom a berendezés főbb jellemzőit.

- Kislaboratóriumi nyitott berendezés, mesterséges megvilágítással.
- Kis térfogatú (max. 1,8 dm³) és nagy számú (max. 25 db) alga-szuspenzió minta vizsgálatára alkalmas.

- Megvilágítás: 2 db 3x40 W-os fénycsőarmatúra, max. 6 db fénycső.
- Fényintenzitás: $\approx 50\text{-}300 \mu\text{Einstein}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ PAR sugárzás.
- Fény --- sötét szakasz: tetszőlegesen beállítható.
- Hőmérséklet: laborhőmérséklet, átl. 20 - 25 °C.
- Gázellátás: folyamatos, szűrt, kondicionált (gázmosóban kezelt) levegőáram, változtatható teljesítményű membránkompresszorral.
- A levegő bevezetése az egyes palackok aljára üveg kapillárisok segítségével történik.
- Gázterhelés: tetszőlegesen beállítható.
általában $\approx 10\text{-}20 \text{ dm}^3$ levegő/h/ reaktor, $\approx 0,1 \text{ v/v/min}$ fajlagos.
- Tápoldat: tetszőleges, általában BG-11, (a szakirodalmi ajánlások alapján).

A palackokból távozó gázáramok közös kivezető csőben jutnak a szabadba, így ebben a berendezésben CO₂-dal dúsított levegőt is használhatunk a vizsgálatokhoz. A zárt gázrendszer megakadályozza a szén-dioxid légtérbeli dúsulását, amit Dräger Xam-7000 gázelemző készülékkel rendszeresen ellenőriztem. Ezzel biztonságos munkakörnyezetet alakítottam ki a palackos CO₂ zárt téri (laboratóriumi) alkalmazásához.

A kivezető csövek egy cseppfogóba kerültek bekötésre, hogy a szabadtéri kivezető csőszakaszban ne halmozódhasson fel kondenzátum, ami téli időszakban a jégdugó kialakulásához is vezethetne.



15. ábra A zárt kislaboratóriumi (TV) berendezés fényképe

2.1.2 Extrakciós vizsgálatok

Az algákat extrakciós tulajdonságaik alapján is minősítik. Ezzel információt kaphatunk arról, hogy a kinyerni kívánt komponenst az milyen mennyiségben tartalmazza.

Lipidtartalom meghatározására számos módszer elterjedt. Ezek közül viszont három olyan módszer ismeretes, amelyet referenciaként használnak.

Az alga sejtek a belsejükben nagyrészt triglicerideket, szabad zsírsavakat (neutrális lipidek), míg a sejtmembránban proteinekhez kapcsolódva poláris lipideket tartalmaznak. A művelet eredményeként - az extrakció szelektivitásától függő mértékben - az extrahált lipid frakcióba kerül a zsírolható pigmentek egy része is.

Neutrális lipidek mennyiségének meghatározására n-hexános Soxhlet extrakciót szoktak használni. A hexán-alkoholos, vagy tiszta alkoholos, vagy tiszta hexános extrakciók lipid kihozatala általában kisebb, mint a kloroform-metanol eleggyel végzett műveletek lipid kihozatala. Csak a legjobb esetekben érik el az utóbbi kb. 90%-át. A különbségeket, az egyéb paraméterektől, körülményektől eltekintve, az oldószerek polaritásbeli különbségével is magyarázzák. A kloroform-metanol elegy sok lipid-jellegű komponenst, valamint lipidekben jól oldódó komponenseket is kivon a mintából, ami nem feltétlenül előnyös a további feldolgozási lépésekben.

Állati, növényi eredetű minták, gombák esetében egyaránt általánosan alkalmazott extrakciós eljárás az, amit Bligh és Dyer 1959-ben publikált. Az eredeti recepturát, illetve ennek módosított változatait általában analitikai módszerként használják. A fél-preparatív, preparatív extrakciókhoz inkább egykomponensű (hexán, aceton, alkohol), esetleg kétkomponensű (hexán-alkohol) oldószert használnak.

A Bligh-Dyer féle módszer alapgondolata a következő:

A mintához kétkomponensű szerves oldószerkeletet adnak, az eredeti közleményben metanol-kloroform elegyet. A polárisabb komponense, amely vízzel elegyedik, jól oldja a poláris lipideket, így egyúttal megbontja a sejtmembrán lipid-protein kötéseket is, permeábilis lesz a sejtmembrán, felveszi a sejt belsejében lévő vizet, így a sejt belsejében lévő neutrális lipidekhez hozzáférhet és oldhatja azokat az oldószerkelet poláris komponense (kloroform).

A művelet befejezéseként a szilárd anyagot kiszűrjük, majd vizet adunk a szűrlethez, ennek hatására az előző, homogén folyadékfázis kétfázisúvá válik; az alsó kloroformos fázis tartalmazza a kiextrahált lipideket, a felső vizes-metanolos fázis pedig az

extraktum hidrofil részét. A fázisokat szétválasztják, a kloroformos fázist bepárolják, bepárlási maradékként pedig megkapják a kiextrahált lipideket.

A mikroalgák extrahálására továbbfejlesztett változatok az alábbi területekre fókuszálnak:

- az oldószerkelet lipid felvevő kapacitásának növelése
- az oldószerkelet lipid szelektivitásának növelése
- az illékony oldószerkelet helyett „zöld” oldószerkelet alkalmazása.

Az extrakciót a bomlási folyamatok megelőzésére, az autooxidáció és a telítetlen kötések károsodásának megakadályozására lehetőleg gyorsan és rendkívül kíméletes körülmények között kell végezni. Ezért pl. a kimerítő Soxhlet-eljárást nem ajánlják. Rendkívül fontos az oldószerkelet (extraháló szerkelet) tisztasága (frissen desztillált, peroxidmentes, N₂ átáramoltatással O₂ mentesített, stb.), a kapcsolódó műveleteket és kezeléseket (bepárlás, beszárítás, tárolás, stb.) is ajánlatos N₂ atmoszférában végezni. A lipidek teljes beszárítását lehetőleg kerülni kell. A minta előkészítésére is különös figyelmet kell szentelni, mert víz vagy egyéb oldószer maradványok befolyásolhatják a koncentráció viszonyok alakulását a rendszerben.

[122], [123], [124], [125], [126], [127], [128], [129], [130], [131]

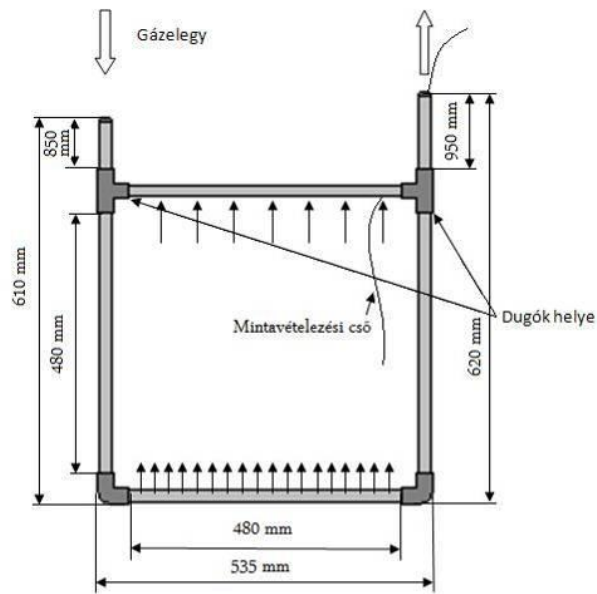
2.1.3 Laboratóriumi foto-bioreaktor rendszer mesterséges megvilágítással

2.1.3.1 Belső keret

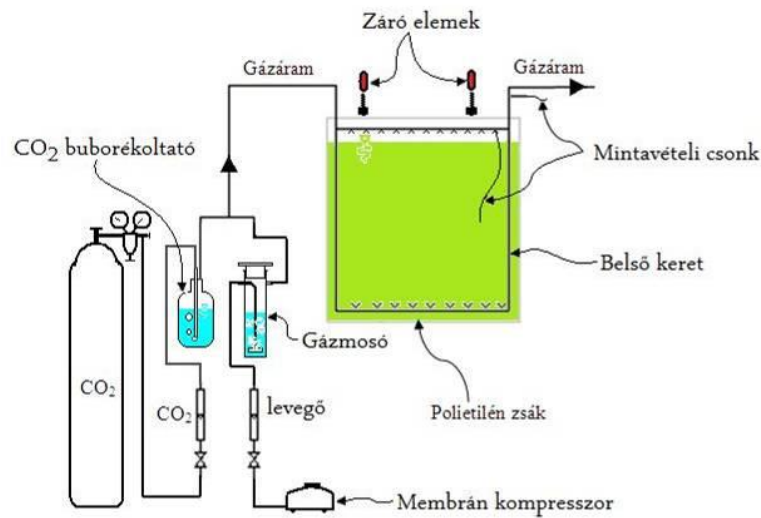
A reaktorok fala 550x1150 mm nagyságú, 0,1 µm vastagságú, víztiszta polietilén zsák, amely egy PVC-csővekből és összekötő idomokból készült keretre van ráhúzva. Ez a belső csőkeret (16. ábra) szolgál a gázáramok be- és elvezetésére. A mintavételezés és a tápanyagmozgatás a keretbe vezetett csőveken keresztül történik. (16. ábra).

A gázkeverék bevezetése a keret alsó vízszintes szakaszában, egymástól 5 mm-re lévő 1,5 mm átmérőjű furatokon keresztül történik. (16. ábra) A gázkivezetésre szolgáló furatok 3,2 mm átmérőjűek és a keret felső, vízszintes szakaszán egymástól 30 mm-re találhatók. Az egyik ilyen szélső furaton keresztül behúzott tefloncsövön keresztül fecskendő segítségével vehetünk mintát az algaszuszpenzióból.

A tápanyag injektálásra szolgáló teflon csövön nem tapadnak meg az algák, így elkerülhetők az üzem közbeni dugulások.



16. ábra Belső csőkeret

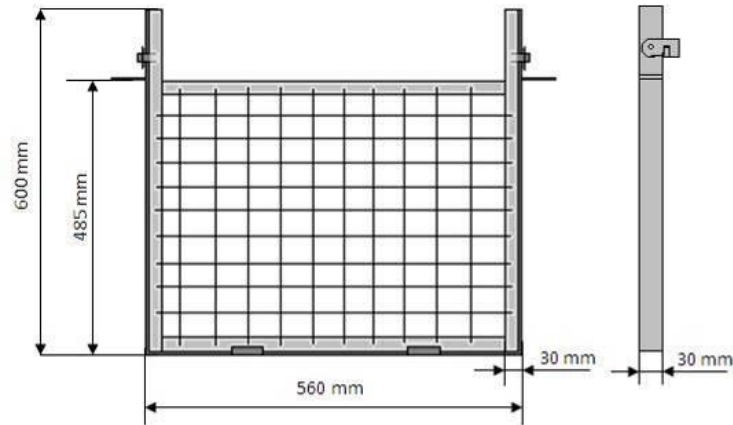


17. ábra Egy panel-reaktor vázlatja, kapcsolatai az ellátó rendszerrel

2.1.3.2 Külső keret

Az előzőekben leírt polietilén zsák és a benne lévő belső keret egy, a zsák méreteihez illeszkedő, külső fémkeretbe épült be. Ez a keret megakadályozza a zsák radiális kiterjedését, és egy stabil, 5 cm vastag panel kialakítását teszi lehetővé. (18. ábra)

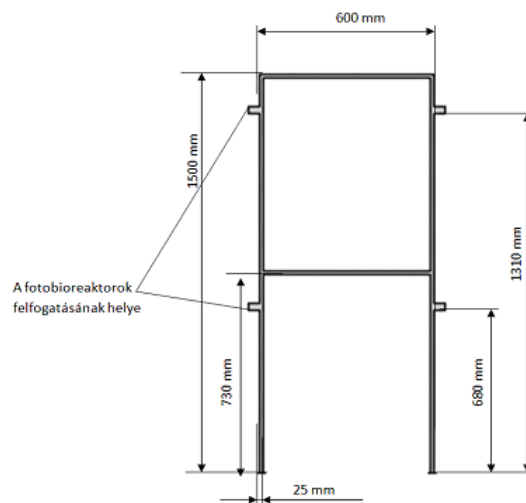
A keret rácsai között a reaktorfal nyúlásából adódóan 8-15 mm gömbölyded kitérkedések vannak. Ezeken a felületeken normál üzemmenet közben üledékképződés nem tapasztalható.



18. ábra Külső keret

2.1.3.3 Reaktorállvány

A reaktorpaneleket egy kétszintes 4x4x2 mm-es zártszelvényből készült állványzat tartja (19. ábra), ami a négyzetes kialakításának köszönhetően, mind a felső, mind pedig az alsó szintjén 4-4 db reaktor elhelyezését teszi lehetővé. A 4 reaktorból 2-2 szemben áll egymással, így az általuk közrezárt térben lehetőség van fényforrás elhelyezésére, amely mind a négy reaktort azonosan sugározza be.



19. ábra Reaktorállvány

2.1.3.4 A laboratóriumi reaktorrendszer leírása

A előzőekben leírt elemeket összeépítve kapjuk meg a reaktorrendszert, amelyhez az alábbi elemek tartoznak:

- 1db 50 kg töltetű CO₂ palack
- 2 db rotaméter

- 2 db, 4 nyomócsonkkal ellátott elektronikusan szabályozható membránkompresszor
- 8 db gázmosó palack
- 8 db gáznedvesítő palack (CO₂)
- 8 db Y-csatlakozó (gázáramok keveréséhez)
- 8 db külső illetve belső keret
- 1 db reaktor állvány
- rugalmas PVC gázkivezető cső
- időkapcsoló a világítás programozásához
- kompakt izzók, a panelek által közbezárt térben elhelyezett fényforrások
- 4 db fénycső-armatúra



20. ábra Reaktoregység és külső fényforrásai, megvilágítása

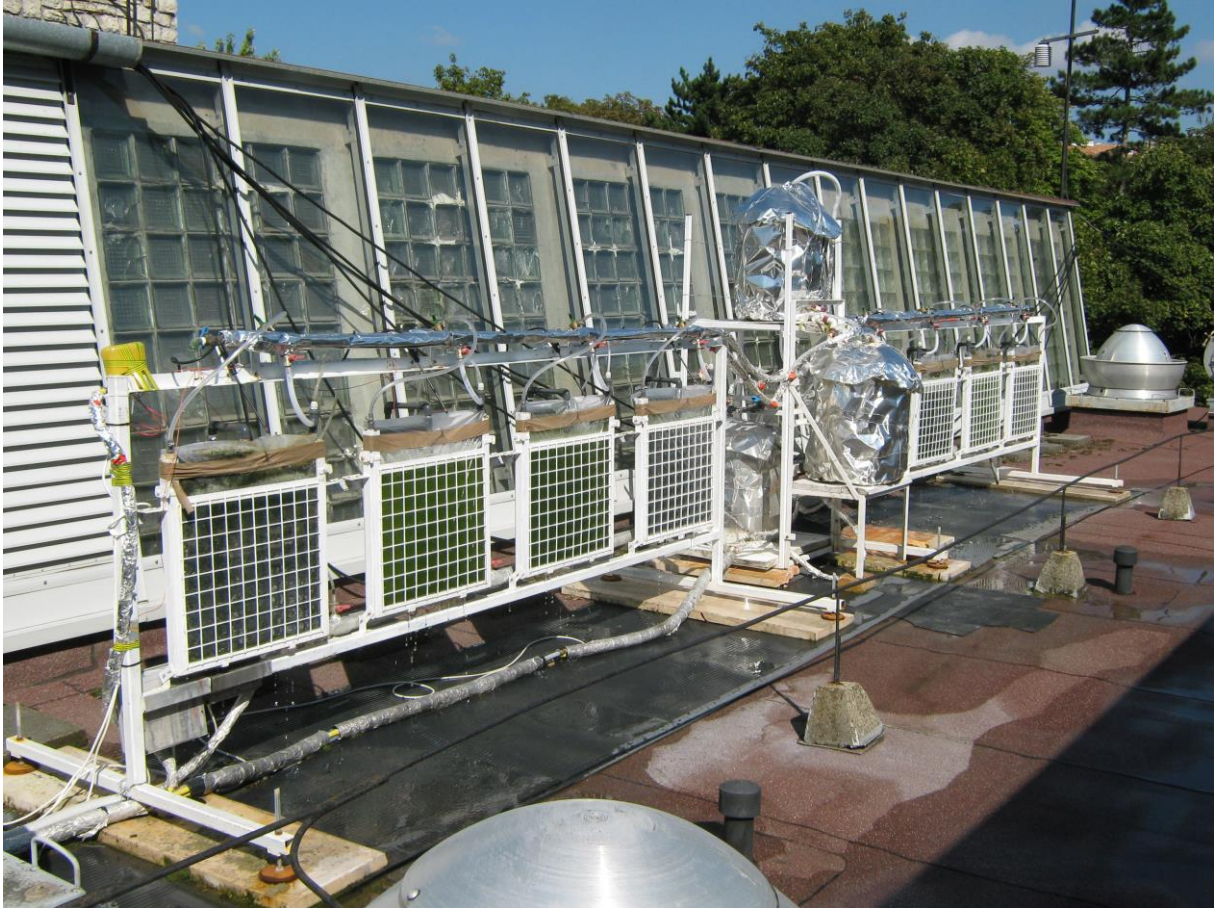
2.1.4 Nagylaboratóriumi kültéri foto-bioreaktor rendszer

A szabadtéri foto-bioreaktor rendszer tervezésekor az alábbi kiindulási követelményeket vettem figyelembe:

1. A reaktortér geometriája a laboratóriumi berendezéstől ne térjen el (flat plate)
2. A reaktorok fényabszorpciós felületeit déli irányba kell tájolni, hiszen ekkor biztosítható a legkisebb önárnyékolás.
3. Az állvány megfelelő stabilitással rendelkezzen, figyelembe véve extrém időjárási viszonyokat is.
4. A kiszolgáló szerkezeteket a kerethez kell rögzíteni.
5. Az egész rendszert úgy kell megtervezni, hogy az a telepítés helyi szabályainak is megfeleljen.

A fenti irányelvek alapján, úgy kell megtervezni az állványt, hogy a külső- és a belső keret módosítások nélkül rászerezhető legyen. Ennek egyrészt az az előnye, hogy a kísérleti geometria azonos a laboratóriumival, így a mérési adatokat konstrukciós hatás nem terheli. Előnyös, hogy a reaktor fala polietilén zsákból van, mert a termesztést, a kultúraváltást és főként az üzemzavar-kezelést megkönnyíti.

Elkészítettem a rendszer műszerezési tervét, mely tartalmazza a teljes automatizáltsághoz elengedhetetlen elemeket is (5. sz. melléklet, 50. ábra).



21. ábra Nagylaboratóriumi foto-bioreaktor, szabadba telepített, természetes megvilágítással

A mellékletben szereplő tervrajz és a műszerezési terv alapján elkészítettem és telepítettem a két modulból álló foto-bioreaktor-rendszert a Pannon Egyetem Vegyipari Műveleti Intézeti Tanszék műveleti csarnokának tetejére (21. ábra).

A gázellátást egy laboratóriumi membránkompresszor biztosítja. A tápoldat reaktorba juttatásához egy házivízmű szivattyút használtam. E két gép a reaktor szintje alatti csarnokban kapott helyet. Itt helyeztem el a gázkeverő rendszert is, amellyel a betáplált gáz megfelelő szén-dioxid tartalma biztosítható.

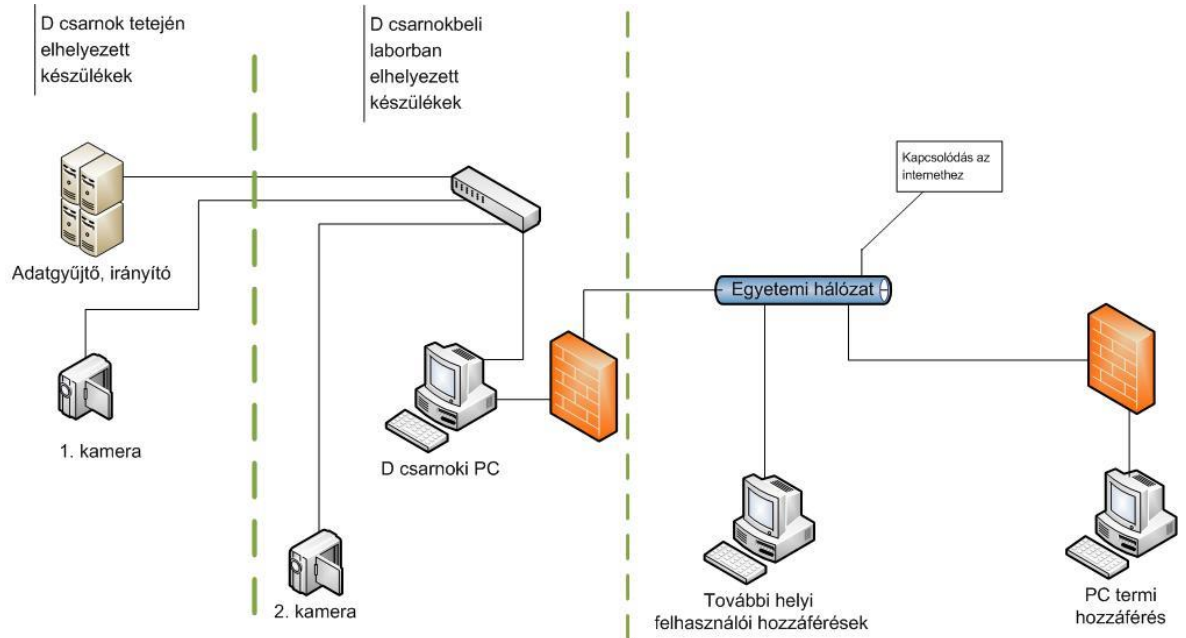
A reaktorállványra felszereltem a gáz- és a tápoldat-ellátó valamint a leeresztő csővezetéseket.

A reaktorokhoz tartozik még két hőszigetelt táptartály és egy gáznedvesítő, ezek a tetőn kaptak helyet.

A reaktorok hűtését kívülről, víz permetezéssel oldottam meg, amelyet egy *HAGA KD48D2* típusú szabályzó kapcsol be, ha a reaktortér hőmérséklete a 25°C-ot eléri. A tervezés során a külső hűtést részesítettem előnyben, mert a kivitelezése és karbantartása egyszerűbb, mint egy reaktortérbe épített hőcserélőé, ami az áramlási képet is megzavarja.

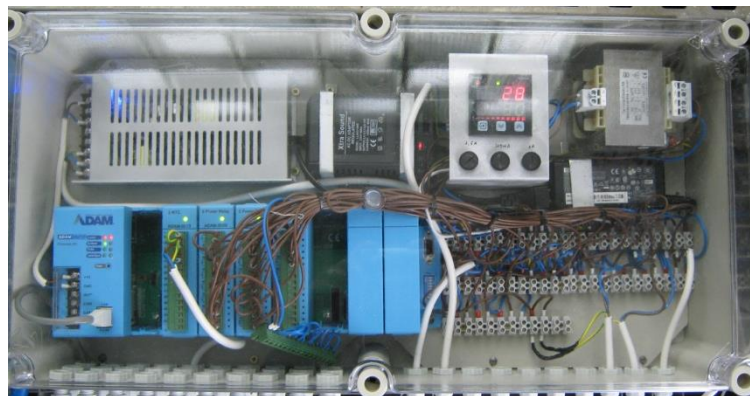
A reaktorállványokat a telepítés előtt felületkezelttem, hogy a korróziót elkerüljem és azért, hogy a fémfelületek albedóját megnöveljem. A berendezés nagy terpesztésű talpakon áll, részlegesen szélvédett helyre telepítettem, hogy a borulás valószínűségét ezzel is csökkentsem.

A reaktorokat kamerarendszer segítségével 24 órás felügyelet alatt lehet tartani.



22. ábra A reaktorok megfigyelő- és adatgyűjtő rendszerének vázlata

A reaktoroktól 3,5 m-re lévő kiszolgáló helyiségbe egy *ADAM 5000/tcp* mérő- és irányító modullal egyaránt bővíthető berendezést telepítettem. A reaktorok hőmérsékletét ezzel a berendezéssel regisztrálni lehet. E készülék mellett kapott helyet a *HAGA KD48D2* hőmérséklet szabályzó is (23. ábra).



23. ábra A szabadtéri foto-bioreaktorokhoz telepített mérésadatgyűjtő és szabályzó rendszer

2.2 A vizsgált algafajok

2.2.1 *Chlorella vulgaris* Beij. (0-jelű törzs)

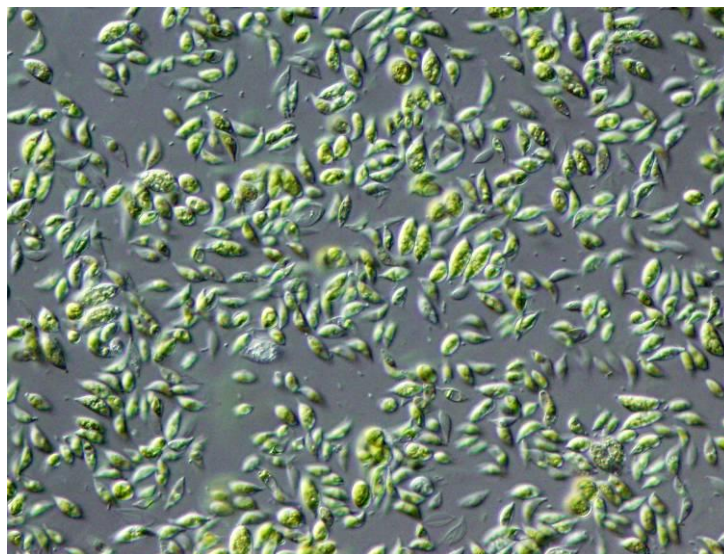
4-9 μm átmérőjű gömb alakú sejtek aggregátumokat képeznek a termesztés során (24. ábra). Az aggregátum képződés előnyt jelenthet a sűrítéskor, ugyanakkor ez a tulajdonság hátrányos a szaporítási ciklus közepén, mert a sejtek idő előtti kiülepedését okozhatja a termesztő rendszerben. Ez utóbbi hatást folyamatos, intenzív keveréssel mérsékelni lehet.



24. ábra *Chlorella vulgaris* mikroszkópi képe (0-jelű törzs)

2.2.2 *Scenedesmus acutus* Meyen (31-jelű törzs)

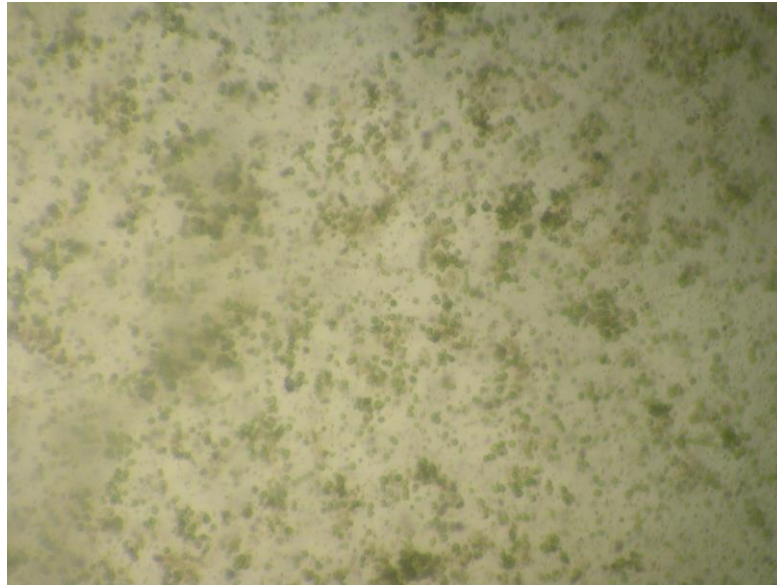
A sejtek hossza 14 μm , átmérője 5 μm körüli, felszíni vizeinkben elterjedt és gyakori szerkezet. A természetben a 4 sejtű aggregátumok a tipikusak, a gyorsan szaporodó tenyészetben az egy-két sejtű formák voltak a jellemzőek (25. ábra).



25. ábra *Scenedesmus acutus* (31-jelű törzs) mikroszkópi képe

2.2.3 Bioplasma

A bioplasma és a RaMbO algakultúrát a Péti Nitrogénművek bocsátotta rendelkezésre. A mérések alapján gyorsan szaporodik. A szuszpenzió a *Chlorella vulgaris*-hoz hasonló gömb alakú sejtekből áll. Lézeres szemcseméret analízis alapján a sejtek közepes szemcsemérete 5 μm . (26. ábra)



26. ábra A bioplasma mikroszkópi képe

2.3 A termesztési kísérletekhez felhasznált alap tápoldat

Az algák termesztésére gyakran és eléggé általánosan használható termeszítő közeg a *BG-11* tápoldat, melynek összetételét úgy kísérletezték ki, hogy alkalmas legyen kékalgák vizsgálatára (blue-green algae).

Makro-elemek:

Komponens	Alap oldat [g/l H ₂ O]	Használt mennyiség	Tápoldat végső koncentrációja [mg/l]
Fe-citrát oldat		1 ml	
Citromsav	6	1 ml	6
Vas ammónium citrát	6	1 ml	6
NaNO ₃	-	1.5 g	1,5
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	40	1 ml	40
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75	1 ml	75
CaCl ₂ ·2H ₂ O	36	1 ml	36
Na ₂ CO ₃	20	1 ml	20
MgNa ₂ EDTA·H ₂ O	1.0	1 ml	1
+ Nyomelemek		1 ml	lásd. 6. táblázat

5. táblázat A BG-11 tápoldat összetevői (makroelemek)

A pontos adagolás érdekében a legtöbb komponenst törzsoldatból célszerű kb. 700-800 ml desztillált vízhez adagolni, majd amint az összes komponens bemérésre került, az 1 dm³-es normállombikot desztillált vízzel jelre kell tölteni. A kész oldatot CO₂-vel telítik, ekkor a tenyészközeg pH értéke 7,4. A nyomelem komponenseinek végső koncentrációját a koncentrátum tenyészközegbeli 1000x-es hígításával állítjuk be.

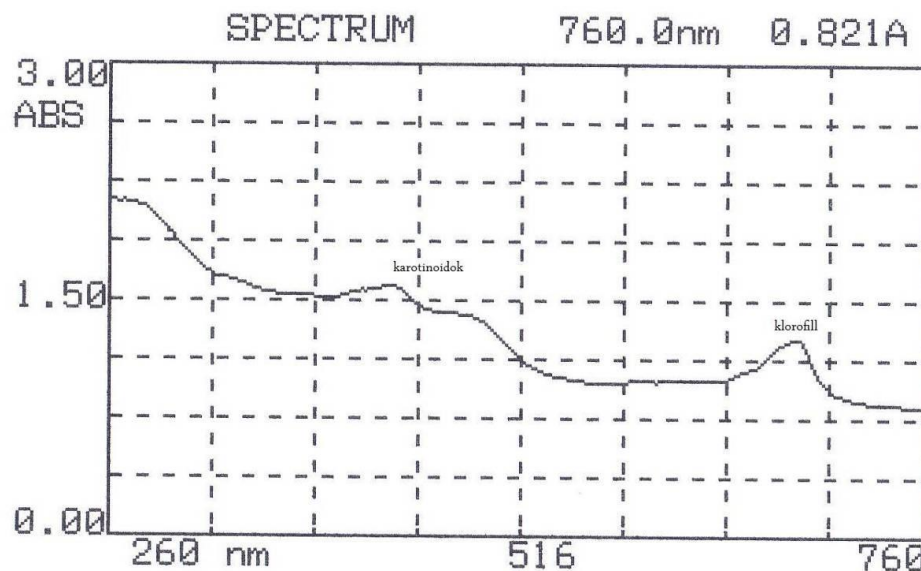
Komponens	Alap oldat [g/l H ₂ O]	Tápoldat végső koncentrációja [mg/l]
H ₃ BO ₃	2,86	2,86
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81	1,81
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,22	0,22
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,079	0,079
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,391	0,391
Co(NO ₃) ₃ ·6H ₂ O	0,0494	0,0494

6. táblázat Mikro-elem koncentrátum BG-11 tápoldathoz

2.4 Alkalmazott vizsgálati módszerek

A reaktor működése közben rendszeres időközönként (homogén, 20 ml) mintát veszünk. Felvesszük az algaszuszpenzió UV-VIS spektrumát (260 - 760 nm tartományban) és megmérjük a pH-t. Emellett naponta legalább egy alkalommal feljegyezzük a hőmérséklet értékeket. Jellegzetes, algaszuszpenzióról készített spektrum az alábbi ábrán látható (27. ábra). A spektrum információt nyújt az alga koncentrációjáról, valamint teljes spektrum felvétele esetén lehetőség nyílik bizonyos minőségi változások követésére is.

A 260 - 516 nm tartományban lévő csúcs a karotinoidok, az 516 és 760 nm közötti csúcs pedig a klorofill abszorbanciájára jellemző. Minőségi változásra következtethetünk, ha a spektrum „bal” oldalán, a karotinoidok tartományában mérhető abszorbancia emelkedik, miközben a spektrum jobb oldala, a klorofill tartomány nem változik, esetleg laposodik.



27. ábra Az algatörzsre jellemző fotoabszorbancia spektrum

2.4.1 Szaporodás követése fotometriás módszerrel

A szaporodás követéséhez megvizsgáltam, hogy milyen jellegzetes csúcsok jelennek meg a vizsgálandó algafajnál, majd ezeken a hullámhosszakon napi egy mintavétellel szaporodási görbét vettem fel (ld. melléklet: 51. ábra TV6 M31 B5M különböző hullámhosszakon mért abszorbanciája). A szaporodási index meghatározásához a 681,5 nm hullámhosszat választottam, mert az egy a jellegzetes klorofill csúcsok közül és a többi kitüntetett hullámhosszhoz képest a görbe lefutásában nem volt érdemi különbség.

A szakirodalomban egyébként sincs egységes módszer, többségében a zöldalgákból álló szuszpenzió optikai sűrűségét 680 nm közeli hullámhosszon szokták mérni (vö. 1.7.1)

2.4.1.1 Szaporodási index

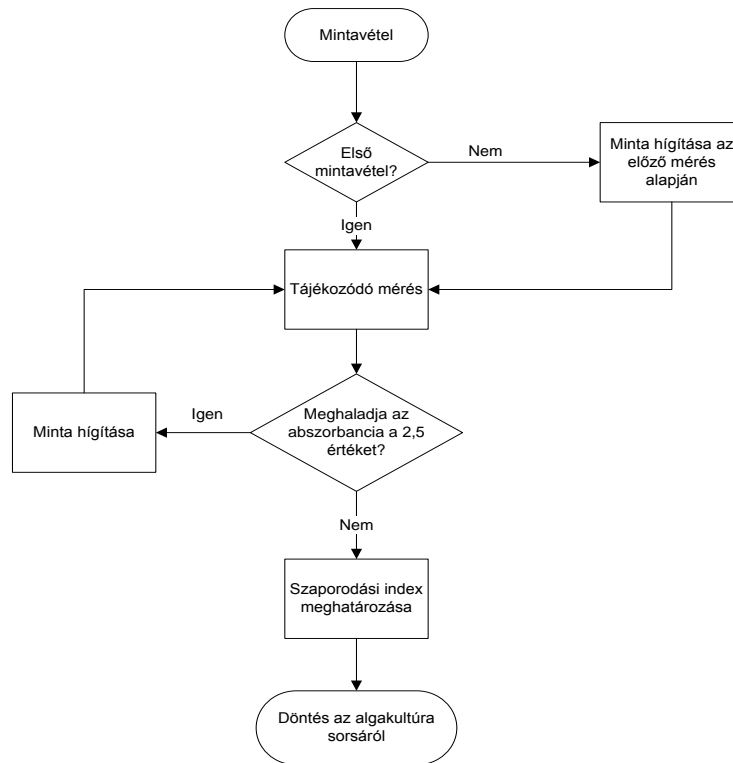
Ha a biomassa koncentrációja olyan nagy, hogy az abszorbancia értéke a 2,5-et meghaladja, hígításra van szükség. Olyan mértékű hígítást kell végezni, hogy a mérhető abszorbancia értéke az 1,5-2,5 tartományba essék. Ezt követően a hígítás (H) és az abszorbancia ($A_{681,5nm}$) szorzataként a szaporodási index (PI) számítható.

A szaporodás pillanatnyi előrehaladását (az így mért abszorbancia és a hígítás szorzataként számítható) szaporodási indexszel jellemeztem. Fontos megjegyezni, hogy a szaporodási indexet az algakultúra szaporodási ciklusainak azonosítására, valamint a biomassa koncentráció nagyságrendi becslésére használtam. Az index azonos feltételek mellett indított kultúrák összehasonlítására alkalmas, valamint annak az előrejelzésére, hogy várható-e még további szaporodás

A méréshez szükség van egy olyan fotométerre, amely 681,5 ($\pm 0,5$) nm-en képes fényabszorbanciát mérni. A mintavételhez 20 cm³ térfogatú mintavevő edényt használtam, hogyha szükséges, ismétlésekre is lehetőség legyen.

A szaporodási index értékelése során figyelembe kell venni a pH alakulását is. A szuszpenzió szaporodási indexe naponta bizonyos ingadozást mutathat a környezeti hatások változásának függvényében. Egy megfelelő kondícióban lévő algakultúra 7,5 és 8,5 közötti pH-jú. Az ettől való eltérés valamilyen nem szokványos esemény előjele. Tipikus eset például, ha a szaporodási index és a pH egyaránt csökken, ami arra utal, hogy a reaktorban nem kívánt folyamatok indultak be. A mérés során követett protokoll algoritmusát az alábbi, 28. ábrán vázoltam fel.

$$PI = H * A_{681,5nm}$$



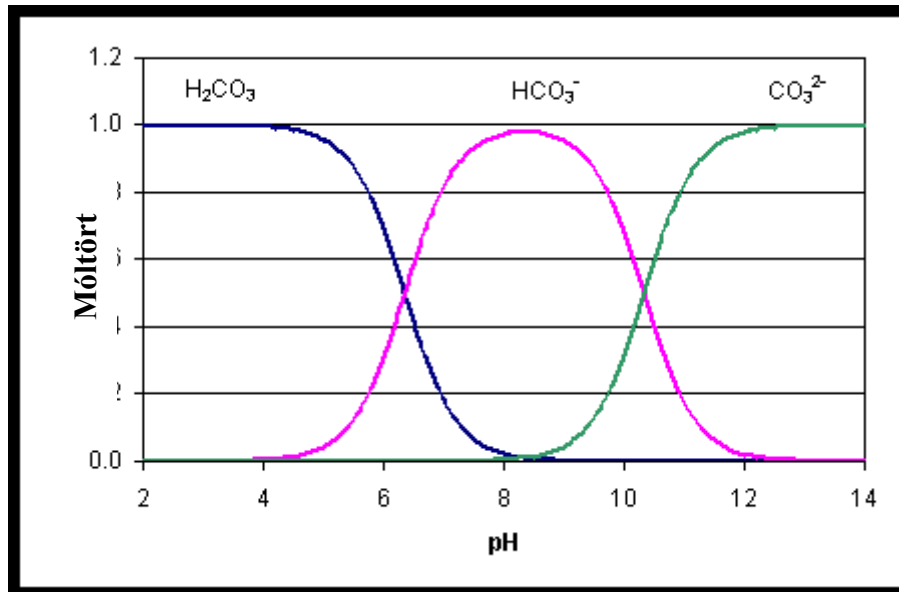
28. ábra Algoritmus a szaporodási index meghatározásához

A BG-11 tápoldattal tapasztalatim szerint maximum 1,5-2 g/l szárazanyag tartalmú algaszuszpenzió érhető el mesterséges megvilágítás mellett, ezért először megfelelő alapoldat szisztematikus keresésével kezdtem a vizsgálatokat. A megfelelőnek tartott receptúra alapján olyan tápoldatokat is vizsgáltam, amelyekben a nitrogénigény fedezéséhez modell-szennyvizet használtam. Természetes fényben csak azt a tápoldatot alkalmaztam, amivel az előző két vizsgálati körben biomassza-növekményt értem el.

Az összes vizsgálat esetében az algakultúra állapotát a szaporodási index alapján követtem.

2.4.2 A természetközeg kémhatásának (pH) mérése

Az algák szénforrásként az oldatban lévő CO₂-ot fogyasztják el. Ezáltal folyamatosan lúgosítani igyekeznek a közeget. Ennek a komponensnek a folyadékbeli koncentrációját a gáztérbeli parciális nyomása és a közeg hőmérséklete egyaránt befolyásolja. Az, hogy a CO₂ oldott állapotban, hidrogénkarbonát vagy karbonát formában van jelen, első sorban a közeg pH-jától függ (29. ábra).



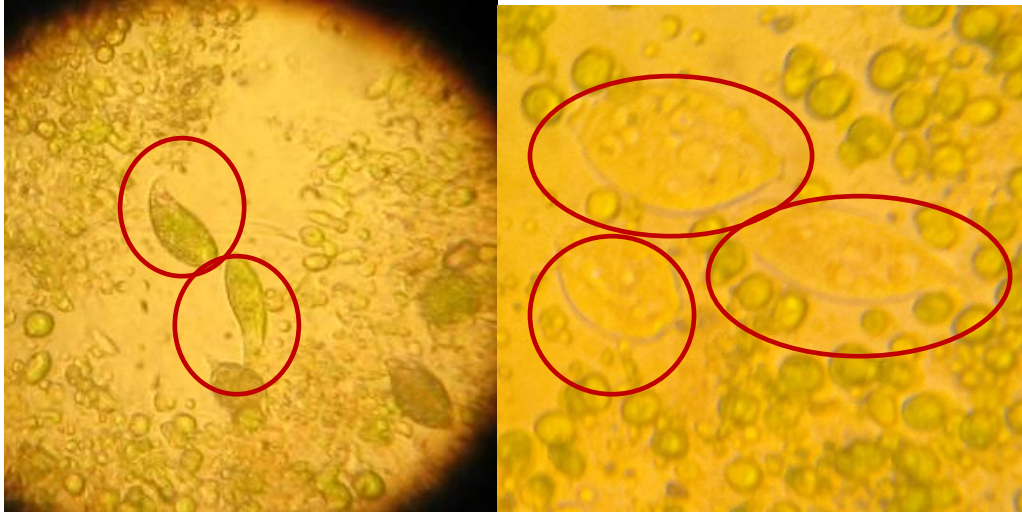
29. ábra A szén-dioxid – karbonát - hidrogénkarbonát egyensúly pH függése[132]

A vizsgált algafajok többsége a 7,5-8,5 közötti pH tartományban szaporodott a legintenzívebben. A közeg ettől a tartománytól való eltérése a szaporodási index csökkenő tendenciájával együtt a szuszpenzió romlására engedett következtetni. Amennyiben az egyéb paramétereket állandó értéken tartottam, az oldat savasodása azt jelentette, hogy a betáplált szénforrás fogyása megállt. Ha a lúgosodás beindul, akkor az előbbi ellentettje igaz, vagyis a szénforrás a limitáló tényező.

A pH mérését az erre rendszeresített Mettler Seven Easy pH mérővel és egy kompatibilis szenzorral végeztem. A szenzor karbantartására kiemelt figyelmet kellett szentelni az algabevonat képződésének veszélye miatt.

2.4.3 Mikroszkópos vizsgálatok

Az algaszuszpenziók félig nyitott rendszerben való termesztésekor a gázkeverék betáplálás megszűnését követően 1 napon belül heterotróf élőlények jelennek meg a szuszpenzióban, amelyek többek közt algákkal is táplálkoznak. Egy CO_2 -től megfosztott, egy nap óta nem kevert szuszpenzióban már nagy számban megjelennek ezek a heterotróf élőlények. (30. ábra)



30. ábra Heterotróf algakártevők

Az, hogy a sejtjeiken belül algák láthatók, egyértelműen bizonyítja, hogy kártevők. Gyanú esetén mindenképpen érdemes mikroszkóp alatt is megvizsgálni a szuszpenziót.

2.4.4 Szárazanyag-tartalom meghatározása

A szüretkor kapott mintákat Schleicker & Schnell 595 típusú papírszűrőn szűrtem, desztillált vízzel átmostam, majd 65°C-on tömegállandóságig szárítottam. Azért ilyen alacsony hőmérsékleten szárítottam, hogy később a mintában a hőérzékeny anyagokat is ki lehessen mutatni.



31. ábra Kern MLS-30 5 gyors szárazanyag-tartalom mérő

Ha gyors mérésre volt szükség, a Whattman GF/C típusú szűrőn visszatartott algamintát egy Kern gyártmányú MLS-50 3 típusú gyors szárazanyag tartalom meghatározó segítségével határoztam meg. Ez a berendezés gyakorlatilag egy analitikai mérleg, melynek a serpenyőjét a beállított program szerint kvarclámpa fűti fel. A fűtési program: 65°C 5 perc, 90°C 5 perc, majd 120°C-on tömegállandóságig.

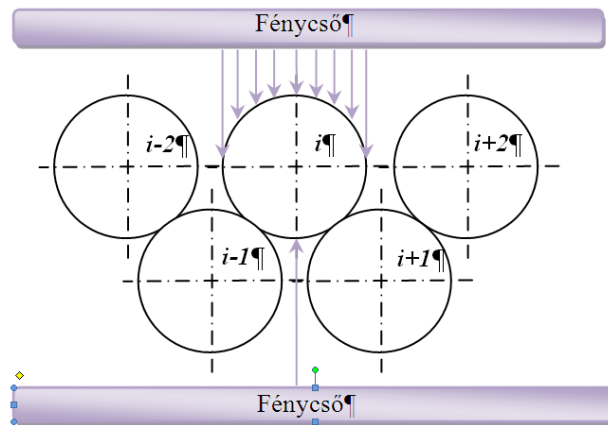
Tömegállandóságot feltételeztem, ha a mérés során a megállási feltétel teljesül, azaz a tömegcsökkenés $\leq 1 \text{ mg}/50 \text{ s}$

3 Kísérletek és értékelésük

3.1 Tápoldat vizsgálatok

3.1.1 A maximális biomassa koncentráció értelmezése

A reaktorok elhelyezését figyelembe véve az elérhető maximális biomassa koncentráció alapján az alábbi termelékenységi számításokat végeztem:



32. ábra A tápoldavizsgáló reaktorok fényellátása

A reaktorok felületének maximálisan 50%-a kap megvilágítást. Ez az egymás mellé telepített reaktorok kölcsönös árnyékolásának köszönhető. A betöltött szuszpenzió szintje minden esetben 220 ± 5 mm volt, a folyadékoszlop átmérője 100 mm. A reaktor térfogatát henger térfogattal közelítve $1,70 \text{ dm}^3$ szuszpenzióval számolhatunk, melynek fényabszorpciós felülete $0,07 \text{ m}^2$.

A felületegységre vonatkoztatott termelékenység a megvilágítás, míg a térfogat a széndioxid hasznosulás meghatározásának alapja.

3.1.1.1 A megtermelt fajlagos algaenergia

A megtermelt energia mennyiségét az elért maximális biomassa koncentráció alapján számítottam.

A tényleges fényabszorpciós felületre vonatkozó fajlagos termelékenységet az alábbi képlet alapján számítottam ki.

$$P_{A,i} = \frac{c_{i,max}}{j \cdot A_i \cdot \eta_A},$$

ahol $P_{A,i}$ az i -edik reaktorban elért felület-fajlagos napi termelékenység ($\text{g m}^{-2} \text{ nap}^{-1}$)

$c_{i,max}$ a termesztési időszak alatt elért maximális biomassa koncentráció (g/dm^3)

j a termesztési időszak hossza (nap)

$A_{i,p} = d \cdot \pi \cdot h$ a természetöberendezés potenciális fényabszorpciós felülete (m^2)

$\eta_A = \frac{A_i}{A_{i,p}}$ a potenciális fényabszorpciós felület megvilágított hányada

A szuszpenzió térfogategységére vonatkozó termelékenységet az alábbi képlet alapján számítottam.

$$P_{V,i} = \frac{c_{i,max}}{j \cdot V_i}$$

ahol $P_{V,i}$ az i -edik reaktorban elért térfogat-fajlagos termelékenység ($\text{g dm}^{-3} \text{ nap}^{-1}$)

$c_{i,max}$ a termesztési időszak alatt elért maximális biomassa koncentráció (g/dm^3)

j a termesztési időszak hossza (nap)

$V_i = \frac{d^2 \pi}{4} \cdot h$ a szuszpenzió térfogata (m^3)

A fenti képletek felhasználásával a felület- és a térfogat-fajlagos energiatermelés rendre az alábbiak szerint megadható.

$$q_{V,i} = q_{alga} \cdot P_{V,i} = q_{alga} \cdot \frac{c_{i,max}}{j \cdot V_i}, \text{ valamint } q_{A,i} = q_{alga} \cdot P_{A,i} = q_{alga} \cdot \frac{c_{i,max}}{j \cdot A_i \cdot \eta_A}$$

ahol q_{alga} a termesztett alga energiataralma (átlagosan $25,8 \text{ kJ g}^{-1}$)

$q_{V,i}$ térfogat-fajlagos enenrgiatermelés ($\text{kJ dm}^{-3} \text{ nap}^{-1}$)

$q_{A,i}$ felület-fajlagos enenrgiatermelés ($\text{kJ m}^{-2} \text{ nap}^{-1}$)

A két utóbbi kapcsolatát két üzemeltetési paraméterrel adhatjuk meg:

$$\frac{q_{V,i}}{q_{A,i}} = \frac{d}{4\eta_A}$$

3.1.1.2 A megvilágítás energiahasznosulásának meghatározása:

A megvilágításra fordított villamosenergia fogyasztást adtam meg viszonyítási alapnak.

$$E_{M,i} = \frac{\sum P_{világítás} \cdot t_v \cdot 3,6}{n \cdot A_i \cdot \eta_A},$$

ahol $E_{M,i}$ az i -edik reaktor felületére normalizált megvilágításra fordított villamosenergia mennyisége naponta ($\text{kJ m}^{-2} \text{ nap}^{-1}$)

$\sum P_{világítás}$ a reaktorrendszerre jutó összes villamos teljesítmény (W)

t_v a megvilágítás időtartama naponta (óra)

n a termelésbe bevont reaktorok száma (db)

A biomassza termelődéssel nyert energia és a megvilágításra fordított energiamennyiség ismeretében az utóbbi hasznosulása %-osan megadható.

$$\eta_{M,i} = \frac{q_{A,i}}{E_{M,i}} \cdot 100\%$$

3.1.1.3 A bevezetett szén-dioxid hasznosulásának meghatározása:

A bevezetett szén-dioxid napi mennyiségét az alábbiak szerint számítottam:

$$m'_{CO_2,i} = V'_{keverék,i} \cdot x_{CO_2} \cdot \rho_{CO_2}$$

ahol $m'_{CO_2,i}$ az i -edik reaktorba juttatott CO_2 tömegárama (g nap^{-1})

$V'_{keverék,i}$ az i -edik reaktorba juttatott gázkeverék térfogatárama ($\text{dm}^3 \text{ nap}^{-1}$)

x_{CO_2} a betáplált keverék CO_2 tartalma

ρ_{CO_2} a szén-dioxid sűrűsége a betáplálás hőmérsékletén

($\rho_{1\text{bar}, 20^\circ\text{C}, CO_2} = 1,8153 \text{g/dm}^3$) [133]

A napi biomassza növekmény alapján a napi beépülő CO_2 mennyiségét az alábbi képlet alapján becsültem.

$$m'_{CO_2,alg,i} = P_{V,i} \cdot 1.8$$

A hasznosulás (η_{CO_2}) a két utóbb kiszámított mennyiség hányadosával egyenlő.

$$\eta_{CO_2} = \frac{m'_{CO_2,i}}{m'_{CO_2,alg,i}} \cdot 100\%$$

Ez utóbbi összefüggés a globálisan elérhető CO_2 -ot veszi alapul, de az algák csak az adott hőmérsékleten és nyomáson elérhető, oldatban lévő szén-dioxidot tudják felvenni, amely ennek töredéke. [134]

3.1.2 Mikro- és makroelemek hatása

Először az összes makroelem-koncentráció hatását vizsgáltam a kislaboratóriumi berendezés zárt változatában (TV). Készítettem olyan tápoldatokat, amelyekben minimum 99,5(m/m)% tisztaságú vegyszerekből a BG-11 makroelem tartalmának 1-2-5-10-30-szorosa került bekeverésre. Ezekben az esetekben a mikroelemek koncentrációja a BG-11-nek felelt meg. A tápoldatok jele rendre B1 M-B2 M-B5 M-B10 M-B30 M.

A vizsgálatok alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a B30-as tápoldat kizárható az alkalmazhatók köréből, mert 5 nap után a kultúra fő algatömege elpusztult. Erre utalt a kiülepedés és a sárgás színűvé vált oldat záptojás szaga

A B10-es tápoldattal elért fejlődést összevettem a B5-tel és abból látható, hogy a kétszeres makroelem koncentráció alkalmazása átlagosan már csak 10%, vagy az alatti biomassza növekményt hoz. A B2 és B5 összevetésekor a növekmény még jelentős, akár a 30 %-ot is meghaladhatja

A kapott szaporodási görbék és a kinyert alga mennyisége alapján a B5 jelű makroelem koncentrációjú tápoldatot találtam a legalkalmasabbnak további termesztési vizsgálatokhoz.

Mindkét vizsgált algafajnál mikroelem koncentrációra vonatkozó tesztek is végeztem. Ezekből kitűnik, hogy a „0” jelű fajt kevésbé, míg a „31” jelű érzékenyebb a mikroelem koncentráció változtatására. A mikroelemek koncentrációjának növelésével egyértelmű biomassza növekményt lehet elérni, mégis úgy ítélem meg, hogy a mikroelem koncentráció kettőnél többszörös növelése a korlátozott mennyiségben rendelkezésre álló, drága mikroelemek miatt nem célszerű.

Jelmagyarázat a grafikonokon használt jelölésekhez:

TVi : i-edik tápoldatvizsgálati sorozat

M0: nullás jelű algafaj

M31: 31-es jelű algafaj

Bi: i- szeres makroelem koncentráció (BG-11-hez képest) a tápoldatban

Mi: i-szeres mikroelem koncentráció (BG-11-hez képest) a tápoldatban

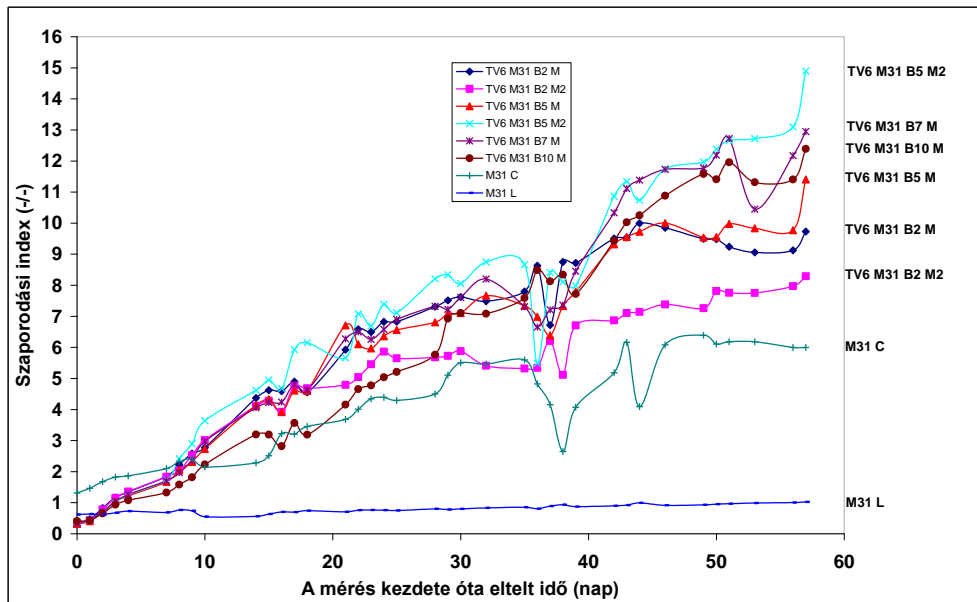
példa: *TV6 M31 B7 M*

-TV6-os mérési sorozatból származó minta

-M31-es algafaj

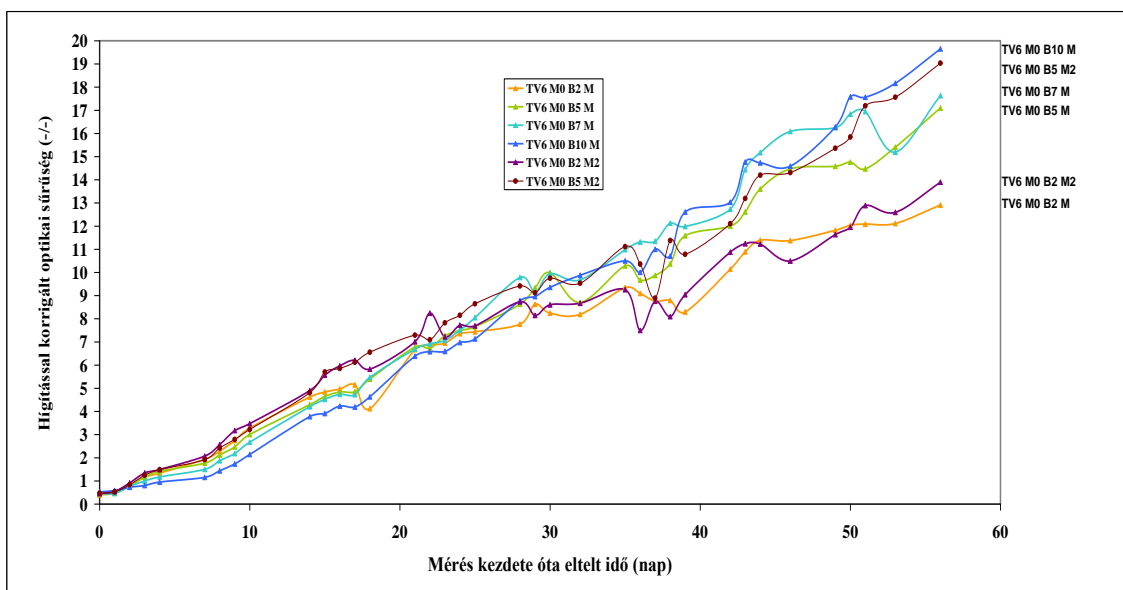
-makroelem koncentráció B7-nek megfelelő, azaz a makroelemek koncentrációja BG-11-hez képest 7x-es

-M: 1x-es mikroelem koncentráció a BG-11-nek megfelelő mikroelem tartalom



33. ábra TV6 M31 tápoldat vizsgálat

A kiindulási szuszpenzió maradékát két részre osztottam. Az M31 L jelűt tiszta levegővel kevertem, míg az M31 C ugyanakkora szén-dioxid betáplálás mellett szaporodott. A görbe tendenciájának alakulása alapján megállapítottam, hogy szén-dioxid nélkül nem volt mérhető szaporodás, míg az M31 C tesztben a tápkomponensek limitációja miatt a vizsgált szuszpenzió harmincadik napon plató fázisba került.



34. ábra TV6 M0 tápoldatvizsgálat

A tápoldat vizsgálóban megfelelőnek ítélt receptúra (B5M, B5M2, B7M2) alapján a szaporító reaktorokban (algalabor) kezdtem törzstenyészeteket kialakítani. Az elkészített tápoldatot bevezettem laboratóriumi-, majd később a szabadtéri (tető) reaktorokhoz.

7. táblázat Különböző makroelemkoncentrációkkal elérhető biomassza koncentráció

Algakód	Maximális biomassza koncentráció (g/dm ³)	Maximális biomassza növekmény (g/m ² /nap)	Napi megtermelt energia (kJ/m ² /nap)	Napi CO ₂ hasznosulás
TV6M31B2M	3,48	1,53	25,8	0,16%
TV6M31B5M	4,05	1,78	78,76	0,18%
TV6M31B7M	5,09	2,23	91,66	0,23%
M0B2M	4,75	2,08	115,19	0,22%
M0B7M	5,9	2,59	107,50	0,27%
M0B2M2	5,51	2,42	133,53	0,25%
TV6M31B2M2	3,78	1,66	124,70	0,17%
TV6M31BM2	5,45	2,39	85,55	0,25%
TV6M31B10M	5,34	2,34	123,34	0,24%
M0B5M	5,76	2,53	120,85	0,26%
TV6M0B10M	6,12	2,68	130,36	0,28%
M0B5M2	7,01	3,07	138,51	0,32%

3.1.3 Tápanyagforrás vizsgálatok

TV18-TV20 kísérletsorozat

Ebben a kísérletsorozatban a tápoldat kizárólag a nitrogénforrás anyagi minőségében különbözött (NaNO₃ helyett: KNO₃, NH₄NO₃, ...) . Ezt úgy biztosítottam, hogy a makroelemeket és a mikrotápanyagokat, valamint a szükséges algamennyiséget bemértem, homogenizáltam, majd 2 db méréshez elegendő, félkész szuszpenzióba bemértem a nitrogénforrásként alkalmazott vegyületet. Alapnak tekintetem a korábbiakban sikeresen alkalmazott B5M típusú tápoldatot. Az egyes minták összes nitrogéntartalmát erre a típusra normáltam. Az ettől eltérőeket külön jelöltem. A laboratóriumi körülmények (fény, hőmérséklet, gázáram, gázösszetétel) állandósága esetén a szaporodási különbségeket a tápoldatok minősége okozza.

A külső paraméterek az alábbiak szerint alakultak:

- laboratórium hőmérséklete: 25-28 °C
- fénysugárzás típus: 2 x 2 db Sylvania aquastar T8 36 W fénycső
2 x 1 db Tungsram Cool white T8 38 W fénycső
- megvilágítás periódusai: 16 óra fényszakasz, 8 óra sötét szakasz
- gáz összetétele: ~ 8% CO₂ tartalmú levegő

- térfogatárama: $40,95 \text{ dm}^3 / (\text{h palack})$

A kultúrákat $1,5 \text{ dm}^3$ -es PET-palackokban állítottam össze, amelyek a fenti környezeti paraméterek mellett természettem. Az egyes palack kódok az alábbiak szerint kerültek meghatározásra:

A tápkomponeseket ezekhez az algafajokhoz úgy válogattam össze, hogy közel legyen bizonyos nitrogéntartalmú szennyvizek összetételéhez.

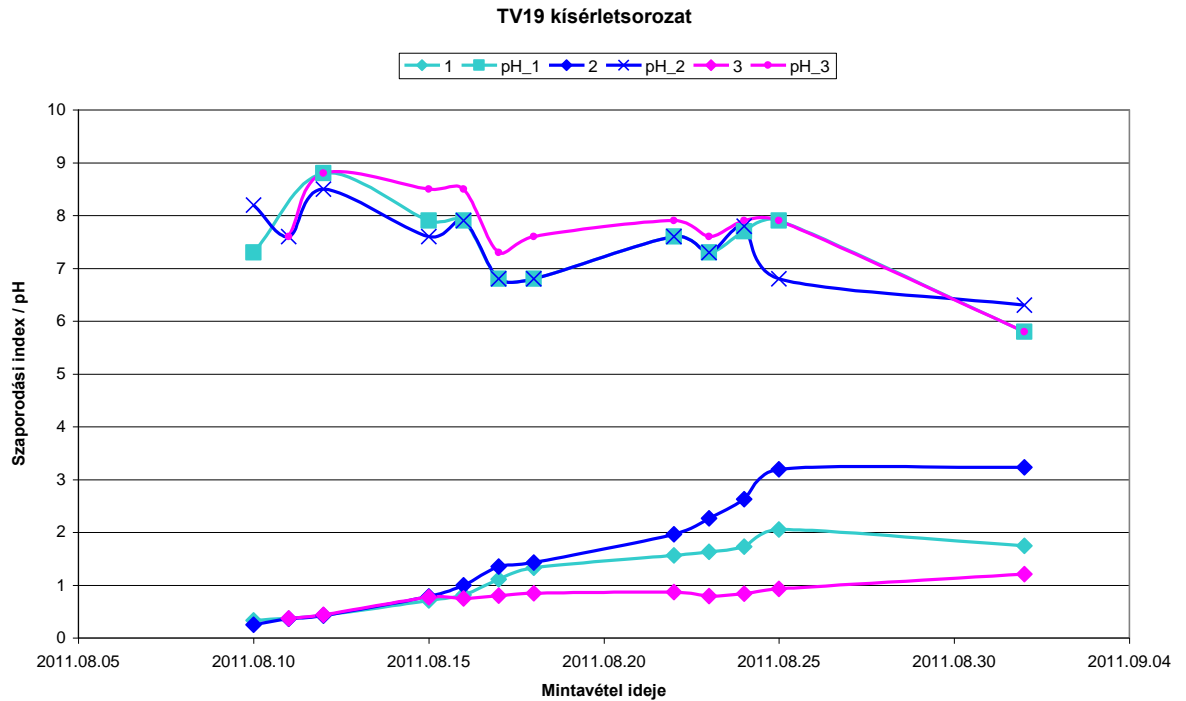
8. táblázat TV18 kísérleti eredmények

Makro elemek	Mikro elemek	Nitrogén forrás	Maximális biomassa koncentráció növekmény (g/dm^3)	Maximális biomassa növekmény ($\text{g}/\text{m}^2/\text{nap}$)	Napi megtermelt energia ($\text{kJ}/\text{m}^2/\text{nap}$)	Napi CO_2 hasznosulás
B3	M	NaNO_3	-	-	-	-
B3	M	NaNO_3	-	-	-	-
B3	M	NaNO_3	-	-	-	-
B5	M	NaNO_3	2,173	7,76	400,36	0,80%
B5	M	NaNO_3	1,826	6,52	336,51	0,67%
B5	M	NaNO_3	1,705	6,09	314,21	0,63%
B5	MK	KNO_3	1,425	5,09	262,52	0,53%
B5	MK	KNO_3	1,991	7,11	366,91	0,73%
B5	MK	KNO_3	1,975	7,05	363,87	0,73%
B5	M AN	NH_4NO_3	1,441	5,15	265,56	0,53%
B5	M AN	NH_4NO_3	2,013	7,19	370,97	0,74%
B5	M AN	NH_4NO_3	2,052	7,33	378,06	0,76%
B5	M PE	PERMEÁ TUM	1,029	3,67	189,54	0,38%
B5	M PE	PERMEÁ TUM	1,210	4,32	222,99	0,45%
B5	M PE	PERMEÁ TUM	1,337	4,77	246,30	0,49%

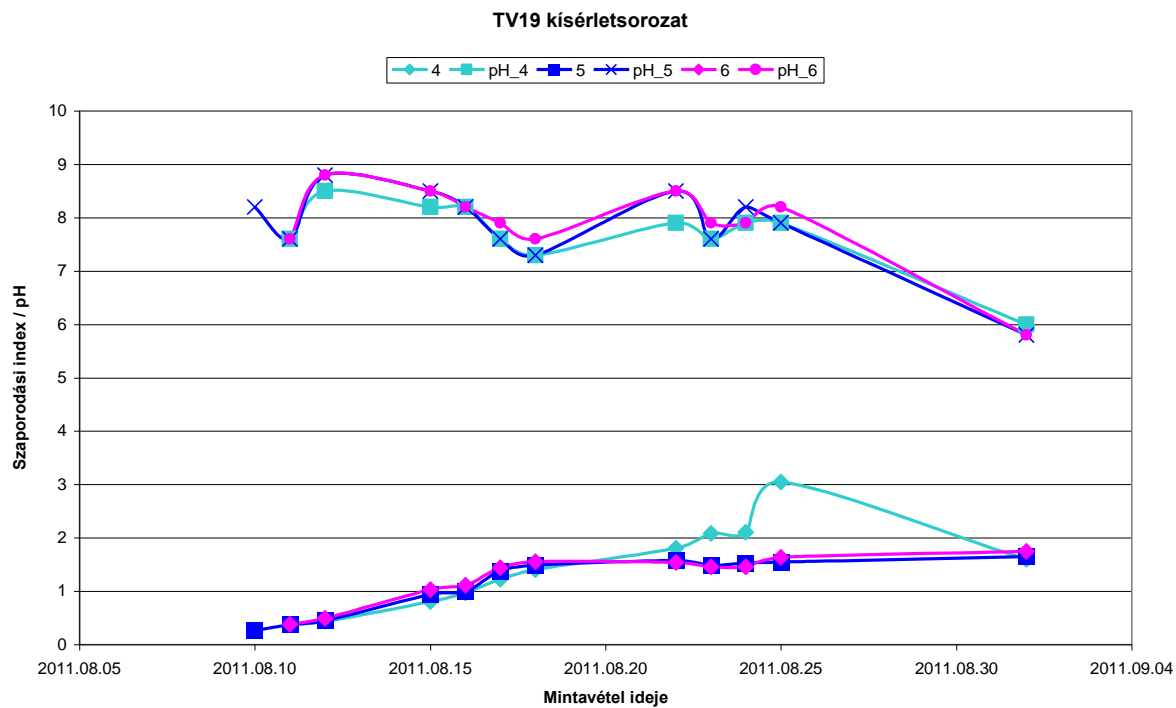
A tápoldat bekeverésénél a nitrogéntartalom 10%-át ammónium-szulfát, míg a többit ammónium-hidrogénkarbonát adagolásával mértem be. A többi komponenst a B3 M receptúrának megfelelően mértem be.

A kísérletsorozatban felhasznált péti nitrogénforrás a Péti Nitrogénművek által rendelkezésre bocsátott Nitrosol oldat, amely 14 g/l névleges nitrogéntartalommal rendelkezik.

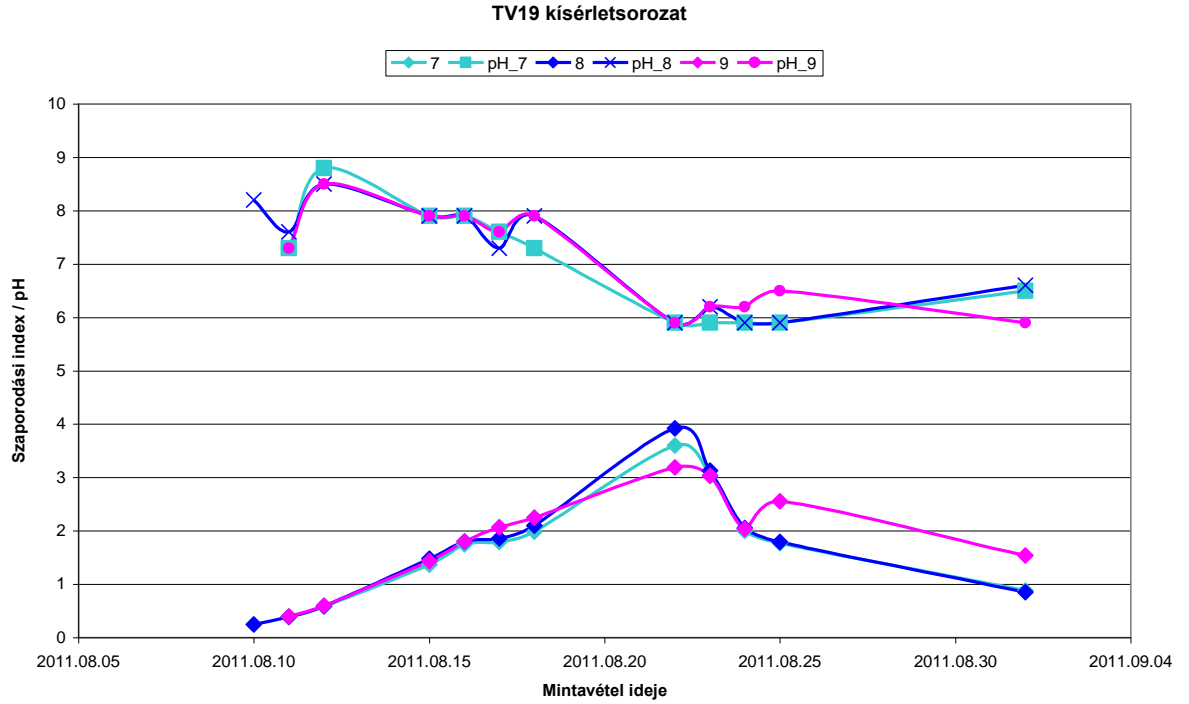
P4 jelöli a péti szennyvízből termesztett (RaMbO) vad algakultúrát jelöli



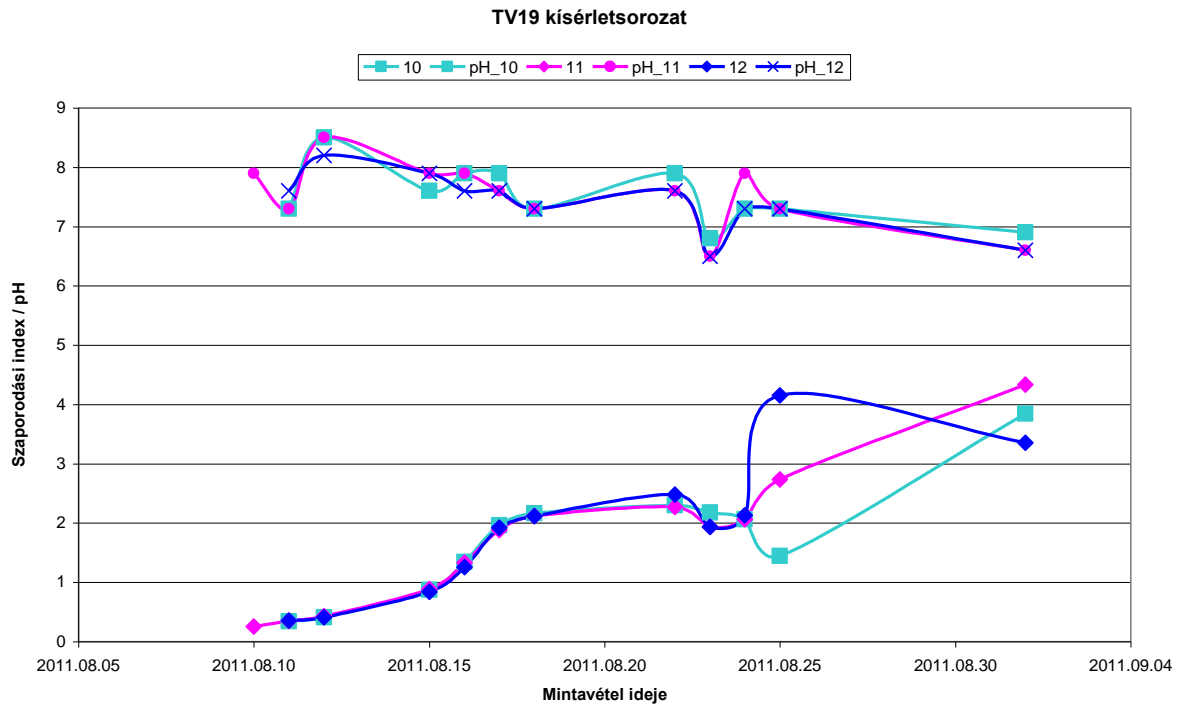
35. ábra Bioplasma B5M típusú tápoldat péti nitrogénforrás adagolásával (5/48 hígítás)



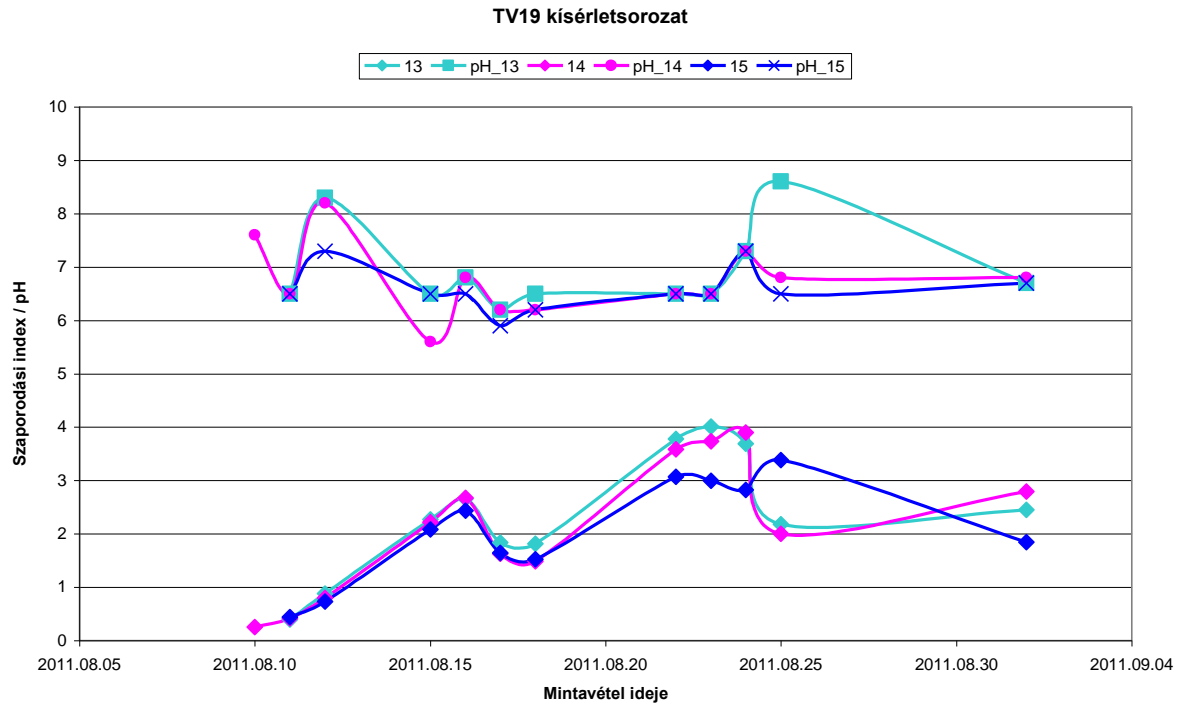
36. ábra P4 (RaMbO) B5M típusú tápoldat péti nitrogénforrás adagolásával (5/48 hígítás)



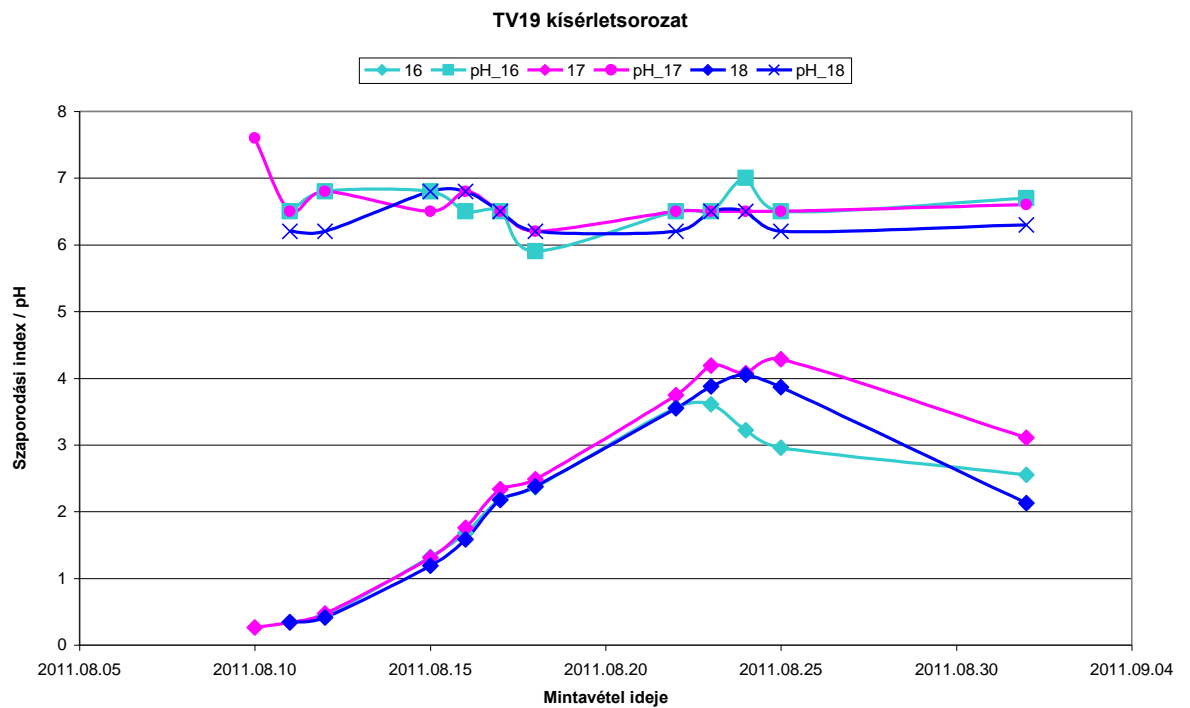
37. ábra Bioplasma B3M típusú tápoldat péti nitrogénforrás adagolásával (1/16 hígítás)



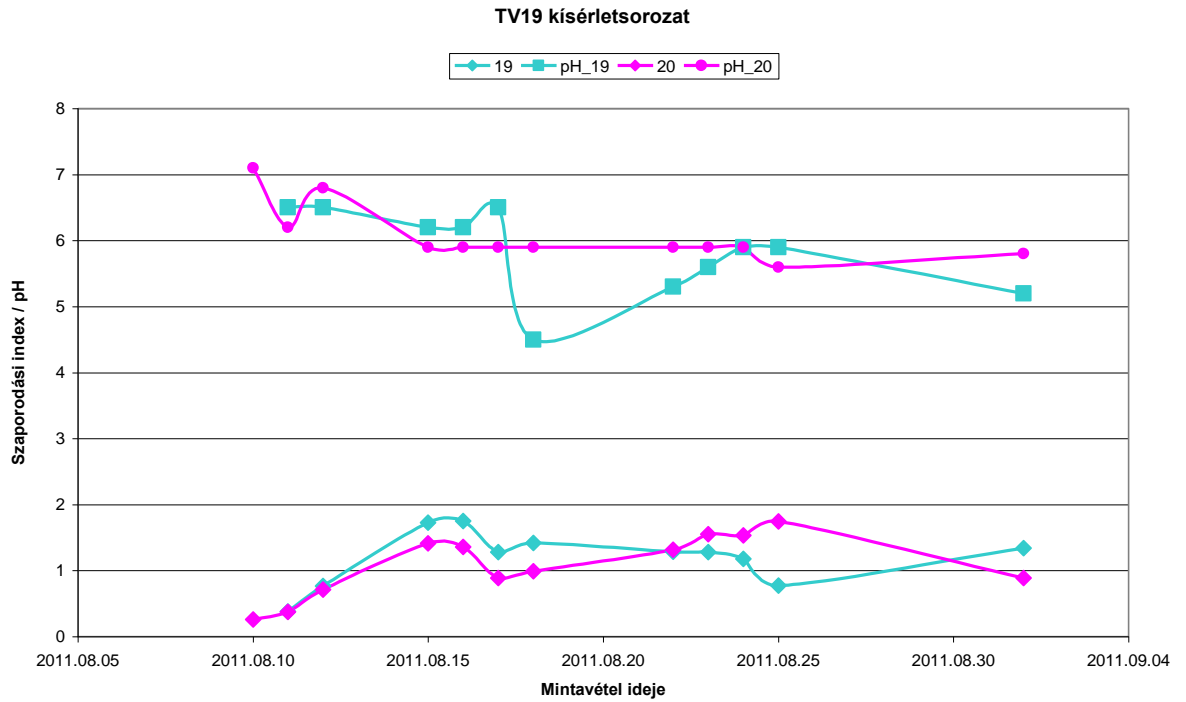
38. ábra P4 (RaMbO) B3M típusú tápoldat péti nitrogénforrás adagolásával (1/16 hígítás)



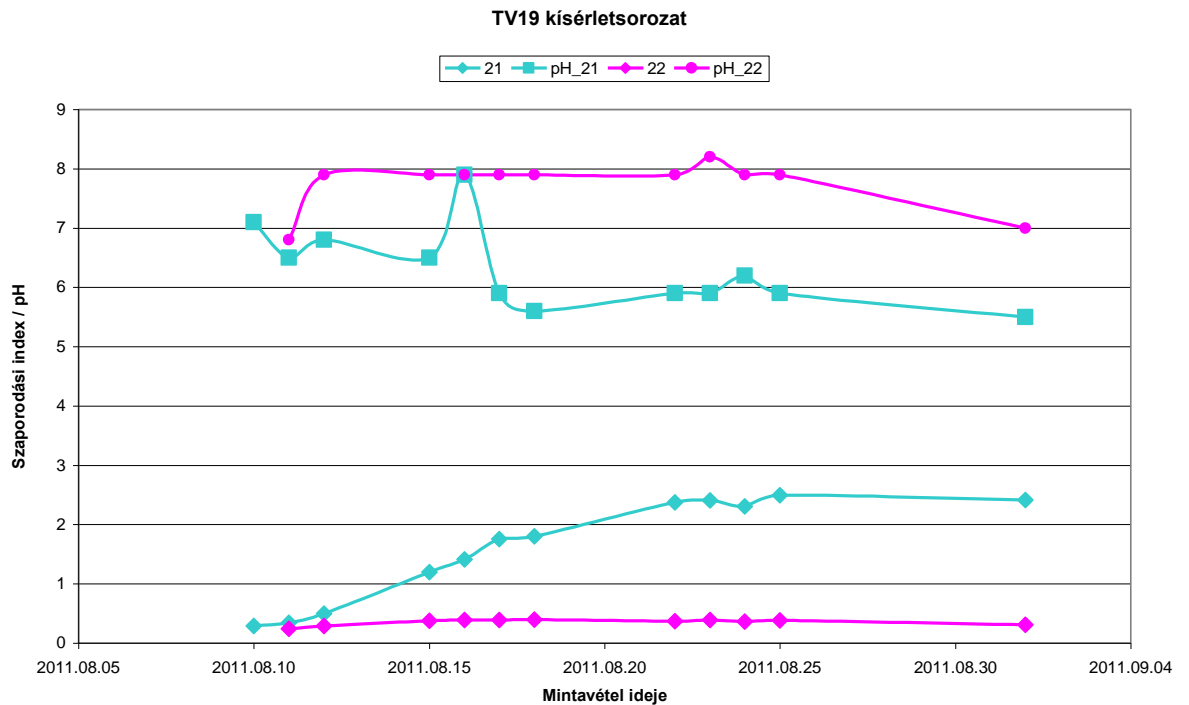
39. ábra Bioplasma BM típusú tápoldat péti nitrogénforrás adagolásával (1/48 hígítás)



40. ábra P4 (RaMbO) BM típusú tápoldat péti nitrogénforrás adagolásával (1/48 hígítás)



41. ábra Bioplasma B5M típusú tápoldat ammónium-nitrát adagolásával



42. ábra P4 (RaMbO) B5M típusú tápoldat ammónium nitrát adagolásával

A tápoldatvizsgálat következő lépéseként különböző N-források hatását az elérhető maximális biomassza kihozattal jellemeztem. A beméréseket egy nitrogénforrástól mentes, de egyéb komponenseket tartalmazó 1,2 g/dm³ alkatartalmú „félkész” szuszpenzióba tettem meg.

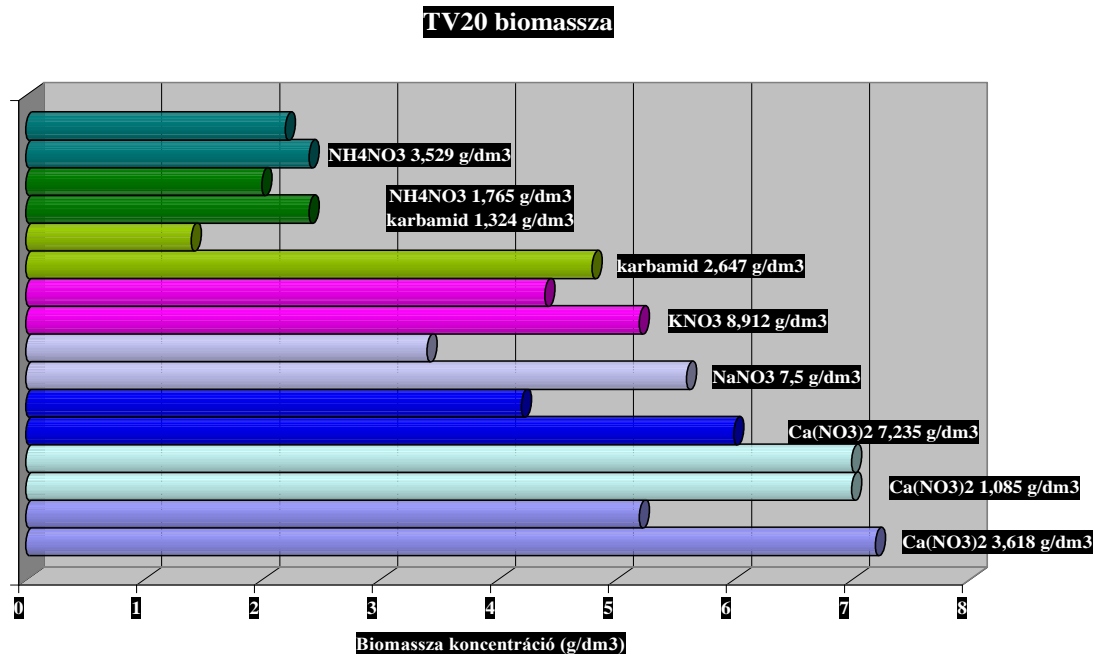
Alapnak tekintetem a B5 M típusú tápoldatot.

9. Táblázat TV 20 tápkeverés

A kiadagolt félkész szuszpenzióba az alábbiak szerinti bemérések kellene

TV20 /1..2	NaNO ₃	7,5 g/dm ³	
TV20 /3..4	KNO ₃	8,912 g/dm ³	
TV20 /5..6	NH ₄ NO ₃	3,529 g/dm ³	
TV20 /7..8	karbamid	2,647 g/dm ³	
TV20 /9..10	Ca(NO ₃) ₂	7,235 g/dm ³	
TV20 /11..12	Ca(NO ₃) ₂	3,618 g/dm ³	NaNO ₃ -tal kiegészítve
TV20 /13..14	Ca(NO ₃) ₂	1,085 g/dm ³	NaNO ₃ -tal kiegészítve
TV20 /15..16	NH ₄ NO ₃	1,765 g/dm ³	karbamid
			1,324 g/dm ³

A 47 napos termesztési időszak végén Whattman GF/C típusú szűrőn szűrve tömegállandóságig szárítva az alábbi biomassza koncentrációkat határoztam meg.



A termesztés eredményei alapján a nitrát forma adja a legtöbb biomasszát. Érdekes különbséget hozott a kalcium ionok jelenléte. A biomassza kihozatal a megnövelt kalciumion koncentráció hatására nagyobb.

3.2 Nagylaboratóriumi kísérletek

3.2.1 Indítókultúra készítése

A szabadtéri szaporítási kísérletek indításához a foto-bioreaktor térfogatot fel kell tölteni olyan, lehetőleg az intenzív szaporodási fázisban levő alga-szuszpenzióval, amely további szaporodásra képes

- az adott éghajlati viszonyok (hőmérséklet, hőmérséklet-ingadozás, változó fényintenzitás, UV sugárzás) között
- műveleti jellemzők (tápkomponensek, gázfajlagos, gázösszetétel, CO₂ és egyéb komponensek) mellett is.

A starter-kultúra elkészítéséhez az alábbi szempontokat célszerű figyelembe venni:

- intenzív szaporodási fázisban lévő, monokultúras, tenyészetből indulnak,
- lehetőleg steril, szűrt, tápoldatban, zárt, laboratóriumi körülmények között, mesterséges megvilágítás mellett kezdik a szaporítást,
- a szükséges térfogat eléréséig max. 5-10 szeresére fokozatosan, több lépcsőben lassan „hígítják” a töményebb alga-szuszpenziót,
- az utolsó néhány lépésben a szabadtéri kísérletekhez is használt tápoldatot, szűrt (pl. 10 µm-es és 1,5 µm-es szűrők) ipari szennyvízből készítettet, adagolnak a szuszpenzió térfogatának növelésére,
- szénforrásként az utolsó, térfogat és koncentráció-növelő, lépésekhez előkezelt (pormentes) ipari CO₂ forrást használnak
- utolsó fázisként, lehetőleg, szabadba telepített, zárt, kislaboratóriumi foto-bioreaktorban állítják be az algaszuszpenzió szükséges koncentrációját.

Fontosabb jellemzők:

- közepes alga-koncentráció tartományok:
100-1000 (mg alga szárazanyag/dm³), ill. 10¹⁰....10¹¹ algasejt/dm³,
- változó növekedési ütem: $\mu = 0,2 \dots 0,7$ (1/nap)

(a növekedési ütemet ált. a fajlagos növekedési sebességgel jellemzik:

$$\mu = \frac{\ln(w_2 - w_1)}{t_2 - t_1}$$

ahol μ a fajlagos növekedési sebesség, 1/nap,

w_1 a t_1 napon mért alga koncentrációja, g alga szárazanyag/dm³,

w_2 a t_2 napon mért alga koncentrációja, g alga szárazanyag/dm³,

/g alga szárazanyag/dm³ mértékegységet a magasabb algakonzentráció tartományban célszerűbb használni/).

- az első fázisokban állandó hőmérséklet: pl. 25 +/-1°C, az utolsó lépésekben, szabadba telepített esetén, változó hőmérséklet alkalmaznak,
- mesterséges megvilágítás: közepes, egyenletes, fényintenzitás; adott minőségű fényspektrum; adott, állandó fény/sötét periódus, pl. „cool white” fénycsővek, 200-300 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{s}$ (a teljes spektrumra, vagy csak a PAR tartományra vonatkoztatott), folyamatos megvilágítás, vagy 12h/12h fény/sötét periódus,
- természetes fényben változó megvilágítás, nyáron a déli órákban akár 1000-1500 $\mu\text{mol foton/m}^2/\text{s}$ fényintenzitás,
- a szuszpenzió mozgatása, a C-forrás biztosítása általában levegőárammal, (levegő + /ipari/CO₂)-árammal történik,
- tápoldatok, a felhasznált víz minősége, a makroelemek, mikroelemek, egyéb kiegészítő komponensek (pl. vitaminok) minősége és koncentrációja változtatható az egyes lépésekben.

Érdekes, hogy nagyon sok algafaj szaporodási sebessége függ az alga koncentrációjától:

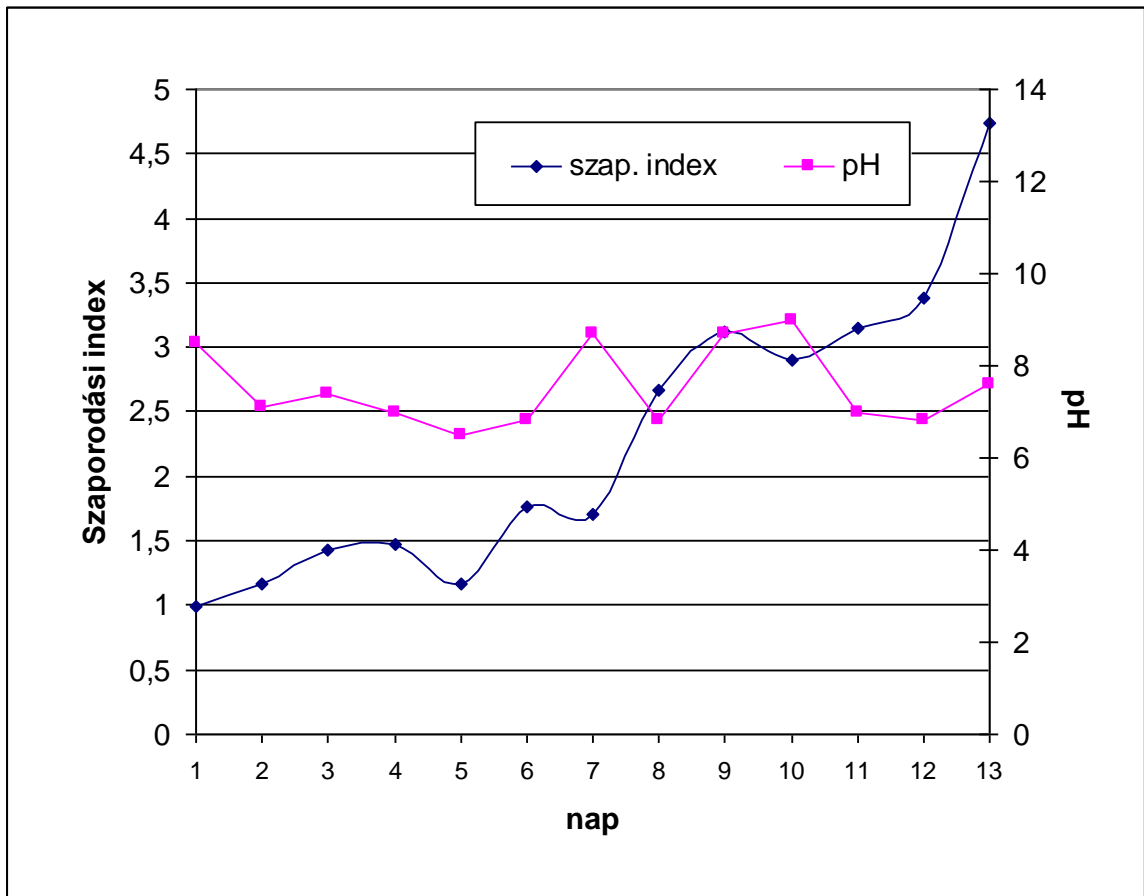
A felső koncentráció határt, amelynél a szaporodási sebesség nullára csökken, mikrobiológiai, algaélettani faktorok, jellemzők határozzák meg.

Az alsó határ ugyan nem egy jól definiált érték, de híg ($c < 0,001 \dots 0,01 \text{ g/dm}^3$) szuszpenziók esetén nagyon sok alga igen lassan, vagy egyáltalán nem szaporodik, esetleg ki is pusztulhat a tenyészet a választott paraméterektől függően. A híg szuszpenziók sokkal érzékenyebbek a környezeti hatásokra: fényintenzitás, nem steril körülmények idegen mikroorganizmusok elszaporodása, stb.

A legtöbb algafaj a külső, környezeti zavaró hatásokra, a zavarás mértékétől függően, hosszabb-rövidebb ideig csökkenti, vagy le is állíthatja a szaporodását, ez a szaporodási görbéken jól elkülöníthető intervallumként mutatkozik (adaptáció). A starter-kultúra készítés során ez a zavarás akkor jelentkezik, amikor töményebb szuszpenziókat hígítunk friss tápoldattal, vagy változik a tápoldat koncentrációja, a tápkomponensek minősége. A legtöbb alga esetében akár 1 napig is eltart az alkalmazkodás az „új”

környezetbe. Figyelembe kell venni, hogy a híg alga-szuszpenziók sokkal érzékenyebbek az erős napsugárzásra, UV sugárzásra, ezért 0,2-0,5 g/dm³ alga-koncentrációk már megfelelőnek tekinthetők kezdeti értéknek.

Munkánk során az oltó-kultúra folyamatos fenntartásából származó tenyészetből szaporítottuk fel a nagylaboratóriumi algatermesztési kísérleteihez legalább 40....80 dm³, 2....4 (g alga szárazanyag)/dm³ töménységű, intenzív szaporodási fázisban lévő „indító-kultúrát”, amellyel már biztonságosan indíthatók a szaporítási vizsgálatok (43. ábra)

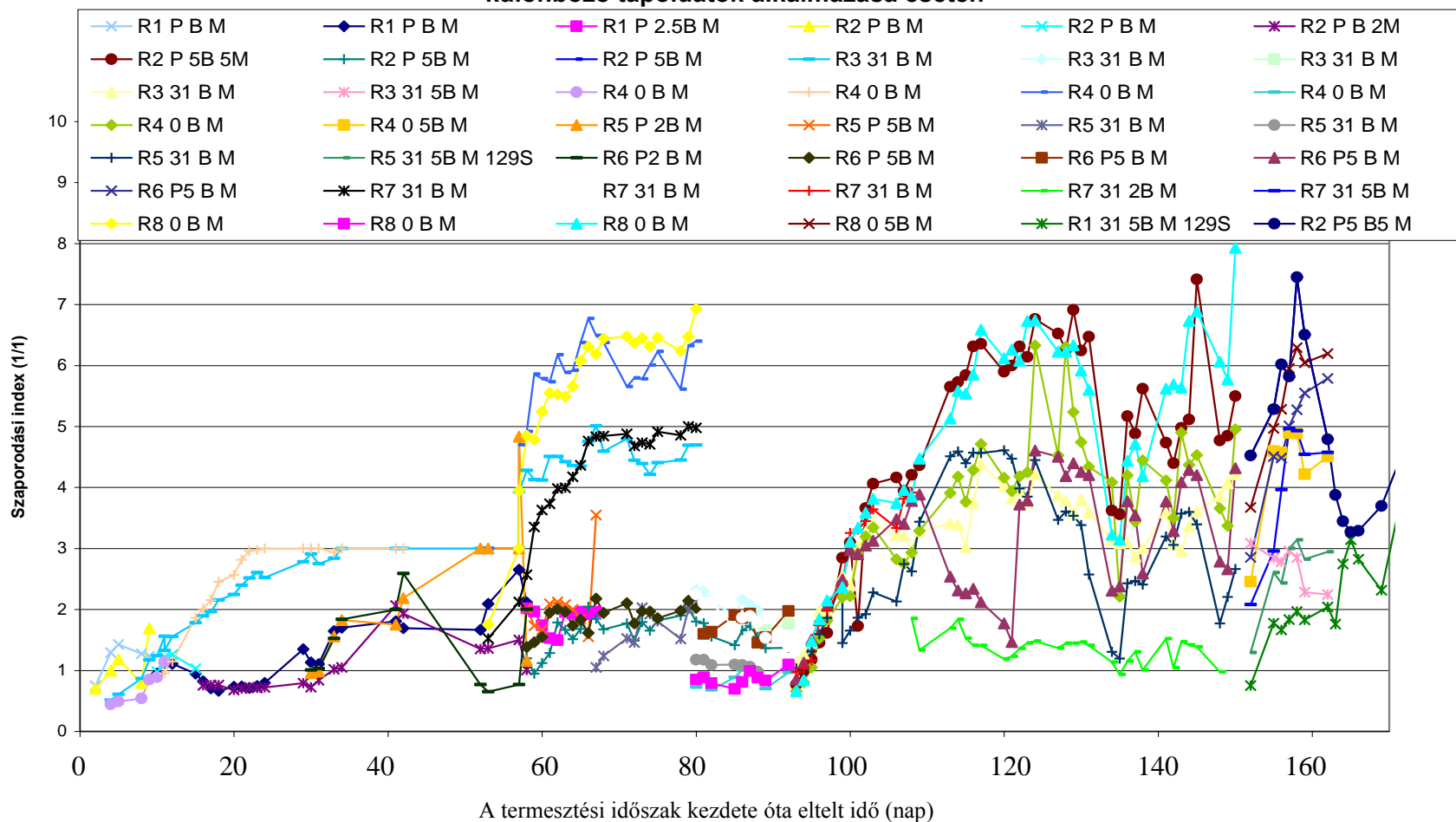


43. ábra Indítókultúra előállításakor jellemző algaszaporítási ciklus (TV reaktorok)

A nagy szaporodási sebesség és a magas biomassza koncentráció elérése érdekében a zárt kislaboratóriumi berendezésben szénforrásként 5% v/v CO₂ tartalmú levegőt használtunk, majd a nagylaboratóriumi foto-bioreaktorokban megtörtént az algák B5 M tápoldathoz szoktatása (adaptáció).

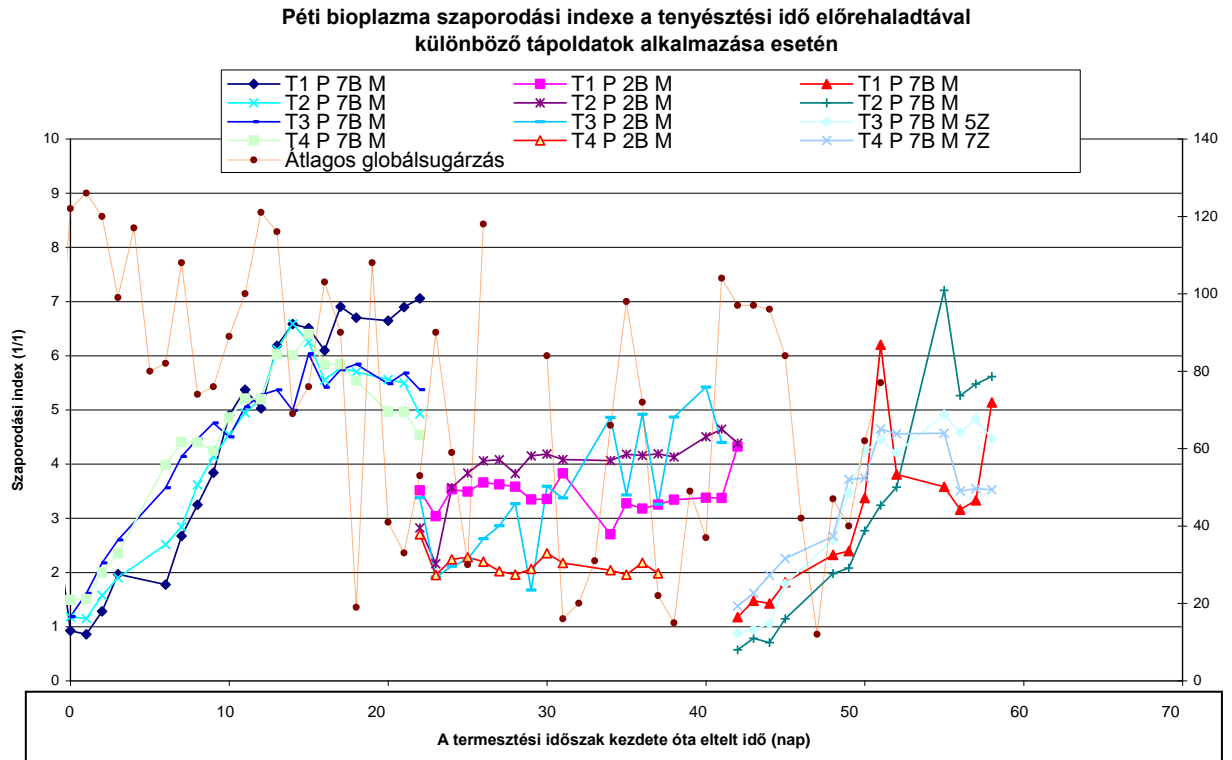
44. ábra)

Összes tesztelt algafaj szaporodási indexe a tenyésztési idő előrehaladtával különböző tápoldatok alkalmazása esetén



44. ábra A laboratóriumi reaktorban termesztett algák szaporodási görbéi

3.2.2 Természetes fény hatásának vizsgálata



45. ábra A péti Bioplasma algakultúra szaporodása szabadtéri foto-bioreaktorokban

A szaporítási kísérletek során a megfelelően magas koncentráció (1-3 g alga/dm³) elérésekor megkezdődött az algák termesztése természetes fényben a szabadba telepített foto-bioreaktorokban, B5 M tápoldatban, szénforrásként 5% v/v CO₂ tartalmú levegőt használtunk, gázterhelés: $\approx 10 \text{ dm}^3/\text{h} \approx 0,1 \text{ v/v/min}$ fajlagos mellett. (45. ábra)

A nagylaboratóriumi készülékben az egy reaktorra eső gázterhelés 350 l/h gázkeverék volt átlagosan 5 % CO₂ koncentráció mellett.

Az eddigi szaporítási kísérletek 8x10 liter térfogatú flat panelekben, szabályozott körülmények között, mesterséges fény mellett folytak (R1-R8). A természetes megvilágítás biztosítására újabb paneleket a Tanszék „D”-épületi munkacsarnokának tetejére telepítettünk ki (T1-T8). A jobb fénykihasználás érdekében az új tartószerkezetet legyártattuk, a reaktorokat egymás mellett, abszorpciós felületükkel D-DK felé fordítva helyeztük el. A reaktorok felépítését a korábbiakban már ismertettem.

A tetőreaktorokban a 31 jelű algafaj viselkedését vizsgáltuk. A napfény hatását minden szaporodási görbén megfigyelhetjük.

A vizsgálatok célja az volt, hogy megismerjem a laboratóriumban meghatározott tápoldatok hatását a vizsgált 31-es törzsre természetes fényben.

A globálsugárzás napi átlag értékét a helyi meteorológiai állomás adatai alapján ábrázoltam. Ezek az adatok csak a fény hatásának becslésére alkalmasak, mert ugyan szabványos meteorológiai mérés eredményei, de nem a reaktort érő napfény tényleges mennyiségét adják meg. A reaktort érő fénysugárzás ugyanis nemcsak a közvetlen beeső napfényből áll, hanem az árnyékos oldalon található üvegfalról visszaverődő fény hatása is jelentős lehet.

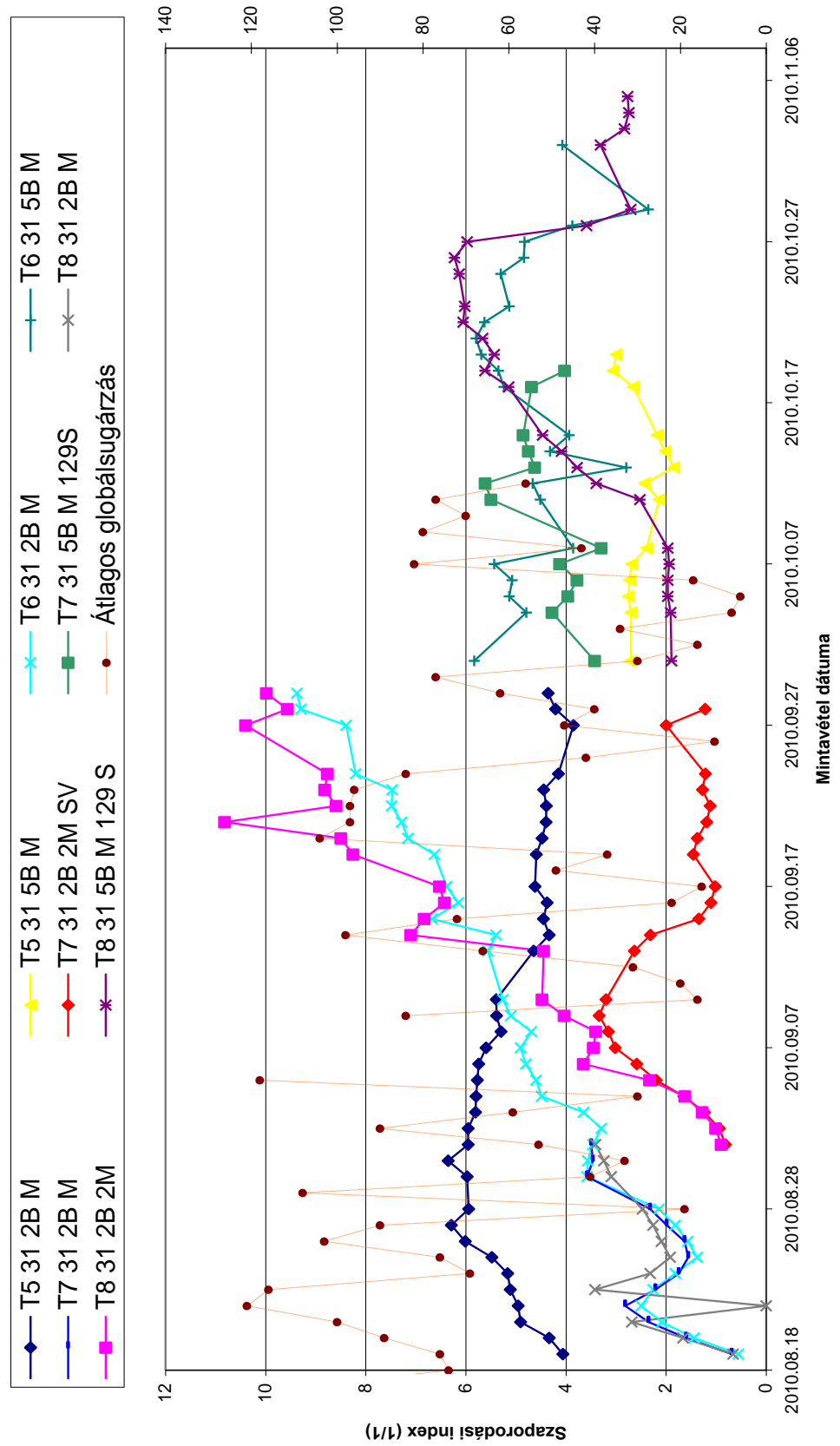
Először az alap tápoldat , a B2 M vizsgálatát végeztük el. A mért szaporodási görbék alapján arra a megállapításra jutottunk, hogy a nagyobb kiindulási algakoncentráció (T5 31 2B M) nem kedvező, ugyanis a jelen vizsgálati paraméterek mellett nem sikerült nagyobb biomassza koncentrációt elérni. A szaporodási index stagnálása arra utalt, hogy a kultúra valmiféle gátló hatás éri.

A T6 31 2B M és a T8 31 2B 2M kultúrák szaporodási görbéi összehasonlítása alapján a kétszeres makroelemkoncentrációjú tápoldattal táplált kultúra szaporodási sebessége jóval nagyobb, mint a 2B M táppal táplálté.

A T8 31 2B 2M jelű kultúrával párhuzamosan elindítottuk T7 31 2B 2M SV kultúrát, amelyben a tápoldat nitrogéntartalmát savanyúvízzel egészítettük ki. A savanyúvíz egy 1,5% ammónium-tartalommal rendelkező 50-100 ppm szulfidot tartalmazó, pH: 2-3 kémhatású modellszennyvíz. A szaporodási görbék összehasonlítása alapján a T7 reaktorban elérhető maximális szaporodási index jóval kisebb, mint a T8 párhuzamos kultúráé. Fontos azonban megjegyezni, hogy a globálsugárzás csökkenése valószínűleg olyan változásokat hozott T7-ben, amit a kultúra már nem tudott elviselni.

A következő vizsgálati periódusban a T5-T8 reaktorok egyre kevesebb fényt kaptak, így csak az egymáshoz hasonlításuk jöhet szóba. A szaporodási görbék alapján a 10.07 és 10.29 időszakban jellemző hatásokra a savanyúvízes és a mesterséges tápoldatok is hasonlóan reagáltak. Messzemenő következtetéseket azonban ezek alapján nehéz levonni. Annyi azonban bizonyos, hogy a teljes nitrogénigény savanyúvízből történő kielégítése esetén nem várható akkora biomassza növekmény, mint mesterséges táppal, de alkalmazása esetén nem pusztul ki az algakultúra.

M31 algafaj szaporodási indexe a tenyésztési idő előrehaladtával különböző tápoldatok alkalmazása esetén természetes fényben



46. ábra M31 alga szaporodási indexe a szabadtéri foto-bioreaktorokban

3.3 Az algaszuszpenzió feldolgozása

A leszüretelt algamasszát először üleptítettük. Többnyire szükség volt a szuszpenzió lúgosítására (legfeljebb pH=10,5), hogy könnyen szűrhető pelyhes állagú flokkokat kapjunk. Ha a feldolgozásra szánt szuszpenziót hosszabb ideig állni hagyjuk, akkor az üleptíthetőség rohamosan romlik. Ekkor még megoldást jelenthet a szintetikus flokkulálószeres kezelés.

Újabban ultraszűrővel elősűrítettük a szuszpenziót, hogy a szűrés-szárítás előtti flokkulálószeres alkalmazását mellőzni tudjuk. Ezt a Zenon cég által gyártott ZW-10 membrán modullal szerelt kísérleti berendezéssel végeztük el. A szuszpenziót így legalább hússzorosára be tudtuk sűríteni minimum 20 dm³/h permeátum sebességgel.

Az elősűrített algamasszát vákuumszűrővel tovább sűrítettük, majd 65 °C-os szárítószekrényben legalább 8 óráig szárítottuk.

A szárítást követően az algákat porítani kell. A porítást *Retsch PM100* típusú golyósmalomban végeztük. A beszáradt algatömeg állagától függően megfelelő tömegű golyókkal kellett az őrlést végezni. Általában ez 4 db 110,0 g ($\pm 0,2$ g) tömegű, gömb alakú őrlőtest alkalmazásával 10 perc alatt kivitelezhető volt. Az őrleményt a további feldolgozásig simítózáras PE tasakokban tároltam.

3.4 Algaextraktumok előállítása

Számos extrakciós vizsgálatot végeztem el. Többségében minőségi jellemzés céljából kloroform-metanol valamint hexán oldószereket használtam.

3.4.1 Oldószerrendszer kiválasztása

Az extrakció időtartamát 2 és 96 óra között vizsgáltam. Praktikus okokból többnyire legalább 12 órán át tartott az extrakció, ha mixer-settler típusú berendezésben mértem.

Az extraktumot rotadeszt készülékkel 30 °C-on bepároltam. Az így kapott oldószermentesített extraktum tömeget összevettem a alga szárazanyag tömegével. A további elemzés ezt követően kezdődhetett.

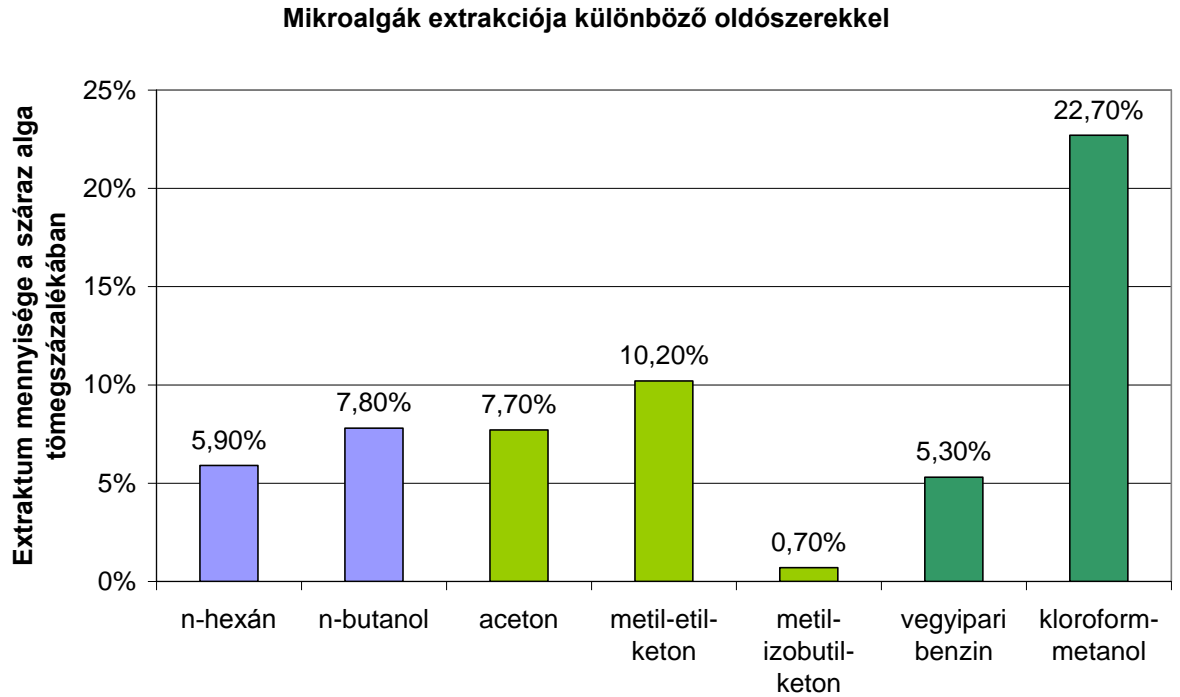
Először összevettem a fellelhető és potenciálisan alkalmazható oldószerek körét. Az alábbi táblázatban található oldószerek alkalmazhatóságát azért teszteltem, mert mindegyikből nagy mennyiséget állítanak elő valamelyik iparág számára. Ha az algák

feldolgozását ipari mennyiségben tervezzük, ezek biztosan rendelkezésre állnak és alkalmazásukhoz nem szükséges újabb protokollok kidolgozása.

Név	Jele	Jellemző alkalmazási terület
aceton	aceton	klorofill-tartalom fotometriás meghatározására
metil-etil-ketont	MEK	paraffinok, festékek, lakkok oldószereként használják
metil-izobutil-ketont	MIBUK	Festékiparban oldószerként
n-butanolt	n-BuOH	Lakokk, olajok oldószere
vegyipari benzin	VB	(fp.:130-180°C) gázhalmazállapotú olefinek előállítására
n-hexán	Hexán	Neutrális lipidek mennyiségének meghatározása
Klorfororm-metanol(2:1)	CM	Bligh-Dyer összes lipid extrakciójának oldószere

10. táblázat Algaextrakcióhoz alkalmazott oldószerek

A vegyipari benzint azért tartottam fontosnak bevenni a tesztelésre váró oldószerek közé, mert a kőolajfinomítóknál ez közti terméként rendelkezésre áll. Így fontos oldószer lehet, ha bioüzemanyag előállítását tervezzük.



47. ábra Algaextrakció ipari oldószerekkel

Az alkalmazott ipari oldószerek közül a MEK-vel nyertem a legnagyobb mennyiségű extraktumot. A MIBUK oldotta ki a legkevesebbet. A vegyipari benzín közel azonos mennyiségű extraktumot szolgáltatott, mint a hexán. Ez utóbbit a neutrális lipidek extrakciójához használják.

A kloroform-metanol eleggyel bár nagy extraktum kihozataalt lehet elérni, a kloroform alkalmazása korlátozott.

3.4.2 Algaextraktum összetétele

Az extraktumokat visszamérés és oldószermentesítés után összetétel elemzésnek vetettem alá (GC-MS technika).

Oldószer	Detektált összetevők az extraktumban
aceton	Sztearaldehyd
MEK	Dekánsav Undekanon Hexadekánsav Olajsav Fitol
MIBUK	Undekanol Hexadekánsav
n-BuOH	Olajsav
VB	Butánsav Nonánsav Sztearaldehyd Palmitinsav Olajsav Mirisztaldehyd Lauraldehyd
Hexán	2-decenal Nonánsav Dekánsav Nonadekanol
CM	Palmitinsav Olajsav Dokozén Lauraldehyd

11. táblázat Algaextraktumok minőségi jellemzése GC-MS módszerrel

A mérés alapján megállapítottam, hogy a vizsgált oldószerek elsődleges összetétel elemzésük alapján alkalmasak lehetnek biodízel keverőkomponensek előállításához, mert mindegyikben található zsírsav, amelyből metil észterek állíthatók elő.

A többi extrakciós vizsgálatot kloroform-metanol eleggyel végeztük. A kihozatal 10 és 35 (m/m)% között változott, attól függően, hogy a szuszpenzió milyen állapotában került feldolgozásra (egészséges, szaporodóképes, hanyatló, fényszegény, táphiányos). Összességében azonban kijelenthető, hogy az intenzív szaporodási és a plató fázisban feldolgozott algákból a kihozatal a 20 (m/m)%-ot meghaladta.

Egyrésztől összetétel vizsgálatokat végeztem GC-MS technikával. A vizsgált extraktumok mindegyike tartalmazott a C16-C19 tartományból zsírsavakat. Ezek kiindulási anyagok lehetnek biodízel keverőkomponensek előállítására.

Kozmetikai cikkek alapanyagaként használható, azonosított komponensek:

- fitol: (tetrametil-2-hexadecén-1-ol, CAS: 7541-49-3)

Diterpén alkohol, amely prekuzora lehet az E és K vitamin előállításnak, továbbá számos kozmetikai termékben előfordul. Éves kozmetikai célú felhasználása eléri az egy tonnát [135]

- 1-eikozanol: (Arachid-alkohol, CAS: 629-96-9)

Zsíralkohol, kozmetikai cikkekben bőrlágyító hatása miatt alkalmazzák. Hosszú szénláncú alkoholként detergensnek előállításában is szerepe van.

- lauraldehid: (dodecyl aldehyde, CAS: 112-54-9)

Paraffin aldehid, kozmetikai cikkek, háztartási finomvegyszerek többségének egyik komponense.

- klorofill:

Magnéziumionot tartalmazó porfirin vázas növényi pigment. E140 és számmal jelzett élelmiszeripari színezék. Vízoldható formája (chlorophyllin) gyógyszeripari alapanyag.

Ezek a komponensek ugyan nem használhatók biodízel előállítására, de mivel a alga szárazanyag piaci ára meghaladja az 5 EUR/kg-ot, lehetőség szerinti a legtöbb értékes komponenst ki kell nyerni az extraktumokból.

Azokban a mintákban, amelyek éhezettett algákból származnak, propionsav származékok is előfordulnak, ezek penetráns szagot okoznak.

3.4.2.1 Mono-, di- és trigliceridtartalom meghatározása

Az EN 14105 európai szabvány egy módszert írt elő a szabad glicerín és a maradék mono-, di-, és triglicerid tartalom meghatározására ásványi olajokhoz keverhető zsírsav metilészterekre (FAME). Ezen adatok alapján a teljes glicerid tartalom meghatározhatóvá válik.

3.4.2.1.1 A módszer elve

A glicerín, a mono- és digliceridek átalakítása illékonyabb szililezett származékokká piridin és N-metil-N-trimetilszilil-trifluoracetamid (MSTFA) jelenlétében történik. A szililezett származékok gázkromatográfiás elemzése vékony filmvastagságú, rövid kapilláris oszlopon on column injektorral vagy ezzel egyenértékű eszközzel végezhető, lángionizációs detektálással. A szabvány kalibráció után két belső standarddal mennyiségi meghatározást ír elő: 1,2,4- butántriol a szabad glicerín meghatározásához; 1,2,3- trikaproil-glicerín (trikaprin) a (mono-, di- és tri-) gliceridek meghatározásához.

3.4.2.1.2 Reagensek:

N-metil-N-trimetilszilil-trifluoracetamid (MSTFA)

Vízmentes piridin (molekulaszítán tárolt)

n-heptán

1,2,4-butántriol

1,2,3- trikaproil-glicerín (trikaprin)

3.4.2.1.3 Referencia anyagok:

Glicerín,

1-monooleil-glicerín (monoolein)

1,3-dioleil-glicerín (diolein)

A referencia anyagok GLC standard tisztaságúak.

3.4.2.1.4 Készülék

A kapilláris oszlopra jellemző tulajdonságok a következők: 400 °C-ig programozható legyen, 100 % dimetil-polisziloxán vagy 95% dimetil- és 5 % difenil-polisziloxán állófázis, hosszúsága: 10 m, belső átmérője: 0,32 mm, filmvastagsága: 0,1 mm.

A kromatográfálás körülményeit a használt oszlop és a vivőgáz (hidrogén vagy hélium) típusának figyelembevételével kell megválasztani. Az elemzési időt célszerű 30 percre állítani a trigliceridek elúciójának biztosítása érdekében.

További paraméterek

Készülék: GC 2010 Shimadzu

Injektált minta térfogat: 3 μ l

Kolonna: HP-1, 15,0 m x 0,25 mm, 0,25 μ m filmvastagság

Injektor: 340°C, vivőgáz: Ar

Fűtési program: 130°C - 2 perc, 17°C/perc 330°C-ig, 330°C - 22 perc

Detektor: FID, 340°C

3.4.2.1.5 A minták előkészítése és elemzése

Bemértünk 100 ml homogenizált mintát egy 10 ml-es fiolába, majd fecskendővel hozzáadtunk 80 μ l 1. számú törzsoldatot és 100 μ l 2. számú törzsoldatot és 100 μ l MSTFA-t. Kerülve a nedvességtől való érintkezést, hermetikusan lezártuk és alaposan összeráztuk. 15 percig szobahőmérsékleten tartottuk, majd 8 ml heptánt adtunk hozzá és 1 μ l-t elemeztünk gázkromatográfálással a meghatározott körülmények között.

3.4.2.1.6 Azonosítás

A kalibráló oldatoknak a minta oldatokéval azonos körülmények között történő elemzése teszi lehetővé a csúcsok azonosítását a retenciós idők összehasonlításával. A metilészterek és a monogliceridek elúciós zónájának átfedése miatt tanácsos a monoglicerid csúcsok azonosítása céljából monopalmitin, monosztearin és monoolein összetételű kereskedelmi elegyet injektálni a származékképzési reakció után.

3.5 Előkísérletek a különböző forrásból származó algaminták minősítésére

A vizsgált algaminták:

Mérési kód Eredeti kód

1. P5BM0720 P5BM péti CO₂ (3)

Tartás: 5BM tápon, CO₂ trágyázás, laboratóriumi körülmények közt

2. P5BMG5 (P5BM) G5

Tartás: 5BM tápon, 0,5 g/dm³ glükóz, CO₂ adagolás, laboratóriumi körülmények közt

3. P7KM0718 TV12P7K

Tartás: 5BM tápon, KNO₃ nitrogénforrással, laboratóriumi körülmények közt

4. AF07 fonalas algaminta

Tartás: természetes környezetéből származó fonalas alga

A továbbiakban az algamintákat a „Mérési kód”-dal jelöltem.

Az algamintákat az algaszuszpenziók feldolgozásával, /ülepítés, szűrés, szárítás 65°C-on/ állítottam elő. A szárított alga-por mintákat a vizsgálatokig zárt műanyag edényekben tároltam.

3.5.1 Nedvességtartalom meghatározása

A ~ 1g mintákat szárítószekrényben 120 °C-on tömegállandóságig szárítottam /kb. 4 óra/, lehűtöttem, a tömegcsökkenésből meghatároztam a nedvességtartalmat:

$$\text{Nedvességtartalom, m/m}\% = \frac{(m_{\text{bemérés, g}}) - (m_{\text{visszamérés, g}})}{(m_{\text{bemérés, g}})} * 100\%$$

Minta	Mérési kód	m _{bemérés,} (g)	m _{visszamérés,} (g)	Nedvességtartalom, (m/m)%
1.	P5BM0720	0,953	0,911	4,38
2.	P5BMG5	1,028	0,989	3,75
3.	P7KM0718	1,104	1,073	2,79
4.	AF07	0,886	0,855	3,47

12. táblázat Algaminták nedvességtartalmának meghatározása

3.5.2 Hamutartalom meghatározása

A mintákat /a nedvességtartalom meghatározása után/ 550 °C-ra fűtött kemencében, 4 órán át izzítottam, majd lehűtés után a maradék tömegeből meghatároztam a vízmentes és az eredeti minták hamutartalmát is.

$$\text{Hamutartalom, m/m\%} = m_{\text{maradék,g}} / m_{\text{bemérés}} * 100\%$$

Minta	Mérési kód	m _{bemérés} , g	m _{maradék} , g	Hamutartalom, m/m%	
				Szárított minta	Eredeti minta
1.	P5BM0720	0,911	0,219	24,1	23,0
2.	P5BMG5	0,989	0,230	23,2	22,4
3.	P7KM0718	1,073	0,298	27,8	27,0
4.	AF07	0,855	0,251	29,3	28,3

13. táblázat Algaminták hamutartalmának meghatározása

3.5.3 Fehérjetartalom meghatározása

Az alkalmazott módszer a nitrogéntartalom meghatározásán alapul. A fehérjetartalmat a nitrogéntartalom 6,25-ös faktorról való szorzásával kapjuk /mivel a fehérjék átlagban 16 m/m% nitrogént tartalmaznak/ (Chisti és mtsai 2007., [1])

A vizsgált algaminták CHN elemvizsgálóval /3 párhuzamos elemzés/ kapott eredményei m/m%-ban az alábbiak (4. melléklet):

Minta	Mérési kód	Nitrogén	Szén	Hidrogén	Összes
1.	P5BM0720	átl.: 3,03	átl.: 27,24	átl.: 4,74	átl.: 35,04
2.	P5BMG5	átl.: 5,63	átl.: 29,72	átl.: 4,56	átl.: 39,91
3.	P7KM0718	átl.: 10,02	átl.: 11,45	átl.: 2,26	átl.: 23,73
4.	AF07	átl.: 1,28	átl.: 30,29	átl.: 4,62	átl.: 36,19

14. táblázat Algaminták elemi összetétele (CHN) módszer:

Az analitikai eredmények alapján az algaminták nyersfehérje tartalma az alábbi táblázatban található:

Minta	Mérési kód	Átlagos nitrogéntartalom, (m/m)%	Átlagos nyersfehérje tartalom, (m/m)%
1.	P5BM0720	3,03	18,94
2.	P5BMG5	5,63	35,19
3.	P7KM0718	10,02	62,62
4.	AF07	1,28	8,0

15. táblázat Algaminták nyersfehérje tartalma

3.5.4 Lipidtartalom meghatározása

A lipid-extrakciós vizsgálatokhoz az alábbi módszert használtam:

Minta: ~1g szárított, porított, algaminta, 14 cm³ oldószer (kloroform-metanol 2:1 térfogatarányú keveréke),

Hőmérséklet: szobahőmérséklet (20-25 °C),

Extrakciós idő: 4 óra,

Keverés: óránként 5 perc,

Szűrés(1): Whatman GF/C típusú üvegszálás szűrőn, vákuum (vízsugár szivattyú),

Mosás: az üvegszálás szűrőn maradt szilárd maradék + 5 cm³ oldószer,

Szűrés(2): Whatman GF/C típusú üvegszálás szűrőn, vákuum (vízsugár szivattyú)

Egyesített szűrletek bepárlása rotadeszt készüléken 30-40 °C-on,

Szárítás tömegállandóságig \approx 65 °C-on, laboratóriumi szárítószekrényben, levegő atmoszférában (az extrakt és a maradék szilárd anyag)

A vizsgált mintákra az alábbi eredményeket kaptam:

Minta	Mérési kód	m _{bemérés} , g	Extraktum tömege, g	Lipidtartalom, m/m%
1.	P5BM0720	1,074	0,239	22,30
2.	P5BMG5	1,005	0,317	31,51
3.	P7KM0718	0,962	0,187	19,50
4.	AF07	0,958	0,084	8,80

16. táblázat Algaminták lipidtartalmának meghatározása

3.5.5 Szénhidráttartalom meghatározása

Élelmiszeripari, mezőgazdasági termékek, nyersanyagok szénhidráttartalmának meghatározására számos módszer használatos. A módszerek alapja a szénhidrátok hidrolízise, majd a keletkező cukrok meghatározása klasszikus módszerek esetén színreakcióval spektrofotometriásan, műszeres változat esetén kromatográfiásan

kvalitatív és kvantitatív analízist végeznek. Mivel mind a hidrolízis, a reakciókörülmények, mind a színreakciók szénhidrát-specifikusak, zavarják a fehérjék, nukleinsavak, aminosavak, az abszolút szénhidráttartalom meghatározását. Megfelelő standardok hiányában, általában a mérések nagy hibával terhelték. Algák összetételének vizsgálatakor pontosabb eredményeket kapunk, ha az egyéb, főbb összetevőket (fehérje-, lipid-, víz-, hamu-tartalom) határozzuk meg, a maradékot pedig a szénhidrátoknak tekintjük. Az utóbbi módszert választottam.

Az eddigi összetételekre vonatkozó adatok feldolgozásával meghatároztam a szénhidráttartalmakat. Az eredményeket, a többi összetevővel együtt, az alábbi táblázatban foglaltam össze.

A vizsgált minták m/m%-os összetétele:

17. táblázat Algaminták szénhidrát-tartalom meghatározása

Minta	Mérési kód	Lipid	Fehérje	Víz	Hamu	Szénhidrát
1.	P5BM0720	22,30	18,94	4,38	23,0	31,4
2.	P5BMG5	31,51	35,19	3,75	22,4	7,15
3.	P7KM0718	19,50	62,62	2,79	27,0	(-11,91)*
4.	AF07	8,80	8	3,47	28,3	51,43

*A mintában a tápoldat maradék nitrát tartalma okozhatta a hamis fehérje és szénhidrát eredményeket.

3.6 Különböző tartási körülmények között termesztett szuszpenziók összetételének meghatározása

3.6.1 Előkísérletek

A termesztési körülményeket a 8. táblázat tartalmazza. A szüretkor megadott algakonzentráció a szárazanyag-tartalomra vonatkozik.

18. táblázat Termesztési paraméterek az oleintartalom meghatározásba bevont szuszpenziók esetében

Termesztési azonosító	Koncentráció szüretkor (g/l)	Gázterhelés (m ³ /h)	Szuszpenzió térfogata (l)	Hasznos felület (m ²)	Fény intenzitás (W/m ²)
R2	4,42	0,105	10	0,5	0,15
TV	3,5	0,056	10	0,5	0,17
Tető1	2,47	2,85	1,5	0,0288	0,77

3.6.1.1 A technológia paramétere

Az extrahálást kétféle módon végeztem, ahol egyik esetben acetont volt az oldószer (AC 100), a másik esetben kloroform-metanol 2:1 arányú elegye. Az oldószer mennyisége is különböző: acetontól 14 ml-t mértünk be, az oldószerkeleget pedig összesen 19 ml-t, valamint az extrakciós időben is van eltérés. A minták extrahálására vonatkozó információkat a 9. táblázatban foglaltam össze. A táblázatban található 'CM21' a kloroform-metanol oldószerkeleget, az 'AC' az acetont extrakciót jelöli.

19. táblázat Extrakciós paraméterek oleintartalom meghatározásához

Extrakció jelölés	Termesztési azonosító	Bemérés (g)	Extrakt tömege (g)	Eljárás	Időtartam (óra)
E12	R2	1,015	0,313	CM21	72
E13	Tető1	1,014	0,156	CM21	72
E14	R2	1,007	0,236	CM21	72
E15	TV2	1,021	0,055	AC100	96
E16	R2	1,025	0,077	AC100	96
E17	Tető1	1,022	0,039	AC100	96
E18	R2	1,031	0,088	AC100	96
E23	TV2	1,000	0,047	AC100	2
E24	R2	1,020	0,092	AC100	2
E25	Tető1	1,015	0,023	AC100	2

3.6.1.2 Az extrakcióra vonatkozó adatok

Az analízist az EN 14105 szabványban leírtak szerint végeztük. A glicerint- és oleintartalmak kiszámításához a szabványban előírt egyenleteket használtuk fel. Ezek részletes leírása a mellékletben található.

A minták kiértékelés során megfigyelhető az extrakciós idő és az oldószer együttes hatása az olajhozamra. A kloroform-metanol eleggyel végzett kinyerés során az relatív oleintartalom lényegesen kisebb, mint az acetontos eljárás használatával. A glicerint-

tartalomban nem észlelhető jelentősebb különbség az egyes eljárások között. A glicerint a bioüzemanyagok gyártása során melléktermék, jelenléte a motorhajtóanyagokban nem kívánatos.

Az acetonos technikát használva magasabb az oleinek mennyisége a mintákban, azonban ennél a módszernél az extrakciós időben is eltérés van. A rövidebb extrakciós időt (2 óra) alkalmazva egyes mintákban megjelentek a trigliceridek is, mégpedig elég nagy mennyiségben (E24-es minta). Hosszabb extrakció során a digliceridek mennyisége szembetűnő. Ennél a módszernél a monogliceridek elég kis mennyiségben vannak jelen, és az összes olein-tartalom is közel azonos.

A más-más körülmények között növekedő algák összetétele is változik. Megfigyelhető, hogy az algák termesztéséhez jobb az R2 reaktorokban való szaporítás, mivel itt érhető el a legmagasabb olajhozam. A gázterhelés megfelelő szintre történő beállításával magas tri- és diolein-tartalom érhető el. Az alacsony szén-dioxid-levegő elegy betáplálás esetén-, amelyet a TV reaktoroknál alkalmaznak- a monoglicerid feltételei előállításának kedvezők. A nagyobb gázterhelés,- mint a tető reaktoroknál- a magas glicerintartalmat és az alacsony glicerid-tartalmat eredményez.

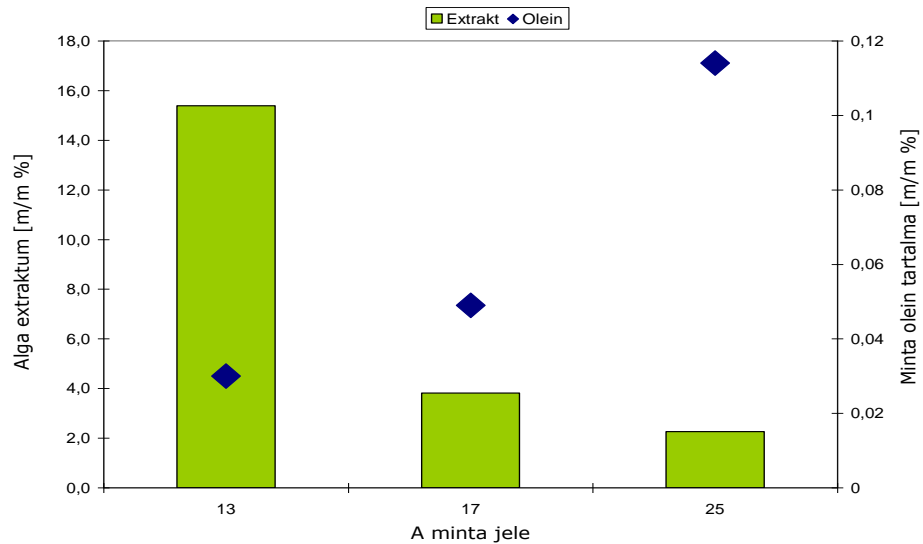
A fény intenzitása is befolyásolja az algák által termelt olajok mennyiségét. A kisebb fény intenzitás értékek (0,15 és 0,17 W/m²) az oleinek termelődésére vannak jó hatással. A tetőreaktorokat jellemző magas fényintenzitás hatására a glicerint mennyisége nő meg a többi komponens rovására. A magas olajhozam eléréséhez tehát alacsonyabb szén-dioxid mennyiség és kisebb fényintenzitás szükséges.

Fontos szem előtt tartani, hogy bár a laboratóriumban termesztett algákban magasabb olein-tartalom érhető el, energiagazdálkodás szempontjából a szabadban való termelést érdemes megvalósítani. A paramétereket változtatva valószínűleg ott is elérhetővé válik a laboratóriumiakhoz hasonló olein mennyiség. A kísérletsorozat folyamán bebizonyosodott, hogy nagyon összetett és bonyolult folyamatok eredményeként változik a várható olajhozam.

20. Táblázat

Minta azonosító	Extrahálószer	Extrakciós idő [h]
13	Kloroform - metanol (2:1)	72
17	Aceton	96
25	Aceton	2

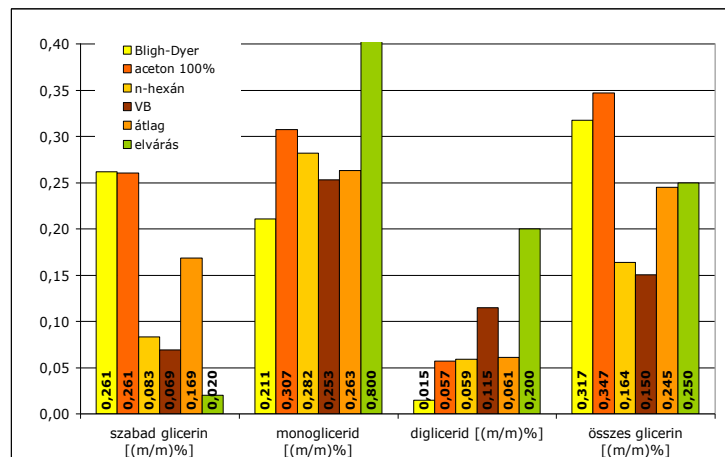
Oleintralom meghatározása



48. ábra Oleintartalom meghatározása, eredmények

3.6.2 Több extraktum összehasonlítása

A következő mérésorozatban kifejezetten analitikai céllal extrakciós vizsgálatokat végeztem, amelyekben az összetett oldószerek esetén (VB, Bligh-Dyer) mixer-settler, a tiszta oldószerek alkalmazása esetén pedig Soxhlet-extraktort használtam.



49. ábra Extrakciós módszerek összehasonlítása EN 14501 szabványnak megfelelő mérés alapján

A fenti mérési eredmények, grafikonok alapján az oldószerszerek összehasonlítását az alábbiak szerint értékeltem.

Az algaminták a folyamatosan üzemeltetett foto-bioreaktorainkból származtak. A tiszta vegyszereket AR minőségben adtam hozzá (99,99 % hatóanyag). Az összetett oldószerek közül a Bligh-Dyer elegyet helyben AR tisztaságú vegyszerekből kevertem. A vegyipari benzint egy nyílt láncú szénhidrogénekből (C6-C10) álló, a vegyiparban

köztermékként megjelenő elegy. Az extrakcióhoz szükséges mintákat a MOL Nyrt. biztosította.

Az eredmények alapján az algaminták ebben a szaporodási fázisban még a lipidfelhalmozási ciklus elején vannak (az előkísérletekhez viszonyítva). A mono- és digliceridek mennyisége a tiszta extraktumban átlagosan 0,27 (m/m)% ill. 0,1 (m/m)%. Az különböző extrakciós módszereket az egymáshoz viszonyított kihozataluk alapján az alábbiak szerint értékeltem:

Az újonnan bevezetett vegyipari benzin, olein kihozatal szempontjából nem maradt el a többi oldószerhez képest. Ennek megfelelően a vegyipari benzint lipid extrakcióra alkalmas vegyszernek ítélem.

Összefoglalás

Munkám során ipari léptékű algatermesztési kísérletek előkészítését végeztem el. Ennek során megterveztem és megépítettem több nagylaboratóriumi fotobioreaktor rendszert.

A kutató munka indoka kettős. Korábbi időkben felmerült, hogy ezen az alapon motorhajtóanyag komponenseket lehet előállítani. Ennek gazdaságossága természetesen a nyersolaj aktuális árától függ. A megvalósítás ~150 USD/barrel ár felett gazdaságos.

A mezőgazdaságban bizonyos algák adalékanyagoknak használhatók növényi táprendszer komponensként, mert előkísérletek alapján növelik a műtrágya komponensek felszívódási hatásfokát. Esetleg szóbjöhetnek kozmetikai alkalmazások is.

Alapkísérleteket végeztem sztenderdnek tekinthető tápoldatvizsgáló rendszerrel, amelyben össze tudtam hasonlítani a szóbjöhető négy algafajt. Ezek közül a *Chlorella v.* és a *Scenedesmus a.* fajok az MTA Ökológiai Kutatóközpont Balatoni Limnológiai Intézetétől, a *RaMbO* kultúra az Inotától délre található régi tőzgebányából, a *Bioplasma* kultúra pedig a Péti Nitrogénművektől származik.

Meghatároztam az optimális tápanyag és fényellátást azon célból, hogy maximális biomassa növekményt kapjak.

Ezen kísérletek kiértékelése során szükség volt egy új index bevezetésére, amit szaporodási indexnek neveztem el.

A rendelkezésre álló négy algafaj termesztéséhez tápoldat-optimalizálást hajtottam végre, melynek eredményeképpen a négy kultúrához tartozó algák biomassa termelékenységét adott feltételek mellett maximalizáltam.

Figyelembe véve az alkalmazott tápkomponensek árát és a szuszpenziók által elért biomassa koncentrációk értékét, a B5M kóddal jelölt tápreceptúrát találtam az optimális tápösszetételnek. Ezzel a receptúrával a két faj, *Chlorella v.* esetében maximum $5,76 \text{ g/dm}^3$, *Scenedesmus a.* termesztésekor $5,09 \text{ g/dm}^3$, míg a *RaMbO* és a *Bioplasma* kultúrák esetében $4,0 - 4,2 \text{ g/dm}^3$ biomassa koncentrációt sikerült elérni. (a koncentrációk szárazanyag tartalomra vonatkoznak)

Meghatároztam a nitrogénforrás anyagi minőségének hatását a B5M receptúrának megfelelő nitrogéntartalmú tápoldatokban *Chlorella v.* faj termesztésére. Olyan vegyületek alkalmazhatóságát vizsgáltam, amelyek a hagyományos mezőgazdasági

folyékony műtrágyák hatóanyagai lehetnek: NaNO_3 , KNO_3 , NH_4NO_3 , karbamid, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.

Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a kultúra az akut nitrogénpótlásra használható ammónium-nitráttal hozta a legkisebb biomassza koncentrációt, míg ha a nitrogénigény 30%-át $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -tal helyettesítettem, az alap tápoldathoz képest 25%-kal magasabb, akár $6,9 \text{ g/dm}^3$ is elérhető.

Szabadtéri szaporítási kísérleteket végeztem a tápoldat nitrogéntartalmának savanyúvízzel való részleges kiegészítésére is. A savanyúvíz egy 1,5% ammónium-tartalommal rendelkező 50-100 ppm szulfidot tartalmazó, pH: 2-3 kémhatású modellszennyvíz. A termesztési kísérletek alapján megállapítottam, hogy a teljes nitrogénigény savanyúvízből történő kielégítése esetén nem várható akkora biomassza növekmény, mint mesterséges táppal, de alkalmazása esetén nem pusztul ki az algakultúra.

A tápoldatvizsgálatok és a laboratóriumi léptékű termesztési kísérletek alapján megépítettem egy szabadtéri rendszert, ami már alkalmas volt legfeljebb 8 féle algakultúra párhuzamos szabadtéri tesztelésére. Az egyenként 10 dm^3 reaktortérfogattal, $0,25 \text{ m}^2$ fényabszorpciós felülettel rendelkező, külső vízhűtéssel ellátott szabadtéri modulokat gázkeverő, tápoldatellátó és egyéni gázbevezető, gázelosztó rendszerrel cseréltem fel.

Ezen tapasztalatok alapján a MOL százhalombattai telephelyén egyenként 180 dm^3 térfogatú flat reaktorokat terveztem és építettem. Ezek az előzetes várakozásnak megfelelően működtek.

Egyben meghatároztam egy elsősorban szennyvizek feldolgozására alkalmas 500 dm^3 -es nyitott reaktorrendszer létesítéséhez szükséges tervezési alapadatokat. Ezt részletesen a dolgozat nem tartalmazza.

A száraz alga elemzési módszerek közül kiválasztottam a céloknak megfelelőket. Ezek a vizsgálatok: a hamutartalom meghatározása, CHNO elemanalízis, az extraktumok GC-MS vizsgálata és azok oleintartalmának meghatározása az EN 14501 szabványnak megfelelően.

Kidolgoztam ezen algaminősítő módszerek adaptációjával a biomassza lipid, fehérje és szénhidrát tartalom mérési módszereit.

Extrakciós kísérleteket végeztem, ezek eredményeit értékeltem tradicionális oldószer (acetone, n-hexán, n-butanol, metil-etil-ke-ton, metil-izobutil-ke-ton) és oldószer elegyek (kloroform-metanol, vegyipari benzín) felhasználásával is.

Különösen az üzemanyag célú felhasználás esetére célszerű a vegyipari benzin használata. Ezzel az extraháló szerrel legalább akkora oleintartalmú extraktumot lehetett előállítani, mint a referenciaként használt n-hexánnal, amely neutrális lipidek analitikai célú előállítására használatos.

A kísérletek alapján megállapítottam, hogy a vegyipari benzin finomítói köztiterméként ígéretes oldószer bioüzemanyagok üzemi méretű előállítására.

A kloroform-metanol elegy ugyan a hexánhoz képest közel négyszeres mennyiségű extraktumot hozott, de számításba kell venni azt is, hogy a klór tartalmú oldószerek alkalmazása korlátozott.

Ezen ismeretek birtokában egy tetszőleges méretű algatermelő rendszer létesíthető. Az üzemeléshez szükséges ellenőrző, irányító és analitikai módszerek egyaránt rendelkezésre állnak.

Tézispontok

1. Szabadtéri nagylaboratóriumi foto-bioreaktor rendszert terveztem és építettem. A rendszer alkalmas a fototróf tartásban termesztett algaszuszpenziók termesztetőségi vizsgálatainak elvégzésére. A reaktor rendszert veszprémi éghajlati viszonyok között üzemeltettem. A reaktor minden olyan elemet tartalmaz, amely a szabadtéri termesztőrendszerek működéséhez szükséges. A megtermelt szuszpenzió biomassza-tartalmának követéséhez bevezettem a szaporodási indexet, ami a szuszpenzió 681,5 nm hullámhosszon mért abszorbanciájának hígítással korrigált értéke.
2. A rendelkezésre álló négy algakultúra termesztéséhez tápoldat-optimalizálást hajtottam végre, ennek eredményeképpen a *Scenedesmus sp*, *Chlorella V.*, *bioplasma* és a *RaMbO* kultúrákhoz tartozó algák biomassza termelékenységét az adott feltételek mellett maximalizáltam.
3. Meghatároztam az algaszuszpenziók összetételét, különös tekintettel a biokomponensek kinyerésére. Az alga szárazanyag minősítő módszerek adaptációja révén meghatároztam a megtermelt biomassza lipid, fehérje- és szénhidrát tartalmát.
4. A megtermelt alga szárazanyag feldolgozására különböző forrásból származó oldószerekkel extrakciós kísérleteket végeztem. Bevezettem a vegyipari benzint, mint finomítói köztiterméket az extrakciós oldószerek közé. Megállapítottam, hogy ezzel a vegyszerrel legalább akkora oleintartalmú extraktumot lehetett előállítani, mint a referenciaként használt n-hexánnal, amely neutrális lipidek analitikai célú előállítására használatos.

Theses

1. I have designed and built an outdoor lab-scale photo-bioreactor system. The system is capable of performing cultivability tests on algae suspensions cultured under phototrophic circumstances. The reactor system was operated under the climatic conditions of Veszprém. The reactor contains all the elements needed for the operation of outdoor cultivating systems. In order to follow the biomass content of the produced suspension, I have introduced the proliferation index which is the dilution-corrected absorbance of the suspension at a wavelength of 681.5 nm.
2. For cultivation of the available four algae cultures, I have performed medium optimisation and as a result I maximised the biomass producibility of algae belonging to *Scenedesmus* sp, *Chlorella* v., bioplasma and RaMbO cultures under the given circumstances.
3. I determined the composition of algae suspensions with special regard to the extraction of biocomponents. By adopting algae dry matter qualification systems, the lipid, protein and carbohydrate contents of the produced biomass were determined.
4. For the processing of the produced algae dry material, I have performed extraction experiments using solvents from various sources. Among the extraction solvents, I introduced industrial petrol as a refinery intermediate product. I concluded that the oleine content of the extract produced by using this chemical is at least the amount produced by using the reference solvent n-hexane, which is used for production of neutral lipids for analytic purposes.

Publikációk

Folyóiratban megjelent cikkek

1. Robert Bocsi, Dora Rippel-Petho, Geza Horvath, Laszlo Hanak, Zoltan Hodai: Characterization of the effect of programmed aeration on energy efficiency of microalgae cultivation system, 2016, World Journal of Engineering and Technology (Elfogadva)
2. Zoltán Hodai, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: New bio-flocculation effect and its examination, World Journal of Engineering and Technology 2/2014, 2014, 116-123. <http://dx.doi.org/10.4236/wjet.2014.22013>
3. R. Bocsi, L. Hanak, G. Horvath, Z. Hodai: Processing residuals from microalga technology, 2013 4th International Youth Conference on Energy (IYCE), IEEE Xplore, 2013.06. 06-08., Siófok, p.1-5. DOI: 10.1109/IYCE.2013.6604168
4. Zoltán Hodai, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: Use of algae mass densified through various methods for biogas production, 2013 4th International Youth Conference on Energy (IYCE), Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE Xplore), 2013, 1-5. DOI: 10.1109/IYCE.2013.6604169
5. Éva Molnár, Dóra Rippel-Pethő, Róbert Bocsi: Solid-Liquid Extraction of Chlorophyll from Microalgae from Photoautotroph Open-Air Cultivation, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, 41:(2) pp. 119-122. (2013)
6. Zoltán Hodai, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: The energy balance of separation opportunities in microalgae technologies, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, 41:(2) pp. 115-118. (2013)
7. Hodai Zoltán, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Bocsi Róbert: Algatechnológia és sűrítési műveletek/Algae technology and densification methods/Tehnologia algelor si metode de densificare, Műszaki Szemle TECHNICAL REVIEW 62/2013, ISSN 1454-0746, 2013., 39-44.
8. R. Bocsi, L. Hanák, G. Horváth, Z. Hodai, D. Rippel-Pethő, B. Szabó-Ravasz, L. Szokonya, Gy. Takács: Algae cultivation for energetic purposes, research on algae technology at the University of Pannonia, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, Vol. 40(1), pp. 15-18 (2012)
9. Z. Hodai, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Separation methods in the algae technology, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, Vol. 40(1), pp. 5-8 (2012)
10. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Energetikai céllal tenyésztett mikroalga-szuszpenziók sűrítése, Membrántechnika és ipari biotechnológia, 2011., 62-70.
11. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Extraction examinations of microalgae propagated for biodiesel additives, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, Vol. 39(1), pp. 45-49 (2011)

12. Z. Hodai, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Densification processes of microalgae bred for biodiesel production, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, Vol. 39(1) pp. 67-71 (2011)
13. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Róbert Bocsi: Problems occurring during the processing of microalgae propagated for oil production, Studia UBB Chemia, Sp. Iss. pp. 63-71. (2010)
14. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák: Microalgae production in service of fuel production, Hungarian Journal of Industrial Chemistry, Veszprém, Vol. 38(1). pp. 9-13 (2010)

Konferencia kiadványok

2016.

15. Bocsi Róbert, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Algatermesztő rendszer energetikai hatásfokát befolyásoló tényezők vizsgálata, Műszaki Tudományos Közlemények, Kolozsvár, 2016., pp. 113-116 ISSN 2393-1280
16. Hodai Zoltán, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Biomassza szuszpenzió sűrítési lehetőségeinek vizsgálata flotálási művelettel, Műszaki Tudományos Közlemények, Kolozsvár, 2016., pp. 193-196 ISSN 2393-1280

2015.

17. R. Bocsi, D. Rippel-Petho, G. Horvath, L. Hanák, Z. Hodai: Microalgae cultivation in photobio-reactor - effects of aeration program on biomass productivity, 42nd International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering. Tatranske Matliare, Szlovákia, Bratislava: Slovak Society of Chemical Engineering (SSCHE), 2015. p. 213. ISBN:978-80-89475-14-8
18. Bocsi Róbert, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: A szuszpenzió keverésének hatása fotobioreaktorban termesztett mikroalgák termelékenységére, A XX. Fialtal Műszaki Tudományos Ülésszak Előadásai, (Műszaki Tudományos Közlemények; 3.) Kolozsvár: Erdélyi Múzeum-Egyesület (EME), 2015, pp. 95-98.
19. Bocsi Róbert, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán, Argyelán János: Fotoautotróf mikroalgák termesztéstechnológiája, XXI. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Csíksomlyó, Románia, 2015.09.23-2015.09.27. Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság (EMT), p. 29
20. Z. Hodai, D. Rippel-Petho, G. Horvath, L. Hanák, R. Bocsi: Separation processes of microalgae bred for biodiesel production, 42nd International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering. Tatranske Matliare, Szlovákia, Bratislava: Slovak Society of Chemical Engineering (SSCHE), 2015. p. 213. ISBN:978-80-89475-14-8
21. Hodai Zoltán, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Mikroalga technológia alkalmazhatóságának lehetőségei, A XX. Fialtal Műszaki Tudományos Ülésszak, Kolozsvár, Románia, 2015.03.19-2015.03.20. Kolozsvár: Erdélyi Múzeum-Egyesület (EME), pp. 163-166.

22. Hodai Zoltán, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Szokonya László, Bocsi Róbert: Mikroalga felületi adhéziónak sajátosságainak eltérésén alapuló dúsítási műveletek vizsgálata, XXI. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Csíksomlyó, Románia, 2015.09.23-2015.09.27. Erdélyi Magyar Műszaki Tudományos Társaság (EMT), p. 35
2014.
23. Róbert Bocsi, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in outdoor flat panel photobioreactors, 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels & Bioproducts, USA, New Mexico, Santa Fe, 2014.
24. Zoltán Hodai, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: Separation processes of microalgae bred for biodiesel production, 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels & Bioproducts, USA, New Mexico, Santa Fe, 2014.
25. Bocsi Róbert, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák energetikai termesztése szabadtéri flat-panel fotobioreaktorban, A XX. Fiatal Műszaki Tudományos Ülésszak Előadásai, (Műszaki Tudományos Közlemények; 3.) Kolozsvár: Erdélyi Múzeum-Egyesület (EME), 2014, pp. 85-88.
26. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Algae technology's energetical assay, XIX. Fiatal Műszaki Tudományos Ülésszaka, Kolozsvár, Románia, 2014.
27. Róbert Bocsi, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in flat panel photobioreactors in Veszprém, X Meeting of Young Chemical Engineers 2014., Horvátország, Zágráb, 2014. február 19-22.
28. Zoltán Hodai, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: Membrane filtration in microalgae technology, X Meeting of Young Chemical Engineers 2014., Horvátország, Zágráb, 2014. február 19-22.
2013.
29. Róbert Bocsi, Dr. Dóra Rippel-pethő, Dr. Géza Horváth, Dr. László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in Veszprém: design and construction of flat panel photobioreactors, International Alga Congress 2013, Hamburg, Németország, 2013. december 3-4.
30. Zoltán Hodai, Dr. Dóra Rippel-pethő, Dr. Géza Horváth, Dr. László Hanák, Róbert Bocsi: Microalgae densification experiments in Veszprém, International Alga Congress 2013, Hamburg, Németország, 2013. december 3-4.
31. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Production of biofuel components from microalgae/Üzemanyagok biokomponenseinek előállításuk mikroalgákból, 19th International Conference of Chemistry, Nagybánya, Románia, 2013. november 21-24.
32. Z. Hodai, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Comparison of microalgae-separation procedures/Mikroalga-szeparációs műveletek összehasonlítása, 19th International Conference of Chemistry, Nagybánya, Románia, 2013. november 21-24.

33. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Szabadtéri fotobioreaktorban termesztett mikroalga-szuszpenziók jellemzése/Characterization of microalgae suspension which cultivated in open-air photobioreactor, Műszaki Kémiai Napok 2013, 2013. Április 23.-25., Veszprém
34. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Különböző forrásból származó algaszuszpenziók kezelése/Processing of algae suspensions from different sources, Műszaki Kémiai Napok 2013, 2013. Április 23.-25., Veszprém
35. Robert Bocsi, Geza Horvath, Laszlo Hanak, Zoltan Hodai: Processing residuals from microalga technology, 4th International Youth Conference on Energy, 6-8. June, 2013, Siófok, Hungary
36. Zoltan Hodai, Geza Horvath, Laszlo Hanak, Robert Bocsi: Use of algae mass densified through various methods for biogas production, 4th International Youth Conference on Energy, 6-8. June, 2013, Siófok, Hungary
37. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Fotobioreaktorokban termesztett mikroalgák feldolgozása, XVIII. Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka, Kolozsvár, Románia, 2013.
38. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Algatechnológiai besűrítési műveletek, XVIII. Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka, Kolozsvár, Románia, 2013.
2012.
39. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Bioüzemanyagok előállítására termesztett mikroalgák lipidextrakciója/ Lipidextraction of microalgae propagated for biofuel components, 18th International Conference of Chemistry, Félixfürdő, Románia, 2012.
40. Z. Hodai, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Densification techniques of algaebiomass: energetical evaluation/ Algabiomassza besűrítési műveletek: energetikai értékelés, 18th International Conference of Chemistry, Félixfürdő, Románia, 2012.
41. Bocsi R., Horváth G., Hanák L., Hodai Z.: Lipidtermelésre szaporított mikroalgák termesztési feltételeinek vizsgálata, Műszaki Kémiai Napok'12, Veszprém, 2012.
42. Hodai Z., Horváth G., Hanák L., Bocsi R.: Lipidtermelésre szaporított mikroalga szuszpenziók sűrítési lehetőségei, Műszaki Kémiai Napok'12, Veszprém, 2012.
43. Róbert Bocsi, Géza Horváth, László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in Veszprém: design and construction of flat panel photobioreactors, 9th European Workshop Biotechnology of Microalgae, Nuthental, Németország, 2012.
44. Zoltán Hodai, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: Densification options of microalgae suspension propagated for lipid production, 9th European Workshop Biotechnology of Microalgae, Nuthental, Németország, 2012.
45. Robert Bocsi, Geza Horvath, Zoltan Hodai: Processing microalgae suspension propagated in flat panel photobioreactors, PSC – IMFS 10, 2012.

46. Zoltan Hodai, Geza Horvath, Robert Bocsi: The separation of microalgae produced for oil production from substrate solution, PSC – IMFS 10, 2012.
47. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák energetikai célú termesztése, XVII. Fiatal Műszakiak Tudományos Ülészaka, Kolozsvár, Románia, 2012.
48. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Energetikai céllal termesztett mikroalgák feldolgozása, XVII. Fiatal Műszakiak Tudományos Ülészaka, Kolozsvár, Románia, 2012.
2011.
49. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Extraction of microalgae propagated for biodiesel additives/ Biodízel keverőkomponensek előállítására termesztett mikroalgák extrakciója, 17th International Conference of Chemistry, Kolozsvár, Románia, 2011.
50. Z. Hodai, G. Horváth, L. Hanák: Membrane filtration in algae technology/ Membránszűrés az algatechnológiában, 17th International Conference of Chemistry, Kolozsvár, Románia, 2011.
51. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Photometric method for monitoring lipid productive microalgae propagated in natural light, Interfaces '11 Conference, Science and innovation for sustainable progress in petroleum refining and petrochemistry, Sopron, (2011) ISBN 978-963-9970-21-2
52. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Lipid content enhancement during the processing of micro algae bred for biodiesel production and CO₂ absorption, Interfaces '11 Conference, Science and innovation for sustainable progress in petroleum refining and petrochemistry, Sopron, (2011) ISBN 978-963-9970-21-2
53. Bocsi R., Horváth G., Hanák L., Hodai Z.: Lipidtermelésre termesztett mikroalgák szaporításának vizsgálata természetes fényben, Műszaki Kémiai Napok' 11, Veszprém, 2011.
54. Hodai Z., Horváth G., Hanák L., Bocsi R.: Olajtermelésre szaporított mikroalgák szeparációja a tenyészközegtől, Műszaki Kémiai Napok' 11, Veszprém, 2011.
2010.
55. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák: Carbon capture by microalgae in closed photobioreactor, XVI. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Kolozsvár, (2010), ISSN: 1843-6293

Előadások

56. Bocsi Róbert, Hodai Zoltán, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László: Algatechnológiai rendszer energetikai hatásfokát befolyásoló tényezők vizsgálata, Fiatal Műszakiak Tudományos Ülészaka, Kolozsvár, Románia, 2016. március 16-19.
57. Bocsi Róbert, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Dr. Hodai Zoltán, Dr. Argyelán János: Fotoautotróf mikroalgák termesztéstechnológiája, Nemzetközi Vegyészkonferencia, Csíksomlyó, Románia, 2015. szeptember 23-27.

58. Bocsi Róbert, Rippelné Pethő Dóra, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: A keverés hatása a mikroalgák termesztésének energiamérlegére, Műszaki Kémiai Napok 2015, Veszprém, 2015. április 22.
59. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: A szuszpenzió keverésének hatása foto-bioreaktorban termesztett mikroalgák biomassa termelékenységére, Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka, Kolozsvár, 2015. március 19-22.
60. Bocsi Róbert, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák termesztése fotobioreaktorban – energetikai jellemzés, XX. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Kolozsvár, 2014. november 6-9.
61. Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi- és szabadtéri flat-panel foto-bioreaktorokban, Műszaki Kémiai Napok –MTA-VEAB Ipari Biotechnológiai ülés, Veszprém, 2014. május 14.
62. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák energetikai célú termesztése szabadtéri flat-panel fotobioreaktorban, Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka, Kolozsvár, 2014. március 21.
63. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Hodai Zoltán: Üzemanyagok biokomponenseinek előállítása mikroalgákból, PhD hallgatók anyagtudományi napja XIII., Veszprém, 2013. november 25.
64. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Hodai Zoltán: Üzemanyagok biokomponenseinek előállítása mikroalgákból, Nemzetközi Vegyészkonferencia, Nagybánya, Románia, 2013. november 22.
65. R. Bocsi, L. Hanak, G. Horvath, Z. Hodai: Processing residuals from microalga technology, International Youth Conference on Energy IYCE '13, Siófok, (2013)
66. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák termesztése speciális foto-bioreaktorban, MTA Vegyipari Művelési Munkabizottsági ülés, Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, (2013)
67. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Szabadtéri fotobioreaktorban termesztett mikroalga-szuszenziók jellemzése, 41. Műszaki Kémiai Napok, (2013)
68. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Fotobioreaktorban termesztett mikroalgák feldolgozása, XVIII. Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka, Románia, Kolozsvár, (2013)
69. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza: Fotobioreaktorban termesztett mikroalgák feldolgozása, MTA Vegyipari Művelési Munkabizottsági ülés, Budapest, (2012)
70. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Bioüzemanyagok előállítására termesztett mikroalgák lipidextrakciója, Nemzetközi Vegyészkonferencia, Félixfürdő – Baile Felix, Románia, (2012)
71. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Fotobioreaktorban termesztett mikroalgák extrakciója, PhD hallgatók anyagtudományi napja XII., Veszprém, (2012)

72. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák energetikai célú termesztése: algatechnológiai kutatások a Pannon Egyetemen, Mobilitás és környezet 2012., Veszprém, (2012)
73. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Lipidtermesztésre szaporított mikroalgák termesztési feltételeinek vizsgálata, 40. Műszaki Kémiai Napok 2012., Veszprém, (2012)
74. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Mikroalgák energetikai célú termesztése, Fiatal Műszakiak Tudományos Ülésszaka XVII., Kolozsvár, (2012)
75. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Energetikai célokra termesztett mikroalgák extrakciója, PhD hallgatók anyagtudományi napja XI., Veszprém, (2011)
76. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Biodízel keverőkomponensek előállítására termesztett mikroalgák extrakciója, XVII. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Románia, Kolozsvár, (2011)
77. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán: Lipidtermelésre szaporított mikroalgák extrakciója, Bioenergetikai kerekasztal, Veszprém, (2011)
78. R. Bocsi, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Photometric method for monitoring lipid productive microalgae propagated in natural light, INTERFACES '11, Science and innovation for sustainable progress in petroleum refining and petrochemistry, Sopron, (2011)
79. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Biodízel keverőkomponenseinek előállítására termesztett mikroalgák extrakciós vizsgálatai, Mobilitás és Környezet Konferencia, Veszprém, (2011)
80. Bocsi Róbert, Horváth Géza, Hanák László, Hodai Zoltán: Lipidtermelésre termesztett mikroalgák szaporodásának vizsgálata természetes fényben, 39. Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, (2011)
81. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Hodai Zoltán: Mikroalgák tenyésztése a hajtóanyaggyártás szolgálatában, Mobilitás és Környezet Konferencia, Veszprém, (2010)
82. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László: Szén-dioxid befogás mikroalgákkal, természetes fény mellett fotobioreaktorban, XVI. Nemzetközi Vegyészkonferencia, Románia, Kolozsvár, (2010)
83. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László: Szén-dioxid befogás mikroalgákkal, természetes fény mellett fotobioreaktorban, PhD hallgatók anyagtudományi napja X., Veszprém, (2010)

Posztterek

84. Róbert Bocsi, Dr. Dóra Rippel-Pethő, Dr. Géza Horváth, Dr. László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in photo-bioreactor – effects of aeration program on biomass productivity, 43rd International Conference of SSCHE, Tatranské Matliare, Szlovákia, 2015. május 25-29.
85. Zoltán Hodai, Dr. Dóra Rippel-Pethő, Dr. Géza Horváth, Dr. László Hanák, Róbert Bocsi: Separation processes of microalgae bred for biodiesel production, 43rd International Conference of SSCHE, Tatranské Matliare, Szlovákia, 2015. május 25-29.
86. Róbert Bocsi, Dr. Dóra Rippel-Pethő, Dr. Géza Horváth, Dr. László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in outdoor flat pane photobioreactors, 42nd International Conference of SSCHE, Tatranské Matliare, Szlovákia, 2014. május 26-30.
87. Zoltán Hodai, Dr. Dóra Rippel-Pethő, Dr. Géza Horváth, Dr. László Hanák, Róbert Bocsi: Separation experiments in microalgae technologies for energetic purposes, 42nd International Conference of SSCHE, Tatranské Matliare, Szlovákia, 2014. május 26-30.
88. Róbert Bocsi, Dóra Rippel-Pethő, Zoltán Hodai, Géza Horváth, László Hanák: Microalgae cultivation in outdoor flat panel photobioreactors, 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels & Bioproducts. Santa Fe, Amerikai Egyesült Államok, 2014.06.15-2014.06.18. 1 p.
89. Zoltán Hodai, Dóra Rippel-Pethő, Géza Horváth, László Hanák, Róbert Bocsi: Separation processes of microalgae bred for biodiesel production, 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels & Bioproducts, USA, New Mexico, Santa Fe, 2014.
90. Róbert Bocsi, Dóra Rippel-Pethő, Zoltán Hodai, Géza Horváth, László Hanák: Microalgae cultivation in flat panel photobioreactors in Veszprém, X. Susret mladih kemijskih inženjera, Zagreb, Horvátország, 2014.02.20-2014.02.21. 1 p.
91. Z. Hodai, D. Rippel-Pethő, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Membrane filtration in microalgae technology, X Meeting of Young Chemical Engineers 2014., Horvátország, Zágráb, 2014.02.20-2014.02.21. 1 p.
92. R. Bocsi, D. Rippel-Pethő, G. Horváth, L. Hanák, Z. Hodai: Microalgae cultivation in Veszprém: design and construction of flat panel photobioreactors, International Alga Congress 2013, Hamburg, Németország, 2013.
93. Z. Hodai, D. Rippel-Pethő, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Microalgae densification experiments in Veszprém, International Alga Congress 2013, Hamburg, Németország, 2013.
94. Róbert Bocsi, Géza Horváth, László Hanák, Zoltán Hodai: Microalgae cultivation in Veszprém: design and construction of flat panel photobioreactors, 9th European Workshop Biotechnology of Microalgae, Németország, Nuthetal, IVG Institut für Getreideverarbeitung GmbH, (2012)
95. Z. Hodai, G. Horváth, L. Hanák, R. Bocsi: Densification options of microalgae suspension propagated for lipid production, 9th European Workshop Biotechnology of Microalgae, Nuthetal, Németország, 2012.

96. I. Bánhidi, R. Bocsi, Z. Hodai, L. Hanák, G. Horváth: Biodízel keverőkomponensek előállításához tenyésztett mikroalgák lipidtartalmának elemzése, *Mobility and environment: Challenges of the automotive industry in the fields of energetics, structural materials and environmental research*, Veszprém, 2012.
97. Bocsi Róbert, Dr. Horváth Géza, Dr. Hanák László, Hodai Zoltán, Rippelné Dr. Pethő Dóra, Szabóné Dr. Ravasz Bernadett, Dr. Szokonya László, Takács Gyöngyi: Szabadtéri fotobioreaktorokban termesztett mikroalgákból származó extraktumok vizsgálata, *Mobilitás és környezet 2012.*, Veszprém, (2012)
98. Hodai Zoltán, Horváth Géza, Hanák László, Bocsi Róbert: Flokkulációs vizsgálatok a lipidtermelő algatechnológiában, *Mobilitás és környezet: Járműipar, energetika és környezetvédelem*, Veszprém, 2012.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani a témavezetőimnek, Dr. Horváth Géza ny. egyetemi docens úrnak és Rippelné Dr. Pethő Dóra adjunktus asszonynak a dolgozat elkészítésében nyújtott segítségükért.

Köszönöm szépen Dr. Hanák László docens úrnak az elvégzett munkához adott szakmai útmutatásait, Dr. Szabóné Dr. Ravasz Bernadett asszonynak, hogy az analitikai vizsgálatokhoz rendelkezésemre bocsátotta a Tiszta Világ Kémiai Vizsgáló Laboratórium eszközparkját és erőforrásait.

Köszönöm a Vegyipari Műveleti Intézeti Tanszék dolgozóinak, hogy segítségemre voltak a kutatási program megvalósításában, köztük Dr. Hodai Zoltánnak, akivel a kísérleti munka kölcsönös egymásra épülése okán sikeres együttműködés kialakítására kerülhetett sor.

Veszprém, 2016. május 3.

Bocsi Róbert

Mellékletek

1. sz melléklet: A Veszprémben telepített reaktor-rendszerek üzemeltetési tapasztalatai alapján készült reaktortípusok



A MOL Dunai Finomítóban telepített fotobioreaktor rendszer

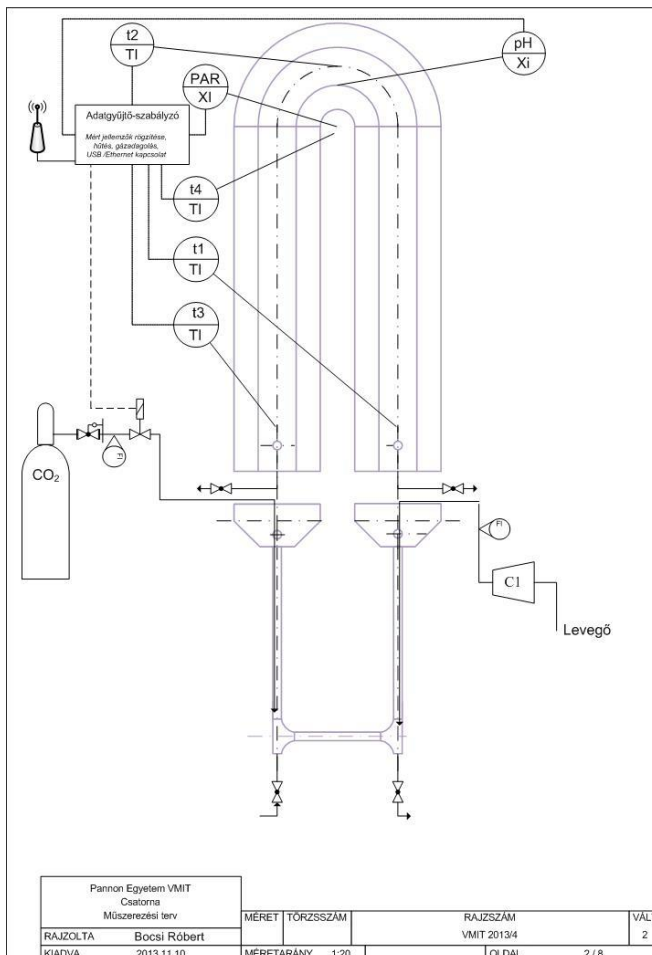
Fényabszorpciós felület:

1,1 m² / panel

Térfogat:

55-180 dm³

(rétegvastagságtól függően)



A MOL Dunai Finomítóban telepített kísérleti áramcsatorna

Fényabszorpciós felület: 2,25 m²

Térfogat: 250-500 dm³

(folyadékszint magasságától függően)

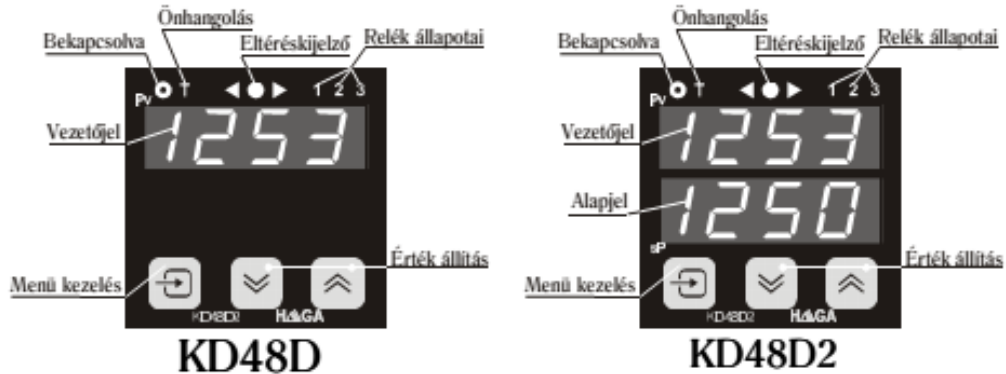
Mérésadatgyűjtő és szabályzó rendszerrel.



2. sz melléklet: HAGA KD48D2 univerzális önhangoló szabályzó jellemzői

KD48D KD48D2	Univerzális önhangoló PID szabályozók	CE	HAGA®
-----------------	--	----	-------

Az szabályzó kezelő és kijelző szervei az alábbi ábrákon láthatók.



A KD48 gyártmánycsalád KD48D és KD48D2 tagjai digitális beállításúak. A menükezelő és az értékállító gombokkal minden szabályozáshoz szükséges adat könnyen beállítható. A két típus csak a kijelzésben különbözik egymástól. Méret és lábkompatibilisek a gyártmánycsalád többi tagjával.

Szabályozási tulajdonságok

- Fordított és egyenes PID szabályozás. (Fűtés, hűtés)
- Fordított és egyenes ON-OFF szabályozás hiszterézissel. (Fűtés, hűtés)
- 2 féle motoros szelep szabályozás PID működéssel
- Fűt-hűt szabályozás ON-OFF működéssel
- Programszabályozás
- Töltő, vagy ürítő szelep vezérlés
- 2 db független ALARM (ALARM2 és ALARM3) beavatkozó 64 féle beállítható működési móddal
- Kézivezérlés
- Önhangolás (Autotune)
- Távadó táplálás 24VDC / 25mA

A szabályozón beállítható adatok:

- | | | |
|--|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Alapjel • PID paraméterek • ALARM értékek (2 db) • Holtzóna motoros szelephez • Beavatkozójel (kézi vezérlésnél) • Offszet állítás P szabályozáshoz | <ul style="list-style-type: none"> • Bekapcsolási előidőztetés • Fűtési sebességű és hőtartási idő • Érzékelő kiválasztása, skálázása • ALARM-ok jellege, események • Fordított szabályozás (fűtés) • Egyenes szabályozás (hűtés) | <ul style="list-style-type: none"> • Szabályozás motoros beavatkozóval • Kézivezérlés • Alsó-felső beállíthatóság korlátozás • ALARM3 értékhez kötött teljesítmény-maximalizálás • RS485 MODBUS (opcionális) |
|--|---|---|

A bemenetek

Hőelemek:

T (Cu-Kopel)	-50 ... 400
J (Fe-Ko)	-50 ... 999
K (Ni-CrNi)	-50 ... 1370
S (PtRh-Pt)	-50 ... 1677

Ellenálláshőmérő:

Pt100-385	-50 ... 850
-----------	-------------

Thermisztor:

KTY (tartozék)	-50 ... 150
----------------	-------------

Szabványos bemenetek:

0-20mA	0 ... 2000
0-200mV	0 ... 2000
0-2000Ω	0 ... 2000
4-20mA	0 ... 2000

3. sz. melléklet ADAM 5000/TCP DAC jellemzői

ADAM-5000L/TCP ADAM-5000/TCP

4-slot Distributed DA&C System
for Ethernet

8-slot Distributed DA&C System
for Ethernet



ADAM-5000L/TCP

ADAM-5000/TCP



Features

- ARM 32-bit RISC CPU
- 10/100Base-T auto-negotiation high-speed communication port
- Supports Modbus/TCP for easy integration
- Supports UDP event handling function
- Up to 100 m communication distance w/o repeater
- Allows remote configuration via Ethernet
- Allows concurrent access for 8 host PCs
- 4 I/O slots for up to 64 points and 8 I/O slots for up to 128 points data monitoring and control
- 1500 V_{DC} isolation for Ethernet communication
- Built-in watchdog timer for system auto-reset
- Windows utility
 - I/O modules configuration and calibration
 - Network auto searching
 - Data stream setting
 - Current status monitoring and alarm trigger
- Provides C and .NET class library to develop applications

Introduction

ADAM-5000L/TCP and ADAM-5000/TCP are both Ethernet-based I/O systems. Without a repeater, ADAM-5000L/TCP and ADAM-5000/TCP can cover a communication distance up to 100 m. This allows remote configuration via Ethernet and eight PCs can simultaneously access the data. The ADAM-5000L/TCP and ADAM-5000/TCP are the solutions for easy configuration and efficient management. It is an ideal and cost-effective solution for eAutomation architecture.

Specifications

Control System

- CPU** 32-bit ARM RISC
- I/O Slots** ADAM-5000L/TCP: 4
ADAM-5000/TCP: 8
- Memory** Flash ROM: 512 KB
RAM: 4 MB
- Operating System** Real-time OS
- LED Indicators** Power (3.3 V, 5 V)
CPU
Communication (Link, Active, 10/100 Mbps, Tx, Rx)
Battery

Communications (Ethernet)

- Data Transfer Rate** Up to 100 Mbps
- Event Response Time** < 5 ms
- Interface** 1 x 10/100Base-T (RJ-45)
- Wiring** UTP, category 5 or greater

Communications (Serial)

- Comm. Distance** RS-485: 1.2 km (4000 feet)
RS-232: 15 m
- Comm. Protocol** Modbus/RTU
- Data Transfer Rate** Up to 115.2 kbps
- Interface** 1 x DB9-M for RS-485
1 x DB9-F for RS-485
1 x DB9-F for RS-232
- Max. Nodes** 12 (in RS-485 daisy-chain network for Remote I/O connection)

Power

- Power Consumption** 4.0 W @ 24 Vdc (ADAM-5000L/TCP)
(not including I/O modules)
5.0 W @ 24 Vdc (ADAM-5000/TCP)
(not including I/O modules)
- Power Input** Unregulated 10 – 30 Vdc

Software

- C and .NET Class Library**
- Windows Utility** Network setting, I/O configuration & calibration, data stream, alarm setting
- Modbus/TCP OPC Server**

Protection

- Communication Line Isolation** 3.000 V_{DC}
- I/O Module Isolation** 3.000 V_{DC}
- LAN Communication** 1.500 V_{DC}
- Overvoltage Protection** Yes
- Power Reversal Protection** Yes

General

- Certifications** CE, FCC class A
- Connectors** 1 x DB9-M/DB9-F/screw terminal for RS-485 (communication)
1 x DB9-F for RS-232 (internal use)
1 x Screw-terminal for power input
1 x RJ-45 for LAN
- Dimensions (W x H x D)** ADAM-5000L/TCP: 231 x 110 x 75 mm
ADAM-5000/TCP: 355 x 110 x 75 mm
- Enclosure** ABS+PC
- Mounting** DIN-rail, wall

Environment

- Humidity** 5 – 95%, non-condensing
- Operating Temperature** - 10 – 70° C (14 – 158° F)
- Storage Temperature** - 25 – 85° C (-13 – 185° F)

Ordering Information

- ADAM-5000L/TCP** 4-slot Ethernet-based Distributed DA & C System
- ADAM-5000/TCP** 8-slot Ethernet-based Distributed DA & C System

19	Embedded Controllers
20	PC-based Controllers
21	PLC
22	Motion Control
23	RS-485 I/O
24	Ethernet I/O
25	Building Automation
26	Self-service Terminals
27	eHome Platforms

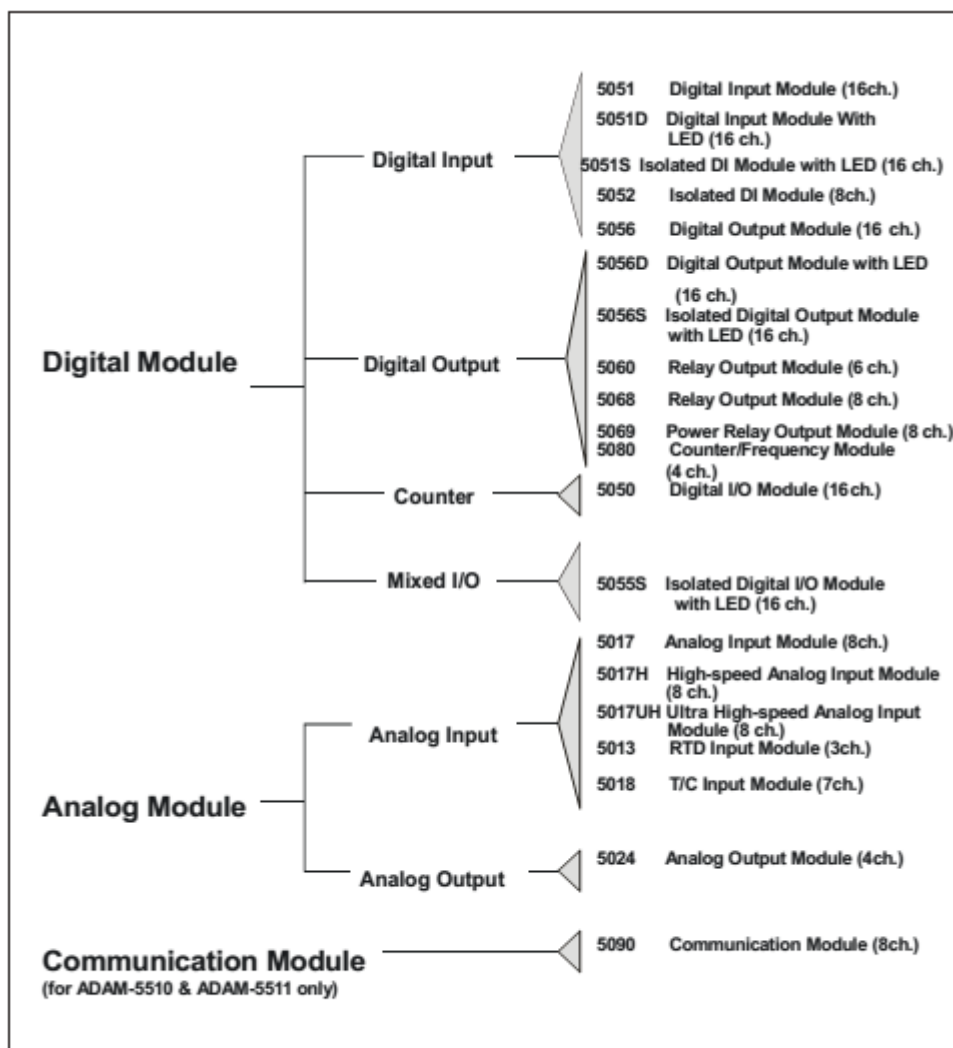


Figure 2-1: ADAM-5000 I/O Module Selection Chart

4. sz. melléklet: CHNS elemzés Carlo erba EA1108 elemanalizátorral

A C, H, N, S, O elemanalizátor mikró, közép mikro, és makro mennyiségű szé, hidrogén, nitrogén, kén és oxigén meghatározására szolgál. Szerves és szervetlen vegyületek széles skálája elemezhető így meg.

Tipikus minták:

- szerves vegyületek
- gyógyszerek
- finomvegyszerek
- tüzelő-, fűtőanyagok
- benzinek
- olajok
- szén
- polimerek
- katalizátorok
- talajok, üledékek
- iszapok
- kerámiák
- fémporok
- acél
- nitridek

Működési elve

Eredeti analitikai módszer. A minta teljes- és azonnali oxidációján alapszik, amely gyors égéssel megy végbe és minden szerves- és szervetlen alkotórészt égésterméké alakít át. Az égésterméként keletkező gázok áthaladnak a redukciós kemencén és a vivőgázzal a kromatográfiás kolonnába jutna, ahol komponensek szétválnak majd a csúcsokat hővezetőképességi detektorral detektáljuk. A kapott jel arányos a keverék egyes komponenseinek koncentrációjával.

Technikai adatok

Mérési tartomány (C, H, N, S): 100ppm és 100% között

Pontosság: 0,3%

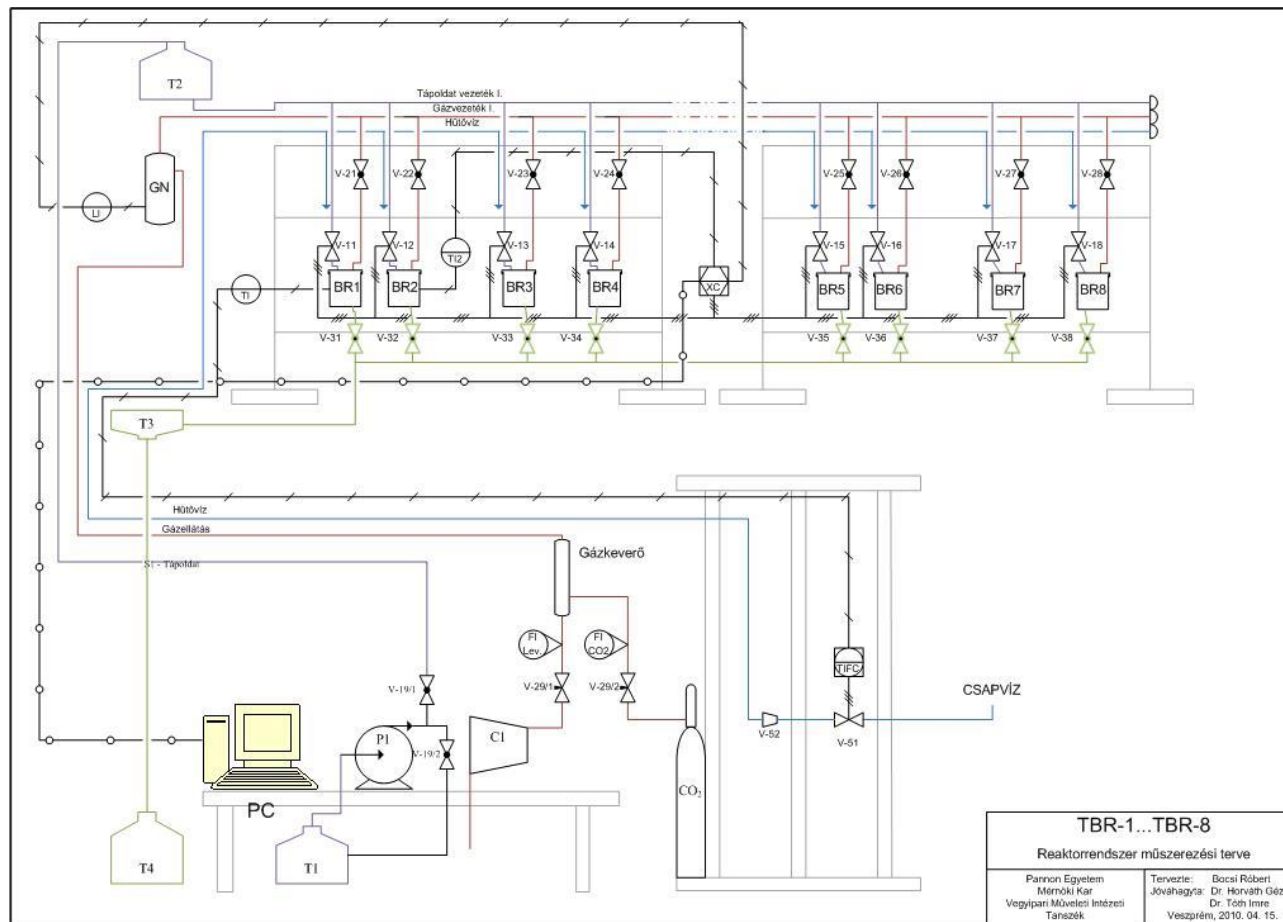
Bemérés:

- szilárd: 0,1-100 mg
- folyadék: 0,1-2,5 ml

Analízis időszükséglete:

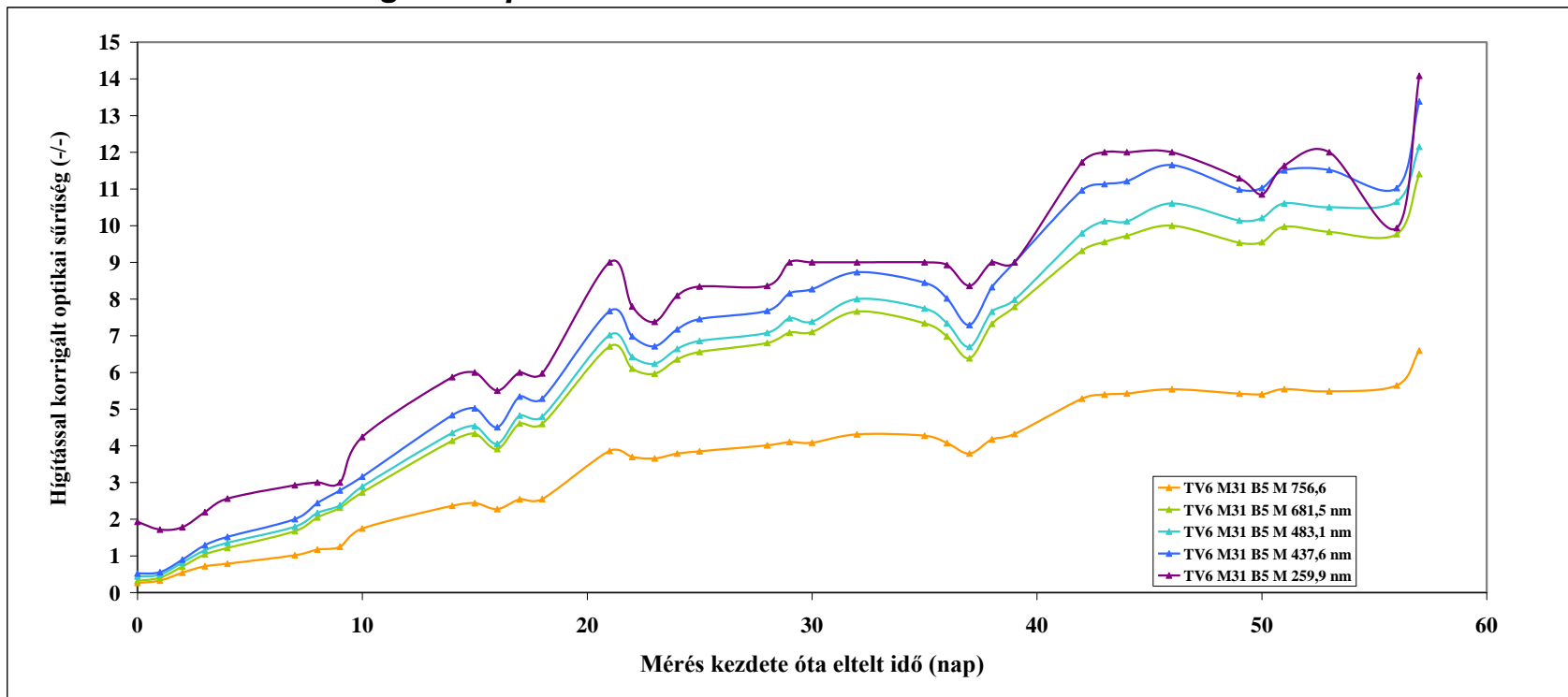
- CHN: 12 perc
- CHNS: 15 perc

5. sz. melléklet: A szabadtéri foto-bioreaktor-rendszer műszerezési terve



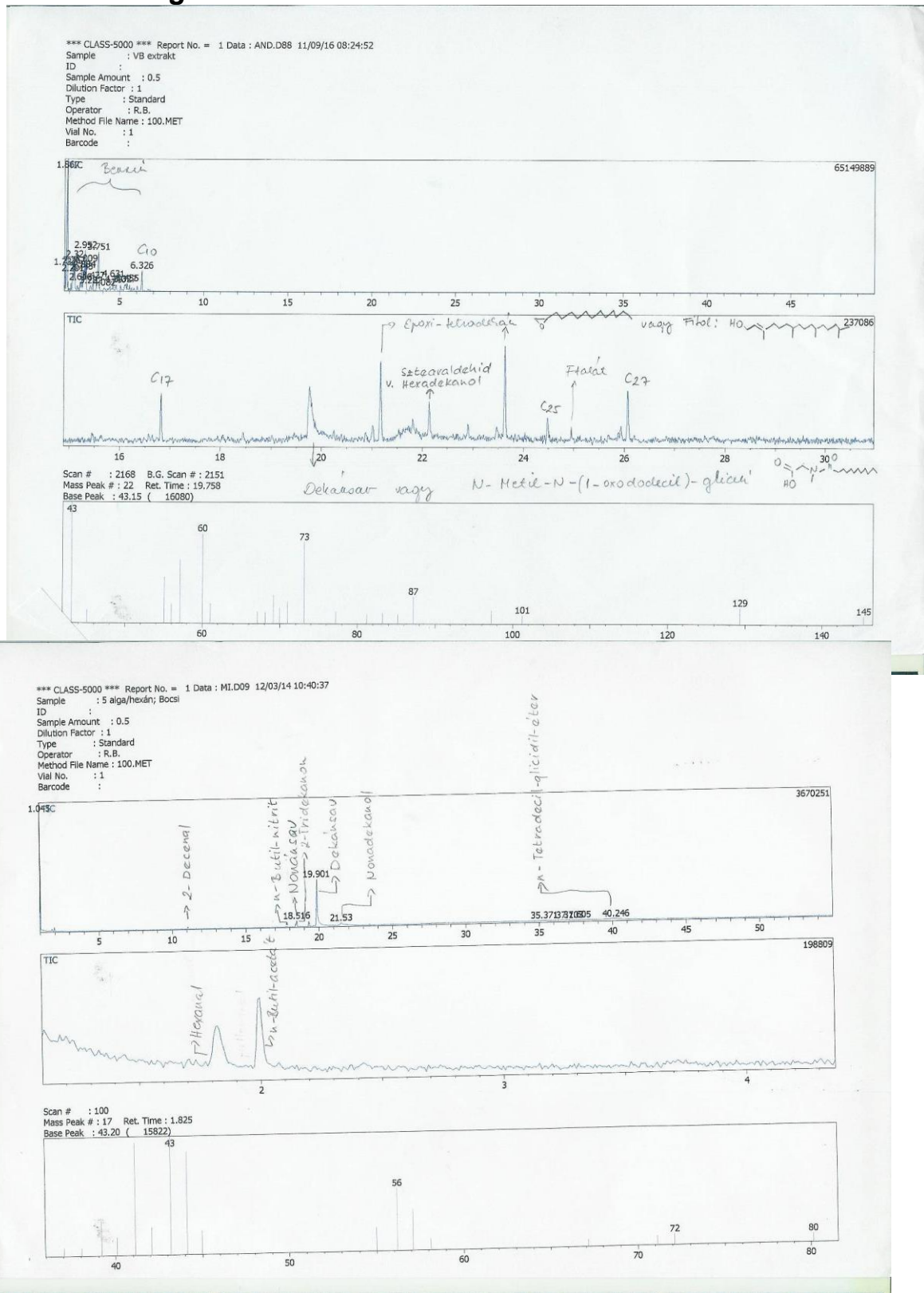
50. ábra Nagylaboratóriumi szabadtéri foto-bioreaktor természetes megvilágítással (műszerezési terv)

6. sz. melléklet: Az algák szaporodásának követése fotometriás módszerrel

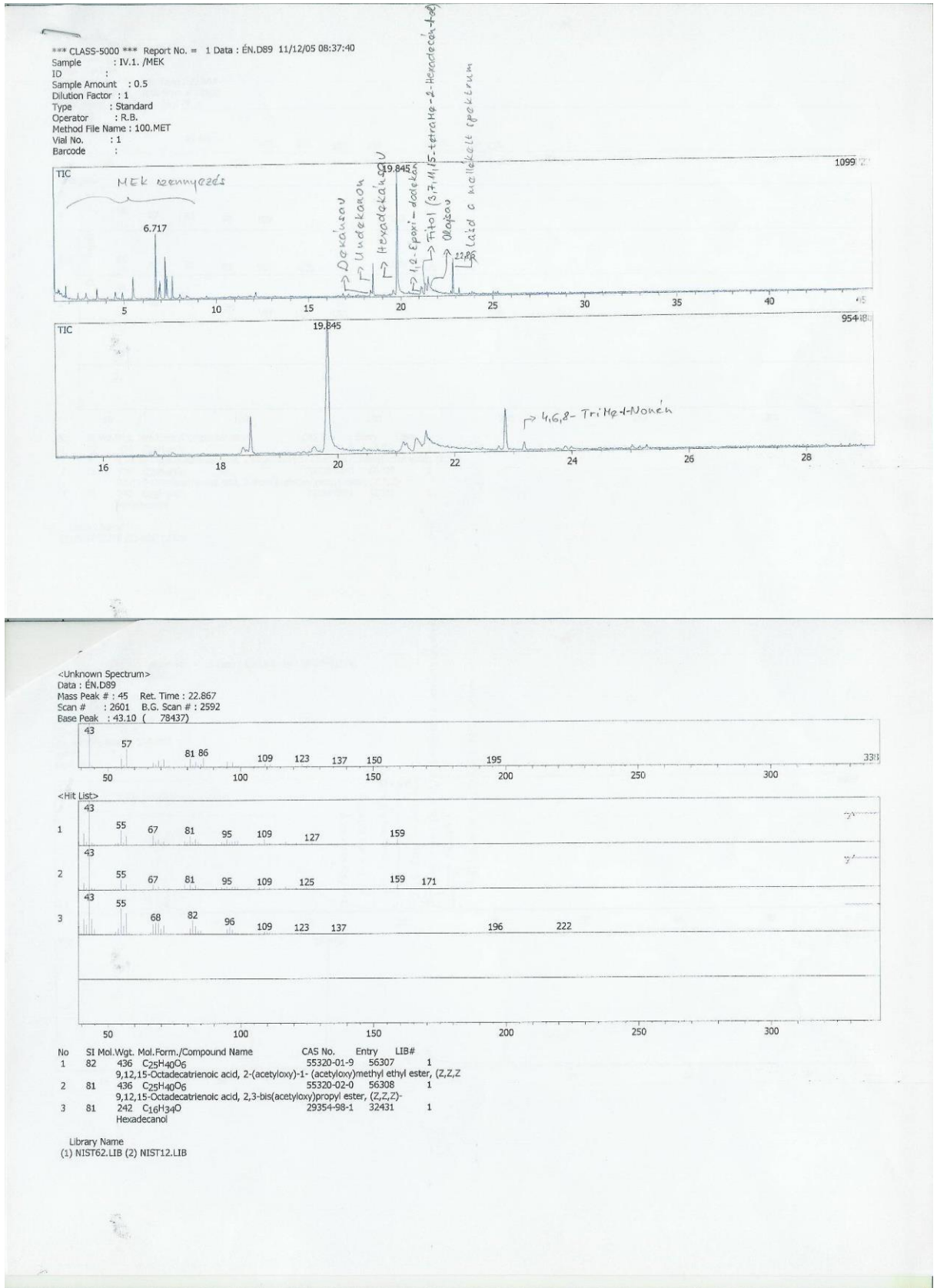


51. ábra TV6 M31 B5M különböző hullámhosszakon mért abszorbanciája

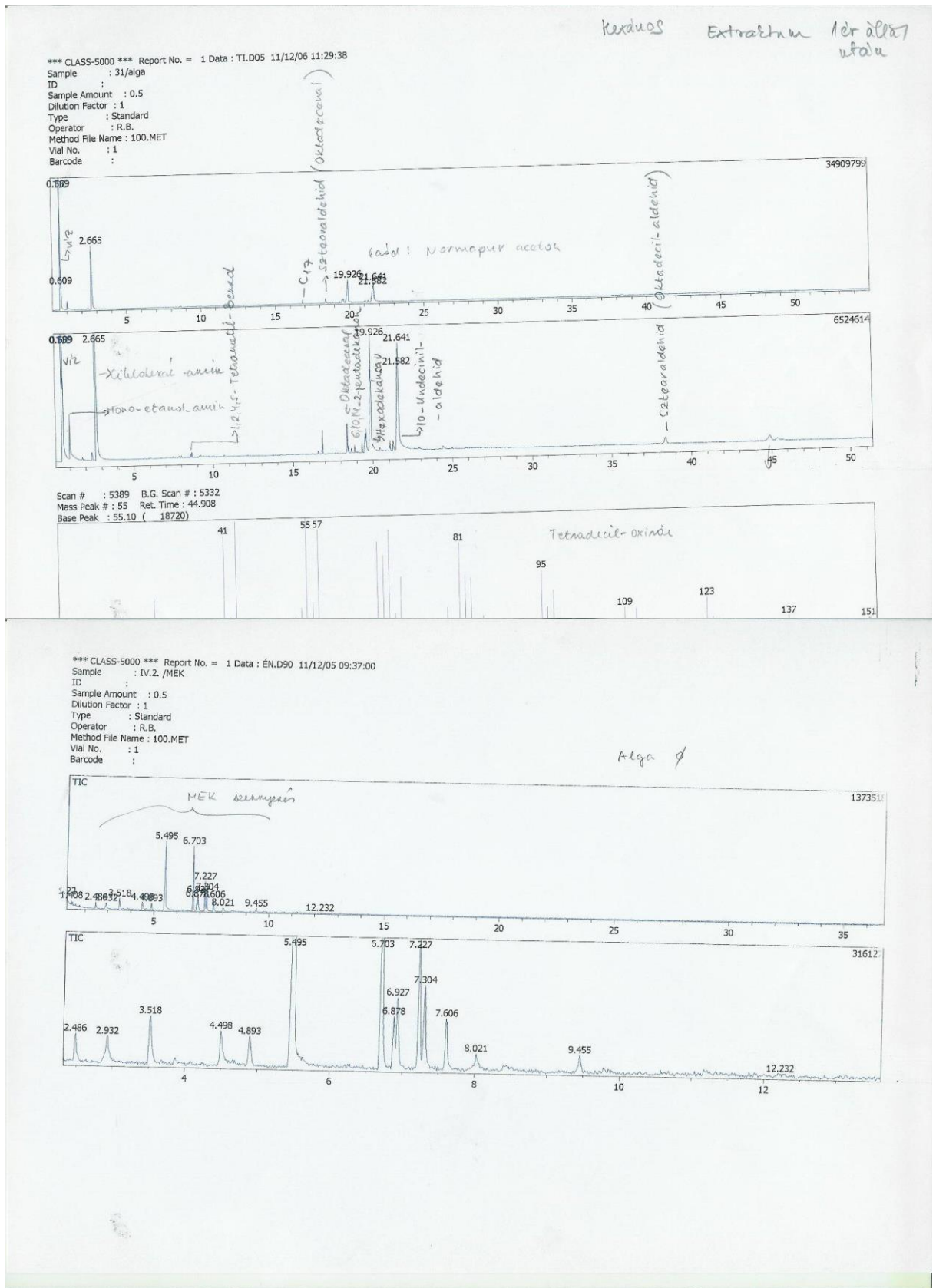
7. sz. melléklet: GC-MS regisztrátumok az összetétel meghatározáshoz



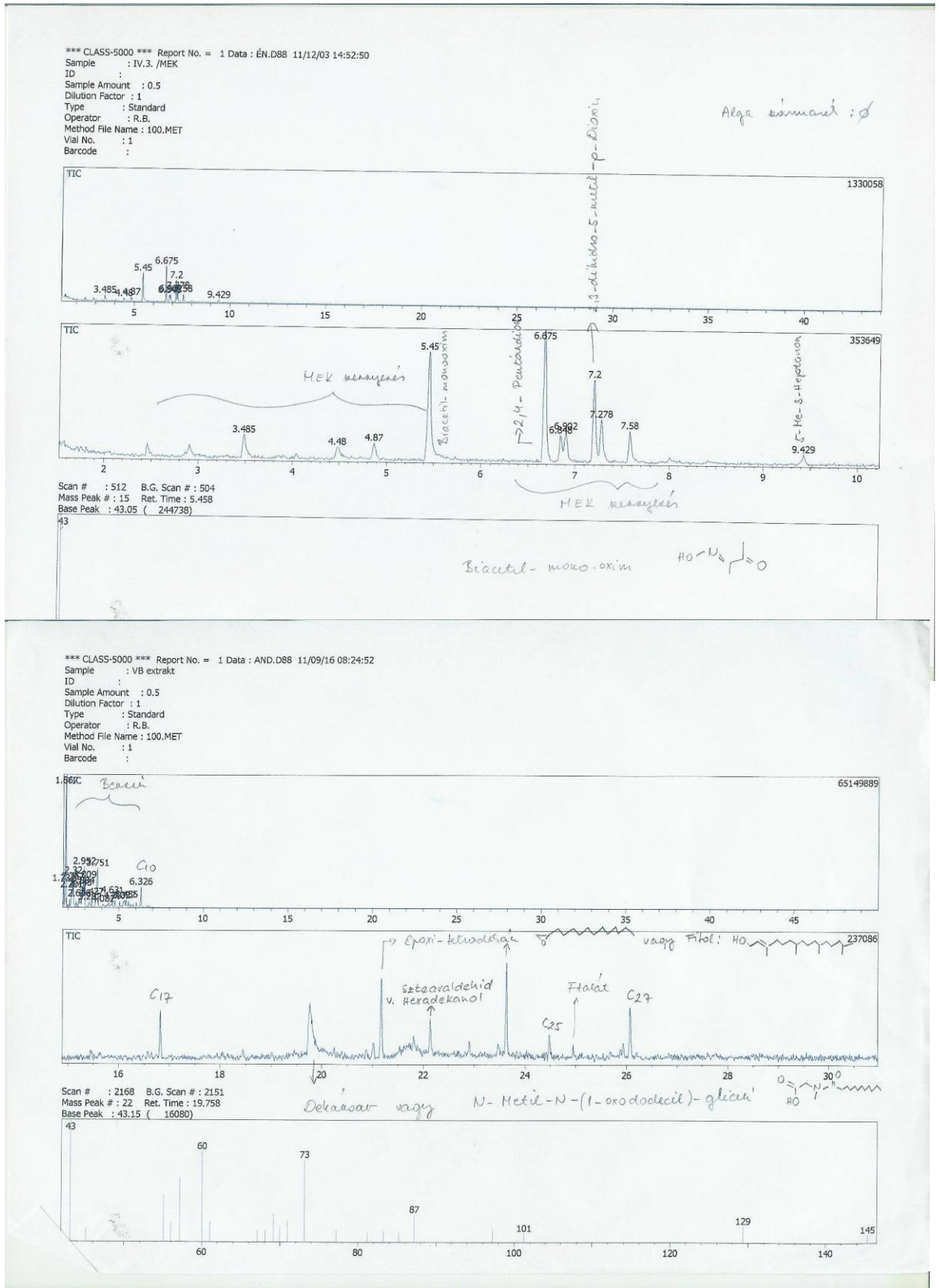
Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban
Mellékletek



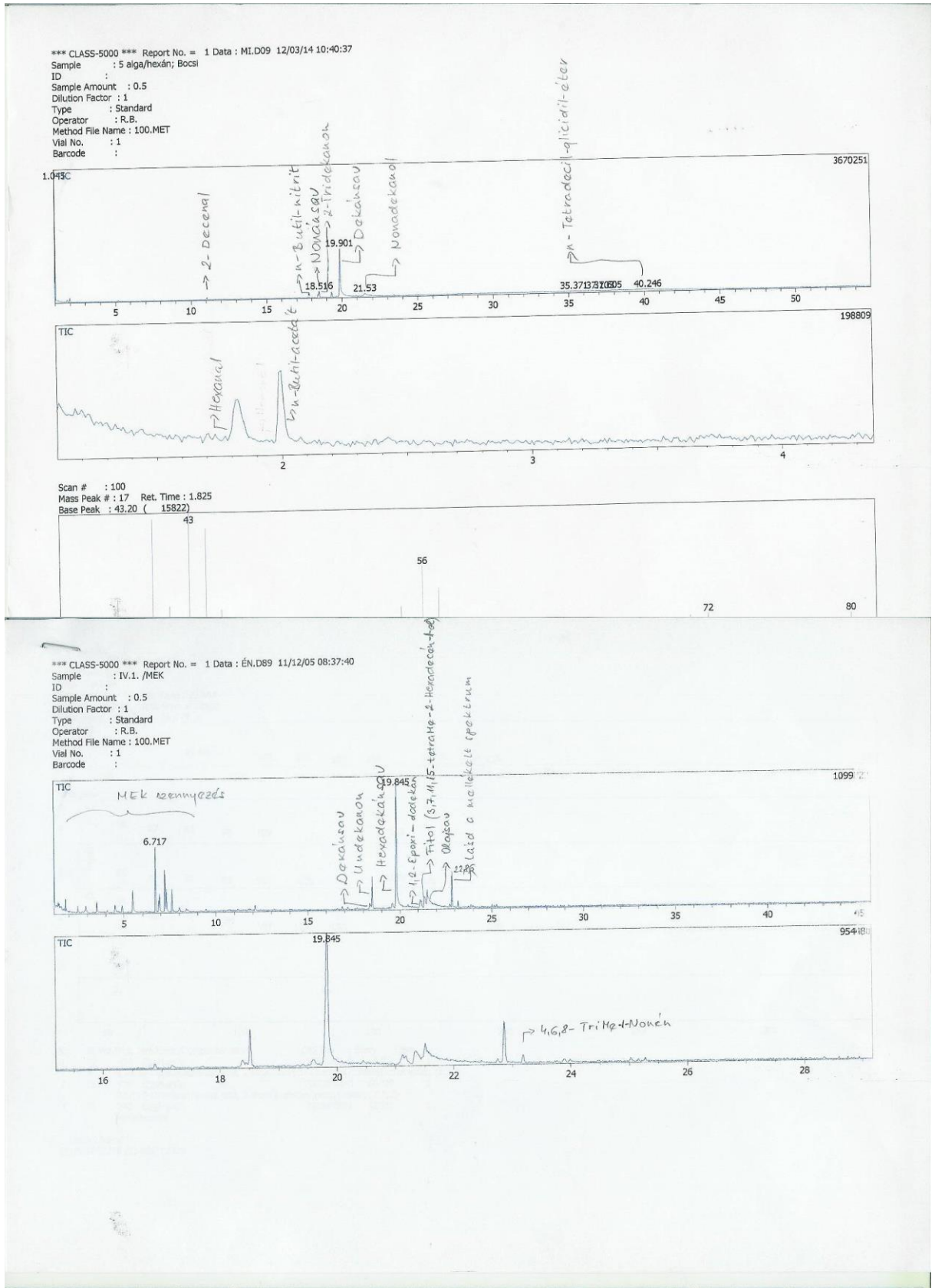
Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban
Mellékletek



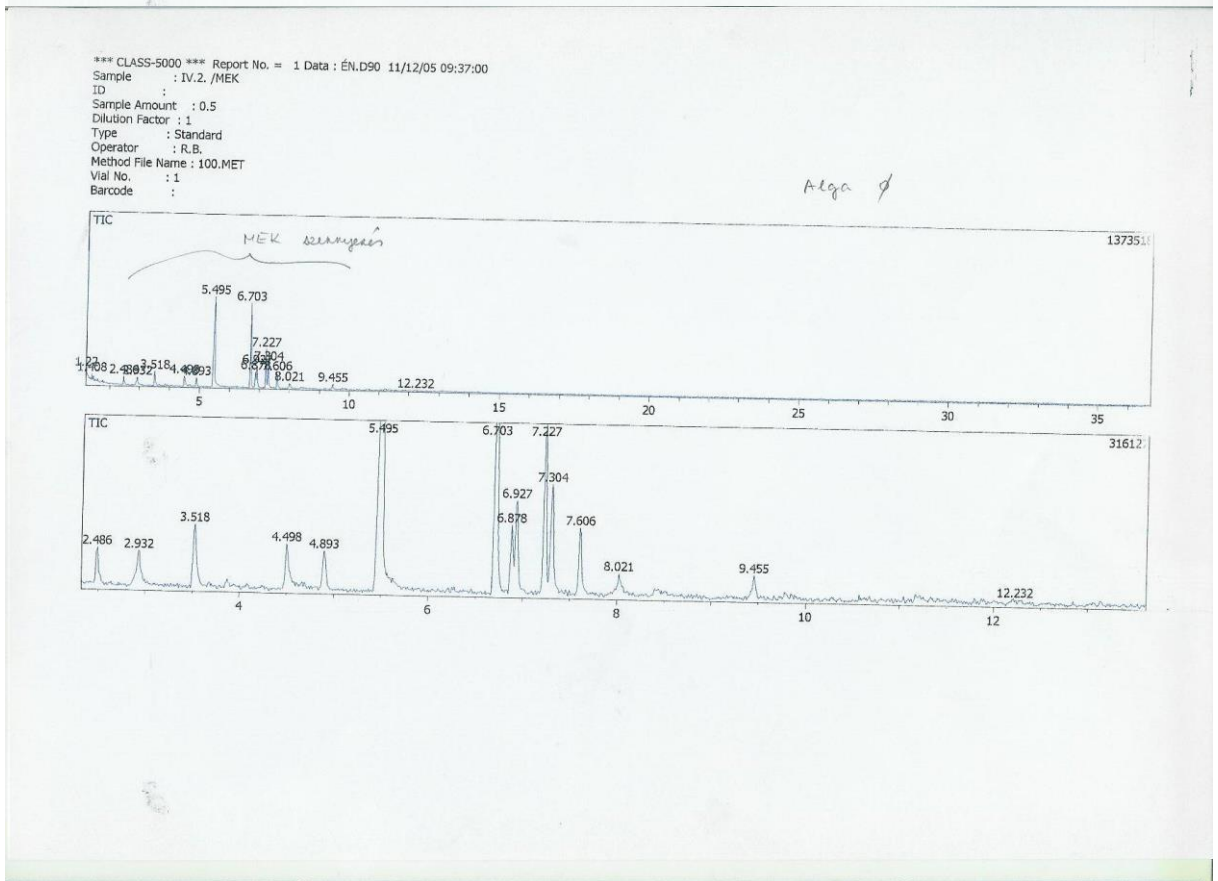
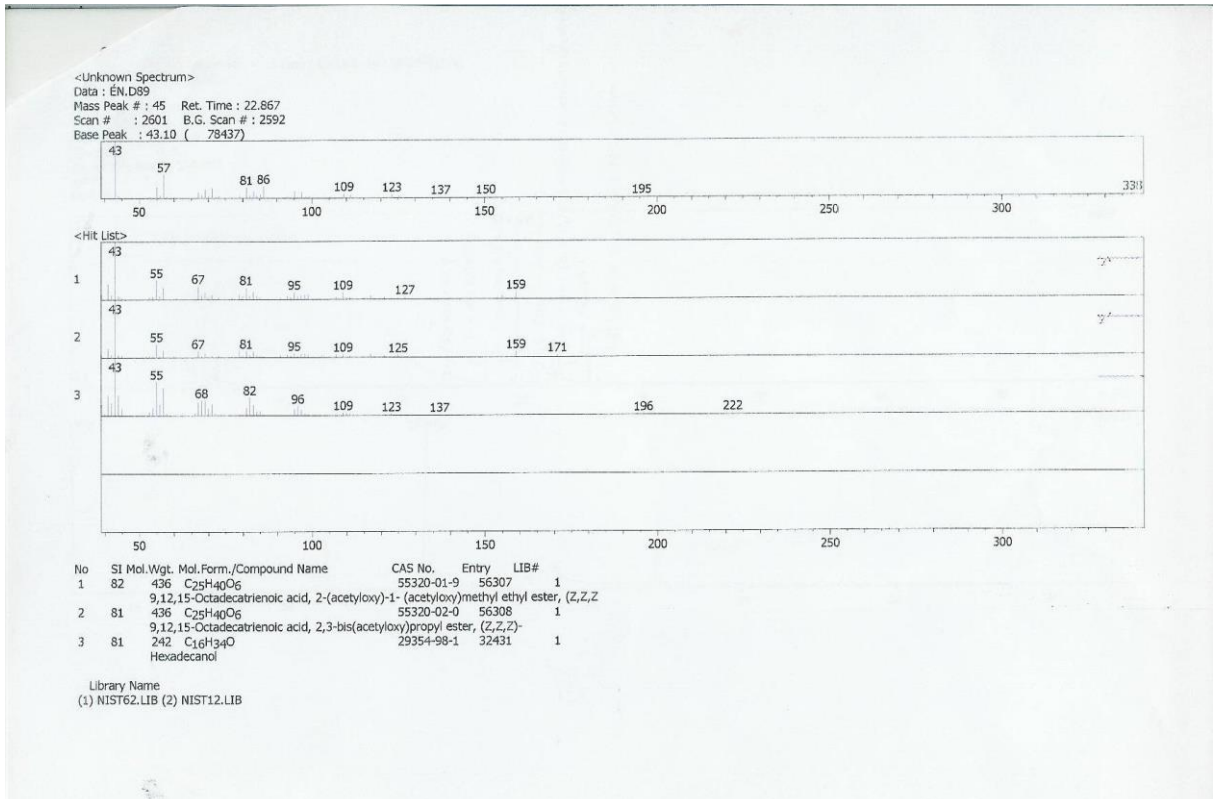
Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban
Mellékletek



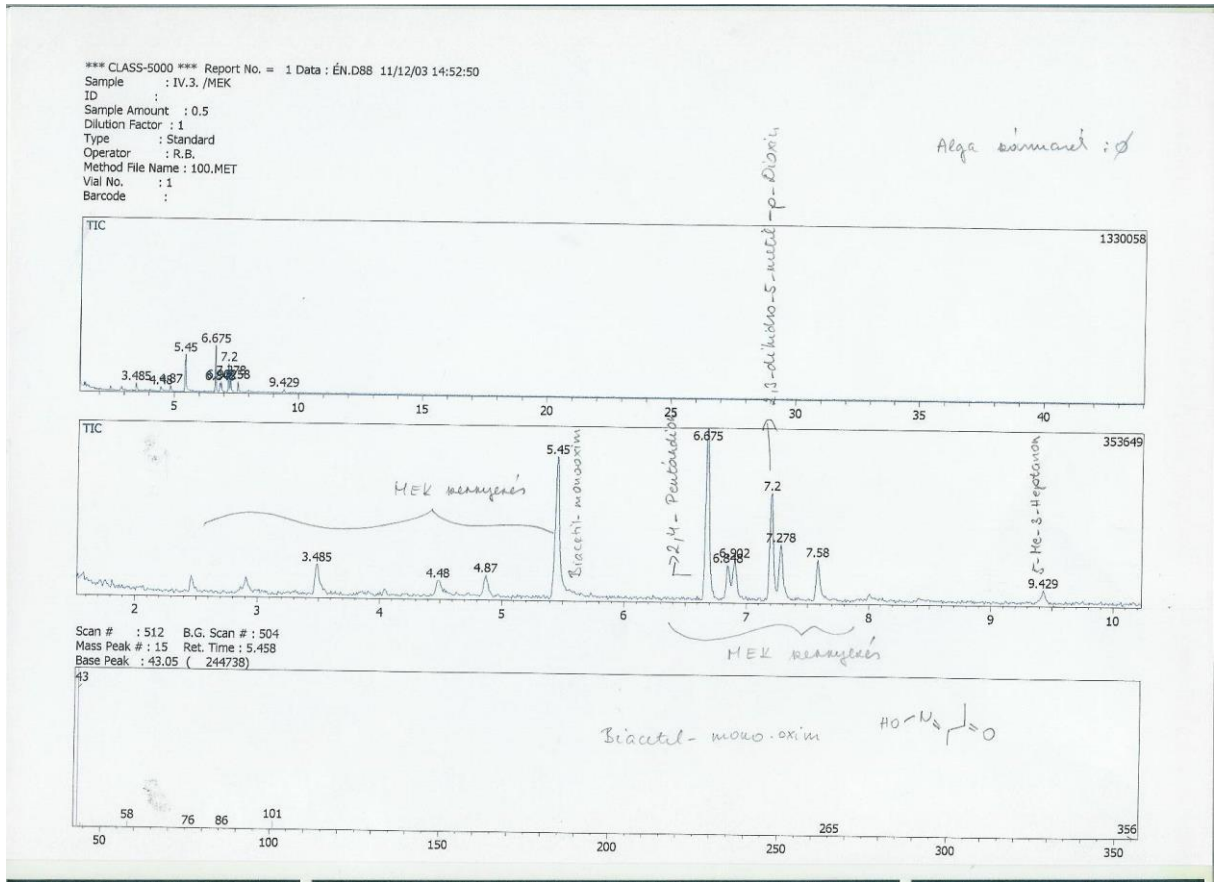
Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban
Mellékletek



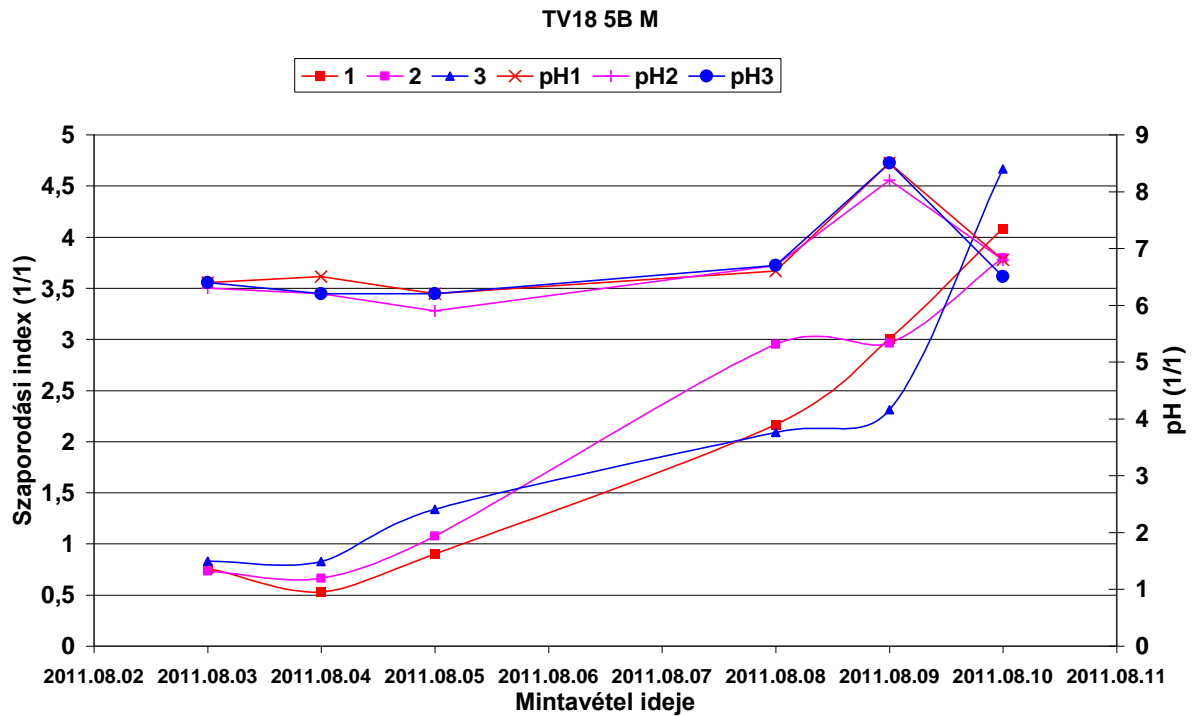
Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban
Mellékletek



Bocsi Róbert: Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban
 Mellékletek

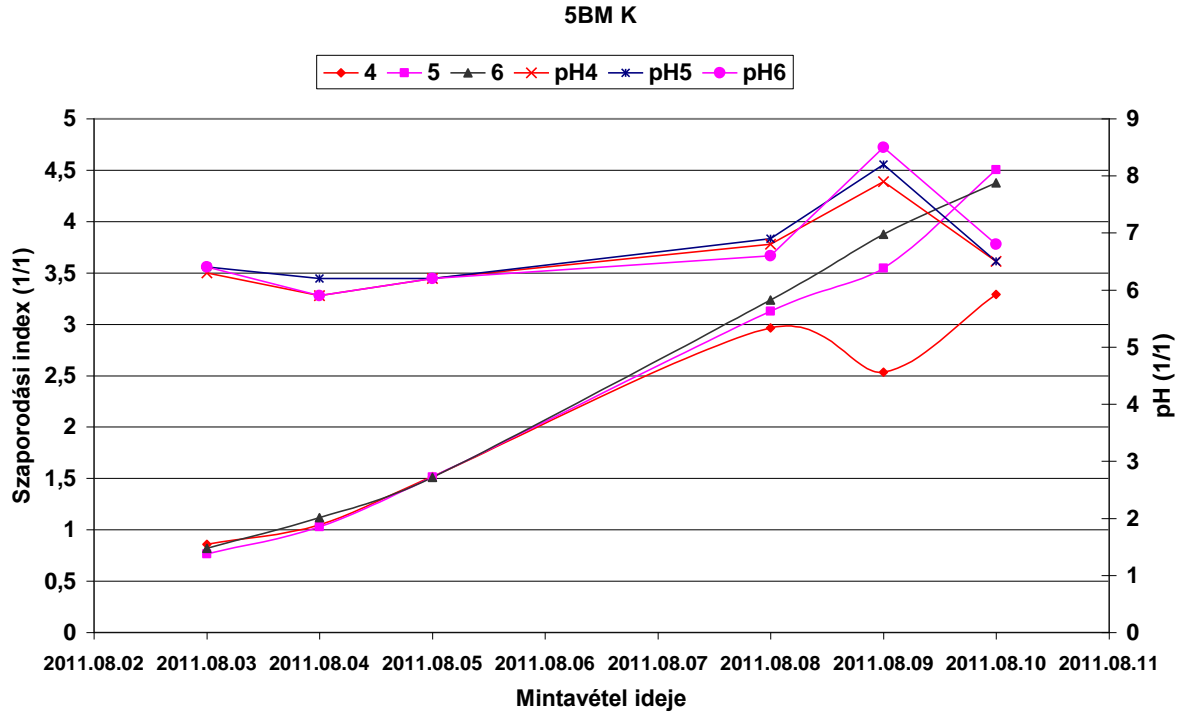


8. sz. melléklet: A TV18 kísérletekhez tartozó szaporodási görbék



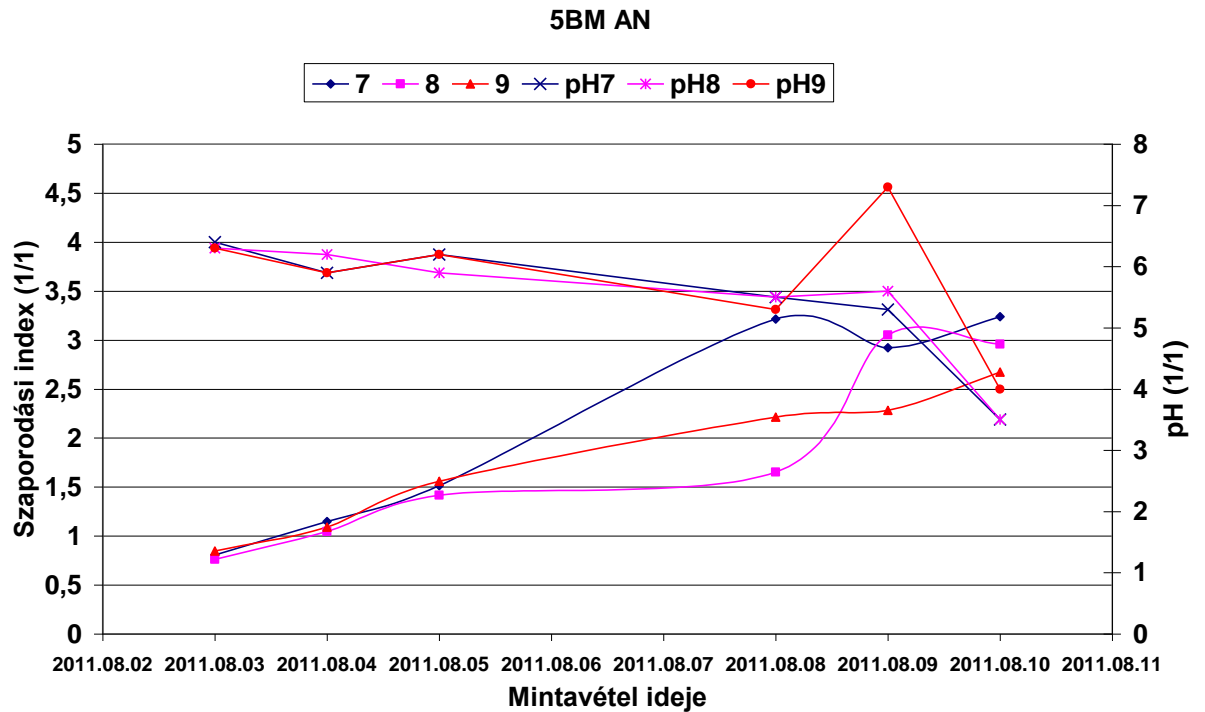
52. ábra B5M standard tápoldattal indított Bioplasma termesztés

A referenciaként szolgáló termesztési sorozat. A tápoldatot a B5 M receptúra szerint, 5x-ös makroelem és 1x-es mikroelem mennyiséggel indítottam. A nitrogénforrás NaNO_3 .



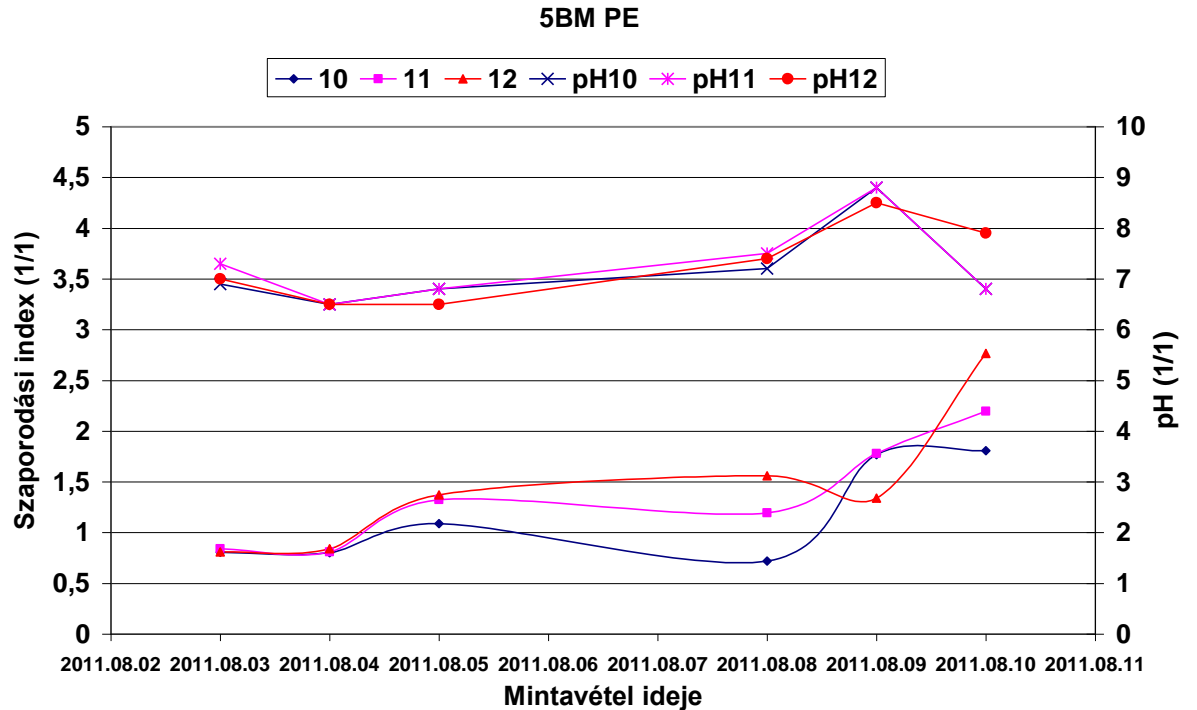
53. ábra Kálium-nitrát alkalmazása az alap tápoldatban

A B5 M típusú tápoldatreceptúra szerint készült, de a nitrogénforrás KNO_3 .



54. ábra Ammónium-nitrát alkalmazása alap tápoldatban

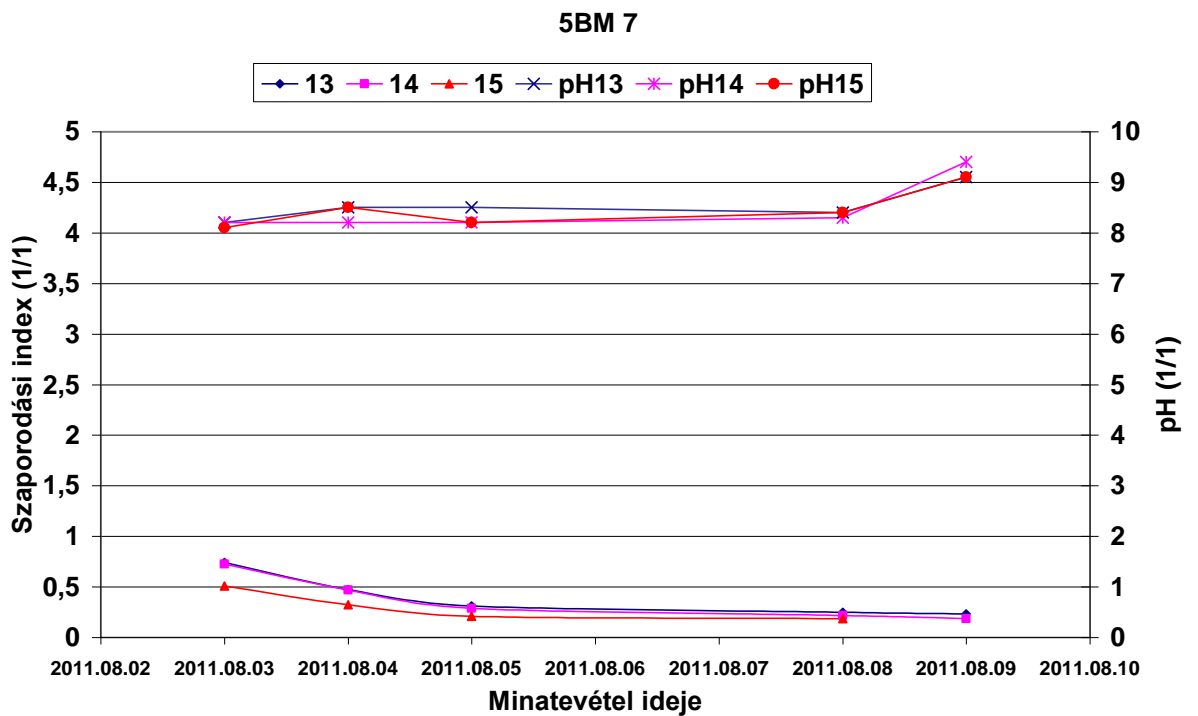
A B5 M típusú tápoldatreceptúra szerint készült, de a nitrogénforrás NH_4NO_3 .



55. ábra Permeátumból készített,

B1,25 M-nek megfelelő mennyiségű Nátrium-nitrát bemérésével indított termesztés

A tápoldatot ultraszűrés permeátumából és 300 mg/dm^3 N-tartalommal, vas és mikroelem utánpótlással készítettem.



56. ábra B3 M típusú Ammónium-hidrogénkarbonát és Ammónium-szulfát alkalmazása az alapoldatban

Irodalomjegyzék

- [1] Yusuf Chisti, Biodiesel from microalgae, *Biotechnology Advances*, Volume 25, Issue 3, May–June 2007, Pages 294-306, ISSN 0734-9750, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>.
- [2] BP Statistical Review of World Energy, June 2012, bp.com/statisticalreview, 2013.03.01.
- [3] J.R. Benemann, Utilization of carbon dioxide from fossil fuel-burning power plants with biological systems, *Energy Conversion and Management*, Volume 34, Issues 9–11, September–November 1993, Pages 999-1004, ISSN 0196-8904, [http://dx.doi.org/10.1016/0196-8904\(93\)90047-E](http://dx.doi.org/10.1016/0196-8904(93)90047-E).
- [4] Wang, B., Y. Li, N. Wu, and C. Q. Lan CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology* 79(5): 707-718. . (2008.)
- [5] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A., Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2006;101(2):87–96.
- [6] Ayhan Demirbas, M. Fatih Demirbas, Importance of algae oil as a source of biodiesel, *Energy Conversion and Management*, Volume 52, Issue 1, January 2011, Pages 163-170, ISSN 0196-8904, <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2010.06.055>.
- [7] Y. Li, M. Horsman, N. Wu, C.Q. Lan and N. Dubois-Calero, Biofuels from microalgae, *Biotechnology Progress* 24 (4) (2008), pp. 815–820
- [8] Fahy E., Subramaniam S., Murphy R., Nishijima M., Raetz C., Shimizu T., Spener F., van Meer G., Wakelam M. and Dennis E.A. Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid Res.* 50: S9-S14, (2009)
- [9] "The LIPID MAPS Lipidomics Gateway, <http://www.lipidmaps.org/>", „Mechanism of chain extension with ketoacyl and isoprene groups”, 2013-03-13
- [10] ASTM D6751 - 12 Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012, DOI: 10.1520/D6751-12
- [11] EN 14214:2012, Liquid petroleum products - Fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications - Requirements and test methods, Official Journal of the European Union, European Committee for Standardization, 98/70/EC,

- [12] Ayhan Demirbas, Progress and recent trends in biodiesel fuels, *Energy Conversion and Management*, Volume 50, Issue 1, January 2009, pp. 14-34, ISSN 0196-8904, <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2008.09.001>.
- [13] Pulz O, Gross W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2004;65(6):635–48.
- [14] Francisco Jiménez-Colmenero, Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods, *Food Research International*, Volume 52, Issue 1, June 2013, Pages 64-74, 10.1016/j.foodres.2013.02.040.
- [15] René B Draaisma, René H Wijffels, PM (Ellen) Slegers, Laura B Brentner, Adip Roy, Maria J Barbosa, Food commodities from microalgae, *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 24, Issue 2, April 2013, Pages 169-177, ISSN 0958-1669, 10.1016/j.copbio.2012.09.012.
- [16] Humphrey AM. Chlorophyll as a colour and functional ingredient. *Journal of Food Science* 2004;69:422–5.
- [17] Becker, Algal chemical composition. (1994.)
http://www.castoroil.in/reference/plant_oils/uses/fuel/sources/algae/biodiesel_algae.html. Accessed February 2008.
- [18] Xu, H., X. Miao, and Q. Wu. 2006. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology* 126(4): 499-507.
- [19] Chun-Yen Chen, Kuei-Ling Yeh, Rifka Aisyah, Duu-Jong Lee, Jo-Shu Chang, Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review, *Bioresource Technology*, Volume 102, Issue 1, January 2011, Pages 71-81, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2010.06.159.
- [20] Teresa M. Mata, António A. Martins, Nidia S. Caetano, Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (2010) Volume 14, pp. 217-232.
- [21] Ogbonna JC, Tanaka H : Light requirement and photosynthetic cell cultivation: development of processes for efficient light utilization in photobioreactors, *J. Appl. Phycol.*, 2000 10: 555-559.

- [22] GS Singhal, G Renger, SK Sopory, K-D Irrgang and Govindjee, The photosynthetic process In: "Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis", Narosa Publishers/New Delhi; and Kluwer Academic/Dordrecht, pp. 11-51. <http://www.life.illinois.edu/govindjee/paper/fig5.gif> , 2013.03.01.
- [23] Yeh, K.-L., Chang, J.-S. and chen, W.-m. (2010), Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Eng. Life Sci.*, 10: 201–208. doi: 10.1002/elsc.200900116
- [24] A Sylvania Aquastar fénycső forgalmazó honlapjáról, a termék adatlapjának melléklete,
http://www.leuchtmittelmarkt.com/images/dbimages/artikel_0181817_86_b.jpg
2013.03.01.
- [25] Miwa Yoshioka, Takahide Yago, Yumiko Yoshie-Stark, Hisayuki Arakawa, Tsutomu Morinaga, Effect of high frequency of intermittent light on the growth and fatty acid profile of *Isochrysis galbana*, *Aquaculture*, Volumes 338–341, 29 March 2012, Pages 111-117, ISSN 0044-8486, 10.1016/j.aquaculture.2012.01.005.
- [26] Ping Li, Junda Lin, Effect of ultraviolet radiation on photosynthesis, biomass, and fatty acid content and profile of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga, *Bioresource Technology*, Volume 111, May 2012, Pages 316-322, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2012.01.179.
- [27] Janssen M, de Bresser L, Baijens T, Tramper J, Mur LR, Snel JFH, et al. Scaleup aspects of photobioreactors: effects of mixing-induced light/dark cycles. *J. Appl Phycol* 2000;12:225–37.
- [28] Kohei Sakamoto, Masato Baba, Iwane Suzuki, Makoto M. Watanabe, Yoshihiro Shiraiwa, Optimization of light for growth, photosynthesis, and hydrocarbon production by the colonial microalga *Botryococcus braunii* BOT-22, *Bioresource Technology*, Volume 110, April 2012, Pages 474-479, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2012.01.091.
- [29] Ada Zamir, Plant defences against excessive light studied in the microalga *Dunaliella*, *Endeavour*, Volume 19, Issue 4, 1995, Pages 152-156, ISSN 0160-9327, 10.1016/0160-9327(96)82877-8.
- [30] Molina Grima E, García Camacho F, Sánchez Perez JA, Acien Fernández FG, Fernández Sevilla JM (1997) Evaluation of photosynthetic efficiency in microalgal cultures using averaged irradiance. *Enzyme Microb. Technol.* 21: 375–381.

- [31] Merchuk JC, Ronen M, Giris S, Arad S. Light/dark cycles in the growth of the red microalga *Porphyridium* sp. *Biotechnol Bioeng* 1998;59:705–13.
- [32] Li Xin, Hu Hong-ying, Zhang Yu-ping, Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature, *Bioresource Technology*, Volume 102, Issue 3, February 2011, Pages 3098-3102, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2010.10.055.
- [33] Elisangela Martha Radmann, Felipe Vieira Camerini, Thaisa Duarte Santos, Jorge Alberto Vieira Costa, Isolation and application of SOX and NOX resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants, *Energy Conversion and Management*, Volume 52, Issue 10, September 2011, Pages 3132-3136, ISSN 0196-8904, <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2011.04.021>.
- [34] Kishimoto M, Okakura T, Nagashima H, Minowa T, Yokoyama SY, Yamaberi K (1994) CO₂ fixation and oil production using microalgae. *J Ferment Bioeng* 78:479–482
- [35] Kaplan A, Reinhold L. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Annu Rev Plant Phys* 1999;50:539.
- [36] Samarпита Basu, Abhijit Sarma Roy, Kaustubha Mohanty, Alope K. Ghoshal, Enhanced CO₂ sequestration by a novel microalga: *Scenedesmus obliquus* SA1 isolated from bio-diversity hotspot region of Assam, India, *Bioresource Technology*, Volume 143, September 2013, Pages 369-377, ISSN 0960-8524, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.010>.
- [37] Alessandro Concas, Giovanni Antonio Lutz, Massimo Pisu, Giacomo Cao, Experimental analysis and novel modeling of semi-batch photobioreactors operated with *Chlorella vulgaris* and fed with 100% (v/v) CO₂, *Chemical Engineering Journal*, Volume 213, 1 December 2012, Pages 203-213, ISSN 1385-8947, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2012.09.119>.
- [38] Chien-Ya Kao, Sheng-Yi Chiu, Tzu-Ting Huang, Le Dai, Guan-Hua Wang, Ching-Ping Tseng, Chiun-Hsun Chen, Chih-Sheng Lin, A mutant strain of microalga *Chlorella* sp. for the carbon dioxide capture from biogas, *Biomass and Bioenergy*, Volume 36, January 2012, Pages 132-140, ISSN 0961-9534, 10.1016/j.biombioe.2011.10.046.
- [39] J.S. Marshall, K. Sala, A stochastic Lagrangian approach for simulating the effect of turbulent mixing on algae growth rate in a photobioreactor, *Chemical Engineering Science*, Volume 66, Issue 3, 1 February 2011, Pages 384-392, ISSN 0009-2509, 10.1016/j.ces.2010.10.043.

- [40] Zhenfeng Su, Ruijuan Kang, Shaoyuan Shi, Wei Cong, Zhaoling Cai, Study on the destabilization mixing in the flat plate photobioreactor by means of CFD, *Biomass and Bioenergy*, Volume 34, Issue 12, December 2010, Pages 1879-1884, ISSN 0961-9534, 10.1016/j.biombioe.2010.07.025.
- [41] J Eriksen NT. The technology of microalgal culturing. *Biotechnol Lett*, 2008;30:1525–36.
- [42] Cannon GC, Heinhorst S, Kerfeld CA. Carboxysomal carbonic anhydrases: structure and role in microbial CO₂ fixation. *Bba-Proteins Proteom* 2010;1804:382–92.
- [43] Yue LH, Chen WG. Isolation and determination of cultural characteristics of a new highly CO₂ tolerant fresh water microalgae. *Energy Convers Manage* 2005;46:1868–76.
- [44] Jacob-Lopes E, Scoparo CHG, Franco TT. Rates of CO₂ removal by a *Aphanothece microscopica* Nageli in tubular photobioreactors. *Chem Eng Process* 2008;47:1371–9.
- [45] M.M.R. Fuentes, G.G.A. Fernandez, J.A.S. Perez, J.L.G. Guerrero Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum* *Food Chem.*, 70 (2000), pp. 345–353
- [46] Sachitra K. Ratha, Radha Prasanna, Rachapudi B.N. Prasad, Chandragiri Sarika, Dolly W. Dhar, Anil K. Saxena, Modulating lipid accumulation and composition in microalgae by biphasic nitrogen supplementation, *Aquaculture*, Volumes 392–395, 10 May 2013, Pages 69-76, 10.1016/j.aquaculture.2013.02.004.
- [47] Li Xin, Hu Hong-ying, Gan Ke, Sun Ying-xue, Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp., *Bioresource Technology*, Volume 101, Issue 14, July 2010, Pages 5494-5500, 10.1016/j.biortech.2010.02.016.
- [48] Yubin Zheng, Tingting Li, Xiaochen Yu, Philip D. Bates, Tao Dong, Shulin Chen, High-density fed-batch culture of a thermotolerant microalga *Chlorella sorokiniana* for biofuel production, *Applied Energy*, Volume 108, August 2013, Pages 281-287, 10.1016/j.apenergy.2013.02.059.
- [49] Alma Toledo-Cervantes, Marcia Morales, Eberto Novelo, Sergio Revah, Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*, *Bioresource Technology*, Volume 130, February 2013, Pages 652-658, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2012.12.081.

- [50] Packo P. Lamers, Marcel Janssen, Ric C.H. De Vos, Raoul J. Bino, René H. Wijffels, Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga, *Journal of Biotechnology*, Volume 162, Issue 1, 30 November 2012, Pages 21-27, ISSN 0168-1656, 10.1016/j.jbiotec.2012.04.018.
- [51] Yixin Tan, Junda Lin, Biomass production and fatty acid profile of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga, *Bioresource Technology*, Volume 102, Issue 21, November 2011, Pages 10131-10135, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2011.07.091.
- [52] Li Fen Wu, Pei Chung Chen, Chi Mei Lee, The effects of nitrogen sources and temperature on cell growth and lipid accumulation of microalgae, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 85, November 2013, Pages 506-510, ISSN 0964-8305, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.016>.
- [53] Zhi-Yuan Liu, Guang-Ce Wang, Bai-Cheng Zhou, Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 11, July 2008, Pages 4717-4722, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2007.09.073.
- [54] Dr. Kalocsai Renátó – Dr. Schmidt Rezső, A mikroelemek növénytáplálási jelentősége, UIS Ungarn Laborvizsgáló és Szolgáltató Kft, Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdasági és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár, Talajerő plusz Kft.
http://www.talajerogazdalkodas.hu/tapelemek_szerepe_a_novenyekben_es_a_novenyi_tapelem_ellatas_mai_lehetosegei_2 , 2012.04.01
- [55] Sudarat Chaichalerm, Prayad Pokethitiyook, Wenqiao Yuan, Metha Meetam, Kamolwan Sritong, Wanvisa Pugkaew, Kunn Kungvansaichol, Maleeya Kruatrachue, Praneet Damrongphol, Culture of microalgal strains isolated from natural habitats in Thailand in various enriched media, *Applied Energy*, Volume 89, Issue 1, January 2012, Pages 296-302, ISSN 0306-2619, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.07.028>.
- [56] Florian Lehr, Clemens Posten, Closed photo-bioreactors as tools for biofuel production, *Current Opinion in Biotechnology*, Volume 20, Issue 3, June 2009, Pages 280-285, ISSN 0958-1669, <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2009.04.004>.
- [57] Lee, Y. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology* 13(4): 307-315.
- [58] Ganapathy Sivakumar, Jianfeng Xu, Robert W. Thompson, Ying Yang, Paula Randol-Smith, Pamela J. Weathers, Integrated green algal technology for

- bioremediation and biofuel, *Bioresource Technology*, Volume 107, March 2012, Pages 1-9, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2011.12.091.
- [59] Posten, C. (2009), Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng. Life Sci.*, 9: 165–177. doi: 10.1002/elsc.200900003
- [60] Xu, L., Weathers, P. J., Xiong, X.-R. and Liu, C.-Z. (2009), Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. *Eng. Life Sci.*, 9: 178–189. doi: 10.1002/elsc.200800111
- [61] Texas A&M AgriLife , Algae "Open Pond" Design
<http://www.biopondpaddlewheel.com/images/TX-PW-c.jpg> 2013.03.01
- [62] R.N. Singh, Shaishav Sharma, Development of suitable photobioreactor for algae production – A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 16, Issue 4, May 2012, Pages 2347-2353, ISSN 1364-0321, 10.1016/j.rser.2012.01.026.
- [63] Thomas E. Murphy, Halil Berberoğlu, Effect of algae pigmentation on photobioreactor productivity and scale-up: A light transfer perspective, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, Volume 112, Issue 18, December 2011, Pages 2826-2834, ISSN 0022-4073, 10.1016/j.jqsrt.2011.08.012.
- [64] Jason C. Quinn, Tracy Yates, Nathaniel Douglas, Kristina Weyer, Joel Butler, Thomas H. Bradley, Peter J. Lammers, Nannochloropsis production metrics in a scalable outdoor photobioreactor for commercial applications, *Bioresource Technology*, Volume 117, August 2012, Pages 164-171, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2012.04.073.
- [65] O. Pulz, Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms, *Appl Microbiol Biotechnol* (2001) 57:287–293, DOI 10.1007/s002530100702
- [66] Hu Qiang, David Faiman, Amos Richmond, Optimal tilt angles of enclosed reactors for growing photoautotrophic microorganisms outdoors, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Volume 85, Issue 2, 1998, Pages 230-236, ISSN 0922-338X, 10.1016/S0922-338X(97)86773-6.
- [67] P.M. Slegers, P.J.M. van Beveren, R.H. Wijffels, G. van Straten, A.J.B. van Boxtel, Scenario analysis of large scale algae production in tubular photobioreactors, *Applied Energy*, Volume 105, May 2013, Pages 395-406, ISSN 0306-2619, <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.12.068>.

- [68] Zhen Li, Xiaoqin Ma, Aifen Li, Chengwu Zhang, A novel potential source of β -carotene: *Eustigmatos cf. polyphem* (Eustigmatophyceae) and pilot β -carotene production in bubble column and flat panel photobioreactors, *Bioresource Technology*, Volume 117, August 2012, Pages 257-263, ISSN 0960-8524, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.069>. A novel potential source of β -carotene
- [69] Mobile Algae Production Skid - installed in a 40-foot container, Container PBR 2000 GCPBR 500 x 2 GC, http://www.igv-biotech.com/tl_files/content/images/products/Photobioreactor%20pbr_2000_gc.jpg 2013.03.05
- [70] Michele Greque de Morais, Jorge Alberto Vieira Costa, Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor, *Journal of Biotechnology*, Volume 129, Issue 3, 1 May 2007, Pages 439-445, ISSN 0168-1656, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.01.009>.
- [71] Ambica Koushik Pegallapati, Nagamany Nirmalakhandan, Internally illuminated photobioreactor for algal cultivation under carbon dioxide-supplementation: Performance evaluation, *Renewable Energy*, Volume 56, August 2013, Pages 129-135, ISSN 0960-1481, [10.1016/j.renene.2012.09.052](http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2012.09.052).
- [72] Scragg, A. H., A. M. Illman, A. Carden, and S. W. Shales. 2002. Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. *Biomass and Bioenergy* 23(1):67-73.
- [73] E. Sierra, F.G. Ación, J.M. Fernández, J.L. García, C. González, E. Molina, Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae, *Chemical Engineering Journal*, Volume 138, Issues 1–3, 1 May 2008, Pages 136-147, ISSN 1385-8947, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2007.06.004>. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894707004068>)
- [74] Hu Q, Guterman H, Richmond A (1996) A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs. *Biotechnol Bioeng* 51:51–60.
- [75] Rossetti GH, Albizzati ED, Alfano, OM (1998) Modeling and experimental verification of a flat-plate solar photoreactor. *Ind. Eng. Chem. Res.* 37: 3592–3601.
- [76] . Jörg Degen, Andrea Uebele, Axel Retze, Ulrike Schmid-Staiger, Walter Trösch, A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect, *Journal of Biotechnology*, Volume 92, Issue 2, 28 December 2001, Pages 89-94, ISSN 0168-1656, [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00350-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00350-9).

- [77] Javanmardian M, Palsson BO (1991) High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and operation of a novel photobioreactor system.
- [78] Altan Ozkan, Kerry Kinney, Lynn Katz, Halil Berberoglu, Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor, *Bioresource Technology*, Volume 114, June 2012, Pages 542-548, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2012.03.055.
- [79] Aleks Patrzykat: Algal Carbon Conversion Flagship "biofence" at NRC's Ketch Harbour, Nova Scotia facility is used to grow various strains of algae in order to find the most robust and productive species, depending on its environment and emissions, http://www.nrc-cnrc.gc.ca/obj/images/solutions-solutions/collaborative-collaboration/biofence_span4.jpg
- [80] IGV website, Photobioreactor technology, <http://www.igv-biotech.com/photobioreactor.html>
- [81] Wei Wen Su, Jian Li, Ning-Shou Xu, State and parameter estimation of microalgal photobioreactor cultures based on local irradiance measurement, *Journal of Biotechnology*, Volume 105, Issues 1–2, 9 October 2003, Pages 165-178, ISSN 0168-1656, 10.1016/S0168-1656(03)00188-3.
- [82] Jong-Hee Kwon, Matthias Rögner, Sascha Rexroth, Direct approach for bioprocess optimization in a continuous flat-bed photobioreactor system, *Journal of Biotechnology*, Volume 162, Issue 1, 30 November 2012, Pages 156-162, ISSN 0168-1656, 10.1016/j.jbiotec.2012.06.031.
- [83] K.K. Vasumathi, M. Premalatha, P. Subramanian, Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 16, Issue 7, September 2012, Pages 5443-5450, ISSN 1364-0321, 10.1016/j.rser.2012.06.013.
- [84] Chun-Yen Chen, Kuei-Ling Yeh, Rifka Aisyah, Duu-Jong Lee, Jo-Shu Chang, Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review, *Bioresource Technology*, Volume 102, Issue 1, January 2011, Pages 71-81, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2010.06.159.

- [85] E. Seigné Itoiz, C. Fuentes-Grünwald, C.M. Gasol, E. Garcés, E. Alacid, S. Rossi, J. Rieradevall, Energy balance and environmental impact analysis of marine microalgal biomass production for biodiesel generation in a photobioreactor pilot plant, *Biomass and Bioenergy*, Volume 39, April 2012, Pages 324-335, ISSN 0961-9534, 10.1016/j.biombioe.2012.01.026.
- [86] Sheng-Yi Chiu, Chien-Ya Kao, Chiun-Hsun Chen, Tang-Ching Kuan, Seow-Chin Ong, Chih-Sheng Lin, Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 9, June 2008, Pages 3389-3396, ISSN 0960-8524, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.013>
- [87] Jérémy Pruvost et al., A new photobioreactor for continuous microalgal production in hatcheries based on external-loop airlift and swirling flow, *Biotechnology and Bioengineering* January 2009, Volume 102, Issue 1, Pages 132 – 147 <http://dx.doi.org/10.1002/bit.22035>
- [88] Doucha, J., F. Straka, and K. Lívanský. 2005. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. *Journal of Applied Phycology* 17(5): 403-412.
- [89] Olaizola, M. 2003. Microalgal removal of CO₂ from flue gases: changes in medium pH and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgal cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 8(6): 360-367.
- [90] Z. C.-Wu, O. Zmora, R. Kopel, A. Richmond, An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp., *Aquaculture* 195 (2001) 35-49
- [91] C. U. Ugwu, H. Aoyagi, H. Uchiyama, Photobioreactors for mass cultivation of algae, *Bioresource Technology*, 2007.
- [92] Y.K. Lee, Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential, *Journal of Applied Phycology* 13 (2001), pp. 307–315.
- [93] Jia Yang, Xin Li, Hongying Hu, Xue Zhang, Yin Yu, Yongsheng Chen, Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga, *Chlorella ellipsoidea* YJ1, in domestic secondary effluents, *Applied Energy*, Volume 88, Issue 10, October 2011, Pages 3295-3299, ISSN 0306-2619, 10.1016/j.apenergy.2010.11.029.
- [94] Sheng-Yi Chiu, Chien-Ya Kao, Chiun-Hsun Chen, Tang-Ching Kuan, Seow-Chin Ong, Chih-Sheng Lin, Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a

- semicontinuous photobioreactor, *Bioresource Technology*, Volume 99, Issue 9, June 2008, Pages 3389-3396, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2007.08.013.
- [95] Liliana Rodolfi, Graziella Chini Zittelli, Laura Barsanti, Giovanna Rosati, Mario R. Tredici, Growth medium recycling in *Nannochloropsis* sp. mass cultivation, *Biomolecular Engineering*, Volume 20, Issues 4–6, July 2003, Pages 243-248, ISSN 1389-0344, 10.1016/S1389-0344(03)00063-7.
- [96] E.B. Sydney, T.E. da Silva, A. Tokarski, A.C. Novak, J.C. de Carvalho, A.L. Woiciechowski, C. Larroche, C.R. Soccol, Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage, *Applied Energy*, Volume 88, Issue 10, October 2011, Pages 3291-3294, ISSN 0306-2619, 10.1016/j.apenergy.2010.11.024.
- [97] Zhang Cheng-Wu, Odi Zmora, Reuven Kopel, Amos Richmond, An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae), *Aquaculture*, Volume 195, Issues 1–2, 2 April 2001, Pages 35-49, ISSN 0044-8486, 10.1016/S0044-8486(00)00533-0.
- [98] R. Prado, C. Rioboo, C. Herrero, A. Cid, The herbicide paraquat induces alterations in the elemental and biochemical composition of non-target microalgal species, *Chemosphere*, Volume 76, Issue 10, September 2009, Pages 1440-1444, ISSN 0045-6535, 10.1016/j.chemosphere.2009.06.003.
- [99] Euntaek Lee, Ri-Liang Heng, Laurent Pilon, Spectral optical properties of selected photosynthetic microalgae producing biofuels, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, Volume 114, January 2013, Pages 122-135, ISSN 0022-4073, 10.1016/j.jqsrt.2012.08.012.
- [100] . Lee, J-Y. et al. (2010) Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresour. Technol.* 101, S75-S77.
- [101] Krohn, B.J., et al. (2010) Production of alga-based biodiesel using the continuous catalytic Mcgyan process. *Bioresour. Technol.* , doi:10.1016/j.biortech.2010.05.035.
- [102] Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959) A rapid method for total lipid extraction and purification.. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37 , pp. 911-917.
- [103] S. Archanaa, Sandhya Moise, G.K. Suraishkumar, Chlorophyll interference in microalgal lipid quantification through the Bligh and Dyer method, *Biomass and Bioenergy*, Volume 46, November 2012, Pages 805-808, ISSN 0961-9534, 10.1016/j.biombioe.2012.07.002.

- [104] Liping Xiao, Svein Are Mjøs, Bjørn Ole Haugsgjerd, Efficiencies of three common lipid extraction methods evaluated by calculating mass balances of the fatty acids, *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 25, Issue 2, March 2012, Pages 198-207, ISSN 0889-1575, 10.1016/j.jfca.2011.08.003.
- [105] P Manirakiza, A Covaci, P Schepens, Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods, *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 14, Issue 1, February 2001, Pages 93-100, ISSN 0889-1575, 10.1006/jfca.2000.0972.
- [106] Cooney, M., Young, G. and Nagle, N. (2009) Extraction of Bio-oils from Microalgae. *Sep. Pur. Rew.* 38 , pp. 291-325.
- [107] Sergio D. Ríos, Joandiet Castañeda, Carles Torras, Xavier Farriol, Joan Salvadó, Lipid extraction methods from microalgal biomass harvested by two different paths: Screening studies toward biodiesel production, *Bioresource Technology*, Volume 133, April 2013, Pages 378-388, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2013.01.093.
- [108] Hideki Kanda, Peng Li, Takeshi Yoshimura, Shigeru Okada, Wet extraction of hydrocarbons from *Botryococcus braunii* by dimethyl ether as compared with dry extraction by hexane, *Fuel*, Volume 105, March 2013, Pages 535-539, ISSN 0016-2361, 10.1016/j.fuel.2012.08.032.
- [109] Supathra Lilitchan, Cholticha Tangprawat, Kornkanok Aryusuk, Sumalee Krisnangkura, Salisa Chokmoh, Kanit Krisnangkura, Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and γ -oryzanol contents in rice bran, *Food Chemistry*, Volume 106, Issue 2, 15 January 2008, Pages 752-759, ISSN 0308-8146, 10.1016/j.foodchem.2007.06.052.
- [110] Rajesh Kumar Balasubramanian, Thi Thai Yen Doan, Jeffrey Philip Obbard, Factors affecting cellular lipid extraction from marine microalgae, *Chemical Engineering Journal*, Volumes 215–216, 15 January 2013, Pages 929-936, ISSN 1385-8947, 10.1016/j.cej.2012.11.063.
- [111] Euntaek Lee, Ri-Liang Heng, Laurent Pilon, Spectral optical properties of selected photosynthetic microalgae producing biofuels, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, Volume 114, January 2013, Pages 122-135, ISSN 0022-4073, 10.1016/j.jqsrt.2012.08.012.

- [112] Mendes, R. L., et al. (1995) Supercritical CO₂ extraction of carotenoids and other lipids from *Chlorella vulgaris*. *Food Chemistry*. 53, 99 – 103.
- [113] Mendes, R. L., et al. (2006) Supercritical CO₂ extraction of γ -linolenic acid and other lipids. Comparison with organic solvent. *Food Chemistry*. 99, 57 – 63.
- [114] Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N. and Pohl, C. (1996) Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation.. *Anal. Chem.* **68** , pp. 1033-1039.
- [115] Denery, J. R., Dragull, K., Tang, C. S. and Li, Q. X. Pressurized fluid extraction of carotenoids from *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina* and kavalactones from *Piper methysticum*.. *Anal. Chim. Acta* 501 , pp. 175-181.
- [116] Guclu-Ustundag, O., Balsevich, J. and Mazza, G. (2007) Pressurized low polarity water extraction of sponins from cow cockle seed.. *J. Food Eng.* 80 , pp. 619-630.
- [117] Hejazi, M. A. , de Lamarlie, C. , Rocha, J. M. S. , Vermue, M. , Tramper, J. and Wijffels, R. H. (2002) Selective extraction of carotenoids from the microalga *Dunaliella salina* with retention of viability.. *Biotechnol. Bioeng.* 79:(1) , pp. 29-36.
- [118] Courchesne, N. M. D., Parisien, A., Wang, B. and Lan, C. Q. (2009) Enhancement of lipid production using biochemical, genetic, and transcription factor engineering approaches.. *J. Biotechnol.* 141 , pp. 31-41.
- [119] http://criepi.denken.or.jp/en/activities/pressrelease/2010/03_17.html
Successful Extraction of „Green Crude Oil” from Blue-Green Algae High Yield Extraction at Room Temperature without Drying nor Pulverizing Process-.
- [120] Belarbi, E.H., et al., (2000) A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 516-529.
- [121] Lee, J-Y. et al. (2010) Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresour. Technol.* 101, S75-S77.
- [122] Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959) A rapid method for total lipid extraction and purification.. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37 , pp. 911-917.
- [123] S. Archanaa, Sandhya Moise, G.K. Suraishkumar, Chlorophyll interference in microalgal lipid quantification through the Bligh and Dyer method, *Biomass and Bioenergy*, Volume 46, November 2012, Pages 805-808, ISSN 0961-9534, 10.1016/j.biombioe.2012.07.002.

- [124] Liping Xiao, Svein Are Mjøs, Bjørn Ole Haugsgjerd, Efficiencies of three common lipid extraction methods evaluated by calculating mass balances of the fatty acids, *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 25, Issue 2, March 2012, Pages 198-207, ISSN 0889-1575, 10.1016/j.jfca.2011.08.003.
- [125] Foppe Smedes, Torsten k Askland, Revisiting the Development of the Bligh and Dyer Total Lipid Determination Method, *Marine Pollution Bulletin*, Volume 38, Issue 3, March 1999, Pages 193-201, ISSN 0025-326X, 10.1016/S0025-326X(98)00170-2.
- [126] P Manirakiza, A Covaci, P Schepens, Comparative Study on Total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods, *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 14, Issue 1, February 2001, Pages 93-100, ISSN 0889-1575, 10.1006/jfca.2000.0972.
- [127] Cooney, M., Young, G. and Nagle, N. (2009) Extraction of Bio-oils from Microalgae. *Sep. Pur. Rev.* 38 , pp. 291-325.
- [128] Sergio D. Ríos, Joandiet Castañeda, Carles Torras, Xavier Farriol, Joan Salvadó, Lipid extraction methods from microalgal biomass harvested by two different paths: Screening studies toward biodiesel production, *Bioresource Technology*, Volume 133, April 2013, Pages 378-388, ISSN 0960-8524, 10.1016/j.biortech.2013.01.093.
- [129] Hideki Kanda, Peng Li, Takeshi Yoshimura, Shigeru Okada, Wet extraction of hydrocarbons from *Botryococcus braunii* by dimethyl ether as compared with dry extraction by hexane, *Fuel*, Volume 105, March 2013, Pages 535-539, ISSN 0016-2361, 10.1016/j.fuel.2012.08.032.
- [130] Supathra Lilitchan, Cholticha Tangprawat, Kornkanok Aryusuk, Sumalee Krisnangkura, Salisa Chokmoh, Kanit Krisnangkura, Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and γ -oryzanol contents in rice bran, *Food Chemistry*, Volume 106, Issue 2, 15 January 2008, Pages 752-759, ISSN 0308-8146, 10.1016/j.foodchem.2007.06.052.
- [131] Rajesh Kumar Balasubramanian, Thi Thai Yen Doan, Jeffrey Philip Obbard, Factors affecting cellular lipid extraction from marine microalgae, *Chemical Engineering Journal*, Volumes 215–216, 15 January 2013, Pages 929-936, ISSN 1385-8947, 10.1016/j.cej.2012.11.063.

- [132] Stephen E. Bialkowski: Carbon Dioxide - Carbonic Acid Equilibrium,
<http://ion.chem.usu.edu/~sbialkow/Classes/3600/Overheads/Carbonate/CO2.html>,
2012.12.01
- [133] Dr.-Ing. Uwe Sievers: Die thermodynamischen Eigenschaften von Kohlendioxid,
Verein Deutscher Ingenieure VDI Verlag GmbH, Düsseldorf 1984. pp. 44. ISSN 0506-
3116
- [134] Physical and Engineering Data, January 1978 ed. The Hague: Shell Internationale
Petroleum Maatschappij BV, 1978.
- [135] D. McGinty, C.S. Letizia, A.M. Api, Fragrance material review on phytol, Food
and Chemical Toxicology, Volume 48, Supplement 3, January 2010, Pages S59-S63,
ISSN 0278-6915, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.012>.