

Dr. Szabó Piroska¹

**ANAEROB FERMENTÁCIÓS FOLYAMATOK OPTIMÁLÁSA
A MIKROALGA ALKALMAZHATÓSÁG TOVÁBBÁ A MIKROELEM
ADAGOLÁS TEKINTETÉBEN**

DOI: 10.23715/SDA.2020.2.2

¹ Soproni Egyetem, Kitaibel Pál Környezettudományi Doktori Iskola (2017)

TARTALOMJEGYZÉK

Szerzői bemutatkozás.....	233
Dr. Szabó Piroska.....	235
ANAEROB FERMENTÁCIÓS FOLYAMATOK OPTIMÁLÁSA A MIKROALGA ALKALMAZHATÓSÁG TOVÁBBÁ A MIKROELEM ADAGOLÁS TEKINTETÉBEN	235
Bevezetés	239
1. Szakirodalmi áttekintés	243
1.1 Megújuló energiaforrások – biomassa	243
1.2 A biogáz előállítás nemzetközi helyzete.....	244
1.3 A biogáz előállítás hazai helyzete.....	246
1.4 Alapanyagok	248
1.5 Mikroalga hasznosítás	249
1.5.1 Mikroalgák felhasználási lehetőségei.....	250
1.6 Anaerob fermentáció	253
1.6.1 Hidrolízis	253
1.6.2 Acidogenezis.....	254
1.6.3 Acetogenezis	254
1.6.4 Metanogenezis	254
1.7 Mikroalgák anaerob fermentációja	255
1.8 Mikroelem adagolás az anaerob fermentációban	255
1.9 Fermentációs maradék hasznosítása	256
1.9.1 A fermentációs maradék hasznosítás szabályozása	257
1.10 Ökotoxikológia.....	258
2. Anyag és módszer	259
2.1 Felhasznált anyagok	259
2.2 Anaerob fermentációs vizsgálatok.....	260
2.3 Analitikai vizsgálatok.....	260
2.4 Ökotoxikológiai tesztek.....	263
2.5 Metagenomikai vizsgálatok.....	265
2.6 Statisztikai értékelés	265

3. Eredmények és értékelésük	267
3.1 Monofermentáció	267
3.1.1 10% és 3% N-táptalajon tenyésztett <i>Chlorella vulgaris</i> mikroalga anaerob fermentációja.....	267
3.1.2 10% és 3% N-táptalajon tenyésztett <i>Scenedesmus sp.</i> mikroalga anaerob fermentációja.....	270
3.2 Kofermentáció	272
3.2.1 Kettes kofermentáció	272
3.2.2 A szárazanyag tartalom változás hatása a <i>Chlorella vulgaris</i> és használt sütőolaj kofermentációjára.....	280
3.2.3 Hármas kofermentáció	286
3.3 Mikroelem adagolás hatásainak vizsgálata anaerob fermentációra és a fermentiszap ökotoxikológiai értékelése.....	293
3.3.1 A mikroelem adagolás cukorrépa préselt szelet metán kihozatalára gyakorolt hatásai	294
3.3.2 Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain.....	296
3.3.3 Tavaszi árpa biomassa hozam eredményei cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain	297
3.3.4 SBPP - Mikroelem analízis	298
3.3.5 Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei kukoricaszilázs különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain	300
3.3.6 Tavaszi árpa biomassa hozam eredményei kukoricaszilázs különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain.....	301
3.3.7 Kukoricaszilázs - Mikroelem analízis	302
3.3.8 Főkomponens elemzés	303
Következtetések	309
Összefoglalás	313
Tézisek.....	317
Köszönetnyilvánítás	319
Ábra-, és táblázatjegyzék	321
Irodalomjegyzék	325

Bevezetés

Az ipari forradalom kezdete óta a világ fejlődése az energia szükségletek folyamatos növekedését eredményezte. Az igények biztosítása elsősorban fosszilis energiahordozók felhasználásával történt, mára azonban az emberiség tisztában van a készletek végeességével, valamint környezetkárosító hatásukkal. A megújuló energiaforrások megjelenése és hatásfokuk folyamatos javulása olyan alternatívákat biztosítanak, amelyek révén a hagyományos szén alapú társadalom jelentősége csökkenthető.

A megújulók térhódításának egyik sarkalatos kérdése azonban az ellátásbiztonság problémája. A legújabb vélemények szerint energiaigényünk napi, éves fluktuációját energiamixek alkalmazásával, smart-rendszerek kidolgozásával képesek lennénk kezelni. A nap-, szél-, vízenergia együttes hasznosítása mellett fontos szerepet játszhat a biomassza felhasználás, ezen belül a biogáz előállítás. Az anaerob fermentáció kiváló lehetőség a melléktermékből, hulladékból történő energiatermelésre. Egy rugalmas hálózatban sokoldalú felhasználhatósága, tárolhatósága, a termelés tervezhetősége miatt pl. csúcsidőszakokban hozzájárulhat a megnövekedett energiaigény biztosításához, valamint fontos lehet a folyamatos, kiegyenlített energiabiztonság szempontjából. A biogáz nagy tömegben felhasznált alapanyagait a mezőgazdaságból származnak, ami két problémát vet fel. Egyrészt konkurencia alakulhat ki az élelmiszer előállítással, másrészt az alapanyag ellátottsága időben nem folytonos, vegetációs időszakhoz kötött. A problémák kiküszöbölése érdekében számos kutatást folytatnak olyan szubsztrátok alkalmazhatóságának vizsgálatára, amelyek kiválthatják a jelenleg hasznosított alapanyagokat. Az egyik ilyen alternatíva a mikroalgák alkalmazása anaerob fermentációs folyamatokban. A mikroalgák számos előnyük mellett az év nagy részében tenyészthetőek, energetikailag több módon felhasználhatóak, nem foglalnak el területeket az élelmiszer célú mezőgazdaság előtt.

A biogáz gyártás széleskörű, flexibilis használata mellett a komplex hasznosítás szintén előremutató kérdés az ágazatban. A kiejedt fermentlé magas szervesanyag tartalma miatt a talajerő javítás eszközeként szolgálhat. Környezetbarát megoldás, organikus, a mezőgazdaságban, erdészetben a jelenlegi technológiákba jól illeszthető. Alkalmazásának legfőbb hátrányát az adja, hogy a fermentáció folyamán a lebontást végző mikrobiális konzorcium optimális működése céljából mikroelem adagolást végeznek. A termőföldre kijuttatott iszapban akkumulálódó fémek toxikus hatást gyakorolhatnak a talajflórára-, faunára, veszélyeztethetik az élelmiszerláncon keresztül az emberi egészséget. A probléma a gyakorlatban is előfordul, konkrét példát a Vágfüzesen (Vrbová nad Váhom, Szlovákia) működő biogáz üzem szolgáltat. Az üzemeltetők jelenleg nem alkalmazhatják fermentációs maradékukat a mezőgazdasági területeiken ennek oka, hogy a biogazdálkodást folytatnak, amit a fő felvásárló által megbízott szervezet ellenőriz. A bio minősítést az érvényben lévő jogszabályok szerint elveszítenék, amennyiben mikroelemmel kezelt fermentiszapot juttatnának termőterületeikre, az alkalmazás toxikológiai hatásait azonban még senki sem vizsgálta. A konkrét hatások kvalitatív meghatározása ökotoxikológiai tesztek elvégzését indokolta, amelyek segítségével képet kaphatunk, hogy a fermentiszapok milyen feltételek mellett alkalmazhatóak biztonságosan, akár „bio” minősítésű termékek előállítása során is. A laboratóriumi vizsgálatok jó alapot nyújthatnak további szabadföldi kispárcellás kísérletek elvégzéséhez.

A probléma felvetés alapján munkám során a következő célkitűzéseket tettem:

1. *Chlorella vulgaris* és *Scenedesmus sp.* mikroalga fajok jelenlegi anaerob fermentációs technológiákhoz történő illeszthetőségének vizsgálata. Monofermentációs vizsgálatok révén a kedvezőbb mikroalga faj kiválasztása további kofermentációs kísérletek végrehajtásához.
2. A lebontás során esetlegesen fellépő inhibíciós hatások elemzése analitikai módszerekkel. A klasszikus titrimetriás meghatározások mellett nagyműszeres kromatográfiai eszközök, HPLC-UV, GC-MS alkalmazása a metabolitok analíziséhez.
3. Kofermentációs vizsgálatok elvégzése mikroalga és különböző mezőgazdasági eredetű ipari melléktermékekre vonatkozóan, az optimális működés és maximális terhelhetőség meghatározása céljából.
4. Különböző szárazanyag tartalmú mikroalga biomassza metántermelési potenciáljának vizsgálata, a feltételezett hígulás mikrobiális összetételre gyakorolt hatásának elemzése.
5. Az anaerob fermentáció során alkalmazott mikroelem adagolás hatásának vizsgálata a metán kihozatalra cukorrépa préselt szelet monofermentációja esetében. A feltételezett pozitív hatás igazolása és számszerűsített értékének meghatározása.
6. A mezőgazdasági, erdészeti területeken történő alkalmazási lehetőségek meghatározása céljából különböző mikroelem kezelésű kiejert fermentiszapok ökotoxikológiai értékelése növényi tesztszervezeteken, valamint az egyes fémek akkumulációjának nyomon követése az alkalmazott iszapokban, talajokban és a biomasszában.

A célkitűzéseket az alábbi kísérleti elrendezésben kívántam megvalósítani:

1. Monofermentáció

- 3% és 10% N-tartalmú tápoldatban tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga anaerob fermentációja
- 3% és 10% N-tartalmú tápoldatban tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga anaerob fermentációja

2. Kofermentáció

- Kettes kofermentáció: *Chlorella vulgaris* + használt sütőolaj/kukoricaszilázs/malomipari korpa alkalmazása
- Szárazanyag tartalom változásának vizsgálata: 3,8% és 7,2% szerves szárazanyag tartalmú szubsztrát mix (*Chlorella vulgaris*, használt sütőolaj)
- Három kofermentáció: SBPP/kukoricaszilázs (70%) + *Chlorella vulgaris* (20%), használt sütőolaj (10%) együttes alkalmazása.

3. Mikroelem adagolás

- Metántermelésre gyakorolt hatás vizsgálata SBPP monofermentáció esetében, három különböző kezelésű csoport felállítása:
 - a. kezeletlen: mikroelem adagolás nélkül,
 - b. kezelt (2 $\mu\text{L/L/nap}$ mikroelem),

c. kezelt + Fe (2 $\mu\text{L/L/nap}$ mikroelem + 82 $\mu\text{L/L/nap}$ Fe(III)-klorid 40%-os oldata)

- Ökotoxikológia: SBPP, kukoricaszilázs monofermentációjából származó iszapokon végzett gyökérnövekedés gátlás fehér mustár (*Sinapis alba*), biomassza hozam vizsgálatok tavaszi árpa (*Hordeum vulgare* L.) tesztorganizmeken.
- Mikroelem analízis: talaj, iszap, biomassza

1. Szakirodalmi áttekintés

1.1 Megújuló energiaforrások – biomassza

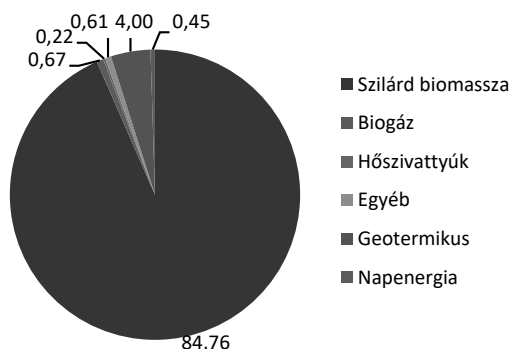
A világ energiaigénye a növekvő népesség és a jóléti társadalmak fejlődése révén várhatóan a következő évtizedekben is növekedni fog (*Fan et al., 2017*). Az emelkedés üteme viszont az előrejelzések szerint lassulni fog az elmúlt időszakokhoz képest a technológiai fejlesztések, a környezeti aggályok és a nagyobb energiahatékonyság következtében (*Fotis és Asteriou, 2017; Grant et al., 2016*). Az előre jelzett mérsékelt növekedés azonban a fosszilis energia alapú társadalom számára nem biztosít megoldást a klímaváltozás kérdésére. A növekvő energiaigényt döntő mértékben nem megújuló, primer energiaforrások felhasználásával fedezzük (*Anderoni, 2017*). A fosszilis energiaforrások kimerülésének veszélye, a nyersanyagok árának emelkedése és a légköri CO₂ koncentráció növekedése miatt a világ jövője egyre inkább a megújuló erőforrások minél szélesebb körű felhasználására, hatásfokuk javítására törekszik (*Foster és Shah, 2017; Garrett-Peltier, 2017*). A legújabb fejlesztések (egyesek a harmadik ipari forradalomként is nevezik) a fenntartható energiagazdálkodást az internet technológiával kapcsolják össze, amellyel egy multi-energia rendszert kívánnak létrehozni. Az elektromos áram, hőenergia, földgáz és egyéb energiaformák integrálásával egy „Smart-Energia Központ”-ot alkotnak, mely révén egy rugalmas, az energiaigényeket folyamatosan követő hálózat alakítható ki (*Wang és Kang, 2017*).

Az Európai Unió gazdasági stratégiájának részeként 2020-ra az energiafogyasztásban a megújuló energiaforrások 20%-os részarányát tűzte célul. Hazánk vállalása ezen a téren 14,65%. Emellett az Unió minden tagállamban 2020-ig a megújuló energiákból nyert üzemanyagoknak 10%-os részarányt kell elérniük a közlekedésben (*Eredményjelentés a megújuló energiákról, 2017*). A nem fosszilis energiaforrások szerepének növelése mellett Magyarország az ENSZ éghajlat-változási konvenciója keretein belül kötelezettséget vállalt, hogy stabilizálja a szén-dioxid emissziót, a Nemzeti Éghajlatváltozási Stratégiában az 1990-es bázisévhez képest 16-25%-os csökkenést irányzott elő 2025-re (*Grabner, 2017*). A klímacsomag fontos eleme az energiahatékonyság növelése is. Az EU ebben az esetben is a 20%-os célszámot tűzte ki, hazánk konkrét százalékos célt nem fogalmazott meg, 2020-ra a primerenergia-felhasználást 1009 PJ-ban kívánják maximalizálni. A célszám eléréséhez a Magyarország Nemzeti Energiahatékonysági Cselekvési Terve 2020-ig, a Nemzeti Épületenergetikai Stratégia és az Energia- és Klímadatosság Szemléletformálási Cselekvési Terv kapcsolódik (*Grabner, 2017*).

Az Európa Tanács 2014. őszén fogadta el a 2030-ig szóló Uniói éghajlat-, és energiapolitikai keretet (*COM (2014) 0015 bizottsági közlemény*). A célkitűzések között szerepel az üvegházgáz kibocsátás legalább 40%-kal történő csökkentése az 1990-es szinthez képest, a felhasznált energiát legalább 27%-ban megújuló energiaforrásból kell fedezni (nincsenek tagállami célok). Az energiahatékonyságra vonatkozó cél a 27%-os javulás elérése a 2030-ra előre jelzett energiafogyasztáshoz képest.

Magyarország kiemelkedő agroökológiai adottságokkal rendelkezik, így leginkább a biomassza alapú megújuló energiaforrásokra érdemes támaszkodnia (*Somosné et al., 2010*). Biomassza öt különböző forrásból származhat: növénytermesztésben és erdőszetben képződő melléktermékekből, állattenyésztésből, élelmiszeriparból és a kommunális illetve ipari hulladékokból (*Li és Wang, 2017*). Az 1. ábrán látható, hogy hazánk energiafelhasználásának 93%-át, 84,76 PJ-t a szilárd biomassza adja, mivel jelenleg a legnagyobb hatékonysággal, a leginkább költséggazdaságos módon vagyunk képesek hasznosítani. Ennek oka, hogy a biomassza alapanyagból történő energiatermelés

technológiája kis mértékben különbözik a fosszilis energiahordozók hasznosításának technológiájától, az energiaátalakítás mindkét esetben a tüzelőanyag elégetésével történik. Ezáltal mind a villamos energia-, mind a hőenergia termelés területén viszonylag egyszerűen és alacsony költséggel megoldható a biomassza felhasználásra történő átállás.



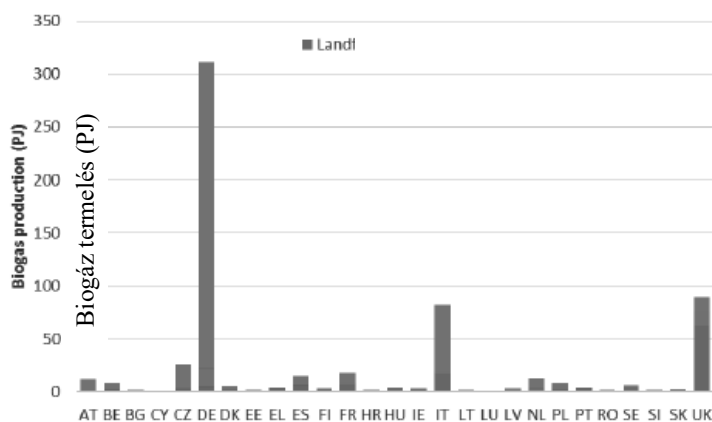
1. ábra Magyarország megújuló energiafelhasználásának energiaforrás szerinti megoszlása (PJ) (Grabner 2017. alapján saját szerkesztés)

A prognózisok szerint a biomassza szerepe a teljes megújuló energia felhasználáson belül a jövőben is meghatározó marad (Dogan és Inglesi-Lotz, 2017) az egyre nagyobb hatásfokú, automatizált kazánok, korszerű villamosenergia termelő blokkok fejlesztése révén. Az ilyen módon történő energiatermelés mind forrás, mind termelés oldalon jól tervezhető és szabályozható (Roni et al., 2017), így nem állnak fent olyan problémák, mint a nap-, szélenergia hasznosítás terén. Emellett hatékonyabbá teszi a mezőgazdaságban és állattartásban keletkező melléktermékek és hulladékok hasznosítását, valamint az előállított végtermékek értékesítésének lehetőségeit is bővíti. Ezáltal a gazdaságok kevésbé lesznek érzékenyek a piaci környezet változásaira, az alapanyag felhasználás és végtermék előállítás terén rugalmasabbá válnak, jelentősen növelve ezzel versenyképességüket (Simon, 2015). A biomassza hasznosítási módszerek között a biogáz előállítás egy, a gyakorlatban már bizonyított technológia, amely számos előnnyel rendelkezik (Ward et al., 2008). Az alapanyag magas nedvesség tartalom mellett (kevesebb, mint 40% szárazanyag tartalom esetén) is alkalmazható (Mata-Alvarez, 2002), a keletkező biogáz széles körben hasznosítható: motorhajtóanyagként, elektromos áram fejlesztésére, hőenergia előállítására, ill. kapcsolt energiatermelésre (CHP- Combined Heat and Power Technology) is alkalmas. A tisztítási eljárás során nyert szén-dioxid melléktermékként keletkezik, amely az üvegházak szén-dioxid trágyázására kiválóan alkalmas. Veszélyes hulladékok ártalmatlanításával csökkenti azok környezeti kockázatát (Sahlstrom, 2003), a kierjedt fermentlé jól alkalmazható biotrágyaként, amely értékes talajerőjavító hatással rendelkezik (Tafdrup, 1995). Az alapanyagok megtermeléséhez parlagon hagyott területek újbóli művelésbe fogásával elősegíti a regionális gazdaság fejlődését, valamint hozzájárul a decentralizált energiatermeléshez (Tamás és Blaskó, 2010).

1.2 A biogáz előállítás nemzetközi helyzete

Az EU biogáz termelésére vonatkozó legfrissebb elérhető adatok 2014-ből származnak.

A felmérések forrásai az Európai Biogáz Egyesület - EBA, az EuroObservEr és az Eurostat. Az utóbbi adatai szerint a teljes biogáz termelés 2014-ben 625 PJ (14,9 Mtoe) volt, ez a teljes megújuló energiatermelés 7,6%-a. Az egyes tagállamok részesedését a 2. ábra mutatja be, ez alapján megállapítható, hogy Németország messze a legnagyobb termelő (311 PJ/7,4 Mtoe) az EU-ban, az EU28 50%-át adja, őt követi Olaszország és az Egyesült Királyság. A megtermelt biogáz 18%-a hulladéklerakókról, 9%-a szennyvíziszapból, 72%-a pedig főleg mezőgazdasági és néhány ipari szerves hulladék lebontásából származik. Az Egyesült Királyságban viszonylag magas a depóniagáz részesedése, az előrejelzések szerint azonban ez a jövőben mérséklődni fog, mivel a lerakóban elhelyezett hulladék mennyiségében csökkenés várható, valamint a már meglévő depóniák hozama az idővel szintén csökkenést mutat (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*).



2. ábra Az EU biogáz termelésének tagállamonkénti megoszlása 2014-ben (kék: depóniagáz, narancs: szennyvíziszap, zöld: egyéb) (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*)

Az EU-ban előállított biogáz 62%-a elektromos áram fejlesztésére fordul, ezt követi a hőenergia termelés 27%-kal. Nagyjából 11%-ot tesz ki a biometán tisztítás, amelyet a közlekedési szektorban használnak fel vagy a lakossági földgázhálózatba táplálják.

A biogáz technológia és felhasználás jövőbeni alakulására az Európai Bizottsági felmérése négy scenáriót vázol:

1. Helyben történő felhasználás és növekedés:

- a biogáz helyben történő felhasználása CHP rendszerben, elektromos áram hálózatba történő betáplálása, a hő helyi hasznosítása
- a nyersanyag felhasználás növekedése valamint a beruházási költségek és a konverzió hatékonyságának rendszeres fejlesztése

2. Helyben történő felhasználás és gyorsított növekedés:

- a biogáz helyben történő felhasználása CHP rendszerben, elektromos áram hálózatba történő betáplálása, a hő helyi hasznosítása
- a nyersanyag felhasználás gyorsított növekedése valamint a beruházási költségek és a konverzió hatékonyságának gyorsított fejlesztése

3. Betáplálás gázhálózatba és növekedés:

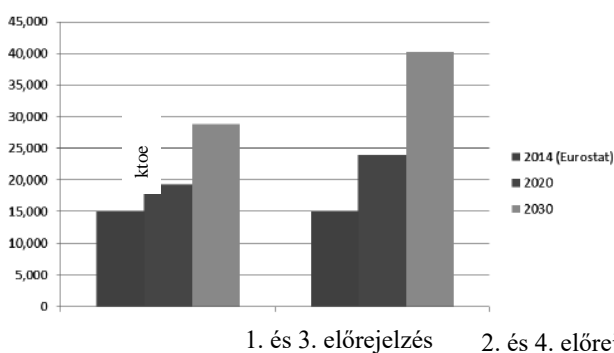
- a biogáz tisztítása biometánná és gázhálózatba történő betáplálása; épített környezetben vagy közlekedési szektorban történő felhasználás
- a nyersanyag felhasználás növekedése valamint a beruházási költségek és a konverzió hatékonyságának gyorsított fejlesztése

4. Betáplálás gázhálózatba és gyorsított növekedés:

- a biogáz tisztítása biometánná és gázhálózatba történő betáplálása; épített környezetben vagy közlekedési szektorban történő felhasználás
- a nyersanyag felhasználás gyorsított növekedése valamint a beruházási költségek és a konverzió hatékonyságának gyorsított fejlesztése.

A közlekedésben történő felhasználás esetében a legújabb forgatókönyvek szerint a tengeri nagy tömegű áruszállítás gazdaságos megvalósítása LNG (Liquefied Natural Gas) hajtóanyagú hajók alkalmazásával a biogáz piacnak új lehetősége nyílik (*szóbeli közlés, Domanovszky Henrik, BIOSURF EU konferencia, 2017*).

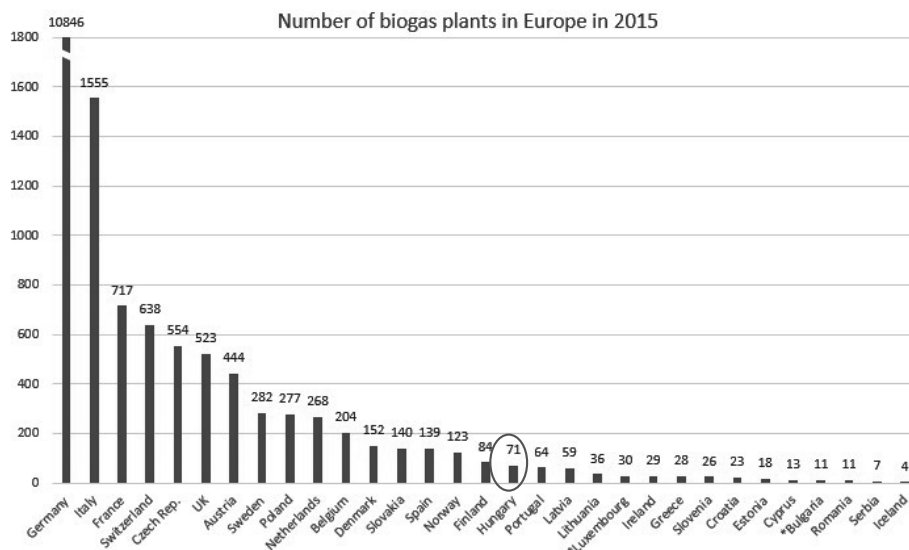
Az alapanyag előrejelzések szerint a legnagyobb potenciál a folyékony és szilárd trágya, valamint a szerves hulladékok felhasználásában van. Összességében az előrejelzések alapján 2030-ra az EU28 biogáz termelése 40,2 Mtoe-ra lenne képes növekedni (3. ábra).



3. ábra Az EU biogáz termelésének tagállamonkénti megoszlása 2014-ben. (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*)

1.3 A biogáz előállítás hazai helyzete

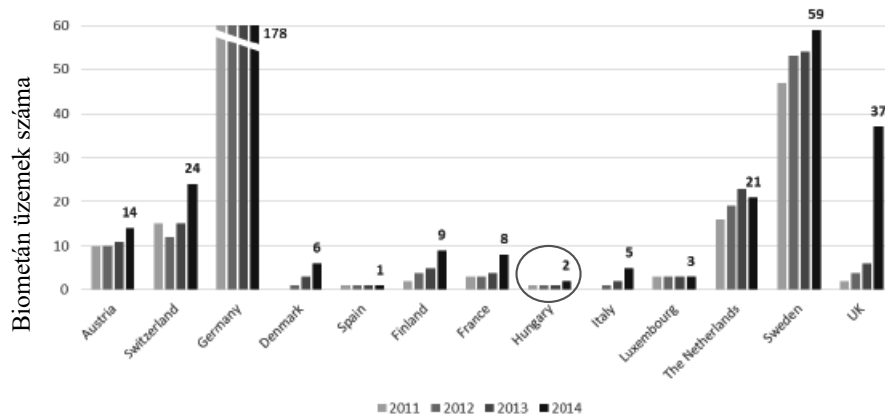
Magyarországon az 1950-as évektől kezdve jelentős kísérletek folytak a mezőgazdasági melléktermékek elgázosítására. A 2016-os EBA jelentés alapján 71 db biogáz üzem található hazánkban (4. ábra), melynek fele a mezőgazdasági szektorban működik 30 MW beépített kapacitással. Ezt követi a hulladéklerakókból származó depóniagáz és a szennyvíz telepek biogáz üzemai. Az általánosan használt technológia az anaerob fermentáció mezofil és termofil tartományon egyaránt, valamint a szennyvíziszap víztelenítése.



4. ábra Biogáz üzemek száma Európában 2015-ben (EBA Biogas Report 2016)

2015-ben a teljes beépített kapacitás kb. 40 MW teljesítmény volt. A 2010-2020 időszakra vonatkozó Megújuló Energia Cselekvési Tervben meghatározott 100 MW-os célértéket valószínűleg nem fogjuk elérni, habár elérhetőek lennének olyan, jelenleg nem hasznosított kapacitások, különösen az élelmiszeripari hulladékok, amelyek révén 25 MW potenciális teljesítmény lenne még kiaknázható (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*).

Figyelembe véve a jelenleg rendelkezésre álló biogáz forrásokat Magyarországon, a biometán éves potenciális termelési szintje 121-177 millió m³-re tehető. Mivel ez az ágazat nem kap megfelelő támogatást, így 2014-ben csupán két biometán üzem termelt (5. ábra). A támogatás hiánya mellett az adminisztratív terhek is hátráltatják a biometán hazai fejlesztését, egy üzem felépítéséhez és működéséhez kb. 24-25 db különböző engedélyre van szükség.



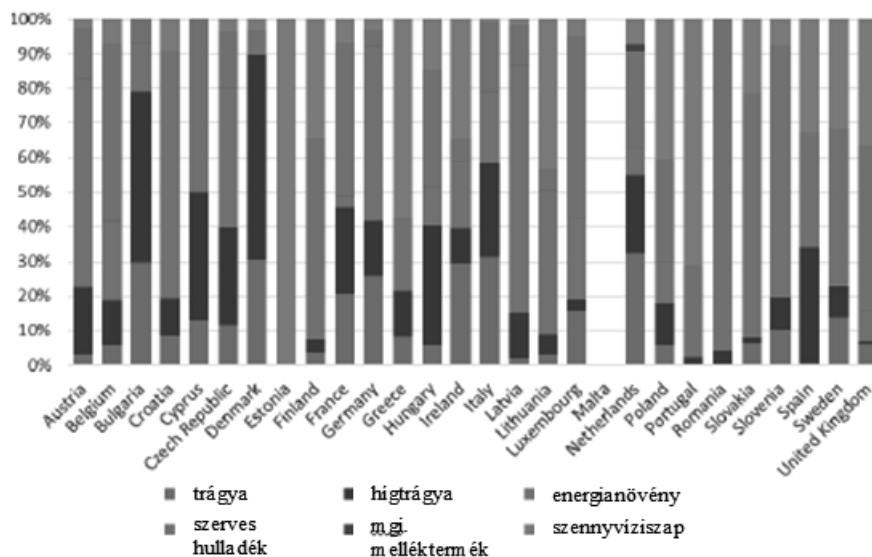
5. ábra Biometán üzemek Európában (EBA Biogas Report 2015)

Az új Megújuló és alternatív Energiaforrásokból előállított hő- és villamosenergia-átvételi Támogatási Rendszer (METÁR) kivitelezését már 2011-re tervezték hazánkban, amely a jelenlegi átvételi tarifa séma alternatívájaként szolgál, hatályba lépése 2017. január 1-jén megtörtént. Az új rendszer elősegíti a megújuló hőenergia termelés nagyobb mértékű telepítését Magyarországon, különös tekintettel a szektorra vonatkozó díjakra és figyelembe véve a biogáz üzemek hulladékkezelési költségeit. Mindazonáltal az új rendszer bevezetésével kapcsolatos hosszú távú egyeztetések a befektetési bizonytalanság növekedését eredményezték a megújuló energia ágazatban. Továbbá az sem világos jelenleg, hogy ki viseli az új rendszer költségeit, hiszen a háztartási energiaszámlák csökkentése továbbra is a magyar kormány egyik fő prioritása (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*).

1.4 Alapanyagok

Az Európai Bizottság 2016. évi jelentése szerint az EU biogáz termelés közel felét (318 PJ, 7,6 Mtoe) az energetikai célú termények (főleg kukorica) felhasználása jelenti, ezt követi a depónia (114 PJ, 2,7 Mtoe), majd a szerves hulladékok (beleértve a települési hulladékokat, 86 PJ, 2,0 Mtoe). A szennyvíziszap (57 PJ, 1,3 Mtoe) és a szerves trágya (46 PJ, 1,1 Mtoe) felhasználás kisebb jelentőséggel bírnak, habár ha a tömegalapon történő bevitelével nézzük, akkor körülbelül a szerves trágya 43%-ot tesz ki. A különbség a szerves trágya viszonylag alacsony biogáz hozamának köszönhető. A 6. ábra az EU tagállamonkénti lebontásában mutatja a biogáz célra felhasznált alapanyagok megoszlását.

A hazai biogáz üzemekre leginkább a vegyes receptúrájú szubsztrátum jellemző, ami állati trágyát és silókukorica/silócirok együttesét alkalmazza. A gazdaságos biogáz termelés legfontosabb feltétele az egész éven át folyamatos alapanyag ellátás. A mezőgazdasági növénytermelés oldaláról ez a követelmény nehezebben valósítható meg (Oláh et al., 2009).

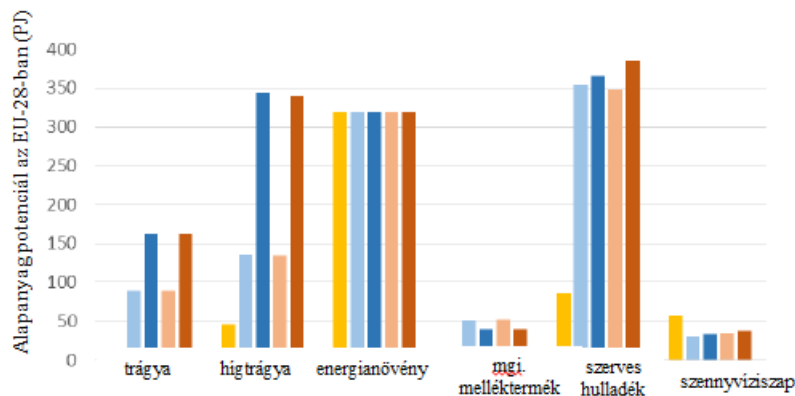


6. ábra Biogáz előállításra felhasznált alapanyagok megoszlása Az EU28 tagállamok szerint (sárga: szarvasmarha higrágya, barna: sertés higrágya, zöld: energianövények, narancs: szerves hulladékok,

kék: mezőgazdasági melléktermék, szürke: szennyvíziszap) (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*)

A jelentés szerint a energia célú növények (pl. kukorica) biogáz előállításra történő felhasználása az előrejelzések alapján a jövőben csökkenni fog a fenntarthatósági szempontok miatt. A használt modellszámításokban éppen ezért már csak kofermentációban maradt meg a szerepük, mely során 80%-ban állati trágyát, és csak 20%-ban kukoricát alkalmaztak. Új potenciális szubsztrátok, úgy mint takarónövényzet, köztes kultúrák, tengeri füvek, különböző algafajok nem szerepelnek az összeállításban, mivel az EU-ban elérhető adatok hiányosak, valamint kifejezetten a tengeri füre és algákra vonatkozóan még mindig nagyon bizonytalan, hogy költséghatékony módon, nagy léptékben előállíthatók-e (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*).

A 7. ábrán a jelenlegi és a jövőben (2020, 2030) várható alapanyag felhasználás jelenik meg. Látható, hogy a scenáriók alapján a szilárd, hígtrágya és a szerves hulladékok jelentős potenciállal rendelkeznek, emellett az iszap felhasználás mostani szintje magasabb, mint az a jövőben várható. Összességében megállapítható tehát, hogy az energetikai célra történő alapanyag felhasználás az elkövetkező években csökkenni fog, új, eddig még nem alkalmazott szerves hulladékok, algafajok fognak előtérbe kerülni. Ehhez azonban szükség van a folyamatos fejlesztésre, hogy a tenyésztés, alkalmazás gazdaságilag rentábilis legyen a nagyüzemi felhasználás számára.



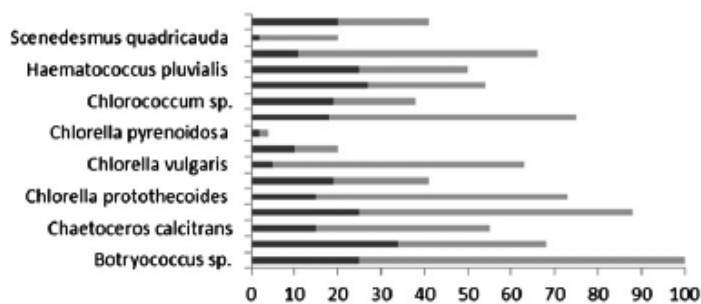
7. ábra A jelenlegi és az előre jelzett alapanyag felhasználás (sárga: jelenlegi használat, kék: gyorsított növekedés 2020, narancs: gyorsított növekedés 2030, világoskék: referencia 2020, rózsaszín: referencia 2030) (*EBA Biogas Report 2015*)

1.5 Mikroalga hasznosítás

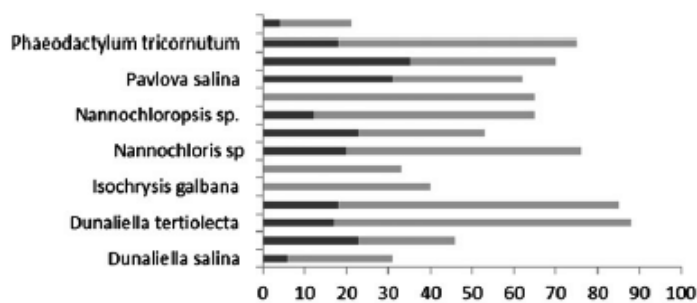
A fotoszintetikus biomassza-alapú nyersanyagok (szárazföldi növények, algák, stb.) előnye, hogy semleges CO₂ emisszióval rendelkeznek, valamint regionális szinten nagyobb energiafüggetlenséget és energiabiztonságot jelentenek a fosszilis tartalékokkal szemben (*Lakaniemi et al., 2013*). A mikrobiális úton előállított biomassza alapú energiaforrás fenntartható lehetőséget kínál a nem megújuló energiahordozók részbeni kiváltására, teljes potenciáljának kihasználtságát azonban még nem értük el (*Adenle et al., 2013*). Az algatenyésztésre alkalmas területek az északi és déli szélesség 37° között helyezkednek el, a hőmérsékleti optimum 20 és 30 °C közé esik (*Van Harmelen és Oonk, 2006*). Több fejlődő ország pl. dél-ázsiai, közép-keleti és afrikai országok is az optimális klimatikus tartományon belül találhatóak, így az algából nyert energia potenciális alternatívaként szolgálhat.

Az algák egyedülálló eukarióta mikroorganizmusok, amelyek fotoszintézis során a napfényt víz és CO₂ segítségével biomassza erőforrássá alakítják, bolygónk oxigénkészletének 90%-át megtermelik. A mikroalgák (2-10 µm) az egyik leggyorsabb növekedésre képes szervezetek, tömegük jellemzően naponta megduplázódik. Megfelelő körülmények között néhány algafaj képes 50-70% lipid/száranyag termelésre (Pragya et al., 2013). A valódi algák önálló sejtmagját membrán veszi körül. A sejten belül találhatóak a kloroplasztiszok, amelyek tartalmazzák a fotoszintézishez felhasznált foto-bioaktív vegyületeket. Ezek a vegyületek a klorofilok, amelyek befogadják és konvertálják a napfényt a biokémiai reakciók számára (Bocsi, 2016).

A mikroalgák élőhelyük alapján édesvízi és tengervízi típusokba csoportosíthatóak. A 8. és 9. ábrákon a két csoportba tartozó legfőbb algafajok lipid tartalma látható. A sötétszürke színű oszlopok a minimum lipid tartalmat, a világosszürke színűek a maximális lipid tartalmat jelölik.



8. ábra Édesvízi algafajok lipid tartalma (% tömeg/száranyag) (Amaro et al., 2012.)



9. ábra Tengervízi algafajok lipid tartalma (% tömeg/száranyag) (Amaro et al., 2012.)

1.5.1 Mikroalgák felhasználási lehetőségei

Algatenyésztéssel már a múlt században is foglalkoztak, akkoriban a jövő élelmiszerforrását látták a technológiában, támogatottság hiányában azonban a terv meghiúsult. Bioüzemanyagként történő felhasználását az 1950-es években kezdték el kutatni, 1970-es évek elején már üzemi méretű berendezések álltak rendelkezésre (Bocsi, 2016). Jelenleg a mikroalga elsődleges felhasználói az élelmiszeripar, kozmetikai szektor, és a különböző akvakultúrák. A világ főbb algatermelőinek összefoglalóját az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat Mikroalgák a világpiacon (Brennan és Owende 2010. alapján saját szerkesztés)

Mikroalga	Éves termelés tonna/száranyag	Ország	Alkalmazás	Ár

<i>Spirulina</i>	3000	Kína, India, US, Myanmar, Japán	emberi, állati táplálék, kozmetika, Phycobiliprotein	36 euró/kg 11 euró/mg
<i>Chlorella</i>	2000	Taiwan, Németország, Japán	emberi táplálék, kozmetika, akvakultúra	36 euró/kg 50 euró/L
<i>Dunaliella salina</i>	1200	Ausztrália, Izrael, USA, Japán	emberi táplálék, kozmetika, β -karotin	215-2150 euró/kg
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	500	USA	emberi táplálék	36 euró/kg
<i>Haematococcus pluvialis</i>	300	USA, India, Izrael	akvakultúra, asztaxantin (antioxidáns)	50 euró/L 7150 euró/kg

Építészet

A mikroalgák fenntartható építészetben történő alkalmazását már jelenleg is kutatják. Az elképzelések szerint a jövő felhőkarcolóinak energiaigényét algák fogják előállítani, az épület pedig alkalmazkodni fog a felhasználókhöz amellet, hogy a víz és levegő tisztítását végzik élelmet is szolgáltatnak majd (Hodai et al., 2015). Egy magyar építész (Miklósi Ádám) nemzetközi szinten díjazott tervei alapján pedig egy *Chlorella* algapavilont épített, amely a városokban biztosítana friss oxigént.

Kozmetikai ipar

Az algákat hosszú ideje alkalmazzák kozmetikai készítményekben, bőrtápláló krémek, szájon át alkalmazandó és egyéb formákban (Hodai et al., 2015). A mikroalgák koncentráltan tartalmaznak különböző bioaktív vegyületeket, valamint magas a karotinoid és más színanyag, illetve E-vitamin tartalmuk. Védenek az UV sugárzástól, antioxidáns komponenseik az oxidatív stresszt kivédésében nyújtanak segítséget (Ariede et al., 2017).

Élelmiszer célú felhasználás

Tápanyagsűrűségük miatt manapság az algákat a világ legnagyobb élelmiszer tartalékként tartják számon. A *Spirulina* mikroalga faj egyike a legjobb minőségű, nem állati eredetű fehérjeforrásoknak (Dewi et al., 2016), mely a Föld élelmezésének jelentős hányadát tehetné ki. A mikroalgák felhasználhatóak funkcionális élelmiszerek létrehozásában, de színanyagaik révén akár ételek természetes színezékeként is szolgálhatnak (Hodai et al., 2015).

Mezőgazdasági hasznosítás

Az algákat biotrágyaként és talajkondicionálóként egyaránt alkalmazzák, de az utóbbi időben egyre növekszik az érdeklődés antimikrobiális és a növényi növekedést szabályozó, úgynevezett *PGR*-anyagaik iránt is. Ördög Vince által vezetett projekt (Mosonmagyaróvár, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, 2012-2015.) keretein belül vizsgálták az algabiomasszák antifungális hatását három mezőgazdasági szempontból jelentős növénykórokozó gombán agargél-diffúziós módszerrel. A program lehetőséget nyújtott a mikroalga biomasszák növényi hormonszerű hatásának és/vagy tartalmának/összetételének vizsgálatára is uborka szikleveél auxin és citokinin biotesztekkel.

(*Mikroalga biotechnológia a fenntartható mezőgazdaságban - TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0003 projekt beszámoló, 2015*).

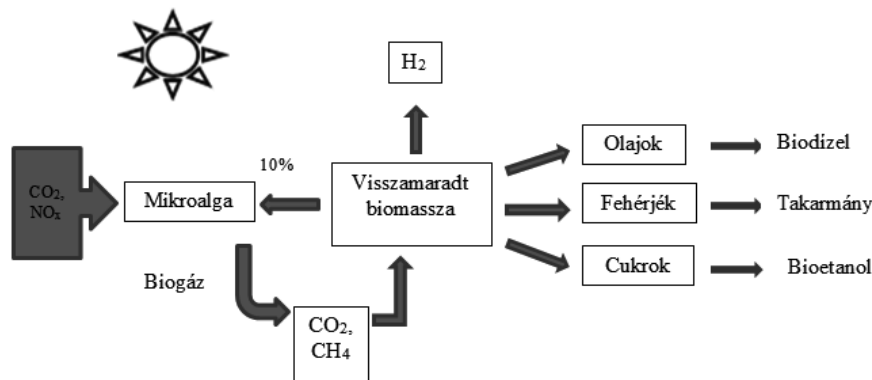
Energetikai hasznosítás

A fenntartható energiagazdálkodás igényének növekedésével a mikroalgák energetikai célú hasznosítása egyre inkább előtérbe kerül (*Brennan és Owende, 2010*).

Egy 100 m³-es foto-bioreaktorban naponta 200 kg termelődő algából nyerhető:

- 4 kg hidrogén, melynek energiataralma 460 MJ (110 kWh)
- 100-110 liter biodizél, ami 1200-1500 km út megtételéhez elegendő
- 190 Nm³ biogáz (metántartalma 70-72%) (*Bai et al., 2012.*)

Az 10. ábra a mikroalga energetikai célú felhasználás technológiáit összegzi. Az első, közvetlen hasznosítás a tenyésztés után valósul meg, a másik felhasználási mód a megtermelt biomassza hasznosítása a lipid kinyerést követően.



10. ábra A mikroalga energetikai hasznosítási lehetőségei (*Amaro et al., 2012.* alapján saját szerkesztés)

Az 10. ábrán nem szereplő, további hasznosítási lehetőségek is alkalmazhatóak a gyakorlatban. Kémiai és fizikai folyamatok eredményeképpen magas hőmérsékleten, oxigén mentes környezetben termokémiai cseppfolyósítás révén bioolajat; elgázosítással szintézisgázt; pirólízissel szintézisgázt, bioolajat és pirólízis kocszt állíthatunk elő. (*Lakaniemi et al., 2013*). Továbbá a víztelenített biomassza direkt elégethető, amelyből elektromos áram termelhető.

A mikroalgák hasznosításának számos előnye van a szántóföldi növényekkel szemben:

- hatékonyabb fotoszintézist valósítanak meg (5-7%),
- a tenyésztés kisebb területi igénnyel rendelkezik,
- magasabb a biomassza hozam (akár 150-300 t/ha, olajhozam: 50-90 ezer L/ha),
- nincs közvetlen verseny az élelmiszertermeléssel,
- a biomassza időbeni ellátottsága kedvezőbb,
- kevesebb vízfelhasználás jellemzi, mivel lehetőséget biztosít tengervízből és szennyvízből történő biomassza előállítására,
- olyan mezőgazdasági területek hasznosítása is lehetővé válik, amelyek a konvencionális agrárgazdaság számára gazdaságossági szempontok miatt értéktelenek,

- 1 gramm alga naponta elfogyaszt 2,3 gramm szén-dioxidot.

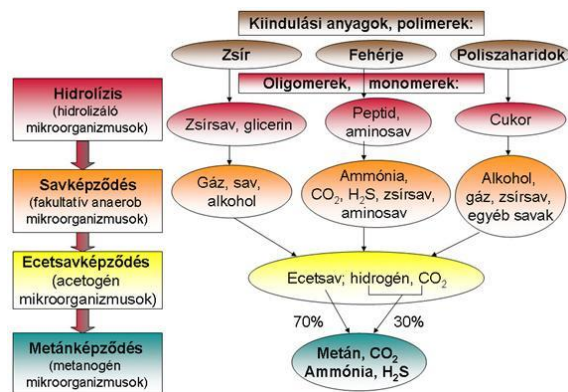
Megfelelő algafajok tenyésztésével elvileg 110-120 millió hektáron (a világ vízfelületének mindössze 3-4 ezrelékén) előállíthatnánk a jelenlegi olajfogyasztásunk nyersanyagát. (Schenk et al., 2008). Számos előnye mellett azonban a mikroalgák alkalmazásának hátrányát jelenti, hogy a termesztés nagy vízigénnyel rendelkezik, illetve a keverés és a kellő mennyiségű fény biztosítása szintén nagy energia befektetést jelent. További hátrány, hogy negatív energiamérleggel rendelkezik a bioüzemanyag gyártás területén, valamint túl magasak a költségek. Jelenleg több energiát igényel maga az előállítás, mint amennyit a folyamatból nyerhetnénk (Ördög, 2014).

1.6 Anaerob fermentáció

Az anaerob fermentáció szerves anyagok mikrobiológiai úton történő lebontását jelenti oxigén szegény környezetben (Pain és Hephherd 1985), mely során földgázhoz hasonló, rendkívül sokoldalúan felhasználható biogáz keletkezik. Előállítására bármely, az élelmiszer-gazdaságban és a kommunális szférában képződött szerves anyag alkalmas. A folyamat spontán módon is lejátszódik a mélyvízi tengeröblökben, mocsarakban és hulladéktároló telepeken (Ward et al., 2008), azonban mesterséges beavatkozással a gáztermelés határfoka jelentős mértékben növelhető.

A mikroorganizmusok által történő lebontásból nyert biogáz 50-70% metánt, 28-48% szén-dioxidot, és 1-2% egyéb gázt (kén-hidrogén, nitrogént, ammóniát, stb.) tartalmaz. A biogáz fűtőértéke a metán részarányától függően a földgáz fűtőértékének 50-70%-a (18-25 MJ/Nm³), mely sűrítéssel illetve tisztítással növelhető (Bai, 2007).

Az anaerob lebontási folyamat négy fő mikrobiológiai tevékenység köré csoportosítható (11. ábra), amelyek jól összehangolt, egymásra épülő lépések (Ahring, 2003). A folyamatban résztvevő konzorciumok egyenként meghatározott szerepet töltenek be (Kovács et al., 2014).



11. ábra Anaerob fermentáció folyamata (http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0032_kornyezettechnologia/ch04.html)

1.6.1 Hidrolízis

A rendkívül komplex rendszerben első lépésként a szerves anyagokat fakultatív és obligát anaerob mikroorganizmusok enzimeik segítségével alkotóelemeikre bontják. Böhnke et al., (1993) alapján a

folyamatban általában a *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.* vesznek részt. A makromolekulákat a lebontó baktériumtörzsek nagy méretük miatt nem tudják bekebelezni, ezért a polimer láncokat feldarabolni képes enzimjeiket a sejten kívülre (exoenzim) küldik, ahol megtörténik a polimerek hidrolízise. Az így „feldarabolt” kisebb molekulákat már fel tudják venni a baktériumok, tápanyagként hasznosítják. A lipázok a zsírokat rövidebb szénláncú zsírsavakká, a proteázok a fehérjéket aminosavakká bontják. A hidrolízist végző szervezetek az így felszakadt kémiai kötések révén jutnak energiához, melyet saját bioszintetikus folyamataik fenntartásához használnak fel. A felszabadult energia mellett kisebb molekulák is keletkeznek, amelyeket összefoglaló néven illózsírsavaknak (VFA - Volatile Fatty Acids) nevezünk (C2-C5 molekulák: ecetsav, propionsav, izovajsav, vajsav, izovaleriánsav, valeriánsav). Ezeket az anyagokat már nem tudják tovább bontani a hidrolizáló törzsek, így kiválasztják őket a környezetükbe.

1.6.2 Acidogenezis

Az előző szakaszban kiválasztott oligo-, és monoszacharidok, zsírsavak, aminosavak illetve illózsírsavak az acidogenezis során acetáttá és hidrogénné alakulnak. Graf (1999) kutatásai alapján a fontosabb savképző baktériumok *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Butyrivibrio spp.* fajok csoportja. A metanogén baktériumok számára a legkedvezőbb alapanyag az acetát, a metánmennyiség kb. 70%-a ebből a vegyületből képződik. A keletkező hidrogén a következő szakaszban működő metanogén törzsek számára redukálószerként szolgál, a megfelelően alacsony redoxpotenciál kialakítása az acidogén baktériumok fontos feladata. Azonban ha a metanogének nem fogyasztják el a megtermelt hidrogént, akkor az felhalmozódhat és gátolhatja az acidogének működését. Ennek következménye, hogy felborul a termodinamikai egyensúly, amely a kölcsönös függőség miatt kihat az egész rendszer működésére. A savképző mikroorganizmusok általában ellenállóak a környezeti hatásokkal szemben, sokféle tápanyagot tudnak hasznosítani, ami lényegesen megnöveli túlélési esélyeiket.

1.6.3 Acetogenezis

Wenzel (2002) vizsgálatai alapján ebben a folyamatban *Clostridium spp.* *Eubacterium spp.* baktériumok vesznek részt. Az acetogén baktériumok az előbbiek anyagsere-végtermékeit a metanogén baktériumok számára alkalmas szubsztrátokká alakítják. Zsírsavakat és egyéb szerves savak képződnek, melyek közül az ecetsav a legfontosabb a metántermelés szempontjából. Az ecetsav baktériumok ebből készítenek acetátot, hidrogént és szén-dioxidot.

1.6.4 Metanogenezis

A lebontás utolsó szakasza a metánképződés, amely az egész termelési folyamat sebességét meghatározó mikrobiológiai tevékenység. A metanogén archaeák metánból, szén-dioxidból és 1-2% egyéb gázból álló biogázt állítanak elő. A metanogén törzsek a mikroorganizmusok legősibb fejlődési vonalához tartoznak, melyeket archaeáknak nevezünk. Lassan szaporodnak, rendkívül érzékenyek a környezeti feltételek megváltozására. Aktivitásuk csökkenése következményeként a termelt szerves savak felhalmozódhatnak, a rendszer „elsavanyodását” eredményezheti, melyet a gáztermelés teljes leállása követ, hiszen a metanogének a közeg pH-jára is érzékenyek. A savtermelő és metánképző konzorciumok között tehát szoros, egymásra utalt kapcsolat áll fenn, az acidogének által termelt

anyagcseretermékek (acetát, hidrogén) a metanogének számára fontos tápanyagok. A függőség visszafelé is érvényes, az acidogének elpusztulnak, ha a metanogének nem fogyasztják el a savtermelők „salakanyagait”.

1.7 Mikroalgák anaerob fermentációja

Az algából történő anaerob fermentációs kutatások 50 éves múlttal rendelkeznek (Golueke et al., 1957). A legkorábbi vizsgálatok az 1970-es és 80-as évekre tehetőek, az első olajválság idején. A vizsgált fajok között szerepeltek: *Macrocystis*, *Gracilaria*, *Hypnea*, *Ulva*, *Laminaria* és *Sargassum* (Chynoweth, 2002). Manapság a kutatások köre kiszélesedett és mono-, ill. kofermentációban vizsgálják másodlagos hasznosításként a visszamaradt alga-biomassza metántermelő produktivitását. Lakaniemi et al., (2011) kutatása alapján az algák anaerob fermentációja az édesvízi fajták esetében optimális, mivel a tengervízben élők magas koncentrációban tartalmaznak nátrium, kalcium és magnézium ionokat, amelyek a metanogén törzsek só érzékenységén keresztül inhibícióhoz vezethetnek.

Fontos megjegyezni, hogy az egy alapanyagra alapozott degradáció (monofermentáció) korlátozott lehetőségeket biztosít (Hernandez és Cordoba, 1993; Yen és Brune, 2007). A legnagyobb hátrányt a kedvezőtlen makroelem összetétel jelenti, ezen belül is az alacsony szén-nitrogén arány. A lebontás során felhalmozódó ammónia gátló hatás fejthet ki a rendszerre, ezzel blokkolva a fermentációt (Van Velsen, 1979). Az ammónia deprotonált formában képes bejutni a sejtbe, amely a sejtmembránon keresztül könnyen diffundál, kiegyenlítve a intracelluláris és extracelluláris ammónia koncentrációt (Kovács et al., 2014). A szakirodalom legalább két lehetséges ammónia-toxicitási mechanizmust feltételez. Az egyik, hogy az ammónia közvetlenül gátolja a citoszol enzimaktivitást vagy az ammónium ion akkumulációjával hat a sejten belüli pH-ra, ezzel okozva inhibíciót (Sprott et al., 1984). A kedvező C/N arány különböző módokon érhető el az egyik, hogy magas széntartalmú koszubsztrátot adagolunk. Ilyen kofermentációt vizsgált Yen és Brune (2007) hulladékpapír felhasználásával, Ehinem et al. (2009) glicerint alkalmazott. Mussnug et al., (2010) kofermentációban vizsgálta a kukoricaszilázs és *C. reinhardtii* metán kihozatalát, eredményei alapján 11% többlet érhető el. Másik megoldás, hogy már az alga tenyésztés folyamán módosított körülményeket alkalmazunk, pl. nitrogén limitációt, amely csökkenti a sejtfehérje szintézist és javítja a lipid és szénhidráttermelést (Sheehan et al., 1998).

Másik kulcskérdés a degradáció határfokát illetően az előkezelés megválasztása. A legtöbb mikroalga vastag hemicellulóz tartalmú sejtfallal rendelkezik, amelyet valamilyen előkezelési technológiával érdemes feltárni (Debowski et al., 2013., Keymer et al., 2013). Wirth (2014) munkájában *Scenedesmus obliquus* fajon vizsgálta különböző előkezelési eljárásokat, eredményei azt mutatták, hogy a mikrohullámmal, illetve autoklávval történő kezelés a leghatékonyabb. González-Fernández et al., (2012) szintén *Scenedesmus sp.* mikroalgát vizsgált, a 90 °C-on történő termikus kezelés hatására 48%-kal nőtt a biológiai lebontó képesség.

1.8 Mikroelem adagolás az anaerob fermentációban

A különböző szerves hulladékokat (mezőgazdasági melléktermék, energianövény, stb.) hasznosító biogáz üzemek hatékonyságát, stabilitását valamint a mikrobiális konzorcium növekedését a mikroelemekkel történő megfelelő ellátottság és azok hozzáférhetősége nagy mértékben befolyásolják (Demirel és Scherer, 2011). Feng et al., (2010) munkájukban az *Archaea* spp. fokozott

érzékenységet mutatták ki a nyomelem szintekre vonatkozóan a lebontást végző közösség egyéb tagjaihoz viszonyítva. A vas, nikkel, kobalt, molibdén, szelén és volfrám számos metanogén szükségletét képezi, többek között: *Methanosarcina barkeri*, *Methanospirillum hungatii*, *Methanocorpusculum parvum*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanobacterium wolfei*, *Methanococcus voltae*, *Methanococcoides methylutens* (Diekert et al., 1980; Scherer és Sahn, 1981; Scherer et al., 1983).

A mikroelem utánpótlás gyakran nem kap megfelelő hangsúlyt az üzemeltetés során, azonban egy fermentor teljesítmény csökkenésekor fontos lenne az elsők között ellenőrizni a mikroelem státuszt. Pobeheim et al., (2011) kukoricaszilázs mezofil tartományon, félfolyamatos rendszerben végeztek kutatásokat, eredményeik azt mutatták, hogy a kobalt és a nikkel limitált hozzáférhetősége negatív hatást gyakorolt a fermentáció stabilitására és a biogáz termelésre egyaránt.

Raju et al., (1991) félüzemi méretben vizsgálták a vas, nikkel és kobalt adagolás hatásait mangó feldolgozási melléktermékek degradációjában. 4 kg/m³ FeCl₃ kiegészítést követően a biogáz hozam 220-490 L/kg VS-re emelkedett, emellett a biogáz metántartalma 48-50%-ról 62%-ra növekedett. Megállapították továbbá, hogy a kobalt és nikkel adagolás hozzájárult a biogáz termelés fokozásában, a metántartalomban azonban nem okozott szignifikáns különbséget. Bizonyos elemek hiánya mellett ugyanakkor a túladagolás szintén inhibícióhoz vezethet. Ashley et al., (1982). munkájukban igazolták, hogy amennyiben a nikkel koncentráció meghaladja az 1g/m³ értéket, az a metanogének gátlásához vezethet szennyvíziszap anaerob fermentációjában. Élelmiszeripari melléktermékek anaerob fermentációja során Lo et al., (2012) a következő koncentráció értékhatárokat adták meg a hatékony lebontás érdekében: króm: 2,2 mg/m³ – 21,2 mg/m³, nikkel: 801 mg/m³ – 5,362 g/m³, kobalt: 148 mg/m³ – 580 mg/m³, molibdén: 44 mg/m³ – 52,94 g/m³, volfrám: 658 mg/m³ – 40,39 g/m³. A mikroelem adagolás tehát fontos szerepet játszik az anaerob fermentáció optimalizálásában, véleményem szerint a széles tartományok tovább vizsgálatokkal szűkíthetők lennének. Az adagolás összetételének és dózisének megválasztásakor célszerű lenne az adott alapanyagot, a fermentor típusát, a fermentációs technológiát (mono-kofermentáció, mezofil-termofil) és a mikrobiális közösséget együttesen figyelembe venni, majd az egyes üzemeknél egyéni nyomelem utánpótlást beállítani.

1.9 Fermentációs maradék hasznosítása

Az anaerob fermentáció során három végtermék keletkezhet: a főtermék természetesen a keletkezett biogáz, egyes üzemek esetében az energiatermelés része a fő- és utófermentor hűtéséből származó hő (pl. kaposvári cukorgyár biogáz üzeme), a harmadik termék a fermentációs maradék vagy más néven biotrágya.

A kiejedtt fermentlé folyékony és a szilárd része is potenciális értékkel bír, amely alternatívát kínálhat a műtrágyák kiváltására (Govasmark et al., 2011). A fermentációs maradék a folyamatos üzemelésű reaktorokból naponta kerül elvételre, felhasználásig a végterméktárolóba kerül, amelyet a jelenlegi gyakorlat alapján a mezőgazdasági területek tápanyag-utánpótlására hasznosítanak.

Az anyag minőségét annak kémiai, biológiai és fizikai tulajdonságai határozzák meg, amelyek az alkalmazott alapanyagoktól és a technológia körülményeitől jelentősen függenek, így adott esetben a biogáz üzemi fermentlé tulajdonságai az átlagos paramétereiktől jelentősen eltérhetnek (Monnet, 2003).

A fermentlé alkalmazásának előnyei:

- elfolyó anyag savassága csökken, a pH értéke 7-ről 8-ra emelkedik
- a kijuttatott fermentlé gyorsan lecsurog a növények leveléről, majd gyorsan infiltrálódik a talajba; így minimális a levelek „leégése”
- a fermentorban a szerves kötésben lévő nitrogén jelentős része ammóniummá redukálódik, mely forma a növények számára könnyen felvehető, ez igaz a foszfor és kálium tartalmakra is
- a gyommagvak csírázóképesége csökken
- keletkező biotrágya kevesebb kellemetlen szaganyagot tartalmaz
- az anaerob fermentáció során a patogén baktériumok jelentős része elpusztul (*Somosné et al., 2010*).

A fermentlé alkalmazásának korlátai:

- nem megfelelő alkalmazásával a talaj foszfor- és nitrogén túlterhelése következhet be
- viszonylag magas lehet a Na- és Cl-tartalom, ami legnagyobb részt a konyhai hulladékból származik
- toxikus elemekkel lehet szennyezett, pl. Zn és Cu a sertések táplálék kiegészítőiből (*Pfundtner, 2002*); egyéb toxikus mikroelemek, nehézfémek a fermentáció során adagolt nyomelem utánpótlásból is származhatnak.

1.9.1 A fermentációs maradék hasznosítás szabályozása

Az Európai Unióban a szennyvíziszapokkal kapcsolatos 86/278/EGK irányelv ösztönözni kívánja a mezőgazdasági területek történő felhasználást oly módon, hogy meghatározza a tevékenység talajra, élővilágra, emberi egészségre káros hatásainak kiküszöbölését. A szennyvíziszap felhasználási irányelv elsősorban a talajok nehézfém szennyezettséggel szembeni védelmét fogalmazza meg és meghatározza egyes nehézfémeknek (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, Cr) a mezőgazdasági hasznosítású talajokban, illetve a hasznosítandó iszapokban megengedhető koncentrációját. Az irányelv tiltja a kezeletlen iszapok mezőgazdasági célú használatát (*MTA, Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet, 2009*).

Az Európai Unióban a gyakorlat számára fontos tényezőt jelent a Nitrát Direktíva a fermentációs maradék kihelyezésével kapcsolatban. Az előírások alapján a nitrát érzékeny területek lehatárolásra kerültek Magyarországon is, és 2001-ben elindult az első cselekvési program. Jelenleg a direktíva végrehajtását a 27/2006. (II.7.) Korm. Rendelet szolgálja. Vizeink védelmére vonatkozó akcióprogramot a vizek mezőgazdasági eredetű nitrátszennyezéssel szembeni védelméhez szükséges cselekvési program részletes szabályairól, valamint az adatszolgáltatás és nyilvántartás rendjéről szóló 59/2008. (IV. 29.) FVM rendelet tartalmazza.

A szennyvíziszapok biztonságos mezőgazdasági felhasználására vonatkozó EU-előírásokat a magyar jogrendbe „A szennyvizek és szennyvíziszapok felhasználásának és kezelésének szabályairól” szóló 50/2001. (IV.3.) Korm. rendelet ültette át azzal a különbséggel, hogy a szennyvíziszapok mellett a szennyvizek elhelyezését is szabályozza.

A lebontás végén visszamaradó nagy mennyiségű kiejedt fermentlé a mezőgazdasági területek tápanyag utánpótlására való alkalmazását a talajvédelmi terv készítésének részletes szabályairól szóló 90/2008. (VII. 18.) FVM rendelet hatálya alá vonták, így a kihelyezés engedélyköteles. Nehézséget jelent azonban az engedély megszerzése során, hogy a fermentlé egyetlen jogszabályban sincs pontosan definiálva (*Bai, 2013*).

A biogáz üzemek működését alapvetően a biohulladék kezeléséről és a komposztálás műszaki követelményeiről szóló 23/2003. (XII. 29.) rendelet határozza meg. Ezen rendelet a biohulladék anaerob fermentációja során képződő anyagot szilárd lebontási hulladéknak nevezi, azonban a nedves

fermentáció végén képződő fermentlé híg, iszapszerű anyag, tehát nem sorolható a szilárd lebontási maradék csoportjába.

A termelésnövelő anyagok engedélyezéséről, tárolásáról, forgalmazásáról és felhasználásáról szóló 36/2006. (V.18.) FVM rendelet pontosan definiálja a talajjavító anyagot, ami a talaj kedvezőtlen tulajdonságainak megváltoztatására, illetve a kedvező tulajdonságok fenntartására szolgáló, iparilag előállított termésknövelő anyag. A rendelet hatálya alá vont anyagok azonban forgalomba hozatali engedélyhez kötöttek, ami a biogáz üzemi kiejedt fermentlé felhasználását ismét csak nem segítené elő.

A hulladékok jegyzékéről szóló 72/2013. VM rendelet pontosan besorolja a biogáz üzemi végterméket: „állati és növényi hulladék anaerob kezeléséből származó kirothasztott anyag” (EWC kódja: 190606). Sajnos e definíció alapján a biogáz üzemi végtermék továbbra sem sorolható be az említett rendeletek kategóriái közé sem, fenntartva a biogáz üzemeltetőkben és a hatóságokban a bizonytalanságot (Somosné et al., 2010).

1.10 Ökotoxikológia

A környezetünket terhelő vegyi anyagok globális problémát okozhatnak, károsíthatják az ökoszisztémák szerkezetét, funkcióját, azon keresztül az emberi egészségre is veszélyt jelenthetnek (Russ és Howard, 2016; da Silva, 2016, Hybská et al., 2017). A xenobiotikumokon kívül a természetes eredetű szerves, szervetlen anyagok a megszokottól eltérő eloszlása, illetve ha extrém koncentrációban kerülnek az anyagforgalomba szintén környezetterhelést idéznek elő (Speight, 2017; Johnson és Pereira, 2017). A vegyi anyagok ökoszisztémára gyakorolt hatásait az ökotoxikológia tudományága vizsgálja, az emberre vonatkozó hatások az emberi anyagcserével hasonlóságot mutató, jól bevált tesztszervezetek eredményei alapján extrapolációval határozzák meg (Hybská és Samesová, 2015).

Az anaerob iszapok felhasználási lehetőségeinek ökotoxikológiai vizsgálatával kevés tanulmány foglalkozik, a gyakorlatban azonban több esetben is találkozhatunk a problémával, a fermentációs maradékok nehézfém tartalma miatt pl. Szlovákiában bio minősítésű mezőgazdálkodók számára a kihelyezés tiltott.

A legtöbb kutatás a szennyvíziszapok környezetre gyakorolt hatásaival foglalkozik (Walter et al., 2016; Tu et al., 2012; Roig, et al., 2012; García-Delgado et al., 2007; Carbonell et al., 2009). Stefaniuk et al., (2016) a biogáz termelés melléktermékeinek pirolíziséből származó szén vizsgálatát végezték el. Megállapításaik között szerepelt, hogy az ökotoxikológiai eredmények nagy mértékben függenek a pirolízis hőmérsékletétől, az alkalmazott technológiától és az alapanyagtól, amelyből a biogáz gyártási melléktermék származott. A legkevésbé káros hatást a váltótartályos technológia esetében tapasztalták mezofil tartományon.

2. Anyag és módszer

2.1 Felhasznált anyagok

A kutatásom során alkalmazott anyagokat a tárolási követelményeiknek megfelelően hűtöttem ill. fagyasztottam.

Szubsztrátok

Az anaerob monofermentációs és kofermentációs kísérletek során alkalmazott szubsztrátok paramétereit a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat Az anaerob fermentációs kísérletek során alkalmazott szubsztrátok paramétereit (*saját mérési eredmények*)

	TS%	VS%	C%	N%	S%	C/N
Cukorrépa préselt szelet	20	91	47,04	3,38	0,30	14
Kukoricaszilázs	30	29	46,92	2,25	0,23	21
Malomipari korpa	88	81	44,28	2,66	0,25	17
Használt sütőolaj	100	99	82,57	0,08	0,001	1032

Mikroalga származása

A monofermentációk során felhasznált mikroalga biomassa a Mosonmagyaróvári Alga Kultúra Gyűjteményből származott (MACC). A tenyésztés csöves fotobioreaktorokban történt (Agro-Bioferment Rt.). A betakarítás Alfa Laval Clara 80 szeparátor (Alfa Laval, Sweden) segítségével történt. Ezt követően a biomassa szárítása következett 40°C-on, a száraz biomassa pedig porcelán mozsárban került őrlésre, melynek következtében az algasejtek 28±4%-a tört össze. Az így nyert alga biomassa mennyisége azonban nem volt elegendő további kísérletek végrehajtásához, így a kofermentációs kísérletek során liofilizált *Chlorella vulgaris* mikroalga port alkalmaztam. A mikroalgák baktérium szennyezettségének vizsgálatára nem volt lehetőségem, jövőbeni kísérletek során fontosnak tartom ennek pótlását.

3. táblázat Az alkalmazott mikroalgák főbb paramétereit (*Rétfalvi et al., 2015*)

	lipid (%/TS)	fehérje (%/TS)	össz. szénhidrát (%/TS)
<i>Chlorella vulgaris</i> (MACC-452) monofermentáció	34,4	15,9	43,5
<i>Scenedesmus sp.</i> (MACC-401) monofermentáció	23,7	24,3	24,7
<i>Chlorella vulgaris</i> (liofilizált algapor)	11,2	60,2	13,5

kofermentáció			
---------------	--	--	--

Mikroelem adagolás

Az anaerob fermentációs kísérletek során alkalmazott nyomelem utánpótló oldat összetétele: szerves komplex formában, 1 kg oldatra vonatkoztatva: 1625 mg cink, 13 640 mg mangán, 93 mg bór, 20 000 mg nikkel, 600 mg réz, 50 000 mg kobalt, 228 mg molibdén és 113 mg szelén (42,2% TS).

2.2 Anaerob fermentációs vizsgálatok

Anaerob fermentációs kísérleteinket laboratóriumi körülmények között a VDI 4630 német szabvány alapján végeztem. A vizsgálatok során alkalmazott aktív oltóiszap a kaposvári biogáz üzemből származott. Az oltóiszap terhelését 2500 mL névleges térfogatú sötétített fermentorüvegekben, (Merck & Co., Germany) 1000 mL térfogatú iszappal hajtottam végre. A gyakorlatban alkalmazott kutatások jelentős része u.n. Batch-eljárást alkalmaz azonban a fermentáció stabilitásáról, a középtávon esetlegesen fellépő inhibíciós mechanizmusok tanulmányozásáról a fél folyamatos működtetés több információt szolgáltat (Kolbl et al., 2014), így vizsgálataimat fél folyamatos rendszerben végeztem el, három párhuzamos fermentorral. Az állandó mezofil tartományt (38 °C – iszap maghőmérséklete) vízfürdők (Memmert WNB 14 Basic, Memmert GmbH. & Co.) segítségével biztosítottam (1. kép), az iszap maghőmérsékletének beállítása érdekében a vízfürdők 39 °C-on működtek. A fermentorok keverését manuálisan, naponta 3 alkalommal végeztem el. A termelődött biogázt Tedlar® teflonzacskókban gyűjtöttem, mennyiségét naponta mértem gáztömör Hamilton fecskendővel (Sigma Aldrich Co.). A biogáz metántartalmát heti rendszerességgel ellenőriztem Ecoprobe 5-IR talajlevegő-analizátor segítségével (RS Dynamics Ltd, Czech Republic).



1. kép Laboratóriumi méretű, fél folyamatos anaerob fermentáció (saját fotó)

2.3 Analitikai vizsgálatok

Az analitikai vizsgálatokra szánt iszapokat minden esetben a napi szerves adagolást megelőzően mintáztam. A mintákat azonnal feldolgoztam, a fel nem használt részleteket további vizsgálatokhoz fagyaszttva (-20 °C) tároltam.

Szárazanyag, szerves-szárazanyag tartalom meghatározása

Az alapanyagok és iszapok szárazanyag (TS%) tartalmát 105 °C-on szárítószekrényben tömegállandóságig történő szárítással határoztam meg.

A szárazanyagra vonatkoztatott szervesanyag (VS%) tartalmat izzítókemencében, 600 °C-on történő izzítás után tömegvesztés alapján határoztam meg.

pH meghatározás

A mintavételt követően azonnal megtörtént a nyers iszapok pH értékének meghatározása (EuTech PC 510, ThermoFisher Scientific).

Titrált savtartalom meghatározása

Az iszap titrált savtartalmának meghatározását saját módszer alapján hajtottam végre (*Rétfalvi et al., 2011*). A pH mérést követően az iszapot centrifugáltam 3420 RCF sebességgel (EBA 21, A. Hettich, Germany) 10 percen keresztül, majd az így nyert felülúszó 5 mL-ét 45 mL desztillált vízzel hígítottam. A titrást folyamatos pH mérés mellett 0,1 M HCl oldattal végeztem 2,0-es pH szint eléréséig. Ezt követően 15 percig mágneses keverővel kevertetem az oldatot a felszabaduló CO₂ kiűzése érdekében, majd 0,1 M NaOH oldattal 4,0-es, majd 5,0-ös pH-ra titráltam. A mg ecetsav egyenérték/L mértékegységben meghatározott titrált savtartalmat az alábbi képlet segítségével számítottam:

$$c = \frac{f(\text{NaOH}) \times 60 \times 200 \times \text{NaOH fogyasztás (pH 5.0 - pH 4.0)}}{5 (\text{minta térfogata})}$$

Savösszetétel vizsgálat

Az iszap szerves sav összetételét HPLC-UV műszerrel vizsgáltam. A 3.2. bekezdésben leírt centrifugálást követően a felülúszót még egyszer centrifugáltam 10 percen keresztül 18111 RCF sebességgel, majd 0,2 µm nejlon membránszűrőn (Pall Co.) engedtem át. Ezt követően kromatografáltam a mintát. Az alkalmazott készülék paraméterei: Gynkotek M 480-as pumpa, TOSOH 6040 UV detektor (mérési tartomány: 210 nm), 20 ml-es feltöltő hurok, Rheodyne 8125 injektor, Aminex HPX-87H oszlop (300 x 7.8 mm; 5 mm) (BioRad Co., USA). Mobil fázisként 0,005 M H₂SO₄-at használtam 600 µL/perc áramlási sebességgel a 60 °C hőmérsékletű oszlopon. A mérésekhez 20 µl mintát fecskendeztem be manuálisan. A szerves savak mennyiségi analiziséhez ötpontos kalibrációt használtam (Sigma-Aldrich Co., USA).

Kémiai oxigénigény meghatározása

Az iszap KOI tartalmának meghatározását az MSZ ISO 6060 szabvány alapján hajtottam végre. A mintákat higany(II)-szulfáttal és tömény kénsavban oldott ezüstkatalizátort tartalmazó káliumdikromát ismert mennyiségével meghatározott időn keresztül forraltam. Eközben az oxidálható anyagok a dikromátot redukálták. A visszamaradó dikromátot vas(II)-ammónium-szulfáttal titráltam.

A redukálódott dikromát mennyisége alapján számoltam a KOI értéket. 1 mol dikromát ion 1,5 mol oxigénnel egyenértékű.

NH₄⁺ meghatározás

A minták NH₄⁺ tartalmának vizsgálatát az MSZ ISO 7150-1 szabvány alapján végeztem el. Az ammónium ion nátrium-nitrozo-pentaciano-ferrát jelenlétében szalicilát- és hipoklorittal reagál. A keletkező kék színű vegyület abszorbanciáját spektrofotométeren 659 nm-en mértem. A mennyiségi meghatározás ötpontos kalibrációs módszerrel történt.

Összes foszfor meghatározás

Az összes foszfor tartalmat az MSZ 488/18-77 szabvány szerint mértem. A mintákban lévő különböző foszfor formákat hidrolízissel és roncsolással ortofoszfáttá alakítottam. Az ortofoszfát molibdenáttal reagálva, kénsavas közegben, antimon(III)-ionok jelenlétében, aszkorbinsavas redukció után kék színt ad. Az extinkció 710 nm hullámhosszon arányos a koncentrációval. A mennyiségi meghatározás ötpontos kalibrációs módszerrel történt.

Mikroelem összetétel meghatározása

A légszáraz mintákat őrlést követően 2 mm-es szitán szitáltam, majd 105 °C-on szárítottam. Ezt követően mintánként kb. 1 g mennyiség teflonbombákba került, hozzáadva 5 mL tömény HNO₃-at és 2 ml 30% m/m H₂O₂-ot. A 3 órás feltárási idő alatt a bombákat 110 °C-on tartottam. A szűrést követően a felülúszót tömény HNO₃-al reagáltattam és újból szűrtem. 50 ml felülúszó került elpárologatásra, majd 1 mL tömény HNO₃-at adtam hozzá, majd 25 mL-es lombikba mostam. Az elemzés ICP-OES (iCAP 6300 Duo ICP-OES, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA USA) műszer segítségével történt.

CNS tartalom meghatározás

A CNS tartalom meghatározása Elementar vario MAX CNS analizátorral (Elementar Analysensysteme GmbH, Germany) és WLD detektorral került végre hajtásra. A bemért tömeg 80–100 mg, az égési hőmérséklet 1140 °C, a vivőgáz hélium volt.

A CNS és mikroelem összetételi vizsgálatokat a Soproni Egyetem Környezet és Földtudományi Intézete végezte el.

VSR% számítása során alkalmazott képlet:

$$VSR\% = \frac{VSR_{output}}{VSR_{input}} \cdot 100$$

ahol,

VSR input: beadagolt szubsztrát szerves anyag tartalma (g/L/nap)

VSR output: a keletkező termékek szerves anyag tartalma (g/L/nap)

$$VSR_{\text{output}} = (CH_4 \text{ (mL)} / 1000 / 22,41) \cdot 16 + (CO_2 \text{ (mL)} / 1000 / 22,41) \cdot 44$$

ahol,

22,41: normál állapotú gáz térfogata (dm³)

16,04: a metán moláris tömege (g/mol)

44,01: a szén-dioxid moláris tömege (g/mol)

2.4 Ökotoxikológiai tesztek

Mintaelőkészítés

A kiejedt fermentiszapokat tömegállandóságig szárítottam. A száraz mintákból $100 \pm 0,1$ g pontossággal bemérést végeztem, majd 1 L desztillált vízzel hígítást készítettem. Ezután a mintákat 6 órán keresztül rázattam, majd 18 órán keresztül hagytam ülepedni. A szűrést 3 ± 2 µm szűrőpapírral végeztem el. A különböző iszapokat 3 párhuzamos méréssel 10x 50x 100x és 200x hígítási arányokban vizsgáltam, a hígítóvíz összetételét a 4. táblázat tartalmazza. A hígítási sorok elkészítését követően kezdtem meg a gyökernövekedés gátlás vizsgálatát.

Gyökernövekedés gátlás

A kiejedt fermentiszapok ökotoxikológiai értékelése céljából akut toxicitási tesztet alkalmaztam fehér mustár (*Sinapis alba*) tesztorganizmen. A gyökernövekedés gátlási vizsgálatokat az STN 83 8303:1999 szabvány alapján hajtottam végre.

A válogatott fehér mustár magok okkersárga színűek, 1,5-2,5 mm átmérőjűek voltak, a csírázási arány meghaladta a 99%-ot. Mintánként 30 db magot Petri-csészékbe helyeztem, majd 10 ml oldattal kezeltem. Kontroll mintaként és a hígítási sor elkészítéséhez hígítóvizet alkalmaztam, melynek összetételét a 4. táblázat foglalja össze.

4. táblázat Az alkalmazott hígítóvíz összetétele

Sorszám	Vegyület	Törzsoldat koncentrációja (g/L)
1.	CaCl ₂ ·2H ₂ O	117,6
2.	MgSO ₄ ·7H ₂ O	49,3
3.	NaHCO ₃	25,9
4.	KCl	2,3

A teszt főbb paramétereit az 5. táblázat mutatja.

5. táblázat A fehér mustár gyökernövekedési tesztjének főbb paramétereit

Hőmérséklet	20 ± 1 °C
Inkubációs idő	72 óra

Kezelés	10 mL minta/30 db fehér mustár mag, Petri csészében, 3 párhuzamos minta
Vizsgált paraméter	a gyökér hossza cm-ben
Egyéb feltételek	hőmérséklet beállítása termosztát segítségével, mesterséges fény nélkül

A gyökérnövekedés gátlás számítását az alábbi képlettel határoztuk meg:

$$IC\% = \frac{L_k - L_v}{L_k} \cdot 100$$

ahol,

L_v : a minta gyökereinek átlaghossza cm-ben

L_k : a kontroll (hígítóvízzel kezelt) minta gyökereinek átlaghossza cm-ben

Az előzetes vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy a teszt negatív, mivel a gyökérnövekedés gátlás értéke kisebb volt, mint 30% és a stimulációs hatás értéke alacsonyabb volt, mint 75% a kontroll mintához viszonyítva. További tesztelésre ezáltal nem volt szükség (STN 83 8303:1999 szabvány).

Biomassza hozam

A fölősiszapok mikroelemek akkumulációjának szántóföldi flórára gyakorolt hatását statikus akut toxicitási teszttel elemeztem. Tenyészedényes kísérleteim során a tavaszi árpa (*Hordeum vulgare* L.) biomassza hozamát az STN EN 14735:2006-03 (83 8300) szabvány alapján vizsgáltam. Az alkalmazott mesterséges talaj összetételét és a kísérlet főbb paramétereit a 6. táblázat tartalmazza. A magok csírázási aránya meghaladta a 97%-ot. A kísérleti edényekbe egyenként 6 db magot ültettem, majd a különböző iszapokkal kezeltem. Az inkubációs idő alatt folyamatosan kontrollált körülményeket biztosítottam, a talajok nedvességtartalmát 28-30% között tartottam. Kontrollként a magokat desztillál vízzel locsoltam.

6. táblázat A tavaszi árpa kísérlet főbb paramétereit

Teszt szerkezet	<i>Hordeum vulgare</i> L., csírázás > 97%, 6 mag/cserép,
Mesterséges talaj	10% tőzeg, 20% kaolintartalmú agyag és 70% ipari kvarc homok, 500 g/cserép, 2 párhuzamos minta
Hőmérséklet	22°C ± 1°C
Talajnedvesség	28-30%, HH2 talajnedvesség mérő (Delta-T Devices of Cambridge, England) segítségével napi mérés
Inkubációs idő	21 nap
Vizsgált paraméter	biomassza tömeg

Az inkubációs idő leteltét követően a biomasszát tömegállandóságig szárítottam és mértem tömegét az IC% érték meghatározásához.

$$IC\% = \frac{L_k - L_s}{L_k} \cdot 100$$

ahol,

L_s : a minta biomassa tömegének átlaga (g)

L_k : a kontroll (hígítóvízzel kezelt) minta biomassa tömege (g)

2.5 Metagenomikai vizsgálatok

A metagenomikai vizsgálatokat a Seqomics Kft. (Mórahalom) végezte.

DNS izolálás

A teljes DNS preparálás *Sharma et al., (2007)* módszere alapján történt kisebb módosításokkal kiegészítve. A minták (0,6 ml) feloldása 0,65 ml pufferoldatban (1 M Tris-HCl (tris-hidroximetilaminometén-sósav), pH=8,0; 100 mM EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav), pH=8,0; 1.5 M NaCl, 100 mM nátrium-foszfát, pH 8.0; és 1 % CTAB) valamint 0,0035 ml proteináz K (20,2 mg/ml) történt. Az inkubáció 37 °C-on 45 percig tartott. Ezt követően 0,08 ml 20%-os SDS (nátrium-dodecilszulfát) adagolás következett. A minták többszöri keverése után ismét inkubáció következett 60 °C-on 1 órán át. Az elválasztás 5 perces centrifugálással történt (350×g). A felülúszóhoz fenol, kloroform és izoamil-alkohol 25:24:1 arányú elegyének adagolása történt, majd ezt követte az extrahálás. A DNS kicsapása izo-propanollal, a pellet mosása 70%-os etanollal történt. A nyers DNS pellet 0,05 ml TE (Tris-EDTA) pufferben (1 M Tris-HCl és 1 mM EDTA, pH=8,0) került feloldásra. A mennyiségi meghatározás Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen, USA) segítségével történt.

Minták szekvenálása

A DNS szekvenálás Ion Torrent PGM (Life Technologies, USA) szekvenátorral valósult meg. A mintakönyvtárak előkészítése a Life Technologies IonXpress Plus Fragment Library Kit protokollja szerint történt, a DNS tisztítása PureLink PCR Purification Kit segítségével történt. A méretkizárás 2%-os agaróz gélen történt, majd az erősítéshez Platinum PCR SuperMix került alkalmazásra. A kvantifikálás Ion Library TaqMan qPCR segítségével történt. A szekvenálás 350,944 szekvenciát eredményezett a kiindulási mintában (átlagos leolvasási hossz: 198 ± 62 nt és $61,791,428 \geq Q20$ érték); 4%-os hígítási kísérlet esetén: 383,162 szekvencia leolvasást (átlagos leolvasási hossz: 201 ± 59 nt és $68,634,313 \geq Q20$ érték), valamint 322,006 szekvencia leolvasást a 7%-os hígítási kísérlet esetén (átlagos leolvasási hossz: 190 ± 58 nt és $54,548,009 \geq Q20$ érték).

Bioinformatikai analízis

A kezdeti minőségellenőrzési lépést a FASTQ sorozat adatainak automatikus normalizálása követte, maximum e-érték: $>10^{-5}$, adatbázisokhoz való százalékos egyezés $>80\%$, minimum leolvasási hosszak: 15 nukleotid. A taxonómiai analízis MG-RAST szerver és a riboszomális RNS adatbázisok segítségével történt.

2.6 Statisztikai értékelés

Leíró statisztikai elemzések során a Microsoft Excel programot alkalmaztam. A rejtett információk feltárása érdekében a sokváltozós adatelemzést a „Chemometrics-Add-In” Microsoft Excel

bővítmény segítségével végeztem el. Az ANOVA varianciaanalízis peremfeltételként megköveteli, hogy az értékelni kívánt adatok normál eloszlást mutassanak. A normalitás vizsgálat során azonban kiderült, hogy ez a feltétel eredményeimre vonatkozóan nem teljesül, így nemparametrikus statisztikai eljárást, a Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztam a szignifikancia szintek megállapításához. A módszer előfeltétele a szimmetrikus eloszlás, amely adataim esetében teljesült.

3. Eredmények és értékelésük

A 3.1. fejezetben *Chlorella vulgaris* és *Scenedesmus sp.* fajokon vizsgáltam a kedvező C/N arány beállítása céljából a tenyésztés során alkalmazott nitrogén limitáció hatását a metán kihozatalra, valamint az ammónium ion koncentrációjának változására.

Az optimális C/N arány elérésének másik megoldása a magas széntartalmú koszubsztrát adagolása a mikroalga mellé. A szakirodalmi eredmények alapján fontosnak tartottam, hogy hazánkban elérhető koszubsztrátokkal vizsgáljam a monofermentációs kísérletben tesztelt és a lebontás szempontjából kedvezőbbnek ítélt algafajt, ezért kettes és hármas kofermentációs kísérleteket indítottam, amelyeket a 3.2. fejezet tárgyal.

Az anaerob fermentációs folyamatok optimális működéséhez nagy mértékben hozzájárul a megfelelő mikroelem státusz (Zhang és Jahng 2012; Qiang et al., 2013). A szubsztráthoz adagolt nyomelemek pozitív hatást fejtenek ki a metántermelésre, a melléktermékként keletkező fermentiszap különböző mezőgazdasági, erdészeti területekre történő kijuttatása azonban a nehézfémek akkumulációja révén káros folyamatokat indíthat el a talajflórára és faunára nézve (Walter et al., 2006; Salazar et al., 2012). Szántóföldi növényeken keresztül megjelenhetnek az élelmiszerláncban, ezáltal humán-egészségügyi kockázatot is jelenthetnek (Wahsha et al., 2014; Le et al., 2015). A szakirodalmi adatok alapján feltételeztem, hogy a cukorrépa préselt szelet anaerob fermentációjára is pozitív hatást gyakorol a mikroelem adagolás. A hatás igazolása és számszerűsítése céljából különböző mikroelem kezeléssel csoportokat állítottam fel. Emellett a fermentációs maradékot ökotoxikológiai szempontból is vizsgálni kívántam, a mezőgazdasági, erdészeti alkalmazhatóság érdekében. Két különböző növényi tesztstruktúrára végeztem el a fitotoxicitási tesztek, a mikroelem adagolás akkumulációját pedig elemanalitikai vizsgálatokkal követtem nyomon. A mikroelem adagolás kérdéskörét a 4.3. fejezet részletezi.

3.1 Monofermentáció

A kísérlet során két különböző algafaj, *Chlorella vulgaris* (MACC-452) és *Scenedesmus sp.* (MACC-401) tenyésztése 3% ill. 10%-os nitrogéntartalmú tápoldaton történt. A mezofil tartományon történő anaerob monofermentációs vizsgálatok céljai a metán kihozatalok összehasonlítása, valamint az ammónium ion inhibíciós hatásának elemzése voltak. A 4.1.1. és 4.1.2. fejezetben bemutatott eredmények a Biogas Science 2016 konferenciakötetben jelentek meg.

3.1.1 10% és 3% N-táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga anaerob fermentációja

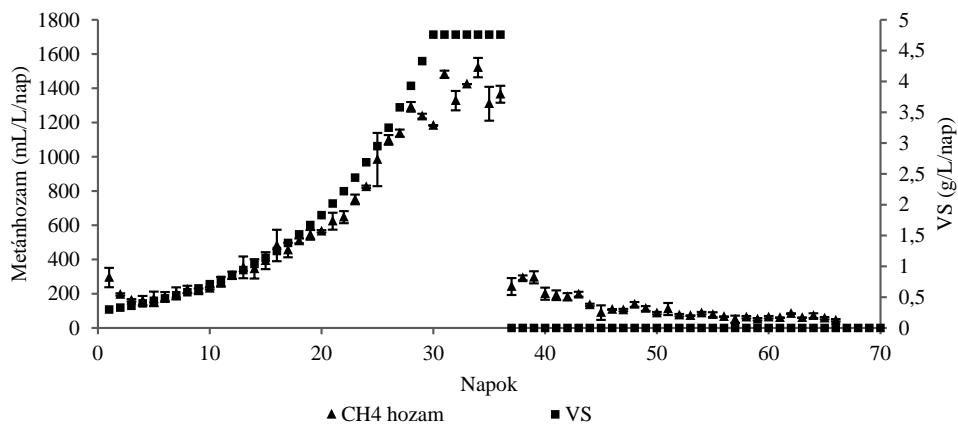
A 7. táblázat a vizsgálatokhoz használt *Chlorella vulgaris* mikroalga biomassza szerves-száranyag tartalmát, valamint az elemi összetételből a szén és nitrogén tartalmát tartalmazza.

7. táblázat *Chlorella vulgaris* mikroalga alapanyag száraz (TS%), szerves-száranyag (VS%), szén és nitrogén (% sz.a.) tartalma

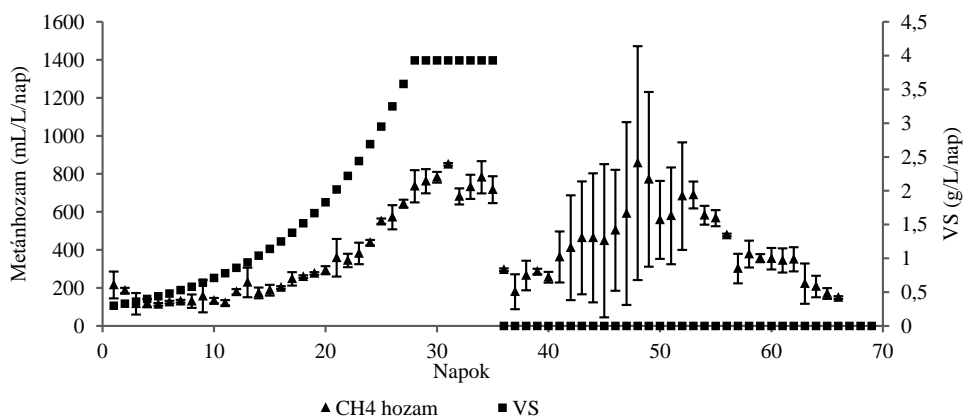
	TS %	VS%	N%	C%	C/N
10% N Ch. v	28,6	85,5	4,1	46,2	11,27
3% N Ch. v.	37,3	90,4	1,5	52,7	35,13

A 12. ábrán a 10%, a 13. ábrán a 3% nitrogén (N) tartalmú tápoldaton tenyésztett *Chlorella vulgaris* metán kihozatala látható a napi szervesanyag adagolás függvényében. Jelen fejezetben található ábrák esetében az ábrázolás módjánál a szerves-szárazanyagra vonatkoztatott metán kihozatal helyett azért választottam a metánhozamok megjelenítését, mivel így a lecsengési szakaszok során tapasztalt különbségek látványosabbak, jobban követhetőek.

Megállapítható, hogy a metántermelés felfutása jól követte a szerves anyag terhelés változását a stabil szakaszig a 10% N alga esetében, emellett azonban a 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett alga kevésbé volt terhelhető (3,69 g/L/nap VS). A metántermelés legmagasabb átlagértéke a 10% N-tartalmú táptalajon tenyésztett alga esetében 423 mL/L/nap, a 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett alga esetében 395 mL/L/nap volt. Jelentős változás figyelhető meg a metántermelés lecsengésében, a 12. ábrán gyors kiürülési szakaszt tapasztaltunk, ellentétben a 13. ábrán láthatóval, amely a felhalmozódott szerves anyag lassabb lebontásával magyarázható.



12. ábra A napi szerves anyag bevétel (gVS/L/nap) és az átlag metántermelés változása a 10% nitrogén tartalmú tápoldaton tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga kísérletben



13. ábra A napi szerves anyag bevitel (gVS/L/nap) és az átlag metántermelés változása a 3% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga kísérletben

A felterhelés során a naponta bevitt szerves anyag mennyiségét az iszapban mérhető titrált savtartalmi értékek (tVFA) jól jellemzik. Ennek megfelelően folyamatosan monitoroztam az iszapminták tVFA értékeit, amelyeket a 8. táblázat tartalmaz. Megállapítható, hogy mindkét degradáció során az átlagértékek 2000 mg/L ecetsav egyenérték alatt maradtak, ami a savtermelés és metanogenezis egyensúlyára utal. A savösszetételei vizsgálatok megerősítették, hogy a VFA komponensek közül az ecetsav volt a domináns, azonban koncentrációja az 1000 mg/L értéket nem haladta meg. A C3-C6 illózsírsavak összesített mennyisége 150 mg/L alatt volt. A C4-C6 illózsírsavak izo származékai az iszapban kimutatási határ alatt (10 mg/L) maradtak.

8. táblázat Az iszapminták titrált savtartalmainak (tVFA) változása a 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga kísérletben (mg ecetsav egyenérték/L)

Napok	tVFA	
	10% N Ch. v.	3% N Ch. v.
0.	1304	1242
7.	993	1055
9.	993	931
14.	931	1242
21.	1117	1180
27.	1117	1117
34.	1242	1118

A 9. táblázatban az iszapmintára vonatkozó KOI értékek alapján egyértelmű, hogy a hidrolitikus folyamatok elégtelensége révén az iszapokban a szerves anyag tartalom jelentősen megnőtt, ugyanakkor látható, hogy a 10% N tartalmú táptalajon tenyésztett alga esetében a magasabb felterhelés (4,76 g/L/nap VS) ellenére a lebontási folyamatok hatékonyabbak voltak a 3% N tartalmú mintához viszonyítva. Az ammónium ion koncentráció a kísérletek során nem emelkedett az 5000 mg/L érték fölé, ami a tapasztalati és szakirodalmi eredmények alapján az ammónium gátlás küszöbértéke (*Chen et al., 2008*).

9. táblázat 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga fermentiszap KOI, NH₄⁺ és oldott foszfor értékei (mg/L)

Napok	KOI		NH ₄ ⁺		oldott P	
	10% N Ch. v.	3% N Ch. v.	10% N Ch. v.	3% N Ch. v.	10% N Ch. v.	3% N Ch. v.
0.	5892	5946	939	1000	52	58
13.	5135	9730	1094	932	49	68
27.	7195	17561	975	894	91	88
36.	11791	32781	1028	848	137	123
65.	10767	7733	716	439	95	63

3.1.2 10% és 3% N-táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga anaerob fermentációja

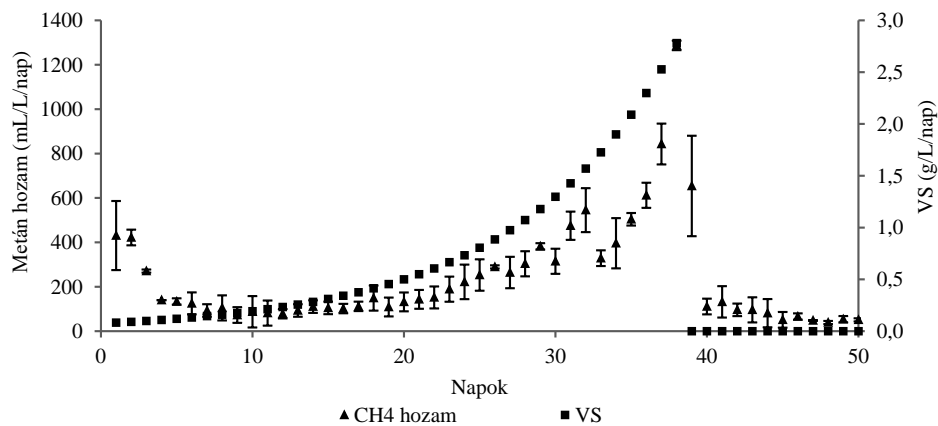
A 10. táblázat a vizsgálatokhoz használt *Scenedesmus sp.* mikroalga biomassza szerves-szárazanyag tartalmát, valamint az elemi összetételből a szén és nitrogén tartalmát tartalmazza.

10. táblázat *Scenedesmus sp.* mikroalga alapanyag száraz (TS%), szerves-szárazanyag (VS%) és szén- és nitrogén (% sz.a.) tartalma

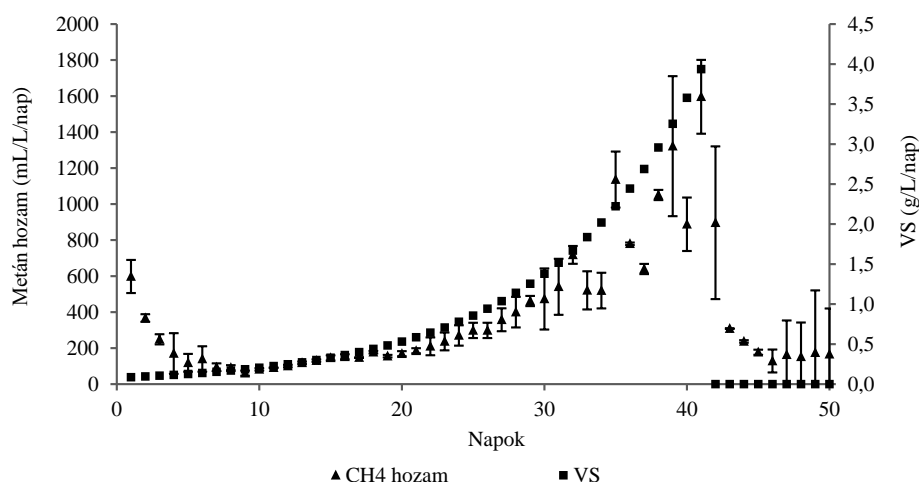
	TS %	VS%	N%	C%	C/N
10% N Sc.	11,4	58,6	6,2	31,8	5,16
3% N Sc.	12,2	80,5	3,4	43,8	12,93

A 14.-15. ábrák alapján látható, hogy a 10% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kevésbé terhelhető (2,78 g VS/L/nap). A metán kihozatal alapján megállapítható, hogy a 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* fermentációja során 13% többlet nyerhető a 10% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.*-hoz képest.

A szerves-szárazanyagra vonatkoztatott metántermelés a 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett alga lebontása során szintén magasabb volt, 439,6 mL CH₄/gVS, míg a 10% N-tartalmú táptalajon tenyésztett alga esetében 400,9 mL CH₄/gVS értéket ért el. További jelentős változás figyelhető meg a lecsengési fázisban, a *Chlorella vulgaris* kísérlethez hasonlóan itt is gyors kiürülés jellemzi a 10% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* fermentációjának utolsó szakaszát (40-50. nap), ellentétben a 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett alga lassabb lecsengésével.



14. ábra A napi szerves anyag bevitel (gVS/L/nap) és az átlag metántermelés változása a 10% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kísérletben



15. ábra A napi szerves anyag (gVS/L/nap) bevitel és a metántermelés változása a 3% nitrogén tartalmú tápoldaton tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kísérletben

A titrált savtartalmi értékek a *Chlorella vulgaris* kísérlethez hasonlóan alacsony szinten maradtak, egyik esetben sem érték el az 1200 mg/L ecetsav egyenértéket (11. táblázat).

11. táblázat Az iszapminták titrált savtartalmainak (tVFA) változása a 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kísérletben (mg ecetsav egyenérték/L)

Napok	tVFA	
	10% N Sc.	3% N Sc.
12.	806	1142
19.	941	1008
30.	941	1142

A 12. táblázatban szereplő KOI érték alapján jelentős szervesanyag felhalmozódás nem volt tapasztalható a fermentációkban, meg kell jegyezni ugyanakkor, hogy a maximális szervesanyag bevitel nem érte el a *Chlorella vulgaris* kísérletben alkalmazott terhelési szinteket.

Az ammónium koncentrációja itt is a gátlási küszöbérték alatt maradt mindkét kísérletben.

12. táblázat 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga fermentiszap KOI, NH_4^+ és oldott foszfor értékei (mg/L)

Napok	KOI		NH_4^+		oldott P	
	10% N Sc.	3% N Sc.	10% N Sc.	3% N Sc.	10% N Sc.	3% N Sc.
0.	4341	4341	1298	1298	16	16
16.	3270	2961	1371	1463	21	30

30.	2583	3146	1782	1505	29	38
48.	3398	3482	1483	1422	22	28

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a legmagasabb metán kihozatal, 423 mL/L/nap a 10% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* fermentációja során értük el, ezt követte a 3% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* 395 mL/L/nap értékkel, majd a 3% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* 373 mL/L/nap, végül pedig a 10% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* 239 mL/L/nap metán kihozattal. A termelt biogáz metántartalmában nem tapasztaltam szignifikáns eltérést, az átlagértékek 57,2% és 58,9% között alakultak.

A gyakorlat számára fontos paraméter a fajlagos metán kihozatal, mely alapján megállapítható, hogy 1 g szerves anyagból a legtöbb metán a 3% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga 440 ml CH₄/gVS esetén nyerhető, ugyanakkor a legkevésbé terhelhető, iszap térfogatra vonatkoztatva a metán kihozatala kedvezőtlenebb.

A végrehajtott kísérletek célja elsősorban a metán kihozatali adatok megállapítása volt, a kísérletek hossza nem bizonyítja a fenntartható monofermentáció létjogosultságát.

3.2 Kofermentáció

A hatékony lebontás fokozása érdekében kofermentációs kísérleteket indítottam, melyek során a 4.1. fejezetben leírt eredmények alapján előnyösebbnek vélt *Chlorella vulgaris* fajt alkalmaztam. Mivel a kofermentációs kísérletek teljes időtartama meghaladta az egy évet, és az eredmények összevetése miatt szükséges standard minőségű és mennyiségű alga biomasszát az MACC nem tudta biztosítani, ezért liofilizált algaport alkalmaztam a további kísérleteinkhez. Vizsgálataimat először kettes kofermentációban végeztem, az eredmények a 4.2.1. fejezetben kerülnek bemutatásra. A kapott pozitív eredmények alapján úgy gondoltam, hogy érdemes lenne akár hármas kofermentációt is vizsgálni, ahol a mikroalga mint nitrogén forrásként játszik szerepet, megfordítva azt a gondolatot, hogy a magas nitrogén tartalom hátrányt jelent. A SBPP ismertén nitrogénhiányos alapanyag, így a metántermelés céljából történő együttes hasznosítás ígéretes témának ígérkezett, mivel a gyakorlatban jelenleg alkalmazott karbamid (0,0015% a nedves répaszelet arányában) kiváltásával kevésbé terheli a környezetet. A kettes kofermentációban legjobb eredményt hozó használt sütőolajat választottam a harmadik szubsztrátnak, az optimális C/N arány jelentős romlásának megelőzése érdekében. Ezenkívül a használt sütőolaj alkalmazását az indokolta, hogy Szlovákiában nagy mennyiségben áll rendelkezésre (korábbi vizsgálatok a Beuker s.r.o. cég megbízása által), több üzem, pl. a vágfüzesi biogáz üzem - melynek analitikai monitoringját a Kémiai Intézet végzi - potenciális alapanyagaként szolgálhat. A hosszú szénláncú zsírsavak azonban gátlást okozhatnak a lebontásban, ezért figyelemmel követtük a metabolitok megjelenését is. Az így kapott eredmények a 4.2.2. fejezetben szerepelnek.

A kettes kofermentációs kísérletek eredményeit a *Journal of Phycology* c. lektorált folyóiratban publikáltuk.

3.2.1 Kettes kofermentáció

Provokatív kísérleteim során arra törekedtem, hogy meghatározzam az elérhető maximális szervesanyag terhelést. A fermentáció működését a tVFA értékek folyamatos mérésével ellenőriztem, kontroll mintaként *Chlorella vulgaris* monofermentációját alkalmaztam.

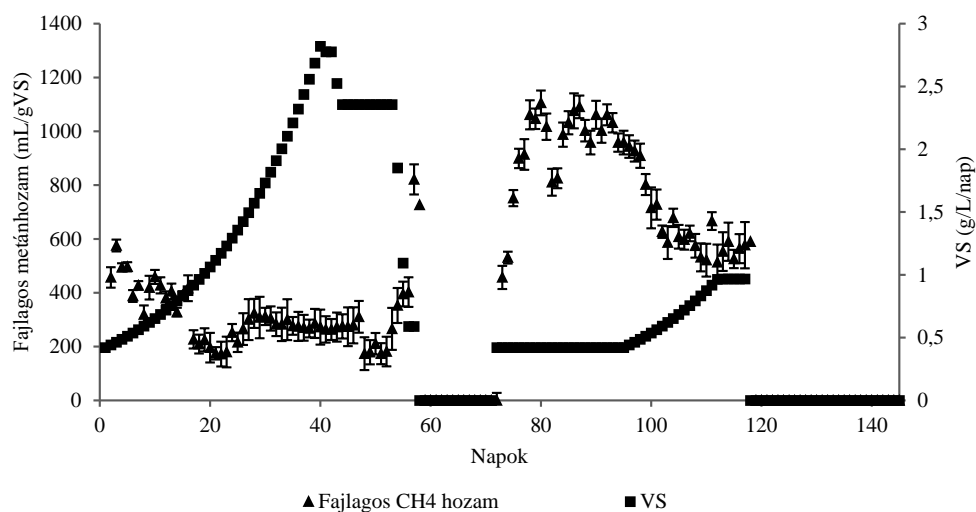
Kísérleti elrendezés

A koszubsztrátok arányait minden esetben 50-50% szerves száraz anyag tartalomban határoztam meg. Az anaerob fermentációt a 3.2 fejezetben leírt módszer alapján három párhuzamos fermentorral, az analitikai méréseket a 3.3. fejezetben ismertetettek szerint végeztem el.

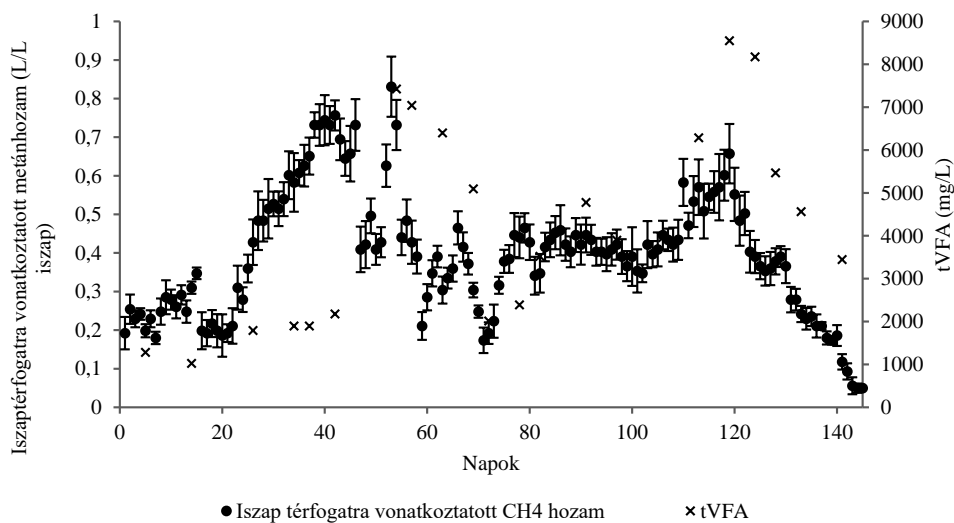
A *Chlorella vulgaris* mellett alkalmazott koszubsztrátok: használt sütőolaj, kukoricaszilázs, malomipari korpa voltak. A használt sütőolaj a magas lipid tartalma, a kukoricaszilázs, mint legnagyobb tömegben felhasznált szubsztrát, a malomipari korpa, mint magas C-tartalmú rostforrás miatt került kiválasztásra. Az alapanyagokhoz tartozó legfőbb paraméterek a 3.1. fejezet 2. táblázatban szerepelnek.

***Chlorella vulgaris* monofermentáció – kontroll**

A kísérlet kezdetén az OLR terhelést naponta 5%-kal emeltem, 0,42 gVS/L/nap-ról 2,82 gVS/L/nap-ra (40. nap), majd 16%-kal csökkentettem, 2,36 gVS/L/nap-ra, amit 9 napig stabilan tartottam (16. ábra). A titrált savtartalom 1282 mg/L (pH=7,90) értékről lassan emelkedett 2176 mg/L-re (17. ábra), emellett az ammónium ion értéke 2302 mg/L volt. Az 54. napon a tVFA érték drasztikusan megugrott 7424 mg/L-re ezért az OLR adagolást megszüntettem 14 napig. A kezelés hatására az összes paraméter a minimális szintre csökkent. A 72. naptól kezdve egy óvatos újrateljesítési szakaszt hajtottam végre, 0,42 gVS/L/nap értékekkel a 95. napig. A stabil szakasz folyamán az iszap térfogatra számított metánhozam átlagos értéke 0,40 L/L iszap volt, amelyet a 4779 mg/L tVFA szint kísért. Az ammónium koncentráció esetében szintén magas értéket tapasztaltam, 4972 mg/L a 97. napon (pH=8,49), és 5547 mg/L a 141. napon, ez a metanogének részleges inhibícióját mutatta, ami a tVFA szintek emelkedését eredményezte. Eredményeim összhangban állnak *Prajapati et al., (2013)* következtetéseivel akik megállapították, hogy magas ammónium ion koncentráció mellett a metanogének számára legfontosabb szubsztrát az ecetsav ammónium acetáttá vagy ammónium bikarbonáttá alakul, ezáltal a metanogének számára nem lesz elegendő elérhető ecetsav. Az újrateljesítési szakasz során az OLR szintet nem tudtam 0,97 gVS/L/nap fölé emelni a magas tVFA értékek (8551 mg/L) miatt, ezért a kísérletet a szubsztrát adagolás megszüntetésével befejeztem. A fermentáció során az átlag iszaptérfogatra számolt metánhozam 0,44 L/L volt, amely hasonló érték *Yen és Brune (2007)* által végzett kísérletek eredményeihez (0,57 L/L), akik az alga biomassza lebontását batch technológiával, 4 gVS/L/nap OLR szinten, 10 napos HRT-vel vizsgálták.



16. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap)függvényében a *Chlorella vulgaris* monofermentációja (kontroll) során

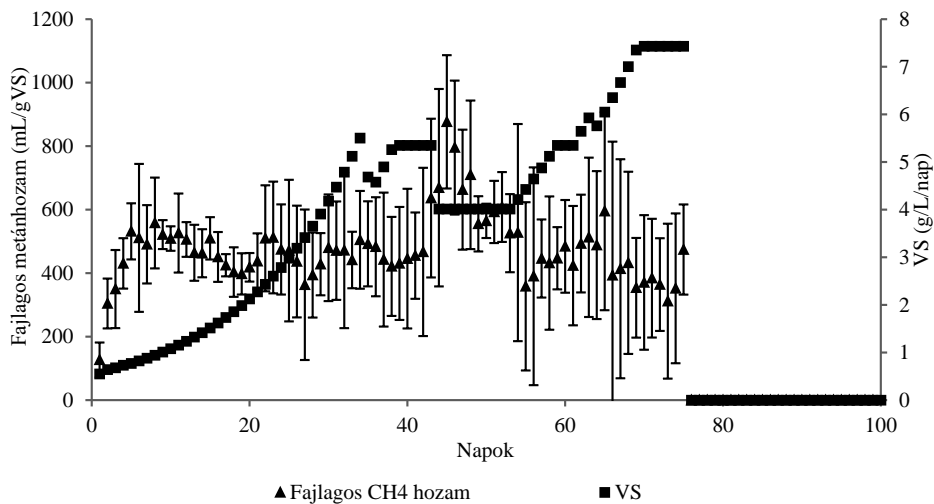


17. ábra Iszaptérfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris* monofermentációja (kontroll) során

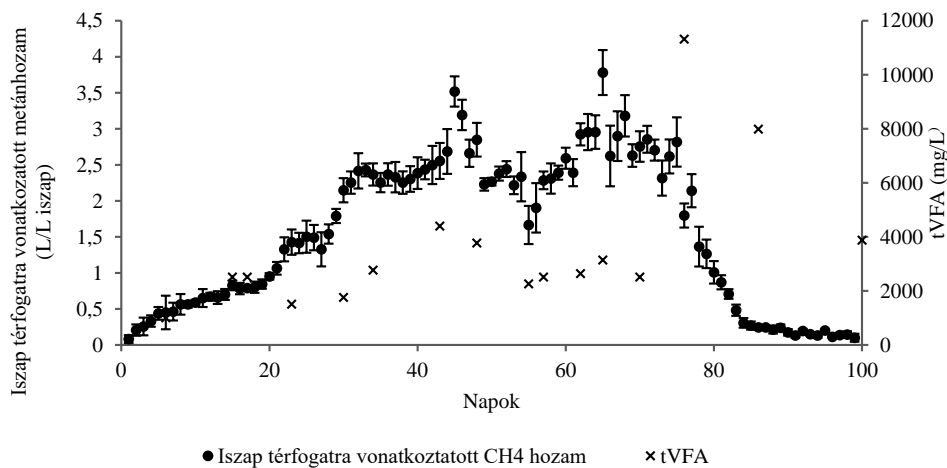
***Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentáció eredményei**

A felterhelési szakasz során a szervesanyag adagolást 0,55 gVS/L/nap-ról 5,50 g VS/L/nap emeltem (34. nap; 18. ábra), ezt követően 4,58 gVS/L/nap értékre csökkentettem 4 napon keresztül, hogy teszteljem a rendszer stabilitását. Majd 5 napon át 5,35 gVS/L/nap szinten tartottam a terhelést. A tVFA koncentráció kis mértékben emelkedett, 4401 mg/L (pH=8,11) szintre a szervesanyag adagolás

növekedésével összhangban (19. ábra). Az NH_4^+ koncentráció szintén növekedett (4087 mg/L), majd a stabil szakasz folyamán további 9%-kal emelkedett. A következő szakaszban ismét csökkentettem a napi szervesanyag adagolást 4,01 gVS/L/nap-ra 10 napon keresztül, melynek hatására a metánhozam 49%-kal megemelkedett, majd stabilizálódott 2311 mL/L/nap értéken. Mivel a tvFA koncentráció csökkenést mutatott (2264 mg/L) az 55. napon, ezért a szervesanyag terhelést ismét emeltem 7,43 gVS/L/nap szintre, ahol 6 napig tartottam. Az újaterhelési peridusban a metántartalmak lassan emelkedtek az átlagosan 2861 mL/L/nap értékre, amit késleltetve a savtartalmi koncentrációk is követtek (maximum: 11318 mg/L), az NH_4^+ tartalom pedig 4848 mg/L-t érte el. A kísérlet végén a szervesanyag adagolás leállításával 11 nap alatt a metánhozam lecsökkent átlagosan 173 mL/L/nap értékre.



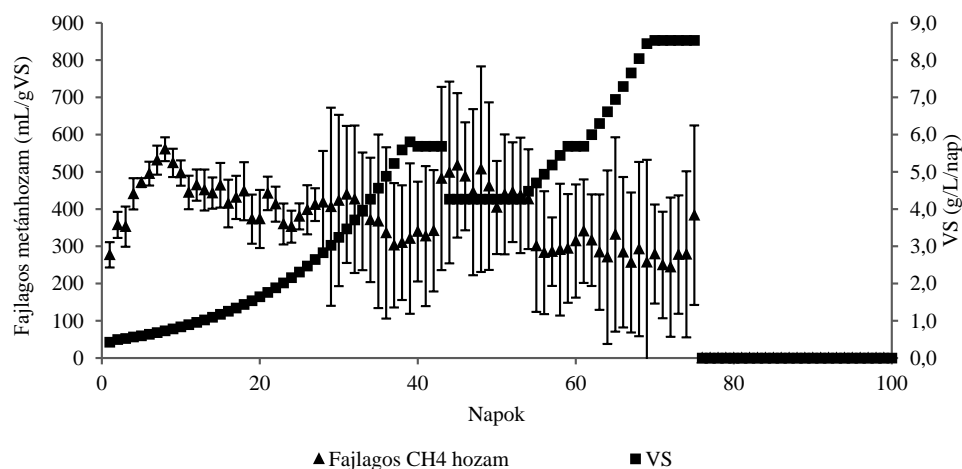
18. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap)függvényében a *Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentációja során



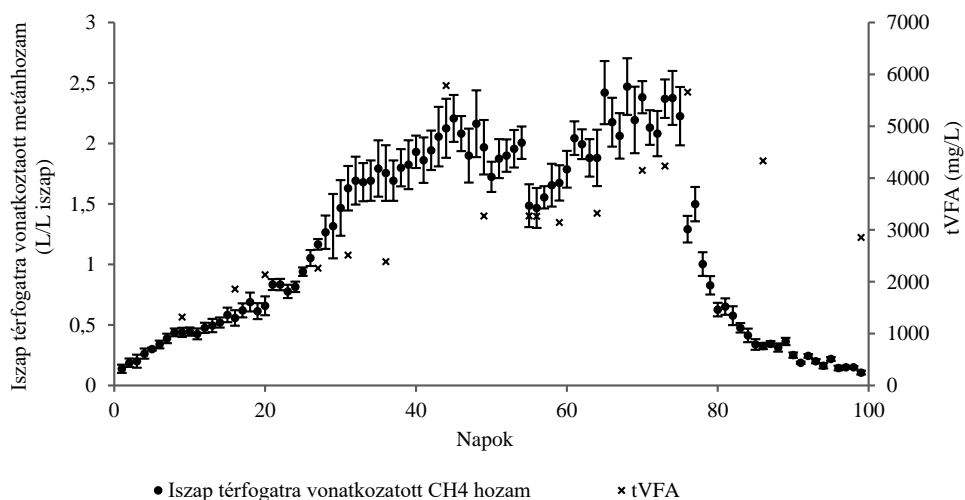
19. ábra Iszaptérfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentációja során

***Chlorella vulgaris* - kukoricaszilázs kofermentáció eredményei**

A felterhelési periódusban a szervesanyag terhelés maximum értékét a 39. napon értem el: 5,81 gVS/L/nap (20. ábra). A napi metántermelés ebben az esetben is követte a terhelés ütemét (1825 mL/L/nap). A tVFA érték nem haladta meg a 2600 mg/L koncentrációt, a 44. napon azonban megemelkedett 5785 mg/L-re (pH=7,89), ezért a VS adagolást csökkentettem 4,27 gVS/L/nap-ra. Ezt 10 napig tartottam, melynek hatására a savtartalom 43%-kal csökkent, emellett a metántermelés relatív magas értéken maradt, átlagosan 1992 mL/L/nap. Az újratelhelési szakasz 16 napig tartott a maximálisan 8,53 gVS/L/nap terheléssel (70. nap). Az NH_4^+ koncentráció viszonylag magas, 4766 mg/L értéket érte el ebben a szakaszban. A tVFA szint stabilizálódott, azonban itt is egy késleltetett emelkedést tapasztaltunk, 5659 mg/L-re emelkedett (21. ábra). A kiürülési szakasz 25 napig tartott, ezalatt a metánhozam 107 mL/L/nap értékre csökkent.



20. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a *Chlorella vulgaris* - kukoricaszilázs kofermentációja során

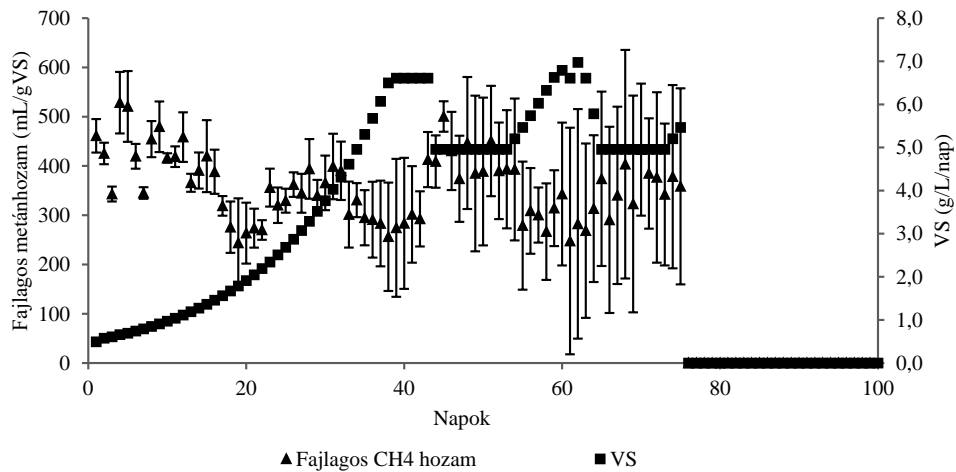


21. ábra Iszap térfogatra vonatkozott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris* - kukoricaszilázs kofermentációja során

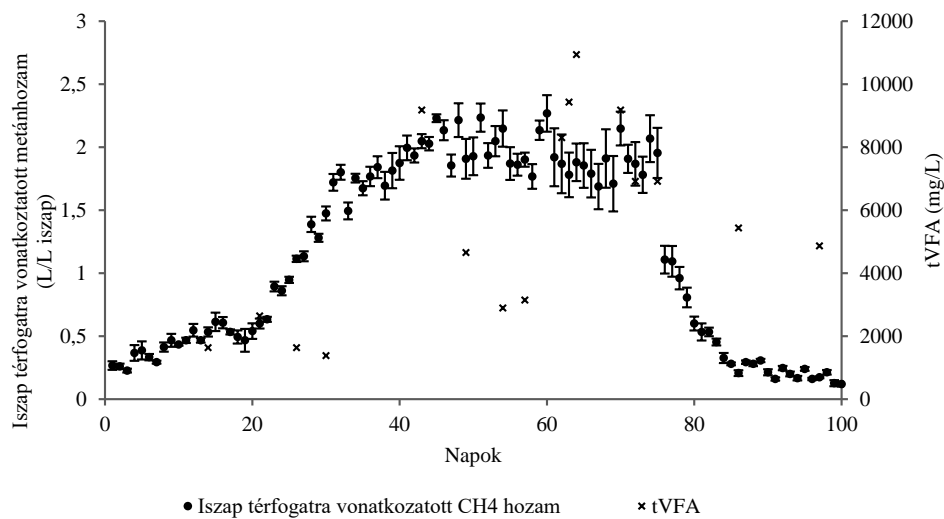
***Chlorella vulgaris*-malomipari korpa kofermentáció eredményei**

A szervesanyag terhelés a felterhelési szakasz folyamán a 39. napon elérte a 6,1 gVS/L/nap értéket, amelyet a metántermelés 496 mL/L/nap hozammal követett (22. ábra). A tVFA koncentráció 2640 mg/L alatt maradt az első 31 nap során, majd 9180 (pH=7,87) mg/L-re emelkedett a 44. napon (23. ábra). Az NH_4^+ tartalom 2218 mg/L és 2858 mg/L volt a kísérlet 11. és 24. napján. A 24. és 40 nap között szignifikáns emelkedést tapasztaltam, 5558 mg/L NH_4^+ értékkel. A csökkentett szervesanyag adagolásnak (4,96 gVS/L/nap) köszönhetően a savtartalom is lassan csökkenni kezdett, 2862 mg/L

értékre az 55. napon. A szervesanyag újratelése 6,97 gVS/L/nap-ra a tVFA szint ismételt emelkedését hozta, meghaladva a 10000 mg/L koncentrációt, ami az anaerob rendszer sérülékenységét jelezte. A metánhozamokat nem befolyásolta a VS adagolás változása a 42. és 76. napok között, az 1959 mL/L/nap átlagérték körül oszcilláltak. A szubsztrát adagolás leállítása a savtartalom folyamatos csökkenését eredményezte, a metán kihozatal 8 nap alatt 327 mL/L/nap-ra csökkent, a kísérlet utolsó 15 napja folyamán pedig 218 mL/L/nap értéken stabilizálódott.



22. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a *Chlorella vulgaris*-malomipari korpa kofermentációja során



23. ábra Iszap térfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris*-malomipari korpa kofermentációja során

A fajlagos metán kihozatalok tekintetében megállapítható, hogy a felterhelési periódusra nézve az alga – használt sütőolaj kofermentációja 474, a kukoricaszilázs 384, a malomipari korpa 359 mL CH₄/gVS értéket ért el. A teljes kísérletre vonatkoztatva a használt sütőolaj kosubsztrát alkalmazásával 520, kukoricaszilázs esetében 390 és malomipari korpa adagolása mellett 387 mL CH₄/gVS átlag fajlagos metánhozamokat értünk el. Ezek alapján a legjobb kosubsztrátnak a használt sütőolaj bizonyult a *Chlorella vulgaris* mikroalga kofermentációjában. Eredményeimhez hasonló adatokat közölt *Yen és Brune (2007)*, akik 290 mL CH₄/gVS fajlagos metán kihozatalt mértek alga és hulladék papír 50-50% VS szubsztrát mix adagolásával. *Wirth et al., (2015)* munkájukban Batch eljárással kukoricaszilázs és *Scenedesmus* sp. valamint *Chlamydomonas* sp. mikroalga fajok populációját a velük természetes módon együtt élő baktériumokkal, elsősorban *Rhizobium* sp.-vel történő kofermentációját vizsgálták. Az alapanyag összetételt szerves szárazanyagra vonatkoztatva 1:1 arányban határozták meg. Eredményeik azt mutatták, hogy a mikroalgákkal szimbiózisban élő baktériumok befolyásolják a lebontás paramétereit, mivel ezek a baktériumok a lebontást végző konzorcium meghatározó tagjaivá válnak. Az alga+baktérium fermentáció 260, a kukoricaszilázs fermentációja 330, az alga+baktérium-kukoricaszilázs kofermentációja 350 ml CH₄/gVS kihozatalt eredményezett, amely saját kofermentációs eredményeimmel közel azonosnak mondható.

A különböző kísérleti elrendezések esetében a fermentiszapban lévő szerves anyagokból termelődő metán fajlagos (bevitt száraz anyagra, ill iszaptérfogatra vonatkoztatott) értékei a termelés volumenét érintő összehasonlítást tesznek lehetővé, ugyanakkor a fermentáció gazdaságosságának értékeléséhez teljesebb képet ad, ha vizsgáljuk a lebontás hatásfokának mérőszámaként a szerves anyag konverzió fokát (VSR%).

A 13. táblázat alapján elmondható, hogy habár a legmagasabb OLR értéket az alga- kukoricaszilázs esetében tudtuk elérni (8,53 gVS/L/nap) a VSR% értékei és az elért maximális szerves anyag terhelés alapján látható, hogy a lebontás hatásfoka nem ebben az esetben volt a legjobb, hanem az alga-használt sütőolaj kofermentációjában.

13. táblázat A kettes anaerob kofermentációs kísérletek VSR%, HRT (nap) és OLR (gVS/L/nap) minimum, maximum és átlagértékei

Kísérlet	VSR%			HRT			OLR		
	Min.	Max.	Átlag	Min.	Max.	Átlag	Min.	Max.	Átlag
Kontroll (alga monofermentáció)	33	212	104	98	660	383	0,0	2,82	0,78
Alga-használt sütőolaj kofermentáció	28	165	92	23	476	102	0,0	7,43	2,96
Alga-kukoricaszilázs kofermentáció	46	113	75	19	417	88	0,0	8,53	3,00
Alga-malomipari korpa kofermentáció	48	114	65	24	476	101	0,0	6,61	2,15

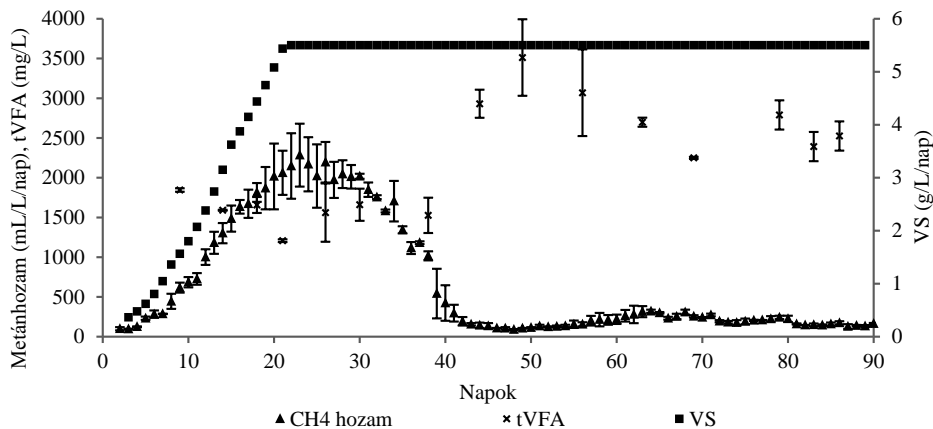
Az átlag VSR% érték az alga monofermentáció esetén volt a legmagasabb, majd ezt követte az alga-használt sütőolaj kofermentáció, ennél 17%-kal alacsonyabb érték figyelhető meg a kukoricaszilázs és további 10% csökkenés a malomipari korpa kofermentációja során. Ezek az értékek összefüggésben állnak a fajlagos metán kihozatali értékekkel, mivel a jobb konverzió fok közel azonos terhelés mellett nagyobb metánhozamot eredményez. A számított HRT átlagértékek (88-102 nap) nem térnek el a kukoricaszilázs monofermentációval működő nagyüzemek értékeitől (95-110 nap), ami az alga növényi alapanyagokhoz hasonló nagyságrendű lebontási sebességét igazolja. A *Chlorella vulgaris* monofermentációja során lényegesebb nagyobb HRT érték adódott, 383 nap, ami az alacsonyabb terhelhetőséggel van összefüggésben. A korpa esetén kapott VSR%, az alacsony OLR érték valamint a magas tvFA értékek a fermentációs folyamatok inhibícióját támasztják alá.

3.2.2 A szárazanyag tartalom változás hatása a *Chlorella vulgaris* és használt sütőolaj kofermentációjára

Az algatenyésztés egyik problémája, hogy az elérhető alga szárazanyag tartalom alacsony (0,1%), melynek oka az algasejtek erőteljes fényabszorpciója. Ugyanakkor a hatékony biogáz előállítás igényli a 8-10%-os iszap szárazanyag tartalom meglétét. Emiatt a szüretelt alga centrifugálással történő szárazanyag tartalom növelése egy lehetséges megoldás az optimális paraméterek biztosítására. A 4.2.2.1. és 4.2.2.2. fejezetekben bemutatott kísérletek során arra kerestem a választ, hogy a 3,8 és 7,2% TS-sel rendelkező alga szubsztrát biogáz kihozatali értékei hogyan alakulnak, illetve az eltérő szárazanyag tartalom milyen hatással bír az anaerob lebontást végző konzorcium összetételére.

3,8% szárazanyag szubsztrát mix

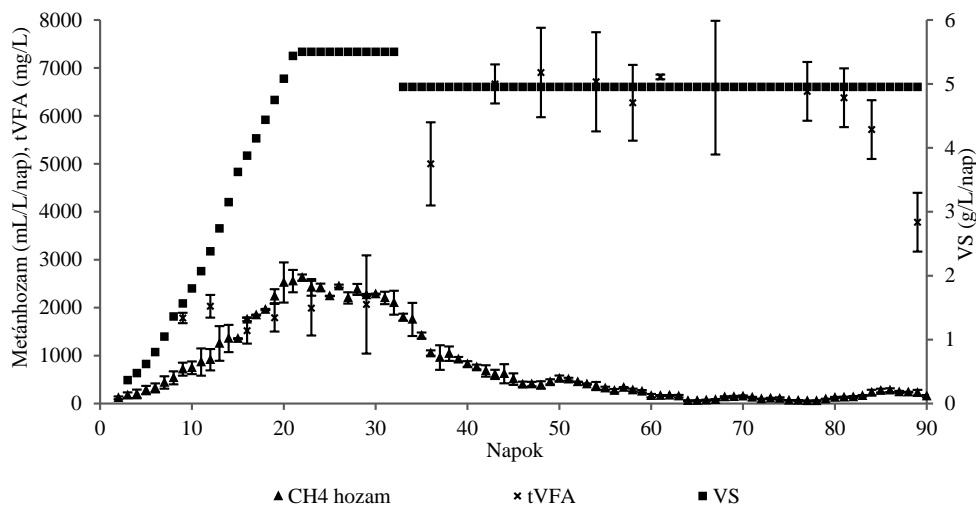
A kísérlet kezdetén az inokulum szárazanyag tartalma 7,14% volt, amely a fermentáció végére 2,87%-ra csökkent. A terhelési szakasz folyamán az iszaptérfogatra számolt metánhozam legmagasabb értékét a 23. napon regisztráltam, 2,28 L/L iszap, 5,5 g VS/L/nap terhelés mellett (24. ábra). Az azonos szintű szervesanyag adagolás folyamán ez az érték 0,3 L/L iszap alá csökkent, a 42. naptól kezdve a kísérlet végéig pedig 0,39 L/L iszap hozam alatt maradt. A metántermeléssel ellentétben a tvFA értékek lassan csökkentek a felterhelés alatt, a stabil szakasz elérését követően pedig emelkedni kezdtek (24. ábra). A legalacsonyabb savtartalmat a 21. napon mértem, értéke 1208 mg/L volt (pH=8,30), amely ezt követően a 38. napig folyamatosan növekedett. Szignifikáns emelkedést a 49. napig tapasztaltam, ezt csökkenés követte a 69. napig a metánhozam kismértékű emelkedése mellett. A fermentáció során a termelt biogáz metántartalma folyamatosan csökkent. A fajlagos metánhozam a 440 mL CH₄/gVS (15. nap) értékről 10 mL CH₄/gVS-re (47. nap) csökkent, majd a degradáció végéig 70 mL CH₄/gVS alatt maradt.



24. ábra A metánhozam és titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a 3,8% TS kísérletben

7,2% szárazanyag szubsztrát mix

Az iszapterfogatra számolt metán kihozatal a felterhelési szakasz maximumán (5,5 gVS/L/nap) 2,63 L/L iszap volt (25. ábra), amely az egész kísérlet legmagasabb értékét adta. Ezt követően a stabil szakasz alatt (4,95 gVS/L/nap) a 48. napon 0,39 L/L iszap értéket mértem, a csökkenés a kísérlet végéig folytatódott. A titrált savtartalom legalacsonyabb értéke (1519 mg/L, pH=8,17) a 16. napon jelent meg, majd lassan emelkedett a 29. napig, majd a 49. napon elérte a legmagasabb koncentrációt, 6904 mg/L-t (pH=5,62) (25. ábra). A savszint a továbbiakban viszonylag magasan maradt, csökkenés a 81. napon következett be, majd a kísérletet 3782 mg/L (pH=5,85) érték mellett fejeztem be. A metántartalom a kísérlet elején kismértékű növekedést mutatott (4,89% többlet), a 26. naptól kezdve viszont folyamatos csökkenést tapasztaltam. A 89. napon 50,88% volt a biogáz átlag metántartalma.



25. ábra A metánhozam és titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a 7,2% TS kísérletben

A C/N arányok meghatározása alapján (14. táblázat) az alacsonyabb metántermelés nem magyarázható a nitrogén felhalmozódásával.

Az alacsonyabb C/N arányokat a 7,2% TS kísérletben tapasztaltuk, ami összefüggésben áll a kisebb mértékű kimosódással és a magasabb metánhozammal.

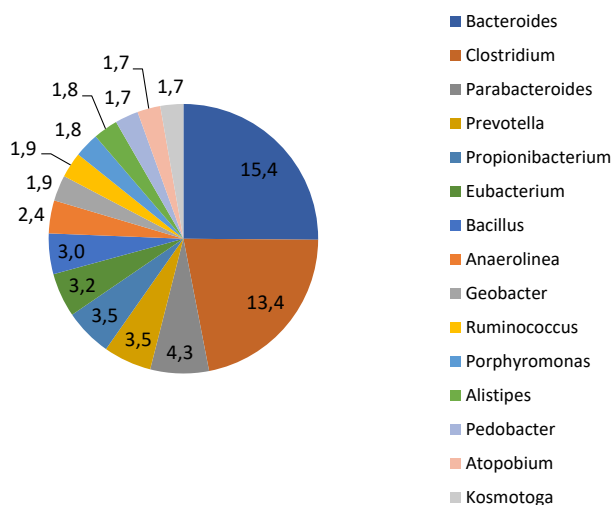
14. táblázat a 3,8 és 7,1% TS kísérlet iszapjainak C%, N% és C/N arányai

Napok	3,8 TS%			7,2 TS%		
	C%	N%	C/N	C%	N%	C/N
12.	29,9	3,38	8,84	30,29	3,46	8,75
25.	56,05	1,44	38,92	47,35	2,81	16,85
43.	71,96	0,86	83,67	64,08	2,02	31,72
60.	65,17	0,92	70,84	66,84	3,27	20,44

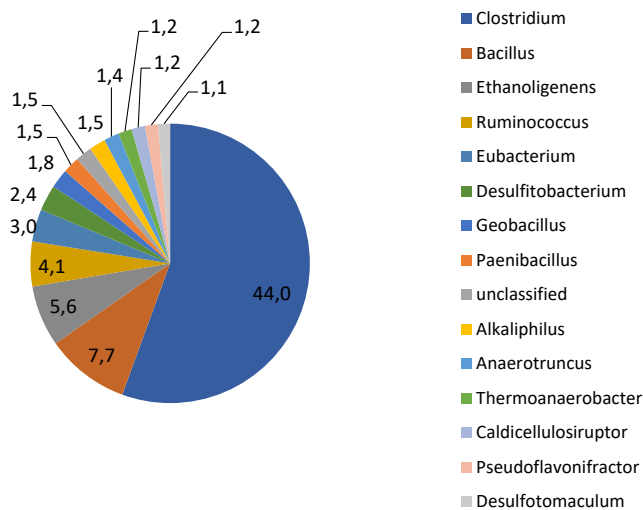
Metagenomikai értékelés

A mikrobiális közösségek szerkezeti átalakulásának nyomon követéséhez két mintavételi időpontot határoztam meg: a kontroll mintát a kiindulási iszából vettük, valamint a 3,8 és 7,2% TS kísérletek befejező napján (90. nap).

Általánosságban elmondható, hogy a bakteriális diverzitás a kezdeti mintában magasabb volt, mint a 90. napon vett mintákban. A legnagyobb számban a *Bacteroides* törzs jelent meg a kiindulási iszapban (26. ábra), a 3,8% TS kísérletben azonban szinte teljesen eltűnt, a teljes közösség csupán 0,6%-át adta (27. ábra).

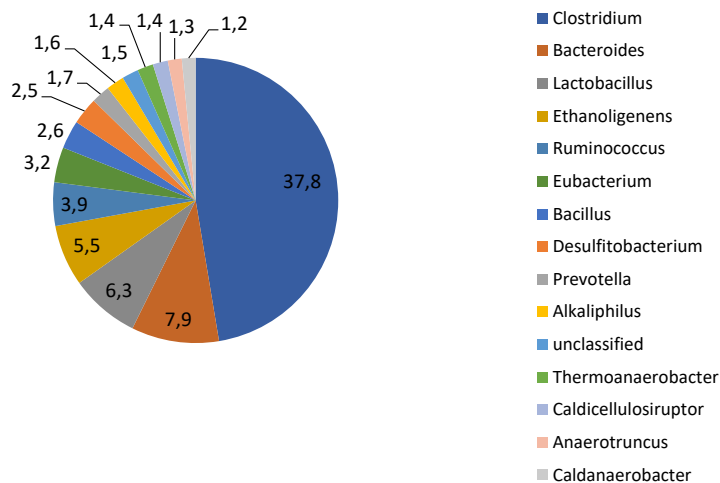


26. ábra Baktérium közösség százalékos összetétele a kiindulási iszapban



27. ábra Baktérium közösség százalékos összetétele a 3,8% TS kísérlet 90. napján

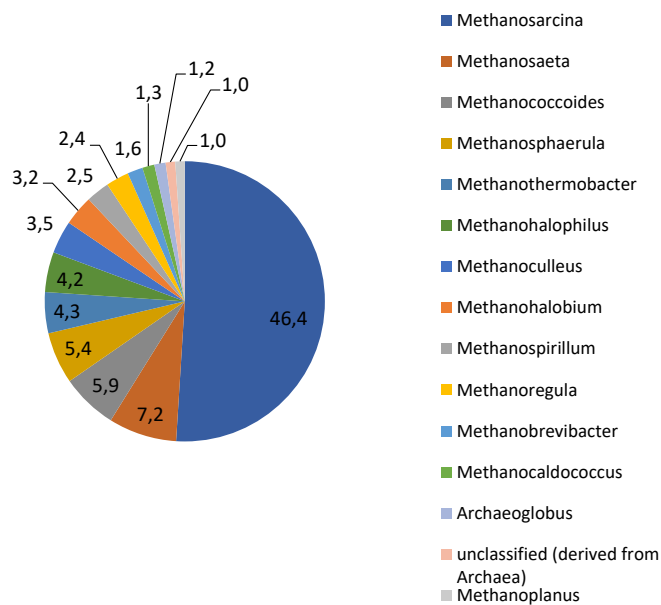
A legnagyobb növekedést a *Firmicutes* törzsnél – amelyet a *Clostridium* nemzetség képviselt – tapasztaltam 13,4%-ról 44,0%-ra emelkedett a jelenléte. Kisebb mértékű változás volt megfigyelhető a *Bacillus* nemzetség esetében (3,0%-ról 7,7%-ra), a *Parabacteroides* nemzetség eltűnt az iszapból. A 7,2% TS kísérlet végi iszapban a *Bacteroidetes* törzs jelenléte a fele volt a kezdeti iszapban mért értékhez képest, a *Clostridium* nemzetség viszont megháromszorozódott, 13,4%-ról 37,8% lett a teljes közösségre vonatkozóan. A *Parabacteroides* nemzetség ebben a kísérletben is eltűnt, míg a *Lactobacillales* törzs jelenléte 0,9%-ról 6,3%-ra emelkedett (28. ábra).



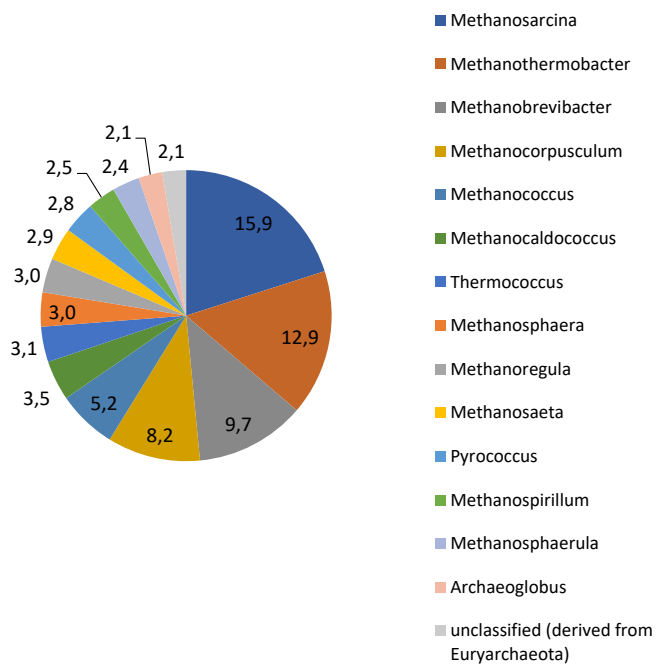
28. ábra Baktérium közösség százalékos összetétele a 7,2% TS kísérlet 90. napján

A metagenomikai analízis során vizsgáltam a metanogén archaea kommuňa összetételét is. A baktérium közösség sokféleségének csökkenésével ellentétben az archaeák tekintetében a kiindulási iszap kisebb változatossággal rendelkezett a kísérlet végén vett mintákhoz képest (29. ábra). A 3,8% TS kísérletben jelentős csökkenést tapasztaltam a *Methanosarcina* nemzetség abundanciájában: 46,4%-ról 16,0%-ra csökkent. Hasonló tendenciát figyeltem meg a *Methanosaeta* and *Methanococcoides* nemzetségeknél is; itt 7,2%-ról 2,9%-ra valamint 5,9%-ról 1,4%-ra történt csökkenés (30. ábra). Érdekes változás volt, hogy jelentős növekedés jelent meg a *Methanothermobacter* nemzetség esetében (4,3%-ról 12,9%-ra). A 3,8% TS fermentációban *Methanosarcinaceae* család jelenlétében nagyobb változás állt be, 46,4%-ról 9,4%-ra esett az abundancia a teljes archaea közösségre számolva (31. ábra). A *Methanosaeta* nemzetség esetében kisebb mértékű növekedést 7,2% - 11,0% észleltem, míg a *Methanothermobacter* nemzetség 4,3%-ról 12,9%-ra növekedett.

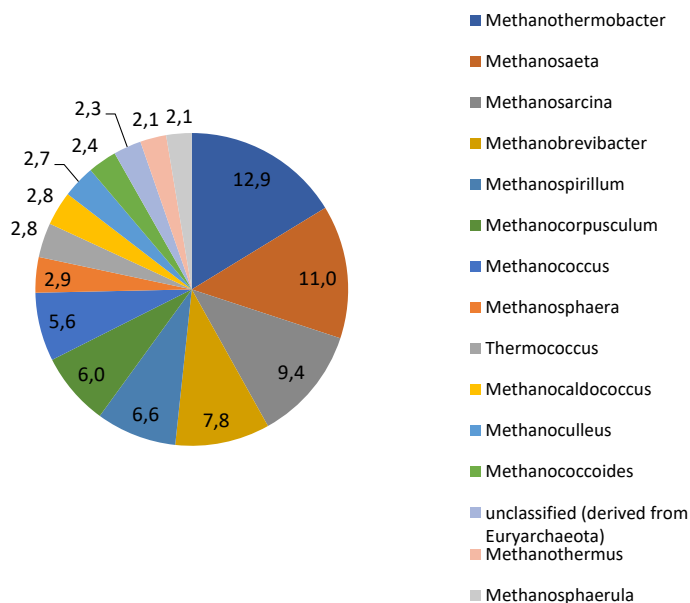
Összességében elmondható, hogy a kísérletek végén tapasztalt metántartalom erőteljes csökkenését a metanogén archaea közösség átalakulása kísérte.



29. ábra Archaea közösség százalékos összetétele a kiindulási iszapban



30. ábra Archaea közösség százalékos összetétele a 3,8% TS kísérlet 90. napján



31. ábra Archaea közösség százalékos összetétele a 7,2% TS kísérlet 90. napján

A stabil szakasz tartózkodási ideje (HRT) mindkét esetben túl alacsonynak bizonyult a metanogén archaea közösség reprodukciójához (3,8 TS%: 6 nap, 7,2 TS%: 12 nap). Ez a tvFA akkumulációjához és alacsony pH értékekhez (5,0-5,5) vezetett, a túlhígított rendszerben a szintrópus interakciók hiányát eredményezte. Az eredmények alapján elmondható, hogy a fermentáció gátlását az alacsony HRT és alacsony pH érték okozhatta.

3.2.3 Hármes kofermentáció

Cukorrépa préselt szelet hármes kofermentációja

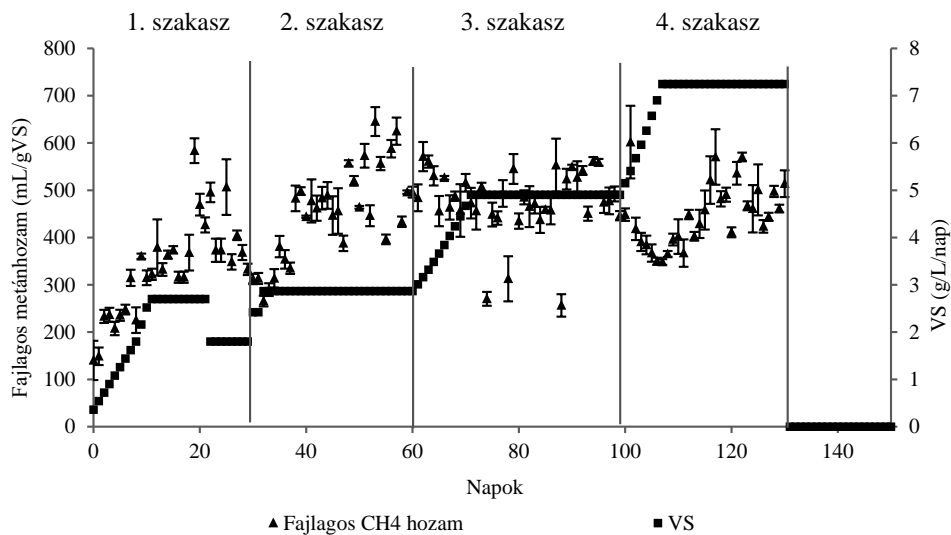
A SBPP-*Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentáció során a gyakorlatban a SBPP monofermentációja során (Magyar Cukor Zrt. biogáz üzeme, Kaposvár) alkalmazott maximális szervesanyag terhelés (7,2 g VS/L/nap) elérése, valamint az alapanyag összetétel hosszú távú alkalmazhatóságának vizsgálata volt a cél. A SBPP monofermentációjáról ismerjük, hogy magas metán kihozattal, stabil lebontással rendelkezik, ugyanakkor az alacsony nitrogén tartalma pótlólagos nitrogénforrást tesz szükségesszerűvé. Vizsgálatom tárgya arra is irányult, hogy a szükséges nitrogén kiegészítést ki lehet-e váltani mikroalga használatával.

A kísérletben alkalmazott három összetevőből álló koszubsztrát mixet a szárazanyagra vonatkoztatott szervesanyag tartalmuk (VS) alapján állítottam össze úgy, hogy a fő alapanyag 2/3 részt a koszubsztrátok összesen 1/3 részt tettek ki, ennek megfelelően a koszubsztrát mix pontos megoszlása: 70% SBPP, 20% *Chlorella vulgaris*, 10% használt sütőolaj volt.

A laborkísérleteket három párhuzamos, illetve két darab kontroll fermentorral futattam. A kontroll üvegek kizárólag SBPP-tel működtek. A napi adagolást minden esetben mikroelem utánpótlással egészítettem ki a 3.1. fejezetben leírtak szerint.

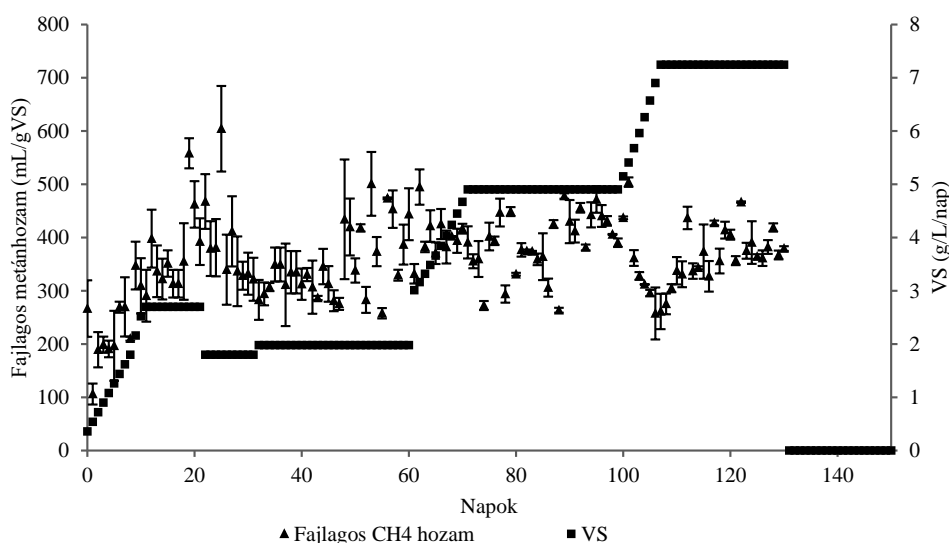
A lebontás során a metántermelés fokozását vártam, a folyamatot meghatározó rendszerparaméterek: titrált savtartalom, pH, KOI, NH_4^+ , összes P, és metántartalom változását heti rendszerességgel monitoringgal követtem nyomon.

A 32. ábrán a 150 napos kísérlet fajlagos metántartalom változása látható a szervesanyag adagolás függvényében. Az adaptációs időt (SBPP adagolása 30 napig, a célterhelés 37,5%-a) követően kezdtem adagolni a *Chlorella vulgaris* és sütőolaj koszubsztrátokat 2,4 gVS/L/nap terheléssel, amit a maximális terhelés 38,8%-ára emeltem (2,9 gVS/L/nap) és tartottam a 60. napig. Ezt követően tovább emeltem az adagolást, a 70. napon értem el a 68,1%-ot (4,9 gVS/L/nap), ezt ismét egy stabil szakasz követett. A 100. napon indítottam az utolsó szerves anyag terhelés növelést, így a 107. napon elértem a tervezett maximális, 100% adagolást (7,2 gVS/L/nap), (HRT=33nap), ezt 30 napig tartottam, majd 20 napos kiürülési szakasszal zártam a kofermentációt.



32. ábra A SBPP hármaskofermentáció fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében

A kontroll minta esetében a kísérlethez lényegében megegyező ütemben történt a szervesanyag adagolása (33. ábra).



33. ábra A SBPP kontroll fermentáció fajlagos metánhozamainak (mL/gVS) változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében

Az értékelés során az egyes felterhelési szakaszokat külön-külön elemeztem, a szakaszokra vonatkozó átlag fajlagos metán kihozatali eredményeket a 15. táblázat tartalmazza.

Az 1-es szakaszban szignifikáns különbség nem tapasztalható, hiszen itt az adaptációs időszakban minden minta kizárólag SBPP-t kapott megegyező terheléssel. A 2-es, 3-as, 4-es szakaszokban a koszubsztrát adagolás eredményeképpen már szignifikáns növekedés figyelhető meg a kontroll mintához képest. A koszubsztrátok hatására a fajlagos metán kihozatal megnövekedett, a legnagyobb többlet, 27,69% a 2-es szakaszban (38,8% szervesanyag terhelés) adódott, a 3-as, 4-es szakaszokban is 20% feletti emelkedést tapasztaltam.

A kísérlet különböző szakaszaiban mért fajlagos metántermelés mind a kísérleti, mind a kontroll mintákban a 68,1%-os terhelési szint esetében volt a legnagyobb. Ezek az értékek szignifikánsan különböztek a többi szakaszban mértektől. A teljes terhelési szakaszra vonatkozóan a kontroll adatokhoz képest a SBPP hármas kofermentációban 18,42% fajlagos metántöbbletet mértem.

15. táblázat A SBPP hármas kofermentáció és kontroll minták fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékei a felterhelési szakaszok szerint (az átlagértékeknél szereplő eltérő nagybetűk azonos sorban, míg eltérő kisbetűk azonos oszlopban szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

Fajlagos metánhozam (mL/gVS)	SBPP hármas kofermentáció	Kontroll	Eltérés (%)
1. szakasz (1-29. nap)	337,4 ^{A,a}	336,0 ^{A,a}	0,43
2. szakasz (30-60. nap)	445,9 ^{A,b}	349,2 ^{B,ab}	27,69
3. szakasz (61-99. nap)	478,7 ^{A,c}	393,6 ^{B,c}	21,63
4. szakasz (100-130. nap)	447,1 ^{A,b}	364,5 ^{B,b}	22,66

A kiürülési időszakban (130-150. nap) a koszubsztrát adagolás hatására az iszaptérfogatra számított metánhozam (L/L iszap) 23,73%-kal, a teljes fermentációra vetített érték 27,29%-kal volt magasabb.

A tVFA értékek alapján elmondható, hogy a rendszer végig stabil volt, jelentős emelkedést nem tapasztaltam (16. táblázat). A kontroll mintához képest a kísérleti minták savtartalma magasabb volt ugyan, de a korábbi tapasztalatok alapján SBPP lebontása során megállapított 6000 mg/L gátlási küszöbértéket nem érte el egyik szakaszban sem.

16. táblázat A SBPP hármas kofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag tVFA értékei (mg/L)

Napok	tVFA	
	SBPP hármas kofermentáció	Kontroll
30.	1314	1612
34.	1792	1545
40.	1837	1814
46.	1702	1646
68.	1881	1478
75.	1702	1396
83.	2016	1277
90.	2060	1571
99.	2060	1262
104.	2284	1262
110.	2464	1411
117.	2642	1314
125.	2866	1262

A viszonylag magas kezdeti KOI értékek (11 056 mg/L) már a kísérlet adaptációs periódusában csökkenni kezdtek mind a kísérleti, mind a kontroll iszapokban.

A kísérleti fermentorokban a 90. napon mért eredmények után folyamatosan enyhe emelkedést észleltem, a legmagasabb értéket a maximális terhelés stabil szakasza során mértem, 14 992 mg/L-t. Hasonló tendenciát figyeltem meg a kontroll mintákban is, a legmagasabb KOI a 125. napon mért szint volt. A tVFA tartalmakkal párhuzamosan a kísérlet teljes időtartama alatt végig alacsonyabb KOI értékek jelentek meg a kísérleti mintákban.

Az NH_4^+ koncentrációk alapján megállapítható, hogy a kísérleti iszapban egy kiugró értéket regisztráltam a 110. napon: 6623 mg/L (17. táblázat), azonban a következő mérés során láttam, hogy jelentős mértékben lecsökkent, így nem volt szükség a rendszerbe történő beavatkozásra. A kontroll mintákban végig alacsony ammónium értékeket mértem. Az összes foszfortartalom tekintetében jelentős változásokat nem tapasztaltam egyik minta esetében sem.

17. táblázat A SBPP hármas kofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag KOI, NH_4^+ és összes foszfor értékei (mg/L)

Napok	KOI		NH_4^+		öP	
	SBPP	Kontroll	SBPP	Kontroll	SBPP	Kontroll
0.	11056		2545		42	

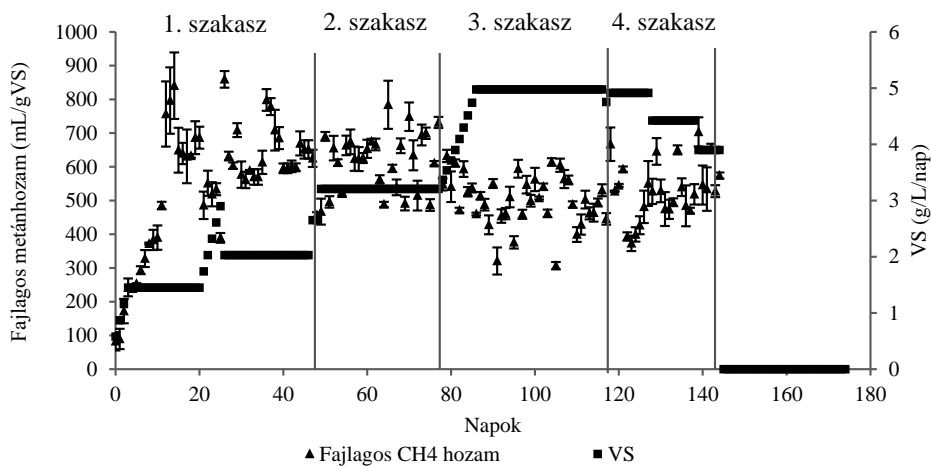
41.	9590	8423	2462	2246	42	43
47.	7342		2526		28	
61.	7860	7022	3158	1765	43	39
68.	6961	5403	2795	1363	40	39
75.	6407	4156	3086	1618	82	41
83.	6580	4104	2392	1599	81	41
90.	7308	4987	3301	1392	67	41
99.	7768	4411	2895	1275	46	33
104.	8676	5445	3337	1326	44	38
110.	10854	6281	6623	1962	50	43
117.	9220	5935	2205	838	51	38
125.	14992	7405	3577	950	50	42

Kukoricaszilázs hármes kofermentációja

Ebben a kísérletben a SBPP hármes kofermentáció mintájára összevetés céljából hazánkban egyik legnagyobb tömegben rendelkezésre álló, általánosan használt alapanyagot, a kukoricaszilázst vizsgáltam. A Vágfüzesen található biogáz üzem beszerzési ártól függően használ alapszubsztrátként kukoricaszilázst ill. SBPP-t, ezért létjogosultságát éreztem a két fő alapanyag összehasonlításának.

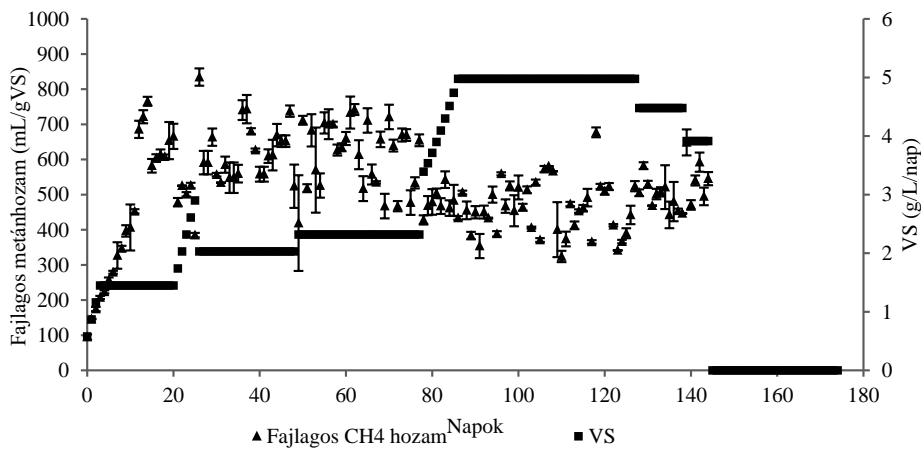
A kísérletben alkalmazott szubsztrátmix összetétele a következő volt: kukoricaszilázs-*Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj. A kofermentáció kivitelezése a korábban ismertetett SBPP hármes kofermentációval megegyezett, a szubsztrátok megoszlása (70%-20%-10% VS alapján) is azonos volt. A cél a maximális szerves anyag terhelés meghatározása volt a metán kihozatali és analitikai paraméterek változásának elemzésén keresztül.

A kísérletet ebben az esetben is egy adaptációs szakasszal indítottam, amely 46 napig tartott, mivel a kukoricaszilázs magas HRT-vel rendelkezik, nehezebben bontható alapanyag a SBPP-hez képest. A kosubsztrátok adagolását a 47. napon kezdtem meg 3,2 gVS/L/nap terheléssel (34. ábra). A 29 napig tartó stabil szakasz folyamán arra a következtetésre jutottam, hogy a rendszer stabil, a tVFA (~2000 mg/L) és KOI (~12 000 mg/L) koncentrációk normál működést jeleztek, így tovább emeltem a napi szervesanyag adagolást 5 gVS/L/nap-értékre. A fajlagos metántermelésben a terhelés növelése során már csökkenést tapasztaltam (átlagosan 581 mL/L/nap), amely a rendszer túlterheltségét mutatta. A stabil periódus alatt a kihozatal tovább csökkent (489 mL/L/nap), így az adagolás több lépcsőben való visszavételét hajtotta, végre a 117. és 144. napok között, 3,9 gVS/L/nap-ra. A visszavétel pozitív hatást gyakorolt a fajlagos metánhozamra, értéke átlagosan 525 mL/L/nap szintre emelkedett. A KOI koncentrációk azonban meghaladták a 14000 mg/L értéket, a 138. napon pedig a 17000 mg/L-t így a 145. napon megszüntettem a rendszer szervesanyag terhelését.



34. ábra A kukoricaszilázs hármes kofermentáció fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében

A kontroll kísérletben a szerves anyag terhelés hasonló ütemben zajlott (35. ábra).



35. ábra A kukoricaszilázs kontroll fermentáció fajlagos metánhozam átlagértékeinek (mL/gVS) változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében

A szakaszonkénti értékelés alapján megállapítható, hogy a fajlagos metánhozamra a kofermentációnak a felterhelés kezdeti szakaszában (2. szakasz) nem volt hatása, ugyanakkor a kísérlet további szakaszaiban szignifikánsan növekedett a kihozatal (18. táblázat). A legmagasabb különbséget, 8,43% a 3. szakaszban mértem, amikor a túlterhelés következtében az előző szakaszhoz képest a fajlagos metánhozam értékek jelentősen visszaestek. Ez alapján a szervesanyag terhelés maximális értékét a kukoricaszilázs hármes kofermentációja esetében 4 gVS/L/nap alatt célszerű

tartani (HRT= 80 nap). Ezt támasztják alá az iszap KOI koncentrációi is, amelyek a 3. szakaszban folyamatosan növekedtek (21. táblázat).

A teljes kísérletre vonatkozóan a fajlagos metán kihozatal 3,47%-kal haladta meg a kontroll értékeket.

18. táblázat A kukoricaszilázs hármaskofermentáció és kontroll minták fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékei a felterhelési szakaszok szerint (az átlagértékeknél szereplő eltérő nagybetűk azonos sorban, míg eltérő kisbetűk azonos oszlopban szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

Fajlagos metánhozam (mL/gVS)	Kukoricaszilázs hármaskofermentáció	Kontroll	Eltérés (%)
1. szakasz (1-46. nap)	528,8 ^{A,a}	520,8 ^{A,a}	1,54
2. szakasz (44-77. nap)	605,6 ^{A,b}	614,6 ^{A,b}	-1,47
3. szakasz (78-116. nap)	508,1 ^{A,c}	468,6 ^{B,c}	8,43
4. szakasz (117-144. nap)	525,3 ^{A,a}	491,2 ^{B,ac}	6,95

Összehasonlítva a SBPP kísérlettel általánosságban elmondható, hogy a *Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentációban történő alkalmazása a rövidebb HRT-vel rendelkező alpanyag esetében előnyösebb hatással bír a fajlagos metán kihozatalra. Vélhetően a kukoricaszilázs esetében egy kevésbé intenzív felterhelés során a kofermentáció nagyobb különbségeket eredményezhet a metántermelésben.

Habár a kukoricaszilázs esetében a fajlagos metánhozamok (542 mL/gVS) jelentősen meghaladták a SBPP értékeit (427 mL/gVS), az alacsonyabb terhelhetőség miatt a iszapterfogatra számított metántermelési értékek a SBPP esetében voltak magasabbak (SBPP: 2070 L/L iszap – kontroll: 1640 L/L iszap; kukoricaszilázs: 1607 L/L iszap – 1438 L/L iszap). Ennek értelmében a kofermentáció egyértelműen előnyösnek bizonyult a gáztermelés intenzitásának növekedése révén, amely a nagyüzemi termelés szempontjából kulcskérdés.

A kofermentáció további előnye, hogy a megtermelt biogáz metántartalmában is szignifikáns növekedés mutatkozott. Ez a hatás a SBPP esetében fokozottabban jelentkezett (19. táblázat).

19. táblázat A termelt biogáz átlag metántartalmai a teljes kísérletekre vonatkoztatva (mL/L/nap) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

	CH ₄	
SBPP	62,90 ^a	56,76 ^c
Kukoricaszilázs	60,25 ^b	56,48 ^c

A titrált savtartalom a SBPP kísérlethez hasonlóan alakult, a kísérleti iszapokban végig magasabb volt a koncentráció, mint a kontroll mintákban (20. táblázat). Ez a különbség fedezhető fel az ammónium értékek esetében is, hiszen a két paraméter egymással szoros összefüggésben áll, az emelt NH₄⁺ koncentráció (mikroalga adagolás) a rendszer az emelt tVFA szintekkel kontrollálja.

20. táblázat A kukoricaszilázs hármaskofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag tVFA értékei (mg/L)

	tVFA	
Napok	Kukoricaszilázs	Kontroll
47	2010	1612
55	1926	1612
60	1971	1949
63	2150	1612
89	1881	1612
93	2195	1732
103	2015	1531
114	2240	1396
120	2060	1463
131	2285	1411
138	2351	1463
145	2418	1262

Az NH_4^+ értékek a teljes kísérlet alatt nem emelkedtek jelentősen sem a kísérleti sem a kontroll mintákban, a gátlási küszöb alatt maradtak. Az összes foszfor tartalmak folyamatos növekedést mutattak mindkét esetben, ennek oka a szervesanyag felhalmozódása, amelyet az emelkedő KOI koncentrációk is jeleztek (21. táblázat).

21. táblázat A kukoricaszilázs hármaskofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag KOI, NH_4^+ és összes foszfor értékei (mg/L)

Napok	KOI		NH_4^+		öP	
	Kukorica szilázs	Kontroll	Kukorica szilázs	Kontroll	Kukorica szilázs	Kontroll
0.	11056		2545		42	
57.	12097	12501	2579	2328	40	42
63.	12780	8935	2494	2252	34	32
82.	11048	11689	2869	2227	64	49
89.	11311	10702	3008	1921	103	60
93.	11706	11429	3067	1972	103	71
103.	12572	10390	3262	1612	118	92
114.	14774	11870	2455	1436	126	97
120.	14084	10618	3231	1478	138	83
131.	10672	8495	2487	928	129	87
138.	17678	13286	3485	1271	135	93

3.3 Mikroelem adagolás hatásainak vizsgálata anaerob fermentációra és a fermentiszap ökotoxikológiai értékelése

A dolgozat jelen fejezetében a kiejedt fermentiszap hasznosíthatóság lehetőségeit elemeztem. Ez a kérdés azért lehet fontos és aktuális, mivel a mezőgazdaság számára a műtrágyahasználat alternatívájaként környezetbarát megoldást kínál. A laboratóriumi előkísérletek során célom az volt, hogy megállapítsam, mely tesztek alkalmasak anaerob fermentációból származó iszapok

ökotoxikológiai értékelésére, valamint kiindulási alapot szolgáltatassak további kisparcellás kísérletek elvégzéséhez.

Munkám során metán kihozatali vizsgálatokat végeztem a SBPP fermentációján, a folyamat során különböző kísérleti elrendezésben mikroelem utánpótlást végeztem, célom a metán kihozatalra gyakorolt pozitív hatás igazolása volt. A mikroelem adagolás megválasztása a gyakorlatban (Kaposvár és Vágfüzes) alkalmazott eljáráshoz igazodott, melynek ökotoxikológiai hatásai feltárára vártak. A fermentáció során folyamatosan monitoroztam a metántartalom és savtartalom változásait is.

Vizsgáltam továbbá a fermentiszap nyomelem adagolás fitotoxicitási aspektusait fehér mustár (*Sinapis alba*) gyökérnövekedés gátlásán és tavaszi árpa (*Hordeum vulgare* L.) biomassza termelésén végzett ökotoxikológiai tesztekkel.

Annak érdekében, hogy nyomon tudjam követni a fémek felhalmozódását a tavaszi árpa kísérlet esetében elemeztem az iszap, a talaj és az árpa mikroelem összetételét is. Az eredmények összehasonlíthatósága érdekében kukoricaszilázs anaerob fermentációjából származó iszapokat is vizsgáltam, ebben az esetben metán kihozatali vizsgálatokat nem végeztem. Eredményeimből készült publikáció az „Applied Ecology and Environmental Research” című lektorált folyóiratban megjelenés alatt áll. A kukoricaszilázsra vonatkozó kutatási eredményeket a MKE XIII. Környezetvédelmi Analitikai és Technológiai Konferencia előadás során közöltem.

3.3.1 A mikroelem adagolás cukorrépa préselt szelét metán kihozatalára gyakorolt hatásai

Kísérleti elrendezés

- „kezeletlen” minta: az alapanyaghoz nem adagoltunk mikroelemet
- „kezelt” minta: az alapanyaghoz a gyakorlatban alkalmazott dózisban (2 µL/L/nap) mikroelem utánpótlást adagoltunk
- „kezelt+Fe” minta: mikroelemeken kívül vasat is adagoltunk (2 µL/L/nap mikroelem + 82µL/L/nap Fe(III)-klorid 40%-os oldata)

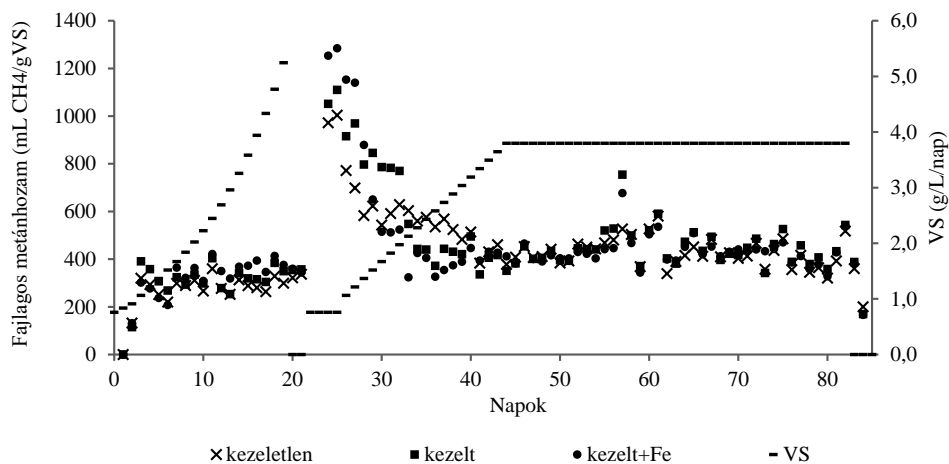
A mikroelem utánpótló oldat pontos összetétele a 3.1. fejezetben olvasható.

A 36. ábrán a mikroelem adagolás anaerob fermentációra gyakorolt hatása látható.

A felterhelési szakaszban a „kezeletlen”, „kezelt” és „kezelt+Fe” minták esetében végig kiegyenlített volt a fajlagos metántermelés, a különbségek az újrateherelési fázisban jelentek meg. E periódus első hét napján 22,2%-kal, és 32,3%-kal növekedtek az értékek, majd csökkentek 6,5%-kal és 29,3%-kal a „kezelt” és „kezelt+Fe” fermentorokban. A stabil szakasz alatt a viszonylag alacsony szervesanyag terhelés (3,8 gVS/L/nap) mellett a mikroelemek hatása mérsékelt volt (5,8% és 1,8%).

A kezeléseik hatásai nem okoztak szignifikáns különbségeket a termelt biogáz metántartalmában. Az átlag metánértékek és tartományok a következők voltak: 53,95% (51,68-56,74%); 54,19% (51,66-58,32%) és 53,49% (50,36-58,69%) a „kezeletlen”, „kezelt” és „kezelt+Fe” mintákban.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a fajlagos metántermelés (ml CH₄/g VS) 11,0%-kal a „kezelt” és 11,7%-kal a „kezelt+Fe” minta esetében magasabb volt a „kezeletlen” mintához viszonyítva (22. táblázat). Az értékek összhangban állnak Wall *et al.*, (2014) eredményeivel, a kutatásuk alapján fűszénázis monofermentációja során a fajlagos metán kihozatalban 12%-os többletet értek el kobalt, nikkel és vas adagolás eredményeként.



36. ábra Cukorrépa préselt szelet különböző kezelésű anaerob fermentációs kísérleteinek fajlagos metánhozam átlagértékei a szerves anyag adagolás (VS) függvényében. A kezeletlen csoport esetében a szórás értékek: 0 - 420,16; a kezelt csoportnál: ; a kezelt csoportnál: 0 - 346,46; a kezelt+Fe csoport esetében 0 - 753,59

22. táblázat Fajlagos metánhozamok átlagértékei az anaerob fermentáció alatt (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

Fajlagos metánhozam (mL CH ₄ /gVS)	„kezeletlen”	„kezelt”	„kezelt+Fe”
	403,8±4,5 ^a	448,3±9,9 ^b	451,1±9,2 ^b

Az iszapok

kezdeti titrált savtartalmi értéke 2400 mg/L volt. A szervesanyag terhelés emelésével a tVFA értékek is emelkedtek, azonban a 15. napig 4500 mg/L koncentrációt nem érték el. A kísérlet 20. napján (5,2 gVS/L/nap) a savértékek drasztikusan megemelkedtek 12496±1452 mg/L, 11421±917 mg/L, és 9943±1211 mg/L szintre a “kezeletlen”, “kezelt” és “kezelt+Fe” mintákban. A VS adagolás szüneteltetésével a tVFA koncentrációk csökkentek, így a 22. napon mérsékelt ütemű újrateljesítési szakasszal folytathattam a kísérletet. Ezt követően a savtartalmak gyorsan regenerálódtak és a fermentáció végéig 2500-3000 mg/L szinten maradtak.

Hasonló megfigyeléseket tettek *Wilkie et al., (1986)*, akik nikkelt, kobalt, molibdén és szelén tartalmú mikroelem utánpótlást végeztek elefántfü (*Pennisetum purpureum*) anaerob fermentációja során, a 40%-kal megemelkedett metántermelését a tVFA koncentrációk csökkenése kísérte.

A degradáció szempontjából legfontosabb kémiai paramétereket (KOI, NH₄⁺ és oldott foszfor) kéthetente ellenőriztem. A különböző kezelési csoportok között nem állapítottam meg szignifikáns különbségeket.

A kísérlet végén a kiejert fermentiszapok összegyűjtésre kerültek további ökotoxikológiai vizsgálatokhoz. Az iszapok főbb paramétereit a 23. táblázat foglalja össze.

23. táblázat A “kezeletlen”, “kezelt” és “kezelt+Fe” kísérlet iszapjainak KOI, NH₄⁺ és oldott foszfor átlagértékei (mg/L)

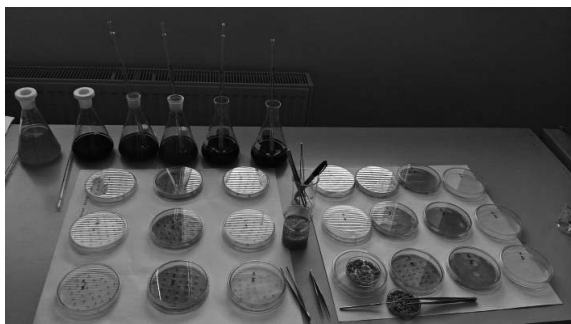
	KOI	NH ₄ ⁺	oldott P
„kezeletlen”	4920	1457	40
„kezelt”	5104	1422	36
„kezelt+Fe”	5157	1349	35

3.3.2 Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

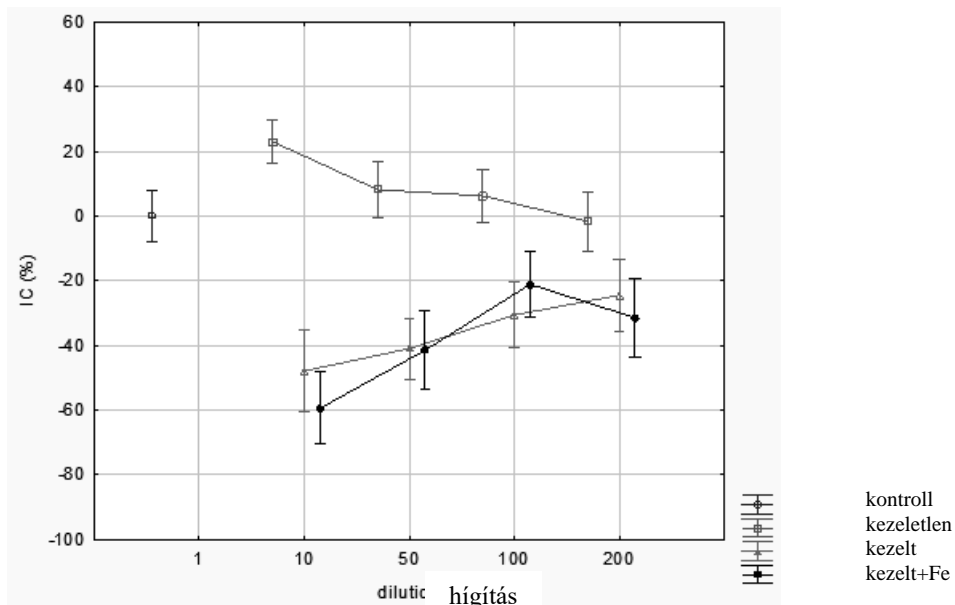
A mikroelemekkel kiegészített anaerob iszapok gyökérnövekedésre gyakorolt hatásait fehér mustár (*Sinapis alba*) tesztszervezeten elemeztem. Az eltérő kezeléseket mellett különböző hígítási sorokat határoztam meg. A iszapokat 3 párhuzamos mérésrel 10x 50x 100x és 200x hígítási arányokban vizsgáltam. Kontroll mintaként a magokat hígító vízzel kezeltem (2. kép). A mintaelőkészítési eljárás, a hígítóvíz összetétele, az elvégzett ökotoxikológiai teszt főbb paraméterei és a számítási módszer a 3.4. fejezetben olvashatóak.

Az előzetes tesztek alapján a minták negatívak voltak, mivel az inhibíciós hatás mértéke kevesebb volt 30%-nál, valamint a stimuláció 75%-nál alacsonyabb volt a kontroll mintához (hígító vízzel kezelt) képest. Így további tesztelésre nem volt szükség (STN 83 8303:1999).

Az eredmények alapján elmondható, hogy a legerősebb stimuláló hatás (IC: -59,41%) 10x hígítás mellett tapasztaltam a „kezelt+Fe” minta esetében (37. ábra). A kezeletlen minta tesztei azt mutatták, hogy csökkenő gátló hatás jelenik meg a hígítási arány növekedésével.



2. kép A fehér mustár gyökérnövekedés gátlási tesztje



37. ábra Gyökérnövekedés gátlás IC% értékei különböző kezelésű SBPP minták esetén a hígítás függvényében (0-100 IC%: gátlás, 0 - -100 IC%: stimuláció)

Annak érdekében, hogy a minták egymáshoz viszonyított kapcsolatát vizsgáljam Duncan tesztet alkalmaztam. A *Mellékletek 4.* alapján a kontroll minta és a kezeletlen, 50x hígítású minta közötti különbség 28,7%, a kontroll és kezeletlen, 100x hígítású minta között 38,2%, a kontroll és kezeletlen, 200x hígítású minta között 82,6% volt. Az összes többi minta szignifikáns különbséget mutatott a kontrollhoz képest.

3.3.3 Tavasz árpa biomassa hozam eredményei cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

A különböző kezelésű iszapok szántóföldre történő kijuttatásának talajflórára gyakorolt akut hatásait tavasz árpa (*Hordeum vulgare* L.) statikus ökotoxikológiai tesztjén keresztül vizsgáltam. A mintaelőkészítési eljárás és az elvégzett teszt legfontosabb paraméterei a 3.4. fejezetben részletesen olvashatóak. A kontroll mintákat desztillált vízzel kezeltem. A tenyészedényes vizsgálatok során (3. és 4. kép) célom a biomassa hozamra gyakorolt gátlás/stimuláció meghatározása volt, emellett mikroelem összetételi vizsgálatokat hajtottam végre, mely során a nehézfémek esetleges felhalmozódását kívántam nyomon követni a különböző mátrixokban (tavasz árpa, mesterséges termőtalaj, kezelésül szolgáló iszapok).

A vizsgálatok során megállapítottam, hogy a termelt biomasszára nézve inhibíciós hatás nem lépett fel egyik kezelés esetében sem. A pozitív stimuláló hatás mindegyik mintánál megfigyelhető volt (24. táblázat), a kontrollhoz viszonyítva a „kezelt+Fe” iszappal kezelt árpák biomassa hozamánál tapasztaltam a legerősebb hatást, -62,80%.

24. táblázat SBPP anaerob iszapok tavaszi árpa biomassza produkcóra gyakorolt hatásai (0-100 IC%: inhibíció, 0 - -100 IC%: stimuláció)

Minta	Stimuláció (%)			
	Átlag	Szórás	-95,00%	95,00%
„kezeletlen“	-10,17	0,12	9,65	10,68
„kezelt“	-26,37	0,27	25,22	27,51
„kezelt+Fe“	-62,80	0,76	59,54	66,06

Eredményeimhez hasonló megállapításokat tettek *Roig et al., (2012)*, akik tanulmányukban korrelációt mutattak ki különböző szennyvíziszapok nehézfém terhelése és az ökotoxikológiai hatások között. Ők azonban nagyobb jelentőséget tulajdonítottak a szerves szennyezőknek, pl. fenolok, a szerves komponensekhez képest.



3. kép Tavaszi árpa akut statikus ökotoxikológiai teszt



4. kép A kikelt tavaszi árpa magok

3.3.4 SBPP - Mikroelem analízis

A mikroelem adagolás okozta nehézfém akkumulációt a tavaszi árpa, annak mesterséges termőtalaja és az iszapok analízisén keresztül vizsgáltam.

Mikroelemmel kiegészített anaerob iszapok

Az anaerob fermentációt kiegészítő mikroelem kezelés az iszapokban emelt nyomelem szinteket eredményezett (25. táblázat). A kobalt koncentráció 14-16-szoros, a nikkelt 10-14-szeres, a bór 1,8-1,9-szeres, a vas 1,6-2,1-szeres növekedést mutatott. Annak ellenére, hogy az utánpótló oldat cinket is tartalmazott a vassal is kezelt iszapokban 33%-os csökkenést tapasztaltam. A jelenség jelenleg nem magyarázható, szakirodalomban nem találtam utalást ilyen összefüggésre.

A nehézfém tartalmak sokkal alacsonyabb szinteken maradtak a már említett *Roig et al., (2012)* munkájukban leírt 10-100-szoros koncentrációkhoz képest.

25. táblázat Az anaerob iszapok mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

mg/kgTS	Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
„kezeletlen” átlag	0,26	0,61 ^a	0,14 ^a	kha	0,03 ^a	kha	0,06 ^a	1,95 ^a	0,37 ^a	0,03 ^a	0,01 ^a	0,45 ^a

	szórás	0,030	0,090	0,010	-	0,002	-	0,02	0,18	0,07	0,01	0,002	0,13
"kezelt"	átlag	kha	1,13^b	0,10^a	kha	0,50^b	0,01	0,07^a	3,16^{ab}	0,30^a	0,42^b	0,01^a	0,41^a
	szórás	-	0,040	0,010	-	0,110	0,002	0,01	0,46	0,02	0,08	0,002	0,06
"kezelt+Fe"	átlag	kha	1,15^b	0,08^a	kha	0,42^b	0,01	0,05^a	4,09^b	0,41^a	0,32^b	0,01^a	0,30^a
	szórás	-	0,040	0,020	-	0,080	0,003	0,01	0,38	0,04	0,04	0,001	0,08
határérték*					20-40		-	1000-1750			300-400	750-1200	2500-4000

* Európa Tanács 86/278/EGK irányelve alapján

Tavaszi árpa kísérletben használt mesterséges termőtalaj

Az iszapok vizsgálata során nyert megfigyelésekhez hasonlókat tapasztaltam a termőtalaj elemzésekor is. Az alkalmazott szabvány alapján mesterségesen összeállított termőtalaj viszonylag magas kezdeti vas tartalmának következtében a különböző kezelések hatása nem érződött, a vas koncentrációja nem emelkedett jelentősen (26. táblázat).

A talaj fémkoncentrációjának átalakulása az iszap kezelések révén hasonló tendenciákat mutatott Carbonell et al., (2009) eredményeihez viszonyítva. A kommunális szennyvíziszapokon végzett kutatásaik során szignifikáns emelkedést tapasztaltak a talajok cink és réz koncentrációiban, melynek oka az iszapok magas Zn és Cu tartalma volt. Kadmium, króm és nikkelt esetében azonban nem volt szignifikáns eltérés.

26. táblázat A mesterséges talaj mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P<0,05 szinten)

mg/kgTS		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
kontroll	átlag	2688^a	0,94^a	10,8^a	0,03^a	1,21^a	4,97^a	3,80^a	3304^a	86,5^a	3,69^a	50,0^a	29,8^a
	szórás	189,4	0,09	0,50	0,00	0,14	0,42	0,24	448,	8,65	0,19	7,56	5,94
"kezeletlen"	átlag	3031^a	1,49^a	24,0^b	0,02^a	1,96^a	5,19^a	3,31^a	3253^a	84,3^a	4,00^a	24,6^a	28,3^a
	szórás	397,2	0,22	1,31	0,00	0,29	0,66	0,46	51,1	5,57	0,32	9,85	5,56
"kezelt"	átlag	2533^a	3,87^b	25,4^b	0,01^a	19,2^b	4,17^a	4,81^b	2971^a	95,1^a	10,5^b	33,0^a	30,3^a
	szórás	109,2	0,33	1,61	0,00	0,78	0,55	0,09	150,	2,98	1,38	15,3	2,04
"kezelt+Fe"	átlag	3103^a	3,17^b	35,9^c	0,03^a	13,9^c	4,52^a	4,69^b	3484^a	98,9^a	9,11^b	39,9^a	30,7^a
	szórás	775,0	0,51	4,36	0,00	1,92	0,40	0,04	110,	5,05	0,50	6,50	5,46
határérték*					1-3			50-140			30-75	50-300	150-300

* Európa Tanács 86/278/EGK irányelve alapján

Az Európa Tanács hatályos irányelve alapján mind az iszapminták, mind a mesterséges talajminták a megengedett határértékek alatti koncentrációkat mutattak a vizsgált elemekre vonatkozóan. A különböző elemek bioakkumulációs faktorai (BF), amelyeket a tavaszi árpa és a talaj minták

értékeinek hányadosából számoltam széles skálán változtak: 0,07-110,8 között (*Mellékletek 1.*). Kiugró érték figyelhető meg a kadmium esetében (több, mint 100-szoros) a mikroelem+vas adagolás következményeként, ami 10-szer magasabb volt a „kezelt” és a „kezeletlen” mintához képest. A magas érték feltehetően a vas és kadmium felhalmozódás szinergista hatásaként értelmezhető. Hasonló hatást tapasztaltam a kobalt és króm akkumulációjában. Az iszap mikroelem kezelése negatív hatást váltott ki a bór BF-ában.

Tavaszi árpa biomassza

A tavaszi árpában mért mikroelemek értékei a 27. táblázatban láthatóak. A kobalt koncentráció 4,2-szeresére nőtt a „kezeletlen”; 21-szeresére a „kezelt” és 40-szeresére a „kezelt+Fe” minták esetében. Hasonló tendenciát láthatunk a nikkeltartalomban is (1,7; 2,4 és 5,8-szoros emelkedés)

27. táblázat A tavaszi árpa minták mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

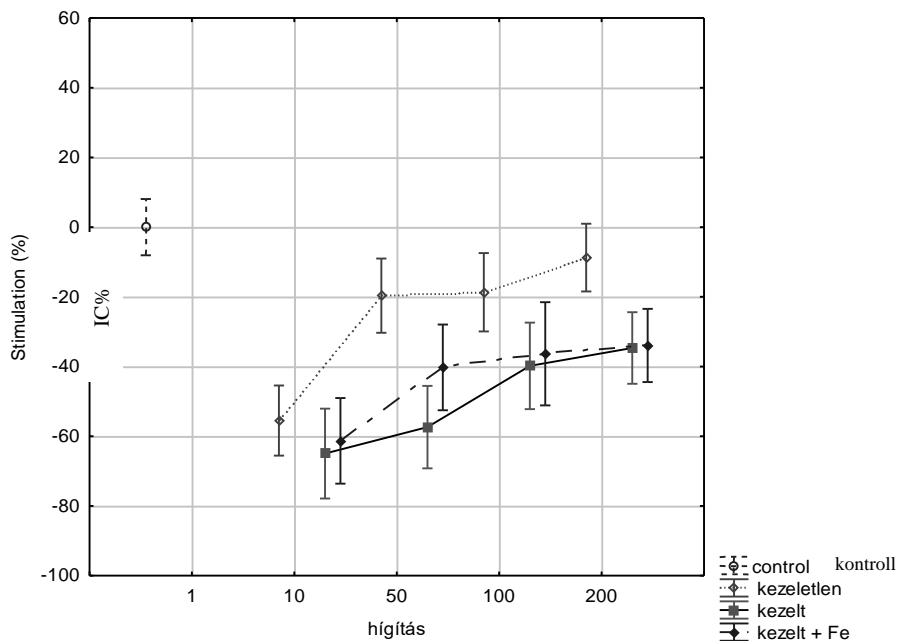
mg/kgTS		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
kontroll	átlag	408 a	47,7 a	25,4 a	0,00 a	0,16 a	1,19 a	19,1 a	350 a	105 ^a	0,69 a	5,76 a	104 a
	szórás	180,0	1,463	13,53	0,000	0,067	0,251	8,230	37,19	6,427	0,127	1,608	48,92
„kezeletlen”	átlag	213 a	53,2 a	17,0 a	0,27 a	0,67 a	0,91 a	10,3 a	249 a	66,4 b	1,20 ab	2,48 a	59,0 a
	szórás	35,37	3,374	1,908	0,151	0,020	0,028	4,669	16,17	8,187	0,511	0,851	12,89
„kezelt”	átlag	543 a	48,2 a	21,9 a	0,13 a	3,36 b	1,29 a	22,3 a	238 a	76,1 ab	1,66 b	4,53 a	84,8 a
	szórás	187,5	29,12	6,338	0,000	0,024	0,566	2,464	76,03	3,493	0,490	3,906	15,19
„kezelt+Fe”	átlag	423 a	38,8 a	16,7 a	2,95 b	6,35 c	3,77 b	17,7 a	325 a	75,1 ab	3,99 c	5,83 a	77,2 a
	szórás	144,7	0,635	0,014	0,563	1,726	1,626	0,103	33,28	7,504	0,749	0,289	7,025

Eredményeim alapján elmondható, hogy a SBPP anaerob fermentációja során alkalmazott mikroelem adagolás következménye megfigyelhető mind az iszap, mind pedig a talajok és tavaszi árpa nehézfém tartalmában.

3.3.5 Fehér mustár gyökernövekedés gátlási teszt eredményei kukoricaszilázs különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

Eredményeim azt mutatták, hogy a fehér mustár gyökernövekedésére minden esetben pozitív hatást fejtettek ki az alkalmazott fermentiszapok. A „kezeletlen” mintához képest a „kezelt” valamint a „kezelt+Fe” minták minden hígítási arány tekintetében magasabb stimulációs hatást eredményeztek.

Általánosságban megállapítható, hogy a hígítási arány növekedésével csökkent ez a stimuláló hatás. A „kezelt” minta 10x-es hígításnál figyelhető meg a legmagasabb stimuláció (-64,97 IC%, 38. ábra).



38. ábra Gyökernövekedés gátlás IC% értékei különböző kezelésű kukoricaszilázs minták esetén a hígítás függvényében (0-100 IC%: gátlás, 0 - -100 IC%: stimuláció)

A Duncan teszt alapján (Mellékletek 5.) a kontroll és a kezeletlen minta 200-szoros hígításnál a különbség 29,2% volt, a többi kombináció esetében a minták szignifikáns eltérést mutattak a kontrollhoz képest.

3.3.6 Tavaszi árpa biomassa hozam eredményei kukoricaszilázs különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

A tavaszi árpa biomassa termelésére a „kezeletlen” és „kezelt” minták gátló hatást fejtettek ki, a „kezelt+Fe” minta azonban már stimulációt (-89,4%) eredményezett (28. táblázat). A gátlás azonban a mikroelemmel kezelt minta esetében alacsonyabb értéket (23,80%) mutatott.

28. táblázat Kukoricaszilázs anaerob iszapok tavaszi árpa biomassa produkcióra gyakorolt hatásai (0-100 IC%: inhibíció, 0 - -100 IC%: stimuláció)

Minta	Inhibíció (%)				Stimuláció (%)			
	Átlag	Szórás	-95,00%	95,00%	Átlag	Szórás	-95,00%	95,00%
„kezeletlen”	42,63	1,63	40,50	44,76				
„kezelt”	23,80	1,49	22,61	24,99				
„kezelt+Fe”					-89,40	4,61	84,93	93,86

3.3.7 Kukoricaszilázs - Mikroelem analízis

A 4.3.4. fejezethez hasonlóan a kukoricaszilázs különböző mikroelem kezelésű iszapjait, a tavaszi árpa kísérlet mesterséges talajait, valamint a tavaszi árpa biomassa mikroelem összetételét is elemeztem.

Az iszapok vizsgálatakor szignifikáns változást csak a bárium értékek csökkenésében láttam (29. táblázat). A kadmium végig a kimutatási határ alatt jelent meg.

29. táblázat Az anaerob iszapok mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

mg/kg TS		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
"kezeletlen"	átlag	0,47_a	0,49_a	1,94^a	kha	0,90_a	0,01^a	0,10^a	9,17_a	0,23^a	0,61_a	0,01_a	0,48^a
	szórás	0,25	0,23	0,98	0,000	0,34	0,005	0,07	3,54	0,12	0,21	0,05	0,23
"kezelt"	átlag	0,1^a	0,61_a	2,25^a	kha	0,83_a	0,01^a	0,06^a	8,90_a	0,28^a	0,69_a	0,01_a	0,65^a
	szórás	0,09	0,17	1,15	0,000	0,65	0,003	0,03	1,07	0,12	0,45	0,08	0,14
"kezelt + Fe"	átlag	0,01_a	0,41_a	0,09_b	kha	0,79_a	0,01^a	0,07^a	5,74_a	0,22^a	0,75_a	0,01_a	0,38^a
	szórás	0,07	0,09	0,01	0,00	0,28	0,07	0,11	2,22	0,005	0,33	0,02	0,25
határérték*					20-40		-	1000-1750			300-400	750-1200	2500-4000

* Európa Tanács 86/278/EGK irányelve alapján

A teszt során alkalmazott mesterséges talaj mintákban a kobalt felhalmozódását észleltem, a kezelések hatására szignifikáns növekedés figyelhető meg (30. táblázat), értéke jellemzően a 10-szeresére nőtt, ugyanakkor csökkenést tapasztaltam az ólom esetében.

30. táblázat A mesterséges talaj mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

mg/kg TS		Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
"kontroll"	átlag	2688_a	0,93_a	10,80_a	0,03^a	1,21^a	4,97_a	3,80^a	3304^a	86,4₅^a	3,69^a	49,95_a	29,80^a
	szórás	189,4	0,099	0,505	0,007	0,145	0,425	0,245	448,1	8,655	0,193	7,566	5,94
"kezeletlen"	átlag	2837_a	1,98_b	22,02_{ab}	0,225^b	10,43_b	6,19_a	5,34^a_b	3220^a	97,8^a	7,92^b	17,46_b	24,93^a
	szórás	166,2	0,3	5,06	0,205	2,65	1,63	0,91	48,79	4,1	0,84	1,42	7,59
"kezelt"	átlag	2494_a	1,90_b	25,18_{ab}	0,011₅^a	19,05_c	4,46_a	4,00^a	3105^a	92,8₃^a	13,9₅^c	23,65_b	33,27^a
	szórás	53,7	0,13	4,77	0,001	3,89	0,12	0,32	210,72	2,44	2,33	4,39	5,61

"kezelt + Fe"	átlag	2565 ^a	0,94 ^a	30,05 ^b	0,021 ^a	10,28 ^b	4,84 ^a	6,80 ^b	3463 ^a	87,8 ^{3a}	8,14 ^b	18,94 ^b	36,3 ^{3a}
	szórás	94,8	0,25	8,84	0,03	3,85	0,26	1,33	150,6 ^l	3,36	0,5	1,2	3,01
határérték *					1-3			50- 140			30- 75	50- 300	150- 300

* Európa Tanács 86/278/EGK irányelve alapján

A növényi tesztszervezet eredményei az előzőekhez hasonló tendenciát mutattak, itt is a kobalt szignifikáns emelkedése látszik (31. táblázat). Statisztikailag igazolhatóan jelentős a csökkenés a mangán koncentrációkban, kiemelendő a nikkell és a kadmium növekedése.

31. táblázat A tavaszi árpa minták mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek $P \leq 0,05$ szinten)

Az Európa Tanács hatályos irányelve alapján mind az iszapminták, mind a mesterséges talajminták elemanalitikai analízise a megengedett határértékek alatti koncentrációkat mutattak a vizsgált elemekre vonatkozóan.

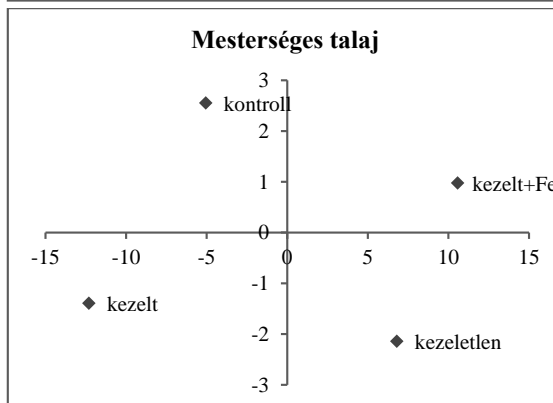
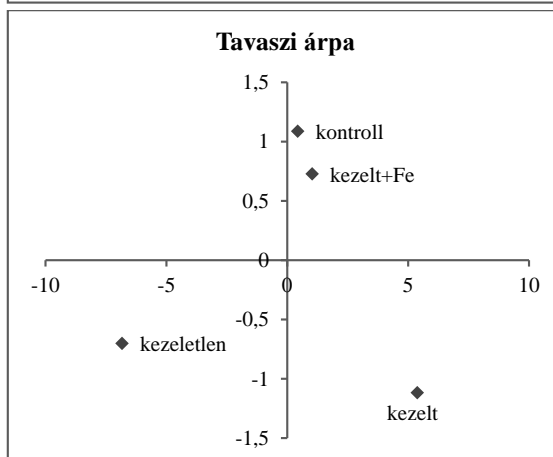
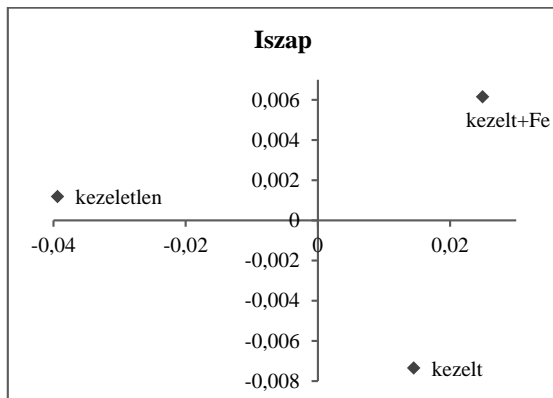
A bioakkumulációs faktorok a kukoricaszilázs esetében is nagy változatosságok mutattak. Értékük 0,08 és 173,04 között változott (Mellékletek 2.). Kiugróan magas értéket itt is a kadmiumnál tapasztaltam, a SBPP-vel ellentétben azonban a mikroelem adagolás következtében. Hasonló hatás érvényesült a rézre vonatkozóan. Negatív hatást tapasztaltam a bór, bárium, mangán elemek BF-aiban.

A kapott eredmények tükrében további fizikai-kémiai és mikrobiológiai vizsgálatokat tartok célszerűnek, hogy a hosszútávú hatások is feltárássá kerüljenek. A szabadföldi, kisparcellás kutatások jól kiegészíthetnék a saját laboratóriumi kísérleteimet - amelyek előkísérletként értelmezhetőek - így a mezőgazdasági és erdészeti területeken történő felhasználás valós alternatívaként szolgálhatna.

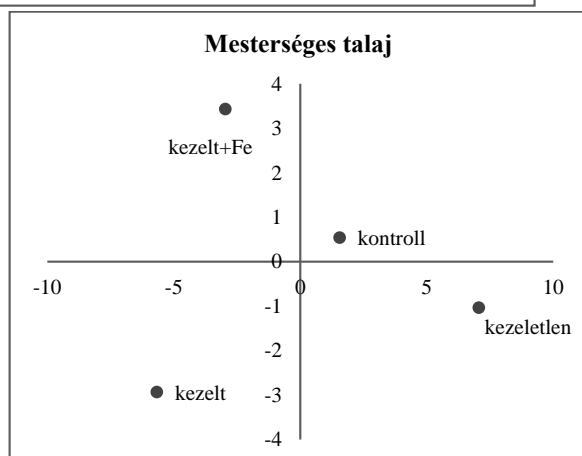
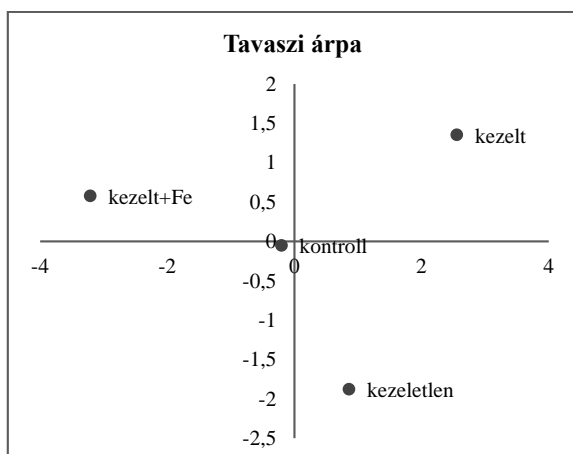
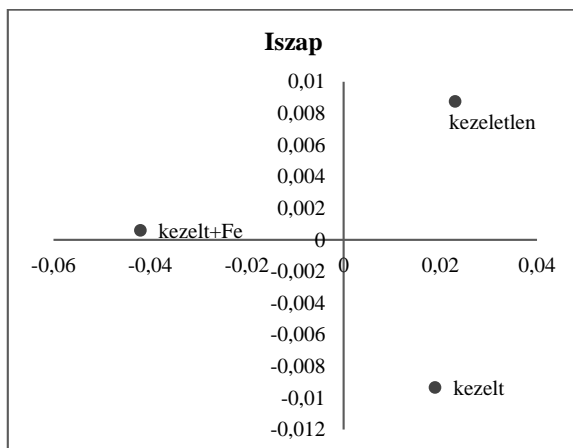
3.3.8 Főkomponens elemzés

Az elemanalitikai vizsgálatokból származó eredményeket többváltozós statisztikai elemzésnek vettem alá. A korrelációs analízisek (Pearson R korrelációs mátrix, Spearman ρ -féle rang korreláció) során nem kaptam értékelhető eredményeket, ennek oka a különböző kezelések alacsony száma volt, az adatbázis mérete nem volt elégséges. A főkomponens-elemzés (PCA) alkalmazása során azonban sikerült rejtett információtartalmakat is feltárni. Az egyes elemek koncentrációértékeit mol/kg TS-re számoltam át, annak érdekében, hogy az atomtömegek ne módosítsanak a főkomponenshez való hozzájárulásban A kiindulási adatmátrixok felbontását „score” (T) és „loading” mátrixokra (P) a „Chemometrics-Add-In” Microsoft Excel bővítmény alkalmazásával végeztem el. A kiindulási centrált input mátrixokat a Mellékletek 3. pontja tartalmazza.

Összességében a PCA elemzés visszatükrözte, hogy a különböző mikroelem adagolás hatást gyakorol az anaerob fermentációra mindkét alapanyag (SBPP, kukoricaszilázs) esetében (39-40. ábra). Az első két főkomponens két fő faktorhatásra vezethető vissza. Az egyik, hogy volt-e mikroelem utánpótlás a lebontás során illetve, hogy a pótlás mellett történt-e vasadagolás is.

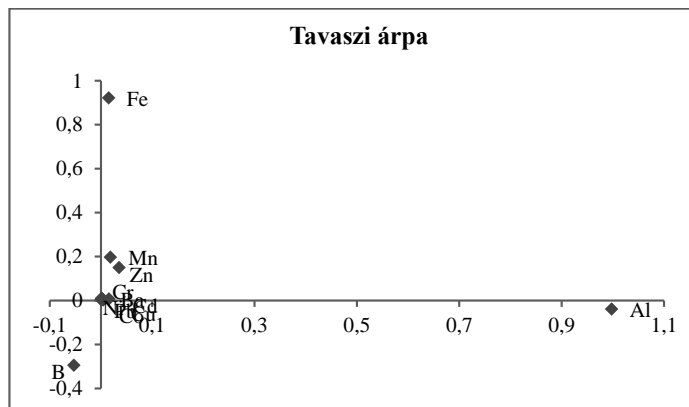
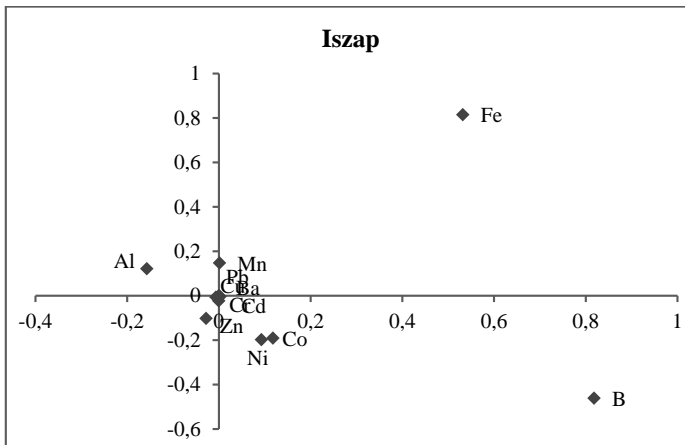


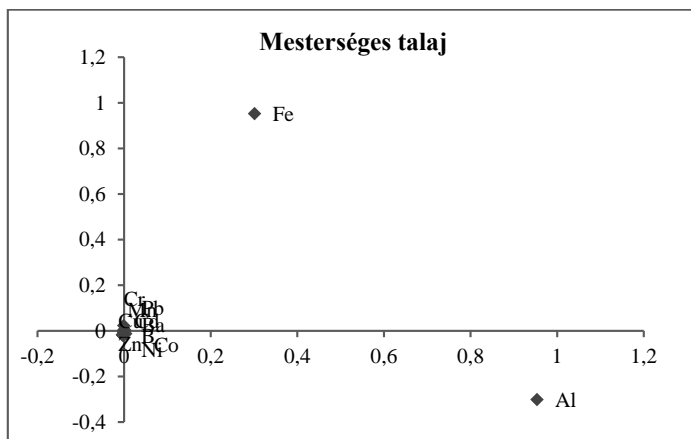
39. ábra A SBPP-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „score plot”-jai



40. ábra A kukoricasilázs-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemánalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „score plot”-jai

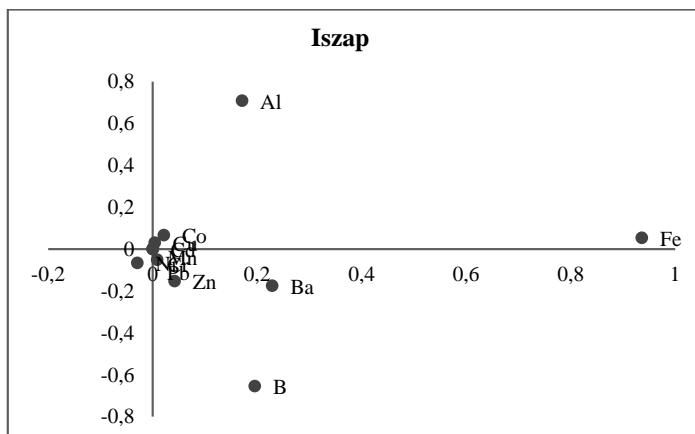
A főkomponensek P mátrixának oszlopai közötti korreláltatás „loading plot”-okat eredményez, amelyek megmutatják, hogy melyek azok az elemek, amelyek a főkomponenseket legnagyobb mértékben befolyásolják. A 41 - 42. ábrák alapján a vas és az alumínium a főkomponenseket meghatározó elemek, emellett fontosak lehetnek még a bór, bárium és cink is. A SBPP esetében több elem (vas, alumínium, bór) fajlagos távolsága az origótól eltérő az iszap és tavaszi árpa mintáknál, amely azt mutatja, hogy a növény mely elemeket vette /nem vette fel az iszaptól, az akkumulációban tehát szelekciós hatás érvényesül (41. ábra).

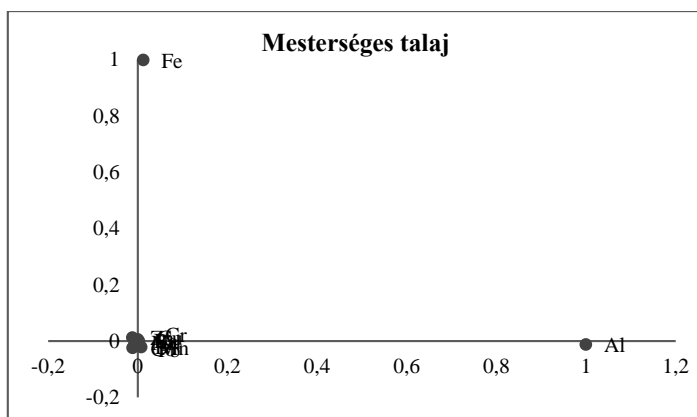
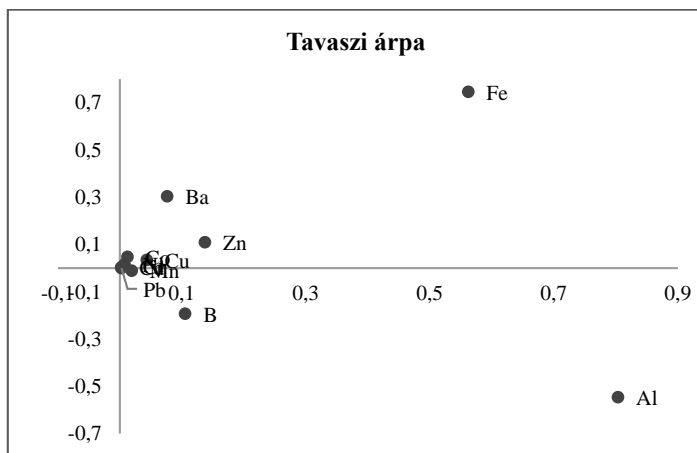




41. ábra A SBPP-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „loading plot”-jai

A fajlagos távolságok átrendeződése a kukoricaszilázs „loading plot”-jainál is tapasztalhatóak. Az elemek origóhoz viszonyított elhelyezkedésének megváltozása azonban nem követi az SBPP átrendeződését, ezáltal megállapítható, hogy a különböző alapanyagú iszapok esetében a növények más-más mértékben akumulálnak. Az eredmények alapján az eltérés megállapítható, a folyamatok mögötti növény fiziológiai okok felderítésére azonban további vizsgálatok szükségesek.





42. ábra A kukoricaszilázs-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „loading plot”-jai

Következtetések

Munkám során mikroalgák anaerob fermentációjának lehetőségeit vizsgáltam különböző stratégiák (mono-, kofermentáció) segítségével, célom stabil, fenntartható lebontási körülmények meghatározása volt. Kísérleteim során vizsgáltam továbbá a kiejert fermentiszap ökotoxikológiai hatásait a különböző mikroelem adagolás függvényében. A fitotoxicitási aspektusokhoz kapcsolódóan elemanalitikai vizsgálatok során elemeztem a mikroelemek iszapokban és talajokban történő akkumulációt.

Eredményeim alapján a vizsgált *Chlorella vulgaris* és *Scenedesmus sp.* algafajok esetében megvalósítható a monofermentáció, ugyanakkor a tápoldat nitrogén koncentrációja algafaj függvényében befolyásolhatja a maximális terhelhetőséget. A *Chlorella vulgaris* esetében a magasabb nitrogén tartalmú tápoldat hatására nagyobb felterhelés érhető el stabil működési paraméterek mellett. Az alacsony nitrogén koncentrációjú tápoldatok hatására – stresszhatásként – az alga sejtfal szerkezete megváltozik (Mata et al., 2010), ami az anaerob fermentáció során lassabb degradációs folyamatokat eredményez. Ezt támasztja alá az iszap szerves anyag tartalmának növekedése, amit a KOI értékek késleltetett növekedése igazol. A fent leírt összefüggés azonban a *Scenedesmus sp.* mikroalga esetében nem figyelhető meg, mivel hasonló mértékű felterhelés hatására a működési paraméterek az alkalmazott tápoldat nitrogén tartalmától függetlenül lényegében megegyeznek.

A 10% és 3% nitrogén tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* és *Scenedesmus sp.* mikroalga anaerob fermentációja során a tVFA értékek nem emelkedtek meg jelentősen, 2000 mg/L ecetsav egyenérték alatt maradtak minden esetben. Ennek valószínűsíthető oka, hogy az iszapokban az ammónium ion tartalom az 5000 mg/L koncentrációt nem haladta meg, ami irodalmi adatok és korábbi tapasztalatok szerint az ammónium ion gátlás alsó küszöbértékének tekinthető. Ezzel összefüggésben az alapanyagok C/N aránya vélhetően csak az esetleges ammónium gátlás kialakulása miatt lehet fontos. Összességében elmondható, hogy a fajlagos metánhozamok, terhelhetőség és a lebontás hatásfokát együttesen értékelve a 10% nitrogén tápoldatban tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga alkalmazása tekinthető kedvezőnek.

A fermentáció hatékonyságának növelése érdekében kofermentációs vizsgálatokat végeztem, amelyek során az előnyösebbnek vélt *Chlorella vulgaris* mikroalga fajt alkalmaztam. Provokatív kísérleteim során arra törekedtem, hogy meghatározzam az elérhető maximális szervesanyag terhelést, illetve célom volt a mikroalga mellett legjobban teljesítő koszubsztrát meghatározása.

Kettes kofermentációs kísérleteim során *Chlorella vulgaris* mikroalga mellett teszteltem a használt sütőolaj, kukoricaszilázs és malomipari korpa együttes alkalmazását. A szubsztrátokat 50-50% VS arányban állítottam össze. A fermentációs teljes idejére vonatkoztatva a használt sütőolaj kofermentációjában értem el a legmagasabb átlag fajlagos metán kihozatalt, 520 ± 165 mL CH₄/gVS értékkel. Megállapítható azonban, hogy a legmagasabb felterhelési szintet a kukoricaszilázs alkalmazásával tudtam teljesíteni (8,53 gVS/L/nap), ugyanakkor a szerves anyag konverzió (VSR%) értékek azt mutatták, hogy a lebontás nem ebben az esetben volt a legjobb (75%), hanem a használt sütőolaj kofermentációjában (92%). Az értékek összefüggésben állnak a fajlagos metán kihozatali értékekkel, mivel a hatékonyabb konverzió közel azonos terhelés mellett nagyobb metánhozamot eredményez. A 17%-os különbséget követte további 10%-kal alacsonyabb értékkel a malomipari korpa, amely a legkevésbé volt terhelhető, valamint a titrált savtartalom legmagasabb átlagértékeivel rendelkezett (5571 mg/L ecetsav egyenérték), amely összességében a fermentáció gátlását támasztja

alá. Összefoglalva tehát a tesztelt koszubsztrátok közül a meghatározó paraméterek vizsgálata alapján a használt sütóolaj bizonyult a legjobbnak.

További kísérleteim során arra kerestem a választ, hogy az alapanyagként használt mikroalga biomassa eltérő szárazanyag tartalma (3,8 és 7,2% TS) milyen hatást gyakorol a metán kihozatali paraméterekre, valamint az anaerob lebontást végző konzorcium összetételére. A metagenomikai értékelés során általánosságban elmondható, hogy a bakteriális diverzitás a kezdeti mintákban magasabb volt, mint a kísérlet végi (90. nap) vett mintákban. A 3,8% TS kísérletben a legnagyobb számban a *Bacteroidetes* törzs jelent meg a kiindulási iszapban, a kísérlet végére viszont szinte teljesen eltűnt, a teljes baktérium közösség csupán 0,6%-át adta, a 7,2% TS kísérlet végi iszapban a kb. 50%-os csökkenést mutatott. A legnagyobb növekedést az alacsonyabb hígítás esetében a *Firmicutes* törzsnél – amelyet a *Clostridium* nemzetség képviselt – tapasztaltam, 13,4%-ról 44,0%-ra emelkedett a jelenléte, a 7,2% TS kísérletben pedig a *Clostridium* nemzetség megháromszorozódott 13,4%-ról 37,8% lett a részesedése a teljes baktérium közösségre vonatkozóan. A baktérium közösség sokféleségének csökkenésével ellentétben az archaeák tekintetében a kiindulási iszap kisebb változatossággal rendelkezett a kísérlet végén vett mintákhoz képest. Jelentős növekedést láttam a *Methanothermobacter* nemzetség esetében (4,3%-ról 12,9%-ra) a 3,8% TS fermentációban, a *Methanosarcinaceae* család abundanciája, 46,4%-ról 9,4%-ra változott a teljes archaea közösségre számolva. Összességében elmondható, hogy a kísérletek végén tapasztalt metántartalom erőteljes csökkenését a metanogén archaea közösség átalakulása kísérte.

Vizsgálataim során arra a következtetésre jutottam, hogy a stabil szakasz tartózkodási ideje (HRT) mindkét esetben túl alacsonynak bizonyult a metanogén archaea közösség reprodukciójához (3,8 TS%: 6 nap, 7,2 TS%: 12 nap). Ez a tVFA akkumulációjához és alacsony pH értékekhez (5,0-5,5) vezetett, a túlhígított rendszerben a szintrópus interakciók hiányát eredményezte. Eredményeim alapján elmondható, hogy a fermentáció gátlását az alacsony HRT és alacsony pH érték okozhatta.

Hármas kofermentációs vizsgálataim tárgya a cukorrépa préselt szelet monofermentációjában (Magyar Cukor Zrt. biogáz üzeme, Kaposvár) alkalmazott maximális szerves anyag terhelés (7,2 g VS/L/nap) elérése volt, amely során koszubsztrátként *Chlorella vulgaris*-t (20%) és használt sütóolajat (10%) adagoltam. A cél az így összeállított alapanyag összetétel fél-folyamatos rendszerben történő hosszú távú alkalmazhatóságának vizsgálata volt. A mikroalga jelen esetben a szükséges nitrogén kiegészítésként (gyakorlatban alkalmazott karbamid kiváltása), a használt sütóolaj szénforrásként funkcionált. SBPP hármaskofermentáció mintájára összevetés céljából hazánkban egyik legnagyobb tömegben rendelkezésre álló, általánosan használt alapanyagot, a kukoricaszilázt vizsgáltam. A várakozásoknak megfelelően a metántermelés fokozását tapasztaltam a koszubsztrátok hatására mindkét főalapanyag vonatkozásában. A SBPP kísérlet tVFA értékei alapján a rendszer stabil működést mutatott, ezt igazolták a ammónium ion koncentrációk gátlás alatti értékei is. A fajlagos metánhozam 427 ± 21 mL/gVS-t eredményezett. Végeredményként tehát a fermentáció stabilan működött a rendszerparaméterek alapján, a nitrogénforrás mikroalgával történő biztosítása sikeres volt, további előnyként szignifikáns emelkedést tapasztaltam a megtermelt biogáz metántartalmában is. Jelentős növekményt, 18,4%-ot értem el a kontroll monofermentációhoz képest 1 g szerves anyagból megtermelhető metán viszonylatában, az iszaptérfogatra vonatkoztatva 27%-ot. Összehasonlításban, a kukoricaszilázs hármaskofermentációjával ugyan magasabb fajlagos metánhozamot, 542 ± 26 mL/gVS-t tapasztaltam, a kontroll kísérlethez viszonyítva azonban csak 3,47%-os emelkedést, iszaptérfogatra vetítve 11%-os növekedést igazoltam. Meg kell jegyezni emellett, hogy a metántartalom kisebb mértékben emelkedett, valamint a maximális terhelhetőség 4,97 gVS/L/nap volt. A KOI koncentrációkat értékelve megállapítható, hogy ez is túl magas szint

volt, hiszen a kísérlet folyamán végig magas értékek (10 000 mg/L feletti) adódtak. Eredményeim alapján a maximális szerves anyag terhelést 4 gVS/L/nap alatt érdemes tartani (HRT=80 nap).

Az anaerob fermentációs folyamatok optimalizálása során a mikroelem adagolás megkerülhetetlen kérdés. A szakirodalom alapján feltételezett kedvező hatások igazolása érdekében cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem kezelésű monofermentációját vizsgáltam. A kapott eredmények az mutatták, hogy a fajlagos metántermelés 11,0% és 11,7%-kal magasabb volt a mikroelemmel kezelt és a mikroelemmel+vassal kezelt minták esetében a mikroelem adagolás nélkül működő rendszerhez képest. Következtetésként elmondható továbbá a titrált savtartalmak alakulása alapján, hogy az általam alkalmazott mikroelem kezelések egy túlterhelést követően gyorsabb regenerációt tesznek lehetővé.

A megtermelt biogáz mellett értékes hulladék a fermentációs maradék, amely a termőföldek talajerő javításában játszhat szerepet. Munkám során ezért ökotoxikológiai vizsgálatokat hajtottam végre az alkalmazhatóságra vonatkozóan cukorrépa préselt szelet és kukoricaszilázs a fent leírt mikroelem adagolási stratégiákból származó fermentiszapjain. A fehér mustáron (*Sinapis alba*) végzett gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei során azt figyeltem meg, hogy a SBPP mikroelem kezelés nélküli iszapjai gátoltak, a hígítási arány növekedésével azonban csökkent az inhibíció. A kezelések hatására már stimulációt tapasztaltam, a legerősebb pozitív hatást (-59,41 IC%) a mikroelemmel és vassal kezelt minta 10x hígítású mintájánál határoztam meg. Kukoricaszilázs fermentiszapok minden esetben stimuláltak, a kezelések hatására azonban még fokozottabb hatás érvényesült, a legerősebb hatást (-64,97 IC%) a mikroelemmel kezelt mintánál írtam le szintén 10x-es hígítás mellett. A tavaszi árpa (*Hordeum vulgare* L.) biomassa termelésére gyakorolt hatások elemzésekor megállapítottam, hogy a SBPP iszapoknál inhibíciós hatás nem lépett fel egyik kezelés esetében sem, a mikroelemmel és vassal kezelt iszap biomassa hozamánál tapasztaltam a legerősebb hatást, -62,80 IC%-ot. A kukoricaszilázs iszapok eredményei ezzel szemben eltérést mutattak, gátló hatás lépett fel a kezeletlen és mikroelemmel kezelt mintáknál, a stimuláció a mikroelemmel és vassal kezelt iszapnál lépett fel, értéke -86,4 IC% volt. Az iszapokban, talajokban rendkívül összetett fizikai, kémiai, biológiai folyamatok zajlanak, amelyek hatással vannak a mikroelemek feldúsulására is. A Liebig-féle minimum törvény alapvetően befolyásolja a növény fiziológiai állapotát, az egyes elemek közti interakciók pedig szintén közrejátszanak a felhalmozás során. A pontos ok-okozati összefüggéseket további kutatások során kívánom feltárni.

A mikroelemek akkumulációját az iszapok, talajok és tavaszi árpa biomassa mintáin vizsgáltam. Az előzetes várakozásoknak megfelelően a SBPP kísérlet iszap és talaj mintákban is a kobalt és a nikkell koncentrációk nőtt meg drasztikusan, amelyek a mikroelem pótló oldat főalkotói. Az akkumuláció a kezelések hatására növekvő tendenciát mutatott. Kiugró érték figyelhető meg a kadmium bioakkumulációs (BF) faktorában, ahol 10-szeres különbséget mértem a mikroelemmel és vassal kezelt mintánál, a felhalmozódás vélhetően szinergista hatásként értelmezhető. Kobalt és króm BF-aiban hasonló megfigyeléseket tettem. A kukoricaszilázs mikroelem tartalmaiban szignifikáns emelkedés a kobalt esetében jelent meg minden mintánál, a tavaszi árpa esetében emellett a kadmium szint is megnövekedett. A bioakkumulációs faktorok értékeinél a kobalt kiemelkedő értékét határoztam meg.

Az Európa Tanács 86/278/EGK irányelve alapján mind az iszapminták, mind a mesterséges talajminták a megengedett határértékek alatti koncentrációkat mutattak a vizsgált elemekre vonatkozóan.

Vizsgálataim során többváltozós adatelemzést is végeztem az elemanalitikai vizsgálatokból származó eredmények kapcsán. A korrelációs analízis nem eredményezett értékelhető adatokat, a főkomponens

analízis azonban visszatükrözte a mikroelem adagolás hatását a lebontásra. Az első két főkomponens két fő faktorhatásra vezethető vissza. Az egyik, hogy volt-e mikroelem utánpótlás a lebontás során, illetve, hogy a pótlás mellett történt-e vas adagolás is.

Feltártam továbbá a főkomponenseket meghatározó elemek origótól mért eltérő fajlagos távolságok alapján, hogy a növényi akkumulációban szelekciós hatás érvényesül, valamint az akkumuláció az eltérő alapanyagok; SBPP és kukoricaszilázs alkalmazása során más-más mértékben megy végbe. A konkrét növény fiziológiai magyarázatokhoz további vizsgálatok szükségesek.

Összefoglalás

A világ fokozódó energiaigénye, a fosszilis energiatartalékok kimerülésének veszélye, valamint használatuk környezetkárosító hatása révén szén-alapú társadalmunk felismerte a megújuló energiaforrásokban rejlő lehetőségeket. A sokoldalúan alkalmazható biomassza, ezen belül pedig a biogáz előállítás a decentralizált energiatermelés, a különböző szektorokból származó melléktermékek hasznosítása, tárolhatósága, valamint a keletkező biogáz igényekhez igazodóan széleskörű felhasználhatósága miatt fontos szerepet játszhat a nap-, szél-, vízenergia hasznosítás mellett. A legfrissebb tanulmányok azonban azt vetítik előre, hogy a jelenleg nagy tömegben fermentált alapanyagok jelenléte a jövőben csökkenni fog, előtérbe kerülnek olyan alternatívák, amelyek a jövő megoldásaiként szolgálhatnak. Ilyen alternatívát jelent a mikroalgák anaerob fermentációja, melyek vizsgálataink központjába kerültek.

Munkámat *Chlorella vulgaris* és *Scenedesmus sp.* mikroalga fajok laboratóriumi méretű, fél-folyamatos monofermentációjával kezdtem, mely során az eltérő nitrogén tápoldatban történő tenyésztés metán kihozatalra gyakorolt hatásait elemeztem. Eredményeim alapján megállapítottam, hogy a 10% N-tartalmú tápoldatból származó *Chlorella vulgaris* biomasszája kedvezőbb paraméterekkel rendelkezik a lebontásra vonatkozóan. Ezt követően kofermentációs kísérleteket indítottam a degradáció hatásfokának növelése érdekében.

Kettes koszubsztrát mixek tesztelése során a fajlagos metán kihozatal és szerves anyag konverzió (VSR%) alapján a *Chlorella vulgaris* - használt sütőolaj 50-50% szerves-szárazanyag (VS%) összetételben történő alkalmazásával kaptam a legjobb eredményeket, 520±165 mL CH₄/gVS.

A hármas kofermentációk során a mikroalga (20%) nitrogén forrásként funkcionált a cukorrépa préselt szelet (SBPP), mint főalapanyag (70%) mellett, valamint szénforrásként használt sütőolajat (10%) alkalmaztam. Eredményeim alapján 18,4%-os fajlagos metántöbbletet sikerült elérni SBPP monofermentációjához képest. Összehasonlításként a nagyüzemi gyakorlatban nagy mennyiségben fermentált kukoricaszilázs hármas kofermentációját vizsgáltam, ebben az esetben 3,5 %-os többlet jelentkezett.

Az anaerob fermentáció optimális működését a mikroelem adagolás jelentősen befolyásolja. A szakirodalomban megismert alapanyagokra vonatkozó pozitív hatások igazolása céljából különböző mikroelem kezelésű csoportokat állítottam fel, a fermentációt itt is fél-folyamatos rendszerben működtettem a hosszabb távú hatások leírása céljából. A mikroelem kezelés nélküli fermentorokhoz viszonyítva 11,0% és 11,7%-kal magasabb fajlagos metánhozamokat mértem mikroelemmel kezelt és mikroelemmel és vassal kezelt minták esetében, valamint a titrált savtartalmi értékek elemzésével megállapítottam, hogy a rendszer flexibilitásához nagy mértékben hozzájárul a megfelelő mikroelem adagolás. Egy szerves anyag túlterhelést követően a rendszer rövidebb idő alatt regenerálódik a mikroelemek hatására.

A biogáz előállítás minél szélesebb körű alkalmazását a komplex hasznosítás jelentősen növelheti. A fermentációs maradék mezőgazdasági és erdészeti területeken való, talajerő javítás céljából történő felhasználása a műtrágyák kiváltását szolgálhatja. A manapság egyre nagyobb teret hódító bio minősítésű élelmiszerek előállítása során a természetes eredetű trágya szintén jó megoldást jelenthet. Számos előnye mellett azonban a fermentáció folyamán adagolt fémek az iszapban akkumulálódva károsíthatják a talaj flóráját, faunáját, valamint az emberi egészségre is veszélyes lehet a élelmiszerláncon keresztül. Annak érdekében, hogy a feltételezett hatásokat igazolni tudjam ökotoxikológiai tesztek végzettem két különböző tesztszervezeten (fehér mustár - *Sinapis alba* és tavaszi árpa - *Hordeum vulgare* L.). A vizsgált iszapok SBPP és kukoricaszilázs

monofermentációjából származtak. A tesztek alapján megállapítottam, hogy a gyökérnövekedés szempontjából a mikroelem kezelések pozitív hatást gyakoroltak, a kezeletlen mintákhoz képest magasabb stimuláció jelentkezett. A legerősebb stimuláló hatást a SBPP mikroelemmel és vassal kezelt 10x hígítású iszapján (-59,41 IC%), kukoricaszilázs mikroelemmel kezelt, szintén 10x hígítású iszapján (-64,97 IC%) határozta meg. Tavaszai árpa biomassza termelésére vonatkozó vizsgálataim a mikroelemmel és vassal kezelt iszapok esetében mutatták a legjobb eredményeket; SBPP iszap esetén -62,8 IC%, kukoricaszilázs iszap esetén -86,4 IC%.

Elemanalitikai vizsgálataim folyamán mértem a tavaszai árpa ökotoxikológiai tesztből származó biomassza, az alkalmazott iszapok és a mesterséges talajok mikroelem összetételét. Az Európa Tanács 86/278/EGK irányelve alapján mind az iszapminták, mind a mesterséges talajminták a megengedett határtékek alatti koncentrációkat mutattak a vizsgált elemekre vonatkozóan. Főkomponens elemzés visszatükrözte, hogy a mikroelem adagolás hatást gyakorol az anaerob lebontásra, rejtett információként feltártam, a főkomponenseket meghatározó elemek origótól mért eltérő fajlagos távolságok alapján, hogy a növényi akkumulációban szelekciós hatás érvényesül, valamint az akkumuláció az eltérő alapanyagok; SBPP és kukoricaszilázs alkalmazása során más-más mértékben megy végbe.

Doktori munkám gyakorlati jelentőségét az adja, hogy ugyan sok kutatás elméleti metán kihazatali eredményeket közöl, azonban a legtöbb Batch eljárást alkalmaz. Eredményeim alapján a félfolyamatos üzemeltetés több információt szolgáltat a lebontásról pl. ammónium ion gátlás szempontjából. Kísérleteink alapján a mikroalga szubsztrátként történő alkalmazása a makroelem összetétele miatt kofermentációban lehet kedvező.

A nagyüzemi termelés számára fontos lehet, hogy szerves komplex formában a mikroelem bevitel szignifikánsan növeli a fajlagos metánhozamot SBPP monofermentációjában, így a megfelelően megválasztott mikroelem adagolással a profit jelentősen növelhető. Továbbá a tesztelt fajok esetében a fermentációs maradék nem okozott toxikus hatást, amely a jövőbeni komplex hasznosítás lehetőségét nyitja meg.

Javaslatok

Kutatásom során választ kaptam a célkitűzésekben megfogalmazott problémák tekintetében, a téma azonban a jövőre vonatkozóan további kutatási lehetőségeket kínál.

Érdeemes lenne félüzemi körülmények között folytatni a kofermentációs kísérleteket, így az eredmények közelebb kerülnének a nagyüzemi felhasználásra vonatkozóan.

A lebontás hatásfokának fokozása érdekében célszerű lenne a mikroelem adagolást (dózis, összetétel, stb.) adott alapanyagra, technológiára meghatározni, mivel a különböző összetételű konzorciumok más-más mikroelem szükséglettel rendelkeznek.

A laboratóriumi ökotoxikológiai tesztekét célszerű lenne kisparcellás vizsgálatokkal folytatni, ahol fontos szabályozási elvként a Nitrát Direktíva is szerepet kapna. A szabadföldi eredmények hozzájárulhatnának a fermentációs maradékok szélesebb körű felhasználásához. A kiejert fermentiszap kihelyezéssel kapcsolatban a felhasználókkal történő egyeztetés és alátámasztó kutatások elvégzését követően fontos lenne biotrágyára specifikus hazai jogi szabályozás megalkotása.

Tézisek

1. A mikroalga tenyésztés során alkalmazott tápoldat nitrogéntartalma hatással van a szüretelt mikroalga anaerob fermentációjának fajlagos metánhozamaira. A hatás mértéke és iránya mikroalga faj specifikus. *Chlorella vulgaris* (MACC 452) esetén 3%-ról 10%-ra növelve a tápoldat nitrogéntartalmát az iszapterfogatra számított fajlagos metánhozam 7,6%-kal, a szerves száraz anyagra vonatkoztatott metánhozam 59,8%-kal nőtt, ugyanakkor a *Scenedesmus sp.* (MACC 401) esetén a tápoldat nitrogéntartalmának megegyező változása az iszapterfogatra számított metánhozamot 54,2%-kal, a szerves száraz anyagra vonatkoztatott metánhozamot 9,6%-kal csökkentette.

2. Cukorrépa préselt szeletre alapozott félfolyamatos anaerob kofermentációs kísérleteim alapján liofilizált *Chlorella vulgaris* és használt sütőolaj hozzáadásával eredményes kofermentáció valósítható meg. A szerves szárazanyag alapján 20% (liofilizált *Chlorella vulgaris*) és 10%-os (használt sütőolaj) részarány mellett a szerves szárazanyagra vonatkoztatott metán kihozatal 18%-kal, az iszapterfogatra vonatkoztatott metánhozam 26,2%-kal emelkedett a cukorrépa préselt szelet monofermentációjához képest. A megtermelt biogáz metántartalmában 10,8%-os növekmény érhető el.

3. A liofilizált *Chlorella vulgaris* és kukoricaszilázs 50-50% szerves szárazanyag részarány mellett végzett kofermentációja használt sütőolaj alkalmazásával 70% kukoricaszilázs, 20% liofilizált *Chlorella vulgaris* és 10% használt sütőolaj szerves szárazanyag részarány mellett a szerves szárazanyagra vonatkoztatott metánhozam tekintetében 38,9%-os intenzifikálás érhető el.

4. Félfolyamatos laboratóriumi körülmények között végzett cukorrépa préselt szelet monofermentációja során a szerves komplex formában lévő mikroelem pótlás hatására a szerves szárazanyagra vonatkoztatott metánhozam 11,0%-kal nőtt. A mikroelem adagolás további kedvező hatása, hogy szerves anyag túlterhelést követően az iszap titrált savtartalmi értéke gyorsabban csökken, az iszap rövidebb idő alatt visszaterhelhető.

5. A mikroelem adagolás hatással van az anaerob iszapok ökotoxikológiai aspektusaira. A *Sinapis alba*-n (fehér mustár) végzett szabványosított gyökérnövekedés gátlási tesztek alapján a cukorrépa préselt szelet és kukoricaszilázs anaerob fermentációjából származó, mikroelemmel kiegészített iszapjaira stimulációs hatást fejt ki, ugyanakkor az iszapok hígítási arányának növekedésével csökken a stimuláló hatás.

A *Hordeum vulgare* L. (tavaszi árpa) biomassza termelésére a kukoricaszilázs mikroelemmel kezelt iszapja gátló hatást (23,8 IC%) gyakorol, a mikroelemmel és vassal kezelt iszap esetében azonban stimuláció (-89,4 IC%) figyelhető meg.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Rétfalvi Tamásnak. Hálás vagyok az irántam tanúsított bizalmáért, nélkülözhetetlen segítségéért és türelméért. Köszönöm áldozatos munkáját, hogy minden feltételt megteremtett kutatómunkám biztosítása érdekében.

Köszönet illeti Dr. Helena Hybskát, hogy lehetővé tette számomra az ökotoxikológiai vizsgálatok elvégzését és észrevételeivel segítette munkámat.

Köszönettel tartozom Dr. Németh Zsoltnak a statisztikai értékelés során nyújtott segítségéért.

Köszönöm Bolodár-Varga Bernadett munkáját, amellyel az elemanalitikai vizsgálatokat tette lehetővé.

Köszönöm a Kémiai Intézet munkatársainak együttműködését a kutatásaim során.

Hálával tartozom családomnak az odaadó támogatásukért, türelmükért.

Ábra-, és táblázatjegyzék

Ábrajegyzék

1. ábra Magyarország megújuló energiafelhasználásának energiaforrás szerinti megoszlása (PJ) (*Grabner 2017. alapján saját szerkesztés*) 244
2. ábra Az EU biogáz termelésének tagállamonkénti megoszlása 2014-ben (kék: depóniagáz, narancs: szennyvíziszap, zöld: egyéb) (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*) 245
3. ábra Az EU biogáz termelésének tagállamonkénti megoszlása 2014-ben. (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*) 246
4. ábra Biogáz üzemek száma Európában 2015-ben (*EBA Biogas Report 2016*) 247
5. ábra Biometán üzemek Európában (*EBA Biogas Report 2015*) 247
6. ábra Biogáz előállításra felhasznált alapanyagok megoszlása Az EU28 tagállamok szerint (sárga: szarvasmarha hígtrágya, barna: sertés hígtrágya, zöld: energianövények, narancs: szerves hulladékok, kék: mezőgazdasági melléktermék, szürke: szennyvíziszap) (*Optimal use of biogas from waste streams, 2016*) 248
7. ábra A jelenlegi és az előre jelzett alapanyag felhasználás (sárga: jelenlegi használat, kék: gyorsított növekedés 2020, narancs: gyorsított növekedés 2030, világoskék: referencia 2020, rózsaszín: referencia 2030) (*EBA Biogas Report 2015*) 249
8. ábra Édesvízi algafajok lipid tartalma (% tömeg/szárazanyag) (*Amaro et al., 2012.*) 250
9. ábra Tengervízi algafajok lipid tartalma (% tömeg/szárazanyag) (*Amaro et al., 2012.*) 250
10. ábra A mikroalga energetikai hasznosítási lehetőségei (*Amaro et al., 2012. alapján saját szerkesztés*) 252
11. ábra Anaerob fermentáció folyamata (http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0032_kornyezettechnologia/ch04.html) 253
12. ábra A napi szerves anyag bevitel (gVS/L/nap) és az átlag metántermelés változása a 10% nitrogén tartalmú tápoldaton tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga kísérletben 268
13. ábra A napi szerves anyag bevitel (gVS/L/nap) és az átlag metántermelés változása a 3% nitrogén tartalmú tápoldalon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga kísérletben 269
14. ábra A napi szerves anyag bevitel (gVS/L/nap) és az átlag metántermelés változása a 10% nitrogén tartalmú tápoldaton tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kísérletben 270
15. ábra A napi szerves anyag (gVS/L/nap) bevitel és a metántermelés változása a 3% nitrogén tartalmú tápoldaton tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kísérletben 271
16. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap)függvényében a *Chlorella vulgaris* monofermentációja (kontroll) során 274
17. ábra Iszaptérfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris* monofermentációja (kontroll) során 274
18. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap)függvényében a *Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentációja során 275
19. ábra Iszaptérfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris*-használt sütőolaj kofermentációja során 276
20. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a *Chlorella vulgaris* - kukoricaszilázs kofermentációja során 277
21. ábra Iszap térfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris* - kukoricaszilázs kofermentációja során 277

22. ábra A fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a *Chlorella vulgaris*-malomipari korpa kofermentációja során 278
23. ábra Iszap térfogatra vonatkoztatott metánhozam (L/L iszap) és a titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a *Chlorella vulgaris*-malomipari korpa kofermentációja során 279
24. ábra A metánhozam és titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a 3,8% TS kísérletben 281
25. ábra A metánhozam és titrált savtartalom (tVFA, mg/L) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében a 7,2% TS kísérletben 282
26. ábra Baktérium közösség százalékos összetétele a kiindulási iszapban 283
27. ábra Baktérium közösség százalékos összetétele a 3,8% TS kísérlet 90. napján 283
28. ábra Baktérium közösség százalékos összetétele a 7,2% TS kísérlet 90. napján 284
29. ábra Archaea közösség százalékos összetétele a kiindulási iszapban 285
30. ábra Archaea közösség százalékos összetétele a 3,8% TS kísérlet 90. napján 285
31. ábra Archaea közösség százalékos összetétele a 7,2% TS kísérlet 90. napján 286
32. ábra A SBPP hármas kofermentáció fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében 287
33. ábra A SBPP kontroll fermentáció fajlagos metánhozamainak (mL/gVS) változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében 288
34. ábra A kukoricaszilázs hármas kofermentáció fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékeinek változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében 291
35. ábra A kukoricaszilázs kontroll fermentáció fajlagos metánhozam átlagértékeinek (mL/gVS) változása a szervesanyag adagolás (gVS/L/nap) függvényében 291
36. ábra Cukorrépa préselt szelet különböző kezelésű anaerob fermentációs kísérleteinek fajlagos metánhozam átlagértékei a szerves anyag adagolás (VS) függvényében. A kezeletlen csoport esetében a szórás értékek: 0 - 420,16; a kezelt csoportnál: ; a kezelt csoportnál: 0 - 346,46; a kezelt+Fe csoport esetében 0 - 753,59 295
37. ábra Gyökérművekedés gátlás IC% értékei különböző kezelésű SBPP minták esetén a hígítás függvényében (0-100 IC%: gátlás, 0 - -100 IC%: stimuláció) 297
38. ábra Gyökérművekedés gátlás IC% értékei különböző kezelésű kukoricaszilázs minták esetén a hígítás függvényében (0-100 IC%: gátlás, 0 - -100 IC%: stimuláció) 301
39. ábra A SBPP-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „score plot”-jai 304
40. ábra A kukoricaszilázs-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „score plot”-jai 305
41. ábra A SBPP-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „loading plot”-jai 307
42. ábra A kukoricaszilázs-tavaszi árpa ökotoxikológiai teszt elemanalitikai eredményeinek főkomponens elemzés során nyert „loading plot”-jai 308

Táblázatjegyzék

1. táblázat Mikroalgák a világpiacon (*Brennan és Owende 2010.* alapján saját szerkesztés) 250
2. táblázat Az anaerob fermentációs kísérletek során alkalmazott szubsztrátok paraméterei (*saját mérési eredmények*) 259
3. táblázat Az alkalmazott mikroalgák főbb paraméterei (*Rétfalvi et al., 2015*) 259
4. táblázat Az alkalmazott hígítóvíz összetétele 263
5. táblázat A fehér mustár gyökérnövekedési tesztjének főbb paraméterei 263
6. táblázat A tavaszi árpa kísérlet főbb paraméterei 264
7. táblázat *Chlorella vulgaris* mikroalga alapanyag száraz (TS%), szerves-szárazanyag (VS%), szén és nitrogén (% sz.a.) tartalma 267
8. táblázat Az iszapminták titrált savtartalmainak (tVFA) változása a 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga kísérletben (mg ecetsav egyenérték/L) 269
9. táblázat 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Chlorella vulgaris* mikroalga fermentiszap KOI, NH₄⁺ és oldott foszfor értékei (mg/L) 269
10. táblázat *Scenedesmus sp.* mikroalga alapanyag száraz (TS%), szerves-szárazanyag (VS%) és szén- és nitrogén (% sz.a.) tartalma 270
11. táblázat Az iszapminták titrált savtartalmainak (tVFA) változása a 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga kísérletben (mg ecetsav egyenérték/L) 271
12. táblázat 10% és 3% N-tartalmú táptalajon tenyésztett *Scenedesmus sp.* mikroalga fermentiszap KOI, NH₄⁺ és oldott foszfor értékei (mg/L) 271
13. táblázat A kettes anaerob kofermentációs kísérletek VSR%, HRT (nap) és OLR (gVS/L/nap) minimum, maximum és átlagértékei 279
14. táblázat a 3,8 és 7,1% TS kísérlet iszapjainak C%, N% és C/N arányai 282
15. táblázat A SBPP hármas kofermentáció és kontroll minták fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékei a felterhelési szakaszok szerint (az átlagértékeknél szereplő eltérő nagybetűk azonos sorban, míg eltérő kisbetűk azonos oszlopban szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 288
16. táblázat A SBPP hármas kofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag tVFA értékei (mg/L) 289
17. táblázat A SBPP hármas kofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag KOI, NH₄⁺ és összes foszfor értékei (mg/L) 289
18. táblázat A kukoricaszilázs hármas kofermentáció és kontroll minták fajlagos metánhozam (mL/gVS) átlagértékei a felterhelési szakaszok szerint (az átlagértékeknél szereplő eltérő nagybetűk azonos sorban, míg eltérő kisbetűk azonos oszlopban szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 292
19. táblázat A termelt biogáz átlag metántartalmai a teljes kísérletekre vonatkoztatva (mL/L/nap) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 292
20. táblázat A kukoricaszilázs hármas kofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag tVFA értékei (mg/L) 292
21. táblázat A kukoricaszilázs hármas kofermentáció és kontroll fermentiszapok átlag KOI, NH₄⁺ és összes foszfor értékei (mg/L) 293
22. táblázat Fajlagos metánhozamok átlagértékei az anaerob fermentáció alatt (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 295

23. táblázat A “kezeletlen”, “kezelt” és “kezelt+Fe” kísérlet iszapjainak KOI, NH₄⁺ és oldott foszfor átlagértékei (mg/L) 295
24. táblázat SBPP anaerob iszapok tavaszi árpa biomassza produkcióra gyakorolt hatásai (0-100 IC%: inhibíció, 0 - -100 IC%: stimuláció) 298
25. táblázat Az anaerob iszapok mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 298
26. táblázat A mesterséges talaj mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 299
27. táblázat A tavaszi árpa minták mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 300
28. táblázat Kukoricaszilázs anaerob iszapok tavaszi árpa biomassza produkcióra gyakorolt hatásai (0-100 IC%: inhibíció, 0 - -100 IC%: stimuláció) 301
29. táblázat Az anaerob iszapok mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 302
30. táblázat A mesterséges talaj mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 302
31. táblázat A tavaszi árpa minták mikroelem koncentrációi (kha – kimutatási határ alatti) (az átlagértékeknél szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek P≤0,05 szinten) 303

Irodalomjegyzék

- Adenle, A. A., Hasla, E. G., Lee, L., (2013). Global assessment of research and development for algae biofuel production and its potential role for sustainable development in developing countries. *Energy Policy* 61, 182-195.
- Ahring, B. K., (Ed.) (2003). *Biomethanation I Series: Advances in Biochemical Engineering Biotechnology* 81, Springer. ISBN 978-3-540-44322-3.
- Amaro, M. H., Macedo, C. A., Malcata, X. F., (2012). Microalgae: An alternative as sustainable source of biofuels? *Energy* 44, 158-166.
- Anderoni, V., (2017). Energy Metabolism of 28 World Countries: A Multi-scale Integrated Analysis. *Ecological Economics* 142, 56-69.
- Ariede, B. M., Candido, M. T., Jacome, M. L. A., Velasco, R. V. M., de Carvalho, M. C. J., Baby, R. A., (2017). Cosmetic attributes of algae - A review. *Algal Research* 25, 486-487.
- Ashley, N. V., Davies, M., Hurst, T., (1982). The effect of increased nickel ion concentrations on microbial populations in the anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Res.* 16, 963-71.
- Bai, A., (2007). A biogáz. Száz magyar falu könyvesháza Kht. Budapest
- Bai, A., Vaszkó, G., Csányi, F., Tözsér, B., (2012). Algák: mikroméretben hatalmas lehetőségek? *Innot 2* 11, 43-46.
- Bai, A. (2013). *Biogáz előállításának technológiája*. Debreceni Egyetem, Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma
- Bocsi, R., (2016). *Mikroalgák termesztése laboratóriumi és szabadtéri flat panel fotobioreaktorokban*. PhD értekezés, Pannon Egyetem, Veszprém
- Böhne, B., Bischofsberger, W., Seyfried, C.F. (1993). *Anaerobtechnik*: Berlin Springer-Verlag.
- Brennan, L., Owende, P., (2010). Biofuels from microalgae - A review of technologies for production processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14, 557-577.
- Carbonell, G., Pro, J., Gómez, N., Babín, M. M., Fernández, C., Alonso, E., Tarazona, J. V., (2009). Sewage sludge applied to agricultural soil: Ecotoxicological effects on representative soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1309-1319.
- Chen Y., Cheng J. J., Creamer K. S., (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Biores. Technol.* 99. 4044–4064.
- Chynoweth, D., (2002). *Review of Biomethane from Marine Biomass*. Department of Agricultural and Biological Engineering, University of Florida
- Da Silva, J., (2016). DNA damage induced by occupational and environmental exposure to miscellaneous chemicals. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 770, 170-182.
- Debowski, M., Zielinski, M., Grala, A., Dudek, M., (2013). Algae biomass as an alternative substrate in biogas production technologies – Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27, 596-604.
- Demirel, B., Scherer, P., (2011). Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and Bioenergy* 35, 992-998.
- Dewi, N. E., Amalia, U., Mel, M., (2016). The Effect of Different Treatments to the Amino Acid Contents of Micro Algae *Spirulina sp.* *Aquatic Procedia* 7. 59-65.
- Diekert, G., Weber, B., Thauer, R. K., (1980) Nickel dependence of factor F430 content in *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Arch Mriobiol.* 127, 273-8.

Dogan, E., Inglesi-Lotz, R., (2017). Analyzing the effects of real income and biomass energy consumption on carbon dioxide (CO₂) emissions: Empirical evidence from the panel of biomass-consuming countries. *Energy* 138, 721-772

Domanovszky, H., (2017). BIOSURF EU konferencia szóbeli közlés, Budapest

EBA Biomethane&Biogas Report (2015). Annual statistical report of the European Biogas Association on the European anaerobic digestion industry and markets.

EBA Annual Report (2016). (<http://european-biogas.eu>)

Ehimen, E. A., Connaughton, S., Sun, Z., Carrington, C., (2009). Energy recovery from lipid extracted, transesterified and glycerol co-digested microalgae biomass. *GCB Bioenergy* 1. 371–881.

Eredményjelentés a megújuló energiákról. A Bizottság jelentése az Európai Parlamentnek, a Tanácsnak, az Európai Gazdasági és Szociális Bizottságnak és a Régiók bizottságának. Brüsszel, 2017.2.1. COM(2017) 57.

(<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=CELEX:52017DC0057> 2017. 07.10.)

Fan, L-J., Zhang, X., (2017). Energy demand and greenhouse gas emissions of urban passenger transport in the Internet era: A case study of Beijing. *Journal of Cleaner Production* 165, 177-189.

Feng, X. M., Karlsson, A., Svenson, B. H., Bertilsson, S., (2010). Impact of trace metal addition on biogas production from food industrial waste-linking process to microbial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 74, 226-40.

Foster E., Shah, N., (2017). The unstudied barriers to widespread renewable energy deployment: Fossil fuel price responses. *Energy Policy*, 103, 258-264.

Fotis, P., Asteriou, D., (2017). The relationship between energy demand and real GDP growth rate: The role of price asymmetries and spatial externalities within 34 countries across the globe. *Energy Economics* 66, 69-84.

García-Delgado, M., Rodríguez-Cruz, M. S., Lorenzo, L. F., Arienzo, M., Sánchez-Martín, M. J., (2007). Seasonal and time variability of heavy metal content and of its chemical forms in sewage sludges from different wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment* 382, 82-92.

Garrett-Peltier, H., (2017). Green versus brown: Comparing the employment impacts of energy efficiency, renewable energy, and fossil fuels using an input-output model. *Economic Modelling* 61, 439-447.

Golueke, C. G., Oswald, W. J., Gotaas, H. B., (1957). Anaerobic digestion of algae. *Applied Microbiology* 5, 47–55.

González-Fernández, C., Sialve, B., Bernet, N., Steyer, J. P., (2012). Thermal pretreatment to improve methane production of *Scenedesmus* biomass. *Biomass and Bioenergy* 40, 105-111.

Govasmark, E., Ståb, J., Holen, B., Hoornstra, D., Nesbakk, T., Salkinoja-Salonen, M., (2011). Chemical and microbiological hazards associated with recycling of anaerobic digested residue intended for agricultural use. *Waste Manage.* 31, 2577–2583.

Grabner, P. (2017). Megújuló energia szabályozás és helyzetkép, különös tekintettel a biogáz-szektorra. Magyar Biogáz Egyesület közgyűlési anyag, 2017. május 4.

Graf, W., (1999). Power station meadow. Electricity and heat from grass. Books on Demand.

Grant, D., Jorgenson, K. A., Longhofer, W., (2016). How organizational and global factors condition the effects of energy efficiency on CO₂ emission rebounds among the world's power plants. *Energy Policy* 94, 89-93.

Hybská, H., Samesová, D., (2015). Ecotoxicology. Technical University of Zvolen.

Hybská, H., Hroncová, E., Ladomersky, J., Balco, K., Mitterpach, J., (2017). Ecotoxicity of concretes with granulates slag from gray iron pilot production as filler. *Materials* 10, 505.

Hernandez, E. P. S., Cordoba, L. T., (1993). Anaerobic digestion of chlorella vulgaris for energy production. Resources Conservation and Recycling 9. 127–132.

Hodai, Z., Rippelné Pethő, D., Horváth, G., Hanák, L., Bocsi, R. (2015). A mikroalga technológia alkalmazhatóságának lehetőségei. Műszaki tudományos közlemények, 3. 163-166.

Johnson, C. A., Pereira, G. M., (2017). An alternative approach to risk rank chemicals on the threat they pose to the aquatic environment. Science of The Total Environment 599-600, 1372-1381.

Keymer, P., Ruffell, I., Pratt, S., Lant, P., (2013). High pressure thermal hydrolysis as pre-treatment to increase the methane yield during anaerobic digestion of microalgae. Bioresource Technology 121, 128-133.

Kolbl, S., Paloczi, A., Panjan, J., Stres, B., (2014). Addressing case specific biogas plant tasks: Industry oriented methane yields derived from 5 L Automatic Methane Potential Test Systems in batch or semi-continuous tests using realistic inocula, substrate particle sizes and organic loading. Biores. Technol. 153, 180-188.

Kovács, K. L., Ács, N., Böjti, T., Kovács, E., Strang, O., Wirth, R., Bagi, Z., (2014). Biogas producing microbes and biomolecules. In: Lu, X. (Ed.), Biofuels: From Microbes to Molecules. Caister Acad. Press, ISBN: 978-1-908230-63-8.

Lakaniemi, A-M., Hulatt, C. J., Thomas, D. N., Tuovinen, O. H., Puhakka, J. A., (2011). Biogenic hydrogen and methane production from *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta* biomass. Biotechnol. Biofuels 4, 34.

Lakaniemi, A-M., Tuovinen, O. H., Puhakka, J. A., (2013). Anaerobic conversion of microalgal biomass to sustainable energy carriers – A review. Bioresorce Technology 135, 222-231.

Le, T.T.Y., Swartjes, F., Römken, P., Groenenberg, J.E., Wang, P., Lofts, S., Hendriks, A.J., (2015). Modelling metal accumulation using humic acid as a surrogate for plant roots Chemosphere 124, 61-69.

Li, Y., Wang, R. Z., (2017). Urban biomass and methods of estimating municipal biomass resources. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 80, 1017-1030.

Lo, H. M., Chiang, C. F., Tsao, H. C., Pai, T. Y., Liu, M. H., Kurniawan, T. A., Chao, K. P., Liou, C. T., Lin, K. C., Chang, C. Y., Wang, S. C., Banks, C. J., Lin, C. Y., Liu, W. F., Chen, P. F., Chen, C. K., Chiu, H. Y., Wu, H. Y., Chao, T. W., Chen, Y. R., Liou, D. W., Lo, F.C., (2012). Effect of spiked metals on the MSW anaerobic digestion. Waste Manag. Res. 30, 32-48.

Magyar Tudományos Akadémia Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet (2009). Jogi szabályozás a talajvédelem területén.
(<http://enfo.agt.bme.hu/drupal/sites/default/files/Jogi%20h%C3%A1tt%C3%A9r%20talaj.pdf>, 2017. 06. 11.)

Mata-Alvarez, J., (2002). Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes. IWA Publishing

Mata, M. T., Martins, A. A., Caetano, S. N., (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 14, 217-232.

Mikroalga biotechnológia a fenntartható mezőgazdaságban - TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0003 projekt beszámoló (2015).

Monnet, F., (2003). An introduction to anaerobic digestion of organic wastes. Remade Scotland, Final Reprt Biogasmax

MSZ ISO 6060:1991 - A víz kémiai oxigénigényének meghatározása

MSZ ISO 7150-1:1992 - Az ammónium meghatározása vízben. Manuális spektrofotometriás módszer

MSZ 488/18-77 - Foszfát ion meghatározása spektrofotometriás módszerrel

- Mussgnug, J. H., Klassen, V., Schlüter, A., Kruse, O., (2010). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*. 150. 51–6.
- Optimal use of biogas from waste streams (2016). An assessment of the potential of biogas from digestion in the EU beyond 2020. (<https://ec.europa.eu/energy/en/studies>, 2017. 07.10.)
- Oláh, J., Palkó, Gy., Tarjainé, Sz. Sz., Rása, G., (2009). Különböző eredetű hulladékok közös anaerob kezelése (http://statex.hu/cikkek/Hulladek_cikk_veglegesen_bekuldve2_.pdf, 2017. 08. 22.)
- Ördög, V., (2014). Mikroalgák biotechnológiai alkalmazása a növénytermesztésben és növényvédelemben. Doktori értekezés. Mosonmagyaróvár
- Pain, B. F., Hephherd, R. Q., (1985). Anaerobic digestion of livestock wastes. In: Pain, B.F., Hephherd, R.Q. (Ed.), *Anaerobic Digestion of Farm Waste*. NIRD Technical Bulletins, Reading, 9-14.
- Pfundtner, E., (2002). Limits and merits of sludge utilisation – Land application, Conference Proceedings of Impacts of Waste Management. Legislation on Biogas Technology. Tulln, 1-10.
- Pragya, N., Pandey, K. K., Sahoob, P. K., (2013). A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 24, 159–171.
- Prajapati, S. K., Kaushik, P., Malik, A., Vijay, V. K. (2013). Phycoremediation coupled production of algal biomass, harvesting and anaerobic digestion: possibilities and challenges. *Biotechnol. Adv.* 31, 1408-1425.
- Qiang, H., Niu, Q., Chi, Y., Li, Y., (2013). Trace metals requirements for continuous thermophilic methane fermentation of high-solid food waste. *Chem, Eng. J.* 223, 330–336.
- Raju, N. R., Sumithra Devi, S., Nand, K., (1991). Influence of trace elements on biogas production from mango processing waste in 1,5 m³ KVIC digesters. *Biotechnol. Lett.* 13, 461-4.
- Rétfalvi, T., Tukacs-Hájos, A., Albert, L., Marosvölgyi, B., (2011). Laboratory scale examination of the effects of overloading on the anaerobic digestion by glycerol. *Bioresour. Technol.* 102, 5270-5275.
- Rétfalvi, T., Szabó, P., Tukacs-Hájos, A., Albert, L., Kovács, A., Milics, G., Neményi, M., Lakatos, E., Ördög, V., (2015). Effect of co-substrate feeding on methane yield of anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Applied Phycology* 28, 2741-2752.
- Roig, N., Jordi Sierra, J., Nadal, M., Martí, E., Navalón-Madrigal, P., Schuhmacher, M., Domingo J. L., (2012). Relationship between pollutant content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment* 425, 99–109.
- Roni S. M., Chowdhury, S., Mamun, S., Marufuzzaman, M., Lein, W., Johnson, S., (2017). Biomass co-firing technology with policies, challenges, and opportunities: A global review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 78, 1089-1101.
- Russ, K., Howard, S., (2016). Developmental Exposure to Environmental Chemicals and Metabolic Changes in Children. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* 46, 255-285.
- Sahlstrom, L., (2003). A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Biores. Technol.* 87, 161–166.
- Salazar, M. J., Rodriguez, J. H., Nieto, G. L., Pignata, M. L., (2012). Effects of heavy metal concentrations (Cd, Zn and Pb) in agricultural soils near different emission sources on quality, accumulation and food safety in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *J. Hazard. Mater.* 233–234, 244–253.
- Schenk, P. M., Thomas-Hall, S. R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussgnug, J. H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B., (2008). Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenerg. Res.* 1, 20–43.

Scherer, P., Sahm, H., (1981) Effect of trace element and vitamins on the growth of *Methanosarcina barkeri*. Acta Biotechnol. 1, 57-65.

Scherer, P., Lippert, H., Wolff, G., (1983). Composition of the major elements and trace elements of 10 methanogenic bacteria determined by inductively coupled plasma emission spectrometry. Biol. Trace Elem. Res. 5, 149-63.

Sharma, P. K., Capalash, N., Kaur, J., (2007). An improved method for single step purification of metagenomic DNA. Mol. Biotechnol. 36, 61–63.

Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P., (1998). A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel from Algae. National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO.

Simon, T., (2015). A biomassza felhasználás jelene és jövője Magyarországon. Magyar Energetikai Társaság (<http://www.e-met.hu/?action=show&id=851>, 2017. 08.22.)

Somosné Nagy A., Fuchsz M., Lengyel A., Szárszó T., Szolnoky T. (2010). A biogáz szerepe a vidékgazdaságban (<http://www.biogas.hu/1/page/downloads/A>, 2017. 08. 21.)

Speight, G. J., (2017). Chapter One – Inorganic Chemicals in the Environment. Environmental Inorganic Chemistry for Engineers 1-49.

Sprott, G. D., Shaw, K. M., Jarrel, K. F., (1984). Ammonia/potassium exchange in methanogenic bacteria. J. Biol. Chem. 259, 12602–12608.

Stefaniuk, M., Oleszczuki, P., Bartmiski, P., (2016). Chemical and ecotoxicological evaluation of biochar produced from residues of biogas production. Journal of Hazardous Materials 318, 417-424.

STN 83 8303 - Testing of dangerous properties of wastes. Ecotoxicity, acute toxicity tests on aquatic organisms and 357 growth inhibition tests of algae and higher cultivated plants; 1999.

Szabó, Cs., (szerk.) (2016). Studia Doctorandorum Alumnae: Válogatás a DOSZ Alumni Osztály tagjainak doktori munkáiból. Doktoranduszok Országos Szövetsége, 582.

STN EN 14735 - Characterization of waste. Preparation of waste samples for ecotoxicity tests; 2006.

Tafdrup, S., (1995). Viable energy production and waste recycling from anaerobic digestion of manure and other biomass materials. Biomass & Bioenergy 9, 303-314.

Tamás, J., Blaskó, L., (2008). Environmental management, Debreceni Egyetem, elektronikus jegyzet

Tu, J., Zhao, Q., Wei, L., Yang, Q., (2012). Heavy metal concentration and speciation of seven representative municipal sludges from wastewater treatment plants in Northeast China. Environ Monit Assess. 184, 1645-1655.

Van Harmelen, T., Oonk, H., (2006). Microalgae Biofixation Processes: Applications and Potential Contributions to Greenhouse Gas Mitigation Options. Report, International Network on Biofixation of CO₂ and Greenhouse Gas Abatement, The Netherlands.

Van Velsen, A. F. M., (1979). Adaptation of methanogenic sludge to high ammonianitrogen concentrations. Water Res. 13, 995–999.

VDI 4630 - Fermentation of organic materials - Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests

Wahsha, M., Fontana, S., Nadimi-Goki, M., Bini, C., (2014). Potentially toxic elements in foodcrops (*Triticum aestivum* L., *Zea mays* L.) grown on contaminated soils. Journal of Geochemical Exploration 147, 189-199.

Wall, D.M., Allen, E., Straccialini, B., O'Kiely, P., Murphy, J.D., (2014). The effect of trace element addition to mono-digestion of grass silage at high organic loading rates. Biores. Technol. 172, 349-355.

- Walter, I., Martinez, F., Cala, V., (2006). Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environmental Pollution* 139, 507-514.
- Wang, J., Kang, C., (2017). Review and prospect of integrated demand response in the multi-energy system. *Applied Energy* 202, 772-782.
- Walter, I., Martinez, F., Cala, V., (2006). Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environ. Pollut.* 139, 507–514.
- Ward, J. A., Hobbs, J. P., Holliman, J. P., Jones, L. D., (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Biores. Techn.* 99, 7928–7940.
- Wenzel, W., (2002). Mikrobiologische Charakterisierung eines Anaerobreaktors zur Behandlung von Rübenmelasseschlempe. PhD értekezés, Műszaki Egyetem, Berlin
- Wilkie, A., Goto, M., Bordeaux, F. M., Smith, P. H., (1986). Enhancement of anaerobic methanogenesis from napiergrass by addition of micronutrients. *Biomass* 11, 135-46.
- Wirth, R., (2014). Biogáz termelő mikroorganizmus közösségek vizsgálata metagenomikai megközelítéssel. PhD értekezés, SZTE-TTIK, Szeged
- Wirth, R., Lakatos, G., Maróti, G., Bagi, Z., Minárovics, J., Nagy, K., Kondorosi, É., Rákhely, G., Kovács, L. K., (2015). Exploitation of algal-bacterial associations in a two-stage biohydrogen and biogas generation process *Biotechnology for Biofuels.* 8:59
- Yen, H. W., Brune, D. E., (2007). Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. *Biores. Technol.* 98, 130–134.
- Zhang, L., Jahng, D., (2012). Long-term anaerobic digestion of food waste stabilized by trace elements. *Waste Manage.* 32, 1509–1515.

Irányelvek és kormányrendeletek

- Európa Tanács „A szennyvíziszap mezőgazdasági felhasználása során a környezet és különösen a talaj védelméről” szóló 86/278/EGK irányelve
72/2013. VM rendelet a hulladékok jegyzékéről
50/2001. (IV. 3.) Korm. rendelet a szennyvizek és szennyvíziszapok mezőgazdasági felhasználásának és kezelésének szabályairól
23/2003. (XII. 29) KvVM rendelet a biohulladék kezeléséről és a komposztálás műszaki követelményeiről
27/2006. (II. 7.) Korm. rendelet a vizek mezőgazdasági eredetű nitrátszennyezéssel szembeni védelméről
36/2006. (V.18.) FVM rendelet a termelésnövelő anyagok engedélyezéséről, tárolásáról, forgalmazásáról és felhasználásáról
59/2008. (IV. 29.) FVM rendelet vizek mezőgazdasági eredetű nitrátszennyezéssel szembeni védelméhez szükséges cselekvési program részletes szabályairól, valamint az adatszolgáltatás és nyilvántartás rendjéről
90/2008. (VII.18.) FVM rendelet a talajvédelmi terv készítésének részletes szabályairól

Internetes források:

- KSH adatbázis: <https://www.ksh.hu>
http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0032_kornyezettechnologia/ch04.html

Mellékletek

1. melléklet: Bioakkumulációs faktorok (tavaszi árpa/mesterséges talaj), cukorrépa préselt szelet – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből
2. melléklet: Bioakkumulációs faktorok (tavaszi árpa/mesterséges talaj), kukoricaszilázs – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből
3. melléklet: A főkomponens elemzés mátrixai
 - 3.1. Cukorrépa préselt szelet – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből származó főkomponens elemzés (PCA) centrált input mátrixai
 - 3.2. Kukoricaszilázs – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből származó főkomponens elemzés (PCA) centrált input mátrixai
4. melléklet: Duncan teszt - Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain
5. melléklet: Duncan teszt - Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei kukoricaszilázs különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

1. melléklet: Bioakkumulációs faktorok (tavaszi árpa/mesterséges talaj), cukorrépa préselt szelet – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből

	Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
kontroll	0,15	50,78	2,34	0,00	0,14	0,24	5,04	0,11	1,21	0,19	0,11	3,51
kezeletlen	0,07	35,68	0,71	16,63	0,34	0,17	3,11	0,07	0,79	0,30	0,10	2,09
kezelt	0,21	12,46	0,86	12,66	0,17	0,31	4,64	0,08	0,80	0,16	0,14	2,80
kezelt+Fe	0,14	12,21	0,46	110,82	0,45	0,84	3,78	0,09	0,76	0,44	0,15	2,51

2. melléklet: Bioakkumulációs faktorok (tavaszi árpa/mesterséges talaj), kukoricaszilázs – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből

	Al	B	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
kontroll	0,15	51,34	2,35	0,25	0,14	0,24	5,06	0,11	1,21	0,19	0,12	3,51
kezeletlen	0,16	23,33	1,19	2,62	0,45	0,23	4,06	0,09	0,73	0,32	0,32	3,13
kezelt	0,18	21,95	1,36	173,04	0,76	0,82	8,69	0,16	0,78	0,5	0,27	3,53
kezelt+Fe	0,13	38,62	0,47	12,62	0,85	0,21	2,24	0,08	0,73	0,32	0,17	1,61

3. melléklet: A főkomponens elemzés mátrixai

- 3.1. Cukorrépa préselt szelet – tavaszi árpa biomassza hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből származó főkomponens elemzés (PCA) centrált input mátrixai

a. Tavaszi árpa

Score mátrix T

	t1	t2	t3	t4
kontroll	0,430095	1,088261	0,506021	0
kezeletlen	-6,83731	-0,70054	0,011272	0

kezelt	5,379719	-1,11655	0,089827	0
kezelt+Fe	1,0275	0,728834	-0,60712	0

Loading P mátrix

	p1	p2	p3	p4
Al	0,997546	-0,03868	0,021342	0
B	-0,05308	-0,29413	0,813451	0
Ba	0,00278	0,007271	0,055974	0
Cd	0,000176	0,004882	-0,02498	0
Co	0,004431	0,002912	-0,09288	0
Cr	0,001278	0,011019	-0,04742	0
Cu	0,015594	0,007206	0,026017	0
Fe	0,015044	0,922064	0,111953	0
Mn	0,018354	0,197119	0,433041	0
Ni	0,001127	0,004722	-0,05144	0
Pb	0,000998	0,005195	-0,00148	0
Zn	0,035327	0,150416	0,346159	0

b. Mesterséges talaj

Score mátrix T

	t1	t2	t3	t4
kontroll	-5,05382	2,555319	-0,1868	0
kezeletlen	6,792137	-2,1412	-0,21888	0
kezelt	-12,3091	-1,3914	0,163714	0
kezelt+Fe	10,57075	0,977285	0,241965	0

Loading P mátrix

	p1	p2	p3	p4
Al	0,953501	-0,30116	-0,00365	0
B	-0,00241	-0,02035	0,495157	0
Ba	0,0038	-0,01254	0,240832	0
Cd	3,74E-06	2,66E-05	-1E-05	0
Co	-0,00417	-0,01728	0,592456	0
Cr	0,000373	0,000275	-0,03301	0
Cu	-0,0003	0,000573	0,045811	0
Fe	0,301323	0,952783	0,0209	0
Mn	0,00055	0,0062	0,530361	0
Ni	-0,00126	-0,00597	0,239681	0
Pb	-0,001	0,023431	0,009419	0
Zn	-0,00028	0,003896	0,057952	0

c. Iszap

Score mátrix T

	t1	t2	t3
kezeletlen	-0,0394	0,0012	0,0000

kezelt	0,0145	-0,0073	0,0000
kezelt +vas	0,0249	0,0062	0,0000

Loading P mátrix

	p1	p2	p3
Al	-0,1573	0,1216	0,0000
B	0,8180	-0,4607	0,0000
Ba	-0,0066	-0,0062	0,0000
Cd	0,0000	0,0000	0,0000
Co	0,1177	-0,1908	0,0000
Cr	0,0023	-0,0038	0,0000
Cu	-0,0004	-0,0228	0,0000
Fe	0,5319	0,8153	0,0000
Mn	0,0011	0,1474	0,0000
Ni	0,0926	-0,1976	0,0000
Pb	0,0001	-0,0003	0,0000
Zn	-0,0280	-0,1020	0,0000

3.2 Kukoricaszilázs – tavaszi árpa biomassa hozam teszt mikroelem analízis eredményeiből származó főkomponens elemzés (PCA) centrált input mátrixai

a. Tavaszi árpa

Score mátrix T

	t1	t2	t3	t4
kontroll	-0,20265	-0,05263	0,905145	0
kezeletlen	0,858595	-1,87882	-0,31192	0
kezelt	2,555983	1,353379	-0,25211	0
kezelt+Fe	-3,21193	0,578074	-0,34111	0

Loading P mátrix

	p1	p2	p3	p4
Al	0,803522	-0,54641	-0,1846	0
B	0,105455	-0,1932	0,498875	0
Ba	0,076399	0,303734	-0,39382	0
Cd	0,002391	0,002709	-0,00624	0
Co	0,012415	0,047223	-0,12288	0
Cr	0,007668	0,009265	-0,01116	0
Cu	0,043572	0,034425	0,347806	0
Fe	0,562104	0,745743	0,107982	0
Mn	0,019254	-0,0109	0,540698	0
Ni	0,007597	0,015318	0,195745	0
Pb	0,002743	-0,00017	0,003378	0
Zn	0,137407	0,108917	0,288751	0

b. Mesterséges talaj

Score mátrix T

	t1	t2	t3	t4
kontroll	1,562781	0,539522	-0,21413	0
kezeletlen	7,06315	-1,03607	0,103305	0
kezelt	-5,66687	-2,93378	0,024767	0
kezelt+Fe	-2,95907	3,430324	0,086062	0

Loading P mátrix

	p1	p2	p3	p4
Al	0,999712	-0,01223	0,007073	0
B	0,001893	-0,01659	0,188228	0
Ba	-0,00462	0,004102	0,35688	0
Cd	0,000143	-7,4E-05	0,002747	0
Co	-0,01144	-0,02404	0,571933	0
Cr	0,002454	-0,00019	0,030414	0
Cu	0,000146	0,005873	0,103191	0
Fe	0,012212	0,999052	0,028074	0
Mn	0,007807	-0,02157	0,40841	0
Ni	-0,00757	-0,01506	0,283683	0
Pb	0,000586	0,000987	-0,49922	0
Zn	-0,01206	0,012163	0,034363	0

c. Iszap

Score mátrix T

	t1	t2	t3
kezeletlen	0,023083	0,008751	0
kezelt	0,018932	-0,00935	0
kezelt +vas	-0,04201	0,000596	0

Loading P mátrix

	p1	p2	p3
Al	0,17123	0,70867	0
B	0,19567	-0,65470	0
Ba	0,22889	-0,17484	0
Cd	0,00000	0,00000	0
Co	0,02164	0,06689	0
Cr	0,00086	0,00235	0
Cu	0,00422	0,03062	0
Fe	0,93638	0,05358	0
Mn	0,00892	-0,05086	0
Ni	-0,02924	-0,06577	0
Pb	0,00039	0,0003377	0
Zn	0,04216	-0,15292	0

4. melléklet: Duncan teszt - Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei cukorrépa préselt szelet különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

minta	hígítás	kontroll					kezeletlen					kezelt													
		1	10	50	100	200	kezeletlen	kezeletlen	kezeletlen	kezeletlen	kezeletlen	10	50	100	200	kezelt	kezelt	kezelt	kezelt	kezelt	kezelt	kezelt	kezelt	kezelt	
		0	23.07	8.196	6.296	-1.583					30.53	24.41	40.94	47.87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kontroll	1		0.002	0.287	0.382	0.826				0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
kezeletlen	10	0.002	0.039	0.039	0.026	0.001				0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
kezeletlen	50	0.287	0.039	0.039	0.792	0.221				0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
kezeletlen	100	0.382	0.026	0.792	0.306	0.306				0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
kezeletlen	200	0.826	0.001	0.221	0.306	0.306				0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
kezelt	10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.000	0.396	0.174	0.034	0.030	0.000	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171	0.171
kezelt	50	0.001	0.000	0.000	0.000	0.002				0.396		0.034	0.003	0.003	0.000	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033	0.033
kezelt	100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.000	0.174	0.034	0.034	0.368	0.017	0.946	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012
kezelt	200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.000	0.030	0.003	0.368	0.017	0.946	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186
kezelt+Fe	10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.000	0.000	0.000	0.017	0.109	0.017	0.946	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012
kezelt+Fe	50	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.000	0.171	0.033	0.946	0.372	0.017	0.946	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012	0.186	0.012
kezelt+Fe	100	0.005	0.000	0.000	0.000	0.007				0.000	0.216	0.639	0.012	0.001	0.000	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011	0.011
kezelt+Fe	200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000				0.000	0.903	0.364	0.186	0.035	0.000	0.191	0.191	0.191	0.191	0.191	0.191	0.191	0.191	0.191	0.191

5. melléklet: Duncan teszt - Fehér mustár gyökérnövekedés gátlási teszt eredményei kukoricaszilázs különböző mikroelem-kezelésű fermentiszapjain

minta	kontroll	kezeletlen		kezeletlen		kezeletlen		kezeletlen		kezel		kezel		kezel+Fe		kezel+Fe		kezel+Fe					
		1	10	50	100	200	10	50	100	200	10	50	100	200	10	50	100	200	10	50	100	200	
hígítás	1																						
	0	-55,50	-19,66	-18,68	-8,72	-64,97	-57,37	-39,82	-34,68	-61,31	-40,24	-36,33	-33,94										
kontroll	1	0,000	0,021	0,026	0,292	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
kezeletlen	10	0,000	0,000	0,000	0,000	0,285	0,810	0,077	0,019	0,503	0,079	0,030	0,016										
kezeletlen	50	0,021	0,000	0,899	0,185	0,000	0,000	0,025	0,096	0,000	0,023	0,066	0,109										
kezeletlen	100	0,026	0,000	0,899	0,199	0,000	0,000	0,020	0,079	0,000	0,018	0,053	0,091										
kezeletlen	200	0,292	0,000	0,185	0,199	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000	0,002	0,004										
kezel	10	0,000	0,285	0,000	0,000		0,379	0,004	0,000	0,637	0,005	0,001	0,000										
kezel	50	0,000	0,810	0,000	0,000	0,379		0,049	0,011	0,636	0,052	0,018	0,009										
kezel	100	0,000	0,077	0,025	0,020	0,000	0,004	0,049	0,537	0,016	0,957	0,653	0,498										
kezel	200	0,000	0,019	0,096	0,079	0,003	0,000	0,011	0,337	0,003	0,521	0,831	0,924										
kezel+Fe	10	0,000	0,503	0,000	0,000	0,637	0,656	0,016	0,003		0,018	0,005	0,002										
kezel+Fe	50	0,000	0,079	0,023	0,018	0,000	0,052	0,957	0,521	0,018		0,639	0,480										
kezel+Fe	100	0,000	0,030	0,066	0,053	0,002	0,001	0,018	0,653	0,005	0,639	0,774											
kezel+Fe	200	0,000	0,016	0,109	0,091	0,004	0,000	0,009	0,498	0,002	0,480	0,774											