

Doktori (PhD) értekezés
Soproni Egyetem
Kitaibel Pál Környezettudományi Doktori Iskola
Biokörnyezettudományi Program

**LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK ANAEROB FERMENTÁCIÓJÁNAK
VIZSGÁLATA**

Készítette: Makk Ádám Nándor

Témavezetők: Dr.habil Rétfalvi Tamás, Dr.habil Hofmann Tamás

Sopron
2017

**LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK ANAEROB FERMENTÁCIÓJÁNAK
VIZSGÁLATA**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében
a Soproni Egyetem Kitaibel Pál Környezettudományi Doktori Iskolája
Biokörnyezettudományi programja keretében

Írta: Makk Ádám Nándor

Témavezetők: Dr. habil. Rétfalvi Tamás

Elfogadásra javaslom (igen / nem) (aláírás)

Dr. habil. Hofmann Tamás

Elfogadásra javaslom (igen / nem) (aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron,

.....
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem

(aláírás)

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

Sopron,

.....
a Bírálóbizottság elnöke

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

.....
Az EDHT elnöke

NYILATKOZAT

Alulírott *Makk Ádám Nándor*, jelen nyilatkozat aláírásával kijelentem, hogy a „*Lignocellulóz rendszerek anaerob fermentációjának vizsgálata*” című PhD értekezésem önálló munkám, az értekezés készítése során betartottam a szerzői jogról szóló 1999. évi LXXVI. törvény szabályait, valamint a Kitaibel Pál Környezettudományi Doktori Iskola által előírt, a doktori értekezés készítésére vonatkozó szabályokat, különösen a hivatkozások és idézések tekintetében¹.

Kijelentem továbbá, hogy az értekezés készítése során az önálló kutatómunka kitétel tekintetében témavezetőimet, illetve a programvezetőt nem tévesztettem meg.

Jelen nyilatkozat aláírásával tudomásul veszem, hogy amennyiben bizonyítható, hogy az értekezést nem magam készítettem, vagy az értekezéssel kapcsolatban szerzői jogsértés ténye merül fel, a Soproni Egyetem megtagadja az értekezés befogadását.

Az értekezés befogadásának megtagadása nem érinti a szerzői jogsértés miatti egyéb (polgári jogi, szabálysértési jogi, büntetőjogi) jogkövetkezményeket.

Sopron, 2017.....

.....
doktorjelölt

¹ 1999. évi LXXVI. tv. **34. § (1) A mű részletét – az átvevő mű jellege és célja által indokolt terjedelemben és az eredetihez híven – a forrás, valamint az ott megjelölt szerző megnevezésével bárki idézheti.** 36. § (1) Nyilvánosan tartott előadások és más hasonló művek részletei, valamint politikai beszédek tájékoztatás céljára – a cél által indokolt terjedelemben – szabadon felhasználhatók. Ilyen felhasználás esetén a forrást – a szerző nevével együtt – fel kell tüntetni, hacsak ez lehetetlennek nem bizonyul.

TARTALOMJEGYZÉK

KIVONAT, ABSTRACT.....	9
1. BEVEZETÉS.....	11
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	13
2.1. LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK JELLEMZÉSE, FELÉPÍTÉSE	13
2.1.1. Poliszacharidok	14
2.1.2. Lignin	16
2.1.3. Járulékos anyagok, víz, hamualkotók	17
2.2. LIGNOCELLULÓZOK MINT MEGÚJULÓ ENERGIAFORRÁSOK.....	18
2.2.1. A bioüzemanyagok csoportosítása	18
2.2.2. A második generációs (lignocellulóz alapú) bioüzemanyagok	19
2.2.3. A biogáz jellemzői.....	20
2.3. ANAEROB FERMENTÁCIÓ	21
2.3.1. Az anaerob fermentáció folyamata.....	21
2.3.2. Az anaerob fermentációt befolyásoló tényezők.....	23
2.4. A LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK ELŐKEZELÉSI LEHETŐSÉGEI.....	25
2.4.1. Fizikai előkezelés.....	26
2.4.1.1. Darálás, őrlés.....	26
2.4.1.2. Hőkezelés	26
2.4.1.3. Pirolízis	26
2.4.1.4. Mikrohullámú előkezelés	27
2.4.2. Kémiai előkezelés.....	27
2.4.2.1. Savas hidrolízis	27
2.4.2.2. Lúgos előkezelés	28
2.4.2.3. Ozonolízis	28
2.4.3. Fizikai-kémiai előkezelés	29
2.4.3.1. Gőzrobbantás, nedves oxidáció	29
2.4.3.2. Ammóniás robbantás, szén-dioxidos robbantás	30
2.4.4. Biológiai előkezelés.....	31
2.4.4.1. Korhasztó gombás előkezelés.....	31
2.4.4.2. Mikroorganizmusokkal és enzimekkel végzett előkezelés.....	32
2.5. A KUTATÁSBAN FELHASZNÁLT ALAPANYAGOK.....	33
2.5.1. A fekete bodza, mint alapanyag.....	33
2.5.2. Tölgy és egyéb fakéreg, mint alapanyag	35
2.6. ÖSSZEGZÉS	37
3. KUTATÁSI CÉLKITÚZÉSEK.....	38
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	39
4.1. ALAPANYAGOK ÉS ELŐKEZELÉSÜK	39
4.1.1. A mintavétel és gyűjtés szempontjai.....	39
4.1.2. Alapanyagok feldolgozása.....	39
4.1.3. Előkezelési eljárások.....	41
4.1.3.1. Kémiai előkezelés	41
4.1.3.2. Fizikai előkezelés.....	41
4.1.3.3. Fizikai és kémiai előkezelés.....	42
4.1.3.4. Biológiai előkezelés.....	43
4.2. KORHASZTÓ GOMBÁKKAL KEZELT ALAPANYAGON VÉGZETT VIZSGÁLATOK ..	44
4.2.1. Összes szervesanyag-tartalom meghatározás.....	44

4.2.2. Cellulóz tartalom meghatározás.....	44
4.2.3. Összes kioldható szénhidrát tartalom meghatározás.....	44
4.2.4. Totálfenol tartalom meghatározás	45
4.2.5. HPLC-MS/MS mérések	46
4.2.6. Elektronmikroszkópos felvételek	47
4.2.7. Szárazanyag-tartalom meghatározás	48
4.3. BIOGÁZ ELŐÁLLÍTÁS ÉS BIOGÁZ HOZAM MÉRÉSE	48
4.3.1. Biogáz előállítása.....	48
4.3.2. Biogáz összetétel meghatározása.....	49
4.3.3. Genomikai vizsgálatok.....	49
4.3.4. Biogáz iszap monitoring	50
4.4. FELHASZNÁLT VEGYSZEREK.....	51
4.5. STATISZTIKAI KIÉRTÉKELÉS.....	51
5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	52
5.1. ELŐKEZELÉSEK HATÁSA	52
5.1.1. Fekete bodza alapanyag	52
5.1.1.1. <i>Híg savas előkezelés</i>	<i>52</i>
5.1.1.2. <i>Mikrohullámú előkezelés</i>	<i>54</i>
5.1.1.3. <i>Hidrotermikus előkezelés.....</i>	<i>55</i>
5.1.1.4. <i>Fizikai-kémiai előkezelés.....</i>	<i>57</i>
5.1.1.5. <i>Biológiai előkezelés.....</i>	<i>60</i>
5.1.2. Tölgy kéreg alapanyag	66
5.1.2.1. <i>Mikrohullámú előkezelés</i>	<i>66</i>
5.1.2.2. <i>Extrakciós előkezelés</i>	<i>68</i>
5.1.2.3. <i>Mikrohullámú és extrakciós előkezelés</i>	<i>69</i>
5.1.3. A felhasznált lignocellulóz alapanyagok metánhozamainak összehasonlítása.	71
5.1.4. Következtetések	72
5.2. FEKETE BODZA ALAPANYAG BIOLÓGIAI ELŐKEZELÉSÉNEK VIZSGÁLATA.....	75
5.2.1. Elektronmikroszkópos felvételek	75
5.2.2. Cellulóz tartalom.....	77
5.2.3. Összes kioldható szénhidrát tartalom.....	79
5.2.4. Totálfenol tartalom	80
5.2.5. Összes szervesanyag-tartalom.....	81
5.2.6. Szárazanyag-tartalom.....	82
5.2.7. Biogáz előállítása.....	84
5.2.7.1. <i>Metánhozam</i>	<i>84</i>
5.2.7.2. <i>Biogáz összetétel.....</i>	<i>86</i>
5.2.7.3. <i>Genomikai vizsgálat.....</i>	<i>86</i>
5.2.8. Penészesedés vizsgálata	88
5.2.8.1. <i>Szerves savak HPLC-MS/MS meghatározása.....</i>	<i>89</i>
5.2.8.2. <i>A szerves savak és a metánhozam kapcsolata</i>	<i>94</i>
5.2.9. Következtetések	95
6. ÖSSZEFOGLALÁS, SUMMARY	97
7. TÉZISEK.....	99
8. JAVASLATOK, JÖVŐBENI CÉLOK.....	100
9. IRODALOMJEGYZÉK	101
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	110
11. MELLÉKLETEK	111

ÁBRÁK- ÉS TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

ÁBRÁK JEGYZÉKE

1. ábra	A lignocellulóz struktúrája.....	14
2. ábra	A cellulóz polimer lánc struktúrája	15
3. ábra	A lignin felépítése és a jellemző építőkövei.....	16
4. ábra	A bioüzemanyagok csoportosítása	19
5. ábra	Az anaerob fermentáció folyamata	23
6. ábra	Az előkezelés fontossága a lignocellulóz alapanyagok esetén.....	25
7. ábra	A különböző lombos fák hemicellulóz tartalma, cellulóz és lignin:hemicellulóz aránya	34
8. ábra	A kéreg felépítése.....	35
9. ábra	Laboratóriumi anaerob fermentor rendszer.....	49
10. ábra	A metántermelés alakulása fekete bodza híg savas (ecetsavas) előkezelése esetén..	53
11. ábra	A metántermelés alakulása fekete bodza mikrohullámú előkezelése esetén.....	54
12. ábra	A metántermelés alakulása fekete bodza hidrotermikus előkezelése esetén.....	55
13. ábra	A metántermelés alakulása fekete bodza faanyag 150°C-on történt fizikai-kémiai előkezelése esetén.....	57
14. ábra	A metántermelés alakulása fekete bodza 210°C-on fizikai-kémiai előkezelése esetén	59
15. ábra	A metántermelés alakulása a fekete bodza, különböző korhasztó gombákkal 14 napig tartó előkezelés esetén	61
16. ábra	A metántermelés alakulása a fekete bodza, különböző korhasztó gombákkal 21 napig tartó előkezelés esetén	62
17. ábra	A metántermelés alakulása a fekete bodza, vörös és fehér korhasztó gombákkal együttesen 21 napig tartó előkezelés esetén	63
18. ábra	A metántermelés alakulása a fekete bodza, különböző korhasztó gombákkal 28 napig tartó előkezelése esetén	65
19. ábra	A metántermelés alakulása tölgy kéreg és mikrohullámmal kezelt tölgy kéreg esetén	67
20. ábra	A metántermelés alakulása tölgy kéreg és extrahált tölgy kéreg esetén.....	68
21. ábra	A metántermelés alakulása tölgy kéreg és mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg esetén	69
22. ábra	A metántermelés alakulása a fekete bodza és a tölgy kéreg alapanyag esetén	71
23. ábra	Elektronmikroszkópos felvételek vörös- és fehér korhasztó gombás előkezelés esetén.....	76
24. ábra	Elektronmikroszkópos felvételek vörös és fehér korhasztó gombás együttes előkezelés esetén	77
25. ábra	A cellulóz tartalom meghatározása	78
26. ábra	Az összes kioldható szénhidrát tartalom meghatározása	79
27. ábra	A totálfenol tartalom meghatározása.....	80
28. ábra	Az összes szervesanyag-tartalom meghatározása	82
29. ábra	A szárazanyag-tartalom meghatározása	83
30. ábra	A különböző biológiai előkezelések hatása a biogáz hozam változására.....	84
31. ábra	A penészgombák jelenléte a korhasztó gombák mellett 14 és 28 napig előkezelt mintákon	89
32. ábra	MRM átmenetekkel, mennyiségileg kiértékelt szerves savak kromatogramja a V28 minta esetén	91
33. ábra	Az almasav mennyiségi változása a korhasztó gombákkal előkezelt faanyagon.....	92
34. ábra	Az borkósav mennyiségi változása a korhasztó gombákkal előkezelt faanyagon	92
35. ábra	A citromsav mennyiségi változása a korhasztó gombákkal előkezelt faanyagon.....	93
36. ábra	A metánhozam alakulása a szerves savak mennyiségének függvényében.....	94

TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

1. táblázat	A különféle lignocellulóz alapanyagok összetétele.....	14
2. táblázat	Magyarországi fakitermelés a legjelentősebb fafaj csoportok szerint 2015-ben...	36
3. táblázat	A mintavételi paraméterek és az elvégzett vizsgálatok	40
4. táblázat	A hidrotermikus előkezelés összegzése.....	42
5. táblázat	A fizikai és kémiai előkezelés összegzése.....	43
6. táblázat	Korhasztó gombákkal történt előkezelés összefoglalása.....	43
7. táblázat	Az MRM átmenetek és a tömegspektrométer vegyület specifikus beállításai	47
8. táblázat	A híg savval előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása.....	54
9. táblázat	A mikrohullámmal előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása.....	55
10. táblázat	A hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása	56
11. táblázat	A 150°C-on fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag gáztermelésének összefoglalása	58
12. táblázat	A 210°C-on fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag gáztermelésének összefoglalása	59
13. táblázat	A különböző korhasztó gombákkal 14 napig előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása	61
14. táblázat	A különböző korhasztó gombákkal 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása	63
15. táblázat	A vörös és fehér korhasztó gombával 21 napig együttesen előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása.....	64
16. táblázat	A különböző korhasztó gombákkal 28 napig előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása	65
17. táblázat	A tölgy kéreg és a mikrohullámmal előkezelt tölgy kéreg metántermelésének összefoglalása	67
18. táblázat	A tölgy kéreg és extrahált tölgy kéreg metántermelésének összefoglalása	69
19. táblázat	A mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg metántermelésének összefoglalása	70
20. táblázat	A fekete bodza és a tölgy kéreg alapanyag metántermelésének összefoglalása..	71
21. táblázat	A különböző módon biológiailag előkezelt minták metánhozamának százalékos változása a kontrol mintához képest	85
22. táblázat	A biogáz összetétele a metánhozam növekedést eredményező biológiai előkezelések esetén.....	86
23. táblázat	A különböző iszap minták eukarióta nemzetség összetétele	87
24. táblázat	A különböző iszap minták archea nemzetség összetétele	88
25. táblázat	A 28 napos vörös korhasztó gombával előkezelt faanyag extraktumából minőségileg beazonosított szerves savak.....	90

KIVONAT

LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK ANAEROB FERMENTÁCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA

Doktori disszertációmban a különböző lignocellulóz alapanyagok közül az erdészeti és faipari hulladékokat vizsgáltam biogáz előállítás szempontjából. Az effajta hulladékok reprodukálása gyanánt fekete bodza faanyagot (*Sambucus nigra* L.) és kocsánytalan tölgy (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) kérget alkalmaztam. A lignocellulóz rendszerekből anaerob fermentációs úton termelődő biogáz előállíthatóságának kulcsa az alapanyagot felépítő polimerek hidrolízisében rejlik. A hidrolízis hatékonyságának növelése érdekében különböző előkezelési eljárásokat alkalmaztam.

Az alkalmazott előkezelési eljárásokat négy csoportban sorolhatjuk, így beszélhetünk kémiai, fizikai, fizikai-kémiai és biológiai előkezelési eljárásokról. A fekete bodza alapanyag esetén híg savas (kémiai), mikrohullámú és hő (fizikai), egyidejű mikrohullámú, hő és híg savas (fizikai-kémiai), korhasztó gombás (biológiai) előkezeléseket végeztem. A tölgy kéreg alapanyag esetében extrakciós (kémiai), mikrohullámú (fizikai), mikrohullámú és extrakciós (fizikai-kémiai) előkezeléseket alkalmaztam. A tölgy kéreg alapanyag biológiai előkezelésére nem került sor a magas fenolos jellegű extrakt anyag tartalom miatt, melyek fungicid hatásúak.

Az előkezelések metántermelésre gyakorolt hatásának és a kezeletlen alapanyagok metántermelésének összehasonlításával, illetve a költséghatékonysági és az ipari alkalmazhatósági szempontok figyelembe vételével választottam ki az optimális előkezelési eljárást. A tölgy kéreg alapanyag esetében az anaerob úton előállítható metán mennyiségét az alkalmazott előkezelések hatására nem sikerült megnövelni. A fekete bodza alapanyag esetében a 21 napig tartó szimultán alkalmazott vörös korhasztó (*Coniophora Puteana* (Schumach.) P. Karst) és fehér korhasztó (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) gombás előkezelés bizonyult optimálisnak mellyel 30% metánhozam növekedés érhető el.

A fekete bodza faanyag biológiai előkezelése során bekövetkező degradáció nyomon követésével, az előkezelést befolyásoló körülmények vizsgálatával és statisztikai elemzéssel bizonyosság nyerhető, hogy a metánhozamban tapasztalt növekedés valóban az előkezelés hatására történt.

ABSTRACT**STUDY OF ANAEROBIC FERMENTATION OF LIGNOCELLULOSES**

The present Ph.D thesis examines the possible application of the forestry and wood industrial residues elderberry (*Sambucus nigra* L.) wood and oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) bark for the production of biogas via anaerobic fermentation. The hydrolysis of the substrate is a key step to enhance the biogas yield from lignocelluloses. Different pretreatment methods (chemical, physical, physical-chemical and biological) were applied to improve the efficiency of hydrolysis. By comparison of methane yields, cost efficiency and industrial applicability the optimum pretreatment method was selected. The tested pretreatment methods had no significant positive effect on the methane yield in the case of oak bark. In case of elderberry wood the methane yield increased by approximately 30% with the use of biological pretreatment. The beneficial effect of the biological pretreatment on the methane production was confirmed by running multiple investigations.

1. BEVEZETÉS

Az iparosodás és a motorizáció fejlődésével világunk egyre jobban elkezdett függeni a benzin alapú üzemanyagoktól (Agrawal 2007). Globális viszonylatban az elsődleges energiaforrások a fosszilis energiahordozók közel 80%-át kimerítették. A meg nem újuló energiaforrásokkal nem csak a kimerülésük a gond, hanem számos egyéb környezeti problémákat is előidéznek, mint például a globális felmelegedést. Napjainkban tehát a megújuló energiaforrások, azon belül a második generációs források vizsgálata, fejlesztése világszintű témává kezd válni (Nigam és Singh 2011, Monlau *et al.* 2014).

A világ összes energiatermelésének közel ötödét 2010-ben már megújuló energiák adták, melynek megoszlása a következő: 16,6% víz-, 2,56 % szél-, 0,67% geotermális-, 0,13% napenergia, 1,95% biomassza alapú. 1979 és 2009 között a megújuló energiaforrás kutatások több mint fele (56%) foglalkozott biomassza alapú energiával (Manzano-Agugliaro *et al.* 2013).

A megújuló energiaforrások közül a kutatásunk fókuszpontja a biogáz, melyet biomassza alapanyagból, anaerob fermentálással lehet előállítani. A biomassza a napenergia átalakított formája, a növényi és állati szervezetek által termelt szerves anyag összessége (Szulmanné Binet 2007). Az anaerob emésztési folyamat négy fő lépésre osztható, ezek a hidrolízis, savképződés, ecetsavképződés és a metánképződés. A biomassza, a mi esetünkben a lignocellulóz alapanyag, a folyamat végére nagyrészt biogázzá alakul (Monlau *et al.* 2014). Az anaerob fermentáció során előállított biogáznak rengeteg előnyét ismerjük az egyéb hulladékkezelési, újrahasznosítási lehetőségekkel szemben, mint például a viszonylag kis mennyiségű fölös iszap, a minimális szaghatás mert az illékony anyagok 99%-a elég a biogázzal együtt (Smeth *et al.* 1999), és a legtöbb hulladékkezelési stratégiának megfelel stb. (Ward *et al.* 2008). Az összes biomassza alapú energia közül a biogáznak a leghatékonyabb az energia mérlege ugyanis a kivételi/beviteli arány 28 MJ/MJ (Deublein és Steinhauser 2008).

A lignocellulózok energetikai hasznosítása rengeteg különböző módon történhet. A lignocellulóz alapú biomasszát három polimer építi fel, ezek a cellulóz, hemicellulóz, és a lignin, melyek szorosan kapcsolódnak egymáshoz (Fengel és Wegener 1984).

Ahhoz, hogy a lignocellulóz alapú biomasszából biogáz keletkezzen a cellulóznak és a hemicellulóznak az őket alkotó egyszerű cukrokká, monomerekké kell bomlaniuk (Chandra *et al.* 2012).

Három fázisra különíthető el a lignocellulóz biomassza biogáz termelése: előkezelés, anaerob hidrolízis és metántermelés, a visszamaradt folyékony frakció kezelése. A lignocellulóz alapanyagok esetén a különböző előkezelések alkalmazása elősegítheti a hidrolízis hatékonyságát illetve a biogáz termelés is jelentősen növekedhet (Hendriks és Zeeman 2009). A magas lignin tartalmú alapanyagok mikrobiális lebomlása nagyon lassú és viszonylag alacsony biogáz hozam érhető el.

Számos kutatás és publikáció jelent meg a különböző előkezelési módszerekről melyek segítik a lignocellulóz alapanyagok emészthetőségét (Hendriks és Zeeman 2009, López *et al.* 2013). A különböző mechanikai, hő és kémiai előkezelési módszerek nagyon sok előnye mellett jelentős hátrányaik is vannak. A kedvezőtlen költséghatékonyság, illetve a keletkező melléktermékek problémákat okoznak. Ezen előkezelési módszerekkel szemben a biológiai előkezelésekről elmondható, hogy költséghatékony és környezetbarát technológiák. A biológiai előkezelések (enzimatikus, illetve korhasztó gombás) költséghatékonyságát tovább növeli, hogy az alapanyag degradációjához nincs szükség vegyszerekre, vagy például fényre, csak standard (szobahőmérséklet, normál légköri nyomás) körülményekre (Chandra *et al.* 2012).

Magyarországon a megújuló energiaforrások tekintetében 85 százalékos a szilárd biomassza (mely főként lignocellulóz alapú) aránya. A hasznosított faanyag 5,5 millió m³, amelyből 3,5 millió m³ az ún. sarangolt fa (rost-, papír-, tűzifa). A sarangolt fa és a fafeldolgozás során keletkező 400-500 ezer m³ faipari hulladék összegeként adódó évi kb. 4 millió m³ faanyag felvevőpiacát a hazai falemezipar, a lakossági tűzifaigény, az export és az energetikai hasznosítás teszi ki (Tamás és Blaskó 2008).

Jelen kutatás alapanyagaként a fekete bodza (*Sambucus nigra* L.) faanyaga (továbbiakban: fekete bodza) és a kocsánytalan tölgy (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) kérge (továbbiakban: tölgy kéreg) került feldolgozásra.

A fekete bodza faanyag Európa szerte elterjedt, kémiai összetételét tekintve átlagos, és iparilag értéktelennek mondható (Atkinson és Atkinson 2002). A tölgyek (*Quercus spp.*) feldolgozása során kéreghulladék keletkezik, melynek megfelelő és hatékony ipari hasznosítása mind a mai napig nem teljes körűen megoldott kérdés (Molnár 2004).

Tulajdonságaikat tekintve tehát a kutatásainkhoz ideális alapanyagok, mert nagyon jól magukban hordozzák egy átlagos faanyag, illetve kéreg hulladék jellemzőit. Ezen lignocellulózok különböző előkezelési módszerekkel biogáz termelésre való alkalmazhatóság szempontjából eddig nem vizsgáltak alapanyagok.

Véleményem szerint, ha a fekete bodza, mint egy átlagos lignocellulóz alapanyag, illetve a tölgy kéreg, mint nagy mennyiségben jelenlevő hulladék, hasznosítható biogáz termelésre, akkor ez lehetőséget teremt más lignocellulóz alapanyagok alkalmazhatóságához, biogáz előállításra.

Hazánk adottságait tekintve jelentős biomassza alapanyag bázissal rendelkezik, melyek nagyrésze alkalmas biogáz előállításra. Fontos feladat viszont a biogáz üzemek alapanyag ellátásának biztosítása, melynek feltétele, hogy az ezidáig sikeresen alkalmazott alapanyagok palettája, újabb lehetőségekkel bővüljön. Disszertációmban, laboratóriumi kísérletekkel szeretném bizonyítani az erdészeti- és faipari melléktermékek biogáz célú felhasználhatóságát. A kutatásom alapot jelenthet ezen új alapanyagok bevonására a biogáztermeléshez technológiájába, továbbá megalapozhatja az ilyen jellegű melléktermékek ipari méretű felhasználását.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

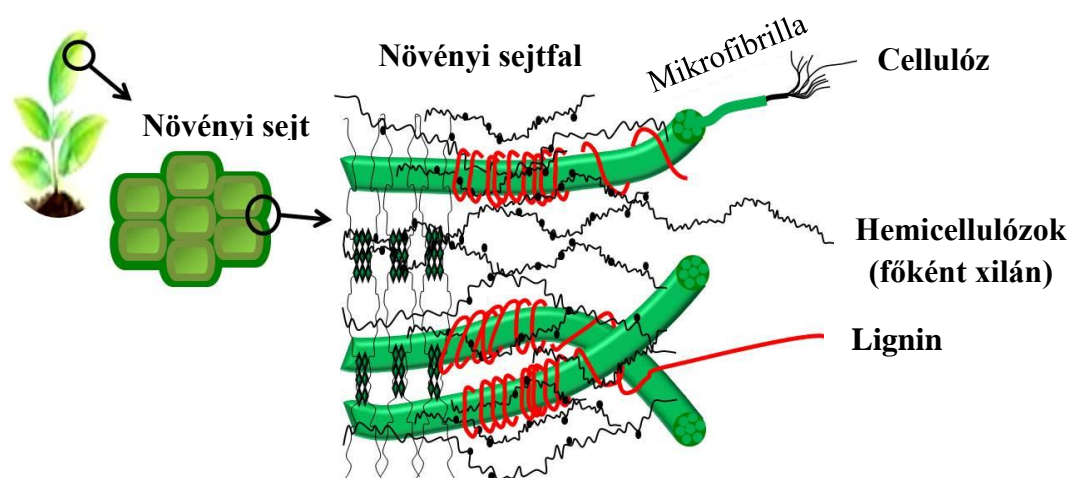
2.1. LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK JELLEMZÉSE, FELÉPÍTÉSE

A lignocellulóz alapú biomassza fő képviselői a mezőgazdasági és faipari hulladékok valamint erdészeti melléktermékek, mint például az apríték, kukoricaszár, búzaszalma stb. (Kumar *et al.* 2009). A lignocellulóz alapanyagokat főként három váz polimer alkotja: a cellulóz, a hemicellulóz és a lignin. A polimerek egymáshoz viszonyított kapcsolata egy heterogén mátrixot alkot, melynek mértéke és relatív összetétele nagyban függ az adott fajtól, a forrásától és a biomassza típusától. A lignocellulóz rendszerekben a három fő polimeren kívül megtalálhatóak még kisebb mennyiségben pektinek, fehérjék, járulékos anyagok, víz és a hamualkotók (Bajpai 2016). Az 1. táblázat különböző lignocellulóz alapanyagok cellulóz, hemicellulóz és lignin összetételét mutatja be.

1. táblázat A különféle lignocellulóz alapanyagok összetétele (McKendry 2002)

	cellulóz (%)	hemicellulóz (%)	lignin (%)
lombos fák	45-50	20-25	20-25
lágylombos és fenyők	35-40	25-30	27-30
búzaszalma	33-40	20-25	15-20
fűfélék (köles)	30-50	10-40	5-20

Az 1. ábra mutatja a lignocellulóz rendszer felépítését, a cellulóz, hemicellulóz a lignin helyzetét a sejtfaon belül.

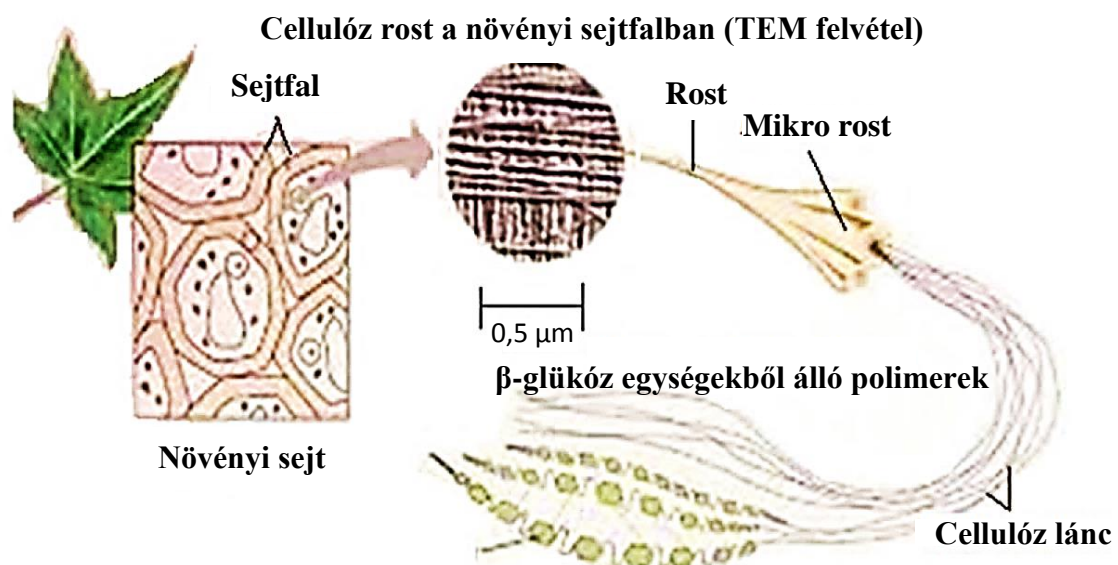


1. ábra A lignocellulózok struktúrája (Tomme *et al.* 1995 alapján)

2.1.1. Poliszacharidok

A poliszacharidok vagy más néven holocellulózok a fotoszintézis (reakcióegyenletét a XVII. melléklet tartalmazza) termékeként létrejött glükózok és egyéb monoszacharidok (hexóz, fruktóz, mannóz, xilóz, ribóz stb.) polimerizációja révén létrejött makromolekulás vegyületek. Együttes részarányuk a fatestben 65-85%. Ide tartoznak a cellulóz, a hemicellulózok, a pektin és a keményítők (Molnár 2004). A fatest és az egyéb fa részek szilárd vázát lényegében az elfásodott sejtfalak alkotják. Ezeknek legfontosabb vegyületei a cellulóz és a lignin. A cellulóz fonalak képezik a sejtfal vázát, ezek közé rakódik a lignin (lignifikáció). A légzésen keresztül való felhasználódás mellett a fotoszintetikus úton keletkezett szénhidrátok legjelentősebb része a sejtfal felépítésében vesz részt. Az ún. szekunder sejtfal majdnem teljes egészében cellulózból és ligninből áll. A cellulózmolekula szerkezete viszonylag egyszerű (Farkas 1978).

A faanyag legjelentősebb poliszacharidja a cellulóz, amely a fatest 40-55%-át alkotja. A cellulóz makromolekulákban a cukor monomerek β -D-glükóz molekulák, melyek 1-4 β glikozidos kötéssel egymáshoz kapcsolódnak és hosszú, elágazás nélküli láncot alkotnak (XVII. melléklet). A fából kinyerhető ipari cellulóz némileg eltérő összetételű, mint a kémiaiilag tiszta cellulóz mivel hemicellulózokat is tartalmaz (Molnár 2004). A cellulóz rostok elhelyezkedését a növényi sejtekben illetve a polimer lánc struktúráját a 2. ábra szemlélteti.



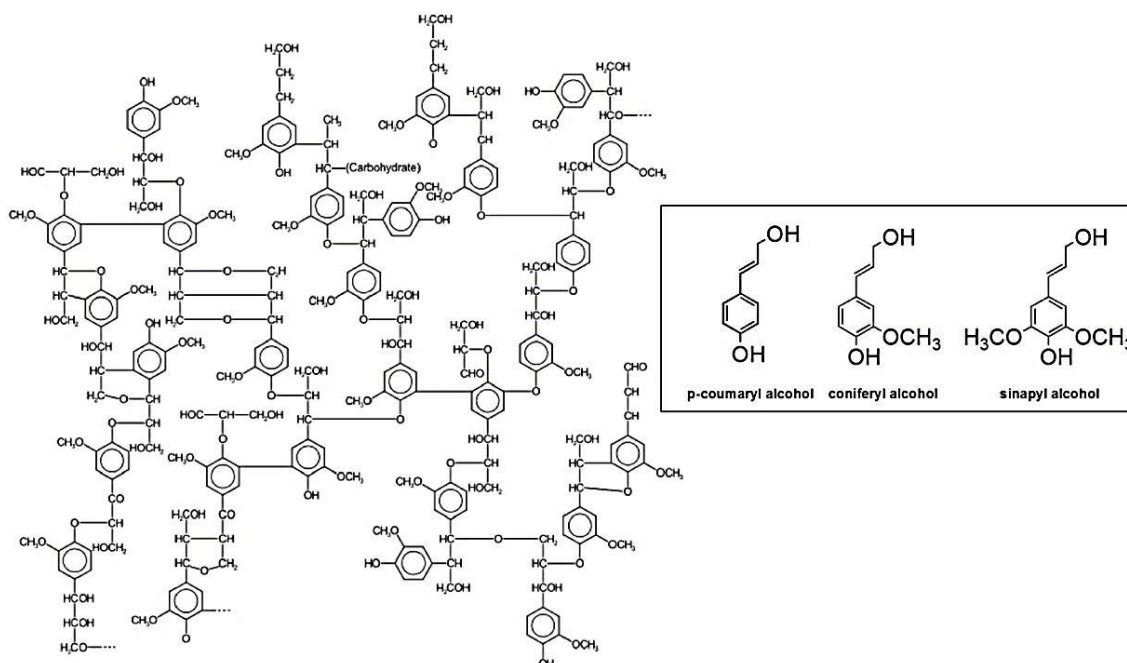
2. ábra A cellulóz polimer lánc struktúrája (Çankaya 2015 alapján)

TEM: transzmissziós elektronmikroszkóp.

A különböző hemicellulózok szintén a sejtalkotók közé tartoznak. Makromolekula-láncaik lényegesen rövidebbek, mint a cellulózé. A hemicellulóz tölti be az összekötő szerepet a cellulóz és a lignin között. Természetes állapotban amorf alakzatot vesz fel, így töltve ki a cellulóz és a lignin közötti teret. Fő csoportjaik: xilán, arabán, mannán, galaktán (Fan *et al.* 1987). A lombos fákra jellemző hemicellulózokat pentózok (elsősorban xilán, XVII. melléklet) alkotják, míg a fenyőfélékre jellemzőket (elsősorban mannán) pedig a hexózok építik fel (Molnár 2004).

2.1.2. Lignin

A lignin bonyolult összetételű aromás vegyület (3. ábra), a különböző fafajok esetében szerkezete némileg eltérő. A faanyag 25-30%-t teszi ki. Makromolekuláinak alakja, felépítése nem fonalas, nem kristályos, hanem hálózatos, amorf. Jellemző szerkezeti elem a fenil-propán egység, amelyből a lignin struktúrája felépíthető. A ligninben $-\text{OCH}_3$ (metoxi) csoportok is találhatóak. A növény bonyolult biokémiai reakciói folytán az alap építőkövek különböző alkoholokká szintetizálódnak. A ligninre jellemző három alkoholtípus: koniferil-, szinapil-, *p*-kumaril-alkohol (Fan *et al.* 1987, Molnár 2004).



3.ábra A lignin felépítése és a jellemző építőkövei (Christopher *et al.* 2014)
p-coumaryl alcohol = *p*-kumaril-alkohol, coniferyl alcohol = koniferil-alkohol,
 sinapyl alcohol = szinapil-alkohol

A sejtfalak elfásodása a lignifikáció során a lignin kitölti a cellulózváz interfibrilláris üregeit, s ez által megnöveli a faanyag nyomószilárdságát és sűrűségét. A cellulóz és egyéb fakémiai üzemekben hulladék anyagként nagy tömegben képződő ligniniszap korszerű, gazdaságos felhasználása napjainkban megoldott, átalakításuk nagy mennyiségű alapanyagot szolgáltat egyéb vegyipari termékek előállítására (Sannigrahi *et al.* 2010, Lange *et al.* 2013).

2.1.3. Járulékos anyagok, víz, hamualkotók

A faanyag járulékos anyagainak nevezzük, azon vegyületeket melyek nem épülnek be a sejtfalba, így könnyen kioldhatóak. A kinyert járulékos anyagokat nevezzük extrakt anyagoknak. Mennyiségük a fafaj és az alkalmazott módszertől függően 0,5%-tól akár 30%-ig is változhat. A járulékos anyagok bár kis mennyiségben vannak jelen a faanyagban sok minden tulajdonságért (a faanyag színe, illata, tartóssága, stb.) felelősek (Molnár 2004).

Három csoportba lehet sorolni őket:

- fenolos anyagok: fenolok, flavonoidok, lignánok, tanninok, sztilbének;
- gyanták és terpének;
- egyéb járulékos anyagok: cukrok, zsírok, viaszok, ciklitek, alkaloidok, szuberin.

A fenolos járulékos anyagok általában a faanyag biológiai tartósságáért felelősek, a szabad fenolos hidroxil csoportjaik által egyesek rovarölők (inszekticid), mások gombák elleni védelmet biztosítanak (fungicid). Az akác (*Robinia pseudoacacia* L.) faanyagában lévő jellemző flavonoid típusú járulékos anyag a dihidrorobinetin a tölgyekben jellemezően pedig dihidrokvercetin található. A hazai fafajoknál, főként a tölgyeknél (*Quercus spp.*), igen jelentős járulékos anyagok a csersavak vagy tanninok, szintén fungicid hatásúak, főként a kéregben halmozódnak fel. A gyanták és terpének fontos ipari nyersanyagok főként a fenyőfélékre jellemzőek. Az egyéb járulékos anyagok kis mennyiségük miatt a fatestre nincsenek hatással (Molnár 2004).

A vázpolimerek és a járulékos anyagokon kívül a fatestben jelen vannak még ásványi anyagok (hamualkotók) és víz. A fatestben két formában jelenik meg a víz:

- kötött víz (sejtfalakban);
- szabad víz (sejtek makroszkopikus pórusaiban).

Az ásványi anyagok vagy hamualkotók közé a fatest szervesetlen anyagai tartoznak, melyeket elégetés után oxidok formájában találunk meg a hamuban. Mennyiségük szárazanyagra viszonyítva 0,2-0,6% között alakul általában (Molnár 2004).

Σ: A lignocellulóz alapú biomassza növényi alapú, legfőbb tulajdonságuk, hogy három fő váz polimer a cellulóz, hemicellulóz és a lignin alkotja. A cellulóz és a hemicellulóz poliszacharidok, a cellulózt glükóz monomerek, a hemicellulózt egyéb cukor egységek építik fel, míg a lignint alkotó fő monomerek a p-kumaril alkohol, szinapil-alkohol és a koniferil-alkohol. A váz polimereken kívül a fatestben különböző típusú járulékos anyagok (fenolos jellegűek, gyanták és terpének, illetve egyéb kioldható anyagok), víz és ásványi anyagok (hamualkotók) is találhatóak. A hazai fafajokra, főként a tölgyekre, jellemző csersavak és flavonoid típusú járulékos anyagok a biológiai tartósságért felelősek és fungicid hatásúak.

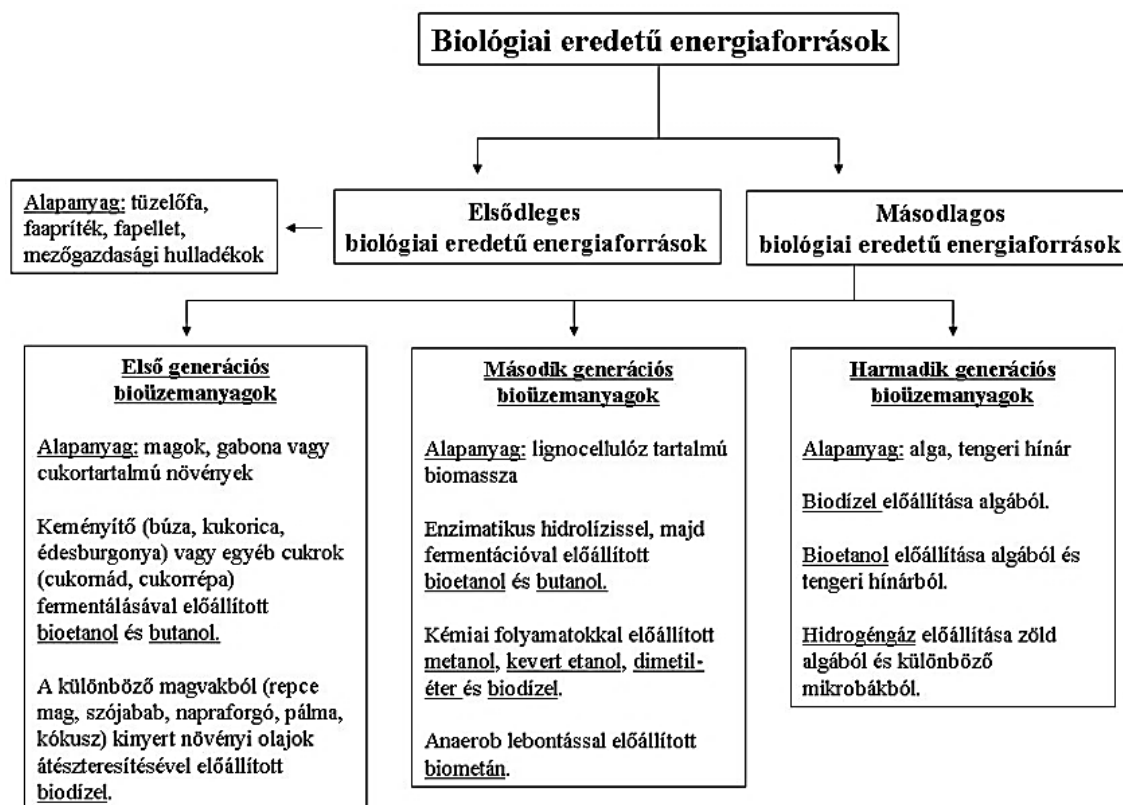
2.2. LIGNOCELLULÓZOK MINT MEGÚJULÓ ENERGIAFORRÁSOK

Az alábbiakban a lignocellulóz alapú biomassza felhasználási lehetőségeit ismertetem a megújuló energiaforrások közt. Ezen biomasszának számos felhasználási területe nagy előnyökkel bír egyéb biomasszákhoz képest. A számos felhasználási terület közül a dolgozat témájához illeszkedve számunkra leginkább érdekes a biogáz előállítás, illetve a termelt gáz előállításának körülményei és a gáz tulajdonságai. Először is a bioüzemanyagok csoportosítását mutatom be, majd ezen belül a biogázt, mint megújuló energiaforrást jellemezem.

2.2.1. A bioüzemanyagok csoportosítása

Bioüzemanyagnak tekinthetőek a biomasszából nyerhető üzemanyagok. Alapanyagai lehetnek erre a célra termesztett növények, vagy a mezőgazdaságból, erdészetből, egyéb iparágakból adódó hulladékok, melléktermékek. A bioüzemanyagok jelentősége a fosszilis energiahordozók kimerülésének felismerése óta nőtt meg. Napjainkban elsősorban az energetikailag hasznosítható növényekkel, a mezőgazdasági, erdészeti stb. hulladékokkal, melléktermékekkel kapcsolatban használják a kifejezést (Szulmanné Binet 2007).

A biológiai eredetű energiaforrásokat halmazállapotuk szerint csoportosíthatjuk, így megkülönböztetünk szilád (pl.: fa), folyékony (pl.: bioetanol, biodízel) és gáz (pl.: biometán) halmazállapotú energiaforrásokat. Csoportosíthatjuk forrásaik és típusaik szerint is, így például megkülönböztetünk erdészeti, mezőgazdasági, halászati illetve kommunális hulladékot, továbbá a melléktermékek és hulladékok származása szerint lehetne agrárszektorból, élelmiszeriparból és az élelmezésből származóak. Csoportosíthatjuk a biológiai eredetű energiaforrásokat elsődleges, illetve másodlagos energiaforrások szerint, melyet a 4. ábra mutat be. Az elsődleges biológiai eredetű energiaforrások közé főként a fa alapanyagok tartoznak, melyeket elégetve főként hő és elektromos áram nyerhető. A másodlagos biológiai eredetű energiaforrásokat is nevezhetjük bioüzemanyagoknak, melyeket további három csoportba sorolhatunk az alapanyag felhasználás szerint, így megkülönböztetünk első, másod és harmadik generációs bioüzemanyagokat (Nigam és Singh 2011, Varga-Erdei 2011).



4. ábra A bioüzemanyagok csoportosítása (Varga-Erdei 2011)

2.2.2. A második generációs (lignocellulóz alapú) bioüzemanyagok

Legfőbb előnyük, hogy mind a bioetanol, mind pedig a biodízel esetében jelentősen megnövelik a felhasználható alapanyagok körét. Közös jellemzőjük, hogy olyan alapanyagok (például: lignocellulózok) felhasználásával készülnek, melyeket az élelmiszeripar nem használ, így a bioüzemanyagok előállítható mennyisége megnövekszik (Sims *et al.* 2010). Lehetséges első generációs alapanyagokból (növényi olaj, szénhidrát) is az előállítás, ám ebben az esetben korszerűbb technológiával és jobb minőségben, ami a felhasználhatóságukat javítja (például: biobutanol). Környezetkímélőbbek az első generációs üzemanyagoknál, 2030-ra 27%-kal kevesebb káros anyag kibocsátás érhető el velük, mint fosszilis energiahordozókkal (Havlík *et al.* 2011). A mezőgazdaságokban és erdészetekben is munkahelyeket teremtenek, valamint a melléktermékeket felhasználására is lehetőség nyílik. Azonban költségeik jelenleg magasabbak az első generációs üzemanyagokénál (Bai 2011).

2.2.3. A biogáz jellemzői

A közvetett energianyerés alternatív útja az, amikor a napenergia először biomassza formájában megkötődik (fotoszintézis, XVII. melléklet), ezt követően a biomasszában tárolt kémiai energiát nyerjük ki (Barótfi 2003). A biomasszából nyerhető és univerzálisan használható energiahordó lehet egyrészt a hidrogén másrészt a metán. A mezőgazdasági és egyéb biomassza eredetű, valamint élelmiszeripari hulladékok kezelése környezetvédelmi problémákat is jelent Európa és a világ legnagyobb részében. A hulladék lebontása és stabilizálása mellett az anaerob bomlási folyamat fontos mellékterméke a metán és szén-dioxid keverékéből álló biogáz (Bai 2007). A rendelkezésre álló megoldási lehetőségek közül, a szerves anyagok anaerob körülmények között, mikrobiológiai úton végzett biogáz termelése az egyik legígéretesebb, és egyben a legszélesebb alapanyag bázisú felhasználási lehetőség (Bai *et al.* 2002). A biogáz magában hordozza a decentralizált energiatermelés lehetőségét, mivel gazdaságosan váltja ki a fosszilis energiahordozókat és képződés helyén a farmergazdaságban, a külvilágtól elzárt kis mezőgazdasági közösségekben éppúgy, mint a szennyvíztisztító telepek vagy kommunális hulladék-feldolgozók mellé telepítve a nagyvárosokban (Bai 2007).

A biogáz, a földgázhoz hasonló, rendkívül sokoldalúan felhasználható gáz, jó hatásfokkal konvertálható és környezetkímélő (Kutasi 2007).

Előállítására bármely, az élelmiszer-gazdaságban és a kommunális szférában képződött szerves anyag alkalmas. A folyamat spontán módon is lejátszódik mély vízü tengeröblökben, mocsarakban és hulladéklerakókban, azonban mesterséges beavatkozással a gáztermelés határfoka megsokszorozható. A mikrobák együttműködésével nyert gáz mintegy 50-70% éghető metánt, 28-48% éghetetlen széndioxidot és 1-2% egyéb gázt, elsősorban kénhidrogént és nitrogént tartalmaz (Bai 2007). A földgáz, mint ismeretes, gyakorlatilag teljes egészében metánból áll, ezért a biogáz fűtőértéke a metán részarányától függően a földgáz fűtőértékének 50-70%-át teszi ki (18-25 MJ/Nm³), mely sűrítéssel, ill. a szén-dioxidtól való megtisztítással növelhető (Kocsis 2011). 1 m³ biogáz hőenergiája tisztítás nélkül megközelítőleg 0,5 liter tüzelő olajat vagy 1 kg feketeszenet képes helyettesíteni (Bai 2007). Tisztítás után a földgázzal gyakorlatilag megegyező fűtőértéket képvisel. A gyakorlatban a különféle szerves anyagok 1 kg szárazanyagából mintegy 230-400 liter biogáz kinyerésével lehet számolni. Az elméletileg lehetséges érték: 587-1535 l/kg (Kocsis 2011). Ezen belül a hevítő hatású trágyáknak, valamint a cukorrépa-, a kukorica- és az élelmiszer-ipari termelés melléktermékeinek a legkedvezőbb a fajlagos biogáz termelésük. Ez még fokozható az alapanyagok keverésével, mely további 1-40%-kal javíthatja a gázkihozatal határfokát. Legmagasabb a metántartalma a szennyvíziszapokból erjesztett biogáznak (70%) ezt követi a mezőgazdasági melléktermékekből (65%), majd a szilárd települési hulladékokból (50%) nyerhető gáz metántartalma (Bai 2007).

Σ: A növényi alapú biomassza jelentős csoportja a lignocellulózok. A bioüzemanyagok csoportosítása alapján a lignocellulóz alapú biomasszából nyerhető energiaforrások a második generációs bioüzemanyagok, melyek a biodízel, bioetanol és a biogáz. A második generációs bioüzemanyagok legnagyobb előnye az első generációsokhoz képest, hogy az alapanyag előállítás nem az élelmiszer termelés kárára történik, hanem hulladék alapanyagok kerülnek feldolgozásra. A kutatás számára fontos energiaforrás a biogáz is a második generációs bioüzemanyagok közé tartozik. A biogáz nagyrészt metánból áll, tisztítás után minősége gyakorlatilag megegyezik a földgázéval. Az anaerob fermentáció útján keletkező biogáz nagyon sokoldalúan felhasználható energiaforrás.

2.3. ANAEROB FERMENTÁCIÓ

2.3.1. Az anaerob fermentáció folyamata

Az anaerob fermentáció folyamata három fő lépésből áll: hidrolitikus fázis, acidogén fázis, metangogén fázis, de gyakorlatilag két biokémiai fázis (hidrolízis és metanogén fázis) játszódik le (Kocsis 2011).

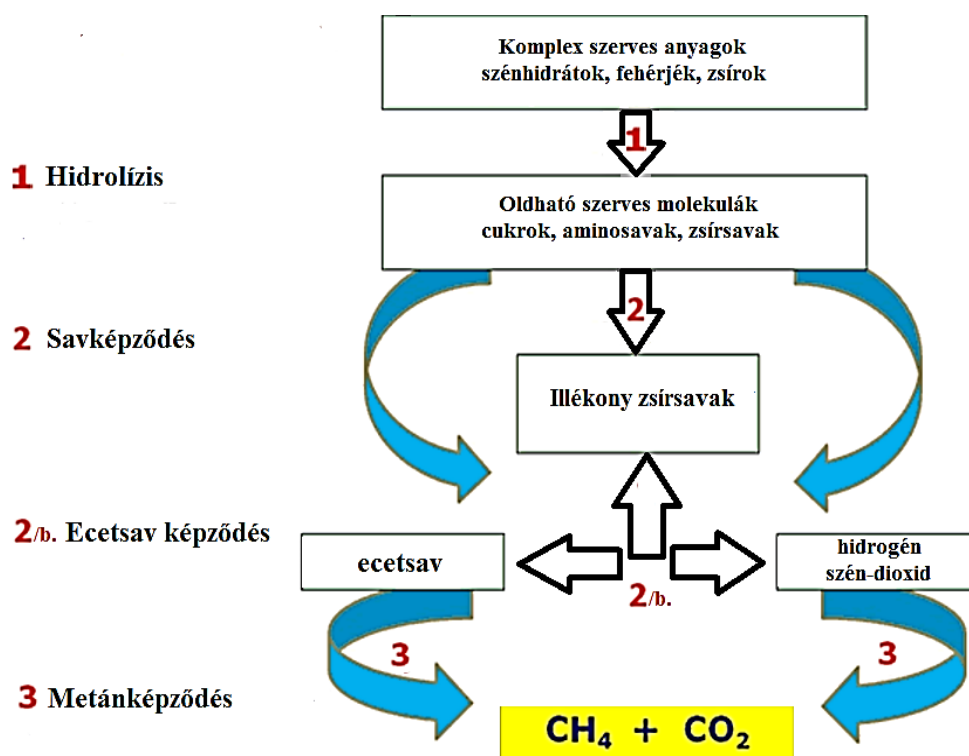
Az első lépés a komplex szerves anyagok alkotóelemeire való bontása, más szóval hidrolízise. A természetben legnagyobb mennyiségben keletkező biomassza a cellulóz, mely cukrokból álló polimer, így ennek a cukorláncnak a darabolódása megy végbe. Ez a folyamat végbemehet a hidrolizáló mikroorganizmusok által, fizikai, kémiai és fizikai kémiai úton. Az anaerob biogáz termelő rendszerekben az egyik limitáló tényező gyakran a polimerek hidrolizálásának a sebessége (Bai 2007).

A hidrolizáló baktériumok saját anyagcsere folyamataikban úgy jutnak energiához, hogy a felvett cukrokat, aminosavakat és zsírokat tovább bontják még kisebb molekulákká, és a közben felszakadozó kémiai kötésekben tárolt energiával „hajtják” a saját bioszintetikus folyamataikat. Kémiai energia mellett tehát keletkeznek különféle, még kisebb molekulák, amelyeket gyűjtőnéven illó szerves savakként szokás összefoglalni, mert főként az ecetsav, propionsav és vajsav sóivá alakulnak át a feldolgozott vegyületek. Ezeket az illó szerves savakat a hidrolizáló baktériumok nem képesek lebontani, ezért kiválasztják őket magukból a környezetükbe. A hidrolizáló baktériumok által le nem bontott oligo- és monoszacharidokat, zsírsavakat, aminosavakat és főként a rengeteg illó szerves savat az ún. acetogén mikroorganizmusok acetáttá (ecetsav sója) és molekuláris hidrogénné alakítják tovább. A természetes úton képződő metán mennyiség kb. 70%-a acetátból keletkezik. Az acetogének nagyon sokfélék és a környezeti hatásoknak általában ellenállóak. Sokféle tápanyagot tudnak hasznosítani, ami a túlélési esélyeiket lényegesen növeli. Mivel a következő csoportnak, a metanogéneknek redukálószerként hidrogént termelnek, az acetogének fontos szerepet kapnak a megfelelően alacsony redoxpotenciál kialakításában is. Ugyanakkor az acetogének is függnek a metanogénektől, mert ha azok nem fogyasztják el elég gyorsan az acetogének gyártotta hidrogént, a hidrogén felhalmozódik és gátolja az acetogének működését. A termodinamikai egyensúly ilyenkor felborul, aminek a kölcsönös függőség miatt az egész rendszer látja kárát (Bai 2007).

A harmadik, szigorúan anaerob körülmények között megvalósuló lépés a metanogenezis, amikor a metanogén mikroorganizmusok metán és szén-dioxid keverékét, biogázt állítanak elő. Néhány metanogén a hidrogént közvetlenül a szén-dioxid redukálására tudja fordítani, mások az acetátot alakítják át szén-dioxiddá és metánná (Bai 2007, Kocsis 2011).

A kiejert maradék szilárd anyag (fölös iszap) a komposzthoz hasonló szagú, és tápanyag tartalmú így mezőgazdasági területekre trágyaként kijuttatva hasznosítható (Kutasi 2007).

Az anaerob fermentációs folyamatot az 5. ábra foglalja össze.



5. ábra Az anaerob fermentáció folyamata (Amaya *et al.* 2013, alapján)

2.3.2. Az anaerob fermentációt befolyásoló tényezők

Mivel a metanogén baktériumok különösen érzékenyek, és lassan szaporodnak, nagyon fontos, hogy számukra az optimális környezeti feltételek, a hőmérséklet és pH biztosítva legyenek, és időben felismerjék és korrigálják a folyamatok instabilitását eredményező egyéb tényezőket, körülményeket (Tamás és Blaskó 2008). Az anaerob fermentáció hőmérsékleti tartománya 5-66°C (Kocsis 2011).

Ezen belül három csoportot különíthetünk el a mikroorganizmusok aktivitása szerint: pszichofil (környezeti hőmérséklet), mezofil (32-38°C), termofil (52-58°C) (Barótfi 2003, Kocsis 2011). A gázhozamok meghatározó tényezője a fermentálandó alapanyag nedvességtartalma (nedves-, félszáraz-, száraz eljárás). Az anaerob fermentálás során vizsgált legfontosabb paraméterek, melyek befolyásolják a folyamatot: pH (közel semleges), optimális C/N arány, nedves közeg (50% felett), beadagolt szerves anyag mennyiség (Kutasi 2007). Az anaerob fermentációt befolyásoló vegyületek: nehézfémek (kis koncentrációban is toxikusak), illó savak (optimális tartomány: 0,8-8 mmol/l), ammónia (optimális tartomány: 100-700 mg/l), szulfidok (optimális tartomány: 200mg/l alatt) (Czupy és Vágvolgyi 2011). A biogáz termelés sebessége függ az alapanyag összetételétől, a környezeti tényezőktől, és az alapanyag lebontására képes mikroorganizmusok mennyiségétől (Kocsis 2011).

A metanogén baktériumok kizárólagosan anaerob szervezetek. A molekuláris oxigén jelenléte toxikus számukra, sőt többféle szerves anyag is gátolja a szaporodásukat. Ennek megfelelően az molekuláris oxigént ki kell zárni az anaerob rothasztásból. Ez biztonsági szempontból is fontos, hiszen a levegővel a biogáz robbanógáz keveréket képezhet (Tamás és Blaskó 2008).

A kiegyensúlyozott anaerob rothasztási folyamatok esetén valamennyi baktériumcsoport dinamikus egyensúlyban szaporodik a rendszerben. Többlépcsős kialakítás esetén az egyes lépcsőkben az egyes csoportok dominanciája jelentkezhet. A környezet változása, mint a hőmérséklet, lökésszerű tápanyagterhelés, ezt az egyensúlyt könnyen megbonthatja, és olyan átmeneti termékek felhalmozódását eredményezheti, mint a hosszabb szénláncú zsírsavak és hidrogén, melyek a teljes folyamat inhibícióját, lelassulását eredményezik. Amennyiben az ilyen problémákat nem korrigálják időben, a rothasztó képesség csökken, ami végül annak leállítását is eredményezheti (Kárpáti 2002).

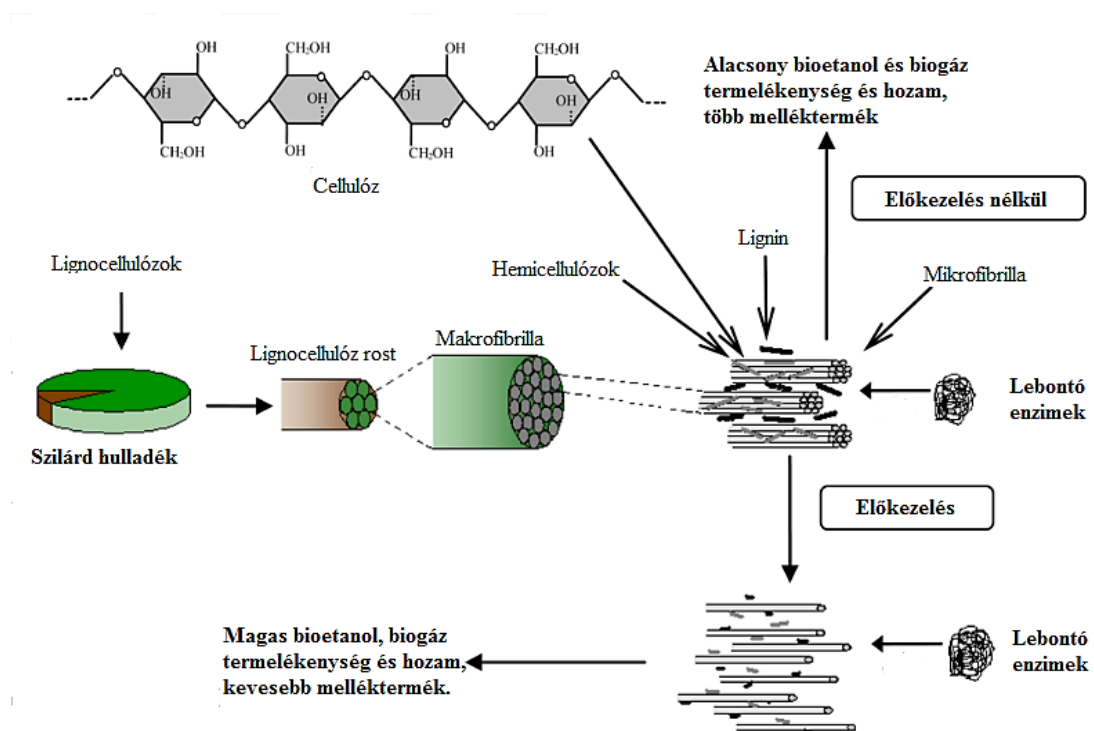
A biogáz képződés/termelés folyamatának kézbentartása, optimalizálása érdekében ismerni kell a képződéshez, termeléshez szükséges mikroszervezetek életfeltételeit és a folyamatot befolyásoló abiotikus tényezők hatását (Tamás és Blaskó 2008).

Σ: *Az anaerob fermentációs folyamat, vagy más néven anaerob emésztési folyamat során keletkezik a biogáz mely főként metánból és szén-dioxidból áll.*

Az anaerob fermentációs folyamat fő lépései: hidrolízis, savképződés, metánképződés. A hidrolízis során a kiindulás komplex szerves anyagok bomlása történik egyszerűbb szerkezetű oldható szerves molekulákká (cukrok, zsírok stb.). A savképződés során az acidogén baktériumok illékony zsírsavakat, karbonsavakat, alkoholokat állítanak elő. Az acidogenezis egyik köztes lépése az ecetsav képződés. Az utolsó lépésben a metanogén baktériumok által képződik a metán. Az anaerob fermentációt befolyásoló tényezők közt biotikus és abiotikus tényezők is ismertek, de a folyamatot leghatékonyabban befolyásolni, a hidrolízis elősegítésével lehetséges.

2.4. A LIGNOCELLULÓZ RENDSZEREK ELŐKEZELÉSI LEHETŐSÉGEI

A lignocellulóz biomasszát alkotó fő komponensek szoros kapcsolata a fő akadály a poliszacharidok hidrolízisének, mely folyamat során egyszerűbben fermentálható cukrok keletkeznek. Az előkezelések fő célja elősegíteni az enzimek hozzáférését az emészthető cukrokhoz. Minden előkezelési eljárásnak speciális hatása van a cellulóz, hemicellulóz és a lignin frakciókra, tehát különböző előkezelési módszereket és körülményeket kell megválasztani, hogy a hidrolízis és a fermentáció optimális legyen (Alvira *et al.* 2010). A lignocellulózok esetén történő előkezelések fontosságát és folyamatát mutatja a 6. ábra.



6. ábra Az előkezelés fontossága a lignocellulóz alapanyagok esetén (Taherzadeh és Karimi 2008 alapján)

Az előkezelési módszerekkel szemben támasztott követelmények:

- a módszer növelje a cukrokká alakulást, vagy növelje a képességét a cukrokká alakulásnak a későbbiekben bekövetkező hidrolízis során;
- a módszer kerülje a szénhidrát veszteséget vagy a szénhidrátok degradációját;
- a módszer kerülje a melléktermékek keletkezését, melyek inhibitorai lehetnek a későbbiekben lejátszódó hidrolízis vagy fermentációs folyamatoknak;
- a módszer költséghatékony legyen (Sun és Cheng 2002, Kumar *et al.* 2009).

2.4.1. Fizikai előkezelés

2.4.1.1. Darálás, őrlés, aprítás

A darabolódás folyamata során a lignocellulóz biomassza kisebb darabokra aprózódik. A mechanikai apríték képzés három leggyakoribb technológiai folyamata a darálás, az őrlés, illetve az aprítás. A folyamat során a minta felülete a többszörösére növekszik, így 23-59%-kal meggyorsíthatóak a lejátszódó folyamatok, ami elősegíti a hatékonyabb fermentációt és növeli a gázkihozataalt akár 5-25%-kal is.

A darálást, aprítást, őrlést legtöbbször más előkezelési eljárással kombinálva (tulajdonképpen minden eljárás előtt érdemes alkalmazni) jobb eredményhez vezet (Hendriks és Zeeman 2009). Az előkezelés előnye, hogy hatékonyan növeli a minta aktív felületét, viszont önmagában a legtöbb esetben nem elegendő. A darabolódás során a lignin benne marad a faanyagban, ami megnehezíti a cellulóz hozzáférhetőségét, és inhibitora lehet az enzimeknek (Berlin *et al.* 2006). A darabolódás során speciális esetekben, kismértékben a cellulóz kristályszerkezete is aprózódhat (Nigam és Singh 2011).

2.4.1.2. Hőkezelés

A hőkezelés során, ha a faanyag eléri a 150-180 °C-ot a hemicellulóz elkezd bomlani, majd ezt követően a lignin lágyulása utána annak bomlása is megkezdődik. A cellulóz kristályos szerkezete 250 °C-on kezd el átalakulni. A bomlási folyamat közben furfurool és ecetsav szabadul fel. Az ecetsav kedvező a metántermelés során, viszont a furfurool inhibitorként viselkedhet (Horn *et al.* 2011). A hőkezelések közt ismert a forró vizes és gőzkezelés is. A hőkezelést általában valamilyen más előkezeléssel együtt szokták alkalmazni (Hendriks és Zeeman 2009).

2.4.1.3. Pirolízis

A pirolízis alkalmazható a lignocellulóz alapanyag előkezelési eljárásaként (Sun és Cheng 2002, Kumar *et al.* 2009). Az alapanyag előkezelése során a több mint 300°C hatására a cellulóz gyors bomlása megy végbe, mely során gáznemű termékek keletkeznek, melléktermékként pedig hamu (Kilzer és Broido 1965). A folyamat hatékonysága fokozható oxigén jelenlétével (Shafizadeh és Bradbury 1979).

2.4.1.4. Mikrohullámú előkezelés

A mikrohullámú besugárzás hatására különböző körülmények (teljesítmény, idő) megválasztása esetén a lignocellulóz alapanyag bomlása történik. A mikrohullám alkalmazása egy alternatív módja a hőkezelésnek, de jobb eredményekre képes, mint a klasszikus hőkezelés (Jackowiak *et al.* 2011/b). Jackowiak *et al.* (2011/a) munkájukban, mikrohullámú előkezelést alkalmazva búzaszalma alapanyag esetén, a hőmérséklet (260°C-ig) és a teljesítmény (400-1600W) változtatása mellett, a biogáz hozam és a metán mennyisége növekedett. Intanakul *et al.* (2003) munkájukban, rizs szár előkezelése történt mikrohullámmal, 240W teljesítmény és 200 °C mellett 10 percig. Az előkezelés hatására több mint kétszeres cukormennyiség volt detektálható, mint a kezeletlen szárban. Az ilyen típusú előkezelések eléggé költségesek, ipari felhasználásuk sok nehézségbe ütközhet (Taherzadeh és Karimi 2008).

2.4.2. Kémiai előkezelés

A leggyakoribb kémiai előkezelések lignocellulózok esetén a savas hidrolízis és a lúgos hidrolízis, valamint az ozonolízis.

2.4.2.1. Savas hidrolízis

Lignocellulóz alapanyagok esetén a tömény savak közül a kénsav és a sósav alkalmazása a leggyakoribb. Habár ezek nagyon hatékony vegyszerek a vázpolimerek hidrolíziséhez, a tömény savak mérgezőek és veszélyesek. Ezen túl a hidrolízis végbemenetele után a tömény savakat vissza kell nyerni, hogy környezeti terhelésük alacsony maradjon, ez nagyban megnöveli azonban a költségeket (Sivers és Zacchi 1995).

A híg savas előkezelés során leggyakrabban sósavat, kénsavat és ecetsavat használnak (Yang és Montgomery 1996). Zhang *et al.* (2011) munkájukban manióka alapanyagot kezeltek 4,0% H₂SO₄ jelenlétében, a szilárd/folyadék anyagok aránya pedig 1:10 (v/w). Ezen paraméterek értékének növelésével a cukor produktum is növekszik. Az előkezelés akkor volt a leghatékonyabb, amikor 170 °C-on, 4,0% H₂SO₄ jelenlétében 30 percig történt a feltárás.

Az ecetsavas előkezelésnél a szakirodalom több lépésből álló előkezeléseket említ meleg víz beáramoltatásával. Az előkezelés során a faanyagot 270°C-on és 10 MPa nyomáson 30 percig tartják 1%-os ecetsav hozzáadásával. A kétlépcsős ecetsavas előkezelésnél az első lépés 230°C-on, 15 percen keresztül 10 MPa nyomáson ment végbe. Ilyenkor a hemicellulóz és a lignin bomlik nagyobb mértékben. A második lépés során 270 °C-on 10 MPa nyomáson 30 percig tartják a mintát, ahol a kristályos cellulóz hidrolizál (Hendriks és Zeeman 2009, Phaiboonsilpa *et al.* 2011). Esteghlalian *et al.* (1997) munkájukban híg kénsavval (0,6%, 0,9%, 1,2% w/w) nagy reakciósebességet és hatékonyabb cellulóz hidrolízist értek el.

2.4.2.2. Lúgos előkezelés

A lúgos előkezelésnél általában nátrium-hidroxidot és kalcium-hidroxidot alkalmaznak (Fan *et al.* 1987, Yang és Montgomery 1996). A lúgos hidrolízis mechanizmusa abban rejlik, hogy elszappanosítja a xilán típusú hemicellulózok intermolekuláris térhálós észter- és egyéb komponensek-, mint például a lignin, vagy egyéb típusú hemicellulóz kötéseit is. A lignocellulóz alapanyag porozitása növelhető a polimer láncok közötti kötések ily módon történő eltávolításával (Tarkow és Feist 1969).

A híg nátrium-hidroxidos előkezelés hatására a faanyag közel 40%-kal könnyebben emészthető és a lignin tartalom 5-25%-kal csökkenthető. A nátrium-hidroxidos előkezelés hatása 26%-nál nagyobb lignin koncentráció esetén nem érzékelhető (Millet *et al.* 1976).

Kaar és Holtzaple (2000) munkájukban kukoricaszár alapanyag előkezelése történt, 1 g száraz biomasszához 0,075 g kalcium-hidroxid és 5 g víz került, melyet 4 órán keresztül 120 °C-on tartottak. Az oltott meszes (kalcium-hidroxid) előkezelés esetén a kukoricaszár enzimátikus hidrolízis hatékonysága kilencszeresére emelkedett a kezeletlen kukoricaszárhoz képest.

2.4.2.3. Ozonolízis

Az ózonnal történő előkezelés (ozonolízis) előnyei a következők:

- hatékonyan kioldja a lignint;
- nem keletkeznek a későbbi folyamatok számára mérgező anyagok;
- az előkezelés során lejátszódó reakciókhoz standard körülményekre van szükség (Vidal és Molinier 1988).

Nagy mennyiségű ózon szükséges a folyamathoz, amely jelentősen megdrágítja az eljárást (Sun és Cheng 2002).

2.4.3. Fizikai-kémiai előkezelés

A minimális vegyszerigényű fizikai-kémiai előkezelések leggyakoribb eljárásai a gőzrobbantás, a nedves oxidáció, az ammóniás robbantás (AFEX), a szén-dioxidos robbantás, melyeket az alábbiakban részletesebben is bemutatok. Kevésbé elterjedt ám említésre méltó fizikai-kémiai előkezelés a szuperkritikus extrakciós és a hidrodinamikusan kavitációs eljárások. A szuperkritikus extrakció költséghatékony, növeli a cellulóz hozzáférhetőségét, kioldja a hemicellulózokat és megváltoztatja a lignin szerkezetét (Brodeur *et al.* 2011). Patil *et al.* (2016) munkájukban hidrotermikus kavitációs előkezelést alkalmazva különböző lúgos közegben, búzaszalma alapanyag esetében, jelentős biogázhozam növekedést értek el.

2.4.3.1. Gőzrobbantás, nedves oxidáció

A fizikai-kémiai előkezelések közül a két legelterjedtebb a gőzrobbantás és a nedves oxidáció. Mindkét eljárás magas hőmérsékleten ($200 \pm 10^\circ\text{C}$) és nyomáson történő előkezelést jelent. A köztük lévő fő különbség, hogy nedves oxidációnál 10-12 bar nyomásig tiszta oxigént adnak a speciálisan kialakított hurokreaktorba és az előkezelés végeztével a túlnyomást fokozatosan engedik le, míg gőzrobbantásnál a túlnyomást okozó gőzt hirtelen expandáltatják. Mindkét módszernél elsősorban a hemicellulóz frakció kezd el bomlani, amiből szerves savak keletkeznek és a kialakult savas közegben autohidrolízis indul meg (Sun és Cheng 2002).

Amennyiben az alkalmazott körülmények nem megfelelőek (túl hosszú előkezelési idő, túl magas hőmérséklet), a bomlás a kívánt mértéknél nagyobb lehet, aminek következtében inhibitorok jelenhetnek meg.

A nedves oxidációnál a jelenlévő oxigén hatására a bomlás során keletkezett gátló hatású anyagok egy része viszont tovább bomlik egyszerű karbonsavakra és széndioxidra, így csökkentve az oldatban lévő inhibitorok mennyiségét. A két eljárás között különbséget jelent még, hogy a nedves oxidáció reakcióideje hosszabb, 5-15 perc, szemben a gőzrobbantás 2-5 percével. Továbbá a nedves oxidációnál savat (0,5 ml 96% H_2SO_4 /l) és lúgot (2 g Na_2CO_3 /l) egyaránt alkalmaznak, a gőzrobbantásnál csak savat (0,5% illetve 2% H_2SO_4) (Sun és Cheng 2002). A gőzrobbantás folyamatához különböző vegyületek adagolása, mint például kénsav, kén-dioxid, szén-dioxid hatékonyan javítja az enzimátikus hidrolízist, mivel így csökkennek az enzimekre inhibitoroként ható összetevők (Ben-Ghedalia és Miron 1981, Sivers és Zacchi 1995). Az előkezelés utáni hidrolízis hatékonyságát és a fermentáció hozamát leginkább befolyásoló paraméterek: a reakció hőmérséklete és az előkezelési idő, valamint az előkezelésnél alkalmazott vegyszerek (Na_2CO_3 , illetve H_2SO_4) koncentrációja (Varga 2003).

A növényi biomassza előkezelési módszerei közül a gőzrobbantás igen széles körben elterjedt (Morjanoff és Gray 1987). A gőzrobbantás, különböző körülmények alkalmazása mellett, képes megnövelni az anaerob fermentációval keletkező metán mennyiségét. Biológiai előkezelésekkel kombinálva elősegítjük az anaerob lebomlást és elkerüljük a cukor részek károsodását (Lu *et al.* 2009).

2.4.3.2. Ammóniás robbantás, szén-dioxidos robbantás

Az ammóniás robbantás (Ammonia fiber explosion – AFEX) a fizikai-kémiai előkezelések egyik képviselője, mely alkalmas a lignocellulóz rendszerek előkezelésére. Az előkezelési eljárás során a lignocellulóz alapanyag folyékony ammónia jelenlétében magas hőmérsékletnek és magas nyomásnak van kitéve, majd a nyomás hirtelen lecsökkentése történik. Az AFEX eljárás nagyon hasonló a gőzrobbantáshoz, általában 1 kg száraz alapanyaghoz 1-2 kg ammóniát adagolnak, a hőmérséklet 90 °C, a tartási idő 30 perc (Sun és Cheng 2002). A szakirodalomban nagyon sokféle alapanyagon alkalmazzák, mint például lucerna, búzaszár, búza pelyva, (Mes-Hartree *et al.* 1988), árpaszalma, kukoricaszár, rizs szár (Vlasenko *et al.* 1997).

A szén-dioxidos robbantási eljárás hasonló az ammóniás- és gőzrobbantáshoz, így alkalmas a lignocellulózok előkezelésére. Az eljárás folyamata során CO_2 átalakul szénsavvá, mely elősegíti a hidrolízist (Sun és Cheng 2002).

Zheng *et al.* (1998) munkájukban a szén-dioxidos robbantást hasonlította össze az ammóniás- és gőzrobbantással különböző alapanyagok esetén. A szén-dioxidos robbantás az ammóniás robbantáshoz képest hatékonyabb és nem keletkeznek lehetséges inhibitor vegyületek, melyek a gőzrobbantás esetén előfordulhatnak.

2.4.4. Biológiai előkezelés

A biológiai előkezelés gombák, baktériumok és enzim készítmények alkalmazásával történik.

2.4.4.1. Korhasztó gombás előkezelés

A gombák azon képessége, hogy bontják a lignocellulóz anyagokat a nagyon hatékony enzim rendszerüknek köszönhető (Sánchez 2009). Az anaerob gombák enzim rendszere a poliszacharidok bontására képes (Boominathan és Reddy 1992) és az enzimek képesek mikrokristályos cellulózból glükózt (2% w/v) előállítani (Dijkerman *et al.* 1997). A biológiai előkezelésre megfelelő gombákat két fő csoportba oszthatjuk: barna és fehér korhasztók. A fehér korhasztó gombák főként a lombos fák lebontását részesítik előnyben, míg a barna korhasztók a tűlevelűeket (Tuor *et al.* 1995, Ejechi *et al.* 1996).

A barna korhasztó gombák minden fafajnál alkalmazhatóak, elsősorban a cellulózt bontják le és a visszamaradó lignin miatt lesz a faanyag barnás, vöröses színű (Blanchette 1991, Molnár 2004). A lebontás pH optimuma 4. A vas, a hidrogén peroxid, a bio-kelet képzők és az oxalátok fontos szerepet játszanak a barna rothasztókkal történő lebontása során (Xu és Goodell 2001). Ray *et al.* (2010) munkájukban különböző fenyőfélék előkezelésére több fajú barna korhasztó gombát alkalmaztak, különböző körülmények alkalmazásával, bioetanol előállítás céljából. Az alkalmazott gombafajok közül a pincegombával (*Coniophora Puteana* (Schumach.) P. Karst) sikerült a leghatékonyabban a fenyő faanyag cukrosítása.

A fehér korhasztó gomba törzsek a leghatékonyabbak a lignocellulózok biológiai előkezelésére (Sun és Cheng 2002). A fehér korhasztó gombák elsősorban a sejtfalak lignin anyagát bontják le, de utána lebontásra kerül a cellulóz és a hemicellulóz is (Molnár 2004).

A lignin degradációja akkor mérhető, amikor detektálható a gomba kultúrában a peroxidáz enzim aktivitása (Blanchette 1991, Fackler *et al.* 2006). Hatakka *et al.* (1983) 19 fehér korhasztó gombafajt vizsgált búzaszalma előkezelése végett. A kutatásban kimutatták, hogy a késői laskagomba (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) esetén 5 hét után a búzaszalma 35%-a átalakult egyszerűbb cukrokká.

Feng *et al.* (2013) munkájukban búzaszalma alapanyagot kezeltek, késői laskagomba (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) és ördögsekér-laskagomba (*Pleurotus eryngii* (DC.) Gillet) fehér korhasztó fajokkal, biogáz hozam növelése céljából. A különböző körülmények és a különböző fajok egyik esetében sem növekedett szignifikánsan a gázhozam.

2.4.4.2. Mikroorganizmusokkal és enzimekkel végzett előkezelés

A korábban említett gombák és baktériumok is használatosak a lignocellulóz alapanyag előkezelésére, növelve az enzimátikus hidrolízist. Kurakake *et al.* 2007 munkájukban biológiai előkezelést végeztek két különböző baktérium felhasználásával, papír alapanyagon. Ez a fajta biológiai előkezelés hatékonynak bizonyult kommunális hulladékból származó irodai papír alapanyagon. Az optimális körülmények között előkezelt irodai papírban a könnyen emészthető cukrok aránya 94%-ra emelkedett.

A különböző élesztő és korhasztó gombák illetve baktériumokból kinyert enzim készítményekkel is lehetséges a lignocellulóz rendszerek hidrolízisének hatékonyságát növelni. Lee *et al.* (2008) japán erdei fenyő cukrosítását végezték el hatékonyan, vörös korhasztó gombafajokból kinyert enzim készítménnyel. Berlin *et al.* (2007) munkájukban gombatörzsekből származó celluláz enzim készítmény optimalizálását végezték kukoricaszár, mint lignocellulóz alapanyag hidrolíziséhez. A celluláz enzim mennyiségének növelésével, növelhető a hidrolízis hatékonysága is, ám jelentősen növeli az előkezelés költségeit (Sun és Cheng 2002). Klein-Marcuschamer *et al.* (2012) munkájukban is az enzimátikus hidrolízis költséghatékonyságát vizsgálták, mely elemzés során kimutatták magas költségeit.

Σ: A lignocellulóz rendszereket felépítő fő komponensek szoros kapcsolata akadályozza leginkább a poliszacharidok egyszerűbben fermentálható cukrokká történő bomlását.

Az előkezelések legfontosabb feladata, elősegíteni az enzimek hozzáférését a könnyebben emészthető cukrokhoz. A lignocellulózok esetén használatos előkezeléseket csoportosíthatjuk fizikai, kémiai, fizikai-kémiai és biológiai előkezelésekre. A leggyakrabban alkalmazott fizikai előkezelések a darálás, hőkezelés, pirolízis, mikrohullámú. A fizikai előkezelések előnye, hogy nincs vegyszerigényük, ám keletkezhetnek inhibitor vegyületek a pirolízis esetén pedig hamu. Az energia igényük sok esetben gazdaságtalanná teszi a folyamatot. A kémiai előkezelések közül a legáltalánosabb a savas és lúgos hidrolízis illetve az ozonolízis. A kémiai előkezelések közül a savas és lúgos előkezelések nagy vegyszerigényűek, gazdaságtalan a vegyszerek visszanyerése, ezáltal viszonylag nagy a környezet terhelésük, ám nagyon hatékonyak. Az ozonolízis mint kémiai előkezelés mentes az imént felsorolt hátrányoktól, ám nagyon költséges eljárás. A fizikai-kémiai előkezelések közül a gőzrobbantás, nedves oxidáció, ammóniás robbantás (AFEX), szén-dioxidrobbantás a leggyakoribb. A fizikai-kémiai előkezelések költséghatékonyak. A gőzrobbantás és nedves oxidáció hatékonyan átalakítják a lignint és a hemicellulóz, ám a folyamat során könnyen keletkeznek inhibitor vegyületek. Az AFEX és széndioxidos robbantás nem olyan hatékonyak a lignin és hemicellulóz részek bontásában, de inhibitor vegyületek kevésbé keletkeznek. A biológiai előkezelések különböző gombákkal, baktériumokkal illetve enzim készítményekkel történik. A biológiai előkezeléseknek nincs vegyszerigényük, költséghatékonyak, környezetbarát eljárások, ám a hidrolízis sebessége a leglassabb az előkezelési eljárások közül.

2.5. A KUTATÁSBAN FELHASZNÁLT ALAPANYAGOK

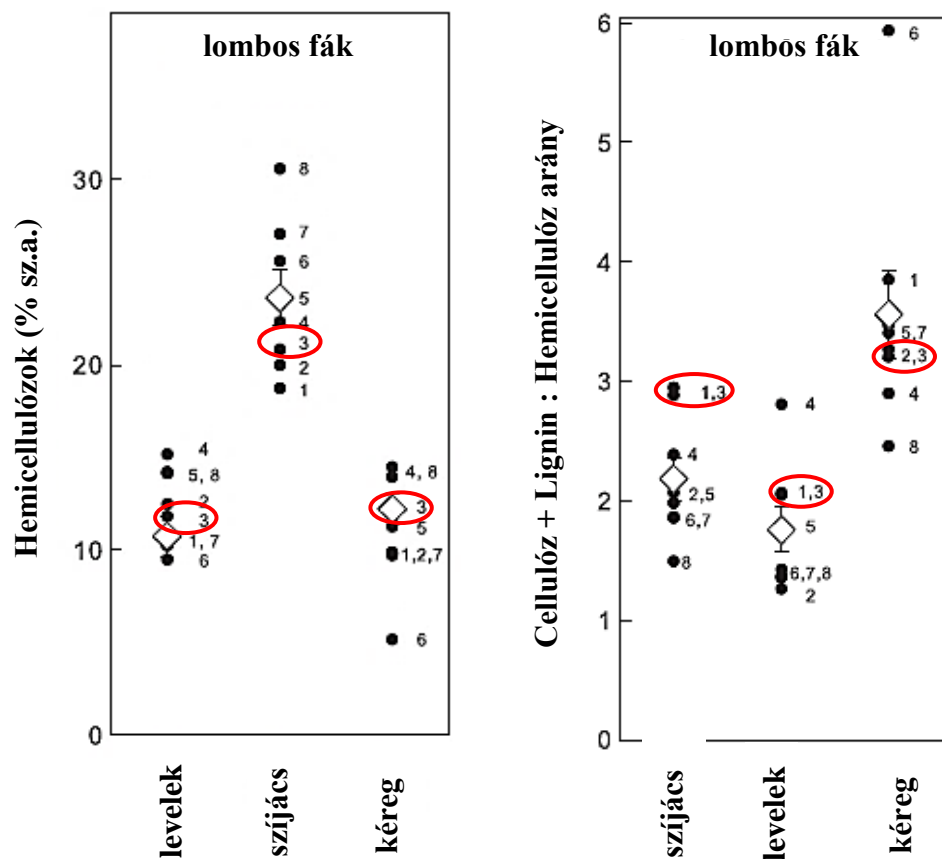
A mezőgazdasági jellegű hulladékok szakirodalma, mint például a búza-, rozs-, árpa szalma, a kukoricaszár, cukorrépa, stb. felhasználása bioüzemanyagok előállítására illetve azon belül biogáz előállítására történő felhasználása igen nagy terjedelmű. A kutatásunk fókuszpontja éppen ezért erdészeti illetve faipari jellegű hulladékokra összpontosít, mivel ezt az alapanyag típust eddig kevésbé kutatták, nagy mennyiségben van jelen, költséghatékony alapanyagok és napjainkban az égetésből történő energianyerésen kívül másra nem nagyon alkalmazottak. Jelen kutatásban fekete bodza és tölgy kéreg alapanyagokkal modellezzük a keletkező ilyen jellegű hulladékokat, melléktermékeket.

2.5.1. A fekete bodza, mint alapanyag

A kutatás során a bodza faanyagát választottam egyik alapanyagul. A fekete, közönséges vagy festőbodza, egy széles körben elterjed faj, mely főként a napfényes, bolygatott talajú termőhelyeken elterjedt. Megtalálható Európa szerte, illetve Ázsiában, Észak-Afrikában és az Amerikai Egyesült Államokban is. A fekete bodza, fás szárú cserjeként illetve akár 6 métert is meghaladó faként is előfordul (Veberic *et al.* 2009).

A fekete bodza faanyaga cellulóz, lignin, és hemicellulóz tartalmat tekintve átlagosnak mondható az egyéb lombos fajokkal összehasonlítva (Schadel *et al.* 2010).

A 7. ábra mutatja be a fekete bodza fő komponenseinek mennyiségét egyéb lombos fakkal összehasonlítva.



7. ábra A különböző lombos fák hemicellulóz tartalma, cellulóz és lignin:hemicellulóz aránya (Schadel *et al.* 2010 alapján)

A fekete bodza értéke a 3-as számmal jelzett. 1: Mezei juhar (*Acer campestre* L.), 2: Nagylevelű hárs (*Tilia platyphyllos* Scop.), 4: Európai bükk (*Fagus sylvatica* L.), 5: Kocsánytalan tölgy (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), 6: Vadcserezsnye (*Prunus avium* L.), 7: Közönséges gyertyán (*Carpinus betulus* L.), 8: Magas kőris (*Fraxinus excelsior* L.)

A fekete bodza járulékos anyagaival melyeket főként a levelekben, termésben és a kéregben mutatták ki nagyon sok publikáció foglalkozik. A járulékos anyagok, illetve ezek intermedierei, bomlástermékei gátló hatással lehetnek a gáztermelés folyamatára. A fekete bodza jellemző járulékos anyagai a következők:

- Cianogén glükozidok: melyek a levelekben és fiatal hajtásokban izolálhatóak. Legáltalánosabban előforduló a sambunigrin (Jensen *et al.* 1973, DellaGreca *et al.* 2000, Atkinson és Atkinson 2002).

- Lektinek: Főként a kéregben és a gyümölcsben fordulnak elő. Két fő képviselője SNA I és SNA II. A lektinek mennyisége a kéregben sokkal magasabb nyáron, mint télen.

Néhány előfordulása valószínűleg a védekezéssel, a kártevők távoltartásával, vagy a betegségekkel szembeni védelemmel van összefüggésben, a többi szerepe jelenleg még nem tisztázott (Nsimba-Lubaki *et al.* 1986, Kaku *et al.* 1990, Atkinson és Atkinson 2002).

- Riboszóma inaktiváló fehérjék: Főként a kéregben fordulnak elő. Két fő képviselője a RIP1 és a RIP2 (Benito *et al.* 1998, Atkinson és Atkinson 2002).

- Triterpének: Főként a kéregben és a levelekben találhatóak. Fő vegyületek ebben a csoportban a α - és β -amirin, urzol sav metilésztere, oleánsav, betulin és a β -szitoszterin (Huneck és Snatzke 1965, Inoue és Sato 1975, Atkinson és Atkinson 2002).

2.5.2. Tölgy és egyéb fakéreg, mint alapanyag

A fakéreg a fatestet védő külső szövetrendszer jelenti. Két fő része a háncs és a héjkéreg. A háncs nagyon fontos szerepet játszik a tápanyagok szállításában és raktározásában. A héjkéreg védelmet nyújt a fatestnek a sérülésekkel, a fakárosítókkal és egyéb külső hatásokkal szemben (Molnár 2004). A kéreg felépítését az 8. ábra mutatja be.



8. ábra A kéreg felépítése (a felvételt Dr. Hofmann Tamás készítette)

A magyarországi fakitermelés döntő többségét az akác, a tölgy és a nyár adja, melyek különösen nagy kéreghányadúak. A fakitermelési adatokat a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat Magyarországi fakitermelés a legjelentősebb fafaj csoportok szerint 2015-ben (KSH adat)

fafaj csoport	1000 m ³
tölgyek (<i>Quercus spp.</i>)	1756
akác (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	1488
nyár (<i>Populus spp.</i>)	1329
összesen	4573

A magyarországi fakitermelési adatokat figyelembe véve a tölgy illetve a cser kitermelése, együttesen véve a 2. táblázatban tölgy, a legnagyobb mennyiségben kitermelt fafaj csoport.

A fajtól, a kortól, és az ökológiai tényezőktől függ a kéreg vastagsága. Fontosabb fafajaink kéreghányadékat tekintve 5-24% között változik a fatesthez viszonyítva. A tölgyek esetében ez az arány inkább a 15-25% közöttire tehető (Molnár 2004). A 2. táblázatban szereplő adatok alapján, Magyarországon 2015-ben (mely értékek több évre visszamenőleg ugyanilyen nagyságrendűek) 229.000-1.098.000 m³ tölgy, akác és nyár kéreghulladék keletkezett. A kutatásunkban szereplő tölgy kéreghulladék éves mennyisége a fenti adatok alapján 263.000-439.000 m³.

Σ: A kutatásunk fókuszpontjába főként erdészeti és faipari hulladékokat helyeztük.

Ezen alapanyagok kevésbé kutatottak, szemben az agráriparból származó melléktermékekkel, melyek felhasználásáról jelentős számú tudományos munka született. A kutatásban használt alapanyagok a fekete bodza és a tölgy kéreg, melyek jól modellezik az ilyen jellegű melléktermékek összetételét. A fekete bodza hazánkban és Európában is elterjedt, iparilag értéktelen, beltartalmi értékeit tekintve átlagosnak mondható, viszonylag nagy mennyiségben jelen levő faj. A tölgy hazánkban, a legnagyobb mennyiségben kitermelt fafaj, viszonylag magas kéreghányaddal. A kéreg, mint melléktermék, hulladék energetikai felhasználása főként a tüzelés.

2.6. ÖSSZEGRÉS

A kutatási téma szakirodalmi áttekintéséhez először a megújuló energiahordozók témaköre került feldolgozásra. A megújuló energiaforrások kutatása releváns a fosszilis energiahordozók kimerülése végett.

A megújuló energiahordozók jelentős csoportja a biomassza alapú energiahordozók. A biomassza alapú energiahordozók csoportosítását figyelembe véve a második generációs biomassza főként a lignocellulózok csoportja. A lignocellulózok növényi alapanyagok sokasága, melyek lehetnek mezőgazdasági, agrár-, illetve egyéb feldolgozó ipari hulladékok. A lignocellulózok fő komponensei a lignin, cellulóz és hemicellulóz.

A cellulóz és a hemicellulóz természetes poliszacharidok, melyek lebontásával egyszerű cukrokká alakíthatók. A hidrolízis bonyolultsága főként abban rejlik, hogy a három fő komponens kapcsolata nagyon szoros. A hidrolízis hatékonysága a fő tényező a lignocellulózokból előállítható bioüzemanyagok (bioetanol, biodízel, biogáz stb.) mennyisége szempontjából fontos.

A lignocellulózok esetén számos előkezelési módszer ismert melyek elősegítik a hidrolízis folyamatát. Az előkezelések csoportosíthatók fizikai, kémiai, fizikai-kémiai és biológiai jellegűekre.

A kutatásunkban felhasznált alapanyagok a fekete bodza, illetve a tölgy kéreg. A fekete bodza Európa szerte elterjedt, viszonylag nagy mennyiségben van jelen és beltartalmi értékeit tekintetbe véve nagyon jól modellez egy vegyes erdészeti vagy faipari hulladékot. A tölgy kéreg hazánk legnagyobb mennyiségben kitermelt fafaj csoport hulladéka, melynek alternatív felhasználási módjai nem nagyon ismertek.

3. KUTATÁSI CÉLKITŰZÉSEK

A megújuló energiaforrások vizsgálata napjaink egyik legígéretesebb kutatási területe. A biomassza felhasználása hazánkban jelentős mértékben közvetlen hőtermelésben hasznosul. Ennek egyik hátránya a hő-, illetve a konvertált villamos energia rossz hatásfoka, valamint a tárolhatóság megoldatlansága. Alternatív megoldásként lehetőség van a lignocellulóz anyagok, mint a legnagyobb mennyiségben keletkező alapanyagok anaerob fermentációjára, azonban az ipari alkalmazhatóság még számos megoldatlan problémával szembesül. Kutatásom a szakirodalom által kevésbé kutatott, erdészeti jellegű hulladék anyagokra koncentrálok. A kutatási téma a különböző előkezelési technikáknak (mikrohullámú előkezelés, cellulóz- és ligninbontó gomba enzimek, stb.) alávetett faaprítékok és egyéb erdészeti- és mezőgazdasági melléktermékek szerkezetalkotó komponenseinek hidrolitikus bontásának, továbbá anaerob fermentációjának vizsgálata. A kutatás főbb céljai:

- **A minták előkezelési lehetőségeinek vizsgálata az optimális előkezelési eljárás kiválasztására**

A lignocellulóz rendszerek fermentációjának szűk keresztmetszete a makrokomponensek hidrolízisének lassúsága. Ezt gyorsítandó, olyan előkezelési technikák alkalmazását hasonlítottam össze, amelyek segítségével a háromdimenziós mátrix szerkezet fellazítható, ezáltal a hidroláz enzimek hatékonysága fokozható. A módszerek összevetésénél az ipari alkalmazhatóság és gazdaságosság alapvető fontosságú.

- **Az előkezelt minták biogáz termelésének vizsgálata**

A különböző módon előkezelt lignocellulóz alapanyagok anaerob úton történő fermentációját vizsgáltam. Az alapanyagokon végzett előkezelések hatékonyságának összehasonlítását elsősorban a gázhozam mérések alapján végeztem. Célom a költséghatékonysági és gáztermelési szempontok figyelembe vételével kiválasztani a legalkalmasabb módszert.

- **Az optimális módon előkezelt faanyag vizsgálata**

Az előkezelési eljárások közül az optimális eljárás kiválasztását követően, ezen előkezelés hatékonyságának megértése érdekében különböző vizsgálatok elvégzése szükséges. Annak bizonyítására, hogy valóban az előkezelés hatásának köszönhető a biogázhozam növekedése, szükséges vizsgálni a faanyag szerkezeti, kémiai változásait, továbbá a biogáz és biogáz iszapok összetételét.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. ALAPANYAGOK ÉS ELŐKEZELÉSÜK

A kísérleteimhez használt alapanyagok kiválasztásánál fontos szempont volt, hogy iparilag értéktelen alapanyag vagy a feldolgozás során visszamaradó hulladék legyen. A tölgy kéreg alapanyag, mint hulladék, a fekete bodza faanyag, pedig mint iparilag értéktelen faanyag került a kísérletbe. A fekete bodza faanyag mindamellett, hogy értéktelennek mondható, beltartalmi értékei miatt nagyon jól reprezentálja egy vegyes összetételű lignocellulóz alapanyagú hulladékot.

4.1.1. A mintavétel és gyűjtés szempontjai

A mérésekhez felhasznált fekete bodza és tölgy kéreg faanyagok, az alábbi szempontok figyelembevételével kerültek begyűjtésre:

- a faanyagok minden évben ugyanazon állományból kerültek begyűjtésre, mely egy Harka település környéki területet jelent, mivel számunkra itt volt elérhető közelségben és megfelelő mennyiségben jelen;
- A mintavétel a vegetációs időszakon kívül a téli időszakában történt, annak érdekében, hogy a minta alacsony nedvességtartalmú és lombzatmentes legyen;
- A mintavétel a fekete bodza 3-10 cm töltméről egyedeiből történt, alkalmanként 5-10 kg mennyiségben, mely elegendő volt az éves kísérletekhez, illetve kellően homogén mintakészítést tett lehetővé;
- A tölgy kéreg mintavétele esetén a kérget baltával választottuk le a törzsről, 5-10 kg mennyiségben;
- A mintavétel során a fekete bodza esetében a teljes növényi anyag (ág, kéreg) begyűjtésre került, ezzel is jobban szimulálva az erdészeti melléktermékeket.

4.1.2. Alapanyagok feldolgozása

A beszállítás után közvetlenül, minden esetben a minta feldolgozásra került. A feldolgozási folyamat első lépésében minden esetben a faanyag feldarabolását végeztem, Scheppach Basato 1 (Scheppach GmbH, Ichenhausen, Németország) típusú szalagfűrészszel kb. 2x2 cm kockákra. Ezzel a mintadarabok darálásra történő előkészítése valósult meg.

A darálást Retsch SK3 (Retsch GmbH, Haan, Németország) típusú kalapácsos darálóval végeztem. A frakcionáláshoz 4 mm-es rostát használtam (Makk *et al.* 2013), így a darálás eredményeképpen 4 mm-nél kisebb szemcseátmérőjű alapanyagot kaptam. A darált minta szemcsefrakciójának méreteloszlása mindig egyformának volt tekinthető, a pontos méreteloszlásról mérések nem készültek, egy erdészeti vagy agrár-illetve faipari hulladéknál sem várható el, hogy mindig egyforma formában legyen elérhető.

Az ilyen módon előállított aprítékot 500 grammonként műanyag zacskókba raktam. A zacskókban maradó levegőt minden esetben kiszorítottam, így minimálisra redukálva az esetlegesen fellépő oxidációs folyamatokat. További felhasználásig a feldolgozott mintákat fagyasztva tároltam, a minőségi paraméterek megőrzése miatt.

A különböző mintavételi paramétereket, és az elvégzett vizsgálatokat összegzi a 3. táblázat.

3. táblázat A mintavételi paraméterek és az elvégzett vizsgálatok

mintavétel időpontja	mintavétel helye	mintanya	mintajellemzője	elvégzett vizsgálatok
2012 január	Harka	fekete bodza	4-8 cm tőátmérő	szárazanyag tartalom
				mikrohullámú előkezelés
				híg savas előkezelés
				gázhozam mérés
		tölgy kéreg	kocsánytalan tölgy	szárazanyag tartalom
				extrakciós előkezelés
				mikrohullámú előkezelés
				gázhozam mérés
2013 január	Harka	fekete bodza	3-9 cm tőátmérő	szárazanyag tartalom
				mikrohullámú ecetsavas feltárás
				biológiai előkezelés (0-14nap)
				cellulóz tartalom meghatározás
				totál fenol tartalom meghatározás
				szervesanyag-tartalom meghatározás
				összcukor tartalom meghatározás
				gázhozam mérés
2013 dec- 2014 febr.	Harka	fekete bodza	3-10 cm tőátmérő	biológiai előkezelés (0-28nap)
				cellulóz tartalom meghatározás
				totál fenol tartalom meghatározás
				szervesanyag-tartalom meghatározás
				összcukor tartalom meghatározás
				gázhozam mérés
				HPLC-MS/MS vizsgálatok

4.1.3. Előkezelési eljárások

A lignocellulóz alapanyagok felhasználásakor nagyon fontos a megfelelő előkezelési eljárások alkalmazása. Az anaerob fermentációs úton előállított biogáz esetében az első lépés ilyen típusú alapanyagnál valamilyen előkezelés alkalmazása (Taherzadeh és Karimi 2008). Az előkezelési technológiák célja, hogy megváltoztassák, eltávolítsák a szerkezeti vagy összetételi akadályokat a hidrolízis hatékonyságának érdekében (Mosier *et al.* 2005). Lignocellulóz anyagoknál használatos előkezelési folyamatok lehetnek fizikai, fizikai-kémiai, kémiai és biológiai jellegűek (Sun és Cheng 2002).

Az alábbiakban a fekete bodza faanyagon és a tölgy kérgén elvégzett előkezelési technikák kerülnek bemutatásra. A biogáz előállítás folyamatában kulcsfontosságú szerepet töltenek be az előkezelési eljárások, célszerű az optimális kiválasztása.

4.1.3.1. Kémiai előkezelés

Híg savas előkezelés

A fekete bodza faanyagon híg savas előkezelést végeztem. A híg savas hidrolízis 4%-os ecetsavoldat jelenlétében történt. Az előzőekben leírt módon feldolgozott fekete bodza faanyaghoz ecetsavat adagoltam 1:3 tömegarányban, vagyis 100g száraz faanyaghoz 300 g ecetsav oldatot adtam, majd 24 óráig állni hagytam szobahőmérsékleten (Phaiboonsilpa és Saka 2011).

Extrakciós előkezelés

A tölgy kéreg alapanyagán extrakciós előkezelést végeztem. Az előkezelés célja a kéregben lévő járulékos anyagok eltávolítása volt, mivel ezek inhibitorokként viselkedhetnek. 100 g száraz tölgy kéreg aprítékhoz 800 ml desztillált víz extraháló szert adtam, majd 24 óráig hagytam állni szobahőmérsékleten (Makk *et al.* 2013).

4.1.3.2. Fizikai előkezelés

Mikrohullámú előkezelés

A mikrohullámú előkezelési technológiát fekete bodza és tölgy kéreg aprítékon is elvégeztem. Mintánként az előzőekben említett módon feldolgozott, 250 g alapanyag mikrohullámú előkezelésre került sor, háztartási mikrohullámú készülékkel.

A mikrohullám 700 W teljesítményű volt. Az előkezelés időtartama 2 szakaszban 2 perc volt (Jackowiak *et al.* 2011/a, Makk *et al.* 2013). A végleges felhasználásig a mikrohullámmal kezelt faanyagot fagyasztva tároltam.

Hidrotermikus előkezelés

A hidrotermikus előkezelés során mikrohullámú hőkezelést végeztem vizes közegben. Az eljárás során a fekete bodza faanyag hidrotermikus előkezelését Michem MD6 (Beijing Michem Instrumentation Co. Ltd., Peking, Kína) típusú mikrohullámú feltárával végeztem. A lignin és a hemicellulóz 150-180 °C-on a cellulóz 200 °C felett kezd bomlani (Németh 1998), így a 4.1.2. fejezetben említett módon feldolgozott fekete bodza faanyagot 150 °C, illetve 210 °C hőmérsékleten előkezelttem. A hidrotermikus előkezelés 2 szakaszban 2 percig tartott. A faanyaghoz a 4.1.3.1. fejezetben leírt híg savas előkezeléshez hasonlóan desztillált vizet adtam, a fekete bodza faanyag:desztillált víz tömegaránya 1:3 volt, vagyis 100 g száraz faanyaghoz 300g desztillált vizet adtam. További felhasználásig az előkezelt mintákat fagyasztva tároltam. Az előkezelés során készített minták paramétereit a 4. táblázat foglalja össze.

4. táblázat A hidrotermikus előkezelés összegzése

alapanyag	mikrohullám teljesítménye	hőmérséklet	jelölés
fekete bodza	700 W	150°C	150°C
fekete bodza	700 W	210°C	210°C

4.1.3.3. Fizikai és kémiai előkezelés

A fekete bodza alapanyagon fizikai, illetve kémiai előkezelési eljárásokat együttesen végeztem el Michem MD6 (Beijing Michem Instrumentation Co. Ltd., Peking, Kína) típusú mikrohullámú feltárával. A mikrohullámú feltárával állítható a teljesítmény és a hőmérséklet, így 700 W teljesítmény mellett 150°C illetve 210°C -on végeztem a minták előkezelését, 2+2 percig. Az állandó teljesítmény mellett, a darált mintákat különböző hőmérsékletű és koncentrációjú híg ecetsavas közegbe is helyeztem, mely 2%-os és 4%-os ecetsav oldatot jelentett. A faanyag apríték és az ecetsav oldat tömegaránya 1:3 volt, vagyis 100 g száraz faanyaghoz 300 g ecetsav oldatot adtam. Az 5. táblázat foglalja össze a fizikai és kémiai előkezelési eljárásokat.

5. táblázat A fizikai és kémiai előkezelés összegzése

alapanyag	teljesítmény	hőmérséklet	ecetsav konc.	jelölés
fekete bodza	700 W	150 °C	2% , 4%	150°C+2%E;150°C+4%E
fekete bodza	700 W	210 °C	2% , 4%	210°C+2%E;210°C+4%E

4.1.3.4. Biológiai előkezelés

Két különböző korhasztó gombafaj alkalmazásával történt a fekete bodza faanyag biológiai előkezelése. Az egyik korhasztó gombafaj a pincegomba (*Coniophora Puteana* (Schumach.) P. Karst), mely vörös korhasztó, a másik faj pedig a késői laskagomba (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.), mely fehér korhasztó volt. A korhasztó gombafajok táptalajaként agar-agar/malátát alkalmaztam, amely kb. 20x20 cm-es hőálló műanyag tárolóedényben volt. Az előkezelés során különböző inkubálási időtartamokat alkalmaztam. Az előkezelési idő 14, 21, 28 nap volt. A két korhasztó gombafajt egyidejűleg is alkalmaztam, ebben az esetben a két faj egyszerre volt jelen a 21 napos inkubálási időszakban. Alapanyagul minden esetben a fagyasztva tárolt 4 mm-nél kisebb frakciójú, mintánként 150-200 g darált fekete bodza faanyagot használtam. A faanyag aprítékot és az edényeket a gombákkal való előemésztés előtt 120 °C-os gőzzel 20 percig sterilizáltam. A mintákat az előkezelési idő alatt minden esetben szobahőmérsékleten, sötétben, klímakamrában tároltam. A sterilizálás ellenére a korhasztó gombák mellett majdnem minden esetben penészgombák is megjelentek, főként a minták felületén. Az előkezelési idő végén a minták felületéről a vizuálisan érzékelhető penészes részek eltávolításra kerültek. Az anaerob fermentációs kísérletekben csak olyan korhasztó gombákkal előkezelt faanyagot használtam fel, melyekből az előbb említett módon a penészes részek eltávolításra kerültek. A megfelelő inkubálási idő elteltével a gombásított mintákat a további felhasználásig fagyasztva tároltam. A 6. táblázat mutatja be a korhasztó gombákkal előkezelt mintákat.

6. táblázat Korhasztó gombákkal történt előkezelés összefoglalása

név	gombafaj	idő (nap)	jelölés
kontrol	-	-	K
fehér korhasztó	(<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.)	14, 21, 28	F
vörös korhasztó	(<i>Coniophora Puteana</i> (Schumach.) P. Karst)	14, 21, 28	V
vörös és fehér	<i>P. ostreatus</i> + <i>C. puteana</i>	21	V+F

4.2. KORHASZTÓ GOMBÁKKAL KEZELT FAANYAGON VÉGZETT VIZSGÁLATOK

4.2.1. Összes szervesanyag-tartalom meghatározás

Az összes szervesanyag-tartalom mérése esetén a darált faanyagot analitikai mérlegen történő bemérés után 600 °C-on 3 órán keresztül izzítottam. A minták izzításához kerámia, izzító téglákat használtam. Az exikátorban történő lehűlés után a visszamaradt szervesanyag tömegének mérésével meghatároztam a minta összes szervesanyag-tartalmát.

4.2.2. Cellulóz tartalom meghatározás

A cellulóz tartalmat Kürschner-Hoffer módszere szerint határoztam meg (Kürschner és Hoffer 1931). A Kürschner-Hoffer-féle cellulóz meghatározás a faanyag salétromsav-etanol elegyével történő kezelését jelenti. A lignin ilyenkor nitrálódik és részben oxidálódik, így az egyidejűleg lehidrolizált hemicellulózzal együtt oldatba kerül. A meghatározáshoz 1 g fekete bodza aprítékot mértem be egy 250 ml-es lombikba, melyre 25 ml salétromsav-etanol elegyet öntöttem. A salétromsav-etanol feltáró elegy 96%-os etilalkohol és tömény salétromsav 4:1 arányú elegye. A lombik tartalmát visszafolyós hűtőt alkalmazva, vízfürdőn 1 órán keresztül forraltam. Ezután ülepítés és dekantálás következett, előbb az oldat, majd a rostok kerültek a lemért G2-es üvegszűrőre, majd vízszugár szivattyút alkalmaztam a folyadék rész hatékony eltávolítására. A szűrőre került rostok 25 ml friss feltáró eleggyel visszamosásra kerültek a lombikba majd 1 órát forraltam. A cellulózt szűréssel majd 10 ml etanollal és forró desztillált vizes mosással savmentesítettem. A feltárt cellulózt a szárítószekrényben 105 °C-on súlyállandóságig szárítottam. A cellulóz tartalom %-ban kifejezett, száraz tömegre vonatkoztatott érték. Mintánként 3 párhuzamos mérést végeztem.

4.2.3. Összes kioldható szénhidrát tartalom meghatározás

Extrakció: Az összes kioldható szénhidrát vizsgálathoz extraktum készítése szükséges a darált fekete bodza faanyagból. Az extrakciót 4:1 - metanol:víz extraháló szerrel végeztem.

A darált 0,25 g faanyaghoz 25 ml extraháló szert adtam és mágneses keverővel 6 órán keresztül kevertetem, extraháltam (Visiné Rajczi 2008). Az így kapott extraktumokat Whatman G2-es üvegszálás fecskendőszűrővel szűrtem le.

Az összes kioldható szénhidrát tartalom meghatározását Dubois módszere szerint végeztem (Dubois *et al.* 1956). A dugós kémcsőbe pontosan kimért 1 ml extraktumhoz 1 ml 5%-os vizes fenol oldatot öntöttem, majd homogenizálás után az elegyhez óvatosan 5 ml koncentrált kénsav oldatot adagoltam. A ledugózott kémcsőben lévő reakcióelegyet pontosan 10 percig szobahőmérsékleten hagytam, majd 20 percig 25 °C-os vízfürdőben hűtöttem. Az összes kioldható szénhidrát tartalmat spektrofotometriásan, Hitachi U-1500 (Hitachi Corp., Kyoto, Japán) spektrofotométerrel határoztam meg 490 nm-es hullámhosszon. A standard glükóz volt. Az eredményt mg glükóz/g száraz tömeg egységre vonatkoztatva, mintánként 3 párhuzamos mérés átlagaként adtam meg.

4.2.4. Totálfenol tartalom meghatározás

A vizsgálat során az összes kioldható fenolos jellegű extraktanyag tartalmát határoztam meg, a továbbiakban ezt totálfenol tartalomként említem. A totálfenol tartalom méréséhez a faanyag extrakciójára van szükség, mely folyamat megegyezik a 4.2.3. fejezetben leírtakkal.

A totál fenol tartalom meghatározás Folin-Ciocalteu módszere szerint végeztem (Singleton és Rossi 1965). Pontosán kimért 0,5 ml extraktumhoz 2,5 ml 10x-es hígítású Folin-Ciocalteu reagens adtam, majd 1 perc elteltével az elegyhez 2,0 ml 0,7M-os Na_2CO_3 oldatot öntöttem. A reakcióelegy pontosan 5 percig 50 °C-os vízfürdőben volt, ez alatt kifejlődött és stabilizálódott az oldat kék színe. Ezután az elegyet hideg vízfürdőben hűtöttem a szobahőmérséklet eléréséig. A totálfenol tartalmat spektrofotometriásan, Hitachi U-1500 (Hitachi Corp., Kyoto, Japán) spektrofotométerrel határoztam meg 760 nm hullámhosszon. A standard kvercetin volt. Az eredményt mmol kvercetin /100g száraz tömeg egységre vonatkoztatva, mintánként 3 párhuzamos mérés átlagaként adtam meg.

4.2.5. HPLC-MS/MS mérések

Extrakció: a gombákkal előkezelt bodza faanyagból 0,75 g szárazanyagnak megfelelő mennyiségű mintát 25 ml desztillált vízzel 6 órás mágnes kevertetéssel extraháltam. Az extraktumokat 0,45 µm pórusméretű cellulóz acetát fecskendőszűrővel (VWR, Debrecen, Magyarország) szűrtem és a kapott oldatokat HPLC-MS/MS készülékkel vizsgáltam.

A HPLC-MS/MS méréseket egy Shimadzu LC-20 (Shimadzu Corp., Kyoto, Japán) folyadékkromatográfjal, valamint egy hozzá csatolt AB Sciex 3200 Qtrap (AB Sciex Pte. Ltd., Concord, Canada) típusú lineáris ioncsapda/hármas kvadrupól elrendezésű tömegspektrométerrel, mintánként 3 ismétléssel végeztem.

HPLC beállítások és paraméterek:

- állófázis: Bio Rad Aminex HPX-87H oszlop (8 mm x 300 mm);
- mozgófázis: 0,5 ml/min, H₂O + 0,1% HCOOH, izokratikus elválasztás;
- kolonna hőmérséklet: 60 °C;
- UV detektálás: 250-380 nm tartományban Shimadzu SPD-M20A diódasoros detektorral;
- elválasztási idő: 25 perc;
- mintabemérés: 20 µl (10x higított vizes extraktumból).

MS beállítások: a vegyületek mennyiségi meghatározását tandem tömegspektrometriás eljárással végeztem, negatív elektroporlasztásos (ESI) ionizációval, szelektív MRM (Multiple Reaction Monitoring) átmenetek alapján. A vegyületekre szelektív MRM átmenetek megállapítása standard vegyületek oldatainak (200 ng/ml) a tömegspektrométerbe történő infúziójával történt fecskendő pumpa segítségével. Mindegyik vegyület esetében 2 MRM átmenetet határoztam meg, melyből egyik a mennyiségi azonosításra (quantifier), a másik a minőségi azonosításra, megerősítésre szolgál (qualifier). A mért vegyületekre meghatározott MRM átmeneteket, illetve a tömegspektrométer vegyület specifikus beállításait a 7. táblázat mutatja.

7. táblázat Az MRM átmenetek és a tömegspektrométer vegyület specifikus beállításai

Q1: első kvadrupól beállítása, Q3: harmadik kvadrupól beállítása, Dwell time: Q1 ionok tartózkodási ideje a Q2 kvadrupólban (ütközési cella), DP: klasztermentesítő feszültség, EP: ütközési cella (Q2) belépő potenciálja, CEP: ütközési cella kilépő potenciálja, CE: ütközési energia az ütközési cellában.

Vegyület	Típus	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	Dwell time (msec)	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (V)
Almasav	Qualifier	133	115	150	-25	-4	-10	-12
	Quantifier	133	71	150	-25	-4	-10	-20
Borkósav	Qualifier	149	87	150	-30	-5	-8	-16
	Quantifier	149	73	150	-30	-5	-8	-24
Citromsav	Qualifier	191	111	150	-25	-4,5	-16	-16
	Quantifier	191	87	150	-25	-4,5	-16	-22

A vegyülettől független, ionforrás paraméterek a következők voltak:

- függőnygáz (N₂): 35 psi
- porlasztógáz (N₂): 30 psi
- szárítógáz (N₂): 40 psi
- porlasztási feszültség: -4500 V

A mérési adatok feldolgozását Analyst 6.1 szoftverrel végeztem (AB Sciex Pte. Ltd., Concord, Canada).

4.2.6. Elektronmikroszkópos felvételek

Az elektronmikroszkópos felvételeket Hitachi S-3400N (Hitachi Corp., Kyoto, Japán) pásztázó elektronmikroszkóppal készítettem, 25 kV gyorsító feszültség és 70 kPa nyomás mellett, BSE (Back Scattering Electron) módban. A gombákkal kezelt faanyag mintákról 50-szeres, 100-szoros, 200-szoros nagyításban készítettem felvételeket. Gomba fajtánként, és előkezelési időnként minden nagyításban 5 felvételt, hogy átfogó képet kaphassak a gombákkal való előkezelés hatékonyságáról, vizuálisan is. A 200-szoros nagyításon készült felvételek hordozzák a legtöbb vizuális információt

4.2.7. Szárazanyag- tartalom meghatározás

A szárazanyag-tartalom mérése esetén a darált faanyagot analitikai mérlegen mértem be majd szárítószekrényben 105 °C-on tömegállandóságig szárítottam. A minta beméréséhez üveg edényt használtam. Az exikátorban történő lehűlés után a visszamért száraz faanyag tömegéből számítottam a szárazanyag tartalmat. Mintánként 3 párhuzamos mérést végeztem. A szárazanyag-tartalom meghatározás azért fontos, mert száraz tömegre vonatkozik a legtöbb mért paraméter.

4.3. BIOGÁZ ELŐÁLLÍTÁS ÉS A BIOGÁZHÓZAM MÉRÉSE

4.3.1. Biogáz előállítása

A biogáz termelési kísérletekben használt biogáz reaktor 2500 ml űrtartalmú, csavarmentes, barna üveg (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) melyben a hasznos térfogatot betöltő biogáz iszap 1000 ml volt. A gázkihozatali vizsgálatokhoz használt növényi alapanyagokra adaptálódott oltóiszap a Magyar Cukor Zrt. kaposvári biogáz üzeméből származott. A biogáz kihozatali vizsgálatok esetén az alapanyag adagolása félfolyamatos üzemű volt és naponta mértem a termelődő biogáz mennyiségét. A termelődő biogázt Tedlar[®] gázgyűjtő zsákokba gyűjtöttem. A biogáz mennyiségének mérését 500 ml-es Hamilton fecskendővel (Sigma-Aldrich Kft., Budapest, Magyarország) végeztem. A kísérletek anaerob körülmények között átlagosan 30-60 napig tartottak. Minden kísérletsorozatban alkalmaztam kontrol reaktorokat, melyekbe kezeletlen lignocellulóz alapanyagot adagoltam. Az előkezelt lignocellulóz alapanyagok anaerob fermentációval előállított biogáz hozamát termofil (55°C) környezetben vizsgáltam. A termofil körülmények előállításához Memmert WNB 14 Basic vízfürdőt (Memmert GmbH, Schwabach, Németország) alkalmaztam. A laboratóriumi anaerob fermentor rendszert mutatja be a 9. ábra.



9. ábra Laboratóriumi anaerob fermentor rendszer (a felvételt a szerző készítette)

4.3.2. Biogáz összetétel meghatározása

A biogáz összetételének meghatározását Ecoprobe 5-IR (RS-Dynamics s.r.o., Prága, Csehország) készülékkal végeztem. A meghatározott komponensek a CH_4 , CO_2 , O_2 gázok voltak. A kalibráláshoz használt gázelegy összetétele: 60% metán, 30% széndioxid és 10 % oxigén, a gázelegy tisztasága 99,995% volt. A meghatározott gázok mennyiségét térfogatszázalékban határoztam meg.

4.3.3. Genomikai vizsgálatok

Metagenomikai szekvenálás: A teljes közösségi DNS szekvenálása Ion Torrent PGM (Life Technologies, USA) szekvenátorral készült. A 200 bp-os fragmens könyvtár az Ion Torrent PGM megfelelő protokollja szerint készült. A mintákból gyűjtött metagenomikai DNS a könyvtárak előkészítésre szolgáltak. A DNS darabolása Ion Xpress™ Plus Fragment Library Kit használatával, a DNS a PureLink PCR Purification Kit felhasználásával került tisztításra. Az adapter ligálás és a nick transzláció az Ion Shear Plus Reagents Kit szerint történt. A 300–350 bp fragmenseket 2%-os agaróz gélen méret szerint különültek el, a könyvtár amplifikációja Platinum_ PCR SuperMix alkalmazásával történt. A kvantifikálás Ion Library TaqMan qPCR az emulziós PCR pedig Ion Xpress Template 200 ePCR kitet alkalmaztam.

A szekvenálás az Ion Torrent PGM 316-os chipjén valósult meg. A szekvenálási eredmények során a 0. napon 292282 szekvencia leolvasás, az átlagos leolvasási hossz $127 \text{ bp} \pm 62 \text{ bp}$ (27.9 MPQ érték); a 20. napon a termofil vizsgálatok során 301456 szekvencia leolvasás, az átlagos leolvasási hossz $126 \text{ bp} \pm 61 \text{ bp}$ (29.1 MPQ érték); a 79. napon a termofil vizsgálatok során 181446 szekvencia leolvasás, az átlagos leolvasási hossz $122 \text{ bp} \pm 59 \text{ bp}$ (16.7 MPQ₂₀ érték); a 196. napon a termofil vizsgálatok során 247245 szekvencia leolvasás történt, az átlagos leolvasási hossz $143 \text{ bp} \pm 62 \text{ bp}$ (25.8 MPQ₂₀ érték).

A minták bioinformatikai analizisét a következőképpen végeztem: a kezdeti minőség ellenőrző tesztet FASTQ szekvencia adat szerinti automatikus normalizálás követett, melynek paraméterei: e-érték határ $<10^{-5}$, a minimum százalékos egyezés $>80\%$ és a minimum leolvasási hosszak 15 bp. Az adatszűrés után következett a taxonómiai kiértékelés. A taxonómiai analízis, különböző riboszomális RNS adatbázis felhasználásával, metagenomikai analízis szerverrel (MG-RAST) valósult meg (Meyer *et al.* 2008). Az alkalmazott statisztikai program a StatsDirect (StatsDirect Ltd, UK) 2.7.8. verziója volt.

4.3.4. Biogáz iszap monitoring

A stabil működés érdekében monitoring jelleggel a biogáz iszap, különböző kémiai paramétereit (pH, kémiai oxigén igény, totál foszfor, ammónium) mértem (Rétfalvi *et al.* 2016).

Az iszap minták pH mérést EuTech PC 510 (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, USA) készülékkel végeztem. A kémiai oxigén igény meghatározást az MSZ ISO 6060 szabvány szerint végeztem. Az ammónium tartalom meghatározás az MSZ 488/18-77 szabvány szerint történt. A totál foszfor tartalmat az MSZ ISO 7150-1 szabvány szerint határoztam meg.

4.4. FELHASZNÁLT VEGYSZEREK

A kísérletek során felhasznált vegyszerek:

- ecetsav, etanol, metanol, salétromsav, fenol, kénsav, (Reanal, Budapest, Magyarország);
- glükóz, kvercetin, almasav, borkósav, citromsav, hangyasav agar-agar/maláta (Sigma-Aldrich Kft., Budapest, Magyarország);
- Folin-Ciocalteu reagens, nátrium-karbonát, (VWR, Debrecen, Magyarország);
- Kalibráló gázelegy (Messer Hungarogáz Kft., Budapest, Magyarország).

A vizsgálatokhoz felhasznált vizet Syntetic Aquarius (Syntetic Kft. Nagykanizsa, Magyarország) készülékkel állítottam elő. A kromatográfiás vizsgálatokhoz alkalmazott vizet a Syntetic Aquarius (Syntetic Kft. Nagykanizsa, Magyarország) készülékkel előállított víz ismételt desztillálásával (bidesztillált víz) állítottam elő.

4.5. STATISZTIKAI KIÉRTÉKELÉS

Az adatok összesítése, az ábrák, táblázatok és egyszerűbb statisztikai paraméterek (átlag, szórás, konfidencia intervallum stb.) kiszámolását Microsoft Excel 2010 szoftverrel végeztem (Microsoft Corp., Redmond, USA). A metánhozam mérési eredmények statisztikai elemzéséhez Statistica 8. (Statsoft, Tulsa, USA) szoftvert alkalmaztam. A szoftverrel végzett varianciánálízisben a One-way ANOVA módszert alkalmaztam az Unequal N HSD számolási módszerrel, 1% szignifikancia szinten. A varianciák homogenitását a „Levene's test”-el ellenőriztem.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. ELŐKEZELÉSEK HATÁSA

A lignocellulóz rendszerek előkezelésének célja az volt, hogy az előkezelés hatására a metántermelésben növekedést érjek el. A fekete bodza faanyag előkezelési eljárásai a híg ecetsavas, mikrohullámú, hidrotermikus, fizikiai-kémiai és biológiai előkezeléseket voltak. A tölgy kéreg alapanyag esetén mikrohullámú, extrakciós, mikrohullámú és extrakciós előkezeléseket végeztem. A metántermelés és a fajlagos metánhozamok vizsgálatával az előkezelési eljárások optimalizálását végeztem el.

A metántermelési ábrákon (10.-22. ábra) 5 napos átlagértékeket tüntettem fel. Ezzel célom a könnyebb átláthatóság volt, mivel a naponta termelődő metán mennyiségek ábrázolása átláthatatlanná tenné az ábrákat. A több mint 5 napos átlagok ábrázolása esetén pedig a metántermelésben bekövetkező változások, tendenciák tűnnének el, így a legnagyobb átlagolási idő intervallum tapasztalatom szerint az 5 nap. A metántermelési ábrákon az 5 napos átlagértékek közötti összekötő vonalak a tendenciák szemléltetését szolgálják.

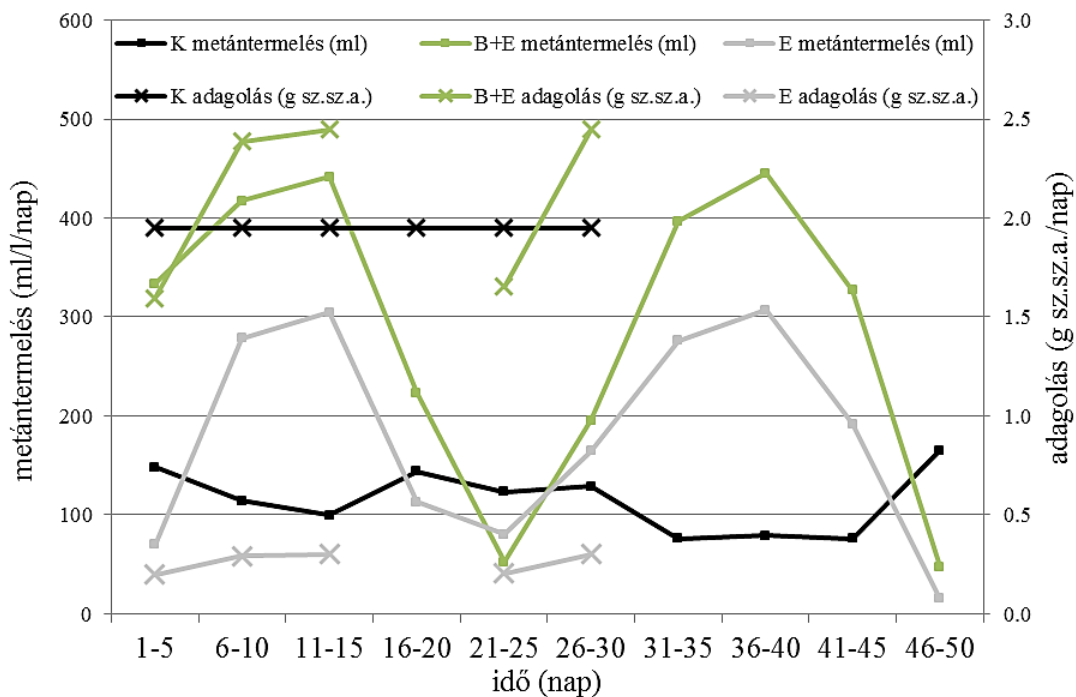
A metántermelési kísérletekben a naponta beadagolt száraz szerves anyag mennyiségek kísérletenként változóak. A napi adagolás és terhelés annak függvénye, hogy előzetes kísérleteink során az anaerob fermentációs biológiai rendszer, milyen mértékben tudta a naponta beadagolt alapanyagot feldolgozni.

Az optimális eljárás kiválasztásában az egyik fontos paraméter a kezeletlen alapanyaghoz viszonyított, metántermelésben és fajlagos metánhozamban bekövetkező növekedés, a másik fő szempont pedig a költséghatékonyság volt.

5.1.1. Fekete bodza alapanyag

5.1.1.1. Híg savas előkezelés

A fekete bodza alapanyag esetében híg ecetsavas előkezelést végeztem a metántermelés növelésének érdekében, az előkezelés hatását a 10. ábra mutatja be.



10. ábra A metántermelés alakulása fekete bodza híg savas (ecetsavas) előkezelése esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; B+E: 4%-os ecetsavval előkezelt fekete bodza alapanyag; E: 4%-os ecetsav. K adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezeletlen fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása; B+E adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt ecetsavval előkezelt fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása; E adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt ecetsav napi adagolás.

A fekete bodza alapanyag híg ecetsavas előkezelése során, melyet a 10. ábrán láthatunk, a beadagolt alapanyag a fermentációval feldolgozásra került a metán képződés folyamatában. A 10. ábrán látható az adagolási időszakban egy 10 napig tartó szünet. Ezt a szünetet mesterségesen idéztem elő, mert így vizsgálni lehetett, hogy a rendszer hogyan reagál az alapanyag megvonására, illetve azt is hogyan lehet újra felterhelni. Az alapanyag adagolásának szüneteltetésekor a 10. ábrán (15-25 napok között) látható metántermelés csökkenéséből következtethetünk a beadagolt alapanyag viszonylag gyors felhasználódására. Az alapanyag újbóli adagolás után (25-35 napok között) az anaerob rendszer megfelelően reagált a felterhelésre, mivel a metán tartalom az adagolás ütemében növekedett. A mesterséges szünetet csak ebben a kísérletsorozatban idéztem elő, a többi esetben feltételezésem szerint, ugyan ilyen válaszreakciók tapasztalhatóak.

8. táblázat A híg savval előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

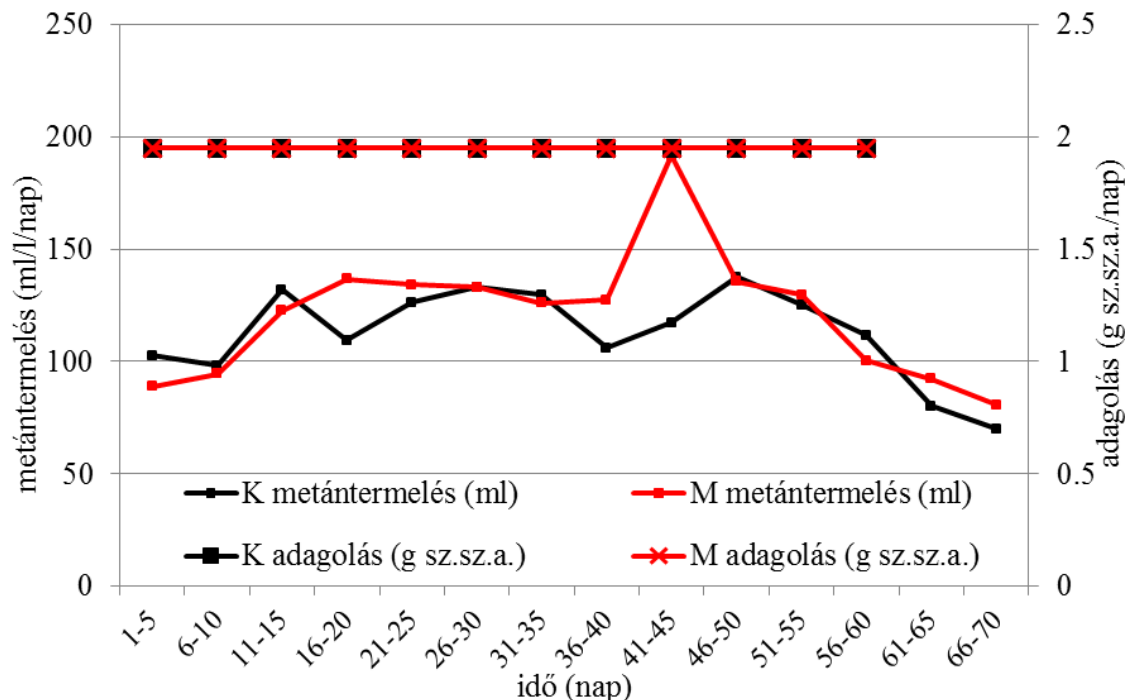
K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; B+E: 4%-os ecetsavval előkezelt fekete bodza alapanyag; E: 4%-os ecetsav; (B+E)-E: a 4%-os ecetsavval előkezelt fekete bodza alapanyag és a 4%-os ecetsav értékeinek különbsége. K esetén n=50 mérési pont átlaga, (B+E)-E esetén n=50 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum.

	K	B+E	E	(B+E)-E
metántermelés (ml/l/50 nap)	5690,8	14392,3	8988,9	5403,4
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	56,5	57,0	7,0	50,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	100,8±5,2			108,0±8,7

A fekete bodza alapanyag híg ecetsavas előkezelésének metántermeléséről elmondható, mely a 8. táblázatban látszik, hogy az előkezelés nem volt hatással a metánhozam növekedésére. A mérési adatok az I. mellékletben szerepelnek.

5.1.1.2. Mikrohullámú előkezelés

A fekete bodza alapanyag mikrohullámú előkezelését végeztem el a metánhozam növelése érdekében. Az előkezelés hatékonyságát a termelésre a 11. ábra mutatja be. A mikrohullámmal előkezelt fekete bodza gáztermelési adatokat a II. melléklet tartalmazza.



11. ábra A metántermelés alakulása fekete bodza mikrohullámú előkezelése esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; M: mikrohullámmal előkezelt fekete bodza alapanyag; K adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezeletlen fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása; M adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt mikrohullámmal előkezelt fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása.

A mikrohullámmal előkezelt fekete bodza és a kontrol alapanyag metántermelése, a 11. ábrán láthatóan szinte egyforma módon zajlott a 70 napos fermentáció során. A 40-45 napok között a metán hozam hirtelen növekedése figyelhető meg, ami utalhat a mikrohullámmal kezelt alapanyag felhalmozódására. A fermentációs időszak végére az lecsengési szakaszban csökkenő metánhozam figyelhető meg, ami szinte párhuzamosan történik a kontrol metán csökkenéssel, tehát az alapanyag mindkét esetben hasonló ütemben ürült ki a rendszerből. Az előkezelés jelentősen nem befolyásolta a metántermelés mennyiségét, melyet a 9. táblázat is magában foglal.

9. táblázat A mikrohullámmal előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

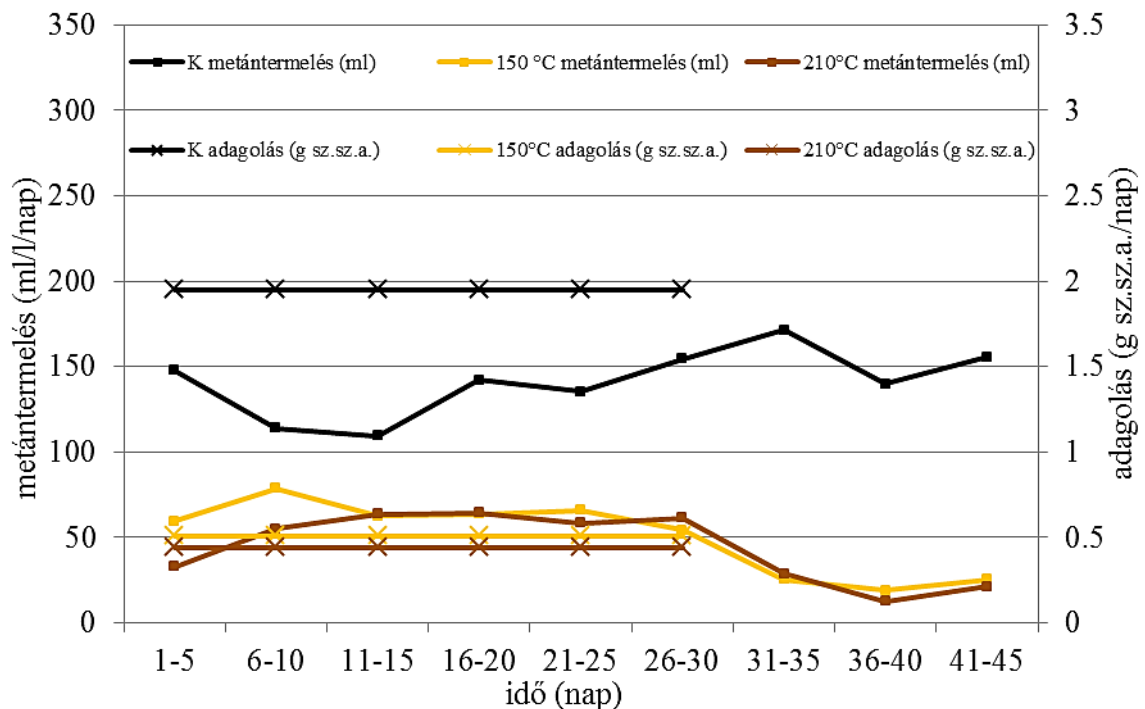
K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; M: mikrohullámmal előkezelt fekete bodza alapanyag; K esetén n=70 mérési pont átlaga, M esetén n=70 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum.

	K	M
metántermelés (ml/l/70 nap)	7896,0	8468,0
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	117,0	117,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	67,5±4,0	72,4±3,7

A mikrohullámmal előkezelt fekete bodza metántermelésének a 9. táblázatban szereplő összefoglalása szerint az előkezelés csak nagyon kis mértékben, növelte a metánhozamot. A mikrohullámú előkezelés során a faanyag nagyon kiszáradt, ami kedvezőtlenül hathat a fermentációs folyamatra, mivel besűrűsödik a biogáz iszap, így víz adagolása is szükséges. A mikrohullámú előkezelés során keletkezhetnek a metán képződés folyamatára gátló hatású anyagok. Ezen tényezők hatására következhetnek be a kedvezőtlen metánhozam változási adatok, még ha az alapanyag degradációja az előkezelés hatására hatékony is volt.

5.1.1.3. Hidrotermikus előkezelés

A hidrotermikus előkezelés során a vizes közegű mikrohullámú hőkezelést alkalmaztam a metánhozam növelése érdekében. Az alkalmazott előkezelés hatását a metántermelésre a 12. ábra foglalja össze. A hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag gáztermelési adatai a III. mellékletben szerepelnek.



12. ábra A metántermelés alakulása fekete bodza hidrotermikus előkezelése esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; 150°C: 150°C-on hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag; 210°C: 210°C-on hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt előkezelt és kezeletlen fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása.

A hidrotermikus módon előkezelt faanyag metántermelését összefoglaló 10. táblázatban látható, hogy mind a 150°C-os mind a 210°C-os előkezelés hatására a fajlagos metánhozamban növekedés tapasztalható a kezeletlen faanyaghoz képest. A metántermelés számszerűsített adatait a 10. táblázatban találjuk.

10. táblázat A hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

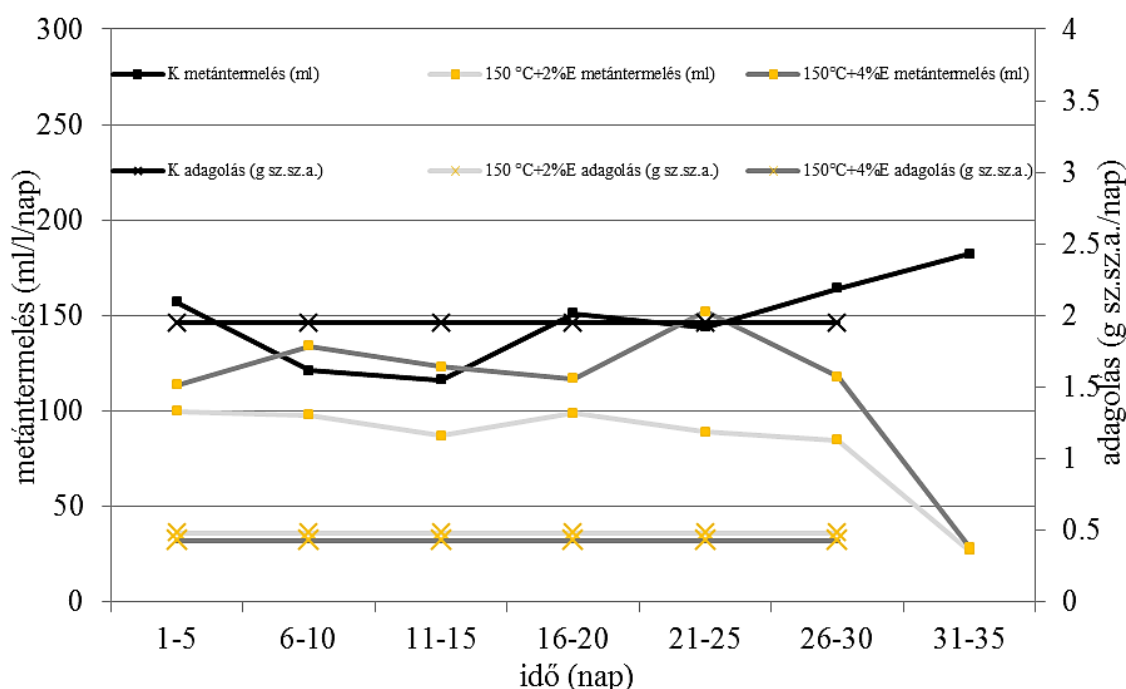
K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; 150°C: 150°C-on hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag; 210°C: 210°C-on hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag; K, 150°C, 210°C esetén n=45 mérési pont átlaga ± 95%-os konfidencia intervallum.

	K	150 °C	210°C
metántermelés (ml/l/45 nap)	6350,6	2272,7	1989,0
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	58,5	15,4	13,3
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	108,6±6,8	147,6±8,8	149,5±13,8

Mind a 150°C-on, mind a 210°C-on előkezelt fekete bodza alapanyag metánhozama a kezeletlen fekete bodza alapanyag metánhozamához képest, a 10. táblázatban látható adatok alapján, közel 35%-os növekedést jelent. Az előkezelés hatékonysága valószínűleg az előkezelési eljárások együttes alkalmazásának, illetve az 5.1.1.2. fejezetben említett mikrohullámú előkezelésénél tapasztalt kiszáradást kiküszöbölendő, vizes közegnek köszönhető.

5.1.1.4. Fizikai-kémiai előkezelés

A fizikai-kémiai előkezelési eljárás esetén a hidrotermikus előkezelés során alkalmazott desztillált vizes közeg helyett 2%-os és 4%-os koncentrációjú ecetsavat alkalmaztam. A 13. ábra a különböző koncentrációjú ecetsavas közegek mellett 150°C-on előkezelt faanyag metántermelésére gyakorolt hatását foglalja össze a kontrol faanyag metántermeléséhez képest. A 150°C-on, fizikai-kémiai módon előkezelt faanyag gáztermelési adatait a IV. mellékletben láthatjuk.



13. ábra A metántermelés alakulása fekete bodza faanyag 150°C-on történt fizikai-kémiai előkezelése esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; 150°C+2%E: 150°C-on 2%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; 150°C+4%E: 150°C-on 4%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezelt és kezeletlen fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása

A 150°C-on fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza faanyag metántermelési ábráján látható, hogy a 2%-os és a 4%-os ecetsav alkalmazása során a metántermelésben 30-35%-os növekedés történt a kezeletlen fekete bodza faanyag metántermeléséhez képest, amely a 11. táblázatban összefoglalt adatokból is látszik.

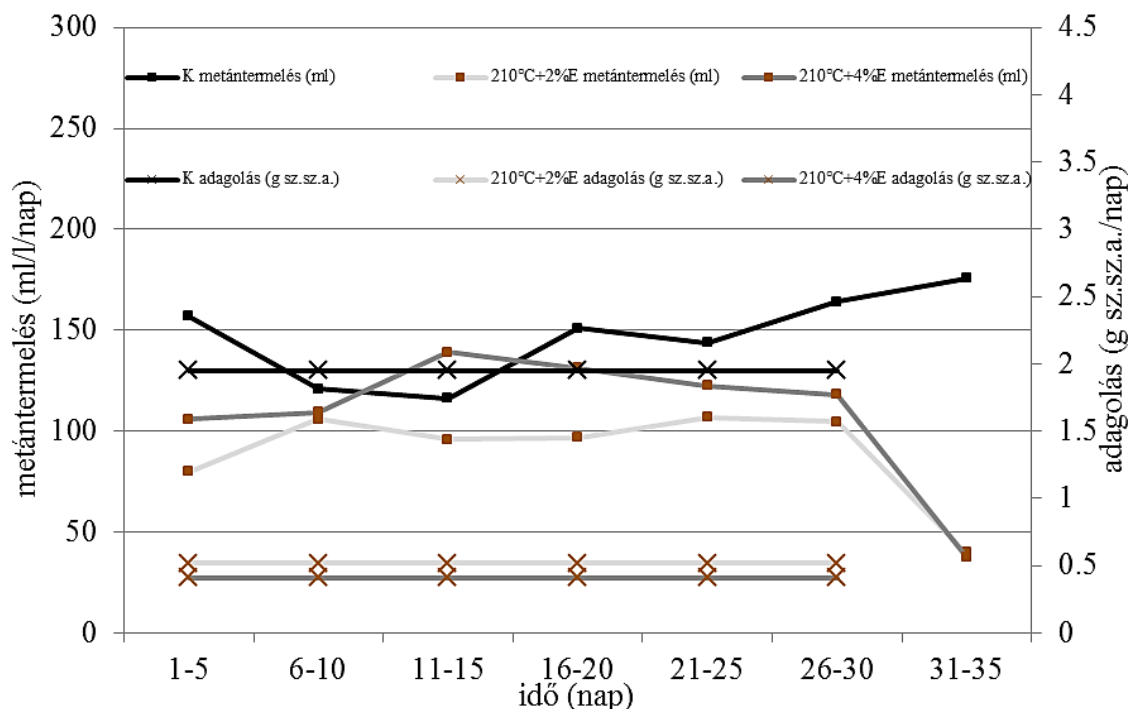
11. táblázat A 150°C-on fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag gáztermelésének összefoglalása

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; 150°C+E2%: 2%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; 150°C+E4%: 4%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; E2%: 2%-os ecetsav; E4%: 4%-os ecetsav; minden esetben n=35 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum

	metántermelés (ml/l/35 nap)	Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	fajlagos metánhozam ml/g sz.sz.a.
K	5175,4	58,5	88,5±8,1
150 °C+2%E	2919,2	17,13	-
150°C+4%E	3929,4	18,58	-
E 2%	1227,8	2,95	-
E 4%	2483,1	5,90	-
150°C-2%E	1691,3	14,18	119,3±20,6
150°C-4%E	1446,3	12,68	114,0±14,6

A 11. táblázatban összefoglalt adatok alapján a 2%-os és a 4%-os ecetsavas közegben végbement fizikai-kémiai előkezelés esetén a kezelt faanyag metántermeléséhez képest növekedés tapasztalható. A 4.1.1.3. fejezetben taglalt hidrotermikus előkezeléshez képest a kontrolhoz viszonyított metánhozam növekedésekben változás nem történt. Így a 150°C-on végbemenő különböző koncentrációjú ecetsavas közegek hatására nem növekedett tovább a 150°C-os hidrotermikus előkezelésnél kapott hozamnövekedés.

A 14. ábra a különböző koncentrációjú ecetsavas közegek mellett 210°C-on előkezelt faanyag metántermelésére gyakorolt hatását foglalja össze a kontrol faanyag metántermeléséhez képest. A 210°C-on, fizikai-kémiai módon előkezelt faanyag gáztermelési adatait a V. melléklet tartalmazza.



14. ábra A metántermelés alakulása fekete bodza 210°C-on fizikai-kémiai előkezelése esetén. Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; 210°C+2%E: 210°C-on 2%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; 210°C+4%E: 210°C-on 4%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; E2%: 2%-os ecetsav E4%: 4%-os ecetsav; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezelt és kezeletlen fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása

A 12. táblázatban összefoglalt adatok alapján látható, hogy a 210°C-os 2%-os ecetsavas közegben közel 35%-os, a 210°C-os 4%-os ecetsavas közegben közel 20%-os metánhozam növekedés történt a kontrol kezeletlen faanyag metántermeléséhez képest. A 4%-os ecetsavas közegnél tapasztalt kisebb mértékű hozamnövekedés feltételezett oka az lehet, hogy az alkalmazott hőmérséklet és ecetsav koncentráció hatására keletkezhetnek olyan anyagok, amelyek kedvezőtlenül hatottak a metántermelődsi folyamatra. A fizikai-kémiai előkezelések összehasonlításaként megállapítható, hogy a 210°C alkalmazása a 150°C-hoz képest nem eredményezett a metánhozamban további növekedést.

12. táblázat A 210°C-on fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag gáztermelésének összefoglalása

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; 210°C+E2%: 2%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; 210°C+E4%: 4%-os ecetsavval fizikai-kémiai módon előkezelt fekete bodza alapanyag; E2%: 2%-os ecetsav; E4%: 4%-os ecetsav; minden esetben n=35 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum

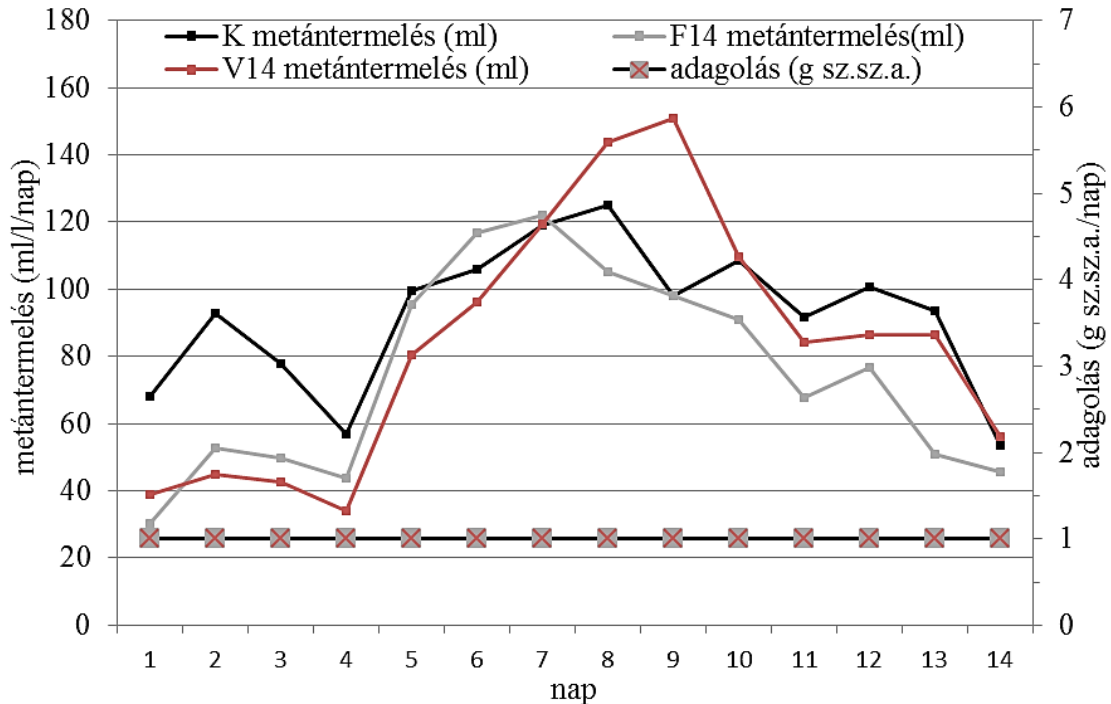
	Σ metántermelés (ml/l/35 nap)	Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	fajlagos metánhozam ml/g sz.sz.a.
K	5175,4	58,5	88,5±8,1
210°C+2%E	3083,8	18,70	-
210°C+4%E	3759,1	17,93	-
2% E	1227,8	2,95	-
4% E	2483,1	5,90	-
210°C-2%E	1856,0	15,75	117,8±16,8
210°C-4%E	1276,0	12,03	106,1±33,4

Az előzőekben is megállapításra került, hogy az 5.1.1.3. fejezetben tárgyalt hidrotermikus előkezelésnél tapasztalt metánhozam növekedés mértékét tovább nem növelte a 150°C-os fizikai-kémiai előkezelés. Ez a megállapítás helytálló a 210°C-os fizikai-kémiai előkezelésre is. Összességében elmondható, hogy a hidrotermikus és a fizikai-kémiai előkezelések közti különbséget jelentő savas hidrolízis alkalmazása nem tette hatékonyabbá az előkezelést.

5.1.1.5. Biológiai előkezelés

A metántermelés növelése érdekében biológiai előkezelést is végeztem a fekete bodza alapanyaggal. A biológiai előkezelésben vörös és fehér korhasztó gombák, illetve ezek szimultán alkalmazását végeztem különböző inkubálási ideig.

A 15. ábrán látható a 14 napig tartó biológiai előkezelések hatása a metántermelésre, a mérési adatok a VI. mellékletben találhatóak.



15. ábra A metántermelés alakulása a fekete bodza, különböző korhasztó gombákkal 14 napig tartó előkezelés esetén.

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; F14: fehér korhasztó gombával 14 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; V14: vörös korhasztó gombával 14 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezeletlen és a kezelt fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása.

A 14 napig tartó vörös és fehér korhasztó gombás előkezelés esetén, két párhuzamos kísérlet átlagaként kapott metán értékek láthatóak a 15. ábrán. Az előkezelt fekete bodza faanyag metántermelése nem különbözik a kezeletlen mintáéhoz képest. A metánhozamok összefoglalását ebben az esetben a 13. táblázat tartalmazza.

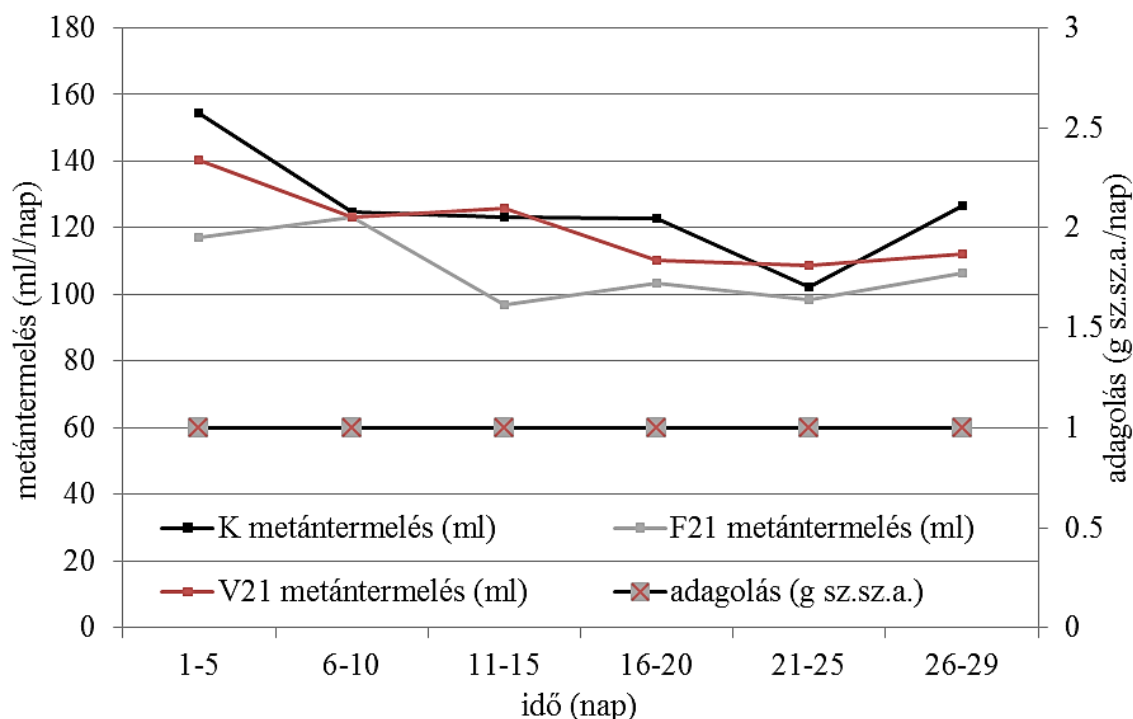
13. táblázat A különböző korhasztó gombákkal 14 napig előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; F14: fehér korhasztó gombával 14 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; V14: vörös korhasztó gombával 14 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; K, F14, V14 esetén n=28 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum.

	K	F14	V14
metántermelés (ml/l/28 nap)	2581,4	2092,2	2348,2
Σ bevitt g szerves anyag	28,0	28,0	28,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	92,2±9,9	74,8±11,5	83,9±13,8

A 13. táblázatban feltüntetett adatok alapján látható, hogy a 14 napig vörös korhasztó gombával előkezelt fekete bodza alapanyag metánhozamában jelentős változás nem következett be a kezeletlen fekete bodza metánhozamához képest. A 14 napig fehér korhasztó gombával történt előkezelés esetén a metánhozamban csökkenés figyelhető meg a kontrol fekete bodza metántermeléséhez képest. A csökkenést kiváltó ok lehet az előkezelés során esetlegesen keletkezett inhibitor vegyületek megjelenése, például mikotoxinok, melyek gátló hatással lehetnek a gáztermelési folyamatra. A 14 napos biológiai előkezelés esetén tapasztalt metánhozam változások nem tekinthetők szignifikánsak.

Az inkubálási idő növelésének hatását a metántermelésre, amely a második szakaszban 21 napig tartott, a 16. ábra mutatja be két párhuzamos mérés esetén. A 21 napig tartó biológiai előkezelés mérési adatai a VII. mellékletben szerepelnek.



16. ábra A metántermelés alakulása a fekete bodza, különböző korhasztó gombákkal 21 napig tartó előkezelés esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; F21: fehér korhasztó gombával 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; V21: vörös korhasztó gombával 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezeletlen és a kezelt fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása

A 16. ábrán látható 21 napig tartó biológiai előkezelés esetében sem történt jelentős változás a metántermelésben. Az adatok számszerűleg a 14. táblázatban szerepelnek.

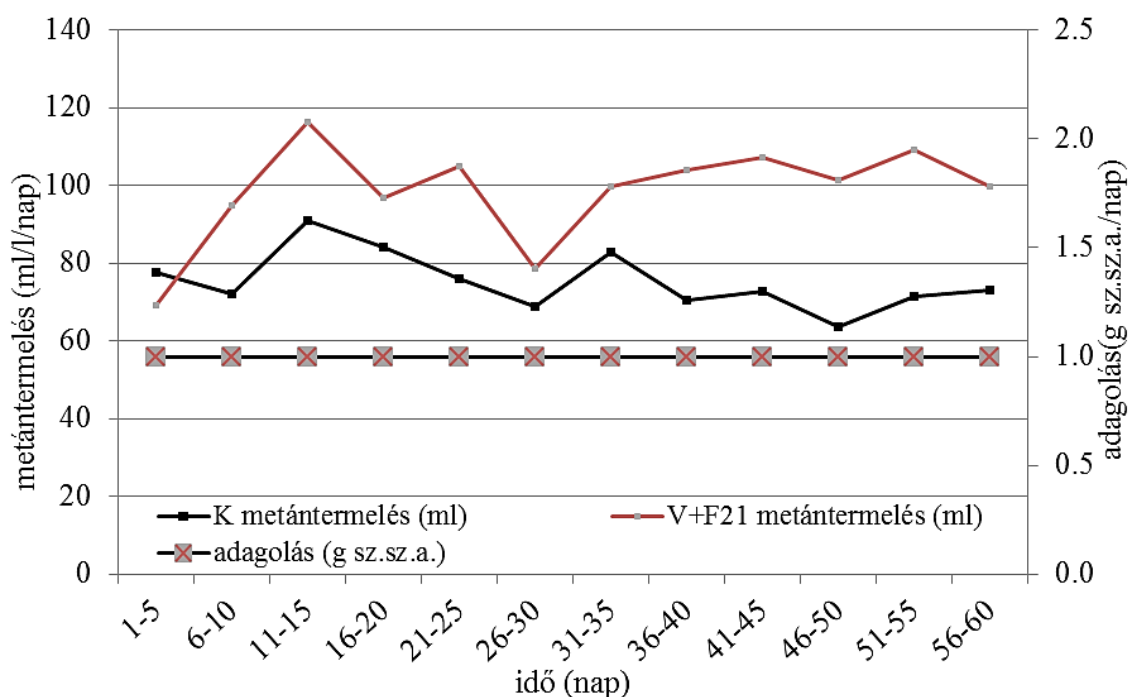
14. táblázat A különböző korhasztó gombákkal 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; F21: fehér korhasztó gombával 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; V21: vörös korhasztó gombával 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; K, F21, V21 esetén n=58 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum.

	K	F21	V21
metántermelés (ml/l/58 nap)	7253,6	6175,8	6924,4
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	58,0	58,0	58,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	125,0±9,1	106,5±10,3	119,4±6,9

A 14. táblázatban foglaltak szerint a 21 napig tartó vörös- és fehér korhasztó gombás előkezelés hatására a metántermelésben kismértékű csökkenés tapasztalható, ami nem szignifikáns. A 21 napig tartó korhasztó gombás előkezelés hatására bekövetkezett kismértékű metánhozam csökkenés valószínűsíthetően a 14 napig tartó előkezelésnél esetlegesen fellépett okoknak köszönhető.

A 21 napig tartó előkezelési időhöz tartozik az a vizsgálat is, amikor a felhasznált két gombafajt szimultán alkalmaztam az előkezelési idő alatt. Az 17. ábrán látható ennek az előkezelési eljárásnak a metántermelésre gyakorolt hatása.



17. ábra A metántermelés alakulása a fekete bodza, vörös és fehér korhasztó gombákkal együttesen 21 napig tartó előkezelés esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; V+F21: vörös és fehér korhasztó gombákkal együttesen 21 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezeletlen és a kezelt fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása

A 21 napig tartó egyidejűleg alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás előkezelés hatására a metántermelésben növekedés volt tapasztalható a 17. ábrán bemutatott metántermelési értékek alapján. A szimultán alkalmazott korhasztó gombás előkezelés metántermelésre gyakorolt pozitív hatása a 15. táblázatban lévő adatokból is kiolvasható.

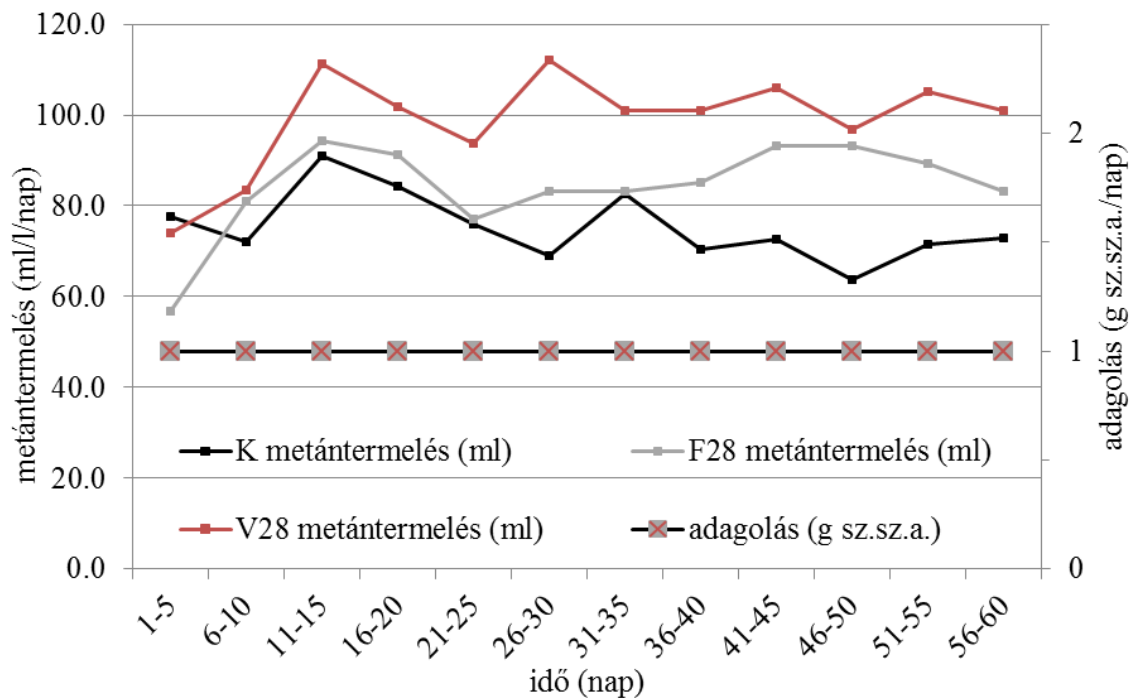
15. táblázat A vörös és fehér korhasztó gombával 21 napig együttesen előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; V+F21: vörös és fehér korhasztó gombával 21 napig együttesen előkezelt fekete bodza alapanyag; K, V+F21 esetén n=60 mérési pont átlaga, átlag \pm 95%-os konfidencia intervallum.

	K	V+F21
metántermelés (ml/l/60 nap)	4800,1	6233,1
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	60,0	60,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	80,0\pm3,9	103,9\pm5,8

A 15. táblázat összefoglalásában az látható, hogy a 21 napig tartó vörös és fehér korhasztó gombák egyidejű alkalmazása esetén az előkezelés hatására közel 30%-os metánhozam növekedés történt. A 21 nap inkubálási idejű szimultán korhasztó gombás módon előkezelt fekete bodza faanyag gáztermelési adatai a VII. mellékletben találhatóak.

A biológiai előkezelés harmadik szakaszában az előkezelés időtartama 28 nap volt. A vörös és fehér korhasztó gombák 28 napig tartó előkezelésének a metántermelésére gyakorolt hatását, a kezeletlen fekete bodza alapanyag metántermeléséhez képest ábrázolja a 18. ábra. A 28 napig vörös és fehér korhasztó gombával előkezelt fekete bodza faanyag gáztermelési adatait a VIII. melléklet tartalmazza.



18. ábra A metántermelés alakulása a fekete bodza, különböző korhasztó gombákkal 28 napig tartó előkezelése esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; F28: fehér korhasztó gombával 28 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; V28: vörös korhasztó gombával 28 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt kezeletlen és a kezelt fekete bodza száraz szerves anyag napi adagolása

Az 18. ábrán látható, hogy a 28 napig tartó vörös korhasztó gombás előkezelés hatására a metánhozamban szignifikáns növekedés volt tapasztalható. A 28 napig tartó fehér korhasztó gombás előkezelés hatására is növekedés látható a metántermelésben, ám kisebb mértékben, mint a vörös korhasztó gomba esetén. A 28 napig tartó biológiai előkezelések számokban kifejezett hatását a 16. táblázat foglalja össze.

16. táblázat A különböző korhasztó gombákkal 28 napig előkezelt fekete bodza alapanyag metántermelésének összefoglalása

K: kezeletlen fekete bodza alapanyag; F28: fehér korhasztó gombával 28 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; V28: vörös korhasztó gombával 28 napig előkezelt fekete bodza alapanyag; K, F28, V28 esetén n=60 mérési pont átlaga, átlag \pm 95%-os konfidencia intervallum.

	K	F28	V28
metántermelés (ml/l/60 nap)	4800,1	5327,5	6245,7
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	60,0	60,0	60,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	80,0\pm3,8	88,8\pm5,9	104,1\pm6,3

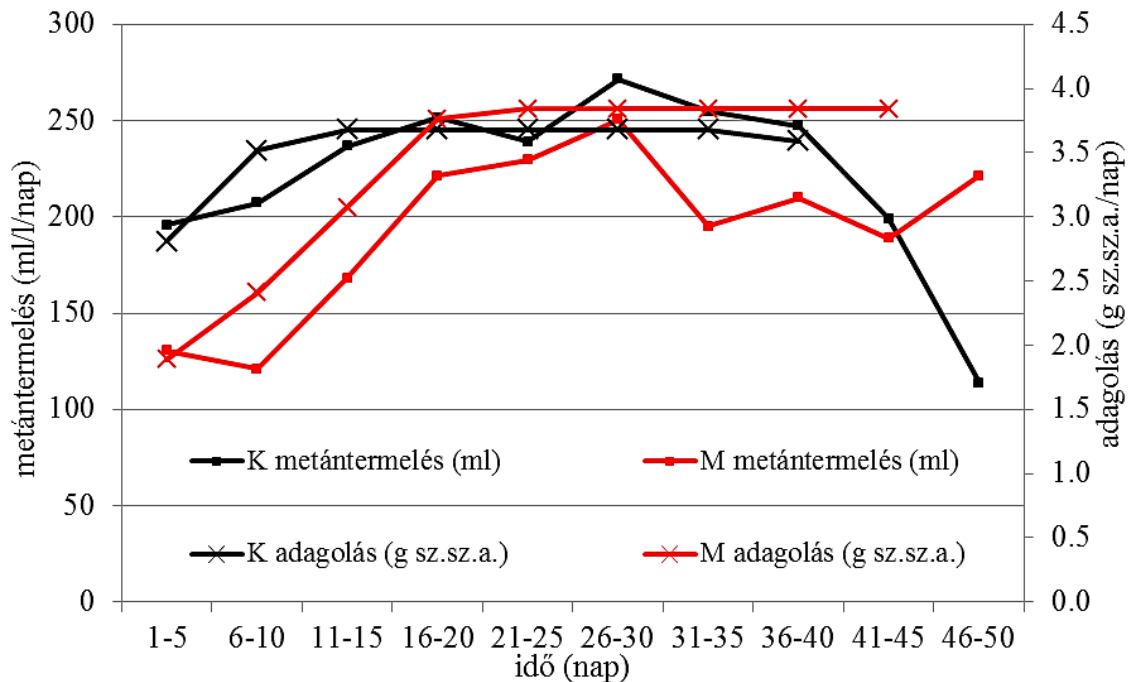
A 16. táblázatban feltüntetett adatokból megállapítható, hogy a 28 napig tartó fehér korhasztó gomba alkalmazása közel 10%-os gázhozam növekedést eredményezett a kezeletlen fekete bodza alapanyag metánhozamához képest. A 28 napig tartó vörös korhasztó gombás előkezelés esetén közel 30%-os metánhozam növekedés volt tapasztalható, a kontrol fekete bodza alapanyag metántermeléséhez képest.

Σ: A fekete bodza alapanyagon különböző előkezelési eljárásokat végeztem. Az alkalmazott híg savas (kémiai), mikrohullámú (fizikai), mikrohullámú és hő (hidrotermikus), mikrohullámú, hő és híg savas (fizikai-kémiai) és korhasztó gombás (biológiai) előkezelési eljárásokat vizsgáltam. Az előkezelések hatékonyságát a biogáz hozam változásával vizsgáltam a kezeletlen fekete bodza biogáz hozamához képest. A fekete bodza alapanyag esetében a hidrotermikus illetve a biológiai előkezelések hatására a metánhozam közel 30-35%-os növekedést mutatott. A két hatékonynak bizonyuló előkezelési eljárást összehasonlítva a hidrotermikus előkezelés műszer igényes, energiaigényes, viszont az előkezelés időtartama gyorsnak tekinthető, így költséghatékonysági és környezeti szempontból nem a legkedvezőbb eljárás. A biológiai előkezelés több előnnyel is bír, mivel nincs vegyszer igénye, nincs szükség energia felhasználásra az előkezelés közben, környezetbarát technológia ám a folyamat lassú. A fekete bodza optimális előkezelési eljárása az eredmények figyelembe vételével és az előbbiekben leírt szempontok alapján, a biológiai előkezelés. A biológiai előkezelésen belül a leghatékonyabban 28 napig tartó vörös korhasztó gombás és a szimultán alkalmazott 21 napig tartó vörös és fehér korhasztó gombás előkezelés növelte meg a kezeletlen fekete bodza alapanyag metánhozamát.

5.1.2. Tölgy kéreg alapanyag

5.1.2.1. Mikrohullámú előkezelés

Tölgy kéreg alapanyag esetén mikrohullámú előkezelést végeztem a metánhozam növelése érdekében. A mikrohullámú előkezelt tölgy kéreg alapanyag metántermelési eredményeit a 19. ábra foglalja össze. A mikrohullámmal előkezelt tölgy kéreg gáztermelési adatait a IX. melléklet tartalmazza.



19. ábra A metántermelés alakulása tölgy kéreg és mikrohullámmal kezelt tölgy kéreg esetén. Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: tölgy kéreg alapanyag; M: mikrohullámmal előkezelt tölgy kéreg alapanyag; K adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt tölgy kéreg száraz szerves anyag napi adagolása; M adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt mikrohullámmal kezelt tölgy kéreg száraz szerves anyag napi adagolása.

A mikrohullámmal előkezelt tölgy kéreg alapanyag metántermelését összefoglaló 19. ábrán látható, hogy a kezeletlen és a mikrohullámmal kezelt alapanyagok felterhelése esetén a metánhozamok is növekednek. A mikrohullámmal előkezelt tölgy kéreg metántermeléséből az látszódik továbbá, hogy az adagolás után a metántermelés a lecsengési szakaszban nem csökken. Feltételezhetően a rendszerben felhalmozódott a szerves anyag, melynek több oka is lehetséges, illetve összefüggésben lehet a 17. táblázatban foglalt metánhozam adatokkal, miszerint a mikrohullámú előkezelés a metántermelés növekedésére negatív hatással bírt.

17. táblázat A tölgy kéreg és a mikrohullámmal előkezelt tölgy kéreg metántermelésének összefoglalása

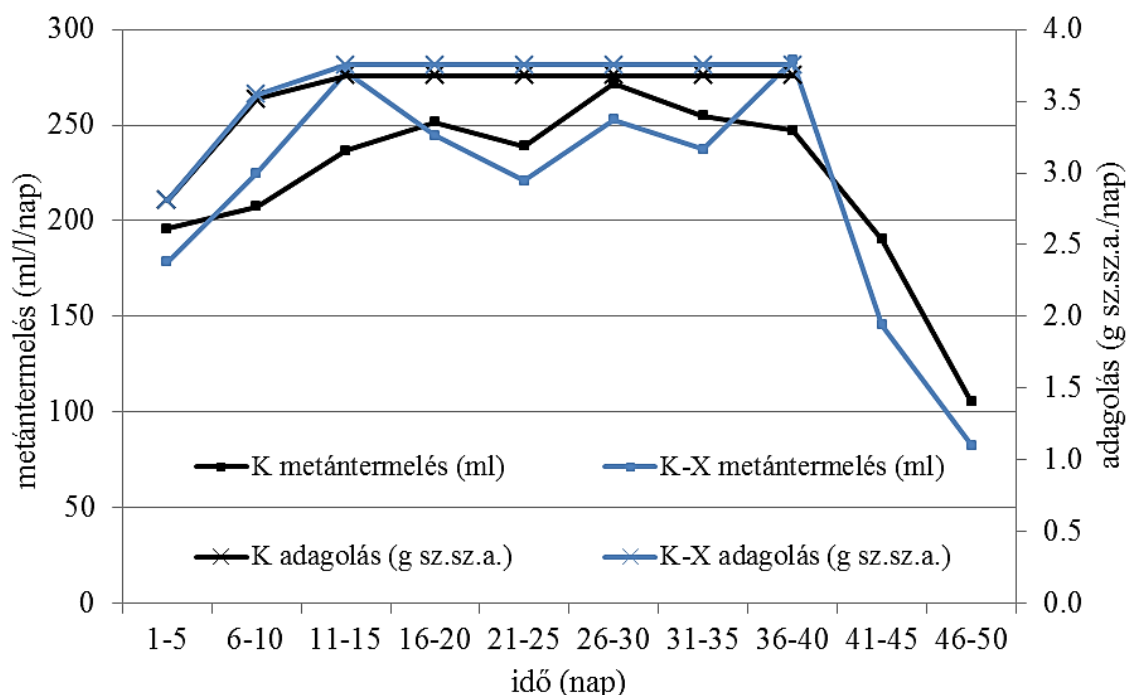
K: tölgy kéreg alapanyag; M: mikrohullámmal kezelt tölgy kéreg alapanyag, K és M esetén n=50 mérési pont átlaga, átlag ± 95%-os konfidencia intervallum

	K	M
metántermelés (ml/l/50 nap)	11083,9	9683,1
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	145,3	151,7
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	76,3±2,5	63,8±4,1

A 17. táblázatban feltüntetett összegző adatok alapján a mikrohullámmal kezelt tölgy kéreg alapanyag metánhozama kevesebb a kezeletlen tölgy kéreg metánhozamához képest. A jelenség több okkal is magyarázható, mivel a tölgy kéreg a mikrohullámú előkezelés hatására nagyon kiszáradt hasonlóan, mint az 5.1.1.2. fejezetben leírtakhoz, a fekete bodza mikrohullámú kezelése esetén. Egyrészt azért előnytelen, mert a beadagolt alapanyagtól a reaktortérben az iszap besűrűsödik és az így keletkezett közeg nagymértékben befolyásolja a metántermelés hatékonyságát, az alapanyag hozzáférhetőségét a mikroorganizmusok számára. Másrészt előfordulhat, hogy a mikrohullámú előkezelés hatására olyan anyagok keletkeztek a kéreg alapanyagban, amelyek inhibitor hatással lehetnek a metán képződés folyamatára.

5.1.2.2. Extrakciós előkezelés

A tölgy kéreg alapanyag esetén sor került a kéreg extrakciójára, hogy eltávolításra kerüljenek a kéregben magas mennyiségben található esetlegesen inhibitor hatással bíró járulékos anyagok. A metántermelés alakulását mutatja be a 20. ábra.



20. ábra A metántermelés alakulása tölgy kéreg és extrahált tölgy kéreg esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: tölgy kéreg alapanyag; K-X: extrahált tölgy kéreg alapanyag; K adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt tölgy kéreg száraz szerves anyag napi adagolása; K-X adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt extrahált tölgy kéreg száraz szerves anyag napi adagolása

A 20. ábrán látható, hogy az anaerob fermentáció során az alapanyagok adagolásának növelése a metántermelésben is megmutatkozik. Az anaerob fermentáció során a napi adagolásban bevitt szerves anyagból nem maradt a rendszerben mivel a lecsengési szakaszban az adagolás után a metántermelés egyforma mértékben csökken. A tölgy kéreg esetében az extrakciós előkezelés nem volt hatással a metánhozam javulására melyet a 18. táblázatból is láthatunk. (A mérési adatokat a IX. mellékletben)

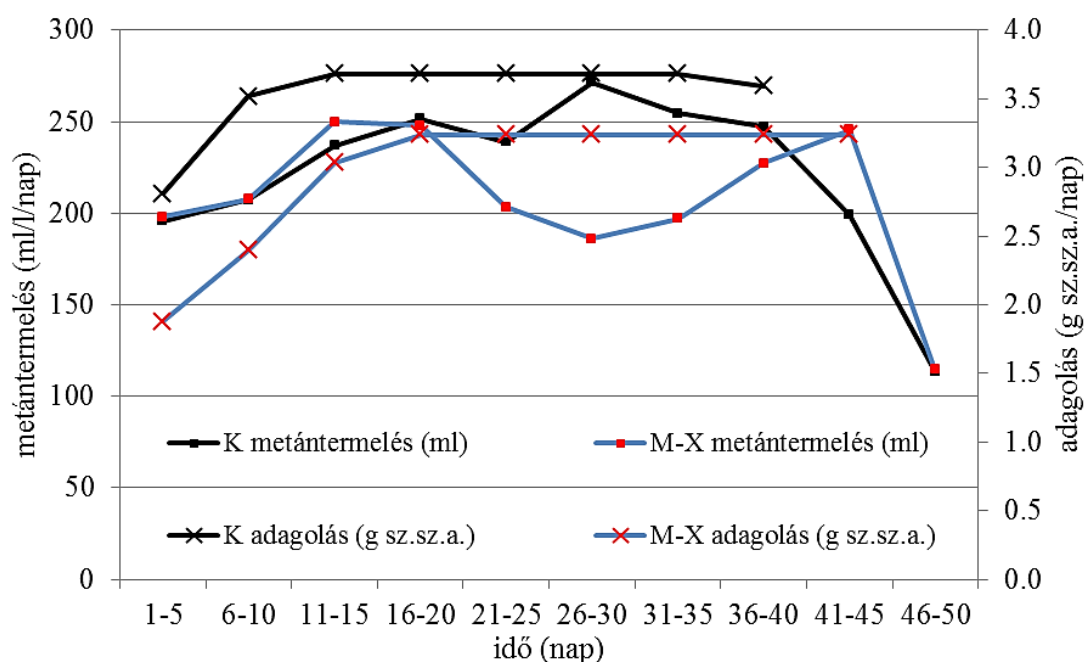
18. táblázat A tölgy kéreg és extrahált tölgy kéreg metántermelésének összefoglalása.

K: tölgy kéreg alapanyag; K-E: extrahált tölgy kéreg alapanyag, K és K-E esetén n=50 mérési pont átlaga, átlag \pm 95%-os konfidencia intervallum

	K	K-X
metántermelés (ml/1/50 nap)	11083,9	10802,9
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	145,3	148,2
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	76,3\pm2,5	72,9\pm5,4

5.1.2.3. Mikrohullámú és extrakciós előkezelés

A tölgy kéreggel az 5.1.2.1 és az 5.1.2.2. fejezetekben alkalmazott előkezelések kombinációját végeztem, mely esetben a metántermelés a 21. ábrán látható.



21. ábra A metántermelés alakulása tölgy kéreg és mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg esetén.

Az idő (nap) 5 napos átlagértékeket jelöl; K: tölgy kéreg alapanyag M-X: mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg alapanyag; K adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt tölgy kéreg száraz szerves anyag napi adagolása; M-X adagolás (g sz.sz.a./nap): bevitt mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg száraz szerves anyag napi adagolása.

A 21. ábrán látható, hogy a mikrohullámú-extrakciós módon előkezelt és a kezeletlen tölgy kéreg alapanyag anaerob fermentációja során az adagolás növelésével megegyező mértékben növekedett a metántermelés is. A fermentációs időszakok lecsengési szakaszaiban az adagolás után hasonló nagyságrendű és sebességű metáncsökkenés figyelhető meg mindkét esetben. A tölgy kéreg alapanyag mikrohullámú-extrakciós előkezelése kismértékű növekedést eredményezett a metánhozamban, a kezeletlen tölgy kéreg metánhozamához képest. Az összefoglaló adatokat a 19. táblázat foglalja össze. A mérési adatokat a IX. melléklet tartalmazza.

19. táblázat A mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg metántermelésének összefoglalása

K: tölgy kéreg alapanyag; M-X: mikrohullámú előkezelés után extrahált tölgy kéreg alapanyag, K és M-X esetén n=50 mérési pont átlaga, átlag \pm 95%-os konfidencia intervallum

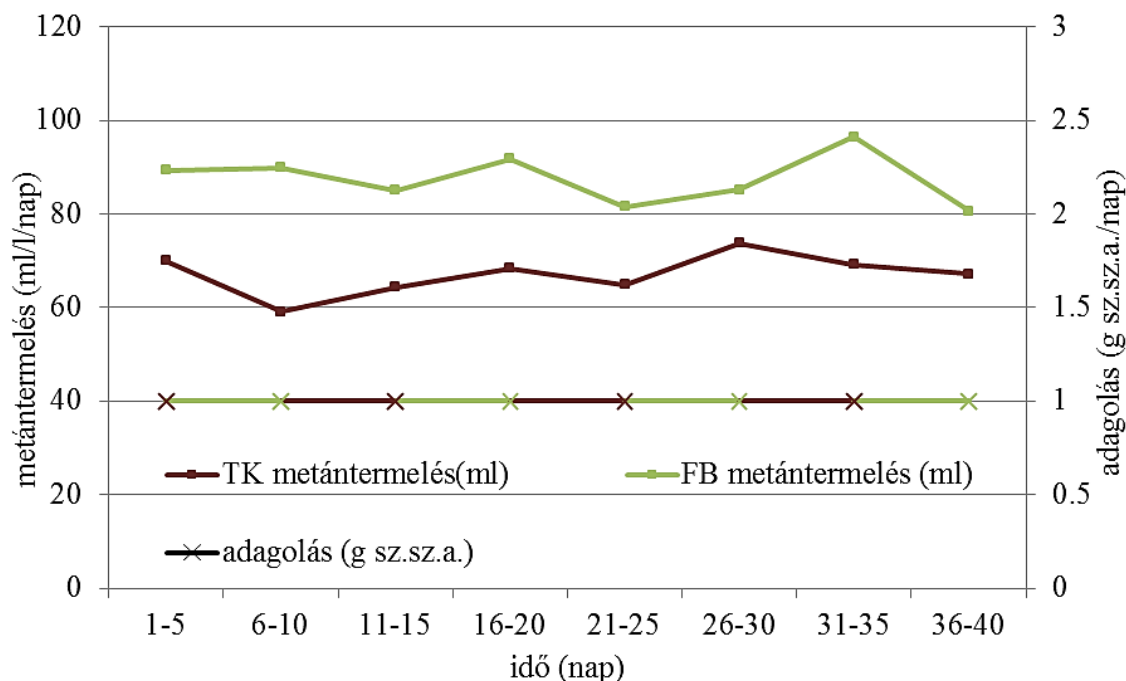
	K	M-X
metántermelés (ml/l/50 nap)	11083,9	10393,0
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	145,3	133,8
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	76,3\pm2,5	77,7\pm6,9

Az 19. táblázatban szereplő fajlagos metánhozam értékekből látható kismértékű hozam növekedés annak lehet a következménye, hogy a mikrohullámú előkezelés degradációs hatására keletkező esetleges inhibitor hatású komponensek az extrakció során kioldódtak.

Σ : A tölgy kéreg alapanyagokon különböző előkezelési eljárásokat alkalmaztam a metánhozam növelése érdekében. Az előkezelési eljárások (mikrohullámú, extrakciós, mikrohullámú és extrakciós) hatását, a metánhozamban okozott változások összehasonlításával végeztem a kezeletlen tölgy kéreg metánhozamához viszonyítva. Az előkezelési eljárások a tölgy kéreg esetében jelentős mértékben, egyik esetben sem növelte a kezeletlen tölgy kéreg alapanyag metánhozamát. A vizsgálatok során látható, hogy az anaerob úton termelhető metánnak alapanyagai lehetnek a faanyagok ipari felhasználása során keletkező kéreg hulladékok.

5.1.3. A felhasznált lignocellulóz alapanyagok metánhozamainak összehasonlítása

A kutatásban felhasznált két kezeletlen lignocellulóz alapanyag (fekete bodza faanyag, tölgy kéreg) metántermelését hasonlítja össze a 22. ábra.



22. ábra A metántermelés alakulása a fekete bodza és a tölgy kéreg alapanyag esetén. Az idő (nap) 5 napos átlagokat jelöl; TK: tölgy kéreg alapanyag; FB: fekete bodza; adagolás (g sz.sz.a./nap): naponta bevitt száraz szerves fekete bodza és tölgy kéreg alapanyag

A vizsgált két lignocellulóz alapanyag kezeletlen állapotban történő összehasonlítása, a különböző kezeletlen alapanyag metántermelési vizsgálataiban kapott egyforma fermentációs idejű átlagos értékekkel történt. Az ábrán látható, hogy a két alapanyag metántermelése között jelentős különbség van. A fekete bodza alapanyag metántermelése a tölgy kéreg metántermeléséhez képest magasabb, mely a 20. táblázatban összefoglalt adatokból is látszik.

20. táblázat A fekete bodza és a tölgy kéreg alapanyag metántermelésének összefoglalása TK: tölgy kéreg alapanyag; FB: fekete bodza alapanyag; TK és FB esetén $n=40$ mérési pont átlaga, átlag \pm 95%-os konfidencia intervallum

	TK	FB
metántermelés (ml/l/40 nap)	2684,5	3500,3
Σ bevitt száraz szerves anyag (g)	40,0	40,0
fajlagos metánhozam (ml/g sz.sz.a.)	67,1\pm2,6	87,5\pm3,6

A fekete bodza alapanyag metántermelése kezeletlen állapotban közel 30%-kal több mint a kezeletlen tölgy kéreg alapanyag metántermelése a 20. táblázatban adatai szerint. Jin *et al.* (2012) munkájukban 30% cellulóz tartalmat mértek csertölgy (*Quercus rubra* L.) kéregben. Méréseim során a fekete bodza cellulóz tartalma 49%. Ezek alapján a tölgy kéreg cellulóz tartalma kevesebb, mint a fekete bodza faanyag cellulóz tartalma, így elképzelhető, hogy emiatt adódik a metánhozambeli különbség. A két alapanyag cellulóz tartalma között közel 20% különbség van szemben a metánhozambeli 30%-kal. A cellulóz tartalmakhoz mérten a tölgy kéreg esetén valóban kevesebb metán termelődik a fekete bodzához képest az előbb említett adatok alapján.

5.1.4. Következtetések

A fekete bodza faanyag és a tölgy kéreg alapanyag esetében az alkalmazott különböző előkezelési eljárások hatását a kezeletlen alapanyag gáztermeléséhez viszonyítva vizsgáltam. A felhasznált két kezeletlen alapanyag gáztermelését összehasonlítva a tölgy kéreg alapanyag metántermelése kb. 70%-a a fekete bodza alapanyag metántermelésének. Ez a jelenség egyrészt a két alapanyag összetételbeli különbségéből származhat, másrészt Field *et al.* (1988) munkásságban bebizonyította, hogy a kéregben lévő tanninok mérgező hatással bírnak a metanogén baktériumokra.

A fekete bodza alapanyag híg savas előkezelésének hatására a biogáz hozamban nem történt növekedés. Xiao és Clarkson (1997) híg salétrom és ecetsavas előkezeléssel hatékonyan növelte a papír hulladékból anaerob úton előállítható metán termelését. Kivaisi és Eliapenda (1994) cukornád és kókuszrost híg sósavas előkezelésével jelentős mértékben növelték az alapanyagok biogáz hozamát. A savas előkezelések során a vegyszerek az enzimek hidrolízisére nincsenek hatással, de a fermentációban részt vevő mikroorganizmusokra negatív hatással lehetnek, így csökken a biogáz hozam (Taherzadeh és Karimi 2007).

A fekete bodza mikrohullámú előkezelése kapcsán a metánhozamban kismértékű csökkenés volt tapasztalható annak ellenére, hogy a szakirodalomban sikeresen alkalmazzák a lignocellulózok előkezelési eljárásaként (Taherzadeh és Karimi 2008). Kumakura *et al.* (1982) különböző lignocellulóz hulladékok, Kumakura és Kaetsu (1983) pedig cukornád besugárzással történt előkezelése esetén hatékonyan növelte a glükóz mennyiségét.

A mikrohullámú előkezelés metánhozam növelésének sikertelensége nem az előkezelés hatástalanságának, inkább a keletkező vegyületek anaerob baktériumokra gyakorolt toxikus hatásának köszönhető, melyet Sierra-Alvarez *et al.* (1994) is bebizonyítottak.

A hidrotermikus előkezelés során, egy forró vizes előkezelés történt mely jelentősen növelte a metánhozamot. Az eljárás sikeressége egyrészt ezért lehetséges, mert megnövekedett az alapanyag aktív felülete ezáltal elősegítve az enzimek hozzáférhetőségét (Zeng *et al.* 2007), másrészt az előkezelés során 220°C-on már 2 perc alatt is a hemicellulózok és a lignin rész teljesen oldatba kerülhet (Sreenath *et al.* 1999). Dien *et al.* (2006) által leírtakban a kukoricaszár 160°C-os forró vizes előkezelése során a xilán 75%-ban kioldódott.

A fekete bodza fizikai-kémiai előkezelése során mikrohullámú, hő és híg savas előkezelést is alkalmaztam egyszerre. A hidrotermikus előkezeléshez képest a híg sav alkalmazása nem növelte tovább a biogáz hozamot. Zhu *et al.* (2006) tanulmányuk a rizsszár különböző mikrohullámú-kémiai előkezeléseit taglalja, mely során a glükóz koncentráció növekedését mutatták ki. A fekete bodza esetében a híg sav alkalmazása miatt esetlegesen a fermentációra gátló hatású vegyületek keletkezhetnek.

A fekete bodza biológiai előkezelése során metánhozam növekedést tapasztaltam 28 napig tartó vörös korhasztó, 21 napig tartó fehér korhasztó és 21 napig tartó szimultán vörös és fehér korhasztó gombás előkezelés során. Sun és Cheng (2002) kutatásukban a fehér korhasztó gombákat találták a legalkalmasabbnak a lignocellulózok biológiai előkezelésére. Taniguchi *et al.* (2005) munkája négy különböző fehér korhasztó degradációs hatását vizsgálta rizs szár alapanyag alkalmazása esetén. A négy faj közül a késői laska gomba lignin degradációját vélte a leghatékonyabbnak. Ghosh és Bhattacharyya (1999) rizs szár vörös és fehér korhasztó gombás előkezelésével mindkét gombafaj esetén közel 30%-os biogázhozam emelkedést tudtak elérni. Feng *et al.* (2013) búzaszalma alapanyag fehér korhasztó gombás előkezelését vizsgálták késői laskagomba és ördögszekér-laskagomba fajok és különböző inkubálási idők esetén. A vizsgálataik végeredményeül nem kaptak magasabb biogáz hozamot egyik esetben sem a kontrol búzaszalmához képest. Alexandropoulou *et al.* (2016) fűzfa fűrészpor fehér korhasztó gombás előkezelését végezték két különböző faj alkalmazásával biogáz hozam növelése érdekében.

Az egyik faj esetében nem tapasztaltak növekedést a másik fajnál közel 30-40%-os növekedést mértek 14 és 30 napos inkubálási idő alkalmazásával. Zhao *et al.* (2014) munkájukban kerti hulladék esetén fehér gombás előkezeléssel a kezeletlen 20 ml/g sz.a. hozamot 45 ml/g sz.a. értékre növelték. A szakirodalmak döntő többségével ellentétben a kutatásomban a vörös és a szimultán alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás biológiai előkezelések bizonyultak a leghatékonyabbnak a fekete bodza alapanyag előkezelésére.

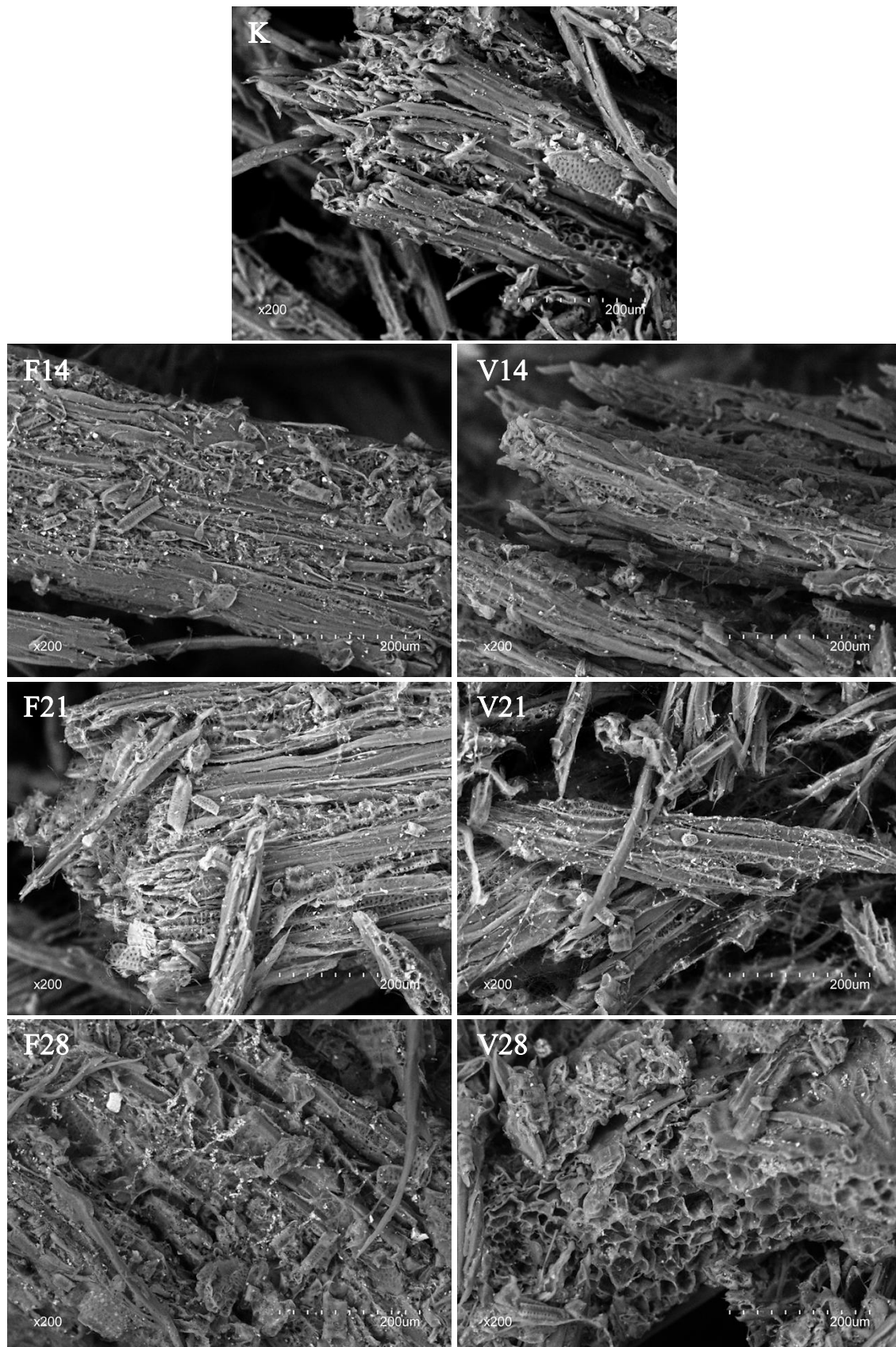
A tölgy kéreg alapanyag esetében az alkalmazott előkezelési eljárások nem növelték jelentősen a metánhozamot a kezeletlen alapanyaghoz képest, sőt egyes előkezelések hatására inkább csökkenés volt tapasztalható (mikrohullámú előkezelés), ami az esetlegesen felhalmozódó inhibitor vegyületek hatásának lehet az eredménye. Az extrakciós előkezelés során céltom az volt, hogy Sierra-Alvarez *et al.* (1994) munkásságában vizsgált erdészeti és faipari szennyvízben található tanninok, fenolos anyagok mintájára oldatba kerüljenek azon vegyületek, melyek toxikusak számos anaerob baktérium közösségre. A mikrohullámú és extrakciós előkezelés hatására tapasztalható kismértékű növekedés valószínűsíthetően a mikrohullámú degradáció során felhalmozódott inhibitor vegyületek extrakciós kioldásának eredménye lehet. A tölgy kéreg alapanyag esetében alkalmazott előkezelési eljárásokon kívül felmerülhet még a híg savas előkezelés, ám Torget *et al.* (1991) munkájukban különböző kéreg alapanyagok esetén sem tapasztalták hatékony eljárásnak. Salehian és Karimi (2013) munkájukban fenyő kéreg esetén 56 napos fermentáció során 33 ml/g sz.a. metánhozamot mértek, melyet kémiai előkezeléssel 107 ml/g sz.a. értékig tudtak növelni. A tölgy kéreg alapanyag korhasztó gombás előkezelésére szintén nem került sor mivel a kéregben viszonylag sok extraktanyag halmozódik fel, melyek fungicid hatásúak (Molnár 2004). Összességében elmondható, hogy bár az alkalmazott előkezelések jelentősen nem növelték a metánhozamot, a tölgy kéregnek és valószínűsíthetően egyéb kéreg hulladékoknak is, felhasználási területe lehet a biogáztermelés.

5.2. FEKETE BODZA ALAPANYAG BIOLÓGIAI ELŐKEZELÉSÉNEK VIZSGÁLATA

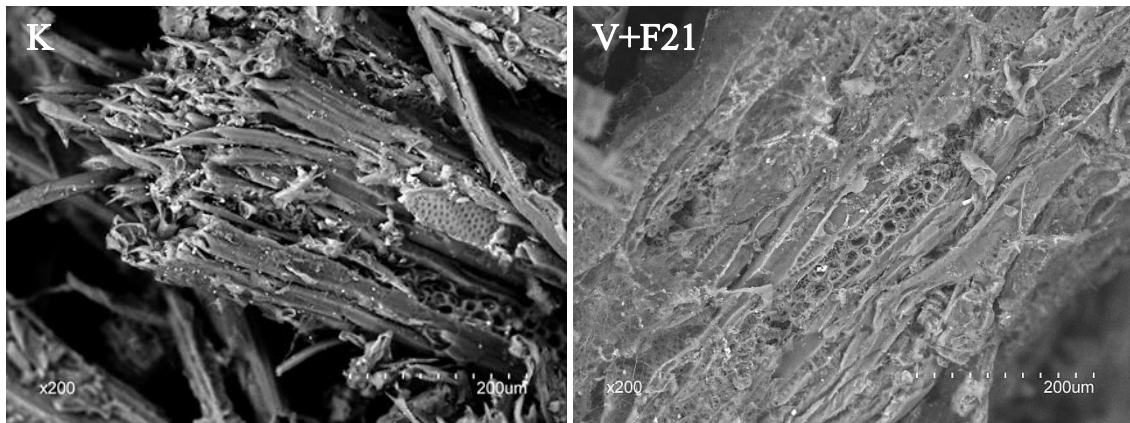
A fekete bodza alapanyag optimális előkezelési módszere, a kutatásomban felhasznált eljárások közül a biológiai előkezelés, azon belül a különböző típusú korhasztó gombák alkalmazása. Ahhoz, hogy jobban megértsük ezt a nagyon bonyolult és összetett biológiai rendszert, mely a korhasztó gombák mechanizmusát jellemzi, illetve bizonyosságot nyerjen, hogy a bekövetkezett változások valóban a korhasztó gombák tevékenységének következménye, további vizsgálatok elvégzését vonja maga után. Az alábbiakban ezek a vizsgálatok kerülnek bemutatásra.

5.2.1. Elektronmikroszkópos felvételek

Az elektronmikroszkópos felvételek alapján vizuálisan nyomon követhető a korhasztó gombák degradációs folyamata az idő függvényében. A 23. és a 24. ábrákon a 200-szoros nagyításon készült felvételek láthatóak.



23. ábra Elektronmikroszkópos felvételek vörös- és fehér korhasztó gombás előkezelés esetén. *K: kezeletlen faanyag; V: vörös korhasztó gombával előkezelt fekete bodza faanyag; F: fehér korhasztó gombával előkezelt fekete bodza faanyag; 14,21,28: inkubálási idő*

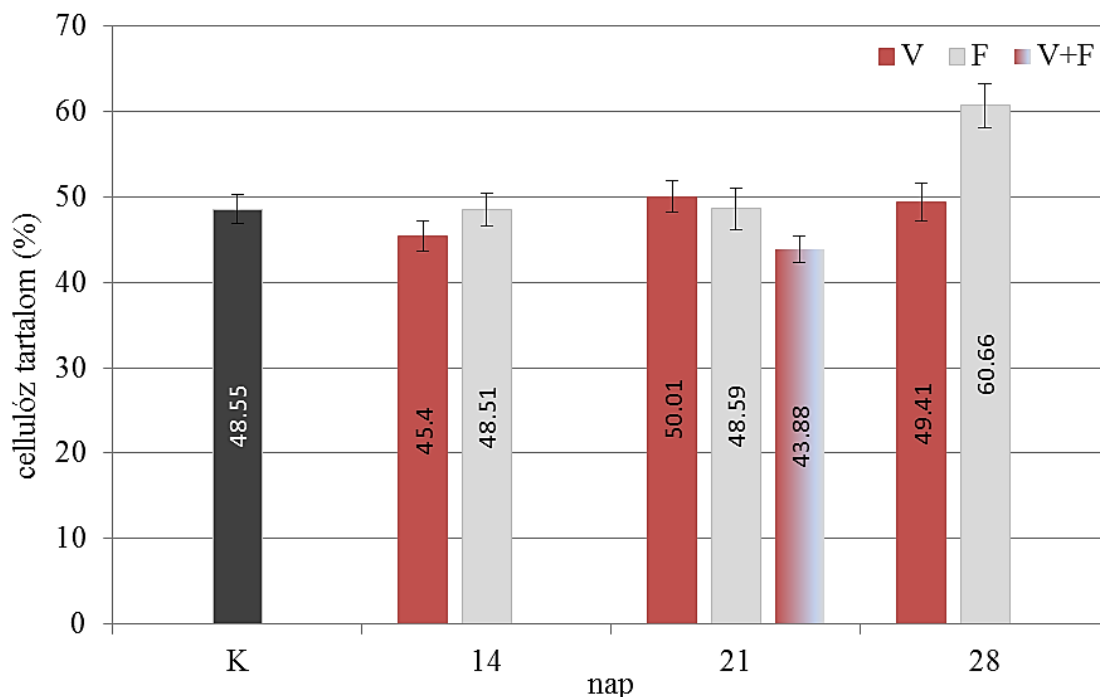


24. ábra Elektronmikroszkópos felvételek vörös és fehér korhasztó gombás együttes előkezelés esetén. A felvételek 200-szoros nagyításon készültek. K: kezeletlen faanyag, V+F21: 21 napig vörös és fehér korhasztó gombával egyidejűleg előkezelt fekete bodza faanyag

A 23. és 24. ábrák a különböző előkezelési idejű és különböző fajú korhasztó gombás mintákról készült elektronmikroszkópos felvételeket foglalják össze. Az ábrák jól mutatják be a korhasztó gombák által végzett degradációs folyamatokat, melyet ilyen módon vizuálisan is érzékelhetünk. A kontrol bodza felvételén az látható, hogy a rostok jól elkülöníthetőek, határvonalaik élesek, gombafonalak nem láthatóak. A 14 napig előkezelt faanyag felvételein már látható néhány gombafonal, a rostok itt is jól elkülöníthetőek, továbbá jól kivehetőek az edények falai. A 21 napos előkezelés felvételein már nagyon sok gombafonal látható, a rostok körvonalai kissé elmosódtak nehezebben különíthetőek el egymástól, ami arra utal, hogy a rostok felülete degradálódott. A 28 napig tartó előkezelés után a felvételen a rostok határvonalai teljesen összemosódtak, a felvételen nagyon sok gombafonal látszódik, szinte egybefüggő bevonatként. Az edények falai teljesen deformálódtak a degradáció hatására. Az egyidejűleg alkalmazott 21 napig tartó gombás előkezelés felvétele nagyon hasonló a 28 napos előkezelésekhez, mely arra utal, hogy az együttes előkezelés hatására 21 nap alatt is bekövetkezett ugyan olyan mértékű degradáció.

5.2.2. Cellulóz tartalom

A cellulóz tartalom változása az előkezelési időszakok és a különböző korhasztó gombák hatására azért jelentős, mert a cellulóz a legnagyobb mennyiségű poliszacharid a faanyagban. Mennyiségi változása az előkezelés hatására kulcsfontosságú, mérésével nyomon követhető a faanyagban végbemenő bomlási, degradációs folyamatok. A mérési eredmények a X. mellékletben szerepelnek.



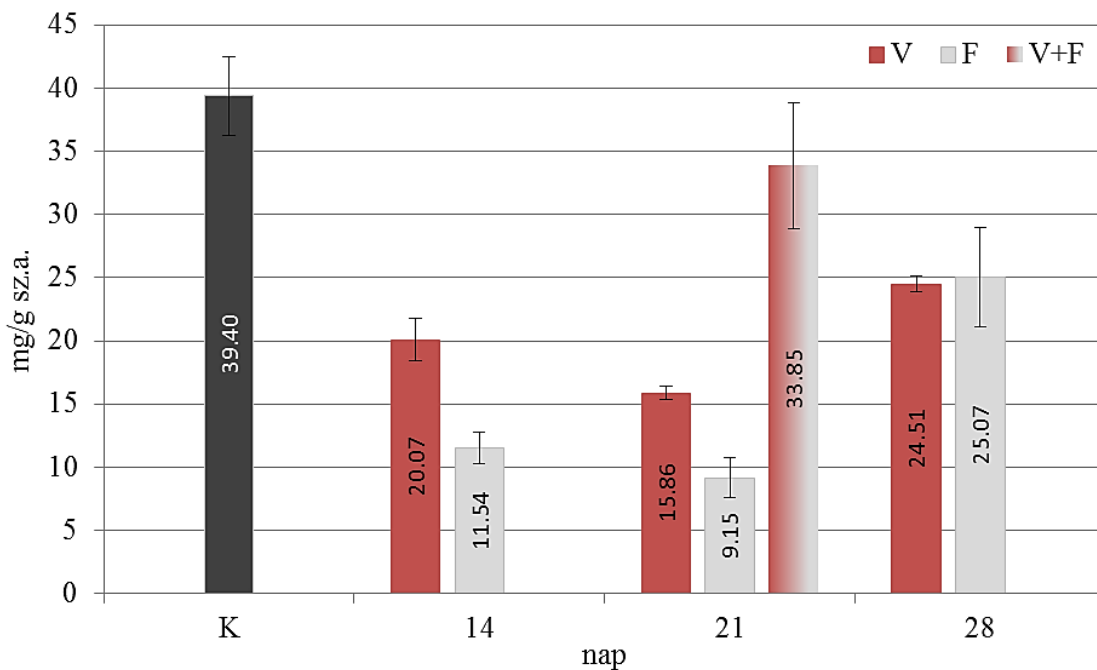
25. ábra A cellulóz tartalom meghatározása

14,21,28 nap: a korhasztó gombákkal történt előkezelési idő; K: kezeletlen bodza faanyag; V: vörös korhasztó gombás előkezelés; F: fehér korhasztó gombás előkezelés; V+F: az egyidejűleg alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás előkezelést jelenti. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő (nap) függvényében a cellulóz tartalom (%) változást mutatja be az ábra. A hibasávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölnek.

A 25. ábrán látható cellulóz tartalom mérések eredményeiből az látható, hogy a különböző korhasztó gombák bontási mechanizmusukból eredően eltérő tendenciákat követnek. A vörös korhasztó gomba esetén nem tapasztalható szignifikáns eltérés az előkezelési idő növelésének hatására. A fehér korhasztó gomba esetén szintén nem tapasztalható változás a 21 napos előkezelési időig, a 28 napig tartó inkubálási idő esetén növekedés tapasztalható a cellulóz részarányában, melynek értéke több mint 10%. Ez annak lehet a következménye, hogy a fehér korhasztó a ligninbontásra hajlamos és a mérés során a kioldható lignin mennyiségét mérjük, így a lebontott lignin részek már nem vesznek részt a mérésben, ami által a cellulóz részaránya megnövekedhet. Ezt a változást a lebontást 21. napja után tapasztaltam. Az egyidejűleg alkalmazott gombás előkezelés esetén a 21 napig tartó előkezelés esetén közel 5%-os cellulóz részarány csökkenés tapasztalható. Ennek oka az lehet, hogy a vörös korhasztó gomba hamarabb elkezd bontani a cellulóz részt, mivel hamarabb felhasználásra került a könnyen elérhető hemicellulóz.

5.2.3. Összes kioldható szénhidrát tartalom

Az összes kioldható szénhidrát tartalom változását mutatja a 26. ábra az előkezelési idők és a különböző korhasztó gombafajok alkalmazása mellett. Az összes kioldható szénhidrát tartalom, mely nagyrészt az összes kioldható cukrokat jelenti, fontos információt nyújt a korhasztó gombafajok hatására, a faanyag váz polimerjeiben, főként a cellulóz és hemicellulóz részekben zajló degradációs folyamatokról.



26. ábra Az összes kioldható szénhidrát tartalom meghatározása.

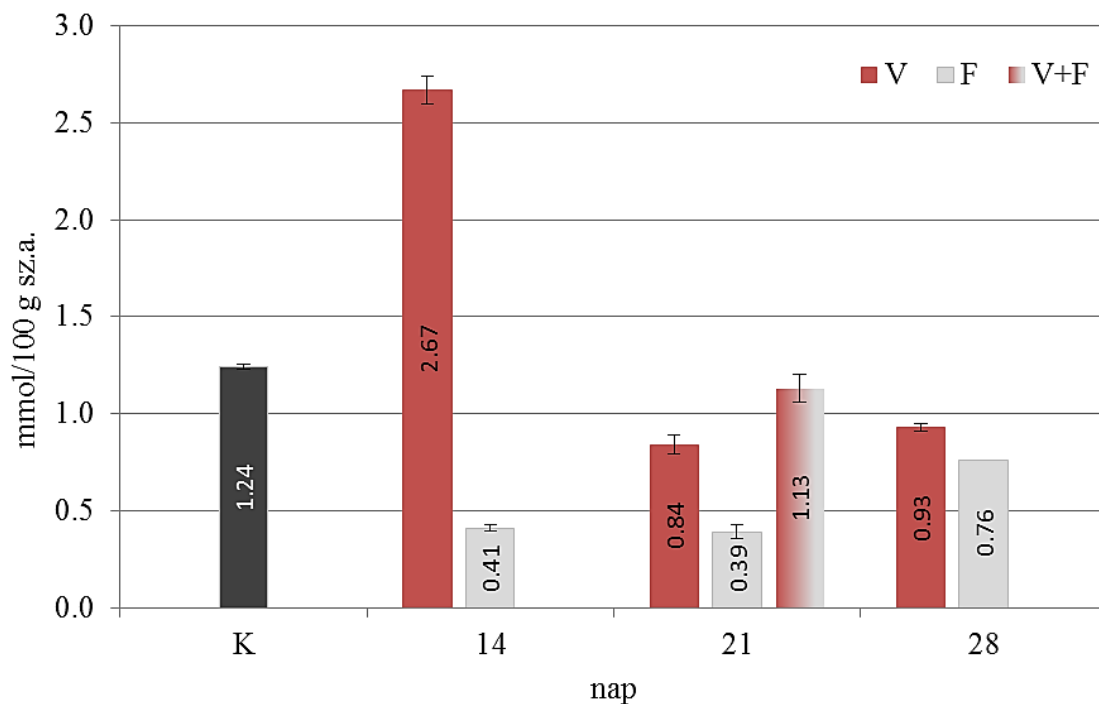
14,21,28 nap: a korhasztó gombákkal történt előkezelési idő; K: kezeletlen bodza faanyag; V: vörös korhasztó gombás előkezelés; F: fehér korhasztó gombás előkezelés; V+F: az egyidejűleg alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás előkezelést jelenti. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő (nap) függvényében az összes kioldható szénhidrát tartalom (mg/g sz.a.) változást mutatja be az ábra. A hibasávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölnek.

Az összes kioldható szénhidrát tartalom vizsgálat eredményeit a 26. ábra foglalja össze, a mérési adatok a XI. mellékletben találhatóak. A kontrol (kezeletlen bodza) faanyag összes szénhidrát tartalmához képes a gombákkal való előkezelés hatására a szénhidrát tartalom csökken a 21 napig tartó előkezelés idejéig. A 28 napig tartó biológiai előkezelésnél mért szénhidrát tartalom esetén viszont koncentrációnövekedés volt tapasztalható a 21 napos eredményekhez képest, de nem haladták meg a kezdeti koncentrációt. Ez a folyamat mind a két gombával való előkezelés hatására megfigyelhető. Az egyidejűleg alkalmazott gombás előkezelés hatására a szénhidrát tartalom már a 21 napig tartó előkezelési időnél nagyobb szénhidrát koncentráció értéket mutat, mint a külön-külön alkalmazott előkezelés esetén.

Ez a folyamat azzal magyarázható, hogy a gombák a könnyen hozzáférhető hemicellulóz cukrokat bontják le először, és csak ezek után kezdődik meg a faanyag cellulóz részének hidrolízise. Bár eltérő a két fajta gomba bontási mechanizmusa, mármint hogy a fehér korhasztó a lignin részt, a vörös korhasztó pedig a cellulóz részt bontja inkább, mindkét esetben nélkülözhetetlen a cellulóz hidrolízise. Az egyidejűleg mindkét gombafaj alkalmazása esetén hamarabb tudják lebontani a hemicellulóz részt, így hamarabb kezdődik meg a cellulóz bontása.

5.2.4. Totálfenol tartalom

A totálfenol tartalom mérése során a faanyagban lévő összes fenolos jellegű anyag meghatározásra került. Ez az információ, mint az előzőekben tárgyalt összes szénhidrát tartalom, a korhasztó gombák hatását mutatja a faanyag váz polimerjeiben, ebben az esetben főként a lignin részben, bekövetkező átalakulásokról. Az eredményeket a 27. ábra foglalja magában, az mérési adatokat a XII. melléklet tartalmazza.



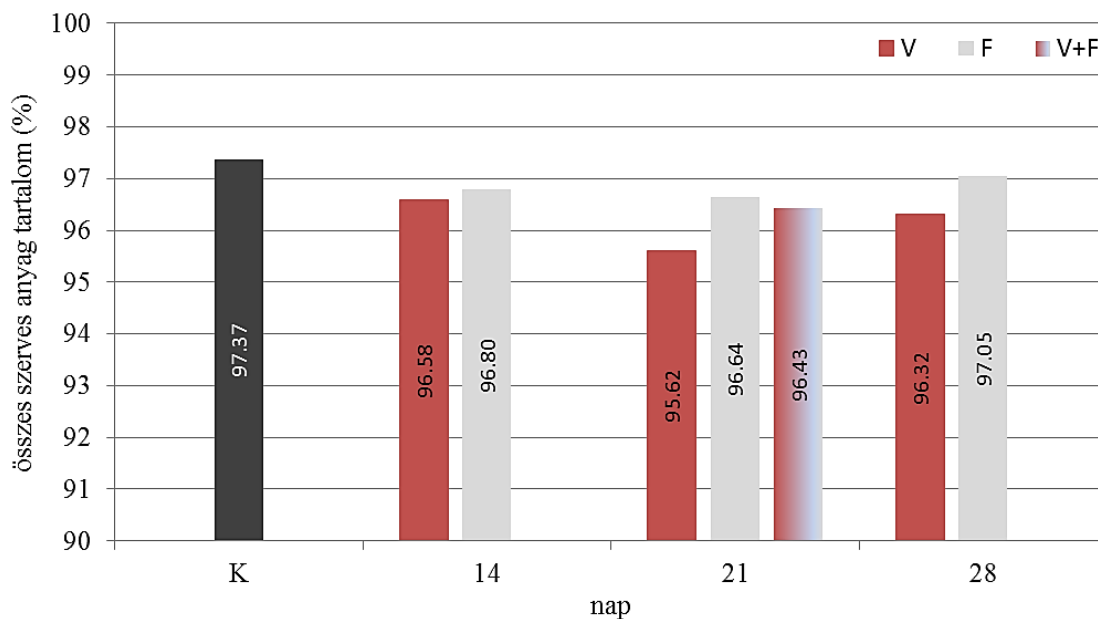
27. ábra A totálfenol tartalom meghatározása.

14,21,28 nap: a korhasztó gombákkal történt előkezelési idő; K: kezeletlen bodza faanyag; V: vörös korhasztó gombás előkezelés; F: fehér korhasztó gombás előkezelés; V+F: az egyidejűleg alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás előkezelést jelenti. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő (nap) függvényében a totálfenol tartalom (mmol/100g sz.a.) változást mutatja be az ábra. A hibásávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölnek.

A 27. ábrán feltüntetett totálfenol tartalom mérés esetén a kontrol értékekhez képest eltérő értékeket mutat a vörös és a fehér korhasztó gomba. A vörös korhasztó gombával 14 napig előkezelt faanyagban a totálfenol tartalom a kétszeresére emelkedett, majd idővel lecsökkent a kezdeti érték alá és azután nem változott jelentősen. Ez azzal magyarázható, hogy a vörös korhasztó gomba mivel inkább cellulózbontást végez, a kezdeti időszakban csak a könnyen hozzáférhető hemicellulózokat bontja így arányaiban a lignin részaránya megnövekedik, majd a hemicellulóz rész után megkezdődik a cellulóz és a lignin részek bontása is. A fehér korhasztó gomba esetén már 14 nap után is jelentős csökkenés tapasztalható, amely idővel kismértékű emelkedés tapasztalható. A fehér korhasztó esetében a ligninbontásra való nagyobb hajlamnak köszönhető ez a jelenség. Az egyidejűleg való alkalmazásuk esetén 21 napos előkezelés esetén a kontrolhoz nagyon közeli értéket kaptunk.

5.2.5. Összes szervesanyag-tartalom

Az összes szervesanyag-tartalom meghatározása során átfogó képet kaphattam, a különböző inkubálási idők és korhasztó gombafajok hatására bekövetkező esetleges szervesanyag-tartalombeli változásról. Ez azért fontos, mert az anaerob fermentációban a faanyag szerves alkotói vesznek részt, így hátrányos helyzetet jelent, ha ezek jelentősen csökkennek a faanyagban az előkezelés hatására. Az összes szervesanyag-tartalom a biogáz hozam értékek megadásánál is fontos viszonyítási érték. A szervesanyag-tartalomban bekövetkező változásokat a 28. ábra mutatja be.



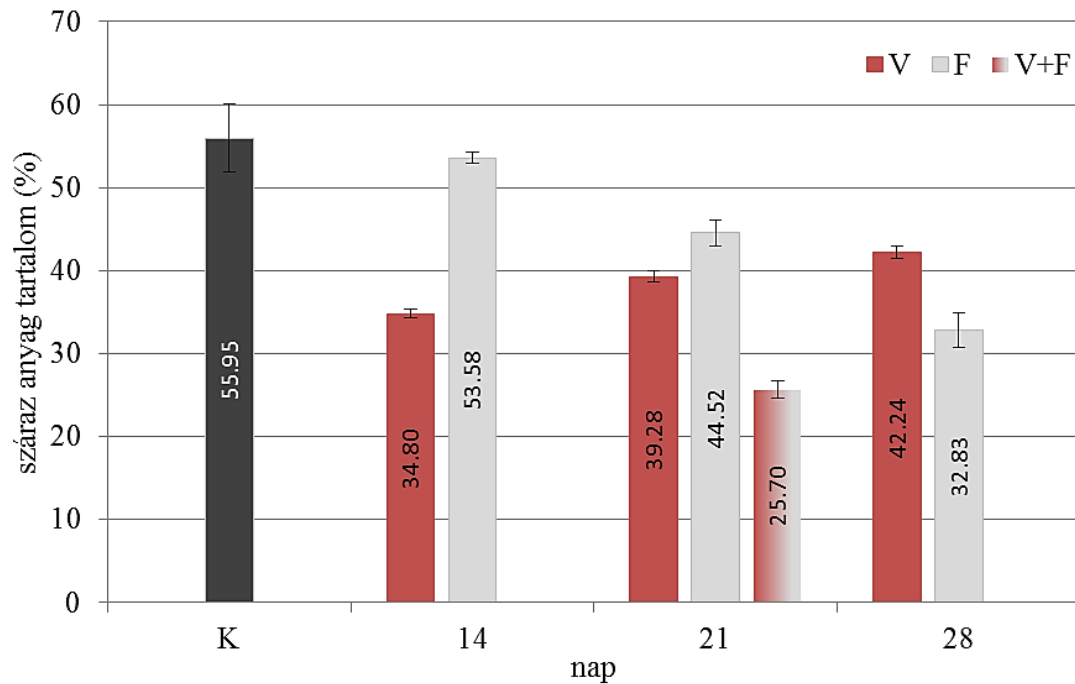
28. ábra Az összes szervesanyag-tartalom meghatározása.

14,21,28 nap: a korhasztó gombákkal történt előkezelési idő; K: kezeletlen bodza faanyag; V: vörös korhasztó gombás előkezelés; F: fehér korhasztó gombás előkezelés; V+F: az egyidejűleg alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás előkezelést jelenti. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő (nap) függvényében a szervesanyag-tartalom (%) változást mutatja be az ábra.

A 28. ábrán látható szervesanyag-tartalom változása az előkezelési időszakok alatt, a különböző korhasztó gombák esetében szinte elenyésző volt. A fehér korhasztóval való előkezelés hatására a csökkenés minden esetben kevesebb volt, mint 1%, de a vörös korhasztóval való előkezelés hatására bekövetkezett csökkenés sem volt egyik esetben sem 2%-nál nagyobb. A szervesanyag-tartalom ilyen kismértékű változásából arra lehet következtetni, hogy az anaerob fermentációban résztvevő szerves anyagok a faanyagban nem csökkennek a folyamatokat befolyásoló mértékben.

5.2.6. Szárazanyag-tartalom

A szárazanyag tartalom meghatározás értékeit mutatja be a 29. ábra, mely értékek egyrészt fontosak a gombákkal való előkezelés szempontjából, másrészt pedig a meghatározott paraméterek nagy részét is ehhez kell viszonyítani. A mérési adatokat a XIII. melléklet tartalmazza.



29. ábra A szárazanyag-tartalom meghatározása.

14,21,28 nap: a korhasztó gombákkal történt előkezelési idő; K: kezeletlen bodza faanyag; V: vörös korhasztó gombás előkezelés; F: fehér korhasztó gombás előkezelés; V+F: az egyidejűleg alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás előkezelést jelenti. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő (nap) függvényében a szárazanyag-tartalom (%) változást mutatja be az ábra. A hibásávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölnek.

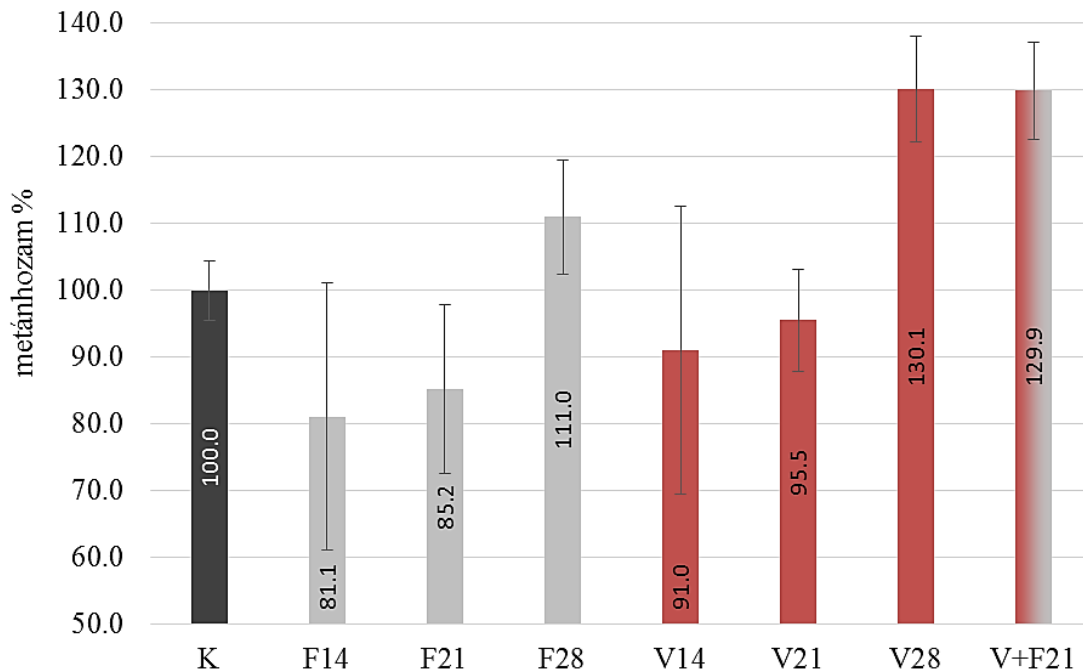
A szárazanyag tartalom mérések eredményeit tekintve eltérő változások figyelhetők meg az idő függvényében. A fehér korhasztó gomba esetében a szárazanyag tartalom az előkezelési idő növelésével folyamatosan csökkenő tendenciát mutat. A vörös korhasztó gomba esetén viszont a gyors szárazanyag csökkenés után lassú emelkedés volt tapasztalható. Az együttes előkezelés hatása inkább a vörös korhasztóval való előkezelésre hasonlíthat.

A szárazanyag tartalomban jelentős csökkenés volt tapasztalható mindkét korhasztó gombával történő előkezelés hatására, ami valószínűleg a gomba növekedésével, terjedésével magyarázható.

5.2.7. Biogáz előállítás

5.2.7.1. Metánhozam

A fekete bodza faanyag korhasztó gombákkal történt előkezelése során a metánhozam növekedésében jelentős változásokat lehetett tapasztalni, melyeket a 30. ábra foglalja össze.



30. ábra A különböző biológiai előkezelések hatása a biogáz hozam változására

A metánhozam alakulását mutatja be az ábra a különböző korhasztó gombás előkezelés hatására. A százalékos értékek a K-kezeletlen faanyaghoz viszonyított értelemben. A hibasávok 99%-os konfidencia intervallumot jelölnek.

A 30. ábrán láthatóak a különböző biológiai előkezelések metánhozamra gyakorolt hatásai. Az ábrán a kontrol (kezeletlen faanyag, értéke 100%) metánhozam értékhez képest különböző mértékű metánhozam változások láthatóak. A metánhozamok abszolút értékei a 14.-16. táblázatokban kerültek összefoglalásra, a 30. ábra a metánhozam százalékos változását szemlélteti a kezeletlen (kontrol) alapanyaghoz képest. A vizsgálat célja, hogy statisztikai módszerekkel igazoljuk az 5.1.1.5. fejezetben tapasztaltakat, melyek szerint a biológiai előkezelés hatására a metánhozam szignifikánsan növekedett.

A fehér korhasztó gombás előkezelés esetén a 14 napig és 21 napig tartó előkezelés esetén a kontrolhoz képest kismértékű csökkenés figyelhető meg metánhozamokban. A 28 napig tartó fehér korhasztós előkezelés esetében viszont közel 10%-os a metánhozam növekedést mértem.

A vörös korhasztó gomba esetén a 14 napig és 21 napig tartó inkubálási idejű előkezelések esetén jelentős változás nem történt a metánhozamban a kontrol metánhozamhoz képest. A 28 napig tartó vörös korhasztó gombás előkezelés hatására jelentős növekedés mutatható ki, amely közel 30%-os metánhozam emelkedést jelent. Az egyidejűleg alkalmazott vörös- és fehér korhasztó gombás előkezelés hatására az előbbi esethez hasonlóan közel 30%-os emelkedés tapasztalható, viszont ebben az esetben ezt a mértékű metánhozam növekedés 21 napig tartó előkezelés esetén következett be.

A metánhozamban bekövetkezett változások statisztikai elemzése nélkülözhetetlen annak bizonyítására, hogy a különböző biológiai előkezelések hatása tényleg szignifikáns változást eredményeztek a kontrol csoporthoz képest. A statisztikai kiértékelést egyszempontos varianciaanalízissel (One-way ANOVA) végeztem, 1%-os szignifikancia szinten. A varianciák homogenitását a „levene’s test” számolási módszerrel ellenőriztem. A 21. táblázatban feltüntetett felső indexek (^{1,2,3}) a szignifikánsan különböző csoportokat jelölik. A különböző korhasztó gombákkal, és különböző inkubálási ideig előkezelt faanyagok anaerob fermentációja során keletkezett metán mennyiségeinek statisztikai vizsgálatát foglalja össze a 21. táblázat. A metánhozam értékek a napi átlagot jelentik százalékban kifejezve, a \pm értékek pedig 99%-os konfidencia intervallumot jelölnek.

21. táblázat A különböző módon biológiailag előkezelt minták metánhozamának százalékos változása a kontrol mintához képest

Átlag \pm 99%-os konfidencia intervallum. A felső indexben szereplő eltérő számok szignifikánsan eltérő értékeket jelölnek $p < 0,01$ szignifikancia szinten.

minta	kontrol (%)	minta	metán hozam (%)	minta	metán hozam (%)	minta	metán hozam (%)
K ¹²	100,0 \pm 14,1	F14 ¹	81,1 \pm 20,7	V14 ¹²³	91,0 \pm 21,6	-	-
K ¹²	100,0 \pm 9,6	F21 ¹	85,2 \pm 12,7	V21 ¹²	95,5 \pm 7,6	-	-
K ¹²	100,0 \pm 6,4	F28 ²³	111,0 \pm 8,6	V28 ³	130,1 \pm 7,9	V+F21 ³	129,9 \pm 7,3

A metánhozamok statisztikai vizsgálattal bebizonyítottam, hogy a 28 napig tartó vörös korhasztó gombás előkezelés hatására 30,1%-kal, a korhasztó gombák 21 napos egyidejű előkezelése hatására 29,9%-kal szignifikánsan magasabb fajlagos metánhozamot értem el a kontrolhoz képest.

5.2.7.2. Biogáz összetétel

A 22. táblázat a metánhozamot jelentősen megnövelő előkezelések esetén keletkezett biogáz összetételét mutatja be. Az anaerob fermentáció végterméke nem csak metán, hanem jelentős mennyiségű CO₂ is keletkezik, továbbá a harmadik összetevő, ami még számottevő az oxigén.

22. táblázat A biogáz összetétele a metánhozam növekedést eredményező biológiai előkezelések esetén

minta	CH ₄ %	CO ₂ %	O ₂
K	51,04	23,15	4,33
V+F21	50,97	31,86	3,78
V28	51,49	28,81	4,86
F28	50,69	30,19	4,71

A 22. táblázatban foglaltak alapján megállapítható, hogy a kontrol kezeletlen fekete bodza felhasználása során keletkezett biogáz összetételéhez képest, a metánhozamot növelő biológiai előkezelések során keletkezett biogáz összetételekben változás főként a CO₂ mennyiségekben tapasztalható. A biogázban jelenlevő oxigén, továbbá a szén-dioxid mennyiségekben tapasztalható eltérések a napi adagolás kivitelezéséből adódhat.

5.2.7.3. Genomikai vizsgálat

A mikrobiológiai közösség átalakulásának vizsgálatát szekvenálás alapú metagenomikai megközelítéssel végeztem. A vizsgálatokban négy iszap minta analízisére került sor, az oltó (kezdeti) iszap illetve a fermentációs folyamat végéből származó, kezeletlen fekete bodzás iszap (K), 28 napos vörös korhasztó gombás (V28) iszap, 28 napos fehér korhasztó gombás iszap (F28).

Összességében nézve a baktérium közösségben teljes reorganizáció történt, míg a különböző metanogén archeákban csak kismértékű változások történtek.

Az oltó iszapban a legelterjedtebb a Nematostella baktérium nemzetség volt (9,5%-a a teljes baktérium közösségnek) de a fermentáció végére minden esetben eltűnt az iszap mintákból. A Ricinus nemzetség mennyisége szintén csökkent a fermentációs időszak végén az oltó iszaphoz képest és a kezeletlen (K), vörös korhasztós (V28) és fehér korhasztós (F28) iszapokban pedig az Aspergillus és az Arabidopsis nemzetségek lettek a legelterjedtebbek. Az eukarióta közösségek mintánkénti 5 leggyakoribb nemzetségét mutatja be a 23. táblázat. A 15 leggyakoribb eukarióta nemzetség mintánkénti megoszlását a XIV. melléklet mutatja be.

23. táblázat A különböző iszap minták eukarióta nemzetség összetétele

Oltó iszap: kezdeti iszap; K: kezeletlen fekete bodzával adagolt iszap; V28: 28 napig vörös korhasztó gombával kezelt fekete bodza alapanyaggal adagolt iszap; F28: 28 napig fehér korhasztó gombával kezelt fekete bodza alapanyaggal adagolt iszap

oltó iszap		K		V28		F28	
nemzetség	%	nemzetség	%	nemzetség	%	nemzetség	%
Nematostella	9,5	Aspergillus	3,3	Aspergillus	4,0	Arabidopsis	4,6
Ricinus	4,3	Arabidopsis	2,8	Arabidopsis	3,8	Aspergillus	3,6
Arabidopsis	3,2	Filobasidiella	2,7	Filobasidiella	3,3	Oryza	3,6
Physcomitrella	3,0	Ustilago	2,6	Gibberella	2,3	Physcomitrella	2,3
Oryza	2,8	Gibberella	2,5	Physcomitrella	2,3	Gibberella	2,2

Az oltó iszapban a metanogén nemzetségek közül az acetotróf Methanosaeta volt a legelterjedtebb (20,3%-a a teljes metanogén közösségnek), de a fermentáció végére lecsökkent közel 7%-ra a többi mintában. Másrészt a Methanosarcina nemzetség részaránya az oltóiszapban a teljes archea közösségben 13% ami jelentősen emelkedett a kezeletlen (K) mintával adagolt iszapban 29%-ra a vörös korhasztós esetén (V28) 40,6%-ra míg a fehér korhasztós esetén (F28) 31%-ra. A Methanothermobacter a második legnagyobb mennyiségű nemzetség (17,6%) volt a fermentáció előtt, mennyisége egyik esetben sem változott a fermentáció ideje alatt. Az archea közösségek mintánkénti 5 leggyakoribb nemzetségét mutatja be a 24. táblázat. A 15 leggyakoribb archea nemzetség mintánkénti megoszlását a XV. melléklet mutatja be.

24. táblázat A különböző iszap minták archea nemzetség összetétele

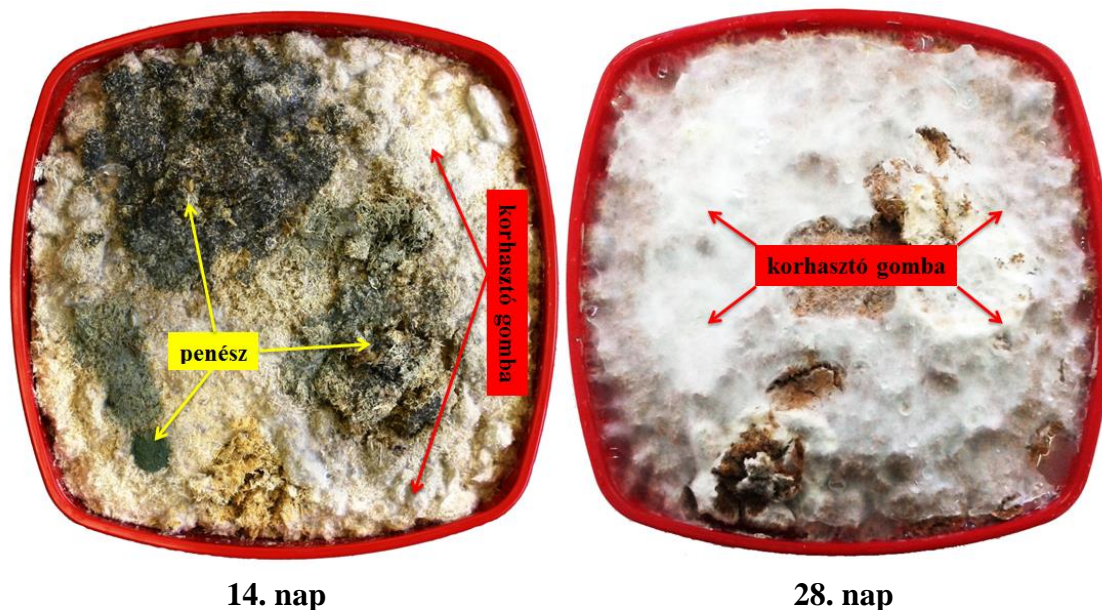
Oltó iszap: kezdeti iszap; K: kezeletlen fekete bodzával adagolt iszap; V28: 28 napig vörös korhasztó gombával kezelt fekete bodza alapanyaggal adagolt iszap; F28: 28 napig fehér korhasztó gombával kezelt fekete bodza alapanyaggal adagolt iszap

oltó iszap		K		V28		F28	
nemzetség	%	nemzetség	%	nemzetség	%	nemzetség	%
Methanosaeta	20,3	Methanosarcina	29,0	Methanosarcina	40,6	Methanosarcina	31,1
Methanothermobacter	17,6	Methanothermobacter	14,2	Methanothermobacter	8,1	Methanothermobacter	10,7
Methanosarcina	13,0	Methanosaeta	7,5	Methanoculleus	7,9	Methanosaeta	7,3
Methanobrevibacter	4,2	Thermococcus	3,9	Methanosaeta	6,9	Methanoculleus	4,3
Methanoculleus	3,2	Methanoculleus	3,5	Thermococcus	3,0	Thermococcus	4,0

Összefoglalva a metagenomikai vizsgálatokat megállapítható, hogy jelentős változások mentek végbe a különböző alapanyagok (K, V28, F28) fermentálása utáni iszap és az oltó iszap eukarióta és archea közösségének összetételében. A különböző korhasztó gombás alapanyagok (V28, F28) és a kezeletlen fekete bodza alapanyag (K) fermentálása utáni iszapok összetételében szignifikáns különbség nem mutatható ki.

5.2.8. A penészesedés vizsgálata

A biológiai előkezelés jelen kutatásban korhasztó gombákkal történt, egy fehér- és egy vörös korhasztó fajjal. A gombásítás több szakaszban történt. Első szakaszban 14 napig volt a faapríték a gombatorzseken, második szakaszban 21 napig, harmadik szakaszban 28 napig. Minden esetben megfigyelhető volt a faanyagon elszaporodó korhasztó gombák mellett penészgombák megjelenése is. A penészgombák a legtöbb esetben leginkább a minták felületén voltak megfigyelhetőek. Ezt a jelenséget mutatja be a 31. ábra.



31. ábra A penészgombák jelenléte a korhasztó gombák mellett 14 és 28 napig előkezelt mintákon.

A penészesedés hatása több szempontból is problémát okozhat a gombákkal való előkezelés és az anaerob fermentáció során. A Soproni Egyetem, SKK, Faanyagtudományi Intézet munkatársaival történt szóbeli konzultáció alapján, a penészek és a korhasztó gombák nem élnek szimbiózisban. Így a penészek konkurenciát jelentenek a korhasztó gombák számára, hiszen a könnyen hozzáférhető, hemicellulóz részt bontják a penészek is először. Másrészt a penészgombák által melléktermékként termelt mikotoxinok gátló hatással lehetnek mind a korhasztó gombára, mind a biogáz termelési folyamatra. Az egyik legismertebb mikotoxin az aflatoxin B1, melyről kimutatták, hogy nincs hatással az anaerob emésztésre (Salati *et al.* 2014). Viszont különböző gombafajok gátló hatással voltak cukorrépa alapanyag esetén az anaerob fermentációra, ezáltal a biogáz hozamra is negatívan hatottak (Haraldsson 2008).

5.2.8.1. Szerves savak HPLC-MS/MS meghatározása

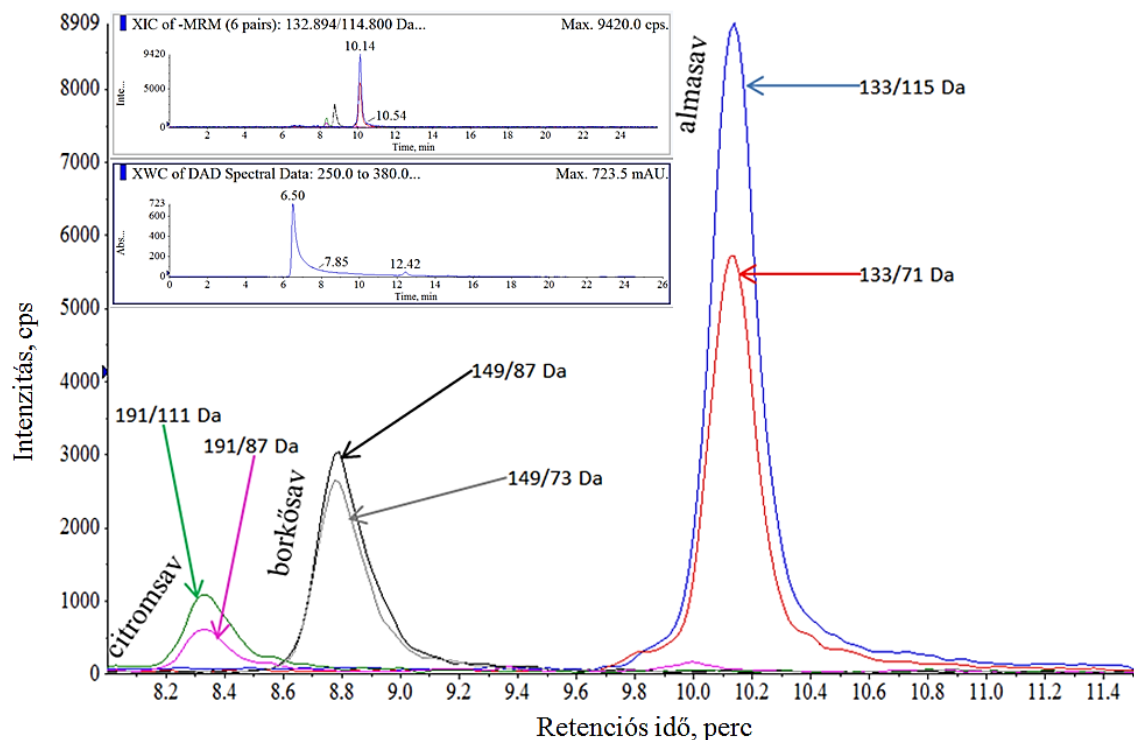
A különböző inkubálási idejű mintákból készült extraktumok analízise során szerves savak kerültek elválasztásra HPLC-MS eszközzel. A szerves savak a penészgombáktól is származhatnak (Liaud *et al.* 2014). Ezek minőségi kiértékelését az 25. táblázat foglalja össze.

25. táblázat A 28 napos vörös korhasztó gombával előkezelt faanyag extraktumából minőségileg beazonosított szerves savak

[M-H]⁻: *anyaion, negatív ionizációs mód [molekula tömeg-hidrogén]*; MS/MS: *fragmensek tömege*

név	retenciós idő (min)	[M-H] ⁻ (m/z)	MS/MS (m/z)
galluszsav	6,62	169	151,125,123,97,71
citromsav	8,36	191	173,147,129,111,103,87
borkósav	8,78	149	131,121,105,103,87,73
glükuronsav	9,33	193	131,113,103,101,85,73
glükonsav	10,01	195	177,159,129,87,75
almasav	10,14	133	115,89,87,71
2-metil-almasav	10,66	147	129,103,101,85
glicerinsav	11,96	105	75,73
borostyánkősav	12,83	117	99,73
sikimisav	13,64	173	155,129,111,75

A mennyiségi kiértékeléseket mindig minőségi beazonosítások előznek meg, hiszen először tudni kell, milyen anyagok detektálhatóak egyes mintákban, hogy a megfelelő standard oldatok segítségével a beazonosított anyagok mennyiségét is ki lehessen számítani. A 25. táblázatban a minőségileg beazonosított szerves savak és a rájuk jellemző fragmensek láthatóak.

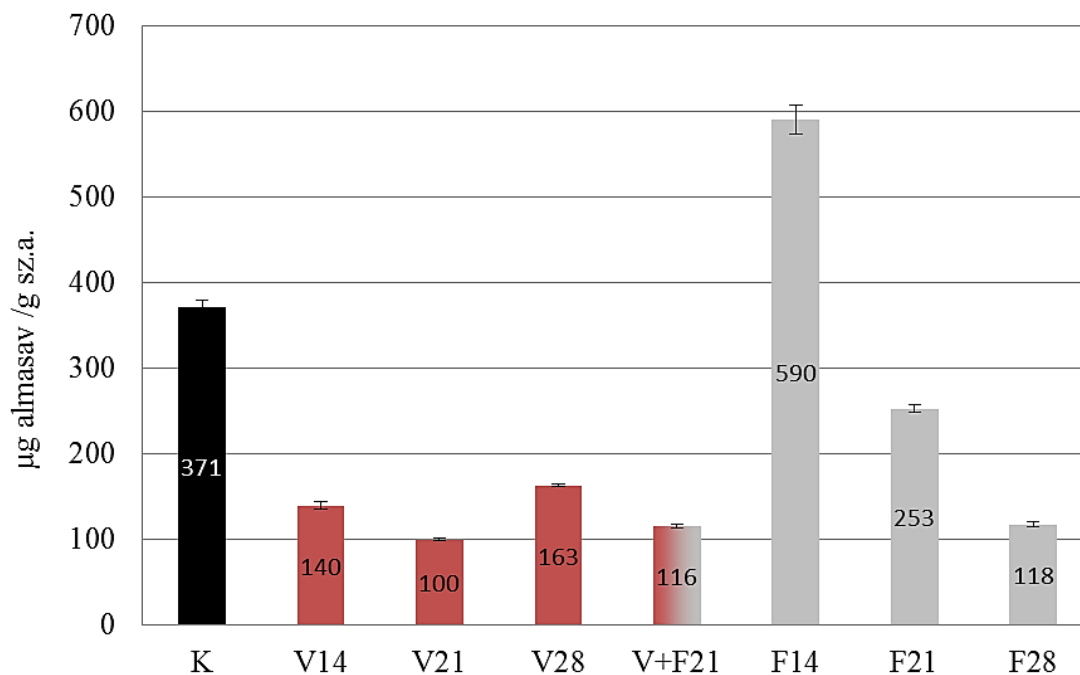


32. ábra MRM átmenetekkel, mennyiségileg kiértékelt szerves savak kromatogramja a V28 minta esetén.

Belső ábra: XIC - extrahált ionkromatogram (6 ion pár); XWC: UV kromatogram (250-380nm). A külső ábra az XIC kromatogram kinagyított változata.

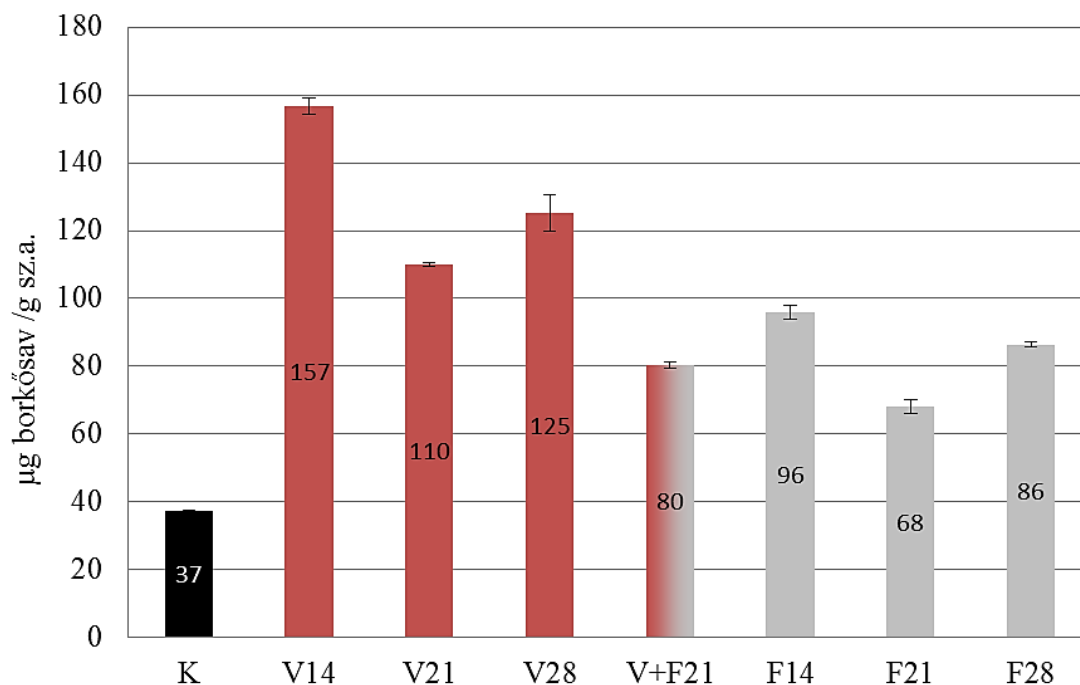
A mennyiségi kiértékelés MRM átmenetek segítségével történt. A 32. ábrán az általunk minőségileg beazonosított szerves savak MRM átmenet kromatogramja látható a 28 napig vörös korhasztó gombával előkezelt faanyag esetén. Az MRM átmenetek módszerével bizonyosságot is nyerhetünk, hogy a fragmensek által minőségileg beazonosított savak, valóban azt a vegyületet takarják, hiszen a standard oldatokkal azonos retenciós időnél, azonos tömegpárokat kell kapnunk a mintában is. Az ismert koncentrációjú standard oldatok csúcs alatti területeiből számítható a mintában detektált komponensek koncentrációja.

Az almasav mennyiségi kiértékelését a 33. ábra mutatja be, amelyen látható, hogy az almasav mennyiségének csökkenése az előkezelés időtartamának növelésével van összefüggésben a fehér korhasztó gombával előkezelt faanyag esetén. Ennek egyik magyarázata lehet, hogy olyan penészgomba felszaporodása történhetett, ami főként almasavat szintetizál, időbeni csökkenése pedig utalhat arra, hogy a korhasztó gomba 28. npra teljesen gátolhatta működésében.



33. ábra Az almasav mennyiségi változása a korhasztó gombákkal előkezelte faanyagon. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő függvényében az almasav mennyiségének (µg/g) változást mutatja be az ábra. A hibasávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölik.

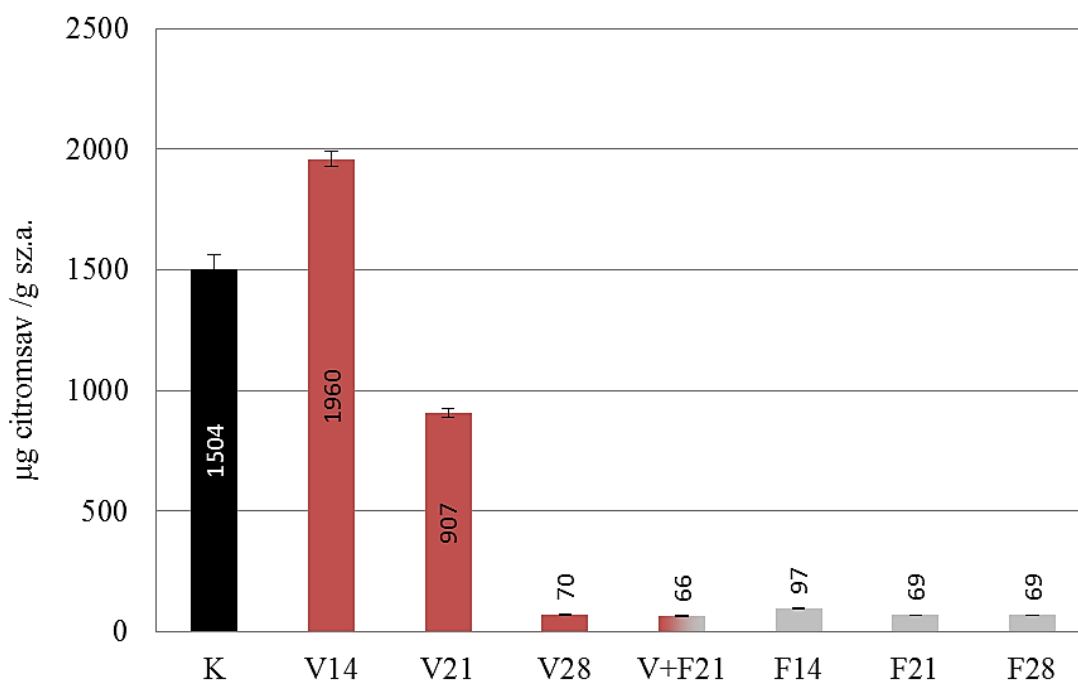
A borkósav kis mennyiségben volt jelen a mintákban ám minden esetben, a kontrol értéknél nagyobb mennyiségben.



34. ábra Az borkósav mennyiségi változása a korhasztó gombákkal előkezelte faanyagon. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő függvényében az borkósav mennyiségének (µg/g sz.a.) változást mutatja be az ábra. A hibasávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölik.

A jelenség magyarázata lehet, hogy a jelenlevő penészgombák minden esetben termelhettek borkősavat. Mennyiségük a 34. ábrán is láthatóan az előkezelési idővel kapcsolatban nem hozható.

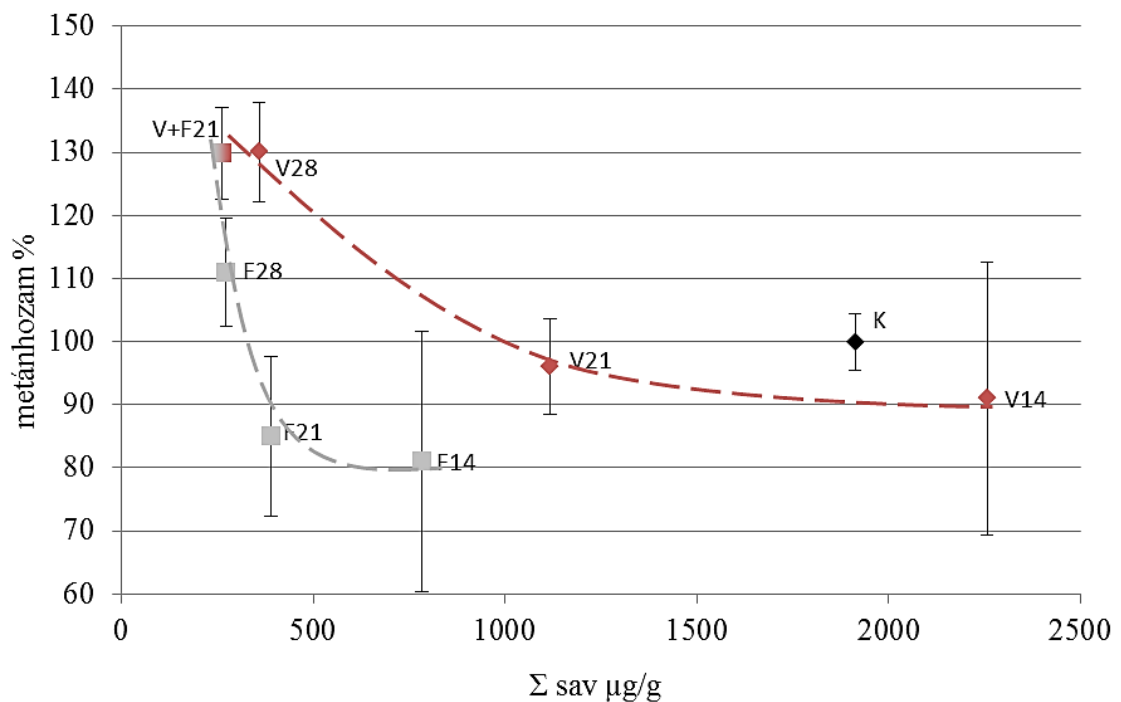
A 35. ábrán látható a vörös korhasztó gombával előkezelt faanyag esetén a citromsav mennyiségének csökkenése és az inkubálási idő növekedése közötti kapcsolat. Feltételezhetően a vörös korhasztó gombával előkezelt faanyagon olyan penészfaj szaporodhatott el, melyre a citromsavtermelés a jellemző. A citromsav koncentráció időbeni csökkenésének egyik feltételezett oka, a vörös korhasztó gomba penészre gyakorolt gátló hatása lehet.



35. ábra A citromsav mennyiségi változása a korhasztó gombákkal előkezelt faanyagon. A korhasztó gombákkal történt előkezelési idő függvényében a citromsav mennyiségének (µg/g sz.a.) változást mutatja be az ábra. A hibasávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölik.

Összességében elmondható, hogy a fekete bodza faanyag biológiai előkezelése során a korhasztó gombák mellett megjelentek penészgombák is, a sterilizálási folyamat ellenére is. A penészgombák jelenlétére jellemzőek lehetnek a szerves savak, melyek minőségi és mennyiségi elemzése alapján, összefüggést találhatók a korhasztó gombák inkubálási ideje és az időben mennyiségi változásaik közt. Habár konkurenciát jelenthetnek a korhasztó gombáknak az azonos táplálékforrás miatt, a fent említett összefüggések alapján feltételezhetően egy egészséges, jól fejlődő gombatenyészet minimálisra redukálhatja működésüket az előkezelés során.

5.2.8.2. A szerves savak és a metánhozam kapcsolata



36. ábra A metánhozam alakulása a szerves savak mennyiségének függvényében.

A hibasávok 95%-os konfidencia intervallumot jelölnek. K: kezeletlen fekete bodza faanyag; V: vörös korhasztó gombával előkezelt fekete bodza faanyag; F: fehér korhasztó gombával előkezelt fekete bodza faanyag; 14,21,28: inkubálási idő

Összefüggés tapasztalható a penészgombák jelenlétét is jelenthető szerves savak időbeni csökkenése és a metánhozam növekedés között, melyet a 36. ábra mutat be. Az ábrán megfigyelhető, hogy a szerves savak csökkenése szoros összefüggésben áll az 5.2.7.1. fejezetben taglalt metánhozam változásokkal. Az 5.2.8.1. fejezetben foglaltak alapján a szerves savak mennyiségének időbeni csökkenésének egyik valószínűsíthető magyarázata a korhasztó gombák elterjedése, mivel működésüket gátolhatják. A kapott mérési eredmények lehetséges konklúziója, a fentebb említett összefüggések vonatkozásában, hogy a metánhozam növekedése feltételezhetően a korhasztó gombák hidrolízisének köszönhető.

5.2.9. Következtetések

Az optimális előkezelési eljárások és körülmények nagyban függenek a lignocellulóz alapanyagtól (Taherzadeh és Karimi 2008). A fekete bodza alapanyag esetében az optimális előkezelési eljárásnak a biológiai előkezelés bizonyult. Ez annak köszönhető, hogy az alkalmazott előkezelési eljárások közül jelentős fajlagos metánhozam növekedés, alacsony költség és környezetterhelés (nincs vegyszer, se eszköz, se energiaigénye) jellemzi a biológiai előkezelést.

Az elektronmikroszkópos felvételek segítségével vizuálisan követhetjük nyomon a korhasztó gombák elterjedését és egyúttal a degradációs folyamataikat. Behera *et al.* (1996) szodomi alma faanyag cukrosítási folyamatát végezték különböző előkezelési eljárásokkal. A lignocellulóz alapanyagot felépítő rostokban végbement szerkezeti változásokat elektronmikroszkópos módszerrel vizsgálták.

A cellulóz tartalom meghatározás során a vörös korhasztó gombás előkezelések esetén jelentős változás nem történt. A fehér korhasztó gombás előkezelés során a 14 és 21 napig tartó előkezelési időnél változás nem következett be, míg a 28 napig tartó fehér korhasztó gombás előkezelés esetén a cellulóz tartalom emelkedése történt, ami valószínűsíthetően a fehér korhasztó gomba lignin bontásának köszönhető.

Az összes kioldható szénhidrát tartalom mérésével célt a cellulóz és hemicellulóz degradációjának nyomon követése volt. Mivel a cellulózt körülvevő hemicellulóz fizikai akadályt képez az enzimek degradációs hatásának (Taherzadeh és Karimi 2008), így először ezt a polimer részt bontják a korhasztó gombák. Az összes kioldható szénhidrát tartalom meghatározása során kapott eredmények is ezt támaszthatják alá, mivel a 14 és 21 napos inkubálási idő esetén jelentős csökkenés tapasztalható. A 28 napos korhasztó gombás előkezelés és a 21 napig szimultán alkalmazott korhasztó gombás előkezelésnél tapasztalt növekedés a cellulóz rész hidrolízisének tudható be.

A totál fenol tartalom meghatározás során a vörös korhasztó gomba alkalmazása esetén a totál fenol tartalomban jelentős változás nem történt, kivéve a 14 napos inkubálási idő után kapott eredménynél, ahol közel kétszeres koncentráció volt tapasztalható, a hemicellulóz bontása miatt megnövekedett lignin részaránya miatt. A fehérkorhasztó gomba lignin degradációját jól tükrözte a totál fenol tartalom, jelentős csökkenése (40-70%).

Fountoulakis *et al.* (2002) késői laska gomba alkalmazásával a fenolos anyagok degradálását végezték olajbogyó feldolgozása során keletkező szennyvíz esetén. A fenolos anyagok csökkenésében hasonló 60-70% mértéket tapasztaltak.

A biogáz hozam statisztikai elemzése során bizonyosságot nyert, hogy a 28 napos fehér korhasztós (~10%) a 28 napos vörös korhasztós (~30%) és a 21 napos szimultán alkalmazott vörös és fehér korhasztó gombás (~30%) előkezelések szignifikánsan eltérnek a kezeletlen fekete bodza gázhozamához képest.

A különböző inkubálási idejű és különböző korhasztó gombás előkezelés hatására termelődő biogáz összetételét vizsgálva a kezeletlen fekete bodza alapanyag esetén termelődött biogázhoz képest jelentős változás nem tapasztalható a metán tartalomban. A megnövekedett biogáz hozamok így valóban megnövekedett metán tartalmat is jelentenek.

A genomikai vizsgálatokról összességében megállapítható, hogy a kezdeti oltó iszap mikrobiális összetételét tekintve eltérő volt a kezeletlen és a különböző korhasztó gombákkal előkezelt faanyagokkal adagolt iszapok. A kezeletlen és a korhasztó gombákkal előkezelt faanyagokkal adagolt iszapok mikrobiális összetételét tekintve viszont jelentős eltérések nem voltak, így a megnövekedett biogáz hozam nem az egyes iszapokban esetlegesen túlsúlyban lévő metanogéneknek köszönhető, hanem az alapanyagoknak.

A korhasztó gombás előkezelés során a sterilizálás ellenére tapasztalhatóak voltak a minták felületén megjelenő penészgombák, melyek bizonyos esetekben toxikusak lehetnek az anaerob közösségekre (Haraldsson 2008, Salati *et al.* 2014). A probléma feltérképezése érdekében HPLC-MS vizsgálatokat végeztem, a mintákból desztillált vizes extrakcióval kioldható egyszerű szerves savak mennyiségi és minőségi elemzése érdekében, melyek a penészgombákra is jellemző. A vizsgálatok során összefüggést fedeztem fel a minőségileg beazonosított szerves savak időbeni mennyiségi csökkenése és a biogáz hozam időbeni növekedése közt. Az egyszerű szerves savak termelése jellemzőek a penészgombákra (Liaud *et al.* 2014) és valószínűsíthetően a szerves savak csökkenése a penészgombák élettérének kiszorulására utal a korhasztó gombák elterjedésének köszönhetően.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban a megújuló energiaforrások kutatása és alkalmazása előtérbe kerül a fosszilis energiaforrások kimerülése és kedvezőtlen környezeti hatásai végett. A megújuló energiaforrások közül hazánkban a biomassza meghatározó, melyek nagy része lignocellulóz alapú. A lignocellulóz alapanyagok számos felhasználási lehetősége közül ígéretes hasznosítási terület az anaerob úton előállítható biogáz. A lignocellulóz alapanyagok hatékony felhasználásnak kulcsa az alapanyag hidrolízisének sikeressége, melyet különböző előkezelési eljárásokkal érhetünk el. Kutatásomban felhasznált lignocellulóz alapanyagok a fekete bodza (*Sambucus nigra* L.) faanyag és a kocsánytalan tölgy (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) kéreg.

A kocsánytalan tölgy kéreg esetén mikrohullámú, extrakciós, mikrohullámú és extrakciós előkezelési eljárásokat alkalmaztam a biogáz hozam növelése érdekében. Az alkalmazott előkezelési eljárások nem növelték meg hatékonyan a biogáz hozamot, ám bebizonyosodott, hogy a tölgy kéreg alkalmas anaerob úton biogáz előállítására.

A fekete bodza faanyag esetén mikrohullámú, híg ecetsavas, hidrotermikus, fizikai-kémiai és biológiai előkezeléseket alkalmaztam a biogáz hozam növelése céljából. Az alkalmazott előkezelési eljárásoknak a kezeletlen fekete bodza faanyag biogáz hozam növekedésére gyakorolt hatásának összehasonlításával választottam az optimális előkezelési eljárást. Az előkezelési eljárások közül a hidrotermikus és a biológiai előkezelések közel egyforma mértékben növelték a biogáz hozamot ám, a költségeket, az eszköz-, energia- és vegyszer igényeket figyelembe véve a biológiai előkezelés az optimális előkezelési eljárása a fekete bodza faanyagnak.

Annak érdekében, hogy bizonyosságot nyerjek, hogy a fekete bodza faanyag biológiai előkezelése után tapasztalt biogáz hozam növekedés valóban a korhasztó gombák degradációs hatásának köszönhető különböző vizsgálatokat végeztem. Vizsgáltam a fekete bodza faanyagának a korhasztó gombás előkezelés hatására bekövetkező szerkezeti, cellulóz tartalom, totálfenol tartalom, összes kioldható szénhidrát tartalom, szárazanyag tartalom, szervesanyag-tartalom időbeli változásait. Meghatároztam a termelő biogáz összetételét és a biogáz iszap mikrobiális összetételét. Statisztikai módszerekkel hasonlítottam össze az eltérő biogáz hozamokat. Az előkezelés során problémaként felmerült penészesedési folyamat feltérképezése érdekében HPLC-MS vizsgálatokat végeztem.

6. SUMMARY

Nowadays the applications and the researches are focus on the renewable energies because of the fossil fuels run out. The energies based on biomass with high percentages of lignocelluloses are the chief members of the renewable energy sources. The anaerobic fermented biogas is a promising possibility from the several consumptions of the lignocelluloses. In case of lignocelluloses the key of effective utilization is the successful of the substrate hydrolysis that achieve with different pretreatment methods. In this study the wood of elderberry (*Sambucus nigra L.*) and the oak bark (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) as applied lignocellulose materials were examined.

Different pretreatment methods (microwave, extraction and microwave-extraction) were tested on oak bark to enhance the anaerobic fermented biogas yield. The applied pretreatment methods were not increased the biogas yield but the oak bark is suitable for anaerobic digested biogas production.

Microwave, dilute acetic acid, combined physical, physical-chemical and biological pretreatments were used on the wood of elderberry. The optimal pretreatment method was selected with the comparison of untreated wood's biogas yield to the different applied pretreated wood's biogas yield. The combined physical and the biological pretreatments were enhanced the biogas yield at the same level, but considering outgoings and needs of device, chemicals and energy the optimal pretreatment method of the wood of elderberry is the biological pretreatment.

Several investigations were performed to demonstrate that the increasing of the biogas yield was due to the effect of the degradation process of the biological rot-fungal pretreatment. The structural, cellulose content, total phenolic content, total soluble carbohydrate content, dry matter content, total organic matter content changes were examined during the incubation period. The composition of anaerobic digested biogas and the microbial composition of the anaerobic sludge were determined. The differences of the biogas yields were compared with statistical methods. HPLC-MS investigations were used to discover the problem of molds appearance under the fungal pretreatment method.

7. TÉZISEK

- 1. tézis:** A vizsgálataim eredményeképpen bebizonyítottam, hogy az erdészeti lignocellulóz anyagok közül a kocsánytalan tölgy kéreg (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) és a fekete bodza faanyag (*Sambucus nigra* L.) a biogáz előállításra alkalmas termofil, anaerob körülmények között. A legáltalánossabban felhasznált mezőgazdasági melléktermékek fajlagos metán kihozatalához képest 20-35% érhető el.
- 2. tézis:** Félfolyamatos laboratóriumi termofil anaerob fermentáció során bebizonyítottam, hogy az aprított kocsánytalan tölgy kéreg a fajlagos metántermelését (67 ml/g száraz szerves anyag) a fizikai (mikrohullámú) előkezelés jelentősen (20%) rontotta, míg a kémiai (vizes extrakciós) előkezelés és ezek együttes alkalmazása lényegében nem befolyásolta.
- 3. tézis:** Az aprított fekete bodza faanyag félfolyamatos, laboratóriumi termofil anaerob fermentációja során megállapítottam, hogy a relatív alacsony metánhozam (87 ml / g száraz szerves anyag) az alkalmazott kémiai, fizikai, fizikai-kémiai és biológiai előkezelésekkel javítható. A legkedvezőbb hatás a hidrotermikus (38%-os növekedés) és biológiai (30%-os növekedés) előkezeléssel érhető el.
- 4. tézis:** Félfolyamatos, termofil anaerob fermentációs laborkísérletek során bebizonyítottam, hogy a fekete bodza (*Sambucus nigra* L.) faanyag fehér-, és vörös korhasztó gombákkal (*Coniophora Puteana* (Schumach.) P. Karst; *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.) végzett biológiai előkezelése eredményesen javította a fajlagos metán kihozatalra. Az előkezelés időtartalma jelentős hatással van a metánkihozatalra. Leghatékonyabbnak (30%-os növekedés) a 28 napos előkezelési idő bizonyult. A biológiai előkezelés vörös- és fehér korhasztó gombák egyidejű alkalmazásával 7 nappal lerövidíthető.

8. JAVASLATOK, JÖVŐBENI CÉLOK

Laboratóriumi fermentációs kísérletek során bizonyítottam, hogy a fekete bodza faanyag és a tölgy kéreg alapanyagok alkalmasak biogáz előállításra, megfelelő előkezelési eljárások alkalmazásával, a metánhozam fokozható. Disszertációm megfelelő alapot jelent, az alkalmazott alapanyagok, illetve egyéb erdészeti- és faipari melléktermék biogáz célú hasznosításához, akár ipari méretű felhasználásukhoz. Ám a kutatásom során célul kitűzött kérdések megválaszolása közben, számos új kérdés marad megválaszolatlanul.

A fekete bodza alapanyagon alkalmazott előkezelési eljárások közül a biológiai (korhasztó gombás) előkezelési eljárás alkalmazásával, jelentősen növekedett a fajlagos metánhozam a kezeletlen alapanyaghoz képest. További kutatási lehetőségnek gondolom, egyéb korhasztó gombák alkalmazását is. Elképzelhetőnek tartom, hogy a különböző faanyagok bontásához legjobban specializálódott korhasztó gombafajok és faanyagok párosításával a degradációs hatások növelhető. A korhasztó gombafajok inkubálási idejének növelése is további eredményekhez vezethet.

Tölgy kéreg alapanyag esetében a korhasztó gombás előkezelésre nem került sor a kéregben nagyobb mennyiségben található, fungicid hatású, fenolos jellegű, járulékos anyagok miatt. A biológiai előkezelés fekete bodza faanyagon tapasztalat fajlagos metánhozam növekedésre gyakorolt hatása, indokoltá teszi, hogy a tölgy kéreg alapanyag esetében is kifejlesztésre kerüljön egy hatékony biológiai előkezelési módszer.

A kutatásom továbbfejlesztésének egyik jelentős lépése lenne, az egyéb faanyagokból származó hulladékok, melléktermékek, mint például a nagy mennyiségben kitermelt tölgy, akác, fenyő és nyár faanyagok biogáz termelési vizsgálata.

Másik, nagyon fontos további kutatási cél, hogy a doktori dolgozatomban feltárt eredmények, főként a korhasztó gombás előkezelés, nagyobb mennyiségek esetén is végrehajtható legyen, így haladva egy lépést az ipari alkalmazhatóság felé.

Az ipari léptékű felhasználás kivitelezéséhez elkerülhetetlen az előkezelési technológia felnagyítása is, amely teljesen új technológiai fejlesztést irányoz elő.

9. IRODALOMJEGYZÉK

- Agrawal, A.K. (2007) *Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines*. Prog. Energ. Combust. 33, 233–271
- Alexandropoulou, M., Antonopoulou, G., Fragkou, E., Ntaikou, I., Lyberatos, G. (2016) *Fungal pretreatment of willow sawdust and its combination with alkaline treatment for enhancing biogas production*. J. Environ. Manage. in press
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., Negro, M.J. (2010) *Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review*. Bioresource Technol. 101, 4851–4861
- Amaya, M., Certucha-Barragán, M.T., Almendariz-Tapia F.J. (2013) Chapter 18: *Microbial Biomass in Batch and Continuous System* in Matovic M.D., - *Biomass Now - Sustainable Growth and Use*. ISBN 978-953-51-1105-4
- Atkinson, M. D. & Atkinson, E. (2002) *Sambucus Nigra L.* British-Ecological Society, J. Ecol. 90, 895-923
- Bai, A. (2007) *A biogáz*. Szaktudás Kiadó Ház Rt., Budapest, ISBN: 9789637024306
- Bai, A., Lakner, Z., Marosvölgyi, B., Nábrádi, A. (2002) *A biomassza felhasználása*. Szaktudás Kiadó Ház, Budapest, ISBN: 9789639422469
- Bajpai, P. (2016) Chapter 2: *Structure of Lignocellulosic Biomass*. in Bajpai, P. - *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production*. Springer, ISBN 978-981-10-0687-6
- Barótfi, I. (2003): *Környezettechnika*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, ISBN: 9632860098
- Ben-Ghedalia, D., Miron, J. (1981) *The effect of combined chemical and enzyme treatment on the saccharification and in vitro digestion rate of wheat straw*. Biotechnol. Bioeng. 23, 823–831
- Benito de, F. M., Iglesias, R., Ferreras, J. M., Citores, L., Camafeita E., Mendez, E. & Girbés, T. (1998) *Constitutive and inducible type 1 ribosome-inactivating proteins (RIPs) in elderberry (Sambucus nigra L.)*. FEBS Lett. 428, 75–79
- Behera., B.K., Arora., M., Sharma, D.K. (1996) *Scanning electron microscopic (SEM) studies on structural architecture of lignocellulosic materials of Calotropis procera during its processing for saccharification*. Bioresource Technol. 58, 241-245
- Berlin, A., Balakshin, M., Gilkes, N., Kadla, J., Maximenko, V., Kubo, S., Saddler, J. (2006) *Inhibition of cellulase, xylanase and beta-glucosidase activities by softwood lignin preparations*. J. Biotechnol. 125, 198–209
- Berlin, A., Maximenko, V., Gilkes, N., Saddler, J. (2007) *Optimization of enzyme complexes for lignocellulose hydrolysis*. Biotechnol. Bioeng. 97, 2, 287–296
- Blanchette, R.A. (1991) *Delignification by wood-decay fungi*. Annu. Rev. Phytopathol. 29 381–398

- Boominathan, K., Reddy, C.A. (1992) *cAMP-mediated differential regulation of lignin peroxidase and manganese-dependent peroxidase production in the white-rot basidiomycete Phanerochaete chrysosporium*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 5586–5590
- Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K.B., Ramakrishnan, S. (2011) *Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review*. Enzyme Research, Volume 2011, 17 p.
- Çankaya, N. (2015) Chapter 3: *Cellulose Grafting by Atom Transfer Radical Polymerization Method*. in Poletto, M., and Ornaghi Jr., H.L., *Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends*. ISBN 978-953-51-2229-6
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T. (2012) *Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production*. Renew. Sust. Energ. Rev. 16, 1462-1476
- Christopher, L.P., Yao, B., Ji, Y. (2014) *Lignin biodegradation with laccase-mediator systems*. Front. Energy Res., 2, 12, 1-13
- Czupy, I., Vágvölgyi A., (2011): *Mezőgazdasági (növénytermesztés, állattartás, erdészeti) hulladékok kezelése és hasznosítása*, Digitális Tankönyvtár, (http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0021_Mezogazdasag_hulladeka_i/ch04s04.html / megletekintés dátuma: 2017.05.01.), DOI:10.13140/2.1.3322.6560
- DellaGreca, M., Fiorentino, A., Monaco, P., Previtiera, L., Simonet, A.M. (2000) *Degraded cyanogenic glucosides from Sambucus nigra*. Tetrahedron Lett. 41, 6507-6510
- Deublein, D., Steinhauser A. (2008) *Biogas from waste and renewable sources, an introduction*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, ISBN 978-3-527-31841-4
- Dien, B.S., Li, X.L., Iten, L.B., Jordan, D.B., Nichols, N.N., O'Bryan, P.J., Cotta, M.A. (2006) *Enzymatic saccharification of hot-water pretreated corn fiber for production of monosaccharides*. Enzyme Microb. Tech. 39, 1137–1144
- Dijkerman, R., Bhansing, D. C. P., Op den Camp, H. J. M., van der Drift, C., Vogels, G. (1997) *Degradation of structural polysaccharides by the plant cell-wall degrading enzyme system from anaerobic fungi: An application study*. Enzyme Microb. Tech. 21, 130-136
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956) *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Anal. Chem., 28, 350-356
- Ejechi, B. O., Obuekwe, C. O., & Ogbimi, A. O. (1996) *Microchemical Studies of Wood Degradation by Brown Rot and White Rot Fungi in Two Tropical Timbers*. Int. Biodeter. Biodegr. 119- 122

- Esteghlalian, A., Hashimoto, A.G., Fenske, J.J., Penner, M.H. (1997) *Modeling and optimization of the dilute-sulfuric-acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass*. *Bioresource Technol.*, 59(2-3), 129-136
- Fackler, K., Gradinger, C., Hinterstoisser, B., Messner, K., Schwanninger, M. (2006) *Lignin degradation by white rot fungi on spruce wood shavings during short-time solid-state fermentations monitored by near infrared spectroscopy*. *Enzyme Microb. Tech.* 39, 1476–1483
- Fan, L.T., Gharapuray, M.M., Lee, Y. H. (1987) *Cellulose Hydrolysis*. *Biotechnology Monographs*, Vol. 3, Springer,
- Farkas, G. (1978) *Növényi Biokémia*. Akadémiai Kiadó,
- Feng, X., Castillo, M.d.P., Schnürer, A. (2013) *Fungal pretreatment of straw for enhanced biogas yield*. SGC (Swedish Gas Technology Centre) rapport, Malmö
- Fengel, D., Wegener, G. (1984) *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions* De Gruyter, Berlin
- Field, J.A., Leyendeckers, M.J.H., Alvarez, R.S., Lettinga, G., Habets, L.H.A. (1988) *The methanogenic toxicity of bark tannins and the anaerobic biodegradability of water soluble bark matter*. *Water Sci. Technol.* 20 (1), 219-240
- Fountoulakis, M.S., Dokianakis, S.N., Kornaros, M.E., Aggelis, G.G., Lyberatos G. (2002) *Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus**. *Water Res.* 36 (19), 4735–4744
- Ghosh, A. Bhattacharyya, B.C. (1999) *Biomethanation of white rotted and brown rotted rice straw*. *Bioprocess Eng.* 20(4), 297–302
- Haraldsson, L. (2008) *Anaerobic digestion of sugar beet – fate of plant pathogens and gas potential*. Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Microbiology, Master thesis
- Hatakka, A.I. (1983) *Pretreatment of wheat straw by white-rot fungi for enzymatic saccharification of cellulose*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18, 350–357
- Havlik, P., Schneider, U. A., Schmid, E., Böttcher, H., Fritz, S., Skalský, R., Aoki, K., Cara, De S., Kindermann, G., Kraxner, F., Leduc, S., McCallum, I., Mosnier, A., Sauer, T., Obersteiner, M. (2011) *Global land-use implications of first and second generation biofuel targets*. *Energ. Policy* 39, 5690–5702
- Hendriks, A.T.W.M., Zeeman, G. (2009) *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. *Bioresource Technol.* 100, 10–18
- Horn, S.J., Estevez, M.M., Nielsen, H.K., Linjordet, R., Eijsink, V.G.H. (2011) *Biogas production and saccharification of *Salix* pretreated at different steam explosion conditions*. *Bioresource Technol.* 102, 7932–7936
- Huneck, S., Snatzke, G. (1965) *Über die Triterpene aus der Rinde von *Sambucus nigra* L. und die Darstellung von 3-epi-ursolsäure*. *Chem. Ber.* 98, 120–125

- Inoue, T., Sato, K. (1975) *Triterpenoids of Sambucus nigra and S. canadensis*. *Phytochemistry* 14, 1871–1872.
- Intanakul, P., Krairiksh, M., Kitchaiya, P. (2003) *Enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic wastes by microwave pretreatment Under Atmospheric Pressure*. *J. Wood Chem. Technol.* 23, 2, 217-225
- Jackowiak, D., Bassard, D., Pauss, A., Ribeiro, T. (2011/a) *Optimisation of a microwave pretreatment of wheat straw for methane production*. *Bioresource Technol.* 102, 6750–6756
- Jackowiak, D., Frigon, J.C., Ribeiro, T., Pauss, A., Guiot S. (2011/b) *Enhancing solubilisation and methane production kinetic of switchgrass by microwave pretreatment*. *Bioresource Technol.* 102, 3535–3540
- Jensen, S. R. & Nielsen, B. J. (1973) *Cyanogenic glucosides in Sambucus nigra L.* *Acta Chem. Scand.* 27, 2661–2662
- Jin, W., Singh, K., Zondlo, J. (2013) *Pyrolysis kinetics of physical components of wood and wood-polymers using isoconversion method*. *Agriculture-London* 3, 12-32
- Kaar, W. E., Holtzapple, M. T. (2000) *Using lime pretreatment to facilitate the enzymic hydrolysis of corn stover*. *Biomass Bioenerg.* 18 (3), 189–199
- Kaku, H., Peumans, W. J. & Goldstein, I. J. (1990) *Isolation and characterization of a 2nd lectin (SNA-II) present in elderberry (Sambucus nigra L.) bark*. *Arch. Biochem. Biophys.* 277, 255–262
- Kárpáti, Á. (2002) *Szennyvíziszap rothasztás és komposztálás*. Veszprémi Egyetem
- Kilzer, F.J., Broido, A. (1965) *Speculations on the nature of cellulose pyrolysis*. *Pyrodynamic* 2, 51–163
- Kivaisi, A.K., Eliapenda, S. (1994) *Pretreatment of bagasse and coconut fibres for enhanced anaerobic degradation by rumen microorganisms*. *Renew. Energy.*, 5, 791–795
- Klein-Marcuschamer, D., Oleskowicz-Popiel, P., Simmons, B.A., Blanch H.W. (2012) *The challenge of enzyme cost in the production of lignocellulosic biofuels*. *Biotechnol. Bioeng.* 109, 4, 1083–1087
- Kocsis, I. (2011) *Komposztálás, biogáztermelés*. Digitális Tankönyvtár, Szent István Egyetem, (http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2010-0019_Komposztalas_biogaztermeles/index.html / megtekintés dátuma: 2017.05.01)
- KSH adatok: https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_ome003b.html
- Kumakura, M., Kaetsu, I. (1983) *Effect of radiation pretreatment of bagasse on enzymatic and acid hydrolysis*. *Biomass.* 3, 199–208
- Kumakura, M., Kojima, T., Kaetsu, I. (1982) *Pretreatment of lignocellulosic wastes by combination of irradiation and mechanical crushing*. *Biomass.* 2, 299–308

- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche M. J., Stroeve P. (2009) *Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production*. Ind. Eng. Chem. Res., 48, 3713–3729
- Kurakake, M., Ide, N., Komaki, T. (2007) *Biological pretreatment with two bacterial strains for enzymatic hydrolysis of office paper*. Curr. Microbiol. 54, 424–428
- Kürschner, K., Hoffer, A. (1931) *Eine neue quantitative Cellulosebestimmung*. Chem. Ztg. 17, 161-168
- Kutasi, J. (2007) *Fermentációs biotechnológia*. Glia Kft, Budapest, Digitális tankönyvtár, (<http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tkt/fermentacios/index.html> / megtekintés dátuma: 2017.05.01.)
- Lange, H., Decina, S., Crestini C. (2013) *Oxidative upgrade of lignin-Recent routes reviewed*. Eur. Polym. J. 49 (6), 1151–1173
- Lee, J.W., Kim, H.Y., Koo, B.W., Choi, D.H., Kwon, M. and Choi, I.G. (2008) *Enzymatic Saccharification of Biologically Pretreated Pinus densiflora Using Enzymes from Brown Rot Fungi*. J. Biosci. Bioeng. 106 (2), 162–167
- Liaud, N., Giniés, C., Navarro, D., Fabre, N., Crapart, S., Herpoël- Gimbert, I., Levasseur, A., Raouche, S., Sigoillot, J.C. (2014) *Exploring fungal biodiversity: organic acid production by 66 strains of filamentous fungi*. Fungal Biol. Biotechnol. 1, 1
- López, M.J., Suárez-Estrella, F., Vargas-García, M.C., López-González, J.A., Verstichel, S., Debeer, L., Moreno, J. (2013) *Biodelignification of agricultural and forest wastes: Effect on anaerobic digestion*. Biomass Bioenerg., 58, 343-349
- Lu, Y., Lai, Q., Zhang, C., Zhao, H., Ma, K., Zhao, X., Chen, H., Liu, D., Xing, X. H. (2009) *Characteristics of hydrogen and methane production from cornstalks by an augmented two- or three-stage anaerobic fermentation process*. Bioresource Technol. 100, 2889–2895
- Makk, Á.N., Hofmann, T., Rétfalvi, T. (2013) *A (+)-catechin kinyerése tölgyek kérgéből*. Faipar, 61, 2, 16-26
- Manzano-Agugliaro, F., Alcayde, A., Montoya, F.G., Zapata-Sierra, A., Gil, C. (2013) *Scientific production of renewable energies world wide: An overview*. Renew. Sust. Energ. Rev. 18, 134–143
- McKendry, P. (2002) *Energy production from biomass (part 1): overview of biomass*. Bioresource Technol. 83, 37–46
- Mes-Hartree, M., Dale, B.E., Craig, W.K. (1988) *Comparison of steam and ammonia pretreatment for enzymatic hydrolysis of cellulose*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 29, 462–468
- Meyer, F., Paarmann, D., D'Souza, M., Olson, R., Glass, E.M., Kubal, M., Paczian, T., Rodriguez, A., Stevens, R., Wilke, A., Wilkening, J., Edwards, R.A. (2008) *The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes*. BMC Bioinformatics, 9, 386

- Millet, M.A., Baker, A.J., Scatter, L. D. (1976) *Physical and chemical pretreatment for enhancing cellulose saccharification*. Biotech. Bioeng. Symp. 6, 125–153
- Molnár, S. (2004) *Faanyagismeret*. Szaktudás Kiadó Ház Rt., ISBN: 9789639553170
- Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer, J.-P., Carrère H. (2014) *Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review*. Biotechnol. Adv. 32, 934-951
- Morjanoff, P.J., Gray, P.P. (1987) *Optimization of steam explosion as method for increasing susceptibility of sugarcane bagasse to enzymatic saccharification*. Biotechnol. Bioeng. 29, 733–741
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y, Holtzapple, M., Ladisch, M. (2005) *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*. Bioresource Technol. 96, 6, 673–686
- Németh K. (1998) *A faanyag degradációja*. Szaktudás Kiadó Ház Rt., ISBN: 9633562260
- Nigam, P., Singh A. (2011) *Production of liquid biofuels from renewable resources*. Prog. Energ. Combust. 37, 52–68
- Nsimba-Lubaki, M., Peumans, W.J. (1986) *Seasonal fluctuations of lectins in barks of elderberry (Sambucus nigra) and black locust (Robinia pseudoacacia)*. Plant Physiol. 80, 747–751
- Patil, P.N., Gogate, P.R., Csóka, L., Dregelyi-Kiss, Á., Horvath, M. (2016) *Intensification of biogas production using pretreatment based on hydrodynamic cavitation*. Ultrason. Sonochem. 30, 79–86
- Phaiboonsilpa, N., Saka, S. (2011) *Effect of acetic acid addition on chemical conversion of woods as treated by semi-flow hot-compressed water*. Holzforschung 65, 667-672
- Phaiboonsilpa, N., Tamuaidu, P., Saka, S. (2011) *Two-step hydrolysis of nipa (Nypa fructicans) frond as treated by semi-flow hot compressed water*. Holzforschung 65, 659-666
- Ray, M.J., Leak, D.J., Spanu, P.D., Murphy, R.J. (2010) *Brown rot fungal early stage decay mechanism as a biological pretreatment for softwood biomass in biofuel production*. Biomass Bioenerg. 34, 1257-1262
- Rétfalvi, T., Szabó, P., Tukacs-Hájos, A., Albert, L., Kovács, A., Milics, G., Neményi, M., Lakatos, E., Ördög, V. (2016) *Effect of co-substrate feeding on methane yield of anaerobic digestion of Chlorella vulgaris*. J. Appl. Phycol. 28(5), 2741–2752
- Salati, S., D'Imporzano, G., Panseri, S., Pasquale, E., Adani F. (2014) *Degradation of aflatoxin B1 during anaerobic digestion and its effect on process stability*. Int. Biodeter. Biodegr. 94, 19-23

- Salehian, P., Karimi, K. (2013) *Alkali pretreatment for improvement of biogas and ethanol production from different waste parts of pine tree*. Ind. Eng. Chem. Res. 52, 972–978
- Sánchez, C. (2009) *Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi*. Biotechnol. Adv. 27, 185–194
- Sannigrahi, P., Pu, Y., Ragauskas, A. (2010) *Cellulosic biorefineries – unleashing lignin opportunities*. Curr. Opin. Environ. Sustain. 2, 383–393
- Schadel, C., Blöchl, A., Richter, A., Hoch, G. (2010) *Quantification and monosaccharide composition of hemicelluloses from different plant functional types*. Plant Physiol. Biochem. 48, 1–8
- Shafizadeh, F., Bradbury, A.G.W. (1979) *Thermal degradation of cellulose in air and nitrogen at low temperatures*. J. Appl. Poly. Sci. 23, 1431–1442
- Sierra-Alvarez, R., Field, J.A., Kortekaas, S., Lettinga, G. (1994) *Overview of the anaerobic toxicity caused by organic forest industry wastewater pollutants*. Water Sci. Technol. 29 (5-6), 353 - 363.
- Sims R.E.H., Mabee W., Saddler J.N., Taylor M. (2010) *An overview of second generation biofuel technologies*. Bioresource Technol. 101, 1570–1580
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965) *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144–158
- Sivers, M.V., Zacchi, G. (1995) *A techno-economical comparison of three processes for the production of ethanol from pine*. Bioresource Technol. 51, 43–52
- Smet, E., Van Langenhove, H., De Bo, I. (1999) *The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste*. Atmos. Environ. 33, 1295–1303
- Sreenath, H.K., Koegel, R.G., Moldes, A.B., Jeffries, T.W., Straub, R.J. (1999) *Enzymic saccharification of alfalfa fibre after liquid hot water pretreatment*. Process Biochem. 35, 33–41
- Sun, Y., Cheng J. (2002) *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*. Bioresource Technol. 83 (1), 1–11
- Szulmanné Binet M. (2007) *Folyékony bioüzemanyagok (bioetanol, biodizel) - a műszaki és iparjogvédelmi háttér áttekintése*. Iparjogvédelmi és szerzői jogi szemle 2. (112.), 5, 5-31
- Taherzadeh, M. J., Karimi, K. (2008) *Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review*. Int. J. Mol. Sci. 9, 9, 1621-1651
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. (2007) *Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials - A review*. BioResources. 2, 472–499

- Tamás, J., Blaskó L. (2008) *Environmental Management*. Debreceni Egyetem, Digitális Tankönyvtár (http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0032_kornyezet-technologia/adatok.html / megtekintés dátuma: 2017.03.18.)
- Taniguchi, M., Suzuki, H., Watanabe, D., Sakai, K., Hoshino, K., Tanaka, T. (2005) *Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw*. J. Biosci. Bioeng. 100 (6), 637-643
- Tarkow, H., Fiest, W.C. (1969) *A Mechanism for Improving the Digestibility of Lignocellulosic Materials with Dilute Alkali and Liquid NH₃*. Adv. Chem. 95, 197–218
- Tomme, P., Warren R.A., Gilkes N.R. (1995) *Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi*. Adv. Microb. Physiol. 37, 1-81
- Torget, R., Himmel, M.E., Grohmann, K. (1991) *Dilute sulfuric acid pretreatment of hardwood bark*. Bioresource Technol. 35, 239–246
- Tuor, U., Winterhalter, K., Fiechter, A. (1995) *Enzymes of white-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay*. J. Biotechnol. 41, 1-17
- Varga, E. (2003) *Kukoricaszár előkezelés és enzimes hidrolízise üzemanyagcélú alkohol előállításához*. BME, PhD értekezés tézisei
- Varga-Erdei, É. (2011) *Kluyveromyces marxianus élesztő törzsek fejlesztése bioetanol termelés céljából*. Doktori disszertáció, Debreceni Egyetem
- Veberic, R., Jakopic, J., Stampar, F., Schmitzer, V. (2009) *European elderberry (*Sambucus nigra* L.) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols*. Food Chem. 114 (2), 511–515
- Vidal, P.F., Molinier, J. (1988) *Ozonolysis of lignin-improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust*. Biomass, 16 (1), 1-17
- Visiné Rajczi, E. (2008) *Bükk (*Fagus sylvatica* L.) extraktanyagok képződése akkumulációja és megoszlása*. PhD disszertáció, Nyugat-Magyarországi Egyetem
- Vlasenko, E.Y., Ding, H., Labavitch, J.M., Shoemaker, S.P. (1997) *Enzymatic hydrolysis of pretreated rice straw*. Bioresour. Technol. 59, 109–119
- Ward, J.A., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones D. L. (2008) *Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources*. Bioresource Technol. 99, 7928-7940
- Xiao, W.P., Clarkson, W.W. (1997) *Acid solubilization of lignin and bioconversion of treated newsprint to methane*. Biodegradation 8, 61–66
- Xu, G., Goodell, B. (2001) *Mechanisms of wood degradation by brown-rot fungi: chelator-mediated cellulose degradation and binding of iron by cellulose*. J. Biotechnol. 87, 43–57
- Yang, B.Y., Montgomery, R. (1996) *Alkaline degradation of glucose: effect of initial concentration of reactants*. Carbohydr. Res. 280 (1), 27-45

- Zeng, M., Mosier, N.S., Huang, C.P., Sherman, D.M., Ladisch, M.R. (2007) *Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis*. Biotechnol. Bioeng., 97 (2), 265-278
- Zhang, Q., Tang, L., Zhang, J., Mao, Z., Jiang, L. (2011) *Optimization of thermal-dilute sulfuric acid pretreatment for enhancement of methane production from cassava residues*. Bioresource Technol. 102, 3958–3965
- Zhao, J., Zheng, Y., Li, Y. (2014) *Fungal pretreatment of yard trimmings for enhancement of methane yield from solid-state anaerobic digestion*. Bioresource Technol. 156, 176–181
- Zheng, Y.Z., Lin, H.M., Tsao, G.T. (1998) *Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion*. Biotechnol. Prog. 14, 890– 896
- Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Wang, C., Yu, F., Jin, S., Ding, Y., Chi, R., Liao, J., Zhang, Y. (2006) *Comparison of three microwave/chemical pretreatment processes for enzymatic hydrolysis of rice straw*. Biosyst. Eng. 93, 279–283

Saját publikációk:

- Makk, Á., Bak, M., Hofmann T., Németh, R., Rétfalvi T. (2014) *Effect of fungal pretreatment on anaerob fermentation of bourtree (Sambucus Nigra)*. IAWS, ISBN:978-963-334-191-9, 23-24
- Makk, Á., Rétfalvi, T., Hofmann, T., Németh, R., Bak. M. (2014) *Fekete bodza (Sambucus nigra L.) faanyag fehér- (Pleurotus ostreatus L.) és vöröskorhasztó (Coniophora puteana L.) gombákkal való kezelése*. DOSZ, ISBN: 978-963-89560-9-5, 289-299
- Makk Á.N., Hofmann T., Rétfalvi T. (2013) *A (+)-catechin kinyerése tölgyek kérgéből*. Faipar, 61 (2), 16-26
- Makk, Á.N., Rétfalvi, T., Hofmann, T., Farkas, B. (2013) *Lignocellulózok anaerob fermentációja - Az előkezelés hatása*. Nyugat-magyarországi Egyetem Kiadó, ISBN:978-963-334-147-6, 71-76
- Makk, Á., Hofmann, T., Rétfalvi, T. (2012) *Lignocellulóz rendszerek előkezelési lehetőségei az anaerob fermentáció elősegítésére*. MTA, Természetes Polimerek Munkabizottsági ülés, Konferencia előadás, Sopron
- Hofmann, T., Makk, Á.N., Rétfalvi T., Albert, L. (2009) *Antioxidáns polifenolok kinyerése tölgyek kérgéből*. IX. Környezetvédelmi analitikai és technológiai konferencia, Környezetvédelem és élelmiszerminőség a III. évezredben, Konferencia poszter előadás, Sopron
- Albert, L., Hofmann, T., Rajczi E., Csepregi, I., Makk, Á. (2007) *Polifenolok kinyerése: Extrakciós eljárások hatékonyságának vizsgálata*. EMK Konferencia, Konferencia poszter előadás, Sopron,

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. habil Rétfalvi Tamásnak, a Soproni Egyetem, EMK, Kémiai Intézet igazgatójának, szakmai irányítását és hogy a kutatásomhoz mindent biztosított.

Köszönettel tartozok témavezetőmnek, Dr. habil Hofmann Tamásnak, a kutatásomban és a disszertációm elkészülésében nyújtott rengeteg segítségért, a szakmai és emberi támogatásért.

Szeretném megköszönni a Kémiai Intézet minden egyes munkatársának segítőkészségét, melyet irányomba tanúsítottak.

A korhasztó gombás előkezelés megtervezésében, kivitelezésében és az elektronmikroszkópos felvételek elkészítésében nyújtott rengeteg munkát szeretném megköszönni Dr. Bak Miklósnak és Prof. Dr. Németh Róbertnek.

A genomikai vizsgálatokban végzett munkáért köszönet illeti az MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai Intézet munkatársait, különös tekintettel Dr. Maróti Gergelyt.

A Soproni Egyetem, SKK, FTTI, Cellulóz és Biomakromolekuláris Kutatócsoport munkatársainak, Prof. Dr. Csóka Leventének, Dr. Halász Katalinnak, Yanin Hosakun-nak és Worakan Hosakun-nak köszönettel tartozom és megtisztelő, hogy kitüntettek barátságukkal.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni szüleimnek a rengeteg szakmai tanácsot, anyagi támogatást, és biztatást. Hálával tartozok menyasszonyomnak, továbbá családtagjaimnak, barátaimnak a folyamatos támogatásért.

11. MELLÉKLETEK

I. melléklet Híg ecetsavval előkezelt fekete bodza alapanyag biogáztermelési adatai

nap	K (ml)	B+E (ml)	E (ml)	K adagolás (g)	B+E adagolás (g)	E adagolás (g)	K adagolás (g sz.a.)	B+E adagolás (g sz.a.)
1	310	310	180	2,86	5,00	3,74	2	1,26
2	200	440	110	2,86	5,75	4,30	2	1,45
3	220	510	90	2,86	6,61	4,95	2	1,66
4	200	800	90	2,86	7,60	5,69	2	1,91
5	380	840	140	2,86	7,60	5,69	2	1,91
6	200	590	430	2,86	8,74	6,54	2	2,20
7	150	740	550	2,86	10,00	7,49	2	2,52
8	180	810	490	2,86	10,00	7,49	2	2,52
9	320	740	470	2,86	10,00	7,49	2	2,52
10	160	750	500	2,86	10,00	7,49	2	2,52
11	150	740	540	2,86	10,00	7,49	2	2,52
12	130	820	560	2,86	10,00	7,49	2	2,52
13	150	740	480	2,86	10,00	7,49	2	2,52
14	260	800	550	2,86	10,00	7,49	2	2,52
15	190	740	540	2,86	10,00	7,49	2	2,52
16	210	800	480	2,86	10,00	7,49	2	2,52
17	230	570	360	2,86	7,80	5,84	2	1,96
18	320	170	50	2,86			2	
19		200	40	2,86			2	
20	260	200	60	2,86			2	
21	160	120	20	2,86			2	
22	260	60	40	2,86			2	
23	280	100	120	2,86			2	
24	250	80	220	2,86			2	
25	140	90	300	2,86			2	
26	270	60	230	2,86			2	
27	170	250	160	2,86	5,00	3,74	2	1,26
28	280	450	370	2,86	5,75	4,30	2	1,45
29	160	420	340	2,86	6,61	4,95	2	1,66
30	260	520	340		7,60	5,69		1,91
31	120	530	420		8,75	6,55		2,20
32	170	740	520		10,00	7,49		2,52
33	140	660	480		10,00	7,49		2,52
34	120	740	480		10,00	7,49		2,52
35	120	780	520		10,00	7,49		2,52
36	210	810	540		10,00	7,49		2,52
37	120	730	540					
38	130	790	580					
39	110	760	480					
40	130	780	550					
41	130	840	490					
42	120	880	570					
43	120	730	540					
44	140	250	40					
45	160	140	40					
46	150	70	20					
47	300	90	10					
48	380	50	20					
49	440	150	60					
50	190	50	20					

II. melléklet Mikrohullámmal előkezelt fekete bodza alapanyag biogáztermelési adatai

nap	K (ml)	M (ml)	K adagolás (g)	M adagolás (g)	K adagolás (g sz.a.)	M adagolás (g sz.a.)	nap	K (ml)	M (ml)	K adagolás (g)	M adagolás (g)	K adagolás (g sz.a.)	M adagolás (g sz.a.)
1	90	120	2,86	2,06	2	2	41	150	320	2,86	2,06	2	2
2	180	110	2,86	2,06	2	2	42	260	470	2,86	2,06	2	2
3	150	110	2,86	2,06	2	2	43	190	400	2,86	2,06	2	2
4	240	200	2,86	2,06	2	2	44	210	250	2,86	2,06	2	2
5	250	220	2,86	2,06	2	2	45	230	200	2,86	2,06	2	2
6	160	140	2,86	2,06	2	2	46	320	250	2,86	2,06	2	2
7	170	160	2,86	2,06	2	2	47	220	220	2,86	2,06	2	2
8	180	180	2,86	2,06	2	2	48	260	260	2,86	2,06	2	2
9	180	180	2,86	2,06	2	2	49	160	190	2,86	2,06	2	2
10	180	150	2,86	2,06	2	2	50	260	240	2,86	2,06	2	2
11	250	200	2,86	2,06	2	2	51	280	240	2,86	2,06	2	2
12	300	260	2,86	2,06	2	2	52	250	240	2,86	2,06	2	2
13	250	130	2,86	2,06	2	2	53	140	260	2,86	2,06	2	2
14	180	150	2,86	2,06	2	2	54	270	220	2,86	2,06	2	2
15	190	310	2,86	2,06	2	2	55	170	150	2,86	2,06	2	2
16	170	300	2,86	2,06	2	2	56	280	180	2,86	2,06	2	2
17	150	170	2,86	2,06	2	2	57	160	230	2,86	2,06	2	2
18	210	210	2,86	2,06	2	2	58	260	160	2,86	2,06	2	2
19	240	270	2,86	2,06	2	2	59	120	150				
20	200	220	2,86	2,06	2	2	60	170	140				
21	260	250	2,86	2,06	2	2	61	140	140				
22	180	190	2,86	2,06	2	2	62	120	130				
23	180	230	2,86	2,06	2	2	63	120	140				
24	220	160	2,86	2,06	2	2	64	210	240				
25	280	320	2,86	2,06	2	2	65	120	140				
26	160	190	2,86	2,06	2	2	66	130	150				
27	200	190	2,86	2,06	2	2	67	110	110				
28	310	270	2,86	2,06	2	2	68	130	140				
29	310	250	2,86	2,06	2	2	69	130	150				
30	200	240	2,86	2,06	2	2	70	120	140				
31	220	230	2,86	2,06	2	2							
32	200	180	2,86	2,06	2	2							
33	380	250	2,86	2,06	2	2							
34	200	190	2,86	2,06	2	2							
35	150	230	2,86	2,06	2	2							
36	180	240	2,86	2,06	2	2							
37	320	190	2,86	2,06	2	2							
38	160	220	2,86	2,06	2	2							
39	150	190	2,86	2,06	2	2							
40	130	250	2,86	2,06	2	2							

III. melléklet Hidrotermikus módon előkezelt fekete bodza alapanyag biogáztermelési adatai

nap	K (ml)	150 °C (ml)	210°C (ml)	K (g)	150 °C (g)	210°C (g)	K (g sz.a.)	150 °C (g sz.a.)	210°C (g sz.a.)
1	310	70	140	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
2	200	90	30	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
3	220	160	20	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
4	200	120	40	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
5	380	120	80	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
6	200	160	80	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
7	150	110	70	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
8	180	160	90	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
9	320	140	110	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
10	160	170	170	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
11	150	120	180	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
12	220	120	130	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
13	150	120	100	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
14	260	110	80	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
15	190	120	110	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
16	210	80	120	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
17	230	110	110	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
18	320	100	190	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
19	260	180	90	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
20	240	130	100	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
21	260	140	110	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
22	280	170	90	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
23	250	110	120	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
24	140	110	130	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
25	270	90	100	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
26	170	110	150	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
27	280	70	80	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
28	160	130	90	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
29	520	110	120	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
30	240	90	140	2,86	5	5	2	0,527	0,4555
31	340	90	90						
32	280	60	30						
33	240	10	50						
34	240	50	50						
35	420	30	50						
36	240	10	20						
37	260	20	20						
38	220	50	20						
39	260	30	20						
40	260	70	40						
41	240	50	60						
42	240	60	70						
43	280	40	20						
44	320	50	20						
45	300	40	30						

IV. melléklet 150 °C-on fizikai-kémiai módon előkezelt faanyag biogáztermelési adatai

nap	K	150 °C+2%E (ml)	150 °C+ 4%E (ml)	150 °C (g)	150 °C+2%E (g)	150 °C+4%E (g)	K	150 °C+2%E (g sz.a.)	150 °C+4%E (g sz.a.)
1	210	220	220	2,86	5	5	2	0,494	0,437
2	230	130	230	2,86	5	5	2	0,494	0,437
3	320	180	220	2,86	5	5	2	0,494	0,437
4	260	310	200	2,86	5	5	2	0,494	0,437
5	240	160	200	2,86	5	5	2	0,494	0,437
6	150	220	230	2,86	5	5	2	0,494	0,437
7	220	170	220	2,86	5	5	2	0,494	0,437
8	150	270	280	2,86	5	5	2	0,494	0,437
9	260	160	280	2,86	5	5	2	0,494	0,437
10	190	160	250	2,86	5	5	2	0,494	0,437
11	260	160	290	2,86	5	5	2	0,494	0,437
12	280	170	240	2,86	5	5	2	0,494	0,437
13	250	180	230	2,86	5	5	2	0,494	0,437
14	140	230	200	2,86	5	5	2	0,494	0,437
15	270	130	200	2,86	5	5	2	0,494	0,437
16	200	160	250	2,86	5	5	2	0,494	0,437
17	150	140	220	2,86	5	5	2	0,494	0,437
18	180	240	220	2,86	5	5	2	0,494	0,437
19	320	200	220	2,86	5	5	2	0,494	0,437
20	160	250	190	2,86	5	5	2	0,494	0,437
21	170	180	320	2,86	5	5	2	0,494	0,437
22	280	220	300	2,86	5	5	2	0,494	0,437
23	160	90	280	2,86	5	5	2	0,494	0,437
24	520	210	250	2,86	5	5	2	0,494	0,437
25	240	190	280	2,86	5	5	2	0,494	0,437
26	340	200	230	2,86	5	5	2	0,494	0,437
27	280	80	200	2,86	5	5	2	0,494	0,437
28	240	220	250	2,86	5	5	2	0,494	0,437
29	240	170	200	2,86	5	5	2	0,494	0,437
30	420	180	230	2,86	2,4	4,05	2	0,237	0,354
31	310	70	80						
32	200	60	80						
33	220	60	70						
34	200	40	70						
35	380	40	70						

VI. melléklet 14 napig biológiai módon előkezelt fekete bodza faanyag biogáztermelési adatai

nap	K (ml)	F14 (ml)	V14 (ml)	K (g)	F14 (g)	V14 (g)	K (g sz.a.)	F14 (g sz.a.)	V14 (g sz.a.)
1	360	270	200	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
2	290	270	170	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
3	280	200	160	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
4	540	500	320	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
5	710	620	390	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
6	840	710	480	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
7	790	620	590	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
8	580	540	600	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
9	720	460	440	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
10	550	340	360	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
11	660	400	370	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
12	570	130	350	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
13	330	290	220	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
14	190	200	160	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
15	170	320	700	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
16	180	290	600	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
17	120	290	370	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
18	340	570	600	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
19	400	690	500	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
20	500	660	520	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
21	590	560	640	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
22	640	560	540	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
23	460	560	520	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
24	330	420	500	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
25	340	460	490	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
26	360	440	500	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
27	240	220	280	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07
28	140	200	110	6,15	6,15	6,15	3,35	3,19	2,07

VII. melléklet 21 napig biológiai módon előkezelt fekete bodza faanyag biogáztermelési adatai

nap	K (ml)	F21 (ml)	V21 (ml)	V+F21 (ml)	K (g)	F21 (g)	V21 (g)	V+F21 (g)	K (g sz.a.)	F21 (g sz.a.)	V21 (g sz.a.)	V+F21 (g sz.a.)
1	260	220	240	110	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
2	230	130	150	80	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
3	210	80	180	150	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
4	260	150	240	180	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
5	250	240	280	160	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
6	200	180	180	160	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
7	70	80	170	250	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
8	330	230	220	160	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
9	140	360	240	140	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
10	160	140	180	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
11	140	140	200	200	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
12	250	220	230	340	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
13	170	160	200	240	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
14	220	120	160	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
15	80	120	220	150	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
16	280	160	230	200	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
17	220	100	210	170	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
18	140	170	190	160	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
19	140	80	100	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
20	180	150	120	200	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
21	170	100	220	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
22	130	220	150	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
23	150	80	110	160	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
24	120	110	140	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
25	210	240	210	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
26	190	240	150	150	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
27	250	120	200	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
28	210	130	190	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
29	170	110	120	50	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
30	240	240	290	150	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
31	200	180	230	120	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
32	200	210	180	250	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
33	240	210	220	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
34	240	240	220	180	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
35	150	160	190	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
36	160	60	180	160	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
37	250	320	210	230	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
38	280	300	230	240	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
39	140	170	160	190	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
40	210	200	190	200	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
41	230	220	240	230	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
42	190	150	200	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
43	210	200	200	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
44	160	40	160	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
45	200	300	240	173	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
46	200	240	220	173	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
47	190	180	190	173	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
48	130	140	130	170	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
49	170	160	120	280	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
50	200	180	220	200	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
51	140	150	140	180	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
52	90	140	160	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
53	110	160	140	260	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
54	220	220	240	220	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
55	160	180	170	200	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
56	200	200	190	190	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
57	200	160	190	210	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
58	100	130	120	180	1,79	2,25	2,55	4,04	1,03	1,04	1,05	1,04
59				180				4,04				1,04
60				220				4,04				1,04

VIII. melléklet 28 napig biológiai módon előkezelt fekete bodza faanyag
biogáztermelési adatai

nap	K (ml)	F28 (ml)	V28 (ml)	K (g)	F28 (g)	V28 (g)	K (g sz.a.)	F28 (g sz.a.)	V28 (g sz.a.)
1	155	120	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
2	85	70	60	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
3	145	70	110	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
4	190	110	200	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
5	185	190	200	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
6	145	150	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
7	185	260	260	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
8	100	90	110	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
9	140	150	140	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
10	135	150	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
11	150	120	190	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
12	180	180	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
13	235	320	370	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
14	170	160	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
15	155	150	160	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
16	140	150	160	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
17	185	210	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
18	145	160	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
19	175	180	210	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
20	180	200	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
21	160	160	170	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
22	145	130	130	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
23	135	160	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
24	170	160	190	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
25	135	150	240	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
26	120	160	250	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
27	130	150	230	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
28	180	220	260	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
29	115	120	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
30	130	170	200	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
31	135	180	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
32	170	130	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
33	215	230	250	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
34	120	110	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
35	170	170	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
36	95	120	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
37	175	190	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
38	160	200	240	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
39	120	120	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
40	140	210	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
41	185	240	280	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
42	150	200	230	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
43	125	150	170	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
44	145	190	200	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
45	107	140	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
46	107	140	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
47	107	140	150	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
48	115	180	190	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
49	155	280	230	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
50	140	180	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
51	125	170	190	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
52	140	170	190	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
53	150	210	240	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
54	150	210	240	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
55	135	120	160	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
56	120	200	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
57	125	180	220	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
58	155	170	190	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
59	135	140	170	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04
60	180	130	180	1,84	3,14	2,46	1,03	1,03	1,04

X. melléklet Cellulóz tartalom adatok

minta	%		
K	48,32	50,17	47,16
F14	49,71	47,30	48,49
V14	44,72	47,25	44,23
F21	46,13	49,73	49,91
V21	51,86	49,74	48,71
V28	47,89	48,76	51,58
F28	59,56	59,10	63,32
V+F21	44,98	44,25	42,41

XI. melléklet Összes kioldható szénhidrát adatok

minta	mg/g száraz anyag		
K	36,54	42,02	39,32
F14	10,59	12,76	11,25
V14	19,02	19,47	21,79
F21	7,91	8,86	10,67
V21	15,55	16,41	15,61
V+F21	35,67	37,04	28,83
F28	27,61	26,49	21,10
V28	25,17	24,24	24,14

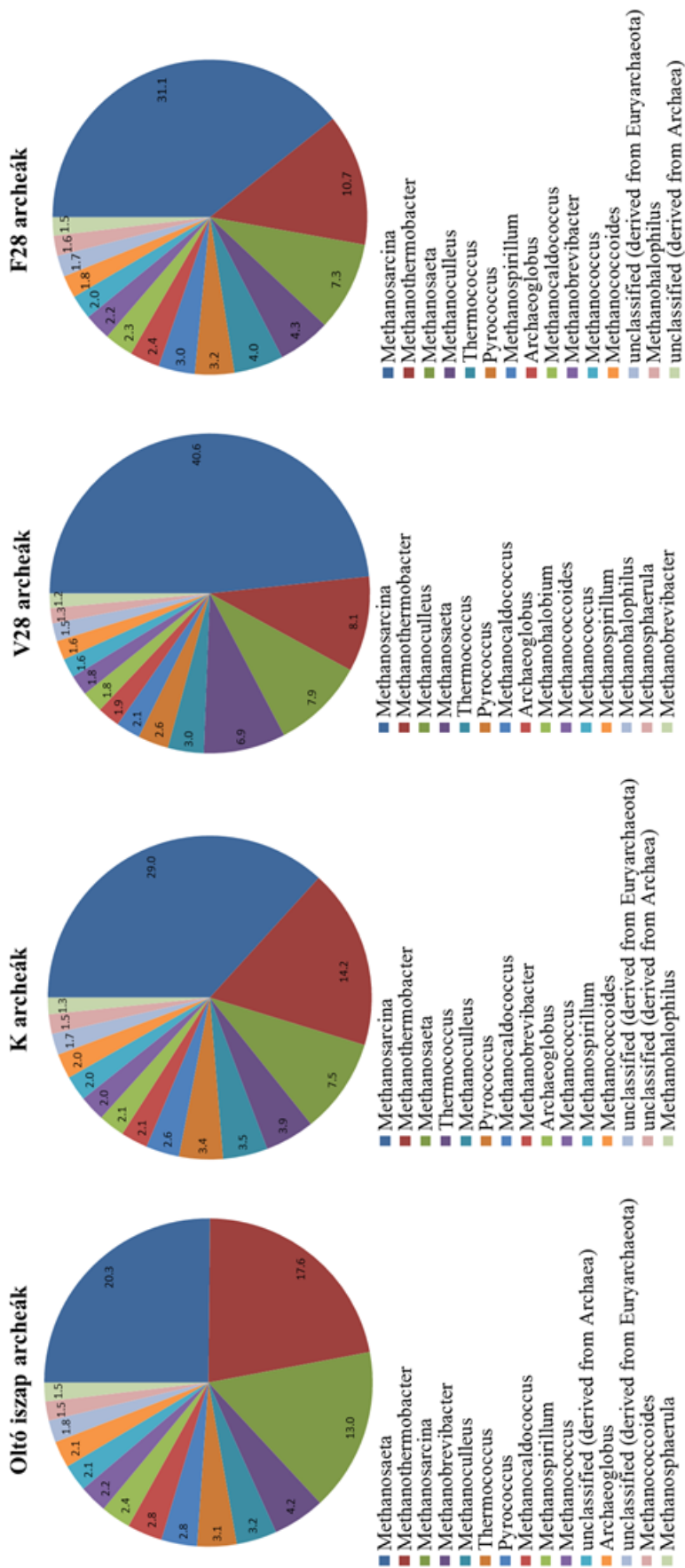
XII. melléklet Totálfenol tartalom adatok

minta	mmol/100g száraz anyag		
K	1,32	1,17	1,21
F14	0,43	0,41	0,41
V14	2,73	2,61	2,68
F21	0,39	0,41	0,38
V21	0,82	0,80	0,88
F28	0,76	0,74	0,80
V28	0,92	0,92	0,95
V+F21	1,16	1,18	1,06

XIII. melléklet Szárazanyag tartalom adatok

minta	%		
K	59,91	52,82	55,12
F14	53,23	53,93	53,53
V14	34,29	35,11	34,99
F21	43,02	45,67	44,87
V21	39,10	38,80	39,94
V+F21	25,19	26,79	25,13
F28	31,89	31,65	34,95
V28	41,50	42,64	42,60

XV. melléklet A különböző iszap minták archea nemzetség összetétele



Oltó iszap: kezdeti iszap; K: kezeletlen fekete bodzával adagolt iszap; V28: 28 napig vörös korhasztó gombával kezelt fekete bodza alapanyaggal adagolt iszap; F28: 28 napig fehér korhasztó gombával kezelt fekete bodza alapanyaggal adagolt iszap

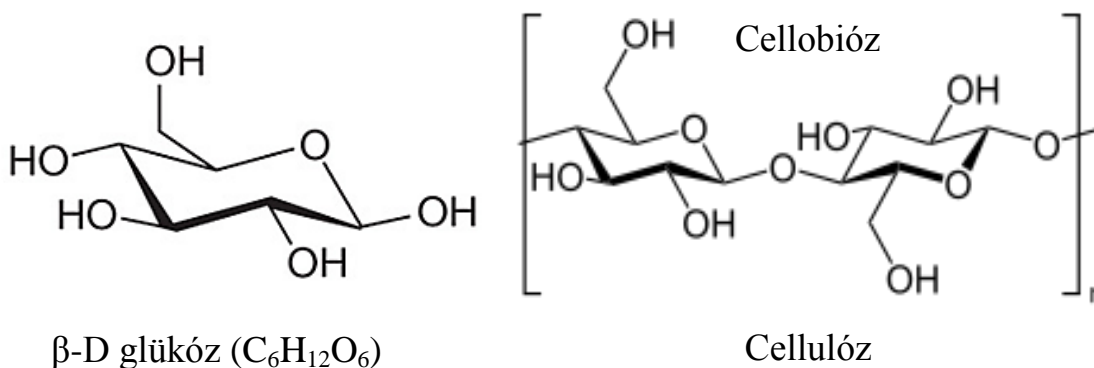
XVI. melléklet HPLC-MS technikával meghatározott szerves savak adatai

minta	almasav (µg/g sz.a.)			borkősav (µg/g sz.a.)			citromsav (µg/g sz.a.)		
K	363	373	377	38	37	37	1443	1530	1540
V14	136	140	144	154	157	158	1930	1967	1983
V21	102	99	100	110	111	110	887	913	920
V28	162	165	164	123	122	131	71	69	71
V+F21	115	115	118	79	81	81	67	66	65
F14	603	573	593	98	96	94	98	96	97
F21	254	248	257	66	68	70	69	70	69
F28	118	116	120	86	86	87	69	68	68

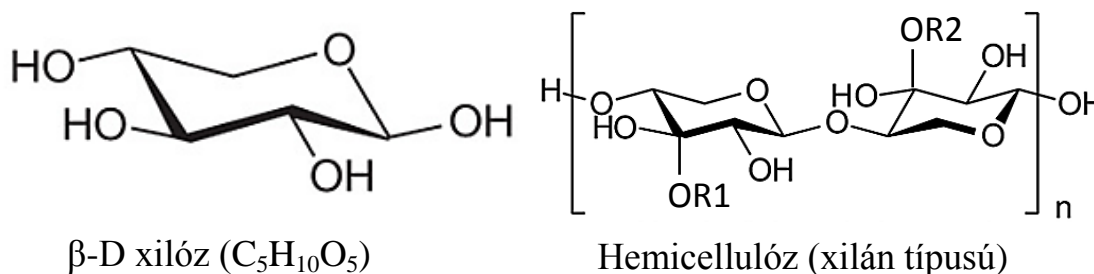
XVII. melléklet A cellulózzal, hemicellulózzal, és az őket felépítő monomerekkel kapcsolatos képletek

fény

- A fotoszintézis reakcióegyenlete: $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$
szén-dioxid víz glükóz oxigén
- A β-D glükóz és a cellobióz egységekből felépülő cellulóz szerkezeti képlete:



- A xilóz és a xilóz egységekből felépülő xilán típusú hemicellulóz szerkezeti képlete:



Az R1 és R2 jelölések a hemicellulóz elágazó jellegből adódó egy vagy többértékű cukrok kötési helyeit jelölik.