



ELKH | Eötvös Loránd
Kutatási Hálózat

UNIVERSITAS SCIENTIARUM SZEGEDIENSIS
SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

**Komplex anaerob mikroba-közösség
alkalmazása a „Power-to-Biomethane”
technológiában.**

SZUHAJ MÁRK

Ph.D. értekezés tézisei

Témavezető:

Dr. Bagi Zoltán
Egyetemi adjunktus

Biológia Doktori Iskola

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi és Informatikai Kar
Biotechnológiai Tanszék

2022

BEVEZETÉS

A globális népességnövekedés és a technológia rohamos fejlődése miatt társadalmunk fokozott mértékben nyúlt hozzá bolygónk fosszilis készleteihez. Földünk fosszilis készletei azonban kimerülőben vannak, és hamarosan nem lesznek képesek ellátni folyamatosan növekvő szükségleteket, valamint felhasználásuk során a légkörbe kerülő üvegházható gázok jelentős mértékben járulnak hozzá Földünk klímájának rohamos mértékű előnytelen változásához.

Az elmúlt néhány évtizedben a megújuló energiaforrások hasznosítására alkalmazott technológiák rohamos fejlődésen mentek keresztül, amelyeknek köszönhetően napjainkban már egész régiók energiaszükségletét képesek vagyunk fedezni csupán megújuló forrásból. Azonban a megújuló energiahordozók által biztosított fel nem használt „zöld-áramot” a veszteségek elkerülése érdekében érdemes alternatív energiahordozók formájában tárolni. Ilyen alternatív energiahordozó a H_2 , amely amellet, hogy számos előnnyel rendelkezik, tárolására és szállítására létező technológiák nem elég biztonságosak és gazdaságosak. A „Power-to-Gas” technológia során az anaerob biogáz fermentáló mikrobaközösség fontos részét képező hidrogenotróf metanogének segítségével a H_2 CH_4 -ná alakítható. A CH_4

könnyen tárolható, szállítható energiahordozó a létező földgáz hálózatok segítségével és kényelmes potenciális alternatív energiahordozója a „zöld áramnak”.

Dolgozatomban a biogáz fermentációja során keletkező fermentációs maradék és annak mikrobaközösségének felhasználási lehetőségeit mutatom be, mint a „PtBioCH₄” folyamat alternatív katalizátorát. Célom az anaerob kevert mikrobakultúra anyagcsere folyamatainak vizsgálata, nyomon követése, H₂-ben gazdag fermentációs körülmények között, valamint a mikrobiális összetétel-változások bemutatása.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Vizsgálataim során a fermentációs maradék mikrobáinak anyagcserefolyamatait 120 ml térfogatú szérum üvegekben követtem nyomon. A méréseim során a H_2 -t, CO_2 -ot szakaszosan, műanyag fecskendő segítségével juttattam a reaktorok légterébe. A fermentáció során végbemenő gázösszetéleri változásokat gázkromatográf (GC) segítségével követtem nyomon. A fermentációs elegy pH-ját pH mérő segítségével határoztam meg. A mikrobiális anyagcserefolyamtok által katalizált szervessav-összetétel változásokat folyadékkromatográf (HPLC) segítségével ellenőriztem.

A H_2/CO_2 -ban gazdag környezet hatására átalakult mikrobiális összetétel metagenomikai vizsgálatok segítségével követtem nyomon. A minták szekvenálását Ion Torrent PGM™ útmutatója alapján végeztem. Leolvasás- és genomcentrikus elemzések segítségével meghatároztam legjelentősebb változásokat a mikrobiális összetételben mezofil és termofil közösség esetén. A genomcentrikus metagenomikai eredmények kiértékelése segítségével H_2 -hasznosító- és metanogén anyagcsere-útvonalak enzimeit azonosítottam.

AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Dolgozatomban a biogáz fermentációja során keletkező fermentációs maradék mikrobaközösségének felhasználási lehetőségeit mutattam be, mint a „PtBioCH₄” folyamat alternatív katalizátorát.

1.A szakaszosan beadagolt H₂-t felhasználva a hidrogenotróf metanogén mikrobák a CO₂ redukciója által megnövekedett CH₄ termelést biztosítottak. A hasznosított H₂ mennyiségével szoros összhangban emelkedett a termelt CH₄ mennyisége és csökkent a reaktorok légterének CO₂ tartalma. A szervesanyag-utánpótlásának hiánya a CO₂ forrásának csökkenéséhez, majd elapadásához vezetett. A hidrogenotróf metanogének számára redukálható szénforrás hiánya a hozzáadott H₂ visszamaradását és a fermentációs közeg lúgosodását eredményezte. Mezofil körülmények között ez a gátló folyamat 48,94 ml (40,78%) napi adagolás mellett a 11. napon, még 37,75 ml (31,46%) esetén a 14. napon jelentkezett. A napi 21,4 ml (17,83%) H₂ bevitel esetén a CO₂ és a H₂ átalakítása CH₄-ná hatékonyan (H₂ átalakítási hatékonysága CH₄-ná: 97,41%) ment végbe a fermentáció végéig (29 nap). Termofil körülmények között a rendszer stabilitása alacsonyabb volt és már a 4-5. nap között megfigyelhető volt a gátlás a 40,53 (33,78%) és 54,71 ml (45,59%) napi H₂ bevitel esetén. A fermentációs közeg CO₂

tartalmának korai kimerülése a 10. naptól a 23,82 ml (19,85%) H_2 -nel ellátott reaktorokban is bekövetkezett.

2.A H_2 bevitelének ipari megvalósítási lehetőségét vizsgáltam a szakaszos szerves szubsztrát adagolás segítségével a labor reaktorokban. A szerves szubsztrát utánpótlása nem csak egy ipari biogáz erőmű szakaszos működését modellezte, de a szervesanyag kimerülés kiváltotta CO_2 forrás hiányt és a lúgosodást is ellensúlyozta. A H_2 adagolás hatására megnövekedett CH_4 hozamot és csökkent CO_2 termelést tapasztaltam a bejuttatott H_2 mennyiségével arányosan a mérés korai szakaszában. A H_2 emelkedő térfogata (~40-60 ml (33,33-50%) napi adagolás) a reaktorok légterében mezofil és termofil körülmények között is gátló folyamatokat eredményezett a kísérlet második szakaszában. Az acetogén és az acetotróf mikrobák anyagcseréjének gátlása szerves savak felhalmozódását és a pH csökkenését eredményezte. A korábbi megfigyelésekhez hasonlóan az alacsonyabb napi H_2 bevittel (~20 ml (16,67%)) működtetett reaktorok CH_4 termelése stabil tudott maradni a fermentáció teljes idejében és a hidrogenotróf metanogének aktivitása révén 23,5% -os (mezofil), 10,15%-os (termofil) CH_4 többletet biztosítottak.

3.Szakaszos H_2 bevitel hosszú távú felhasználását tette lehetővé a fermentációs maradék könnyen hasznosítható szerves szubsztrát kimerülésén túl a CO_2 adagolás segítségével. CO_2

bevitellel egyrészt pótolta a hidrogenotróf metanogének szénforrását, másrészt oldott (karbonát/bikarbonát) formában kompenzálta a H₂ lúgosító hatását. A megfelelő arányú H₂/CO₂ szakaszos betáplálásával a közösség hosszú távon képes volt CH₄ képzésre a beadagolt gázelegy mennyiségével arányosan. A beadagolt H₂-t a hidrogenotróf metanogén mikrobák a fermentáció teljes idejét figyelembe véve mezofil körülmények között 90%, még termofil esetben 74% feletti hatékonysággal alakították CH₄-ná. A rendszer pH-, CO₂/HCO₃⁻ pufferelő stabilitásának elérését követően a termelt gázelegy átlagos bioCH₄ tartalma mezofil esetben 97%-nál, míg termofil esetben 95%-nál magasabb volt.

4. A reaktorok mikrobiális összetételét természetesen nagyban befolyásolta a fermentatív biogáz termelő körülményektől eltérő környezet, ami szerves komponensekben szegény és H₂/CO₂-ban gazdag. Az elvégzett leolvasás alapú elemzések alapján mezofil körülmények között a *Methanobacterium*, *Herbinix* és a *Clostridium* nemzetség mikrobái domináltak, míg termofil fermentáció során a *Methanothermobacter*, *Methanosarcina*, *Caldicoprobacter* és a *Methanobacterium* nemzetségek relatív gyakorisága volt a legmagasabb.

5. Genom centrikus elemzések során a mezofil konzorciumból 34 db, míg a termofilből 43 db bint tudtam összeszerelni. Az összeszerelt genomok relatív gyakoriságának változása

szorosán követte a leolvasás alapú eredményeket. A genomok azonosított génkészlete alapján a H_2/CO_2 -ban gazdag környezetben a hidrogenotróf, acetotróf metanogenezis és a redukív acidogenezis útvonalai maradtak aktívak. Egyedien a metilotróf metanogenezisre és szulfát redukcióra jellemző géneket alig, vagy egyáltalán nem tudtam azonosítani.

SUMMARY OF THE THESIS

As the global energy consumption was increased the development and the spread of the renewables got more attention. Thus, the generated “green energy” demands alternative carriers to store the unused power. The recently trending “Power-to-Gas” technology is connecting the H₂ economy with the CH₄ production via the hydrogenotrophic methanogenesis. BioCH₄ is an excellent alternate energy carrier due to the advanced, efficient storage and transportation system.

In my thesis I investigated the application possibilities of the fermentation residue as the catalyst of the H₂ conversion to bioCH₄. My results could open new opportunities in the biogas-based technologies via the application of the mixed culture of the fermentation residue. The metagenomic analyzation of the mesophilic and thermophilic microbial community changes revealed the most characteristic genera in the H₂/CO₂ rich environment.

My experiments and optimization processes proved and concluded the possibility of the implementation and application of the “Power-to-Gas” technology in industrial scale biogas fermentation by reconstructing the fermentation residue reservoir.

TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK:

MTMT azonosító: 10053019

Összesített impakt faktor: IF=25,435

A DOKTORI ELJÁRÁS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK:

1. **Szuhaj Márk**, Ács Norbert, Tengölics Roland, Bodor Attila, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél, Bagi Zoltán: Conversion of H₂ and CO₂ to CH₄ and acetate in fed-batch biogas reactors by mixed biogas community: A novel route for the power-to-gas concept, Biotechnol. Biofuels. 9 (2016)
IF: 5,203

2. Ács Norbert, **Szuhaj Márk**, Wirth Roland, Bagi Zoltán, Maróti Gergely, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: Microbial Community Rearrangements in Power-to-Biomethane Reactors Employing Mesophilic Biogas Digestate, Front. Energy Res. 7, 1–15 (2019)
IF: 2,746

REFERÁLT FOLYÓIRATBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK:

3. **Szuhaj Márk**, Wirth Roland, Bagi Zoltán, Maróti Gergely, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: Development of stable mixed microbiota for high yield power to methane conversion, *Energies* (2021) **IF: 3,004**

4. Bagi Zoltán, Ács Norbert, Böjti Tamás, Kakuk Balázs, Rákhely Gábor, Strang Orsolya, **Szuhaj Márk**, Wirth Roland, Kovács L. Kornél: Biomethane: The energy storage, platform chemical and greenhouse gas mitigation target, *ANAEROBE* 46 pp. 13-22. , 10 p. (2017) **IF: 2,742**

5. Kakuk Balázs, Kovács L. Kornél, **Szuhaj Márk**, Rákhely Gábor, Bagi Zoltán: Adaptation of continuous biogas reactors operating under wet fermentation conditions to dry conditions with corn stover as substrate, *ANAEROBE* 46 pp. 78-85. , 33 p. (2017) **IF: 2,742**

6. Hegedüs Botond, Kós Péter B., Bende Gábor, Boundedjoun Naila, Maróti Gergő, Laczi Krisztián, **Szuhaj Márk**, Perei Katalin, Rákhely Gábor: Starvation- and xenobiotic-related transcriptomic responses of the sulfanilic acid-degrading bacterium, *Novosphingobium resinovorum* SA1, *APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY* 102 : 1 pp. 305-318. , 14 p. (2018) **IF: 3,67**

7.Kakuk Balázs, Wirth Roland, Maróti Gergely, **Szuhaj Márk**, Rákhely Gábor, Laczi Krisztián, Kovács L. Kornél, Bagi Zoltán: Early response of methanogenic archaea to H₂ as evaluated by metagenomics and metatranscriptomics, *Microb. Cell Fact.* 20 (2021) 1–18.
IF: 5,328

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK:

8.**Szuhaj Márk**, Bagi Zoltán, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: Anaerobic fermentation of distillery thin stillage, *Straub Napok* : Szeged, MTA Szegedi Biológiai Központ, 2013. május 29–30 (2013)

9.**Szuhaj Márk**; Váradi Orsolya Anna; Ács Norbert; Rákhely Gábor; Kovács L. Kornél; Bagi Zoltán: The relationship between hydrogen metabolism and biogas production, regulation mechanisms, Conference proceedings for the international scientific conference *BiogasScience 2014* : International Conference on Anaerobic Digestion, Vienna, Ausztria : University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, pp. 144-145. , 2 p. (2014)

10.**Szuhaj Márk**; Váradi Orsolya Anna; Rákhely Gábor; Kovács L. Kornél; Bagi Zoltán: Utilization of hydrogen in mesophilic biogas fermentors, *MTA SZBK STRAUB-NAPOK*, 2015.06.03-04. Poszter (2015)

11.**Szuhaj Márk**; Ács Norbert; Rákhely Gábor; Bagi Zoltán ; Kovács L. Kornél: A novel biotechnological route for the power to gas concept, Biogas Science 2016 Conference pp. 52-52. , 1 p. (2016)

12.**Szuhaj Márk**; Ács Norbert; Rákhely Gábor; Bagi Zoltán ; Kovács L. Kornél: Sustained biomethane generation in mesophilic reactors supplied with H₂, and CO₂, in fed-batch mode, Biogas Science 2016 Conference pp. 67-67. , 1 p. (2016)

13.**Szuhaj Márk**; Ács Norbert; Kovács Etelka, Maróti Gergő, Bagi Zoltán, Rákhely Gábor; Kovács L. Kornél: Biogas from unusual substrates, ACTA BIOCHIMICA POLONICA Suppl. 2. pp. 117-117. , 1 p. (2016)

14.Ács Norbert; **Szuhaj Márk**, Bagi Zoltán; Rákhely Gábor; Kovács L. Kornél : Metagenomic rearrangement of the biogas producing community during hydrogen assisted in - situ biogas upgrading, Biogas Science 2016 Conference pp. 19-19. , 1 p. (2016)

15.**Szuhaj Márk**, Rákhely Gábor, Bagi Zoltán, Kovács L. Kornél: A novel biotechnological function of fermentation residue: BioCH₄ production by microbial conversion of H₂ and CO₂, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica (2017) **IF: 1,107**

16.Kakuk Balázs, **Szuhaj Márk**, Bagi Zoltán , Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: Biological pretreatment and anaerobic digestion of biomass from short rotation chopping of tetraploid willow plants, Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica (2017) **IF: 1,107**

17. **Bagi Zoltán, Szuhaj Márk**, Kakuk Balázs, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: The regulatory role of the hydrogenase enzymes in the methane production of hydrogenotrophic methanogens, *Biogas Science 2018 : International Conference on Anaerobic Digestion* p. 125 (2018)

18. **Szuhaj Márk**, Wirth Roland, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél, Bagi Zoltán: Sustainable thermophilic power-to-biogas systems, *Biogas Science 2018 : International Conference on Anaerobic Digestion* p. 109 (2018)

19. **Bagi Zoltán, Szuhaj Márk**, Kakuk Balázs, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: The role of the hydrogen in the formation of methane in methanogens, I. Sustainable Raw Materials International Project Week And Scientific Conference : Book of Abstracts, p. 64, Szeged, Magyarország : University of Szeged (2019)

20. **Szuhaj Márk**; Bagi Zoltán ; Kovács L. Kornél: A „Power-to-Gas” és kapcsolódó biogáz tisztítási biotechnológiai eljárások, *ENERGIAGAZDÁLKODÁS* 60 : Különszám pp. 13-16. , 4 p. (2019)

21. **Szuhaj Márk**, Rákhely Gábor, Bagi Zoltán, Kovács L. Kornél: Utilization of fermentation residue for biogas upgrading with H₂, II. Sustainable Raw Materials International Project Week And Scientific Conference : Book of Abstracts p. 12, Szeged, Magyarország : University of Szeged, (2019)

TÁRSSZERZŐI NYILATKOZAT

Kijelentem, hogy tisztában vagyok Szuhaj Márk doktorjelölt disszertációjában megfogalmazott tudományos eredményekkel, továbbá hozzájárulok ahhoz, hogy a disszertációban megjelölt publikációkat a védési eljárásban a doktorjelölt felhasználja.

Kijelentem, hogy ezeket a publikációkat Ph.D. fokozatszerzési eljárásban eddig nem használtam fel, és ezt a jövőben sem teszem.

•**Szuhaj Márk**, Ács Norbert, Tengölics Roland, Bodor Attila, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél, Bagi Zoltán: Conversion of H₂ and CO₂ to CH₄ and acetate in fed-batch biogas reactors by mixed biogas community: A novel route for the power-to-gas concept, *Biotechnol. Biofuels*.

9 (2016)

IF: 5,203

•Ács Norbert, **Szuhaj Márk**, Wirth Roland, Bagi Zoltán, Maróti Gergely, Rákhely Gábor, Kovács L. Kornél: Microbial Community Rearrangements in Power-to-Biomethane Reactors Employing Mesophilic Biogas Digestate, *Front. Energy Res.* 7, 1–15 (2019)

IF: 2,746

TÉMAVEZETŐI NYILATKOZAT

Alulírott Dr. Bagi Zoltán kijelentem, hogy Szuhaj Márk doktorjelölt értekezésében felhasznált eredmények teljes mértékben tükrözik a jelölt hozzájárulását a disszertáció alapjául szolgáló publikációkhoz.

Szeged, 2022. február 25.

.....

Dr. Bagi Zoltán

Egyetemi adjunktus