

Biologisen vedyn tuotanto *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevällä

Alex Vuori

LuK-tutkielma

Biologian tutkinto-ohjelma

Oulun Yliopisto

Maaliskuu 2026

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	3
Lyhenteet.....	4
1. Johdanto	5
2. <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> biologisen vedyntuotannon mallilajina.....	7
3. Mikrolevien fotosynteesin valoreaktiot	9
3.1 Lineaarinen elektroninsiirtoketju	10
3.2 Syklinen elektroninsiirtoketju	12
4 Biologinen vedyntuotanto <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> -mikrolevällä.....	12
4.1 Suora biofotolyysi mikroleväpohjaisessa vedyntuotannossa.....	12
4.2 Vedyn tuotannon säätely <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> -mikrolevällä.....	14
4.3 Hydrogenaasien rooli <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> -mikrolevän vedyntuotannossa.....	15
5. <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> -mikrolevän kasvatusolosuhteiden merkitys vedyn tuotannossa.....	15
5.1 Valon intensiteetin vaikutus <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> vedyntuotantoon.....	15
5.2 Lämpötilan vaikutus <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> vedyntuotantoon.....	18
5.3 Kasvatusalustan pH:n vaikutus <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> vedyn tuotantoon.....	18
6. Bioteknologisia ratkaisuja biologisen vedyn tuotannon tehostamiseksi.....	19
6.1 Kasvatusolosuhteiden optimointi mikroleväpohjaisessa vedyn tuotannossa.....	19
6.2 Bioreaktorin ominaisuuksien vaikutus mikroleväpohjaisessa vedyn tuotannossa.....	21
7. Johtopäätökset.....	23
Kirjallisuus	24

Tiivistelmä

Fotosynteesin elektroninsiirtoketjussa auringon valoenergia sitoutuu orgaanisiin molekyyliin, ja jokainen sitä seuraava hiilensidontareaktio pienentää sidotun energian määrää. Tämän vuoksi fotosynteettisen energian hyödyntämisen kannalta tehokkaimpia ovat ne lopputuotteet, jotka ovat peräisin fotosynteesin varhaisimmista reaktioista. Fotosynteesin alkuvaiheisiin perustuva biologinen vedyn tuotanto tarjoaa kestävä vaihtoehdon puhtaan energian tuottamiseen hyödyntämällä auringon energiaa fotosynteettisten mikro-organismien, kuten mikrolevien avulla. Mikrolevien nopea kasvu, niiden laaja soveltuvuus erilaisiin kasvatusjärjestelmiin sekä niiden potentiaali vähentää polttoaineiden ja ruoantuotannon välistä resurssikilpailua tekevät niistä yhden lupaavimmista vaihtoehdoista vedyn tuotantoon.

Mikrolevät, kuten *Chlamydomonas reinhardtii*, voivat fotosynteesin aikana tuottaa vetyä suoraksi biofotolyysiksi kutsutussa reaktiossa, jossa auringon valo hajottaa vettä hapeksi ja vedyksi, ja energia varastoituu vetymolekyylien kemiallisiin sidoksiin. Suora biofotolyysi perustuu samoihin mekanismeihin kuin perinteinen eukaryoottinen kasvien fotosynteesi, mutta sen lopputuotteena muodostuu vetyä hiilipohjaisen biomassan sijasta. Vihreät kasvit puolestaan ohjaavat elektronivirran pääosin hiilihydraattien muodostukseen, sillä niiltä puuttuvat vedyn tuotantoon tarvittavat hydrogenaasientsyymit. Mikrolevissä fotosynteesissä syntyvä energia voidaan kuitenkin erityisissä olosuhteissa ohjata hydrogenaasin kautta protonien pelkistämiseen ja sitä kautta vedyn muodostukseen. Mikrolevien vedyntuotanto perustuu aerobisessa kasvuvaiheessa kertyneeseen energiaan sekä sitä seuraavaan anaerobiseen vaiheeseen, jossa *C. reinhardtii* -viljelmissä vedyn muodostus käynnistyy pimeään anaerobisen jakson jälkeen tapahtuvan valoaltistuksen seurauksena.

Laaja-alainen vedyntuotanto *C. reinhardtii*-mikrolevällä edellyttää sekä sopivien kantojen valintaa että kasvatusolosuhteiden ja fotobioreaktorien optimointia. Tuotantoa rajoittavat erityisesti hydrogenaasientsyymien voimakas happiherkkyys sekä elektronien kilpaileva ohjautuminen muihin fotosynteesin ja aineenvaihdunnan reitteihin. Vedyn tuotantokyky riippuu siitä, kuinka tehokkaasti elektronivirta voidaan suunnata fotosynteettisessä elektroninsiirtoketjussa hydrogenaaseille. Biologinen vedyn tuotanto *C. reinhardtii* -mikrolevällä edellyttääkin monipuolista ymmärrystä fotosynteesin elektroninsiirtoreiteistä, hydrogenaasientsyymien rakenteesta sekä solunsisäisten olosuhteiden säätelystä. Viimeaikaiset tutkimusstrategiat ovat keskittyneet viljelyolojen optimointiin, solujen esikäsittelyyn sekä synteettisiin biologisiin lähestymistapoihin, kuten elektronivirran uudelleenohjaukseen, fotosysteemi II:n toiminnan säätelyyn ja hapensietokykyisten hydrogenaasien ilmentämiseen.

Lyhenteet

ATP	Adenosiinitrifosfaatti
ADP	Adenosiinidifosfaatti
CBB	Calvin–Benson-kierto
CO ₂	Hiilidioksidi
Cyt	Sytokromi
FNR	Ferredoksiini NADP ⁺ -oksidoreduktaasi
LHC	Valohaavikompleksi
NADH	Nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi (pelkistynyt)
NADP ⁺	Nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifosfaatti (hapettunut)
NADPH	Nikotiiniamidiadeniinidinukleotidifosfaatti (pelkistynyt)
NDA2	NAD(P)H-dehydrogenaasi
NPQ	Ei-valokemiallinen vaimentuminen
P680/P680 ⁺	Pelkistynyt/hapettunut primaarinen elektroninluovuttaja fotosysteemi II:ssa
P700/P700 ⁺	Pelkistynyt/hapettunut primaarinen elektroninluovuttaja fotosysteemi I:ssä
PC	Plastosyaniini
3PG	3-fosfoglyseraatti
PGR5	Protonigradientin säätelyproteiini 5
pH	Protonipitoisuuden negatiivinen logaritmi
PQ	Plastokinoni
PQH ₂	Plastohydrokinoni
PQR	Ferredoksiini-kinoni-reduktaasi
QA	Primaarinen kinonielektroninvastaanottaja fotosysteemi II:ssa
QB	Sekundäärinen kinonielektroninvastaanottaja fotosysteemi II:ssa
ROS	Reaktiiviset happiyhdisteet
RuBisCo	Ribuloosi-bisfosfaattikarboksylaasi
RuBP	Ribuloosi-1,5-bisfosfaatti

1. Johdanto

Kasvava huoli ilmaston lämpenemisestä ja fossiilisen energian rajallisesta määrästä ovat lisänneet tarvetta siirtää energiantuotantoa kohti uusiutuvia energialähteitä. Vastauksena voimistuvaan energiakriisiin ja kohonneisiin tuontiöljyn markkinahintoihin, uusiutuvaan energiaan perustuvat tehokkaat vedyntuotantoteknologiat ovat nousseet keskeiseksi tutkimuskohteeksi bioteknologian alalla (Tuluhong ym., 2024). Vetyä pidetään keskeisenä, hiilivapaana energianvälittäjänä, joka tarjoaa mahdollisuuden vähentää teräs- ja sementtiteollisuuden sekä raskaan liikenteen sektoreiden aiheuttamia hiilidioksidipäästöjä koko niiden tuotanto- ja käyttöketjussa. Tämän vuoksi korostuu tarve skaalautuville ja ympäristön kannalta kestäville tuotantomenetelmille, jotka mahdollistavat kansainvälisten ilmastotavoitteiden saavuttamisen (Koko ym., 2025).

Vetyä pidetään erityisen lupaavana vaihtoehtona sen suuren massaan suhteutetun energiatiheyden ($\sim 120 \text{ MJ kg}^{-1}$) ansiosta, mikä on noin kolminkertainen verrattuna perinteisten hiilivetyjen, kuten bensiiniin ($\sim 46 \text{ MJ kg}^{-1}$) energiatiheyteen, sekä vedyn saastettomuuden ansiosta, sillä vedyn hapettumisessa syntyy sivutuotteena ainoastaan vettä (King ym., 2022, Vasmara ym., 2025). Alhaisen ominaispainonsa ($0,0899 \text{ kg Nm}^{-3}$) vuoksi kaasuuntunut vety ei pysy ilmakehässä, vaan maapallolla vety esiintyy pääasiassa liittyneenä muihin alkuaineisiin, minkä vuoksi vety on erotettava näistä yhdisteistä ennen sen käyttöä (Vasmara ym., 2025).

Vedyn tuotantomenetelmien monipuolisuus, joka kattaa elektrolyysin uusiutuvalla energialla sekä biologiset prosessit mikrolevien avulla, tarjoaa merkittävän edun fossiilisiin polttoaineisiin verrattuna, sillä raaka-aineet ovat laajemmin saatavilla maailmanlaajuisesti (Tuluhong ym., 2024). Vety on monikäyttöinen energian kantaja, sillä vetyä voidaan käyttää suoraan lämpöenergiaa tuottavana polttoaineena polttomoottoreissa, tai vety voidaan polttaa hitaasti polttokennoissa, jolloin saadaan sähköenergiaa sähkömoottoreiden käyttöön (Vapaavuori & Suorsa, 2017). Nämä ominaisuudet tekevät vedystä keskeisen tekijän siirryttäessä kohti puhdasta ja tehokasta uusiutuviin energialähteisiin perustuvaa energiajärjestelmää (Singh & Das, 2020).

Vedyn kiistattomista hyödyistä huolimatta siihen perustuvan talouden suurimmat haasteet liittyvät tehokkaisiin tuotantostrategioihin sekä turvallisiin varastointi- ja jakelujärjestelmiin (Singh & Das, 2020). Vedyn tilavuuskohtainen lämpöarvo on alhainen suhteessa muihin energian kantajiin, ollen $10,8 \text{ MJ/m}^3$ alemmaa lämpöarvoa ja $12,8 \text{ MJ/m}^3$ ylempää lämpöarvoa kohden, mikä tarkoittaa, että saman energiamäärän varastointiin vedyllä vaatii huomattavasti suuremman tilavuuden. Vedyn alhainen energiatiheys tilavuutta kohden aiheuttaa sen, että vedyn tehokas varastointi edellyttää paineistukseen, nesteytykseen tai materiaalipohjaisiin ratkaisuihin perustuvia teknologioita. Vedyn

alhainen tilavuuskohtainen energiatiheys tekee tehokkaasta varastoinnista mahdollista ainoastaan teknologioilla, jotka perustuvat joko korkeapaineistukseen, kryogeeniseen nesteytykseen tai materiaalipohjaisiin varastointimenetelmiin (Esposito ym., 2024). Näiden ratkaisujen kehittäminen edellyttää sekä vedyn tilavuuskohtaisen energiatiheyden kasvattamista että varastointi- ja kuljetusjärjestelmien turvallisuuden optimointia. Haasteita lisää vedyn suuri diffuusiokerroin ja pieni molekyylikoko, jotka lisäävät vuotoherkkyyttä ja erityisesti nestemäisen vedyn syttyvyysriskiä (Aravindan ym., 2023).

Vedyn tuotantomenetelmät voidaan jakaa biologisiin ja ei-biologisiin prosesseihin, joista jälkimmäiset perustuvat fossiilisiin polttoaineisiin ja muihin rajallisiin luonnonvaroihin (Vasmara ym., 2025). Tällä hetkellä kaupallisessa mittakaavassa vetyä tuotetaan metaanin- ja öljyn höyryreformointimenetelmillä, kivihiilen kaasutuksella ja veden elektrolyysillä. Kaikkiin näihin teknologioihin liittyy kuitenkin erilaisia sosioekonomisia ja ympäristön kantokykyyn liittyviä rajoituksia. Perinteiset vedyn tuotantomenetelmät, kuten veden elektrolyysi, vaativat noin 50–100°C:n lämpötiloja, mikä lisää energiankulutusta ja edellyttää makean veden käyttöä, jonka resurssit ovat käymässä yhä niukemmaksi (Gupta ym., 2024). Veden elektrolyysin suuri energiantarve johtuu veden vety- ja happiatomien välisistä vahvoista kovalenttisista sidoksista, joiden pilkkominen edellyttää huomattavaa energiamäärää. Luonnossa näiden sidosten pilkkoutuminen tapahtuu luonnollisesti fotosynteesin aikana, jossa auringon energia ohjautuu veden ja hiilidioksidin muuttamiseen orgaanisiksi yhdisteiksi (Elman ym., 2026).

Biologinen vedyn tuotanto nähdään lupaavana vaihtoehtona kaupallisille termo- ja elektrokemiallisille prosesseille sekä potentiaalisena kestävästä energiansaannin ratkaisuna. (Singh & Das, 2020). Biologisessa vedyn tuotannossa ravinteikasta jätevettä voidaan hyödyntää kasvualustana, mikä vähentää riippuvuutta makeasta vedestä ja on yksi kolmannen sukupolven bioenergiaprosessien keskeisistä eduista. Jäteveden hyödyntäminen ei ainoastaan vähennä vedenkulutusta, vaan pienentää myös ravinteiden hankintakustannuksia ja tukee kiertotalouden periaatteita, mikä parantaa prosessin kokonaiskestävyyttä (Faraloni ym., 2025). Biologiset vedyn tuotantomenetelmät ovat ympäristöystävällisiä ja vaativat teoriassa vähän energiaa, koska ne tapahtuvat ympäristön tavanomaisissa lämpötila- ja paineolosuhteissa (Gupta ym., 2024).

Biologinen vedyn tuotanto mikrolevillä tarjoaa merkittäviä etuja, kuten jopa kymmenkertaiset kasvunopeudet verrattuna maalla kasvatettaviin kasveihin, viljelyn riippumattomuuden maatalousmaasta sekä mahdollisuuden tuottaa samanaikaisesti arvokkaita yhdisteitä, kuten lipidejä, proteiineja ja pigmenttejä (Koko ym., 2025). Toisaalta biologisen vedyn tuotantoa mikrolevillä rajoittavat alhaiset biomassapitoisuudet, jotka johtuvat valon läpäisyn

heikkenemisestä tiheissä suspensioissa sekä solujen pienikokoisuuden aiheuttamista korkeista keruukustannuksista (Wang ym., 2018).

Useat mikro-organismit, kuten eukaryoottiset yksisoluiset fotosynteettiset mikrolevät, kuten *Chlamydomonas reinhardtii*, fotosynteettiset bakteerit sekä ei-fotosynteettiset bakteerit, kykenevät tuottamaan vetyä erilaisten aineenvaihduntareittien kautta (Singh & Das, 2020). Biologinen vedyn tuotanto voidaan toteuttaa joko autotrofisissa prosesseissa, kuten suorassa ja epäsuorassa biofotolyysissä, joissa mikro-organismit hyödyntävät epäorgaanisia energialähteitä ja aurinkoenergia muunnetaan vedyksi fotosynteesin varhaisissa reaktioissa. Vaihtoehtoisesti vetyä voidaan tuottaa heterotrofisissa prosesseissa, kuten pimeä- ja valofermentaatioissa, joissa mikro-organismit käyttävät energia- ja elektronilähteinään orgaanisia substraatteja ja hapettavat niitä anaerobisesti, jolloin vetyä vapautuu sivutuotteena (Aravindan ym., 2023). Fermentaatioprosessit edellyttävät usein mikrobimassan esikäsitelyä, jotta soluseinän polysakkaridit voidaan hajottaa yksinkertaisemmiksi orgaanisiksi yhdisteiksi ja vapauttaa fermentoivien mikrobien hyödynnettäväksi (Wang ym., 2018).

Tässä kandidaattitutkielmassa haetaan vastauksia kahteen tutkimuskysymykseen; 1) Miten biologisen vedyntuotannon mallilajina toimiva *C. reinhardtii*-mikrolevä tuottaa vetyä fotosynteesin avulla? 2) Millaisia bioteknologisia lähestymistapoja on kehitetty biologisen vedyn tuotannon tehostamiseksi? Työssä tarkastellaan yleisiä biologisen vedyn tuotantoteknologioita, viljelyolosuhteiden optimointia sekä esitellään bioteknologisia ratkaisuja vedyn tuoton lisäämiseksi. Tarkastelun tavoitteena on jäsentää biologisesti tuotetun vedyn tuotantoon liittyvät mahdollisuudet ja haasteet osana kestävästä energiantuotannon kokonaisuudesta.

2. *Chlamydomonas reinhardtii* biologisen vedyntuotannon mallilajina

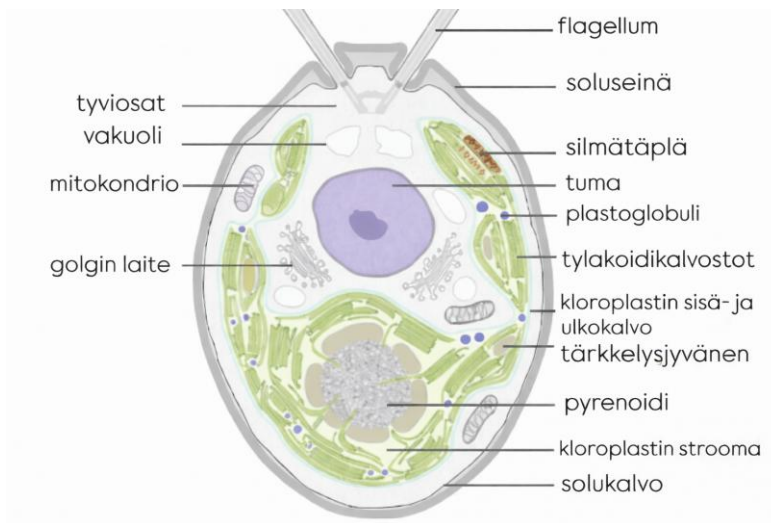
Mikrolevät muodostavat polyfyleettisen eliöryhmän, joka koostuu useista eri esi-isistä polveutuvista taksonista, eikä niillä siten ole yhtä yhteistä kantamuotoa. Vaikka mikrolevät jaetaan nykyisin 16 luokkaan, niiden fylogeneettinen luokittelu on edelleen osin kiistanalainen (Queiroz ym., 2020). Mikrolevät ovat monimuotoinen ryhmä pääasiallisesti fotosynteettisiä organismeja, joita esiintyy sekä bakteerien että eukaryoottien domeeneissa. Tämä evolutiivinen monimuotoisuus heijastuu myös mikrolevien tuottamien yhdisteiden laajaan kirjoon, mikä tekee niistä houkuttelevia kohteita bioteknologiselle tutkimukselle (Borowitzka ym., 2020). Mikrolevien tehokkaat valonkeruujärjestelmät, joustavat aineenvaihduntareitit ja nopea kasvunopeus mahdollistavat auringonvalon ja hiilidioksidin muuntamisen biomassaksi suurella tuotantokapasiteetilla, mikä

vähentää elinkaaren aikaisia kasvihuonekaasupäästöjä. *Chlamydomonas*-suvun mikrolevien on havaittu suorittavan fotosynteesiä tehokkaasti myös vaihtelevissa abioottisissa ympäristöolosuhteissa ja niitä tavataan sekä makeassa että merivedessä, ja jotkin lajit sietävät kohtalaisesti korkeaa suolapitoisuutta (Antonacci ym., 2026). Mikrolevien kyky optimoida fotosynteettistä tehokkuuttaan vaihtelevissa ympäristöolosuhteissa antaa niille poikkeuksellisen aineenvaihdunnallisen joustavuuden, mikä mahdollistaa laajemman sopeutumisen sekä maa- että vesiekosysteemeihin verrattuna maakasveihin (Singh & Das, 2020). Tutkimuksissa on havaittu, että 92 % vedyn tuotannosta *C. reinhardtii*:lla tapahtuu suorassa biofotolyysissä, jossa vetyä tuotetaan suoraan vedestä valon energian avulla ilman hiilidioksidipäästöjä, mikä tekee prosessista potentiaalisesti kestävästä energiantuotantotavan (Touloupakis ym., 2021).

C. reinhardtii on laajasti käytetty bioteknologisen tutkimuksen malliorganismi sen yksinkertaisen rakenteen, helpon viljeltävyyden ja nopean kasvunopeuden vuoksi (Antonacci ym., 2026). *C. reinhardtii* on noin 10 µm kokoinen yksisolainen mikrolevä, sen genomi on haploidi, tumagenomi sekvensoitu ja kloroplastigeenien ilmentymismekanismit tunnetaan hyvin, mikä tarjoaa vahvan perustan geneettisen muuntelun tutkimuksille (Jokel, 2017). *C. reinhardtii* -mikrolevän geneettinen muokattavuus mahdollistaa kantojen kehittämisen, joilla on tehostunut vedyntuotantokyky ja lisääntynyt sietokyky ulkoisia ympäristötekijöitä, kuten korkeaa valointensiteettiä ja kohonneita lämpötiloja, kohtaan. Tällaiset ominaisuudet muodostavat perustan tuotannon laajentamiselle rannikkoalueille ja muihin ympäristöihin, joissa perinteinen maatalous sekä rehu- ja ruokakasvien viljely eivät ole taloudellisesti kannattavaa (Faraloni ym., 2025). *Chlamydomonas*-suku on keskeinen tutkimuskohde biologisen vedyn tuotannossa, koska se sisältää hapelle herkkiä FeFe-hydrogenaasientsyymejä, jotka katalysoivat vedyn muodostumista. Maakasveilta nämä entsyymit ovat kadonneet evoluution aikana, mutta mikrolevillä ne voivat hapettomissa olosuhteissa toimia vaihtoehtoisina elektronien vastaanottajina ja siten ylimääräisen pelkistysvoiman purkureittinä (Jokel, 2017).

Mikrolevät käyttävät laajoja valonkeräysantenneja (eng. light harvesting complex, LHC), mutta korkeassa valaistuksessa fotonien absorptio ylittää fotosynteettisen kapasiteetin, jolloin ylimääräinen energia poistuu ei-valokemiallisen vaimennuksen (NPQ) kautta lämpönä. Tiheissä viljelmissä tämä rajoittaa valon tunkeutumista syvempiin kerroksiin ja aiheuttaa itsevarjostusta, mikä heikentää merkittävästi fotonikonversiotehokkuutta, minkä vuoksi antennikompleksin pienentäminen ja fotobioreaktorien kehittäminen muodostaa keskeisen tutkimussuunnan (Singh & Das, 2020). LHC-antennin koon lyhentäminen *C. reinhardtii* -lajilla tutkittujen *TLA*-mutanttien (engl. truncated light-

harvesting antenna) avulla parantaa valon läpäisyä ja fotosynteesin tehokkuutta sekä mahdollistaa suurempien valon intensiteettien sietämisen (Loyte ym., 2024).



Kuva 1. *C. reinhardtii*-mikrolevän solun rakenne. Malli: Engel ym., 2015, Native architecture of the *Chlamydomonas* chloroplast – julkaisun pohjalta.

3. Mikrolevien fotosynteesin valoreaktiot

Fotosynteesin peruseriaatteiden ymmärtäminen on keskeistä mikroleväbioteknologiassa. Fotosynteesissä syntynyt kemiallinen energia varastoituu hiiliyhdisteisiin, joiden sidoselektronien potentiaalienergia toimii kaikkien eliöiden energialähteenä. Prosessi perustuu vesimolekyylin hapettumiseen, jolloin vesi toimii elektronin luovuttajana ja sivutuotteena vapautuu happimolekyyli (Queiroz ym., 2020). Vesimolekyylin hapettuminen on kemiallisesti vaativa reaktio, joka edellyttää tehokasta katalyyysiä ja suurta energiamäärää solulta. Varhaisimmat fotosynteettiset organismit eivät käyttäneet vettä elektroninluovuttajana, vaan hyödynsivät pelkistyneitä rikkiyhdisteitä, kuten vety- tai rautasulfidia, jotka ovat huomattavasti helpommin hapettuvia (Tyystjärvi ym., 2017). Hapetta tuottavan fotosynteesin valoreaktioiden tehtävänä on tuottaa biokemiallinen pelkistin (NADPH) ja kemiallinen energia (ATP) hiilensidonnan tarpeisiin (Ruiz ym., 2020).

Mikrolevillä valoreaktiot tapahtuvat kloroplastien tylakoidikalvoissa, joissa fotosynteettiset pigmentit ja valon hyödyntämiseen liittyvät proteiini- ja lipidikompleksit sijaitsevat, kun taas hiilensidontareaktiot tapahtuvat kloroplastin stroomassa, rakenteellisesti ja toiminnallisesti samalla tavalla kuin korkeammilla kasveilla. Pigmentit ovat järjestäytyneet kahteen fotosysteemiin, PSI:hin (P700) ja PSII:een (P680), jotka absorboivat valoa eri aallonpituuksilla ja kykenevät käyttämään valoenergiaa pelkistysvoimana, tuottaen elektronien kuljetukseen tarvittavan energian (Queiroz ym., 2020). Valoreaktioissa sinisen ja punaisen valon fotonit absorboituvat kloroplastien pigmentteihin,

mikä virittää fotosysteemin reaktiokeskuksen klorofyllin elektronit korkeammalle energiatasolle, minkä seurauksena reaktiokeskuksen klorofyllistä tulee vahva pelkistin eli se luovuttaa elektronin elektroninsiirtoketjun ensimmäiselle vastaanottajalle, joka pelkistyy samalla kun reaktiokeskuksen klorofylli hapettuu (Lempiäinen, 2024). Elektronin menettänyt klorofylli PSII:n reaktiokeskuksessa (P680⁺) korvaa elektronivajettaan hapettamalla vesimolekyylejä, jolloin syntyy elektroneja, protoneja ja molekulaarista happea, joista vapautuneet elektronit siirtyvät hapettuneen P680⁺-reaktiokeskukseen palauttaen sen pelkistyneeseen muotoon (Singh & Das, 2020).

Hapettunut reaktiokeskus klorofylli P680⁺ luovuttaa elektronin feofytiinille, joka pelkistyy ja siirtää elektronin edelleen primaariselle elektroninvastaanottajalle QA:lle, proteiiniin sitoutuneelle plastokinonille. Elektroni siirtyy tämän jälkeen sekundaariselle vastaanottajalle QB:lle, joka kahden peräkkäisen pelkistymisen ja stroomasta sitoutuneiden protonien seurauksena muodostaa plastohydrokinonin (PQH₂) (Jokel, 2017). Elektronien siirtyessä elektroninsiirtoketjussa plastokinoni pelkistyy sitomalla protoneja stroomasta ja hapettuu sytokromi b6f -kompleksissa vapauttaen protonit tylakoidiluumeniin, mikä muodostaa protonigradientin ja mahdollistaa ATP:n synteesin (yhtälö 1) (Ruiz ym., 2020). Sytokromi b6f -kompleksi hapettaa plastohydrokinonin (PQH₂) ja siirtää elektronit plastosyaniinille, joka kuljettaa ne edelleen PSI:n reaktiokeskukseen. Plastosyaniinin kuljettamat elektronit pelkistävät PSI:n reaktiokeskuksen hapettuneen reaktiokeskusklorofyllin (P700⁺), minkä jälkeen pelkistynyt P700 absorboi valoenergiaa, virittyy ja luovuttaa elektronin eteenpäin elektroninsiirtoketjussa (Queiroz ym., 2020).

Hapettuneen PSI:n reaktiokeskusklorofyllin (P700⁺) elektroninvajaus täyttyy elektronin siirtyessä pelkistyneeltä plastosyaniinilta P700:lle. Plastosyaniinin kuljettama elektroni on peräisin PSII:ssa tapahtuvasta P680:n hapettumisesta, joka puolestaan on seurausta veden fotolyyisistä. Hapettuneesta P700:sta peräisin oleva elektroni kulkee PSI sisäisten elektroninsiirtäjien, klorofyllimolekyylin A₀, fylokinonin A₁ ja rauta–rikki-keskusten kautta ferredoksiinille. Elektroninsiirtoketjun viimeisessä vaiheessa valon ja hapen läsnä ollessa pelkistynyt ferredoksiini pelkistää NADP⁺-molekyylin NADPH:ksi ferredoksiini-NADP⁺-reduktaasin (FNR) avulla. Yhden NADP⁺:n pelkistymiseen NADPH:ksi tarvitaan 2 pelkistynyttä ferredoksiinia ja 1 protoni (Singh & Das, 2020).

Valoreaktiossa muodostuneet ATP ja NADPH ovat välttämättömiä hiilensidontareaktioissa (Calvin-Benson kierto), jossa hiilidioksidi pelkistyy orgaaniseksi yhdisteiksi (Yhtälö 2) (Lempiäinen, 2017). Prosessi alkaa, kun hiilidioksidi liitetään viiden hiilen sisältämään sokeriin, ribuloosi-1,5-bisfosfaattiin, jolloin muodostuu kaksi 3-fosfoglyseraattia (3-PG) rubiscon katalysoimana. Seuraavaksi 3-PG fosforyloidaan ATP:n avulla, jolloin syntyy 1,3-bisfosfoglyseraatti (PGA), joka

pelkistyy glyseraldehydi-3-fosfaatiksi NADPH-spesifisen glyseraldehydi-3-fosfaattidehydrogenaasin katalysoimana. Tämä pelkistysreaktio mahdollistaa trioosifosfaattien muodostumisen, kun taas ribuloosi-1,5-bisfosfaatti regeneroidaan uutta hiilensidontakiertoa varten (Queiroz ym., 2020). Fotosynteesin ensisijaiset lopputuotteet, trioosifosfaatit, varastoivat valo-reaktioiden aikana kertyneen sidoselektronien potentiaalienergian, joita käytetään biomolekyylien synteesissä (Aro & Sarvikas ym., 2017). Fotosynteesissä voidaan erottaa kaksi pääasiallista elektroninsiirtoreittiä, joista lineaarinen elektroninsiirto tuottaa sekä NADPH:ta että ATP:tä, kun taas syklinen elektroninsiirto PSI:n ympärillä tuottaa ainoastaan ATP:tä.

Yhtälö 1: $2 \text{H}_2\text{O}_{(\text{lumen})} + 2 \text{NADP}^+_{(\text{strooma})} + 3 \text{ADP}_{(\text{strooma})} + 3 \text{fosfaattia}_{(\text{strooma})} + 9 \text{fotonia (400-700 nm)} \rightarrow \text{O}_2_{(\text{lumen})} + 2 \text{NADPH}_{(\text{strooma})} + 2 \text{H}^+_{(\text{strooma})} + 3 \text{ATP}_{(\text{strooma})} + 3 \text{H}_2\text{O}_{(\text{strooma})}$.

Yhtälö 2: $2 \text{NADPH}_{(\text{strooma})} + 2 \text{H}^+_{(\text{strooma})} + 3 \text{ATP}_{(\text{strooma})} + 3 \text{H}_2\text{O}_{(\text{strooma})} + 1 \text{CO}_2_{(\text{strooma})} \rightarrow 1 \text{CH}_2\text{O}_{(\text{strooma})} + 1 \text{H}_2\text{O}_{(\text{strooma})} + 2 \text{NADP}^+ + 3 \text{ADP}_{(\text{strooma})} + 3 \text{fosfaattia}_{(\text{strooma})}$. (Ruiz ym., 2020).

3.1 Lineaarinen elektroninsiirtoketju

Fotosynteesin lineaarisessa elektroninsiirtoketjussa PSII:n aktivoituminen valon avulla irrottaa kaksi elektronia vedestä, ja nämä elektronit siirtyvät PSI:hin, jossa ne saavat lisää potentiaalienergiaa mahdollistaen elektronin siirtymisen korkeampaan pelkistystilaan. Näin syntyneet korkeaenergiset elektronit mahdollistavat NADPH:n muodostumisen, joka toimii tehokkaana pelkistimenä, joita solu käyttää muun muassa hiilidioksidin, nitraatin ja sulfaattien pelkistämiseen elämälle välttämättömien orgaanisten yhdisteiden rakentamisessa (Lempiäinen, 2024).

Linearisessa elektroninsiirrossa sekä PSII:n reaktiokeskus P680 että PSI:n reaktiokeskus P700 osallistuvat elektronien kuljetukseen. PSII:n reaktiokeskusklorofylli (P680) virittyy valoenergian vaikutuksesta ja luovuttaa elektronin elektroninsiirtoketjuun, minkä seurauksena se hapettuu voimakkaaksi hapettimeksi P680⁺. Hapettunut P680⁺ puolestaan palauttaa menettämänsä elektronit hapettamalla vesimolekyyliä ja palaa näin pelkistyneeseen muotoonsa. PSII:stä peräisin olevat elektronit siirtyvät elektroninsiirtoketjun kautta kohti PSI:tä, jonka absorboima valoenergia virittää reaktiokeskuksen P700:n siten, että se luovuttaa elektronin edelleen elektroninsiirtoketjuun ja hapettuu P700⁺:ksi. Hapettunut P700⁺ toimii voimakkaana hapettimena ja pelkistyy takaisin perusmuotoonsa P700:ksi vastaanottamalla elektronin elektroninsiirtoketjusta (Queiroz ym., 2020).

Linearisessa elektroninsiirrossa syntyvä NADPH toimii Calvin–Benson-kierron pelkistimenä ja luovuttaa elektroninsa hiilidioksidin pelkistämiseen orgaanisiksi yhdisteiksi (Aro & Sarvikas., 2017). Anaerobisissa olosuhteissa elektronit pelkistyneestä ferredoksiinista voidaan siirtää

protoneille, jolloin syntyy vetyä veden sijaan. Tässä reaktiossa valon avulla pelkistynyt ferredoksiini toimii elektroninluovuttajana ja hapettuu, kun protonit pelkistyvät vedyksi FeFe-hydrogenaasin katalysoimana (Hippler & Khosravitar, 2024). Normaalisti lineaarinen elektronivirtaus ohjaa elektronit NADP⁺:lle hiilidioksidin pelkistämistä varten, kun taas vain pieni osa ohjautuu ferredoksiinilta hydrogenaasille vedyn muodostamiseksi (Koko ym., 2025).

3.2 Syklinen elektroninsiirtoketju

Syklinen elektroninsiirtoketju toimii täysin PSII:sta riippumatta, ja sen katsotaan kehittyneen turvaamaan ylimääräisen ATP:n tuotannon fotosynteesin stroomareaktioiden energiatarpeen täyttämiseksi (Aro & Sarvikas., 2017). Syklisen elektroninsiirron aikana elektronit kiertävät PSI:n kautta siten, että ne ohjautuvat elektroninsiirtoketjussa takaisin plastokinonivarantoon sen sijaan, että ne kulkisivat FNR:lle NADPH:n muodostumiseksi tai hydrogenaasille (King ym., 2022). Elektronit kierrätetään joko pelkistyneestä ferredoksiinista tai NADPH:sta PQ:lle ja edelleen sytokromi b6f-kompleksille (Ruiz ym., 2020). Elektronien kierto ylläpitää protonigradienttia tylakoidikalvon yli, jota ATP-syntaasi hyödyntää ATP:n synteesissä (Aro & Sarvikas., 2017). Siten syklinen elektroninsiirto tasapainottaa ATP:n ja NADPH:n tuotantoa solun metabolisten tarpeiden mukaisiksi ja tuottaa lisäenergiaa hiilen sitomiseen (Lempiäinen, 2024).

Syklisessä elektroninsiirrossa toimii kaksi reittiä, jotka aktivoituvat erilaisissa ympäristöolosuhteissa. PGR5/PGR1-reitissä elektronit siirtyvät PSI:ltä ferredoksiinille ja edelleen ferredoksiini-kinoni-reduktaasin (FQR) kautta hapettuneelle plastokinonille. (Aro & Sarvikas., 2017). NDH-reitissä elektronit kulkevat NADH-dehydrogenaasia muistuttavan NDH-kompleksin kautta, joka vastaanottaa elektroneja ferredoksiinilta ja pelkistää plastokinonia (PQ) plastokinoliksi (PQH₂) (Lempiäinen, 2024). Vaikka syklinen elektroninsiirto itsessään on tärkeä solun fotosynteesin energiatasapainon ylläpitämiseksi, se ohjaa elektroneja pois FeFe-hydrogenaasilta ja siten rajoittaa vedyn tuotantoa (Koko ym., 2025).

4. Biologinen vedyntuotanto *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevällä

4.1 Suora biofotolyysi mikroleväpohjaisessa vedyntuotannossa

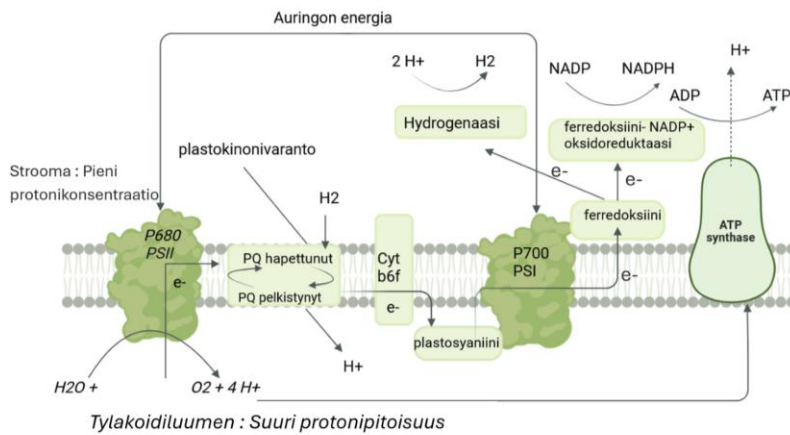
Suora biofotolyysi (*eng. direct biophotolysis*) perustuu kasvien fotosynteesin valoreaktioihin, jossa auringonvalo muunnetaan kemialliseksi energiaksi, ja syntyneet pelkistimet ohjataan hydrogenaasientsyymien avulla pelkistämään protoneita vedyksi (Ruiz ym., 2020). Tähän prosessiin perustuu *C. reinhardtii*-mikrolevän vedyn tuotanto, jota on tutkittu erityisesti rikkivajeisissa olosuhteissa fotoautotrofisissa kasvatusolosuhteissa ilman orgaanisia substraatteja, mikä

mahdollistaa vedyn synteessin valoenergian ja hiilidioksidin avulla (Hippler & Khosravitar, 2024). Suorassa biofotolyysissä vedyn tuotantoa tapahtuu tyypillisesti silloin, kun leväviljelmät altistetaan valolle pimeän anaerobisen sopeutumiskauden jälkeen (Loyte ym., 2024). Suora biofotolyysi hyödyntää PSII:ssä tapahtuvaa veden hapetusta elektronilähteenä hydrogenaasin katalysoimalle protonien pelkistymiselle, samalla syntyy happea veden hapetuksen sivutuotteena (yhtälö 3) (Kosourov ym., 2021). Veden hapetuksesta vapautuvat elektronit voivat PSI:n kautta johtaa joko hiilidioksidin pelkistämiseen tai vedyn muodostumiseen hydrogenaasin läsnä ollessa (Vasmara ym., 2025). Toisin kuin tavanomaisessa fotosynteesissä, jossa pelkistimet ohjataan hiilensidontareaktioihin hiilidioksidin pelkistämiseksi, suorassa biofotolyysissä fotosynteesin valovaiheessa syntyneet pelkistimet käytetään vedyn tuotantoon (yhtälö 4) (Singh & Das, 2020).

Yhtälö 3: $2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{H}^+ + 4 \text{e}^- + \text{O}_2$ (Jiao ym., 2024).

Yhtälö 4: $4\text{H}^+ + 4\text{e}^- + \text{Fd}_{\text{pelkistynyt}} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{Fd}_{\text{hapettunut}}$ (Zidan ym., 2024)

Auringonvalon suora hyödyntäminen yksinkertaistaa prosessia, sillä se ei edellytä solulta ulkoisia orgaanisia substraatteja (Tuluhong ym., 2024). Yksi menetelmän merkittävimmistä haasteista on veden hapettumisen yhteydessä syntyvä happi, joka estää FeFe-hydrogenaasin toimintaa. PSII:n aktiivisuutta on rajoitettava siten, että *C. reinhardtii*-mikrolevän soluhengitys kuluttaa enemmän happea kuin PSII tuottaa, jolloin soluihin syntyy anaerobinen tila, joka mahdollistaa pitkäaikaisen vedyn tuotannon (Kosourov ym., 2021). Yksi tapa luoda anaerobinen tila on rikkivajeeseen perustuva menetelmä, jossa rikin puute rajoittaa PSII-proteiinien biosynteesiä, vähentää hapen muodostumista ja siten edistää hydrogenaasin aktiivisuutta. Toinen menetelmään liittyvä haaste on hydrogenaasille saatavilla olevien elektronien rajoitettu määrä. Tämä johtuu muiden biokemiallisten aineenvaihduntareittien esiintymisestä, jotka kilpailevat samoista primaarisista pelkistäjistä, kuten ferredoksiinista ja NADPH:sta. Tämän kilpailun vähentämiseksi on hyödynnetty rikkivajeeseen perustuvaa menetelmää fotosynteesin ja vedyn tuotannon ajalliseksi erottamiseksi sekä molekyylibiologisia menetelmiä, kuten FNR:n aktiivisuuden vähentämistä (Singh & Das, 2020).



Created in BioRender.com bio

Kuva 2. Biologisen vedyn tuotannon reitti suoralla biofotolyysillä. Malli: Singh & Das, 2020, teoksessa Handbook of Microalgae-Based Processes and Products.

4.2 Vedyn tuotannon säätely *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevällä

Vedyn tuotanto fotosynteesissä liittyy tilanteisiin, joissa lineaarinen elektroninsiirtoketju vastaanottaa enemmän elektroneja kuin se kykenee hyödyntämään, mikä edellyttää pelkistävän voiman purkamista vaihtoehtoisten reittien kautta. Tällöin elektronit ohjautuvat kloroplastin stroomassa oleviin protoneihin, jotka pelkistyvät vedyksi (Boticelli ym., 2025). Tämä kuitenkin aiheuttaa merkittävän energiahäviön, koska elektronit ohjautuvat pois normaalista energian talteenotosta. Tämän vuoksi vedyn tuotantoa esiintyy olosuhteissa, joissa energian hyödyntäminen on muutenkin rajoittunutta, erityisesti anaerobisissa olosuhteissa ja vaihtelevissa valaistusolosuhteissa (Nagy ym., 2024). Aerobisissa olosuhteissa hydrogenaasientsyymien pääasiallinen tehtävä on suojata fotosynteesistä elektroninsiirtoketjua liiallisesta pelkistymisestä aiheutuvilta vaurioilta siirtymävaiheissa, joissa hapen osapaine pienenee. Tämä edellyttää hydrogenaasin ilmentymistä ja sen nopeaa aktivoitumista hapen osapaineen pienentyessä. Paluu täysin hapellisiin olosuhteisiin johtaa puolestaan hydrogenaasin nopeaan inaktivaatioon ja sen proteolyyttiseen hajoamiseen (Kosourov ym., 2021).

Vedyn tuotannosta vastaavat FeFe-hydrogenaasit aktivoituvat luonnollisissa yön aikaisissa anaerobisissa oloissa, kun mitokondrioiden soluhengitys vähitellen kuluttaa jäljellä olevan hapen (Khosravitar & Spetea, 2025). PSII:n tuottama happi inhiboi hydrogenaasia, joten PSII:n aktiivisuuden on pysyttävä tasolla, jolla mitokondrioiden soluhengitys kuluttaa happea nopeammin kuin sitä muodostuu, mikä mahdollistaa pidempikestoisen vedyn tuotannon (Kosourov ym., 2021).

Valon vaikutuksesta ATP:n ja NADPH:n tuotanto käynnistyy nopeasti, mutta Calvin–Benson-kierto aktivoituu viiveellä, jolloin ylimääräiset elektronit ohjautuvat nopeasti hydrogenaasille ja vedyn tuotanto alkaa välittömästi. Kun Calvin–Benson-kierto aktivoituu, se kuluttaa pääosan elektroneista ja vedyn tuotanto päättyy (Khosravitar & Spetea, 2025). Hydrogenaasi kilpailee elektroneista ferredoksiinin kautta sekä FNR:n että PSI:n syklisen elektroninsiirron kanssa (Nagy ym., 2025). FNR:n korkeamman elektronien affiniteetin vuoksi Calvin–Benson-kierto syrjäyttää vedyn tuotannon tyypillisesti minuuteissa pimeästä valoon siirtymisen jälkeen, usein noin kahdessa minuutissa (Hippler & Khosravitar, 2024). Lisäksi valossa muodostuva happi estää hydrogenaasin katalyyttistä aktiivisuutta ja vähentää sen tuotannosta vastaavan *hydA*-geenin ilmentymistä (Khosravitar & Spetea, 2025).

4.3 Hydrogenaasien rooli *Chlamydomonas reinhardtii* -mikrolevän vedyntuotannossa

C. reinhardtii:lla on kaksi kloroplastissa sijaitsevaa FeFe-hydrogenaasientsyymiä koodaavaa geeniä, *hydA1* ja *hydA2*. Näiden entsyymien tehtävänä on katalysoida vedyn tuotantoa ja hapettumista käyttäen elektronilähteenään fotosynteesin yhteydessä pelkistynyttä ferredoksiinia (Kosourov ym., 2020). Mikrolevissä FeFe-hydrogenaasientsyymiä koodataan *hydA*-geenissä, joka sijaitsee tumassa, josta se translaation jälkeen kuljetetaan kloroplastin stroomaan. Entsyymi on rakenteeltaan monomeerinen, ja sen keskimääräinen molekyylipaino on 45–50 kDa (Singh & Das 2020). Fe-Fe-hydrogenaasilla on ainutlaatuinen katalyyttinen keskus, H-klusteri, mikä tekee siitä noin 1000 kertaa tehokkaamman kuin nitrogenaasientsyymi ja 100 kertaa tehokkaamman kuin muut hydrogenaasit (Loyte ym., 2024). H-klusteri koostuu 4Fe-4S ja 2FeH alayksiköistä, jotka ovat liittyneet toisiinsa kysteiinisulfidisillan avulla (King ym., 2024). 4Fe-4S-alayksikkö muodostaa 4Fe-4S-kubaanin, joka sitoutuu kovalenttisesti kaksoismetalliseen rautakeskukseen, jossa rauta-atomit ovat sitoutuneet ei-proteiinisiin ligandeihin, syanidi-ioneihin (CN⁻) ja hiilimonoksidin (CO)-ryhmiin (Singh & Das, 2020). 4Fe-4S-alayksikkö säätelee hydrogenaasin elektronitasapainoa ja on välttämätön hydrogenaasin aktiivisuudelle.

Protonien pelkistyminen vedyksi tapahtuu 2FeH-alayksikössä, joka muodostaa entsyymien aktiivisen kohdan (King ym., 2024). Kun *hydA*-geeni on ilmentynyt ja stabiili, ferredoksiini muodostaa kompleksin sen kanssa ja elektronit siirtyvät protoneille 4Fe-4S-klustereiden kautta. FeS-klustereiden kokoamisessa keskeistä on, että ne sijaitsevat riittävän lähellä toisiaan, jotta elektroninsiirto niiden välillä on mahdollista. Klustereiden tulee kestää mahdollisimman hyvin hapettumista happiradikaalien vaikutuksesta, jotta vedyn tuotanto voi jatkua mahdollisimman pitkään

(Boticelli ym., 2025). Koska FeFe-hydrogenaasit ovat vuorovaikutuksessa fotosynteesin elektroninsiirtoketjun kanssa ferredoksiinin tasolla, ne voivat vastaanottaa elektroneja sekä veden hapetuksesta suorassa biofotolyysissä että orgaanisten substraattien hajotuksesta peräisin olevista elektroneista epäsuorassa biofotolyysissä (Kosourov ym., 2020).

5. *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevän kasvatusolosuhteiden merkitys vedyn tuotannossa

5.1 Valon intensiteetin vaikutus *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevän vedyntuotantoon

Fotosynteesin laitteisto hyödyntää valoa muuntaakseen epäorgaaniset yhdisteet orgaanisiksi, joten valo toimii energialähteenä sekä tälle prosessille että mikrolevien kokonaisaineenvaihdunnalle ja kasvulle (Fernandez ym., 2020). Heikossa valon intensiteetissä kasvu rajoittuu fotonien niukkuuden vuoksi, sillä soluhengitys kuluttaa hiilipitoisia yhdisteitä nopeammin kuin fotosynteesi ehtii tuottaa niitä, kun taas liian voimakas valo aiheuttaa foto-oksidatiivisia vaurioita, jotka heikentävät solujen toimintaa (Koko ym., 2025). Siten valon intensiteetti on kriittinen tekijä *C. reinhardtii*:n kasvussa, sillä fotosynteesin nopeuden ja valon intensiteetin välillä on positiivinen korrelaatio (Lafout ym., 2024).

Valon intensiteettiä, jolla fotosynteesin energiantuotto on tasapainossa soluhengityksen energiankulutuksen kanssa, kutsutaan kompensatiopisteeksi. Kun valointensiteetti ylittää kompensatiopisteen, fotosynteesin tuotanto ylittää soluhengityksen aiheuttaman kulutuksen, mikä johtaa mikrolevien kasvun kiihtymiseen, kunnes saavutetaan kyllästyspiste. Tämän pisteen jälkeen valointensiteetin lisääminen voi alentaa kasvunopeutta ja aiheuttaa fotoinhibitiota (Sharma ym., 2025). Mikrolevillä kompensatiointensiteetti on tyypillisesti 10–20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, kyllästymisintensiteetti 200–400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ja fotoinhibitiio ilmenee yleensä yli 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fernandez ym., 2020). Nagy ym. (2025) havaitsivat, että PGR5-mutantti voi kestää korkeitakin valointensiteettejä, jopa 1000 $\mu\text{mol fonia m}^{-2} \text{s}^{-1}$, useiden päivien ajan anaerobisissa ja hiilirajoitteisissa olosuhteissa ilman merkittäviä vaurioita.

Singh & Das (2020) tutkimuksen perusteella mikrolevien kasvatus kohtalaisen alhaisessa valointensiteetissä 50–200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ s vaihteluvälillä tukee optimaalista vedyn tuotantoa. Koko (2025) tutkimusryhmineen osoittivat, että optimaalinen valaistus 100–270 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tukee maksimaalista hiilidioksidin biologista sidontaa (noin 1,2 g L⁻¹ päivässä), biomassan tuottavuutta (1,8 g/L) sekä nopeaa kasvua (1,7 d⁻¹). Lafout (2025) tutkimusryhmineen on puolestaan havainnut, että

kaksisuuntainen valaistus intensiteetillä $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kahdelta puolelta lisäsi mikrolevien solutiheyttä, kuivapainoa ja tärkkelyspitoisuutta verrattuna yksisuuntaiseen valaistukseen intensiteetillä $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Korkeammat valointensiteetit $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kahdelta puolelta sekä 800 ja $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ yhdeltä puolelta puolestaan heikensivät näitä vasteita. Kahdelta puolelta kohdistuva valaistus aiheutti myös nopeamman anaerobisen ympäristön muodostumisen, mikä johti vedyn tuotannon aikaisempaan alkamiseen, vaikkakin pidemmän viivevaiheen jälkeen. Kaksisuuntaisessa valaistuksessa $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ intensiteetillä kasvatetut soluviljelmät saavuttivat korkeamman vedyn tuotantomäärän (110 ml L^{-1}), mikä korostaa valon jakautumisen merkitystä mikrolevien vedyn tuotannossa (Lafout ym., 2025).

Nagy (2024) tutkimusryhmineen on osoittanut, että pulssimainen valaistus 1 sekunnin valo- ja 9 sekunnin pimeäjaksoilla yhdistettynä himmeään taustavalaistukseen mahdollistaa vedyn tuotannon jatkumisen useiden päivien ajan. Pimeäjaksot rajoittivat Rubiscon aktivoitumista, kun taas valopulssit ylläpitivät PSI:n toimintaa ja anaerobisia olosuhteita, varmistaen elektronien saatavuuden hydrogenaasille (Koko ym., 2025). Lafout ym. (2025) tutkimuksessa havaittiin, että pulssitetun valon aallonpituudella on merkittävä vaikutus *C. reinhardtii* -levän vedyn tuotantoon sulfiittikäsittelyolosuhteissa, joissa käytettiin kuutta LED-valolähdettä (700, 660, 591, 527 ja 439 nm sekä valkoinen valo) intensiteetillä $2,25 \text{ mW cm}^{-2}$. Paras tuotantonopeus saavutettiin 660 nm punaisella valolla ($120 \text{ mL H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ päivä}^{-1}$), ja kolmen päivän kokonaistuotto oli lähes 180 mL L^{-1} . Valkoinen valo ylläpiti vedyn tuotantoa yli kuuden päivän ajan, kun taas pidemmät aallonpituudet tuottivat selvästi pienempiä määriä. Hippler ja Khosravitar (2024) havaitsivat, että yhdistämällä valo- ja pimeäsykliprotokolla (2 min valoa, 3 min pimeää) Calvin-Benson-kierron substraattien poisjättämiseen, lyhyellä aikavälillä saavutettu keskimääräinen vedyntuotantonopeus oli $49 \mu\text{mol vetyä mg Chl}^{-1} \text{ h}^{-1}$ valon intensiteetin ollessa $370 \mu\text{mol fotoneja m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Anaerobisten olosuhteiden aikaansaamiseksi käytetään perinteisesti pimeää inkubointivaihetta, joka aktivoi hydrogenaasin. Khosravitar ja Spetea (2025) osoittivat, että pimeävaiheen jälkeinen äkillinen valotus voi toisaalta aiheuttaa plastokinonialtaan (PQ) ylipelkistymisen, mikä rajoittaa elektronivirtaa hydrogenaasille. Tämä johtuu nopeasta elektronivirrasta PSII:lta, kun Calvin-Benson-kierto ja hapestä riippuvaiset elektroninvastaanottajat ovat inaktiivisia, sekä luumenin happamoitumisesta, joka hidastaa PQH₂:n hapettumista sytokromi b6f-kompleksissa. Näiden vasteiden seurauksena lineaarinen elektronivirta vähenee ja vedyn tuotanto heikkenee. Khosravitar ja Spetea (2025) ehdottivat ratkaisuksi pimeävaiheen poistamista sekä typpihuhtelun pidentämistä 6–9 minuuttiin ennen valotusta. Tämän todettiin ylläpitävän elektroninsiirron vakautta, vähentävän plastokinonialtaan pelkistymistä ja mahdollistavan korkean

vedyn tuotannon jopa 10 tunnin ajan, keskimääräisen tuotantonopeuden ollessa 30–35 $\mu\text{mol H}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl h}^{-1}$ ja huippuarvon 72 $\mu\text{mol H}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl h}^{-1}$. Pimeävaiheen poistaminen ja kohtalaisen valointensiteetin käyttö (120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) parantavat vedyn tuotannon kestävyyttä verrattuna perinteiseen protokollaan, jossa siirrytään pimeästä suoraan kirkaaseen (350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) valaistukseen (Khosravitar & Spetea, 2025).

Hapen lisääntyvä tuotanto korkeassa valaistuksessa vaikeuttaa anaerobisten olosuhteiden ylläpitämistä jatkuvaa vedyn tuotantoa varten (Singh & Das, 2020). Tiheissä mikroleväviljelmissä solut altistuvat vaihteleville valon intensiteeteille sijaintinsa mukaan, ja nämä intensiteetit muuttuvat ajan myötä biofotoreaktorin virtausdynamiikan ja valaistusprofiilin seurauksena (Fernandez ym., 2020). Vaikka valon keston, aallonpituuden ja intensiteetin vaikutukset *C. reinhardtii*:n aineenvaihduntaan ja vedyn tuotantoon tunnetaan, niiden yhteisvaikutuksia ei ole vielä kattavasti tutkittu (Lafout ym., 2025).

5.2 Lämpötilan vaikutus *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevän vedyntuotantoon

Sopivan kasvulämpötilan ylläpitäminen edistää *C. reinhardtii*:n aineenvaihdunnan suuntautumista biomassan kertymiseen ja vedyn tuotantoon, ja optimaalisiksi kasvulämpötiloiksi on raportoitu 25–35 °C (Singh & Das, 2020). Näissä lämpötiloissa fotosynteettinen aktiivisuus on korkeinta, ja optimoiduissa olosuhteissa tietyt kannat voivat saavuttaa huomattavan vedyn kokonaistuoton, jopa 14,97 mmol L⁻¹, sekä keskimääräisen tuotantonopeuden 17,85 $\mu\text{mol H}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl}$ (Koko ym., 2025). Liian korkeat lämpötilat voivat kuitenkin johtaa keskeisten aineenvaihduntaentsyymien denaturoitumiseen ja soluhengityksen heikkenemiseen. Samanaikaisesti ne voivat inaktivoida fotosynteesin proteiineja, heikentää Rubiscon stabiilisuutta sekä vähentää hiilidioksidin liukoisuutta kasvatusväliaineessa, mikä kokonaisuutena rajoittaa Calvin–Bensonkierron tehokkuutta (Jiao ym., 2024). Tämän seurauksena hiilen pelkistykseen tarvittavien elektronien kulutus vähenee, jolloin suurempi osa elektronivirrasta voidaan ohjata FeFe-hydrogenaasille, mikä edelleen tehostaa vedyn tuotantoa (Koko ym., 2025).

Fotobioreaktorissa mikrolevien kasvatuksen aikana lämpötila usein nousee merkittävästi. Tämä lämpötilan nousu johtuu ylimääräisten absorboitujen fotonien hajoamisesta lämmöksi NPQ:n aktivoitumisen seurauksena. Vaikka korkeampi lämpötila voi vähentää hapen muodostumista, se voi kuitenkin denaturoida solun toiminnalliset proteiinit ja siten haitata mikrolevien kasvua ja vedyn muodostumista. Siksi lämpötilan hallinta fotobioreaktorissa on välttämätöntä korkeiden vedyn tuotantonopeuksien saavuttamiseksi (Singh & Das., 2020).

5.3 Kasvatusalustan pH:n vaikutus *Chlamydomonas reinhardtii*-mikrolevän vedyn tuotantoon

Kasvatusalustan pH vaikuttaa mikrolevien toimintaan, ja vedyn tuotannon on raportoitu olevan tehokkainta emäksisissä olosuhteissa (pH 6–10), jotka tukevat myös mikrolevien kasvua. On havaittu, että matala pH-arvo (<5,0) inaktivoi hydrogenaasit ja johtaa alhaiseen vedyn tuotantonopeuteen (Singh & Das, 2020). Useimmat viljelymenetelmät hyötyvät lievästi emäksisestä kasvatusympäristöstä, sillä se parantaa hiilidioksidin liukoisuutta, lisää vapaan hiilidioksidin saatavuutta ja voi samalla vähentää kontaminaation riskiä (Ruiz ym., 2020). Mikroleväviljelmien ylläpitäminen hiilidioksidipitoisuudessa, joka ylittää $65 \mu\text{mol L}^{-1}$ ja vastaa noin pH-arvoa 8,5, parantaa solujen tarvitsemien epäorgaanisten hiiliyhdistelmien saatavuutta (Fernandez ym., 2020). Ravinnestressiin perustuvissa vedyn tuotantostrategioissa pH:n muutokset ajan myötä sekä aineenvaihdunnan välituotteiden kertyminen voivat heikentää vedyn tuotannon tehokkuutta (Singh & Das, 2020).

6. Bioteknologisia ratkaisuja biologisen vedyn tuotannon tehostamiseksi

6.1 Kasvatusolosuhteiden optimointi

Kuten jo aiemmin todettiin, riittämätön elektronien ohjautuminen hydrogenaasille johtuu pääosin elektronien ohjautumisesta Calvin-Benson-kiertoon, minkä vuoksi hiilidioksidin sidonnan heikentäminen muodostaa lupaavan strategian vedyntuotannon tehostamiseksi (Hippler & Khosravitar, 2024). Fotosynteesin aikana syntyvät elektronit ohjautuvat hiilidioksidin sidonnan lisäksi ravinteiden, kuten typen ja rikin yhdisteiden pelkistämiseen, joissa nitraatti- ja sulfaattireduktaasit käyttävät ferredoksiinin välittämiä elektroneja (Koko ym., 2025). Kosourov (2022) tutkimusryhmineen havaitsi, että nitraatin poistaminen kasvatusalustasta tai sellaisten kantojen käyttö, joilta puuttuu nitraatin assimilaatio, lisäsi biologista vedyn tuotantoa huomattavasti. Luonnollisten kasvureittien ensisijaisuus voi rajoittaa vedyn tuotantoa, minkä vuoksi tehokas biologinen vedyn tuotanto edellyttää solun elektronivirran ohjaamista kasvureiteiltä vetyä tuottaviin aineenvaihduntaprosesseihin (Jaramillo ym., 2025).

Vaikka luonnossa vedyn tuotanto on lyhytkestoista, useat laboratorioissa kehitetyt strategiat voivat pidentää sen kestoa ohjaamalla fotosynteettisiä elektroneja hydrogenaasille FNR:n sijaan (Khosravitar & Spetea ym., 2025). Yksi menetelmä on Calvin–Benson-kierron aktiivisuuden rajoittaminen poistamalla hiilen lähteet, jolloin leviä kasvatetaan hiilidioksidittomissa tai asetaattittomissa olosuhteissa (Nagy ym., 2025). Ulkoisten hiilenlähteiden puuttuessa Calvin-Benson-

kierto inaktivoituu, koska Rubisco ei kykene sitomaan hiilidioksidia, mikä ohjaa solun elektronit muualle kuin hiilensidontaan (Koko ym., 2025). Hiilenlähteiden poistoon perustuvat viljelystrategiat alkavat lyhyillä anaerobisilla pimeäinkubaatioilla, joiden tarkoituksena on aktivoida hydrogenaaseja koodaavien geenien ilmentyminen, ja niitä seuraa jatkuva korkean valointensiteetin altistus ($320 \mu\text{mol fotonia m}^{-2} \text{s}^{-1}$) asetaattittomassa väliaineessa ilman ulkoista hiilen lähdettä. Anaerobisten olosuhteiden ylläpitämiseksi viljelmän kaasutilan päivittäinen typpihuuhtelu voisi tarjota yhden mahdollisen ratkaisun olosuhteiden säilyttämiseen viljelyjärjestelmässä (Hippler & Khosravitar, 2024).

Hydrogenaasin aktiivisuuden ylläpitäminen edellyttää alhaista happipitoisuutta, joka voidaan saavuttaa useilla eri menetelmillä. Yksi keskeinen lähestymistapa perustuu rikkivajeeseen, jossa fotosysteemi II:n toimintaa vaimennetaan tarkoituksellisesti (Nagy ym., 2025). Suoran biofotolyysin vedyn tuotanto etenee tällöin kaksivaiheisesti siten, että ensin mikroleviä kasvatetaan rikkiä sisältävissä olosuhteissa fotosynteettisen hapentuotannon ja biomassan kertymisen mahdollistamiseksi, minkä jälkeen hiilihydraatteja sisältävä biomassa siirretään rikinpuutteeseen kasvatusliuokseen, mikä käynnistää vedyn muodostumisen (Singh & Das, 2020). Rikkivajeisissa olosuhteissa fotosysteemi II:n korjausmekanismi estyy, koska rikkiä sisältävien aminohappojen synteesi ei ole mahdollista, mikä johtaa PSII:n aktiivisuuden heikkenemiseen. Tämän seurauksena veden hapettuminen ja siihen liittyvä hapen muodostuminen vähenevät merkittävästi (Vapaavuori & Suorsa, 2017). Lisäksi rikkivaje johtaa PQ-varannon voimakkaampaan pelkistymiseen, mikä tietyissä olosuhteissa mahdollistaa valosta riippuvan vedyn tuotannon jatkumisen yli viikon ajan (Kosourov ym., 2021).

Koko ym. (2025) osoittivat, että kaksivaiheinen viljelyprosessi, jossa aerobinen kasvuvaihetta seuraa siirto fotobioreaktoriin, mahdollistaa rikkivajeessa suuren biomassakertymän, noin 1000 mg L^{-1} , optimoiduissa olosuhteissa $32 \text{ }^\circ\text{C}$ lämpötilassa, pH-arvossa 6,2 ja valointensiteetillä $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sekä luo tehokkaasti anaerobiset olosuhteet. Luonnonolosuhteissa rikin kulutus lisääntyy valon voimakkuuden kasvaessa ja saavuttaa maksimitasonsa noin $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ valointensiteetissä (Jiao ym., 2024). Kontrolloitu rikinpoisto korkeassa valossa $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pidentää vedyn tuotannon keston neljästä viiteen päivään ja lisää kokonaistuottoa noin seitsemänkertaisesti, saavuttaen $285,74 \pm 27,01 \mu\text{mol H}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl a}$, sekä kasvattaa tuotantotehoa 37% arvoon $39,64 \pm 2,44 \mu\text{mol H}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ verrattuna matalan valointensiteetin olosuhteisiin. Tämä korostaa rikkivajeen keskeistä merkitystä hapentuoton rajoittamisessa ja anaerobisten olosuhteiden ylläpitämisessä vedyn tuotannon aikana (Koko ym., 2025).

PSII:n toiminnallisen eheyden säilyttävät strategiat ovat tehokkaita, sillä PSII:n pitkäaikainen inaktivaatio rajoittaa solujen kasvua ja biomassan kertymistä. Mikrolevien yhteisviljely hapetta kuluttavien bakteerien kanssa tarjoaa vaihtoehtoisen lähestymistavan, jossa bakteerit poistavat fotosynteesissä muodostuvaa hapetta ja samalla tuottavat orgaanisia yhdisteitä, kuten asetaattia ja glukoosia, jotka tukevat levien kasvua. Esimerkiksi *C.reinhardtii*-*Azotobacter chroococcum* -yhteisviljelmä lisäsi vedyn tuotantoa $285 \mu\text{mol H}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl}$ tasolle verrattuna $10 \mu\text{mol H}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ Chl}$ yksiviljelmissä (Koko ym., 2025). Näistä optimointistrategioista huolimatta tuotantoprosessien kokonaistuottavuus on edelleen alhainen ja fotobioreaktorioiden käyttökustannukset korkeat, minkä vuoksi geneettinen muokkaus on noussut keskeiseksi lähestymistavaksi teollisiin sovelluksiin soveltuvien mikroleväkantojen kehittämisessä (Antonacci ym., 2026).

Solujen immobilisointi on noussut myös lupaavaksi ratkaisuksi biologisessa vedyn tuotannossa, sillä se parantaa biomassan pidättymistä, tehostaa valon hyödyntämistä ja vähentää kontaminaatoriskiä, mikä pidentää vedyn tuotannon kestoa ja kasvattaa kokonaissaantoa (Koko ym., 2025). Entsyymien ja solujen immobilisointi erityisiin polymeerimatriiseihin erottaa solut bioreaktorin neste- ja kaasuseoksesta, mikä tehostaa valon jakautumista soluille ja vakauttaa bioreaktorissa vallitsevat olosuhteet, mikä edistäisi vedyn tuotannon jatkuvuutta (Kosourov ym., 2021).

6.2 Bioreaktorin ominaisuuksien vaikutus mikroleväpohjaisessa vedyn tuotannossa

Mikroleviä voidaan kasvattaa avoimissa kasvatusaltaissa, jotka ovat rakenteeltaan yksinkertaisia ja kustannustehokkaita. Kuitenkin niiden tuotantotehokkuus jää suljettujen fotobioreaktorioiden tasosta, sillä biomassapitoisuus pysyy suuren vesitilavuuden vuoksi alle $1,0 \text{ g L}^{-1}$. Tämä lisää viljelmien kontaminaatoriskiä ja epäonnistumisen todennäköisyyttä, mikä puolestaan heikentää merkittävästi järjestelmän kokonaistuottavuutta (Fernández ym., 2020). Biologisen vedyn tuotanto edellyttää erityisiä suljettuja fotobioreaktoreita, sillä avoimet kasvatusaltaat, joita muuten käytetään levien suurimittakaavaiseen kasvatukseen, eivät sovellu vedyn tuottamiseen eikä vetykaasun talteenottoon (Khetkorn ym., 2017). Vedyn tuotantoon soveltuvan fotobioreaktorin valintaan vaikuttavat ensisijaisesti prosessin tehokkuus, kustannustehokkuus, operoitavuus sekä järjestelmän skaalautuvuus. Suljetut fotobioreaktorit tarjoavat hallittavat olosuhteet valon, lämpötilan ja pH:n suhteen, mikä tukee vedyn tuotantoa (Loyte ym., 2024).

Suljetut biofotoreaktorit vaativat vähemmän tilaa saman biomassamäärän tuottamiseen verrattuna avoimiin altaihin, ja ne voivat hyödyntää sekä luonnon- että keinovaloa

(Sharma ym., 2025). Lisäksi ne vähentävät hiilidioksidin ja veden menetystä ja tarjoavat tasaisemman valon jakautumisen koko kasvatusalueella (Vapaavuori & Suorsa, 2017). Käyttöön liittyy kuitenkin useita merkittäviä rajoituksia, kuten alhainen pinta-alan ja tilavuuden suhde, valon läpäisyn rajallisuus, lämmönhallinnan haasteet, riittämätön sekoittuminen, joka voi johtaa biofilmin muodostumiseen, sekä kaasujenvaihdon rajoitukset (Loyte ym., 2024). Lisäksi suljettujen järjestelmien investointi- ja käyttökustannukset ovat korkeat (Sharma ym., 2025). Fotobioreaktoreissa viljelyolosuhteita ei voida täysin optimoida solujen tarpeiden mukaisiksi auringonsäteilyn ja lämpötilan vaihtelun vuoksi.

Aiemmat tutkimukset osoittavat, että viljelyolosuhteiden vaihtelu voi alentaa mikroleväsolujen suorituskykyä jopa noin kolmannekseen maksimaalisesta, myös suljetuissa putkimaisissa fotobioreaktoreissa. Putkimaisten fotobioreaktorien etuna on kuitenkin biomassan tuotannon luotettavuus, joka perustuu korkeampiin biomassapitoisuuksiin ja parempaan viljelyparametrien hallintaan (Fernández ym., 2020). Mikrolevien tuotannossa voidaan hyödyntää myös avoimen altaan ja suljetun biofotoreaktorin yhdistelmää, jossa biomassa tuotetaan kustannustehokkaasti avoimessa järjestelmässä ja haluttujen yhdisteiden biosynteesi tapahtuu tarkasti kontrolloiduissa olosuhteissa suljetussa fotobioreaktorissa (Vapaavuori & Suorsa, 2017).

Viimeaikainen tutkimus korostaa tasopintaisten fotobioreaktorien (eng. flat plate PBRs) etuja, kuten suurta valolle altistuvaa pinta-alaa ja korkeaa viljelytiheyttä, jotka parantavat fotosynteettistä tehokkuutta verrattuna putkireaktoreihin (Sharma ym., 2025). Myös vaakasuuntaisia putkireaktoreita (eng. horizontal tubular bioreactors) on tutkittu, joissa valo kerätään ulkoisen valonkeräysyksikön kautta ja kaasunvaihto tapahtuu ilmankiertopumpun avulla (Jiao ym., 2024). Ohuen kerroksen PBR:t (TLC-PBR) mahdollistavat korkean valon intensiteetin ($1000 \mu\text{mol fotonia m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) hyödyntämisen sekä tehokkaan massa- ja kaasunsiirron, mikä parantaisi vedyntuotannon suorituskykyä (Khosravitar & Spetea, 2025). Fotobioreaktoreiden suunnittelussa on otettava huomioon tekijät, jotka vaikuttavat valonmuuntotehokkuuteen, mukaan lukien putken halkaisija tai tasopaneelin paksuus ja valon hajautumistehokkuus, jotta vältetään fotoinhibitiota ja parannetaan viljelysolujen fotosynteettistä tehokkuutta (Jaramillo ym., 2025). Optimaalinen fotobioreaktori yhdistää korkean solutiheyden ja tasaisen valon jakautumisen, mikä on kriittistä vedyn tuotannon maksimoimiseksi (Hippler & Khosravitar, 2024).

8. Johtopäätökset

Chlamydomonas reinhardtii -mikrolevällä on luonnollinen kyky tuottaa vetyä fotosynteesin avulla veden hapettumisen kautta, mikä tekee siitä lupaavan kestävän energiateknologian vedyn tuotantoon (Singh & Das, 2020). Suoraan biofotolyysiin perustuva biologinen vedyntuotanto hyödyntää luonnollisia katalyyttejä, kuten PSII:ta ja hydrogenaasia, mikä vähentää tarvetta harvinaisille maametalleille, joita käytetään esimerkiksi veden elektrolyysissä (Koko ym., 2025). Suoraan biofotolyysiin perustuvan vedyn teoreettinen valonmuuntotehokkuus voi olla jopa 13,4 %, mikä on selvästi korkeampi kuin muilla bioenergiälähteillä, ja tuotanto ei vaadi fyysistä erotusta, sillä vety vapautuu suoraan kaasutilaan, toisin kuin muut bioenergian tuotteet.

Viimeaikaiset edistysaskeleet synteettisessä biologiassa ja metabolisen säätelyn tekniikoissa ovat tarjonneet ratkaisuja biologisen vedyntuotannon keskeisiin haasteisiin, kuten elektronivirran optimointiin, PSII:n säätelyyn ja hapenkestävien FeFe-hydrogenaasien hyödyntämiseen. Geneettiset muokkaukset mahdollistavat tehokkaiden hydrogenaasien käyttöönoton ja elektroninsiirtoreittien muokkaamisen, mikä parantaa vedyn tuotantoa kohtalaisissa happiolosuhteissa (Jaramillo ym., 2025). Lisäksi jätevesien käyttö ravinnelähteenä vähentää veden kulutusta, sillä fotobioreaktoreiden täyttö voi vaatia jopa 50 l/m² vettä (Faraloni ym., 2025). Näiden lisäksi proteiinisunnitteluun perustuva tutkimus voi olla lupaava keino kehittää hapenkestävä hydrogenaasi kestävän vedyn tuotannon mahdollistamiseksi (Singh & Das, 2020). Fotobioreaktorien optimointi yhdistettynä kestävien materiaalien ja jätevirtojen hyödyntämiseen lisää tuotannon skaalautuvuutta ja kaupallista toteutettavuutta (Jaramillo ym., 2025).

Biologisten vedyntuotantomenetelmien teollinen hyödyntäminen on toistaiseksi rajoittunut laboratorio- ja pilottimittakaavaan alhaisen vedyn tuotantotehokkuuden, hydrogenaasientsyymien happiherkkyyden ja tarkasti hallittujen ympäristöolosuhteiden vuoksi (Singh & Das, 2020). Tuotantoa rajoittaa alhainen valonmuuntotehokkuus, sillä suuret antennijärjestelmät aiheuttavat kirkkaassa valossa yliabsorptiota, NPQ:ta ja energiahäviöitä. Vedyn puhdistus on merkittävä este skaalaukselle, sillä perinteiset painevaihteluadsorptio (eng. pressure swing adsorption, PSA)-menetelmät ovat energiaintensiivisiä, kalliita ja voivat aiheuttaa jopa 20 % vedyn menetystä sekä muodostaa noin puolet kokonaiskustannuksista. Kalvoerotus (eng. membrane separation emerges) tarjoaa skaalautuvan vaihtoehdon, sillä sen avulla voidaan saavuttaa yli 99,5 % vedyn puhtaus noin 95 % talteenotolla ja alle 1,5 kWh/kg energiankulutuksella.

Kaupallinen skaalaus edellyttää biofotoreaktorisuunnittelun, prosessien integroinnin sekä taloudellisten mallien uudelleenarviointia. Viimeaikaiset edistysaskeleet korostavat hybridiviljelyn,

modulaarisen suunnittelun sekä teknistaloudellisen ja elinkaarianalyysin merkitystä kustannusten alentamisessa (Koko ym., 2025). Kannattavuutta voidaan parantaa biojalostamokonseptilla, jossa vedyn rinnalla tuotetaan arvokkaita sivutuotteita, kuten bioetanolia ja biomuoveja (Pillay ym., 2025). Tekoälyyn ja koneoppimiseen perustuvat ohjausjärjestelmät tarjoavat lupaavan keinon prosessien reaaliaikaiseen optimointiin, mikä parantaa energiatehokkuutta ja vähentää kustannuksia. Suurten biofotoreaktorien ja laitteistojen suunnittelussa energiatehokkuus on välttämätöntä, jotta skaalautuvuus ja taloudellinen toteutettavuus voidaan saavuttaa (Pillay ym., 2025).

Kirjallisuus

Aravindan, M., & Kumar, P. (2023). *Hydrogen towards sustainable transition: A review of production, economic, environmental impact and scaling factors*. Journal of Cleaner Energy Technologies. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590123023005832>

Aro, E. & Sarvikas, P. (2017). Fotosynteesin valoreaktiot (s. 71-88). In P. Sarvikas (Ed.), *Fotosynteesi*. Books on Demand GmbH.

Antonacci, A., Masi, A., Vedi, V., Colella, S., Musella, F., Fiorentino, G., & Scognamiglio, V. (2026). CRISPR-Cas technology turns *Chlamydomonas reinhardtii* into a flagship for algal biotechnology. *Marine Drugs*, 24(1), 1. <https://www.mdpi.com/1660-3397/24/1/1>

Botticelli, S., Faraloni, C., & La Penna, G. (2025). Predicting the structure of hydrogenase in microalgae: The case of *Nannochloropsis salina*. *Hydrogen*, 6(4), 77. <https://www.mdpi.com/2673-4141/6/4/77>

Borowitzka, M. (2020). *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*. <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780128185360/handbook-of-microalgae-based-processes-and-products>

Elman, T., Isaac, S., & Yacoby, I. (2026). *Photobiological hydrogen production at pilot scale: Integrating bioprocess optimization and techno-economic modeling*. International Journal of Hydrogen Energy, 153272. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319925062755?via%3Dihub>

Engel, B. D., Schaffer, M., Kuhn Cuellar, L., Villa, E., Plitzko, J. M., & Baumeister, W. (2015). Native architecture of the *Chlamydomonas* chloroplast reveals the function of the pyrenoid. *eLife*, 4, e04889. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4292175/>

- Esposito, L., van der Wiel, M., & Acar, C. (2024). Hydrogen storage solutions for residential heating: A thermodynamic and economic analysis with scale-up potential. *International Journal of Hydrogen Energy*, *79*, 579–593. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319924025096?via%3Dihub>
- Fakhimi, N. (2024). Photosynthetic electron flows and networks of metabolite trafficking to sustain metabolism in photosynthetic systems. *Plants*, *13*(21), 3015. <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/21/3015>
- Faraloni, C., Torzillo, G., Balestra, F., Moia, I. C., Zampieri, R. M., Jiménez-Conejo, N., & Touloupakis, E. (2025). Advances and challenges in biohydrogen production by photosynthetic microorganisms. *Energies*, *18*(9), 2319. <https://www.mdpi.com/1996-1073/18/9/2319>
- Fernández, F. G., Sevilla, J. M. F., Llamas Moya, B., & Molina Grima, E. (2020). Microalgae production system. In M. Borowitzka, *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (s. 130–143, 146-158). <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780128185360/handbook-of-microalgae-based-processes-and-products>
- Gupta, S., Fernandes, A., Lopes, A., Grasa, L., & Salafranca, J. (2024). Microbes and parameters influencing dark fermentation for hydrogen production. *Applied Sciences*, *14*(23), 10789. <https://www.mdpi.com/2076-3417/14/23/10789>
- Hippler, M., & Khosravitar, F. (2024). Light-driven H₂ production in *Chlamydomonas reinhardtii*: Lessons from engineering of photosynthesis. *Plants*, *13*(15), 2114. <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/15/2114>
- Jaramillo, A., Satta, A., Pinto, F., Faraloni, C., Chini Zittelli, G., Silva Benavides, A. M., Torzillo, G., Schumann, C., Fernández Méndez, J., Berggren, G., Lindblad, P., Parente, M., Esposito, S., & Diano, M. (2025). Outlook on synthetic biology-driven hydrogen production: Lessons from algal photosynthesis applied to cyanobacteria. *Energy & Fuels*, *39*(9), 4987–5006. <https://uu.diva-portal.org/smash/get/diva2:1952311/FULLTEXT01.pdf>
- Jiao, H., Tsigkou, K., Elsamahy, T., Pispas, K., Sun, J., Manthos, G., Schagerl, M., Sventzouri, E., Al-Tohamy, R., Kornaros, M., & Ali, S. S. (2024). Recent advances in sustainable hydrogen production from microalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *270*, 115908. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651323014124?via%3Dihub>

- Jokel, M. (2017). *Regulation of photosynthesis under dynamic light conditions in Chlamydomonas reinhardtii: Impact on hydrogen production* (Doctoral dissertation). Turun yliopisto.
<https://www.utupub.fi/bitstream/handle/10024/143433/AnnalesA1563Jokel.pdf>
- King, P. et al. (2022). Synthetic biology for improved hydrogen production in *Chlamydomonas reinhardtii*. *MicrobiologyOpen*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9249334/>
- Khetkorn, W., Rastogi, R. P., Incharoensakdi, A., Lindblad, P., Madamwar, D., Pandey, A., & Larroche, C. (2017). *Microalgal hydrogen production – A review*. *Bioresource Technology*, 243, 1194–1206. <https://scholar9.com/publication/82927caad8c0544884806b4048dd8339.pdf>
- Koko, I., Ibrahim, E., Almomani, F., & Ghanimeh, S. (2025). Breaking the barriers towards large scale microalgae-based bio hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 193, 152133. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319925051365>
- Kosourov, S., Böhm, M., Senger, M., Berggren, G., Stensjö, K., Mamedov, F., Lindblad, P., & Allahverdiyeva, Y. (2021). Photosynthetic hydrogen production: Novel protocols and engineering approaches. *Physiologia Plantarum*, 173(2), 555–567.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.13428>
- Kosourov, S., Nagy, V., Shevela, D., Jokel, M., Messinger, J., & Allahverdiyeva, Y. (2020). Water oxidation by PSII is the primary electron source for sustained H₂ photoproduction. *PNAS*, 117(47), 29629–29636. <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2009210117>
- Khosravitarbar, F., & Spetea, C. (2025). Rethinking the dark-to-light transition approach for triggering algal hydrogen photoproduction. *International Journal of Hydrogen Energy*, 160, 150608. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319925036079>
- Lafout, S. A., Mahdavi, S. A., Foroozandehfar, A. A. C., Takakovi, O., & Abedi, S. (2025). Enhancing biohydrogen production and biomass accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* under different light spectra. *International Journal of Hydrogen Energy*.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0360319925015599>
- Lempiäinen, T. (2024). *Photoinhibition and regulation of photosynthesis*. Turun yliopisto.
<https://www.utupub.fi/handle/10024/179345>
- Loyte, A., Suryawanshi, J., Bellala, S. S. K., Marode, R. V., & Devarajan, Y. (2024). Current status and obstacles in sustainable biohydrogen synthesis. *Results in Engineering*, 24, 103455.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590123024017079?via%3Dihub>

- Nagy, V., Dabosi, Z., Kuntam, S., Csankó, K., Kovács, L., & Tóth, S. Z. (2024). Photoautotrophic and sustained H₂ production by the *pgr5* mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Hydrogen Energy*, *53*(1), 760–769.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319923064261>
- Pillay, K. J., Singh, N. K., & Pillai, S. (2025). Innovative strategies for enhancing microalgae-based biohydrogen production. *Algal Research*, *91*, 104325.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926425004369?via%3Dihub>
- Queiroz, M., Vieira, J., & Maroneze, M. (2020). Morphophysiological aspects of microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (s. 25–43).
<https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780128185360/handbook-of-microalgae-based-processes-and-products>
- Rintamäki, E. (2017). Hiilidioksidin yhteyttäminen. In P. Sarvikas (Ed.), *Fotosynteesi* (s. 97-102). Books on Demand GmbH.
- Ruiz-Ruiz, P., Estrada, A., & Morales, M. (2020). Carbon dioxide capture and utilization using microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (s. 185–192).
<https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780128185360/handbook-of-microalgae-based-processes-and-products>
- Sharma, A. K., Jaryal, S., Sharma, S., Dhyani, A., Tewari, B. S., & Mahato, N. (2025). Biofuels from microalgae. *Processes*, *13*(2), 488. <https://doi.org/10.3390/pr13020488>
- Singh, H., & Das, D. (2020). Biohydrogen from microalgae. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (s. 391–413). <https://www.sciencedirect.com/book/edited-volume/9780128185360/handbook-of-microalgae-based-processes-and-products>
- Touloupakis, E., Faraloni, C., Silva Benavides, A. M., & Torzillo, G. (2021). Recent achievements in microalgal H₂ production. *Energies*, *14*(21), 7170. <https://www.mdpi.com/1996-1073/14/21/7170>
- Tuluhong, A., Chang, Q., Xie, L., Xu, Z., & Song, T. (2024). Current status of green hydrogen production technology. *Sustainability*, *16*(20), 9070. <https://www.mdpi.com/2071-1050/16/20/9070>
- Tyystjärvi, E. (2017) Fotosynteesin evoluutio (s. 169). In P. Sarvikas (Ed.), *Fotosynteesi*. Books on Demand GmbH).
- Vapaavuori, E., & Suorsa, M. (2017). Fotosynteesi ja muuttuvat ympäristöolosuhteet (s. 187–216). In P. Sarvikas (Ed.), *Fotosynteesi*. Books on Demand GmbH.

Vapaavuori, E., & Suorsa, M. (2017). Fotosynteesi ihmisen palveluksessa (s. 223–233). In P. Sarvikas (Ed.), *Fotosynteesi*. Books on Demand GmbH.

Vasmara, C., Galletti, S., Cianchetta, S., & Ceotto, E. (2025). Hydrogen production from renewable and non-renewable sources. *Energies*, 18(3), 709. <https://www.mdpi.com/1996-1073/18/3/709>

Wang, J., & Yin, Y. (2018). Fermentative hydrogen production using pretreated microalgal biomass. *Microbial Cell Factories*, 17(22). <https://link.springer.com/article/10.1186/s12934-018-0871-5>

Zidan, A., Javed, M., Hassan, A., &. (2024). Optimization of hydrogen production using a coculture of *Chlamydomonas reinhardtii* and activated sludge bacteria. *Chemosphere*.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653524026900>

Lausunto tekoälyn käytöstä

Työssä olen hyödyntänyt *Microsoft M365 Copilot* -tekoälyohjelmaa tekstin ideoinnissa, suunnittelun tukena sekä kappaleiden rakenteen ja kokonaisuuden jäsentämisessä. Kaikki sisällölliset ratkaisut, tieteelliset tulkinnat ja lähdeviittaukset ovat omiani, ja olen käyttänyt Copilotin tuottamia ehdotuksia harkitusti kirjoitusprosessin apuna. Otan kaiken vastuun työn sisällöstä sekä siitä, että perustelut ja johtopäätökset ovat linjassa työssä käytetyn kirjallisuuden kanssa.