

SZAKDOLGOZAT

Orlóci Márton

2023



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök alapképzési szak**

***Shewanella xiamenensis* energiatermelésének vizsgálata
különböző szubsztrátumokon**

Belső konzulens: Dr. Nguyen Duc Quang
egyetemi tanár

Belső konzulens tanszéke:
Biomérnök és Erjedésipari Technológia
Tanszék

Külső konzulens: Dr. Nagy Edina Szandra
egyetemi tanársegéd

Készítette: Orlóci Márton

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

1.	BEVEZETÉS	1
2.	CÉLKITŰZÉS	2
3.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
3.1.	Az üzemanyagcella jelentősége	3
3.2.	Az üzemanyagcella történelme	4
3.3.	Az üzemanyagcellák típusai és jellemzésük	4
3.4.	A mikrobiális üzemanyagcella felépítése és működése	6
3.5.	A mikrobiális üzemanyagcella felhasználási lehetőségei	7
3.6.	<i>Shewanella</i> nemzetség	8
3.6.1.	A <i>Shewanella xiamenensis</i>	9
3.6.2.	A <i>Shewanella</i> nemzetség felhasználási területei	9
3.6.3.	Gélbe zárás	10
3.6.4.	LB tápközeg	12
4.	ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	14
4.1.	Felhasznált mikroorganizmus	14
4.2.	Tápközegek és elkészítési módjuk	14
4.3.	Törzs szaporítása és tárolása	14
4.4.	Mikroorganizmus gélbezárása	15
4.5.	A mikrobiális üzemanyagcella összeállítása	16
4.6.	Vas-redukciós vizsgálat	19
4.7.	Fehérje mérés	19
4.8.	pH és vezetőképesség mérés	20
5.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	21
5.1.	Vas-redukciós vizsgálat	21
5.2.	A kémhatás változása	22
5.3.	Vezetőképes fehérje tartalom összehasonlítása	24
5.4.	A maradék cukor és az elektromos teljesítmény változása	25
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	30
7.	FELHASZNÁLT IRODALOM	31

1. BEVEZETÉS

A modern világ egyik nagy kihívása a növekvő villamosenergia szükséglet kiszolgálása. A hagyományos módszerek zöme ezt értékes energiahordozók fogyasztásával éri el. Az elterjedőben lévő megújuló energiaforrások alkalmazása nem minden körülmények között elérhető.

A mikrobiális energiatermelés különleges előnye, hogy ipari melléktermékekből, akár szennyvíz felhasználásából is, nyerhető vele elektromos áram. Ezen energiacellák ráadásul hasznos, vagy környezetileg közömbös végtermékeket állíthatnak elő.

A mikrobiális energiacella nem újkeletű kutatási terület, ám a kezdeti technológiai akadályok miatt kevés figyelmet kapott. Noha a technológia a természettudatos energiagazdálkodás elérésének jelentős mérföldkövét jelentené, és ámbár kutatása számos előrelépést ért el napjainkig, a sikeres üzemi alkalmazhatósághoz még nem érkezett el a szükséges áttörés.

A technológia hatékonyságának növeléséhez a számos egyéb technikai részlet finomítása mellett az alkalmazott mikroba faja, sőt törzse a legmeghatározóbb. Tanszékünk hosszabb ideje foglalkozik a témával, melynek nyomán, kísérletem egy *Shewanella xiamenensis* baktériumtörzs szubsztrátum felhasználására fókuszált.

2. CÉLKITŰZÉS

A zöldenergia iránti növekvő igény kielégítésére az egyik megoldás az üzemanyagcella technológiája lehet. A biotechnika rohamosan fejlődő tudományága újszerű megoldásokat keres a modern világ kihívásaira. Az üzemanyagcellák hatékonyságát mikrobák beépítésével növelhetjük. A mikrobiális üzemanyagcellákban ígéretes lehetőségek vannak, de gyakorlati alkalmazása további kutatást igényel. A legsarkalatosabbak közül az egyik a nagy teljesítményű mikroba törzs megtalálása, fejlesztése és alkalmazása.

Munkám az egyetemen folyó mikrobiális üzemanyagcella-kutatás része. Szöllősi Attila doktori munkája alapozta meg a témát a tanszéken, és kutatásai nyomán számos szakdolgozat is elkészült. Egy, korábbi vizsgálatok szerint kiemelkedő, elektrogén tulajdonságokat mutató *Shewanella xiamenensis* törzset tanulmányoztam a doktori disszertációban használt, módosított analitikai módszerek alkalmazásával. Fő célom a szubsztrátum hasznosítás megfigyelése volt változó koncentrációjú maltóz és laktóz tartalom mellett.

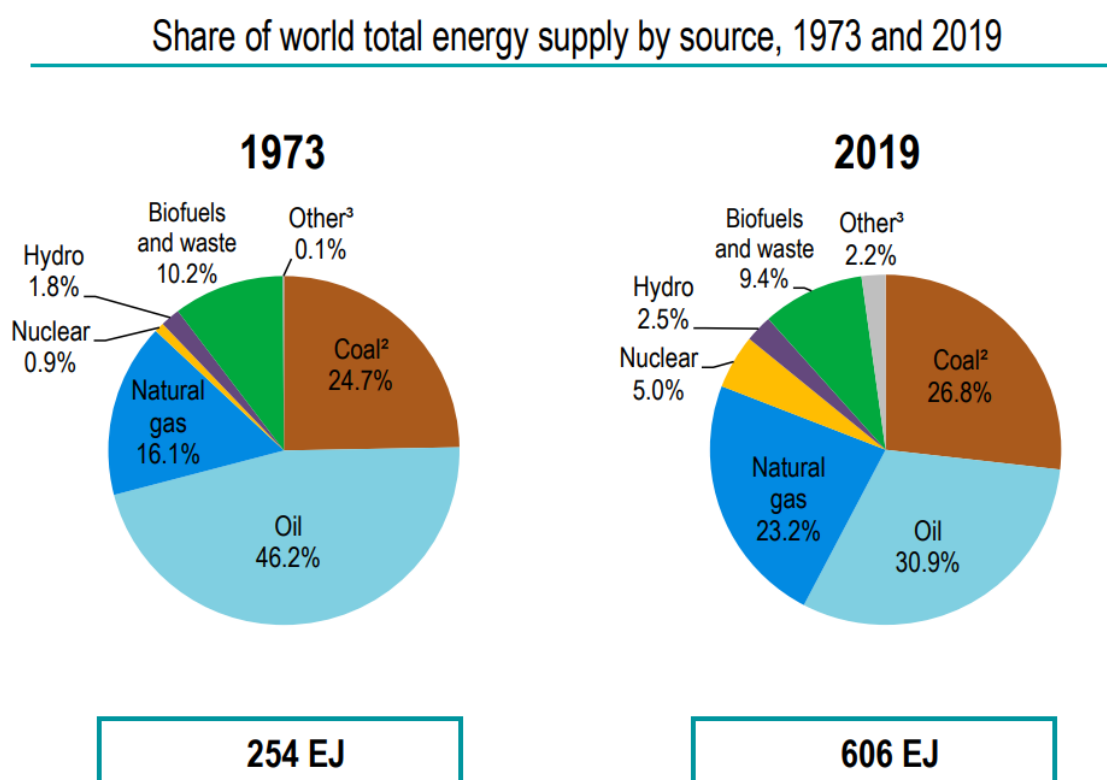
Vizsgálatom az alábbi részfeladatokból állt:

- A törzs vas-redukciós képességének igazolása
- Gél-anód létrehozása
- A gél-anódot tartalmazó mikrobiális üzemanyagcella üzemeltetése és a leadott feszültség mérése a szubsztrátum változtatása mellett
- Kiegészítő vizsgálatok az anód cella állapotának követésére

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Az üzemanyagcella jelentősége

A nemzetközi energiaügynökség (International Energy Agency, 2021) 1973 és 2019 közötti, világ szintű energia statisztikája alapján megállapítható a világ energiaigényének folyamatos növekedése. Szembetűnő, hogy a fosszilis üzemanyagok felhasználásának növekedése lelassult. A jelentés adatai alapján látható, hogy ezen energiahordozók kihasználtsága nehezen fokozható. A szervezet kimutatása szerint a bioüzemanyagok és a szerves hulladékok felhasználása jelentős hányadát teszik ki az energiaforrásoknak.



1. Ábra: A világ elsődleges energiaforrásai energiahordozók szerint százalékos eloszlásban és exaJoule-ban megadva (International Energy Agency, 2021)

A mikrobiális üzemanyagcellák (Microbial Fuel Cell, avagy MFC) olyan modern mikrobiológiai rendszerek, melyek jelentős, fenntartható alternatív energiaforrássá válhatnak. Az MFC-k különböző szénhidrátokon túl összetett szubsztrátumokkal is képesek üzemelni, mint amilyen a szennyvíz is (Pant et al., 2010).

Az 1995. évi LIII. törvény rendelkezik „a környezet védelmének általános szabályairól”, azaz a csatornába engedhető szennyvíz minőségéről. A szennyvíztisztításra számos eljárás ismert, melyek némelyike energiakinyerést is eredményezhet (Wolters Kluwer, 2020).

3.2. Az üzemanyagcella történelme

Az első üzemanyagcelláról az 1838-as *The London and Edinburgh Philosophical Magazine and Journal of Science*-ben számol be William Grove. Kísérletében vizet elektrolizált, majd platina katalizátor jelenlétében figyelte meg az oxigén és hidrogén gázok újra egyesülését kísérő feszültséget (Larminie & Dicks 2003).

Francis Thomas Bacon 1932-től tartó 20 éves munkássága nyomán vált elsőként gyakorlatban alkalmazható energiaforrássá az általa tökéletesített alkáli üzemanyagcella. Később a sikertelen Apollo 13-as űrprogram használta először a Bacon modelljén alapuló alkáli üzemanyagcellát, az első kereskedelmi alkalmazású üzemanyagcellává téve azt. 1955-ben W. Thomas Grubb, a General Electric kémikusa membránt alkalmazott cellafelépítésében, ezzel feltalálva az első protoncsere membrános cellát. 1958-ban a General Electric másik alkalmazottja, Leonard Niedrach platina film hozzáadásával továbbfejlesztette az ion-áteresztő membránt. Az így kapott üzemanyagcella fejlesztését a General Electric tovább folytatta. Ezek a modellek is további szerepet kaptak a NASA Gemini űrprogramjában (Owens, B. 2016).

Az élőlényekben fejlődő elektromos áramot már a 18. század elején észlelte Luigi Galvani (Galvani, L. 1791). A mikrobiális energiatermelés ötlete azonban majd csak 1911-ben merült fel a növényi és egysejtű élőlények biológiai folyamataiban megfigyelt elektropotenciál változások alapján (Potter, M., C. 1911). 1931-ben Barnett Cohen létrehozta az első mikrobiális üzemanyag fél-cellát (Cohen, B. 1931). 1977-ben (Karube et al., 1977) sikeresen hoztak létre mikrobiális hidrogén üzemanyagcellát glükóz fermentációval. A reakciót a felhasznált mikroorganizmus akrilamid gélbe zárásával stabilizálták.

3.3. Az üzemanyagcellák típusai és jellemzésük

Az üzemanyagcellák hatékonyságát két alapvető tényező korlátozza:

- a reakció lefolyásának lassúsága és az ebből származó alacsony feszültség
- illetve, a szabad hidrogén jelenlétének biztosítása.

Ezen kihívások leküzdésére különböző típusait hozták létre az üzemanyagcelláknak.

- Alkáli üzemanyagcella: Mivel a legkorábbi típus, számos változata létezik különböző üzemi hőmérsékleten és nyomáson. Közös bennük, hogy az elektrolit lúg, NaOH vagy KOH a viszonylagosan alacsony költségük miatt. A reakció porózus elektródák és platina katalizátor segítségével gyorsítható. Egyes esetekben magas (200°C) üzemi hőmérsékleten és nyomáson is működtetik, ezzel is javítva a hatásfokot. Hátrányuk az alacsony energiatermelés és hogy akadályozza a működését a keletkező CO₂ reakciótérbe kerülése. Népszerűségük jelentősen csökkent a protoncsere membrános üzemanyagcellák megjelenésével. Előnyük a későbbi, jellemzően savas elektrolittal ellátott típusokkal szemben, hogy náluk alacsonyabb hőmérsékleten is képes működni. További előnye, hogy olcsó anyagokból összeállítható.
- Protoncsere membrános üzemanyagcella: Előnye az egyszerű felépítésében rejlik. Ezt szilárd polimer elektrolitjának köszönheti, amelyen a protonok szabadon átjárnak. Alacsony hőmérsékleten csak kifinomult szerkezetű elektródák és katalizátorok segítségével érhet el magasabb feszültséget. További hátránya, hogy hidrogén ellátásra van szüksége.
- Direkt metanol membrános üzemanyagcella: A protoncsere membrános üzemanyagcella módosítása, ahol a hidrogént a metanolból közvetlenül nyeri a cella. Hátránya, hogy alacsony áramerősséget képes csak közölni. Jelentősége a hordozható elektronika alacsony fogyasztóinak kiszolgálásában lehet a kompakt mérete miatt.
- Foszforsav üzemanyagcella: Az első tömeggyártott üzemanyagcella típus. Akár 200 kW-os teljesítményt is képesek elérni, melynek érdekében porózus elektródákat, platina katalizátort és viszonylag magas üzemi hőmérsékletet (~220°C) használnak. A hidrogén ellátást egy külön egységben földgáz hidrogénné és szén-dioxiddá alakításával nyerik, mely jelentősen bonyolítja a felépítésüket és drágítja a legyártásukat. Előnyük a megbízhatóságuk és alacsony karbantartási költségük.
- Szilárd oxid üzemanyagcella: Magas, 600-1000 °C-os hőmérsékleten üzemelve lehetővé teszi a földgáz cellában való hidrogénné reagálását költséges katalizátorok használata nélkül is. Az extrém körülmények biztosításához szükséges szerkezeti kerámiák költségesek, akárcsak a fűtő és hűtő elemek üzemelése.
- Olvadt karbonát üzemanyagcella: Szemben a szilárd oxid üzemanyagcellával alacsonyabb hőmérsékleten működik (~650°C), így szüksége van katalizátorra. Ezen a hőmérsékleten olcsóbb nikkel katalizátor használatával is elérhető magas

reakciósebesség. Előnye szintén, hogy a cellán belül lehetséges a földgázból való hidrogén kinyerés. Hátránya, hogy szemben a szilárd oxid üzemanyagcellával a nikkell katalizátor része egy olvadt, korrozív fémlevegő-elektrodának, ami megnöveli a karbantartási költséget (Larminie & Dicks 2003).

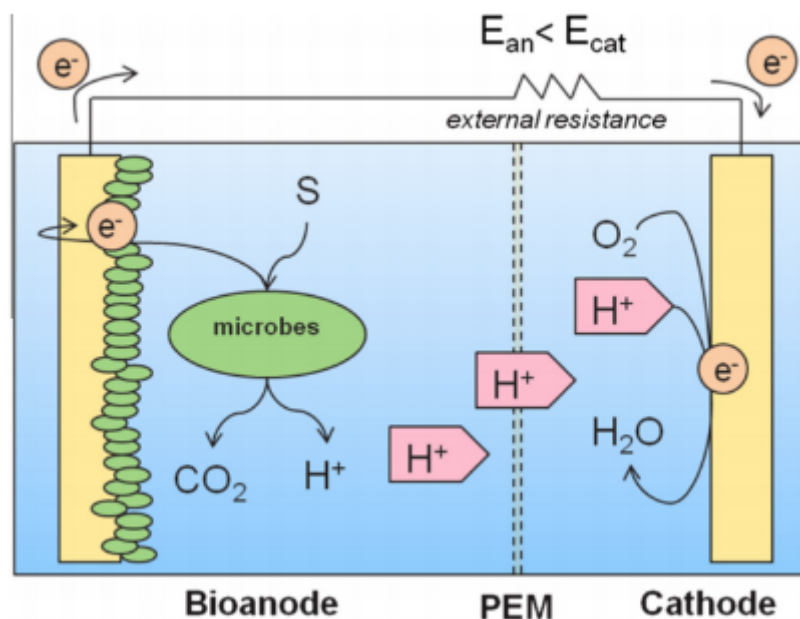
3.4. A mikrobiális üzemanyagcella felépítése és működése

A mikrobiális üzemanyagcellák (MFC) olyan bio-elektrokémiai rendszerek, amelyek baktérium anyagcsere folyamatokat kiaknázva hoznak létre elektromos áramot különböző szubsztrátumokból (Pant et al., 2010). A mikrobák alkalmazása az enzimatikus folyamatok olcsóbb felhasználását teszi lehetővé.

A mikrobák légzési folyamatuk során ATP molekulákat hoznak létre és elektronokat adnak le a folyamat terminális elektron akceptorjának. Aerob körülmények között az elektron akceptor az oxigén. Egyes mikrobák képesek vízben nem oldható, fémes anyagoknak leadni elektronjaikat. Ha a redukálódó anyag redox potenciálja kisebb az oxigén redox potenciáljánál, akkor a különbséget kinyerhető elektromos áramként az üzemanyagcellából.

Az MFC nélkülözhetetlen három alapeleme az anód, a katód és az elektrolit. A légzési folyamat során felszabaduló elektronokat egy külső áramkör az anódról a katódra vezeti ezzel elektromos áramot hozva létre. Az áramkör fenntartásához az elektroliton keresztül protont kell juttatni a katód felületére. A katódon a töltések reakcióba lépnek a terminális elektron akceptorral, rendszerint oxigénnel. Az elektromos potenciál növelhető az oxigént speciális anyagokkal helyettesítve, mint amilyen a ferrocianid is (Logan & Regan, 2006). Maga a katód folyamat is kiaknázható hasznos melléktermékek előállítására. (Pant et al., 2010).

A nem kívánatos folyamatok elkerülése végett és változatosabb elektrolitok alkalmazásáért a rendszerbe a katód és az anód reakcióteret elválasztó protonáteresztő membrán (PEM) is beépíthető. Ez a membrán a klasszikus, kétkamrás üzemanyagcellák elengedhetetlen része.



2. Ábra: Tipikus kétkamrás mikrobiális üzemanyagcella sematikus rajza
(ElMekawy et al., 2013).

A lebontani kívánt szerves szubsztrátum bármi lehet, a vegytiszta, egyszerű szénhidrátoktól kezdve az összetett ipari szennyvizekig. Glukóz szubsztrátummal szemlélítve a következő két kémiai egyenlet írható fel az elektródokra:

- Anód reakció: $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 24H^+ + 24e^-$
- Katód reakció: $6O_2 + 24H^+ + 24e^- \rightarrow 12H_2O$

Az elektróda és a mikroba közötti kölcsönhatás kétféleképpen alakulhat ki. Közvetlen, avagy mediátor nélküli kapcsolat esetén a mikroba enzimek aktív centruma vagy vezető képletek közvetlenül reagálnak az elektróda felületével. Mediált kapcsolat esetén természetes vagy mesterséges közvetítők vesznek részt a szerves anyagok bontásának redox reakcióiban. Az utóbbi módszer elsősorban a korai üzemanyag cellákra jellemző, alacsonyabb hatásfokú módszer (Logan & Regan, 2006).

3.5. A mikrobiális üzemanyagcella felhasználási lehetőségei

Bár a mikrobiális üzemanyagcella technológia alkalmazása még gyerekcipőben jár, ezért az energiaipar megreformálására még nem megfelelő, de már találhatók alkalmazási lehetőségek, melyeknél egyedi előnyökkel szolgál.

Legszemléletesebb előnye a szennyvíztisztítás területén figyelhető meg. A szennyvíz, mint bőségesen rendelkezésre álló szerves szubsztrátum energiagazdag tápanyagot szolgáltat az MFC működéséhez. Egyes becslések szerint a kommunális szennyvíz 9,3-szer annyi energiát tartalmaz, mint amennyi a kezeléséhez szükséges. A technológia ezzel nem csak energiát termel, de a szennyvíz kezelés egyes szakaszait is képes átvenni. Az MFC a magas hőmérsékleten üzemelő bioreaktorok ideális helyettesítője lehet. Ennek a felhasználási módnak a feltétele az MFC léptéknövelése és az ehhez szükséges anyagok meghatározása. Kis léptékben azonban már alkalmas házkörűli alkalmazásra szennyvíztartály helyett.

Az MFC helyben történő áram termelése környezeti érzékelők üzemeltetését is egyszerűbbé teheti. A folyó menti vagy mélytengeri érzékelők esetében az iszap szervesanyag tartalma elégségesnek bizonyulhat rövid üzemi szakaszok energiaellátásához. A módszer bioérezékelők esetében gyógyászati készülékek és érzékelők áramellátását is biztosíthatja.

Az MFC rendszer módosításával létrehozható olyan két elektródos rendszer is, amellyel bioremediáció valósítható meg. Ez a rendszer a környezet számunkra értékes folyamatainak katalizálására képes akár energiatermelés mellett is.

Ha az MFC-t a terminális elektronakceptor elhagyásával és áram betáplálással módosítjuk, akkor hidrogéngázt termelő elektrolízis cellához jutunk (Logan & Regan, 2006).

3.6. *Shewanella* nemzetség

Az Alteromonadales rendbe tartozó Shewanellaceae családban egyedül a *Shewanella* nemzetség foglal helyet. A nemzetség legtöbb faja Gram-negatív, pálcika alakú, flagellummal mozog. Fakultatív anaerob, oxidáz és kataláz reakcióra pozitív eredményt ad. Az aerob növekedés során az oxigént használják elektron-akceptorként. Egyes *Shewanella* fajokról ismert, hogy sajátos anyagcsere jellemzőik vannak, beleértve a mangán, a vas-oxid és más fémvegyületek redukcióját. A nemzetség tagjai széles körben elterjedtek a természetben. Kimutatták tengeri környezetben, tengeri szervezetekben, mélytengerekben, a fagyasztott halban, fehérje tartalmú élelmiszerekben és esetenként klinikai mintákban is. Néhány *Shewanella* faj jelentős szerepet tölt be a tengeri eredetű élelmiszer alapanyagok romlásában. Fémredukciós tulajdonságaik és egyszerű fellelhetőségük miatt ezek a baktériumok jól alkalmazhatók mikrobiális üzemanyagcellában elektromos áram előállítására. A nemzetség egyes fajai patogén életmódot is folytathatnak. A *S. algae* szerepet játszhat bakterémia, szepszis létrejöttében. A 16S rRNS génszekvencia-analízis alapján nagyjából három fő

csoportot különítettek el a nemzetségben: egy magas GC-tartalmú, egy hidegtűrő de nem sótűrő csoportot, valamint egy hidegkedvelő, nátriumion-igénylő csoportot. A DNS mol% G+C értéke 38-54. Egy *Shewanella* genom nagysága átlagosan 5 Mb-os egyes fajok teljes-genom vizsgálata alapján. (Satomi M., 2014)

3.6.1. A *Shewanella xiamenensis*

A *Shewanella xiamenensis* fajt a kínai Xiamen tartományban a tengerparti iszapból izolálták Huang et al., 2010-ben. A sejtek egyetlen polárisan elhelyezkedő flagellum segítségével mozognak. Spórát nem képző, kemoheterotróf baktérium. A 2216 Marine agaron lévő telepek simák, kör alakúak, kissé barnásak, domborúak és éles határvonalúak. Telepnövekedést 4-37 °C között tapasztaltak, 6,0–9,0 pH-tartományban 7,0 pH optimummal. Nátriumionok nem szükségesek a növekedéshez. Sótűrését NaCl közegben vizsgálva 0-4% sókoncentráció mellett szaporodott. 1-2%-os sókoncentráció mellett érte el a legnagyobb növekedést (Huang et al., 2010).

3.6.2. A *Shewanella* nemzetség felhasználási területei

- **Hasznos anyagok elektroszintetizálása**

A *Shewanella* fajok korábban vizsgált egyéb nemzetségek tagjainál hatékonyabban állítottak elő bioelektromos reaktorokban hasznos vegyületeket, mint például izobutanolt és hangyasavat (Zou et al., 2018).

- **Bioremediáció**

Talajba épített MFC rendszerben egyes *Shewanella* fajok, mint a *S. oneidensis* eredményesen alkalmazhatók szennyező festékanyagok és fémes vegyületek közömbösítésére áramtermelés kíséretében (Zou et al., 2018).

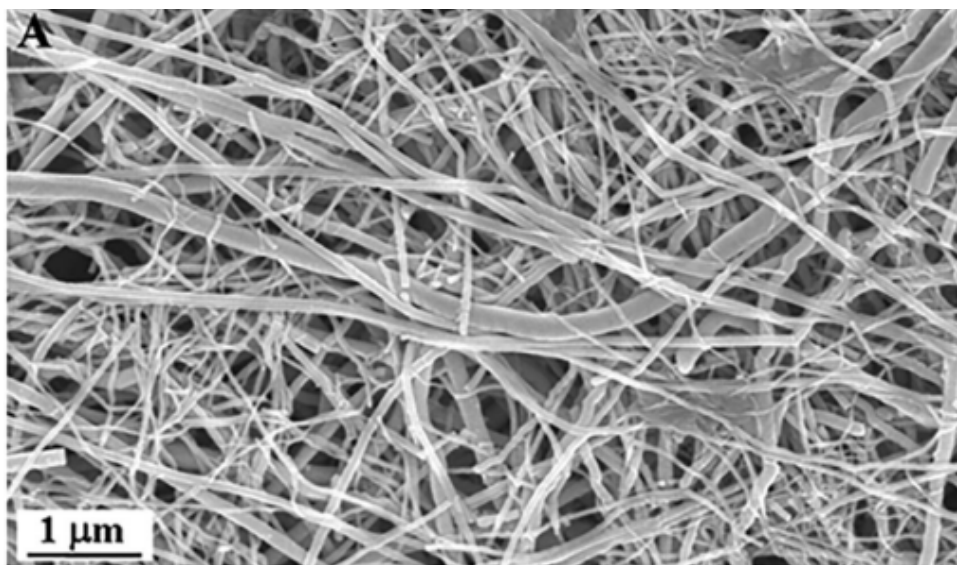
MFC rendszeren kívül is alkalmazhatók a *Shewanella* nemzetség tagjai környezetszennyezők semlegesítésére. Víz és talaj remediációra is alkalmas grafén vázra rögzített *S. xiamenensis* biofilm lemezekkel is kísérleteznek, melynek nagy előnye, hogy többször használható (Luo et al., 2019).

- **Bio érzékelők és bio számítástechnika**

Környezeti és biológiai érzékelésre használhatók a nemzetség tagjainak elektromos jelei. BOI, toxikológiai értékek és egyes szerves anyagok specifikus érzékelésével is kísérleteznek. Ezen elektromos válaszreakciók jelentős szerepet játszanak a bio számítástechnikai kísérletekben is, felváltva a korábbi biolumineszcens válaszreakciót (Zou et al., 2018).

- **Nano-részecskék előállítása**

A *Shewanella* nemzetség fémredukciós tulajdonságai révén lehetőség nyílik környezetbarát módon előállítani optikai, elektronikai és gyógyászati területeken felhasznált nano-részecskéket. Ez magában foglalja a napjainkban nagy környezeti ártalomhoz vezető lítium akkumulátorok előállítását is. Az elektromos eszközök ekként való "zöld"-előállításának további előnye a mikrobák által létrehozott nano-szál struktúra, melyek segítik az elektromos vezetőképességet (Kim et al., 2018).



3. Ábra: Elektronmikroszkópos felvételek *Shewanella* sp. nanocsövekről
(Kim et al., 2018)

3.6.3. Gélbe zárás

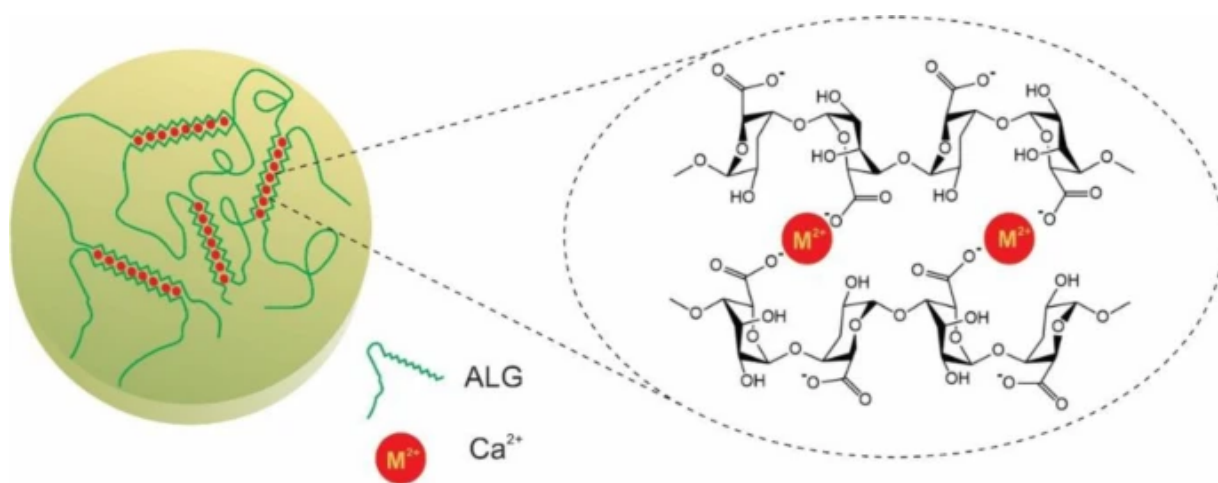
Az enzimatisus folyamatok ipari alkalmazásában számos előnye van a felhasznált enzim rögzítésének. A rögzített enzim lehetőséget biztosít a termék szennyezettségének

csökkentésére, a költséges enzimek visszanyerésére és újra felhasználására, valamint a rögzítés lehetővé teszi az enzim folyamatos üzemű rendszerekben való alkalmazását. Járulékos előnyként jelentkezik az enzimek jobb ellenállóképessége a szélsőségesebb üzemi környezetnek, hő vagy oldószerek denaturáló hatásának (Sheldon R., 2007).

A sejtrögzítés a rögzített enzimek előnyein felül további kedvező lehetőségeket is biztosít. Alkalmazásával a költséges, illetve körülményes enzim kinyerési és tisztítási lépésekre nincsen szükség. Megfelelő rögzítési módszerekkel teljes anyagcsere útvonal felhasználása is lehetővé válik, melyben a sejt regenerálja a kofaktorokat és az ATP-t. Ennek köszönhetően a sejtrögzítés alkalmazása különösen hatékony azoknál a folyamatoknál, amelyek sztereospecifikus reakciókat, instabil enzimeket és köztes termékeket tartalmaznak, mivel ezen folyamatok a természetes, sejten belüli környezetükben, védve zajlanak le. Egyes esetekben, mint például a sejthártyához kötött enzimeknél, az enzim kinyerhetetlen aktív formájában, így a rögzített enzim folyamat nem szolgál alternatívaként.

Kezdetben sejtrögzítéshez gyakran használták az akrilamidot. Azonban az akrilamid polimerizációja során hő és szabad gyökök keletkeznek, melyek rontják a gél kémiai átjárhatóságát és roncsolhatják a közbezárt sejtek enzimaktivitását. A poliakrilamidba kötött sejt granulátumok lágyak és szabálytalan alakúak, ezért nagyobb kolonnákban könnyen morzsolódnak és egyenetlenül tömörödnek.

Az alginát géleket elsősorban az élelmiszeripar használja sűrítő anyagként, stabilizálószerként, zselésítő anyagként. Az alginát gélekben a β -D-mannuronát és az α -L-guluronát blokk kopolimert alkotnak kalcium ionok jelenlétében. A kalcium hatására inert térbeli hálószerkezet jön létre, amely a sejteket körülzárja.

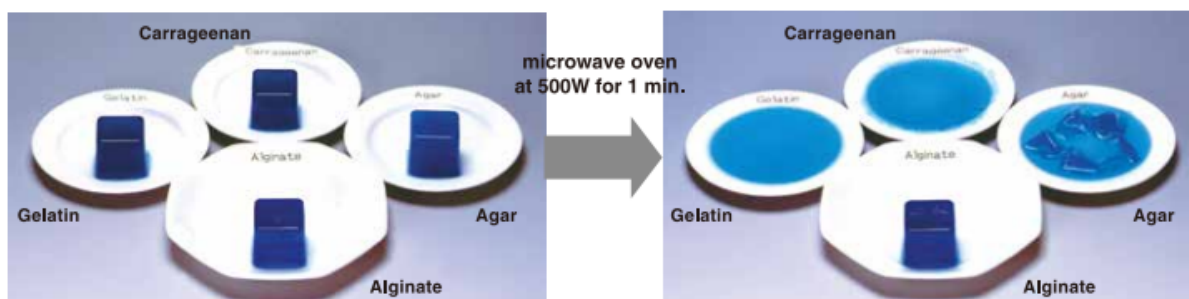


4. **Ábra: Az ion jelenlétében létrejött, tojástartó-szerű, alginát gél szerkezet**
(Abasalizadeh et al., 2020)

A gél pórusainak mérete a polimerizációhoz használt fém ion és a monomerek arányában változik. A gél keménysége az α -L-guluronát arányával növekszik, ezzel üzembiztos kemény gélek előállítása is lehetséges (Cheetham et al., 1979).



5. **Ábra: A magas mannuronát tartalmú gélek rugalmasak, míg a magas guluronát tartalmú gélek kemények és törékenyek** (KIMICA Corporation 2023)



6. **Ábra: Az alginát gél jelentősen meghaladja az élelmiszeriparban használt többi zselésítőanyag hőstabilitását** (KIMICA Corporation 2023)

Ezen tulajdonságai alapján az alginát gél alkalmazása előnyös a kísérlet pontosságának növeléséhez és sokoldalúsága a kísérleti beállítás rugalmasságát is javítja.

3.6.4. LB tápközeg

Az LB egy manapság széles körben használt baktérium tápközeg, aminek eredete bakteriofág genetikai kutatásra vezethető vissza. Guiseppi Bertani fejlesztette ki az LB receptúrát,

bakteriofág kísérlete során, amikor egy *Shigella* törzs plakk képződését próbálta optimalizálni. Az eredeti publikáció nyomán a tápközeg “LB” rövidítését többféleképpen is értelmezték. Ezek között szerepel (a szerzők nevére utalva) a “Luria-Bertani” tápközeg elnevezés is. Noha Bertani egy későbbi cikkében rávilágított az LB tápközeg valós elnevezésére (Lysogeny Broth), szakdolgozatomban – a tanszéken, a témában készült többi munkát követve – én is a “Luria-Bertani” elnevezést használom. Az LB tápközeg ma már az *Escherichia coli* és más enterális baktérium fajok elsődlegesen használt tápközegévé lépett elő (MacWilliams & Liao, 2006).

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Kísérletemben protoncsere membrános üzemanyagcellát alkalmaztam. Ennek a cella típusnak egyedi előnye az alacsony üzemi hőmérséklet, mellyel a beépített baktérium törzs létfeltételeit biztosítani tudtam. A mikroorganizmus a gélbezárását követően az anód cella elektródája lesz.

4.1. Felhasznált mikroorganizmus

Kutatásomban a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye (NCAIM) törzsgyűjteményből származó *Shewanella xiamenensis*, NCAIM B.0259 törzset használtam. Tanszékünkön végzett szakdolgozatában (Rögzített sejtes bioanódos mikrobiális energiacella teljesítményének vizsgálata) Németh Krisztina (2016.) állapította meg a törzs kiemelkedő vas-redukciós, és gyors szaporodási képességét.

4.2. Tápközegek és elkészítési módjuk

A *Shewanella xiamenensis* törzset steril Luria-Bertani tápközegben szaporítottam fel. A kísérlet során is Luria-Bertani táplevest alkalmaztam változó cukorkoncentrációk mellett.

1. Táblázat: Luria-Bertani tápközeg komponensei 1 literre

Komponens	Mennyiség
NaCl	10g
Trypton	10g
Élesztőkivonat	5g

4.3. Törzs szaporítása és tárolása

A tároló ampulla szakszerű felbontását és a rehidratálást követően a mikroba törzset Luria-Bertani táplevesbe oltottam. A hűtőben légmentesen tárolt inokulumot 2-3 hónap elteltével átoltottam a törzs fenntartása céljából.

4.4. Mikroorganizmus gélbezárása

A szakirodalmazásban olvashattunk a protoncsere membrános üzemanyagcellák három hátrányáról, melyekre a gélbezárt mikroba alkalmazása megoldást nyújthat:

- A szükséges hidrogén ellátást az egysejtű metabolizmusa szolgáltatja.

- Enzimatisus folyamatok útján, a mikróba katalizálja a cellák közötti potenciálkülönbséghez szükséges anyagcsereutat.
- Azzal, hogy a grafit elektródát közvetlenül a mikróba felületére juttatott gélbe helyeztük a mikróba anyagcsere felületét és az elektróda reakció felületét egyszerre biztosítottuk.

A *Shewanella* törzs gélen való rögzítése továbbá a kimosódás minimalizálását is célozta. A mikróba törzset Szöllősi Attila (2015.) kísérletei alapján hidrogélbe zártam.

A hidrogél szerkezeti alapját a Na-alginát adja. 0,1 g Na-algináthoz 10 ml desztillált vizet használtam fel. A desztillált víz egy kisebb részét megtartottam, a nagyobbik részben a Na-alginátot alaposan elkevertem. Mivel az alginát finomszemcsés, könnyen csomósodó por, a maradék vízben a keveréshez használt spatulát lemostam, majd összeöntöttem a két elegyet. A hidrogél vezető képességéért felelős anilinból 0,22 g-ot adtam hozzá, mely sárga cseppekként különült el. Az anilin beépülését az alginát-vázba 2 órás ultrahangos homogenizálással végeztem. Ehhez a művelethez a kívánt 10 °C-os hőmérsékletet az ultrahangos kádba jég hozzáadásával igyekeztem biztosítani.



7. Ábra: Clifton ultrahangos kád

Csomósodásgátlóként 0,1 g TiO_2 -ot, a polimerizáció gyorsításához 0,1 g ammónium-perszulfátot adagoltam a folyadékba. Az ammónium-perszulfát a folyadékban aggregálódott, ezért újabb 2 órás, 10 °C közeli ultrahangos kezelést alkalmaztunk. Elektródaként 0,5 g grafit port alkalmaztam. Ezután 0,5 ml *Shewanella xiamenensis*

inokulum-ot centrifugáltam le 10000 rpm fordulatszámon 10 percen keresztül, majd oldottam vissza 0,5 ml-re fiziológiás sóoldattal.

Az elektrogén baktérium szuszpenzió hozzáadása után az elkészült elegyet egy fecskendővel felszívva csappal szabályozható gumicsövön keresztül 0,1 M CaCl-oldatba csepegtettem. A cél egységes, nagy felületű cseppek kialakítása volt. A CaCl oldatba érve a cseppek formája rögzült (8. ábra), az oldatot hűtőszekrénybe téve néhány nap alatt kialakult a kompozit gél szerkezet.

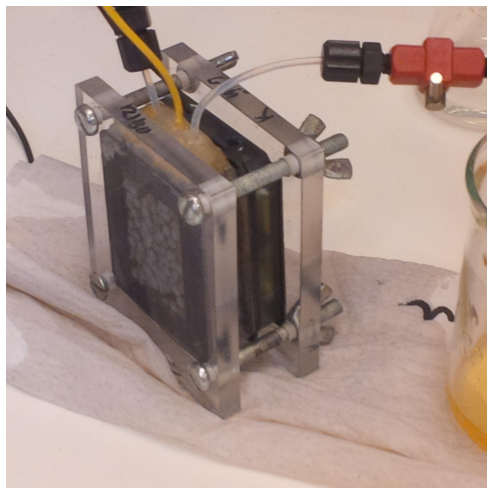


8. Ábra: A CaCl oldatba csepegtetve az alginát szabályos gömbökké zselésedik

Az így kapott gélgyöngyök a tanszék korábbi kísérletei alapján vártakhoz képest szabályosabb alakúak lettek. Ennek oka feltehetőleg a hígabb polimer elegy, a bővebb anilin adagolás lehetett (a recept 0,2 g hozzáadását írta elő).

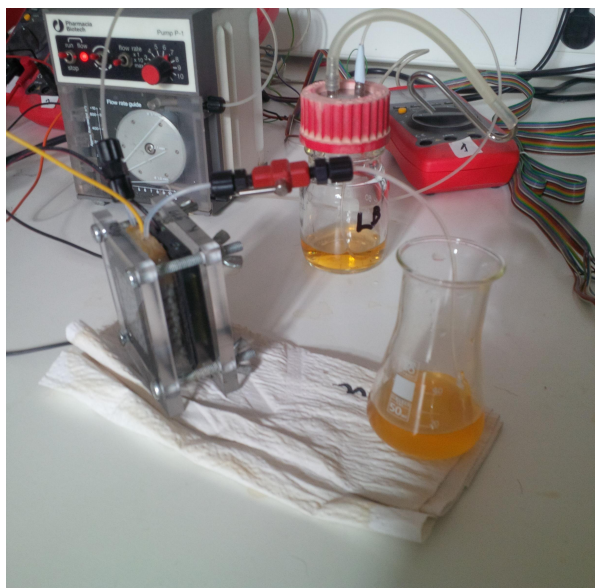
4.5. A mikrobiális üzemanyagcella összeállítása

A kísérlethez szendvics szerkezetű üzemanyagcellát alkalmaztam, mert előnyei közé tartozik az egyszerű felépítése és a nagy reakció felülete kis belső térfogat (kb. 24 cm³) mellett.



9. Ábra: Az összeállított szendvics szerkezetű üzemanyagcella

A két kamrás kialakítás falaiul átlátszó plexi elemek szolgáltak, melyeket neoprén tömítő elemekkel láttam el. Az anód és katód kamrát Nafion 117 proton-szelektív membránnal választottam el. Az anód cellába helyeztem el a gélbezárt mikrobákat melyek közé egy szétbontott végű drótköteg szálait vezettem. A katód kamra falának maradék két furatába egy csappal zárható kivezető csövet, illetve egy szivattyúra csatlakoztatott bevezető csövet kötöttem.



10. Ábra: A cellába kötött pumpa és csövek elrendezése

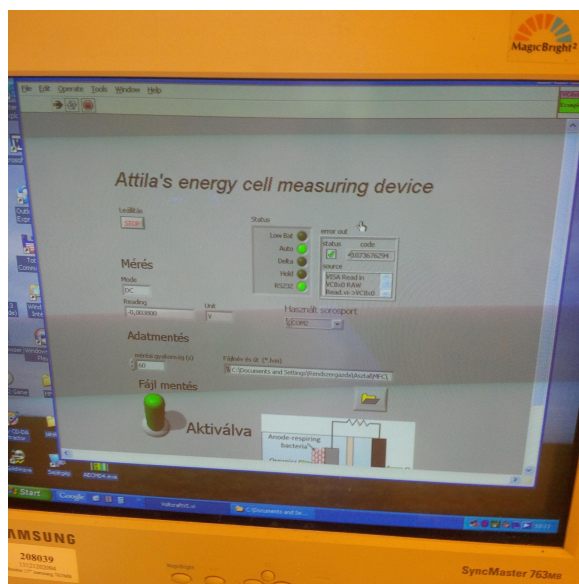
A katód cellába dróton átvett grafít szövetlapot helyeztem. Kálium-hexaferrocianátot 0,1 M-os NaCl oldattal 0,1 M-ra hígítottam. A katód cellát a szerkezet összecsavarozását követően, ezzel az elektrolit oldattal töltöttem fel. Az anód cella ezt követően LB tápoldattal

került feltöltésre. A katód és anód cella rézvezetékeit feszültség mérésre állított multiméterekre (Votcraft-820) kötöttem.



11. Ábra: A kísérleti beállítás a csatlakoztatott multiméterekkel

Az áramkörön $500\ \Omega$ ellenállást alkalmaztam. A multimétereket az adatok rögzítése végett számítógépre csatlakoztattam. Az adatok rögzítését tanszéki szoftver alkalmazásával végeztem.



12. Ábra: A multiméterekből származó feszültség értékek rögzítését végző tanszéki szoftver nyitó oldala

4.6. Vas-redukciós vizsgálat

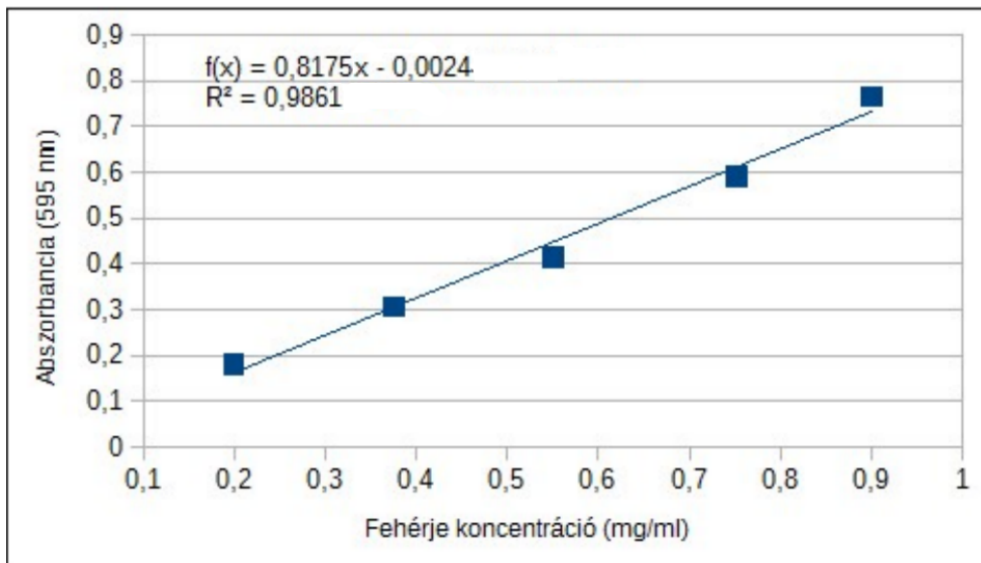
Az alkalmazott mikroba törzs fémredukciós képességét a MSZ 318-14:1987 hivatkozási számú vas-redukciós vizsgálattal igazoltam. A vizsgálatban használt ammónium-rhodanid (NH_4SCN) és vas(III)-citrátból származó Fe^{3+} ionok savas közegben vörös komplexet képeznek. A színváltozás fotometrikus mérésével igazolni tudom a mikroba vas redukáló képességét. A mérést megelőzően 5 g/l koncentrációjú vas(III)-citrátos LB tápközegbe oltottam a törzset. Az oltástól számított 0., 24. és 48. órában végeztem el az ammónium-rhodanidos festést.

A vizsgálatok során 100 μl mintához 900 μl kénsavat adagoltam. A savanyított oldat 50 μl -éhez 500 μl , 1,32 M-os ammónium-rhodanid oldatot adtam és desztillált vízzel egészítettem ki a fotometriás méréshez szükséges 1 ml-re. A pontos eredmény érdekében a minták 460 nm-es hullámhosszon mért abszorbanciáját 5 percen belül szükséges meghatározni.

4.7. Fehérje mérés

A minták fehérje-tartalom méréséhez a BioRad Coomassie Brilliant Blue R-250 Staining Solution termékét használtam. A kit a Bradford-módszer alapján működik, mely szerint a Coomassie Brilliant Blue R-250 festék savas közegben a kezdeti barnából, fehérje jelenlétében, kék színre változik. A festett minta oldat abszorbancia értékeit 595nm-es hullámhossz tartományban mérjük. Az abszorbancia értékekből BSA-val felállított kalibrációs egyenes segítségével számíthatók ki a fehérjekoncentrációk.

A mintákat 14000 rpm fordulatszámon 10 percen át centrifugáltam majd a festékoldatból, ötszörös hígítás után, 1-1 millilitert adagoltam 20-20 μl mintához. Az 5 perces reakcióidő lejártával desztillált vízre nullázott spektrofotométerrel 600 nm-en lemértem a festett oldatok abszorbancia értékét. Kalibrációs egyenesként Györfi Emese szakdolgozatának értékeit alkalmaztam.



13. Ábra: Kalibrációs egyenes a fehérje koncentráció meghatározásához
(Györfi, E. 2016)

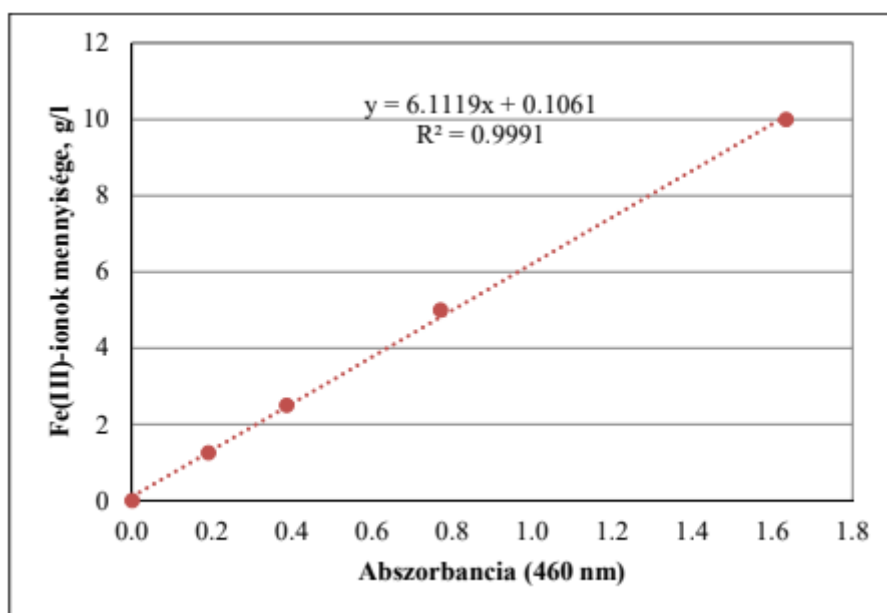
4.8. pH és vezetőképesség mérés

A minták pH és vezetőképesség mérését METTLER TOLEDO SevenMulti™ S47 készülék megfelelő szondáival végeztem. A párhuzamos pH mérés eredményei között látványos, akár 0,1-es eltérést is jelentkezett. A kis mennyiségekben rendelkezésre álló minták mérése a konduktométer kialakítása miatt körülményesnek bizonyult, és így néhány esetben légbuborékok által előidézett hibás eredmény született. A későbbi mérések alkalmával a mintavétellel párhuzamosan, a szondáknak megfelelő mennyiségű anyag rendelkezésre állásakor javasolt a pH és vezetőképesség mérést elvégezni.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

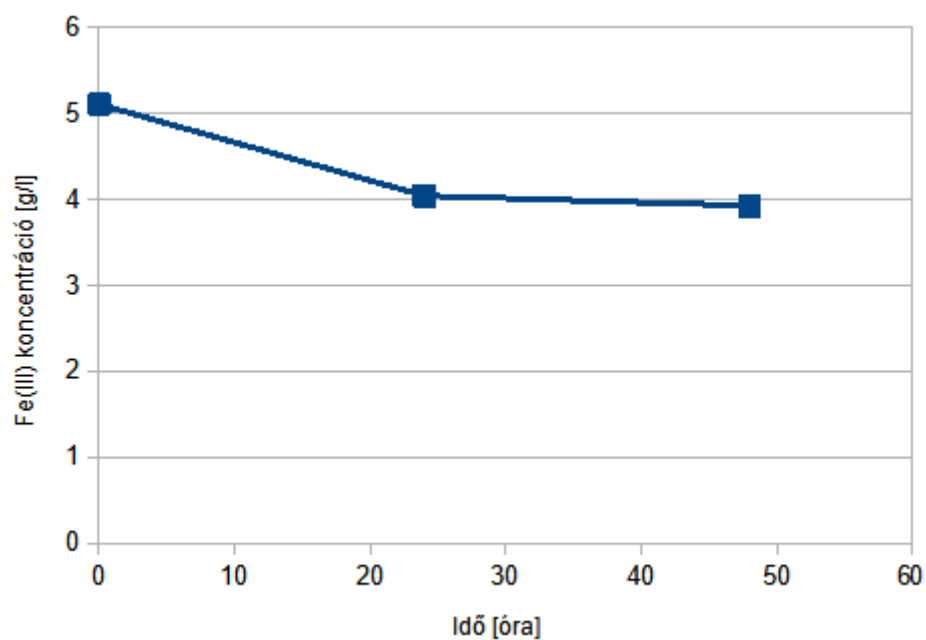
5.1. Vas-redukciós vizsgálat

A választott mikroba törzset MFC-ben való alkalmazhatóságának igazolására Fe(III)-citrát tartalmú tápoldatba oltottam. A tenyészet Fe(III)-tartalmát komplex-képző reakcióval festettem és spektrofotométerrel vizsgáltam. A kapott abszorbancia értékek és a Fe^{3+} ion koncentrációja egyenes arányban állnak, amit a 14. ábra kalibrációs egyenese szemléltet.



14. Ábra: Vas-redukciós kalibrációs egyenes (Hegyi, L. 2015)

A tenyészetből három egymást követő napon mintát vettem. A kalibrációs egyenes felhasználásával megállapítottam a minták Fe^{3+} koncentrációit.

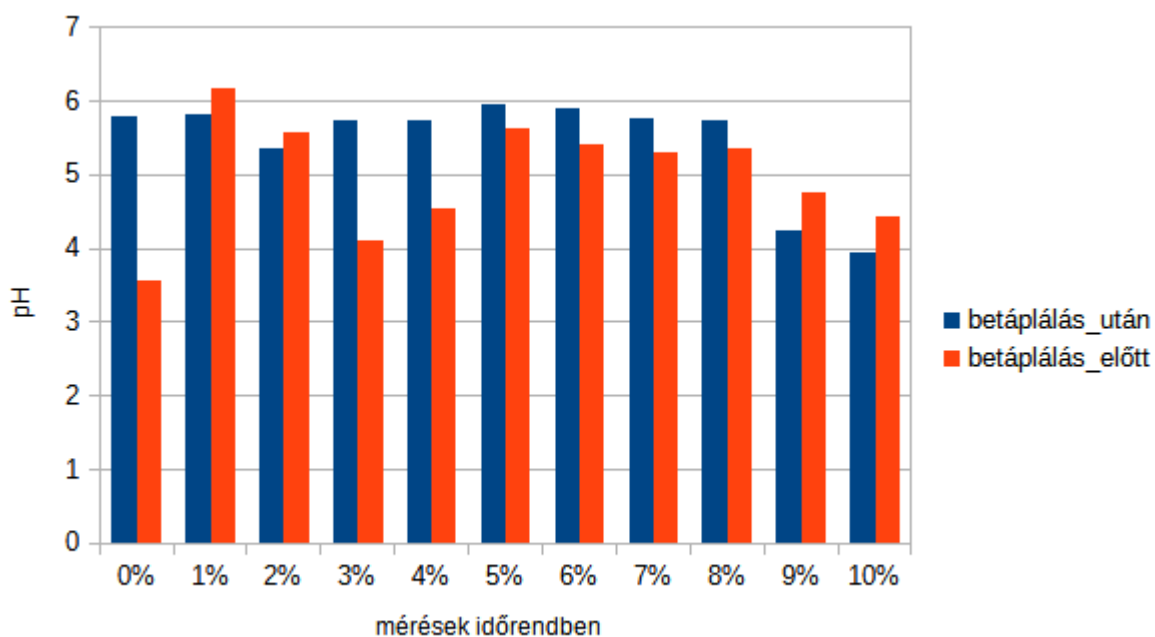


15. Ábra: A Fe(III) koncentráció változása az idő függvényében

A Fe(III)-citrát redukciójára következtethetünk a Fe^{3+} ion csökkenő koncentrációból, ezzel igazolva a mikroba vas-redukciós képességét. A csökkenő redukció a mikroba tenyészet tápanyag hiányának tudható be.

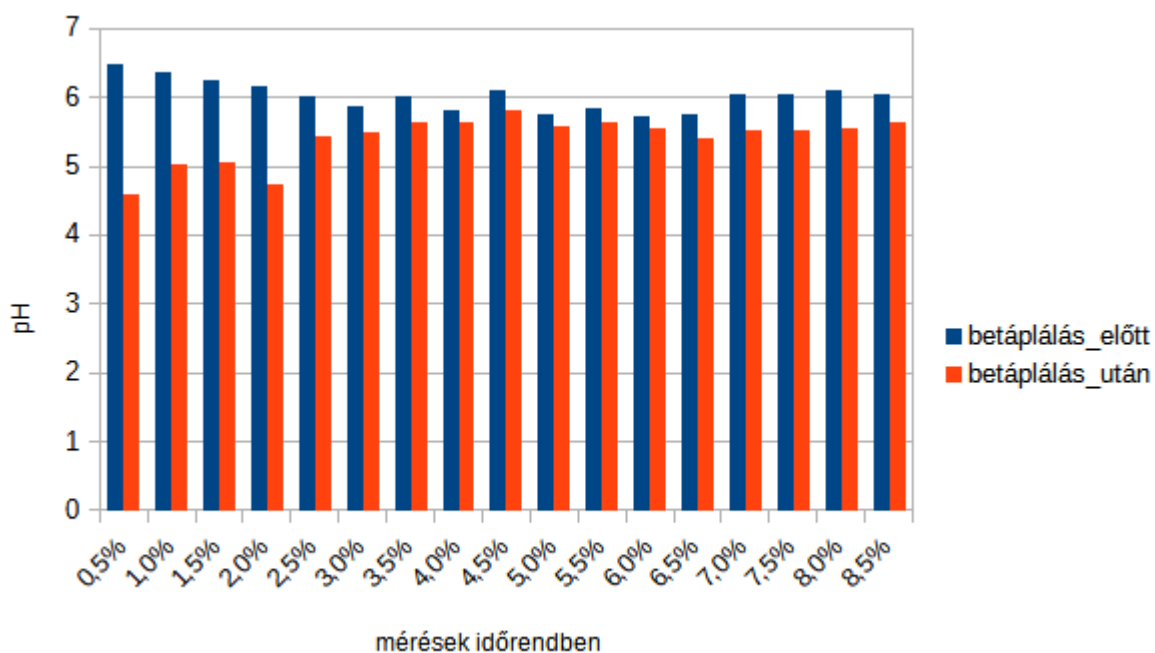
5.2. A kémhatás változása

A két kísérletsorozat tápközegének pH értékeit betáplálás előtt és lefejtés után mértem. A maltóz szubsztrátum mérési eredményei kisebb ingást mutatnak, de a kísérletsorozat időrendjével összefüggésben nem fedezhető fel fokozatos eltolódás a savasabb tartományba, vagyis nem utal kevert savas erjedésre.



16. Ábra: A maltóz tápoldat kémhatásának változása a kísérlet során

A laktóz tartalmú szubsztrátum mérési eredményeiben nincs a maltóz tartalmú szubsztrátuméhoz hasonló ingadozás. A befertőződés itt is kizárható, mivel itt sem tapasztalható savanyodás a tápközegben.

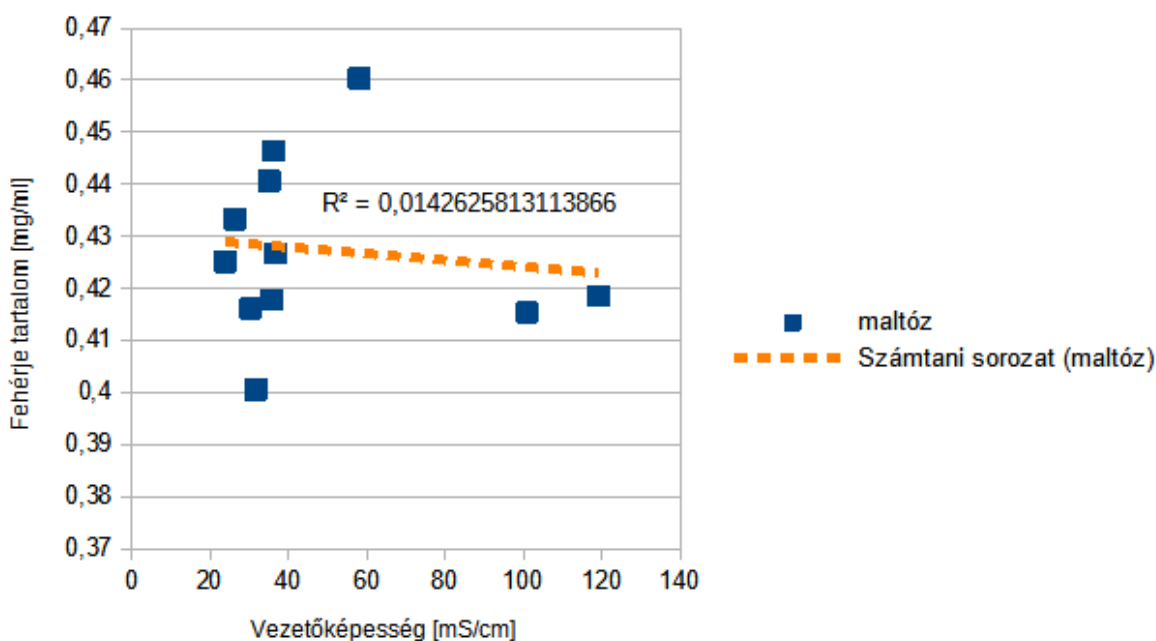


17. Ábra: A laktóz tápoldat kémhatásának változása a kísérlet során

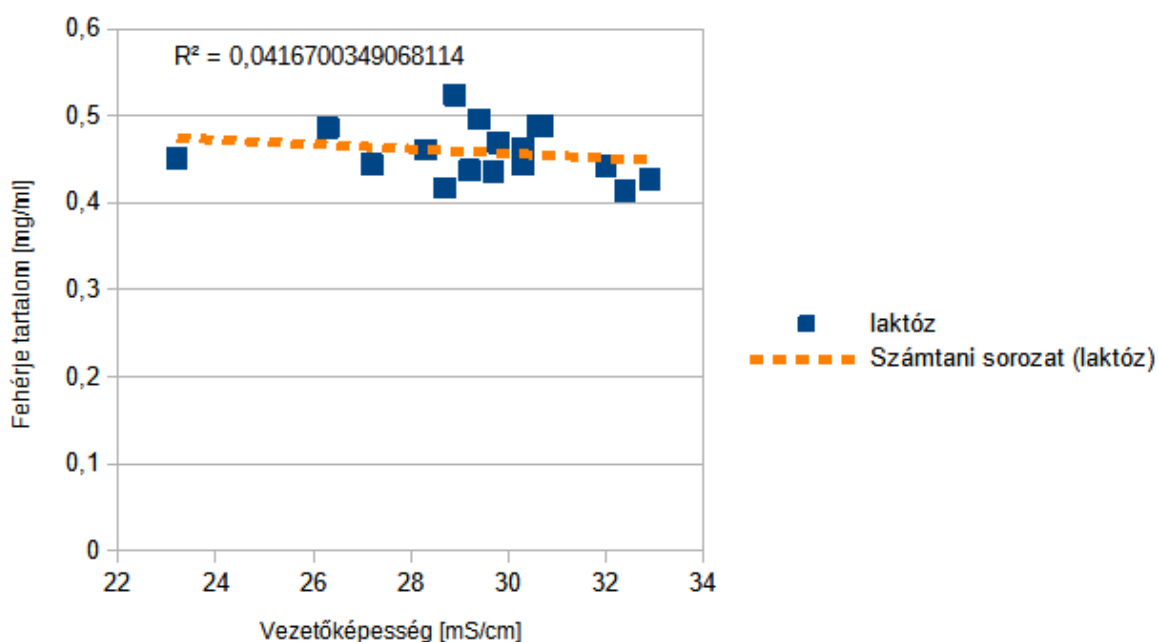
5.3. Vezetőképes fehérje tartalom összehasonlítása

A maltóz és a laktóz tartalmú tápközegekkel való táplálás során mértem a fehérje mennyiségét és a vezetőképességet extracelluláris elektron közvetítőket keresve. Egyes esetekben az elektrogén mikrobák közvetett elektron közvetítő fehérjék termelésével javítják fém redukáló képességüket. Amennyiben a fehérjék mennyisége összefüggést mutat a tápközeg vezetőképességének változásával, akkor ezt figyelembe kell veyük a tápközeg cseréjénél. Ugyanis ezen fehérjék eltávolítása a reakciótérből jelentősen hátráltatná a mikroba metabolizmusát.

Mindkét esetben kimutatható, hogy nincs szignifikáns összefüggés a fehérje tartalom és a vezetőképesség között.



18. Ábra: A fehérjetartalom és a vezetőképesség viszonya a maltóz tápközegben



19. Ábra: A fehérjetartalom és a vezetőképesség viszonya a laktóz tápközegben

A vizsgálat időtartama alatt nem feltételezhető vezetőképességű fehérje termelődés egyik tápközegben sem. Feltételezhetően a mikróba közvetlen kapcsolatot létesített az elektróddal.

5.4. A maradék cukor és az elektromos teljesítmény változása

Ez a kísérletek szempontjából a legmeghatározóbb mutató. Mértem a *Shewanella xiamenensis* energiatermelésének változását a szubsztrátum cukor koncentráció változtatásának hatására. A teljesítményt a multiméterekkel mért, a tanszéki szoftver által rögzített feszültség adatok és a beállított ellenállás alapján számítottam ki.

2. Táblázat: A feszültség, áramerősség és elektromos teljesítmény alakulása a maltóz tartalmú tápközegben

Maltóz tartalom (%)	Átlag feszültség (mV)	Áramerősség (mA)	Teljesítmény (mW)
0	0,0008	$1,54 \cdot 10^{-9}$	0,3
1	0,0004	$6,96 \cdot 10^{-9}$	0,06
2	0,0013	$2,59 \cdot 10^{-9}$	0,84
3	0,0028	$5,66 \cdot 10^{-9}$	4,01
4	0,0027	$5,46 \cdot 10^{-9}$	3,72
5	0,0009	$1,85 \cdot 10^{-9}$	0,43
6	0,0027	$5,38 \cdot 10^{-9}$	3,62
7	0,0028	$5,52 \cdot 10^{-9}$	3,81

Maltóz tartalom (%)	Átlag feszültség (mV)	Áramerősség (mA)	Teljesítmény (mW)
8	0,0022	$4,45 \cdot 10^{-9}$	2,48
9	0,003	$5,93 \cdot 10^{-9}$	4,4
10	0,0017	$3,44 \cdot 10^{-9}$	1,48

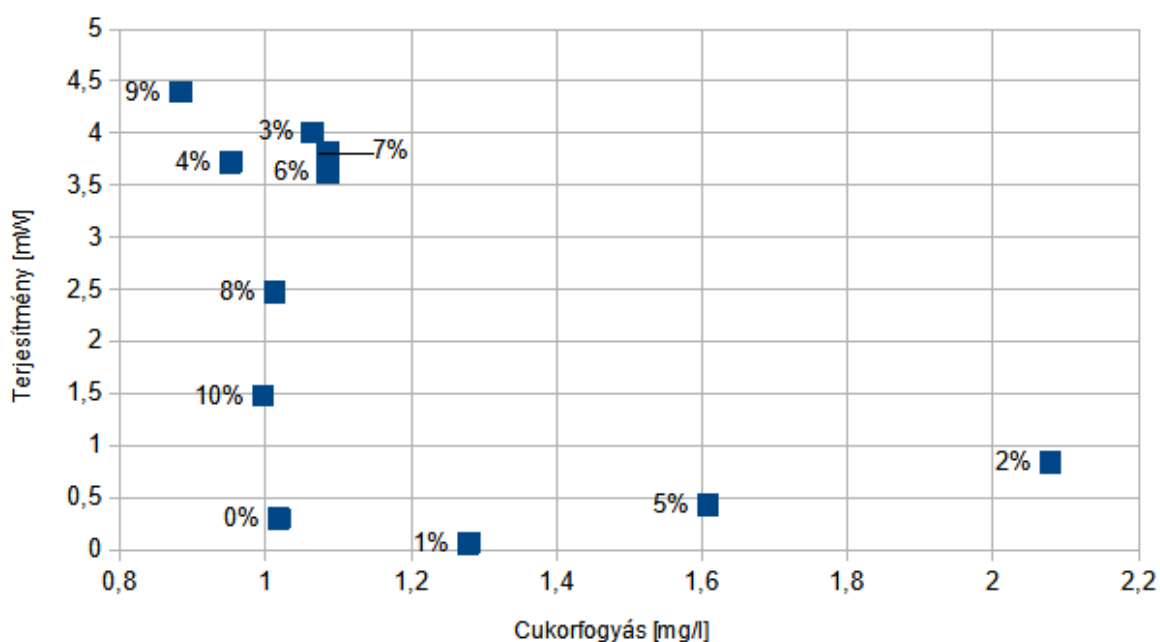
3. Táblázat: A feszültség áramerősség és elektromos teljesítmény alakulása a laktóz tartalmú tápközegben

Laktóz tartalom (%)	Átlag feszültség (mV)	Áramerősség (mA)	Teljesítmény (mW)
0,5	0,00582	$1,16 \cdot 10^{-8}$	16,93
1	0,00612	$1,22 \cdot 10^{-8}$	18,72
1,5	0,00531	$1,06 \cdot 10^{-8}$	14,08
2	0,00547	$1,09 \cdot 10^{-8}$	14,95
2,5	0,00602	$1,2 \cdot 10^{-8}$	18,1
3	0,00609	$1,22 \cdot 10^{-8}$	18,53
3,5	0,00582	$1,17 \cdot 10^{-8}$	16,96
4	0,00525	$1,05 \cdot 10^{-8}$	13,76
4,5	0,00542	$1,08 \cdot 10^{-8}$	14,67
5	0,00520	$1,04 \cdot 10^{-8}$	13,53
5,5	0,00501	$1 \cdot 10^{-8}$	12,56
6	0,00699	$1,4 \cdot 10^{-8}$	24,43
6,5	0,00529	$1,06 \cdot 10^{-8}$	14
7	0,00588	$1,18 \cdot 10^{-8}$	17,3
7,5	0,00517	$1,03 \cdot 10^{-8}$	13,37
8	0,00624	$1,25 \cdot 10^{-8}$	19,45
8,5	0,00568	$1,14 \cdot 10^{-8}$	16,13

A több tízezer mért feszültség értékből számított átlag feszültségekből látható, hogy kicsi köztük a különbség, ezért nehéz belőlük következtetéseket levonni.

A feszültség adatokat egy és másfél percenként párhuzamosan mérésből rögzítettem. Az így kapott adathalmaz mérete rendkívül nehezen kezelhetővé tette az adatfeldolgozást. Ritkább adatvételezés is elegendő információt szolgáltat a feszültségváltozás pontos nyomon követéséhez.

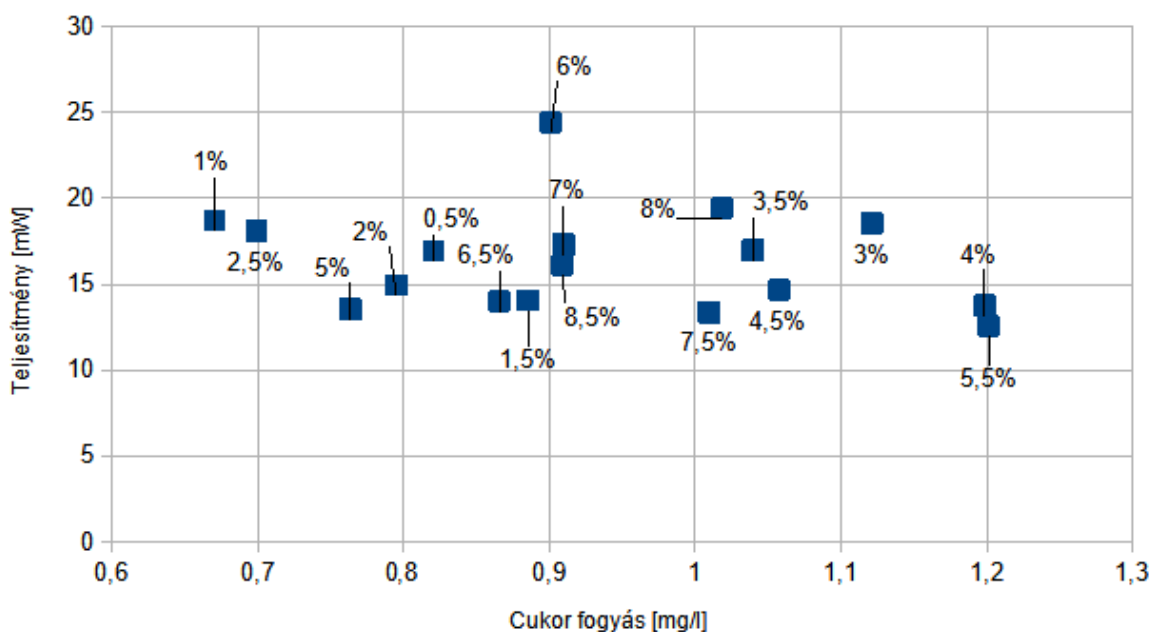
A főbb elektromos tulajdonságok értékeinek kiszámítását követően az elektromos teljesítmény változásában tapasztaltam szabályszerűséget. Ezért ezt a jobban elemezhető elektromos jellemzőt vizsgáltam. A cukorfogyás és az elektromos teljesítmény viszonyát az alábbi diagramon ábrázolom. A legkisebb cukorfogyás mellett a legnagyobb teljesítményt kiváltó cukorkoncentráció az optimális.



20. Ábra: A cukorfogyás és az elektromos teljesítmény változása a maltóz tápközegek vizsgálata során

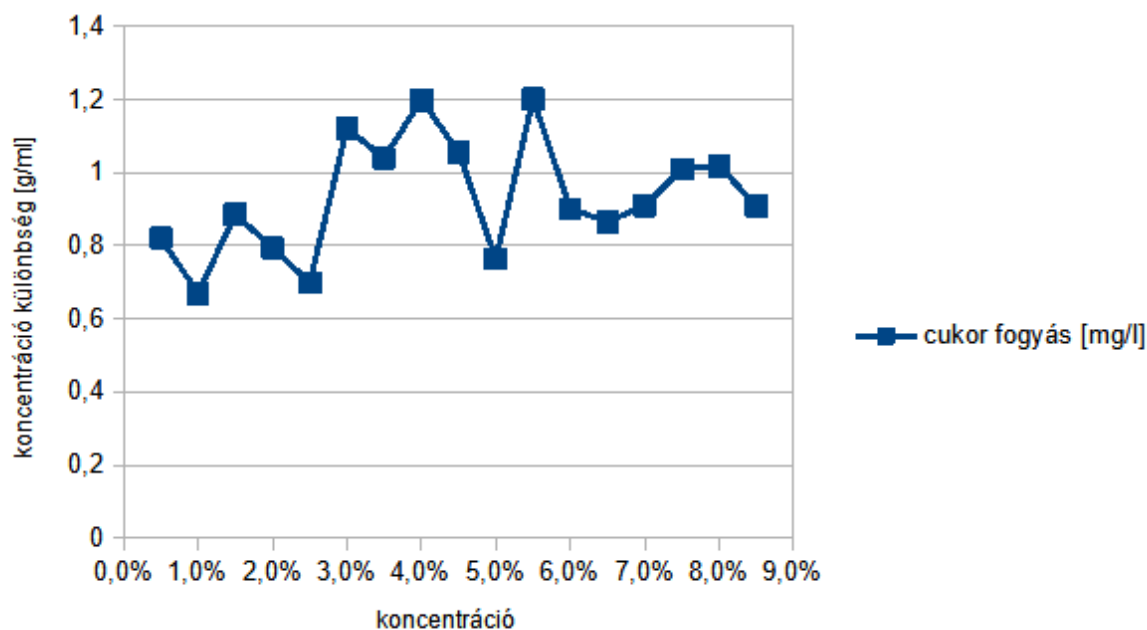
A 9%-os koncentrációjú maltózos tápközegek vizsgálata során tapasztaltam a mikroba cukor hasznosításának és az elektromos teljesítménynek az optimumát. Az energiatermelés maximuma is ennél az optimális koncentrációnál található. Ebből a magasabb maltóz koncentrációk limitáló szubsztrátum hatására következtek. A 9% maltóz tartalmú tápközegek vezetőképesség vizsgálata szintén a legmagasabb eredményt mutatta.

A méréseim nem adnak magyarázatot a vezetőképesség növekedésére. A jelenség hátterének vizsgálata az energiatermelés hatékonyságának növeléséhez vezethet.



21. Ábra: A cukorfogyás és az elektromos teljesítmény változása a laktóz tápközegek vizsgálata során

A tápközegek készítése során tapasztaltam, hogy 8,5 % feletti koncentrációknál a laktóz oldat túltelítődött, ezért a vizsgálatot csak eddig a koncentrációig végezhettem. A teljesítmény értékek alacsony szórással a 16 mW-os átlag körül rendeződnek el. A legnagyobb elektromos teljesítményt a 6%-os szubsztrátumnál mértem. A cukorhasznosítást is figyelembe véve az optimális energiatermelést az 1%-os tápközzel sikerült elérni.



22. Ábra: A cukorfogyás változása a laktóz tápközegek vizsgálata során

A laktóz tápközegek esetén a limitáló szubsztrátum hatás a 6%-os koncentrációtól kezdődően feltételezhető a cukorfogyás értékek alapján. Az 1%-os koncentráció hatékonyságát a cukorfogyás nem magyarázza, azonban mivel a 3% alatti koncentrációk rendre jobb hatékonyságot értek el, mint a cukorhasznosítási maximum közelében lévő koncentrációk, feltételezhető, hogy az eredmény nem hibás mérés következménye. A jelenség hátterét további kísérletek tárhatják fel.

A laktóz tartalmú szubsztrátumban a *Shewanella xiamenensis* törzs által létrehozott elektromos teljesítmény jelentősen meghaladja a maltóz szubsztrátumoknál tapasztaltat. A két tápközeg közül a laktóz tartalmú bizonyult kedvezőbbnek energiatermelés szempontjából.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Szakdolgozatom a tanszéken végzett korábbi kutatómunkára alapoztam, amely az üzemanyagcellák hatásfokának javítását célozta kommunális és élelmiszeripari szennyvíz hasznosítására. A tanszéken kifejlesztett mérési módszereket felhasználva több szakdolgozat készült a bioanódos üzemanyagcellák kutatásának témájában. A kísérletemben a *Shewanella xiamenensis* fajt használtam, melyről korlátozottak a tudományos ismeretek, így eredményeimmel hozzájárulok részletesebb jellemzéséhez. Az alkalmazott törzs korábbi kutatások alapján előnyös elektrogén profilt mutatott, ami indokolja a kísérletemben való használatát. A törzs által üzemanyagcellában termelt elektromos teljesítményt vizsgáltam olyan összetett cukrok jelenlétében, melyek előfordulása gyakori a kommunális és élelmiszeripari szennyvizekben. Megelőző kísérletekkel igazoltam a felhasznált törzs alkalmasságát bioanódként. Továbbá méréssel igazoltam a cella zavartalan működését pH mérésen keresztül. Azonosítottam a vizsgált cukrok optimális koncentrációját és az energiatermelés szempontjából előnyösebb cukrot. Az energiatermelés további optimalizálásához kutatási lehetőségeket azonosítottam mindkét cukornál:

- A maltóz tápközeg alkalmazásánál a fermentálé vezetőképességének növekedését ismeretlen mechanizmus okozza.
- A laktóz tápközegnél a telítési görbére nem illeszkednek a teljesítmény adatok. Az alacsony koncentrációknál kis cukorfogyás mellett kiemelkedő teljesítmény értékeket mértem.

A vizsgálati tapasztalatokból javaslatokat tettem a vizsgálat javítására: gél alak javítása, minták mennyiségének és a szondák kialakításának egyeztetése és a feszültség adatvételezési gyakoriság csökkentése.

A kísérletek rávilágítottak a *Shewanella xiamenensis* cukor hasznosításának perspektíváira. Az alacsony energiatermelés nem mutat lehetőséget a széleskörű alkalmazásra, azonban speciális körülmények között kis energiaigényű fogyasztók ellátására alkalmas lehet.

7. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. Abasalizadeh, F., Moghaddam, S., V., Alizadeh, E. et al. (2020), Alginate-based hydrogels as drug delivery vehicles in cancer treatment and their applications in wound dressing and 3D bioprinting, Journal of Biological Engineering 14, Article number: 8, DOI: <https://doi.org/10.1186/s13036-020-0227-7>
2. Cheetham, P., S., J., Blunt, K., W., Bocke, C. (1979), Physical Studies on Cell Immobilization Using Calcium Alginate Gels, Biotechnology and Bioengineering, Volume 21, Issue 12, p. 2155-2168, DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.260211202>
3. Cohen, B. (1931), The bacterial culture as an electrical half-cell, Journal of Bacteriology 21(1): 18-19 Internet cím: https://www.researchgate.net/publication/284426052_The_bacterial_culture_as_an_electrical_half-cell
4. ElMekawy, A., Hegab, H., M., Dominguez-Benetton, X., Deepak Pant, D. (2013), Internal resistance of microfluidic microbial fuel cell: Challenges and potential opportunities, Bioresource Technology, Volume 142, Pages 672-682, ISSN 0960-8524, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.061>
5. Galvani, L. (1791), Aloysii Galvani De viribus electricitatis in motu musculari commentarius, Ex Typographia Instituti Scientiarum, Bononiae, DOI: <https://doi.org/10.5479/sil.324681.39088000932442>
6. Gyórfi E. 2016. Exogén riboflavin hatása a *Shewanella* törzsek szaporodására és néhány elektroaktív komponens termelésére, Szakdolgozat. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar., Szent István Egyetem, Budai Campus, Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár szakdolgozat archívuma
7. Hegyi L. 2015. *Shewanella* törzsek extracelluláris mediátor termelésének vizsgálata, Szakdolgozat. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar., Szent István Egyetem, Budai Campus, Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár szakdolgozat archívuma
8. Huang J., Sun B., Zhang X. (2010), *Shewanella xiamenensis* sp. nov., isolated from coastal sea sediment, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Volume 60, Issue 7, DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.013300-0>
9. International Energy Agency (2021), Key World Energy Statistics 2021, IEA, Paris <https://www.iea.org/reports/key-world-energy-statistics-2021>, License: CC BY 4.0

10. Karube, I.; Matsunaga, T.; Tsuru, S.; Suzuki, S. (1977), Biochemical fuel cell utilizing immobilized cells of *Clostridium butyricum*. Biotechnol. Bioeng, 19, 1727–1733., DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.260191112>
11. Kim T-Y., Kim M., G., Lee J-H. és Hur H-G. (2018) Biosynthesis of Nanomaterials by *Shewanella* Species for Application in Lithium Ion Batteries. Front. Microbiol. 9:2817. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02817>
12. KIMICA Corporation, KIMICA ALGIN [Sodium Alginate] Gel Formation and its Features, 2023-as állapot Internet cím: <https://www.kimica-algin.com/pdf/KIMICA-ALGINGel.pdf>
13. Larminie, J. és Dicks, A. (2003). Front Matter. In Fuel Cell Systems Explained (eds J. Larminie and A. Dicks). DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118878330.fmatter>
14. Logan, B., E., és Regan, J., M. (2006), Microbial Fuel Cells—Challenges and Applications, Environmental Science & Technology 2006, Volume 40, Issue 17, Pages 5172–5180., Internet cím: <https://doi.org/10.1021/es0627592>
15. Luo, Q., Chen, Z., Li, Y., Wang, Y., Cai, L., Wang, L., Wang, S. et al. (2019), Highly efficient and recyclable *Shewanella xiamenensis*–grafted graphene oxide/polyvinyl alcohol biofilm catalysts for increased Cr(VI) reduction. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 7. 12611-12620., DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b02642>
16. MacWilliams, M., P., Liao M-K. (2006), Luria Broth (LB) and Luria Agar (LA) Media and Their Uses Protocol, American Society for Microbiology, Internet cím: <https://asm.org/Protocols/Luria-Broth-LB-and-Luria-Agar-LA-Media-and-Their-U>
17. Németh K. 2016. Rögzített sejtes bioanódos mikrobiális energiacella teljesítményének vizsgálata, Szakdolgozat. Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar., Szent István Egyetem, Budai Campus, Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár szakdolgozat archívuma
18. Owens, B., McGuinness J. (2016), GE-fuel cells, The power of tomorrow, Ecomagination. Internet cím: <https://silo.tips/download/ge-fuel-cells-the-power-of-tomorrow>
19. Pant, D., Van Bogaert, G., Diels, L., Vanbroekhoven, K. (2010), A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production, Bioresource Technology, Volume 101, Issue 6, Pages 1533-1543, ISSN 0960-8524, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.017>

20. Potter, M. C. (1911), Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds, Internet cím: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.1911.0073>
21. Satomi, M. (2014). The Family Shewanellaceae . In: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (eds) The Prokaryotes. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1_226
22. Sheldon R., A. (2007), Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance, Advanced Synthesis & Catalysis, Volume 349, Issue 8-9, Pages: 1289-1307, DOI: <https://doi.org/10.1002/adsc.200700082>
23. Szöllősi A. 2015. Mikrobiális üzemanyagcella teljesítményének növelése, Doktori értekezés., Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar., Szent István Egyetem, Budai Campus, Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár Doktori disszertációk archívum DOI: <https://doi.org/10.14267/phd.2015056>
24. Wolters Kluwer (2020), 1995. évi LIII. törvény - Hatályos jogszabályok - Jogtar. Internet cím: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=99500053.tv>
25. Zou, L., Huang, Yh., Long, Ze. et al. (2019), On-going applications of Shewanella species in microbial electrochemical system for bioenergy, bioremediation and biosensing. World J Microbiol Biotechnol 35, 9 DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2576-7>

Ábrák jegyzéke

1. A világ elsődleges energiaforrásai energiahordozók szerint százalékos eloszlásban és exaJoule-ban megadva 3
2. Tipikus kétkamrás mikrobiális üzemanyagcella sematikus rajza 7
3. Elektronmikroszkópos felvételek Shewanella sp. nanocsövekről 10
4. Az ion jelenlétében létrejött, tojástartó-szerű, alginát gélszerkezet 11
5. A magas mannuronát tartalmú gélek rugalmasak, míg a magas guluronát tartalmú gélek kemények és törékenyek 12
6. Az alginát gél jelentősen meghaladja az élelmiszeriparban használt többi zselésítőanyag hőstabilitását 12
7. Clifton ultrahangos kád 15
8. A CaCl oldatba csepegtetve az alginát szabályos gömbökké zseléedik 16

9. Az összeállított szendvics szerkezetű üzemanyagcella	17
10. A cellába kötött pumpa és csövek elrendezése	17
11. A kísérleti beállítás a csatlakoztatott multiméterekkel	18
12. A multiméterekből származó feszültség értékek rögzítését végző tanszéki szoftver nyitó oldala	18
13. Kalibrációs egyenes a fehérje koncentráció meghatározásához	20
14. Vas-redukciós kalibrációs egyenes	21
15. A Fe(III) koncentráció változása az idő függvényében	22
16. A maltóz tápoldat kémhatásának változása a kísérlet során	23
17. A laktóz tápoldat kémhatásának változása a kísérlet során	23
18. A fehérjetartalom és a vezetőképesség viszonya a maltóz tápközegben	24
19. A fehérjetartalom és a vezetőképesség viszonya a laktóz tápközegben	25
20. A cukorfogyás és az elektromos teljesítmény változása a maltóz tápközegek vizsgálata során	27
21. A cukorfogyás és az elektromos teljesítmény változása a laktóz tápközegek vizsgálata során	28
22. A cukorfogyás változása a laktóz tápközegek vizsgálata során	28

Táblázatok jegyzéke

1. Luria-Bertani tápközeg komponensei 1 literre	14
2. A feszültség, áramerősség és elektromos teljesítmény alakulása a maltóz tartalmú tápközegben	25
3. A feszültség áramerősség és elektromos teljesítmény alakulása a laktóz tartalmú tápközegben	26

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Orlóci Márton

A Hallgató Neptun kódja: FK8AOC

A dolgozat címe:

Shewanella xiamenensis energiatermelése
különböző szubsztrátumokról

A megjelenés éve: 2023

A konzulens intézetének neve:

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

A konzulens tanszékének a neve:

Biomérnök és Erjedésipari Technológia
Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

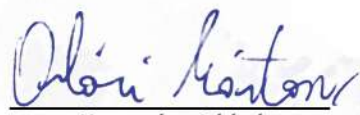
Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2023. év 10. hó 28. nap


Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Orlóci Márton (hallgató Neptun azonosítója: FK8AOC) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / **nem javaslom**.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: _Budapest____2023_ év __október__ hó ____27__ nap

Nguyen Duc Quang
belső konzulens