

Miskolci Egyetem

Anyag- és Vegyészmérnöki Kar



OTDK DOLGOZAT

Kecskés Karina

2025

Miskolci Egyetem

Anyag- és Vegyészmérnöki Kar

Tudományos Diákköri Konferencia

DOLGOZAT

Cirkónium-pilléres montmorillonit mikroorganizmus-adszorpció tulajdonságainak vizsgálata

Szerző: Kecskés Karina

Témavezető: Dr. Szőri-Dorogházi Emma

2025

Tartalomjegyzék

Absztrakt.....	
Köszönetnyilvánítás	
1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés.....	3
3. Célkitűzések	8
4. Anyagok és módszerek	9
4.1. Felhasznált anyagok.....	9
4.2. Alkalmazott táptalajok és tápoldatok	10
4.2.1. LB- tápoldat és -agar táplemez	10
4.2.2. BHI-tápoldat és -agar táplemez	10
4.2.3. CCA táplemez	10
4.2.4. SBA (Slanetz-Bartley) táplemez	11
4.2.5. Fiziológias sóoldat	11
4.3. Vizsgált modellorganizmusok	12
4.4. A Na-Zr 2,5 adszorbens részecske jellemzése	12
4.5. A vizsgálati módszer bemutatása	13
4.5.1. A starter (kezdeti) baktériumszuspenziók elkészítése	14
4.5.2. Az adszorpciós baktériumszuspenzió elkészítése.....	15
4.5.3. Adszorpciós kapacitás meghatározása ülepedési vizsgálattal	15
4.5.4. Az adszorpció inkubálási hőmérsékletének optimalizálása.....	16
4.5.5. A kevert baktériumszuspenzió – „mesterséges szennyvíz” vizsgálata	16
4.5.6. A felhasznált adszorbens részecske regenerálása és újrafelhasználása	17
5. Az eredmények és kiértékelésük.....	18
5.1. <i>M. luteus</i> modellorganizmussal végzett vizsgálatok eredményei	18
5.2. <i>E. faecalis</i> modellorganizmussal végzett vizsgálatok eredményei.....	20
5.3. <i>P. fluorescens</i> modellorganizmussal végzett vizsgálatok eredményei	21
5.4. Kevert szuszpenzióval végzett vizsgálatok eredményei	22
6. Összefoglalás	26
Irodalomjegyzék	27
Mellékletek	33

Absztrakt

A természetes vizek megőrzése egyre fontosabb feladat napjainkban, amihez hozzátartozik, hogy fokozott figyelmet kell fordítanunk az emberi tevékenységekből származó szennyvizek kezelésére, majd újrafelhasználására. A szennyvíztisztításban így folyamatosan jelennek meg újabb tisztítási lehetőségek. Az egyik innovatív megoldás a természetes agyagalapú adszorbensek alkalmazása, többek között, (patogén) mikroorganizmusok eltávolítására vizes rendszerekből. Ez nem csak új, de költséghatékony alternatívát is jelenthet a hagyományosan alkalmazott vízfertőtlenítési eljárásokhoz képest, mivel olcsó alapanyagigénye mellett előnye, hogy alkalmazásakor nem keletkeznek veszélyes melléktermékek. Az újonnan kialakított adszorbensek mikroorganizmus adszorpciós hatékonyságának tesztelése azonban nem egyszerű feladat. Pásztázó Elektronmikroszkóppal (SEM) ugyan kimutatható az adszorpció, de a hatékonyság számszerűsítésére egyéb módszerekre van szükség. Korábbi munkám során kidolgoztam egy ülepedési (gravitációs) elven megvalósítható mérési módszer, amelynek segítségével a mikroorganizmus szuszpenzió sejtkoncentrációjának változásával nyomon követhető volt az adszorpció mértéke. Jelen dolgozatban a cirkónium-pilléres montmorillonit részecskékre kidolgozott vizsgálati módszert terjesztettem ki, és határoztam meg az adszorbens szelektív vagy általános alkalmazhatóságát különféle Gram-negatív és Gram-pozitív mikroorganizmusok esetében. Emellett, a szennyvizek mikroorganizmusokkal való szennyezettségét jelző, indikátor jelentőségű *Escherichia coli* (Gram-negatív) és *Enterococcus faecalis* (Gram-pozitív) baktériumokat egyszerre tartalmazó, kevert szuszpenzióval (mint egy ún. mesterséges szennyvízzel) is teszteltem az adszorbens hatékonyságát. Az elvégzett tesztek eredményei azt mutatták, hogy a cirkóniummal módosított, agyag alapú adszorbens kiválóan alkalmazható lehet a szennyvíztisztításban, hiszen nagy hatékonysággal köti meg a mikroorganizmusokat homogén és heterogén baktérium szuszpenziókban egyaránt. Elvégeztem továbbá az adszorbens regenerálását és a regenerált részecskék további alkalmazhatóságát is vizsgáltam, mivel ezek az eredmények nélkülözhetetlenek a későbbi, ipari tisztítási folyamatokba való integráció megvalósíthatóságához.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Dr. Németh Zoltánnak és Tanya Chauhannak, akik előállították a cirkónium-pilléres montmorillonit adszorbens részecskét, illetve a mikroorganizmus vizsgálatok elvégzéséhez ezt rendelkezésemre bocsátották.

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Szőri-Dorogházi Emmának, akinek iránymutatása és tanácsai nélkül ez a dolgozat nem születhetett volna meg.

Köszönettel tartozom még Prof. Dr. Viskolcz Béla Intézetigazgató Úrnak, aki lehetőséget adott arra, hogy munkámat a Felsőoktatási és Ipari Együttműködési Központban végezzem el, ezzel biztosítva a vizsgálatokhoz szükséges eszközöket és anyagokat is.

„A KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS MINISZTERIUM EGYETEMI KUTATÓI ÖSZTÖNDÍJ PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.”



1. Bevezetés

A társadalom fenntartható növekedése szorosan összefügg a környezetminőség megóvását és javítását célzó új módszerek és technológiák kidolgozásával [1], amelyek különösen fontosak az olyan alapvető erőforrások, mint a víz védelme és fenntartható használata szempontjából. A víz életünk egyik legfontosabb alapköve: nélkülözhetetlen az emberek, állatok és a növényvilág számára is, továbbá fontos szerepet tölt be az ipari termelésben, mint nyersanyag, hűtővíz, fűtővíz stb. [2]. A Föld népességének növekedése, a klímaváltozás, valamint a gazdasági fejlődés miatt édesvízkészleteink rohamosan csökkennek, így még fontosabb, hogy a fennmaradó mennyiséget megőrizzük és ha lehet, duzzasszuk. Ennek egyik lehetősége a szennyvizek kezelése és tisztítása utáni újrafelhasználásuk. Az ilyen eljárások végén nemcsak tisztított vízhez juthatunk, hanem bizonyos esetekben lehetőség nyílik a szennyvízből értékes komponensek (pl. nehézfémek, nemesfémek vagy sók [3]) visszanyerésére is [4]. A kezelt víz „újra hasznosításának” egyik legelterjedtebb módja, ha a tisztított szennyvizet öntözésére alkalmazzuk. Azonban ilyenkor, az öntözésére szánt növények típusától függően, a visszanyert víz minőségének szigorúbb, vagy kevésbé szigorú kritériumoknak kell megfelelnie. Az öntözővizek besorolására vonatkozó minimumkövetelmények több vizsgálandó és ellenőrizendő (fizikai, kémiai, mikrobiológiai) szempontot is tartalmaznak, melyek monitorozására folyamatosan szükség van [5].

A kezelt vizek ellenőrizendő mikrobiológiai paraméterei közé tartozik bizonyos mikroorganizmus típusok (pl. *Escherichia coli*, coliform, *Enterococcus faecalis*, *Legionella sp.* stb.) jelenlétének kimutatása és a vízben lévő koncentrációjuk meghatározása is. Dolgozatomban így olyan módszerek vizsgálatáról szeretnék beszámolni, melyek a mikroorganizmusokra, mint szennyvízben előforduló fertőző forrás kimutatására, de még inkább koncentrációjuk csökkentésére alkalmazható. Erre a célra cirkónium-pilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) természetes alapú agyag részecskéket teszteltem, illetve vizsgáltam ezen adszorbens baktériumsejt adszorpciós kapacitását és különböző baktériumtípusokra vonatkozó szelektivitását.

Korábbi munkámban *E. coli* modellorganizmussal az adszorbens tesztelését már elvégeztem, mely eredményeket most szerettem volna kibővíteni *Pseudomonas fluorescens* (Gram-negatív), *Micrococcus luteus* és *Enterococcus faecalis* (Gram-pozitív) mikroorganizmusok alkalmazásával. A különböző modellorganizmusokkal végzett tesztek értékeit

összehasonlítottam a korábban *E. coli* (Gram-negatív) baktériummal elvégzett tesztjeim eredményeivel [6]. Továbbá célom volt, hogy a „valódi” szennyvizekhez hasonlóbb rendszerekben is teszteljem a részecskék hatékonyságát. Ehhez készítettem egy „kevert” baktériumszuszpenziót, amely *E. coli* és *E. faecalis* mikroorganizmusokat egyszerre tartalmazott, és ezzel a heterogén kultúrával is elvégeztem az adszorpciós tesztek.

2. Irodalmi áttekintés

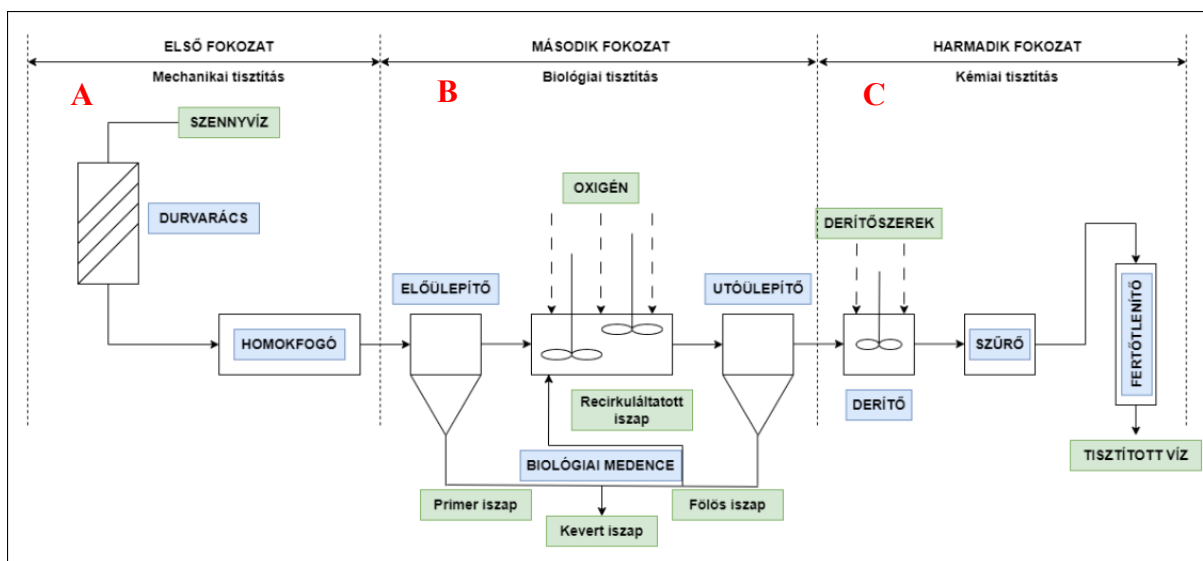
A víz a Földi élet alapvető összetevője és legfontosabb természeti erőforrásunk [7]. Az elmúlt 30 év során a környezeti kérdések, különösképpen a vizek kémiai és biológiai szennyezése, kiemelt jelentőségűvé váltak mind a társadalom, mind az ipari számára [8]. A legtöbb emberi tevékenység, legyen az háztartási, mezőgazdasági vagy ipari, nemkívánatos szennyezőanyagokat tartalmazó szennyvizet termel, melyek akár toxikusok is lehetnek [8]. Az ENSZ jelentése szerint már 2001-ben is naponta kétmillió tonna ipari és szennyvíz hulladék került ki a világ vizeiből [9], és ez a szám azóta sem csökken.

A szennyvizet általánosságban két csoportba oszthatjuk: háztartási és ipari szennyvizek. Ahogy azt az **1. ábra** mutatja, függetlenül a forrástól, a szennyvizet igen is lehet és kell is kezelni, újrahasznosítani, hiszen ez nemcsak környezeti és egészségügyi, de gazdasági előnyöket is jelenthet számunkra. Azonban a szennyvíztisztítás során is számos akadály és megoldandó probléma merül fel, ami leginkább a gazdasági, politikai és tudományos szektor együttes erőfeszítéseivel oldható meg.



1. ábra A szennyvíz körforgás lehetőségei és akadályai [10]

A szennyvíztisztítás alapvetően azt a folyamatot jelenti, melynek során a szennyvízben lévő szennyező anyagokat eltávolítják, átalakítják [11]. Fő célja a víz káros vegyületekkel való terhelésének minimalizálása mielőtt visszaengedik a környezetbe [7]. A hagyományos szennyvíztisztítás fizikai, kémiai és biológiai eljárásokat és műveleteket, valamint ezek kombinációit foglalja magában, melyeknek elsődleges célja az oldhatatlan és oldható szennyeződések eltávolítása [8]. Általában a fizikai tisztítás jelenti az első lépéseket (**2. ábra, A**), mely olyan részfolyamatokat foglal magában, mint a szűrés és az ülepítés, de további elterjedt technika a levegőztetés, mely során levegőt, vagy tiszta oxigént keringtetünk a vízben [12]. Ennek célja, hogy biológiai tisztítást végző rendszerek számára kellő mennyiségű oxigén legyen jelen az általuk végzett szervesanyag lebontásához. Fizikai tisztítás során általában nem alkalmaznak vegyszereket [12]. A kémiai szennyvízkezelés alatt (**2. ábra, C**) leginkább a koagulációs és flokkulációs folyamatokat értjük, melyekkel iszapot és egyéb lebegőanyagokat tudunk eltávolítani [13]. Biológiai szennyvíztisztítás (**2. ábra, B**) során pedig mikroorganizmusok, vagy mikroszkopikus algák segítségével történik a jelenlévő szerves anyagok lebontása [13].



2. ábra A szennyvíztisztítás általános folyamatábrája [14]

A lebontást végző mikroorganizmusokon kívül azonban számos olyan faj is található a vizekben, melyek nagyobb koncentrációban betegségeket okoznak (patogének). Az általuk okozott megbetegedések jellemző tünetei pl. az émelygés, gyomorfájdalom, láz, hányás, de súlyosabb esetben akár halált is okozhatnak [9], [15]. Így kiemelt fontosságú a szennyvizek kémiai és fizikai tulajdonságai mellett a mikrobiológiai paraméterezésük is. A természetes és mesterséges (emberi tevékenységből származó) vizekben egyes mikroorganizmusok

indikátorként szolgálnak. Ez azt jelenti, hogy ha ezen indikátor mikroorganizmusok kimutathatóak egy vízmintában, az adott víz biztosan tartalmaz egyéb patogén mikroorganizmusokat is [16]. Az *E. coli* és az *E. faecalis* fajok tipikusan indikátor fajnak számítanak, mert vízből való kimutatásuk viszonylag egyszerű, és jelenlétük bizonyítottan összefügg a természetes vizek kommunális szennyvízzel való szennyeződésével [16].

A káros baktériumok a szennyvizekből eltávolíthatók fizikai folyamatokkal, például membrán- és ultraszűréssel, vagy fordított ozmózissal [17]. Azonban költséghatékonyság miatt elterjedtebbé váltak a különböző fertőtlenítési eljárások: klórozás, UV-fertőtlenítés és az ózonos kezelés [18]. Viszont ezek a technológiák gondos adagolást és körültekintést igényelnek, mivel közvetlenül is károsak az emberi szervezetre, továbbá a keletkezett melléktermékek is súlyos kockázatot jelentenek. Erre a problémára kitűnő alternatívát jelenthetnek az adszorpciós folyamatok, melyekben, többek között, valamilyen természetes alapú agyag részecskét is használhatunk mikroorganizmusok megkötésére. Ebben az esetben káros melléktermékek nélkül tisztíthatjuk meg a vizeinket a patogén baktériumoktól [19]. A mágneses nanorészecskék (MNP-k) használata is hatékony eszköz lehet a szennyvizek tisztításában, mivel számos előnyös tulajdonságuk közül a mágneses és elektromos tulajdonságaik, katalitikus aktivitásuk és nagy fajlagos felületük révén kiváló adszorbensek lehetnek [1]. A mikroorganizmusok adszorpcióra való „készségét” pedig jól mutatja az a tanulmány is, melyben vizsgálták a baktériumok különböző anyagú ruhaneműkön (pamut, nejlon, poliészter és gyapjú) való megkötődését. Az eredményekből kiderült, hogy a poliészter és gyapjú anyagú ruhadarabok nagyobb mennyiségben kötötték meg a mikroorganizmusokat, míg a pamut és nejlon szálak csak kis mértékben [20]. Így könnyen beláthatjuk, hogy adszorpció alkalmazása miért is olyan kiemelkedő jelentőségű eljárás az iparban és a környezetvédelemben [21].

Az adszorpció egy olyan felületi folyamat, amely egy részecske átvitelét jelenti a folyadék- vagy gázfázisból (általában) szilárd felületre [22]. Ha folyékony anyag az adszorbens, akkor a határfelületi réteget filmnek, micellának vagy emulzióknak is nevezzük [23]. A részecske átvitel történhet fizikai erőkkel fiziszorpció során, vagy kémiai kötésekkel kemiszorpció során. Általában ez egy megfordítható folyamat, mivel a szilárd felületről a részecskék visszakerülhetnek a folyadék fázisba. Ilyenkor deszorpcióról beszélünk [22]. Fiziszorpció során a szubsztrát és az adszorbens között gyenge Van der Waals-erők hatnak, egyik résztvevő esetében nincs a kémiai szerkezetben változás [23]. A kémiai adszorpció olyan folyamat, amely kémiai kötés kialakulásával jár, és ez általában ionos vagy gyökös jelenség [24]. A fizikai

adszorpcióval ellentétben ez a folyamat lassú és nagy aktiválási energiával jár, és általában magas hőmérsékleten megy végbe [25].

Az adszorpció lehet, a rendszerben alkalmazott adszorbenstől függően, félfolyamatos, amikor az adszorbens állóágyat képez, vagy folyamatos, ha az adszorbens a tisztítandó folyadékkal együtt mozog. Az adszorbenseket alkalmazó technológiák egyik fontos kritériuma, hogy az adszorbens visszanyerhető, majd újrahasználható legyen. E célra a folyamatos áramú rendszerek tűnnek a legjobbnak [26]. Wand és mtsai. is ilyen folyamatos áramú rendszert vizsgáltak, amely során *E. coli* szuszpenziót csepegtettek át egy adszorbenssel töltött oszlopon, és azt tapasztalták, a sejtkoncentráció 3-4 nagyságrenddel csökkent a folyamat végére [27]. Hasonló módszerrel háztartási szennyvizekből is sikeresen távolították el a baktériumokat [27]. Jiang és munkatársai ezzel szemben szerves szennyező anyagok eltávolítását modellezték egy cirkónium-alapú, szerves-szervetlen kristályokat (UiO-66 részecskék) tartalmazó, állóágyas adszorpciós rendszerben [28]. Ez a megközelítés egy szakaszos adszorpciót jelentett, melyet befolyásolt az adszorbens alkalmazott dózisa, a hőmérséklet és az érintkezés idő is [29]. A folyamatos adszorpció során, ezzel szemben, az adszorbens és a tisztítandó folyadék egyidejűleg, állandó sebességgel mozog, ami jobb hőátadást, és alacsonyabb adszorbens igényt jelent [30]. Vizek tisztítása esetén fontos, hogy az alkalmazott adszorbensek hidrofíl tulajdonságokkal rendelkezzenek [31]. Baktériumkoncentráció redukción, vagy baktériummentesítésre használt adszorbenseknél továbbá kritérium a pozitív felületi töltés, mivel a baktériumok sejtmembránjának össztöltése a foszfolipidek és lipopoliszacharidok jelenléte miatt negatív [32]. Így az adszorbens és a baktériumsejtek között elektorsztatikus kölcsönhatás révén valósulhat meg a kötődés.

A mikroorganizmus mentesítésre alkalmas adszorbensek mellett az is fontos, hogy megtaláljuk a megfelelő módszert arra, hogy kimutassuk az adszorpciós folyamatok végbemenetelét. Az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer a Pásztázó Elektronmikroszkóppal (SEM) való felvételek készítése [33]. Ez a módszer azonban drága, továbbá a kölcsönhatás jelenlétének kimutatására alkalmas, azonban egy-egy ismeretlen adszorbens vizsgálata során a hatékonyság megbecsülésére nem. Ehhez egyéb sejtkoncentráció meghatározására alkalmas módszerre van szükség (pl. lemezszámláló módszer) [34]. Ez egy közvetett módszer, azaz alapvetően az adszorbenshez nem kötődött („szabad”) mikroorganizmusok mennyiségének meghatározására szolgál, és ezáltal közvetetten tudjuk megmondani az adszorpcióval összegyűjtött mikroorganizmusok mennyiségét.

Undabeytia és mtsai. agyag adszorbensek esetén vákuumszűréssel választották külön az adszorbenst és a hozzá kötődött mikroorganizmusokat a szuszpenzió szabad baktériumsejtjeitől [35]. Így korábbi munkámban először én is ezt a módszert próbáltam ki a cirkónium-pilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) természetes alapú agyag részecskék adszorpciós hatékonyság kimutatására. Azonban megállapítottam, hogy ez a módszer az általam tesztelni kívánt agyag adszorbens esetében nem volt alkalmazható, mivel a kialakult adszorpciós kölcsönhatás nem elegendően nagy, hogy a vákuumszűrés során is fennmaradjon a részecske felülete és a mikroorganizmus között. Így egy új módszert kellett kidolgoznom az adszorpciós hatékonyság meghatározására. Az eljárást ülepedési vagy szedimentációs módszernek neveztük el [6], mivel az adszorbeált baktériumokat az adszorpcióban részt nem vevőktől szedimentációval (gravitációs erő hatására) választottam el. Az adszorpciót követően számszerűsíthető volt a megkötött mikroorganizmusok száma, és megállapíthattam, hogy a cirkónium-pilléres montmorillonit részecske a rendszerben megtalálható *Escherichia coli* sejtek közel 63 %-át megkötötte [6].

Miután a cirkónium-pilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) természetes alapú agyag részecskék adszorpciós hatékonyságának mérésére rendelkezésre állt egy megbízható és reprodukálható eredményeket adó módszer, elkezdhettem az adszorbens azon tulajdonságait is vizsgálni, melyek egy valós víztisztító technológiában való alkalmazásához lehetnek szükségesek. Tesztelni kívántam az adszorpciós elválasztás során alkalmazható hőmérséklet, adszorbens regenerálhatóságának, újrafelhasználásának lehetőségeit, valamint az adszorbens specifikus vagy általános felhasználhatóságát is. Jelen dolgozatom ezen vizsgálatok eredményeit foglalja össze.

3. Célkitűzések

A munkám során az alábbi célokat fogalmaztam meg:

- adszorpciós hatékonyság meghatározása *E. coli* mellett további, a csoportunk törzsgyűjteményében szereplő, egészségügyi szempontból is jelentős Gram-negatív (pl. *Pseudomonas fluorescens*), valamint Gram-pozitív (pl. *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*) modell organizmusokkal.
- a kapott eredmények összevetése a korábban *E. coli*-val végzett vizsgálatok eredményeivel.
- az adszorpciós hőmérséklet optimalizálása.
- kevert baktériumszuszpenzió – „mesterséges szennyvíz” készítése és az adszorbens tesztelése a rendszerben.
- a kevert szuszpenzióban alkalmazott mikroorganizmusok együttes, illetve differenciált kimutatása.
- az adszorbens regenerálásának és újrafelhasználásának tesztelése Gram-pozitív és Gram-negatív mikroorganizmusokkal.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Felhasznált anyagok

1. táblázat A kísérletek elkészítéséhez használt anyagok listája

Megnevezés	Összegképlet/leírás	Forgalmazó/forrás
Trypton	C_3H_5NO	VWR
Élesztőkivonat	$C_{19}H_{14}O_2$	VWR
Nátrium-klorid	NaCl	VWR
Bakteriológiai agar	$C_{14}H_{24}O_9$	VWR
Ultratiszta víz	-	-
CCA (Chromatic Coliform Agar) táptalaj	gyártó által meghatározott összetétel	Liofilchem [36]
Slanetz-Bartley Agar	gyártó által meghatározott összetétel	Liofilchem [37]
BHI-táptalaj és -agar táplemez	gyártó által meghatározott összetétel	Liofilchem [38]
<i>Escherichia coli</i> DH5α (<i>E. coli</i>)	Gram-negatív, nem patogén baktérium (modellorganizmus)	SZMC 21399 (SzTE TTIK Mikrobiológiai tanszék törzsgyűjtemény)
<i>Micrococcus luteus</i> (<i>M. luteus</i>)	Gram-pozitív, nem patogén baktérium (modellorganizmus)	SZMC 0264
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (<i>P. fluorescens</i>)	Gram-negatív, nem patogén baktérium (modellorganizmus)	ATCC 19433
<i>Enterococcus faecalis</i> (<i>E. faecalis</i>)	Gram-pozitív, nem patogén baktérium (modellorganizmus)	ATCC 13525
Na-Zr 2,5 részecske (adszorbens)	Cirkónium-pilléres montmorillonit részecske, melyben a Zr/agyag arány 2,5 mmol/g	Dr. Németh Zoltán kutatócsoportjának munkája

4.2. Alkalmazott táptalajok és tápoldatok

4.2.1. LB- tápoldat és -agar táplemez

Az LB (Luria-Bertani) tápoldat a baktériumok növesztésére és fenntartására használható általános, tápanyagokban gazdag tápközeg. Elkészítése során 10 g triptont, 5 g élesztőkivonatot és 10 g nátrium-kloridot mértem ki, majd 1000 ml ultratiszta vízben oldottam fel. Ezt a tápoldatot 100 ml-es Erlenmeyer-lombikokba osztottam 35-35 ml-enként, majd a lombikokat vattadugóval ellátva 120 °C-on 15 percig autoklávban sterilizáltam [39].

Az LB-táplemezek elkészítéséhez az 1000 ml LB tápoldatba 15 g bakteriológiai agart (szilárdító anyagot) kevertem, és a kapott elegyet csavaros kupakos üvegben autoklávban sterilizáltam [39]. A forralás tette lehetővé az agar teljes feloldódását és így a táptalaj mátrix homogenitásának kialakulását is. A forró tápoldatot 50 °C-os vízfürdőben hűtöttem le, majd 9 cm átmérőjű, steril műanyag Petri-csészékbe osztottam szét steril munkavégzést biztosító fülkében, majd ott hagytam megdermedni a lemezeket.

4.2.2. BHI-tápoldat és -agar táplemez

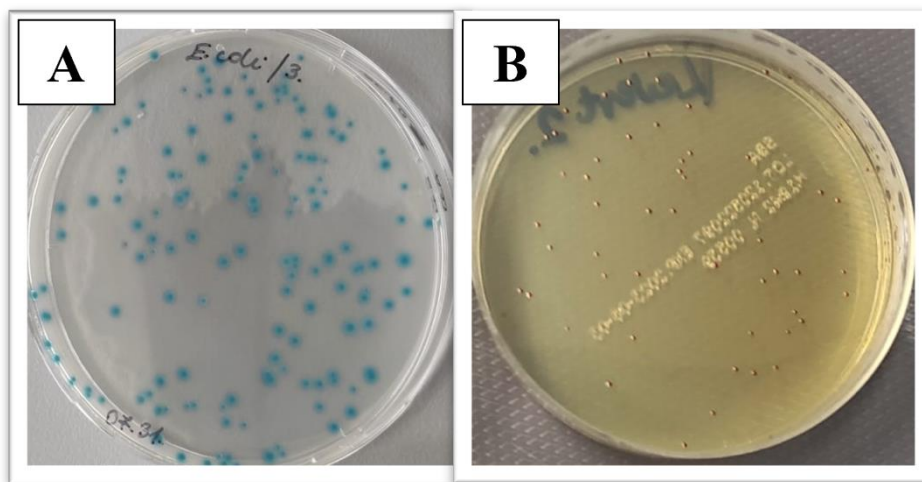
A BHI (Brain Heart Infusion) tápoldat tartalmaz enzimatikusan emésztett állati szöveteket, (dehidratált borjú agyat és marha szívet), glükózt, nátrium-kloridot és vízmentes dinátrium-hidrogén-foszfátot. Laboratóriumunkban ezen összetevőknek egy előre összeállított, por állagú keveréke áll rendelkezésre, melyből 37 g-ot 1000 ml desztillált vagy ionmentes vízben kellett feloldanom, homogenizálnom mágneses keverő segítségével. Ezt a szuszpenziót is 100 ml-es Erlenmeyer-lombikokba 35-35 ml-enként osztottam el, majd a lombikokat vattadugóval ellátva sterilizáltam 121 °C-on 15 percig [39]. Ezt követően a tápoldat alkalmas volt az *Enterococcus faecalis* mikroorganizmus felnövesztésére.

A BHI táplemezek elkészítéséhez is egy előre összemért, por állagú készítményt használtam (ebben is agar volt a szilárdító anyag), melyből 52 g-ot mértem ki és oldottam fel 1000 ml ionmentes vagy desztillált vízben. A teljes feloldódáshoz csavaros kupakos laboratóriumi üvegekben forraltam [39] a tápközeget, majd azt steril 9 cm átmérőjű, műanyag Petri-csészékbe osztottam szét, és steril fülke alatt hagytam megdermedni.

4.2.3. CCA táplemez

Az *E. coli* és coliform baktériumok differenciálásához (másfajta mikroorganizmusoktól való elkülönítéséhez) szükséges speciális táptalaj a CCA táptalaj (Chromogenic Coliform Agar).

Ennek összetétele olyan, hogy a laktóz bontásra képes *E. coli* telepek jellegzetes színváltozást mutatnak rajta (zöldeskék szín, **3. ábra**), de más mikroorganizmusok, pl. *Enterococcus faecalis* nem mutat rajta növekedést. Ez alapvetően egy sok komponenses tápközeg, melynek pontos összetételét az ISO 9308-1 szabvány határozza meg [40]. A laboratóriumunkban egy előre összemért, palackozott tápagart használtam, melyet 100 °C-os vízfürdőben a kupak részleges eltávolításával melegítettem, míg a tápközeg homogénen folyékonnyá vált, majd steril fülkében az 50 °C-ra hűtött agart a megszokott módon 9 cm átmérőjű steril Petri-csészékbe osztottam szét, és hagytam megdermedni.



3. ábra *Escherichia coli* (A) és *Enterococcus faecalis* (B) differenciáló talajokra szélesztve

4.2.4. SBA (Slanetz-Bartley) táplemez

Az SBA egy az *Enterococcus* fajok differenciálásához alkalmazott speciális táptalaj, melyen az *Enterococcus* telepek jellegzetes apró rózsaszín pontokként jelennek meg. A táptalaj további előnye, hogy az *E. coli* nem képez telepeket ezen a táptalajon, ezáltal az *Enterococcus faecalis* szelektíven és kvantitatívan kimutatható még többfajta mikroorganizmust tartalmazó, kevert szuszpenziókban is [41]. Ez a lemez alkalmas volt arra is, hogy az adszorpció során az adszorbenshez kötött *Enterococcus* mennyiségét is számszerűsítsem. Vizsgálataimhoz ez a differenciáló táptalaj előre megöntött Petri csészékben állt rendelkezésemre, melyeket felhasználásig 4 °C-os hűtőszekrényben tároltam.

4.2.5. Fiziológias sóoldat

Az általam végzett adszorpciós vizsgálatokhoz az LB- vagy BHI-táptalajban felnövesztett sejteket fiziológias sóoldatba mostam át, ezzel biztosítva vizsgálataimhoz a megfelelő elektrosztatikus közeget a kölcsönhatások kialakulásához. Az atmoszával azt is biztosítani

lehetett, hogy az adszorpciós kísérlet során az alkalmazott baktériumszuszpenzió sejtkoncentrációja nagyjából állandó maradjon. Ez azért lehetett így, mert a mikroorganizmusok fiziológias sóoldatban életképesek ugyan, de nem (vagy csak lassan) osztódnak. Így elkerülhető, hogy a több órás kísérletek alatt a normál sejtosztódásból eredő sejtkoncentráció-növekedés elfedje az adszorpció hatására bekövetkező sejtkoncentráció-csökkenést.

A fiziológias sóoldat 1000 ml-e 8,5 g NaCl-ot tartalmaz, melyet ultratiszta vízben oldottam fel, majd autoklávbán a már korábban ismertetett módon sterilizáltam [39].

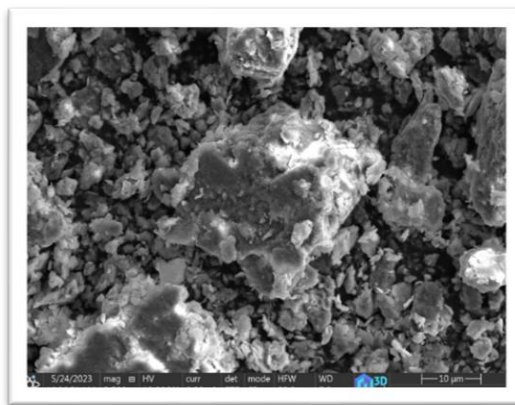
4.3. Vizsgált modellorganizmusok

Kísérleteim során vizsgáltam a Gram-negatív és a Gram-pozitív mikroorganizmusok viselkedését is az adszorbens jelenlétében. A két mikroorganizmus csoport közötti fő különbség a sejtfal felépítésben rejlik, ami nagy hatással van a baktériumok egyes tulajdonságaira, pl. az antibiotikum-rezisztenciára is. A két mikroorganizmus típus elnevezése abból adódik, hogy az eltérő sejtfal felépítés következtében ezek a sejtek Gram típusú festési eljárással eltérően festődnek, mikroszkópos képük elérő lesz [42]. (A részletesebb magyarázatot az 1. számú melléklet tartalmazza).

Gram-pozitív modellorganizmusként *Micrococcus luteus* és *Enterococcus faecalis* fajokat használtam, míg Gram-negatív mikroorganizmusok csoportját a *Pseudomonas fluorescens* és a korábban is tesztelt *Escherichia coli* képviselte. A mikroorganizmusok részletes jellemzését a 2. számú melléklet tartalmazza.

4.4. A Na-Zr 2,5 adszorbens részecske jellemzése

A tesztelt anyagom a cirkónium-pilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) agyag volt (**4. ábra**), amelyben az alkalmazott Zr/agyag arány 2,5 mmol/g volt [43]. Ezek a módosított természetes alapú agyagok, ún. PILC-anyagok (pillared interlayered clays) [44] kiváló adszorpciós és katalitikus tulajdonságokkal rendelkeznek [45]. Az adszorpcióban való alkalmazhatóságuk a nagy fajlagos felületnek és a porózusságuknak köszönhető [44].



4. ábra A cirkónium-pilléres montmorillonit részecske Elektronmikroszkóp felvétele [43]

Előállításuk általában 4 lépésből áll [46]. Elsőként az oldatot (pl. esetünkben NaCl-oldatot) telíteni szükséges a többértékű kationok polimerizálódásához [47]. Ezt követően megtörténik az agyagalapba való interkalációjuk, majd leválasztják az oldatról, és többszöri mosási lépésekkel távolítják el a prekursor anionokat. Végezetül egy kalcinálási lépéssel a polikationok stabilabb fémoxid-klaszterekké, azaz az anyag szempontjából kiemelten fontos pilléreké alakulnak át [46]. Munkám során egy cirkóniummal pillérezett montmorillonit adszorbens részecskét vizsgáltam, mely adszorpció szempontjából fontos tulajdonságait, továbbá a korábban elvégzett adszorpciós kísérleteinek eredményeit az **2. táblázat** foglalja össze röviden:

2. táblázat Cirkónium-pilléres montmorillonit agyag részecske adszorpció szempontjából fontos paraméterei [43]

Cirkónium-pilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5)	
Fajlagos felület [m ² /g]	216
Mikropórus térfogat [cm ³ /g]	0,099
Átlagos pórusátmérő [nm]	1,84
Adszorpciós kapacitás [$\times 10^9$ cfu/ml] <i>E. coli</i> esetén [6]	0,88 $\pm$ 0,13

4.5. A vizsgálati módszer bemutatása

A dolgozatomban bemutatott tesztelési eljárást korábbi munkám során én dolgoztam ki [6]. A továbbiakban ezt a megközelítést használtam az adszorbens további tulajdonságainak és alkalmazhatósági körülményeinek meghatározására.

4.5.1. A starter (kezdeti) baktériumszuszenziók elkészítése

A kiindulási baktériumszuszenziók elkészítéséhez szükség van a megfelelő tápoldatokra, a különálló telepeket tartalmazó lemezekben felnőtt mikroorganizmusokra és steril eszközökre. A különböző mikroorganizmusokat, a hozzájuk tartozó megfelelő tápoldatokat és a szükséges inkubálási hőmérsékleteket a **3. táblázat** foglalja össze.

3. táblázat A vizsgált mikroorganizmusok és felnevelésük paraméterei

Választott modell organizmus		Alkalmazott tápoldat	Inkubálási hőm. és idő
<i>M. luteus</i> – G pozitív		Luria-Bertani (LB)	30 °C, 72 óra
<i>E. faecalis</i> – Gram-pozitív		Brain Heart Infusion (BHI)	37 °C, 24 óra
<i>P. fluorescens</i> – Gram-negatív		Luria-Bertani (LB)	30 °C, 72 óra
Keverő szuszpenzió	<i>E. coli</i> – Gram-negatív	Luria-Bertani (LB)	37 °C, 24 óra
	<i>Enterococcus faecalis</i> – Gram-pozitív	Brain Heart Infusion (BHI)	37 °C, 24 óra

A megfelelő tápoldatot tartalmazó Erlenmeyer-lombikba steril oltókacs segítségével a megfelelő mikroorganizmust tartalmazó lemezről 1 db telepet mostam bele. Az így elkészített szuszpenziót a táblázatban feltüntetett körülmények között inkubáltam 160 rpm-es vízszintes, körkörös rázatást alkalmazva (3. számú melléklet A része). Az inkubálást követően minden esetben a starterek optikai denzitását határoztam meg NanoDropTM spektrofotométerrel 600 nm-en (OD₆₀₀) (3. számú melléklet B részlete). Ez az optikai denzitás érték arányos a szuszpenzióban lévő sejtkoncentrációval, így ennek meghatározásával tudtam ellenőrizni a mikroorganizmus kultúrák minőségét. Azonban ez csak hozzávetőleg nyújt információt, mivel a módszer az élő és élettelen sejtek között nem tesz különbséget (mindkettő zavarossá teszi a folyadékot), ezért szükséges a telepképzésre alkalmas (élő) sejtek térfogategységre vonatkozó számának meghatározása is. Az élő sejtszám meghatározására az egyik legelterjedtebb módszer a kolónia számláló módszer (colony counting method) [48]. Ehhez az egy éjszakán át rázatott sejt kultúrából (a tömény baktériumszuszenzióból) 1 ml térfogatban hígítási sorozatot készítettem tízes léptékben 10^1 - 10^6 között, majd a 10^6 hígítási tagból 3 db LB vagy BHI lemezre 100-100 µl-t szélesztettem ki, majd a lemezeket a megfelelő hőmérsékleten inkubáltam (3. számú melléklet C része). Ez a hígítás biztosította azt, hogy az egyes lemezek kb. 30-300 közötti telepszám alakuljon ki. Ezen tartományon kívüli sejtszám pontatlan koncentrációmeghatározáshoz vezet [49]. A legkisebb hígítású tagból (10^6) szélesztett

lemezeken a felnőtt telepek száma, a szélesztett sejtsuszpenzió térfogata és a hígítás mértékének figyelembevételével adható meg a tömény sejtsuszpenzió élő sejtekre vonatkozó sejtkoncentrációja, amelynek mértékegysége cfu/ml (azaz a telepképző egységek milliliterenkénti száma).

4.5.2. Az adszorpciós baktériumsuszpenzió elkészítése

Ahhoz, hogy minél megfelelőbb környezetet biztosítsak a baktérium sejtek adszorpcióval történő megkötéséhez, a felnevesztéshez alkalmazott tápoldatot a lehető legteljesebb mértékben el kellett távolítanom. Ezt úgy valósítottam meg, hogy a tömény sejtsuszpenzióból készítendő hígítási sorhoz „hígítószerként” fiziológiás sóoldatot használtam. Tehát az LB-ben vagy BHI-ben lévő starter kultúrából, majd a hígítási sor további tagjaiból is, 1 ml-t vittem át pipettával a tízes léptékű hígítási sor következő tagjába. A hígítási sor a 10^5 -es tagig 10 ml fiziológiás sóoldatban lett összeállítva (a 3. számú melléklet D részlete szerint). A sorozat utolsó tagját (10^6 -hígítás) nagyobb térfogatban (30 ml-ben) állítottam elő (4. számú melléklet A része), hogy elegendő anyagom legyen az adszorpciós kísérletek több párhuzamossal való egyidejű elvégzéséhez [6].

4.5.3. Adszorpciós kapacitás meghatározása ülepedési vizsgálattal

Az adszorpciós vizsgálathoz minden esetben a 10^6 -hígítású (30 ml-ben összeállított) baktériumsuszpenziót használtam, melyből két adagot készítettem el. Az egyik adaghoz nem adtam adszorbens részecskéket, ezek voltak a mikroorganizmus referencia csövek. Ezekben a baktériumok adszorbens nélküli viselkedését vizsgáltam az alkalmazott kísérleti körülmények (hőmérséklet, kontakt idő, ülepedési idő és mintázás) között. Ezzel párhuzamosan egy másik centrifugacsőben lévő 10^6 -hígítású szuszpenzióhoz 30 mg szárítószekevényben ($120\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 óra) előre sterilizált cirkónium-pilléres agyag adszorbenst (Na-Zr 2,5) adtam, majd alaposan összekevertem (4. számú melléklet A részlete). A referencia és az adszorbens tartalmú csöveket is 3-3 db LB lemezre mintáztam ki, mellyel a kiindulási (adszorpció előtti) sejtszámot határoztam meg. Ezt követően mindkét centrifugacsövet inkubátorba helyeztem $1,5\text{ órára}$ 160 rpm -es rázatást alkalmazva, az adott mikroorganizmus növesztési hőmérsékletén. Az inkubálást követően steril fülkében 30 percig ülepedni hagytam a diszperziókat, majd ezt követően a felülúszóból 3 db LB lemezre szélesztettem, mellyel az adszorpció utáni sejtszámot határoztam meg. Az új lemezeket inkubátorba helyeztem (30 vagy $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra) végül megszámloltam a felnőtt telepeket. A kiindulási és az adszorpció utáni sejtszám különbségéből meghatározható az adszorbeálódott mikroorganizmusok mennyisége [6].

4.5.4. Az adszorpció inkubálási hőmérsékletének optimalizálása

Az adszorpciós tesztek elvégzéséhez a *Micrococcus luteus* és a *Pseudomonas fluorescens*-nél 30 °C-ot, míg korábban az *Escherichia coli* és most az *Enterococcus faecalis* esetében a 37 °C-ot választottam, mert a mikroorganizmusok számára ezen hőmérsékletek jelentették az optimális növekedési hőmérsékletet [50], [51], [52], [53]. Azonban egy valós szennyvízmintában ezen mikroorganizmusok többnyire egyszerre is jelen vannak, így szükséges volt egy olyan hőmérséklet megválasztása, amely minden baktérium esetében közel azonos adszorpciós hatékonyságot eredményez. De Gisi és mtsai. által készített összefoglalóból ismert, hogy a szennyvíztisztításnál alkalmazott adszorpció során (elsősorban nehézfémek adszorpciójakor) legtöbbször a 25 °C-ot alkalmazzák standard körülményként [54]. Így adszorpciós vizsgálataimat elvégeztem úgy is, hogy a 1,5 órás inkubálás során 25 °C hőmérsékletet állítottam be a korábbi 30, illetve 37 °C helyett.

4.5.5. A kevert baktériumszuszpenzió – „mesterséges szennyvíz” vizsgálata

Első lépésként egy darab *E. coli* telepet steril oltókaccsal steril LB-oldatba mostam bele, majd rázatva inkubáltam egy éjszakán keresztül. Ezt követően egy darab *E. faecalis* telepet mostam bele BHI-tápoldatba, majd ezt is inkubáltam 37 °C-on egy éjszakát (a folyamatot az 5. számú melléklet A és B része mutatja be). Ezt követően külön-külön megmértem a sejtszuszpenziók optikai denzitását 600 nm-en az 5. számú melléklet C és D része szerint tiszta LB, illetve BHI tápoldat háttér felvételével. Utolsó lépésként pedig elkészítettem a hígítási sorozatot a 5. számú melléklet E része szerint. 1-1 ml *E. coli* és *E. faecalis* starterszuszpenziót adtam 8 ml steril fiziológiás sóoldathoz, majd alaposan összekevertem azt. Ezt követően ebből az első tagból 1 ml-t adtam a következő, már 9 ml fiziológiás sóoldatot tartalmazó centrifugacsőbe a 10⁵ hígítási tagig. Majd a 6. számú melléklet folyamatábrája szerint (alapvetően a korábbiakhoz hasonlóan) elvégeztem az adszorpciós kísérleteket. Az adszorpció utáni sejtkoncentráció meghatározáshoz azonban a sejtszuszpenzió mintákat (100-100 µl-t) LB, BHI és CCA lemezekre is kiszélesztettem, valamint az SBA lemezekre 50-50 µl-t. A CCA és SBA lemezek a kevert kultúrából való *Escherichia coli* és *Enterococcus faecalis* differenciálásra alkalmas táplemezek (mivel CCA lemezen csak az *E. coli*, SBA lemezen csak az *Enterococcus* képez telepeket), míg az LB és a BHI lemezek a két baktérium típus együttes megjelenítésére alkalmazhatók.

4.5.6. A felhasznált adszorbens részecske regenerálása és újrafelhasználása

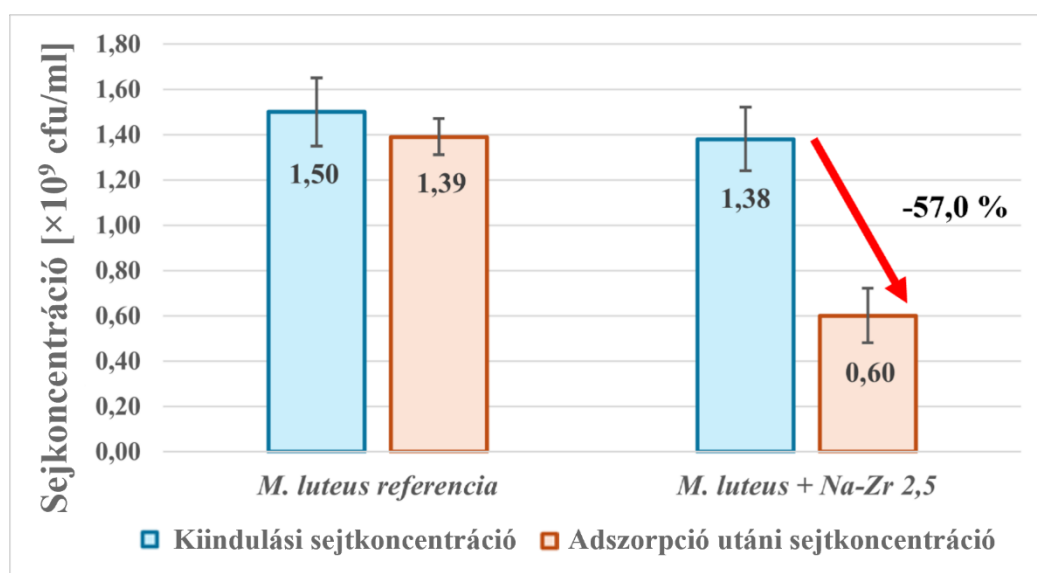
Az adszorpciós kísérleteket követően elvégeztem az adszorbens részecskék regenerálását is. Szakirodalomban számos olyan módszert találtam, melyek alkalmasak lehetnek az agyag részecskék regenerálásra, például kémiai kezelés vagy hőkezelés nedves hővel (autoklávban) [55] illetve száraz hővel (szárítószekrényben) [56]. Választásom ez utóbbira, a szárítószekrényben való kezelésre esett, mivel az adszorpciós folyamatot megelőző sterilizálási lépés is alapvetően így történik (120 °C, 5 óra), ezáltal a regenerálási és a sterilizálási lépés egyszerre volt elvégezhető [6].

A regeneráláshoz először az adszorpciós vizsgálat végén a felülúszóból pipettával ~29 ml folyadékot eltávolítottam a fugacsóból, majd ezt követően az adszorbenst tartalmazó csövet egy megfelelő méretű, steril főzőpohárba helyeztem és alufóliával lefedve raktam a szárítószekrénybe 120 °C-ra 5 órán keresztül (7. számú melléklet). A regenerálást követően pedig a korábbiakban ismertetett módon megismételtem az adszorpciós tesztet (4. számú melléklet).

5. Az eredmények és kiértékelésük

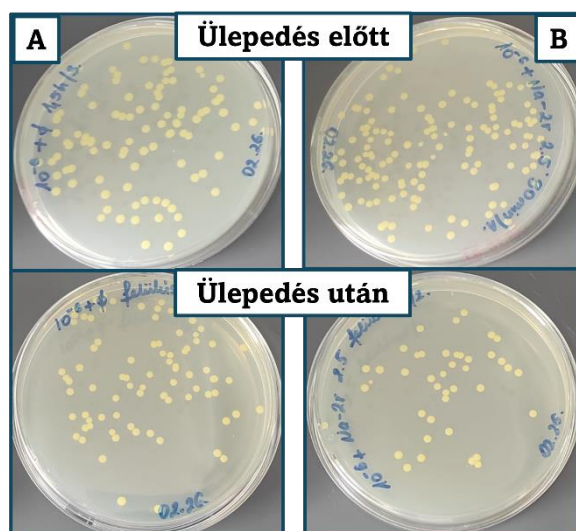
5.1. *M. luteus* modellorganizmussal végzett vizsgálatok eredményei

A Na-Zr 2,5 részecskével végzett adszorpciós eredményeket az alábbi diagram (5. ábra) és a 8. számú melléklet foglalja össze, melyből jól látható, hogy a *Micrococcus luteus* (*M. luteus*) sejtuszpenzióban adszorbens jelenléte nélkül (referencia) 30 perc alatt elhanyagolható mennyiségű sejtüledés volt tapasztalható. A kapott adatok alapján látható, hogy adszorbens alkalmazása nélkül csupán 7,3 %-kal csökkent a folyadékréteg mikroorganizmus koncentrációja. Azonban, ha a rendszerhez 30 mg cirkónium-pilléres adszorbens részecskét adtam, és megfelelő kontaktidőt biztosítottam, akkor a jelenlévő baktériumok 57 %-a üledéssel eltávolítható volt.



5. ábra A 30 °C-on *M. luteus* törzsszel elvégzett adszorpciós vizsgálatok eredményei
(függőleges szakaszokkal jelölve a szórás mértéke)

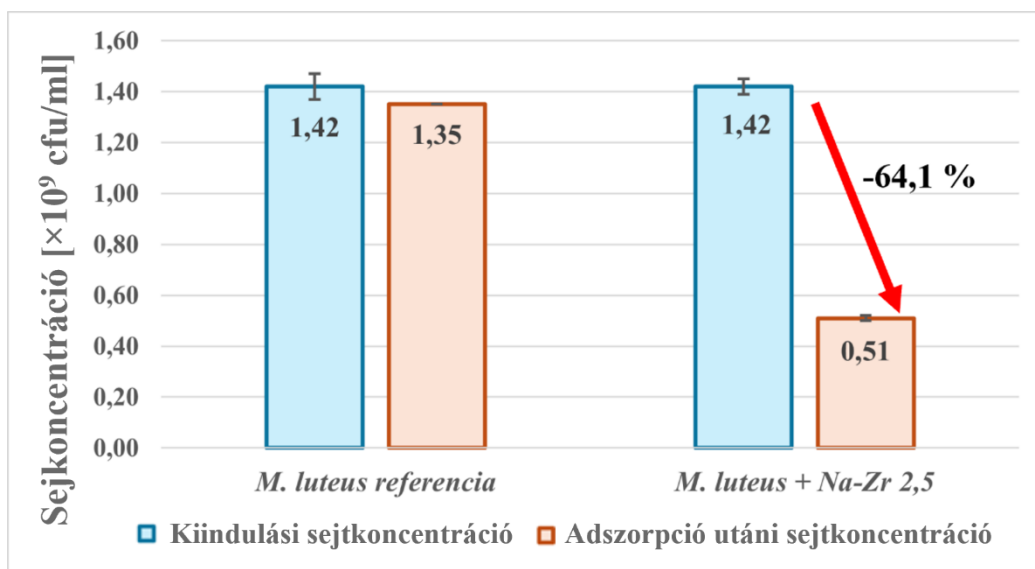
Ez az eredmény közel azonos a korábban *E. coli* baktériumokkal kapott vizsgálati eredményekkel, mely során a mikroorganizmusok 62,6 %-át volt képes megkötni az agyag adszorbens [6]. Ezek a kísérleti adatok azt is jelentik, hogy a tesztelt agyagalapú adszorbens részecske Gram-negatív és Gram-pozitív mikroorganizmusok megkötésére is közel azonos hatékonysággal alkalmas. Ha az adszorpció utáni lemezek képeit hasonlítottam össze (6. ábra), akkor azon is jól látható, hogy adszorbens alkalmazása esetén jelentősen kevesebb telep képződött az LB lemezeken, míg a referencia rendszerénél szemmel láthatóan is közel azonos a telepek száma az inkubációt megelőző és az utána vett mintáknál.



6. ábra A *Micrococcus luteus* sejtkoncentrációjának változása LB lemezeken;

A) adszorbens mentes kontroll, B) adszorbens tartalmú rendszer

Az adszorpció inkubálási hőmérsékletének optimalizálást is elvégeztem *Micrococcus luteus* esetén, így az alkalmazott 30 °C-ot a szakirodalomban gyakran fellelhető 25 °C-ra csökkentettem, míg a további paraméterek (inkubálás időtartama, rázatás sebessége és az ülepedési idő) megegyeztek a korábbi vizsgálatokkal. Ez a módosítás az agyag adszorbens egy későbbi valós víztisztító folyamatban való alkalmazásának modellezéséhez volt elengedhetetlen.



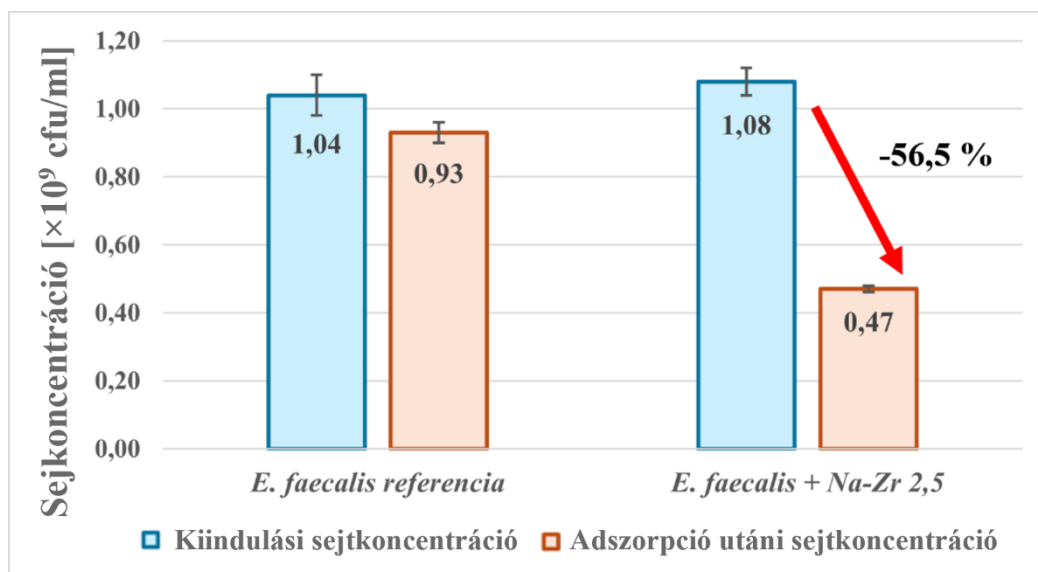
7. ábra A *Micrococcus luteus* törzssel 25 °C-on elvégzett tesztek eredményei

(függőleges szakaszokkal jelölve a szórás mértéke)

Az eredmények tekintetében, ahogy a **7. ábra** és a 8. számú melléklet is mutatja, az adszorpció hatékonyságát kb. 7 százalékkal sikerült növelni 25 °C-on alkalmazva adszorpciós hőmérsékletként, így megalapozottnak láttam, hogy a későbbiekben a további modellorganizmusoknál is ezt az alacsonyabb hőmérsékletet használjam. Látható volt, hogy az adszorpciós hőmérséklet ekkora mértékű csökkenése az adszorpciós hatékonyságon nem ront, viszont lehetővé teszi többféle mikroorganizmus együttes adszorpciójának vizsgálatát.

5.2. *E. faecalis* modellorganizmussal végzett vizsgálatok eredményei

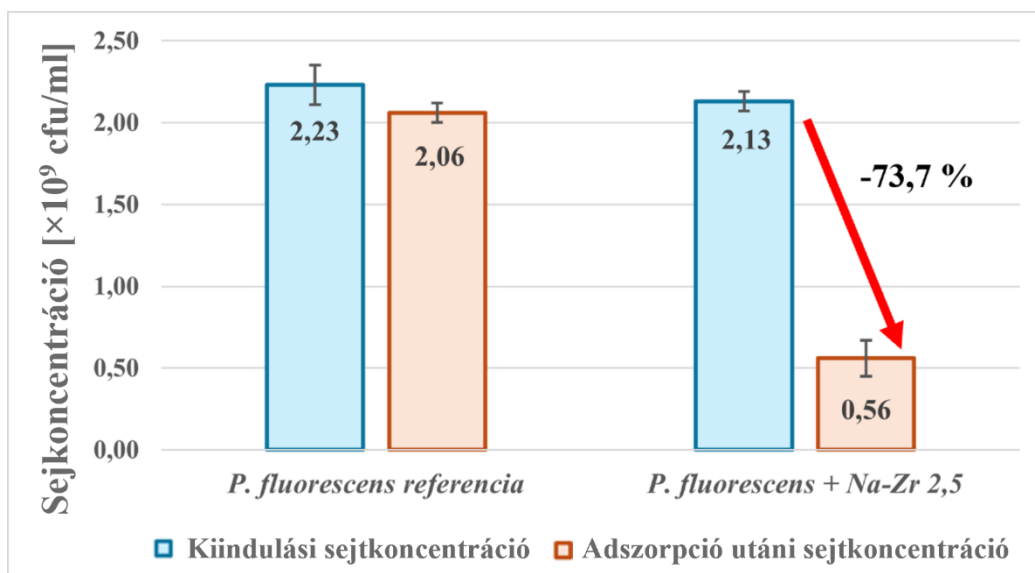
Végeztem vizsgálatokat még egy Gram-pozitív mikroorganizmussal. Az *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) az *E. coli*-hoz hasonlóan 37 °C-on növekszik megfelelően, így potenciálisan jó modellorganizmusnak számít a későbbiekben az *E. coli*-al együtt egy „kevert” baktériumszuszpenzió előállításához. Azonban először monokultúrában felnevesztve alkalmaztam vizsgálataimhoz. A kapott eredményeket tekintve (**8. ábra**) az eltávolítás hatékonysága közel esett a másik Gram-pozitív mikroorganizmussal, a *M. luteus*-szal (8. számú melléklet) kapott értékekhez.



8. ábra A 25 °C-on *E. faecalis* törzsszel végzett adszorpciós vizsgálatok eredményei
(függőleges szakaszokkal jelölve a szórás mértéke)

5.3. *P. fluorescens* modellorganizmussal végzett vizsgálatok eredményei

A *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) esetén is már csak 25 °C-on végeztem el az adszorpciós vizsgálatokat, hiszen korábbi teszteredményeim szerint ez a fajta változtatás nem befolyásolta negatívan az adszorpciós hatásfokot. Amennyiben a kapott eredményeket az *E. coli* vizsgálatok eredményeihez hasonlítottam, látható volt, hogy az adszorbens 10 százalékkal nagyobb mennyiségű *P. fluorescens* megkötésére volt alkalmas (8. számú melléklet). Továbbá az eddig tesztelt 4féle mikroorganizmus közül is ezt a mikroorganizmust tudta a legnagyobb hatékonysággal megkötni az agyag adszorbens (8. számú melléklet). A referencia eredményeiből látható (9. ábra), hogy a *Pseudomonas fluorescens* baktérium sem ülepedik számottevően adszorbens jelenléte nélkül (7,6 %), így az adszorpció utáni folyadék fázisból meghatározott sejtkoncentráció (illetve annak csökkenése a kiindulási sejtkoncentrációhoz képest) a cirkónium-pilléres montmorillonit részecske jelenlétének köszönhető.

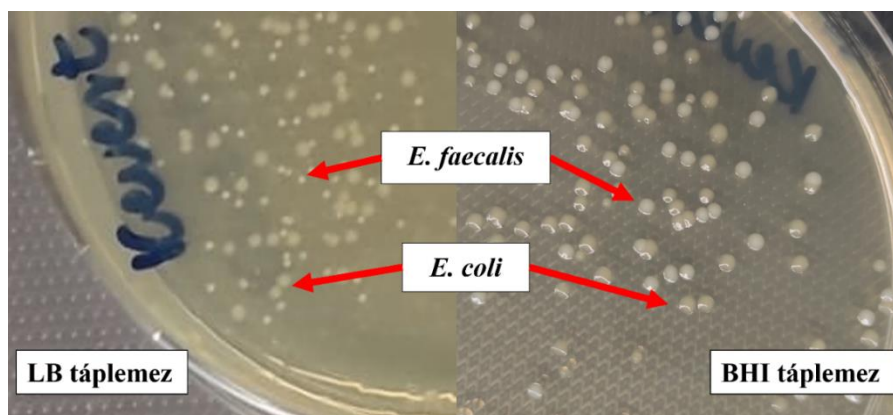


9. ábra A 25 °C-on *P. fluorescens* törzsszel végzett adszorpciós vizsgálatok eredményei
(függőleges szakaszokkal jelölve a szórás mértéke)

Összességében tehát megállapítható volt, hogy a Gram-negatív mikroorganizmusok valamelyest nagyobb mértékben kötődnek az adszorbenshez (63 és 73 % volt az adszorpciót követő sejtkoncentráció csökkenés *E. coli* és *P. fluorescens* esetében, míg *M. luteus* és *E. faecalis*-nál 64 és 56 %). Azonban ez nem számít jelentős differenciának.

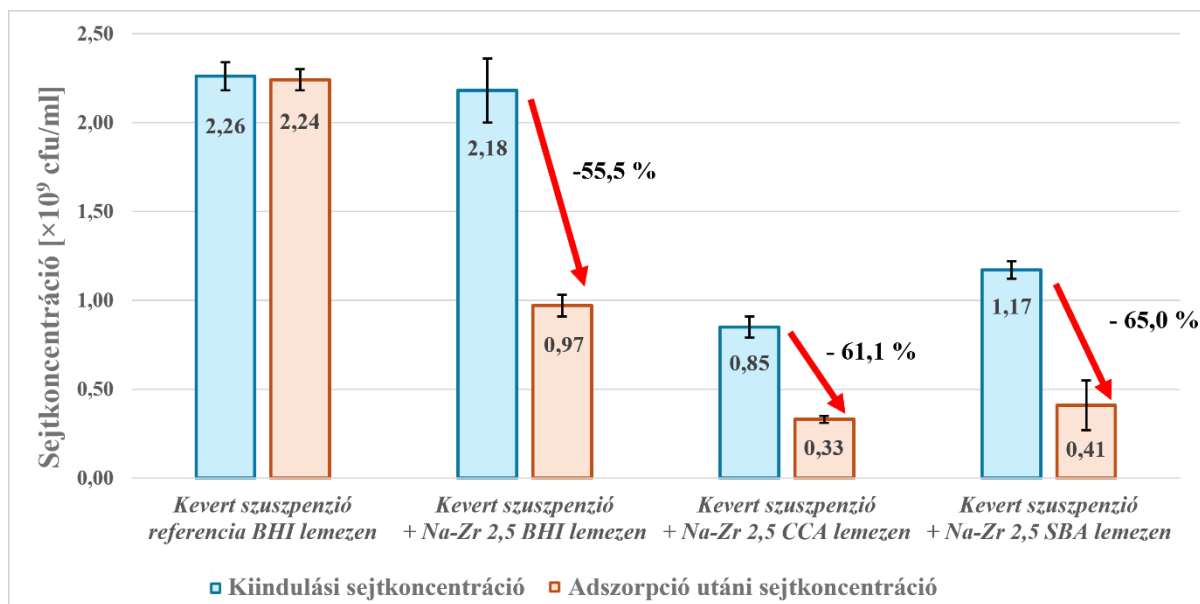
5.4. Kevert szuszpenzióval végzett vizsgálatok eredményei

A kevert baktériumszuszpénzió elkészítése során először azt kellett megvizsgálni, hogy mely típusú táplemezen történjen a kevert szuszpenzió szélesztése, hogy biztosítható legyen a reprezentatív mintázás (LB az *E. coli*, a BHI pedig az *E. faecalis* fenntartásához az optimálisabb). Az alábbi **10. ábra** bemutatja, hogy a két baktérium eltérő sebességgel növekszik LB lemezen (ezt a két féle telepméret mutatja), míg BHI lemezen szemmel láthatóan azonos mértékben nő mindkét típusú baktérium. A BHI lemezen a telepek színében van árnyalat béli eltérés, ami azonban arra pont elegendő, hogy akár differenciáló teszt nélkül is megkülönböztethetők legyenek a modellorganizmusok egyetlen lemezen. Így a további teszteket csak BHI lemezen végeztem el. Az eredmények megerősítésére azonban CCA (*E. coli*) és SBA (*E. faecalis*) differenciáló táptalajokra is szélesztettem, annak reményében, hogy a közös tenyésztésből kapott sejtkoncentráció értékeket így még jobban alá tudjam támasztani.



10. ábra Az *E. coli* és *E. faecalis* növekedése LB és BHI lemezeken

Elvégezve az adszorpciós tesztet az *E. coli*-*E. faecalis* kevert szuszpenzióval a **11. ábra** diagramján és a 8. számú mellékletben is jól látható volt, hogy az adszorbens hasonlóan jó hatékonysággal működött ezen heterogén szuszpenzióban, mint amikor korábban csak egyetlen baktériumtípust tartalmazó (homogén) szuszpenziókat használtam.



11. ábra A "mesterséges szennyvízzel" - kevert baktériumszuszenzióval végzett vizsgálatok eredményei, BHI, CCA és SBA táptalajokon
(függőleges szakaszokkal jelölve az adatsor szórása)

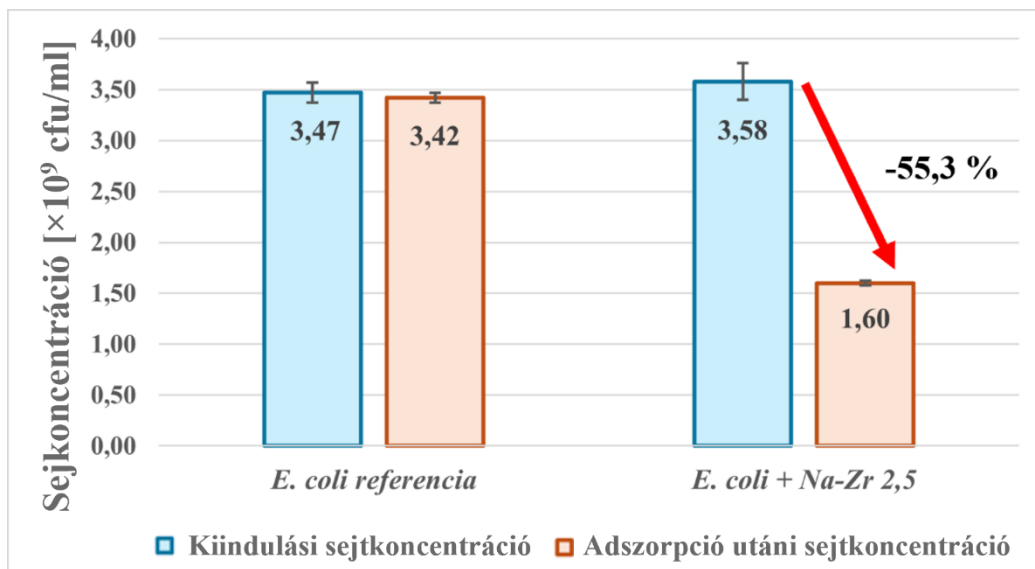
Elvégeztem a kevert szuszpenzió differenciáló tesztjeit is, így CCA és SBA lemezekre is szélesztettem az adszorpciós teszt végén. Ahogy a **11. ábra** is mutatja, a differenciálásra alkalmazott specifikus lemezekon külön-külön (CCA lemezen *E. coli* és SBA lemezen *E. faecalis*) olyan sejtkoncentráció volt kimutatható, melynek eredményeit, ha összeadtam, a kétféle sejtnövekedést egyszerre mutató lemez (BHI) sejtkoncentrációjához közelítő számot kaptam (**11. ábra** és 8. számú melléklet).

5.5. A regenerált adszorbenssel végzett tesztek eredményei

A regenerálási vizsgálatokat egy Gram-negatív (*E. coli*) és egy Gram-pozitív (*M. luteus*) mikroorganizmussal végeztem el. Az alábbi **11. ábra** is mutatja, hogy a regenerálás megváltoztatja az adszorbens fizikai tulajdonságait, így különösen fontos vizsgálni, hogy ez hogyan befolyásolja az anyag adszorpciós tulajdonságait.

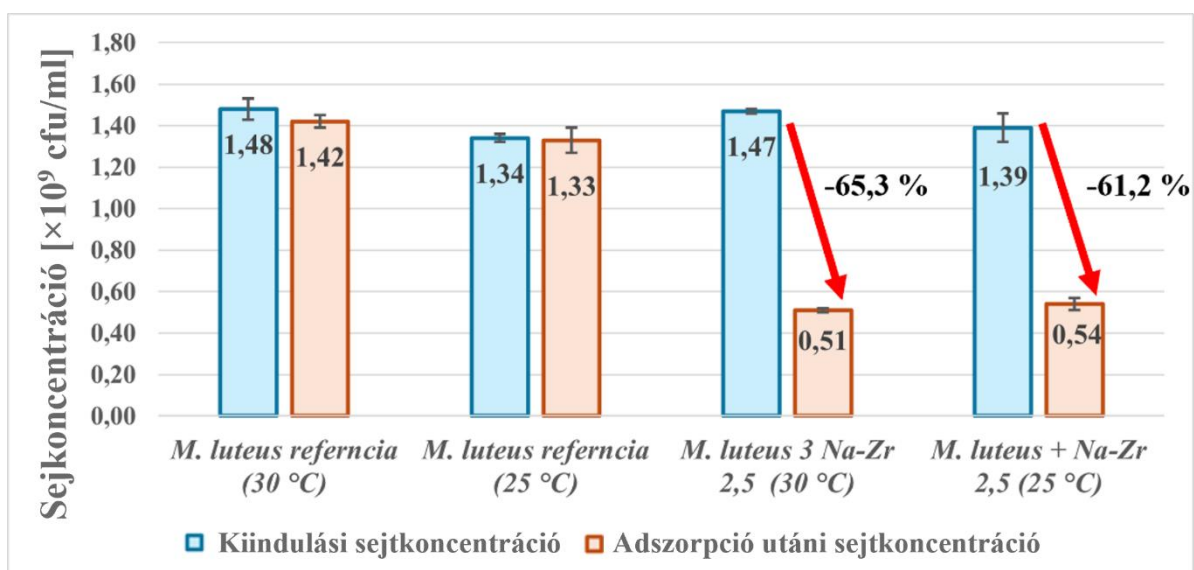
Az eredményeket tekintve *E. coli* esetében ugyan minimális hatékonyság csökkenés volt tapasztalható, de a regenerált anyag még mindig képes volt a sejtek 55,3 %-ának az eltávolítására (**12. ábra** és 8. számú melléklet). Tehát megállapítottam, hogy a részecskék száraz hővel megfelelően regenerálhatóak voltak, és ezt követően az adszorbens újból

felhasználható volt Gram-negatív mikroorganizmust tartalmazó szuszpenzióban adszorpciós tesztekhez.



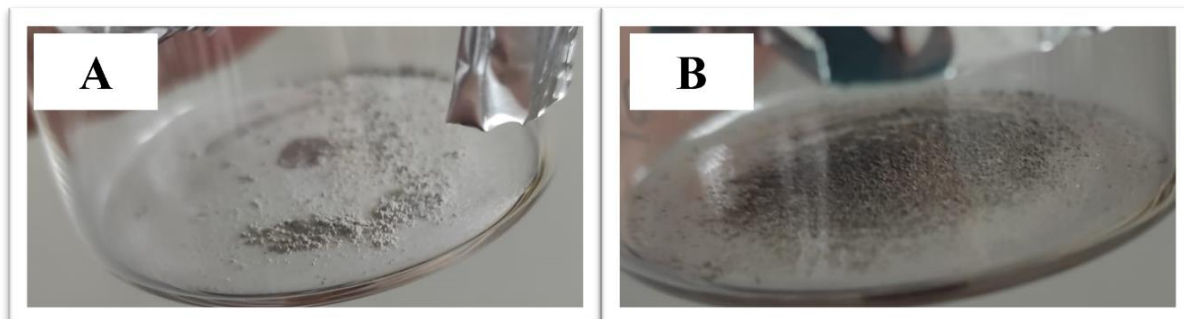
12. ábra A regenerált adszorbensekkel végzett vizsgálatok eredményei *E. coli* mikroorganizmus rendszerben [6] (függőleges szakaszokkal jelölve a szórást)

A *Micrococcus luteus* baktériumszuszpenzióban, a regenerált anyaggal végzett kísérletek során az adszorpciós hatékonyság 25 °C-on szintén nem változott jelentősen: a korábbi 64,1%-ról mindössze 61,2%-ra csökkent a regenerált agyag részecskék adszorpciós hatékonysága. A 30 °C-on elvégzett teszteknel pedig még 8 %-kal több sejtet is sikerült megkötni a regenerált adszorbenssel (13. ábra és 8. számú melléklet).



13. ábra A regenerált adszorbensekkel végzett adszorpciós vizsgálatok eredményei *M. luteus* mikroorganizmust tartalmazó rendszerben (függőleges szakaszokkal jelölve a szórást)

Elmondható tehát, hogy regenerálás után a cirkónium-pilléres montmorillonit adszorbens részecske közel azonos hatékonysággal újrafelhasználható, mind Gram-negatív, mind Gram-pozitív mikroorganizmus szuszpenzió esetén.



14. ábra A cirkónium-pilléres montmorillonit részecske, A) első felhasználás előtt és B) első regenerálás után

A jövőben azonban további vizsgálatokra van még szükség, hiszen fontos meghatározni, hogy a részecske hányszor lesz regenerálható jelentős hatékonyságvesztés nélkül. Ez az információ az ipari alkalmazás egyik kritikus pontjának tekinthető. Továbbá szükséges újra megvizsgálni a regenerált részecske fizikai paramétereit is, mivel ahogy a fenti **14. ábra** is mutatja, részecskeméretben és fajlagos felületben is bekövetkezhetett változás. Jövőbeni terveimben ezen mérések elvégzése mindenképp szerepel.

6. Összefoglalás

Összefoglalva a dolgozatom tartalmát elmondható, hogy elvégeztem a cirkónium-pilléres agyagalapú adszorbens vizsgálatát *M. luteus*, *E. faecalis* és *P. fluorescens* baktériumszuszpenziókkal, először csak egyféle baktériumot tartalmazó (monokultúrákkal), majd kevert kultúrával is. A Gram-pozitív mikroorganizmusok közül a *M. luteus* 57 %-ban, az *E. faecalis* pedig 56,5 %-ban volt eltávolítható, míg a Gram-negatív *P. fluorescens*-nek mintegy 73,7 %-át sikerült az adszorbenssel összegyűjteni a folyadékból. A korábbi munkámban [6] *E. coli*-val végzett tesztek eredményeivel összevetve, ez a *P. fluorescens* esetében mintegy 10 %-kal magasabb hatékonyságot jelent.

Hőmérséklet-optimalizálást is végeztem az adszorbens rendszer későbbi víztisztító folyamatokban való alkalmazhatósága érdekében, mely során kiderült, hogy a 25 °C is legalább olyan megfelelő paraméter az adszorpció beállításánál, mint azon (jellemzően ennél magasabb) hőmérsékleti értékek, melyek az egyes modellorganizmusok specifikus növesztési hőmérsékletét jelentik.

Készítettem egy „mesterséges szennyvizet” is, melyben *E. coli* és *E. faecalis* mikroorganizmusokat kevertem össze, ezzel modellezve a Gram-negatív és Gram-pozitív baktérium együttes jelenlétét szennyvizekben. A differenciáló tesztek eredményei azt mutatták, hogy az adszorbens azonos mértékben köti meg mindkét típusú mikroorganizmust, továbbá azt is, hogy a tesztelt agyag adszorbens többféle baktérium jelenlétében és azonos baktérium kötő hatékonyságot mutat.

Végül vizsgáltam a felhasznált adszorbens száraz hővel történő regenerálásának lehetőségét és a regenerált adszorbens baktériumkötő hatékonyságát újrafelhasználás során. A kapott eredmények szerint a részecske megfelelően regenerálható, továbbá a Gram-pozitív *Micrococcus luteus* esetén hatékonyság csökkenés nélkül alkalmazható újra, míg a Gram-negatív *Escherichia coli* esetén néhány százalékos kapacitás csökkenés volt tapasztalható, ami azonban még mindig kellően nagy mennyiségű sejt megkötést jelentett.

Jövőbeli terveim között szerepel, a regenerált részecskék fiziko-kémiai paramétereinek vizsgálata, az adszorbens részecskét „valódi” természetes víz (folyó, patak, holtág víz) és később szennyvíz mintákon való kipróbálása, továbbá szeretném megvizsgálni a szakaszos, több részletben adagolt adszorbens alkalmazásának adszorpcióra irányuló hatását. Valamint tervezem optimalizálni az adszorbens alkalmazott mennyiségét, a regenerálás körülményeit, hogy maximalizálni tudjam a részecske adszorpciós hatásfokát.

Irodalomjegyzék

- [1] S. Shukla, R. Khan, and A. Daverey, "Synthesis and characterization of magnetic nanoparticles, and their applications in wastewater treatment: A review," Nov. 01, 2021, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.eti.2021.101924.
- [2] Md. Faruque Hossain, "Chapter Six - Water," *Sustainable Design and Build*, pp. 301–418, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816722-9.00006-9>.
- [3] Y. Zhang *et al.*, "Valuable components recovery from wastewater and brine using electrocoagulation-based coupled process: A systematic review," Aug. 19, 2024, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.desal.2024.117732.
- [4] Tolnai B., "EPA04052_vizmu_panorama_2016_01_22-26," 2016, Accessed: Nov. 01, 2024. [Online]. Available: https://epa.hu/04000/04052/00018/pdf/EPA04052_vizmu_panorama_2016_01_22-26.pdf
- [5] J. Benton Jones Jr., "Plant Nutrition and Soil Fertility Manual," *Earth Sciences, Environment & Agriculture*, 2012, doi: <https://doi.org/10.1201/b11577>.
- [6] T. Chauhan *et al.*, "Application of modified clays in the removal of phosphates and E. coli from aqueous solution," *Environ Nanotechnol Monit Manag*, vol. 22, Dec. 2024, doi: 10.1016/j.enmm.2024.100965.
- [7] S. Smarzewska and K. Morawska, "Wastewater treatment technologies," in *Handbook of Advanced Approaches Towards Pollution Prevention and Control*, vol. 1, Elsevier, 2021, pp. 3–32. doi: 10.1016/B978-0-12-822121-1.00001-1.
- [8] G. Crini and E. Lichtfouse, "Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment," Mar. 01, 2019, *Springer Verlag*. doi: 10.1007/s10311-018-0785-9.
- [9] A. Chithra, R. Sekar, P. S. Kumar, and G. Padmalaya, "A review on removal strategies of microorganisms from water environment using nanomaterials and their behavioural characteristics," *Chemosphere*, vol. 295, 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.133915.
- [10] "Overcoming the Global Water Crisis: A Focus on Wastewater Recycling & Water Reuse," Genesis Water Tech. Accessed: Oct. 31, 2024. [Online]. Available: <https://genesiswatertech.com/blog-post/combating-water-scarcity-using-wastewater-recycling/>
- [11] A. Sonune and R. Ghate, "Developments in wastewater treatment methods," *DESALINATION A. Sonune, R. Ghate / Desalination*, vol. 167, pp. 55–63, 2004, doi: 10.1016/3.desal.2004.06.113.

- [12] R. Saravanathamizhan and V.T. Perarasu, “Chapter 6 - Improvement of Biodegradability Index of Industrial Wastewater Using Different Pretreatment Techniques,” *Wastewater Treatment*, pp. 103–136, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821881-5.00006-4>.
- [13] C. Janpum, N. Pombubpa, T. Monshupanee, A. Incharoensakdi, and P. In-na, “Advancement on mixed microalgal-bacterial cultivation systems for nitrogen and phosphorus recoveries from wastewater to promote sustainable bioeconomy,” *J Biotechnol*, vol. 360, pp. 198–210, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.11.008>.
- [14] Jurecska Judit Laura, “Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar Az ‘élőgépes’ szennyvíztisztítás intenzifikálása Készítette,” 2015. Accessed: Oct. 31, 2024. [Online]. Available: https://edit.elte.hu/xmlui/bitstream/handle/10831/22485/Jurecska_J_L_doktori_DOI_a_datlappal.pdf;jsessionid=5B4CED32EE13C19EE9D5B1239210DCE6?sequence=3
- [15] M. Fida, P. Li, Y. Wang, S. M. K. Alam, and A. Nsabimana, “Water Contamination and Human Health Risks in Pakistan: A Review,” Sep. 01, 2023, *Springer Science and Business Media B.V.* doi: 10.1007/s12403-022-00512-1.
- [16] D. J. Dawson, D. P. Sartory, and D. Dawson, “Microbiological safety of water The history of water safety Correspondence to.” [Online]. Available: <https://academic.oup.com/bmb/article-abstract/56/1/74/388069>
- [17] R. Sangamnere, T. Misra, H. Bherwani, A. Kapley, and R. Kumar, “A critical review of conventional and emerging wastewater treatment technologies,” *Sustain Water Resour Manag*, vol. 9, no. 2, Apr. 2023, doi: 10.1007/s40899-023-00829-y.
- [18] V. Lazarova, P. Savoye, M. L. Janex, E. R. Blatchley, and M. Pommepuy, “Advanced wastewater disinfection technologies: State of the art and perspectives,” in *Water Science and Technology*, Elsevier Science Ltd, 1999, pp. 203–213. doi: 10.1016/S0273-1223(99)00502-8.
- [19] E. I. Unuabonah, C. G. Ugwuja, M. O. Omorogie, A. Adewuyi, and N. A. Oladoja, “Clays for Efficient Disinfection of Bacteria in Water,” Jan. 01, 2018, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.clay.2017.10.005.
- [20] M. Takashima, F. Shirai, M. Sageshima, N. Ikeda, Y. Okamoto, and Y. Dohi, “Distinctive bacteria-binding property of cloth materials,” *Am J Infect Control*, vol. 32, no. 1, pp. 27–30, 2004, doi: 10.1016/j.ajic.2003.05.003.
- [21] A. Dabrowski, “Adsorption — from theory to practice,” *Adv Colloid Interface Sci*, vol. 93, pp. 135–224, 2001, doi: [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(00\)00082-8](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(00)00082-8).
- [22] Y. Artioli, “Adsorption,” *Encyclopedia of Ecology*, 2008, doi: <https://doi.org/10.1016/b978-008045405-4.00252-4>.

- [23] M. Alaqrbeh, “Adsorption Phenomena: Definition, Mechanisms, and Adsorption Types: Short Review,” *RHAZES: Green and Applied Chemistry*, vol. 13, pp. 43–51, 2021, doi: <https://doi.org/10.48419/IMIST.PRSM/rhazes-v13.28283>.
- [24] M. Atif, H. Z. Haider, R. Bongiovanni, M. Fayyaz, T. Razzaq, and S. Gul, “Physisorption and chemisorption trends in surface modification of carbon black,” Jul. 01, 2022, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.surf.2022.102080.
- [25] A. Thakur, H. Assad, S. Kaya, and A. Kumar, “Plant extracts as environmentally sustainable corrosion inhibitors II,” in *Eco-Friendly Corrosion Inhibitors*, Elsevier, 2022, pp. 283–310. doi: 10.1016/B978-0-323-91176-4.00017-9.
- [26] M. L. M. Mendez *et al.*, “Continuous adsorption of metal ions based on an elastic and reusable polydopamine-modified foam,” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 52, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.jwpe.2023.103592.
- [27] H. Wand, G. Vacca, P. Kusch, M. Krüger, and M. Kästner, “Removal of bacteria by filtration in planted and non-planted sand columns,” *Water Res.*, vol. 41, no. 1, pp. 159–167, 2007, doi: 10.1016/j.watres.2006.08.024.
- [28] S. Jiang *et al.*, “Continuous adsorption removal of organic pollutants from wastewater in a UiO-66 fixed bed column,” *J Environ Chem Eng*, vol. 12, no. 2, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.jece.2024.111951.
- [29] H. Patel, “Batch and continuous fixed bed adsorption of heavy metals removal using activated charcoal from neem (*Azadirachta indica*) leaf powder,” *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-72583-6.
- [30] K. Kim, Y. Son, W. B. Lee, and K. S. Lee, “Moving bed adsorption process with internal heat integration for carbon dioxide capture,” *International Journal of Greenhouse Gas Control*, vol. 17, pp. 13–24, 2013, doi: 10.1016/j.ijggc.2013.04.005.
- [31] L.V. Mengmeng *et al.*, *Advanced Materials Interfaces*, vol. 9. John Wiley, 2022. Accessed: Nov. 11, 2024. [Online]. Available: ISSN 21967350
- [32] H. M. Southam, J. A. Butler, J. A. Chapman, and R. K. Poole, “The Microbiology of Ruthenium Complexes,” in *Advances in Microbial Physiology*, vol. 71, Academic Press, 2017, pp. 1–96. doi: 10.1016/bs.ampbs.2017.03.001.
- [33] X. Rong, W. Chen, Q. Huang, P. Cai, and W. Liang, “*Pseudomonas putida* adhesion to goethite: Studied by equilibrium adsorption, SEM, FTIR and ITC,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 80, no. 1, pp. 79–85, Oct. 2010, doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.05.037.
- [34] M. T. Nguyen, “The effect of temperature on the growth of the bacteria *Escherichia coli* DH5 α ,” *Saint Martin’s University Biology Journal*, vol. 1, May 2006, Accessed: Nov. 11, 2024. [Online]. Available: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=031ba106eb18968c60edfb24bfeb5c1941328fec>

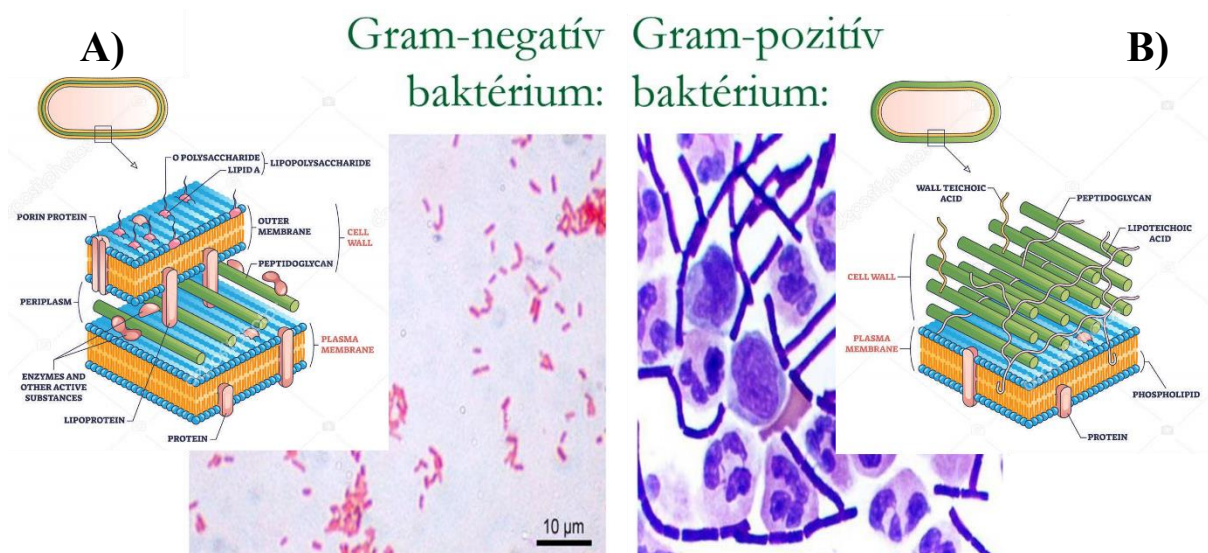
- [35] T. Undabeytia *et al.*, “Removal of waterborne microorganisms by filtration using clay-polymer complexes,” *J Hazard Mater*, vol. 279, pp. 190–196, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.07.006.
- [36] Liofilchem, “Chromatic Coliform Agar ISO,” Apr. 2015. Accessed: Nov. 12, 2024. [Online]. Available: https://www.liofilchem.com/images/prodotti-evidenza/11630_IFU.pdf
- [37] Liofilchem, “Slanetz Bartley Agar, ISO 7899-2,” Jul. 2024. Accessed: Nov. 12, 2024. [Online]. Available: https://www.liofilchem.net/login/pd/ifu/163462_IFU.pdf
- [38] Liofilchem, “Brain Heart Infusion Agar,” Oct. 2003. Accessed: Nov. 12, 2024. [Online]. Available: https://www.liofilchem.net/login/pd/ts/30084_TS.pdf
- [39] M. Dion and W. Parker, “Steam Sterilization Principles,” 2013. [Online]. Available: www.PharmaceuticalEngineering.org
- [40] C. Krusei Chromagar, “Leaflet CHROMagar TM CCA Water industry.” [Online]. Available: www.CHROMagar.com/contact
- [41] VWR Chemicals - Technical Data Sheet, “Slanetz and Bartley Agar.” Accessed: Nov. 03, 2024. [Online]. Available: https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_slanetz-bartley-gelose-prol-30-btes-55mm-18117098002_EN.pdf?srsId=AfmBOopaIcs-jqKCk5yuNMHkTOMP3AvnUM_rftdx-muroe_dpejSjpgO
- [42] R. Illuri *et al.*, “Bio-prospective potential of *Pleurotus djamor* and *Pleurotus florida* mycelial extracts towards Gram positive and Gram negative microbial pathogens causing infectious disease,” *J Infect Public Health*, vol. 15, no. 2, pp. 297–306, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.jiph.2021.10.012.
- [43] T. Chauhan *et al.*, “Synthesis, characterization, and challenges faced during the preparation of zirconium pillared clays,” *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 15, no. 4, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.arabjc.2022.103706.
- [44] P. Pandey and V. K. Saini, “Pillared interlayered clays: sustainable materials for pollution abatement,” Jun. 15, 2019, *Springer Science and Business Media Deutschland GmbH*. doi: 10.1007/s10311-018-00826-0.
- [45] A. Gil and M. A. Vicente, “Progress and perspectives on pillared clays applied in energetic and environmental remediation processes,” Feb. 01, 2020, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.cogsc.2019.12.004.
- [46] F. Bergaya, A. Aouad, and T. Mandalia, “Chapter 7.5 Pillared Clays and Clay Minerals,” *Dev Clay Sci*, vol. 1, pp. 393–421, 2006, doi: [https://doi.org/10.1016/S1572-4352\(05\)01012-3](https://doi.org/10.1016/S1572-4352(05)01012-3).
- [47] A. Gil, S. A. Korili, R. Trujillano, and M. A. Vicente, “A review on characterization of pillared clays by specific techniques,” *Appl Clay Sci*, vol. 53, pp. 97–105, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2010.09.018>.

- [48] S. Bhuyan *et al.*, “Microliter spotting and micro-colony observation: A rapid and simple approach for counting bacterial colony forming units,” *J Microbiol Methods*, vol. 207, 2023, doi: 10.1016/j.mimet.2023.106707.
- [49] D. M. Tomasiewicz, D. K. Hotchkiss, G. W. Reinbold, R. B. Read, and aDd A. Paul Hartman, “The most suitable number of colonies on plates for counting,” *J Food Prot*, vol. 43, no. 4, pp. 282–286, 1980, doi: 10.4315/0362-028X-43.4.282.
- [50] R. Noor, Z. Islam, S. K. Munshi, and F. Rahman, “Influence of Temperature on Escherichia coli Growth in Different Culture Media,” *J Pure Appl Microbiol*, vol. 7, no. 2, pp. 899–904, 2013, Accessed: Nov. 11, 2024. [Online]. Available: ISSN 0973-7510
- [51] S. Martínez, M. López, and A. Bernardo, “Thermal inactivation of Enterococcus faecium: effect of growth temperature and physiological state of microbial cells,” *Lett Appl Microbiol*, 2003, doi: 10.1046/j.1472-765x.2003.01431.x.
- [52] K. Mohanrasu *et al.*, “Production and characterization of biodegradable polyhydroxybutyrate by Micrococcus luteus isolated from marine environment,” *Int J Biol Macromol*, vol. 186, pp. 125–134, Sep. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.029>.
- [53] L. Picot *et al.*, “Regulation of the cytotoxic effects of Pseudomonas fluorescens by growth temperature,” *Res Microbiol*, vol. 155, no. 1, pp. 39–46, 2004, doi: 10.1016/j.resmic.2003.09.014.
- [54] S. De Gisi, G. Lofrano, M. Grassi, and M. Notarnicola, “Characteristics and adsorption capacities of low-cost sorbents for wastewater treatment: A review,” Sep. 01, 2016, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.susmat.2016.06.002.
- [55] A. Kalfa *et al.*, “Removal of Escherichia coli and total bacteria from water by granulated micelle-clay complexes: Filter regeneration and modeling of filtration kinetics,” *Appl Clay Sci*, vol. 147, Oct. 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.06.023>.
- [56] E. I. Unuabonah *et al.*, “Novel metal-doped bacteriostatic hybrid clay composites for point-of-use disinfection of water,” *J Environ Chem Eng*, vol. 5, pp. 2128–2141, Jun. 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.04.017>.
- [57] VectorMine, “Gram pozitív versus negatív sejtfal szerkezet különbségek vázlat diagram,” ID:534601828. Accessed: Nov. 11, 2024. [Online]. Available: <https://depositphotos.com/hu/vector/gram-positive-versus-negative-cell-wall-structure-differences-outline-diagram-534601828.html>
- [58] M. T. Madigan and J. M. Martinko, *Brock biology of microorganisms. 11e*. Prentice Hall, 2000. Accessed: Nov. 11, 2024. [Online]. Available: ISBN 2310008183000
- [59] M. A. Lopez Marin, M. Strejcek, P. Junkova, J. Suman, J. Santrucek, and O. Uhlik, “Exploring the Potential of Micrococcus luteus Culture Supernatant With

- Resuscitation-Promoting Factor for Enhancing the Culturability of Soil Bacteria,” *Front Microbiol*, vol. 12, Jun. 2021, doi: 10.3389/fmicb.2021.685263.
- [60] M. C. de Goffau, D. S. Charnock-Jones, G. C. S. Smith, and J. Parkhill, “Batch effects account for the main findings of an in utero human intestinal bacterial colonization study,” Dec. 01, 2021, *BioMed Central Ltd*. doi: 10.1186/s40168-020-00949-z.
- [61] D. Van Tyne, M. J. Martin, and M. S. Gilmore, “Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin,” May 2013. doi: 10.3390/toxins5050895.
- [62] N. D. Zakaria, H. H. Hamzah, I. L. Salih, V. Balakrishnan, and K. Abdul Razak, “A Review of Detection Methods for Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) Genes: From Conventional Approaches to Potentially Electrochemical DNA Biosensors,” Feb. 01, 2023, *MDPI*. doi: 10.3390/bios13020294.
- [63] M. P. Silverio, G. B. Kraychete, A. S. Rosado, and R. R. Bonelli, “*Pseudomonas fluorescens* Complex and Its Intrinsic, Adaptive, and Acquired Antimicrobial Resistance Mechanisms in Pristine and Human-Impacted Sites,” Aug. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/antibiotics11080985.
- [64] A. Aponte, O. Castillo, G. Cabrera, M. Pernia, and Y. Hernandez, “Rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum* sp. association enhances growth of *Lactuca sativa* L. under tropical conditions,” *Journal of Central European Agriculture*, vol. 18, no. 2, pp. 424–440, 2017, doi: 10.5513/JCEA01/18.2.1916.

Mellékletek

1. számú melléklet



15. ábra A sejtfal felépítése

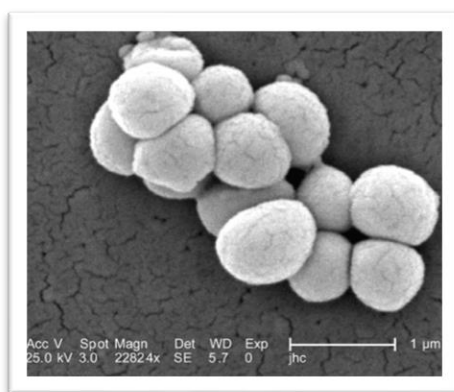
A) Gram-negatív és B) Gram-pozitív mikroorganizmusok esetén [57]

A Gram-pozitív mikroorganizmusok vastag peptidoglikán (murein cukrokból és aminosavakból álló polimer) réteggel rendelkeznek, amely akár a teljes sejtfal vastagság 90 %-át is kiteheti. Ez a réteg alatt csak egy vékony sejtmembrán található. Gram-festés során ez a peptidoglikán megköti az ibolya színű festéket (kristályibolya, $C_{25}H_{30}ClN_3$), ezáltal a sejtek sötétlila színűek lesznek [58] (15. ábra B). Gram-negatív baktériumok esetében a korábban említett peptidoglikán réteg vékonyabb, mindössze 5-10 %-át teszik ki a teljes sejtfal vastagságnak, és egy külső membrán borítja be a sejteket, amely lipopoliszacharidokat (LPS) tartalmaz, ez a fajta külső membrán teszi őket ellenállóbbá. A Gram-festés során ez a vékonyabb peptidoglikán réteg nem képes megtartani a festéket, a folyamat alkoholos kezelés során kimosódik, így a sejtek, az utófestésre használt safranin (3,7-Diamino-2,8-dimetil-5-fenilfenazin-5-ium-klorid) miatt, rózsaszín vagy piros színűek lesznek [58] (15. ábra A).

2. számú melléklet

***Micrococcus luteus* referencia mikroorganizmus**

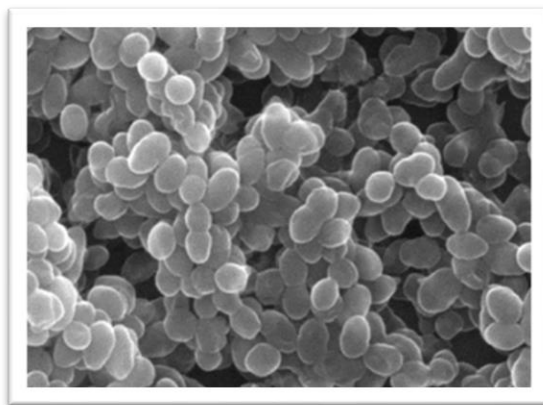
A *Micrococcus luteus* egy Gram-pozitív, nem patogén baktérium, mely vastag peptidoglikán réteggel rendelkezik. Gömb formájú mikroorganizmus, mely általában élénk sárga színű a karotinoid pigmentjei miatt, ami az UV-sugárzás elleni védelemben segíti. Aerob típusú baktérium, tehát kizárólag oxigén jelenlétében képesek növekedni. Előfordulásukat tekintve megtalálhatóak a talajban, vízben, levegőben és a bőr felszínén is. Gyakran használják laboratóriumi kísérletek során, mivel jól alkalmazkodik a környezeti feltételekhez, továbbá a karotinoid pigmentáció miatt könnyedén felismerhető, mivel sárga kolóniákat képez [59]. A mikroorganizmus SEM-felvételét a **16. ábra** mutatja be.



16. ábra *Micrococcus luteus* SEM felvétele [60]

***Enterococcus faecalis* modellorganizmus**

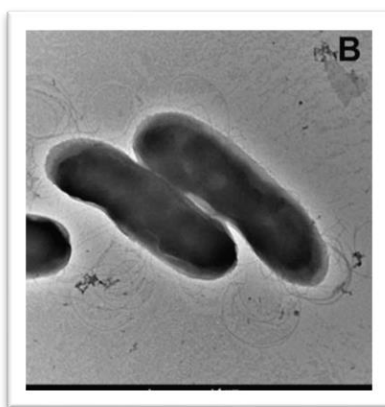
Az **17. ábra** mutatja be ezt a Gram-pozitív baktériumot, melynek fontos szerepe van az emberi bélflórában, de legyengült immunrendszer esetén fertőzéseket is okozhat. A *Micrococcus luteus*hoz hasonlóan gömb alakú, anaerob és aerob körülmények között is képes növekedni, jól alkalmazkodik változó környezeti feltételekhez, mint például a szárazság vagy a fertőtlenítőszer jelenléte [61].



17. ábra Az *Enterococcus faecalis* SEM felvétele [62]

***Pseudomonas fluorescens* referencia mikroorganizmus**

A **18. ábra** felvételén látható Gram-negatív baktérium a vékony peptidoglikán réteggel rendelkező *Pseudomonas fluorescens*. Egyenes, pálcika alakú mikroorganizmus, csillók segítségével képes mozogni. Nevét onnan kapta, hogy fluoreszcens pigmenteket termel, melynek köszönhetően UV-fény alatt kékeszölden fluoreszkál. Életfolyamataihoz oxigént igényel, de nitrogénforrások jelenlétében képes oxigén nélkül anaerob körülmények között is megélni. Ipari jelentősége is van, mivel képes egyes szerves szennyező anyagok lebontására, azáltal, hogy számos anyagszere terméket és a szennyezők lebontáshoz sokféle enzimet termel [63].

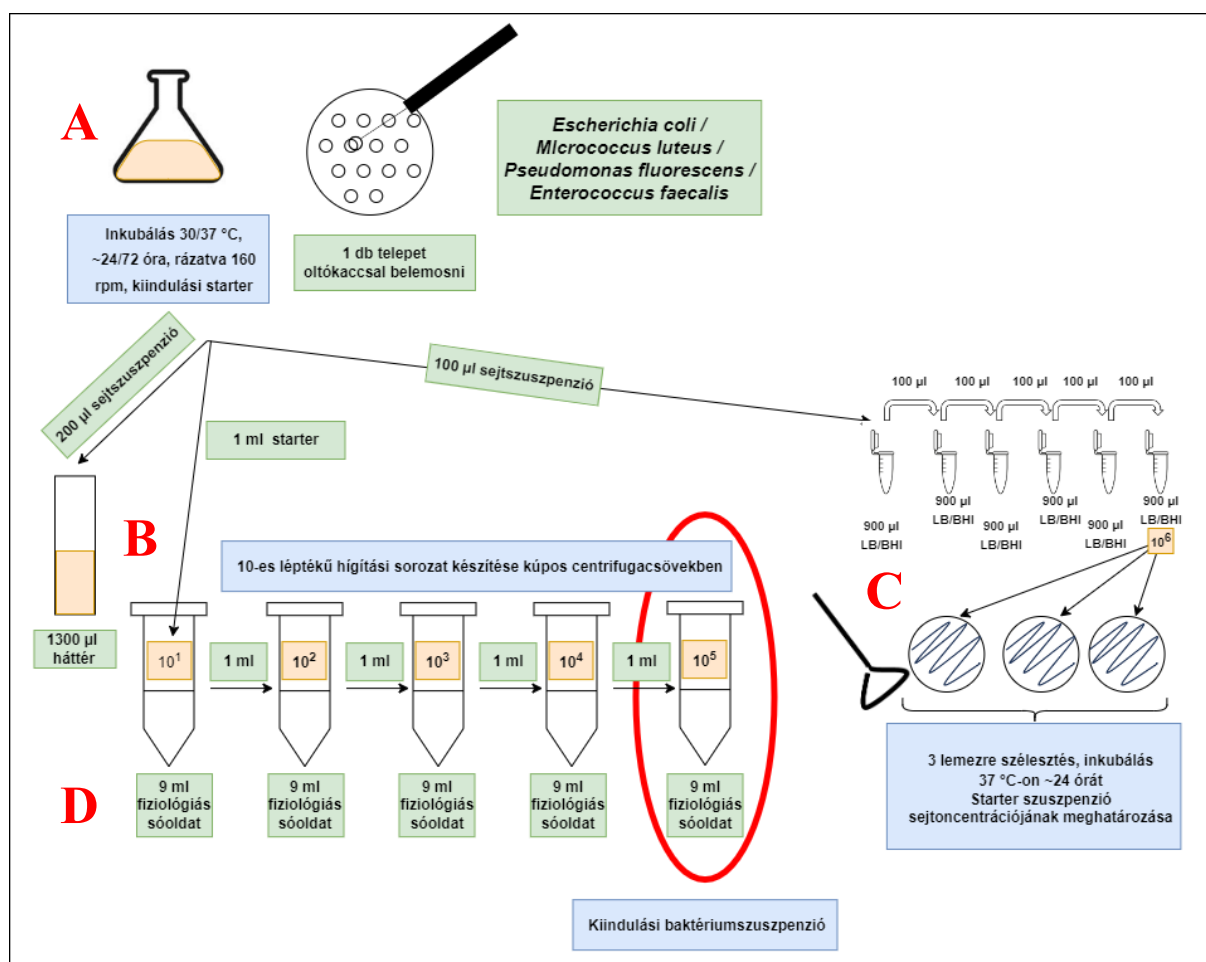


18. ábra A *Pseudomonas fluorescens* Transzmissziós Elektronmikroszkóp felvétele [64]

3. számú melléklet

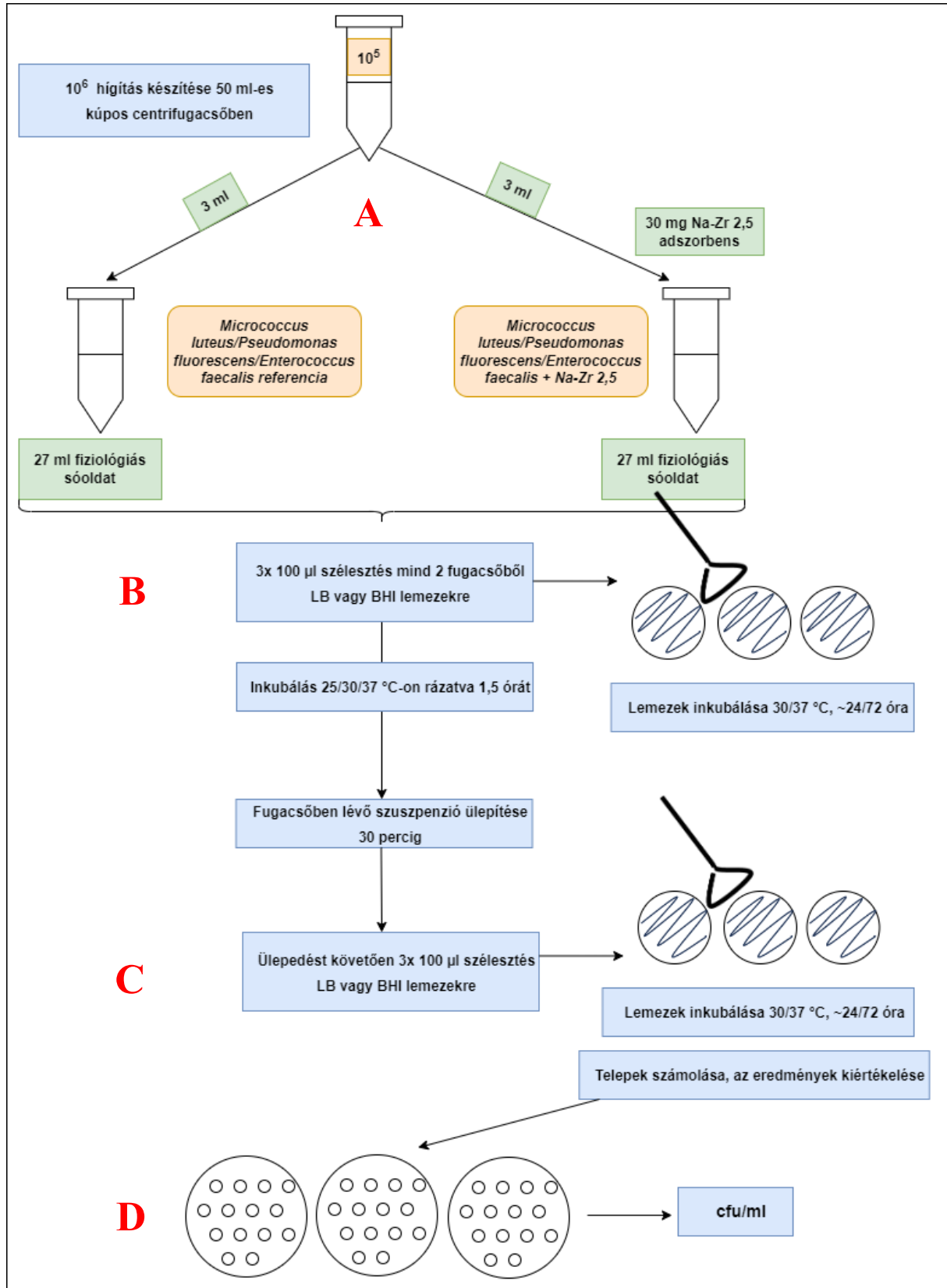
Kiindulási baktériumszuszpenziók elkészítése lemezen felnevesztett baktériumtelepekből folyadék tápközegben, valamint az adszorpciós tesztek előkészítő folyamatainak összefoglaló ábrája.

Az egyes lépések az [6] publikációban közölt, általam kidolgozott módszer alapján lettek meghatározva.



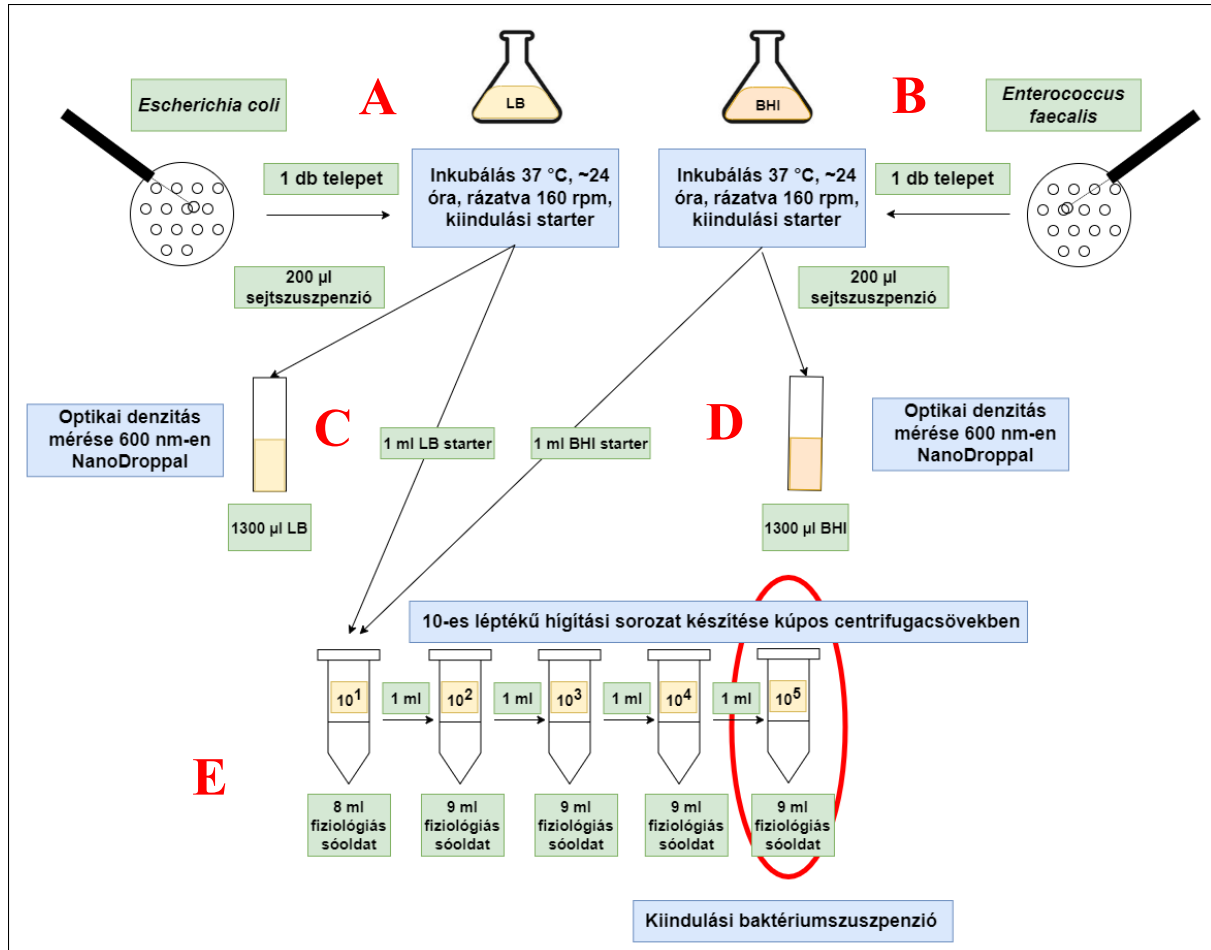
4. számú melléklet

Az adszorpciós vizsgálat folyamatábrája a mintavételek helyével [6].



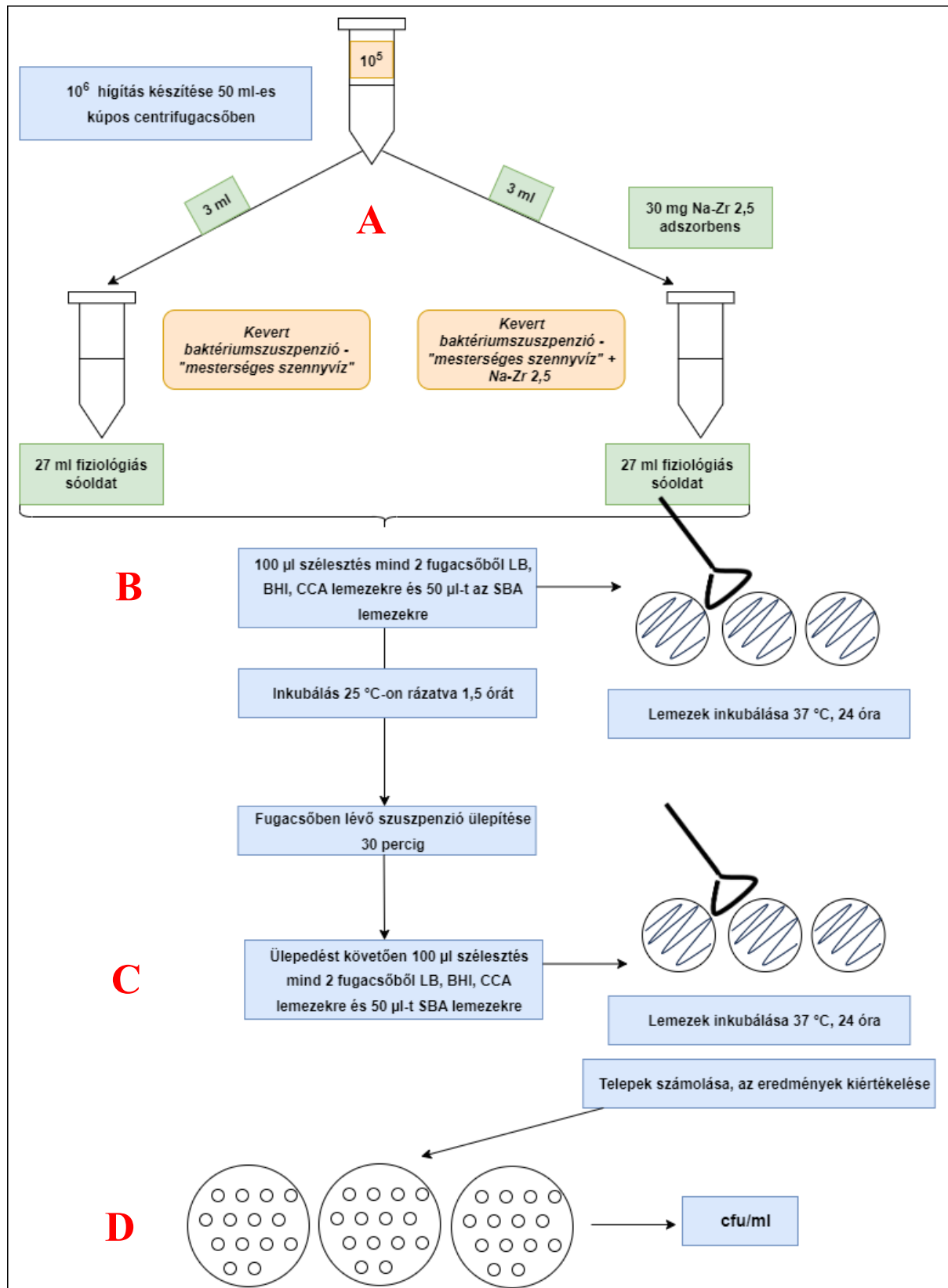
5. számú melléklet

A kevert baktériumszuszpenzió – „mesterséges szennyvíz” elkészítésének folyamatábrája.



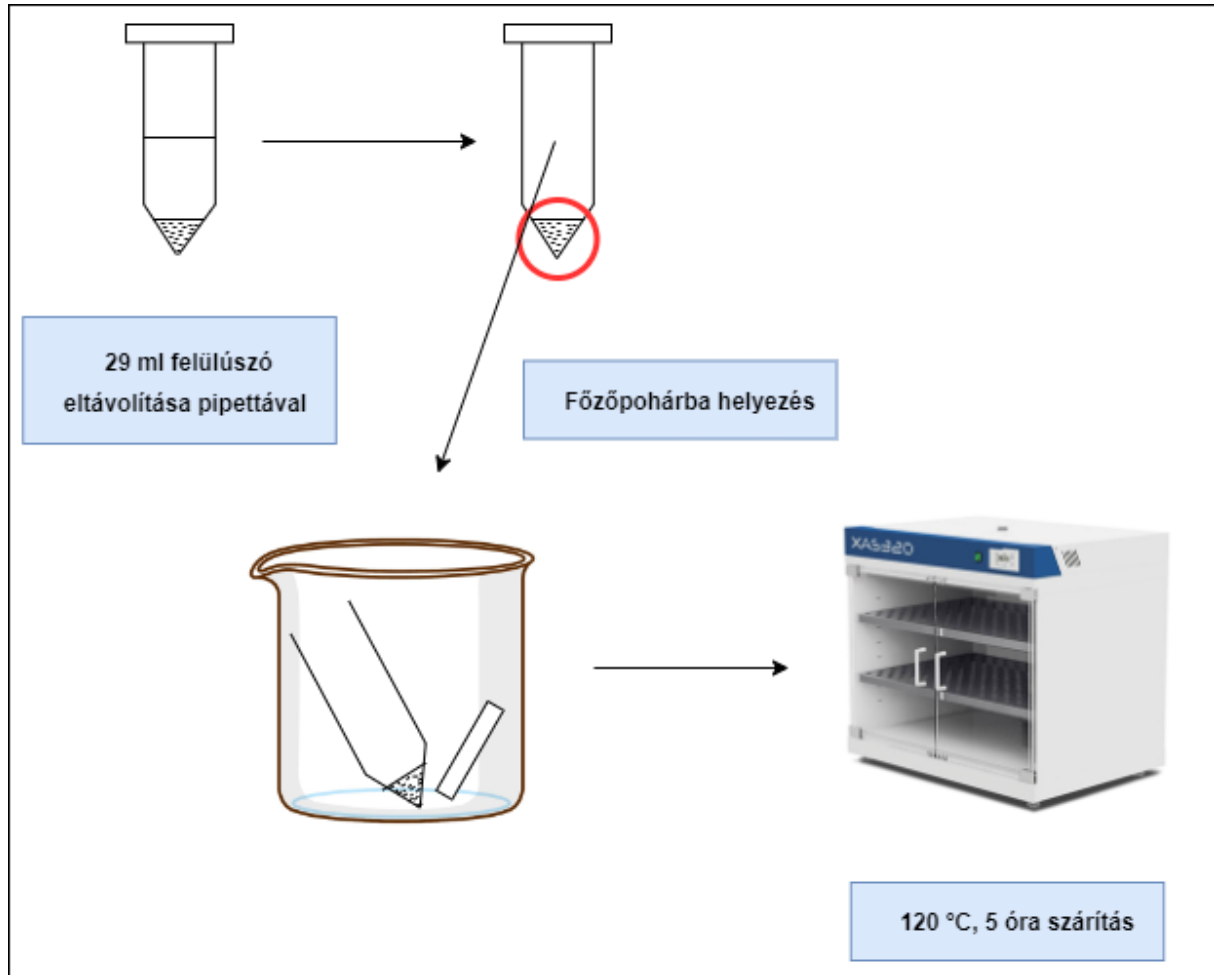
6. számú melléklet

A kevert baktériumszuszpenzió – „mesterséges szennyvíz” adszorpciós vizsgálatának folyamatábrája.



7. Számú melléklet

A regenerálás folyamatábrája száraz hővel szárítószekrényben.



8. számú melléklet

4. táblázat Az elvégzett vizsgálatok összesített eredmény táblázata

Vizsgált rendszer	Kiindulási sejtkoncentráció [$\times 10^9$ cfu/ml]	Adszorpció utáni sejtkoncentráció [$\times 10^9$ cfu/ml]	Az eltávolított mikroorganizmusok [$\times 10^9$ cfu/ml]	Az adszorpció hatékonyság [%]
<i>E. coli</i> referencia	$2,35 \pm 0,90$	$2,22 \pm 0,19$	0,13	5,7
<i>E. coli</i> + Na-Zr 2,5	$2,27 \pm 0,50$	$0,85 \pm 0,28$	1,42	62,6
<i>M. luteus</i> referencia (30 °C)	$1,50 \pm 0,15$	$1,39 \pm 0,08$	0,11	7,3
<i>M. luteus</i> + Na-Zr 2,5 (30 °C)	$1,38 \pm 0,14$	$0,60 \pm 0,12$	0,78	56,5
<i>M. luteus</i> referencia (25 °C)	$1,42 \pm 0,05$	$1,35 \pm 0,00$	0,07	5,0
<i>M. luteus</i> + Na-Zr 2,5 (25 °C)	$1,42 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,01$	0,91	64,1
<i>P. fluorescens</i> referencia	$2,23 \pm 0,12$	$2,06 \pm 0,06$	0,17	7,6
<i>P. fluorescens</i> + Na-Zr 2,5	$2,13 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,11$	1,57	73,7
<i>E. faecalis</i> referencia	$1,04 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,03$	0,11	10,6
<i>E. faecalis</i> + Na-Zr 2,5	$1,08 \pm 0,04$	$0,47 \pm 0,01$	0,61	56,5
Kevert szuszpenzió referencia LB lemezen	$2,26 \pm 0,08$	$2,24 \pm 0,06$	0,02	0,9
Kevert szuszpenzió + Na- Zr 2,5 LB lemezen	$2,18 \pm 0,18$	$0,97 \pm 0,06$	1,21	55,5
Kevert szuszpenzió referencia BHI lemezen	$2,19 \pm 0,18$	$2,16 \pm 0,05$	0,03	1,4
Kevert szuszpenzió + Na- Zr 2,5 BHI lemezen	$2,23 \pm 0,12$	$0,78 \pm 0,10$	1,45	65,0
Kevert szuszpenzió referencia CCA lemezen	$0,92 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,02$	0	0,0
Kevert szuszpenzió + Na-Zr 2,5 CCA lemezen	$0,85 \pm 0,06$	$0,33 \pm 0,02$	0,52	61,2
Kevert szuszpenzió referencia SBA lemezen	$1,26 \pm 0,04$	$1,23 \pm 0,03$	0,03	2,4
Kevert szuszpenzió + Na-Zr 2,5 SBA lemezen	$1,17 \pm 0,05$	$0,41 \pm 0,14$	0,76	65,0
Regenerálási tesztek				
<i>E. coli</i> referencia	$3,47 \pm 0,10$	$3,42 \pm 0,05$	0,05	1,4
<i>E. coli</i> + regenerált Na- Zr 2,5	$3,58 \pm 0,18$	$1,60 \pm 0,02$	1,98	55,3
<i>M. luteus</i> referencia (30 °C)	$1,48 \pm 0,05$	$1,42 \pm 0,03$	0,06	4,1
<i>M. luteus</i> + regenerált Na-Zr 2,5 (30 °C)	$1,47 \pm 0,02$	$0,51 \pm 0,06$	0,96	65,3
<i>M. luteus</i> referencia (25 °C)	$1,34 \pm 0,01$	$1,33 \pm 0,01$	0,01	0,7
<i>M. luteus</i> + regenerált Na-Zr 2,5 (25 °C)	$1,39 \pm 0,07$	$0,54 \pm 0,03$	0,85	61,2