

Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft.
Biotechnológiai Divízió

Szegedi Tudományegyetem
Természettudományi És Informatikai Kar
Biotechnológiai Tanszék

36. OTDK Biológia Szekció

Tudományos diákköri dolgozat

METIL-TERC-BUTIL-ÉTER MIKROBIÁLIS LEBONTÁSÁNAK VIZSGÁLATA FLUID ÁGYAS BIOREAKTORBAN

Haranghy Laura

II. évfolyamos Környezetmérnök (MSc) szakos hallgató

Témavezető:

Dr. Bernula Péter

tudományos munkatárs

Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft.
Biotechnológiai Divízió

Konzulens:

Dr. Perei Katalin

egyetemi adjunktus

Szegedi Tudományegyetem - Biotechnológia Tanszék

Szeged
2023

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	3
1.1. A talaj- és talajvíz szennyezések problémája	3
1.2. Szennyezett területek talajának és talajvizének kármentesítési lehetőségei	4
1.2.1. Bioreaktorok alkalmazása a bioremediáció területén	6
1.2.2. Fluid ágyas bioreaktorok a biológiai kármentesítésben	7
1.3. Üzemanyag eredetű szennyezések	9
1.3.1. Oxigéntartalmú motorbenzin-adalékok	9
1.3.2. Az MTBE tulajdonságai, környezeti hatásai és toxikológiai vonatkozásai	10
1.4. Az MTBE mikrobiális bontása	11
1.4.1. Az MTBE aerob biodegradációja	12
2. CÉLKITŰZÉS	15
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	16
3.1. Felhasznált tápoldatok és táplemezek	16
3.2. A fluid ágyas bioreaktorban alkalmazott konzorcium	17
3.3. Mintavételezés módja az analitikai mérésekhez	17
3.4. Optikai denzitás (OD), pH és vezetőképesség mérése	18
3.5. Mikrokozmosz előkísérletek a bioreaktorban alkalmazott konzorciummal	18
3.5.1. Előzetes hőmérséklet tesztek	18
3.5.2. Előzetes tápanyagigény tesztek	18
3.6. Laboratóriumi fluid ágyas bioreaktor prototípus	19
3.6.1. Előkészületek	20
3.6.2. Vizsgált üzemeltetési paraméterek	21
3.6.3. Indítási fázis	21
3.6.4. Folyamatos fázis	21
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	23
4.1. Az előkísérletek eredményei	23
4.1.1. Előzetes párolgásteszt eredménye	23
4.1.2. Előzetes hőmérséklet tesztek eredményei	23
4.1.3. Előzetes tápanyagigény tesztek eredményei	24
4.2. Indítási/felépülési fázis eredményei	27
4.3. Folyamatos üzemeltetési fázis eredményei	28
4.3.1. Előzetes tapasztalatok a bioreaktor első verziójával	28
4.3.2. A reaktor terhelésének vizsgálata a szennyezett víz betáplálási sebességének növelésével	28
4.3.3. Tápanyagkoncentráció, pH és oldott oxigén mennyisége a kísérletsorozat során	31
5. ÖSSZEFOGLALÁS	33
6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	35
7. IRODALOMJEGYZÉK	36

1. BEVEZETÉS

1.1. A talaj- és talajvíz szennyezések problémája

A közvélemény a korábbiaknál aktívabban foglalkozik a környezetszennyezés problémájával, valamint a szabályozások esetében a termelési és tisztítási technológiák fejlődésével párhuzamosan szigorúbb kibocsátási határértékek kerültek meghatározásra. Ugyanakkor a környezetbe jutó szennyezőanyagok mennyisége a növekvő népesség és az azt kiszolgáló, egyre nagyobb ütemben termelő ipar emissziója által továbbra is növekvő tendenciát mutat.

A Rio de Janeiroban 1992. június 13-án aláírt, biológiai sokféleségről szóló egyezményben kiemelték, hogy az élet minőségét nagyban meghatározza a környezeti elemek – levegő, talaj, víz – jó állapota (Botos és mtsai, 1992). Azonban az egyes elemek veszélyeztetettségének társadalmi megítélése nem azonos mértékű. A pontforrásból eredő szennyeződés megjelenése a levegőben és a felszíni vizekben a lakosság számára közvetlenül érzékelhetők, ennek következtében a társadalmi felelősségvállalás is jelentősebbnek tekinthető az ilyen típusú szennyezések esetében.

Az antropogén kibocsátások nagy területeken károsítják a talajokat, illetve a felszín alatti vizeket is, melyek az emberiség számára kevésbé észlelhető szennyeződéseket jelentenek. Az érintett területeken a talajvíz áramlásának irányában a szennyezés nagy távolságokba képes eljutni, ezt befolyásolják többek között a talaj tulajdonságai (pl.: fizikai féleség, morfológia, porozitás, szervesanyag-tartalom, pH, nedvességtartalom), a szennyezőanyag tulajdonságai (pl.: hidrofilitás, gőznyomás, kémiai stabilitás), a területen jellemző mikroflóra és az olyan környezeti tényezők, mint a hőmérséklet, csapadékmennyiség (Cachada és mtsai, 2018).

A környezetbe jutó szennyezőanyagok többféleképpen csoportosíthatók forrásuk, fizikai és kémiai tulajdonságaik, illetve a biológiai rendszerekre gyakorolt hatásaik alapján. Az üledékek, talajok és felszín alatti vizek szennyezői lehetnek többek között a különféle szerves anyagok, oldószerek, illetve a potenciálisan toxikus elemeknek tekinthető nehézfémek, nyomfémek és egyéb nyomelemek (Cachada és mtsai, 2018). Az egyes szennyezések eredeztethetők az ipar melléktermék- és hulladékáramaiból, számos területen nagy koncentrációban mutathatók ki különféle szerves oldószerek. A mezőgazdasági tevékenységek során használt műtrágyák, peszticidek és egyéb növényvédő szerek szintén jelentős talaj- és talajvíz szennyezők (Bhattacharjee, 2020). Különösen nagy problémát jelenthetnek a xenobiotikumok (pl. klórozott alifás és aromás vegyületek), melyek az élő

szervezetekben nem, vagy nem ilyen nagyságrendű koncentrációban találhatóak meg. Azonban ilyen, korábban perzisztensnek bizonyuló vegyületek hatékony biodegradációjára is található példa a szakirodalomban (Focht, 1994).

A magasabb koncentrációjú szennyezőanyagok hosszú ideig jelen lehetnek a talajmátrixban, abiotikus vagy esetlegesen biotikus ártalmatlanításuk sok esetben igen lassan megy végbe. A talajszennyezések sokszor évekig felderítetlenek maradnak, ezáltal komoly károkat okozhatnak az ökoszisztémában (Perei és mtsai, 2012).

1.2. Szennyezett területek talajának és talajvízének kármentesítési lehetőségei

A különféle szennyezésekkel és más antropogén tevékenységek (pl. mezőgazdasági művelés) által terhelt területek kezelésének, rehabilitációjának korszerű, hatékony és gyors megoldása globális szinten kihívást jelent a környezetvédelemmel foglalkozó szakemberek számára.

A földtani közeg és a talajvízzóna kármentesítésével összefüggő feladatok, jogok és kötelezettségek megállapítása a felszín alatti vizek védelméről szóló 219/2004. (VII.21.) Korm. rendelet legfőbb céljai között került kitűzésre. A rendelet számos kármentesítéssel kapcsolatos fogalmat tisztáz, meghatározza a felszín alatti víztestekre vonatkozó szennyezettségi (B) határértékeket, emellett megfogalmazza az Országos Környezeti Kármentesítési Program (OKKP) céljait és feladatait, mely alapján a szennyezett területek felmérésre és felszámolásra kerülnek.

A kármentesítés első szakaszában a tényfeltérési, azon belül felderítő és részletes vizsgálatokat kell elvégezni, majd ezt követően a felméréseket és a tervezési folyamatot követően a szennyezett területeken általában beavatkozás szükséges. Emellett egyes szakaszokban folytatott tevékenységek környezetre kifejtett hatását folyamatosan monitorozni kell. Az eredeti állapot az esetek többségében nem állítható vissza teljes mértékben, ezért a kármentesítés során egy szakértők által meghatározott célállapotot kell elérni, a beavatkozási tevékenységek során a szennyezés koncentrációját a kármentesítési (D) határérték alá kell csökkenteni (<https://net.jogtar.hu/>).

A tervezés és a beavatkozás során is figyelembe kell venni a terület földtani közegének és vízrajzának sajátos jellemzőit, a felszín alatti vizek áramlási rendszerét, valamint a szennyezés fiziko-kémiai tulajdonságait, amelyek nagymértékben meghatározzák a közegben való transzportját. A kármentesítés során alkalmazandó technológia kiválasztása során számolni kell a szennyezőanyag koncentrációjával, toxicitásával, modellezni, illetve mérni kell a terjedés útvonalát és sebességét, amelyek meghatározzák a terhelt terület nagyságát, a

szennyezőcsóva kiterjedését, a környező területek veszélyeztetettségét, továbbá a kezelés költségeit. A beavatkozás időtartama is lényeges szempont, különösen az érzékeny területek (pl. lakosság közelsége, védett természeti értékek) esetében.

A kármentesítés technológiáit elsősorban a szennyezett közeg kezelésének helye alapján szokás csoportosítani. Az *in situ* megoldások alapja, hogy a földtani közeget, illetve felszín alatti vizet eredeti helyzetében, kitermelés nélkül kezelik, ellentétben az *ex situ* kivitelezett technológiákkal, melyek során a szennyezett talaj és/vagy talajvíz kitermelésre kerül és a helyszínen (on-site) vagy elszállítását követően (off-site) kezelik. Az *in situ* végezhető technológiák költségvonzata általánosan alacsonyabb (Azubuike és mtsai, 2016).

A kármentesítési technológiák tovább csoportosíthatók fizikai, kémiai, biológiai, valamint termikus kezeléssel történő eljárásokra, azonban nem ritkán több módszer együttes alkalmazására kerül sor. A fiziko-kémiai (pl. talajmosás), valamint a termikus eljárások (égetés, pirolízis) előnye, hogy a legtöbb eljárás gyorsan és hatékonyan kivitelezhető, azonban rendkívül költségesek, körülményesek és károsítják a talaj szerkezetét (Aparicio és mtsai, 2022).

Ezzel szemben a biológiai módszerek nagy előnye, hogy általában mind *in situ*, mind *ex situ* elrendezésben alacsonyabb költségekkel járnak, környezetkímélők, illetve a biológiai átalakítás és lebontás során is elérhető a szennyezőanyagok ártalmatlanítása, akár teljes mineralizációja vízzé, szén-dioxiddá és ásványi anyagokká, biomassza képződése mellett (Nandal és mtsai, 2015).

A biológiai kármentesítés során mikroorganizmusokat (mikrobiális bioremediáció), növényeket (fitoremediáció), valamint ezen élőlények által termelt metabolitokat, enzimeket is alkalmazhatnak. Mivel a bioremediáció esetében a szennyezett területek kármentesítése élő rendszerek segítségével megy végbe, ezért figyelembe kell venni a folyamatot limitáló tényezőket is. A szennyező anyagok biológiai lebomlása természetes környezetben is általánosan lejátszódó folyamat, azonban biotikus körülmények között a legtöbb esetben igen lassan következik be a teljes biodegradáció (Tekere, 2019).

A mikroorganizmusok anyagcseréjükhöz különböző tápanyagokat, mikroelemeket, valamint a légzéshez megfelelő terminális elektronakceptort igényelnek. Továbbá az alkalmazott baktériumok, illetve gombák pH- és hőmérséklet optimumának, valamint vízaktivitás igényének ismeretében a szennyezőanyag-lebontás hatékonysága tovább fokozható. A biológiai lebontás sebességének növelése elérhető a szennyezett területen élő mikroorganizmusok stimulálásával is, amely során a biomasszanövelést és a biodegradációt

elősegítő tápanyagokat, nyomelemeket, valamint felületaktív anyagokat juttatnak ki az érintett területre.

A bioaugmentáció (mikrobiális oltóanyaggal történő kezelés) alkalmazása abban az esetben javasolt, ha a helyi mikroflóra nem képes (a kívánt hatékonysággal) metabolizálni a szennyeződést, így a szennyezőanyag transzformációjára, lebontására és kijuttatására bizonyítottan alkalmas oltóanyaggal kezelhetik a károsodott helyszínt (Goswami és mtsai, 2018).

1.2.1. Bioreaktorok alkalmazása a bioremediáció területén

Az *ex situ* bioremediációs technológiák közül a bioreaktorok alkalmazása ígéretes megoldást nyújt az optimális biológiai lebontáshoz szükséges kontrollált körülmények biztosítására. További előnyük, hogy a bioreaktor üzemeltetési módjától, kialakításától és a szennyezés típusától függően alkalmasak lehetnek talajok, üledékek, szennyezett vizek tisztítására is. Fontos azonban megemlíteni, hogy *ex situ* technológia révén a bioreaktorok beruházási, üzemeltetési, különösen a kezelendő közeg kitermeléséből, áramoltatásából adódó kiadások jelentősek lehetnek (Tekere, 2019). A technológia költségei mérsékelhetők a reaktor terepen történő (on-site) telepítésével, vagy a kitermelendő és elszállítandó szilárd közeg térfogatának (pl. szárítással történő) csökkentésével (Chikere és mtsai, 2012).

Az üzemeltetési mód alapján megkülönböztethetünk szakaszos, rátáplálásos szakaszos (fed-batch) és folytonos üzemű reaktorokat, melynek megválasztását számos tényező befolyásolja. A bioreaktorokban a mikroorganizmusok számára fontos paraméterek (többek között a szubsztrát koncentráció, hőmérséklet, pH, aerob mikrobák esetében a levegőztetés mértéke) könnyen optimalizálhatók, amellyel magasabb biokonverziós hatások érhető el. (Azubuike és mtsai, 2016).

A szakaszos reaktorok beruházási költsége általában alacsonyabb, üzemeltetésük hosszabb tartózkodási idejű reakciók esetében előnyös, azonban esetükben sokszor nagyobb holtidővel, magasabb karbantartási költségekkel kell számolni. Kisebb méretű szennyezett területek esetében alkalmas lehet a biológiai kármentesítés kivitelezésére, majd újraindítás és adaptálást követően a bioreaktor újabb területek tisztítására válik alkalmassá. A fed-batch bioreaktorok esetében folyamatosan történik a tápanyagok pótlása, azonban a termék elvételét szakaszosan végzik. A folytonos üzemű bioreaktorok hosszú időn át, folyamatosan működtethetők, ezáltal kifejezetten alkalmasak nagy kiterjedésű területek szennyezésének kezelésére. Alkalmazásuk a gyorsan lejátszódó reakciók esetében igazán kedvező. (Simándi, 2012).

A szakaszos és folyamatos üzemű berendezések egyaránt automatizálhatók, melynek beruházási költsége ugyan magasabb, azonban az indítási, felépülési fázist (a biofilm kialakulása, növekedése) követően állandó, illetve jobb tisztítási hatásfok érhető el szabályozott körülmények mellett, továbbá a folyamat emberi erőforrás igénye is csökken (Zydney, 2015).

A bioreaktorok kialakításánál figyelembe kell venni az alkalmazás célját, a mikroorganizmusok növekedési sebességét, a szennyezett közeg tulajdonságait, valamint a szennyezőanyag jellemzőit a kívánt biotranszformációs hatékonyság maximalizálása érdekében (Singh és mtsai, 2020). A bioremediáció területén leggyakrabban alkalmazott bioreaktor típusok és rövid jellemzésük a teljesség igénye nélkül (Nagda és mtsai, 2021; Tekere, 2019):

- Membrán bioreaktor
 - előnye: nagy tisztítási hatékonyság, minimális iszapképződés, kis helyigény
 - hátránya: membrán eltömődése, magas befektetési és üzemeltetési költség
 - alkalmazás: fémvisszanyerés, klórozott alifás- és aromás szénhidrogének lebontása
- Töltött ágyas bioreaktor
 - előnye: nagy térfogatáram kezelése, nagy biomassza tömeg
 - hátránya: gátolt anyagátadás
 - alkalmazás: klórozott szerves vegyületek, PAH, gyógyszerszármazékok bontása
- Fluid ágyas bioreaktor
 - előnye: alacsonyabb üzemeltetési költség, robosztus, minimális eltömődés, nagy fajlagos anyagátadási felület, nagy kezelhető tömegáram
 - hátránya: méretnövelés nehézségei, energiaigényes üzemeltetés
 - alkalmazás: kommunális és ipari szennyvízkezelés, üzemanyag eredetű szennyezőanyagok bontása

1.2.2. Fluid ágyas bioreaktorok a biológiai kármentesítésben

A fluid ágyas bioreaktorok olyan biológiai folyamatok lejátszódásához szolgáló berendezésként írhatók le, amelyekben a kezelendő fluidum áramoltatása meghatározott szemcseméretű, lebegtetett tölteten keresztül valósul meg. A töltet felületére a szennyezőanyagot lebontó mikroorganizmusok kitapadnak és biofilmet képeznek. A hordozó fluidizálása leggyakrabban felfelé irányuló recirkulációs áramlással biztosított, azonban megvalósulhat lefelé történő áramoltatással is (Özkaya és mtsai, 2019).

Amennyiben a bioremediáció során a lebontó mikroorganizmusok aerob körülményeket igényelnek az anyagcseréjükhez, a folyamatot limitáló oldott oxigén koncentráció levegőztető rendszer beépítésével növelhető. Azonban a bioreaktorokban az oxigénszegény, illetve az attól teljesen mentes környezet is megvalósítható, így alkalmassá tehető az anaerob körülmények között lejátszódó biodegradációs folyamatokhoz is (Schügerl, 1997).

A fluid ágyas bioreaktor lehet kétfázisú (folyadék-szilárd, gáz-szilárd), valamint háromfázisú (pl. gáz-folyadék-szilárd) rendszer is. Utóbbi elrendezés esetében a levegőztetés közvetlenül a reaktorcsőbe kerül bevezetésre, azonban kétfázisú reaktorok esetében is megvalósítható levegőztető oszlopok beépítése, míg a fluidizálást a cirkuláltatott folyadékáram biztosítja.

A rendszer alkalmas a nagyobb térfogatáramok kezelésére is, amit a folyamatos, illetve az automatizált üzemeltetés alkalmazása még inkább elősegít. Hasonlóan más típusú bioreaktorokhoz, fluid ágyas rendszerekben tovább növelhető a biodegradáció hatékonysága a környezeti körülményekhez alkalmazkodó fejlesztések kivitelezésével, illetve az alkalmazott mikroorganizmusok számára szükséges paraméterek optimalizálásával.

A fluid ágyas elrendezés további előnyeként emelhető ki, hogy a fluidizáció jelensége más reaktor típusokkal összevetve jelentős mértékben elősegíti a nagyobb tömegű biomassza képződését, mivel a hordozó egyenletes eloszlással történő lebegtetése során a mikroorganizmusok a szemcsék teljes felületen képesek megtapadni. Mindez a hordozó töltet kis szemcseátmérőjéből adódó nagy fajlagos felület mellett további kitapadási felületet biztosít, valamint elősegíti a folyadék és a szilárd fázis folyamatos érintkeztetését, ami magasabb hatásfokú biotranszformációt eredményez, illetve nagyobb koncentrációjú szennyezőanyag terhelés kezelését teszi lehetővé a fluid ágyas bioreaktorokban. (Özkaya és mtsai, 2019; Wan és mtsai, 2010).

A bioremediáció területén fontos a tisztítórendszer minél gyorsabb és hatékonyabb üzembe helyezése. A bioreaktorok esetében elengedhetetlen a hatékony biodegradációhoz szükséges biomassza tömeg elérése. A töltet szemcséin kialakuló biofilm tulajdonságai nagyban meghatározzák a bioreaktor teljesítményét és hatásfokát. A biofilm kialakulási és növekedési fázisának időtartama, a biofilm vastagsága, sűrűsége, fehérje- és poliszacharid-tartalma, valamint a töltet szemcséken és az áramló közegben mérhető biomassza koncentrációja mind meghatározza a lebontás hatékonyságát. A biomassza felépülését továbbá befolyásolja a kezelendő közeg összetétele, szennyezőanyag koncentrációja, pH-ja, és az olyan üzemeltetési paraméterek, mint az alkalmazott térfogatáram, recirkulációs ráta és az ezekből adódó felületi áramlási sebesség, ami nyíróerőt fejt ki a töltet felületén megtapadó

mikroorganizmusokra (Zhou és mtsai, 2008). A biofilm kialakításában többféle baktérium is részt vehet, melyek oxigénigénye eltérő lehet. Aerob bioreaktorok esetén alapvető kritérium a megfelelő oldott oxigéntartalom biztosítása, amely az épülő biofilm vastagságát is meghatározza. Emellett az alkalmazott töltet tulajdonságai (anyaga, szemcsemérete, pH-ja, porozitása) is kulcsfontosságú szerepet játszik a baktériumok megtapadásának elősegítésében.

A fluid ágyas bioreaktorok esetében hátrányként említhető a folyadékfázis folyamatos recirkulációs áramoltatásához szükséges szivattyú(k) üzemeltetési költsége. További problémát okozhat a méretnövelés, nagy figyelmet kell fordítani többek között az reaktoroszlop megfelelő magasság-átmérő arányának megválasztására. (Özkaya és mtsai, 2018). Azonban összevetve más bioreaktor típusokkal, a megnövelt érintkezési felület és a nagy biomassza tömeg nagyobb biodegradációs hatékonyságot, illetve jelentősen nagyobb térfogatáramok kezelését teszi lehetővé így költséghatékonysági szempontból megtérülhet a nagyobb mértékű anyagi ráfordítás.

1.3. Üzemanyag eredetű szennyezések

Az utóbbi évtizedekben a globális szinten is egyre fokozódó személyközlekedés és szállítmányozás következményeképpen folyamatosan emelkedett az üzemanyagok égetéséből származó szennyezőanyag-kibocsátás. Mindemellett nem elhanyagolhatóak az üzemanyag előállítása, tárolása és szállítása során jelentkező környezetterhelések sem. A talaj- és felszín alatti víz üzemanyag-szennyezéseinek legjelentősebb pontforrása az üzemanyagtartályokból, csővezetékekből történő szivárgás.

Azonban nemcsak a motorbenzin nagyobb részét kitevő fosszilis eredetű alifás és aromás szénhidrogének, hanem a motorbenzinhez adalékanyagként kevert vegyületek, mint például az oxigenátok is a környezeti elemekbe jutnak (Halász és mtsai, 2012). Ezek transzportja az eltérő fiziko-kémiai tulajdonságokból adódóan különbözik a motorbenzin jelentős hányadát kitevő apoláris vegyületek felszín alatti mozgásától, így többfázisú szennyezések alakulnak ki.

1.3.1. Oxigéntartalmú motorbenzin-adalékok

Az Otto-motorok teljesítményének fokozása, illetve a kopogás jelenségének elkerülése érdekében a motorbenzinhez olyan oktánszámnövelő anyagok keverése szükséges, melyek megnövelik az üzemanyag kompressziótűrését. Azonban a korábban alkalmazott mérgező ólom-tetrametil és ólom-tetraetil vegyületek 1970-es években kezdődő fokozatos kivonását követően az üzemanyag finomítók alternatív megoldásokra kényszerültek, megelőzve az

oktánszám csökkenéséből adódó energiahatékonysági problémákat és a motorkopogást (Tenenbein, 1997).

Az oxigenátok olyan oxigéntartalmú szerves vegyületek (alkoholok és éterek), amelyek mellett, hogy növelik a motorbenzin oktánszámát, hozzájárulnak az üzemanyag tökéletesebb égéséhez, csökkentve a kibocsátott szén-monoxid és szénhidrogének mennyiségét.

Az oxigéntartalmú vegyületek üzemanyag adalékként történő alkalmazása nagymértékben hozzájárult a levegőminőség javításához, a tökéletesebb égés következtében Kaliforniában a közlekedésből adódó szénhidrogén emisszió 17%, a nitrogén-oxidok és szén-monoxid kibocsátása 11%, a légkörbe jutó kén-dioxid tartalom pedig 80%-kal csökkent (California Environmental Protection Agency, 1998).

Az alkoholok közül az etanol, az éter típusú adalékok esetében pedig elsősorban a metil-*terc*-butil-éter (MTBE), a *terc*-amil-metil-éter (TAME), illetve az etanolból előállítható etil-*terc*-butil-éter (ETBE) használata terjedt el (California Environmental Protection Agency, 1998). Az Európai Unió megújuló energiaforrásokra vonatkozó stratégiájának értelmében 10%-os részarányt kell elérnie a megújuló energiaforrásból származó alkotóknak az üzemanyagok esetében. Ezáltal a bioetanolból előállítható ETBE gyártása egyre nagyobb részesedést nyer az üzemanyag oxigenátok piacán (Stupp és mtsai, 2012).

Az oxigenátok közül az alkalmazott rövid szénláncú alkoholok (etanol, *terc*-butil-alkohol (TBA)) korlátlanul elegyednek a vízzel, azonban az éterek vízben való oldhatósága is számottevő. A motorbenzin apoláris tulajdonságú alkotóival szemben az éter típusú oxigenátok csak kismértékben adszorbeálódnak a talajszemcséken, inkább a talajvízbe oldódva terjednek a földtani közegben. Korábban sok éven át feltételezték, hogy az éter típusú oxigenátok ellenállóak a biológiai lebontási folyamatokkal szemben, a gyors terjedési sebességen túl további környezeti kockázatot jelentve (Kim és Engesser, 2004). Azonban az elmúlt évtizedekben számos kutatás bebizonyította, hogy ez egy téves megállapítás, több egyedi izolátum és konzorcium esetében is leírták, hogy képes a különböző éter típusú üzemanyag adalékok hatékony biodegradációjára, akár teljes mineralizáció formájában (Okeke és mtsai, 2003; Hyman, 2019).

1.3.2. Az MTBE tulajdonságai, környezeti hatásai és toxikológiai vonatkozásai

A metil-*terc*-butil-éter (MTBE) az egyik legnagyobb mennyiségben előállított éter típusú üzemanyag adalék. Előállítása vegyipari szintézissel történik, leggyakrabban a kőolajfinomítás melléktermékeiből, izobuténből és metanolból (Halász és mtsai, 2012). Az Európai Unióban a motor hatásfokának növeléséhez a hajtóanyaghoz adagolható MTBE

megengedett koncentrációja 15 térfogatszázalékban került maximalizálásra (Stupp és mtsai, 2012).

Fizikai és kémiai tulajdonságai meghatározó szerepet játszanak a gyors felszín alatti terjedésében, az üzemanyag más komponenseihez mérten vízben különösen jól oldódó vegyületnek tekinthető (a benzol oldhatósága 1780 mg/l). Az üzemanyag adalékként használt éterek közül az MTBE vízzoldékonysága a legnagyobb mértékű (48000 mg/l) (Drogos és Diaz, 2002). Az alacsony (0,02-1,1) oktanol-víz megoszlási koefficiens következtében kevésbé jellemző a talajszemcséken való adszorpciója (Thornton és mtsai, 2020). A szennyezés mélyre hatol a talajban, elérve a talajvízszintet, ahol a vízbe oldódva terjed tovább. A talaj- és talajvízszennyezés megfelelő monitorozás, karbantartás és ellenőrzés hiányában sokszor évekig felderítetlen marad, amely a nagyfokú vízzoldékonyság és alacsony oktanol-víz megoszlási koefficiens következtében nagy térbeli kiterjedésű szennyezőcsóvák kialakulásához vezethet.

Az élővilágra gyakorolt esetleges negatív hatásait számos tanulmányban vizsgálták (Gordian és mtsai, 1995; Shahidi és Bonjar, 2004). A tanulmányozott koncentrációkat tekintve a több élőlénycsoportot is lefedő kutatások eredményei alapján a súlyos szennyezést jelentő pontforrások esetében jellemző MTBE mennyiség jelent akut toxicitást (Werner és mtsai, 2001). Az emberek esetében a legjellemzőbb expozíciós útvonal az inhaláció, illetve az ivóvízzel történő elfogyasztás. Az MTBE más éterekhez hasonlóan igen alacsony, akár 2,5 µg/l koncentrációban érzékelhető, kellemetlen szag és íz jellemzi (Keller és mtsai, 1998). Johanson és munkatársai (1995) különböző dózisú (5, 25, 50 ppm) MTBE belégzésének akut hatásait vizsgálták egészséges férfi önkénteseken. Az expozíciónak kitett alanyok szubjektív értékelése alapján nem, vagy csak minimális akut tüneteket (diszkomfort érzet, irritáció) érzékeltek. A toxikokinetikai vizsgálatok eredménye szerint az MTBE felezési ideje a vérben és vizeletben 7-10 órára tehető, amelyet az MTBE szervezetben történő lebomlás során keletkező TBA koncentrációnövekedésének vizsgálatával állapítottak meg.

1.4. Az MTBE mikrobiális bontása

Az MTBE a kevésbé reaktív éterkötés és a terciér szénatomból adódó szerkezet következtében stabil, biológiai bontásnak jól ellenálló vegyület (Fayolle és mtsai 2001). Évekig a mikrobiális biodegradáció szempontjából perzisztens anyagként tartották számon, azonban az elmúlt évtizedek során sikeresen izoláltak MTBE bontásra képes baktérium konzorciumokat és egyedi izolátumokat oxigenátokkal szennyezett területekről (Salanitro és mtsai, 1994; Okeke és mtsai, 2003; Attarian és Mokhtarani, 2021). Mindez lehetővé tette az

MTBE-vel szennyezett talajok, talajvizek esetében a bioremediáció alkalmazását, amely környezetkímélőbb és gazdaságosabb, mint a kevésbé hatékony adszorpció (Larasati és mtsai, 2021) és sztrippeléses eljárások, amelyek során intenzív levegőáram segítségével távolítják el a kezelendő talajvízből az illékony komponenseket (Levchuk és mtsai, 2014). A mikroorganizmusok enzimikus folyamatokon keresztül katalizálják az MTBE oxidációját egyszerűbb, kisebb szénatomszámú vegyületekké, számos esetben akár elérve a teljes mineralizációt, szén-dioxiddá és vízzé.

Azonosítottak olyan egyedi izolátumokat, melyek rendelkeznek az MTBE teljes oxidációjához szükséges enzimkészlettel (Debor és Bastiaens, 2007), valamint számos mikrobiális konzorciumot, mely tagjainak enzimei a lebontási útvonal egyes metabolitjainak továbbalakítását képesek katalizálni (Li és mtsai, 2015).

Az MTBE biodegradáció végbemehet aerob, valamint anaerob körülmények között is. Számos szakirodalmi példában számoltak be metanogén, szulfátredukáló, nitrátredukáló, illetve vasredukáló környezetben lejátszódó MTBE-degradációról. Anaerob lebontás során azonban a baktériumok lag fázisa jelentősen hosszabb, valamint a biodegradációs sebesség és hatékonyság is alacsonyabb, mint aerob esetben, így a bioremediáció időtartama jelentősen nő (Debor és Bastiaens, 2007).

1.4.1. Az MTBE aerob biodegradációja

Az MTBE aerob biodegradációja kooxidációval, kometabolizmussal, illetve egyedüli szénforrásként történő hasznosítással valósulhat meg.

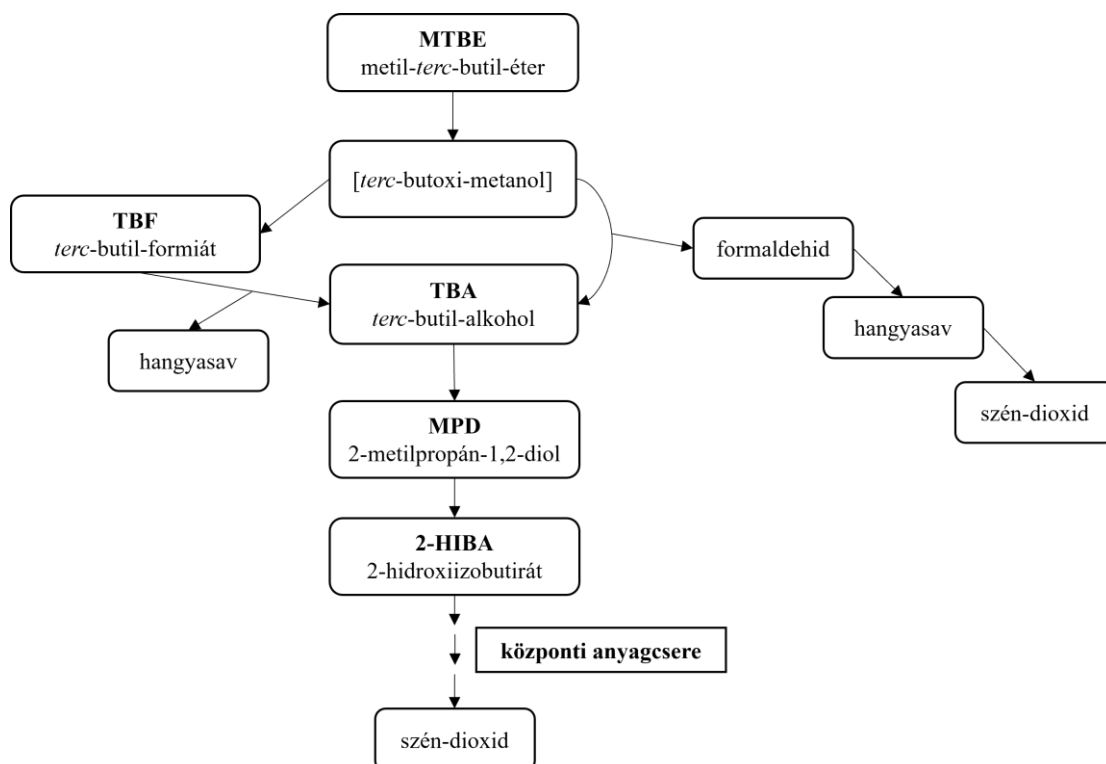
Kooxidáció során a baktérium növekedési szubsztrátként más vegyületeket, többek között kis szénatomszámú n-alkánokat (pl. propán) hasznosítanak, azonban nemspecifikus monooxigenázaikkal képesek a számukra energiaforrásnak nem minősülő MTBE oxidálására is. Éter típusú oxigenátok esetében a folyamat legtöbbször a tercier alkoholok (MTBE esetén TBA) képződéséig megy végbe, melyek extracellulárisan felhalmozódnak a továbbalakításhoz szükséges enzim hiánya, vagy a metabolit gátló hatása miatt. Szintrófikus folyamatok során a keletkező termékek további biotransformációja mehet végbe a teljes mineralizációig, amennyiben a konzorciumot alkotó valamely mikroorganizmus rendelkezik a szükséges enzimkészlettel (Zaitsev és mtsai, 2007).

Kometabolizmus esetén a mikroorganizmusok a kooxidációhoz hasonlóan más vegyületeket (pl.: etanol, n-alkánok) igényelnek a növekedéshez szükséges szén- és energiaforrásként, azonban a képződő köztitermékeken megfelelő enzimekkel az adott mikroorganizmus képes további átalakításokat végezni, így nem következik be annak tartós

extracelluláris felhalmozódása. Propánon növesztett *Mycobacterium* sp., illetve *Rhodococcus* sp. vizsgálata során az MTBE mellett több éter típusú oxigenát (ETBE, TAME), valamint TBA ideiglenes felhalmozódását követően CO₂-ig történő teljes mineralizációt figyeltek meg.

Számos olyan baktériumtörzset azonosítottak, mint az *Arthrobacter* sp. ATCC27778 (Liu és mtsai, 2001), a *Variovorax paradoxus* CL-8 (Zaitsev és mtsai, 2007) és a *Methylibium petroleiphilum* PM1 (Kane és mtsai, 2007), amelyek képesek az MTBE-t, mint kizárólagos szénforrást, közvetlenül hasznosítani. Az egyes intermedierek felhalmozódása nem számottevő, mivel a mikroorganizmusok rendelkeznek a tovább alakításhoz szükséges enzimekkel. A folyamatot gátolhatják egyes intermedierek, a *Hydrogenophaga flava* ENV735 izolátum esetében az MTBE oxidációja a keletkező formaldehid teljes lebontásáig nem megy végbe (Hatzinger et al. 2001).

Az MTBE általános lebontási útvonala két fő szakaszra bontható (**1. ábra**): a felső szakaszban az MTBE oxidációja *terc*-butil-alkohol (TBA) keresztül 2-hidroxiizobutirátig (2-HIBA) megy végbe, majd az alsó szakasz során 2-HIBA transzformációja több útvonalon valósulhat meg a különböző baktériumtörzsek esetében (Debor és Bastiaens, 2007).



1. ábra: Az MTBE feltétezett aerob lebontási útvonala (Debor és Bastiaens, 2007 alapján)

Az MTBE-ből egy monooxygenáz által katalizált reakció során feltételezhetően egy instabil, hemiacetál intermedier (terc-butoxi-metanol) gyors diszmutációjával TBA mellett formaldehid képződik, míg más esetben egy alkohol-dehidrogenáz típusú enzim terc-butylformiáttá (TBF) alakítja, melyet egy hőstabil észteráz TBA-ra és hangyasavra hidrolizál (Hyman, 2019). A TBA egy monooxygenáz típusú enzim által, két lépésben oxidálódik 2-metilpropán-1,2-diollá (MPD), majd 2-hidroxiizobutiráttá (2-HIBA). A további enzimatikus lépések során képződő metabolitok a központi anyagcsere ciklusaiba lépve kerülnek hasznosításra, melynek eredményeképpen szén-dioxid és víz keletkezik, illetve a kötésekben tárolt energia biomassza képződésére fordítódik.

2. CÉLKITŰZÉS

Az üzemanyag eredetű szennyezések kezelésére a biológiai kármentesítési eljárások gazdaságos és környezetkímélő megoldást jelentenek, ráadásul az érintett terület jellemzőinek megismerésével, és ezek alapján a megfelelő technológia megválasztásával a bioremediáció hatékonysága jelentősen növelhető. Amennyiben a szennyezőanyagok lebontását limitáló tényezőket optimálisan biztosítjuk a mikroorganizmusok számára, a biodegradáció folyamata gyorsabban lejárthat, rövidítve a kármentesítés időtartamát és mérsékelve annak költségeit. A fluid ágyas bioreaktorok ilyen területen történő alkalmazásának egyik legnagyobb előnye, hogy a szemcsés töltet fluidizálása következtében megnövelt érintkezési felületen nagy tömegű biomassza megtapadását teszik lehetővé, amely magasabb konverziós hatásfokot eredményez.

Kutatómunkánk céljaul egy laboratóriumi fluid ágyas bioreaktor legfontosabb paramétereinek vizsgálatát tűztük ki, hogy tapasztalataink elősegíthessék egy terepen széleskörben alkalmazható bioreaktor eredményes megtervezését és üzemeltetését. A működtetés optimalizálása során többek között a prototípus terhelhetőségére, illetve az elvárt hatásfokú biodegradációt elősegítő körülmények megismerésére fókuszáltunk. Kísérleteink során a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft. Biotechnológiai Divíziójának munkatársai által korábban izolált, az MTBE teljes mineralizációjára képes mikrobiális konzorciummal dolgoztunk.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Felhasznált tápoldatok és táplemezek

A felhasznált tápleveseket 25 percig, a táplemezek öntéséhez szükséges oldatokat 35 percig autoklávban sterilizáltuk. Egyes tápoldatok olyan komponenseket tartalmaznak, melyek hő hatására csapadékképző reakcióba lépnek egymással, ezért az érintett receptek esetében jelöltük a külön sterilizandó oldatok összetételét.

SMM tápoldat

Felhasznált oldatok 1000 ml tápoldathoz	
„S1”	950 ml
„S2”	50 ml
„S3”	1 ml

- „S1” oldat: 0,7098 g Na_2HPO_4 ; 0,4083 g K_2HPO_4 ; 0,2301 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 0,2643 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 15 g agar
- „S2” oldat: 0,0482 g MgSO_4 ; 0,0147 g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 50 ml desztillált vízben oldva
- „S3” törzsoldat: 0,2224 g $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,0449 g $\text{CoSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,0203 g $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$; 0,0230 g $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,0097 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$; 0,0063 g $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$; 0,0053 g $\text{NiSO}_4 \times 6 \text{H}_2\text{O}$; 0,0010 g H_3BO_3 ; 1-2 csepp tömény kénsavval 200 ml desztillált vízben oldva

Módosított SMM tápoldat a foszfátigény teszthez:

- „AF” oldat: 0,5797 g/l NaCl ; 0,2235 g/l KCl ; 0,5286 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- „F” törzsoldat: 0,52 g/l KH_2PO_4 ; 1,07 g/l K_2HPO_4
- „S3” oldat: megegyezik az eredeti SMM tápoldat receptben leírtakkal

Módosított SMM tápoldat a nitrogénigény teszthez:

- „AN” oldat: 0,5797 g/l NaCl ; 0,2235 g/l KCl ; 0,52 g/l KH_2PO_4 ; 1,07 g/l K_2HPO_4 ; 0,6979 g/l K_2SO_4
- „BN” oldat: 0,0482 g/l MgSO_4 ; 0,0147 g/l $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$
- „N” törzsoldat: 0,214 g/l NH_4Cl vízben oldva
- „S3” oldat: megegyezik az eredeti SMM tápoldat receptben leírtakkal

3.2. A fluid ágyas bioreaktorban alkalmazott konzorcium

A fluid ágyas bioreaktor beoltása egy szennyezett területről izolált, az MTBE teljes mineralizációjára bizonyítottan képes mikrobiális konzorciummal történt.

A konzorcium fenntartásához a sejteket $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk, illetve a kísérletekhez szükséges baktériummennyiség folyamatos biztosítása érdekében folyadékkultúrákat állítottunk össze. A konzorciumot szelekciós nyomás alatt tartva, vagyis 200 mg/l hozzáadott MTBE-t, mint egyedüli szénforrást tartalmazó SMM minimál tápoldatban, 130 rpm-en síkrázón, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on neveltük 500 ml térfogatú laboratóriumi üvegekben neveltük. Az MTBE adagolási koncentrációját korábbi adatok alapján választottuk meg. A tápoldat frissítése havonta történt, az MTBE-pótlás gyakoriságát a mikroorganizmusok lebontási sebessége határozta meg, melyet GC-MS mérésekkel követtük nyomon az előzetes kísérletek során.

Annak érdekében, hogy a konzorciumot a lehető legnagyobb mértékben olyan mikroorganizmusok alkossák, amelyek képesek az MTBE, illetve a TBA lebontásában részt venni, a folyadékkultúrákat több alkalommal folyamatos szelekciós nyomás alatt tartva oltottuk át (passzáltuk) friss tápoldatba. A passzált kultúrák létrehozásához 500 ml térfogatú sterilizált laboratóriumi üvegekbe 100 ml SMM minimál tápoldatot mértünk be, a fenntartott folyadékkultúrából 1%-os beoltást alkalmaztunk és egyedüli szénforrásként 200 mg/l MTBE-t adtunk hozzá. A rendszereket síkrázón inkubáltunk $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 130 rpm-mel rázatva.

3.3. Mintavételezés módja az analitikai mérésekhez

A levett minták előkészítését, valamint az analitikai méréseket a kutatóintézet Analitikai Osztályának munkatársai végezték el.

Az MTBE és a TBA koncentrációjának meghatározásához szükséges mintavételezés Hamilton fecskendővel történt, a várható koncentrációtartománynak megfelelő hígítást alkalmazva. A levett mintákat $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vizet tartalmazó, az illékony komponensek elillanásának mérséklése céljából jégen hűtött headspace (HS) üvegekbe mértük be. A mintavételt követően a mintákat azonnal teflonbélésű csavaros kupakkal zártuk le. A mintákat az előkészítésig $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. Minden mintavételezés során kiegészítő vakmintával (mérendő komponenst nem tartalmazó minta) dolgoztunk. A mikroorganizmusok anyagcseréjéhez és szaporodásához nélkülözhetetlen tápanyagok mennyiségét heti rendszerességgel mintavétellel követtük nyomon. A mintavételezés a bioreaktor belső köri csapján keresztül történt. Az analitikai mérések során tápközeg anion (pl. foszfát, szulfát) koncentrációját és teljes szén- és nitrogéntartalmát (TC-TN) vizsgáltuk. Az analízis kezdetéig az anion mérésre leadott mintákat $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, a TC-TN mintákat $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

3.4. Optikai denzitás (OD), pH és vezetőképesség mérése

A baktériumkultúrák optikai denzitását a sejtmentes tápoldathoz viszonyítva, Helios Alpha 9423 UVA 1002E (Unicam) UV-VIS spektrofotométerrel 600 nm hullámhosszon mértük. A tápközegek pH-értékének meghatározásához SevenCompact S220 típusú pH-mérő készüléket (Mettler Toledo) használtunk a gyártó utasításai szerint. Az első kísérletsorozat során a reaktor tápközegének vezetőképességét Orion 5-Star Benchtop Multiparameter (Thermo Scientific) készülékkel mértük.

3.5. Mikrokozmosz előkísérletek a bioreaktorban alkalmazott konzorciummal

A mikrokozmosz tesztek olyan kis térfogatú rendszerek, amelyekkel laboratóriumi léptékben vizsgálhatjuk többek között a szennyezőanyagok lebontását. A tesztek batch rendszerekként állítottuk össze, meghatározott időnként történő mintavételekkel nyomon követve az MTBE, illetve a TBA koncentrációját. Negatív kontrollként abiotikus, higany-szulfáttal kiegészített rendszereket alkalmaztunk, melyek nem tartalmaztak élő szervezeteket. A rendszereket a kísérlet jellegének megfelelő összetételű SMM tápoldattal állítottuk össze és 1%-os beoltást alkalmaztunk bioreaktorban alkalmazott konzorciummal (augmentáltuk). A mikrokozmoszok összeállítását követő 1 óra elteltével került sor a kiindulási MTBE koncentráció meghatározásához szolgáló minta levételére, a **3.3. fejezet**ben leírt módon.

3.5.1. Előzetes hőmérséklet tesztek

Ahhoz, hogy a bioreaktor termosztálását megfelelően szabályozhassuk, meg kellett határoznunk az alkalmazott mikroba közösség MTBE lebontási sebességét leíró hőmérsékleti optimum görbét. A konzorciumot SMM minimál tápoldatba oltottuk (1%), és 200 mg/l MTBE egyedüli szénforrás hozzáadásával növesztettük. Az MTBE lebontását 3-3 párhuzamosban, a következő hőmérsékleteken vizsgáltuk: 18 °C, 20 °C, 22 °C, 23 °C 24 °C, 26 °C, 28 °C, 30 °C. Az állandó hőmérséklet biztosításához a rendszerek a vizsgált hőmérsékletre beállított termosztátokban lettek elhelyezve. A kiindulási koncentráció meghatározása után további mintavétel az összeállítást követő 3., 6. és 10. napon történt.

3.5.2. Előzetes tápanyagigény tesztek

A kísérletek során használt SMM minimál tápoldat nitrogén-, valamint foszfáttartalmát változtattuk (**3.1. fejezet**), a megfelelő törzsoldat eredeti recepthez viszonyított 1-szeres, 10-szeres, 100-szoros, 200-szoros, 500-szoros, illetve 1000-szeres hígítását alkalmazva.

A rendszerek 100 ml térfogatú laboratóriumi üvegekben, 20 ml végtérfogatban lettek összeállítva, a beoltás 1 ml előnevelt, előzetesen fiziológiás sóoldattal átmosott baktériumkultúrával történt. Egyedüli szénforrásként 200 mg/l koncentrációjú MTBE volt jelen. A rendszereket 3-3 párhuzamosban vizsgáltunk. További mintavétel az összerakást követő 5., 8. illetve 9. napon történt.

3.6. Laboratóriumi fluid ágyas bioreaktor prototípus

Az általunk tervezett laboratóriumi bioreaktor folyamatos üzemeltetésre alkalmas kétfázisú berendezés (2. ábra). A töltet fluidizálása kizárólag a folyadék közeg áramoltatásával valósul meg, a levegőztetés a reaktorcsövön kívül, a recirkuláció során külön levegőztető csőben történik (1. táblázat).



1.	Levegőztető cső
2.	Reaktorcső
3.	Kezelt víz mintavételi pontja
4.	Belső körü mintavételi pont
5.	Aktívszenes szűrő
6.	Szennyezett víz mintavételi pontja
7.	Tápanyag pótlása perisztaltikus pumpával
8.	Betáplálás/elvétel perisztaltikus pumpával
9.	Szennyezett víz tartálya

2. ábra: Üveg kivitelű laboratóriumi fluid ágyas bioreaktor

Reaktor hasznos térfogata	~13 L
Reaktorcső térfogata	4,5 L
Levegőztető cső térfogata	7,75 L
Reaktorcső szabad áramlási keresztmetszete	52 mm

1. táblázat: A bioreaktor prototípus legfontosabb szerkezeti paraméterei.

A reaktorcső, illetve a levegőztető cső üvegből készült, a csövek és szerelvények esetében acél alkatrészeket választottunk. A karbantartási feladatok megkönnyítése érdekében előre gyártott, horganyzott, menetes idomokat (3/4" NPT) használtunk.

Az alkalmazott konzorciumnak megfelelő hőmérséklet-tartomány tartása érdekében a reaktor inkubátor szekrényben került elhelyezésre. A hőmérséklet-intervallumot előzetesen elvégzett kísérletek eredményei alapján határoztuk meg.

A szennyezett víz és a makrotápanyagok betáplálásához, illetve a kezelt víz elvételéhez perisztaltikus pumpákat használtunk. A közeg keringetését membránszivattyúval végeztük, amely üzemeltetése 12 V-os tápegységről történt. A szivattyú biztonságát beépített nyomáskapcsoló biztosítja, az üzemi nyomást nyomásmérő beépítésével ellenőrizzük. A keringetés sebességét az első prototípusban költséghatékonysági szempontok miatt lakossági vízmérő óra segítségével mértük.

A levegőztetést eleinte kompresszorral, akvárium levegőztető kő beépítésével oldottuk meg az inkubátoron kívüli légtérből, majd a későbbi kísérletek során sűrített levegővel mikrobuborékolató diffúzorral valósult meg az oxigenálás. A beoldódott oxigén mennyiségét a reaktorcsövet megelőző és az azt követő szakaszon is oldott oxigén (DO) mérők ideiglenes beépítésével monitoroztuk. A levegőztetés következtében esetlegesen elillanó vegyületek megkötésére aktívszenes levegőszűrőt építettünk be a rendszerbe.

3.6.1. Előkészületek

3.6.1.1. A bioreaktor csíráztatása és a homoktöltet beadagolása

A bioreaktor üzembe helyezését megelőzően, a reaktor teljes belsejének fertőtlenítését nátrium-hipokloritos vizes oldat keringetésével, majd lágyított csapvízzel történő többszöri átmosásával valósítottuk meg. A hordozótöltetként használt homokot szitasoron elválasztottuk szemcseméret szerint, a reaktorba az 1-2 mm átmérő közötti frakciót alkalmaztuk. A betöltést megelőzően 2 órán keresztül 120 °C-os hőkezelést alkalmaztunk a homok lehetőség szerinti csíramentesítésének céljából. A reaktorba töltést követően egy napig

desztillált vizes cirkulációs üzemeltetést alkalmaztunk az esetlegesen bennmaradó finom törmelék reaktorcsőből történő kimosatása érdekében.

3.6.1.2. Előzetes párolgástereszt

A vizsgálat során adott koncentrációjú MTBE-vel szennyezett lágy vizet adagoltunk a reaktorba. A levegőztetés működtetése mellett az MTBE koncentrációját naponta, a feladott és az elvett vízből vett mintákkal ellenőriztük.

3.6.2. Vizsgált üzemeltetési paraméterek

Az üzemeltetés során számos működtetési paramétert vizsgáltunk, melyek megfelelő értékre történő beállításával a távozó, kezelt víz MTBE koncentrációját a meghatározott 0,4 mg/l alatt kívántuk tartani. A vizsgált paraméterek:

- A feladott, szennyezett víz MTBE és TBA koncentrációja
- a lejövő, kezelt víz MTBE és TBA koncentrációja
- a szennyezett/tisztított víz térfogatárama
- a recirkuláció áramlási sebessége
- a tápanyagok koncentrációja és a tömény tápoldatok betáplálási sebessége
- a reaktorban mérhető hőmérséklet
- az áramoltatott folyadékközeg kémhatása

3.6.3. Indítási fázis

Az üzemeltetési szakasz megkezdéséhez a reaktort SMM tápoldattal töltöttük fel, majd a beoltáshoz 300 ml-nyi 200 mg/l MTBE-t tartalmazó SMM tápoldatban előnevelt konzorcium kultúrát használtunk. Szénforrásként több alkalommal 6,2 ml MTBE-t adagoltunk közvetlenül a reaktorba. Annak érdekében, hogy a hordozótölteten a biofilm a lehető legnagyobb felületen alakuljon ki, a tápközeget a homokszemcsék fluidizált állapotban tartásához szükséges sebességgel keringettük. A felépülő fázis során naponta történő mintavétellel követtük nyomon az MTBE, valamint a tápanyag koncentrációk változását. Az MTBE-t és a tápanyagokat szükség szerint pótoltuk.

3.6.4. Folyamatos fázis

A pumpák szívó és nyomóágának csatlakozási pontját, valamint a betáplálási és elvételi térfogatáramát a reaktorban uralkodó nyomásviszonyoknak megfelelően választottuk meg. A keringetés áramlási sebességét eleinte az elérhető legmagasabb fluidizált töltetmagasság megtartásához úgy igazítottuk, hogy a homokszemcsék még ne mosódjanak ki a

reaktorcsőből, később az eredmények alapján az áramlási sebességet mérsékeltek. A kezelt, illetve a szennyezett víz MTBE koncentrációjának nyomon követése céljából naponta vettünk mintát a bioreaktoron kialakított mintavételi pontokon keresztül, a **3.3. fejezetben** leírt módon. A tápanyagok mennyiségének monitorozásához hetente anion, illetve az összes szén-, illetve nitrogéntartalom (TC/TN) méréseket végeztünk, melyhez a reaktor mintavételi csapján keresztül vettünk mintát.

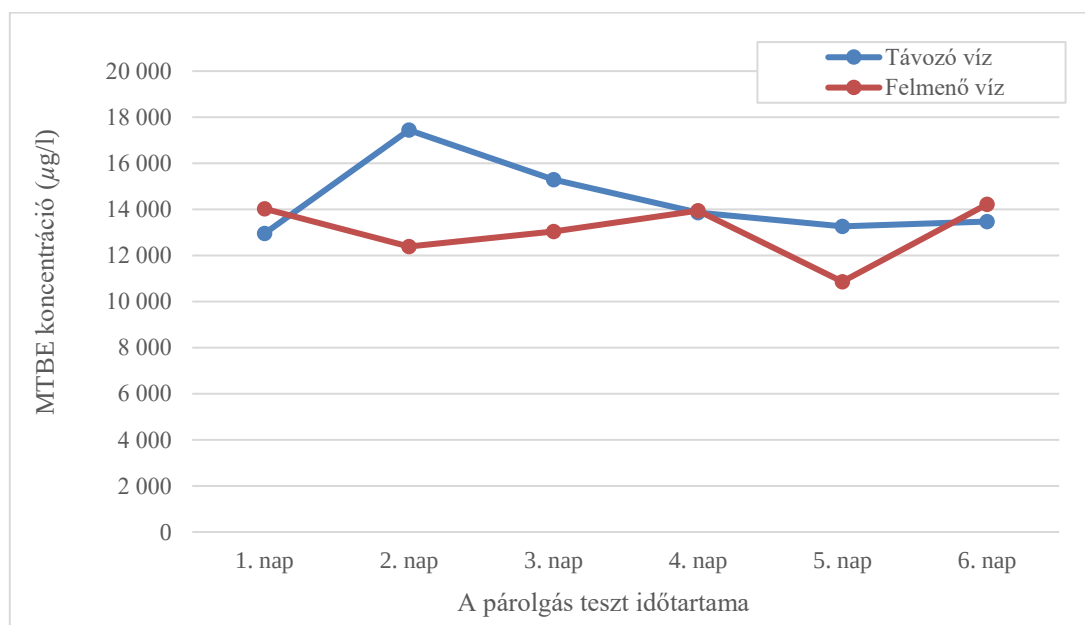
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Az előkísérletek eredményei

4.1.1. Előzetes párolgásteszt eredménye

Az MTBE illékonyságából adódóan indokolt volt olyan előkísérletek elvégzése, melyek eredményei alapján meghatározható, hogy számottevő-e az üzemeltetés során esetlegesen jelentkező elillanás.

Az analitikai mérések eredményei alapján megállapítható (3. ábra), hogy a felmenő (a kísérletek során szennyezett) és a távozó (a kísérletek során kezelt) vízben mérhető MTBE koncentráció között nem tapasztaltunk jelentős eltérést, azaz nem tekinthető számottevőnek a folyadékközeg levegőztetéséből adódó elillanás.



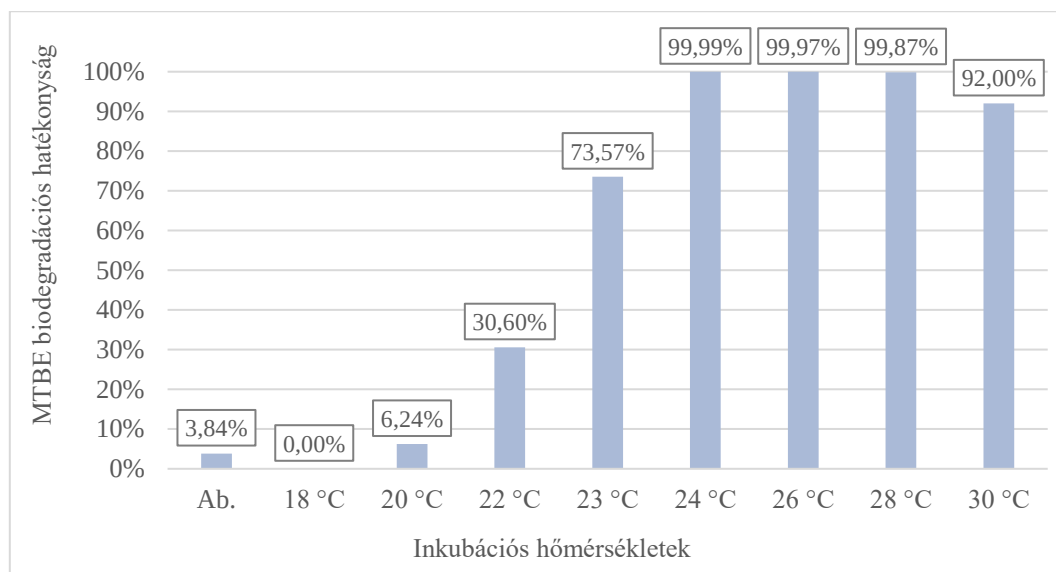
3. ábra: Az MTBE párolgásteszt eredménye az üveg kivitelű bioreaktorban.

4.1.2. Előzetes hőmérséklet tesztek eredményei

A kísérleteink során nyolcféle hőmérsékleten vizsgáltuk az alkalmazott konzorcium MTBE-lebontási sebességét. A 4. ábrán a három-három párhuzamos rendszer eredményeinek átlagát tüntettük fel, amely alapján megállapítható, hogy a legnagyobb mértékű MTBE koncentráció csökkenést a 24-30 °C-on inkubált rendszerek esetében tapasztaltuk.

A bemutatott eredményeink alapján az MTBE lebontásához rendelhető hőmérsékleti optimum tartományt 24-26 °C között állapítottuk meg. Továbbá meghatároztuk, hogy a 23 °C az az alsó értékhatár, amelyen a mikrobák még éppen elfogadható mértékű metabolizmust

mutatnak. Ennél alacsonyabb hőmérsékleten már jelentősen csökkent a mikroorganizmusok biokonverziós képessége.



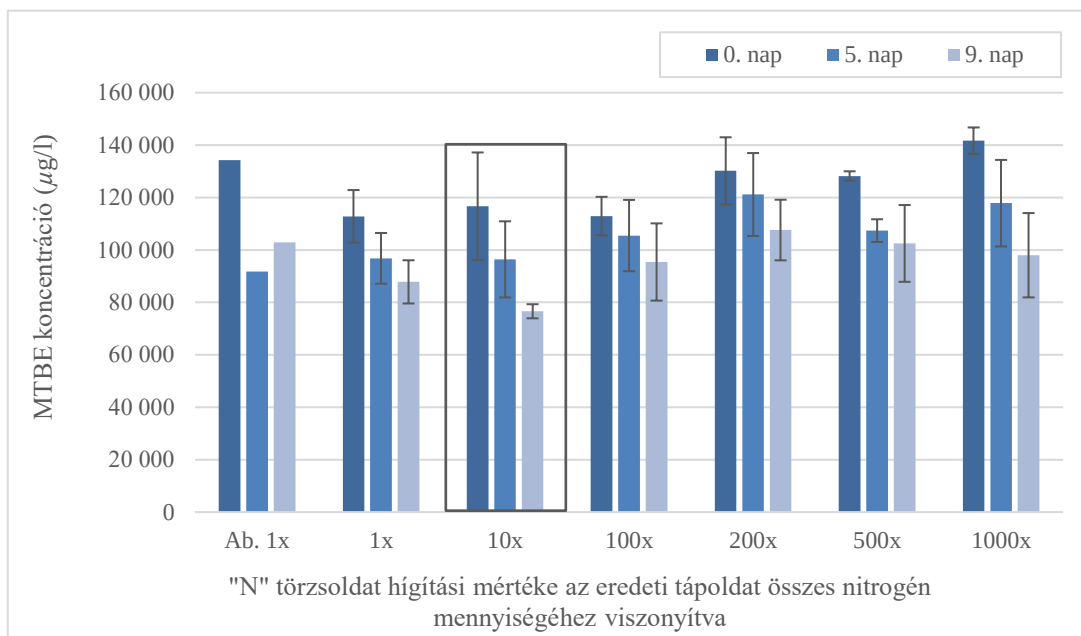
4. ábra: Az MTBE biodegradáció hatékonysága a vizsgált hőmérsékleten

A hőmérséklet tesztek eredményei alapján terveztük meg és vizsgáltuk a későbbi mikrokozmosz kísérleteket, valamint a bioreaktor termosztálását is ennek megfelelően állítottuk be. A még éppen megfelelő, legalacsonyabb működési hőmérséklet meghatározása a tápanyag összetételhez hasonlóan nagy jelentőséggel bír egy terepi reaktor gazdaságos működtethetősége szempontjából.

4.1.3. Előzetes tápanyagigény tesztek eredményei

A reaktor működtetésének optimalizáláskor többek között figyelembe kell venni az alkalmazott mikroorganizmusok tápanyagigényeit is. A technológia gazdaságos üzemeltetéséhez olyan tesztek elvégzése szükséges, amelyekkel információt nyerhetünk, hogy milyen minimális koncentrációban kell tápanyag kiegészítést alkalmaznunk, ami már biztosítja az elvárt biokonverziós hatásfokot. Az előzetesen, külön-külön elvégzett kísérletek eredményeit később valós körülmények között, egyszerre tudtuk tesztelni a reaktor segítségével. Kísérleteink során mikrokozmosz rendszerekben vizsgáltuk a reaktor beoltásához használt konzorcium számára legfontosabb makrotápanyagok koncentráció változtatásának hatását az MTBE lebontás hatékonyságára, a nitrogén és a foszfát mennyiség hígítására fókuszálva. Negatív kontrollként az abiotikus, eredeti tápoldathoz viszonyított egyszeres nitrogén, illetve foszfátmennyiséggel összeállított (Ab. 1x jelölésű) rendszerek szolgáltak.

Az **5. ábrán** szemléltetjük, hogy a nitrogén esetében nemcsak, hogy elegendőnek bizonyul az eredetileg adagolt mennyiség tizede, hanem ráadásul nagyobb mértékben csökkent az MTBE koncentrációja, mint az egyszeres nitrogénmennyiséget tartalmazó (1x jelölésű) rendszerekben.



5. ábra: Nitrogénigény teszt eredménye
A hibaszávok a három párhuzamos minta szórását jelölik

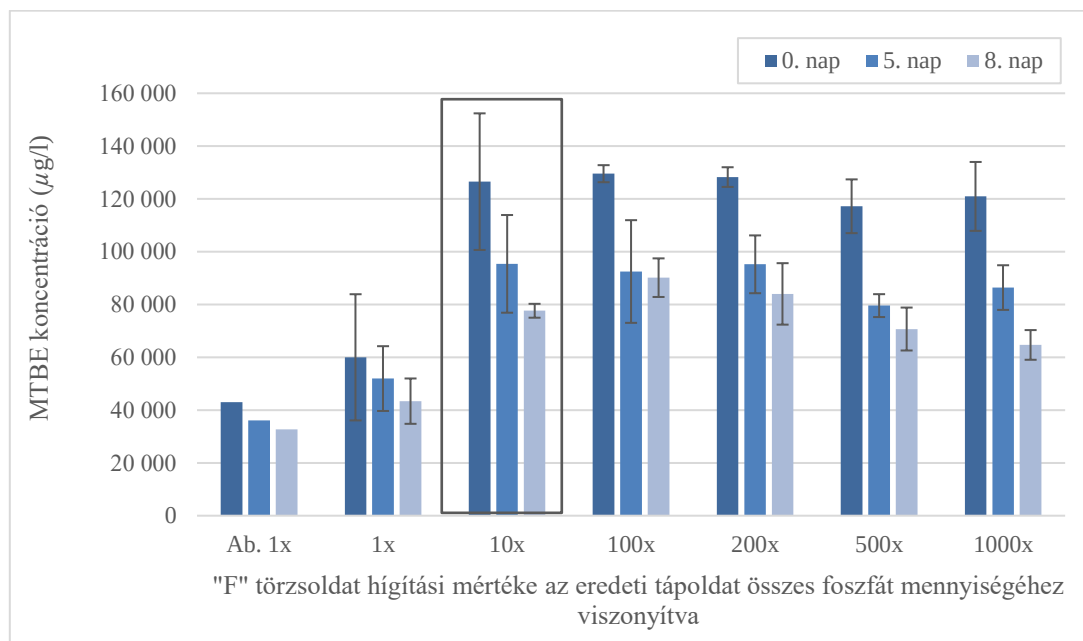
A TBA esetében a kísérlet utolsó napján mért végkoncentráció értékét vettük figyelembe, mivel számunkra elsősorban a kísérlet végén esetlegesen jelentkező TBA felhalmozódás szolgált érdemi információval.

A tízszeres hígítású (10x) mikrokozmoszokban nem tapasztaltunk jelentős TBA felhalmozódást az összeállítást követő 9. napon (**2. táblázat**). Ez arra utal, hogy az MTBE biodegradációja nem áll meg ennél a köztterméknél a tized annyi nitrogénnel kiegészített rendszerekben sem, ellenkező esetben sokszorosára növekedne a TBA koncentrációja.

Mikrokozmosz	TBA koncentráció a 9. napon (µg/l)
Ab. 1x	1 188,28
1x	407,48
10x	184,62
100x	430,33
200x	163,48
500x	533,98
1000x	204,04

2. táblázat: Nitrogénigény tesztek során mért MTBE és TBA koncentrációváltozás átlagok a kísérlet 9. napján

Hasonló eredményekről tanúskodik a foszfátigényt felmérő teszt is (**6. ábra**), amely esetében szintén az eredeti minimál tápoldathoz mérten tízszeresére hígított foszfát-tartalmú törzsoldattal összeállított rendszerek mutatták a legnagyobb mértékű MTBE-fogyást a kísérletek végéig.



6. ábra: Foszfátigény teszt eredménye
A hibasávok a három párhuzamos minta szórását jelölik

Nagymértékű MTBE koncentrációcsökkenést mutattak az 500x és az 1000x jelölésű rendszerek is, azonban figyelembe véve a mikrokozmoszokban a kísérlet 8. napján mért TBA-koncentráció értékeket (**3. táblázat**), látható, hogy a köztitermék jelentős mennyiségben felhalmozódott (piros színnel jelölve), azaz az MTBE lebontása ezekben az esetekben nem ment teljes mértékben végbe, vagy lényegesen lelassult. Ezért nem javasoljuk a foszfátmennyiség ilyen mértékű hígítását.

Mikrokozmosz	TBA koncentráció a 8. napon (µg/l)
Ab. 1x	933,96
1x	379,70
10x	739,84
100x	342,33
200x	297,97
500x	7 888,14
1000x	10 564,05

3. táblázat: Foszfátigény tesztek során mért MTBE és TBA koncentrációváltozás átlagok a kísérlet 8. napján. A piros színnel kiemelt értékek jelentős TBA felhalmozódást jelölnek

Összefoglalva, a tápanyag kiegészítésre irányuló előkísérletek eredményei alapján elmondható, hogy a reaktorban valószínűleg elegendő az SMM tápoldatban lévő nitrogén-, illetve foszfátmennyiség tizedét biztosítani a mikroorganizmusoknak a kívánt bontási sebesség eléréséhez. Ennek megfelelően a nitrogént ammónium-klorid, a foszfátot foszforsav formájában adagoltuk a betáplált szennyezett vízhez az adott MTBE terhelésnek megfelelő mennyiségben. A bioreaktorban mérhető tápanyagtartalmat rendszeres analitikai mérésekkel követtük nyomon.

A későbbiekben bemutatott eredmények alapján a szóban forgó tápelemek mennyiségének egyidejű csökkentése sem okozott a hatékonyságban mutatkozó visszaesést, így költséghatékonysági szempontból érdemesnek találtuk a tápoldat módosított változatát használni. Ez az eredmény egy terepi, „full scale” reaktor működtetésének gazdaságosabbá tételére szempontjából nagy jelentősleggel bír.

4.2. Indítási/felépülési fázis eredményei

A folyamatos, vagyis a megfelelő hatékonyságot mutató működési fázist megelőzően az SMM tápoldattal feltöltött reaktort előnevelt MTBE-bontó konzorciummal oltottuk be. A biofilm felépülési fázisa során mintavételekkel és szemrevételezéssel követtük nyomon az MTBE fogyását, valamint a baktériumok elszaporodását. Utóbbira a tápközeg opálosodásából következtettünk, amely az indítást követően napokon belül bekövetkezett. A mikrobák hordozótöltetre történő kitapadását a folyadékközeg fluidizálásával segítettük elő, ezáltal nagyobb fajlagos felületet biztosítva a biofilm képződéshez. Az MTBE koncentráció változásának monitorozásához naponta vettünk mintát a reaktor belső körli mintavételi pontján keresztül. A szénforrást több alkalommal nagyobb mennyiségben (6,2 ml MTBE, közvetlenül a reaktorcsőbe adagolva), illetve folyamatosan, alacsony sebességű betáplálással (0,5 l/nap 300 mg/l MTBE oldat) biztosítottuk a folyamatosan elszaporodó baktériumok számára.

Az analitikai eredmények, illetve a tápoldat opálosodásának mértéke alapján a reaktor már a beoltást követő 3-4. mintavételt követően alkalmassá vált a folyamatos fázis elindítására, valamint kísérlet során adagolt tápanyag mennyiség elegendőnek bizonyult a baktériumok számára. A lebontás hatékonyságához számításokat végeztünk a beadagolt és a belső körben mérhető MTBE koncentrációk alapján. Amint a felépülő fázis során az MTBE biokonverziója meghaladta a 80%-ot, elindítottuk a szennyezett víz folyamatos betáplálását.

4.3. Folyamatos üzemeltetési fázis eredményei

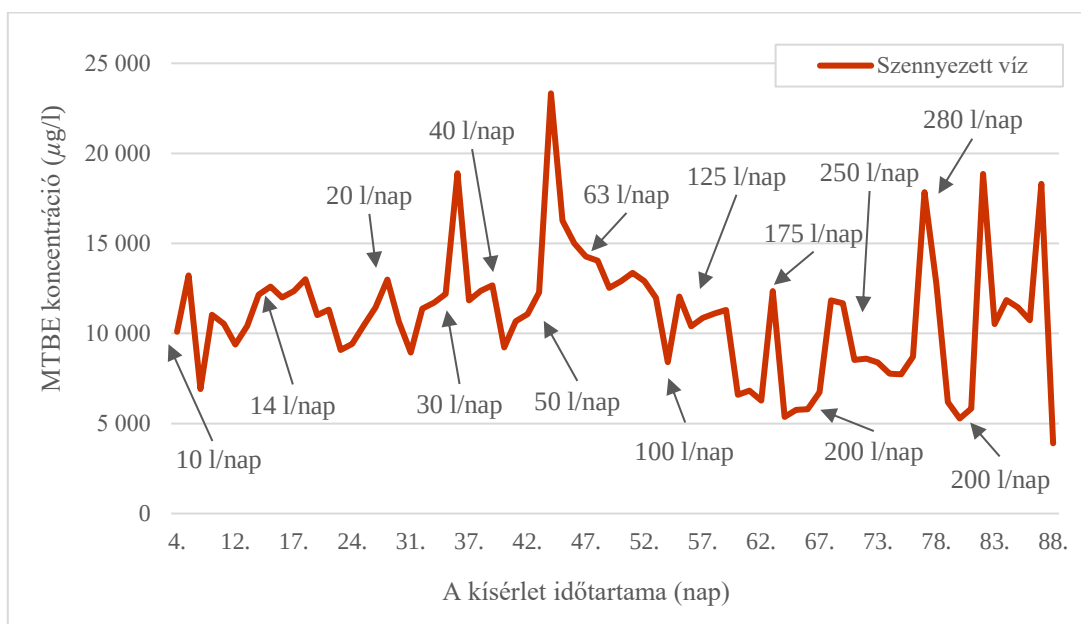
4.3.1. Előzetes tapasztalatok a bioreaktor első verziójával

Az első kísérletsorozat során a bioreaktor terhelését az állandó MTBE koncentrációjú szennyezett vízmennyiség fokozatosan emelt betáplálásával növeltük, azonban számos olyan üzemzavar lépett fel, amelyek megakadályozták a betáplálási sebesség további emelését. A reaktor megtervezésnél figyelembe vettük az egyszerű szerelhetőség kivitelezhetőségét, ennek következtében a karbantartási munkálatok gyorsan elvégezhetőek voltak, a hibák miatt érintett elemek a bontható kötéseknek köszönhetően könnyen cserélhetőknak bizonyultak. A műszaki hibák rámutattak a bioreaktor gyenge pontjaira, amelyeket módosítottunk és olyan fejlesztéseket végeztünk el, melyekkel kiküszöbölhetővé váltak a jövőbeli technológiai buktatók. Ilyen üzemzavarként jelentkezett a kezelt víz elvételét biztosító perisztaltikus pumpa csőrepedése, amely folyadékvesztést eredményezett. Hasonlóan csöpögést és nagyobb mennyiségű tápoldatvesztést tapasztaltunk a reaktorcső alsó karmantyújának sérülésénél, melyet a folyadékbeáramlást biztosító diffúzor dugulása okozott. A levegőztető rendszeren is végeztünk változtatásokat a hatékonyság növelése, valamint az eleve minimális elillanás veszélyének további csökkentése érdekében: mikrobuborékokat szolgáltató diffúzorra cseréltük az addig alkalmazott porlasztó követ, ám ennek működtetéséhez nagyobb nyomásra volt szükség, így az addig használt kompresszort szintén lecseréltük. A levegőztető rendszer folyamatos működése alapvetően fontosságú, így a hibamentes üzemeltetés elérése érdekében további fejlesztések beépítését tervezzük a rendszerbe.

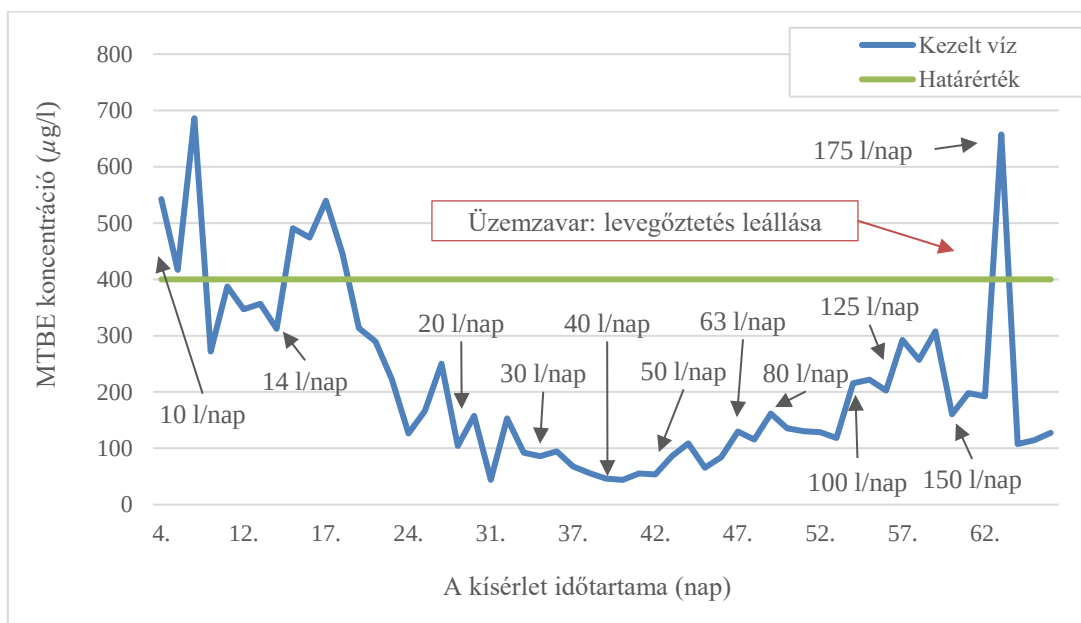
4.3.2. A reaktor terhelésének vizsgálata a szennyezett víz betáplálási sebességének növelésével

A továbbfejlesztett prototípus esetében a beoltás és a felépülő fázis (4.2. fejezet) a korábban ismertetett módon zajlott. A kísérletek legfontosabb céljaként a maximálisan betáplálható szennyezett vízmennyiség meghatározását tűztük ki, melyhez olyan módosításokat kellett elvégeznünk, amelyek lehetővé tették a megnövelt mennyiségű víz feladását. Elsőként megkezdtük a terepi viszonyokat megközelítő MTBE koncentrációjú (10-15 mg/l), mesterséges szennyezett víz betáplálását. Az előkészületek folytatásaként a szennyezett- és kezelt víz tartályainak méretét is növelnünk kellett a feladni kívánt térfogat vizsgálatához. A kísérletek során később a szennyezett területről érkező, talajvízkútból származó víz 600 literes IBC tartályból került betáplálásra. A feladott víz térfogatáramát több lépésben emeltük egészen a 250 l/napos betáplálás eléréséig.

A felmenő szennyezett víz MTBE koncentrációját a **7. ábrán** tüntettük fel. A kezelt vízben mért MTBE koncentrációkat a **8. és 9. ábrán** mutatjuk be, az előzetesen meghatározott 400 µg/l határérték feltüntetése mellett.



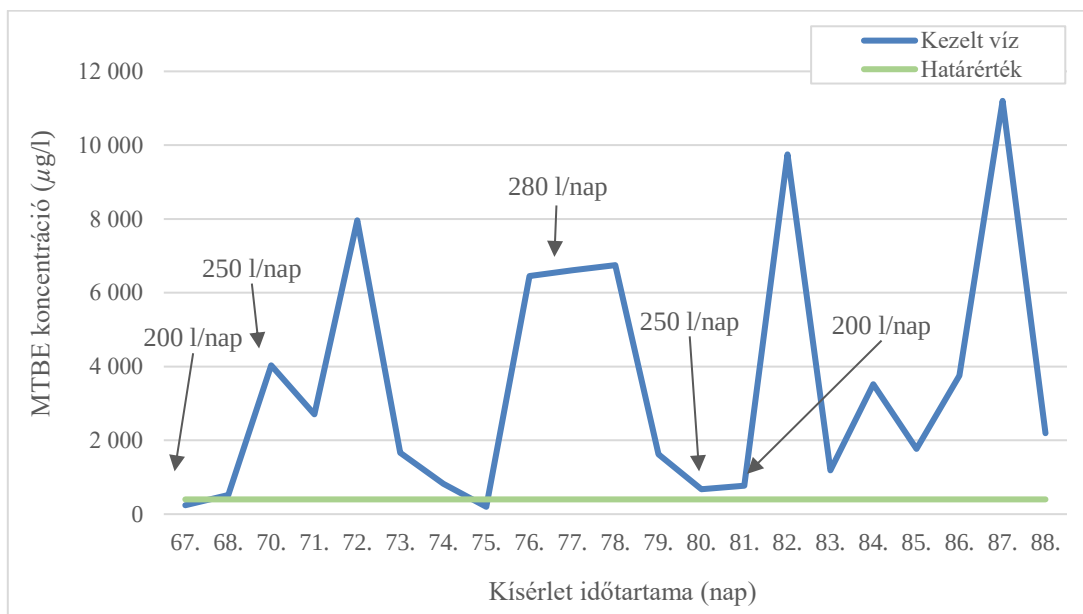
7. ábra: A szennyezett vízben mérhető MTBE koncentráció.



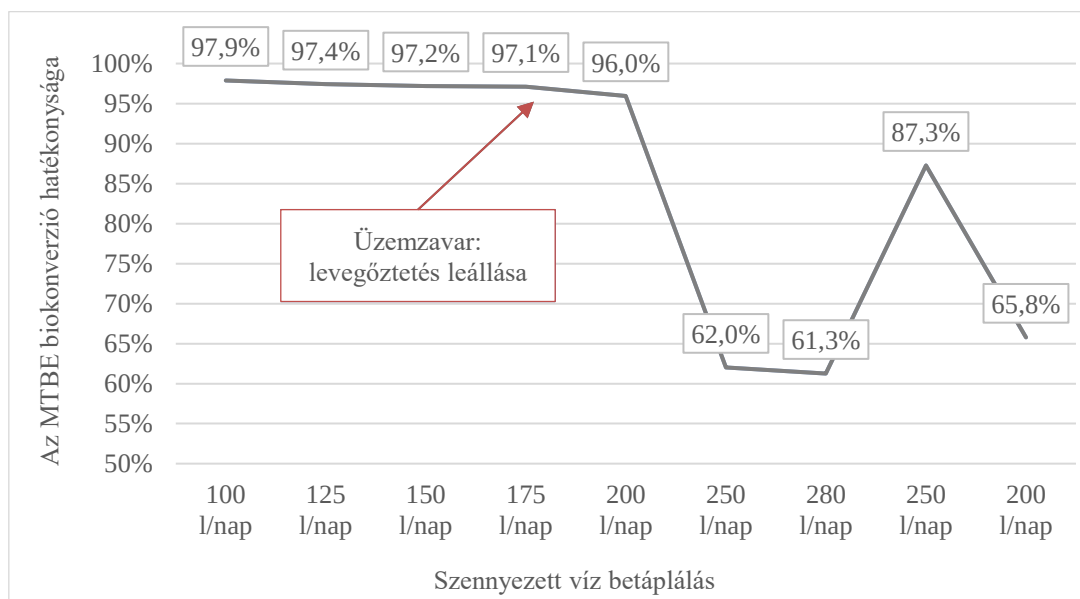
8. ábra: A kezelt víz megfelelő MTBE koncentráció értékei a folyamatos üzem során

A **8. ábrán** látható értékek alapján megállapítható, hogy a kísérlet legnagyobb részében a bioreaktor teljesítménye elvárásainknak megfelelő volt. A biokonverzió hatásfokát tekintve a 16 l/napos betáplálási sebességet követően 97% feletti lebontási hatékonysággal üzemelt egészen a 175 l/napos terhelés eléréséig. Azonban a kísérlet 61. napján a reaktor levegőztetése leállt a kompresszor hibája miatt, ezt követően az MTBE koncentráció a tisztított vízben

határérték felé emelkedett. Az üzemzavart ugyan elhárítottuk, a további üzemeltetés során a rendszer nem tudta tartani a kitűzött 400 $\mu\text{g/l}$ -es határértéket. Az ezt követően mért MTBE koncentrációk, melyeket a **9. ábrán** tüntettünk fel, nem feleltek meg az elvárt teljesítménynek, amelyért szinte biztosan a rendszer destabilizációja volt a felelős.



9. ábra: A kezelt víz nem megfelelő MTBE koncentráció értékei üzemzavar hatására.



10. ábra: Az MTBE lebontás hatékonyságának változása a kísérlet során.

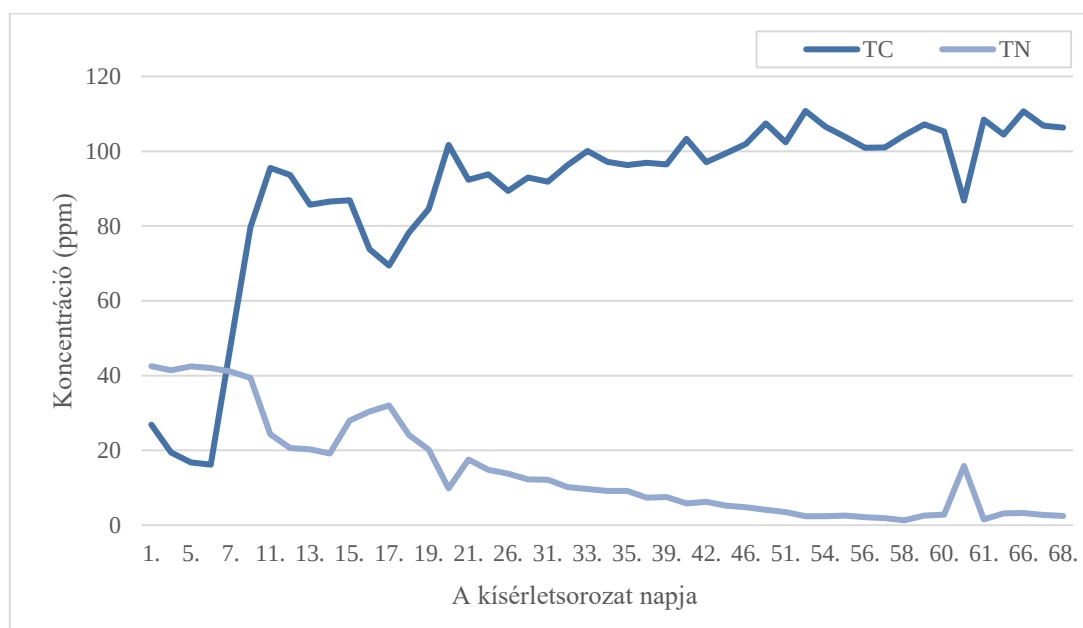
A **10. ábrán** látható, hogy a levegőztetés szünetelésének következményeként a rendszer hatásfoka nagymértékben visszaesett, a később mért értékek alapján sem tudott tartósan stabillá válni. Ez az eredmény alátámasztja, hogy aerob mikróbak alkalmazása esetén milyen

nagy szerepe van a megfelelő oldott oxigén koncentráció biztosításának a kívánt hatékonyságú biotranszformáció eléréséhez.

Hasonló üzemavarokat követően a terhelés ideiglenes csökkentése elősegítheti a rendszer helyreállítását, azonban a dolgozat elkészítéséig nem volt lehetőségünk a kísérletsorozat megismétlésére. További terveink között szerepel a kísérlet újraindítása, vizsgálva, hogy a levegőztető rendszer fejlesztésével megvalósítható-e a korábbiaknál nagyobb mértékű terhelés a kívánt hatékonyság teljesítése mellett.

4.3.3. Tápanyagkoncentráció, pH és oldott oxigén mennyisége a kísérletsorozat során

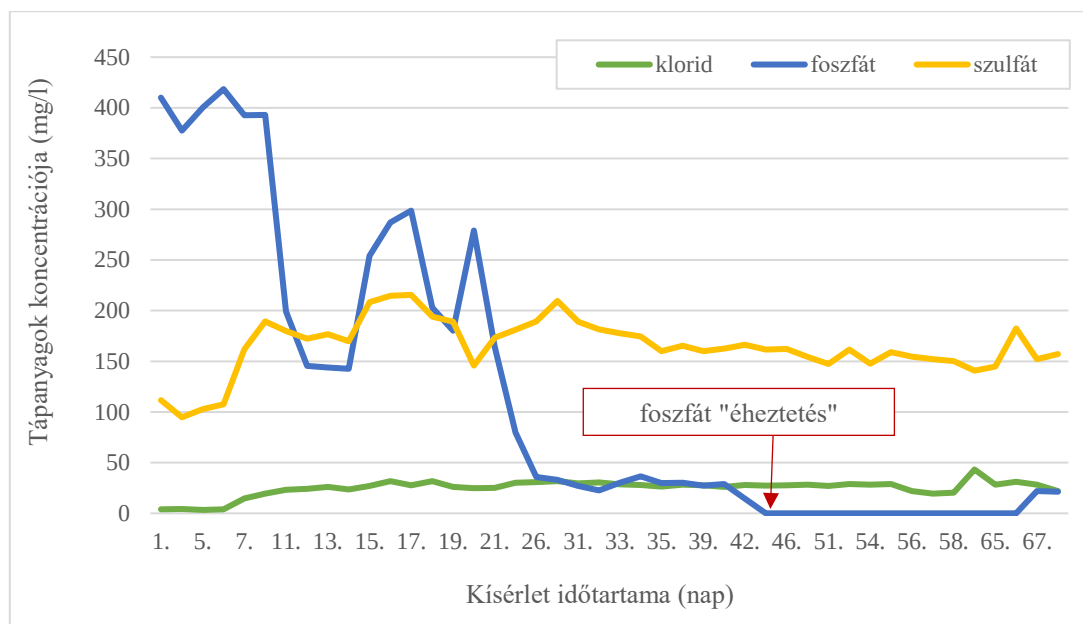
Folyamatos mintavételekkel monitoroztuk a reaktor tápközegében mérhető összes szén - és nitrogén mennyiségét, melynek eredményeit a **11. ábrán** tüntettük fel. Összevetve a **8. ábrán** látható MTBE koncentráció értékekkel, megállapítható, hogy a tápközegben mérhető szén és nitrogén aránya megfelelőnek bizonyult a szennyezőanyag hatékony lebontásához.



11. ábra: A tápközegben mérhető összes szén -és nitrogénkoncentráció.

Az anionok koncentrációjának nyomon követése érdekében is rendszeresen történt mintavétel. Esetünkben a foszfát, a szulfát, illetve a klorid mennyisége volt kiemelt jelentőségű a tápoldat pótlás szükségességének meghatározásához (**12. ábra**). Az MTBE biodegradációjához megfelelő mennyiségben sikerült adagolnunk az SMM tápoldatot. Érdekes jelenség, hogy az alkalmazott konzorcium jól tűri a foszfát ideiglenes hiányát, amely eredményre egy tápoldat adagoló pumpa hibája világított rá, ami miatt a kísérlet 45. napjától ideiglenesen elégtelen volt a foszfát utánpótlás. Továbbá meg szeretném említeni, hogy a kísérletsorozat 12. napján leállítottuk a kiegészítő mikroelemek adagolását, mivel a terepi

szennyezett vízzel keveredve kicsapódásokat eredményezett, azonban ez nem okozott észlelhető változást sem az anionok koncentrációjában, sem biokonverziós hatásokban.



12. ábra: A tápközegben mérhető anionok koncentrációja.

A tápközegben jelenlévő tápanyagok mennyiségének másodlagos monitorozásához vezetőképességméréseket végeztünk. A vezetőképesség $\sim 1000\text{--}1400 \mu\text{S}$ szélsőértékek között változott, átlagos értéke $1215 \mu\text{S}$ volt a kísérletek során.

Több alkalommal ellenőriztük a tápközeg pH-értékét is, amely a kísérletek alatt végig $7,1\text{--}7,2$ közötti értékeket mutatott. Ez a kémhatás optimálisnak bizonyult az alkalmazott mikrobiális konzorcium számára, valamint a térfogatáramnövelés hatására sem változott, azaz a rendszer pufferelése megfelelő mértékűnek volt tekinthető.

Az oldott oxigén mennyiségét időszakosan (47., 50., 51., 54., 59. napon) két ponton mértük, értéke a mérések alkalmával végig $5,5 (\pm 0,5) \text{ mg/l}$ volt a reaktorcső előtti, illetve $3,5 (\pm 0,5) \text{ mg/l}$ a reaktorcső utáni szakaszon. A levegőztető üzemzavarát követő mérésnél jelentős mértékű DO érték csökkentést tapasztaltunk. A leállást követően, a javítások elvégzéséig 3 órán keresztül egy kisebb kompresszorral biztosítottuk a konzorcium számára szükséges oldott oxigén mennyiséget.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A talajban és talajvízben kimutatható szennyezések közül gyakran kimutathatók a motorhajtóanyagokhoz adagolt oxigenátok, melyek közül az MTBE az egyik leggyakrabban előforduló szennyezőanyag. A bioremediáció széleskörűen alkalmazható, környezetkímélő és költséghatékony megoldást kínál az ilyen típusú üzemanyag-származékokkal szennyezett területek kármentesítésére is. Korábbi kutatások számos olyan egyedi törzset és mikrobiális konzorciumot írtak le, melyek képesek az MTBE-t kometabolizmussal, vagy egyedüli szén- és energiaforrásként hasznosítani.

A fluid ágyas bioreaktorok bioremedációs technológiaként történő alkalmazásával a biológiai kármentesítés hatékonysága nagymértékben és célzottan növelhető. A bioreaktorban a kezelendő közeg (pl. talajvíz) szennyezőanyag-tartalmát a hordozótölteten kitapadó mikroorganizmusok bontják le egyszerűbb vegyületekké. A fluidizálással elérhető nagy fajlagos felület következtében ez a reaktortípus tekinthető az egyik leghatékonyabb elrendezésnek, amellett, hogy az alkalmazott, adott szennyezőanyag biodegradációját végző mikroorganizmusok számára létfontosságú feltételek (pl. tápanyagok, hőmérséklet és pH optimum, aerob/anaerob körülmények) az alkalmazott mikróbák igényeiknek megfelelően szabályozhatók. Továbbá, a fluid ágyas bioreaktorok nagy térfogatárammal, folyamatos üzemben is működtethetők, ezáltal gazdaságosan alkalmazhatók nagy kiterjedésű szennyezett területek kármentesítésére.

A bioreaktorok terepi működtetése során figyelembe kell venni, hogy a tápanyagpótlás és a hőmérséklet szabályozása is költséghatékony módon történjen. Ennek érdekében felmértük kívánt mértékű MTBE bontáshoz szükséges tápanyagok; a nitrogén és a foszfát minimális és optimális koncentrációját, valamint vizsgáltuk az ehhez tartozó hőmérséklettartományt. A tápanyagok esetében elegendőnek bizonyult az eredetileg alkalmazott tápoldatba bemért nitrogén- és foszformennyiség tizedének adagolása a kívánt MTBE biodegradáció eléréséhez. A hőmérséklet tesztek eredményeinek megfelelően a konzorcium MTBE, illetve TBA lebontási képessége a 24-26 °C-os hőmérséklettartományban bizonyult a leghatékonyabbnak.

Eredményeink alapján, a folyamatos üzem során a maximális, hosszabb távon is megbízhatóan üzemeltethető terhelést maximálisan 175 l/napos térfogatáramban határoztuk meg, miközben a feladott szennyezett víz MTBE tartalma átlagosan 12-15 mg/l volt. Elképzeléseink szerint stabilabb levegőztető rendszer alkalmazásával a terhelhetőség tovább fokozható.

Az alkalmazott beállítások mellett a baktériumok átlagosan 97-99%-os konverziós hatásfokkal bontották le az MTBE-t. Ezt támasztották alá az analitikai mérések eredményei is, amelyek segítségével nyomon követtük az MTBE mellett a TBA köztitermék koncentrációváltozását is. Ezek alapján megállapítható, hogy az kísérleteink során alkalmazott konzorciummal az MTBE biodegradációja nem áll meg a TBA-nál, hanem feltételezhetően teljes mineralizáció megy végbe a bioreaktorban lezajló reakciók eredményeképpen.

Az általunk tervezett és működtetett reaktor legnagyobb előnye, hogy hatékony és gazdaságos lehetőséget biztosít egy full-scale reaktor terepi megvalósításhoz nélkülözhetetlen üzemeltetési paraméterek teszteléséhez és optimalizáláshoz. Az elrendezés mindemellett alkalmasnak bizonyul különféle szennyezőanyagok változatos körülmények között végbemenő lebontásának modellezésére, amely lehetővé teszi az univerzális felhasználást és a további fejlesztések elvégzését, igazodva a kezelendő területre jellemző viszonyokhoz. Továbbá, a bioreaktorban nagyobb térfogatban, folyamatos üzemeltetés mellett is tesztelhetővé válnak különböző, újonnan izolált baktériumok biodegradációs képességei, valamint az ezeket meghatározó paraméterek egyidejű vizsgálata is.

Hosszú távú terveink között szerepel a reaktor működtetésének automatizálása és a távoli elérhetőség lehetővé tétele, az új rendszer kiépítése már folyamatban van. Tervezzük továbbá anaerob és tandemrendszerű bioreaktor prototípusok fejlesztését és tesztelését is, melyekben terveink szerint összetett szennyezéseket tartalmazó talajvizek hatékony kezelése is kivitelezhetővé válik.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Bernula Péter tudományos munkatársnak és konzulensemnek, Dr. Perei Katalin egyetemi adjunktusnak, akik szakmai tudásukkal, tanácsaikkal és építő kritikáikkal segítették a dolgozat elkészítését.

Köszönöm a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közhasznú Nonprofit Kft. Biotechnológiai Divízió igazgatójának, Dr. Kiss Istvánnak és az Alkalmazott Mikrobiológiai Osztály vezetőjének, Dr. Fehér Balázsnak, hogy lehetőséget biztosítottak a kísérletek elvégzéséhez és a dolgozat megírására.

Köszönettel tartozok továbbá munkatársaimnak, különösen Dr. Zsilinszky Ingridnek dolgozatom szakmai áttekintéséért, Ábrahám Laurának, Juhász Csillának és Vindics-Almási Karolának, amiért bármilyen kérésem, kérdésem esetén azonnal rendelkezésemre álltak és bízattak.

Továbbá szeretném kifejezni a hálámat környezetmérnök szaktársamnak, Gulyás Illésnek a folyamatos támogatásért, valamint szüleimnek, testvéreimnek és barátaimnak, hogy a dolgozatom elkészítésének ideje alatt nélkülözni tudtak, türelemmel és megértéssel voltak irántam.

A dolgozat a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-22-2-SZTE-355 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési És Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.



7. IRODALOMJEGYZÉK

- 1) Aparicio J.D., Raimondo E.E., Saez J.M., Costa-Gutierrez S.B., Alvarez A., Benimeli C.S., Polti M.A. (2022): The current approach to soil remediation: A review of physicochemical and biological technologies, and the potential of their strategic combination. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(2), 107-141.
- 2) Attarian P., Mokhtarani N. (2021): Feasibility study of aerobic cometabolism biodegradation of MTBE by a microbial consortium: Biomass growth and decay rate. *Journal of Water Process Engineering*, 44, 102338.
- 3) Azubuike C.C., Chikere C.B., Okpokwasili G.C. (2016): Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32:180.
- 4) Bhattacharjee G., Gohil N., Vaidh S., Joshi K., Vishwakarma G.S., Singh V. (2020): Microbial bioremediation of industrial effluents and pesticides. In Pandey V.C., Singh V. (szerk.): *Bioremediation of Pollutants*, Elsevier Inc., 287-302.
- 5) Botos B.; Bulla M.; Csorba A.; Faragó T.; Gyebnár I.; Kiss R.; Láng I.; Nathon I.; Nechay G.; Poós M.; Rott N.; Tőkés I.; Vásárhelyi J., 1992: Az Egyesült Nemzetek Szervezetének Környezet és Fejlődés Konferenciája: tények és adatok. (szerk.: Bulla M.; Faragó T.; Nathon I.) *Az ENSZ Környezet és Fejlődés Konferenciájának Magyar Nemzeti Bizottsága*, Budapest, 64.
- 6) Cachada A., Rocha-Santos T.A.P., Duarte A.C. (2018): Soil and pollution: an introduction to the main issues. *Soil Pollution: From Monitoring to Remediation*, Elsevier, 1–28.
- 7) California Environmental Protection Agency Report (1998): An Overview of the Use of Oxygenates in Gasoline.
- 8) Chikere C.B., Chikere B.O., Okpokwasili G.C. (2012): Bioreactor-based bioremediation of hydrocarbonpolluted Niger Delta marine sediment, Nigeria. *3 Biotech*, 2(1), 53-66.
- 9) Debor L., Basriaens L. (2007): Bioremediation of groundwater contaminated with MTBE/TBA. *Handbook of Environmental Chemistry*, 5, 159-190.
- 10) Drogos D.L., Diaz A.F. (2002): Physical properties of fuel oxygenates and additives. In: Diaz A.F., Drogos D.L. (szerk.) *Oxygenates in Gasoline: Environmental Aspects*, American Chemical Society, 258-279.
- 11) Fayolle F., Vandecasteele J.P., Monot F. (2001): Microbial degradation and fate in the environment of methyl tert-butyl ether and related fuel oxygenates. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 339–349.

- 12) Focht D.D. (1994): Microbiological Procedures for Biodegradation Research. *Methods of Soil Analysis: Part 2 Microbiological and Biochemical Properties*, 5, 407-426.
- 13) Gordian M.E., Huelsman M.D., Brecht M.L., Fisher D.G. (1995): Health effects of methyl tertiary butyl ether (MTBE) in gasoline in Alaska. *Alaska Medicine*, 37(3), 101-3, 119.
- 14) Goswami M., Chakraborty P., Mukherjee K., Mitra G., Bhattacharyya P., Dey S., Tribedi P. (2018): Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 6(5), 223-231.
- 15) Halász J., Hannus I., Kiricsi I. (2012): *Környezetvédelmi technológia*. JATEPress, Szeged.
- 16) Hatzinger P.B., McClay K., Vainberg S., Tugusheva M., Condee C.W., Steffan R.J. (2001): Biodegradation of methyl tert-butyl ether by a pure bacterial culture. *Applied Environmental Microbiology*, 67:5601–5607.
- 17) Hyman M. (2019): Aerobic Degradation of Gasoline Ether Oxygenates. In: Rojo, F. (szerk.) *Aerobic Utilization of Hydrocarbons, Oils, and Lipids*, Springer Cham, 389-419.
- 18) Johanson G., Nihlén A., Löf A. (1995): Toxicokinetics and acute effects of MTBE and ETBE in male volunteers. *Toxicology Letters*, 82/83, 713-718.
- 19) Kane S.R., Chakicherla A.Y., Chain P.S., Schmidt R., Shin M.W., Legler T.C., Scow K.M., Larimer F.W., Lucas S.M., Richardson P.M., Hristova K.R. (2007): Whole-genomeanalysis of the methyl tert-butyl ether-degrading beta-proteobacterium *Methylibium petroleiphilum* PM1, *Journal of Bacteriology*, 189(5) 1931–1945.
- 20) Keller A., Froines J., Koshland C., Reuter J., Suffet I., Last J. (1998): Health &Environmental Assessment of MTBE, Report to the governor and legislature of the State of California: University of California.
- 21) Kim Y.H., Engesser K.H. (2004): Degradation of alkyl ethers, aralkyl ethers, and dibenzyl ether by *Rhodococcus* sp. strain DEE5151, isolated from diethyl ether-containing enrichment cultures. *Applied Environmental Microbiology*, 70, 4398–4401.
- 22) Larasati A., Fowler G.D., Graham N.J. (2021): Insights into chemical regeneration of activated carbon for water treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105555.
- 23) Levchuk I., Bhatnagar A., Sillanpaa M. (2014): Overview of technologies for removal of methyl tert-butyl ether (MTBE) from water. *Science of the Total Environment*, 476, 415-433.
- 24) Li S., Li D., Yan W. (2015): Cometabolism of methyl tert-butyl ether by a new microbial consortium ERS. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(13), 10196–10205.

- 25) Liu C.Y., Speitel G.E., Georgiou G. (2001): Kinetics of methyl t-butyl ether cometabolism at low concentrations by pure cultures of butane-degrading bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 67(5), 2197–2201.
- 26) Nagda A., Meena M., Shah M.P. (2021): Bioremediation of industrial effluents: A synergistic approach. *Journal of Basic Microbiology*, 62(3-4), 395-414.
- 27) Nandal M., Solanki P., Rastogi M., Hooda R. (2015): Bioremediation: A Sustainable Tool for Environmental Management of Oily Sludge. *Nature Environment and Pollution Technology*, 14(1), 181-190.
- 28) Okeke B.C., Frankenberger Jr. W.T. (2003): Biodegradation of methyl tertiary butyl ether (MTBE) by a bacterial enrichment consortia and its monoculture isolates. *Microbiological Research*, 158, 99–106.
- 29) Özkaya B., Kaksonen A.H., Sahinkaya E., Puhakka J.A. (2019): Fluidized bed bioreactor for multiple environmental engineering solutions. *Water Research*, 150, 452-465.
- 30) Perei K., Pernyeszi T., Lakatos Gy. (2012): Bioremediáció.
- 31) Salanitro, J. P., Diaz, L. A., Williams, M. P., Wisniewski, H. L. (1994): Isolation of a bacterial culture that degrades methyl t-butyl ether. *Applied Environmental Microbiology*, 60, 2593–2596.
- 32) Schügerl K. (1997): Three-phase-biofluidization - Application of three-phase fluidization in the biotechnology - A review. *Chemical Engineering Science*, 52(21-22), 3661-668.
- 33) Shahidi Bonjar G.H (2004): Potential Ecotoxicological Implication of Methyl tert-butyl ether (MTBE) Spills in the Environment. *Ecotoxicology*, 13(7), 631–635.
- 34) Simándi Béla (szerk.): Vegyipari műveletek II. Anyagátadó műveletek és kémiai reaktorok, Typotex, Budapest.
- 35) Singh N.K., Pandey S., Singh R.P., Gani K.M., Yadav M., Thanki A., Kumar T. (2020): Bioreactor and bioprocess technology for bioremediation of domestic and municipal wastewater. In: Pandey V.C., Singh V. (szerk.): *Bioremediation of Pollutants, From Genetic Engineering to Genome Engineering*, Elsevier, 251-273.
- 36) Stupp D, Gass M, Leiteritz H, Pijls C, Thornton S, Smith J, Dunk M, Grosjean T, den Haan K (2012): Gasoline ether oxygenate occurrence in Europe, and a review of their fate and transport characteristics in the environment. Concawe, Brussels.
- 37) Tekere M. (2019): Microbial Bioremediation and Different Bioreactors Designs Applied. In: Jacob-Lopes E., Zepka L.Q. (szerk.): *Biotechnology and Bioengineering*. IntechOpen, London.

- 38) Tenenbein M. (1997): Leaded gasoline abuse: the role of tetraethyl lead. *Human & Experimental Toxicology*, 16, 2017-222.
- 39) Thornton S.F., Nicholls H.C.G., Rolfe S.A., Mallinson H.E.H., Spence M.J.: Biodegradation and fate of ethyl tert-butyl ether (ETBE) in soil and groundwater: a review, *Journal of Hazardous Materials*, 391, 122046.
- 40) Wan L., Alvarez-Cuenca M., Upreti S.R., Lohi A. (2010): Development of a three-phase fluidized bed reactor with enhanced oxygen transfer. *Chemical Engineering and Processing*, 49, 2–8.
- 41) Werner I., Koger C.S., Deanovic L.A., Hinton D.E. (2001): Toxicity of methyl-tert-butyl ether to freshwater organisms. *Environmental Pollution*, 111, 83-88.
- 42) Zaitsev G.M., Uotila J.S., Haggblom M.M. (2007): Biodegradation of methyl tert-butyl ether by cold-adapted mixed and pure bacterial cultures, *Applied Microbiology and Biotechnology* ,74(5), 1092–1102,
- 43) Zhou D., Wang H., Bi X., Dong S. (2008): Biofilm performance in an aerobic fluidized bed reactor during the start-up period. *2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 3100-3105.
- 44) Zydney A.L. (2015): Continuous downstream processing for high value biological products: A Review. *Biotechnology and Bioengineering*, 113(3), 465–475.

Internetes hivatkozások

- 1) 219/2004. (VII.21.) Korm. rendelet a felszín alatti vizek védelméről.
forrás: <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0400219.kor>
(Letöltés dátuma: 2022.02.16.),
- 2) United States Environmental Protection Agency. Underground Storage Tanks (USTs): Fuel Oxygenates and USTs.
forrás: <https://www.epa.gov/ust/fuel-oxygenates-and-usts>
(Letöltés dátuma: 2022.01.19.)