

Miskolci Egyetem

Anyag- és Vegyészmérnöki Kar



OTDK

DOLGOZAT

Kecskés Karina

2025

Dr. Szőri-Dorogházi Emma
tudományos munkatárs

Kecskés Karina
MSc-hallgató

Miskolci Egyetem

Anyag- és Vegyészmérnöki Kar

**Természeti alapú részecskék
mikroorganizmus adszorpciós
képességének vizsgálata**

Kecskés Karina

2025

Dr. Szőri-Dorogházi Emma
tudományos munkatárs

Kecskés Karina
MSc-hallgató

Tartalomjegyzék

Absztrakt.....	4
Köszönetnyilvánítás.....	5
1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés	2
3. Célok.....	6
4. Anyagok és módszerek.....	7
4.1. Felhasznált anyagok.....	7
4.2. Alkalmazott táptalajok és tápoldatok.....	7
4.2.1. LB-tápoldat	7
4.2.2. LB-agar táplemez	8
4.2.3. Fiziológias sóoldat.....	8
4.3. Az adszorbens részecskék jellemzése.....	9
4.3.1. Na-CM agyag részecske (kontroll anyag a kísérletekhez)	9
4.3.2. Na-Zr 2,5 agyag részecske (tesztelni kívánt anyag).....	9
4.4. A vizsgálati módszerek.....	10
4.4.1. Starter (kezdeti) baktériumszuszpenzió elkészítése, jellemzése	10
4.4.2. Adszorpciós baktériumszuszpenzió elkészítése.....	11
4.4.3. Vákuumszűrési vizsgálat.....	11
4.4.4. Ülepedési vizsgálat.....	12
4.4.5. Centrifugálási vizsgálatok.....	12
4.4.6. Ülepedés és újra-szuszpendálás vizsgálata.....	13
5. Eredmények és kiértékelésük	14
5.1. Elővizsgálatok eredményei.....	14
5.1.1. Starter sejtszuszenzióval végzett előkísérletek:	14
5.1.2. Elővizsgálatok a tesztelendő anyagokkal:	15
5.2. Ülepedési vizsgálatok eredményei.....	16
5.3. A centrifugálási vizsgálatok eredményei	18
5.4. Az ülepedés és újra-szuszpendálás vizsgálatának eredményei.....	21
6. Összefoglalás	24
Irodalomjegyzék	27
Mellékletek.....	30

Absztrakt

A jövő vízhiányának megelőzése és a természetes vizek védelme érdekében az egyes ipari ágazatok egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek a hulladékgazdálkodásra és szennyvízkezelésre is. A tisztított ipari szennyvíz visszaforgatására (pl. technológiai vízként), újra hasznosítására (pl. öntözővízként) szigorú szabályozások vonatkoznak, melynek értelmében számos kémiai, fizikai és biológiai paramétert kell figyelembe venni. Ez utóbbihoz tartozik a kezelt vizek mikrobiológiai összetételének meghatározása és az egyes mikroorganizmus típusok határértéken belül tartása. Erre már számos módszer áll rendelkezésre, melyek közül legelterjedtebb a szűrés, ülepítés és az adszorpció. Az adszorpciós víztisztítás során leggyakrabban aktív szénnel kötik meg a különböző szerves (pl. festék) vagy szervetlen (pl. nehéz fém) szennyezőket. Azonban megfelelő adszorbensek alkalmazásával lehetőség van a természetes és mesterséges vizek minőségét rontó mikroorganizmusok eltávolítására is. Az alkalmazott adszorbensek tulajdonságait úgy lehet alakítani, hogy azok felszínén össze tudjuk gyűjteni a megfelelő baktériumokat a szennyvízből, majd azokat az adszorbenssel együtt ülepítéssel eltávolíthatjuk a rendszerből.

Dolgozatomban két természetes alapú agyag részecskét, a nátriummal telített montmorillonit (Na-CM) és a cirkóniumpilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) részecskét vizsgáltam és hasonlítottam össze baktérium adszorpciós képességük alapján, illetve kidolgoztam annak módszerét, hogy ezt az adszorpciós hatékonyságot, biológiai szempontból, hogyan lehet a legjobban kimutatni. Vizsgálati eredményeim igazolták, hogy a Na-Zr 2,5 részecskék alkalmasak baktérium tartalmú szuszpenziókból a mikroorganizmusok adszorpciójára, és ezzel a vizsgált folyadék mikroorganizmus mennyiségének csökkentésére. Ez a fajta sejtszámcsökkenés szignifikánsan nagyobb volt, mint amit az adszorbens nélküli rendszereknél tapasztaltam. Pozitív kísérleti eredményeim lehetővé teszik ezen a részecskék hatékonyságának kipróbálását valódi szennyvízmintákkal is, hosszú távon pedig esetleges alkalmazásukat már meglévő víztisztítási eljárásokban.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöttem tartozom Dr. Németh Zoltánnak és kutatócsoportjának, akik rendelkezésünkre bocsátották a tesztelni kívánt adszorbens részecskéket, illetve a hozzájuk tartozó adatokat is. Köszönöttem tartozom még konzulensemnek, Dr. Szőri-Dorogházi Emmának, akinek az iránymutatása és tanácsai nélkül ez a dolgozat nem születhetett volna meg.

Szeretném köszönetemet kifejezni még Alberti Orsolya BSc hallgatónak, aki a vizsgálatok előkészületeiben nyújtott számomra segítséget. Valamint hálás köszönetem még két kollégámnak, Gerzsenyi Tímeának és Jordán Anikónak, akik remek munkakörnyezetet biztosítottak a kezdetektől fogva számomra.

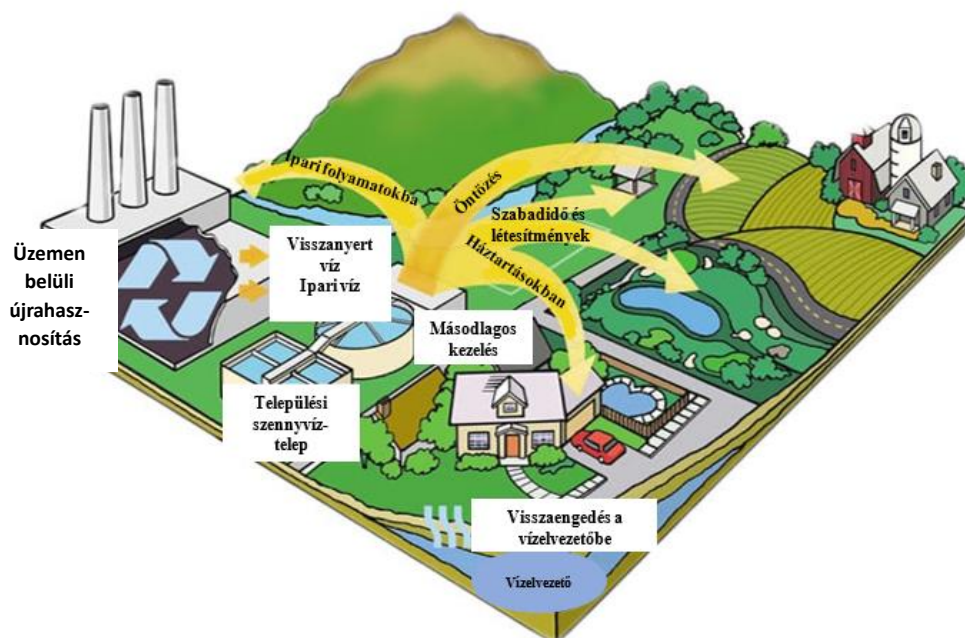
Végül, de nem utolsó sorban köszönöttem tartozom még Prof. Dr. Viskolcz Bélának, aki lehetőséget adott számomra, hogy munkámat az Felsőoktatási és Ipari Együttműködési Központban végezzem el, ezzel biztosítva a szükséges eszközöket és anyagokat is a kísérletekhez.

1. Bevezetés

A víz az élet elixírje. A Föld felületének 71 %-át borítja víz, ennek azonban mindössze 2,5 %-a édesvíz [1]. A víz létfontosságú az emberek, állatok és a növényvilág részére, de fontos nyersanyag az ipari termelési folyamatokban is. Ebből is következik, hogy az ipar az egyik legjelentősebb vízfogyasztó, a rendelkezésre álló vízkészletek kb. 22 %-át hasznosítja [2]. A népességnövekedés és a rohamos gazdasági fejlődés miatt életünk egyik legfontosabb feladata a természetes vizeink védelme, minőségük megőrzése. Ennek egyik lehetősége a szennyvíz kezelése és tisztítása. Manapság a világban azonban egyre inkább a szennyvíz újra hasznosításáról esik szó a tisztítás helyett [3]. Ennek lényege, hogy a szennyvízben lévő hasznos anyagokat kinyerjük és újra felhasználjuk [3]. Mindez a fenntartható fejlődés szükségleteit szolgálja. Mivel a szennyvizek különböző eredetűek lehetnek, így összetételük is eltérő, ami különböző tisztítási folyamatok alkalmazását igényli. Mechanikai tisztítás során szűrést és ülepitést alkalmaznak a nagyobb szennyező részecskék eltávolítására, biológiai tisztítás során aerob baktériumokkal bonttatják le a szerves anyagokat, míg a kémiai tisztítás során desztillációt, fordított ozmózist, ioncserét és adszorpciót is alkalmaznak [4]. Megfelelő adszorbensek választásával lehetőségünk van a vízből nemcsak szerves és szervetlen szennyezők eltávolítására, de például mikroorganizmusok kiszűrésére is. Napjainkban egyre elterjedtebbé válik az agyagalapú részecskék ilyen célú alkalmazása, hiszen ezen részecskék a megfelelő módosításokkal kiváló adszorbensként működhetnek a szennyvíztisztításban történő baktérium megkötésre. Munkám célja volt két természetes alapú agyagrészecske (melyeket Dr. Németh Zoltán kutatócsoportja készített el), a nátriummal telített montmorillonit (Na-CM) és a cirkóniumpilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) részecskék baktérium sejteket adszorbeáló képességének vizsgálata [5], a vizsgálati protokollok kidolgozása, szakirodalmakból ismert vizsgálati módszerek saját mintákra való adaptálása és a különböző vizsgálati eljárások pontosságának összevetése. Feladatom volt továbbá a két tesztelt részecske adszorpciós hatékonyságának összehasonlítása is, valamint javaslatétel arra vonatkozólag, hogy a tesztelt részecskék milyen további adszorpciós folyamatokban lehetnek alkalmazhatóak.

2. Irodalmi áttekintés

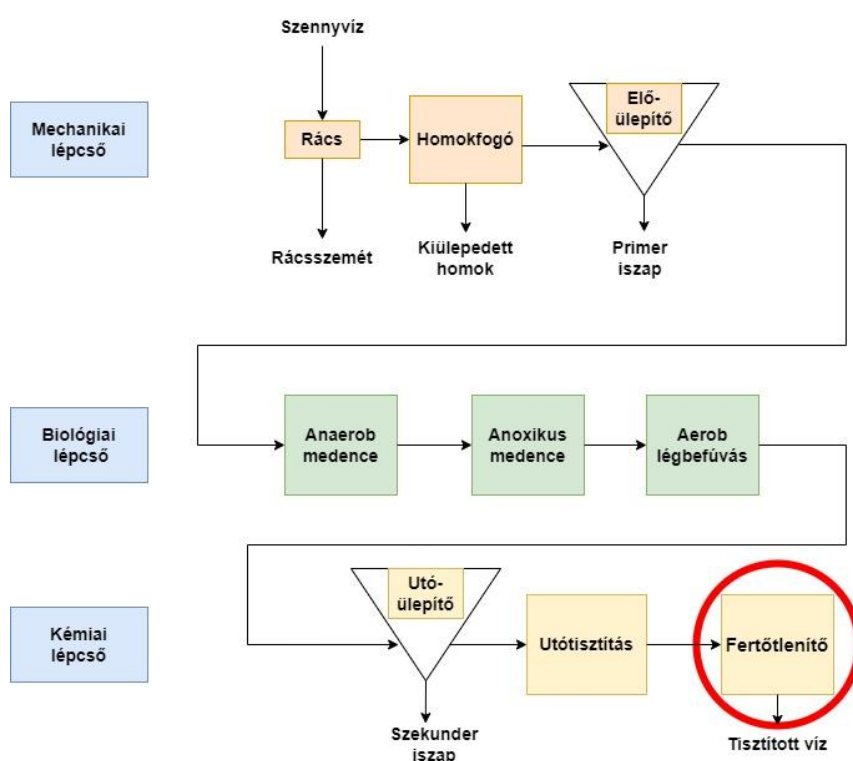
A fenntartható fejlődés jegyében nagyon fontos szerepet játszik életünkben a vízkezelés és az ésszerű újrahasznosítás. Ezt mi sem bizonyítja jobban, mint hogy egyre több iparvállalat fektet egyre nagyobb hangsúlyt a szennyvíztisztítás fontosságára. A pontos képhez hozzátartozik az is, hogy évről évre egyre szigorodó szabályozások lépnek életbe, melyek még inkább abba az irányba terelik a vállalatokat, hogy az ipari termelésben használt vizek tisztításával, újra hasznosításával is foglalkozzanak (1. ábra). Példaként említhető az a 2020-ban megjelent rendelet is, mely a víz újra használására vonatkozó minimumkövetelményeket foglalta össze [6]. Mindezen szabályzásokra nemcsak gazdasági szempontból van szükség, de saját magunk és ökoszisztémánk védelmében is. Hiszen amennyiben nem kellő mértékben tisztítva forgatjuk vissza a természetbe a szennyvizet (1. ábra), az erőteljesen ronthatja a befogadó természetes vízközeg minőségét [7] ez pedig kihatással lesz egész életünkre. Az újrahasznosítás nem csak magára a vízre kell, hogy korlátozódjon, de a szennyvízből kinyert komponensek minél sokrétűbb újra felhasználására is törekednünk kell. Gondoljunk csak például az egyes ipari tevékenységekből származó sós szennyvízre, melyből a visszanyert só még értékes alapanyag lehet további folyamatokhoz.



1. ábra Az ipari szennyvíz újrafelhasználásának lehetőségei [8]

A szennyvíztisztítás lépéseit alapvetően három csoportba sorolhatjuk: fizikai, biológiai és kémiai tisztítás [4], melynek lépéseit a 2. ábra szemlélteti. Először egy mechanikai tisztítás

történik, ahol a jelenlévő lebegőanyagok eltávolítására kerül sor, leggyakrabban ülepitéssel. Amennyiben az ülepitendő szemcsék koncentrációja magasabb, mint 1 g/l, akkor a szemcsék már egymást akadályozzák az ülepedésben [9], ebben az esetben koaguláló- és flokkulálószer alkalmazása javasolt. A mechanikai tisztítás berendezései lehetnek: a rácsok, szűrők, homokfogók és ülepitők [9]. Ezen elsődleges tisztítási folyamat során tesszük a vizeket alkalmassá a biológiai tisztításra, amikor is mikroorganizmusokkal történik a szerves anyagok lebontása. A víztisztítás harmadik fázisa a kémiai tisztítás, melyben a vízben jelenlévő ionok eltávolítása történik ioncserével [4], továbbá az ammónia- és nehézfém-tartalom csökkentése is. Utóbbiak eltávolítására az egyik legjobb módszer az adszorpció.



2. ábra A szennyvíztisztítás sematikus folyamatábrája

Adszorpció során a folyadék vagy gáz fázisban jelenlévő atomok, ionok vagy molekulák kötődnek meg egy szilárd felületen, aktív centrumon [10]. Ez a kötődés szelektív jellegű, bizonyos molekulák adott adszorbenshez (szilárd anyag) jobban kötődnek, még más atomok kevésbé. A szilárd fázishoz adszorbeálódott fluid molekulákat nevezzük adszorbeátumoknak [10]. Az adszorbensek fajlagos felülete általában nagyon nagy (több száz m^2/g [11]), viszont mégis véges, azaz idővel telítődnek. Ebben az esetben a kimerült szilárd fázist regenerálni szükséges, az adszorbeálódott anyagokat el kell távolítani. Ezt a folyamatot deszorpciónak nevezzük [10].

Ahogy korábban is említettem az adszorpciónak nagy jelentősége van például a folyadékok tisztításánál különböző szerves és szervetlen szennyeződések megkötése révén [4]. Az iparban is alkalmazzák ezt a módszert, ahol gyakran használt adszorbens anyag a szilikagél, zeolitok és az aktív szén. Az aktív szenet sikeresen alkalmazzák mérgező anyagok, például mikotoxinok megkötésére [11], valamint elterjedten alkalmazzák őket nehézfém ionok kinyerésére is [12]. Utóbbiak csak oldott formában toxikusak, oldhatatlan formában biológiailag inaktívak. Azonban például a víz pH-jának változásával ezek könnyen aktiválódnak a szennyvízben, ezért is kiemelten fontos onnan eltávolítani őket [7]. Jelenleg a legtöbb kutatás arra irányul, hogy olyan felületmódosított aktív szeneket hozzanak létre, melyek a szennyezőanyagokat szelektíven kötik meg a rendszerből [13]. A zeolitok jelentős pozitív kation kötési kapacitással rendelkeznek, de rendkívüli módon érzékenyek a pH-ra [11].

Megfelelő adszorbensek választásával a szennyvizekből mikroorganizmusokat is meg lehet kötni. A tisztítás ezen lépése a 2. ábra során felvázolt tisztítási folyamat fertőtlenítő szakaszába illeszthető be (pirossal bekeretezett rész). Jelenleg a legelterjedtebb fertőtlenítési eljárások az UV-kezelés, ózonos kezelés és a klórozás [14]. A fertőtlenítési folyamatok alatt a vízben jelenlévő (elsősorban patogén) mikroorganizmusok kivonását értjük [15]. Ipari szennyvizekben erre azért van szükség, mert egyes mikroorganizmusok jelenléte azt mutatja számunkra, hogy termeléshez használt víz valamilyen kommunális szennyvízzel szennyeződött, ami viszont egészségügyi kockázattal jár. Magyar és nemzetközi szabványok rögzítik, mely mikroorganizmusokat kell ilyen szempontból indikátor organizmusnak tekinteni, és mi az a maximális mennyiségük, ami még nem igényel további beavatkozást. Amennyiben ezen indikátor organizmusokat ki lehet mutatni, vagy koncentrációjuk meghaladja a szabványokban előírt határértéket, úgy a vizek további kezelésére, tisztítására van szükség az újra felhasználásuk előtt. Ilyen indikátor szerepet tölthet be például az *Escherichia coli* (*E. coli*) és számos *Enterococcus* faj is, melyek megengedett koncentrációja a víz további felhasználásától függ [16].

Az *E. coli* egyébként egy Gram negatív baktérium, melynek veszélytelen törzsei az emberi emésztőrendszer normál flórájához tartoznak, K2-vitamint termelnek a számunkra [17]. Azonban patogén változatai súlyos tüneteket: hasmenést, hányást és lázat is okozhatnak, ezért kiemelten fontos, hogy a szennyvizekben azonosítsuk őket [18] és meghatározzuk pontos koncentrációjukat.

A különböző víztestekben a mikroorganizmusok mennyiségének csökkentésére azok az adszorbens anyagok alkalmazhatóak sikerrel, melyek hidrofil tulajdonsággal rendelkeznek

(hogy stabil kolloidként működjenek vizes közegben) és lehetőleg többféle lehetőség is van felületük kémiai módosítására [19]. Fontos elvárás még, hogy pozitív felületi töltéssel rendelkezzenek, hiszen a baktériumok sejtmembránja negatív töltésűnek tekinthető a membránt felépítő foszfolipidek és lipopoliszacharidok jelenléte miatt [20]. Ezen elvárásoknak megfelelnek bizonyos agyagásványok is, melyek nem csak nagy mennyiségben fordulnak elő a természetben, hanem könnyen módosíthatóak annak érdekében, hogy vizek fertőtlenítésében (mikroorganizmus mentesítésében) hasznosíthassuk őket [15].

A különböző folyadékok (végső soron a szennyvizek) mikroorganizmus mentesítésekor azonban nemcsak az a fontos, hogy milyen adszorbenst használunk, de az is, hogy hogyan tudjuk kimutatni az adszorpció végbemenetelét. Ennek egyik legkézenfekvőbb módja a minta mikroszkópos (Pásztázó Elektron Mikroszkóp, SEM) vizsgálata [19]. Ez a kimutatási módszer azonban drága műszer és az ilyen fajta minták vizsgálatában jártas szakember munkáját igényli. Olyan esetekben, amikor egy még ismeretlen adszorbenssel dolgozunk, és ezen anyag alkalmazhatóságának hatékonysága nem ismert, célszerűbb lehet egy ennél olcsóbb, de hasonlóképpen megbízható módszer alkalmazása az adszorpció igazolására. Nem mellesleg a mikroszkópos felvételekkel ugyan bemutathatjuk, hogyan kötődnek a mikroorganizmusok egy-egy adszorbenshez, de arra nem kapunk választ, hogy az adszorpció hogyan, milyen mértékben változtatja a sejtkoncentrációt a kiindulási állapothoz képest. Erre egyéb sejtkoncentráció meghatározására alkalmas módszert (pl. plate count method, lemezszámláló módszer) kell alkalmazni. Ahhoz, hogy a lemezszámláló módszer informatív eredménnyel szolgáljon számunkra, valahogy el kell tudnunk választani az adszorbenshez kötődő mikroorganizmusokat az adszorpcióban részt nem vevő (ún. „szabad”) mikroorganizmusoktól. Ennek egyik lehetősége a szűrés. Undabeytia és mts. is az általuk vizsgált agyag alapú adszorbens adszorpciós hatékonyságának vizsgálatkor szűréssel választották el az adszorbenst a szuszpenzió többi részétől [21]. Adszorbensként használt agyag-polimer komplexet polimerek bentonitra történő felvitelével hozták létre és *E. coli* mikroorganizmusok megkötését tesztelték. Mások ugyancsak agyag alapú adszorbenseket úgy vizsgáltak, hogy az adszorpciós hatékonyságot Gram negatív *E. coli* és Gram pozitív *Bacillus* fajok megkötésére is tesztelték. Megállapították, hogy az általuk alkalmazott micellás montmorillonit adszorbenssel akár három nagyságrenddel is csökkenthető volt a mikroorganizmusok száma az adott rendszerben [22]. Ahogy ezek az eredmények is mutatták nagy jelentőséggel bírnak azon adszorbensek, melyek a különböző szerkezetű sejtmembránnal (Gram negatív), vagy sejtfallal (Gram pozitív) rendelkező mikroorganizmusok adszorpciójára is alkalmazhatóak.

Az adszorpcióban részt vevő elemek (adszorbens és adszorbeált mikroorganizmusok, valamint a nem kötődő, „szabad” baktériumok) a szűrési módszer mellett kis fordulatszámú centrifugálással is elválaszthatóak egymástól [21]. Ebben az esetben azonban nehéz bizonyítani, hogy a tapasztalt fázisszétválás, és a sejtkoncentráció csökkenése a vizsgált folyadék fázisban valóban az adszorpció és nem a centrifugális erőnek a következménye. Ebből adódóan dolgozatomban nem patogén *E. coli* DH5 α modellorganizmust használva olyan kimutatási módszert alakítottam ki, mely alkalmas a montmorillonit (Na-CM) és a cirkóniumpilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) részecskék baktérium sejt adszorpciós képességének vizsgálatára lemezszámláló módszerrel.

3. Célok

Munkám során a következő célokat fogalmaztam meg:

- Na-Zr 2,5 részecske mikroorganizmus megkötő képességének kimutatása.
- A vizsgált anyagok adszorpciós képességének kimutatására szolgáló új módszer kidolgozása, irodalomból ismert módszerek hatékonyságával való összehasonlítása.
- Na-Zr 2,5, és Na-CM részecskével történő mikroorganizmus adszorpció mértékének meghatározása ülepedési vizsgálatokkal.
- Na-Zr 2,5 és Na-CM részecskével történő mikroorganizmus adszorpció mértékének meghatározása centrifugálási vizsgálatokkal.
- A két részecske adszorpciós képességének összehasonlítása a fentebbi vizsgálatok eredményei által.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Felhasznált anyagok

Megnevezés	Összegképlet/leírás	Forgalmazó/forrás
Tripton	C ₃ H ₅ NO	VWR
Élesztő kivonat	C ₁₉ H ₁₄ O ₂	VWR
Nátrium-klorid	NaCl	VWR
Bakteriológiai agar	C ₁₄ H ₂₄ O ₉	VWR
Ultratiszta víz	-	-
Műanyag Petri-csésze	9 cm átmérő	VWR
Szűrőmembrán	0,8 µm	Schleicher & Schuell
<i>Escherichia coli</i> DH5α (<i>E. coli</i>)	Gram-negatív, nem patogén baktérium (modellorganizmus)	SZMC 21399 (SzTE TTIK Mikrobiológiai tanszék törzsgyűjtemény)
Na-CM részecske (kontroll részecske)	Nátrium ionokkal telített montmorillonit részecske	Dr. Németh Zoltán kutatócsoportjának munkája
Na-Zr 2,5 részecske (tesztelt részecske)	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

Az LB (Luria-Bertani) tápoldat egy tápanyagokban gazdag, elsősorban baktériumok növesztésére, szaporítására alkalmazott tápközeg. Összetétele 1000 ml-re vonatkozóan: 10 g tripton, 5 g élesztőkivonat és 10 g NaCl. Az elkészült tápoldatot 35-35 ml-enként 100 ml-es Erlenmeyer-lombikba osztottam szét és vattadugóval ellátva autoklávban 121°C-on sterilizáltam 15 percig.

Ezeket a steril tápoldatokat használtam a baktériumszuszpenziók (starterek) elkészítéséhez. A starter baktérium szuszpenziókhoz táplemezen felnőtt egyedi (különálló) *E. coli* DH5 α telepekre volt szükség, melyek közül egy-egy telepet steril fülkében steril kaccsal „belemostam” a steril tápoldatba. A lombikokat ezután egy éjszakára inkubátorba helyeztem 37°C-ra, ahol a lombikokat rázattam is 160 rpm fordulatszámon (2. számú melléklet A).

Ugyancsak steril LB tápoldatot használtam háttérként a spektrofotometriás mérésekhez is. Ebben az esetben az LB tápoldat 600 nm-en mért abszorbanciájához viszonyítva határoztam meg az egyes starter baktérium szuszpenziók optikai denzitását is, mely az egyes sejtkultúrák sejtsűrűségével (azaz a szuszpenzióban lévő baktériumok koncentrációjával) arányos mennyiség, és a sejtkultúrák minőségéről ad információt.

4.2.2. LB-agar táplemez

Az LB-tápoldathoz hasonlóan 1000 ml LB agar összeállítása is 10 g tripton, 5 g élesztőkivonat és 10 g NaCl kimérésével kezdődött, melyet utána 1000 ml-re egészítettem ki ultratiszta vízzel. Majd miután a szilárd összetevők feloldódtak 15 g bakteriológiai agart adtam a tápoldathoz. Az agar jelenti ebben az esetben a szilárdító anyagot. Az így összeállított elegyet laboratóriumi csavaros kupakos üvegben autoklávban vagy kuktában sterilizáltam, mellyel a táptalaj csíramentesítését és egyben az agar teljes feloldódását tettem lehetővé. A sterilizálás végeztével a forró tápoldatot vízfürdőben 50°C-ra hűtöttem le, majd 9 cm átmérőjű műanyag steril Petri-csészékbe töltöttem ki egyenlő mennyiségben, majd steril fülke alatt hagytam megdermedni őket.

Ezeket a táplemezeket használtam a későbbi tesztjeimben a különböző kísérleti körülmények vizsgálatára, illetve, hogy ezen körülmények hogyan befolyásolják a baktérium koncentráció változását. A tesztek során fel nem használt lemezek 4°C-on tárolhatóak, és még egy hónapig felhasználhatók (ha a tároló dobozokban nedvességmegkötő anyagot is alkalmazunk).

4.2.3. Fiziológias sóoldat

Az adszorpciós vizsgálatokhoz a baktérium sejteket a felnövesztésükhöz használt LB tápoldatból fiziológias sóoldatba kellett átmosni ezzel biztosítva az adszorpcióhoz szükséges elektrosztatikus közeget. Továbbá, korábbi kísérleteink igazolták, hogy fiziológias sóoldatban az *E. coli* mikroorganizmusok nem (vagy csak nagyon lassan) osztódnak, de életben maradnak, így ezzel a fiziológias sóoldattal elkészített adszorpciós szuszpenzióval állandó sejtsűrűséget tudtam biztosítani a tesztekhez. A fiziológias sóoldat elkészítéséhez 8,5 g NaCl-ot 1000 ml ultratiszta vízben oldottam fel, majd ezt is autoklávban sterilizáltam 121°C-on.

4.3. Az adszorbens részecskék jellemzése

4.3.1. Na-CM agyag részecske (kontroll anyag a kísérletekhez)

A kísérletekhez használt kiindulási anyagunk a nátrium ionokkal telített montmorillonit [5] volt. A montmorillonit egy nátrium, kalcium, alumínium és szilícium tartalmú közetalkotó ásvány [23]. Széleskörűen alkalmazzák, hiszen nagy a kationcserélő kapacitása, olcsó és nagy a fajlagos felülete is [5]. A kiindulási montmorillonitot ioncsere folyamata során lehet nátrium ionokkal telíteni NaCl segítségével. A vizsgálatok ideje alatt ezen részecskék (Na-CM) kontrollként szolgáltak. Mivel a tesztelni kívánt anyag a Na-CM agyag részecske funkcionizált változata volt (Na-Zr 2,5), így a két minta viselkedése és mérési eredményeik között tapasztalt különbségekből lehetett következtetni a funkcionizált részecske tulajdonságaira.

4.3.2. Na-Zr 2,5 agyag részecske (tesztelni kívánt anyag)

Tesztelt anyagunk a cirkónium-pilléres montmorillonit volt, melyben a Zr/agyag arány 2,5 mmol/g [5]. Ezek az úgy nevezett PILC-anyagok (pillared interlayered clays) kiváló adszorpciós és katalitikus tulajdonságokkal bírnak [24]. A pilléres anyagok szintézise négy lépésből áll [25]. Első lépésben az oldatot öregítik, mely során a többértékű kationok polimerizálódnak, így a fémek polikationjai keletkeznek [26]. A második lépésben a polikationok agyaglapba történő interkalációja (közbeiktatása) történik meg. Majd az agyagot leválasztják az oldatról és alapos mosással eltávolítják a prekursor anionokat, például a kloridionokat. Utolsó lépésként pedig a kalcinálás során a polikationok stabil fémoxid-klaszterekké, azaz pillérekké alakulnak. Munkám során ennek az anyagnak a mikroorganizmus adszorpciós képességét vizsgáltam.

A két vizsgált agyag részecske adszorpció szempontjából fontos tulajdonságai az 1. táblázatban láthatóak, a részecskék összetételét bemutató kromatogramok pedig az 1. számú mellékletben szerepelnek.

1. táblázat A vizsgált agyagrészecskék adszorpció szempontjából fontos tulajdonságai [5]

Minta	Fajlagos felület [m ² /g]	Mikropórus térfogat [cm ³ /g]	Átlagos pórusátmérő [nm]
Na-CM	28,3	0,012	1,75
Na-Zr 2,5	216,0	0,099	1,84

4.4. A vizsgálati módszerek

4.4.1. Starter (kezdeti) baktériumszuszpenzió elkészítése, jellemzése

A starter baktérium szuszpenziók elkészítéséhez megfelelő tápoldatra, különálló telepeket tartalmazó lemezen felnőtt baktériumra és steril eszközökre volt szükségem. Ezek előkészítését követően steril fülkében összeállítottam a baktériumszuszpenziót. Ehhez LB-tápoldatot tartalmazó lombikba 1 db *E. coli* DH5 α telepet mostam bele steril oltókacs segítségével, melyet az 2. számú melléklet A ábrája szemléltet. Az így elkészített baktérium szuszpenziót 37°C-on inkubáltam 160 rpm-es folyamatos rázatással egy éjszakán (kb. 24 h) át. Másnap, az inkubálást követően, meghatároztam a starter szuszpenzió optikai denzitását is spektrofotométer segítségével 600 nm-en (OD₆₀₀) (2. számú melléklet B részlete). A sejtszuszpenziók optikai denzitása arányos a szuszpenzió sejtkoncentrációjával, és mérésével ellenőrizni tudjuk a starter kultúránk minőségét, valamint standardizálni tudjuk a sejtkoncentrációt. A sejt kultúrák optikai denzitása azonban csak hozzávetőleges összehasonlításra alkalmas adatot szolgáltat, hiszen ezen módszerrel nem tudunk különbséget tenni az élő és élettelen sejtek között. Ezért az élő (telepképzésre alkalmas) sejtek mennyiségének meghatározásához szükség van az ún. élő csíraszám meghatározására is. Ehhez a starter sejt kultúrából kiindulva 1 ml végtér fogatban tízesléptékű hígítási sorozatot készítettem 10¹-10⁶ között, majd az utolsó tagból 3 db LB-lemezre 100-100 μ l-t szélesztettem (kentem ki) (2. számú melléklet C rész). Ez a hígítás biztosította, hogy lemezen 20-200 közötti telep legyen majd számolható a következő napon, ugyanis e tartománynál kisebb és nagyobb sejtszám is pontatlan telepszám meghatározáshoz vezethet. A 20-nál kevesebb élő sejtet tartalmazó sejtszuszpenziók túl hígak, és így mintavételezése nagyfokú pontatlanságot rejt, illetve a 200-nál több telepet adó sejtszuszpenziónál a telepek nem válnak el egymástól kellően a lemezen, ami szintén hibás telepszám meghatározáshoz vezethet. A lemezeken felnőtt telepek száma jelenti minden esetben a kezdeti sejtkoncentrációt, melyet cfu/ml-ben határoztam meg (colony forming unit (cfu) = telepképző egységek milliliterenkénti száma). Az általam elvégzett vizsgálati időszakban nyomon követtem a starter sejtszuszpenziók optikai denzitása és élőcsíraszám közötti korrelációt, ahogy korábban is említettem a starter kultúrák standardizálása céljából. Vizsgálati időszakomban az általam alkalmazott sejt kultúráknál az OD₆₀₀ érték 5,92 $\pm$ 0,39 volt, melyekhez 1,00 $\pm$ 0,05 $\times$ 10⁹ cfu/ml élő sejtszám tartozott.

4.4.2. Adszorpciós baktériumszuszpenzió elkészítése

A baktérium sejtek megfelelő adszorpciós feltételeinek biztosítása érdekében a sejteket a növesztéshez használatos tápoldatból át kellett mosni fiziológiás sóoldatba (2. számú melléklet D részlete). Ehhez első lépésként a kezdeti sejtszuszpenziót 2 db steril 50 ml-es kúpos centrifugacsőbe osztottam szét (2×30 ml), majd 15 percig centrifugáltam 4°C -on és 10000 rpm-en [22], [27]. A felülúszó leöntése után a sejt-pelletet (összegyűjtött sejteket) 15-15 ml fiziológiás sóoldatban szuszpendáltam fel. Újabb centrifugálási lépés következett, ezúttal 5 percig 4°C -on és 10000 rpm-en. Ezt a szakaszt háromszor megismételtem. Végül a pelletet 15-15 ml fiziológiás sóoldatban szuszpendáltam, majd a két centrifugacső tartalmát egyesítettem (így kaptam 30 ml adszorpciós sejtszuszpenziót).

Az így kapott adszorpciós sejtszuszpenzió még túl tömény lenne a további vizsgálatokhoz, így abból még további, tízes léptékű hígítási sorozatot kellett készítenem (steril 50 ml-es talpas centrifugacsőben) 30 ml végtérfogatban 10^1 - 10^5 -es tartományban (3. számú melléklet). Ezen sorozat leghígabb tagját (10^5) használtam minden egyes alkalommal a tesztelésre kapott részecskék adszorpciós (baktérium megkötő) képességének vizsgálatához. Az adszorpciós vizsgálatokat ezután többféle módszerrel és többféle körülmény között teszteltem.

4.4.3. Vákuumszűrési vizsgálat

A rendelkezésre álló szakirodalmi információk alapján [21] a részecskék adszorpciós hatékonyságát először szűréssel próbáltam modellezni. Az előzetes szűrési kísérletek során, melyet Dr. Németh Zoltán kutatócsoportja végzett el, azt tapasztalták, hogy az alkalmazott agyag részecskék (Na-CM és Na-Zr 2,5) $0,8\ \mu\text{m}$ pórusméretű membránon már fennmaradnak, illetve 1 mg/ml alkalmazott koncentráció esetén szűrhetőek. Így a méréseim során ezt a pórusméretet és részecskekoncentrációt alkalmaztam.

Az előző fejezetekben (4.4.1 és 4.4.2) ismertetett módon elkészítettem az adszorpciós baktériumszuszpenziót fiziológiás sóoldatban, melynek 10^5 -re hígított formáját használtam kiindulásként a szűrési vizsgálatokhoz (4. számú melléklet). Ezt a 10^5 -re hígított sejtszuszpenziót még egy lépésben tovább hígítottam Erlenmeyer-lombikban, hogy a kimutatáshoz megfelelő sejtkoncentrációjú (10^6 -szoros hígítás) és magához a szűréshez elegendő térfogatú anyag álljon rendelkezésemre. Az így elkészített lombikok közül az 1-es és 2-es lombikhoz nem adtam semmilyen adszorbens részecskét (ez lett a háttér vagy referencia szuszpenzió, mivel a mikroorganizmusok egy része adszorbens részecskéhez való kötődés nélkül is fennmaradhat a membránon), a 3-as és 4-es lombikhoz a kontroll részecskeként

szolgáló Na-CM agyagot adtam (30 mg-ot), míg az 5-ös és 6-os lombikokba a tesztelni kívánt Na-Zr 2,5 részecskét tettem (30 mg). A teljes folyamatot a 4. számú melléklet A része mutatja be.

Minden lombikot 1,5 órára helyeztem 37°C-os inkubátorba, ahol 160 rpm fordulatszámon rázattam is őket (4. számú melléklet, B rész). Az inkubálási idő lejártát követően mindegyik lombikból 3x100 µl mintát szélesztettem LB-lemezekre, melyeket ezután inkubátorba helyeztem 37°C-ra egy éjszakára (4. számú melléklet, C). Eközben a lombikok tartalmát leszűrtem. A szűrletekből egyrészt mintákat vettem, amit a szokásos módon (3x100 µl-t) lemezre szélesztettem, másrészt a szűrését követően a membránt, a rajta maradt lepénnyel együtt, ráhelyeztem egy táplemezre (4. számú melléklet D-F). Ezt a folyamatot mind a három különböző összetételű lombikpárral elvégeztem (1-2: adszorbens nélküli baktérium szuszpenzió, 3-4: Na-CM részecske + baktérium, valamint 5-6: Na-Zr 2,5 részecske + baktérium). A mérés során alkalmazott vákuum ~50 Hgmm volt minden esetben.

4.4.4. Ülepedési vizsgálat

A vizsgálathoz 3 db steril Erlenmeyer-lombikba 27 ml steril fiziológiás sóoldatot töltöttem, majd 3 ml 10⁵ hígítású sejtsuszpenziót adtam hozzá (ezzel a baktérium sejtek 10⁶-ra hígultak, ami olyan sejtszám kialakulását eredményezi, melyet könnyen meg lehet számolni). Az első lombikot 37°C-os inkubátorba helyeztem 1,5 órára rázatva (160 rpm). A második és harmadik lombikba 30-30 mg szárítószekevényben sterilizált adszorbens részecskét (Na-CM vagy Na-Zr 2,5) adtam és ezt is 1,5 órát inkubátorban rázattam. (A fentebb említett rendszerek elkészítésének lépéseit a 0. számú melléklet A része mutatja be.)

Az inkubálási idő leteltét követően minden egyes lombikokból 3 db LB-agar lemezre 100-100 µl-t szélesztettem (0. számú melléklet B). Majd a maradék diszperziót 30 percig ülepedni hagytam steril fülkében (0. számú melléklet C rész). Ez idő alatt a diszperziókban fázisszétválás történt, és a kialakult felülúszóból (folyadék fázis) mintát véve ismét 3 db LB-lemezre 100-100 µl-t szélesztettem. Ezeket a lemezeket is 37°C-ra inkubátorba helyeztem egy éjszakára, másnap az LB-agon felnőtt telepeket számoltam (0. számú melléklet D).

4.4.5. Centrifugálási vizsgálatok

Ezen vizsgálatokhoz 3 db steril 50 ml-es kúpos fugacsőbe 27 ml steril fiziológiás sóoldatot töltöttem, melyhez 3 ml 10⁵ hígítású baktériumsuszpenziót adtam. Az első fugacsövet 1,5 órára 37°C-os inkubátorba helyeztem és rázattam (160 rpm). A második és harmadik fugacsőbe 30-

30 mg steril adszorbens részecskét (Na-CM vagy Na-Zr 2,5) adtam, majd ezeket is inkubátorba helyeztem, és 1,5 óráig rázattam 160 rpm-en (6. számú melléklet A rész).

Az inkubálási idő lejártát követően a fugacsövek mindegyikéből 3-3 db LB-lemezre 100-100 µl-t szélesztettem (6. számú melléklet B). Majd a maradék szuszpenziót centrifugáltam, alkalmanként különböző fordulatszám alkalmazásával 1 percig. Összesen 3 centrifugálási sebességet próbáltam ki, 1000, 2000 és 3000 rpm fordulatszámot [21]. A centrifugálást követően újabb 3 db LB-lemezre 100-100 µl-t szélesztettem (6. számú melléklet C). A lemezeket egy éjszakára inkubátorba helyeztem 37°C-ra. Másnap az agar lemezen felnőtt telepeket számoltam (6. számú melléklet D rész). A kipróbált centrifugálási sebességekből az 1000 rpm alkalmazása volt a legmegfelelőbb, így a későbbiekben ezt alkalmaztam. A legmegfelelőbb centrifugálási sebességnek azt tekintettem, amikor az adszorbens-mentes szuszpenzió centrifugálása után a felülúszóból vett minta sejtszáma hozzávetőleg megegyezett a 30 perces ülepedéses fázisszétválasztás (4.4.4 fejezet) után szintén a felülúszóban kapott sejtszámmal. Ez azt jelenti, hogy az alkalmazott centrifugálási körülmény a tisztán csak baktériumokat tartalmazó szuszpenzióban nem okoz jelentősebb sejtleülepedést, mint mikor ezen szuszpenziókat a laborasztalon hagyjuk egy időre. Továbbá azt is, hogy adszorbens használatkor a diszperzió felülúszójában a centrifugálás előtti és utáni sejtszámban kapott különbség feltételezhetően az adszorpció következménye lesz és nem a centrifugálási erő hatása.

4.4.6. Ülepedés és újra-szuszpendálás vizsgálata

Ebben a vizsgálati szakaszban a 4.4.4 fejezetben részletezett ülepedési vizsgálatot Erlenmeyer lombik helyett 50 ml-es kúpos fugacsőben végeztem el az 7. számú melléklet A-C részének megfelelően. Ezt követően eltávolítottam a centrifugacsőből pipettával 29 ml felülúszót és azt új, steril centrifugacsőbe mértem bele (7. számú melléklet D rész). Ebből a felülúszóból alapos keverést követően szélesztettem ki LB-lemezekre (7. számú melléklet E). Ezzel meghatároztam a nem adszorbeálódott baktériumok számát.

A centrifugacsőben maradt, kiülepedett részecskékre 29 ml új, steril, fiziológiás sóoldatot mértem (8. számú melléklet F). A fugacső tartalmát (az adszorbenseket, a hozzájuk kötődő mikroorganizmusokat és az új, steril fiziológiás sóoldatot) először pipetázással (enyhébb keverési módszer), majd ezt követően inkubátorban való rázatással is (erélyesebb keverési technika) homogenizáltam. Ezzel szerettem volna megvizsgálni, hogy az alkalmazott keverési módszerekkel a baktérium sejtek leválaszthatóak-e az adszorbensekről, és ha igen, milyen

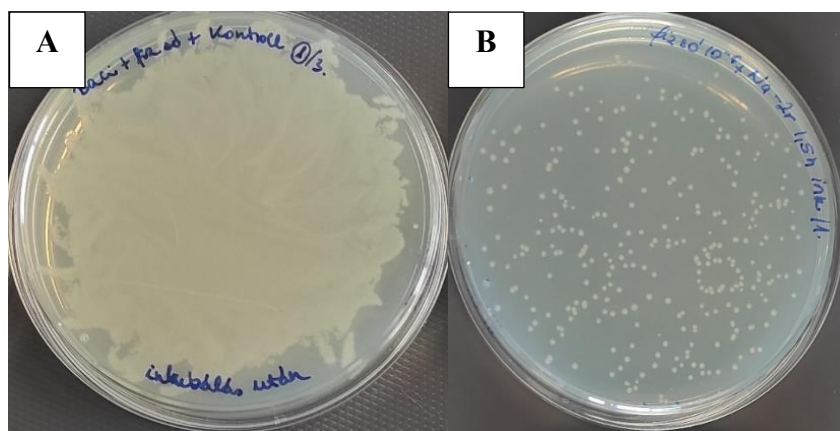
mértékben. Ez utóbbi kérdés megválaszolása az adszorbens-mikroorganizmus közötti kölcsönhatás erősségét mondja meg. Ennek megfelelően először a pipettázás után vettem mintát a csövekben lévő felső fázisból, majd a 37°C, 1,5 h, 160 rpm rázatás után is mintáztam a diszperzió felülúszóját (3×100 µl-t szélesztés a szokott módon; 8. számú melléklet G). Végül a centrifuga csövekből a felső vizes fázist teljesen eltávolítottam és mintáztam a kiülepedett részecskéket tartalmazó alsó részt (8. számú melléklet H rész). Ezzel választ kaphattam, hogy a rázatást követően a baktérium sejtek hol helyezkednek el, mely fázisok (felülúszó vagy adszorbens fázis) baktérium sejtszáma változik a kiindulási állapothoz képest.

5. Eredmények és kiértékelésük

5.1. Elővizsgálatok eredményei

5.1.1. Starter sejtuszuszenzióval végzett előkísérletek:

Munkámat azzal kellett kezdeni, hogy meghatározzam azt a megfelelő sejtkoncentrációt, mely az adszorpciós vizsgálatok értékelése során különálló és még könnyen számolható telepszámot eredményez. Általános szabályként olyan sejtszámú baktérium szuszpenzióval érdemes dolgozni, melyből lemezre szélesztéssel (lemezre való „kikenéssel”) 10-300 telepformáló egységet (colony forming unit, cfu) kapunk [28], [29]. Ez a sejtszámtartomány jelenti azt, hogy 9 cm átmérőjű lemezen (ami egy standard lemez méret) egymástól különálló és könnyen számolható telepeket kapunk. Az első mérés során az egész éjjel rázatott, kiindulási sejtuszuszenzióból 10^3 -hígítást alkalmaztam. Ebben az esetben azonban még nem kaptam különálló telepeket (3. ábra A), így a későbbiekben a sejtkoncentrációt 10^6 hígításra csökkentettem (3. ábra B).



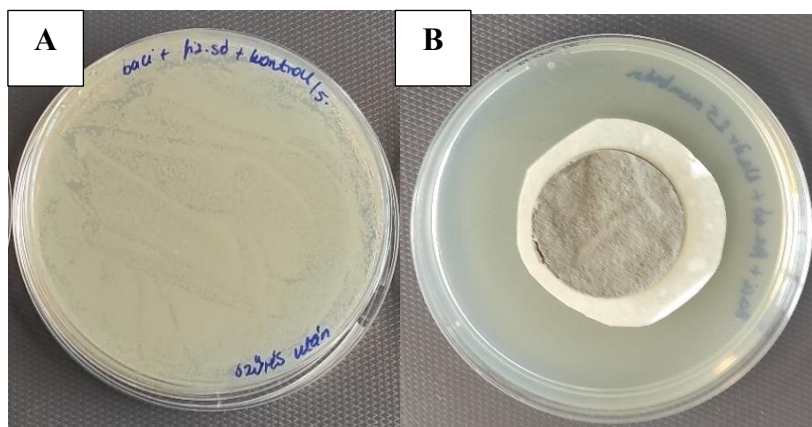
3. ábra: A) 10^3 hígítású baktériumsuszpenzió; B) 10^6 hígítású baktériumsuszpenzió

A 10^6 -ra hígított szuszpenzióban a telepszám lemezre szélesztést követően számolható volt, mely alapján a starter szuszpenzió sejtkoncentrációját meg tudtam határozni, ami kísérleteim során $1,00 \pm 0,05 \times 10^9$ cfu/ml-ként alakult. A további vizsgálatok során minden esetben ezt a hígítási fokot alkalmaztam.

5.1.2. Elővizsgálatok a tesztelendő anyagokkal:

A tesztelendő anyag vizsgálatának részeként azt szerettem volna megfigyelni, hogy ha összekeverem a tesztelt anyagokat (Na-CM = kontroll és a Na-Zr 2,5 részecskék) adott sejtkoncentrációjú baktérium szuszpenzióval, majd megadott ideig együtt inkubálom őket, ezután az elegyeket vákuumszűrővel szűröm, milyen különbséget lehet tapasztalni a szűrés előtti és a szűrés utáni sejtszámban. Ugyanis szakirodalmi adatok alapján tudjuk, hogy folyadékok mikroorganizmus mentesítéséhez $0,2 \mu\text{m}$ pórusméretű szűrő alkalmazható [30]. Feltételezve, hogy a vizsgált részecskékhez adszorbeálódnak a baktérium sejtek, egy nagyobb pórusméretű szűrőt alkalmazva (pl. $0,8 \mu\text{m}$) a szűrletbe zömmel csak a nem adszorbeálódott baktériumsejtek juthatnak át. Ezen kísérletekhez 1 mg/ml koncentrációban alkalmaztam az adszorbenseket. A korábban már ismertetett módon (4.4.1 fejezet) készítettem el a kiindulási, fiziológiás sóoldatban szuszpendált baktériumszuszenziót. Ezt követően $1,5 \text{ órát } 37^\circ\text{C}$ -os inkubátorban rázattam az elkészített elegyeket. 2-2 párhuzamos baktériumszuszenziót készítettem mind az Na-CM kontroll mind pedig a Na-Zr 2,5 részecskékkel. A $1,5 \text{ órás}$ rázatást követően a lombikokat kivettem az inkubátorból és további 30 percet (rázatás nélkül) tovább vártam. Az ülepedést követően vizsgáltam az *E. coli* mennyiségét a felülúszóban. Az eredmények azt mutatták, hogy a baktériumoknak több, mint 50% -a ($56,76\%$) ülepedett ki az Na-Zr 2,5 adszorbens részecskékkel együtt (2. táblázat szerint). Ezt követően a két párhuzamos összeállításból az egyik lombik tartalmát steril vákuumszűrőn leszűrtem $0,8 \mu\text{m}$ pórusméretű membránon. Feltételezésem az volt, hogy a fent említett 50% -os sejtkoncentráció csökkenés a felülúszó fázisban a baktériumsejteknek a részecskékhez való adszorpciójából következik, akkor a szűrést követően a szűrletben is nagyjából ugyanekkora sejtkoncentrációt kell tudni meghatározni. Ennek megfelelően a vákuumszűrés után a szűrletből is háromszor $100 \mu\text{l}$ mintát vettem, majd szélesztettem azt LB-agar lemezre. Minden összeállításnál (adszorbens mentes sejtszuszenzió, Na-CM és Na-Zr 2,5 adszorbens tartalmú sejtszuszenzió) a második lombik tartalmát szintén leszűrtem, majd a membránon fennmaradt lepenyt helyeztem LB-agarra. Ez esetben a membránon fennmaradt telepképző sejtek mennyiségét szerettem volna meghatározni. A szélesztéssel kapott eredmények azt mutatták, hogy a szűrletek telepszáma a kiindulási baktériumszuszenzió telepszámához volt hasonló (kiindulási telepszám:

$1,00 \pm 0,05 \times 10^9$ cfu/ml; szűrlet telepszáma: $0,95 \pm 0,08 \times 10^9$ cfu/ml) (4. ábra/A), míg a membránon fennmaradt részecskék mellett nem volt tapasztalható telepnövekedés (4. ábra/B).



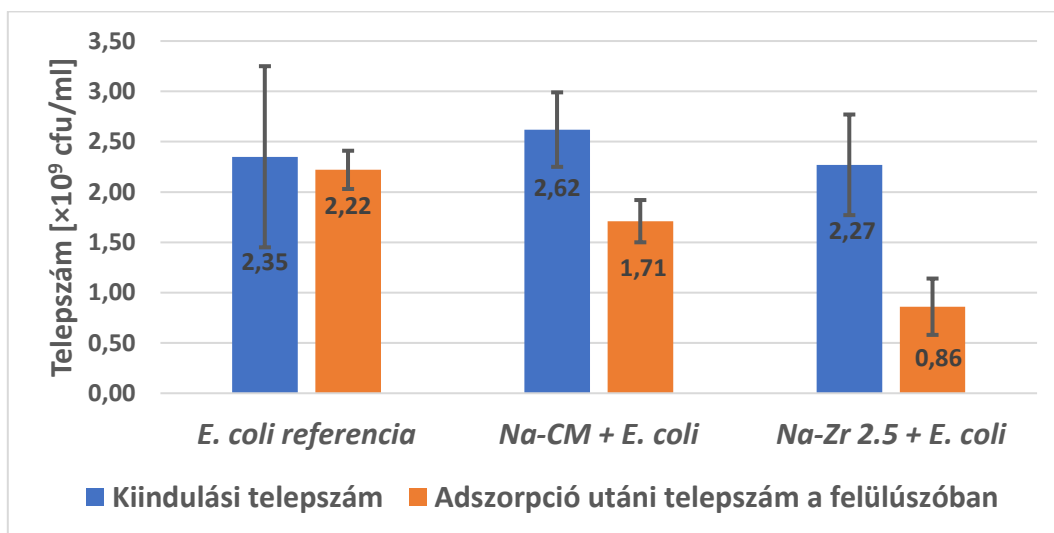
4. ábra: A) A vákuumszűrés szűrlete LB-agarra szélesztve; B) A vákuumszűrés során a membránon fennmaradt Na-Zr 2,5 részecskék, melyek nem tartalmazzak *E. coli* telepeket

Ebből az eredményből arra következtettem, hogy az alkalmazott vákuum akkora erőhatást fejtett ki az adszorbeálódott baktériumokra és az adszorbens részecskékre, hogy a közöttük kialakult kölcsönhatás felszakadt, minek következtében a $0,8 \mu\text{m}$ -es pórusokon mind az adszorpcióban rész vevő baktérium sejtek, mind a „szabad” baktérium sejtek könnyedén átjutottak. Ez egyben azt is jelenti, hogy a mikroorganizmusok és az adszorbens között kialakult adszorpciós kölcsönhatás fiziszorpcióként értékelhető [31]. Így tehát a vákuumszűrés az adszorpció mértékének meghatározására nem volt alkalmas. A további vizsgálatok esetében a vákuum által kifejtett erőnél kisebb erőhatást kellett alkalmazni, ezért esett a választás az ülepedésre (a gravitációs erő által) és a kis fordulatszámú centrifugálásra. Így bár a szakirodalom szerint a vákuumszűrés megfelelő módszer az adszorpciós kapacitás meghatározására, az általam vizsgált agyag részecske esetében nem bizonyult annak, ezért ezeket az eredményeket elővizsgálat c. fejezetében értékeltem.

5.2. Ülepedési vizsgálatok eredményei

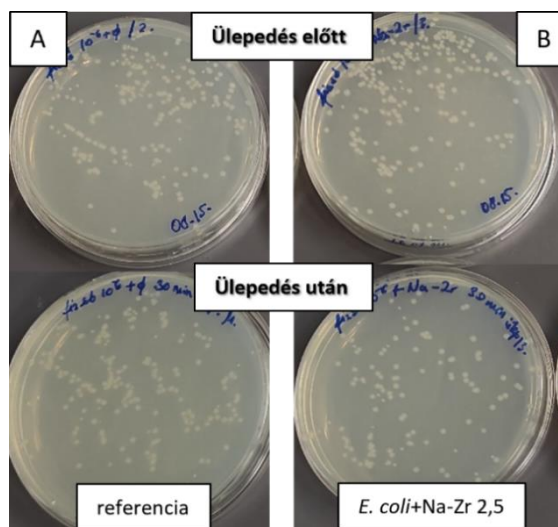
Ahogy az anyagok és módszerek fejezetében (4.4.4) részletesen bemutattam, kísérleteimet ülepedési vizsgálatokkal folytattam. A teszteket alapvetően három elrendezéssel végeztem el. Az egyik lombikszorozat csak *E. coli* baktériumokat tartalmazott, a másik kettő esetben pedig az *E. coli* sejteket a kontrollként alkalmazott Na-CM részecskékkel, vagy a Na-Zr 2,5 elnevezésű részecskékkel együtt vizsgáltam. Az 5. ábra jól szemlélteti, hogy az *E. coli* baktérium önmagában a gravitációs erő hatására (adszorbens alkalmazása nélkül) csak kis mértékben ülepszik ki a rendszerből. A kontrollként alkalmazott nátriummal telített

montmorillonit (Na-CM) már nagyobb mennyiségű mikroorganizmust volt képes adszorbeálni. A legnagyobb sejtszámváltozás pedig a Na-Zr 2,5 alkalmazása esetén volt tapasztalható, ugyanis itt a baktériumsejtek közel 60%-a szilárd fázisba került (feltételezhetően a részecskékhez adszorbeálódva). Az 5. ábra bemutatja, hogy az Na-Zr 2,5 általi mikroorganizmus adszorpció a Na-CM esetén tapasztalt adszorpciónak mintegy kétszerese.



5. ábra Az ülepedési vizsgálat során tapasztalt telepszám változások

Ahogy azt a 6. ábra is mutatja, megállapítást nyert, hogy az adszorbens mentes (referencia) szuszpenzióban nagyon kis mennyiségű baktérium ülepedik ki a gravitációs erő által az alkalmazott 30 perc alatt ($0,13 \times 10^9$ cfu/ml), míg Na-Zr 2,5 alkalmazása esetén a telepszám szemmel láthatóan is $1,42 \times 10^9$ cfu/ml-rel csökkent (2. táblázat szerint).



6. ábra: Az ülepedés során a LB-agar lemezeken tapasztalt telepszám változások: A) *E. coli* baktériumszuszpenzió esetében $0,13 \times 10^9$ cfu/ml csökkenés (a kiindulási sejtkoncentrációhoz képest), B) *E. coli* + Na-Zr 2,5 részecske esetén $1,42 \times 10^9$ cfu/ml csökkenés a kiindulási sejtkoncentrációhoz képest

Ezen kísérletek során az adszorbeálódott mikroorganizmusok számát csak közvetve határoztam meg úgy, hogy a kiindulási sejtkoncentrációból kivontam az ülepedés (és adszorpció) után a felülúszóból meghatározott *E. coli* sejtkoncentrációra vonatkozó értéket (2. táblázat, „kiülepedett baktériumok” elnevezésű sor). A kapott eredményekből szerettem volna minél pontosabban kifejezni a tesztelt részecskék adszorpciók hatékonyságát, így a két adszorbens által megkötött mikroorganizmus mennyiséget korrigáltam azzal a sejtmennyiséggel, amennyivel az adszorbens mentes sejtszuszpenziókban a természetes (gravitációs erő következtében bekövetkező) kiülepedés miatt csökken a felülúszó fázis sejtkoncentrációja (2. táblázat utolsó két sora).

2. táblázat Az ülepedési vizsgálat összesített eredményei.

E. coli: adszorbens mentes referencia körülmény, *E. coli* + Na-CM: kontroll rendszer, *E. coli* + Na-Zr 2,5: tesztelt adszorbens részecskét és *E. coli* szuszpenziót tartalmazó rendszer

Rendszer	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> + Na-CM	<i>E. coli</i> + Na-Zr 2,5
Kiindulási sejtkoncentráció [$\times 10^9$ cfu/ml]	$2,35 \pm 0,90$	$2,62 \pm 0,35$	$2,27 \pm 0,50$
Adszorpció utáni sejtkonc. a felülúszóban [$\times 10^9$ cfu/ml]	$2,22 \pm 0,19$	$1,71 \pm 0,21$	$0,85 \pm 0,28$
Kiülepedett baktériumok [$\times 10^9$ cfu/ml]	0,13	0,91	1,42
A kiülepedett baktériumok mennyisége (korrigálva a baktériumok saját ülepedésével) [$\times 10^9$ cfu/ml]	-	0,76	1,29
A korrigált sejtkoncentráció százalékos értéke a kiindulási sejtkoncentrációhoz viszonyítva	5,67 %	29,61 %	56,76 %

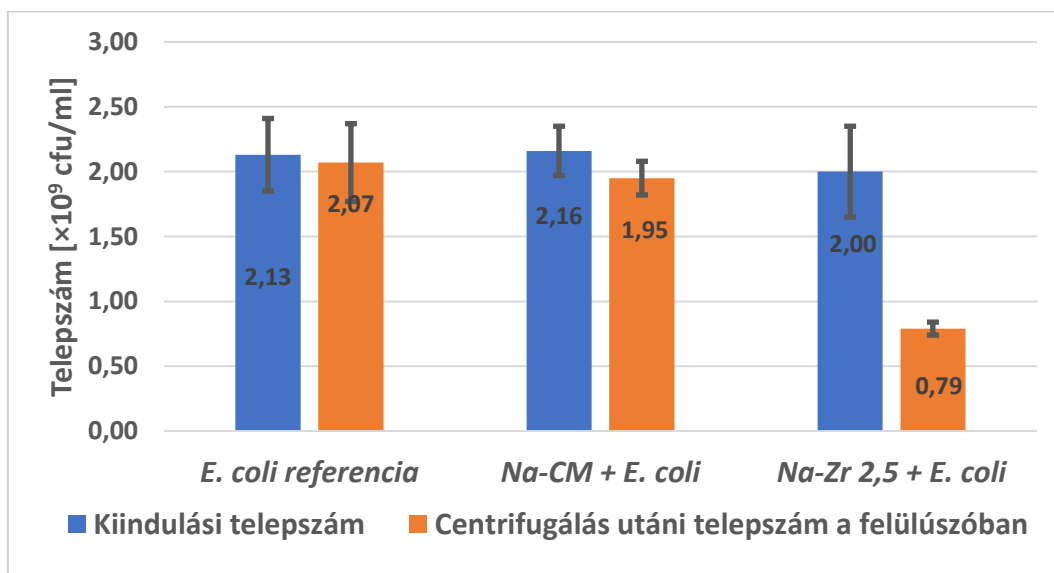
5.3. A centrifugálási vizsgálatok eredményei

Ahogy a szakirodalmi adatgyűjtések mutatták [21], különböző részecskék mikroorganizmus adszorpciók hatékonyságát leggyakrabban úgy vizsgálják, hogy miután a vizsgált részecskéket és az alkalmazott baktérium szuszpenziót együttesen inkubálják adott ideig, egy centrifugálási lépéssel különítik el a szilárd fázist (adszorbens és baktériumsejtek összessége) a felülúszó folyadék fázistól. Ezen lépéshez olyan centrifugálási sebességet kell választani, mely nem hat nagyobb erővel a baktérium sejtek ülepedésére, mint amit az adszorbens nélküli rendszerben a gravitációs erő okoz. Ellenkező esetben az adszorbens tartalmú diszperziókban nem a tesztelt anyagok adszorpciók hatékonyságát tudnám kimutatni, hanem csak a centrifugálás

hatékonyságát. Ezen megfontolásból többféle centrifugálási sebességgel is elvégeztem a kísérleteket csak *E. coli*-t tartalmazó (adszorbens mentes) rendszerek esetében.

A 9. számú mellékletben szereplő táblázat eredményei alapján az 1000 rpm-es centrifugálási sebességet találtam a legmegfelelőbbnek, mivel ebben az esetben a centrifugálás előtt és után a százalékos sejtkoncentráció változás megközelítőleg akkora volt (5,37%), mint a baktériumszuszpenzióknak a gravitációs erő (ülepedés) miatt bekövetkező sejtkoncentráció változása (5,67 %) (2. táblázat és 9. számú melléklet táblázatának „*E. coli*” elnevezésű oszlopainak értékei). A későbbiekben tehát az 1000 rpm-es centrifugálási sebességet alkalmaztam.

A centrifugálási vizsgálatok eredménye a 3. táblázatban, valamint a 7. ábra grafikonján került szemléltetésre. Az eredményekből jól látható, hogy a csak *E. coli* baktériumokat tartalmazó szuszpenziónál és a kontrollként alkalmazott Na-CM tartalmú rendszer esetében sem volt tapasztalható jelentősebb sejtkoncentráció változás a kiindulási állapothoz képest (2.59% a referencia, illetve 7,19% a kontroll esetében), ezzel szemben a Na-Zr 2,5 adszorbens részecskék vizsgálatakor jelentős sejtkoncentráció csökkenés (60,33%) volt kimutatható a centrifugálás utáni állapotban.



7. ábra A centrifugálási vizsgálat során tapasztalt teleszám változások

3. táblázat A centrifugálási vizsgálatok eredmények összesített táblázata.
E. coli: adszorbens mentes referencia körülmény, *E. coli* + Na-CM: kontroll rendszer, *E. coli* + Na-Zr 2,5: tesztelt adszorbens részecskét és *E. coli* szuszpenziót tartalmazó rendszer

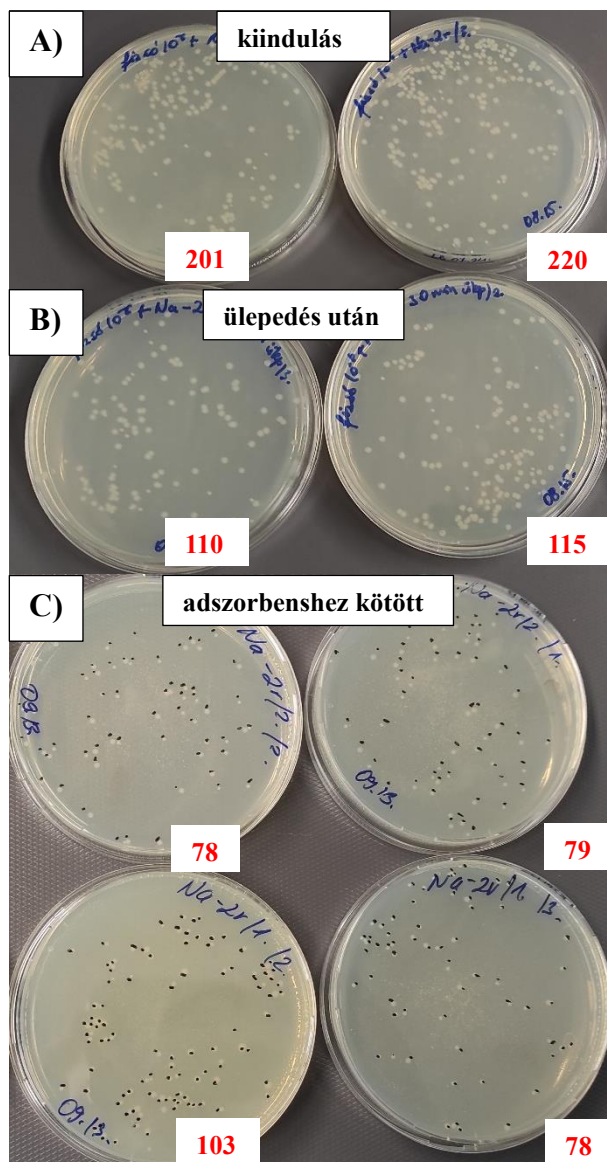
Rendszer	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> + Na-CM	<i>E. coli</i> + Na-Zr 2,5
Kiindulási sejtkoncentráció [$\times 10^9$ cfu/ml]	$2,13 \pm 0,28$	$2,16 \pm 0,19$	$2,00 \pm 0,35$
Centrifugálás utáni sejtkonc. a felülúszóban [$\times 10^9$ cfu/ml]	$2,07 \pm 0,30$	$1,95 \pm 0,13$	$0,79 \pm 0,05$
A kiüledett baktériumok [$\times 10^9$ cfu/ml]	0,06	0,21	1,20
Az adszorbeálódott baktériumok mennyisége (korrigálva a baktériumok saját ülepedésével) [$\times 10^9$ cfu/ml]	-	0,16	1,15
A korrigált sejtkoncentráció százalékos értéke a kiindulási sejtkoncentrációhoz viszonyítva	2,59 %	7,19 %	60,33 %

Ráadásul megfigyelhető volt az is, hogy a Na-Zr 2,5 adszorbenst alkalmazva a kiindulási sejtszámcsökkenés a centrifugálás után megközelítőleg ugyanakkora mértékű (60,33%) volt, mint a gravitációs ülepités esetén (56,76%) (lásd. 2. táblázat és 3. táblázat). Ezek az eredmények azt mutatták, hogy a Na-Zr 2,5 részecskék esetében mindkét módszer alkalmas lehet az adszorpcióban részt vevő és a nem adszorbeálódott baktériumsejtek elválasztására. A kontrollként használt Na-CM részecskéknél azonban az ülepedést alkalmazó módszer volt a pontosabb az adszorpció hatékonyság kimutatására, hiszen ahogy azt a 3. táblázat is mutatja, az 1 percig alkalmazott centrifugálás kevés volt a szuszpenzióban az adszorbenshez kötődő baktériumsejtek és a „szabad” sejtek szétválasztásához. Eme kontroll részecskével végzett kísérletek tapasztalatai azt mutatták, hogy a Na-CM részecskék stabil diszperziót képeznek még a baktérium szuszpenzióval való elegyítés után is. Ebben a stabil diszperzióban az enyhe, rövid idejű centrifugálás nem okoz teljes fázisszétválást, aminek köszönhetően a vizsgált folyadék fázisban még mindig sok sejt marad (3. táblázat Na-CM kontrollra vonatkozó oszlopai). Mindennek hátterében valószínűleg az adszorbens részecske fizikai-kémia tulajdonságai állnak, azonban ezen tulajdonságok meghatározása nem képezte munkám és feladataim részét, így teljes és pontos magyarázatot egyelőre erre nem tudok adni. A végleges konklúzió levonása csak a kooperáló munkacsoport eredményeivel együtt valósulhat meg, ebben a dolgozatban azonban csak azokat az eredményeket szerettem volna összefoglalni, melyek közvetlenül az általam elvégzett munkához köthetők.

Összességében azonban elmondható, hogy a szakirodalomból ismert elválasztási eljárás (centrifugálás) helyett egy sokkal hatékonyabb, és pontosabb információt adó vizsgálati módszer lépéseit sikerült kidolgoznom, mely alkalmas a hosszú ideig stabil diszperziókat alkotó részecskék baktérium sejt adszorpciós hatékonyságának mérésére is. A vizsgálati módszert azzal is pontosítottam, hogy meghatároztam az adszorbens mentes baktérium szuszpenzióban a baktérium sejtek természetes viselkedését, és az adszorbens tartalmú rendszerekben kapott eredményeket ezen háttér értékek figyelembevételével is megadtam (3. táblázat).

5.4. Az ülepedés és újra-szuszpendálás vizsgálatának eredményei

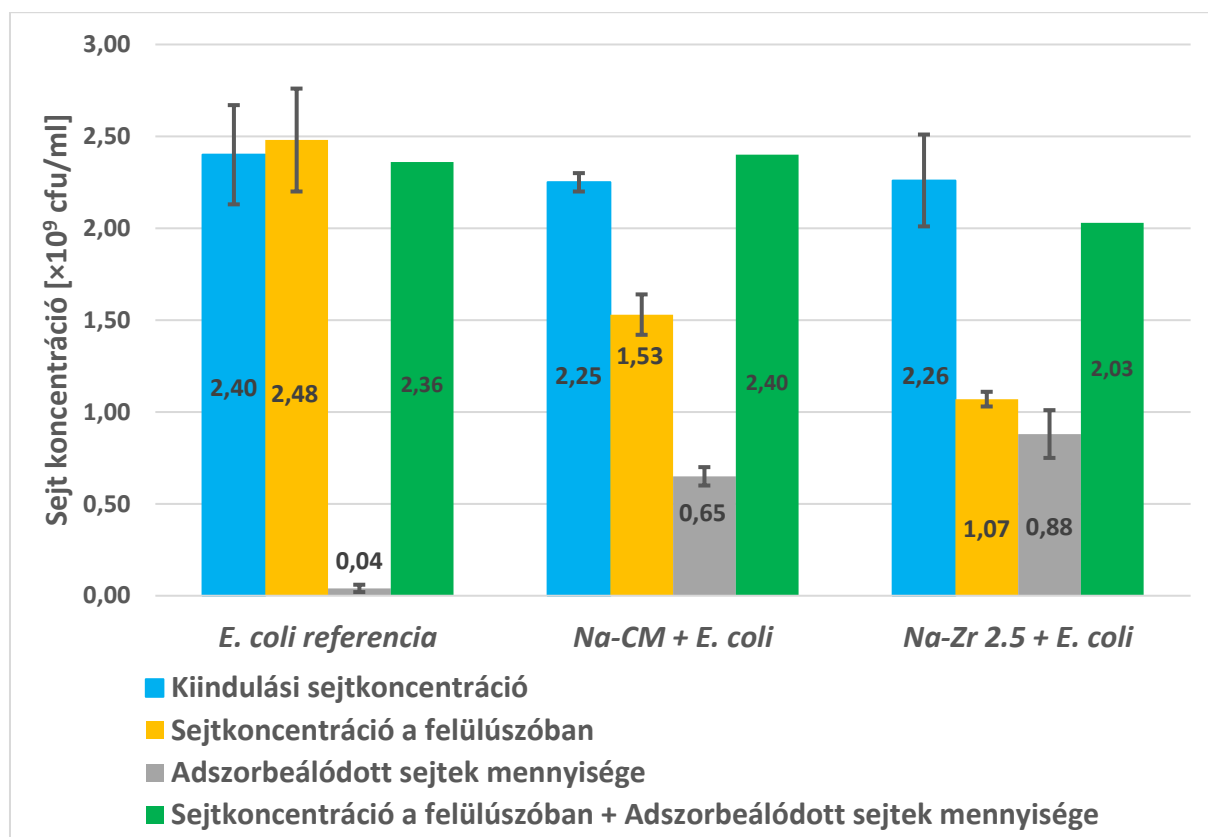
Az ülepedési és centrifugálási vizsgálat eredményeinél eddig csak közvetve határoztam meg az adszorpcióban részt vevő baktériumsejtek koncentrációját, azaz a kiindulási sejtkoncentrációból kivontam az adszorpció megvalósulása után kapott sejtkoncentráció értékeket. Azonban mindenképpen szerettem volna bizonyítani azt is, hogy a baktériumok, melyek feltételezhetően adszorbeálódtak az adott agyag részecskékhez, valóban jelen vannak a kiülepedett pelletben. Ennek érdekében az eddig alkalmazott módszereket finomítottam, és további lépésekkel egészítettem ki (7. és 8. számú melléklet szerint). A kimutatási vizsgálatokat úgy végeztem, hogy miután az adszorpciós folyamat végbemenet (7. számú melléklet C-D részlet) a felülúszó fiziológiás sóoldatot és a benne lévő, ki nem ülepedett baktériumokat pipettával eltávolítottam, majd a centrifugacső alján lévő, az adszorbenst és a feltehetően a hozzá kötött baktériumokat tartalmazó fázisból közvetlenül is mintát vettem, és a részecskékkel együtt LB-agar lemezre széleszttem (8. számú melléklet H-I részlete). Ahogy a 8. ábra C részlete is mutatja, a lemezen baktérium telepek fejlődtek, melyek csak úgy kerülhettek a lemezre, ha előzőleg a részecskékhez voltak kötődve.



8. ábra: Na-Zr 2,5 adszorbens alkalmazása esetén tapasztalt telepszám változás (pirossal jelölve az adott lemezen számolt telepek számát cfu/100 μ l-ben). A) kiindulási telepszámok, B) adszorpció, ülepedés utáni telepszám értékek a felülúszó fázisból, C) részecskékhez kötött, részecskékkal együtt kiszélesztett baktériumok által alkotott telepek száma

Ezen mérés eredményeit a 9. ábra (és a 10. számú melléklet táblázat) összegezi. A grafikonon minden vizsgálati körülménynél késsel jelöltem a kiindulási sejtszámot, szürkével a gravitációs erő által előidézett ülepedését (az adszorbens mentes sejtszuszpenzió), vagy az adszorpció okozta sejtkoncentráció változást. Sárgával az inkubáció (adszorpció) után a folyadék fázisban maradt baktériumok koncentrációját, míg a zöld egy olyan egyesített oszlop, mely a szürke és a sárga oszlopok összeadásából származik. Amennyiben megfelelően végeztem el a kísérletet, akkor a leülepedett, vagy adszorbeálódott baktériumok száma (szürke) és a felülúszóban maradt baktériumok mennyisége (sárga) vissza kell, hogy adja a kiindulási sejtkoncentrációt. Elvégezve ezt az összesítést, majd összehasonlítva a grafikon kék és zöld oszlopait, azt kaptam,

hogy a két oszlop közötti különbség 10 %-os hibahatáron belül mozog (kék oszlopon jelöl hibasáv), ami jó egyezésnek számít. Ezen ábra jól szemlélteti azt is, hogy a két alkalmazott adszorbens közül az Na-Zr 2,5 bizonyult a hatásosabbnak (ahogy azt a szürke oszlop, mint az adszorbens által megkötött baktériumok mennyisége is mutatja).



9. ábra A mérési eredmények összesített ábrája

Ezen kísérletsorozat alkalmával vizsgáltam a sejtek adszorbensekhez való adszorpciós kötődésének erősségét is. Ezt úgy végeztem el, hogy miután az adszorpció megvalósulhatott (7. számú melléklet D-E részlete) a centrifugacsövekből eltávolítottam a kialakult felülúszó fázist, majd a cső alján maradt adszorbens fázisra új, steril fiziológiás sóoldatot mértem. A centrifugacsöveket ezután a szokott módon szuszpendáltam, rázattam, inkubáltam (8. számú melléklet F része), majd a folyadék fázisból mintát véve vizsgáltam a telepképző egységek számát (8. számú melléklet G részlete). Az eredmények azt mutatták, hogy sem pipettázással, sem rázatással tudtam lemosni számolható mennyiségű baktériumot az adszorbensekről (az itt kapott telepszámok a kiértékelhető tartomány alatt voltak, jellemzően 10 vagy annál kevesebb telepképző egység volt számolható az egyes lemezeken). Ez azt jelentette számomra, hogy a sejtek erős adszorpciós kölcsönhatással kapcsolódtak az adszorbens felszínéhez.

6. Összefoglalás

Munkám során két természetes alapú agyag részecske mikroorganizmus adszorpciós képességét vizsgáltam. A nátriummal telített montmorillonit (Na-CM) volt a kontroll, míg a cirkóniumpilléres montmorillonit (Na-Zr 2,5) a tesztelt részecske. Az elővizsgálatok során először is meg kellett határoznom azt az *E. coli* szuszpenzió sejtkoncentrációt, mely alkalmas lesz az adszorpciós vizsgálatokban a mintavételezés után számolható mennyiségű telep képzésére LB-agar lemezen. Esetemben ez az $5,92 \pm 0,39$ OD₆₀₀ értékkel rendelkező, $1 \pm 0,05 \times 10^9$ cfu/ml sejtkoncentrációjú starter kultúra esetén a 10⁶-os hígítás volt. Ezután a mérések során (a baktérium és adszorbens között) alkalmazott kontaktidőt kellett meghatározni. Ehhez figyelembe kellett venni, hogy az alkalmazott kontakt idő elégséges legyen az adszorpció végbemeneteléhez, viszont túl hosszú se legyen, mert akkor az időközben végbemenő sejtosztódással keletkező új sejtek száma esetleg elfedi az adszorpció okozta sejtszám csökkenést. Vizsgálataim során végül 1,5 óra bizonyult megfelelőnek.

Az adszorpciós vizsgálatok kivitelezésekor először teszteltem a szűréssel való elválasztás lehetőségét, azonban ebben az esetben a szűrőmembránon fennmaradt adszorbens alkotta lepényen nem tapasztaltam telepnövekedést, az összes baktérium a szűrletbe került. Így arra a következtetésre jutottam, hogy az alkalmazott vákuum (~50 Hgmm) által kifejtett erő a kialakult adszorpciós kötéseket felszakította, tehát az agyag részecskék és az *E. coli* sejtek kötött kialakuló adhézis kölcsönhatás valószínűleg fiziszorpciónak tekinthető.

A következő vizsgálati ciklusban párhuzamosan vizsgáltam az ülepedés, illetve a kis fordulatszámokon alkalmazott centrifugálás alkalmazásának lehetőségét az adszorpció utáni „szabad” és adszorbeálódott baktériumsejtek szétválasztására. A gravitációs erő hatására kialakuló szétválásnál meghatároztam azt az időt (30 perc), ahol a referenciaként alkalmazott adszorbens-mentes baktérium szuszpenzióban még nem tapasztalható jelentős sejtkoncentráció változás a kiindulási sejtkoncentrációhoz képest. Így a későbbiekben az adszorbens tartalmú rendszereknél ezen kontakt idő elteltével tapasztalt sejtkoncentráció változást az adszorpció megvalósulásának tekinthettem. És minél nagyobb volt a különbség a kiindulási és az adszorpció utáni sejtkoncentráció között, az annál jobb adszorpciós hatékonyságot jelentett. A kapott eredmények kiértékelésekor figyelembe vettem az adszorbens nélküli *E. coli* sejtsuszpenzió viselkedését, és a kapott eredményeket korrigáltam ennek függvényében. Így azt a megállapítást tehettem, hogy az általam tesztelt Na-Zr 2,5 adszorbensnek a jelenlévő

baktériumok kb. 56 %-át sikerült adszorbeálni, míg a kontroll (Na-CM) esetében a megkötött baktériumok mennyisége a kiindulási sejtszámnak csupán 30 %-a volt.

A centrifugálási vizsgálatok során meghatároztam, hogy melyek a legmegfelelőbb körülmények ezen vizsgálathoz (1000 rpm 1 perc), azaz ahol centrifugával történő fázis elválasztás nem lesz nagyobb mértékű, mint amennyi baktérium önmagától leülepszik, ha csak hagyunk állni egy adszorbens mentes *E. coli* szuszpenziót. Ebben az esetben is a baktériumszuszenzió felülúszójában, az adszorpció előtt és után, tapasztalható sejtkoncentráció változás adott választ arra, hogy a Na-Zr 2,5 részecske mennyire működik hatékony adszorbensként. Igazoltam, hogy mind ülepedéssel, mind centrifugálással történő fázisválasztással a folyadék fázisban a sejtkoncentráció kb. 60 %-kal csökkent a kiinduláshoz képest. A Na-CM kontrollnál a centrifugálás során minimális mértékű fázisválasztást sikerült elérnem, ami így nem szolgáltatott reprezentatív eredményt a kontroll részecske adszorpciós hatékonyságára vonatkozóan. Ezzel igazoltam, hogy a szakirodalomban korábban alkalmazott kimutatási eljárás (centrifugálás) nem minden esetben hatékony és nem ad mindig korrekt eredményt. Ezzel egyidőben pedig kidolgoztam egy olyan kimutatási protokollt, ami az általam vizsgált összes részecske esetén jól alkalmazható volt és reális eredményt adott (ülepedéses szétválasztás).

Végezetül az ülepedési vizsgálatokat kiegészítettem további lépésekkel, annak érdekében, hogy az adszorpcióban részt vevő baktérium mennyiséget közvetlenül is meg tudjam határozni. Ennek érdekében a végső, az adszorbens részecskéket (és feltételezésemnek megfelelően a hozzájuk kötődő baktériumokat) tartalmazó pelletet is mintáztam LB-agar lemezekre. A pelletből és felülúszóból kapott sejtkoncentrációk összege közel azonos volt a kiindulási baktériumszuszenzió sejtkoncentrációjával, ami konkrét bizonyítéka lett annak, hogy az a sejtmennyiség, ami az adszorpció után hiányzik a felülúszó fázisból, az nem eltűnik a rendszerből, hanem az adszorbens részecskékhez kötötten marad a pellet fázisban.

Az elvégzett vizsgálatokból tehát megállapítható volt a Na-Zr 2,5 részecske adszorpciós hatékonysága körülbelül a kétszerese a Na-CM agyag részecske hatékonyságához képest, és így megfelelő jelöltje lehet további adszorpciós vizsgálatoknak. A továbbiakban mindenképpen érdemes lenne a Na-Zr 2,5 részecske mikroorganizmus adszorpciós paramétereinek pontosabb vizsgálata (adszorpciós hatékonyság változása idő, anyagmennyiség, hőmérséklet, pH és esetleg mikroorganizmus fajtákra (Gram negatív, Gram pozitív) való szelektivitás szempontjából). Az eddigi méréseket csak egyetlen fajta modell mikroorganizmust tartalmazó szuszpenzióban végeztem, így hasznos lenne megvizsgálni azt is, hogy például sokféle

mikroorganizmust (és egyéb szerves, vagy szervetlen szennyezőket is) tartalmazó szennyvízminták esetében hogyan és milyen hatékonysággal alkalmazható a Na-Zr 2,5 tartalmú adszorbens. Ez a feladat is mindenképp részét képezi további terveimnek.

Irodalomjegyzék

- [1]. A.W. Worako: *Physicochemical and Biological Water Quality Assessment of Lake Hawassa for Multiple Designated Water Uses*, 2015, *Journal of Urban Environmental Engineering*, DOI: 10.4090/juee.2015.v9n2.146157
- [2]. M. Ahmed, M.O. Mavukkandy, A. Giwa, M. Elektorowicz, E. Katsou, O. Khelifi, V. Naddeo, S.W. Hasan, *Recent developments in hazardous pollutants removal from wastewater and water reuse a circular economy*, 2022, *npj Clean Water*, DOI: <https://doi.org/10.1038/s41545-022-00154-5>
- [3]. Tolnai B.: *Szennyvíztisztítás helyett szennyvíz-hasznosítás*, VÍZMŰ PANORÁMA, 2016/1, http://epa.niif.hu/04000/04052/00018/pdf/EPA04052_vizmu_panorama_2016_01_22-26.pdf, Megtekintve: 2023.11.04.
- [4]. *A szennyvíztisztítás technológiája*, MAVÍZ https://www.maviz.org/fogyasztoi_informaciok/a_szennyviztisztitas_technologiaja, Megtekintés dátuma: 2023.10.22.
- [5]. T. Chauhan, M. Udayakumar, M.A. Shehab, F. Kristály, A.K. Leskő, M. Ek, D. Wahlqvist, P. Tóth, K. Hernadi, Z. Németh: *Synthesis, characterization, and challenges faced during the preparattion of zirconium pillared clays*, 2022, *Arabian Journal of Chemist*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103706>
- [6]. 2020/741 RENDELET: *A víz újrafelhasználására vonatkozó minimumkövetelményekről*, <https://life-climcoop.hu/wp-content/uploads/2021/12/vizujra.pdf>, Megtekintés dátuma: 2022.12.13.
- [7]. Takács J., Sallai F. és Lipták M.: *Javaslatok a kommunális szennyvíztisztítás és szennyvíziszap kezelés fejlesztésére*, Észak-magyarországi Stratégiai Füzetek, 2006, https://www.strategiaifuzetek.hu/files/591/eszak-magyarorszagi-strategiai-fuzetek-2006-iii-evfolyam-2-szam_teljes.pdf, Megtekintve: 2023.11.04.
- [8]. *Industrial Water Recycle & Reuse* - <https://www.evoqua.com/en/markets/applications/industrial-water-recycle-reuse/>, Megtekintve: 2022.11.10.
- [9]. Lakatos Gy., Veres Z., Gyulai I., és Fülöp Z.: *Hazai szennyvíztisztítási fejlesztések a fenntartható vízgazdálkodás érdekében*, Debreceni Egyetem, https://www.hidrologia.hu/vandorgyules/34/dolgozatok/word/0505_lakatos_gyula.pdf, Megtekintés dátuma: 2023.11.08.
- [10]. László K.: *Felületek Fizikai kémiája*, Egyetemi tananyag, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 2011, http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/fizkem/Feluletek%20fizikai%20kemiaja/Laszlo_Krisztina--Feluletek_fizikai_kemiaja_KORR.pdf, megtekintve: 2023.10.28.
- [11]. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, *Hungarian Journal of Animal Production*, 2009, http://real-j.mtak.hu/14123/32/allattenyesztes_2009_58_4.pdf, Megtekintve: 2023.10.30.

- [12]. J.E. Groenenberg, S. Lofts: *The use of assemblage models to describe trace element partitioning, speciation, and fate: A review*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2014, DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.2642>
- [13]. A. Bhatnagar, W. Hogland, M. Marques, & M. Sillanpää: *An overview of the modification methods of activated carbon for its water treatment applications*. *Chemical Engineering Journal*, 2013, DOI: 10.1016/j.cej.2012.12.038
- [14]. V. Lazarova, P. Savoye, M.L. Janex, E.R. Blatchley II, M. Pommepuy: *Advanced wastewater disinfection technologies: State of the art and perspectives*, 1999, *Water Science and Technology*, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00502-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00502-8)
- [15]. E.I. Unuabonah, C.G. Ugwuja, M.O. Omorogie, A. Adewuyi, N.A. Oladoja: *Clays for Efficient Disinfection of Bacteria in Water*, 2018, *Applied Clay Science*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2017.10.005>
- [16]. D.J. Dawson, D.P. Sartory: *Microbiological safety of water*, 2000, *British Medical Bulletin*, DOI: 10.1258/0007142001902987
- [17]. R. Bentley, R. Meganathan: *Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria*, 1982, *Microbiol. Rev.* 46, 241–80
- [18]. M. Fida, P. Li, Y. Wang, S.M.K. Alam, A. Nsabimana: *Water Contamination and Human Health Risks in Pakistan: A Review*, 2022, *Exposure & Health*, DOI:10.1007/s12403-022-00512-1
- [19]. *Advanced Materials Interfaces*, 2022, 9 (36), pp.2201997. [ff10.1002/admi.202201997](https://doi.org/10.1002/admi.202201997)
[ff10.1002/admi.202201997](https://doi.org/10.1002/admi.202201997)
ffhal-04006131
- [20]. H.M. Southam, J.A. Butler, J.A. Champman, R.K. Poole: *Chapter One – The Microbiology of Ruthenium Complexes*, 2017, *Advances in Microbial Physiology*, DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.03.001>
- [21]. T. Undabeytia, R. Posada, S. Nir, I. Galindo, L. Laiz, C. Saiz-Jimenez, E. Morillo: *Removal of waterborne microorganisms by filtration using clay-polymer complexes*, 2014, *Journal of Hazardous Materials*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.07.006>
- [22]. A. Shtarker-Sasi, S. Castro-Sowinski, O. Matan, T. Kagan, S. Nir, Y. Okon, A.M. Nasser: *Removal of bacteria and Cryptosporidium from water by micelle-montmorillonite complexes*, 2013, *Desalination and Water Treatment*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/19443994.2013>
- [23]. Fülöp József: *Rövid kémiai értelmező és etimológiai szótár*, Celldömök, Páez-Westermann Könyvkiadó Kft, 1998, ISBN: 963-8334-96-7
- [24]. A. Gil, M.A. Vicente és ScienceDirect *Progress and Perspectives on Pillared Clays Applied in Energetic and Environmental Remediation Processes*, 2020, *Academica-e*, DOI: 10.1016/j.cogsc.2019.12.004
- [25]. F. Bergaya, A. Aouad, T. Mandalia: *Chapter 7.5 Pillared Clays and Clays Minerals*, 2006, *Development in Clay Science*, DOI: 10.1016/S1572-4352(05)01012-3

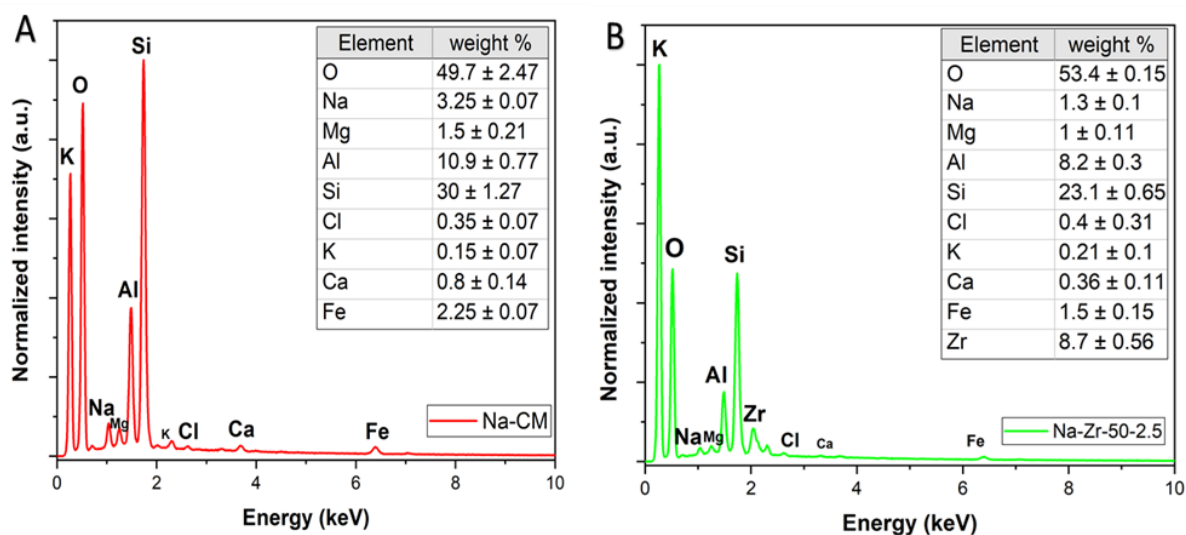
- [26]. A. Gil, S.A. Korili, R. Trujillano, M.A. Vicente és A Review on Characterization of Pillared Clays by Specific Techniques, 2011, *Applied Clay Science*
DOI: 10.1016/j.clay.2010.09.018
- [27]. A. Kalfa, N. Rakovitsky, M. Tavassi, M. Ryskin, J. Ben-Ari, H. Etkin, U. Shuali, S. Nir: Removal Of *Escherichia coli* and total bacteria from water by granulated micelle-clay complexes: Filter regeneration and modeling of filtration kinetics, 2017, *Applied Clay Science*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.06.023>
- [28]. L. Hoge Kamp, S.H. Hoge Kamp, M.R. Stahl: Experimental setup and image processing method for automatic enumeration of bacterial colonies on agar plates, 2020, *PLoS One* 15(6), DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232869>
- [29]. P.M. Rodrigues, J. Luís, F.K. Tavaría: Image Analysis Semi-Automatic System for Colony-Forming-Unit Counting. *Bioengineering*, 2022,
DOI: <https://doi.org/10.3390/bioengineering9070271>
- [30]. N. Taylor, W.J. Ma, A. Kristopeit, S. Wang, A.L. Zydney: Retention characteristics of sterile filters – Effect of pore size and structure, 2021, *Journal of Membrane Science*
- [31]. Unacademy - Brief Notes on Physisorption, <https://unacademy.com/content/upsc/study-material/chemistry/brief-notes-on-physisorption/>, Megtekintés dátuma: 2023.10.26.

Mellékletek

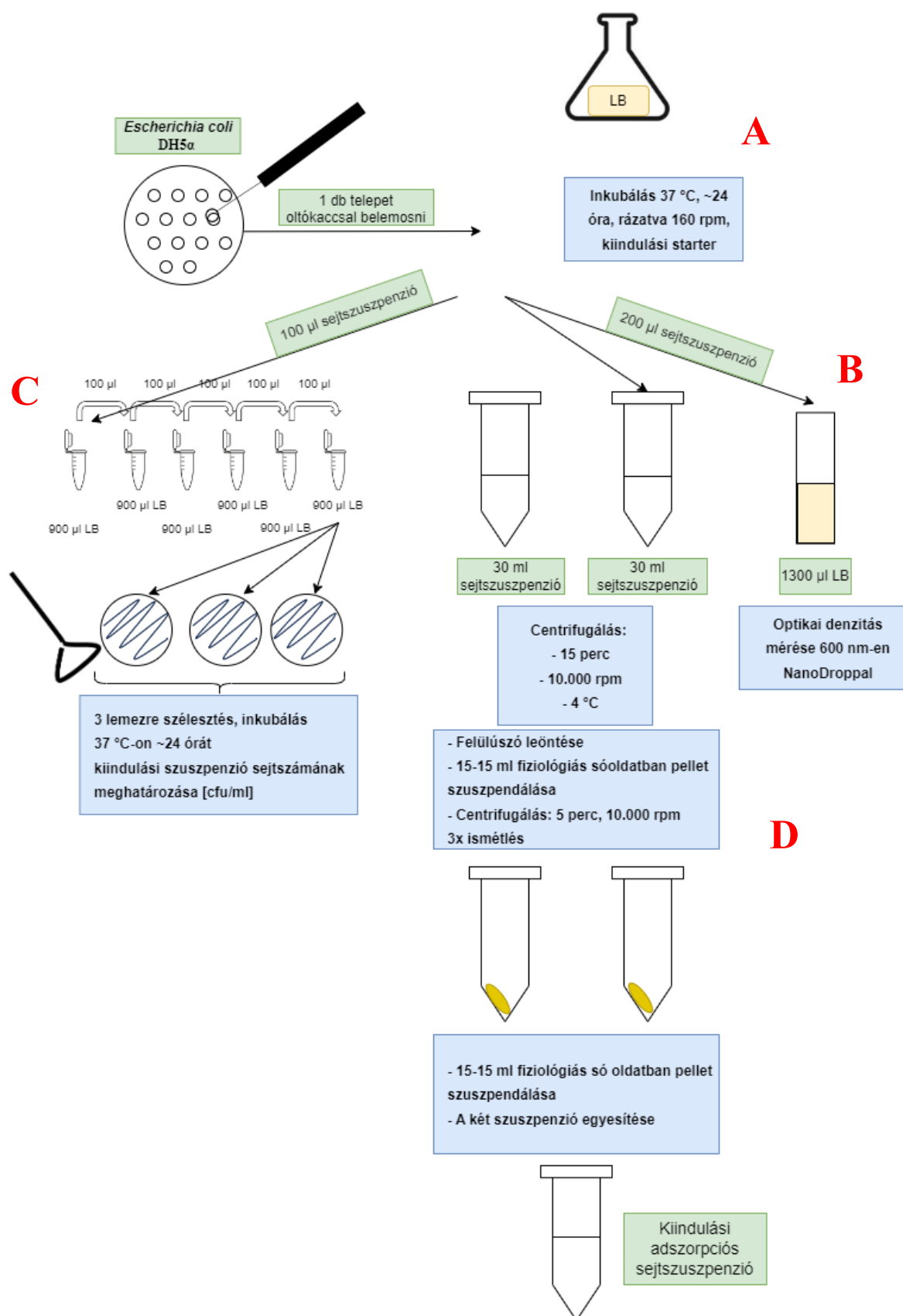
1. számú melléklet

A vizsgálni kívánt agyag részecskék elemi összetétele

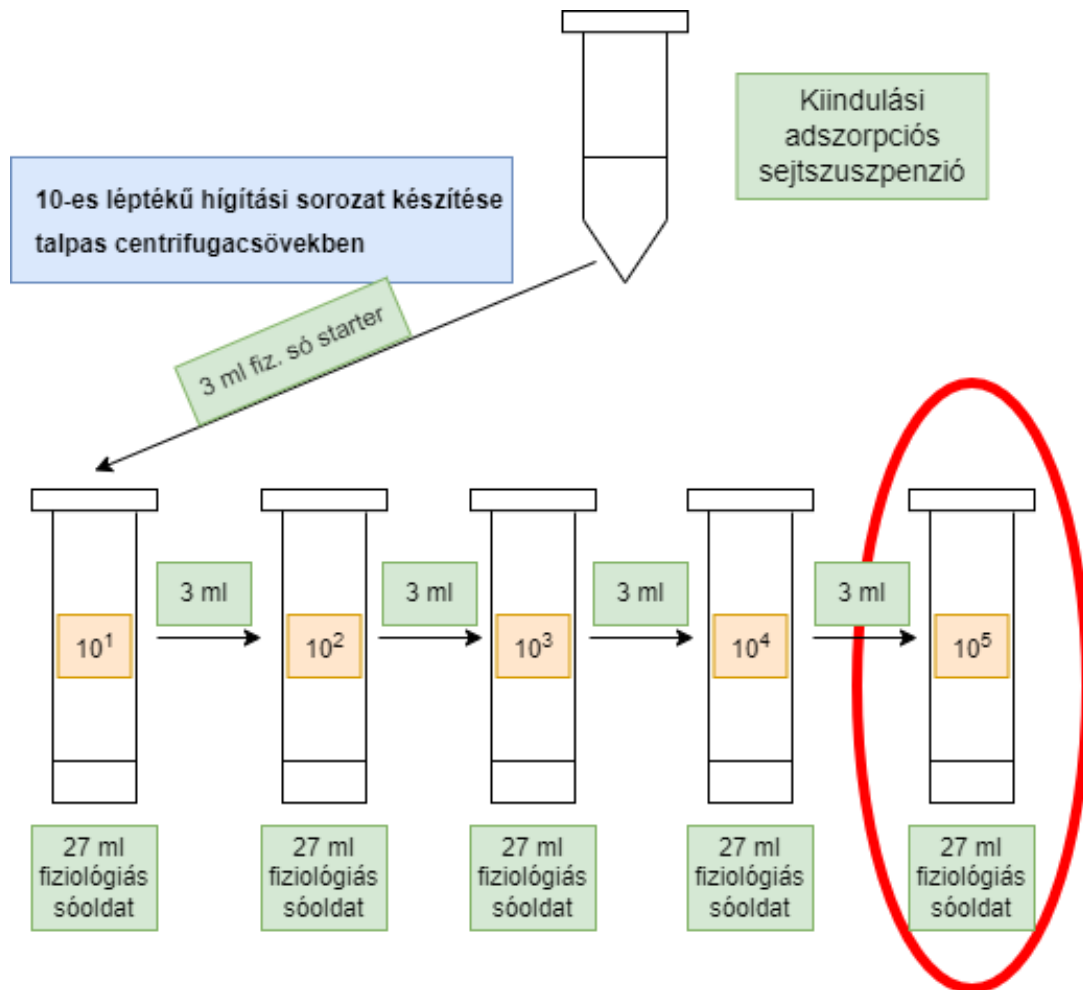
A Na-CM (piros) és a Na-Zr 2,5 (zöld) agyag alapú részecske elemi összetételét mutatja be az ábra. Az ábrázolt elemanalízis röntgen energia-diszperzív spektroszkópiával (EDS) történt [5].



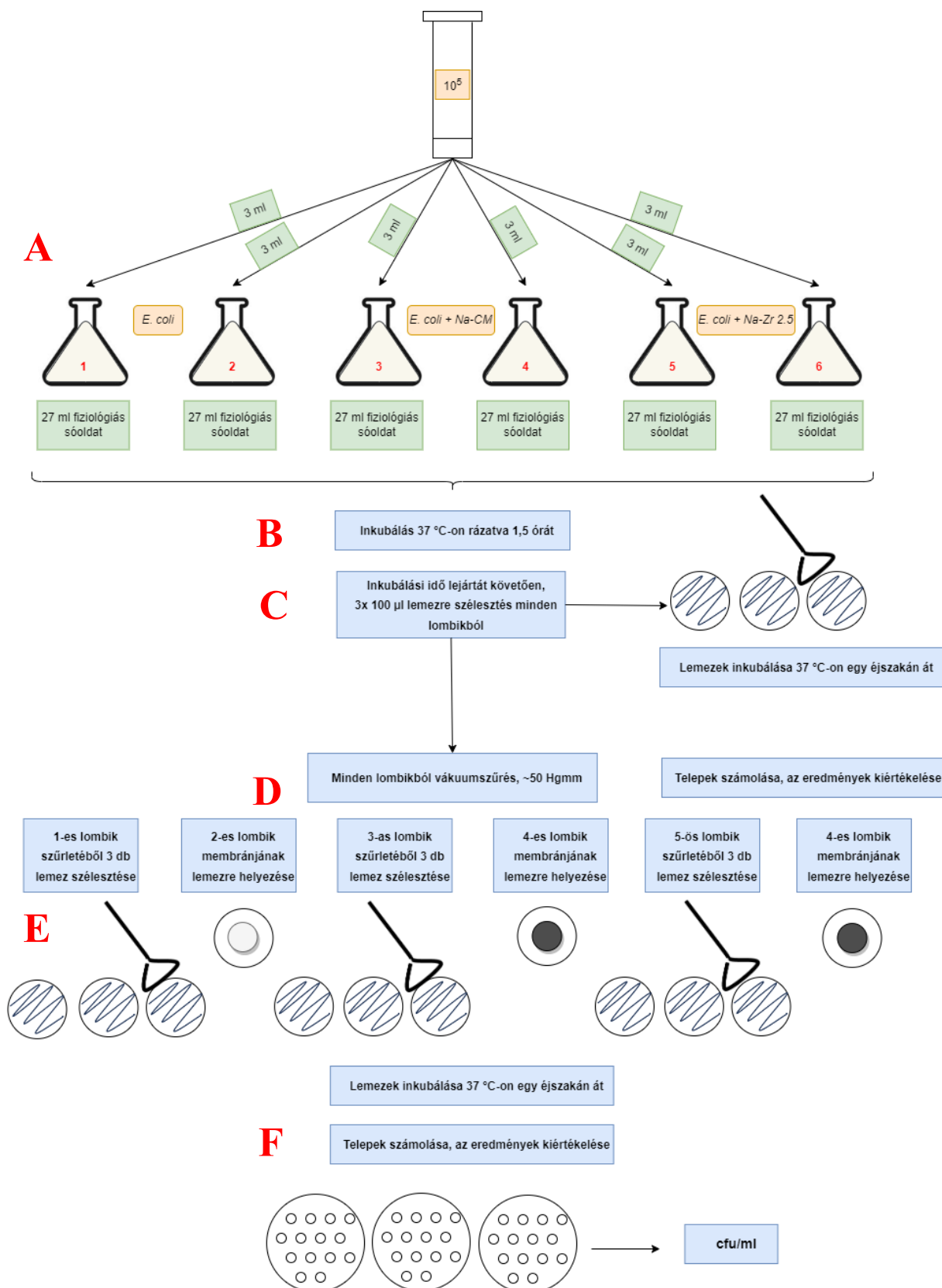
2. számú melléklet:
Escherichia coli starter elkészítése (A-C), valamint a kiindulási (adszorpciós) baktérium
szuszpenzió létrehozása (D)



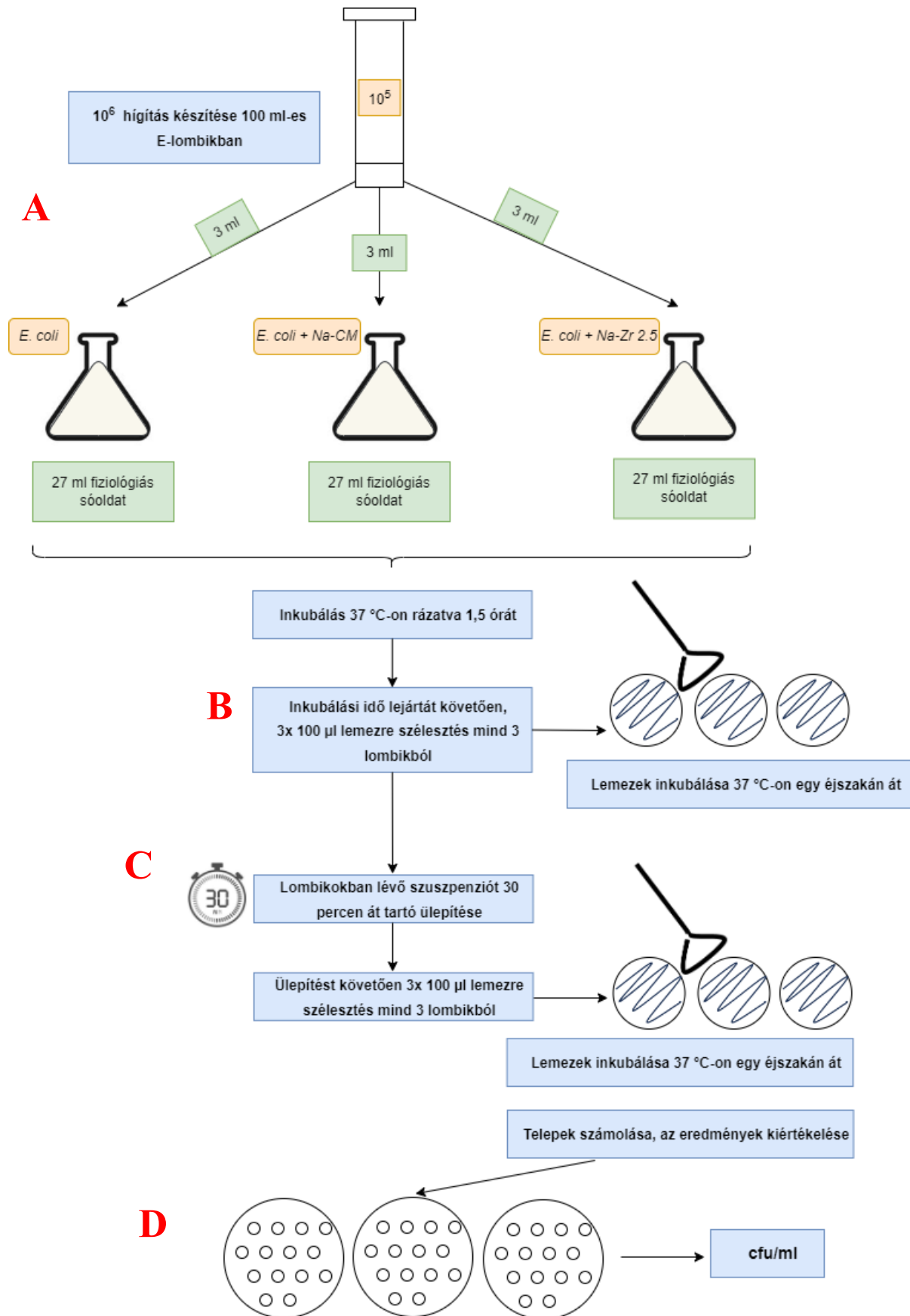
3. számú melléklet:
Hígítási sorozat készítése a kiindulási baktériumszuszpenzióból



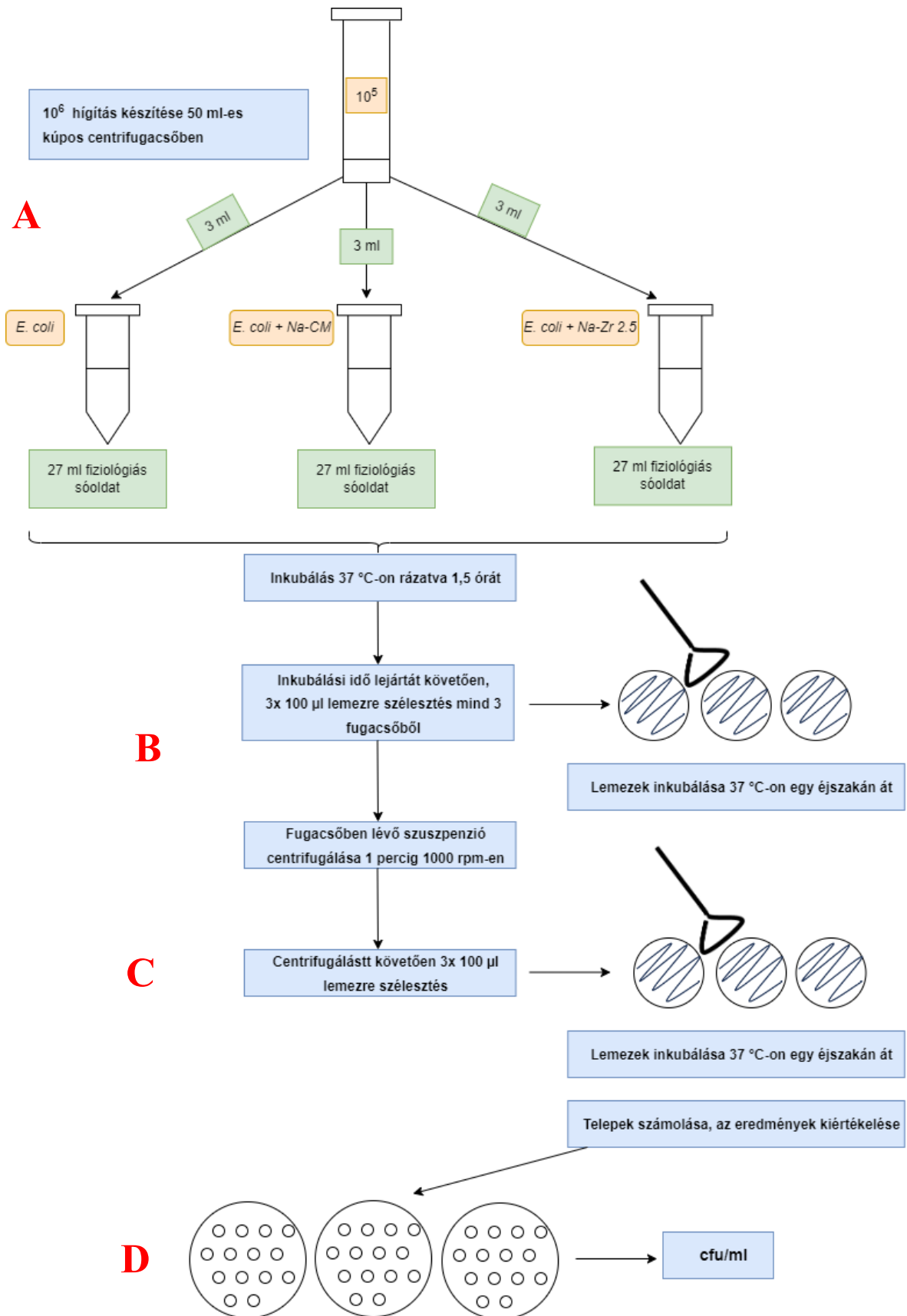
4. számú melléklet:
A vákuumszűrés folyamatábrája



5. számú melléklet:
Az ülepedési vizsgálat folyamatábrája

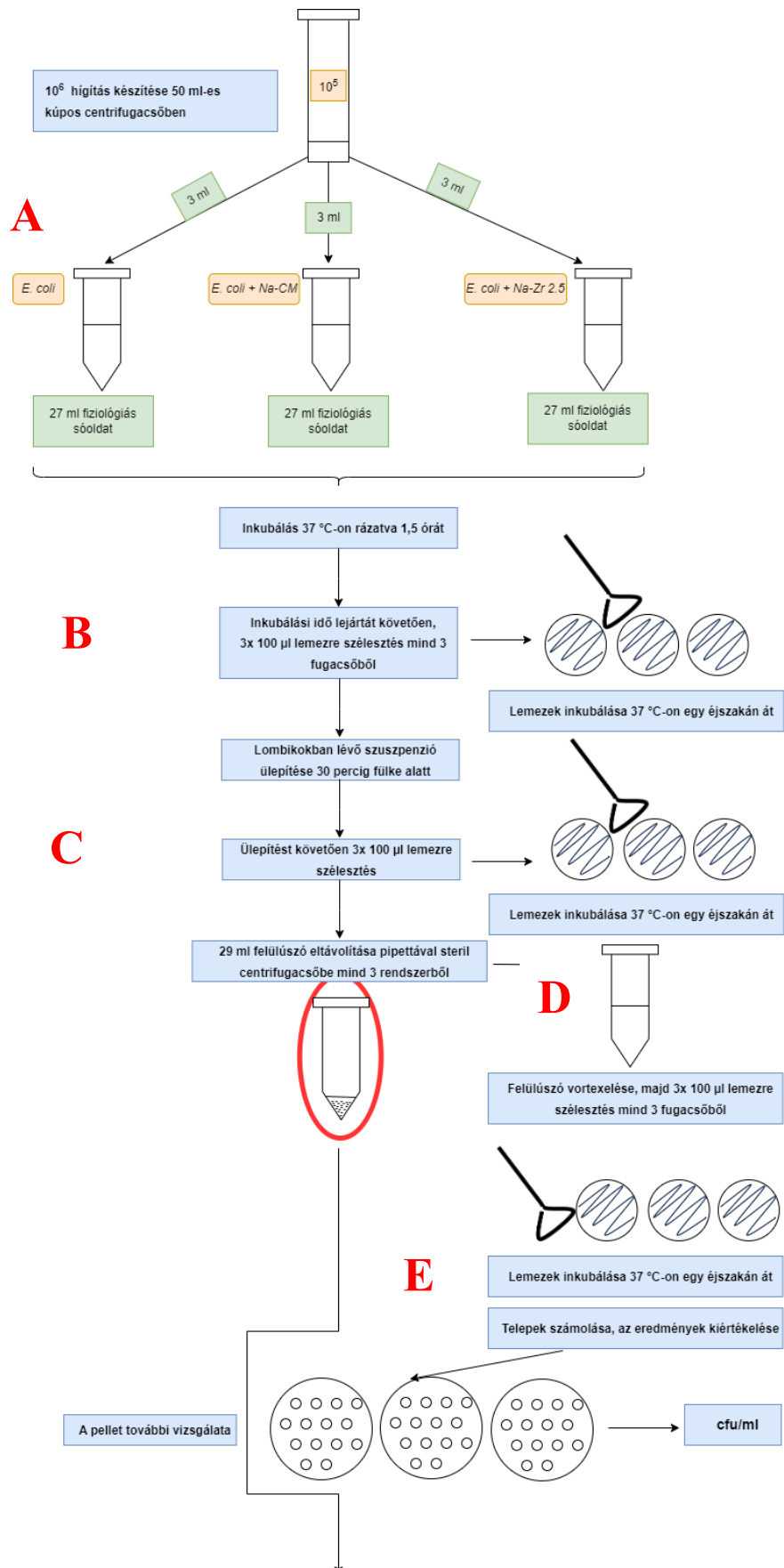


6. számú melléklet:
A centrifugálási vizsgálat folyamatábrája



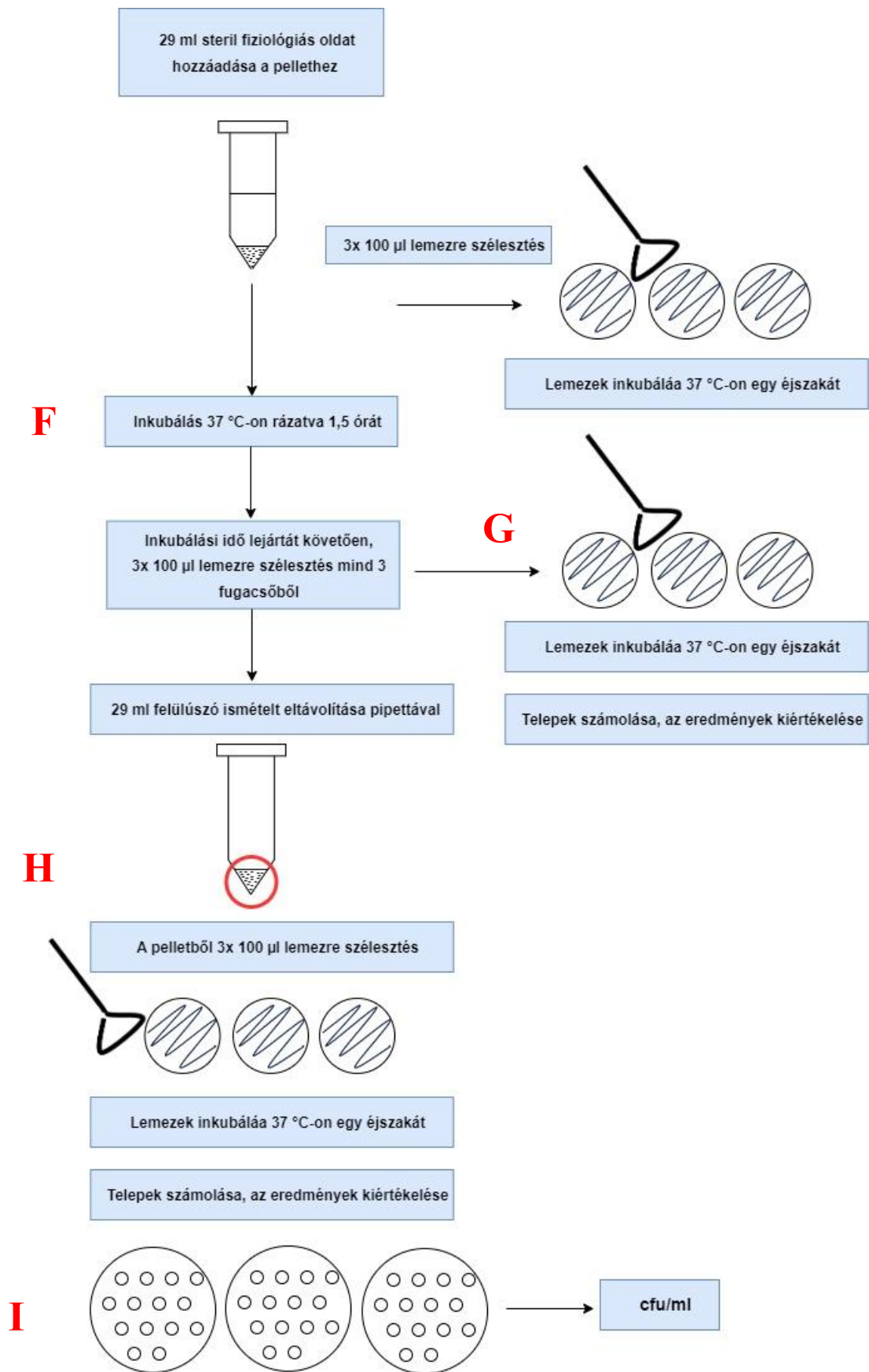
7. számú melléklet:

Az ülepítés majd újra szuszpendálás vizsgálatának folyamatábrája / 1.



8. számú melléklet:

Az ülepítés majd újra szuszpendálás vizsgálatának folyamatábrája / 2.



9. számú melléklet:
Centrifugálás mérési eredményei

Alkalmazott centrifugálási fordulatszámok hatása a centrifugálás előtti és utáni sejtkoncentrációra adszorbens nélküli *E. coli* (referencia) szuszpenzióban.

<i>E. coli</i> szuszpenzió	1000 rpm	2000 rpm	3000 rpm
Kiindulási sejtkoncentráció [$\times 10^9$ cfu/ml]	3,35	3,35	3,35
Centrifugálás utáni sejtkoncentráció [$\times 10^9$ cfu/ml]	3,17	2,22	1,98
Százalékos eltérés	5,37 %	33,73 %	40,89 %

10. számú melléklet:
Az ülepedés újra szuszpendálás mérési eredményei

Rendszer	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> + Na-CM	<i>E. coli</i> + Na-Zr 2,5
Kiindulási telepszám [$\times 10^9$ cfu/ml]	2,40 $\pm$ 0,27	2,25 $\pm$ 0,05	2,26 $\pm$ 0,25
Felülúszó telepszáma [$\times 10^9$ cfu/ml]	2,48 $\pm$ 0,28	1,53 $\pm$ 0,11	1,07 $\pm$ 0,04
Részecskékhez kötött telepszám [$\times 10^9$ cfu/ml] *	0,04 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,06	0,88 $\pm$ 0,13
Felülúszó telepszáma + a részecskékhez kötött telepszám [$\times 10^9$ cfu/ml]	2,36	2,40	2,03