

**Pannon Egyetem, Mérnöki Kar**

**Tudományos Diákköri Konferencia '26**

Válogatás a Mérnöki Kar hallgatói által a 2026. év tavaszi  
Tudományos Diákköri Konferenciákon bemutatott pályamunkákból

A kiadványt összeállította  
Dr. Ható Zoltán és Dr. Valiskó Mónika



NTP-HHTDK-25-0008

„Polinszky Tehetséggondozó Program a Pannon Egyetem Mérnöki Karán”



KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS  
MINISZTERIUM



Nemzeti Tehetség  
Program

Pannon Egyetemi Kiadó 2026

**Pannon Egyetem, Mérnöki Kar**

**Tudományos Diákköri Konferencia '26**

2026. április 29.

Válogatás a Mérnöki Kar hallgatói által a 2026. év tavaszi  
Tudományos Diákköri Konferenciákon bemutatott pályamunkákból

A kiadványt összeállította  
Dr. Ható Zoltán és Dr. Valiskó Mónika

NTP-HHTDK-25-0008

„Polinszky Tehetséggondozó Program a Pannon Egyetem Mérnöki Karán”



KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS  
MINISZTERIUM



Nemzeti Tehetség  
Program

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar

**Tudományos Diákköri Konferencia  
2026. április 29.**

Válogatás a Mérnöki Kar hallgatói által a 2026. év tavaszi  
Tudományos Diákköri Konferenciákon bemutatott pályamunkákból

Szerkesztette  
Dr. Ható Zoltán és Dr. Valiskó Mónika

Kiadja a Pannon Egyetemi Kiadó  
8200 Veszprém, Egyetem u. 10.

© Pannon Egyetemi Kiadó, Veszprém, 2026

ISBN 978-963-396-319-7



Anyanyelvi lektor: Bélafi-Zihár Dóra  
Borítóterv és kiadványszerkesztés: Vipler Nikolett  
A kiadásért felelős a Pannon Egyetem rektora



**Pannon Egyetem**  
University of Pannonia



**Pannon Egyetem**  
Mérnöki Kar

## Tartalomjegyzék

|                                                                                                                                                   |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>A konferencia szervezői</b>                                                                                                                    | <b>6</b>  |
| <b>Demeter Rebeka – Kadmium-specifikus flagellinek előállítás bioszenzorokhoz</b>                                                                 | <b>7</b>  |
| Tartalmi összefoglaló                                                                                                                             | 8         |
| 1. Bevezetés                                                                                                                                      | 9         |
| 1.1. Fémek és nehézfémek a környezetben és az élő szervezetekben                                                                                  | 9         |
| 1.2. Bioszenzorok                                                                                                                                 | 9         |
| 1.3. A fehérjék szerepe mint kiváló érzékelőrétegek a bioszenzorokon                                                                              | 10        |
| 1.3.1. Kadmiumkötő fehérjék                                                                                                                       | 10        |
| 1.4. A flagellinről és bioszenzorikai szempontból jó tulajdonságairól                                                                             | 13        |
| 2. Célkitűzés                                                                                                                                     | 14        |
| 3. Anyagok és módszerek                                                                                                                           | 15        |
| 3.1. Felhasznált anyagok és eszközök                                                                                                              | 15        |
| 3.2. Agaróz- és SDS-PAGE (nátrium-dodecil-szulfát-poliakrilamid) gélelektroforézis                                                                | 15        |
| 3.3. Elektrokémiai mérések és a potenciosztát                                                                                                     | 16        |
| 3.4. A cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia elve                                                                                             | 17        |
| 4. Elvégzett kísérletek és értékelésük                                                                                                            | 18        |
| 4.1. A kadmiumkötő motívumokat kódoló DNS-ek létrehozása                                                                                          | 18        |
| 4.1.1.1. A <i>YodA</i> és <i>CadA</i> inzertek létrehozása és emésztése                                                                           | 18        |
| 4.1.2. A kadmiumkötő flagellin variánsokat kódoló plazmidok létrehozása                                                                           | 20        |
| 4.1.3. A ligátumok transzformálása <i>E. coli</i> TOP10 és XL10 Gold klónozó törzsekbe                                                            | 21        |
| 4.2. <i>YodA</i> és <i>CadA</i> motívumot tartalmazó plazmidok elektroporálása flagellin deficiens <i>salmonella</i> sejtekbe                     | 22        |
| 4.3. A <i>FliC-YodA</i> és <i>FliC-CadA</i> motívumot tartalmazó flagellin filamentumok izolálása                                                 | 23        |
| 4.3.1. A <i>FliC-YodA</i> és <i>FliC-CadA</i> variánsok termeltetése és izolálása kis térfogatban                                                 | 23        |
| 4.4. A <i>FliC-YodA</i> és <i>FliC-CadA</i> motívumot tartalmazó flagellin filamentumok izolálása nagy térfogatban                                | 25        |
| 4.5. A Cd-kötő filamentumok előkészítése stabilitási és bioszenzoros vizsgálatokhoz                                                               | 27        |
| 4.6.2. Termikus stabilitás és renaturáció                                                                                                         | 28        |
| 4.6. A flagellin variánsokból készült polimerek szerkezeti stabilitásának vizsgálata CD-spektroszkópiával                                         | 28        |
| 4.6.1. Másodlagos szerkezetanalízis                                                                                                               | 28        |
| 4.7. Bioszenzoros felület kialakítása <i>FliC-YodA</i> és <i>FliC-CadA</i> filamentumok immobilizálásával és a Cd-kötés elektrokémiai detektálása | 29        |
| 4.7.1. <i>FliC-CadA</i> variáns kadmiumkötés-vizsgálata                                                                                           | 30        |
| 4.7.2. A <i>FliC-YodA</i> variáns és a kevert filamentum kadmiumkötő képességének vizsgálata                                                      | 31        |
| 5. Összefoglalás                                                                                                                                  | 31        |
| 6. Köszönetnyilvánítás                                                                                                                            | 32        |
| Irodalomjegyzék                                                                                                                                   | 33        |
| <b>Takács Nikoletta – Metán- és szén-dioxid-tartalmú gázkeverékek elválasztásának vizsgálata poli(dimetil-sziloxán) membránokon</b>               | <b>36</b> |
| Tartalmi összefoglaló                                                                                                                             | 37        |
| 1. Bevezetés                                                                                                                                      | 38        |
| 2. Irodalmi áttekintés                                                                                                                            | 38        |
| 2.1. A biometán jellemzői és jelentősége                                                                                                          | 38        |
| 2.1.1. A biometán szerepe                                                                                                                         | 38        |
| 2.1.2. Technológia                                                                                                                                | 38        |

|                                                                                     |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.3. Földgázhálózatba és járművekbe való betáplálás                               | 39        |
| 2.2. Membrános gázszeparáció                                                        | 39        |
| 2.2.1. A gázválasztó membrántechnológia fejlődési útvonala                          | 39        |
| 2.2.2. A membrános gázszeparáció alapjai                                            | 39        |
| 2.2.2.1. A nem porózus membránok működési alapelve                                  | 39        |
| 2.2.2.2. A permeabilitás/szelektivitás kompromisszum viszonyainak alapjai           | 40        |
| 2.2.2.3. Transzportfolyamatok                                                       | 41        |
| 2.2.2.4. Membránok típusai                                                          | 42        |
| 2.3. A poli(dimetil-sziloxán) (PDMS)                                                | 42        |
| 2.3.1. A PDMS tulajdonságai                                                         | 42        |
| 2.3.2. Előállítás                                                                   | 43        |
| 2.3.3. Alkalmazása                                                                  | 43        |
| 2.4. Kutatási rés a CO <sub>2</sub> /CH <sub>4</sub> membrános szeparáció területén | 43        |
| 3. Célkitűzés                                                                       | 43        |
| 4. Anyagok és módszerek                                                             | 44        |
| 4.2. A rendszer felépítése, összeállítása és megfelelő működésének ellenőrzése      | 44        |
| 4.3. A PDMS membránmodul leírása és bemutatása                                      | 47        |
| 4.4. Általánosan alkalmazott összefüggések                                          | 48        |
| 4.5. Számítási módszer részletezése egy választott mérési pont esetén               | 50        |
| 5. Eredmények és kiértékelésük                                                      | 53        |
| 5.1. Stabilitás                                                                     | 53        |
| 5.2. Permeabilitás és szelektivitás vizsgálata                                      | 53        |
| 5.3. Anyagáramok elemzése                                                           | 55        |
| 5.4. Anyagmérleghibák                                                               | 58        |
| 5.5. Összefoglaló értékelés                                                         | 58        |
| 6. Konklúzió                                                                        | 58        |
| 7. Köszönetnyilvánítás                                                              | 59        |
| Irodalomjegyzék                                                                     | 60        |
| <b>Vámosi Virág – Indiummal módosított oxidfelületek mint fotokatalizátorok</b>     | <b>62</b> |
| 1. Bevezetés                                                                        | 63        |
| 2. Szakirodalmi összefoglaló                                                        | 63        |
| 2.1. A vizsgált rendszer                                                            | 63        |
| 2.1.1. ZnO                                                                          | 63        |
| 2.1.2. In <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                                               | 64        |
| 2.1.3. Agyagásványok – halloysit, kaolinit                                          | 64        |
| 2.2. Heterogén fotokatalízis                                                        | 65        |
| 2.3. A fő vizsgálati módszerek                                                      | 66        |
| 2.3.1. Termoanalitika                                                               | 66        |
| 2.3.2. IR-spektroszkópia                                                            | 67        |
| 2.3.3. Röntgendiffrakció (XRD)                                                      | 67        |
| 3. Célkitűzés                                                                       | 68        |
| 4. Kísérleti munka                                                                  | 69        |
| 4.1. Alkalmazott vegyszerek                                                         | 69        |
| 4.2. Vizsgálati módszerek és paramétereik                                           | 69        |
| 4.3. Az In <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> vizsgálata                  | 72        |
| 4.4. Az optimális ZnO–In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> összetétel meghatározása       | 74        |
| 4.4.1. Preparáció                                                                   | 74        |
| 4.4.2. Termoanalitikai vizsgálat                                                    | 75        |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 4.4.3. Röntgendiffrakciós mérések (XRD)                          | 77 |
| 4.4.4. Valós oxidösszetételek – SEM-EDX                          | 77 |
| 4.4.5. TEM-analízis – 50% ZnO–50% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 78 |
| 4.4.6. Tiltott sáv mérése                                        | 79 |
| 4.4.7. BET-felület meghatározása                                 | 80 |
| 4.4.8. Fotokatalitikus aktivitás vizsgálata                      | 81 |
| 4.5. Társítás agyagásványokkal                                   | 82 |
| 4.5.1. Preparáció                                                | 82 |
| 4.5.2. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálat                   | 83 |
| 4.5.3. Termoanalitikai vizsgálat                                 | 84 |
| 4.5.4. Röntgendiffrakciós mérések (XRD)                          | 87 |
| 4.5.5. BET-felület meghatározása                                 | 88 |
| 4.5.6. Fotokatalitikus aktivitás                                 | 88 |
| 5. Összegzés                                                     | 92 |
| 6. Köszönetnyilvánítás                                           | 93 |
| Irodalomjegyzék                                                  | 94 |

## A konferencia szervezői

**Pannon Egyetem**  
**Mérnöki Kar**  
**KTDT elnök:**

Dr. Valiskó Mónika  
egyetemi docens

**Pannon Egyetem**  
**Mérnöki Kar**  
**KTDT titkár:**

Dr. Ható Zoltán  
tudományos főmunkatárs

Komplex Molekuláris Rendszerek Kutatócsoport    Komplex Molekuláris Rendszerek Kutatócsoport

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar

Tudományos Diákköri Konferencia  
2026. április 29.

## **Kadmium-specifikus flagellinek előállítása bioszenzorokhoz**

Készítette:

Demeter Rebeka

biomérnöki alapképzési szak

Mérnöki Kar, Bio-Nanotechnológiai és Műszaki Kémiai Kutatóintézet,  
Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratórium

Témavezető:

Dr. Jankovics Hajnalka, tudományos főmunkatárs és Tóth Éva, tanszéki mérnök

A pályamunka lezárásának dátuma:

2026.04.14.



## Tartalmi összefoglaló

A toxikus nehézfémek gyors és költségghatékonyabb kimutatása, koncentrációjuk meghatározása víz-, élelmiszer- vagy talajmintából kulcsfontosságú. A bioszenzorok erre a célra kiváló eszközök lehetnek, hiszen akár már a helyszínen, a szennyezés forrásánál is alkalmasak lehetnek a nehézfémek detektálására, megspórolva ezzel a szétterjedés következményeként szükséges kármentesítést. A bioszenzorok specifikusságáért a munkaelektrodon lévő biomolekuláris érzékelőréteg felel, amelyet pl. fehérjék vagy nukleinsavak építhetnek fel.

Kutatómunkám célja a nehézfémek közül a kadmiumionok kimutatására alkalmas flagellin alapú kötőfehérjéket létrehozni bioszenzorikai alkalmazásra. A kadmium veszélyessége a fehérjékben az esszenciális cink helyettesítéséből és a szervezetben való bioakkumulációjából adódik. A szalmonella mozgásszervének fő komponense, a flagellin egy jól funkcionálizálható és önszerveződéssel stabil polimereket formáló fehérje, ezért kiválóan alkalmazható bioszenzorokban. Munkámban a flagellint a polimer felszínére eső D3 domén helyén módosítottam azzal a céllal, hogy kadmium-specifikus megkötésére alkalmas legyen. Ehhez a szakirodalomban kadmiumkötő fehérjéket és peptidmotívumokat azonosítottam. Megterveztem ezek beépítését a flagellin polipeptidlánc közepén kódolt D3 domén helyére. Génsebészeti eljárásokkal létrehoztam két potenciális kadmiumkötő flagellin variánst kódoló plazmidvektort, és ezekről előállítottam és tisztítottam a fehérjéket. A kadmiumkötő képesség teszteléséhez szükséges fehérjemennyiség előállításához kerestem az optimális expressziós és polimerizációs körülményeket, respektálva a flagellinbe épített fehérjekomponensek D3 doméntól eltérő térszerkezetét. Vizsgáltam a flagellin variánsok aranylevél-elektroód felszínére való kötődési képességét, valamint a vizes oldatból kadmiumionokat megkötő tulajdonságát.

Kulcsszavak: környezetanalitika, bioszenzorok, kadmiumkötő fehérje, flagellin, génsebészet

*Köszönetnyilvánítás: A szerző ezúton fejezi ki köszönetét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak a 2024-1.2.6-EUREKA-2024-00001 számú pályázat keretében nyújtott támogatásáért.*

## 1. Bevezetés

### 1.1. Fémek és nehézfémek a környezetben és az élő szervezetekben

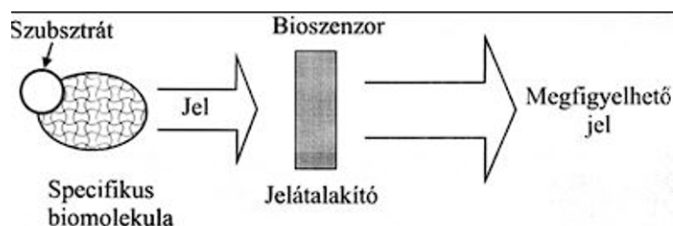
A fémek a földkéregben legfőképp ércekben és kristályokban találhatóak meg. Az élőlényeknek szükségük van bizonyos fémionokra az élettani funkcióikhoz, de azok túlzott bevitele, valamint drasztikus hiánya komoly élettani problémákat, sejt- és szövetkárosodást okozhat. Míg az esszenciális fémionok (például cink, vas, kalcium) nélkülözhetetlen enzim-kofaktorok, addig a toxikus nehézfémeknek nincs ismert pozitív élettani hatásuk. Az olyan elemek, mint az ólom, a higany vagy az arzén, a szervezetben felhalmozódva funkcionális zavarokat idéznek elő a biokémiai folyamatokban [1] [2]. A környezetszennyezés fokozódásával a nehézfém-kibocsátás globális közegészségügyi veszélyt jelent. A fémionok a légkörből kiülepedve kimosódhatnak a talajból az élővizekbe, de természeti katasztrófák, például vulkánkitörések során is felszabadulhatnak. Mivel ezek az elemek perzisztensek, nem bomlanak le, és a stabil állapotukból felszabadulva tartósan jelen maradnak a környezeti folyamatokban [3]. A kadmium előfordulása elemi állapotban igen ritka, leginkább a cink-, ólom- és rézkohászat melléktermékeként kinyerhető vegyületeiben fordul elő. Ipari felhasználása (akkumulátorok, pigmentek) mellett a környezetbe jutva komoly egészségügyi problémákat okozhat, különösen a táplálékláncba kerülve. Az emberi szervezetbe főként a cigarettafüsttel vagy különféle tengeri ételek, gombák és belsőségek elfogyasztásával kerülhet be [4] [5] [6].

A kadmium-mérgezés legsúlyosabb formája az először Japánban megfigyelt „Itai-itai” betegség. A szennyezett vízzel öntözött rizsföldek termésének fogyasztása tragikus elhalálásokhoz vezetett, amelynek jellemzői a csontritkulás és a csontok fokozott törékenysége; a betegek csontjai olykor már egy köhögéstől is eltörhettek [7]. A szervezetben a kadmium képes az esszenciális cinket helyettesíteni a létfontosságú enzimekben és a DNS-javító fehérjékben [8]. A vese- és májkárosodás mellett a kadmiumot a humán rákkeltő anyagok osztályába sorolják, mivel jelentős genetikai elváltozásokat (DNS-károsodást és bázispár-mutációt) okozhat [9] [10].

### 1.2. Bioszenzorok

A különböző szennyező anyagok mennyiségi és minőségi standard meghatározására nagy teljesítményű, fejlett analitikai műszereket használnak, amelyek laboratóriumhoz kötöttek és szakképzett munkaerőt igényelnek, ezért az ilyen vizsgálatok időigényes és költséges eljárások. Ezzel szemben a terepen is használható bioszenzorokkal olcsón, gyorsan és a szennyezés forrásánál lehet detektálni a káros anyagokat. Így megtakarítható a szennyezés szétterjedése utáni kármentesítés költsége, és a minták előszűrésével leszűkíthető a drága nagy műszeres mérések száma. A bioszenzorok hatékony és innovatív alternatívát kínálnak a hagyományos analitikai módszerek és technikák mellett, mivel biológiai specifikusságuk és érzékenységük révén lehetővé teszik kompakt, gazdaságos és könnyen alkalmazható mérőeszközök fejlesztését.

A bioszenzorok jelentősége elsőként az egészségügy területén vált nyilvánvalóvá, különösen a cukorbetegség számára világszerte elterjedt glükózmérők megjelenésével, amelyek áttörést hoztak a betegségek monitorozásában [11]. Ezt követően a mezőgazdaság is egyre nagyobb figyelmet fordított a technológia kutatására, számos teszttel és kísérlettel vizsgálják alkalmazhatóságukat és hatékonyságukat [12] [13]. Környezetvédelmi szempontból a bioszenzorok jelentős előnyt kínálnak azért, hogy lehetővé teszik a növényekben, talajban, levegőben és vízben található potenciálisan mérgező anyagok és toxinok *in situ* észlelését és elemzését.



1. ábra. A bioszenzorok elméleti felépítése [12]

A bioszenzor általában három fő részből épül fel (1. ábra): egy biomolekuláris felismerő elem, egy jelátalakító és egy jelerősítővel összekapcsolt processzor alkotja.

Az érzékelőréteg felismeri és megköti a vizsgálandó anyagot, a jelátalakító értelmezhető jellé alakítja azt, amit az erősítő és a processzor tovább formál a felhasználó számára értelmezhető eredményekké [12] [13]. A The International Union of Pure and Applied Chemistry (rövidítve: IUPAC) definíciója szerint a bioszenzor: „Olyan eszköz, amely izolált enzimek, immunrendszerek, szövetek, organellumok vagy egész sejtek által közvetített specifikus biokémiai reakciókat használ a kémiai vegyületek kimutatására, általában elektromos, termikus vagy optikai jelek segítségével.” [11]. A bioszenzorok érzékelik a munkafelületükön megkötött célmolekula koncentrációját, és ezt mérhető elektronikus jellé alakítják [12] [13].

### 1.3. A fehérjék szerepe mint kiváló érzékelőrétegek a bioszenzorokon

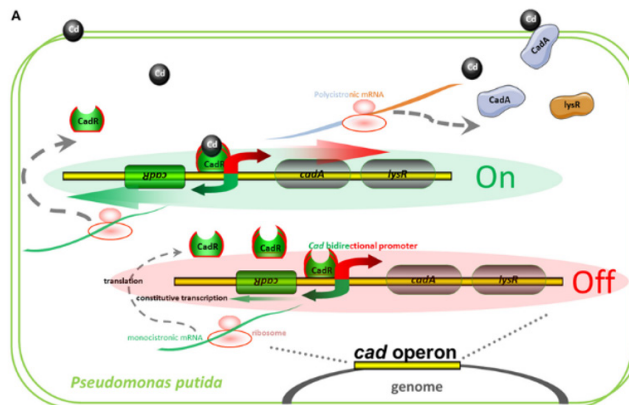
A fehérjék biológiai makromolekulák, amelyek bonyolult térszerkezete és összetett felületi töltéssűrűség-mintázata finomhangolt kölcsönhatások kialakítását teszik lehetővé. Ennek köszönhetően rendkívül specifikus kötések kialakítására képesek, amit például az immunrendszer kulskomponensei, az antitestek idegen anyag felismerő képessége jól szemléltet. A fehérjék specifikus kötési képességében rejlő potenciál az érzékelésben is jól hasznosítható, ezért kiterjedt kutatások folynak az orvosi diagnosztikai és például a környezeti érzékelésben való alkalmazhatóságuk területén. Ráadásul a rekombináns DNS-technológia eszköztára, a nagy áteresztőképességű irányított evolúciós eljárások és az újabban a mesterséges intelligencia által támogatott algoritmusok (2024, Kémiai Nobel-díj) segítségével szinte tetszőleges célmolekulára vagy szennyezőre fejleszthetők új kötőfehérjék. Ezek a tulajdonságok és eszköztár olyan érzékelő fehérjék létrehozását is lehetővé teszik, amelyek jól alkalmazhatók bioszenzorok érzékelőrétegeként. E tulajdonságoknak köszönhetően a fehérje alapú bioszenzorok sok esetben felülmúlják a mesterséges anyagokkal ellátott szenzorokat [14].

Az érzékelőréteget alkotó komponensek, mint például enzimek, antitestek, receptorok vagy szintetikus fehérjék, kémiai kölcsönhatások során képesek célzottan felismerni a szennyező anyagokat, még ha azok rendkívül alacsony koncentrációban is vannak jelen. Nagy szelektivitásuknak köszönhetően egy adott molekulát vagy vegyületet képesek érzékelni. Miután a fehérje kötődik a célmolekulához, például egy toxikus anyaghoz, konformáció-, tömeg-, elektronsűrűség-, illetve redoxállapot-változás történik benne, amelyek elektronikus jelet generálnak, például pH-változás, elektrokémiai áramváltozás vagy optikai jel formájában. Ebből meghatározható a szennyező anyag jelenléte és koncentrációja, ami valós idejű méréseket és gyors válaszokat biztosít a környezet állapotáról [15] [16].

#### 1.3.1. Kadmiumkötő fehérjék

A szakirodalomban számos olyan kadmiumkötő fehérjét írnak le, amelyek evolúciósan is erre a szerepre alakultak ki, vagy amelyek képesek kadmiumionokat megkötni. Ezeket a fehérjéket számos élőlény, például növények és baktériumok állítják elő, válaszként a környezetükben megjelenő kadmiumionokra. Az első kadmiumkötő fehérjét 1957-ben azonosították, metallotioneint izoláltak ló vesekéreg alacsony molekulatömegű fehérjefrakciójából [17]. A metallotioneinek kis molekulatömegű fehérjék, amelyek legfőképpen a májban és a vesében találhatók meg, és a kadmium-, cink- és rézionokat nagy affinitással kötik. Ezek a fehérjék ciszteinben gazdagok és a citoszolban találhatók meg. Általában rövid láncú fehérjék,

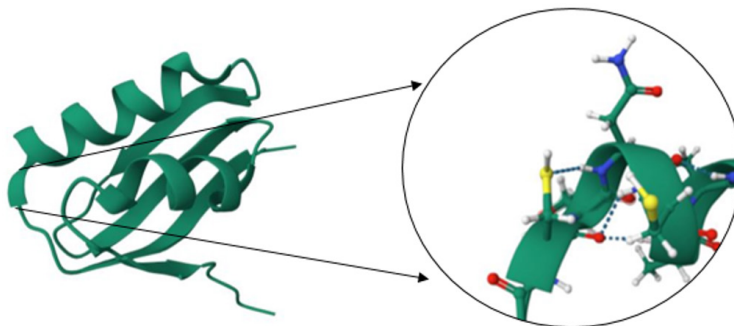
kivéve bizonyos gombákban, ahol az eddig felfedezett egyik leghosszabb formájukat is azonosították [18]. Sok gomba- és növényfajban találhatók olyan speciális fehérjék, mint a metallotioneinek, amelyek kifejezetten a nehézfémek megkötésére szolgálnak. Ezek a fehérjék gyakran csak akkor kezdenek el termelődni, amikor a növényt nehézfém-terhelés éri. Speciális termesztéssel el lehet érni, hogy a növényt szándékosan ilyen környezetbe helyezzük, így rá lesz kényszerítve ezeknek a védőfehérjéknek a legyártására, hogy túlélje a mérgezést. A *Lentinula edodes* (shiitake) gombában sikerült egy kevesebb cisztein kötőhelyet tartalmazó kadmiumkötő fehérjét (LECBP) izolálni, ám ennek térszerkezetét és pontos kadmiumkötő mechanizmusát még nem ismerjük [19].



2. ábra. Természetes kadmium-válaszrendszerek ismertetése. A *Pseudomonas putida* természetes kadmiumrezisztencia mechanizmusának sematikus ábrája: kadmium jelenlétében a CadR regulátor aktiválja a *cad* operont, beindítva a CadA efflux transzporter termelését, amely eltávolítja a toxikus ionokat a sejtől [20].

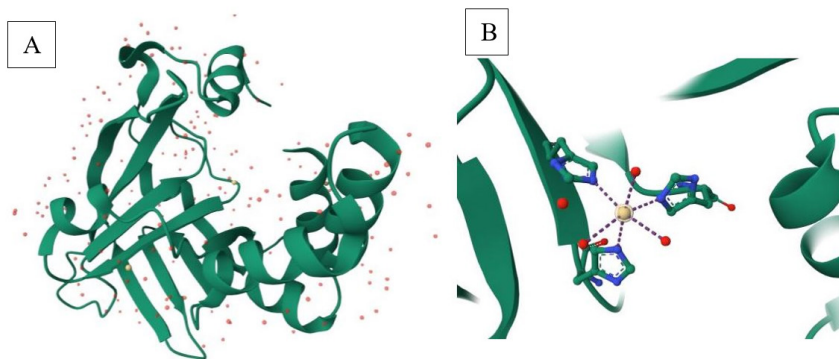
A baktériumok nehézfém-toleranciájának egyik legfontosabb pillére az aktív transzportrendszer, amely megakadályozza a toxikus ionok, például a kadmiumionok sejten belüli felhalmozódását. Ezen rendszerek egyik komponense a P-típusú ATP-ázok családjába tartozó CadA fehérje. A CadA-t először Gram-pozitív baktériumokban, többek között a *Staphylococcus aureus* pI258 plazmidján azonosították, de jelenléte kimutatható számos talajlakó *Bacillus* és patogén *Listeria* fajban is [21]. A fehérje expresszióját a Cad operon szabályozza, amelynek mechanizmusa fajspecifikus: míg a *Staphylococcus aureus* esetén egy fémion-érzékelő represszorfehérje, a CadC szabályozza az operon aktivitását, addig más fajoknál, például a *Pseudomonas putida* esetén (2. ábra) a MerR-családba tartozó CadR regulátor végzi az aktiválást kadmium jelenlétében. E szabályozó mechanizmusok biztosítják, hogy a sejt csak szükség esetén fordítson energiát a rezisztencia-folyamatok fenntartására. A kadmium szállításáért a CadA nevű fehérje felel, amely egy bonyolult, több egységből álló építmény a sejt hátyájában. Ha például a *Staphylococcus aureus* baktériumot nézzük, ez a fehérje 727 aminosavból áll. Ez egy úgynevezett CPX-típusú ATP-áz, amely onnan nyeri az energiát a fémek mozgatásához, hogy lebontja az ATP-t. A folyamat közben egy ideiglenes kötés jön létre (ezt hívják foszfo-protein intermediereknek), emiatt nevezik P-típusú fehérjének is. A nevét egyébként a szerkezetében fixen jelen lévő prolin- és cisztein-aminosavakról kapta, mert ezek segítenek abban, hogy a fémionokat a fehérje csatornáján keresztül lehessen irányítani. A fehérje hatalmas szerkezete jól elkülöníthető részekre tagolódik. A fémek felismeréséért az úgynevezett N-terminális fémkötő domén felel, ami a sejt belső oldalán található. Ez egy önállóan működő egység, ami a fehérje többi részétől függetlenül is képes megkötni a fémionokat. Ebben a részben van egy nagyon fontos, állandó szakasz, ahol két cisztein-aminosav párban áll egymás mellett (ez a CXXC motívum). Ez a két aminosav (például a 14-es és 17-es pozícióban) felel azért, hogy a kadmiumot stabilan megfogja a fehérje (3. ábra). Ezenkívül a fehérjének van még 6–8 olyan szakasza, amely átéri a membránt; ezek közül a negyedik a legfontosabb, mert ott is van egy hasonló (CPC) motívum, amely közvetlenül segíti az ionok átjutását. Az energia

felszabadításáért pedig a fehérje belső végein található domének felelnek. Hogy a CadA pontosan miért ennyire hatékony, azt Prabhakaran és Thamarai (2024) legújabb számítógépes vizsgálatai magyarázták meg. A 3D-modellezésük megmutatta, hogy a fémkötő rész stabilitása kulcsfontosságú ahhoz, hogy ezt a fehérjét később szenzorokhoz is fel lehessen használni. Az eredményeik szerint a CadA kötőhelye jobban „szereti” a kadmiumot, mint az élettanilag fontos cinket, még úgy is, hogy a két ion nagyon hasonlít egymásra. Ez a szelektivitás a kötőhely pontos méretének és a környező elektromos töltéseknek köszönhető. A szimulációk igazolták, hogy az aminosavak távolsága és szöge pont a kadmiumhoz lett „kitalálva”. Bár más mérgező fémeknek, mint a higanynak vagy az arzénnek is kénben gazdag környezet kell, a CadA máshogy működik: míg a higany két kénatom között is elvan, az arzénnek pedig három cisztein kell, addig a CadA-ban lévő két cisztein és a környező hálózat pont a kadmium méretére van optimalizálva. Ez a különleges szerkezet teszi lehetővé, hogy a fehérje akkor is felismerje a kadmiumot, ha más hasonló nehézfémek is vannak körülötte [22] [23].



3. ábra. A CadA fémkötő doménjének 3D-s szerkezeti modellje. Az ábrán jól látható a CTNC motívum (itt: Cys14, Thr15, Asn16, Cys17), amely stabil hurokstruktúrát alkotva koordinálja a Cd<sup>2+</sup> iont. Ez a konzervált szerkezeti elem teszi lehetővé a motívum sikeres integrálását. [Forrás: PDB:2AJ1]

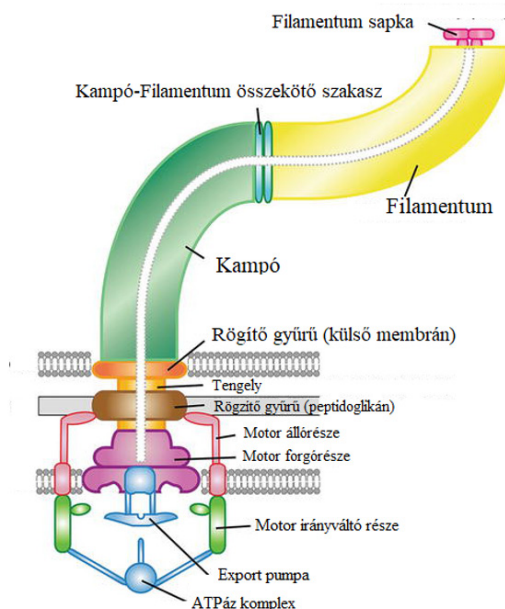
Ez a stabilitás és szelektivitás teszi a CadA motívumokat ideális jelöltté flagellin alapú bioszenzorok fejlesztéséhez, mivel a fehérjéjéjébe építve is megőrzik nagy affinitású kötőkéességüket [24]. Egy másik tanulmányban a YodA fehérjéről (4. ábra) kísérletileg igazolták, hogy egy speciális, lipokalinyszerű felépítéssel rendelkező fémkötő molekula. A röntgenkristallográfiával 1,85 Å felbontású háromdimenziós szerkezet feltárta a YodA egyedülálló, nyolc antiparalel szálból álló β-hordó doménjét. Kimutatták, hogy a YodA kiemelkedő affinitást mutat a két vegyértékű nehézfémionok, különösen a kadmium(II) és a cink(II) iránt. Az izotermális titrációs kalorimetriás (ITC) adatok alapján a fehérje és a fémionok közötti kötődés rendkívül erős, a disszociációs állandó a 10<sup>-7</sup> - 10<sup>-8</sup> M közötti tartományba esik. A szerkezeti analízis pontosan beazonosította a fémkötő helyet is, amelyet a His-163, His-165 és a Glu-119 aminosavak oldalláncai alakítanak ki. Ez a koordinációs szféra lehetővé teszi, hogy egy YodA monomer pontosan egy fémiont kössön meg, ezzel gátolva a környezetben jelen lévő toxikus elemeket. A tanulmány élettani aspektusból is vizsgálta a fehérje szerepét az *Escherichia coli* életciklusában. Megállapították, hogy a YodA a baktérium periplazmatikus terében fejti ki hatását, ahol mintegy molekuláris pufferként funkcionál: megköti a sejtbe belépő nehézfémeket, mielőtt azok elérnék a kritikus citoplazmatikus enzimeket. *In vivo* kísérletek alátámasztották a fehérje fontosságát, ugyanis kadmiumterhelés mellett a YodA expressziója több mint 50-szeresére növekedett a kontrollcsoporthoz képest. Ezzel szemben a YodA génnel nem rendelkező mutáns törzsek növekedési rátája 30–40%-os csökkenést mutatott kadmiummal szennyezett közegben. Az eredmények tehát bebizonyították, hogy a YodA a baktériumok egyik legfontosabb védvonala a fémtoxicitással szemben, ötvözve a lipokalinok szerkezeti stabilitását a specifikus fém kelátképző funkcióval [25] [26].



4. ábra A YodA fehérje teljes szerkezeti képe (A) és a kadmiumion kötőhelye (B). [Forrás: PDB: 1OEE]

#### 1.4. A flagellinről és bioszenzorikai szempontból jó tulajdonságairól

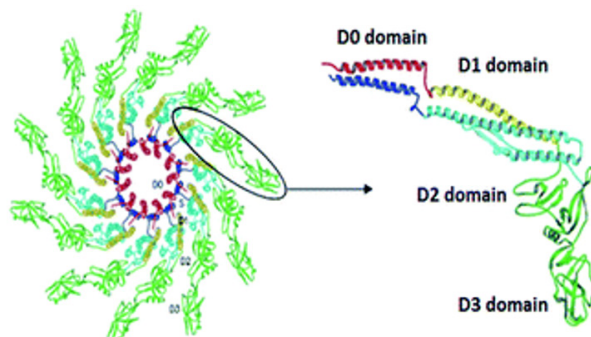
Bizonyos baktériumok, mint például a *Salmonella typhimurium*, mozgással tudják elérni azt, amire szükségük van, legyen szó tápanyag megszerzéséről vagy egy adott vegyület miatti elmozdulásról. Ebben segítségükre vannak a különböző bakteriális csillók vagy ostorok, amelyekkel helyzetet tudnak változtatni. A baktériumostor bonyolult felépítésű szerkezet, amely három fő részből áll: a sejtmembránba ágyazott motorból, a rugalmas kampóból és a több ezer flagellin fehérjéből felépülő filamentumból. A motor által generált forgómozgás a kampón keresztül adódik át a nanoszálnak, amely propellerként viszi előre a baktériumot (5. ábra) [27].



5. ábra A *Salmonella typhimurium* flagelláris apparátusának felépítése. [27]

Ezek a filamentumok több ezer flagellin fehérjéből épülnek fel, és meghatározó jellemzőjük az önszerveződő képességük: a flagellin monomerek ideális körülmények között azonnal képesek polimerizálódni

filamentumokká. Fontos tulajdonságuk továbbá, hogy a környezeti paramétereket figyelembe véve képesek egymástól megkülönböztethető helikális alakzatokká átrendeződni reverzibilis úton.



6. ábra A flagellin monomer doménjei és a filamentum keresztmetszeti szerkezete. A bal oldali ábrán a filamentumot alkotó flagellin molekulák elrendeződése látható, ahol a belső, konzervált régiók (D0, D1) alkotják a csatorna falát. A jobb oldali nagyított részlet a flagellin monomer négy fő doménjét mutatja be. Bioszenzorikai szempontból a legfontosabb a D3 domén, amely a filamentum külső felszínén helyezkedik el, így genetikai módosításokkal ide építhetők be a környezeti szennyezőket megkötő specifikus receptorok anélkül, hogy a belső váz stabilitása sérülne [28].

A flagellin alkalmazásakor kiemelt jelentősége van a doménszerkezet ismeretének, mivel ez határozza meg, hogy a fehérje mely részei módosíthatóak (6. ábra). A molekula belső szerkezetéért felelős D0 és D1 domének biztosítják a filamentum stabilitását, ezért ezek épsége elengedhetetlen a szerkezet megőrzéséhez. Ezzel szemben a D3 domén a filamentum legkülső felszínén helyezkedik el, és nem vesz részt közvetlenül a stabilitás fenntartásában, így ez a régió genetikai úton szabadon változtatható. Ez azért előnyös bioszenzorikai szempontból, mert a D3 domén helyére olyan specifikus kötőhelyek építhetők be, amelyek képesek a környezeti szennyező anyagok szelektív megkötésére. A *Salmonella* ráadásul képes a fázisvariációra, vagyis váltogatni tudja, hogy a két különböző flagellin génje (*FliC* vagy *FljB*) közül melyik alapján építse fel az ostorát. Ez a genetikai rugalmasság és a flagellin felépítése azért kulcsfontosságú, mert a módosításokkal létrehozott filamentumok képesek különböző molekulák specifikus felismerésére. Bioszenzorikai szempontból a flagellin kiváló választás, mert a filamentumok térszerkezete a célmolekulák megkötésére érzékenyen változik, ami könnyen detektálható és mérhető jellé alakítható. Mivel a szerkezet a módosítások után is stabil marad, segítségével pontosabb szenzorok hozhatóak létre vizes közegből történő detektáláshoz. Így a baktérium mozgásszerve programozható, önszerveződő nanotechnológiai platformmá válik a környezetvédelmi mérésekhez [28] [29] [30] [31].

## 2. Célkitűzés

A kutatásom célja olyan módosított flagellin variánsok létrehozása, amelyek specifikusan és nagy affinitással képesek megkötni a kadmiumionokat, így alkalmazhatók bioszenzorok érzékelőrétegeként. Munkámhoz először megtervezem a természetben előforduló, kadmium-detoxifikálásban szerepet játszó fehérjék közül a YodA és a CadA fémkötő szekvenciáinak beépítését a flagellin szerkezetébe, megvizsgálva, hogyan biztosítható a legnagyobb szelektivitás és stabilitás a későbbi mérések során. A kiválasztott fémkötő szakaszokat a módosított *Salmonella typhimurium* (SJW2536) flagellin D3 doménjének helyére tervezem beépíteni génsebészeti úton. Ez a stratégia lehetővé teszi, hogy a módosítások a filamentum külső felszínén jelenjenek meg, így a kadmiumionok könnyen hozzáférhetnek a kötőhelyekhez, miközben a fehérje megőrzi szerkezeti stabilitását és önszerveződő képességét. A munka során nemcsak a sikeres klónozásra és a fehérjevariánsok előállítására fókuszálok, hanem vizsgálom a kialakuló nanoszálak

kadmiumkötő képességét és hőstabilitását is. A végső célom egy olyan gyors és érzékeny bioszenzoros platform létrehozása, amely hatékonyabbá teszi a kadmiumszennyezések korai felismerését a környezeti monitoring folyamatokban.

### 3. Anyagok és módszerek

#### 3.1. Felhasznált anyagok és eszközök

A kísérletekhez használt fogyóeszközöket (pl. Eppendorf-csövek, pipettahegyek, PCR-csövek, tenyésztőlemezek stb.), valamint a szükséges tápoldatokat, táplemezeket a Sanyo Labo Autoclave berendezésben sterilizálással csíráltatnítottuk. A kadmiumkötő flagellin variánsokat kódoló gének felsokszorosítását és a PCR-kísérleteket a Biometra Thermocycler T-Gradient ThermoBlock készülékkel végeztem. A DNS-eket a New England Biolabs által forgalmazott AgeI, NheI-HF, SacI-HF és XhoI restrikciós endonukleázokkal emésztettem. A PCR-termékeket Monarch® PCR & DNA Cleanup Kit #T1030, a plazmid-DNS-t Monarch Plasmid Miniprep Kit #T1010 segítségével tisztítottam a gyártó utasításai szerint, azzal a különbséggel, hogy az oszlopról a terméket az elúciós puffer helyett steril desztillált vízzel (SDV) eluáltam. A DNS-minták ellenőrzését és elválasztását agaróz gélelektroforézissel végeztem, amelyhez Cleaver Scientific LTD Power Pro készüléket és a Nippon Genetics Europe GmbH által gyártott agarózt használtam. A DNS-fragmentumok láthatóvá tételéhez az agaróz géleket GelRed DNA Gel Stain (Biotium) festékkel kezeltem, a fragmensek méretének meghatározásához pedig az O'RangeRuler 20 bp DNA Ladder, valamint a GeneRuler 1 kb DNA Ladder (Thermo Scientific) szolgált molekulatömeg-markerként. A célplazmidokat Bio-Rad GenePulser Xcell elektroporátor segítségével juttattam be a flagellin-deficiens *Salmonella typhimurium* SJW2536 baktériumtörzsbe. A baktériumok szilárd fázisú tenyésztéséhez használt LB/Amp táptalajt AppliChem gyártmányú összetevőkből (tripton, élesztőkivonat, nátrium-klorid és agar-agar), valamint Sigma-Aldrich ampicillinből állítottam össze (100 mg/ml-es törzsoldat használatával). A steril munkakörülményeket és a sejtek átvételét Merck Novagen Calbiochem Biosciences lamináris fülke biztosította. Az inkubációs folyamatokhoz IKA KS 4000 i control és MRC orbitális rázóinkubátorokat használtam. A minták szétválasztásához és tisztításához a szükséges sebességtartománytól függően Beckman Coulter Optima™ (MAX-XP és MAX-E), valamint Sorvall Discovery 90SE ultracentrifugákat, kisebb volumenekhez pedig Heraeus (Biofuge Primo R, Multifuge 3S-R) és Eppendorf 5415R készülékeket vettem igénybe. Az ultracentrifugákkal kompatibilis Beckman Coulter MLA-80, TLA-100.3, TLA-120.2 rotorokat használtam térfogattól függően. A fehérje-filamentumok monomerizálását 70 °C-on, Lab-Line Multi-Blok blokkfűtőben hajtottam végre. A sejtek morfológiai jellemzőit Olympus B201 sötétlátóterű optikai mikroszkóppal vizsgáltam. A fehérjeszuszpenziók optikai sűrűségét Jasco V-630 spektrofotométerrel ellenőriztem. A fehérjék azonosítását és elválasztását SDS-PAGE gélelektroforézissel, Bio-Rad Mini-PROTEAN II rendszerben végeztem, ahol a fragmensek méretének meghatározásához PageRuler Prestained Protein Ladder (10–180 kDa) szolgált markerül. A gélek dokumentálása és kiértékelése Bio-Rad Gel Doc EZ Imager berendezéssel történt. A plazmidok felsokszorosításához az Agilent által forgalmazott *Escherichia coli* XL10 Gold, TOP10 törzset, a kadmiumkötő flagellin variánsok előállításához *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*  $\Delta$ fliC SJW2536 törzset alkalmaztam [32]. A transzformált sejtek megfelelő szelekcióját a plazmidokon található ampicillin-rezisztencia gén biztosította [33] [34].

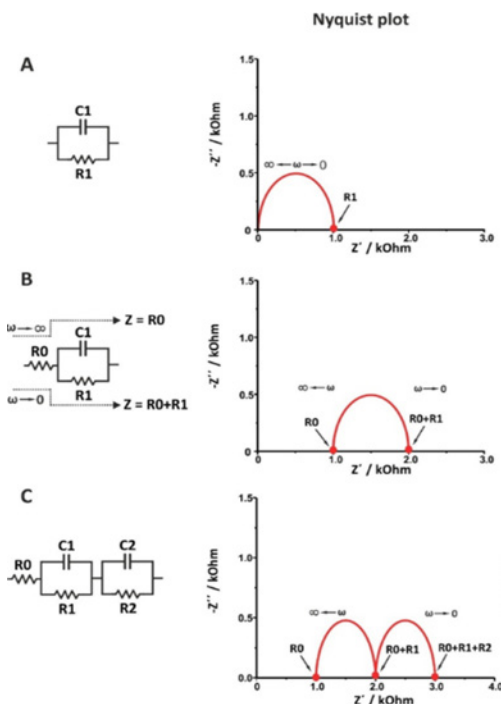
#### 3.2. Agaróz- és SDS-PAGE (nátrium-dodecil-szulfát-poliakrilamid) gélelektroforézis

A minták analíziséhez DNS és fehérje elektrokémiai elválasztást alkalmaztam. A DNS-minták ellenőrzéséhez 1 és 3%-os agaróz gél-t használtam, 100 V feszültségen. A fehérjék azonosítására és tisztaságuk ellenőrzésére nátrium-dodecil-szulfát-poliakrilamid gélelektroforézist (SDS-PAGE) alkalmaztam. A mérésekhez 12,5%-os poliakrilamid gél-t használtam, melyet 30 mA/gél áramerősségen futtattam le. Az elválasztást követően a fehérjesávokat Coomassie Brilliant Blue festéssel tettem láthatóvá [35] [36].

### 3.3. Elektrokémiai mérések és a potenciosztát

A fehérjék kadmiumkötő képességének vizsgálatához elektrokémiai módszereket, elsősorban impedancia-spektroszkópiát alkalmaztam. A mérésekhez PalmSens4 potenciosztátot használtam, ami egy olyan precíziós műszer, amely képes szabályozni és mérni az elektromos potenciált és az áramerősséget a munkaelektrod felületén. A mérések megkezdése előtt a rendszert kalibrálni kellett, amit ciklikus voltammetriával (CV) végeztem el. Ehhez egy ismert redox oldatot (kálium-ferro-/ferricianid) használtam. A voltammetria során a feszültséget oda-vissza változtatjuk, és figyeljük a kapott áramcsúcsokat. Ha a csúcsok szimmetrikusak, és a távolságuk megfelelő, az azt jelzi, hogy az arany-munkaelektrod felülete tiszta, és a rendszer készen áll a mérésre [37].

A kutatásom során az elektrokémiai impedancia spektroszkópiát (EIS) használok, ami egy nagyon érzékeny és roncsolásmentes mérési módszer. Az EIS nagy előnye a hagyományos egyenáramú módszerekkel (például a kronoamperometriával) szemben, hogy nemcsak egy összesített ellenállást mér, hanem képes szétválasztani a rendszerben zajló különböző folyamatokat, mint például az oldat ellenállását, a diffúziót vagy a töltésátvitelt. A mérés során egy kis amplitúdójú (5–10 mV-os) váltakozó feszültséget kapcsolunk a munkaelektrodra egy széles frekvenciatartományban. Ez az alacsony feszültség nagyon fontos a bioszenzoroknál, mert így elkerülhető, hogy a felületre felvitt flagellin filamentumok leváljanak vagy szerkezetileg károsodjanak, miközben a mérés lineáris marad.



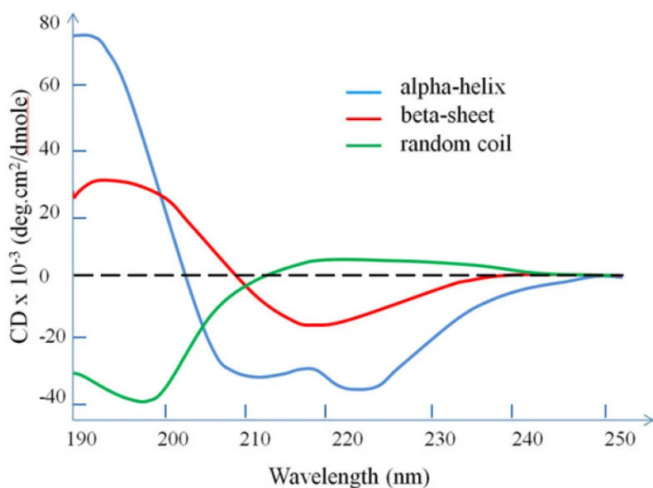
7. ábra Modelláramkörök Nyquist-fázisszögdiagramjai.  $R0 = R1 = R2 = 1 \text{ kOhm}$  [38]

Az impedancia lényegében egy komplex ellenállás, amit leggyakrabban Nyquist-diagramon ábrázolunk (7. ábra): itt a görbe magas frekvenciás része egy félkört alkot, ami az elektrod felületén történő folyamatokat mutatja. Az adatok kiértékeléséhez az úgynevezett Randles-féle ekvivalens áramkört használok. Ebben a modellben külön paraméterek felelnek az oldat ellenállásáért, a határfelületi kapacitásért és a diffúzióért. A szenzorom szempontjából a legfontosabb adat a töltésátviteli ellenállás. Ez azt mutatja meg, hogy a redox-indikátor molekulák (például a ferri-ferrocianid) milyen nehezen tudják átadni az elektronokat az aranyelektrodnak. A kadmiumszenzor működése pont ezen a töltésátviteli

ellenállás-változáson alapul. Amikor a flagellin filamentumok rátapadnak az aranyelektrodra, egyfajta biológiai szigetelőréteget alkotnak, ami gátolja az elektronátvitelt, így a Nyquist-félkör átmérője megnő. A szenzor szelektivitását a flagellin D3-doménjébe épített fémkötő motívum adja: amikor a kadmiumionok megkötődnek, megváltozik a fehérjeréteg szerkezete és töltése. Ez a molekuláris változás tovább módosítja az impedanciát, ami a kadmium koncentrációjától függ, így lehetővé teszi a toxikus fémionok pontos mérését [38] [39] [40].

### 3.4. A cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópia elve

A CD-spektroszkópia egy olyan vizsgálómódszer, amivel a fehérjék térszerkezetét, azon belül is a másodlagos szerkezeti elemek (például hélixek vagy redők) arányát tudjuk meghatározni. Az eljárás fizikai alapja az, hogy a fehérjéket felépítő aminosavak királisak, így a balra és a jobbra cirkulárisan polarizált fényt eltérő mértékben nyelik el. Ebből a különbségből kapunk egy jellegzetes spektrumot a távoli UV-tartományban, általában 190 és 250 nm között. A fehérjék különböző szerkezeti egységei más-más „lenyomatot” hagynak a grafikonon: az  $\alpha$ -hélixekre két határozott minimum jellemző 208 és 222 nm-nél, a  $\beta$ -redők egyetlen minimumot mutatnak 215–218 nm környékén, míg a rendezetlen szerkezetű fehérjéknél 200 nm alatt látható egy erős negatív csúcs (8. ábra).



8. ábra A CD-spektroszkópia működési elve. A lineárisan polarizált fény cirkuláris komponensekre (bal és jobb) bomlik. Az optikailag aktív minta (pl. fehérje) ezeket eltérő mértékben nyeli el, ami a kilépő fénynél elliptikus polarizációt eredményez. Ezt az ellipticitást méri a műszer a fehérje másodlagos szerkezetének meghatározásához [41].

Ebben a kutatásban a CD-spektroszkópia alkalmazása azért válik fontossá, mert a flagellin nanoszálak stabilitása alapfeltétele a jól működő szenzornak. A módszer érzékenysége lehetővé teszi, hogy ellenőrizzük, a D3-domén helyére beépített kadmiumkötő motívumok mennyire zavarják meg a fehérje másodlagos szerkezetét, azon belül a hélixekben gazdag felépítését. Emellett a technika kiválóan alkalmas stabilitás vizsgálatokra is, hiszen a hőmérséklet emelésével nyomon követhető a fehérje szerkezetének „kibomlása”. Ezáltal pontos képet kapunk arról, hogy a kadmiumionok megkötése hogyan módosítja a nanoszál szerkezeti stabilitását, ami közvetlen visszajelzést ad a szenzor működőképességéről [42].

## 4. Elvégzett kísérletek és értékelésük

### 4.1. A kadmiumkötő motívumokat kódoló DNS-ek létrehozása

#### 4.1.1.1. A *YodA* és *CadA* inzertek létrehozása és emésztése

A kadmiumkötő *YodA* (PDB ID: 1OEE) fehérje 3D-s szerkezetében a Protein Data Bank (PDB) adatbázis segítségével kerestünk egy olyan fehérjeszakaszt, amelyben a kadmiumkötésben részt vevő aminosavak azonos polipeptid szakaszon vannak, és a kötőmotívum a környező stabilizáló másodlagos szerkezeti elemekkel együtt nem túl nagy méretű. További elvárás volt, hogy a kiválasztott kadmiumkötő motívum terminális aminosavai kb. 6 Ångström távolságra legyenek egymástól, hasonlóan a helyettesítendő flagellin D3-domén terminálisaitól. Ezzel biztosítani szeretnénk, hogy a flagellin szerkezetét minél jobban meg tudja tartani természetes formájában, így a feltekeredése és ezáltal a polimerizációs képessége is megmaradjon.

Ezután a kiválasztott *YodA* fehérjeszakaszt kódoló génnek beépítéséhez a génsebészet módszereit alkalmaztuk. A munkánk során a pKOT-Fluorocytid-D3 plazmidba terveztük beépíteni a *YodA* kiválasztott szakaszát. Ez a plazmid a *Salmonella* baktérium számára megfelelő szabályozó régiók mellett egy olyan módosított flagellin gént tartalmaz, melyben a D3-domént kódoló génszakasz helyére többszörös klónozóhelyet építettek. A flagellin D3-domén deléciós variánsának DNS-szekvenciájába a *YodA* szakaszt az *XhoI*-*SacI* restrikciós enzim vágóhelyekkel építettük be. Mivel az eredeti *YodA*-fehérje szekvenciáját korábban megsztetizáltattuk, és így a rendelkezésünkre állt, ebből PCR-reakció segítségével sokszoroztuk fel az adott kadmiumkötő motívumot, egyből hozzáépítve a szükséges restrikciós vágóhelyeket és az azok megfelelő működését elősegítő nukleotidszekvenciát.

A kiválasztott kadmiumkötő motívumot kódoló DNS nukleotidsorrendje 5'-3' irányban a *YodA* fehérje génszekvenciája alapján:

```
acatCTCGAGAAGTACATCCAATTCTCTGATCACATTATTGCGCCTCGTAAGTCTTCACATTTTCACATCTTTATGGGAAACGAGCTC
```

(Távtartó az enzimhez-*XhoI* restrikciós enzim vágóhelye- *Cd* kötő helyet tartalmazó inzert-*SacI* restrikciós enzim vágóhelye- távtartó az enzimhez)

A hozzá tartozó reverz komplementer szál 5'-3' irányú nukleotidsorrendje:

```
acatGAGCTCGTTTCCCATAAAGATGTGAAAATGTGAAGACTTACGAGGCGCAATAATGTGATCAGAGAATTCGATGTACTTCTCGAG
```

A primerek megtervezéséhez a NEB Tm Calculator [43] segítségével, a rendelkezésre álló Q5 DNS-polimerázra beállítva optimalizáltam a primer 1 és primer 2 szekvenciáját. A tervezés során figyeltem arra, hogy a két primer minimum 15 nukleotid hosszú, a kötőmotívumhoz tapadó résszel rendelkezzen, illetve hogy a két primer tapadási hőmérséklete (Tm) közötti különbség 5 °C alatt legyen, a CG-arányuk pedig lehetőleg 40–60% közötti.

Fentiek alapján a következő két oligonukleotidot szintetizáltattuk:

- *YodA* Cd fw: ACA TCT CGA GAA GTA CAT CCA ATT CTC TG

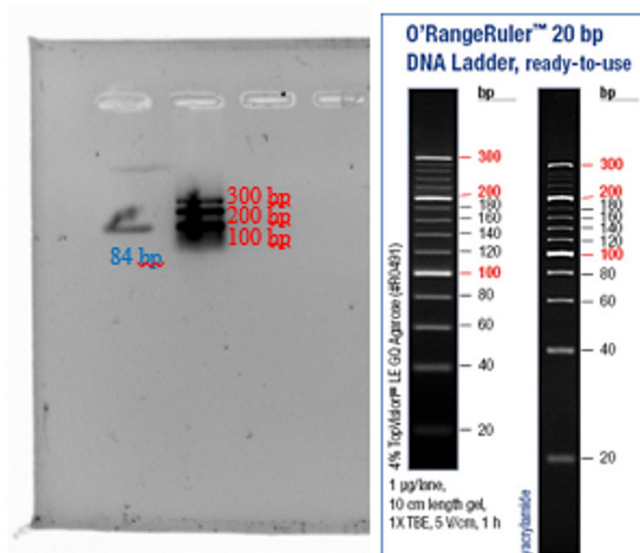
Hossz: 19 nt, GC-tartalom: 37%, számított olvadáspont (Tm): 55 °C

- *YodA* Cd rev: ACA TGA GCT CGT TTC CCA TAA AGA TGT GA

Hossz: 19 nt, GC-tartalom: 37%, számított olvadáspont (Tm): 56 °C

Az oligonukleotidokból steril desztillált vízzel 100 µmol/l koncentrációjú törzsoldatokat készítettem, amelyek 10x-es hígítású oldatából (10 µM) pipettáztam a PCR-reakcióelegyhez.

| A PCR-reakcióelegy és kísérleti paraméterek:                                                                                                                                             | A PCR-reakció paraméterei:                                                                                                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 µl Q5 puffert<br>5 µl 2 mM dNTPs<br>2,5 µl YODA Cd fw primer<br>2,5 µl YODA Cd rev primer<br>1 µl DNS-templát (YodA gén)<br>0,5 µl Q5 DNA polimeráz<br>28,5 µl steril desztillált víz | <ul style="list-style-type: none"> <li>98 °C 30 s</li> <li>98 °C 10 s, a 2–4. lépések között 30 ismétléssel</li> <li>56 °C 30 s</li> <li>72 °C 30 s</li> <li>72 °C 120 s</li> </ul> |
| Összesen: 50 µl                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                     |



9. ábra A PCR-termék elválasztásának eredménye agaróz gélen. Bal oldalt a minta látható, jobb oldalt az O'RangeRuler 20 bp DNA Ladder [42].

A reakció eredményét 3%-os agaróz gélen, gélelektroforézissel ellenőriztem 2 µl reakcióelegyből vett mintán. Az elválasztás eredménye a 9. ábrán látható, ez alapján a PCR-termék (melynek számolt mérete 84 bp) nagyságrendileg a 80–100 bázispár tartományba esik, tehát sikeres volt a reakció.

A CadA fehérje szekvenciájából a korábban ismertetett szempontok alapján egy 80 aminosav hosszúságú szakaszt választottam ki, amely tartalmazza a szelektivitásért felelős, konzervált CTNC motívumot. A génre a *Salmonella typhimurium*-ra jellemző kodonoptimalizálást alkalmaztam, és egy NheI restrikciós vágóhelyet is beépítettem a szekvenciába egy csendes mutáció segítségével, amit később a gén kísérleti ellenőrzésére tudtam használni. A megtervezett inzert DNS-szekvenciája a következő:

**CTCGAGTATGCGGATACCGCGGAAAAAACCGTGATCGCGTGATGGCCTGAGCTGCACCAACTGCGCGGC  
GAAATTTGAACGCAACGTGAAAGAAATTGAAGGCGTGACCGAAGCGATTGTGAACCTTTGGCGCTAGCAAAA  
TTACCGTGACCGG CGAAGCGAGCATTTCAGCAGGTGGAACAGGCGGGCGCGTTTGAACATCTGAAAAATTAT  
CCGAAAAAGAAGCGGATGTGAAAAACGTGCAGGTGGAGC**

Ennek reverz komplementere:

```
GAGCTCCACCTGCACGTTTTCACATCCGCTTCTTTTCCGGAATAATTTTCAGATGTTCAAACGCGCCCGC  
CTGTTCCACCTGCTGAATGCTCGCTTCGCCGGTCACGGTAATTTTGCTAGCGCCAAAGTTCACAATCGCTT  
CGGTACAGCCTTCAATTTCTTTACAGTTGCGTTCAAATTTTCGCCGCGCAGTTGGTGCAGCTCAGGC CATCCA  
CGCGATACACGGTTTTTTCCGCGGTATCCGCATACTCGAG
```

(*Xho*I restriktációs enzim vágóhelye – *CadA* inzert- *Nhe*I restriktációs enzim vágóhelye – *Sac*I restriktációs enzim vágóhelye)

Mivel a *CadA* inzert mérete meghaladta a költséghatékonyan, egyetlen szakaszban szintetizálható oligonukleotidok hossztartományát, a teljes szekvenciát négy darab, egymást átfedő oligonukleotidból állítottam össze. A megrendelt szálak közül a *CadA* fw1 (132 bp) és a *CadA* fw2 (121 bp) adta ki a teljes kódoló szekvenciát.

- *CadA* fw1 (132 bp):

```
TCGAGTATGCGGATACCGCGGAAAAAACCGTGTATCGCGTGGATGGCCTGAGCTGCACCAACTGCGCGGCGA  
AATTTGAACGCAACGTGAAAGAAATTGAAGGCGTGACCGAAGCGATTGTGAACTTTGGCG
```

Hossz: 132 nt, GC-tartalom: 53%, számított olvadáspont (T<sub>m</sub>): 90 °C

- *CadA* fw2 (121 bp):

```
CTAGCAAAATTACCGTGACCGGCGAAGCGAGCATTCAGCAGGTGGAACAGGCGGGCGCGTTTGAACATCTG  
AAAATTATTTCCGGAAGAAAGCGGATGTGAAAAACGTGCAGGTGGAGCT
```

Hossz: 121 nt, GC-tartalom: 50%, számított olvadáspont (T<sub>m</sub>): 88 °C

Ezeket egészítette ki a két reverz komplementer szál, a *CadA* rev1 (132 bp) és a *CadA* rev2 (113 bp), melyek szintén a specifikus bázissorrendet tartalmazzák a megfelelő átfedésekkel.

- *CadA* rev1 (132 bp):

```
CTAGCGCCAAAGTTCACAATCGCTTCGGTCACGCCTTCAATTTCTTTACAGTTGCGTTCAAATTTGCGCCGCG  
CAGTTGGTGCAGCTCAGGCCATCCACGCGATACACGGTTTTTTCCGCGGTATCCGCATAC
```

Hossz: 132 nt, GC-tartalom: 53%, számított olvadáspont (T<sub>m</sub>): 90 °C

- *CadA* rev2 (113 bp):

```
CCACCTGCACGTTTTTTCACATCCGCTTCTTTTCCGGAATAATTTTCAGATGTTCAAACGCGCCCGCCTGTTC  
CACCTGCTGAATGCTCGCTTCGCCGGTCACGTAATTTTG
```

Hossz: 113 nt, GC-tartalom: 50%, számított olvadáspont (T<sub>m</sub>): 88 °C

A gyakorlati megvalósítás során a *CadA* inzert beépítése a plazmidba jelentős kihívások elé állított. A hosszú inzert és a több lépcsős összeillesztés miatt számos ligálási kísérletre volt szükség, melyek során szisztematikusan változtattam a reakció paramétereit, például a vektor-inzert arányt, a ligálási hőmérsékletet és az inkubációs időt. A beépítés sikerességét folyamatosan kolónia-PCR mérésekkel ellenőriztem, hogy kiderítsem, melyik lépésnél akadt el a folyamat. Bár a kísérlet e szakasza hosszas optimalizálást igényelt, a módszertani finomhangolások végül eredményre vezettek.

A PCR-amplifikációt követően a DNS-szakaszokat tisztítottam. A reakcióelegyek tisztítását, valamint a plazmid izolálását a gyártó által előírt protokoll szerint, adszorpciós oszlopok segítségével végeztem. A megtisztított DNS-szakaszokat rövid inkubációt követően 30 µL SDV-vel eluáltam. A DNS koncentrációját a NanoDrop Lite spektrofotométerrel mértem meg.

#### 4.1.2. A kadmiumkötő flagellin variánsokat kódoló plazmidok létrehozása

A kadmiumkötő motívumokat (*YodA* és *CadA*) kódoló inzert-DNS-eket és a plazmidot *Xho*I és *Sac*I-HF restriktációs enzimekkel, valamint CutSmart pufferrel és steril desztillált vízzel emésztettem 37 °C-on másfél órán át. Míg a *YodA* motívum esetében a folyamat viszonylag gördülékenyen zajlott, a *CadA* variáns előállításánál ez a szakasz jóval több optimalizálást igényelt. A *CadA* inzert összetettsége és hossza miatt

a beépítési paraméterek optimalizálására volt szükség. A restriktációs emésztések hatékonyságát, valamint a szekvencia sikeres beépülését rendszeresen ellenőriztem NheI-HF enzimmal végzett próbavágásokkal. Mivel az NheI-HF hasítási hely specifikusan a *CadA* inzert részét képezi, a vágás megjelenése megerősítette a helyes konstrukció létrejöttét a ligálási kísérletek során. Az emésztési elegyekből a DNS-terméket Monarch PCR & DNA Cleanup Kittel tisztítottam. A DNS-szakaszok tisztítása során a puffer arányát a komponensek méretkülönbségéhez igazítva, a gyártói protokoll szerint használtam a kinyerés érdekében. A tisztított minták koncentrációját és tisztaságát minden esetben NanoDrop spektrofotométerrel ellenőriztem. Az  $A_{260}/A_{280}$  arányok mérésével győződtem meg arról, hogy a minták elég tiszták-e a sikeres ligáláshoz, és nem tartalmaznak-e enzimgátló szennyeződések. Az emésztett inzert- és plazmid-DNS-eket T4 DNS-ligáz enzim segítségével ligáltam. A ligálás során a legnagyobb kihívást a vektor és az inzert optimális mennyiségi arányának megtalálása jelentette. Mivel a plazmid nagy mérete és az inzert sajátosságai miatt a standard arányok nem mindig garantálták a sikeres beépülést, többféle elegyet is összeállítottam, hogy kísérleti úton határozzam meg a leghatékonyabb összetételt.

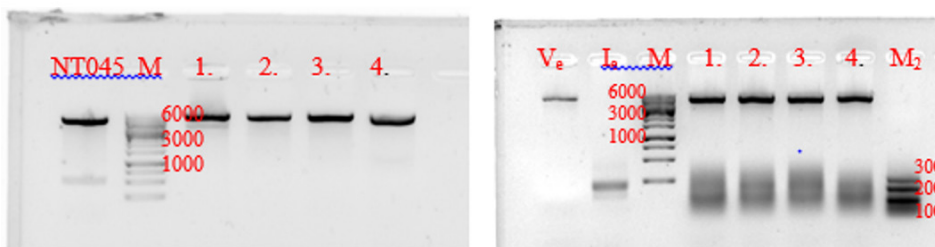
A *YodA* motívum esetében két különböző moláris arányt teszteltem: egy 1:6-os és egy 4:3-as vektor-inzert elegyet készítettem. A reakciókhoz Rapid ligázpuffert használtam, az inkubációt pedig 22 °C-on végeztem 10 percig. Ezzel szemben a *CadA* variáns ligálása jóval komplexebb feladatnak bizonyult. A korábban említett hosszú inzert és az átfedő oligók természete miatt a standard arányok nem vezettek azonnali sikerhez. Emiatt ennél a konstrukciónál kiterjedt optimalizálási sorozatot végeztem: változtattam az inkubációs időt (rövid 10 percesről 16 órás, 14 °C-os „overnight” ligálásra), és több köztes vektor-inzert arányt is kipróbáltam. Végül a *CadA* esetében is a 22 °C-on végzett, 10 perces ligálás hozott eredményes beépülést. Az optimalizálás során meghatározott vektor-inzert arányok és az 5x Rapid ligázpuffer alkalmazása tette lehetővé a stabil konstrukció létrehozását, ami alapját adta a további transzformációs lépéseknek.

#### **4.1.3. A ligátumok transzformálása *E. coli* TOP10 és XL10 Gold klónozó törzsekbe**

A ligálás során keletkezett plazmidokkal kompetens *E. coli* baktériumokat transzformáltam. A *YodA* variáns esetében XL10 Gold *E. coli* sejteket használtam, míg a *CadA*-nál TOP10 *E. coli* törzsszel dolgoztam. Mindkét esetben a sejteket a 80 °C-os fagyasztóból kivéve 10 percig jégen kiolvastottam, majd 5-5 µl ligálási elegyet adtam hozzájuk, és további 30 percig jégen hagytam őket. Ezután az elegyeket másfél percig 42 °C-on inkubáltam, majd 2 percre visszaraktam a jégre. A sejtek regenerálódásához 500 µl előmelegített SOC (glükózzal kiegészített SOB) tápoldatot adtam, majd a szuszpenziót 45 percen át 37 °C-on, 200 rpm fordulatszámon rázattam. Végül a szuszpenziót ampicillint tartalmazó LB-lemezekre szélesztettem, és egy éjszakán át 37 °C-on inkubáltam. Másnapra minden lemezen rengeteg kolóniát észleltem. Míg a *YodA*-nál egyszerűen kiválasztottam 2-2 kolóniát a további felszaporításhoz, a *CadA* variánsnál a korábbi beépítési nehézségek miatt óvatosabb voltam, és kolónia-PCR-rel ellenőriztem, hogy melyik telep tartalmazza valóban a *CadA* motívum génjét. A kiválasztott kolóniákat végül ampicillinnel kiegészített LB-tápoldatba oltottam le, és 16 órán keresztül 37 °C-on rázattam.

A tenyészetek fenntartása céljából azok 500 µl-éből 15%-os glicerintartalommal törzseket tettem el - 80 °C-os fagyasztóba. A plazmid-DNS kinyerését mindkét variáns esetében a Monarch Plasmid Miniprep Kit segítségével végeztem el, a gyártó által előírt leírás szerint. A protokolltól annyiban tértem el, hogy a plazmidokat 30 µl SDV-vel eluáltam, 6 perces inkubáció után.

Restriktációs emésztéssel ellenőriztem, hogy a kadmiumkötő motívumokat kódoló DNS-ek megfelelően épültek-e be a plazmidokba. A két variánsnál különböző enzimpárokat használtam: a *YodA* esetében AgeI-HF és KpnI-HF, míg a *CadA* variánsnál XhoI és SacI-HF enzimekkel emésztettem.



10. ábra Próbaemésztés utáni gélelektroforézis eredményei. Jelmagyarázat balról jobbra haladva: YodA 3%-os agarózgélén: NT045 plazmid, M- GeneRuler 1 kb DNA Ladder, minta 1-től 4-ig, CadA 1%-os agarózgélén: Ve-emésztett vektor, le-emésztett inzert, M-GeneRuler 1 kb DNA Ladder, minta 1-től 4-ig, M2- O'RangeRuler 20 bp DNA Ladder.

Az ellenőrzés elve mindkét esetben hasonló volt: amennyiben sikeresen beépült az inzertmotívum, az eredeti plazmidban lévő egyik vágóhely (YodA-nál az AgeI) már nincs jelen, így az emésztés során a plazmid csak felnyílik, és egyetlen lineáris DNS-t kapunk a gélen. Ha nem épült volna be az inzert, a plazmid két darabra vágódott volna. Az emésztés 1 órán keresztül 37 °C-on történt. Az agaróz gélelektroforézissel végzett ellenőrzés (10. ábra) mindkét konstrukciónál igazolta a beépülést, mivel a plazmidok csak egy helyen nyíltak fel. A PCR-reakció utáni eredmények szintén megerősítették a megfelelő méretet.

A kinyert plazmidokat DNS-szekvenálásra küldtük, melynek eredményét összehasonlítottam az elméletileg megtervezett szekvenciákkal (11. ábra).

Az eredmények alátámasztják, hogy mind a YodA, mind a CadA kadmiumkötő peptidmotívumok flagellinbe építése sikeres volt, mivel az elméleti és a gyakorlati szekvenciák megegyeznek.

|                      | 5304 | 5310                                                                           | 5320                                                                     | 5330 | 5340 | 5350 | 5360 | 5370 | 5380 | 5390 |
|----------------------|------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| clipseq              | 200  | AGGA                                                                           | TCAGTATCGGATACCGGAAAAAACCTGTATCGCTGATCGCTGACCAACTCGCGCGGAAATTTGAACGCAACG |      |      |      |      |      |      |      |
| pKOT-FliC-delD3-CadA | 5304 | AGGACTCGAGTATCGGATACCGGAAAAAACCTGTATCGCTGATCGCTGACCAACTCGCGCGGAAATTTGAACGCAACG |                                                                          |      |      |      |      |      |      |      |
| pKOT-FliC-delD3-YodA | 5304 | AGGACTCGAGTATCGGATACCGGAAAAAACCTGTATCGCTGATCGCTGACCAACTCGCGCGGAAATTTGAACGCAACG |                                                                          |      |      |      |      |      |      |      |
| seq21C1ZAB236        | 202  | AGGA                                                                           | TCAGTATCGGATACCGGAAAAAACCTGTATCGCTGATCGCTGACCAACTCGCGCGGAAATTTGAACGCAACG |      |      |      |      |      |      |      |

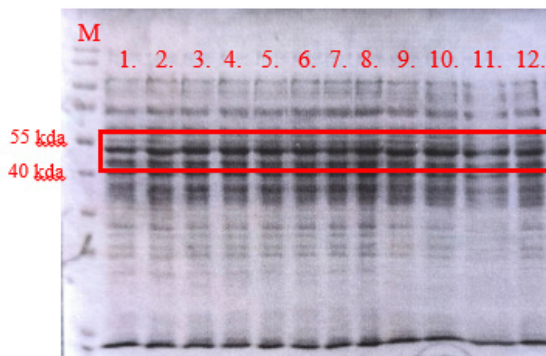
11. ábra A DNS-szekvenálások eredményének (clipseq – CadA plazmidminta, seq21C1ZAB236 – YodA plazmidminta) és az elméleti DNS-szekvencia (pKOT-FliC-delD3-CadA, pKOT-FliC-delD3-YodA) összehasonlítása.

#### 4.2. YodA és CadA motívumot tartalmazó plazmidok elektroporálása flagellin deficiens szalmonella sejtekbe

A YodA és CadA fémkötő motívumot tartalmazó flagellin variánsok génjét hordozó plazmidokat elektrokompetens SJW2536 flagellin deficiens *Salmonella* gazdasejtekbe juttattuk be. Ehhez a plazmidokat, az elektrokompetens sejteket és az eljárásához szükséges elektroporációs küvétát 10 percig jégen inkubáltam. 1 µl plazmidot adtam 50 µl sejthez, óvatosan homogenizáltam, majd 1 percig még jégen hagytam, és a küvétába pipetázva (a Bio-Rad Gene Pulser Xcell Microbial System típusú készüléken 2500 V feszültséggel, 10 ms-os időkonstans mellett, 2 mm-es lökésközű küvétában) elektroporáltam. A feszültségimpulzus után azonnal 500 µl SOC tápoldatot adtam a sejtekhez, hogy azok tudjanak regenerálódni. A sejteket 37 °C-on 45–60 percig 275 rpm-en ráztam. A sejtekből 50 és 450 µl térfogatokat LB-ampicillin-táplemezre szélesztettem, és 16 órán keresztül 37 °C-on inkubáltam. A sikeresen transzformált YodA motívumot tartalmazó telepek közül kiválasztott 4 db kolóniát 5 ml ampicillinnel (AMP) kiegészített (5 µl antibiotikum/5 ml tápoldat) folyékony tápközegbe oltottam át, majd 37 °C-on, 275 rpm rázátás mellett növesztettem 16 órán keresztül a fehérje-expresszióhoz szükséges sejttömeg eléréséig.

A CadA variáns esetében, mivel a beépítés nehezebben ment, egy plusz ellenőrzési lépést is végeztem a munkafolyamatban. Közvetlenül a lemezekről 12 különböző kolóniát választottam ki, és egy gyors eljárással, 12,5%-os SDS-PAGE gélen ellenőriztem (12. ábra), hogy egyáltalán van-e fehérjetermelés.

Ez a lépés segített abban, hogy csak azokkal a telepekkel haladjak tovább a nagyobb volumenű tenyésztések felé, amelyeknél a flagellin expressziója egyértelműen, koncentráltan látható volt a gélen. A sikeresen transzformált telepek közül kiválasztott kolóniákat végül folyékony tápközegbe oltottam át, hogy elérjük a fehérje-expresszióhoz szükséges sejttömeget.

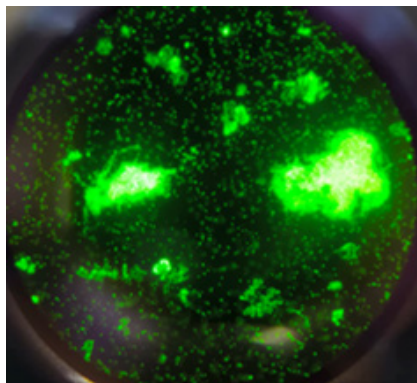


12. ábra Közvetlenül vizsgált, 12 CadA motívummal rendelkező kolóniákból származó minták  
 Magyarázat: M – PageRuler Prestained Protein Ladder (10–180 kDa) és sorrendben az 1–12. kolónia. A piros rész jelöli a CadA variánst (52 kDa).

#### 4.3. A FliC-YodA és FliC-CadA motívumot tartalmazó flagellin filamentumok izolálása

##### 4.3.1. A FliC-YodA és FliC-CadA variánsok termeltetése és izolálása kis térfogatban

A kísérlet során a tenyésztett *Salmonella* sejtekből a flagellin filamentumokat és monomereket differenciálcentrifugálással különítettem el.

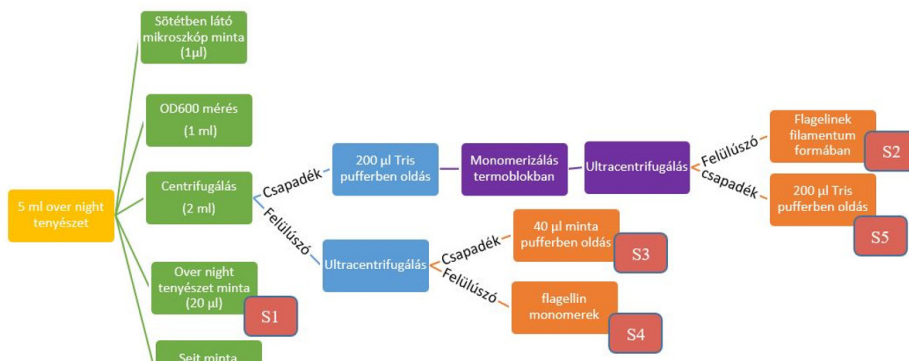


13. ábra A FliC-YodA variánsokat termelő *S. typhimurium* SJW2536 sejtek fénymikroszkópos képe.

A folyamat lépéseit az alábbiakban részletezem: A tenyészetekből 500 µl mintát vettem, amelyet 116 µl 80%-os glicerinnel elegyítettünk a hosszú távú tárolás érdekében.

A baktériumok mozgásképeségét és morfológiáját az Olympus B201 optikai sötétlátóteres mikroszkóp alatt ellenőriztem 1 µl szuszpenzió felhasználásával. Megállapítottam, hogy mind a FliC-YodA, mind a FliC-CadA konstrukciókat hordozó sejtek aktív mozgást mutattak, az osztódási hibák aránya pedig elenyésző volt. A mikroszkópos vizsgálat során (13. ábra) a baktériumok egészséges morfológiáját és a tenyészet homogenitását azonosítottam. A sejtsűrűséget 600 nm-en végzett Jasco V-630 spektrofotometriás méréssel (OD600) határoztam meg.

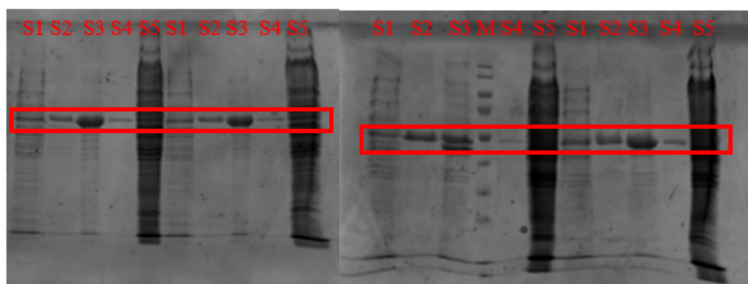
A sejtek elválasztásához (14. ábra) 2 ml tenyészetet 6000 g gyorsulással, 6 °C-on 30 percig centrifugáltam, majd a felülúszót és a csapadékot óvatosan különválasztottam.



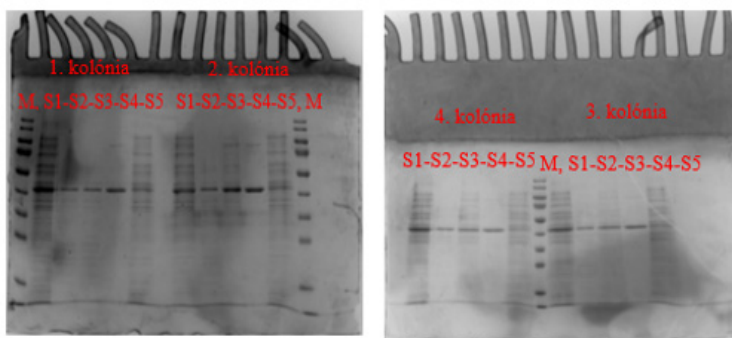
14. ábra Mini filamentum preparáció lépései és mintavételezési helyei (S1–S2–S3–S4–S5).

A felülúszó fázist, amely a sejtekről letört filamentumokat és tápközegebe jutott monomer flagellineket tartalmazta, további tisztításnak vettem alá: 70 000 rpm-en, 10 °C-on 30 percig ultracentrifugáltam, amelynek eredményeként elkülönítettem a letört filamentumokat (S3 frakció), valamint a monomer flagellineket (S4). A mintákat degradáció elkerülése érdekében 1:1 arányban Laemmli-típusú mintapufferrel stabilizáltam. Az első centrifugálásból származó csapadékot Tris-pufferben (20 mM trisz(hidroximetil)aminometán, 150 mM nátrium-klorid oldat, pH: 7,7–7,8, a dolgozat további részében is így hivatkozom erre az összetételű oldatra) reszuszpendáltam, majd 10 percig 70 °C-on monomerizáltam. Ezt követően ultracentrifugáltam (70 000 rpm, 10 °C, 30 perc). Eredményül a tisztított, filamentum formájú flagellint (S2 frakció), valamint a visszamaradó sejtömeget tartalmazó üledéket (S5) kaptam. Az összehasonlíthatóság és a nyomon követhetőség érdekében a kiindulási tenyészetből is különítettem el egy kontrollmintát (S1), amelyet közvetlenül mintapufferrel elegyítettem a későbbi elektroforetikus vizsgálatokhoz.

A kinyert frakciók (S1–S5) összetételét 12,5%-os SDS-PAGE gélen vizsgáltam. Az elválasztást állandó áramerősségen (60 mA), körülbelül 30 percig végeztem. A vizualizáláshoz a géleket Coomassie Brilliant Blue R-250 festékkoldatban (metanolos-ecetsavas közeg) festettem 15–30 percig, majd a felesleges festéket előhívó oldattal távolítottam el. A géleket gél dokumentációs rendszerben digitalizáltuk és elemeztük. A kinyert frakciók (S1–S5) összetételét 12,5%-os SDS-PAGE gélelektroforézis segítségével vizsgáltam. A futtatást állandó áramerősségen (60 mA), körülbelül 30 percig végeztem. A vizualizáláshoz a géleket Coomassie Brilliant Blue R-250 festékkoldatban (metanolos-ecetsavas közeg) festettem 15–30 percig, majd a felesleges festéket „destaining” oldattal távolítottam el 25–35 perc alatt. A kész géleket gél dokumentációs rendszerben (Gel Doc) digitalizáltuk és elemeztük.



15. ábra A vizsgált *FliC-CadA*-t termelő kolóniák S1–S2–S3–S4–S5 mintái 12,5%-os SDS-PAGE gélen Magyarázat: M – PageRuler Prestained Protein Ladder (10–180 kDa)



16. ábra A vizsgált *FliC-YodA*-t termelő kolóniák *S1-S2-S3-S4-S5* mintái 12,5%-os SDS-PAGE gélen Magyarázat: M – PageRuler Prestained Protein Ladder (10–180 kDa)

A 15–16. ábrán látható gélképek alapján megállapítottam, hogy a flagellin termelés mindegyik vizsgált kolónia esetében sikeres volt, azonban a sávok intenzitása eltérő. A tisztítási folyamat frakcióit vizsgálva látható, hogy a célfehérje legnagyobb mennyiségben az S3 (tisztított filamentumok) és S4 (monomer flagellinek) mintákban jelenik meg, de a maradék szennyező fehérjék jelenléte miatt a folyamat hatékonysága további optimalizálást igényel.

A korábban vizsgált *CadA* motívumot tartalmazó 12 kolóniából (12. ábra) a gélképek intenzitása alapján a 3., 4., 9. és 10. kolóniákat választottam ki a további munkához. Azért ezekkel a mintákkal végeztem a nagy térfogatú flagellin izolálást, mert ezeknél mutatkozott a legkifejezettebb expresszió a screening során.

#### 4.4. A *FliC-YodA* és *FliC-CadA* motívumot tartalmazó flagellin filamentumok izolálása nagy térfogatban

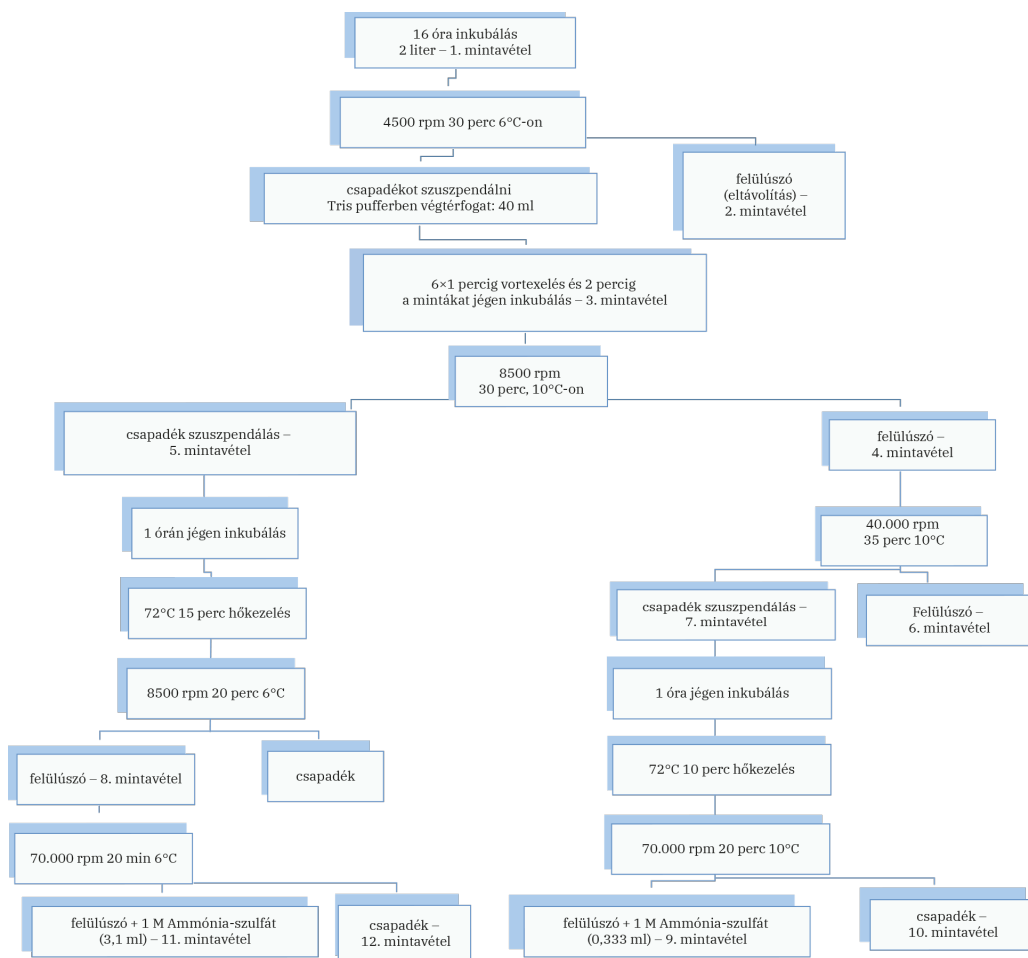
A továbbiakban a célom az volt, hogy a *FliC-YodA* és a *FliC-CadA* variánsokból elegendő mennyiségű filamentumot állítsak elő a bioszenzoros, valamint a stabilitásvizsgálati mérésekhez. A hatékony fehérjetermeltetés érdekében a *FliC-YodA* variánst hordozó sejtekkel nagy volumenű (2 literes) tenyésztéseket végeztem LB-táppal alkalmazásával.

A *FliC-CadA* variánst termelő sejtekkel hasonlóan jártam el. 5 ml LB-táppal 16 órán át 275 rpm-en ráztam 37 °C-on, 5 µl ampicillin jelenlétében. Ebből 100 ml táppal oltottam át, amihez 100 µl ampicillint adagoltam, majd a 37 °C-on, 6 órás rázatást (200 rpm) követően oltottam át a végleges, 2 literes táppal. Itt 400 µl habzásgátlót és 2000 µl ampicillint adtam a rendszerhez, majd folyamatos levegőztetést biztosítottam a baktériumok számára a 37 °C-on a 16 órás kevertetés (100 rpm) mellett. Másnap reggel mintát vettem SDS-PAGE-re. Ezután a 2 literes lombikba 2%-os PEG 6000-et és 1%-os NaCl-t tettem, majd az egészet 37 °C-on, lassan ráztam (kb. 50–75 rpm) 45 percig. Ez a kezelés segíti a sejtekről letört filamentum kötegekbe rendeződését, és így a későbbi elválasztást. Innentől kezdve minden egyes részlépésnél vettem mintát SDS-PAGE-re, hogy követni tudjam a fehérjetermelődését és tisztaságát. A sejtenyészetet lecentrifugáltam (4500 rpm, 30 perc, 6 °C). A centrifugálás után a felülúszót leöntöttem, a megmaradt sejtszuszpenziót pedig 40 ml Tris- pufferben szuszpendáltam. A filamentum szálakat intenzív fizikai kezeléssel távolítottam el a sejtfelszínről: 1 percig vortexeltem a mintát, majd 2 percre jégre tettem, és ezt még hatszor ismételtam meg. Ezután újra centrifugáltam a szuszpenziót (8500 rpm, 30 perc, 6 °C), majd a felülúszóból és a sejtlepedékből külön-külön igyekeztem kinyerni minél több fehérjét. A felülúszót 40 000 rpm-en ultracentrifugáltam 30 percig 10 °C-on, majd az így kapott, filamentumokat tartalmazó csapadékot 1–1 ml Tris-pufferben szuszpendáltam. Egy óra jégen inkubálás után 70 °C-os vízfürdőben 10 percig monomerizáltam, majd újra ultracentrifugáltam (70 000 rpm,

20 perc, 10 °C). A tiszta felülúszók térfogatát figyelembe véve a flagellin variánsokat 1 M végkoncentrációjú ammónium-szulfáttal polimerizáltam.

A csapadékból hasonló módon nyertem ki a fehérjét. 10 ml Tris-pufferben 1 db Roche Protease Inhibitor (with EDTA) cOMplete tablettát feloldottam, majd a csapadékot ebben szuszpendáltam. 1 óra jégen inkubálás után 70 °C-on 15 percig monomerizáltam, majd újabb 8500 rpm-es centrifugálással még egyszer átmostam a sejteket, hogy minden maradék fehérjét kinyerjek. A felülúszót 70 000 rpm-en ultracentrifugáltam.

Mivel a *CadA* motívum ciszteint tartalmaz, így a polimerizálás előtt hozzáadtam 1 M ditiotreitol redukálószer (rövidítve: DTT), hogy a diszulfid hidakat redukálja. A centrifugálás felülúszójának térfogatát számításba véve 1 M végkoncentrációjú ammónium-szulfáttal polimerizáltam vissza. Minden egyes lépésnél – ahogy a folyamatábrán is látszik (17. ábra) – mintákat vettem az SDS-PAGE ellenőrzéshez, hogy pontosan lássam, melyik fázisban hol tart a tisztítás, és mennyi fehérjém maradt.



17. ábra. A FliC-YodA és FliC-CadA flagellin variánsok izolálásának és tisztításának folyamatábrája. Az ábra bemutatja a differenciálcentrifugáláson és hőkezelésen alapuló tisztítási lépéseket, valamint a minőségellenőrzéshez szükséges mintavételi pontokat.

Az 1 M ammónium-szulfátos, 1. polimerizált FliC-YodA és FliC-CadA legalább 16 órás inkubálása után következtek az újabb tisztítási lépések. Először mindkét variáns ammónium-szulfátos polimerjéből mintát vettem, majd intenzív tisztítási sorozatba kezdtem: két egymást követő ultracentrifugálást, egy 10 perces, 70 °C-os monomerizációt, majd egy harmadik ultracentrifugálást végeztem el. A csapadékot minden lépésnél Tris-pufferben vettem fel, és ezzel haladtam tovább egészen a folyamat végéig. Az utolsó ultracentrifugálás után a fehérjecsapadékot már célzottan olyan mennyiségű pufferrel oldottam fel, hogy a fehérjeoldat koncentrációja megközelítőleg 1 mg/ml legyen. Erre azért figyeltem különösen, hogy a későbbi fotometriás mérés során ne kelljen hígítanom a mintát, mert az felesleges fehérjevesztéssel járt volna.

Végül mindkét monomerfehérje-minta esetében spektrofotometriával megmértem a felülúszók abszorbanciáját 280 nm-en, amiből kiszámítottam a pontos fehérjekoncentrációkat. A flagellin variánsokat 0,8 M végkoncentrációjú ammónium-szulfát oldattal polimerizáltam, így kaptam meg a szenzoros és stabilitási mérésekre kész filamentumokat. Amennyiben a további mérések (pl. bioszenzoros vizsgálatok) nagyobb tisztaságú alapanyagot igényeltek, a tisztítási eljárást még egy alkalommal megismételtem a maximális tisztaság elérése érdekében. A kinyert tiszta monomerekből spektrofotométerrel határoztam meg a pontos koncentrációt 280 nm-en (1. táblázat).

A mérések lezárásaként a fehérjéket 0,8 mM végkoncentrációjú ammónium-szulfát hozzáadásával polimerizáltam vissza filamentum formába.

A FliC-CadA variáns esetében a tisztítást kétféle módon is elvégeztem, hogy vizsgálni tudjam a diszulfidhidak hatását a későbbi méréseknél. Készítettem egy kontrollmintát, amelyet csak standard Tris-pufferben mostam és polimerizáltam, illetve egy másik mintát, amelynél a mosási lépések és a polimerizáció során is 1 M-os TCEP redukálószer alkalmaztam. Ez utóbbira azért volt szükség, hogy a CadA motívumban lévő ciszteinek redukált formában maradjanak, és ne alakuljanak ki nemkívánatos intermolekuláris diszulfidhidak, amelyek fehérje-aggregációhoz vezethetnek.

1. táblázat A monomer koncentrációk a mérésre szánt mintáimban

|                                                                    |            |
|--------------------------------------------------------------------|------------|
| FliC-YodA variáns 3. monomer minta koncentráció                    | 3,05 mg/ml |
| FliC-CadA variáns 3. monomer Tris-pufferes minta koncentráció      | 2,18 mg/ml |
| FliC-CadA variáns 3. monomer Tris-puffer + TCEP minta koncentráció | 1,83 mg/ml |

#### 4.5. A Cd-kötő filamentumok előkészítése stabilitási és bioszenzoros vizsgálatokhoz

Az előzőekben leírt flagellin variánsok kadmiumkötő képességét elektrokémiai impedancia-spektroszkópiával (EIS), a felhasználásukkal preparált filamentumok stabilitását pedig cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiával vizsgáltam. Ezekhez előkészítettem a módosított flagellin variánsokat (FliC-YodA és FliC-CadA), figyelembe véve az egyes variánsok polimerizációs hajlamát és a mérési módszerek specifikus igényeit.

A FliC-YodA mintákból a harmadik polimerizációs lépés után centrifugálással eltávolítottam az ammónium-szulfátot. A korábbi kísérletek alatt azt tapasztaltuk, hogy a FliC-YodA önmagában nem polimerizálódik elég jól, és azt feltételeztük, hogy ebben a flagellin D3-doménjének helyére épített YodA motívum alakjából fakadó térigénye játszhat szerepet. Ezért a stabilitás javítása céljából olyan flagellin variánssal keverve polimerizáltam, amelyből korábban eltávolították a D3-domént (Pme2). A CD-méréshez 1,5 ml FliC-YodA-hoz (koncentráció: 0,5 mg/ml) 1:1 molarányban Pme2 variánst adtam. Az elektrokémiai méréseknél arany elektródot használtunk, ezért a polimerizálandó keverékhez 5% arányban olyan flagellin variánst (T239C) is adtam, amely a filamentum felületén ciszteint jelenít meg. Mivel a CadA motívum ciszteineket tartalmaz, az aggregáció elkerülése érdekében a FliC-CadA variánshoz a monomerizálás előtt TCEP redukálószer adtam. A tisztított fehérje koncentrációját spektrofotométerrel mértem meg (koncentráció: 2,00 mg/ml), majd a FliC-YodA-hoz hasonlóan 20:1 arányban kevertem hozzá a T239C variánst. Bár a korábbi tapasztalataim szerint a FliC-CadA önmagában is jól polimerizálódik,

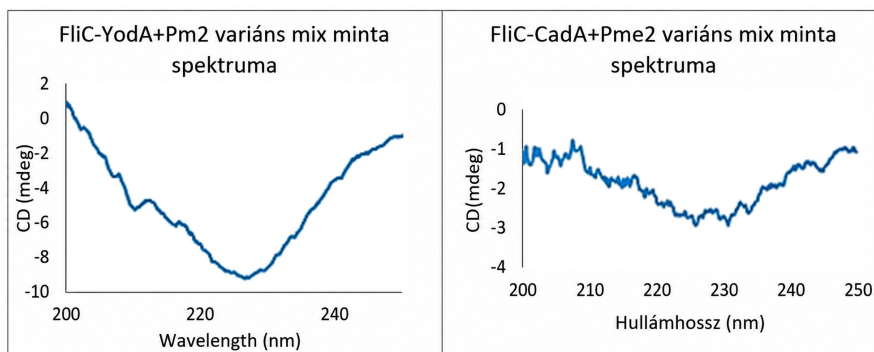
a mérések során tapasztalt aggregáció és a többnapos tárolás alatti instabilitás miatt végül szükségesnek láttuk a Pme2 variáns jelenlétében történő polimerizációt. A mintákat 0,6 mM ammónium-szulfát hozzáadásával polimerizáltam.

#### 4.6. A flagellin variánsokból készült polimerek szerkezeti stabilitásának vizsgálata CD-spektroszkópiával

A módosított flagellin nanoszálak szerkezeti integritása alapvető feltétel a bioszenzoros alkalmazásokban. A FliC-YodA és FliC-CadA variánsokból preparált kevert filamentumok termikus stabilitását a másodlagos szerkezeti elemek jelenlétén keresztül, hőmérséklet-gradiens alkalmazásával, távoli UV cirkuláris dikroizmus (CD) spektroszkópiával határoztuk meg. A méréseket a kutatócsoport tagja, Sara Sardou PhD-hallgató végezte el.

##### 4.6.1. Másodlagos szerkezetanalízis

Annak érdekében, hogy ellenőrizzük, a fémkötő motívumok beillesztése befolyásolta-e a fehérje natív szerkezetét, a CD-spektrumokat a 200–250 nm-es tartományban rögzítettük. A vad típusú flagellin polimerizációért felelős D0 és D1 doménjai filamentum formában szinte teljes mértékben  $\alpha$ -helikális szerkezeti elemekből épülnek fel, és az ezeknek megfelelő polipeptid-szekvenciákat a variánsokban változatlan formában őriztük meg.

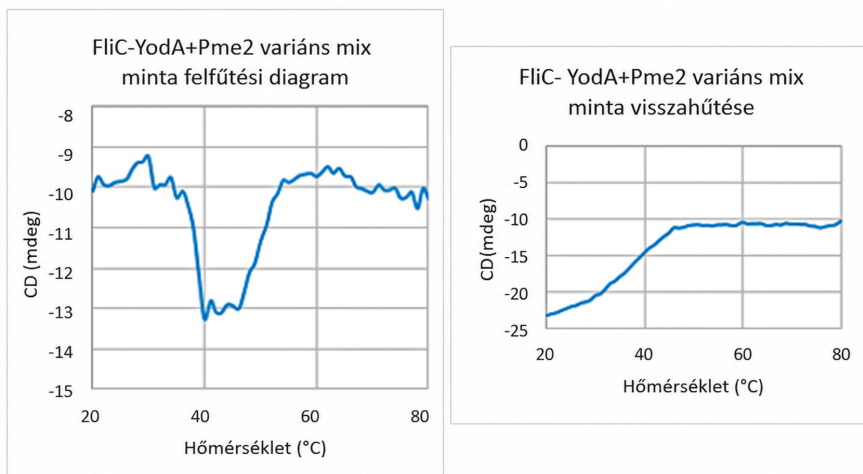


18. ábra. A FliC-CadA és FliC-YodA variánsok távoli UV CD-spektruma.

Ahogy az a 18. ábrán megfigyelhető, a görbék lefutásában azonosíthatók a flagellin filamentumok domináns  $\alpha$ -helikális szerkezetére utaló jellegzetes vállak és lokális minimumhelyek (210 nm és 225 nm környékén). Bár a spektrumok abszolút intenzitása és a csúcsok élessége elmarad az ideális modelltől, a karakterisztikus hélixtartalomra utaló jegyek felfedezhetők. Ebből arra következtethetünk, hogy a YodA és CadA motívumok beillesztése nem vezetett a globális szerkezet teljes felbomlásához, és a nanoszálak alapvetően megőrizték rendezett, polimerizált felépítésüket.

##### 4.6.2. Termikus stabilitás és renaturáció

A filamentumok termikus stabilitásának, valamint a hőhatást követő szerkezeti regenerációs képességének vizsgálatára a FliC-YodA/Pme2 komplexet alkalmaztuk. Bár a kutatómunka során mindkét variáns előállítása megtörtént, a dolgozat lezárásáig a FliC-YodA variáns esetében állt rendelkezésre megfelelő tisztaságú és stabilitású minta a teljes hőmérsékleti profil (felfűtési és visszahűtési ciklus) méréséhez. A FliC-CadA variáns mérése során tapasztalt mintainstabilitás (aggregáció) miatt a stabilitási vizsgálatoknál a YodA variánst tekintettük reprezentatív példának a flagellin alapú rendszer termikus viselkedésének bemutatására. A mérések során a CD-jel változását követtük 222 nm-en a hőmérséklet emelése (felfűtési ciklus), majd visszahűtése (visszahűtési ciklus) során a 20–80 °C-os hőmérséklet-tartományban.



19. ábra. A FliC-YodA/Pme2 komplex termikus denaturációs és renaturációs görbéje.

A felfűtési görbe (19. ábra) alapján meghatározott olvadáspont a FliC-YodA/Pme2 komplex esetében 38,66 °C. Ez az érték elmarad a vad típusú flagellin irodalomból ismert stabilitásától (kb. 57 °C), ami arra utal, hogy a YodA-motívum beillesztése destabilizálta a filamentum hélixszerkezetét. Bár ez a stabilitás alacsonyabb a vártnál, a bioszenzoros alkalmazás szempontjából kritikus információt hordoz: a méréseket szigorúan szobahőmérsékleten (vagy az alatt) kell végezni, mivel a testhőmérséklet környékén a fehérjeréteg szerkezeti integritása már megbomlik. Ez az eredmény rávilágít arra, hogy a jövőbeni fejlesztések során a motívum beillesztési pontjának vagy a linker szekvenciáknak az optimalizálása szükséges a termikus stabilitás növelése érdekében.

Bár a FliC-CadA variáns esetében a mérések során tapasztalt mintainstabilitás (aggregáció) nem tette lehetővé a termikus profil számszerű kiértékelését, a FliC-YodA variánsan végzett visszahűtési ciklus egyedi példát szolgáltat a Pme2 jelenlétében tapasztalható szerkezeti regenerációra. A CD-jel részleges visszaállása a hűtés során a vizsgált variáns figyelemre méltó regenerációs készségét mutatja, még ilyen alacsony olvadáspont mellett is.

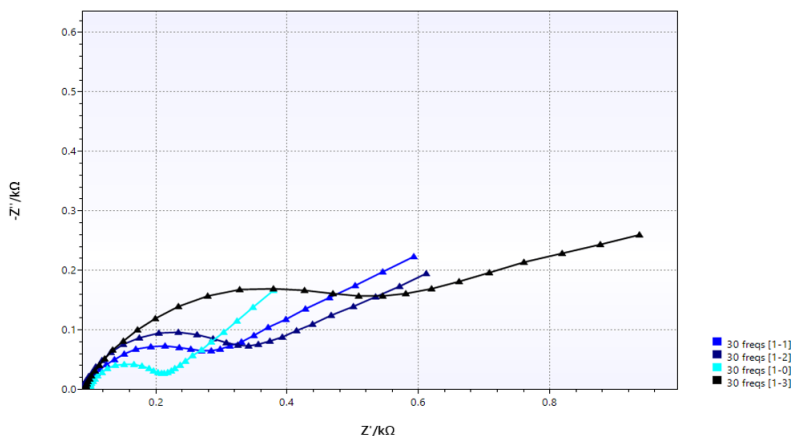
#### 4.7. Bioszenzoros felület kialakítása FliC-YodA és FliC-CadA filamentumok immobilizálásával és a Cd-kötés elektrokémiai detektálása

A munkám során létrehozott flagellin variánsok (FliC-YodA és FliC-CadA) kadmiumion-kötő képességét elektrokémiai impedancia-spektroszkópia (EIS) alkalmazásával vizsgáltuk. A méréseket a Pannon Egyetem Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratóriumában Tóth Éva tanszéki mérnök és társtémavezető végezte el, az elektródok előkészítése és a fehérje-immobilizálás pedig közös munka keretében valósult meg. A kadmium ivóvizekre vonatkozó egészségügyi határértékét a nemzetközi szabályozások (pl. WHO, EU) 5 µg/l szinten határozzák meg, ami 5 ppb (parts/billion) koncentrációnak felel meg [44].

A mérésekhez speciális, aranyalapú elektródokat használtunk. Ezek gyártása során a szerb BioSense Intézet munkatársai egy többrétegű PVC-hordozófelületre laminálással vittek fel arany lapokat, majd precíziós lézervágással alakították ki az elektródok végső geometriáját. A mérések megkezdése előtt a szenzorok felületét ciklikus voltammetriával tisztítottuk meg a gyártási szennyeződésektől. Ehhez 0,5 M kénsavat alkalmaztunk, és 10 cikluson keresztül, -0,2 és +1,5 V közötti tartományban, 500 mV/s potenciálváltoztatási sebességgel végeztük el a felület elektrokémiai „polírozását”. A tisztítást követően a felületmódosítás minden lépését EIS-méréssel követtük nyomon, 10 mM kálium-ferri/ferrocianid redoxrendszer jelenlétében. A tiszta aranyfelület karakterizálásakor a Nyquist-diagramon egy minimális átmérőjű félkör volt látható, ami az alacsony töltésátviteli ellenállást és a gyors elektronátvitelt igazolta.

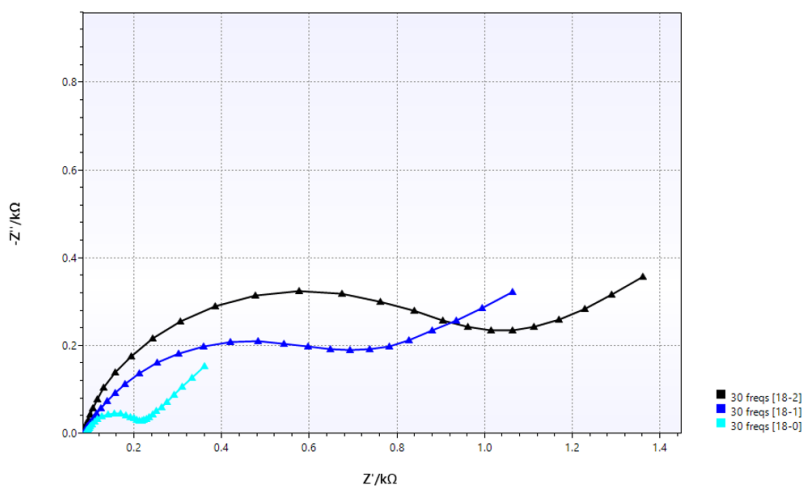
#### 4.7.1. FliC-CadA variáns kadmiumkötés-vizsgálata

A tisztított FliC-CadA polimer filamentumokat 1 mg/ml koncentrációjú szuszpenzióból immobilizáltuk a szenzor felszínén. A rögzítési folyamatot követően az impedanciaválaszban bekövetkező változás egyértelműen jelezte a bioszenzoros réteg kialakulását a munkaelektrodon.



20. ábra. FliC-CadA fehérjeminta Nyquist-diagramja: világoskék – üres aranyelektrod; sötétkék – fehérjeréteg (1 mg/ml); fekete – kadmiumion adagolása (5 ppb és 500 ppm).

A kadmiumion-kötő képesség vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a szenzor már rendkívül alacsony, 5 ppb koncentrációnál is detektálható választ adott, az ellenállás növekedése pedig 500 ppm-nél még jelentősebb volt (20. ábra). Ez bizonyítja, hogy a CadA motívum megőrzi fémkötő affinitását a flagellin nanoszálba építve is, és a szenzor képes koncentrációfüggő válaszra. Mivel a CadA motívumban található ciszteinek feltételezéseink szerint az aranyfelület számára korlátozottan hozzáférhetőek, teszteltük, hogy a T239C felületi ciszteint tartalmazó flagellin variánssal kopolimerizálva javítható-e az arany felület funkcionálizálása, és így az elektrod érzékenysége kadmiumra. Ezért a korábbiakhoz hasonlóan teszteltünk egy FliC-CadA:T239C (20:1 mólarányban) kevert polimert is.

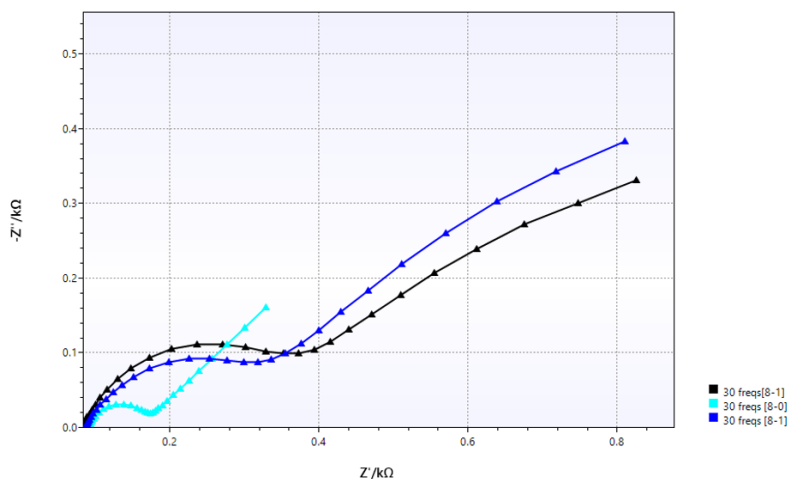


21. ábra. FliC-CadA:T239C fehérjemixminta Nyquist-diagramja: világoskék – üres aranyfelület; sötétkék – fehérjeréteg; fekete – kadmiumion (5 ppb) hatása.

Bár a fehérje kikötése sikeres volt, az egyenetlen borítottság miatt ennél a konstrukciónál a válaszjel nem mutatott stabil koncentrációfüggést, ami a jövőbeni felületmódosítási protokoll finomhangolását teszi szükségessé (21. ábra).

#### 4.7.2. A FliC-YodA variáns és a kevert filamentum kadmiumkötő képességének vizsgálata

A FliC-YodA variáns esetében a specifikus rögzítés és a megfelelő stabilitás elérése érdekében háromkomponensű, kevert polimerizációval előállított filamentumokat alkalmaztunk. A mérési elegyet FliC-YodA, Pme2 és T239C variánsok alkották 1:1,25:0,065 molarányban (mely megfelel a korábban optimalizált 4:5:0,26 tömegaránynak), 0,926 mg/ml összkoncentrációban.



22. ábra. YodA:Pme2:T239C fehérjemixminta Nyquist-diagramja: világoskék – csupasz elektród; sötétkék – komplex fehérjeréteg; fekete – kadmiumion (5 ppb) adagolása után.

Az EIS-mérések alapján (22. ábra) megállapítható a stabil fehérjeréteg kialakulása, azonban a görbék nem mutatnak egyértelmű kadmiumion-koncentrációfüggést. Ez feltételezhetően a YodA-motívum alacsonyabb fémkötő affinitására vagy a komplex mérési elegyben fellépő térbeli (sztérikus) akadályozottságra vezethető vissza.

Utóbbi esetben a filamentumba épített nagyméretű Pme2 vagy a szomszédos flagellin szálak sűrű elrendeződése árnyékolhatja a fémkötő helyeket, fizikailag korlátozva a kadmiumionok hozzáférését. Az egyes szenzorok közötti mérési szórás a felületi borítottság kismértékű inhomogenitására utalhat.

## 5. Összefoglalás

A nehézfém-szennyezés, köztük a kadmium detektálása kiemelt feladat, amelyre a bioszenzorok költséghatékony és gyors alternatívát kínálnak. Kutatásom célja módosított flagellin alapú nanostruktúrák fejlesztése és karakterizálása volt, a WHO/EU által meghatározott 5 µg/l (5 ppb) egészségügyi határérték detektálását célozva. A flagellin fehérjét úgy funkcionalizáltam, hogy a felületi hozzáférhetőségért felelős D3-domén helyére két különböző fémkötő motívumot terveztem: a természetes fémkötő képességű YodA fehérjét, illetve a nagy affinitású CadA motívumot. A variánsokat hordozó plazmidokat rekombináns DNS-technológiával sikeresen előállítottam, amit a szekvenálás igazolt. A fehérjéket flagellin-deficiens *Salmonella typhimurium* törzsben termeltem, majd differenciálcentrifugálással, PEG-csapadékos előtisztítással és mechanikai leválasztással tisztítottam.

Mivel a FliC-YodA variánsból önmagában nem sikerült tiszta filamentumokat előállítani, azt a stabilitást segítő Pme2 variánssal 1:1 molarányban keverve polimerizáltam.

A cirkuláris dikroizmus (CD) mérések a 210 és 225 nm-es tartományban azonosítható spektrális jegyek alapján a domináns  $\alpha$ -helikális szerkezet meglétére utalnak. A termikus denaturáció során meghatározott olvadáspont  $T_m = 38,66\text{ }^{\circ}\text{C}$ , amely elmarad a vad típusú flagellin irodalmi értékétől (kb.  $57\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), jelezve, hogy a nagyméretű motívum destabilizálta a szálat. A visszahűtési ciklus során tapasztalt CD-jel visszaállása alapján feltételezhető, hogy a Pme2 jelenléte elősegíti a szerkezeti regenerációt (renaturációt).

Az elektrokémiai impedancia-spektroszkópiás (EIS) vizsgálatok során a FliC-CadA variáns már a kritikus 5 ppb koncentráció mellett is egyértelmű választ adott, igazolva alkalmasságát a határértékszintű detektálásra. Ezzel szemben a FliC-YodA esetében ennél a koncentrációnál nem volt tapasztalható egyértelmű jel, ami a YodA alacsonyabb affinitására vagy térbeli akadályozottságra utalhat (ahol a Pme2 vagy a szomszédos szálak árnyékolhatják a kötőhelyeket).

További terveim között szerepel a felületi borítottság optimalizálása (T239C variáns), a koncentrációfüggő kalibráció pontosítása, valamint a szenzor specifikusságának igazolása más fémionokkal szemben végzett keresztselektivitási tesztekkel.

## **6. Köszönetnyilvánítás**

Elsősorban szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Jankovics Hajnalkának a szakmai irányítást és a dolgozatom elkészítéséhez nyújtott folyamatos, türelmes segítségét. Külön köszönet illeti Tóth Éva tanszéki mérnököt és társtémavezetőmet a rengeteg gyakorlati támogatásért, a tenyésztések és tisztítási folyamatok során nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért, valamint az elektrokémiai (EIS) mérések kivitelezéséért. Köszönettel tartozom továbbá Sara Sardou PhD-hallgatónak a cirkuláris dikroizmus (CD) mérések elvégzésében nyújtott segítségéért és iránymutatásáért.

Nem utolsósorban hálámat fejezem ki a Bio-Nanorendszerek Kutatólaboratórium, valamint a BioSense Intézet minden munkatársának a támogató közegért, a biztató szavakért és a kísérletek alatt biztosított jó hangulatért.

## Irodalomjegyzék

- [1] R. M. Fisher és V. Gupta, „Heavy Metals”, in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Elérés: 2025. március 10. [Online]. Elérhető: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557806/>
- [2] P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, és D. J. Sutton, „Heavy Metal Toxicity and the Environment”, in *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology: Volume 3: Environmental Toxicology*, A. Luch, Szerk., Basel: Springer, 2012, o. 133–164. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4\_6.
- [3] R. Singh, N. Gautam, A. Mishra, és R. Gupta, „Heavy metals and living systems: An overview”, *Indian J. Pharmacol.*, köt. 43, sz. 3, o. 246–253, 2011, doi: 10.4103/0253-7613.81505.
- [4] P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, és D. J. Sutton, „Heavy Metals Toxicity and the Environment”, *EXS*, köt. 101, o. 133–164, 2012, doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4\_6.
- [5] O. Faroon és mtsai., *Toxicological Profile for Cadmium*. in Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) Toxicological Profiles. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2012. Elérés: 2025. március 14. [Online]. Elérhető: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158838/>
- [6] S. Satarug és mtsai., „A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population”, *Toxicol. Lett.*, köt. 137, sz. 1–2, o. 65–83, 2003, doi: 10.1016/s0378-4274(02)00381-8.
- [7] „Itai-Itai Disease - an overview | ScienceDirect Topics”. Elérés: 2026. március 14. [Online]. Elérhető: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/itai-itai-disease>
- [8] K. Aoshima, „Itai-itai disease: Renal tubular osteomalacia induced by environmental exposure to cadmium—historical review and perspectives”, *Soil Sci. Plant Nutr.*, köt. 62, sz. 4, o. 319–326, júl. 2016, doi: 10.1080/00380768.2016.1159116.
- [9] D. M. Boland, „Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 12th Edition”, *J. Anal. Toxicol.*, köt. 44, sz. 9, o. e13–e13, jan. 2021, doi: 10.1093/jat/bkaa121.
- [10] I. W. G. on the E. of C. R. to Humans, „CADMIUM AND CADMIUM COMPOUNDS”, in *Arsenic, Metals, Fibres and Dusts*, International Agency for Research on Cancer, 2012. Elérés: 2025. március 17. [Online]. Elérhető: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK304372/>
- [11] N. S. Fracchiolla, S. Artuso, és A. Cortelezzi, „Biosensors in clinical practice: focus on oncohematology”, *Sensors*, köt. 13, sz. 5, o. 6423–6447, máj. 2013, doi: 10.3390/s130506423.
- [12] M. N. Velasco-Garcia és T. Mottram, „Biosensor Technology addressing Agricultural Problems”, *Biosyst. Eng.*, köt. 84, sz. 1, o. 1–12, jan. 2003, doi: 10.1016/S1537-5110(02)00236-2.
- [13] B. Purohit, P. R. Vernekar, N. P. Shetti, és P. Chandra, „Biosensor nanoengineering: Design, operation, and implementation for biomolecular analysis”, *Sens. Int.*, köt. 1, o. 100040, jan. 2020, doi: 10.1016/j.sintl.2020.100040.
- [14] S. Vigneshvar, C. C. Sudhakumari, B. Senthilkumaran, és H. Prakash, „Recent Advances in Biosensor Technology for Potential Applications – An Overview”, *Front. Bioeng. Biotechnol.*, köt. 4, o. 11, febr. 2016, doi: 10.3389/fbioe.2016.00011.
- [15] C. Jackson, A. Anderson, és K. Alexandrov, „The present and the future of protein biosensor engineering”, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, köt. 75, o. 102424, aug. 2022, doi: 10.1016/j.sbi.2022.102424.
- [16] HEGYI, G. Y., et al. Bevezetés a biokémiába gyakorlati jegyzet. ELTE-TTK, 2013, 195: 968-978.

- [17] M. Margoshes és B. L. Vallee, „A CADMIUM PROTEIN FROM EQUINE KIDNEY CORTEX”, *J. Am. Chem. Soc.*, köt. 79, sz. 17, o. 4813–4814, szept. 1957, doi: 10.1021/ja01574a064.
- [18] C. Acharya, D. Khare, D. Tv, P. Chandwadkar, és N. Kolhe, „Chapter 19 - Role of biological macromolecules of microbes in metal bioremediation”, in *Microbial and Natural Macromolecules*, S. Das és H. R. Dash, Szerk., Academic Press, 2021, o. 497–529. doi: 10.1016/B978-0-12-820084-1.00020-X.
- [19] X. Dong és mtsai., „Purification and Characterization of a Cadmium-Binding Protein from *Lentinula edodes*”, *J. Agric. Food Chem.*, köt. 67, sz. 4, o. 1261–1268, jan. 2019, doi: 10.1021/acs.jafc.8b05924.
- [20] „Models for natural and artificial cad operons. (A) Model for natural...”, ResearchGate. Elérés: 2026. március 14. [Online]. Elérhető: [https://www.researchgate.net/figure/Models-for-natural-and-artificial-cad-operons-A-Model-for-natural-cad-operon-encoded\\_fig2\\_349160420](https://www.researchgate.net/figure/Models-for-natural-and-artificial-cad-operons-A-Model-for-natural-cad-operon-encoded_fig2_349160420)
- [21] S. Silver és L. T. Phung, „Bacterial heavy metal resistance: new surprises”, *Annu. Rev. Microbiol.*, köt. 50, o. 753–789, 1996, doi: 10.1146/annurev.micro.50.1.753.
- [22] R. Prabhakaran és R. Thamarai, „Elucidation of the CadA Protein 3D Structure and Affinity for Metals”, *Bioinforma. Biol. Insights*, köt. 18, o. 11779322241266701, 2024, doi: 10.1177/11779322241266701.
- [23] E. Oleńska, W. Małek, I. Swiecicka, M. Wójcik, S. Thijs, és J. Vangronsveld, „Bacteria Under Metal Stress—Molecular Mechanisms of Metal Tolerance”, *Int. J. Mol. Sci.*, köt. 26, sz. 12, jún. 2025, doi: 10.3390/ijms26125716.
- [24] J. Cayron, G. Effantin, E. Prudent, és A. Rodrigue, „Original sequence divergence among *Pseudomonas putida* CadRs drive specificity”, *Res. Microbiol.*, köt. 171, sz. 1, o. 21–27, jan. 2020, doi: 10.1016/j.resmic.2019.11.001.
- [25] T. Stojnev, J. Harichová, P. Ferianc, és T. Nyström, „Function of a Novel Cadmium-Induced YodA Protein in *Escherichia coli*”, *Curr. Microbiol.*, köt. 55, sz. 2, o. 99–104, aug. 2007, doi: 10.1007/s00284-006-0516-5.
- [26] G. David, K. Blondeau, M. Schiltz, S. Penel, és A. Lewit-Bentley, „YodA from *Escherichia coli* Is a Metal-binding, Lipocalin-like Protein \*”, *J. Biol. Chem.*, köt. 278, sz. 44, o. 43728–43735, okt. 2003, doi: 10.1074/jbc.M304484200.
- [27] T. Minamino, Y. V. Morimoto, A. Kawamoto, H. Terashima, és K. Imada, „Salmonella Flagellum”, in *Salmonella - A Re-emerging Pathogen*, IntechOpen, 2018. doi: 10.5772/intechopen.73277.
- [28] „GUGOLYA, Z., 2008. A flagellin fehérje polimerizációjának jellemzése. PhD dissertation. S.I.: University of Pannonia.”,
- [29] M. Makvandi, A. Teimoori, M. Parsa Nahad, A. Khodadadi, M. G. deh cheshmeh, és M. Zandi, „Expression of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* flagellin protein and its functional characterization as an adjuvant”, *Microb. Pathog.*, köt. 118, o. 87–90, máj. 2018, doi: 10.1016/j.micpath.2018.03.016.
- [30] „Structural and Functional Comparison of Salmonella Flagellar Filaments Composed of FljB and FliC - PMC”. Elérés: 2026. március 16. [Online]. Elérhető: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7072241/>
- [31] „Dynamics and Control of Flagella Assembly in *Salmonella typhimurium* - PMC”. Elérés: 2026. március 16. [Online]. Elérhető: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5809477/>

- [32] K. Ohnishi, Y. Ohto, S. Aizawa, R. M. Macnab, és T. Iino, „FlgD is a scaffolding protein needed for flagellar hook assembly in *Salmonella typhimurium*”, *J. Bacteriol.*, köt. 176, sz. 8, o. 2272–2281, ápr. 1994, doi: 10.1128/jb.176.8.2272-2281.1994.
- [33] „dr. Vonderviszt, F., dr. Závodszky, P., Kamondi, S., & dr. Bársony, I. (2011, January 28). Receptorként alkalmazható, módosított flagellinek és flagelláris filamentumok, valamint eljárások előállításukra.”
- [34] GLATZ, G. *Polimeráz láncreakció In: Nyitray L: Géntechnológia és fehérjemérnökség. ELTE Biokémiai Tanszék, Elektronikus jegyzet, 2013, 71-82.*
- [35] „Electrophoresis”. Elérés: 2026. március 18. [Online]. Elérhető: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Electrophoresis>
- [36] DOMBRÁDI, Viktor. *Molekuláris biológiai módszerek. Debrecen, 2016.*
- [37] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, és J. L. Dempsey, „A Practical Beginner’s Guide to Cyclic Voltammetry”, *J. Chem. Educ.*, köt. 95, sz. 2, o. 197–206, febr. 2018, doi: 10.1021/acs.jchemed.7b00361.
- [38] „Electrochemical Impedance Spectroscopy–A Tutorial | ACS Measurement Science Au”. Elérés: 2026. március 7. [Online]. Elérhető: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsmeasuresciau.2c00070>
- [39] „Impedance Spectroscopy - an overview | ScienceDirect Topics”. Elérés: 2026. március 7. [Online]. Elérhető: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/impedance-spectroscopy>
- [40] „(PDF) Electrochemical Impedance Spectroscopy and Its Applications”. Elérés: 2026. március 7. [Online]. Elérhető: [https://www.researchgate.net/publication/357166362\\_Electrochemical\\_Impedance\\_Spectroscopy\\_and\\_Its\\_Applications](https://www.researchgate.net/publication/357166362_Electrochemical_Impedance_Spectroscopy_and_Its_Applications)
- [41] „Figure 1. Standard CD spectra redrawn from Corrêa et al.[5] Each of the...”, ResearchGate. Elérés: 2026. április 14. [Online]. Elérhető: [https://www.researchgate.net/figure/Standard-CD-spectra-redrawn-from-Correa-et-al5-Each-of-the-three-basic-secondary\\_fig1\\_266950207](https://www.researchgate.net/figure/Standard-CD-spectra-redrawn-from-Correa-et-al5-Each-of-the-three-basic-secondary_fig1_266950207)
- [42] A. J. Miles, R. W. Janes, és B. A. Wallace, „Tools and methods for circular dichroism spectroscopy of proteins: a tutorial review”, *Chem. Soc. Rev.*, köt. 50, sz. 15, o. 8400–8413, doi: 10.1039/d0cs00558d.
- [43] „NEB Tm Calculator”. Elérés: 2026. március 18. [Online]. Elérhető: <https://tmcalculator.neb.com/#/main>
- [44] S. Ottó, „Ívóvízben vizsgált paraméterek”. Elérés: 2026. április 13. [Online]. Elérhető: <https://www.nnk.gov.hu/index.php/kornyezetegugy/kornyezetegeszsegugyi-laboratoriumi-osztaly/vizhigienes-laboratorium/ivoviz/magyarorszag-i-telepulesek-ivovizminosege/ivovizben-vizsgalt-parameterek.html>

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar

Tudományos Diákköri Konferencia  
2026. április 29.

## **Metán- és szén-dioxid-tartalmú gázkeverékek elválasztásának vizsgálata poli(dimetil-sziloxán) membránokon**

Készítette:

Takács Nikoletta

biomérnöki alapképzési szak

Mérnöki Kar, Bio-, Környezet- és Vegyészmérnöki Kutató-Fejlesztő Központ,  
Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport

Témavezető:

Dr. Bakonyi Péter, egyetemi tanár

A pályamunka lezárásának dátuma:

2026.04.13.



## Tartalmi összefoglaló

A metán–szén-dioxid gázelegyek elválasztása fontos szerepet játszik a biogáz tisztításában és energetikai hasznosításában. A membrános eljárások ígéretes alternatívát jelentenek a hagyományos technológiákkal szemben, mivel alacsony energiaigényűek, és folyamatos üzemű rendszerekben is alkalmazhatók. A dolgozat célja a  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  biner gázelegy elválasztásának vizsgálata poli(dimetil-sziloxán) (PDMS) membránokon. A kísérletek során 50,2%  $\text{CH}_4$  49,8%  $\text{CO}_2$  összetételű gázelegyet használtam.

A kísérletek során kétlépcsős membránkaszkád-rendszert alkalmaztam, amelyben két azonos PDMS membránmodul működött soros elrendezésben. Meghatároztam a permeátum- és retentátum frakciók térfogatáramát és összetételét, majd ezek alapján modulonként permeabilitási és szelektivitási értékeket számítottam. Az eredmények azt mutatták, hogy a PDMS membrán a szén-dioxid permeációját részesíti előnyben: a  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  szelektivitás a vizsgált körülmények mellett az első modul esetében 3,26 és 4,04, a második modulnál pedig 3,24 és 4,41 értékek között mozgott. Az anyagmérleg-hibák minden esetben alacsonyak voltak (0,3–4,6%), ami a mérési eredmények megbízhatóságát igazolja.

A legkedvezőbb mérési eredmények 3,4 bar betáplálási nyomás, 22 °C szeparációs hőmérséklet és 1 bar permeátum oldali nyomás mellett adódtak. Ebben az esetben az első modul R/F aránya (vagyis a retentátum térfogatárama a betáplált gázáramhoz képest) 0,75, a másodiké 0,69 volt. A végső retentátum metántartalma megközelítette a 77%-ot. Ez 27,6 MJ/m<sup>3</sup>-nek adódott, ami eléri a 2S földgáz minőséget, így lehetőséget biztosítva földgázalternatívaként való felhasználásra.

A modell-gázeleggyel végzett kísérletek eredményei alapján a PDMS membránkaszkád alkalmas lehet metán–szén-dioxid gázelegyek elválasztására és a biogáz minőségének javítására.

Kulcsszavak: metán, szén-dioxid, membrán, PDMS, permeátum, retentátum

## 1. Bevezetés

A fosszilis energiahordozók készleteinek csökkenése, valamint a növekvő üvegházhatásúgáz-kibocsátás által kiváltott éghajlatváltozás egyre sürgetőbben hívja fel a figyelmet arra, hogy fenntarthatóbb energiaforrások és hatékonyabb technológiák alkalmazására van szükség. Ennek egyik fontos iránya a megújuló energiaforrások hasznosítása és a hulladékalapú energiatermelés előtérbe kerülése.

A biogáz ebben fontos szerepet játszik, mivel különböző szerves hulladékok lebontásával állítható elő, így egyszerre jelenthet megoldást a hulladékkezelésre és az energiatermelésre is. A nyers biogáz főként metánt és szén-dioxidot tartalmaz. Ahhoz azonban, hogy földgázhoz hasonló minőségű energiahordozót kapjunk, a szén-dioxidot el kell távolítani. A szén-dioxid eltávolítása nemcsak a fűtőértéket növeli, hanem a szén-dioxid-kibocsátás mérséklésével összességében a klímavédelmi célok megvalósítását is támogatja. A  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  elválasztás többféle módszerrel is megoldható. A hagyományos eljárások – például az abszorpció vagy az adszorpció – azonban gyakran energia- és vegyszerigényesek. Ezzel szemben a membránszeparáció egyre nagyobb figyelmet kap, mivel kompakt, jól automatizálható és általában kisebb környezeti terheléssel jár. A polimer membránok közül a poli(dimetil-sziloxán) (PDMS) kiemelkedik jó gázáteresztő tulajdonságával és kémiai stabilitásával, ezért alkalmas lehet metán–szén-dioxid gázelegyek elválasztására.

Ebben a dolgozatban metán- és szén-dioxid-tartalmú gázkeverékek elválasztását vizsgálom PDMS membránokon. A célom annak feltárása, hogy az üzemi paraméterek – nyomás és retentátumelvételi arány (R/F) – hogyan befolyásolják a  $\text{CO}_2$  és  $\text{CH}_4$  permeabilitást és a  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  szelektivitást, illetve, hogy a kaszkádmembrános rendszerek mennyiben javíthatják az elválasztás hatékonyságát. Az eredmények hozzájárulhatnak olyan membrános technológiák fejlesztéséhez, amelyek a biogáz metántartalmának növelésével egyszerre szolgálhatnak gazdasági és környezeti szempontokat.

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1. A biometán jellemzői és jelentősége

#### 2.1.1. A biometán szerepe

A bioenergia fontos szerepet tölthet be a nehezen dekarbonizálható ágazatok kibocsátáscsökkentésében, azonban alkalmazása csak akkor tekinthető hosszú távon életképesnek, ha összhangban van a fenntarthatósági szempontokkal. A bioenergia különböző biomassza-alapanyagok; mezőgazdasági melléktermékek, erdészeti maradványok és egyéb szerves hulladékok energetikai hasznosítását jelenti, amelyekből hő-, villamos energia vagy üzemanyag állítható elő, ezzel lehetővé téve a fosszilis energiahordozók részleges kiváltását, ami hozzájárulhat a karbonsemleges vegyipar és mezőgazdaság kialakításához. A világ biogáz termelésének döntő része Európába, Kínába és az Egyesült Államokba koncentrálódik. Európa különösen meghatározó szerepet tölt be ezen a területen, amit a földgáz iránti magas kereslet és a háborús helyzet is ösztönöz. [1], [2]

#### 2.1.2. Technológia

Az anaerob lebontás során különböző baktériumok és archeák dolgoznak együtt: először a hidrolízis során a komplex szerves anyagokat egyszerű molekulákká bontják, majd az acidogén baktériumok fermentálják ezeket savakká, alkoholokká, szén-dioxiddá és hidrogénné. A hosszabb szénláncú savakat az acetogének acetáttá és hidrogénné alakítják, végül a metanogének biogázt termelnek ecetsavból vagy hidrogénből és szén-dioxidból. A metánképzők számára a mezofil és termofil környezet az ideális. A hőmérséklet emelkedésével a termelés nő. Az anaerob fermentorban két fontos retenciós idő van: a szilárd anyagok retenciós ideje és a hidraulikus retenciós idő. Ha a kettő nem válik el egymástól, a biomassza-kimosódás kockázatos lehet. A folyamat elején a fermentor pH-ja csökken a savak képződése miatt, majd a metanogén archeák ezeket fogyasztva 7–8,5 körüli pH-ra stabilizálják a rendszert. A biogázt

általában röviddel a keletkezés után felhasználják, de lehetőség van gáztárolásra is, amely általában egy külön utófermentorban/gázsapkában történik néhány órányi kapacitás erejéig, ami kiegyensúlyozza a biogáztermelés esetleges hektikusságát, illetve a felhasználást (pl. gázmotorban történő elégetés). [3]  
 Az anaerob fermentorok megfelelő tervezéssel és üzemeltetéssel biztonságosan működtethetők, de magas költségekkel járnak. Egy 1 MW teljesítményű biogázüzem beruházási költsége összesen mintegy 3 703 100 euró, amely magában foglalja a tervezési munkákat (65 000 euró), a technológiai részt (1 720 800 euró), az építési munkálatokat (1 877 300 euró), valamint a gépek és berendezések költségeit (40 000 euró). [4]  
 A biztonság érdekében célszerű gázérzékelőt és riasztókat telepíteni, mivel a metán zárt térben kiszoríthatja az oxigént, ami fulladást és robbanásvesztélyt okozhat. [2]

### **2.1.3. Földgázhálózatba és járművekbe való betáplálás**

A biometán biogázból történő előállítása során a biogázt tisztítják és dúsítják, eltávolítva belőle a vizet, a szennyező komponenseket – különös tekintettel a hidrogén-szulfidra –, majd végül a szén-dioxidot, így földgázminőségű biometán állítható elő. [5]

A 2009/73/EK irányelv előírja, hogy a tagállamoknak támogatniuk kell a biogáz terjedését, és kötelességük biztosítani a termelők hozzáférését a gázhálózatokhoz. Az EN 16723-2 szabvány meghatározza a biometán járműüzemanyagként való felhasználásának követelményeit, valamint előírja, hogy a gáznak meg kell felelnie a vonatkozó minőségi szabványoknak. [6]

Két fő módja van a biometán földgázhálózatba történő táplálásának: vagy a nyersanyagot gyűjtik egy központi üzemben, ahol a lebontás, a tisztítás és a betáplálás történik, vagy a biogázt külön üzemekben állítják elő, majd egy központi betápláló állomásra szállítják. A központosított rendszer általában gazdaságosabb és könnyebben ellenőrizhető. [7]

## **2.2. Membrános gázszeparáció**

### **2.2.1. A gázelválasztó membrántechnológia fejlődési útvonala**

A gázelválasztó membránok ipari alkalmazása az 1980-as években indult. Az első, iparban is alkalmazható cellulóz-acetát alapú szintetikus membránt Zsigmondy Richárd magyar származású Nobel-díjas vegyész állította elő. Ezt hamar követték a poliimid- és poliamid alapú membránok. Az 1990-es években a Pakisztánba telepített nagyméretű CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub>-szétválasztó üzem igazolta a skálázhatóságot. A 2000-es évektől kompozit és nagy teljesítményű rendszerek jelentek meg. A fejlődés fő irányai az új polimeranyagok bevezetése, a permeabilitás és a szelektivitás javítása, valamint a rendszer ipari optimalizálása voltak. [8], [9]

### **2.2.2. A membrános gázszeparáció alapjai**

#### **2.2.2.1. A nem porózus membránok működési alapelve**

A porusmentes membránokon – mint amilyen a PDMS is – keresztüli gázszeparáció során az elválasztás alapvető hajtóereje a membrán két oldala között kialakuló koncentrációkülönbség, a gyakorlatban azonban a művelet legtöbbször nyomáskülönbséggel valósítják meg. A gáztranszport legegyszerűbben a Fick-féle első diffúziós törvény segítségével írható le. Egy dimenzióban a diffúziós fluxus a következőképpen adható meg:

$$J = -D \frac{dc}{dx} \quad (1)$$

ahol  $J$  az anyagfluxus,  $D$  a diffúziós koefficiens,  $c$  a komponens koncentrációja,  $x$  pedig a térbeli koordináta a membrán vastagságának irányában. Stacioner állapotban a koncentrációgradiens a membrán vastagságán keresztül közel lineárisnak tekinthető, így az egyenlet integrálásával az  $i$  komponens fluxusa a következő formában írható fel:

$$J_i = \frac{D_i}{l} (c_{0,i} - c_{l,i}) \quad (2)$$

ahol  $c_{0,i}$  az  $i$  komponens koncentrációja a betáplálási oldalon,  $c_{l,i}$  az  $i$  komponens koncentrációja a permeátum oldalon,  $l$  pedig a membrán vastagsága. A membránban kialakuló koncentráció kapcsolatba hozható a gáz parciális nyomásával, amelyet a Henry-törvénnyel írhatunk le:

$$c_i = S_i p_i \quad (3)$$

ahol  $S_i$  az adott komponens oldhatósági koefficiense a membrán anyagában,  $p_i$  pedig az adott komponens parciális nyomása. Ha a koncentrációkat a parciális nyomások segítségével fejezzük ki, és ezt beírjuk a diffúziós egyenletbe, akkor az  $i$  komponens fluxusára a következő összefüggést kapjuk:

$$J_i = \frac{D_i S_i}{l} (p_{0,i} - p_{l,i}) \quad (4)$$

Az egyenletből látható, hogy a membránon keresztüli transzportot két anyagi tulajdonság határozza meg: a diffúziós koefficiens és az oldhatósági koefficiens. Pórusmentes membránok alkalmazása esetén a gázok membránon keresztüli áthaladása az úgynevezett oldódás–diffúzió mechanizmus alapján történik. A folyamat első lépéseként a gázmolekulák a membrán betáplálási oldalán adszorbeálódnak, majd feloldódnak a membrán anyagában. Ezt követően a molekulák diffúzióval vándorolnak át a membránon, végül a permeátum oldalon deszorbeálódnak. A diffúziós és az oldhatósági koefficiens szorzata egy új paraméterként is definiálható, amelyet permeabilitási koefficiensnek nevezünk:

$$P_i = D_i \cdot S_i \quad (5)$$

A fluxus egyenlete így egyszerűbb formában is felírható:

$$J_i = \frac{P_i}{l} (p_{0,i} - p_{l,i}) \quad (6)$$

Az egyenlet alapján megállapítható, hogy a membránon keresztüli anyagáram egyenesen arányos a membrán két oldala között fennálló parciális nyomáskülönbséggel, és fordítottan arányos a membrán vastagságával. Ezért a gázszeparációs membránok tervezésénél kiemelt cél a lehető legvékonyabb szelektív réteg kialakítása, amely nagy fluxust biztosít, miközben az elválasztási képesség is megmarad.

#### 2.2.2.2. A permeabilitás/szelektivitás kompromisszum viszonyainak alapjai

A polimer gázszeparációs membránok teljesítményét alapvetően a permeabilitás és a szelektivitás jellemzi. A permeabilitás azt mutatja meg, hogy a hajtóerőt és a felületet figyelembe véve egy adott gáz milyen gyorsan képes áthaladni a membránon, míg a szelektivitás azt fejezi ki, hogy a membrán mennyire képes elválasztani két különböző gázkomponenst. A két tulajdonság között általában kompromisszum

figyelhető meg: a nagy permeabilitású polimerek gyakran alacsonyabb szelektivitással rendelkeznek, míg a nagy szelektivitású anyagok kisebb áteresztőképességet mutatnak. A permeabilitás és a szelektivitás közötti kapcsolatot egy egyenes írja le (Robeson-féle upper bound), amely azt jelzi, hogy egy adott gázpár esetében milyen teljesítmény érhető el polimer membránokkal. A permeabilitás meghatározásához a fluxus egyenlete használható:

$$J_i = \frac{P_i}{l} (p_{0,i} - p_{l,i}) \quad (7)$$

ahol  $J_i$  az  $i$  komponens fluxusa,  $P_i$  az  $i$  komponens permeabilitása,  $l$  a membrán vastagsága,  $p_{0,i}$  és  $p_{l,i}$  pedig az  $i$  komponens parciális nyomása a membrán két oldalán. Ha a membrán vastagsága nem ismert pontosan, a permeabilitást gyakran GPU-ban (Gas Permeation Unit) adják meg, amennyiben pedig ismert, abszolút egységben, Barrerben fejezik ki. A membrán elválasztási képességének másik fontos jellemzője a szelektivitás, amely megmutatja, hogy a membrán mennyire különbözteti meg az egyes gázkomponenseket. Ideális esetben a szelektivitás két komponens permeabilitási koefficiensének hányadosával adható meg:

$$\alpha_{i,j} = \frac{P_i}{P_j} \quad (8)$$

ahol  $\alpha_{i,j}$  az  $i$  és  $j$  komponensek közötti szelektivitás,  $P_i$  az  $i$  komponens permeabilitása,  $P_j$  pedig a  $j$  komponens permeabilitása. Ez az érték az úgynevezett ideális szelektivitás, amely tiszta gázokkal végzett mérésekből határozható meg. A valós rendszerek azonban gyakran eltérnek ettől, mivel nagy nyomás alkalmazásakor kölcsönhatás alakulhat ki a gázkomponensek és a membrán anyaga között, ami módosíthatja a membrán szerkezetét. Ilyenkor általában a permeabilitás nő, miközben a szelektivitás csökken. Az ideális modelltől való eltérést okozhatja még a koncentrációpolarizáció (a membrán felületén a visszatartott anyagok feldúsulnak) vagy a membránhibák. A szeparáció hatékonysága általában magasabb betáplálási nyomással és alacsony permeátumoldali nyomással vagy vákuummal növelhető. Ha egyetlen membránmodul nem biztosít elegendő elválasztást, akkor más megoldások is lehetségesek, pl. több egység sorba kapcsolása vagy permeátum visszaforgatása egyfokozatú rendszerbe. Ezeket kaszkádrendszereknek nevezzük, amelyek lehetővé teszik a nagyobb tisztaság elérését, a jobb komponens-visszanyerést (a célkomponens nagyobb arányú kinyerése) és a hatékonyabb szeparációt. [10]

### 2.2.2.3. Transzportfolyamatok

A keresztáramú (cross-flow) membrános gázszeparáció során általában az a cél, hogy a betáplált gázelegyből két különböző összetételű áram jöjjön létre: egy retentátum, amely szegényebb a nagyobb permeabilitású komponensben, valamint egy permeátum, amely dúsabb abban. A modell feltételezi, hogy a polimer mátrix szerkezete stabil, nem duzzad és nem bomlik, így a transzportot főként a diffúzió sebessége és az oldódási folyamatok határozzák meg. Az elválasztás hatékonyságát az egyes gázkomponensek membránban való oldhatósága, diffundálási sebessége és a membránszerkezet határozza meg. A polimerek belső szerkezetében kisebb-nagyobb szabad térfogatok találhatók, amelyek lehetővé teszik a gázmolekulák mozgását. Az átjutásukat az oldhatóság és a diffúzió együttesen határozzák meg. A membrános szeparáció fontos jellemző paramétere még a stage-cut (permeátumelvételei arány), amely a permeátumáram és a betáplált áram arányát jelenti. Ez az érték megmutatja, hogy a betáplált gáz mekkora része halad át a membránon. [10], [11], [12]

#### 2.2.2.4. Membránok típusai

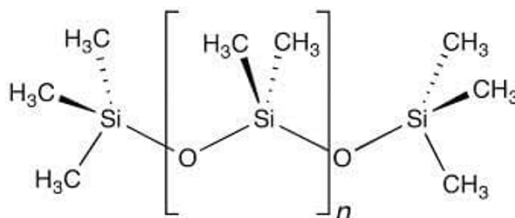
A membrán egy vékony határfelület, permszelektív gát, amely szabályozza a vele érintkező anyagok áthaladását. Ez lehet molekulárisan homogén, azaz összetétele és szerkezete teljesen egyenletes, vagy fizikailag, kémiaiilag heterogén; pórusokat vagy réteges szerkezetet tartalmazhat. Ezek alapján a membránok különböző kategóriákba sorolhatók: anyag szerint (polimer, kerámia, fém, szén, folyadékmembrán), szerkezet szerint (izotróp, anizotróp, szimmetrikus, aszimmetrikus, kompozit), fázis szerint (szilárd, folyadék), pórusszerkezet szerint (porózus, nem porózus), elválasztási mechanizmus szerint (szűrés, oldódás–diffúzió, töltésalapú elválasztás, facilitált transzport), technológiai folyamat szerint (mikroszűrés, ultraszűrés, nanoszűrés, fordított ozmózis, pervaporáció, gázszeperáció), gyártási módszer szerint (track-etch, expandált filmmembrán). A vizsgált PDMS egy polimer, nem porózus membrán, amelyet jelen esetben gázszeperációhoz használunk fel. [13]

A polimer membránokat jellemzően aszimmetrikus kialakításban állítják elő, nagyon vékony, sűrű elválasztó réteggel porózus hordozón, hogy nagy permeabilitás és megfelelő mechanikai stabilitás egyidejűleg biztosítható legyen. Gázáteresztő képességük rendkívül széles tartományban változhat, akár több nagyságrend különbséggel is az egyes anyagok között. A polimerekben idővel fizikai öregedés figyelhető meg, amely a szabad térfogat csökkenéséhez vezet. Az ezzel szembeni ellenállás javítható például a polimerláncok közötti kölcsönhatások növelésével, hidrogénkötések kialakításával vagy térhálósítással. [14], [15], [16], [17]

A nem porózus membránok tömör szerkezetű filmekből állnak, amelyekben az anyagok áthaladása diffúzióval történik. A transzportot a koncentrációkülönbség hajtja. Emiatt még hasonló méretű molekulákat is képesek elválasztani, ha azok oldhatósága jelentősen különbözik a membránban. Széles körben alkalmazzák őket gázszeperációs, pervaporációs és fordított ozmózis eljárásokban. [13]

### 2.3. A poli(dimetil-sziloxán) (PDMS)

#### 2.3.1. A PDMS tulajdonságai



1. ábra: A sziloxán szerkezete

A PDMS egy sziloxánalapú gumi polimer. Gerince ismétlődő –Si–O–Si– egységekből áll, ezt az 1. ábra szemlélteti (<https://elveflow.com/microfluidic-reviews/the-polydimethylsiloxane-pdms-and-microfluidics/>). A gerinc nagyfokú flexibilitással rendelkezik, így a metilcsoportok a láncok felszínén könnyen átrendeződhetnek. A szilícium–oxigén kötés nagy kötési energiája biztosítja a jó termikus és kémiai stabilitást, ami előnyös magas hőmérsékletű alkalmazások esetén. Kémiaiilag inert, termikusan stabil, optikai átlátszósága kiváló, jó diffúziós, izotróp és homogén tulajdonságú anyag. Üvegesedési hőmérséklete alacsony, mintegy –125 °C, ami jól mutatja gumyszerű jellegét szobahőmérsékleten. Biokompatibilis, alacsony felületi szabadenergiával rendelkező, hidrofób, elektromosan nem vezető anyag. Magas permeabilitási együtthatóval rendelkezik, és jó szelektivitást mutat a kondenzálható gázok iránt. Szerves gőzök és nitrogén elválasztásakor ezek a membránok praktikusán a szerves molekulákat engedik át nagyobb mértékben. Előnyei közé tartozik még az alacsony költség, a gyors prototípuskészítés, valamint az, hogy nem törékeny, mint az üvegalapú eszközök. Ugyanakkor erős hajlítás vagy túl nagy belső nyomás hatására deformálódhat, és számos szerves oldószerrel érintkezve duzzadásra hajlamos. [18], [19]

### 2.3.2. Előállítás

Előállítása monomer és térhálósítószer keverésével történik, amelyeket általában 10:1 tömegarányban kombinálnak. Az elegyet összekeverik, gáztalanítják, kiöntik, kemencében kikeményítik, majd eltávolítják a formából. [20] A hőkezelés során a hőmérséklet növelésével a kikeményítési idő jelentősen csökken. 25 °C-on a folyamat akár 48 órát is igénybe vehet, míg magasabb hőmérsékleten, például 100–150 °C között, már 10–35 perc is elegendő a teljes térhálósodáshoz. Mivel a permeációs fluxus fordítottan arányos a membrán vastagságával, a vékony membránok előállítása kiemelten fontos. A terminális csoport a polimerlánc végén található funkciós csoport (pl. –OH vagy –CH<sub>3</sub>), amely meghatározza a térhálósodás lehetőségét és a membrán szerkezetét. Ezenkívül a membrán teljesítményét befolyásolja még a PDMS és a térhálósító aránya, a térhálósodás sűrűsége, azaz az, hogy mennyi keresztkötés van egységnyi térfogatban (mol/m<sup>3</sup>), és a polimerlánc hossza is, amelyet leggyakrabban molekulatömegben adunk meg (g/mol). [21]

### 2.3.3. Alkalmazása

A különböző gázszeparációs eljárásokon kívül fő alkalmazási területei közé tartozik a szövettervezés, a DNS-szekvenálás, a klinikai diagnosztika, az implantátumok, a mikroeszközök, a gyógyszeradagolási rendszerek, valamint a textilipari adalék- és felületkezelő anyagok készítése. Számos háztartási termék összetevője (sampon, dezodor), valamint érzékelőkben is használatos, pl. biogáz-monitorozásra és szén-dioxid-detektálásra. [20], [22] Az UV-látható tartományban való UV-áteresztőképessége miatt alkalmas optikai és bioanalitikai alkalmazásokra, például fénymikroszkópos megfigyelésekhez, átlátszó elektródákhoz és napelemekhez. [19]

### 2.4. Kutatási rés a CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> membrános szeparáció területén

A CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> membrántechnológiával való elválasztása az utóbbi években egyre hangsúlyosabb kutatási területté vált. A szakirodalomban számos tanulmány foglalkozik különböző membránanyagok permeabilitási és szelektivitási jellemzőivel, valamint az üzemi paraméterek hatásával. A legtöbb vizsgálat azonban egyszerű, bináris CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> gázelegyekre és egyfokozatú (single-stage) rendszerekre korlátozódik. Bár ezek az eredmények fontos információkkal szolgálnak, a kaszkádszeparációkhoz szükséges publikációk száma viszonylag korlátozott, annak ellenére, hogy az ipari környezetben a kívánt metántisztaság eléréséhez jellemzően többlépcsős alkalmazás szükséges. Emellett kevesebb adat áll rendelkezésre arról, hogy a különböző nyomásviszonyok milyen mértékben befolyásolják a permeabilitást és a szelektivitást. Ezek a hiányosságok indokolják olyan vizsgálatok elvégzését, amelyek a CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> szeparációt összetettebb rendszerelrendezésben és változó üzemi feltételek mellett értékelik. [23]

### 3. Célkitűzés

A dolgozat célja metán–szén-dioxid-tartalmú modell-gázelegy elválasztásának vizsgálata poli(dimetil-sziloxán) (PDMS) membránokon. A vizsgálatok során azt szeretném felmérni, hogy a PDMS membrán hogyan viselkedik adott összetételű CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> elegyek esetén, illetve milyen mértékben képes a két gázkomponens szétválasztására. A kísérletek során arra törekszem, hogy:

- meghatározzam a metán és a szén-dioxid permeabilitását a PDMS membránon.
- megvizsgáljam az elválasztási paraméterek (nyomás, retentátumelvételi arány) hatását a gáz permeációs tulajdonságokra.
- értékeljem a kaszkádszeparációs elrendezés alkalmazhatóságát a szeparáció hatékonyságának javítására.

A méréseket a Pannon Egyetem Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport laboratóriumában végeztem, a rendelkezésre álló PDMS membránmodulok és gázszeparációs berendezés felhasználásával, amelynek kialakításában én is részt vettem. Az eredmények a metán–szén-dioxid elegyek membrános elválasztásának jobb megértését szolgálják, különös tekintettel a biogáz tisztításának lehetőségeire.

#### 4. Anyagok és módszerek

##### Kísérleti körülmények

A kísérletek során a betápnymást szisztematikusan és kontrollált módon változtattam absz. 2,6–3,4 bar tartományban. A betáplált gáz összetétele 50,2% metán és 49,8% szén-dioxid. A betápnymást két reduktorral szabályoztam. A mérések laborhőmérsékleten történtek, így a belépő gáz hőmérséklete és a szeparációs hőmérséklet azonos volt.

Az elején a membránmodulokban az összetétel még változik, amely nagyjából egy óra elteltével stabilizálódik, azaz a térfogatáramok, a retentátum és a permeátum összetétele egyaránt változatlaná válik. Ekkor kezdődhet a mérési eredmények rögzítése, illetve a mintavételezés a gázszeparáció folyamatának jellemzésére.

A berendezés a  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  keverékek membrános elválasztásának vizsgálatára alkalmas, különösen a permeátum- és retentátumáramok összetételének, a modulok közötti térfogatáram-megoszlásnak és a kaszkádrendszer szeparációs teljesítményre gyakorolt hatásának vizsgálatára.

##### 4.2. A rendszer felépítése, összeállítása és megfelelő működésének ellenőrzése

A rendszer (10. ábra) folyamatos üzemű, stabil betáp-, permeátum- és retentátumnyomások mellett. Felépítése a következő: egy gázellátó és nyomásszabályozó blokk, két membránmodul soros elrendezésben, buborékmérő, gázkromatográf, adatgyűjtő- és kiértékelő számítógépes program (Clarity).

A mérés előtt ellenőriztem a betápláló gázpalackban lévő gázelegy nyomását és összetételét, a manométer működését, valamint a csövek csatlakozásának megfelelő tömítettségét szappanoldatos szivárgásvizsgálattal. A rendszert a kísérletek elejétől a mérőgázzal használtam, és vártam, hogy adott beállítások mellett stabilizálódjanak a térfogatáramok, valamint a permeátum- és retentátum-összetételek.

##### Buborékmérő alkalmazása

A permeátum- és retentátumoldali térfogatáram mérése buborékmérő segítségével történt. A módszer lényege, hogy a kalibrált térfogatú üvegcsőben elmozduló szappanfilm időbeli változásának követésével kiszámítható a térfogatáram.



2. ábra: Buborékmérő

$$V = \frac{V_{cső}}{t} \quad (9)$$

ahol:  $V_{cső}$  az ismert térfogat (mL),  $t$  a szappanfilm áthaladási ideje (s).

A mérés során a szappanhártyát kézi nyomással a csőbe kell juttatni. A gázáram hatására a film egy előre kalibrált térfogatú csőszakaszon mozog, amelyen 1, 10 és 100 ml-es beosztások szerepelnek. A megteendő térfogategységre vonatkozó időintervallumot a haladási sebesség alapján választom ki. Az elmozdulásához szükséges időt stopperrel mértem.

Mind az első, mind a második modul áramaira külön méréseket végeztem. Minden mérési ponton három egymást követő mérést végeztem, és azok átlagértékeit használtam a további számításokhoz.

### **Gázkromatográf a gázösszetétel meghatározásához**

A kísérletek alatt mintákat vettem, hogy ellenőrizsem a steady-state működés elérését, és a vonatkozó adatokból kiindulva jellemezzem a gázszeparáció folyamatát.

A gázanalízist egy HP 5890 típusú gázkromatográfal végeztem, amely hővezetőképesség-detektorral (TCD) volt felszerelve. A mérés során az oszlop hőmérséklete 90 °C, az injektor hőmérséklete 110 °C, a detektor hőmérséklete 130 °C volt. A gázkromatográf kalibrálása tiszta szén-dioxiddal és metánnal történt.



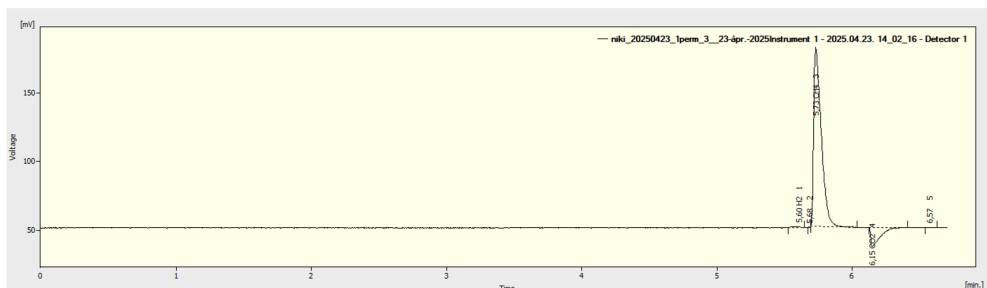
*3. ábra: Gázkromatográf*

A vizsgálat során Carboplot kolonnát használtam, amelynek hossza 60 m, belső átmérője 0,32 mm, filmvastagsága pedig 1,5  $\mu\text{m}$ . A vivőgáz 4.5-ös tisztaságú nitrogén volt, amely 30 ml/perc áramlási sebességgel haladt át a kolonnán. A minta 50:1-es split arányban került be a rendszerbe. A gázmintákat manuálisan injektáltam egy Hamilton-fecskendő segítségével.

A TCD (hővezetőképesség-detektor) működése azon alapul, hogy a különböző gázok hővezető képessége eltér egymástól. A detektor a mintagáz és a vivőgáz hővezető képessége közötti különbséget érzékeli, és ezt elektromos jellé alakítja. A mérések során a metán és a szén-dioxid eltérő hővezető képességgel rendelkezik a vivőgázként használt nitrogénhez képest, ezért a detektor jelében különböző változásokat okoznak. A metán pozitív irányú csúcs formájában jelenik meg a kromatogramon, míg a szén-dioxid csúcsa negatív irányban látható. A kromatogramon a két komponens eltérő retenciós idővel jelenik meg, ami lehetővé teszi a metán és a szén-dioxid egyértelmű azonosítását. A csúcsok területe arányos az adott komponens mennyiségével, így a mért kromatogram alapján meghatározható a gázkeverék összetétele. Egy teljes kromatográfiás mérés 7–8 percig tartott. Az alábbi ábrákon egy mérés kromatogramja és a Clarity program által kiértékelt táblázatos összefoglalása látható. Az 5. ábrán bemutatott kromatogramon jól elkülönülnek az egyes komponensek csúcsai.

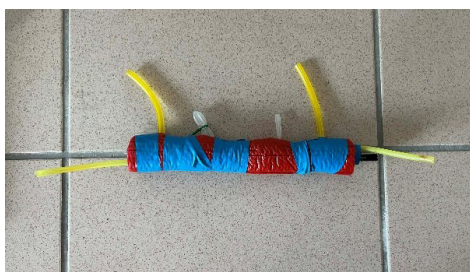
| Result Table (ESTD - niki_20250423_1perm_3_23-ápr.-2025Instrument 1 - 2025.04.23. 14_02_16 - Detector 1) |                   |          |             |            |           | Common for All Signals |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------|-------------|------------|-----------|------------------------|-------------|
|                                                                                                          | Reten. Time [min] | Response | Amount [mg] | Amount [%] | Peak Type | Compound Name          | Calculation |
| 1                                                                                                        | 5,603             | 2,850    | 0,396       | 0,1        | Ordnr     | H2                     | ESTD        |
| 2                                                                                                        | 5,680             | 0,584    | 0,000       | 0,0        |           |                        |             |
| 3                                                                                                        | 5,730             | 501,766  | 225,245     | 66,0       | Ordnr     | CH4                    |             |
| 4                                                                                                        | 6,147             | 67,022   | 115,769     | 33,9       | Ordnr     | CO2                    |             |
| 5                                                                                                        | 6,570             | 0,643    | 0,000       | 0,0        |           |                        |             |
| Total                                                                                                    |                   |          | 341,411     | 100,0      |           |                        |             |

4. ábra: A Clarity program kiértékelő felülete



5. ábra: Kromatogram

A 4. ábrán a Clarity program kiértékelő felülete látható, ahol a méréshez tartozó kromatográfias adatok kerülnek feldolgozásra. A táblázatban megjelenik az egyes komponensek retenciós ideje, a detektorválasz, valamint a számított mennyiségek és a százalékos összetételek. A teljes injektált mintamennyiség 300  $\mu$ L nagyságrendű, amelyből a kiértékelés alapján a metán és a szén-dioxid aránya meghatározható. A táblázat szerint a minta kb. 66% metánt és 34% szén-dioxidot tartalmazott. A mérés kalibrált módszerrel történt, amely biztosítja, hogy a csúcsokhoz tartozó területekből megbízható koncentrációértékek számíthatók. Az alábbi ábrákon a rendszer elemei találhatók:



6. és 7. ábra: Kaszkádos membránmodul kivezető csönkekkel

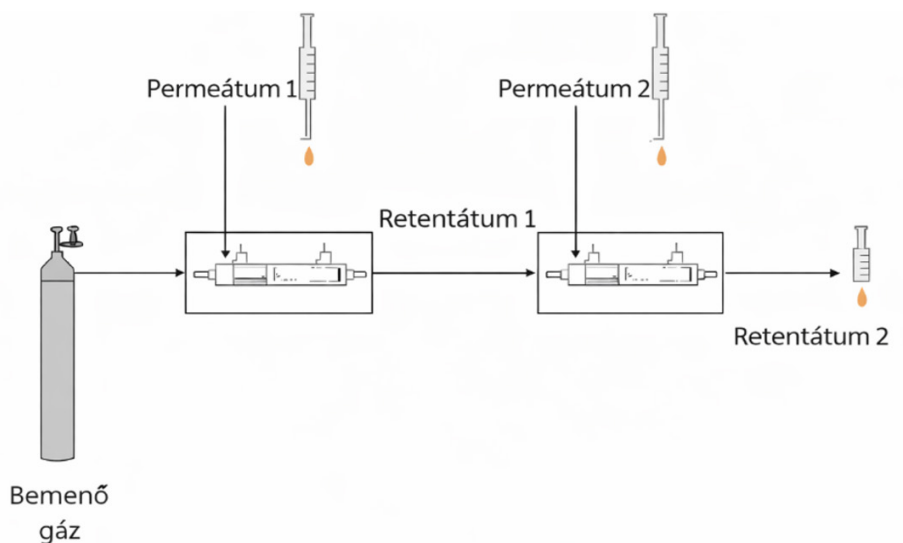


8. ábra: Puffertartály



9. ábra: Nyomásmérő

A teljes rendszer vázlatos ábrázolása az alábbi ábrán látható.



10. ábra: A gázszeparációs rendszer vázlatos ábrája (saját ábra)

Miután a rendszer stabilizálódott, megkezdtem a permeátum- és retentátumáramok mintavételezését. A mintavételek során Hamilton-fecskendővel 300 mikroliteres mintákat vettem a szabad permeátum és a retentátum csomrára rögzített csövekből. A mintavétel mind a permeátum, mind a retentátum esetében óránként 1–2 alkalommal történt. Ezzel szemben a betáplálási gáz összetételét csak a mérési napok végén ellenőriztem. Feljegyeztem a mért koncentrációkat és térfogatáramokat, és az így keletkezett adatok szolgáltak alapul a permeabilitás és a szelektivitás számításához.

#### 4.3. A PDMS membránmodul leírása és bemutatása

A kísérletek során két, azonos felépítésű, kisméretű PDMS membránmodult alkalmaztam. A felhasznált modul a PermSelect PDMSXA-10 Tiny Module típusnak felel meg, amelyet laboratóriumi gázzétválasztási vizsgálatokhoz fejlesztettek ki. A gyártó által megadott adatok alapján a PDMSXA-10 modul a következő jellemzőkkel rendelkezik:

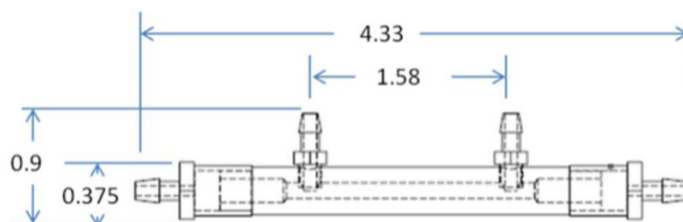
- membránanyag: PDMS (szilikon)
- modul típusa: sűrűszálás modul
- felépítés: 32 db sűrű szál, végeiken poliuretán kötéssel
- effektív membránfelület: 10 cm<sup>2</sup>
- burkolat: polikarbonát ház
- maximális transzmembrán nyomás: shell to lumen 1 bar, lumen to shell 3 bar
- maximális üzemi hőmérséklet: 60 °C
- csatlakozás: 1/8" csatlakozó

A gyártó széles körű felhasználásra gyárt membránokat. Az alábbi ábrán az egyik membráncsalád látható, amelyen bekarikáztam az általam használt membránt:

(A 11. és 12. ábrák a PermSelect hivatalos oldaláról származnak (<https://www.permselect.com/>).)



11. ábra: PermSelect membránjai



12. ábra: A használt PDMS membránmodul szerkezete

A két PDMS modul soros kaszkádelrendezésben került összekötésre:

- Az első modul betáplálása a  $\text{CH}_4/\text{CO}_2$  gázkeverék volt.
- Az első modul permeátuma a szén-dioxidban dús frakció volt.
- Az első modul retentátuma, amely a betáphoz képest már metánban dúsabb volt, közvetlenül a második modul betápjára került.
- A második modul permeátuma szén-dioxidban dús volt.
- A második modul retentátuma tartalmazta a metánban dús maradékáramot.

A rendszerben nem alkalmaztam recirkulációt, tehát sem a permeátum, sem a retentátum visszakeverése nem történt. Ez a kialakítás lehetővé tette a két membránmodul működésének egyértelmű vizsgálatát, valamint a modulok közötti térfogatáram-megoszlás elemzését.

#### 4.4. Általánosan alkalmazott összefüggések

Ebben a részben a mért adatok kiértékelése során használt összefüggéseket mutatom be. Az egyes komponensekre vonatkozó permeabilitás Barrerben a következő összefüggéssel számítható:

$$P_i = \frac{J_i \cdot l}{\Delta p_i} \cdot 10^{10} \quad (10)$$

$J_i$  az  $i$ -edik komponens fluxusa ( $\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $l$  a membrán vastagsága (cm),  $\Delta p_i$  pedig az  $i$ -edik komponensre vonatkozó parciális hajtóerő (Hgcmm). A permeabilitás leggyakrabban használt mértékegysége a szakirodalomban a Barrer. Egy Barrer a definíció szerint:

$$1 \text{ Barrer} = \frac{10^{-10} \text{ cm}^3(\text{STP}) \cdot \text{cm}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{cmHg}} \quad (11)$$

A fluxus képlete:

$$J_i = \frac{Q_{p,STP} \cdot C_p^i / 100}{A} \quad (12)$$

$Q_{p,STP}$  a normálállapotra átszámított térfogatáram,  $C_p^i$  az  $i$ -edik komponens koncentrációja a permeátumban,  $A$  pedig a membrán aktív felülete. A membránon történő áthaladást az egyes komponensek parciális nyomáskülönbsége hajtja. A jelen számításokban a hajtóerőt az adott komponens betáp- és retentátumoldali átlagos koncentrációja, a permeátumoldali koncentráció, valamint a nyomás alapján együttesen határoztam meg:

$$\Delta p_i = P_F \cdot \frac{C_F^i + C_R^i}{200} - P_p \cdot \frac{C_p^i}{100} \quad (13)$$

$P_F$  és  $P_p$  a betáp- és permeátumoldali nyomás,  $C_F^i$ ,  $C_R^i$ ,  $C_p^i$  az  $i$ -edik komponens koncentrációja a betáp-, retentátum- és permeátumáramban térfogatszázalékban. A számítás során feltételeztem, hogy a retentátumoldali nyomás megegyezik a betápnomással. A mérési adatok megbízhatóságának ellenőrzésére komponens-anyagmérleget alkalmaztam:

$$\dot{V}_F \cdot C_F^i = \dot{V}_R \cdot C_R^i + \dot{V}_p \cdot C_p^i \quad (14)$$

ahol  $\dot{V}_F$ ,  $\dot{V}_R$ ,  $\dot{V}_p$  a betáp, a retentátum és a permeátum térfogatárama,  $C_F^i$ ,  $C_R^i$  és  $C_p^i$  pedig az  $i$ -edik komponens koncentrációi a megfelelő áramokban. Ezenkívül az anyagmérleg hibája a következő összefüggéssel számítható:

$$\text{hiba}_i = \frac{|\dot{V}_{be,i} - \dot{V}_{ki,i}|}{\dot{V}_{be,i}} \cdot 100 \quad (15)$$

ahol  $\dot{V}_{be,i}$  az  $i$ -edik komponens belépő térfogatárama,  $\dot{V}_{ki,i}$  az  $i$ -edik komponens kilépő térfogatárama. A membrán elválasztóképességét a szelektivitással lehet jellemezni, amely a két komponens permeabilitásának hányadosa. Megmutatja, hogy a membrán mennyivel részesíti előnyben az egyik komponens permeációját a másikhoz képest.

$$\alpha_{CO_2/CH_4} = \frac{P_{CO_2}}{P_{CH_4}} \quad (16)$$

#### 4.5. Számítási módszer részletezése egy választott mérési pont esetén

A következőkben egy konkrét mérési pont példáján keresztül mutatom be a számítás menetét. A választott mérés során a hőmérséklet 22 °C, a betáplálási nyomás 2,6 bar(a), a permeátumoldali nyomás pedig állandó, 1 bar(a) volt.

A permeabilitás Barrerben történő megadásához a permeátum térfogatáramát normálállapotra kell átszámítani, mivel a gázok térfogatának nyomás- és hőmérsékletfüggése miatt így kaphatunk összehasonlítható eredményeket. A számítás során a normálállapotot 273 K és 1 bar értékekkel vettem figyelembe. Az átszámítás a Gay–Lussac-törvény alapján történik:

$$\frac{p_1 V_1}{T_1} = \frac{p_2 V_2}{T_2} \quad (17)$$

Mivel a permeátumoldali nyomás közel azonos a normálynomással, az összefüggés egyszerűsíthető:

$$Q_{p,STP} = Q_p \cdot \frac{T_{STP}}{T} \quad (18)$$

ahol  $Q_{p,STP}$  a normálállapotra átszámított permeátum térfogatárama,  $Q_p$  a mért permeátum térfogatáram,  $T_{STP}$  a normálállapotra vonatkozó hőmérséklet,  $T$  a mérési hőmérséklet Kelvinben. A mérési pont jellemzésére a retentátum/betáp arányt modulonként határoztam meg. A mért térfogatáramok:

$$\dot{V}_{P1} = 0,7692 \text{ mL/min}$$

$$\dot{V}_{P2} = 0,7500 \text{ mL/min}$$

$$\dot{V}_{R2} = 0,9375 \text{ mL/min}$$

A második modul betápjá az első modul retentátuma, ezért:

$$\dot{V}_F = 0,7692 + 0,7500 + 0,9375 = 2,4567 \text{ mL/min} \quad (19)$$

A teljes betápláram:

$$\dot{V}_{R1} = 0,7500 + 0,9375 = 1,6875 \text{ mL/min} \quad (20)$$

Az első és második modulra vonatkozó R/F-arány:

$$R/F_1 = \frac{1,6875}{2,4567} = 0,6869 \quad (21)$$

$$R/F_2 = \frac{0,9375}{1,6875} = 0,5556 \quad (22)$$

Mivel a Retentátum 1 összetétele nem került közvetlenül mérésre, azt az első modulra felírt szén-dioxid-anyagmérlegből számítottam:

$$\dot{V}_F \cdot C_F^{CO_2} = \dot{V}_{P1} \cdot C_{P1}^{CO_2} + \dot{V}_{R1} \cdot C_{R1}^{CO_2} \quad (23)$$

ahol  $C_F^{CO_2}$  a betáp szén-dioxid-koncentrációja,  $C_{P1}^{CO_2}$  az első permeátum szén-dioxid-koncentrációja,  $C_{R1}^{CO_2}$  az első retentátum szén-dioxid-koncentrációja.

Innen:

$$C_{R1}^{CO_2} = \frac{\dot{V}_F \cdot C_F^{CO_2} - \dot{V}_{P1} \cdot C_{P1}^{CO_2}}{\dot{V}_{R1}} \quad (24)$$

$$C_{R1}^{CO_2} = \frac{2,4567 \cdot 0,50 - 0,7692 \cdot 0,65}{1,69} = 0,4316 = 43,16\% \quad (25)$$

A metánkoncentráció biner elegy révén az egészből való kivonással számítható:

$$C_{R1}^{CH_4} = 100 - 43,16 = 56,84\% \quad (26)$$

Az anyagmérleg-hibát a komponens-térfogatáramokkal számítom:  $\dot{V}_i = \dot{V} \cdot C_i$  (27)

$$\dot{V}_{F,CO_2} = 2,4567 \cdot 0,50 = 1,2284 \text{ mL/min} \quad (28)$$

$$\dot{V}_{P1,CO_2} = 0,7692 \cdot 0,65 = 0,5000 \text{ mL/min} \quad (29)$$

$$\dot{V}_{P2,CO_2} = 0,7500 \cdot 0,573 = 0,4298 \text{ mL/min} \quad (30)$$

$$\dot{V}_{R2,CO_2} = 0,9375 \cdot 0,323 = 0,3028 \text{ mL/min} \quad (31)$$

$$\dot{V}_{ki,CO_2} = 0,5000 + 0,4298 + 0,3028 = 1,2326 \text{ mL/min} \quad (32)$$

$$\text{hiba}_{CO_2} = \frac{|1,2326 - 1,2284|}{1,2284} \cdot 100 = 0,34\% \quad (33)$$

$$\dot{V}_{F,CH_4} = 2,4567 \cdot 0,50 = 1,2284 \text{ mL/min} \quad (34)$$

$$\dot{V}_{P1,CH_4} = 0,7692 \cdot 0,346 = 0,2661 \text{ mL/min} \quad (35)$$

$$\dot{V}_{P2,CH_4} = 0,7500 \cdot 0,427 = 0,3203 \text{ mL/min} \quad (36)$$

$$\dot{V}_{R2,CH_4} = 0,9375 \cdot 0,677 = 0,6347 \text{ mL/min} \quad (37)$$

$$\dot{V}_{ki,CH_4} = 0,2661 + 0,3203 + 0,6347 = 1,2211 \text{ mL/min}$$

$$\text{hiba}_{CH_4} = \frac{|1,2211 - 1,2284|}{1,2284} \cdot 100 = 0,59\% \quad (39)$$

Az első modul: a Permeátum 1 térfogatárama, normálállapotra átszámított térfogatáramok, fluxusok, parciális hajtóerők, permeabilitások és a szelektivitás:

$$Q_{P1} = \frac{0,7692}{60} = 0,01282 \text{ mL/s} \quad (40)$$

$$Q_{P1,STP} = 0,01282 \cdot \frac{273}{295} = 0,01186 \text{ mL/s} \quad (41)$$

$$J_{CO_2} = \frac{0,01186 \cdot 65,3/100}{10} = 7,75 \cdot 10^{-4} \text{ mL(STP)} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \quad (42)$$

$$J_{CH_4} = \frac{0,01186 \cdot 34,7/100}{10} = 4,12 \cdot 10^{-4} \text{ mL(STP)} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \quad (43)$$

A parciális hajtóerő kiszámításához először a nyomásokat átváltom:

$$1 \text{ bar} = 75,006 \text{ Hgcm}; P_F = 2,6 \cdot 75,006 = 195,02 \text{ Hgcm}; P_p = 1,0 \cdot 75 = 75,01 \text{ Hgcm}$$

$$\Delta p_{CO_2} = 195,02 \cdot \frac{49,8 + 42,73}{200} - 75,01 \cdot \frac{65,3}{100} = 41,25 \text{ Hgcm} \quad (44)$$

$$\Delta p_{CH_4} = 195,02 \cdot \frac{50,2 + 57,27}{200} - 75,01 \cdot \frac{34,7}{100} = 78,76 \text{ Hgcm} \quad (45)$$

$$P_{CO_2} = \frac{0,000775 \cdot 0,0055}{41,25} \cdot 10^{10} = 1033,0 \text{ Barrer} \quad (46)$$

$$P_{CH_4} = \frac{0,000412 \cdot 0,0055}{78,76} \cdot 10^{10} = 287,5 \text{ Barrer} \quad (47)$$

Végül a komponensek permeabilitásának ismeretében a szelektivitás kiszámítható. A teljes szelektivitást az első modul permeabilitásából számoltam, mivel a második modul már részben szeparált gázt kap.

$$\alpha_{CO_2/CH_4,1} = \frac{1033,0}{287,5} = 3,59 \quad (48)$$

A második modul: a Permeátum 2 térfogatárama, standard állapotra átszámított térfogatáramok, fluxusok, parciális hajtóerők, permeabilitások:

$$Q_{P2} = \frac{0,7500}{60} = 0,01250 \text{ mL/s} \quad (49)$$

$$Q_{P2,STP} = 0,01250 \cdot \frac{273}{295} = 0,01157 \text{ mL/s} \quad (50)$$

$$J_{CO_2} = \frac{0,01157 \cdot 57,0/100}{10} = 0,000659 \text{ mL(STP)} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \quad (51)$$

$$J_{CH_4} = \frac{0,01157 \cdot 42,7/100}{10} = 0,000494 \text{ mL(STP)} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \quad (52)$$

$$\Delta p_{CO_2} = 195,02 \cdot \frac{42,73 + 31,9}{200} - 75,01 \cdot \frac{57,0}{100} = 30,02 \text{ Hgcm} \quad (53)$$

$$\Delta p_{CH_4} = 195,02 \cdot \frac{57,27 + 67,7}{200} - 75,01 \cdot \frac{42,7}{100} = 89,83 \text{ Hgcm} \quad (54)$$

$$P_{CO_2} = \frac{0,000659 \cdot 0,0055}{30,02} \cdot 10^{10} = 1208,0 \text{ Barrer} \quad (55)$$

$$P_{CH_4} = \frac{0,000494 \cdot 0,0055}{89,83} \cdot 10^{10} = 304,0 \text{ Barrer} \quad (56)$$

$$\alpha_{CO_2/CH_4} = \frac{1208,0}{304,0} = 3,97 \quad (57)$$

## 5. Eredmények és kiértékelésük

A következőkben részletesen bemutatom a kétlépcsős PDMS-membránmodulos kaszkárendszerrel végzett mérések eredményeit, a kapott adatok értékelését és az ezekből levonható következtetéseket.

### 5.1. Stabilitás

A mérési eredmények megbízhatóságának alapfeltétele a rendszer stabil működése. A térfogatáramok, a metánkoncentrációk és a nyomások időbeli alakulása alapján minden mérésnél stabil állapot alakult ki.

### 5.2. Permeabilitás és szelektivitás vizsgálata

A PDMS-membrán  $CO_2/CH_4$  szelektivitásának meghatározása alapvető fontosságú annak megértéséhez, hogyan működik a membrános elválasztás a  $CO_2/CH_4$  rendszerekben.

#### Permeabilitási eredmények értékelése

Az első modulban a szén-dioxid permeabilitása 881 és 1532 Barrer között volt, míg a metán permeabilitása 246 és 379 Barrer közé esett. A második modulban a szén-dioxid permeabilitása 733 és 1791 Barrer, a metán permeabilitása pedig 197 és 442 Barrer tartományban alakult. Minden mérési pontban a szén-

dioxid permeabilitása volt nagyobb, ami megerősíti, hogy a PDMS-membrán szén-dioxidra nagyobb permeabilitással rendelkezik, mint metánra. Az első modul esetében a betáp-gázelegy érintkezik először a membránnal, ezért az első modulra betáplált elegy szén-dioxidban dúsabb. A második modul betápjával ezzel szemben már az első modul retentátuma, vagyis metánban dúsabb és szén-dioxidban szegényebb áram, ezért a második modulban a szeparáció hajtóereje ennek megfelelően változik. Azonban a második modulban is minden esetben a szén-dioxid maradt a gyorsabban permeáló komponens.

A permeabilitási értékekből az is megfigyelhető, hogy a nyomás növelésével általában nőtt a permeabilitás, különösen a szén-dioxid esetében. A 3,4 bar nyomáson mért értékek átlagosan magasabbak voltak, mint a 2,6 bar-os pontoknál. Ez arra utal, hogy a nagyobb nyomáskülönbség kedvezőbb transzportfeltételeket biztosított a gázok membránon történő áthaladásához.

#### Az első modul permeátuma – szén-dioxidban dús áram

A PDMS-membrán tulajdonságai miatt a permeátumoldalon elsősorban a szén-dioxid jelenik meg nagyobb mennyiségben. Ennek oka, hogy a  $\text{CO}_2$  permeabilitása nagyobb, mint a metáné, ezért könnyebben jut át a membránon. A mérési eredmények alapján az első modul permeátumában a szén-dioxid koncentrációja dominál, míg a metán aránya alacsonyabb marad.

#### Az első modul retentátuma – metánban dúsuló áram

Az első modul retentátuma a metánban dúsuló gázáram. A mérések alapján a metántartalom itt már nagyobb, mint az első modul permeátumában, azonban még nem éri el a kívánt, biometán előállításához szükséges metántisztaságot. Ez jól mutatja a kaszkárendszer szerepét, hiszen a második modul ezt a már részben metándús retentátumot kapja meg, és ezen végzi el a további dúsítást.

#### A második modul permeátuma – továbbra is szén-dioxidban dús frakció

A második modul permeátuma szintén szén-dioxidban koncentrált marad. Ez megfelel a PDMS-membrán működésének, mivel a szén-dioxid továbbra is könnyebben permeál a membránon, mint a metán.

#### A második modul retentátuma – a rendszer legnagyobb metántartalmú frakciója

A második modul retentátuma adja a rendszer végső, metánban leginkább dúsított gázáramát. A mérések alapján ebben az áramban volt mérhető a legmagasabb metánkoncentráció. A szén-dioxid jelentős része a két modul permeátumoldalán távozik, így a retentátum fokozatosan metánban dúsul. A két egymást követő modul tehát kétlépcsős dúsítást hoz létre, amely hatékonyabb elválasztást eredményez, mint egyetlen membránmodul alkalmazása. Ez az első modul esetében 1,23, a második modul esetében 1,53-szoros érték a kiindulási gázelegyhez képest.

Az alábbi táblázat a permeabilitási értékeket tartalmazza modulonként.

*1. táblázat*

| Modul    | $\text{CO}_2$ -permeabilitás (Barrer) | $\text{CH}_4$ -permeabilitás (Barrer) |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. modul | 881–1532                              | 246–379                               |
| 2. modul | 733–1791                              | 197–442                               |

#### Szelektivitás értékelése

Az első modul  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  szelektivitása 3,27 és 4,06 között alakult, míg a második modulban 3,17 és 4,42 közötti értékek adódtak. Ezeknek az értékeknek az összefoglalását a 2. és 3. táblázat mutatja be. Ennek megfelelően az első modul szelektivitása elsősorban azt tükrözi, hogy a nyers betápból milyen hatékonysággal távolítható el a szén-dioxid, míg a második modul szelektivitása már a részben metándúsított áram további finomítását jellemzi. A kétlépcsős alkalmazás tehát kedvezőbb eredményt

biztosít, mivel a kiindulási 50,2%-os metántartalom 77%-ra növekedett, ami 1,5-szeres dúsulásnak felel meg, miközben a szelektivitás értékei továbbra is 3,2–4,4 tartományban maradtak. Ez összhangban van a PDMS várt viselkedésével. A szelektivitási értékek jól illeszkednek a PDMS-alapú membránokra jellemző irodalmi tartományhoz, ugyanakkor elmaradnak a fejlettebb, például kompozit vagy kevert mátrixú membránok által elérhető értékektől.

### 5.3. Anyagáramok elemzése

A  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  permeabilitásnak megfelelően az R/F-arány jól mutatja a kétlépcsős kaszkád működését. Az első modul retentátuma képezi a második modul betápját. Ezért fontos, hogy az első modul R/F-aránya megfelelő tartományban legyen. Ha az R/F túl alacsony, akkor túl nagy gázmennyiség kerül a permeátumoldalra, ami csökkentheti a metánkihozatalt a retentátumban. Ha nagy az R/F-arány, akkor a permeátum szén-dioxidra nézve dúsabb, a retentátum metántartalma viszont a betáphoz képest relatíve „kicsit” változik csak.

#### Az R/F-arány elemzése

Az R/F-arány azt mutatja meg, hogy a betáp mekkora része marad a retentátum oldalon. Ez a paraméter különösen fontos, mert a metánban dúsított termék a retentátum oldalon jelenik meg.

Az első modulban az R/F-értékek azt mutatják, hogy a betáp jelentős része retentátumként továbbhalad a második modulba. Ezeket az értékeket a 2. és 3. táblázat mutatja be. Ez lehetővé teszi, hogy a második modul tovább növelje a metántartalmat.

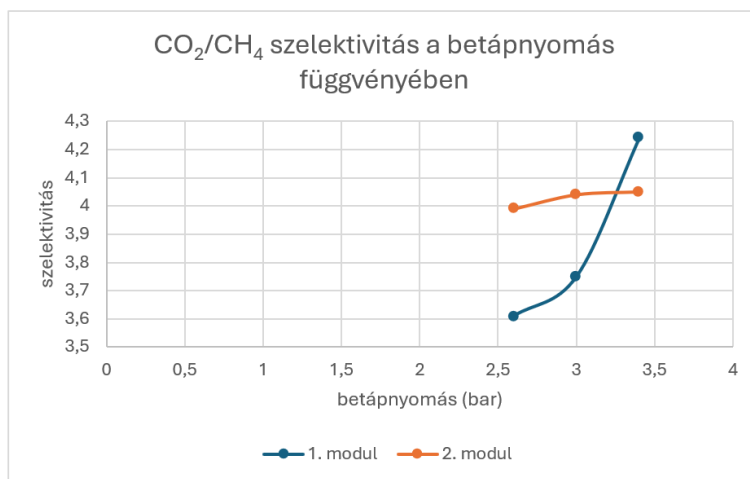
A második modulban a retentátum aránya nagyobb, mivel a metánban dúsabb betáp alacsonyabb  $\text{CO}_2$ -tartalma kisebb permeációt eredményez.

#### Következtetések a R/F-arányok alapján

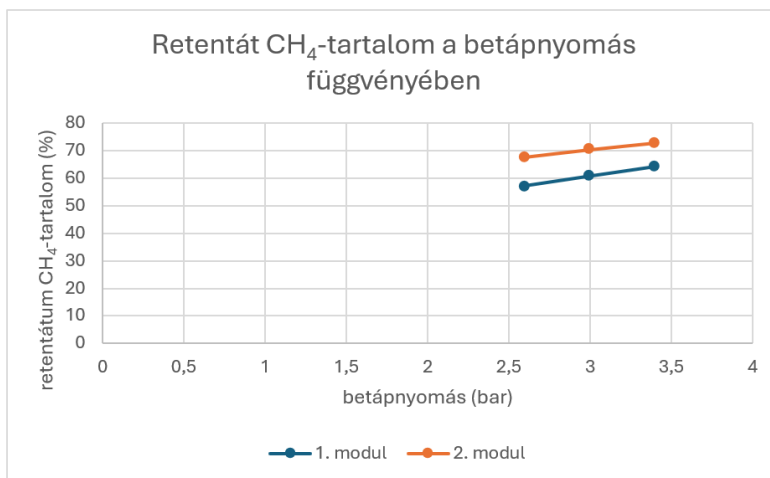
A kapott eredmények alapján a kétlépcsős kaszkád megfelelően működött, és az elvárt eredményeket produkálta, vagyis földgázalternatívaként alkalmas gázt kaptunk. Az első modul elsősorban előelválasztási lépcsőként működik, a második modul pedig tovább növeli a metán koncentrációját.

Ez a PDMS-membránokra jellemző viselkedés, amely a szén-dioxid jobb oldhatóságával magyarázható. A kétlépcsős kaszkárendszer így hatékonyabban képes a metán dúsítására, mint egyetlen membránmodul alkalmazása.

Az alábbi ábrákon különböző paraméterekre illesztett grafikonokat és 3D felületi ábrákat láthatunk:



13. ábra:  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  szelektivitás–betápnymás grafikon, modulonként



14. ábra: Retentátum 2 CH<sub>4</sub>-tartalom–betápanyomás grafikon

Az alábbi táblázat a nyomást, R/F-arányokat és a szelektivitást foglalja össze modulonként:

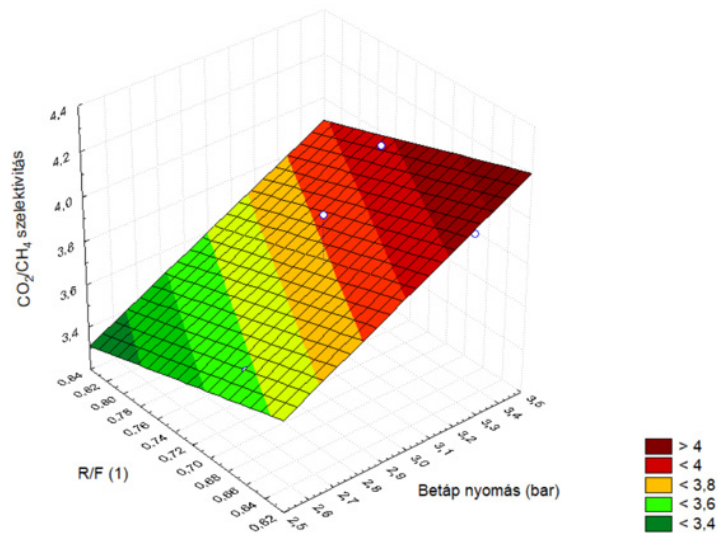
2. táblázat: 1. modul

| Nyomás (bar) | R/F    | Szelektivitás |
|--------------|--------|---------------|
| 2,6          | 0,6869 | 3,59          |
| 3,4          | 0,6500 | 3,90          |
| 3,0          | 0,7098 | 4,02          |
| 2,6          | 0,8298 | 3,26          |
| 3,4          | 0,7500 | 4,04          |

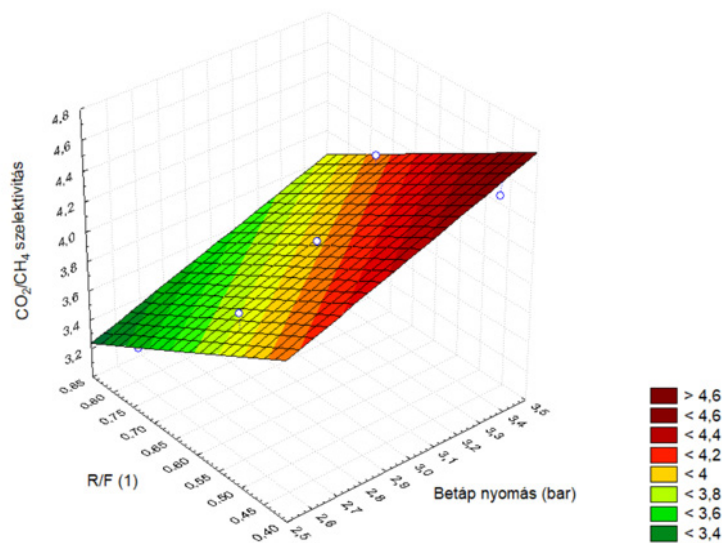
3. táblázat: 2. modul

| Nyomás (bar) | R/F    | Szelektivitás |
|--------------|--------|---------------|
| 2,6          | 0,5556 | 3,97          |
| 3,4          | 0,4231 | 4,41          |
| 3,0          | 0,6048 | 4,05          |
| 2,6          | 0,7949 | 3,24          |
| 3,4          | 0,6863 | 4,19          |

A nyomás növelésével nő a szelektivitás, míg alacsonyabb R/F-arány mellett hatékonyabb szeparáció figyelhető meg. A második modul minden esetben jobb elválasztási teljesítményt mutat.



15. ábra: Az 1. modulhoz tartozó 3D felületi ábra



16. ábra: A 2. modulhoz tartozó 3D felületi ábra

#### 5.4. Anyagmérleghibák

Az összes mérésemet figyelembe véve a következő anyagmérleg-hibákat kaptam:

- CO<sub>2</sub> esetén a minimum: 0,29%
- CO<sub>2</sub> esetén a maximum: 4,61%
- CH<sub>4</sub> esetén a minimum: 0,49%
- CH<sub>4</sub> esetén a maximum: 4,01%

A kapott alacsony anyagmérleg-hibaértékek alapján az összes kiértékelt mérési pont konzisztensnek és megbízhatónak tekinthető.

#### 5.5. Összefoglaló értékelés

A mérések során alkalmazott kétlépcsős membránkaszkádszisztéma lehetővé tette a metán fokozatos dúsítását a retentátumáramban. A kiindulási gázelegy közel azonos arányban tartalmazott metánt és széndioxidot (~50–50%), amely jól reprezentálja a biogáz összetételét. Az első membránmodul működése során a permeátum jelentősen szén-dioxidban dúsult (akár 70% CO<sub>2</sub>), míg a retentátum metántartalma már ebben a lépcsőben is növekedett. A második membránmodul alkalmazása tovább javította a szeparáció hatékonyságát, amelynek eredményeként a végső retentátum metántartalma elérte a 77%-ot. Ez jól mutatja a kaszkád elrendezés előnyét, mivel egyetlen membránmodulhoz képest magasabb metándúsítás érhető el több lépcső alkalmazásával. A vizsgált üzemi paraméterek közül a nyomáskülönbség és az R/F-arány jelentős hatással volt a szeparációra. Alacsonyabb R/F-értékek mellett nagyobb mértékű metándúsulás volt megfigyelhető a retentátumban, ami arra utal, hogy a permeátum arányának növekedése kedvez a széndioxid eltávolításának. A rendszerben a maximális metántartalom (77%) elérése 2,4 bar nyomáskülönbség mellett volt megfigyelhető, amelyhez az első modulban 0,75, a második modulban 0,69 R/F-arány tartozott, jelezve, hogy a kaszkád rendszer hatékonyan növeli a metánkoncentrációt. A számított fűtőérték alapján a 2. membránmodul retentátumának fűtőértéke körülbelül 27–28 MJ/m<sup>3</sup> tartományba esett, ami már megközelíti a 2S földgáz minőségét. Ez azt jelzi, hogy a membrános eljárás nemcsak a komponensek elválasztására alkalmas, hanem energetikai szempontból is releváns minőségjavulást eredményez. Az első kísérletek biztatóak, így a következő lépés a valós biogáz tesztelése.

#### 6. Konklúzió

A metán–szén-dioxid gázelegyek elválasztása kulcsfontosságú a biogáz energetikai hasznosítása szempontjából, mivel a szén-dioxid eltávolításával növelhető a gáz fűtőértéke, és javítható a felhasználhatósága. A dolgozat célja egy poli(dimetil-sziloxán)- (PDMS) alapú membránrendszer vizsgálata volt CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> elegyek elválasztására, különös tekintettel az üzemi paraméterek hatására és a kaszkád elrendezés alkalmazhatóságára.

A kísérleti eredmények alapján megállapítható, hogy a PDMS-membrán a szén-dioxid permeációját részesíti előnyben, ennek következtében a permeátum minden esetben CO<sub>2</sub>-ban dúsult, míg a retentátum metánban gazdagodott a kiindulási gázelegyhez képest. A kétlépcsős membránkaszkád alkalmazása lehetővé tette a metán fokozatos dúsítását, amelynek eredményeként a végső retentátumban jelentős metántartalom-növekedés volt elérhető.

A vizsgált üzemi paraméterek közül a nyomáskülönbség és az elvételi arány meghatározó szerepet játszott a szeparáció hatékonyságában. A nyomás növelése általában kedvezően hatott a permeációra, különösen a szén-dioxid esetében, míg az alacsonyabb R/F-értékek mellett nagyobb mértékű metándúsulás volt megfigyelhető. A számított anyagmérleg-hibák alacsony értékei igazolták a mérési eredmények megbízhatóságát és a rendszer stabil működését.

Az eredmények azt mutatják, hogy a PDMS-alapú membránkaszkád alkalmas lehet CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> gázelegyek elválasztására, és megfelelő működési paraméterek mellett hatékonyan alkalmazható biogáz-feljavítási folyamatokban. A vizsgált rendszer jól szemlélteti, hogy több lépcső alkalmazásával a membrános szeparáció hatékonysága tovább növelhető.

A további vizsgálatok során érdemes lenne a hőmérséklet hatását részletesebben elemezni, valamint a rendszer optimalizálására és nagyobb léptékű alkalmazhatóságára irányuló kutatásokat végezni.

A kapott eredmények alapján a PDMS-membránkaszkád eddig csak laboratóriumi körülmények között bizonyult hatékonynak, azonban megfelelő optimalizálás mellett valós ipari biogáz-feljavítási alkalmazásokban is ígéretes megoldást jelenthet.

## **7. Köszönetnyilvánítás**

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Bakonyi Péternek a kutatás során nyújtott szakmai iránymutatásáért, támogatásáért, türelméért és biztatásáért. Nélküle nem valósulhatott volna meg ez a dolgozat.

Köszönöm Dr. Nemestóthy Béla Nándor Tanár Úrnak, hogy segített kiválasztani a dolgozatom témáját, és lehetővé tette számomra, hogy azt a Pannon Egyetem, Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutató Intézetében készíthessem el.

Köszönettel tartozom továbbá a Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport valamennyi tagjának a hasznos szakmai tanácsokért, a mérésekben nyújtott segítségért, valamint az együttműködő munkáért.

Munkám sikerességét továbbá a Pannon Egyetem Mérnöki Karának TDK-ösztöndíja is támogatta, amelyet ezúton is hálásan köszönök.

## Irodalomjegyzék

- [1] P. Marconi and L. Rosa, "Role of biomethane to offset natural gas," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 187, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.rser.2023.113697.
- [2] "A biogáztechnológia előnyei és kihívásai A metán tulajdonságai."
- [3] V. Yodpetch, K. Jeenuang, C. Viriyakul, S. Kulprathipanja, and P. Rangsunvigit, "Solidified natural gas (SNG) technology for biogas/biomethane storage: Current status and future outlook," Jan. 01, 2026, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.rser.2025.116233.
- [4] "Megújuló energiaforrások felhasználása hétköznapijainkban Tanulmány megújuló energiaforrások felhasználásának bemutatására különféle kiindulási műszaki paraméterekkel."
- [5] E. Ryckebosch, M. Drouillon, and H. Vervaeren, "Techniques for transformation of biogas to biomethane," May 2011. doi: 10.1016/j.biombioe.2011.02.033.
- [6] L. F. de A. Roque *et al.*, "Biomethane in Brazilian light commercial vehicles: a case study in performance, emissions, GT-SUITE simulations and life cycle assessment," *Case Studies in Thermal Engineering*, vol. 74, p. 106966, Oct. 2025, doi: 10.1016/j.csite.2025.106966.
- [7] J. Savickis *et al.*, "The biomethane injection into the natural gas networks: The EU's gas synergy path," *Latvian Journal of Physics and Technical Sciences*, vol. 57, no. 4, pp. 34–50, Aug. 2020, doi: 10.2478/lpts-2020-0020.
- [8] P. Bernardo and G. Clarizia, "30 Years of Membrane Technology for Gas Separation," 2013. [Online]. Available: [www.aidic.it/cet](http://www.aidic.it/cet)
- [9] P. E. Biomérnöki, M. És, and E. Kutatóintézet, "Membrános gázszeparáció MTA Doktori értekezés tézisei Nemestóthy Nándor," 2022.
- [10] S. Bélafiné Bakó Katalin Székely Katalin, *GÁZELEGYEK MEMBRÁNOS ELVÁLASZTÁSA*. [Online]. Available: [www.akademiai.hu](http://www.akademiai.hu)
- [11] A. Xiang and A. J. McHugh, "A generalized diffusion-dissolution model for drug release from rigid polymer membrane matrices," *J. Memb. Sci.*, vol. 366, no. 1–2, pp. 104–115, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.memsci.2010.09.052.
- [12] B. D. Freeman, "Basis of permeability/selectivity tradeoff relations in polymeric gas separation membranes," *Macromolecules*, vol. 32, no. 2, pp. 375–380, Jan. 1999, doi: 10.1021/ma9814548.
- [13] R. W. . Baker, *Membrane technology and applications*. John Wiley & Sons, 2012.
- [14] R. Swaidan, B. Ghanem, E. Litwiller, and I. Pinnau, "Physical Aging, Plasticization and Their Effects on Gas Permeation in 'rigid' Polymers of Intrinsic Microporosity," *Macromolecules*, vol. 48, no. 18, pp. 6553–6561, Sep. 2015, doi: 10.1021/acs.macromol.5b01581.
- [15] D. F. Sanders *et al.*, "Energy-efficient polymeric gas separation membranes for a sustainable future: A review," Aug. 16, 2013, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.polymer.2013.05.075.
- [16] L. M. Robeson, "Polymer membranes for gas separation," 1999.
- [17] L. Gubicza, "Bélafiné Bakó Katalin – Székely Katalin szerkesztők Gázkelegetek membrános elválasztása," *Magyar Tudomány*, vol. 186, no. 8, pp. 1652–1654, Sep. 2025, doi: 10.1556/2065.186.2025.8.24.
- [18] P. Bernardo, E. Drioli, and G. Golemme, "Membrane gas separation: A review/state of the art," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 48, no. 10, pp. 4638–4663, May 2009, doi: 10.1021/ie8019032.

- [19] M. P. Wolf, G. B. Salieb-Beugelaar, and P. Hunziker, "PDMS with designer functionalities—Properties, modifications strategies, and applications," Aug. 01, 2018, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.progpolymsci.2018.06.001.
- [20] I. Miranda *et al.*, "Properties and applications of PDMS for biomedical engineering: A review," Mar. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/jfb13010002.
- [21] G. L. Jadav, V. K. Aswal, H. Bhatt, J. C. Chaudhari, and P. S. Singh, "Influence of film thickness on the structure and properties of PDMS membrane," *J. Memb. Sci.*, vol. 415–416, pp. 624–634, Oct. 2012, doi: 10.1016/j.memsci.2012.05.043.
- [22] G. Firpo, E. Angeli, L. Repetto, and U. Valbusa, "Permeability thickness dependence of polydimethylsiloxane (PDMS) membranes," *J. Memb. Sci.*, vol. 481, pp. 1–8, May 2015, doi: 10.1016/j.memsci.2014.12.043.
- [23] R. W. Baker, "MEMBRANE TECHNOLOGY AND APPLICATIONS SECOND EDITION."

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar

Tudományos Diákköri Konferencia  
2026. április 29.

## **Indiummal módosított oxidfelületek mint fotokatalizátorok**

Készítette:

Vámosi Virág

anyagmérnöki mesterképzési szak

Mérnöki Kar, Természettudományi Központ,  
Analitikai Kémia Kutatócsoport

Témavezető:

Vágvölgyi Veronika

A pályamunka lezárásának dátuma:

2026.04.14.



## 1. Bevezetés

A vízszennyezés globális szinten egyre súlyosabb környezeti és közegészségügyi problémát jelent, különösen a szerves mikroszennyezők – például gyógyszermaradványok, növényvédő szerek és ipari vegyületek – jelenléte miatt. Ezek a vegyületek gyakran biológiailag aktívak, perzisztensek, és már kis koncentrációban is toxikus hatásúak lehetnek, ráadásul a hagyományos vízkezelési eljárásokkal (pl. ülepítés, szűrés, klórozás) nem távolíthatók el hatékonyan.

Az elmúlt évtizedekben ígéretes alternatívává vált a heterogén fotokatalízis, melynek során fém-oxidok (pl.  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ) fotokatalitikus jellegét használhatjuk ki szerves szennyezők bontására. Ezek az oxidok a környezetre nézve ártalmatlanok, ráadásul költséghatékonyabbak, mint a hagyományos vegyszerek. Az egykomponensű oxidok hatékonysága növelhető úgy, hogy kettő vagy több fém-oxid kompozitrendszerét alakítjuk ki. Ezzel javíthatók a felületi tulajdonságok (pl. fajlagos felület, pórusszerkezet), visszaszorítható az aggregáció, továbbá növelhető a fotonhasznosítás, így a működési tartomány az UV-ból a látható tartományba tolható.

A  $\text{ZnO}$  fotokatalitikus tulajdonsága régóta ismert, hatékonysága a már széles körben alkalmazást nyert  $\text{TiO}_2$ -ével egyenértékű [1]. Gerjesztéséhez azonban nagyobb energiájú UV-fotonok szükségesek, így a környezeti fény kis hányadát képes csak hasznosítani. Ezen hátrányok feltételezhetően kiküszöbölhetők In-oxiddal történő kombinálással [2].

A halloysit nagy fajlagos felülete, csőszerű morfológiája és kiváló diszperziós képessége révén fokozhatja a katalizátor hatékonyságát. Ezenkívül saját fotokatalitikus tulajdonsággal is rendelkezik [3, 4].

Kutatásom célja ezen hármas kompozitrendszerek vizsgálata, különös tekintettel azok alkalmazhatóságára szerves szennyezők lebontásában. Az anyagrendszer tanulmányozása nem csupán anyagtudományi szempontból indokolt, de hozzájárulhat a fenntartható vízkezelési technológiák fejlesztéséhez is.

A kutatás kezdeti szakaszában az  $\text{In}_2\text{O}_3$ – $\text{ZnO}$  rendszer optimális összetételét kerestük, majd ezt közvetlenül agyagásvány felületére (halloysit, kaolinit) égettük, és vizsgáltuk a különböző arányú keverékek fotokatalitikus aktivitását. A Zn-oxidot  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  prekursorból, míg az In-oxidot  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$  prekursorból állítottuk elő.

A kompozitok összetételét termikus analízissel, röntgendiffraktometriai és IR-spektrometriai módszerekkel, illetve elektronmikroszkóp segítségével (SEM, TEM) vizsgáltuk; a fotokatalitikus hatékonyságot pedig kumarin tesztvegyülettel vizsgáltuk vizes fázisban, UV-fénnyel történő bevilágítás mellett. A bomlástermék intenzitásváltozását fluorimetriás technikával határoztuk meg. Vizsgáltuk továbbá a tiltott sáv szélességét, illetve végeztünk BET-felületvizsgálatot a fajlagos felület és a pórusszerkezet meghatározására.

## 2. Szakirodalmi összefoglaló

### 2.1. A vizsgált rendszer

Kutatásunk célja egy optimális összetételű, hatékonyan működő  $\text{ZnO}$ – $\text{In}_2\text{O}_3$ –agyagásvány kompozit rendszer előállítás. Ahhoz, hogy megértsük, az egyes alkotók milyen szerepet játszanak a rendszerben, és milyen szempontok szerint lettek kiválasztva, először érdemes külön-külön említeni őket.

#### 2.1.1. ZnO

A  $\text{ZnO}$  fehér por megjelenésű szervesetlen vegyület. A természetben a cinkit ásványban található meg nagy mennyiségben. N-típusú félvezető, 3,3 eV szélességű tiltott sávval és jó adszorpciós tulajdonságokkal rendelkezik [5]. Ezen tulajdonságok alkalmassá teszik fotokatalizátorként történő alkalmazásra. Már a 2000-es évek elején kimutatták, hogy szerves vegyületek és színezékek lebontására legalább olyan hatékony, és jelentősen olcsóbb, mint a széles körben alkalmazott  $\text{TiO}_2$  [6, 7]. Ezenkívül jobb elektronmobilitással rendelkezik, és kisebb a rekombinációs vesztesége, mint a  $\text{TiO}_2$ -é. Az elmúlt évtizedben jelentős ugrás figyelhető meg a  $\text{ZnO}$ -dal, mint fotokatalizátorral foglalkozó kutatások

számában. A fotokatalitikus folyamatban azonban a ZnO gerjesztett töltéshordozóinak rekombinációs folyamata sokkal gyorsabb, mint a transzportfolyamataik, ami csökkent fotokatalitikus hatékonysághoz vezet. Ezenkívül a ZnO széles tiltott sávja miatt csak nagy energiájú UV-fotonokkal gerjeszthető, vagyis a látható fény csupán 5%-át képes hasznosítani.

Ezen hátrányok kiküszöbölésére irányul a Cu- vagy Ni-oxiddal történő kombinálás [8]. Feltételezhetően hasonló hatások érhetők el In-oxid-tartalmú kompozittal is [2].

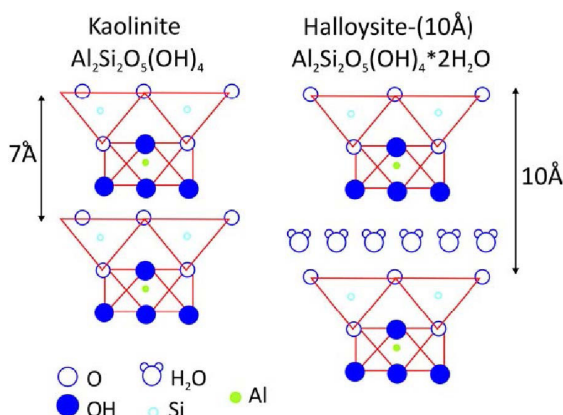
### 2.1.2. $\text{In}_2\text{O}_3$

Optikai tulajdonságai és magas vezetőképessége miatt az  $\text{In}_2\text{O}_3$  széles körben alkalmazott vegyület, főként az (opto)elektronikai iparban és szenzorokban. Ön-oxiddal kialakított kompozitját (ITO) érintőképernyőkben, illetve napelemekben használják [9]; önmagában pedig optikai és antisztatikus bevonatként [10], valamint gázérzékelőkben [11, 12, 13].

Fotokatalizátorként való alkalmazását az elmúlt években kiemelt figyelemmel kutatják. Ez főként az n-típusú félvezető széles tiltott sávjának köszönhető. Az  $\text{In}_2\text{O}_3$  indirekt tiltott sávra vonatkozó irodalmi érték 2,7–2,8 eV, mely lehetőséget biztosít a látható fény hullámhossztartományában történő aktiválásra [9, 14]. Innen feltételezhetjük, hogy a ZnO-val történő kombinálás során jobb fotonhasznosítást érhetünk el a látható tartományban. A vegyes oxid alkalmazásával továbbá javíthatók a felületi tulajdonságok (pl. fajlagos felület, pórusszerkezet), visszaszorítható a fotokorrózió és az aggregáció.

### 2.1.3. Agyagásványok – halloysit, kaolinit

A kaolinit kétrétegű (TO 1:1 típusú) dioktaéderes agyagásvány. Szerkezetét tekintve egy tetraéderes  $\text{SiO}_4$  rétegből és egy oktaéderes Al-oxid-rétegből áll, kristálytani képlete:  $[\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4]$ . A halloysit szerkezete annyiban különbözik a kaolinitétől, hogy az egyes TO-rétegek között monomolekuláris vízréteg található (1. ábra). Tulajdonképpen víztartalmú kaolinit, kristálytani képlete:  $[\text{Si}_4\text{O}_{10}][\text{Al}_4(\text{OH})_8] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . A két rétegszilikát morfológiája a hasonló szerkezet ellenére jelentősen eltér egymástól. Szobahőmérsékleten a kaolinit lemezes, míg a halloysit felcsavart, csöves szerkezetű. Ennek oka, hogy a halloysitben a rétegek közötti molekuláris víz meggátolja a H-kötések kialakulását, ennek következtében pedig az eltérő méretű rétegek között feszültség alakul ki, felcsavarodik. Amint rétegek közötti vizét elveszti, a csövecskék szétesnek, 50–60 °C-on már lemezes szerkezet a jellemző.



1. ábra. A kaolinit és a halloysit szerkezete [15]

A halloysit a természetben leggyakrabban vulkáni kőzetek (pl. andezit, bazalt, riolit) mállása során keletkezik, különösen olyan környezetben, ahol a nedves, trópusi vagy szubtrópusi klíma elősegíti az intenzív mállást. A kaolinit is hasonló környezetben található meg, főként gránit, gneisz és pegmatit

mállásának következtében. Mindkettő gyakori összetevője a lateriteknek és az agyagközeteknek; társulhatnak illittel, különböző szmektitekkel és zeolitokkal.

A halloysitot a 2000-es évek eleje óta alkalmazzák környezetvédelmi célú adszorbensként, de az intenzív kutatások és ipari érdeklődés az elmúlt évtizedben igazán felgyorsult [16, 17]. Számítalan felhasználási lehetősége nyílt meg, köszönhetően kedvező tulajdonságainak, mivel természetes, nem mérgező és biokompatibilis ásványi anyag, finom szemcsemérettel, nagy fajlagos felülettel, kiváló diszperzióval és nagy kationcserélő képességgel rendelkezik [18]. Hatékonyan adszorbeálja a nehézfémeket, színezékeket és szerves szennyezőket, így ezek eltávolítására is alkalmazható; ezzel kiváltható a jóval drágább aktív szén vagy szilikagél használata. Alkalmazható továbbá gyógyszerhordozóként, adalékanyagként polimerekben és műanyagokban, mátrixanyagként kompozitokban, valamint az élelmiszeriparban és kozmetikai termékekben [15].

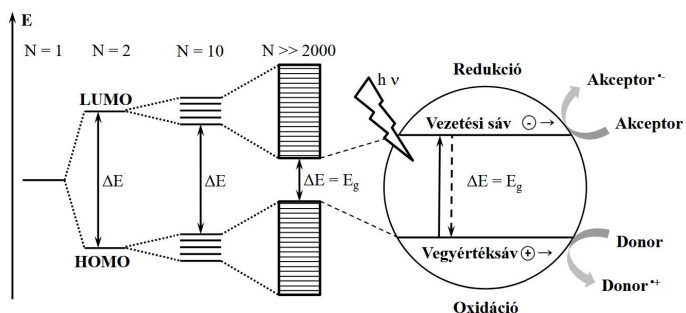
Hasonló megközelítést követve Chen és munkatársai egylépcsős szolvotermikus módszerrel  $\text{TiO}_2$  nanorészecskéket helyeztek el halloysit nanocsövek külső felületén. A szerzők az előállított nanokompozitot metanol és ecetsav bontásához használták. A rendszerek magas fotokatalitikus aktivitást mutattak mind a metanol, mind az ecetsav lebontásában [19]. Egy másik kutatásban Jiang és munkatársai szénnel adalékolt  $\text{TiO}_2$ –halloysit–nanoszálakat javasoltak fotokatalizátorként szerves anyagok (metilénkék, toluol) lebontásához. A kísérleti eredmények rávilágítottak, hogy a nanoszálak látható fényben való fotokatalitikus hatékonysága messze meghaladta a kereskedelmi forgalomban kapható anatáz ( $\text{TiO}_2$ ) hatékonyságát [20]. Az elmúlt években a ZnO egyre szélesebb körű fotokatalizátorként történő alkalmazásának köszönhetően több kutatás is vizsgálni kezdte a halloysit–ZnO rendszert heterogén katalízis szempontjából. Massaro és munkatársai ZnO nanorészecskéket rögzítettek halloysit nanocsövek felületére egylépcsős szintézissel [21]. A kifejlesztett anyagot fotokatalizátorként tesztelték szerves anyagok látható fény alatt történő lebontására, valamint katalizátorként szójababolaj átészterezési reakciójában biodízel előállítására. Mindkét reakcióban jó katalitikus aktivitást és újrahasznosíthatóságot mutatott az anyag. A kutatócsoportunkban korábban szintén vizsgálták a halloysit–ZnO nanokompozitok fotokatalitikus tulajdonságait. A kutatás során a kompozitok fokozott fotokatalitikus aktivitást mutattak a 4-nitrofenol tesztvegyület lebontásában, a tiszta cink-oxid nanorészecskékhöz és a halloysit nanocsövekhez képest is [1].

## 2.2. Heterogén fotokatalízis

A heterogén fotokatalízis egy hatékony, olcsó és környezetbarát technológia, melyet különböző biológiai nem, vagy csak lassan lebomló szerves és légszennyező anyagok lebontására alkalmaznak. A katalitikus reakciók a szilárd fázisú katalizátor felületén zajlanak, folyadék- vagy gázfázisú reakcióközegben; szemben a homogén fotokatalízissel, ahol a katalizátor és a reaktánsok ugyanolyan fázisban vannak. A heterogén katalízis előnye, hogy a katalizátor könnyen elválasztható, újra felhasználható, stabil, és felületének módosításával javítható a hatékonyság.

A félvezető anyagok elektronszerkezetükből adódó sáv szerkezetük folytán alkalmasak kémiai folyamatok ilyen módon történő katalizálására. Szerkezetükben a legnagyobb energiájú betöltött (HOMO) és a legkisebb energiájú betöltetlen (LUMO) molekulapályák között ún. tiltott sáv helyezkedik el, melyen belül nincsenek diszkrét elektronállapotok.

Ez azt jelenti, hogy ahhoz, hogy egy elektron a vegyértéksávból a vezetési sávba kerüljön, meghatározott nagyságú minimális energia befektetése szükséges. Ez a gerjesztési küszöbenergia (bandgap energy), ami megfelel a HOMO és LUMO pályák energiaszintjei közötti különbségnek, értéke jellemzően 0,5–4 eV. A fotokatalitikus folyamat során a félvezető anyag elnyeli a megfelelő energiájú fotont, amely elektronokat gerjeszt a vezetési sávba, miközben a vegyértéksávban pozitív töltésfelesleg (lyuk) alakul ki. Ezek az elektron–lyuk párok indítják el a redoxreakciókat, mivel az elektron redukáló ágensként, a lyuk pedig oxidáló ágensként működik. Az elektron–lyuk pár gyors rekombinációja a félvezető belsejében és a félvezető felületén is bekövetkezhet. Ahhoz, hogy a rendszerben redoxreakciók mehessenek végbe, a töltésmenethozamnak gyorsabbnak kell lennie, mint az elektron–lyuk pár rekombinációjának [22].



2. ábra. A félvezető anyagok elektronszerkezetének változása a részecskét alkotó molekulák számának függvényében, illetve a gerjesztés következtében lejátszódó folyamatok [22]

A heterogén fotokatalízis tehát egy olyan redox-alapú folyamat, amelyben a félvezető anyag fény hatására aktiválódik, és reaktív gyökök segítségével lebontja a szennyező anyagokat. Különböző típusú és szélességű tiltott sávval rendelkező félvezetők kombinálása lehetőséget ad a fotokatalitikus teljesítmény optimalizálására.

## 2.3. A fő vizsgálati módszerek

### 2.3.1. Termoanalitika

A termoanalitikai módszerek alkalmazásakor a vizsgált anyag hőmérsékletét adott program szerint változtatjuk, s eközben valamely tulajdonságát (általában tömeg, hőmérséklet-különbség vagy hőáram) vizsgáljuk az idő, illetve a hőmérséklet függvényében.

#### TG/DTG – (derivatív) termogravimetria

A TG/DTG mérések során a minta hőmérsékletváltozás hatására bekövetkező tömegváltozásáról, illetve termikus stabilitásáról kaphatunk információt.

A mérés egy fűthető termomérlegen történik, erre helyezzük a mintát tartalmazó tégelyt. Ezt elektromos kemencében, adott atmoszférában (általában Ar) előre meghatározott egyenletes sebességgel hevítjük. A hevítés során lejátszódó reakciók következtében a minta tömege változik. Ennek hatására a mérleg elmozdul, amit regisztrálva a TG-görbéhez jutunk.

A DTG-görbe a TG-görbe adatpontjaiból szoftveresen számolt derivált görbe, a kettő egyszerre kerül regisztrálásra. A görbe alakját befolyásoló tényezők:

- kemence fűtési sebessége
- kemence atmoszférája
- mintatartó geometriája
- minta mennyisége, szemcsemérete, tömörítettsége, hővezető képessége.

#### DSC – differenciális pásztázó kalorimetria

A DSC-készülékek a hőáramot regisztrálják a hőmérséklet vagy idő függvényében. A módszer alkalmas fázisátalakulások, disszociációs reakciók entalpiaváltozásának meghatározására, szilárd fázisú reakciók tanulmányozására, illetve kinetikai vizsgálatokra. A termogravimetriához hasonlóan itt is egyenletes felfűtést alkalmazunk, viszont a minta mellett inert anyagot is hevítünk referenciaként. Attól függően, hogy a két anyag azonos vagy két külön kemencetérben helyezkedik el, megkülönböztetünk:

- teljesítménykompenzációs DSC-t
- és hőáram-DSC-t.

A teljesítménykompenzációs DSC esetében a minta és az inert anyag két különböző kemencében helyezkedik el. A rendszerben két különálló fűtőelem található, melyek fűtőteltjesítményét a készülék folyamatosan szabályozza, hogy a két cella hőmérséklete mindig azonos legyen. Az energia különbsége (teljesítmény) biztosítja a pontos hőárammérést. A hőáram-DSC-nél a mintát és a referenciaanyagot egy közös fűtőelemmel melegítik. A hő egy hővezető lemezen keresztül áramlik a kemence és a téglék között. A kialakuló hőmérséklet-különbséget két termoelem méri, amelyből kiszámítható a minta által felvett vagy leadott hőenergia.

### 2.3.2. IR-spektroszkópia

Az infravörös spektroszkópia minőségi és mennyiségi analitikai módszer, a molekula és az elektromágneses sugárzás kölcsönhatásán alapszik. Szilárd, folyékony és gáz-halmazállapotú minták vizsgálatára is alkalmas, de általában szilárd anyagok mérésére alkalmazzák. Előnye, hogy a vizsgálat gyors és roncsolásmentes. Az IR-tartományba eső elektromágneses sugárzás energiája elektrongerjesztésre nem elegendő, a kölcsönhatás során a molekulák rezgési és forgási viszonyai változnak meg. A sugárzástartományt három részre szokás bontani:

- távoli IR:  $12500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  (FIR)
- közepes IR:  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$  (MIR)
- közeli IR:  $400\text{--}10\text{ cm}^{-1}$  (NIR).

Az IR-aktivitás feltételei, hogy a sugárzás frekvenciája megegyezzen a molekula rezgési frekvenciájával, illetve hogy a rezgés során a molekula dipólusmomentuma változzon. A szimmetrikus vegyértékrezgéseknél nem lép fel dipólusmomentum-változás, ennél fogva ez a rezgés nem infravörös aktív.

A molekulák rezgési módjait két csoportba sorolhatjuk:

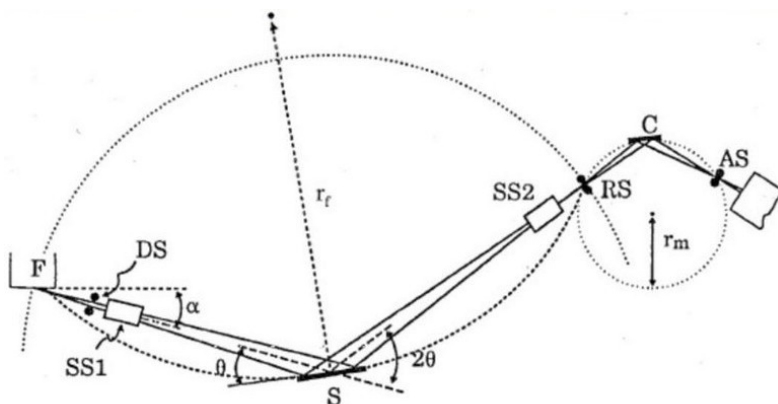
- vegyértékrezgés: a kötéstávolság változik a rezgés során
- deformációs rezgés: a kötéstávolság nem változik, csak a kötésszög.

Az IR-spektroszkópiában a hullámhossz helyett annak reciprokját, a hullámszámot ( $\text{cm}^{-1}$ ) használjuk a sugárzás jellemzésére. A spektrumon az abszorbananciát ábrázoljuk a hullámszám függvényében (általában  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$  tartományban). A  $4000\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ -es tartományban jelennek meg a vizsgált molekula funkciós csoportjaira jellemző csoportrezgések. Az  $1000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ -es tartományt ujjlenyomat-tartománynak nevezzük, hiszen ez minden anyagra egyedi megjelenésű.

### 2.3.3. Röntgendiffrakció (XRD)

A röntgendiffrakció egy hatékony, roncsolásmentes analitikai módszer, amellyel többek között az anyagok fázisösszetétele, szerkezete és textúrája jellemezhető. Fő alkalmazási területei a minőségi és mennyiségi fázisösszetétel meghatározása; a hőmérséklet, a nyomás és a nedvesség hatásának vizsgálata; valamint az anyag mikro- és makroszerkezetének jellemzése (krisztallitméret, kitüntetett orientáció, maradó feszültség).

A röntgen-pordiffraktométerben az izzókatódos röntgencsőből kilépő röntgensugárzás keresztülhalad az elsődleges optikai elemeken (F-fókusz, SS1-Soller-rés, DS-divergenciárés), besugározza a mintát, diffraktálódik a mintában lévő fázisokon, majd áthalad a másodlagos optikai elemeken (SS2-Soller-rés, RS-vevőrés, C-monokromátor,  $\beta$ -szűrő, pulzusmagasság-kiválasztó, AS-szórást csökkentő rés), és végül belép a detektorba. Változó diffrakciós szögeknél mérjük az intenzitást, melyet vagy a röntgencső, vagy a minta és a detektor mozgatásával valósíthatunk meg. A diffraktált sugárzás intenzitáseloszlását a diffrakciós szögek ( $2\theta$ ) függvényében ábrázolva megkapjuk a diffrakciós felvételt.



3. ábra. A röntgendiffraktométer Bragg–Brentano-féle geometriája

A minta kristályrácsán elhajló hullámok egymással interferálnak: erősítés csak kitüntetett, az adott fázisra jellemző irányokban következik be. Egyéb irányokban a hullámok kioltják egymást. Az erősítés létrejöttének feltételét a Bragg-egyenlet adja meg:

$$\delta s = 2 \cdot d \cdot \sin \theta = n \cdot \lambda \quad (1)$$

$n$  - a szórás rendje (egész szám)

$\lambda$  - a beeső sugárzás hullámhossza

$d$  - a szóró kristály rácssíkjai közötti távolság

$\theta$  - a diffrakció szöge.

### 3. Célkritizálás

Kutatásunk célja a Zn-In-agyagásvány rendszerek előállítása és vizsgálata fotokatalitikus aktivitás szempontjából, valamint az optimális nanokompozit-összetétel megtalálása. Ehhez először vizsgálunk kell az  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ -ot mint prekuzort a közvetlen felhasználás céljából. Lehetséges-e pusztán termikus úton elérni az  $\text{In}_2\text{O}_3$ -ot, és milyen magas hőmérsékletű hőkezelés szükséges ehhez?

Ezt követően eltérő tömegarányban összeállított  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$  vegyesoxid-kompozitok preparálására van szükség. Összetételük, felületi tulajdonságaik és aktivitásuk jellemzésére a következő vizsgálatok elvégzésére kerül sor: termikus analízis (TG/DTG), röntgendiffrakció (XRD), infravörös spektroszkópia (FTIR-ATR), fajlagos felület- és porozitásvizsgálat (BET), band-gap mérése, valamint fotokatalitikus tesztek. A vizsgálatok eredményei alapján várhatóan meghatározható az optimális  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$  arány, valamint megállapítható, hogy az  $\text{In}_2\text{O}_3$  várákosásainknak megfelelően növeli-e a fajlagos felületet, illetve eltolódik-e a gerjeszthetőség tartománya.

Következő célunk a legígéretesebb  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$  összetétel agyagásványokkal (kaolinit, halloysit) történő párosítása különböző arányokban, majd ezek fentiekkel analóg vizsgálata és jellemzése. Ahhoz, hogy teljesebb képet kapjunk a lejátszódó mechanizmusról és arról, hogy a gyökbefogó reakció milyen arányban vesz részt ebben, érdemes a kumarin koncentrációváltozását is nyomon követni. Ezt a fényelnyelési színekép segítségével, abszorpciós spektroszkópiával határozhatjuk meg, kalibráló oldatsor felvételével. A továbbiakban érdemes a reakciósebességek alapján is vizsgálni az előállított katalizátorok hatékonyságát. Ez nem tárgya a jelen dolgozatnak, azonban a kutatás további részében tervezzük részletesen vizsgálni.

## 4. Kísérleti munka

### 4.1. Alkalmazott vegyszerek

1. táblázat. A felhasznált vegyszerek adatai

| Név                    | Képlet                               | Tisztaság | Származás                                            |
|------------------------|--------------------------------------|-----------|------------------------------------------------------|
| Cink-nitrát-hexahidrát | $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$             | >99%      | Sigma-Aldrich                                        |
| Indium-szulfát         | $In_2(SO_4)_3$                       | >98%      | Fluka A. G.                                          |
| Nátrium-hidroxid       | NaOH                                 | 99%       | Scharlab                                             |
| Halloysit              | $[Si_4O_{10}]Al_4(OH)_8 \cdot 4H_2O$ | >95%      | török bányahalloysit Balıkesir, Turplu (Törökország) |
| Kaolinit               | $Al_2O_3 \cdot Si_2 \cdot 2H_2O$     | 91,2%     | Sigma-Aldrich - Fluka Analytical (Németország)       |
| Kumarin                | $C_9H_6O_2$                          | >99%      | Acros Organics                                       |

### 4.2. Vizsgálati módszerek és paramétereik

#### Termikus analízis (TA, TG, DTG):

A kutatás során egy NETZSCH gyártmányú TG-MS készülékkel dolgoztunk, melynek derivatográf része önállóan is használható. Ezzel a műszerrel lehetőség van szimultán TG/DTG–DTA/DSC-mérésre, így a mérési eredmények egymással összevethetők. Ha különböző eszközökkel mérjük az egyes tulajdonságokat, akkor ezt nem tehetjük meg az eltérő készülék- és mintatényezőkből kifolyólag.

A mérések általános adatai:

- Referencia: üres tégely
- Minta:  $\approx 20$  mg
- Mintatartó: nyitott kerámiatégely
- Felfűtés:  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ ,  $20\text{--}1000\text{ }^\circ\text{C}$
- Atmoszféra: Ar.

#### Infravörös spektroszkópia:

Az IR-vizsgálatokat egy ATR-feltétellel ellátott, Bruker gyártmányú infravörös spektroszkóppal végeztük. A felvételek során az alábbi beállításokat alkalmaztuk:

- MIR-ATR mód
- DTGS-detektor
- Scan szám: 512
- 2-es felbontás.

Minden mérés előtt felvettük a háttér-spektrumot annak zavaró hatásának kompenzálására, a jel/zaj viszony javítására. A kristálylapot és a mérőtűskét minden mérés előtt alaposan megtisztítottam, majd úgy helyeztem a (por)mintát az alaplapra, hogy a kristályt teljesen befedje. Ezután a tűskét ráengedtem a mintára, majd a program segítségével a fenti beállításokkal elindítottuk a mérést.

### Röntgendiffrakciós analízis (XRD):

A fázisösszetétel ellenőrzése céljából készített XRD-méréseket a Pannon Egyetem Műszaki Tudományok Kutató-Fejlesztő Központjának Anyagmérnöki Intézeti Tanszékén végezték, egy Philips PW 3710 típusú készüléken, az alábbi mérési paraméterekkel:

- Anód: Cu ( $\lambda_{K\alpha} = 1.54056 \text{ \AA}$ )
- Gyorsítófeszültség: 50 kV
- Röntgensőáram: 40 mA
- Lépésköz: 0,02 °/s
- Adatgyűjtési idő: 1 s.

### Tiltott sáv meghatározása:

A preparált minták tiltott sáv szélességének meghatározásában a Pannon Egyetem Természettudományi Központjának Környezeti és Szervetlen Fotokémia Kutatócsoportja volt segítségemre. A mintaelőkészítés során a mintákból vizes szuszpenzió készült bárium-szulfáttal egy üveglapon, majd ezt beszárítva kerültek a készülékbe. A  $BaSO_4$  standardként szolgált a mérés során. A diffúz reflektancia-spektrumokat UV-Vis-NIR spektrofotométer segítségével vették fel az alábbi beállítások mellett:

- Hullámhossztartomány: 600–1800 nm
- Letapogatási sebesség: közepes
- Mintavételi lépésköz: 1,0 nm
- Rácsváltás hullámhossza: 720 nm
- Detektorváltás hullámhossza: 830 nm.

A tiltott sáv pontos értékét a reflektancia-spektrumok alapján Tauc-módszerrel határozták meg. Tauc, Davis és Mott összefüggése:

$$(h\nu\alpha)^{1/n} = A(h\nu - E_g) \quad (2)$$

Ahol:

- $h$  - Planck-állandó
- $\nu$  - hullámhossz
- $\alpha$  - abszorpciókoefficiens
- $E_g$  - tiltott sáv energiája (eV)
- $A$  - proporcionális állandó
- $n = 1/2$ , közvetlen engedélyezett átmenet esetén.

A mért reflektancia spektrum az alábbi összefüggéssel alakítható Kubelka–Munk-függvénné:

$$(h\nu F(R_\infty))^2 = A(h\nu - E_g) \quad (3)$$

A  $(h\nu F(R_\infty))^2$ -t ábrázolva a  $h\nu$  függvényében olyan görbét kapunk, amelynek inflexiós pontjához húzott érintőjének vízszintes tengelymetszete megadja a tiltott sáv szélességét (eV). [23, 24]

### Fajlagos felület- és porozitásvizsgálat (BET):

Az  $N_2$  adszorpció/deszorpció izotermákat a Pannon Egyetem Bio-, Környezetvédelmi és Vegyészmérnöki Kutató és Fejlesztő Központ Fenntartható Megoldások Kutató Laboratóriumában, egy Micromeritics 3Flex 3500 műszerrel, folyékony nitrogén felhasználásával mérték. A mintákat a mérés megkezdése előtt vákuumkemencében 80 °C-on, 5 órán keresztül előkezeltek, ezután a műszerbe helyezve vákuumban, 30 °C-on, 30 órán keresztül végezték a vizsgálatot. A fajlagos felületet Brunauer–Emmett–Teller (BET) módszerrel, a pórustérfogatot és a pórusméret-eloszlást (1,7–100 nm tartományban) pedig a Barrett–

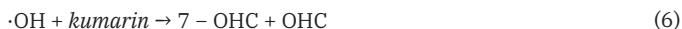
Joyner–Halenda (BJH) elmélet alapján határozták meg az izotermákból  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on. A mikropórusfelület ( $S_{\text{micro}}$ ) és a mikropórustérfogat ( $V_{\text{micro}}$ ) adatai t-plot módszerrel kerültek meghatározásra.

### Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM):

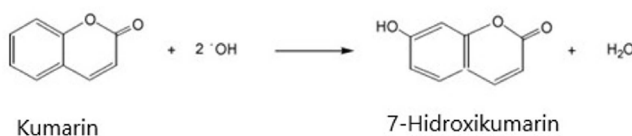
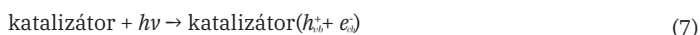
A dolgozatban szereplő TEM-felvételeket a Pannon Egyetem Nanolab kutatólaboratóriumában készítették, egy Talos F200X G2 elektronmikroszkóppal, amely négydetektoros Super-X energiadiszperzív röntgenspektrométerrel van felszerelve. TEM módban világos látóterű és nagyfelbontású felvételeket, valamint elektrondiffrakciós felvételeket készítettek. Emellett STEM módban HAADF-felvételeket és EDS-elemtérképeket is készítettek. A mintaelőkészítés során az agglomerált részecskéket tartalmazó mintákat Milli-Q vízben szuszpendálták, majd körülbelül 1 percre ultrahangos fürdőben (20–35 kHz) homogenizálták. A keverékből néhány mikrolitert 3 mm átmérőjű, amorf szénnel bevont, 200 mesh típusú arany grid mintatartóra pipettáztak. Szárítás után került sor a minta TEM-vizsgálatára.

### Fotokatalitikus tesztek:

A fotokatalitikus aktivitás jellemzésére kumarin tesztvegyülettel, UV-besugárzás mellett végeztünk tesztek. A kumarin bomlási folyamatai sokrétűek, lebomlását főként elektronok ( $e^-$ ), szuperoxid-aniongyökök ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) és hidroxilgyökök ( $\cdot\text{OH}$ ) segítik elő. A lejátszódó főbb reakciók:



Bár a hidroxilgyökök általi bomlás a teljes bomlási mechanizmusnak csak kis hányadát teszi ki, a bomlástermékek közül csak a 7-hidroxi-kumarin (7-OHC) rendelkezik erős, jól mérhető fluoreszcenciával, így kutatásom erre a reakcióútra fókuszál. A teszt során a besugárzás hatására a katalizátor felületén keletkező elektron–lyuk párok ( $h_{\text{vb}}^+ + e_{\text{cb}}^-$ ) reakcióba lépnek a vízmolekulákkal, és reaktív  $\cdot\text{OH}$  gyököket hoznak létre. A kumarin  $\cdot\text{OH}$ -gyökbefogóként széles körben alkalmazott tesztvegyület, így reakcióba lép a keletkezett hidroxilgyökökkel. A teljes folyamat:



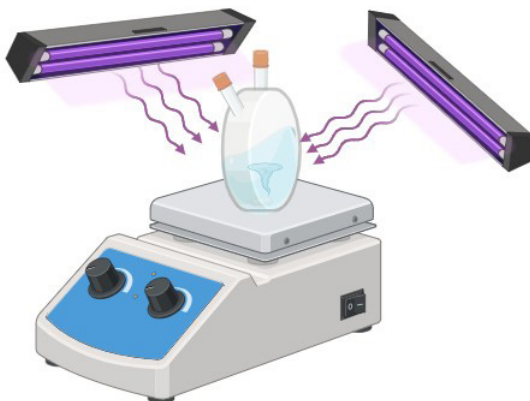
4. ábra. A kumarin bomlása

A képződő 7-hidroxi-kumarin intenzitásának változása fluorimetriával követhető; mennyisége arányos a fotokatalizátorok szervesanyag-bontó képességével. Ennélfogva ez a módszer jól használható a fotokatalizátorok jellemzésére. Fontos azonban megjegyezni, hogy ezzel a módszerrel csak a hidroxilgyökbefogó mechanizmussal lejátszódó bomlás jellemezhető.

A tesztekhez 50 ml  $10^{-4}$  M-os kumarinoldatot és kb. 50 mg katalizátort mértem be egy 60 ml-es Pyrex üvegreaktorba. A bemérést követően a reaktort a mágneses keverőre helyezve 20 percre, fénytől elzártan kevertetem a mintát annak érdekében, hogy az adszorpciós folyamatok megfelelően lejátszódjanak. Ez az idő a kutatócsoport korábbi tapasztalatai és mérései alapján elegendőnek bizonyult az adszorpcióhoz

a kumarin tesztvegyülettel végzett fotokatalitikus tesztek során. Ezután kezdtem meg a bevilágítást UV-fénnyel, melyet 5 órán keresztül végeztem. Minden teszt esetében ugyanazzal a reaktorról és bevilágítási elrendezéssel (5. ábra) dolgoztam, levegőtől elzárt rendszerben.

A teszt során a bevilágítás 365 nm-es UV-fénnyel történt, két forrásból. A két UV-lámpa egyenlő távolságra helyezkedett el a mintától, a reaktor két szemközti oldalán. A mintát egy mágneses keverő fölé fogattam, melynek segítségével a teljes teszt folyamán homogenizáltam a mintát (5. ábra). A berendezés egy fénytől elzárt helyiségben található, így csak a lámpákból érkező UV-fény érte a mintát. A reaktorból óránként mintát vettem, hogy később vizsgálhassuk a reakció lefolyását. Ezeket a mintákat fénytől védett helyen, hűtve tároltuk a fluorimetriás vizsgálatokig.



5. ábra. A bevilágítás vázlatos rajza (<https://BioRender.com>)

#### UV-VIS fluoreszcencia spektroszkópia:

A fotokatalitikus tesztek során vett minták 7-hidroxi-kumarin-koncentrációját UV-Vis emissziós fluoreszcencia spektroszkópia segítségével határoztam meg. A méréseket a Pannon Egyetem, Természettudományi Központ, Környezeti és Szervetlen Fotokémiai Kutatócsoport laborjának PerkinElmer LS-50B típusú spektrofluoriméterén végeztem a következő mérési paraméterekkel:

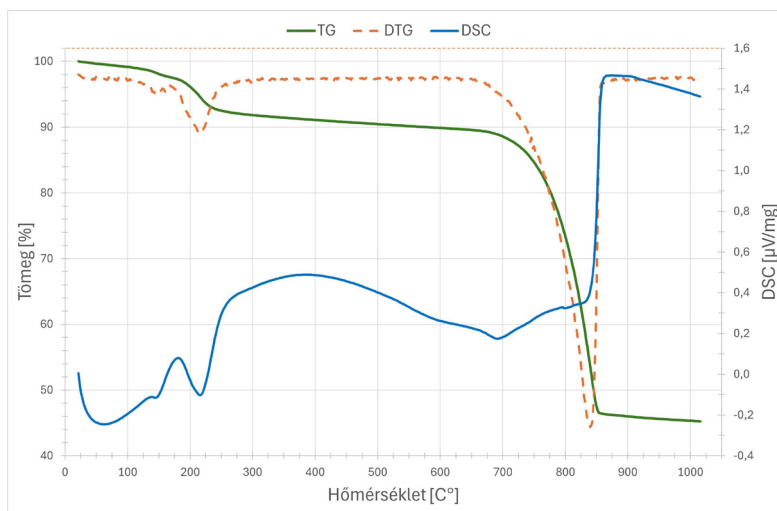
- mérési tartomány: 360–600 nm
- letapogatási sebesség: 5 nm/s
- koaddíció: 2
- gerjesztés: 332 nm.

#### 4.3. Az $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ vizsgálata

Kezdetben az In-szulfát termikus viselkedését és In-hidroxiddá való alakításának lehetőségét vizsgáltuk. Cél az In-oxid közvetlen, hevítéssel történő előállítás volt  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ -ból.

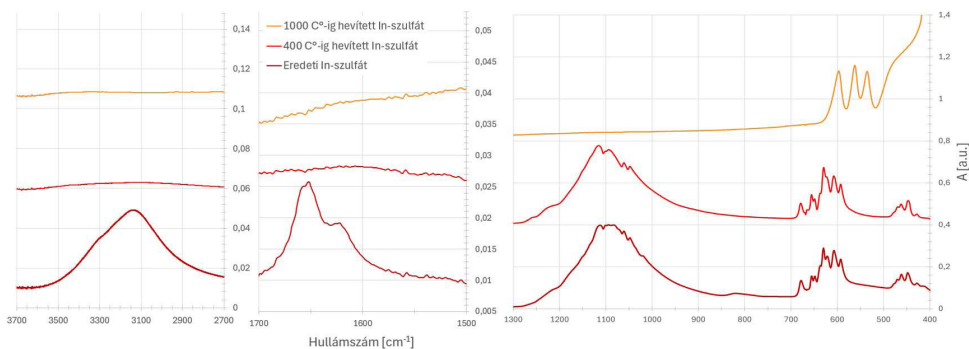
Mivel a későbbiekben a vegyesoxidokat agyagásványokkal tervezzük kombinálni, ezért a kezelési hőmérséklet nem lehet túlságosan magas. A legtöbb agyagásvány esetén 400 °C felett már megkezdődik a rétegek dehidroxilációja, majd a fázisátalakulások [25], melyek az agyagásványok fotokatalitikus tulajdonságainak megőrzése szempontjából nem előnyösek. Így először azt vizsgáltuk, hogy az  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$  pusztán termikus úton átalakítható-e 400 °C alatt  $\text{In}_2\text{O}_3$ -dá. Ehhez termóanalitikai és infravörös spektroszkópiás méréseket végeztünk.

A termogravimetriás felvételen (6. ábra) látható első bomlási lépcsők (125–260 °C) a szerkezeti víz távozását jelzik (az elvileg vízmentes kiindulási  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ -ból). Ezt követően a minta átalakulása csak 675 °C felett kezdődik, ez viszont – ahogy fent említettem – a későbbi kísérleti munka szempontjából előnytelen. Így a közvetlen termikus átalakítást kizártuk, hidroxidos formán keresztül kell elérnünk a kívánt In-oxidot.



6. ábra. Az  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$  termoanalitikai görbéi

Az IR-mérések során vizsgáltuk a kiindulási tiszta  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ -ot, valamint a 400 °C-ig és az 1000 °C-ig hevített mintákat, hogy nyomon követhessük a hevítés során végbemenő összetétel-változásokat (7. ábra). A kiindulási anyagunk elvileg vízmentes, szilárd  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$  volt. A felvételek alapján megállapíthatjuk, hogy a só mégis tartalmaz vizet, ráadásul szerkezetében kétféleképpen megkötve. A felületen és a szerkezetben kötött OH-csoportok csúcsai az 1700–1600  $\text{cm}^{-1}$ -es hullámszám-tartományban láthatók, amelyek 400 °C-os hevítés hatására eltűnnek. Ezt a TG-felvételeink is igazolják. Az 1000 °C-os kihevítés után a szulfát oxiddá alakult, melyet az 1300–900  $\text{cm}^{-1}$ -es csúcs eltűnése jelez. Ez szintén megfigyelhető a TG-görbén.



7. ábra. Az  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$  IR-felvétele

Megállapítottuk, hogy az  $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$  termikusan számunkra túl magas hőmérsékleten bomlik oxiddá, így a minták előkészítését a fotokatalizátorok előállítására széles körben alkalmazott csapadékképzéses eljárással végeztük [26].

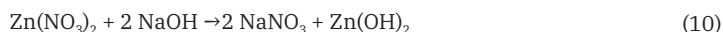
#### 4.4. Az optimális ZnO–In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> összetétel meghatározása

A kísérleti rész első szakaszában három különböző oxidösszetételt (50%–50%, 90%–10%, 99%–1%) és a tiszta In-oxidot vizsgáltuk. Ezután készítettünk további két összetételű (95%–5%, 93%–7%) preparátumot, két-két párhuzamos sarzzsal (2. táblázat), majd elvégeztük velük ugyanazokat a vizsgálatokat, mint a korábbi minták esetében. Célunk az optimális oxidösszetétel meghatározása volt.

##### 4.4.1. Preparáció

A ZnO-t  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  prekursorból, míg az In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-ot In<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> prekursorból állítottuk elő. A preparációhoz szükséges volt egy 0,1 M-os In<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> oldat készítése. Ebből 200 ml-t készítettem, 10,3161 g kristályos In<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> bemérésével. A szilárd anyagot analitikai mérlegen mértem ki egy főzőpohárba, majd azt ultratisztaságú Milli-Q vízzel feloldottam, és maradék nélkül átvittem egy 200 ml-es mérőlombikba. Ezután a lombikot Milli-Q vízzel jelre töltöttem és homogenizáltam. Hasonló módon készítettem 500 ml  $Zn(NO_3)_2$ -oldatot is 148,73 g kristályvizes só bemérésével. Tekintve, hogy az In<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> vizsgálatokor kiderült, hogy nem vízmentes a kiindulási anyagunk, korrigálni kellett ezen oldat molaritását. Ez 0,0916 M, a továbbiakban ezzel számoltam.

A százalékos értékek a végleges, kiégetett oxidösszetételére vonatkoznak (m/m%). A célunk mindegyik esetben 1 g oxidkeverék előállítás volt, melyhez a kiindulási anyagok mennyiségét számolással határoztam meg. Számítások az 50%–50%-os összetétel esetén: A preparálás során lejátszódó reakciók:



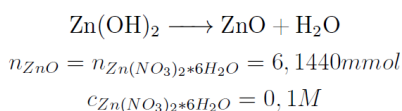
Szükséges:

$$m_{ZnO-In_2O_3} = 1g$$

$$\begin{aligned} m_{ZnO} &= 500mg \\ M_{ZnO} &= 81,38mg/mmol \\ \hline n_{ZnO} &= m/M = 6,1440mmol \end{aligned}$$

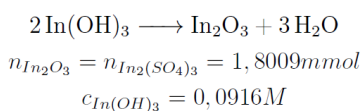
$$\begin{aligned} m_{In_2O_3} &= 500mg \\ M_{In_2O_3} &= 277,64mg/mmol \\ \hline n_{In_2O_3} &= m/M = 1,8009mmol \end{aligned}$$

Hevítés:



$$V_{Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O} = \mathbf{61,44 \text{ cm}^3}$$

Hevítés:



$$V_{In(OH)_3} = \mathbf{19,66 \text{ cm}^3}$$

$$n_{NaOH} = 6,144mol \cdot 2 + 1,8009mol \cdot 6 = 23,09mol$$

$$c_{NaOH} = 0,2M$$

$$V_{NaOH} = \mathbf{115,47 \text{ cm}^3}$$

A preparálás menete a következő volt: A szükséges mennyiségű In<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>- és Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-oldatot minden preparátumnál mérőhengerrel mértem ki, majd ezt mágneses keverőre helyezve lassan, cseppenként adagoltam hozzá a – szintén mérőhengerrel kimért – NaOH oldatot. Ezután 30–40 percig hagytam kevertetni, hogy a reakció megfelelően lejátszódjon.

Az elegyből centrifuga segítségével elválasztottam a szilárd fázist. Kézzel dekantáltam a folyadékfázist, majd Milli-Q vízzel háromszor átmostam, és minden átmosás után újracentrifugáltam, hogy az esetleges Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-maradékokat eltávolítsam. A megmaradt szilárd fázist hagytam levegőn kiszáradni, majd porítottam.

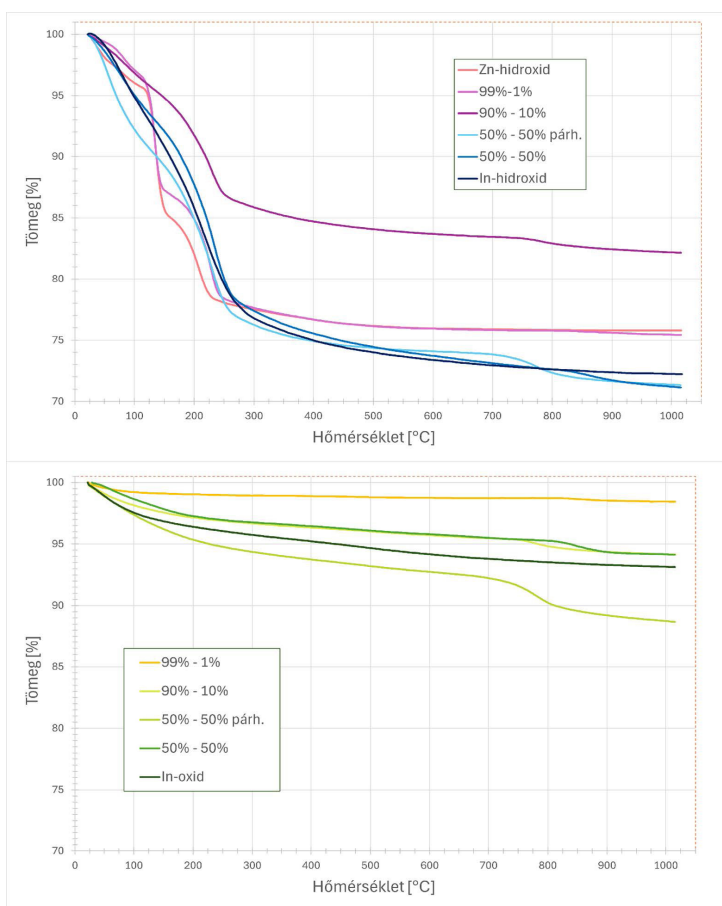
2. táblázat. A készített preparátumok esetén bemért mennyiségek

| KOMPONENSEK                                                  | PREPARÁTUMOK [cm <sup>3</sup> ] |       |       |       |      |      |      |      |      |
|--------------------------------------------------------------|---------------------------------|-------|-------|-------|------|------|------|------|------|
| ZnO : In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> arány [%]               | 0:100                           | 50:50 | 50:50 | 90:10 | 93:7 | 93:7 | 95:5 | 95:5 | 99:1 |
| In <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> (0,0916M)    | 30                              | 20    | 20    | 4     | 3    | 3    | 2    | 2    | 0,4  |
| Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6 H <sub>2</sub> O (0,1M) | -                               | 61,5  | 61,5  | 110   | 115  | 115  | 117  | 117  | 122  |
| NaOH (0,2M)                                                  | 90                              | 120   | 120   | 125   | 125  | 125  | 125  | 125  | 125  |

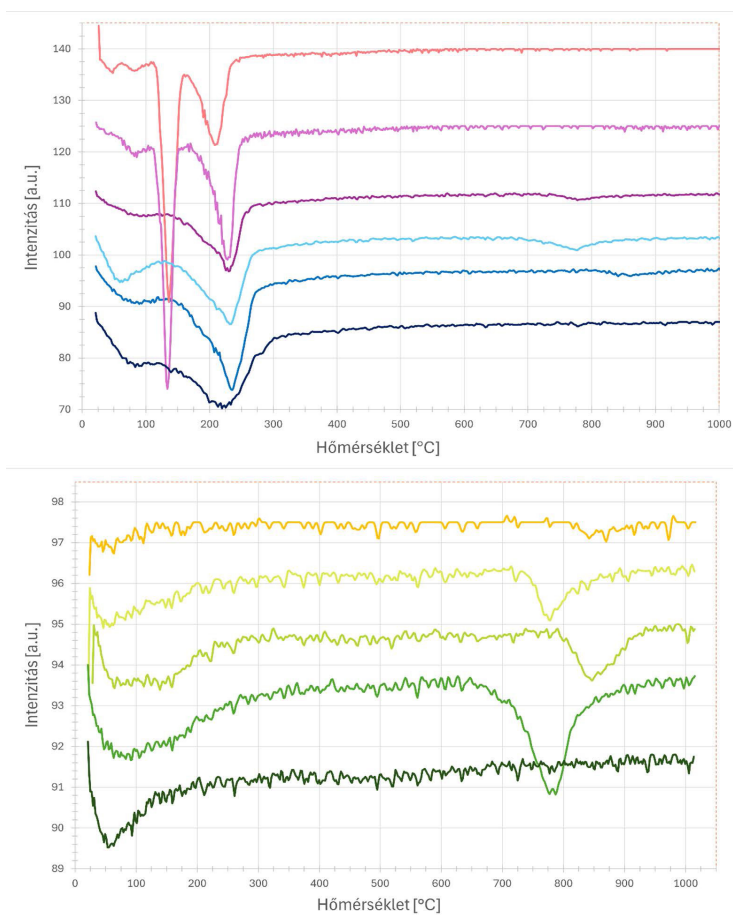
#### 4.4.2. Termoanalitikai vizsgálat

Minden mintáról készítettünk termogravimetriás felvételt (8., 9. ábra). A mérésekből két kérdésre vártunk választ: Milyen hőmérsékleten égessük oxiddá a hidroxidos formát? Illetve a kiégetés során valóban teljes mértékben oxiddá alakult-e a minta?

A kiégetés előtti, hidroxidos formák felvételei a 8. és 9. ábrák felső diagramjain láthatók, kék, illetve lila színekkel. E felvételekből egyértelműen látszik, hogy minden átalakulás lejátszódik 400 °C-ig, ezért ezt az értéket választottuk a kiégetés hőmérsékletének.



8. ábra. A hidroxidos (fent) és oxidos (lent) formák TG-görbéi

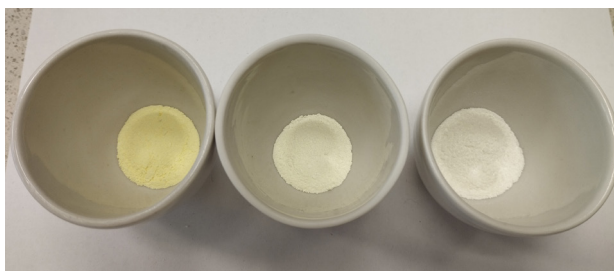


9. ábra. A hidroxidos (fent) és oxidos (lent) formák DTG-görbéi. A jelmagyarázat megegyezik a 8. ábráéval.

A mintákat tehát 400 °C-on, 2 óra hőtartással kemencében kiégettük, ezután újból készítettünk a mintákról TG-felvételeket. Ezek az ábrák alsó diagramjain láthatók zöld/sárga színekkel.

A termogravimetriai mérések után megbizonyosodhattunk arról, hogy a hidroxidok teljes oxidá alakulása megtörtént, hiszen a 400 °C alatti bomlási lépcsők a kiégetés utáni felvételeken már nem láthatók, a tömegveszteség átlagosan csupán 5%.

Mivel a kristályos indium-oxid sárgás színű, a kiégetés utáni minták színén szabad szemmel is jól megfigyelhető az  $\text{In}_2\text{O}_3$ -tartalom változása (10. ábra).



10. ábra.  $\text{In}_2\text{O}_3$ -tartalom balról jobbra: 50%, 10%, 1%

Jogos kérdésként merülhet fel, hogy a TG-mérések tömegveszteségei vajon mennyire reprezentatívak a kiégetésre nézve. Ennek szemléltetésére kigyűjtöttem a kiégetés tömegveszteségét, valamint a TG-felvételeken 400 °C-ig jelentkező tömegveszteségeket minden minta esetében (3. táblázat). A két adatsor közötti átlagos eltérés 1,2%.

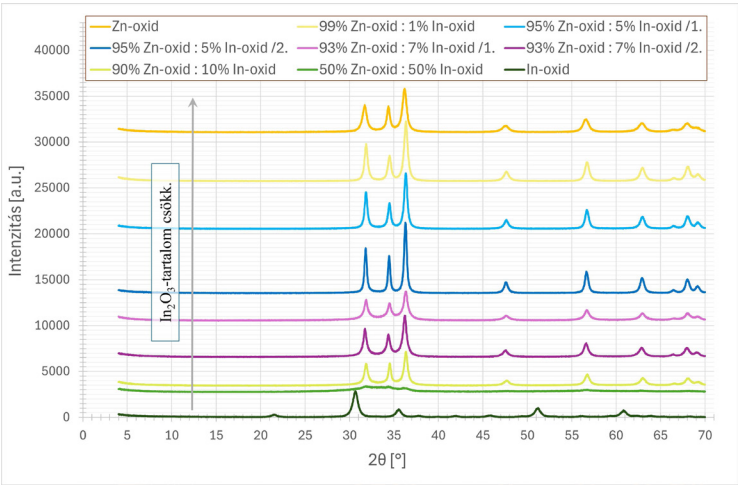
3. táblázat. Tömegveszteségek a kiégetés és a termogravimetriai mérések során

| MINTÁK                        | 50% ZnO-<br>50% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 50% ZnO-<br>50% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /2 | 90% ZnO-<br>10% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 93% ZnO-<br>7% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 93% ZnO-<br>7% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /2 | 95% ZnO-<br>5% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 95% ZnO-<br>5% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /2 | 99% ZnO-<br>1% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> |
|-------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Keményesvesztés<br>(%)        | 22,8%                                          | 25,4%                                             | 13,8%                                          | 21,6%                                         | 22,0%                                            | 18,8%                                         | 10,6%                                            | 24,2%                                         |
| TG veszteség<br>400 °C-ig (%) | 24,4%                                          | 25,1%                                             | 15,3%                                          | 15,3%                                         | 15,3%                                            | 22,2%                                         | 8,5%                                             | 23,3%                                         |
| Eltérés                       | -1,6%                                          | 0,4%                                              | -1,5%                                          | 6,3%                                          | 6,7%                                             | -3,4%                                         | 2,1%                                             | 0,9%                                          |

4.4.3. Röntgendiffrakciós mérések (XRD)

A kristályszerkezet vizsgálatára és a fázisváltozások követésére röntgendiffrakciós méréseket készítettünk. A felvételek elsődleges célja, hogy alátámasszák a hidroxid–oxid átalakulást, így megerősítve a TG-felvételek eredményeit.

A felvételeken jól definiáltan megjelennek a ZnO reflexiók csúcsai, azonban az In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> csúcsai – feltehetőleg a magas ZnO arány miatt – nem láthatók. Az eredmények közül az 50%-50%-os kompozit felvétele érdekes. Nem figyelhetők meg rajta sem az In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, sem a ZnO<sub>2</sub> csúcsai, ezért a mérést megismételtük. Az eredményeket reprodukálni tudtuk, ennek okai további vizsgálatot igényelnek. A többi felvételen azonban jól kivehetően megjelennek az oxidos összetételre jellemző reflexiók csúcsok, amiből arra következtethetünk, hogy valóban sikerült előállítani a kívánt oxidkompozitokat.



11. ábra. A vegyesoxidok, valamint a tiszta Zn- és In-oxid XRD-felvételei

4.4.4. Valós oxidösszetételek – SEM-EDX

A termoanalitikai, illetve röntgendiffrakciós vizsgálatokból láthattuk, hogy az oxidáció feltételezhetően megtörtént a kiégetés során. Azonban ezekből még nem következik, hogy az előállított minta valós összetétele megegyezik a névleges oxidösszetétellel. Ennek ellenőrzésére elektronmikroszkópos felvételeket készítettünk. A SEM-EDX mérések alapján számolt oxidösszetételek a 4. táblázatban láthatók.

4. táblázat. Valós oxidösszetételek az energiadiszperzív röntgenspektroszkópiás mérések alapján

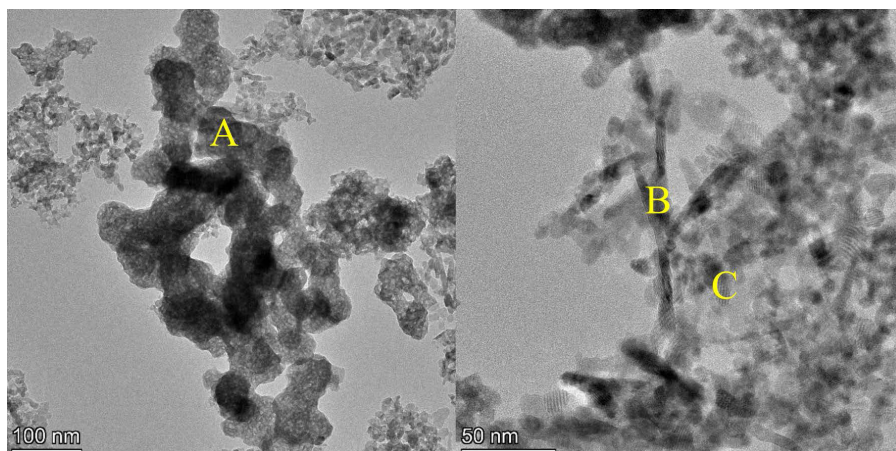
| NÉVLEGES<br>ÖSSZETÉTEL |                                | 50%ZNO -<br>50%In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /I. | 50% ZNO -<br>50% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /II. | 93% ZNO -<br>7% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /I. | 93% ZNO -<br>7% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /II. | 95% ZnO -<br>5% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /I. | 95% ZnO -<br>5% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /II. | 99% ZnO -<br>1% In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> |
|------------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Valóság                | In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 41,48                                             | 41,56                                                | 6,04                                               | 5,89                                                | 4,36                                               | 4,60                                                | 0,94                                           |
|                        | ZnO                            | 55,35                                             | 54,53                                                | 89,92                                              | 90,12                                               | 94,32                                              | 94,46                                               | 98,57                                          |

A valós összetétel tehát láthatóan jól követi a névlegeset, az átlagos relatív hiba 5,6%. Az eltérések a preparáció hibáiból adódhatnak, különösen a kis In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-tartalmú mintáknál, ezért érdemes minden minta valós összetételét ellenőrizni a jövőben is.

#### 4.4.5. TEM-analízis – 50% ZnO–50% In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

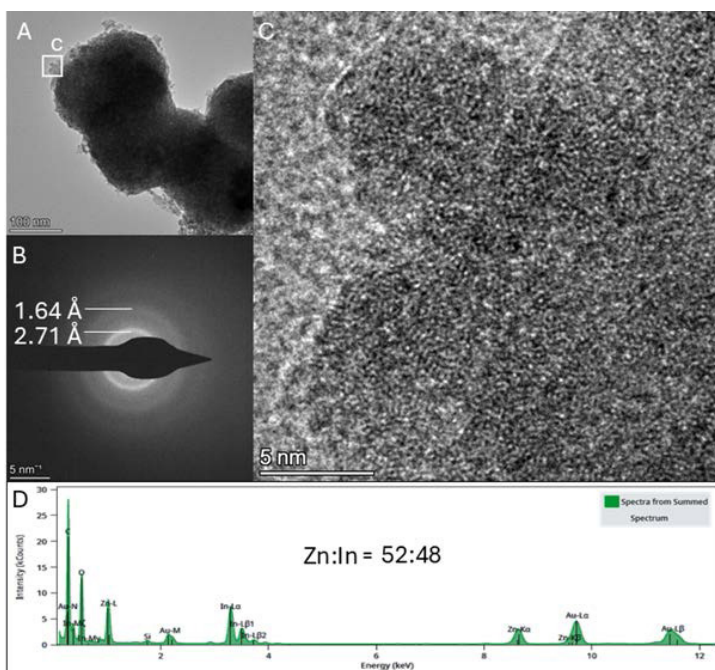
A röntgendiffrakciós mérések elemzése során korábban említett 50% ZnO–50% In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> összetételű minta érdekes, amorf jellegű diffrakciós felvétele további vizsgálatra adott okot. Annak érdekében, hogy teljesebb képet kapjunk a minta szerkezetéről, mindkét párhuzamos mintát elküldtük TEM-elemzésre. A méréseket a Pannon Egyetem Nanolab kutatólaboratóriumában végezték.

A mérések során a mintákban háromféle morfológiájú terméket találtak: nagyméretű (150–200 nm átmérőjű), szabálytalan alakú szemcséket (A), túszerű nanokristályokat (B), illetve kristálylapokkal határolt nanorészecskéket (C) (12. ábra). Általánosságban elmondható, hogy a Zn–In-eloszlás a mintán belül inhomogén, az indium jelenléte inkább a nagyobb, amorf szerkezetű agglomerátumokban jellemző. A túszerű nanokristályokat és a nanorészecskéket szinte kizárólag kristályos ZnO alkotja. Ez további magyarázattal szolgálhat arra, hogy a röntgendiffrakciós felvételeken miért nem láttunk a kristályos In-oxidra jellemző reflexiókat. Ezenkívül az amorf szemcsék nagy arányú jelenléte magyarázza az XRD-felvételeken a diszkrét csúcsok hiányát.



12. ábra. TEM-BF-felvételek, amelyek a mintára jellemző részecskéket mutatják.

A nagyméretű szemcsékről (150–200 nm) kijelenthető, hogy több nanorészecske agglomerációi. A nanorészecskéket 5–12 nm átmérő jellemzi. A vizsgált agglomerátumok összetétele homogénnek tekinthető, Zn:In arányuk átlagosan 52:48 (13. ábra). (A névleges arány 50:50.) Ez összhangban áll az előző szakaszban tárgyalt SEM-EDX mérések alapján számolt oxidösszetétellel.



13. ábra. Egy In-dús szemcse TEM-analizise. A) TEM-BF-felvétel több amorf agglomerátumról, B) a szemcséről készült SAED-felvétel, jelezve a részecskéhez tartozó jeleket (1,64 Å, ill. 2,71 Å). C) HRTEM-felvétel a C jelű területről, amely mutatja az agglomerátumot képező egyedi szemcséket és D) TEM-EDS-analízis a C területről (O:Zn:In = 58:22:20).

#### 4.4.6. Tiltott sáv mérése

Egy fotokatalizátor tiltott sáv szélessége nagyban meghatározza annak hatékonyságát. A tiltott sáv (Band Gap) az az energiatartomány egy félvezetőben, ahol nincsenek megengedett elektronállapotok. Ez határozza meg, hogy mekkora energiájú fotonra van szükség ahhoz, hogy egy elektron a vegyértéksávból a vezetési sávba ugorjon, vagyis hogy a fotokatalizátor aktiválódjon. Ezért minden általunk előállított kompozit esetében meghatároztuk a band-gap értékeket, vagyis az adott kompozit aktiválásához szükséges foton energiát (eV), illetve az ennek megfelelő elektromágneses sugárzás hullámhosszát (nm). Az eredményeket a 5. táblázat tartalmazza.

Megfigyelhető, hogy az  $\text{In}_2\text{O}_3$  a várakozásoknak megfelelően valóban a látható fény hullámhossztartománya felé tolja el a kompozitok tiltott sáv értékeit. Ez azt jelenti, hogy kisebb energiájú sugárzás is elegendő a gerjesztéshez, így ezek a kompozitok hatékonyabbak lehetnek környezeti fény mellett.

5. táblázat. Band-gap mérés eredményei

| Minta                                        | Tiltott sáv |     |
|----------------------------------------------|-------------|-----|
|                                              | eV          | nm  |
| $\text{In}_2\text{O}_3$                      | 3,00        | 413 |
| $\text{ZnO}:\text{In}_2\text{O}_3$ 50%–50%   | 3,15        | 394 |
| $\text{ZnO}:\text{In}_2\text{O}_3$ 50%–50%/2 | 3,18        | 390 |
| $\text{ZnO}:\text{In}_2\text{O}_3$ 90%–10%   | 3,23        | 384 |
| $\text{ZnO}:\text{In}_2\text{O}_3$ 99%–1%    | 3,23        | 384 |

#### 4.4.7. BET-felület meghatározása

A fotokatalizátorok másik kulcsfontosságú jellemzője a fajlagos felület nagysága. A nagyobb fajlagos felület nagyobb aktivitást és jobb hatékonyságot eredményezhet. Az alábbi táblázatban (6. táblázat) látható az egyes fotokatalizátorok BET-felülete ( $S_{BET}$ ), mikropórus-felülete ( $S_{mikro}$ ), teljes pórustérfogata ( $V$ ), mikropórus-térfogata ( $V_{mikro}$ ) és átlagos pórusátmérője ( $D_{tl.}$ ). A/2-es mintaazonosítók az adott összetétel párhuzamos sarzsait jelölik, az azonos színű adatsorok pedig egyazon minta párhuzamos BET-méréseit. A mérések megismétlésének célja az eredmények reprodukálhatóságának vizsgálata.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az  $In_2O_3$  kisebb pórusméretéből adódóan csökkenti az átlagos pórusátmérőt. A BET-felület értékeit vizsgálva egyértelmű tendencia figyelhető meg: az  $In_2O_3$  valóban jelentős felületnövelő hatással bír. A vizsgált összetételek közül e tekintetben az 50%-50%-os kompozit emelkedik ki, amelynek fajlagos felülete szignifikánsan meghaladja mind a tiszta  $ZnO$ , mind pedig a tiszta  $In_2O_3$  értékeit. Ugyanez az optimum figyelhető meg a mikropórus-felület értékeinél is. Az ismételt mérések kis szórással reprodukálható eredményeket adtak, ez megerősíti az adatok megbízhatóságát. Itt megemlítenéd, hogy éppen ezen összetétel XRD-felvételén nem figyelhető meg határozott reflexiós csúcs, amelyet szintén tudtunk reprodukálni. Ezen eredmények közötti összefüggés további vizsgálatot igényel.

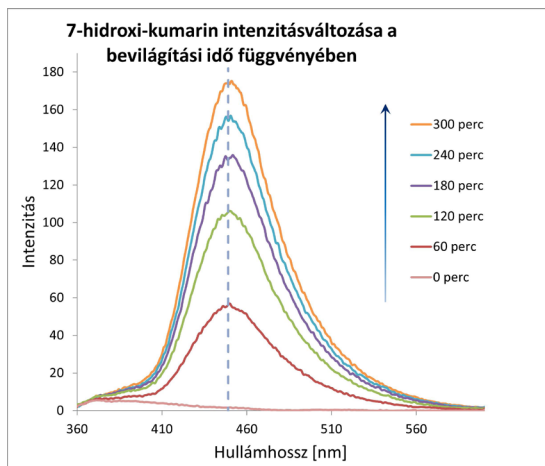
A BET-felület tekintetében tehát az 50%-50%-os összetételnél optimum figyelhető meg, ez azonban nem feltétlenül teszi ezt a kompozitot a leghatékonyabb fotokatalizátorrá. A fotokatalitikus aktivitás másik jelentős mutatója a reaktív gyökfejlesztő képesség; ezt kumarin tesztvegyülettel vizsgáltuk.

6. táblázat. Fajlagosfelület-mérés eredményei

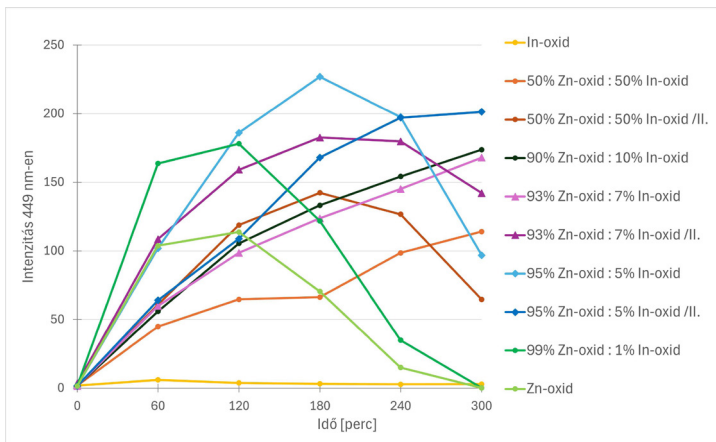
| Minta                   | $S_{BET}$ [ $m^2/g$ ] | $S_{mikro}$ [ $m^2/g$ ] | $V$ [ $cm^3/g$ ] | $V_{mikro}$ [ $cm^3/g$ ] | $D_{tl.}$ [nm] |
|-------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------|--------------------------|----------------|
| $In_2O_3$               | 76,6                  | 5,5                     | 0,2644           | 0,00220                  | 9,7            |
| $In_2O_3$               | 76,7                  | 6,1                     | 0,2643           | 0,00249                  | 9,8            |
| $ZnO:In_2O_3$ 50%-50%   | 82,2                  | 9,4                     | 0,5438           | 0,00400                  | 20,8           |
| $ZnO:In_2O_3$ 50%-50%   | 82,1                  | 10,1                    | 0,5421           | 0,00429                  | 21,1           |
| $ZnO:In_2O_3$ 50%-50%/2 | 89,6                  | 7,6                     | 0,5032           | 0,00328                  | 18,2           |
| $ZnO:In_2O_3$ 90%-10%   | 48,8                  | 6,9                     | 0,4234           | 0,00293                  | 29,7           |
| $ZnO:In_2O_3$ 93%-7%    | 52,8                  | 8,1                     | 0,4739           | 0,00349                  | 30,7           |
| $ZnO:In_2O_3$ 93%-7%/2  | 47,6                  | 7,6                     | 0,4420           | 0,00327                  | 32,0           |
| $ZnO:In_2O_3$ 95%-5%    | 29,7                  | 5,3                     | 0,2362           | 0,00226                  | 34,3           |
| $ZnO:In_2O_3$ 95%-5%/2  | 18,7                  | 3,2                     | 0,1266           | 0,00138                  | 29,8           |
| $ZnO:In_2O_3$ 99%-1%    | 33,0                  | 4,1                     | 0,2668           | 0,00177                  | 32,0           |
| $ZnO$                   | 29,9                  | 4,7                     | 0,2863           | 0,00207                  | 39,1           |

#### 4.4.8. Fotokatalitikus aktivitás vizsgálata

Az előállított vegyesoxid fotokatalizátorok szervesanyag-lebontó képességét kumarin tesztvegyület segítségével vizsgáltuk vizes fázisban. A  $\cdot\text{OH}$ -gyökképződési reakció során a kumarin mint gyökbefogó viselkedik, így a mért aktivitások ezen mechanizmusra nézve reprezentatívak. A 14. ábrán a 7-hidroxi-kumarin koncentrációváltozása figyelhető meg a 90%  $\text{ZnO}$ :10%  $\text{In}_2\text{O}_3$  katalizátor jelenlétében. A bomlástermék izobesztikus pontján (449 nm) mért intenzitásokat a bevilágítási idő függvényében ábrázolva a 15. ábra mutatja.



14. ábra. A 7-hidroxi-kumarin emissziós sávjának intenzitásváltozása a 90%–10%-os oxidösszetételnél



15. ábra. Fotokatalitikus aktivitások az összes előállított Zn-In-oxid esetében

A kezdeti mérési sorozatban a két leghatékonyabb összetételű mintának az 1%-os és a 10%-os  $\text{In}_2\text{O}_3$ -tartalmú kompozit bizonyult, így a kettő közé további két összetételnek megfelelő (5% és 7%  $\text{In}_2\text{O}_3$ -tartalmú) mintákat preparáltunk, hogy megtaláljuk az optimális összetételt. Az összes Zn-In-oxidkompozit fotokatalitikus aktivitásának összevetését a 15. ábra tartalmazza.

A grafikon alapján általánosságban elmondható, hogy az  $\text{In}_2\text{O}_3$ -koncentráció csökkenésével az aktivitás nő, viszont négy különböző összetételnél és a tiszta  $\text{ZnO}$ -nál is látható egy intenzitás-esés. Ennek oka lehet, hogy a kumarin már elbomlott, mielőtt még be tudta volna fogni a hidroxilgyököt, esetleg a 7-hidroxi-kumarin kezdett el továbbalakulni. Ezen okok alátámasztására és tisztázására érdemes lenne

reakcióelegyet HPLC-vel vizsgálni. Intenzitás tekintetében az 5%-os  $\text{In}_2\text{O}_3$ -tartalmú minta mutatja a legnagyobb értékeket, illetve a végpontban mért intenzitása is ennek a legmagasabb.

#### 4.5. Társítás agyagásványokkal

A vizsgált  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$  összetételek vizsgálati eredményeinek összevetése alapján a leghatékonyabbnak a 95%  $\text{ZnO}$ –5%  $\text{In}_2\text{O}_3$  arányú kompozit bizonyult, így a továbbiakban ezzel az összetételű  $\text{Zn-In}$ -oxidokkal dolgoztunk. Ezen kompozit halloysittal és kaolinnal történő társítását, valamint az előállított minták vizsgálati eredményeit tárgyalja a következő fejezet.

##### 4.5.1. Preparáció

Az agyagásvány-tartalmú minták esetében a preparációt a korábbiakhoz hasonló módon végeztem. A cél továbbra is 1 g katalizátor előállítása volt. Az egyik mintasorozatban Essen-halloysitot (EH), a másikon kereskedelmi forgalomban kapható kaolinitet (Fluka) használtam. A megfelelő mennyiségű agyagásványt a csapadékleválasztási és kevertetési lépés után adagoltam az elegyhez, majd további kb. 0,5–1 óráan át kevertettem a mágneses keverőn a megfelelő homogenizálás érdekében. Ezután a centrifugálás, a szárítás és a 400 °C-os kiégetés a szokott módon történt. A pontos bemért mennyiségeket a 8. táblázat részletesen tartalmazza.

7. táblázat. Halloysit-tartalmú preparátumok

| KOMPONENSEK                                                                    | PREPARÁTUMOK |       |       |       |       |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| EH : $\text{ZnO-In}$ -oxid arány [%]                                           | 90:10        | 70:30 | 50:50 | 30:70 | 10:90 |
| $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ (0,0916M) [ $\text{cm}^3$ ]                       | 0,20         | 0,59  | 0,98  | 1,38  | 1,76  |
| $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0,1M) [ $\text{cm}^3$ ] | 12           | 35    | 59    | 82    | 105   |
| $\text{NaOH}$ (0,2M) [ $\text{cm}^3$ ]                                         | 13           | 37    | 70    | 91    | 112   |
| Essen-halloysit [mg]                                                           | 899,0        | 698,4 | 498,9 | 308,6 | 98,5  |

8. táblázat. Kaolinit-tartalmú preparátumok

| KOMPONENSEK                                                                    | PREPARÁTUMOK |       |       |       |       |
|--------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| Fluka : $\text{ZnO-In}$ -oxid arány [%]                                        | 90:10        | 70:30 | 50:50 | 30:70 | 10:90 |
| $\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$ (0,0916M) [ $\text{cm}^3$ ]                       | 0,24         | 0,71  | 1,2   | 1,65  | 2,2   |
| $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0,1M) [ $\text{cm}^3$ ] | 14           | 42    | 70    | 98    | 127   |
| $\text{NaOH}$ (0,2M) [ $\text{cm}^3$ ]                                         | 16           | 46    | 75    | 105   | 133   |
| Fluka kaolinit [mg]                                                            | 1082,7       | 840,1 | 603,6 | 360,7 | 123,4 |

#### 4.5.2. Pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálat

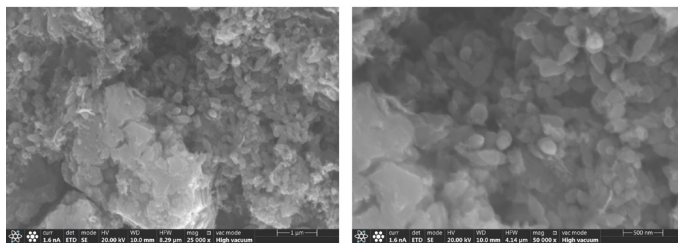
Hogy meggyőződjünk a valós oxidösszetételek helyességéről, a halloysittal társított mintákat elküldtük SEM-EDX-elemzésre. A vizsgálatokat a Pannon Egyetem Anyagmérnöki Intézeti Tanszékén végezték. Az eredmények alapján ez esetben is megállapítható, hogy a valós összetétel jól követi a névlegeset, az átlagos relatív hiba 3,3%. Az eltérések a preparáció hibáiból adódhatnak, különösen az  $In_2O_3$ -tartalom esetében, ezért érdemes minden minta valós összetételét ellenőrizni a jövőben is.

9. táblázat. Valós oxidösszetételek az energiadiszperzív röntgenspektroszkópiás mérések alapján

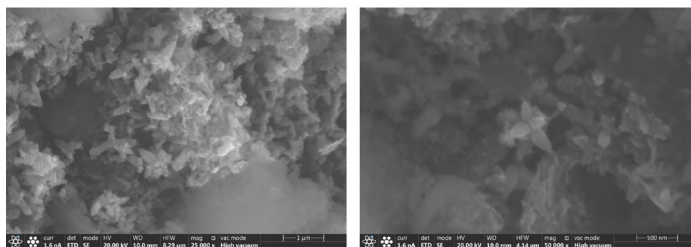
| MINTA                          | 10EH     |        | 30EH     |        | 50EH     |        | 70EH     |        | 90EH     |        |
|--------------------------------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|
| Összetétel                     | névleges | valódi | névleges | valódi | névleges | valódi | névleges | valódi | névleges | valódi |
| halloysit                      | 10       | 10,99  | 30       | 28,88  | 50       | 49,24  | 70       | 68,41  | 90       | 88,74  |
| ZnO                            | 85,5     | 82,62  | 66,5     | 67,86  | 47,5     | 48,06  | 28,5     | 29,38  | 9,5      | 8,57   |
| In <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 4,5      | 4,16   | 3,5      | 3,03   | 2,5      | 2,31   | 1,5      | 1,62   | 0,5      | 0,88   |

**Morfológia** Az elektronmikroszkópos mérések során felvett, szekunder elektronokkal készített képekből topográfiai információt is nyerhetünk az előállított katalizátorokról. A felvételeken nagyon jól megfigyelhető a ZnO nanorudas, nanovirágos szerkezete, amely különösen a csapadékképzéses preparáció esetén jellemző.

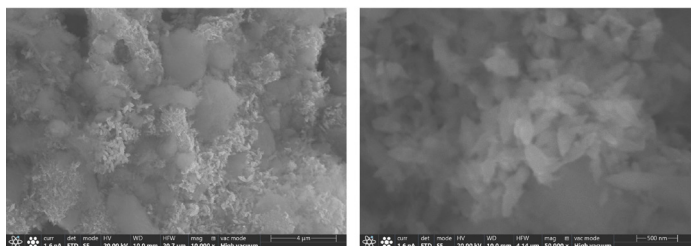
10% EH - 90% Zn-In-oxid



50% EH - 50% Zn-In-oxid



70% EH - 30% Zn-In-oxid



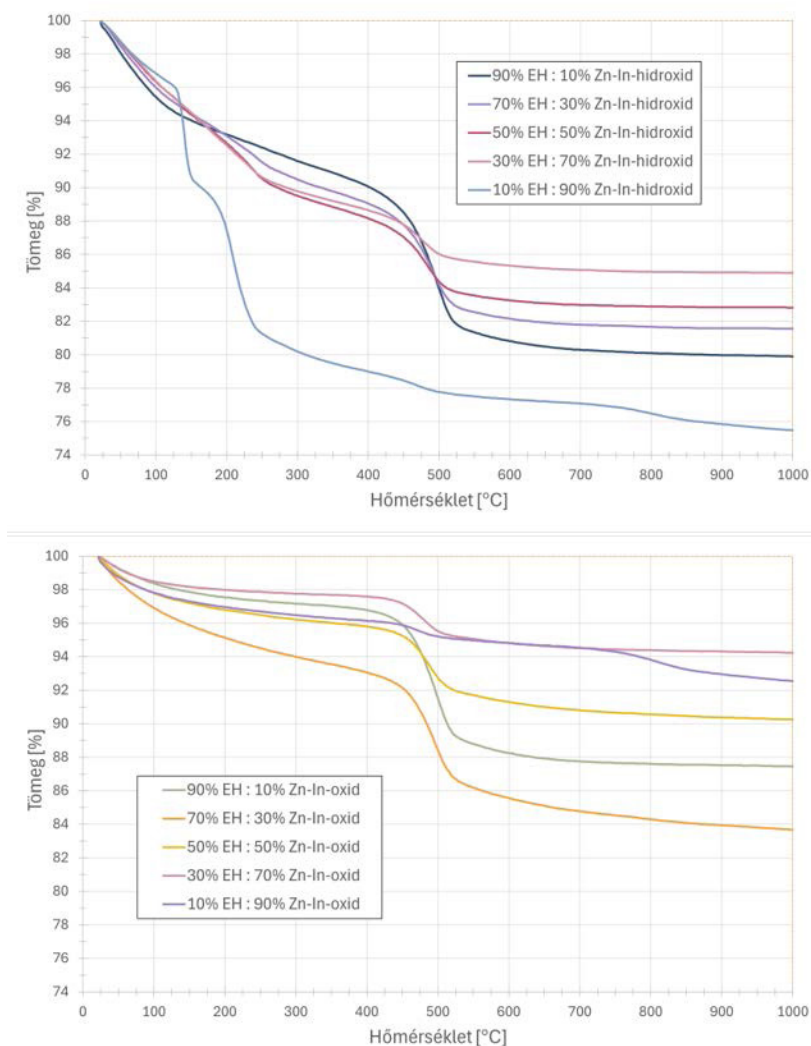
16. ábra. Háromféle összetételű minta különböző nagyítású elektronmikroszkópos felvételei

A kaolinites minták SEM-elemzése még folyamatban van.

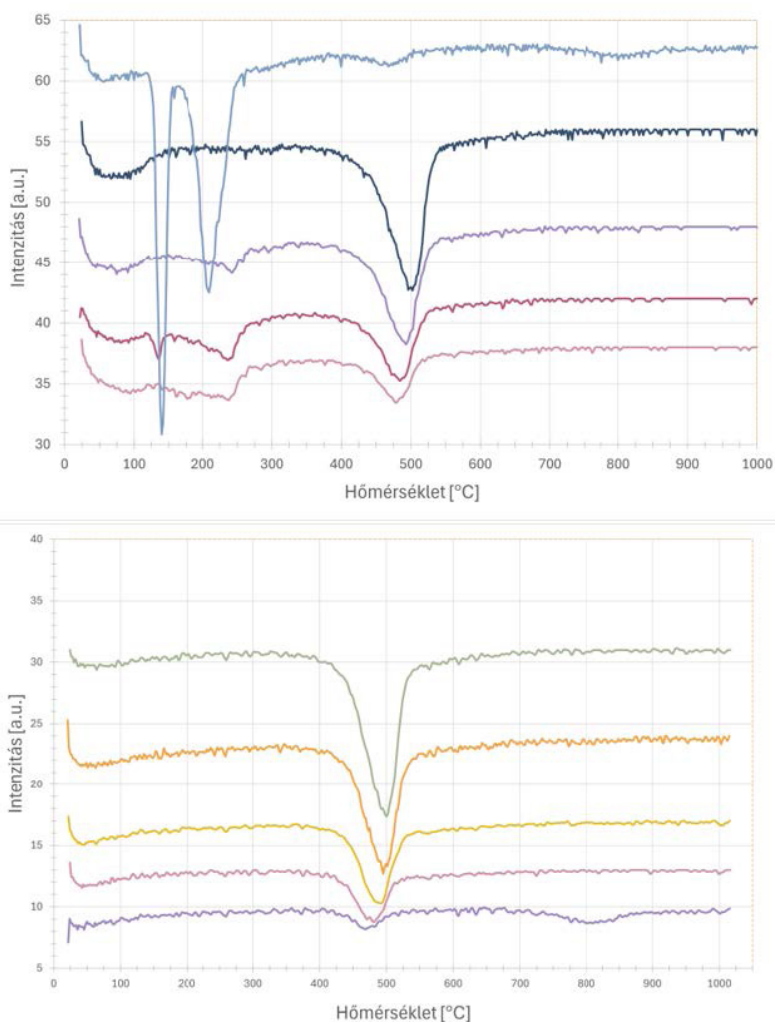
#### 4.5.3. Termóanalitikai vizsgálat

A halloysit-tartalmú minták esetében is ugyanazon készülékkel és paraméterekkel végeztük el a TG-méréseket, mint korábban. A kaolinit-tartalmú mintákat azonban technikai okokból derivatográfia segítségével mértük meg.

A halloysit hordozót tartalmazó minták TG-felvételeit a 17. ábra mutatja. A kiégetés előtti (felső, kék/lila) felvételeken látható 500 °C körüli drasztikus (kb. 7–10%-os) tömegvesztés a halloysit dehidroxileződésének tulajdonítható, amely során szerkezeti OH-csoportokat veszítve 2:1 beidellit-e alakul [27]. Ezután történt a minták 400 °C-os kiégetése kemencében. A kiégetés utáni minták felvételein (alsók) is változatlanul megfigyelhető a beidellitnek tulajdonított bomlási lépcső, így feltételezhető, hogy a kiégetés során a halloysit szerkezete nem sérült. Ezen átalakuláson kívül azonban a kiégetés utáni felvételeken nem láthatók egyéb bomlási lépcsők, ebből arra következtethetünk, hogy a hidroxidok oxidá történő átalakulása maradéktalanul lezajlott a 400 °C-os kiégetés során.

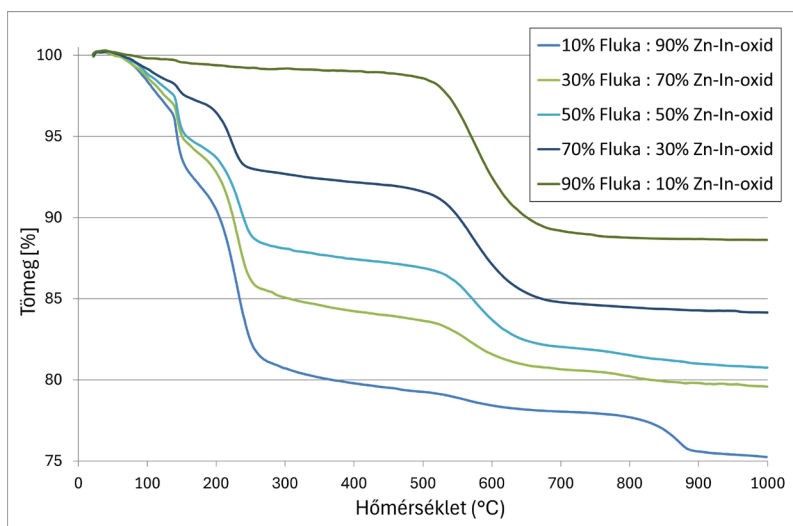


17. ábra. A halloysit-tartalmú hidroxidos (fent) és oxidos (lent) formák TG-görbéi

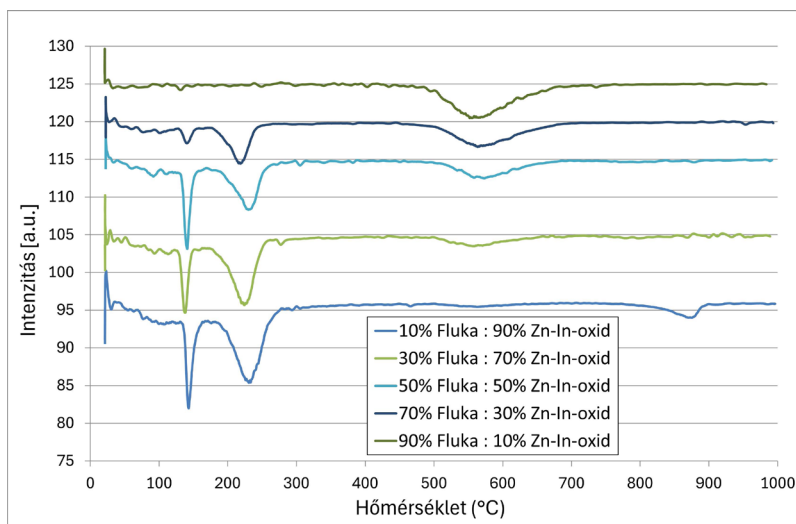


18. ábra. A halloysit-tartalmú hidroxidos (fent) és oxidos (lent) formák DTG-görbéi

A kaolinit tartalmú minták termoanalitikai elemzését egy MOM gyártmányú Derivatograph-C típusú készülékkel végeztük. Statikus levegő atmoszférában 10 °C/perc felfűtéssel, nyitott kerámia mintatartóban zajlott a mérés. Az eredményül kapott görbék a 19. és 20. ábrákon láthatók. Az első, 140 °C körül jelentkező kisebb lépcsők a szerkezeti vízvesztést jelzik; a 200–300 °C-os tartományban látható tömegvesztések a Zn–In-hidroxidok oxidá alakulásához tartoznak. Az 550 °C és 600 °C között pedig a kaolinit átalakulása történik meg metakaolinná. Idő hiányában csak a kemencében történő kiégetés előtti (hidroxidos) formák méréseit végeztük el a derivatográfval, azonban feltételezhető, hogy az oxidos formák esetében is hasonló eredmények születnének, mint a halloysit-tartalmú minták esetében.



19. ábra. A kaolinit-tartalmú hidroxidos formák TG-görbéi



20. ábra. A kaolinit-tartalmú hidroxidos formák DTG-görbéi

### Tömegveszteségek:

Az agyagásvány-tartalmú minták esetében is érdemes összehasonlítani a TG-mérések és a kiégetés során bekövetkező tömegveszteségeket. Ezek a 10. és a 11. táblázatban láthatók. Az adatok alapján a kétféle hevítés közötti átlagos eltérés a halloysitos minták esetében -1,4%, a kaolinites minták esetében 0,3%.

10. táblázat. Tömegveszteségek a kiégetés és a termogravimetriai mérések során (halloysitos minták)

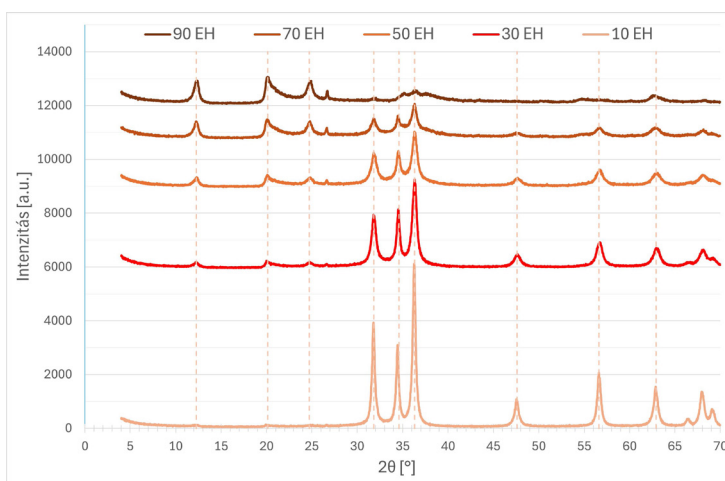
| MINTÁK                     | 10% EH | 30% EH | 50% EH | 70% EH | 90%EH |
|----------------------------|--------|--------|--------|--------|-------|
| Kemencevesztés (%)         | 18,8%  | 10,2%  | 11,4%  | 9,9%   | 8,0%  |
| TG veszteség 400 °C-ig (%) | 21,0%  | 11,3%  | 11,9%  | 11,0%  | 9,9%  |
| Eltérés                    | -2,2%  | -1,1%  | -0,5%  | -1,1%  | -1,9% |

11. táblázat. Tömegvesztések a kiégetés és a termogravimetriai mérések során (kaolinites minták)

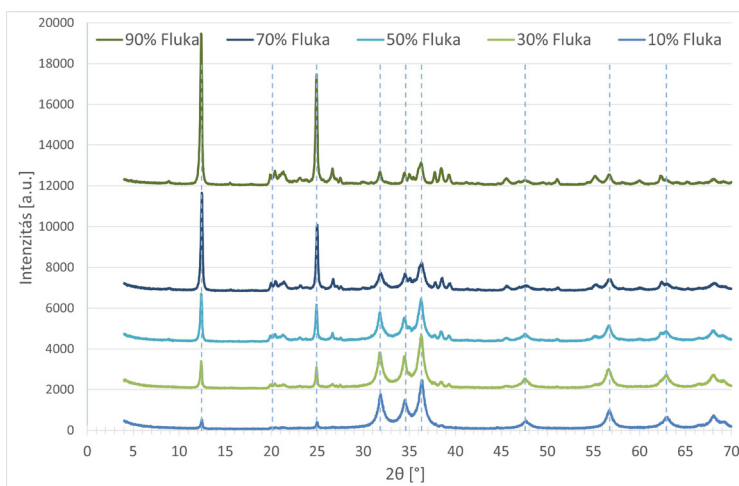
| MINTÁK                     | 10% Fluka | 30% Fluka | 50% Fluka | 70% Fluka | 90%Fluka |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Kemencevesztég (%)         | 20,4%     | 15,9%     | 12,8%     | 8,1%      | 1,4%     |
| TG veszteség 400 °C-ig (%) | 20,22%    | 15,78%    | 12,55%    | 7,81%     | 0,98%    |
| Eltérés                    | 0,2%      | 0,1%      | 0,3%      | 0,3%      | 0,4%     |

#### 4.5.4. Röntgendiffrakciós mérések (XRD)

Az oxidátalakulás ellenőrzésére készített röntgendiffrakciós felvételeken jól megfigyelhető az agyagásványok jelenléte a mintákban. Jellemző reflexióik intenzitása a mintában elfoglalt hányadukkal egyenes arányban változik. A ZnO reflexiók csúcsai minden felvételen láthatóak mindkét agyagásvány esetében.



21. ábra. A halloysit-tartalmú minták XRD-felvételei a jellemző reflexiókkal



22. ábra. A kaolinit-tartalmú minták XRD-felvételei a jellemző reflexiókkal

#### 4.5.5. BET-felület meghatározása

A könnyebb átláthatóság érdekében itt csak a számított BET-felületet ( $S_{BET}$ ) és az átlagos pórusátmérőt ( $D_{atl}$ ) tüntettem fel a 12. táblázatban. Ezek az adatok jellemzik legjobban a minták felületi tulajdonságait, amelyek hatással lehetnek a fotokatalitikus aktivitásra. Az agyagásványok várt felületnövelő hatása megfigyelhető, azonban az átlagos pórusméret értékein nem figyelhető meg tendencia.

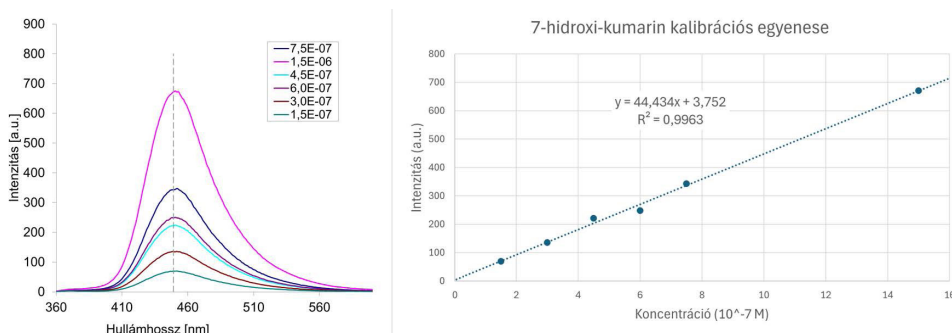
12. táblázat. Fajlagosfelület-mérés eredményei

| Minta                     | $S_{BET} [m^2/g]$ | $D_{atl} [nm]$ |
|---------------------------|-------------------|----------------|
| 0% EH                     | 24,2              | 32,05          |
| 10% EH : 90% Zn/In-oxid   | 31,1              | 23,3           |
| 30% EH : 70% Zn/In-oxid   | 43,5              | 21,0           |
| 50% EH : 50% Zn/In-oxid   | 46,3              | 19,6           |
| 70% EH : 30% Zn/In-oxid   | 48,0              | 16,7           |
| 90% EH : 10% Zn/In-oxid   | 53,0              | 14,0           |
| 100% EH                   | 85,8              | 12,0           |
|                           |                   |                |
| 0% Fluka                  | 24,2              | 32,05          |
| 10% Fluka : 90%Zn/In-oxid | 8,8               | 23,9           |
| 30% Fluka : 70%Zn/In-oxid | 25,0              | 28,3           |
| 50% Fluka : 50%Zn/In-oxid | 34,7              | 33,1           |
| 70% Fluka : 30%Zn/In-oxid | 48,0              | 28,9           |
| 90% Fluka : 10%Zn/In-oxi  | 58,1              | 31,2           |
| 100% Fluka                | 7,9               | 28,3           |

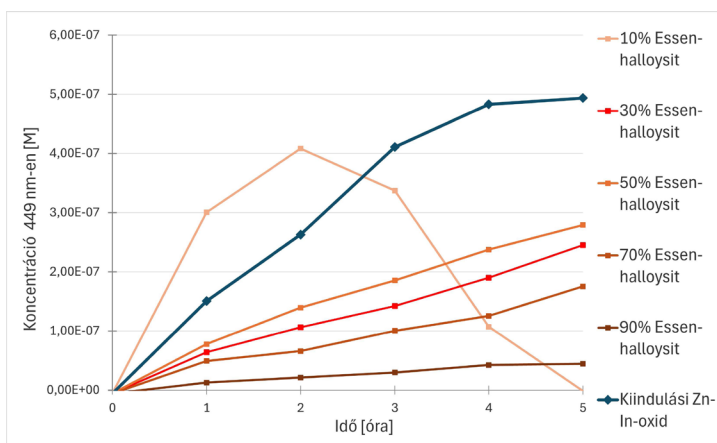
#### 4.5.6. Fotokatalitikus aktivitás

A fotokatalitikus tesztek a korábbiakkal analóg módon végeztük. A bevilágítás során levett mintákat fluoriméteren megmérve az oxidoknál bemutatotthoz hasonló intenzitásérték-diagramokat kaptunk. Azonban ez esetben itt nem álltunk meg, ezért nem ezeket a grafikonokat mutatom be. Annak érdekében, hogy tisztábban lássuk a konkrét koncentráció-viszonyokat kalibrációt készítettem. A kalibráció során ismert koncentrációjú 7-hidroxi-kumarin oldatsorozatot készítettem, majd felvettem ezek intenzitás spektrumát a tesztknél is használt fluoriméteren. A koncentrációk, amelyekkel dolgoztam:  $1, 5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $3 \cdot 10^{-7}M$ ,  $4, 5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $6 \cdot 10^{-7}M$ ,  $7, 5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $1, 5 \cdot 10^{-6}M$ . A kalibrációs egyenes meghatározásához az abszorpció maximum hullámhosszán (449 nm) mért intenzitásértékeket használtam. (Ezt a hullámhosszértéket vettem figyelembe a tesztek során vett minták esetében is.) Az így meghatározott kalibráló egyenes (23. ábra) segítségével a tesztek során mért 7-hidroxi-kumarin intenzitások átszámolhatók valós koncentrációkká. Ezek az értékek láthatók a 24. és a 25. ábrán a bevilágítási idő függvényében. A grafikonkép és a tendenciák nem változtak az intenzitásdiagramokhoz

képest, azonban információt nyertünk a tényleges koncentrációváltozásokról, amelyekből később akár reakciósebesség is számolható. Ezenkívül a kumarinra is elvégezve a kalibrációt, követhetjük annak intenzitáscsökkenését, valamint meghatározhatjuk, hogy ehhez hány százalékban járul hozzá a hidroxilgyökös bomlási folyamat. Erről a későbbiekben lesz szó.



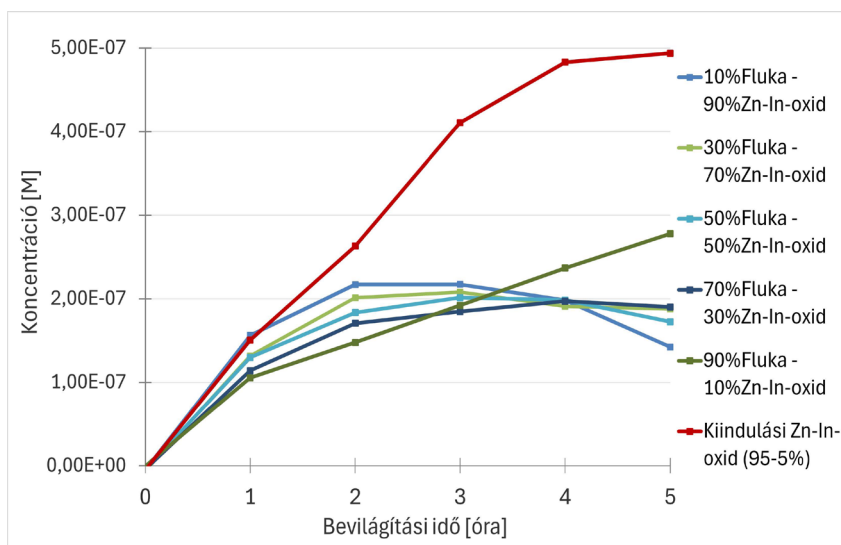
23. ábra. A 7-hidroxi-kumarin kalibrációs oldatsorának fluorimetriás felvételei és a kalibrációs egyenes



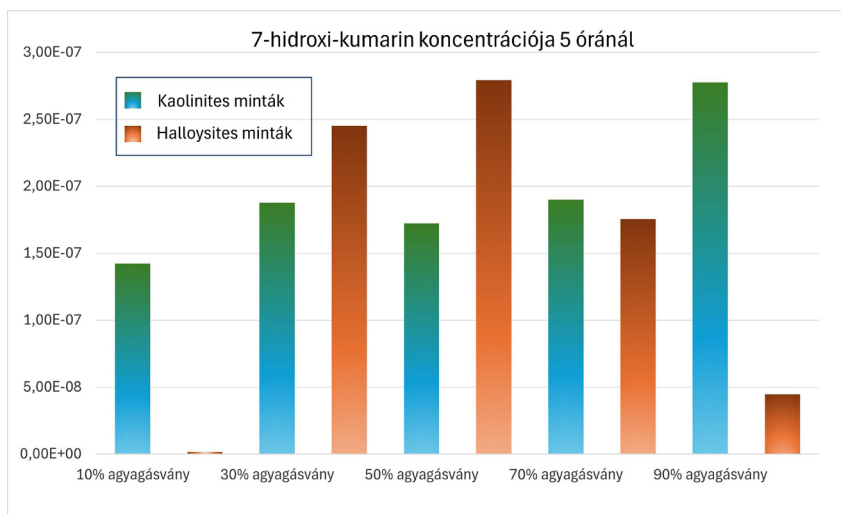
24. ábra. A halloysittal preparált minták és a 95%-5%-os Zn-In-oxid koncentrációváltozása a bevilágítási idő függvényében.

A 24. és 25. ábrán tehát a 7-hidroxi-kumarin koncentrációváltozása van feltüntetve az idő függvényében. Látható, hogy sem a halloysittal, sem a kaolinnal társított mintákkal nem sikerült elérni az eredeti 95%-5%-os minta hatékonyságát, de detektálható a  $\cdot OH$ -képződés, és a halloysit nagy fajlagos felülete feltételezhetően kedvezőbb diszperziót eredményez. Néhány összetételnél (pl. 10% Essent-halloysit) itt is látható intenzitásésés a teszt előrehaladtával, de összességében kevésbé jellemző, mint az oxidkompozitoknál volt.

Ebből kifolyólag a teszt végpontjában mért koncentrációkkal jól szemléltethető és összevethető a katalizátorok aktivitása. Ez a 26. ábra oszlopdiagramján látható.



25. ábra. A kaolinnal preparált minták és a 95%-5%-os Zn-In-oxid koncentrációváltozása a bevilágítási idő függvényében.



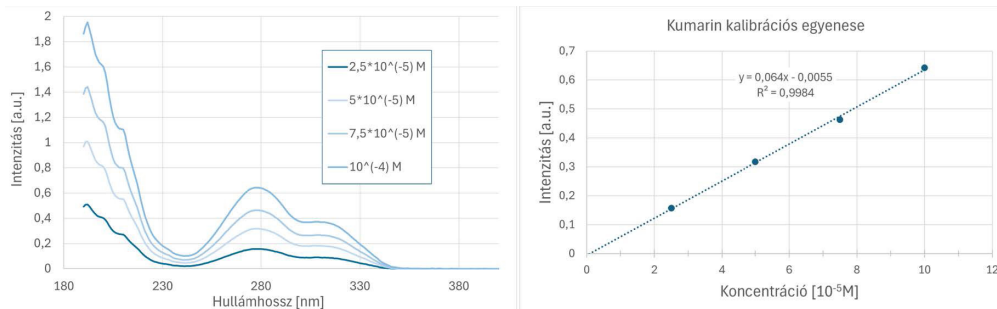
26. ábra. A halloysittel (narancs) és kaolinnal (kék) társított fotokatalizátorok végponti koncentrációja az egyes összetételeknél

A halloysites mintákat tekintve az adagolásnak van egy optimuma, ahol a hidroxilgyök-képződés a legnagyobb, ez pedig az 50% EH-50% Zn-In-oxid összetételű rendszer. A kaolinites minták esetében ilyen tendencia nem figyelhető meg, azonban egyértelműen megállapítható, hogy a 90%-os kaolinit-tartalmú mintánál keletkezett a legtöbb 7-hidroxikumarin a teszt végére.

Azonban, ha nem a végponti intenzitásokat, hanem a kezdeti felfutást vizsgáljuk, akkor mindkét mintasorozat esetében a 10% agyagásványt tartalmazó katalizátor mutatta a legnagyobb aktivitást. Ez kifejezetten a halloysit-tartalmú minta esetében jelentős, viszont a már említett letörés miatt a végpontban közel nulla a mérhető koncentráció. Ennek okait még keressük, ahogy azt is, hogy melyik szempont mérvadóbb a legaktívabb katalizátor kiválasztásakor.

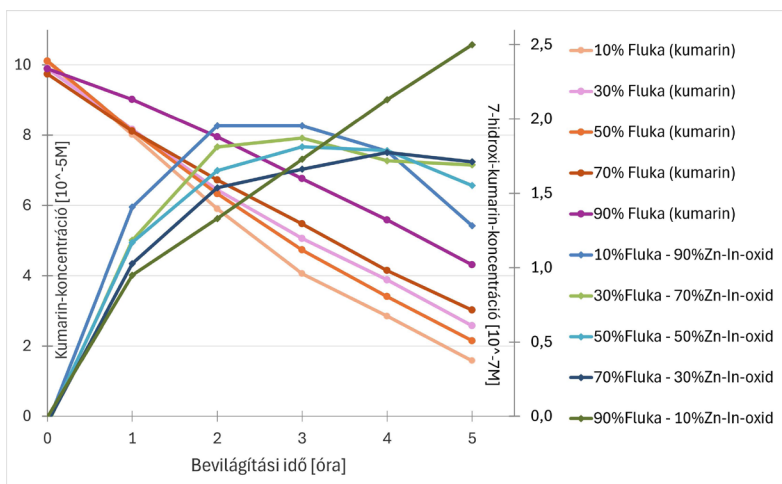
### Kumarin koncentrációjának vizsgálata

Ahogy korábban említettem, foglalkoztunk a kumarin fogyásának vizsgálatával is. A 7-hidroxi-kumarinhoz hasonlóan kalibráló oldatsorozatot készítettem  $2,5 \cdot 10^{-5} M$ ,  $5 \cdot 10^{-5} M$ ,  $7,5 \cdot 10^{-5} M$  és  $10^{-4} M$  koncentrációjú kumarin-oldatokból. Fotométeren mért intenzitásuk a 27. ábrán láthatóak, valamint a 279 nm-en mért intenzitásukból meghatározott kalibrációs egyenes is.



27. ábra. A kumarin kalibrációs oldatsorának fotometriás felvételei és a kalibrációs egyenes

Ezt a vizsgálatot csak a kaolinites minták esetében végeztük el. Ez esetben a tesztek során vett mintákat nemcsak fluoriméteren, hanem fotométeren is mértük. Az így kapott kumarin-intenzitások a kalibrációs egyenes egyenletének segítségével átszámolhatók koncentrációkká. Ezeket a bevilágítási idő függvényében egy grafikonon ábrázoltam a 7-hidroxi-kumarin koncentrációváltozásával; így kaptam a 28. ábrát. Fontos megjegyezni, hogy az ábrán a két vegyület koncentrációja külön skálán van jelölve a szemléletesség kedvéért. A valóságban – ahogy az az értékekből is kiolvasható – több mint két nagyságrendnyi különbség van az adatok között.



28. ábra. A kumarin és a 7-hidroxi-kumarin koncentrációváltozásai a tesztek során

Az adatokat tovább értékelve meghatározható, hogy a kumarin koncentráció-csökkenésének mekkora hányadát okozza a hidroxilgyökös bomlási folyamat. Ehhez a következő képlettel számoltam minden összetétel esetén:

$$\frac{C_{7\text{-hidroxi-k. végső}}}{C_{\text{kumarin kezdeti}} - C_{\text{kumarin végső}}} \cdot 100 = [\%]$$

Az eredményeket a 13. táblázat foglalja össze.

13. táblázat. A 7-hidroxi-kumarinos bomlási reakció százalékos hozzájárulása a kumarin fogyáshoz

|                           |        |
|---------------------------|--------|
| 10% Fluka : 90%Zn/In-oxid | 0,167% |
| 30% Fluka : 70%Zn/In-oxid | 0,257% |
| 50% Fluka : 50%Zn/In-oxid | 0,217% |
| 70% Fluka : 30%Zn/In-oxid | 0,283% |
| 90% Fluka : 10%Zn/In-oxid | 0,498% |

## 5. Összegzés

Az In(III)-szulfát magas hőmérsékleten való bomlásából kifolyólag önmagában nem, viszont hidroxiddá alakítva prekuzorként használható  $\text{In}_2\text{O}_3$  előállítására.

Kutatásom során sikeresen előállítottam különböző összetételű  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$  és  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$ -halloysit kompozitokat. Band-gap értékeiket tekintve egyértelmű tendencia figyelhető meg: az  $\text{In}_2\text{O}_3$  hatására a tiltott sáv a látható tartomány felé tolódik el. Ezen túl az  $\text{In}_2\text{O}_3$ -nak fajlagos felületnövelő hatása is van. A vizsgált összetételek közül az 50%-50%-os  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$ -nál optimuma van a BET-felületnek. A  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$  vizsgálati adatait összevetve, elsősorban a fotokatalitikus aktivitást szem előtt tartva, a 95%  $\text{ZnO} : 5\% \text{In}_2\text{O}_3$  bizonyult a legígéretesebb összetételnek.

Ezt az oxidkompozitot felhasználva sikeresen kialakítottam öt különböző arányú  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$ -halloysit hármas kompozitrendszert, amelyek közül az 50%-os halloysittartalmú minta katalizálta a legnagyobb mértékű hidroxilgyök-képződést a reakció végpontján.

Szintén kialakítottam öt különböző összetételű  $\text{ZnO-In}_2\text{O}_3$ -kaolinit kompozitrendszert, amelyek közül a reakció végpontjában a 90% kaolinit-tartalmú katalizátor mutatta a legnagyobb aktivitást, kezdeti felfutásban azonban a 10% kaolinit-tartalmú.

A kutatás további szakaszában érdemes a fotokatalitikus tesztek a bomlási reakciósebességek szempontjából még egyszer megvizsgálni, így pontosabb képet kaphatunk a katalizátorok aktivitásáról.

## 6. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Vágvölgyi Veronikának töretlen türelmét, támogatását és rugalmasságát, valamint munkám koordinálását.

Köszönöm Dr. Zsirka Balázsnak az IR-felvételek kiértékelésében, valamint a fluorimetriás és band-gap mérésekben nyújtott segítségét.

Köszönöm Szabóné Dr. Bárdos Erzsébetnek és Dr. Fodor Lajosnak, hogy rendelkezésünkre bocsátották a fluorimetriás és band-gap mérésekhez szükséges készülékeket.

Külön köszönettel tartozom Dr. Kristófné Dr. Makó Évának és Őze Csillának a röntgendiffrakciós mérések elvégzéséért, valamint Fitosné Dr. Boros Adriennek az elektronmikroszkópos felvételek elkészítéséért. Hálásan köszönöm a Nanolab két munkatársának, Kövér Reginának és Rácz Kornélnak a részletes TEM-elemzés elkészítését.

Végül, de nem utolsósorban, köszönöm szépen Dr. Juzsakova Tatjánának a porozításvizsgálatok elkészítését.

Nélkülük nem lett volna lehetőségem a méréseket sikeresen elvégezni, illetve megfelelően kiértékelni. Együttműködésüknek és szakmai tudásuknak köszönhető, hogy a kutatást jelen formájában prezentálhatom.

## Irodalomjegyzék

- [1] ZSIRKA, Balázs, et al. Halloysite-zinc oxide nanocomposites as potential photocatalysts. *Minerals*, 2022, 12.4: 476.
- [2] ZHAO, Junkai, et al. Microwave hydrothermal synthesis of  $\text{In}_2\text{O}_3$ -ZnO nanocomposites and their enhanced photoelectrochemical properties. *Journal of the Electrochemical Society*, 2019, 166.5: H3074-H3083.
- [3] KIBANOVA, Daria, et al. Photocatalytic activity of kaolinite. *Catalysis Communications*, 2011, 12.8: 698-702.
- [4] SZABÓ, Péter, et al. Delaminated kaolinites as potential photocatalysts: Tracking degradation of Na-benzenesulfonate test compound adsorbed on the dry surface of kaolinite nanostructures. *Catalysis Today*, 2017, 287: 37-44.
- [5] SRIKANT, Vedentam; CLARKE, David R. On the optical band gap of zinc oxide. *Journal of applied physics*, 1998, 83.10: 5447-5451.
- [6] DINDAR, Bircan; IÇLI, Siddik. Unusual photoreactivity of zinc oxide irradiated by concentrated sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2001, 140.3: 263-268.
- [7] GOUVEA, Carlos AK, et al. Semiconductor-assisted photocatalytic degradation of reactive dyes in aqueous solution. *Chemosphere*, 2000, 40.4: 433-440.
- [8] HARISH, S., et al. Controlled structural and compositional characteristic of visible light active ZnO/CuO photocatalyst for the degradation of organic pollutant. *Applied Surface Science*, 2017, 418: 103-112.
- [9] BIERWAGEN, Oliver, 2015. Indium oxide—a transparent, wide-band gap semiconductor for (opto) electronic applications. *Semiconductor Science and Technology*. 1 February 2015. Vol. 30, no. 2, p. 024001. DOI 10.1088/0268-1242/30/2/024001.
- [10] SPECKMAN, Donna M.; JACKSON, C. A. Synthesis of indium oxide microspheres for antistatic spacecraft coatings. *MRS Online Proceedings Library (OPL)*, 1994, 372: 247.
- [11] MISHRA, Rajneesh Kumar, MURALI, G., KIM, Tae-Hyung, KIM, Jee Hun, LIM, Young Jin, KIM, Byoung-Suhk, SAHAY, P. P. and LEE, Seung Hee, 2017. Nanocube  $\text{In}_2\text{O}_3$  @RGO heterostructure based gas sensor for acetone and formaldehyde detection. *RSC Advances*. 2017. Vol. 7, no. 61, p. 38714–38724. DOI 10.1039/C7RA05685K.
- [12] NGUYEN, Thuy T. D., CHOI, Ha-Nui, AHMED, M. Jamir, VAN DAO, Dung, LEE, In-Hwan and YU, Yeon-Tae, 2020. Hydrothermal synthesis of  $\text{In}_2\text{O}_3$  nanocubes for highly responsive and selective ethanol gas sensing. *Journal of Alloys and Compounds*. 15 April 2020. Vol. 820, p. 153133. DOI 10.1016/j.jallcom.2019.153133.
- [13] CAI, Zhicheng, PARK, Jiho and PARK, Sunghoon, 2023. Porous  $\text{In}_2\text{O}_3$ -ZnO nanofiber-based sensor for ultrasensitive room-temperature detection of toluene gas under UV illumination. *Journal of Materials Research and Technology*. 1 May 2023. Vol. 24, p. 2482–2499. DOI 10.1016/j.jmrt.2023.03.162.
- [14] FRIEDMANN, Donia and CARUSO, Rachel A., 2021. Indium Oxides and Related Indium-based Photocatalysts for Water Treatment: Materials Studied, Photocatalytic Performance, and Special Highlights. *Solar RRL*. July 2021. Vol. 5, no. 7, p. 2100086. DOI 10.1002/solr.202100086.

- [15] LÁZARO, Blanca Bauluz. Halloysite and kaolinite: two clay minerals with geological and technological importance. *Revista de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza*, 2015, 70: 7-38.
- [16] MASSARO, Marina, NOTO, Renato and RIELA, Serena, 2020. Past, Present and Future Perspectives on Halloysite Clay Minerals. *Molecules*. January 2020. Vol. 25, no. 20, p. 4863. DOI 10.3390/molecules25204863.
- [17] GUAN, Huijuan; ZHAO, Yafei. Decontamination application of nanoclays. In: *Clay Nanoparticles*. Elsevier, 2020. p. 203-224.
- [18] DU, Mingliang; GUO, Baochun; JIA, Demin. Newly emerging applications of halloysite nanotubes: a review. *Polymer International*, 2010, 59.5: 574-582.
- [19] WANG, Rijng, et al. Photocatalytic activity of heterostructures based on TiO<sub>2</sub> and halloysite nanotubes. *ACS applied materials & interfaces*, 2011, 3.10: 4154-4158.
- [20] JIANG, Ling; HUANG, Yunpeng; LIU, Tianxi. Enhanced visible-light photocatalytic performance of electrospun carbon-doped TiO<sub>2</sub>/halloysite nanotube hybrid nanofibers. *Journal of colloid and interface science*, 2015, 439: 62-68.
- [21] MASSARO, Marina, et al. One-pot synthesis of ZnO nanoparticles supported on halloysite nanotubes for catalytic applications. *Applied Clay Science*, 2020, 189: 105527.
- [22] FÓNAGY Orsolya, 2021. Heterogén fotokatalízisen alapuló vízkezelési eljárások vizsgálata és fejlesztése. A heterogén fotokatalízis hatékonyságának növelése és a fotoindukált elektronok, szuperoxid-gyökionok meghatározására alkalmas módszerek fejlesztése.. Online. phd. Pannon Egyetem. Available from: <https://doi.org/10.18136/PE.2021.779> [Accessed 25 October 2025].
- [23] TAUC, J.; GRIGOROVICI, Radu; VANCU, Anina. Optical properties and electronic structure of amorphous germanium. *physica status solidi (b)*, 1966, 15.2: 627-637.
- [24] DAVIS, E. A.; MOTT, Nff. Conduction in non-crystalline systems V. Conductivity, optical absorption and photoconductivity in amorphous semiconductors. *Philosophical magazine*, 1970, 22.179: 0903-0922.
- [25] NETZSCH Analyzing and Testing. "Thermal Analysis of Kaolin." NETZSCH, <https://analyzing-testing.netzsch.com/hu/application-literature/thermal-analysis-of-kaolin>. Accessed 15 May 2025.
- [26] ZHANG, Wenkang, HUANG, Wenyi, WU, Qixue and CHENG, Hao, 2022. Hydrothermal synthesis of In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-ZnO nanocomposite and their enhanced photocatalytic properties. *Applied Physics A*. 29 January 2022. Vol. 128, no. 2, p. 159. DOI 10.1007/s00339-021-05237-7.
- [27] HE, Hongping, JI, Shichao, TAO, Qi, ZHU, Jianxi, CHEN, Tianhu, LIANG, Xiaoliang, LI, Zhaohui and DONG, Hailiang, 2017. Transformation of halloysite and kaolinite into beidellite under hydrothermal condition. *American Mineralogist*. 1 May 2017. Vol. 102, no. 5, p. 997-1005. DOI 10.2138/am-2017-5935.

