



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Mikrobinių kuro elementų optimizavimas su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis

Baigiamasis magistro projektas

Benas Petronis

Projekto autorius

Doc. dr. Kristina Kantminienė

Vadovė

Kaunas, 2020



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Mikrobinių kuro elementų optimizavimas su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis

Baigiamasis magistro projektas

Pramoninė biotechnologija (kodas 6211FX010)

Benas Petronis

Projekto autorius

Doc. dr. Kristina Kantminienė

Vadovė

Doc. dr. Egidijus Griškoniš

Konsultantas

Doc. dr. Nerita Žmuidzinavičienė

Recenzentė

Kaunas, 2020



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Benas Petronis

Mikrobinių kuro elementų optimizavimas su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Beno Petronio, baigiamasis projektas tema „Mikrobinių kuro elementų optimizavimas su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

Benas Petronis

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

_____ (parašas)

Santrauka.....	6
Summary.....	7
Įvadas.....	8
1. Literatūros apžvalga.....	9
1.1 Mikrobiniai kuro elementai ir elektrochemiškai aktyvūs mikroorganizmai	9
1.2 <i>Shewanella putrefaciens</i> bakterijos	9
1.3 Mikrobinių kuro elementų konstrukcija	10
1.3.1 Dviejų skyrių MKE	10
1.3.2 Vieno skyriaus MKE	11
1.3.3 Tarpusavyje sujungtų MKE sistemos	12
1.4 MKE konstrukcinės medžiagos	12
1.5 Azoto turinčių junginių fragmentų prijungimas prie elektrodų paviršiaus	14
1.6 Elektronų perdavimo mechanizmas.....	15
1.7 Veiksniai, turintys įtakos mikrobinių kuro elementų veikimui	16
1.8 Mikroorganizmų metabolizmas ir MKE potencialas.....	16
1.9 Mikroorganizmai	17
1.10 Substratas.....	17
1.11 Veikimo aplinkos sąlygos.....	18
1.12 Literatūros apžvalgos apibendrinimas	19
2. Medžiagos ir tyrimų metodai.....	20
2.1 Tyrimams naudotos medžiagos	20
2.2 Naudota aparatūra.....	20
2.3 Grafito pluošto veltinių oksidavimas nuolatine elektros srove	21
2.4 Azoto turinčių junginių prijungimas prie oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus...	22
2.5 FTIR ir SEM-EDS analizė.....	23
2.6 Ampulės atidarymas su išdžiovintomis <i>Shewanella putrefaciens</i> bakterijomis ir kultūros atgaivinimas	23
2.7 <i>Shewanella putrefaciens</i> bakterijų paruošimas.....	25
2.8 Anolitinių terpių ruošimas ir sudėtis	26
2.9 Katolito paruošimas.....	27
2.10 Mikrobinių kuro elementų konstrukcija	27
2.11 Mikrobinių kuro elementų paruošimas prieš sistemos paleidimą	29
2.12 Mikrobinių kuro elementų valymas tarp sistemos paleidimų.....	30
3. Tyrimų rezultatai ir jų apibendrinimas.....	31

3.1	Grafito pluošto veltinio paviršiaus elektrocheminis oksidavimas.....	31
3.2	Modifikuotų grafito pluošto veltinių paviršiaus modifikavimas organiniais aminais.....	38
3.3	<i>Shewanella putrefaciens</i> bakterijų kultūros paruošimas ir inokuliacija.....	47
3.4	Mikrobinių kuro elementų su modifikuoto grafito pluošto veltinio anodais veikimo efektyvumo tyrimas	47
3.5	Mikrobinių kuro elementų su anodais iš modifikuoto grafito pluošto veltinio efektyvumo vertinimas be katolito buferinio tirpalo aeracijos	52
3.6	Mikrobinių kuro elementų efektyvumo priklausomybė nuo natrio chlorido koncentracijos anolite	53
4.	Rekomendacijų dalis.....	56
	Išvados	58
	Literatūros sąrašas	59

Petronis, Benas. Mikrobinių kuro elementų optimizavimas su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis. *Magistro* baigiamasis projektas / vadovė doc. dr. Kristina Kantminienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Biotechnologijos, Technologijų mokslai.

Reikšminiai žodžiai: *Shewanella putrefaciens*, egzoelektrogenai, mikrobiniai kuro elementai, mikrobinių kuro elementų optimizavimas, elektrodų modifikavimas.

Kaunas, 2020. 62 p.

Santrauka

Didėjant žmonių poreikiams bei augant pasaulio populiacijai, žemė susiduria su daugybe globalinių problemų. Sparčiai plečiantis pramonės sektoriui ir tenkinant kasdien augančius rinkos poreikius, neretai pamirštama apie daromą žalą gamtai. Dėl šios priežasties, siekiant išsaugoti gamtos išteklius, vis didesnio susidomėjimo sulaukia naujos technologijos, kurios sprendžia tokias problemas kaip gėlo vandens stygius, neatsinaujinančios elektros energijos naudojimas ar gamtos ekosistemų teršimas toksinėmis atliekomis. Viena iš atsinaujinančių elektros energijos gavimo technologijų yra mikrobiniai kuro elementai (MKE), kuriuose egzoelektrogenai tiesiogiai generuoja elektros energiją iš organinių medžiagų. Egzoelektrogenai, pvz. *Shewanella putrefaciens* bakterijos, skaidydami organines medžiagas, metabolizmo metu išlaisvinamus elektronus atiduoda MKE anodui. Elektronai, patekę į uždara elektros grandinę, keliauja iki katodo ir atlieka naudingą elektros srovės darbą. Mikrobiniuose kuro elementuose ne tik gaunama „švari“ elektros energija, bet ir pašalinamos organinės medžiagos iš užteršto nuotekų vandens. Taip pat MKE gali būti panaudojami kaip biologiniai jutikliai, užtikrinant palankias sąlygas mikroorganizmams ar fermentams. Dėl teikiamų privalumų ir plataus panaudojimo, ši naujovė sulaukia vis daugiau mokslininkų dėmesio.

Dviejų skyrių mikrobinių kuro elementų generuojama įtampa labai priklauso nuo naudojamų elektrodų savybių, mikroorganizmų, terpės ir konstrukcijos. Kaip egzoelektrogenai anolitinėje terpėje buvo naudojama *Shewanella putrefaciens* bakterijų kultūra. Tyrimo metu MKE anodams skirtas grafito pluošto veltinis (GPV) buvo elektrochemiškai oksiduotas ir modifikuotas su organiniais aminais. Sukonstravus MKE su tokiais anodais buvo stebima skirtingų anodų įtaka generuojamos įtampos dydžiui. Anodų modifikavimui buvo naudoti 4 organiniai aminai: *m*-ksililendiaminas, 2,4-diaminotoluenas, 3-amino-1,2,4-triazolas ir 3-aminopiridinas. Taip pat buvo tirta katolito aeracijos įtaka MKE generuojamos įtampos vertei. Bandymų metu buvo nustatyta, kad didžiausia įtampa generavo MKE su 2,4-diaminotoluenu modifikuotu anodu. Taip pat MKE su modifikuotais anodais išlaikė itin aukštą ir stabilią įtampą be katolito aeracijos. Itin pastovią įtampą generavo MKE, kurio anodas modifikuotas su *m*-ksililendiaminu. Tyrimo metu ji kito tik ± 1 mV ribose per 20 val. laikotarpį. Galima teigti, kad azoto turinčių junginių fragmentų prijungimas prie anodo paviršiaus, padidina mikrobinio kuro elemento generuojamos įtampos vertę bei stabilumą.

Projekto metu taip pat buvo tiriama anolito terpės komponentų įtaka MKE generuojamos įtampos dydžiui. Tyrimams buvo naudojamos skirtingos NaCl koncentracijos. Nustatyta, kad MKE anolito terpėje didinant natrio chlorido koncentraciją iki 22 g/l įtampa didėja.

Petronis, Benas. Optimization of Microbial Fuel Cells with *Shewanella putrefaciens* bacteria. Master's final degree project / supervisor assoc. prof. dr. Kristina Kantminienė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Biotechnology, Technological sciences.

Key words: *Shewanella putrefaciens*, exoelectrogenic, microbial fuel cells, microbial fuel cells optimization, electrode modification.

Kaunas 2020. 62 p.

Summary

With increasing human needs and a growing world population, the earth is facing many global challenges. With the rapid expansion of the industrial sector and the meeting of the ever-growing market needs, the damage caused to nature is often overlooked. For this reason, new technologies that address issues of freshwater scarcity, the use of non-renewable electricity or the pollution of natural ecosystems with toxic waste are of growing interest in conserving natural resources. One of the technologies producing sustainable "clean" energy is microbial fuel cells (MFC), in which exoelectrogens are able to directly generate electricity from organic materials. Exoelectrogens, e.g. *Shewanella putrefaciens* bacteria, are able to pass electrons, which are released during bacteria metabolism processes, while decomposing organic matter to the anode in MFC. Through the anode, electrons enter a closed electrical circuit and move to the cathode. Thus, useful electrical work is done. The electricity generated in this way is not only "clean", but also enables the removal of organic matter from polluted wastewater. MFC can also be used as biological sensors if favorable conditions for microorganisms or enzymes are assured. Due to its advantages and wide application, this innovation is receiving more and more attention from scientists.

The voltage generated by the two-chamber microbial fuel cells is highly dependent on the properties of electrodes, microorganisms, medium and the design used. A culture of *Shewanella putrefaciens* bacteria was used as exoelectrogens in the anode chamber. During the study, graphite fiber felt (GFF) was electrochemically oxidized and modified with different organic amines. Four different organic amines were used in the experiments: *m*-xylylenediamine, 2,4-diaminotoluene, 3-amino-1,2,4-triazole, and 3-aminopyridine. Microbial fuel cells with anodes made of the samples of modified GFFs were assembled and their generated voltage was recorded in long-term studies with and without aeration of the catholyte. The results of the investigation revealed, that the highest voltage was generated by MFC with anode made from GFF modified with 2,4-diaminotoluene. It should be noted, that all MFC with anodes made from modified GFF maintained higher and more stable voltage without catholyte aeration in comparison with the MFC utilizing a bare GFF as an anode. Extremely constant voltage was generated by the MFC, which anode was modified with *m*-xylylenediamine. Voltage generated by this MFC varied within ± 1 mV over 20 h period. It can be stated, that nitrogen-containing compound fragments attached to the anode in a microbial fuel cell increase the magnitude and stability of the generated voltage.

During the project, the influence of the different concentration of NaCl in bacteria nutrient media used as anolyte in MFCs was determined. It has been shown, that increasing the sodium chloride concentration to 22 g/l in the MFC anolyte medium, resulted in the increased voltage generated by MFC.

Įvadas

Energijos generavimas ir cheminių medžiagų sintezė, pasitelkiant mikroorganizmus iš atsinaujinančių angliavandenių žaliavos ar kitokių organinių medžiagų atliekų, tokių kaip nuotekų vanduo, yra viena patraukliausių alternatyvų tradiciniam iškastiniam kurui. Viena sparčiausiai besivystančių mikrobinių elektrocheminių sistemų yra mikrobiniai kuro elementai (MKE), kurie siūlo perspektyvią išeitį elektros energijos generavime, o kartu ir nuotekų valyme. Vienas iš MKE privalumų yra tai, kad juose gali būti panaudoti labai įvairaus tipo substratai, sukuriantys mažą kiekį dumblo kambario temperatūroje. Tiesa, žemas energijos generavimo efektyvumas bei dideli konstrukciniai kaštai yra didžiausia problema, komercializuojant MKE technologiją. [1]

Mikrobiniuose kuro elementuose egzoelektrogeniniai mikroorganizmai dalyvauja kaip biokatalizatoriai anaerobinėje oksidacijoje iš organinių medžiagų, kurių gausu atliekose bei nuotekose. Susidarę laisvieji elektronai keliauja anodo link, sukurdami uždara elektros grandinę, o protonai yra transportuojami prie katodo paviršiaus. Katodo srityje vyksta depoliarizacijos procesas, kuriame elektronai sąveikauja su protonais ir deguonimi, taip susidarant vandeniui. MKE gali būti panaudoti eukariotiniai ir prokariotiniai egzoelektrogeniniai mikroorganizmai, tokie kaip *Shewanella putrefaciens* bakterijos. [1]

Shewanella putrefaciens – tai fakultatyvios anaerobinės bakterijos, galinčios panaudoti įvairias medžiagas kaip elektronų akceptorius, kurios klasifikuojamos kaip metalų jonus redukuojančios bakterijos. Anaerobinėse sąlygose bakterijos yra elektrochemiškai aktyvios ir gali būti naudojamos MKE, kai elektronų akceptorius yra anodas. Tiesa, jų veikimas labai priklauso nuo tokių faktorių kaip pH, elektronų donoro koncentracija, druskų koncentracija bei inokulianto amžius. [2]

Darbo tikslas – optimizuoti *Shewanella putrefaciens* bakterijų kultivavimo terpę, modifikuojant anodu naudojamo grafito pluošto veltinio elektrodo paviršių bei įvertinant mitybinės terpės komponentų koncentracijos įtaką mikrobinio kuro elemento generuojamos įtampos vertei.

Darbo uždaviniai:

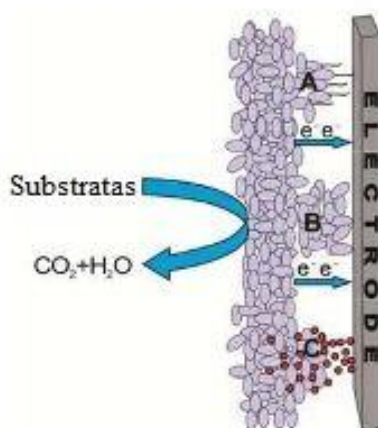
1. elektrochemiškai oksiduoti grafito pluošto veltinį (GPV);
2. modifikuoti oksiduotą GPV organiniais aminais, charakterizuoti modifikuotą GPV – paruošti mikrobinių kuro elementų (MKE) anodą;
3. ištirti MKE veikimo efektyvumą su skirtingais organiniais aminais modifikuoto GPV anodais, vykdant ilgalaikius veikiančio MKE elektrocheminių parametrų matavimus;
4. ištirti MKE veikimo efektyvumą be katolito tirpalo aeracijos su skirtingais organiniais aminais modifikuoto GPV anodais, vykdant veikiančio MKE elektrocheminių parametrų matavimus
5. ištirti NaCl koncentracijos anolite įtaką MKE veikimo efektyvumui.

1. Literatūros apžvalga

1.1 Mikrobiniai kuro elementai ir elektrochemiškai aktyvūs mikroorganizmai

Mikrobinai kuro elementai – technologija, kuri vienu metu gali skaidyti organines medžiagas ir kartu generuoti elektros energiją. Šią sistemą bandoma pritaikyti pramoninių ir buitinių nuotekų apdorojime, nes tokiose nuotekose gausu organinių ir neorganinių medžiagų. Nors MKE tyrimai atliekami jau seniai, tačiau dėl per mažo energijos generavimo efektyvumo ir didelių konstrukcinių kaštų ši technologija dar nėra pritaikyta plačiam panaudojimui [3].

Mikroorganizmai, naudojami MKE ir galintys generuoti elektros energiją, yra apibūdinami skirtingais terminais: elektrochemiškai aktyvios bakterijos, egzoelektrogeninės bakterijos, egzoelektrogenai, egzoelektrogeniniai mikroorganizmai ir kt. Iki šiol yra išsiaiškinta, kad skirtingi, elektrochemiškai aktyvūs mikroorganizmai perduoda elektronus pagal nevienodus elektronų perdavimo mechanizmus. Atsižvelgiant į elektrono kelią iki elektrodo, jie yra skirstomi į tris pagrindines grupes: nano-siūlų pagalba, per oksireduktazės baltymus išorinėje ląstelės sienelėje ir pačių mikroorganizmų susintetintų ar pridėtinių mediatorių pagalba (1.1. pav.). Dažniausiai elektronai yra perduodami keliais būdais vienu metu. Elektrodo paviršiaus savybės bei struktūra taip pat gali turėti įtakos elektronų perdavimo mechanizmui bei elektros generavimui elektrodų paviršiuje [3].



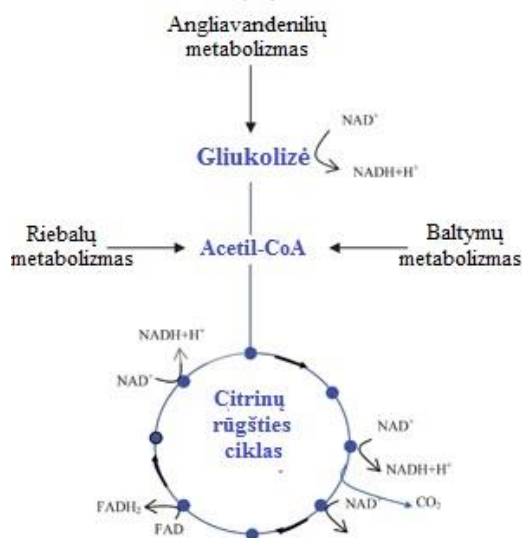
1.1 pav. Elektrochemiškai aktyvių bakterijų elektronų perdavimo elektrodai mechanizmai. A – per nano-siūlelius; B – tiesioginio kontakto metu; C – per mediatorius [3].

Natūralioje aplinkoje galima rasti daugybę elektrochemiškai aktyvių bakterijų. Daug egzoelektrogenų yra aptinkama pieno pramonės atliekose, alaus pramonės nuotekose, vandenynų dugne, anaerobiniame aktyviajame dumble ir kitose natūraliose aplinkose. Jose susiformavusios skirtingų bakterijų kolonijos turi labai skirtingas savybes ir elektros generavimo pajėgumus. Be to, skirtingų nuotekų vandenys skiriasi ir mikroorganizmų gausa bei jų rūšimis, kurios geba išskirti elektronus į ląstelės išorę. Tiesa, anksčiausiai atrastos ir geriausiai išstudijuotos bakterijos priklauso *Geobacter* ir *Shewanella* bakterijų šeimoms [3].

1.2 *Shewanella putrefaciens* bakterijos

S. putrefaciens bakterijos yra priskiriamos gama-proteobakterijoms, kurios visos yra gram-neigiamos. Jų membranos sudarytos iš citoplazminio vidinio ir išorinio dvigubo sluoksnio, atskirto periplazmine erdve, susidedančia iš peptidoglikano polimero, kuris įterptas į koncentruoto gelio matricą [4]. Abi membranos sudarytos iš fermentų su poriniais kanalais, kurie praleidžia mažos

molekulinės masės medžiagas, oksidacijos-redukcijos reakcijų reagentus ir katijonus, tokius kaip metalo jonai [4]. Lipidai, baltymai ir angliavandeniai gliukolizės ir kitų procesų metu yra konvertuojami į acetil-kofermento A acetilinį vienetą. Vėliau ši molekulė dalyvauja citrinų rūgšties cikle, kur oksidacijos reakcijos yra susietos su teigiamu nikotinamido adenino dinukleotidas jonu (NAD^+) ir flavino adenino dinukleotidas (FAD) redukcija iki jų elektronus pernešančių formų – NADH ir FADH_2 (1.2 pav) [5].



1.2 pav. NAD^+ ir FAD redukcija iki jų elektronus pernešančių formų – NADH ir FADH_2 citrinų rūgšties cikle (Krebso cikle) [5].

S. putrefaciens buvo pirmoji bakterija panaudota MKE be papildomų išorinių mediatorių. *S. putrefaciens* bakterijų anaerobinio kvėpavimo ciklas ir membranų baltymai, dalyvaujantys metalų oksidų redukcijoje, yra plačiai išstudijuoti. Eksperimentų metu atskleista, kad anaerobinėmis sąlygomis susiformavę išorinėje membranoje esantys c-tipo citochromai tiesioginio kontakto metu reaguoja su geležies ir magnio oksidais [5]. Pastebėta, kad didelės įtakos elektronų perdavimo efektyvumui į ląstelės išorę turi ir riboflavinai. Jis yra sintetinamas *S. putrefaciens* rūšies bakterijų ir palengvina elektronų perdavimą metalų jonams bei anodui. Panaikinus tirpių flavinų sintezę iš *Shewanella* kultūros biologinės plėvelės, elektronų perdavimas į ląstelės išorę sumažėja 80 % [2]. Taip pat tyrimų metu buvo įrodyta, kad bedeguonėje aplinkoje susidaro elektrai laidūs nano-siūleliai, kuriais bakterijos prisijungia prie arčiausiai esančio elektronų akceptorius, pavyzdžiui elektrodo [5].

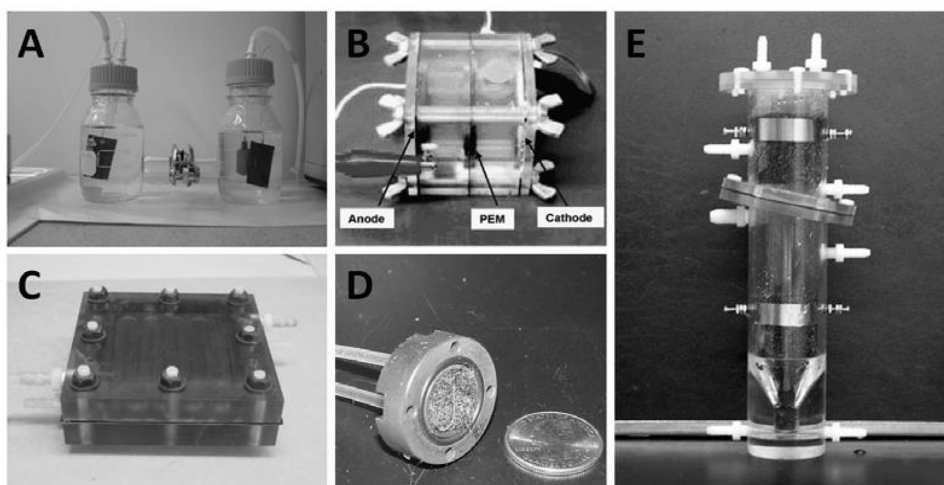
1.3 Mikrobinių kuro elementų konstrukcija

Mikrobinių kuro elementų dizainas yra labai įvairus ir tai turi didžiulę įtaką generuojamos srovės dydžiui, Kuloniniam efektyvumui, stabilumui ir ilgaamžiškumui. Tipinis MKE susideda iš anodo ir katodo, kurie yra atskirti protonams laidžia membrana, o elektrodai yra sujungiami per atitinkamo dydžio varžos rezistorių ir sudaro uždarą elektros grandinę. Iš šių komponentų yra sudaromos įvairių konstrukcijų ir tipų sistemos [6].

1.3.1 Dviejų skyrių MKE

Dažniausiai pasitaikanti dviejų skyrių MKE sistema būna „H“ formos, sudaryta iš 2 talpų, kurios sujungtos per protonams laidžią membraną (PLM). Didžiausias šios konstrukcijos privalumas yra mažas PLM paviršius, atskiriantis dvi kameros puses. Tiesa, šio dizaino MKE turi didelę vidinę varžą,

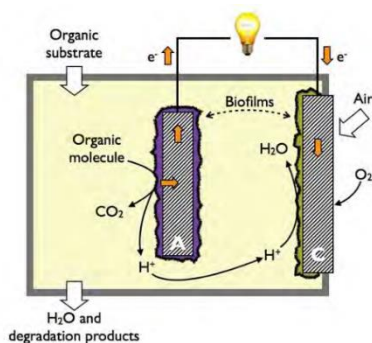
nes PLM pasižymi nedideliu paviršiaus plotu, o elektrodai yra ganėtinai toli vienas nuo kito (pav. 1.3. A). Norint sumažinti vidinę sistemos varžą, buvo didinamas PLM paviršiaus plotas, o atstumas tarp elektrodų mažinamas iki minimalaus. Taip buvo sukurti kubo (1.3. pav. B) tipo ir plokščio (1.3. pav. C) tipo MKE, kuriuose atstumas tarp elektrodų priklauso tik nuo protonams laidžios membranos storio, o tai leidžia padidinti generuojamos įtampos dydį [7]. Šie dviejų skyrių MKE dažniausiai naudojami kaip serijinio tipo sistemos, kurios laboratoriniuose tyrimuose padeda nustatyti tinkamiausią substratą, mikroorganizmų kultūrą, elektrodų ar membranų tipus, sąlygojančius palankiausias sąlygas elektros energijos generavimui. Vamzdinės formos MKE (1.3. pav. C) yra naudojami nepertraukiamam elektros generavimui, jų konstrukcija yra daug pranašesnė didinant sistemos mastelį. Abi elektrodų kameros yra užpildytos tinkline stikline anglimi ir atskirta PLM, kuri pakreipta 15° tam, kad anodinėje kameroje nesikaupytų pašaliniai oro burbuliukai [7].



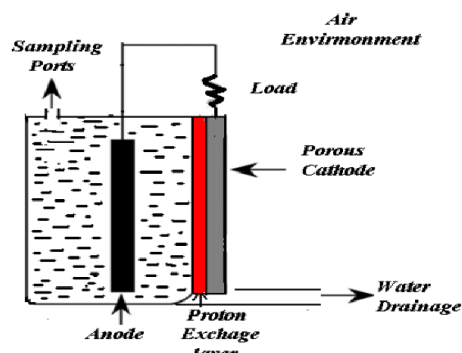
1.3 pav. Dviejų kamerų mikrobiniai kuro elementai (A – „H“ formos, B – Kubo tipo, C – plokščio tipo, D – mikro tipo, E – nepertraukiamos tėkmės reaktorius) [7].

1.3.2 Vieno skyriaus MKE

Vieno skyriaus MKE katodas nėra atskirame skyriuje su užpildytu katolitu ir jie gali veikti tiek su protonams laidžia membrana, tiek ir be jos. Šioje sistemoje katodas tiesiogiai kontaktuoja su ore esančiu deguonimi. Vieno skyriaus MKE yra pranašesni už dviejų skyrių tuo, kad jų konstrukcija yra daug paprastesnė, gamybos sąnaudos mažesnės, o katolito aeracija nėra reikalinga.



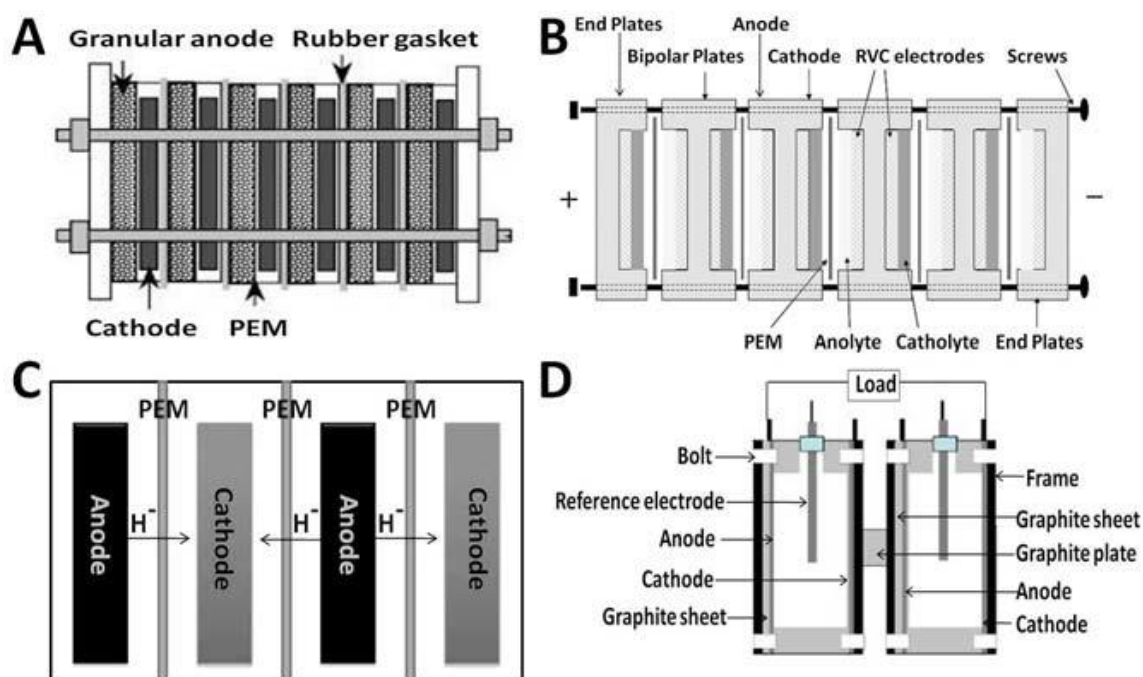
1.4 pav. Vieno skyriaus MKE be protonams laidžios membranos [8]



1.5 pav. Vieno skyriaus MKE su protonams laidžia membrana [9]

1.3.3 Tarpusavyje sujungtų MKE sistemos

Nors MKE tiesioginiu būdu gali generuoti elektros energiją iš organinių medžiagų, tačiau elektros energijos generavimas yra labai apribotas dėl sukuriamos žemos įtampos ir jėgos tankio. Tarpusavyje sujungtų MKE sistemos, ar būtų sujungtos nuosekliai, ar lygiagrečiai, ar kombinuotai, nepakeičia individualių elementų Kuloninių koeficientų. Sujungtos dvi vieno skyriaus sistemos per papildomą katijonams laidžią membraną, elemento bendrą generuojamą įtampą padidina dvigubai, o vidinę elemento varžą sumažina per pusę [7,8]. Kaip bebūtų, įtampos kitimas ir elementų nevienodumas išlieka didele šių sistemų problema. Dėl substrato mažėjimo, nuosekliai sujungtų MKE sistemoje atsiranda nestabilumą, kurie kartais sukuria neigiamą įtampą atskiruose elementuose. Tai turi didelės įtakos bendram elektros energijos generavimui [7].



1.6 pav. Tarpusavyje sujungtos MKE sistemos. A – 6 atskiri elementai sujungti į vieną bendrą sistemą; B – bipolinis MKE; C – 2 MKE sujungti per papildomą katijonams laidžią membraną; D – tarpusavyje sujungtos 2 MKE kameros [7]

1.4 MKE konstrukcinės medžiagos

Egzoelektrogeninės bakterijos, naudojamos MKE, yra inokuliuojamos anodinėje kameroje, kurioje vėliau prie anodo paviršiaus susidaro jų biologinė plėvelė ir vyksta elektronų perdavimo procesas. Dėl šių vykstančių procesų idealiausias anodas turi turėti didelį elektrinį laidumą ir paviršiaus plotą, turi būti inertinis, pigus ir lengvai pagaminamas. Atsižvelgiant į šiuos specifinius elektrodų reikalavimus, MKE naudojami anodai yra pagaminti anglies, grafito, elektrai laidaus polimero ar metalų pagrindu (žr. lentelė 1.1) [7].

1.1 lentelė. Dažniausiai MKE naudojamų elektrodų medžiagų privalumai ir trūkumai [7].

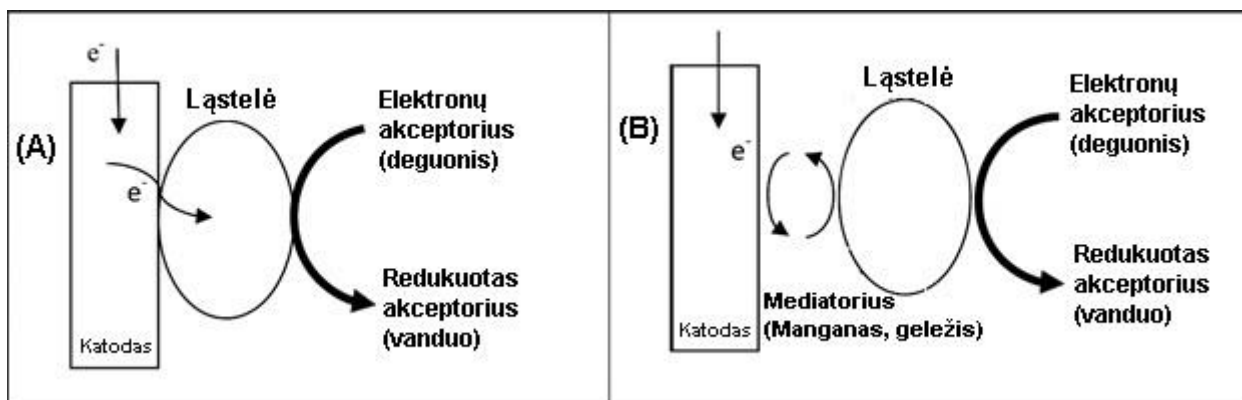
Medžiaga	Privalumai	Trūkumai
Anglies popierius	Aukštas laidumas	Trapus, mažas paviršiaus plotas, brangus

Medžiaga	Privalumai	Trūkumai
Anglies pluoštas	Aukštas laidumas, lankstus, didelis paviršiaus plotas	Brangus
Tinklinė stiklinė anglis	Aukštas laidumas, aukštas poringumas, didelis paviršiaus plotas	Trapus
Grafito lazdelė	Aukštas laidumas, apibrėžtas paviršiaus plotas	Mažas paviršiaus plotas, brangus
Grafito veltinis	Aukštas laidumas, didelis poringumas, didelis paviršiaus plotas, lankstus	Mechaniškai silpnas
Grafito granulės	Pigus, didelis poringumas, didelis paviršiaus plotas	Didelė varža
Grafito pluoštas	Aukštas laidumas, didelis poringumas, didelis paviršiaus plotas, lankstus	Brangus
Laidūs polimerai	Didelis paviršiaus plotas, lankstūs	Mažas laidumas
Nerūdijantis plienas	Aukštas laidumas, mažas kaina	Prastas bakterijų prisivertinimas, maža generuojama įtampa

Norint padidinti anodo veiksmingumą, yra atliekamos jo medžiagos modifikacijos. Anglies pluoštą paveikus amoniako dujomis 700 °C temperatūroje 60 minučių yra dvigubai sumažinamas MKE inokuliacijos laikas ir padidinamas jėgos tankis. Taip atsitinka dėl teigiamai įkraunamo anodo paviršiaus. Taip pat anodo tinklę paveikus 450 °C temperatūra 30 minučių yra sumažinamas deguonies ir anglies santykis bei pašalinami nešvarumai, kurie trukdo perduodant elektronus. Kitas elektrodo modifikavimo metodas remiasi elektrocheminės oksidacijos procesu paveikus grafito pluošto veltinį anodine 30 mA/cm² elektros tankio srove 12 valandų. Šiuo metodu yra sukuriama naujos karboksilinės jungtys veltinio paviršiuje, kurios sudaro stiprius vandenilinius ryšius su peptidinėmis jungtimis bakterijų citochromuose. Taip modifikuotų MKE generuojamos elektros srovės stipris yra 39,5 % didesnis palyginus su MKE, kurių anodas nėra modifikuotas [7].

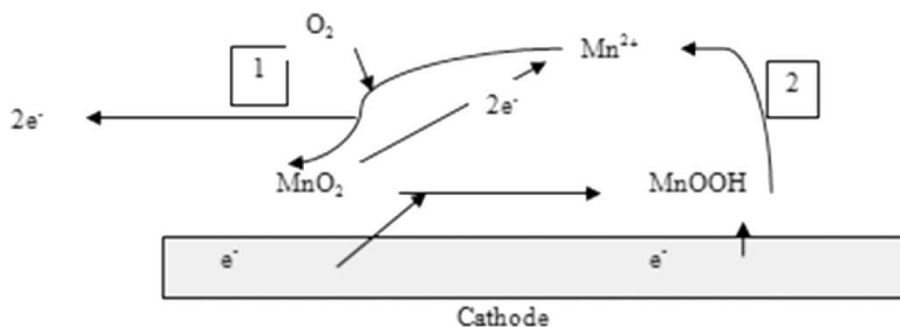
Katodo medžiaga gali būti tokia pati kaip ir anodo (ar bet kuri paminėta 1.1 lentelėje), jei galutinis elektronų akceptorius yra ne deguonis, o ferocianidas, mangano dioksidas ar kitos medžiagos. MKE sistemose, kuriose galutinis elektronų akceptorius yra deguonis, dažniausiai naudojama platina ar ja dengti metalai, nes šis metalas turi puikias katalitines savybes ir lengvai katalizuoja deguonies redukcijos reakcijas. Tačiau ji yra sunkiai pritaikoma praktikoje dideliuose įrengimuose dėl savo aukštos kainos [7].

Norint išvengti brangių metalų naudojimo, buvo pasitelktos bakterijos kaip biokatalizatoriai katodinėje kameroje. Tokie katodai yra vadinami biokatodais ir gali būti naudojami tiek aerobinėse, tiek anaerobinėse sąlygose. Aerobiniuose biokatoduose aerobai katalizuoja pereinamųjų metalų jonų, tokių kaip Fe⁺² ir Mn⁺², oksidaciją deguonimi. Anaerobiniuose katoduose pasitelkiami anaerobiniai arba fakultatyviniai mikroorganizmai, kurie geba redukuoti bedeguonius oksidantus, tokius kaip nitrata, nitrita, sulfata, geležį, manganą, seleną, arseną ar anglies dioksida. Šios medžiagos naudojamos kaip galutiniai elektronų akceptoriai [7].



1.7 pav. (A) tiesioginio elektronų perdavimo schema iš katodo į mikroorganizmą per membranoje laidžius citochromus; (B) netiesioginis elektronų perdavimas su egzogeniniais ir endogeniniais mediatoriais [10].

Elektronų perdavimas juose gali vykti dvejais būdais: tiesioginio kontakto metu ir per mediatorių. Pirmasis būdas reikalauja, kad būtų tiesioginis fizinis kontaktas tarp mikroorganizmo membranos ir katodo. Elektronas iš katodo tiesioginiu būdu yra perduodamas bakterijai per išorinės membranos paviršiuje esančias redokso makromolekules – citochromus. Kai kurių mikroorganizmų membranos nėra laidžios ir negali gauti elektronų dėl membranos paviršiuje esančių nelaidžių lipidų, peptidoglikanų ir lipopolisacharidų. Šio tipo bakterijoms yra reikalingi mediatoriai, kurie gali būti sekretuojami pačių mikroorganizmų (endogeniniai mediatoriai) ir gali būti papildomai pridunami į sistemą (egzogeniniai mediatoriai). Tarp egzogeniniai mediatoriai, tokie kaip mangano ar geležies jonai, yra dažnai naudojami efektyviam elektronų pernešimui. Elektronų perdavimo ciklas prasideda mangano dioksidui (MnO_2) prisijungus elektroną iš katodo ir vykstant redukcijai iki $MnOOH$. Prisijungus dar vienam elektronui susidaro Mn^{2+} jonas, kuris yra oksiduojamas katodo kameroje esančių bakterijų. Taip ciklas kartojasi ir yra sukuriamas potencialų skirtumas [10].



1.8 pav. Biokatodo kameroje vykstančios redokso reakcijos schema. (1) Bakterijos oksiduoja mangano jonus iki mangano dioksido; (2) Mangano dioksido redukcija prisijungus elektronus iš katodo [10].

1.5 Azoto turinčių junginių fragmentų prijungimas prie elektrodų paviršiaus

Dažniausiai MKE anodams naudojamos medžiagos yra pagamintos anglies pagrindu (anglies plokštelės, audinys, pluoštas, aktyvinta anglis, putos, popierius, grafito pluošto veltinis), tačiau tokio tipo elektrodai nedavė tinkamo rezultato. Dėl šios priežasties buvo sukurti metodai anodo paviršiaus modifikavimui, siekiant pagerinti anodo savybes ir mikroorganizmų prisitvirtinimą [11]. Remiantis funkcinio mechanizmu, paviršiaus modifikavimo metodus galima skirstyti į cheminius, elektrocheminius ir hibridinius. Cheminiai metodai yra dažniausiai naudojami dėl paprastumo ir mažos kainos [12]. Anglies pagrindu pagamintas elektrodas buvo kaitinamas aukštoje temperatūroje amoniako aplinkoje. Prisijungusios azoto turinčios funkcinės grupės pagerino anodo biologinės

plėvelės susidarymą ir padidino MKE generuojamos energijos efektyvumą [13]. Taip pat, 30 min grafito pluošto veltinį veikiant 450 °C temperatūroje oro aplinkoje, susidariusios azoto ir deguonies grupės padidino GPV hidrofiliškumą ir sudarė teigiamą krūvį turintį paviršių [14].

Dar vienas būdas, leidžiantis modifikuoti elektrodo paviršių, remiasi įmirkymu ir kaitinimu cheminio junginio tirpale [15]. Tyrimų metu skirtingi grafito veltiniai buvo veikiami amoniako tirpalu, azoto ir sieros rūgšties tirpalu (masės santykiu 1:1), karbamido milteliais ir 3 val. kaitinami 180 °C. Įvertinus modifikuotų anodų efektyvumą, generuojant elektros energiją mikrobiniuose kuro elementuose bei anodų elementinę sudėtį po modifikavimo, buvo nustatyta, kad aukščiausia įtampa buvo generuojama MKE su didžiausia elementinio azoto koncentracija anodo paviršiuje [11].

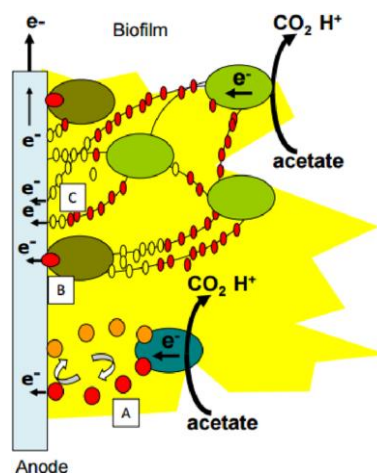
Be to, buvo atlikti MKE efektyvumo tyrimai, kuriuose anodas buvo modifikuotas su organiniais aminais. Šio proceso pradžioje GPV paviršius buvo elektrochemiškai oksiduojamas, o vėliau modifikuojamas su skirtingais organiniais junginiais. Nustatyta, kad MKE, kurio anodas buvo modifikuotas su *p*-fenilendiaminu, generavo 20 % aukštesnę įtampą palyginus su MKE, kuriame anodas buvo iš nemodifikuoto GPV. Taip pat inokuliacijos laikas modifikuotame MKE sutrumpėjo 3,5 karto palyginus su kontroliniu MKE [16].

1.6 Elektronų perdavimo mechanizmas

Elektronų perdavimas anodui iš egzoelektrogenų anodinėje kameroje yra panašus į katodinėje kameroje vykstantį procesą ir gali būti tiek tiesioginis, tiek netiesioginis [17]. Netiesioginio perdavimo metu norint perduoti elektronus egzoelektrogenai ir elektrodas neprivalo fiziškai kontaktuoti. Šiame perdavimo metode dalyvauja dalelės, vadinamos mediatoriais, kurios prisijungia elektroną ir perduoda jį elektrodui. Šie mediatoriai gali būti endogeniniai bei egzogeniniai [7]. Daugelis bakterijų (pvz., *Shewanella oneidensis*, *Pseudomonas alcaliphila*, *Pseudomonas aeruginosa*) gali sekretuoti redokso mediatorius ir taip sukurti elektros energiją. Vienas iš jų yra mėlynasis pigmentas piocianinas, kuris dalyvauja elektrocheminėse reakcijose ir yra išskiriamas *P. aeruginosa* bakterijų [17]. Taip pat, elektronų perdavime gali dalyvauti ir bakterijų, tokių kaip *Escherichia coli* K12 ir *Sulfurospirillum deleyianum*, išskiriami pirminiai metabolitai – H₂ ir H₂S.

Kiti mikroorganizmai, pavyzdžiui mielės, nesekretuoja mediatorių, todėl norint sukurti potencialų skirtumą, mediatoriai yra papildomai pridedami į anodinę kamerą. Dažniausiai yra naudojami tokie mediatoriai kaip metileno mėlis, metilo raudonasis, metilo oranžinis ir aminų pagrindu sudaryti junginiai kaip polidopaminas ir polietileniminas [18]. Didžiausias dirbtinių mediatorių minusas – sistemą būtina periodiškai jais pildyti, nes šie mediatoriai dažniausiai yra nestabilūs, o tai didina kaštus. Taip pat, dėl savo oksidacinių-reducinių savybių jie gali kelti pavojų aplinkai [7].

Kitas tiesioginis elektronų perdavimo būdas gali vykti tik tada, kai yra tiesioginis fizinis kontaktas tarp elektrochemiškai aktyvių mikroorganizmų sienelės ir anodo paviršiaus. Šis elektronų perdavimas vyksta per ląstelės sienelėje esančius c-tipo citochromus. Šio būdo didžiausias trūkumas yra tas, kad elektronus perduoti gali tik vienas ląstelių sluoksnis, todėl generuojamos elektros energijos dydis tiesiogiai priklauso nuo elektrodo paviršiaus ploto [7]. Prie tiesioginio elektronų perdavimo dar priskiriamas ir perdavimas per elektrai laidžius biologinius laidus (*pili*), kurie gali jungti elektrochemiškai aktyvias ląsteles su elektrodu. Pagrindinė jų sudedamoji dalis, leidžianti perduoti elektronus, yra aromatinės amino rūgštys [19].



1.9 pav. Egzoelektrogenų elektronų perdavimo būdai. A – netiesioginis perdavimas per mediatorius; B – tiesioginis perdavimas fizinio kontakto metu; C – tiesioginis perdavimas per elektrai laidžius biologinius laidus [19].

1.7 Veiksniai, turintys įtakos mikrobinų kuro elementų veikimui

Mikroorganizmai ir jų metabolitai, terpės pH, aplinkos temperatūra, druskų koncentracija, substrato tipas ir koncentracija – tai vieni svarbiausių bakterijų auginimo veiksnių, kurie taip pat galioja ir mikrobiniam kuro elementams. Be to, jiems didelę įtaką daro ir inokuliuojamos kolonijos amžius, naudojamo MKE tipas (vieno / dviejų skyrių), naudojamos membranos tipas, elektronų perdavimo mechanizmas bei anodo ir katodo konstrukcinės savybės. Šie veiksniai daro didžiulę įtaką MKE veikimui ir generuojamos elektros energijos dydžiui [20].

MKE efektyvumas taip pat priklauso nuo naudojamų elektrodų savybių kaip laidumas, paviršiaus topologija, chemija, paviršiaus plotas, cheminis ir elektrocheminis stabilumas, poringumas, toksiškumas ir biologinis suderinamumas su atitinkamais mikroorganizmais [21]. Norint pagerinti šias elektrodų savybes daug dėmesio yra skiriama jų paviršiaus modifikavimui. Būtina pažymėti šiuos metodus: a) paviršiaus modifikavimas su cheminėmis medžiagomis ar polimerais padidinant elektrodo biologinį suderinamumą, atsparumą korozijai ir sumažinant grandinės varžą; b) padengiant nano-medžiagomis, kurios padidina paviršiaus plotą, skatina mikrobu augimą elektrodo paviršiuje, padidina elektros laidumą ir palengvina elektronų perdavimą; c) padidinant paviršiaus hidrofiliškumą, kas palengvina mikroorganizmų plėvelės susidarymą [22]. Taip pat MKE darbinė temperatūra ir pH daro įtaką elektroaktyvios biologinės plėvelės augimui ir generuojamos įtampos efektyvumui per mikroorganizmų metabolizmo reakcijas ir kinetiką [23]. Šie parametrai yra parenkami priklausomai nuo naudojamos inokuliacijos kultūros. [24]

1.8 Mikroorganizmų metabolizmas ir MKE potencialas

Pagrindinis parametras nulemiantis MKE potencialų skirtumą yra mikroorganizmų metabolizmo kelias, kuris gali tiek apriboti, tiek padidinti MKE efektyvumą. Vieni iš organizmų, naudojamų MKE, yra heterotrofai. Šie mikroorganizmai energiją pasigamina oksiduodami organinius junginius. Dėl egzogeninių oksidantų prisijungimo, tai yra išorinių galutinių elektronų akceptorių, galimi du anodiniame skyriuje vykstantys metabolitiniai keliai: kvėpavimo grandinė ir fermentacija. Kvėpavimo metu yra oksiduojamas substratas ir išskiriami laisvi elektronai, kurie per ląstelės išorėje esančius citochromų baltymus yra pernešami iki išorėje esančių galutinių elektronų akceptorių. Akivaizdu, kuo didesnis galutinio elektronų akceptoriaus teigiamas redokso potencialas, kuris priklauso nuo naudojamo substrato, tuo daugiau energijos gauna mikroorganizmas [20].

$$\Delta G^\varphi = nF[E^\varphi(\text{substratas}) - E^\varphi(\text{anodas})]$$

E^φ – atitinkamas biologinis potencialas

ΔG^φ – parodo laisvos energijos pasikeitimą biologiškai standartinėmis sąlygomis

1.2 lentelė. Įvairių MKE vykstančių reakcijų redokso standartiniai potencialai [20].

Oksidacinė / redukcinė pora	E° , mV
$2\text{H}^+/\text{H}_2$	-420
Feredoksinas(Fe^{3+})/feredoksinas(Fe^{2+})	-420
NAD^+/NADH	-320
$\text{MnO}_2/\text{Mn}^{2+}$	+600
$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$	+771
$\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	+820

1.9 Mikroorganizmai

Tiek mikroorganizmai, tiek fermentai gali būti naudojami generuojant elektros energiją MKE. Pasitelkiant bakterijas yra naudojami ne vienos rūšies fermentai, o tai leidžia panaudoti įvairius substratus ir jų mišinius kaip elektronų donorus. Ši mikroorganizmų savybė užtikrina galimybę panaudoti nuotekų vandenį kaip substratą MKE. Gryni fermentai yra populiarūs specifinėse ir apibrėžtose reakcijose ir gali būti panaudojami kaip biologiniai jutikliai [20]. Taip pat, jie gali greičiau oksiduoti organines medžiagas anodo skyriuje ir taip sukurti daugiau elektronų ir protonų, kurie užtikrina didesnę įtampą tarp elektrodų bei generuojamą elektros energiją. Tiesa, tokiose sistemose gali būti panaudojamas tik vienas substratas kaip elektronų ir protonų donoras ir fermentai negali užtikrinti ilgo ir stabilaus proceso dėl jų aktyvumo mažėjimo [25].

Norint pagreitinti oksidacijos-redukcijos procesą ir padidinti generuojamą įtampą, lengvai skaidomos organinės medžiagos gali būti naudojamos kaip elektronų donorai. Siekiant palengvinti sudėtingų medžiagų skaidymą ir padidinti jų įvairovę, *E. coli* bakterijos buvo genetiškai modifikuotos į jų genomą įtraukiant amyA geną, kuris sintetina amilozę. Šis fermentas katalizuoja 1,4- α -D-gliukozidinius ryšius tarp gliukozės monomerų ir taip suskaido sudėtingus polisacharidus į paprastuosius cukrus. Taip modifikuotas genomus leido ne tik padidinti generuojamą elektros įtampą naudojant krakmolą kaip substratą, bet taip pat sukūrė galimybę suskaidyti sudėtingas medžiagas, tokias kaip polisacharidai, į paprastuosius cukrus [25].

MKE galima naudoti tiek grynas bakterijų kultūras, tiek ir jų mišinius. Pastarieji yra pranašesni už grynas kultūras, nes yra atsparesni stresinėmis sąlygomis su didesnių ir įvairesnių substratų skaidymu. [20]

1.10 Substratas

MKE gali būti panaudojama didelė įvairovė substratų: nuo paprastos struktūros junginių iki komplikuočių organinių medžiagų mišinių. Tokiais atvejais, kaip bakterijų terpių sudėties tyrimai ar siekis užtikrinti vienodas bandymų sąlygas, yra naudojami gryni junginiai: celiuliozė, gliukozė,

baltymai, natrio acetatas, laktato jonai, cisteinas, butanoato jonai, glicinas ar glicerolis. Acetato jonas yra nefermentuojamas substratas ir tinkamas kaip elektronų donoras geležį redukuojančioms bakterijoms, kurios generuoja iki 66 % daugiau energijos nei sistemos su butanoato jonu [20]. Tačiau bakterijoms, augančioms anaerobinėmis sąlygomis, kaip substratas yra tinkamesnis laktato jonas. Su šiuo substratu MKE sukuria didesnę elektros srovės stiprį bei srovės tankį tiek pradinėse, tiek galutinėse bakterijų augimo stadijose (1.10 pav.) [26].

Elektronų donoras	Anodo medžiaga	Elektros gamyba			
		Pradinė srovė (mA)	Galutinė srovė (mA)	Kulono vertė ($A \times s$)	Srovės tankis (mW/m^2 anodo paviršiuje)
Laktatas	Grafito audinys	0.02	0.18	2.16	0.02
	NR-grafito audinys	0.603	1.062	17.982	9.1
	Mn ⁴⁺ grafitas	0.611	1.238	19.969	10.2
Piruvatas	Grafito audinys	0.04	0.196	2.549	0.02
	NR-grafito audinys	0.595	0.969	16.891	8.6
	Mn ⁴⁺ grafitas	0.606	1.089	18.306	9.4
Acetatas	Grafito audinys	0.02	0.134	1.663	0.02
	NR-grafito audinys	0.1	0.098	2.138	1.1
	Mn ⁴⁺ grafitas	0.23	0.071	3.251	1.6
Gliukozė	Grafito audinys	0.02	0.102	1.318	0.01
	NR-grafito audinys	0.14	0.081	1.987	1.0
	Mn ⁴⁺ grafitas	0.25	0.056	3.305	1.9

1.10 pav. Elektros srovės priklausomybė nuo naudojamo substrato *Shewanella putrefaciens* bakterijoms mikrobiniam kuro elemente [26].

Tarp daugelio substratų nuotekų vanduo taip pat gali būti naudojamas kaip substratas mikrobiniuose kuro elementuose. Atlikti tyrimai rodo, kad elektra gali būti tiesiogiai generuojama iš kompleksinių organinių junginių, esančių buitinėse, fermų, pieno pramonės, skerdyklų, ryžių apdirbimo, odos pramonės, melasos pramonės, naftos perdirbimo, alaus pramonės, vyno pramonės ir kitose gamybinėse nuotėkose. MKE taip pat gali būti panaudojami pašalinant sulfidus ir nitratus iš nuotekų vandens [20].

1.11 Veikimo aplinkos sąlygos

Temperatūra, pH, druskų koncentracija ir joninės jėgos yra vieni svarbiausių faktorių, darančių įtaką bakterijų augimui, kurie taip pat turi įtakos ir MKE veikimui. Įprastai MKE veikia švelniomis sąlygomis: kambario temperatūroje, normaliam slėgyje ir neutraliam pH [20].

Pastebėtina, kad švelniai bazinės sąlygos (pH= ~7,5) yra palankiausios elektros energijos generavimui ir organinių medžiagų skaidymui. Dėl mažos protonų koncentracijos neutralaus pH terpėje vidinė MKE varža yra ganėtinai didelė, palyginus su rūgštiniais ar šarminiais elektrolitais. Jai sumažinti yra naudojamos druskos, didinančios elektrolito laidumą ir taip sumažinančios vidinę elemento varžą. Įrodyta, kad didinant NaCl koncentraciją iki 20 g/L, vidinė elemento varža sumažinama 33 %, o elektros generavimas padidinamas 30 % [20].

MKE veikimui didelės įtakos turi ir temperatūra, nuo kurios priklauso deguonies reakcijos greitis katodinėje kameroje, bakterijų kinetika anodinėje srityje ir protonų judėjimo greitis terpėje. Dažniausiai MKE naudojama kambario arba aukštesnė temperatūra (20-35 °C). Įrodyta, kad padidinus temperatūrą iki 40 °C, jėgos tankis padidėja dvigubai lyginant su veikimu 30 °C temperatūroje. Tiesa, didinant temperatūrą dar labiau, elektros generavimas drastiškai mažėja [20].

Kiti parametrai, tokie kaip hidrodinamika ir maišymas, gali turėti įtakos elektroaktyvios biologinės plėvelės susidarymui ir mikroorganizmų aktyvumui. Nustatyta, kad taikant didelius šlyties koeficientus reaktoriuje, ląstelės geba lengviau suformuoti elektrochemiškai aktyvią plėvelę ir kompaktiškiau prisitvirtinti prie elektrodo paviršiaus [27]. Taip pat, atliekant tyrimus su *Geobacter sulfurreducens* bakterijomis, buvo nustatyta, kad didinant šlyties lygį sumažėja biologinės plėvelės susidarymo laikas ir pagreitėja mikroorganizmų metabolizmas [28].

1.12 Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Apibendrinus teorinę dalį pastebima, kad MKE veikimo efektyvumui didelę įtaką daro jų konstrukcinės specifikacijos, naudojami elektrodai ir jų modifikacijos, bakterijų kultūra ir jų amžius, anolito ir katolito sudėtis bei jų tekėjimo greitis, pH, temperatūra, biologinės plėvelės formavimasis, šlyties jėgos, elektronų perdavimo mechanizmas ir daug kitų. Ši gausa faktorių lemia užsitęsusių sudėtingus MKE tyrimus ir jų panaudojimą didelės skalės operacijose. Tiesa, platus technologinis pritaikymas ir galimybė tiesioginiu būdu gauti „švarią“ energiją sulaukia vis daugiau mokslininkų ir investuotojų susidomėjimo. Tyrimo metu bus siekiama nustatyti modifikuotų GPV anodų su skirtingais organiniais aminais veikimo efektyvumą MKE. Be to, atliekant tyrimus bus įvertinama natrio chlorido koncentracijos įtaką anolito terpėje MKE generuojamos įtampos dydžiui.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1 Tyrimams naudotos medžiagos

2.1 lentelė. Tyrimams naudotos medžiagos

Pavadinimas	Cheminė formulė
Natrio chloridas	NaCl
Triptonas	-
Mielių ekstraktas	-
Kalcio dichloridas	CaCl ₂
Natrio laktatas	CH ₃ CH(OH)COONa
Kalio chloridas	KCl
Natrio sulfatas	Na ₂ SO ₄
Bakterinis peptonas	-
Kalio vandenilio fosfatas	K ₂ HPO ₄
Natrio vandenilio fosfatas	Na ₂ HPO ₄
Natrio divandenilio fosfatas	NaH ₂ PO ₄
Wolfe's vitaminai*	-
Wolfe's mineralai**	-
L-glutamino rūgštis	C ₅ H ₉ NO ₄
L-arginino rūgštis	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂
Natrio hidroksidas	NaOH
Sieros (sulfato) rūgštis	H ₂ SO ₄
1,3-benzendimetanaminas	C ₈ H ₁₂ N ₂
4-metilbenzeno-1,3-diaminas	C ₇ H ₁₀ N ₂
3-amino-1,2,4-triazolas	C ₂ H ₄ N ₄
3-aminopiridinas	C ₅ H ₆ N ₂
Grafito pluošto veltinis (AvCarb G200)	C

Reagentų sudėtis:

*Wolfe's vitaminai: 10 mg/L piridoksino hidrochlorido, 5 mg/L tiamino hidrochlorido, 5 mg/L riboflavino, 5 mg/L nikotino rūgšties, 5 mg/L kalcis D - (+) – pantotenato, 5 mg/L p-aminobenzenkarboksirūgšties, 5 mg/L tioktinių rūgšties, 2 mg/L biotino, 2 mg/L folio rūgšties, 0,1 mg/L vitamino B12.

**Wolfe's mineralai: 1,5 g/L nitrilotriacino rūgšties, 3,0 g/L MgSO₄·7H₂O, 0,5 g/L MnSO₄·H₂O, 1,0 g/L NaCl, 0,1 g/L FeSO₄·7H₂O, 0,1 g/L CoCl₂·6H₂O, 0,1 g/L CaCl₂, 0,1 g/L ZnSO₄·7H₂O, 0,01 g/L CuSO₄·5H₂O, 0,01 g/L AlK(SO)₄·12H₂O, 0,01 g/L H₃BO₃, 0,01 g/L Na₂MoO₄·2H₂O.

2.2 Naudota aparatūra

- Laminaras „Telstar BV-100“;
- Traukos spinta;
- Svarstyklės „Shimadzu“;

- pH metras „WinLab“;
- Centrifuga „Hettich Universal 320R“;
- Autoklavas „CetroClav“;
- Spektrofotometras „Shimadzu UV-1280“;
- Termostatuojantis kratytuvas „BIOSAN ES-20“;
- Magnetinė maišyklė „Heidolph MR Hei-Tec“;
- Kaitlentė-magnetinė maišyklė;
- Purtyklė „BIO Vortex V1“;
- Oro pompa „SCHEGO® M2K3-Art. Nr. 739“;
- 6 peristaltinės pompos „BS100-1AQ“;
- 1 peristaltinė pompa „Watson marlow“;
- Duomenų kaupiklis USB TC-08 „Pico®Technology, JK“;
- Personalinis kompiuteris;
- Nuolatinės srovės šaltinis „Matrix MPS-3005S“.

2.3 Grafito pluošto veltinių oksidavimas nuolatine elektros srove

Atliekant grafito pluošto veltinio (GPV) paviršiaus modifikavimą, iš pradžių buvo atliekamas grafito pluošto veltinio oksidavimas. Šiam procesui buvo sukonstruotas srautinis elektrocheminis reaktorius (SER) su dviem kameromis atskirtomis jonams laidžia membrana Nafion® NRE-212 ir skysčiui laidžiais tinkeliais. Pirmiausia GPV buvo išmirkomas 15% propan-2-olio tirpale ir palaikomas 30 minučių. Išmirkytas GPV buvo perplaunamas distiliuotu vandeniu. Paruoštas GPV buvo oksiduojamas anodinėje kameroje, o pagalbinio SER elektrodu (katodu) buvo naudojamas taip pat GPV. Elektrocheminė oksidacija buvo vykdoma kambario temperatūros ($t=20\pm 1^{\circ}\text{C}$) 10 % koncentracijos sieros rūgšties H_2SO_4 vandeniniame tirpale, kuris buvo cirkuliuojamas per SER kameras dviejų kanalų peristaltiniu siurbliu (Watson marlow) ir palaikomas 6,18 l/h tirpalo tekėjimo debitas. Anodinėje SER dalyje esantis elektrodas buvo prijungiamas prie teigiamo polio, o katodinėje dalyje – prie neigiamo polio. Uždaroje elektros grandinėje buvo prijungiamas nuolatinės srovės šaltinis ir automatinis jungiklis. Jų pagalba buvo nustatyta nuolatinė srovė ir nuolatinės srovės įtampos impulsai nuo $U_{\min} = 0 \text{ V}$ iki $U_{\max} = 3,75 \text{ V}$ ir/ar $U_{\max} = 4,0 \text{ V}$, kai $\tau_{ij} = \tau_{isj} = 1 \text{ s}$. Tolygesniam procesui užtikrinti srauto tekėjimo kryptis buvo periodiškai keičiama (reversuojama) kas 15 min. Tokiu būdu vykdytos GPV elektrodo elektrocheminės oksidacijos trukmė – 2 h. Oksiduotas GPV buvo gerai praplautas distiliuotu vandeniu ir išdžiovintas 60°C temperatūroje.



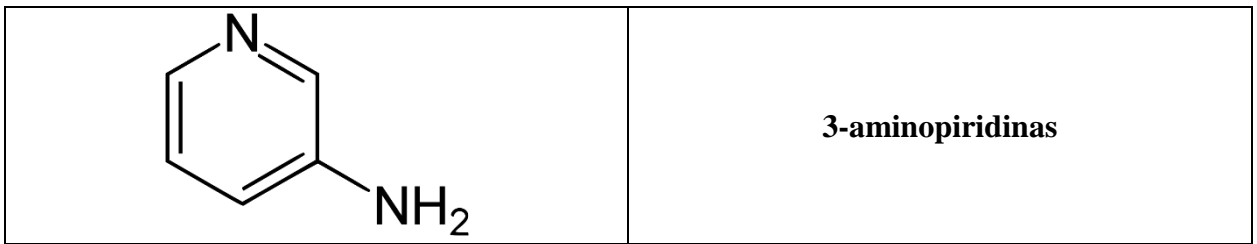
2.1 pav. Grafito pluošto veltinių oksidavimui skirta sistema: automatinis jungiklis, srautinis elektrocheminis reaktorius (SER), nuolatinės srovės šaltinis, peristaltinis siurblys (iš kairės į dešinę).

2.4 Azoto turinčių junginių prijungimas prie oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus

Oksiduotas GPV buvo veiktas 0,1 mol atitinkamo amino (*m*-ksililendiamino (KDA, 1,3-benzendimetanamino), 2,4-diaminotolueno (DAT, 4-metilbenzeno-1,3-diamino), 3-aminopiridino (APD), 3-amino-1,2,4-triazolo (ATA)) tirpalu dimetilformamide (DMF) 50 °C temperatūroje 3 h. Reakcijoje naudota organinio amino masė buvo atitinkamai 13,620 g, 12,27 g, 9,412 g ir 8,408 g.

2.2 lentelė. GVP paviršiaus modifikavimui naudotų organinių aminų struktūrinės formulės.

Struktūrinė formulė	IUPAC pavadinimas
	1,3-benzendimetanaminas
	4-metilbenzeno-1,3-diaminas
	3-amino-1,2,4-triazolas



2.5 FTIR ir SEM-EDS analizė

Grafito pluošto veltinio ir elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio Furje transformacijos infraraudonųjų spindulių (FTIR) spektrai užrašyti Perkin–Elmer Spectrum BX FT–IR spektrometru, naudojant KBr tabletes. Morfologiniai grafito pluošto veltinio paviršiaus tyrimai atlikti naudojant skenuojamąjį elektroninį mikroskopą (SEM) Hitachi S-3400N. Grafito pluošto veltinio paviršiaus elementinės sudėties analizė atlikta, naudojant į elektroninį skenuojantį mikroskopą (Hitachi S-3400N) integruotą elementų energijos dispersijos spektro (EDS) analizatorių Bruker EDX: Quad Detector 5040.

2.6 Ampulės atidarymas su išdžiovintomis *Shewanella putrefaciens* bakterijomis ir kultūros atgaivinimas

Bandymų metu buvo panaudojamos *Shewanella putrefaciens* (Lee et al. 1981) MacDonell ir Colwell 1986 bakterijos iš Vokietijos mikroorganizmų ir ląstelių kultūrų instituto DSMZ (DSM Nr. 1818).



2.2 pav. Ampulė su išdžiovinta ir dehidratuota bakterijų kultūros granule [14].

S. putrefaciens bakterijos buvo talpinamos išdžiovintoje ir dehidratuotoje granulėje ampulės viduje, kurioje buvo sudarytas pilnas vakuumas. Taip bakterijų kultūra buvo visiškai izoliuota nuo oro ir drėgmės (2.2 pav.). Atgaivinant taip saugomas bakterijas, reikia atlikti atitinkamus veiksmus ampulei atidaryti [14]:

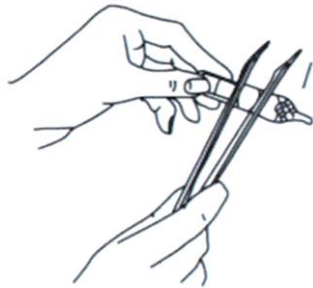
- Pakaitinama ampulės viršutinė dalis. Proceso metu būtina dėvėti apsauginius akinius [14];



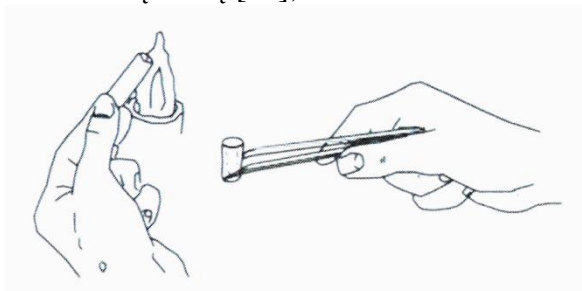
- Ant įkaitusios ampulės viršutinės dalies yra užlašinami keli vandens lašai, kad ampulės stiklas įskiltų [14];



- Naudojant skalpelį ar metalinį pincetą, nuskeliama viršutinė ampulės dalis [14];



- Pincetu atsargiai yra pašalinama izoliuojanti medžiaga ir išimama vidinė ampulė [14];
- Vidinės ampulės viršutinė dalis yra pakaitinama virš liepsnos, prieš tai pašalinus medvilninį kaištį [14];



- Įpilama 0,5 mL specialiai paruoštos terpės. Tada medvilninis kaištis grąžinamas ir paliekamas 30 minučių [14];
- Gautas turinys sumaišomas ir perpilamas į mėgintuvėli su 5 ml specialios terpės [14];
- Dalis mėgintuvėlio mišinio persėjamas į tris atskiras Petri lėkšteles;

- Bakterijos Petri lėkštelėse inkubuojamos 30 °C temperatūroje 24 valandas.



Persėjant į Petri lėkšteles, papildomai buvo naudojamas mikroagaras (15 g/L).

2.3 lentelė. Specialiosios *S. putrefaciens* bakterijų atgaivinimo terpės sudėtis

Terpės komponentas	Kiekis
NaCl	10 g
Tryptonass	10 g
Mielių ekstraktas	5 g
Distiliuotas vanduo	1000 mL
pH=7.2	

2.7 *Shewanella putrefaciens* bakterijų paruošimas

Mikrobiniuose kuro elementuose buvo naudojamos *Shewanella putrefaciens* bakterijos. Jos buvo pasodintos Petri lėkštelėse specialioje atgaivinimui skirtoje terpėje (žr. 2.3 lentelė) ir inkubuotos 30°C temperatūroje 24 val. Bakterijų kolonijos buvo baltos spalvos apie 1-2 mm dydžio. Terpės pH buvo sureguliuotas panaudojant 1M NaOH ir 0,5M H₂SO₄ tirpalus.

Iš trijų Petri lėkštelių buvo išrinkta viena lėkštelė, kurioje geriausiai matėsi atskiros kolonijos ir jos buvo perkeltos į 8 50 ml mėgintuvėlius su 15 ml skysta LB terpe (žr. 2.4 lentelė). Mėgintuvėliai su bakterijomis buvo inkubuojami 30 °C temperatūroje, maišomi 100 aps./min. greičiu ir laikomi 24 val. Po to išmatuota jų šviesos sugertis prie 600 nm bangos ilgio ir praėjus 48 val nuo persėjimo matavimai buvo pakartojami.

Po 48 val iš gautų 8 mėgintuvėlių rezultatų buvo atrenkami 2 didžiausias ir 2 mažiausias kolonijas užauginę mėgintuvėliai su bakterijomis. Vėliau jie buvo sumaišomi ir vėl išpilstomi atgal po 15 ml kiekviename mėgintuvėlyje. Šiuo būdu buvo užtikrinama, kad visuose reikiamuose mėgintuvėliuose būtų kuo vienodesnis bakterijų skaičius. Vėliau jos 3000 aps./min. greičiu ir 4°C temperatūroje buvo centrifuguojamos 10 minučių ir perkeliamos į terpes.

2.4 lentelė. LB terpės sudėtis

Luria-Bertani terpė	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
NaCl	10
Triptonas	10

Luria-Bertani terpė	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
Mielių ekstraktas	5
pH=7,2	

2.8 Anolitinių terpių ruošimas ir sudėtis

Tyrimo metu buvo nustatoma natrio chlorido koncentracijos anolite įtaka MKE generuojamai elektros energijai. Tam buvo naudojama paprasta Luria-Bertani (LB) terpė ir keičiama natrio chlorido koncentracija. Ruošiant terpes buvo naudojama magnetinė maišyklė ir pH metras terpės pH matavimui. pH vertės buvo sureguliuojamos pasitelkiant 0,5 M H₂SO₄ ir 1M NaOH tirpalus.

2.5 lentelė. Fosfatinio buferio terpės su Wolfe's mineralais, Wolfe's vitaminais ir amino rūgščių tirpalu sudėtis.

Fosfatinis buferis su Wolfe's mineralais, Wolfe's vitaminais ir amino rūgščių tirpalu	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
Na ₂ HPO ₄	10,22 g
NaH ₂ PO ₄	4,37 g
NH ₄ Cl	1 g
NaCl	0,5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2,46 g
CaCl ₂	0,01 g
Natrio laktato 60 % (v/v) tirpalas	2,535 ml
Wolfe's vitaminais	2 ml
Wolfe's mineralai	2 ml
Amino rūgščių tirpalas*	2 ml
pH=7,2	

*- **Sudėtis:** L-Glutano rūgštis - 2g/L; L-Arginino rūgštis – 2g/L; Serinas - 2g/L.

2.6 lentelė. LB terpės sudėtis su padidinta natrio chlorido koncentracija

LB terpė (1)	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
NaCl	17
Triptonas	10
Mielių ekstraktas	5
pH=7,2	

2.7 lentelė. LB terpės sudėtis su padidinta natrio chlorido koncentracija

LB terpė (2)	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
NaCl	20
Triptonas	10
Mielių ekstraktas	5
pH=7,2	

2.8 lentelė. LB terpės sudėtis su padidinta natrio chlorido koncentracija

LB terpė (3)	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
NaCl	22
Triptonas	10
Mielių ekstraktas	5
pH=7,2	

2.9 lentelė. LB terpės sudėtis su padidinta natrio chlorido koncentracija

LB terpė (4)	
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
NaCl	24
Triptonas	10
Mielių ekstraktas	5
pH=7,2	

Pagamintos terpės buvo autoklavuojamos vandens garais 121 °C temperatūroje 45 min ir laikomos 24 valandas kambario temperatūroje, kad atvėstų ir sąlygos būtų palankios bakterijų augimui.

2.9 Katolito paruošimas

2.10 lentelė. Katolito (fosfatinio buferinio tirpalo, kurio pH 7,2) sudėtis.

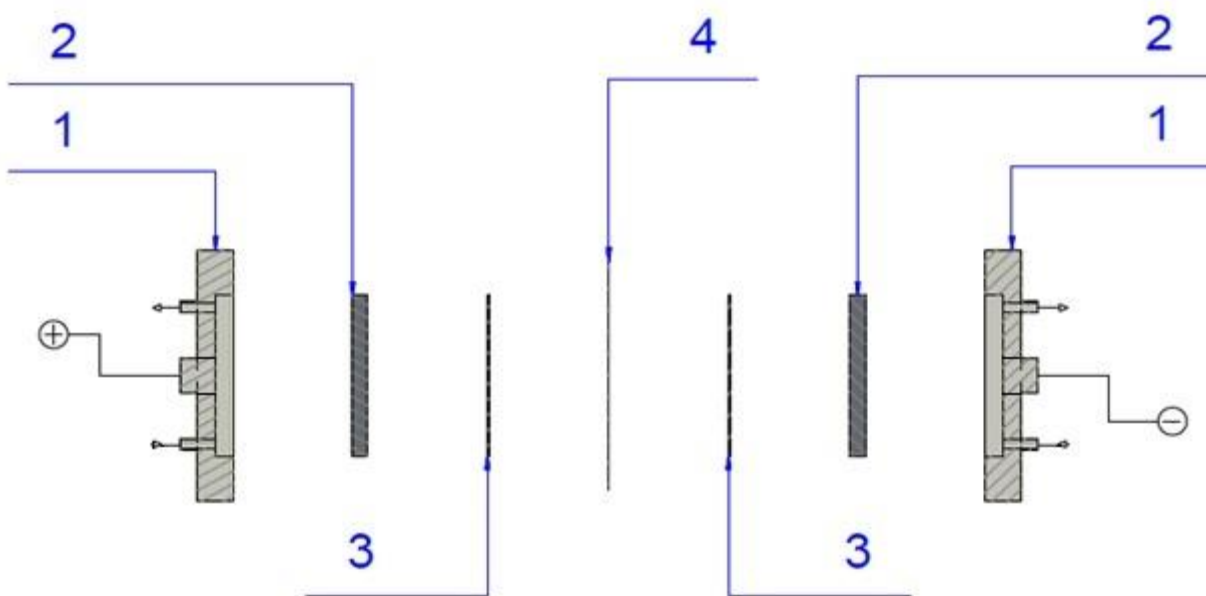
Terpės komponentai	Koncentracija g/l
Na ₂ HPO ₄	10,22
NaH ₂ PO ₄	4,37

Katolito iš karto buvo ruošiama 1200 ml. Natrio vandenilio ir natrio divandenilio fosfatams tirpinti buvo naudojama magnetinė maišyklė su kaitlente, siekiant pagreitinti ir pagerinti komponentų tirpumą distiliuotame vandenyje. Katolitas taip pat buvo autoklavuojamas tokiomis pačiomis sąlygomis kaip anolitinė terpė.

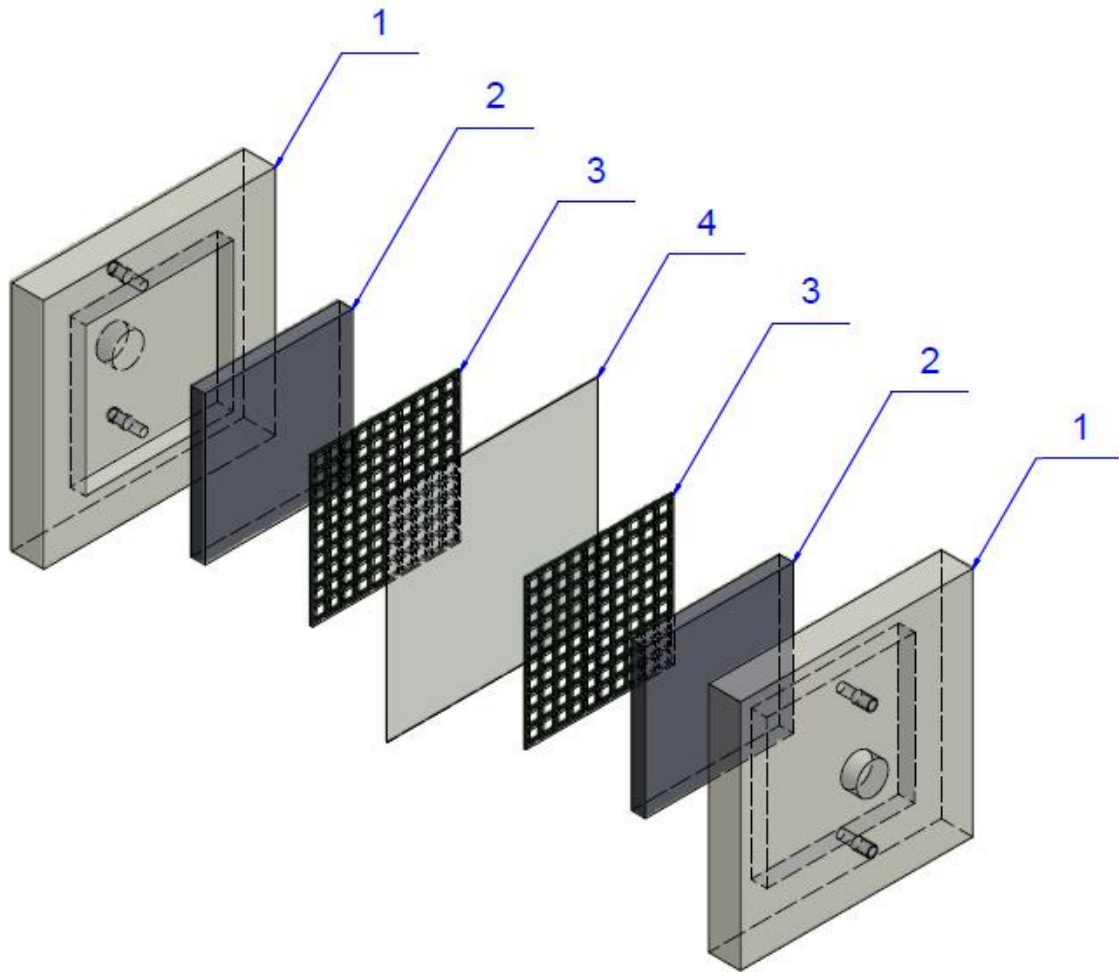
2.10 Mikrobinių kuro elementų konstrukcija

- Tyrimo metu buvo naudojami 2 skyrių mikrobiniai kuro elementai. Bendras anodinio ir katodinio skyrių tūris sudarė 63,70 cm³.
- Kaip elektrodai buvo naudojami grafito pluošto veltiniai AvCarb Felt G200, 6.5 mm storio, The Fuel Cell Store, JAV. Anodinėje kameroje buvo naudojami modifikuoti grafito pluošto veltiniai, katodinėje – paprastas grafito veltinis. Elektrodo matmenys: 7 x 7 x 0,65 cm.
- Kad grafito pluošto veltiniai nesiliestų su membrana, jie buvo atskirti papildoma pertvara – tinkleliu.
- Anodo ir katodo skyrius buvo atskirtas protonams laidžia membrana Nafion® NRE-212, The Fuel Cell Store, JAV. Membranos matmenys: 10 x 10 cm ir 127 μm storis.
- Kiekvienas MKE skyrius turi papildomus griovelius, kurie palengvina terpės pasiskirstymą po visą skyrių ir padidina sąlytį su elektrodu.

- Kiekvienas mikrobinio kuro elemento skyrius turi integruotą elektrodą su Pt viela, kuris liečiasi su skyriuje patalpintu grafito pluošto veltiniu ir taip sudaro uždara elektros grandinę.
- Terpė (anolitas) ir buferinis tirpalas (katolitas) buvo talpinami atskirose kolbose ir cirkuliuojami peristaltiniais siurbliais per atitinkamus mikrobinio kuro elemento skyrius. Anolito buvo cirkuliuojamas 6,25 ml/min debitu, o katolitas – 18,18 ml/min.
- Kolbos su anolitu ir katolitu buvo užsandarintos guminiiais kamščiais. Anolito kolbos kamštyje buvo įstatyti terpės padavimo ir grąžinimo vamzdeliai, azoto dujų padavimo vamzdelis, dujų išleidimo vamzdelis su vandens pertvara ir švirkštas bakterijų inokuliacijai ir terpės papildymui atlikti. Katolito kolbos kamštyje buvo įstatyti buferio padavimo ir grąžinimo vamzdeliai, oro padavimo vamzdelis su difuzorių tirpale ir anga pertekliniam orui pasišalinti.
- Tiek anolitas, tiek katolitas buvo tiekiamas į apatinę mikrobinio kuro elemento dalį ir grąžinamas per viršutinę užtikrinant, kad skyriuje cirkuliuojamas tirpalas pasiskirstys per visą tūrį.
- Prie kiekvieno MKE uždaros elektros grandinės buvo prijungti 2 nuosekliai sujungti rezistoriai, atitinkamai $620 \Omega (\pm 1 \%)$ ir $39 \Omega (\pm 1 \%)$. Bendra elektrinė sistemos apkrova buvo 659Ω . Tikrosios kiekvieno MKE sukuriamos įtampos ir srovės stiprio vertės buvo apskaičiuojamos taikant Omo dėsnį.
- Kintančios įtampos parodymai laike buvo fiksuojami prie įtampos daliklio 39Ω rezistoriaus prijungus įtampos matavimo duomenų kaupiklį USB TC-08 (Pico®Technology, JK), kuris buvo prijungtas prie personalinio kompiuterio. Užtikrinant duomenų fiksavimą, personalinis kompiuteris prie elektros tinklo buvo prijungtas per nepertraukiamo maitinimo šaltinį.
- Anolito ir katolito kolbos su MKE buvo sujungti silikoniniais vamzdeliais. Azotas ir deguonis taip pat buvo perduodamas per silikoninius vamzdelius.



2.3 pav. MKE struktūrinė schema: 1 – MKE korpusas; 2 – elektrodai (grafito pluošto veltinis (anodas ir katodas)); 3 – tirpalui laidūs tinkleliai; 4 – jonams laidi membrana.



2.4 pav. MKE struktūrinė schema: 1 – MKE korpusas; 2 – elektrodai (grafito pluošto veltinis (anodas ir katodas)); 3 – tirpalui laidūs tinkleliai; 4 – jonams laidži membrana.

2.11 Mikrobinių kuro elementų paruošimas prieš sistemos paleidimą

- Surinkus MKE sistemą iš pradžių anolito ir katolito rezervuarai buvo užpildomi distiliuotu vandeniu ir užtikrinama vandens cirkuliacija ne mažiau kaip 1 valandai.
- Įsitikinus, kad sistema yra sandari ir grafito pluošto veltiniai yra sudrėkinti, iš sistemos buvo išleidžiamas distiliuotas vanduo. Anodinės kameros kolba buvo užpildoma atitinkama terpe, o katodinė kamera – fosfatiniu buferiu. Kiekviena kolba buvo užpildoma 400 ml atitinkamo tirpalo ir įjungiami peristaltiniai siurbliai, kad vyktų tirpalų cirkuliacija. Vykstant terpės ir buferio pasiskirstymui, iš sistemos buvo pašalinami oro sankaupos keičiant srautų tekėjimo kryptį ir vartant MKE. Cirkuliacija be bakterijų buvo užtikrinama bent 1 valandą.
- Per švirkštą kamštyje buvo suleidžiama 15 ml terpės su bakterijomis ir pradedamas įtampos kitimo registravimas.
- Po terpės su bakterijomis įleidimo buvo pradedama leisti azoto dujos į anolito kolbą 6,25 cm³/min greičiu. Dujos buvo leidžiamos viso eksperimento metu užtikrinant anaerobines sąlygas.



2.5 pav. Mikrobinių kuro elementų sistema: 3 mikrobiniai kuro elementai su anolito ir katolito kolbomis bei peristaltiniais siurbliais, oro pompa ir personaliniu kompiuteriu.

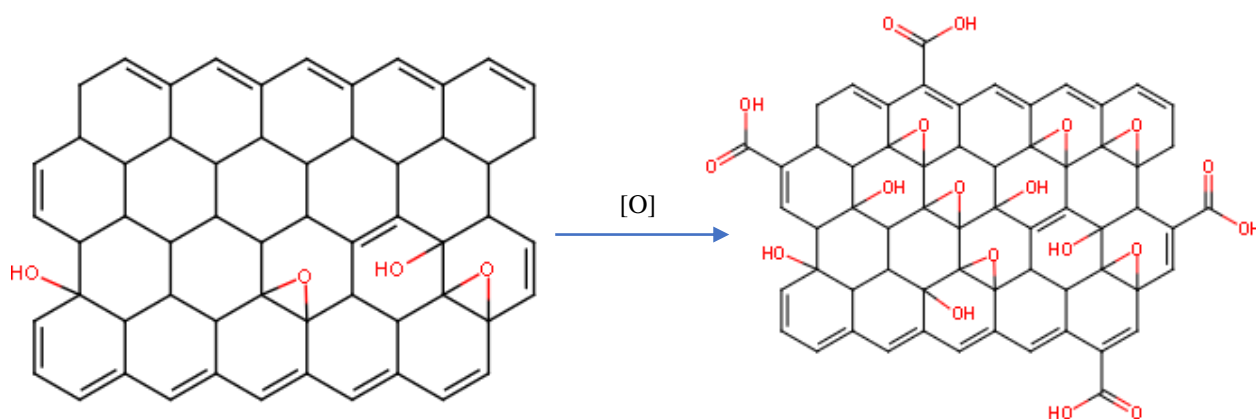
2.12 Mikrobinių kuro elementų valymas tarp sistemos paleidimų

- Nutraukus įtampos registravimą personaliniame kompiuteryje, buvo stabdomi peristaltiniai siurbliai ir oro padavimo procesas į katolito kolbas. Iš sistemos buvo išleidžiama visa terpė ir buferinis tirpalas. Kolbos, elektrodai, tinklinės pertvaros ir grafito pluošto veltiniai buvo plaunami geriamuoju vandeniu ir sterilizuojamos sotaus garo sterilizatoriuje 25 min prie 121 °C temperatūros ir 2,08 bar slėgio.
- Stikliniai vamzdeliai ir silikoninės jungtys buvo perplaunami gausiu kiekiu geriamu vandeniu ir nuskalaujami distiliuotu vandeniu. Tada visos dalys buvo užmerkiamos 15% propan-2-olio vandeniniame tirpale ir laikomos ne mažiau kaip 24 val. Stikliniai vamzdeliai ir silikoninės jungtys vėliau buvo nuskalaujamos distiliuotu vandeniu. Visos dalys buvo suvyniotos į aliuminio foliją ir sterilizuojamos sotaus garo sterilizatoriuje 25 min prie 121 °C temperatūros ir 2,08 bar slėgio.
- Išardytos MKE korpuso dalys ir neišardomos peristaltinių siurblių žarnelės buvo perplaunami gausiu kiekiu geriamu vandeniu, dezinfekuojami 96,6% etanoliu ir perplaunami distiliuotu vandeniu.

3. Tyrimų rezultatai ir jų apibendrinimas

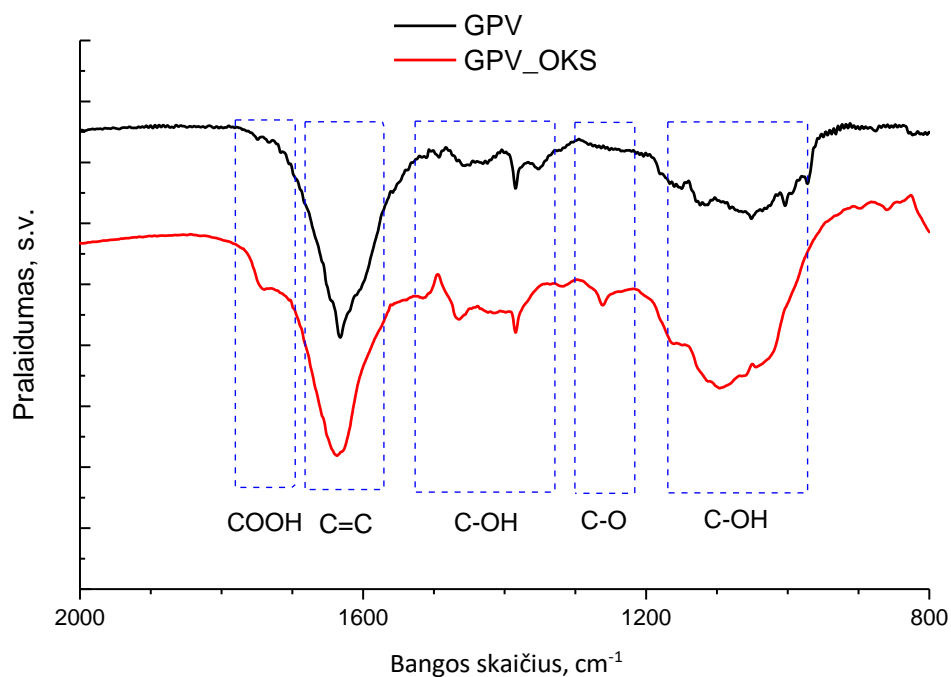
3.1 Grafito pluošto veltinio paviršiaus elektrocheminis oksidavimas

Grafito pluošto veltinio (GPV) paviršius buvo elektrochemiškai oksiduotas (3.1. pav.) srautiniame elektrocheminiame reaktoriuje (SER). 15% propan-2-olio vandeniame tirpale išmirkytas ir perplautas distiliuotu vandeniu GPV buvo talpinamas SER anodinėje kameroje. Jis taip pat nuo katodinėje kameroje buvusio GPV buvo atskirtas jonams laidžia membrana Nafion® NRE-212 bei laidžiu tinkleliu. Oksidacija (3.1. pav.) buvo atliekama su nuolatiniu srovės šaltiniu ir jungikliu sukeliant $U_{\max} = 3,75 \text{ V}$ ir/ar $U_{\max} = 4,0 \text{ V}$ impulsus kas 1 s ($t_{ij} = \tau_{išj.} = 1 \text{ s}$). Tai leidžia SER kameros susidariusioms vandenilio ir deguonies dujoms pasišalinti iš kameros ir pagerinti tirpalo sąlygtį su elektrodais. Oksidavimo metu kas 15 minučių (prieš pakeičiant srauto kryptį) buvo fiksuojamas kintantis srovės stipris $I_{\text{kint.}}$. Proceso metu jis mažėja dėl susidariusios oksidacinės plėvelės ant GPV ir padidėjusios grandinės varžos. GPV buvo elektrochemiškai oksiduotas 2 val. kambario temperatūroje 10% H_2SO_4 vandeniniame tirpale. Oksiduotas GPV buvo perplautas distiliuotu vandeniu ir išdžiovintas 60°C temperatūroje.



3.1 pav. Grafito pluošto veltinio oksidavimo schema

Nustatant GPV oksidacijos efektyvumą buvo užrašyti ir palyginti oksiduoto ir neoksiduoto GPV Furje transformacijos infraraudonųjų spindulių (FTIR) pralaidumo spektrai. Iš jų matyti, kad elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiuje padidėjo deguonies turinčių funkcinių grupių virpesiams būdingų spektro smailių intensyvumas (3.2. pav.). Tai parodo, kad elektrocheminės oksidacijos metu padidėjo deguonies turinčių grupių koncentracija GPV siūlelių paviršiuje.

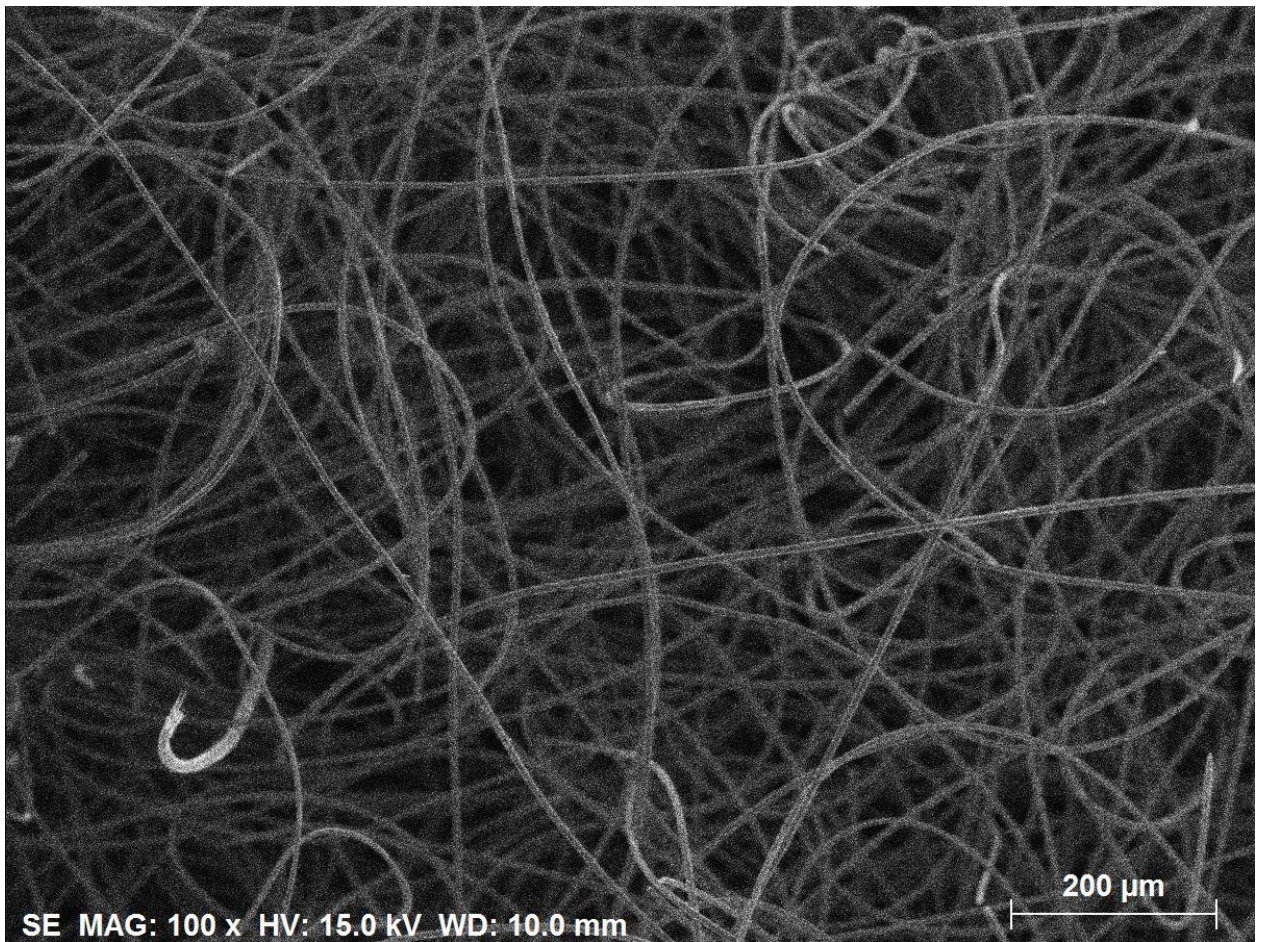


3.2 pav. GPV ir elektrochemiškai oksiduoto GPV FT-IR spektrai

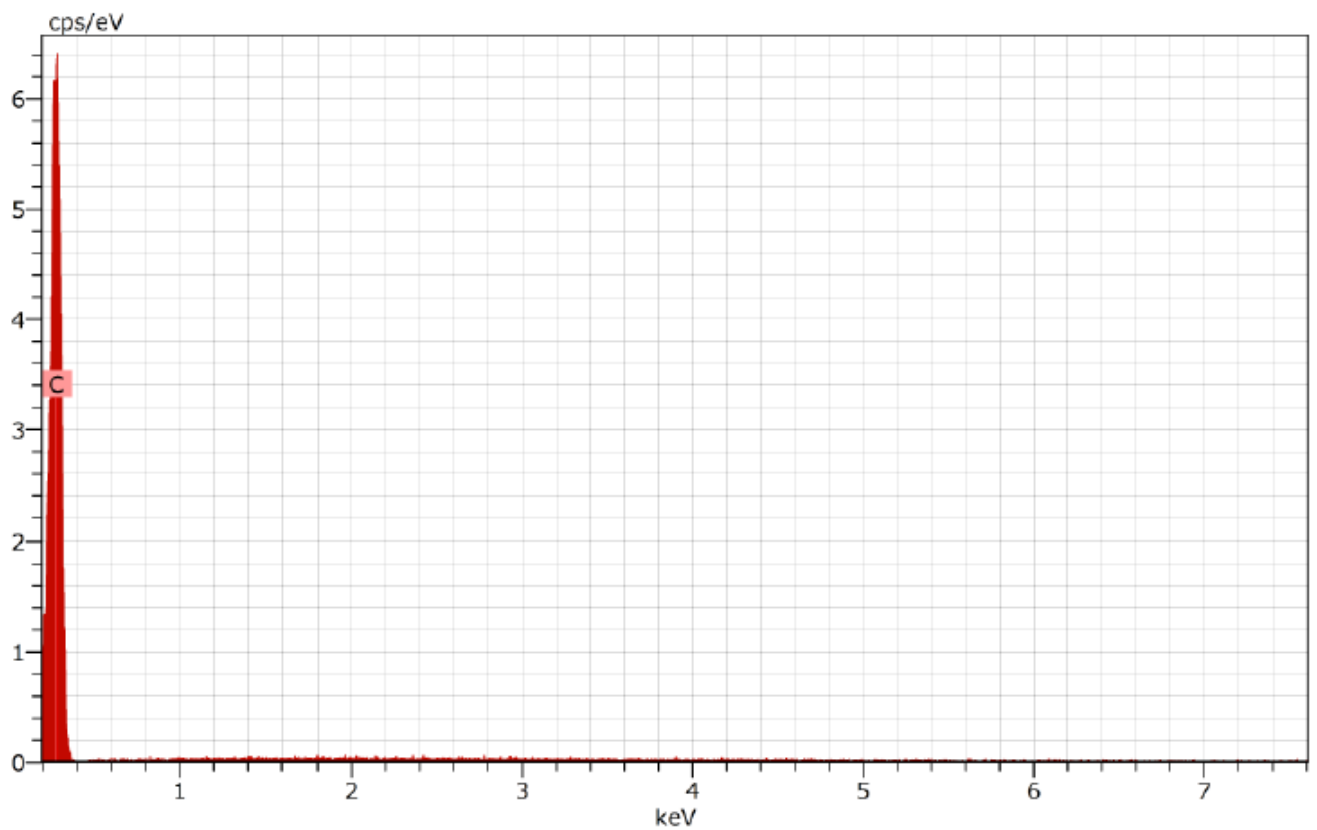
Patvirtinant elektrocheminę oksidaciją GPV siūlelių paviršiuje, buvo atliekami energinės dispersijos spektrometrijos (EDS) tyrimai. Šis elementinės sudėties nustatymo metodas yra nedestruktyvus ir tyrimo metu bandinys yra nepažeidžiamas, kas leidžia oksiduotą grafito pluošto veltinį panaudoti tolimesniems tyrimams. Vertinant GPV oksidacijos vienodumą, analizė buvo atliekama 2 skirtinguose GPV paviršiaus taškuose. SEM-EDS tyrimai buvo atliekami Lietuvos energetikos institute. Palyginimui buvo ištirtas ir neoksiduotas GPV (žr. lentelė 3.1.).

3.1 lentelė. EDS metodu nustatyta nemodifikuoto grafito pluošto veltinio paviršiaus elementinė sudėtis

Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	100,00	100,00



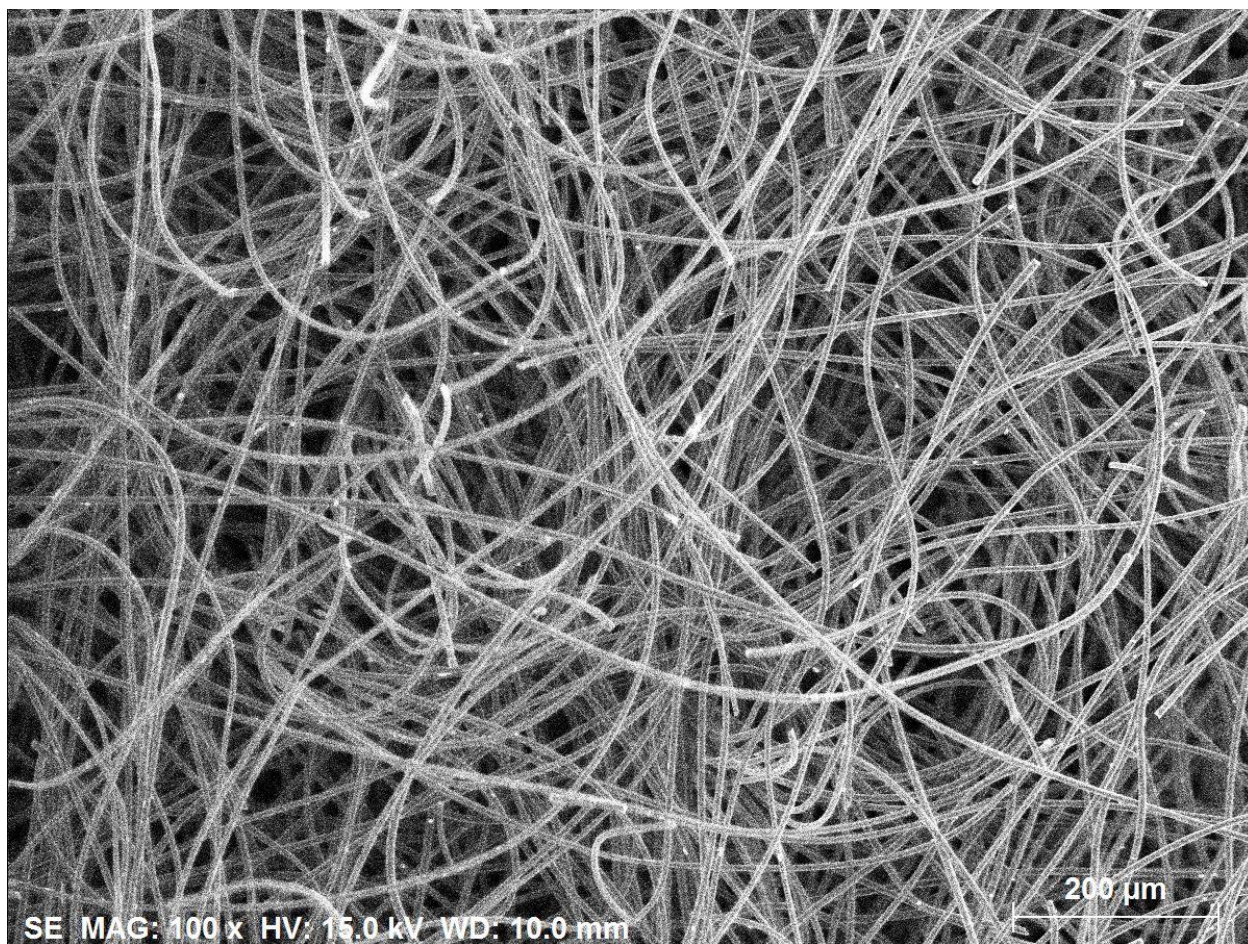
3.3 pav. Nemodifikuoto grafito pluošto veltinio paviršiaus nuotrauka (SEM)



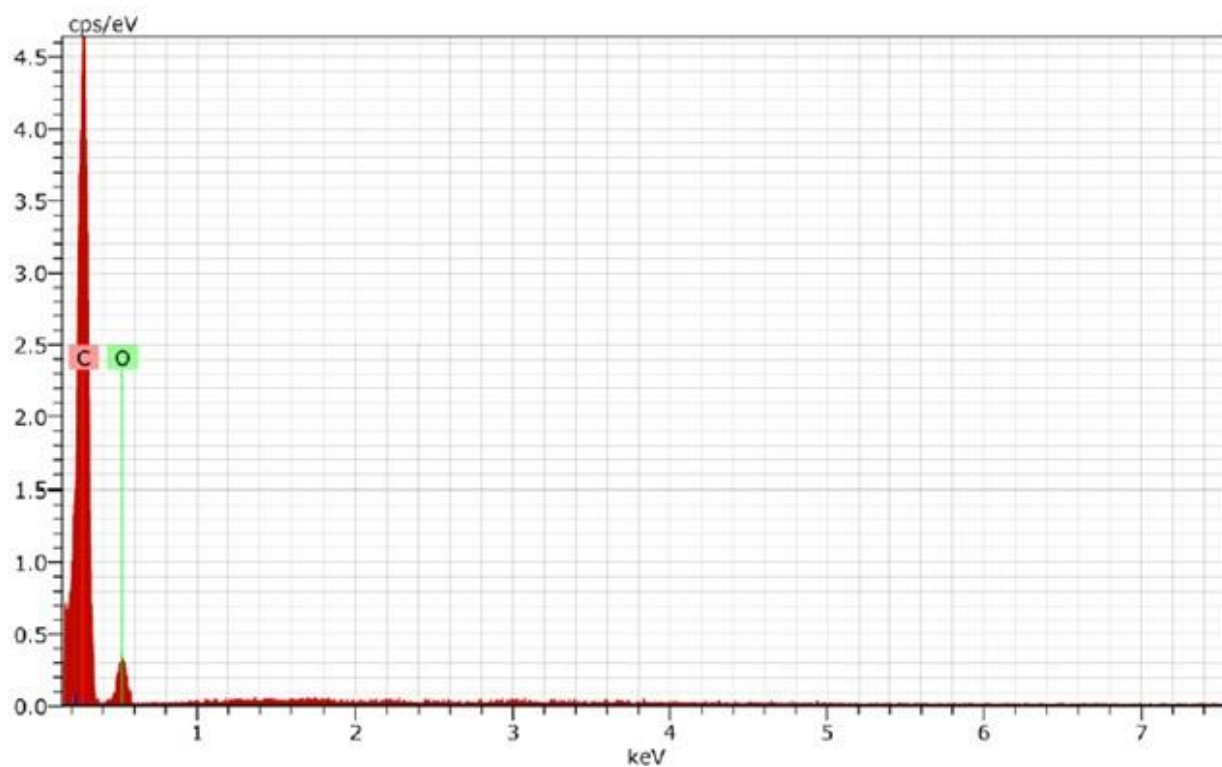
3.4 pav. Nemodifikuoto grafito pluošto veltinio paviršiaus EDS spektras

3.2 lentelė Oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus elementinė sudėtis, elektrochemiškai oksiduojant GPV esant 3,75 V įtampai.

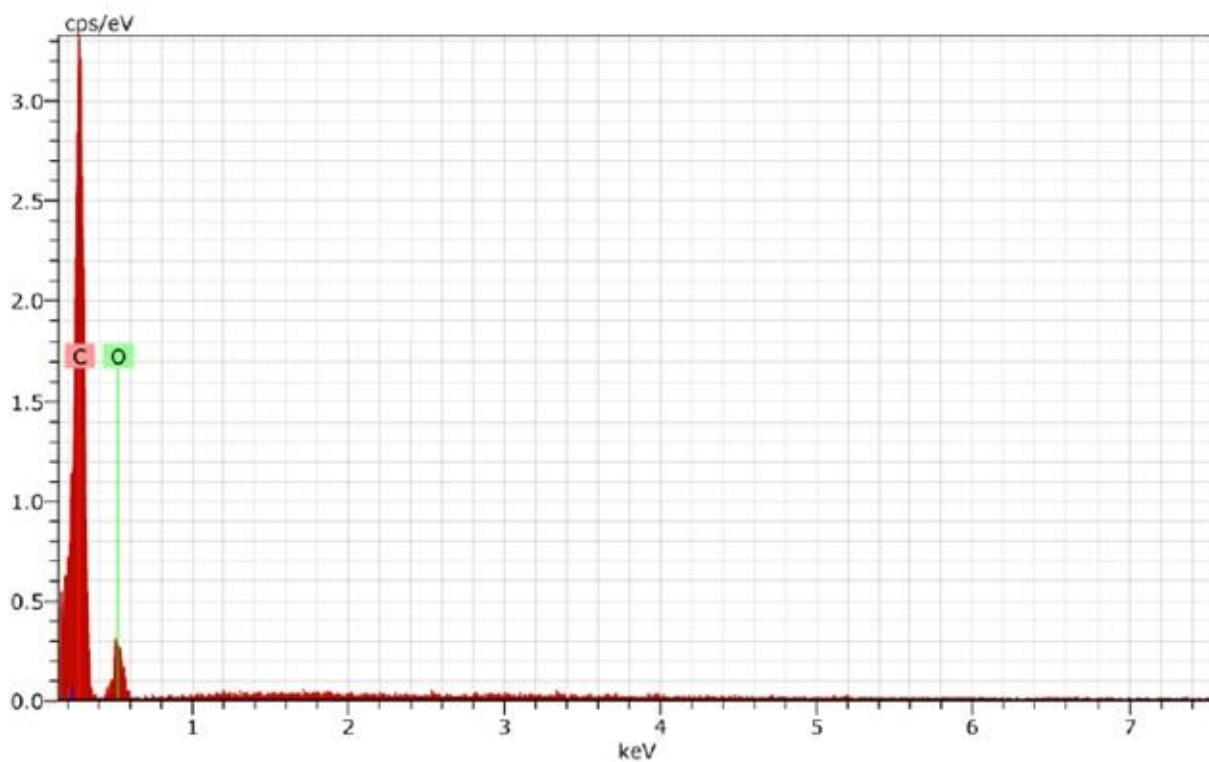
Grafito pluošto veltinio kraštas		
Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	71,29	76,35
Deguonis	28,71	23,65
Grafito pluošto veltinio centras		
Anglis	68,77	74,03
Deguonis	31,23	25,97



3.5 pav. Elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus krašto nuotrauka, kai $U_{\max}=3,75$ V



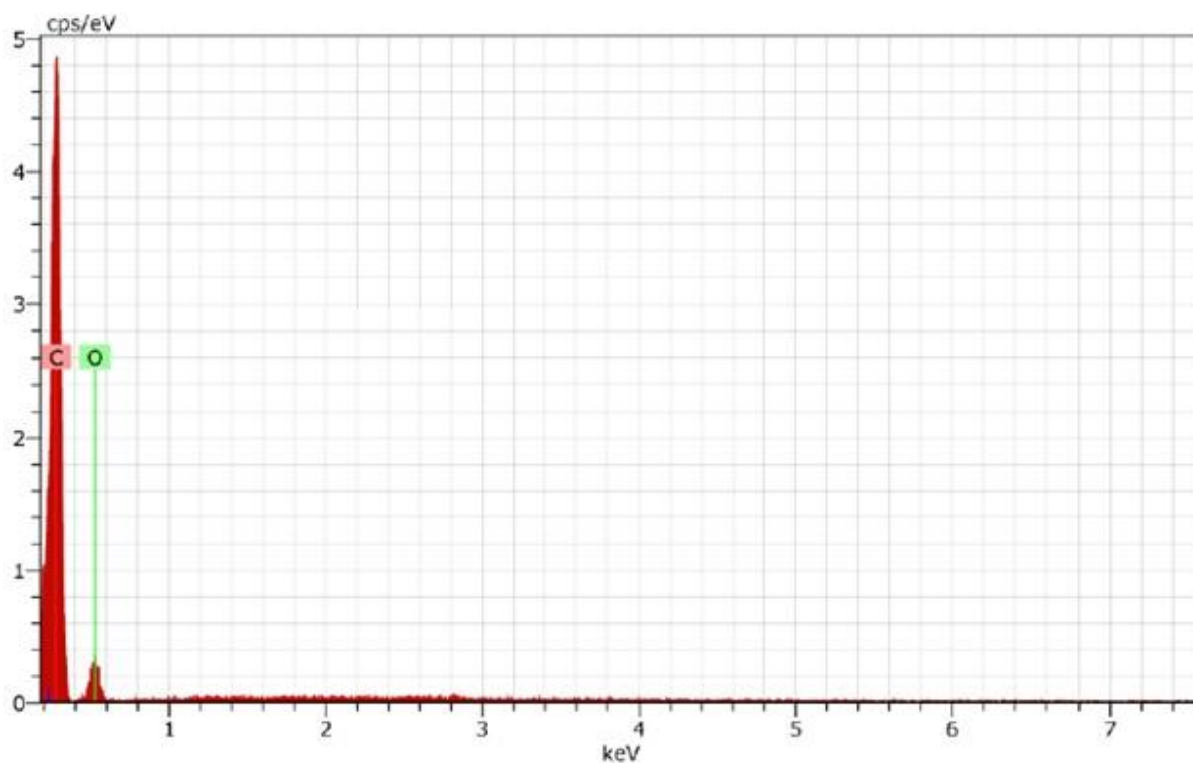
3.6 pav. Elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus krašto EDS spektras, kai $U_{\max}=3,75$ V



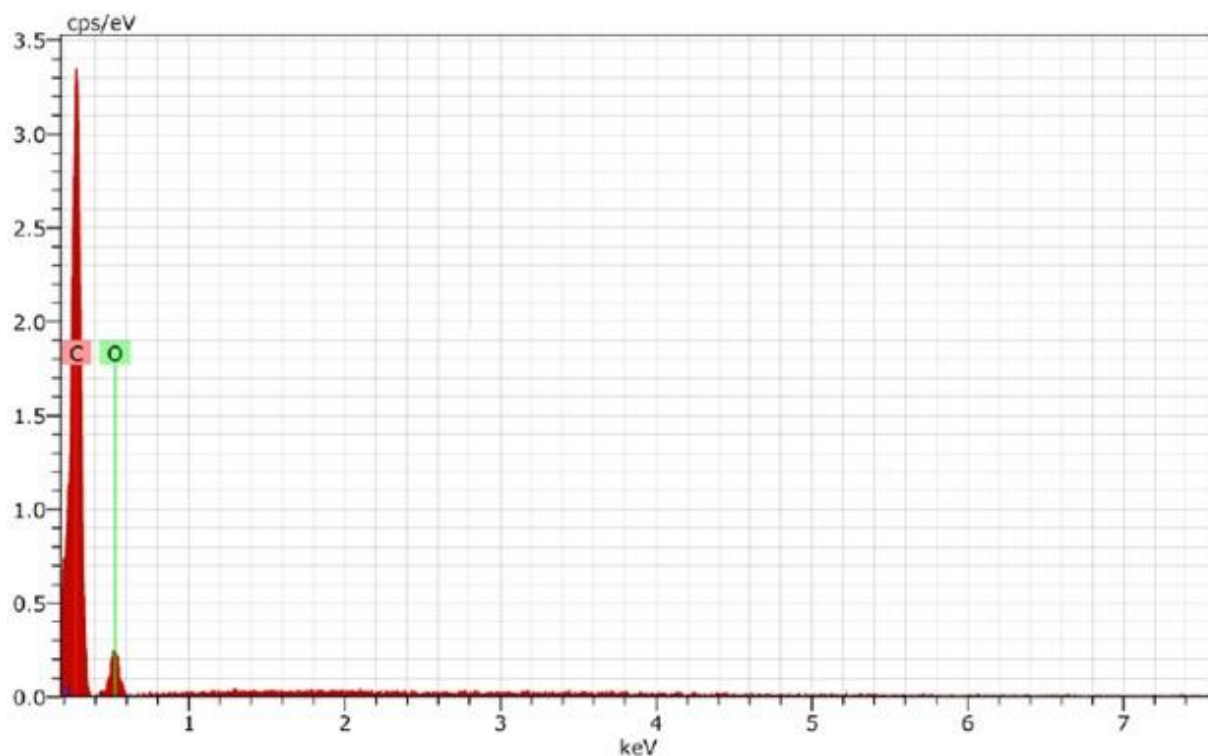
3.7 pav. Elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus centro EDS spektras, kai $U_{\max}=3,75$ V

3.3 lentelė. Oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus elementinė sudėtis, elektrochemiškai oksiduojant GPV esant 4,0 V įtampai.

Grafito pluošto veltinio kraštas		
Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	72,31	77,22
Degūnis	27,69	22,78
Grafito pluošto veltinio centras		
Anglis	71,22	76,23
Degūnis	28,78	23,77



3.8 pav. Elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus krašto EDS spektras, kai $U_{\max}=4,0$ V



3.9 pav. Elektrochemiškai oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus centro EDS spektras, kai $U_{\max}=4,0$ V

Elektrocheminės oksidacijos procese buvo naudojami skirtingos nuolatinės elektros srovės įtampos ($U_{\max} = 3,75$ V ir $U_{\max} 4,0$ V) impulsai kas 1 s ($t_{ij} = \tau_{išj.} = 1$ s). Taip pat tolygesnei GPV elektrodo elektrocheminei oksidacijai užtikrinti elektrolito srauto kryptis pro SER periodiškai buvo keičiama (reversuojama) kas 15 min. Gauti rezultatai SEM_EDS tyrimų metu patvirtino GPV paviršiaus oksidaciją, nes buvo nustatyta padidėjusi elementinio deguonies koncentracija oksiduotame grafito pluošto veltinio paviršiuje 2 skirtinguose taškuose (veltinio viduryje ir kampe) (3.5. pav. – 3.9. pav.). Naudota skirtinga įtampa oksidacijos metu turėjo nežymią įtaką GPV oksidacijos efektyvumui ir deguonies funkcinų grupių susidarymui. Atliekant oksidaciją, kai impulso įtampa $U_{\max}=3,75$ V, oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiuje buvo nustatyta didesnė deguonies koncentracija (žr. 3.2. lentelė) abiejuose matavimo taškuose (veltinio viduryje ir kampe) nei analogiškose grafito pluošto veltinio, oksiduoto su $U_{\max} = 4,0$ V įtampos impulsais (žr. 3.3. lentelė), vietose. Tai parodė, kad didesnė elektrocheminio oksidavimo metu naudota įtampa (4,00 V) turėjo šiek tiek neigiamos įtakos oksidavimo procesui. Taip pat buvo pastebėta, kad geriausiai oksidacija vyko grafito pluošto veltinio centre, kur susiliečia išorinis Pt vielos elektrodas (kontaktas) su oksiduojamu GPV paviršiumi.

Elektrocheminio oksidavimo metu taip pat buvo stebimas kintantis elektros srovės stipris, kuris viso proceso metu mažėjo dėl susidariusios oksidacinės plėvelės ant GPV paviršiaus ir padidėjusios grandinės varžos. Taip pat oksidaciniame procese buvo naudojami nuolatinės srovės impulsai dėl susidariusių vandenilio ir deguonies dujų atitinkamai katodinėje ir anodinėje SER kamerose. Laiko tarpas tarp impulsų leisdavo dujoms pasišalinti iš sistemos ir užtikrino mažesnę grandinės varžą ir didesnę elektros srovės stiprį.



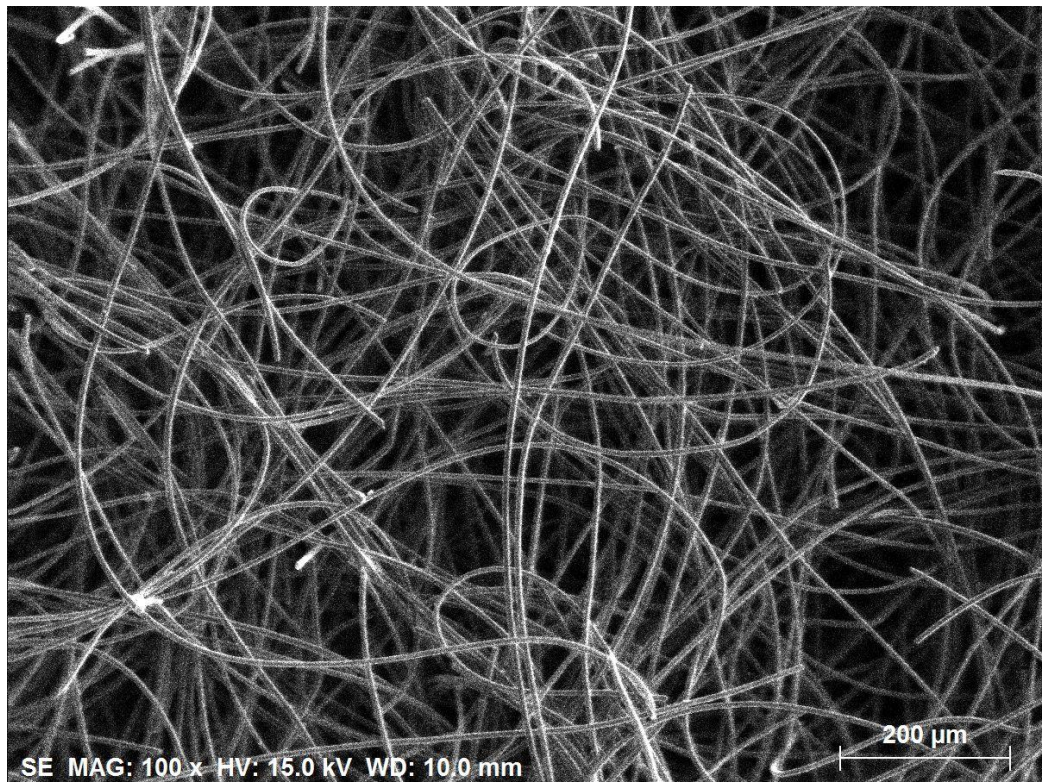
3.10 pav. Su 4,00 V ir 3,75 V įtampa oksiduoti grafito pluošto veltiniai padėti ant neoksiduoto grafito pluošto veltinio.

3.2 Modifikuotų grafito pluošto veltinių paviršiaus modifikavimas organiniais aminais

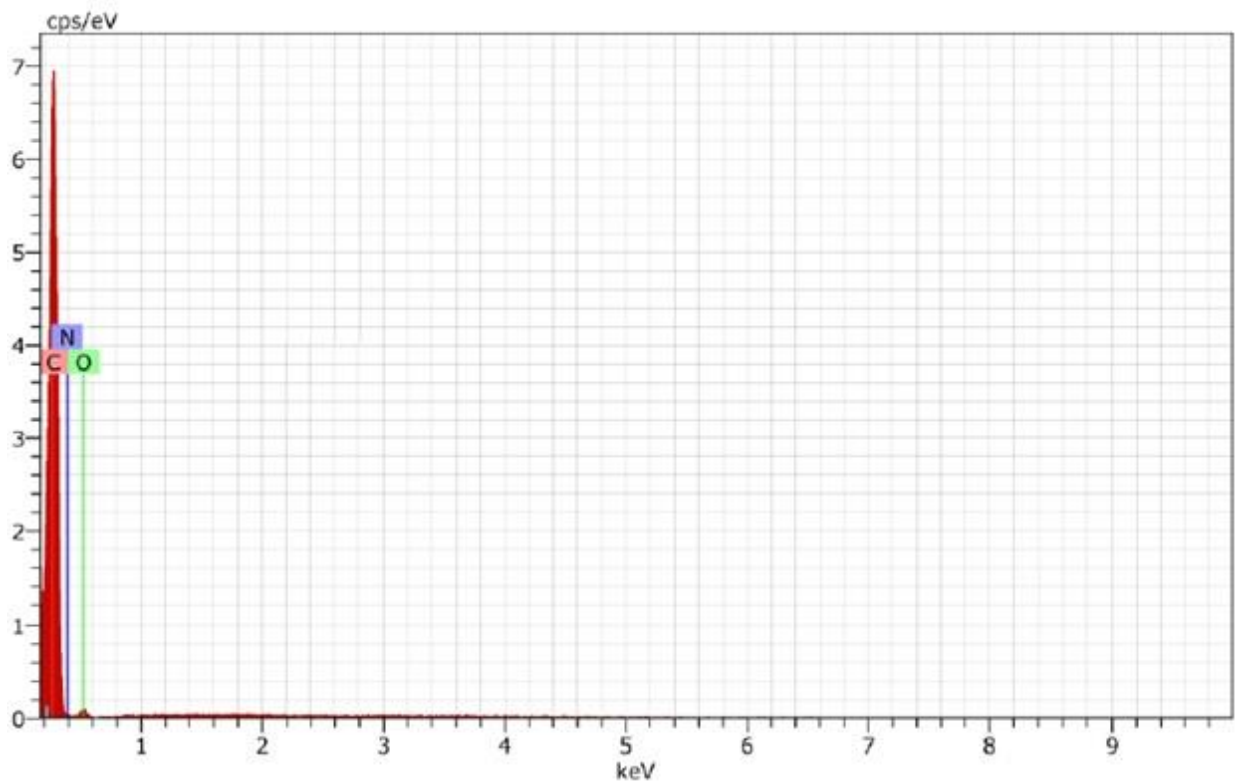
Oksiduotas GPV paviršius (3.10. pav.) buvo veikiamas skirtingais organiniais aminais DMF tirpale. Reakcija buvo atliekama su 0,1 mol atitinkamo amino (*m*-ksililendiaminu (KDA, 1,3-benzendimetanaminu), 2,4-diaminotoluenu (DAT, 4-metilbenzeno-1,3-diaminu), 3-aminopiridinu (APD), 3-amino-1,2,4-triazolu (ATA)) 50 °C temperatūroje 3 h. Po reakcijos modifikuotas grafito pluošto veltinis buvo perplaunamas etanoliu ir distiliuotu vandeniu, vėliau džiovinamas 80 °C temperatūroje. Literatūroje yra aprašytas anglies pluošto veltinio modifikavimas, iš pradžių 48 h veikiant anglies pluošto veltinį SOCl₂ 70 °C temperatūroje, o po to dar 48 h vykdant reakciją su organiniu aminu 130 °C temperatūroje [29]. Šiame darbe GPV paviršius buvo modifikuotas organiniais aminais mažiau agresyviomis sąlygomis, žemesnėje temperatūroje ir per trumpesnę laiką. Įsitikinant, kad reakcija įvyko, grafito pluošto veltinio paviršiaus elementinė sudėtis buvo tirta SEM_EDS metodu bent 2 skirtinguose taškuose. Po reakcijos modifikuotas GPV buvo plautas etanoliu ir vandeniu bei džiovintas 80 °C temperatūroje. EDS analizės rezultatai parodė, kad azoto koncentracija padidėjo iki ~14 % (at.) (modifikuojant KDA), ~9% (at.) (modifikuojant DAT), ~7-8% (at.) (modifikuojant APD) ir ~10% (at.) (modifikuojant ATA), lyginant su azoto koncentracija oksiduotame GPV (0% (at.)). Deguonies koncentracija sumažėjo atitinkamai iki ~19 % (at.), ~19 % (at.), 12% (at.) ir 20% (oksiduoto GPV ~24 % (at.)).

3.4 lentelė. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu, paviršiaus elementinė sudėtis

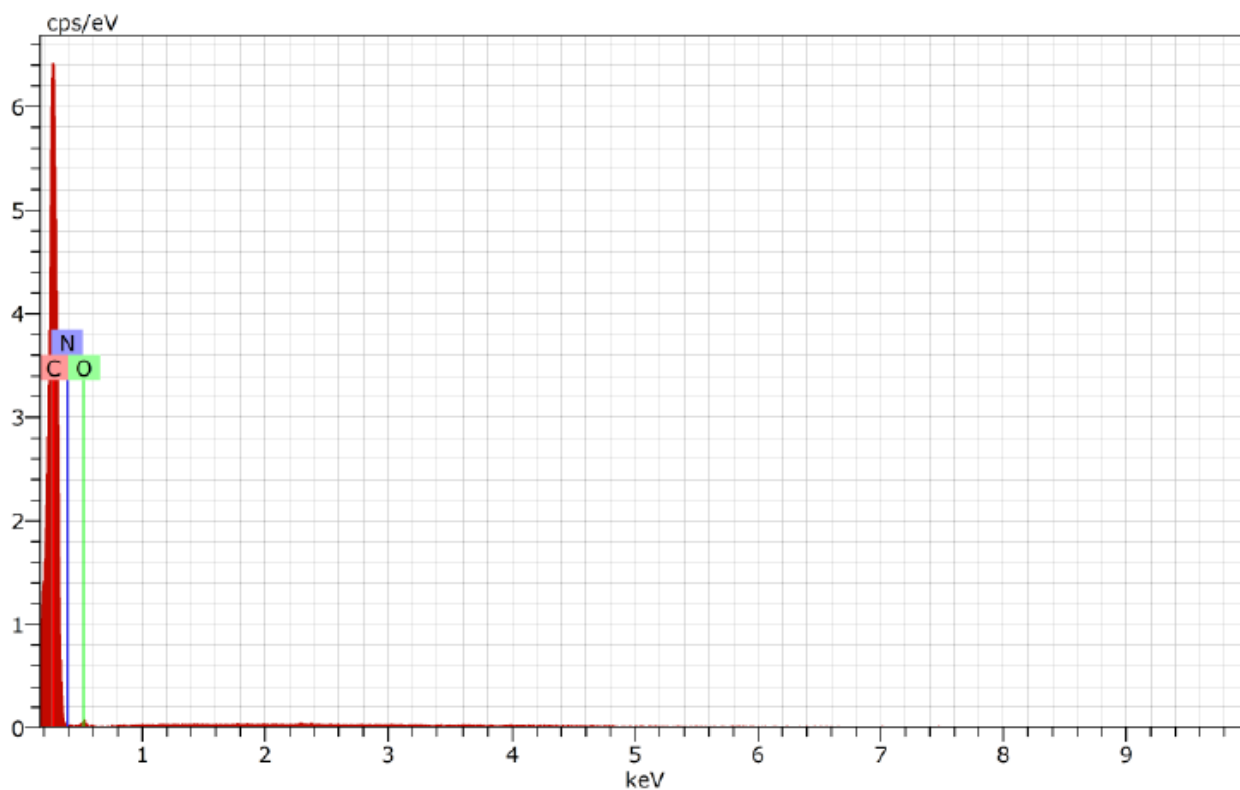
Grafito pluošto veltinio kraštas		
Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	73,86	77,63
Deguonis	10,86	8,59
Azotas	15,26	13,78
Grafito pluošto veltinio centras		
Anglis	77,38	80,57
Deguonis	6,89	5,39
Azotas	15,73	14,04



3.11 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu, paviršiaus krašto nuotrauka (SEM)



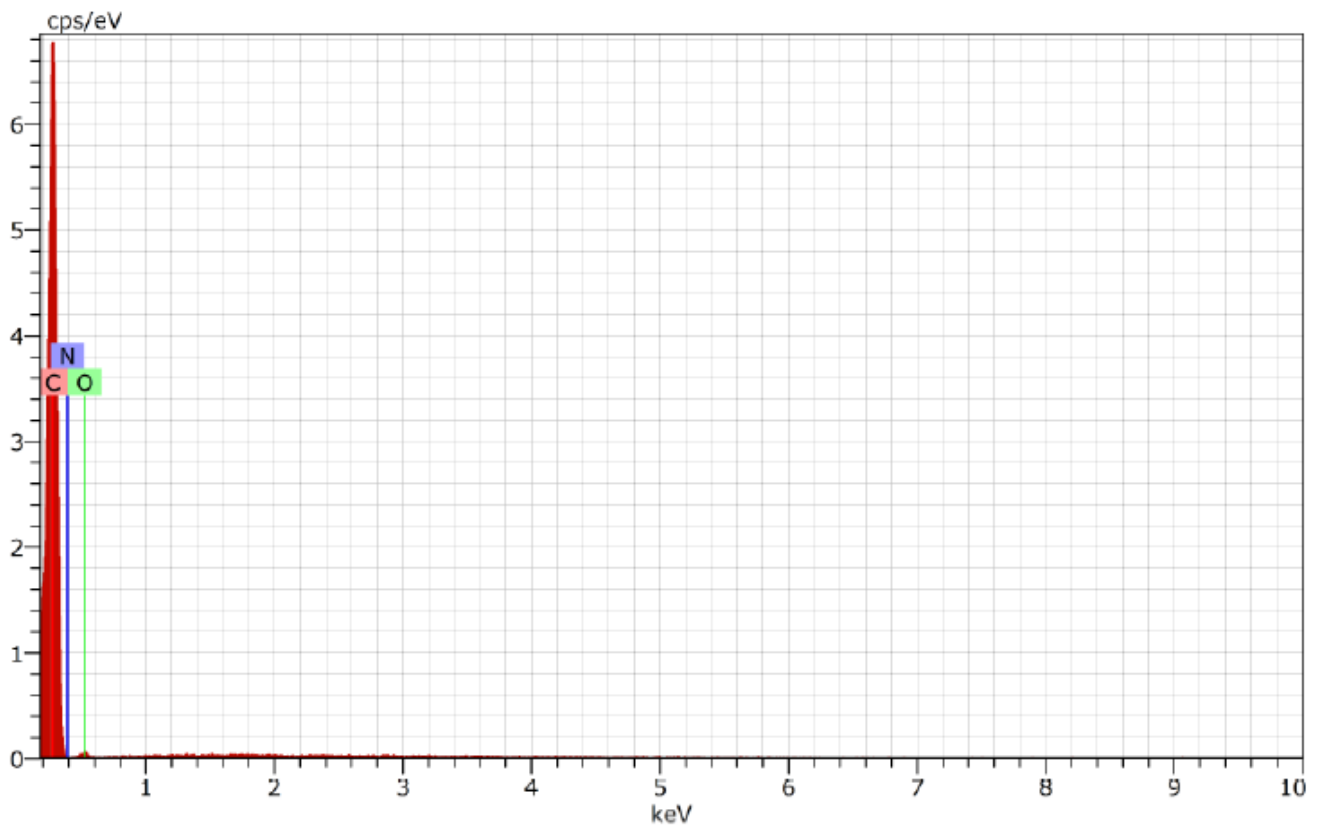
3.12 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto *m*-ksililendiaminu, krašto EDS spektras..



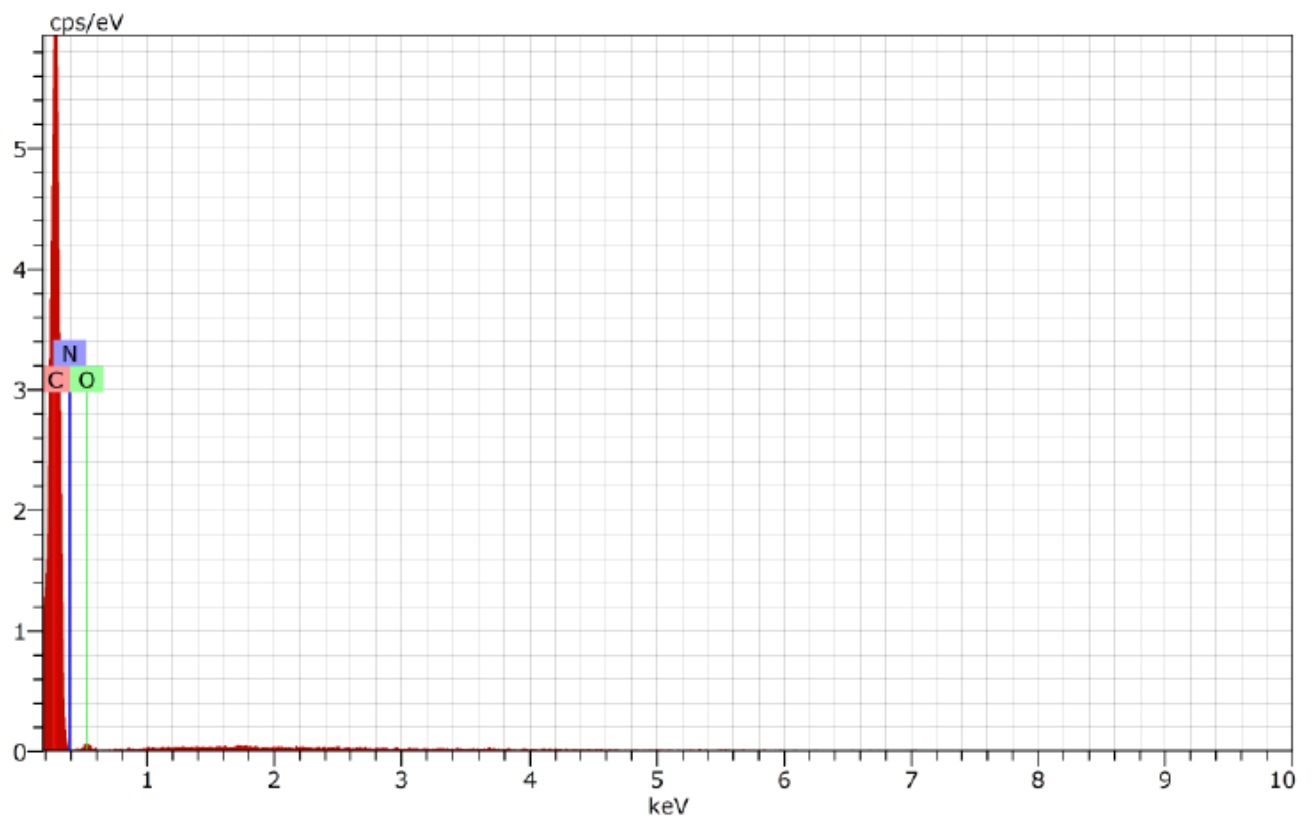
3.13 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu, centro EDS spektras..

3.5 lentelė. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu, paviršiaus elementinė sudėtis

Grafito pluošto veltinio kraštas		
Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	83,09	85,71
Deguonis	6,13	4,75
Azotas	10,78	9,54
Grafito pluošto veltinio centras		
Anglis	82,60	85,37
Deguonis	7,15	5,55
Azotas	10,25	9,09



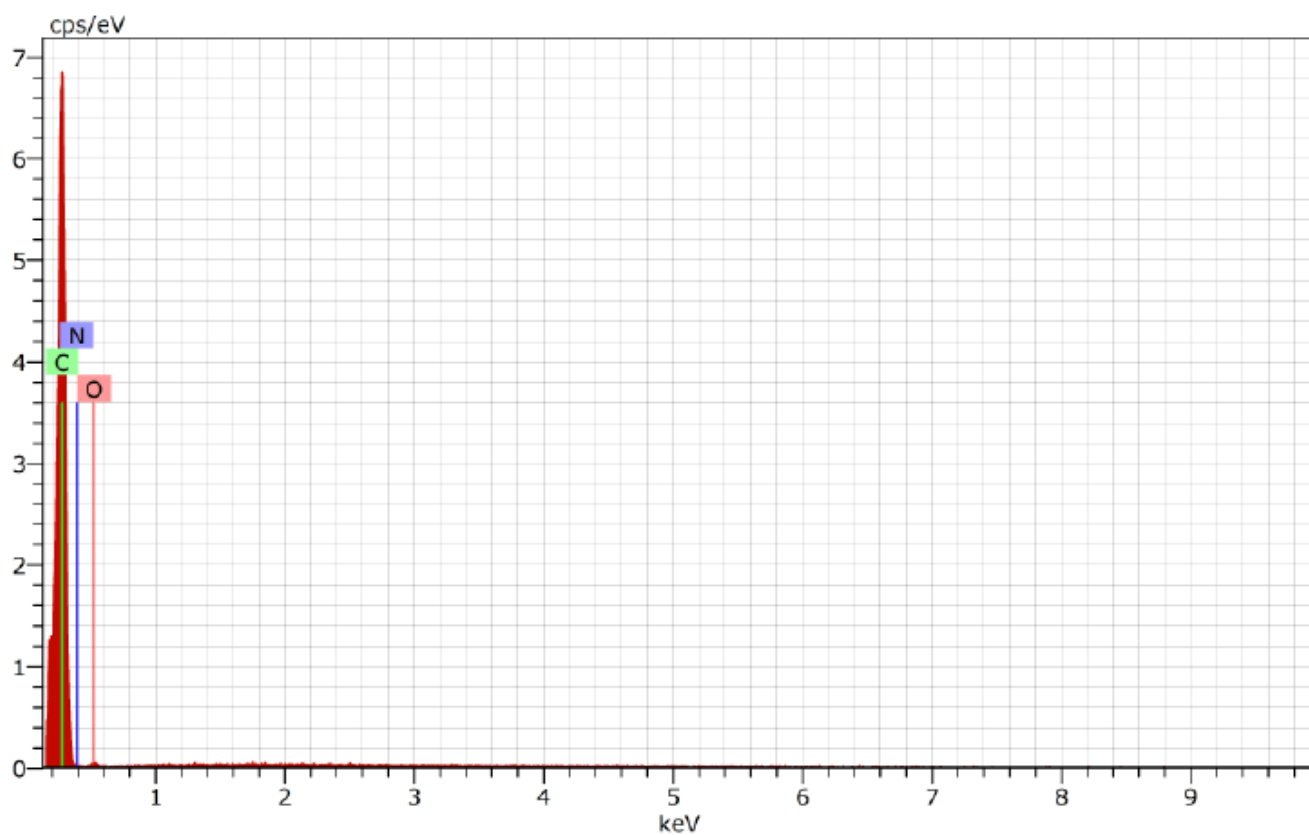
3.14 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu, krašto EDS spektras.



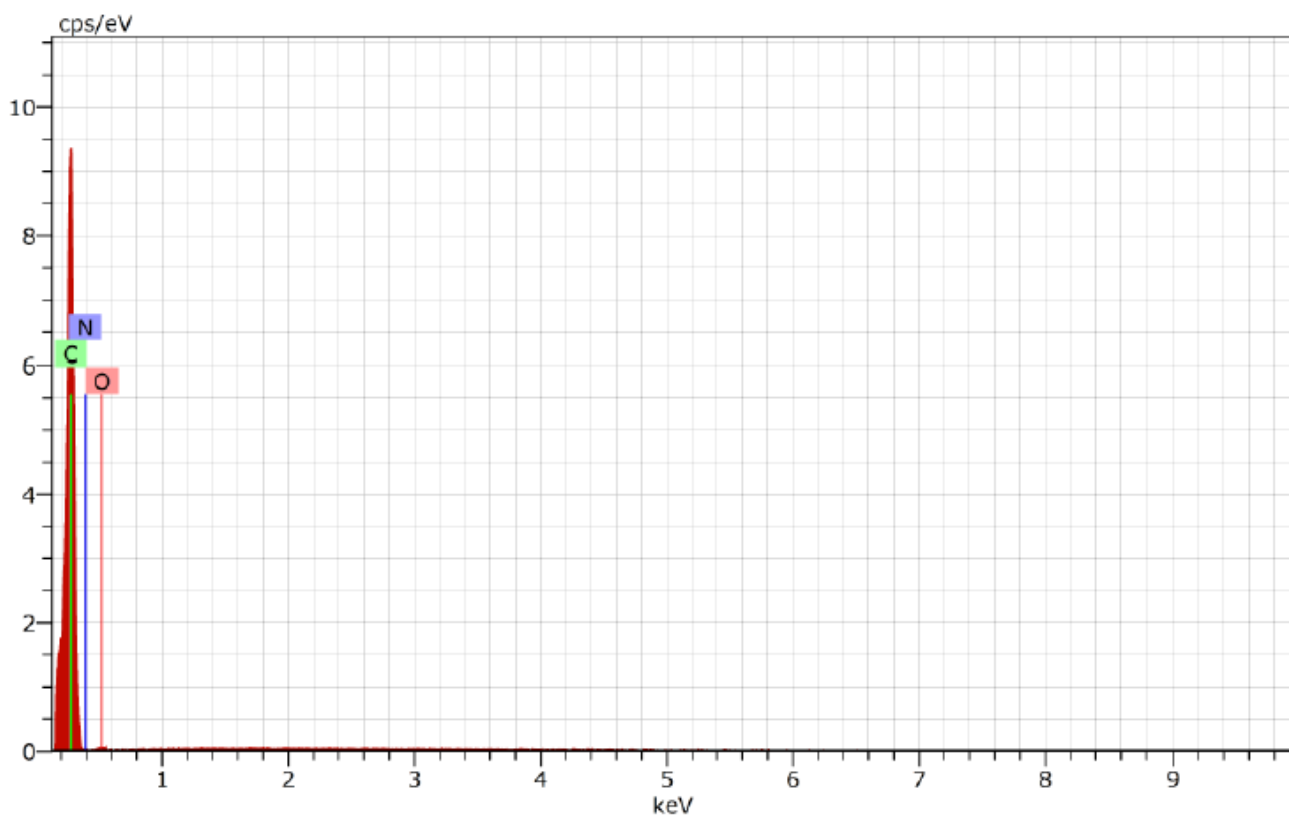
3.15 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu, krašto EDS spektras.

3.6 lentelė. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolas, paviršiaus elementinė sudėtis

Grafito pluošto veltinio kraštas		
Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	80,55	83,31
Deguonis	5,15	4,01
Azotas	14,30	12,68
Grafito pluošto veltinio centras		
Anglis	83,72	86,20
Deguonis	5,28	4,08
Azotas	11,01	9,72



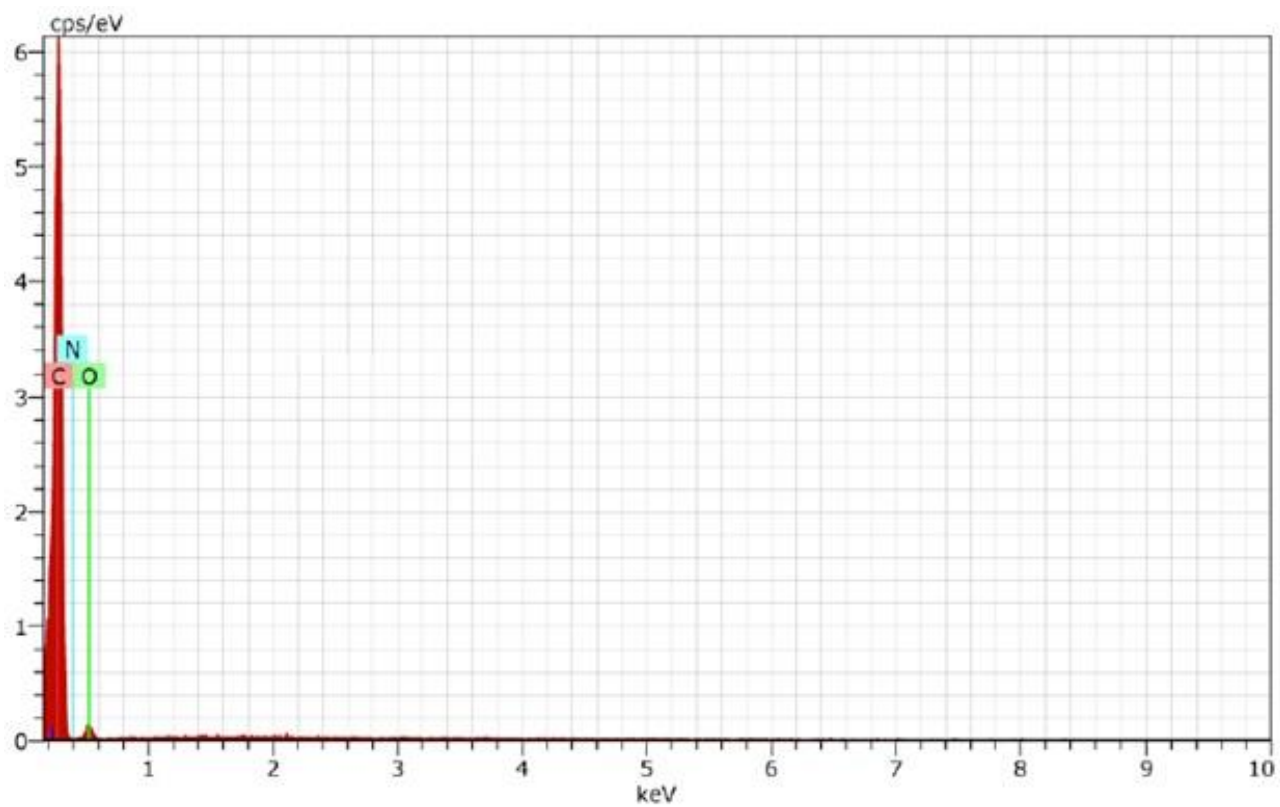
3.16 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, krašto EDS spektras.



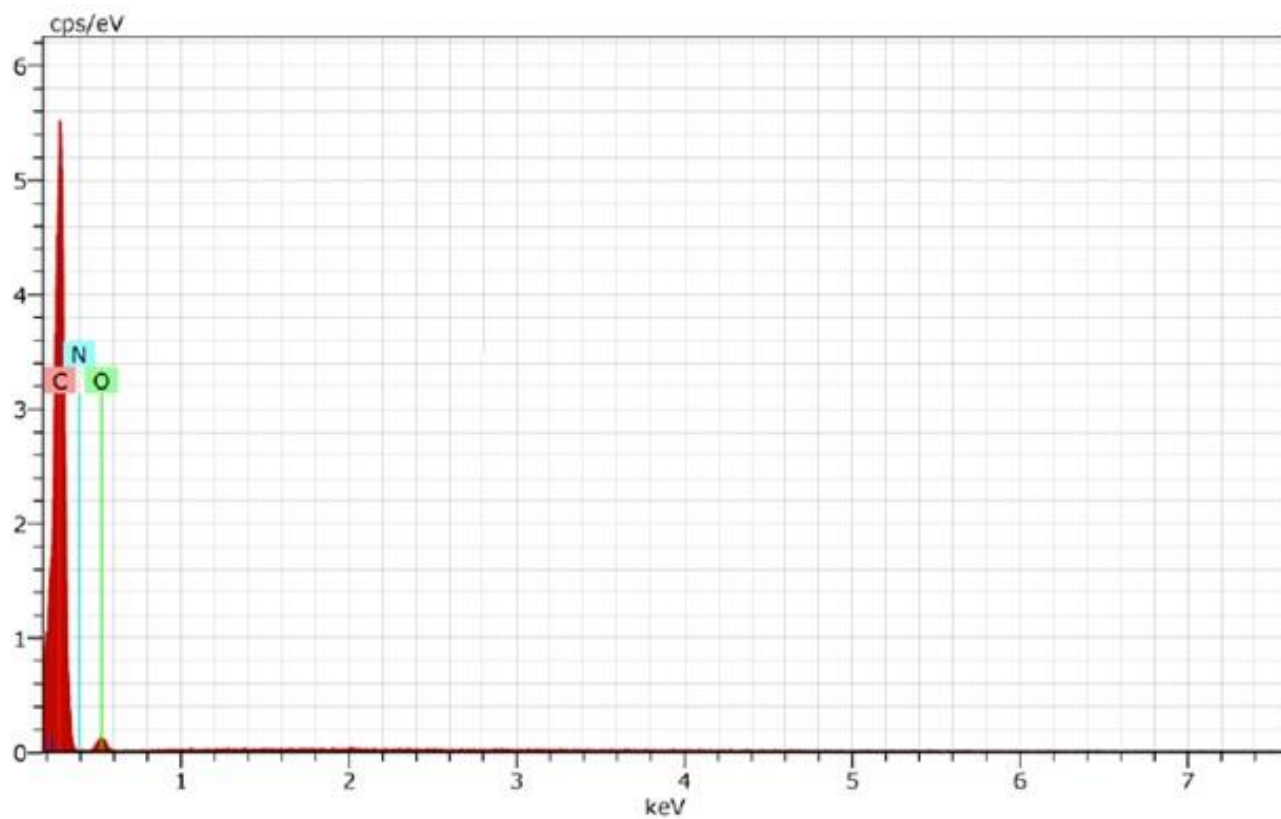
3.17 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, centro EDS spektras.

3.7 lentelė. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-aminopiridinu, paviršiaus elementinė sudėtis.

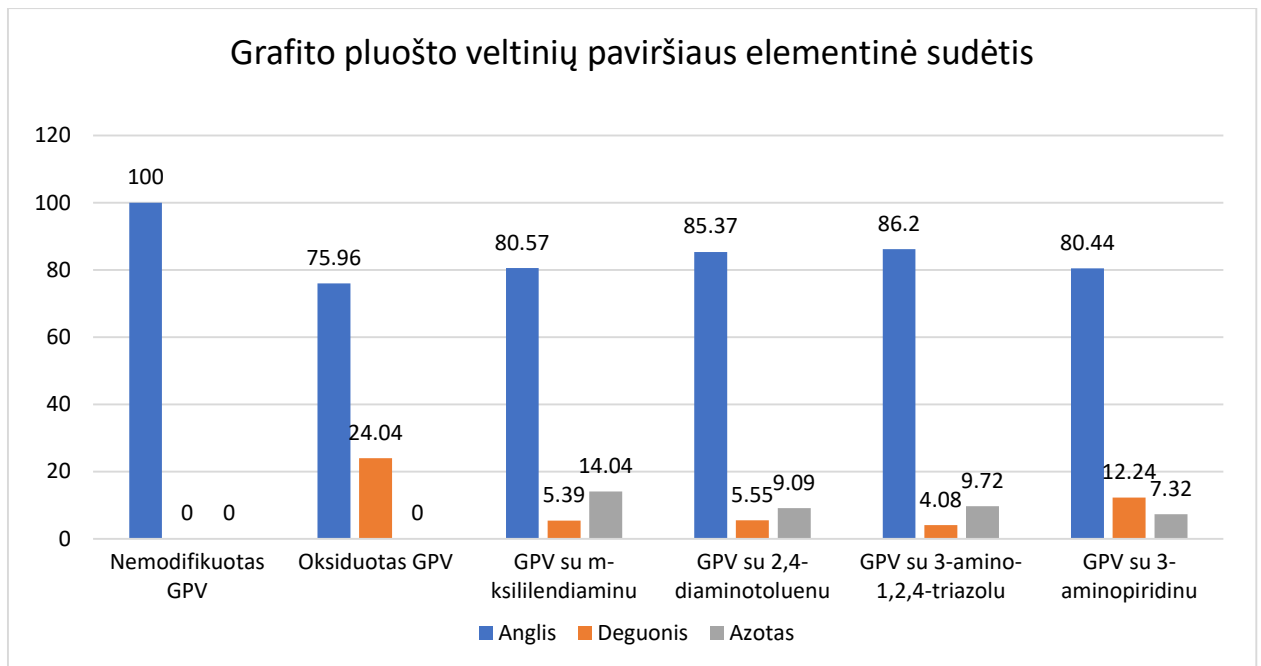
Grafito pluošto veltinio kraštas		
Elementas	Masės dalis, %	Atominė dalis, %
Anglis	76,50	80,44
Deguonis	15,43	12,24
Azotas	8,07	7,32
Grafito pluošto veltinio centras		
Anglis	74,90	78,95
Deguonis	15,53	12,36
Azotas	9,57	8,69



3.18 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-aminopiridinu, centro EDS spektras.



3.19 pav. Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-aminopiridinu, centro EDS spektras.



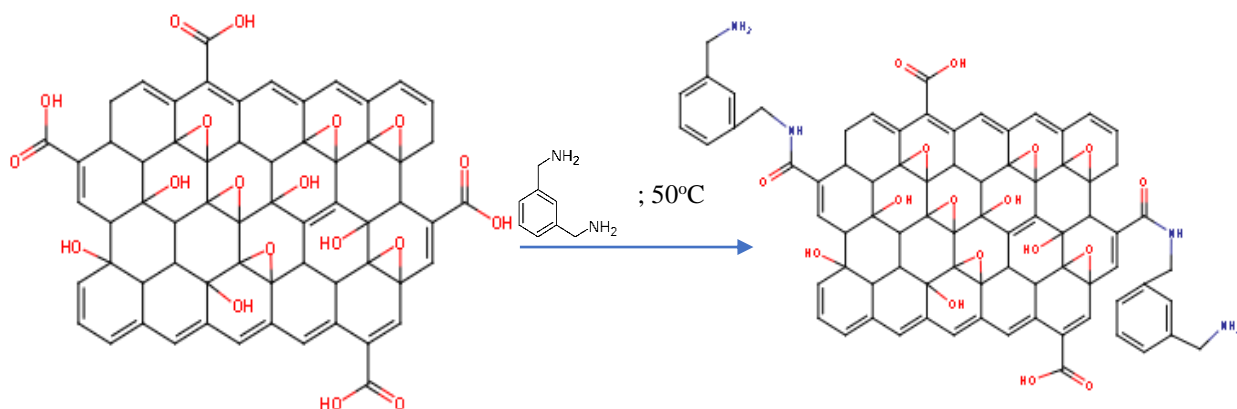
3.20 pav. Nemodifikuoto, oksiduoto ir su skirtingais organiniais aminais modifikuotų grafitų pluoštų veltinių paviršiaus elementinės sudėties palyginimas.

Grafito pluošto veltinio, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu, paviršiaus, EDS analizės rezultatai (žr. lentelė 3.4., 3.12 pav., 3.13 pav.) parodė, kad azoto koncentracija padidėjo iki 7,32 % (at.), lyginant su azoto koncentracija oksiduotame GPV (0 % (at.)). GPV, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu, paviršiuje buvo didžiausia elementinio azoto koncentracija (14,04%), lyginant su kitais modifikuotais grafito pluošto veltiniais. Jo anglies koncentracija (80,57%) buvo artima GPV, modifikuoto su 3-aminopiridinu, (lentelė 3.7.) (78,71%), tačiau labai skyrėsi azoto (14,04% ir 7,32% (at.)) ir deguonies (5,39% ir 12,24% (at.)) koncentracija. Galima teigti, kad *m*-ksililendiaminas daug lengviau prisijungia prie oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus nei 3-aminopiridinas, nes jo sudėtyje yra dvi aminogrupės. Dėl šios priežasties šis elektrochemiškai oksiduotas grafito pluošto veltinis galėjo sudaryti daugiau ryšių su *m*-ksililendiaminu ir todėl galutiniame modifikuotame grafito pluošto veltinyje (žr. lentelė 3.4) azoto koncentracija buvo didesnė, o deguonies koncentracija – mažesnė.

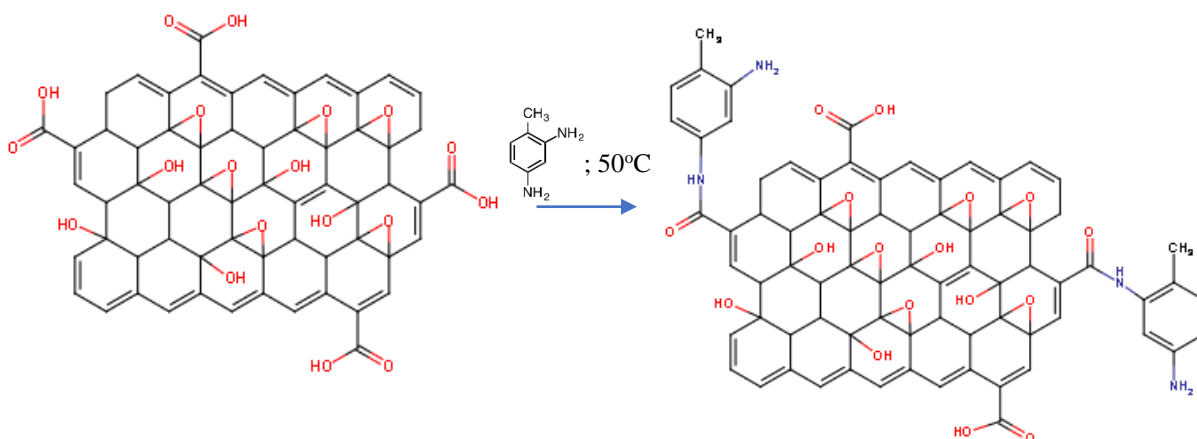
Grafito pluošto veltinio paviršiaus, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu, EDS analizės rezultatai (žr. lentelė 3.5., 3.14 pav., 3.15 pav.) parodė, kad azoto koncentracija padidėjo iki 9,09 % (at.), lyginant su azoto koncentracija oksiduoto GPV paviršiuje (0 % (at.)). Su 2,4-diaminotoluenu modifikuotą grafito pluošto veltinį palyginus su 3-amino-1,2,4-triazolu modifikuotu GPV (žr. lentelė 3.6.) sudėtimi matoma, kad anglies koncentracija buvo nežymiai didesnė (85,37% ir 86,20% (at.)), o azoto mažesnė (9,09% ir 9,72% (at.)). Tam turėjo įtakos 2,4-diaminotolueno struktūra, kurioje yra 2 azoto atomai ir abu yra prijungimo reakcijoje dalyvaujančiose grupėse.

Grafito pluošto veltinio paviršiaus, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, EDS analizės rezultatai (žr. lentelė 3.6., 3.16 pav., 3.17 pav.) parodė, kad azoto koncentracija padidėjo iki 9,72% (at.), lyginant su azoto koncentracija oksiduotame GPV (0 % (at.)). Su 3-amino-1,2,4-triazolu modifikuotas GPV paviršiuje buvo didžiausia anglies (86,2%) ir mažiausia deguonies (4,08%) koncentracija palyginus su kitais GPV modifikuotais su organiniais aminais. Tačiau azoto koncentracija modifikuotame grafito pluošto veltinyje buvo palyginus aukštas (9,72% (at.)). Tam turėjo įtakos junginio elementinė sudėtis, kurioje yra 4 azoto atomai, iš kurių 2 buvo prisijungimo reakcijoje dalyvaujančiose grupėse.

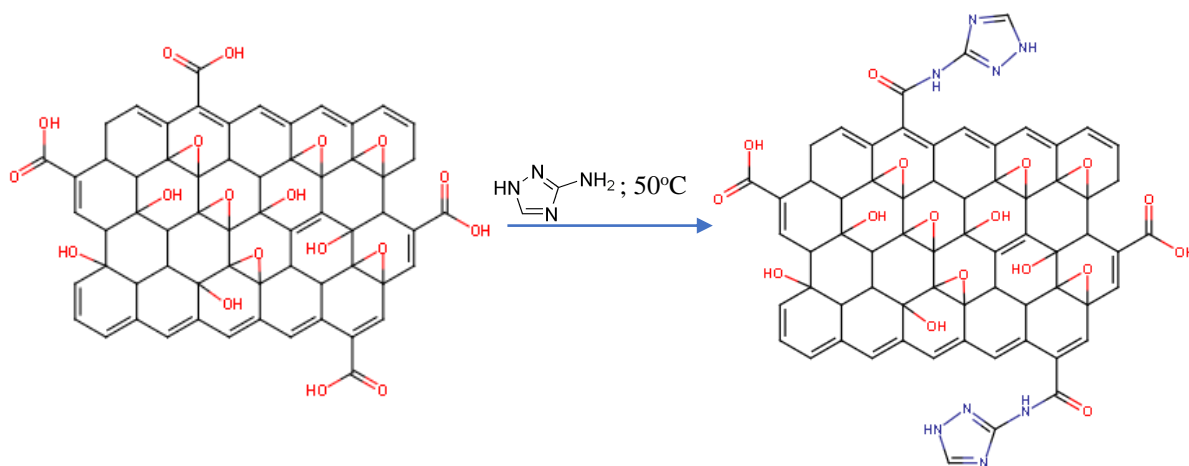
Grafito pluošto veltinio paviršiaus, modifikuoto su 3-aminopiridinu, EDS analizės rezultatai (žr. lentelė 3.7., 3.18. pav., 3.19 pav.) parodė, kad azoto koncentracija padidėjo iki 7,32 % (at.), lyginant su azoto koncentracija oksiduotame GPV (0 % (at.)). Iš rezultatų matoma, kad grafito pluošto veltinio, modifikuoto su 3-aminopiridinu, paviršiuje buvo didžiausia elementinio deguonies (12,24%) koncentracija ir mažiausia azoto (7,32%) bei anglies (78,71%) koncentracija. Tam turėjo įtakos 3-aminopiridinas molekulinė struktūra, nes junginys turi tik aminogrupę, kuri dalyvauja prisijungimo reakcijoje prie oksiduoto GPV paviršiaus.



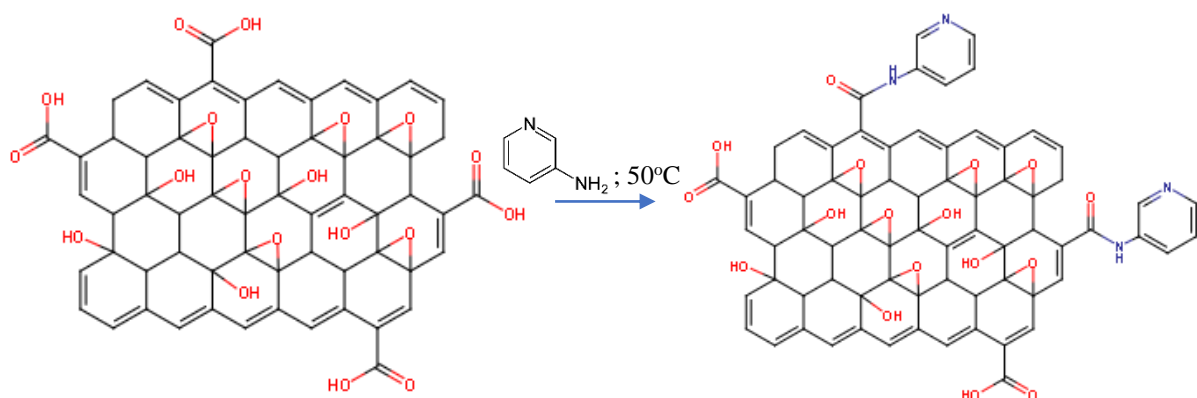
3.21 pav. Oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus reakcija su *m*-sililendiaminu.



3.22 pav. Oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus reakcija su 2,4-diaminotoluenu



3.23 pav. Oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus reakcija su 3-amino-1,2,4-triazolu.



3.24 pav. Oksiduoto grafito pluošto veltinio paviršiaus reakcija su 3-aminopiridinu.

3.3 *Shewanella putrefaciens* bakterijų kultūros paruošimas ir inokuliacija

Shewanella putrefaciens (DSM Nr.1818, DSMZ) bakterijos buvo persėtos į 3 Petri lėkštes su Luria-Bertani (LB) mitybine terpe (žr. 2.4. lentelė). Iš jų po 24 val. buvo išrinktos geriausiai matomos kolonijos ir perkeltos į mėgintuvėlius su skysta LB terpe. Bakterijos buvo kultivuojamos kolboje aerobinėmis sąlygomis 30 °C temperatūroje ir maišomos 100 aps./min. greičiu. Kas 24 val. buvo fiksuojama terpės šviesos sugertis. Po 72 val. terpė buvo laikoma šaldytuve (2 °C – 8 °C) iki inokuliacijos. Sukonstravus mikrobinius kuro elementus, *Shewanella putrefaciens* bakterijos buvo įleistos į anolito tirpalą, kurio sudėtis: 18 mmol/l natrio laktato, 15,1 g/l PIPES buferio, 3,0g/l NaOH, 1,5 g/l NH₄Cl, 0,1 g/l KCl, 0,6 g/l NaH₂PO₄·H₂O; 5,8 g/l NaCl; 10 ml/l Wolfe's mineralų tirpalas, 10 ml/l Wolfe's vitaminų tirpalas, 10 ml/l aminorūgščių tirpalas (pH=7,2) [30]. Inokuliacija buvo vykdoma specialiu švirkštu įleidžiant bakterijas per anolito rezervuaro viršuje esančia angą. Vėliau nuolat leidžiamos azoto dujos užtikrino anaerobines sąlygas rezervuaro talpoje. Perteklinis dujų kiekis buvo pašalintas per alsuoklį.

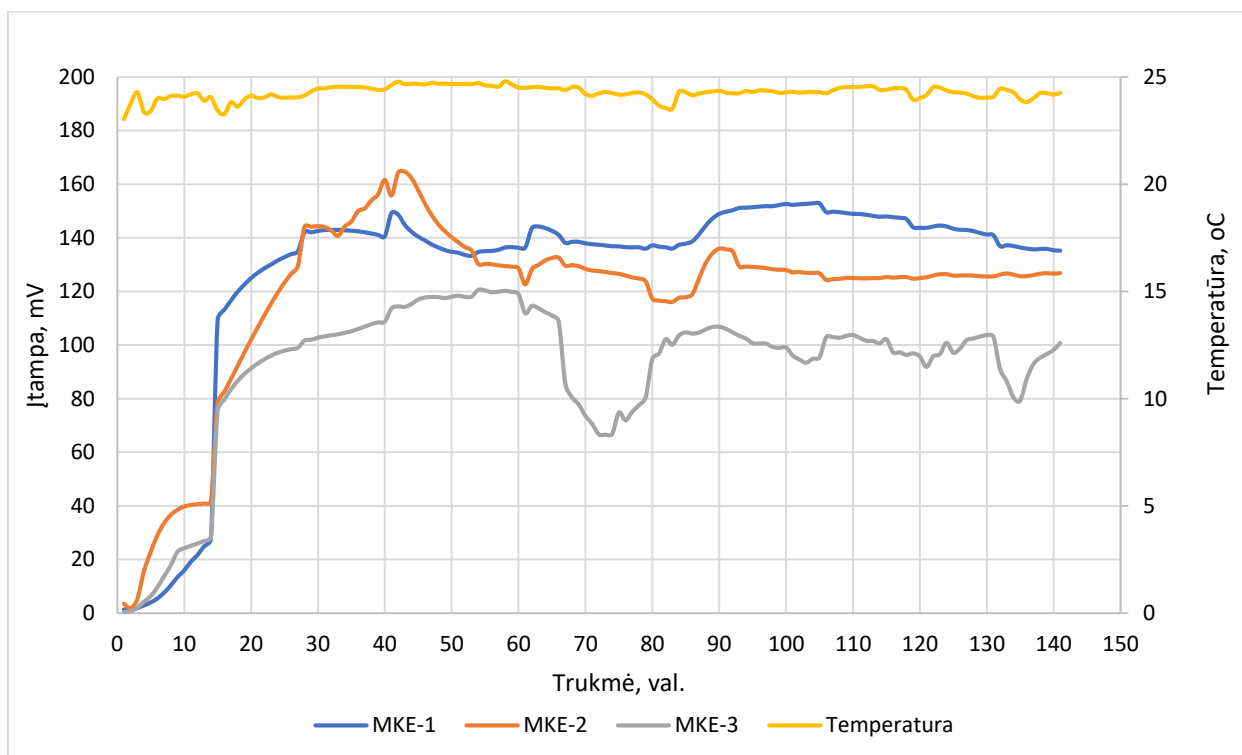
3.8. lentelė. Terpės su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis šviesos sugertis.

Šviesos sugertis (bangos ilgis 600 nm)			
Po bakterijų įnešimo	Po 24 val	Po 48 val	Po 72 val
0,223	1,343	1,597	1,778

3.4 Mikrobinių kuro elementų su modifikuoto grafito pluošto veltinio anodais veikimo efektyvumo tyrimas

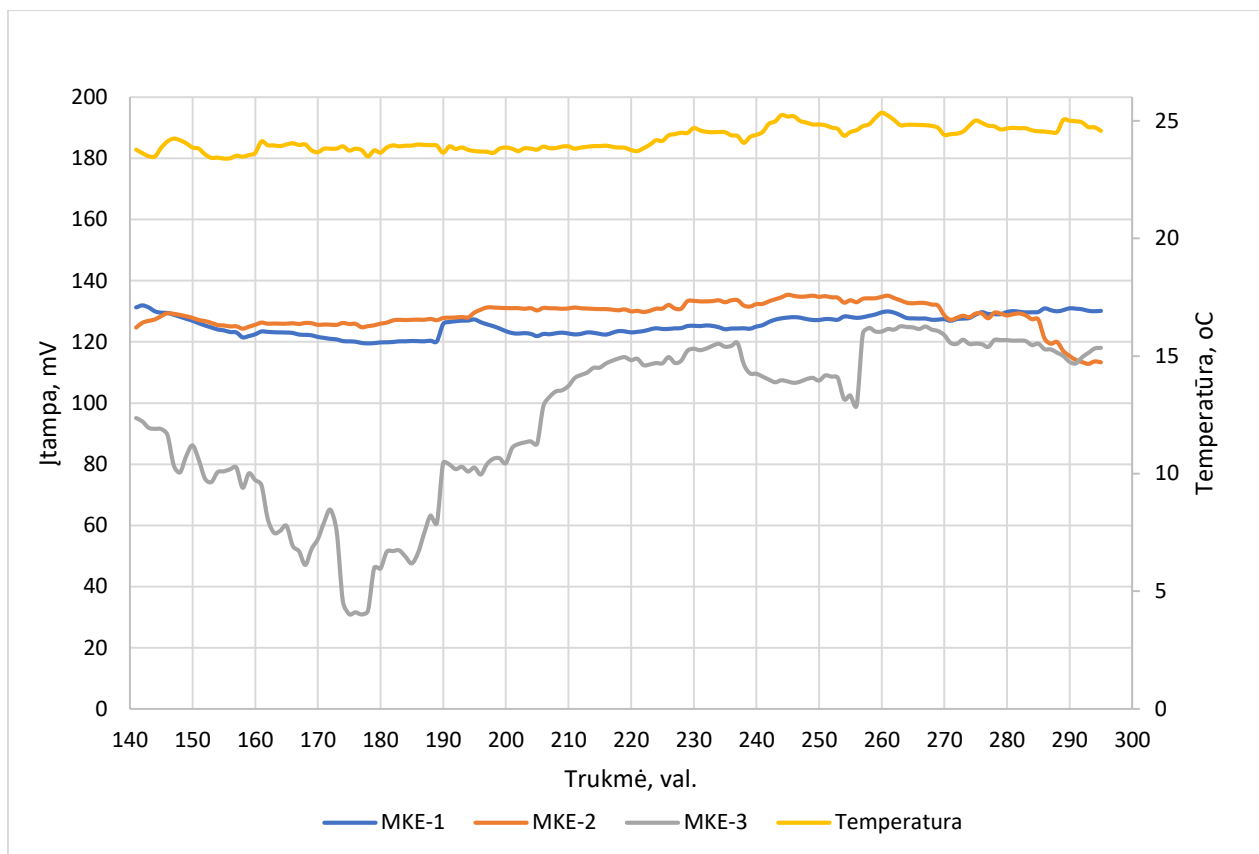
Bandymo pradžioje buvo sukonstruoti trys mikrobiniai kuro elementai su anodais iš skirtingai modifikuotų GPV (AvCarb Felt G200) anodinėje ir katodu iš nemodifikuoto GPV katodinėje srityje. MKE-1 anodas buvo GPV, modifikuotas su *m*-ksililendiaminu, MKE-2 anodas buvo GPV modifikuotas su 2,4-diaminotoluenu, MKE-3 anodu buvo naudojamas nemodifikuotas GPV (kontrolė). Anodas ir katodas buvo atskirti jonams laidžia membrana Nafion® NRE-212. Anolitas (žr. lentelė 2.4.) buvo cirkuliuojamas peristaltiniu siurbliu per anodinę sritį 6,25 cm³/min greičiu. Į anolito rezervuarą buvo leidžiamos azoto dujos 6,25 cm³/min greičiu užtikrinant anaerobines sąlygas.

Aprašytos sudėties katolitas (žr. 2.9. lentelė) buvo cirkuliuojamas katodo srityje $18,18 \text{ cm}^3/\text{min}$ greičiu ir aeruojamas katolito rezervuare. MKE anodo ir katodo sričių tūris buvo $31,85 \text{ cm}^3$. MKE įtampos kitimas laike buvo registruojamas kas 10 sekundžių, prie MKE elektrinės grandinės įtampos daliklio $39 \Omega (\pm 1 \%)$ rezistoriaus prijungus įtampos matavimo duomenų kaupiklį USB TC-08 (Pico® Technology), o pastarąjį prijungus prie personalinio kompiuterio. Papildomai į visų MKE uždaras elektrines grandines, nuosekliai įtampos daliklio rezistoriui, buvo įjungta pasyvioji elektrinė apkrova – $620 \Omega (\pm 1 \%)$ rezistorius. Bendra kiekvieno MKE elektrinė apkrova buvo lygi $659 (\pm 1 \%) \Omega$. Mikrobinių kuro elementų efektyvumo su skirtingai modifikuotais GPV anodais palyginimas buvo atliekamas pagal jų generuojamos įtampos vertes bei jų kitimą laike. Tikrosios kiekvieno MKE sukuriamos įtampos vertės buvo apskaičiuotos taikant Omo dėsnį grandinės daliai.



3.25 pav. Mikrobinių kuro elementų generuojamos įtampos kitimas. MKE-1 – anodas iš GPV, modifikuoto su m-ksililendiaminu, MKE-2 – anodas iš GPV, modifikuoto su 2,4,-diaminotoluenu, MKE-3 – anodas iš nemodifikuoto grafito pluošto.

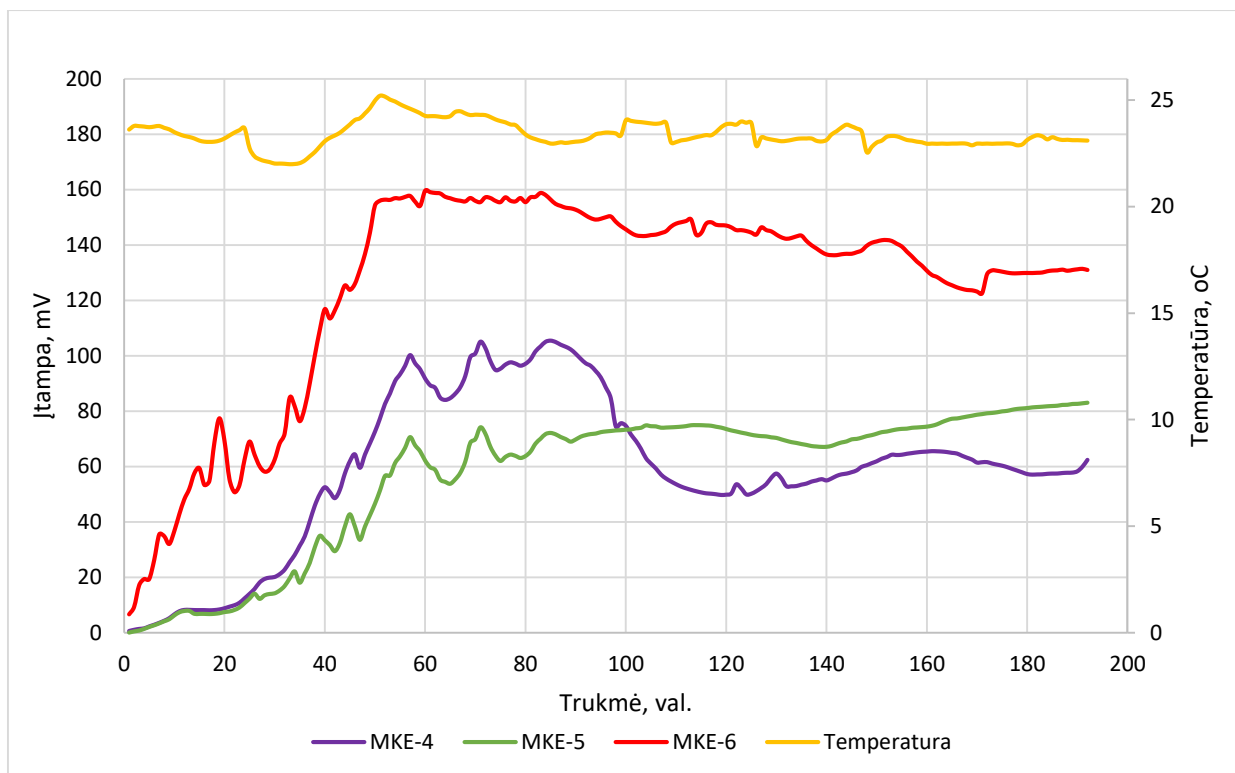
Po sistemos paleidimo (3.25 pav.) inokuliacija visuose MKE vyko panašiu greičiu. Po pirmų 15 valandų ir staigaus visų MKE įtampos kilimo, aukščiausią įtampą pasiekė MKE-1; įtampos vertė siekė 109 mV. Tuo metu MKE-2 ir MKE-3 įtampa pasiekė ~80 mV. Po staigaus įtampos šuolio, MKE-1 įtampos kilimas sulėtėjo, generuojamos įtampos vertė nusistovėjo praėjus 42 val. po inokuliacijos, įtampai siekiant 148 mV. Vėliau įtampa kito $\pm 10 \text{ mV}$, pasiekdama MKE-1 maksimumą 104 valandą po inokuliacijos, kuris siekė 153 mV. MKE-2 įtampa po staigaus šuolio 14 val. ir toliau didėjo. 43 val veikimo valandą po inokuliacijos MKE-2 pasiekė sistemos maksimalią 165 mV įtampą. Vėliau ji krito ir nuo 54 val., pasiekus apie 130 mV įtampą, stabilizavosi. Iki tyrimo pabaigos (3.26 pav.) įtampa svyravo tarp 115 mV ir 125 mV. MKE-3 (kontrolė) po inokuliacijos metu įvykusio įtampos šuolio (14 val.) stabilizavosi ir nepasiekė modifikuotų MKE (MKE-1 ir MKE-2) generuojamos įtampos nei vienam laiko taške (maksimaliai siekė 121 mV praėjus 54 val. po bakterijų inokuliacijos). Viso tyrimo metu (3.25 pav., 3.26 pav.) MKE-3 generuojama įtampa labai svyravo: nuo 30 mV (175-177 val. po inokuliacijos) iki 125 mV (263 val. po inokuliacijos) ir tik tyrimo pabaigoje (220 – 295 val.) stabilizavosi ir kito nuo 100 mV iki 125 mV



3.26 pav. Mikrobinių kuro elementų generuojamos įtampos kitimas laike. MKE-1 – anodas iš GPV, modifikuoto su m-ksililendiaminu., MKE-2 – anodas iš GPV, modifikuoto su 2,4,-diaminotoluenu, MKE-3 – anodas iš nemodifikuoto grafito pluošto veltinio.

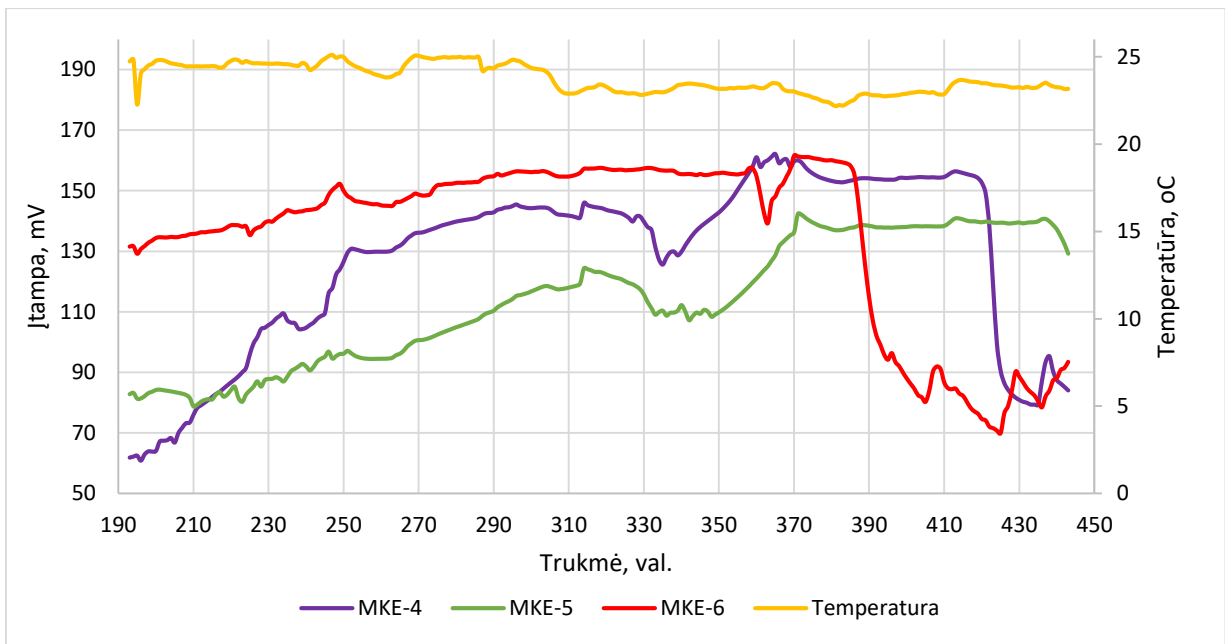
Tyrimo metu dėl vykdomos nuolatinės katolito aeracijos, iš jo rezervuaro išgaruodavo dalis vandens, todėl katolito rezervuaras buvo periodiškai papildomas distiliuotu vandeniu iki 400 ml žymens. Atsižvelgus į grafiką (3.25 pav. – 3.26 pav.), papildymas distiliuotu vandeniu MKE generuojamai įtampai įtakos neturėjo, nes po distiliuoto vandens įpylimo nebuvo pastebėti jokie staigūs įtampos pokyčiai

Antroji trijų MKE sistema buvo surinkta su anodais iš kitų modifikuotų GPV. Išplovus, dezinfekavus ir sterilizavus sistemą pagal aprašytą metodiką, MKE vėl buvo surinkti: MKE-4 anodu buvo GPV, modifikuotas su 3-aminopiridinu, MKE-5 anodu buvo GPV, modifikuotas su 3-amino-1,2,4-triazolu, o MKE-6 anodu buvo naudotas nemodifikuotas GPV (kontrolė). Tyrimo metu buvo užtikrinta, kad sąlygos bei sistemos konstrukcija būtų identiškos pirmosios serijos MKE konstrukcijai.

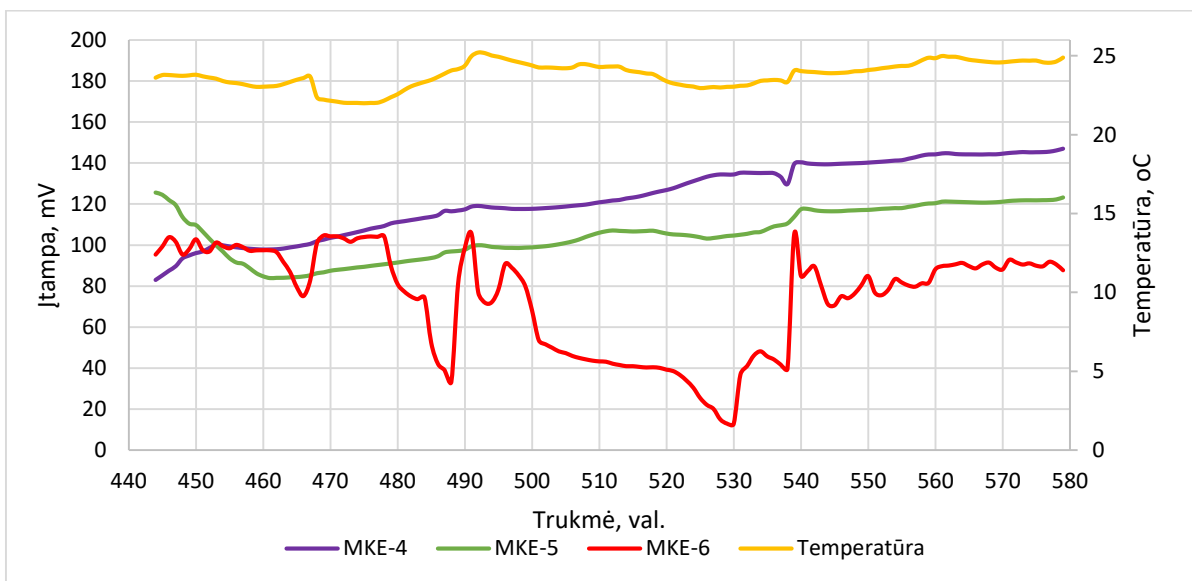


3.27 pav. Mikrobinių kuro elementų generuojamos įtampos kitimas laike. MKE-4 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-aminopiridinu, MKE-5 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, MKE-3 – anodas iš nmodifikuoto grafito pluošto veltinio.

Šį kartą, įleidus paruoštą *Shewanella putrefaciens* bakterijų kultūrą greičiausia inokuliacija vyko MKE-6 (3.27 pav.). Per pirmąsias 50 val. MKE-6 įtampa staigiai kilo ir pasiekė 154 mV. Tada įtampa stabilizavosi ir didžiąją dalį tyrimo (iki 385 val.) laikėsi tarp 125 mV ir 160 mV. Vėliau ji pradėjo kristi (3.28 pav., 385 val.) ir destabilizavosi (3.29 pav.). Taip įtampa svyravo tarp 100 mV ir 13 mV iki tyrimo pabaigos (580 val.). MKE-4 ir MKE-5 inokuliacija vyko lėčiau ir po pirmų 47 val. įtampa atitinkamai siekė 60 mV ir 34 mV. Vėliau MKE-4 įtampa krito iki 50 mV (3.27 pav., ~110 val.) ir išsilaikė ± 10 mV ribose iki 190 val. (3.28 pav.). MKE-5 pasiekęs 74 mV įtampą stabilizavosi ir išsilaikė $\pm 1,0$ mV ribose iki 230 val. Vėliau abiejų MKE su modifikuotais anodais įtampa pradėjo palaipsniui kilti (3.28 pav.). MKE-4 maksimalią įtampą pasiekė 365 val. ir 162 mV, o MKE-5 didžiausia įtampa buvo generuojama 371 valandą ir siekė 142 mV. Iki tyrimo pabaigos abiejų MKE su modifikuotais anodais įtampa svyravo, tačiau 460 val. stabilizavosi ir iki tyrimo pabaigos (3.29 pav., 580 val.) palaipsniui didėjo.



3.28 pav. Mikrobinių kuro elementų generuojamos įtampos kitimas laike. MKE-4 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-aminopiridinu, MKE-5 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, MKE-6 – anodas iš nemodifikuoto grafito pluošto veltinio.



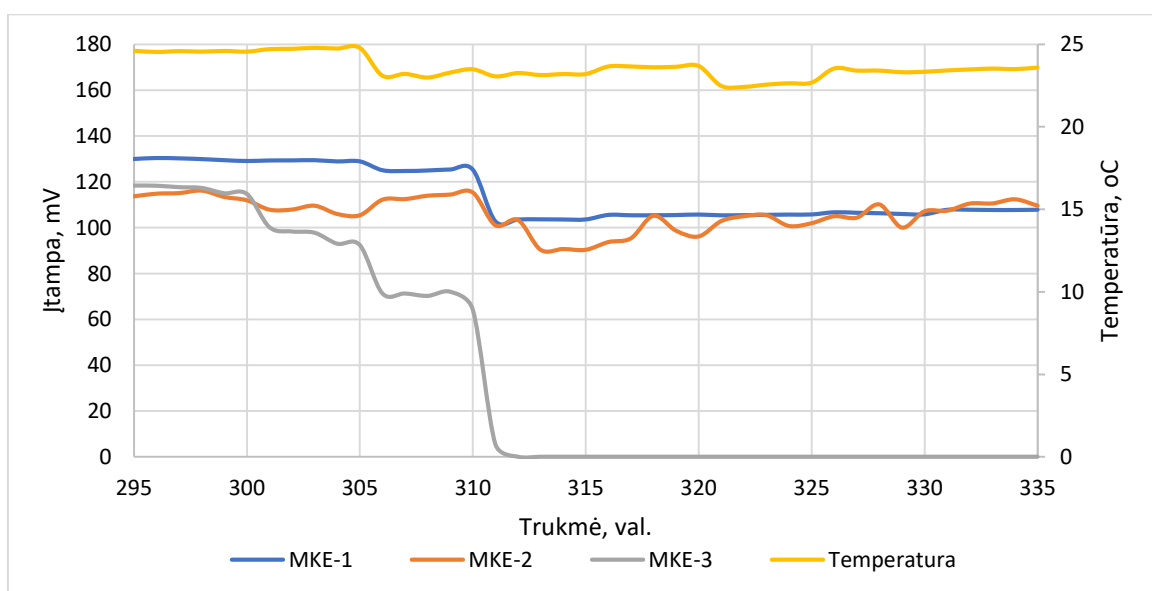
3.29 pav. Mikrobinių kuro elementų generuojamos įtampos kitimas laike. MKE-4 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-aminopiridinu, MKE-5 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, MKE-6 – anodas iš nemodifikuoto grafito pluošto veltinio.

Antrosios serijos MKE tyrimai atskleidė, kad GPV paviršiaus modifikavimas heterocikliniais aminais teigiamos įtakos MKE generuojamai įtampai neturėjo. Tai galima paaiškinti tuo, kad azoto atomą(us) turintys heterociklai dažnai sudaro tokią aktyvumą sąlygojančius antibakterinių preparatų molekulių struktūros fragmentus. Tačiau įdomu ir tai, kad tokie heterocikliniai fragmentai GPV paviršiuje visiškai nesunaikino *Shevanella putrefaciens* bakterijų prie anodų paviršių. Inokuliacija vyko ilgiau, generuojamos įtampos vertės buvo mažesnės, tačiau MKE veikė ir generavo stabilią įtampą. Ištyrus visų keturių MKE su anodais iš skirtingais aminais modifikuotų GPV veikimą nustatyta, kad didžiausią įtampą generavo MKE-2 (3.25 pav., 165 mV, 43 val. po inokuliacijos), kuriame anodas buvo iš GPV, modifikuoto su 2,4,-diaminotoluenu. Jo vertė buvo 32% didesnė nei kontrolinio MKE-3 (3.26 pav., 125 mV, 259 val. po inokuliacijos) su anodu iš nemodifikuoto GPV.

3.5 Mikrobinių kuro elementų su anodais iš modifikuoto grafito pluošto veltinio efektyvumo vertinimas be katolito buferinio tirpalo aeracijos

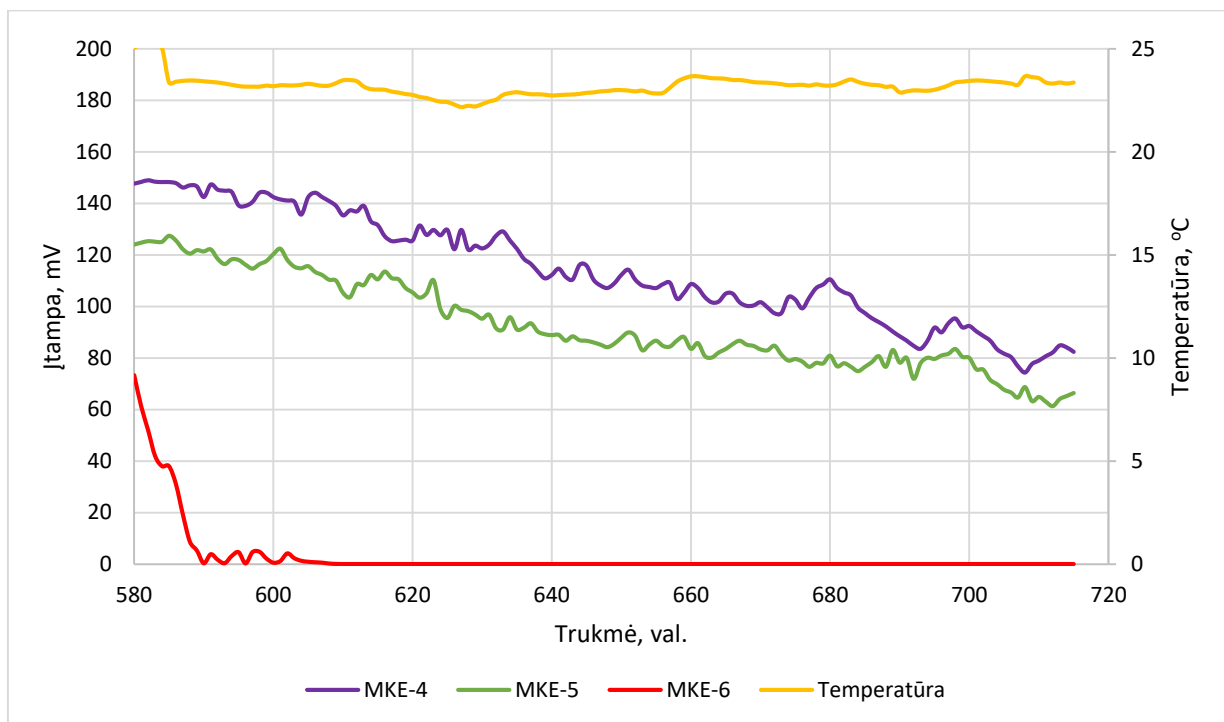
Siekiant įvertinti MKE su anodais iš organiniais aminais modifikuotų GPV veikimo efektyvumo priklausomybę nuo katolito aeracijos, buvo sukonstruoti 3 mikrobiniai kuro elementai pagal aprašytą metodiką su skirtingai modifikuotais GPV: MKE-1 anodu iš GPV, modifikuoto su m-ksililendiaminu, MKE-2 su anodu iš GPV, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu, ir MKE-3 su anodu iš nemodifikuoto GPV. Atliekant mikrobinių kuro elementų su modifikuotais grafito pluošto veltiniais efektyvumo vertinimą buvo vykdoma fosfatinio buferinio tirpalo aeracija. Tyrimo metu nusistovėjus MKE generuojamai įtampai (3.30 pav.), buvo nutrauktas aeracijos procesas (praėjus 309 val. po inokuliacijos). MKE-3 įtampa staigiai pradėjo kristi ir po mažiau nei 2 valandų po aeracijos nutraukimo įtampa nukrito iki 0 mV. Iki tyrimo pabaigos (315 val.) įtampa nepakilo. MKE-1 ir MKE-2 įtampa po aeracijos nutraukimo sumažėjo nuo 128 mV iki 103 mV (MKE-1, 3.30 pav.) ir nuo 118 mV iki 100 mV (MKE-2, 3.30 pav.). Tačiau šių MKE generuojama nesumažėjo iki nulio. MKE-2 įtampa stabilizavosi ± 10 mV ribose ir išsilaikė iki tyrimo pabaigos (315 val.). Nukritusi MKE-1 įtampa taip pat stabilizavosi ir buvo dar pastovesnė nei MKE-2: iki tyrimo pabaigos svyravo tarp 107 mV ir 103 mV (± 2 mV).

Antrosios serijos MKE katolitų aeracija taip pat buvo nutraukta po to, kai nusistovėjo generuojamos įtampos vertės. Šioje serijoje MKE-4 anodu buvo GPV, modifikuotas su 3-aminopiridinu, MKE-5 – anodas iš GPV, modifikuoto su 3-amino-1,2,4-triazolu, o MKE-6 anodas buvo iš nemodifikuoto GPV (kontrolė). Išjungus oro pompą po 6 val. MKE-6 įtampa siekė ~ 1 mV, o dar po 14 valandų pasiekė 0 mV ir nebekito iki tyrimo pabaigos (720 val. po inokuliacijos). Iki aeracijos nutraukimo, MKE su modifikuotais GPV anodais įtampa buvo stabili (3.29 pav.), o nutraukus abiejų sistemų katolito aeraciją, jų įtampa pradėjo kristi (3.31 pav.). Sustabdžius aeraciją MKE-4 įtampa siekė 148 mV, o tyrimo pabaigoje (praėjus 720 val. po bakterijų inokuliacijos) generavo 80 mV. MKE-5 prieš oro pompos išjungimą įtampa išlaikė 127 mV, o tyrimo pabaigoje – 65 mV.



3.30 pav. Mikrobinių kuro elementų įtampos kitimas laike. MKE-1 – anodo GPV modifikuotas su m-ksililendiaminu, MKE-2 – anodo GPV modifikuotas su 2,4-diaminotoluenu, MKE-3 – su nemodifikuotu grafito pluošto veltiniu (kontrolė).

Visi tirti MKE su modifikuotais GPV anodais generavo įtampą net neaeruoiant katolito tirpalo. Didžiausią ir stabiliausią įtampą generavo MKE-1, kuriame anodas buvo iš GPV, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu. Labai svarbu paminėti tai, kad MKE su modifikuotais anodais generuojamos įtampos vertė buvo žymiai stabilesnė be aeracijos. Jos kitimas mažiau priklausė nuo aplinkos temperatūros kitimo. Tokie MKE galėtų būti tiriami kaip biologiniai jutikliai, kuriuose generuojamos įtampos vertės dydis nėra pats svarbiausias rodiklis, nes žymiai svarbiau yra generuojamos įtampos vertės pastovumas.

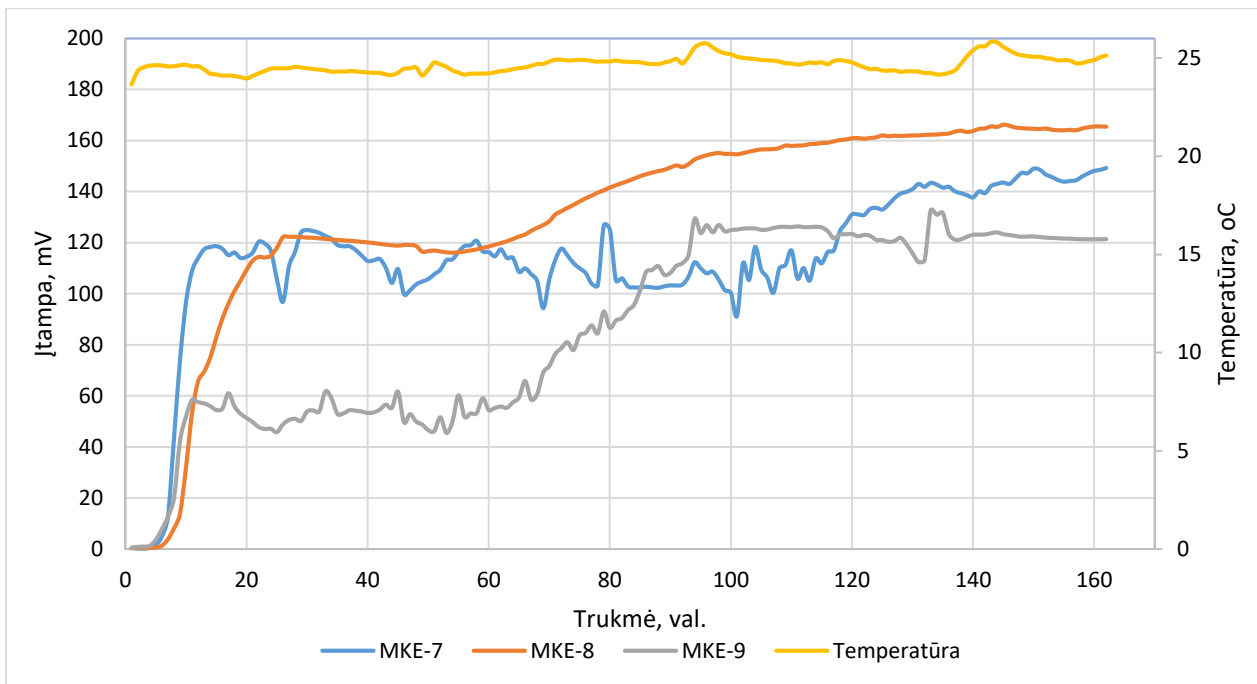


3.31 pav. Mikrobinių kuro elementų įtampos kitimas laike. MKE-4 – anodo GPV modifikuotas su 3-aminopiridinu, MKE-5 – anodo GPV modifikuotas su 3-amino-1,2,4-triazolu, MKE-6 – su nemodifikuotu grafito pluošto veltiniu (kontrolė).

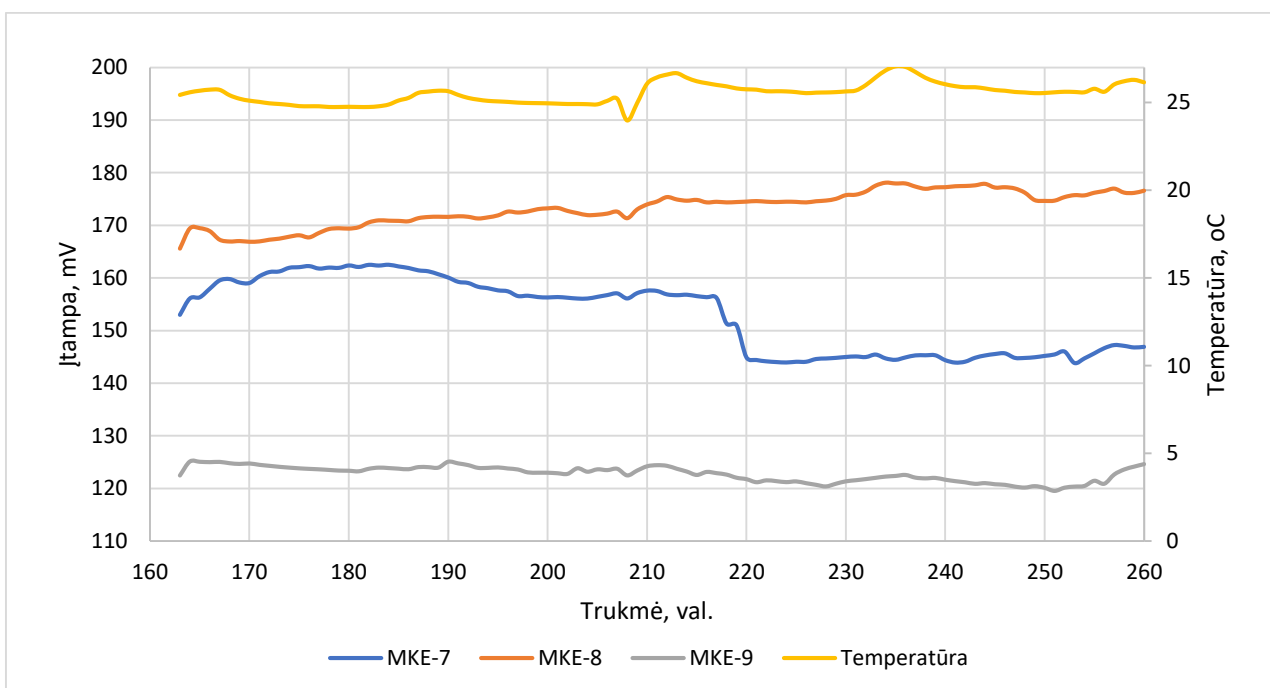
3.6 Mikrobinių kuro elementų efektyvumo priklausomybė nuo natrio chlorido koncentracijos anolite

Siekiant įvertinti MKE veikimo efektyvumo priklausomybę nuo natrio chlorido koncentracijos, buvo sukonstruoti 3 MKE pagal aprašytą metodiką su nemodifikuotais GPV anodais ir katodais. Tyrimo metu buvo naudota Luria-Bertani mitybinė terpė anolito skyriuje su skirtinga natrio chlorido koncentracija: MKE-7 ji buvo 17 g/l, MKE-8 – 20 g/l, MKE-10 – 22 g/l ir MKE-11 – 25 g/l. Kaip katoditas buvo naudotas fosfatinis buferis (pH=7,2). Abiejų bandymų sistemose palyginimui buvo naudoti MKE-9 ir MKE-12, kurių anolite NaCl koncentracija buvo 10 g/l.

Pirmojo bandymo metu MKE anolitinėse terpėse NaCl koncentracija buvo 17 g/l (MKE-7) ir 20 g/l (MKE-8) NaCl (3.31 pav.). Po *Shewanella putrefaciens* bakterijų kultūros inokuliacijos, greičiausiai įtampa didėjo MKE-7 ir MKE-8 (3.32 pav.). Po 15 val. MKE-7 įtampa siekė 119 mV, o MKE-8 po 28 val. generavo 122 mV elektros srovę. Praėjus apie 140 val. nuo bakterijų inokuliacijos, MKE, kurių anolituose buvo didesnė NaCl koncentracija, stabilizavosi ir atitinkamai išlaikė 170 mV ±10 mV (MKE-7) bei 150 mV ±10 mV (MKE-8) įtampą iki tyrimo pabaigos (260 val) (3.33 pav.). MKE-9 15 val. po inokuliacijos generavo 55 mV įtampą. Praėjus 63 val. įtampa pradėjo kilti ir po 95 val. stabilizavosi. Iki tyrimo pabaigos MKE-9 išlaikė 120 mV ±5 mV įtampą (3.33 pav.).



3.32 pav. Mikrobinių kuro elementų įtampos kitimas. MKE-7 – anolitinė terpė, kurioje NaCl koncentracija 17 g/l., MKE-8 – anolitinė terpė su 20 g/l NaCl koncentracija, MKE-9 – anolitinė terpė su 10 g/l NaCl koncentracija (kontrolė).

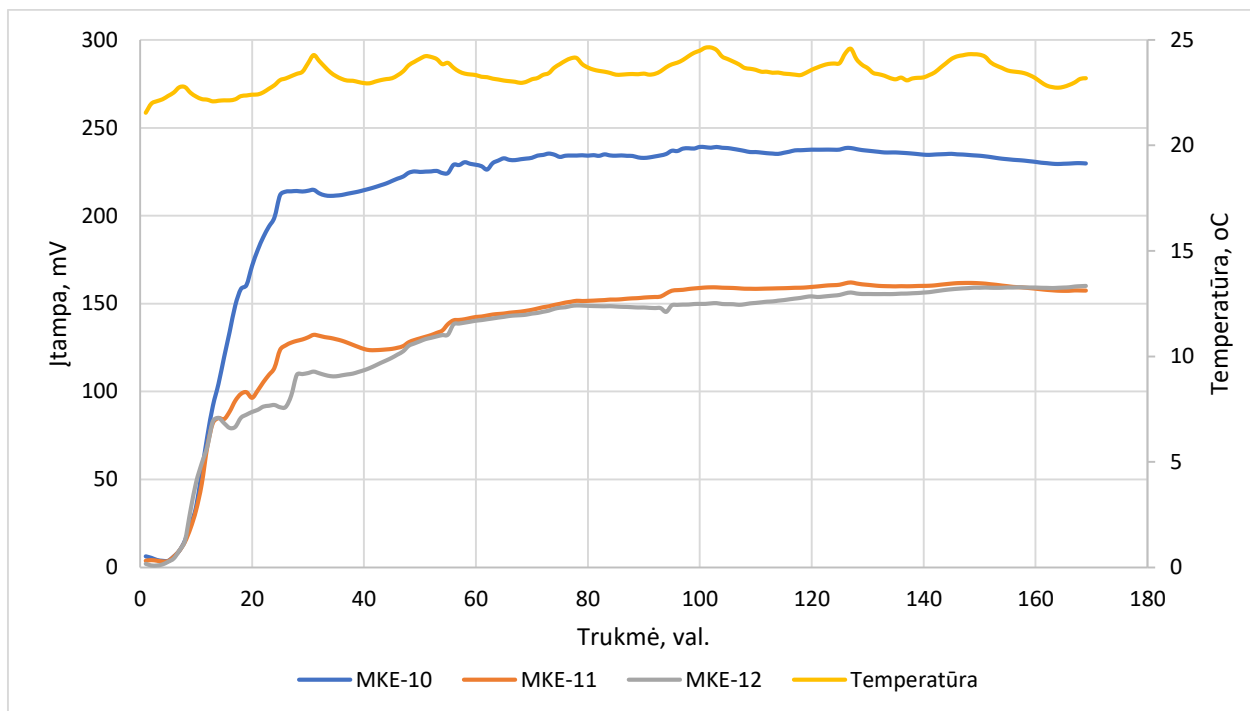


3.33 pav. Mikrobinių kuro elementų įtampos kitimas. MKE-7 – anolitinė terpė, kurioje NaCl koncentracija 17 g/l., MKE-8 – anolitinė terpė su 20 g/l NaCl koncentracija, MKE-9 – anolitinė terpė su 10 g/l NaCl koncentracija (kontrolė).

Leidžiant sistemas antrąjį kartą, MKE buvo naudota anolitinė terpė su 22 g/l (MKE-10), 25 g/l (MKE-11) ir 10 g/l (MKE-12) NaCl koncentracija. Inokuliacija visuose MKE vyko tuo pačiu metu, tačiau didžiausią įtampą po pirmų 25 val. generavo MKE-10 ir siekė 212 mV. Vėliau įtampos kilimas stabilizavosi ir 100 val. po inokuliacijos pasiekė didžiausią tyrimo įtampą, kuri siekė 239 mV. Vėliau, iki bandymo pabaigos (169 val., 3.34 pav.), MKE-10 išlaikė 130 mV \pm 10 mV įtampą. MKE-11 ir MKE-12 viso tyrimo metu įtampos kitimas buvo panašus. Po inokuliacijos praėjus 15 val. abiejų

MKE įtampa siekė 82 mV. Vėliau ji kilo praėjus apie 100 val. nuo sistemos paleidimo, stabilizavosi ir iki tyrimo pabaigos generavo 157 ± 4 mV (MKE-11) bei 155 ± 5 mV (MKE-12) (3.34 pav.).

Visų bandymų metu, kai NaCl koncentracija anolito terpėje buvo skirtinga, MKE generuojamos įtampos vertės buvo ganėtinai stabilios ir mažai kito, kintant temperatūrai. Aukščiausia įtampa buvo užfiksuota antro sistemos leidimo metu, kai NaCl koncentracija anolite buvo su 22 g/l (MKE-10, 3.34 pav.). MKE, kuriuose anolito terpėje NaCl koncentracija buvo 17 g/l ir 20 g/l, taip pat generavo didesnę įtampą nei kontrolinis MKE (3.32 pav., 3.33 pav.). Tačiau, kai NaCl koncentracija buvo padidinta iki 25 g/l, MKE generuojama įtampa buvo labai panaši į kontrolinio MKE generuojamą įtampą. Galima daryti išvadą, kad didinant NaCl koncentraciją anolito terpėje iki 22 g/l, galima padidinti mikrobinio kuro elemento generuojamą įtampą.



3.34 pav. Mikrobinių kuro elementų įtampos kitimas. MKE-10 – anolitinė terpė, kurioje NaCl koncentracija 22 g/l., MKE-11 – anolitinė terpė, kurioje NaCl koncentracija 25 g/l, MKE-12 – anolitinė terpė, kurioje NaCl koncentracija 10 g/l (kontrolė).

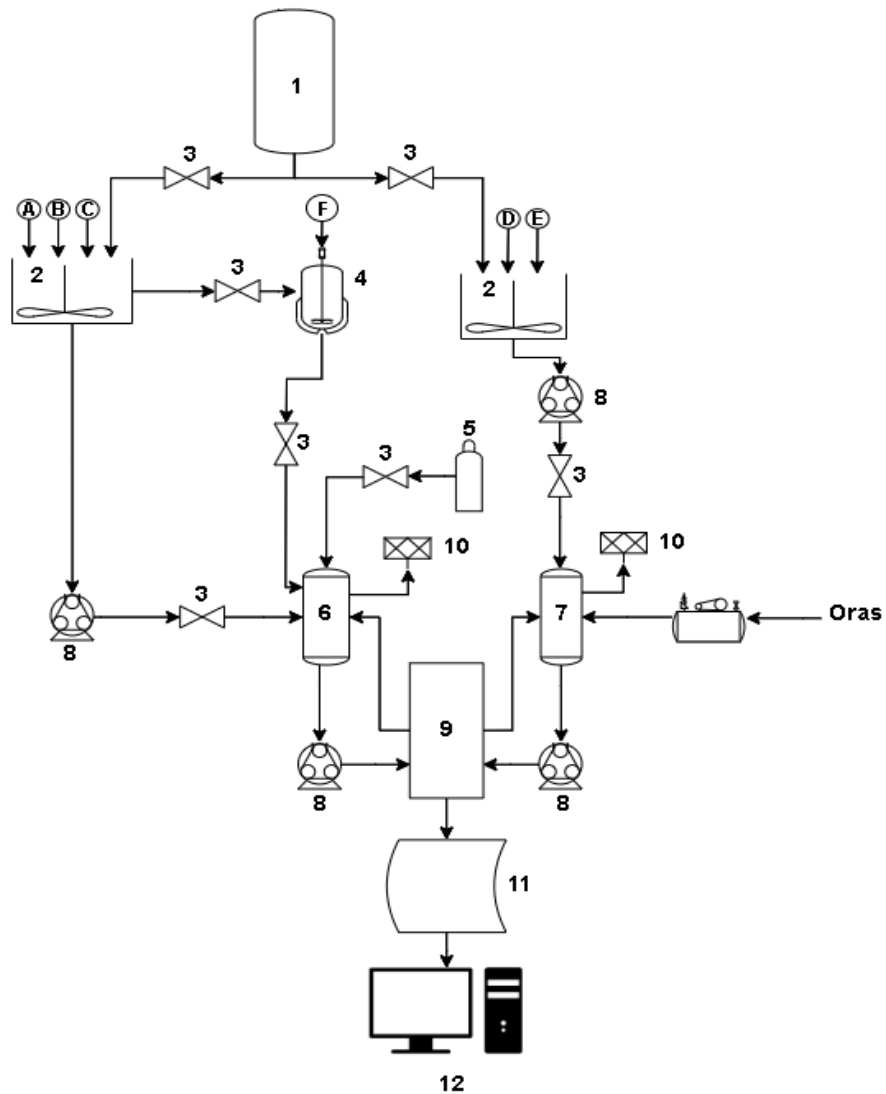
4. Rekomendacijų dalis

Naudojant mikrobinius kuro elementus su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis kaip reaktorius galime tiesioginiu būdu gauti elektros energiją iš organinių medžiagų ir atliekų. Norint padidinti MKE efektyvumą buvo iširti skirtingi veiksniai, turintys įtakos generuojamos įtampos dydžiui ir stabilumui.

Siekiant padidinti darbe tirtos konstrukcijos mikrobinių kuro elementų su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis generuojamos elektros srovės įtampos vertę, rekomenduojama grafito pluošto veltinio anodus ruošti, iš pradžių elektrochemiškai oksiduojant juos, o po to modifikuojant su 2,4-diaminotoluenu ir *m*-ksililendiaminu. MKE su tokiais anodais generuoja aukštesnę ir daug stabilesnę įtampą nei MKE, kuriame anodu buvo naudotas nemodifikuotas GPV. Taip pat MKE su šiais modifikuotais anodais generavo itin stabilią įtampą net ir neaeruojant katolito. Tokie MKE galėtų būti panaudoti biologinių jutiklių gamyboje, tačiau reikalingi tolimesni tyrimai, norint daugiau iširti jų generuojamos įtampos stabilumą ir ilgalaikiškumą, esant kitokioms aplinkos sąlygoms. Taip pat reikėtų tirti, kokių analičių buvimui ar jų koncentracijų pokyčiui šie biologiniai jutikliai būtų jautrūs.

Vertinant MKE efektyvumo priklausomybę nuo natrio chlorido koncentracijos anolito terpėje, buvo nustatyta, kad aukščiausia įtampa generuojama, kai NaCl koncentracija terpėje yra 22 g/l. Rekomenduojama ateityje iširti, ar tokia pati NaCl koncentracija tiktų ir kitose dažniausiai mikrobiniuose kuro elementų anodo srityje naudojamose *Shewanella putrefaciens* bakterijų mitybinėse terpėse.

Atlikus tyrimą su MKE ir optimizavus natrio chlorido koncentraciją anolito terpėje, pasiūlyta proceso principinė schema (4.1 pav.).



4.1 lentelė. Įrenginių ir medžiagų sąrašas

Simbolis	Įrenginys / medžiaga
1	Distiliuoto vandens talpa
2	Rezervuaras su maišykle
3	Vožtuvas
4	Bakterijų auginimo reaktorius
5	Azoto dujų balionas
6	Anolito rezervuaras
7	Katolito rezervuaras
8	Peristaltinis siurblys
9	Mikrobinis kuro elementas
10	Alsuoklis
11	Duomenų kaupiklis
12	Personalinis kompiuteris
A	Triptonas
B	Natrio chloridas
C	Mielių ekstraktas
D	Natrio vandenilio fosfatas
E	Natrio divandenilio fosfatas
F	<i>Shewanella putrefaciens</i> bakterijų kultūra

4.1 pav. Principinė MKE su *Shewanella putrefaciens* bakterijomis technologinė schema.

Išvados

1. Elektrochemiškai oksiduojant grafito pluošto veltinį vandeniniame 10 % H₂SO₄ tirpale esant skirtingai impulsų įtampai ($U_{\max} = 3,75$ V; $U_{\max} = 4,0$ V), nustatyta, kad elementinė deguonies koncentracija GPV paviršiuje daugiau padidėjo, esant $U_{\max} = 3,75$ V.
2. Modifikuojant oksiduoto GPV siūlelių paviršių organiniais aminais: *m*-ksililendiaminu, 1,4-diaminotoluenu, 3-amino-1,2,4-triazolu ir 3-aminopiridinu, nustatyta, kad didžiausia elementinio azoto koncentracija (14,04%) buvo gauta, modifikuojant elektrochemiškai oksiduotą GPV su *m*-ksililendiaminu, o mažiausia (7,32%) – su 3-aminopiridinu.
3. Ištyrus MKE veikimo efektyvumą su skirtingais organiniais aminais modifikuotais GPV anodais, nustatyta, kad didžiausią įtampą (165 mV) generavo MKE-2, kuriame anodas buvo iš GPV, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu. Generuojamos įtampos vertė buvo 32 % aukštesnė nei kontrolinio MKE. *Shewanella putrefaciens* inokuliacija greičiausiai vyko MKE-2, kuriame buvo anodas iš GPV, modifikuoto su 2,4-diaminotoluenu. Ilgalaikių tyrimų metu buvo nustatyta, kad visi MKE, kuriuose anodai buvo iš modifikuoto GPV, generavo stabilesnę įtampą.
4. Tiriant katolito aeracijos įtaką MKE su organiniais aminais modifikuotais anodais veikimo efektyvumui, nustatyta, kad nutraukus katolito aeraciją, aukščiausią įtampą generavo MKE-2, kuriame anodas buvo iš GPV, modifikuoto su *m*-ksililendiaminu (105 mV). Pažymėtina, kad visi MKE su modifikuotais anodais generavo labai stabilią įtampą, po to, kai katolito aeracija buvo nutraukta, MKE pasiekus maksimalias generuojamos įtampos vertes su katolito aeracija.
5. Vertinant NaCl koncentracijos LB terpėje, kuri buvo naudojama kaip anolitas, įtaką MKE efektyvumui, nustatyta, kad aukščiausią įtampą generavo MKE-10, kurio anolite NaCl koncentracija buvo 22 g/l (239 mV). Mažiausią įtampą generavo MKE-9, kurio anolite NaCl koncentracija buvo 10 g/l (125 mV).

Literatūros sąrašas

1. ENAS TAHA SAYED AND MOHAMMAD ALI ABDELKAREEM. Yeast as a Biocatalyst in Microbial Fuel Cell. Chapter 3, 2017. [žiūrėta 2019-10-23]. Prieiga per doi: 10.5772/intechopen.70402
2. SOUMYA PANDIT, SANTIMOY KHILARI, SHANTONU ROY, DEBABRATA PRADHAN, DEBABRATA DAS. Improvement of power generation using *Shewanella putrefaciens* mediated bioanode in a single chambered microbial fuel cell: Effect of different anodic operating conditions. *Bioresource Technology* [interaktyvus]. 2014, vol. 166, 451-457 [žiūrėta 2020-03-23]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085241400741X>
3. ZHANG Yi-Chi, JIANG Zhao-Hong, LIU Ying. Application of Electrochemically Active Bacteria as Anodic Biocatalyst in Microbial Fuel Cells. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* [interaktyvus]. 2015, vol. 43 (1), 155-163. [žiūrėta 2020-02-25]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1872204015608003>
4. SOUMYA PANDIT, SANTIMOY KHILARI, SHANTONU ROY, DEBABRATA PRADHAN, DEBABRATA DAS. Improvement of power generation using *Shewanella putrefaciens* mediated bioanode in a single chambered microbial fuel cell: Effect of different anodic operating conditions, *Bioresource Technology* [interaktyvus]. 2014, 451-457. [žiūrėta 2020-02-10]. Prieiga per:
<http://www.facweb.iitkgp.ac.in/~deb/BT2014.pdf>
5. OLIVIER SCHAETZLE, FRÉDÉRIC BARRIÈRE, KEITH BARONIAN. Bacteria and yeasts as catalysts in microbial fuel cells: electron transfer from micro-organisms to electrodes for green electricity. *Energy Environ. Sci.* [interaktyvus]. 2008, 1, 607-620. [žiūrėta 2020-02-23]. Prieiga per:
<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2008/ee/b810642h>
6. LOGAN, BRUCE E., *Microbial fuel cells*, Wiley-Interscience; 1 edition, 2008. ISBN: 9780470258590
7. KUN GUO, DANIEL J. HASSETT, TINGYUE GU. Microbial Fuel Cells: Electricity Generation from Organic, Wastes by Microbes, *Microbial Biotechnology: Energy and Environment* [interaktyvus]. 2012, chapter 9, 162-189. [žiūrėta 2020-02-23]. Prieiga per:
<https://pdfs.semanticscholar.org/6228/e0cbbe7ee466f64b6d7ef0545e1b50773e50.pdf>
8. NICOLAS DEGRENE, BRUNO ALLARD, FRANCOIS BURET. Comparison of 3 self-starting step-up DC:DC converter topologies for harvesting energy from low-voltage and low-power microbial fuel cells. *Conference: Power Electronics and Applications* [interaktyvus]. Université de Lyon, Ecole Centrale de Lyon, 2011. [žiūrėta 2020-02-23]. Prieiga per:
https://www.researchgate.net/publication/224258477_Comparison_of_3_self-starting_step-up_DCDC_converter_topologies_for_harvesting_energy_from_low-voltage_and_low-power_microbial_fuel_cells
9. NIRANJAN PRAKASHRAO PATIL, SAHIL SHAIKH. Microbial Fuel Cell: Design and Operation. *Research and Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology* [interaktyvus]. 2016. [žiūrėta 2020-02-25]. Prieiga per:
https://www.researchgate.net/publication/308333548_Microbial_Fuel_Cell_Design_and_Operation
10. SITI FARAH NADIAHRUSLI, MIMI HANI, ABU BAKAR, KEE SHYUAN LOH, MOHD SHAHBUDIN MASTAR, Review of high-performance biocathode using stainless steel and carbon-based materials in Microbial Fuel Cell for electricity and water treatment, *International Journal of Hydrogen Energy* [interaktyvus]. 2019, vol. 44 (58), 30772-30787. [žiūrėta 2020-01-23]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319918337509>

11. HEND OMARMOHAMED, ENAS TAHA SAYED, HYUNJIN CHO, MIRA PARK, M.OBAID, HAK-YONG KIM, NASSER A.M. BARAKAT. Effective strategies for anode surface modification for power harvesting and industrial wastewater treatment using microbial fuel cells. *Journal of Environmental Management* [interaktyvus]. 2018, vol. 206, 228-235. [žiūrėta 2020-02-23]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479717310009?via%3Dihub>

12. CHAOCHAO LI, SHAOAN CHENG. Functional group surface modifications for enhancing the formation and performance of exoelectrogenic biofilms on the anode of a bioelectrochemical system. *Critical reviews in Biotechnology* [interaktyvus]. 2019, vol. 39 (8), 1-16 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:

https://www.researchgate.net/publication/335694999_Functional_group_surface_modifications_for_enhancing_the_formation_and_performance_of_exoelectrogenic_biofilms_on_the_anode_of_a_bioelectrochemical_system

13. SHAOAN CHENG, BRUCE E. LOGAN. Ammonia treatment of carbon cloth anodes to enhance power generation of microbial fuel cells. *Electrochemistry Communications* [interaktyvus]. 2007, vol. 9 (3), 492-496 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138824810600467X?via%3Dihub>

14. YUJIE FENG, QIAO YANG, XIN WANG, BRUCE E. LOGAN. Treatment of carbon fiber brush anodes for improving power generation in air-cathode microbial fuel cells. *Journal of Power Sources* [interaktyvus]. 2010, vol. 195 (7), 1841-1844 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775309018321?via%3Dihub>

15. NENGWU ZHU, XI CHEN, TING ZHANG, PINGXIAO WU, PING LI, JINHUA WU. Improved performance of membrane free single-chamber air-cathode microbial fuel cells with nitric acid and ethylenediamine surface modified activated carbon fiber felt anodes. *Bioresource Technology* [interaktyvus]. 2011, vol. 102 (1), 422-426 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410010278?via%3Dihub>

16. EGIDIJUS GRIŠKONIS, ARMINAS ILGINAS, ILONA JONUŠKIEN, LAURENCAS RASLAVIČIUS, ROLANDAS JONYNAS, MONIKA MAZIUKIENĖ, KRISTINA KANTMINIENĖ. Modification of graphite felt as anode for enhanced performance of microbial fuel cells. *23rd Topical Meeting of the International Society of Electrochemistry. Electrochemistry for Investigation of Biological Objects: from Functional Nanomaterials to Micro/Nano-Electrodes*. 8-11 May 2018, Vilnius, Lithuania. [Lausanne]: [ISE], p. 1.

17. CARLO SANTORO, CATIA ARBIZZANI, BENJAMIN ERABLE, IOANNIS IEROPOULOS. Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *Journal of Power Sources* [interaktyvus]. 2017, vol. 356, 114-244. Prieiga per:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5465942/>

18. MARCELINUS CHRISTWARDANA, DOMENICO FRATTINI, GRAZIA ACCARDO, SUNG PIL YOON, YONGCHAI KWON. Effects of methylene blue and methyl red mediators on performance of yeast based microbial fuel cells adopting polyethylenimine coated carbon felt as anode. *Journal of Power Sources* [interaktyvus]. 2018, vol. 396, 1-11. [žiūrėta 2020-02-23]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378775318306013>

19. DEREK R. LOVLEY, Electrically conductive pili: Biological function and potential applications in electronics. *Current Opinion in Electrochemistry* [interaktyvus]. 2018, vol. 4 (1), page 190-198,. [žiūrėta 2020-02-23]. Prieiga per:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2451910317301035>

20. MARZIEH AGHABABAIE, MEHRDAD FARHADIAN, AZAM JEIHANIPOUR, DAVID BIRIA, Effective factors on the performance of microbial fuel cells in wastewater treatment – a review. *Environmental Technology Reviews* [interaktyvus]. 2015, vol. 4 (1). [žiūrėta 2020-05-23]. Prieiga per:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09593330.2015.1077896>
21. KUO GUO, ANTONIN PREVOTEAU, SAUNIL A PATIL, KORNEEL RABAEY. Engineering electrodes for microbial electrocatalysis. *Current Opinion in Biotechnology* [interaktyvus]. 2015, vol. 33, 149-156 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166915000336>
22. SHUOLIANG CHEN, SUNIL A. PATIL, ROBERT KEITH BROWN, UWE SCHRODER. Strategies for optimizing the power output of microbial fuel cells: Transitioning from fundamental studies to practical implementation. *Applied Energy* [interaktyvus]. 2019, vol. 233-234 (1), 15-28 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261918315721>
23. SUNIL A. PATIL, FALK HARNISCH, BALASAHEB KAPADNIS, UWE SCHRODER. Electroactive mixed culture biofilms in microbial bioelectrochemical systems: The role of temperature for biofilm formation and performance. *Biosensors and Bioelectronics* [interaktyvus]. 2010, vol. 26 (2), 803-808 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566310003209>
24. JUNG S., REGAN J.M. Influence of external resistance on electrogenesis, methanogenesis, and anode prokaryotic communities in microbial fuel cells. *Applied and Environmental Microbiology* [interaktyvus]. 2011, vol. 77 (2), 564-571 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-79551492865&origin=inward>
25. ARPITA NANDY, SMAIR JANA, MOUMITA KHAMRAI, VIKASH KUMAR, SHRITAMA MUKHERJEE, ARINDAM BHATTACHARYYA, PATIT P. KUNDU. Cloning and expression of α -amylase in *E. coli*: genesis of a superior biocatalyst for substrate-specific MFC. *International Journal of Green Energy* [interaktyvus]. 2019, vol. 16 (4). [žiūrėta 2020-02-27]. Prieiga per:
<https://www.tandfonline-com.ezproxy.ktu.edu/doi/full/10.1080/15435075.2019.1566135>
26. D. H. PARK, J. G. ZEIKUS, Impact of electrode composition on electricity generation in a single-compartment fuel cell using *Shewanella putrefaciens*. *Applied Microbiology & Biotechnology*. 2002, vol. 59 (1), 58-61. [žiūrėta 2020-02-27] Prieiga per doi:
<https://doi.org/10.1007/s00253-002-0972-1>
27. WENZHU YANG, YIZHAO SHEN, RANITHRI ABEYNAYAKEA, TAO RAN, LINGYUN CHEN. PSIX-12 Screening of peptides for their impact of protease, protease dose and peptide dose on in vitro rumen dry matter digestibility. *Journal of Animal Science*. 2019, vol. 97 (3), 398-399 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
https://academic.oup.com/jas/article-abstract/97/Supplement_3/398/5665871?redirectedFrom=fulltext
28. A-ANDREW D. JONES, CULLEN R. BUIE. Continuous shear stress alters metabolism, mass-transport, and growth in electroactive biofilms independent of surface substrate transport. *Scientific Reports* [interaktyvus]. 2019, 9, Articles number: 2602 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
<https://www.nature.com/articles/s41598-019-39267-2>
29. ZHU NENGWU, CHEN XI, ZHANG, TING, WU PINGXIAO, LI PING, WU JINHUA. Improved performance of membrane free single-chamber air-cathode microbial fuel cells with nitric acid and ethylenediamine surface modified activated carbon fiber felt anodes. *Bioresource Technology* [interaktyvus]. 2011, vol. 102(1), 422-426 [žiūrėta 2020-03-12]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410010278?via%3Dihub>

30. ALESSANDRO A. CARMONA-MARTÍNEZ, FALK HARNISCH, UTE KUHLCHE, THOMAS R. NEU, UWE SCHRÖDER. Electron transfer and biofilm formation of *Shewanella putrefaciens* as function of anode potential. *Bioelectrochemistry* [interaktyvus]. Germany, 2013, vol. 93, 23-29 [žiūrėta 2020-03-17]. Prieiga per:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567539412000795?via%3Dihub>