

# Mikrobiyel yakıt hücresinde *Shewanella putrefaciens* tarafından organik atıklardan elektrik üretimi

Sevil AKTAN<sup>\*1</sup>, Emine UBAY ÇOKGÖR<sup>1</sup>, Fahrettin GÜCİN<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Environmental Biotechnology Programı, 34469, Ayazağa, İstanbul

<sup>2</sup> Fatih Üniversitesi Biyoloji Bölümü 34500, Hadımköy, İstanbul

## Özet

Mikrobiyel yakıt hücreleri (MYH) oksijensiz ortamda elektrojen mikroorganizmaları biyokatalizör olarak kullanarak organik maddelerden elde edilen kimyasal enerjiyi doğrudan elektrik enerjisine çeviren sistemlerdir. Tipik bir MYH'si anot, katot, proton geçirgen membran ve voltaj yada akım değerlerini ölçen veri toplama cihazından oluşur. Elektrojen bakteri oksijensiz ortamda anot üzerinde biyofilm tabakası oluşturarak organik maddeleri, karbondioksit, elektron ve protona çevirir. Bu çalışmada, iki hazneli MYH ve saf kültür *Shewanella putrefaciens* kullanılmıştır. Bu saf kültür bakterisinin seçilmesindeki amaç, dış membran enzimlerini doğal olarak kullanma yeteneğinde olduğundan elektronlarını iletken bir anota verme kabiliyetine sahip olmasıdır. Böylece bakteri tarafından üretilen elektronları anot elektroduna iletecek dışarıdan kimyasal bir medyatör kullanma gerekliliği ortadan kalkmıştır. Bu çalışmada, MYH'de farklı organik maddelerden ve farklı miktarlarda çoğaltılan saf kültür *S. putrefaciens* kullanılarak açık devre voltajları ölçülmüştür. 10 mM glikoz kullanılarak 1250 mL besi maddesi içinde çoğaltılan saf kültürün santrifüjünden elde edilen devre voltajı 832 mV iken, 2500 mL saf kültür için 777 mV, 800 mL saf kültür için ise 810 mV olarak ölçülmüştür. 10 mM etanol kullanılarak 1250 mL saf kültürden 670 mV, 10 mM propiyonik asit kullanılarak 1250 mL saf kültür için ise açık devre voltajı 803mV bulunmuştur. Besi maddesi olarak 10 mM glikoz kullanıldığında 5000  $\Omega$  dış direnç ile çalıştırıldığında amper değeri 4  $\mu$ A ölçülmüştür. Güç yoğunluğu olarak 0.8 mA/m<sup>2</sup> bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Mikrobiyel yakıt hücresi, elektrik üretimi, *Shewanella putrefaciens*, voltaj, güç yoğunluğu.

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Sevil AKTAN. sevil@fatih.edu.tr; Tel: (535) 965 03 95.

Bu makale, birinci yazar tarafından İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Environmental Biotechnology Programı'nda tamamlanmış olan "Effects of antibiotics and hormones on electricity generation using microbial fuel cells" adlı doktora tezinin hazırlanmıştır. Makale metni 03.16.2011 tarihinde dergiye ulaşılmış, 18.07.2011 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.04.2012 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

Bu makaleye "Aktan, S., Çokgör, E.U., Gücin, F.; (2011) 'Mikrobiyel yakıt hücresinde *Shewanella putrefaciens* tarafından organik atıklardan elektrik üretimi', İTÜ Dergisi/E Su Kirlenmesi Kontrolü, 21: 2, 79-87" şeklinde atıf yapılabilir.

## Electricity generation from organic substrates by a microbial fuel cell using *Shewanella putrefaciens*

### Extended abstract

A microbial fuel cell (MFC) is a bioreactor that converts chemical energy in the chemical bonds in organic compounds to electrical energy through catalytic reactions of microorganisms under anaerobic conditions. Typical two chambered MFC systems consist of conductive anode (such as carbon cloth or carbon paper) and cathode material (with platinum), proton exchange membrane (PEM), anolyte and catholyte, external conductive wire, and digital multimeter system and computer. In a MFC, power can be generated from the oxidation of organic matter by bacteria at the anode, with reduction of oxygen at the cathode. Anodic and cathodic chambers partitioned by a PEM. A bacterium in the anode compartment transfers electrons obtained from an electron donor (e.g. glucose, acetate) to the anode electrode. This occurs either through direct contact (nanowires) or mobile electron shuttles. During electron production protons are also produced in excess. These protons migrate through the PEM into the cathode chamber. Electrons can be also transferred to the anode by electron chemical mediator. But the toxicity and instability of synthetic mediators limit their applications in MFCs. *Shewanella putrefaciens* is bioelectrochemically active and can form a biofilm on the anode surface and transfer electrons directly (without mediator) by conductance through the membrane. When they are used, the anode acts as the final electron acceptor in the dissimilatory respiratory chain of the microbes in the biofilm. *S. putrefaciens* was grown on LB broth. For aerobic growth, cultures were shaken continuously on a cooling rotary shaker-incubator at 160 rpm at 25 °C. For anaerobic growth, approximately 1.25 liter of anaerobically prepared (in the atmosphere controlled chamber) LB broth in glass bottle was inoculated with 12.5 mL of an aerobically grown overnight culture and incubated without agitation. After 96 h of growth, the cells will be harvested under anaerobic conditions by a continuous centrifugation system at 4800 rpm at 4°C. The cell paste will be washed three times in 50mM sodium phosphate buffer containing 0.1 M NaCl. The washed cells were re-suspended in the buffer and transferred to 100 mL capacity anode compartment of the MFC on anaerobic conditions. The two chambered microbial fuel cells (TCMFC) were constructed using two glass bottles. Each bottle's volumes

were 100 mL. Each cell compartment had three ports at the top, for electrode wire, addition and sampling of solutions, and gassing. Two compartments were separated by a PEM. The anode compartment was loaded with freshly prepared bacterial suspension (suspended in 50 mM Na-phosphate buffer (pH 7.0) containing 0.1 M NaCl, vitamin, mineral solution and substrate (acetate, ethanol and propionic acid). The cathode compartment was loaded with 50 mM Na-phosphate buffer (pH 7.0) containing 0.1 M NaCl. Nitrogen and air were continuously purged through anode and cathode compartments to maintain anoxic and aerobic conditions, respectively (flow rate of nitrogen gas was approximately 15 mL per min). The microbial fuel cell was immersed in a water bath to maintain temperature (25°C). Cooler was used to supply for summer conditions and heater was used to supply for winter conditions. The air conditioner was also used to supply constant temperature.

Voltage (V, volt) or current (I, amper) was measured using a multimeter with a data acquisition system. Power density ( $\text{mW}/\text{m}^2$ ) was calculated according to  $P = \text{Current} * \text{Voltage} / \text{projected area of the anode}$  ( $P = IV/A$ .)

When the anode compartment of the microbial fuel cells were loaded with freshly prepared *S. putrefaciens*, potential development was measured under open circuit conditions. Before the fuel (carbon source) was added, open circuit voltage (OCV) approximately 100-200 mV were observed from the microbial fuel cell containing suspensions of *S. Putrefaciens*. The addition of substrate as the fuel to the cell containing *S. Putrefaciens* resulted in a rapid rise in OCV up to 780-840 mV. Maximum OCV observed 832 mV, 777 mV and 810 mV for 10 mM glucose centrifuged from anaerobic growth of 1250 mL, 2500 mL and 800 mL from pure culture, respectively. The addition of ethanol was OCV up to 670 mV and addition of propionic acid was OCV up to 803 mV.

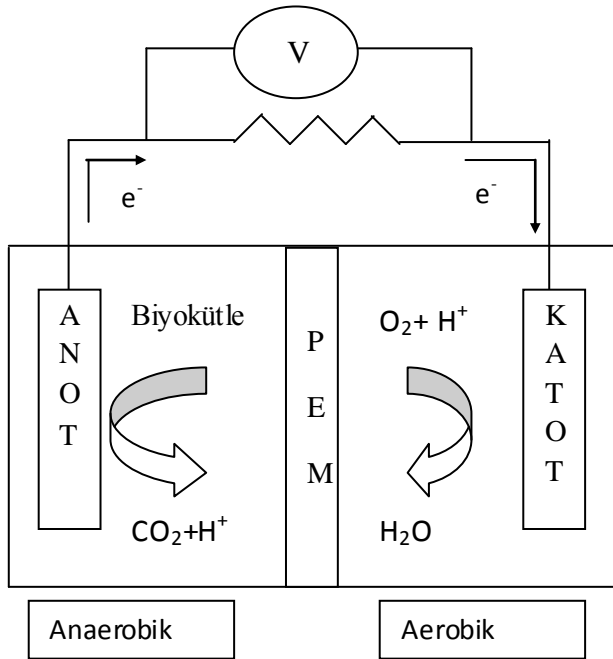
A membrane MFC inoculated with *S. putrefaciens* and the circuit was completed with a fixed load of 5000  $\Omega$  were used to determine the power generation as function of load. 10 mM glucose produced 4  $\mu\text{A}$  current. Power density was  $0.8 \text{ mW}/\text{m}^2$ .

**Keywords:** Microbial fuel cell, electricity production, *Shewanella putrefaciens*, voltage, power density.

## Giriş

Mikrobiyal yakıt hücreleri (MYH) oksijensiz ortamda mikroorganizmaları katalizör olarak kullanarak biyokimyasal olarak indirgenen maddelerden (organik maddeler) kimyasal enerjiyi direkt olarak elektrik enerjisine çeviren sistemlerdir (Logan vd., 2005). Bakteriler MYH anot haznesinde oksijensiz ortamda çok farklı organik maddeleri kullanarak karbondioksit, su ve enerjiye dönüştürmektedir. MYH'leri bu mikrobiyal enerjinin bir kısmını toplayarak elektrik enerjisine çevirmektedir.

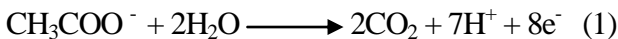
Tipik bir MYH'si anot, katot, proton geçirgen membran ve elektrik devresinden oluşur (Logan vd., 2006). Bakteri oksijensiz ortamda anot üzerinde biyofilm tabakası oluşturarak organik maddeleri (glikoz, asetat, atıksu vb.) karbondioksit, elektron ve protona çevirir (Logan vd., 2005). Katot tarafına geçen proton ise oksijenle birleşerek su oluşturur. Tipik iki hazneli MYH, şematik olarak Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. İki hazneli mikrobiyal yakıt hücresi

Örnek olarak, bakterinin asetat kullanırken tipik anot ve katot reaksiyonları;

Anodik reaksiyon:



Katodik reaksiyon:



olarak ifade edilmektedir. Bu reaksiyonlara göre tüm sistemdeki MYH dış devreden geçen elektronlar sayesinde elektrik üretebilmektedir (Du vd., 2007).

Bazı bakteriler doğal elektron alıcılarını değiştirerek elektronlarını çözünmeyen bir madde üzerine (mesela metal anot üzerine) verme kabiliyetine sahiptirler. Bu işi yapılarında bulunan nanoteller ile, dış membran enzimleri (Kim vd., 1999; Chaudhuri ve Lovley, 2003) ile ya da dışarıdan ilave edilen kimyasal medyatörler (Rabaey ve Verstraete, 2005) ile gerçekleştirirler. Bu çalışmada, dış membran enzimlerini doğal olarak kullanan mikroorganizmaların bir çeşidi (*Shewanella putrefaciens*) kullanılmıştır, böylece elektrik üretilirken medyatör kullanarak ekstra bir kirlilik oluşması engellenmiştir.

Elektrik üretimini gözlemleyebilmek için anot iletken bir tel (platin, paslanmaz çelik vb.) ile katoda bağlanır ve üzerine bir direnç yerleştirilerek devre tamamlanır. Anot üzerine mikroorganizmalar tarafından transfer edilen elektronlar böylece katoda hareket edebilecek hale gelir. Oksijensiz ortamda organik maddenin degradasyonu sonucu oluşan protonlar ise proton geçirgen membrandan seçilerek katot tarafına geçer ve protonlar katot ortamındaki oksijenle birleşerek su oluşturur. Katotta oksijenin yeterli derecede indirgenebilmesi için doğadaki en iyi katalizör metal olan platin kullanılması tercih edilir. Fakat araştırmacılar platinin çok pahalı olmasından ötürü alternatif metalleri katalizör olarak kullanmak için çalışmalar yapmaktadır.

Bu çalışmada, saf kültür olarak kullanılan *Shewanella putrefaciens* önce optimum koşullarda aerobik olarak çoğaltılmıştır. Daha sonra bakterilerin çoğalması durağan faza geçmeden oksijensiz olarak büyütülmek üzere anaerobik gaz haznesine alınmıştır. Oksijensiz olarak büyütülen saf kültür santrifüjlenerek iki hazneli MYH'nin anot kompartımanına transfer edilmiştir. Substrat olarak çeşitli organik maddeler (glikoz, etanol, propiyonik asit) kullanılarak

zamana karşı açık devre potansiyel değ erleri alınmıştır.

Sistemin ne kadar güç ürettiğini bulabilmek için anot ve katodu birleştiren metal tel üzerine dış direnç bağlanmış ve ölçüm yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, literatürde aynı saf kültürle çalış an araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

## Materyal ve yöntem

*S. putrefaciens* (ATCC 8071)'in çoğaltılması için LB (MILLER) sıvı besi maddesi kullanılmıştır. Aerobik büyüme için bakteriler, ısıtmalı-soğutmalı-çalkalamalı inkübatörde 160 rpm'de ve 25°C'de çoğaltılmıştır (Sartorius Certomat IS). Bakterileri 45 saat boyunca çoğaltarak zamana karşı optik yoğunluğu 660 nm'de ölçülmüştür. Bakterilerin 40 saat boyunca canlılık durumlarının belirlenmesi için, farklı saatlerde 100 mL LB sıvı besi maddesinde inkübatörde büyüyen bakterilerden belirli zaman aralıklarında numune alınıp, 10<sup>-1</sup>'den 10<sup>-8</sup>'e seyrelme yapılarak dökme plak tekniği ile LB katı besi maddesi bulunan petri kutularına ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları 25°C'de 36 saat inkübe edilmiştir.

19 saat aerobik olarak çoğaltılan 12.5 mL saf kültür bakterileri oksijensiz (azot ile beslenen) ve dış ortamdan izole edilmiş özel bir hücrede (Controlled Atmospheric Chamber, Plas By Labs, USA) 1250 mL LB (MILLER) sıvı besi maddesinde 96 saat boyunca çalkalama yapılmadan inkübe edilmiştir. Oksijensiz büyütülen bakteriler, oksijene maruz kalmaması için özel hücreden çıkartılmadan 50 mL'lik falkon tüplerine transfer edilip kapakları kapatılmıştır. Falkon tüpleri 4800 rpm'de ve 4°C'de soğutmali olarak santrifüj edilmiştir (Heraeus Biofuge 22R). Santrifüj edilen falkonların üst fazı atılmış, dipteki bakteri çökeleği 0.1 M NaCl içeren 50 mM sodyum fosfat tampon (pH 7.0) ile oksijensiz koşullarda 3 defa yıkanmıştır. 1250 mL içinde çoğaltılan saf kültürün tamamı MYH'nin anot haznesine transfer edilmiştir. Deneylerde ayrıca, ayrı setler olarak 800 mL, 2500 mL besi maddesinde çoğaltılan saf kültürlerin de anot haznesine transferi sağlanarak sonuçlar kaydedilmiştir.

İki hazneli MYH'si 100 mL kapasiteli iki cam şişeden yaptırılmıştır. Anot ve katot elektrot malzemesi olarak 1 cm × 1 cm boyutlarında 0.1 mm kalınlığında platin levhalar kullanılmıştır. Anot ve katot haznelerinin birbirine bağlanması için 1 cm iç çapında cam borular ile birleştirilmiştir. Araya proton geçirgen membran (PEM) (Nafion 117, Dupont Co., ABD) yerleştirilmiş ve özel klipsle birbirine kenetlenerek dış ortama sıvı çıkışı engellenmiştir. Anot ve katot haznesinin her biri kapaklı olup her iki kapağın üzerinde 3 ayrı delik açtırılmıştır. Bunlar anot haznesi için kullanılan kapakta azot gazı girişini ve çıkışını sağlayan iki delikle beraber bir de dış devreyi tamamlayan (katoda bağlanan) telin giriş yaptığı deliklerdir. Benzer yapı katot haznesi kapağı için de geçerli olup burada da oksijen giriş-çıkışı ve anoda dış devreyle bağlanan tel için sistem tasarlanmıştır. Anot haznesi azot gazı (basınçlı azot tüpü ve çift kademeli vana ile), katot haznesi ise oksijen (akvaryum pompası kullanılarak) ile beslenmiştir. Anot haznesine substrat ilavesi gaz çıkış deliğini kullanarak şırınga vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. İki hazneli MYH sistemi 25°C'de sabit sıcaklıkta tutulmak üzere su banyosuna yerleştirilmiştir. 25°C sıcaklığı sağlamak üzere, yaz koşulları için soğutucu (Julabo FT 200), kış koşulları için de ısıtıcı (Julabo heater) kullanılmıştır.

Substrat olarak 10 mM glikoz, 10 mM etanol ve 10 mM propiyonik asit kullanılmıştır. Mineral solüsyon olarak PBBM besi maddesi kullanılmıştır. PBBM sıvı besi maddesi; 0.9 g/L NaCl, 0.2 g/L MgSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O, 0.1 g/L CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 1 g/L NH<sub>4</sub>Cl, 10 mL/L mineral solüsyon içermektedir. Mineral çözelti ise; 12.8 g/L nitrilotriasetik asit, 0.1 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.1 g/L MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 0.17 g/L CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 0.1 g/L CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0.1 g/L ZnCl<sub>2</sub>, 0.02 g/L CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0.01 g/L H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.01 g/L Na<sub>2</sub>Mo<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, 1 g/L NaCl, 0.017g/L Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>; 0.026 g/L NiSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O ve 0.02 g/L SnCl<sub>2</sub> (bütün kimyasal maddeler Merck firmasından satın alınmıştır). Otoklavlanmış her bir litre PBBM besi maddesine 10 mL fosfat tampon çözeltisi ve 10 mL vitamin solüsyon ilave edilmiştir. Vitamin solüsyon ise 0.002 g/L biotin, 0.002 folik asit, 0.01 g/L B6 (pyridoxine) HCl, 0.005 g/L

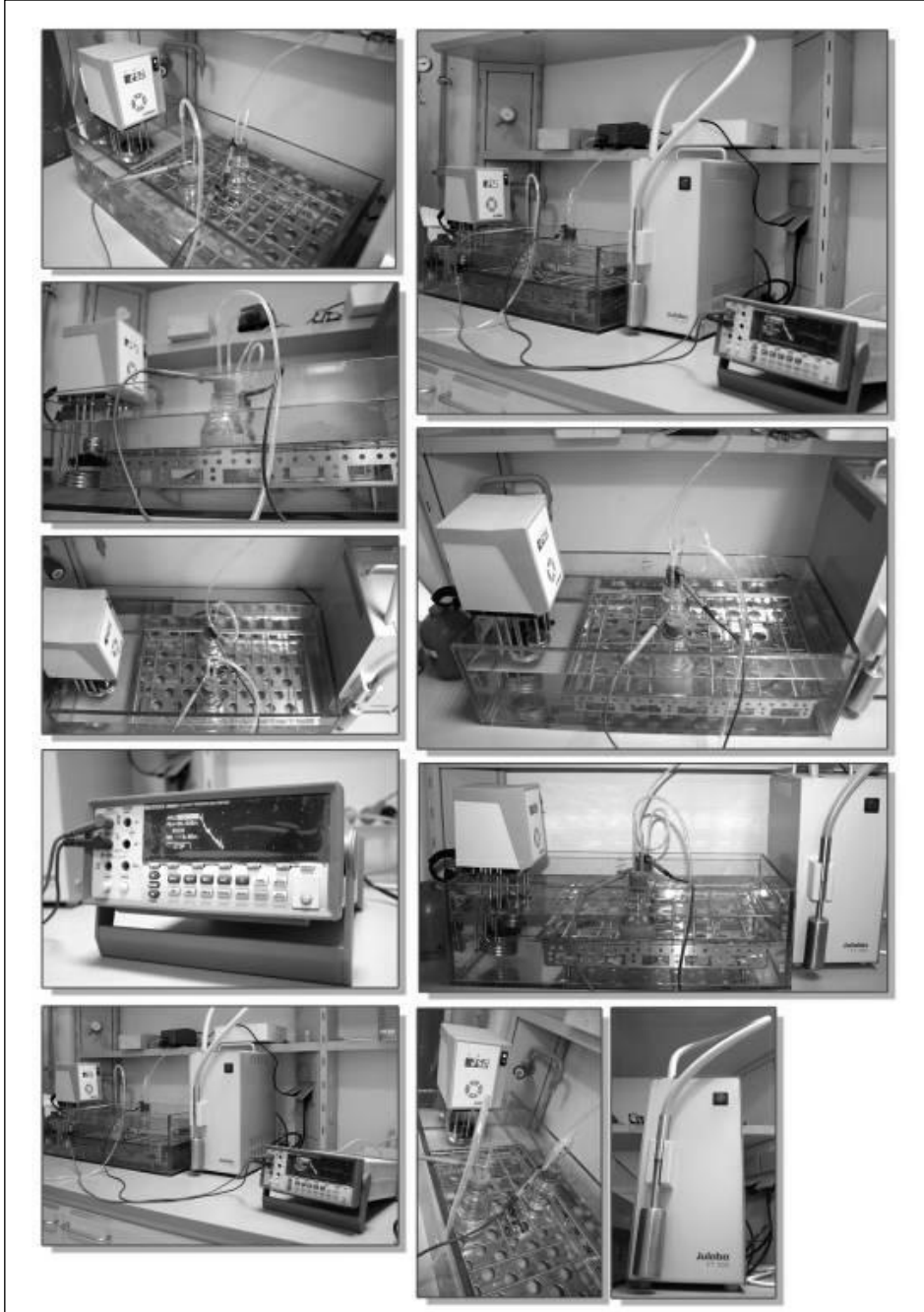
B1 (triamin) HCl, 0.005 g/L B2 (riboflavin), 0.001 g/L B12 kristalize kullanılarak hazırlanmıştır. Bütün solüsyonlar kullanımdan önce buzdolabında 4°C'de saklanmıştır (Anaerobic Microbiology, 1991).

MYH'de elde edilen elektriği ölçmek için veri toplama sistemi (Fluke 8846A) kullanılmış ve 15 dakika aralıklarla ortalama voltaj değerleri kaydedilmiş ve bu veriler Fluke firmasına ait bir

yazılımla bilgisayara aktarılmıştır. Güç (P) yoğunluğunu hesap edebilmek için;

$$P = I \times V / A \quad (3)$$

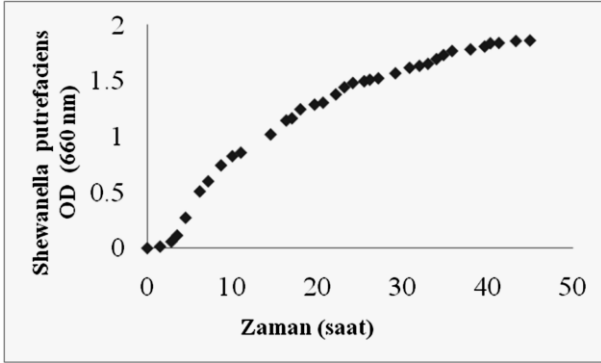
formülü kullanılmıştır. Burada I ile akım, V ile voltaj ve A ile de anot yüzey alanı ifade edilmiştir. 5000  $\Omega$  dış direnç kullanılarak akım değeri ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan deney sistemi Şekil 2'de görülmektedir.



*Şekil 2. İki hazneli mikrobiyal yakıt hücresi*

### Deneysel çalışma sonuçları

Aerobik olarak çoğ altılan *Shewanella putrefaciens*'in zamana karşı optik yoğunluk grafiğ i 660 nm'de çizilmiştir. Bu verilere göre 40 saatten sonra bakterinin çoğ alma hızı azalarak durağ an faza geçmiştir. Ş ekil 3'te grafik görülmektedir.



Ş ekil 3. *S. putrefaciens* optik yoğunluk-zaman grafiğ i

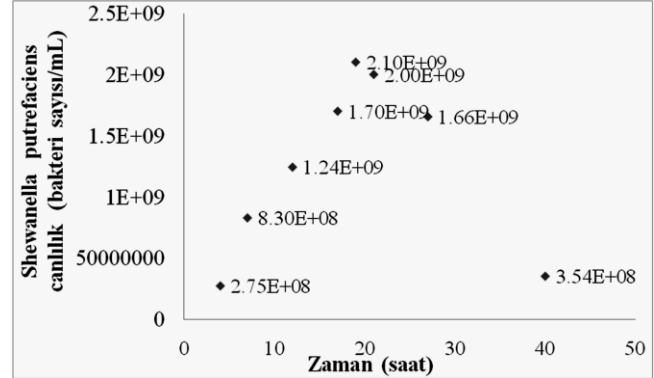
Bakterilerin çoğ alması devam ederken canlılık deneylerinde 19. saatte maksimum çoğ alma düzeyine ulaştığı, bu saatten sonra canlılıklarında düşüş olduğ u tespit edildiğ inden, oksijensiz ortama transfer edilmeden önce her deney seti için 19 saat boyunca çoğ alması beklenmiştir. Ş ekil 4'te zamana karşı saf kültür *S. Putrefaciens*'in sayısı (adet/mL) görülmektedir. Moser ve diğ erleri (1996)'nin yaptıkları çalışmada aynı bakterinin 20 saatten sonra maksimum düzeye ulaştığı nı belirtmişlerdir.

Orijinal olarak 100 mL LB besi maddesine 4 mL daha önceden büyütülmüş ve buzdolabında saklanmış bakteri kültürü aş ılanarak deneyler yapılmıştır. Aş ılama miktarının canlılık üzerine etkisini anlamak için iki katı (8 mL) bakteri kültürü kullanıldığı ndaki sonuçlar Ş ekil 5'te görülmektedir.

Deneylerden elde edilen sonuçlara göre fazla miktarda aş ılamanın mikroorganizmaların canlılığı üzerine ters orantılı bir etki yaptığı tespit edilmiştir.

19 saat boyunca aerobik, sonrasında 96 saat anaerobik olarak büyütülen saf kültür MYH anot haznesine transfer edildikten sonra farklı substratlarla denemeler yapılmıştır. Denemelere

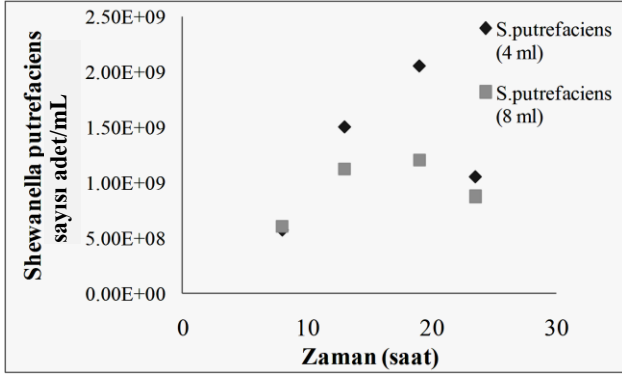
glikoz ile baş lanmıştır. 10 mM glikoz, mineral ve vitamin solüsyon karış ımı saf kültür üzerine ilave edilmiş ve elektrik ölçümü açık devre voltajı olarak alınmıştır. 1250 mL saf kültürün santrifüj edilmesinden sonra elde edilen bakteri tortusu ile alınan sonuçlar grafiğ e iş lenmiş ve Ş ekil 6'da gösterilmiştir. Sisteme substrat konulmadan önce 100 ila 200 mV seviyesinde seyreden açık devre voltajı, substrat konulduktan kısa zaman sonra yükselerek substrat çeş idine göre 780-840 mV'lara yükseldiğ i gözlenmiştir. Bu grafiğ e göre maksimum açık devre voltaj değ eri 832 mV olup sistem yaklaşık 14 saat boyunca izlenmiştir. Daha sonra 2500 mL saf kültürden elde edilen bakteri tortusu ile 10 mM glikozun değ erleri kayıt altına alınmıştır. Ş ekil 7'ye göre maksimum açık devre potansiyeli 777 mV bulunmuş ve sistem yaklaşık 60 saat boyunca izlenmiştir. Yaklaş ık 80 saat takip edilen 800 mL saf kültürün santrifüj edilmesi ve sisteme eklenmesiyle elde edilen maksimum değ er ise 810 mV (Ş ekil 8) olarak kaydedilmiştir. Sonuçlardan anlaş ılacağı üzere açık devre potansiyelleri glikoz için yaklaşık 780-840 mV aralığı nda değ iş mektedir.



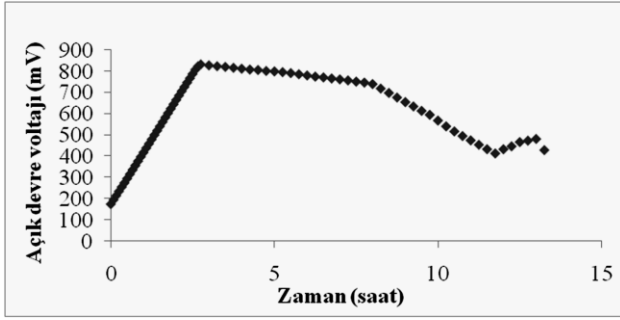
Ş ekil 4. Zaman *S. putrefaciens* canlılık sayısı (adet/mL) grafiğ i

Bunların dışında farklı substrat olarak 10 mM etanol ve 1250 mL'den transfer edilen saf kültür ile yaklaşık 80 saatlik veri kaydedilerek elde edilen grafik Ş ekil 9'da gösterilmiş ve maksimum açık devre voltajı 670 mV bulunmuştur. Aynı konsantrasyonda propiyonik asit için yaklaşık 70 saat süren ölçümde ise 803 mV olarak maksimum voltaj kayıt altına alınmıştır (Ş ekil 10). Propiyonik asit ile alınan ölçümde diğ erle-

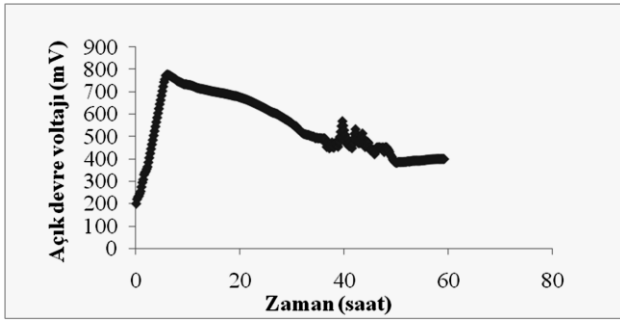
rinden farklı olarak düzenli bir voltaj düşümü izlenmemiştir.



Şekil 5. Aşılama kültürü miktarının canlılık üzerine etkisi



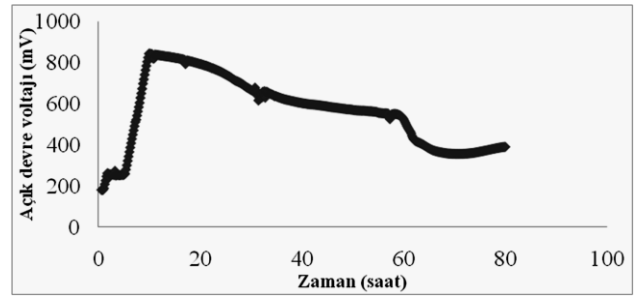
Şekil 6. *S. putrefaciens* (1250 mL'den) ile 10 mM glikozdan elektrik üretimi



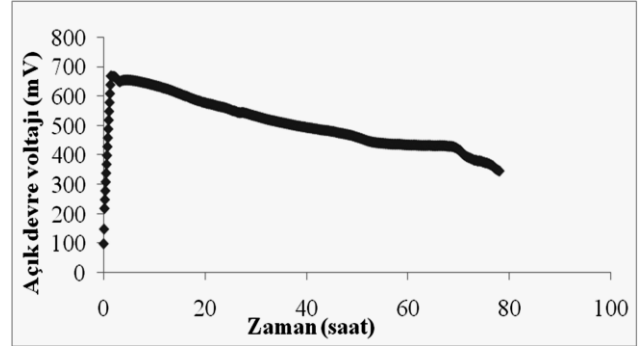
Şekil 7. *S. Putrefaciens* (2500 mL'den) ile 10 mM glikozdan elektrik üretimi

Açık devre voltajları ölçülen bu sistemlerden 10 mM glikoz ve 1250 mL saf kültür ile beslenen MYH'ne 5000  $\Omega$  dış direnç bağlanarak akım ölçülmüş ve akımın 4  $\mu$ A olduğu bulunmuştur. Ohm yasasına göre Voltaj,  $V=IR$  formülü ile, Güç (P) ise  $P=IV$  formülü ile hesaplandığından  $P=I^2 \cdot R_{dış}=(4 \cdot 10^{-6})^2 \cdot (5 \cdot 10^3)=0.08 \mu$ W bulun-

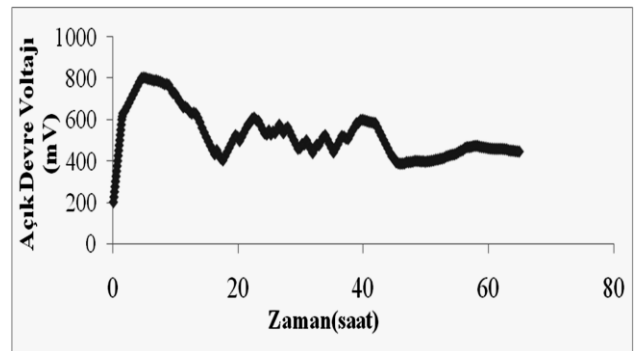
muştur. Bu değer 1 cm eninde ve 1 cm boyunda platin anot elektrot için hesaplandığından  $cm^2$  başına güç yoğunluğu  $P=0.8 \mu$ W/ $cm^2$  ya da metrekare başına  $0.8 mW/m^2$  olarak ifade edilmiştir. Kim ve diğerleri (2002), *Shewanella putrefaciens*'in farklı suşlarında yaptıkları araştırmada *Shewanella putrefaciens* IR-1 için maksimum akım yoğunluğunu 40  $\mu$ A (dokuma grafit anot kullanarak), mutant suş olan *Shewanella putrefaciens* SR-21 için ise 31  $\mu$ A (grafit keçe anot kullanarak) bulmuşlardır.



Şekil 8. *S. Putrefaciens* (800 mL'den) ile 10 mM glikozdan elektrik üretimi



Şekil 9. *S. putrefaciens* (1250 mL'den) ile 10 mM etanolden elektrik üretimi



Şekil 10. *S. putrefaciens* (1250 mL'den) ile 10 mM propiyonik asitten elektrik üretimi

Saf kültür kullanan araştırmacıların sonuçlarına göre; Bond ve Lovley (2003), *Geobacter sulfur-reducens* ve asetat kullanarak güç yoğunluğunu 13 mW/m<sup>2</sup>, Chaudhuri ve Lovley (2003), *Rhodofera ferrireducens* ve glikoz kullanarak 8 mW/m<sup>2</sup> (düz grafit anot), 17 mW/m<sup>2</sup> (dokuma grafit anot) ve 33 mW/m<sup>2</sup> (köpük grafit anot) bulmuşlardır. Başka bir çalışmada (Choi vd., 2003), *Proteus vulgaris*, glikoz ve camsı karbon anot kullanarak güç yoğunluğunu 85 mW/m<sup>2</sup> bulunmuştur. Görüldüğü üzere deney koşullarının, kullanılan MYH tiplerinin, anot ve katot malzemesinin, kullanılan substratın farklılığı nedeniyle güç yoğunlukları farklılık arz etmektedir.

*Shewanella putrefaciens* bakterilerinin metabolik aktivitesi sonucu oluşan elektronlarını hücre dışı bir metale verme kabiliyetine genetik olarak sahip olması çalışmamızda seçmemizin sebebi olmakla beraber, elektrik üretme kapasitesinin çok düşük olması bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada elde edilen bulgular literatür ile paralellik göstermiştir.

## Sonuçlar

İki hazneli MYH ve saf kültür *Shewanella putrefaciens* kullanarak gerçekleştirilen bu çalışmada farklı organik maddeler kullanılarak açık devre potansiyel değerleri kaydedilmiştir. 1250 mL, 2500 mL ve 800 mL oksijensiz olarak çoğaltılan saf kültürün santrifüj edilmesi ile 10 mM glikoz için sırasıyla 832 mV, 777 mV ve 810 mV açık devre potansiyelleri bulunmuş olup bu değerler 10 mM etanol için 670 mV ve propiyonik asit için ise 803 mV olarak kaydedilmiştir. 10 mM glikoz ve 1250 mL saf kültürden çalışılırken 5000 Ω dış direnç takıldığında akım 4 µA ölçülmüştür. Ohm yasasına göre kullanılan anot yüzeyi başına oluşan güç yoğunluğu hesaplanmış ve P=0.8 mW/m<sup>2</sup> olarak bulunmuştur. Kim ve diğ erleri (2001) çalışmalarında aynı saf kültürün farklı suşlarında yaptıkları çalışmalarda dokuma grafit anot kullanarak akım değerini 31 µA, güç yoğunluğunu 0.19 mW/m<sup>2</sup>, grafit keçe anot kullanarak akım değerini 40 µA değerinde ve güç yoğunluğunu da P=0.6 mW/m<sup>2</sup> bulmuşlardır.

Bakterinin substratı kullanarak metabolik aktivitesi sonucu oluşan elektronlarını hücre dışı bir metale verme kabiliyetine genetik olarak sahip olması sebebiyle kimyasal bir medyatör kullanma gereğinin ortadan kalkması açısından avantaj sağlarken, elektrik üretme kapasitesinin düşük olması sebebiyle gelecekte karışık kültür bakterileri ile çalışmanın devam edilmesi daha faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

## Teşekkürler

Bu çalışmada destekleyici kuruluş Devlet Planlama Teşkilatına, İTÜ'ye ve FÜ'ne, elektrotları temin eden Prof. Dr. Ali Ata'ya (GYTE), projenin fikir mimarı Dr. Ayşe İnci İşli'ye, ve yardımcılarından dolayı Ümran Ceylan ile Işıl Uluşoy'a teşekkür ederim.

## Kaynaklar

- Levett, P.N., (1991), Anaerobic Microbiology A Practical Approach, Oxford University Press.
- Bond, D.R. and Lovley, D.R., (2003). Electricity production by *Geobacter sulfurreducens* attached to electrodes, *Applied Environmental Microbiology*, **69**, 1548-1555.
- Chaudhuri, S.K., Lovley, D.R., (2003). Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells, *Natural Biotechnology*, **21**, 1229-1232.
- Choi, Y., Jung, E., Kim, S., Jung, S., (2003). Membrane fluidity sensing microbial fuel cell, *Bioelectrochemistry*, **59**, 121-127.
- Du, Z., Li, H., Gu, T., (2007). A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy, *Biotechnology Advances*, **25**, 464-482.
- Kim, B.H., Kim, H.J., Hyun, M.S., Park, D.H., (1999). Direct electrode reaction of Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*, *Journal of Microbiol Biotechnology*, **9**, 127-131.
- Kim, H.J., Park, H.S., Hyun, M.S., Chang, I.S., Kim, M., Kim, B.H., (2002). A mediatorless microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*, *Enzyme Microbial Technology*, **30**, 145-152.
- Logan, B.E., Murano, C., Scott, K., Gray, N.D., Head, I.M., (2005). Electricity generation from cysteine in a microbial fuel cell, *Water Research*, **39**, 942-952.
- Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schroder, U., Keller, J., Freguia, S., (2006). Microbial fuel



- cells: Methodology and technology, *Environmental Science and Technology*, **40**, 5181-5192.
- Logan, B.E., Regan, J.M., (2006). Microbial challenges and fuel cell applications, *Environmental Science and Technology*, **40**, 17, 5172-5180.
- Moser, D., Nealson, K.H., (1996). Growth of the facultative anaerobe shewanellaputrefaciens by elemental sulfur reduction, *Applied and Environmental Microbiology*, **62**, 6, 2100-2105.
- Rabaey, K., Verstraete, W., (2005). Microbial fuel cells: Novel biotechnology for energy generation, *Trends in Biotechnology*, **23**, 6, 291-298.