

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Tóth Annamária



Soproni Egyetem

Simonyi Károly Műszaki, Faanyagtudományi és Művészeti Kar

Sopron

2019

Doktori (PhD) értekezés

Soproni Egyetem

Simonyi Károly Műszaki, Faanyagtudományi és Művészeti Kar

Cziráki József Faanyagtudomány és Technológiák Doktori Iskola

Vezető: Prof. Dr. Németh Róbert

Doktori program: Rosttechnikai és nanotechnológiai tudományok

Programvezető: Prof. Dr. Winkler András és Prof. Dr. Csóka Levente

Tudományág: anyagtudomány és technológiák

**CELLULÓZ ALAPÚ, AKTÍV HATÓANYAGOT TARTALMAZÓ LAPOK
FEJLESZTÉSE CSOMAGOLÁSTECHNOLÓGIAI ALKALMAZÁSHOZ**

Készítette: Tóth Annamária

Témavezető: Dr. Halász Katalin

Sopron

2019

**CELLULÓZ ALAPÚ, AKTÍV HATÓANYAGOT TARTALMAZÓ LAPOK
FEJLESZTÉSE CSOMAGOLÁSTECHNOLÓGIAI ALKALMAZÁSHOZ**

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében
a Soproni Egyetem Cziráki József Faanyagtudomány és Technológiák
Doktori Iskolája

Rosttechnikai és nanotechnológiai tudományok programja

Írta:
Tóth Annamária

Készült a Soproni Egyetem Cziráki József Doktori Iskola

Rosttechnikai és nanotechnológiai tudományok. programja keretében

Témavezető: Dr. Halász Katalin
Elfogadásra javaslom (igen / nem)
(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron,
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr.) igen /nem
(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen /nem
(aláírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem
(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....% - ot ért el

Sopron,
.....
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....
Az EDHT elnöke

NYILATKOZAT

Alulírott *Tóth Annamária*, jelen nyilatkozat aláírásával kijelentem, hogy a *“Cellulóz alapú, aktív hatóanyagot tartalmazó lapok fejlesztése csomagolótechnológiai alkalmazásához”* című PhD értekezésem önálló munkám, az értekezés készítése során betartottam a szerzői jogról szóló 1999. évi LXXVI. törvény szabályait, valamint a *Cziráki József Faanyagtudomány és Technológiák Doktori Iskola* által előírt, a doktori értekezés készítésére vonatkozó szabályokat, különösen a hivatkozások és idézések tekintetében.¹

Kijelentem továbbá, hogy az értekezés készítése során az önálló kutatómunka kitétel tekintetében témavezető(i)met, illetve a programvezetőt nem tévesztettem meg.

Jelen nyilatkozat aláírásával tudomásul veszem, hogy amennyiben bizonyítható, hogy az értekezést nem magam készítettem, vagy az értekezéssel kapcsolatban szerzői jogsértés ténye merül fel, a Soproni Egyetem megtagadja az értekezés befogadását.

Az értekezés befogadásának megtagadása nem érinti a szerzői jogsértés miatti egyéb (polgári jogi, szabálysértési jogi, büntetőjogi) jogkövetkezményeket.

Sopron, 2019.

.....

doktorandusz

¹ **1999. évi LXXVI. tv. 34. § (1)** A mű részletét – az átvévő mű jellege és célja által indokolt terjedelemben és az eredetihez híven – a forrás, valamint az ott megjelölt szerző megnevezésével bárki idézheti.

36. § (1) Nyilvánosan tartott előadások és más hasonló művek részletei, valamint politikai beszédek tájékoztatás céljára – a cél által indokolt terjedelemben – szabadon felhasználhatók. Ilyen felhasználás esetén a forrást – a szerző nevével együtt – fel kell tüntetni, hacsak ez lehetetlennek nem bizonyul.

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	13
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	15
2.1. Mikrobiológiai élelmiszerromlás	15
2.2. Élelmiszercsomagolás.....	16
2.3. A réz antimikrobiális hatása.....	22
2.4. Huminanyagok.....	26
3. KÍSÉRLETI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	35
3.1. Kálium-humát előállítása	35
3.2. Rostszuszpenzió és a mintalapok előállítása.....	35
3.3. Cellulóz rost szuszpenzió vezetőképessége és pH értéke	36
3.4. Lapképzés	37
3.5. A lapok kondicionálása.....	38
3.6. Pásztázó elektromikroszkópia (SEM) és energiadiszperzív röntgenspektroszkópia (EDS).....	38
3.7. CIELab színmérés.....	40
3.8. Fourier-transzformációs infravörös (FT-IR) spektroszkópia	41
3.9. Felületi pH mérés.....	41
3.10. Mechanikai tulajdonságok	42
3.11. Légáteresztő képesség mérése (Gurley-módszer).....	42
3.12. Antioxidáns kapacitás	43
3.13. Antimikrobiális tulajdonságok meghatározása és a vizsgálat során felhasznált anyagok.....	44
3.14. Gyümölcs eltarthatóságának vizsgálata a különböző mintalapok közvetlen környezetében	49
3.15. VIS abszorbancia spektruma.....	49
3.16. Mintalapokból kioldódó rézmennyiség meghatározása	49
3.17. Statisztikai analízis	49
4. A KUTATÓMUNKA EREDMÉNYEI	50
4.1. Rost szuszpenziók vezetőképessége, pH-ja.....	50
4.2. A mintalapok vastagság és négyzetmétertömege.....	51
4.3. Légáteresztő képesség mérése (Gurley-módszer).....	52
4.4. A mintalapok mechanikai tulajdonsága	53
4.5. Mintalapok felületi morfológiája és összetétele.....	59
4.6. Fourier-transzformációs infravörös (FT-IR) spektroszkópia	65
4.7. Mintalapok felületi tulajdonsága.....	68
4.8. Antioxidáns kapacitása a mintalapoknak	71
4.9. Antimikrobiális hatás	73
4.10. Gyümölcs romlása a különböző mintalapokon (M 1-8).....	78

4.11.VIS abszorbania spektrum	79
4.12.Mintalapokból kioldódó rézmennyiség meghatározása	81
5. ÖSSZEFOGLALÁS	85
6. TÉZISEK.....	89
7. JAVASLATTÉTEL TOVÁBBI KUTATÁSI FELADATOKRA	93
8. IRODALOMJEGYZÉK	94
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	106

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AAE: Antioxidáns kapacitás értékek aszkorbinsav egyenértékben

ATCC: American Type Culture Collection

C: Cellulóz rost

CIELab: Színességé koordinátarendszer

Cu-C: Réz-szulfát pentahidrát hozzáadásával készült cellulóz rost

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EDS: Elektronmikroszkópos mikroanalízis

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

KH: Kálium-humát

FT-IR: Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia

RGB: Additív színmodell, piros, zöld, kék paraméterekkel

SCT: Rövid befogású nyomószilárdság

SEM: Pásztázó elektronmikroszkóp

VIS: Látható spektrofotometria

ÁBRAJEGYZÉK

Sorszám	Cím	Oldalszám
1.	A réz hatása baktérium sejtekre (Din et al. 2017 ábrája alapján)	24
2.	Barnaszén keletkezése, oxidációja és huminsav keletkezése (Rausa et al. 1994 alapján)	27
3.	A huminsav molekulaszervezete (Stevenson 1982)	29
4.	A huminsav térbeli szerkezetének lehetséges konformációja (Simpson et al. 2002)	29
5.	A humát molekula kálium megkötődésének és lehasadásának sematikus ábrája (Cheng et al. 2019 ábrája alapján)	33
6.	A humát molekula rézmegkötésének sematikus ábrája alacsony pH értéken (Karahana et al. 2013 és Van Dijk 1971 ábrája alapján)	33
7.	Humát molekula rézmegkötésének sematikus ábrája magas pH értéken (Karahana et al. 2013 ábrája alapján)	34
8.	Réz-szulfát hozzáadásával készült, 4,5 pH értékű cellulóz rost szuszpenzió	36
9.	A vezetőképesség mérése során használt Jenway 3450 készülék	37
10.	A mintalapok előállításának sematikus ábrája	38
11.	Bal oldali kép: Mintatartó állványra helyezett mintalapok, jobb oldali kép: Pásztázó elektronmikroszkóp működés közben	39
12.	CIELab színtere (forrás: https://www.pclipart.com/pindetail/owiiTJ_cielab-color-space-cie-1931-color-space-international/)	40
13.	L&W Gurley denzitométer használat közben	43
14.	A baktériumsűrűség beállításához használt eszköz, használat közben	44
15.	Bal oldali ábra: Antimikrobiális vizsgálatunk során használt korongdiffúziós módszer sematikus ábrája, jobb oldali ábra: Kirby-Bauer korongdiffúziós módszer sematikus ábrája	47
16.	Új típusú agardiffúziós módszer készítésének sematikus ábrája	47
17.	Antimikrobiális vizsgálat során előállított agar készítése, képekben	48

18.	A baktérium, gomba inokulum szélesztése	48
19.	A különböző összetételű rost szuszpenziók vezetőképessége és pH értéke	50
20.	A mintalapok Gurley-féle légáteresztő képessége	52
21.	A mintalapok szakadási nyúlás értékei	53
22.	A mintalapok szakítási mutató értékei	54
23.	A mintalapok abszorbeált energia értékei	55
24.	A mintalapok SCT index értékei	56
25.	A mintalapok hajlítási index értékei	57
26.	Az M 1-4 mintalapok SEM felületi képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobboldali oszlop) nagyításban	59
27.	Az M 5-8 mintalapok SEM felületi képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobboldali oszlop) nagyításban	60
28.	Az M 1-5 mintalapok SEM keresztmetszeti képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobboldali oszlop) nagyításban	61
29.	Az M 6-8 mintalapok SEM keresztmetszeti képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobboldali oszlop) nagyításban	62
30.	A kálium-humát (KH) és a mintalapok (M 1-8) FT-IR spektrumai	65
31.	A kálium-humát (KH) és a mintalapok (M 1-8) FT-IR spektrumai (2200-800 cm ⁻¹) hullámszám tartományban)	66
32.	A mintalapok felületi pH értékei	70
33.	A mintalapok antioxidáns kapacitásának és humáttartalmának összefüggése, a mérés 24. órájában	72
34.	Szeder romlása a különböző mintalapokon (0. 4. és 7. napon)	78
35.	A réz-szulfát, a humát és a desztillált vízbe és pH 5 oldatba áztatott mintalapok VIS abszorbancia spektruma	80

TÁBLÁZATJEGYZÉK

Sorszám	Cím	Oldalszám
1.	A huminanyagok összetétele (Aiker et al. 1985, Hayer et al. 1989)	28
2.	A huminanyagok oldhatóság alapján való osztályozása (Oden 1919)	30
3.	A mintalapok előállításához használt szuszpenziók összetétele	36
4.	Színeltérés vizuális érzékelhetősége (Lukács 1982)	41
5.	Vizsgálat során használt baktérium és gomba izolátumok forrása és kódszáma	45
6.	A mintalapok vastagság és négyzetmétertömeg értékei	51
7.	A cellulózra jellemző hullámszámok és hullámszám tartományok	66
8.	A humátra jellemző hullámszámok és hullámszám tartományok	67
9.	CIELab eredményei és a mintalapok RGB színei (ΔE^* : színkülönbség mértéke a kontroll mintalaphoz (M 1) képest, ΔE^{**} : színkülönbség mértéke a csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz (M 2) képest, ΔE^{***} : színkülönbség mértéke a kálium-humát és réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapoknak, a legalacsonyabb kálium-humát koncentrációjú mintalaphoz (M 3) képest	68
10.	A mintalapok antioxidáns kapacitása 1., 4. és 24. órában ($\mu\text{AAE}/\text{g}$ és $\mu\text{AAE}/\text{cm}^2$ mértékegységben kifejezve)	71
11.	Új típusú korongdiffúziós módszerrel -baktérium és gomba törzsekre- mért eredmények (gátlási zónákat mm-ben tartalmazza a táblázat)	73
12.	Az M 3-as mintalap gátlási zónái a különböző baktérium és gomba törzsekre	75
13.	A mintalapokból kioldódó Cu (II) ion és kioldódó komplexben lévő réz(II) ion koncentrációja (mg/l és $\text{mg}/\text{négyzetmétertömeg}$)	82

Kivonat

A kutatásom során Dudari barnaszénből állítottam elő kálium-humátot, majd cellulóz rost alapú mintalapokat készítettem humát és réz-szulfát hozzáadásával. A kompozit előállításának célja, hogy a humát kation megkötő tulajdonságait felhasználva létrehozzak magasabb réztartalmú lapokat, és vizsgáljam azok aktív csomagolásként való alkalmazhatóságát.

Az elkészített mintalapok jellemzőinek meghatározása különböző vizsgálati módszerekkel történt, mint FT-IR spektroszkópia, színösszetétel vizsgálat, rövid befogású nyomószilárdság mérés, húzási és hajlítási vizsgálat, porozitás vizsgálat, pásztázó elektronmikroszkópia, felületi összetétel meghatározás. A mintalapok antioxidáns kapacitását DPPH-módszerrel vizsgáltam. Továbbá vizsgáltam a mintalapok antimikrobiális hatását is, különböző baktérium és gomba izolátumokkal. Megfigyeltem a szeder romlásának időbeli különbségét a becsomagolt szederszemeken. Desztillált vízbe és pH 5 oldatba kioldódó réz mennyiségét valamint az oldatok VIS spektrumait is vizsgáltam.

Vizsgálati eredmények alapján a humát javította a mintalapok mechanikai tulajdonságait. Az FT-IR, a SEM és az EDS mérés eredményei alapján a humát növeli a mintalapok réztartalmát. A rost szuszpenzióhoz hozzáadott réz-szulfát különböző rézrészecskékként van jelen a mintalapokban. A mikrobiológiai mérés eredményei alapján a humát és a réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapok jó antimikrobiális hatásúak, hasonló eredményekről tanúskodik a mintalapokkal egy légtérbe csomagolt szeder romlásának vizsgálata is. A csak humát hozzáadásával készült mintalapnak nem volt hatásos a mikrobiológiai gátlása, a szeder romlását, penészesedését mégis lassította.

DEVELOPMENT OF CELLULOSE-BASED SHEETS CONTAINING ACTIVE COMPONENT FOR PACKAGING TECHNOLOGY APPLICATIONS

Abstract

In the course of the research, potassium humate was made from Dudar brown coal, and cellulose fiber-based test sheets were prepared by the addition of humate and copper sulfate. The purpose of composite fabrication was to produce sheets of higher copper content utilizing the cationic and releasing properties of humate and to analyze their applicability as active packaging.

The characteristics of the prepared test sheets were determined by various test methods, such as FT-IR spectroscopy, color composition test, short span compression measurement, tensile and bending test, examination of porosity, scanning electron microscopy, surface composition determination. The antioxidant capacity of the test sheets was investigated by DPPH method. In addition, the antimicrobial activity of the test sheets was also inspected with various bacterial and fungal isolates. The difference in time of blackberry deterioration was observed for packed blackberry grains. The amount of copper dissolved in both distilled water and pH 5 solution as well as the VIS spectra of the solutions were also examined.

Based on the experienced results, it was found that the humate improved the mechanical properties of the test sheets. The results of FT-IR, SEM and EDS measurements showed that humate increased the copper content of the test sheets. The copper sulfate added to the fiber suspension was present in the test sheets as various copper particles. Based on the results of the microbiological measurement, the test sheets prepared by adding humate and copper sulfate indicated good antimicrobial activity. Similar results were observed in the deterioration of blackberries packed in the same airspace with test sheets. The test sheet prepared with the addition of humate only was not effective in microbiological inhibition, yet it slowed the deterioration and mold growth of blackberry.

1. BEVEZETÉS

Az élelmiszer-csomagolás legfőbb feladata az élelmiszer jó minőségének minél hosszabb ideig tartó biztosítása. A modern élelmiszer-csomagolóanyagok képesek biztonságosan meghosszabbítani az élelmiszerek polcidejét az új anyagok és módszerek használatával. Az élelmiszerek eltarthatóságát elsősorban a mikroorganizmusok, gombák és baktériumok jelenléte befolyásolja. A romlást okozó baktériumok közül a legsúlyosabb megbetegedést a *Listeria* fajok okozhatják, amelyek hűtött körülmények között is tudnak szaporodni, és a módosított atmoszférájú csomagolási rendszerek sem gátolják a szaporodásukat, így akár a fagyasztott zöldségfélék is forrásai lehetnek a humán liszteriózisnak. Több fagyasztott zöldség visszahívását rendelte el 2018-ban az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság és az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ, hogy megfékezzenek egy agresszív *Listeria monocytogenes* baktérium változata által okozott járványt (EFSA 2018).

Évente 1300 milliárd tonna ételhulladék termelődik (Food and Agriculture Organization 2015, Babbitt et al. 2017), aminek nemcsak gazdasági következményei vannak, de a környezetre is káros. Ételhulladék a termelői és fogyasztói lánc minden lépcsőjén keletkezik, a mezőgazdasági termeléstől a háztartásokig (Mogale et al. 2017). Az ételhulladék keletkezése értékes erőforrások pazarlását vonja maga után, és káros hatással van a környezetre is, a hulladékok keletkezése és ártalmatlanítása 170 millió tonna CO₂ termelődésével jár, továbbá az üvegházhatású gázok 8%-a keletkezik ártalmatlanításuk közben (Islam et al. 2016, Salim et al. 2017).

Az élelmiszer hulladékká válásának, illetve az élelmiszer eredetű megbetegedések kialakulásának megakadályozása napjaink fontos feladata, melyben az aktív, polcidőt növelő csomagolások fejlesztésének nagy szerepe van. A mai, modern csomagolóanyagoknak nemcsak a fizikai sérülésektől kell megóvnia az élelmiszert, hanem aktív mikrobiológiai védelmet is kell nyújtaniuk az élelmiszer eltarthatósága, frissessége és biztonsága érdekében (Dashipour et al. 2014, Sahraee et al. 2017).

A doktori kutatás célja volt egy gazdaságos, a papírgyártás folyamatába könnyen integrálható, rezet és humátot tartalmazó, cellulóz alapú antimikrobiális, aktív lap előállítás. A réz jótékony hatását régóta ismerik, már az antibiotikumok felfedezése és elterjedése előtt is

alkalmazták (Vincent et al. 2016) antibakteriális, antifungális hatása miatt humán és állatgyógyászatban is (Almanza et al. 2017, Grass et al. 2011, Vincent et al. 2016). A humátnak számos kedvező tulajdonsága van, mint pl: antioxidáns tulajdonsága és a kationokkal való metastabil komplexképző kapacitása is, mely alkalmassá teheti aktív csomagolásban való alkalmazásra. Több magyar vonatkozása is van, egyik legfontosabb talán, hogy a Kárpát-medence földrajzi adottságai miatt, egyik legjobb minőségű humátot az itt található barnaszénből lehet előállítani.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Mikrobiológiai élelmiszerromlás

Az elmúlt években növekedett az élelmiszerek által okozott megbetegedések száma, így egyre nagyobb és fontosabb feladat hárul az élelmiszer-csomagolóstechnológiára. Az élelmiszerek kórokozókval való szennyeződése, fertőzése kétféleképpen történhet, maga az élelmiszer fertőzött, vagy másodlagos úton fertőződött meg, a feldolgozás, vágás, tárolás során (Laczay 2008). Utólagos kontamináció forrása lehet az élelmiszert feldolgozó személyek keze, illetve nyálkahártyája is, esetleg szennyezett eszközök, berendezések használata (Deák 2006, Lanczay 2008).

Az élelmiszerek romlását Gram-negatív, Gram-pozitív baktériumok és gombák is okozhatják. Leggyakoribb romlást okozó Gram-pozitív baktériumok a *Bacillaceae*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Micrococcaceae*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcaceae*, *Staphylococcus*, *Streptococcaceae*, *S. salivarius*, *S. faecalis*, *S. mitis* és *sarcinae* (Smeall 1932). Gombák és penészgombák közül *Aspergillus*, *Penicillium*, *Wallemia*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora* és *Candida* fajok okoznak leggyakrabban élelmiszerromlást (Sinha et al. 2012). Az élelmiszerekkel terjedő tömeges megbetegedést okozó baktériumok a *Salmonella*, *Listeria*, *Bacillus*, *Staphylococcus* és *Escherichia coli* (Al-Zenki et al. 2012). Az elmúlt években világszerte jelentek meg élelmiszer eredetű megbetegedésekről, járványokról készült feljegyzések (WHO 2007).

A *Listeria* nemzetség megtalálható tejtermékekben, feldolgozott és nyers húsban, gyümölcsben, zöldségben valamint gyümölcs- és zöldséglevelekben is (Farber 1989, Conway et al. 2000). Növekedéséhez, szaporodásához optimális hőmérséklet 1-45 °C közötti (Farber 1989, Farber et al. 1988). *Listeria* baktériummal fertőzött élelmiszer fogyasztása listeriózist okozhat (Farber 2011). *Listeriával* fertőzött görögdinnyéről, sárgadinnyéről, papajáról (Penteado és Leitao 2004), sajtról, füstölt sonkáról (Skalina és Nikolajeva 2010), datolyaszilváról, khakiról (Uchima et al. 2008), almáról (Conway et al. 2000) és narancsléről (Caggia et al. 2009) számos kutatás számolt már be.

A *Bacillus* nemzetség megtalálható a talajban, a növények és a zöldségek felületén, a feldolgozott és a nyers élelmiszerekben is (Al-Zenki et al. 2012). *Bacillus* baktériummal

szennyezett élelmiszer súlyos hányást és, vagy hasmenést okozhat (FDA 2000). A *B. cereus* különböző mechanizmusokkal, például jelátviteli rendszerekkel képes túlélni és alkalmazkodni a változó környezeti feltételekhez (hőmérséklet, szén-dioxid mennyisége, pH) (Al-Zenki et al. 2012).

A *Staphylococcus* egy szintén fontos Gram-pozitív baktérium nemzetség, ami nemcsak az élelmiszer romlását okozza, de az emberi szervezetre is nagyon veszélyes bőr-, mandula- és torokgyulladást okozhat (Kalia és Gupta 2012). Optimális hőmérséklete 7-45 °C közötti (Farber 1989). Alacsony pH értéken, akár pH 4 értéken is képes szaporodni. A baktérium sótűrő képessége igen nagy, egyes törzsei még 20% NaCl jelenlétében is képesek szaporodni, hasonlóan a *Bacillus* fajokhoz (Brown 1976). A patogén mikroorganizmusok többsége 1-2 %-os nátrium-klorid koncentráció mellett szaporodik optimálisan. Az ennél nagyobb sókoncentráció kifejezetten gátló hatású lehet a szaporodásra.

Az élelmiszer eredetű megbetegedések megelőzésében fontos szerepet kaptak az elmúlt évtizedekben az új típusú élelmiszercsomagolások, melyek között vannak aktív és intelligens csomagolási rendszereket is.

2.2. Élelmiszercsomagolás

Az élelmiszerek csomagolása az élelmiszer tárolásának, kémiai és fizikai ártalmaktól való megóvásának, valamint a termékre vonatkozó információkhoz való könnyű hozzáférés biztosításának fontos feladatait látja el a fogyasztók számára. A csomagolandó termék típusától (húsáru, zöldség, gyümölcs, tésztafélék stb.) függően más típusú csomagolás képes megóvni az élelmiszert a romlástól, a káros, a romlást serkentő mikroorganizmusoktól, kártevőktől, egyéb más szennyeződésektől. A csomagolás továbbá segít megvédeni a benne lévő élelmiszer formáját és állagát, megelőzi az íz- és illatvesztést, meghosszabbítva ezzel a termék minőségét, fogyaszthatóságát és polcidejét.

Az élelmiszerek minőségének megőrzése érdekében alkalmazott csomagolási technikák a csomagolt élelmiszertől függően eltérőek. A hús- és tejiparban a vákuum és a védőgázos csomagolások gyakran alkalmazott csomagolási módok.

Az élelmiszer-csomagolásokat típusaik, funkcióik és hatóanyagaik alapján a következők szerint lehet csoportosítani:

2.2.1. Vákuumcsomagolás

A csomagolásból eltávolítják az élelmiszerek romlását okozó oxigént, ezáltal növekszik az élelmiszerek eltarthatósági időtartalma. A vákuumcsomagolás egyik típusa a szabályozott vákuumcsomagolás. Ebben az élelmiszer-csomagolásban -a levegő oxigéntartalmához képest- harmad annyi oxigén található, ezzel lassítva a légzési metabolizmust és a romlást okozó mikroorganizmusokat.

2.2.2. Ehető bevonat

Az ehető bevonat, vagy film védőfelületi réteget képez az élelmiszerek felületén. Gyümölcsök esetén például viasszal vonják be a felületüket. Tartalmazhatnak: fehérjét, keményítőt, viaszt, lipidet, antioxidáns és antibakteriális vegyületeket is.

2.2.3. Módosított atmoszférájú csomagolás (MAP)

Más néven védőgáz csomagolás esetén a levegővel megegyező összetételű, de eltérő arányú védőgáz használatával mind az aerob, mind az anaerob baktériumok tevékenysége megszüntethető (Deák 2006), továbbá a becsomagolt élelmiszer színét és zamatát is segíti megőrizni (Yam 2009, Hempel et al. 2013).

A becsomagolni kívánt élelmiszer alapján határozzák meg a gáztér oxigén, szén-dioxid és nitrogén arányát. Vörös húsok esetén (sertés, marha, pulyka stb.) optimális összetétele: oxigénből ~60-80%, szén-dioxidból ~20-30%, nitrogénből <10% (Fraqueza és Barreto 2011, Demirhan és Candogan 2017). Halak csomagolására szén-dioxidból ~30%, nitrogénből ~70 % gázösszetételt szoktak használni.

A gyümölcsök, zöldségek a betakarítás után is aktív légzést folytatnak. Légzés során víz keletkezik oxigénből és szén-dioxidból. A légzés intenzitását befolyásolja a környezet gáztér összetétele és a hőmérséklete. Az oxigén csökkenésével lassítható a légzés intenzitása, de ha

kialakul az anaerob légtér, megjelenhetnek anaerob mikroorganizmusok (baktériumok, gombák) amelyek az élelmiszerromlásán kívül olyan toxinokat is termelnek, melyek veszélyesek az emberi szervezetre. Az egyensúlyi módosított atmoszférájú csomagolás (EMAP) korlátozott gázáteresztő képességű, ilyenkor egyensúlyi rendszer áll be a csomagolásba bejutó és az abból kijutó szén-dioxid mennyisége között.

2.2.4. Intelligens csomagolás

Az intelligens csomagolási rendszer az, amely tartalmaz egy külső és egy belső indikátort a termék minőségének meghatározására, az abban történt változások rögzítésével (Barnetson 1995).

Az intelligens csomagolás többletinformációt szolgáltat a becsomagolt áru minőségéről a vásárló és fogyasztó számára. Típusai alapján a becsomagolt élelmiszer fizikai-, fiziológiai (zöldség, gyümölcs légzése, élelmiszert ért hőingadozás), kémiai (lipidoxidáció), mikrobiológiai (romlás, toxint termelő baktériumok, gombák) állapotáról ad információt. Az intelligens csomagolásokban alkalmazott indikátorok: hőmérséklet (TI) és idő-hőmérséklet indikátor (TTI), mikrohullámú melegítés-indikátor (MDI), mikrobiális-növekedés indikátor (MGI) és gázérzékelők.

2.2.5. Élelmiszerek aktív csomagolása

A korszerű termékfejlesztés egyre nagyobb figyelmet fordít a csomagolás és a termék közötti dinamikus kölcsönhatásra. Az aktív csomagolás közvetlenül érintkezik a csomagolt élelmiszerral. Az aktív csomagolás különböző adalékanyagokat tartalmazhat, ami megváltoztatja a terméket körülvevő gázok/gőzök koncentrációját (Malhotra et al. 2015). Az Európai Unió által elfogadott definíció szerint az aktív csomagolás olyan csomagolási rendszerek összefoglaló neve, amelyek feladata a becsomagolt élelmiszer eltarthatósági idejének meghosszabbítása, illetve az élelmiszer állapotának fenntartása vagy aktivitása (Guidance to the Commission Regulation (EC) No 450/2990). Ezek a csomagolások a becsomagolt élelmiszer körülményeit aktívan, célzott módon változtatják meg, szemben a hagyományos csomagolással. Az aktív csomagolások hatásmechanizmusuk alapján két fő csoportba

sorolhatók: aktív-megkötő (abszorbens) és aktív-kibocsátó (emitter) rendszerek. Az aktív-megkötő csoportba tartoznak az oxigén-, a szén-dioxid-, az etilén- a nedvesség megkötő és a különböző aroma- és szagelnyelő csomagolások is (Han 2003, Suppakul et al. 2003, Vermeiren et al. 1999). Az aktív-kibocsátó csomagolások közé tartoznak az antimikrobiális-, az antioxidáns csomagolások, a szén-dioxidot és az aromát kibocsátó csomagolások is (Lopez-Rubio et al. 2004). A gyakorlatban sokszor kombinálják a hatásmechanizmusokat az egyes csomagolásokban pl: oxigént megkötő és szén-dioxidot kibocsátó csomagolási rendszereket.

Oxigén megkötő csomagolás

Az oxigént megkötő aktív csomagolás a legrégebben alkalmazott aktív csomagolás. Az első csomagolást 1938-ban Talggren alkalmazta, konzerv légterének oxigénmentesítésére (Rooney 2005). Azóta számos hatásmechanizmussal, több formában alkalmaznak oxigénmegkötő csomagolásokat. A csomagolás célja, hogy az oxigénre érzékeny termékek esetén a csomagolás légterében található oxigént eltávolítsák, megkössék. Az élelmiszer környezetéből eltávolított oxigén segítségével csökkentik a vitaminok, színanyagok és lipidek oxidációját, továbbá az aerob mikroorganizmusok megjelenését és szaporodását. Az oxigén abszorbeálása révén egyrészt megvédi a becsomagolt terméket az aerob mikrobák megjelenésétől, növekedésétől, másrészt az élelmiszer alkotórészeinek nem kívánatos oxidációjától.

Szén-dioxid kibocsátó/megkötő csomagolás

A szén-dioxid kibocsátó csomagolást, főleg friss halak, húsok és sajtok eltarthatóságának növelésére alkalmazzák, mert a magas (10-80%) szén-dioxid koncentráció mellett, az aerob mikroorganizmusok nem tudnak megjelenni, kifejlődni az élelmiszeren (Labuza 1996, Suppakul et al. 2003, Ozdemir és Floros 2004). Ugyanakkor a túl magas szén-dioxid tartalom ízváltozást, zöldségek, gyümölcsök esetén anaerob glikolízist okozhat (Labuza 1996, Suppakul et al. 2003).

A szén-dioxidot megkötő csomagolások közül talán a pörkölt kávé csomagolása a legismertebb. A kávé nagy mennyiségű oldott CO₂-t tartalmaz, ami a Strecher-féle reakció bomlástermékeként keletkezik a cukor és az aminosavak között végbemenő reakció során (Labuza és Breene 1989). A keletkezett gáz felhalmozódhat a csomagolásban és szétrepedését,

felrobbanását okozhatja, ezért fontos a megkötése a csomagolásban (Ozdemir és Floros 2004). Szén-dioxid abszorbensként kalcium-kloridot használnak, ami reagál a szén-dioxiddal és kalcium-karbonát keletkezik.

A kereskedelemben számos olyan címke és tasak található, amit szén-dioxid megkötőként, vagy kibocsátóként lehet alkalmazni. A gyakorlatban legtöbbször oxigén és szén-dioxid abszorbenst alkalmaznak.

Etilén megkötő csomagolás

Az etilénnek számos élettani hatása van a friss zöldségekre, gyümölcsökre. Többek között felgyorsítja az érésüket és puhulásukat. A magas etilén koncentráció meggyorsítja a klorofill lebontását, ezért a zöld színű zöldségek megsárgulhatnak. Ismert még, hogy szerepe van számos rendellenesség előidézésében is betakarítás után (Ozdemir és Floros 2004, Vermeiren et al. 1999). A vizsgálatok igazolják azt, hogy a jelenléte kedvezően hat a zöldségekre, meggyorsítja a paradicsom érését. Mégis kedvezőtlen hatásai ismertebbek inkább a zöldségek, gyümölcsök, virágok kapcsán, hamarabb romlik a minőségük, csökken a polcidejük.

Az etilén megkötése fizikai és kémiai úton is történhet. A kémiai megkötés során kálium-permanganát-ot (KMnO_4) használnak általában, ami etanollá, majd vízzé és szén-dioxiddá oxidálja az etilént. A KMnO_4 alkalmazásának az a hátránya, hogy nem érintkezhet az élelmiszer felületével, mert mérgező hatású. Leginkább szabályozott légterű tárolókban, hűtőszekrényekben alkalmazzák.

Fizikai megkötés során az etilént abszorbeálják aktív szén, szilikagél és zeolit felületére. A kereskedelemben leggyakrabban aktív szenet alkalmaznak kivi, banán és spenót csomagolásában (Ozdemir és Floros 2004).

Nedvesség szabályozó csomagolás

A csomagolásban feleslegben lévő nedvesség felgyorsíthatja a termék romlását. Nedvesség keletkezhet a terméket érő hőmérséklet ingadozásából, fagyasztott termékek felengedéséből és a zöldségek, gyümölcsök légzése során is. Száraz termékek (keksz, tejpor, chips, édességek stb.) csomagolásánál fontos a nedvesség teljes mértékű eltávolítása, így

biztosítva, megőrizve a termék csomómentes, ropogós jellegét. Ehhez leggyakrabban aktív szén, CaO-ot használnak (Day 2008). A vízáktív termékek (zöldség, gyümölcs, hal, hús stb.) csomagolásában csak a felesleges vizet fontos eltávolítani. Ezt a nedvességszabályozó tasak, a nedvességmegkötő fólia, vagy a vízgőzáteresztő fólia segítségével érik el a gyártók (Labuza 1996, Ozdemir és Floros 2004, Vermeiren et al. 1999).

Aroma elnyelő/kibocsátó csomagolás

Az ilyen típusú csomagolások főként műanyag alapúak, melyek gyakran kedvezőtlenül befolyásolják a becsomagolt élelmiszer aromáját. Ismeretes, hogy az élelmiszerek feldolgozása során jelentős aromavesztés keletkezik, ezt a hiányt kívánja pótolni az ilyen típusú csomagolás. Leggyakrabban a pörkölt kávé csomagolásában alkalmaznak aroma kibocsátókat, hogy a terméket kicsomagolva a fogyasztó erősen érezze a kávé erős, jellegzetes illatát.

Az aromaelnyelő alkalmazásával pedig a kellemetlen illatok, szagok eltávolítása a csomagolás fő célja. A grapefruit gyümölcsle dobozána felületét cellulóz-acetáttal vonták be, a gyümölcs kesernyés mellékízének megszüntetése érdekében (Ozdemir és Floros 2004). A halak bomlása közben keletkeznek jellegzetes illatú aminok, ennek abszorbeálására a vas (III)-kloridot és szerves savat alkalmaztak, Japánban (Vermeiren et al. 1999).

A szag- és illatmegkötő rendszerek alkalmazását nem engedélyezik az Európai Unióban, mert abszorbeálhatják, elnyomhatják a romlás során keletkező szagokat, veszélybe sorolva ezzel a vásárló egészségét.

Antioxidáns hatású csomagolás

A mikrobiológiai romlás mellett az oxidációs reakciók okozzák leghamarabb az élelmiszer romlását (Altieri et al. 2004, Lee et al. 2004). Az élelmiszer oxidációs reakcióit az alacsonyabb hőmérséklet sem tudja lassítani. A lipid-peroxidáció folyamat során, a többszörösen telített zsírsavak károsodnak (megváltoztatva ezzel az élelmiszer tulajdonságait, kellemetlen ízű és szagú vegyületek keletkeznek), így csökkentve az élelmiszer polcidejét (Fernandez et al. 1997). Hozzáadott antioxidánsokat már a műanyagfólia gyártása során is alkalmaznak (Billingham és Garcia 1995).

Aktív antimikrobiális csomagolás

Az antimikrobiálisan aktív csomagolások kialakításában kétféle hatásmechanizmust különböztethetünk meg. Az egyikben kémiai eljárással rögzítik a hatóanyagot a csomagolóanyag felületén, ami az élelmiszerrel közvetlenül érintkezve, gátolja a mikroorganizmusok elszaporodását. Ebben az esetben gátló hatás az élelmiszer belső rétegeire nincs. Gyakrabban alkalmaznak viszont vándorlásra képes hatóanyagot, a külső felületen keresztül behatol a felső rétegekbe és azokat is megóvjaa a fertőzésektől, a baktériumoktól és a gombáktól.

Az aktív és az intelligens csomagolóanyagok alkalmazását a 2009. évben kiadott 450/20009-es rendelet szabályozza.

Az 1980-as években, az első antimikrobiális csomagolás hatóanyaga az ezüst volt. Napjainkban már sokféle antimikrobiális hatóanyag ismert: fémek (ezüst, réz), enzimek (lizozim, glükózoxidáz, peroxidáz), szerves savak és sóik (szorbitol, benzoesav), nizin, pediocin, natamicin, imazalil, benomil, természetes anyagok (tormaextraktum, rozmaring, bors, trioszulfínát, flavonoidok, kitozán), illékony anyagok (etanol (kis zacskóban), CO₂, SO₂, hinokitol (fakéregből)) (Said és Sarbon 2019, Vermeiren et al.2002, Suppakul et al. 2003, Appendini et al. 2002). A természetes anyagok korlátozottan használhatók fel az élelmiszercsomagolásban, mert extrém hőmérsékleten hatásukat nem tudják kifejteni. A szervetlen fémek széles körben alkalmazhatók, stabil anyagok amelyek extrém környezetben is megbízhatóan viselkednek (Shankar et al. 2016).

A fémeket, mint az ezüstöt, a cinket, a titánt, a palládiumot és a rezet is régóta ismerik és használják antibakteriális, antifungális tulajdonságaik miatt (Martucci és Ruseckaite 2017). A hatásmechanizmusuk során a baktérium, gomba sejtfalát és fehérjéjét támadják meg (Lemire et al. 2013).

2.3.A réz antimikrobiális hatása

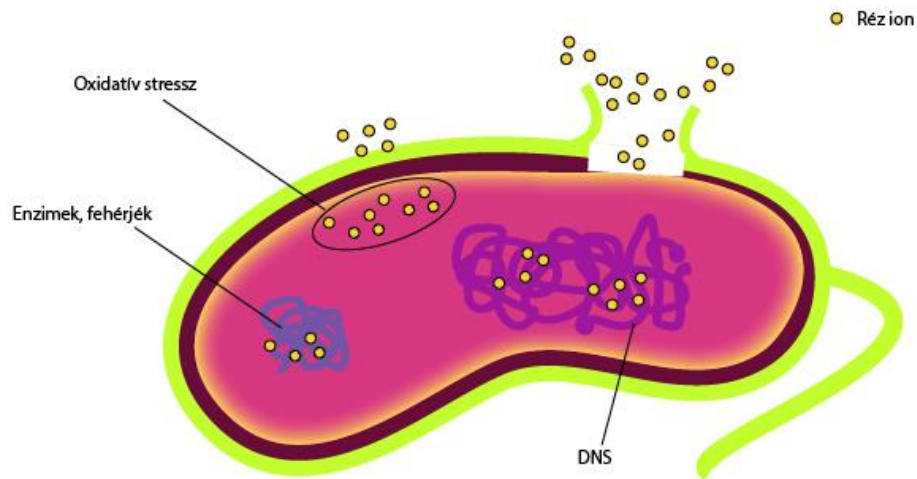
A réz szó a Cuprum latin szóból, Ciprus szigetének nevéből ered, amely fontos rézlelőhely volt már az ókorban is (Murari et al. 2015, Drescher 2000). Az ókorban gyógyításra, fertőtlenítésre, valamint szerszámok készítésére is használták (Drescher 2000). Görög tudósok

úgy tartották, hogy a réz csökkenti a gyulladásokat és felgyorsítja a sebgyógyulást. Hippokratész és Galenus orvosi munkássága is megemlíti olyan réz alapú gyógykészítményeket amiket sebek, fekélyek gyógyítására használtak (Dresher 2000). Az első században a szem betegségeinek gyógyítására használták a réz sóit (Dresher 2000). Jóval később jöttek rá arra, hogy az állat- és növénygyógyászatban is felhasználható (Borkow és Gabbay 2005, Borkow és Gabbay 2009, Mastin és Rodgers 2000). A rezet erős baktérium- és gombaölő hatása miatt széles körben használják. Jelentős szerepet tölt be a növények növekedésében, táplálásában is (Shkolnyik 1984). Ipari alkalmazása is széleskörű, használják a papírgyártásban, a borok elszíneződésének meggátolására, a környezetszennyező anyagok közömbösítésére is (Couto és Herrera, 2006, Riva 2006, Viswanath et al. 2008).

A réz jótékony élettani hatását a kis ionátmérőjével, nagy atomtömegével, változó vegyértékével és komplexképző hajlamával magyarázza a szakirodalom (Din et al. 2017). Az enzimek alkotórészeként az elektrontranszportban és a légzési anyagcserében, a szénhidrát-anyagcsere folyamatában és a fehérjeszintézisben is fontos szerepet játszik (Kalocsai 2006).

A réz elemi formában, sóiban (réz-nitrát, réz-szulfátid, réz-acetát) és ötvözeiben fordul elő. A rézionok baktérium-, gomba- és vírusölő hatása elismert a mikrobiológiában, a mikroorganizmusokra nézve, a hatásmechanizmusa még mindig csak részben feltárt (Crabtree et al. 2003).

A baktérium és a réz komponens érintkezésekor a baktérium sejtfalát alkotó vegyületek reakcióba lépnek a réz részecskével, ennek következtében réz inonok válnak le a komponens felületéről. A sejtfal építőelemei átalakulnak a kémiai reakció során, sérül a baktérium védekezőrétege, a sejtfal, így a rézionok könnyen bejutnak a baktérium belsejébe. A rézionjai a baktérium sejten belüli enzimekhez kötődnek, a rézion hatására a DNS elveszíti szaporodóképességét (Kim et al. 2000). Dim és társai tanulmányában a réz részecskék reagálnak a baktérium sejtmembrán transzportfehérjéivel, nem jut több oxigénhez a sejt és ez a pusztulásához vezet (Dim et al. 2017) (1. ábra).



1. ábra: A réz hatása baktérium sejtekre (Din et al. 2017. ábrája alapján)

2.3.1. Réz-szulfát pentahidrát alkalmazhatósága élelmiszerekben és élelmiszerekkel érintkezésbe kerülő anyagokba

Az élelmiszer a csomagolás, tárolás során különböző anyagokkal (Food Contact Materials (FCM)) kerülhet érintkezésbe, amelyek megtapadhatnak az élelmiszer felületén majd diffundálódhatnak belsejükben. Világszerte fontosnak tartják az FCM anyagok használhatóságának vizsgálatát. Az elmúlt évtizedekben több mint 6000 anyag felhasználását korlátozták vagy tiltották be, hogy az élelmiszerekkel ne kerülhessenek érintkezésbe (Restuccia et al. 2010). Létrehoztak több adatbázist és rendeletet, amelyek segítségével szabályozni lehet az FCM anyagok felhasználhatóságát. Az adatbázisok (Pew, Union, ESCO, Sin 2.1, TEDX, GRAS) kutatási eredmények, tapasztalatok alapján kezelik az élelmiszerrel érintkezésbe kerülhető anyagokat és azok alkalmazhatóságának mértékét is. A TEDX adatbázis az emberi szervezet, endokrin rendszerére kifejtett hatásai alapján rendszerezi az anyagokat. A SIN 2.1 adatbázist a Pew, az Union és az ESCO adatait továbbá az 1907/2006/EK rendelet által engedélyezett, korlátozott vagy betiltott anyagok összességét gyűjtötte össze. Az Európai Unió 2004-es Ec No. 1935-ös és 2009-es Ec. No. 450-ös rendeletekben további veszélyes anyagokat határozott meg.

A réz-szulfát pentahidrát a SIN2.1, GRASE, SCOGS, TEDX és Pew adatbázisok része. A GRAS, a SIN 2.1 és a Pew adatbázisok alapján a réz-szulfát pentahidrát 1979 óta engedélyezett élelmiszer adalékanyag, étrendkiegészítő. A SIN 2.1 alapján adagolható csecsemőtápszer adalékanyagaként is (GRAS 2011). Élelmiszeripari adalékanyagon túl, papírgyártásnál

alkalmazható adalékanyagként, élelmiszerrel érintkezésbe kerülő csomagolások esetén is alkalmazható (SCOGS 2015). A TEDX adatbázisa alapján, élelmiszer adalékanyagként való alkalmazásának akut toxikus határa a 693 mg/ emberi test súlya (kg) (Shivanandappa et al. 1983). 2008-ban a rezet az US Environmental Protection Agency (EPA) által engedélyezték antimikrobiális szerként való alkalmazásra.

Az Európai Unió adatbázisa és rendeletei meghatározzák azokat az anyagokat, amelyeket nem lehet hozzáadni élelmiszerekhez, élelmiszerrel érintkezésbe kerülő anyagok, csomagolások előállítása során. A réz-szulfát pentahidrát nem szerepel egyik európai adatbázisban sem.

2.3.2. Antibakteriális és antifungális anyagként felhasznált réz

A rezet, mint antibakteriális, antifungális anyagot számos kutatásban megemlítik, Gritsch et al. (2018) réz (II)-kloridot adtak hozzá kitozánhoz. Ekkor a réz (II)-kloridból nedves közegben réz és klorid ionok keletkeztek. A kutatás alapján a réz kelát kötéssel kötődött a kitozán molekulájához, így alkotva komplexet. A réz-kitozán filmrétegnek vizsgálták az antibakteriális és fizikai tulajdonságait. A kitozánhoz (kontroll) képest a rezet is tartalmazó mintáknak nőtt az antibakteriális hatása a hozzáadott réztartalom függvényében. Klinkajon és Supaphol (2014) alginát hidrogélből készítettek réz-szulfát hozzáadásával filmréteget és vizsgálták sebkötözőként való alkalmazhatóságát, és antibakteriális hatását *Staphylococcus* és *E. Coli* fajokra. Kutatásuk során megállapítást nyert, hogy a filmrétegek antimikrobiális hatását a réztartalom okozta. Llorens et al. (2012) rezet abszorbeáltak a cellulóz rost felületére, kezelték a mintákat fizikai és kémiai eljárásokkal is. A kémiai kezelés következtében nagy mennyiségű réz-oxidot tartalmaztak a mintalapok. Az elkészült mintalapoknak vizsgálták antibakteriális, antifungális tulajdonságait, továbbá vizsgálták a gyümölcslevek eltarthatóságát a mintalapokba csomagolva, ahol szintén pozitív eredményekről számoltak be tanulmányukban. Chandrleka et al. (2014) réz és 1, 10-phenanthroline és 2, 2'-bipyridyl ligandumokkal készítettek komplexet, és vizsgálták az antifungális, az antibakteriális hatásukat *Staphylococcus*, *Candida*, *Salmonella* és *Cryptococcus* fajokra, gyógyszerkészítményben való alkalmazhatóság szempontjából. Xu et al. (2012) a poliakrilonitril (PAN) membrán réztartalmának növelésére, polietilénimint (PEI)

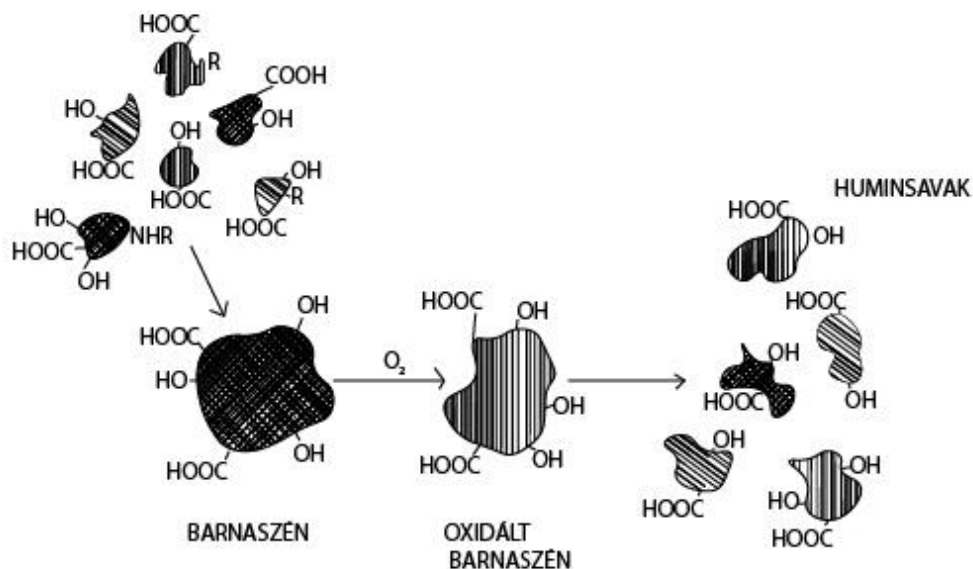
alkalmaztak. A vizsgálat során a módosított membrán nagyobb réztartalmú és jobb antibakteriális tulajdonságokat mutatott a kontroll mintához képest.

A rézzel képzett komplex segítheti a réz megkötődését a felületeken, így növelve a filmek, rétegek réztartalmát (Chandraleka et al. 2014, Zhang et al. 2014). Komplexet kitozánnal, algináttal, polifenilén-szulfonnal, humáttal is képeztek már (Paiva et al. 2012, Zhang et al. 2014, Xu et al. 2012).

2.4. Huminanyagok

A huminanyagok az élő talaj alkotórészei. A talajban a huminanyag olyan szerepet játszik, mint az élő növényi vagy állati szervezetekben a fehérje. A huminanyagok fosszilis formái a geológiai korok ideje és a geológiai hatások alatt alakultak ki a más-más kőzetrétegek által eltemetett egykori recens formákban. Az őket alkotó vegyületek szintén a körülmények szabta mennyiségi arányokban lelhetők fel ásványi szekben, talajban, természetes vizekben és fenékküledékekben (Galambos 2006, Dogan et al. 2015, Aiken 1985, Hayer et al. 1989).

A huminsavak, melyek a huminanyagok fő frakcióját képezik a vegyület definíciója (kémiai) értelmében, nem egységes vegyületek. A huminsavak a talajban elhalt szerves anyagok sötét színű termékei, melyek híg lúgokban igen jól, ásványi savakban azonban nem oldódnak. A huminsavak szerves anyagok bomlástermékeinek humifikálódásából keletkeztek (2. ábra). Eredetük talajhumusz, tőzegek, lignitek és barnaszén azonos szénülési folyamatainak termékei (Kühnert et al. 1989, Aiken 1985, Hayer et al. 1989, Schnitzer és Kham 1972, Theng 1979, Tombácz 1999).



2. ábra: Barnaszén keletkezése, oxidációja és huminsav keletkezése (Rausa et al. 1994. alapján)

2.4.1. Huminanyagok tulajdonságai, jellemzői, szerkezetük

A huminsavak a barnaszének alkotórészeként az alábbiak szerint csoportosítható, a barnaszének szerkezeti anyagai közé (Krug és Naundorf 1984):

- Bitumenek (viaszok, gyanták)
- Huminsavak
 - Szabad huminsavak
 - Kötétt huminsavak
 - Huminsavak előanyagai (fulvosav, himatomelánsav stb.)
- Maradékészén (huminek, polimer-bitumenek, cellulózok, ligninek, pentoxánok, szervesetlen ásványi anyagok)

A barnaszének alkotóinak ez a fajta csoportosítása definiálja, milyen anyagokat hívunk huminsavaknak.

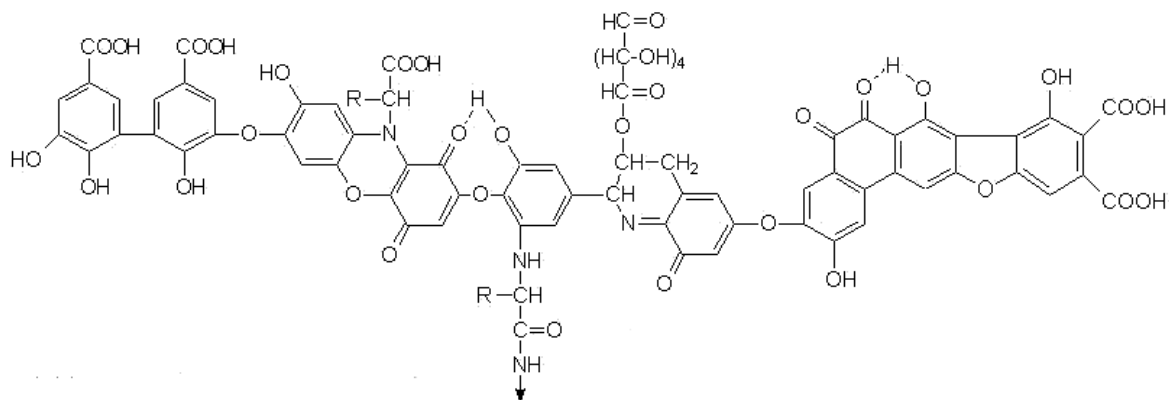
A barnaszének huminanyagainak hasznosítása vagy közvetlenül a barnaszén hasznosításával történhet, vagy közvetetten. Számos kutatás közvetlenül alkalmazta a barnaszénport humáttartalmú anyagként (Landais és Gerard 1996). Mások a szenet előbb valamilyen módon oxidálják, általában salétromsavval vagy hidrogén-peroxiddal (Swift 1996). Az oxidált terméket vagy kezelés nélkül vizsgálják, használják fel (Doskočil et al. 2014), vagy ammóniával kezelik (Jezierski et al. 2000). Néhányan a szenet lúgoldattal extrahálják (Shinagawa et al. 1982, Schnitzer 1978). Gyakran a szerzők nem adnak pontos leírást a humát előállításának részleteiről, ezzel megnehezítve a humátok tulajdonságainak összehasonlíthatóságát.

Az 1. táblázatban látható a huminanyagokat tartalmazó elemek egyik lehetséges tömegszázalékos aránya. A huminanyagok összetétele különböző arányú lehet, ennek oka, hogy a különböző természeti körülmények közt levő anyagok más összetételűek, emellett az anaerob környezetben lévő idősebb huminanyag összetétele szükségképpen más, mint a levegőn, oxidációs és hidrolitikus hatásoknak kitett humuszhordozónak. A huminanyagokból lúgos extrakció során készített humát összetételének arányát változtathatja még a kinyerés és a feldolgozás módja is.

1. Táblázat: A huminanyagok összetétele (Aiker et al. 1985, Hayer et al. 1989)

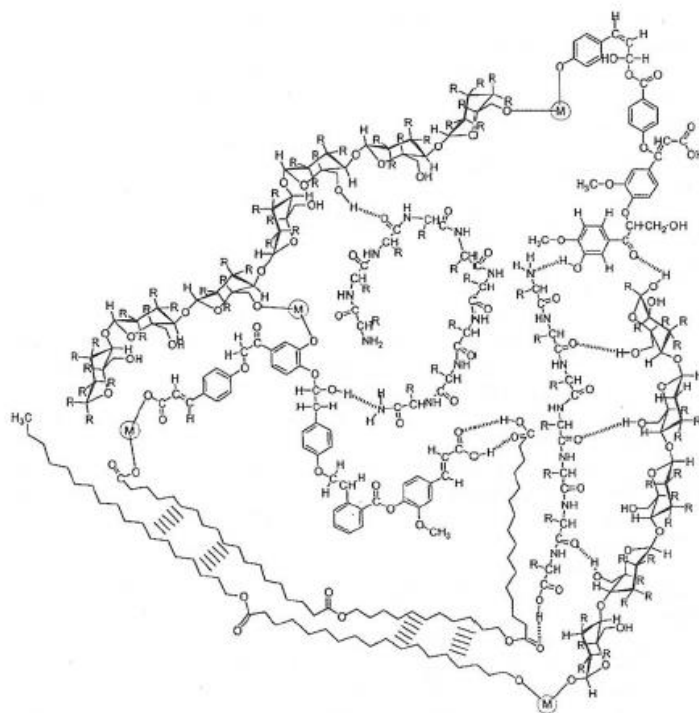
Összetétel	Tömegszázalék (t%)
szén	54-64
hidrogén	3,3-5,5
nitrogén	<1
oxigén	30-35

A huminsavak szerkezeti felépítésére, még ma is csak megközelítő modellek ismeretesek. A huminsavak molekulalánc modelljének megalkotásához vizsgálták a különböző eredetű mintákat és a leggyakrabban előforduló struktúrákból előállították a legvalószínűbb molekulaszerkezet alapstruktúráját (3. ábra) (Stevenson 1982).



3. ábra: A huminsav molekulaszervezete (Stevenson 1982)

A huminsavak alapstruktúrájában mindig két jellemző részt lehet megkülönböztetni. Az egyik a központi mag, amely erősen aromatiszt és térhálós szerkezetű. A másik rész a huminsavak periférikus zónája, mely lebontott fehérjét, zsírsavakat, szénhidrátok átalakult metabolitjából áll. A központi mag és a periférikus rész fenolos csoportokon át kapcsolódik egymáshoz. A periférikus zónában található a funkciós csoportok (hidroxil-, karbonil-, fenolos-, amino-csoportok) (Galambos 2006).



4. ábra: A huminsav térbeli szerkezetének lehetséges konformációja (Simpson et al. 2002)

A 4. ábra a huminsav egy lehetséges térbeli konformációs állapotát ábrázolja. A huminsav molekulaszervezetében jelölt M a fém ionokhoz, fémkomplexekhez kapcsolódó funkciós csoportok helyét jelöli. A delokalizált elektronszerkezetnek, valamint a nagyszámú, különféle funkciós csoportnak köszönhetően a huminsavak jó komplexképző és kation megkötő tulajdonságúak (Galambos 2006).

A huminsavakban az oxigén karboxil-, karboxi-, éter-, észter-, hidroxil- és kinonstruktúra formájában van jelen spektroszkópiai vizsgálatok (FT-IR, UV-VIS stb.) alapján (Nyergesné 2005). A huminanyagokban a szén jelentős hányada az aromás szerkezet része. A kondenzált aromás gyűrűk és az alifás szénhidrogén-részek hidrofób tulajdonságúak, mennyiségüktől függően hidofil és hidrofób tulajdonságot is kölcsönöznek a huminsavaknak (Hayes 1989, Tombácz et al. 1999).

A huminanyagok nevezéktanának kialakulása 1797-ben kezdődött, amikor Vauquelin korhadó szilfarostból lúggal extrahált huminanyagokat, uminsavként nevezte el, amely a szilfa latin nevéből származik. Később a humuszvegyületek vízoldható részét, sárgás színük miatt fulvosavnak nevezték el (Oden 1919). Oden munkája során oldhatóság alapján rendszerezte a huminanyagokat, mely rendszerezést a mai napig használnak (2. táblázat).

2. Táblázat: A huminanyagok oldhatóság alapján való osztályozása (Oden 1919)

	Név	Vízben	Alkoholban	Lúgban	Sói	Szín
	Humuszszen	Nem oldható	Nem oldódik	Nem oldható	Komplexei ismertek	Fekete
Humát /Huminsavak	Huminsav	Nem oldható	Nem Oldódik	Oldódik	Alkáli sói vízben oldódnak	Feketésbarna vöröses árnyalattal
	Himatomelánsav	Oldódik	Oldódik	Oldódik	Alkáli sói alkoholban diszpergálhatók	Barna, sárga árnyalattal
	Fulvosav	oldódik	Oldódik	oldódik	Vízben jól oldódnak	Arany-sárga és sárgás szőke közötti tartomány

Humátoknak nevezik a lúgban oldódó barnaszén alkotókat. Lúgban nem oldódó része a humuszszen.

A humátok vízzoldhatósága összefügg a molekulamérettel. Minél nagyobb egy anyag molekulája, annál nehezebben oldódik vízben. Ennek egyik oka, hogy a molekulaméret növekedésével fajlagosan csökken az aktív hidrophil csoportok száma. Másik oka a humát molekulájában található laktongyűrű, mely semleges és savas közegben összezáródik. Ezzel szemben lúgos közegben felnyílik a gyűrű, megnő a -COOH , -OH csoportok száma. Ezzel magyarázható a humátok lúgos közegben való jó oldódása (Stevenson 1982).

2.4.2. Humát fémekkel alkotott komplexe

A humátok könnyen képeznek fémekkel komplexet. A humátokban főként a savas karboxil-, fenolos és alkoholos hidroxil- csoportok hoznak létre kötést a fémekkel (Liu és Gonzalez 2000, Erdogan et al. 2007, Piccolo 2002, Stevenson 1994). A fémek megkötésében még a szemikín, amino, karbonil csoportok is részt vehetnek a humát molekulájában. A humátok különböző mértékben képesek megkötni a fém ionokat, megkötésük összetett mechanizmus, amiben ioncsere, kelátképzés és felületi abszorpció is szerepet játszik.

A humátok a különböző fém ionokat különböző erősséggel kötik meg, erősen kapcsolódik: a vas, az alumínium, a réz és a kadmiumhoz, közepes erősséggel: a kalcium, a nikkel, az ólom és a cinkhez, gyenge kötéssel kapcsolódik a magnéziumhoz (Nyergesné 2005).

Több tanulmányban vizsgálták már a humát rézmegkötő képességét (Fuentes et al. 2013, Garcia-Mina 2006, Jerzykiewicz 2002, Senesi 1992). A rézionok (illetve egyéb fém ionok) megkötésére két jellemző szorpciós helyel rendelkezik a humát, a fenolos hidroxil (OH^-) és a karboxil (COO^-) csoporttal (Bogota et al. 2016, Christ 2012, Pehlivan és Arslan 2006). A kálium-humát fémmegkötő képessége függ a pH értéktől. Alacsonyabb pH értékeken a karboxil csoport (Jeong et al. 2007, Rahman és Alam 2010, Antilén et al. 2011) magasabb pH értéken a fenolos hidroxil csoport (Ritchie és Perdue 2003, Hernander et al. 2006) vesz részt a fém ionok megkötésében.

A humátnak több magyar vonatkozása is ismert. Egyik legfontosabb, hogy 2010 októberében Ajka város környezetében közel 700 000 m³ erősen lúgos (pH 13-14), maró

hatású vörös iszap előntötte a környező földterületeket (Attila 2011), ezzel felbecsülhetetlen gazdasági és ökológiai károkat okozva. Huminanyag segítségével visszaállították a földterület pH-ját, termékenységét (Dr. Csicsor János vezetésével) (Attila 2011). Ismeretes még, hogy étrendkiegészítőként is használják a humátot az 1980-as évek óta. A humát könnyen hoz létre komplexet fémekkel, kelát kötéssel, de könnyen fel is szakadhat, nedves, vizes közegben, leadva a hozzá kötődött fém ionokat (Tunç és Yoruk 2017). Ezt a tulajdonságát használják mezőgazdaságban, étrendkiegészítőkben és ezért a tulajdonságáért használtuk kutatásunk során mi is.

Kitűnő kelátképző tulajdonsága miatt ideális az emberi szervezet ásványi anyagainak pótlására, illetve a nehézfémek kiürítésére a szervezetből. Jelenleg két magyar étrendkiegészítőben használják (humicin és huminikum). A Huminikum étrendkiegészítő család legújabb terméke a humáttartalmú csokoládé, amely szervezetünk megfelelő ásványi anyag bevitelére is szolgál (choco pathy nevű készítmény), gyermekek számára is ajánlott.

2.4.3. Humát-réz komplex

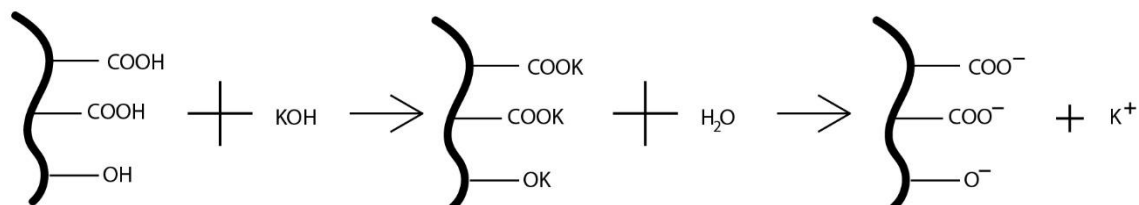
A huminanyagok igen változatos szerkezetűek és összetételűek. Szerkezetük függ attól, hogy a kőzetréteg szénülési folyamata melyik stádiumában van (amit fentebb már kifejtettem). Ebből következően igen nehéz megállapítani a pontos kémiai összetételét, kémiai reakcióit. Kevés szakirodalom foglalkozik a humátok kémiai reakcióinak vizsgálatával és azok képletekkel való leírásával. Nehezítette még munkámat, hogy a kutatások többségében nátrium-humátot állítanak elő, nem kálium-humátot. Kutatásom igen fontos részét képezte megérteni és felkutatni milyen reakciók és kötések jönnek létre a réz-szulfát pentahidrát hozzáadása során, milyen paraméterek befolyásolják a humát rézmegkötő képességét, amelyeket a következőkben részletesen bemutatok.

A humát makromolekulájának rézmegkötő képessége és annak mechanizmusa függ a pH értéktől. Különböző pH értékeken más-más mennyiségben keletkeznek a különböző réz komponensek (Cu^{2+} , CuOH^+ , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, $\text{Cu}(\text{OH})_4^{2-}$, $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$) (Boguta et al. 2016).

A keletkező hidrolízistermékek közül Cu^{2+} , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ keletkezik nagyobb mennyiségben, a többi hidrolízistermék koncentrációja elhanyagolhatóan kevés mennyiség (<2 %). Alacsonyabb pH-kon a Cu^{2+} keletkezik inkább, 6-7 pH értéknél lezajló hidrolízis

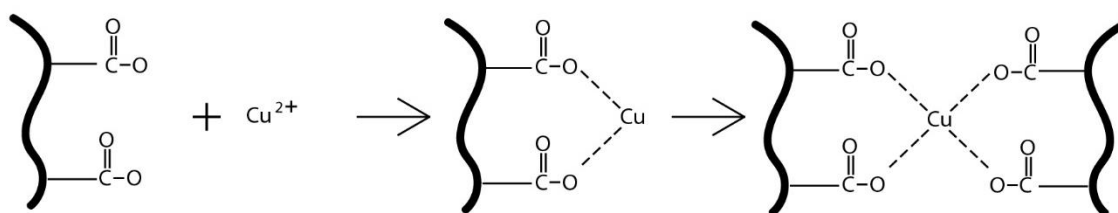
eredményeként a rézionok $\text{Cu}(\text{OH})_2$ -ként fordulnak inkább elő. Lúgos tartományban, 10 pH felett egy újabb hidrokomplesz képződik, a $\text{Cu}(\text{OH})_4^{2-}$, aránya a magasabb pH értékeken akár a 20%-ot is elérheti.

A humát rézmegkötő mechanizmusa a pH értéktől függően változik. Kálium-humátról vizes közegben lehasad a kálium ion (Cheng et al. 2019) (5. ábra).



5. ábra: A humát molekula kálium megkötődésének és lehasadásának sematikus ábrája (Cheng et al. 2019 ábrája alapján)

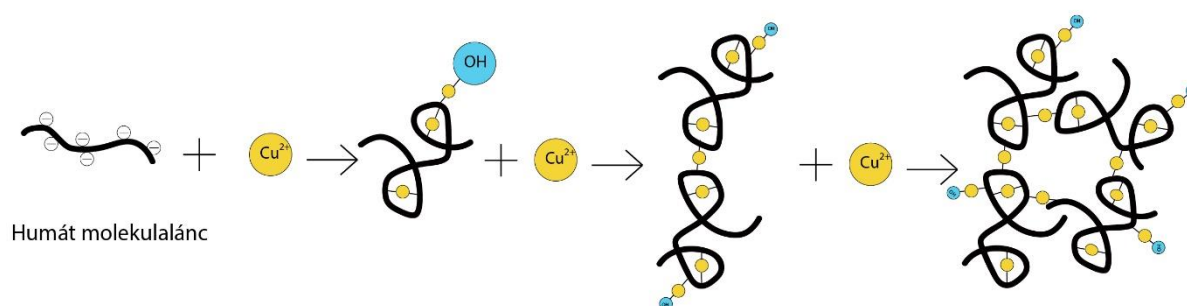
Alacsonyabb pH (<7) értéken egyszerűbb mechanizmus játszódik, a humát COO^- funkcióscsoportja képez kötést a rézzel (Boggs et al. 1985, Karahana et al. 2013)(6. ábra).



6. ábra: A humát molekula rézmegkötésének sematikus ábrája alacsony pH értéken (Karahana et al. 2013 és Van Dijk 1971 ábrája alapján)

Magasabb pH értékeken ($\text{pH} > 7$) összetettebb mechanizmus játszódik le, mint alacsonyabb pH értéken a humát kationmegkötő mechanizmusa során. A humát vizes közegben polielektrolit (Li et al. 2011). Magas pH értéken a humát $-\text{OH}$ funkciós csoportja hoz létre kötést a rézzel (Karahana et al. 2013, Boggs et al. 1985). A szuszpenzióban lévő kötetlen réz a megnövekedett pH érték hatására hidroxil vagy hidrokompleszszé válhat.

Ilyen formában kötődhet a humát molekulához a réz, majd polarizált vízmolekulák közéjöttével elektromos kettősréteg alakul ki, amelyen újabb kationok halmozódnak fel. A humát nagyobb aggregátumokká növekedhet általa, hogy a megkötött többértékű fém kationokkal intermolekuláris komplexet alakít ki az egyes humát molekulák között (Karahana et al. 2013, Scharpenseel 1966, Greenland 1971). A fém akvakomplexen vagy olációs hídkötésen keresztül magához köt egy másik humát molekulát. Ezen folyamat során több fém ionon keresztül kötődnek össze a szerves molekulák végül kialakul az aggregátum, a micella (7. ábra).



7. ábra: Humát molekula rézmegkötésének sematikus ábrája magas pH értéken (Karahana et al. 2013 ábrája alapján)

A humát láncok funkciós csoportjaihoz kelát kötéssel kötődnek a rézionok (Hizal és Apak 2006, Waller és Pickering 1990, Boguta et al. 2016, Tombácz et al. 2000, Boggs et al. 1985). A már humáthoz kötődött rézionhoz további humát molekulák kötődnek, így kialakítva a humát micella szerkezetét (Schnitzer 1978, Dmitrieva et al. 2015 Tarasevich et al. 2013).

Az élelmiszer romlása mindig nedves közegben játszódik le, amely ideális a baktériumok, gombák növekedésére az élelmiszer felületén. A humát segíti a réz megkötődését és a leszakadását is, nedves közegben. Valószínű, hogy a humát és a réz hozzáadásával készült csomagolóanyag alkalmazása megnövelné az élelmiszerek polcidejét, eltarthatóságát.

3. KÍSÉRLETI ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kálium-humát előállítása

A kálium-humát előállításának alapjait a HU 209 134 szabadalom és saját munkáim képezték (Tóth és Halász 2019a, Tóth és Halász 2019b). Dudari barnaszén az Agrotherm Kft.-től (Magyarország), a kálium-hidroxid a Molar Chemicals Kft.-től származott. A kálium-humát előállítása során először a barnaszenet porrá őrültem. 100 g porszénhez 50 ml 5M KOH oldatot adtam, melyet 3 órán keresztül mágnes keverővel kevertettem. Szobahőmérsékleten egy éjszakát állni hagytam. A humát kinyerése érdekében az anyagot másnap 2400 fordulat/perc sebességgel 10 percen keresztül centrifugáltam.

3.2. Rostszuszpenzió és a mintalapok előállítása

Mintalapok előállításához linter rostokat használtam. A cellulóz rostot a megfelelő fibrilláltság elérése érdekében hollandi malomban őrültem 40 percen keresztül. A rostok MSZ EN ISO 5267-1:2000 szabvány szerint mért őrlésfoka 48 SR° lett.

Alkáli-humátot tartalmazó lapok elkészítése, a HU 207 682 A szabadalom alapján történt, változtatásokkal (Tóth és Halász 2019a, Tóth és Halász 2019b). Lapképzés során használt réz(II)-szulfát pentahidrát a Molar Chemicals Kft.-től származott. 250ml cellulóz (7 g szárazanyag tartalomú) rostszuszpenzióhoz (mágnes keverőn keverve) annyi CuSO_4 -ot adagoltam, amíg a szuszpenzió pH-ja 4,5 lett (~5g) (8. ábra). Szobahőmérsékleten egy napig állni hagytam, majd hozzáadtam a különböző mennyiségű kálium-humát oldatot és 80 percig, 200 rpm sebességen kevertettem mágnes keverővel. Szintén 80 percig, 200 rpm sebességen kevertettem azt a rost szuszpenziót, ami csak réz-szulfát hozzáadásával, illetve anélkül (kontroll) készült. Az M 2-es rostszuszpenzió 5 g réz-szulfát penta hidrátot tartalmazott. Mintalapok összetételét és jellemzőit az 3. táblázat tartalmazza:



8. ábra: Réz-szulfát hozzáadásával készült, 4,5 pH értékű cellulóz rost szuszpenzió

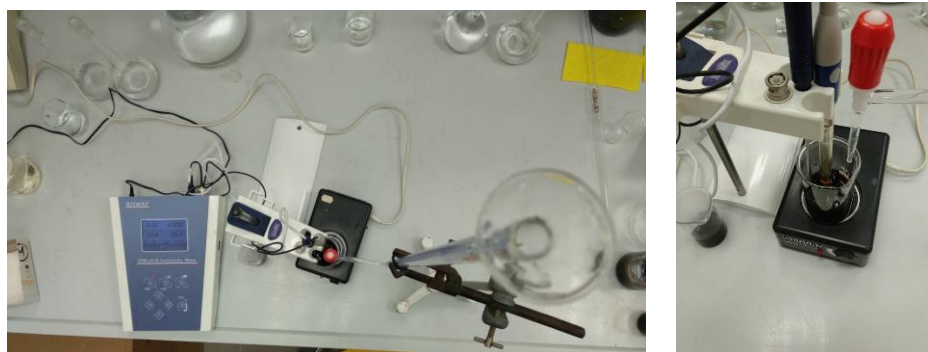
3. Táblázat: A mintalapok előállításához használt szuszpenziók összetétele

Mintalap	Összetétel (tömegarány szárazanyagra vonatkoztatva)
M 1	Kontroll
M 2	Réz-cellulóz
M 3	1:0,1 Réz-cellulóz: Kálium-humát
M 4	1:0,25 Réz-cellulóz: Kálium-humát
M 5	1:1 Réz-cellulóz: Kálium-humát
M 6	1:5 Réz-cellulóz: Kálium-humát
M 7	1:10 Réz-cellulóz: Kálium-humát
M 8	1:1 Cellulóz: Kálium-humát

3.3. Cellulóz rost szuszpenzió vezetőképessége és pH értéke

A cellulóz rost szuszpenzió elektromos vezetőképességét az ISO 6587: 1992 szabvány szerinti módszerrel mértem, Jenway 3450 készülékkel. A vezetőképességet mS/cm-ben (milisiemens/cm) fejeztem ki, K (cellaállandó) = $1,01 \text{ cm}^{-1}$. A cellulóz rost szuszpenzió vezetőképességét és pH értékét közvetlenül a lapképzés előtt mértem. A mérés során az

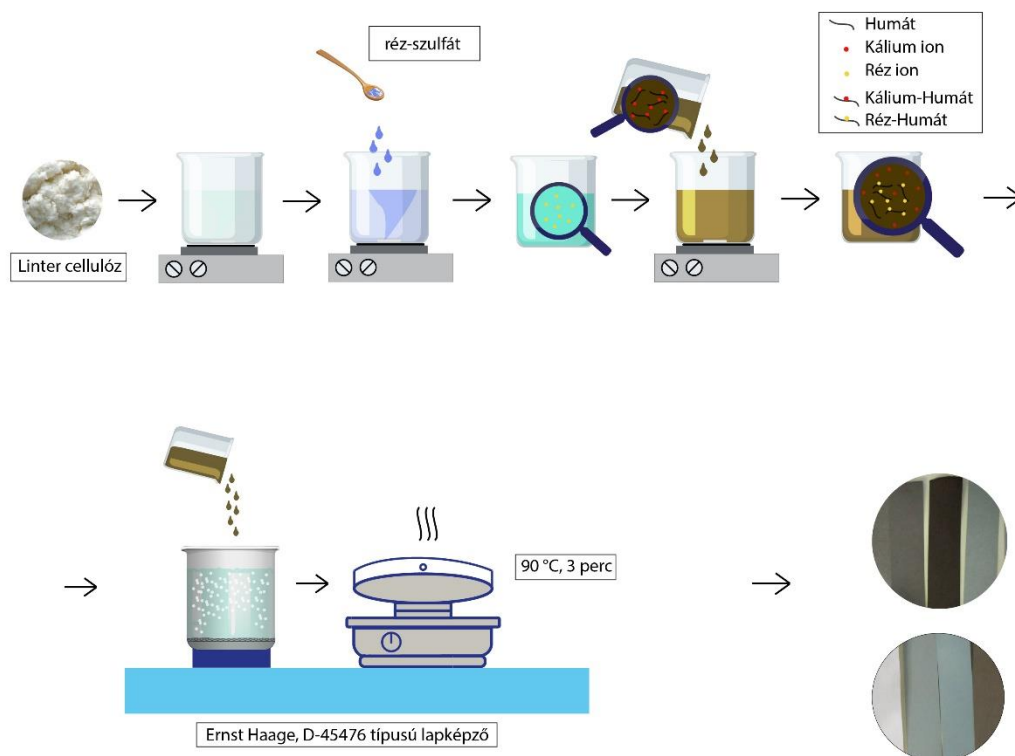
elektródokat pH 4,5; pH 7 és pH 10 pufferoldatokkal kalibráltam (Sigma-Aldrich, Németország). A vezetőképesség mérőt 0,147 1,48 és 12,8 mS/cm pufferoldatokkal kalibráltam (Merck KGaA, Németország). A szuszpenzió készítésénél desztillált vizet használtam. A mérési eredmények három, különböző helyről vett minta eredményének átlagát tartalmazzák.



9. ábra: A vezetőképesség mérése során használt Jenway 3450 készülék

3.4. Lapképzés

A mintalapokat Rapid-Köthen típusú (Erst Haage, D-45476) lapképzőn készültek, a szita behelyezését követően. Az előállítás a következő fázisokra osztható: buborékoltatás (120 másodperc), pihentetés (30 másodperc), leeresztés (180 másodperc), maradék folyadék vákummal történő eltávolítása (120 másodperc). A szitáról a nedves mintalapot hordozópapírra helyeztem, a nemez prëshengerrel manuálisan préseltem, majd szárítottam, 180 másodpercig, 90 °C-on. Az elkészült mintalapokat légmentesen, alufóliába csomagolva tároltam, fénytől elzárt helyen a mérések, vizsgálatok elvégzéséig. A 10. ábrán látható a mintalapok készítésének fázisai.



10. ábra: A mintalapok előállításának sematikus ábrája

3.5.A lapok kondicionálása

A mintalapok tulajdonságainak vizsgálatát megelőzően a lapokat az MSZ EN 20187:2000 szabványban foglaltak alapján kondicionáltam.

3.6. Pásztázó elektromikroszkópia (SEM) és energiadiszperzív röntgenspektroszkópia (EDS)

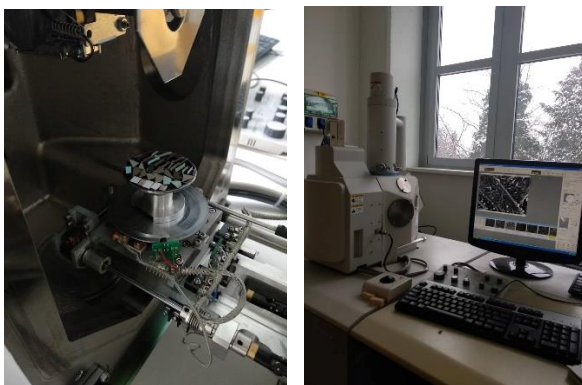
A pásztázó elektronmikroszkóp a vizsgált szilárd anyag adott területének felszínéről alkot képet. Képalkotás során elektronnyalábokkal pásztázza az anyag felületét, majd az elektron és az anyag kölcsönhatásából érkező jeleket detektálja, feldolgozza, képet alkot belőle (McMullan 1995).

A mérés során elsődleges és másodlagos elektronnyalábokat juttat a készülék az anyag felületére. Másodlagos elektronok, főként az anyag felszínéről adnak információt, az anyagról visszaverődő elektronok az anyag felszín alatti rétegekről.

Energiadiszperzív röntgenspektroszkópia (EDS) segítségével következtethetünk a vizsgált anyag periódusos elemösszetételére (Goldstein et al. 2017). A módszer lényege, hogy a periódusos rendszer elemei különböző elektronalhéj (s, p, d, f) telítettségűek, ezáltal különböző az emissziós röntgenspektrumuk is. Röntgensugárzásból származó fotonmennyiség és energia alapján következtetni lehet a felületet alkotó elemekre.

A felületmorfológia tanulmányozására a Hitachi S-3400N pásztázó elektronmikroszkóp, másodlagos elektron (secondary electron, SE) detektoros módját használtam (11. ábra). Mérés során az 5×5 mm nagyságú mintadarabokat rögzítettem a mintatartó lemezre. Ebben a módban a mintát nagy energiájú (20 keV) elektronokkal bombázzuk, és a felületből kilépő kis energiájú (<50 eV) elektronokat detektáljuk. Az így létrejövő képnek topográfiai kontrasztja van, azaz a felület morfológiája meghatározható. A felületi összetétel meghatározása pásztázó elektronmikroszkóphoz csatlakoztatott energiadiszperzív röntgenspektroszkópiával (EDS) történt. Ebben az esetben a nagy energiájú elektronok által kiváltott karakterisztikus röntgensugárzás spektrumát vizsgáljuk. A spektrumból a felület összetételének kvantitatív meghatározása válik lehetővé.

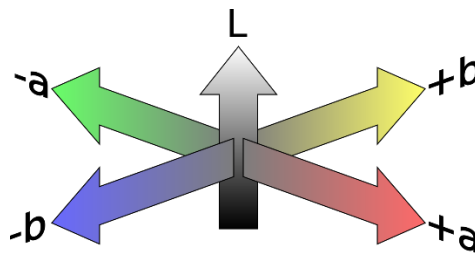
Az EDS mérési eredmények három, különböző helyről vett minta eredményének átlagát tartalmazzák.



11. ábra: Bal oldali kép: Mintatartó állványra helyezett mintalapok, jobb oldali kép: Pásztázó elektronmikroszkóp működés közben

3.7. CIELab színmérés

A CIELab színmérés a szilárd anyagok színösszetételéről ad információt. A módszer során térbeli koordinátarendszerben helyezi el az anyag színét alkotó értékeket (12. ábra). Az L tengely a luminancia értéke, a világosság tényezője. L^* értéke minél nagyobb, annál világosabb, minél nagyobb az abszolút értéke a negatív előjelű eredménynek, annál sötétebb a vizsgált anyag. Az a^* a piros-zöld színezet értéke. Minél nagyobb az a^* értéke, annál több piros színt, minél nagyobb az abszolút értéke a negatív eredménynek annál több zöld színt tartalmaz a vizsgált minta. A b^* érték a sárga-kék színezet értéke, minél nagyobb a b^* értéke, annál több sárga színt, minél nagyobb az abszolút értéke a negatív előjelű eredménynek, annál több kék színt tartalmaz a vizsgált minta. A referencia mintához képest viszonyított színeltérés, ΔE értékkel jellemezhető, melynek számítását az 1. egyenlet alapján végeztem. ΔE színkülönbség mértéke és a vizuális érzékelhetőség közötti összefüggést a 4. táblázat tartalmazza.



12. ábra: CIELab színtere (forrás: https://www.pclipart.com/pindetail/owiiTJ_cielab-color-space-cie-1931-color-space-international/)

$$\Delta E = \sqrt{(L_i^* - L^*)^2 + (a_i^* - a^*)^2 + (b_i^* - b^*)^2} \quad (1)$$

ahol az index nélküli koordináták a referencia mintához tartozó értékek, az „i” indexel jelölt kifejezések vizsgált minta értékei.

4. Táblázat: Színeltérés vizuális érzékelhetősége (Lukács 1982)

ΔE	Színeltérés mértéke
$\Delta E \leq 0,5$	nem észrevehető
$0,5 < \Delta E \leq 1,5$	alig észrevehető
$1,5 < \Delta E \leq 3,0$	észrevehető
$3,0 < \Delta E \leq 6,0$	jól látható
$6,0 < \Delta E$	nagyon jól látható

A mintalapok CIELab színekoordinátáinak meghatározására az X-Rite 500 típusú spektrodenzitómétert használtam (Fibro system Ag, Svédország). A méréseket CIE D65-ös xenonlámpa megvilágítással, d/0 szabványos megvilágítási és mérési geometriával végeztem. A mérési eredmények öt, különböző helyről vett minta eredményeinek átlagát tartalmazzák.

3.8. Fourier-transzformációs infravörös (FT-IR) spektroszkópia

A minták infravörös színeképét FT-IR spektrofotométerrel (SHIMATSU HATR 10) vizsgáltam. A minták szkennelési sebessége 2 mm/sec, a vizsgált hullámszám tartománya 4000-670 cm^{-1} , a szűrő 1000 Hz, a felbontása pedig 4 cm^{-1} értéken volt beállítva.

3.9. Felületi pH mérés

A felületi pH mérés TAPPI 529 om-14 szabvány alapján készült. A mérés során a mintalapok felületi pH értékének meghatározása lapos felületű pH elektródával (Jenway 3540) történt, a lapok desztillált vízzel való benedvesítését követően. A mérési eredmények tíz, különböző helyen mért érték átlagát tartalmazzák.

3.10. Mechanikai tulajdonságok

A hajlítási ellenállást és a hajlítási indexet az ISO 2493-2:2011 szabvány alapján határoztam meg. A vizsgálatot Büchel hajlítási merevség mérővel végeztem, 15 ° -os hajlítási szöggel, 50 mm-es hosszúsággal és 38 mm-es mintalap szélességgel. A mérési eredmények tíz, különböző helyről vett minta érték átlagát tartalmazzák.

A húzóvizsgálatot MSZ EN ISO 1924-2:2009 szabvány alapján végeztem, Instron 3345 típusú szakítógépen. A mintákat 36 mm-es befogási hosszon rögzítettem, majd 20 mm/perc sebességgel végeztem a húzóvizsgálatot. A minták szélessége 15 mm volt. A mérési eredmények öt, különböző helyről vett minta eredményeinek átlagát tartalmazzák.

A nyomószilárdságot az MSZ EN ISO 9895:2008 szabvány szerint, rövidbefogású (0,7 mm) módszerrel határoztam meg. A minta szélessége 15 mm volt. A nyomószilárdságot kN/m-ben fejeztük ki. Mérési eredmények tíz, különböző helyről vett minta eredményének átlagát tartalmazzák.

3.11. Légáteresztő képesség mérése (Gurley-módszer)

A mérés során 100 cm³ levegőmennyiség -mintalapok keresztmetszetén- való áteresztéséhez szükséges időt határoztam meg, másodpercben. A mérés során a Gurley-módszert (az ISO 5636-5:2013 szabvány alapján) L&W Gurley denzitométerrel állapítottam meg (13. ábra). A levegő ellenállását a mintalapok szitaoldallal ellentétes oldalán mértem, Gurley szekundumban (s/100 cm³) kifejezve. A mérési eredmények tíz, különböző helyről vett minta eredményének átlagát tartalmazzák.



13. ábra: L&W Gurley denzitométer használat közben

3.12. Antioxidáns kapacitás

A mintalapok antioxidáns kapacitásának vizsgálata során DPPH-módszert alkalmaztam. A mérés Yu et al. (2013) kutatása alapján történt, változtatásokkal. A mintalapokból 20 mm átmérőjű korongokat vágtam, majd a tömegük megmérését követően (0,0001 g pontossággal), 6 ml desztillált vizet és 6 ml 0,1 mM DPPH oldatot (3,9 mg DPPH és 100 ml etanol) tartalmazó oldatba helyeztem. A 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) és az etanol a Sigma-Aldrich-től (Németország) származott.

A reakcióelegyet sötét helyen tároltam a mérést megelőző 1, 4 és 24 órában. A színintenzitás változását 1, 4 és 24 óra reakcióidő elteltével, 517 nm hullámhosszon, abszorbancia meghatározásával detektáltam, UV-VIS spektrofotométer (Hach Lange DR 3900) segítségével. Az inhibíció mértéke a 2. egyenlet alapján számítható ki.

$$I = \left(1 - \frac{Abs_{minta\ oldata}}{Abs_{kontroll}}\right) \times 100 \quad \text{ahol} \quad (2)$$

I (%): inhibíció mértéke

Abs_{minta oldata}: A reakcióelegy abszorbancia értéke

Abs_{kontroll}: A tömény DPPH oldat abszorbancia értéke

Az antioxidáns aktivitás értéke aszkorbinsav egyenértékben (AAE) került meghatározásra, korrigálva a mintalapok tömegével, illetve felületével is.

3.13. Antimikrobiális tulajdonságok meghatározása és a vizsgálat során felhasznált anyagok

Az antimikrobiális méréseket a Debreceni Egyetem, Orvosi Mikrobiológiai Intézetében és a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH), Élelmiszerlánc-biztonsági Laboratórium Igazgatóság, Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratóriumában készülték. Az antimikrobiális mérés során felhasznált baktérium és gomba izolátumok mindegyike az American type Culture Collection-ből (Amerika) származik. A baktériumtenyészetek növekedésének vizsgálatához a Lab 038 Müeller-Hinton agar (Lab M Limited, Heywood, Egyesült Királyság), gombák esetében Sabouraud Dextrose agar (Lab M Limited, Heywood, Egyesült Királyság) használatával készültek a vizsgálatok. A Müeller-Hinton Agar gyártói adatok alapján $7,3 \pm 0,2$ pH értékű, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on. Előállítása során 1000 ml desztillált vízben 36 gramm táptalajt oldottunk (összetétele: keményítő: 1,5 g, agar-agar: 17g, fehérje: 17,5 g) fel, majd $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on 15 percig sterilizáltuk. Sabouraud Dextrose Agar gyártói adatok alapján $5,6 \pm 0,2$ pH értékű, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on. Előállítása során 1000 ml desztillált vízbe 65 gramm táptalaj feloldását (összetétele: 40g dextróz, 5g pepton A, 5 g pepton C, 15g agar-agar) követően az oldatok sterilizáltuk $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on, 15 percig. Az elkészített Müeller-Hinton Agar-t és Sabouraud Dextrose Agar-t felhasználásig $45\text{--}50\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os klímakamrában tároltuk. Az inokulum-sűrűség beállításához használt NaCl fiziológiás buffer oldat a Fresenius Kabi cégtől (Bad Homburg, Németország) származott. A baktériumsűrűség beállításához hordozható denzitométert (Biomérieux Biotechnology, Franciaország) használtunk (14. ábra).



14. ábra: A baktériumsűrűség beállításához használt eszköz, használat közben

A vizsgálathoz felhasznált baktériumok és gombák fajtaít, kódszámát és az izolátum forrását az 5. táblázat összegzi.

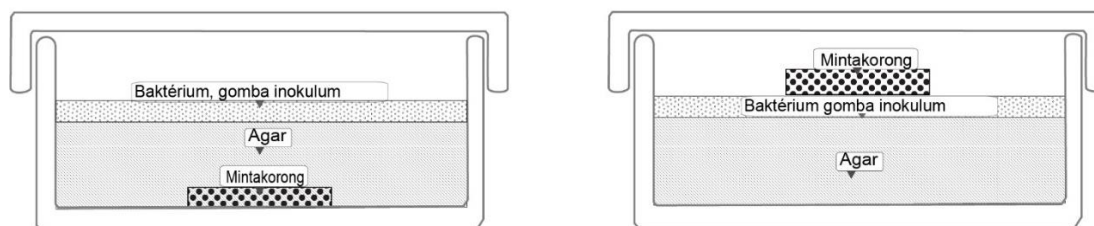
5. táblázat: Vizsgálat során használt baktérium és gomba izolátumok forrása és kódszáma

Kódszám	Törzsek	Információ az izolátumok forrásairól
ATCC 11778	<i>Bacillus cereus</i>	Klinikai izolátum
ATCC 6633	<i>Bacillus subtilis</i>	Nincs információ
ATCC 9341	<i>Kocuria rhizophila</i>	Orr váladék
ATCC 15305	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Vizelet
ATCC 12600	<i>Staphylococcus aureus</i>	Emberi seb
ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>	Melkasi folyadékgyülem
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	Tengeri malac
ATCC 33862	<i>Staphylococcus aureus</i>	Szarvasmarha agy
ATCC 14990	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Meningitises gyerek agyvelő
ATCC 35152	<i>Listeria monocytogenes</i>	Vizelet
ATCC 13932	<i>Listeria monocytogenes</i>	tejtermék
ATCC 33090	<i>Listeria innocua</i>	Vizelet

ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	Nincs információ
ATCC 19433	<i>Enterococcus faecalis</i>	Nincs információ
ATCC 6057	<i>Enterococcus faecium</i>	Nincs információ
ATCC 10541	<i>Enterococcus hirae</i>	Nincs információ
ATCC 10231	<i>Candida albicans</i>	Gombás tüdőfertőzés
ATCC 1117	<i>Penicillium expansum</i>	Alma
ATCC 34118	<i>Wallemia sebi</i>	Kenyér
ATCC 16404	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Fekete áfonya

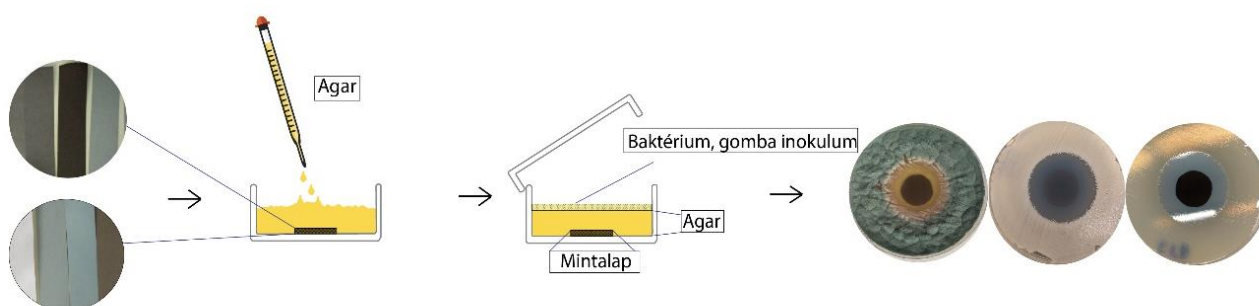
A Kirby-Bauer korongdiffúzió és a makrodilúció vizsgálatok a leggyakrabban alkalmazott mikrobiológiai érzékenység vizsgálati módszerek (Sykes és Rankin 2013, Sandle 2016, Reller et al. 2009, Bradley és Long 2018), gyorsan és alacsony költségen elvégezhető (Sandle 2016). A Kirby-Bauer korongdiffúziós módszer során az agar felületére helyezik a vizsgált mintát. Elsőként a mintalapok antimikrobiális hatásainak vizsgálatára ezt a módszert alkalmaztuk. A gátlási zónák nagyon kicsik voltak (<7mm), ennek oka valószínűleg az, hogy a mintalapok aktív hatóanyagai lassan diffundáltak az agarba. A makrodilúció során a humát sötét színe megzavarta a vizsgálat kiértékelhetőségét. Az érzékenység vizsgálat módszerei jól alkalmazhatók gyorsan diffundáló anyagok vizsgálatára, de nem hatékonyak lassan diffundáló anyagok antibakteriális, antifungális hatásainak vizsgálatára. Az alkalmazott vizsgálati módszerekkel nem sikerült kimutatni a mintalapok sejtett antimikrobiális hatásait, ezért szükséges volt egy új típusú érzékenységi vizsgálat fejlesztése.

Az új vizsgálati módszer során a mintakorongok az agar alatt található, nem az agar felületén (15. ábra).

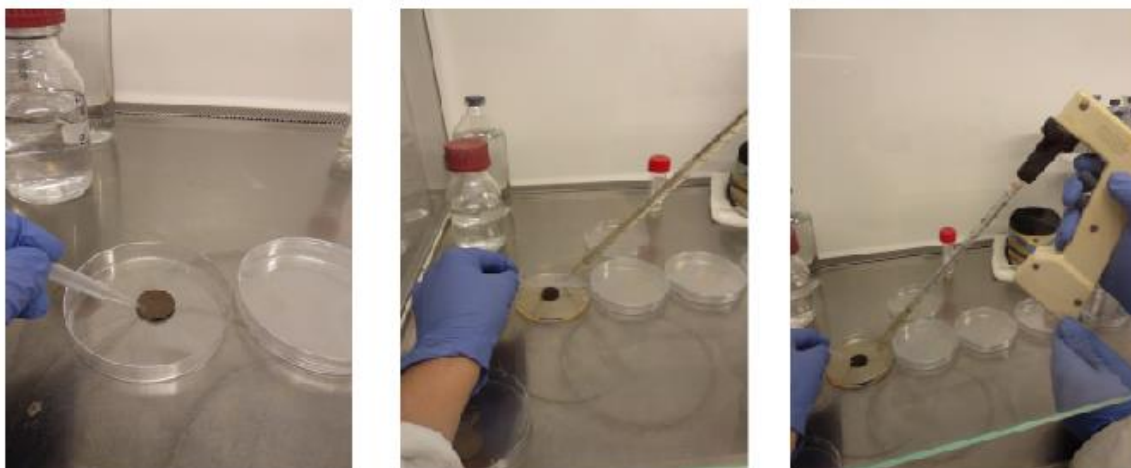


15. ábra: Bal oldali ábra: Antimikrobiális vizsgálatunk során használt korongdiffúziós módszer sematikus ábrája, jobb oldali ábra: Kirby-Bauer korongdiffúziós módszer sematikus ábrája

A vizsgálni kívánt mintalapokból 20 mm átmérőjű korongokat vágunk. A korongokat steril Petri-csészébe helyezését követően a felületére lemezöntéssel 25 cm^3 , 45 °C hőmérsékletű táptalajt öntöttünk, anélkül, hogy megmozdítottuk volna a Petri-csészét (16-17. ábra). 1 órát hagytunk az agart megszilárdulni. Az elkészített, mintakorongot tartalmazó szilárd agart 24 órán keresztül inkubáltuk, 28 °C -on, hogy kidiffundáljon a hatóanyag a mintakorongból az agarba. Az inokulumot az EUCAST által ajánlott (nem idősebb, mint 24 óra) tenyészetekből állítottuk elő. Huszonnégyszer óra elteltével a megszilárdult agarlemez felületére, szélesztéssel vittük fel az inokulumot (18. ábra).



16. ábra: Új típusú agardiffúziós módszer készítésének sematikus ábrája



17. ábra: Antimikrobiális vizsgálat során előállított öntött agar készítése, képekben

A baktériumokat és a *Candida* gombát tartalmazó inokulumokat 0,5 Mc Farland/ml koncentrációra állítottuk be, ami $1-1,5 \times 10^8$ CFU/ml értékű volt baktériumok esetében és $1-1,5 \times 10^6$ CFU/ml *Candida albicans* esetében. A penészgombák szuszpenziósűrűségét az ISO 20776-1:2006 szabvány alapján, 2,0 Mc Farland /ml inokulum koncentrációt állítottuk be, ami $3,0 \times 10^7$ CFU/ml *Aspergillus brasiliensis*, $1,4 \times 10^7$ CFU/ml *Penicillium expansum*, $2,75 \times 10^7$ CFU/ml *Wallemia sebi* esetén. Az inokulumokat szélesztéssel vittük fel az agar felületére (18. ábra). A mintákat 24 óráig 37°C –os, 20 % CO₂ tartalmú klímaszekrényben tároltuk, az inkubációs idő lejártával megállapítottuk a gátlási zónák átmérőit mm-ben. A mérési eredmények három mérés eredményeinek átlagát tartalmazzák.



18. ábra: A baktérium, gomba inokulum szélesztése

3.14. Gyümölcs eltarthatóságának vizsgálata a különböző mintalapok közvetlen környezetében

A különböző mintalapokból 50×40 mm méretű mintákat vágtam, erre helyeztem bio, frissen szedett szeder szemeket. Mintalapokra helyezett szemeket légmentes csomagolásban tároltam 7 napon keresztül. A becsomagolt gyümölcsök penészesedéséről, romlásáról fotót készítettem.

3.15. VIS abszorbanancia spektruma

6 ml folyadékban (desztillált víz és pH 5 oldat) áztattam a mintalapokból kivágott 20 mm átmérőjű korongokat. Huszonnégy óra elteltével a mintakorongok eltávolítása után, felvettem az oldatok abszorpciós spektrumait. Desztillált vízből és ecetsavból készítettem a pH 5 oldatot, a pontos pH értéket Jenway 3450 készülékkel állítottam be. Az abszorpciós spektrumot Hach Lange DR 3900 spektrofotométerrel határoztam meg, aminek méréstartománya 340-760 nm hullámhossz.

3.16. Mintalapokból kioldódó rézmennyiség meghatározása

A mintalapokból kivágott 20 mm átmérőjű korongokat 25 ml folyadékban (desztillált vízbe és pH 5 oldatba) áztattam 24 órán keresztül. A mintakorongok eltávolítását követően vizsgáltam a folyadékok réz koncentrációját, Spectroquant® Cu (II) ion 1.14767.0001 tesztel (Merck KGaA, Darmstadt, Németország), továbbá vizsgáltam, a folyadékokban komplex formában jelen lévő réz koncentrációját, Spectroquant Crack Sets 10 tesztel (Merck KGaA, Darmstadt, Németország). A mérési eredmények a három párhuzamos mérés eredményeinek átlagát tartalmazzák.

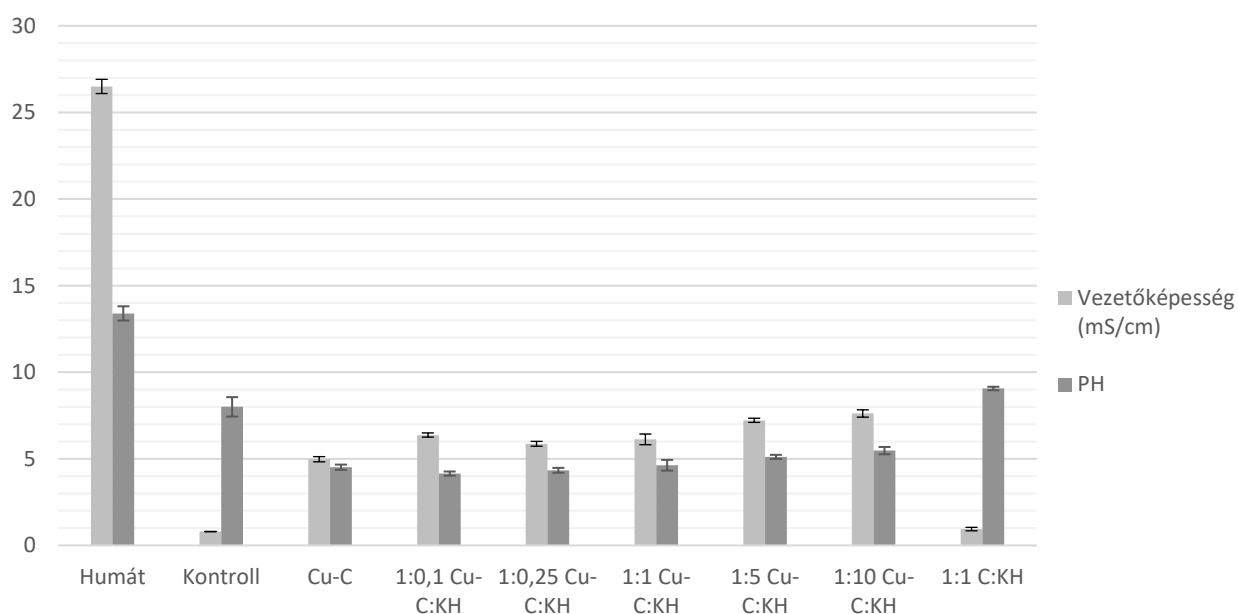
3.17. Statisztikai analízis

A mért adatok statisztikai Variancia analízisét (AVONA) Tukey-féle eljárással végeztem. Statisztikailag szignifikáns értéknek a $p < 0,05$ szint került elfogadásra.

4. A KUTATÓMUNKA EREDMÉNYEI

4.1. Rost szuszpenziók vezetőképessége, pH-ja

A humát és a rost szuszpenziók pH érték átlagát és vezetőképességének átlagát a 19. ábra szemlélteti. A humát pH értékének átlaga ~13, vezetőképességének átlaga ~26 mS/cm. A kontroll rost szuszpenzió pH értékének átlaga ~8, vezetőképességének átlaga ~0,8 mS/cm. A módosított szuszpenziók vezetőképesség értékeinek átlaga magasabb a kontroll értékeinek átlagánál.



19. ábra: A különböző összetételű rost szuszpenziók vezetőképessége és pH értéke

Réz-szulfát hozzáadásával készült rost szuszpenzió pH értékének átlaga ~4,5, vezetőképességének átlaga ~5,0 mS/cm, réz-szulfát és 1:0,1 tömegarányban hozzáadott humát pH értékének átlaga ~4,1, vezetőképességének átlaga ~6,4 mS/cm. A humát erősen bázikus anyag, az 1:0,25; 1:1; 1:5; 1:10 tömegarányban humát hozzáadásával készült rost szuszpenziók pH értéke növekedett a hozzáadott humát mennyiségével. Az alkáli-humát hozzáadása után tapasztalt pH érték csökkenésének oka feltételezhetően a szuszpenzió közegében jelenlévő rézionok humáthoz kötődésének következményeképpen, hidrogén ionok kerültek a közegbe (Suemitsu et al. 1986, Shukla és Sakhardande 1990). Az oldatok

vezetőképességének vizsgálata során hasonló jelenséget tapasztaltam mit Riggle és Wandruszka (2004) a tanulmányukban, akik a humát és réz hozzáadásával készült oldat vezetőképességének csökkenését, a humát és réz között kialakult kötések jelenlétével magyarázták. Eredmények alapján konstatálható, hogy létrejött kötés a humát és réz részecskék között.

4.2. A mintalapok vastagság és négyzetmétertömege

A csomagolóanyagok vastagság és négyzetmétertömeg értékei utalhatnak arra, milyen termék csomagolására alkalmas a papír (Aboura et al. 2004, Mikkonen és Tenkanen 2012).

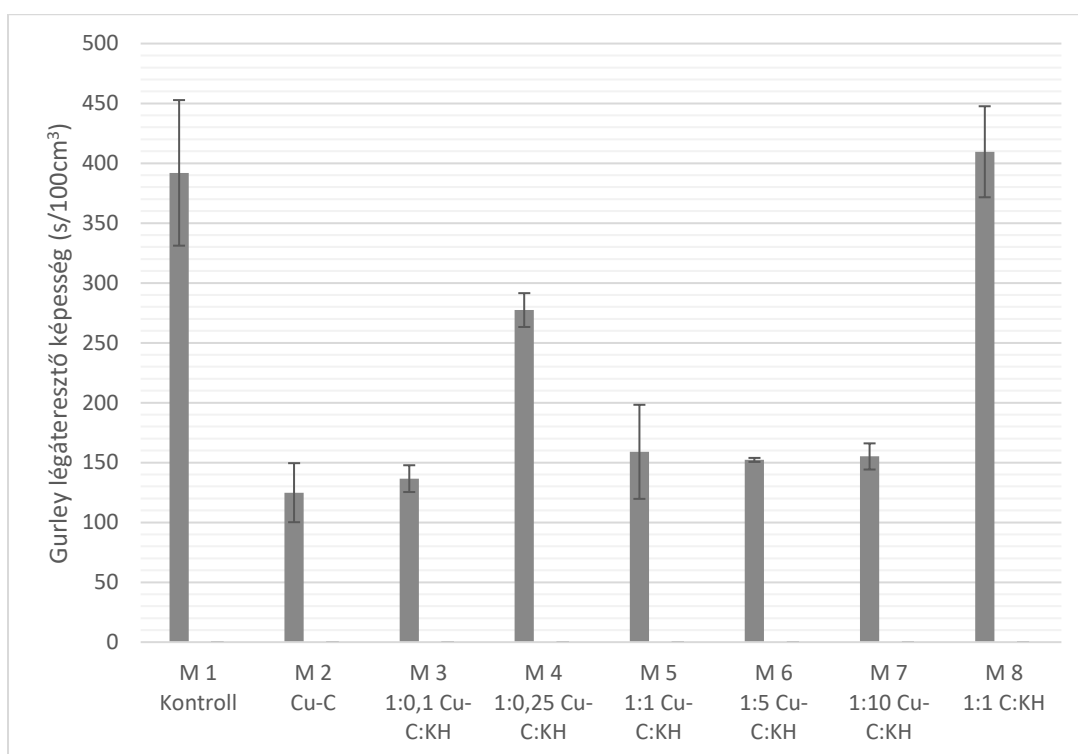
6. táblázat: A mintalapok vastagság és négyzetmétertömeg értékei

	Négyzetmétertömeg (g/m ²)	Vastagság (μm)
M 1 Kontroll	139,53±10	198,73±3,84
M 2 Cu-C	212,47±18	224,67±1,97
M 3 1:0,1 Cu-C:KH	139,02±11	164,35±2,59
M 4 1:0,25 Cu-C:KH	254,09±17	383,33±2,74
M 5 1:1 Cu-C:KH	166,37±81	203,73±6,25
M 6 1:5 Cu-C:KH	155,76±10	203,82±3,11
M 7 1:10 Cu-C:KH	181,58±12	198,62±2,99
M 8 1:1 C:KH	199,03±24	374,67±12,77

A mintalapok vastagsága és négyzetmétertömegei nagy szórást mutatnak (6. táblázat), ennek valószínűleg az lehet az oka, hogy mindegyik mintalap ugyanannyi cellulóz rostot tartalmaz, de eltérő mennyiségű humátot.

4.3. Légáteresztő képesség mérése (Gurley-módszer)

A különböző papírok csomagolásként való alkalmazhatóságának sarkalatos tényezője, a légáteresztő képességük, a tea, a kakaó és az őrölt paprika csomagolásának egyik legfontosabb szerkezeti tulajdonsága (Hernérd 1980), de a gyümölcs és zöldség csomagolás esetén is fontos jellemző. A lapok légáteresztő képessége elsősorban a porozitástól, a rostok elhelyezkedésétől és a köztük lévő hézagoktól függ (Hernérd 1980).



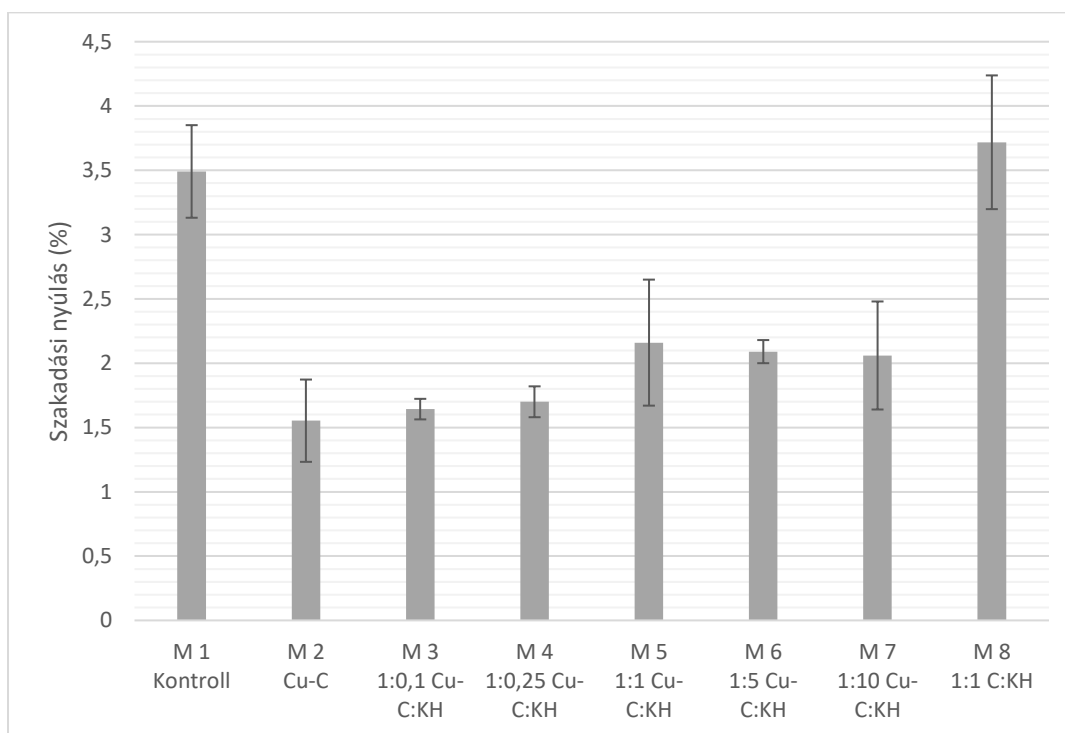
20. ábra: A mintalapok Gurley-féle légáteresztő képessége

A réz-szulfátot tartalmazó mintalapok (M 2-7) porozitása (légáteresztő képessége) magasabb a kontroll mintalaphoz (M 1) képest. Az eredmények alapján a réz-szulfáttal való kezelés növeli a mintalapok légáteresztő képességét. A mérés adatait a 20. ábra mutatja be. A megnövekedett légáteresztő képességet valószínűleg a finom és vékony fibrillák részleges savas

hidrolízise, illetve a humát fizikai jellege (3D formája) is növelheti a papírban, a cellulóz rostok közötti kapillárisok mennyiségét. Ahogy a SEM felvételeken (26-29.ábra) is látható, a humát és réz komplexek képződhetnek, amik beékelődhetnek a rostok közé, távolabb kerültek egymástól a cellulóz rostok, ami megnövelte a mintalapok légáteresztő képességét. Ezzel magyarázható az is, hogy a kompozit mintalapok vastagsága nagyobb a kontroll mintalaphoz képest (6. táblázat). Zöldség, gyümölcs csomagolóanyagként való alkalmazhatóságánál fontos az anyag megnövelt légáteresztő képessége, így jobban szellőzik, lélegzik a becsomagolt áru, ami lassítja a romlást okozó mikroorganizmusok kialakulását és fejlődését, illetve a romlást serkentő gázok feldúsulása is csökkenthető ezáltal.

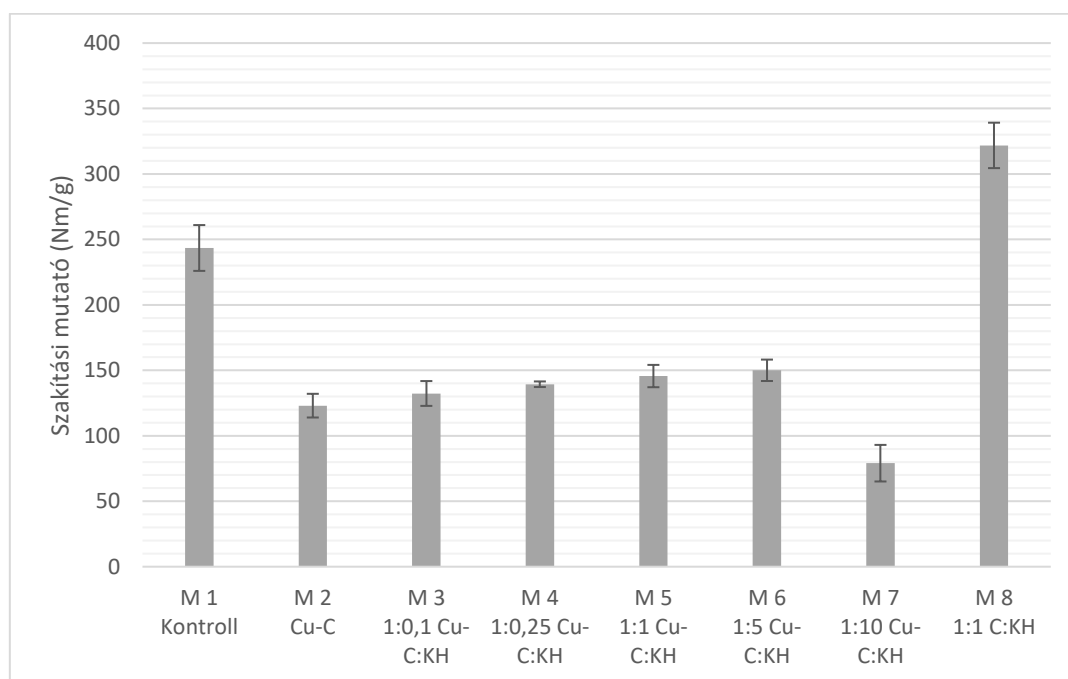
4.4. A mintalapok mechanikai tulajdonsága

A csomagolóanyagok és papírzsákok egyik legfontosabb jellemzője a megfelelő mechanikai szilárdság. A mintalapokon vizsgált mechanikai tulajdonságok eredményeit a 21-25 ábrák összegzik



21. ábra: A mintalapok szakadási nyúlás értékei

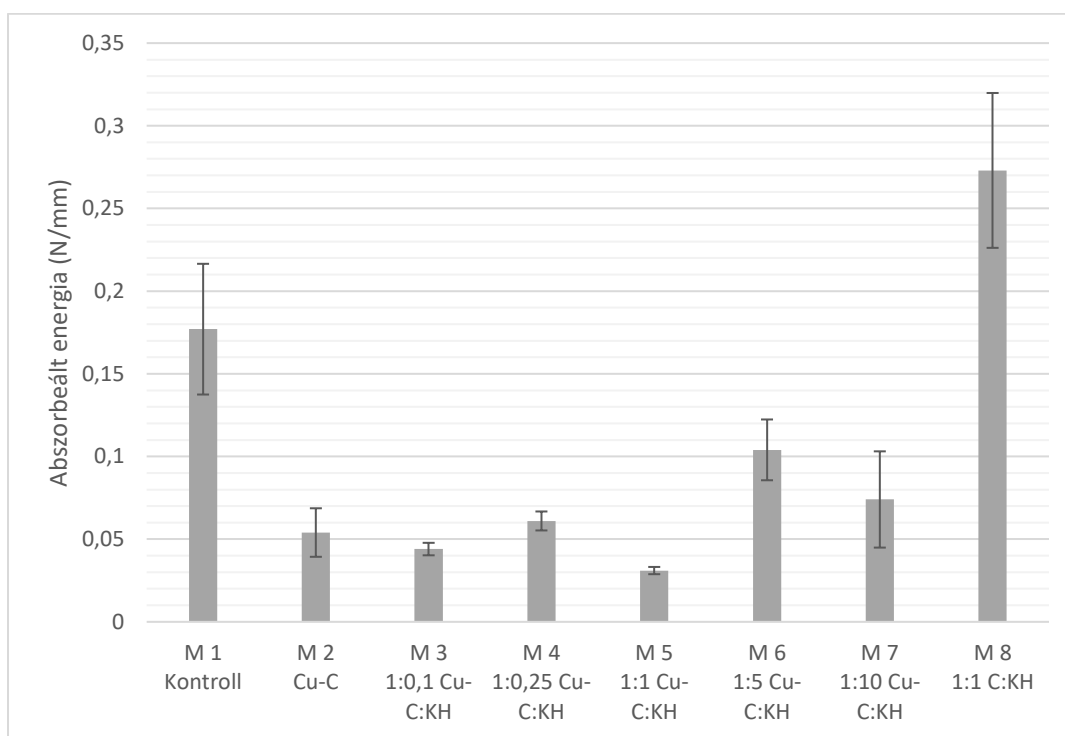
Általánosságban igaz, hogy a szakadási nyúlás a töltőanyag-tartalom növelésével nő (Fljatye 1978). A mintalapokban jelenlévő humát, mint töltőanyag ebben az esetben is növelte a lapok szakadási nyúlását. A vizsgálat során az M 2-7 mintalapok ugyanannyi mennyiségű réz-szulfát hozzáadásával készültek, de különböző mennyiségű humáttal. A csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz (M 2) képest a humátot is tartalmazó (M 3-7) mintalapok szakadási nyúlása 5,8; 9,5; 39,1, 35,5; és 32,6 százalékkal nőtt (21. ábra). Az 1:0,1 (M 3), az 1:0,25 (M 4), az 1:1 (M 5), az 1:5 (M 6) humáttartalmú mintalapok szakadási nyúlása nagymértékben javult. Az 1:10 humáttartalmú mintalap (M 7) szakadási nyúlása kevésbé nőtt az 1:5 humáttartalmú mintalaphoz képest, valószínűleg a töltőanyag ilyen mennyiségben már nem képes tovább javítani a mintalap szakadási nyúlását. A kontroll mintalaphoz (M 1) képest az 1:1 tömegarányban cellulózt és humátot is tartalmazó mintalap (M 8) szakadási nyúlása ~6,5 %-kal nőtt.



22. ábra: A mintalapok szakítási mutató értékei

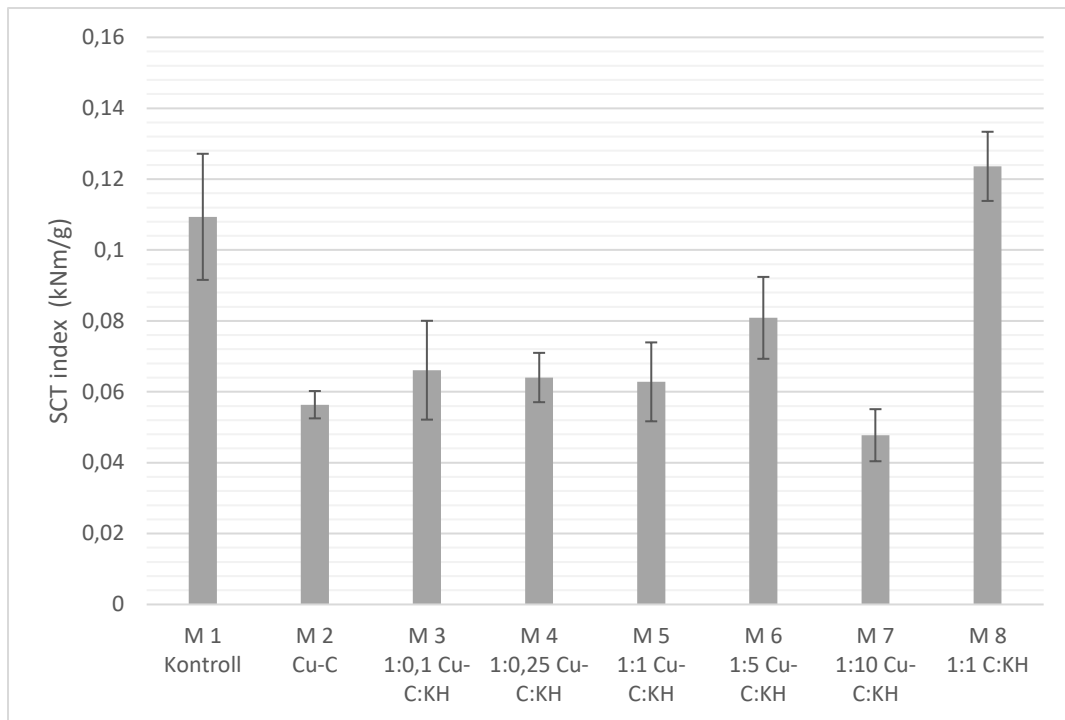
A szakítószilárdsági értékekből szakítási mutatót számoltam. A kontroll mintalaphoz (M 1) képest a mintalapok szakadási mutatója (22. ábra) csökkent a hozzáadott réz-szulfát hatására, ennek oka valószínűleg az, hogy a réz-szulfát roncsolta a fibrillákat. Az alacsonyabb szakítási mutató oka lehet továbbá az is, hogy a cellulóz rosthhoz abszorbeált fém ionok rontják a papír szakítószilárdságát (Kurbatova et al. 1968). A mintalapok humáttartalmának növelésével

nőtt a mintalapok szakítószilárdsága, a csak réz-szulfáttal készült mintalaphoz (M 2) képest. Az 1:1 tömegarányban, csak humátot tartalmazó mintalap (M 8) szakítószilárdsága a kontroll mintalaphoz képest is nőtt, ~32 %-kal. Valószínűsíthető, hogy a humát kémiai kötést hoz létre a cellulóz rostokkal, ezzel javítva a mintalapok szakítószilárdságát.



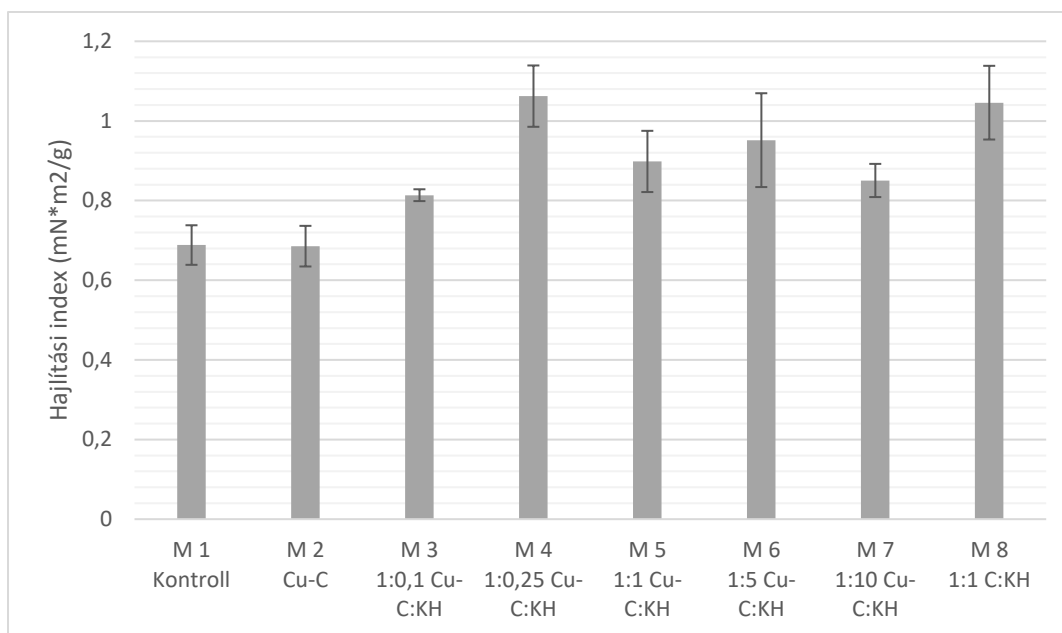
23. ábra: A mintalapok abszorbeált energia értékei

Az abszorbeált energia a szakadási nyúláshoz hasonlóan, jellemzi az anyag szívósságát, megadja, hogy mekkora munka szükséges az elszakadásához. Legmagasabb abszorbeált energia értéket a kontroll (M 1) és az 1:1 arányban cellulózt és humátot (M 8) tartalmazó mintalapok esetében mértem (23. ábra).



24. ábra: A mintalapok SCT index értékei

A rövid befogású nyomószilárdság (SCT) mérés eredményeinek összehasonlíthatósága érdekében, osztottam az eredményeket a mintalapok négyzetmétertömegeivel (24. ábra). Ez a mechanikai tulajdonság elsősorban a papírszerkezet kohéziójától és a merevségétől függ. Az eredményekből látható, hogy a CuSO_4 -el módosított (M 2-7) mintalapok nyomószilárdsága rosszabb, mint a kontroll mintalapé (M 1). Ezzel szemben a csak humátot tartalmazó mintalap (M 8) nyomószilárdsága ~13%-kal nőtt a kontroll mintalaphoz képest. A mérés eredményei alapján a humát növeli a mintalapok szilárdságát, vagyis nagyobb erő szükséges az összenyomásukhoz. Az M 2-es mintalaphoz képest ~12 (M 3), ~14 (M 4), ~17 (M 5), ~44 (M 6), ~4 (M 7) százalékkal nőtt a mintalapok szilárdsága. Az alacsonyabb humáttartamú lapok (M 3-6) esetén valószínűleg a kialakult rost-humát interakciók hatására nőtt a szilárdság, az 1:10 (M 7) humáttartalmú mintalap esetében feltételezhetően a humát fizikai jellegéből adódóan nőtt a mintalap szilárdsága az M 2 mintalaphoz képest. Összehasonlítva a csak CuSO_4 hozzáadásával készült mintalapot (M 2) a humátot is tartalmazó mintalapok (M 3-7) eredményeivel elmondható, hogy a humáttartalom növelésével javítható a mintalapok nyomószilárdsága. A réz-szulfát hozzáadása negatív hatással van a papírminták nyomószilárdságára, ezzel szemben a humát javítja a mintalapok kohézióját.



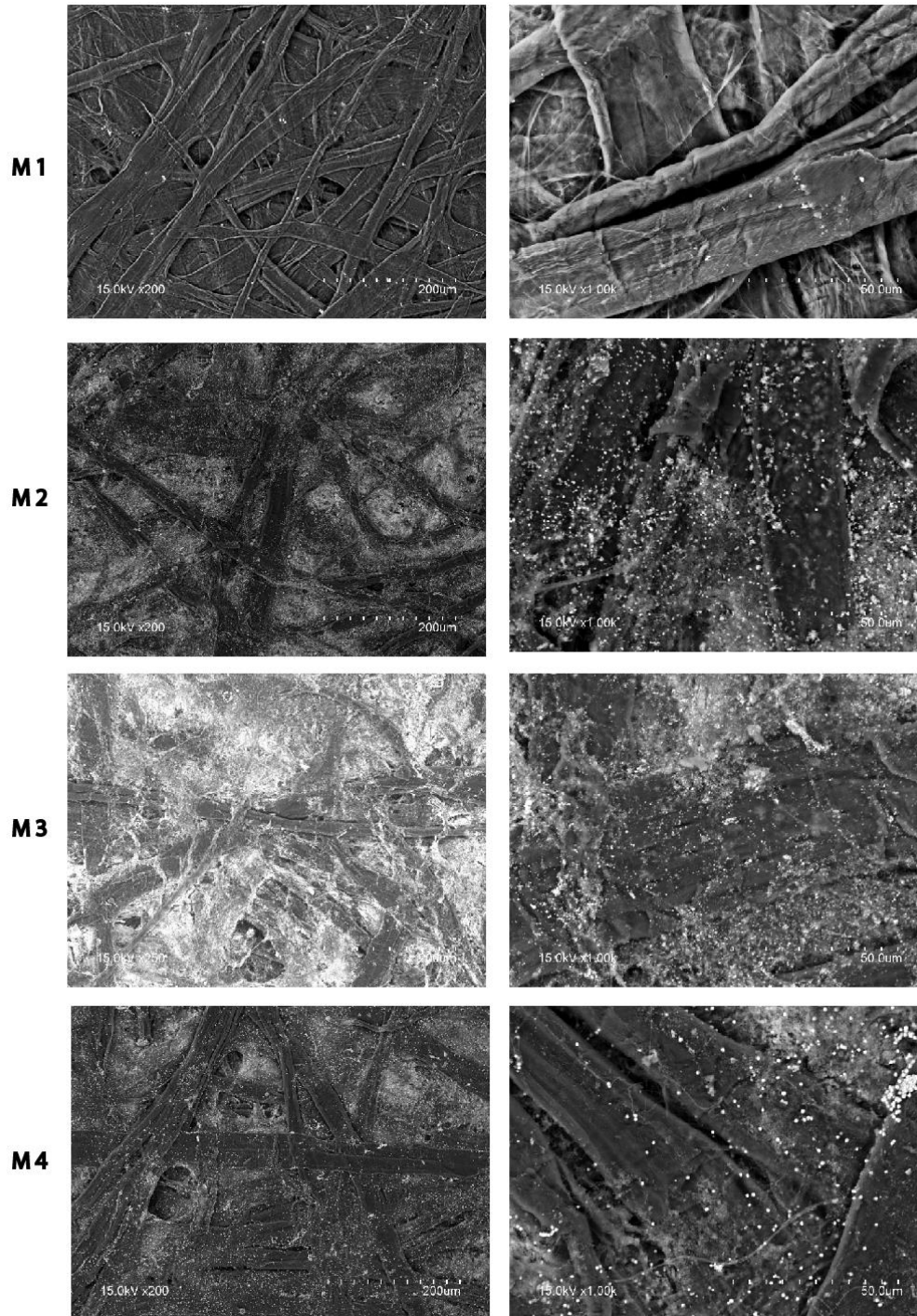
25. ábra: A mintalapok hajlítási index értékei

A hajlítással szembeni ellenállás függ a rostok hosszától, hajlíthatóságától, a rostok közötti kötések erősségétől és nagymértékben befolyásolja a papír vastagsága, négyzetmétertömege is (Wan et al. 2017, Fljatye 1978). A hajlítási ellenállás eredményeinek összehasonlíthatósága érdekében, osztottam a mintalapok négyzetmétertömegeivel (g/m^2) az eredményeket, ennek értékeit tartalmazza a 25. ábra. A mintalapok készítése során azonos ideig őrltem a cellulóz rostokat, ezért a hajlítási index értékeinek változását nem befolyásolhatta nagymértékben a rostok különböző hosszúsága, hajlíthatósága azoknál a mintalapoknál, amelyek nem tartalmaznak hozzáadott réz-szulfátot (M 1, M 8). A lapkészítés során hozzáadott réz-szulfát roncsolta a fibrillákat, azonos mennyiségű réz-szulfátot adagoltam hozzájuk, ezért feltételezhető, hogy azonos mértékben roncsolódtak a fibrillák is az M 2-7 mintalapokban, ezért a hajlítási index eredményeit összehasonlíthatónak tartom. A humátot tartalmazó mintalapok hajlítási indexe javult a kontroll mintalaphoz (M 1) képest. Csak humátot tartalmazó mintalapnak (M 8) ~52 százalékkal, CuSO_4 és humát hozzáadásával készült mintalapoknak (M 3-7) ~18-54 %-kal nőtt a hajlítási index értéke, a kontroll mintalaphoz képest. Legnagyobb hajlítási indexe az 1:0,25 tömegarányban humátot tartalmazó mintalapnak (M 4) volt, 1,062 ($\text{mN}\cdot\text{m}^2/\text{g}$).

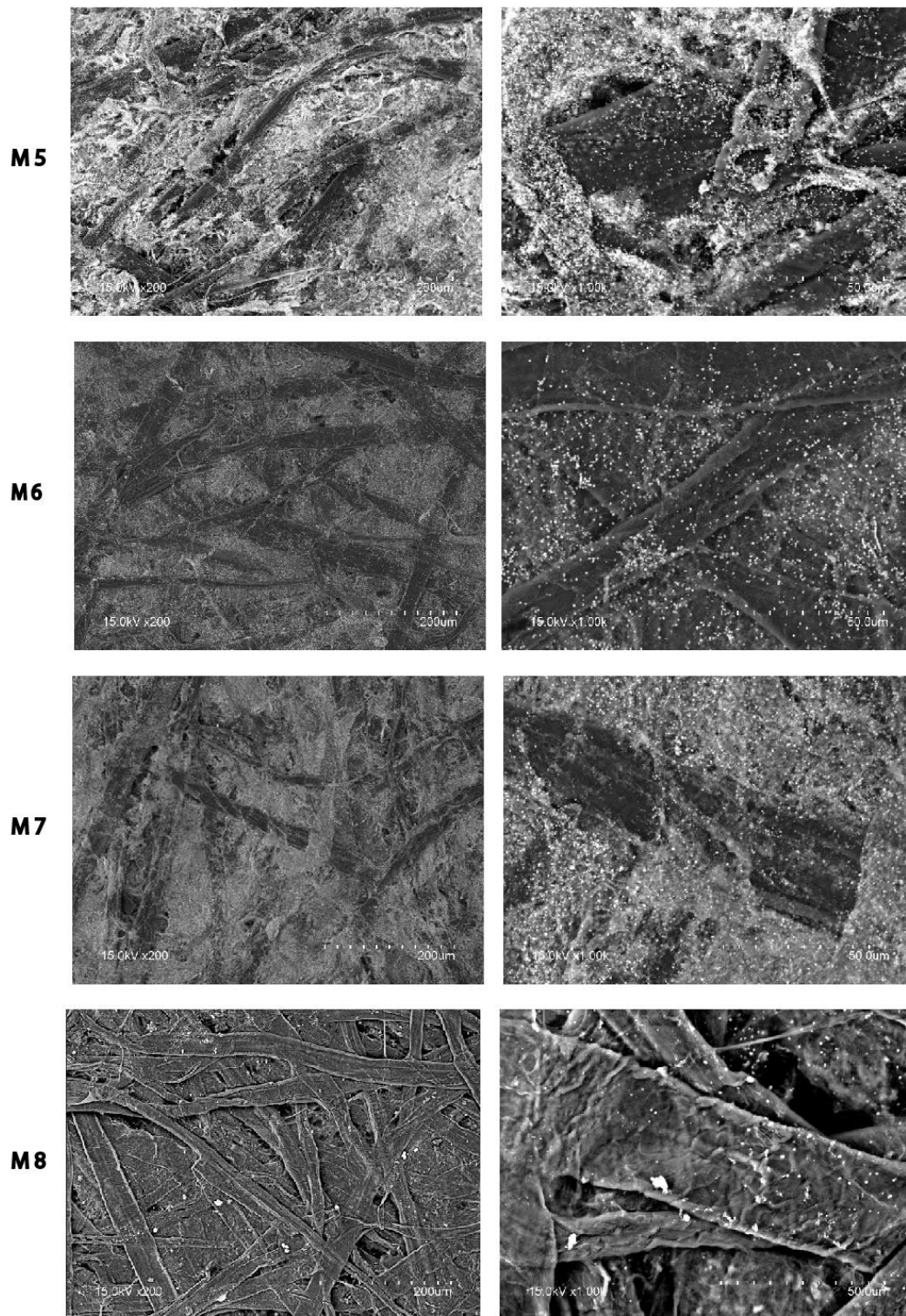
A mechanikai igénybevételekre adott válaszokból, a hajlítási index és a húzó-, szakító- és nyomószilárdsági eredményekből feltételezhető, hogy a humát növeli a cellulóz rostok közötti kapcsolatokat, ezzel növelve a mintalapok szakító és nyomószilárdságát. Ezt alátámasztja, hogy a csak humátot tartalmazó mintalap (M 8) nagyobb nyomás és húzás igénybevételének állt ellen a kontroll mintalaphoz (M 1) képest. Az eredmények alapján a megfelelő humáttartalom mellett javítható a cellulózalapú lapok mechanikai tulajdonsága.

4.5. Mintalapok felületi morfológiája és összetétele

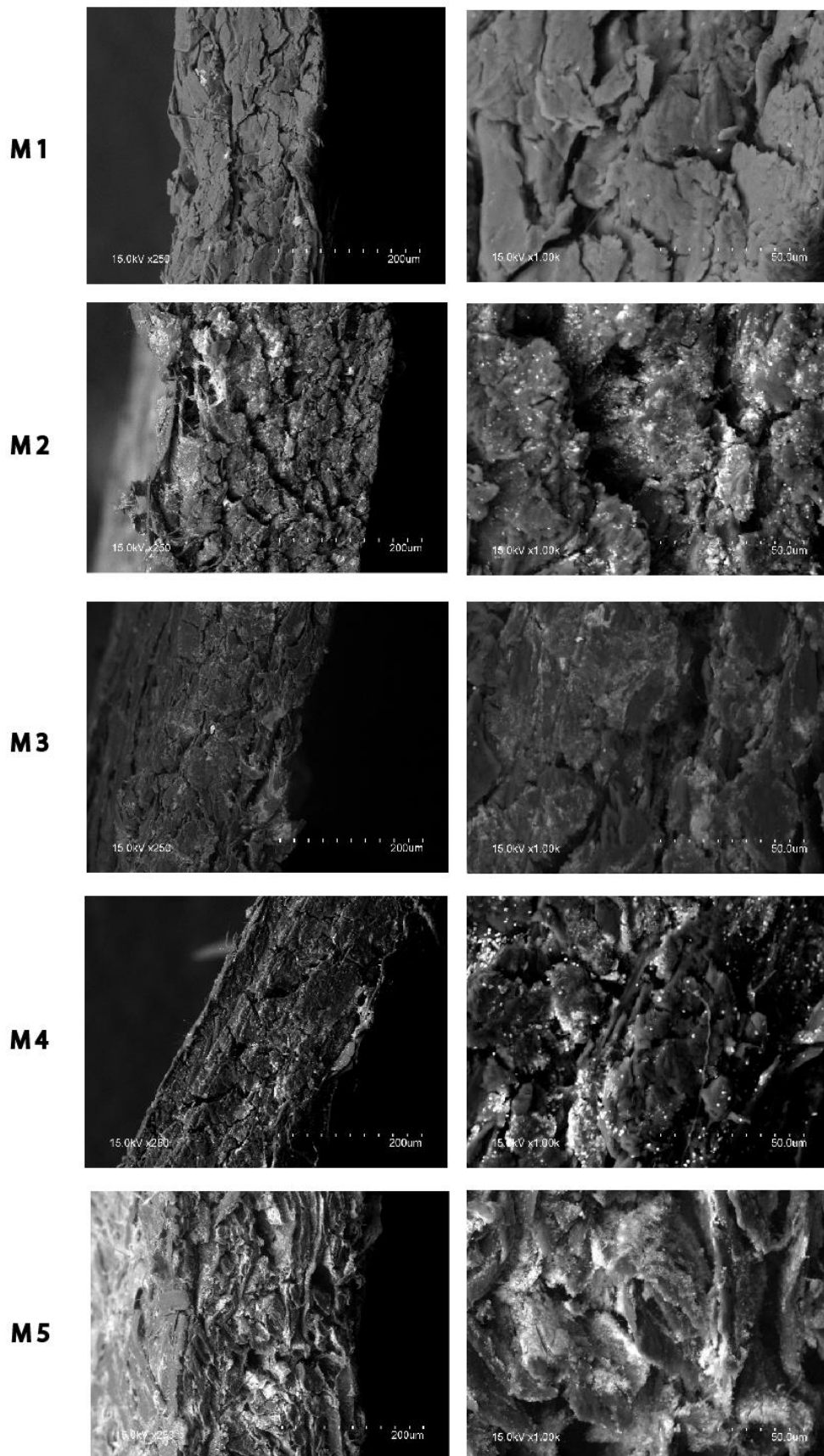
A kompozit mintalapok felületéről és keresztmetszetéről készült pásztázó elektromikroszkópos felvételek láthatók a 26-29. ábrán. A mintalapokról kontrasztos képek készültek, melyeken pontosan kirajzolódnak a rostok és az azokon adszorbeálódott humát és réz komponensek.



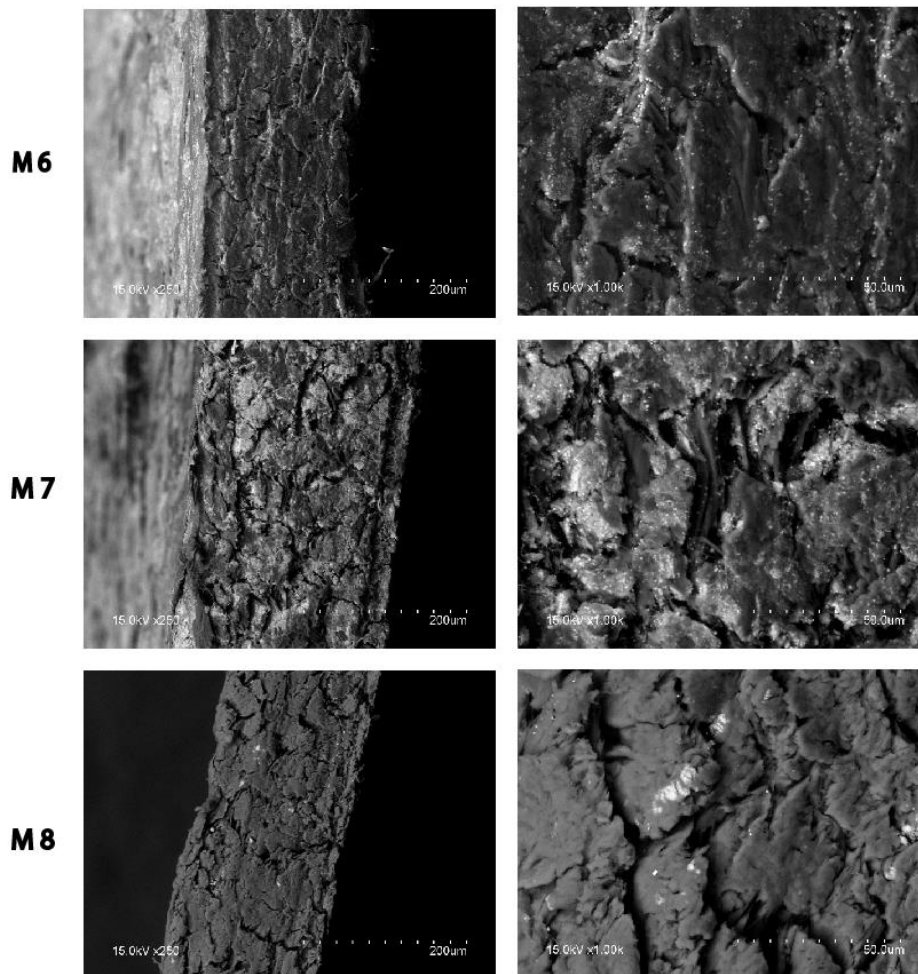
26. ábra: Az M 1-4 mintalapok SEM felületi képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobb oldali oszlop) nagyításban



27. ábra: Az M 5-8 mintalapok SEM felületi képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobb oldali oszlop) nagyításban



28. ábra: Az M 1-5 mintalapok belsejének SEM keresztmetszeti képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobboldali oszlop) nagyításban



29. ábra: Az M 6-8 mintalapok belsejének SEM keresztmetszeti képe, 200x (baloldali oszlop) és 1000x (jobboldali oszlop) nagyításba

Az előállított humát ~61 t%-ban káliumot, ~33 t%-ban oxigént, ~5 t%-ban szenet tartalmaz. Ezen kívül még nitrogént, káliumot és hidrogént is, kis mennyiségben <1 t%. A mintalapok (M 1-8) nagy mennyiségben tartalmaznak szenet és oxigént, ami főként a mintalapok alapanyagára, a cellulóz összetételére utal. Bár az EDS által nem kimutatható mennyiségben (<1 t%), de a kontroll mintalap felületén (M 1) látható világító pontok (26. ábra/M 1) valószínűleg fémek (Na, Ca, K, stb.) jelenlétére utalnak, melyek a lapképzés során kerülhettek a mintalapokba, ugyanis a lapképző berendezés csapvízzel működik. A papírminták készítése során vizet adtam a rost szuszpenzióhoz, majd a leeresztő szakaszban vákuum segítségével eltávolítottam a vizet. Ebben a szakaszban a cellulóz rostok felületén maradhattak olyan fém vegyületek, amelyek fennmaradtak a cellulóz rostokon is, vagy kémiai kötással

kapcsolódnak a felületükhöz. Mivel a kálium-humátban nagy arányban található szén és oxigén, azoknál a mintalapoknál, melyek tartalmazzak humátot (M 3-8), a hozzáadott humát mennyiségével nőtt a C és O tartalom. Nagy mennyiségben humátot tartalmazó mintalap (M 7) felületi összetétel eredménye alapján ~1 t%-ban Al-ot és ~1 t%-ban Si-t is tartalmaz. Az M 7-es mintalap alumínium és szilícium tartalma az alumínium-szilikát jelenlétére utal (Chechevatov et al. 2017).

A csak réz-szulfáttal módosított rostokból képzett mintalap (M 2) esetén a minta felületének Cu tartalma ~2 t%. Acemioglu és Alma (2001) vizsgálták a réz(II) ionok cellulóz rost felületén való megkötődését. Vizsgálataik szerint a vizes közegben lévő Cu(II) ionok másodrendű kötésen, például van der Waals kötésen keresztül tudnak a rost felületén található hidroxil csoportokhoz kötődni. Kutatásunk alapján az adszorpció elsőrendű kinetikai modellt követ és leírható a Freundlich és Langmuir izotermával, így feltételezhető egy monoréteg bevonat kialakulása a rost felületén, de egyedi részecskék jelenléte is jól megfigyelhető a rostok felületén, illetve az azok közötti térben is (26-29. ábra). Ezek a részecskék feltételezhetően CuO, Cu(OH)₂ illetve visszamaradt CuSO₄ kristályok.

A humátot is tartalmazó mintalapok (M 3-7) esetében magasabb Cu tartalom tapasztalható, az M 2-es mintalaphoz képest. A csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalap (M 2) réztartalmához képest a humátot is tartalmazó mintalapokban (M 3-7) ~80-220 százalékkal növekedett a réztartalom. Minél több humátot adtam a szuszpenzióhoz, annál több rézet tartalmazott a papírlap.

A humátot is tartalmazó mintalapok esetén különböző felületi képződmények figyelhetők meg a SEM felvételeken. A humát és réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapok (M 3-7) felületmorfológiai képét vizsgálva megfigyelhető, hogy minél több humátot tartalmaz a mintalap, annál szabályosabb, koncentráltabb elrendezésű a részecskék elhelyezkedése a mintalapokban, a humát kitölti a cellulóz rostok közötti teret (26-29. ábra).

A felületen látható részecskék különböző méretéből és formájából következtethetünk arra, hogy többfajta humát és réz alapú vegyületet tartalmaznak a mintalapok. Ezek a részecskék feltehetően réz-oxid, réz-hidroxid és réz-humát komplex részecskék. A réz lúgos közegben réz-hidroxiddá, majd, oxigén jelenlétében réz-oxiddá alakulhat (Cano et al. 2018). A 4,5-ös pH-ra beállított szuszpenzióhoz adtuk hozzá a kálium-humátot, különböző

koncentrációban, ami hirtelen megváltoztatta a pH értékét a szuszpenzióknak. Feltételezéseink szerint a részecskék többsége réz-humát komplex. Annak alapján, hogy a huminanyagok egyik fontos tulajdonsága a jó komplexképző hatás. Humátok és a különböző fém ionok között létrejövő kötésről, és az így keletkezett komplexekről számos kutatás számolt már be (Bogota et al. 2016). Több tanulmányban vizsgálták már a humát rézmegkötő képességét (Fuentes 2013, Jerzykiewicz 2002), mely két jellemző szorpció helyel rendelkezik, a fenolos hidroxil (OH^-) és a karboxil (COO^-) csoporttal (Liu és Gonzalez 2000, Christ 2012, Erdogan et al. 2007). A kálium-humát fémmegkötő képessége függ a pH értéktől. Az alacsonyabb pH értékeken a karboxil csoport (Jeong et al. 2007, Antilén et al. 2011), magasabb pH értéken a fenolos hidroxil csoport (Bogota et al. 2016, Hernander et al. 2006) vesz részt fém ionok megkötésében.

A kálium-humát a cellulóz rostok felületére kötött rézionhoz kötődik, kelát kötéssel. Vizes közegben hidrogén ion szakad le a kálium-humát funkciós csoportjairól és karboxil valamint hidroxil funkciós csoport lesz belőlük. Alacsony pH értéken a kálium-humát COO^- funkciós csoportja fog kötődni a cellulóz rost felületéhez már kötődött rézionhoz.

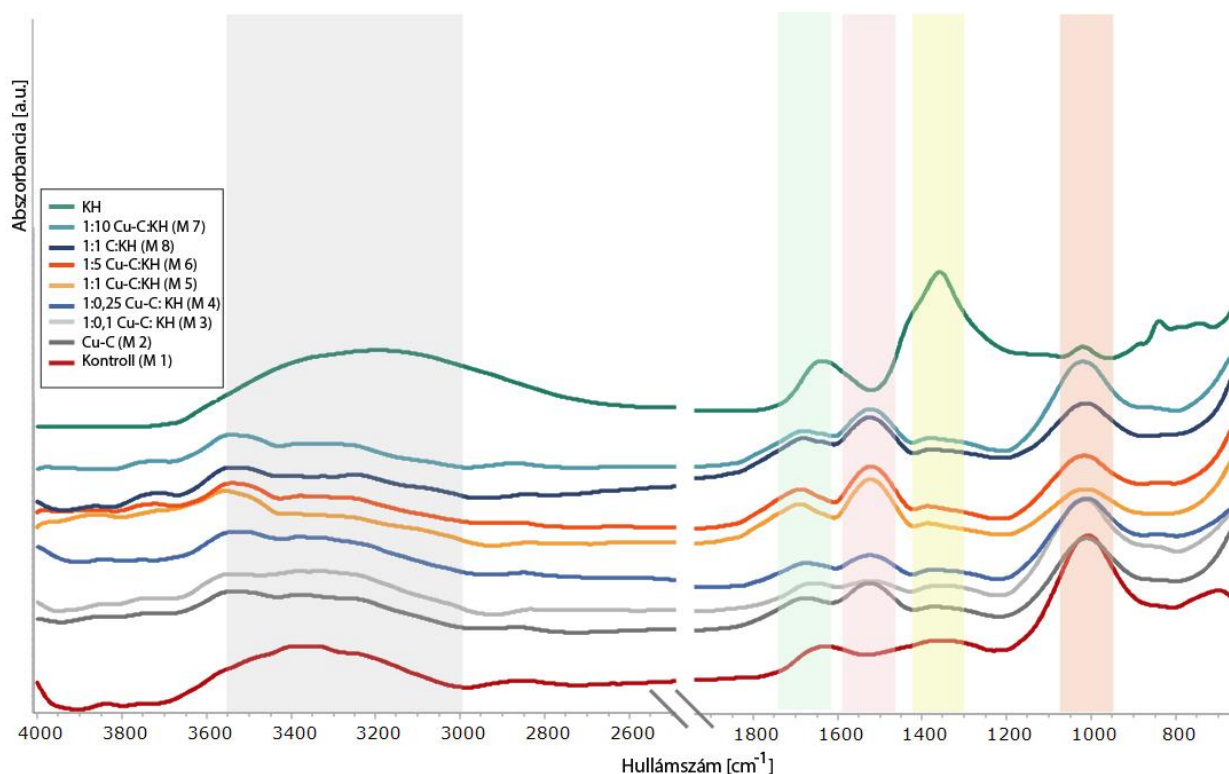
Magas pH értéken a kálium-humát hidroxil funkciós csoportja hoz létre kötést rézionnal, majd a polarizált vízmolekulák közbejöttével, elektromos kettősréteg alakul ki, amelyen újabb kationok, rézionok halmozódnak fel. A humát nagyobb aggregátumokká növekedik azáltal, hogy a megkötött többértékű fém kationok (jelen esetben főként rézionok) intermolekuláris komplexet alakítanak ki az egyes humát molekulák között (Scharpenseel 1966, Greenland 1971). A kálium-humát a fent leírt kötésmechanizmusok által kelát kötést hoz létre, a már cellulóz rosthöz kötődött rézionnal (Kar et al. 2011, Perelomov et al. 2018), és megköti a szuszpenzióban lévő rézionokat is, amikkel újabb humát molekulák tudnak kötést létrehozni, vagyis a humát segíti a mintalapok réztartalmának növelését.

A lapkészítés során a humáthoz gyenge másodrendű kötéssel kötődött kálium könnyen leszakad, és helyére rézion kötődhet. A leszakadt kálium a lapképzés leeresztő szakaszában távozik a mintából. Feltehetően ezzel magyarázható, hogy a mintalapok nem tartalmaznak káliumot a felületi összetétel vizsgálat során.

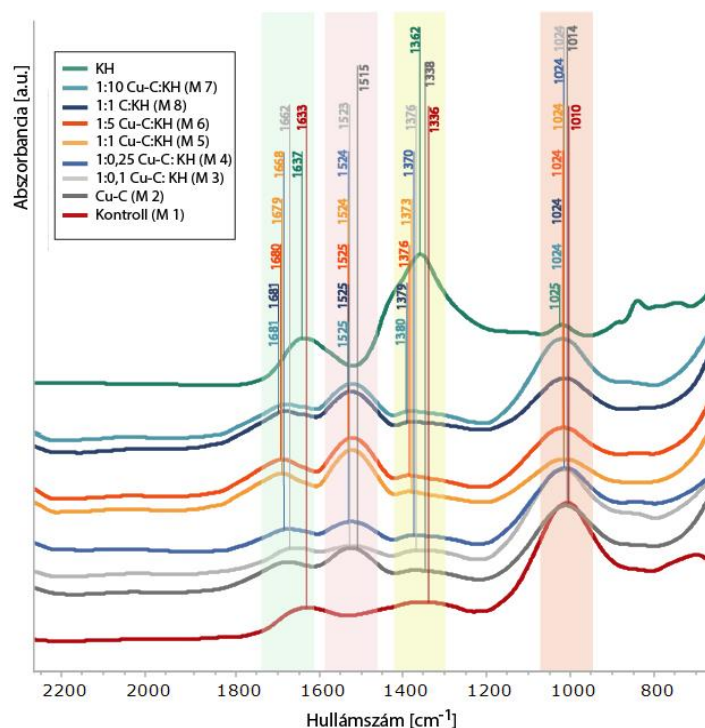
4.6. Fourier-transzformációs infravörös (FT-IR) spektroszkópia

A kompozit mintalapok kémiai összetételéről számos értékes információt kaphatunk a spektroszkópiai mérés alapján (Leclerc és Trung 2002). Infravörös spektroszkópia napjaink egyik legfontosabb módszere, amivel megállapíthatók a szerves anyagok funkciós csoportjai, kémiai szerkezetük.

A 30-31. ábra a különböző összetételű mintalapok FT-IR spektrumát ábrázolja. A spektrumok igen összetettek, 4000-2800 cm^{-1} hullámszám tartományban a -OH és -CH vegyérték rezgései, 1800-800 cm^{-1} hullámszám tartományban az ún. ujjenyomat tartományban az anyagra jellemző további kémiai csoportok rezgései láthatók (Oh et al. 2005). A 7. táblázatban a cellulózra jellemző, a 8. táblázatban a humátra jellemző hullámszámok, hullámszám tartományok találhatók.



30. ábra: A kálium-humát (KH) és a mintalapok (M 1-8) FT-IR spektrumai



31. ábra: A kálium-humát (KH) és a mintalapok (M 1-8) FT-IR spektrumai (2200-800 cm^{-1}) hullámszám tartományban)

7. táblázat: A cellulózra jellemző hullámszámok és hullámszám tartományok

Hullámszám cm^{-1}		Forrás
3660-2900	-OH, C-H	Hospodarova et al. 2018, Rosa et al. 2010
2894	-CH	Rosa et al. 2010, Poletto et al. 2011
1633	H ₂ O	Rosa et al. 2010
1428, 1367, 1334, 1027	-CH, -CH ₂ , -OH, C-O	Xu et al. 2013, Fackler et al. 2011

8. táblázat: A humátra jellemző hullámszámok és hullámszámtartományok

Hullámszám cm^{-1}		Forrás
3500-2800	-OH, C-H	Geng et al. 2018, Narlıoğlu et al. 2018
1637	C=C, C=O, -COO-	Karpukhina et al. 2019, Geng et al. 2018
1362	H ₂ O, -CH, -CH ₂ , -CH ₃	Karpukhina et al. 2019, Narlıoğlu et al. 2018
1024	C-O, C-O-C	Geng et al. 2018, Senesi et al. 2003
1020	Si-O, poliszacharid	Geng et al. 2018, Karpukhina et al. 2019

Hasonló hullámszám eltolódást észleltem, mint Nada et al. (2008). 3380 cm^{-1} hullámszámnál jelentkezik a -OH csoport rezgése a kontroll mintalapban (M 1), csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalap (M 2) színeképében 3373 cm^{-1} hullámszámra tolódott el a rezgés és 3389 cm^{-1} hullámszámra tolódott el a csak humát hozzáadásával készült mintalap (M 8) esetében a funkciós csoport rezgése. Réz-szulfátra jellemző csúcsokat (3656 és 905 cm^{-1}) (Borfecchia et al. 2015, Ferraro és Walker 1965) nem észleltem a mintalapok FT-IR színeképében, ami valószínűleg arra utalhat, hogy a réz-szulfát reagált a cellulóz és a humát funkciós csoportjaival és más formában van jelen a kész mintalapokban vagy kevés, színeképben kevésbé kimutatható mennyiségben van jelen a réz-szulfát.

Az M 8-as mintalapnak (mely csak humát hozzáadásával készült) két jellegzetes elnyelése (1380 - 1020 cm^{-1}) látható. Ezek a csúcsok utalhatnak a létrejövő kötésre a humát karboxil csoportja és a cellulóz hidroxil csoportjai között, amiről Narlıoğlu et al. (2018) is beszámoltak.

A humát és réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapok (M 3-7) színeképében a legnagyobb változást a létrejövő két új csúcs jelenti, 1681 - 1659 cm^{-1} és 1525 - 1522 cm^{-1} hullámszám tartományokban. Hasonló jelenségről számolt be Erdogan et al. (2007), amikor réz-szulfátot adtak humáthoz. A kialakult új csúcsok (Erdogan et al. 2007, Reginatto et al. 2008) valószínűleg a humát és réz komponensek között kialakult új kötés jelenlétére utal, ahogy azt Boyd et al. (1981) kutatásában is feltételezik. A humát és a réz komponensek között kialakuló

kelát kötés növeli a mintalapok réztartalmát, amit a felületi összetétel vizsgálatánál is tapasztaltam.

4.7. Mintalapok felületi tulajdonsága

4.7.1. CIELab színösszetételel

A mintalapok színösszetételét a CIELab színmérő rendszer alkalmazásával határoztam meg. A 9. táblázat összegzi a színösszetétel L^* , a^* , b^* eredményeit és a mintalapok RGB színét.

9. táblázat: CIELab eredményei és a mintalapok RGB színei (ΔE^* : színkülönbség mértéke a kontroll mintalaphoz (M 1) képest, ΔE^{**} : színkülönbség mértéke a csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz (M 2) képest, ΔE^{***} : színkülönbség mértéke a kálium-humát és réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapoknak, a legalacsonyabb kálium-humát koncentrációjú mintalaphoz (M 3) képest

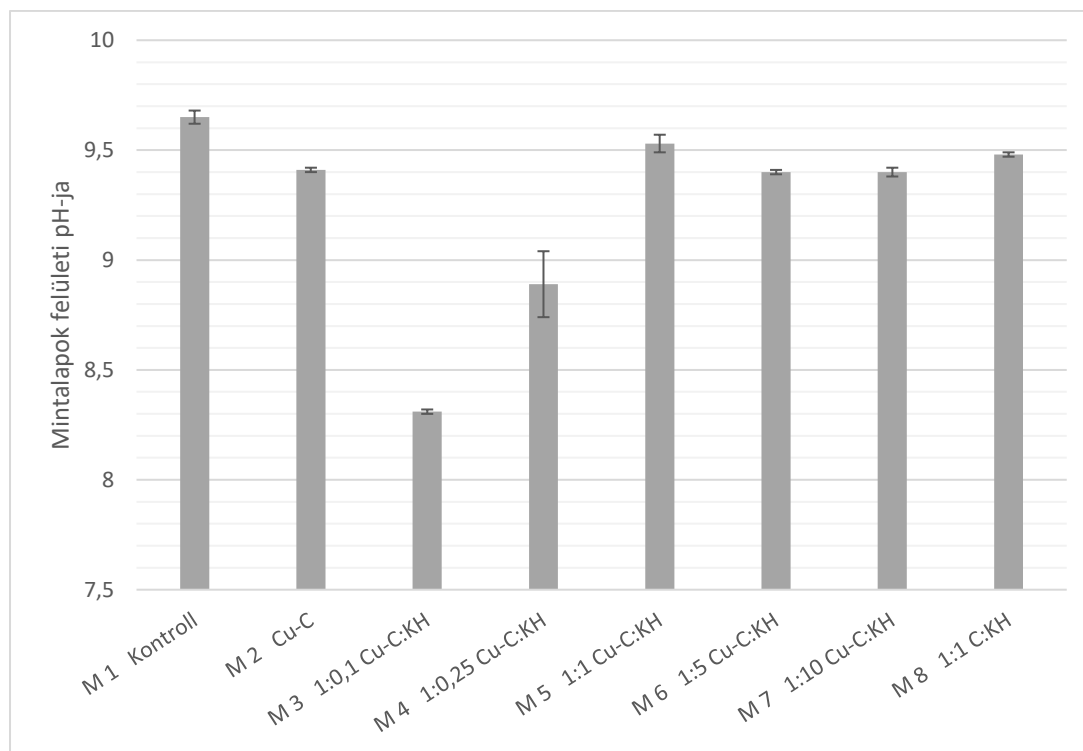
	RGB	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	ΔE^{**}	ΔE^{***}
M 1		92,50±7,12	-1,34±2,14	3,52±0,11			
M 2		83,61±6,81	-18,46±4,32	-4,47±0,21	20,87		
M 3		65,90±5,82	-3,05±0,71	3,97±1,12	26,91	25,12	
M 4		66,54±5,63	-3,59±0,42	6,61±1,44	26,48	25,37	2,77
M 5		71,80±5,14	-5,25±0,81	8,16±1,51	21,81	21,89	7,56

M 6		60,75±7,21	0,81±0,11	10,24±2,73	32,77	33,49	8,98
M 7		51,65±7,13	2,12±0,91	10,60±3,11	41,85	41,08	16,54
M 8		48,94±6,45	4,46±1,10	9,78±4,12	44,63	44,13	

A kálium-humátot tartalmazó mintalapok (M 3-8) világossági (L^*) értékei alacsonyabbak, mint a humátot nem tartalmazó mintalapok értékei. Tehát a humáttartalmú mintalapok sötétebbek a többi mintalaphoz képest. A szignifikánsan legalacsonyabb a^* értéket (-18,46) az M 2-es mintalaphoz mértem. Az a^* a vörös-zöld színezet értékét határozza meg. Ha ez az érték negatív, zöld színt tartalmaz a mintalap. Az M 2-es mintalap csak réz-szulfát hozzáadásával készült, valószínűleg ezért ilyen nagy negatív szám az a^* értéke. A réz-szulfát és humát hozzáadásával készült mintalapok (M 3-7) a^* értéke a hozzáadott kálium-humát tartalommal egyenes arányban növekszik. A kálium-humát sötétbarna színe hatással van a mintalapok vörös színére. A mintalapok barna színét Cano és trs. szerint okozhatja a réz-oxid is, ami réz-szulfát erős lúgos közegben történő reagálásából alakulhat ki (Cano és trs. 2018). Réz-szulfátból először réz-hidroxid, majd megfelelő mennyiségű oxigén jelenlétében réz-oxid keletkezik, ami barna színű (Cano és trs. 2018). Annál nagyobb pozitív szám a b^* érték, minél több sárga szín található a mintalapban, és annál nagyobb negatív szám az értéke, minél több kék színt tartalmaz a minta. Csak az M 2-es mintalap tartalmaz kék színt, a többi mintalap (M 1, M 3-8) sárga színezetű. Az M 2-es mintalaphoz képest a b^* érték növekszik a humátot tartalmazó mintalapok (M 3-7) esetében. A ΔE^* és a ΔE^{**} érték változásai „jól láthatók” színekülönbségnek minősülnek (Lukács 1982, Straže és trs. 2008). Az M 1-hez és (ΔE^*) az M 2-hez (ΔE^{**}) képest a többi mintalap (M 3-7) színekülönbsége szabad szemmel is látható (9. Táblázat).

4.7.2. Mintalapok felületi pH értékei

Mintalapok felületi pH értékeit a 32. ábra mutatja be. A mintalapok felületi pH értékét nagymértékben a mintalapok alapanyaga, a cellulóz határozza meg.



32. ábra: A mintalapok felületi pH értékei

A mintalapok felületi pH értéke 8,89-9,65 közötti. A mikroorganizmusok pH 1,5 és 11 között tudnak szaporodni, viszont a szaporodásukhoz ideális pH érték 6-7 közötti (Deák 2006, Szabó 2008). Az enyhén savas pH-jú (pH 5-6) közegben tud legintenzívebben szaporodni a zöldségeket és gyümölcsöket támadó baktériumok egy részére, a penész és az erjesztő gombák (Kalia és trs. 2012, Deák 2006). A mintalapok felületi pH-ja bázikus, ezért kevésbé képesek megtapadni, növekedni rajta azok a baktériumok és gombák, amelyek a zöldség, gyümölcs romlása közben keletkeznek.

4.8. Antioxidáns kapacitása a mintalapoknak

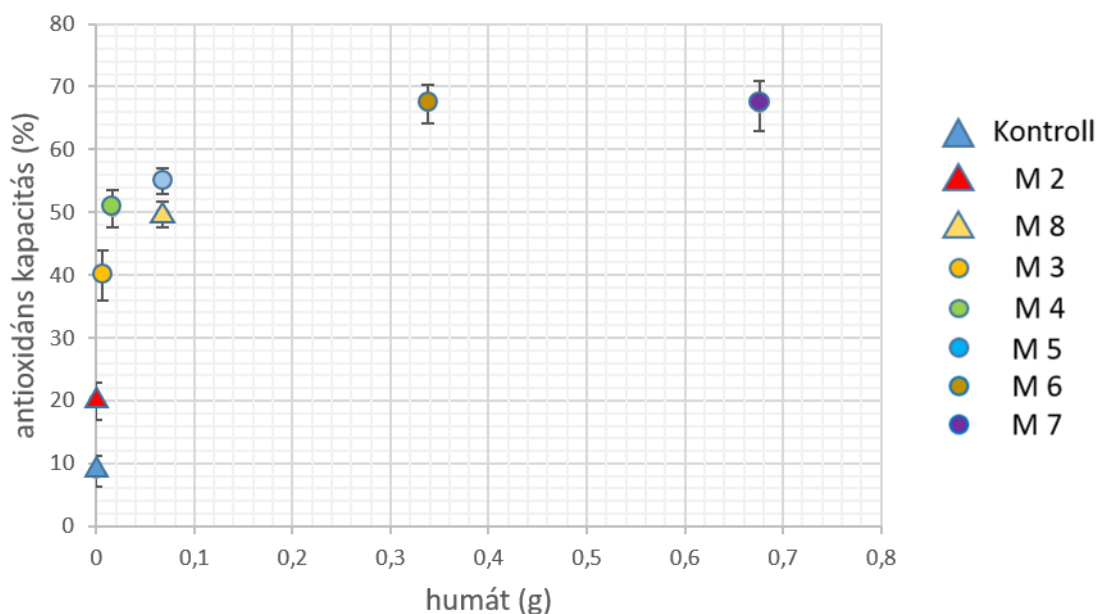
Az élelmiszer minőségének romlását a baktériumokon, gombákon túl oxidációs reakciók is okozhatják. Az élelmiszer oxidációjának megelőzése is fontos feladata az aktív csomagolásoknak. A vizsgálat során aszkorbinsav antioxidáns kapacitásához képest határoztuk meg a mintalapok aktivitását (10. táblázat).

10. táblázat: A mintalapok antioxidáns kapacitása 1., 4. és 24. órában ($\mu\text{gAAE/g}$ és $\mu\text{gAAE/cm}^2$ mértékegységben kifejezve)

	Antioxidáns kapacitás aszkorbinsav egyenértékben (AAE)					
	$\mu\text{gAAE/g}$			$\mu\text{gAAE/cm}^2$		
	1. óra	4. óra	24. óra	1. óra	4. óra	24. óra
M 1	4,7 $\pm$ 0,1	5,7 $\pm$ 0,0	37,1 $\pm$ 0,1	8,1 $\pm$ 0,0	9,8 $\pm$ 0,0	220,3 $\pm$ 0,2
M 2	9,2 $\pm$ 0,1	17,1 $\pm$ 0,1	68,4 $\pm$ 0,1	19,6 $\pm$ 0,1	36,5 $\pm$ 0,1	145,6 $\pm$ 0,2
M 3	1,9 $\pm$ 0,0	30,8 $\pm$ 0,1	143,5 $\pm$ 0,1	3,9 $\pm$ 0,0	62,8 $\pm$ 0,1	292,7 $\pm$ 0,3
M 4	22,5 $\pm$ 0,1	39,1 $\pm$ 0,1	159,7 $\pm$ 0,1	52,2 $\pm$ 0,1	90,5 $\pm$ 0,1	370,1 $\pm$ 0,3
M 5	9,9 $\pm$ 0,0	14,9 $\pm$ 0,1	57,2 $\pm$ 0,1	20,2 $\pm$ 0,1	30,4 $\pm$ 0,1	116,9 $\pm$ 0,1
M 6	42,2 $\pm$ 0,0	81,1 $\pm$ 0,1	207,9 $\pm$ 0,1	99,9 $\pm$ 0,2	191,9 $\pm$ 0,2	492,5 $\pm$ 0,2
M 7	26,8 $\pm$ 0,1	69,6 $\pm$ 0,1	186,6 $\pm$ 0,1	70,5 $\pm$ 0,2	183,1 $\pm$ 0,2	490,9 $\pm$ 0,3
M 8	29,9 $\pm$ 0,1	67,9 $\pm$ 0,1	181,1 $\pm$ 0,2	60,1 $\pm$ 0,2	136,5 $\pm$ 0,2	363,9 $\pm$ 0,4

A humát antioxidáns tulajdonságú anyag, amit korábbi vizsgálatom során is megállapítottam, DPPH- és Folin-Ciocalteu-módszerrel is (Tóth A, 2018). A cellulóz szuszpenzióhoz adagolt humát, antioxidáns kapacitással rendelkező lap előállítását tette lehetővé. A mérés eredményeként megállapítható, hogy a mintalapok antioxidáns kapacitása függ a lapok humáttartalmától.

A kontroll mintalaphoz (M 1) képest a kompozit mintalapok (M 2-8) antioxidáns aktivitása jobb, ez alól kivétel az M 3-as mintalap kapacitása az első órában. Az 1., a 4. és a 24 órában a legjobb antioxidáns kapacitása az M 6-os és M 7-es mintalapoknak volt. Összehasonlítva a mintalapoknak az 1., 4. és 24. órában mért antioxidáns kapacitását, az értékek növekedtek a 24. órára, utalva a mintalapok relatív lassú hatásmechanizmusára, amit az antimikrobiális mérések során is tapasztaltam. Az antimikrobiális mérés eredményei alapján a csak humát hozzáadásával készült mintalapnak (M 8) nem volt hatása a mikrobiológiai gátlásban (74-78. oldal), az antioxidáns kapacitása ezzel szemben az egyik legmagasabb, $\sim 180 \mu\text{g AAE/g}$, $\sim 364 \mu\text{g AAE/cm}^2$.



33. ábra: A mintalapok antioxidáns kapacitásának és humáttartalmának összefüggése, a mérés 24. órájában

A vizsgálat 24. órájában mért antioxidáns kapacitás értékeit, a szuszpenzióhoz adott humát mennyiségének függvényében a 33. ábra mutatja be. Az 1:5 (M 6) és 1: 10 (M 7) tömegarányban humátot tartalmazó minták antioxidáns kapacitása között nincs szignifikáns különbség. Valószínűsíthető, hogy a humát hozzáadásával készült cellulóz rost alapú mintalapok maximális antioxidáns kapacitást érnek el ($\sim 70\%$ -os, a mérési paraméterek mellett), ami már 1:5 tömegarányban hozzáadott humát mennyiséggel elérhető.

4.9. Antimikrobiális hatás

A nyers és feldolgozott élelmiszerek ideális táptalajai lehetnek a mikroorganizmusok számára, amik azon túl, hogy csökkentik az élelmiszer polcidejét, egészségkárosító hatásuk is van. A penészgomba fajok hamar megjelennek a romlásnak indult élelmiszerek felületén és mikotoxinokat termelhetnek, amik súlyos betegségeket okozhatnak (Kalia és Gupta 2012). A baktériumok közül a *Listeria* baktériumokkal fertőzött élelmiszer, listeriózist okozhat (Farber 2011), ezért nagyon fontos az ellene való védekezés.

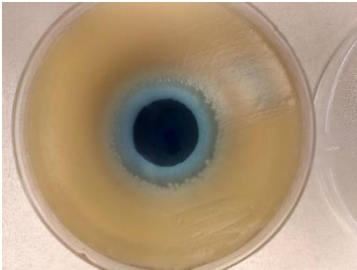
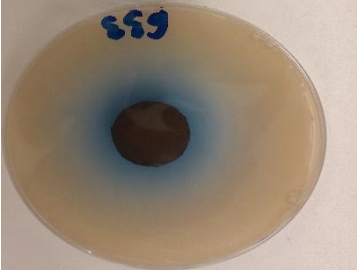
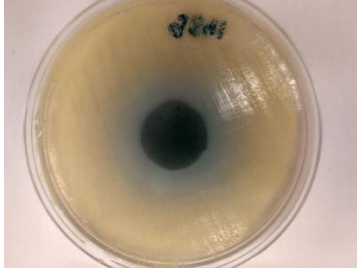
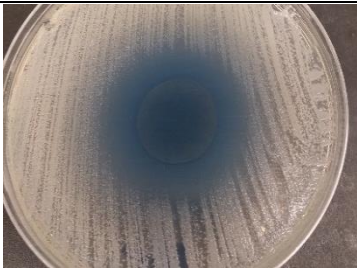
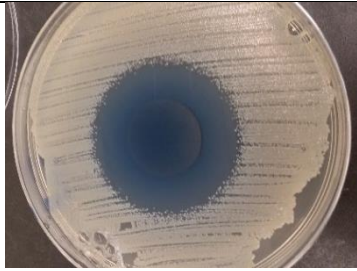
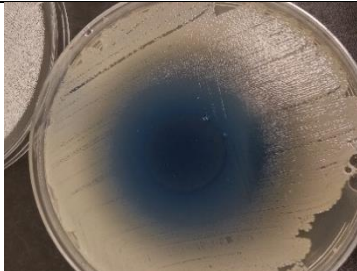
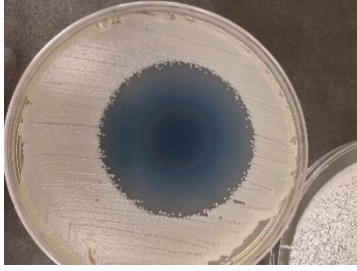
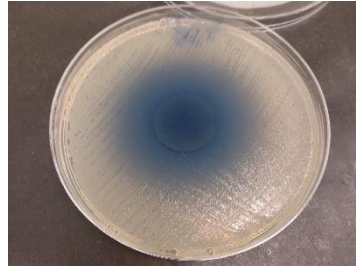
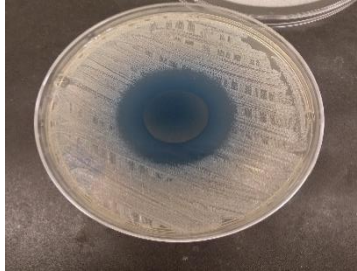
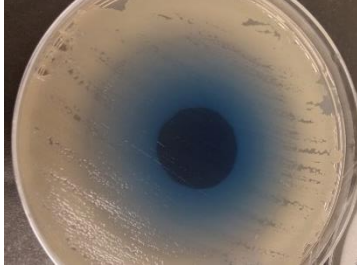
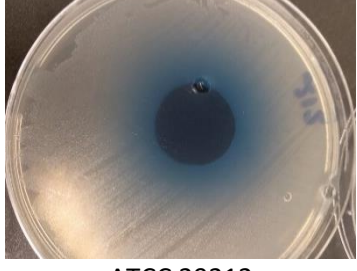
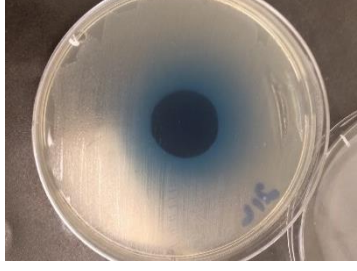
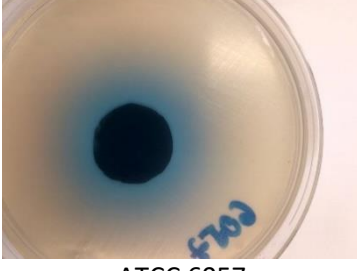
Az antimikrobiális in vitro vizsgálat során különböző koncentrációjú humát és réztartalmú mintalapoknak vizsgáltuk az antibakteriális és antifungális hatásait. Vizsgálat során Gram-pozitív baktériumok közül: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus hirae*, *Kocuria rhizophila*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* és gombák, penészgombák közül: *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*, *Penicillium expansum* és *Wallemia sebi* elleni hatásukat vizsgáltuk a mintalapoknak (11. Táblázat).

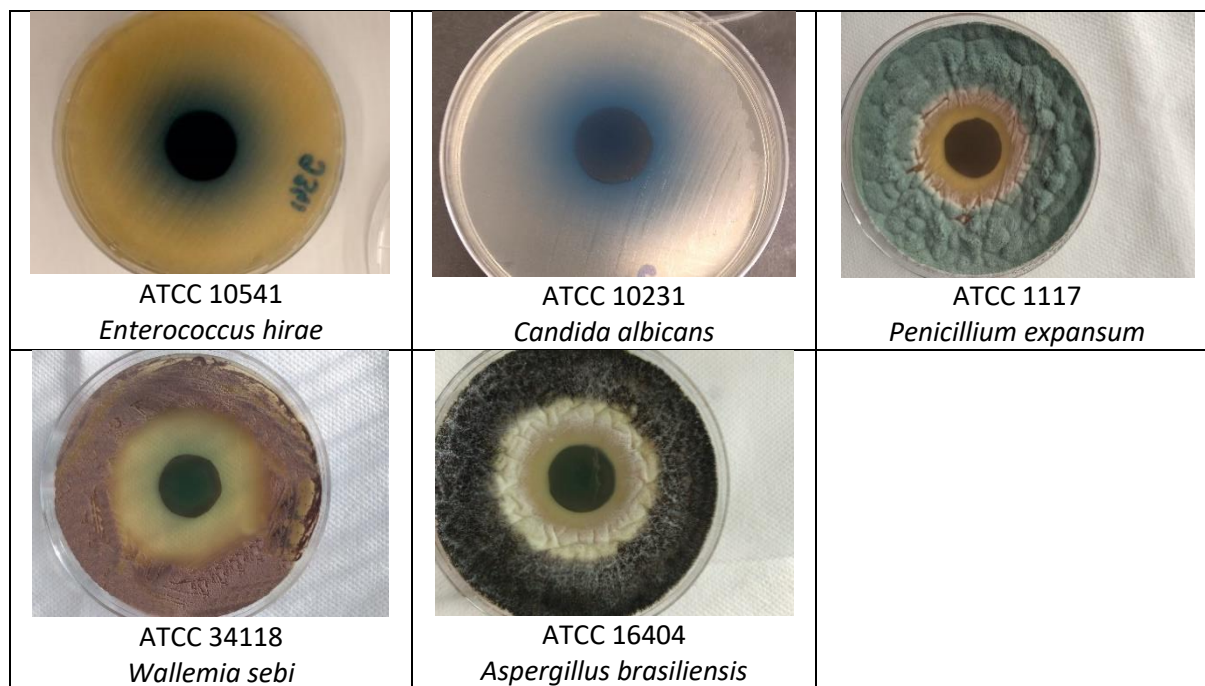
11. táblázat: Új típusú korongdiffúziós módszerrel -baktérium és gomba törzsekre- mért eredmények (gátlási zónákat mm-ben tartalmazza a táblázat)

		M 1	M 2	M 3	M 4	M 5	M 6	M 7	M 8
ATCC 11778	<i>Bacillus cereus</i>	0	9±1	33±2	29±3	19±6	28±1	25±0	0
ATCC 6633	<i>Bacillus subtilis</i>	0	27±2	40±4	37±3	38±3	40±4	29±4	0
ATCC 9341	<i>Kocuria rhizophila</i>	0	38±2	51±2	36±15	44±9	51±4	50±0	0
ATCC 15305	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0	23±2	38±0	34±1	37±3	35,5±5,5	37±3	0
ATCC 12600	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	18±3	38±1	37±0	23±2	29±6	19±6	0
ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	40±0	40±5	39±2	37±5	41±1	44±1	0
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	21±7	47±0	41±1	33±5	36±3	31±1	0

ATCC 33862	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	17±17	40±0	35±1	34±1	37±3	27±5	0
ATCC 14990	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	24±0	36±1	31±1	34±2	36±0	32±2	0
ATCC 35152	<i>Listeria monocytogenes</i>	0	5±5	20±1	16±2	22±0	18±4	20±1	0
ATCC 13932	<i>Listeria monocytogenes</i>	0	58±11	60±0	25±5	44±6	46±4	48±3	0
ATCC 33090	<i>Listeria innocua</i>	0	42±8	54±1	45±0	45±1	42±2	46±7	0
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	0	7±5	45±2	38±4	27±1	29±1	31±1	0
ATCC 19433	<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	0	30±7	32±2	35±8	35±6	0
ATCC 6057	<i>Enterococcus faecium</i>	0	24±0	40±0	34±3	34±3	31±1	31±5	0
ATCC 10541	<i>Enterococcus hirae</i>	0	3±3	31±3	33±4	35±5	29±1	27±5	0
ATCC 10231	<i>Candida albicans</i>	0	45±3	78±13	69±20	22±6	42±10	5±1	0
ATCC 1117	<i>Penicillium expansum</i>	0	40±0	44±1	40±1	45±0	44±1	40±0	0
ATCC 34118	<i>Walleimia sebi</i>	0	48±2	54±1	52±1	55±0	55±0	50±0	0
ATCC 16404	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0	44±1	47±2	47±1	47±1	46±1	46±1	0

12. Táblázat: Az M 3-as mintalap gátlási zónái a különböző baktérium és gomba törzsekre

		
ATCC 11778 <i>Bacillus cereus</i>	ATCC 6633 <i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9341 <i>Kocuria rhizophila</i>
		
ATCC 15305 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	ATCC 8532 <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538 <i>Staphylococcus aureus</i>
		
ATCC 25923 <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862 <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 14990 <i>Staphylococcus epidermidis</i>
		
ATCC 35152 <i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 13932 <i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 33090 <i>Listeria innocua</i>
		
ATCC 29212 <i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433 <i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 6057 <i>Enterococcus faecium</i>



A mintalapok módosított korongdiffúziós módszerrel mért antimikrobiális eredményeit a 11. táblázat, a legnagyobb gátlást mutató mintalapot (M 3) tartalmazó agar felületéről készült fotókat a 12. táblázat tartalmazza. A kontroll, kezeletlen mintalapot (M 1) tartalmazó agarlemezek felületén nem látható letisztulást egyik tesztörzsnél sem, az elvárt módon. Ugyanezt tapasztaltuk a csak kálium-humát hozzáadásával készült mintalapot (M 8) tartalmazó agarlemezek felületén is.

A csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalap (M 2) a legtöbb baktérium tesztörzs növekedését gátolta, kivéve a *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 35152, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 és ATCC 19433 és az *Enterococcus hirae* ATCC 10541 törzseket. A mintalapok humát tartalma általánosságban javította a mintalapok antibakteriális hatását a csak réz-szulfáttal módosított cellulózlaphoz (M 2) képest, különösképpen az *Enterococcus faecalis* és a *Listeria monocytogenes* törzsek növekedését gátolta. A *Listeria* fajok növekedését, leghatékonyabbak az 1:0,1 tömegarányban humátot tartalmazó mintalap (M 3) gátolta, 60 mm gátlási zónát ért el. Az antibakteriális hatás szempontjából az optimális humát-cellulóz arány különböző volt a tesztörzsek tekintetében. Magasabb humáttartalmú mintalapok jobb antibakteriális hatásúak, valószínűleg a rézion immobilizációja miatt. Ez alól kivételt képez az 1: 10 tömegarányú Cu-cellulóz: humát tartalmú mintalap (M 7) és a vizsgált törzsek közül a *Bacillus subtilis* és egyes *Staphylococcus aureus* törzsek.

Az élesztő- és penészgombák növekedését is hatékonyan gátolták a rezet tartalmazó mintalapok (M 2-7), a humátot is tartalmazó mintalapok (M 3-7) gátlási zónái szignifikánsan nagyobbak, a csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz (M 2) képest. Általánosságban elmondható, hogy nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a különböző mennyiségben humátot tartalmazó mintalapok, gomba törzsek gátlási zónái között. Ez alól kivételt képez a *C. albicans*, amit leghatékonyabban a 1:0,1 (M 3) és 1:0,25 (M 4) tömegarányban Cu-cellulóz :humát hozzáadásával készült mintalap gátolt.

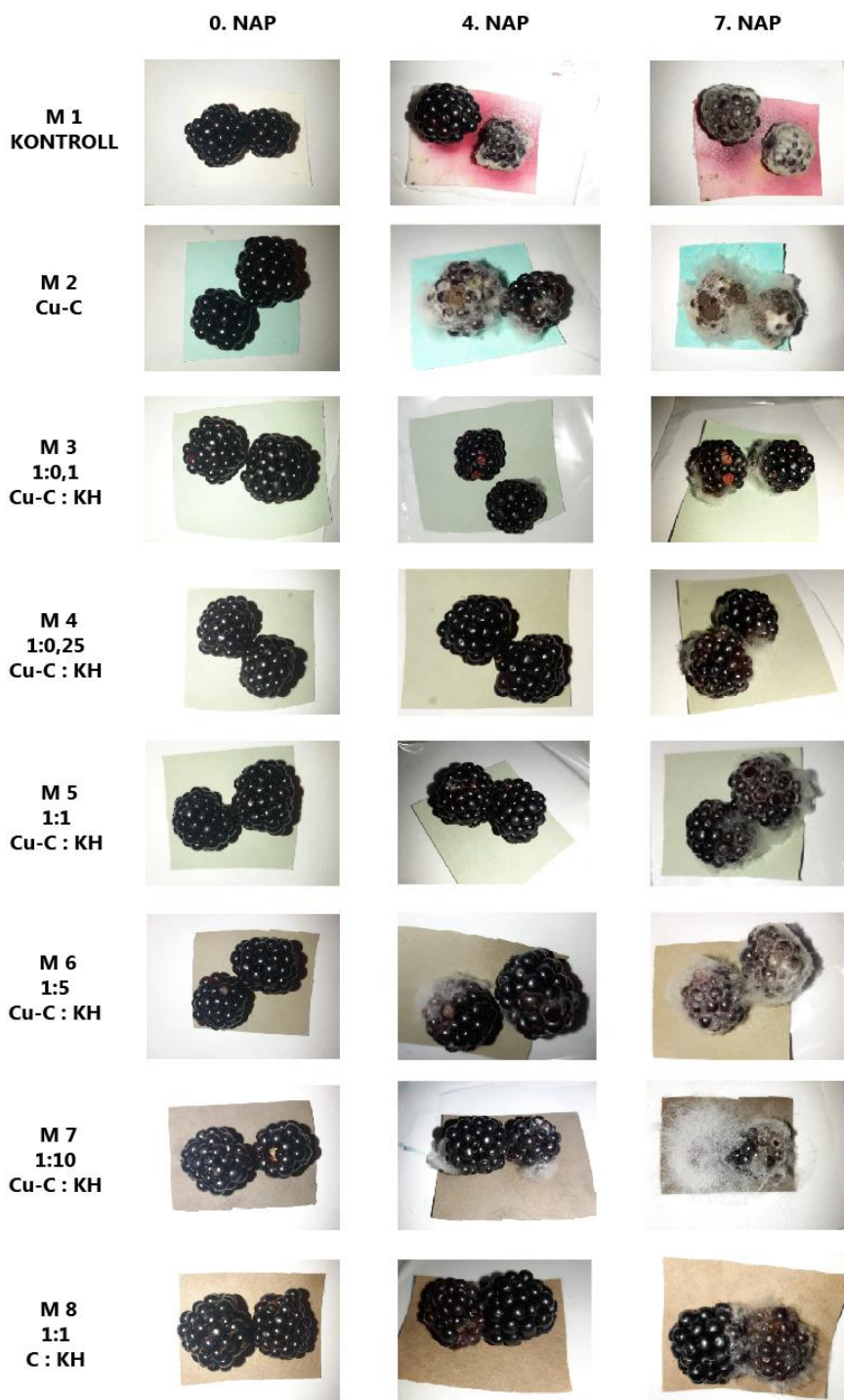
A mintalapok antimikrobiális hatását a mintákból kioldódott réz vegyület okozta, amely gátolta a baktériumok, gombák növekedését az agarlemezekben.

A mintalapokban a már humáthoz kötődött rézionhoz további humát molekulák kötődnek, így kialakítva a humát micella szerkezetét (Mal'tseva et al. 2017). A kelát kötéssel kötődött rézionok nedves, vizes közegben könnyen felszakadhatnak, így diffundálva az agarba. A mintalapok humáttartalmának növekedésével egyre kevesebb szabad rezet tartalmaznak a minták. A már mintalapot tartalmazó, elkészített agarlemezek előinkubálása döntő fontosságú, mert a réz lassan szakad le a humát láncról, oldódik ki a papírból (amit az agar színváltozása is mutatott). Ahogy a mintalapok humáttartalma növekszik, a rézion leszakadását csökkenti a feleslegben lévő humáttartalom, ezért feltételezhetően kevesebb réz tudott diffundálni az agarlemezekbe.

A mintalapok antimikrobiális hatásmechanizmusa során a vizsgált mintalapokból felszabaduló réz-komponensek károsítják a baktérium sejtmembránját. A baktériummembrán negatív töltése kationokat vonz pl: rézionokat, amelyek nitrogén és oxigén tartalmú funkciók csoportokat képezhetnek a membránban (Lemire et al. 2013; Thurman et al. 1989). Továbbá a baktériummembrán szulfhibrid csoportjai is vonzzák a rézionokat (Thurman et al. 1989). A sejtmembránhoz kötődött rézion károsítja, megbontja a baktériumsejt külső membrán rétegét (Wei et al. 2014). A baktériumsejtbe hatolt rézionok károsítják a baktérium enzimjét, fehérjéjét és DNS-ét (Lemire et al. 2003). A gombák, penészgombák növekedésének gátlása is hasonló mechanizmuson alapul. A réz antibakteriális és antifungális hatásának pontos mechanizmusa még mindig kérdéses (Zhong et al. 2017).

4.10. Gyümölcs romlása a különböző mintalapokon (M 1-8)

A szeder romlásának gyorsaságát szemlélteti képekben a 34. ábra. a különböző összetételű mintalapokon (M 1-8).

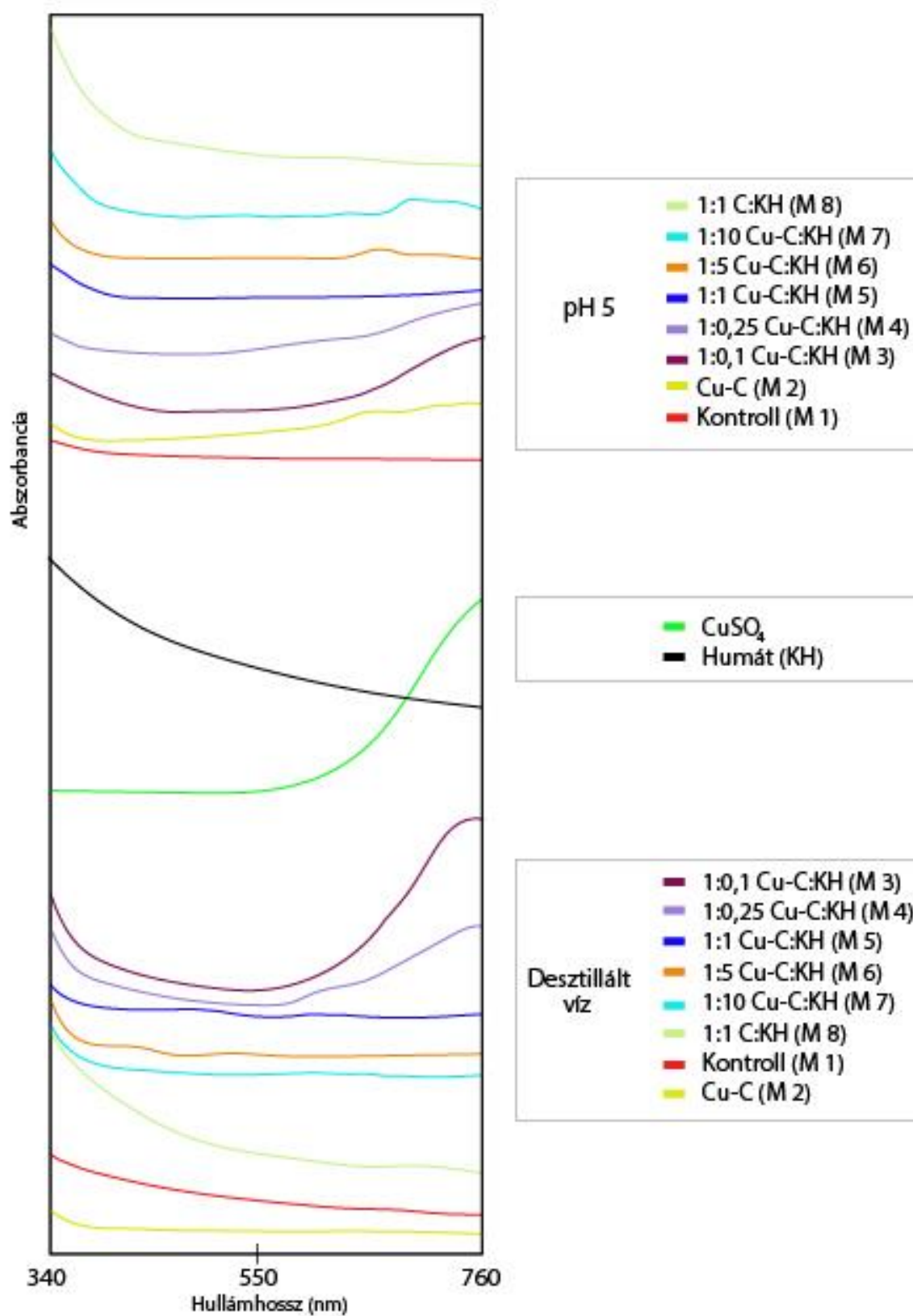


34. ábra: Szeder romlása a különböző mintalapokon (0. 4. és 7. napon)

A humátot nem tartalmazó mintalapokra (M 1-2) helyezett szeder szemek romlottak a leggyorsabban. Humát és réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapok közül (M 3-7), a mintalapok humáttartalmának növekedésével nőtt a szedrek romlásának gyorsasága. Az 1:0,1 és 1:0,25 tömegarányban Cu-cellulózt és humátot tartalmazó mintalapok (M 3-4) lassították leghatékonyabban a szeder romlását, ez összhangban van az antimikrobiális mérés során tapasztaltakkal. A kontroll (M 1) mintalaphoz képest a humátot is tartalmazó mintalapok (M 3-8) lassították a szedrek penészesedését és romlását (ez utóbbi érzékszervekkel mérhető alkoholos szag alapján volt érzékelhető). Az antimikrobiális, vizsgálat során, a csak humát hozzáadásával készült mintalap (M 8) nem volt hatásos a mikrobiológiai gátlásban, a szeder penészesedését, romlását mégis lassította (34. ábra./M 8). Ennek oka lehet valószínűleg az is, hogy a humátnak van gázabszorbens tulajdonsága (Sun et al. 2018, Zhao et al. 2015), ezért képes lehet a belőle készült mintalap is megkötni a gázokat, ezzel csökkentve a mikroorganizmusok növekedését serkentő gázok mennyiségét.

4.11. VIS abszorbancia spektrum

A 35. ábrán láthatók a desztillált vízben és a pH 5 oldatban áztatott mintalapok oldatainak spektrumai, illetve a humát és a réz-szulfát oldatainak VIS abszorbancia spektrumai.



35. ábra: A réz-szulfát, a humát és a desztillált vízbe és pH 5 oldatba áztatott mintalapok VIS abszorbancia spektruma

A 35. ábrán látható spektrum alapján a humát abszorpció maximuma 340 nm alatti hullámszám körül jelentkezik, irodalmi értékek alapján 280 nm hullámhossz körül található (Boguta et al. 2016; Traina et al. 1990). A réz-szulfát oldat elnyelési maximuma 760 nm felett jelentkezett, 800 nm hullámhossz környékén, ahogy az irodalmi adatokban is olvasható (Rahardjo et al. 2018).

A desztillált vízbe és pH 5 oldatba áztatott mintalapok spektrumai különbözőek. A réz-szulfátra jellemző abszorpció a két legalacsonyabb, humáttartalmú kompozit mintalap (M 3-4) spektrumában (760 nm) jelentkezett, ahogy azt a réz kioldódás eredményei is mutatják (13. táblázat). Az 1:0,1 és 1:0,25 arányban cellulózt és humátot tartalmazó mintákból kioldódó réz-szulfátra jellemző abszorpció intenzitása különbözik, a vizsgált különböző pH értékű közegekben. A pH 5 oldataiban a réz-szulfátra jellemző 760 hullámhossz körüli elnyelés, kisebb intenzitású, mint a desztillált vizes oldatokban. Több réz-szulfát oldódott ki az M 3-as és az M 4-es mintalapokból a desztillált vízbe, mint a pH 5 oldatba (13. táblázat). A többi mintalapnál (M 1-2; M 5-8) nem tapasztalható 760 nm hullámszám tartományban hasonló abszorpció, ezért valószínűleg azok nem, vagy csak kis mennyiségben tartalmaznak réz-szulfátot.

A kompozit mintalapokban kialakuló új abszorpciók más hullámhossz tartományokban jelentkeznek a különböző közegekben. A pH 5 oldatba áztatott mintalapok spektrumaiban a 650-700 nm közötti hullámhossz tartományokban, a desztillált vízbe áztatott mintalapok spektrumai az 500-650 nm hullámhossz tartományban láthatók új abszorpciók, amelyek valószínűleg a kioldódó humát-réz komplexek. Alacsony pH értéken a humát karboxil funkciók csoportja, magasabb pH értéken a hidroxil funkciók csoportja vesz részt a kémiai kötések kialakításában, és felbontásában (Boggs et al. 1985; Karahana et al. 2013). Lehetséges, hogy pH 5 közegben a karboxil csoporthoz kötődött rézionok mennyiségét tudtuk mérni, desztillált vizes közegben a humát hidroxil csoportjához kötődő rézionok mennyiségét, aminek kioldódó mennyiségét szabályozta a mintalapok humáttartalma.

4.12. Mintalapokból kioldódó rézmennyiség meghatározása

A korongokból kioldódó Cu (II) ion mennyiségét tartalmazza a 13. táblázat. Vizsgáltuk desztillált vízbe és pH 5 közegbe kioldódó rézion mennyiségét és komplexbontó szett segítségével a komplexben lévő rézion mennyiségét is.

13. táblázat: A mintalapokból kioldódó Cu (II) ion és kioldódó komplexben lévő réz(II) ion koncentrációja (mg/l és mg/négyzetmétertömeg)

	Desztillált víz				pH 5			
	Komplexbontás nélkül		Komplexbontás után		Komplexbontás nélkül		Komplexbontás után	
	Cu(II) koncentráció (mg/l)	Cu(II) koncentráció négyzetméterre számítva (g/(g/m ²))	Cu(II) koncentráció (mg/l)	Cu(II) koncentráció négyzetméterre számítva (g/(g/m ²))	Cu(II) koncentráció (mg/l)	Cu(II) koncentráció négyzetméterre számítva (g/(g/m ²))	Cu(II) koncentráció (mg/l)	Cu(II) koncentráció négyzetméterre számítva (g/(g/m ²))
M 1 Kontroll	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
M 2 Cu-C	1,731± 0,011	0,041± 0,002	1,735± 0,042	0,042± 0,001	0,332± 0,012	0,012± 0,001	1,023± 0,041	0,021± 0,001
M 3 1:0,1 Cu-C:KH	12,863± 0,052	0,331± 0,004	12,868± 0,173	0,333± 0,012	10,852± 0,013	0,271± 0,003	10,862± 0,062	0,273± 0,036
M 4 1:0,25 Cu-C:KH	5,285± 0,313	0,116± 0,002	5,286± 0,352	0,119± 0,015	4,413± 0,018	0,091± 0,004	4,422± 0,014	0,091± 0,008
M 5 1:1 Cu-C:KH	1,067± 0,051	0,020± 0,001	1,068± 0,193	0,021± 0,002	0,214± 0,016	0,004±0	0,223± 0,009	0,033± 0,007
M 6 1:5 Cu-C:KH	1,897± 0,075	0,038± 0,001	1,898± 0,102	0,040± 0,003	0,041± 0,026	0,001±0	0,041± 0,006	0,001±0
M 7 1:10 Cu-C:KH	0,862± 0,011	0,013± 0,001	0,865± 0,041	0,017± 0,007	<0,050	<0,0008	<0,050	<0,0008
M 8 1:1 C:KH	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

A korongokból kioldódó réz mennyisége különböző. A kontroll (M 1) és a csak humát hozzáadásával készült mintalapoknak (M 8) nincs mérhető kioldódó réztartalma egyik közegben sem.

A réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapokból (M 2-7) a desztillált vízbe és pH 5-be diffundáló réz(II) ion koncentráció $\sim 0,9\text{--}13\text{ mg/l}$ és $\sim 0,04\text{--}11\text{ mg/l}$, mely megfelel $\sim 0,01\text{--}0,3\text{ mg/négyzetmétertömeg}$ és $\sim 0,0008\text{--}0,27\text{ mg/négyzetmétertömeg}$ közötti réz(II) ion tartalomnak. Desztillált víz és pH 5 közegben az 1:0,1 és 1:0,25 tömegarányban cellulózt és humátot is tartalmazó mintalapok (M 3-4) szignifikánsan magasabb rézion kioldódása alapján feltételezhető, hogy ezekben a mintalapokban réz-szulfát formájában is jelen van a hozzáadott réz-szulfát, ahogy azt a VIS abszorbanancia spektrum (35. ábra) is mutatja. A magasabb humáttartalmú mintalapok (M 5-7) réz kioldódása csökken a humáttartalom mennyiségének növekedésével, mindkét közegben. Ennek oka valószínűleg az, hogy a nagyobb mennyiségű humát már kialakította a micella szerkezetét, aminek belsejében található rézionok desztillált vízbe és pH 5 közegbe nem diffundáltak. A humátnak alacsonyabb pH értéken a $-\text{COO}$ csoportja, magasabb pH értéken az $-\text{OH}$ csoportja vesz részt a kötések létrehozásában, különböző fémekkel (Boggs et al. 1985, Karahana et al. 2013). Lehetséges, hogy a közegekben a különböző funkciós csoportokhoz kötődő és lehasadó rézionok mennyiségét határoztuk meg.

A komplexbontó szett alkalmazásával a desztillált vízbe jutó, komplexben lévő rézion koncentrációjáról szerettem volna információt kapni. A komplexbontást követően nem volt mérhetően magasabb rézion koncentráció, mint komplexbontás nélkül. Ez egyfelől jelentheti azt, hogy a mintalapokban komplex formában jelenlévő réz komponensek a humát micella szerkezetéből nem oldódtak ki, másfelől, hogy a kioldódott réz komplex olyan szerkezetű, melyet a komplexbontó szett nem képes felbontani.

A komplexbontó szett alkalmazásával a pH 5 oldatba jutó, komplexben lévő rézionok koncentrációja azonos volt, mint komplexbontás nélkül, ez alól kivétel a csak réz-szulfát hozzáadásával készült (M 2) és az 1:1 arányban cellulózt és humátot tartalmazó (M 5) mintalapokból kioldódott rézion mennyisége.

Az antimikrobiális teszt eredményei alapján, a csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalap (M 2) gyengébb antimikrobiális hatást mutatott, mérhetően magasabb réz(II) ion kioldódása mellett, mint az alacsonyabb (M 5-7) réz kioldódást mutató lapok (pH 5 közegben). Desztillált vizes közegben az M 2-es mintalaptól szintén alacsonyabb réz kioldódást mértem az M 5 és M 7 mintalap esetén, illetve közel azonos réz kioldódást az M 6 mintalap esetén, mégis az antimikrobiális tulajdonságaik jobbak, az M 2-es mintalaphoz képest. Az eredmények arra

engednek következtetni, hogy a gátlásban szerepet játszhatnak a mintákból kioldódó egyéb réz vegyületek is, melyek nem réz (II) ion formájában vannak jelen.

Annak megítélésére, hogy a mintalapokból kioldódó réz hordozhat-e, és amennyiben igen, milyen mértékű kockázatot az egészségre, további vizsgálatok elvégzése szükséges. A réz-szulfát, mint rezes (Cu(II) ion) tartalmazó hatóanyag, alkalmazható akár étrendkiegészítő adalékként. A réz-szulfátot, a SIN 2.1 adatbázisa alapján, akár csecsemőtápszerben (GRAS 2011) vagy **csecsemők** és kisgyermekek számára feldolgozott élelmiszerben is engedélyezték (COMMISSION DIRECTIVA 2006/125/EC). A réz-szulfát élelmiszeripari adalékanyagon túl, papírgyártási adalékanyagként és élelmiszerrel érintkezésbe kerülő csomagolások esetén is alkalmazható (SCOGS 2015).

A WHO és az U.S. EPA előírása alapján az ivóvíz engedélyezett réztartalma 1,3-2 mg/l (USEPA 2018, WHO 2017). A vizsgálati körülmények mellett kioldódó réz koncentrációja az M 3 és M 4 mintalapok kivételével, az ivóvíz esetben meghatározott határértékén belül van.

A cellulóz alapú lapok tervezett alkalmazását tekintve, a kioldódás vizsgálata során alkalmazott desztillált víz és pH 5 közeg mennyisége jóval nagyobb, mint amivel a termék találkozhat. A zöldség és gyümölcs csomagolások, csak extrém körülmények között kerülhetnek ilyen mennyiségű folyadékközeggel érintkezésbe, ezért feltételezhetjük, hogy a kioldódás vizsgálata során a kioldódó rézhez képest, nagyságrendekkel alacsonyabb mennyiségű réz kioldódásával lehet számolni. A zöldség és gyümölcs felületét tanácsos mindig megmosni étkezés előtt, így a felületére tapadt réz mennyisége minimalizálódik fogyasztás előtt.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban a fertőzött élelmiszerek jelenléte igen nagy problémát okoz az egészségügy és az ipar számára is. A keletkező nagy mennyiségű élelmiszerhulladék gazdasági és környezetkárosító hatása jelentős, továbbá az akut megbetegedések többségét baktériummal, gombával fertőzött élelmiszerek okozzák.

A doktori kutatásom során réz-szulfát pentahidrát és kálium-humát hozzáadásával készítettem cellulóz alapú mintalapokat. A kutatásom célja volt, olyan magas réztartalmú lap előállítása, ami képes meghosszabbítani a gyümölcsök és zöldségek polcidejét, ezzel csökkentve a hulladékká váló élelmiszerek mennyiségét, és növelve az élelmiszerbiztonságot.

Az előállított lapok különböző tulajdonságait vizsgáltam, így a mechanikai tulajdonságait, a légáteresztő képességét, a felület morfológiáját és összetételét, az antioxidáns kapacitását, az antimikrobiális hatását in vivo és in vitro kísérlet során. Vizsgáltam továbbá a mintalapokból kioldódó részecskék mennyiségét és összetételét is.

A mintalapok mechanikai igénybevételének vizsgálati eredményei alapján a hozzáadott réz-szulfát rontja a mechanikai tulajdonságait a mintalapoknak, melynek oka feltételezhetően az, hogy a réz-szulfát savas hidrolízis során eltávolítja a finom, vékony fibrillákat a rost felületéről. A mintalapokhoz hozzáadott humát növeli a mintalapok szakító- és nyomószilárdsági tulajdonságait. A csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz (M 2) képest, a humátot is tartalmazó (M 3-7) mintalapok szakadási nyúlása ~6-40 százalékkal, a szakítási mutatója ~7-21 százalékkal, az SCT indexe ~4-44 százalékkal, hajlítási indexe ~18-54 százalékkal nőtt. Ez alól kivétel az 1:10 tömegarányban humátot is tartalmazó mintalap (M 7) mechanikai igénybevétel eredményei. A kontroll mintalaphoz (M 1) képest a humátot is tartalmazó mintalap (M 8) szakadási nyúlása ~6 százalékkal, a szakítási mutatója ~32 százalékkal, az SCT indexe ~13 százalékkal és hajlítási indexe ~52 százalékkal nőtt. Az eredmények alapján megfelelő humáttartalom mellett javíthatók a cellulózalapú lapok mechanikai tulajdonságai.

A légáteresztő képesség mérése során, a humátot és rézet tartalmazó mintalapoknak volt a legmagasabb porozitása. A réz-szulfát a fibrillák részleges savas hidrolízise mellett, a humát 3D szerkezete miatt nőtt a cellulóz rostok közötti kapillárisok mennyisége, ami fokozta a légáteresztő képességét a mintalapoknak. A zöldség, gyümölcs csomagolóanyag fontos

jellemzője a magas légáteresztő képesség, így a csomagolás könnyebben szellőzik, lélegzik a becsomagolt áru, ezzel is lassítva a romlást okozó mikroorganizmusok kialakulását és fejlődését, illetve a romlást fokozó gázok mennyiségét.

Az EDS és a SEM mérés eredményei alapján a réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapok közül a humátot is tartalmazók esetében, magasabb réztartalmat mértem. A kompozit mintalapoknak (M 3-7) ~80-220 százalékban növekedett a réztartalma, a csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz (M 2) képest. A mintalapok több fajta réz alapú vegyületet tartalmaznak, erre utal a mintalapok felületéről készült SEM felvételeken látható különböző alakú és méretű részecskék. A kompozit mintalapok (M 3-7) FT-IR színeképében látható két új abszorbanca, az $1681-1659\text{ cm}^{-1}$ és az $1525-1522\text{ cm}^{-1}$ hullámszám tartományokban, a létrejött kötésre utal a humát és a réz részecskék között. A csak humát hozzáadásával készült mintalap (M 8) színeképében látható új elnyelések, a cellulóz rost hidroxil és a humát karboxil csoportja között létrejött kötésre utal. Az FT-IR színeképében nem látható a réz-szulfátra jellemző rezgés, de a pH 5 és a desztillált vízbe áztatott mintalapok VIS spektrumában kimutatható a jelenléte, az 1:0,1 (M 3) és 1:0,25 (M 4) tömegarányban humátot is tartalmazó mintalapoknál. A többi mintalapnál (M 2; M 5-7) nem tapasztalható a réz-szulfátra jellemző abszorpció, ezért valószínűleg azok nem, vagy csak kis mennyiségben tartalmaznak visszamaradt réz-szulfátot. A kompozit mintalapokban kialakuló új abszorpciók más hullámhossz tartományokban jelentkeznek a különböző közegekben. A pH 5 oldatba áztatott minták spektrumaiban a 650-700 nm közötti hullámhossz tartományokban, a desztillált vízbe áztatott minták spektrumaiban az 500-650 nm hullámhossz tartományban láthatók új abszorpciók, amik a kioldódó humát-réz komplexek. A pH 5 közegben a karboxil csoporthoz kötődött rézionok mennyiségét, desztillált vizes közegben a humát hidroxil csoportjához kötődő rézionok mennyiségét határoztam meg a vizsgálat során, aminek kioldódó mennyiségét befolyásolta a mintalapok humáttartalma.

A kioldódás vizsgálat során a desztillált víz és pH 5 közegben az M 3-as és M 4-es mintalapok esetén jelentősen magasabb rézion kioldódást mértem, mint a többi, réz-szulfát hozzáadásával készült mintalap (M 2; M 5-7) esetén, ezekben a mintalapokban CuSO_4 formájában is jelen van a hozzáadott réz, ahogy azt a VIS abszorbanca spektrumok is mutatják. A magasabb humáttartalmú mintalapoknál (M 5-7), a humáttartalom mennyiségének növekedésével, a réz kioldódásának mennyisége csökken, mindkét közegben. Ennek oka, hogy

a nagyobb mennyiségű humát már kialakította a micella szerkezetét, aminek belsejében található a rézionok, amelyek nem oldódtak ki desztillált víz és pH 5 közegben.

A mintalapoknak van antioxidáns kapacitása, mértéke függ a mintalap humát tartalmától. Az 1:5 (M 6) és 1:10 (M 7) tömegarányban humátot tartalmazó mintalapoknak volt a legmagasabb antioxidáns kapacitása. Mérhető antioxidáns kapacitása van az M 8-as mintalapnak is, ami csak humát hozzáadásával készült. A vizsgálat során összehasonlítottam a mintalapok antioxidáns kapacitását az 1. 4. és 24. órában. Eredmények alapján megállapítható, hogy az értékek növekedtek a 24. órára, utalva a mintalapok lassú hatásmechanizmusára. Összehasonlítva a mérés 24. órájában mért antioxidáns kapacitás értékeit a szuszpenzióhoz adott humát mennyiségével, az 1:5 és 1:10 tömegarányban humátot tartalmazó mintalapok antioxidáns kapacitása között nincs szignifikáns különbség. A maximális ~ 70 %-os- kapacitást (a mérési paraméterek mellett) az 1:5 tömegarányban hozzáadott humát mennyiségével már elérhető.

A mintalapok felületi pH értéke ~9, vagyis a felület bázikus kémhatása miatt, nem képesek megtapadni, növekedni rajta azok a baktériumok és gombák, amelyek a zöltség, gyümölcs romlása közben szaporodnak el.

A mintalapok lassú hatásmechanizmusa miatt szükséges volt egy új típusú mikrobiológiai módszer létrehozása, hogy vizsgálható legyen a mintalapok antimikrobiális hatása. A kontroll (M 1) és a csak humát hozzáadásával készült mintalapoknak (M 8) nincs antimikrobiális hatása a vizsgálat alapján. Ezzel szemben a réz-szulfát és humát hozzáadásával készült mintalapok (M 3-7) hatékonyan gátolták a baktériumok, gombák növekedését az agar lemezek felületén. A humátot tartalmazó mintalapok jobb antibakteriális hatásúak az M 2-es (csak réz-szulfát hozzáadásával készült) mintalaphoz képest, különösképpen az *Enterococcus faecalis* és a *Listeria monocytogenes* törzsek növekedését gátolta. *Listeria* fajok növekedését az 1:0,1 tömegarányban humátot tartalmazó mintalap (M 3) gátolta leghatékonyabban, 60 mm gátlási zónát ért el. Az élesztő- és penészgomba törzsek növekedését eredményesen gátolták a rezet tartalmazó mintalapok (M 2-7). A mintalapok humáttartalma javította a mintalapok antifungális hatását a csak réz-szulfáttal módosított mintalaphoz (M 2) képest. A vizsgálati eredmények alapján, a különböző arányban humátot tartalmazó mintalapok gátlási zónái között nem tapasztaltam szignifikáns különbséget. Ez alól kivételt képez a *Candida albicans*,

amit leghatékonyabban az 1:0,1 (M 3) és 1:0,25 (M 4) tömegarányban humát hozzáadásával készült mintalap gátolt.

A szeder in vivo romlásának vizsgálata során hasonló eredményeket mértem, mint az új korongdiffúziós módszerrel. Az M 2-8 mintalapok hatékonyan lassították a szeder romlását a kontroll mintalaphoz képest, leghatékonyabban az M 3-5 és M 8-as mintalapok. A csak humát hozzáadásával készült mintalap (M 8) nem volt hatásos az antimikrobiális vizsgálat során, ugyanakkor a szeder romlását mégis lassította.

Az új ipari követelmények irányították figyelmemet olyan természetes eredetű alapanyagok megválasztására és olyan gyártási eljárások kidolgozására, melyek segítségével fokozott bioaktivitású és nagy hatékonyságú zöldség, gyümölcs tárolására alkalmas csomagolás állítható elő. A humátot és réz-komplexet tartalmazó cellulóz alapú lapok, mint gazdaságos gyártási alapanyagok, a fent felsorolt igényeknek hosszútávon eleget tesznek.

6. TÉZISEK

1. Megállapítottam, hogy megfelelő humáttartalom mellett javítható a cellulózalapú lapok mechanikai tulajdonságai. A csak réz-szulfát hozzáadásával készült laphoz (M 2) képest, az 1:0,1; 1:0,25; 1:1; 1:5 tömegarányban humátot is tartalmazó lapok (M 3-6) szakadási nyúlása ~6-40 százalékkal, a szakítási mutatója ~7-21 százalékkal, az SCT indexe ~4-44 százalékkal, hajlítási indexe ~18-54 százalékkal nőtt. A kontroll laphoz (M 1) képest az 1:1 tömegarányban humátot tartalmazó lap szakadási nyúlása ~6 százalékkal, a szakítási mutatója ~32 százalékkal, az SCT indexe ~13 százalékkal és a hajlítási indexe ~52 százalékkal nőtt. [3,4]
2. A SEM-EDS eredmények alapján konstatáltam, hogy humáttal növelhető a cellulóz alapú mintalapok réztartalma, a réz és a humát vegyületek differens méretű és formájú részecskék formájában vannak jelen. A kompozit mintalapok FT-IR spektrumaiban megjelenő új sávok, a humát és a réz komponensek között kialakult új kötések jelenlétére utal.[1, 2]
3. Megállapítottam, hogy a kompozit lapoknak van antioxidáns kapacitása. A lapok humáttartalmának növelésével nő a stabil DPPH gyök megkötés. Összehasonlítva az 1. 4. és 24. órában mért kapacitás értékeit, megállapítható, hogy a 24. órában szignifikánsan nagyobb a kompozit lapok antioxidáns kapacitása a kontroll laphoz képest, ami a lapok időben elhúzódó hatásmechanizmusát igazolja.
4. Bizonyítottam, hogy a létrehozott, módosított korongdiffúziós módszer sikeresen alkalmazható, lassú hatásmechanizmusú anyagok antimikrobiális hatásának vizsgálatára. A módosított vizsgálati módszer könnyen integrálható a mikrobiológiában jelenleg használt mérési eljárások közé. [1]
5. A baktérium és gomba izolátumokkal szemben a humáttartalmú, réz-szulfát pentahidrát hozzáadásával készült lapok jobb antimikrobiális hatásúak, mint a csak $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hozzáadásával készült lap. Ezeket az eredményeket támasztja alá a

szeder in vivo vizsgálata is, ahol a kompozit mintalapok lassították leghatékonyabban a romlás folyamatát. [1]

6. A desztillált vízbe és a pH 5 oldatba áztatott lapok oldatainak VIS spektrumai és a kioldódó réz (II) ion mennyiség meghatározásának vizsgálata alapján igazoltam, hogy függ a kioldódó Cu(II) ion mennyisége a közeg pH értékétől. A réz-szulfátra jellemző abszorbancia csak az alacsony humáttartalmú lapok oldatainak VIS spektrumaiban látható. A kompozit lapok mindegyikének spektrumában láthatók a humát-réz komplexre utaló új abszorpciók. [1]

A kutatási témában megjelent saját publikációk

1. Tóth A, Balázs B, Halász K. (2020) Antimicrobial Activity of Copper-Humate-Cellulose Sheets. Packaging Technology and Science, *(befogadva, megjelenés alatt)*
2. Tóth A, Halász K. (2019) Alkáli-humát és réztartalmú cellulóz alapú lapok felületanalitikai vizsgálata. GRADUS, (6)1: 148-158.
3. Tóth A, Halász K. (2019) Properties of Cellulose Sheets Modified with Potassium-Humate and Copper (II)-Sulfate. International journal of engineering and management sciences,(4)1: 276-285.
4. Tóth A, Halász K, Papp É A. (2018) Properties of cellulose sheets modified with potassium-humate and copper (II)-sulfate. In: Proceedings of the 6th International Scientific Conference on Advances in Mechanical Engineering (ISCAME 2018), Absztraktkötet, Debrecen, Magyarország, pp. 189-190.

5. Tóth A, Halász K. (2019) Effect of copper-sulfate and humate modified cellulose sheets in the shelf life of berries. In: Proceedings of the 7th International Scientific Conference on Advances in Mechanical Engineering (ISCAME 2019), Absztraktkötet, Debrecen, Magyarország, pp. 121-122.
6. Tóth A, Halász K. (2019) Aktív hatóanyagot tartalmazó cellulóz alapú lapok mikrobiológiai és fizikai jellemzőinek vizsgálata. In: Tavaszi Szél Konferencia Absztraktkötet, Budapest, Magyarország, pp. 92.
7. Tóth A, Halász K.(2019) Characterization of edible biocomposite films directly prepared from psyllium seed husk and husk flour. Food Packaging and Shelf Life, 20, p. 100299.
8. Tóth A, Halász K. (2018) Properties and characterizations of Psyllium seed films made with the addition of plasticizers. In: VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Absztraktkötet, Pécs, Magyarország, p. 191.
9. Tóth A, Halász K. (2018) Characterization of alkali humate from brown coal of Dudar. In: VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Absztraktkötet, Pécs, Magyarország, p. 190.
10. Tóth A, Halász K. (2018) Útifűmag alapú, glicerinnel, valamint poli (etilén-glikol)-al lágyított filmek tulajdonságainak vizsgálata. In: Tavaszi Szél Konferencia, Absztraktkötet, Budapest, Magyarország, p. 363.

11. Tóth A. (2018) Characterization of alkali humate from brown coal of Dudar. In: VII. Interdiszciplináris doktorandusz konferencia tanulmánykötet, Pécs, Magyarország, pp. 433-443.

7. JAVASLATTÉTEL TOVÁBBI KUTATÁSI FELADATOKRA

A műanyagalapú csomagolóanyagok használatának drasztikus kivonása a piacról előtérbe helyezi a cellulóz alapú csomagolóanyagok használatát, és akár reneszánsz korát is élheti a cellulóz a közeljövőben. A kutatásunk során eredményesen állítottunk elő antioxidáns, antibakteriális és antifungális cellulóz alapú lapokat, ami további kutatás alapjául szolgálhat.

A kutatás során 20 baktérium, gomba izolátumra kifejtett hatását vizsgáltuk meg a mintalapoknak. Érdekes lenne további izolátumokra is megnézni a mintalapok hatását. A szeder romlásának vizsgálata során olyan mintalap is lassította a gyümölcs romlását, ami antimikrobiális vizsgálatunk során nem mutatott nagy gátlási zónát. Feltételezhetően a gázmegkötő képessége lassította a romlását, ennek eredményességét továbbiakban gázkromatográfiás méréssel kívánjuk igazolni.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Aboura Z, Talbi N, Allaoui S, Benzeggagh M L. (2004) Elastic behavior of corrugated cardboard: experiments and modeling. *Composite structures*. 63(1): 53-62.
2. Acemioğlu B, Alma M H. (2001) Equilibrium studies on adsorption of Cu (II) from aqueous solution onto cellulose. *Journal of colloid and interface science*. 243(1): 81-84.
3. Aiken G R. (1985) Humic substances in soil, sediment, and water. *Soil Science*. 142(5): 325.
4. Almanza D L V, de Luna J L A, Herrera M U. (2017). Embedding of copper sulfate and copper oxide on multipurpose paper. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 201(1) pp. 012038.
5. Altieri C, Sinigaglia M, Corbo M R, Buonocore G G, Falcone P, Del Nobile M A. (2004). Use of entrapped microorganisms as biological oxygen scavengers. In: *Food packaging applications. LWT-Food Science and Technology*. 37(1) pp: 9-15.
6. Al-Zenki S, Al-Omirah H, Sidhu J S. (2012) Microbial safety and sanitation of fruits and fruit products. *Handbook of fruits and fruit processing*, 333-351.
7. Antilén M, González M Á, Pérez-Ponce M, Gacitúa M, Del M A, Armijo F, Ramírez G. (2011) Preparation and Characterization Polypyrrole/Humic Acid Composite Electrode for Metal ion Extraction. *Int. J. Electrochem. Sci.* 6: 901-912.
8. Appendini P, Hotchkiss J H. (2002) Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(2): 113-126.
9. Attila S. (2011) Emberi mulasztások bemutatása egy katasztrófa kapcsán. *Bolyai Szemle* 2011. pp. 19-28.
10. Babbitt CW. (2017) Foundations of sustainable food waste solutions: innovation evaluation and standardization. *Clean Techn Environ Policy* 19(5):1255–1256.
11. Boggs Jr S, Livermore D, Seitz M G. (1985) Humic substances in natural waters and their complexation with trace metals and radionuclides: a review. The University of Chicago, USA. 118 p.
12. Boguta P, D'Orazio V, Sokołowska Z, Senesi N. (2016) Effects of selected chemical and physicochemical properties of humic acids from peat soils on their interaction mechanisms with copper ions at various pHs. *Journal of Geochemical Exploration*. 168: 119-126.
13. Borfecchia E, Lomachenko K A, Giordanino F, Falsig H, Beato P, Soldatov A V, Lamberti C. (2015) Revisiting the nature of Cu sites in the activated Cu-SSZ-13 catalyst for SCR reaction. *Chemical science*. 6(1): 548-563.
14. Borkow G, Gabbay J. (2005) Copper as a biocidal tool. *Curr Med Chem*. 12 (18): 2163–2175.
15. Borkow G, Gabbay J. (2009) Copper, an ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infections. *Curr. Chem. Biol.* 3 (3): 272–278.
16. Boyd S A, Sommers L E, Nelson D W. (1981) Copper (II) and Iron (III) Complexation by the Carboxylate Group of Humic Acid 1. *Soil Science Society of America Journal*. 45(6): 1241-1242.
17. Bradley J S, Long S S. (2018) Principles of Anti-Infective Therapy. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. 1460–1467.

18. Brown A D. (1976) Microbial water stress. Bacteriological reviews. 40(4): 803.
19. Caggia C, Scifo GO, Restucia C, Randazzo CL. (2009) Growth of acid-adapted *Listeria monocytogenes* in orange juice and in minimally processed orange slices. Food Control 20: 59–66.
20. Cano A P, Gillado A V, Montecillo A D, Herrera M U. (2018) Copper sulfate-embedded and copper oxide-embedded filter paper and their antimicrobial properties. Materials Chemistry and Physics. 207: 147-153.
21. Chandraleka S, Ramya K, Chandramohan G, Dhanasekaran D, Priyadharshini A, Panneerselvam A. (2014) Antimicrobial mechanism of copper (II) 1, 10-phenanthroline and 2, 2'-bipyridyl complex on bacterial and fungal pathogens. Journal of Saudi Chemical Society. 18(6): 953-962.
22. Chechevatov A I, Miroshnichenko Y S, Myasoyedova T N, Popov Y V, Yalovega G E. (2017) Investigations of the capability to heavy metals adsorption humic acids: correlation between structure and absorption properties. In: Advanced Materials pp. 99-110.
23. Cheng G, Niu Z, Zhang C, Zhang X, Li X. (2019) Extraction of Humic Acid from Lignite by KOH-Hydrothermal Method. Applied Sciences, 9(7): 1356.
24. Christl I. (2012) Ionic strength-and pH-dependence of calcium binding by terrestrial humic acids. Environmental chemistry, 9(1): 89-96.
25. Commission Directive 2006/125/EC of 5 December 2006 on processed cereal-based foods and baby foods for infants and young children. OJ L 339, 6.12.2006, p. 16–35
26. Conway W S, Leverentz B, Saftner R A, Janisiewicz W J, Sams C E, Leblanc E. (2000) Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut apple slices and its interaction with *Glomerella cingulata* and *Penicillium expansum*. Plant disease, 84(2): 177-181.
27. Couto S R, Herrera J L T. (2006) Industrial and biotechnological applications of laccases: a review. Biotechnology advances. 24(5): 500-513.
28. Crabtree J H, Burchette R J, Siddiqi R A, Huen I T, Hadnott L L, Fishman A. (2003) The efficacy of silver-ion implanted catheters in reducing peritoneal dialysis-related infections. Peritoneal Dialysis International. 23(4): 368-374.
29. D M Fljatye. (1978) A papír tulajdonsága. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 175-265.
30. Dashipour A, Razavilar V, Hosseini H, Shojaee-Aliabadi S, Bruce German J, Ghanati K. et al. (2014) Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose films containing *Zataria multiflora* essential oil. International Journal of Biological Macromolecules. 72: 606–613.
31. Day B P. (2008) Active packaging of food. Smart packaging technologies for fast moving consumer goods. 1-18.
32. de Paiva R G, de Moraes M A, de Godoi F C, Beppu M M. (2012) Multilayer biopolymer membranes containing copper for antibacterial applications. Journal of Applied Polymer Science. 126(1):17-24.
33. Deák Tibor. (2006): Élelmiszermikrobiológia. Mezőgazda Kiadó. Budapest, 382 p.
34. Demirhan B, Candoğan K. (2017) Active packaging of chicken meats with modified atmosphere including oxygen scavengers. Poultry science 96(5): 1394-1401.
35. Din M I, Arshad F, Hussain Z, Mukhtar M. (2017) Green adeptness in the synthesis and

stabilization of copper nanoparticles: catalytic, antibacterial, cytotoxicity, and antioxidant activities. *Nanoscale research letters* 12(1): 638.

36. Dmitrieva E, Efimova E, Siundiukova K, Perelomov L. (2015) Surface properties of humic acids from peat and sapropel of increasing transformation. *Environmental chemistry letters*, 13(2): 197-202.
37. Dogan H, Koral M, Vatansever A, Inan T, Ziypak M, Olgun Z, Beker Ü.(2015) New Method for the Production of Barium Humate from Turkish Coal. *Advances in Chemical Engineering and Science* 5(3) 290.
38. Doskočil L, Grasset L, Válková D, Pekař M. (2014) Hydrogen peroxide oxidation of humic acids and lignite. *Fuel*, 134: 406-413.
39. Dr. Hernérd Sándor (1980): *Papírok anyagvizsgálata*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest 254-252.
40. Drescher W H.(2000) Copper in my medicine chest. *Innovations: the online magazine of the Copper Development Association*, June 2000.
41. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, et al. (2018) *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. *EFSA Journal*, 16(1): 5134.
42. Enev, V., Pospíšilová, L., Klučáková, M., Liptaj, T., & Doskočil, L. (2014). Spectral characterization of selected humic substances. *Soil and Water Research*, 9(1), 9-17.
43. Erdogan S, Baysal A, Akba O, Hamamci C. (2007) Interaction of Metals with Humic Acid Isolated from Oxidized Coal. *Polish Journal of Environmental Studies*. 16: 671-675.
44. Farber J M, Kozak G K, Duquette S. (2011) Changing regulation: Canada's new thinking on *Listeria*. *Food Control* 22(9): 1506-1509.
45. Farber J M, Losos J Z. (1988) *Listeria monocytogenes*: a foodborne pathogen. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal* 138(5): 413.
46. Farber J M. (1989) Foodborne pathogenic microorganisms: characteristics of the organisms and their associated diseases. I. Bacteria. *Canadian Institute of Food Science and Technology journal: Journal de l'Institut canadien de science et technologie alimentaire*.
47. Ferraro J R, Walker A. (1965) Comparison of the infrared spectra (4000–70 cm⁻¹) of several hydrated and anhydrous salts of transition metals. *The Journal of Chemical Physics*, 42(4): 1278-1285.
48. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015) *Global Food Losses and Food Waste*. In: *Save food! Study*, Düsseldorf, Germany, pp. 1-36.
49. Fraqueza M J, Barreto A S. (2011) Gas mixtures approach to improve turkey meat shelf life under modified atmosphere packaging: The effect of carbon monoxide. *Poultry science*, 90(9): 2076-2084.
50. Fuentes M, Olaetxea M, Baigorri R, Zamarreño A M, Etienne P, Laîné P, Garcia-Mina J M. (2013) Main binding sites involved in Fe (III) and Cu (II) complexation. *Journal of Geochemical Exploration*, 129: 14-17.
51. Galambos I. (2006) *Kútvizek Huminsav- és arzénmentesítése*. Doktori értekezés, Corvinus Egyetem, Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék, Budapest, 148 old.

52. Garcia-Mina J M (2006) Stability, solubility and maximum metal binding capacity in metal–humic complexes involving humic substances extracted from peat and organic compost. *Organic Geochemistry*, 37 (12): 1960-1972.
53. Garside P, Wyeth P. (2006) Identification of cellulosic fibres by FTIR spectroscopy differentiation of flax and hemp by polarized ATR FTIR. *Studies in conservation*, 51(3):205-211.
54. Geng Q, Tong X, Wenya G E, Yang C, Wang J, Maloletnev A S, Su X. (2018) Humate-assisted synthesis of MoS₂/C nanocomposites via Co-precipitation/calcination route for high performance lithium ion batteries. *Nanoscale research letters*, 13(1): 129.
55. Giovanela M, Parlanti E, MMD S. (2004) Elemental compositions, FT-IR spectra and thermal behavior of sedimentary fulvic and humic acids from aquatic and terrestrial environments. *Geochemical Journal*, 38(3): 255-264.
56. Goldstein J I, Newbury D E, Michael J R, Ritchie N W, Scott J H J, Joy D C. (2017) *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. Springer,
57. Grass G, Rensing C, Solioz M. (2011) Metallic copper as an antimicrobial surface. *Applied and environmental microbiology*, 77(5): 1541-1547.
58. Greenland D J. (1971) Interactions between humic and fulvic acids and clays. *Soil Science*, 111 (1): 34-41.
59. Gritsch L, Lovell C, Goldmann W H, Boccaccini A R. (2018) Fabrication and characterization of copper (II)-chitosan complexes as antibiotic-free antibacterial biomaterial. *Carbohydrate polymers*, 179: 370-378.
60. Han J H. (2003) Antimicrobial food packaging. *Novel food packaging techniques*, 8: 50-70.
61. Hayer E, Gehringer F, Komarek K L, Gaune-Escard M, Bros J P. (1989) Enthalpy of mixing of liquid (Au+ Al) alloys. *Zeitschrift fuer Metallkunde*, 80(3): 186-191.
62. Hayes M H B. (1989) *Humic substances II: in search of structure* (No. 631.87 H3).
63. Hempel A W, O'Sullivan M G, Papkovsky D B, Kerry J P. (2013) Use of smart packaging technologies for monitoring and extending the shelf-life quality of modified atmosphere packaged (MAP) bread: Application of intelligent oxygen sensors and active ethanol emitters. *European Food Research and Technology*, 237(2): 117-124.
64. Hizal J, Apak R. (2006) Modeling of copper (II) and lead (II) adsorption on kaolinite-based clay minerals individually and in the presence of humic acid. *Journal of colloid and interface science*, 295(1): 1-13.
65. Hospodarova V, Singovszka E, Stevulova N. (2018). Characterization of cellulosic fibers by FTIR spectroscopy for their further implementation to building materials. *American Journal of Analytical Chemistry*, 9(06): 303.
66. Islam S, Ponnambalam SG, Loong-Lam H. (2016) A novel framework for analyzing the green value of food supply chain based on life cycle assessment. *Clean Techn Environ Policy*, 19(1):93–103.
67. Jeong C Y, Young S D, Marshall S J. (2007) Competitive adsorption of heavy metals in humic substances by a simple ligand model. *Soil Science Society of America Journal*, 71(2): 515-528.
68. Jerzykiewicz M, Jezierski A, Czechowski F, Drozd J. (2002) Influence of metal ions binding on free radical concentration in humic acids. *Organic geochemistry*, 33(3): 265-268.

69. Jezierski A, Czechowski F, Jerzykiewicz M, Drozd J. (2000) EPR investigations of structure of humic acids from compost, soil, peat and soft brown coal upon oxidation and metal uptake. *Applied Magnetic Resonance*, 18(1): 127-136.
70. Kalia A, Gupta R P. (2012) Microbiology of fresh and processed fruits. *Handbook of Fruits and Fruit Processing*, Wiley and Sun, Canada, 51-72.
71. Kar S, Maity J P, Jean J S, Liu C C, Nath B, Lee Y C, Li Z. (2011) Role of organic matter and humic substances in the binding and mobility of arsenic in a Gangetic aquifer. *Journal of Environmental Science and Health*, 46(11): 1231-1238.
72. Karahana M, Ozturkcanb S A, Mustafaecac Z. (2013) Antitumor activity of polyelectrolytes-metal complexes. *Romanian Biotechnological Letters*, 18(4): 8447.
73. Karpukhina E, Mikheev I, Perminova I, Volkov D, Proskurnin M. (2019) Rapid quantification of humic components in concentrated humate fertilizer solutions by FTIR spectroscopy. *Journal of Soils and Sediments*, 19(6):2729-2739.
74. Kim J H, Cho H, Ryu S E, Choi M U. (2000) Effects of metal ions on the activity of protein tyrosine phosphatase VHR: highly potent and reversible oxidative inactivation by Cu²⁺ ion. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 382(1): 72-80.
75. Klinkajon W, Supaphol P. (2014) Novel copper (II) alginate hydrogels and their potential for use as anti-bacterial wound dressings. *Biomedical Materials*, 9(4):045008.
76. Krug H, Naundorf W. (1984) Braunkohlenbrikettierung 1. és 2. kötet VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig
77. Kühnert M, Fuchs V, Golbs S. (1989) Pharmakologisch-toxikologische Eigenschaften von Huminsäuren und ihre Wirkungsprofile für eine veterinärmedizinische Therapie. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 96(1): 3-10.
78. Kurbatova E G, Recker A M, Osztrikov M C. (1968) Vlijanije obtennoj absorpcija kationov szelocsno emelnüh metallov na fiziko-mahanocseszkiye szvosztva bumagi, Himicseszakaja pererabotka dreveszini, (3): 3-6.
79. Labuza T P, Breene W M. (1989) Applications of "active packaging" for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods 1. *Journal of food processing and preservation*, 13(1): 1-69.
80. Labuza T P. (1996) An introduction to active packaging for foods. *Food technology*, USA.
81. Labuza T P. (1996) Introduction to active packaging for foods. *Food technology*, 50(4)
82. Laczay P. (2008) Élelmiszer-higiénia. Élelmiszerlánc-biztonság. Mezőgazda Kiadó, Budapest pp. 649.
83. Landais P, Gerard L. (1996) Coalification stages from confined pyrolysis of an immature humic coal. *International journal of coal geology*, 30(4): 285-301.
84. Leclerc D F, and Trung T P, (2002) *Vibrational Spectroscopy in the Pulp and Paper Industry*. Wiley, Chichester, UK, 4: 2952–2976.
85. Lee C H, An D S, Lee S C, Park H J, Lee D S. (2004) A coating for use as an antimicrobial and antioxidative packaging material incorporating nisin and α -tocopherol. *Journal of Food Engineering*, 62(4):323-329.

86. Lemire J A, Harrison J J, Turner R J. (2013) Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nature Reviews Microbiology*, 11(6): 371.
87. Liu A, Gonzalez R D. (2000) Modeling adsorption of copper (II), cadmium (II) and lead (II) on purified humic acid. *Langmuir*, 16(8): 3902-3909.
88. Llorens A, Lloret E, Picouet P A, Trbojevich R, Fernandez A. (2012) Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 24(1):19-29.
89. Lopez-Rubio A, Almenar E, Hernandez-Muñoz P, Lagarón J M, Catalá R, Gavara R. (2004) Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. *Food Reviews International*, 20(4): 357-387.
90. Lukács Gy. (1982): Színmérés. Műszaki Könyvkiadó, Budapest.
91. Mal'tseva E V, Shekhovtsova N S, Shilyaeva L P, Yudina N V. (2017) Effect of mechanochemical modification on the surfactant and structural properties of humic and himatomelanic acids. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 91(7), 1273-1278.
92. Malhotra B, Keshwani A, Kharkwal H. (2015) Antimicrobial food packaging: Potential and pitfalls. *Frontiers in microbiology*, 6: 611.
93. Martucci J F, Ruseckaite R A. (2017) Antibacterial activity of gelatin/copper (II)-exchanged montmorillonite films. *Food hydrocolloids*, 64:70-77.
94. Mastin B J, Rodgers Jr J H. (2000) Toxicity and bioavailability of copper herbicides (Clearigate, Cutrine-Plus, and copper sulfate) to freshwater animals. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 39(4): 445-451.
95. McMullan D. (1995) Scanning electron microscopy 1928–1965. *Scanning*, 17(3):175-185.
96. Mikkonen K S, Tenkanen M. (2012) Sustainable food-packaging materials based on future biorefinery products: Xylans and mannans. *Trends in Food Science and Technology*, 28(2): 90-102.
97. Mogale DG, Dolgui A, Kandhway R, Kumar SK, Kumar-Tiwari MA. (2017) Multi-period inventory transportation model for tactical planning of food grain supply chain. *Comput Ind Eng* 110(1):379–394.
98. Müller G, Bartholme M, Kharazipour A, Polle A. (2008) FTIR-ATR spectroscopic analysis of changes in fiber properties during insulating fiberboard manufacture of beech wood. *Wood and Fiber Science*, 40(4): 532-543.
99. Murari K, Siddique R, Jain K K. (2015) Use of waste copper slag, a sustainable material. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 17(1): 13-26.
100. Nada A M, El-Mongy S A, El-Sayed E A. (2008) Effect of different treatments on cellulose toward carboxylation and its application for metal ion absorption. *BioResources*, 4(1): 80-93.
101. Narlıoğlu N, Salan T, Karaoğlu E, Alma M H. (2018) Evaluation of potassium humate material in wood-plastic composite production. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 18(2): 189-202.
102. Nyergesné I É. (2005) Huminsavak és magnetit nanorészecskék kölcsönhatása: a talajoktól a mágneses folyadékokig. Doktori értekezés, Kolloidkémiai Tanszék, Szegedi Egyetem, Szeged

103. Oh S Y, Yoo D I, Shin Y, Seo G. (2005) FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide. *Carbohydrate research*, 340(3): 417-428.
104. Ozdemir M, Floros J D. (2004) Active food packaging technologies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(3): 185-193.
105. Pehlivan E, Arslan G. (2006) Uptake of metal ions on humic acids. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 28(12): 1099-1112.
106. Penteado AL, Leitao MF. (2004) Growth of *Listeria monocytogenes* in melon, watermelon and papaya pulps. *Int J Food Microbiol*, 92: 89–94.
107. Perelomov L V, Sarkar B, Sizova O I, Chilachava K B, Shvikin A Y, Perelomova I V, Atroshchenko Y M. (2018). Zinc and lead detoxifying abilities of humic substances relevant to environmental bacterial species. *Ecotoxicology and environmental safety*, 151: 178-183.
108. Piccolo A. (2002) The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, 75:57-134.
109. Poletto M, Pistor V, Zeni M, Zattera A J. (2011) Crystalline properties and decomposition kinetics of cellulose fibers in wood pulp obtained by two pulping processes. *Polymer Degradation and Stability*, 96(4): 679-685.
110. Rahardjo S B, Saraswati T E, Masykur A, Finantrena N N F, Syaima H. (2018) Synthesis and Characterization of Tetrakis (2-amino-3-methylpyridine) copper (II) Sulfate Tetrahydrate, In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 349(1):012056.
111. Rahman M A, Alam A S. (2010) Characterization of humic acid from the river bottom sediments of Burigonga: complexation studies of metals with humic acid. *Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry*, 11(1): 11.
112. Rausa R, Girardi E, Calemme V. (1994) Humic acids from coal. Production, characterization and utilization. *Humic Substances in the Global Environment and Implication on Human Health*. 1225-1244.
113. Reginatto V, Kunst S, Durán N. (2008) Toxicological & Environmental Chemistry Interferences of dark coloured waters and wastewater on algae toxicity assessment. *Toxicol Environ Chem* 73(3-4):141-152.
114. Reller L B, Weinstein M, Jorgensen J H, Ferraro M J. (2009) Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*. 49(11): 1749-1755.
115. Restuccia D, Spizzirri U G, Parisi O I, Cirillo G, Curcio M, Iemma F, Picci N. (2010) New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food control*, 21(11): 1425-1435.
116. Riggle J, von Wandruszka R. (2004) Dynamic conductivity measurements in humic and fulvic acid solutions. *Talanta*, 62(1): 103-108.
117. Ritchie J D, Perdue E M. (2003) Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(1): 85-96.
118. Riva S. (2006) Laccases: blue enzymes for green chemistry. *TRENDS in Biotechnology*, 24(5): 219-226.

119. Rooney M L. (2005) Oxygen-scavenging packaging. *Innovations in food packaging* pp. 123-137.
120. Rosa M F, Medeiros E S, Malmonge J A, Gregorski K S, Wood D F, Mattoso L H C, Imam S H. (2010) Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, 81(1): 83-92.
121. Sahraee S, Ghanbarzadeh B, Milani J M, Hamishehkar H. (2017) Development of gelatin bionanocomposite films containing chitin and ZnO nanoparticles. *Food and Bioprocess Technology*, 10(8):1441–1453
122. Said N S, Sarbon N M. (2019) Protein-Based Active Film as Antimicrobial Food Packaging: A. *Active Antimicrobial Food Packaging*, 53.
123. Salim HK, Padfield R, Tin-Lee C, Syayuti K, Papargyropoulou E, Tham MH. (2017) An investigation of the drivers barriers. and incentives for environmental management systems in the Malaysian food and beverage industry. *Clean Techn Environ Policy*. 20(3):529-538.
124. Sandle T. (2016) Antibiotics and preservatives. *Pharmaceutical Microbiology*. 171–183.
125. Scharpenseel H W. (1966) Aufbau und Bindungsform der Ton-Huminsäurekomplexe Teil I: Aufbau durch Schüttelversuche und Fällungsradiometrie. *Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde*, 114 (3): 175-188.
126. Schnitzer M, Khan S U. (1972) Humic substances in the environment . M. Dekker Inc., New York
127. Schnitzer M. (1978) Humic substances: chemistry and reactions. *Developments in soil science*, (8):1-64
128. Senesi N, D'orazio V, Ricca G. (2003) Humic acids in the first generation of EUROSOLS. *Geoderma*, 116(3-4): 325-344.
129. Senesi N. (1992) Metal-humic substance complexes in the environment. *Molecular and mechanistic aspects by multiple spectroscopic approach*.
130. Shankar S, Jaiswal L, Rhim J W. (2016) Gelatin-based nanocomposite films: Potential use in antimicrobial active packaging. *Antimicrobial Food Packaging*. Academic Press.pp. 339-348.
131. Shinagawa A, Miyauchi N, Higashi T. (1982) Preparation of Al-humates and their aluminum content and cation-exchange capacity. *Soil science and plant nutrition*. 28(1): 1-7.
132. Shivanandappa T, Krishnakumari M K, Majumder S K. (1983) Testicular atrophy in Gallus domesticus fed acute doses of copper fungicides. *Poultry science*, 62(2): 405-408.
133. Shukla S R, Sakhardande V D. (1990) Cupric ion removal by dyed cellulosic materials. *Journal of applied polymer science*, 41(11-12): 2655-2663.
134. Simpson A J, Kingery W L, Hayes M H, Spraul M, Humpfer E, Dvortsak P, Hofmann M. (2002) Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften*, 89(2): 84-88.
135. Sinha N, Sidhu J, Barta J, Wu J, Cano M P. (2012) *Handbook of fruits and fruit processing*. John Wiley & Sons, 52.

136. Skalina L, Nikolajeva V. (2010) Growth potential of *Listeria monocytogenes* strains in mixed ready-to-eat salads. *International journal of food microbiology*, 144(2): 317-321.
137. Smeall J T. (1932) Bacteria on fruit. *British medical journal*, 2(3750): 917.
138. Stevenson F J. (1982) Extraction, fractionation, and general chemical composition of soil organic matter. *Humus chemistry*, 26-54.
139. Stevenson F J. (1994) *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. John Wiley & Sons. New York, USA
140. Straže A, Gorišek Ž, Pervan S, Prekrat S, Antonović A. (2008) Research on colour variation of steamed cherrywood (*Prunus avium* L.). *Wood Research*. 53(2): 77-90.
141. Sun Z, Feng R, Zhang L, Xie H. (2018) CO₂ capture and sequestration by sodium humate and Ca (OH)₂ from carbide slag. *Research on Chemical Intermediates* 1-15.
142. Suppakul P, Miltz J, Sonneveld K, Bigger S W. (2003) Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal of food science*, 68(2): 408-420.
143. Swift R S. (1996) Organic matter characterization. *Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods*, 1011-1069.
144. Sykes J E, Rankin S C. (2013) Isolation and identification of aerobic and anaerobic bacteria. *Canine and Feline Infectious Diseases-E-BOOK*, Elsevier, Amsterdam, Hollandia 17.
145. Tarasevich Y I, Dolenko S A, Trifonova M Y, Alekseenko E Y. (2013) Association and colloid-chemical properties of humic acids in aqueous solutions. *Colloid Journal*, 75(2): 207-213.
146. Theng B K G. (1979) *Formation and Properties of Polymer–Clay Complexes*. Elsevier, Amsterdam, Hollandia
147. Thurman R B, Gerba C P, Bitton G. (1989) The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. *Crit. Rev. Environ. Control* 18 (4): 295–315.
148. Tombácz E, Dobos A, Szekeres. M D E K A N Y, Narres H D, Klumpp E, Dekany I. (2000) Effect of pH and ionic strength on the interaction of humic acid with aluminium oxide. *Colloid and Polymer Science*. 278(4): 337-345.
149. Tombácz E. (1999) Soil science. *Magyar Kémiai Folyóirat* 108 (10):435-443 (2002)
150. Tóth A, Halász K. (2019a) Properties of Cellulose Sheets Modified with Potassium-Humate and Copper (II)-sulfate. *International Journal of Engineering and Management Science (IJEMS)* 4(1): 276-285.
151. Tóth A, Halász K. (2019b) Alkáli-humát és réztartalmú cellulóz alapú lapok felületanalitikai vizsgálata. *GRADUS* 6(1): 148-158.
152. Tóth A.(2018) Characterization of alkali humate from brown coal of Dudar In: VII. Interdiszciplináris doktorandusz konferencia tanulmánykötet, Pécs, Magyarország, pp. 433-443.
153. Traina S J, Novak J, Smeck N E. (1990) An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. *Journal of environmental quality*, 19(1): 151-153.

154. Tunç M A, Yoruk M A. (2017) Effects of Humate and Probiotic on the Number of *Escherichia coli*, Blood and Antioxidant Parameters in Suckling Period of Calves. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 12: 169-176.
155. Uchima C A, De Castro M F P M, Gallo C R, Rezende A C B, Benato E R, Penteado A L. (2008) Incidence and growth of *Listeria monocytogenes* in persimmon (*Diospyros kaki*) fruit. *International journal of food microbiology*, 126(1-2): 235-239.
156. Van Dijk, H. (1971). Cation binding of humic acids. *Geoderma*, 5(1): 53-67.
157. Vermeiren L, Devlieghere F, Debevere J. (2002) Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. *Food Additives and Contaminants*, 19(S1): 163-171.
158. Vincent M, Hartemann P, Engels-Deutsch M. (2016) Antimicrobial applications of copper. *International journal of hygiene and environmental health*. 219(7): 585-591.
159. Viswanath B, Chandra M S, Kumar K P, Reddy B R. (2008) Production and purification of laccase from *Stereum ostrea* and its ability to decolorize textile dyes. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, 2(1): 19-25.
160. Waller P A, Pickering W F. (1990) The lability of copper ions sorbed on humic acid. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 2(4):127-138.
161. Wan C, Jiao Y, Li J. (2017) Flexible, highly conductive, and free-standing reduced graphene oxide/polypyrrole/cellulose hybrid papers for supercapacitor electrodes. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(8): 3819-3831.
162. Wei X, Yang Z, Wang Y, Tay S L, Gao W. (2014) Polymer antimicrobial coatings with embedded fine Cu and Cu salt particles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98 (14): 6265–6274.
163. World Health Organization (2007) Hazard analysis critical control point system (HACCP). Elérhető: <http://www.who.int/>
164. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), Guidelines for Drinking-water Quality, fourth edition, Letöltés időpontja 08.10.2019. Elérhető: https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/
165. Xu F, Yu J, Tesso T, Dowell F, Wang D. (2013) Qualitative and quantitative analysis of lignocellulosic biomass using infrared techniques: a mini-review. *Applied Energy*, 104: 801-809.
166. Xu J, Feng X, Chen P, Gao C. (2012) Development of an antibacterial copper (II)-chelated polyacrylonitrile ultrafiltration membrane. *Journal of membrane science*, 413: 62-69.
167. Yam KL. (2009) Active packaging/MAP. In: Yam KL (ed) *Wiley encyclopaedia of packaging technology*, Wiley and son publication, New York, USA
168. Yu S H, Hsieh H Y, Pang J C, Tang D W, Shih C M, Tsai M L, Mi F L. (2013) Active films from water-soluble chitosan/cellulose composites incorporating releasable caffeic acid for inhibition of lipid oxidation in fish oil emulsions. *Food Hydrocolloids*, 32(1): 9-19.
169. Zhang X, Zhao J, Cheng L, Lu C, Wang Y, He X, Zhang W. (2014) Acrylic acid grafted and acrylic acid/sodium humate grafted bamboo cellulose nanofibers for Cu 2+ adsorption. *Rsc Advances*, 4(98): 55195-55201.
170. Zhao Y, Hao R, Wang T, Yang C. (2015) Follow-up research for integrative process of pre-oxidation and post-absorption cleaning flue gas: Absorption of NO₂, NO and SO₂. *Chemical*

Engineering Journal, 273: 55-65.

171. Zhong T, Oporto G S, Jaczynski J. (2017) Antimicrobial food packaging with cellulose-copper nanoparticles embedded in thermoplastic resins. In: Food Preservation, Academic Press, Elsevier, Hollandia. pp. 671-702.

Szabadalmak, szabványok, adatbázisok

1. HU 207 682 A : Eljárás növelt adszorpcióképességű cellulózbázisú csomagolóanyagok előállítására. April 17, 1991. Hungarian Intellectual Properties Office Budapest, Hungary
2. HU 209 134: Process for producing of huminacid-alkali salt containing colloidal solutions (Eljárás huminsav-alkálisót tartalmazó kolloid oldatok előállítására). January 11, 1991. Hungarian Intellectual Properties Office. Budapest, Hungary
3. ISO 1924-2:2009: Paper and board-Determination of tensile properties
4. ISO 20776-1:2006: Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases
5. ISO 2493-2:2011: Paper and board- Determination of bending resistance
6. ISO 5636-5:2013:Paper and board-Determination of air permeance-Part 5: Gurley method
7. ISO 6587:1992: Paper, board and pulp- Determination of conductivity of aqueous extracts
8. ISO 9895:2008: Paper and board-Compressive strength-Short-span test
9. MSZ EN 20187:2000: Papír, karton és cellulóz. Szabványoskondicionálási, vizsgálati és ellenőrzési légterek és minták kondicionálása
10. MSZ EN ISO 5267-1:2000 Determination of drainability -Part 1: Schopper-Riegler method. MSZH. Budapest. 2000
11. MSZ EN ISO 536:2013 Paper and board. Determination of grammage (ISO 536:2012)). MSZH. Budapest. 2013
12. Guidance to the Commission Regulation (EC) No 450/2990 (2009)
13. Gras: 184.1261 Copper sulfate (2011) Title 21: Food and Drugs, Chapter I.: Food and Drug administration department of health and human services, Subchapter B: Food for Human Consumption.
14. SCOGS: 7758-98-7 (2015): Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) Opinion: Copper (cupric) gluconate, Copper (cupric) sulfate, Cuprous iodide US FDA. 2000. Experience with Microbial Hazards in Fresh Produce. Lee Anne Jackson, Ph.D. Center for Food Safety and Applied Nutrition Food and Drug Administration. Presented to the EC Scientific Committee on Food, March 2000.
15. USEPA, Drinking Water Standards and Advisory Tables and Health Advisories tables, List of Contaminants & their MCLs, Letöltés időpontja: 08.10.2019. Elérhető:

<https://www.epa.gov/dwstandardsregulations/2018-drinking-water-standards-and-advisory-tables>

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni mindazoknak, akik doktori értekezésem elkészítéséhez kapcsolódó munkában segítettek.

Szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Halász Katalinnak dolgozatom elkészítésében nyújtott áldozatkész segítségét. Köszönöm, hogy szakmailag és emberileg is mindvégig segítette munkámat.

Köszönetet szeretnék még mondani Dr. Kardos Gábornak és Balázs Bencének a Debreceni Egyetem, Orvosi Mikrobiológiai Intézésének munkatársainak a mikrobiológiai mérések során nyújtott nélkülözhetelen szakmai segítségükért és idejükért. Szeretném megköszönni Dr. Sréterné dr. Lancz Zsuzsannának a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Élelmiszerlánc-biztonsági Laboratórium Igazgatóság, Mikrobiológiai Nemzeti Referencia Laboratórium vezetőjének a szakmai segítségét a mikrobiológiai mérések elvégzésében. Köszönöm Dr. Rákosa Ritának az FT-IR mérésekben nyújtott segítségét, Dr. habil Hargitai Hajnalkának (Széchenyi István Egyetem, Anyagtudományi és Technológiai Tanszék) az EDS eredményekért, a Faanyagtudományi Intézet összes dolgozójának a pásztázó elektromikroszkóp felvételekért továbbá szeretném megköszönni Tóth Lászlónak a segítségét is.

Szeretném még megköszönni Dr. Papp Éva Annamárianak, Dr. Makk Ádám Nándornak és Dr. Worakan Hosakunnak a segítségét, valamint a SoE mindazon dolgozójának, akik bármilyen módon hozzájárultak a kutatómunka elvégzéséhez.

Végül szeretném megköszönni családomnak, és barátaimnak, hogy mindvégig mellettem álltak, bíztattak és hittek a kutatásom sikerességében.

Jelen publikáció az „EFOP-3.6.1-16-2016-00018 – A felsőoktatási rendszer K+F+I szerepvállalásának növelése intelligens szakosodás által Sopronban és Szombathelyen” című projekt támogatásával valósult meg.