

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI



CELLULÓZ ALAPÚ, AKTÍV HATÓANYAGOT
TARTALMAZÓ LAPOK FEJLESZTÉSE
CSOMAGOLÁSTECHNOLÓGIAI ALKALMAZÁSHOZ

Tóth Annamária

Soproni Egyetem

Simonyi Károly Műszaki, Faanyagtudományi és Művészeti Kar

Sopron

2019

Doktori (PhD) értekezés tézisei

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

Témavezető: Dr. Halász Katalin

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.

BEVEZETÉS

A csomagolt élelmiszerek eltarthatóságát elsősorban a mikroorganizmusok, gombák és baktériumok jelenléte befolyásolja. A romlást okozó baktériumok közül a legsúlyosabb megbetegedést a *Listeria* fajok okozhatják, amik még 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 2015, Babbitt et al. 2017), aminek nemcsak gazdasági következményei vannak, de a környezetre is káros. Az ételhulladék keletkezése értékes erőforrások pazarlását vonja maga után, 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 fontos feladat, amiben az aktív, polcidót növelő csomagolások fejlesztésének nagy szerepe van. A mai, modern csomagolóanyagoknak nemcsak fizikai sérülésektől kell megóvnia a terméket, 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 KUTATÁS CÉLJA

A doktori kutatásom célja volt egy gazdaságos, a papírgyártás folyamatába könnyen integrálható, rezet tartalmazó, cellulóz alapú, antimikrobiális, aktív csomagolás előállítás. Az előállított lapok humát és réz-szulfát pentahidrát hozzáadásával készültek. A kutatómunkám célja az volt vizsgálni, milyen mértékben képes megnövelni a mintalapok réztartalmát a lapkészítés során hozzáadott humát. Az előállított mintalapok antimikrobiális hatását *in vivo* és *in vitro* kísérlettel is vizsgáltam. Az *in vitro* kísérlet elvégzésének feltétele egy olyan új mikrobiológiai mérési módszer létrehozása volt, ami lassú hatásmechanizmusú anyagok vizsgálatára is alkalmazható.

FELHASZNÁLT ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A kutatás során a kálium-humátot Dudari barnaszénből állítottam elő. Először porrá őröltem a barnaszénet, majd 50 ml 5M KOH oldatot adtam hozzá, amit 3 órán keresztül mágneskeverővel kevertettem. Szobahőmérsékleten egy éjszakára állni hagytam. A humát kinyerése érdekében az anyagot másnap 2400 fordulat/perc sebességgel 10 percen keresztül centrifugáltam.

A rost szuszpenzió készítése során a linter cellulóz rosthöz réz-szulfát pentahidrátot és kálium-humátot adagoltam, és az így elkészített szuszpenziókból lapképző segítségével mintalapokat állítottam elő.

A rostsuszpenzió elkészítéséhez 250ml cellulóz (7 g szárazanyag tartalmú) rostsuszpenzióhoz (mágnes keverőn keverve) addig CuSO_4 -ot adagoltam, amíg a szuszpenzió pH-ja 4,5 lett (~5g). 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 rostsuszpenziót, ami csak réz-szulfát hozzáadásával, illetve a nélkül (kontroll) készült. Az M 2-es rostsuszpenzió 5 g réz-szulfát pentahidrátot tartalmazott. Az előállított mintalapok összetételét az 1. táblázat tartalmazza.

1. 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

Az előállított lapok jellemzőinek meghatározására különböző vizsgálatokat végeztem, így a mechanikai tulajdonságait, a légáteresztő képességét, a felület morfológiáját és összetételét, az antioxidáns kapacitását, az antimikrobiális hatását in vivo és

in vitro kísérlettel, továbbá a mintalapokból kioldódó részecskék mennyiségét és összetételét is vizsgáltam.

A KUTATÁS EREDMÉNYEINEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Összefoglalva az eredményeket megállapítható, hogy az előállított kompozit mintalapoknak van antibakteriális, antifungális és antioxidáns tulajdonsága, ezért az előállított papírba csomagolt zöldség és gyümölcs polcidejét képes meghosszabbítani.

A felületi összetétel, pásztázó elektronmikroszkóp felvételeiből és a FT-IR spektrumaiból megállapítható, hogy a humát és réz között létrejött kötés. A felületi összetétel elemzésének eredményei alapján a humát növeli a mintalapok réztartalmát, a csak réz-szulfát hozzáadásával készült mintalaphoz képest ~ 80-220 százalékkal. A mintalapok felületéről készült SEM felvételeken különböző alakú és méretű részecskék találhatók, amikből arra következtethetünk, hogy többfajta réz alapú vegyületet tartalmaznak a mintalapok. A humát és réz-szulfát hozzáadásával készült mintalapok FT-IR színképében 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 kioldódásvizsgálat során a desztillált víz és pH 5 közegben az M 3-as és M 4-es mintalapokból jelentősen magasabb rézion kioldódást mértem, mint a többi, réz-szulfát hozzáadásával készült mintalap (M 2, M 5-7) esetén. Valószínűsíthető, hogy ezekben a mintalapokban, CuSO_4 formájában is jelen van a 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 közegbe.

A mintalapok mechanikai igénybevételének vizsgálati eredményei alapján a mintalapokhoz hozzáadott réz-szulfát pentahidrát rontja a mechanikai tulajdonságait a lapoknak, ennek oka a savas hidrolízis, ami eltávolítja a finom, vékony fibrillákat a rost felületéről. A mintalapokhoz hozzáadott humát növeli a rostok közötti interakciókat, ezzel növelve a mintalapok szakító- és nyomószilárdságát.

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. Vizsgálatom során összehasonlítottam a mintalapok antioxidáns kapacitását az 1. 4. és 24. órában. A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy az értékek növekedtek a 24. órára, utalva a mintalapok lassú hatásmechanizmusára.

A mintalapok lassú hatásmechanizmusa miatt szükséges volt egy új típusú mikrobiológiai módszer létrehozása, hogy vizsgálható legyen az antimikrobiális hatásuk. Az új típusú korongdiffúziós módszer alapján a kontroll (M 1) és csak humát hozzáadásával készült mintalap (M 8) nem gátolta a baktérium és gomba izolátumok növekedését, nem volt antimikrobiális

hatásuk. Ezzel szemben a réz-szulfát és humát hozzáadásával készült mintalapok (M 3-7) hatékonyan gátolták a baktériumok, gombák növekedését az agar lemezek felületén. A vizsgált izolátumok közül leghatékonyabban a penészgombák növekedését gátolták, amik hamar megjelennek a romlásnak indult zöldség, gyümölcs felületén, ezért fontos az ellenük való védekezés, ezzel növelve az élelmiszer-biztonságot. Az M 3-7 mintalapok hatékonyan gátolták a *Listeria* fajok növekedését is, ami az emberi szervezetre veszélyes humán liszteriózist okozhatja. 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 mintalapok.

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 mintalapok (pH 5 közegben). Desztillált vizes közegben az M 2-es és az M 6-os mintalapból közel azonos, az M 5-ös és az M 7-es mintalapból kevesebb rézion kioldódását mértem, mégis az antimikrobiális tulajdonságaik (M 5-7) jobbak az M 2-es mintalaphoz képest. Az eredmények arra engednek következtetni, hogy az antimikrobiológiai hatásban szerepet játszhatnak egyéb rézvegyületek is, melyek nem réz (II) ion formájában vannak jelen.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A részletes kísérleti vizsgálatok eredményei alapján a következő tudományos megállapításokat teszem:

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]

PUBLIKÁCIÓS MUNKÁIM

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)-lal 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.

IRODALOMJEGYZÉK

Babbitt CW (2017) Foundations of sustainable food waste solutions: innovation evaluation and standardization. *Clean Techn Environ Policy*. 19(5):1255–1256.

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.

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.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2011) *Global Food Losses and Food Waste*. In: *Save food! Study*, Düsseldorf, Germany, pp. 1-36.

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.

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.

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*. 56: 253-258.