

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

GREFF BABETT

MOSONMAGYARÓVÁR

2021

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI
SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI TANSZÉK

Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola
Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program

Doktori Iskolavezető:
Prof. Dr. Varga László, DSc
egyetemi tanár

Programvezető:
Prof. Dr. Varga László, DSc
egyetemi tanár

Témavezetők:
Prof. Dr. Szigeti Jenő, CSc
professor emeritus
Dr. Nagy Ágnes, PhD
egyetemi adjunktus

EXTRAHÁLT GYÓGYNÖVÉNYI HULLADÉKOK
KOMPOSZTÁLHATÓSÁGÁNAK VIZSGÁLATA

Készítette:
GREFF BABETT

Mosonmagyaróvár

2021

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A gyógynövényeket már ősidők óta alkalmazzák gyógy- és aromás tulajdonságaik miatt, többek között a kozmetikai-, a gyógyszer- és az élelmiszeriparban is. Az elmúlt években megnövekedett termelés következtében a gyógynövény-feldolgozással foglalkozó iparágak a bioaktív összetevők kinyerése során nagy mennyiségű növényi hulladékot bocsátottak ki. Ez többek között annak köszönhető, hogy a legtöbb gyógynövény illóolaj/hatóanyag tartalma nagyon kevés, általában nem éri el a száraz biomassa 4-5%-át.

A gyógynövényhulladékok kezelése mára már társadalmi kihívássá vált, mivel nemcsak esztétikai, hanem környezetszennyezési szempontból is igen jelentős problémát jelenhetnek, ha az ártalmatlanításuk nem megfelelően történik. Mindazonáltal ezek az extrakció során keletkező növényi maradványok nagy mennyiségű, talaj számára fontos tápanyagot is tartalmazhatnak, de kezeletlen formában alkalmatlanok a szántóföldeken történő közvetlen felhasználásra, ismeretlen összetételüknek (kórokozók, gyommagvak, toxikus összetevők, stb.) köszönhetően.

A komposztálás megoldást nyújthat e típusú mezőgazdasági hulladékok kezelésére és újrahasznosítására, azonban az extrakciós eljárásokból visszamaradó gyógynövény-maradványok, cellulóz, hemicellulóz, lignin és különböző bioaktív komponensek (polifenolok, alkaloidok, terpének) potenciális forrásaként, nehezen komposztálható anyagnak számítanak, mivel a visszamaradó bioaktív anyagok gátolhatják a tápanyagok körforgását, lassíthatják a komposztálódó

anyagok lebontását és negatív hatást gyakorolhatnak a növények csírázóképeségére is. A gyógynövényhulladék komposztálásnak optimalizálása többféle módszerrel történhet, ezek közül is bizonyos biológiai eljárások (együttes komposztálás, mikrobiológiai inokulum alkalmazása) a leggazdaságosabbak.

A vizsgálataim célja egy olyan gyógynövényhulladékot nagy mennyiségben tartalmazó komposzt előállítás volt, amelynek a minőségi paraméterei megközelítik a szarvasmarhatrágyából és őszi árpa szalmából készült komposztét. Ehhez együttes komposztálási technológiát és saját fejlesztésű komposztálást gyorsító mikrobiológiai inokulumot alkalmaztam.

Az előkísérletek során célul tűztem ki annak a meghatározását, hogy az extrahált aromás gyógynövények alkalmasak-e a nagy mennyiségben adagolt, jól komposztálható mezőgazdasági hulladékokkal (szarvasmarhatrágya, őszi árpa szalma) történő együttes komposztálásra. Mivel normál körülmények között a komposztálás egy igen időigényes folyamat, ezért a négy kereskedelmi forgalomban kapható komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítményt is alkalmaztam és vizsgáltam a komposztálás főbb fizikai, kémiai és mikrobiológiai paramétereire gyakorolt hatásukat.

További céлом volt még egy új összetételű, komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítmény kifejlesztése is, ami hatékonyan alkalmazható a nagy lignocellulóz-tartalommal rendelkező extrahált gyógynövényhulladékok komposztálásához. Kísérletek során a 60%-nyi extrahált aromás gyógynövényhulladékot (*Lavandula angustifolia* Mill.) is tartalmazó anyagkeverékhez előzetes vizsgálatok alapján

kiválasztott, komposztálást segítő baktériumok (*Cellulomonas flavigena* NCAIM B.01383 és *Streptomyces viridosporus* NCAIM B.02369) tenyészetét tartalmazó inokulumot adagoltam és vizsgáltam a lebontást végző mikroorganizmusokra és a végtermék mikrobiológiai, fizikai, kémiai és biológiai tulajdonságaira gyakorolt hatását.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

A főlüzemi komposztálási kísérleteket Nagyszentjánoson a Kisalföldi Mezőgazdasági Zrt. munkatársainak segítségével állítottam be. A vizsgálatokra részben a helyszínen (hőmérséklet mérése, nedvességtartalom meghatározása) részben pedig a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Élelmiszertudományi Tanszékén került sor.

2.1. Extrahált gyógynövényhulladékok komposztálási előkísérletei (1. és 2. kísérlet)

A végzett komposztálási előkísérletek célja az extrahált aromás gyógynövényhulladék és a hozzáadott makrokomponensek (szarvasmarhatrágya, őszi árpa szalma) megfelelő kiindulási arányának meghatározása volt. A vizsgálatokba többféle, kereskedelemben kapható komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítményt is bevontam és vizsgáltam a főbb mikrobiológia paraméterekre gyakorolt hatásukat.

2.1.1. A komposztálóedények kialakítása

A komposzt befogadásra kialakított öt komposztáló edény oldallapjai raklapokból készültek, magasságuk, mélységük és szélességük is 1-1 m volt. Oldalról légáteresztő háló burkolatot, a hőntartás biztosítása céljából pedig még egy külső hungarocell borítást is kaptak a depók. Egy-egy edénybe 250 kg előre bekevert komposztálandó anyag került bemérésre.

2.1.2. Komposztálandó anyagkeverék beállítása

A két előkísérlet során a komposztálandó anyagkeverék extrahálásból visszamaradt, aromát adó növényi hulladékot, szarvasmarhatrágyát és őszi árpa szalmát tartalmazott különböző arányban. A depók tartalmához kereskedelmi forgalomban kapható, komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítményeket (EM-1, GeoCell-1, BioeGO kétkomponensű készítmény, EM-BIO) kevertem a komposztálás 0. napján (1. táblázat).

1. táblázat: Komposztálandó anyagkeverékek összetétele

Depó jelölése	Depók összetétele	Hozzáadott adalék
Első előkísérlet		
K ₁		-
I ₁	Extrahált gyógynövény- hulladék (30%), szarvasmarhatrágya (60%) és őszi árpa szalma (10%)	EM-1
II ₁		GeoCell-1
III ₁		BioeGO kétkomponensű készítmény
IV ₁		EM-BIO
Második előkísérlet		
K ₂	Extrahált gyógynövényhulladék (60%),	-
I ₂	szarvasmarhatrágya (30%) és őszi árpa szalma (10%)	EM-1

2.1.3. Mintavétel

Az elvégzendő mikrobiológiai és kémiai vizsgálatokhoz öt mintavételi pontot jelöltem ki a depókban. Az első előkísérlet során a

0., a 7., a 14., a 28., az 56. és a 84., míg a második előkísérlet során 0., a 6., a 12., a 26. és a 48. napokon történt mintavétel, három különböző mélységből. A vett minták mennyisége ~ 1 kg volt.

2.1.4. Vizsgált komposzttulajdonságok

A komposzthalmok hőmérsékletének és nedvességtartalmának meghatározása a komposztálás helyszínén történt a mintavétellel egy időben. A minták pH értéke, azok mikrobiológiai vizsgálatához készített 10^1 -es homogenizált hígítási tagjából lett meghatározva. A vizsgált mikroorganizmusok élősejtszámának meghatározása (aerob mezofil összes telepképző egységyszám, élesztő- és penészgombaszám, cellulózbontó mikroorganizmusok száma) hagyományos lemezöntéses módszerrel történt.

2.2. Harmadik komposztálási kísérlet (3. kísérlet)

Az utolsó komposztálási kísérlet során célom volt annak a meghatározása, hogy az összeállított, komposztálást segítő mikrobiológiai inokulum (*Cellulomonas flavigena* NCAIM B.01383 és *Streptomyces viridosporus* NCAIM B.02369) képes-e olyan mértékben javítani az extrahált gyógynövényhulladékot tartalmazó érett komposzt minőségét, hogy az egyenértékű legyen a szarvasmarhatrágyát és őszi árpa szalmát tartalmazó kontroll komposztéval.

2.2.1. Komposztálandó anyagkeverék beállítása

A harmadik komposztálási vizsgálat során a 60%-nyi extrahált aromás gyógynövényhulladékot, 30%-nyi szarvasmarhatrágyát és

10%-nyi őszi árpa szalmát tartalmazó anyagkeveréket saját komposztálást segítő baktériumtenyésztéssel inokuláltam (2. táblázat). A lebontási folyamatokat segítő, lignin- és cellulózbontó mikroorganizmusokat a termofil szakasz végén, a komposztálás 8. napján adtam az anyagkeverékhez, húszszoros mennyiségű vízzel, ami a megfelelő nedvességtartalom beállítását is biztosította. Így az inokulum végső koncentrációja 8% (v/w) volt a komposztban. A beoltás előtt a *C. flavigena* NCAIM B.01383 ($7,1 \times 10^8$ CFU/ml) és a *S. viridosporus* NCAIM B.02369 ($6,0 \times 10^7$ CFU/ml) tenyészeteket 1:1 arányban egységesítettem.

2. táblázat: Komposztálandó anyagkeverékek összetétele

Depó jelölése	Depó összetétele	Hozzáadott adalék
K ₃	Szarvasmarhatrágya (90%) és őszi árpa szalma (10%)	-
I ₃	Extrahált gyógynövényhulladék (60%), szarvasmarhatrágya (30%) és őszi árpa szalma (10%)	-
II ₃		<i>Cellulomonas flavigena</i> + <i>Streptomyces viridosporus</i> (0,5-0,5 l)

2.2.2. Mintavétel, mintaelőkészítés

A vizsgálat 0., 8., 15., 21., 42., 78. és 161. napján öt kijelölt helyről mintát vettem, három különböző mélységből. A mintákat laboratóriumi körülmények között homogenizáltam és az így képzett átlagmintát (kb. 500 g) két részre osztottam. Az egyik felét frissen felhasználtam a mikrobiológiai vizsgálatokhoz, valamint a csírázási

index és a pH meghatározásához. A másik részét, szárítást követően, a további kémiai vizsgálatok során alkalmaztam.

2.2.3. Vizsgált komposzttulajdonságok

A fizikai és a kémiai vizsgálatok során megtörtént a komposztok hőmérsékletének, pH-jának, nedvességtartalmának, összes szervesanyag-tartalmának (OM), összes szerves széntartalmának (TOC), összes nitrogéntartalmának (TN), szén/nitrogén arányának (C/N) és savban nem oldódó lignintartalmának a meghatározása.

A minták élősejtszámának meghatározása (mezofil és termofil aerob összes telepképző egységszám, élesztő- és penészgombaszám, streptomycetes-szám, cellulózbontó baktérium és penészgombaszám, fekéál *Streptococcus* és *Escherichia coli* szám) hagyományos lemezöntéses módszerrel történt, kivéve a *Salmonella* szerotípusok meghatározását, ahol jelenlét/hiány vizsgálatot végeztem.

A komposztminták fitotoxikus hatásának meghatározása során *Brassica rapa* subs. *chinensis* magokat felhasználva megadtam a komposztok vizes extraktumának csírázási indexét (GI).

A komposztok biopeszticid hatásának *in vitro* vizsgálata során a komposztextaktumok négy növénypatogén mikroorganizmussal (*Sclerotinia sclerotiorum* NCAIM F.00746, *Verticillium dahliae* F.00734, *Xanthomonas campestris* B.01466 és *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B.01109) szemben mutatott antimikrobiális hatását vizsgáltam, agardiffúziós lyukteszt segítségével

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

3.1. Első előkísérlet (1. kísérlet)

Az első előkísérlet bizonyította, hogy a vizsgált együttes komposztálási eljárás alkalmas a szarvasmarhatrágyával és szalmával kevert extrahálásból visszamaradt gyógynövényi hulladékok (30%) hasznosítására. Az alkalmazott komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítmények nem befolyásolták jelentős mértékben a komposztálás kimenetelét, mindazonáltal a kontroll depó esetében tapasztalt mezofil penész- és aerob cellulózbontó mikroorganizmus-szám növekedése együttesen azt is jelezheti, hogy e depó esetében a cellulózbontás és lényegében a komposztálási folyamat még nem fejeződött be a 84. napra, legalábbis ami ezeket a nehezen lebontható makromolekulákat illeti.

A mikrobiológiai vizsgálati eredmények alapján az I₁ jelzésű, EM 1-gyel inokulált komposztban volt megfigyelhető a legjelentősebb mikrobiológiai szaporodás. Az összes telepképző egység szám és a cellulózbontó mikroorganizmusok száma (1. ábra) is átlagban ennek az adaléknak a hatására volt a legjelentősebb, annak ellenére, hogy az EM készítmények elsősorban a nehezen bontható anyagok lebontására kevésbé specializálódott mikroorganizmusokat tartalmaznak.

3.2. Második előkísérlet (2. kísérlet)

Az első előkísérlettel összehasonlítva, a nagyobb mennyiségben alkalmazott gyógynövényhulladék pozitívan befolyásolta a komposztálás folyamatát. Az összeállított anyagkeverék, ami 60%-nyi extrahált gyógynövényhulladékot tartalmazott, intenzívebb

mikrobiológiai tevékenységet eredményezett a kezdeti mezofil szakasz során, ami hatással volt a termofil szakasz hosszára, illetve a mikrobiológiai élősejtszámra a hűlési/érési szakasz során.

Az alkalmazott, kereskedelmi forgalomban is kapható komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítmény, az EM 1 nem gyakorolt pozitív hatást a komposztálás folyamatára, illetve a komposzt mikrobiológiai minőségére. Ez feltehetően a relatíve megemelkedett, nehezen lebomló szerves vegyületek arányának volt köszönhető. Ez felvetette a lehetőségét egy új, komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítmény kifejlesztésének, amely hatékony alkalmazható extrahált gyógynövényhulladékok komposztálása során.

3.3. Harmadik komposztálási kísérlet (3. kísérlet)

A harmadik komposztálási kísérlet során kapott fizikai, kémiai és mikrobiológiai vizsgálati eredmények alapján megállapítható, hogy az inokulum alkalmazása javította az extrahált gyógynövényhulladékot tartalmazó komposzt minőségét (C/N arány, GI), bizonyos paraméterek esetében (hasznos mikroorganizmusok élősejtszáma, összes szerves széntartalom, C/N arány, savban nem oldódó lignintartalom, GI, biopeszticid hatás) pedig jobb eredményt is mutatott, mint a szarvasmarhatrágyát és őszi árpa szalmát tartalmazó kontroll komposzt.

**3. táblázat: Komposztok főbb kémiai tulajdonságainak változása
(szárazanyagra vonatkoztatva)**

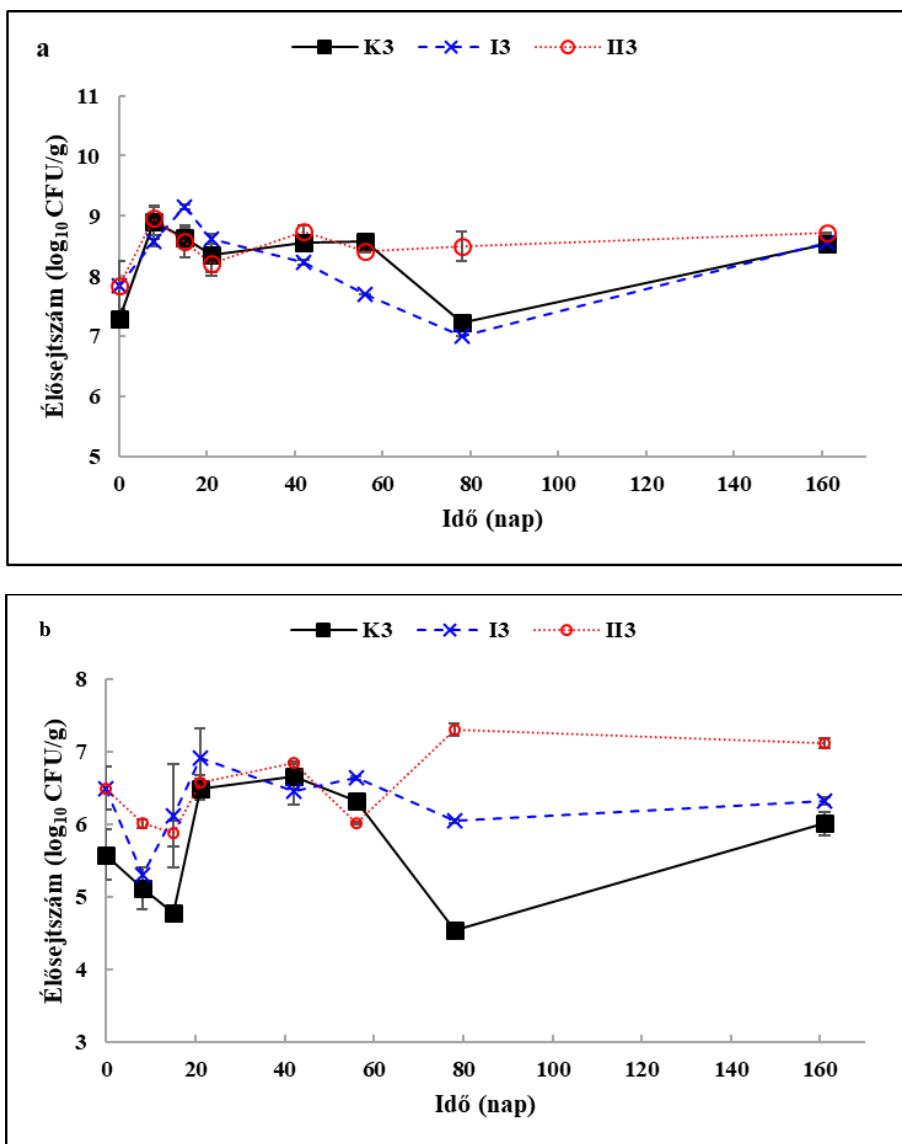
Paraméter	Idő (nap)	K ₃	I ₃	II ₃
Biodegradációs koefficiens (K _b)		0,35	0,46	0,53
Szén/nitrogén arány ¹	0.	32,43 ± 2,45 ^a	32,99 ± 0,34 ^a	32,99 ± 0,34 ^a
	161.	17,60 ± 0,15 ^b	19,05 ± 0,06 ^a	16,91 ± 0,18 ^c
Savban nem oldódó lignintartalom (%) ¹	0.	15,05 ± 0,58 ^a	15,60 ± 0,74 ^a	15,60 ± 0,74 ^a
	161.	14,09 ± 0,33 ^{ab}	14,16 ± 0,68 ^a	12,66 ± 0,99 ^b

K₃: Kontroll komposzt; I₃: Gyógynövényes kontroll komposzt; II₃: Inokulált gyógynövényes komposzt

¹ Az adatok három párhuzamos átlag ± szórás értékeit jelölik

^{a-c} A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek ($p < 0,05$).

A *Cellulomonas flavigena* NCAIM B.01383 és a *Streptomyces viridosporus* NCAIM B.02369 baktériumok alkalmazása hozzájárult a szerves széntartalom és a szervesanyagtartalom csökkentéséhez (TOC%: 42,33; OM%: 87,27), a biodegradációs folyamatok hatékonyságához (biodegradációs koefficiens: 0,53), a megfelelő nitrogéntartalom biztosításához és ezáltal egy jobb C/N arányt biztosított a végterméknek (16,91). A hasznos mikroorganizmusokat tekintve hatással volt a mezofil cellulózbontó mikroorganizmusok-, a streptomicetes- és a mezofil penészgombák számának változására is, elsősorban a hűlési/érés szakasz során (1. ábra).



1. ábra: Komposztok mezofil cellulózbontó baktérium- (a) és mezofil penészgomba-számának (b) változása

(K₃: Kontroll komposzt; I₃: Gyógynövényes kontroll komposzt; II₃: Inokulált gyógynövényes komposzt)

Az inokulummal kiegészített II₃ komposzt jelentős antipatogén hatást is mutatott a vizsgált növénypatogén mikroorganizmusokkal (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *Xanthomonas campestris*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*) szemben. Összességében az inokulum alkalmazása mérsékelte a gyógynövényhulladék csírázási indexre gyakorolt negatív hatását (GI: 97,1%), gyorsította a lebontási folyamatokat, csökkentette a komposztálási időt és ezáltal egy jobb minőségű végterméket eredményezett. A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy kontrollált körülmények között, az adott mikrobiológiai inokulum gazdasági és környezeti szempontból is kedvezően hatott a gyógynövényhulladékok együttes komposztálási folyamatára.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A gyógynövényhulladékok szarvasmarhatrágya és őszi árpa szalma adagolása mellett biztonságosan komposztálhatók.
2. 60%-nyi gyógynövényhulladék esetén a kereskedelmi forgalomban is kapható, komposztálást gyorsító mikrobiológiai készítmény hatástalannak bizonyult.
3. Nagy mennyiségben adagolt extrahált gyógynövényhulladék (60%) pozitívan befolyásolta a termofil szakasz hosszát, a vizsgált hasznos mikroorganizmusok kezdeti számát és a biodegradációs folyamatokat, azonban csökkentette a komposzt nitrogéntartalmát és csírázási indexét, ezáltal a végtermék minőségét.
4. Az extrahált gyógynövényhulladék komposztja négy vizsgált növénypatogén mikroorganizmussal (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* B.01109, *Xanthomonas campestris* B.01466, *Sclerotinia sclerotiorum* NCAIM F.00746, *Verticillium dahliae* F.00734) szemben biopeszticid tulajdonsággal rendelkezett.
5. A kifejlesztett, új mikroorganizmus-keverék kedvezően befolyásolta a biodegradációs folyamatokat, és az így előállított komposzt a 161. napon érettnek és potenciális enteropatogénektől mentesnek bizonyult.

5. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN ÍRT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK, MEGTARTOTT ELŐADÁSOK

Lektorált tudományos közlemények

Angolul:

1. **Greff, B.,** Szigeti, J., Varga, Á., Lakatos, E., Sáhó, A., Varga, L. (2021). Co-composting of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) waste and cattle manure with and without bacterial inoculation. *3 Biotech.* 11:306. DOI: 10.1007/s13205-021-02860-2 [IF(2019): 1,798]
2. **Greff, B.,** Lakatos, E., Szigeti, J., Varga, L., (2021). Co-composting with herbal wastes: Potential effects of essential oil residues on microbial pathogens during composting. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* 51:457-511. DOI: 10.1080/10643389.2020.1732780 [IF(2019): 8,302]

Magyarul:

1. **Greff, B.,** Hanczné Lakatos, E., Szigeti, J. (2019). Extrahált gyógynövények komposztálási lehetőségeinek vizsgálata. *Acta Agronomica Óváriensis.* 60:16-30.

Nemzetközi szabadalmi bejelentés

1. **Greff, B.,** Lakatos, E., Varga, L., Ásványi, B., Szigeti, J., Molnár, Z., Sáhó, A. Mikrobiológiai anyag és eljárás gyógynövényhulladékok komposztálására. P2000287 bejelentési számú szabadalmi bejelentés.

**Tudományos konferenciák
teljes terjedelemben megjelent anyagai**

Magyarul:

1. **Greff, B.** (2019). Nehezen komposztálható gyógynövény maradványok biológiailag aktív vegyületeinek hatása a lebontási folyamatot végző főbb mikroorganizmusokra. *Új Nemzeti Kiválósági Program 2018/2019 Tanulmánykötet*. Széchenyi István Egyetem. Győr [ISSN 2630-8134]
2. **Greff, B.,** Varga, Á., Hanczné, Lakatos E. (2018). Gyógynövények hatóanyagainak kinyerése után visszamaradt extrakciós maradványok komposztálhatóságának vizsgálata. *XXXVII. Óvári Tudományos Napok, 2018. november 9-10. Fenntartható agrárium és környezet, az Óvári Akadémia 200 éve - múlt, jelen, jövő*. Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar. Mosonmagyaróvár [ISBN 978-615-5837-15-9]