

# Pannon Egyetem Mérnöki Kar

## Intézményi Tudományos Diákköri Konferencia'23

Válogatás a Mérnöki Kar hallgatói által a 2023. évi Intézményi Tudományos Diákköri Konferencián bemutatott pályamunkákból

Szerkesztette: Dr. Ható Zoltán és Dr. Valiskó Mónika



PE Mérnöki Kar  
Intézményi Tudományos Diákköri Konferencia'23

Válogatás a Mérnöki Kar hallgatói által a 2023. évi Intézményi Tudományos Diákköri Konferencián bemutatott pályamunkákból

Szerkesztette: Dr. Ható Zoltán és Dr. Valiskó Mónika  
Kari Tudományos Diákköri Tanács

Kiadja a Pannon Egyetemi Kiadó  
8200 Veszprém, Egyetem u. 10.

ISBN 978-963-396-278-7

© Pannon Egyetemi Kiadó, Veszprém, 2024.



A kiadásért felelős a Pannon Egyetem rektora

## A konferencia szervezői

**Pannon Egyetem  
Mérnöki Kari  
KTDT elnök:**

Dr. Valiskó Mónika  
egyetemi docens, KTDT elnök  
Komplex Molekuláris Rendszerek  
Modellezése és Szimulációja  
Kutatócsoport

**Pannon Egyetem  
Mérnöki Kari  
KTDT titkár:**

Dr. Ható Zoltán  
tudományos munkatárs, KTDT titkár  
Komplex Molekuláris Rendszerek  
Modellezése és Szimulációja  
Kutatócsoport

## **Előszó**

Napjaink rohanó világában egyre inkább fontosságot nyer az utánpótlásnevelés, legyen szó bármilyen területről. Nincs ez másként a tudományos utánpótlásnevelés esetén sem, amelynek az elmúlt időszakban jelentős kihívásokkal kellett, hogy megbirkózzon. A Tudományos Diákköri (TDK) mozgalom egyik alapvető célja, hogy lehetőséget biztosítson az olyan tehetséges, elhivatott, munkájukra igényes fiataloknak, akiket vonz az ismeretlen, amely megismerése nem megijeszti, mint inkább bátorítja őket.

A TDK mozgalomban való részvétel már az egyetemi tanulmányokat megelőzően, a középiskolában is elkezdődhet. Az elért eredmények bemutatására a Mérnöki Kar minden félévben konferenciát szervez, ahol mind az alap-, mind az alkalmazott tudományokhoz kapcsolódóan lehetőségük van a résztvevőknek az elért eredményeik bemutatására. A bemutatott tudományos munkákat kutatási területeiken elismert kutatókból álló, tudományos bizottságok értékelik és javaslatot tesznek az országos konferencián való részvételre. A Mérnöki Karon hagyományosan a Biológia, Fizika Földtudományok és Matematika, a Kémiai és Vegyipari valamint a Műszaki Tudományi szekciókhoz tartozó tudományterületeken.

2018-ban azért hívtuk életre ezt a kötetet, hogy a Karon végzett TDK munkák közül, a legkiemelkedőbbeket bemutassuk és ezzel is kedvet csinálva azon hallgatóknak, akik szívesen végeznének ilyen munkát, de nem feltétlen tudják, hogy mi is az, ami leginkább érdekelné őket.

Kötetünk a 2023. november 22-én megtartott Intézményi TDK Konferencián első helyezett pályamunkák közül azokat mutatjuk be, amelyek szerzője ehhez hozzájárulását adta.

Ezúton is szeretnénk megköszönni a Témavezetőknek, Bírálóknak, Bizottsági Tagoknak a munkát, valamint természetesen a Hallgatóknak az elhivatottságot, lelkesedést, és alázatot, ami ahhoz vezetett, hogy tudományos kutatást végezzenek, és annak eredményeit ilyen magas színvonalon bemutassák.

Az olvasónak pedig jó szórakozást kívánunk. Reméljük, hogy kötetünk inspirációul szolgál a jövő kutatói számára.

A szerkesztők

## Tartalomjegyzék

<b>Gugolya Mónika:</b> Workspace design and monitoring framework to evaluate the collaboration between human-machine .....	6
<b>Gulyás Ferenc:</b> Felületmódosítás hatása a $\text{Cd}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{S}$ fotokatalizátorok hidrogénfejlesztő hatékonyságára .....	45
<b>Juhász Csenge Judit:</b> Illóolajok szuperkritikus extrakciójának optimalizálása adat alapú módszerekkel.....	80
<b>Majtán Márton:</b> Modell bio-olaj észterezésének vizsgálata módosított mesterséges zeolit katalizátorokon .....	120
<b>Rolya Alexandra:</b> GM1 ganglioside nanomicelles for controlled drug delivery of doxorubicin and paclitaxel in anticancer therapeutics .....	165



**Pannon Egyetem  
Intézményi Tudományos Diákköri  
Konferencia  
2023**



**Workspace design and monitoring framework to evaluate the  
collaboration between human-machine**

Készítette: Mónika Gugolya

Témavezető: Dr. Tibor Medvegy, Dr. Tamás Ruppert

Mérnöki Kar, Folyamatmérnöki Intézeti Tanszék

A pályamunka lezárásának dátuma: 2023. 11. 06.

## Abstract

Industrial development is marked by a pronounced shift towards human-machine collaboration, a trend exemplified by the beginning of Industry 5.0. This evolving industrial paradigm prioritizes human-centered solutions, emphasizing resilience and sustainability. A vital part of this collaboration is the need for robots to possess more complex cognitive abilities, facilitating safe co-working environments with humans. Technological advances have enabled diverse methods for monitoring human behavior. Analyzing these behavioral patterns enhances efficiency and collaboration.

This study introduces a setting where monitoring the operator and the robot is possible. It is achieved through a camera, an indoor positioning system, and wearable sensors. The collaboration can be represented by indicators (utilization of participants, level of stress based on physiological measurements of the person).

Targeted measurements were conducted, and the results underwent comprehensive analysis. The objective is to bridge the gap between human activities and collaborative robots and design their service to human needs. The developed methodology is presented in a complex demonstration game, and a design of experiments is shown.

**Keywords:** collaborative robot, human-robot interaction, indoor positioning system, design of experiments.

1	Introduction	9
1.1	Collaboration.....	10
1.2	Human-machine interface .....	13
1.3	Monitoring of the collaboration .....	14
1.4	Evaluating human-robot interaction .....	17
2	Developed framework	19
3	Use cases and the developed workspace	22
3.1	Description of the pattern building game .....	22
3.2	Description of the developed collaborative game.....	24
3.3	The applied UR5 robot arm and the developed scenario.....	27
3.4	Movement tracking with indoor positioning system .....	27
3.5	Human activity monitoring and evaluation method .....	28
4	Experiment at the Operator 4.0 laboratory	30
4.1	Learning curve .....	32
4.2	Micro movements .....	33
4.3	Macro movements.....	35
4.4	Task characteristics .....	37
5	Design of experiment.....	40
6	Conclusions and further steps.....	42
	Acknowledgements.....	42
	Bibliography .....	43

## Introduction

The manufacturing workforce faces a severe shortage of human labor globally and in Europe, driven by an aging population and rapid technological changes. A WHO report predicts that by 2024, those over 65 will outnumber those under 15 in the WHO European Region. This demographic shift poses challenges in social, economic, and health aspects, impacting the European economy by slowing down growth and reducing competitiveness [1]. Consequently, the need for solutions becomes apparent, and while some automation is possible, establishing a shared space for close interaction between humans and machines is crucial. This is what I am trying to provide a solution for. The industrial sector has become more digitalized, using automation and wireless communication. This trend, known as Industry 4.0, is gaining popularity among researchers. However, digitalization alone cannot solve all problems, and society must consider sustainability, resilience, and human-centered solutions [2]. Industry 5.0 addresses the differences between manufacturing and social needs by focusing on collaboration between humans and robots. This collaboration allows for the co-creation of products and a complementary working environment, as resilience, sustainability, and collaboration are crucial for the future [3].

The interactions between operators and machines have changed with the new industrial revolution [4]. However, even in the so-called smart factories, where there is data sharing between intelligent robots, workers are still seen as spectators, not an active part of the system. To change this and bring human-centered manufacturing to the forefront, robots should not replace the jobs of human workers but work together and assist the workers in helping with efficiency and productivity. The interaction between operators and machines has evolved through the years. The first generation, Operator 1.0, is when the human worker does manual work and is assisted with some support by the machine or uses manually operated tools. The Operator 2.0 generation represents when the operator works assisted by computers (for example, CNC machine tools) and information that links the

system. In the next generation, the worker cooperates with machines and computer tools. Operator 3.0 is what they call a human-robot collaboration (HRC) system. The future is represented by Operator 4.0, whose work is supported by machines when necessary because of their skills. The focus is on a system where automation further enhances human worker abilities [5]. Operator 4.0 aims to create a partnership between workers and machines that involves trust and cooperation. This way, the smart factories can combine the intelligent robots' powers and help their qualified and competent operators with new skills to take full advantage of every opportunity in the created system [6]. The operator can be supported in many forms; depending on that, it improves one of its skills. As a result, workers can be supported in many ways, improving their skills and abilities. As Industry 4.0 enhances the capabilities of manufacturing systems, it should also empower the workforce. The concept of Operator 5.0, particularly the "Resilient Operator 5.0," envisions a skilled individual using creativity and technology to overcome challenges, ensuring sustainable operations and workforce well-being in di-cult conditions [7].

The goal is to create a framework where it is possible to monitor and analyze robothuman collaboration. In light of this, I will review the following topics: collaboration, monitoring of the collaboration, cognitive systems, human-machine interaction, and the evaluation of these interactions. With the developed framework and based on the measurements, I will propose a design of experiments.

Following this introduction and the literature review, in [Chapter 2](#) I will present the framework and its components. [Chapter 3](#) shows the developed collaborative workspace at the Operator 4.0 laboratory, where I conducted experiments to analyze the learning curves for pattern building and the micro and macro movements of the human operators, leading to a thorough analysis of results and discussions of the experiments in [Chapter 4](#). The following section, [Chapter 5](#) is dedicated to the design of the experiment, explaining the methodology and parameters employed based on the experiences. The thesis concludes with a synthesis of findings in [Chapter 6](#), outlining potential avenues for further exploration in human-robot interaction

## 1.1 Collaboration

A new generation of robots was introduced called collaborative robots - cobots [8]. These industrial robots have been set up to replace human assistants or help in varied repetitive manufacturing tasks that are hazardous and monotonous to the worker. In the case of using collaborative robots, humans and robots are sharing a workspace. Thus, new human-robot interaction systems have been created for such systems to be able to enhance the abilities of both humans and robots [9]. Cobots are designed to work alongside

humans, using advanced safety technologies to ensure the appropriate level of automation. However, the systems become more complex as the collaboration between humans and cobots increases. This complexity has limited the industrial application of cobots in labor-intensive processes such as assembly [10].

Therefore, sets of methods are used to ensure safety during collaboration. Hand-guiding (HG) is used to drive a tool at relatively high speeds manually. It is compatible with human arm movements and generates the robot's trajectory at execution time. Another method is Speed and Separation Monitoring (SSM), which continuously monitors the motion of humans in the workspace and ensures a minimal protective distance to avoid collisions. Finally, the Power and Force Limitation (PFL) method reduces the effects of accidental impacts and maintains any contact under certain limitations [11]. The SafetyRated Monitored Stop (SRMS) method allows humans and robots to work in different areas. The robot has the autonomy to perform its tasks without limitations as long as the human is not present in its workspace. However, the human can only enter the robot's workspace when a safety-rated monitored stop is active, and the robot can only resume its work once the human has left the workspace. For this, safety-rated devices are necessary to detect the presence of humans and ensure their safety. Recent advancements in AI (Artificial Intelligence) have opened up new opportunities to address manufacturing challenges in ways that were impossible before.

Human-robot collaboration can be classified into levels that depend on how humans and robots work together in their respective spaces (see in Figure 1). These levels are closely linked to the way they interact with each other during their work [12]. The first level is when the robot is fully programmed. Most industrial robots are such and are pre-programmed to execute a specific set of repetitive actions for a fixed task. To ensure safety, these robots are usually installed behind fixed security barriers that separate the human workspace from the robot workspace. In this setup, the robot's workspace is only available, and the robot's actions do not require any decision-making. The next level, co-existence, involves robots kept separate from humans by a physical or virtual barrier. These robots can still contribute to shared tasks but do not share the same workspace as humans. In this case, robots can be helpful for tasks that require precise movements or are too dangerous for human workers, such as welding or working with hazardous materials. Following, robots can work as assistance; they are designed to help humans with physical tasks that are difficult or impossible for them to do alone. These robots are typically used in settings where they can help with lifting and moving things. Unlike co-existence, assistive robots do not have an independent task space and are designed to work alongside humans. Cooperation is the next level of human-robot interaction, where robots and humans share the same workspace and resources but sequentially work on separate tasks.

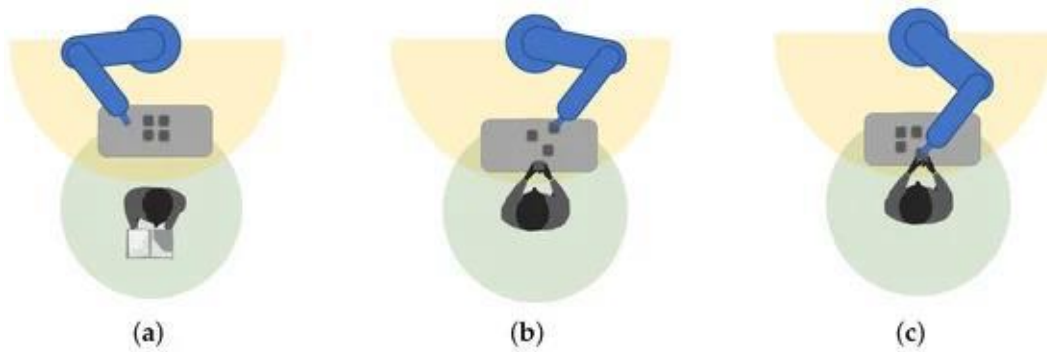


Figure 1.1: Collaboration levels: (a) Coexistence; (b) Cooperation; (c) Collaboration [12]

There is an intervention zone where tasks may be shared, but there is no physical contact between the two. Cooperation robots can be helpful in tasks that require human and robot input, such as assembly lines. The final level is collaboration, where collaborative robots work alongside humans, sharing the same workspace and tasks. These robots can make decisions based on human and robot input and may involve physical contact or communication, such as gestures or voice commands [13]. Collaborative robots are helpful when tasks require close cooperation between humans and robots, such as in advanced manufacturing settings [14].

Additionally, some studies proposed task planning for collaborative work between humans and robots based on human motion prediction. For example, Liu et al. proposed a probabilistic model for human motion prediction for task-level human-robot collaborative assembly [15]. Finally, another example introduced an integrated framework for human-robot collaboration, where the robot perceives and adjusts to human actions [16]. Human motion prediction has been applied effectively to various human-robot interaction problems. The first step involves determining the optimal delivery position using a cost function considering multiple factors, such as the worker's skeletal data measured by a 3-D vision sensor. This cost function is based on human-robot interaction and is designed to find the most efficient delivery position. The second step is to predict the worker's motion using position data from the vision sensor. This prediction helps the robot plan its actions more effectively, and after each work cycle, the worker's model is updated using stored position data. Finally, in the trajectory planning and control step, the robot calculates the optimal trajectory from its current position to the delivery position. The robot's motion controller ensures that it follows the estimated trajectory, enabling the successful delivery of parts/tools to the worker [17].

## 1.2 Human-machine interface

These developments in automation require research in human-machine interaction to create a suitable interface for collaboration. Many frameworks make the interaction between humans and machines straightforward and robust. The solutions for the interfaces can be a simple Light Emitting Diode (LED) indicator or a more complicated graphical user interface (GUI); while both can transfer information to the person, their complexity varies [18]. The goal for the operator is to understand the system's current behavior and intentions [19]. Information is recognized mainly by vision, audition, and tactility. However, visualization has the most critical function in human-machine interaction. The virtual information from the robot needs to be transferred and transformed into recognizable visual components, including characters, images, and colors. The design's quality depends on its readability and its ability to show the information [20].

Different types of interfaces can be applied, such as tangible and non-tangible. The tangible interfaces include a mouse, keyboard, and touch screen, and the non-tangible interfaces are based on something, for example, gestures, facial expressions, etc. They all have different purposes, for instance, vehicle control and working with a robot.

Hand gestures can be a valuable and intuitive way to interact with a human-machine interface. Users can communicate with the machine by using natural gestures that people already know how to make, such as pointing, waving, or swiping. However, some considerations exist when designing a human-machine interface that incorporates hand gestures. One important consideration is that the interface should be prepared to recognize the gestures accurately and reliably so that users do not become frustrated with missed or misinterpreted gestures. In addition, hand gestures may not be the best input method for all situations, such as when users must input a large amount of text [21].

Facial expressions can also be used in human-machine interfaces to convey emotions and intentions. There are several ways in which facial expressions are used in human-machine interfaces, including emotion recognition. Facial expressions can be used to detect and recognize emotions in humans, allowing machines to respond appropriately. Facial expressions can also provide feedback to machines on how well they are performing. For example, if a person is frowning or looking confused, a machine may interpret this as a sign that it needs to provide more information or assistance. In addition, they can control machines, such as in virtual reality. Various technologies, such as cameras, sensors, and machine learning algorithms, enable facial expression recognition in human-machine interfaces. These technologies can detect and analyze facial features, such as eye movement, eyebrow position, and mouth shape, to determine the user's emotional state and intentions [22, 23].

Tangible human-machine interfaces are the type of interface that allows users to interact physically with digital systems or machines using physical inputs. These interfaces are designed to make it easier for users to control and manipulate digital information. For example, touch-based inputs (touchscreens), such as taps, swipes, and gestures, are used to manage digital systems. Touchscreens are commonly used in smartphones, tablets, and other mobile devices. They can also provide physical feedback to users, such as vibrations in response to their inputs [24]. However, the workspace where the interface is being used can limit the possibilities, such as lighting conditions and noise level. Besides, limitations can be caused by the operator, such as wearing protective clothing, needing a one-handed or free-handed operation, or safety regulations [25].

The future focus may be on human-machine interaction systems with flexible and wearable components instead of larger electronic devices. Flexible sensors and electric appliances with excellent mechanical flexibility are essential for practicality. Wearable human-machine interfaces rely on precise and adaptable sensors to collect real-time human physiology and environment data. In addition, these systems utilize various communication modes in interactive systems. Wearable HMI systems are currently used in advanced applications such as intelligent identification and security, interactive robot controls, and augmented and virtual reality [26].

### **1.3 Monitoring of the collaboration**

The Human Cyber Physical System (H-CPS) contains the human, physical and cyber worlds. It brings the different parts together by highlighting their strengths [27]. The performed tasks should be monitored to create the Operator 4.0 scheme, and the data should support the operator's activities. By creating an intelligent space [28], these could be possible. While working, it should guide the operator when help is needed. The movements of the operators could be followed by a camera system or real-time locating system to obtain and analyze data on the situation. Incoming data can be processed using artificial intelligence and machine learning solutions [29]. With these, improving process performance and quality is achievable [5].

To keep track of the surroundings effectively, cameras are used for accessibility and cost-effectiveness [30]. However, processing real-time information on limited devices is challenging. It is crucial to extract only essential data from the cameras, especially in complex areas. Using multiple synchronized cameras can monitor complex actions [31]. These systems analyze trajectory data from operator movements, allowing online performance evaluation and identifying potential issues. The results can guide further development in areas where the operator may need improvement.

The cameras part of the monitoring system should be mounted at designated positions to see the workspace. The coordinates of the recognized parts in the camera must be related to coordinates previously determined in the workspace by naming specific points. Calibration can be done by placing markers at distinct positions and estimating their coordinates in the images. [32]

While working, the operator moves in an indoor environment, not just in the immediate area of the robot arm. Indoor positioning systems (IPS) can recognize and track the movements of the relevant objects and humans [33]. The system comprises basic elements (see Figure 1.2). The tag tracks the motion of the worker or objects it is attached to. Anchors are the reference points for the signals coming from the tags. Finally, the server is where the position is calculated with the suitable algorithm [34]. The communication of the systems can be constructed using WiFi, RFID (Radio Frequency Identification), GPS (Global Positioning System), UWB (Ultra-wideband), Bluetooth, or a combination of these. The different types can have various parameters. The range can vary each time, and the chosen type should depend on the longest distance the information travels. There is also a difference in how accurately it can reflect the position. Not all of them can work indoors; satellite-based GPS must have a clear view of the satellites, so it can not work in closed space. It can also be considered what types of infrastructure is already available [35]. The position of these tags, which the locating system uses, can be calculated with different algorithms. The distances can be estimated using the received signal strength indicator (RSSI), and the time of arrival (TOA) [36]. With these tags, the locations of resources are more easily accessible so that they can be obtained more quickly. Time and motion patterns can be found using the locating system on moving

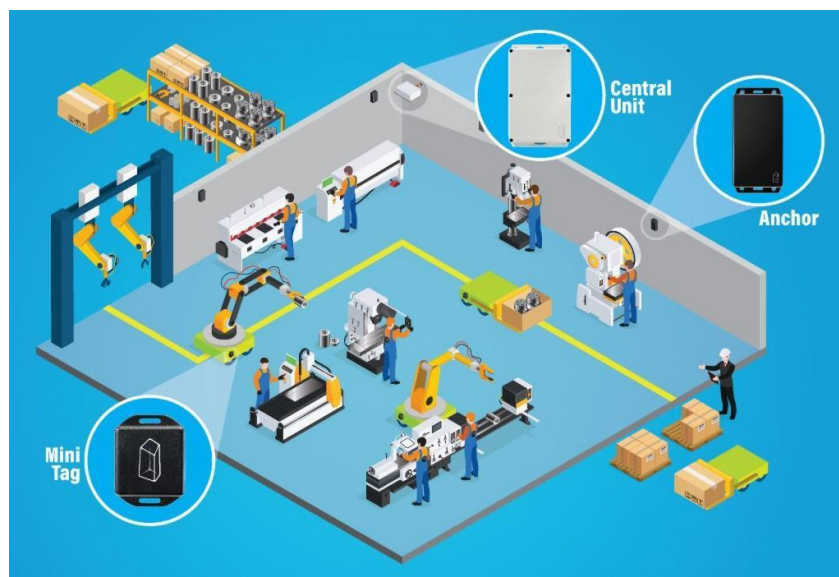


Figure 1.2: The main elements of the real-time locating system

objects. These can vary, and after analyzing the data, the results can be used to increase efficiency or reduce the number of repeated events [37]. Besides, the collected data from the tracked operators can be used to create a better work environment, for example, by changing the task orders or modifying the locations of resources [5] or even monitoring the comfort level of the operators [38].

## 1.4 Evaluating human-robot interaction

In human-robot collaboration (HRC), various aspects of robots and humans contribute to the overall dynamic. An essential challenge involves devising a comprehensive framework for assessing the collaboration between humans and robots, encompassing all parts of their interaction [39]. Relevant for the effectiveness of HRC is complementing human factors and proper worker training. Adequate training ensures workers can collaborate effectively and safely with cobots, ultimately improving overall efficiency and productivity. Trustworthiness and ethics are vital considerations. Trustworthiness relates to the reliability of the collaborative system to behave safely and predictably. Ethics involves the moral principles guiding collaborative system design and actions. These aspects are critical for ensuring beneficial collaboration between humans and cobots from a broader perspective. Key Performance Indicators such as productivity, efficiency, accuracy, and uptime are crucial in HRC. Humans must retain control over problem-solving and supervision to maintain flexibility, trustworthiness, and machine workload balance. Collaborative robots designed for safe interaction with human workers enhance work cell flexibility, fostering efficient and collaborative human-robot teamwork. Consideration during the design, selection, and development of hardware and automation systems should align with the specific application and role within the HRC system. The Human Digital Twin [40] should be a comprehensive source of truth, encompassing all relevant aspects of the HRC system, including worker-related elements. It is a centralized access point for structured data, supporting monitoring, simulation, training, decision-making, and autonomy functions. Re-configurability management is necessary at two levels. In the short term, the system should adapt to deviations from optimal and safe performance. If short-term adjustments are insufficient, long-term re-configuration actions must be identified and planned, addressing systemic issues that require in-depth analysis and additional efforts [41].

Establishing a "collaboration scale" enables people to assess and contrast various approaches concerning integrating collaborative robots. Additionally, this scale can serve as a valuable instrument for identifying solutions that enhance specific process parameters, such as efficiency or effectiveness [39]. Standard and relevant metrics can be specified for HRC, focusing on robotics systems operating in co-existence, cooperation, and collaboration

scenarios with humans. They represent basic, precise, or straightforward variables derived from data collection (such as overall cost and error count) or direct physical measurements in both robots and humans (such as the time taken for a specific action and joint acceleration). These variables clarify the present or concluding condition of the human, robot, process, or interaction. Multiple types of measures can be specified. Time behavior measures indicate the response and processing times required by a human, robot, or a combination of both to execute functions, sub-tasks, or complete tasks. Such metrics include human idle time, algorithm processing time, collaboration time, and task completion time. Process measures encompass facts gathered from the initiation to the completion of a task or sub-task, incorporating cost, workspace design, safety, and product quality elements. Examples of these metrics include the number of errors and the quantity of assemblies achieved. Physiological measures involve values derived from body metrics that offer insights into the current state of the human, such as the acceleration of human joints and heart rate. Human-robot physical measures entail values from sensors that reflect the ongoing state of interaction, such as the distance between the human and the robot [\[42\]](#).

## Chapter 2

### Developed framework

Analyzing and understanding human behavior plays a big part in designing more efficient robotic systems. The developed use case for monitoring the collaboration between the operator and robot is presented through a game. In this scenario, the robot represents the collaborative partner.

It is a two-player board game where the players are the human and the robot. They share a workplace where they play against each other. A board and pieces to play with are needed to set up the play area. These must be suitable for the robot to pick up and place the pieces on the board smoothly. To accomplish this situation, the game has a solving algorithm to determine the next step. The algorithm serves as the robot control. The tasks are to manage the robot arm's motions so it can do its job to be a proper opponent and the game can flow without interruptions.

The results from the algorithm that calculates the next step are transformed for positions for the robot arm so it can move to the determined place. While playing, not only the robot arm is moving and performing tasks. Measuring the operator's movements and reactions is also one of the tasks. The basic tic-tac-toe game is relatively simple, with two players taking turns placing their pieces. However, adding a treasure hunt element to the game can make it more complex. The tic-tac-toe pieces for the human player are hidden, so they have to find them to make their next move. Therefore, the player is standing next to the board and moving inside. The help of an indoor positioning system's (IPS's) tags is used to help the finding process. An alternative version of the game involved first creating a pre-established pattern multiple times at the start to study the learning process. Following this, participants played a tic-tac-toe game against a robotic arm, similar to the earlier version. Meanwhile, when it was not playing the tic-tac-toe game, the robotic arm replicated the pattern generated by the human participant in the previous phase.

In most cases, the robot and the operator work in separate spaces without much interaction and influence on each other. However, working together can enhance the ability of

both robots and humans. Therefore, monitoring where the operator and the robot work together is essential for collaboration.

When robots and humans work in the same workspace, their movements should be monitored and observed because they have valuable information for future use. This is done using a camera, an IPS, and wearable sensors, which together form a framework, as seen in Figure 2.1: for monitoring and observing the movements and events of both the human and the robot. The defined workspace, which represents the created collaborative space, is where the operator and the robot arm work together to complete a task. The operator is responsible for the primary goal, with the robot arm supporting the task. Therefore, the movements of both the human and the robot arm impact the workspace and the task at hand. By monitoring and analyzing their movements, valuable insights can be gained to improve performance, safety, and efficiency.

The camera and the IPS are intended for observation. A camera is positioned above the workspace to record the current events. Depending on what the robot arm is doing, the operator's actions may vary, and with a camera system, these changes can be observed. The camera captures images of the workspace and detects changes in the environment, such as the objects' location and movements of the human operator and the robot arm. The changes can include how the human operator moves their arm, how they place the

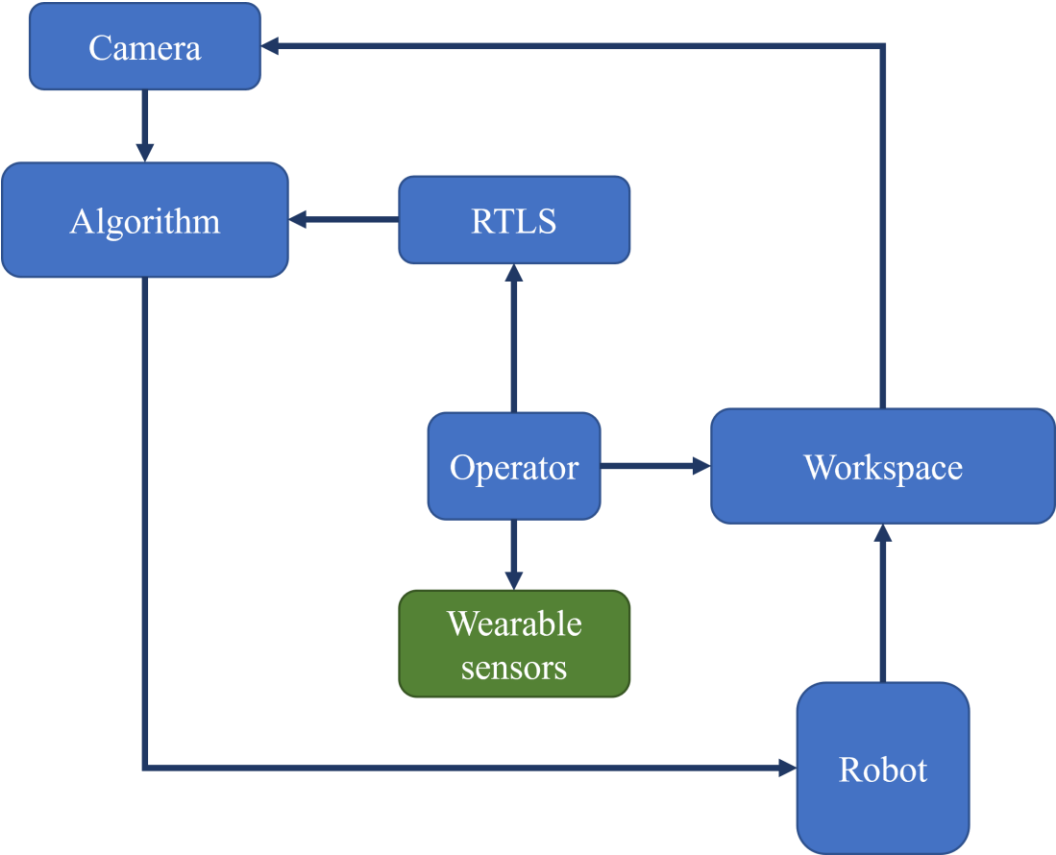


Figure 2.1: The developed framework

next part, and from which direction. Besides, the camera can detect the current status of the workspace. These results are one of the identified positions on the board. In addition, the information is saved on who performed each step. The input for an algorithm is determined from the positions the camera detects. These inputs are the previously mentioned motion changes and the current status of the workspace. The board's previous status is saved in a matrix containing positions and information on whether the human or the robot did the step. The algorithm can calculate what will happen next with this camera input about the workspace's status. The algorithm output is responsible for the robot arm's following act, which is position data of where the robot will move next.

The operator works near the robot arm and collects the necessary parts. Finding different parts can take different times, determining when the robot arm's following action will happen. While the operator is searching for the next part with the help of the tracking system, the robot can work on other things in the meantime. The tags of the IPS indicate the positions where the operator should go for the next piece. Knowing the average time needed to find the next part, the next task of the robot can be determined. This way, the robot does not have idle time and does not need to wait for the operator to do the next task.

As seen in Figure 2.1: the wearable sensors box is a different color because in the future, besides the camera, I plan to add the possibility of measuring physiological signs.

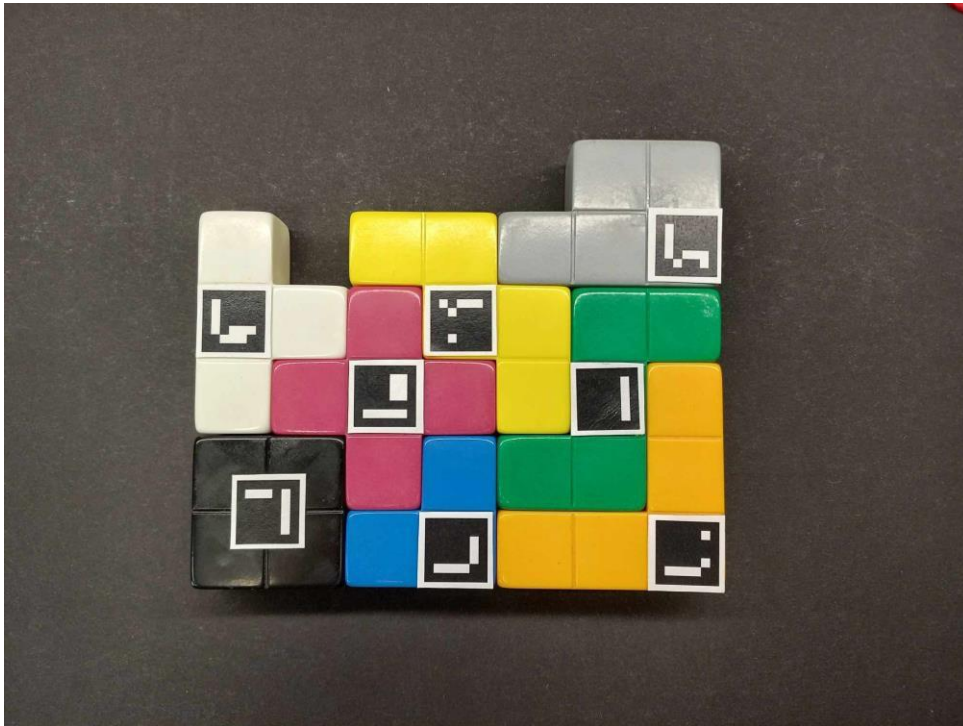
## **Chapter 3**

### **Use cases and the developed workspace**

The developed use case for monitoring the collaboration between the operator and robot is presented through a game. First, the player builds a predefined pattern several times until they reach a level where they make the pattern in about the same amount of time. After they play a tic-tac-toe game, it is a two-player board game where the players are the human and the robot. They share a workplace where they play against each other. A board and pieces to play with are needed to set up the play area. These must be suitable for the robot to pick up and place the pieces on the board smoothly. To accomplish this situation, the game has a solving algorithm to determine the next step. The tasks are to manage the robot arm's motions so it can do its job to be a proper opponent and the game can flow without interruptions. The results from the algorithm that calculates the next step are transformed for positions for the robot arm so it can move to the determined place. While playing, not only the robot arm is moving and performing tasks. Measuring the operator's movements and reactions is also one of the tasks. When not playing tictac-toe, the robot builds a pattern.

#### **3.1 Description of the pattern building game**

In this game, players are presented with a predetermined pattern (as seen in Figure 3.1: they must create. Pattern building helps compare robot and human work capacity and performance. This design is formed using eight cubes of various shapes and colors. The players are introduced to this pattern for the first time. The process of assembling the pattern continues until players reach a level where they consistently complete the task in nearly the same amount of time. This progression indicates a mastery of the game as players become adept at arranging the cubes in the prescribed manner. As players engage themselves in the game, they are not only tasked with replicating the visual pattern but also with strategizing their cube selections and placements. The familiarity with the cube



*Figure 3.1: The predefined pattern of the building game locations allows players to develop tactics and optimize their approach.*

Each cube is marked with an ArUco code attached to its top surface, allowing the camera to recognize whether the pattern has been correctly assembled. Each ArUco code is associated with a unique numerical identifier, which can be identified using the corresponding OpenCV library. The integration of ArUco codes serves a dual purpose. Firstly, it verifies whether the pattern has been successfully reproduced. Secondly, it provides a means of assessing the accuracy of the player's arrangement. To achieve this precision assessment, a reference image is initially created. In this reference image, a specific orange cube is selected as the anchor point. The angles at which the other cubes are arranged are calculated relative to this anchor point. This reference data serves as a benchmark for evaluating subsequent attempts. As the player completes the pattern, real-time analysis is performed on the arrangement using the ArUco codes. The angles of the cubes in the assembled design are compared to those in the reference image, and the system calculates the deviation. To account for slight misalignments due to human error, a tolerance threshold is set. If the estimated deviation falls below this threshold, typically 10 degrees, the system confirms the accuracy of the pattern. Conversely, if the deviation exceeds this threshold, the system detects a misalignment in the arrangement.

## 3.2 Description of the developed collaborative game

Tic-tac-toe is a two-player strategy board game. This collaborative game is for measurements during the collaborative process. Traditionally, the two players play with X and O-shaped pieces and take turns placing their marks on the  $3 \times 3$  board on any remaining free space. The winner is the one who manages to place three pieces in a line, horizontally, vertically, or diagonally.

In this case, one player is the human, and the other is the robot arm. While playing, an algorithm calculates the next move of the robot arm, and a camera monitors the state of the game and gives feedback. For example, the human player places the first piece on the board, and after the camera's algorithm recognizes where it was placed, the game solver algorithm can calculate the next act of the robot arm.

The Python package that determines the next step uses the minimax searching algorithm to simulate every possible move and counter-move [43]. This way, depending on the current game state, it will always pick the best move. The program was initially designed to test the effectiveness of each algorithm by simulating multiple games and showing how each algorithm held up against the other. However, it was modified to play only one game, with one of the inputs being the human player's movement and the other the algorithm's.

In order to play against the robot arm, a board and the X and O pieces are required. The pieces had to be of a size and shape that could be easily picked up by the robot arm and stacked on top of each other. With the circular shape, even if the robot rotates it, they fit. As shown in Figure 3.2: both pieces' bases are black with the X and O shapes in white on top of them so that the camera can see them. The 3-dimensional model was made, and the plastic discs were printed with a 3D printer, 5 – 5 each, so either could start. The inside of the pieces is hollow so that they can be stacked on top of each other and take up less space.



(a) O pieces

(b) X pieces

*Figure 3.2: The model of the pieces for the game*

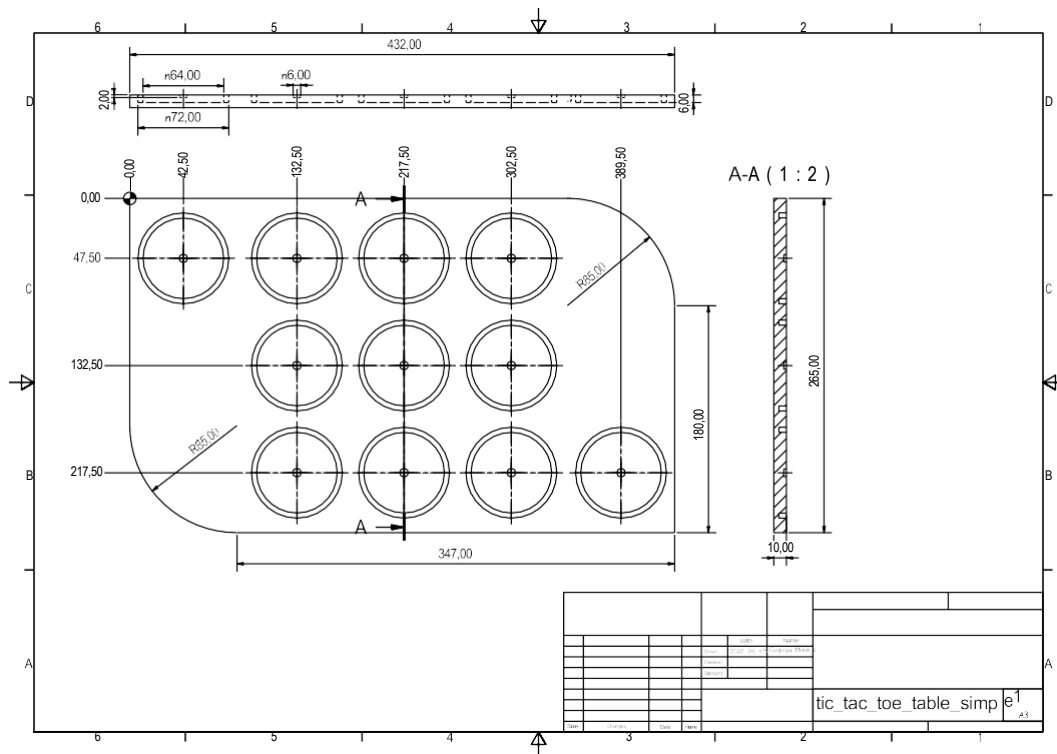


Figure 3.3: The technical drawing of the board

In designing the board, it had to be considered that the discs always had to be in the same position so that the camera could recognize the positions. Therefore, slots were created for the pieces to fit into and on either end for storing them. The depth of the holes is less than the height of the discs so that they can be easily removed. The size of the board is such that it fits on the table holding the robot, and the robot arm can access all positions. After designing the board and making the technical drawing, seen in the Figure 3.3: it was sent to a company that helped make it. The board was painted black (similar to the bases of the pieces), so the camera could easily separate the white X -s and O-s. The camera is positioned at the end of the board in the middle to see what is happening, which can be seen in Figure 3.4: It is mounted on a pole above the board and connected to the computer via USB. OpenCV is the Python package that detects the game's current state with a camera. There are four red dots on the edges of the three-by-three square where the pieces are to help the camera focus, as the Figure 3.5: shows. After detecting the current game's status, it returns the positions to the algorithm. A downside of using camera recognition is that it is affected by lights. To eliminate this problem, the function of the camera is called multiple times. With the help of the matrix containing the board's previous status, the board recognition function is called until there is only one difference between the current and previous status matrix.



Figure 3.4: The developed workspace

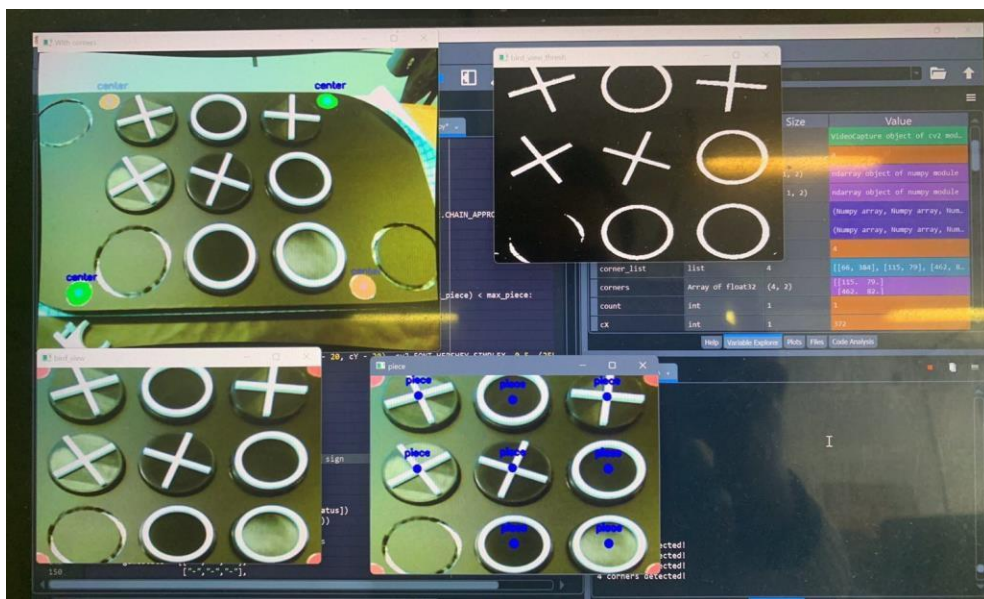


Figure 3.5: The tic-tac-toe game's state recognition program

### **3.3 The applied UR5 robot arm and the developed scenario**

The robot arm used is a Universal Robots company's UR5 model, a collaborative robot. A safe collaborative workspace can be achieved with the help of a collaborative robot. The robot arm can be programmed from its own teach pendant, but it is limited. Simple movements, picking up, and placing can be programmed from there. Sensors could be used for the signals, but the options are finite; for example, image recognition is impossible. So, to play the tic-tac-toe game, another programming interface was needed. The programming interface used is Python because there are a lot of open-source packages that can help create the situation. One of these packages is the urx Python package. With this package, it is possible to program the robot arm from a computer by connecting the computer and the robot to the same network. This way, making more complicated programs with the robot arm, like the tic-tac-toe game with camera recognition, is possible. Similar to the programming with the teach pendant, instructions can be given, like moving the robot and opening or closing the gripper.

The nine places the pieces could go for the game had to be determined. By fixing the board to the table of the robot, these positions always remained the same; they did not need to be calibrated every time. After moving the robot to the specific places, the coordinates were saved in the Python program labeled with the locations. Similarly, the storage positions were defined, from which the robot takes the pieces.

The robot and the player move in the same space as they play against each other on the board. While the human can move out of the robot's route, the robot can not do that if the player is in the way and does not pay attention. The advantage of collaborative robots is that they do not have sharp edges, and colliding with something (even with less force) causes a protective stop. This way playing against the robot arm is relatively safe.

### **3.4 Movement tracking with indoor positioning system**

The basic tic-tac-toe game is relatively simple, with two players taking turns placing their pieces. However, adding a treasure hunt element to the game can make it more complex. The tic-tac-toe pieces for the human player are hidden, so they have to find them to make their next move. Therefore, the player is not just standing next to the board but also moving inside. The help of IPS tags are used to help the finding process and to track the movements of the participants, and it can be visualized as seen in Figure 3.6:

This indoor positioning system uses ultra-wideband for communication. The data obtained from the system is an X and Y coordinate of the tag and the signals from the

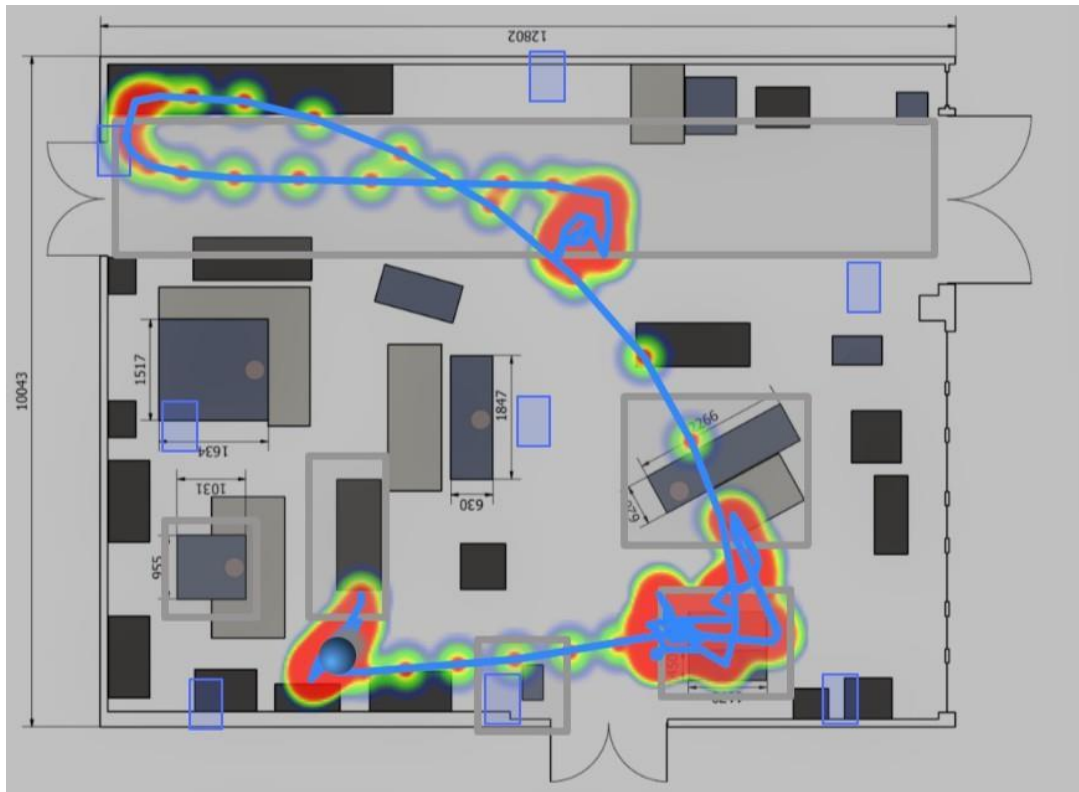


Figure 3.6: The movement of the player

sensors in it. The system can determine the location of the tags with an accuracy of 50 centimeters. There is an internal LAN network and eight anchors that gathers the data. A central unit collects this information and forwards it to the cloud server, where the position calculations are done.

### 3.5 Human activity monitoring and evaluation method

In human-robot collaboration, one crucial aspect is knowing what the worker is doing. This information is essential for scheduling, planning, and managing tasks effectively. To achieve this, I rely on making observations, which can be divided into categories. Firstly, I have micro-movements. This refers to workers' small, subtle movements while performing tasks, such as placing and picking up parts. Secondly, I have macro movements captured through indoor positioning systems. This observation category refers to workers' more substantial, prominent movements while navigating a workspace. IPS data can help us understand the worker's movements through the space, and I can use this information to optimize their path or avoid potential collisions.

The IPS's tag indicates the location of these hidden parts. This way, the pieces can be hidden somewhere different every time. The positions are displayed on a monitor to help the player find them. The player also has his tag to track his movements while searching for the disks.

The system can visualize the movement of the player while they are searching. The room has a floor plan with all the furniture and equipment shown, and the route can be displayed on this. For example, it can be seen where the player moved, where they spent more time searching for the piece, and which route they took. Different players have different tracks, and these take various times.

The coordinates can be used to calculate the Euclidean distance ( $d$ ) between two points and then summed to calculate the total distance walked. In the Euclidean plane, the points have Cartesian coordinates. Then the distance between beginning  $A(p^1_i, p^2_i)$  and the end  $B(p^1_{i+1}, p^2_{i+1})$  can be calculated, where  $i$  is the number of points.

$$d = \sqrt{(p^1_{i+1} - p^1_i)^2 + (p^2_{i+1} - p^2_i)^2}, i \in \mathbb{N} \quad (3.1)$$

As the analysis of micro-movements and macro movements through indoor positioning systems provides valuable insights into workers' activities in human-robot collaboration, my evaluation method builds upon these observations by introducing a game-based scenario to assess the e-ciency, adaptability, and collaborative synergy between humans and robots, incorporating quantitative measures such as time to evaluate the dynamics of collaborative work comprehensively.

Unlike traditional evaluations that rely solely on quantitative measures, my approach introduces an environment that mirrors real-world collaborative scenarios. Through a series of tasks, including pattern building by humans, robot playing tic-tac-toe, human playing tic-tac-toe, robot building pattern, and human searching in the lab, I aim to evaluate the e-ciency, adaptability, and collaborative synergy between the human and the robot. Furthermore, including time as a pivotal metric adds a quantitative dimension to the evaluation. Timing each task provides insights into the e-ciency of both human and robot collaborators and analyzes their respective strengths and areas for improvement. The emphasis on time also aligns with the dynamic nature of collaborative work, where swift and precise actions often define success. Including physiological metrics will add a layer to the evaluation, offering insights into the well-being of the human collaborator.

## Chapter 4

### Experiment at the Operator 4.0 laboratory

Two targeted measurement was performed. These experiments aim to understand human behavior and develop an evaluation system for collaboration. In the first measurement, 15 participants played a tic-tac-toe game against the robot. As seen in Table 4.1: ten men and five women of varying ages participated. They come from different scientific fields and have different educational backgrounds. During the measurement, the robot started the game, followed by the player, who had to find the pieces needed for each move. The parts were hidden in the same place each time, so it can be compared to how long it took to complete the game. The aim is to adapt the robot's trajectory to the movement of the human hand, and while the operator is looking for the next part, the robot can do other tasks.

Participant	Field	Education level	Birth year	Gender
P01	Mechatrical engineering	BSc student	1995	Male
P02	Environmental engineer	PhD	1988	Male
P03	Mechatrical engineering	BSc student	2000	Male
P04	Finance and accounting	BSc student	2000	Female
P05	Chemical engineer	PhD student	1983	Male
P06	Mechatrical engineering	PhD student	1996	Male
P07	Chemical engineer	PhD	1992	Male
P08	Mechatrical engineering	BSc student	1999	Female
P09	Engineering Manager	PhD student	1997	Female
P10	Mechatrical engineering	BSc student	2001	Male
P11	Tourism and catering	BSc student	2001	Female
P12	Bioengineering	PhD student	1989	Male
P13	Mechatrical engineering	BSc student	2019	Male
P14	Chemical engineer	PhD student	1998	Female
P15	Computer science	BSc student	1999	Male

*Table 4.1: The participants at the targeted measurement*

Measured data	Tool	Unit of measurement
Hand movement	Web camera	-
Path taken	IPS	-
Player's time	Phone application	seconds
Robot's time	Computer	seconds
Pattern learning time	Stopwatch	seconds

*Table 4.2: The measured data*

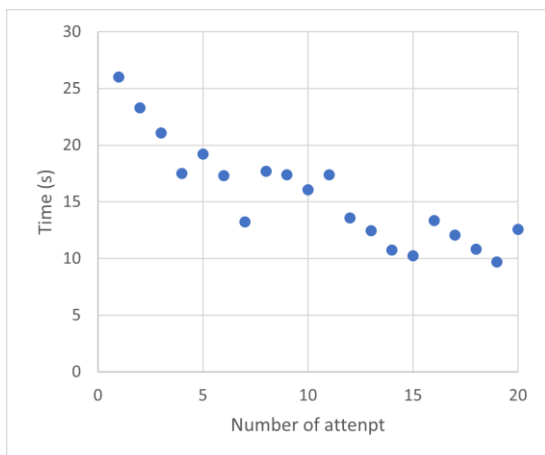
In the second measurement, four individuals participated. Initially, a predetermined pattern was built multiple times to observe the learning process. Subsequently, similar to the previous measurement, participants engaged in a tic-tac-toe game against the robotic arm. The distinction in this case was that while the participants were not making moves in the tic-tac-toe game, they were searching for their next piece to be able to play their next move. Meanwhile, the robotic arm replicated the pattern the human participant made earlier.

In Table 4.2: a comprehensive overview of the measured data, corresponding tools, and units of measurement is provided. The table captures various aspects related to evaluating a system or process. The measured data includes hand movement, path taken, player's time, robot's time, and pattern learning time. The tool used to capture hand movement is a web camera. The IPS is employed to record the path taken during the task. Both of these measurements are fundamental in understanding the spatial dynamics of the system under consideration. The player's time, indicating the duration taken by a human participant is measured using a phone application. On the other hand, the robot's time is measured using a computer. It was saved when the different movements of the robot were made. These time-related metrics offer insights into the efficiency and speed of both human and machine components. Additionally, the table includes the pattern learning time measured using a stopwatch. This parameter signifies the time required for the system to grasp and understand patterns. The unit of measurement for the player's time, the robot's time, and pattern learning time are in seconds, highlighting the precision of the temporal measurements.

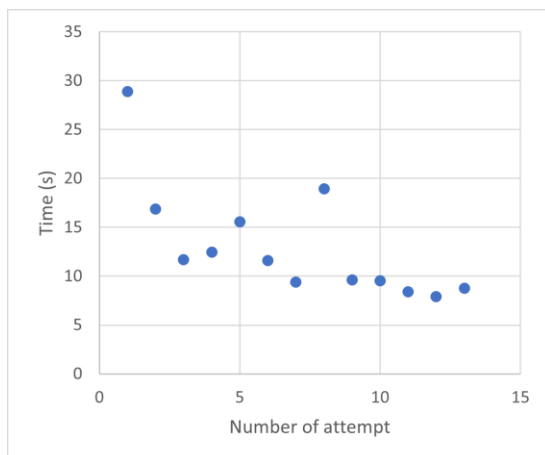
In the next [chapter](#), it will be detailed how the two scenarios can be integrated.

## 4.1 Learning curve

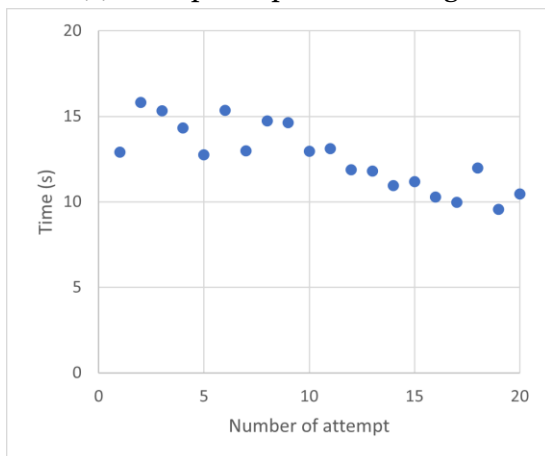
In this part of the experiment, four participants engaged in a pattern-building game, completing the predefined puzzle 10-20 times. With only four people, the sample size is small. However, in [Chapter 5](#), I will explain how the experiment's design will allow for measurements with larger sample sizes. The primary objective was to observe any patterns in the participants' performance over successive attempts, focusing on the time to complete the task. Figure 4.1: shows that the participants learn the process within 10-15 iterations, as can be seen from the fact that they are getting consistent times. As the experiment progressed, participants showed a pattern of improvement that eventually slowed down, resulting in smaller and smaller reductions in completion time. While most participants improved similarly, individual differences were noted. Initially, everyone took around 20 seconds or more to complete the task, but one participant finished the task remarkably quickly.



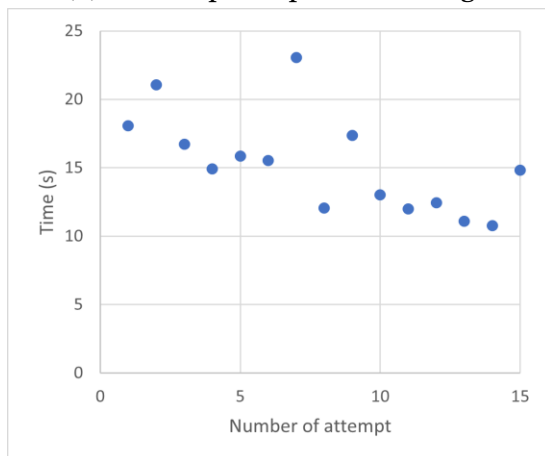
(a) First participant's learning curve



(b) Second participant's learning curve



(c) Third participant's learning curve



(d) Fourth participant's learning curve

Figure 4.1: The learning curves

This pattern of improvement indicates a combination of explicit and procedural learning. Participants quickly acquired the skills needed to complete the task but eventually reached a point where further improvement became incremental, indicating the establishment of procedural memory.

The diminishing rate of improvement raises questions about whether fatigue or other factors, such as boredom or monotony, influenced performance. It is essential to consider whether participants reached a cognitive limit.

This research has implications for developing robotic systems that can emulate and adapt to human-learned skills. In scenarios requiring repetitive or precision tasks, such as manufacturing or assembly, this approach can optimize robotic performance.

## 4.2 Micro movements

The movement of the player's hand in the workspace has a more significant impact on the robot. From the video footage, a lot can be determined. The primary is to observe the path of the hands. Then, the path can be visualized using video analysis, and image coordinates of the path can be obtained.

To improve collaboration, a robot's trajectory should be designed to avoid the areas where the human hand most frequently moves during gameplay. This was achieved by analyzing the trajectory of the hand's movement and identifying the areas on the game board where it occurred most often. Then, the results were plotted on a heatmap as seen in Figure 4.2: with warmer colors indicating higher frequency areas. Most hand

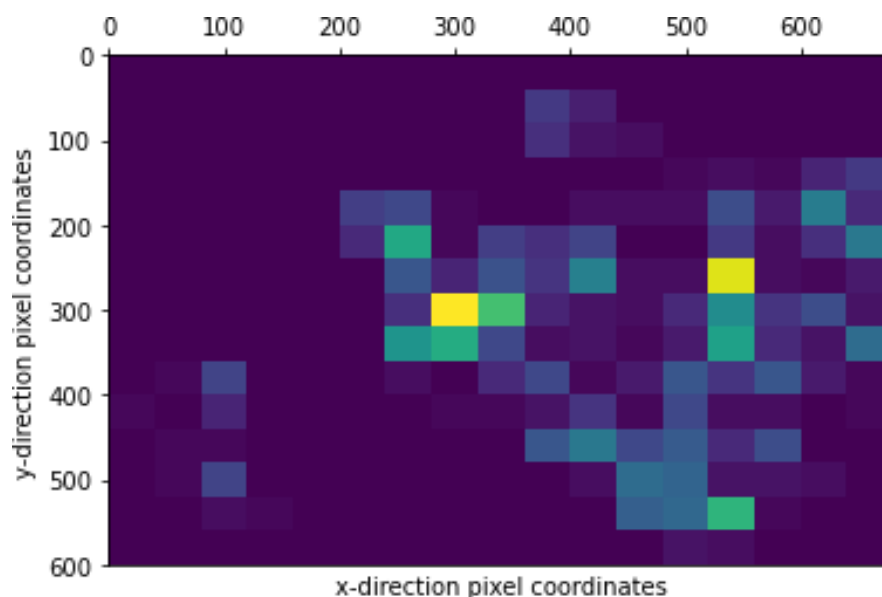


Figure 4.2: The most frequent trajectories

movements occurred in the middle and right side of the board, with only a few occurring in the bottom left. Based on this information, the robot can be programmed to avoid these areas as much as possible.

Besides, it can be observed if there is a difference between using the right or left hand for placing the pieces. Therefore, the videos were categorized based on whether the hand in question was the left or right hand. Then, the trajectory coordinates were plotted accordingly, as seen in Figure 4.3: the left ones being green and the right ones blue. Upon analyzing the resulting data, distinct differences were observed in the trajectory patterns between the left and right hands. Specifically, most left-hand movements occurred on the left side of the board, while right-hand movements tended to occur more frequently on the upper right-hand side. This information provides means of predicting whether a particular trajectory was made by the left or right hand.

In addition to analyzing hand trajectory, the speed was also examined at which the hand moved during the game. By analyzing the speed of the hand, further insight could be gained into the cognitive processes involved in decision-making during the game.

To do this, the coordinates of the hand were obtained at the same frequency, allowing for a comparison of the speed of movement at different points in time. The results showed that the hand moved more quickly at the beginning of a move, indicating that the participant had yet to decide where to put their piece. Once they had decided on a move, the movement speed decreased as they carefully placed their piece on the board. Finally

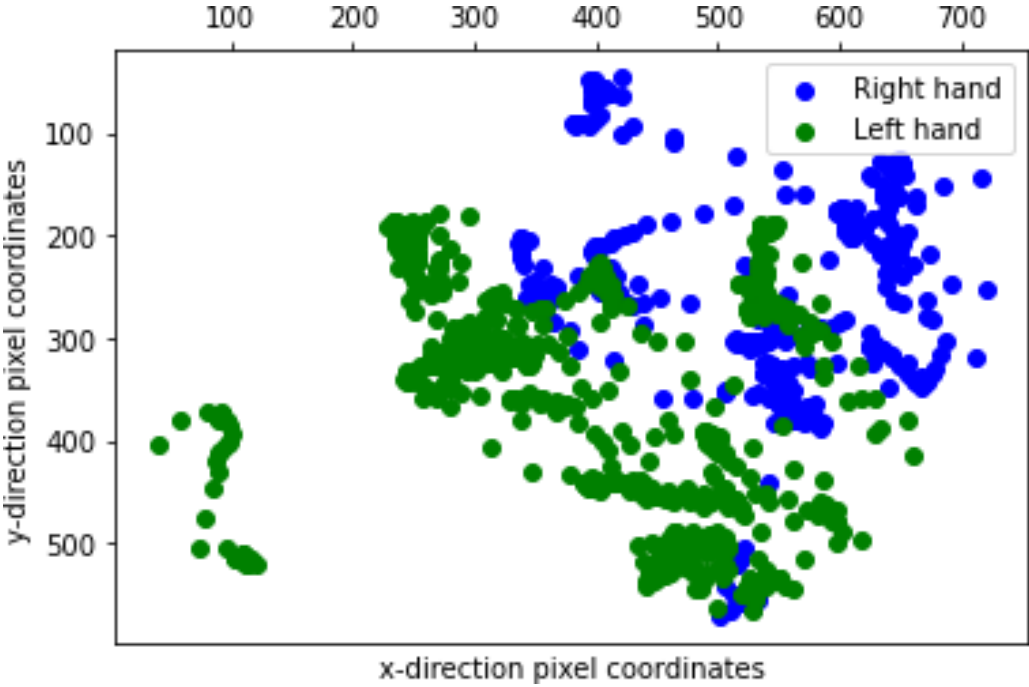


Figure 4.3: Right and left-hand coordinates

once the piece had been placed, the movement speed increased as the participant retrieved their hand. These findings highlight the complex cognitive processes involved in decisionmaking during the tic-tac-toe game. By analyzing the trajectory and speed of hand movements, a more comprehensive understanding of human behavior during gameplay can be gained. This information can be used to develop more sophisticated robotic systems that can better anticipate and respond to human actions.

### 4.3 Macro movements

The tic-tac-toe game was enhanced by having the players' pieces hidden, similar to a treasure hunt, and the tags were employed to help their finding. Furthermore, one tag was placed in the players' hands to enable path monitoring during the search so their path during searching can be visualized. The obtained coordinates from the tags were plotted on a simplified laboratory map. This allowed comparison of the different paths taken by the players. As seen in Figure 4.4: most of the movement happened in the area of the robot, in the middle, because they had to bring all their pieces back and place them. The four pieces for the player were hidden on the far upper left shelf, one at the table in front of it; the other two were on the right side at the drill in the far left and under the table next to the robot on the left. Although, as shown, a few paths are down in the middle, where there were no hidden pieces, most of the searching happened in the right place.

The time and walked distance can be calculated from the IPS's tag data. As seen in Table 4.3: some people were slower and some faster, but generally, walking more took

Participant	Walked distance (m)	Time
P01	67,46	2:09
P02	50,46	1:59
P03	49,16	1:29
P04	55,04	2:23
P05	55,61	1:54
P06	58,29	1:43
P07	68,09	2:26
P08	62,12	2:07
P09	52,49	1:49
P10	51,21	1:41
P11	47,50	1:49
P12	45,40	1:56
P13	59, 81	1:59
P14	51,17	2:04
P15	69,39	2:31

*Table 4.3: The walked distance and the time it took*

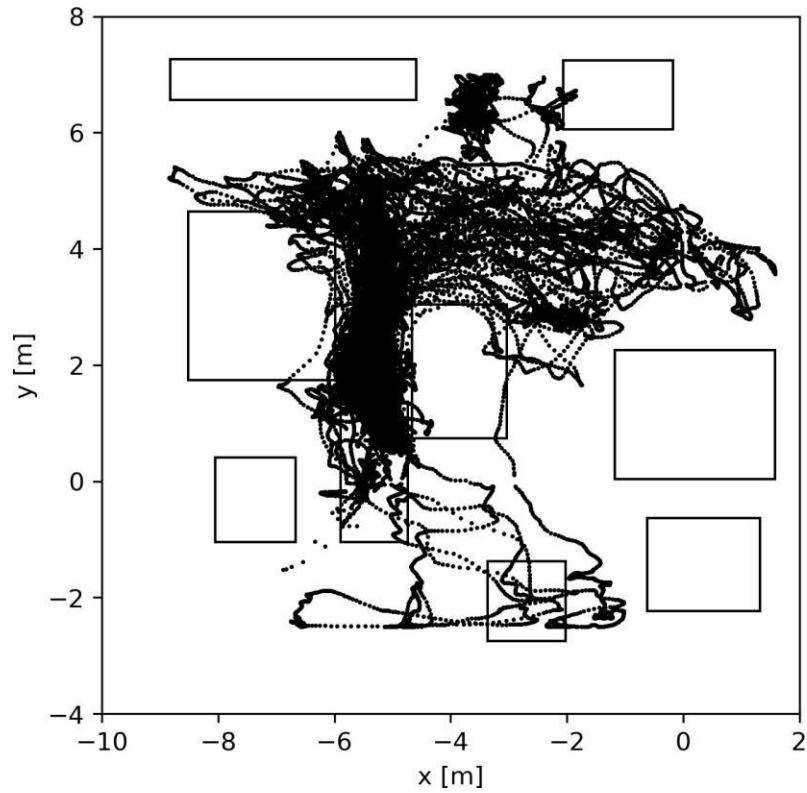


Figure 4.4: All position of the player movements

more time.

Although it was not part of the task to evaluate the physiological signals, Figure 4.5: can be seen as an example of how it can be integrated, for example, by watching how the heart rate changes during the task.

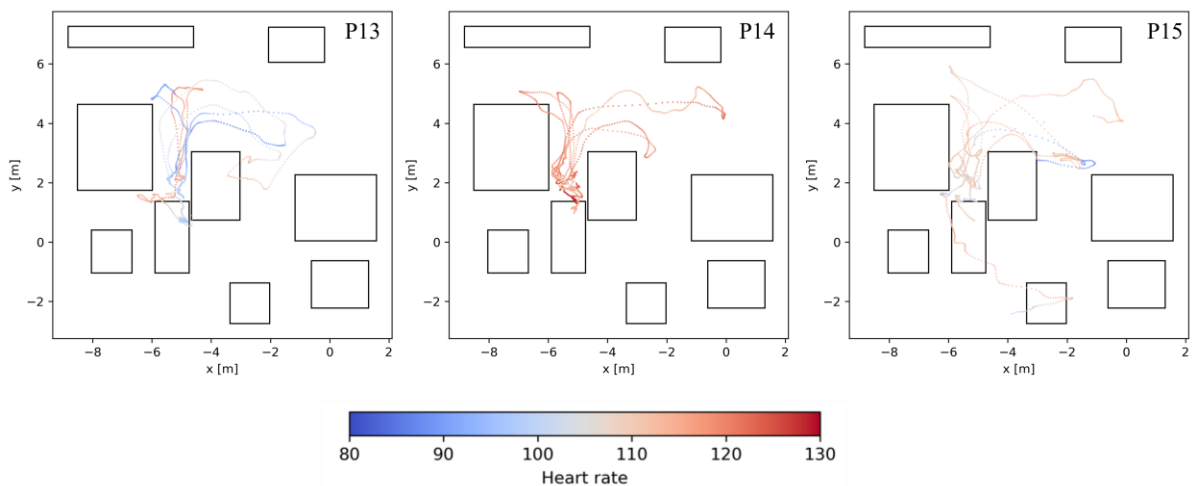


Figure 4.5: The movement of the players with their heart rate at the time

## 4.4 Task characteristics

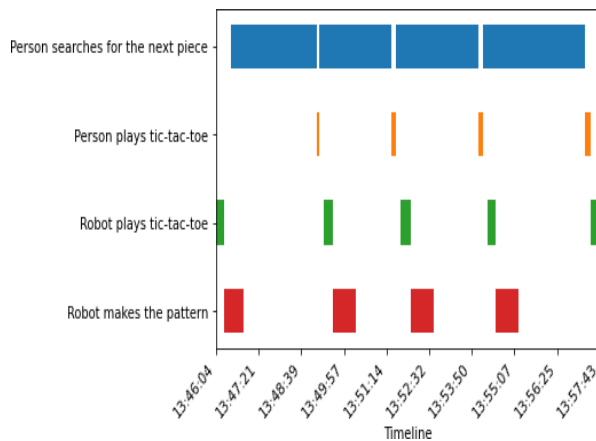
The previous chapters have shown what was measured. For the micro movements, there was a correlation between the trajectory of left or right-handed placing, and the most frequented part of the workplace was also identified. For macro movements, it was shown who took the least time and walked the least distance, so the most efficient way to pick up the pieces could be found. There is no significant correlation between the observed values mentioned and the outcome of the tic-tac-toe game in Table 4.4:

A Gantt chart is a horizontal bar chart that visually represents project schedules, tasks, and timelines. It shows project activities, durations, and interdependencies between tasks in a clear and intuitive format. The primary advantage of a Gantt chart lies in its ability to communicate complex project timelines and task sequences straightforwardly. Each task is represented by a horizontal bar, the length of which corresponds to the task's duration. The bars are arranged chronologically along a timeline. The four tasks are the piece searching by the person, the pattern building by the robot, and the tic-tac-toe game against each other. This visual representation will offer a more comprehensive view of the collaborative dynamics, highlighting not only the active task durations but also the periods of inactivity and waiting. This information can be critical in optimizing the human-robot collaboration for enhanced efficiency and user experience.

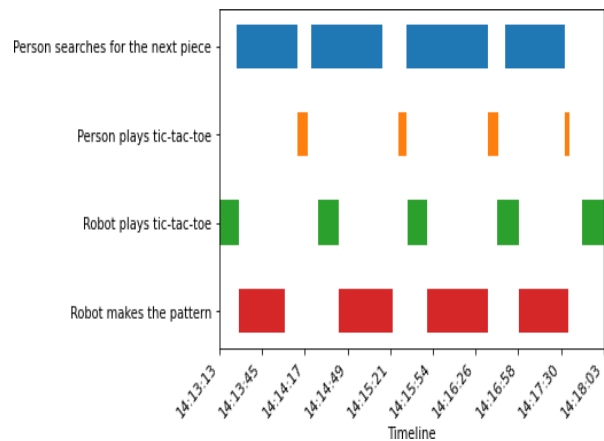
The measurements have been evaluated, and one of the essential parameters for collaborative working is time and the pace at which the human and robot work together. In my scenario, Figure 4.6: serves as a comprehensive visual guide, showing the dynamics of

Participant	Game mode	Result
P01	Hard	Lost
P02	Hard	Lost
P03	Hard	Lost
P04	Medium	Draw
P05	Medium	Draw
P06	Medium	Draw
P07	Medium	Draw
P08	Medium	Draw
P09	Medium	Lost
P10	Easy	Draw
P11	Easy	Won
P12	Easy	Won
P13	Easy	Won
P14	Medium	Draw
P15	Medium	Draw

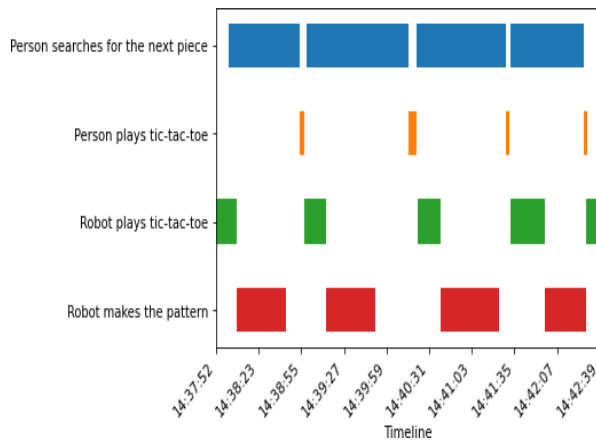
*Table 4.4: The results of the games*



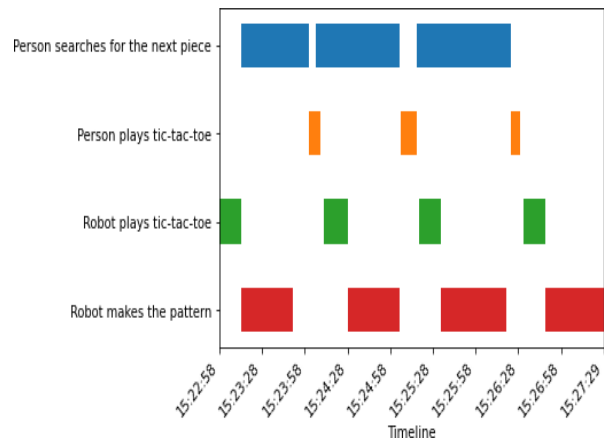
(a) First participant's Gantt chart



(b) Second participant's Gantt chart



(c) Third participant's Gantt chart



(d) Fourth participant's Gantt chart

Figure 4.6: Gantt charts for each person

collaborative interactions during the distinct tasks.

The four tasks:

1. The participants build the predefined pattern multiple times until they are consistent.
2. The human and the robot engage in a tic-tac-toe game. They share a common workspace and compete against each other. The game involves strategic moves and decision-making, not only for the human but also for the robot, which utilizes an algorithm to determine its next move. The time taken for each move and the overall game duration are measured to assess the collaborative performance.
3. In between rounds of tic-tac-toe, the human participant searches in the lab for their next piece.
4. While the human searches for their next piece, the robot autonomously participates in a pattern-building activity. This phase not only showcases the robot's ability to

execute tasks independently but also serves as a comparison point with the humanoperated pattern-building task. The time taken for the robot's pattern-building activity is a crucial measure of its autonomous capabilities.

This visualization exposes active task durations and critical intervals of inactivity and waiting, providing insights to optimize human-robot collaboration for heightened efficiency. The Gantt chart does not show the building pattern as it occurred separately from the other three tasks. Additionally, the tic-tac-toe game was divided into two tasks, one for the person and one for the robot. After analyzing the Gantt charts of all four participants, a significant observation can be made. The task that consumed the most time was the human's search for their next tic-tac-toe piece. The consistent sequence in which the robot built its pattern remained uniform. The robot's placement of the tic-tac-toe piece displayed a relatively consistent duration, fluctuating slightly based on the specific placement location, ranging between 15-18 seconds. Additionally, variations were evident in the time participants took to contemplate their next move, highlighting the personalized nature of decision-making in the gaming context.

The robot and the participants built the same pattern so their time could be compared. They picked up the pieces from the same place. On average, the first step of the person took around 20-25 seconds and went down to 10-15 seconds. The robot was slower than this; placing two of the cubes took about 35-45 seconds; in total, it took 157 seconds to finish the pattern. The cause of this is the robot's speed, which is much slower. Notably, the game durations ranged from 5-10 minutes, with the robot consistently waiting for the human to progress in the task at hand. While the last participant's game was shortened due to the robot winning, the other three participants experienced drawn games, none claiming victory. The collaborative gaming experience achieves a balance between the human participant and the robot. However, the robot must often pause to synchronize with the human's pace. Gantt charts provide a visual representation of temporal dynamics and valuable insights into the factors that influence human-robot collaboration. By highlighting these factors, Gantt charts help to improve collaborative efforts, making them more seamless and efficient.

## Chapter 5

### Design of experiment

In exploring human-robot collaboration, I present a designed use case centered around a collaborative gaming scenario where an operator interacts with a robot. This scenario encompasses four tasks: pattern building by the human, tic-tac-toe game between the human and the robot, searching for the next piece by the human, and the robot's independent pattern-building activity. Each task is unique, through which I can observe and measure the collaborative dynamics between the human operator and the robotic system.

In this chapter, I will create an experimental design based on the measurements. I will use the data from the measurements to develop a plan for conducting experiments and analyzing the results. Several key factors can be considered to monitor the collaboration:

1. **Tic-tac-toe piece hiding place level:** In this factor, different hiding places as difficulty levels are considered - Easy, Medium, and Difficult. The variable to be measured includes the time the player takes to complete each task at varying game levels, along with the accuracy and instances of task interruptions.
2. **Pattern Complexity:** This factor involves manipulating the complexity of predefined patterns, categorized as Simple, Moderate, and Complex. The variables to be measured encompass the time taken to construct predefined patterns, accuracy in pattern-building, and any interruptions encountered during this task.
3. **Task Order:** Task order variation is introduced with two levels - Pattern Building First, followed by Tic-Tac-Toe / Tic-Tac-Toe first, followed by Pattern Building. The variable to be measured is the impact of task order on the time taken, accuracy, and any interruptions experienced during the tasks.
4. **Robot's Algorithm Efficiency:** This factor explores the efficiency of the robot's decision-making algorithm at three levels - Low, Medium, and High. Variables to be measured include the time the robot takes to make decisions in the tic-tac-toe game, the accuracy of robot moves, and any interruptions associated with algorithm efficiency.

5. **Workspace Setup:** The arrangement and suitability of the workspace are considered at two levels - suitable and suboptimal. The variable to be measured is the efficiency of the robot arm in picking up and placing pieces and the overall impact on task performance.
6. **Operator's Familiarity:** Operator familiarity is categorized into three levels - Novice, Intermediate, and Expert. Variables to be measured encompass how the operator's familiarity influences task time, accuracy, and reactions during collaborative tasks.

### **Variables to be Measured:**

1. **Time Taken:** Time taken for each task (tic-tac-toe, pattern building, searching for the hidden piece) is measured in minutes or seconds.
2. **Idle Time:** Total idle time during the collaborative tasks, measured in minutes or seconds.
3. **Frequency of Idle Periods:** The number of instances where either the human or the robot is in an idle state.
4. **Reasons for Idle States:** Categorize and measure the reasons for idle time, such as waiting for instructions, processing delays, or task completion.
5. **Accuracy:** Accuracy is the percentage of correct moves or task completion for tic-tac-toe, pattern-building, and searching for the hidden piece.
6. **Task Interruptions:** Task interruptions are measured by frequency and duration, capturing any disruptions in the flow of tasks caused by errors or external factors.
7. **Operator's Movements:** Operator movements are measured through position tracking and a camera, providing insights into movement patterns during the tic-tac-toe game.
8. **Robot Arm's Efficiency:** Robot arm efficiency is measured by the smoothness of motions and successful task completion, evaluating its performance in picking up and placing pieces

The measured variables provide insights into task efficiency, engagement levels, and the impact of different factors on human-robot collaboration. The proposed experimental design is a foundation for conducting large-scale measurements and obtaining comprehensive data on the collaboration between humans and robots.

## **Conclusions and further steps**

Observing the operator allows the scheduling and optimization of the robot arm. One way to achieve this is by monitoring the operator's movements and analyzing the hand's trajectory. An aspect of this process was analyzing the hand trajectory to identify the most frequented areas in the workplace. These areas can then be avoided during collaborative work to minimize the risk of accidents and improve overall efficiency. Analyzing the participants' path in the environment can allow the robot to perform other tasks while waiting for the operator to complete their work. This can further increase the efficiency of the work process. In addition, the proposed experimental design is based on specific tasks that incorporate various factors to monitor collaboration. These factors include the level of concealment of tic-tac-toe pieces, pattern complexity, task sequence, the efficiency of the robot's algorithm, workspace configuration, and the operator's familiarity. We measure several variables, including time taken, idle time, frequency of idle periods, and reasons for idle states. The goal of these experiments is to manipulate these factors, collect data, and analyze collaborative performance. In the future, the goal is to utilize the results of experiments to conduct more extensive measurements and analyze collaboration by measuring the defined variables and factors.

## **Acknowledgements**

I gratefully appreciate the support of my supervisors, Dr. Tibor Medvegy and Dr. Tamás Ruppert, whose help and support were essential in creating this paper.

Mónika Gugolya is supported by the ÚNKP-23-1 New National Excellence Program of the Ministry for Culture and Innovation from the source of the National Research, Development and Innovation Fund. Tamás Ruppert is supported by the ÚNKP-23-5 New National Excellence Program of the Ministry for Culture and Innovation from the source of the National Research, Development and Innovation Fund.

- [1] WEBER, Tina, et al. Measures to tackle labour shortages: Lessons for future policy. 2023. <https://doi.org/10.2806/216577>
- [2] POTOČAN, Vojko; MULEJ, Matjaž; NEDELKO, Zlatko. Society 5.0: Balancing of Industry 4.0, economic advancement and social problems. *Kybernetes*, 2020. <https://doi.org/10.1108/K-12-2019-0858>
- [3] LENG, Jiewu, et al. Industry 5.0: Prospect and retrospect. *Journal of Manufacturing Systems*, 2022, 65: 279-295. <https://doi.org/10.1016/j.jmsy.2022.09.017>
- [4] ROMERO, David, et al. The operator 4.0: Human cyber-physical systems & adaptive automation towards human-automation symbiosis work systems. In: *IFIP International Conference on Advances in Production Management Systems*. Springer, Cham, 2016. p. 677-686. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-51133-7\\_80](https://doi.org/10.1007/978-3-319-51133-7_80)
- [5] PERUZZINI, Margherita; GRANDI, Fabio; PELLICCIARI, Marcello. Exploring the potential of Operator 4.0 interface and monitoring. *Computers & Industrial Engineering*, 2020, 139: 105600. <https://doi.org/10.1016/j.cie.2018.12.047>
- [6] ROMERO, David, et al. Towards an operator 4.0 typology: a human-centric perspective on the fourth industrial revolution technologies. In: *Proceedings of the International Conference on Computers and Industrial Engineering (CIE46)*, Tianjin, China. 2016. p. 29-31. <http://hdl.handle.net/10072/341888>
- [7] MOURTZIS, Dimitris; ANGELOPOULOS, John; PANOPOULOS, Nikos. Operator 5.0: A survey on enabling technologies and a framework for digital manufacturing based on extended reality. *Journal of Machine Engineering*, 2022, 22. <https://doi.org/10.36897/jme/147160>
- [8] KNUDSEN, Mikkel; KAIVO-OJA, Jari. Collaborative robots: Frontiers of current literature. *Journal of Intelligent Systems: Theory and Applications*, 2020, 3.2: 13- 20. <https://doi.org/10.38016/jista.682479>
- [9] HENTOUT, Abdelfetah, et al. Human-robot interaction in industrial collaborative robotics: a literature review of the decade 2008-2017. *Advanced Robotics*, 2019, 33.15-16: 764-799. <https://doi.org/10.1080/01691864.2019.1636714>
- [10] MALIK, Ali Ahmad; BREM, Alexander. Digital twins for collaborative robots: A case study in human-robot interaction. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, 2021, 68: 102092. <https://doi.org/10.1016/j.rcim.2020.102092>
- [11] VICENTINI, Federico. Terminology in safety of collaborative robotics. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, 2020, 63: 101921. <https://doi.org/10.1016/j.rcim.2019.101921>
- [12] ARENTS, Janis, et al. Human-robot collaboration trends and safety aspects: A systematic review. *Journal of Sensor and Actuator Networks*, 2021, 10.3: 48. <https://doi.org/10.3390/jsan10030048>
- [13] BAUER, Andrea; WOLLHERR, Dirk; BUSS, Martin. Human-robot collaboration: a survey. *International Journal of Humanoid Robotics*, 2008, 5.01: 47-66. <https://www.worldscientific.com/doi/pdf/10.1142/S0219843608001303>
- [14] MUKHERJEE, Debasmita, et al. A survey of robot learning strategies for humanrobot collaboration in industrial settings. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, 2022, 73: 102231. <https://doi.org/10.1016/j.rcim.2021.102231>
- [15] LIU, Hongyi; WANG, Lihui. Human motion prediction for human-robot collaboration. *Journal of Manufacturing Systems*, 2017, 44: 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.jmsy.2017.04.009>

- [16] CHENG, Yujiao, et al. Towards efficient human-robot collaboration with robust plan recognition and trajectory prediction. *IEEE Robotics and Automation Letters*, 2020, 5.2: 2602-2609. <https://doi.org/10.1109/LRA.2020.2972874>
- [17] KHAWAJA, Fahad Iqbal, et al. A Human-Following Motion Planning and Control Scheme for Collaborative Robots Based on Human Motion Prediction. *Sensors*, 2021, 21.24: 8229. <https://doi.org/10.3390/s21248229>
- [18] MAHMUD, Saifuddin; LIN, Xiangxu; KIM, Jong-Hoon. Interface for human machine interaction for assistant devices: a review. In: 2020 10th Annual Computing and Communication Workshop and Conference (CCWC). IEEE, 2020. p. 0768-0773. <https://doi.org/10.1109/CCWC47524.2020.9031244>
- [19] FORSTER, Yannick; NAUJOKS, Frederik; NEUKUM, Alexandra. Your turn or my turn? Design of a human-machine interface for conditional automation. In: Proceedings of the 8th International Conference on Automotive User Interfaces and Interactive Vehicular Applications. 2016. p. 253-260. <https://doi.org/10.1145/3003715.3005463>
- [20] GONG, Chao. Human-machine interface: Design principles of visual information in human-machine interface design. In: 2009 International Conference on Intelligent Human-Machine Systems and Cybernetics. IEEE, 2009. p. 262-265. <https://doi.org/10.1109/IHMSC.2009.189>
- [21] SÁNCHEZ-NIELSEN, Elena; ANTÓN-CANALÍS, Luis; HERNÁNDEZ-TEJERA, Mario. Hand gesture recognition for human-machine interaction. 2004. <http://hdl.handle.net/10553/114982>
- [22] TEWS, Tessa-Karina, et al. Emotional human-machine interaction: Cues from facial expressions. In: Human Interface and the Management of Information. Interacting with Information: Symposium on Human Interface 2011, Held as Part of HCI International 2011, Orlando, FL, USA, July 9-14, 2011, Proceedings, Part I. Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 641-650. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-21793-7\\_73](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-21793-7_73)
- [23] EROL, Berat A., et al. Toward artificial emotional intelligence for cooperative social human-machine interaction. *IEEE Transactions on Computational Social Systems*, 2019, 7.1: 234-246. <https://doi.org/10.1109/TCSS.2019.2922593>
- [24] FABIANI, Marco. Development of a tangible human-machine interface exploiting in-solid vibrational signals acquired by multiple sensors. KTH Stockholm, 2006, 58. [https://www.semanticscholar.org/paper/Development-of-a-tangible-human-machine-interface-Fabiani/e3b73e9b4d3414da049aa3f044abee8db269657b?utm\\_source=direct\\_link](https://www.semanticscholar.org/paper/Development-of-a-tangible-human-machine-interface-Fabiani/e3b73e9b4d3414da049aa3f044abee8db269657b?utm_source=direct_link)
- [25] ZIEGLER, Jens; URBAS, Leon. Realization of tangible mobile human machine interfaces using wireless personal area networks. In: Intelligent Interactive Assistance and Mobile Multimedia Computing: International Conference, IMC 2009, RostockWarnemünde, Germany, November 9-11, 2009. Proceedings. Springer Berlin Heidelberg, 2009. p. 37-48. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-10263-9\\_4](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-10263-9_4)
- [26] YIN, Ruiyang, et al. Wearable sensors-enabled human-machine interaction systems: from design to application. *Advanced Functional Materials*, 2021, 31.11: 2008936. <https://doi.org/10.1002/adfm.202008936>
- [27] BOUSDEKIS, Alexandros; APOSTOLOU, Dimitris; MENTZAS, Gregoris. A human cyber physical system framework for operator 4.0 - artificial intelligence symbiosis. *Manufacturing Letters*, 2020, 25: 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.mfglet.2020.06.001>
- [28] LEE, Joo-Ho; HASHIMOTO, Hideki. Intelligent space-concept and contents. *Advanced Robotics*, 2002, 16.3: 265-280. <https://doi.org/10.1163/156855302760121936>

- [29] RUPPERT, Tamás, et al. Enabling technologies for operator 4.0: A survey. *Applied Sciences*, 2018, 8.9: 1650. <https://doi.org/10.3390/app8091650>
- [30] GECKS, Thorsten; HENRICH, Dominik. Human-robot cooperation: Safe pick-andplace operations. In: ROMAN 2005. IEEE International Workshop on Robot and Human Interactive Communication, 2005. IEEE, 2005. p. 549-554. <https://doi.org/10.1109/ROMAN.2005.1513837>
- [31] HE, Yuan; GUO, Junchen; ZHENG, Xiaolong. From surveillance to digital twin: Challenges and recent advances of signal processing for industrial internet of things. *IEEE Signal Processing Magazine*, 2018, 35.5: 120-129. <https://doi.org/10.1109/MSP.2018.2842228>
- [32] KRUSE, Eckhard; WAHL, Friedrich M. Camera-based monitoring system for mobile robot guidance. In: Proceedings. 1998 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems. Innovations in Theory, Practice and Applications (Cat. No. 98CH36190). IEEE, 1998. p. 1248-1253. <https://doi.org/10.1109/IROS.1998.727470>
- [33] ZHANG, Daqiang, et al. Real-time locating systems using active RFID for Internet of Things. *IEEE Systems Journal*, 2014, 10.3: 1226-1235. <https://doi.org/10.1109/JSYST.2014.2346625>
- [34] MÜTZE, Alexander, et al. Use Cases of Real-Time Locating Systems for Factory Planning and Production Monitoring. In: Proceedings of the Conference on Learning Factories (CLF). 2021. [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3857878](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3857878)
- [35] THIEDE, Sebastian, et al. Real-time locating systems (RTLS) in future factories: technology review, morphology and application potentials. *Procedia CIRP*, 2021, 104: 671-676. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2021.11.113>
- [36] LI, Heng, et al. Real-time locating systems applications in construction. *Automation in Construction*, 2016, 63: 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.autcon.2015.12.001>
- [37] WARD, David R., et al. A real-time locating system observes physician time-motion patterns during walk-rounds: a pilot study. *BMC Medical Education*, 2014, 14.1: 1-7. <https://doi.org/10.1186/1472-6920-14-37>
- [38] Halász, G., Medvegy, T., Abonyi, J., and Ruppert, T. (2023, September). Indoor Positioning-based Occupational Exposures Mapping and Operator Well-being Assessment in Manufacturing Environment. In IFIP International Conference on Advances in Production Management Systems (pp. 543-555). Cham: Springer Nature Switzerland. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-43662-8\\_39](https://doi.org/10.1007/978-3-031-43662-8_39)
- [39] GERVASI, Riccardo; MASTROGIACOMO, Luca; FRANCESCHINI, Fiorenzo. A conceptual framework to evaluate human-robot collaboration. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 2020, 108: 841-865. <https://doi.org/10.1007/s00170-020-05363-1>
- [40] MONTINI, Elias, et al. A meta-model for modular composition of tailored human digital twins in production. *Procedia CIRP*, 2021, 104: 689-695. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2021.11.116>
- [41] MONTINI, E., et al. A framework for human-aware collaborative robotics systems development. *Procedia CIRP*, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2023.09.129>
- [42] CORONADO, Enrique, et al. Evaluating quality in human-robot interaction: A systematic search and classification of performance and human-centered factors, measures and metrics towards an industry 5.0. *Journal of Manufacturing Systems*, 2022, 63: 392-410. <https://doi.org/10.1016/j.jmsy.2022.04.007>
- [43] KENYON, Morgan. Machine learning scripts. Available at: <https://github.com/morgankenyon/RandomML> , 2020.



Pannon Egyetem  
Intézményi Tudományos Diákköri  
Konferencia  
2023.



## **Felületmódosítás hatása a $\text{Cd}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{S}$ fotokatalizátorok hidrogénfejlesztő hatékonyságára**

Készítette: Gulyás Ferenc (II. éves vegyészmérnök hallgató)

Témavezető: Dr. Fodor Lajos

Mérnöki Kar, Természetudományi Központ, Környezet- és Szervetlen  
Fotokémia Kutatócsoport

## Kivonat

A globális éghajlatváltozás és az energiahiány miatt napjainkban egyre nagyobb figyelmet fordítanak környezetbarát energiaforrások felfedezésére és kihasználására. Kézzelfogható megoldást jelenthet a napenergia, mivel az emberiség energiaszükségletének többszöröse érkezik a Földre napsugárzás formájában. Másik ígéretesnek tűnő energiahordozó a hidrogén. Előnyei közé tartozik, hogy elégetése során nem keletkezik CO<sub>2</sub>, illetve a többi fosszilis energiahordozóhoz képest jelentősen nagyobb energiasűrűséggel rendelkezik. Ennek a két energiaforrásnak az előnyös tulajdonságait ötvözi a heterogén fotokatalízissel történő hidrogénfejlesztés. Különös figyelmet élvez a szulfid alapú katalizátorok fejlesztése, amelyekkel kénhidrogént, vagy annak oldatát lehet nagy hatékonysággal lebontani.

Munkám során Cd<sub>0,5</sub>Zn<sub>0,5</sub>S katalizátorokat állítottam elő, majd ezeket különböző fémekkel módosítottam, impregnációs módszerrel. Vizsgáltam emellett a módosításnál használt közeg, valamint a hőkezelés hidrogénfejlesztő képességre gyakorolt hatását. Minden előállított fotokatalizátornak vizsgáltam a hidrogénfejlesztő képességét látható fényel bevilágítva. Lebontandó közegként Na<sub>2</sub>S-ot és Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-ot tartalmazó oldatot használtam. A gyakorlati felhasználhatóság érdekében néhány katalizátort többször is felhasználtam, stabilitásuk vizsgálata érdekében. A félvezető kompozitok tiltottsáv-szélességét diffúz reflexiós színeképekből Tauc módszerrel határoztam meg, a szerkezetüket pedig SEM, EDS felvételek segítségével tanulmányoztam. A 75 °C-os utókezelés a módosítatlan Cd<sub>0,5</sub>Zn<sub>0,5</sub>S katalizátorok hidrogénfejlesztő hatékonyságát 4-5-szörösére növelte. Ezeket Mn(II), Co(II) vagy Ni(II) fémekkel módosítva ugyan minden esetben aktivitásnövekedést tapasztaltunk, de a kezeletlen és a 75 °C-on utókezelt minták módosításai között nem mutatkozott jelentős különbség. Legnagyobb hatékonyság-növekedést az ammóniás közegből történő Ni(II)-módosítás eredményezett. Ígéretes eredményt mutat továbbá a kobalt módosítás is. A felületet egyenletesen befedő kobalt hatására jó határfokú, többszöri használatra is stabil katalizátor állítható elő.

**Kulcsszavak:** CdS, ZnS, heterogén fotokatalízis, hidrogén fejlesztés

## Tartalomjegyzék

1	Bevezetés.....	48
2	Irodalmi áttekintés .....	49
2.1	Fotokatalízis elve.....	50
2.2	Fotokatalízis alkalmazása .....	52
2.3	H <sub>2</sub> S bontása fotokatalízissel .....	52
3	Kísérleti rész.....	58
3.1	Felhasznált anyagok .....	58
3.2	Kísérleti módszerek .....	58
3.2.1	Diffúz reflexió.....	58
3.2.2	TEM.....	59
3.2.3	ICP.....	59
3.2.4	Röntgen vizsgálat.....	59
3.2.5	Fotokémiai kísérletek .....	60
3.3	Katalizátorok előállítása .....	62
4	Eredmények.....	63
4.1	Hőkezelés vizsgálata .....	63
4.2	Fémmódosítás .....	64
4.2.1	Mn(II)-módosítás .....	65
4.2.2	Co(II)-módosítás .....	66
4.2.3	Ni(II)-módosítás.....	68
4.3	Fotokémiai kísérletek konklúziója.....	69
4.4	Katalizátorok szerkezeti jellemzése.....	71
4.4.1	XRD felvételek .....	71
4.4.2	Diffúz reflexiók színeképek.....	73
4.5	TEM.....	75
5	Összefoglalás.....	77
	Köszönetnyilvánítás .....	77
6	Irodalomjegyzék .....	78

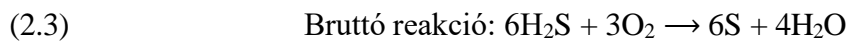
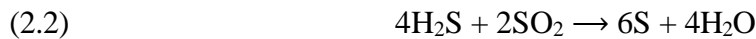
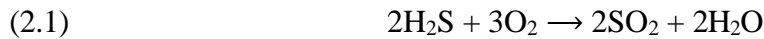
A globális éghajlatváltozás és az energiahiány miatt napjainkban egyre nagyobb figyelmet fordítanak környezetbarát energiaforrások felfedezésére és kihasználására. Kézzelfogható megoldást jelenthet a napenergia, mivel az emberiség energiaszükségletének többszöröse érkezik a Földre napsugárzás formájában. Azonban az így termelt energia hatékony tárolása még nem megoldott. Másik ígéretesnek tűnő energiahordozó a hidrogén. Előnyei közé tartozik, hogy elégetése során nem keletkezik CO<sub>2</sub>, illetve a többi fosszilis energiahordozóhoz képest jelentősen nagyobb energiasűrűséggel rendelkezik. Egy kilogramm hidrogén (119,9 MJ/kg) elégetésével kétszer annyi energiához jutunk, mintha ugyanennyi metánt (50 MJ/kg) használnánk. Ez megegyezik három kilogramm dízel (42,5 MJ/kg) és hat kilogramm metanol (18,1 MJ/kg) elégetése során nyert energiával [1].

Kihívást jelent, a hidrogéngáz környezetbarát előállítás. A leggyakrabban alkalmazott eljárás az elektrolízis, amelynek hatásfoka túl alacsony ahhoz, hogy ipari mértékben alkalmazható legyen. Az előbbi két energiaforrás előnyeinek kombinálására megoldást jelent a heterogén fotokatalízis, aminek a segítségével napenergia felhasználásával állítható elő hidrogéngáz. Lebontandó anyagként használhatunk vizet, savakat, vagy akár szerves szennyezőanyagokat is, azonban ezeknek a módszereknek a hatékonysága még mindig nem elegendő ipari felhasználáshoz. Ha azonban H<sub>2</sub>S-t, vagy annak bázikus oldatát használjuk, sokkal jobb eredményeket érhetünk el.

Kőolajfinomítás során keletkező, mérgező és környezetkárosító hatású H<sub>2</sub>S bontásával nagy hatékonyságú hidrogéntermelés érhető el. Erre a célra a szulfid típusú katalizátorok a legjobbak, különösen a ZnS, CdS alapú katalizátorok. Hatékonyságukat sok dolog befolyásolja. A ZnS, CdS aránya nagymértékben meghatározó, de tovább növelhető a termelés hőkezeléssel, komplexképző alkalmazásával és fémmódosítással. Fémmódosítások közül is nagy különbségek fedezhetők fel az egyes fémek között.

Munkám során a leghatékonyabb H<sub>2</sub>S bontására alkalmas katalizátort próbáltam előállítani, a különböző paraméterek változtatásával.

A H<sub>2</sub>S a kőolajfinomítás egyik mellékterméke, az olaj kéntartalmának eltávolításakor keletkezik. Feldolgozása jelenleg Claus-eljárással történik [2]. A művelet során H<sub>2</sub>S-ből elemi kén állítanak elő, és melléktermékként a H<sub>2</sub>S H-tartalmából víz keletkezik.

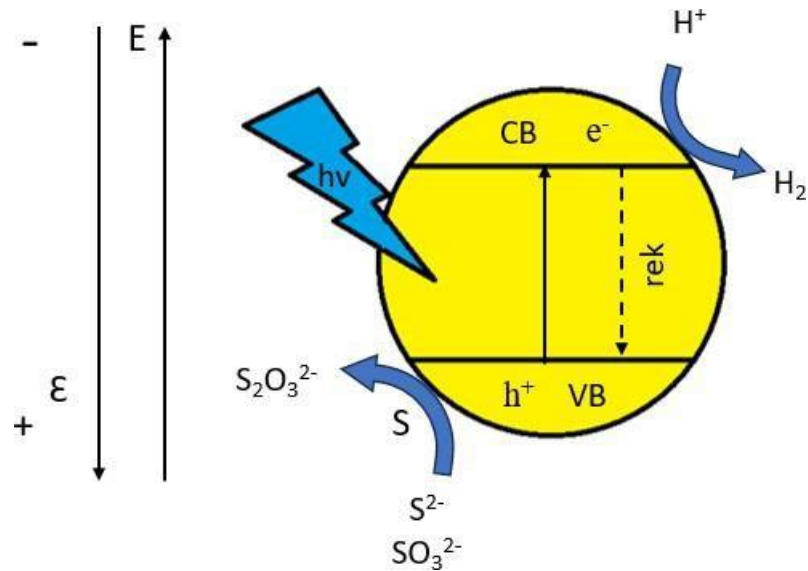


A reakció célja a kén kinyerése, amit később más vegyipari műveleteknél, például kénsavgyártásnál, vagy vulkanizálásnál lehet felhasználni. Azonban a megnövekedett energiaszükségletek miatt egyre nagyobb hangsúlyt kap a H<sub>2</sub>S eddig figyelmen kívül hagyott hidrogén tartalmának a kiaknázása is. Ezen kívül hátrányként említhető a Claus-eljárás nagy energiaigénye. Bár a reakció erősen exoterm, így a katalitikus fázisban önfenntartó, beindításához 850 °C hőmérséklet szükséges. A fotokatalízist alkalmazó technológia megoldást kínál mindkét problémára. Fotokémiai reakciókról lévén szó, a szükséges energiát a Naptól nyerjük, nincs szükség egyéb energiaforrásra. Legfontosabb előnye azonban, hogy a bontás során elemi kén mellett elemi hidrogént is kapunk. A gáz halmazállapotban lévő H<sub>2</sub>S-ot NaOH-dal reagáltatjuk (2.4), így Na<sub>2</sub>S keletkezik. Az így kapott Na<sub>2</sub>S vizes oldatából fotokatalizátor segítségével nagy hatékonysággal tudunk hidrogéngázt előállítani (2.5). A folyamat során kén is keletkezik, ami a katalizátor felületén válik ki, csökkentve a reakció hatékonyságát és károsítva a katalizátort (2.6). Ennek elkerülése érdekében SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-ot kell feleslegben hozzáadnunk a kiindulási oldathoz, hogy vízoldható formában tartsa a keletkező kén (2.7). A keletkező tioszulfátból elemi kén kinyerhető (2.8), így a vegyipar számára fontos kén változatlanul megmarad, és a H<sub>2</sub>-t is fel tudjuk használni.



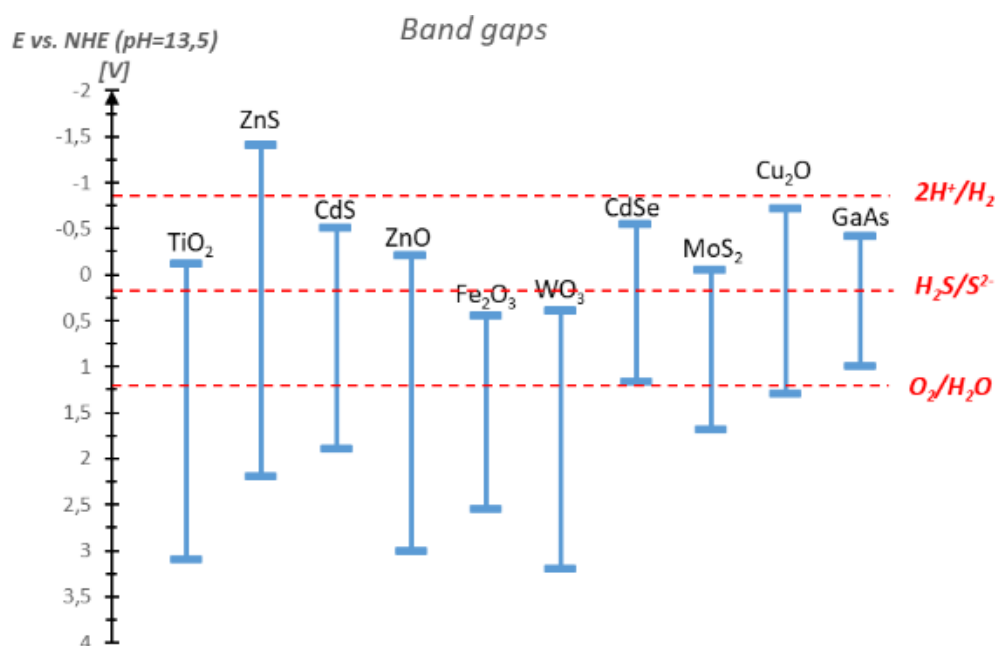
## 2.1 Fotokatalízis elve

Az irodalomban fotokatalízisnek (helyesebben fotoindukált katalízisnek) nevezzük azt a folyamatot, amely során egy anyag (fotokatalizátor) UV, Vis vagy IR sugárzás következtében válik katalitikus hatásúvá, és segítségével akár termodinamikailag nem kedvezményezett reakciók is lejátszódhatnak. A katalizátor atomjainak elektronjai fény hatására a vegyértéksávból a vezetési sávba ugranak. A gerjesztett elektron helyén egy elektronhiányos állapot alakul ki, amit lyuknak hívunk, jelölése  $h^+$  (2.1. ábra) Az így létrejövő elektron-lyuk pár lesz majd képes részt venni a reakciókban (2.9).



2.1. ábra. Fotokatalizátor működési elve  $\text{Na}_2\text{S}$ -ből történő  $\text{H}_2$  fejlesztés példáján bemutatva

A fotokatalizátorok fontos tulajdonsága a tiltott sáv szélessége, ami alatt a vegyértéksáv és a vezetési sáv közti „távolságot” értjük (2.2. ábra). Nagyságát eV-ban adjuk meg. Minél szélesebb a tiltott sáv, annál alacsonyabb hullámhosszúságú, azaz nagyobb energiájú, fény képes beindítani a reakciót. Gyakorlatban ez azt jelenti, hogy kisebb sáv szélességű katalizátor jobban használható a látható fény spektrumában, míg a nagy sáv szélességű katalizátorok UV fényben működnek hatékonyan.



2.2. ábra. Különböző fotokatalizátorok tiltott sáv szélessége és vezetési sávjuk redukciós potenciálja [3].

A reakcióhoz választott katalizátor vezetési sávjának a megfelelő redukciós potenciállal is rendelkeznie kell gerjesztett állapotban, hogy a reakció sikeresen lejártsódhasson. A szükséges értéket a Nernst-egyenlettel számíthatjuk ki. Fontos figyelembe vennünk a reakcióközeg pH-ját is.

$$pH = 13,5; n = 2; T = 298 \text{ K}$$

$$(2.10) \quad E = E_{\text{red}} - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln \left( \frac{[ox]}{[red]} \right) = E_{\text{red}} - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \log \left( \frac{[ox]}{[red]} \right) \cdot 1 =$$

$$= E_{\text{red}} - \frac{0,059}{n} \cdot 2 \cdot pH = 0 - 0,059 \cdot 13,5 = \underline{\underline{-0,8 \text{ V}}}$$

A katalízis hatásfokát gátolja az úgynevezett rekombináció, aminek hatására az elektronok és a lyukak a katalizátor belsejében vagy a felületén egymással reagálva semlegesítődnek. Ennek megakadályozására több módszer létezik, de mindegyik lényege vagy az elektronok csapdázása, vagy a lyukak befogása. Ez gyakorlatban azt jelenti, hogy az elektront, vagy a lyukat térben elmozdítjuk, megnövelve a távolságot közöttük. Ezt elérhetjük hőkezeléssel, felületi módosítással, dópolással, illetve segédkatalizátor alkalmazásával.

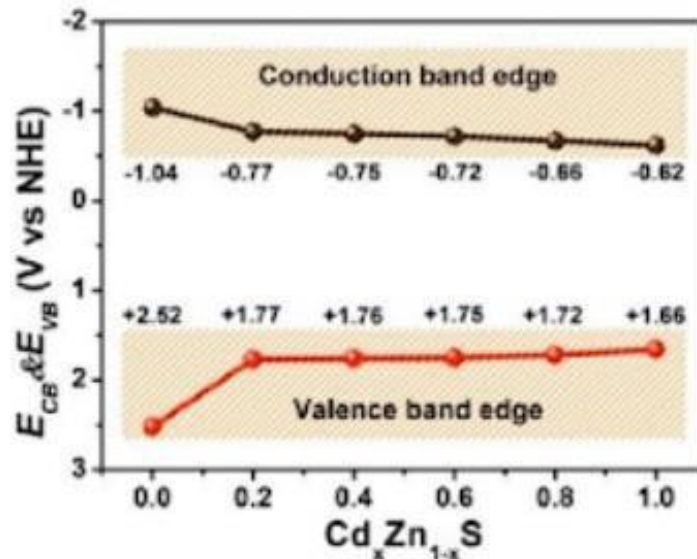
Megkülönböztetünk heterogén és homogén fotokatalízist a katalizátor és a reaktáns fázisa alapján. A való életben a legtöbb feladatra szilárd fotokatalizátort használnak, míg a reaktáns gáz vagy folyadék. Ebben a dolgozatban a heterogén fotokatalízist vizsgáljuk, tehát a katalizátor és a lebontandó anyag különböző fázisú.

## 2.2 Fotokatalízis alkalmazása

A fotokatalízis jelenségét már az 1900-as évek elején is megfigyelték, azonban az első jelentősebb felfedezésre 1972-ig várni kellett. Ekkor ismerte fel Keinchi Honda és Akira Fujishima a  $\text{TiO}_2$  fotokatalitikus tulajdonságát, és platina elektróda segítségével UV fény hatására víz bontásával állítottak elő hidrogént [4]. Azóta egy új megújuló energiaforrás, a napenergiával fejlesztett  $\text{H}_2$  költséghatékony előállítása céljából folyik a verseny. A folyamatos kutatások eredményeként végül sikerült a látható fényt hasznosító vékony  $\text{TiO}_2$  réteget is létrehozni. 2009-ben szintén egy a látható fényt használó katalizátor típust fedeztek fel a grafitos szén-nitrid formájában. A grafitos szén-nitrid egy polimer, amiből különböző nanoszerkezetek állíthatók elő, a korszak egyik legfelkapottabb kutatási témája volt. Kedvező tulajdonságai ellenére hatásfoka alacsony a rendkívül magas rekombináció miatt. Napjainkban már iparban is használják vízbontásra a technológiát. A fotokatalízis felhasználási lehetőségei azonban nem merülnek ki a vízbontásban. Mivel fotolízis segítségével erősen oxidáló hatású gyököket például hidroxilgyököt ( $\text{OH}\cdot$ ), vagy szuperoxid-gyökiont ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) lehet létrehozni, szerves vegyületek lebontására is alkalmas a módszer. Ezt szennyvíztisztításban, öntisztuló felületek előállításában is fel lehet használni. De újabb kutatások bemutatták, hogy  $\text{CO}_2$  redukciójára és abból CO vagy szerves vegyületek előállítására is alkalmas a heterogén fotokatalízis [5,6].

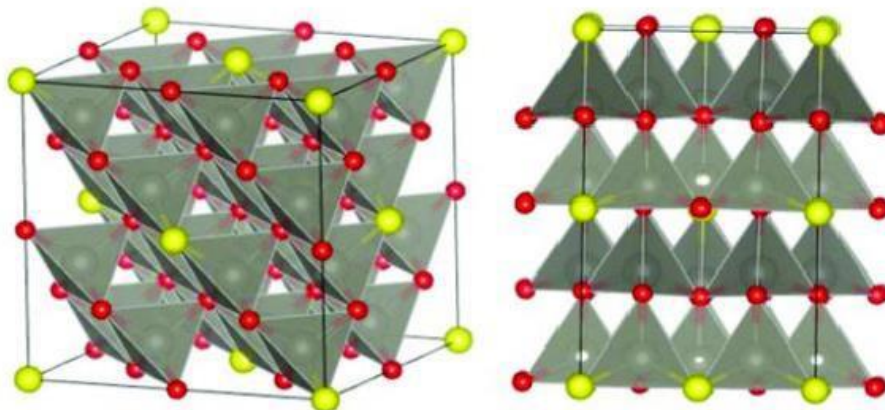
## 2.3 $\text{H}_2\text{S}$ bontása fotokatalízissel

$\text{Na}_2\text{S}$  vizes oldatának bontására a leghatékonyabbnak a szulfid-típusú katalizátorok bizonyultak. Ezek közül is a legnépszerűbb a  $\text{ZnS}$ , és  $\text{CdS}$  katalizátorok alkalmazása. A tiszta  $\text{CdS}$  katalizátor használatának a hátránya, hogy vezetési sávjának potenciálja nem kellően negatív  $\text{H}_2$  erősen lúgos közegben történő fejlesztéséhez. Tiltott sávjának szélessége azonban elég alacsony ahhoz, hogy a látható fény hatására is képes legyen fotokatalizátorként működni. Hátránya még, hogy savas vagy semleges közegben fotokorrózióra hajlamos, így hosszú távú használata nem lehetséges. A tiszta  $\text{ZnS}$  katalizátor vezetési sávja megfelelően negatív a lúgos közegben történő  $\text{H}_2$  fejlesztéshez, de tiltott sáv szélessége miatt csak UV tartományban hatékony. Több kutatás foglalkozott már ezeknek a hátrányoknak a kiküszöbölésével. Eredményül megállapították, hogy a  $\text{CdS}$  és  $\text{ZnS}$  együttes leválasztásakor olyan szilárd oldat keletkezik, amelyben a két anyag kedvező tulajdonságai ötvöződnek. A  $\text{Cd}_x\text{Zn}_{1-x}\text{S}$  kompozit látható fényben és erősen lúgos közegben is alkalmas  $\text{H}_2$  fejlesztésére (2.3.ábra). A különböző összetételek közül a leghatékonyabb a  $\text{CdS}$ -ot és  $\text{ZnS}$ -ot 1:1 arányban tartalmazó  $\text{Cd}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{S}$  katalizátor [7].



2.3. ábra. A kompozit katalizátor vezetési és tiltott sáv adatai különböző összetételek esetén [8]

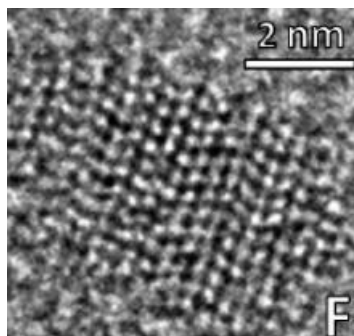
A  $Cd_xZn_{1-x}S$  katalizátor hatékonyságát meghatározza a csapadék leválásának sebessége is. Annak érdekében, hogy a ZnS és a CdS egyszerre váljon le először egy komplexképzőt (pl.  $NH_4OH$  oldatot) kell hozzáadni, majd a  $Na_2S$ -t cseppenként adagolni, erős keverés mellett. A megfelelő arányon kívül fontos figyelembe vennünk a ZnS és CdS kristályok rács típusát is. Mindkét anyag rendelkezik egy köbös és egy hexagonális módosulattal (2.4. ábra). ZnS-nál előbbi szfalerit, utóbbi wurtzit néven ismert. CdS esetén hawleyitnek és greenockitnak nevezzük a különböző rácsszerkezeteket, de a ZnS-hoz való hasonlóság miatt gyakran szfalerit, illetve wurtzit szerkezetként hivatkozunk rájuk.



2.4. ábra. Szfalerit (bal) és wurtzit (jobb) típusú kristályrács. [9]

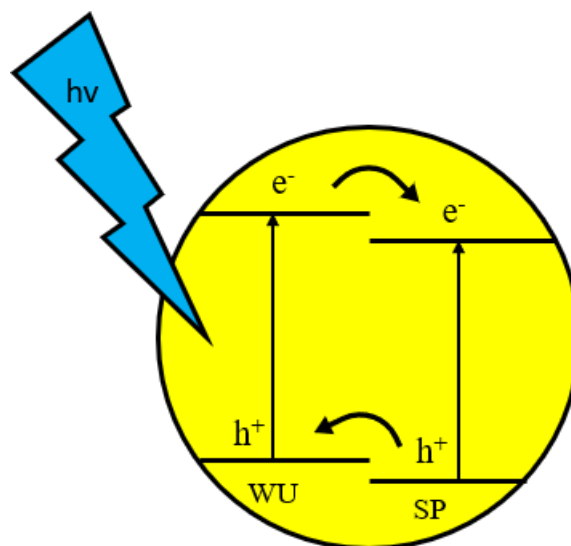
Hőkezeléssel nagymértékben növelhető a fotokatalizátorok hatékonysága. Ennek az oka első sorban az együttes szfalerit-wurtzit szerkezet kialakulása, amit ikresedésnek nevezünk. Megnövelt hőmérséklet hatására a szobahőmérsékleten stabilabb szfalerit részben wurtzittá alakul. A különböző kristályszerkezetek egymással felváltva helyezkednek el. Az így

kialakult ikresedett szerkezetben (2.5. ábra) sokkal alacsonyabb a töltéshordozók rekombinációja [10,11].



2.5. ábra. Ikresedett szerkezet HRTEM felvételen [12]

Ennek az a feltételezett oka, hogy a szfalerit rétegnek a vezetési és a vegyértéksávja is alacsonyabb energiaszinten helyezkedik el, mint a wurtzit rétegé, ezért ún. I-es típusú p-n átmenet alakul ki, amelyben az elektronok alacsonyabb energiaszintre (szfalerit) vándorolnak, míg a lyukak magasabbra (wurtzit) (2.6 ábra). Ennek köszönhetően térben elkülönül egymástól az elektron és a lyuk, lecsökkentve a rekombináció valószínűségét. [13]



2.6. ábra. p-n kapcsolódás elve wurtzit és szfalerit szerkezet esetén.

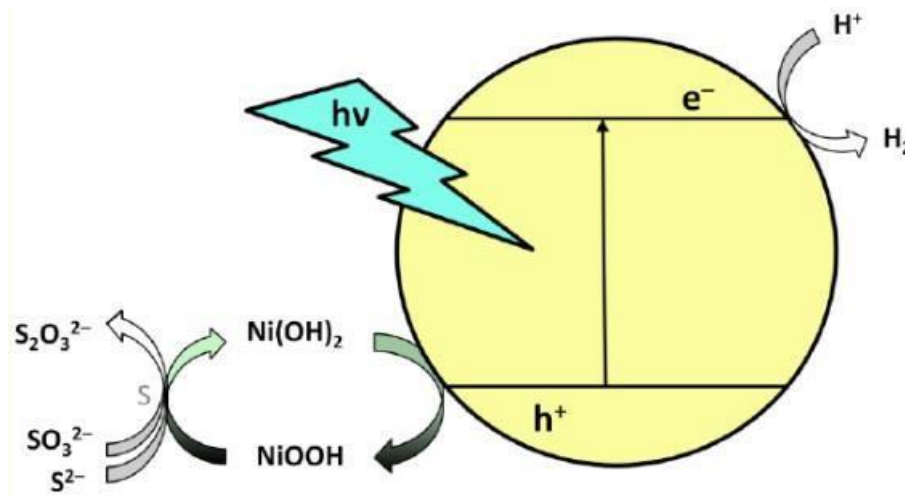
Az így elvégzett hőkezelési eljárásnak azonban vannak hátrányai is. A katalizátor szemcséi a folyamat során aggregálódnak, azaz a szemcseméret növekszik. Ezáltal csökken a katalízis hatékonyságát nagymértékben befolyásoló reakciófelület. Erre részleges megoldást jelenthet az ultrahangos kezelés, ami bár a kristallitokat nem, de a nagyobb szemcséket szétválaszthatja.

Az előbb említett módszerekkel egy alapkatalizátor hatékonyságát nagymértékben növelhetjük, de a hidrogén-termelés növelésének energetikailag előnyösebb és többnyire

hatékonyabb módja is a fémmódosítás alkalmazása. Sok fém felhasználható a célra, nagyrészüket kutatások régóta vizsgálják. Népszerűek a katalízisben máshol is alkalmazott nemesfémek, például a platina [14], palládium [15] vagy akár az arany [16], de olcsóbb alternatívaként vasat [17] is használtak kísérletezésre. Egyértelműen a legjobbnak azonban a nikkelmódosítás bizonyult [18]. Fémmódosítást többféleképpen lehet végrehajtani. Leggyakoribb módszer az úgynevezett „felületmódosítás” szerint egy előre elkészített alapkatalizátorra utólag Ni(II) ionok és szulfid hozzáadásával NiS-ot választanak le. Másik lehetséges eljárás alapján egy Zn(II), Cd(II) és Ni(II) ionokat egyaránt tartalmazó oldatból szulfid hozzáadására együttesen választják le a csapadékot, azzal a céllal, hogy a nikkeltartalom a rácsba épüljön be. Harmadik és egyben legritkábban alkalmazott megoldás az „impregnálásos” módszer. Ennek lényege, hogy az előre elkészített és szuszpendált alapkatalizátorhoz Ni(II) ionokat adagolunk és állni hagyjuk. Így a Ni(II) ionok egy része beépül a CdS-ZnS kristályszerkezetbe, másik részük pedig a felületen kötődik meg. Ezután egy mosással a felesleges Ni(II)-t eltávolítjuk, majd szulfid segítségével csapadékot képzünk. Az így kapott módosított katalizátor a korábban bemutatott „felületmódosításos” eljárástól eltérően nem feketés, hanem általában zöldes elszíneződést mutat. Ennek oka, hogy a Ni(II) nem szulfid, hanem hidroxid-formában válik ki [19]. Kutatócsoportunk leggyakrabban ez utóbbi technikát alkalmazza, mivel tapasztalataink alapján ezzel a módszerrel lehet a leghatékonyabb fotokatalizátorokat előállítani. A hatékonyság növelését nehezíti, hogy a fent leírt módszerek jótékony hatásai nem összeadhatók. Így általában nem a legjobb alapkatalizátor fémmódosítása adja a legjobb eredményeket. Erre jó példa, hogy nikkelezett katalizátorok hőkezelés hatására általában gyengébb eredményt hoznak, mint előtte, de előre hőkezelt katalizátor nikkelmódosítása is rosszabbul teljesít, mint azt várnánk. A hozzáadott nikkelt mennyisége is számít, ugyanis túl kevés, vagy túl sok fém hozzáadásával romolhat a reakció határfoka. Tapasztalatok alapján 1% mólarány adja a legjobb eredményt.

Sokáig úgy hitték, a Ni(II) módosítás elektroncsapdázó hatással rendelkezik. [20] Ennek az elméletnek alapja, hogy több fémmódosítás p-n kapcsolódás segítségével valóban elektroncsapdázó szerepet tölt be. Friss kutatások azonban lyukbefogó szerepet tulajdonítanak neki. Vizsgálatok bizonyítják, hogy az impregnálással módosított kompozitokon a nikkelt elsősorban Ni(OH)<sub>2</sub> formájában van jelen. Az ilyen katalizátorok a bevilágításuk befejeztével besötétülnek, megfeketednek. Ez a változás azonban reverzibilis, rövid idő után ismét eredeti színét veszi fel a katalizátor. Ennek magyarázata lehetne fém nikkelt, NiS vagy NiOOH. Ha fém nikkelt válna ki, a változás irreverzibilis lenne. NiS jelenléte is kizárható, mivel a sötétedés a reakció végén jelenik meg, mikor a szulfid koncentráció jelentősen lecsökken.

NiOOH megjelenése azonban továbbra is feltételezhető, hiszen Ni(OH)<sub>2</sub>-t egy lyuk könnyedén NiOOH formába oxidálhatja. Erős oxidatív tulajdonsága miatt a NiOOH nem tud feldúsulni magas szulfidkoncentrációk mellett, így visszaalakul Ni(OH)<sub>2</sub>-dá (2.7. ábra). Szintén ezt az elméletet támasztja alá, hogy a NiOOH vizes közegben nem stabil, ezzel magyarázva a színváltozás visszafordíthatóságát. [12]



2.7. ábra. A nikkelmódosított katalizátor működése [12]

Nikkelen kívül jelentős még a mangán használata is, amivel elsősorban az alakatalizátor cink, vagy kadmium tartalmát helyettesítik

Fotokatalizátorok hatékonyságának megadására többféle paramétert is felhasználnak. Ezek közül a katalizátor hatékonyságát legjobban leíró a kvantumhasznosítási tényező, amit a szakirodalom általában QY-nal (esetleg QE-vel) jelölnek. Sajnos a heterogén fotokatalízis területén az egységes jelölésmód még nem terjedt el, ezért általánosan elfogadott, hogy a használt jelölést minden esetben pontosan definiálják. A pontos meghatározás szerint kétféle paramétert használnak, amelyekre az elmúlt években javasolt és leggyakrabban használt jelölés az eQY, illetve az iQY (external/internal quantum yield). Mindkettő a reakcióba lépő elektronok számát adja meg. Előbbi (eQY) a katalizátorra ráeső ( $n_{F0}$ ), míg utóbbi a katalizátor által elnyelt fotonok számára ( $n_{FA}$ ) vonatkoztat.

$$(2.11) \quad eQY = \frac{\text{reakcióba lépő elektronok száma}}{\text{katalizátorra ráeső fotonok száma}} = \frac{2 \cdot n_{H_2}}{n_{F0}}$$

$$(2.12) \quad iQY = \frac{\text{reakcióba lépő elektronok száma}}{\text{katalizátor által elnyelt fotonok száma}} = \frac{2 \cdot n_{H_2}}{n_{FA}}$$

A kapott értéket százalékban adják meg. Mindkét QY függ a bevilágító fény hullámhosszától, ezért ezt az értéket, gyakran keskeny spektrumú fényforrással (410–420 nm)

határozzák meg. Másik jellemző mennyisége a hidrogénfejlődés sebessége, amit szokás RHP-vel jelölni (Rate of H<sub>2</sub> Production). Ezzel a fejlődő hidrogén anyagmennyiségét adják meg időegységre (μmol/h) vagy időegységre és a katalizátor tömegegységére vonatkoztatva (mmol H<sub>2</sub>/g katalizátor/h). Noha ezek a paraméterek könnyen meghatározhatóak, de értékük függ a fényforrás színekétől, intenzitásától, a geometriai elrendezéstől és az alkalmazott koncentrációktól is, ezért az RHP csak adott rendszerre, állandó geometriai feltételek mellett, arányos a QY-vel. Sajnos a H<sub>2</sub>-fejlesztési témában közölt cikkek közül kevesebb, mint a felében adnak meg QY-t, így az összehasonlítás nehéz.

### 3 Kísérleti rész

#### 3.1 Felhasznált anyagok

A katalizátorok előállításához, módosításához és a bevilágítási kísérletekhez a Reanaltól beszerzett analitikai tisztaságú cink(II)-acetát-dihidrátot, kadmium(II)-acetát-dihidrátot, nikkel(II)-nitrát hexahidrátot, kobalt(II)-acetát tetrahidrátot, mangán(II)-szulfát hidrátot, tömény ammónium-hidroxidot és *Sigma- Aldrich*-től vásárolt nátrium-szulfid-nonahidrátot () és nátrium-szulfidot használtam.

Az oldatok elkészítéséhez felhasznált vizet fordított ozmózis elvén működő *Millipore Elix* készülékkel állítottam elő, amelyet ioncserét alkalmazó *Millipore MilliQ 50* készülékkel tovább tisztítottuk. A tisztítási folyamat után kapott víz fajlagos ellenállása körülbelül 18,2 MΩ·cm (25 ° C-on) és TOC (szerves széntartalma) 5 ppb alatt van.

Az oldatok oxigénmentesítéséhez legalább 99,997%-os tisztaságú (4.7) argon gázt használtam.

#### 3.2 Kísérleti módszerek

##### 3.2.1 Diffúz reflexió

A diffúz reflexiós színeképek felvételéhez integrálgömb-feltéttel felszerelt Specord S600 típusú spektrofotométert használtam.

A diffúz reflexión alapuló mérések elméleti háttérét a Kubelka-Munk elmélet [\[21\]](#) szolgáltatja, amely összefüggést teremt az abszorpciós és a szórási koefficiensek között. A Kubelka-Munk függvény ( $f_{KM}$ ) egyenesen arányos az abszorpciós koefficienssel ( $k$ ), valamint fordítottan arányos a szórási koefficienssel ( $s$ ) az alábbi egyenlet szerint:

$$(3.1) \quad k = s \cdot f_{KM}$$

$$(3.2) \quad f_{KM} = k/s = (1 - R_s)^2 / 2R_s$$

ahol  $f_{KM}$  a Kubelka-Munk függvény, az  $R_s$  jelenti a diffúz reflektált fény számára végtelennek tekinthető vastagságú réteg, vagyis a fényt már át nem engedő réteg, által visszavert fény színeképét. A fényszórás csak csekély mértékben függ a hullámhossztól, ezért a Kubelka- Munk függvény alakja hasonló az abszorpciós színeképhez.

A tiltottsáv-szélességet (BG) a Kubelka-Munk függvényekből Tauc-szerinti ábrázolásmódból ( $(f_{KM} \cdot E_{ph})^2$  vs.  $E_{ph}$ , ahol  $E_{ph}$  a foton energiája) grafikusán határoztam meg [22].

### 3.2.2 TEM

A transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) felvételekhez a minták híg vizes szuszpenzióját cseppentettük fel folytonos szénhártyával borított réz rácásra. A TEM- elemzéseket egy 200 kV-os gyorsítófeszültségen működtetett Talos F200X G2 műszerrel végeztük, egy téremissziós ágyúval és egy négy detektoros Super-X energiadisperzív röntgenspektrométerrel volt felszerelve, és amely hagyományos TEM és pásztázó transzmissziós (STEM) üzemmódban is képes dolgozni. A szerkezetek jellemzésére nagyfelbontású (HRTEM), pásztázó TEM (STEM) és gyűrűs, sötét látóterű (HAADF; high- angle annular dark field) felvételeket készítettünk. A kémiai összetétel meghatározása STEM- EDS elemtérképekkel történt.

### 3.2.3 ICP

Az ICP-OES (induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometria) elemek mennyiségének és minőségének meghatározására szolgál vizes oldatokban. A plazma segítségével gerjesztett atomok és ionok által kibocsátott elektromágneses sugárzás jellemző az adott anyagra, a sugárzás intenzitása arányos az elem koncentrációjával. ICP méréseket egy Spectroflame Modula E típusú spektrométerrel végeztük.

### 3.2.4 Röntgen vizsgálat

A fázisösszetételt röntgendiffrakciós méréssel Philips PW3710 készüléket használva (sugárforrás: Cu K $\alpha$  sugárzás, 50 kV és 40 mA) határozták meg. Az adatgyűjtést X'Pert Data Collector szoftverrel történt. A fázisok azonosítására a Malvern HighScore Plus 5.1a szoftvert használták. A hawleyit, szfalerit, greenockit és wurtzit fázisainak azonosításához az ICDD (International Centre for Diffraction Data) 01-075-0581, 00-005-0566, 00-006-0314 és 00-036-1450 por diffrakciós fájlját (PDF, PDF-2 2021) használtuk. A kristallit-méret meghatározása Rietveld-féle módszerrel történt. A mintákat a katalizátorszuszpenzió üveglapon történő szárításával (40 °C, 2 óra) állítottuk elő.

### 3.2.5 Fotokémiai kísérletek

A kísérleteknél használt mérőberendezés tartalmazott egy lapos, henger alakú, két nyakú, szeptumos kupakkal ellátott,  $40\text{ cm}^3$ -es reaktort, amelyhez egy híg NaOH oldatot tartalmazó pufferedényt csatlakoztattam gáztömören tefloncsövek segítségével (3.1. ábra). Így a mérés során fejlődött  $\text{H}_2$  vele azonos térfogatú folyadékot szorított ki, ami egy szedő edénybe távozott. A híg lúgoldat alkalmazása célravezető, mivel az esetlegesen kijutó  $\text{H}_2\text{S}$  gázt képes megkötni. A szedőedény egy táramérlegen helyezkedett el, amellyel percnként egy számítógépes program segítségével mérni tudtam a kiszorított folyadék tömegét, azaz a képződő  $\text{H}_2$  fejlődésének kinetikáját nyomon tudtam követni.



3.1. ábra A bevilágításhoz használt berendezés.

A bevilágításos kísérletek során a reaktor mindig  $20\text{ mg}$  katalizátort  $4,0\text{ mmol Na}_2\text{S}$ -t és  $5,32\text{ mmol Na}_2\text{SO}_3$ -ot tartalmazott, amit argonozott Milli-Q vízzel töltöttem fel úgy, hogy a végtérfogat minden esetben  $30\text{ cm}^3$  volt. A kísérletek megkezdése előtt minden esetben legalább  $5$  percen keresztül argon gázt buborékolttam át az oldaton, annak érdekében, hogy az oldatot és a felette lévő gázteret oxigénmentesítsem. Az argon gázt a reaktor mellékcsonkján vezettem be egy tefloncső segítségével, majd a szükséges idő letelte után az argonozó csövet kihúztam az oldatból és légmentesen lezártam a reaktort. Az oxigénmentesítés után a reaktort befogattam az állványba, majd a fő csonkon keresztül

hozzácsatlakoztattam a pufferoldatot tartalmazó edényhez, ami alá pedig egy mérlegre állított szedőedényt helyeztem. A csatlakozások gáztömörtségét minden alkalommal ellenőriztem.

A  $\text{Na}_2\text{S}$ -t és  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ -t tartalmazó lebontandó oldat elkészítésénél figyelembe vettem, hogy a  $\text{Na}_2\text{S}$  vizes oldata még hűtőben sem stabil néhány napnál tovább. A fotokémiai kísérletek eredményeinek megbízható összehasonlítása végett kívánatos lenne minden kísérletnél azonos szulfid- és szulfitkoncentráció mellett mérni. Ugyanakkor a  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$  kristályok nagy mérete miatt pontos egyedi bemérések nem kivitelezhetők. Ezért úgy készítettem el  $250\text{ cm}^3$ -nyi törzsoldatot, hogy abból  $9,00\text{ cm}^3$ -nyit kivéve az pontosan  $4\text{ mmol}$   $\text{Na}_2\text{S}$ -ot és  $5,32\text{ mmol}$   $\text{Na}_2\text{SO}_3$ -ot ( $1,33\text{x}$  felesleg) tartalmazzon, azaz annyit, amennyi egy bevilágítási kísérlethez szükséges. A törzsoldatot argonnal oxigénmentesített Milli-Q vízzel készítettem, majd homogenizálást követően  $9\text{ cm}^3$ -es adagokban egy légmentesen lezárható jégkockatartóba adagoltam, és  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ -on lefagyasztva tároltam. Tapasztalataink szerint az így tárolt törzsoldat kb. 3 hónapig eltarthatónak bizonyult. A szükséges számú adagokat csak közvetlenül a mérés előtt olvasztottam fel  $10\text{ cm}^3$  argonozott Milli-Q vízben. Ezzel a módszerrel nemcsak időt spóroltam meg, de a bevilágítandó oldat összetétele is mindig ugyanolyan volt.

Ebben az oldatban a  $\text{Na}_2\text{S}$  az áldozati reagens, a  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  szerepe pedig a redukció során keletkező elemi kén kiválásának megakadályozása azáltal, hogy azzal reagálva vízoldható tioszulfátot eredményez, ezzel megakadályozva a katalizátor felületének maradandó károsodását. A  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  felesleg alkalmazása egyúttal meggátolja a katalizátor fotokorrózióját olyan hosszabb mérések során, amikor a szulfid teljes mennyiségét elbontjuk.

A fotokémiai kísérleteknél Kern PCB típusú mérleget használtam, amely összeköttetésben állt egy Kern adatgyűjtő programmal. Ez a program percenként jegyezte fel és mentette le a tömegeket. A bevilágítást 2 db  $7\text{W}$   $6000\text{K}$  Optonica LED-del végeztem el a 3.1. ábrán látható elrendezés szerint.

Ez az eljárás nagyszámú információt ad a reaktorban végbemenő folyamatokról és mechanizmusokról. Egyszerű összeállíthatósága, könnyű digitalizálhatósága és költséghatékonysága jellemzi a mérést. Ezen kívül legfontosabb tulajdonsága, hogy a fejlődött  $\text{H}_2$  térfogatán kívül a reakciósebesség időbeni változásáról is kapunk információt.

A külső kvantumhasznosítási tényező meghatározásához trioxalato-ferrét(III) oldattal aktinometráltuk a használt LED fényforrást a mérés során is alkalmazott geometriai körülmények között. A kapott érték  $30,74\text{ mmol}$  reaktorra eső foton óránként.

### 3.3 Katalizátorok előállítása

A katalizátorokat ammin komplexből csapadékképzéssel állítottam elő szobahőmérsékleten. Adott mennyiségű 0,25 M cink(II)-acetát és 0,25 M kadmium(II)-acetát (1:1) elegyéhez tömény ammónia oldatot adtam, majd erős keverés közben cseppenként nátrium-szulfid- oldatot adagoltam. Hőkezelést fűthető keverőlapra helyezett vízfürdővel végeztem, ahol 75 °C hőmérsékleten 30 percig kezeltem a katalizátorokat.

A felületi módosítást impregnálásos módszerrel végeztem. Kimért alapkatalizátorhoz 1% (n/n) fémsó oldatot mértem, majd a felfuszpendált elegyet egy napig állni hagytam. Egyes esetekben komplexképző szerként tömény NH<sub>3</sub> oldatot is adagoltam. Hőkezelt katalizátorok esetén a fémsót és az ammóniát 75 °C-os vízfürdőn adtam hozzá. Az előállított katalizátorok elnevezését és legfőbb előállítási körülményeit a 3.1. Táblázat tartalmazza.

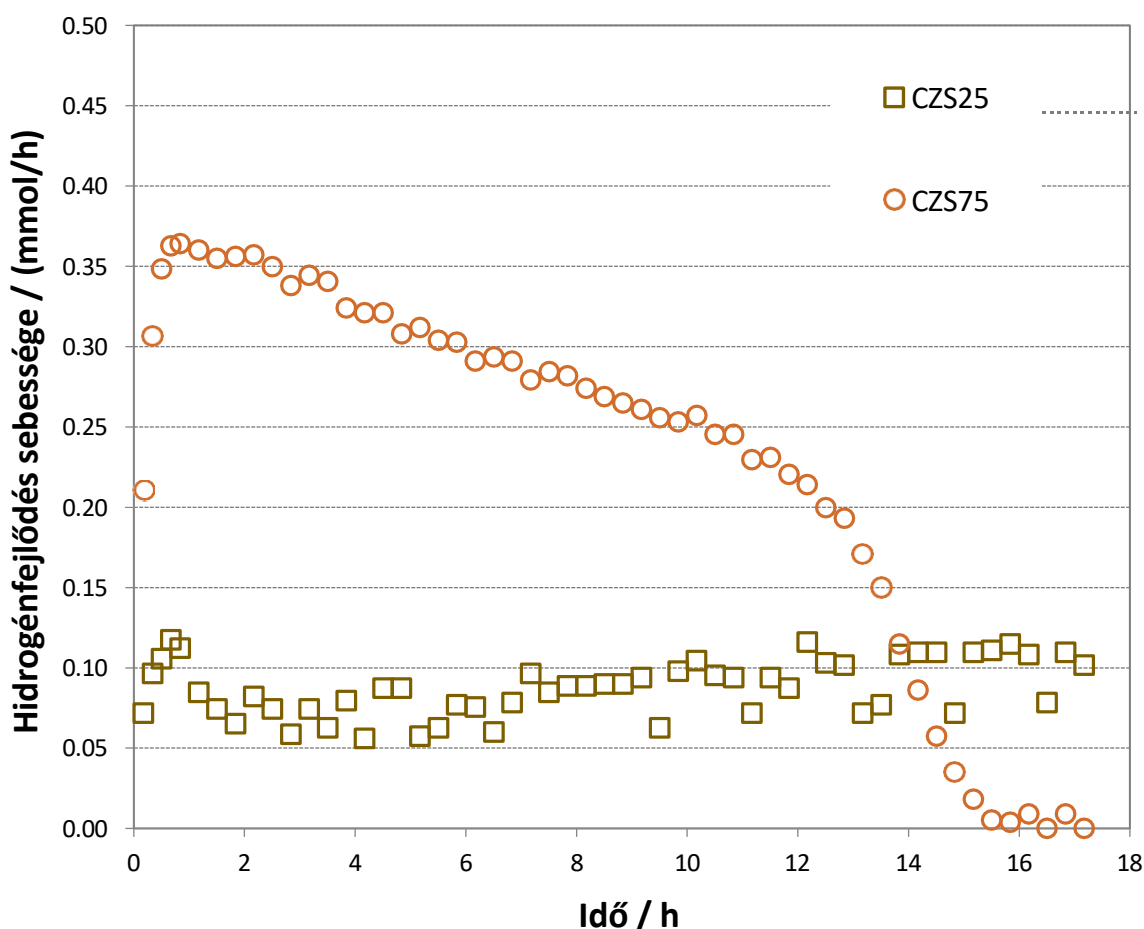
3.1. Táblázat Az általam elkészített katalizátorok listája.

Katalizátor neve	Hőkezelés	Leválasztás közege (NH <sub>3</sub> )	Felületi módosítás
CZS25	-	-	-
CZS75	75 °C utólag	-	-
CZS25-Ni	-	-	Ni (1%)
CZS25-NiN	-	NH <sub>3</sub>	Ni (1%)
CZS75-Ni	75 °C utólag	-	Ni (1%)
CZS75-NiN	75 °C utólag	NH <sub>3</sub>	Ni (1%)
CZS25-Co	-	-	Co (1%)
CZS25-CoN	-	NH <sub>3</sub>	Co (1%)
CZS75-Co	75 °C utólag	-	Co (1%)
CZS75-CoN	75 °C utólag	NH <sub>3</sub>	Co (1%)
CZS25-Mn	-	-	Mn (1%)
CZS25-MnN	-	NH <sub>3</sub>	Mn (1%)
CZS75-Mn	75 °C utólag	-	Mn (1%)
CZS75-MnN	75 °C utólag	NH <sub>3</sub>	Mn (1%)

## 4 Eredmények

### 4.1 Hőkezelés vizsgálata

A hőkezelés gyakran alkalmazott módszer, amely a gyakorlatban is bebizonyította, hogy növeli a katalizátor hidrogénfejlesztő hatékonyságát. Az irodalomban elsősorban 160–200 °C közötti hidrotermiás kezelés az elterjedt, ami vizes oldatban magas nyomást és magas hőmérsékletet alkalmazva ér el szerkezeti változást az anyagban. Ennek feltételezett oka a szfalerit-wurtzit átalakulás (2.3 fejezet), ami a növekvő hőmérséklettel termodinamikailag egyre kedvezményezettebben játszódhat le. Hátránya azonban a módosításnak a nagy befektetett energiaigény, valamint a hőkezelés során csökkenő fajlagos felület. Kísérletemben ezért a szobahőmérsékleten elkészített alapkatalizátorokat, 30 percig 75 °C-os vízfürdőn utókezelttem, vizsgálva, hogy alacsonyabb hőmérsékleten is észlelhető-e a hatékonyságnövekedés.



4.1. ábra Az alap (CZS25) és hőkezelt (CZS75) katalizátor hidrogénfejlesztési sebességének időbeli változása

A 4.1. ábrán látható, hogy már az ilyen alacsony hőmérsékleten végzett hőkezelés is jelentős növekedést eredményez a hidrogénfejlődésben. Az eljárás nagyjából 3,5-szeres növekedést idézett elő. Mivel kutatócsoportunkban már többször is tapasztaltuk, hogy a kevésbé hatékony katalizátor módosítást követően aktívabb lett, mint a hatékonyabb alapkatalizátor ugyanolyan módosítás hatására, ezért a későbbiekben mindkét kompozittal folytatom a vizsgálatokat.

## 4.2 Fémmódosítás

Kutatócsoportunk és az irodalom eddigi tapasztalatai alapján a leghatékonyabb katalizátorok fémmódosítással állíthatóak elő. Ezek közül is legjobbnak a nikkel(II) módosítás bizonyult. A fém segédkatalizátorok működési mechanizmusának ismeretében (2.3 fejezet) felmerült a periódusos rendszerben hasonló helyet elfoglaló többi átmeneti fém vizsgálata is. A nikkelhez hasonlóan a kobalt, vas és mangán is rendelkezik többféle oxidációs fokkal ezért feltételezhető, hogy a már ismertetett mechanizmussal segítik a reakciót.

Mindegyik fémmódosítást impregnálásos módszerrel végeztem. Az alapkatalizátorhoz 1 n/n % mennyiségben adtam hozzá a megfelelő fémiont ammóniás vagy ammóniamentes közegben. Az  $\text{NH}_3$  jelenléte segíti a  $\text{Cd}^{2+}$  és a  $\text{Zn}^{2+}$  kioldódását, így a rácsba könnyebben épülnek be fématomok. Előkészítés után a mintákat egy napig állni hagytam, majd centrifugálással elválasztottam a nem megkötődött fémionokat, és csak ezután adtam hozzá  $\text{Na}_2\text{S}$ -oldatot. A centrifugálással elválasztott felülúszót ICP vizsgálatnak vettem alá, amiből a beépülés hatékonyságára következtethetünk. Az eredmények azt mutatták, hogy a fémmegkötődés mértéke nem függött attól, hogy szobahőmérsékleten előállított vagy  $75\text{ }^\circ\text{C}$ -on utókezelt katalizátort módosítottam. A megkötődött fémionok aránya a hozzáadotthoz képest a Mn(II), Co(II) és a Ni(II) esetére rendre 99%, 97% és 50% volt.

Elsőként Fe(II)-vel végeztem el a módosítást. A minta azonnal befeketedett, feltehetőleg vas-szulfid keletkezése miatt. A katalizátor nem bizonyult fotoaktívnak, a reakció nem indult be, ezért ezt az iont a továbbiakban elvettem.

A következő diagramokon a különböző módon elkészített katalizátorok jelölésére az alábbi rendszert használtam

25 °C-on fémmódosítás; négyzet ■

75 °C-on fémmódosítás; kör ●

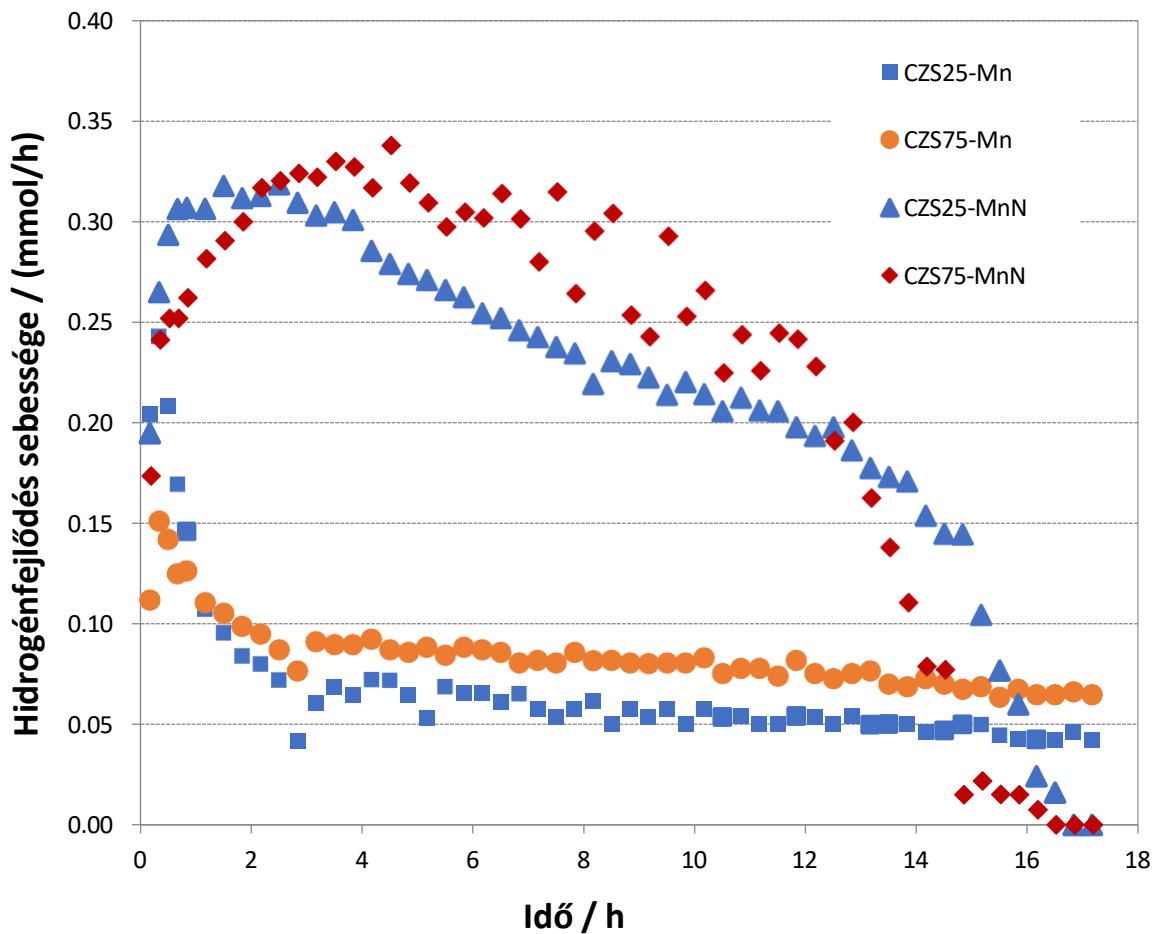
25 °C-on fémmódosítás  $\text{NH}_3$  közegben; háromszög ▲

75 °C-on fémmódosítás  $\text{NH}_3$  közegben; rombusz ◆

### 4.2.1 Mn(II)-módosítás

A mangán(II)-módosítást  $\text{MnSO}_4$  oldattal végeztem. Az alkatalizátorhoz történő hozzáadás után a katalizátor színe sárga maradt, enyhe halvány barna szín jelent meg, feltehetőleg  $\text{MnO}_2$  részleges kiválása miatt.

A bevilágítási kísérletek eredményeként (4.2. ábra) megállapítható, hogy a kezelés ammóniás közeg nélkül nem eredményezett hatásknövekedést, sőt mindkét esetben rontott az eredményen. Ammónia alkalmazásával viszont nagyjából 3-szoros javulás figyelhető meg a szobahőmérsékleten előállított katalizátornál. Ez megegyezik a  $75\text{ }^\circ\text{C}$ -os hőkezelés hatásával. Sajnos a pozitív hatások nem adódnak össze, így a hőkezelt és ammóniás közegben módosított katalizátor is ugyanezt az eredményt adta.



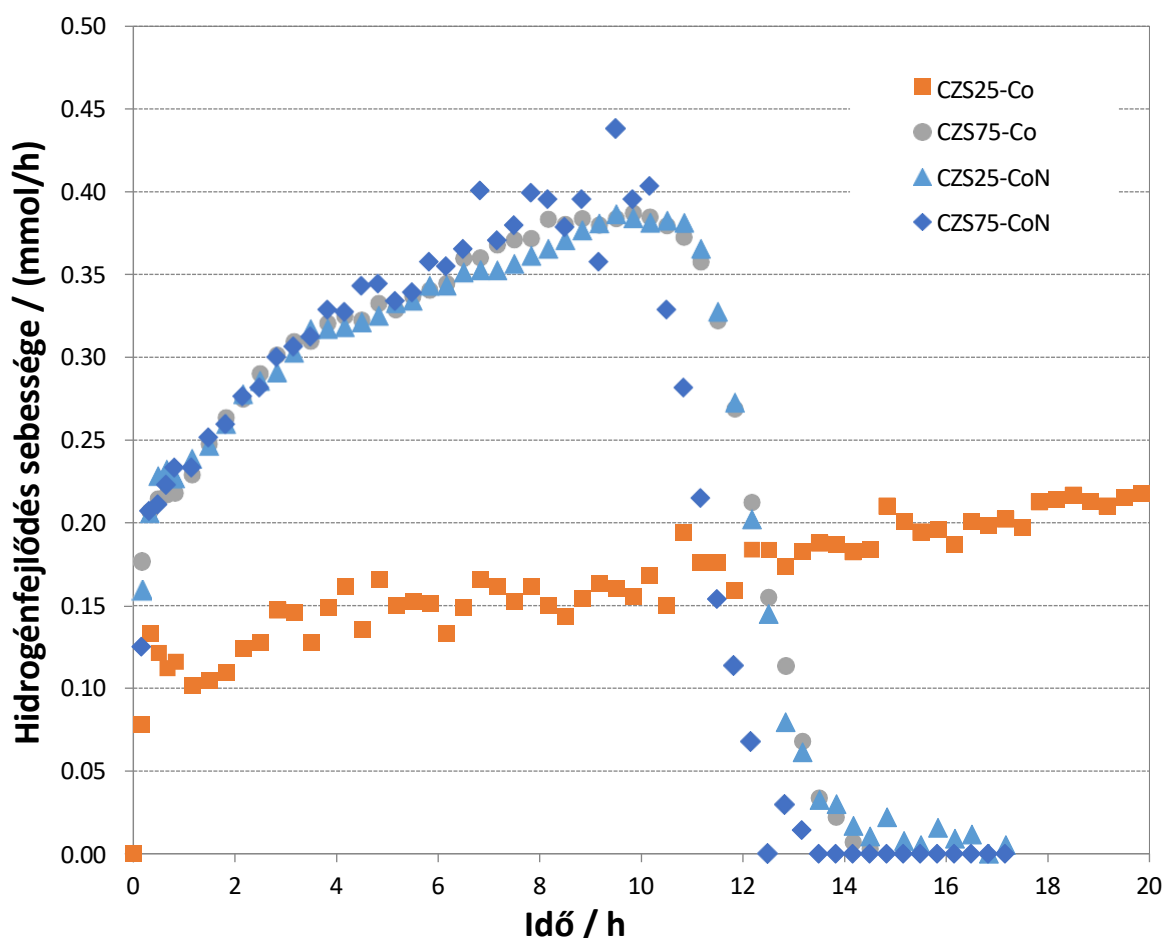
4.2. ábra A különböző módon elkészített mangánnal módosított katalizátorok hidrogénfejlesztő sebességének változása az idő függvényében

## 4.2.2 Co(II)-módosítás

A kobalt(II)-módosítást  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  oldattal végeztem. Az alkatalizátorhoz történő hozzáadás után a citromsárga csapadék halvány kékes-zöld árnyalatot kapott.

Ammónia és hőkezelés nélkül nagyjából kétszeres határfok növekedés érhető el ezzel a módosítással. Ha a katalizátort  $75\text{ }^\circ\text{C}$ -on módosítottuk, vagy alkalmaztunk ammónia komplexképzőt, esetleg mindkét eljárást használtuk, a növekedés négyszeres volt.

A Co.(II)-módosított katalizátorok esetében szembeűnő a hidrogénfejlődés sebességének a megszokottól eltérő jellege (4.3. ábra). Az eddigi katalizátoroknál (4.1. ábra, 4.2. ábra) az áldozati reagens szulfid koncentrációjának csökkenésével csökkent a sebesség is, itt azonban növekedés figyelhető meg. Ez a fajta változás eddig ismeretlen volt ezért többszöri bevilágítási kísérleteket végeztem a mechanizmus meghatározására.

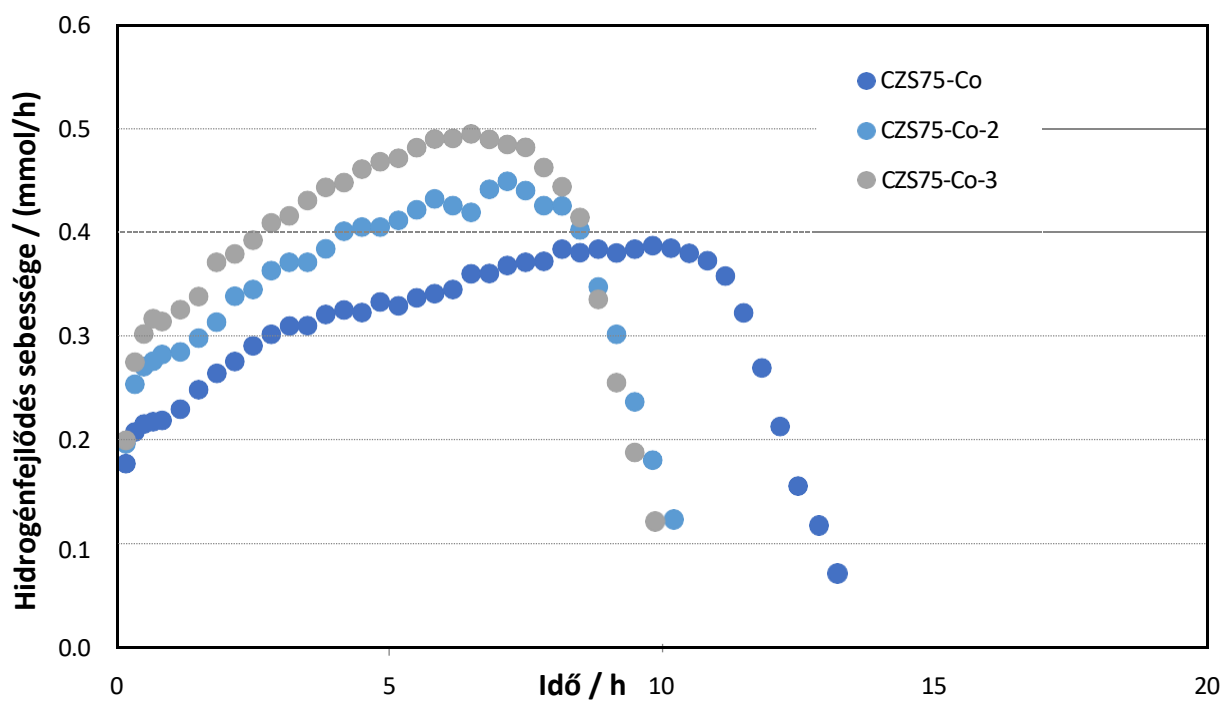
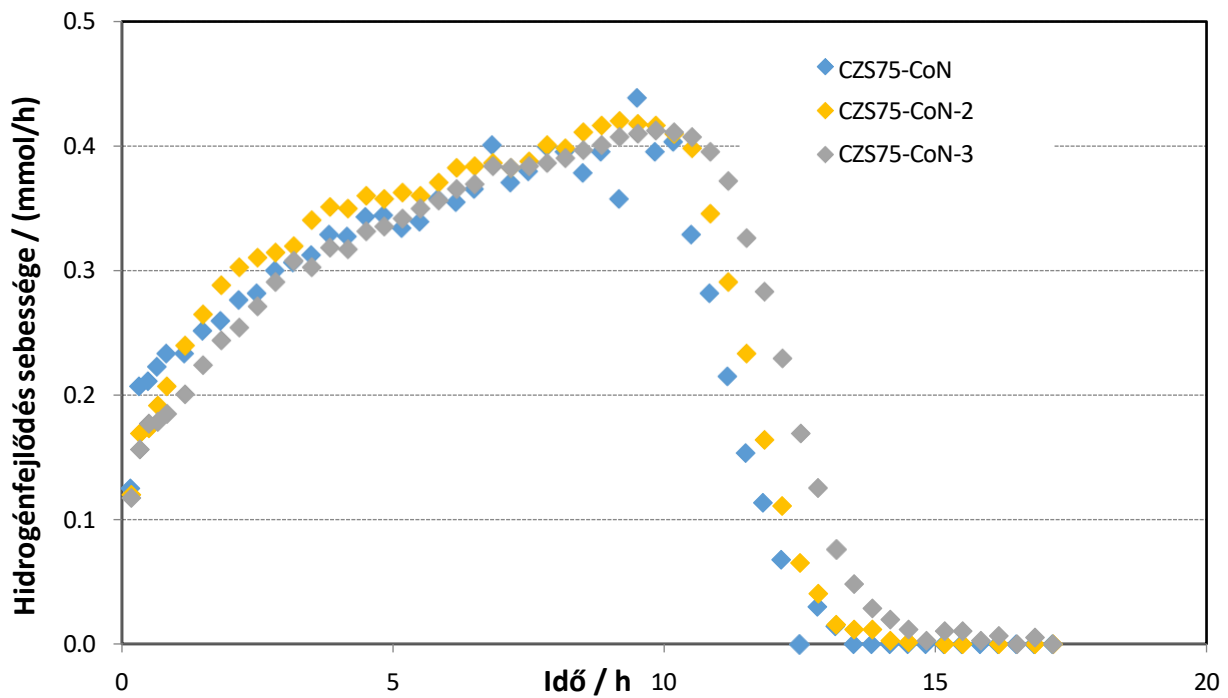


4.3. ábra A különböző módon elkészített kobalttal módosított katalizátorok hidrogénfejlesztő sebességének változása az idő függvényében

A sebességgörbék jellegét nézve felmerül a kérdés, hogy mi okozza a lassú, kb. 10 órán át tartó hatékonyságnövekedést, ami lényegében a szulfid elfogyásáig monoton. A reagens fogyásával csak akkor érhető el nagyobb sebesség, ha a katalizátor „szerved” szerkezeti változást. A változás fajtájának megállapítására egyszerű megoldást biztosít a katalizátor újrahasznosítása új friss lebontandó oldattal. Két katalizátort választottam a kísérlet elvégzéséhez, ezek a CZS75-Co és a CZS75-CoN voltak (4.4. ábra).

CZS75-CoN esetén mindegyik alkalommal ugyanazt a görbét kaptam. Ez bebizonyította, hogy a változás reverzibilis, valamint a katalizátor rendkívül nagy fotostabilitással rendelkezik.

CZS75-Co katalizátornál azonban más eredményeket tapasztaltam. A fotostabilitása ennek a kompozitnak is jó volt, de az a tény, hogy az egymást követő bevilágítások során a kezdeti sebességek egyre nagyobbak voltak (közel akkorák, mint az előző bevilágításnál mért maximum), és maximumok is egyre nagyobbak voltak, arra utalnak, hogy a növekedést okozó kedvező szerkezeti változások irreverzibilisek. A harmadik bevilágításra 27%-os hatékonyság növekedés volt megfigyelhető.



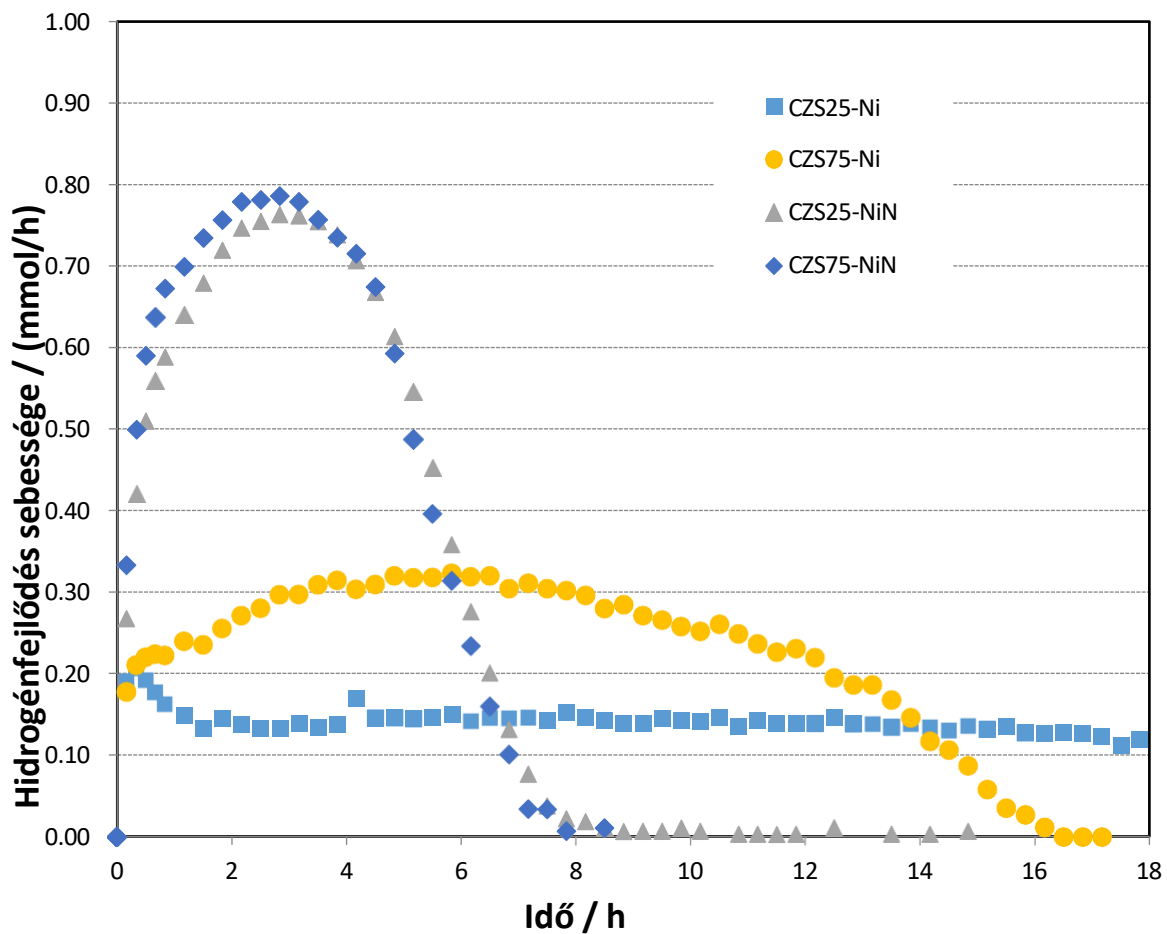
4.4. ábra CZS75-CoN katalizátor (első) és a CZS75-Co katalizátor (második) többszöri bevilágításának grafikonjai

### 4.2.3 Ni(II)-módosítás

A nikkell(II)-módosítást  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  oldattal végeztem. Az alapkatalizátorhoz történő hozzáadás után zöldes árnyalata lett a csapadéknak.

A nikkell(II)-vel történő felületmódosítás eredményezi eddigi ismereteink szerint a leghatékonyabb fotokatalizátort. Ammónia nélkül azonban szobahőmérsékletű katalizátornál elhanyagolható a hatásfok növelése. A 75 °C-on kezelt katalizátorhoz képest is elmarad a módosított katalizátor hatékonysága komplexképző nélkül. Ammóniával azonban az alapkatalizátorhoz képest nyolcszoros, a hőkezeltéhez képest több, mint kétszeres növekedést érhetünk el. Itt a hőkezelt és a szobahőmérsékletű minta között csak mérési hibán belüli különbség mutatkozott (4.5. ábra).

Eddigi tapasztalataink ismét megerősítést nyertek, miszerint Ni(II)-módosításnál NH<sub>3</sub> hozzáadása szükséges jól működő katalizátorhoz, a hőkezelés viszont szükségtelen lépés.

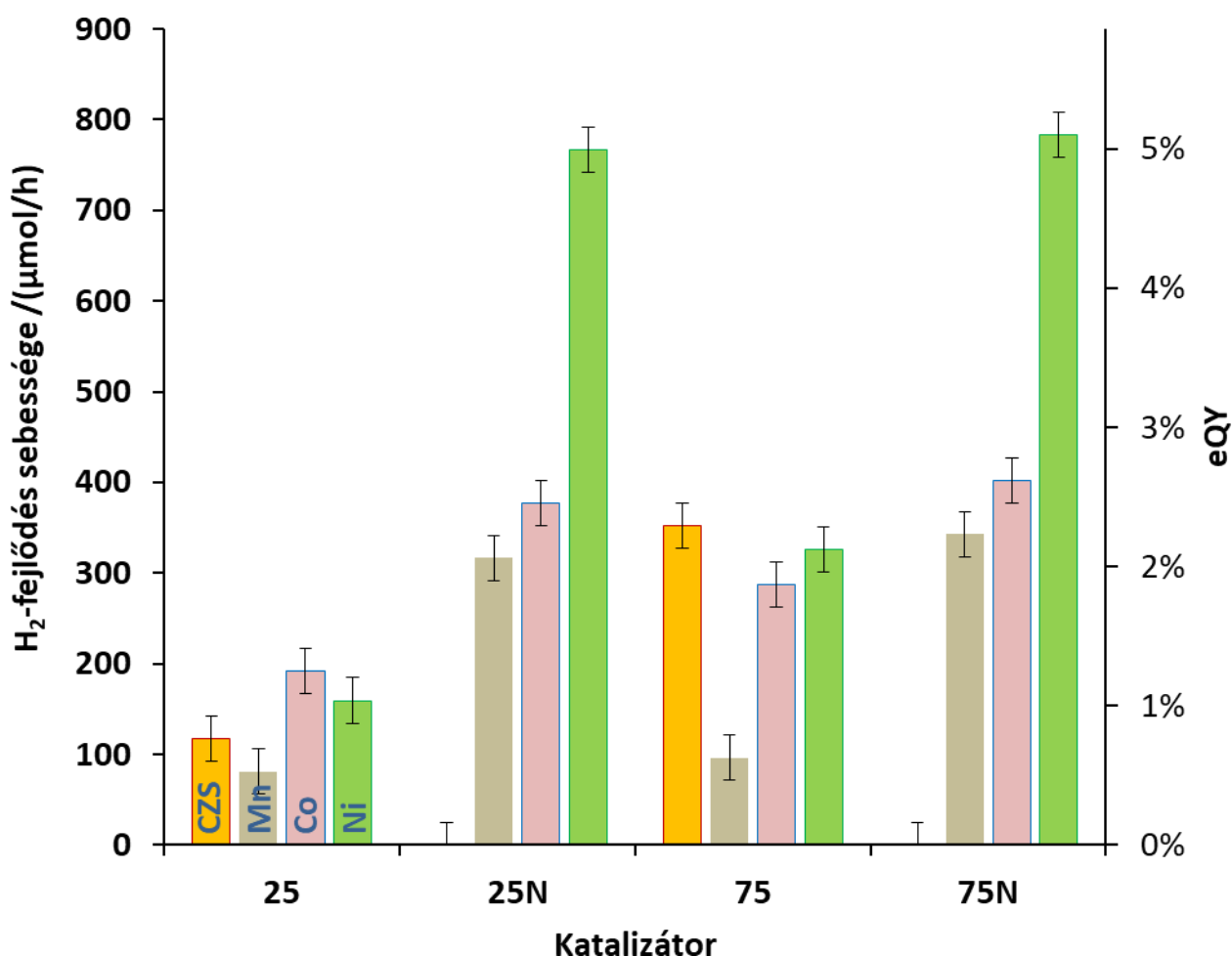


4.5. ábra A különböző módon elkészített nikkellel módosított katalizátorok hidrogénfejlesztő sebességének változása az idő függvényében

### 4.3 Fotokémiai kísérletek konklúziója

A fotokémiai kísérletek során mért H<sub>2</sub>-fejlődési átlagsebességeket a 4.6. ábrán foglaltam össze. Jól látszik, hogy a legjobb fém-módosítónak továbbra is a nikkelt bizonyult. Ezután

következik a kobalt, végül a mangán. Ez alól csak a legrosszabb aktivitásokat mutató szobahőmérsékleten ammóniamentes közegből kapott kompozitok kivételek.



4.6. ábra A katalizátorok hidrogénfejlesztési sebességének átlaga és a külső kvantumhasznosítási tényezője (eQY) 20 mg katalizátort tartalmazó lebontandó oldatból 2 db 7W 6000K hidegfehér LED fényforrást alkalmazva. Az adott katalizátorhoz tartozó RHP a bal oldali, míg a hozzá tartozó eQY értékek a jobb oldali tengelyen olvashatók le.

Általánosan elmondható, hogy az ammónia komplexképző alkalmazása mindhárom fémnél jelentősen növelte a hatásfokot, amit annak tulajdonítunk, hogy az ammónia stabil komplexet képez a Cd(II)- és Zn(II)-ionokkal, ezáltal elősegíti a felületen lejátszódó ioncsere folyamatokat. Ugyanakkor az is látszik, hogy ammóniás közegből történő módosítás esetén az alapkatalizátor hőkezelése nem változtat a hatékonyságon.

A hőkezelés ugyan jelentősen növelte az alapkatalizátor hatékonyságát (CZS75 > CZS25), és az is elmondható, hogy a hőkezelt katalizátor módosításával jobb eredményeket értem el, mint a szobahőmérsékleten előállított alapkatalizátoréval (CZS75-X > CZS25-X), de

ezek hatékonysága ammóniás közeg alkalmazása nélkül nem érte el a módosítatlan katalizátorét (CZS75-X < CZS75).

Kobalt segédkatalizátor alkalmazása esetén a többszöri bevilágítások során növekedés érhető el, ha nincs jelen ammónia, így kobalt módosításnál elhagyható az NH<sub>3</sub>-ás közeg.

Ahogy az irodalmi áttekintésben is említettem [2.3 fejezet], a katalizátorok hatékonyságának két legfontosabb mérőszáma az RHP és a kvantumhasznosítási tényező. Kísérleteim alapján külső kvantumhasznosítási tényező meghatározására van lehetőségem, mivel a ráeső fotonok száma aktinometrálassal jól meghatározható, de az ebből elnyelt fotonok arányára legfeljebb durva becslést tudunk tenni. Mivel a kísérletek során mindig azonos geometriai elrendezést használtam – azaz az eQY definíciójában szereplő nevező azonos (2.11 egyenlet) – a mért RHP értékek arányosak az eQY-nal, ezért egy ábrán ábrázolható a kettő (4.6. ábra). A leghatékonyabb (CZS75-NiN) katalizátorra kapott RHP érték 783 μmol/h vagy egységnyi katalizátortömegre vonatkoztatva 39,15 mmol/g/h. Felhasználva az aktinometrálassal kapott reaktorra eső összes fotonok számát (30,74 mmol/h) a számolt külső kvantumhasznosítási tényező  $eQY = 5,86\%$ .

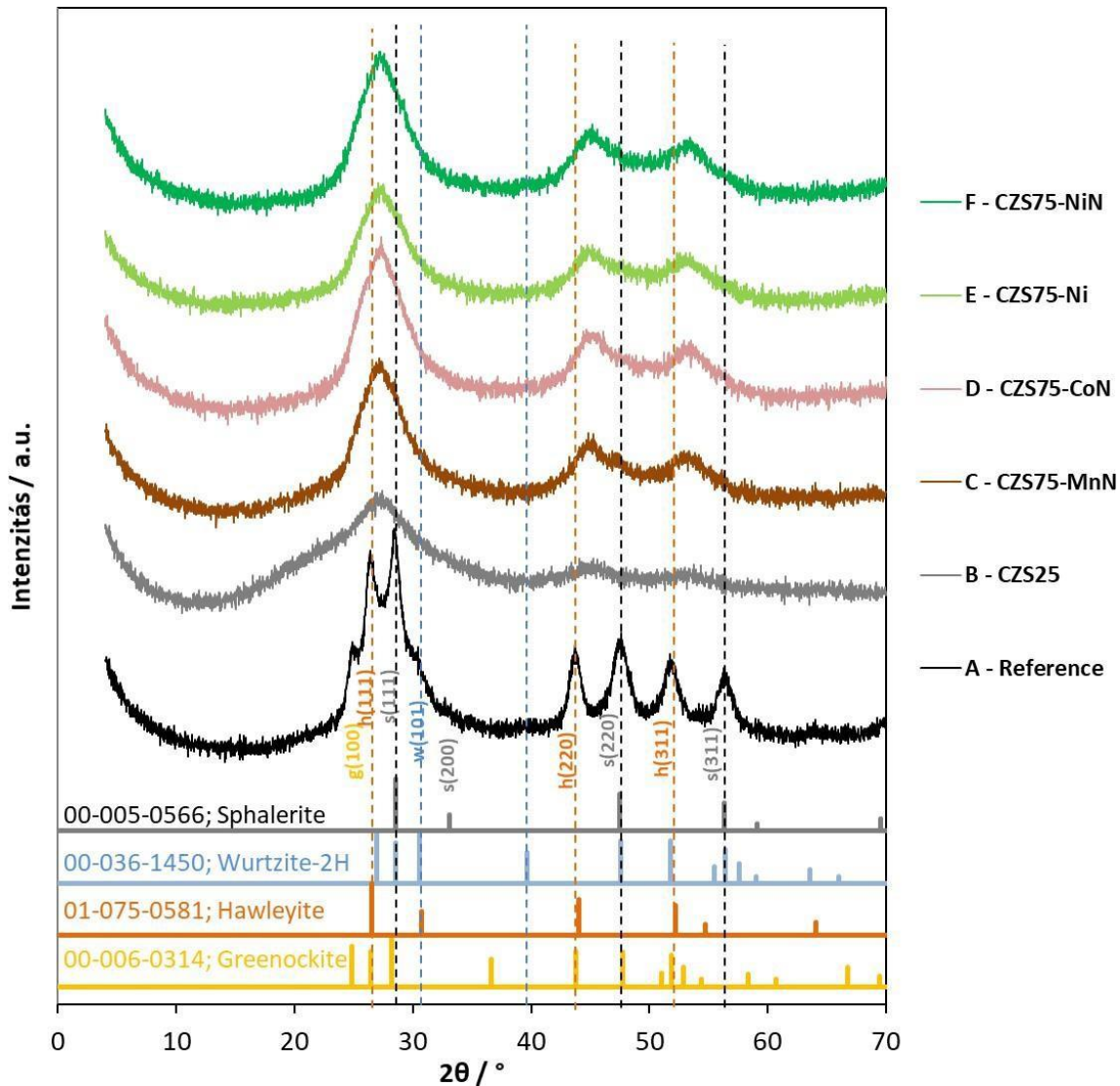
#### **4.4 Katalizátorok szerkezeti jellemzése**

A hidrogénfejlesztési kísérletek eredményeinek értelmezésében nagy segítséget jelenthet a katalizátorok szerkezetének minél alaposabb megismerése, ezért néhány jól megválasztott kompozitról XRD, DRS és mikroszkópos felvételeket készítettünk. A vizsgálandó katalizátorok kiválasztásánál cél volt a különböző fémmódosítások összehasonlítása, amikhez a legjobb hatékonyságot mutató 75 °C-on kezelt alapkatalizátorból ammóniás közegben módosított kompozitokat választottuk. Ezentúl a leghatékonyabb fémmódosítás esetében (Ni) összehasonlítottam az ammóniás, ill. ammóniamentes közegben előállított katalizátort.

##### **4.4.1 XRD felvételek**

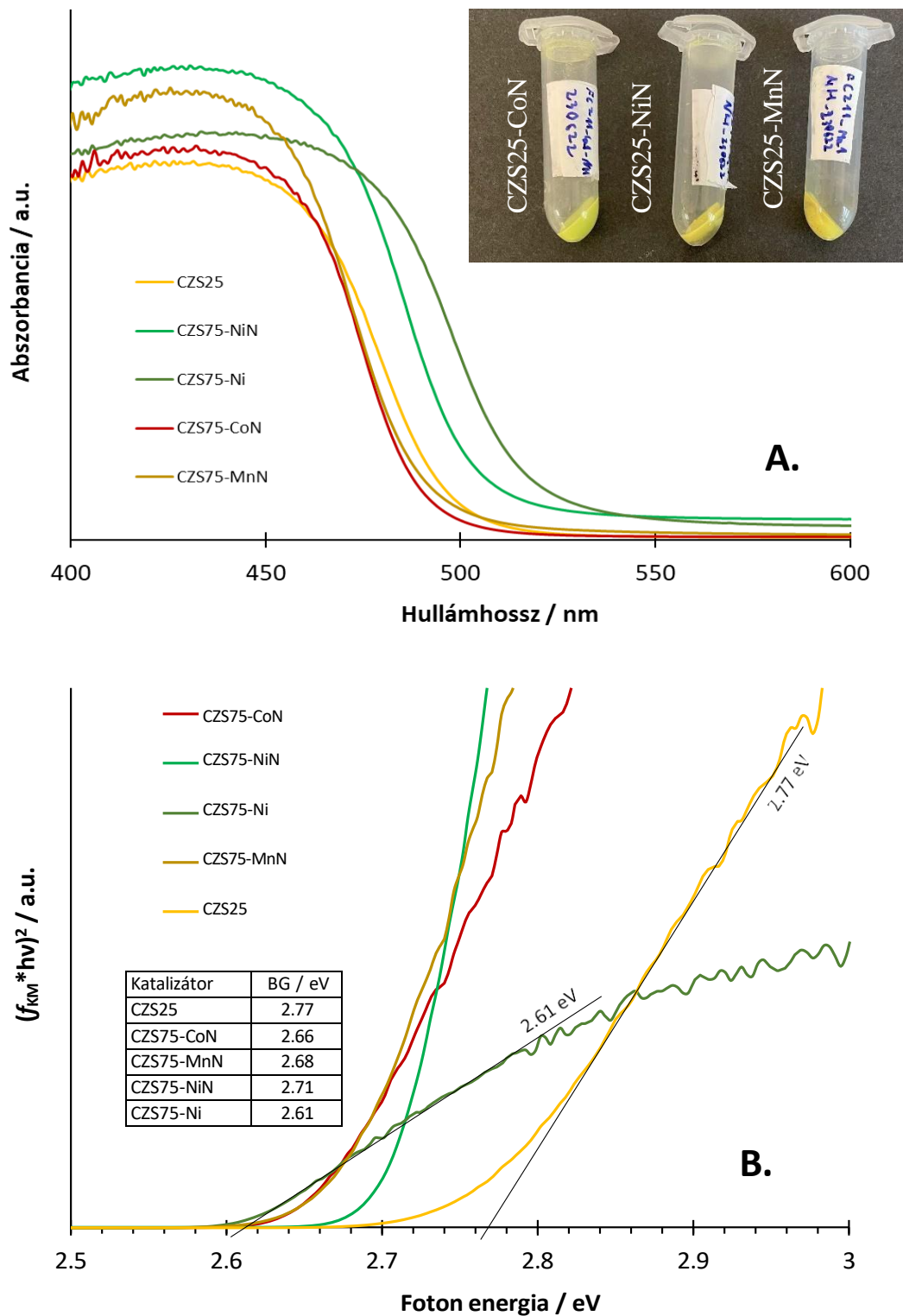
A 4.7. ábrán látható XRD felvételekből jól látszik, hogy a különböző 75 °C-on kezelt alapkatalizátorból módosított kompozitok felvételei nem mutatnak szembevető eltérést, ami arra utal, hogy az impregnációs módosítás nem változtatja meg a fázisösszetételt észrevehető mértékben, és a fémtartalom sem éri el a kimutathatósági határt. A referenciával összehasonlítva a vizsgált kompozitokat megállapítható, hogy a CdS és a ZnS csúcsai nem jelennek meg külön, helyettük egy-egy csúcs jelenik meg 27,5; 45,3 és 53,2 2θ értékeknél. Ez a várakozásnak megfelelően igazolja, hogy az előállítás során a CdS és a ZnS nem egymás

mellett válik le, hanem a Cd(II)- és Zn(II)-ionok egymást helyettesítik a szfalerit-szerkezetű kristályrácsban szilárd oldatot képezve. Szembetűnő a szobahőmérsékleten kapott minta kiszélesedő csúcsai, ami kisebb kristallit-méretre utalnak. A Rietveld-féle módszerrel meghatározott kristallit-méretnek ennek megfelelően 14 Å lett a CZS25 katalizátorra, míg a 75 °C-on kezelték 22-25 Å közötti értékeknek adódtak. Ez az eredmény megfelel annak, a várakozásnak, hogy a hőkezelés során a minta öregedik, növekszik a szemcseméret, és ezáltal csökken a fajlagos felület.



4.7. ábra. Szobahőmérsékleten előállított módosítatlan katalizátor (B), illetve a 75 °C-on kezelt, majd fémmel (C: Mn(II), D: Co(II), E és F: Ni(II)) módosított kompozitok XRD felvételei. A módosítás C, D és F esetében ammóniás közegben történt. A fekete (A) referencia felvétel a CdS:ZnS 1:1 molarányú keverékből készült. A szaggatott vonalak a szfalerit (szürke), a hawleyit (narancs) és a wurtzit (kék) jellemző csúcsait jelzik.

#### 4.4.2 Diffúz reflexiós színeképek

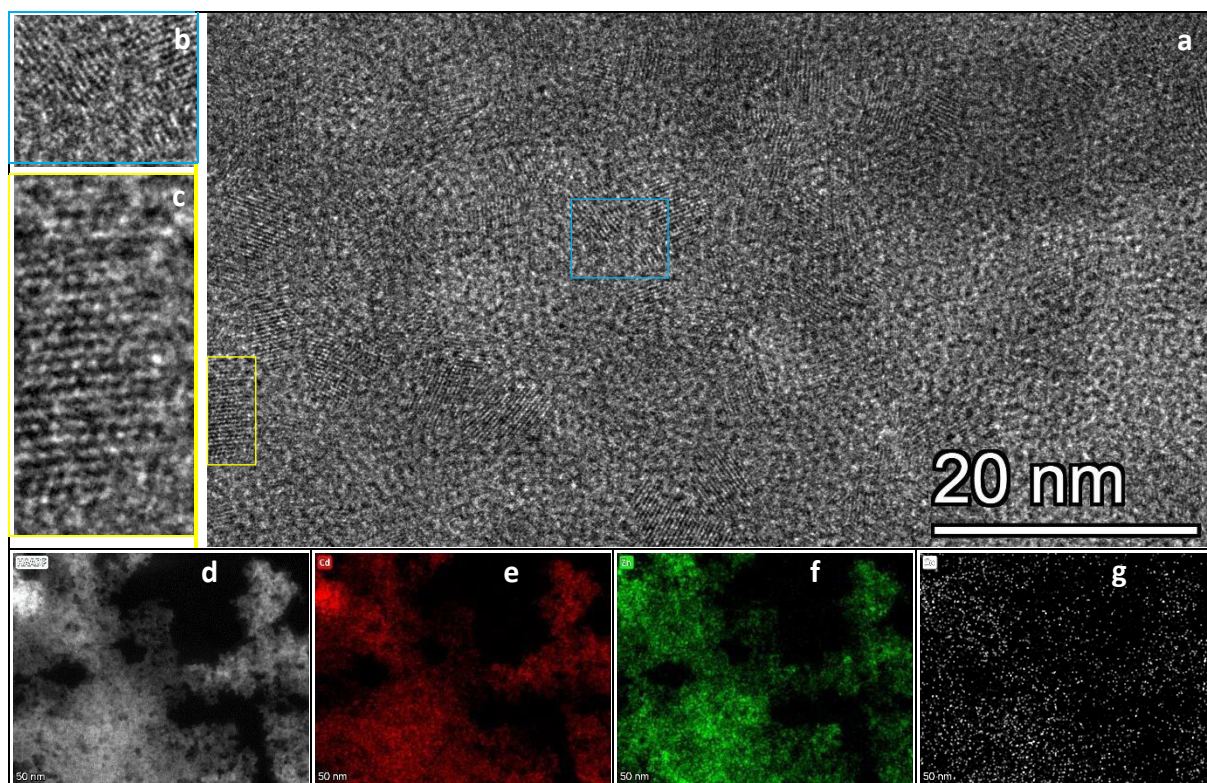


4.8. ábra Az ábrán jelölt kompozitok diffúz reflexiós színeképeiből Kubelka-Munk módszerrel számolt abszorbancia-arányos színeképek (A), illetve a Tauc-ábrázolás (B) alapján meghatározott tiltószélességek értékei (beszúrt táblázat).

Ni-módosításnál vöröseltolódás az abszorpciós élben (4.8. A ábra), ami összhangban van a katalizátorkészítésnél tapasztalt enyhe zöldes színváltozással.

A módosítatlan szobahőmérsékleten előállított CZS25 alapkatalizátor tiltottsáv- szélessége 2,77 eV. A többi vizsgált minta ehhez képest kisebb BG-értékeket eredményezett (2,61–2,71 eV) (4.8. B ábra). A csökkenés (0,06-0,16 eV) ugyan kis mértékben növeli az elnyelt fotonok mennyiségét, de csak kb. 5–10%-kal [19], így ez nem indokolhatja a hatékonyság jelentős növekedését. Ez arra utal, hogy a fémmódosítás nem módosítja a  $Zn_{0.75}Cd_{0.25}S$  alapkatalizátor rácsszerkezetét, ami összhangban van az XRD felvételek tapasztalataival. Ezt megerősíti, hogy a hasonló módon előállított, de eltérő fémet tartalmazó kompozitok BG értékei alig mutatnak nagyobb eltérést a mérési hibánál, ami  $\sim 0,03$  eV. Mindez azt sugallja, hogy a BG értékek kismértékű csökkenése a hőkezelésnek tulajdonítható. Ehhez hasonló jelenségről már többen is beszámoltak, ugyan ez esetekben a 170 °C-os hidrotermiás kezelést alkalmaztak [23]. Ha a fémmódosítás nem változtatja meg a rácsszerkezetet, mégis a fém minőségétől jelentősen függ a katalitikus aktivitás, arra utal, hogy a fém-vegyületek a felületen segédkatalizátor-szerepet töltenek be.

## 4.5 TEM



**4.9. ábra** A CZS75-CoN katalizátor TEM felvételei. Az a-c ábrák HRTEM képek, a b és a c nagyított képek szélessége rendre 8 nm és 4 nm. A d ábra a katalizátor nagy felbontású STEM-HAADF képe, az e-g ábrák pedig az egyes alkotók elem térképe: piros (e) – Cd, zöld (f) – Zn és fehér (g) – Co.

Nagyfelbontású transzmissziós elektronmikroszkópia alkalmazásával megállapítottuk, hogy a szemcsék többsége 3-8 nm átmérőjű uniform egyedi szemcsék aggregátuma (4.9. a. ábra), amelyek nagyrészt szabályos szfalerit szerkezetűek (4.9. b. ábra), de kevés szfalerit-wurtzit ikresedés is megfigyelhető (4.9. c. ábra).

Az elemösszetétel tanulmányozásához a Co(II)-módosított CZS75-CoN mintát választottuk. A 4.9. ábra d-g. ábrákon megfigyelhetjük, hogy a Zn-Cd ionok eloszlása homogén, sem Cd- sem Zn-feldúsulás nem számottevő. Kb. 20x20 nm<sup>2</sup> területeken ellenőrizve az összetételt 40–60% megoszlásnál szélsőségesebbet nem találtunk. A Co mennyisége ugyan csak 1%-a a Cd és a Zn összes mennyiségének, így a beütésszám jóval kisebb, de az jól látszik, hogy a Co eloszlása nagyon egyenletes, beborítja a teljes szemcsét, és nem észlelhető szemcsén kívüli feldúsulás. Ez ugyan mutatja a sikeres (terv szerinti) előállítás, de a kis mennyiséggel párosulva kizárja annak az esélyét, hogy meghatározhassuk a hozzá kapcsolódó anion minőségét. Korábban kutatócsoportunkban ezzel a módszerrel igazolható volt, hogy a Ni(II) nem NiS-ként, hanem Ni(OH)<sub>2</sub>-ként fordul elő a Zn<sub>0.75</sub>Cd<sub>0.25</sub>S felületén, vagy részben azok között feldúsulva.

A DRS, XRD és TEM szerkezetvizsgálati eredmények arra utalnak, hogy a fémmódosítás nem befolyásolja sem a katalizátor fő tömegének szerkezetét, sem a tiltott sáv szélességét olyan mértékben, ami a jelentős hatékonyságnövekedést eredményezné. Az aktivitásnövekedésben tapasztalt eltérések oka valószínűleg a felületen megkötődött fémvegyület minőségével magyarázható, azonban ennek igazolásához további mérések (elektrokémiai és XPS) szükséges.

Munkám során  $\text{Cd}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{S}$  katalizátorokat állítottam elő és módosítottam különböző módszerekkel, amelyekkel vizsgáltam a  $\text{Na}_2\text{S}$ -oldat fotokatalitikus bontásával képződött  $\text{H}_2$  fejlődési sebességét.

Vizsgálatom során elsősorban az átmenetifémek használatára koncentráltam, de komplexképző alkalmazásának és a hőkezelésnek a hatásait is vizsgáltam. Tapasztalataim alapján a leghatékonyabb katalizátort Ni(II)-módosítással lehet előállítani,  $\text{NH}_3$  komplexképző alkalmazása mellett. Co(II)-módosítással nagy stabilitású katalizátor keletkezett, aminek  $\text{H}_2$  termelési sebessége folytonos növekedést mutatott, mind az adott, mind pedig az egymást követő bevilágítások során. A reakciómechanizmus további vizsgálatokat igényel. A Mn(II) módosítással készült katalizátorok bizonyultak a legrosszabbnak, fotostabilitásuk is alacsony volt.

Általánosan megállapítható a komplexképző fontossága. Alkalmazása minden esetben javított a hidrogénfejlődés sebességén, és a legjobb eredmények mind ammóniás közegben leválasztott katalizátorral születtek. A hőkezelés önmagában sokat javít a hatásfokon, de hőkezelt katalizátor fémmódosítása nem eredményezett javulást. Ez alapján a hatékonyságot elsősorban a választott fém és komplexképző használata befolyásolja.

## **Köszönetnyilvánítás**

Szeretném köszönetemet kifejezni Dr. Fodor Lajos tanár úrnak, a dolgozatom elkészítésében nyújtott szakmai segítségéért és fejlődésemért megtett erőfeszítése miatt. Ezen kívül köszönetemet fejezem ki Dr. Kristófné dr. Makó Évának az XRD mérések elvégzéséért, Vágvölgyi Veronikának az ICP mérésekért és Pekker Péternek a TEM felvételek elkészítéséért. Nélkülük ez a dolgozat nem jöhetett volna létre.

- [1] Rahim Malik, F.; Yuan, H.-B.; Moran, J.C.; Tippayawong, N. Overview of hydrogen production technologies for fuel cell utilization. *Engineering Science and Technology, an International Journal* **2023**, *43*, 101452. <https://doi.org/10.1016/j.jestch.2023.101452>
- [2] Sassi, M.; Gupta, A.K. Sulfur Recovery from Acid Gas Using the Claus Process and High Temperature Air Combustion (HiTAC) Technology. *Am. J. Environ. Sci.* **2008**, *4*, 502–511. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2008.502.511>
- [3] Tamirat, A.G.; Rick, J.; Dubale, A.A.; Su, W.-N.; Hwang, B.-J. Using hematite for photoelectrochemical water splitting: a review of current progress and challenges. *Nanoscale Horiz.* **2016**, *1*, 243–267. <https://doi.org/10.1039/C5NH00098J>
- [4] *UV-Visible Photocatalysis for Clean Energy Production and Pollution Remediation*; Wang, X., Anpo, M., Fu, X., Eds.; Wiley, 2023; ISBN 9783527350506.
- [5] Yang, X.; Wang, D. Photocatalysis: From Fundamental Principles to Materials and Applications. *ACS Appl. Energy Mater.* **2018**, *1*, 6657–6693. <https://doi.org/10.1021/acsaem.8b01345>.
- [6] *Heterogeneous Photocatalysis*; Colmenares, J.C., Xu, Y.-J., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2016; ISBN 978-3-662-48717-4.
- [7] Chan, C.-C.; Chang, C.-C.; Hsu, C.-H.; Weng, Y.-C.; Chen, K.-Y.; Lin, H.-H.; Huang, W.-C.; Cheng, S.-F. Efficient and stable photocatalytic hydrogen production from water splitting over  $Zn_xCd_{1-x}S$  solid solutions under visible light irradiation. *Int. J. Hydrogen Energy* **2014**, *39*, 1630–1639. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.11.059>.
- [8] Huang, H.-B.; Fang, Z.-B.; Yu, K.; Lü, J.; Cao, R. Visible-light-driven photocatalytic  $H_2$  evolution over CdZnS nanocrystal solid solutions: interplay of twin structures, sulfur vacancies and sacrificial agents. *J. Mater. Chem. A Mater.* **2020**, *8*, 3882–3891. <https://doi.org/10.1039/C9TA13836F>.
- [9] Zagorac, J.; Zagorac, D.; Šrot, V.; Ranđelović, M.; Pejić, M.; van Aken, P.A.; Matović, B.; Schön, J.C. Synthesis, Characterization, and Electronic Properties of ZnO/ZnS Core/Shell Nanostructures Investigated Using a Multidisciplinary Approach. *Materials* **2022**, *16*, 326. <https://doi.org/10.3390/ma16010326>.
- [10] Liu, M.; Jing, D.; Zhou, Z.; Guo, L. Twin-induced one-dimensional homojunctions yield high quantum efficiency for solar hydrogen generation. *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 2278. <https://doi.org/10.1038/ncomms3278>.
- [11] Zhao, W.; Jin, Y.; Gao, C.H.; Gu, W.; Jin, Z.M.; Lei, Y.L.; Liao, L.S. A simple method for fabricating p–n junction photocatalyst  $CuFe_2O_4/Bi_4Ti_3O_{12}$  and its photocatalytic activity. *Mater. Chem. Phys.* **2014**, *143*, 952–962. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2013.10.026>.

- [12] Páll, B.; Mersel, M.-A.; Pekker, P.; Makó, É.; Vágvölgyi, V.; Németh, M.; Pap, J.S.; Fodor, L.; Horváth, O. Photocatalytic H<sub>2</sub> Production by Visible Light on Cd<sub>0.5</sub>Zn<sub>0.5</sub>S Photocatalysts Modified with Ni(OH)<sub>2</sub> by Impregnation Method. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 9802. <https://doi.org/10.3390/ijms24129802>.
- [13] Mendoza-Damián, G.; Hernández-Gordillo, A.; Fernández-García, Ma.E.; Acevedo-Peña, P.; Tzompantzi-Morales, F.J.; Pérez-Hernández, R. Influence of ZnS wurtzite–sphalerite junctionson ZnO<sub>Core</sub>-ZnS<sub>Shell</sub>-1D photocatalysts for H<sub>2</sub> production. *Int. J. Hydrogen Energy* **2019**, *44*, 10528–10540. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.02.193>.
- [14] Lam, S.W.; Chiang, K.; Lim, T.M.; Amal, R.; Low, G.K.-C. The effect of platinum and silver deposits in the photocatalytic oxidation of resorcinol. *Appl. Catal. B* **2007**, *72*, 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2006.11.019>.
- [15] Li, Z.; Meng, X. Recent development on palladium enhanced photocatalytic activity: A review. *J. Alloys Compd.* **2020**, *830*, 154669. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.154669>.
- [16] Zhu, H.; Yuan, X.; Yao, Q.; Xie, J. Shining photocatalysis by gold-based nanomaterials. *Nano Energy* **2021**, *88*, 106306. <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2021.106306>.
- [17] Yang, H.; Yang, B.; Chen, W.; Yang, J. Preparation and Photocatalytic Activities of TiO<sub>2</sub>-Based Composite Catalysts. *Catalysts* **2022**, *12*, 1263. <https://doi.org/10.3390/catal12101263>.
- [18] Jiang, D.; Zhu, L.; Irfan, R.M.; Zhang, L.; Du, P. Integrating noble-metal-free NiS cocatalyst with a semiconductor heterojunction composite for efficient photocatalytic H<sub>2</sub> production in water under visible light. *Chinese Journal of Catalysis* **2017**, *38*, 2102–2109. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(17\)62956-5](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(17)62956-5).
- [19] Mersel, M.-A.; Fodor, L.; Pekker, P.; Makó, É.; Horváth, O. Effects of Preparation Conditions on the Efficiency of Visible-Light-Driven Hydrogen Generation Based on Ni(II)-Modified Cd<sub>0.25</sub>Zn<sub>0.75</sub>S Photocatalysts. *Molecules* **2022**, *27*, 4296. <https://doi.org/10.3390/molecules27134296>.
- [20] Li, N.; Zhou, B.; Guo, P.; Zhou, J.; Jing, D. Fabrication of noble-metal-free Cd<sub>0.5</sub>Zn<sub>0.5</sub>S/NiS hybrid photocatalyst for efficient solar hydrogen evolution. *Int. J. Hydrogen Energy* **2013**, *38*, 11268–11277. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.06.067>.
- [21] Kubelka, P. New Contributions to the Optics of Intensely Light-Scattering Materials Part II: Nonhomogeneous Layers\*. *J. Opt. Soc. Am.* **1954**, *44*, 330. <https://doi.org/10.1364/JOSA.44.000330>.
- [22] Tauc, J.; Grigorovici, R.; Vancu, A. Optical Properties and Electronic Structure of Amorphous Germanium. *Physica Status Solidi (B)* **1966**, *15*, 627–637. <https://doi.org/10.1002/pssb.19660150224>.
- [23] Chen, M.; Wu, P.; Zhu, Y.; Yang, S.; Lu, Y.; Lin, Z. Enhanced photocatalytic H<sub>2</sub> production activity of CdZnS with stacking faults structure assisted by ethylenediamine and NiS. *Int. J. Hydrogen Energy* **2018**, *43*, 10938–10949. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.04.218>.



**Pannon Egyetem  
Intézményi Tudományos Diákköri  
Konferencia  
2023**



**Illóolajok szuperkritikus extrakciójának optimalizálása adat  
alapú módszerekkel**

Készítette: Juhász Csenge Judit

Témavezető: Tarcsay Bálint Levente, PhD hallgató

Preiner Sára, PhD hallgató

Dr. Pethő Dóra, Egyetemi docens

Mérnöki Kar, Bio-, Környezet- és Vegyészmérnöki Kutató-Fejlesztő Központ

A pályamunka lezárásának dátuma: 2023. 11. 02.

## Kivonat

Az illóolajok, mint különböző szerves anyagok keverékei, régóta fontos szerepet töltenek be a vegyiparban és annak rokon ágazataiban (gyógyszer-, élelmiszer-, kozmetikai ipar). Gyártásuk számos összetevőjük miatt szintetikus úton nem gazdaságos, így a mai napig is ipari szinten a természetben előforduló gyógynövényekből nyerik ki őket különböző fizikai- kémiai eljárásokkal. Ezen eljárások egyike az adott illóolajat tartalmazó növény részeinek szuperkritikus extrakciója. A szuperkritikus extrakciót az oldószer kiváló oldási képességei mellett számos további előnye (veszélytelen oldószer alkalmazása, könnyen változtatható oldási tulajdonságok, hőérzékeny komponensek kezelése, stb.) is kiemeli a hagyományos anyag elválasztási módszerek közül.

Munkám célja a közönséges levendulában (*Lavandula angustifolia*) található szuperkritikus extrakció révén kinyert illóolaj összetételének megismerése. Kísérleti eredmények felhasználásával vizsgálom az extrakció során kinyert illóolaj összetétele és az extrakció üzemeltetési paramétereinek közti összefüggést matematikai modellek segítségével. A kapott összefüggéseket felhasználva optimális üzemviteli paramétereket lehet választani a művelethez elvárt mennyiségű és összetételű illóolaj kinyerésére.

**Kulcsszavak:** adatelemzés, matematikai modellezés, szuperkritikus extrakció,

*Lavandula angustifolia*

<b>Rövidítésjegyzék</b>	<b>83</b>
<b>Jelölésjegyzék</b>	<b>84</b>
<b>1. Bevezetés</b>	<b>85</b>
<b>2. Illóolajok jellemzői és kinyerési módszereik</b>	<b>87</b>
2.1. A levendulaolaj jellemzői	87
2.2. Illóolaj kinyerési módszerek	90
<b>3. Illóolajok összetételének becslése gépi tanulási módszerekkel</b>	<b>93</b>
3.1. Alkalmazott regressziós módszerek elméleti áttekintése	95
<b>4. Kísérleti munka, eredmények feldolgozása</b>	<b>98</b>
4.1. Eredmények elemzése	101
4.2. A kihozatal és összetétel becslése	108
<b>5. Összefoglalás</b>	<b>116</b>
<b>Irodalomjegyzék</b>	<b>117</b>

A dolgozatomban az alábbi általánosan alkalmazott rövidítéseket, valamint jelöléseket használom:

CNN	Convolutional Neural Network (Konvolúciós Neurális Hálózat)
EMA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (Európai Gyógyszerügynökség)
EPA	Environmental Protection Agency (Környezetvédelmi Hivatal)
FANN	Fast Artificial Neural Network (Gyors Mesterséges Neurális Hálózatok)
FDA	Food and Drug Administration (az USA Élelmiszerbiztonsági és Gyógyszerészeti Hivatala)
GC	Gas Chromatography (Gáz Kromatográfia)
GC-FID	Gas Chromatography Flame Ionization Detector (Gázkromatográfiás Lángionizációs Detektor)
GC-MS	Gas Chromatography – Mass Spectrometry (Gázkromatográfiás Tömegspektrometria)
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients (Kozmetikai Alapanyagok Nemzetközi Elnevezése)
ISO	International Organization for Standardization (Nemzetközi Szabványügyi Szervezet)
LC	Liquid Chromatography (Folyadék Kromatográfia)
MLR	Multiple Linear Regression (Többszörös Lineáris Regresszió)
MNN	Multiple Neural Network (Többszörös Neurális Hálózat)
NN	Neural Network (Neurális Hálózat)
QSRR	Quantitative structure retention relationship (Kvantitatív Szerkezet-Retenciósszefüggések)
RF	Random Forest (Véletlen Erdő)
SFE	Supercritical Fluid Extraction (Szuperkritikus Fluid Extrakció)

$\beta$	Funkcionális operátor
$\sigma$	Szórás
$\mu$	Átlag
$A_i$	$A$ adatsor $i$ -edik eleme
$I$	Egységmátrix
$k$	Ridge paraméter [-]
$n$	Minták száma
$p$	Nyomás [bar]
$p$	predikciós változók száma
$R$	Korreláció
$R^2$	Determinációs együttható
$T$	Hőmérséklet [°C]
$u$	Standardizált érték [-]
$x_m$	Tömegszázalék [%]
$x_v$	Térfogatszázalék [%]
$X'$	$X$ mátrix transzponáltja
$X^{-1}$	$X$ mátrix inverze

## 1. Bevezetés

Szakmai munkám során közönséges levendula (*Lavandula angustifolia*) növényből szuperkritikus extrakcióval kinyert illóolajok olaj hozamát és az illóolaj összetételét vizsgálok kísérleti technikákkal és modellezési módszerekkel.

Az elmúlt években egyre több figyelmet szentelnek az emberek az egészséges életmódnak. A mindennapjaink részévé vált a különféle étrend-kiegészítők, gyógykészítmények megelőző célú használata. Fontos lett az élelmezésben, a gyógyászatban mind pedig a szépségápolásban a természetes anyagok használata, valamint a vegyszermentesség, ezért megnőtt a különböző iparágak természetes hatóanyagok iránti igénye [1].

Az illóolajok az illatos növények szöveteiben felhalmozódott hatóanyagok. A növény szinte bármely részében előfordulhatnak. Összetételüket, képződött mennyiségüket a környezeti tényezők (időjárás, talajminőség) befolyásolják [2]. Fizikai tulajdonságokat tekintve légköri körülmények között általában folyékonyak, illékonyak, jellegzetes illatuk van. Apoláris oldószerekben jól oldódnak, vízzel nem elegyednek (de előfordul, hogy bizonyos komponenseik – mint az oxigéntartalmúak – korlátlanul elegyednek vízzel). Apolárosságukból adódóan lehetséges a bőrön és légutakon keresztüli abszorpció [3]. Sokszínű összetételükre jellemző 5-10 makro- és akár több száz minorkomponens, melyek elhanyagolhatatlanok a sajátos tulajdonságaik kialakításában [3]. Az illóolajok a növény életében nagyon fontos védő szerepet töltenek be fertőzésekkel, penészgombákkal szemben. Régóta ismert, tartósító tulajdonságuk e jellemzővel magyarázható [3].

Az illóolajösszetevőket azonban csak nagyon költségesen tudja előállítani a vegyipar. Egyrészt a komponensek sokasága, másrészt a szerves vegyületek számos sztereoizomere miatt. Gazdasági okokból a szintetikus előállítás helyett inkább a növényből való kinyerés mellett döntenek a vállalatok [1].

Ezen kinyerési módszerek közül is kiemelkedik a szén-dioxid alapú szuperkritikus extrakció számos előnyös tulajdonságának (oldószer újrahasznosíthatósága, egyszerű elválasztás, enyhe hőmérsékletviszonyok) köszönhetően. Azonban a szuperkritikus extrakció műveleti paraméterei jelentősen befolyásolják mind a növényekből kinyert illóolaj hozamát, mind az olaj kémiai összetételét.

A munka során cél olyan, struktúrájukat tekintve egyszerű modellek alkotása, mérési eredmények alapján, melyekkel pontosan előre lehet becsülni *Lavandula angustifolia*, azaz közönséges levendula növényből szuperkritikus extrakcióval kinyert illóolaj kihozatalát és az olaj összetételét tetszőleges extrakciós körülmények mellett. Az eredményeket alkalmazva

felhasználói igényeknek megfelelő mennyiségű és minőségű olaj előállítása lehetséges a műveleti paraméterek finomhangolásával.

Munkám során bemutatom az illóolajok általános tulajdonságait, illetve kinyerésük módját. Utána ismertetem az illóolajok összetételének becslésére szolgáló matematikai módszereket, majd az általam kidolgozott modelleket, valamint azok becslési pontosságát mutatom be.

## 2. Illóolajok jellemzői és kinyerési módszereik

Általános esetben a tiszta illóolajokban több mint 200 komponens található. Ezek a keverékek fenil-propán származékokat vagy terpéneket tartalmaznak. Két osztályba sorolhatóak: Az illékony frakció a teljes olajtömeg 90–95%-át teszi ki. Tartalmaz monoterpéneket, szeszkviterpéneket és azok oxigéntartalmú származékait, alifás alkoholokat, észtereket és aldehideket. A nem illékony maradék a tömeg 1–10%-a, mely zsírsavakból, szénhidrogénekből, szterolokból, viaszokból, flavonoidokból, illetve karotinoidokból állhat. Az illóolajokban található szénhidrogének közül a legjelentősebb az izoprén [2].

Az 1. táblázatban a jellemzően illóolajalkotó vegyületcsoportokat, azok élettani hatását, valamint példákat láthatunk az adott csoportból.

**1. táblázat:** Az illóolajalkotó vegyületcsoportok, azok emberre gyakorolt hatásai, példák [2].

Vegyület-csoport	Élettani hatás	Példa
<i>terpének</i>	gyulladásgátló, baktericid, vírusölő	pinén, limonén, kamfén, piperin
<i>alkoholok</i>	antiszeptikus, vírusölő, baktericid	linalool (levendula, ilang-ilang), nerol (neroli), geraniol (rózsa, muskátli)
<i>aldehidek</i>	gyulladáscsökkentő, gombaellenes, fertőtlenítő, baktericid, vírusölő, nyugtató	citral (citrom), citronellal (citrusos eukaliptusz, citromfű)
<i>savak</i>	gyulladásgátló	benzoesav, fahéjsav (benzoin)
<i>észterek</i>	nyugtató, kiegyensúlyozó, antimikrobiális, gombaölő	linalil-acetát (levendula), bergamott és geranil-formiát (muskátli)
<i>ketonok</i>	gyógyító, hurutosodás ellen, köptető jelleg, elősegítik a sebgyógyulást, hegképződést, általában mérgezőek	legmérgezőbb: tujon (zsálya, üröm, tuja) nem mérgező: fenchone (édeskömény), jázmon (jázmin), menton (borsmenta), karvon (fodormenta)

### 2.1. A levendulaolaj jellemzői

A levendula, mint hasznos gyógynövény számos országban elterjedt, rengeteg faja és alfaja ismert. Összesen 32 *Lavandula* fajt sorolnak a *Lavandula* nemzetség tagjai közé, valamint számos infraspecifikus taxont és hibridet. Őshonos a Kanári-szigeteken, Madeirán, a Földközi-tenger medencéjében (Franciaország, Spanyolország, Andorra, Olaszország), Észak-Afrikában, Délnyugat-Ázsiában, az Arab-félszigeten, valamint Indiában, e területekről terjedt el [4] [5].

Az összes szokásos kereskedelmi forgalomban kapható növényfajta két fő alcsaládba tartozik: *Stoechas* (*Lavandula stoechas*, *Lavandula dentata*, *Lavandula viridis* és *Lavandula*

*pedunculata*) és *Spica* (*Lavandula angustifolia* (*Lavandula officinalis*), *Lavandula latifolia* és *Lavandula lanata*). A legtöbb valószínűleg a *Lavandula angustifolia* és a *Lavandula latifolia* hibridje [4].

A *Lavandula* nemzetség viszonylag nagy számban tartalmaz fenolos összetevőket. Tagjai 19 flavont és 8 antocianint tartalmaznak. A családra jellemzőek a hipolaetin és szkutellarein különböző glikozidjai. A levélflavonoidok főként flavon-glikozidok, melyek egyéni eloszlása a taxonok között jelentős taxonómiai jelentőséggel bír [4].

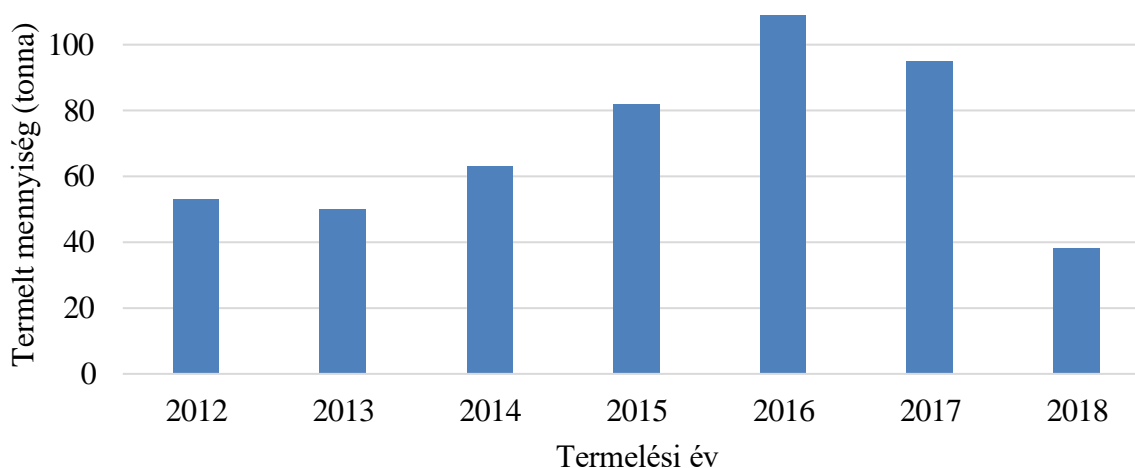
A kereskedelmi forgalomban kapható hibridek, a lavandinok változó koncentrációjú 1,8-cineolt és kámfort tartalmaznak. Ezek adják a keményebb jegyeket. A „rhodinol-tartalom” (komponensei: citronellol, geraniol, nerol, neril-acetát és geranil-acetát) bár a teljes összetétel nagyon kis százalékát teszi ki, édes, rózsaszerű illatot kölcsönöz a levendulaolajoknak [4].

A kereskedelemben kapható *Lavandula angustifolia*, mely olajának fő komponensei a linalool (25–38%) és a linalil-acetát (25–45%), jelentős eltéréseket mutat alfajai között. A *pyrenaica*, (vadon nő ÉK-Spanyolországban), illóolajának három lényeges komponense a linalool (20-66%), borneol (6-32%) és kámfor (2-14%), ami elfogadhatatlanná teszi normál levendulaolajnak. A *Lavandula lanata*-nak nagyon magas kámforkoncentrációja (43–59%) és változó mennyiségű lavandulol (3–27%) mennyisége van. A *Lavandula dentata*-nak (vadon nő Spanyolországban a Földközi-tenger partja menti részén), két kemotípusa van: 1,8-cineol/ $\beta$ -pinén és  $\beta$ -pinén/ $\alpha$ -pinén. A *Lavandula stoechas* négy vadon élő populációját áttekintve, különböző százalékban tartalmaz  $\alpha$ -pinént, 1,8-cineolt, fenchont, kámfort és mirtenil-acetátot. A *Lavandula lusieri* szintén két kemotípussal rendelkezik, amelyek fő összetevője egy azonosítatlan észter. A *Lavandula viridis*ben magas az 1,8-cineol, a kámfor és az  $\alpha$ -pinén koncentrációja. *Lavandula pinnata*, (Madeirán őshonos) nagy százalékban tartalmaz monoterpéneket (37-80%) és viszonylag kis arányban szeszkviterpéneket (13-22%) [4].

A levendulaolaj halványsárgás folyadék, amelynek illata friss, virágostól akár fás és aromás illatú is lehet. A levendulaolaj (levendula illóolaj) a levendula, a *Lavandula angustifolia* virágaiból nyert illóolaj. Az európai INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients) neve *Lavandula angustifolia* olaj, az amerikai INCI neve pedig *Lavandula angustifolia* (levendula) olaj (CAS-számok 8000-28-0, 90063-37-9; EK-szám 289-995-2) [4].

A hagyományos gyógynövénygyógyászatban a levendulaolaj nyugtató, antidepresszáns, gombaellenes, altató, fájdalomcsillapító, görcsoldó, tonizáló, stresszoldó és afrodisziákum tulajdonságokkal rendelkezik [4].

A közelmúltban a levendulaolaj elsődleges forrásai: Franciaország, Bulgária, Kína és Spanyolország. A legtöbb levendulanövényt eredetileg a mediterrán Franciaország magasabb területein (600-1500 m) termesztették és desztillálták. Az olaj előállítására vonatkozó pontos adatokat nehéz megállapítani a hatalmas mennyiségű hamisítás, keverés, darabolás és szintetikus anyagok vagy szintetikus levendulaolaj hozzáadása miatt. 1984-ben a világ levendulaolaj-termelése 200 tonna volt; Bulgária 100–129 tonnát termelt; Franciaország 55, Szovjetunió 35, Ausztrália 5. Később az USA importja évi 303 és 555 tonna között változott, exportja 52 és 121 tonna között mozgott. Több mint 30 különböző típusú levendulaolaj és keverék található meg a világpiacon [4].



**1. ábra:** Franciaország levendulaolaj termelése 2012-2018 [6].

Az 1. ábra Franciaország levendulaolaj termelését mutatja 2012 és 2018 között, évenként, tonnában mérve. 2016 után csökkenő tendenciát mutat a termelés [6].

Az ISO (International Organization for Standardization) szabványokat ír elő, amelyeknek a kereskedelmi levendulaolajoknak és azok előállítási módjainak meg kell felelniük. A fő komponensek minimális és maximális megengedett koncentrációja a 2. táblázatban látható (ISO 3515: 2001). A legnagyobb megengedett koncentrációjú komponensek a linalil-acetát (45 %), linalool (38 %), (Z)- $\beta$ -ocimén (10,0 %), (E)- $\beta$ -ocimén (6,0 %) [4] [7].

**2. táblázat:** A levendulaolaj ISO szerinti paraméterei [7].

<b>Komponens</b>	<b>CAS</b>	<b>Minimum, (m/m)%</b>	<b>Maximum, (m/m)%</b>
<i>linalil-acetát</i>	115-95-7	25,0	45,0
<i>linalool</i>	78-70-6-2	25,0	38,0
<i>(Z)-<math>\beta</math>-ocimén</i>	3338-55-4	4,0	10,0
<i>(E)-<math>\beta</math>-ocimén</i>	3779-61-1	2,0	6,0
<i>3-oktanon</i>	106-68-3	0,0	2,0
<i>1,8-cineol</i>	470-82-6	0,0	1,5
<i>terpineol</i>	98-55-5	0,0	1,0
<i><math>\beta</math>-fellandré</i>	555-10-2	0,0	1,0
<i>kámfor</i>	76-22-2	0,0	0,5
<i>limonén</i>	138-86-3	0,0	0,5
<i>lavandulil-acetát</i>	25905-14-0	2,0	0,0
<i>terpinen-4-ol</i>	562-74-3	2,0	0,0
<i>lavandulol</i>	498-16-8	0,3	0,0

A növényi eredetű készítmények általánossá válásával párhuzamosan szigorodnak ezen termékek előállítását szabályozó minőségi követelmények. A hatósági szabályozás a környezetbarát technológiák bevezetésére, valamint az emberekre és környezetükre kevésbé káros termékek előállítására ösztönzi a gyártókat. Az FDA (Food and Drug Administration), az EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) és az EPA (Environmental Protection Agency) által meghatározott mértékadó előírások a szerves oldószert nem alkalmazó technológiák elterjedését támogatják [1].

Ezen szabályozások és trendek következtében nem mindegy, hogy ezeket az illó (és sokszor hőérzékeny) komponenseket milyen módon nyerjük ki a növényből. A hagyományos desztillációs és extrakciós technikákkal szemben egyre inkább előtérbe kerülnek azon eljárások, melyek biztosítani tudják a kívánt kulcskomponensek energiatakarékos és oldószermentes kinyerését. Ezen tendenciák bemutatására a következő alfejezetben a leggyakoribb illóolajkinyerési módszerek főbb jellemzőit, előnyeit és hátrányait tárgyalom.

## **2.2. Illóolaj kinyerési módszerek**

Az illóolajokat különböző módszerek révén nyerhetjük ki. A hagyományos kinyerési módszerek pl. vízgőz-desztilláció, szerves oldószeres (pl. Soxhlet) extrakció, préselés mellett sajátos tulajdonságokkal bír a szuperkritikus extrakció a különféle növényi hatóanyagok kinyerésében [8].

Vízgőz-desztilláció során a vízgőzt meghatározott nyomáson és hőmérsékleten átvezetik a növényi részeken. A vízgőz az illékony komponensekkel együtt távozik, majd hűtés hatására a két fázis elkülönül. Hátránya a magas hőmérséklet, mely hatására a hőérzékeny vegyületek elbomolhatnak [2].

A vízdesztilláció folyamatában hasonló a vízgőz-desztillációhoz. A növényt vízben melegítjük (főzzük), majd az illóolajos párákat a vízgőz-desztillációhoz hasonlóan összegyűjtjük. Hátránya egyértelműen az előbb említett vízgőz-desztillációnál is felvetett, magas hőmérséklet miatti bomlékonyság [2].

Az előbb említett két desztillációhoz hasonló a vákuum-desztilláció, melyet a kényes növényi összetevők esetében alkalmaznak. A vákuum miatt az alkalmazott oldószer (víz) forráspontja lecsökken, így az alacsonyabb hőmérsékletű vízgőz alkalmazása révén nem áll fenn a hőbomlékony molekulák szétesésének veszélye. A vákuum előállításának nagy energiaigénye, ezáltal magas költségei miatt kevés helyen használják [2].

Az előzőektől lényegesen eltérő folyamat az oldószeres extrakció. A növényi anyagot összekeverik a szerves oldószerrel, míg a komponensek oldódnak, majd a növény maradékát (melyből kioldódott már az értékes illóolaj) eltávolítják. Az oldott anyag ilyenkor az oldószer lepárlásának a maradéka. Hátránya, hogy az oldószer az illóolajon kívül más növényi összetevőket is képes oldani, ezért plusz komponenseket is tartalmaz a termék, valamint a lepárlás során az extraktum tartalmazhat oldószermaradékot [2].

Hőérzékeny vegyületeket tartalmazó növényekből jellemzően sajtolással állítanak elő illóolajat, melyet a növény héjából préseléssel és centrifugálással nyernek ki [2].

Enfleurage (pomádézás) során egy speciálisan kikészített és dezodorált zsírrétegre helyezik a növényi részeket (jellemzően virágokat), ahol az illékony vegyületek képesek beoldódni. Ezt a pomádénak nevezett telített zsírt alkohollal extrahálják, majd eltávolítják az oldószerrel. A termék szintén tartalmazhat oldószermaradékot [2].

A szuperkritikus fluidum extrakció (Supercritical Fluid Extraction vagy SFE) egyre több helyen váltja fel a hagyományosnak tekinthető, szerves oldószeres extrakciót [1]. A szuperkritikus extrakció során a legtöbb esetben oldószerként CO<sub>2</sub>-ot használnak, mivel alacsony a kritikus hőmérséklete (31°C) és nyomása (73 bar), szagtalan, nem mérgező, nem gyúlékony, olcsón, könnyen hozzáférhető [8].

A CO<sub>2</sub> csak az apoláris komponenseket oldja nagymértékben, ezért gyakran alkalmaznak mellette keverék vagy kiegészítő oldószerrel (koszolvenst), például etil-alkoholt, mely néhány % koncentrációban is jelentősen megnövelheti a poláros komponensek oldékonyságát [10].

Egyik legjelentősebb előnye, hogy az oldószert az extrakció végén maradéktalanul visszacapjuk, mivel standard körülmények között gázként távozik az elegyből, így az nyomokban sem tartalmaz szerves oldószert, önmaga is lehet késztermék vagy alapanyag. Az SFE szintén kiemelten fontos előnye, hogy az alkalmazott hőmérséklet relatíve alacsony, a hőérzékeny hatóanyagok természetes előfordulásukban, szinte hőkárosodás nélkül kinyerhetőek, valamint olyan hatóanyagok is extrahálhatók, melyeket alapvetően hagyományos oldószeres extrakcióval nem, vagy csak kis mennyiségben lehetne kinyerni [1].

Az SFE során a működési paraméterek (pl. hőmérséklet és nyomás) megfelelő változtatásával, azaz optimalizálásával lehetőségünk van a szuperkritikus oldószer oldóképességének változtatására, tehát szelektív extrakció valósítható meg [9].

Ezen tulajdonság következtében tehát a műveleti paraméterekkel hangolni lehet az extrakció során kinyert termék összetételét és hozamát. A műveleti paraméterek és a kinyert illóolaj közötti kapcsolatot matematikai modellek segítségével tárom fel. A témakörben gyakran adat alapú modelleket használnak ezen kapcsolatok elemzésére, melyeket a következő fejezetben mutatok be.

### 3. Illóolajok összetételének becslése gépi tanulási módszerekkel

A mesterséges intelligencia az emberi képességeket utánzó gépek gyűjtőfogalma. A gépi tanulás ennek egy speciális területe, ahol a gépeket arra „alkalmazzák”, hogy feltárják az adatokban a rejtett információkat [11]. A gépi tanulás célja a hatékony adatgyűjtésen kívül az, hogy komolyabb emberi figyelem ráfordítása nélkül az egyre növekvő mennyiségű adatot felhasználja azok kezelésével és elemzésével [12].

Ezen módszereket számos helyen alkalmazzák, mint például a képfelismerés, beszéd felismerés, kézírás-felismerés, orvosi diagnosztika, forgalom előrejelzés, termékajánlások, virtuális személyi asszisztensek, online csalásészlelés területeken [12].

Az illóolajok esetében egyrészt magából az illóolajösszetételből több dolog is becsülhető: több kutatás foglalkozik például az illóolajtermelő növények biológiai aktivitásának és antimikrobiális hatásának a becslésével. Például Noha és társai tanulmányában a mély tanulási technikák közül a konvolúciós neurális hálózatokat (CNN) alkalmazták illóolajtermelő növények biológiai aktivitásának becslésére az illóolajuk kémiai összetételén keresztül. Többosztályos neurális hálózatot (MNN) alkalmaztak a CNN-modell teljesítményének értékelésére [13]. Ezt az irányvonalat folytatva Jose és társai gyors mesterséges neurális hálózatok (FANN) segítségével vizsgálták az adott illóolaj antimikrobiális hatásának előrejelezhetőségét az illóolaj összetételéből [14]. Vulić és társai *Helichrysum Italicum* illóolajának kihozatalát, antimikrobiális aktivitását és biológiai aktivitását vizsgálták és próbálták megbecsülni többek között ANN segítségével [18].

Más kutatások eredményei arra összpontosítanak, hogy magát az illóolajösszetételt és az illóolajok kihozatalát is megbízhatóan meg lehessen becsülni. Pezo és társai mesterséges neurális hálózat (ANN) modell segítségével becsülték az ánizs estében a termés hozamot és az illóolaj tartalmat az időjárási viszonyok függvényében. A tanulmány eredményei azt mutatták, hogy a trágyázás típusa a mezőgazdasági jellemzőkre (mint például 1000 mag tömege stb.), míg a termőhely az illóolaj-tartalomra volt nagyobb hatással [15].

Acimović és társai a *Hyssopus Officinalis* kémiai összetételét vizsgálták. A vízgőzdesztillációval nyert illóolajok összetételét GC-FID és GC-MS módszerekkel elemezték. Az összetétel adatokat klaszteranalízis és korrelációs elemzés segítségével vizsgálták. Kvantitatív szerkezet-retenciós összefüggéseket (QSRR) kerestek az azonosított vegyületek retenciós indexeinek becslésére [16].

Niazian és munkatársai az ajowa illóolajtartalmát mesterséges neurális hálózattal (ANN) és a többszörös regressziós modellel (MLR) becsülték a könnyen mérhető növényi jellemzőkből (mint a virágok sugara, egy száron található virágok száma, stb.) [17].

Rashid és társai által írt tudományos cikk körültekintő áttekintést nyújt a gépi tanulási algoritmusok (többek között regressziós technikák és neurális hálók) használatáról a termés hozam előrejelzésére, különös tekintettel a pálmaolaj esetében. A pálmaolaj igaz nem illóolaj, de mivel ugyan úgy növényi olaj, ezért a közvetlen (például környezeti) hatások, mint bemeneti paraméterek jó közelítéssel párhuzamba hozhatóak az illóolajtartalmú növények esetével [19].

A hasonló témában megjelent tudományos publikációk között a leggyakrabban a predikciós adathalmaz részét nem a műveleti paraméterek, hanem az időjárási viszonyok képzik, az illóolaj kinyerése rögzített műveleti paraméterekkel történik.

Chen és társai szintén nem illóolajakat, hanem biodízel minőségét vizsgálták. A kutatásuk célja az volt, hogy különböző gépi tanulási módszerekkel becsüljék meg a biodízel (H-biodízel) hozamát és hidrogéntartalmát a biomassza, mint alapanyag összetétele és a pirolízis körülményei függvényében. A módszereket tekintve többszörös lineáris regressziót (MLR) és a véletlen erdőt (RF – random forest) alkalmazták [20].

A kutatási témám során Chen és társai kutatásához hasonlóan az illóolajösszetételt és kihozatalát a műveleti paraméterek változtatásával, azok függvényében vizsgálom és ezzel keresek olyan körülményeket, melyek mellett kinyerhető a kívánt összetételű (és mennyiségű) illóolaj.

Amint az előzőekben hivatkozott tudományos cikkekben látható, hogy a neurális hálók (NN) dominálják az illóolaj összetétel előrejelzésével kapcsolatos kutatásokat. Ezek a módszerek bonyolultak, aktivációs függvényeket, háló topológiát kell tervezni (neuronok/rétegek száma, stb.) hozzájuk. A kutatási témám során azt vizsgálom, hogy a kevésbé összetett regressziós modellek mennyire megfelelően képesek becsülni az illóolajkihozatalát és összetételt. A bemeneti paramétereket tekintve elsősorban a szuperkritikus extrakció során a műveleti paramétereket, tehát a nyomást és hőmérsékletet változtatva vizsgáltam a kihozatalát és összetételt, valamint szintén fontos, változtatható paraméter még a szüretelés és extrakció között eltelt idő. Ezekon kívül még a bemeneti paraméterek közé felvettem a növény származásának helyét, valamint a minta előkészítésének módját. Azt, hogy

ezen paraméterek hogyan befolyásolják a predikált változókat, korrelációanalízissel vizsgáltam. Az illóolajok összetételének becslésére regressziós modelleket, állítottam fel.

### 3.1. Alkalmazott regressziós módszerek elméleti áttekintése

A regresszió olyan feladattípus, mely során az algoritmus folyamatosan fejleszti a válaszreakciót, képes előre jelezni, megjósolni bementi paraméterek alapján egy adott tulajdonság változását [23].

Az első regressziós módszer mellyel vizsgáltam az adathalmazt, lineáris regresszió volt. A modell mátrixalgebrai jelöléssel a következőképpen írható fel (1) [24]:

$$y = X\beta \quad (1)$$

$y \in R^{n \times 1}$  a becslt, predikált változó értéke,  $X \in R^{n \times p}$  a predikációs változók mátrixa,  $\beta \in R^{n \times 1}$  egy funkcionális operátor,  $n$  a minták száma,  $p$  a prediktor változók száma. A  $\beta \in R^{p \times 1}$  funkcionális operátort a (2)-es összefüggés alapján határozhatjuk meg a legkisebb négyzetek módszerével [25]:

$$\beta = (X'X)^{-1}X'y \quad (2)$$

$\beta$  az a paraméter, amellyel megszorozva az egyes prediktor változókat, a legjobban illeszkednek a predikált adatpontokra (legközelebb helyezkednek el azokhoz) [26].

Az alacsony torzítású modellek sokszor túlillesztést mutatnak, azaz amennyiben egyre több változót tartalmaz a predikációs adathalmaz, a predikált változók véletlenszerű zaját az általános trenden felülmagyarázzák. E tulajdonság miatt esélyes, hogy a korábban még nem alkalmazott adatokon gyengén teljesít a modellünk. Alulilleszkedést mutatnak azonban azok a (nagy torzítású) modellek, melyek túl kevés predikációs változót tartalmaznak, ami miatt nem képesek megfelelően leírni az adatokban fellelhető trendet. Az alulillesztett modell sem teljesít megfelelően az újabb adatokkal. Erre megoldás lehet egy olyan algoritmus, amely megfelelő számú változó által képes a trend leírására anélkül, hogy a zajhoz illeszkedne a kapott összefüggés [27].

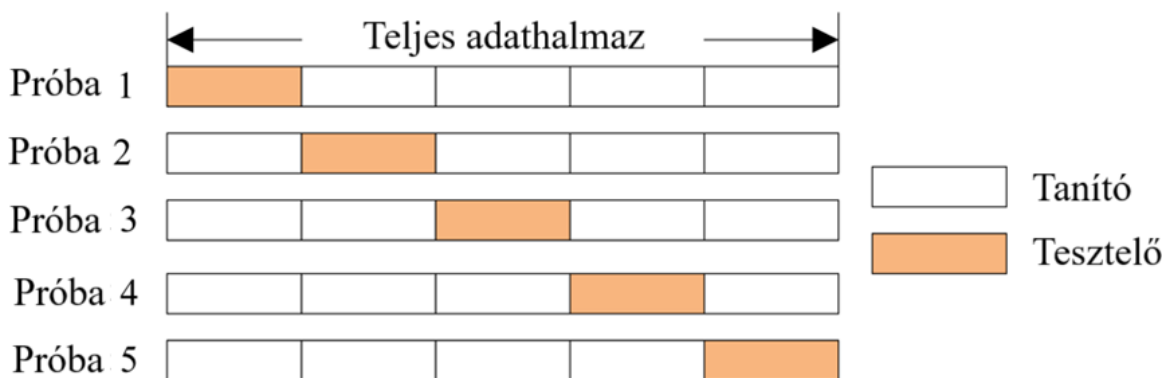
Ennek érdekében a következő vizsgált regressziós technika a ridge regresszió volt, amely egy olyan lineáris regressziós technika, mely a rosszul kondicionált  $X'X$  mátrix okozta problémákat kiküszöböli torzított becsléssel oly módon, hogy a  $X'X$  mátrix diagonális elemeihez pozitív számot ad hozzá a következő módon (3)-as összefüggés szerint [28]:

$$\beta = (X'X + kI)^{-1}X'y \quad (3)$$

$I$  egy olyan egységmátrix, mely dimenziója megegyezik  $X'X$  mátrixéval,  $k$  pedig olyan paraméter (ridge paraméter), mellyel korlátozhatjuk a lineáris regresszió során becsült egyes predikciós változókhoz számolt súlyozó tényezőket, értéke tetszőleges lehet.

A modellek predikciós képességét keresztvalidáció segítségével becsülöm. Ez az egyik legszélesebb körben használt adat-újramintavételezési módszer, melynek célja az adott prediktív modell valódi előrejelzési hibájának becslése, illetve a túlillesztés elkerülése. [29].

A módszer egy modell tanítására és értékelésére rendelkezésre álló adathalmazt véletlenszerű mintavételi módszerekkel felbontja tanítási és tesztelő adathalmazokra a 2. ábra alapján látható módon, melyen ötszörösen lett felbontva az adathalmaz [29].



2. ábra: Az adatkészlet felbontása ötszörös felbontása tanuló és tesztelő adathalmazokra.

A tanulási folyamat során az algoritmust az adatok tanuló adathalmazai tanítják és az így kapott modelleket azon a tesztalacson tesztelik, amely nem szerepelt a tanulási adathalmazban. A betanított modellek teljesítményének átlaga a végső modell teljesítményének becslése [29].

A korábbiakban említett probléma a predikciós változók kiválasztására több módon orvosolható. A releváns változók kiválasztása történhet például korreláció elemzés alapján. A vizsgálatok során a változók közti összefüggések mértékét a Pearson-korrelációs index értékével számszerűsítettem, melyet a (4)-es összefüggés alapján számíthatunk [21].

$$R(A, B) = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N \left( \frac{A_i - \mu_A}{\sigma_A} \right) \left( \frac{B_i - \mu_B}{\sigma_B} \right) \quad (4)$$

Az  $R(A, B)$  az  $A$  és  $B$  komponens közötti korreláció,  $N$  a vizsgált minták darabszáma,  $A_i$  az  $i$ -edik minta  $A$  komponensének értéke,  $\mu$  az adott minta átlaga,  $\sigma$  pedig az adott minta

szórása. Amennyiben ez az érték 1, a két változó teljes mértékben egymástól függ, ugyanúgy változik az értékük, 0 és 1 között pozitívan korrelál egymással, azaz többnyire együtt nő és együtt csökken az értékük. 0 és -1 között negatívan korrelálnak egymással, tehát amennyiben az egyik változó nő, akkor a másik csökken. Ha 0, akkor a két változó függetlennek tekinthető.

A modellek illeszkedését az ún.  $R^2$  determinációs együtthatóval jellemzem, mely megadja, mennyivel teljesít jobban egy adott modell, mintha az átlaggal cserélnénk ki a predikciót, azaz esetünkben mennyire helyesen tudja megbecsülni az adott predikált változó mennyiségét. A mérték a következőképpen számítható (5) [23]:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y})^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \mu_y)^2} \quad (5)$$

$y$  a mért értékek,  $\hat{y}$  a becsült érték,  $\mu_y$ , az  $y$  értékek átlaga,  $N$  pedig a minták száma.

#### 4. Kísérleti munka, eredmények feldolgozása

Szakmai munkám során szuperkritikus extrakció során extrahált illóolajakat alkotó komponensek extrakciós és egyéb feldolgozási paraméterei közötti összefüggéseket vizsgálok. Célom, hogy optimális paramétereket találjak a kiértékelt kísérleti adatok alapján elvárt összetételű illóolaj kinyeréséhez. Ehhez egy mérési adathalmazt állítottam össze, melyet felhasználtam a korábban bemutatott regressziós modellek tanításához.

A mérések során az illóolaj szuperkritikus extrakcióval *Lavandula angustifolia* virágaiból lett kinyerve. Az extrakciós paraméterek 40-60°C hőmérséklet ( $TT$ ) és 100-200 bar nyomás ( $pp$ ) közt változtak, ezen tartományban vizsgáltam az extrakciós paraméterek hatását a kinyert illóolaj összetételére és kihozatalára. A kísérleti mátrix a 3. táblázatban látható, összesen 26 mérés történt.

**3. táblázat:** A szuperkritikus extrakció vizsgálatához alkalmazott kísérleti mátrix.

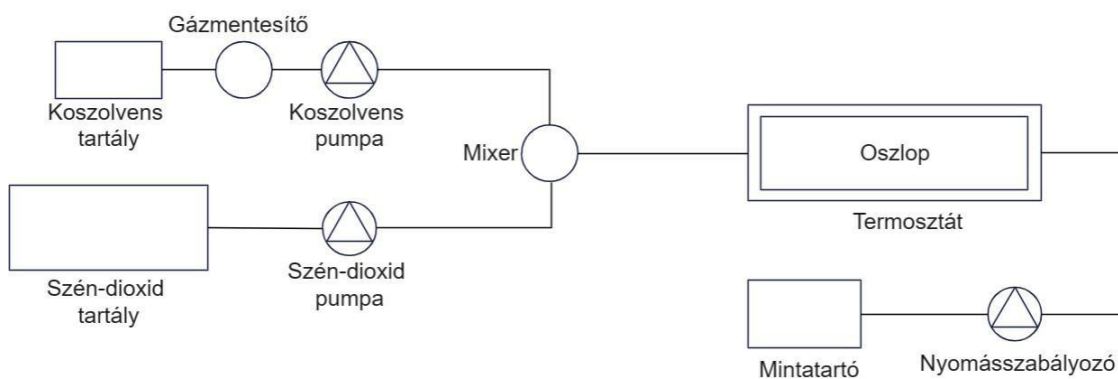
$p \setminus T$	40 °C	45 °C	50 °C	55 °C	60 °C
100 bar	M12	M15, M21	M1, M6	M18, M24	M3, M9
150 bar	M13	M17, M22	M7	M19, M25	M4, M10
200 bar	M14	M16, M23	M2, M8	M20, M26	M5, M11

A vizsgált minták között Tihanyiból és Tamásiból származó virágok voltak. A levendulák szüreteléstől számított állási ideje 7 és 19 hónap közt változott az extrakció időpontjában. A 4. táblázatban a mérések körülményei lettek feltüntetve.

**4. táblázat:** Az egyes mért minták előkészítési és extrahálási paramétereit.

Minták	Nyomás [bar]	Hőmérséklet [°C]	Származási hely	Szüretelés óta eltelt idő [hónap]	Kezelés módja
M1	100	50	Tihany	9	Szárított
M2	200	50	Tihany	9	Szárított
M3	100	60	Tihany	9	Szárított
M4	150	60	Tihany	9	Szárított
M5	200	60	Tihany	9	Szárított
M6	100	50	Tihany	9	Liofilizált
M7	150	50	Tamási	9	Liofilizált
M8	200	50	Tamási	9	Liofilizált
M9	100	60	Tihany	9	Liofilizált
M10	150	60	Tihany	9	Liofilizált
M11	200	60	Tihany	9	Liofilizált
M12	100	40	Tamási	19	Szárított
M13	150	40	Tamási	19	Szárított
M14	200	40	Tamási	19	Szárított
M15	100	45	Tamási	19	Szárított
M16	200	45	Tamási	19	Szárított
M17	150	45	Tamási	19	Szárított
M18	100	55	Tamási	19	Szárított
M19	150	55	Tamási	19	Szárított
M20	200	55	Tamási	19	Szárított
M21	100	45	Tihany	7	Szárított
M22	150	45	Tihany	7	Szárított
M23	200	45	Tihany	7	Szárított
M24	100	55	Tihany	7	Szárított
M25	150	55	Tihany	7	Szárított
M26	200	55	Tihany	7	Szárított

Az általam vizsgált illóolajok kinyeréséhez alkalmazott extrakciós berendezést a 3. ábra mutatja.



**3. ábra:** Az általunk használt szuperkritikus extrakciós berendezés sematikus ábrája.

Az egész folyamatot a szén-dioxid pumpán beállított program vezérelte. Az extraháló közeg etanolból és szén-dioxidból állt. Minden mérés során az extrahálószer térfogatárama 6 ml/perc volt, ezen kívül a mérések során koszolvensnek 2 V/V% abszolút etanolt alkalmaztunk. A szén-dioxidot a szén-dioxid palackból a szén-dioxid kompresszor, az etanolt pedig (gázmentesítés után) a (szén-dioxid kompresszor által vezérelt) koszolvens szivattyú adagolja a keverőbe. Az extrahálószer az extraktorként működő oszlopba érkezett, amiben az általunk betömörített aprított levendula virágok voltak. Az oszlop egy termosztátban helyezkedett el, amely az extrakcióhoz szükséges hőmérsékletet biztosította. A szuperkritikus nyomást az oszlophoz tartozó nyomásszabályozó segítségével állítottuk be. Az oszlopban történt meg az előbb említett paraméterek mellett az extrakció. A használt berendezések típusai a 5. táblázatban láthatóak.

**5. táblázat:** Az extrakciós berendezés részeinek típusai

Berendezés neve	Gyártó	Típuszám	Gyártó szerinti megnevezés
<i>Gázmentesítő</i>	Jasco	DG-2080-54	4-Line Degasser
<i>Koszolvens pumpa</i>	Jasco	PU-2080 Plus	Intelligent HPLC Pump
<i>Szén-dioxid pumpa</i>	Jasco	PU-1580-CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub> Delivery Pump
<i>Keverő</i>	Jasco	MX-2080-32	Dynamic Mixer
<i>Termosztát</i>	Jasco	CO-2060 Plus	Intelligent Column Thermostat
<i>Nyomásszabályozó</i>	Jasco	BP-1580-81	Back Pressure Regulator

Az extrahált minták összetétele egy gázkromatográf segítségével lett kiértékelve. A kapott illóolaj összetételek a különböző mérési körülményekkel a 6. táblázatban láthatóak. A feltüntetett adatok közül a kihozatalt a bemért, szárított virág tömeghez, a kinyert komponensek tömegszázalékos összetételét pedig az extrahált illóolaj teljes tömegéhez viszonyítottam.

**6. táblázat:** Az általunk extrahált illóolajok százalékos kihozatala, összetétele.

Minta	Kihozatal [m/m%]	Cineol [m/m%]	Linalool [m/m%]	Linalil- acetát [m/m%]	Lavandu- lil-acetát [m/m%]	Kariofil- lén-oxid [m/m%]	Egyéb [m/m%]
M1	6,51	10,02	8,81	12,44	9,62	10,91	48,20
M2	7,36	2,10	3,32	8,52	6,08	6,74	73,24
M3	7,05	3,29	3,11	8,19	4,69	6,69	74,04
M4	9,24	3,46	3,31	7,98	4,87	6,02	74,35
M5	8,80	2,34	2,87	7,96	5,54	6,21	75,07
M6	7,34	4,74	3,40	6,27	3,85	5,94	75,81
M7	7,43	0,81	4,23	7,53	6,58	4,92	75,93
M8	6,29	1,73	3,96	6,93	5,31	4,63	77,44
M9	5,87	3,36	0,27	5,38	3,40	6,34	81,24
M10	5,79	4,60	3,66	7,01	4,09	6,38	74,26
M11	6,20	3,98	3,50	7,36	4,12	6,05	74,98
M12	6,77	0,68	14,13	28,09	5,52	5,21	46,37
M13	5,83	0,74	19,26	24,01	6,35	3,70	45,94
M14	5,74	0,75	18,85	23,59	6,42	3,80	46,59
M15	5,74	0,55	18,07	30,56	5,70	3,47	41,64
M16	4,35	0,26	29,99	30,82	3,28	2,03	33,62
M17	3,03	0,64	17,13	23,39	5,71	3,79	49,33
M18	1,61	0,47	16,76	26,63	5,16	3,68	47,30
M19	5,88	0,00	46,43	18,72	2,80	1,58	30,47
M20	6,98	0,32	36,05	24,86	3,60	2,09	33,08
M21	3,06	0,00	17,16	21,86	9,81	3,14	48,03
M22	3,81	0,32	28,46	36,38	5,03	1,55	28,26
M23	3,74	0,00	23,43	29,46	7,66	2,62	36,83
M24	3,23	0,26	24,35	38,80	5,39	1,69	29,51
M25	5,98	0,00	21,04	40,29	4,22	0,79	33,65
M26	1,65	0,00	20,12	41,47	3,53	0,69	34,19

### 3.1. Eredmények elemzése

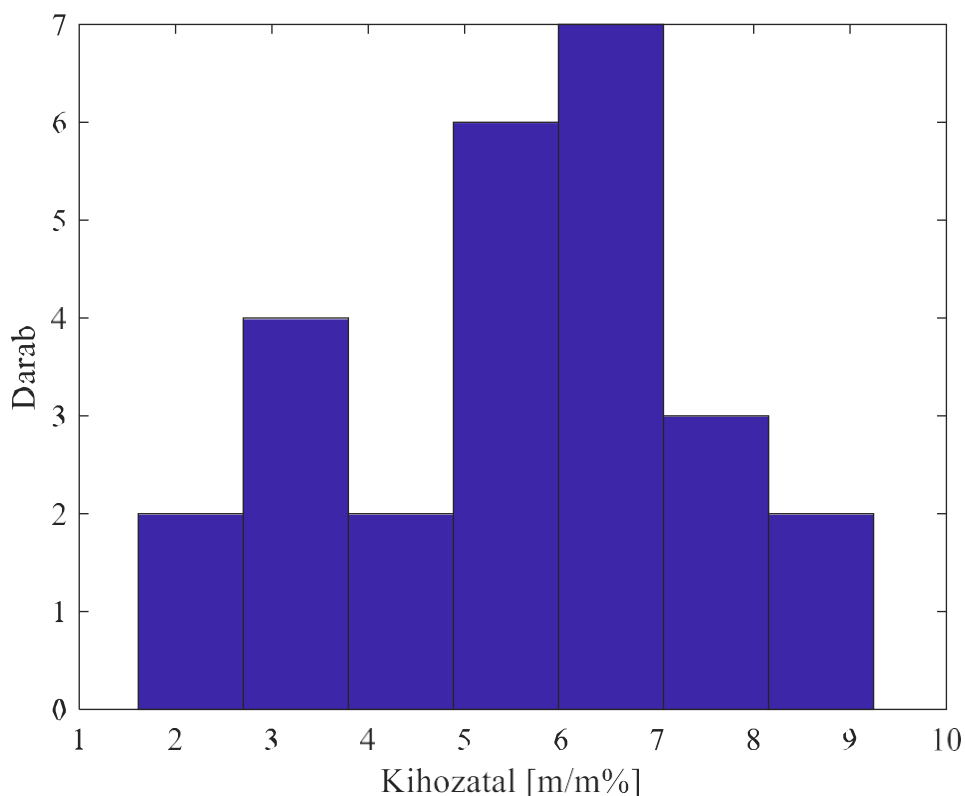
Az adatok elemzésének szemléletesebbé tételét különböző vizualizációs módszerekkel hajtom végre. A kapott eredmények eloszlását hisztogram, illetve szórásdiagram segítségével szemléltetem, az egyes műveleti és feldolgozási paraméterek és a kihozatal, valamint összetétel közti összefüggést korreláció analízissel vizsgálom. Először a kihozatali értékeket vizsgálom, utána a változók közötti korrelációt, majd a szárított és liofilizált mintákból extrahált illóolajok kihozatala és összetétele közötti legfőbb különbségeket.

Az egyes kategorikus változókat (származás, előkezelés módja), a vizsgálat során címkekódolással (label encoding) számosítom, a kódolt csoportokat és azok kódját a 7. táblázatban tüntetem fel.

**7. táblázat:** Kategorikus adatok címkekódolása.

<b>Kódolt mennyiségek</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<i>Származás helye</i>	Tamási	Tihany
<i>Előkezelés módja</i>	Liofilizált	Szárított

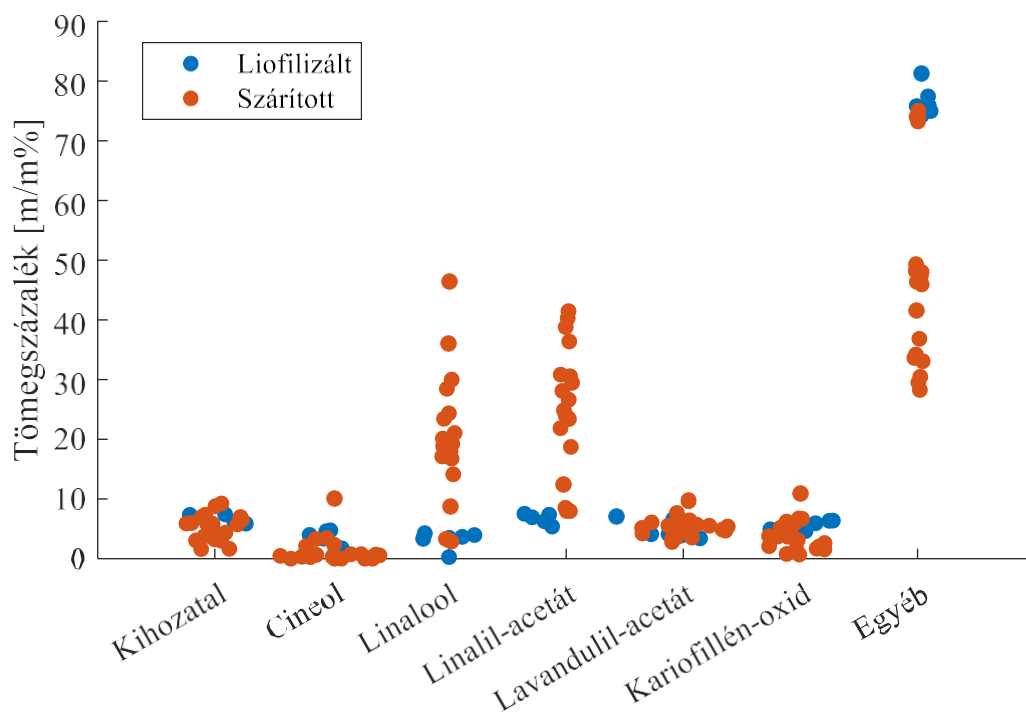
A kihozatal tömegszázalékos értékeit a 4. ábra mutatja. A kapott értékek nagyságrendileg körülbelül 7 csoportba sorolhatók. A kinyert illóolajok kihozatali értékek szerinti eloszlása közel normális eloszlást mutat. Általában a hőmérséklet növelésével magasabb kihozatali értékeket tapasztaltam.



**4. ábra:** Az extrahált levendula illóolajok százalékos kihozatalának eloszlása.

A kihozatal értékeinek számolt átlaga 5,6 m/m%, a legtöbb mintának 5-7 m/m% kihozatali értéke volt, a kihozatali értékek szórása 2,0 m/m%. Az ábráról az is leolvasható azonban, hogy a legkisebb és legnagyobb értékek között nagy a különbség, az adatsorterjedelme 7,6 m/m%.

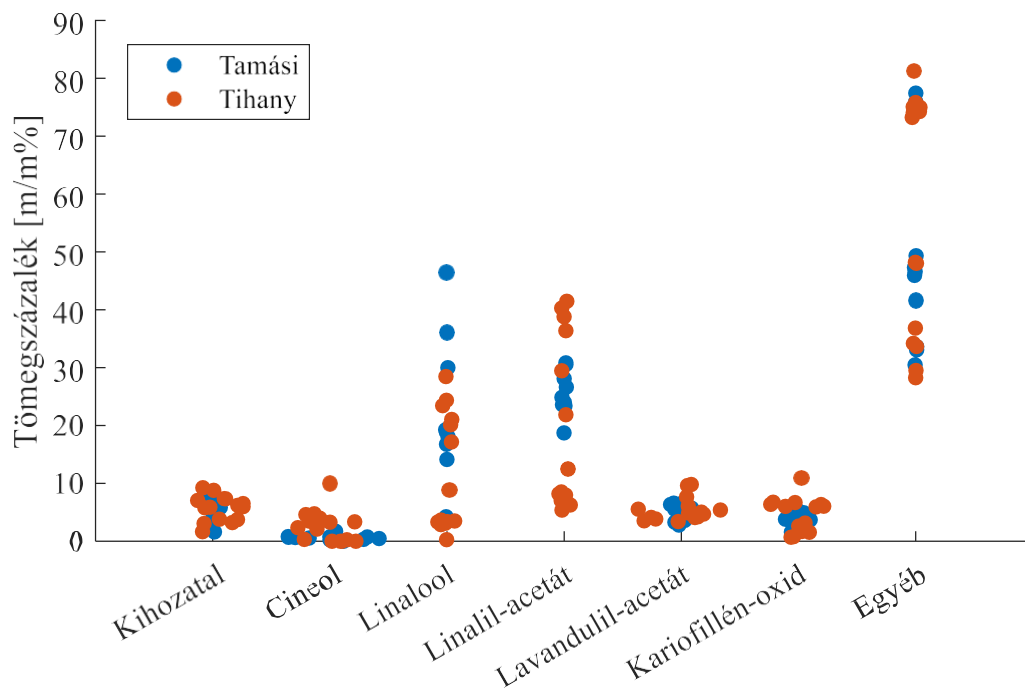
A 5. ábra egy szórásdiagramot mutat, melyen az egyes komponensek tömegszázalék szerint ábrázolt összetételét és kihozatali értékeit mutatja a lemért mintákban. A kék pontok liofilizált, a pirosak pedig a szárított levendulák olajainak adatait ábrázolják.



**5. ábra:** A szárított és liofilizált levendulák illóolaj alkotó komponenseinek és kihozatalának eloszlása.

Az előkezelés módja szerint az ábrán jól láthatóan elkülönülnek az egyes komponensek mennyiségei. Átlagosan elmondható, hogy a liofilizáltak esetében nagyobb cineol, kariofillén-oxid és egyéb komponens tartalmat tapasztaltunk, amíg a szárított minták olajában a linalool, linalil-acetát és lavandulil-acetát százalékos értékei mutatnak magasabb értékeket. A szárított levendulák esetében a linalool, linalil-acetát és az egyéb komponensek értékei nagy szórás mutatnak, míg a kihozatal, cineol, lavandulil-acetát és kariofillén-oxid értékeinél alig, vagy minimális mértékű szórás látható. A liofilizált levendulák esetében minden komponensnek minimális a szórása, nagyjából egy érték körül mozognak a tömegszázalékos értékek.

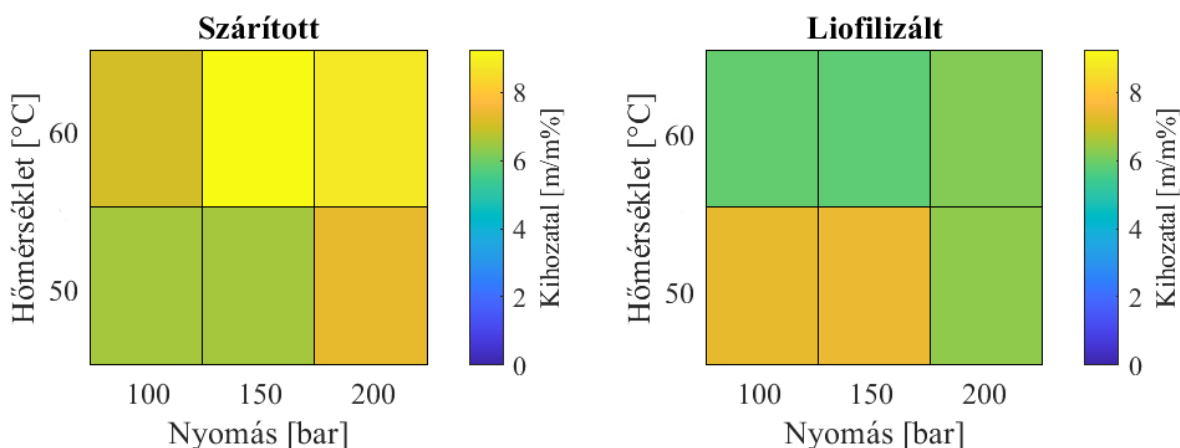
A 6. ábra szintén szórásdiagramot mutat, melyen az egyes komponensek tömegszázalék szerint ábrázolt összetételét és kihozatali értékeit mutatja a lemerített mintákban, azonban a megjelenített adatok a származási hely szerint lettek színezve. A kék pontok a Tamásiból, a pirosak pedig a Tihanyból származó levendulák olajainak adatait ábrázolják.



**6. ábra:** A Tihanyból és Tamásiból származó levendulák illóolajalkotó komponenseinek és kihozatalának eloszlása.

A származási hely szerint az ábrán láthatóan szintén elkülönülnek az egyes komponensek mennyiségei egymástól. Átlagosan elmondható, hogy a Tihanyi levendulák esetében nagyobb kihozatali értékeket, cineol, és lavandulil-acetát tartalmat tapasztaltunk, míg a Tamási levendulák olajában a linalool százalékos értékei mutatnak magasabb értékeket. A többi komponensnél nem figyelhető meg kifejezetten mennyiségbeli elkülönülés, azonban jól látszik, hogy a Tihanyi levendulák olajában ezen komponensek értéke jóval nagyobb mértékű szórást mutatnak, mint a Tamásiban szüretelt levendulák olaja.

A kihozatal további vizsgálatára, a 7. ábra ad szemléletes tájékoztatást.

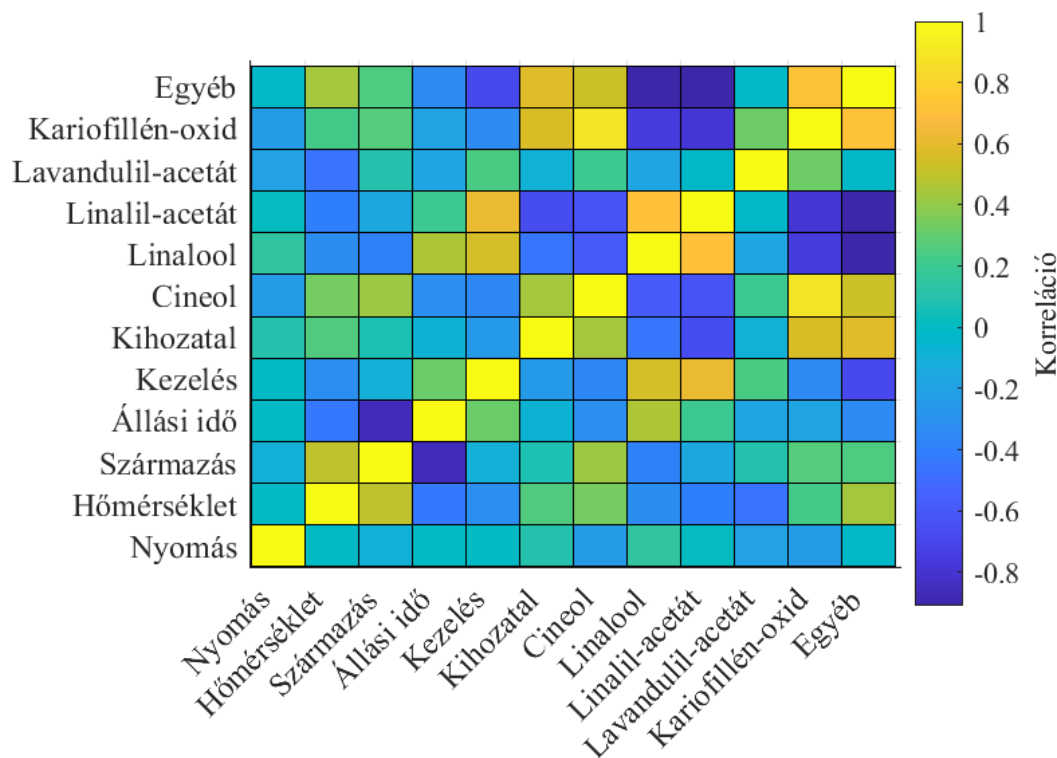


**7. ábra:** Liofilizált és szárított levendulák illóolaj kihozatala a nyomás és hőmérséklet függvényében.

Az ábrán két diagram látható, melyek a liofilizált és szárított levendulák tömegszázalékos illóolaj kihozatalát ábrázolják a nyomás és hőmérséklet függvényében. A két diagramon csak azokat a méréseket tüntettem fel, melyek ugyanazon hőmérsékleten lettek mérve, illetve csak az előkezelés módjában térnek el egymástól. A kihozatal ugyanazon a színskálán van ábrázolva (tömegszázalékban), hogy egymáshoz képest viszonyítva is szemléletes képet adhassanak, melyen a szín mélysége tükrözi, milyen mértékű kihozatalról beszélünk egy-egy adott nyomás és hőmérséklet esetében.

Látható, hogy a két legnagyobb kihozatali értéket a szárított levendulákkal, 60°C-on értük el, 150 és 200 bar nyomáson (9% körüli értékek, jobb oldali diagram). A 4. ábra már megmutatta, hogy a legtöbb mérésnél 6-7 m/m%-os kihozatalt értünk el, amit a 7. ábra szintén szemléltet (még így is, hogy nincsen az összes mérés feltüntetve a diagramokon). Az ábráról szintén leolvasható még az is, hogy a liofilizált levenduláknak a tömegszázalékos kihozatala alacsonyabb értékeket produkált magasabb hőmérsékleten.

A 8. ábra az általunk vizsgált adatmátrix Pearson-korrelációs együtthatóinak szintérképes ábrázolását mutatja [21].



**8. ábra:** Az egyes változók korrelációs mátrixának hőterképe.

A nyomás és az illóolaj összetevők és kihozatal korrelációja  $-0,2$  és  $0,2$  közé esik, tehát, míg a hőmérséklet nagyobb mértékben befolyásolja az illóolaj kihozatalát, valamint az egyes komponensek mennyiségét, a nyomás önmagában nem annyira befolyásoló tényező.

Kiemelném a hőmérséklet és az egyéb illóolaj komponensek közötti, körülbelül  $0,5$ -ös értékű korrelációt, mely szerint a hőmérséklet növekedésével nő az egyéb illóolajalkotó összetevők mennyisége. Ezt talán a komponensek hőérzékenységgel lehetne magyarázni (átalakulhatnak vagy elbomolhatnak), vagy azzal, hogy a legtöbb esetben magasabb hőmérsékleten jobb a komponensek oldhatósága, tehát többféle alkotót nyerhetünk ki, amik a főkomponensek százalékos összetételét csökkenthetik.

A származás és cineol, kariofillén-oxid és az egyéb komponensek között pozitív korreláció van, a linaloolal és linalil-acetáttal pedig negatív korrelációt mutat, melyet a 7. táblázatban feltüntetett kódolás alapján tudunk értelmezni. Amikor Tihanyból származó levendulák illóolajáról beszélünk, akkor azokban magasabb a cineol, kariofillén-oxid és az egyéb komponensek százalékos mennyisége, kevesebb a linalool és linalil-acetát, tamási levenduláknál pedig fordítva. Az ábráról szintén kiolvashatjuk, hogy a szüretelés óta eltelt idő hogyan befolyásolja az összetételt. A később (19 hónap után) extrahált levendulák olajában magasabb a linalool és linalil-acetát tartalom, míg a hamarabb (7 hónap után) extraháltakéban

a cineol, kariofillén-oxid és az egyéb komponensek mennyisége a nagyobb. Ennek oka az lehet, hogy a később extrahált növények több időt álltak, tehát az illékonyabb illóolajalkotó összetevők ez idő alatt távozhattak a virágokból. A kezelés módja és a komponensek közötti korrelációt szintén a 7. táblázatban látható kódolás alapján értelmezhetjük: a szárított levendulák olajában több linalool és linalil-acetát található. Ezt a 5. ábra is szemlélteti.

A komponensek közötti összefüggések közül kiemelném, hogy a cineol és kariofillén-oxid mennyisége mindig együtt változik, amit igazol a közöttük lévő, majdnem teljes mértékű, 1-hez közeli korreláció, valamint a linalool és linalil-acetát mértéke akkor számottevő, amikor az egyéb illóolajalkotó komponensek tömegszázalékos mennyisége alacsonyabb.

A továbbiakban bemutatom a kihozatalt és az összetétel becslésének eredményeit regressziós módszerekkel.

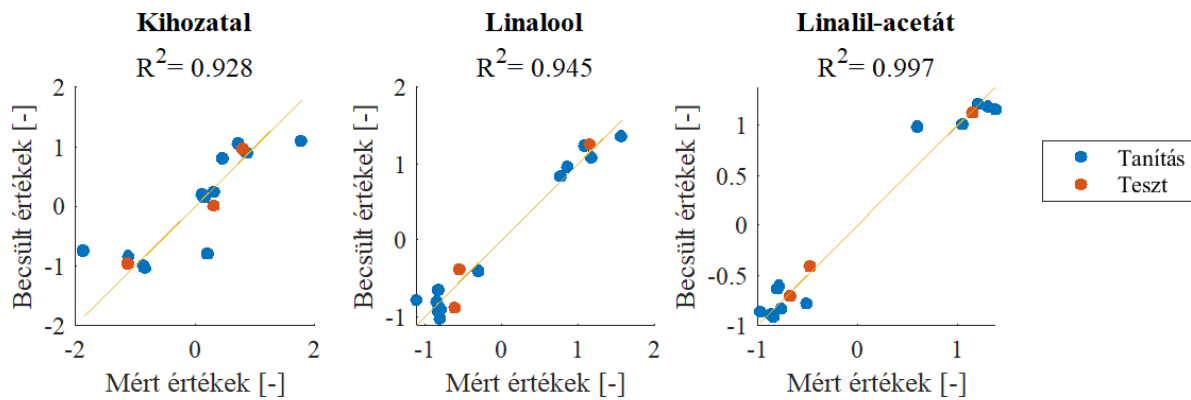
## 4.2. A kihozatal és összetétel becslése

A regressziós modellek felállítása során a predikációs változók az extrakciós műveleti paraméterek, tehát a nyomás és hőmérséklet, valamint az előkészítési paraméterek esetében a származás, kezelés és szüretelés óta eltelt idő. Predikált változók a kihozatal, cineol, linalool, linalil-acetát, lavandulil-acetát, kariofillén-oxid és az egyéb komponensek tömegszázalékos értékei voltak. A modellek illeszkedését a kihozatalon, valamint a linalool és a linalil-acetát tartalom mutatom be, mivel az illóolaj minőségét nagyrészt ez a két komponens határozza meg (2. táblázat), a kihozatal meg vegyipari szempontból jelentős.

A lineáris regressziós modell illesztésénél azt tapasztaltam, hogy az algoritmus nem tudja megfelelően kezelni a két szüretelési helyről származó illóolajok adatait, emiatt az adatsort szétválasztottam a származási hely alapján.

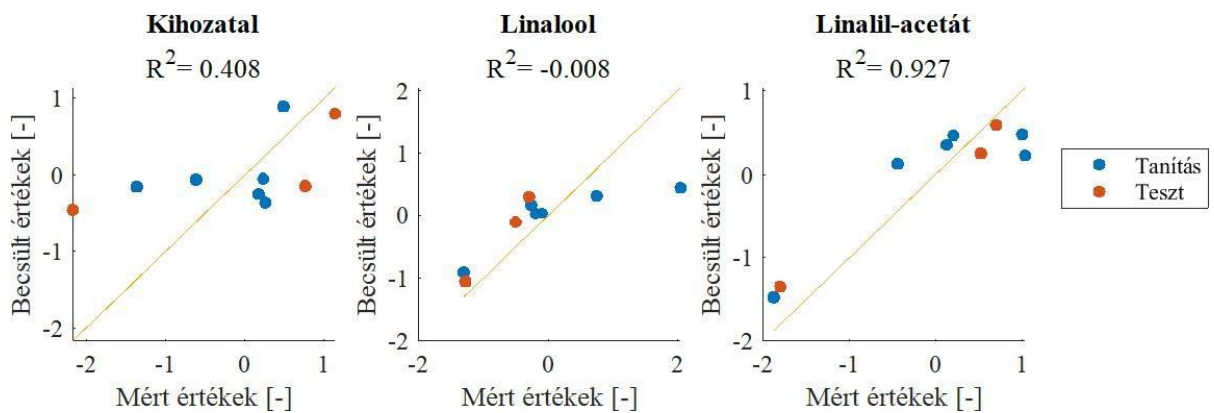
A keresztvalidáció során használt egyik adathalmaz esetében a lineáris regressziós modell illeszkedését, illetve a predikációs képességét a 9. ábra (tihanyi levendulák) és a 10. ábra (tamási levendulák) szemlélteti, melyeken a standardizált becült változókat tüntettem fel az eredeti standardizált változók függvényében. A tihanyi levenduláknál ötszörös, a tamásiaknál pedig háromszoros keresztvalidációt alkalmaztam. Minden predikált változót külön összefüggéssel becsültem. Az egyes predikált változók nevei alatt feltüntettem az  $R^2$  együtthatókat, melyek esetünkben azt adja meg, hogy a modell mennyire helyesen tudja megbecsülni az adott predikált változó értékét.

Leolvasható a 9. ábra grafikonjairól, hogy a tihanyi minták esetében mindhárom vizsgált predikált változó esetében ez a modell alsó hangon 90%-os pontossággal tudta megbecsülni tesztelés során az adott értékeket. Átlagosan az öt keresztvalidáció során felállított modell rendszerint 80,8%, 96,2%, illetve 94,0% pontossággal becsülte ezen változókat.



**9. ábra:** Lineáris regressziós modell szerint becstelt értékek a tanulás, illetve a tesztelés során a mért adatok függvényében, valamint a teszt adatok  $R^2$  értékei tihanyi levendulák esetében.

Leolvasható a 10. ábra grafikonjairól, hogy a tamási minták esetében három vizsgált predikált változó esetében ez a modell változó pontossággal becstelt. Átlagosan az öt modell rendszerint 17,7 %, -14,9 %, illetve 82,4 % pontossággal becstelte ezen változókat.

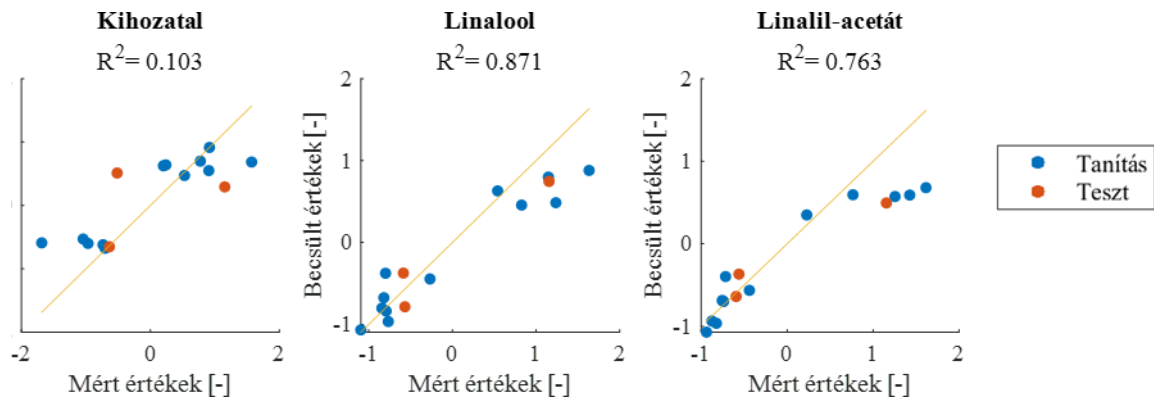


**10. ábra:** Lineáris regressziós modell szerint becstelt értékek a tanulás, illetve a tesztelés során a mért adatok függvényében, valamint a teszt adatok  $R^2$  értékei tamási levendulák esetében.

A továbbiakban négyzetes és interakciós tagokat vittem be a predikációs változók közé: hőmérséklet és nyomás négyzetei, valamint a kettő érték szorzata. Azért ezeket a változókat választottam a predikációs változók kibővítéséhez, mivel mind a hőmérsékletnek, mind pedig a nyomásnak minimum 3 kimeneti értéke lehetséges. A négyzetes tagokon kívül még egy konstans változót is hozzáadtam a predikációs adathalmazhoz. A modell predikációs képességét a tihanyi levendulák esetében a 11. ábra, a tamási levendulák esetében a 12. ábra szemlélteti. Az  $R^2$  értékek a tihanyi levendulák esetében minden predikált változó esetében csökkentek.

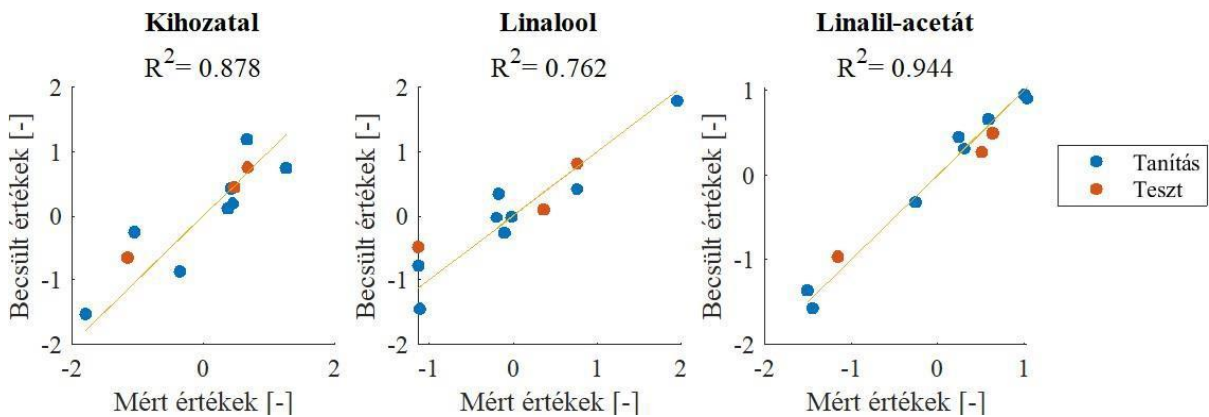
A 11. ábra mutatja, hogy a tihanyi minták esetében a modell predikációs képessége mindhárom esetben csökkent. A keresztvalidálás során kapott átlagos predikációs képesség

rendszerint 53,2%, 86,2% és 74,2%, Ez azt mutatja, hogy a modell túltanult, tehát a predikációs képessége romlott.



**11. ábra:** Lineáris regressziós modell predikációs képessége négyzetes és konstans taggal kibővített predikációs adatkészlettel tihanyi levendulák esetében.

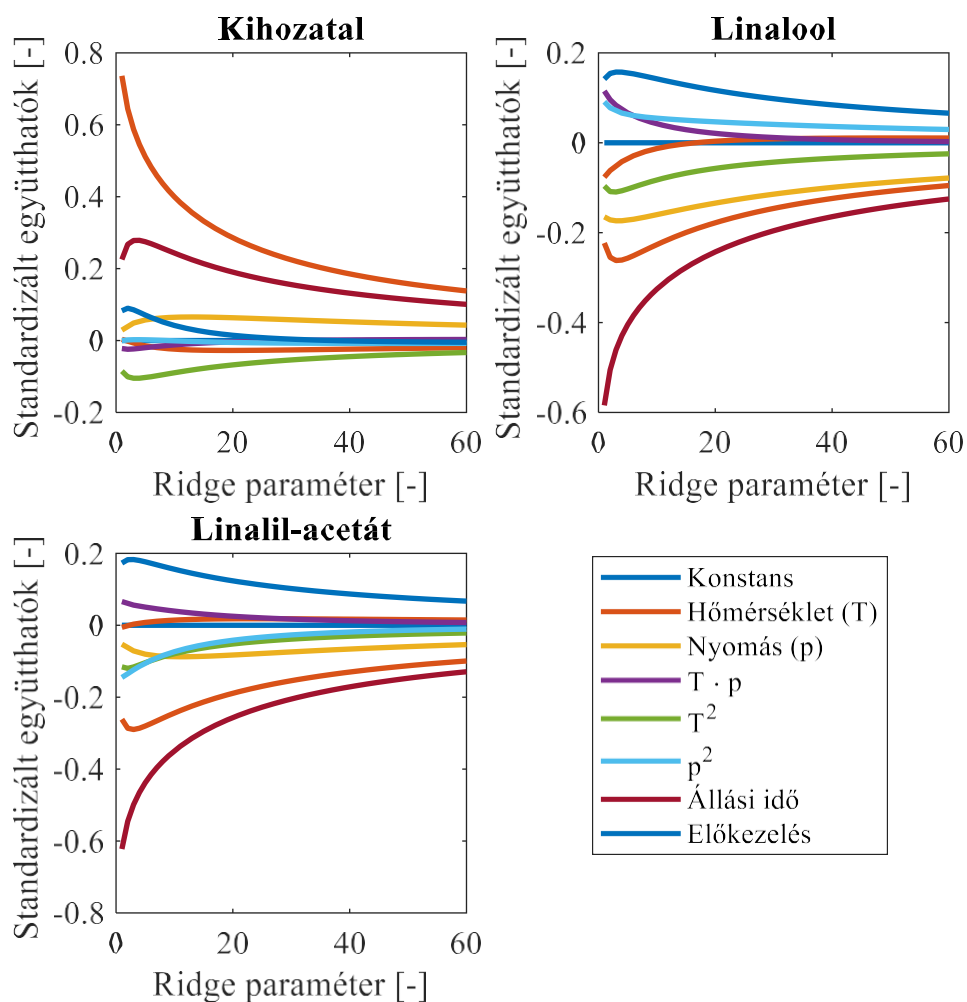
A 12. ábra azt mutatja, hogy a tamási levendulák esetében a modell predikációs képessége mindhárom esetben nőtt, ami az átlagos  $R^2$  értékekre is igaz a legtöbb esetben.



**12. ábra:** Lineáris regressziós modell predikációs képessége négyzetes és konstans taggal kibővített predikációs adatkészlettel tamási levendulák esetében.

A következő adatelemzési technika, melyet alkalmaztam a ridge regresszió. A regressziós modell felállítása során az egyes prediktor változók súlyozó tényezőinek változását vizsgálom a ridge paraméter értékének 0 és 60 közötti változtatásával. A 13. ábra a tihanyi levendulák, a 14. ábra pedig a tamási levendulák esetében a kihozatal, valamint a linalool és linalil-acetát, mint predikált változó együtthatóinak változását ábrázolja a ridge paraméter függvényében. A ridge paraméter általi vizsgálatot azért ezen az intervallumon tartottam ideálisnak, mivel az ábrákon is látható, hogy e környezetben már lejátszódtak a nagyobb változások mindkét adathalmaz esetében és nagyjából egy érték körül mozognak az együtthatók.

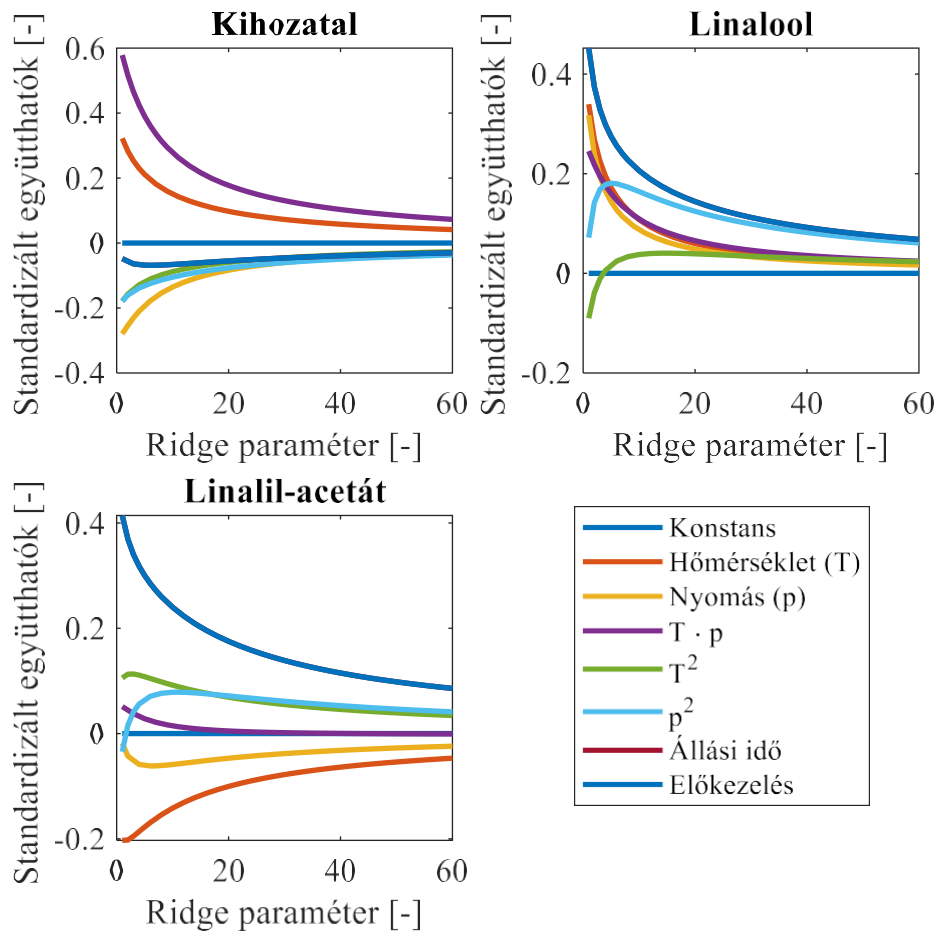
A 13. ábra azt is mutatja, hogy valamennyi vizsgált változónál az együtthatók értékei változásainak túlnyomó többsége körülbelül a  $k = 7$  érték előtt lejártszódik a tihanyi levendulák esetében. A technika azt is képes megmutatni, ha egy változó nem igazán meghatározó az adott komponens értékének előállításában. A nyomás négyzetes tagja például a kihozatal esetében nem releváns minden ridge paraméter függvényében 0. A hőmérséklet esetében megfigyelhető, hogy a linalool, és linalil-acetát tartalomnál a tag inverziója (vagyis a súlyozó tényező értékének előjel váltását) mutatkozik a ridge paraméter függvényében.



**13. ábra:** Ridge regressziós modell standardizált együtthatóinak változása a ridge paraméter függvényében tihanyi levendulák esetében.

A 14. ábra azt is mutatja, hogy valamennyi vizsgált változónál az együtthatók értékei változásainak túlnyomó többsége körülbelül a  $k = 5$  érték előtt lejártszódik a tamási levendulák esetében. Ennél a modellnél érdekes, hogy a konstans tag egyik vizsgált paraméter esetében sem releváns, minden ridge paraméter függvényében 0. Több esetben megfigyelhető inverzió,

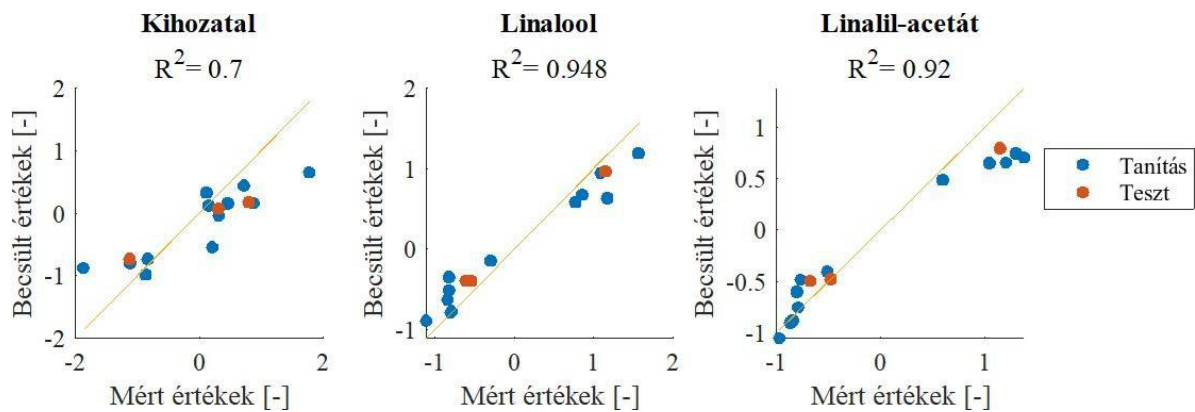
például a linalool esetében mind a hőmérséklet, mind pedig a nyomás négyzetes tagjánál megfigyelhető a jelenség.



**14. ábra:** Ridge regressziós modell standardizált együtthatóinak változása a ridge paraméter függvényében tamási levendulák esetében.

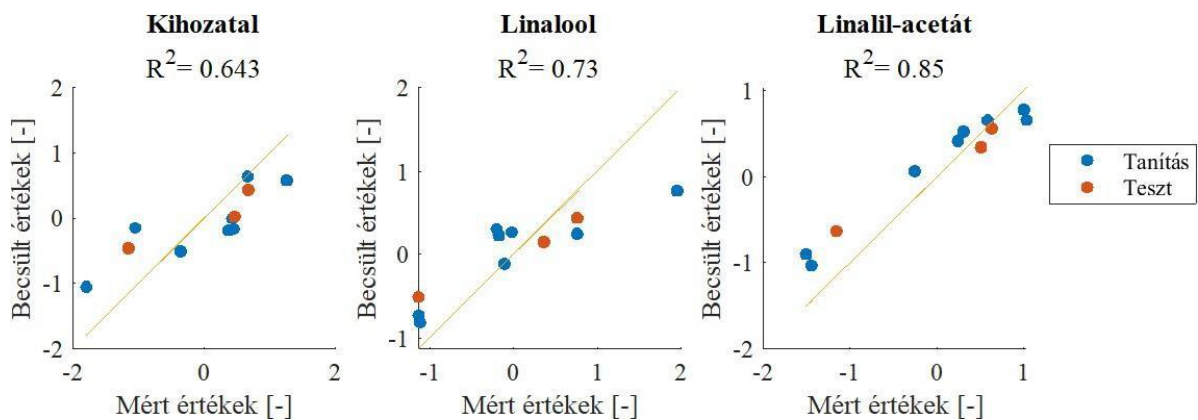
A következő modellt a túlillesztés kiküszöbölése végett a kibővített predikciós adathalmazra illeszttem. 15. ábra a tihanyi levendulák, a 16. ábra pedig a tamási levendulák ridge regressziós modell becslési pontosságát ábrázolja a keresztvalidáció során használt egyik adathalmaz esetében. A modell becsült értékeit ábrázolja az eredeti standardizált változók függvényében. A  $k$  ridge paraméter értéke 7 volt, annak érdekében, hogy a rosszul kondicionált  $X'X$  mátrix okozta problémákat kiküszöbölje.

A 15. ábra mutatja, hogy a tihanyi levenduláknál az  $R^2$  értékek mindhárom esetben nőttek. Ez az átlagos értékekre is igaz a legtöbb esetben, a gyakorlatban tehát ez a modell működőképesebb, mint a kibővített predikciós adathalmaz segítségével illesztett lineáris regressziós modell, mely túltanulást mutatott.



**15. ábra:** Ridge regressziós modell predikációs képessége  $k = 7$  értékkel tihanyi levendulák esetében.

A 16. ábra a ridge regressziós modell predikációs képességét mutatja  $k = 7$  értéknél. Az átlagos  $R^2$  értékek a legtöbb esetben nőttek a tamási levendulák esetében, ami azt jelenti, hogy a modell több komponens esetében is tútanulást mutat.



**16. ábra:** Ridge regressziós modell predikációs képessége  $k = 7$  értékkel tamási levendulák esetében.

A 8. táblázatban a tihanyi levendulák, a 9. táblázatban pedig a tamási levendulák olajaira alkalmazott regressziós technikák becslési pontosságát foglaltam össze.

**8. táblázat:** Az alkalmazott regressziós technikák átlagos  $R^2$  értéke tihanyi levendulák esetében az ötszörös keresztvalidálás során.

Becsült változó	Lineáris regressziós modell [-]	Lineáris regressziós modell négyzetes és interakciós tagokkal kiegészítve [-]	Ridge regresszió $k = 7$ ridge paraméterrel [-]
<i>Kihozatal</i>	0,807	0,532	0,654
<i>Cineol</i>	0,489	0,282	0,453
<i>Linalool</i>	0,962	0,862	0,854
<i>Linalil-acetát</i>	0,934	0,742	0,806
<i>Lavandulil-acetát</i>	0,479	0,72	0,304
<i>Kariofillén-oxid</i>	0,818	0,761	0,757
<i>Egyéb</i>	0,828	0,575	0,779

A 8. táblázatban látható értékek visszaadják azt, hogy a tihanyi levenduláknál a kibővített predikciós adathalmazzal illesztett lineáris regressziós modell becslési pontossága egyik predikált adat esetében sem olyan jó, mint az eredeti adathalmazzal illesztetté. Ugyanakkor az is jól látható, hogy a ridge regressziós modellnél szinte mindenhol javul a becslési pontosság a kibővített predikciós adathalmazzal kiegészített lineáris regressziós modellhez képest. Ebből az következik, hogy a ridge regressziós modell valamilyen szinten kiküszöböli a bővített adathalmaz túlillesztését.

Érdekes azonban, hogy a lineáris regressziós modell becslési pontossága mindegyik predikált változó esetében a legmagasabb, tehát ez a modell képes a tihanyi levendulák esetében a legjobban becsülni az illóolajösszetételt.

**9. táblázat:** Az alkalmazott regressziós technikák átlagos  $R^2$  értéke tamási levendulák esetében az ötszörös keresztvalidálás során.

Becsült változó	Lineáris regressziós modell [%]	Lineáris regressziós modell négyzetes és interakciós tagokkal kiegészítve [%]	Ridge regresszió $k = 7$ ridge paraméterrel [%]
<i>Kihozatal</i>	0,174	0,119	0,194
<i>Cineol</i>	0,102	0,726	0,690
<i>Linalool</i>	0,149	0,252	0,350
<i>Linalil-acetát</i>	0,824	0,777	0,705
<i>Lavandulil-acetát</i>	0,178	0,146	0,308
<i>Kariofillén-oxid</i>	0,023	0,197	0,197
<i>Egyéb</i>	0,108	0,429	0,507

A 9. táblázatban látható értékek azt, mutatják, hogy a tamási levendulák esetében a lineáris regressziós modell, valamint a kibővített predikciós adathalmazzal illesztett lineáris regressziós modell becslési pontossága is elmaradt a tihanyi levendulákhoz képest. A tamási levendulák

esetében a kisebb mintaelemszám és több mérési rendellenesség is okozhatta ezen

eredményeket. A munka során tervezem ezen növényekből nagyobb számú minta mérését, illetve különböző kiugró érték azonosító módszerekkel a rendellenes mérési adatok azonosítása és eltávolítása a tanító adatsorból.

## 5. Fejezet – Összefoglalás

Munkám célja *Lavandula angustifolia* virágainak szuperkritikus extrakciója során extrahált illóolajok összetételének vizsgálata volt. A vizsgálat során az extrakciós paraméterek és az illóolajalkotó komponensek, valamint az illóolajkihozatal közötti korrelációt elemeztem.

Az extrakciós paraméterek jelentősen befolyásolják a predikált eredményeket. Liofilizált levendulák mintáiból 60°C-on és 150 bar és 200 bar nyomáson például 8,8 m/m% és 9,2 m/m% levendulaolajat sikerült kinyernünk.

A mérések során kapott adatokból különböző regressziós technikákkal próbáltam becsülni az illóolajok kihozatalát és összetételét. A teljes adathalmazt ezen vizsgálat során szétbontottam származási hely szerint, mivel a két adathalmaz teljesen más trendeket mutat az alkalmazott technikákkal, így nem volt célszerű együtt vizsgálni őket. A lineáris regresszió technikájával a tamási levenduláknál átlagosan 17,4 %-os pontossággal, a tihanyiaknál pedig 80,7 %-os pontossággal lehetséges megbecsülni a kihozatalt és az olaj összetételét. A tihanyi levendula mintáknál a predikációs modell pontossága magasfokú, az egyes illóolajalkotók összetételét a modell átlagban 70% pontosság felett képes becsülni. A fő illóolaj alkotók, a linalool és linalil-acetát esetén a predikáció pontossága meghaladta a 90 %-ot a legjobb modellek esetében.

A továbbiakban céлом a kísérleti adatbázis bővítése különböző forrásból származó mintákkal, valamint más tanítási modellek illesztése, illetve azok predikációs képességének tesztelése. A tamási levendulák esetében céлом a mérési halmaz bővítése illetve a kétes eredményeket adó mérések újra elvégzése a pontosabb predikációs modellek illesztése érdekében. Ezen kívül szeretném feltárni, hogy a minta szemcsemérete hogyan befolyásolja az extrakció kihozatalát, a kinyert illóolaj összetételét.

## Irodalomjegyzék

- [1] Cossuta, D. (2010). Gyógyászati, kozmetikai és élelmiszeripari célra alkalmas növényi hatóanyagok kinyerése szuperkritikus extrakcióval. PhD disszertáció  
<http://hdl.handle.net/10890/938>
- [2] Hanif, M. A., Nisar, S., Khan, G. S., Mushtaq, Z., & Zubair, M. (2019). Essential oils. In: Essential Oil Research (pp. 3-17). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1)
- [3] Kant, R., & Kumar, A. (2022). Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: Techniques, performance and economic analysis. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 30, 100829. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100829>
- [4] Lis-Balchin, M. T. (2012). Lavender. In Handbook of herbs and spices (pp. 329-347). Woodhead Publishing. [https://toc.library.ethz.ch/objects/pdf03/e16\\_978-0-85709-039-3\\_01.pdf](https://toc.library.ethz.ch/objects/pdf03/e16_978-0-85709-039-3_01.pdf)
- [5] de Groot, A., & Schmidt, E. (2016). Essential oils, part V: peppermint oil, lavender oil, and lemongrass oil. Dermatitis®, 27(6), 325-332. <https://doi.org/10.1097/der.0000000000000218>
- [6] <https://www.statista.com/statistics/975529/essential-oil-lavender-production-volume-france/>  
(Letöltés dátuma: 2022.12.14.)
- [7] Lis-Balchin, M. (2002). Lavender essential oil: Standardisation, ISO; adulteration and its detection using GC, enantiomeric columns and bioactivity. In: Lavender (pp. 131-137). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203216521>
- [8] Bobek, J., & Rippelné Pethő, D. (2017). Levendula extrakciója nagy nyomású széndioxiddal. Műszaki Tudományos Közlemények (7). pp. 107-110. <https://doi.org/10.33895/mtk-2017.07.19>
- [9] Csordásné Rónyai, E. (2002). Növényi hatóanyagok kinyerése szuperkritikus extrakcióval. PhD disszertáció. <http://hdl.handle.net/10890/170>
- [10] Cséfalvay, E., Deák, A., Farkas, T., Hanák, L., Mika, L. T., Mizsey, P., ... & Vágó, E. (2011). Vegyipari Műveletek II., Anyagátadó műveletek és kémiai reaktorok. <https://interkonyv.hu/free-shard/vw/165110>
- [11] Nagy, A. (2022). Klasszikus és kvantum gépi tanulás dióhéjban. Biztonságtudományi Szemle, 4 (4.), 105-113. <https://biztonsagtudomanyi.szemle.uni-obuda.hu/index.php/home/article/view/273>
- [12] Hiran, K. K., Jain, R. K., Lakhwani, K., & Doshi, R. (2021). Machine Learning: Master Supervised and Unsupervised Learning Algorithms with Real Examples (English Edition). BPB Publications. <https://ebin.pub/machine-learning-master-supervised-and-unsupervised-learning-algorithms-with-real-examples-english-edition-9391392350-9789391392352.html>
- [13] El-Attar, N. E., Hassan, M. K., Alghamdi, O. A., & Awad, W. A. (2020). Deep learning model for classification and bioactivity prediction of essential oil-producing plants from Egypt. Scientific Reports, 10(1), 21349. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78449-1>

- [14] Daynac, M., Cortes-Cabrera, A., & Prieto, J. M. (2015). Application of artificial intelligence to the prediction of the antimicrobial activity of essential oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/561024>
- [15] Pezo, L., Lončar, B., Šovljanski, O., Tomić, A., Travičić, V., Pezo, M., & Aćimović, M. (2022). Agricultural parameters and essential oil content composition prediction of aniseed, based on growing year, locality and fertilization type – An artificial neural network approach. *Life*, 12(11), 1722. <https://doi.org/10.3390/life12111722>
- [16] Aćimović, M., Pezo, L., Zeremski, T., Lončar, B., Marjanović Jeromela, A., Stanković Jeremic, J., ... & Ignjatov, M. (2021). Weather conditions influence on hyssop essential oil quality. *Processes*, 9(7), 1152. <https://doi.org/10.3390/pr9071152>
- [17] Niazian, M., Sadat-Noori, S. A., & Abdipour, M. (2018). Artificial neural network and multiple regression analysis models to predict essential oil content of ajowan (*Carum copticum* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9, 124-131. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.04.001>
- [18] Aćimović, M., Ljujić, J., Vulić, J., Zheljazkov, V. D., Pezo, L., Varga, A., & Tumbas Šaponjac, V. (2021). *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil from Serbia: Chemical composition, classification and biological activity—May it be a suitable new crop for Serbia? *Agronomy*, 11(7), 1282. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071282>
- [19] Rashid, M., Bari, B. S., Yusup, Y., Kamaruddin, M. A., & Khan, N. (2021). A comprehensive review of crop yield prediction using machine learning approaches with special emphasis on palm oil yield prediction. *IEEE Access*, 9, 63406-63439. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2021.3075159>
- [20] Tang, Q., Chen, Y., Yang, H., Liu, M., Xiao, H., Wu, Z., ... & Naqvi, S. R. (2020). Prediction of bio-oil yield and hydrogen contents based on machine learning method: effect of biomass compositions and pyrolysis conditions. *Energy & Fuels*, 34(9), 11050-11060. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.0c01893>
- [21] Edelmann, D., Móri, T. F., & Székely, G. J. (2021). On relationships between the Pearson and the distance correlation coefficients. *Statistics & Probability Letters*, 169, 108960. <https://doi.org/10.1016/j.spl.2020.108960>
- [22] Muralidharan, K. (2010). A note on transformation, standardization and normalization. *IUP J. Oper. Manag*, 9, 116-122. <https://ssrn.com/abstract=1550655>
- [23] Karch, J. (2020). Improving on Adjusted R-squared. *Collabra: Psychology*, 6(1). <https://doi.org/10.1525/collabra.343>
- [24] Groß, J. (2003). Linear regression (Lecture Notes in Statistics. Vol. 175). Springer Science & Business Media. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-55864-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-55864-1_2)

- [25] Péter, K. (2008). A multikollinearitás vizsgálata lineáris regressziós modellekben. *Statisztikai Szemle*, 86(1), 38-67. [https://www.ksh.hu/statszemle\\_archive/2008/2008\\_01/2008\\_01\\_038.pdf](https://www.ksh.hu/statszemle_archive/2008/2008_01/2008_01_038.pdf)
- [26] Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2021). *Introduction to linear regression analysis*. John Wiley & Sons. <https://www.wiley.com/en-ca/Introduction+to+Linear+Regression+Analysis%2C+6th+Edition-p-9781119578758>
- [27] Ying, X. (2019, February). An overview of overfitting and its solutions. In: *Journal of Physics: Conference series* (Vol. 1168, p. 022022). IOP Publishing. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1168/2/022022/meta>
- [28] Ngo, S.H. (2005). *Komplex szénhidrogénelegyek modellezése folytonos termodinamikával*. PhD disszertáció. <http://hdl.handle.net/10890/454>
- [29] Berrar, D. (2019). Cross-Validation. In: *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*. Volume 1, 2019, Pages 542-545. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20349-X>



**Pannon Egyetem  
Intézményi Tudományos Diákköri  
Konferencia  
2023**



**Modell bio-olaj észterezésének vizsgálata módosított mesterséges  
zeolit katalizátorokon**

Készítette: Majtán Márton

Témavezető: Dr. Miskolczi Norbert

Pannon Egyetem, Mérnöki kar, Bio-, Környezet- és Vegyészmérnöki Kutató- Fejlesztő  
Központ, MOL Ásványolaj- és Széntechnológiai Intézeti Tanszék

A pályamunka lezárásának dátuma: 2023. november 06.

## Kivonat

A világ energiaigénye évről-évre nő, miközben a fosszilis energiahordozók hozzáférhetősége csökken. A fosszilis energiahordozók korlátozott hozzáférhetőség mellett jelentős környezetterhelést is okoznak, illetve a beszerzési árak függ az egyes országok diplomáciai/politikai kapcsolatától. Ezen problémákra lehet megoldás a különböző hulladékokból pirolízissel történő bio-olaj előállítás. Azonban az így előállított bio-olaj közvetlen energetikai felhasználása sok problémát vet fel, mert a bennük lévő aldehidek, ketonok, fenolok, karbonsavak és alkoholok miatt túl alacsony a pH értékük (savas kémhatás), nem megfelelő tárolási stabilitásuk, illetve alacsony a fűtőértékük. [1] A bio-olajok minőségét hidrogénezéssel, vagy a nehézségeket okozó komponensek (elsősorban karbonsavak) alkoholokkal történő észterezésével lehet javítani. A hidrogénezés legnagyobb hátránya a bonyolult eljárás és viszonylag magas beruházási és működési költségek [2].

TDK munkám során a modell bio-olaj minőségjavításának lehetőségét vizsgáltam hosszabb szénláncú alkohollal (dekanol). A hagyományos észterezési eljárás során alkalmazott szervesetlen savkatalizátorok okozta későbbi nehézségek kiküszöbölése miatt katalizátorként mesterséges zeolitokat alkalmaztam (HZSM-5, b-zeolit, Y-zeolit, mordenit). A bio-olaj tárolási, szállítási stabilitását és korróziós tulajdonságait leginkább rontó karbonsavakat hosszabb szénláncú karbonsavakkal modelleztem. A reakciókörülmények és a katalizátorok hatását a reakcióelegy savszámának és annak infravörös spektrumában megfigyelhető változásokkal követtem nyomon.

**Kulcsszavak:** modell bio-olaj, minőségjavítás, észterezés, zeolit katalizátor.

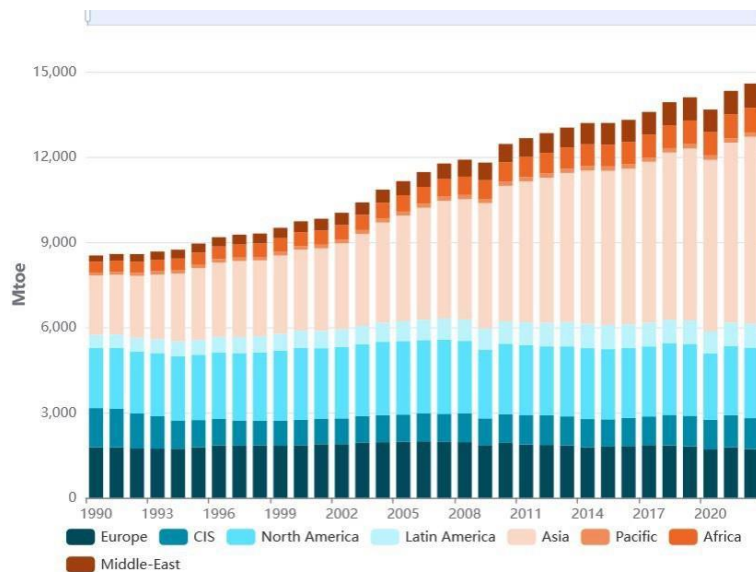
Bevezetés .....	123
1. Irodalmi rész .....	124
1.1 Energiafüggőség, a biomassza alapú megújuló energiaforrások.....	124
1.2 Bio-olaj.....	125
1.3 Bio-olaj minőségjavítása .....	127
1.3.1.1 Adszorpció és extrakció .....	127
1.3.1.2 Membránszeparáció .....	127
1.3.1.3 Baktériumok.....	128
1.3.1.4 Heteroatom eltávolítás hidrogén atmoszférában .....	128
1.4 A bio-olaj észterezési reakcióinak katalizátorai .....	129
1.5 A bio-olaj észterezési reakcióinak kinetikája.....	133
1.6 A szakirodalmi áttekintés főbb megállapítási, további kutatási irányok.....	134
2 Kísérleti terv, célkitűzések.....	135
3 Felhasznált anyagok és vizsgálati módszerek.....	136
3.1 Felhasznált anyagok.....	136
3.2 Katalizátorok.....	136
3.3 Kísérleti berendezés .....	137
3.4 Vizsgálati módszerek .....	138
3.5 Reakciókinetikai számítások.....	138
4. Eredmények és értékelésük.....	140
4.1 A savszámok alapján számított konverzió .....	140
4.2 FTIR vizsgálatok eredményei .....	143
4.3 Reakció kinetikai vizsgálatok .....	148
5. Összefoglalás .....	162
Köszönetnyilvánítás .....	162
Irodalomjegyzék.....	163

A különböző forrásból származó biomasszából megfelelő reakciókörülmények között értékes termékek állíthatók elő. Ilyenek lehetnek a nagy szénhidrogén tartalommal rendelkező gáztermékek, a bio-olaj és a szilárd bio-kocsz. A biomasszából pirolízissel előállított bio-olaj nagy mennyiségben tartalmaz oxigén atomot, melynek következtében a bio-olajnak romlik a fűtőértéke, a tárolási stabilitása, illetve csökken a pH-ja. Mivel a bio-olaj aldehideket, ketonokat, karbonsavakat, alkoholokat és egyéb oxigéntartalmú komponenseket is tartalmaz, az észterezés ígéretes megoldásnak tűnik a bio-olaj minőségének a javítására. Ezáltal a bio-olaj fűtőértéke, tárolási stabilitása, savszáma és egyéb tulajdonságai is javulnak. Az észterezési reakciók hatékonysága katalizátorok alkalmazásával jelentősen javítható. Erre a célra a hagyományos szervetlen savkatalizátorok mellett más anyagokat is alkalmazhatnak. Ilyenek lehetnek a zeolitok, az átmenetifém-kalkogének vagy az ionfolyadékok.

A TDK dolgozat során áttekintendő és feldolgozandó a biomassza hulladékokból előállított bio-olajok minőségjavítására vonatkozó, az utóbbi években megjelent szakirodalom. Laboratóriumi körülmények között, zeolit alapú katalizátorok alkalmazásával különböző műveleti paraméterek mellett vizsgálendő a modell bio-olaj észterezési reakciója. Vizsgálendő, hogy milyen összefüggés van a műveleti paraméterek és a termékjellemzők között.

## 1.1 Energiafüggőség, a biomassza alapú megújuló energiaforrások

A világ energiaigénye folyamatosan növekszik. 2022-ben csaknem 15.000 Mtoe energiát használt fel az emberiség (1.1.1. ábra) [3]. Ennek jelentős része fosszilis eredetű volt: 30% kőolaj, 27% kőszén és 23% földgáz. Az elektromos eredetű és a biomassza eredetű energia részaránya 10-10% volt.



1.1.1. ábra  
A világ energiafelhasználása

A teljes energiafelhasználás 2010 és 2019 között közel 1,4%-kal növekedett évente. Ugyanakkor meg kell azt is jegyezni, hogy az energiatakarékossági és fenntarthatósági intézkedések miatt az utóbbi években csökkenni látszik az éves energiafelhasználás növekedése. Annak növekedése ugyanis 2022-ben felére csökkent (a 2021-ben tapasztalt +4,9%-ról 2022-re 2,1%-ra, ami ugyanakkor még így is magasabb, mint a 2010-2019-es átlagos ráta (+1,4%/év)) [3]. 2022-ben a primerenergia-fogyasztás Európában csökkent, melynek oka az ukrajnai háború bizonytalansága, a recessziótól és az energiaárak emelkedésétől való félelem, ami mind az ipari, mind pedig a lakossági fogyasztókat energiaigényük csökkentésére motiválja.

A megújuló energiaforrások (pl. nap-, szél-, víz-, árapály-, geotermikus energia, biomassza) legnagyobb előnye az alacsony környezetterhelés és a megújíthatóság. Hátrányuk, hogy általában nem a megfelelő formában állnak rendelkezésre, vagyis felhasználás előtt át kell azokat alakítani [4,5].

A biomassa biológiai úton létrejövő szerves anyag, mely főként szenet, hidrogént és oxigént tartalmaz. A biomassa sokféle területről nyerhető: állattenyésztés, szennyvízkezelés, erdő- és mezőgazdaság, szerves hulladékok stb. Az erdészeti hulladékok, a zöldhulladékok, és a mezőgazdasági melléktermékek elsődleges biomasszának számítanak. Az állattenyésztés mellékterméke (pl. a trágya) másodlagos biomassa, míg az élelmiszeripari melléktermékek, a szennyvíziszap, és a papírhulladék harmadlagos biomasszaként kategorizálható [5,6].

A biomassa gyakran szárított és pelletált formában érhető el. A biomasszának az energiainport függőség csökkentése mellett számos további előnye is van: szinte bárhol megtalálható, így beszerzési költsége viszonylag alacsony. A növényi biomassa ún. karbonsemleges energiaforrás, mely növekedése során éppen annyi szén-dioxidot köt meg, mint amennyi az elégetésekor felszabadul [6].

A biomassa hasznosítására ígéretes megoldás lehet a pirolízis, mely során gáz, cseppfolyós és szilárd halmazállapotú termékek keletkeznek. A termékek mennyisége és összetétele az alkalmazott reakciókörülmények függvényében jelentősen változhat. A gáztermékek elsősorban szénhidrogének, szén-dioxid és szén-monoxid elegyei. A folyadéktermékek szénhidrogén és víz elegye, melyet bio-olajra és vizes fázisra lehet szétválasztani. A szilárd halmazállapotú maradékok szervesetlen sók és szén alapú szerves anyagok elegye [5,6].

## **1.2 Bio-olaj**

### **1.2.1 Bio-olaj előállítása pirolízissel**

A bio-olaj előállítás alapanyagai elsődleges, másodlagos és harmadlagos biomasszák lehetnek. A bio-olaj előállítására alkalmas pirolízis technológiák – a hőmérséklet és a tartózkodási idő alapján – három csoportba sorolhatók. A lassú pirolízis hőmérséklete kb. 500°C, a felfűtési sebesség 0,1-20°C/perc, a tartózkodási idő hosszú [6]. A gyors pirolízis hőmérséklete 400-600°C, a felfűtési sebesség nemritkán 100°C/perc, a tartózkodási idő másodpercekben mérhető. A bio-olaj hozam ennek következtében lényegesen nagyobb, mint a lassú pirolízis esetében [7]. A pirolízis hozamszerkezetét és a keletkező termékek összetételét az alapanyag és az alkalmazott műveleti paraméterek, azaz a hőmérséklet, a felfűtési sebesség, a reakcióidő, a katalizátorok jelenléte és a nyomás is nagymértékben befolyásolják [6,8].

A biomassa összetétele a pirolízis során keletkező illékony termékek (gáz és cseppfolyós termék), valamint a szilárd maradék mennyiségére is hatással van. A hőbontási folyamatban 200°C-ig kizárólag a nedvességtartalom eltávolítása megy végbe. A cellulóz és a hemicellulóz

lassú degradációja csak ezt követően az elszenesítési fázisban ( $T=200-350^{\circ}\text{C}$ ) kezdődik meg. A hidrogén és szén-monoxid tartalmú gázelegy keletkezéséhez ennél magasabb hőmérséklet szükséges. Az elszenesítés fő terméke a szén-dioxid és az ún. bio-char (szilárd szénszerű pirolízis maradék), de ezzel egy időben már bio-olaj is keletkezhet [6]. A hőmérséklet hatása kulcsfontosságú. A magasabb hőmérsékletek általában kisebb bio-olaj hozamot eredményeznek. A pirolízis hozamszerkezete a hőmérséklet növelésével a gázok irányába tolódik el az elsődleges termékek kisebb molekula-fragmentumokká történő krakkolódása következtében. A hőmérséklet növelésével a kokszhozam is nagyobb. A bio-olaj hozam  $550-660^{\circ}\text{C}$  hőmérsékletig általában nő, felette viszont már előtérbe kerülnek a bio-olaj hozamot csökkentő másodlagos krakkolódási folyamatok [8].

A felfűtési sebességnek általában az illékony termékek mennyiségére van hatása. A kisebb felfűtési sebességek nagyobb reakcióidővel társulnak, így a másodlagos bomlási folyamatok végbe menetelének is nagyobb a valószínűsége, ennél fogva a bio-olaj hozama kisebb [9].

A nyomás hatásáról nagyon kevés információ érhető el a szakirodalomban. Általában a nyomás növelése elősegíti a bio-olaj keletkezését, csökkentése pedig kedvezőbb összetételű gázterméket eredményez [9].

Katalizátorként leginkább zeolitokat és a fém-oxid katalizátorokat alkalmaznak, melyek az aktiválási energia csökkentése és a hozamszerkezet módosítása révén jelentős hatással vannak a pirolízisre. Alkalmazásuk az előnyök mellett azonban számos kérdést is felvet, melyek a költségigény, a visszanyerhetőség és a regenerálás [6].

### **1.2.2 Bio-olajok összetétele és főbb alkalmazástechnikai tulajdonságai**

A bio-olajok általában különböző szénhidrogének, aldehidek, ketonok, karbonsavak, alkoholok, fenolok és egyéb vegyületek elegyei. A bio-olajok általában 30-78% szenet, 5-11% hidrogént, 10-62% oxigént, 0,3-4,5% nitrogént és 0,2% ként tartalmaznak. A szén és hidrogéntartalom általában kisebb a hagyományos kőolajalapú frakciókénál, az oxigéntartalom viszont lényegesen nagyobb. A bio-olaj fűtőértéke  $20\text{ MJ/kg}$  alatti, ezzel szemben a kőolaj desztillációjával nyert fűtőolajé akár  $40\text{ MJ/kg}$  is lehet [10]. A biomasszából nyert bio-olajok sűrűsége  $1\text{ g/cm}^3$  körüli, kémhatása savas. A sűrűség lényegesen nagyobb a dízelgázolajénál, így a bio-olaj közvetlen belsőégésű motorokban való felhasználása szivattyúzátsági problémákat okoz. A savas pH hosszabb távon pedig a motor szerkezeti anyagának és tömítéseinek károsodásához, degradációjához vezetne, illetve a savas pH emellett csökkentené a motorolajok bázikus tartalékát is [10].

### **1.3 Bio-olaj minőségjavítása**

A bio-olajok minőségjavítása a további felhasználás szempontjából kedvezőtlen komponensek eltávolítását, vagy kevésbé kedvezőtlen komponensekké történő átalakítását jelenti.

#### **1.3.1 Heteroatom eltávolítás**

A bio-olajokban lévő heteroatomok (pl. S, N, O) eltávolítására az egyre szigorodó környezetvédelmi előírások és műszaki szempontok miatt egyaránt szükség van.

##### **1.3.1.1 Adszorpció és extrakció**

A heteroatom tartalmat különféle fizikai eljárásokkal is lehet csökkenteni. Az adszorpció előnye, hogy nincs hidrogén felhasználás, üzemeltetéséhez kis nyomás és alacsony hőmérséklet elegendő, illetve az adszorbens (pl. speciális aktív szén, Cu és/vagy Ag ionokat tartalmazó zeolitok) könnyen regenerálható. Az eljárás hátránya, hogy a szorbenst magas hőmérsékleten kell regenerálni, illetve, hogy alkalmazhatósági területe lényegesen korlátozott [5]. A heteroatom eltávolításra az oldószeres extrakció is alkalmas lehet. Az eljárás előnye, hogy nincs hidrogénfogyasztás, az üzemeltetési hőmérséklet és nyomás alacsony, valamint, hogy a kén és az egyéb heteroatomokkal együtt az aromás szénhidrogének is eltávolításra kerülnek. Hátránya, a nagy anyagveszteség, illetve az extraktum regenerálhatóságának kérdése [9]. Léteznek olyan eljárások is, melyekkel az alapanyag kén-, nitrogén-, és aromás tartalmát lehet csökkenteni töltéscsere komplex létrehozásával. Az előny ez esetben is az enyhe működési körülmények és a hidrogén atmoszféra hiánya. Hátrányként azonban kiemelendő, hogy a technológia az aromás szénhidrogének, a nitrogén-, és a kénvegyületeken kívül egyéb vegyületek eltávolítására nem alkalmas, valamint, hogy az extraktum feldolgozására sem áll rendelkezésre hatékony technológia [11].

##### **1.3.1.2 Membránszeparáció**

A membránszeparáció lényege, hogy membrán segítségével kémiai reakciók lezajlásához nélkül lehet szeparációs feladatokat végrehajtani. A membránszeparáció során a szétválasztandó anyagot a membránfelülettel párhuzamosan áramoltatják. A különböző hajtóerők (pl. nyomás, koncentráció, stb.) hatására az egyes molekulák átjutnak a membrán felületén. A membránon átjutott anyagot permeátumnak, a membránon át nem jutott anyagot koncentrátumnak nevezik. Membrános kéneltávolítás esetén olyan speciális membránt alkalmaznak, mely csak a kén tartalmú vegyületeket engedi át.

A membránszeparáció előnye az alacsony hőmérséklet, és nyomás, valamint a hidrogén atmoszféra hiánya. Hátránya a nagy szén-hidrogén veszteség, továbbá, hogy gazdaságosan a kéntartalmat nem képes 10 ppm-re lecsökkenteni [5].

### 1.3.1.3 Baktériumok

Baktériumok alkalmazásával a heteroatom eltávolításban először a 90'-es években kezdtek el foglalkozni. Ekkor sikerült olyan baktériumtörzseket előállítani melyek képesek a heteroatomok közül a ként első lépésben szulfittá, majd további biokatalitikus úton szulfáttá oxidálni. A szulfátot vizes mosással lehet eltávolítani [12]. A bioreaktor hőmérséklete általában 30°C, nyomása atmoszférikus, a tartózkodási idő 1 óra. A reaktor háromfokozatú, termékelegyenek szétválasztása vizes mosással, és/vagy desztillációval történhet. A szennyvizet tisztítják, a tisztított vizet recirkulálják, a szulfínatokat elvezetik [12]. Az eljárás előnye a szeparáció kis energiaigénye és az energetikailag kedvezőbb üzemeltetési paraméterek [5]. Hátránya, hogy a különböző baktériumtörzsek érzékenyek a minimális hőmérséklet és nyomásváltozásra. Egyes törzsek előállítása igen bonyolult és költséges [5].

### 1.3.1.4 Heteroatom eltávolítás hidrogén atmoszférában

A felsorolt hátrányokra megoldás lehet a hidrogénező heteroatomeltávolítás, mely során célirányos műveleti paramétereket és katalizátorokat alkalmazva a kénvegyületek eltávolítása mellett egyidejűleg a C-N és C-O kötések felszakítása is végbemegy. Utóbbi kiemelten fontos a bio-olajok esetében. A kénvegyületek eltávolítása mellett egyidejűleg felszakadnak a C-N és C-O kötések is. A reakció a fenolok esetén is végbe megy. A C-O kötés felhasadása révén a megfelelő szénatomszámú szénhidrogén és víz keletkezik. A kén- és nitrogén eltávolító reakciók terméke a szénhidrogén mellett a kén-hidrogén és az ammónia. Utóbbiak, ahogyan a víz is egyszerűen elválaszthatók a szénhidrogénektől [5].

### 1.3.2 Észterezés

A biomassza pirolízisből származó bio-olajok nagy mennyiségben tartalmaznak oxigén tartalmú vegyületeket pl. szerves savakat, fenolokat, alkoholokat, aldehideket és vizet. Ez a tulajdonság alkalmatlanná teszi a bio-olajokat arra, hogy azokat motorhajtóanyagként alkalmazzák. A magas oxigén és víztartalom csökkenti a tárolási stabilitását, az energiatartalmat, illetve korrozív hatású is lehet. A pirolízisből származó olajok instabilitása főként az aldehid, és szerves savtartalomnak köszönhető [13]. Mivel a bio-olajok alkoholokat és savakat is tartalmaznak, ezért a leggazdaságosabb megoldás az lenne, ha azokat észterezési

reakcióba lehetne vinni egymással. A célra általában propilszulfonsav csoportokat tartalmazó mezopórusos szilícium-dioxid katalizátorokat használnak [14]. Az észterezés ígéretes módja a bio-olaj minőségjavításának, mert csökkenti a savszámot, növeli a pH-t és kedvezően befolyásolja a bio-olaj fűtőértékét. A savszám csökkenése növeli a bio-olaj stabilitását, a pH semleges kémhatás irányába való eltolódása növeli a motor szerkezeti anyagának és tömítéseinek élettartamát, a nagyobb fűtőérték pedig kedvezőbb szénhidrogén összetételre és kisebb hajtóanyag fogyasztásra enged következtetni.

Az észterezési reakciókat általában különböző nyomások alkalmazásával, 50-100°C hőmérséklet tartományban végzik. Az alkalmazott nyomást és hőmérsékletet, ahogyan az észterezés konverzióját is, nagymértékben befolyásolja az alapanyag minősége. Megfigyelték, hogy az aldehid tartalom befolyásolja a bio-olajban jelenlévő szerves savak konverzióját, és hatással van a mellékreakciókra is. Minél nagyobb az aldehid tartalom annál valószínűbb és nagyobb mértékű az alkilaldehid-dialkil-acetál képződés [13].

A bio-olajok észterezésének lehetőségét nagyon sok kutatócsoport tanulmányozta az elmúlt években. Jin-Jian Wang kutatócsoportja a bio-olajok NKC-9 ioncserélő gyantán keresztüli átészterezést vizsgálta. Az általuk vizsgált körülmények között a bio-olaj savszáma mintegy 85%-kal csökkent, a fűtőérték pedig csaknem 32%-kal nőtt [13].

R. C. Sondakh kutatócsoportja az észterezéshez kénsav, és hidrogén-klorid katalizátort használt. Megfigyelték, hogy az észterezési reakciók hatásfoka 1% katalizátorkoncentrációban volt a legnagyobb. A bio-olaj kezdeti savszáma 12 mg KOH/g értékről 1 mg KOH/g értékre csökkent és a fűtőérték és a tárolási stabilitás is javult [14].

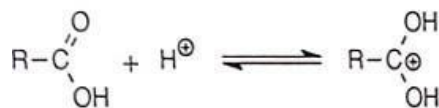
Humair Ahmed Baloch kutatócsoportja szuperkritikus etanolban végzett észterezési reakciókat. Katalizátorként aktív szén hordozóra felvitt platinát használtak. Az észterezés következtében a bio-olaj pH-ja 2,5-ről 5,3-ra, a fűtőérték 28,6 MJ/kg-ról 36,4 MJ/kg-ra nőtt [15].

## **1.4 A bio-olaj észterezési reakcióinak katalizátorai**

### **1.4.1 Szervetlen sav katalizátorok**

Észterezési reakciók legelterjedtebb katalizálása a szervetlen savval történő katalízis. Szervetlen sav katalizátorként, általában kis koncentrációban kénsavat vagy sósavat alkalmaznak [16]. Ezek a savak proton donorként viselkednek. A sav hatására létrejövő szerves

karbokation reakcióképessége nagyobb, mint a nem ionos formában lévő vegyületeké. Az **1.4.2. ábra** a karbokation kialakulásának a mechanizmusát mutatja be.

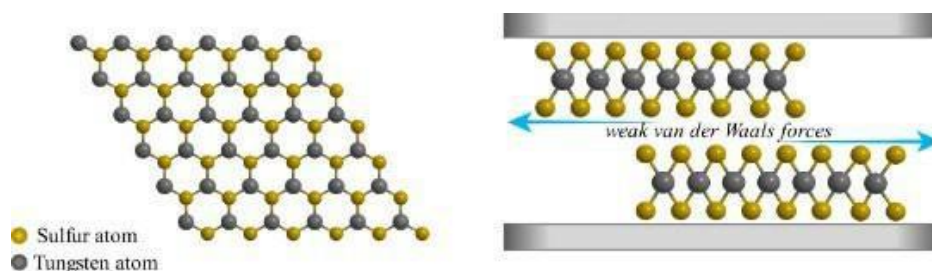


**1.4.2. ábra**  
Karbokation kialakulása

Fontos megjegyezni, hogy katalízis során csupán a reakciósebesség növekszik, az egyensúlyi összetételt nem befolyásolja a katalizátor. Továbbá az észterezés sebességé az alkohol és a karbonsav szerkezete is befolyásolja. Az egyenes láncú karbonsavak és alkoholok viszonylag gyorsan, az elágazó láncúak viszonylag lassabban reagálnak [16].

### 1.4.2 Átmenetifém-kalkogén katalizátorok

A hatodik csoportban szereplő átmeneti fém-szulfidok – főként a volfrám és molibdén – iránt egyre nagyobb tudományos érdeklődés mutatkozik. Jellemző tulajdonságuk a kétdimenziós rendezett réteges szerkezet, melynek fontos jellemzője a nagy kémiai és fizikai ellenálló képesség, illetve a hőstabilitás [17]. A rácsok rétegeit gyenge Van der Waals kölcsönhatások tartják egyben, így ezekből a rétegekből könnyen nanolapokat lehet készíteni. Az így készült nanolapok szokatlan fizikai, kémiai és elektromos tulajdonságokkal rendelkeznek. A MoS<sub>2</sub> és a WS<sub>2</sub> keskenysávú félvezető anyagok, így egyes tulajdonságait, mint pl. katalitikus és optikai tulajdonságok, könnyen lehet befolyásolni [17]. Kimutatták, hogy a WS<sub>2</sub> által katalizált észterezési reakciók viszonylag enyhe körülmények között, magas konverzióval lejátszódtak (**1.4.3. ábra**). A hangolható nanostruktúrájának köszönhetően az átmenetifém katalizátorok lehetséges alternatívák lehetnek a bio-olaj minőségfejlesztésére [18].



**1.4.3. ábra**  
WS<sub>2</sub> szerkezete

Az imént említett félvezetőkben létrejövő hibák/lyukak nagyban befolyásolják a félvezető katalizátorok katalitikus tulajdonságait. A volfrám esetében az anion hibák alulkoordinálódott

volfrám atomokat eredményeznek, melyek következtében a katalizátor Lewis savként viselkedik, továbbá a lyukak kialakulása az elektronok delokalizációját is eredményezheti. A MoS<sub>2</sub> és WS<sub>2</sub> hatékony katalizátor a hidrogénező heteroatom eltávolításhoz, illetve a hidrokrakkoláshoz [18].

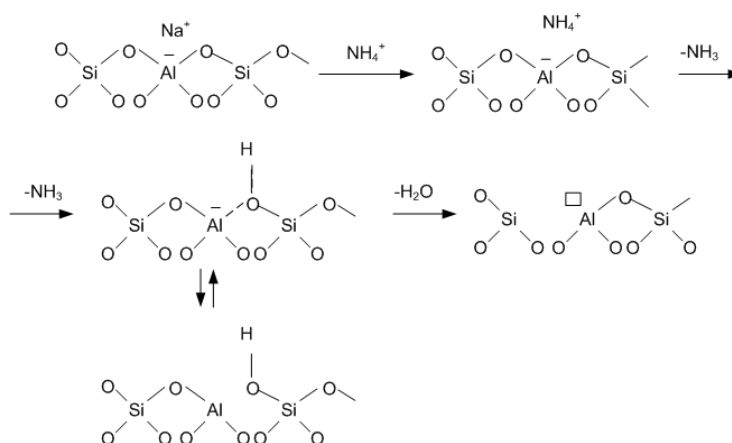
### 1.4.3 Zeolit alapú katalizátorok

A zeolitok a természetben is megtalálható ásványok, viszont az ipari elterjedés miatt mesterségesen állítják elő lúg, szilícium-oxid és alumínium-oxid hevítésével. A zeolit szerkezetében az (Al+Si) és az oxigén aránya 0,5. A zeolit kristályok nagy mennyiségű kötött vizet tartalmaznak, melyet hőkezeléssel távolítanak el [19]. Az így kapott aktivált (dehidratált) anyagok a kritikus méretű gázokat abszorbeálják, kationjaik kicserélhetők, illetve katalitikus tulajdonságokkal rendelkeznek. Hevítés hatására a zeolitokban mikronos nagyságrendű lyukak keletkeznek, melyek molekulaszűrőként működnek. Zeolitokat elterjedten alkalmazzák az olajiparban, ugyanis széleskörű tulajdonsága van, emellett pedig a hőstabilitása, mechanikai- és kémiai ellenálló képessége magas. Továbbá fontos megjegyezni, hogy nem toxikusak, és nem okoznak komolyabb környezetvédelmi kockázatot [20].

A zeolit katalizátoroknak többféle hatása ismert, ilyen a molekulaszita hatás, alakszelektivitás, és a katalitikus hatás. Molekulaszita hatás során a zeolit az egyenesebb, elágazásmentes molekulákat, mint például az n-hexánt átengedi, míg az elágazó molekulákat, mint pl. a toluolt visszatartja. A zeolitikristály tulajdonságainak módosításával befolyásolható a molekula szitahatás erőssége.

Az alakszelektivitás fontossága akkor érvényesül amikor egy adott reakcióban termékként többféle izomer keletkezhet. Mikor a zeolitok pórusaiban ezek a reakciók lejátszódnak, akkor irányítottan csak egyféle szerves izomer képződik. Erre példa a toluol és metanol reakciója, melyben termékként zeolit katalizátor nélkül orto- meta- és para- xilol is képződne, viszont a zeolit pórusaiban csak a para-xilol képződés lehetséges [21].

A zeolitnak a katalitikus hatása is megfigyelhető. A katalitikus hatás főként a zeolitokon megjelenő Bronsted- és Lewis-féle savasságnak köszönhető. Az előbb említett savas centrumoknak köszönhető, hogy a zeolit katalizátorokat észterezési reakcióknál is alkalmazhatjuk. Savas centrumok kialakulását az **1.4.4. ábra** mutatja be [22].



**1.4.4. ábra**

Zeolit savas helyeinek kialakulása

#### 1.4.4 Raney-Ni katalizátorok

A Raney-Ni katalizátorok fontos szerepet játszanak az iparban. Ezek a katalizátorok porózus nikkellel bevont alumínium vagy cink alapú ötvözetek, melyek katalitikus tulajdonsággal bírnak. A Raney-Ni katalizátorok előállítása során először alumínium vagy cink ötvözetet oldanak fel tömény nátrium-hidroxid oldatban. Ezt nikkellel vagy egyéb fémek hozzáadásával egy speciális eljárással leoldják az alumínium vagy cink részt, így egy porózus nikkellel tartalmú szerkezet alakul ki. Ez a porózus szerkezet nagy fajlagos felületet eredményez, mely a katalitikus reakciók lejátszódásának kedvez [\[23\]](#).

A Raney-Ni katalizátorok számos területen alkalmazhatóak, ilyen például a hidrogénezési és az észterezési reakciók. (észterezési reakciók esetén módosított katalizátor összetételt alkalmaznak). Ezen katalizátorok előnye, hogy nagyon aktívak és szelektívek a szerves kémiai reakciókban, viszont fontos megjegyezni, hogy oxidációra nagyon érzékenyek, ezért az oxigénnel való érintkezés elkerülendő [\[16\]](#).

Más kutatócsoportok a modell bio-olaj észterezése során módosított Raney-Ni katalizátort alkalmaztak. Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy a megfelelő eljárásokkal módosított Raney-Ni katalizátorok megfelelő határfokkal katalizálták a modell bio-olaj észterezésének folyamatát. A módosított katalizátor 93,3% nikkelt, 6,0% alumíniumot és 0,7% molibdént tartalmazott [\[23\]](#).

#### 1.4.5 Ionfolyadékok

Az ionfolyadékok rendkívül alacsony olvadásponttal rendelkeznek, továbbá hasznosak és sokoldalúak lehetnek különböző katalitikus folyamatokban. Az ionfolyadékok kiváló katalizátorok olyan kémiai reakciók esetében, melyek hagyományos katalízis esetében nem,

vagy csak nagyon szélsőséges körülmények között mennek végbe. További előnyük, hogy a megfelelő ionfolyadék katalizátor kiválasztásával nagymértékben tudjuk befolyásolni a kialakuló molekulastruktúrát. Az ionfolyadékok számos reakcióban, mint például hidrogénezés, hidroformilálás, hidrohalogénezés esetében alkalmazhatóak katalizátorként. Az ionfolyadékok nagy ionos vezetőképességük miatt az elektrokémiai reakciókban is alkalmazhatóak [19].

Eddigi kutatások alapján arra következtettek, hogy az ionfolyadékok megfelelő katalizátorok lehetnek bio-olaj korszerűsítésre, ugyanis magas konverziót, és szelektivitást értek el az imént említett katalizátorokkal [19]. Továbbá az ionfolyadékok környezetbarát alternatívát jelentenek a hagyományos szerves oldószerekkel működő katalizátorokhoz képest, mivel jelentős része biológiailag lebontható és környezetbarát.

### 1.5 A bio-olaj észterezési reakcióinak kinetikája

Az észterezési reakciók általánosságban reverzibilis reakcióknak tekinthetők, melyet nem lehet figyelmen kívül hagyni a reakciókinetikai számítások során. Azonban sok esetben valamely reaktánst (esetünkben alkoholt) feleslegben adnak a reakcióelegyhez. Ez esetben a Le Chatelier-Braun elvnek megfelelően a reakció a terméképződés irányába tolódik el, így a kinetikai számítások során a reakció irreverzibilisnek tekinthető [24].

A reakciókinetika meghatározásához többféle módszer létezik. A differenciálemzési módszer közvetlenül a vizsgálandó differenciálsebesség-egyenlettel foglalkozik, kiértékeli az egyenlet egyes tagjait, és ellenőrzi az egyenlet illeszkedésének a jóságát [24].

Egy másik módszer során az észterezési reakciót mindkét irányba másodrendűnek tekintik. A reakciómechanizmust pszeudohomogén kinetikai modellel érdemes leírni. A kinetika leírásánál figyelembe kell venni, hogy a teljes reakciósebességi egyenlet (1.1), pszeudohomogén elsőrendű egyenletté egyszerűsíthető, ugyanis, a reaktáns felesleg miatt a reakció irreverzibilisnek tekintendő.

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A^\alpha C_B^\beta - k' C_C^\gamma C_D^\delta \quad (1.1)$$

Ahol  $C_A$  a karbonsav koncentrációja,  $C_B$  a alkohol koncentrációja,  $C_C$  az észterek koncentrációja,  $C_D$  a víz koncentrációja,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  a reakciórendek és a  $k$ ,  $k'$  a reakciósebességi állandók.

Ezt követően amennyiben az egyenletben lévő koncentrációt kifejezzük a kezdeti koncentráció és a konverzió szorzatával, abban az esetben könnyen megoldható differenciálegyenletet kapunk. Amennyiben integráljuk a kapott egyenletet  $n = 1$  és  $n \neq 1$

esetében más eredményt kapunk. Az az integált egyenlet lesz a meghatározó, ahol minél jobb az illeszkedés a kinetikában [24].

Harmadik módszer nem sokban különbözik az előbb bemutatott módszertől. A reakciókinetika azt vizsgálja, hogy az eltelt idő, mekkora mértékben befolyásolja a kiindulási sav (reagens) konverzióját. A reakciókinetikai számítások során alkalmazott és tovább alakított reakciósebesség általános egyenlete (1.2) a kiindulási egyenlet [25].

$$-\frac{1}{S} \cdot \frac{dC_A}{dt} = k' C_A C_C = k C_A \quad (1.2)$$

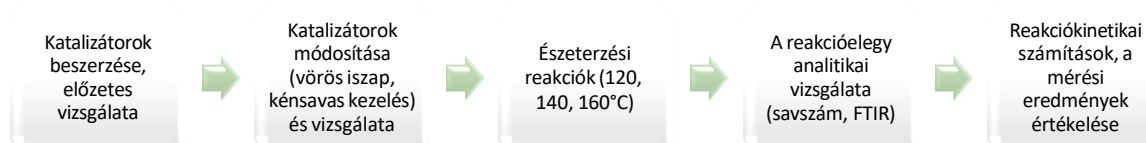
Ahol  $C_A$  a karbonsav koncentrációja,  $C_C$  az észterek koncentrációja,  $k$ ,  $k'$  a reakciósebességi állandók,  $S$  a szilárd katalizátor felülete [ $m^2$ ].

## 1.6 A szakirodalmi áttekintés főbb megállapításai, további kutatási irányok

A szakirodalmi adatok alapján a bio-olajok/modell bio-olajok savszáma az átészterezést követően csökkenthető volt. Ezzel párhuzamosan a fűtőérték és a tárolási stabilitás növekedett. Az észterezési reakciók során közvetlen összefüggés volt tapasztalható a reakciósebességi állandó és a hőmérséklet között, mivel a molekulamozgás intenzitása a hőmérséklet növekedése hatására nő. A reakciórendet átlagosan 1,8-2,2 között találták [26]. A bio-olajok észterezése során ugyanakkor még számos kérdés van. Ilyen a megfelelő katalizátor kiválasztása és a reakciókörülmények optimalálása. A katalizátorok katalitikus hatása az alapstruktúra módosításával is jelentősen befolyásolható. Erre leginkább átmenetifém tartalmú vegyületeket és kéntartalmú csoportokat lehet alkalmazni.

## 2 Kísérleti terv, célkitűzések

TDK kutatómunkám célja olyan katalizátorok előállításának és alkalmazásvizsgálata volt, melyekkel modell bio-olaj észterezési reakción keresztüli minőségjavítása érhető el. A kutatómunka kísérleti tervét a 2.1. ábra foglalja össze.



**2.1. ábra**  
A kísérleti terv

A bio-olajok minőségjavítása során, a hagyományos, ásványi savak által katalizált észterezési reakciók egyik legnagyobb hátránya, hogy a katalizátornyomok a bio-olaj savasságát növelik, ezáltal a korróziós, de esetenként a szállítási és a tárolási stabilitás csak kismértékben javul, vagy esetenként rosszabb lesz, mint a kiindulási bio-olajok esetében. Emiatt az észterezési reakciók katalizálására savas karakterű zeolitokat, illetve azok módosított formáit alkalmaztam. Célom volt továbbá a zeolit katalizált észterezési reakciók kinetikai vizsgálata is.

### 3 Felhasznált anyagok és vizsgálati módszerek

#### 3.1 Felhasznált anyagok

A bio-olaj modellezésére kereskedelmi forgalomban kapható hosszú szénláncú karbonsavak elegyét alkalmaztam (VWR Chemicals). Az alapanyag olajsav tartalma 79% volt, ami további 12% linolsavat, 4% palmitinsavat, 4% szteraninsavat és 1% palmitolein savat tartalmazott. Az észterezési reakciók során 1-dekanolt alkalmaztam (>98%, Arcos Organics). A savszám meghatározása során kereskedelmi forgalomban kapható analitikai tisztaságú toluolt alkalmaztam (VWR Chemicals).

#### 3.2 Katalizátorok

A szakirodalmi adatok következtetése alapján, kísérleti munkám során különböző katalizátorokat alkalmaztam az észter képződési reakció elősegítésére: HZSM-5,  $\beta$ -zeolit, Y-zeolit, mordenit. Az alkalmazott katalizátorok főbb jellemzőit a **3.1. Táblázat** foglalja össze.

**3.1. Táblázat**

Az alkalmazott katalizátorok főbb jellemzői

	HZSM-5	$\beta$ -zeolit	Y-zeolit	Mordenit
Szerkezet	MFI	BEA	FAU	MOR
Fajlagos felület, m <sup>2</sup> /g	380	534	775	440
Si/Al	9.5	10.2	12.4	10.0

A katalizátorok felületét a gyorsabb észterképződési reakciósebesség elérése miatt módosítottam. A szakirodalmi hivatkozások szulfát csoporttal történő módosítást javasoltak ásványi anyagok észterezési reakcióban történő alkalmazása során a reakció sebességének és a szelektivitás növelésére. Más kutatók a vastartalmú ásványok előnyös tulajdonságait ismertették [28]. Emiatt a kereskedelmi forgalomban kapható zeolit katalizátorokat először vörös iszappal (mint az alumínium-oxid gyártás melléktermékével) kevertem össze, majd azokat kénsavval kezeltem. A zeolit katalizátorokból 30 g-ot táramérlegesen mértem ki, majd azokat 3 órán keresztül 600°C-on kalcináltam. Az így kapott kalcinált katalizátorokat külön - külön 7,5 g vörösiszappal összekevertem, a porkeverékeket homogenizáltam. A zeolit-vörösiszap keveréket 200ml, 2 mol/dm<sup>3</sup> koncentrációjú kénsavoldatba tettem, majd azt mágneses keverő segítségével 4 órán keresztül kevertettem. Ezután Büchner-tölcsér és vákuumszivattyú segítségével szétválasztottam a szilárd és a folyadék fázist. A szűrés során a szűrletet desztillált vízzel semleges kémhatásig mostam. A kénsavval kezelt szulfátosított katalizátorokat szárítószerkrényben 120°C-on tömegállandóságig szárítottam.

A szulfátózott katalizátorok főbb jellemzőit a **3.2. Táblázat** foglalja össze. A táblázat adatai alapján elmondható, hogy a vörös iszappal történő keveréssel és a szulfátcsoport szerkezetbe történő beépítésével a fajlagos felület kismértékben csökkent, továbbá hogy a vizsgált katalizátorok 0,30-0,35%  $\text{SO}_4^{2-}$  csoportot tartalmaztak. A legtöbbet a  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{HZSM-5}$ , a legkevesebbet pedig a  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$ .

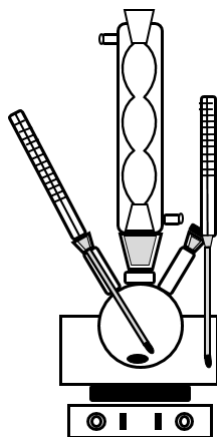
### 3.2. Táblázat

A szulfátózott katalizátorok főbb jellemzői

	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{HZSM-5}$	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{p-zeolit}$	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Y-zeolit}$	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$
<b>Szerkezet</b>	MFI	BEA	FAU	MOR
<b>Fajlagos felület, m<sup>2</sup>/g</b>	317	425	680	425
<b>Si/Al</b>	9.7	10.9	12.9	10.2
<b><math>\text{SO}_4^{2-}</math>, %</b>	0.35	0.32	0.33	0.30

### 3.3 Kísérleti berendezés

Az észterezési reakciókat 100 cm<sup>3</sup> térfogatú 3 nyakú gömblombikban végeztem vegyifülke alatt (**3.1. ábra**).



3.1. ábra

Az észterezési reakciók során alkalmazott berendezés vázlata

A megfelelő fázisérzékenységet mágneses keverővel biztosítottam. A közeg hőmérsékletét hőközlő olajfürdő segítségével tartottam a megfelelő értéken, az olajfürdőt pedig fűtőlemezzel ellátott mágneses keverővel melegítettem. A reagáltatási hőmérséklet szinten tartása végett (120, 140 és 160°C), a fűtőközeg (hőközlő olaj) és a reakcióelegy hőmérsékletét is mértem. A háromnyakú gömblombik középső nyakára visszacsepegős golyós hűtőt illesztettem, az egyik szélső nyílására hőmérőt a 3. nyílását csiszolatos dugóval zártam le, így elkerülhető az esetleges oldószergőzök levegőbe jutása. A reakció során adott időközönként mintát vettem a reakcióközegből és azt az alábbiakban bemutatott módon elemeztem.

### 3.4 Vizsgálati módszerek

#### 3.4.1 Savszám meghatározása

Az észterezési reakciók lejátszódását a minták savszámának mérésén keresztül vizsgáltam az MSZ 11723-3:1967 szabvány szerint hagyományos sav-bázis titrálás segítségével az alábbiak szerint. Analitikai mérlegen 100 cm<sup>3</sup>-es Erlenmeyer lombikba kimértem kb. 0,2-0,3 g mintát. A kimért mintákat 50 cm<sup>3</sup> toluolban oldottam. A titrálás végpontjának jelzéséhez kb. 3 csepp fenolftalein indikátort használtam. A titrálást alkoholos kálium-hidroxid mérőoldat segítségével végeztem. A savszámot a bemért minta tömegéből és a mérőoldat fogyásából az (3.1) képlet segítségével számítottam ki.

$$Savszám = \frac{f_{KOH} \cdot V_{KOH} \cdot 5,6}{m_{minta}} \quad (3.1)$$

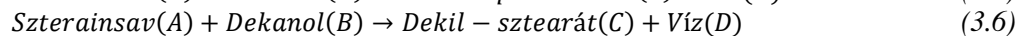
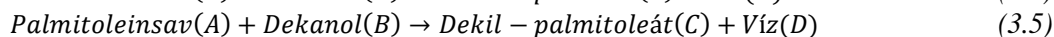
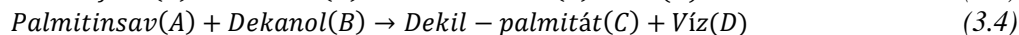
Ahol  $f_{KOH}$  az alkoholos kálium-hidroxid oldat faktora, a  $V_{KOH}$  a mintával ekvivalens mennyiségű alkoholos kálium-hidroxid oldat térfogata [cm<sup>3</sup>] és az  $m_{minta}$  a bemért minta tömege [g].

#### 3.4.2 FTIR vizsgálat

A minták FTIR spektrumait TENSOR 27 típusú FT-Infravörös spektrométerrel mértem 4000-400cm<sup>-1</sup> hullámszám tartományban. Az FT-Infravörös spektrométer irányítását, és az adatok feldolgozását *Opus 5.5* szoftver segítségével végeztem. Az FTIR során a mintában lévő anyagok kötéstípusát határoztam meg. Az elemzés során a műszer infravörös sugárzást küld a minta irányába. A sugárzásnak egy része elnyelődik, melyet a kötésszerkezet kötéstípustól függően rezgési energiává alakít. Ezt követően a detektorban létrejövő jel alapján következtetni tudunk a molekulastruktúrára. Az észterképződési reakciók lejátszódásának mértékét az 1730 és 1760 cm<sup>-1</sup> hullámszám között lévő, C=O vegyértékrezgésre utaló sáv integrált területértékének változásán keresztül követtem nyomon.

### 3.5 Reakciókinetikai számítások

A hosszabb szénláncú karbonsavak dekanollal, zeolit katalizátorok jelenlétében történő reakciója reverzibilis folyamat, melynek termékeként észtereket és vizet kapunk. A reakciók a (3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6) egyenletek alapján mennek végbe.



A szakirodalmak a reakciók leírására pszeudo-homogén kinetikai modellt használnak [26, 24]. A reakciósebességet az (3.7) egyenlet alapján határoztuk meg.

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A^\alpha C_B^\beta - k'C_C^\gamma C_D^\delta \quad (3.7)$$

Ahol  $C_A$  a karbonsav koncentrációja,  $C_B$  a dekanol koncentrációja, a  $C_C$  az észterek koncentrációja,  $C_D$  a víz koncentrációja,  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$  a reakciórendek és a  $k, k'$  a reakciósebességi állandók.

Mivel kezdeti körülmények között az dekanol koncentrációja jóval magasabb volt, mint a savkoncentráció (1:10), ezért a  $C_B^\beta$  értéket állandónak, illetve a reakciót irreverzibilisnek tekintettük. Ennek következtében a reakciósebesség elsőrendű pszeudo-homogénnek tekinthető melyet az egyszerűsített (3.8) egyenlettel lehet leírni, ahol  $k_1 = kC_B^\beta$ .

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_1 C_A^n \quad (3.8)$$

Amennyiben a karbonsav kezdeti koncentrációját  $C_{A0}$ -nak és a konverziót  $x$ -nek jelöljük, abban az esetben az aktuális savkoncentrációt ki tudjuk fejezni.  $C_A = C_{A0} \cdot (1 - x)$  Ennek következtében a (3.8) egyenlet a (3.9) egyenletté alakítható, ahol  $k_2 = \frac{k_1}{C_{A0}}$ .

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k_1}{C_{A0}} [C_{A0}(1 - x)]^n = k_2 [C_{A0}(1 - x)]^n \quad (3.9)$$

Amennyiben integráljuk a (3.9) egyenletet és attól függően, hogy  $nn = 1$  és  $nn \neq 1$  a (3.10) és (3.11) egyenletet kapjuk.

$$\ln(1 - x) = -k_1 t \quad (3.10)$$

$$(1 - x)^{1-n} = 1 + (n - 1)k_2 C_{A0}^n t \quad (3.11)$$

A reakciósebességi állandókat Arrhenius egyenlet segítségével határoztuk meg.

$$\ln k = -\frac{E_a}{RT} + \ln A \quad (3.12)$$

Ahol  $E_a$  a folyamat aktiválási energiája,  $R$  az egyetemes gázállandó,  $T$  a hőmérséklet és az  $A$  a pre-exponenciális tényező.

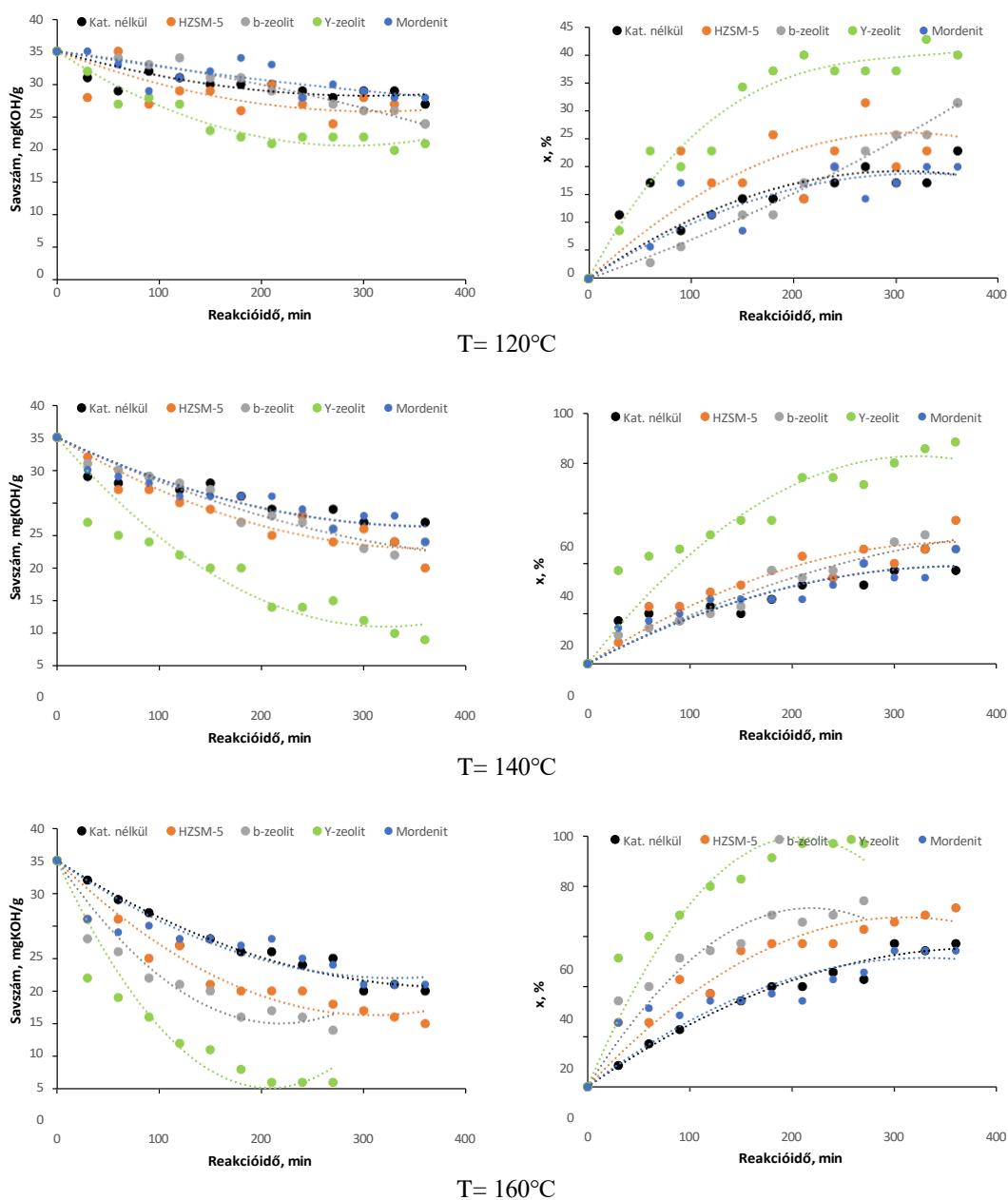
## 4. Eredmények és értékelésük

### 4.1 A savszámok alapján számított konverzió

Az észterezési reakciók adott időpillanatában vett minták klasszikus módszerrel mért savszámait az alábbi alfejezetek tárgyalják.

#### 4.1.1 Kezeletlen zeolit katalizátorok

A kezeletlen zeolit katalizátorok alkalmazásával a savszámok és a konverziók a **4.1. ábra** szerint változtak 120, 140 és 160°C reakcióhőmérsékleteken.



4.1. ábra

A savszámok és a konverziók alakulása az alap katalizátorok esetében

Az ábrák adatai szerint a reakció idejének előrehaladtával a savszám mindhárom hőmérsékleten csökkent. Katalizátor nélkül 120°C reakcióhőmérsékleten a savszám 35

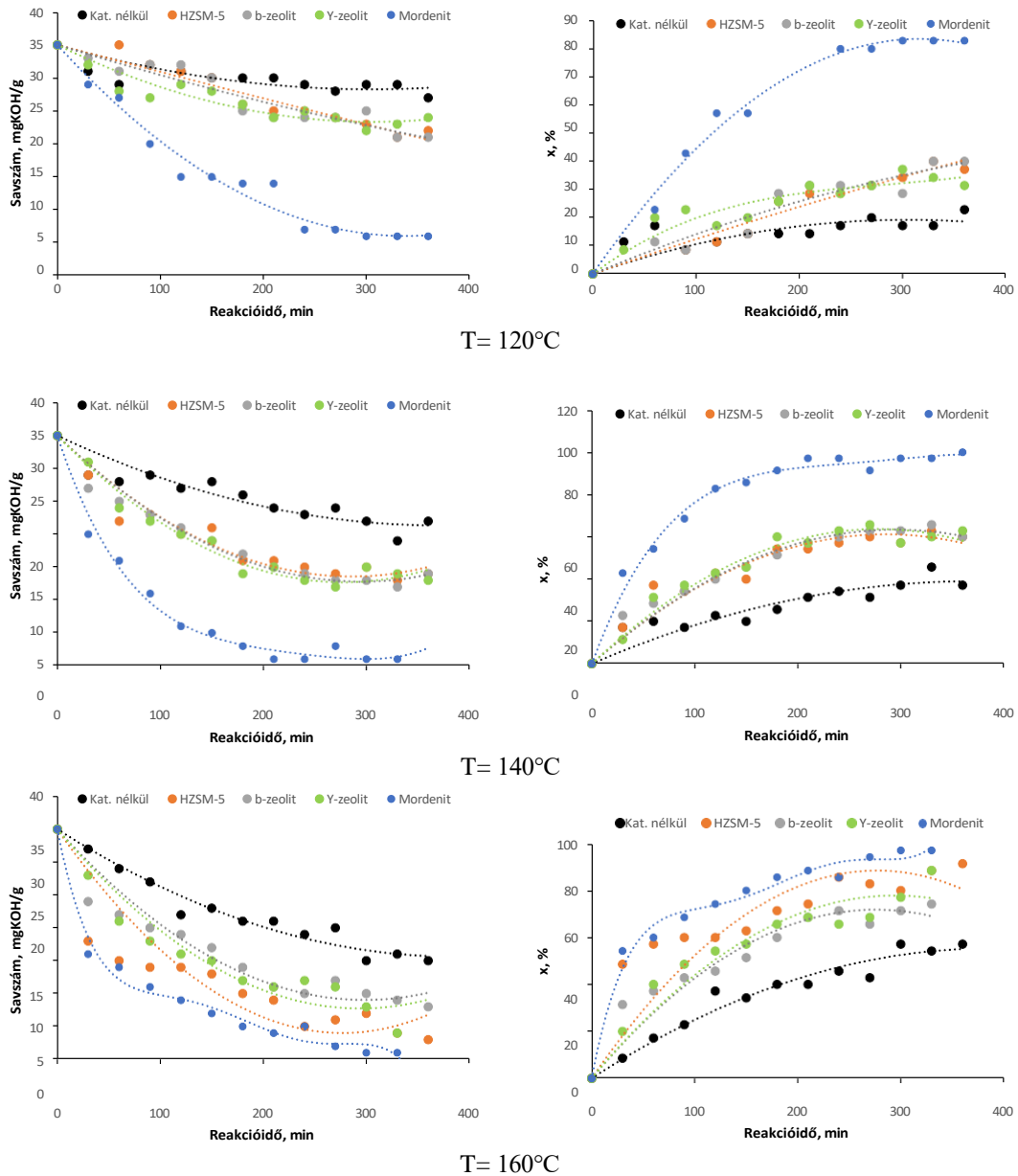
mgKOH/g alapanyag értékről 27 mgKOH/g alapanyag értékre csökkent 6 óra elteltével, ami katalizátorok jelenlétében 21-28mgKOH/g alapanyag értékek között változott a 6. órában. Katalizátor nélkül 140 és 160°C-on a savszámok 22 és 15 mgKOH/g alapanyag értékek lettek 360 perc elteltével. A katalizátorok alkalmazásával mért savszámok 140°C reakcióhőmérsékleten 4-19 mgKOH/g alapanyag értékek közöttiek voltak. 160°C hőmérsékleten 270 perc reakcióidő után az Y-zeolit katalizátor esetében a savszám 1 mgKOH/g alapanyag értékű lett, míg a  $\beta$ -zeolit katalizátor esetében 9 mgKOH/g alapanyag értéket lehetett mérni. A HZSM-5 katalizátor esetében a 6. óra után 10 mgKOH/g alapanyag, a mordenit alkalmazásával pedig 16 mgKOH/g alapanyag lett a savszámok értéke.

A konverziók értékei is ezeknek megfelelően változtak, vagyis magasabb hőmérsékleteken nagyobb konverzióértékeket lehetett kapni. Továbbá a katalizátorok minden esetben növelték az adott időpillanatban mért konverziók értékeit. 120°C-on az észterezési reakciók konverzióinak értékei 20,0-40,0% értékek között, 140°C hőmérsékleten 37,1-88,6% értékek között, 160°C hőmérsékleten pedig 54,3-97,1% értékek között változtak. Az is jól látszik, hogy a kezeletlen katalizátorok esetében az Y-zeolit volt a leghatékonyabb, mert ennek jelenlétében csökkent a legnagyobb mértékben a savszám értéke, és nőtt a reakció konverziója. A hatékonyság tekintetében az Y-zeolit katalizátort 120°C és 140°C hőmérsékletek alkalmazásakor a HZSM-5, a  $\beta$ -zeolit és a mordenit katalizátorok követték, míg a 160°C hőmérséklet esetében Y-zeolit,  $\beta$ -zeolit, HZSM-5 és mordenit volt a sorrend.

#### **4.1.2 Szulfátózott zeolit katalizátorok**

A szulfátózott zeolit katalizátorok alkalmazásával kapott savszámok és konverziók a **4.2. ábra** szerint változtak 120, 140 és 160°C reakcióhőmérsékleteken. Az előző eredményekhez hasonlóan a savszámok a szulfátózott katalizátorok esetében is jelentősen csökkentek. Ugyanakkor a csökkenés mértéke nagyobb volt, mint a kezeletlen katalizátorok esetében. Katalizátorok jelenlétében a kiindulási 35 mgKOH/g alapanyag érték 120, 140 és 160°C-on 6-22 mgKOH/g alapanyag, 1-14 mgKOH/g alapanyag és 1-8 mgKOH/g alapanyag értékekre csökkentek. A katalizátorok közül is kiemelkedik az  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM/Mordenit}$ , mely mindhárom hőmérsékleten jelentősen alacsonyabb savszám értékeket eredményezett, mint a többi szulfátózott zeolit. 120°C-on például az észterezési reakciók konverziója már a 240 perc elteltével elérte 80%-ot az  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM/Mordenit}$  esetében, míg a többi katalizátornál ugyanez 28,6-31,4% tartományban változott és 6 órás reakcióidő elteltével is 31,4-40,0% közöttiek voltak a konverzió értékek. A  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM/Mordenit}$  és a többi szulfátózott zeolit katalizátor

közötti konverzióértékek a hőmérséklet növelésével csökkent, ami arra utal, hogy a szulfatózás és a vörös iszap együttes jelenléte alacsonyabb hőmérsékleteken nagy aktivitással rendelkező katalizátort eredményezett.



4.2. ábra

A savszámok és a konverziók alakulása a szulfatózott katalizátorok esetében

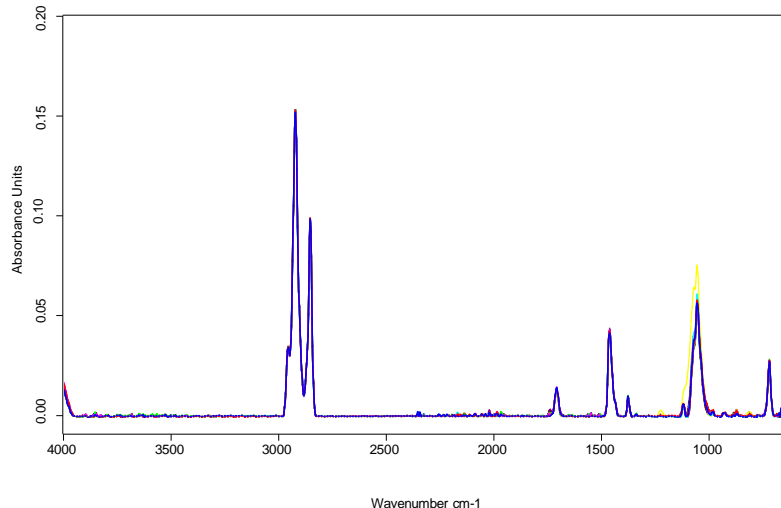
A  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$  katalizátorral a 80%-os konverzió 120 és 140°C-on 120 perc elteltével volt megfigyelhető. Érdekes azt is megjegyezni, hogy a 140 és a 160°C reakcióhőmérsékleteken kapott eredmények között  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$  esetében csak kismértékű eltérések adódtak (26,7% alatti). Ugyanez a  $\beta$ -zeolit és az Y-zeolit esetében 4,5-37,5%, illetve 4,3-75% voltak a 120°C-on kapott eredményekhez viszonyítva. A HZSM-5

katalizátor esetében ugyanakkor sokkal szembetűnőbb volt a hőmérséklet reakciósebesség  
növelő hatása, mert ebben az esetben a hőmérséklet  $120^{\circ}\text{C}$ -ról,  $140^{\circ}\text{C}$ -ra történő növelése az

adott időpillanatokban mért konverziót 31,6-183,3% értékekkel növelte. Érdekes azt is megjegyezni, hogy a szulfátozott katalizátorok esetében azt Y-zeolit alapú (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)RM/Y-zeolit katalizátornak nem volt olyan kimagaslóan jó hatása, mint azt az Y-zeolit katalizátor esetében megfigyelhető volt. Ennek a fajlagos felület csökkenése is oka lehet. A **3.2. Táblázat** adatai szerint ugyanis a szulfátozás során, a β-zeolit és az Y-zeolit esetében volt a legnagyobb mértékű csökkenés a katalizátorok fajlagos felületében.

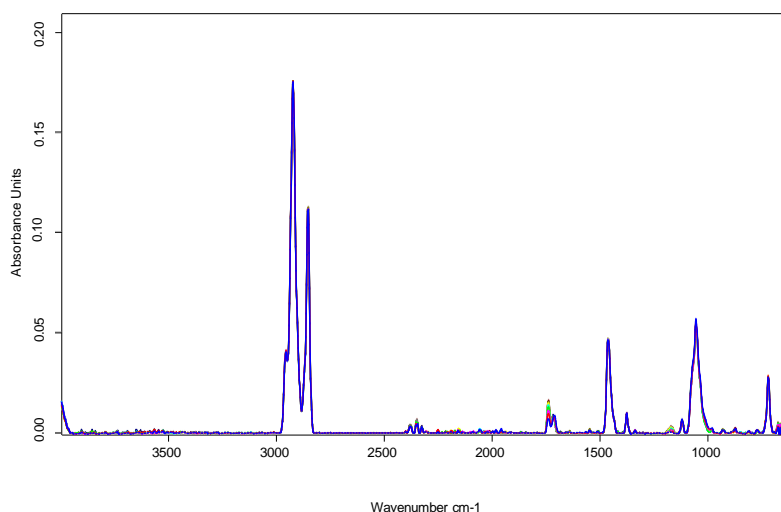
## 4.2 FTIR vizsgálatok eredményei

Az FTIR vizsgálat során kapott infravörös spektrumokat a **4.3, 4.4, 4.5 ábrák** mutatják.



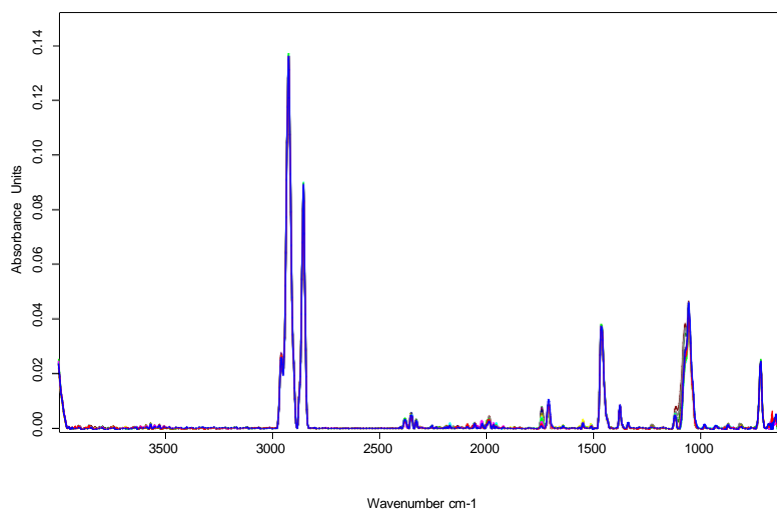
**4.3. ábra**

Az FTIR spektrumok 120°C reakcióhőmérséklet esetében  
(30min, 60min, 90min, 120min, 150min, 180min, 210min, 240min, 270min, 300min, 330min, 360min)



**4.4. ábra**

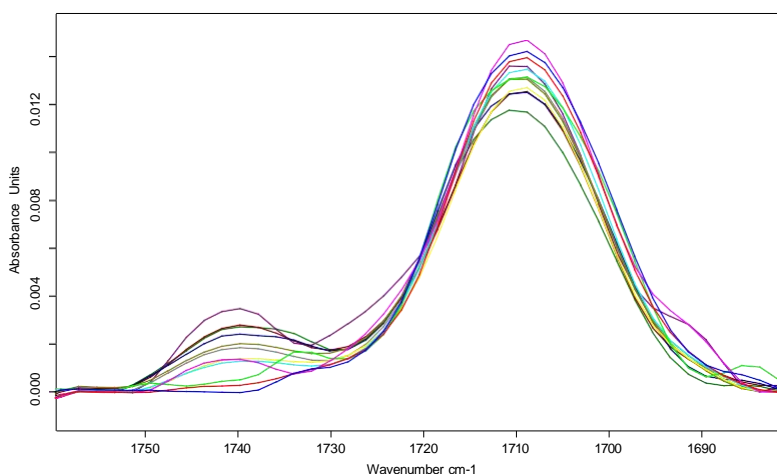
Az FTIR spektrumok 140°C reakcióhőmérséklet esetében  
(30min, 60min, 90min, 120min, 150min, 180min, 210min, 240min, 270min, 300min, 330min, 360min)



**4.5. ábra**

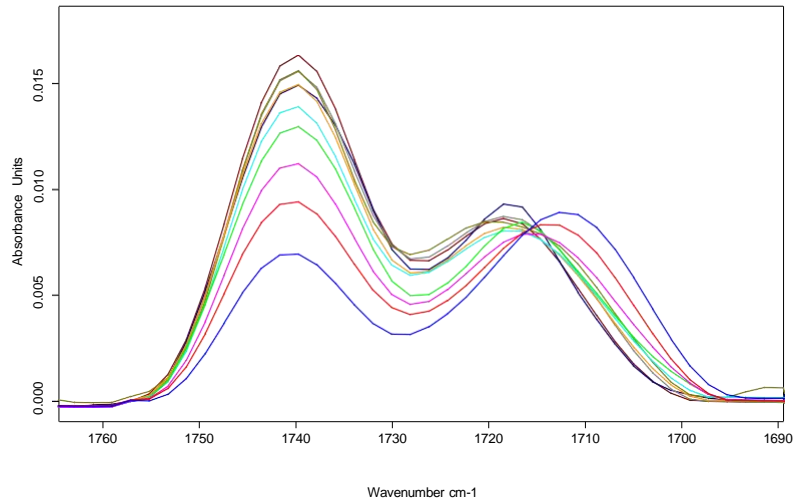
Az FTIR spektrumok 160°C reakcióhőmérséklet esetében  
(30min, 60min, 90min, 120min, 150min, 180min, 210min, 240min, 270min, 300min, 330min, 360min)

A spektrumokon az 2800-3000  $\text{cm}^{-1}$  közötti sávokat a metil- és a metilénsoportok szimmetrikus és aszimmetrikus C-H rezgése okozza. Az 1400-1500 $\text{cm}^{-1}$  hullámszám tartományban lévő közepesen intenzív infravörös sáv a karbonsavakra jellemző  $\beta_s(\text{CH}_2)$  rezgés, a 720 $\text{cm}^{-1}$  hullámszám értékénél lévő sáv pedig a  $\beta_{as}(\text{CH}_2)$  rezgés következtében jelent meg az infravörös spektrumban. Az 1000-1100 $\text{cm}^{-1}$  hullámszám tartományban lévő közepesen intenzív, vállakat is tartalmazó sáv az -OH csoport jelenlétére utal ( $\nu_{\text{CO}}$ ) (alkoholok, karbonsavak). Az észtercsoportok jelenlétére utaló infravörös sávok kinagyított szakaszát a **4.6, 4.7, 4.8. ábrák** foglalják össze.



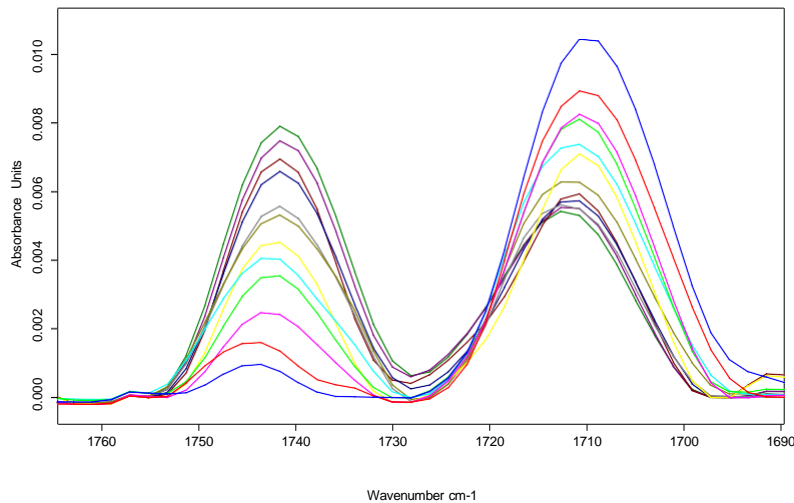
**4.6. ábra**

Az FTIR spektrumok 120°C reakcióhőmérséklet esetében  
(30min, 60min, 90min, 120min, 150min, 180min, 210min, 240min, 270min, 300min, 330min, 360min)



**4.7. ábra**

Az FTIR spektrumok 140°C reakcióhőmérséklet esetében  
 (30min, 60min, 90min, 120min, 150min, 180min, 210min, 240min, 270min, 300min, 330min, 360min)



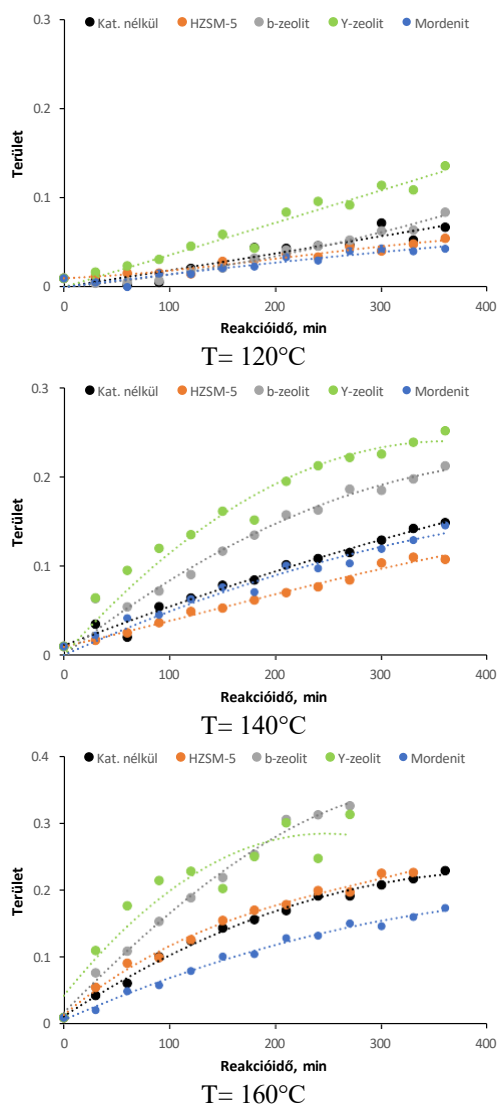
**4.8. ábra**

Az FTIR spektrumok 160°C reakcióhőmérséklet esetében  
 (30min, 60min, 90min, 120min, 150min, 180min, 210min, 240min, 270min, 300min, 330min, 360min)

Az ábra adatai alapján jól látható, hogy az 1740cm<sup>-1</sup> hullámszám értéknél lévő C=O rezgés intenzitása a reakcióidő előrehaladtával rendre növekedett, míg az 1710cm<sup>-1</sup> hullámszám értéknél lévő, a karbonsavakra jellemző C=O rezgés intenzitása ezzel párhuzamosan csökkent.

## 4.2.1 Zeolit katalizátorok

A kezeletlen zeolit katalizátorok alkalmazásával kapott minták FTIR spektruma alapján számított integrált területek nagyságát a **4.9. ábra** mutatja a reakcióidő függvényében. Mint az jól látható, a reakciók 120, 140 és 160°C-on különböző mértékben játszódnak le. 120°C-on az észtercsúcs alatti terület 0,01 értékről katalizátor nélkül 0,066 értékre növekedett. Azonban katalizátor alkalmazásával 6 óra elteltével 0,054 (HZSM-5); 0,083 ( $\beta$ -zeolit); 0,14 (Y-zeolit) és 0,04 (mordenit) értékre növekedett. 140 és 160°C-on már magasabb konverzióval ment végbe a folyamat, melynek során az észtercsúcs alatti terület katalizátor nélkül 0,14 és 0,23; katalizátorokkal, pedig 0,14 és 0,32 érték között mozogtak. A hőmérsékletnövelés hatására a konverzió értéke is nőtt. Kiemelkedő észtercsúcs alatti területnövekedést tapasztaltunk az Y-zeolit katalizátor alkalmazásakor, azonban megfigyelhető, hogy a hőmérsékletnövelés hatására a  $\beta$ -zeolit aktivitása is jelentősen növekedett. Érdekes azt is megjegyezni, hogy a vörösiszappal kezelt szulfátózott Y-zeolit katalizátor esetében nem értünk el kimagasló eredményt. Ennek oka feltehetően az, hogy a módosított katalizátor aktív helyei a vörös iszap és a szulfáttal történő kezelés hatására csökkent.

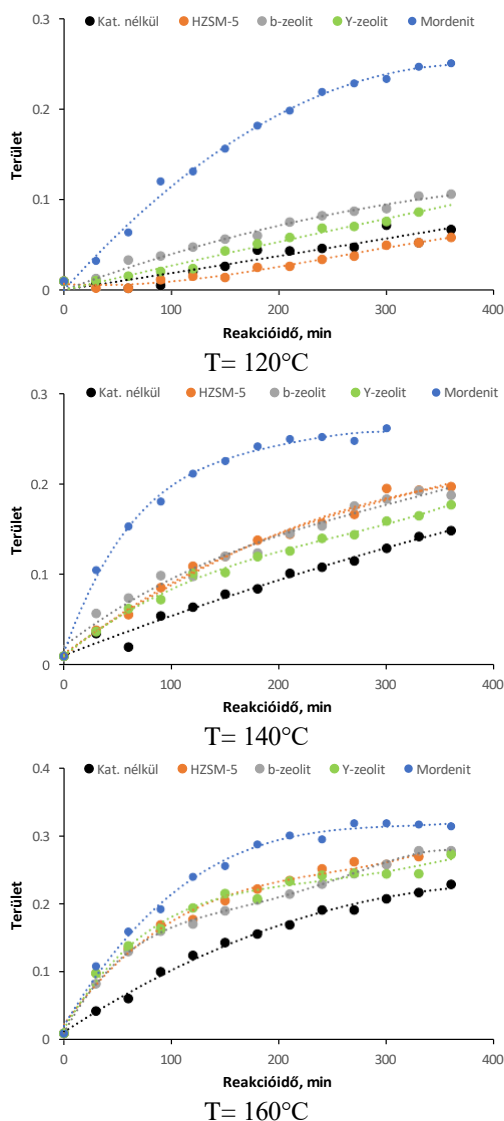


**4.9. ábra**

A  $1740\text{cm}^{-1}$  hullámszám értéknél lévő infravörös sáv alatti terület nagysága nem szulfátózott zeolit katalizátorok esetében.

## 4.2.2 Szulfátozott zeolit katalizátorok

A szulfátozott zeolit katalizátorok alkalmazásával kapott minták FTIR spektrumok alapján számított integrált területek nagyságát a **4.10. ábra** mutatja a reakcióidő függvényében.



**4.10. ábra**

Az  $1740\text{cm}^{-1}$  hullámszám értéknél lévő infravörös sáv alatti terület nagysága szulfátozott zeolit katalizátorok esetében

A reakcióelegyet 6 órán keresztül reagáltattuk, a reakció lejátszódásának mértékét fél óránkénti mintavételezéssel vizsgáltuk. Mint látható, a reakciók 120, 140, 160°C-on különböző mértékben játszódnak le. A hőmérséklet növelésével a konverziók is növekedtek. Kezdeti reakcióelegyben az integrálással meghatározott észtercsúcs alatti terület 0,009 volt mely 120°C-on katalizátor nélkül 0,066 értékre növekedett, míg szulfátozott  $\beta$ -zeolit esetében 0,105 értékű lett, szulfátozott HZSM-5 katalizátor esetében 0,058, szulfátozott Y-zeolit katalizátor esetében pedig 0,086, továbbá a szulfátozott mordenit katalizátor esetén 0,25 lett a sáv alatti integrált

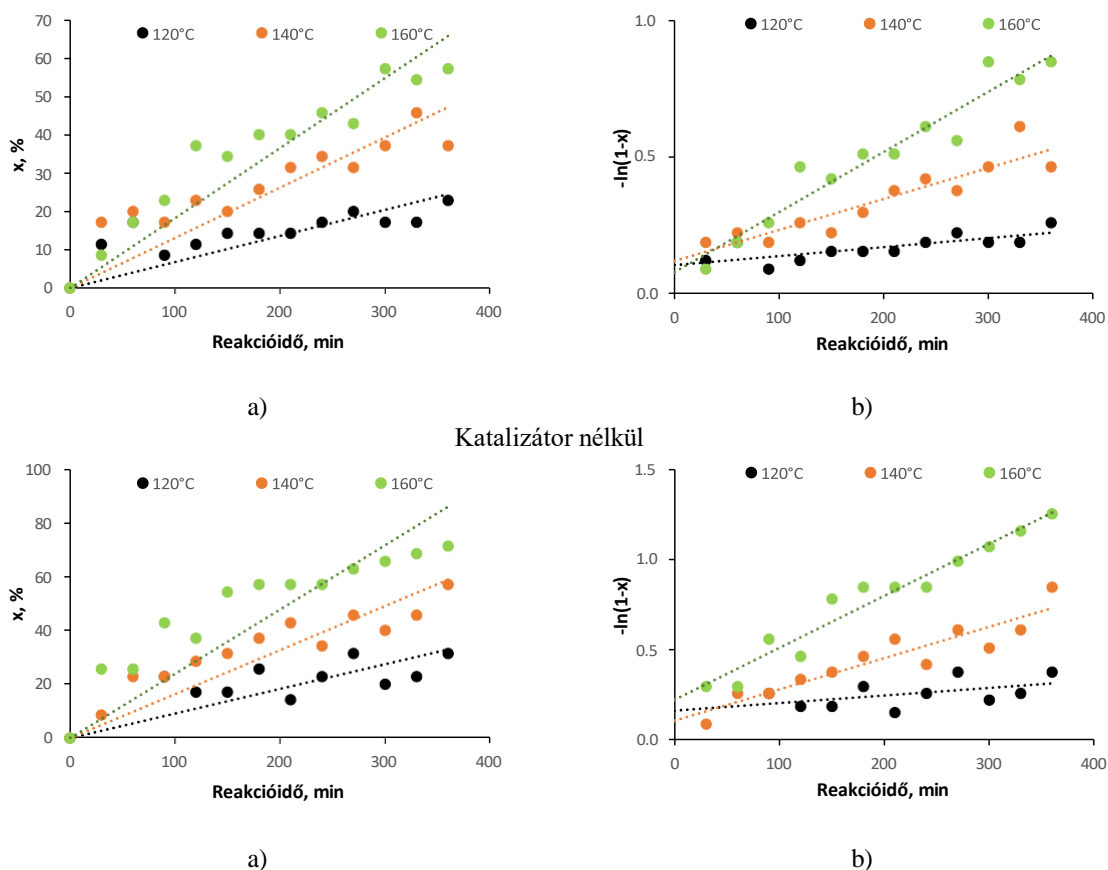
terület nagysága. Ezek az értékek 140 és 160°C hőmérsékleteken katalizátor nélkül 0,14 és 0,22, szulfátozott  $\beta$ -zeolit esetén 0,18 és 0,28, szulfátozott HZSM-5 katalizátor esetén 0,19 és 0,26 szulfátozott Y-zeolit esetén 0,17 és 0,27, szulfátozott mordenit esetében 0,26 és 0,31 tartományban mozogtak. A mért eredményekből megállapítom, hogy a szulfátozott mordenit katalizátor alkalmazása esetében lényegesen magasabb konverziót értünk el. Azonban az egyes katalizátorokhoz tartozó görbékből az is látszik, hogy hőmérsékletnövelés hatására 140 és 160°C hőmérséklettartományban a  $\beta$ -zeolit, HZSM-5, és Y-zeolit katalizátor aktivitása nagyobb mértékben növekedett.

### 4.3 Reakció kinetikai vizsgálatok

#### 4.3.1 Savszámok alapján számított reakciókinetikai jellemzők

##### 4.3.1.1 Zeolit katalizátorok

A 4.11. ábra a savszámok alapján kiszámított konverziók és reakciókinetikai jellemzők értékeit ábrázolja az idő függvényében.

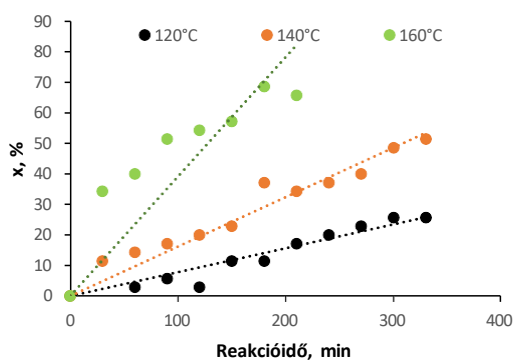


HZSM-5

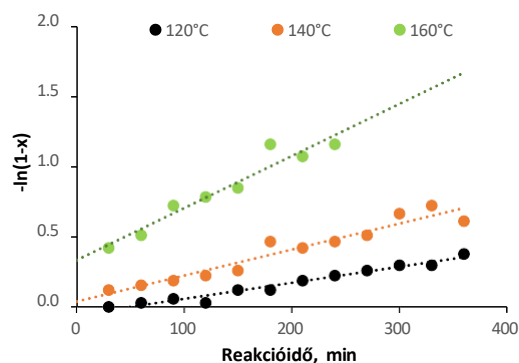
4.11. ábra

A savszámok alapján számított konverzió értékek

a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$

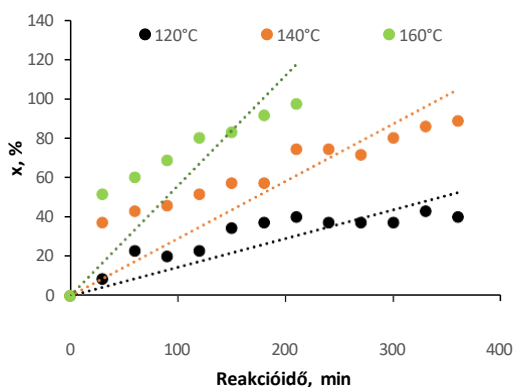


a)

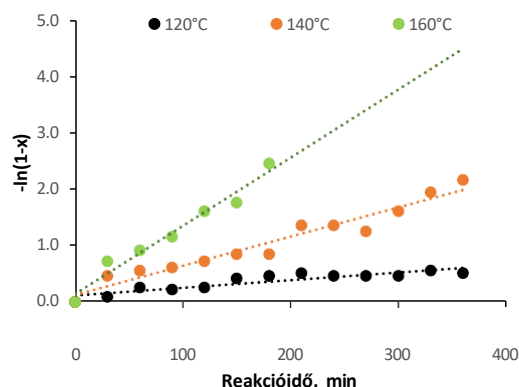


b)

β-zeolit

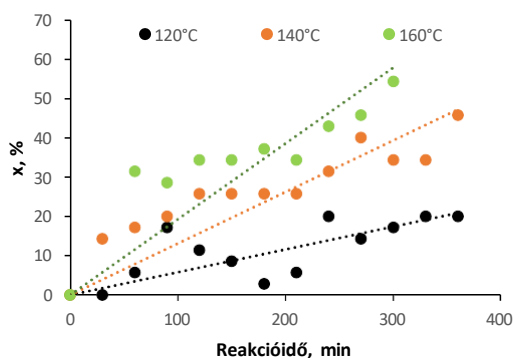


a)

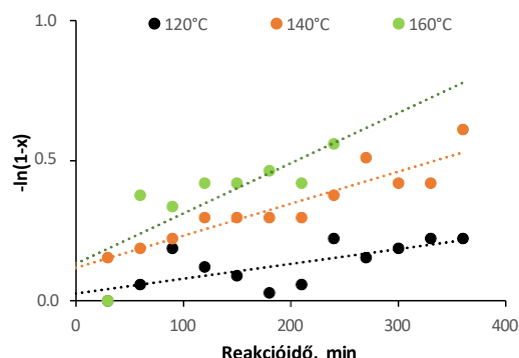


b)

Y-zeolit



a)



b)

Mordenit

#### 4.11. ábra

A savszámok alapján számított konverzió értékek (folytatás)  
n=1, b) n≠1

A reakciókinetika vizsgálata során megállapítottuk, hogy a **3.5 fejezetben** ismertetett n=1 (elsőrendű kinetika) esetében, nem volt megfelelő az illeszkedés, azonban n≠1 esetében jelentősen jobb illeszkedéseket tapasztaltunk. Elsőrendű kinetikát feltételezve a pontokra illesztett görbe regressziós értéke 0,4551-0,9970 között, míg n≠1 esetében ugyanez 0,6458-0,9771 között változott (**4.1. Táblázat**).

#### 4.1. Táblázat

A regressziós koeficiensek értékei

	Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	HZSM-5	$\beta$ -zeolite	Y-zeolit	Mordenit
n=1	120	0,9970	0,9095	0,9105	0,6277	0,4551
	140	0,6687	0,7681	0,9432	0,5814	0,6820
	160	0,8534	0,6284	0,5967	0,5680	0,5722
n $\neq$ 1	120	0,9771	0,9534	0,9670	0,8170	0,6458
	140	0,8463	0,8630	0,9270	0,8450	0,8589
	160	0,9303	0,9476	0,9316	0,9655	0,6375

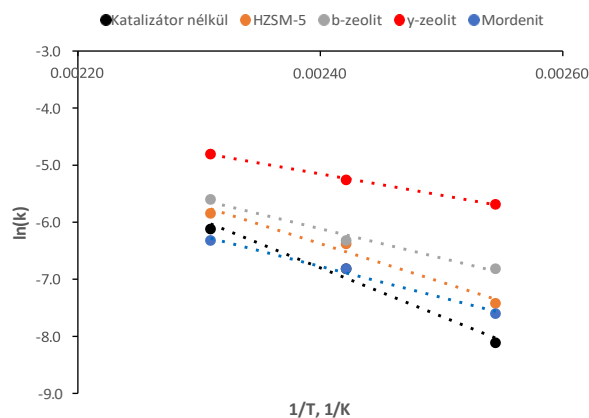
A fenti görbékkel meghatároztuk a reakciósebességi állandókat, melyeket a **4.2. Táblázatban** foglaltunk össze. A táblázat adatai alapján megállapítottuk, hogy a reakciósebességi állandók növekvő tendenciát mutatnak hőmérsékletnövelés hatására. A legnagyobb mértékű növekedést pedig az Y-zeolit esetén tapasztaljuk. A reakciósebességi állandók adataiból az is jól látszik, hogy az Y-zeolit fejtette ki a legerősebb katalitikus hatást a reakcióelegyre.

#### 4.2. Táblázat

A reakciósebességi állandók

Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	HZSM-5	$\beta$ -zeolite	Y-zeolit	Mordenit
120	0,0003	0,0006	0,0011	0,0034	0,0005
140	0,0011	0,0017	0,0018	0,0052	0,0011
160	0,0022	0,0029	0,0037	0,0082	0,0018

A **4.12. ábra** a reakciósebességi állandók változását ábrázolja a hőmérséklet reciprokjának a függvényében.



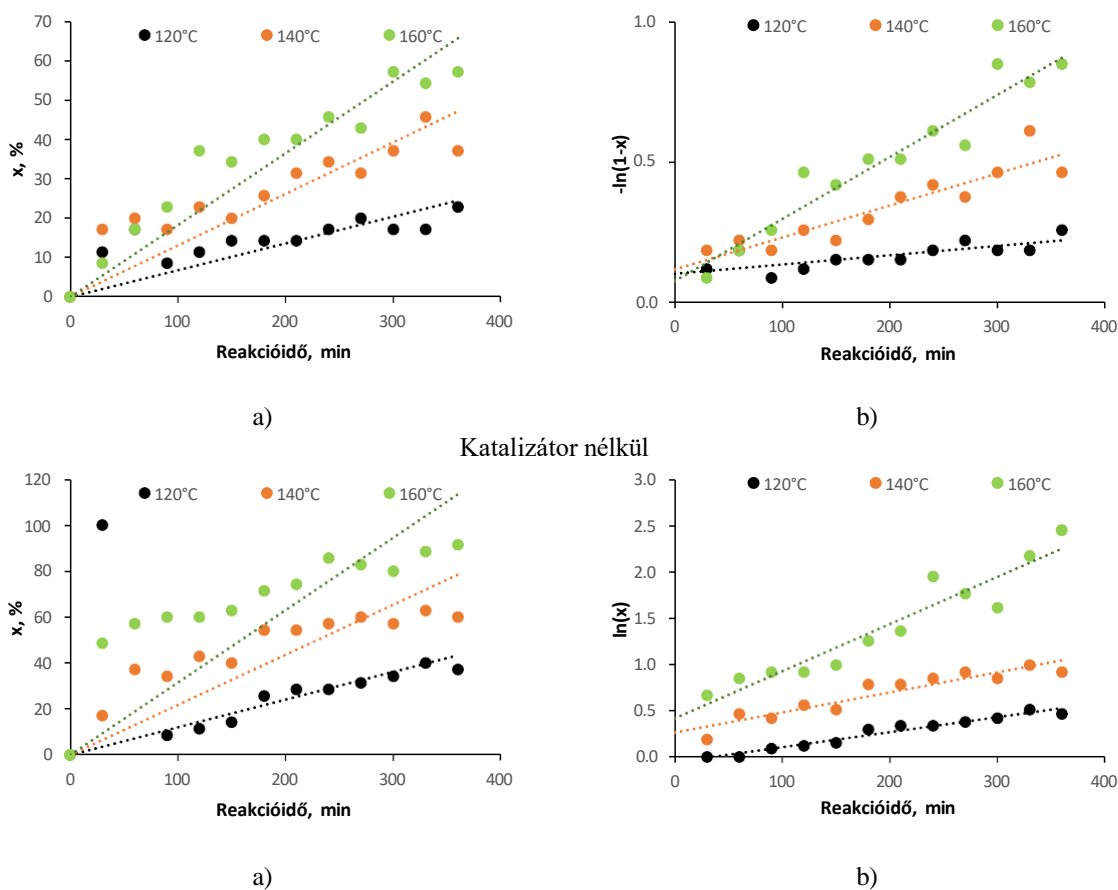
**4.12. ábra**

A reakciósebességi állandók változása a hőmérséklet reciprokjának függvényében

Az ábra adatai alapján megállapítható, hogy az egyes katalizátorok esetében mekkora mértékben függ a reakciósebességi állandó a hőmérséklettől. Az egyes függvénypontokra illesztett egyenes meredeksége alapján számszerűsíthető az egyes katalizátorok katalitikus hatásának hőmérsékletfüggése. Az egyes katalizátorokhoz tartozó reakciósebességi állandónak a logaritmusát ábráztuk a hőmérséklet reciprokjának a függvényében, melyből a reakció aktiválási energiája és a preexponenciális faktor is származtatható. A legnagyobb meredekséget a katalizátor nélküli esetben tapasztaltunk, amit sorrendben a mordenit, a  $\beta$ -zeolit, a HZSM-5 és az Y-zeolit katalizátorokkal végzett kísérleti eredmények követték. A mérési eredményekre illesztett egyenes R értéke 0,968 és 1,000 közötti volt.

#### 4.3.1.2 Szulfátózott zeolit katalizátorok

A 4.13. ábra a savszámok alapján számított konverziók és reakciókinetikai jellemzők értékeit ábrázolja az idő függvényében a szulfátózott katalizátorok alkalmazása esetében.

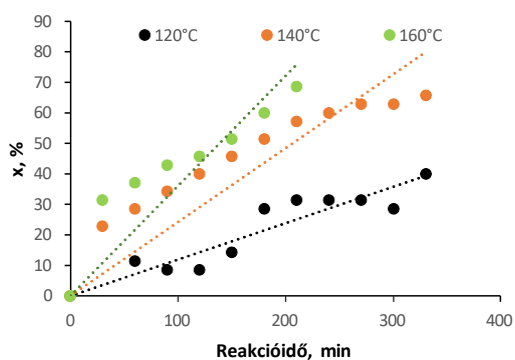


HZSM-5

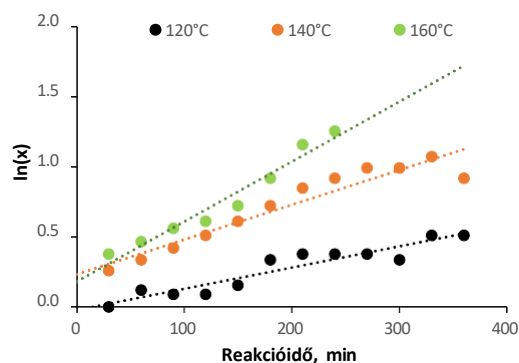
4.13. ábra

A savszámok alapján számított konverzió értékek

a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$

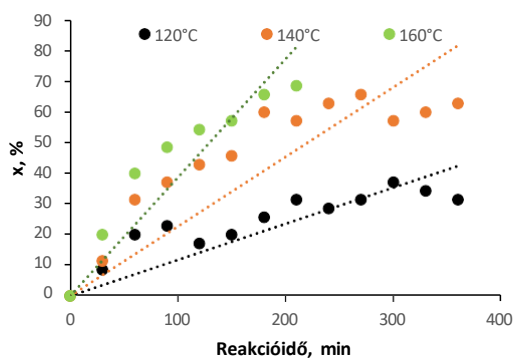


a)

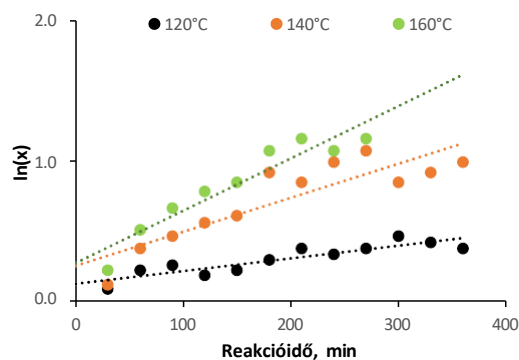


b)

$\beta$ -zeolit

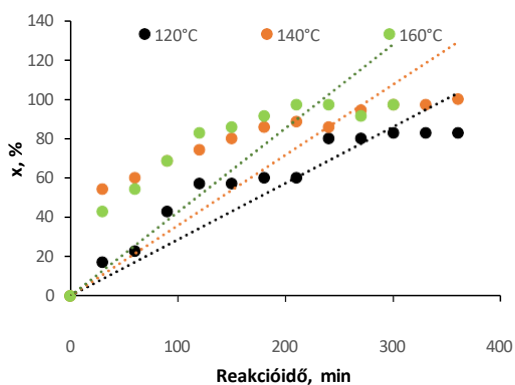


a)

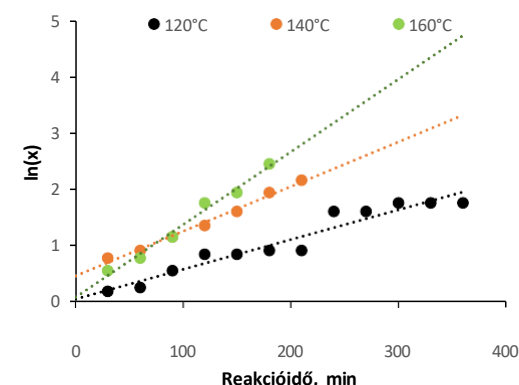


b)

Y-zeolit



a)



b)

Mordenit

#### 4.13. ábra

A savszámok alapján számított konverzió értékek (folytatás)

a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$

A nem szulfátozott katalizátoroknál ismertett eredményekhez hasonlóan, ebben az esetben is elsőrendű reakciókinetikát feltételezve rosszabb illeszkedéseket kaptunk, mint  $n \neq 1$  feltételezés esetében. Elsőrendű kinetikát feltételezve a pontokra illesztett görbe regressziós értéke 0,1283-0,9970 között, míg  $n \neq 1$  esetében ugyanez 0,3810-9893 között változott (4.3. Táblázat).

### 4.3. Táblázat

A regressziós koefficiensek értékei

	Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/HZSM-	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/β-zeolit	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/Y-zeolit	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/Mordenit
n=1	120	0,9970	0,5490	0,8141	0,9445	0,6810
	140	0,6687	0,5154	0,7244	0,5696	0,3622
	160	0,8534	0,1283	0,7158	0,8001	0,3810
n≠1	120	0,9771	0,958	0,8881	0,7997	0,9324
	140	0,8463	0,8775	0,9117	0,7840	0,9828
	160	0,9303	0,9042	0,9561	0,8984	0,9893

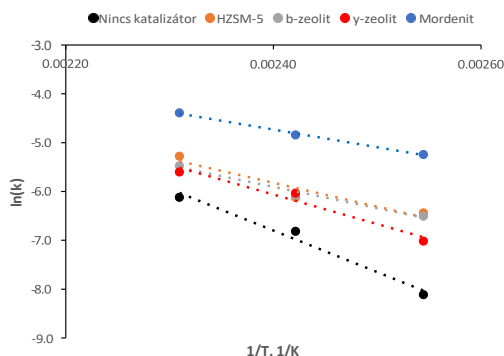
A hőmérséklet növelése minden esetben jól láthatóan növelte a pontokra illesztett egyenesek meredekségét, ami a reakciósebességi állandók növekedésére utal. Az előzőek alapján származtatott reakciósebességi állandókat, a **4.4. Táblázat** tartalmazza. Az eredmények alapján jól látszik, hogy a reakciósebességi állandók minden esetben növekedtek a hőmérséklettel. A legnagyobb értékeket a (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)RM/Mordenit katalizátor esetében tapasztaltam (0,0053; 0,0095 és 0,0112). Reakciósebességi állandó növelő hatást tekintve azt az (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) RM/HZSM-5 > (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)RM/Y-zeolit > (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)RM/β-zeolit katalizátorok követték.

### 4.4. Táblázat

A reakciósebességi állandók

Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/HZSM-5	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/β-zeolit	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/Y-zeolit	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/Mordenit
120	0,0003	0,0016	0,0015	0,0009	0,0053
140	0,0011	0,0022	0,0023	0,0024	0,0079
160	0,0022	0,0051	0,0042	0,0037	0,0124

A reakciósebességi állandók változását a **4.14. ábra** mutatja a hőmérséklet reciprokjának a függvényében.



4.14. ábra

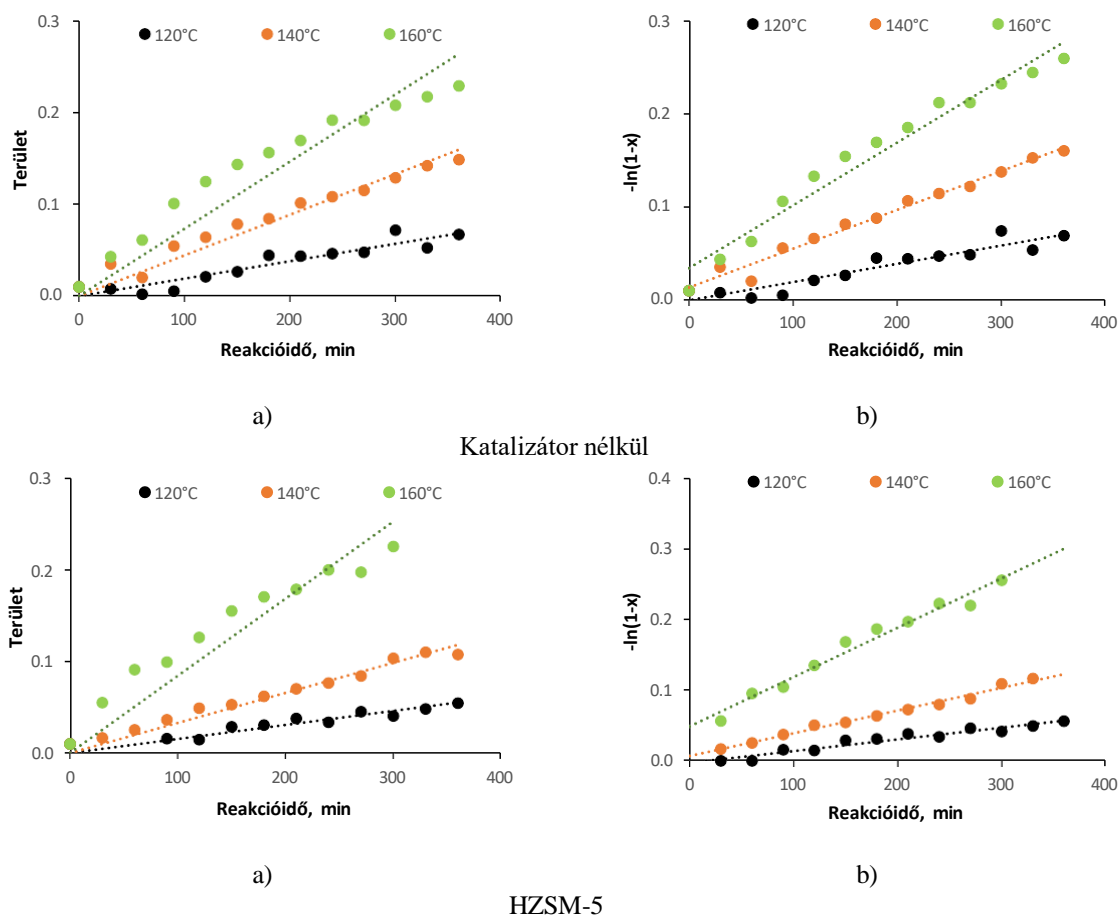
A reakciósebességi állandók változása a hőmérséklet reciprokjának függvényében

Az eredmények alapján elmondható, hogy a vörösiszapot is tartalmazó szulfátozott katalizátoroknál kismértékben rosszabb illeszkedéseket kaptunk ( $R=0,989-0,975$ ), mint a nem szulfátozott katalizátorok alkalmazása esetében. Az egyes katalizátorok hatását tekintve elmondható, hogy az egyenesek meredeksége a katalizátor nélkül  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\beta\text{-zeolit} > (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{HZSM-5} > (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Y-zeolit} > (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$  sorrendben csökkentek, vagyis ebben a sorrendben növekednek az aktiválási energia értékei.

## 4.3.2 FTIR eredmények alapján számított reakciókinetikai jellemzők

### 4.3.2.1 Zeolit katalizátorok

A 4.15. ábra az infravörös spektrumok alapján számított konverziók és reakciókinetikai jellemzők értékeit ábrázolja az idő függvényében a nem szulfátozott katalizátorok alkalmazása esetében.

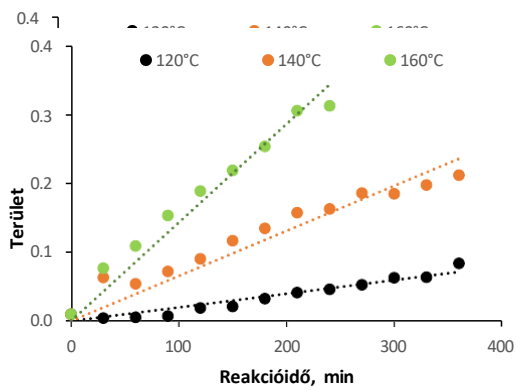


HZSM-5

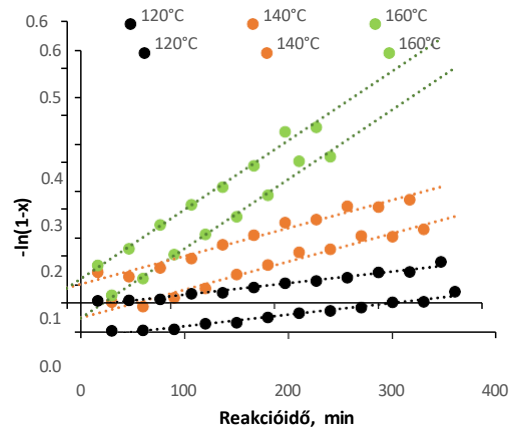
4.15. ábra

Az FTIR elemzés alapján számított terület értékek

a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$

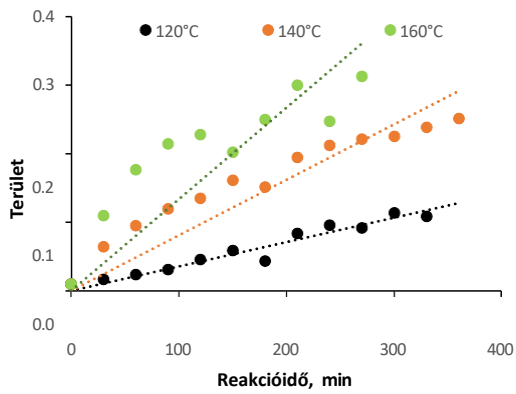


a)

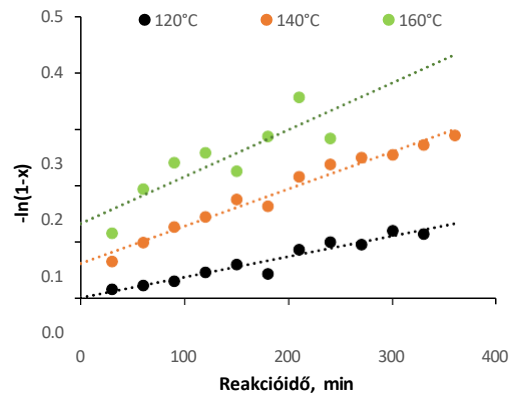


b)

$\beta$ -zeolit

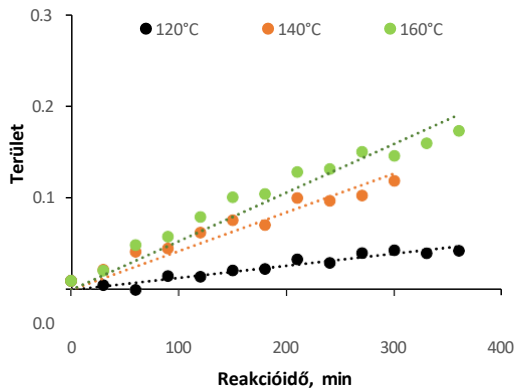


a)

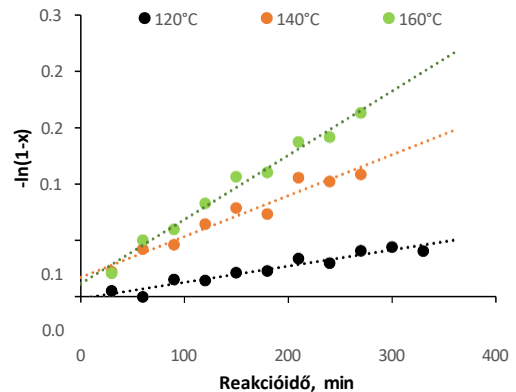


b)

$\gamma$ -zeolit



a)



b)

Mordenit

4.15. ábra

Az FTIR elemzés alapján számított terület értékek (folytatás)

a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$

A savszám-mérés során kapott eredményekhez hasonlóan az infravörös spektrumok alapján származtatott eredményekre illesztett görbék regressziós értékei nem elsőrendű reakciókinetika esetében lényegesen kedvezőbbek voltak, mint elsőrendű kinetikai megközelítés esetében.

Elsőrendű kinetikát feltételezve a pontokra illesztett görbe regressziós értéke 0,5089-0,9637

között, míg  $n \neq 1$  esetében ugyanez 0,7342-0,9879 között változott (**4.5. Táblázat**). Ebben az esetben is a hőmérséklet növelésével jelentősen növekedtek a pontokra illesztett egyenesek meredekségei.

#### 4.5. Táblázat

A regressziós koefficiensek értékei

	Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	HZSM-5	$\beta$ -zeolite	Y-zeolit	Mordenit
n=1	120	0,8821	0,8822	0,9344	0,9376	0,8923
	140	0,9454	0,9637	0,9035	0,8022	0,9069
	160	0,8721	0,8528	0,9569	0,5089	0,9310
n $\neq$ 1	120	0,8815	0,9347	0,9727	0,9331	0,9264
	140	0,9810	0,9879	0,9698	0,9716	0,9457
	160	0,9655	0,9738	0,9909	0,7342	0,9836

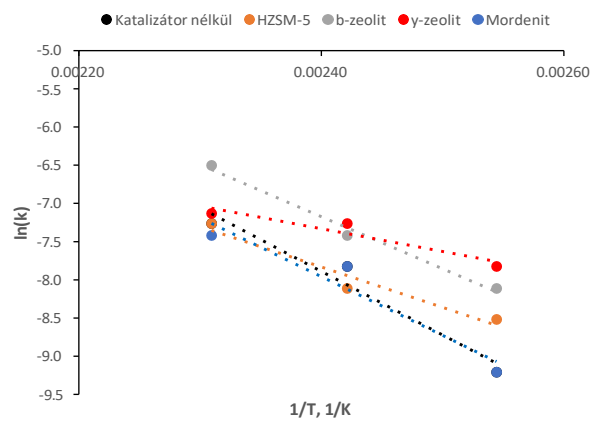
Az előzőek alapján származtatott reakciósebességi állandókat, a **4.6. Táblázat** tartalmazza. A táblázat adatai kismértékben eltérnek a savszám-mérés során kapott eredményektől, mert a maximális reakciósebességi állandók értékeinek sorrendje a katalizátor nélkül = mordenit < Y-zeolit < HZSM-5 <  $\beta$ -zeolit sorrendben változott.

#### 4.6. Táblázat

A reakciósebességi állandók

Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	HZSM-5	$\beta$ -zeolite	Y-zeolit	Mordenit
120	0,0001	0,0002	0,0003	0,0004	0,0001
140	0,0004	0,0003	0,0006	0,0007	0,0004
160	0,0007	0,0007	0,0015	0,0008	0,0006

A reakciósebességi állandók változását a **4.16. ábra** mutatja a hőmérséklet reciprokjának a függvényében. A pontokra illesztett egyenes meredekségének sorrendje HZSM-5 > katalizátor nélkül > mordenit >  $\beta$ -zeolit > y-zeolit volt. A HZSM-5 jelenlétében kapott eredmények valószínűleg mérési hiba miatt lettek nagyobbak, mint a katalizátor nélkül kapott eredmények. A pontokra illesztett egyenes illeszkedésének mértéke 0,871 és 0,998 között változott.

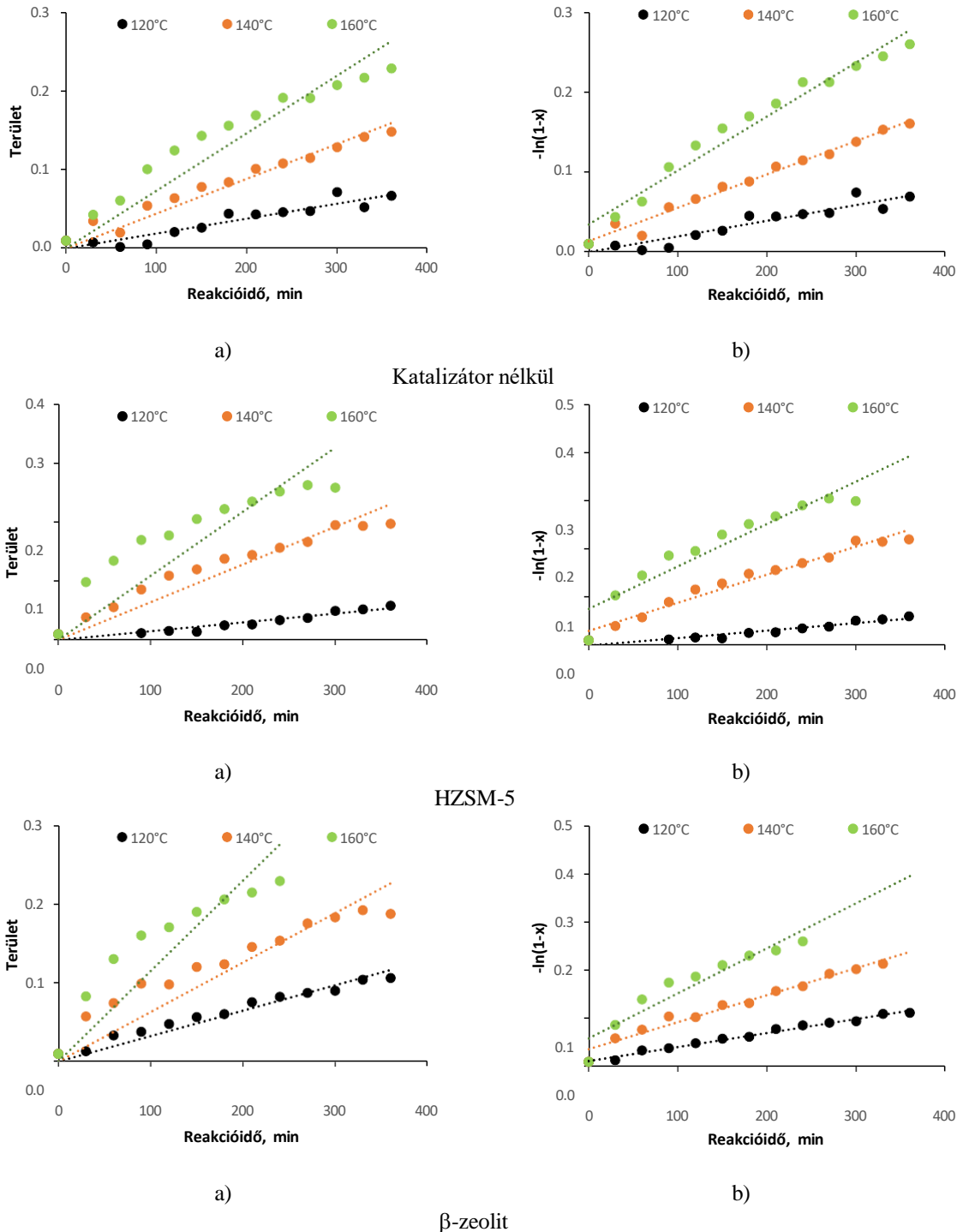


**4.16. ábra**

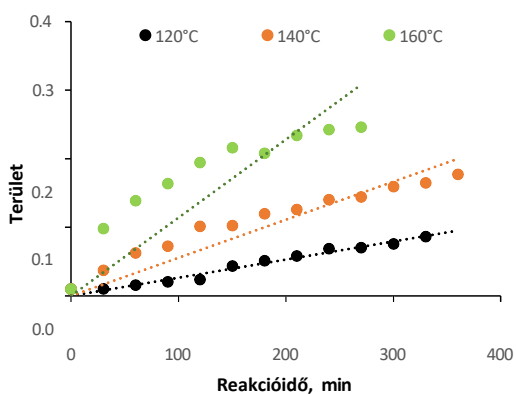
A reakciósebességi állandók változása a hőmérséklet reciprokának függvényében

### 4.3.2.2 Szulfátzott zeolit katalizátorok

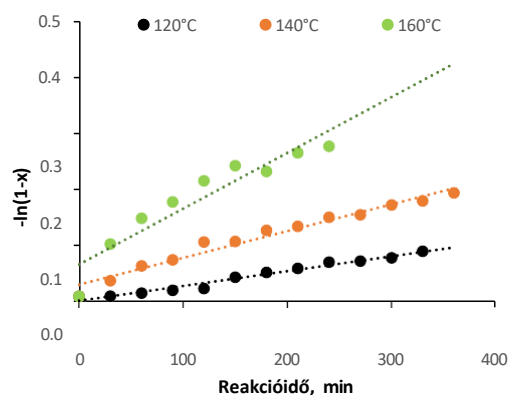
Az FTIR eredmények alapján számított konverziók és reakciókinetikai jellemzők értékeit a 4.17. ábra foglalja össze az idő függvényében a szulfátzott katalizátorok alkalmazása esetében.



4.17. ábra  
Az FTIR elemzés alapján számított terület értékek  
a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$

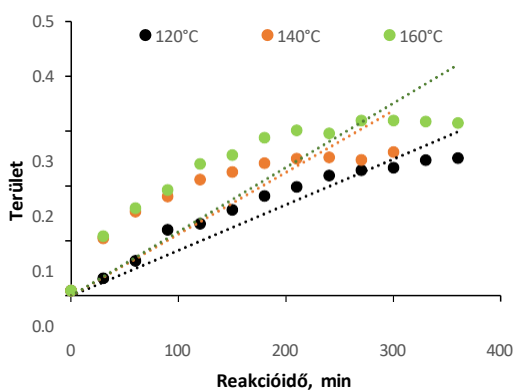


a)

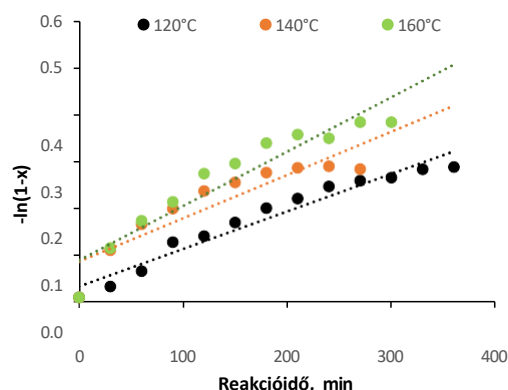


b)

Y-zeolit



a)



b)

Mordenit

## 4.17. ábra

Az FTIR elemzés alapján számított terület értékek (folytatás)

a)  $n=1$ , b)  $n \neq 1$ 

Az ábrák alapján, elsőrendű kinetikát feltételezve a pontokra illesztett görbe regressziós értéke 0,5458-0,9535 között, míg  $n \neq 1$  esetében ugyanez 0,8815-0,9866 között változott (4.7. Táblázat). Ezek alapján jól látszik, hogy ez esetben is jelentősen jobb illeszkedéseket tapasztaltunk nem elsőrendű reakciókinetikai megközelítés esetében.

## 4.7. Táblázat

A regressziós koeficiens értékei

	Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/HZSM-	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/β-zeolit	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/Y-zeolit	(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) RM/Mordenit
n=1	120	0,8821	0,9102	0,9397	0,8700	0,9535
	140	0,9454	0,8829	0,7880	0,8432	0,8250
	160	0,8721	0,5958	0,6580	0,5458	0,8927
n≠1	120	0,8815	0,9082	0,9866	0,9733	0,8804
	140	0,9810	0,9693	0,9695	0,9688	0,3636
	160	0,9655	0,9022	0,9025	0,8843	0,9288

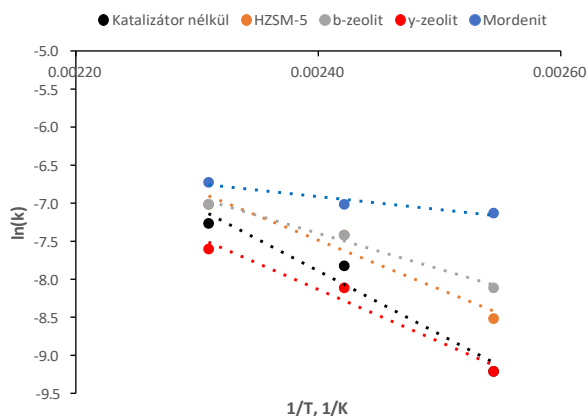
Az előzőek alapján származtatott reakciósebességi állandókat, a 4.8. Táblázat tartalmazza.

Az eredményeket összehasonlítva jól látszik, hogy a reakciók hőmérsékletétől függetlenül az  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$  katalizátor esetében lehetett a legnagyobb reakciósebességi állandókat kapni. Az eredményeket összehasonlítva a savszám-mérés esetében kapottakkal, ugyanazt a sorrendet lehetett megállapítani a reakciósebességi állandókban: katalizátor nélkül  $< (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\beta\text{-zeolit} = (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Y-zeolit} < (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{HZSM-5} < (\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$ .

**4.8. Táblázat**  
A reakciósebességi állandók

Hőmérséklet, °C	Katalizátor nélkül	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{HZSM-5}$	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\beta\text{-zeolit}$	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Y-zeolit}$	$(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$
120	0,0001	0,0002	0,0003	0,0001	0,0008
140	0,0004	0,0006	0,0006	0,0003	0,0009
160	0,0007	0,0009	0,0009	0,0005	0,0012

A reakciósebességi állandók változását a **4.18. ábra** mutatja a hőmérséklet reciprokjának a függvényében. A diagram pontjaira illesztett egyenesek regressziós koefficiens értéke 0,871-0,995 tartományban változott. Az eredmények alapján jól látszik, hogy a  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$  katalizátor jelenlétében az egyenes meredeksége volt a legalacsonyabb, ami lényegesen kisebb, mint a többi katalizátor jelenlétében tapasztalt érték.



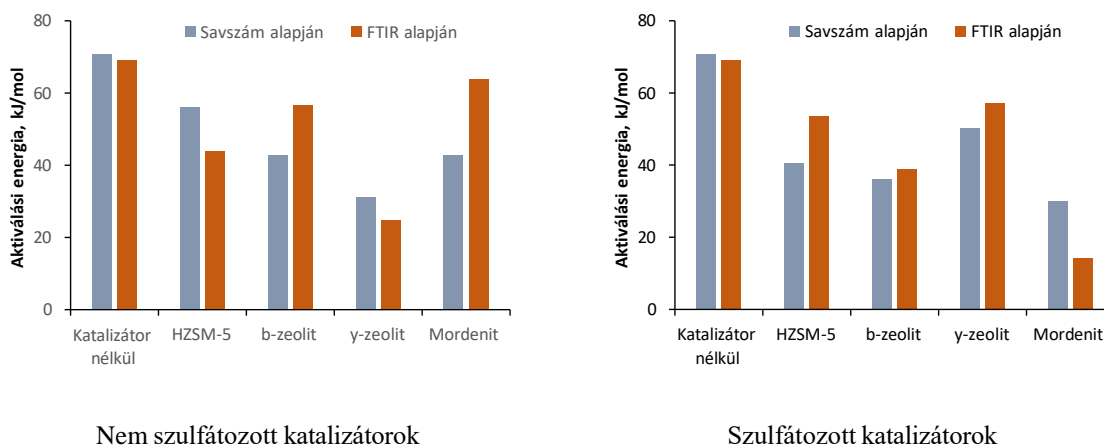
**4.18. ábra**

A reakciósebességi állandók változása a hőmérséklet reciprokának függvényében

### 4.3.3 Az aktiválási energiák összehasonlítása

A **4.19. ábra** alapján az észterezési reakciók különböző módszerekkel számított aktiválási

energiáit foglalja össze. Az eredmények alapján megállapítom, hogy a katalizátorok alkalmazása során az aktiválási energia csökkent. Az FTIR és savszám mérés alapján meghatározott aktiválási energiák közötti különbségek a mérési módszerek sajátosságaira vezethető vissza. A savszámmérés esetében ugyanis a reakció során visszamaradt (el nem reagált) karbonsav mennyisége alapján következtetünk a reakció lejátszódásának mértékére, addig FTIR mérés során a keletkező észterek C=O vegyértékrezgésre utaló sávból következtetünk.



**4.19. ábra**

Az észterezési reakciók aktiválási energiái

Az eredmények alapján az is jól látszik, hogy a nem szulfátozott katalizátorok esetében az Y-zeolit katalizátor csökkentette legnagyobb mértékben az aktiválási energiát, melyet a Y-zeolit kiemelkedően magas fajlagos felületének tulajdonítunk. A szulfátozott és vöröszizapot is tartalmazó katalizátorok esetében a  $(\text{SO}_4^{2-})\text{RM}/\text{Mordenit}$  esetében csökkent legnagyobb mértékben az észterezési reakció aktiválási energiája.

## 5. Összefoglalás

TDK dolgozatomban különböző zeolit katalizátorok katalitikus hatását vizsgáltam modell bio-olaj észterezési reakciójában. A bio-olaj összetételét 1-dekanollal és olajsavval szimuláltam. A reagenseket a megfelelő zeolit katalizátor jelenlétében 6 órán keresztül reagáltattam. A mérési eredmények alapján megállapítom, hogy a zeolit katalizátorok esetében az Y-zeolit katalizátornál volt tapasztalható a legmagasabb konverzió, mely valószínűleg annak nagy fajlagos felületével magyarázható. A szulfátozott és vörösiszapot is tartalmazó zeolit katalizátorok esetében a mordenit katalizátornál volt kimagasló konverzió. Megállapítom, hogy hőmérsékletnövelés hatására a konverziók növekednek. Megfigyelhetem, hogy 120 °C-on az Y-zeollal illetve a szulfátozott vörösiszapot tartalmazó mordenit katalizátorral lényegesen nagyobb konverziót értünk el, mint az egyéb zeolit katalizátorok esetében. Magasabb hőmérséklet (140 °C és 160 °C) hatására az egyes katalizátorok esetében tapasztalt konverziók differenciálja csökkent. A mért eredmények kiértékelése során megállapítom, hogy a katalizátorok különböző mértékben csökkentették a reakció aktiválási energiáját. Zeolit katalizátorok esetében a legnagyobb aktiválási energia csökkenést Y-zeolinnál tapasztaltuk, szulfátozott zeolit katalizátorok esetében a mordenit csökkentette legnagyobb mértékben az aktiválási energiát. A TDK dolgozatomban közölt eredmények alapján megállapítom, hogy az Y-zeolit és a szulfátozott mordenit lehetséges katalizátor alternatíva lehet, bio-olaj korszerűsítésére.

## Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani Dr. Miskolczi Norbert intézeti tanszékvezető Úrnak a TDK munkám során nyújtott lelkiismeretes támogatásáért, segítségéért és tanácsaiért.

Hálásan köszönöm Dr. Juzsakova Tatjana Tanárnőnek a katalizátorvizsgálatokban nyújtott segítséget.

Köszönettel tartozom Csutorás Beatrixnek és Varga Noéminek akik segítettek a kísérleti tevékenységet.

## Irodalomjegyzék

- [1] <https://www.consilium.europa.eu/hu/infographics/?filters=77742> (Letöltés dátuma: 2023.10.11.)
- [2] Lohitharn. N and Shanks. B. H. Upgrading of bio-oil: Effect of light aldehydes on acetic acid removal via esterification. *Catal. Commun.*, 2009. pp. 96–99, <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2009.09.002>
- [3] <https://yearbook.enerdata.net/total-energy/world-consumption-statistics.html>. (Letöltés dátuma: 2023.09.15.)
- [4] J. Hancsók, D. Sági, and Z. Eller. *Korszerű motor- és sugárhajtómű üzemanyagok II. Dízelgázolajok*. Pannon Egyetemi Kiadó, Veszprém. 2016. ISBN: 978-963-396-0-41-7.
- [5] J. Hancsók, J. Korszerű motor- és sugárhajtómű üzemanyagok: III. *Alternatív motorhajtóanyagok*. Egyetemi Kiadó, Veszprém. 2004. ISBN: 963-949-5-33-6.
- [6] V. Lakatos. *A pirolízis elve és folyamata, pirolízis technológiák. Különböző anyagok és hulladékok pirolízise*. Szent István Egyetem, Gödöllő. 2013.
- [7] Q. Lu, W. Z. Li, and X. F. Zhu. Overview of fuel properties of biomass fast pyrolysis oils. *Energy Convers. Manag.*, 2009 (50) 5. pp. 1376–1383. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2009.01.001>
- [8] T. Karayildirim, J. Yanik, M. Yuksel, and H. Bockhorn. Characterisation of products from pyrolysis of waste sludges. *Fuel* 2006. (85), 10–11. pp. 1498-1508 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2005.12.002>
- [9] M. Patel and A. Kumar. Production of renewable diesel through the hydroprocessing of lignocellulosic biomass-derived bio-oil: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 2016. (58) pp. 1293–1307. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.146>.
- [10] M. Zahoor, S. Nizamuddin, S. Madapusi, and F. Giustozzi. Recycling asphalt using waste bio-oil: A review of the production processes, properties and future perspectives. *Process Saf. Environ. Prot.*, 2021. (147) pp. 1135–1159. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.01.032>.
- [11] P. Lahijani, M. Mohammadi, A. R. Mohamed, F. Ismail, K. T. Lee, and G. Amini. Upgrading biomass-derived pyrolysis bio-oil to bio-jet fuel through catalytic cracking and hydrodeoxygenation. *Energy Convers. Manag.*, 2022. (267). 115596. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115596>
- [12] J. Arun et al., A comparative review on photo and mixotrophic mode of algae cultivation: Thermochemical processing of biomass, necessity of bio-oil upgrading, challenges and future roadmaps. *Appl. Energy*, 2022(325) 119808, <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2022.119808>
- [13] J. J. Wang, J. Chang, and J. Fan. Experimental study on catalytic esterification of bio-oil by ion exchange resins. *Ranliao Huaxue Xuebao/Journal Fuel Chem. Technol.* 2010. (38) 5. pp. 560–564. [https://doi.org/10.1016/S1872-5813\(10\)60045-X](https://doi.org/10.1016/S1872-5813(10)60045-X).
- [14] R. C. Sondakh, E. Hambali, and N. S. Indrasti. Improving characteristic of bio-oil by esterification method. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 2019 (230) 1. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/230/1/012071>.

- [15] H. A. Baloch et al., Catalytic upgradation of bio-oil over metal supported activated carbon catalysts in sub-supercritical ethanol. *J. Environ. Chem. Eng.*, 2021.(9). 2. p. 105059, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105059>.
- [16] L. Markó. *Szerves kémia III*. Pannon Egyetemi Kiadó, Veszprém. 2002.
- [17] V. C. dos Santos, L. J. Durndell, M. A. Isaacs, C. M. A. Parlett, K. Wilson, and A. F. Lee. A new application for transition metal chalcogenides: WS<sub>2</sub> catalysed esterification of carboxylic acids. *Catal. Commun.*, 2017. (91) pp. 16–20  
<https://doi.org/10.1016/j.catcom.2016.12.003>.
- [18] F. Luo, C. Pan, and J. Cheng. Recent advances in transition-metal-catalyzed esterification. *Synlett*, 2012 (3) pp. 357–366.  
<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0031-1290101> .
- [19] W. M. Xiong, M. Z. Zhu, L. Deng, Y. Fu, and Q. X. Guo. Esterification of Organic Acid in Bio-Oil using Acidic Ionic Liquid Catalysts. *Energy and Fuels*, 2009 (23) 4. pp. 2278–2283, <https://doi.org/10.1021/ef801021j>.
- [20] M. Milina, S. Mitchell, and J. Pérez-Ramírez. Perspectives for bio-oil upgrading via esterification over zeolite catalysts. *Catal. Today*, 2014 (235) pp. 176–183  
<https://doi.org/10.1016/j.cattod.2014.02.047>.
- [21] S. Cheng, L. Wei, J. Julson, K. Munthukumarappan and P. R. Kharel. Upgrading pyrolysis bio-oil to biofuel over bifunctional Co-Zn/HZSM-5 catalyst in supercritical 2 methanol. *Energy Conversion and Management*. 2017. (147) pp. 19-28.  
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.05.044>.
- [22] R. A. Fauzi et al., Performance of Modified Natural Zeolites by Sodium Hydroxide Treatments in The Esterification of Glycerol and Oleic Acid. *J. Kim. Val.*, 2019 (5) 2. pp. 236–241. <https://doi.org/10.15408/jkv.v5i2.9976>.
- [23] Y. Xu et al. Two-step esterification–hydrogenation of bio-oil to alcohols and esters over Raney Ni catalysts. *Catalysts*. 2021. (11) 7. pp. 1–10. <https://doi.org/10.3390/catal11070818>.
- [24] P. Prasertpong, S. Shimpalee, and N. Tippayawong. Kinetic model for esterification of oleic acid catalyzed by a green catalyst in ethanol. *Energy Reports*. 2020. (6) pp. 66–70.  
<https://doi.org/10.1016/j.egypr.2020.10.039>.
- [25] A. S. Abbas and R. N. Abbas. Kinetic Study and Simulation of Oleic Acid Esterification over Prepared NaY Zeolite Catalyst. *Iraqi J. Chem. Pet. Eng.*, 2013. (14) 4. pp. 35–43.  
<https://doi.org/10.31699/IJCPE.2013.4.5>.
- [26] P. Prasertpong and N. Tippayawong. Upgrading of biomass pyrolysis oil model compound via esterification: Kinetic study using heteropoly acid. *Energy Procedia*. 2018. (160) pp. 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.02.144>.
- [27] E. G. Fawaz, D. A. Salam, and T. J. Daou. Esterification of linoleic acid using HZSM-5 zeolites with different Si/Al ratios. *Microporous Mesoporous Mater.*, 2020 (294) 109855,  
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109855>.
- [28] C. D. Prates, F. C. Ballotin, H. Limborço, J. D. Ardisson, R. M. Lago, and A. P. de C. Teixeira. Heterogeneous acid catalyst based on sulfated iron ore tailings for oleic acid esterification. *Appl. Catal. A Gen.*, 2020. (600) 117624.  
<https://doi.org/10.1016/j.apcata.2020.117624>.



**Pannon Egyetem  
Intézményi Tudományos Diákköri  
Konferencia  
2023**



**GM1 ganglioside nanomicelles for controlled drug delivery of doxorubicin  
and paclitaxel in anticancer therapeutics**

**Author: Alexandra Rolya**

Biochemical Engineering BSc

**Supervisor: Dr. Tivadar Feczko**

Senior research fellow, University of Pannonia, Faculty of Engineering

Manuscript closed on 06. 11. 2023.

## Abstract

Controlled drug delivery systems (DDS) have emerged as an innovative approach for the treatment of several diseases such as cancer, Alzheimer's and Parkinson's disease. These systems enable targeted and controlled delivery of therapeutic agents to specific cells and tissues. There is an urgent need to get effective and secure delivery while minimizing the unintended absorption by healthy tissues. Gangliosides have emerged as a potentially advantageous delivery mechanism among several DDS owing to their capacity to encapsulate drugs within their micellar structure, traverse the blood-brain barrier and effectively transport drugs to the tumor site.

This thesis primarily focuses on the development and characterization of GM1 nanomicelles under various experimental conditions. The identification of gangliosides as possible drug carriers has led to the aim of encapsulation of anticancer drugs as a secondary objective in this research project. According to this GM1 nanomicelles were utilized to encapsulate doxorubicin hydrochloride and paclitaxel. Due to the limited solubility of paclitaxel in water it was pre-dissolved in DMSO. Conversely, doxorubicin hydrochloride exhibited a high solubility in the aqueous GM1 solution. The quantification of drug concentration was performed using UV-visible spectrophotometry. The determination of GM1 nanomicelle size was conducted by dynamic light scattering analysis, employing the Malvern Zetasizer device. The addition of the drugs did not produce a substantial impact on the size distribution of GM1 nanomicelles. In order to verify the presence of drugs entrapped within GM1 micelles, dialysis method was used to remove unbound drugs from the encapsulated active agents. The aforementioned results were validated through the scanning/transmission electron microscopy (S/TEM) imaging on the micelles, performed by an FEI Talos F200XG2 device. The rate of drug release showed a notable increase when subjected to an acidic environment that represents the conditions of the tumor microenvironment, as compared to the pH level detected in the bloodstream. The encapsulation efficiencies of doxorubicin and paclitaxel entrapped with GM1 nanomicelles were seen to vary between 97.0% to 100.0% and 88.07 % - 100%, respectively.

**Keywords:** GM1 gangliosides, doxorubicin, paclitaxel, drug delivery systems.

## Contents

List of abbreviations .....	170
1. Literature survey.....	170
1.1. Drug delivery .....	170
1.1.1. Conventional vs. controlled .....	170
1.1.2. Controlled DDS: the basics of encapsulation .....	172
1.1.3. Microencapsulation process, techniques and applications.....	173
1.2. Gangliosides .....	176
1.2.1. The lipid nature of gangliosides.....	176
1.2.2. GM1 gangliosides .....	178
1.3. Drug microencapsulation with GM1 gangliosides .....	180
1.3.1. Anticancer drugs.....	180
2. Aims.....	184
3. Methods, materials and tools .....	185
3.1. Drug encapsulation by nanomicelles .....	185
3.2. Dynamic Light Scattering (DLS).....	186
3.2.1. Nanomicelle size distribution .....	187
3.2.2. Zeta potential .....	188
3.3. S/TEM .....	190
3.4. Drug release .....	190
3.5. UV-vis spectrophotometry .....	190
4. Results and discussion .....	192
4.1. Preliminary experiments .....	192
4.1.1. Size distribution of GM1 nanomicelles .....	192
4.1.2. Zeta potential .....	194
4.1.3. S/TEM analysis.....	195
4.2. Doxorubicin-HCl.....	196
4.2.1. Size distribution .....	196
4.2.2. Dialysis .....	198

4.2.3. Zeta potential .....	198
4.2.4. S/TEM .....	200
4.2.5. UV-vis spectrophotometry .....	200
4.2.6. Drug release .....	202
4.3. Paclitaxel .....	206
4.3.1. Size distribution .....	206
4.3.2. Dialysis .....	208
4.3.3. Zeta potential .....	208
4.3.4. S/TEM .....	209
4.3.5. UV-vis spectrophotometry .....	210
5. Summary.....	212
6. Annexes .....	213
7. Acknowledgments .....	215
8. References .....	216

## List of abbreviations

BBB	blood-brain barrier
DDS	drug delivery systems
DLS	dynamic light scattering
DMSO	dimethyl sulfoxide
DOX-HCl	doxorubicin-hydrochloride
PTX	paclitaxel
UV-vis	ultraviolet-visible
ZP	zeta potential

# 1. Literature survey

Enhancing the solubility of active ingredients with poor solubility profiles poses a major challenge in the field of drug delivery systems (DDS) development. Due to the fact that many promising therapeutics agents have low solubility, they are difficult to use in pharmaceutical formulations. Overcoming this solubility barrier would allow these compounds to reach their therapeutic potential.

Conversely, a multitude of pharmaceutical substances exhibit enhanced solubility characteristics. However, the efforts of DDS to achieve consistent, stable and predictable targeted and controlled drug administration remains difficult. Modern therapy emphasizes precision and control in drug delivery to maximize therapeutic outcomes and minimize side effects. This requires delivery systems to precisely control drug release amount, rate and site-specificity to meet industrial and clinical demand for reliable, safe and efficient drug administration.

These and many other issues demonstrate the need of innovative solutions that account for controlled drug delivery and better active ingredient solubility. Novel DDS, especially those involving gangliosides, liposomes or polymers, offer exciting opportunities for pharmaceutical science and patient care.

## 1.1. Drug delivery

### 1.1.1. Conventional vs. controlled

As it was mentioned previously, in the field of pharmaceutical development, active ingredient solubility ranges from low to high. In order to comprehensively address this diversity, it is necessary to take a look at several pharmaceutical technology alternatives for regulated medication delivery. This paragraph establishes a balance between innovation and tradition in drug delivery methods.

Pharmaceutical molecules encompass a wide range of compounds, from chemicals, peptides, antibodies and vaccines to gene-based medications. These molecules are administered using various drug delivery systems based on the route of administration <sup>[1]</sup>.

A traditional or conventional drug delivery system refers to several techniques for administering a pharmaceutical substance in the human body maximizing the intended therapeutic effects, while minimizing any side effects <sup>[1] [2]</sup>. The most common conventional drugs, as tablets and capsules, have been linked to low bioavailability and changes in plasma drug levels <sup>[2]</sup>.

Tablets are solid pharmaceutical formulations that are produced via the compression of a medication or a combination of medicines together with excipients <sup>[3]</sup>. On the other hand, capsules are solid pharmaceutical preparations that consist of a medicine or a combination of pharmaceuticals enclosed inside a rigid or flexible outer shell <sup>[3]</sup>. The shell is often composed of gelatine, a substance that has biodegradable and biocompatible properties <sup>[3]</sup>. Conventional drug delivery techniques are associated with several disadvantages, such as inadequate site specificity, suboptimal drug solubility and compromised drug stability <sup>[4]</sup>.

According to Patra, J.K and colleagues (2018), conventional drug delivery systems are widely used techniques for treating health issues. Still certain limitations have led to a demand for an advanced version of drug delivery known as smart, controlled DDS <sup>[5]</sup>.

Despite these drawbacks, traditional drug delivery techniques are widely used and offer a number of advantages, including:

1. Patient familiarity <sup>[1]</sup>
2. Low cost <sup>[1]</sup>
3. Simplicity of administration <sup>[1]</sup>
4. Flexibility <sup>[2]</sup>.

The aforementioned details have prompted the emergence of innovative drug delivery systems that tackle various clinical pharmacology-related concerns. These include targeted drug delivery DDS designed to delay drug clearance processes and aimed at mitigating local side effects <sup>[6]</sup>.

Controlled DDS are intended to release medications at a controlled rate and at a specified time in order to produce the desired therapeutic response while minimizing negative effects <sup>[1][2]</sup>. These systems are categorized into three types depending on their drug release mechanism: diffusion-controlled, swelling-controlled and erosion-controlled systems <sup>[2]</sup>. Controlled DDS provide a number of benefits over conventional drug delivery methods, including the following:

1. Increased therapeutic effectiveness: by controlling the location, pace and timing of drug release, controlled DDS can enhance the efficacy of the treatment <sup>[2]</sup>
2. Reduced toxicity: targeting specific tissues or organs can reduce drug toxicity, improving overall safety and effectiveness <sup>[2]</sup>
3. Improved patient compliance: lowering the frequency of drug administration can enhance patient adherence to treatment regimens <sup>[1]</sup>
4. Improved bioavailability: controlled drug delivery methods may increase drug bioavailability by improving solubility and stability <sup>[1]</sup>

5. Targeted medication delivery: controlled DDS may be created to target particular tissues or organs, improving treatment effectiveness and lowering the risk of side events <sup>[1]</sup>.

As a summary, the previously mentioned information may be structured as presented in Table 1.

**Table 1. Conventional DDS vs. controlled DDS**

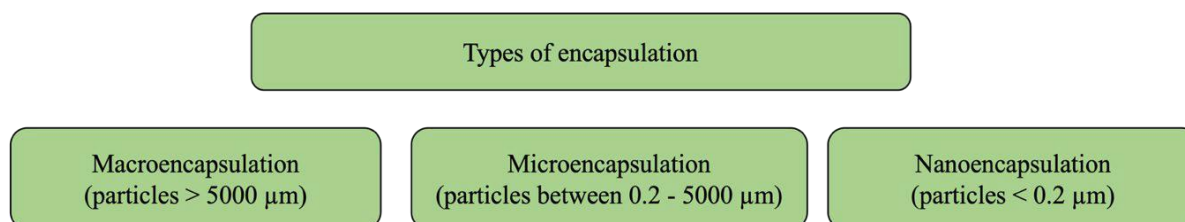
<b>Aspect</b>	<b>Conventional drug delivery</b>	<b>Controlled drug delivery</b>
<b>Common forms</b>	Tablets, capsules, pills, injections, syrups <sup>[7]</sup>	Liposomes, gangliosides, polymer nanoparticles, inclusion complexes <sup>[8]</sup>
<b>Advantages</b>	Patient familiarity, low cost, simple administration, flexibility in drug release rates <sup>[7]</sup>	Increased therapeutic effectiveness, reduced toxicity, improved patient compliance and bioavailability, targeted medication delivery <sup>[8]</sup>
<b>Disadvantages</b>	Low bioavailability and suboptimal drug solubility, inadequate site specificity, compromised drug stability, increased side effects due to fluctuating levels <sup>[7]</sup>	Complex manufacturing, specialized equipment and training required, potential issues with long-term release accuracy <sup>[8]</sup>
<b>Common administration</b>	Oral, injection, topical, inhalation, transdermal <sup>[7]</sup>	Oral, nasal, transdermal, parental <sup>[8]</sup>

### 1.1.2. Controlled DDS: the basics of encapsulation

Within the biotechnology literature, the term "encapsulation" has been employed in several distinct contexts. The present thesis adheres to the concept of encapsulation of components, among them hydrophobic and hydrophilic chemicals, within the structure of gangliosides as delivery vehicles. A discussion about the encapsulation of certain anticancer drugs and its' benefits will be provided at a later point.

Referring to this, drugs encapsulation is a particle creation process in which the target component is released from the matrix under certain circumstances at a regulated rate <sup>[9][10]</sup>. Encapsulation technology has recently become used in a variety of sectors, including food,

pharmaceutical, cosmetic industry and agriculture. In the field of pharmaceuticals, the first products containing encapsulated ingredients debuted in 1954. The main objective of their invention was to allow for the regulated release of medicines in certain organs. The earliest experiments on essential oil encapsulation were undertaken in the 1960s. Scientists attempted to regulate the release of aromatic chemicals by preventing lipid oxidation and volatile component loss. This was the beginning point for later research on food encapsulating technology<sup>[11][12]</sup>. According to the Mirian Pateiro and etc. (2021) there exist few distinct forms of encapsulation, which are categorized based on the dimensions of the capsules as depicted in Figure 1<sup>[13]</sup>.



**Figure 1.** Types of encapsulation<sup>[13]</sup>

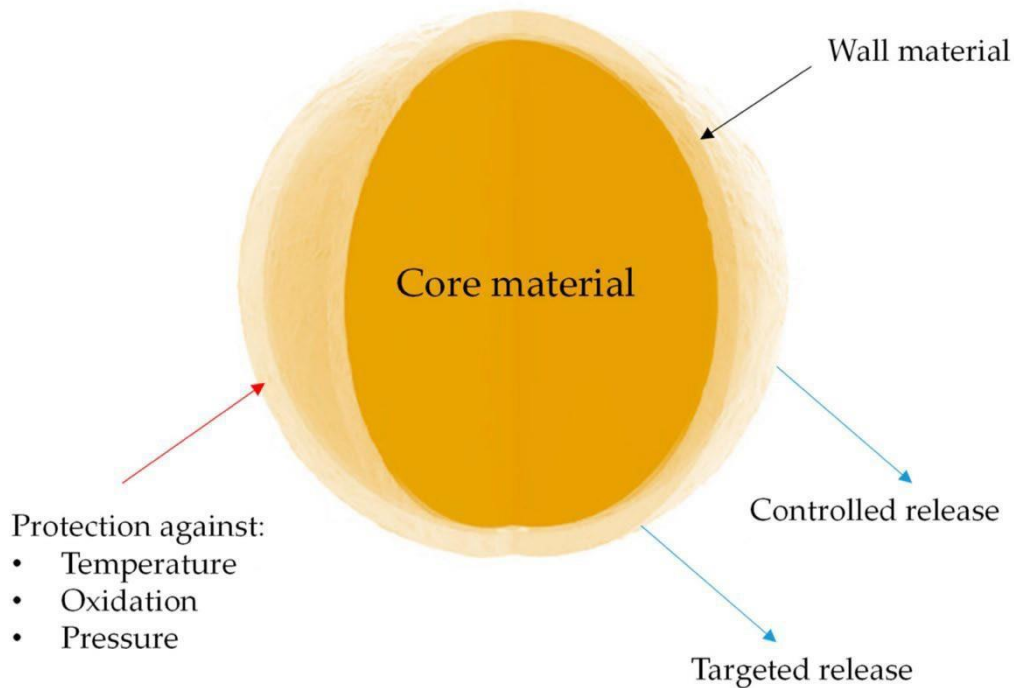
### 1.1.3. Microencapsulation process, techniques and applications

Microencapsulation refers to the procedure whereby microscopic particles of either solid or liquid material are enveloped with a protective shell, resulting in the formation of microcapsules<sup>[13][14]</sup>. According to Mehta, N. and colleagues (2022)<sup>[15]</sup> in this procedure, the microscale particles are embedded, therefore providing protection for encapsulant and isolation from the surrounding environmental conditions<sup>[15]</sup>.

The appropriate choice of a solvent medium depends on the solubility of both the core material and encapsulants<sup>[15]</sup>. In more concise terms, this refers to the procedure in which active components, as core materials are enclosed within a secondary substance, commonly known as a wall, to create a microcapsule depicted in Figure 2<sup>[15]</sup>.

Microcapsule content can be solid, liquid or gaseous and can be a single ingredient or a mixture. The capsules, micelles, range in size from fractions of a micrometre to several millimetres. The microcapsule shell can be single or multi-layered and it can be elastic or rigid depending on the qualities of the substance that forms it<sup>[15]</sup>. The release of the pharmaceutical compound from the microcapsules might transpire by many methods, including diffusion, dissolution, osmosis and erosion<sup>[2]</sup>. Diffusion is the prevailing method for drug release,

whereby the dissolution fluid permeates the shell, allowing the core material to interact with the dissolution fluid and then escape via interstitial channels or pores [2].



**Figure 2.** *The fundamental principle of microencapsulation* [15]

Overall, the relationship between microencapsulation and diffusion lies in the fact that diffusion serves as a mechanism for the release of medicines from microcapsules [2] [13]. The rate of drug release is dependent on three factors:

- the rate at which the drug dissolves in the dissolution fluid [2]
- the rate at which the dissolution fluid penetrates the microcapsules [2]
- the rate at which the dissolved drug exits the microcapsule [2]

Hence, the use of microencapsulation enables the regulation of drug release kinetics through diffusion by modifying key microcapsule characteristics, including the thickness of coating and its solubility in the dissolving medium [13].

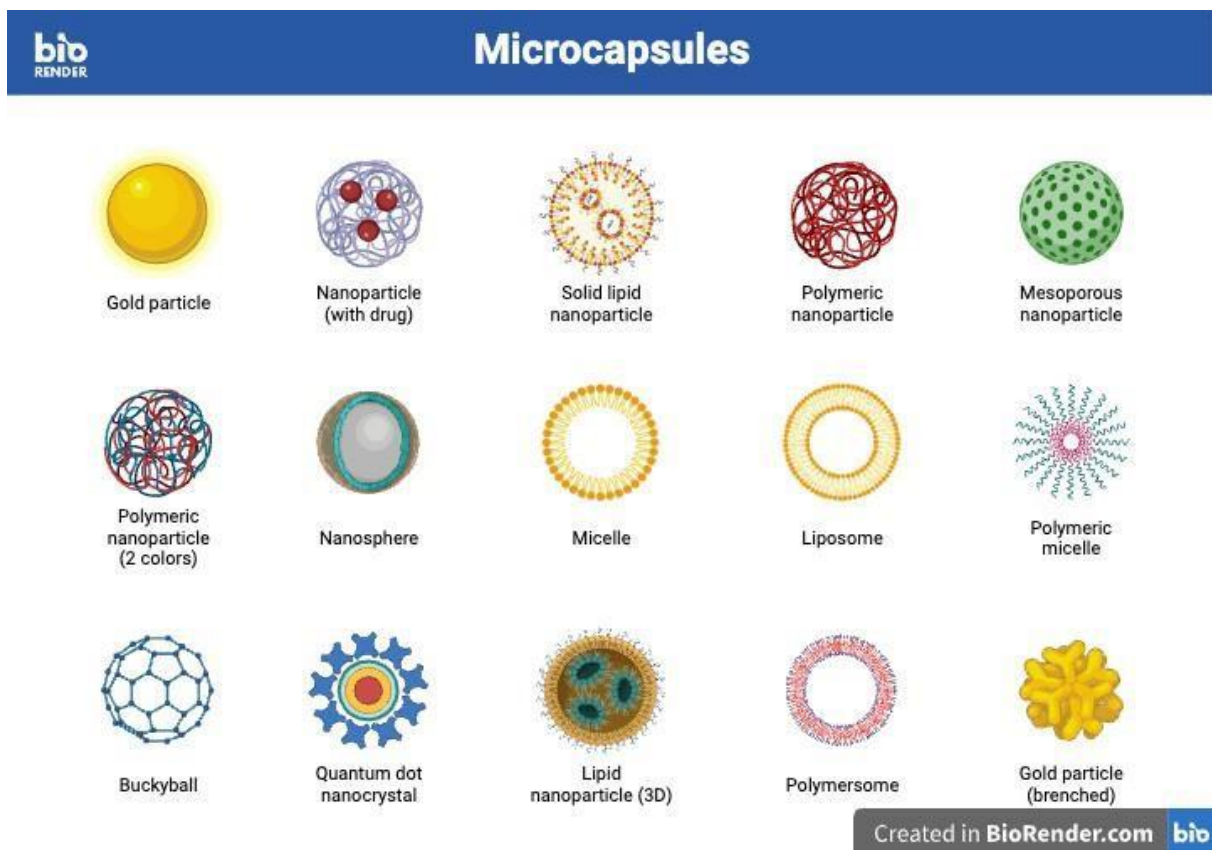
In addition, the use of microencapsulation in drug delivery systems offers many benefits compared to other controlled drug delivery methods, as supported by relevant scientific references:

- Increased solubility [16][17]
- Safe management of hazardous pharmaceuticals [17]
- Targeted release [16][18]
- Preservation of drug integrity [16][18]

- Controlled release <sup>[16][18]</sup>
- Diverse applicability <sup>[16][18]</sup>.

Microcapsules exhibit variations in their morphologies, size and ratios of core to coating materials. When selecting a method for the production of microcapsules, it is important to take into account all relevant parameters in order to ensure successful outcomes and to effectively impact the stability and release behaviour of the delivery systems.

There are several categories of microcapsules, including gold particles, solid lipid particles, polymeric particles, micelle, liposome as well as many other variations. These diverse varieties are produced by a series of microencapsulation procedures. Figure 3 <sup>[19]</sup> depicts a schematic depiction of the aforementioned systems.



**Figure 3.** Common types of microcapsules <sup>[19]</sup>

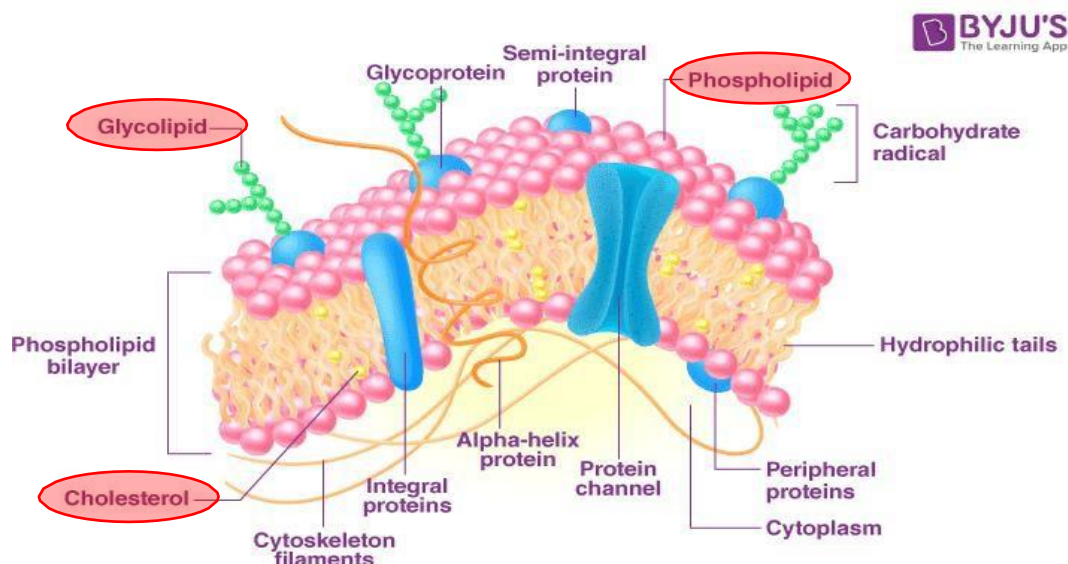
## 1.2. Gangliosides

At this point, the potential and relevance of microencapsulation has been identified, particularly as a solution to challenges in drug delivery and solubility. This part of the thesis will provide a thorough look of gangliosides, focusing on GM1 gangliosides. Furthermore, I will review two distinct kinds of anticancer drugs, evaluating their structures as well as gangliosides opportunity to encapsulate them within the micellar structure.

### 1.2.1. The lipid nature of gangliosides

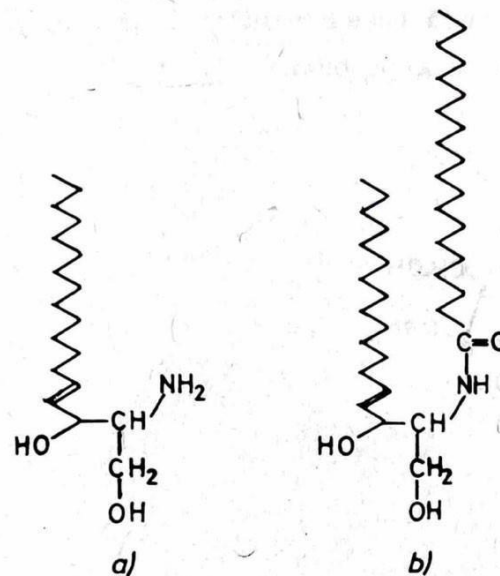
Lipids are a well-documented and extensively researched component of cellular membranes. These membrane lipids are primarily synthesized within the endoplasmic reticulum and are subsequently transported through various pathways to the Golgi apparatus. It is within the Golgi apparatus that these lipids become integrated into the cellular membrane alongside proteins. Furthermore, the Golgi apparatus serves as the site for glycosylation processes involving membrane lipids and proteins, leading to the production of glycolipids and glycoproteins. Notably, the presence of sialyltransferases within the Golgi apparatus suggests that sialic acid exhibits a binding affinity toward membrane glycolipids and glycoproteins in this particular organelle [20][21].

Biological membranes are comprised of a variety of lipid types, including phospholipids (categorized into: glycerophospholipids and sphingophospholipids), glycolipids and cholesterol [22] as illustrated in Figure 4 [23].



*Figure 4. The membrane lipids [23]*

Sphingophospholipids, in particular, stand out due to the presence of sphingosine (a), a long-chain amino-di-alcohol, as the backbone instead of glycerol. The conjugating long-chain fatty acid molecules with the amino group of sphingosines results in the formation of the ceramides (b), producing the N-acyl derivatives of sphingosine as shown in Figure 5 [21].

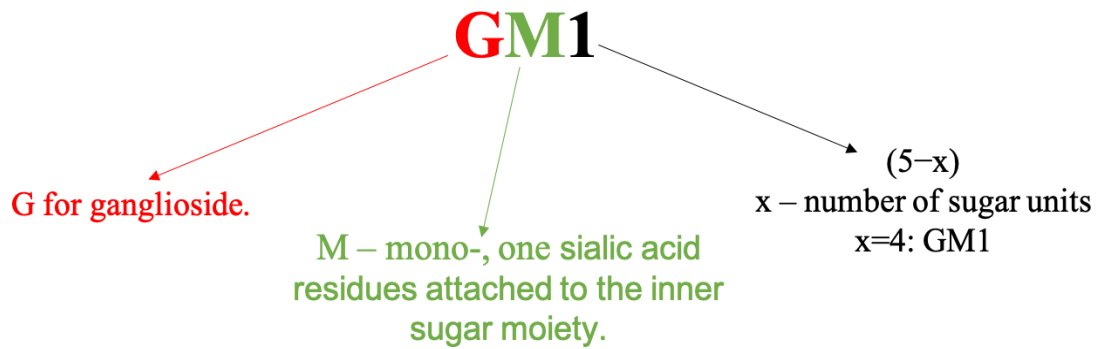


**Figure 5.** The chemical structure of a) sphingosine; b) ceramide [21]

Glycolipids, specifically glycosphingolipids, are categorized as derivatives of ceramide [25]. These glycolipids possess a unique hydrophilic region, represented by a carbohydrate moiety, which is connected to a primary alcoholic hydroxide group through a glycosidic linkage. Glycolipids can be further categorized into two primary groups: neutral glycolipids and gangliosides [21].

In the context of gangliosides, the inclusion of one or more sialic acid molecules contributes to the composition of those neutral glycolipids [25]. The mother-molecule sialic acid is systematically termed 5-amino-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-ulosonic acid, as it does not exist in free form in nature due to its rapid cyclization into an internal Schiff base [26].

Svennerholm's classification system is a widely adopted scheme for categorizing gangliosides. This system defines ganglioside nomenclature based on the number of sialic acid residues (M, D, T and Q for mono, di, tri and tetra respectively), the number of sugar groups (represented by: "five minus the chain length") and the number of sialic acid residues on the inner galactose group (none = 0, a = 1, b = 2 or c = 3) [25][27]. The name structure of GM1 ganglioside is depicted in Figure 6 for clarity.

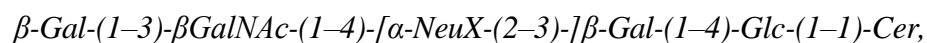


**Figure 6.** Ganglioside name structure

Gangliosides are notably abundant in the brain and various neuronal structures. Moreover, they are prevalent in the cell membranes of diverse organs, such as the liver, adrenal gland, kidney, lung, eye lens, placenta and all blood cells [21]. Moreover, gangliosides are identified as cancer-associated antigens and are overexpressed in cancer tumours [28]. They have attracted the attention of several researchers due to its prominent role in the etiology, cancer and potential treatment of Parkinson’s disease [29].

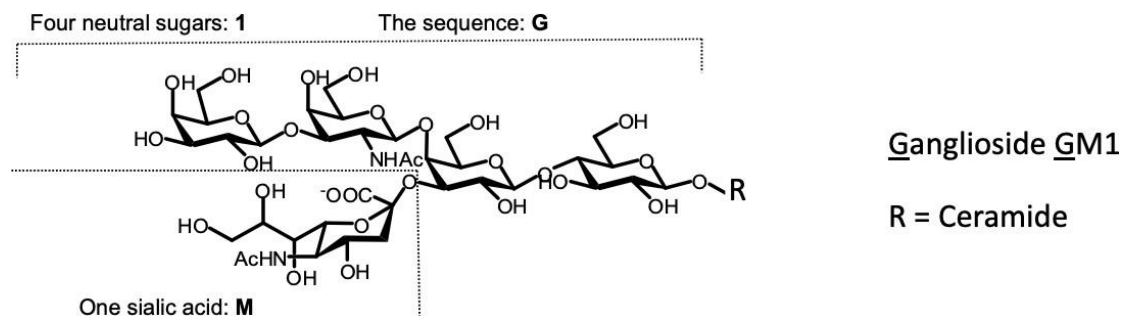
### 1.2.2. GM1 gangliosides

GM1 is a monosialo-glycosphingolipid which belongs to the gangliotetrahexosyl group with formula:



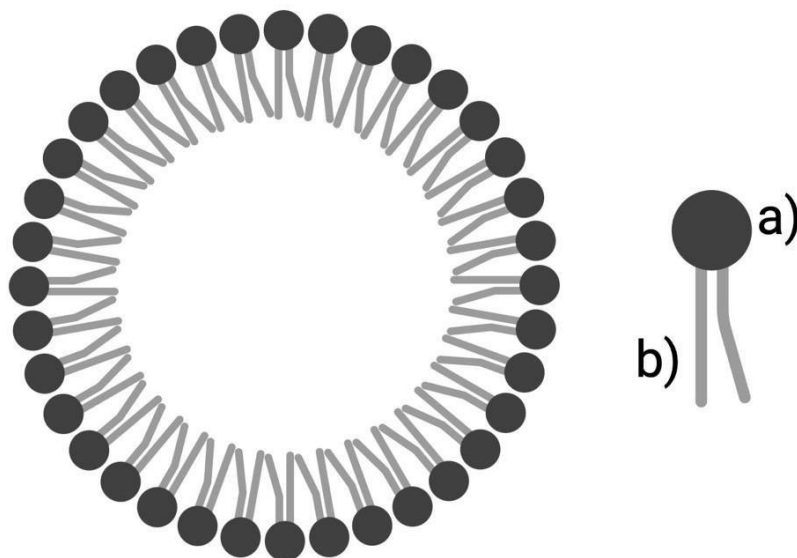
where *Gal*, *GalNAc*, *Glc* and *Cer* are for galactose, galactosamine, glucose and ceramide respectively. “*NeuX*” in this formula signifies any sialic acid structure, according to the IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) [30][31].

Monosialic GM1 ganglioside, as shown in Figure 7, is predominantly found in the plasma membrane, where two hydrocarbon chains anchor ganglioside as a part of ceramide moiety [32][33].



**Figure 7.** Chemical structure of GM1 ganglioside [30]

Due to the lipid nature of gangliosides, their molecule is composed of two parts: a polar "head" region (a), which can have an electric charge, and a nonpolar elongated hydrocarbon region (b), as illustrated in Figure 8. In all lipids, the polar component is either negatively charged or electrically neutral.



**Figure 8.** Schematic structure of micelle

GM1 gangliosides are amphiphilic compounds with both hydrophilic and hydrophobic moiety. As a result of these particular characteristics, they exhibit solubility in water<sup>[34]</sup> and spontaneously assemble into membranous structures. The broad hydrophilic head determines the shape of the GM1 monomer. It forms tiny ellipsoidal micelles, sometimes termed toroidal-like micelles. Both experimental and theoretical determinations place the critical micelle concentration (c.m.c.) of GM1 micelles in a range of  $10^{-8}$ – $10^{-9}$  M<sup>[30]</sup>.

In cancer treatment the expression levels of GM1 are primarily controlled by glycosyltransferases. Generally, cancer cell signalling and development are coupled with glycosylation alterations, including changes in the surface-expressed gangliosides<sup>[35]</sup>. GM1 gangliosides were found to be able to recover the damaged nervous system as well.

Notably, scientific articles by Zou, D. and colleagues<sup>[36]</sup> and Yin, Y. et al<sup>[37]</sup> discuss the ability of GM1 gangliosides to cross the blood-brain barrier (BBB). The BBB is a selective barrier that separates circulating blood from extracellular fluid in the brain. These studies center on the penetration of the BBB by ganglioside micelles. The primary objective of these investigations was to develop a DDS capable traversing the BBB for central nervous system administration. The experimental results revealed that the model drug encapsulated with ganglioside GM1 achieved high loading and encapsulation efficiency<sup>[36]</sup>. In physiological

circumstances, the *in vitro* investigation indicated gradual and sustained drug release. Moreover, the biodistribution imaging conducted on mice demonstrated that the micelles containing the medication were efficiently accumulated and dispersed throughout the brain in a consistent and long-lasting way. Drug-loaded GM1 micelles might cross the BBB and reach the brain, according to experiments on zebrafish and mice as well. After delivering drug-loaded micelles to the rats, the median survival time was considerably increased across all treatment groups <sup>[37]</sup>.

Gangliosides have demonstrated potential as effective carriers for specific chemotherapy drugs. Their favorable attributes, such as size and composition, make them potential candidates for functioning as controlled and targeted drug carriers that are compatible with biological systems.

### **1.3. Drug microencapsulation with GM1 gangliosides**

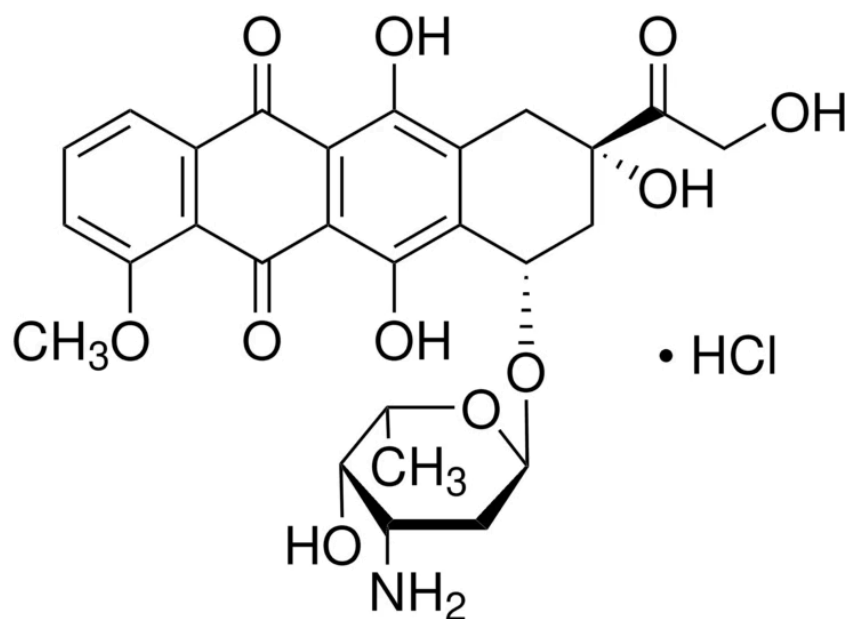
The current chapter will focus on the practical implementation of the microencapsulation of anticancer drugs such as doxorubicin-hydrochloride and paclitaxel by gangliosides. However, it will be preceded by the brief overview of the chemical and physical properties of the medications, their mechanism of action and administration.

#### **1.3.1. Anticancer drugs**

As previously stated, GM1 gangliosides have been investigated in clinical studies as potential carriers for medication delivery. Micelles often serve as carriers for chemicals, thereby increasing the solubility of medications. Upon delivery to the designated site, for example tumour, the micelles have the capable to disassemble and release their content <sup>[36][37]</sup>. The objective of this thesis is to utilize GM1 gangliosides and two distinct anticancer drugs in the form of self-assembled micelles for the efficient drug delivery.

### 1.3.1.1 Doxorubicin-hydrochloride (DOX-HCl)

DOX-HCl depicted in Figure 9 is classified as an anthracycline antitumor antibiotic, which functions by impeding the activity of DNA topoisomerase II by the initiation of double-stranded DNA breaks. DOX-HCl has its inhibitory effect on nucleic acid synthesis and promotes apoptosis by intercalating into DNA, hence promoting the accumulation of the tumour suppressor protein [38]. The method by which doxorubicin hydrochloride exerts its effects based on its capacity to intercalate inside the base pairs of DNA, resulting in the induction of DNA damage specifically in cancerous cells [38][39].



**Figure 9.** Chemical structure of doxorubicin hydrochloride [40]

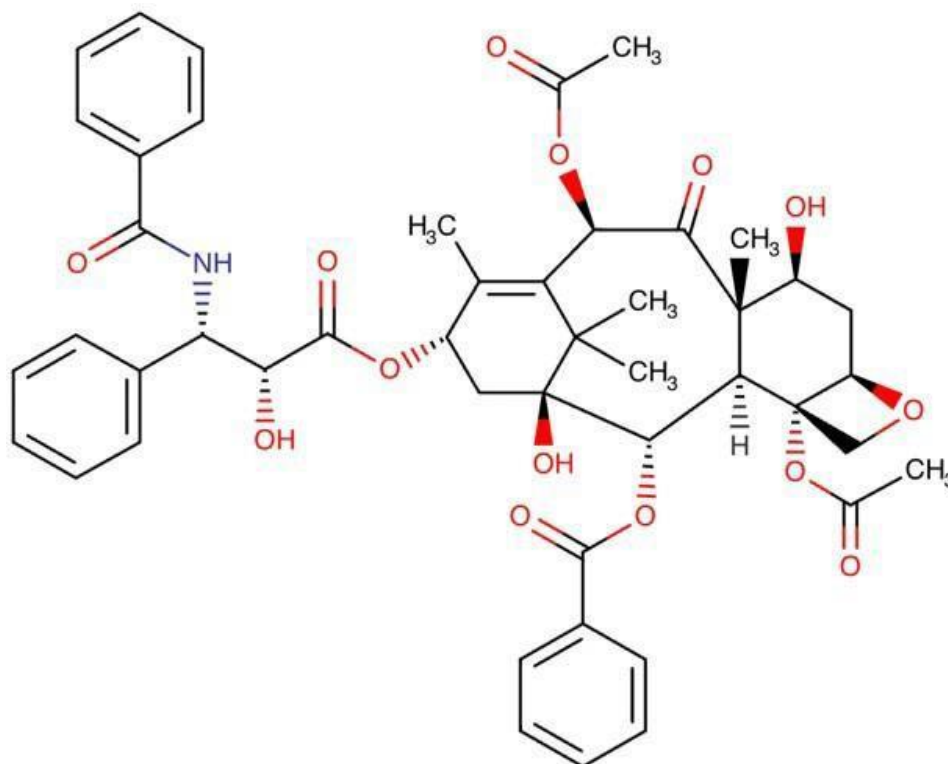
The potential lethal impact of DOX-HCl on malignant cells, as well as its adverse effects on different organs, are believed to be associated with the activities of nucleotide base intercalation and cell membrane lipid binding exhibited by doxorubicin. The process of intercalation has the capacity to impede the replication of nucleotides as well as the functioning of DNA and RNA polymerases [41].

The administration of doxorubicin hydrochloride typically involves intravenous delivery by either a bolus injection or an infusion. The optimal dose of the drug is subject to variation based on the specific cancer type under treatment and the unique parameters of the patient [42]. Doxorubicin-HCl is used for the treatment of such diseases as acute lymphoblastic leukaemia, acute myeloblastic leukaemia, Hodgkin lymphoma, non-Hodgkin lymphoma (NHL), metastatic breast cancer, metastatic Wilms' tumour, metastatic neuroblastoma metastatic, soft tissue sarcoma and many others [41].

In the investigation conducted by Zou et al. (2017) [36] from Newcastle University, a novel DDS was developed. This system employed ganglioside micelles loaded with doxorubicin, which exhibited the ability to traverse the blood-brain barrier. Consequently, the delivery of therapeutic agents to brain tumour tissue was facilitated, resulting in notable anticancer effects and nerve regeneration in glioma. According to Zou and colleagues (2017), there are significant obstacles associated with the administration of therapeutic medications to brain tumour tissue, mostly due to the presence of the BBB. The utilization of ganglioside GM1 micelles as a carriers for doxorubicin resulted in a loading efficiency of up to 9.33% and an encapsulation efficiency of 97.05%. In the conducted zebrafish trials, it was shown that the micelles demonstrated efficient cellular transportation and were able to successfully traverse the blood-brain barrier. The results of in vivo imaging demonstrated a prolonged and consistent build-up of the micelles within the brain. The study further exhibited gradual and enduring drug release under physiological circumstances [36].

### 1.3.1.2 Paclitaxel (PTX)

Paclitaxel, a chemotherapeutic agent, is employed in the treatment of diverse malignancies such as ovarian, breast, lung, bladder, prostate, melanoma and other solid tumour cancers, in addition to Kaposi's sarcoma [43]. It is a naturally occurring diterpenoid shown in Figure 10.



**Figure 10.** Chemical structure of paclitaxel [45]

Originally it is isolated from the bark of *Taxus brevifolia* with a chemical name 5beta,20-Epoxy-1,2-alpha,4,7beta,10beta,13alpha-hexahydroxytax-11-en-9-one 4,10-diacetate 2-benzoate 13-ester with (2R,3S)-N-benzoyl-3-phenylisoserine <sup>[44][45]</sup>.

This drug functions as a mitotic inhibitor, specifically targeting tubulin, a protein responsible for the formation of cellular microtubule structures <sup>[46]</sup>. The mechanism by which PTX exerts its effects can be elucidated through the following sequential steps:

- Paclitaxel has binding affinity towards the beta subunit of tubulin, hence facilitating the polymerization process of microtubules by the aggregation of tubulin dimers.
- The process of stabilizing microtubules is achieved by the prevention of depolymerization. This results in an excessive stabilization of their structure, so impairing the capacity of cells to utilize its cytoskeleton with flexibility.
- Consequently, this hinders the progression of the late G2 phase and inhibits cellular reproduction <sup>[46]</sup>.

Paclitaxel has been administered at various dosages and schedules in patients who have had chemotherapy for ovarian cancer. Nevertheless, the most effective treatment regimen has not been definitively determined.

The most significant advantage of nanocarriers for PTX delivery is that nanoparticles can increase the solubility of the hydrophobic drug, and due to their small size and high permeability, they facilitate drug delivery to the tumour <sup>[44]</sup>.

In a study conducted by Leonhard, V. (2012) and her research team <sup>[47]</sup> from the Universidad Católica de Córdoba, it was reported that the solubilization capacity of GM1 micelles exhibited an increase when the polar head group underwent dehydration. The study focused on the utilization of self-assembled micelles of monosialogangliosides as nanodelivery vehicles for taxanes. The inclusion of paclitaxel within GM1 micelles resulted in an enhancement of its solubility in water. The incorporation of paclitaxel into the micelle caused the structural rearrangement that provided protection against hydrolysis. Furthermore, the mixed micelles exhibited stability and did not elicit hemolysis or platelet aggregation <sup>[47]</sup>.

## 2. Aims

Monosialoganglioside GM1 has been identified as a potentially advantageous solution for enhancing the delivery of anticancer drugs. Nevertheless, the therapeutic use of this compound is limited as a result of its amphiphilic properties, therefore requiring more research and analysis.

The primary objectives of this thesis are to accomplish the following key goals:

1. **Assessment of nanomicelle stability:** one of the aims is to examine the chemical and physical stability of nanomicelles produced from GM1 gangliosides. As nanomicelles play a vital role in DDS they are required to retain their structural integrity throughout diverse environments. It is essential to mention that the GM1 ganglioside utilized in this study was produced by *Carbocode GmbH* from their components in contrast with the studies available in the scientific literatures, which investigated GM1 gained from the brain of animals. The synthetic GM1 has the potential to obtain permission for human use, while the one from animals have not had a chance to obtain it.
2. **Development of the DDS:** the second goal of this work is to elaborate the self-assembled micelles with the ability to transport anticancer agents across the BBB. The utilization of nanomicelles has promise for transforming cancer therapy via facilitating targeted drug administration to the brain. Nevertheless, more improvements are necessary to enhance the safety and effectiveness of their development.
3. **Characterization of nanomicelle properties:** another aim is to examine the characteristics of nanomicelles and various parameters. A comprehension of the essential attributes of these pharmaceutical carriers is vital for their efficient use in the context of delivering anticancer drugs.

This research is particularly focused on the interaction between GM1 and two model drugs: doxorubicin-hydrochloride and paclitaxel. The goal is to investigate how GM1 interacts with pharmaceuticals with both hydrophilic and hydrophobic properties. The study encompasses an analysis of the physical, chemical, and drug release properties of the developed ganglioside nanomicelles.

The primary aim of this study is to address the key challenges associated with using GM1 gangliosides as carriers for anticancer medications. Furthermore, this research aims to make a contribution to the advancement of drug delivery systems that specifically target tumours, offering the potential for improved cancer treatments.

### **3. Methods, materials and tools**

GM1 ganglioside powder was kindly provided by *Carbocode GmbH* (Konstanz, Germany). Doxorubicin-hydrochloride was purchased from *Active Biochem* (Hong Kong, PRC), as well as paclitaxel was provided by *Chemgood LLC* (Glen Allen, VA, USA). NaCl and DMSO were obtained from *Sigma Aldrich* (Saint Louis, MO, USA).

#### **3.1. Drug encapsulation by nanomicelles**

The first step of the encapsulating process of anticancer drugs began with the preparation of the GM1-NaCl solution. A solution of GM1 at a concentration of 50 mg/ml was prepared in 0.1M NaCl. The decision to use this salt concentration was supported by preliminary experiments, which revealed that the formation of micelles is highly dependent on the salt concentration. Though, the effective dissolution of GM1 in MilliQ water took place, further measurement revealed, that the generation of micelles did not take place in the absence of an adequate salt amount. The GM1 solution was prepared by measuring the GM1 powder and adding the respective volume of 0.1 M NaCl and therefore followed by stirring at room temperature until complete dissolution. The GM1 nanomicelles form by self-assembly at a suitable salt concentration. The GM1-NaCl solution preparation was followed by encapsulation of the anticancer drugs.

Three solutions with different concentrations were prepared in the pursuit of finding the optimal and essential concentration for encapsulation of Doxorubicin-HCl. DOX-HCl can be easily dissolved in the GM1-NaCl solution due to its high water solubility. A solution of GM1 with a concentration of 50 mg/ml was prepared in 0.1 M NaCl solution, afterwards 5, 11 and 20 mg DOX-HCl was dissolved in it.

Similar to the DOX-HCl, PTX encapsulation was assessed at various concentrations to determine the most suitable concentration. Due to the hydrophobic nature of the PTX, it was first dissolved in DMSO before evaluating its solubility. Three different solutions were prepared by dissolving PTX in DMSO at a concentration of 10, 25 and 50 mg/ml. These solutions were then added to the pre-prepared 50 mg/ml GM1 in 0.1 M NaCl solution at a ratio of 1:10 of PTX-DMSO to GM1 in NaCl solution, and stirred until complete dissolution at room temperature. Subsequently, it was stored in the refrigerator for upcoming experiments.

To ensure that the drugs were present in the GM1 micelles and to remove the free drug, and DMSO in case of PTX microencapsulation, the solutions were dialyzed (Figure 11)

overnight using a 3.5 kDa cutoff membrane against ~100-fold volume 0.1 M NaCl. After 4 hours, the dialysis medium was replaced with new one of the same volume.



*Figure 11. Membrane dialysis*

Once the samples were appropriately prepared and thoroughly mixed, they were then kept in a refrigerator. Following this, measurements were conducted to determine the size distribution of nanomicelles and their zeta potential (ZP). Additionally, scanning/transmission electron microscopy (S/TEM) analysis and drug release were performed.

### **3.2. Dynamic Light Scattering (DLS)**

The size distribution and ZP were measured to assess the dimensions of the micelles and ascertain their suitability for crossing the BBB.

Dynamic light scattering (DLS) measurements exploit the interaction of light and particles. If the size of the particle is smaller than the wavelength, the scattered light propagates in all directions. However, because of Brownian motion, the number of scattering centres in the observed region of space is constantly changing, and therefore the intensity of the of scattered light is changing as well.

The theoretical background of the DLS technique employed by the Zetasizer Nano is rooted in the correlation between the rate of decay, diffusion constant, Einstein-Stokes equation and the computation of the polydispersity index (PdI).

The rate of decay has a correlation with the dimensions of the particles under observation, whereby smaller particles have higher velocities and larger particles exhibit slower motion

according to Brownian motion. The rate at which the correlation function decays is significantly higher for small particles compared to large particles <sup>[48]</sup>.

The Einstein-Stokes equation establishes the correlation between the dimensions of a particle and its velocity resulting from Brownian motion. Larger particles exhibit a slower rate of movement, whilst smaller particles demonstrate a comparatively faster motion <sup>[48]</sup>.

The PDI is determined through the utilisation of algorithms that extract the rates of decay for various size classes, resulting in the generation of a size distribution. The fundamental outcome derived from a dynamic light scattering measurement is the intensity distribution, which may be transformed into a volume distribution by applying Mie theory <sup>[48]</sup>.

### 3.2.1. Nanomicelle size distribution

The size distribution was measured using the Malvern Zetasizer Nano-ZS and Zetasizer Pro Blue devices (Malvern, UK), which utilize the dynamic light scattering theory and operate with a He-Ne laser light source operating at a wavelength of 633 nm.

Nanomicelle size determination was carried out in the disposable cell (DTS0012) in the room temperature using DTS nano or Zetasizer Ultra-Pro ZS Xplorer softwares running under Windows OS shown in Figure 12.

A typical setup consists of the Zetasizer instrument (1) and a PC with the Zetasizer software installed (2). The sample is placed in a cell (plastic cuvette) (3) and loaded into the cell area of device (4).



**Figure 12.** Malvern Zetasizer Nano ZS device and the DTS0012 cell <sup>[48][49]</sup>

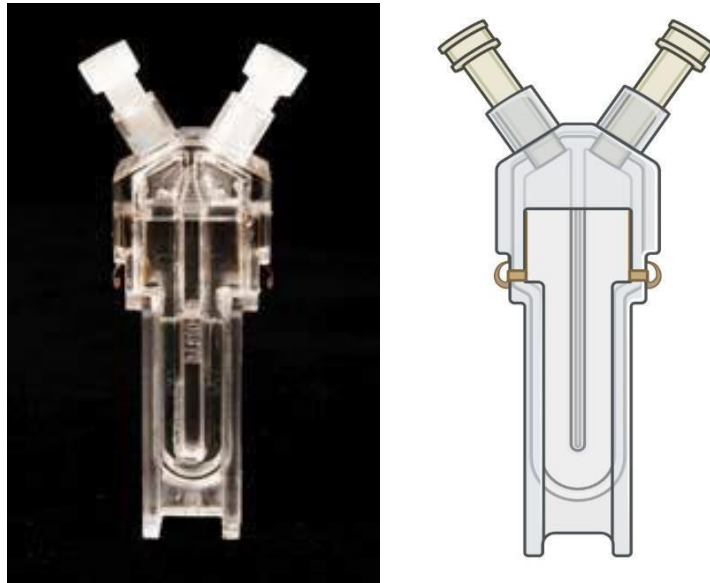
The average hydrodynamic diameter in nm and the polydispersity index (PdI) of the samples were determined. The PdI is a dimensionless number that describes the particle size distribution. It characterizes the degree of size monodispersity, or polydispersity, of a given sample. PdI measured by DLS Malvern Zetasizer devices determine the PdI between 0 and 1. A low PdI value is a representative of the monodispersity of the sample. If  $\text{PdI} > 0.3$  the sample is considered to be polydisperse. To standardise the measurements, I measured the sample according so-called measurement template, which predefined all measurement settings. These predefined measurement setting were adjusted according to the properties of the material to be measured, i.e. GM1 (absorbance = 0, RI (refractive index) = 1.4) and the dispersion medium, i.e. water (RI = 1.33). The measurement consists of several sub-measurements (runs), which allows filtering of the data. At the end of data collection, the quality of all sub-measurements is evaluated by previously mentioned [softwares](#). The number of runs is freely selectable and as the part of this thesis five sub-measurements were conducted for each experiment and the average results (by intensity) were depicted at the results part.

### **3.2.2. Zeta potential**

Zeta potential measurements hold significant importance across a diverse range of industries and applications, encompassing: stability assessment, quality control, electrostatic insights and particle behaviour analysis.

Different processes (e.g. protonation) can form electric charges on the surface of colloidal particles. These particles with a charge in solution move towards the pole with the opposite charge under the influence of an external electric field. This is the phenomenon of electrophoresis. During the measurements, particles moving in the electric field between the electrodes of the electrophoresis cell change the frequency of the light according to the magnitude and direction of their velocity (Doppler effect).

The determination of ZP for the state of charge of some samples was also carried out by a Malvern Zetasizer device utilizing DTS1070 cell depicted in Figure 13. The measurement of ZP, specifically in the context of micelle formation, can be influenced by many parameters such as ionic strength, aggregation and stability.



**Figure 13.** DTS1070 cell <sup>[19][49]</sup>

The term "ionic strength" pertains to the abundance of ions inside a solution and it has the ability to impact measurements of zeta potential by modifying the electrical double layer encompassing a particle <sup>[50][51]</sup>. At elevated levels of ionic strength, the double layer experiences compression, resulting in a reduction of the repulsive interactions among particles and consequently drop in zeta potential <sup>[50]</sup>.

Aggregation is a phenomenon characterized by the merging of particles to create bigger clusters, which might have an impact on zeta potential measurements by modifying the surface charge of the particles <sup>[50]</sup>. The process of aggregation has the potential to result in a reduction in zeta potential, since it leads to a gradual neutralization of the surface charge <sup>[50]</sup>.

Stability is defined as the capacity of a colloidal suspension to withstand the aggregation or settling over an extended period of time <sup>[52]</sup>. The determination of colloidal suspension stability relies significantly on the zeta potential, since a high absolute value of zeta potential might impede particle interactions and the subsequent formation of agglomerates or aggregates <sup>[52][53]</sup>. The preservation of micelle integrity and prevention of micelle disintegration are crucial aspects of micelle formation <sup>[52]</sup>.

As a part of this thesis one sub-measurement was conducted for each experiment and depicted at the results part.

### **3.3. S/TEM**

The NanoLab at the University of Pannonia employed an FEI Talos F200XG2 scanning/transmission electron microscope (S/TEM, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) operated at 200 keV to image the size and morphology of the GM1 micelles. These micelles were stained with phosphotungstic acid prior to imaging. The imaging was kindly conducted by Péter Pekker.

### **3.4. Drug release**

The drug release measurements fulfilled two key objectives: firstly, to verify the effective encapsulation of pharmaceuticals within the micelles and secondly, to assess the drug release in circumstances that simulate the tumour and blood microenvironments.

Firstly, the samples were dialysed as it was mentioned previously and then the identical dialysis membrane was employed for drug release measurements.

The drug release studies took place in an New Brunswick G24 Environmental Incubator Shaker maintained at a consistent temperature of 37°C and a rotational speed of 110 rpm for a duration of 7 days. This duration was selected to simulate conditions over an extended period and to assess the gradual release of drugs.

During the release, the micelle solutions were dialysed separately in two different media to represent distinct microenvironments:

- Phosphate buffered saline (PBS) was employed to mimic the conditions resembling the blood microenvironment.
- Sodium acetate buffer (pH=5.5) was used to simulate the conditions found in a tumor microenvironment.

By performing drug release measurements in these two distinct media, this research work aimed to understand how the release of drugs might vary depending on the surrounding microenvironment, which is crucial information for the targeted delivery of these therapeutic agents. The purpose of these measurements was to examine the mechanism by which encapsulated medications are delivered in the human body.

### **3.5. UV-vis spectrophotometry**

Following the dialysis/drug release of GM1 micelles, the active agents were analysed for drug encapsulation efficiency by measuring the drug concentration in both internal and external dialysis media with UV-vis spectrophotometry of the samples.

Spectrophotometric measurements of DOX-HCl were conducted using Shimadzu UV1800 UV-VIS two-beam and Thermo Scientific Multiscan SkyHigh Microplate UV-VIS spectrophotometers. This analysis was performed at 25°C, employing quartz cuvettes with a 1 cm optical path length and microplate respectively. The obtained results were processed using UVProbe software on a Windows OS platform. DOX-HCl concentration was determined on its absorbance peak at 486 nm.

For PTX spectrophotometric measurements, the Thermo Scientific Multiscan SkyHigh Microplate UV-vis spectrophotometer was utilized at room temperature. Notably, this instrument offers the capability to assess up to 96 samples in a single measurement, as illustrated in Figure 14. The absorbance was measured at 240 nm, where the GM1 absorbance was minimal, while PTX absorbance was still sufficiently high. The procedure commenced with measuring an empty plate to eliminate the plate absorbance.



**Figure 14.** *Thermo Scientific Multiscan SkyHigh UV-vis spectrophotometer microplate*

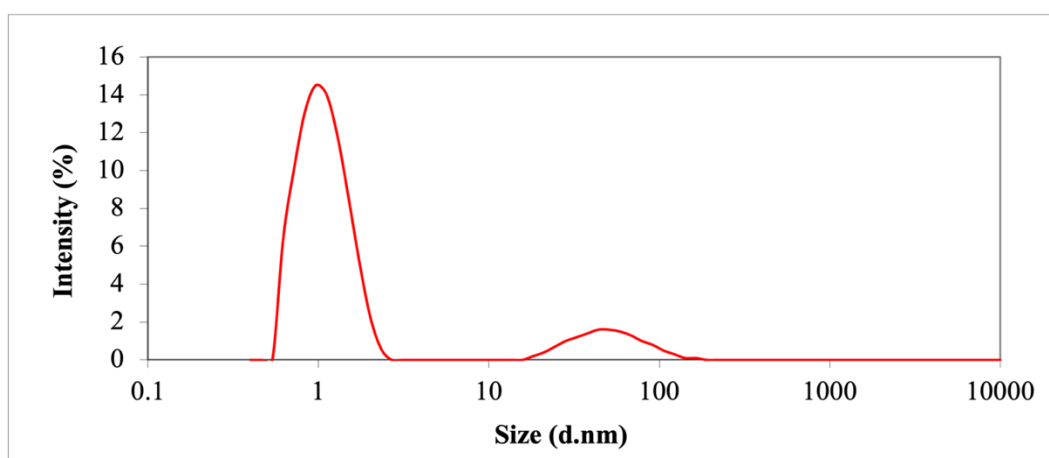
## 4. Results and discussion

### 4.1. Preliminary experiments

#### 4.1.1. Size distribution of GM1 nanomicelles

To investigate the micelle formation and identify the optimal medium, a series of preliminary experiments were conducted. These experiments aimed to assess not only micelle formation, but also the chemical and physical stability of particles in various conditions.

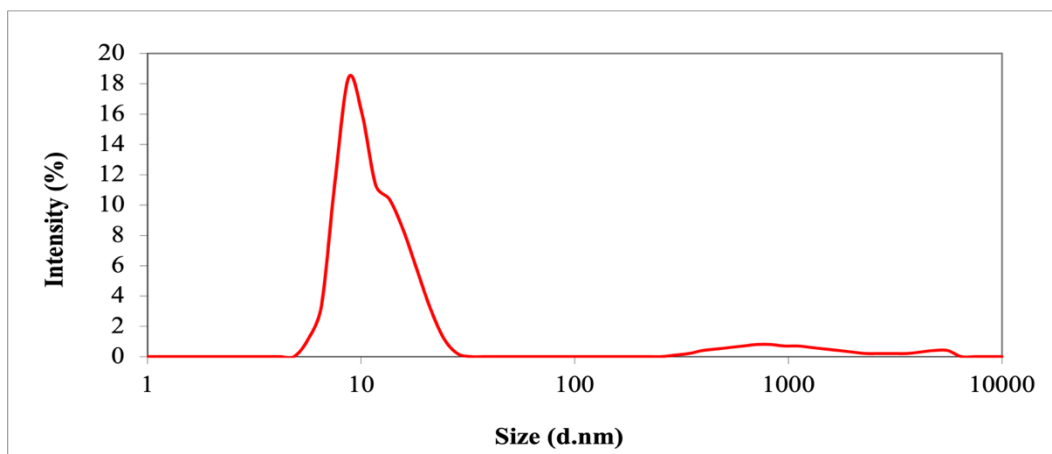
Firstly, the GM1 micelle formation was investigated in the presence of MilliQ water. 50 mg/ml and 100 mg/ml concentration GM1-MQ solutions were prepared. In both of the cases no micelle formation was observed as shown in Figure 15. The peak detected at about 1 nm and another one between 10 and 100 nm show agglomerated GM1, however, according to the literature data the nanomicelle formation of GM1 was expected to take place at 10 nm with a monodisperse monomodal distribution <sup>[47]</sup>.



**Figure 15.** Size distribution of GM1 nanomicelles by intensity in MilliQ water

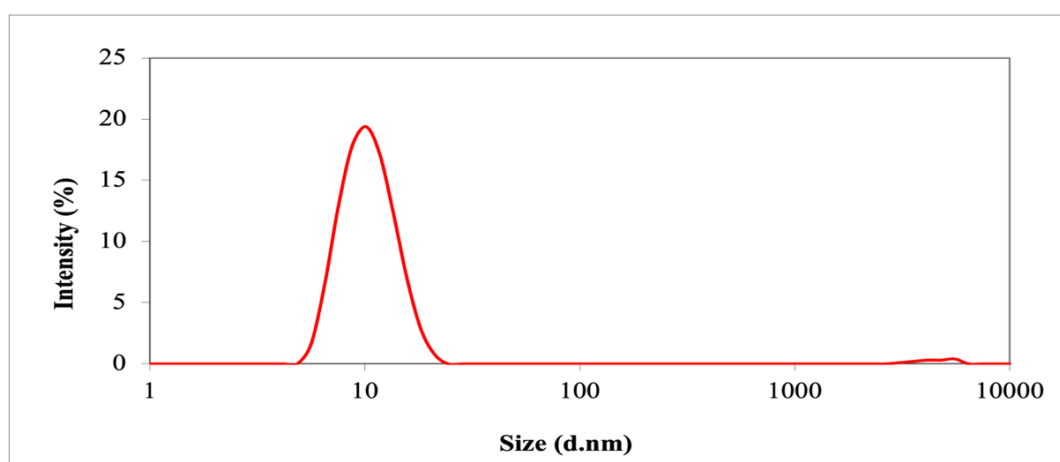
Since it was experienced that the sufficient salt amount is essential for the micelle formation a series of experiments were undertaken utilizing three different NaCl concentrations: 0.01 M, 0.05 M and 0.1 M.

In the presence of 0.01 M NaCl some difficulties occurred indicating that this amount of the salt is insufficient. Regrettably, the conducted experiments did not produce the anticipated outcomes as shown in Figure 16.



**Figure 16.** Size distribution of 50 mg/ml GM1 nanomicelles by intensity in 0.01 M NaCl solution

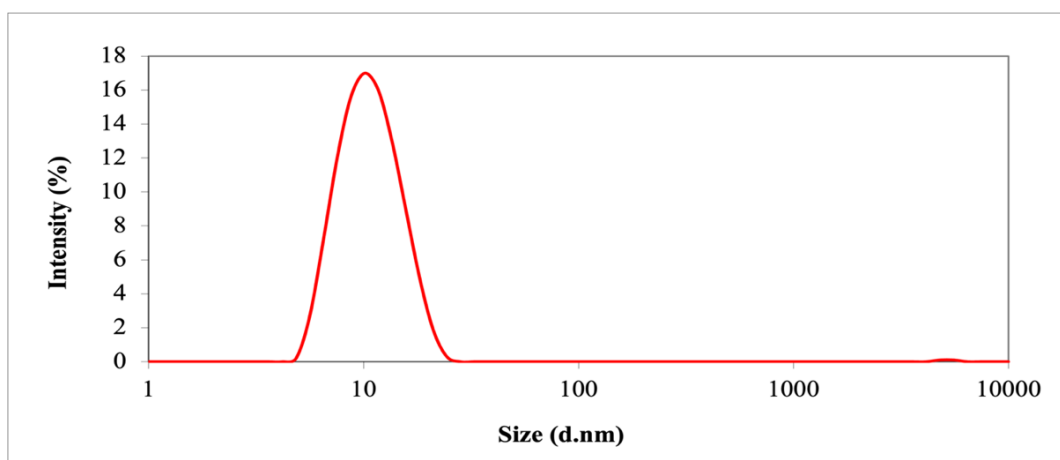
Upon transitioning to the 0.05 M NaCl solution, a noteworthy improvement was noted. The concentration resulted the effective creation of GM1 nanomicelles, characterized by a monomodal size distribution exhibiting an average diameter of 10.25 nm and a polydispersity index (PdI) of 0.180 as depicted in Figure 17. Despite the presence of the second peak, the nanomicelle size distribution maintained a monodisperse nature.



**Figure 17.** Size distribution of 50 mg/ml GM1 nanomicelles by intensity in 0.05 M NaCl solution

The most desirable size distribution was obtained at 0.1 M NaCl concentration demonstrated in Figure 18. The hydrodynamic diameter of the GM1 ganglioside nanomicelles was determined to be 10.0 nm, which aligns with the findings reported in the literature<sup>[54]</sup>. The PdI value of 0.116 indicated that the size distribution of the sample was monodisperse, as it fell

below the threshold of 0.2 often used to define monodispersity. The observed results demonstrate the successful generation of GM1 nanomicelles with a limited range of sizes.



**Figure 18.** Size distribution of 50 mg/ml GM1 nanomicelles by intensity in 0.1 M NaCl solution

Upon summarizing these results, it becomes apparent that the optimal salt concentration for the creation of GM1 micelles is 0.1 M NaCl, in conjunction with a GM1 concentration of 50 mg/ml. The aforementioned arrangement consistently yielded nanomicelles that were monodisperse, with an average nanomicelle diameter of 10 nm. Additionally, this solution revealed the presence of excellent micelle stability even after it was stored in the refrigerator for a couple of months.

To enhance comprehension and organization, in all the subsequent chapters the clear GM1 solutions will be represented in red, DOX-HCl solutions in green and PTX solutions in yellow.

#### **4.1.2. Zeta potential**

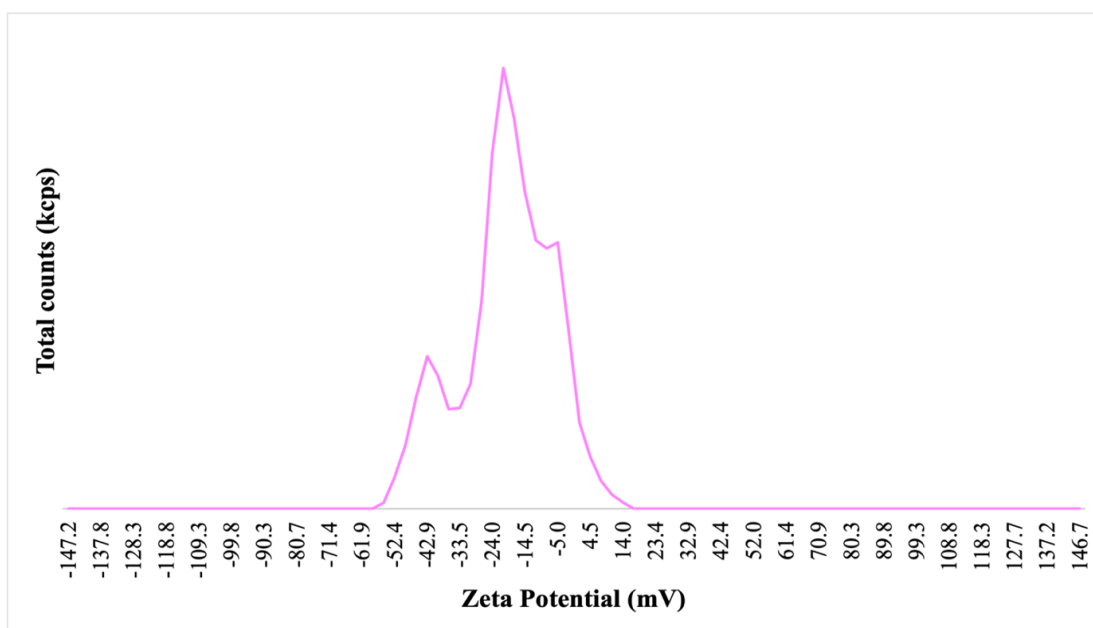
The measurement of ZP was conducted to analyse the stability and behaviour of the GM1-NaCl solution at a concentration of 50 mg/ml in 0.1 M NaCl and the obtained results are depicted in the Figure 19.

The observed ZP value of -19.93 mV indicates a substantial negative charge. It often implies the existence of electrostatic repulsion between particles in a solution. The repulsive interactions between particles act as an effective barrier, preventing aggregation and helping in the preservation of particle dispersion throughout the solution. As a result, the colloidal system's stability increases.

The conductivity parameter was determined to be 1.498 mS/cm. This result reflects the ability of the solution to promote the passage of electric charge. The obtained value implies that

the solution does not have a high degree of conductivity, which is consistent with predictions for a colloidal system mostly formed of GM1 micelles. The low conductivity is coupled with a low ion concentration in the solution, corroborating the idea that the system is colloidal and that GM1 micelles dominate the composition.

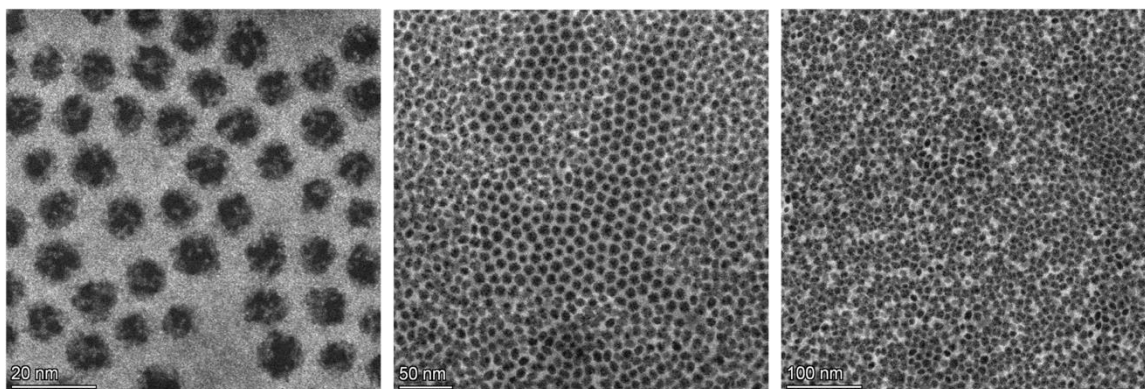
Ultimately, the quality factor was determined to be 2.081. It is related to the dependability and correctness of the outcomes. A quality factor greater than 2.0 implies that the measurements are of good quality and that the resultant zeta potential value is a credible indicator of the solution's behaviour. This observation adds to the credibility of the measured ZP.



**Figure 19.** Zeta potential distribution of 50 mg/ml GM1 nanomicelles in 0.1 M NaCl

#### 4.1.3. S/TEM analysis

The use of S/TEM proved the previously obtained DLS results. Figure 20 illustrates the use of various microscopic magnifications for better comprehension.



**Figure 20.** S/TEM image of GM1 nanomicelles

Based on the successfully obtained results, the subsequent chapters will concentrate on the encapsulation of DOX-HCl and PTX by GM1 gangliosides focusing on size distribution, zeta potential, S/TEM analysis, as well as encapsulation efficiency and drug release kinetics.

## 4.2. Doxorubicin-HCl

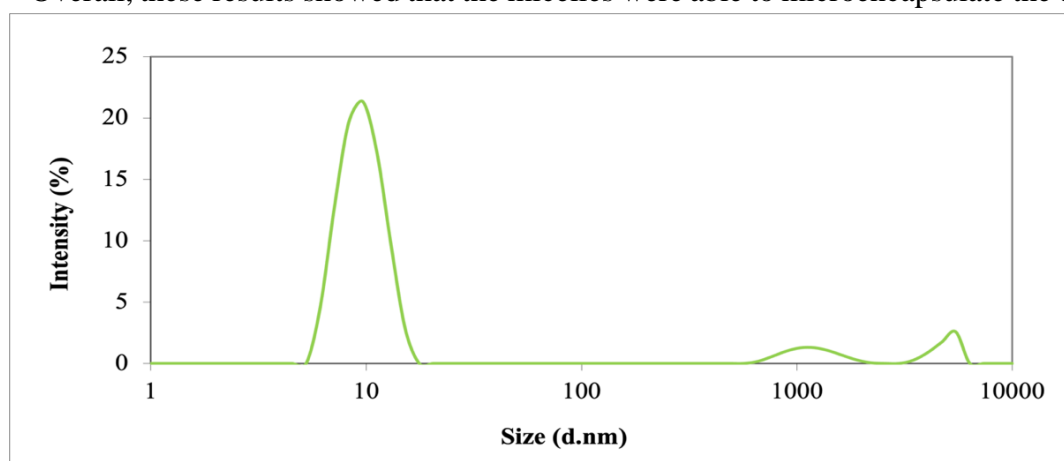
### 4.2.1. Size distribution

As stated earlier, three separate GM1-DOX solutions were prepared and then dialysed. Starting from the lowest initial concentration of 5 mg/ml, the following results were obtained.

#### 4.2.1.1 5 mg/ml DOX-HCl

The average nanomicelle diameter was determined to be 12.71 nm, which slightly exceeds the intended size range. Nevertheless, the analysis shown in Figure 21 demonstrates the presence of two minor peaks within the higher size range, perhaps influencing the observed increase in nanomicelle diameter. More detailed statistics of the sample data revealed that the mean diameter of the micelles inside the prominent peak was measured to be 9.67 nm. The PDI index, which has a value of 0.2413, also points to the existence of smaller peaks within the greater size range.

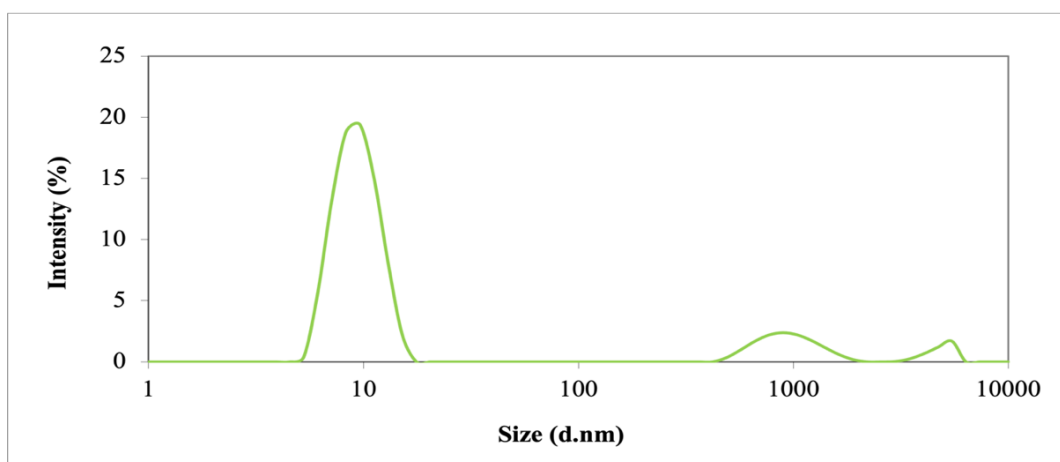
Overall, these results showed that the micelles were able to microencapsulate the drugs.



**Figure 21.** Size distribution of 5 mg/ml GM1-DOX solution by intensity in 50 mg/ml GM1-NaCl solution (0.1 M)

#### 4.2.1.2 10 mg/ml DOX-HCl

Upon increasing the initial DOX-HCl concentration to 10 mg/ml, a slight reduction in the average micelle size occurred, a trend was mirrored by the two smaller peaks as well. The average diameter of the nanomicelles was determined to be 12.18 nm, with the highest peak having a mean value of 9.45 nm, as seen in Figure 22. The PDI index value exhibited a concurrent increase to 0.3029.

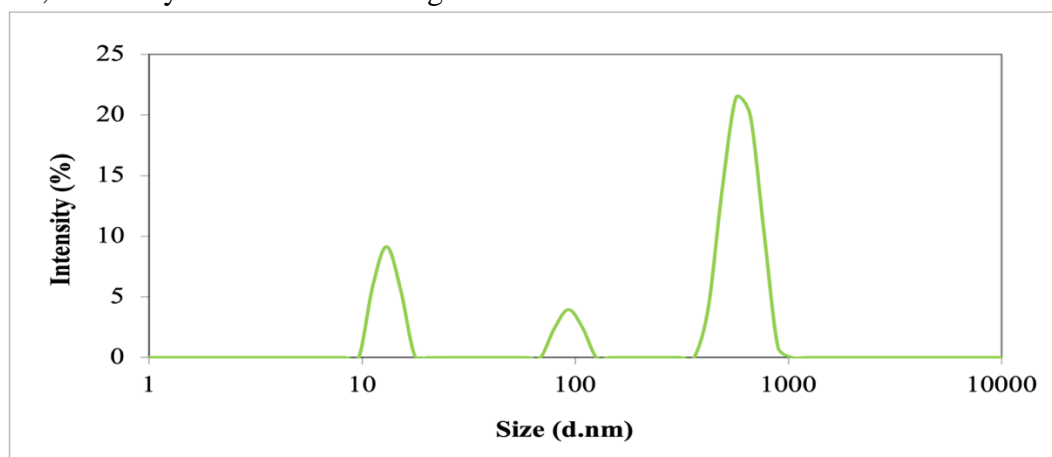


**Figure 22.** Size distribution of 10 mg/ml GM1-DOX solution by intensity in 50 mg/ml GM1-NaCl solution (0.1 M)

The observed change in size distribution might potentially indicate the development of smaller and more uniform micelles due to the elevated concentration of DOX-HCl.

#### 4.2.1.3 20 mg/ml DOX-HCl

In the case of using 20 mg of DOX-HCl, a very polydisperse size distribution was observed, as clearly demonstrated in Figure 23.



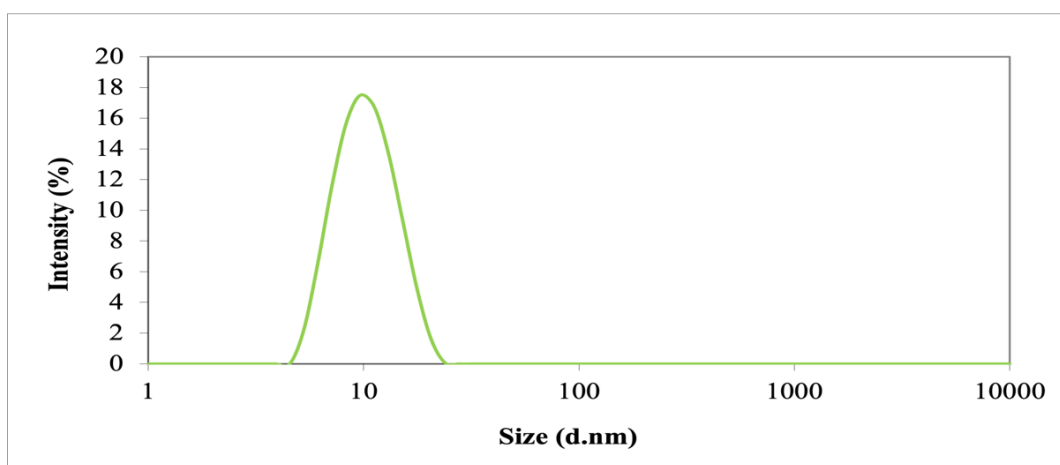
**Figure 23.** Size distribution of 20 mg/ml GM1-DOX solution by intensity in 50 mg/ml GM1-NaCl solution (0.1 M)

The mean diameter of the micelles exhibited a significant increase, reaching 3007 nm, coupled with a PDI value of 1, suggesting a very wide range of sizes within the sample. The findings clearly suggest the existence of significant aggregates and, thus, the ineffective encapsulation of the active ingredient.

Therefore, according to the results obtained, it can be concluded that the maximum applicable concentration of DOX-HCl are 5 and 10 mg/ml at a GM1 concentration of 50 mg/ml.

#### 4.2.2. Dialysis

The 5 mg/ml DOX-HCl sample was dialysis at room temperature overnight. Afterwards, the size distribution of the micelles was obtained. Figure 24 depicts a notable improvement in both the size distribution and PDI compared to those obtained previously. The average diameter of the nanomicelles was found to be 9.62 nm, with a PDI of 0.10, indicating a successful encapsulation.

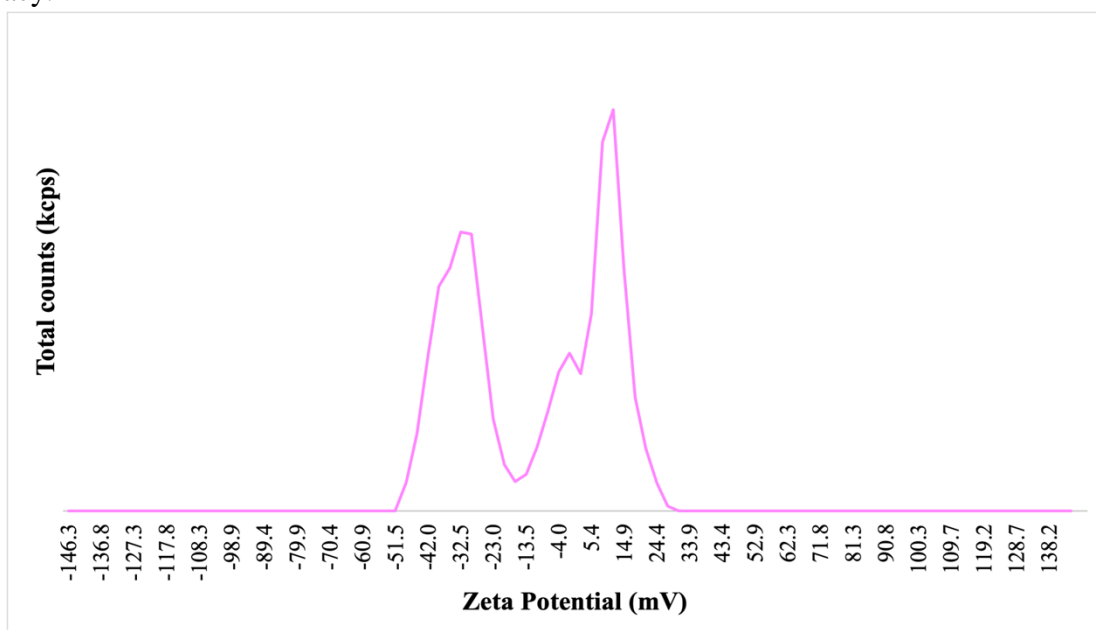


**Figure 24.** Size distribution of 5 mg/ml GM1-DOX solution by intensity after dialysis in 50 mg/ml GM1- NaCl solution (0.1 M)

#### 4.2.3. Zeta potential

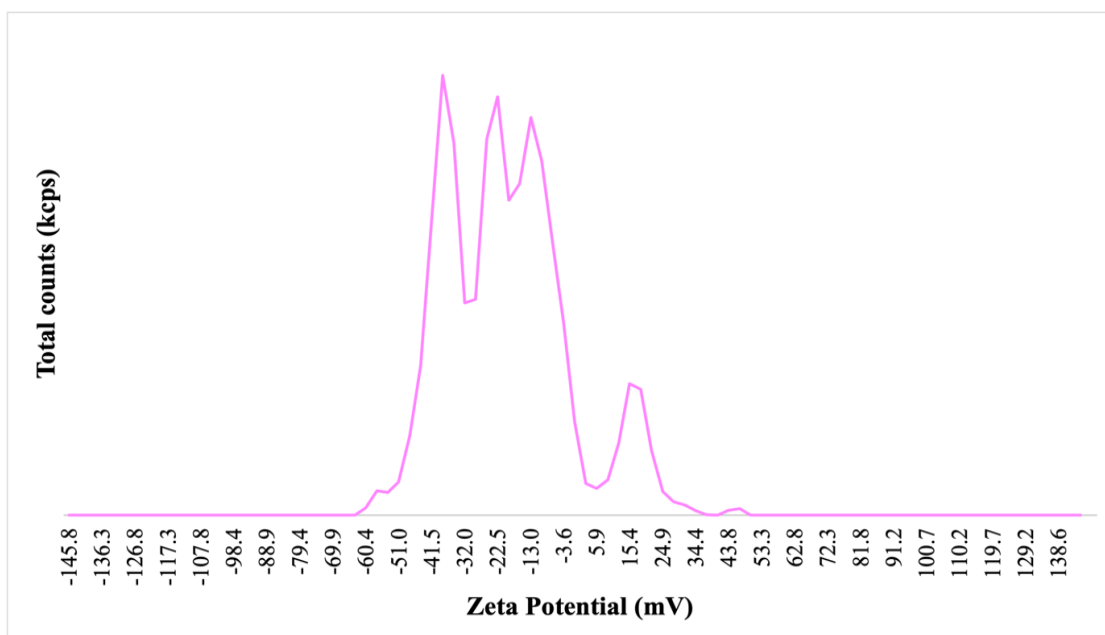
The ZP of the dialysed 5 mg/ml GM1-DOX solution was measured to assess its stability and aggregation. As illustrated in Figure 25, the data revealed a zeta of -10.79 mV, demonstrating the presence of electrostatic repulsion between particles in the solution. The measured conductivity was 1.197 mS/cm, confirming the solution's low ion concentration and

colloidal properties. Furthermore, the quality factor of 1.181 indicates appropriate measurement accuracy.



**Figure 25.** Zeta potential distribution of 5 mg/ml GM1-DOX solution after dialysis in 50 mg/ml GM1- NaCl solution (0.1 M)

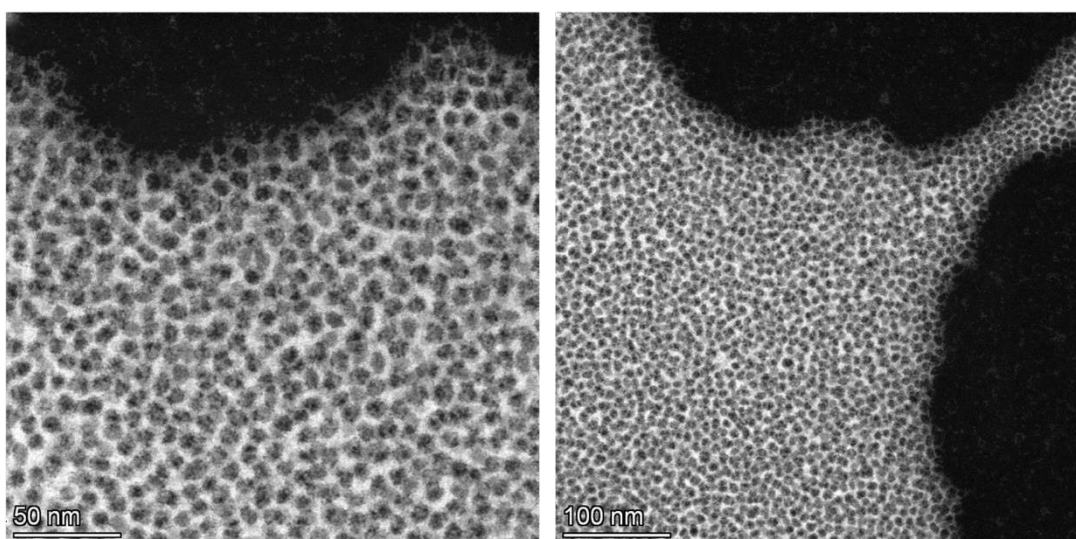
The stability and aggregation of the dialyzed 10 mg/ml GM1-DOX solution were evaluated as well. The findings demonstrated a zeta value of -20.01 mV (Figure 26), which was comparable to that of the pure GM1-NaCl solution. The observed similarity indicates the existence of electrostatic repulsion between particles in the solution, which contributes to the preservation of dispersion stability. The measured conductivity was determined to be 1.655 mS/cm, indicating the low ion concentration and colloidal characteristics of the solution. Nevertheless, the quality factor was found to be 1.688, which was below the expected value. This suggests that there is potential in improving the accuracy of the measurements.



**Figure 26.** Zeta potential distribution of 10 mg/ml GM1-DOX solution in 50 mg/ml GM1-NaCl solution (0.1 M)

#### 4.2.4. S/TEM

In order to examine the micelle morphology S/TEM analysis was conducted under [previously mentioned circumstances](#) that revealed the presence and the size of the particles (shown in Figure 27) validating the early results. The nanomicelle morphology did not substantially differ from that of GM1 nanomicelles shown in Figure 20.



**Figure 27.** S/TEM image of GM1-DOX nanomicelles

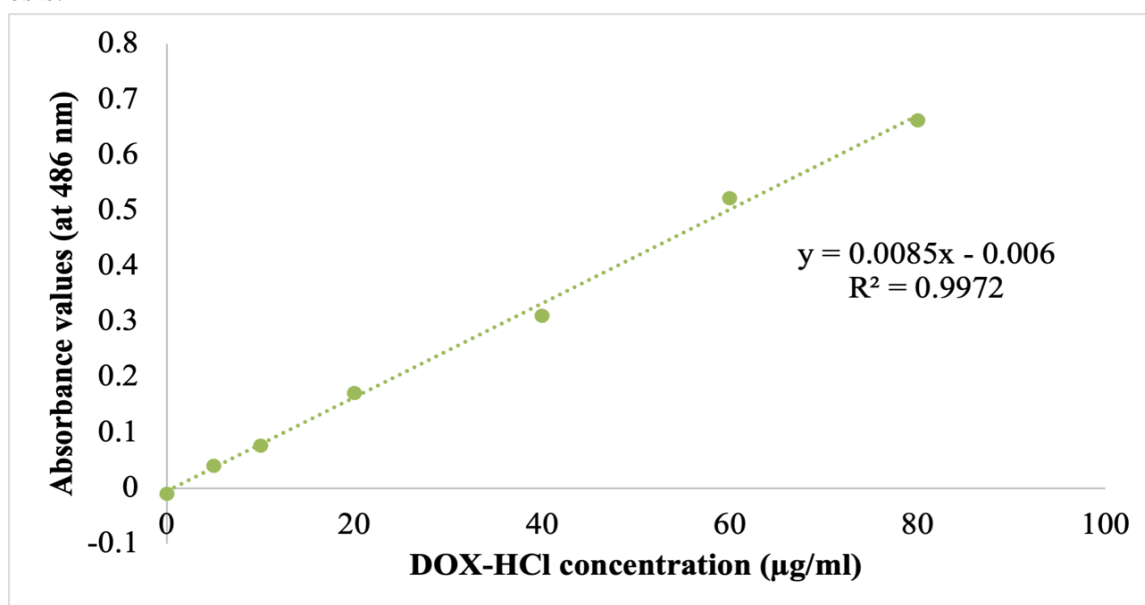
#### 4.2.5. UV-vis spectrophotometry

In order to evaluate the encapsulation efficacy of the active component, UV-vis spectrophotometry was employed to analyse the retentate and dialysate. Both samples with the concentrations of 5 mg/ml and 10 mg/ml were analysed, since the size distribution of the

micelles showed only minor differences. Therefore, a calibration curve was prepared to calculate the encapsulation efficiency.

#### 4.2.5.1 Calibration

A calibration curve for GM1-DOX was prepared in pure 0.1 M NaCl solution within the detectable linear range of 0-80  $\mu\text{g/ml}$  at the 486 nm absorbance maximum. The calibration curve is demonstrated in Figure 28, while the related spectra can be found in the appendix part of the thesis.



*Figure 28. DOX-HCl calibration curve in the 0.1 NaCl*

#### 4.2.5.2 Encapsulation efficiency

The determination of the amount of DOX-HCl in both the retentate and dialysate was accomplished by the analysis of the measured absorbance.

For the 5 mg/ml sample complete 100% encapsulation was observed, since the DOX-HCl concentration was under the detection limit in the dialysates.

The encapsulation efficiency of DOX-HCl ( $\eta_{\text{DOX}}$ ) was calculated using the following formula:

$$\eta_{\text{DOX}} = \frac{c_{\text{DOX after dialysis}}}{c_{\text{initial DOX}}} \cdot 100 \% \quad (1)$$

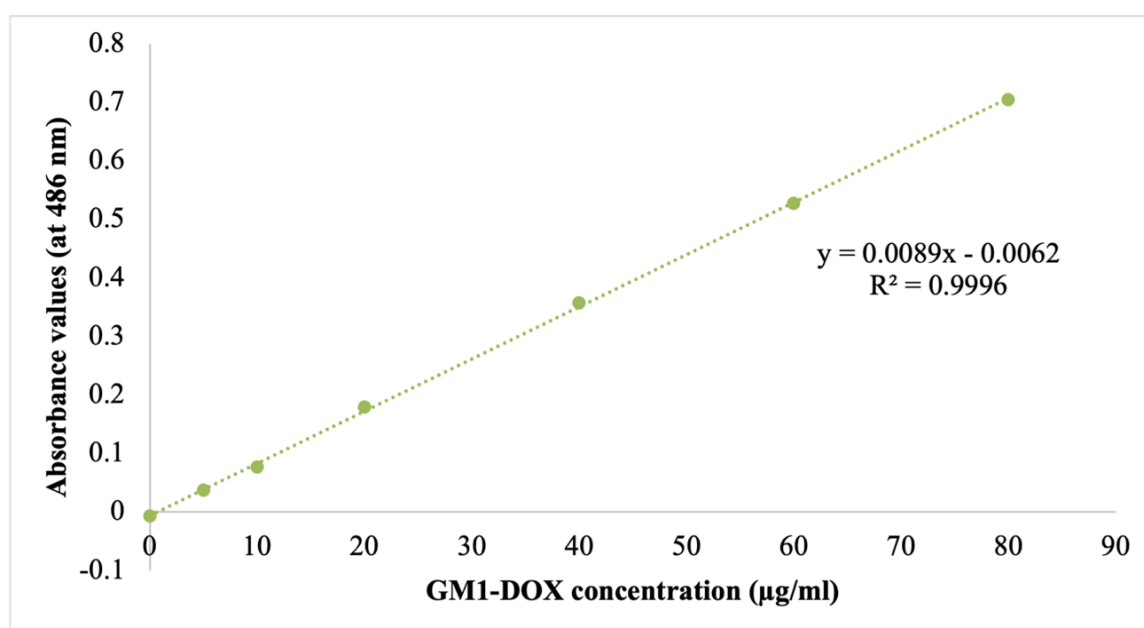
By provided equation, a notable encapsulation efficiency of 97.3% was calculated for a 10 mg/ml DOX-HCl sample prepared in 50 mg/ml GM1-NaCl.

Afterwards, the experiments were repeated multiple times to ensure a robust dataset, and consistently, the encapsulation efficiency ranged from 97.0% to 100.0% in all cases indicating higher results than those obtained in the comparable studies [20].

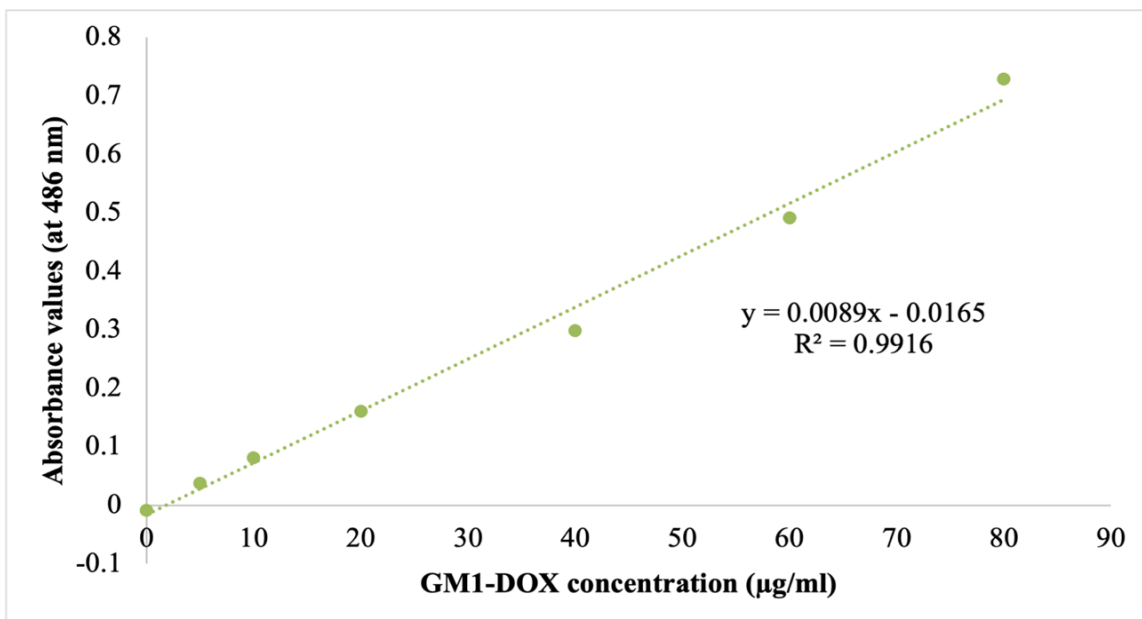
#### 4.2.6. Drug release

In order to imitate the physiological process of encapsulated medicine entering the human body - drug release experiments were performed. Ideally, in this case the medicine is administered intravenously allowing it to traverse the BBB and ultimately concentrate at the tumor area. Subsequently, the micelles would undergo decomposition as a result of the acidic pH prevailing inside the tumor and the active ingredient would liberate, enabling the selective targeting of the harmful cells.

In order to replicate different microenvironments, the samples were exposed to separate dialysis in two mediums, as mentioned previously in the 4.5 Drug release chapter. 3 parallel samples with a DOX-HCl concentration of 10 mg/ml were prepared for each medium. For both release studies, calibration curves were prepared within the detectable linear range of 0-80  $\mu\text{g/ml}$  at the 486 nm absorbance maximum. The calibration curves are demonstrated in Figure 29 and Figure 30, while the related spectrums can be found in the appendix part of the thesis.



*Figure 29. GM1-DOX calibration curve in the Na acetate buffer*

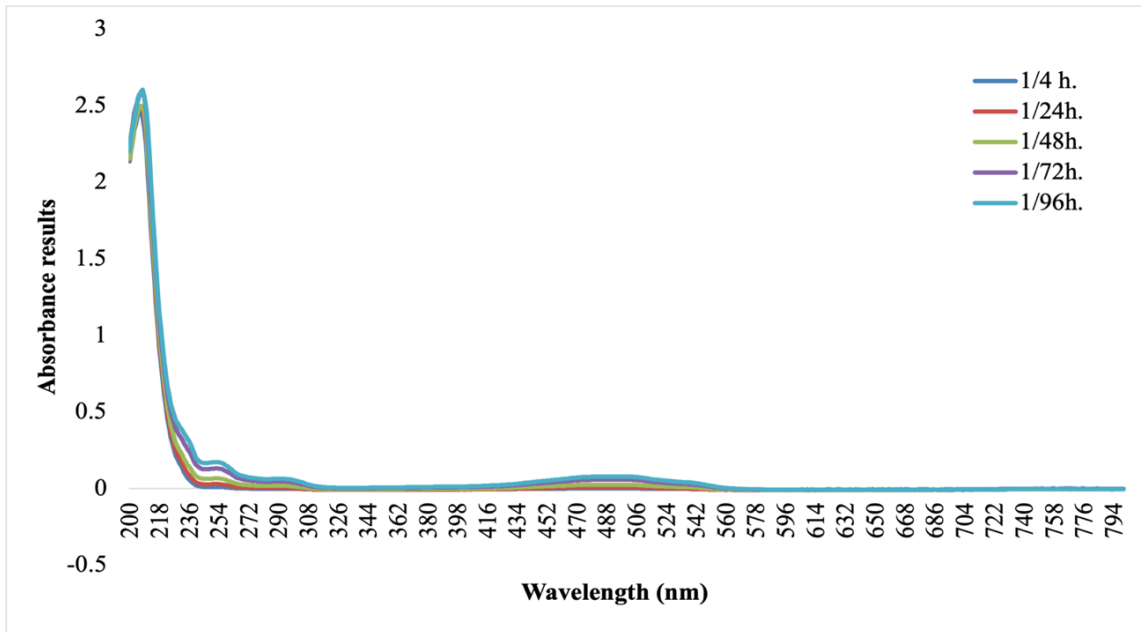


**Figure 30.** GM1-DOX calibration curve in the phosphate buffered saline

As stated earlier, the duration of the experiment was seven consecutive days. Throughout this period, dialysate samples were collected at fixed daily intervals and release mediums were replenished with an equivalent amount.

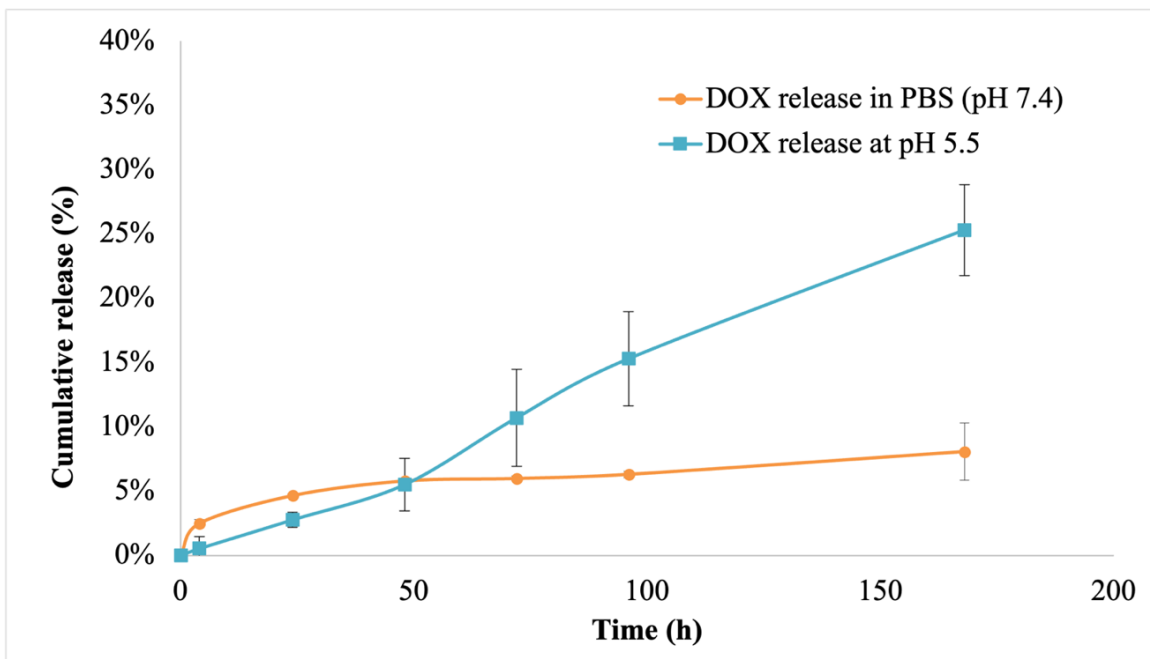
Upon the termination of the experiment, the samples were put through to UV-vis spectrophotometry and were analysed and using the calibration. The following results were obtained.

Figure 31 demonstrates the continuous release of drugs seen across all samples. The aforementioned pattern was not only found in the instance of Na acetate buffer, but also in the PBS.



**Figure 31.** Drug release spectrums

Analyzing the results displayed in Figure 32, it becomes apparent that the drug release occurred at a faster rate in the acidic medium, then in the neutral medium. These results are promising, as they align with the desired behaviour in the human body, where drug release should occur in the tumour microenvironment and not in the blood.



**Figure 32.** Cumulative drug release

For the practical use all the observed results with GM1-DOX micelles are collected in the Table 2.

*Table 2. The characteristics of GM1-DOX nanomicelles*

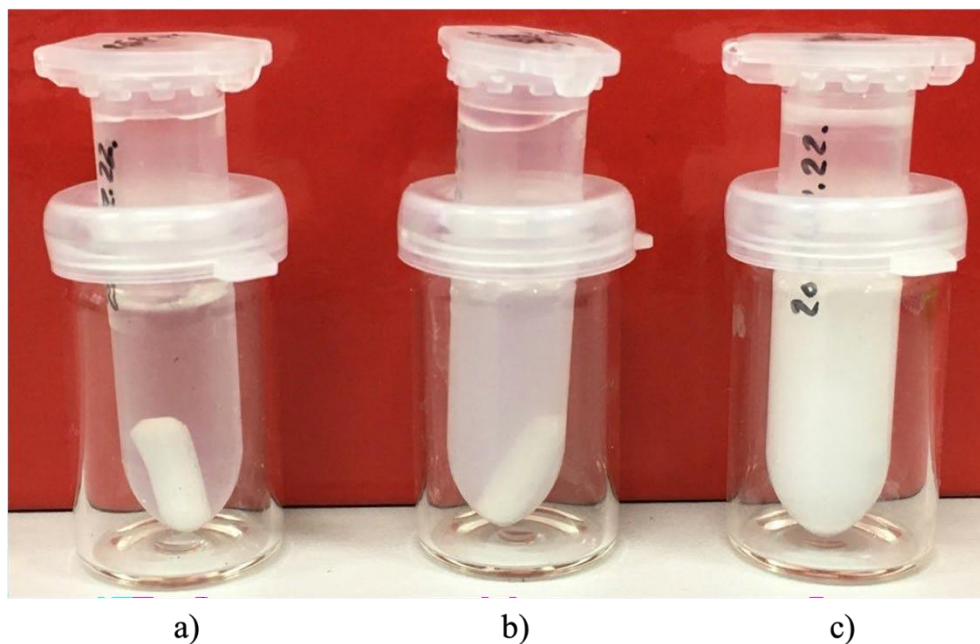
<b>Sample</b>	<b>Drug concentration (mg/ml)</b>	<b>Average Nanomicelle Diameter (nm)</b>	<b>PdI</b>	<b>ZP (mV)</b>	<b><math>\sigma</math> (mS/cm)</b>	<b>Quality Factor</b>	<b><math>\eta</math> (%)</b>
<b>5 mg/ml GM1-DOX before dialysis</b>	5	9.67	0.24			-	
<b>5 mg/ml GM1-DOX after dialysis</b>	5	9.62	0.10	-10.79	1.20	1.18	100
<b>10 mg/ml GM1-DOX</b>	10	9.45	0.30	-20.01	1.66	1.69	97.3
<b>20 mg/ml GM1-DOX</b>	20	3007	1.00			-	

### 4.3. Paclitaxel

The same measurements were conducted with the PTX to understand the relationship between GM1 gangliosides and hydrophobic anticancer drug.

#### 4.3.1. Size distribution

As previously stated, GM1-PTX solutions with three different drug concentrations were prepared. However, the solubility of PTX was found to precipitate substantially at the concentration of 10 mg/ml, as seen in Figure 33.

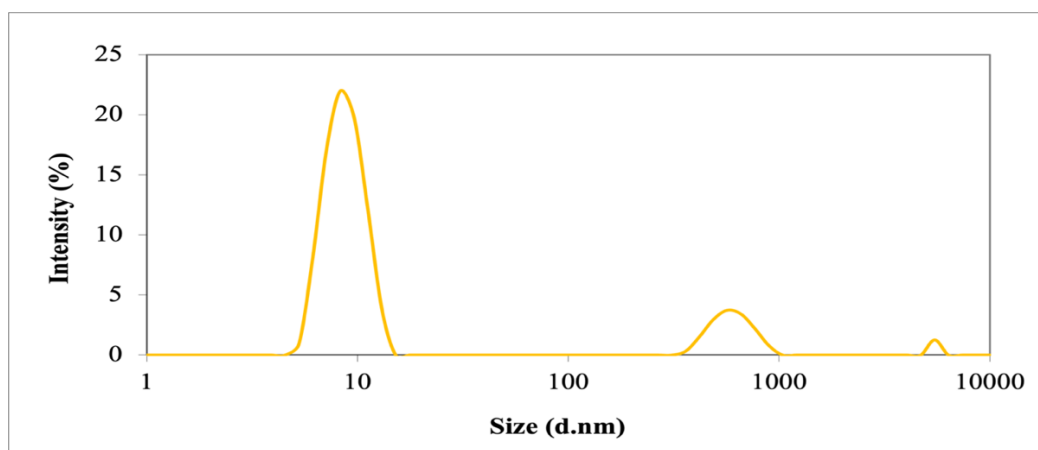


**Figure 33.** GM1-PTX solutions: a) 2.5 mg/ml; b) 5 mg/ml c) 10 mg/ml

Since such results were obtained, subsequent measurements were carried out with 2.5 mg/ml and 5 mg/ml GM1-PTX solutions starting with the lowest one.

#### 4.3.1.1 2.5 mg/ml PTX

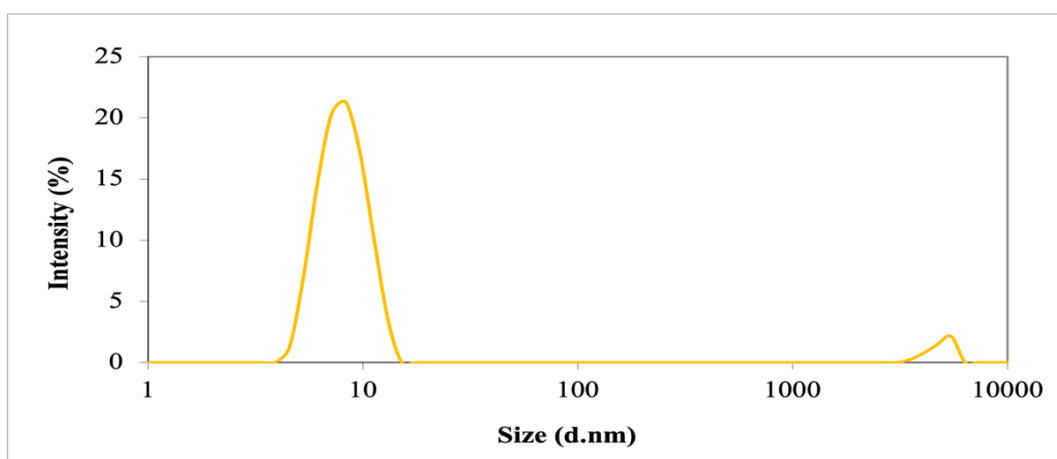
The average nanomicelle diameter expanded to 76.86 nm, significantly exceeding the intended size range as demonstrated in Figure 34. However, upon closer examination, detailed statistics of the sample data pinpointed the actual micelle diameter within the first prominent peak at 8.79 nm indicating the presence on micelles. The PDI index, which stands at 0.2565, also indicates the presence of smaller peaks within the larger size range.



**Figure 34.** Size distribution of 2.5 mg/ml GM1-PTX solution by intensity in 50 mg/ml GM1-NaCl solution (0.1 M)

#### 4.3.1.2 5 mg/ml PTX

Upon increasing the PTX concentration to 5 mg/ml notably better nanomicelle distribution was detected as depicted in Figure 35. A slight reduction in the average micelle size occurred and the average micelles diameter was determined to be 8.55 nm. The PDI index value of 0.2464 pointed to the slight dispersity of the sample due to the second peak.

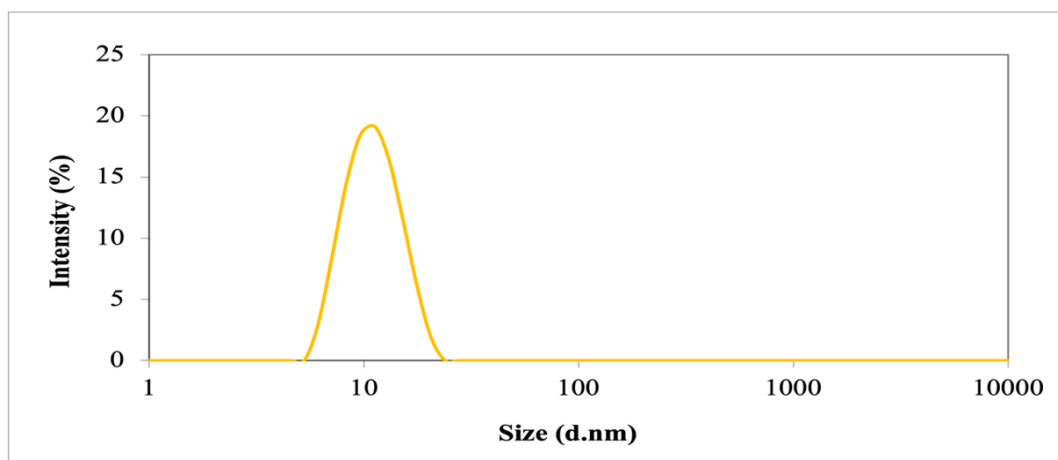


**Figure 35.** Size distribution of 5 mg/ml GM1-PTX solution by intensity in 50 mg/ml GM1-NaCl solution (0.1 M)

Based on the obtained results all the subsequent analyses and discussions will only pertain to 5 mg/ml GM1-PTX.

### 4.3.2. Dialysis

The sample underwent overnight dialysis at the room temperature and subsequent analysis was conducted to assess any changes in the size distribution of the micelles. Figure 36 illustrates a significant improvement in both the size distribution and PDI. The mean diameter of the nanomicelles was determined to be 10.51 nm, while the polydispersity index (PDI) was 0.096, revealing a high level monodispersity of the sample.



**Figure 36.** Size distribution of dialysed 5 mg/ml GMI-PTX solution by intensity in 50 mg/ml GMI- NaCl solution (0.1 M)

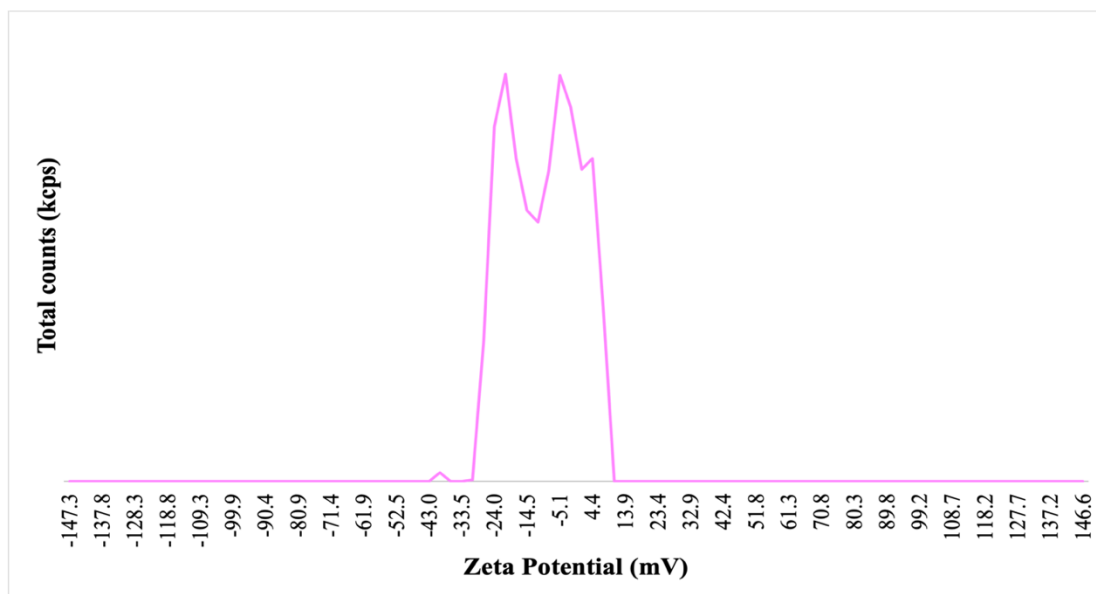
These findings suggest that drug encapsulation occurred during the dialysis process and the micelles effectively microencapsulated a greater amount of the active ingredient. Consequently, excess and potential contaminants were able to permeate through the dialysis barrier.

### 4.3.3. Zeta potential

The measured zeta potential (Figure 37) of -9.8 mV indicates the presence of a relatively low charge on the micelles dispersed in the solution. A zeta potential value within this range indicates the presence of electrostatic repulsion, which aids in their dispersion and hinders aggregation. However, it is worth noting that the nanomicelles are not only electrostatically, but also sterically stabilized.

The measured conductivity of 1.194 mS/cm suggests that the solution possesses a moderate capacity to facilitate the flow of electric current. This observation implies that the solution likely possesses a comparably reduced quantity of ions and, coupled with the slightly negative zeta potential supports the idea of a colloidal system. The current measurement exhibits a slight decrease in conductivity (1.498 mS/cm) compared to the previous measurement. This decrease indicates a diminished capacity to transport an electric charge.

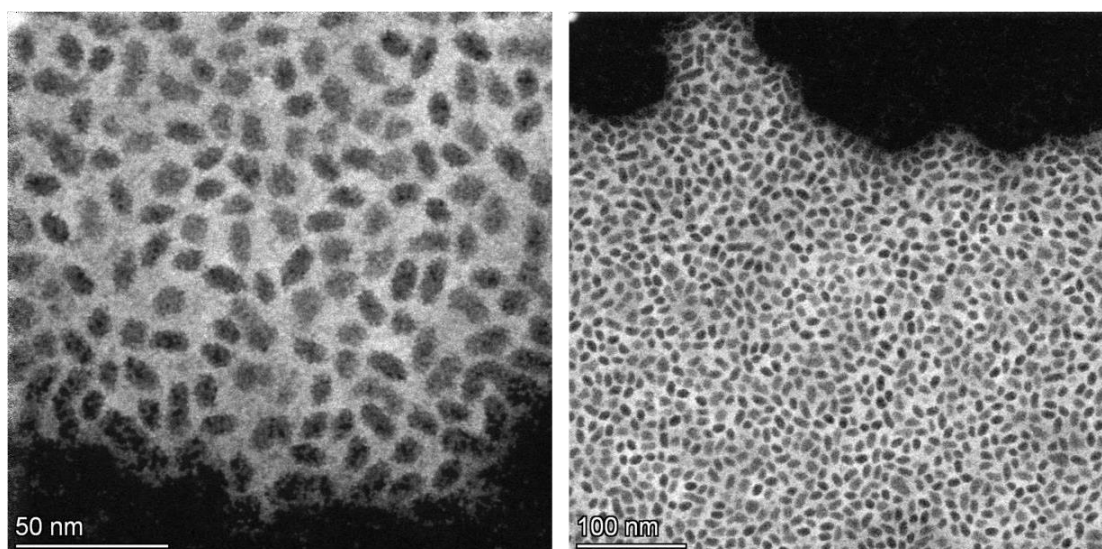
The quality factor of 1.241 indicates that the measurements may possess a slightly decreased level of reliability and accuracy in comparison to the previous measurement (2.081). A quality factor of less than 2.0 suggests the presence of potential variability or uncertainty in the obtained results. These results suggest, that there is potential in improving the accuracy of the measurements.



**Figure 37.** Zeta potential distribution of 5 mg/ml GM1-PTX solution in 50 mg/ml GM1- NaCl solution (0.1 M)

#### 4.3.4. S/TEM

The S/TEM analysis to demonstrate the morphology of the microencapsulated micelles was done as well and the obtained results can be observed in Figure 38.



**Figure 38.** S/TEM image of GM1-PTX nanomicelles

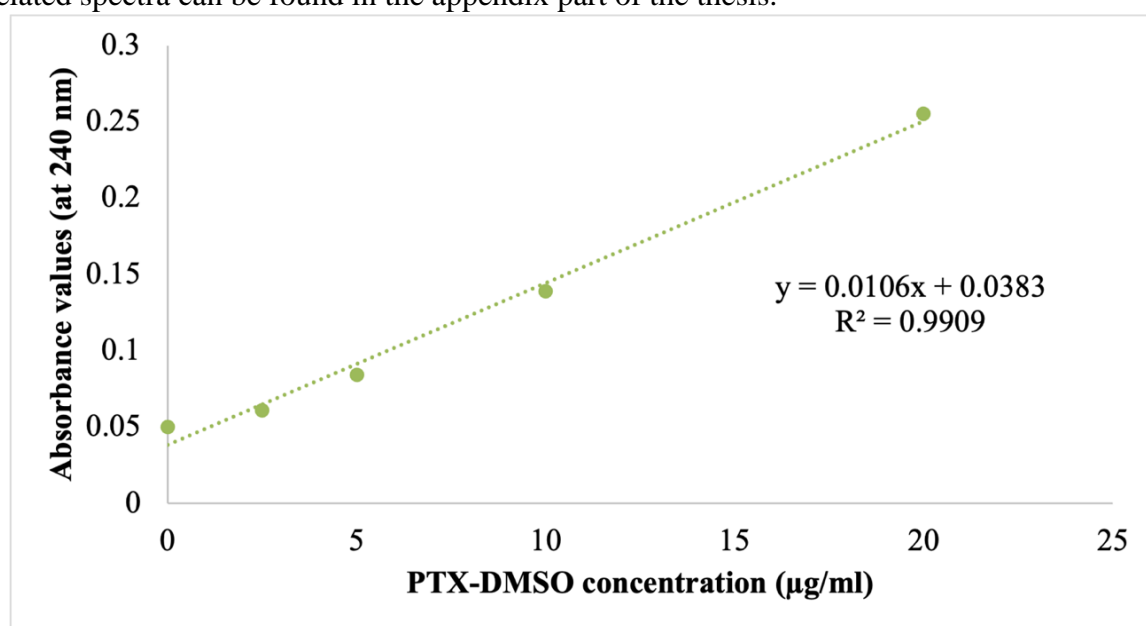
The morphology of the micelles is of particular interest due to the difference from previously obtained findings. The micelles exhibit a slightly oval shape, which is assumed to be influenced by the characteristics of the drug.

#### 4.3.5. UV-vis spectrophotometry

To assess the encapsulation efficacy of the active ingredient, UV-vis spectrophotometry was employed to analyse both the retentate and dialysate. Both samples with concentrations of 2.5 mg/ml and 5 mg/ml were analysed. Furthermore, a calibration curve was produced in order to determine the encapsulation efficiency.

##### 4.3.5.1 Calibration

For the calibration curve for a PTX stock solution was prepared in DMSO solution and diluted with MilliQ water 100-fold within the detectable linear range of 0-20  $\mu\text{g/ml}$  at the absorbance maximum of 240 nm. The calibration curve is demonstrated in Figure 39, while the related spectra can be found in the appendix part of the thesis.



*Figure 39. PTX-DMSO calibration curve in the DMSO*

##### 4.3.5.2 Encapsulation efficiency

The encapsulation efficiency of the gangliosides was determined using the above calibration. The GM1-PTX solution, with an initial drug concentration of 2.5 mg/ml, resulted in an encapsulation efficiency of 88.07%. Regarding the 5 mg/ml initial drug concentration in GM1 solution, the micelles demonstrated complete encapsulation of the drug, achieving 100% encapsulation efficiency.

For the practical use, all the observed results with GM1-PTX micelles are collected in the Table 3.

*Table 3. The characteristics of GM1-PTX nanomicelles*

Sample	Drug concentration (mg/ml)	Average Nanomicelle Diameter (nm)	PdI	ZP (mV)	$\sigma$ (mS/cm)	Quality Factor	$\eta$ (%)
2.5 mg/ml GM1-PTX	2.5	8.79	0.26	-			88.07
5 mg/ml GM1-PTX (before dialysis)	5.0	8.55	0.25	-			
5 mg/ml GM1-PTX (after dialysis)	5.0	10.51	0.10	-9.81	1.19	1.24	100

The following Table 4 is demonstrated to compare the pure GM1-NaCl solution with GM1-NaCl in the presence of DOX-HCl and PTX. The detailed analysis will be discussed in the summary part.

*Table 4. The characteristics of GM1 nanomicelles*

Sample	Drug concentration (mg/ml)	Average Nanomicelle Diameter (nm)	PdI	ZP (mV)	$\sigma$ (mS/cm)	Quality Factor	$\eta$ (%)
GM1-NaCl	-	10	0.12	-19.93	1.50	2.08	-
GM1-DOX-HCl (before dialysis)	5.0	9.62	0.10	-10.79	1.20	1.18	100
GM1-DOX-HCl	10.0	9.45	0.30	-20.01	1.66	1.69	97.3
GM1-PTX	2.5	8.79	0.26	-			88.07
GM1-PTX (after dialysis)	5.0	10.51	0.10	-9.81	1.19	1.24	100

## 5. Summary

Gangliosides exhibit promising potential as highly efficient targeted DDS for anticancer drugs. Their advantageous features, including size and chemical properties position them as promising candidates for functioning as delivery vehicles.

As initial step, the structure of the GM1 ganglioside, as well as its physical and chemical characteristics in response to salt concentration were investigated. To determine the relationship between these factors, different solutions were prepared at different concentrations and the size distributions, zeta potentials of GM1 nanomicelles were obtained. The results indicated that GM1 micelle formation and stability was highly dependent on the salt concentration of the medium.

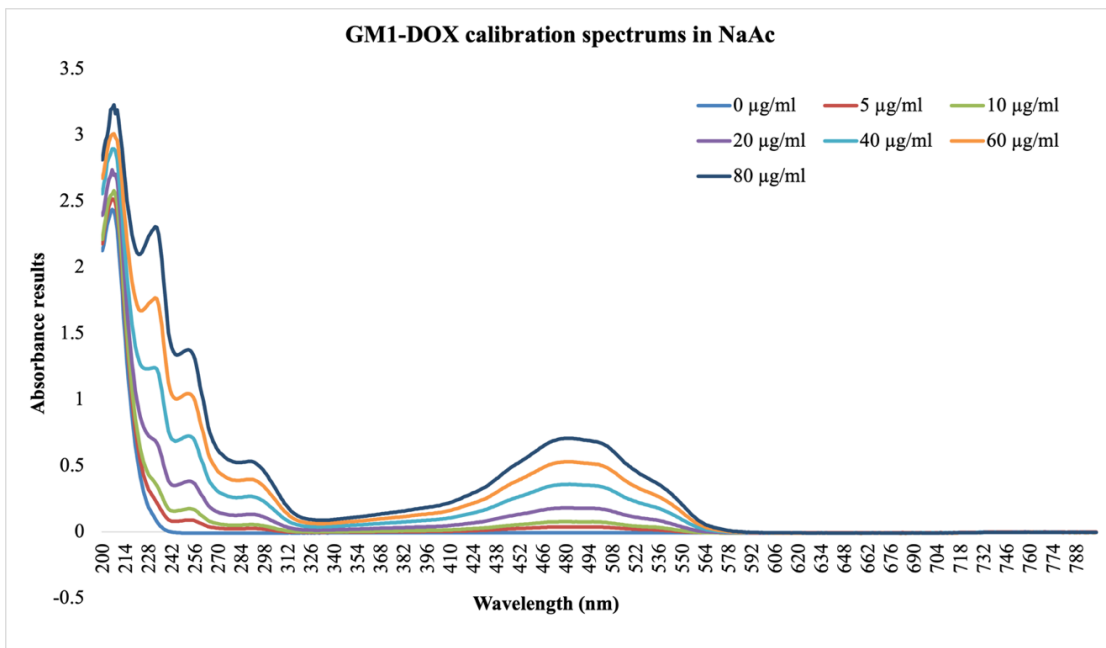
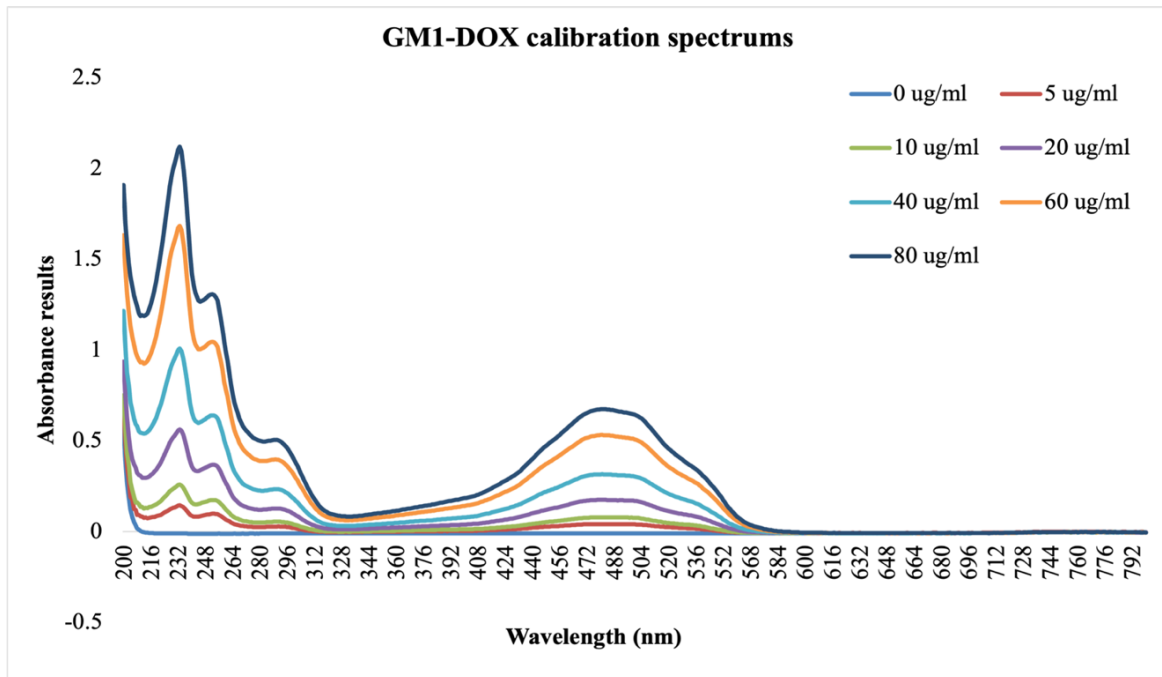
According to the scientific literature, GM1 gangliosides can be effective nanocarriers of anticancer drugs. Therefore, one of the aims of this thesis was to encapsulate doxorubicin-hydrochloride and paclitaxel in self-assembled ganglioside nanomicelles. The physical properties of encapsulated anticancer drug carriers in different concentrations and their drug encapsulation efficiencies were investigated as well.

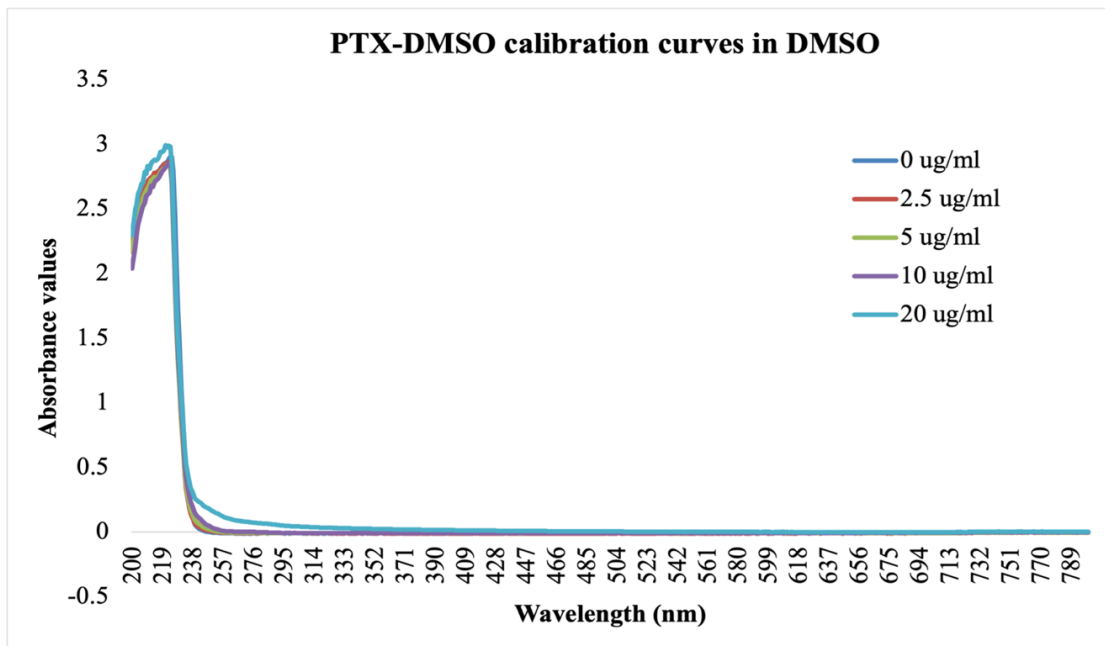
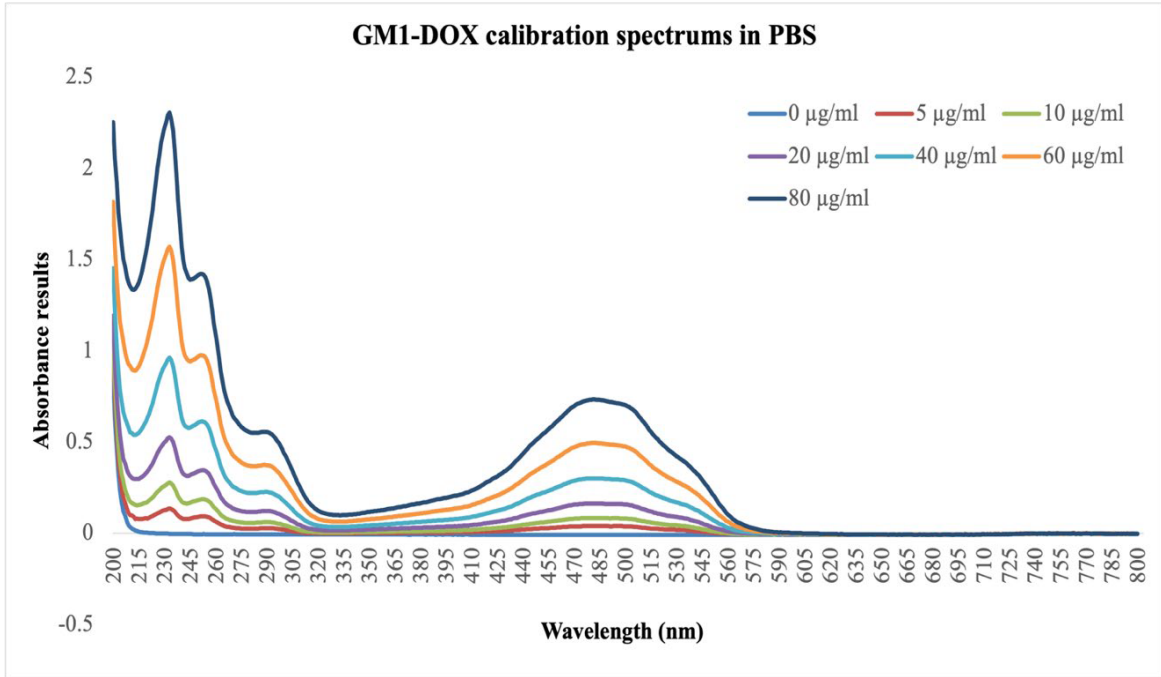
As for the DOX-HCl the initial concentration of 5 and 10 mg/ml in the presence of 50 mg/ml GM1 resulted in high encapsulation efficiency, ranging from 97.0% to 100.0%. In addition, the drug release experiments showed that the release was faster in the acidic, than in the neutral medium which is desirable due to the targeted tumorous tissues.

The encapsulation of PTX revealed that both – 2 and 5 mg/ml concentration are efficient. After the dialysis and UV-vis spectrophotometry, high encapsulation efficiency was obtained ranging from 88.07% up to 100% as well.

Further experiments will be focusing on the drug release property of the PTX-loaded GM1 nanomicelles and their toxicity on cancer cells.

## 6. Annexes





## **7. Acknowledgments**

I would like to take this opportunity to thank my supervisor, dr. Tivadar Feczko, who helped me tremendously with his useful explanations and indispensable advices during the consultations.

As well as special thanks for the members of the Functional Nanoparticles Research Group, especially Andrea Kardos and Mirella Mirankó that I could always ask them for the help.

I can't forget to mention dr. Eszter Hajba-Horváth, under whose guidance I worked for a short time. Her advices and recommendations were timely and relatable.

Special thanks to the Carbocode GmbH for providing the GM1 material.

I am also grateful to my parents, without whom this work would not have been possible. I thank them for their patience and for standing by me in every situation.

Special thanks to my partner, Norbert Tápai, for his endless perseverance and love throughout my bachelor's degree, and for his indispensable advice and help in writing this thesis.

## 8. References

- [1]. Wen, H., Jung, H., & Li, X. (2015). Drug Delivery Approaches in Addressing Clinical Pharmacology-Related Issues: Opportunities and Challenges. *The AAPS journal*, 17(6), 1327–1340. <https://doi.org/10.1208/s12248-015-9814-9>
- [2]. Adepu, S., & Ramakrishna, S. (2021). Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(19), 5905. <https://doi.org/10.3390/molecules26195905>
- [3]. Science Direct: Drug Delivery <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/drug-delivery/>
- [4]. Lou, J., Duan, H., Qin, Q., Teng, Z., Gan, F., Zhou, X. ve Zhou, X. (2023). Advances in Oral Drug Delivery Systems: Challenges and Opportunities. *Pharmaceutics*, 15(2), 484. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020484>
- [5]. Patra, J.K., Das, G., Fraceto, L.F. et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J. Nanobiotechnol.* 16, 71 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0392-8>
- [6]. Laffleur, F., & Keckeis, V. (2020). Advances in drug delivery systems: Work in progress still needed? *International Journal of Pharmaceutics*: X, 2, 100050. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2020.100050>
- [7]. Le, J. (2023, October 13). Drug Administration. Merck Manuals Consumer Version. <https://www.merckmanuals.com/home/drugs/administration-and-kinetics-of-drugs/drug-administration>
- [8]. Lengyel, M., Kállai-Szabó, N., Antal, V., Laki, A. J., & Antal, I. (2019). Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 87(3), 20. <https://doi.org/10.3390/scipharm87030020>
- [9]. Viktor Nedovic, Ana Kalusevic, Verica Manojlovic, Steva Levic, Branko Bugarski. (2011) An overview of encapsulation technologies for food applications, *Procedia Food Science*, 1 pp.1806-1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>.
- [10]. Zuidam, Nicolaas & Shimoni, Eyal. (1970). Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-1008-0\\_2](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-1008-0_2)
- [11]. Sébastien Guin (2004) Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 15 (7-8). pp. 330-347. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.10.005>.
- [12]. Amaral, Pedro & Andrade, Patrícia & Conto, Leilane. (2019). Microencapsulation and Its Uses in Food Science and Technology: A Review. <https://www.intechopen.com/chapters/67432>.
- [13]. Pateiro, M., Gómez, B., Munekata, P. E. S., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., & Lorenzo, J. M. (2021). Nanoencapsulation of Promising Bioactive Compounds to Improve Their Absorption, Stability, Functionality and the Appearance of the Final Food Products. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(6), 1547. <https://doi.org/10.3390/molecules26061547>

- [14]. Annamalai, Jeyakumari. (2016). Microencapsulation of Bioactive Food Ingredients and Controlled Release - A Review. *MOJ Food Processing & Technology*.  
2. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2016.02.00059>.
- [15]. Mehta, N., Kumar, P., Verma, A. K., Umaraw, P., Kumar, Y., Malav, O. P., Sazili, A. Q., Domínguez, R., & Lorenzo, J. M. (2022). Microencapsulation as a Noble Technique for the Application of Bioactive Compounds in the Food Industry: A Comprehensive Review. *Applied Sciences*, 12(3), 1424.  
<https://doi.org/10.3390/app12031424>
- [16]. Tomaro-Duchesneau, C., Saha, S., Malhotra, M., Kahouli, I., & Prakash, S. (2013). Microencapsulation for the Therapeutic Delivery of Drugs, Live Mammalian and Bacterial Cells, and Other Biopharmaceutics: Current Status and Future Directions. *Journal of Pharmaceutics*, 2013, 103527. <https://doi.org/10.1155/2013/103527>
- [17]. Ang, Darwis, Por, & Yam. (2019). Microencapsulation Curcuminoids for Effective Delivery in Pharmaceutical Application. *Pharmaceutics*, 11(9), 451.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090451>
- [18]. C. Ngwuluka, N., Y. Abu-Thabit, N., J. Uwaezuoke, O., O. Erebor, J., O. Ilomuanya, M., R. Mohamed, R., ... A.A. Ebrahim, N. (2021). Natural Polymers in Micro- and Nanoencapsulation for Therapeutic and Diagnostic Applications: Part I: Lipids and Fabrication Techniques. *IntechOpen*. <https://www.intechopen.com/chapters/74611>
- [19]. Scientific Image and Illustration Software | BioRender. (n.d.). <https://www.biorender.com>
- [20]. Agliarulo, I., & Parashuraman, S. (2022). Golgi Apparatus Regulates Plasma Membrane Composition and Function. *Cells*, 11(3), 368. <https://doi.org/10.3390/cells11030368>
- [21]. Somogyi J. (Ed.). (1989). *A biomembránok szerkezete és működése I, Felépítés és vizsgálati módszerek: Vol. I. Akadémiai Kiadó. ISBN 963-05-4715-5*
- [22]. Watson H. (2015). Biological membranes. *Essays in Biochemistry*, 59, 43–69.  
<https://doi.org/10.1042/bse0590043>
- [23]. A. (2023, January 3). The Plasma Membrane - An Overview, Facts and its Importance. *BYJUS*. <https://byjus.com/biology/plasma-membrane/>
- [24]. Mallela, S. kumar, Merscher, S., & Fornoni, A. (2022). Implications of Sphingolipid Metabolites in Kidney Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4244. <https://doi.org/10.3390/ijms23084244>
- [25]. Sonnino, S., Mauri, L., Chigorno, V., & Prinetti, A. (2006). Gangliosides as components of lipid membrane domains. *Glycobiology*, 17(1).  
<https://doi.org/10.1093/glycob/cwl052>
- [26]. Kamerling, J. P., & Gerwig, G. J. (2006). Structural analysis of naturally occurring sialic acids. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 347, 69–91.  
<https://doi.org/10.1385/1-59745-167-3:69>

- [27]. Cutillo, G., Saariaho, AH. & Meri, S. (2020). Physiology of gangliosides and the role of antiganglioside antibodies in human diseases. *Cell Mol. Immunol.* 17, 313–322 <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0388-9>
- [28]. Groux-Degroote, S., Guérardel, Y., & Delannoy, P. (2017). Gangliosides: Structures, Biosynthesis, Analysis, and Roles in Cancer. *Chembiochem: a European Journal of Chemical Biology*, 18(13), 1146–1154. <https://doi.org/10.1002/cbic.201600705>
- [29]. Chowdhury, S., & Ledeen, R. (2022). The Key Role of GM1 Ganglioside in Parkinson's Disease. *Biomolecules*, 12(2), 173. <https://doi.org/10.3390/biom12020173>
- [30]. Aureli, M., Mauri, L., Ciampa, M. G., Prinetti, A., Toffano, G., Secchieri, C., & Sonnino, S. (2016). GM1 Ganglioside: Past Studies and Future Potential. *Molecular Neurobiology*, 53(3), 1824–1842. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9136-z>
- [31]. Brocca, P., Berthault, P., & Sonnino, S. (1998). Conformation of the oligosaccharide chain of G(M1) ganglioside in a carbohydrate-enriched surface. *Biophysical Journal*, 74(1), 309–318. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(98\)77788-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(98)77788-4)
- [32]. Bisel, B., Pavone, F. & Calamai, M. (2014). GM1 and GM2 gangliosides: recent developments. *BioMolecular Concepts*, 5(1), 87-93. <https://doi.org/10.1515/bmc-2013-0039>
- [33]. Zhu, Y., Yang, J., Jiao, S., & Ji, T. (2013). Ganglioside-monosialic acid (GM1) prevents oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity in patients with gastrointestinal tumours. *World Journal of Surgical Oncology*, 11, 19. <https://doi.org/10.1186%2F1477-7819-11-19>
- [34]. Monosialoganglioside GM1 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> salt). Product Data Sheet. (n.d.). AdipoGen Life Sciences. Retrieved October 18, 2022, from <https://adipogen.com/productmanagement/resource/download/type/sheet/id/20060>
- [35]. Sasaki, N., Toyoda, M., & Ishiwata, T. (2021). Gangliosides as Signaling Regulators in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10), 5076. <https://doi.org/10.3390/ijms22105076>
- [36]. Zou, D., Wang, W., Lei, D., Yin, Y., Ren, P., Chen, J., Yin, T., Wang, B., Wang, G., & Wang, Y. (2017). Penetration of blood-brain barrier and antitumour activity and nerve repair in glioma by doxorubicin-loaded monosialoganglioside micelles system. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 4879–4889. <https://doi.org/10.2147/IJN.S138257>
- [37]. Yin, Y., Wang, J., Yang, M., Du, R., Pontrelli, G., McGinty, S., Wang, G., Yin, T., & Wang, Y. (2020). Penetration of the blood–brain barrier and the anti-tumour effect of a novel PLGA-lysoGM1/DOX micelle drug delivery system. *Nanoscale*, 12(5), 2946–2960. <https://doi.org/10.1039/c9nr08741a>
- [38]. Cayman Chemical. (2013, August 5). Product Information Doxorubicin-hydrochloride. Item No. 15007. Cayman Chemical. <https://fnkprddata.blob.core.windows.net/domestic/data/datasheet/CAY/15007.pdf>
- [39]. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 31703, Doxorubicin. Retrieved October 31, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin>.

- [40]. Doxorubicin Hydrochloride Pharmaceutical Secondary Standard; Certified Reference Material 25316-40-9. (n.d.) <https://www.sigmaaldrich.com/HU/en/product/sial/phr1789>
- [41]. P. (n.d.). Doxorubicin Hydrochloride. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin-Hydrochloride#section=Drug-Labels>
- [42]. Teva Canada Limited. (n.d.). PRODUCT MONOGRAPH DOXORUBICIN HYDROCHLORIDE INJECTION. Retrieved October 31, 2023, from [https://pdf.hres.ca/dpd\\_pm/00032789.PDF](https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00032789.PDF)
- [43]. P. (n.d.). Paclitaxel. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Paclitaxel>
- [44]. Alves, R. C., Fernandes, R. P., Eloy, J. O., Salgado, H., & Chorilli, M. (2018). Characteristics, Properties and Analytical Methods of Paclitaxel: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(2), 110–118. <https://doi.org/10.1080/10408347.2017.1416283>
- [45]. Human Metabolome Database: Metabocard for Paclitaxel (HMDB0015360). (n.d.). Retrieved October 18, 2022, from <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0015360>
- [46]. Paclitaxel: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. (n.d.). DrugBank. <https://go.drugbank.com/drugs/DB01229>
- [47]. Leonhard, V., Alasino, R. V., Bianco, I. D., Garro, A. G., Heredia, V., & Beltramo, D. M. (2012, September). Self-assembled micelles of monosialogangliosides as nanodelivery vehicles for taxanes. *Journal of Controlled Release*, 162(3), 619–627. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.07.031>
- [48]. Zetasizer Nano-ZS User Manual. Zetasizer Nano-ZS User Manual. Retrieved October 20, 2022, from <https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Malvern%20Zetasizer%20ZS%20DLS%20User%20manual.pdf>
- [49]. Which cuvette should I use with my Zetasizer? - Materials Talks. (2020, September 29). Materials Talks. Retrieved October 20, 2022, from <https://www.materials-talks.com/which-cuvette-should-i-use-with-my-zetasizer/>
- [50]. Science Direct: Zeta Potential <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/zeta-potential>
- [51]. Science Direct: Zeta Potential <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/zeta-potential>
- [52]. L. (2022, August 28). 2.5: Zeta Potential Analysis. Chemistry LibreTexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical\\_Chemistry/Physical\\_Methods\\_in\\_Chemistry\\_and\\_Nano\\_Science\\_\(Barron\)/02%3A\\_Physical\\_and\\_Thermal\\_Analysis/2.05%3A\\_Zeta\\_Potential\\_Analysis](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Physical_Methods_in_Chemistry_and_Nano_Science_(Barron)/02%3A_Physical_and_Thermal_Analysis/2.05%3A_Zeta_Potential_Analysis)
- [53]. P. (2023, June 21). Demystifying Zeta Potential - Particle Technology Labs. Particle Technology Labs. <https://particletechlabs.com/ptl-press/demystifying-zeta-potential-7/>
- [54]. Mojumdar, E. H., Grey, C., & Sparr, E. (2019). Self-Assembly in Ganglioside–Phospholipid Systems: The Co-Existence of Vesicles, Micelles, and Discs. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 56. <https://doi.org/10.3390/ijms21010056>

