

Antibakterijska svojstva punila mikro TiO₂ u biokompozitima na osnovi polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica

A. Kovačević, D. Kučić Grgić,* E. Govorčin Bajsic i N. Mrkonjić

Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
Marulićev trg 19, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License



Sažetak

Polietilen niske gustoće (LDPE) sintetski je nerazgradljiv polimer koji se najčešće upotrebljava kao ambalažni materijal za pakiranje hrane, međutim njegova nerazgradljivost ima loš utjecaj na okoliš. Razvoj i uporaba biorazgradljivih polimernih materijala ili plastike kao ambalažnog materijala za pakiranje hrane danas je u značajnom porastu. Biopolimeri predstavljaju jednu od najznačajnijih alternativa za razvoj ekološki prihvatljive ambalaže u prehrambenoj industriji zbog njihove biorazgradljivosti. Cilj ovoga rada bio je pripremiti biokompozite na osnovi linearnog polietilena niske gustoće (LDPE), rižinih ljuskica (RLJ) i punila mikro titanijeva dioksida (mTiO₂) kako bi se dobili biorazgradljivi biokompoziti s antibakterijskim učinkom, pogodni za primjenu kao ambalažni materijali u prehrambenoj industriji. Biokompoziti su pripremljeni umješavanjem u laboratorijskoj Brabender gnjetilici. Ispitan je utjecaj različitog masenog udjela mTiO₂ (w = 0,5, 1,0, 1,5 i 2,0 %) na inhibiciju bakterijske kulture *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*. Rezultati pokazuju da je mTiO₂ inhibirao rast bakterijske kulture *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* kod masenog udjela mTiO₂ od 1,5 i 2,0 % (broj stanica bakterijskih kultura se smanjivao). Rezultati TGA i DSC mjerenja pokazuju prisutnost mTiO₂ u biokompozitima.

Ključne riječi

Polietilen niske gustoće (LDPE), rižine ljuskice (RLJ), biokompoziti, titanijev dioksid (TiO₂), antibakterijska svojstva

1. Uvod

Problemi onečišćenja okoliša povezani s proizvodnjom i upotrebom sintetskih materijala potaknuli su razvoj polimernih kompozita ojačanih prirodnim vlaknima koji mogu zamijeniti skupe sintetske materijale.¹ Prirodna vlakna kao ojačavala u polimernim kompozitima imaju mnoge prednosti u odnosu na sintetska vlakna, kao što su niža cijena prerade, niska gustoća, otpornost na koroziju, visoka otpornost na puzanje i visoka čvrstoća te su obnovljiva i imaju svojstva biorazgradljivog materijala.^{2,3} U ambalažne materijale za pakiranje prehrambenih proizvoda s ciljem sprječavanja kvarljivosti zapakiranih proizvoda dodaju se i aktivni spojevi, kao što su antioksidansi i antimikrobni agensi. Antimikrobni agensi sprječavaju razmnožavanje mikroorganizama (bakterije, alge, gljive) i smanjuju brzinu njihova rasta te na taj način održavaju kvalitetu prehrambenih proizvoda, odnosno povećavaju vijek njihova trajanja. Razlikuju se dvije vrste antimikrobnih agenasa – organski i anorganski. Organski antimikrobni agensi obično su u usporedbi s anorganskim antimikrobnim agensima manje stabilni, posebno na visokim temperaturama i tlakovima. Najviše upotrebljavani anorganski antimikrobni agensi su metalni oksidi kao što su ZnO,^{4,5} CuO,^{4,5} TiO₂^{4,5} i Ag.^{4,5} Jedan od mogućih antimikrobnih agenasa je titanijev dioksid, koji u određenim količinama inhibira rast bakterija i time utječe na sigurnost i kvalitetu upakiranog proizvoda.^{4–7} Mikroorganizmi, odnosno bakterije koje imaju sposobnost biorazgradnje polietilenskih vrećica su: *Pseudomonas* sp.,⁸ *Pseudomonas aeruginosa*,⁹ *Pseudomonas fluorescens*,¹⁰ *Stenotrophomonas* sp.,¹¹ *Rhodococcus rhodochrous*¹² i mno-

ge druge, te gljive: *Aspergillus niger*,¹³ *Aspergillus flavus*,¹⁴ *Penicillium simplicissimum*¹⁵ i druge. Rod *Pseudomonas* obuhvaća gram-negativne, nefermentativne, pokretne, aerobne štapiće, od kojih neki stvaraju vodotopljive pigmente. Većina sojeva proizvodi jedan ili više pigmenata, uključujući piocijanin (plavo-zeleni), pioverdin (žuto-zeleni i fluorescentni) i piorubin (smeđe-crveni).¹⁶ Rastu pri temperaturi od 25 °C do 37 °C te su široko rasprostranjeni mikroorganizmi koji imaju mogućnost preživljavanja u različitim uvjetima.¹⁶ *Pseudomonas aeruginosa* najznačajnija je vrsta roda *Pseudomonas*, otporna je na mnoge onečišćujuće tvari, učinkovito ih razgrađuje u okolišu te može preživjeti i temperature od 45 do 50 °C. *Pseudomonas aeruginosa* najčešće uzrokuje infekcije kod osoba s oslabljenim imunološkim sustavom i infekcije respiratornog sustava, kože, oka i mokraćnog sustava.¹⁶ *Pseudomonas aeruginosa* je u mogućnosti razgraditi 50,5 % polietilena niske gustoće u razdoblju od 2 mjeseca.¹⁷ Bakterije iz roda *Bacillus* su gram pozitivni, sporogeni i aerobni štapići. Bakterije tog roda često onečišćuju operacijske dvorane, bakteriološke uzorke, hranu i farmaceutske proizvode. Bakterije roda *Bacillus* veoma su otporne na djelovanje vanjskih čimbenika zbog stvaranja endospora te su iznimno proširene u prirodi (zemlja, prašina, voda), često se nalaze na biljkama i životinjama. *Escherichia coli* je gram-negativni, sporogeni, aerobni i fakultativno anaerobni štapić. Lako se kultivira na uobičajenim hranjivim podlogama. Nakon inkubacije od 18 sati pri 37 °C na hranjivom agaru stvara velike, okrugle, lagano konveksne, glatke kolonije. Njezina optimalna temperatura rasta je 35 – 37 °C, no podnosi i temperature ispod 0 °C, a 60 °C je ubija nakon 15 min. S ciljem sprječavanja kvarljivosti zapakiranih proizvoda, u ambalažne materijale za pakiranje dodaju se aktivni spojevi kao što su antioksidansi i antimikrobni agensi. Organski antimikrobni agensi u usporedbi s anorganskim antimikrobnim agensima

* Autor za dopisivanje: doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić
e-pošta: dkucic@fkit.hr

obično su manje stabilni, posebno pri visokim temperaturama i tlaku. U antimikrobne agense spada i TiO₂ koji u određenim količinama inhibira rast bakterija i time utječe na sigurnost i kvalitetu proizvoda.⁴⁻⁶ Inhibirajući učinak TiO₂ prema bakterijama iznimno je važan zbog sposobnosti patogenih bakterija da uđu u ekosustav hranidbenog lanca.¹⁸ Antibakterijsko djelovanje TiO₂ proizlazi iz njegove sposobnosti aktivacije slobodnih hidroksilnih radikala (OH⁻). Cilj rada bio je pripremiti biokompozite na osnovi polietilena niske gustoće (LDPE) i rižinih ljuskica (RLJ) koji mogu naći primjenu kao ambalažni materijali u prehrambenoj industriji. Kako bi se očuvala kvaliteta i zdravstvena sigurnost zapakiranog prehrambenog proizvoda u LDPE/RLJ biokompozit potrebno je dodati antimikrobni agens koji sprječava razmnožavanje i rast bakterija i time kvarljivost zapakiranih proizvoda. U tu svrhu pripremljeni su LDPE/RLJ biokompoziti bez dodatka i s različitim masenim udjelom mTiO₂ ($w = 0,5; 1,0; 1,5$ i $2,0$ %) te je ispitan antibakterijski učinak mTiO₂ na bakterijsku kulturu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*. Za takve ambalažne materijale važno je da udovoljavaju propisanim specifičnim uvjetima kao što je i antimikrobno djelovanje. TiO₂ zbog svoje sposobnosti da onemogućuje aktivaciju enzima u stanicama vezivanjem na elektron donorske skupine stvara pore u staničnim stjenkama bakterija, što dovodi do stanične smrti.

2. Eksperimentalni dio

2.1. Materijali

U radu je upotrijebljen polietilen niske gustoće (LDPE) (Dow 150E), proizvođača Dow Chemical Company, MFR = $2,3 \text{ g min}^{-1}$, gustoće $0,92 \text{ g cm}^{-3}$ te rižine ljuskice porijekla: Kočani/Makedonija, tip riže: Sant Andrea, Italija. Kao antibakterijski agens upotrijebljeno je 99,8 %-no punilo mikro titanijev dioksid (mTiO₂) proizvođača Aldrich, relativne molekulske mase $79,866 \text{ g mol}^{-1}$ te bakterijske kulture *Escherichia coli* (3001), *Pseudomonas aeruginosa* (3011) i *Bacillus subtilis* (3020). Sve bakterijske kulture izolirane su iz okoliša i pohranjene su u zbirci mikroorganizama u Zavodu za industrijsku ekologiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije.

2.2. Priprema uzoraka

2.2.1. Priprema hranjive podloge

Hranjiva podloga za uzgoj bakterija (hranjivi agar) priređena je u Erlenmeyerovoj tikvici prema uputama proizvo-

đača (Biolife Manual, 2nd Ed., Ingraf, Italija, 1991.). 3,25 g bujona i 4,70 g agara otopljeno je u 250 cm^3 deionizirane vode. Podloga je homogenizirana, zagrijana do vrenja i sterilizirana 15 min u autoklavu pri $120 \text{ }^\circ\text{C}$ i 1,1 atm. Za vlažnu sterilizaciju hranjivih podloga te čistog i nečistog staklenog posuđa upotrijebljen je autoklav Sutjeska, Jugoslavija. Suspenzije su se homogenizirale homogenizatorom REAX top, Heidolph, Njemačka.

2.2.2. Priprema biokompozita

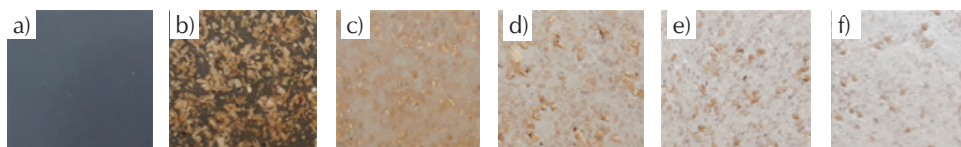
Rižine ljuskice su prije umješavanja u LDPE usitnjene u mikseru IKA-WERKE M20 i sušene 24 h u sušioniku pri $90 \text{ }^\circ\text{C}$, kako bi se uklonila eventualno prisutna vlaga. Umješavanje rižinih ljuskica i mTiO₂ u LDPE provedeno je na gnjetilici Brabender pri temperaturi od $135 \text{ }^\circ\text{C}$ u vremenu od 5 min uz 45 o min^{-1} nakon čega je pripremljen film čistog LDPE-a i četiri filma LDPE/RLJ/mTiO₂ biokompozita u masenom omjeru LDPE/RLJ 60/40 uz dodatak mTiO₂ u masenim udjelima od 0,5, 1,0, 1,5 i 2,0 %. Filmovi su isprešani na preši Fontune SRB pri temperaturi od $135 \text{ }^\circ\text{C}$ u vremenu od 5 min. Na slici 1 prikazani su filmovi čistog LDPE-a (slika 1a), LDPE/RLJ 60/40 (slika 1b) te filmovi LDPE/RLJ/TiO₂ biokompozita uz dodatak mTiO₂ u različitim udjelima (slike 1c-f).

2.3. Karakterizacija biokompozita

2.3.1. Test antibakterijskog djelovanja mikro TiO₂

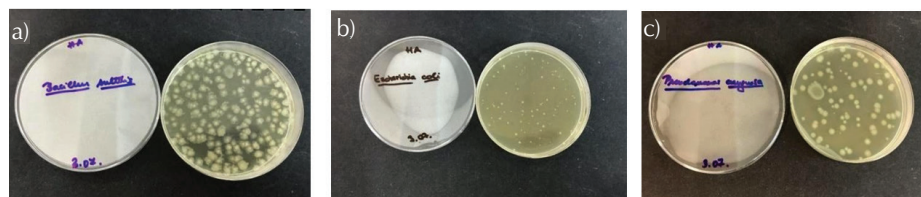
Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka provedeno je prema Normi ISO 22196. Prije postavljanja pokusa bilo je potrebno osigurati sterilne uvjete rada. Posuđe koje je pritom upotrijebljeno sterilizirano je vlažnom sterilizacijom u autoklavu pri $121 \text{ }^\circ\text{C}$ i 1 atm predtlaka, 30 min. Dan prije postavljanja pokusa, bakterije *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* uzgojile su se na kosoj hranjivoj podlozi te su stavljene na inkubaciju pri temperaturi $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 24 h (slika 2).

Sterilnom mikrobiološkom ušicom ostrugana je mala količina izrasle bakterijske kulture s podloge i prenesena je u 10 cm^3 sterilne fiziološke vode i dobro homogenizirana. Početni broj stanica bakterija *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* iznosio je 10^6 st cm^{-3} . U Petrijevu zdjelicu izliveno je 10 cm^3 sterilne fiziološke vode, stavljen je trokut i na trokut predmetnica na koju se stavio uzorak kako je prikazano na slici 3.



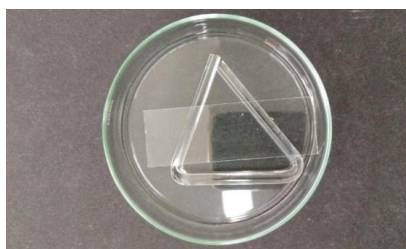
Slika 1 – Fotografija čistog LDPE filma (a), filma LDPE/RLJ 60/40 biokompozita (b), filmova LDPE/RLJ/TiO₂ uz maseni udio mTiO₂ od 0,5 % (c), 1,0 % (d), 1,5 % (e) i 2,0 % (e)

Fig. 1 – Photograph of the neat LDPE film (a), LDPE/RH 60/40 biocomposite film (b), LDPE/RH/TiO₂ biocomposite films with mass fraction of mTiO₂ of 0.5 % (c), 1.0 % (d), 1.5 % (e), and 2.0 % (e)



Slika 2 – Fotografije na kojima je prikazan rast kolonija bakterijske kulture a) *Bacillus subtilis*, b) *Escherichia coli* i c) *Pseudomonas aeruginosa* na hranjivom agaru

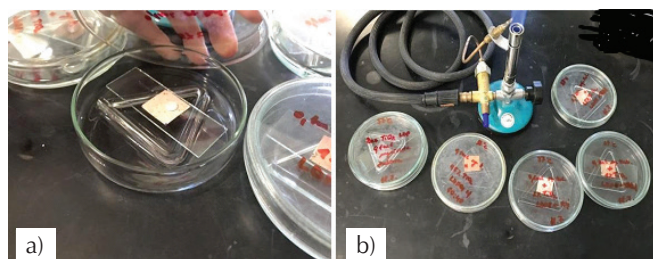
Fig. 2 – Photographs of bacterial culture colony growth, a) *Bacillus subtilis*, b) *Escherichia coli*, and c) *Pseudomonas aeruginosa*



Slika 3 – Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196

Fig. 3 – Determination of the transfer of antimicrobial constituents according to ISO 22196

Na predmetnicu je stavljen film čistog LDPE/RLJ 60/40 biokompozita (slika 4a) i filmovi LDPE/RLJ/mTiO₂ biokompozita s određenim masenim udjelom mTiO₂ (slika 4b) na koje se je otpipetiralo 0,1 cm³ mješovite suspenzije bakterijske kulture.



Slika 4 – Fotografija filma LDPE/RLJ 60/40 biokompozita na predmetnici (a) i filmova LDPE/RLJ/mTiO₂ biokompozita s različitim udjelom mTiO₂ postavljenih na predmetnicu (b)

Fig. 4 – Photograph of the LDPE/RH 60/40 biocomposite film on the subject, and (a) LDPE/RH/mTiO₂ biocomposites films with different content of mTiO₂ placed on the subject

Petrijeve zdjelice stavljene su na inkubaciju 24 h pri temperaturi 37 °C. Nakon 24 h uzorak se prenio sterilnom tehnikom rada u 10 cm³ sterilne fiziološke vode te su priredena razrjeđenja do 10⁻⁶ nakon čega se 1 cm³ priređenih razrjeđenja 10⁻⁴, 10⁻⁵ i 10⁻⁶ zalio hranjivim agarom, homogenizirao i stavio na inkubaciju 24 h pri temperaturi

37 °C. Nakon 24 h izbrojale su se izrasle kolonije i odredio se broj izraslih stanica u cm³ (jedn. 1).

$$\text{st cm}^{-3} = \text{broj izraslih kolonija} / 1 \text{ cm}^3 \times 1 / \text{razrjeđenje} \quad (1)$$

2.3.2. Termogravimetrijska analiza TGA

S obzirom na to da mTiO₂ pri manjim masenim udjelima (0,5 i 1,0 %) nije pokazao inhibicijsko djelovanje prema bakterijskim kulturama, provedena su mjerenja TGA kako bi se odredio udio mTiO₂ u LDPE/RLJ/TiO₂ biokompozitima koji je zaostao kao kruti ostatak nakon toplinske razgradnje biokompozita. Određen je i utjecaj udjela mTiO₂ na toplinsku stabilnost LDPE/RLJ/TiO₂ biokompozita. Mjerenja su provedena na TGA analizatoru Q500 (tvrtke TA Instruments). Uzorci od oko 10 mg analizirani su u struji dušika (60 ml min⁻¹) uz brzinu zagrijavanja od 10 °C min⁻¹, u temperaturnom području od 25 °C do 700 °C.

2.3.3. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

Općenito, punilo može djelovati kao centar nukleacije unutar polimerne matrice i na taj način povećati stupanj kristalnosti polimera. Stupanj kristalnosti čistog LDPE-a i LDPE/RLJ/TiO₂ biokompozita izračunat je iz mjerenja provedenih tehnikom DSC. Uz stupanj kristalnosti za sve uzorke određene su temperatura taljenja (T_m) i temperatura kristalizacija (T_c). Upotrijebljen je DSC analizator Mettler Toledo DSC 822^e. Uzorci od oko 10 mg mjereni su u struji dušika (40 ml min⁻¹) uz brzinu zagrijavanja i hlađenja od 10 °C min⁻¹ u temperaturnom području od -100 °C do 250 °C, kroz dva ciklusa zagrijavanja i dva ciklusa hlađenja. Stupanj kristalnosti (χ_c) za čisti LDPE i LDPE/RLJ biokompozite bez dodatka mTiO₂ i s različitim udjelom mTiO₂ izračunat je preko izraza (1):

$$\chi_c = \left[\frac{Hm^\circ}{Hm^{100} \cdot \left(1 - \frac{w(\text{TiO}_2)/\%}{100} \right)} \right] \cdot 100, \quad (2)$$

gdje je ΔHm° = entalpija taljenja očitana iz DSC krivulje zagrijavanja, ΔHm^{100} = entalpija taljenja za 100 % kristalan LDPE i iznosi 290,0 J g⁻¹, $w(\text{TiO}_2)/\%$ = maseni udio mTiO₂

3. Rezultati i rasprava

3.1. Ispitivanje antibakterijskih svojstva TiO₂ u LDPE/RLJ filmovima

Cilj ovog rada bio je istražiti utjecaj različitog udjela mTiO₂ na inhibiciju bakterijske kulture *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* te koliki je njegov optimalni udio u biokompozitima polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica kako bi se njihovi filmovi mogli upotrebljavati kao ambalažni materijal za pakiranje hrane. U tablici 1 prikazani su dobiveni rezultati prijenosa antimikrobnih sastojaka LDPE, LDPE/RLJ i LDPE/RLJ/TiO₂ biokompozita.

Tablica 1 – Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojka LDPE, LDPE/RLJ i LDPE/RLJ/TiO₂ biokompozita

Table 1 – Determination of antimicrobial agents of LDPE, LDPE/RH, and LDPE/RH/TiO₂ biocomposites

Uzorc Samples	st cm ⁻³
0. dan	5,94 · 10 ⁷
LDPE (slijepa proba)	2,26 · 10 ⁷
LDPE + RLJ	5,83 · 10 ⁷
LDPE + RLJ + 0,5 % mTiO ₂	5,60 · 10 ⁷
LDPE + RLJ + 1,0 % mTiO ₂	5,48 · 10 ⁷
LDPE + RLJ + 1,5 % mTiO ₂	3,90 · 10 ⁷
LDPE + RLJ + 2,0 % mTiO ₂	3,54 · 10 ⁷

Prema dobivenim rezultatima može se primijetiti da se pri masenom udjelu mTiO₂ od 1,5 i 2,0 % broj stanica bakterija smanjio u odnosu na 0. dan, što ukazuje na inhibicijsko djelovanje mTiO₂, dok se pri manjim udjelima mTiO₂ ne vidi neka značajnija promjena ukupnog broja stanica bak-

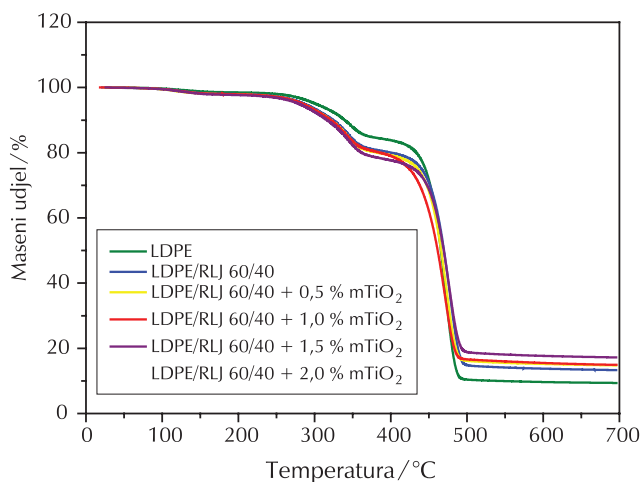
terija. Dodatno, može se primijetiti da se kod samog LDPE bez mTiO₂ broj stanica bakterija znatno smanjio, a razlog tomu može biti da bakterije nisu imale hrane, dok se kod mješavine LDPE/RLJ broj stanica bakterija nije promijenio jer su bakterijama RLJ djelovale kao izvor hrane.

3.2. Rezultati dobiveni mjerenjem TGA

Termogravimetrijska analiza (TGA) široko je primjenjivana toplinska tehnika zbog svoje visoke točnosti u određivanju temperature toplinske razgradnje i toplinske stabilnosti materijala.¹⁹

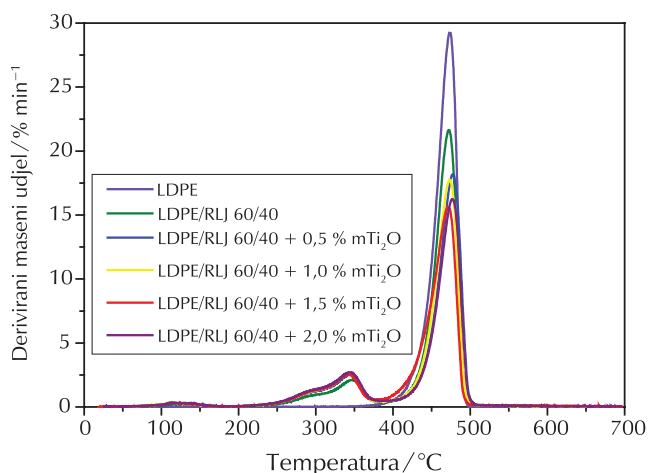
Na slici 5 prikazane su TG krivulje za čisti LDPE i LDPE/RLJ biokompozite bez dodatka TiO₂ i s različitim udjelom TiO₂ u biokompozitu dobivene u inertnoj atmosferi dušika, a na slici 6 DTG krivulje za iste uzorke. Iz slike 5 vidljivo je da se čisti LDPE razgrađuje u jednom stupnju razgradnje i to u relativno malom temperaturnom intervalu. Naime, temperatura početka razgradnje ($T_{5\%}$) čistog LDPE iznosi 427,8 °C, temperatura maksimalne brzine razgradnje (T_3^{\max}) 473,4 °C, dok je kraj razgradnje pri temperaturi od 484,6 °C. Kod čistog LDPE-a povećanjem temperature dolazi do nasumičnog pucanja lanca te dekompozicije na bočnim skupinama polimernog lanca.^{20,21} Iznad 480 °C količina čistog LDPE-a je vrlo mala zbog daljnjeg pucanja lanca i nastajanja plinovitih produkata te na višim temperaturama dolazi do potpune razgradnje LDPE-a (ostatak na 700 °C iznosi 0,0 %).

Na DTG krivuljama LDPE/RLJ biokompozita (slika 6) vidljiv je mali pik na nižim temperaturama iznad 100 °C vezan za gubitak vlage (T_1^{\max}), između 200 i 310 °C javlja se pik kao rame vezan za razgradnju hemiceluloze. Sljedeći gubitak mase javlja se između 310 i 370 °C s T_2^{\max} pri 346,2 °C koji odgovara razgradnji celuloze. Gubitak mase na višim temperaturama koji se manifestira kao najveći pik na DTG krivulji s T_3^{\max} pri 472,4 °C odgovara razgradnji LDPE-a.



Slika 5 – TG krivulje za čisti LDPE i LDPE/RLJ biokompozite bez dodatka mTiO₂ i s različitim masenim udjelom mTiO₂

Fig. 5 – TG curves of the neat LDPE and LDPE/RH biocomposites without mTiO₂ and with different mass fraction of mTiO₂

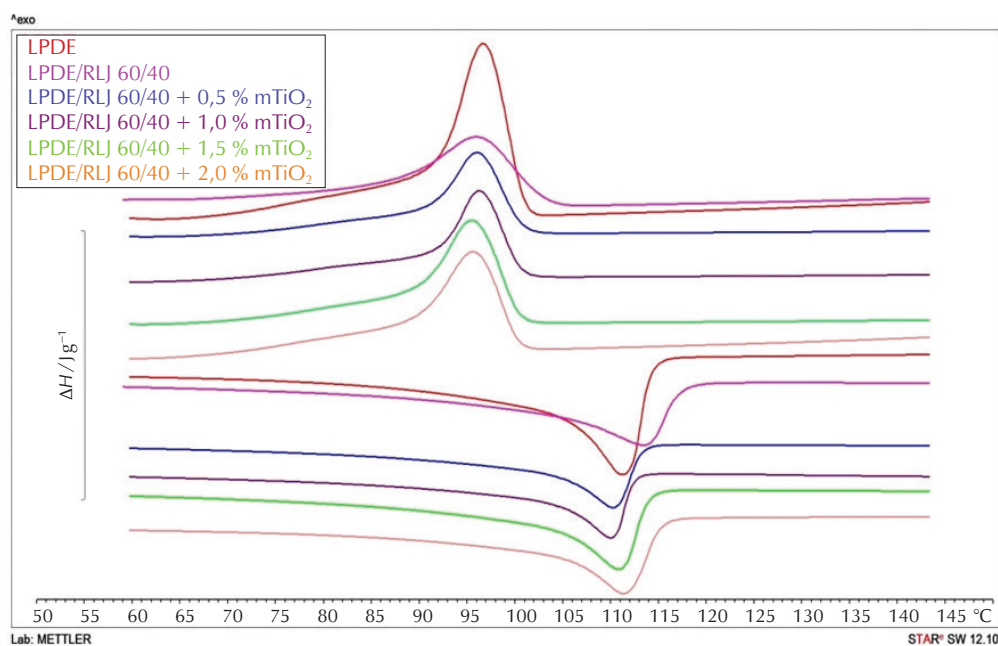


Slika 6 – DTG krivulje za čisti LDPE i LDPE/RLJ biokompozite bez dodatka mTiO₂ i s različitim masenim udjelom mTiO₂

Fig. 6 – DTG curves of the neat LDPE and LDPE/RH biocomposites without mTiO₂ and with different mass fraction of mTiO₂

Tablica 2 – Rezultati dobiveni TGA analizom
Table 2 – Results of TG analysis

Uzorak Sample	T _{5%} /°C	T ₁ ^{max} /°C	T ₂ ^{max} /°C	T ₃ ^{max} /°C	T _{kraj} /°C	Ostatak pri 700 °C Residue at 700 °C /%
LDPE	427,8	–	–	473,4	484,6	0,00
LDPE/RLJ 60/40	302,3	112,7	346,2	472,4	485,6	9,38
LDPE/RLJ 60/40 + 0,5 mTiO ₂	287,4	113,0	344,9	477,6	490,2	13,30
LDPE/RLJ 60/40 + 1,0 mTiO ₂	282,5	111,8	342,2	473,6	485,7	14,76
LDPE/RLJ 60/40 + 1,5 mTiO ₂	282,9	111,7	342,4	471,4	484,1	14,93
LDPE/RLJ 60/40 + 2,0 mTiO ₂	280,2	112,8	344,1	476,9	489,9	17,20



Slika 7 – DSC krivulje zagrijavanja i hlađenja za čisti LDPE i LDPE/RLJ biokompozite bez dodatka mTiO₂ i s različitim masenim udjelom mTiO₂

Fig. 7 – DSC heating and cooling curves of the neat LDPE and LDPE/RH biocomposites without mTiO₂ and with different mass fraction of TiO₂

Iz tablice 2 vidljivo je da se početak razgradnje LDPE/RLJ biokompozita dodatkom mTiO₂ pomiče prema neznatno nižim temperaturama. Porast udjela mTiO₂ znatno ne utječe na toplinsku stabilnost biokompozita. Međutim, vidljivo je da dolazi do porasta ostataka pri 700 °C (koji je vezan dijelom za siliku prisutnu u RLJ 9,38 % i udio mTiO₂) povećanjem udjela mTiO₂. Što ukazuje na prisutnost mTiO₂ u svim biokompozitima, ali je najveći kod masenog udjela mTiO₂ od 1,5 i 2,0 %.

3.3. Rezultati dobiveni DSC mjerenjem

DSC krivulje zagrijavanja i hlađenja čistog LDPE-a i LDPE biokompozita bez udjela i s raznim udjelima mTiO₂ prikazane su na slici 7 te su vrijednosti temperature taljenja, T_m , temperature kristalizacije, T_c i entalpije taljenja, ΔH_m , dobivene izravno iz tih krivulja sumarno prikazane u tablici 3. Iz krivulja zagrijavanja čistog LDPE i LDPE/RLJ biokompozita s različitim udjelom mTiO₂ na slici 7 vidljivo je kako čisti LDPE i biokompoziti imaju jedan pik taljenja koji odgovara

Tablica 3 – Rezultati dobiveni DSC mjerenjem
Table 3 – Results of DSC measurements

Uzorak Sample	$T_m/^\circ\text{C}$	$T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_m/\text{J g}^{-1}$	$\chi_c/\%$
LDPE	111,0	97,3	79,12	27,3
LDPE/RLJ 60/40	112,7	96,4	78,00	26,9
LDPE/RLJ 60/40 + 0,5 mTiO ₂	110,1	96,3	42,58	14,8
LDPE/RLJ 60/40 + 1,0 mTiO ₂	110,0	96,7	47,23	16,4
LDPE/RLJ 60/40 + 1,5 mTiO ₂	110,5	96,0	58,03	20,3
LDPE/RLJ 60/40 + 2,0 mTiO ₂	111,1	96,1	51,52	18,1

taljenju kristalne faze LDPE. Iz DSC krivulja i vrijednosti T_m navedenih u tablici 3 vidljivo je kako temperatura taljenja s povećanjem udjela mTiO₂ ostaje gotovo nepromijenjena. Na DSC krivulji hlađenja čistog LDPE-a dobiven je egzotermni prijelaz vezan za kristalizaciju LDPE-a s T_c pri 97,3 °C. Dodatak i povećanje udjela mTiO₂ nema značajan utjecaj na T_c . Stupanj kristalnosti, χ_c , raste s povećanjem udjela mTiO₂ u biokompozitima, što znači da mTiO₂ djeluje kao nukleacijski agens te dovodi do stvaranja pravilnih i savršenih kristala s većim stupnjem uređenosti. To povećanje χ_c potvrđuje prisutnost mTiO₂ u biokompozitima.

4. Zaključak

U ovom radu ispitan je utjecaj različitog masenog udjela mikro TiO₂ (0,5; 1,0; 1,5 i 2,0 %) na inhibiciju bakterijske kulture *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* u LDPE/RLJ biokompozitima. Dobiveni rezultati ukazuju da dodatkom mTiO₂ u biokompozite LDPE/RLJ 60/40 dolazi do inhibicije bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*. Povećanjem masenog udjela mTiO₂ u biokompozitima smanjuje se broj stanica bakterijskih kultura, tj. inhibicijsko djelovanje je veće. Pri masenom udjelu mTiO₂ od 1,5 i 2,0 % inhibicijsko djelovanje je najveće. Stupanj kristalnosti, χ_c , u biokompozitima s većim udjelom mTiO₂ raste, što znači da je mTiO₂ prisutan u biokompozitima. Čisti LDPE razgrađuje se u jednom stupnju razgradnje, dok se biokompoziti LDPE/RLJ 60/40 bez i s dodatkom mTiO₂ razgrađuju u dva stupnja razgradnje, gdje se u prvom stupnju razgradnje na nižoj temperaturi odvija razgradnja rižinih ljuskica, dok se u drugom stupnju razgrađuje LDPE. Povećanjem udjela mTiO₂ u biokompozitima dolazi do neznatnog smanjenja njihove toplinske stabilnosti. Ostatak pri 700 °C raste s povećanjem udjela mTiO₂, što ukazuje na prisutnost mTiO₂

u svim biokompozitima, ali je najveći kod masenog udjela mTiO₂ od 1,5 i 2,0 %.

Popis kratica i simbola List of abbreviations and symbols

- LDPE – polietilen niske gustoće
– low density polyethylene
- RLJ – rižine ljuskice
– rice husks
- TiO₂ – titanijev dioksid
– titanium dioxide
- TGA – termogravimetrijska analiza
– thermogravimetric analysis
- DSC – diferencijalna pretražna kalorimetrija
– differential scanning calorimetry
- ΔH_m – entalpija taljenja u procesu zagrijavanja, J g⁻¹
– melting enthalpy during heating, J g⁻¹
- T_c – temperatura kristalizacije, °C
– crystallization temperature, °C
- TG – termogravimetrijska krivulja
– thermogravimetric curve
- DTG – derivativna krivulja
– derivative curve
- $T_{5\%}$ – temperatura kod 5 % razgradnje, °C
– temperature of 5 % degradation, °C
- T_{kraj} – temperatura kraja razgradnje, °C
– degradation temperature at the end, °C
- T_{max} – temperatura maksimalne brzine razgradnje, °C
– maximum temperature of the decomposition peak, °C
- $R_{700^\circ\text{C}}$ – ostatak pri 700 °C, %
– residue at 700 °C, %

Literatura

References

1. F. Omar, A. K. Bledzki, H.-P. Fink, M. Sain, Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010, *Prog. Polym. Sci.* **37** (2012) 1552–1596, doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.04.003>.
2. K. G. Satyanarayana, G. G. C. Arizaga, F. Wypych, Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers – An overview, *Prog. Polym. Sci.* **34** (2009) 982–1021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.12.002>.
3. L. Mohammed, M. N. M. Ansari, G. Pua, M. Jawaid, M. S. Islam, A Review on Natural Fiber Reinforced Polymer Composite and Its Applications, *Int. J. Polym. Sci.* **2** (2015) 1–15, doi: <https://doi.org/10.1155/2015/243947>.
4. H. R. Pant, B. Pant, R. K. Sharma, A. Amarjargal, H. J. Kim, C. H. Park, L. D. Tijjing, C. S. Kim, Antibacterial and photocatalytic properties of Ag/TiO₂/ZnO nano-flowers prepared by facile one-pot hydrothermal process, *Ceram. Int.*, **39** (2013) 1503–1510, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.07.097>.
5. V. Aruoja, H.-C. Dubourguier, K. Kasemets, A. Kahru, Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Sci. Total Environ.* **407** (2009) 1461–1468, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.053>.
6. M. Hagi, M. Hekmatafshar, M. B. Janipour, S. S. Gholizadeh, M. K. Faraz, F. Sayyadifar, M. Ghaedi, Antibacterial effect of TiO₂ nanoparticles on pathogenic strain of *E. Coli*, *Inter. J. Adv. Biot. Res.* **3** (2012) 621–624, doi: <http://www.bipublication.com>.
7. S. A. Mahdy, W. H. Mohammed, H. Emad, H. A. Kareem, R. Shamel, S. Mahdi, The Antibacterial Activity of TiO₂ Nanoparticles, *J. Babylon Univ./Pure Appl. Sci.* **25** (2017) 955–961, doi: https://doi.org/10.1016/j.uobjournal.com/papers/uobj_paper_2017_71725619.
8. www.uobjournal.com/papers/uobj_paper_2017_71725619.
9. P. Tribedi, A. K. Sil, Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **20** (2013) 4146–4153, <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1378-y>.
10. H. Rajandas, S. Parimannan, K. Sathasivam, M. Ravichandran, L. S. Yin, A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation, *Polym. Test* **31** (2012) 1094–1099, doi: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.07.015>.
11. B. Nowak, J. Pajak, M. Drozd-Bratkowicz, G. Rymarz, Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **65** (2011) 757–767, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.04.007>.
12. M. Koutny, P. Amato, M. Muchova, J. Ruzicka, A.-M. Delort, Soil bacterial strains able to grow on the surface of oxidized polyethylene film containing prooxidant additives, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **63** (2009) 354–357, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.11.003>.
13. S. Fontanella, S. Bonhomme, M. Koutny, L. Husarova, J. M. Brsson, J. P. Courdavault, S. Pitteri, G. Samuel, G. Pichon, J. Lemaire, A. M. Delort, Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives, *Polym. Degrad. Stab.* **95** (2010) 1011–1021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.03.009>.
14. A. Manzur, M. Limón-González, E. Favela-Torres, Biodegradation of physicochemically treated LDPE by a consortium of filamentous fungi, *J. Appl. Polym. Sci.* **92** (2004) 265–271, doi: <https://doi.org/10.1002/app.13644>.
15. R. Pramila, K. V. Ramesh, Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by fungi isolated from marine water – a SEM analysis, *Afr. J. Microbiol. Res.* **5** (2011) 5013–5018, doi: <https://doi.org/10.5897/AJMR11.670>.
16. K. Yamada-Onodera, H. Mukumoto, Y. Katsuyaya, A. Saiganji, Y. Tani, Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK, *Polym. Degrad. Stab.* **72** (2001) 323–327, doi: [https://doi.org/10.1016/s0141-3910\(01\)00027-1](https://doi.org/10.1016/s0141-3910(01)00027-1).
17. W. Wu, Y. Jin, F. Bai, S. Jin, *Pseudomonas aeruginosa* (Chapter 41), u Y.W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton and J. Schwartzman (ur.), *Molecular Medical Microbiology*, 2nd Ed, Academic press, London, UK, 2015, str. 753–767, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>.
18. H. Rajandas, S. Parimannan, K. Sathasivam, M. Ravichandran, L. S. Yin, A novel FTIR ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation, *Polym. Test* **31** (2012) 1094–1099, doi: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.07.015>.
19. S. Haq, W. Rehman, M. Waseem, R. Javed, R. Mahfoozur, M. Shahid, Effect of heating on the structural and optical properties of TiO₂ nanoparticles: antibacterial activity Nanoparticles, *Appl. Nanosci.* (2018) 1–8, doi: <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0647-6>.
20. G. J. Marosi, A. Menyhárd, G. Regdon, J. Varga, Thermal analysis of multiphase polymer systems, u A. Boudenne, L. Ibos, Y. Candau, S. Thomas, *Handbook of Multiphase Polymer Systems*, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2011., str. 359–385, doi: <https://doi.org/10.1002/9781119972020.ch9>.
21. H. Hinsken, S. Moss, J.-R. Pauquet, H. Zweifel, Degradation of polymers during melt processing, *Polym. Degrad. Stab.* **34** (1991) 279–293, doi: [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(91\)90123-9](https://doi.org/10.1016/0141-3910(91)90123-9).

SUMMARY

Antibacterial Properties of mTiO₂ Filler in Biocomposites Based on Low Density Polyethylene and Rice Husks

Antonija Kovačević, Dajana Kučić Grgić,* Emi Govorčin Bajsić, and Nikolina Mrkonjić

Low-density polyethylene (LDPE) is a synthetic, non-degradable polymer most commonly used as a food packaging material; however, its non-degradability has an adverse effect on the environment. The development and use of biodegradable polymeric materials or plastics as packaging materials for food packaging has significantly increased. Biopolymers present one of the best alternatives for development of environmentally friendly packaging materials in the food industry due to their biodegradability. The aim of this study was to prepare biocomposites of low-density polyethylene (LDPE), rice husk (RH) and micro titanium dioxide (mTiO₂) as a filler in order to obtain a biodegradable and antibacterial material suitable for use as a packaging material in the food industry. The biocomposites were prepared by melt mixing in laboratory Brabender mixer. Antibacterial effect of different mass fraction of mTiO₂ ($w = 0.5; 1.0; 1.5, \text{ and } 2.0 \%$) on bacterial cultures of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis* was investigated. The results showed that mTiO₂ inhibited the growth of bacterial cultures of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus subtilis* at the mTiO₂ mass fraction of 1.5 and 2.0 % (the number of bacterial culture cells decreased). The results of TGA and DSC measurements showed that TiO₂ was blended successfully into the biocomposites.

Keywords

Low-density polyethylene (LDPE), rice husks (RH), biocomposites, titanium dioxide (TiO₂), antibacterial properties

University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology, Marulićev trg 19, HR-10 000 Zagreb, Croatia

Preliminary communication
Received February 5, 2019
Accepted December 11, 2019