

NATALIA CZAJA-JAGIELSKA¹⁾, FLORIAN DOMKA²⁾

Badania nad wykorzystaniem bakterii glebowych *Bacillus licheniformis* oraz bakterii osadu czynnego w procesie biodegradacji celulozy i folii zawierających celulozę

Streszczenie — Zbadano aktywność bakterii *Bacillus licheniformis* oraz bakterii osadu czynnego w procesie biodegradacji folii polimerowych (z PE lub z biodegradowalnej żywicy syntetycznej) modyfikowanych celulozą a także, dla porównania, czystej celulozy. Stopień biodegradacji (aktywność kataboliczną bakterii) oceniano na podstawie badań kinetyki procesu denitryfikacji [równania (1) i (2)] towarzyszącego biorozkładowi jak również pogorszenia właściwości wytrzymałościowych, ubytku masy i przyrostu biomasy oraz zmian struktury folii i morfologii ich powierzchni. Stwierdzono, że obydwie wprowadzane rodzaje bakterii powodują biodegradację wspomnianych folii, a stopień rozkładu zależy od typu modyfikowanego polimeru i, w niewielkim tylko stopniu, od rodzaju wykorzystywanych mikroorganizmów. Ustalono, że proces denitryfikacji pozwala na zrealizowanie biodegradacji materiałów polimerowych modyfikowanych celulożą a poza tym może służyć jako sposób oceny ich przydatności do recyklingu organicznego na drodze kompostowania.

Słowa kluczowe: celuloza, folie polimerowo-celulozowe, biodegradacja, denitryfikacja, bakterie denitryfikacyjne.

STUDY ON APPLICATION OF SOIL BACTERIA *BACILLUS LICHENIFORMIS* AND ACTIVATED SLUDGE BACTERIA IN BIODEGRADATION OF CELLULOSE AND CELLULOSE CONTAINING FILMS

Summary — Activities of *Bacillus licheniformis* bacteria and activated sludge bacteria in the processes of biodegradation of polymer films (PE or biodegradable synthetic resins) modified with cellulose, and for comparison pure cellulose, were studied. The degree of biodegradation (catabolytic bacteria activity) was estimated on the basis of kinetics of denitrification process [equations (1) and (2)] accompanying biodegradation (Fig. 1—3) as well as on the basis of strength properties deterioration (Table 1, Fig. 9—10), weight loss and biomass growth (Table 1, Fig. 4) and also changes in the film structure and surface morphology (Fig. 5—8, 11 and 12). It was found that both types of bacteria used caused biodegradation of the films discussed and decomposition degree depended on the type of polymer modified and only slightly on the type of microorganisms used. It was confirmed that denitrification process let realize biodegradation of polymeric materials modified with cellulose. It can be also useful for evaluation of their ability to be organically recycled *via* composting.

Key words: cellulose, polymer-cellulose films, biodegradation, denitrification, denitrification bacteria.

Zapoczątkowany w ubiegłym stuleciu i trwający do chwili obecnej intensywny wzrost produkcji opakowań z tworzyw polimerowych powoduje niekorzystne skutki w postaci zanieczyszczenia środowiska przyrodniczego w wyniku rosnącej liczby trudnych do utylizacji odpadów. Nic więc dziwnego, że problem ten jest objęty strategią zrównoważonego rozwoju (ekorozwoju) i powinien być priorytetowy w ochronie środowiska [1].

W wielu zastosowaniach praktycznych wygodne jest stosowanie do wytwarzania opakowań surowców odnawialnych, które ulegają biodegradacji i dlatego nie stanowią zagrożenia dla otoczenia [2]. Materiały biodegra-

dowalne stają się zatem coraz bardziej popularne, a ich zalety czynią je konkurencyjnymi w stosunku do tradycyjnych tworzyw polimerowych obecnych na rynku. Taką istotną zaletą jest zdolność do biorozpadu w stosunkowo krótkim czasie [3, 4].

Do najczęściej wykorzystywanych surowców odnawialnych należą polisacharydy (skrobia, celuloza, chitozan) [5]. Mogą one być użyte do produkcji opakowań biodegradowalnych zarówno częściowo (odnawialny składnik jest w takim przypadku połączony z polimerem niebiodegradowalnym, np. układy skrobia/PE, skrobia/PP, celuloza/PE), jak i całkowicie (układ PCL/skrobia) [3, 6, 7].

W ostatnich latach coraz większe zainteresowanie budzi celuloza. Jej biologiczny rozkład jak również właściwości mechaniczne zależą od stopnia podstawienia grup OH oraz od rodzaju podstawnika [8]. Do celów

¹⁾ Akademia Ekonomiczna, Wydział Towaroznawstwa, al. Niepodległości 10, 60-967 Poznań, e-mail: n.czaja@ae.poznan.pl

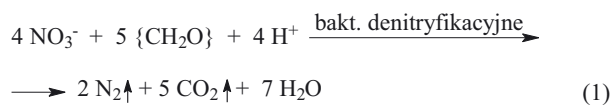
²⁾ Uniwersytet Adama Mickiewicza, Wydział Chemii, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań, e-mail: domkaf@amu.edu.pl

opakowaniowych używa się produktu acylowania grup wodorotlenowych celulozy a nie jej czystej postaci. Należy jednak zauważyć, że stopień biodegradacji jest wówczas odwrotnie proporcjonalny do liczby zacylowanych grup. Mianowicie, charakteryzujący się dobrymi właściwościami termoplastycznymi trioctan celulozy nie ulega biorozpadowi, natomiast dioctan i monoctan są podatne na działanie mikroorganizmów.

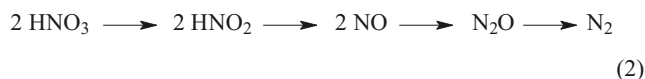
Aktywność mikroorganizmów w biodegradacji materiałów celulozowych jest uwarunkowana ich zdolnością do wytwarzania enzymów koniecznych do biorozpadu poszczególnych fragmentów celulozy [9]. Ostatnio coraz więcej uwagi poświęca się celulolitycznym właściwościom niektórych grzybów a także bakterii — zarówno aerobowych (np. *Cellulosomonas*), jak i anaerobowych (*Clostridium*) [9—11]. Stosuje się przy tym różne metody oceny biodegradowalności materiałów [12] oraz ich przydatności w procesie odzysku organicznego w wyniku kompostowania [13].

Dlatego też interesujące wydaje się poznanie przebiegu procesów biodegradacji celulozy oraz folii polimerowych modyfikowanych celulozą w podłożu zawierającym czystą kulturę względnie anaerobowych bakterii *Bacillus licheniformis* oraz, dla porównania, w podłożu zawierającym bakterie osadu czynnego. Takie warunki eksperymentu zbliżone są bowiem do rzeczywistych warunków otoczenia.

Procesy biologicznego rozkładu dominują w środowiskach glebowych i wodnych [14], odgrywając istotną rolę w cyklu życia różnorodnych produktów [15] oraz w zachowaniu równowagi ekosystemów [16]. Biodegradacji towarzyszą reakcje denitryfikacji, a stechiometrię przekształcenia azotanów(V) do azotu (N_2) z udziałem pochodzących ze związków organicznych równoważników redukujących można przedstawić następującym równaniem [16]:



Poszczególne etapy bioredukcji ilustruje schemat (2) [14]:



Każdy etap w tym schemacie jest katalizowany przez określone enzymy. Na przykład, powstający po przemianie azotanów(V) pod wpływem reduktazy azotanowej azotan(III) zostaje zredukowany przez inny enzym — reduktazę azotynową — do tlenku azotu (NO), który z kolei jest redukowany przez reduktazę NO do N_2O a następnie przez reduktazę N_2O do azotu cząsteczkowego N_2 .

Omawiany proces redukcji azotanów jest stosowany jako miara aktywności bakterii. Ponieważ przebiega on poprzez związki pośrednie, dlatego też w badaniach ki-

netycznych, obok zmian stężenia $[\text{NO}_3^-]$, kontrolowano również aktualne zmiany stężenia azotanów(III), które w warunkach środowiska naturalnego są uwalniane i utleniane do azotanów(V) [17].

Celem referowanej tu pracy była ocena możliwości wykorzystania procesu denitryfikacji do biodegradacji folii modyfikowanych celulozą a także określenie warunków, w jakich proces ten jest najskuteczniejszy.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Testowane materiały

Biodegradacji poddawano czystą celulozę w postaci proszku (produkt firmy W&R Balston Ltd.) oraz trzy folie zawierające celulozę: C-NP — jednowarstwowa, całkowicie celulozowa (produkt firmy USB Group, Wlk. Brytania), C-NE — trójwarstwowa, w której dwie zewnętrzne warstwy to zgrzewalna syntetyczna żywica biodegradowalna, środkową zaś najgrubszą warstwę stanowi celuloza (produkt firmy USB Group, Wlk. Brytania) oraz australijska folia C-PE otrzymana z kompozytu polietylenowo-celulozowego (dar, wytwórca nieznan).

Bakterie

Bakterie glebowe *Bacillus licheniformis* wyselekcjonowano z żyznych gleb okolic Poznania oraz zidentyfikowano opierając się na kluczu Bergey'a [18] wg procedury opisanej w [19].

Wprowadzane do procesu szczepy bakterii występujące w zawiesinie osadu czynnego uzyskano z oczyszczalni ścieków Chwałkowo (koło Środy Wielkopolskiej). Pobrana ze zbiornika ścieków w toku ich denitryfikacji zawiesina charakteryzowała się następującymi parametrami: barwa brązowa, pH = 7,1, opadalność w leju Irnhoffa (cm^3/dm^3) — 400 po 30 minutach i 320 po 60 minutach, indeks objętościowy osadu czynnego — 99,3 cm^3/g , sedymentacja dobra.

Badania procesu biodegradacji

Pomiary kinetyczne pozwalające na bezpośrednią ocenę aktywności katabolicznej bakterii realizowano w podłożu, w którym umieszczano czystą proszkową celulozę bądź testowane folie zawierające celulozę — stanowiącą jedyne źródło węgla i energii — a także azotany — substrat oddechowy. Badania prowadzono w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych wg wcześniej opisanej metody [20].

Proces przebiegał w sterylnych, szklanych szczelnie zamkniętych małych reaktorach zawierających płynną pożywkę o składzie (g/dm^3) [17]: KNO_3 — 10, NH_4Cl — 0,25, CaCl_2 — 1,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ — 0,5, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ — 0,43, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ — 2,5 oraz mikroelementy: $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ — $3,47 \cdot 10^{-4}$, H_3BO_3 — $0,86 \cdot 10^{-4}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ — $1,20 \cdot 10^{-4}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ —

$0,28 \cdot 10^{-4}$, $Zn(NO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ — $0,10 \cdot 10^{-4}$,
 $(NH_4)_6Mo_7O_{27} \cdot 4 H_2O$ — $0,18 \cdot 10^{-5}$, $NaHSeO_3$ —
 $0,88 \cdot 10^{-7}$, $Ni(NO_3)_2 \cdot 6 H_2O$ — $0,18 \cdot 10^{-5}$.

W pożywce umieszczano testowane folie (o wymiarach 15×100 mm), natomiast czystą celulozę w proszku wprowadzano do próbek kontrolnych. Następnie, po skorygowaniu wartości pH do ok. 7,5, całość zaszczepiano bądź 10-proc. obj. innokulum czystej kultury bakterii glebowej pobranej w fazie logarytmicznego wzrostu (po 25 h namnażania), bądź mieszaniną szczepów bakterii osadu czynnego. Temperatura pomiaru w trzech seriach doświadczeń wynosiła $36^\circ C$; wynik stanowi wartość średnią z trzech pomiarów.

Za miarę aktywności katabolicznej bakterii, świadczący o stopniu biodegradacji celulozy przyjmowano — kontrolowany w określonych odstępach czasu — stopień denitryfikacji azotanów do wolnego azotu.

Metody analityczne

— Bieżące stężenie azotanów(V) $[NO_3^-]$ mierzono za pomocą chlorosrebrowej elektrody jonoselektywnej „Detektor”.

— Stężenie azotanów(III) $[NO_2^-]$ oznaczano spektrofotometrycznie metodą Griessa-Ilosvay’a (aparatus „Genesis”, $\lambda = 520$ nm).

— Przyrost biomasy określano na podstawie spektrofotometrycznego pomiaru ilości białka metodą Lowry’ego [21].

— Ubytek masy badanych próbek oceniano ważąc je na elektronicznej wadze z dokładnością 0,0001 g.

— W celu określenia zmian morfologicznych badanych folii wykonano zdjęcia próbek przed i po biodegradacji skaningowym mikroskopem elektronowym („Philips SEM 515”).

— Widma UV-VIS wykonano techniką odbiciową przy użyciu spektrofotometru „UV-VIS Carry 50”.

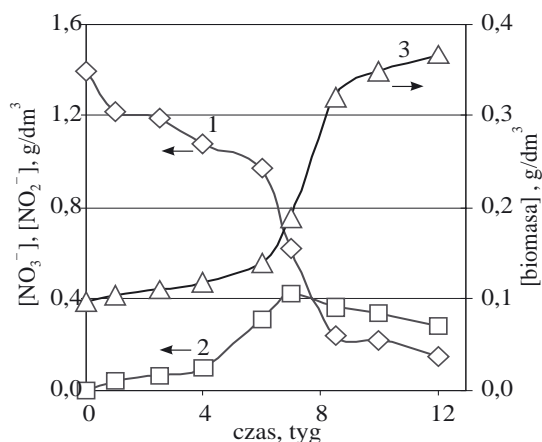
— Badania wytrzymałościowe prowadzono za pomocą maszyny wytrzymałościowej „Instron” model 55-65, zgodnie z normą PN EN ISO 527-1:1998.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Biorozkład pod wpływem bakterii *Bacillus licheniformis*

W pierwszej serii doświadczeń ustalono aktywność kataboliczną bakterii *Bacillus licheniformis* poddając procesowi denitryfikacji proszkową celulozę. Kształt otrzymanych krzywych kinetycznych (rys. 1) jest bardzo zbliżony do kształtu krzywych procesu denitryfikacji zachodzącego w pożywce mleczanowej [22]. Jedynie przyrost biomasy w omawianym tu przypadku jest mniejszy, co świadczy o spowolnionym namnażaniu bakterii.

Na rysunku 1 można wyróżnić typowe etapy wzrostu bakterii — od początkowej fazy przygotowawczej (lag-faza), poprzez fazę logarytmiczną, aż do fazy śmier-



Rys. 1. Krzywe kinetyczne procesu denitryfikacji zachodzącego pod wpływem bakterii *Bacillus licheniformis* w podłożu zawierającym czystą celulozę w postaci proszku; oznaczenia krzywych: 1 — $[NO_3^-]$, 2 — $[NO_2^-]$, 3 — biomasa

Fig. 1. Kinetic curves of denitrification process going in the substrate containing pure cellulose powder (*Bacillus licheniformis* bacteria); curves denotations: 1 — $[NO_3^-]$, 2 — $[NO_2^-]$, 3 — biomass

ci. W procesie bioredukcji azotanów(V) do wolnego azotu zmniejszającemu się ich stężeniu towarzyszy biorozkład celulozy przebiegający do poziomu ok. 90% po 12 tygodniach trwania procesu. W podłożu, poza pożywką, pozostaje niewielka ilość powstających na etapie przejściowym azotanów(III), które nie są akumulowane i, jak wynika z wcześniejszych badań, w warunkach środowiska ulegają przemianie do nietoksycznych azotanów(V).

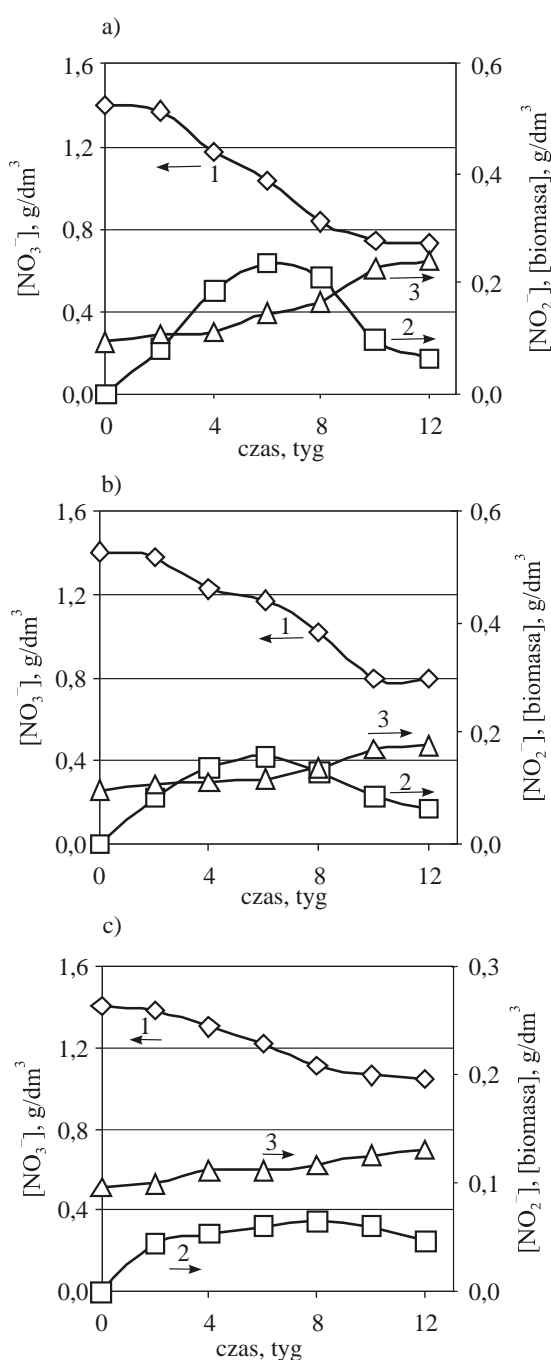
Krzywe kinetyczne procesu denitryfikacji (uwzględniające zmiany stężenia NO_3^- , NO_2^- oraz biomasy) zachodzącego w podłożu zawierającym testowane folie (rys. 2) wskazują na stosunkowo mały przyrost biomasy, a tym samym na spowolniony proces namnażania bakterii. Zmiany stężenia azotanów w podłożu, w porównaniu z procesem zachodzącym w pożywce zawierającej czystą celulozę (rys. 1), we wszystkich przypadkach są również niewielkie. Może to oznaczać, że po 12 tygodniach inkubacji bakterii proces denitryfikacji zostaje zahamowany na różnym poziomie biorozpadu testowanych folii (C-NP, C-NE, C-PE) z powodu braku dostępnych źródeł węgla. Zatem proces denitryfikacji jest uzależniony od zawartości celulozy w danym materiale. Wnioski te potwierdzają badania ubytku masy oraz właściwości wytrzymałościowych biodegradowanych folii; pogorszenie ich charakterystyki jest spowodowane rozkładem celulozy, stanowiącej integralną część folii (tabela 1).

Dla porównania, na rys. 3 zestawiono krzywe kinetyczne redukcji azotanów(V) zachodzącej w podłożu zawierającym oprócz bakterii *Bacillus licheniformis* testowane próbki folii oraz czystą celulozę. Jak widać, w początkowym stadium procesu w obecności testowanych folii następuje powolny spadek stężenia azotanów powodo-

T a b e l a 1. Wyniki badań wpływu procesów biodegradacji folii polimer/celuloza na ubytek masy i właściwości wytrzymałościowe po upływie 12 tygodni

T a b l e 1. Results of the investigation of the effect of polymer/cellulose films biodegradation on its weight loss and strength properties after 12 weeks

Badany parametr		Podłoże	Rodzaj folii		
			C-NP	C-NE	C-PE
Stopień biodenitryfikacji, %	<i>Bacillus licheniformis</i>		49,8	43,5	25,5
	bakterie osadu czynnego		45,6	31,0	23,1
Ubytek masy, %	<i>Bacillus licheniformis</i>		96,7	17,2	0,4
	bakterie osadu czynnego		80,2	14,9	0,1
Zmiana właściwości wytrzymałościowych, %	napężenie zrywające	<i>Bacillus licheniformis</i>	—	-64,7	-13,3
		bakterie osadu czynnego	—	-61,8	-10,5
	wydłużenie względne	<i>Bacillus licheniformis</i>	—	-77,9	-3,7
		bakterie osadu czynnego	—	-74,3	-11,9



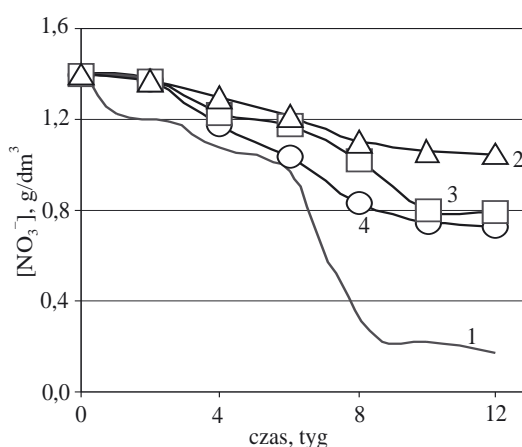
Rys. 3. Krzywe kinetyczne redukcji azotanów(V) zachodzącej w podłożu zawierającym bakterie *Bacillus licheniformis* oraz 1 — proszkową celulozę, 2 — folię C-PE, 3 — folię C-NE, 4 — folię C-NP

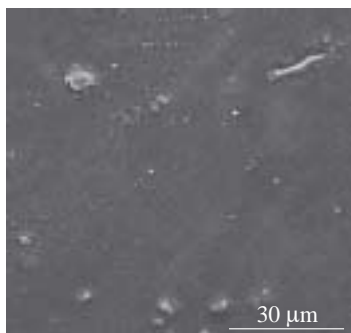
Fig. 3. Kinetic curves of nitrates(V) reduction going in the substrate containing *Bacillus licheniformis* bacteria and: 1 — cellulose powder, 2 — C-PE film, 3 — C-NE film, 4 — C-NP film

wany gorszym dostępem bakterii do węgla organicznego i koniecznością ich przystosowania się do tych nowych warunków. Dopiero po 2 tygodniach adaptacji można zaobserwować wzrost stopnia redukcji azotanów(V), różny w zależności od rodzaju folii. Po 12 tygodniach końcowe stężenie azotanów(V) w podłożu zawierającym testowane folie kształtuje się — w porównaniu z próbą odniesienia (celuloza) — na poziomie wyż-

Rys. 2. Krzywe kinetyczne procesu denitryfikacji zachodzącego pod wpływem bakterii *Bacillus licheniformis* w podłożu zawierającym testowane folie: a) — C-NP, b) — C-NE, c) — C-PE; oznaczenia krzywych jak na rys. 1

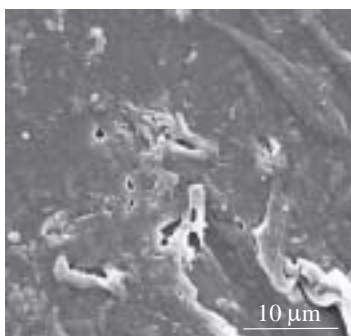
Fig. 2. Kinetic curves of denitrification process going in the substrate containing films tested: a) — C-NP, b) — C-NE, c) — C-PE and *Bacillus licheniformis* bacteria; curves denotations as in Fig. 1





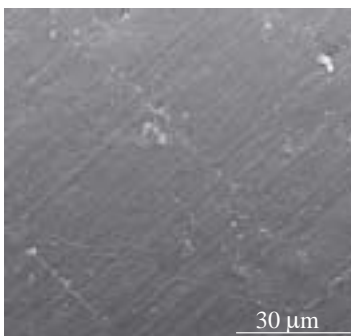
Rys. 4. Obraz powierzchni folii C-NE przed procesem biodegradacji

Fig. 4. Surface image of C-NE film before biodegradation



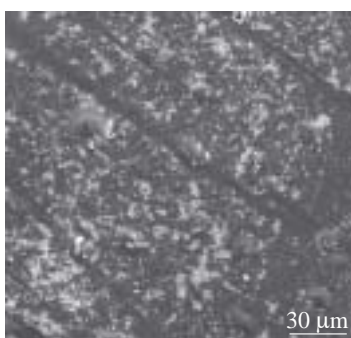
Rys. 5. Obraz powierzchni folii C-NE po 12 tygodniach biodegradacji wywołanej działaniem bakterii *Bacillus licheniformis*

Fig. 5. Surface image of C-NE film after 12 weeks of biodegradation caused by *Bacillus licheniformis* bacteria



Rys. 6. Obraz powierzchni folii C-PE przed procesem biodegradacji

Fig. 6. Surface image of C-PE film before biodegradation

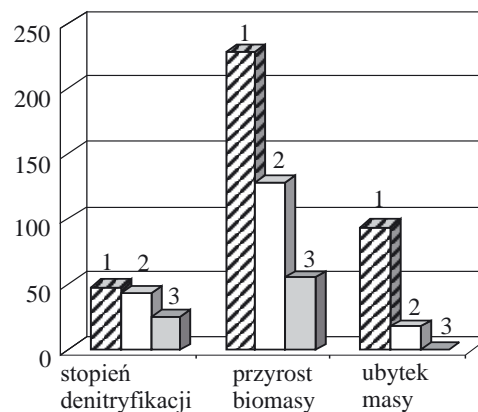


szym. Na tej podstawie można ocenić stopień denitryfikacji towarzyszącej utlenianiu przez bakterie substratu organicznego (celulozy w różnym stężeniu). Stopień ten wynosi ok. 25 % (folia C-PE), ok. 43 % (folia C-NE) oraz ok. 50 % (folia C-NP), podczas gdy w biorozkładzie czystej celulozy dochodzi do ok. 90 %. Po biodegradacji w podłożu pozostają płynne mineralne składniki pożywki, biomasa bakterii oraz łatwy do usunięcia niedegradowalny polimerowy składnik folii.

Wywołane biodegradacją realizowaną w ciągu 12 tygodni w podłożu zawierającym bakterie *Bacillus licheniformis* zmiany powierzchni folii C-PE i C-NE uwidoczniają wyniki badań metodą mikroskopii elektronowej w postaci fotografii próbek przed (rys. 4 i 6) oraz po (rys. 5 i 7) tym procesie. Duże rozluźnienie struktury polimeru, zanik spójności oraz dziury i wżery obserwuje się na powierzchni folii C-NE, w przypadku której stopień biodenitryfikacji oszacowano na ok. 43 %. Zdecydowanie mniejszy wpływ wykorzystanych tu bakterii jest widoczny na powierzchni folii C-PE (stopień denitryfikacji ok. 25 %).

Biorozkład pod wpływem bakterii osadu czynnego

Ocenę końcowych wyników biorozkładu testowanych folii uzyskanych po 12 tygodniach jego prowadzenia w podłożu zawierającym bakterie osadu czynnego



Rys. 8. Procentowe zmiany stężenia azotanów(V), przyrostu biomasy oraz ubytku ciężaru testowanych folii po 12 tygodniach biodegradacji w podłożu zawierającym bakterie osadu czynnego; 1 — C-NP, 2 — C-NE, 3 — C-PE

Fig. 8. Percentage changes of nitrates(V) concentration, biomass growth and weight loss of the films tested after 12 weeks of biodegradation in activated sludge bacteria containing substrate; 1 — C-NP, 2 — C-NE, 3 — C-PE

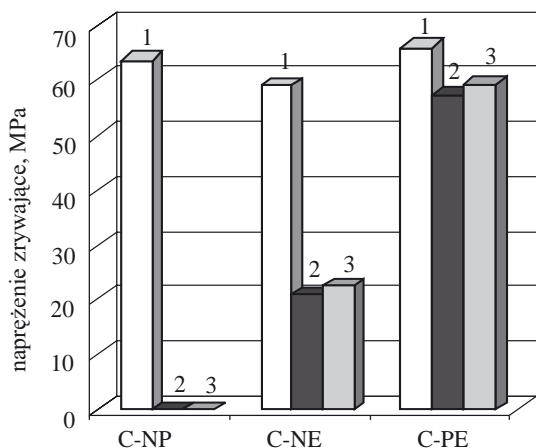
Rys. 7. Obraz powierzchni folii C-PE po 12 tygodniach biodegradacji wywołanej działaniem bakterii *Bacillus licheniformis*

Fig. 7. Surface image of C-PE film after 12 weeks of biodegradation caused by *Bacillus licheniformis* bacteria

przedstawiono w tabeli 1 oraz na rys. 8. W tym przypadku stopień denitryfikacji azotanów(V) koreluje z ubytkiem ciężaru folii oraz z przyrostem biomasy. Największy stopień redukcji azotanów widoczny jest przy tym w podłożu zawierającym folię C-NP, najmniejszy dotyczy C-PE.

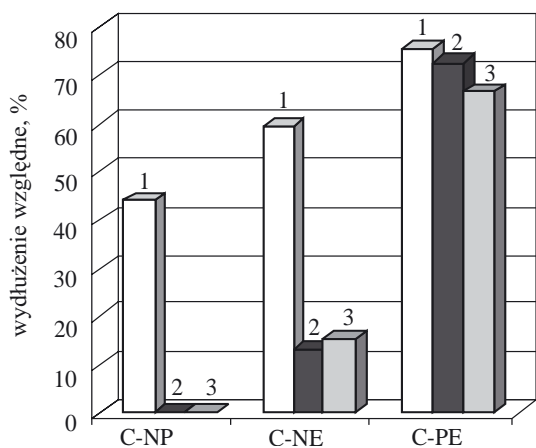
Porównanie efektywności bakterii *Bacillus licheniformis* i bakterii osadu czynnego w procesie biorozkładu

Biodegradowalność testowanych folii w środowisku wyselekcjonowanych mikroorganizmów *Bacillus licheniformis* jest porównywalna z uzyskaną w hodowli z bakteriami osadu czynnego, czyli w warunkach zbliżonych do środowiska naturalnego — por. stopień denitryfikacji w tabeli 1. Dodatkowo świadczą o tym zawarte również w tabeli 1 wyniki pomiarów ubytku masy.

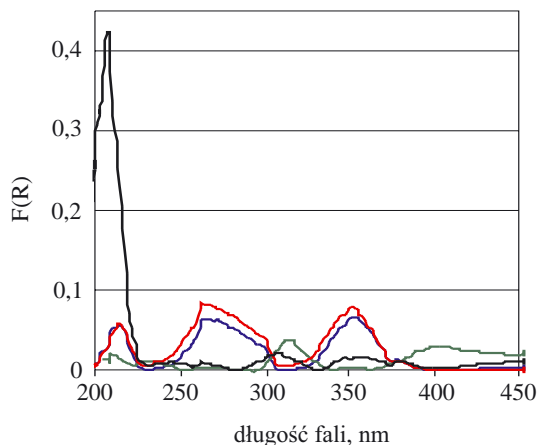


Rys. 9. Zmiany wartości naprężenia zrywającego w folii poddanej 12-tygodniowemu procesowi biodegradacji w podłożu zawierającym bakterie *Bacillus licheniformis* (2) lub bakterie osadu czynnego (3), (1) — próbka danej folii niepoddanej działaniu bakterii

Fig. 9. Changes of stress at break of the films subjected to 12 week degradation in the substrate containing *Bacillus licheniformis* bacteria (2) or activated sludge bacteria (3); 1 — film sample not subjected to the action of bacteria

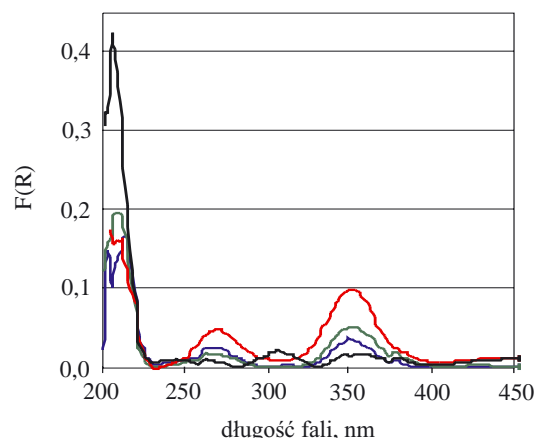


Folia C-NP w środowisku zawierającym zarówno bakterie *Bacillus licheniformis*, jak i bakterie osadu czynnego



Rys. 11. Widmo UV-VIS folii C-NE po 12 tygodniach biodegradacji z udziałem: (-) *Bacillus licheniformis* bądź (-) bakterii osadu czynnego; (-) — proszkowa celuloza niebiodegradowana, (-) — folia C-NE przed biodegradacją

Fig. 11. UV-VIS spectra of C-NE film after 12 weeks of biodegradation caused by *Bacillus licheniformis* bacteria (-) or activated sludge bacteria (-); (-) — non-biodegraded cellulose powder, (-) — C-NE film before biodegradation



Rys. 12. Widmo UV-VIS folii C-PE po 12 tygodniach biodegradacji z udziałem: (-) *Bacillus licheniformis* bądź (-) bakterii osadu czynnego; (-) — proszkowa celuloza niebiodegradowana, (-) — folia C-PE przed biodegradacją

Fig. 12. UV-VIS spectra of C-PE film after 12 weeks of biodegradation caused by *Bacillus licheniformis* bacteria (-) or activated sludge bacteria (-); (-) — non-biodegraded cellulose powder, (-) — C-PE film before biodegradation

Rys. 10. Zmiany wartości wydłużenia względnego folii poddanej 12-tygodniowemu procesowi biodegradacji w podłożu zawierającym bakterie *Bacillus licheniformis* i bakterie osadu czynnego; oznaczenia jak na rys. 9

Fig. 10. Changes of unit elongation of the films subjected to 12 week degradation in the substrate containing *Bacillus licheniformis* bacteria or activated sludge bacteria; denotations as in Fig. 9

nego ulega niemal w 50 % biodegradacji, czemu towarzyszy największy ubytek masy. Pozostałe folie zachowują swoją spoistość, którą potwierdzają badania właściwości wytrzymałościowych. Mianowicie, w przypadku folii C-NE obserwuje się ok. 60-proc. spadek wytrzymałości na rozciąganie statyczne, natomiast wytrzymałość folii C-PE zmniejsza się w niewielkim tylko stopniu, co dobrze koreluje z najniższym stopniem redukcji azotanów(V). Odpowiednie wartości naprężenia zrywającego oraz wydłużenia względnego przedstawiono na rys. 9 i 10 wraz z danymi dotyczącymi proszkowej celulozy.

Zmiany struktury badanych folii wywołane procesem biodegradacji analizowano również metodą UV-VIS. Rysunki 11 i 12 przedstawiają widma czystej celulozy oraz folii C-NE (rys. 11) lub C-PE (rys. 12) przed biodegradacją jak również widma uzyskane po 12 tygodniach działania bakterii *Bacillus licheniformis* a także szczepów bakterii osadu czynnego, odpowiednio na folie C-NE i C-PE. Widma te różnią się wyraźnie między sobą w obszarze odpowiadającym występowaniu pików charakteryzującego czystą celulozę (205 nm). Na rysunku 12 obserwowany w tym zakresie pik folii po biodegradacji jest przy tym wyższy niż pik odpowiadający folii przed rozkładem, czego przyczyną mogą być zmiany chemiczne celulozy pod wpływem działania bakterii *Bacillus licheniformis*.

PODSUMOWANIE

Zgromadzony materiał doświadczalny dowodzi, że bakterie *Bacillus licheniformis* są aktywne w procesie biodegradacji celulozy oraz folii zawierających celulozę. Największą aktywność tych mikroorganizmów obserwowano w podłożu z czystą celulozą. Natomiast aktywność bakterii w podłożu z próbkami folii zawierającymi celulozę zależy w dużej mierze od rodzaju folii, wpływającego na możliwość dostępu bakterii do niezbędnego w procesie metabolicznym mikroorganizmów węgla organicznego.

Zmiany stopnia biodegradacji badanych folii określone kinetyczną metodą denitryfikacji [23] zostały potwierdzone przez wyniki pomiarów właściwości mechanicznych oraz badania struktury (metodą UV-VIS) i powierzchni biodegradowanej folii (metodą mikroskopii elektronowej).

Na tej podstawie ustalono, że po 12 tygodniach stopień biodegradacji proszkowej celulozy wynosi ok. 90 %, natomiast jego wartość w przypadku trzech typów testowanych folii mieści się w przedziale 25–50 %.

Aktywność czystej kultury bakterii *Bacillus licheniformis* w badanym przez nas procesie jest na ogół większa od aktywności szczepu kultury mieszanej osadu czynnego. Daje to realną możliwość wykorzystania metody denitryfikacji w prowadzonej w kontrolowanych warunkach biodegradacji materiałów nie tylko celulozowych [24], z łatwym przy tym oddzieleniem części niebiodegradalnych.

Doświadczalnie potwierdzona podatność folii polimerowych modyfikowanych celulożą na atak mikroorganizmów denitryfikacyjnych pozwala na realizację recyklingu organicznego metodą kompostowania [13], a omawiany proces denitryfikacji może okazać się niezwykle przydatny do oceny biodegradowalności tworzyw polimerowych.

LITERATURA

1. Domka F.: *Magazyn Przemysłu Rybnego* 2004, 4, nr 40, 14.
2. Czaja N.: *Packaging* 2005, 10, 12.
3. Trznadel M.: *Polimery* 1995, 40, 485.
4. Adamus G., Dacko P., Musioł M., Sikorska W., Sobota M., Biczak M., Herman B., Rychter P., Krasowska K., Rutkowska M., Kowalczyk M.: *Polimery* 2006, 51, 539.
5. Weber C. J.: „Biobased Packaging Materials for the Food Industry”, KVL Denmark 2000.
6. Lorenz T.: w „Maack Business Services” 1990; Wilder R. V.: *Mod.-Plast. Int.* 1990, 19, nr 9, 74.
7. Krasowska K., Hejmowska A., Rutkowska M.: *Polimery* 2006, 51, 21.
8. Mucha M.: „Ekologia Polimerów”, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2002.
9. Perez J., Munoz-Dorado J., de la Rubia T., Martinez J.: *Int. Microbiol.* 2002, 5, 53.
10. *Pat. USA* 0225002 A1 (2005).
11. Wang W., Liu J., Chen G., Zhang Y., Gao P.: *Current Microbiol.* 2003, 46, 371.
12. Kaczmarek H., Bajer K.: *Polimery* 2006, 51, 716.
13. Kikolski P., Dłuska-Smolik E., Bolińska A.: *Polimery* 2005, 50, 208.
14. Bothe H., Trebst A.: „Biology of Inorganic Nitrogen and Sulfur”, Springer-Verlag, Berlin 1989.
15. Dudek M., Wolska M., Namiesnik J.: *Ekologia i Technika* 2005, 13, nr 2, 66.
16. Manahan Hanley E.: „Environmental Chemistry”, Lewis Publ. London, Tokio 1994.
17. Seifert K., Domka F.: *Pol. J. Envir. Stud.* 2005, 14, nr 1, 1 i 87.
18. „Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”, Wyd. IX, Williams and Williams, 1994.
19. Waligórska M., Domka F.: *Envir. Prot. Eng.* 1992, 18, nr 1—2, 117.
20. Brzycki S., Seifert K., Domka F.: *Pol. J. Envir. Stud.* 2005, 14, nr 4, 411.
21. Lowry O. H., Rosenbrought N. J., Faar A. L., Randali R. J.: *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265.
22. Czaja N., Domka F.: *Pol. J. Envir. Stud.* 2005, 14, Supplement 5, 43.
23. Czaja N., Domka F.: *Ekologia i Technika* 2006, 14, nr 1, 3.
24. Seifert K., Szymańska K., Wawrzak D., Domka F.: *Ekologia i Technika* 2005, 13, nr 2, 47.

Otrzymano 9 II 2006 r.