

Szent István Egyetem
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Környezetvédelmi és Környezetbiztonsági Tanszék

Műanyagok biológiai bonthatóságának vizsgálata

Készítette: Bordós Gábor
Évfolyam: MSc II. évfolyam

Belső konzulens: Dr. Szoboszlai Sándor
Beosztása: egyetemi docens

Belső konzulens: Hartman Mátyás
Beosztása: egyetemi tanársegéd

Belső konzulens: Háhn Judit
Beosztása: tanszéki mérnök

Gödöllő
2013

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS.....	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	5
2.1. Biológiailag lebomlónak deklarált műanyagok típusai.....	5
2.1.1. Biológiailag lebomló polimerek megújuló forrásból (bioműanyagok)	5
2.1.2. Biológiailag lebomló műanyagok nem megújuló, petrokémiai forrásból.....	6
2.2. Lebomlási mechanizmusok.....	6
2.2.1. Abiotikus degradáció.....	7
2.2.2. Biodegradáció	8
2.3. Lebomlási vizsgálatok.....	9
2.3.1. Szabványosított tesztek.....	9
2.3.2. Nem szabványosított, szakirodalmi tesztek	10
2.3.2.1. Laboratóriumi lebomlási vizsgálatok.....	11
2.3.2.2. Komposztálási körülmények között végzett vizsgálatok.....	16
2.4. Üzemi komposztálás.....	17
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	18
3.1. Komposztálási kísérlet beállítása.....	18
3.1.1. A komposztálási kísérlet során felhasznált műanyagok jellemzése	18
3.1.2. A komposztálási kísérlet beállítása, vizsgálati módszere	19
3.2. Baktériumtörzsek izolálása és azonosítása.....	20
3.2.1. Mintavétel és mintafeldolgozás.....	20
3.2.1.1. Mintavétel komposztból.....	20
3.2.1.2. Mintavétel talajból	20
3.2.1.3. Mintafeldolgozás	20
3.2.2. Összes élő csíraszám meghatározása és törzsizolálás	21
3.2.3. Molekuláris biológiai módszerek.....	22
3.3. Laboratóriumi bontási kísérlet beállítása	23

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	25
4.1. Komposztálási kísérlet	25
4.1.1. A komposztprizma jellemzői.....	25
4.1.2. Beágyazott műanyagok a komposztálás után	25
4.2. Izolált és azonosított baktériumtörzsek.....	29
4.2.1. Komposztból és talajból származó minták csíraszámai.....	29
4.2.2. Faj szintű identifikáció	32
4.3. Laboratóriumi bontási kísérlet.....	35
4.3.1. Műanyagok kiválasztása	35
4.3.2. Közeg kiválasztása	36
4.3.3. Oltáshoz használt törzsek, kontroll mérések.....	37
4.3.4. Mérési eredmények	37
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	41
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	44
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	45
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	46
NYILATKOZAT	50

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A műanyagok megjelenésével olyan tulajdonságokat ötvöző lehetőségekre tett szert az ipar, mint a nagy szakítószilárdság, a rugalmasság, a kis tömeg és az alacsony előállítási költség (SIVAN, 2011). A világ műanyagtermelése 1990-ben 100 millió tonna volt. Ez 2000-re megduplázódott, majd 2011-ben 280 millió tonnára nőtt (HTTP 1). Az 1970-es évek táján nyilvánvalóvá vált, hogy környezetbe kerülve hatalmas problémát okoznak (SCOTT, 2000).

A műanyagok kémiai szerkezetükben igen stabilra tervezettek, a belőlük előállított termékek nagyon tartósak. Erre sok esetben szükség is van (pl. közműhálózatok, űrtechnológia). Ezzel szemben az Európában előállított műanyagok 39%-át csomagolásra használjuk (HTTP 2). Ebből kifolyólag a műanyagok jelentős része bizonyosan egyszerhasználatos termék, így a keletkező nagy mennyiségű hulladékot kezelni kell. Ha ez nem történik meg, akkor a keletkező hulladék környezetünkben felhalmozódik, az élővilágot közvetlen és közvetve fenyegeti, így az emberekre is hosszú távú hatást gyakorol. Ismeretes példa a tengeri műanyag hulladék („marine debris”) esete, mely az áramlatokkal hatalmas hulladékszigetökké rendeződik („plastic islands”) (HTTP 3; 4; 5). A megfelelő hulladékkezelés egyik lehetősége az újrahasznosítás. Mivel ez sok esetben kis hatásfokkal valósul meg, ezért fontos irány a biológiai úton lebomló műanyag csomagolások fejlesztése.

Az ilyen lebomló csomagolások készülhetnek eleve lebomló, természetes anyagokból (ún. bioműanyagok) vagy valamilyen adalékanyaggal lebomlóvá tett, konvencionális (kőolaj alapú) poliolefinből (ún. oxo-biodegradálható műanyagok). Vizsgálataim során különböző bioműanyagok és oxo-biodegradálható műanyagok biológiai lebomlását vizsgáltam ipari komposztálásban és laboratóriumi körülmények között. Korábbi tapasztalataim és a szakirodalom áttekintése alapján az alábbi hipotéziseket fogalmaztam meg:

1. Nem minden lebomlónak jelzett műanyag bomlik le biológiai úton.
2. Az oxo-biodegradálható műanyagok biológiailag nehezen, vagy egyáltalán nem bomlanak le.

Elsődleges célom a valós biológiai hulladékkezelésben történő lebomlásuk megfigyelése volt vizuális úton és a tömegcsökkenésük mérésével. Célul tűztem ki továbbá talajból és komposztból vett különböző műanyagminták felületéről származó baktériumtörzsek izolálását és 16S rDNS alapú azonosítását. A komposztálási eredmények alapján egyes műanyagok biológiai hozzáférhetőségét az izolált törzsekből összeállított konzorciumoknak kitéve laboratóriumban beállított, respirációs aktivitás mérésén alapuló vizsgálatban kívántam összehasonlítani.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Biológiailag lebomlónak deklarált műanyagok típusai

A tudomány az 1980-as években kezdett el foglalkozni lebomló műanyagok előállításával a kialakult környezeti probléma megoldása végett. A műanyagpiacon jelen lévő néhány fajta lebomló polimer részaránya egyelőre igen alacsony, de folyamatosan növekszik. *Sajnos a rajtuk található jelzésekkel ellentétben ezeknek nem mindegyike biodegradálódik teljes mértékben* (LITHNER et al., 2011).

A környezeti úton lebomló polimerek sokféle folyamattal (fotolitikus, termikus, hidrolitikus, mechanikus, stb.) vagy azok kombinációjával degradálódhatnak, de a *végső lépés mindig a mikrobák által végzett mineralizáció*. Elengedhetetlen követelmény azonban, hogy a lebomlási folyamat teljes legyen, bármiféle környezeti kockázatot jelentő összetevő felhalmozódása nélkül. Ezek a műanyagok kémiai módosításokkal vagy anélkül állíthatók elő megújuló vagy meg nem újuló forrásokból (KRZAN et al., 2006).

2.1.1. Biológiailag lebomló polimerek megújuló forrásból (bioműanyagok)

Számos természetes eredetű polimer növényi alapanyagból készül. Ezen polimerek gyártásánál nagyon fontos, hogy szennyezett talajban termesztett növény nem használható fel, hiszen pl. a nehézfémek könnyen akkumulálódnak a növényi szövetekben és ezáltal a végtermék elszennyeződését okoznák. A legjelentősebb növényi forrásból származó alapanyag a *cellulóz* és a *keményítő*. A teljes mértékben keményítóből gyártott polimerek vízállósága nagyon gyenge és maga az anyag is törékeny, ezért általában polietilénnel keverve állítanak elő belőle komposztálható szatyrokat, csomagoló anyagokat (DAVIS, 2003.).

Biotechnológiai úton (pl. szénhidrátok bakteriális fermentálása), de mezőgazdasági melléktermékekből is előállítható hőre lágyuló biopolimer. Hagyományos technológiákkal (pl. fűvás, fröccsöntés) könnyen feldolgozhatók, mechanikai tulajdonságaik hasonlítanak a poliolefinekéhez (BECZNER et al., 1997). *Ilyen anyag a politejsav (PLA) is*. A politejsav egy lineáris, nyílt láncú poliészter, melyet tejsavból állítanak elő. A tejsav a kukorica nedves őrlése után a keményítő erjedéséből keletkező melléktermék. *A politejsav észter kötése mind abiotikus (kémiai) tényezőkből eredő, mind a mikroorganizmusok által kiválasztott enzimek okozta hidrolízis során felhasadhatnak* (SHAH et al. 2008).

A növényi anyagok műanyagipari felhasználásánál ugyanaz a probléma állhat elő, mint az üzemanyaggyártás céljából termesztett növényeknél. Az ilyen megfontolásból termesztett növények népelelmezésre is használhatóak lennének, illetve az élelmiszer-növények termesztésétől vonnak el területet.

A polihidroxialkanoátok (PHA) olyan természetben előforduló vegyületek, melyeket szacharidokból, alkoholokból vagy kis molekuláris tömegű zsírsavakból állítanak elő. Az agráriumban keletkező melléktermékekből (maltóz, melasz) is előállítható, amennyiben azok könnyen hozzáférhetőek és összetételük ismert, megbízható (DAVIS, 2003). A mikroorganizmusok extracelluláris hidroláz enzimek kiválasztásával képesek a polimert általuk felvehető monomerekre bontani (SHAH et al., 2008).

A bioműanyagok használatuk után teljes mértékben komposztálhatók. Lebomlásukkal beépülnek a természetes körforgásba, így fontos szerepet játszanak a kialakult hulladék-krízis és más környezeti problémák csökkentésében (LÖRCKS, 1998).

2.1.2. Biológiai lebomló műanyagok nem megújuló, petrokémiai forrásból

A polivinil-alkohol (PVA, PVOH) olyan polimer, melynek a főláncában csak szénatomok kapcsolódnak egymáshoz. A gyárilag előállított vinil-polimerek közül a PVA az egyetlen olyan ismert, melyet a mikroorganizmusok mineralizálnak (SHIMAO, 2001). Különböző felhasználási területekre keményítóből és PVA-ból álló, különféle arányú keverékek igen elterjedtek (pl. orvostudományi, egészségügyi alkalmazásban). A keményítő adalékolásával fokozható a biodegradáció (SPIRIDON et al., 2008). A PVA vízoldhatósága bizonyos esetekben megkérdőjelezheti a tényleges biodegradációt, illetve indokot adhat bizonyos jellegű felhasználások mellőzésére, mert gyors oldódásával a felszíni vizek elszennyeződését is okozhatja.

A szintetikus poliolefinok olyan petrokémiai úton előállított anyagok, melyeknek vázát csak szénatomok alkotta hosszú láncok adják (pl. polietilén, polipropilén). Ez a felépítés nem teszi őket elérhetővé a mikrobák számára. A polietilén nagy molekuláris tömegű, hidrofób műanyag. Ahhoz, hogy lebonthatóvá váljanak, a kristályszerkezetük módosítása és a molekuláris tömegük csökkentése szükséges. Ez a hidrofób tulajdonság csökkentésével és/vagy a polimerlánc oxidációval történő rövidítésével érhető el. Keményítő hozzáadásával hidrofillé tehető az anyag és így az amiláz enzim által hozzáférhető, mikroorganizmusok által hasznosítható. Oxidációt segítő anyagok (pl. fémek) adalékolásával csak fotodegradáció és/vagy kémiai degradáció után következhet be a biológiai lebomlás (SHAH et al. 2008).

2.2. Lebomlási mechanizmusok

Degradációnak hívunk minden olyan kémiai vagy fizikai változást egy anyag (jelen esetben polimer) szerkezetében, amely a környezeti tényezők (fény, hőmérséklet, nedvesség, kémiai állapot, biológiai aktivitás) hatására jön létre (SHAH et al., 2008). A degradációs folyamat két részre osztható: a szétesésre és a mineralizációra. Az első fázisban az anyag

fizikai tulajdonságai változnak meg (pl. elszíntelenedés, rideggé válás, fragmentáció). A második fázisban a molekuláris méretűvé szétesett műanyagrészekből a végső átalakítást mikroorganizmusok végzik (KRZAN et al., 2006). *Fontos, hogy az egyes hatások nem önmagukban érvényesülnek, hanem egymás mellett hatva, szinergista módon eredményezik a szennyező anyagok lebomlását.*

2.2.1. Abiotikus degradáció

Különböző környezeti hatásoknak (időjárás, eltemetés, öregedés) kitett polimerek biológiai bonthatóságának potenciálja *mechanikai, kémiai, hő- és fényhatás* révén megváltozhat. A legtöbb esetben ezek az abiotikus hatások hozzájárulnak az anyag polimer-szerkezetének gyengüléséhez (LUCAS et al., 2008).

A biológiai úton lebomló polimerek egyik csoportja eredendően biodegradálható; kémiai felépítésük közvetlen enzimátikus hozzáférést tesz lehetővé (pl. keményítő, cellulóz, kitin). Más polimereknek a biológiai hozzáférhetőség kialakulásáig különböző környezeti hatásokra (pl. fény, hő) van szükségük (SIVAN, 2011), ezért fontos az abiotikus, lebomlásra ható tényezők vizsgálata.

Legjelentősebb abiotikus hatás a *photodegradáció*. A műanyagok fényérzékenysége a troposzférikus napsugárzás káros részével hozható összefüggésbe, hiszen a közvetlen photodegradációt az UV-B (~295-315 nm) és az UV-A (~315-400 nm) hullámhossz-tartományba eső sugárzások okozzák (SHAH et al., 2008).

A poliolefin termékek előállítói fényérzékeny alkotókat kevernek a műanyag szatyrok, csomagolások és mezőgazdaságban használt fóliákhoz a biodegradáció fokozására (LUCAS et al., 2008). Az ilyen *fényérzékeny adalékkal* kezelt műanyagokat **oxo-biodegradálható** polimereknek nevezik. A kis sűrűségű polietilén (LDPE) és a polipropilén (PP) fóliák photodegradációjához például *fém-oxidokat* használnak katalizátorként (SIVAN, 2011). Az oxo-biodegradáció két lépésben bontja a műanyagokat. Először UV fény hatására photodegradáció, majd hőhatás és az eltelt idő következtében oxidáció megy végbe. Mindkét lépés során csökken az anyag molekuláris tömege (SHAH et al., 2008). Az oxidáció során a műanyag szerkezetében olyan funkciós csoportok keletkeznek, melyek oxigén atomot tartalmaznak (mint például karbonil-csoport). Az ilyen molekulákat a mikroorganizmusok könnyebben használják metabolizmusuk folyamán (SIVAN, 2011).

Fontos megjegyezni, hogy *amennyiben a photodegradációt nem követi mikroorganizmusok által végzett mineralizáció*, hanem a műanyag-fragmentumok a környezetben maradnak, az több szinten jelentkező problémát okozhat. Egyfelől a bomlásközi

termékek szennyezhetik az ivóvíz-bázisokat vagy az évek során akkumulálódhatnak a talajban a nagyon lassú további lebomlás miatt (KYRIKOU és BRIASSOULIS, 2007). Másfelől méretükből fakadóan a légáramlatok szállíthatják őket, sőt huzamosabb ideig is a légköri rendszerekbe kerülhetnek, azok elszennyeződését okozva. A szállított fóliadarabok megfelelő mértékű aprózódás után akár az emberi és állati légzőszervrendszerbe kerülve a nyálkahártyákhoz tapadva okozhatnak légúti betegségeket. A talajon vagy a vizekbe bekerülve azok gerinces élőlényeihez táplálékaihoz ragadva tápcsatornájukba kerülhetnek be. Jobb esetben változatlan formában kikerülnek, de felhalmozódva emésztőszervi megbetegedéseket is okozhatnak. Látható, hogy *a pusztán abiotikus tényezőkből eredő degradáció komoly ökotoxikológiai problémákat hordozhat magában, ezért nagyon fontos a teljes biológiai átalakulás.*

Műanyagok lebomlásánál jelentős továbbá a *kémiai degradáció*. A légköri oxigén (O_2 ; O_3) a kovalens kötések bontva a fotodegradációval együttesen (vagy azt követve) szabad gyököket hoz létre. Az oxidáció által kiváltott degradáció függ a polimer fajtájától, legfőképp a telítetlen kötések és az elágazó láncok számától (LUCAS et al. 2008).

A kémiai degradáció másik lehetősége a hidrolízis, mely függ a vízaktivitástól, az időtől, a hőmérséklettől és a kémhatástól is (LUCAS et al., 2008). A folyamathoz egyfelől a molekulában jelenlévő hidrolizálható rész (pl. észter, éter, anhidrid vagy amid csoport), másfelől víz szükséges (KRZAN et al., 2006). A hidrolizálható rész a biológiai hozzáférhetőségnek is feltétele.

2.2.2. Biodegradáció

A biodegradáció szerves anyagok olyan lebomlási folyamata, melyet az adott anyag felületén vagy belsejében élő és szaporodó mikroorganizmusok okoznak. A mikrobák fejlődését, szaporodását jelentősen befolyásolják a polimerek tulajdonságai, de a környezeti tényezők (páratartalom, időjárás, szennyezőanyagok) is fontosak. A biodegradációban részt vevő mikroszervezetek egy speciális, poliszacharidokból és fehérjékből álló extracelluláris polimer mátrix kiválasztásával erősen kötődnek egymáshoz és egy anyag felületéhez; ez az ún. *biofilm* (SANDRIN et al., 2009). A mineralizáció folyamán a kiindulási anyag teljes oxidációjával végső soron víz és szén-dioxid keletkezik. A több lépésben lejátszódó mineralizációs folyamat szénforráshoz és energiához juttatja a mikrobákat. A lebontás aerob és anaerob úton is megvalósulhat. A biofilm felületaktív anyagként viselkedve megteremti a hidrofób és hidrofil részek közötti kapcsolatot, így újabb mikrobák telepedhetnek meg. A polimerek kémiai kötéseinek felbomlása az élő szervezetek enzim-aktivitásával hozható

összefüggésbe (MAIER, 2009). A folyamatot jelentősen befolyásolja a közegben jelen lévő mikroorganizmusok száma és faji összetétele. A mikrobiális aktivitás a különböző környezeti tényezők és állapotjelzők (hőmérséklet, nedvességtartalom, kémhatás, C/N arány, jelenlévő oxigén mennyisége) mértékétől nagyban függ (KRZAN et al., 2006).

Az enzimatisz degradáció kétlépéses folyamat. Először az enzim megkötődik a polimer felületén, majd hidrolízis folyamán a szubsztrát hasadását katalizálja. A biodegradáció folyamán a mikroorganizmusok extracelluláris enzimeit a komplex polimert rövidebb láncokra vagy molekulákra bontják. A keletkező oligomerek, dimerek vagy monomerek méretükből adódóan már képesek átjutni a baktérium külső szemipermeábilis hártáján (SHAH et al., 2008).

2.3. Lebomlási vizsgálatok

2.3.1. Szabványosított tesztek

Az elmúlt évek során igen sok szabvány született a lebomló műanyagok tesztelésére. Ezek különböző szabványügyi testületek által használt, többféle módszert felsorakoztató vizsgálatok. Sok esetben az egyes szabványügyi testületek más szervezetek által elfogadott szabványt vesznek át változtatás nélkül (pl. DIN, EN, MSZ). Ezeket a szabványokat BRIASSOULIS et al. (2010) igen jól rendszerezik munkájukban. Európában az EN 13432 szabvány (mely MSZ szabvány is egyben) a legelterjedtebb, a gyártók szinte mindig erre hivatkoznak a terméküket illetően. Vizsgálati mintáim közül a BASF fóliáról (HTTP 6), a Mater-Bi fóliáról (HTTP 7) és a QualBio kompaundról (HTTP 8) is azt állítja a gyártója, hogy a szabványnak megfelelően lebomlik.

A Magyar Szabványügyi Testülettől vásárolt MSZ 13432 lebomlási vizsgálatot pontosan nem határoz meg, hanem másik szabványra hivatkozik; „aerob komposztálási vizsgálatot műszakilag az ISO 14855:1999 szerint kell alkalmazni”. Ennek ellenére annyit leír a szabvány, hogy az aerob biológiai lebomlási vizsgálatok legfeljebb 6 hónapig tarthatnak, és a biológiai lebomlás százalékaránya legalább 90% (vagy a referenciaanyag [mikrokristályos cellulózpor] legnagyobb lebomlásának 90%-a legyen).

Aerob komposztálás után a csomagolás *szétmállását* következőképp definiálja: „a legfeljebb 12 hetes komposztálási eljárásnak alávetett mintán a vizsgálati anyag eredeti száraz tömegének legfeljebb 10%-a ne jusson át a 2 mm-nél nagyobb osztású szitán”. A fogalmazás nem félrevezető, a leírt vizsgálatból tényleg csak a szétesésre lehet következtetni, a biológiai bomlásra nem. Az is nehezen elképzelhető, hogy a komposztal keveredett apró műanyagdarabokat pontosan vissza lehet mérni szitálás után. *Az MSZ EN 13432 szabványban*

leírtak alapján rossz módszernek tartom, hogy a gyártók erre hivatkoznak lebomló csomagolásaik kapcsán. Probléma továbbá, hogy a magyar jogszabályok nem rendelkeznek arról, hogy a műanyag termékeknek milyen (szabványosított) vizsgálatokon kell átesnie ahhoz, hogy azokat lebomlónak jelölhessék, és lebomló csomagolásként forgalmazzák, pedig a biológiai bomlás vizsgálatára alkalmasabb EN szabványt is találunk a magyar szabványok között (MSZ EN 14046).

Nem szabvány ugyan, de szorosan ide kapcsolódik a lebomló műanyagokra használható „Környezetbarát Termék” védjegy. Magyarországon a környezetbarát, környezetkímélő megkülönböztető jelzés használatának feltételrendszeréről szóló 29/1997. (VIII. 29.) KTM rendelet alapján a Környezetbarát Termék Nonprofit Kft. az illetékes a minősítő eljárás lefolytatására. „Azok az ipari méretben gyártott, kereskedelmi forgalomban lévő és az alkalmazásokhoz, felhasználásokhoz jogszabályokban előírt engedélyekkel rendelkező” műanyag termékek minősíthetők a lenti feltételrendszerek alapján, „amelyek kielégítik a komposztálással és biológiai lebomlással hasznosítható csomagolásokra vonatkozó MSZ EN 13432 szabvány vagy ezzel egyenértékű más szabványok (például DIN, ASTM) szabványok követelményeit”. A minősítéshez használt KT-47 és KT-51 számú (HTTP 9; 10) feltételrendszerek legkésőbb 2012. december 31. óta érvénytelenek. Ezen rendszerekben lebomlóvá tett szintetikus anyagú polimerek, illetve megújuló alapú polimerekből készült termékeket lehetett minősíteni. A 2012. július 11-étől 2015. december 31-éig érvényes KT-58, KT-59 és KT-60 (HTTP 11; 12; 13) feltételrendszerekben már csak megújuló alapú biodegradálható polimerekből készültek kaphatnak „Környezetbarát Termék” védjegyet és Európai Unió öko címkét.

A fentiek értelmében meglepő és erősen kritizálható, hogy több gyártó jelenleg is használhatja KT-47 feltételrendszer alapján minősített termékére 2014. decemberig a nemzeti és uniós védjegyet. Ezek között megtalálható a „QUALBIO FS lebomló adalékanyagot tartalmazó polietilén bevásárló táskák”, valamint számos gyártó „D2w biológiai úton lebomló adalékanyagot tartalmazó csomagolása” is (HTTP 14). Világos, hogy a már nem érvényes minősítési rendszer alapján használt védjegy a fogyasztókat téveszti meg.

2.3.2. Nem szabványosított, szakirodalmi tesztek

Sok tanulmányban igen jelentős abiotikus hatásnak teszik ki a műanyagot és csak ez után vizsgálják biológiai bonthatóságukat. Ennek egyik oka lehet, hogy a műanyagokat előállító vegyészek a gyártott műanyag minőségére, tartósságára vonatkozó lebomlási vizsgálatokat végeznek, hogy ezzel meghatározzák az előállított anyag várható élettartamát.

Tehát ezekben a vizsgálatokban a lebomlás pontosan, mint nem kívánt tulajdonság jelenik meg. Ezt az abiotikus öregítést *weathering*-nek vagy *aging*-nek nevezik. Ezt általában mesterséges fény-, ill. hőhatással érik el (ld. lejjebb). Az így beállított kísérleteket kritikusan kell fogadni, hiszen egyik hulladékkezelési gyakorlatot sem tükrözi; a hulladékká vált műanyagokat az aerob komposztálás és az anaerob körülményeket jelentő deponálás során sem éri a szimulált, több hónapnak-évnek megfelelő fényhatás (300 óra 60°C-os öregítés 2-3 év szobahőmérsékleten, sötétben lezajló oxidációnak felel meg [FONTANELLA et al., 2010]). *Az abiotikus előkezelés után végzett lebomlási vizsgálatoknak a hosszú időn keresztül használt, majd „előregedett” anyagú termékek vizsgálatánál van értelme. Az ilyen termékeket pedig nem célszerű lebomló anyagból tervezni, hiszen itt a cél az anyag tartósságának a növelése.* Ez a lebomlásvizsgálati metódus már nem állja meg a helyét az egyszer-párszor használatos, jellemzően csomagolásra használt termékeknel, hiszen itt nincs idő, illetve alkalom az abiotikus degradációra, mert rendezett hulladékgyűjtés, -szállítás és -kezelés erre nem ad lehetőséget.

2.3.2.1. Laboratóriumi lebomlási vizsgálatok

A lebomlási vizsgálatok *szilárd* vagy *folyadék* közegben hajthatók végre, a vizsgált anyagot *fólia* vagy *granulátum* formában tesztelik. A folyadék közegű tesztek során a vizsgálati anyag lebomlását mikrobákkal beoltott, speciális összetételű – ásványi sókat tartalmazó, pufferelt – folyadék közegben követik nyomon, melyben a lebomló anyag az egyedüli szerves szén- és energiaforrás a mikroorganizmusok számára (SZÁRAZ, 2003).

Folyadék közegű tesztek

GILAN et al. (2004) fényérzékeny adalékokkal készített polietilén (PE) fóliák lebomlását vizsgálták. A kb. 3×3 cm nagyságú minták tömegét lemérték, majd 60 órán át mesterséges UV sugárzással és igen nagy hőhatással (50-70°C) öregítették, hogy a természetes napsugárzásnak való kitettséget szimulálják. A 95%-os etanollal fertőtlenített mintákat 100 ml ásványi tápoldatot tartalmazó 250 ml-es lombikba helyezték, így a műanyag volt az egyetlen szénforrás a mikroorganizmusok számára. Inokulumként az általuk talajból vett agrofólia minta felületéről izolált *Rhodococcus ruber* C208 törzset használták. Az inkubáció 30°C-on, síkrázón (150 rpm) történt. A 30 napos kísérlet során 8%-os tömegcsökkenést sikerült kimutatniuk. SIVAN et al. (2006) megállapították, hogy a fent említett törzs a poliolefinnel kapcsolatba kerüléskor azonnal a felületéhez kötődik.

HADAD et al. (2005) szintén a fentebb leírt abiotikus előkezeléssel készítette elő 3×3 cm-es kissűrűségű polietilén (LDPE) és pro-oxidáns anyagokkal adalékolt LDPE mintáit.

Műanyagbontó törzsek izolálásához PE hulladék lerakási helyéről vettek talajmintát. A baktériumok növekedési vizsgálatát közepes méretű PE oligomereket – folyékony viasz formában – tartalmazó ásványi tápagon végezték. Amely telepek körül bontási aktivitásra utaló feltisztulási zóna jelentkezett, azokat PE fóliával készített ásványi tápagon is vizsgálták. Egy termofil baktérium ilyen körülmények között is növekedést mutatott. 16S rDNS alapú azonosítás során ez a *Brevibacillus borstelensis* fajjal mutatott egyezést. A 70%-os etanolban fertőtlenített fóliamintákat az izolált törzsszel beoltott 100 ml ásványi tápoldatba helyezték, 50°C-on rázták (150 rpm). Visszamérés előtt szűrőpapíron egy éjszakán át 60°C-on szárították a mintákat. A 90 napos vizsgálat végén kb. 20%-os tömegcsökkenés mutatkozott.

ABRUSCI et al. (2011) vizsgálataikban szintén *Brevibacillus borstelensis* valamint általuk 30 napig talajban tartott PE fólia felületéről izolált baktériumok keverékét (*Bacillus megaterium*, *B. cereus*, *B. subtilis*) használtak inokulumként. Kalcium- és vas-sztearáttal 0,2%-os arányban adalékolt, 25 mikron vastagságú LDPE fóliákat 45°C-on 500 órán át mesterségesen öregítették. A két kezelésnél a CO₂ kibocsátás alapján 30°C-on 1,2% mineralizációt, míg 45°C-on *B. borstelensis* kezeléssel 11,5%, a kevert kultúrával pedig 7-10% mineralizációt mutattak ki 90 nap alatt.

FONTANELLA et al. (2010) vas-, kobalt- és mangán-sztearáttal adalékolt 43-59 mikron vastagságú PE fóliákat vizsgáltak. A mintákat 10-40 órán keresztül mesterséges fénnel, majd 192-1224 órán át levegőztetés mellett 60°C-os szárítószekrényben öregítették. Vizsgálataikhoz törzsgyűjteményből származó *Rhodococcus rhodochrous* törzset használtak. A sejtek életképességét és metabolikus aktivitását ATP koncentráció meghatározásával követték nyomon a 180 napig tartó, ásványi tápoldatban végzett, 27°C-on beállított kísérletben. A biofilmformációt elektronmikroszkóppal vizsgálták. Az oltáshoz használt törzset FONTANELLA et al. (2013) mesterségesen öregített polipropilén felületén is életképesnek találták, de kisebb aktivitást mutattak, mint PE felületen. A mikroorganizmusok aktivitását hasonló módon követték nyomon KOUTNY et al. (2006) szintén mesterségesen öregített, pro-oxidánsokkal adalékolt PE fólián. *Rhodococcus rhodochrous* és *Nocardia flavus* törzsek különösen életképesnek mutatkoztak, a műanyagok felületén biofilmet hoztak létre.

WITT et al. (2001) alifás-aromás kopoliészter anyagú BASF Ecoflex anyagot teszteltek folyadék közegben. A steril, porított műanyagot ásványi tápoldatban *Thermomonospora fusca* törzsszel beoltva 55°C-on inkubálták. 21 nap után a vizsgált anyag depolimerizálódott, de a törzs nem volt képes az összes mono- és oligomert metabolizálni. Ezen köztitermékek bomlását komposztból származó kevert mikroorganizmus kultúrával bizonyították.

Adalékanyagok nélkül, tisztán politejsavból (PLA) előállított 45 µm vastagságú filmeket vizsgáltak HAKKARAINEN et al. (2000) abiotikus és biotikus kezeléssel. KOLSTAD et al. (2010) anaerob reaktorban nem mutatták ki az *Ingeo* típusú PLA direkt biológiai bomlását. Állításuk szerint ez hulladéklerakóban és komposztban is csak kémiai hidrolízis után következhet be. Ezzel szemben HAKKARAINEN et al. (2000) vizsgálatuk során bizonyították, hogy a PLA abiotikus bomlása (észter kötések hidrolízise) jóval kisebb mértékű, mint a mikrobák metabolizmusa során történő degradáció. Ehhez 800 ml steril, ill. komposztból származó baktériumkultúrával beoltott ásványi tápoldatba 3 g PLA-t mértek, majd 5 hétig 30°C-on rázatva inkubálták. A kis molekulatömegű bomlástermékek GC-MS analízise során kiderült, hogy a mikroorganizmusok gyorsan hasznosították a PLA-t.

Szilárd közegű tesztek

A laboratóriumi körülmények között szilárd közegben (talaj, komposzt) végzett tesztek általában a tömegcsökkenés mérésén, a fogyott O₂ mérésén (BOI) vagy a kibocsátott CO₂ mennyiségének nyomon követésén alapulnak (GRIMA et al., 2000). A keletkező CO₂-t referencianyaghoz (cellulóz, hexadekán pl. FONTANELLA et al., 2010), vagy a bemért műanyagból teljes átalakulás esetén elvben keletkező CO₂ mennyiséghez (JAKUBOWICZ, 2003), vagy műanyagot nem tartalmazó kontroll reaktorban keletkező CO₂ mennyiségéhez (BRIASSOULIS és DEJEAN, 2010) viszonyítják. A mérések kiegészülhetnek a műanyag minták infravörös (IR) vagy UV-látható (UV-VIS) spektrometriájával, gélpermeációs kromatográfiájával (GPC) a molttömeg meghatározásához, mechanikai tulajdonságaik mérésével és a felületük elektronmikroszkópos vizsgálatával (GRIMA et al., 2000). *A szilárd közegű tesztek a valódi viszonyokat jobban szimulálják, viszont a kísérletek megismételhetősége a közegek eltérő tulajdonságai (kémiai összetétel) miatt nem lehet tökéletes (pl. más időben vagy helyen vett komposzt-, ill. talajminta).*

JAKUBOWICZ (2003) mangán-sztearáttal adalékolt PE fólia lebomlását vizsgálta a komposztálásra jellemző, 70°C-os 4 hétig tartó mesterséges termooxidáció után. Ezeket a műanyagmintákat 90% tözeget és 10% érett komposztot tartalmazó keverékhez adta, majd 60°C-on inkubálva mérte a folyamatosan levegőztetett edényekben keletkező CO₂ mennyiségét. 180 nap inkubáció után 60%-os bomlás mutatkozott.

CHIELLINI et al. (2003) pro-oxidánsokkal adalékolt kissűrűségű PE mintákat ágyaztak be komposzt és talaj keverékébe. Beágyazás előtt a komposztálás termofil szakaszát szimuláló hőkezelést hajtottak végre. A beágyazás során a keletkező CO₂-t KOH-ban nyellették el, annak mennyiségét visszamérési titrálással határozták meg. Az 55°C-on 518 napig inkubált minták

30-40% mineralizációt mutattak. OJEDA et al. (2009) ezen vizsgálati módszer alapján állították be kísérletüket, de a respirometriás vizsgálat előtt Symphony cég pro-oxidáns adalékával készült PE mintákat 30°-ban döntött állványon, átlátszó polipropilén tasakban öregítették. Az egy éves kezelés után komposztból, talajból és perlitből álló keverékbe ágyazták be a mintákat. Az 58°C-on 90 napig végzett kísérletben 12% mineralizációt mutattak ki.

ORHAN et al. (2004) beágyazásos vizsgálatukban pro-oxidánsokkal és keményítővel adalékolt PE fólia kb. 2×15 cm-s darabjait vizsgálták 20 napig tartó 70°C-os termooxidációt követően. 17 hét után 35% tömegcsökkenést értek el, majd ez az érték további 19 hétig stagnál. Az adalék nélküli PE fóliáknál a 36 hetes vizsgálat alatt 2-3% tömegcsökkenés mutatkozott.

Amint az látható, a fenti kísérletek jelentős abiotikus környezeti hatás szimulálása után vizsgálják a biológiai bonthatóságot. JAKUBOWICZ (2003) által végzett 4 hetes termikus öregítés megfelel ugyan a komposztálás során fellépő hőmérsékletnek, de az utána 180 napig tartó 60°C-os vizsgálati körülmény már nem áll fent egy komposztprizmában. A zöldhulladékkal a prizmaiba kerülő műanyagoknak nincs idejük először csak oxidálódni, hiszen az ipari komposztálás 4-6 hétig tart. Feltételezhető ugyan, hogy a biológiai lebomlás a komposzt hasznosítása után is zajlik, de semmiképpen nem olyan intenzív körülmények között, mint komposztálás során. ***Az alapvető probléma tehát a mesterséges öregítéssel, hogy ennek során nem a hulladékkezelés gyakorlatát szimulálják.***

Abiotikus előkezelés nélkül végzett vizsgálatot BRIASSOULIS ÉS DEJEAN (2010). 5×5 mm nagyságú mintákat alakítottak ki pro-oxidánsokkal adalékolt fekete, talajtakarásra használt PE, és keményítő alapú Mater-Bi fóliákból. „A Mater-Bi olyan, biológiailag teljesen lebomló és természetes körülmények között komposztálható anyagok csoportja, amelyek a hagyományos műanyagokkal megegyező mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek. A Mater-Bi® minden csoportja komposztálható, amelyet az EN 13432 szabvány tanúsít” (ALEKSZA, 2008). BRIASSOULIS ÉS DEJEAN (2010) kísérletükben referenciának cellulóz fóliával kevert, illetve fólia nélküli talajt használtak. A kísérletet mindegyik anyagnál két-két párhuzamos méréssel végezték 26°C-os hőmérsékleten. *Az 1 évig tartó kísérlet alatt a keletkező CO₂ mennyiségét mérték. A pro-oxidánsokkal adalékolt fóliák esetében a biodegradáció mértéke 0% és mínusz 15% közötti értéket mutatott.* Az adatokat a fóliáktól mentes reaktorban keletkezett szén-dioxid mennyiségéhez viszonyították (tehát a PE-t tartalmazó reaktorokban kevesebb gáz képződött, mint a fóliát nem tartalmazóban). A kukoricakeményítővel adalékolt anyagok 30-40%-os bomlást produkáltak, míg a kontrollként

használt cellulóz hat hónap után 70%-os bomlást ért el, majd stagnált. *A kísérlet végeztével az anyagot kiöntvén láthatóvá vált, hogy a pro-oxidánsokat tartalmazó polietilén takarófólia makroszkopikusan nem változott a kiindulásihoz képest.*

NOWAK et al. (2011) 250 g különböző típusú talajokba ágyazott be 40×40 mm-es PE és Bionelle poliészterrel 30%-ban adalékolt PE mintákat. A 225 napos szobahőmérsékleten történő inkubálás után a minták tömegcsökkenését mérték: tiszta PE fóliánál max. 0,3%, az adalékolt PE-nél max. 0,6% tömegcsökkenés mutatkozott. A vizsgálat után a műanyagok felületéről az alábbi mikroorganizmusokat izolálták: *Micrococcus luteus*, *M. lylae*, *Bacillus mycoides*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens*, *Staphylococcus cohnii*, *S. xylosu*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rahnella aquatilis*, *Arthrobacter viscosus*, *Paenibacillus macerans*.

JEON és KIM (2013) komposztból vettek mintát, majd desztillált vízzel keverték. Ülepedés után a felülúszóból PE-t tartalmazó ásványi tápoldatba végeztek oltást, azt 58°C-on inkubálták (120 rpm). Ötször passzálást végeztek, majd hexadekánt tartalmazó lemezre szélesztve a feltisztulási zóna nagysága alapján műanyagbontóként azonosítottak egy törzset, a *Chelatococcus daeguensis*-t. Az azonosítás után műanyagmintával kevert, 200 g sterilizett komposztot beoltottak a törzsszel. CO₂ kibocsátás alapján 80 nap után 44,5% mineralizáció mutatkozott.

SZÁRAZ (2003) vizsgálataihoz érett komposztot használt. Analitikai mérlegen lemért, 20×20 mm nagyságú Mater-Bi fóliamintákat ágyazott be. A mintákat 3 párhuzamosban kb. 80 g komposztot tartalmazó 100 ml-es főzőpoharakban 37°C-os termosztátba helyezte. Az elpárologott víz mennyiségét naponta csapvízzel pótolta. Hat hetes vizsgálat után a mintákat desztillált vízzel alaposan leöblítve, azokat 105°C-on 24 óráig szárítva, majd szobahőmérsékletűre hűtve mérte le. Mater-Bi műanyagnál kb. 12% tömegcsökkenés mutatkozott.

ISHIGAKI et al. (2004) nem kész komposztot, hanem kerti és konyhai hulladékból, száraz kutyaedelelből, papírból, víztelenített iszapból és talajból egyenlő arányban összeállított közeget használtak. Ezen keverékből 150 g-ot 300 ml-es Erlenmeyer lombikba tettek, majd 5×5 cm-es Mater-Bi (60% keményítő; 40% polivinil-alkohol) mintákat ágyaztak. 120 napos vizsgálatuk alatt a fóliák 50%-os tömegcsökkenését mutatták ki.

YANG et al. (2005) 2×2 cm-es PLA filmeket ágyazott be levegőztetett, 58°C-on inkubált érett komposztot tartalmazó bioreaktorokba. A keletkező CO₂ mennyisége alapján 45 nap alatt kb. 40% mineralizációt észleltek.

A fenti vizsgálatokat az MSZ 13432 követelményeivel összevetve (90%-os lebomlás 6 hónap alatt, ld. 2.3.1. fejezet), látható hogy a vizsgált anyagok nagy részét nem nevezhetjük lebomlóknak.

2.3.2.2. Komposztálási körülmények között végzett vizsgálatok

Valódi komposztálási körülmények között a gázfogyáson vagy gázkibocsátáson alapuló tesztek kivitelezhetetlenek, viszont a tömegcsökkenés mérésre, a GPC és az IR analízisre vannak példák (GRIMA et al., 2000). *A komposztprizmában kivitelezett kísérletek irodalma sajnálatos módon jelentősen alulmúlja a laboratóriumban végzetekét.*

KALE et al. (2006) ipari méretű komposztprizmában végeztek kísérleteket politejsav alapú élelmiszersomagolásokkal (palack és ételhordó tálcák, -dobozok). A mintákat 0,6×0,3×0,1 méteres, két rekeszből álló fadobozban helyezték el. Ezek belsejébe a minták köré komposztot raktak, majd a prizmában a talajfelszíntől számított kb. 1,2 méteres magasságban helyezték el. A dobozok alja 11 mm-es lyukátmérőjű rozsdamentes acélhálóból készült. A dobozok rekeszei 2 párhuzamos vizsgálatot tettek lehetővé. Kiértékelést 1; 2; 4; 6; 9; 15 és 30 nap után végeztek. A lebomlás okozta változásokat vizuálisan értékelték; az anyagok színének, alakjának, textúrájának és kiterjedésének vizsgálatával. A kísérlet végére a vizsgált anyagok eredeti formái felismerhetetlenné váltak.

TÁBI et al. (2010) ESUN márkájú, PLA-ból készítettek próbatesteket, melyeket komposztprizmába helyeztek. „A komposztálás során a próbatestek kezdetben megduzzadtak, nedvességet vettek fel, majd megindult a tömegük csökkenése és ezzel együtt az elaprózódás is.” Vizsgálataik alapján kijelentik, hogy a PLA termékek lebomlanak a komposztban.

DAVIS et al. (2004) zöldhulladék gyűjtésre használt lebomló PE zsákot vizsgált, kontrollként keményítő alapú fóliával összehasonlítva. A minták 20-30 cm-es darabjait az aprított zöldhulladékból összeállított prizmába helyezték és a tömegcsökkenésüket követték nyomon. Míg a keményítő alapú minta 15 hét után 90-100%-os tömegcsökkenést mutatott, addig a lebomló PE fólia kb. 5%-ot változott. Látható elváltozás ezeken a mintákon nem volt és a kis tömegcsökkenési adatokból nem lehet a lebomlásukra következtetni.

KLAUSS (2004) kerti komposztálási körülményeket modellezett. Mater-Bi fólia 120 nap után 45%, míg 1 év után 70-90% tömegcsökkenést mutatott. Következtetése szerint ezen anyag lebomlása ilyen körülmények között is végbe megy, de lassabban, mint intenzív ipari kezelés esetén. A petrolkémiai úton előállított alifás-aromás kopoliészter anyagú BASF Ecoflex fólia az egy éves vizsgálat alatt 19%, a PLA filmek és poharak 1-6%-os

tömegcsökkenést mutattak. Ez utóbbi észlelés jelentősen eltér az ipari komposztprizmában tapasztaltaktól (ld. KALE et al., 2006; TÁBI et al. 2010).

2.4. Üzemi komposztálás

A mintavételek és a kísérletek bizonyos részei a Zöld Híd Régió Kft. ökörtelkekvölgyi (Kerepes) telephelyén zajlottak, ezért fontosnak találom bemutatni a telephelyen megvalósuló ipari komposztálás menetét.

A lakosságtól a biológiai (kerti) hulladékot a cég emblémájával ellátott műanyag zsákokban (QualBio, biológiailag lebomlónak jelzett) gyűjtik. Az így kihelyezett zöldhulladékot a cég pormentes gyűjtő-szállító céljárművel tömöríti és telephelyére szállítja. Itt egy kalapácsos aprítógépen halad keresztül az anyag, majd légbefúvásos aljzattal ellátott, körülbelül 25×8 méteres silókba tornyozzák az anyagot mintegy 3 méter magasan. A kész prizmát nedvesítik, majd szemimpermeábilis GORE® membránt húznak a tetejére és lekötözik. A GORE® technológia alkalmazása nagyobb biztonságot és hatékonyságot eredményez a komposztálás során (HTTP 15). A komposztálás folyamán a prizmában különböző pontokon elhelyezett hőmérsékletérzékelők óránként mérik a prizma magjának, közepének és felületének hőmérsékletét. A külső környezet hőmérsékletét is rögzítik. Az így felhalmozott anyag 4-6 hét elteltével a spontán jelen lévő mikrobák tevékenységének következtében kész komposzttá alakul. A zöldhulladék gyűjtés és komposztálás folyamatát az 1. ábra mutatja be.



1. ábra: Zöldhulladék begyűjtése és komposztálása a Zöld Híd Régió Kft. telephelyén.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Komposztálási kísérlet beállítása

3.1.1. A komposztálási kísérlet során felhasznált műanyagok jellemzése

A komposztálási kísérletbe megújuló nyersanyag alapú és kőolaj alapú (tisztá, illetve adalékanyagokkal lebomlóvá tett) polimereket vontam be. A vizsgált mintákat az 1. táblázat mutatja be részletesen.

1. táblázat: A komposztálási kísérletben használt műanyagok.

Alapanyag	Gyártó	Típus	Mintaméret [mm]	Összetétel
Tiszta politejsav (PLA) filmek	Shenzen Esun Industrial Co., Ltd.	A-1001	80×80×0,1	politejsav
		A-1031	65×65×0,1	politejsav
	NatureWorks LLC	Ingeo 3251 D	85×80×0,1	politejsav
		Ingeo 4032 D	85×90×0,1	politejsav
Politejsav alapú fóliák	BASF	Ecovio F Film C2203	10×25	alifás-aromás kopoliészterek és 32% politejsav (HTTP 16)
	Dr. Tábi Tamás - BME Polimertechnikai Tanszék	PLA-fólia	10×25	ESUN A-1001 + 5% Biomax Strong
Hőre lágyuló keményítő (TPS)	Dr. Vargha Viktória (BME-MGL)	-	80×80×0,1	keményítő, glicerin, víz
Hőre lágyuló keményítőt tartalmazó fólia	Novamont S.p.A.	Mater-Bi	10×25	kukoricakeményítő, növényi olaj származékok, biológiai úton lebomló szintetikus polimerek (HTTP 17)
Regenerált cellulóz alapú fólia	Hewa	Befőző celofán	10×25	cellulóz
Tiszta polietilén filmek	Tiszai Vegyi Kombinát Nyrt. (HTTP 18)	Tipelin FS 340-03	10×25	közepessűrűségű polietilén*
		Tipelin FS 471-02	10×25	nagysűrűségű polietilén*
		Tipolen FA 244-51	60×60×0,1	kissűrűségű polietilén*
Polipropilén film	Tiszai Vegyi Kombinát Nyrt. (HTTP 19)	Tipplen H-649 FH	65×65×0,1	polipropilén*
Változó vegyértékű fémso adalékokat tartalmazó polietilén fóliák	Dr. Vargha Viktória (BME-MGL)	238	10×25	Tipelin FS 340-03 fólia, változó vegyértékű fémsoók
		242	10×25	
	QualChem Zrt. (HTTP 20)	QualBio FS	10×25	
Változó vegyértékű fémso adalékokat tartalmazó polietilén fóliák	Dr. Vargha Viktória (BME-MGL)	297	10×25	Tipelin FS 340-03 fólia, változó vegyértékű fémsoók, 8,75% TPS
	Dr. Vargha Viktória (BME-MGL)	264	10×25	Tipelin FS 340-03 fólia, változó vegyértékű fémsoók, 10% TPS

* kontroll minta, nem biológiailag lebonthatónak tervezett

A kísérletbe bevont műanyagok egy része ismert nagyvállalatok által gyártott, kereskedelmi forgalomban használt, eleve fólia formátumú műanyag. Ilyenek a BASF, a Mater-Bi, a celofán és a QualBio fóliák. A minták nagy része a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Műanyag- és Gumiipari Laboratóriumában (BME-MGL) dolgozók által került kialakításra. Ez bizonyos esetekben pusztán a kereskedelmi forgalomban kapható granulátum formázását (tisztá politejsav és polietilén filmek) jelenti, míg más esetekben a kereskedelmi forgalomban kapható granulátum adalékokkal történő kiegészítését, regranulálását és a végső formázást is magában foglalja (adalékolt PE filmek). A fólia formátumban felhasznált minták átlagos vastagsága 20-40 µm közötti (BME-MGL mérés alapján).

A fóliaminták kiválasztásánál külön említést érdemel, hogy a *Zöld Híd Régió Kft. által végzett zöldhulladék gyűjtés a QualBio FS típusú, biológiailag lebomlónak jelzett műanyagzsákokba történik*. Ezek alapanyaga MSZ EN 13432 szabvány szerint tanúsított (HTTP 8). A zsákok a zöldhulladékkal együtt komposztáláson mennek keresztül (ld. 2.4. fejezet). A dolgozat további részeiben a megújuló nyersanyag alapú minták bioműanyagként kerülnek említésre (BASF, Mater-Bi, celofán, PLA-fólia és filmek, hőre lágyuló keményítő).

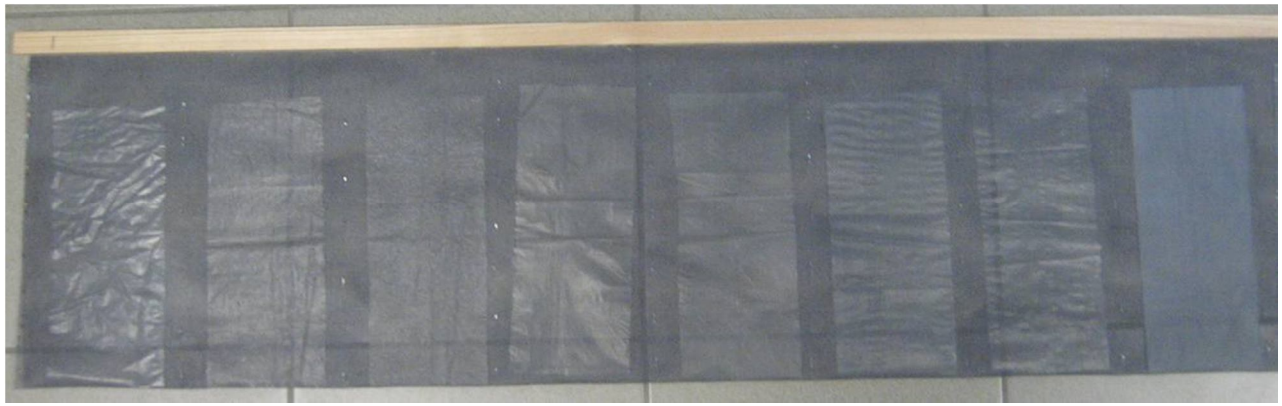
A lebomlásra tervezett, változó vegyértékű fémsókkal, illetve keményítővel adalékolt polietilén minták pontos adaléktartalmát a 2. táblázat mutatja (BME-MGL).

2. táblázat: Adalékolt polietilén fóliák adalékanyag-összetétele.

Minta jele	Adalékanyagok [g/kg]				
	Vas (Fe)	Cirkónium (Zr)	Kobalt (Co)	Mangán (Mn)	TPS
238	0,717	0,312	0,145	0,063	
242	0,51	0,241	0,247	0,44	
QualBio FS	üzleti titok				
264	0,576	0,192	0,284	0,02	100
297	-	-	0,094	0,103	8,75

3.1.2. A komposztálási kísérlet beállítása, vizsgálati módszere

A komposztálási kísérletre a Zöld Híd Régió Kft. telephelyén került sor. A hulladékkezelési eljárás a 2.4. fejezetben ismertetett. A fentebb bemutatott méretű minták tömegét analitikai mérlegen lemértem, hiszen komposztálásuk után tömegcsökkenésükkel kívántam jellemezni bomlásukat. A mintákat két párhuzamossal, tűzőgéppel összetűzött üvegszálal szúnyoghálóból és fenyő szegélylécből készített mintatartó keretbe helyeztem, melyet a 2. ábra szemléltet. A minták azonosítása a keretben való elhelyezkedésük sorrendjében történt. A mintatartókat a komposztprizma felső rétegébe ágyaztam be, azonosításukhoz erős zsineget vezettem róluk a siló oldalához.



2. ábra: A komposztálási kísérlethez használt mintatartó, benne mintákkal.

3.2. Baktériumtörzsek izolálása és azonosítása

Potenciális műanyagbontó baktériumtörzsek izolálását komposztból és talajból vett műanyagminták felületéről végeztem el. A mikrobiológiai vizsgálatokhoz használt eszközöket, táptalajokat és oldatokat autoklávban (121°C, 1 bar túlnyomás, 20 perc) sterilizáltam. Az egyes munkafolyamatokat a steril munkavégzés érdekében lamináris fülkében végeztem.

3.2.1. Mintavétel és mintafeldolgozás

3.2.1.1. Mintavétel komposztból

2012. szeptember végén a Zöld Híd Régió Kft. telephelyén előállított komposztból műanyagmintákat vettem. Ezek a műanyagok a begyűjtés során alkalmazott zsákok (QualBio, biológiai úton lebomlónak jelzett, ld. 3.1.1. fejezet) *aprítás, komposztálás és rostálás után a kész komposztban maradt darabjai* közül kerültek ki.

3.2.1.2. Mintavétel talajból

2012.12.03-án a Szent István Egyetem Mezőgazdasági és Környezettudományi Karának Talajtani és Agrokémiai Tanszékén beállított kísérletekben hét hónapig barna erdőtalaj mintákba ágyazott ötféle műanyag fóliákból vettem mintát. Az általam vett kb. 4x4 cm-es minták a BASF; 340; 238; 242 és 297 jelű műanyagokból (ld. 3.1.1. fejezet) kerültek ki.

3.2.1.3. Mintafeldolgozás

A komposztból származó mintákat 50-50 ml steril OIR-III tápoldatot (5 g $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$; 0,5 g KH_2PO_4 ; 1 g K_2HPO_4 ; 0,5 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,2 g $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$; 0,01 g $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,5 g pepton; 0,5 g élesztő kivonat, 1000 cm³ desztillált víz), illetve fiziológiás sóoldatot (9 g NaCl, 1000 cm³ desztillált víz) tartalmazó 300 ml-es Erlenmeyer lombikba helyeztem. A lombikokat síkrázó gépen 170 rpm fordulatszámon rázattam szobahőmérsékleten, a

fiziológiás sóoldatot tartalmazót fél óráig, míg az OIR-III tápoldatot tartalmazót öt napig. Az így kialakuló *szuszpenziókat* használtam fel az összes élő csíraszám meghatározásához és a baktériumtörzsek izolálásához. A fiziológiás sóoldattal feldolgozott minták az RKM mintajelel, az OIR-III tápoldattal feldolgozott minták az RKM/OIR mintajelel kapták.

Az RKM/OIR jelű minta 5 napig rázódott tápoldatából 5-5 ml-t átoltottam steril OIR-III és módosított OIR-III (pepton és élesztőkivonat nélküli) tápoldatot és Olaszországból származó kb. 4x4 cm-es Mater-Bi műanyagot tartalmazó lombikokba, majd azokat négy hétig 170 rpm-en síkrázón szobahőmérsékleten inkubáltam. Négy hét után ezt a műveletet megismételtem, immár a Mater-Bi-vel rázódott tápoldatból. Az így összeállított lombikokat további négy hétig rázattam. Az így kapott szuszpenziót használtam fel az összes élő csíraszám meghatározásához és a baktériumtörzsek izolálásához. Az ilyen módon feldolgozott mintából származó törzsek az MBI mintajelel kapták.

A talajból származó mintákat steril desztillált vízzel leöblítettem, majd 50 ml módosított OIR-III tápoldatot tartalmazó 300 ml-es Erlenmeyer lombikba tettem, majd 5 hétig rázattam 170 rpm fordulatszámon szobahőmérsékleten, melyből élő sejtszám meghatározást és törzsizolálást végeztem. Ezekből a mintákból származó törzsek a BME mintajelel kapták.

3.2.2. Összes élő csíraszám meghatározása és törzsizolálás

Az összes élő csíraszám meghatározásához a 3.2.1.3. fejezetben ismertetett módon készített szuszpenziókból tízes alapú hígítási sort készítettem 10^{-8} hígítási fokig. Hígításhoz Tween 80 detergenssel kevert desztillált vizet használtam. A hígítási sor tagjaiból 1-1 ml-t steril Petri-csészékbe pipettáztam, majd 20 ml kézmeleg TGE-1 táptalajjal (5 g tripton, 2,5 g élesztőkivonat, 1 g glükóz, 18 g bakteriológiai agar, 1000 cm³ desztillált víz) lemezeket öntöttem két párhuzamos beállításban. A lemezeket 28°C-on inkubáltam, az összcsíraszám meghatározáshoz a telepszámlálást 72 óra után végeztem.

A műanyagminták eltérő mérete és minősége (pl. talajkolloidokkal való szennyezettség) nem teszi lehetővé az egy egységnyi mintára (pl. 1 g talaj, 1 g vagy 1 cm² műanyagfólia) való vonatkoztatást, így a *törzshígítások 1 ml-ére vonatkoztatott összes élő csíraszám adatok a különböző közegekből származó, különböző összetételű műanyagok összehasonlítását szolgálja* a feltételezhetően a műanyagminta felületéhez köthető mikroorganizmus-közösségek mennyiségi vonatkozásában. A mikrobaszám meghatározásához a 20 és 200 között kinőtt telepszámú csészék értékeit használtam a két párhuzamos minta eredményeit átlagolva. A komposztprizmából származó, OIR-III tápoldatban öt napig rázatott minták feldolgozásánál (RKM/OIR mintajel, ld. 3.2.1.3. fejezet)

a TGE-1 lemezeket 100 mg/l koncentrációban *nystatinnal* (mikroszkopikus gombákat gátló szer) kiegészítve öntöttem, mert a tápoldatok jelentős zavarosodása a mikroorganizmusok fokozott szaporodására utalt, így lehetett számítani a gombák megjelenésére is.

A komposztprizmából vett minta törzsoldatával a Mater-Bi műanyagra végzett passzálás (RKM/OIR) során kialakuló törzsoldatok hígítási soraiból nystatinos és nystatin mentes TGE-1 táptalajjal is öntöttem lemezt.

Az agarlemezekről az eltérő telepmorfológiájú telepeket tisztító szélesztéssel steril TGE-1 agarlemezre szélesztettem, a műveletet 72 órás 28°C-os inkubáció után 1-1 teleppel még legalább kétszer megismételtem. Az így nyert tiszta izolátumokat ferde agaron 4°C-on, illetve -80°C-on (30% glicerol 50%-ban az egyes tözsek inokulumával keverve) tároltam.

3.2.3. Molekuláris biológiai módszerek

Az izolált törzsek azonosítását 16S rDNS részleges szekvencia alapján végeztem. Az izolátumok 48 órás tenyésztését mikrohullámmal roncsoltam. A roncsolt sejteket 50 µl nagy tisztaságú MQ vízzel szuszpendáltam, azokban a sejtperletet és a DNS-t tartalmazó felülúszót centrifugálással választottam el (3 perc, 11.000 G), utóbbiból 2 µl -t használtam a polimeráz láncreakcióban templátként.

A PCR reakcióelegy a következő alkotóelemeket tartalmazta egy reakcióra számolva: 10 µl dNTP, 5 µl Taq-puffer, 5 µl BSA, 4 µl MgCl₂, 2 µl DNS templát, 2 µl DMSO, 0,5 µl 27f primer, 0,5 µl 1492r primer, 0,5 µl Tween20, 0,3 µl Taq polimeráz, a reakció végtérfogata 50 µl. A mintaszámnak megfelelő mennyiségű anyagokat a Taq polimeráz kivételével összekevertem, majd 200 µl térfogatú PCR csövekbe 47,5 µl-enként szétosztottam és hozzámértem a 2-2 µl DNS templátot.

A Taq polimerázt a PCR reakció preinkubációs szakasza után adtam az elegyhez. A PCR reakcióhoz Eppendorf ThermoCycler készüléket használtam, a következő hőprofilal: I. Preinkubáció: 98 °C, 5 min; II. Denaturáció 94 °C, 30 sec; III. Primerkötés (anelláció) 56 °C, 30 sec; IV. DNS szintézis (extenzió) 72 °C, 1 min; V. Végző extenzió 72 °C, 10 min. A II.-IV. lépések 30 ciklusban ismétlődtek.

A PCR reakció sikerességét és a keletkező DNS fragment megfelelő nagyságát agaróz gélelektroforézissel állapítottam meg. Ehhez 0,7 g nagy tisztaságú agarózt (Lonza, SeeKem®) 70 ml 1×TBE pufferben (10,8 g tris-hidroximetil-aminometán; 10,5 g H₃BO₄; 0,93 g etiléndiamin-tetraecetsav nátrium sója; 1000 cm³-re kiegészítve desztillált vízzel) magas hőmérsékleten feloldottam. Az oldatot kézmelegre visszahűtöttem és 7 µl interkaláló GelRed festéket kevertem bele, majd az egészet műanyag fésűsorokat tartalmazó futtatókádba

öntöttem. Géllé dermedés után a mintákat 3 µl stop festékkal (18,6 g etiléndiamin-tetraecetsav; 20 g szarkozil; 600 cm³ glicerin; 0,5 g brómfenolkék; 1000cm³ desztillált víz) elkeverve a fészű eltávolítása után létrejött zsebekbe pipetáztam. A mintasorok mellé 4 µl DNS markert (Gene Ruler Mix DNA Ladder 5 µg/µl, Fermentas) mértem standard gyanánt, majd a futtatókádat 110 V feszültségre helyeztem 30 percig. Amennyiben a gélelektroforézis sikeres volt, a PCR termékek tisztítását NucleoSpin® Gel and PCR Clean-Up (Macherey-Nagel) kit-tel végeztem a gyártó által megadott protokoll szerint. A tisztítás után annak sikerességéről ismételt gélelektroforézissel győződtem meg.

A szekvenáló reakcióhoz templátként a a polimeráz láncreakció terméke szolgált. A szekvenáló reakció alkotói a következők voltak egy reakcióra számolva: 3 µl templát, 1 µl BigDye, 1,5 µl BigDye puffer, 0,5 µl 27f primer, 4 µl MQ víz, végtérfogat 10 µl.

A szekvenáló reakció hőprofilja a PCR reakcióhoz nagyon hasonló: 10 sec-os 96°C-os denaturáció után 50°C-on történik az anelláció (5 sec), majd 60°C-on az extenzió (4 min), mely folyamatok 28 ciklus során ismétlődnek. Az alkalmazott primer esetében nagyjából 500 bázispár hosszúságú szekvenciát nyerünk, ami általában elegendő a faj szintű azonosításhoz. Az ily módon előkészített minták nukleotid sorrendjét Applied Biosystem® ABI PRISM 310 DNA Sequencer készülék segítségével kapilláris gélelektroforézissel állapítottuk meg. A kapilláris gélelektroforézis útján kapott adatokat (nukleotid szekvencia és jelerősség) MEGA 5.1 ([HTTP 21](http://21)) szoftver segítségével elemeztem. A tiszta jelként ítélt szekvenciákat az EZBioCloud weboldalan ([HTTP 22](http://22)) található validált típustörzsek szekvenciájával hasonlítottam össze. 98% feletti egyezés esetén a törzset azonos fajba tartozónak tekintettem.

3.3. Laboratóriumi bontási kísérlet beállítása

A laboratóriumi bontási kísérletbe vont műanyagokat a komposztálási kísérlet eredményei alapján választottam ki. Ezek a BASF Ecovio, a Mater-Bi, a celofán, a PLA-fólia, a Tipelin FS 340-03 és a 238-as jelű fóliák voltak. Ezeket a fóliákat a BME Műanyag- és Gumiipari Laboratóriumában folyékony nitrogénben porították, így használtam fel az anyagokat a vizsgálathoz.

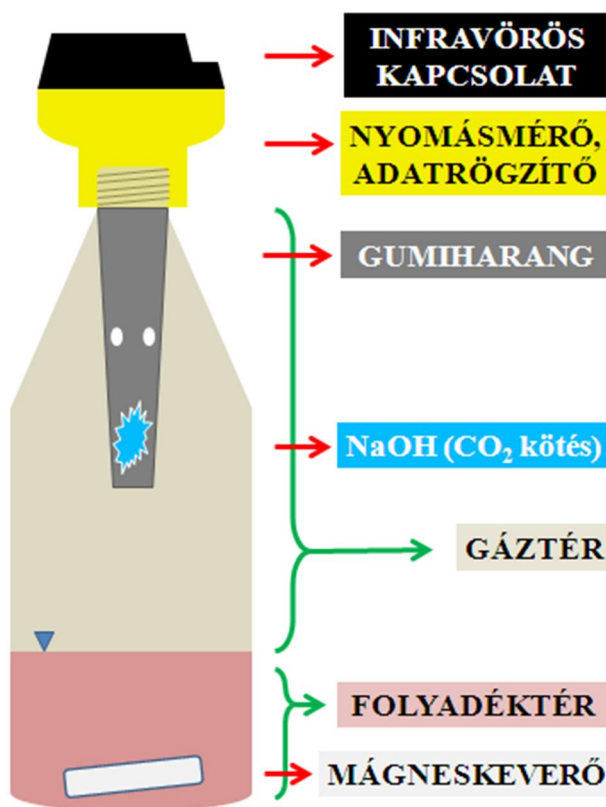
A respirometriás laboratóriumi bontási kísérletet Oxitop rendszerrel végeztem. A mérés elve a katabolikus mikrobiális aerob légzés során fejlődő CO₂ lúgban (NaOH) való elnyelésén, illetve a molekuláris oxigén felhasználása során fellépő – speciális mérőfejjel pontosan mérhető – nyomáscsökkenés mérésén alapul. Az Oxitop rendszert a 3. ábra szemlélteti.

Az oltáshoz használt mikrobák az általam azonosított törzsek közül kerültek ki.
Ezekből két csoportot alakítottam ki:

- I. műanyag-bontási kísérletben már alkalmazott baktérium fajokhoz tartozó törzsek (szakirodalom alapján)
- II. műanyag-bontási kísérletben még nem alkalmazott, a komposztált műanyagminták felületéről származó izolátumok (ld. 3.2.1.1. fejezet).

A kiválasztott törzseket 50 ml LB tápoldatban (10 g tripton, 5 g élesztőkivonat, 10 g NaCl, 1000 cm³ desztillált víz) felszaporítottam, majd centrifugáltam. A felülúszót leöntöttem, a pelletet OIR-III tápoldattal átmostam, újra centrifugáltam. A pelletet OIR-III oldatban reszuszpendáltam. A baktériumsuszpenziókat összekeverve kialakítottam az I. és II. csoportot, majd azok sejtsűrűségét OD₆₀₀ (optikai denzitás 600 nm hullámhosszú fény abszorbanciája alapján) értékét 1-re állítottam.

Az 510 ml-es, mágneskeverővel ellátott Oxitop edényekbe 0,2 g porított műanyagot mértem két párhuzamos beállításban. Hozzámértem 180 ml OIR-III tápoldatot és 20 ml baktériumsuszpenziót, behelyeztem a NaOH-dal töltött gumiharangot, majd rögzítettem a mérőfejeket. 20°C-os termosztátban 4-5 órán át tartó temperálás után indítottam a mérést. Kontrollként csak a baktériumkonzorciumokat, valamint csak műanyag mintákat tartalmazó méréseket is beállítottam.



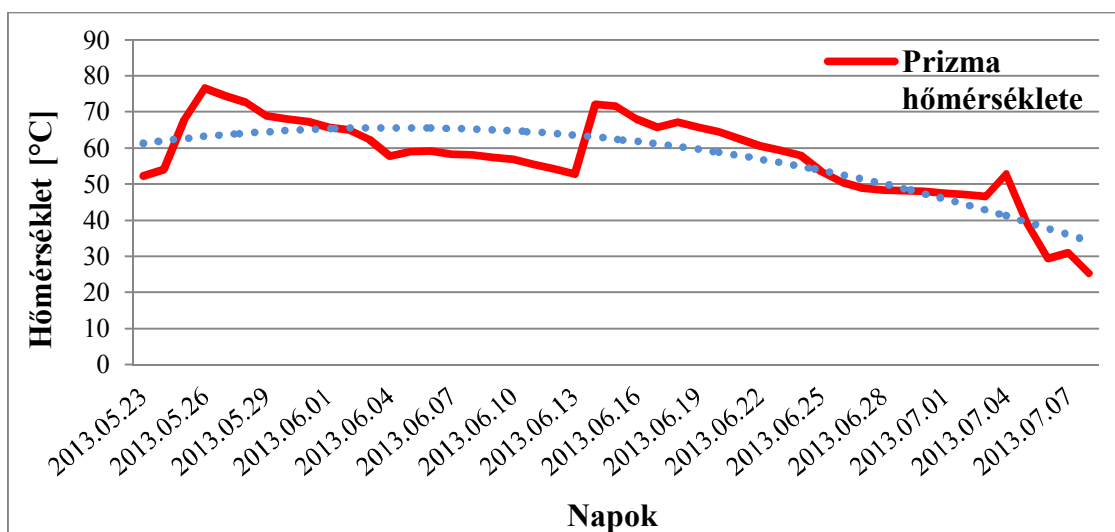
3. ábra: Az Oxitop mérőedény felépítése.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Komposztálási kísérlet

4.1.1. A komposztprizma jellemzői

A 2.4. fejezetben ismertetett technológia során a komposztprizma hőmérsékletét folyamatosan mérik. Az óránként három ponton (prizma magja, közepe és felülete) mért hőmérsékleti adatok napokra vonatkozó átlagát használtam a prizma hőmérsékletének szemléltetéséhez. A Zöld Híd Régió Kft. automatikus mérőrendszeréből származó adatok összegzése a 4. ábrán látható.

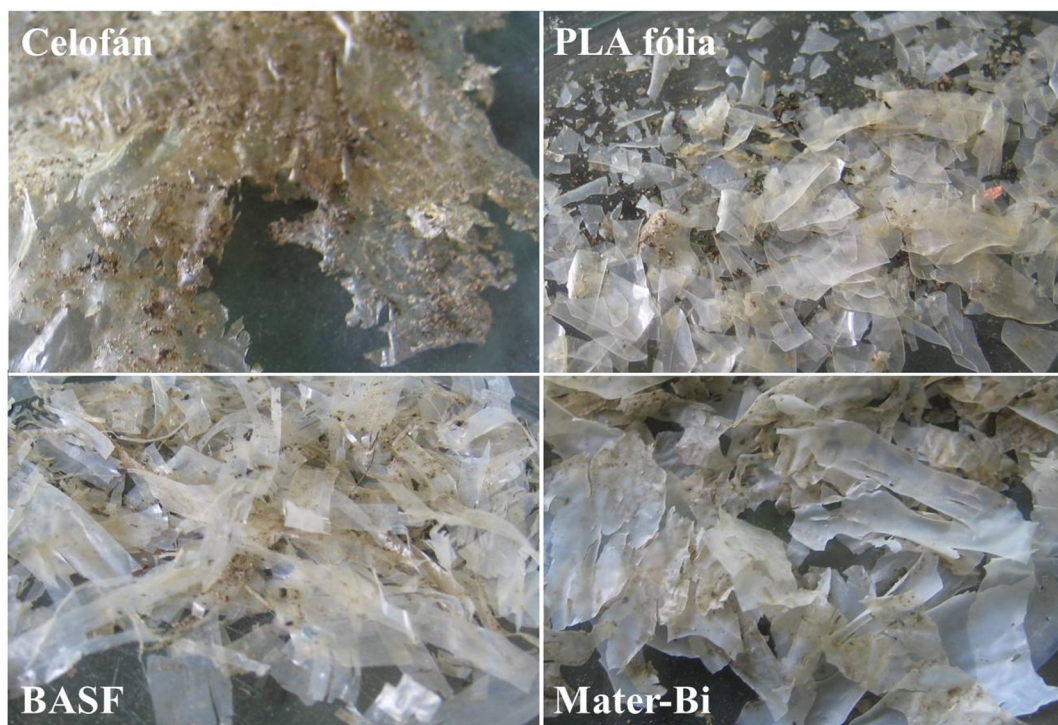


4. ábra: Komposztprizma hőmérsékletének változása a kísérlet hat hete alatt (mérési adatok forrása a Zöld Híd Régió Kft).

A komposzt hőmérsékleti görbéjének lefutásán látható, hogy a GORE® takarás miatt a komposztálás szakaszai nem különülnek el dominánsa, a komposztálás végig kiegyenlítettebb, nagyobb hőmérsékleten történik. Emiatt a mikrobiális aktivitás is fokozottabb, a különböző szerves anyagok átalakulása gyorsabban mehet végbe.

4.1.2. Beágyazott műanyagok a komposztálás után

A komposztálási kísérletben az 1. táblázatban felsorolt 18 fféle műanyagot vizsgáltam. A komposztprizma bontása után a zsineggel megjelölt helyen található mintákat a halomból óvatosan eltávolítottam. A műanyagok vizuális vizsgálata során megállapítottam, hogy *a hőre lágyuló keményítő és a PLA filmek szinte teljesen lebomlottak*. Ehhez hasonlóan a *BASF* (32% politejsav, alifás-aromás kopoliészterek), a *Mater-Bi* (kukoricakeményítő, növényi olaj származékok, biológiai úton lebomló szintetikus polimerek), a *PLA-fólia* (Dr. Tábi Tamás) és a *celofán* (Hewa) erősen töredezetek voltak, jelentős részük átalakult, a mintatartóból igen kis darabjaik voltak kinyerhetők. A visszamaradt fóliadarabokat az 5. ábra szemlélteti.



5. ábra: Komposztban jól bomlott fóliák.

A kísérletben használt poliolefin (polietilén és polipropilén) alapú műanyagokban fellelhető fémsó adalékok a szakirodalomban leírt kísérletekben használt műanyagokban is megtalálhatók (pl. vas-sztearát [ABRUSCI et al., 2011]; mangán-sztearát [JAKUBOWICZ, 2003]; kobalt-sztearát [FONTANELLA et al., 2010]). Ezeken, illetve az adalékot nem tartalmazó poliolefin fóliákon szemmel látható változás nem következett be, azok a mintatartókból sértetlenül visszanyerhetők voltak, ezt a 6. ábra is mutatja.

Mivel ezek a minták könnyen visszanyerhetők voltak, így végre tudtam hajtani rajtuk a tömegcsökkenés mérést. Ehhez a fóliákat desztillált vízzel kétszer kíméletesen lemostam, majd itatóspapírra helyeztem és 50°C-on másfél órán át szárítószekrényben szárítottam a mintákat. Minden műanyagtípusból negatív kontrollt használtam a méréshez. Ezeket a komposztálás ideje alatt 4°C-os hűtőben tartottam, majd mérés előtt ezeken is elvégeztem a tisztítási folyamatot. A visszamérést analitikai mérlegen végeztem.



6. ábra: QualBio fóliaminta komposztálás után (változó vegyértékű fémsókkal adalékolt polietilén, kereskedelmi forgalomban kapható).

A negatív kontrolloknál $\pm 0,3\%$ alatt maradt a tömeg változása, tehát ezt vehetjük mérési hibahatárnak. Tömegcsökkenést egyedül a 242-es jelű (változó vegyértékű fém sókkal adalékolt PE fólia) minta egyik párhuzamosánál lehetett kimutatni, de ez is $0,5\%$ alatti, így a mérési hibát beleszámítva elhanyagolható mértékű. Érdekes, hogy a többi mintánál $2-5\%$ növekedés mutatkozott. Egyik magyarázat az lehetne, hogy a kialakuló biofilm tömege okozná a növekedést. Ezt nem tartom valószínűnek, hiszen ha ilyen mennyiségű biofilm alakulna ki, akkor az már a fóliák bomlását eredményezné. Véleményem szerint erre a valószínűbb magyarázat a fóliák felületén mosás után maradt szennyeződés. Ezt a lehetőséget a 7. ábrán mutatom be.



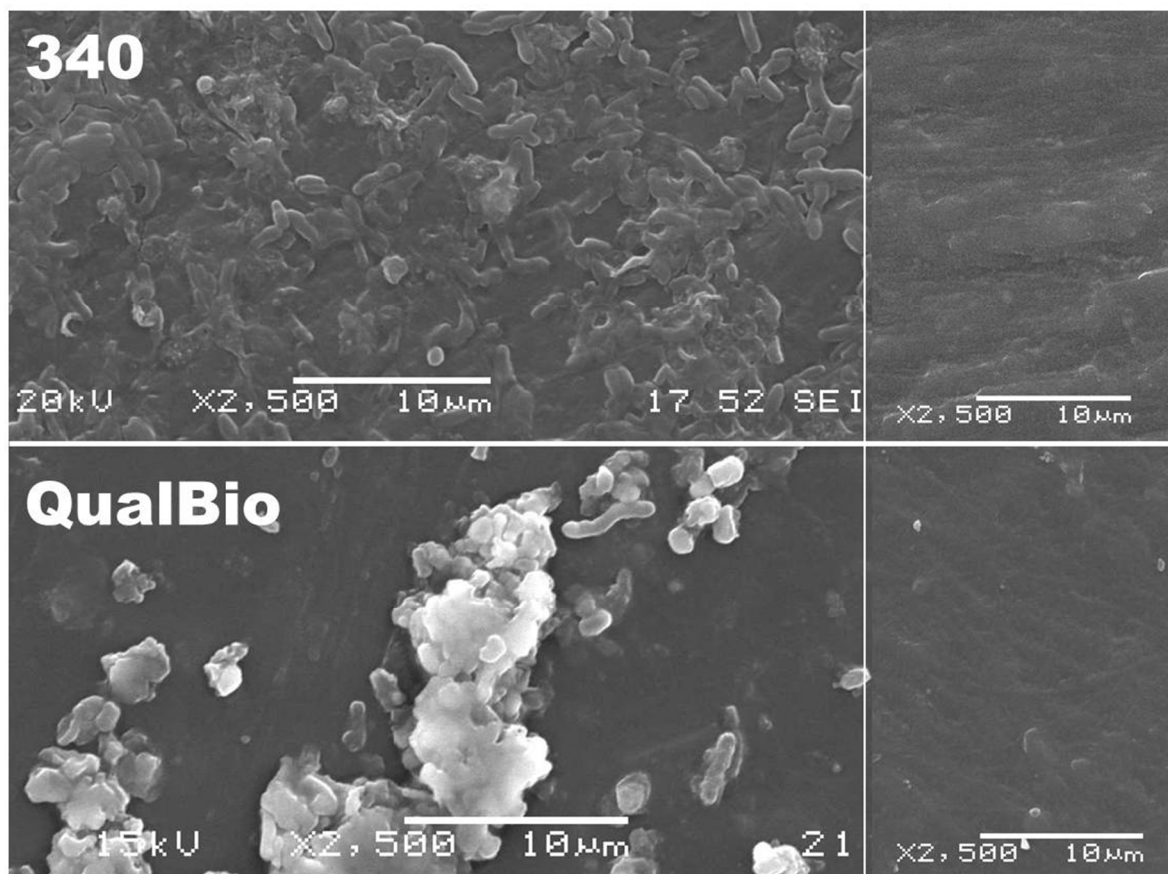
7. ábra: Tisztítási folyamat után a műanyag felületén maradt szennyeződés (238-as minta; változó vegyértékű fém sókkal adalékolt PE fólia).

KOLSTAD et al. (2010) Ingeo típusú PLA filmet vizsgálva arra a következtetésre jutottak, hogy az csak hidrolízis útján bomlik komposztban. Jelen komposztálási vizsgálat nem bizonyítja egyértelműen, hogy az általam használt, lebomlást mutató, PLA tartalmú műanyagok fizikai-kémiai hatásra bomlanak, vagy mikrobiális tevékenység révén. Ezzel szemben HAKKARAINEN et al. (2000) bizonyították, hogy a PLA mikrobák hatására gyorsabban bomlik, mint abiotikus tényezők következtében.

Megállapítható, hogy a bioműanyagok a komposztálás után nem, vagy csak igen kis részben voltak visszanyerhetők. Ha ezek biológiai úton ténylegesen átalakulnak, akkor is keletkezhetnek bomlási közti- és melléktermékek, melyek ökotoxikológiai problémát jelenthetnek. Ezért a jövőben a műanyaggal keveredett komposztok minőségi vizsgálata fontos szerephez juthat. UNMAR és MOHEE (2008) megállapították, hogy a Mater-Bi anyag komposztálása után nem befolyásolja a kész komposzt minőségét.

Komposztálás után a műanyagok felületéről Vargha Viktória és munkatársai a BME-MGL-ben elektronmikroszkópos felvételeket (SEM) készítettek. Ezek a mintákat egyszer desztillált vízzel óvatosan lemostam, majd a mérésig 4°C -on tároltam. Érdekes, hogy a 340-es jelű fólián egyértelműen azonosítható az $1-2\ \mu\text{m}$ méretű bacillusokból álló biofilm. Az

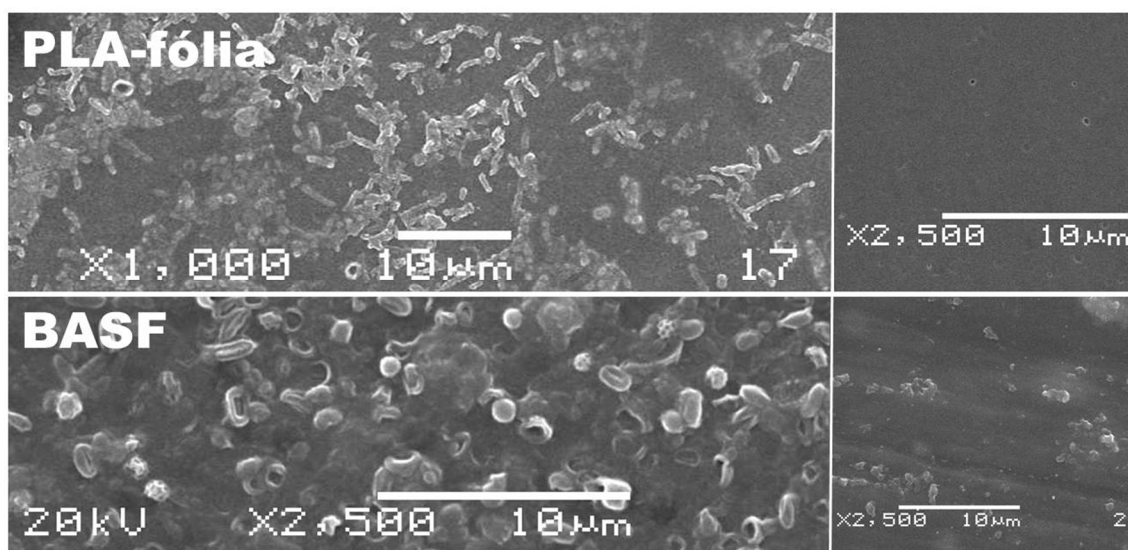
adalékokkal készített PE fóliákon is megfigyelhetők mikroorganizmusok, de jelentős kolonizációt egyiken sem mutatnak (a keményítőt tartalmazókon sem). Ebből arra lehet következtetni, hogy a több évtizede használt PE fóliához jobban adaptálódtak a mikroorganizmusok, míg a lebomlóvá tett fóliák adaléka esetleg gátló hatást fejt ki rájuk. Érdekes, hogy a fejlett biofilm nem okozta a műanyag kis fokú bomlását sem. A 340-es minta és a QualBio adalékolt PE fóliáról komposztálás után, illetve előtte készült SEM képeket a 8. ábra mutatja.



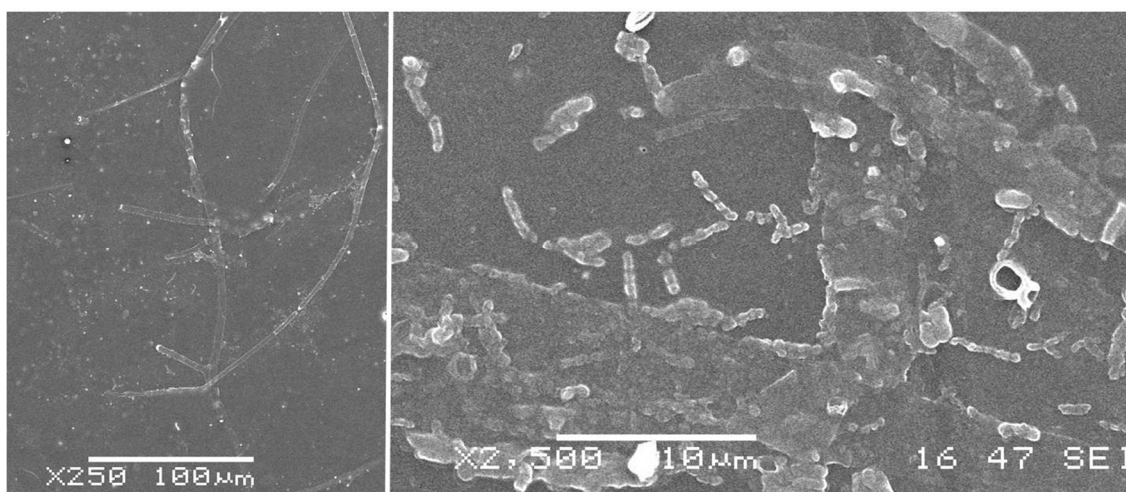
8. ábra: 340-es (tisztá PE fólia) és QualBio (lebomlást elősegítő, változó vegyértékű fémsó adalékot tartalmazó PE fólia) minta komposztálás utáni és előtti elektronmikroszkópos képe.

A bioműanyagok visszanyerhető darabjairól is készültek SEM képek. Ezeken is megfigyelhető a mikrobák fokozott jelenléte, ami a jelentős lebomlás után nem meglepő. A BASF és a Mater-Bi fólia érdekes, lyukacsos szerkezetűvé alakult. A SEM képekről összességében elmondható, hogy főleg baktériumokra utaló képleteket lehet azonosítani rajtuk. A BASF mintáról és a PLA-fóliáról komposztálás után, illetve előtte készült SEM képeket a 9. ábra mutatja.

Bizonyos esetekben 5-8 µm vastag, gombahídra utaló jel is mutatkozik a felvételeken. Ilyen látható a PLA-fóliáról készült képen is, melyet 10. ábra mutat be.



9. ábra: PLA-fólia és BASF minta (32% politejsav tartalmú alifás-aromás kopoliészter fólia) komposztálás utáni és előtti elektronmikroszkópos képe.



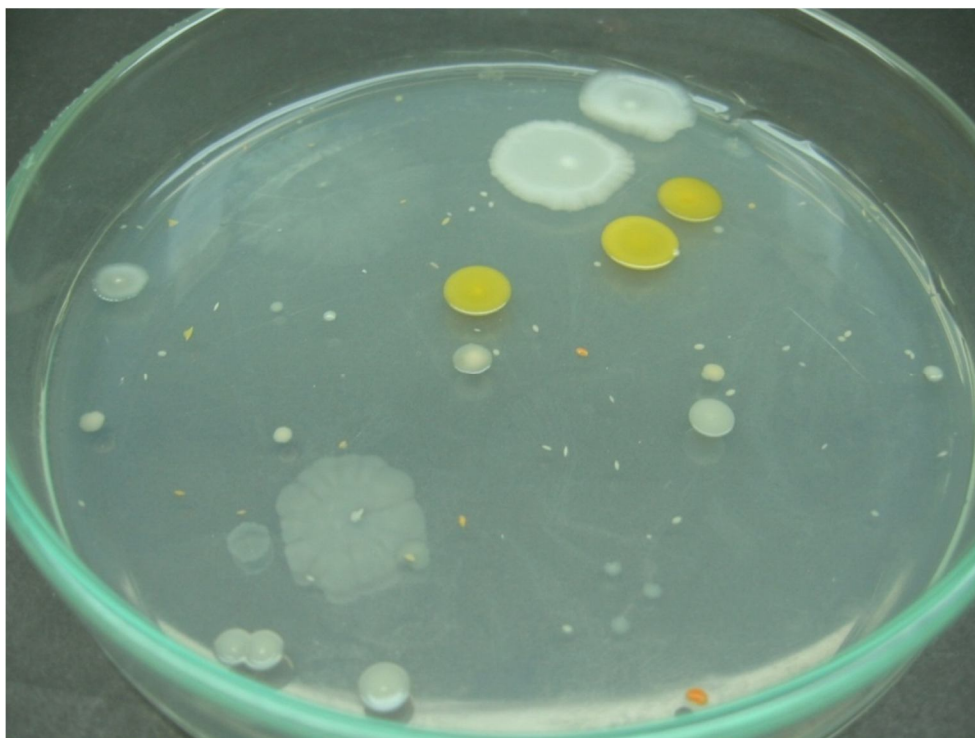
10. ábra: Gomba hifa (bal oldalon) és vegyes baktérium kolónia (jobb oldalon) a PLA-fólián.

4.2. Izolált és azonosított baktériumtörzsek

4.2.1. Komposztból és talajból származó minták csíraszámai

A komposztból vett minták két módon kerültek feldolgozásra. A fiziológias sóoldatban 30 percig tartó rázatás után öntött lemezekben viszonylag alacsonynak mondható, $2,5 \times 10^4$ élő csíraszámot lehetett számolni a törzsoldat 1 ml-ére vonatkoztatva. Az OIR-III tápoldatban 5 napig rázatott mintánál ez már egy nagyságrenddel nagyobb, 2×10^5 érték volt. Még ez is kicsit kevesebb, mint ami egy komposztból származó mintától várható. Ennek oka az lehet, hogy a műanyagok viszonylag kevésbé voltak elszennyeződve a felületükre tapadt anyagoktól. A két eredményt összehasonlítva látható, hogy a tápanyaggal enyhén támogatott tápoldatban (OIR-III) 5 nap elteltével jelentősen (egy nagyságrendnyit) szaporodtak a mikroorganizmusok.

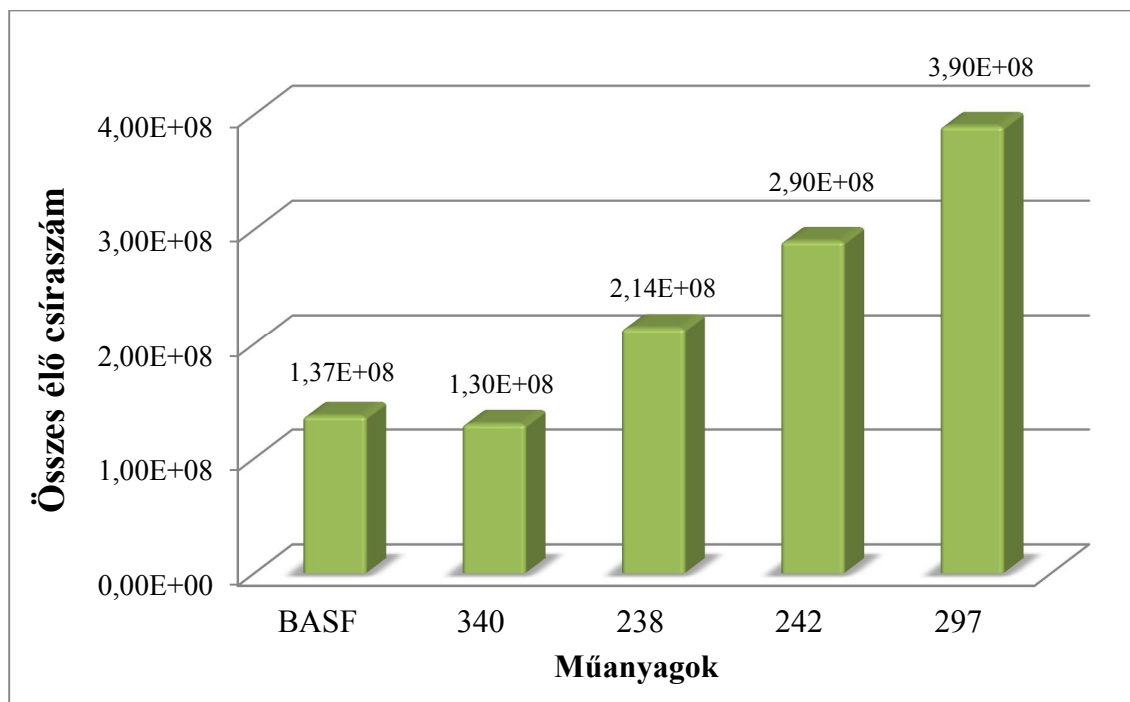
A talajból vett műanyagminták feldolgozása során 5 műanyagtypust vizsgáltam. Egyik minta lemezöntését, a mikroorganizmusok jellemző diverzitását (telepmorfológia alapján) a 11. ábra mutatja. A lemezöntések alapján megállapítható, hogy *a talajból vett különböző minták nagyságrendileg azonos (10^8) csíraszám értékeket mutatnak*. Egyes minták között található némi eltérés, ezt a 12. ábra szemlélteti.



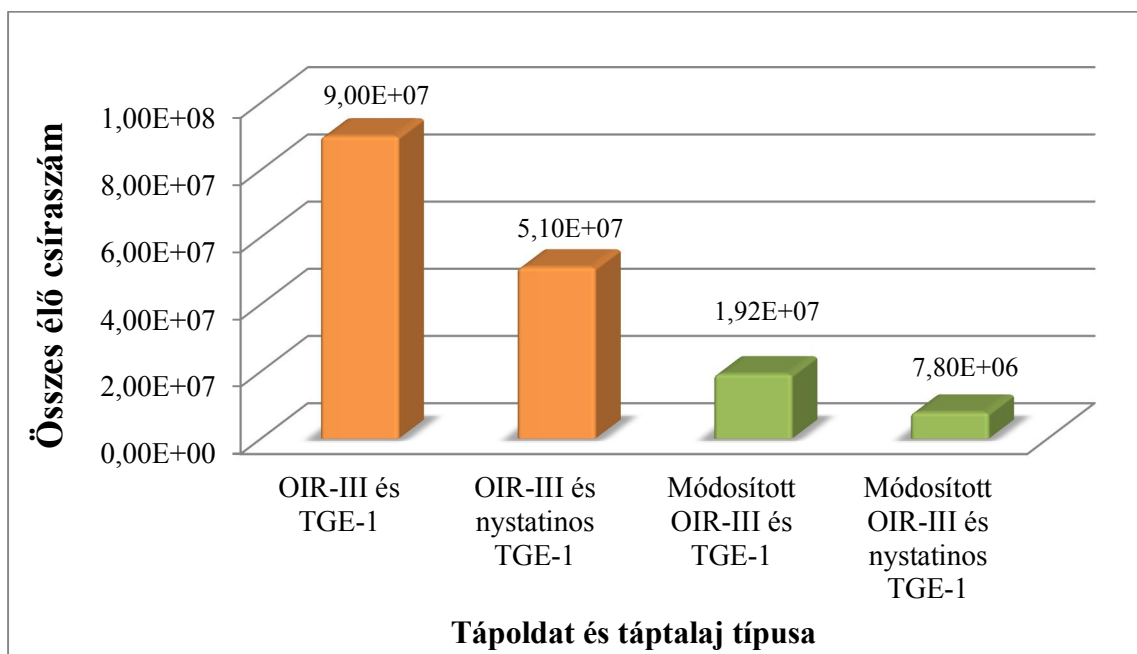
11. ábra: Talajból vett 242-es jelű (fém sókkal adalékolt PE) felületéről származó mikroorganizmusok.

A komposztból származó minta (RKM/OIR) feldolgozása során Mater-Bi műanyagot tartalmazó OIR-III és módosított OIR-III táplevesbe végeztem passzálást. A két hónapos inkubáció után az OIR-III oldatban 10^7 -en nagyságrendben voltak jelen mikroorganizmusok. A nystatinnal (mikroszkopikus gombákat gátló szer) kiegészített TGE-1 lemez öntése során megállapítható, hogy a baktériumok száma nagyságrendileg az összes élő csíraszámmal megegyezik. A csak ásványi anyagokat (módosított OIR-III) és a műanyagmintát tartalmazó tápoldat 10^7 -en összes élő csíraszám értékeket mutat, a baktériumok aránya itt egy nagyságrenddel kisebb. Az adatokat a 13. ábra mutatja.

Összességében elmondható, hogy a tápanyagban szegény és a csak ásványi anyagokat tartalmazó tápoldatban is viszonylag nagy csíraszám értékek mutatkoznak. Ebből arra lehet következtetni, hogy a két hónap alatt a mikrobák adaptálódtak a környezethez, feltételezhetően a vizsgált műanyag szén- és energiaforrásként való hasznosítását megkezdték fennmaradásuk érdekében.



12. ábra: Talajból származó műanyagminták (BME mintajel) csíraszama 1 ml törzshígításra vonatkoztatva (*BASF*: 32% politejsav tartalmú alifás-aromás kopoliészter fóliai; *340*: tiszta PE fólia; *297*: hőre lágyuló keményítőt és fémsó adalékokat tartalmazó PE fólia; *238* és *242*: fémsó adalékokat tartalmazó PE fóliák).



13. ábra: Kukoricakeményítőből, növényi olaj származékokból és biológiai úton lebomló szintetikus polimerekből készült Mater-Bi műanyagok (MBI mintajel) csíraszamai (különböző feldolgozásnak megfelelően) 1 ml törzshígításra vonatkoztatva, 2 hónapos, OIR-III és módosított OIR-III táplevesben való ráztatás után.

4.2.2. Faj szintű identifikáció

Vizsgálataim során összesen 28 különböző, nem patogén baktérium törzset sikerült azonosítanom részleges 16S rDNS szekvencia alapján, ezeket a 3. táblázat mutatja.

3. táblázat: 16S rDNS alapon azonosított baktérium fajok különböző műanyagok felületéről

(*BASF*: 32% politejsav tartalmú alifás-aromás kopoliészter fólia; *Mater-Bi*:

kukoricakeményítőből, növényi olaj származékokból és biológiai úton lebomló szintetikus polimerekből készült fólia; 340: tiszta PE fólia; 297: hőre lágyuló keményítőt és fémsó adalékokat tartalmazó PE fólia; 238 és 242: fémsó adalékokat tartalmazó PE fóliák)

Törzs	Minta származása	Műanyag típusa
<i>Bacillus aryabhattai</i>	Talaj (BME mintajel)	BASF, 340
<i>Bacillus megaterium</i>		340
<i>Bacillus mycoides</i>		297
<i>Brevibacillus borstelensis</i>		340; 238
<i>Brevibacillus brevis</i>		238
<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>		BASF
<i>Mesorhizobium australicum</i>		242
<i>Novosphingobium capsulatum</i>		BASF, 340; 297; 242
<i>Paenibacillus chitinolyticus</i>		238
<i>Paenibacillus cineris</i>		340; 242
<i>Acinetobacter nov. sp.</i> (RKM-4)	Komposzt (RKM mintajel)	QualBio (lebomlást elősegítő adalékot tartalmazó PE)
<i>Bacillus asahii</i>		
<i>Bacillus safensis</i>		
<i>Cupriavidus respiraculi</i>		
<i>Microbacterium barkeri</i>		
<i>Microbacterium nov. sp.</i> (RKM-9; RKM-12)		
<i>Sphingobacterium mizutaii</i>		
<i>Pseudomonas moorei</i>	Komposzt (RKM/OIR mintajel)	
<i>Pseudomonas oleovorans</i>		
<i>Rhodococcus rhodochrous</i>		
<i>Sphingomonas suberifaciens</i>		
<i>Sphingopyxis bauzanensis</i>		
<i>Chryseobacterium daeguense</i>	Komposztból vett minta törzshígításának Mater-Bi anyagra passzálásával (MBI mintajel)	Mater-Bi (kukoricakeményítőből, növényi olaj származékokból és biológiai úton lebomló szintetikus polimerekből készült fólia)
<i>Micrococcus luteus</i>		
<i>Ochrobactrum pseudogrignonense</i>		
<i>Sphingomonas histidinilytica</i>		
<i>Xenophilus azovorans</i>		
<i>Lysinibacillus macroides</i>	Komposzt, talaj	QualBio, BASF
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Komposzt, talaj, Mater-Bi	QualBio, BASF, Mater-Bi

Bizonyos esetekben a részleges szekvenciaanalízis alapján meghatározott törzsek nem mutattak megfelelő hasonlóságot a validált típustörzsekkel, ezért több primer felhasználásával a teljes 16S rDNS szekvenciájuk meghatározása után lehetett őket azonosítani.

Három törzset a teljes 16S rDNS szekvencia analízis után sem lehetett 98%-nál nagyobb egyezéssel azonosítani, így ezek **új törzs jelöltként** kerültek további felhasználásra. Ezek között található egy *Acinetobacter* nov. sp. (RKM-4) és két *Microbacterium* nov. sp. (RKM-9; RKM-12).

A 3. táblázatban leolvasható, hogy a komposztból, talajból és a Mater-Bi műanyag felületéről izolált és 16S rDNS alapon azonosított baktérium fajok pontosan melyik típusú műanyag felületéről származnak.

Igaz, hogy komposztból származó törzsoldattal végeztem a Mater-Bi műanyagot tartalmazó oldat beoltását, mégse mondhatjuk, hogy e minta felületéről izolált törzsek (MBI) biztosan komposztból származnak, hiszen a mintaanyag nem sterilen került a tápoldatra. Ennél a vizsgálatnál az volt a cél, hogy minél több potenciálisan műanyagbontó törzset azonosítsak, így a műanyag sterilítása sem volt fontos. Ezt a jövőben más célú vizsgálatoknál etanolos fertőtlenítéssel korrigálni lehet.

Az általam azonosított törzsek között négy olyan szerepel, melyeket korábbi műanyag lebontási kísérletben azonosítottak, illetve használtak, ezeket a 4. táblázat mutatja be. Közülük a *Bacillus megaterium* izolálása ABRUSCI et al. (2011) munkájához hasonlóan talajból vett PE fólia felületéről történt. Ugyan ez az egyezés mutatható ki a *Brevibacillus borstelensis* izolátumom származásával HADAD et al. (2005) munkájának vonatkozásában.

4. táblázat: Munkám során egyes műanyagok felületéről azonosított, szakirodalomban műanyagbontóként leírt baktérium fajok.

Izolált, azonosított fajok	Azonosítás forrása (műanyag)	Irodalom	Irodalmi azonosítás
<i>Bacillus megaterium</i>	340 (tisztá PE fólia)	ABRUSCI et al., 2011	PE fólia – talajból
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	340 (tisztá PE fólia); 238 (fémsó adalékokat tartalmazó fólia)	ABRUSCI et al., 2011; HADAD et al., 2005	PE fólia – talajból
<i>Micrococcus luteus</i>	Mater-Bi (kukoricakeményítőből, növényi olaj származékokból és biológiai úton lebomló szintetikus polimerekből készült fólia)	NOWAK et al., 2011	30% Bionelle poliészterrel adalékolt PE fólia – talajból
<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	QualBio (lebomlást elősegítő adalékot tartalmazó PE fólia)	FONTANELLA et al. 2010; FONTANELLA et al. 2013; KOUTNY et al., 2006	Törzsgyűjteményből vásárolt

Az izolált mikrobák közül nyolc olyat azonosítottam, melyeket különböző okok miatt potenciális műanyagbontóknak tekinthetünk. Ezeket az 5. táblázat mutatja be. Látható, hogy hat fajról összetett szerves vegyületek bontását írják le. A *Paenibacillus cineris*-t vulkáni hamuból izolálták, így feltételezhető, hogy tápanyagban szegényebb környezetben, nehezebben hasznosítható vegyületek bontásából (pl. műanyag) is megél. A két *Lysinibacillus macroides* fajt azért soroltam a potenciális műanyagbontók közé, mert ezt 2012-ben azonosították külön fajként, így még nem tudhatjuk pontosan, milyen vegyületek bontására lehet képes.

5. táblázat: Munkám során izolált, potenciális műanyagbontó baktériumtörzsek.

Izolált, azonosított fajok	Azonosítás forrása (műanyag)	Tulajdonság (szakirodalom alapján)	Forrás
<i>Chryseobacterium daeguense</i>	Mater-Bi	Textilfesték-gyártó üzem szennyvíztisztítójából izolálták	YOON et al. 2007
<i>Lysinibacillus macroides</i>	QualBio; BASF	2012-ben azonosították.	COOREVITS et al. 2012
<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	BASF	Xilánt (xilóz-polyszacharid) bontja.	LEE et al., 2010
<i>Paenibacillus cineris</i>	340; 242	Vulkáni hamuból izolálták.	LOGAN et al., 2004
<i>Pseudomonas moorei</i>	QualBio	Szalicilsavat és 4-klórszalicilsavat hasznosítja, <i>Sphingomonas</i> sp. kultúrával 2- és 3-klórdibenzofurán bontását végzi.	CÁMARA et al., 2007
<i>Sphingomonas histidinilytica</i>	Mater-Bi	Hexaklór-ciklohexánnal szennyezett területről azonosították.	NIGAM et al., 2010
<i>Sphingopyxis bauzanensis</i>	QualBio	Szénhidrogénnel szennyezett talajból azonosították. Psychrofil.	ZHANG et al., 2010
<i>Xenophilus azovorans</i>	Mater-Bi	Azoreduktázokat termel, Orange II típusú festékeket bont	BLÜMEL et al., 2001

JEON és KIM (2013) munkájában komposztmintából izolált *Chelatococcus daeguensis* törzset műanyagbontóként azonosítja. A törzs leírását YOON et al. végezték 2008-ban egy koreai, Daegu városában található textilfesték-gyártó üzem szennyvizéből. Az általam azonosított, komposztmintából származó potenciális műanyagbontó *Chryseobacterium daeguense* törzset szintén YOON et al. írták le 2007-ben egy Daegu városában található textilfesték-gyártó üzem szennyvizéből. Feltételezhető, hogy a városban egy ilyen üzem működik, így arra következtethetünk, hogy a két törzset ugyan arról a helyről izolálták és írták le. Tehát JEON és KIM (2013) munkájában műanyagbontóként azonosított *Chelatococcus daeguensis* és az általam potenciális műanyagbontóként azonosított *Chryseobacterium daeguense* feltételezhetően azonos körülmények között élnek (és valószínűleg összetett

festékipari vegyületek bontására képesek). Ez a tény megerősíti, hogy a *C. daeguense* képes lehet műanyagok hasznosítására.

A törzsizoláláshoz használt komposztból származó mintákat (RKM; RKM/OIR) nem mostam le mielőtt a tápoldatba kerültek volna, a talajból származó (BME) minták desztillált vizes öblítésen estek át. Ezek után is látható volt a minták felületére tapadt szennyeződés, ill. talajkolloidok, így nem lehetünk biztosak, hogy az azonosított mikrobák a műanyag felületéhez kötődő biofilmből származnak. Azt lehet mondani, hogy műanyaggal szennyezett közegből, a műanyag felületének közvetlen közelében kialakult mikrobakonzorciumból történt az izolálás. *A mintafeldolgozást célszerű lenne a jövőben úgy fejleszteni, hogy a talajkolloidoktól a műanyag jobban megtisztuljon.* Ezt elképzelésem szerint úgy lehetne elérni, hogy a mintát steril desztillált vízzel leöblítjük, majd 20-30 percig steril desztillált vizet tartalmazó rázólabdikban mossuk. Ez idő alatt a talajkolloidok nagy része lemosódik, viszont a műanyagon kialakult biofilm – a rá jellemző ellenállóképesség miatt – nem változik. Ezután a műanyag felületéről steril vattával kenetet kellene venni, amit hígítsához használt, felületaktív anyagot tartalmazó steril oldatban üveggyöngyökkel rázatni kellene 20-30 percig. Az így kialakult oldatból öntött agarlemezekeken nőtt telepek már nagy valószínűséggel a műanyag felületéhez kötődő sejtekből származnak.

A komposztból származó mintákat még szerves anyagot is tartalmazó OIR-III tápoldattal dolgoztam fel, a Mater-Bi mintákat OIR-III és módosított OIR-III tápoldatban (szerves anyag nélküli) is rázattam, míg a talajból származó mintákat már csak a módosított, pusztán ásványi anyagokat tartalmazó tápoldatban vizsgáltam. Ez a teljesen szervesanyagmentes tápoldatban történő mintafeldolgozás a jövőben követendő, hiszen ha a műanyagokat – a fentebb leírt módon – az egyéb, mikrobák által hasznosítható szennyeződéstől megtisztítjuk, akkor csak a műanyagot hasznosító szervezetek, (illetve az ellenálló képletet képzők) maradnak fent.

4.3. Laboratóriumi bontási kísérlet

4.3.1. Műanyagok kiválasztása

Ehhez a kísérlethez a komposztálás során fólia formátumban vizsgált, jól bomlott anyagokat használtam. Ezek a *BASF* (32% PLA tartalmú alifás-aromás kopoliészter), a *Mater-Bi* (kukoricakeményítő, növényi olaj származékok, biológiai úton lebomló szintetikus polimerek), a *PLA-fólia* és a *celofán* minták voltak. A *bioműanyagok és az oxo-biodegradálható műanyagok biodegradációjának összehasonlítására* a 238-as jelű mintát használtam a fóliák előállítójának, Dr. Vargha Viktóriának a javaslatára. KOC SIS (2010)

kísérletei alapján mind a 238 és 242 jelű fóliaminták környezetbe kitéve (pl. háztető) abiotikus hatások következtében igen hamar elveszítették szilárdságukat, 19 nap után széttöredeztek. Ebből látható, hogy ezen minták fotodegradáció útján könnyen bomlanak. Ez az adat jól szembe állítható az általam végzett komposztálási kísérlettel, ahol 6 hét fokozott mikrobiális aktivitással rendelkező közegben való kezelés után sem történt a fóliákon érzékelhető bomlás. *Ha a biológiai bontási kísérletben is negatív eredményt mutat ez a fólia, akkor kijelenthető, hogy biológiai úton nem, vagy csak fotodegradáció után bomlik.* A kísérletben kontroll mintának használtam a 340-es jelű polietilén fóliát. A műanyagokat porított formában használtam, mert így biztosított az egyenletes elkeveredés és a mikrobák számára is nagyobb felület áll rendelkezésre.

A minták közül a BASF és a PLA-fólia is politejsavat tartalmaz, melynek hidrolízis útján történő bomlása ismert (KOLSTAD et al., 2010). Ennek lehetőségét a laboratóriumban beállított kísérlet során minimalizáltam, hiszen a komposztra jellemző fokozott fizikai-kémiai állapotok nincsenek jelen (az inkubáció 20°C-on történik), így *a baktériumok tevékenysége a meghatározó.* Továbbá a mérés elve is a respirációs aktivitáson alapul, a hidrolízis során pedig CO₂ nem keletkezik.

4.3.2. Közeg kiválasztása

A bontási kísérlet beállítása előtt fontos volt a megfelelő vizsgálati közeg kiválasztása. Folyadék közegű teszteknel a táptalaj pontos szerves- és szervetlenanyag összetétele ismert, az a párhuzamos beállításokban is tökéletesen megegyezik, valamint a kísérlet újra ugyan úgy megismételhető. Könnyen belátható, hogy ez egy komposzt- vagy talajmintánál már nem áll fent. A szilárd közegű teszteknel figyelembe kell venni azt is, hogy a közegek mikrobiális összetétele eltérhet. Ennek kiküszöbölésére JEON ÉS KIM (2013) a komposztmintát sterilizálás után baktériumtenyésztéssel oltották be, de a párhuzamos beállításokban és a negatív kontrollokban a mikrobák számára rendelkezésre álló tápanyagforrások így sem lehetnek tökéletesen egyformák, ez pedig a kísérlet értékelhetőségét nehezíti.

Mivel a hulladékkezelést a szilárd közegek jobban modellezik, ezért felmerült standardizált, talajtoxicitási tesztekhez széles körben használt OECD mesterséges talaj használatának a lehetősége is sterilizálás után baktériumkonzorcium beoltásával. Az így készített közegek 70% finom szemcséjű kvarchomokot, 20% kaolin agyagot és 10% *Sphagnum* tőzegmohát tartalmaznak (HOFMAN et al., 2009). Ez az összetétel sem tökéletes; a kísérlet megismételhetőségét, más területről származó tőzeg használatával előállított közegben végzett kísérlettel való összehasonlíthatóságát veszélyezteti. HOFMAN et al. (2009)

munkájukban ezt a feltételezést igazolják, így folyadék közegű tesztet használtam a vizsgálathoz.

4.3.3. Oltáshoz használt törzsek, kontroll mérések

A respirációs vizsgálatot két, az általam izolált törzsekből létrehozott baktériumkonzorcium használatával végeztem.

I. csoport: A már korábbi műanyag lebontási kísérletben is alkalmazott törzsekből állítottam össze; *Bacillus megaterium*, *Brevibacillus borstelensis*, *Micrococcus luteus*, *Rhodococcus rhodochrous*.

II. csoport: A komposztált QualBio felületéről származó, potenciális műanyagbontóként azonosított (ld. 4.2. fejezet) baktériumokból (*Lysinibacillus macroides*, *Pseudomonas moorei*, *Sphingopyxis bauzanensis*), illetve az új törzs jelölt (RKM-4; RKM-9; RKM-12) baktériumokból álló közösség.

A mérések pontosításához kétféle kontrollt használtam. Mivel a tápoldat nem csak a műanyagokat, hanem kis mennyiségű szerves anyagot is tartalmazott szénforrásként, ezért mindenképpen szükséges volt a műanyagok nélküli, csak baktériumkonzorciumokkal beállított vizsgálat az alaprespiráció meghatározásához. A kísérletet azért nem a csak ásványi anyagokat tartalmazó módosított OIR-III tápoldatban végeztem, mert úgy gondoltam, hogy ez a kis mennyiségű tápanyag segíti a baktériumokat a műanyaghoz való adaptációs időszakban. A műanyagok nélküli beállításban rögzített alaprespirációt az eredmények kiértékelésekor össze kell hasonlítani a műanyaggal kiegészített beállításokkal; amennyi többlet CO₂ termelés ott jelentkezik, az a műanyagok bomlásának tudható be.

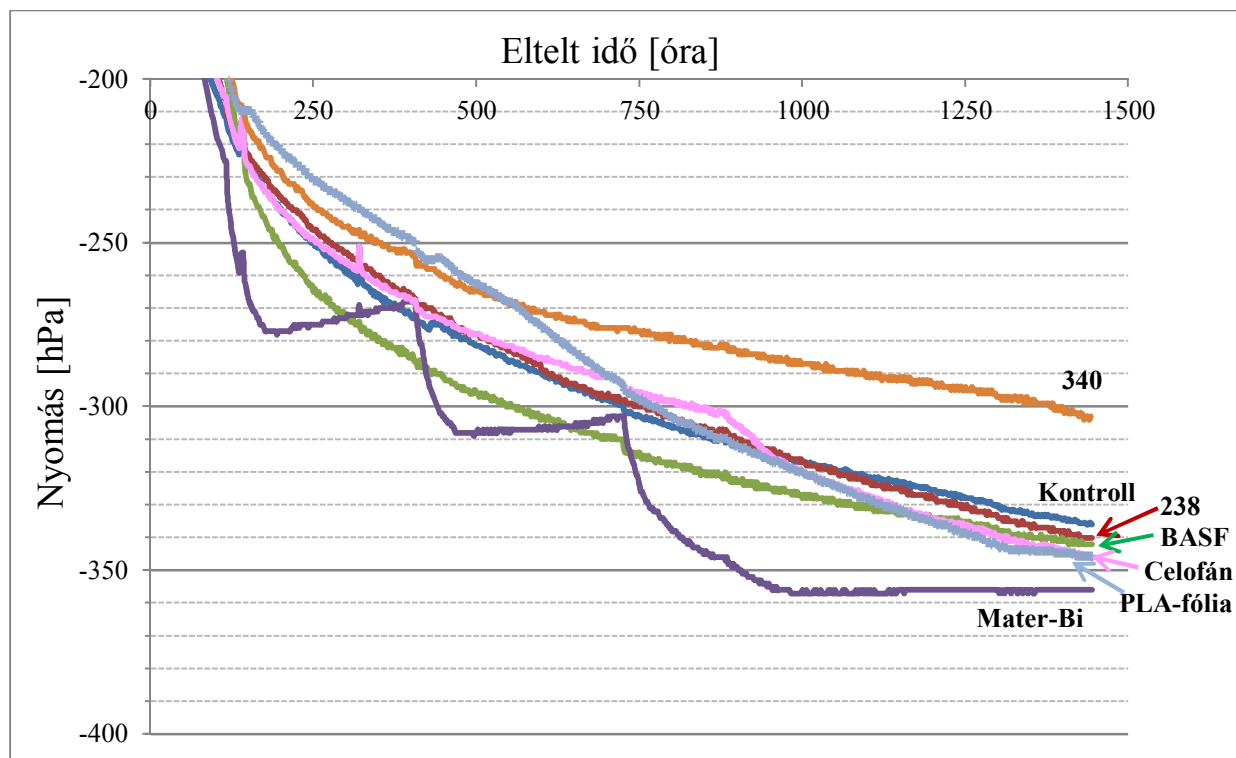
A fóliák felületén található endogén mikrobakonzorcium alaprespirációjának vizsgálatához baktériumos oltás nélküli, csak a mintaanyagokat tartalmazó beállításokra is szükség volt, hiszen a porított műanyagok sterilizését nem tudtam megoldani. A szakirodalomban első sorban fólia formátumú műanyagok etanolos fertőtlenítéséről lehet olvasni (ld. 2.3.2.1. fejezet). Ez a kísérletemben a por formátum miatt nem lett volna kivitelezhető. Felmerülhet még az UV sterilizés, de ezt azért nem akartam alkalmazni, mert az már kismértékű fotodegradációhoz vezethetett volna.

4.3.4. Mérési eredmények

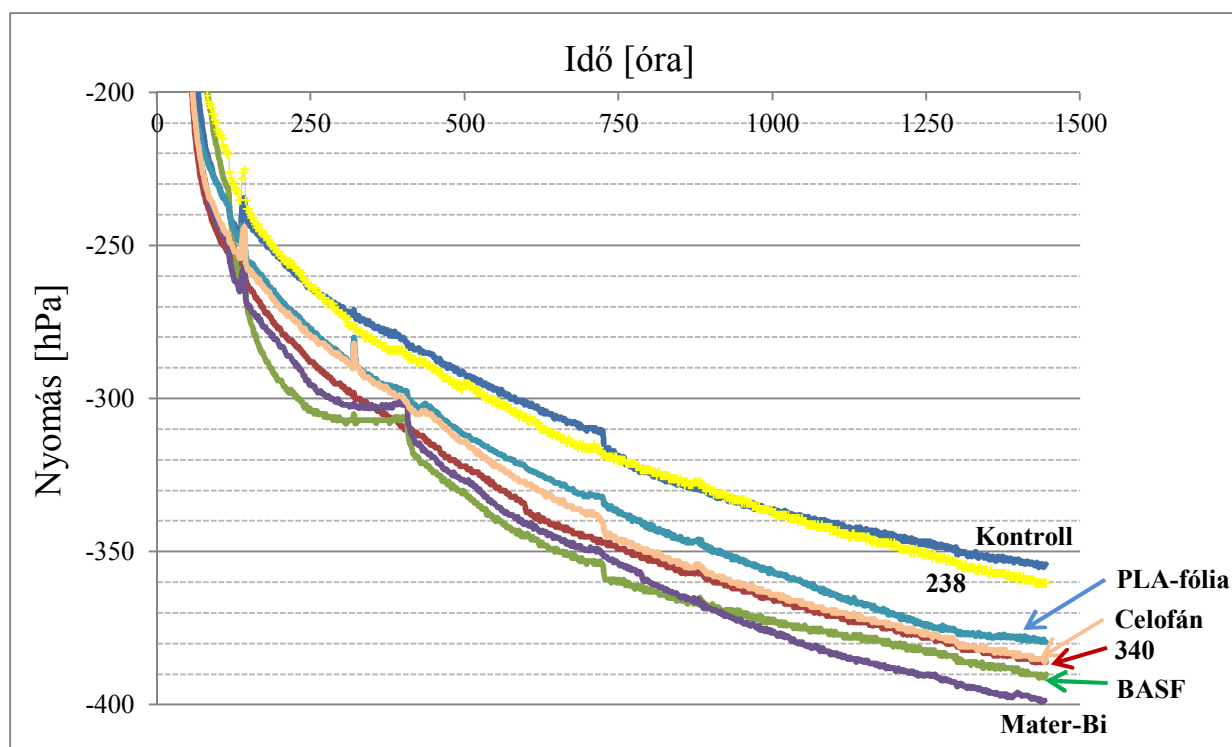
Az I. számú (irodalmi bontó törzsek) konzorciummal kezelt műanyagok respirációs adatait vizsgálva megállapítható, hogy a BASF (32% politejsav, alifás-aromás szénhidrogének), a PLA-fólia, a celofán és a 238-as jelű minta (fém sókkal adalékolt 340-es

jelű tiszta PE) respirációs aktivitása 5-10 hPa-al, a Mater-Bi minta (kukoricakeményítő, növényi olaj származékok, biológiai úton lebomló szintetikus polimerek) 20 hPa-al nagyobb nyomáscsökkenést mutat a baktériumos kontroll 336 hPa-os nyomáscsökkenéséhez képest, míg a 340-es jelű tiszta PE minta 25 hPa-al kevesebbet. Ilyen időtávon a 20 hPa alatti változás nem tekinthető jelentős eltérésnek, így az állapítható meg, hogy az I. számú konzorcium a Mater-Bi hasznosítására lehet képes, míg a 340-es PE gátló hatással lehet a mikroszervezetek működésére. Az I. konzorciumban használt törzsekről megállapítható, hogy az irodalmi kísérletekben fotodegradálódott műanyagok bontására voltak képesek, ezt FONTANELLA et al. (2010) *Rhodococcus rhodochrous* törzs esetében 27°C-on tapasztalta. Megállapítható továbbá, hogy a *Brevibacillus borstelensis*-ről termofil (45°C) körülmények között mutatták ki polietilén bontását (HADAD et al., 2005; ABRUSCI et al., 2011), így az általam használt konzorciumok bontási képességének vizsgálata nagyobb hőmérsékleten inkubálva is fontos a jövőben. Egy ilyen inkubáció a komposztálás körülményeit jobban modellezi, hiszen a 20°C-os inkubáció és a porított műanyagok nem kielégítőek a valós biológiai hulladékkezelés modellezésére, viszont célommal összhangban arra megfelel, hogy az egyes műanyagtípusok biológiai hasznosíthatóságát vizsgáljam. Az I. számú konzorciummal kezelt minták respirációs görbáját a 14. ábra mutatja.

A II. számú – komposztból származó, potenciálisan műanyagbontó törzsekből álló – konzorcium bontási képességének vizsgálatánál elmondható, hogy a 238-as jelű minta az egyetlen, ahol nem mutatkozik a kontrollhoz képest eltérés. A PLA-fólia, a celofán, a 340-es jelű és a BASF minta itt 20-30 hPa-al, a Mater-Bi minta pedig 35 hPa-al nagyobb nyomáscsökkenést mutat, mint a baktériumos kontrollnál tapasztalható -354 hPa-os érték. Ezekből az eredményekből már lehet a minták kis fokú bomlására következtetni, hiszen meghaladják a 20 hPa-os különbséget. A II. számú konzorciummal kezelt minták respirációs görbáját a 15. ábra szemlélteti.



14. ábra: Az I. baktériumkonzorciummal kezelt minták, illetve a műanyag nélküli kontroll respirációs görbéje.



15. ábra: A II. baktériumkonzorciummal kezelt minták, illetve a műanyag nélküli kontroll respirációs görbéje.

A két, 60 napig futó beállítást összehasonlítva megállapítható, hogy a II. számú, potenciális bontási képességgel rendelkező törzsek alkotta konzorcium bontási képessége az I.

konzorciumhoz képest nagyobb, kivéve az adalékokkal lebomlóvá tett 238-as jelű PE mintánál. Elmondható, hogy a Mater-Bi bontására az irodalomban használt törzsek, valamint az általam potenciálisan bontó törzsek is képesek, míg a többi műanyagot ezen vizsgálat keretein belül csak a II. számú konzorcium tudta hasznosítani. Azok a törzsek (I. konzorcium), melyekről az irodalomban abiotikus előkezelésen átesett polietilén bontását kimutatták, vizsgálatomban a 340-es jelű, mesterséges öregítés nélkül használt, tiszta PE fóliát nem voltak képesek hasznosítani.

Hipotézisemnek megfelelően elmondható, hogy a fémsó adalékokkal lebomlóvá tett PE fólia csak baktériumok hatására nem mutatott bomlást, míg ez a Mater-Bi bioműanyagnál mindkét kezelés esetében, a PLA-fólia és a BASF minta esetében pedig a II. kezelésnél kimutatható.

Mivel a műanyagok felülete nem volt steril, így a mikrobakonzorciumokat nem tartalmazó, csak műanyagokkal beállított kontroll méréseknél is lehetett respirációs aktivitást tapasztalni. Ez az aktivitás a PLA-fólia és a 238-as minta esetében a konzorciumos kezelésektől elmaradt. Az I. konzorciummal kezelt Mater-Bi és celofán minta aktivitásához hasonló érték tapasztalható ezen minták baktériumos kezelés nélküli beállításainál. Két esetben az I. konzorciummal kezelt műanyagminták által mutatott nyomáscsökkenést meghaladja a kezelésektől, csak műanyagot tartalmazó beállítások nyomáscsökkenése: a BASF mintánál kb. 10 hPa-al míg a 340-es mintánál jelentősebb, kb. 50 hPa-al. Elmondható, hogy a baktériumos kezelés nélküli minták respirációja egy esetben sem haladta meg a II. baktériumkonzorciummal kezelt mintákét.

Ezen kontrollvizsgálat nem az egyes műanyagok közötti bomlási különbséget mutatja, hanem azt, hogy a műanyagok felületén található mikroorganizmusok is rendelkezhetnek bontási potenciállal. Ezért a jövőben célszerű az így beállított kísérlet után törzseket izolálni és azonosítani, majd azokat további bontási kísérletekbe vonni.

A CO₂ fejlődés mérése a műanyag lebomlási vizsgálatok jó módszere lehet az elkövetkező kísérletekhez. Fontos, hogy a jövőben csak ásványi anyagokat tartalmazó tápoldat alkalmazásával is vizsgáljuk a baktériumok bontási képességét, mert így a kontrollhoz való viszonyításból származó hibát csökkenthetjük. Vizsgálataimból nem állapítható meg egyértelműen, hogy az összes bioműanyag jobban bomlik az oxo-biodegradálható műanyagoknál, ez csak a Mater-Bi mintára mondható. Ezért a jövőben a statisztikai értékelhetőséget lehetővé tevő, több párhuzamos méréssel, termofil körülményeket is modellező kísérletekre van szükség.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A laboratóriumi körülmények között végzett műanyag lebomlási vizsgálatok történhetnek szilárd vagy folyadék közegben. A bomlást általában a mintaanyagok tömegcsökkenésével, vagy a mikroorganizmusok átalakító tevékenysége során keletkező CO₂ mennyiségének mérésével határozzák meg. Az irodalmi kísérletek nagy részéről elmondható, hogy jelentős abiotikus kezelés (UV, hőhatás) után vizsgálják a műanyagok biodegradációját. Ahogy azt dolgozatomban részletezem (2.3.2. fejezet), az öregítés modellezése a hosszú időn keresztül használt termékeknél lenne célszerű, de a lebomlóra tervezett egyszerhasználatos műanyagokat ilyen behatás nem éri a szakszerű hulladékkezelés folyamatában. A fotodegradálhatóságnak az ilyen termékeknél akkor lenne egyedül értelme, ha a hulladékok rendezetlenül kerülnének ki a környezetbe. A rendezett kezelés pedig közös érdekünk, hiszen az illegális hulladéklerakás különböző egészségügyi, talaj- és vízszennyezési kockázatokat rejt magában, nem beszélve az esztétikai problémáról.

Komposztprizmában végzett vizsgálatok száma jelentősen alulmúlja a laboratóriumi kísérletekét, ezért *munkám során fontos szempont volt a műanyagok vizsgálata a valós biológiai hulladékkezelésben*. Kísérleteim végén megállapítható volt, hogy a tiszta polietilén és polipropilén mintákon, valamint a poliolefin alapú, lebomlást elősegítő fémsó adalékanyagokkal előállított fóliákon sem szemmel látható változás, sem tömegcsökkenés nem következett be. Ezzel szemben a megújuló nyersanyag alapú (PLA, keményítő) fóliák és filmek teljesen, vagy nagy részben átalakultak (BASF, Mater-Bi, PLA-fólia). Ezek eredeti formájában nem voltak visszanyerhetők a tömegcsökkenés méréshez.

Munkám során komposztból, illetve talajból származó műanyagminták felületéről izoláltam és 16S rDNS alapon azonosítottam 28 baktériumtörzseket. Az azonosítás során három olyan komposztból származó törzset találtam, melyeket teljes 16S rDNS szekvenciájuk alapján sem lehetett 98%-nál nagyobb egyezéssel beazonosítani: egy *Acinetobacter* nov sp. (RKM-4) és két *Microbacterium* nov sp. (RKM-9; RKM-12). Ezen törzsek leírása és műanyagbontó képességének vizsgálata javasolható. A faj szinten identifikált törzsek közül négyet szakirodalomban műanyagbontási kísérletben használtak, további nyolcra – irodalomban leírt tulajdonságaik miatt – potenciális műanyagbontóként tekintettem.

A baktériumtörzsek izolálásánál alkalmazott módszert a különböző minták feldolgozása során folyamatosan fejlesztettem, hiszen az izolátumok származhattak a műanyagok felületén megtapadó talajkolloidokból is. Végül olyan megoldást javasoltam (ld. 4.2.2. fejezet), amivel már igen nagy valószínűséggel a műanyag felületéhez kötődő

biofilmből származó mikrobák izolálhatók, így azokat nagyobb valószínűséggel lehet a jövőben műanyagbontó képességgel rendelkező törzsként azonosítani.

A laboratóriumban beállított, respirációs aktivitás mérésén alapuló bontási kísérletem alapján elmondható, hogy a potenciálisan műanyagbontó baktériumtörzsekből összeállított (II. számú) konzorcium a vizsgált műanyagokat jobban tudta hasznosítani, mint a szakirodalomban is használt törzsekből összeállított (I. számú) közösség. A Mater-Bi bioműanyagnál mutatkozott a legjelentősebb bomlás, míg a fémsó adalékokkal lebomlóvá tett, 238-as jelű PE mintánál nem volt tapasztalható kontrollhoz viszonyított eltérés. Az egyes műanyagok bomlásának pontos meghatározásához, az anyagfajták között mutatkozó eltérések statisztikai értékeléséhez további kísérletekre van szükség. Ezeket több párhuzamos méréssel kell végezni, hogy az egyes baktériumtörzsek műanyagbontási spektrumáról részletesebb képet kapjunk. A jövőben célszerű a komposztálás során előforduló gombák vizsgálata is, hiszen ezek olyan vegyületek átalakítását is végezhetik, melyre baktériumok nem képesek.

A fémsó adalékokkal lebomlóvá tett PE fóliák gyártását és forgalmazását sürgősen le kellene állítani, hiszen azok a környezetre ártalmasak, ha teljes lebomlásuk nem megy végbe. Ezen kívül újrahasznosítás esetén hatalmas problémát okoznak, mert az adalékolt fóliák és nem adalékolt, újrahasznosítható PE fóliákból készült regranulátum adalékanyagokat fog tartalmazni, így minősége, tartóssága jelentősen leromlik, nehezíti az újrahasznosítással foglalkozó vállalatok működését, jelentős kárt okozhat nekik. Ezek miatt az *adalékanyagokkal lebomlóvá tett műanyagtermékek téves védjegyhasználatát azonnali hatállyal fel kellene függeszteni*, valamint a környezetbarát minősítéshez is használt MSZ EN 13432 szabvány alkalmazhatóságának, illetve megfelelőségének revidiálása is szükséges, mert a szabványban leírt vizsgálatból csak a szétesésre lehet következtetni, a biológiai bomlásra nem.

A ténylegesen lebomló műanyagok elterjedését az egyszerhasználatos termékek gyártása során sürgetni szükséges. Előállításuk nem feltétlen olcsóbb, mint a le nem bomló műanyagoké, ennek ellenére jelentős szerephez juthatnának, pl. a zöldhulladék gyűjtésben és a zsírokkal-olajokkal szennyezett (ezért újra nem hasznosítható) csomagolásoknál.

Ténylegesen lebomló anyagként ajánlhatók a politejsav alapú termékek. Ezek további, környezetbe való kikerülést modellező vizsgálata nélkülözhetetlen, hiszen sajnos a jövőben is számítani lehet bizonyos fokú "szemetelésre". A hulladéklerakókra és biogáz üzemekre jellemző körülmények modellezéséhez anaerob vizsgálatok is szükségesek a jövőben, hiszen ide is kerülhetnek műanyag hulladékok. Az utóbbi üzem körülményei közötti bomlás vizsgálata azért lehet kiemelten fontos, mert energetikai szempontokat figyelembe véve a jövőben a szerves hulladékok biogázosításának növekedése várható a komposztálással

szemben. Érdemes lehet továbbá az elkövetkező vizsgálatokba a polihidrox-i-alkanoátok (PHA), mint más típusú bioműanyagok bevonása is. Amennyiben a különböző bioműanyagok egyforma bomlási tulajdonságokkal rendelkeznek, úgy azt kell szélesebb körben használni, melynek gyártása kevésbé költséges, a környezetet kevésbé terheli, valamint ipari melléktermékekből könnyebben előállítható.

Amennyiben vannak ténylegesen lebomló műanyagjaink, az továbbra is fontos, hogy azokat hulladékká válva megfelelően kezeljük. Ismeretes a tengeri műnyagszigetek esete, ahol különböző tengeri élőlényeg tápcsatornájába juthatnak a műanyagok. MÜLLER et al. (2012) kimutatták, hogy teknősök emésztőnedveiben gyorsabban bomlanak a bioműanyagok, mint abiotikus úton bomló és konvencionális társaik. Ugyanakkor nagyon fontos, hogy ez a bomlás a komposztálás során mutatkozó bomlásnak mindössze 3-9%-a, így ez nem elég gyors ahhoz, hogy megelőzze az állatok pusztulását.

Belátható, hogy csak a megújuló erőforrásból származó lebomló műanyagoknak van létjogosultsága. Ebben az esetben a „food or fuel” elméletnek megfelelően az erőforrások optimalizálása szükséges, előnyben kell részesíteni a fermentálható, magas szénhidrát tartalmú *melléktermékeket* (pl. cukoripari melasz). Ilyen alapanyag esetén is igen fontos a tudatformálás; *csökkenteni kell az egyszer használatos műanyagok felhasználását* („throwaway society”), mivel a Föld megújítható erőforrásai is végesek.

A kőolaj szűkössége és az ebből előállított műanyagok nagyfokú stabilitása miatt a konvencionális műanyagokat egyáltalán nem célszerű lebomlóra tervezni. Az ilyen termékek legyenek fizikailag-kémiaiilag igen ellenállóak, a környezetre inerteek, életútjuk végén pedig gondoskodni kell a megfelelő visszaforgatásukról a rendszerbe. Ez első sorban anyagában történő újrahasznosítást (a hulladékból újra termék készül) jelenti. Ezután az energetikai hasznosítás is szóba jöhet (pirolízis, égetés) megfelelő technológiák alkalmazásával. Ebben az esetben nagyon fontos a megfelelő, tudományos alapokra helyezett kockázatelemzést követő döntés, hiszen fenn áll a veszély, hogy a látszó hulladékot csak láthatatlan légszennyezéssé alakítjuk, mely később egészségügyi problémák formájában jelentkezhet.

A kőolajtól való függőséget csökkenteni kell, így egyre nagyobb szerepe lesz a fogyasztói szokások változásának, a helyettesítő termékek elterjedésének. Ezt részben tudatformálással, részben jogszabályokkal lehet elérni. Ennek megvalósulásához nagyban hozzájárul a gyártói felelősség is, hiszen részben ők alakítják a fogyasztói szokásokat; a folyamatos növekedést alapul vevő gazdaságnak paradigmaváltásra van szüksége. Ehhez a különböző kormányzati szervek hatékony működésére, a jogi környezet ilyen irányú alakítására is szükség van (csomagolás minimalizálása, kötelező visszavétele).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám során különböző műanyagok biológiai lebonthatóságának vizsgálatát tűztem ki célul. A kísérleteket ipari komposztálási valamint laboratóriumi körülmények között végeztem a szakirodalmi adatok áttekintése után az alábbi hipotézisek alapján:

1. Nem minden lebomlónak jelzett műanyag bomlik le biológiai úton.
2. Az oxo-biodegradálható műanyagok biológiailag nehezen, vagy egyáltalán nem bomlanak le.

A komposztálási kísérlet során 18, különböző anyagú és típusú műanyagot vizsgáltam fólia, ill. film formátumban. Bomlásukat tömegcsökkenésük mérésével és vizuális értékeléssel jellemeztem. Hat hét után megállapítható volt, hogy a nagy részben vagy teljes egészében a megújuló nyersanyagból előállított polimerek (BASF, Mater-Bi, PLA-fólia, celofán) erősen töredezetté váltak, jelentős részük átalakult, a mintatartóból csak igen kis darabjaik voltak visszanyerhetők. A poliolefin alapú fóliáknál tömegcsökkenés nem volt kimutatható.

Munkám során komposztból és talajból származó műanyagok felületéről összesen 28 baktériumtörzset sikerült faj szinten, 16S rDNS alapon azonosítani, közülük négyet szakirodalomban is használtak műanyagbontási kísérletben. Nyolc törzset potenciálisan műanyagbontóként vettem számba korábban leírt tulajdonságaik miatt. Az izolátumok között három új faj jelölt is szerepel: két *Microbacterium* nov. sp. és egy *Acinetobacter* nov. sp.

A komposztban bomlást mutató fóliák biológiai hasznosíthatóságát 60 napos, respirációs aktivitás mérésén alapuló laboratóriumi kísérletben vizsgáltam. Ehhez az általam izolált baktérium törzsekből kialakított kétféle konzorciumot használtam. A bioműanyag minták bonthatóságát tiszta és adalékolt PE fóliámintával hasonlítottam össze. A műanyagokat durva szemcséjű por formátumban adtam a folyékony táptalajhoz. A vizsgálat alapján megállapítható, hogy a komposztból származó potenciálisan műanyagbontóként számba vett törzsek nagyobb hatásfokkal végzik az átalakítást, mint az irodalomban műanyagbontási kísérletben használtak. A kísérlet eredménye megerősíti a komposztálás során tapasztaltakat: a PE alapanyagú fóliák csak mikrobiális hatás során nem alakulnak át olyan ütemben, mint bizonyos megújuló nyersanyagból készített polimerek. A laboratóriumi és a komposztálási kísérletekben tapasztalt eredmények alapján a két hipotézis beigazolódott.

Kísérleteim további vizsgálatokat tesznek szükségessé, illetve alapoznak meg, de az már most megállapítható, hogy a különböző adalékkal kevert polietilének a biológiai hulladékkezelés gyakorlatában – ahol UV sugárzás, mint a műanyagokat főként öregítő abiotikus hatás nem jelentkezik – nem állják meg a helyüket.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Első sorban szeretnék konzulenseim közül Dr. Szoboszlai Sándornak és Hartman Mátyásnak köszönetet mondani, amiért felkarolták a témát és lehetőséget biztosítottak a kivitelezésre. Ötleteik és szakmai kapcsolataik jelentősen segítették munkámat.

Igen nagy köszönettel tartozom Háhn Juditnak, aki időt és energiát nem sajnálva segített a laboratóriumi kísérletek kivitelezésében, mindig türelmesen és alaposan elmagyarázva mindent. Molekuláris biológiai gyakorlati ismereteimet neki köszönhetem.

Hálás vagyok továbbá a Környezetvédelmi és Környezetbiztonsági Tanszák minden munkatársának, akik munkámat segítették és maguk közé fogadtak. Külön köszönöm Cserhádi Mátyásnak az oxitop kísérletekben nyújtott segítséget.

Munkámat nagyban segítette az a műanyagokkal kapcsolatos mérnöki ismeret, melyeket Dr. Vargha Viktóriától a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Műanyag és Gumiipari Laboratóriumának nyugdíjas egyetemi tanárától kaptam. Köszönöm továbbá a rendelkezésemre bocsátott fólia formátumú és porított mintákat, a kísérletben részt vevő műanyagok fizikai-kémiai tulajdonságainak vizsgálatát.

Ez utóbbi kapcsolat nem jöhetett volna létre a SZIE Talajtani és Agrokémiai Tanszékén dolgozó Rétháti Gabriella egyetemi tanársegéd közreműködése nélkül. Köszönöm neki ezt, illetve az általuk beállított kísérletből származó mintákat.

Köszönöm a Zöld Híd Régió Kft. környezetvédelmi és műszaki igazgatójának, Köles Krisztiánnak, hogy lehetővé tette telephelyükön a komposztálási kísérletek kivitelezését, és mintát biztosított az általuk használt QualBio zsákokból.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm Dr. Tábi Tamásnak, a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Polimertechnikai Tanszék egyetemi adjunktusának, hogy az általa készített PLA fóliamintákat rendelkezésemre bocsátotta.

Kutató munkámat a Kutató Kari Kiválósági Támogatás – Research Centre of Excellence – 17586-4/2013/TUDPOL és a TÁMOP - 4.2.1. B-11/2/KMR-2011-0003 programok támogatásával végeztem.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- ABRUSCI, C., PABLOS, J. L., CORRALES, T., LOPEZ-MARIN, J., MARIN, I., CATALINA, F. (2011): Biodegradation of photo-degraded mulching films based on polyethylenes and stearates of calcium and iron as pro-oxidant additives. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 65 (3): 451-459.
- ALEKSZA L. (2008): Komposztálható műanyagok a Novamonttól. *Biohulladék*. 3 (2): 12-16.
- BECZNER J., LAJOS J., VÁSÁRHELYINÉ P. K., KARDOS GY.-NÉ, HAIDEKKER B., KERTÉSZ B. (1997): A biológiai úton lebomló csomagolóanyagok előállításai és felhasználási lehetőségének vizsgálata itthon és külföldön. Zöld belépő – EU csatlakozásunk környezeti szempontú vizsgálata. Magyarország az ezredfordulón. MTA Stratégiai Kutatások. Budapest. Budapesti Közgazdaságtudományi Egyetem, Környezetgazdaságtani és Technológiai Tanszék. 56 p.
- BLÜMEL, S., BUSSE, H. J., STOLZ, A., KÄMPFER, P. (2001): *Xenophilus azovorans* gen. nov., sp. nov., a soil bacterium that is able to degrade azo dyes of the Orange II type. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 51 (5): 1831-1837.
- BRIASSOULIS, D., DEJEAN, C. (2010): Critical Review of Norms and Standards for Biodegradable Agricultural Plastics Part I., Biodegradation in soil. *Journal of Polymers and the Environment*, 18 (3): 384-400.
- BRIASSOULIS, D., DEJEAN, C., PICUNO, P. (2010): Critical Review of Norms and Standards for Biodegradable Agricultural Plastics Part II: Composting. *Journal of Polymers and the Environment*, 18 (3): 364-383.
- CÁMARA, B., STRÖMPL, C., VERBARG, S., SPRÖER, C., PIEPER, D. H., TINDALL, B. J. (2007): *Pseudomonas reinekei* sp. nov., *Pseudomonas moorei* sp. nov. and *Pseudomonas mohnii* sp. nov., novel species capable of degrading chlorosalicylates or isopimaric acid. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57 (5) 923-931.
- CHIELLINI, E., CORTI, A., SWIFT, G. (2003): Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes. *Polymer Degradation and Stability*. 81 (2): 341-351.
- COOREVITS, A., DINSDALE, A. E., HEYRMAN, J., SCHUMANN, P., VAN LANDSCHOOT, A., LOGAN, N. A., DE VOS, P. (2012): *Lysinibacillus macroides* sp. nov., nom. rev. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62 (5): 1121-1127.
- DAVIS, G. (2003): Characterization and characteristics of degradable polymer sacks. *Material Characterization*. 51 (2-3): 147-157.
- DAVIS, G., READ, A., BULSON, H., HARRISON, D., BILLETT, E. (2004): Open windrow composting of polymers: an investigation into the rate of degradation of polyethylene. *Resources, Conservation and Recycling*. 40 (4): 343-357.
- FONTANELLA, S., BONHOMME, S., KOUTNY, M., HUSAROVA, L., BRUSSON, J-M., COURDAVAULT, J-P., PITTERI, S., SAMUEL, G., PICHON, G., LEMAIRE, J., DELORT, A-M. (2010): Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives. *Polymer Degradation and Stability*. 95 (6): 1011-1021.
- FONTANELLA, S., BONHOMME, S., BRUSSON, J-M., PITTERI, S., SAMUEL, G., PICHON, G., LACOSTE, J., FROMAGEOT, D., LEMAIRE, J., DELORT, A-M. (2013): Comparison of biodegradability of various polypropylene films containing pro-oxidant additives based on Mn, Mn/Fe or Co. *Polymer Degradation and Stability*. 98 (4): 875-884.
- GILAN, I., HADAR, Y., SIVAN, A. (2004): Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 65 (1): 97-104.
- GRIMA, S., BELLON-MAUREL, V., FEUILLOLEY, P., SILVESTRE, F. (2000): Aerobic Biodegradation of Polymers in Solid-State Conditions: A Review of Environmental and Physicochemical Parameter Settings in Laboratory Simulations. *Journal of Polymers and the Environment* 8 (4): 183-195.
- HADAD, D., GERESH, S., SIVAN, A. (2005): Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *Journal of Applied Microbiology*. 98 (5): 1093-1100.
- HAKKARAINEN, M., KARLSSON, S., ALBERTSSON, A.-C. (2010): Rapid (bio)degradation of polylactide by mixed culture of compost microorganism – low molecular weight products and matrix changes. *Polymer*. 41 (7): 2331-2338.

- HOFMAN, J., HOVORKOVÁ, I., MACHÁT, J. (2009): Comparison and Characterization of OECD Artificial Soils. In: RÖMBKE, J., MOSER, H. (ed.) (2009): Ecotoxicological Characterization of Waste. Springer. New York. 308 p., 223-229. p.
- ISHIGAKI, T., SUGANO, W., NAKANISHI, A., TATEDA, M., IKE, M., FUJITA, M. (2004): The degradability of biodegradable plastics in aerobic and anaerobic waste landfill model reactors. *Chemosphere*. 54 (3): 225-233.
- JAKUBOWICZ, I. (2003): Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE). *Polymer Degradation and Stability*. 80 (1): 39-43.
- JEON, H. J., KIM, M. N. (2013): Isolation of a thermophilic bacterium capable of low-molecular-weight polyethylene degradation. *Biodegradation*. 24 (1): 89-98.
- KALE, G., AURAS, R., SINGH, S.P. (2006): Degradation of Commercial Biodegradable Packages under Real Composting and Ambient Exposure Conditions. *Journal of Polymers and the Environment*. 14 (3): 317-334.
- KLAUSS, M. (2004): Degradation of Biologically Degradable Packaging Items in Home or Backyard Composting Systems With a Special Focus on the Pilot Scale Field Test for Compostable Packing in Kassel, Germany. Doctoral thesis. Universität Weimar Faculty of Civil Engineering. Weimar. 145 p.
- KOCSIS K. (2010): Környezetben lebomló műanyagok – A bomlás körülményei és a szerkezet változásának összefüggése. Szakdolgozat. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék. Budapest. 43 p.
- KOLSTAD, J.J., VINK, E. T. H., WILDE, B. D. DEBEER, L. (2010): Assessment of anaerobic degradation of Ingeo™ polylactides under accelerated landfill conditions. *Polymer Degradation and Stability*. 97 (7): 1131-1141.
- KOUTNY, M., SANCELME, M., DABIN, C., PICHON, N., DELORT, A-M., LEMAIRE, J. (2006): Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives. *Polymer Degradation and Stability*. 91 (7): 1495-1503.
- KRZAN, A., HEMJINDA, S., MIERTUS, S., CORTI, A., CHIELLINI, E. (2006): Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics. *Polymer Degradation and Stability*. 91 (12): 2819-2833.
- KYRIKOU, I., BRIASSOULIS, D. (2007): Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A Critical Review. *Journal of Polymers and the Environment*. 15 (2): 125-150.
- LEE, C. S., JUNG, Y. T., PARK, S., OH, T. K., YOON, J. H. (2010): Lysinibacillus xylanilyticus sp. nov., a xylan-degrading bacterium isolated from forest humus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60 (2): 281-286.
- LITHNER, D., LARSSON, A., DAVE, G. (2011): Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. *Science of the Total Environment*. 409 (18): 3309-3324.
- LOGAN, N. A., CLERCK, E. D., LEBBE, L., VERHELST, A., GORIS, J., FORSYTH, G., RODRÍGUEZ-DÍAZ, M., HEYNDRIKX, M., DE VOS P. (2004): Paenibacillus cineris sp. nov. and Paenibacillus cookii sp. nov., from Antarctic volcanic soils and a gelatin-processing plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54 (4): 1071-1076.
- LÖRCKS, J. (1998). Properties and applications of compostable starch-based materials. *Polymer Degradation and Stability*. 59 (1-3): 245-249.
- LUCAS, N., BIENAIME, C., BELLOY, C., QUENEUEDEC, M., SILVESTRE, F., NAVA-SAUCESO, J.-E. (2008): Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere*. 73 (4): 429-442.
- MAIER, R. M. (2009): Microorganisms and Organic Pollutants. 387-419. p. In: MAIER, R. M., PEPPER, I., GERBA, C. P. Environmental Microbiology (Second Edition). London. Elsevier Inc. 624 p.
- MÜLLER, C., TOWNSEND, K., MATSCHULLAT, J. (2012): Experimental degradation of polymer shopping bags (standard and degradable plastic, and biodegradable) in the gastrointestinal fluids of sea turtles. *Science of the Total Environment*. 416 (1): 464-467.
- NOWAK, B., PAJAK, J., DROZD-BRATKOWICZ, M., RYMARZ, G. (2011): Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 65 (6): 757-757.
- NIGAM, A., JIT, S., LAL, R. (2010): Sphingomonas histidinilytica sp. nov., isolated from a hexachlorocyclohexane dump site. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60 (5): 1038-1043.

- OJEDA, T. F. M., DALMOLIN, E., FORTE, M. M. C., JACQUES, R. J. S., BENTO, F. M., CAMARGO F. A. O. (2009): Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable polyethylenes. *Polymer Degradation and Stability*. 94 (6): 965-970.
- ORHAN, Y., HRENOVIC, J., BÜYÜKGÜNGÖR, H. (2004): Biodegradation of plastic compost bags under controlled soil conditions. *Acta Chimica Slovenica*. 51 (3): 579-588.
- SANDRIN, T. R., DOWD, S. E., HERMAN, D. C., MAIER, R. M. (2009): Aquatic Environments. 103-120. p. In: MAIER, R. M., PEPPER, I., GERBA, C. P. *Environmental Microbiology* (Second Edition). London. Elsevier Inc. 624 p.
- SCOTT, G. (2000): Green Polymers. *Polymer Degradation and Stability*. 68 (1): 1-7.
- SHAH, A. A., HASAN, F., HAMEED, A., AHMED, S. (2008): Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*. 6 (3): 246-265.
- SHIMAO, M. (2001): Biodegradation of plastics. *Current Opinion in Biotechnology*. 12 (3): 242-247.
- SIVAN, A. (2011): New perspectives in plastic biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology*. 22 (3): 422-426.
- SIVAN, A., SZANTO, M., PAVLOV, V. (2006): Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 72 (2): 346-352.
- SPIRIDON, I., POPESCU, M. C., BODARLAU, R., VASILE, C. (2008): Enzymatic degradation of some nanocomposites of poly(vinyl alcohol) with starch. *Polymer Degradation and Stability*. 93 (10): 1884-1890.
- SZÁRAZ L. (2003): Módszerfejlesztés biodegradálhatónak jelölt csomagolóanyagok biológiai bonthatóságának vizsgálatára. Doktori értekezés. Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem. Budapest. 115 p.
- TÁBI T., NÉMETH Á., SELMECZY A., SZALAY F. (2010): Keményítővel és cellulózzal töltött politejsavból előállított fröccsöntött lebomló polimer termékek laboratóriumi lebontásának és komposztálásának vizsgálata. *Biohulladék*. 5 (2-3): 30-34.
- UNMAR, G., MOHEE, R. (2008): Assessing the effect of biodegradable and degradable plastics on the composting of green wastes and compost quality. *Bioresource Technology*. 99 (15): 6738-6744.
- YANG, H-S., YOON, J-S., KIM, M-N. (2005): Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimens *Polymer Degradation and Stability*. 87 (1): 131-135.
- YOON, J-H., KANG, S-J., OH, T-K. (2007): *Chryseobacterium daeguense* sp. nov., isolated from wastewater of a textile dye works. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57 (6): 1355-1359.
- YOON, J-H., KANG, S-J., IM, W-T., LEE, S-T., OH, T-K. (2008): *Chelatococcus daeguensis* sp. nov., isolated from wastewater of a textile dye works, and emended description of the genus *Chelatococcus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 58 (9): 2224-2228.
- WITT, U., EINIG, T., YAMAMOTO, M., KLEEGERG, I., DECKWER, W.-D., MÜLLER, R.-J. (2001): Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyesters: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. *Chemosphere*. 44 (2): 289-299.
- ZHANG, D. C., LIU, H. C., XIN, Y. H., ZHOU, Y. G., SCHINNER, F., MARGESIN, R. (2010): *Sphingopyxis bauzanensis* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60 (11): 2618-2622.

Internetes források (letöltés dátuma):

- HTTP 1 – http://www.plasticseurope.org/documents/document/20121120170458-final_plasticsthefacts_nov2012_en_web_resolution.pdf (2013.10.12.)
- HTTP 2 – <http://www.plasticseurope.org/Document/plastic-packaging-born-to-protect.aspx?Page=DOCUMENT&FolID=2> (2013.10.12.)
- HTTP 3 – http://en.wikipedia.org/wiki/Marine_debris (2013.10.12.)
- HTTP 4 – http://en.wikipedia.org/wiki/Great_Pacific_garbage_patch (2013.10.12.)
- HTTP 5 – http://diak.hulladekboltermek.hu/hirek/1134/753737/20110825_szemet_sziget_fesztival_1.htm (2013.10.12.)

- HTTP 6 – http://www.bioplastics.basf.com/pdf/Ecoflex-Ecovio_Brochure_2008.pdf (2013.10.12.)
- HTTP 7 – <http://www.novamont.com/default.asp?id=510> (2013.10.12.)
- HTTP 8 – <http://www.qualchemrt.hu/Letoltes/qualbio-kompaund-lebomlas-vizsgalata.pdf> (2013.10.12.)
- HTTP 9 – https://www.google.hu/url?sa=t&ret=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CDYQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.kornyezetbarat-termek.hu%2FvmvCMS%2FGetFile.php%3Ftk%3DDocuments_file%26id%3D59&ei=GU1ZUquMJeGdtQaV4YCGBw&usg=AFQjCNE42qIKTVbzbBklIKRqIKRNbMnkTw&bvm=bv.53899372.d.Yms (2013.10.12.)
- HTTP 10 – https://www.google.hu/url?sa=t&ret=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CC0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.kornyezetbarat-termek.hu%2FvmvCMS%2FGetFile.php%3Ftk%3DDocuments_file%26id%3D58&ei=r0xZUoTKImQtAadioDoBg&usg=AFQjCNH2mItxe-r5ZHVFGIROtng4b_scwQ&bvm=bv.53899372.d.Yms (2013.10.12.)
- HTTP 11 – http://www.kornyezetbarat-termek.hu/vmvCMS/GetFile.php?tk=Documents_file&id=78 (2013.10.12.)
- HTTP 12 – http://www.kornyezetbarat-termek.hu/vmvCMS/GetFile.php?tk=Documents_file&id=79 (2013.10.12.)
- HTTP 13 – http://www.kornyezetbarat-termek.hu/vmvCMS/GetFile.php?tk=Documents_file&id=80 (2013.10.12.)
- HTTP 14 – http://www.kornyezetbarat-termek.hu/vmvCMS/GetFile.php?tk=Documents_file&id=106 (2013.10.12.)
- HTTP 15 – http://www.gore.com/en_xx/products/fabrics/swt/gore_cover_complete_system.html (2013.10.12.)
- HTTP 16 – http://www.plasticsportal.net/wa/plasticsEU~de_DE/function/conversions:/publish/common/upload/biodegradable_plastics/Ecovio_F_Film_C2203.pdf (2013.07.18.)
- HTTP 17 – <http://www.novamont.com/detail.asp?c=18&p=0&id=382> (2013.07.18.)
- HTTP 18 – <http://www.tvk.hu/hu/termekek/tvk-hdpe/> (2013.07.18.)
- HTTP 19 – http://www.tvk.hu/hu/termekek/pp_polypropylene/ (2013.07.18.)
- HTTP 20 – <http://www.qualchemrt.hu/Letoltes/Adatlapok/alap-adatlap/Qualchem%20products/Qualbio-FS-folia.pdf> (2013.10.12.)
- HTTP 21 – www.megasoftware.net (2013.10.12.)
- HTTP 22 – www.ezbiocloud.net (2013.10.12.)

Felhasznált szabványok:

Magyar Szabványügyi Testület (2002): Csomagolás. Komposztálással és biológiai lebomlással hasznosítható csomagolás követelményei. Vizsgálati program és a csomagolás végleges elfogadásának feltételei. MSZ 13432.

Magyar Szabványügyi Testület (2002): Packaging – Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability of packaging materials under controlled composting conditions – Method by analysis of released carbon dioxide. MSZ 14046.

Felhasznált jogszabályok:

29/1997. (VIII. 29.) KTM rendelet a környezetbarát, környezetkímélő megkülönböztető jelzés használatának feltételrendszeréről.

NYILATKOZAT

Alulírott Bordós Gábor, a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Környezetgazdálkodási agrármérnök MSc szak nappali tagozatos hallgatója nyilatkozom, hogy a Tudományos Diákköri dolgozat saját munkám, melynek elkészítése során a felhasznált irodalmat korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezeltem.

Gödöllő, 2013. október 26.

.....
hallgató aláírása

A Tudományos Diákköri dolgozat készítőjének konzulense nyilatkozom arról, hogy a dolgozatot áttekintettem és azt Tudományos Diákköri Konferencián történő részvételre javaslom.

Gödöllő, 2013. október 26.

.....
konzulens aláírása