

**Produkty biodegradacji kauczuków naturalnych
i butadienowo-styrenowych z wykorzystaniem szczepu
Lactiplantibacillus plantarum i ich wykorzystanie w przemyśle
spożywcym**

mgr inż. Marta Pietras

Promotor: dr hab. inż. Tomasz P. Olejnik, prof. uczelni

Streszczenie

Globalnym problemem ochrony środowiska jest składowanie i utylizacja odpadów przemysłu motoryzacyjnego, które zawierają elementy gumowe, w tym opony. Składowanie odpadów gumowych wymaga dużych powierzchni a ich naturalny rozkład trwa kilkadziesiąt lat (Duda, 2016). Wśród wielu metod utylizacji części gumowych, rozwiązania biologiczne są najbardziej przyjazne dla środowiska mimo, że wymagają długiego czasu.

Pilna potrzeba rozwiązania zwiększającej się ilości odpadów gumowych stała się powodem do przeanalizowania i opisanie metody biologicznej, która będzie skutecznie utylizować kauczuki naturalne i butadienowo – styrenowe. Są to podstawowe składniki budowy wyrobów gumowych. Metoda wykorzystuje powszechnie występujące bakterie *Lactiplantibacillus plantarum*. Mając na uwadze przedstawiony problem środowiskowy, sformułowano kilka celów badawczych. Po pierwsze sprawdzono w warunkach laboratoryjnych zdolność bakterii do aktywności na podłożu, którego składnikiem są kauczuki naturalne i butadienowo – styrenowe. Ponadto ustalono najbardziej optymalne warunki przebiegu procesu biodegradacji ww. odpadów. Celem rozprawy było również wykorzystanie w innowacyjny sposób, w przemyśle spożywczym, celulozy bakteryjnej, powstającej w trakcie procesu utylizacji odpadu gumowego.

Pracę eksperymentalną rozpoczęto od przeprowadzenia hodowli kilku typów mikroorganizmów. Część pobranych szczepów należało do kolekcji czystych kultur Politechniki Łódzkiej (ŁOCK) i posiadało nadany numer kolekcyjny. Jeden ze szczepów do badań nie posiadał nadanych numerów. Szczepy zostały wybrane ze względu na ich zdolności do wytwarzania biomasy oraz możliwość wzrostu na podłożu, zawierającym różne źródła węgla.

W początkowym etapie badań aktywowano wybrane szczepy i sprawdzono ich zdolności do wzrostu na podłożach zawierających kauczuki. Wstępne analizy wykazały, że niesklasyfikowany szczep powoduje rozkład kauczuków. W przypadku pozostałych szczepów, wykazywały one problemy ze wzrostem na standardowych podłożach, ponadto nie były zdolne do wzrostu na podłożu z dodatkiem kauczuku jako źródła węgla.

Dalsze badania kontynuowano stosując szczep *Lactiplantibacillus plantarum* i różne mieszanki kauczuków naturalnych, kauczuków butadienowo-styrenowych oraz mieszanek EPDM (etyleno-propyleno-dienowego monomeru) jako podstawowe źródło węgla. Hodowle były prowadzone w różnych warunkach pH i temperatury. Po ich zakończeniu przeprowadzano

bilans masowy oraz analizę składu pierwiastkowego przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego.

Wykonano też badania właściwości otrzymywanej w trakcie hodowli celulozy bakteryjnej i przygotowano z niej różnego typu kompozyty warstwowe, w celu ich wykorzystania w przemyśle spożywczym.

Udowodniono, że szczep bakterii *Lactiplantibacillus plantarum* jest zdolny do wzrostu na podłożu, w którym podstawowe źródło węgla dla bakterii stanowią odpady gumowe. Wykazano też, że szczep ten posiada właściwości celulolityczne, o czym nie było mowy w literaturze. Udowodniono, że wyżej wymienione bakterie są w stanie rosnąć w podłożu płynnym, pozbawionym glukozy, z dodatkiem różnego rodzaju mieszanek gumowych i metabolizować z nich węgiel, prowadząc do ubytku masowego odpadu gumowego a tym samym do częściowej biodegradacji użytego odpadu. Powodzenie eksperymentów oraz ubytki masowe, po 10 dniach hodowli, wynoszące 1-5% (po jednym cyklu hodowli) zaobserwowano dla siarkowego wulkanizatu kauczuku naturalnego (NR), mieszanki kauczuku naturalnego z dodatkiem sadzy (NR+CB), siarkowego wulkanizatu kauczuku naturalnego z siarkowym zespołem sieciującym (NR + zespół sieciujący), mieszanki kauczuku naturalnego z dodatkiem sadzy i zespołu sieciującego (NR +CB+ zespół) , kauczuku butadienowo – styrenowego z dodatkiem sadzy (SBR +CB), wulkanizatu kauczuku butadienowo-styrenowego (SBR), siarkowego wulkanizatu kauczuku butadienowo-styrenowego (SBR+ zespół), siarkowego wulkanizatu kauczuku etylenowo-propylenowo-dienowego napełnionego sadzą (EPDM + CB) oraz granulatu gumowego pochodzącego z opon i zużytych taśm transmisyjnych.

W przypadku pozostałych mieszanek użytych w badaniach można przypuszczać, że zawierały one składniki szkodliwe dla bakterii lub też, ze względu na skomplikowaną budowę, bakterie nie były w stanie metabolizować z nich węgla.

W próbach, w których zaobserwowano aktywność bakterii i ubytki masowe, zawartość węgla w momencie rozpoczęcia hodowli wynosiła od 65,12% do 98,06%. Po przeprowadzeniu hodowli zawartość ta wahała się od 51,17% do 78,03% co oznacza, że bakterie pozyskały węgiel z odpadu gumowego. O aktywności bakterii w trakcie trwania procesu hodowli, oprócz ubytku węgla, świadczy wzrost celulozy bakteryjnej na powierzchni bioreaktorów oraz obecność innych pierwiastków w analizie mikroskopowej. W próbach sprzed hodowli obecny był węgiel i tlen (w niektórych pomiarach odnotowano także śladowe ilości cynku i azotu). W głębszych warstwach analizowanej gumy znaleziono też śladowe ilości siarki oraz renu. Szczegółowe rezultaty i analizę statystyczną ubytków węgla przedstawiono w rozdziale 9.

Analizując powyższe rezultaty można postawić tezę, że procentowy ubytek węgla z badanej próbki gumy jest wprost proporcjonalny do wysokości i masy celulozy bakteryjnej powstającej na powierzchni bioreaktora, a tym samym do aktywności bakterii. Innymi słowy, stopień biodegradacji gumy użytej do procesu hodowli szczepu *Lactiplantibacillus plantarum* jest wprost proporcjonalny do aktywności bakterii.

Celuloza bakteryjna, powstająca w trakcie hodowli i bioutylizacji odpadu gumowego może być wykorzystywana w przemyśle papierniczym oraz przemyśle spożywczym. W warunkach typowego procesu papierotwórczego, sama celuloza bakteryjna nie może być wykorzystywana do produkcji papieru, ze względu na wysoką retencję wody i niezadowalające właściwości fizyko-chemiczne i wytrzymałościowe. Najlepsze właściwości wytrzymałościowe papieru uzyskuje się w przypadku zastosowania celulozy bakteryjnej jako warstwy naniesionej (powleczonej) na warstwę papieru z celulozy roślinnej. Po naniesieniu celulozy bakteryjnej na arkusiki papieru wykonanego z mielonej lub niemielonej masy iglastej, liściastej lub ich mieszaniny równowagowej, kompozyt papierowy stał się całkowicie nieprzepuszczalny dla powietrza, co oznacza, że papier kompozytowy może być wykorzystany do produkcji materiałów opakowaniowych o właściwościach barierowych.

Wyniki będące przedmiotem niniejszej pracy, a także zagadnienia wykraczające poza jej zakres, zostały przedstawione w poniżej wymienionych publikacjach, komunikatach, patentach i nagrodach, które realizowałam pod panińskim nazwiskiem – Kaźmierczak.

1. Kaźmierczak M., Olejnik T.P., Kmiotek M. - Natural paper-layered composites with barrier properties against air. *Bioresources* 15 (4), 9569-9574, 2020. (IF 1,369; 100 pkt. MNiSW).
2. Kaźmierczak M., Olejnik T.P., Sielski J., Śliżewska K. - The process of natural and styrene-butadiene rubbers biodegradation with the help of a specific bacterial strain. *Environmental Chemical Engineering*, w trakcie recenzji. (100 pkt. MNiSW)
3. Kaźmierczak M., Weronika Niwald- Jaźwińska, Tomasz P. Olejnik - Hodowla celulozy bakteryjnej przez szczep *Gluconacetobacter xylinus* jako sposób na utylizację odpadów. Konferencja interdyscyplinarna "Wiedza kluczem do Sukcesu", 20.01.2018, Łódź, książka abstraktów str. 17, ISBN: 978-83-949065-7-3. Prezentacja ustna.

4. Kaźmierczak M. Hodowla celulozy bakteryjne jako potencjalny sposób na utylizację odpadów. II ogólnopolska Konferencja „Badania Naukowe w Teorii i Praktyce”, 22.03.2018, Kielce. Prezentacja ustna.
5. Kaźmierczak M. Olejnik T.P. Biodegradation process of natural and styrene – butadiene rubbers. National Scientific Conference ‘ Knowledge – Key to Success 2019, 3rd edition’, 19.01.2019 r, Toruń. Prezentacja ustna.
6. Kaźmierczak M., Olejnik T.P. – Proces biodegradacji kauczuków naturalnych i butadienowo – styrenowych przy udziale bakterii mlekowych. V Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu Bioopen, 30-31.05.2019, Łódź, prezentacja ustna.
7. Kaźmierczak M. – Proces biodegradacji różnego typu odpadów gumowych przy udziale bakterii mlekowych. V Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauki o Zdrowiu w Teorii i Praktyce”, 5 czerwca 2019, Kielce, prezentacja ustna.
8. Kaźmierczak M., Olejnik T.P. - Biodegradation process of natural and styrene – butadiene rubbers with the help of *Lactobacillus plantarum*. National Scientific Conference ‘ Science and Young Researchers, 3rd edition’, 15.06.2019r, Łódź. Prezentacja ustna.
9. Olejnik T., Kaźmierczak M., Bieliński D., Okraska M., Pat. 236113, Sposób wytwarzania celulozy bakteryjnej, 2020.
10. Olejnik T., Kmiotek M., Śliżewska K., Sobiecka E., Kaźmierczak M., Pat. 237035, Warstwowy kompozyt celulozowo-papierniczy oraz sposób wytwarzania kompozytu, 2020.
11. Olejnik T., Śliżewska K., Sobiecka E., Kaźmierczak M., Pat.238266, Szczep bakterii mlekowych *Lactobacillus plantarum* ŁOCK 1145 oraz sposób wytwarzania celulozy bakteryjnej na drodze hodowli szczepu *Lactobacillus plantarum* ŁOCK 1145, 2021.
12. Nagroda za najlepszą prezentację ustną w panelu Natural Sciences na National Scientific Conference ‘ Knowledge – Key to Success 2019, 3rd edition’, 19.01.2019 r, Toruń