



BUDAPESTI KÖZGAZDASÁGTUDOMÁNYI
ÉS ÁLLAMIGAZGATÁSI EGYETEM

MÓDSZERFEJLESZTÉS BIODEGRADÁLHATÓNAK
JELÖLT CSOMAGOLÓANYAGOK
BIOLÓGIAI BONTATHATÓSÁGÁNAK VIZSGÁLATÁRA

SZÁRAZ LEONÓRA
doktori értekezése

Készült a Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet
Mikrobiológiai Osztályán

Budapest, 2003

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Fekete András
egyetemi tanár, az MTA doktora
Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem -
Élelmiszertudományi Kar,
Fizika-Automatika Tanszék

Témavezető: Dr. Beczner Judit
tudományos főmunkatárs
Központi Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet
Mikrobiológiai Osztály

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	3
RÖVIDÍTÉSEK	6
1. BEVEZETÉS	7
1.1. Áttekintés	7
1.2. Célkitűzések	8
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
2.1. A csomagolási hulladék kezelésének jelene és jövője	9
2.1.1. Európai Unió helyzetkép	9
2.1.2. A magyar jogi szabályozás áttekintése.....	9
2.1.3. A csomagolóanyagokból eredő hulladékok mennyisége és minősége hazai viszonylatban – a hulladékkezelés itthoni gyakorlata	11
2.1.4. Csomagolásfejlesztés, újrahasznosítás és környezetvédelem	13
2.1.5. „Új” hasznosítási lehetőség: a szerves visszaforgatás.....	14
2.2. A természet és az ember újrahasznosító tevékenysége	15
2.2.1. A biodegradáció előfordulása.....	15
2.2.2. A biodegradáció mechanizmusa.....	16
2.3. Természetes és szintetikus alapú műanyag csomagolóanyagok fejlesztése.....	18
2.3.1. Előzmények.....	18
2.3.2. A biodegradálható csomagolóanyagok első nemzedéke	20
2.3.3. A valódi biodegradálható csomagolóanyagok fejlesztése.....	22
2.3.4. A szintetikus alapú műanyagok „biodegradációja”	23
2.4. A biológiai lebonthatóság vizsgálati módszerei.....	24
2.4.1. A biológiai lebomlást vizsgáló, ún. „korai” tesztek és definíciók	24
2.4.1.1. A szabványosítás és a fogalmak kialakításának folyamata	24
2.4.1.2. Korai tesztek.....	24
2.4.1.3. A korai tesztek jelenlegi alkalmazásai	27
2.4.1.4. A szabványos tesztek létrehozása	28
2.4.2. Folyadék közegű szabványos tesztek.....	29
2.4.2.1. Statikus tesztek.....	30
2.4.2.2. Dinamikus tesztek	31
2.4.2.3. Kísérleti körülmények	33
2.4.2.3.1. Mintaedények mérete	33
2.4.2.3.2. A vizsgálati anyag mennyisége, formája.....	33
2.4.2.3.3. Az inokulum eredete, előkészítése, adaptációs folyamata	33
2.4.2.3.4. Egyéb változók szerepe (hőmérséklet, pH, levegőztetés, kevertetés intenzitása)	35
2.4.2.4. A statikus és a dinamikus folyadék közegű tesztek összehasonlítása.....	36
2.4.3. Szilárd közegű szabványos tesztek	37
2.4.3.1. Általános bemutatás	37
2.4.3.2. Kísérleti körülmények	37
2.4.3.2.1. A vizsgálati közeg	37

2.4.3.2.2. Mintaedények mérete, a vizsgálati minta mennyisége, formája	39
2.4.3.2.3. Hőmérséklet	39
2.4.3.2.4. Levegőztetés.....	40
2.5. Nem szabványos, szilárd közegű laboratóriumi tesztek	40
2.5.1. Szilárd közegű „screening” (felmérő) tesztek.....	41
2.5.2. Kísérlet a szabályozott összetételű vizsgálati közeg létrehozásához	41
2.5.3. Léptéknövelt laboratóriumi tesztek.....	42
2.5.4. Szervetlen közegek a biológiai lebomlás vizsgálatának szolgálatában	43
2.6. A talajok biológiai aktivitásának mérési módszerei	44
2.7. Biodegradációs tesztek kiértékelése.....	45
2.7.1. Degradációs görbe, degradációs fok	45
2.7.2. Érvényességi kritériumok	46
2.7.3. Általános mérési összeállítás és a referenciaanyagok szerepe.....	47
2.7.4. A mérési eredmények értékelése.....	48
2.7.5. Szénmérleg készítése folyadék közegben	48
2.8. A folyadék ill. szilárd közegű tesztek összehasonlítása.....	50
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	53
3.1. Vizsgálati anyagok.....	53
3.1.1. A minták bemutatása.....	53
3.1.2. A minták előkészítése az egyes vizsgálatokhoz.....	54
3.1.3. Az anyag-elővizsgálati módszerek általános bemutatása	54
3.2. Vizsgálati közegek	54
3.2.1. Vizsgálati közegek eredete és előkészítése	54
3.2.2. A vizsgálati közegek minősítése	55
3.2.2.1. A szárazanyag-tartalom meghatározása.....	55
3.2.2.2. Az izzítási veszteség meghatározása.....	55
3.2.2.3. A közeg kémhatásának meghatározása DIN 54900 alapján	56
3.3. Vizsgálati módszerek és a mérőrendszerek bemutatása	56
3.3.1. Intenzív levegőztetésű, szilárd közegű mérőrendszer.....	56
3.3.1.1. A CO ₂ titrálással történő meghatározása	56
3.3.2. BSB digi CO ₂	58
3.3.2.1. A készülék felépítése	58
3.3.2.2. A készülék működési elve.....	59
3.3.2.3. A „BSB digi CO ₂ ” működtetéséhez gyári kézikönyvben előírt oldatok.....	60
3.3.3. Kiegészítő vizsgálatok	61
3.3.3.1. A közeg összes élő csíraszámának meghatározása	61
3.3.3.2. A közeg keményítóbontó mikrobaszámának meghatározása	61
3.4. Statisztikai módszerek.....	62
4. Eredmények	63
4.1. A mintákat jellemző elővizsgálati eredmények	63
4.2. Saját fejlesztésű, intenzív levegőztetésű mérőrendszer szilárd közegű vizsgálatokhoz	64
4.2.1. A mérőrendszer felépítése.....	65

4.2.2. A mérőrendszer működési paramétereinek optimalálása pozitív referenciaanyaggal	67
4.2.2.1. A megfelelő komposzt / pozitív referenciaanyag arány kiválasztása, valamint a mérőrendszer optimális működési hőmérsékletének a meghatározása	68
4.2.2.2. A levegőztetés intenzitásának megválasztása	71
4.2.2.3. A CO ₂ csapdák működésének optimalálása	72
4.2.3. Film formájú referenciaanyag keresése és alkalmazása.....	73
4.2.4. Bevonatos papírok biodegradációjának vizsgálata	77
4.2.5. A saját fejlesztésű mérőrendszer eredményeinek összefoglalása	78
4.3. A „BSB digi CO ₂ ” respirométer átalakítása a biológiai lebonthatóság méréséhez.....	80
4.3.1. A gyári készülék átalakításának folyamata – felmerülő alkalmazási igények és gyakorlati megvalósítás.....	80
4.3.2. A rendszer kalibrálása az új alkalmazásnak megfelelően	81
4.3.3. Az átalakított „BSB digi CO ₂ ” mérőrendszer optimalálása por kiszerelésű referenciaanyag (mikrokristályos cellulóz) segítségével	83
4.3.4. Valódi minták mérése az átalakított mérőrendszer segítségével.....	85
4.3.4.1. Keményítőalapú fóliák biodegradációjának vizsgálata.....	85
4.3.4.2. Felületkezelt ill. kezeletlen papírok biodegradációjának vizsgálata	86
4.3.4.3. A respirométerrel végrehajtott mérések közben tett megfigyelések összegzése... ..	87
4.3.5. A „BSB digi CO ₂ ” respirométerrel kapott eredmények összefoglalása.....	88
4.4. Beágyazásos vizsgálatok komposztban.....	89
4.4.1. Gyakorlati kivitelezés I.	90
4.4.1.1. Szárazanyag-tartalom csökkenése komposztban	91
4.4.1.2. A szabad szemmel ill. mikroszkóppal végzett megfigyelések értékelése	93
4.4.2. Gyakorlati kivitelezés II. – Keményítóbontó mikrobák számának nyomon követése.....	93
4.4.3. A beágyazásos vizsgálatok eredményeinek összefoglalása	94
4.5. Az elvégzett módszerfejlesztés gyakorlati hasznosíthatósága és a továbbfejlesztés lehetőségei.....	95
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	97
ÖSSZEFOGLALÁS.....	98
SUMMARY	99
1. MELLÉKLET (IRODALOMJEGYZÉK).....	100
2. MELLÉKLET (HATÁRÉRTÉKEK).....	108
3. MELLÉKLET (BIODEGRADÁLHATÓ CSOMAGOLÓANYAGOK)	109
4. MELLÉKLET (DEFINÍCIÓK).....	110
5. MELLÉKLET (FOLYADÉK KÖZEGŰ TESZTEK)	111
6. MELLÉKLET (SZILÁRD KÖZEGŰ TESZTEK).....	112
7. MELLÉKLET (KÖRELEMZÉSEK).....	113
8. MELLÉKLET (BEÁGYAZÁSOS VIZSGÁLATOK)	114
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	115

RÖVIDÍTÉSEK

<u>Rövidítés</u>	<u>Eredeti (brit) angol összetétel</u>	<u>Magyar megfelelő</u>
ASTM	American Society for Testing and Materials	
ATCC	American Type Culture Collection	
ATR	Attenuated Total Reflection	csillapított teljes visszaverődés
BDP	Biodegradable Packaging	biológiailag lebontható csomagolóanyagok
BOD	Biological Oxygen Demand	biológiai oxigénigény
CEN	Comité Européen de Normalisation	
CFU	Colony Forming Unit	telepképző egység
CMI	Cambridge - Massachusetts Institute of Technology	
(D)IC	(Dissolved) Inorganic Carbon	(oldott) szerveszén(tartalom)
DIN	Deutsches Institut für Normung	
DOC	Dissolved Organic Carbon	oldott szerves szén(tartalom)
DSC	Differential Scanning Calorimetry	
Dt(%)	Degree of Biodegradation	degradációs fok
EC	European Community	Európai Közösség
EU	European Union	Európai Unió
FID	Flame Ionisation Detector	lángionizációs detektor
FT	Fourier Transformation	Fourier-transzformáció
GC	Gas Chromatography	gázkromatográfia
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia
IR(S)	Infra-Red (Spectroscopy)	infravörös spektroszkópia
ISO	International Standardisation Organisation	Nemzetközi Szabványügyi Testület
LRM	Laboratory Reference Material	laboratóriumi referenciaanyag (minta)
MS	Mass Spectrometry	tömegspektrometria
NCTC	National Conservation Training Center	
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	mágneses magrezonancia
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	
PCL	Polycaprolacton	polikaprolakton
PE	Polyethylene	polietilén
PET	Polyethylene terephthalate	polietilén-tereftalát
P(HB-HV)	Poly(hydroxybutyrate co valerate)	poli(hidroxibutirát-valerát)
PLA	Polylactic acid	politejsav
PLGA	Poly(lactic-co-glycolic acid)	poli(tejsav-glikolsav)
PMA	Poly(methyl acrylate)	poli(metil-akrilát)
PP	Polypropylene	polipropilén
PS	Polystyrene	polisztirol
PVA	Polyvinyl Alcohol	polivinil-alkohol
PVC	Polyvinyl Chloride	polivinil-klorid
(S)EM	(Scanning) Electron Microscopy	(pásztázó) elektronmikroszkóp
ThOD	Theoretical Oxygen Demand	elméleti oxigénigény
ThCO ₂	Theoretical Carbon Dioxide	elméleti szén-dioxid (mennyiség)
TOC	Total Organic Carbon	teljes szerves szén (tartalom)
UV	Ultra-Violet	ultraviola (tartomány)
WHC	Water Holding Capacity	vízretartó képesség

1. BEVEZETÉS

1.1. ÁTTEKINTÉS

1994. december 20-án az Európai Parlament és Tanács elfogadta a csomagolóanyagok és csomagolási hulladékok kezelésével kapcsolatos 94/62/EC számú, a csomagolóanyagok környezetszennyező hatásának mérséklésére vonatkozó csomagolási irányelvet. Ez volt az első olyan jogi norma, amely egy jól felmérhető anyagáramra sajátos szabályokat és számszerű célkitűzéseket fogalmazott meg, és amelyet a későbbiekben más termékcsoporthoz (pl. gépkocsi, elektronikai termékek) is érvényesítettek. Természetesen más direktívákhoz hasonlóan a csomagolási is csupán javaslat a tagországok számára, amelynek célja, hogy harmonizálja az egyes tagországok csomagolással és csomagolási hulladékkal kapcsolatos szabályait úgy, hogy csökkenjen a csomagolóanyagok és csomagolási hulladékok környezetkárosító hatása. A nemzeti kormányoknak biztosítaniuk kell azt a hulladékgazdálkodási rendszert, amely lehetővé teszi a hulladékhasznosítás minden fajtáját, így az ismételt felhasználást (*reuse*), az újrahasznosítást (*recycling*), az energetikai felhasználást (*energy recovery*), de mindenek előtt a megelőzést (*prevention*). Definiálásra került az ún. szerves újrahasznosítás (*organic recycling*) is, amely a csomagolóanyagok biológiai úton lebontható részének aerob komposztálással ill. anaerob biogázképzéssel történő hasznosítására tett javaslatot [PAGGA 1998].

Számos európai országban a szerves szilárd hulladék kontrollált körülmények között zajló biológiai kezelése – aerob komposztálása vagy anaerob kezelése – jól alkalmazható eljárás a hulladékgazdálkodásban, s így a csomagolási hulladék kezelésében is. A komposztálóknak és a biogázt előállító üzemeknek ugyanis nem kizárólagos bemeneti („input”) anyaga a kertek zöldhulladéka ill. a háztartási szerves hulladék, hanem ide kerülhetnek az élelmiszeripar egyes melléktermékei, vagy egyes papíralapú csomagolóanyagok és a biológiai úton lebomló polimerekből előállított csomagolószerek [PAGGA et al. 1995, 1996, 2001a].

A csomagolóanyagok szerves visszaforgatásának anaerob módon történő megvalósításához jelenleg nincsenek meg azok az előírások, határértékek, mint amelyek komposztálhatóságuk megállapításánál kidolgozásra kerültek. A polimerek vizsgálatára ugyan léteznek laboratóriumi szabványok (ASTM 5210, ISO 14853), de még nem gyűlt össze elég gyakorlati tapasztalat a laboratóriumi határértékek kialakításához és feltehetően a komposztálás erőteljesebb támogatottsága miatt ez utóbbi adatokra még várni kell [PAGGA 1999].

A komposztálás elsőbbségét az is jelzi, hogy meglehetősen aprólékosan kidolgozott, összetett minősítési folyamaton esik át az erre a végső célra szánt anyag, a valóban „komposztálható” minősítés eléréséig: (a) összetétele legyen ismert és ne tartalmazzon a környezetre veszélyes komponenseket; (b) szabványos laboratóriumi tesztekkel biodegradálhatónak mutakozzon;

(c) szétesése biológiai hulladékkezelő rendszerben bizonyítható legyen, és (d) a keletkező komposzt ne legyen rosszabb minőségű annál, mint amelyet zöld hulladékból állítottak elő.

A műanyagok széleskörű elterjedése a műanyag hulladékok mennyiségének jelentős növekedését eredményezte. Ezeknek a hulladékoknak az elhelyezése, feldolgozása és újrahasznosítása egyre nagyobb feladatot jelent a környezetvédelem számára. Ezért jelentősek azok a fejlesztések, amelyek megújuló forrásból állítanak elő biodegradálható, de végső soron komposztálásra szánt anyagokat. Ezen új típusú anyagok laboratóriumi szintű biodegradálhatóságának szabványosított vizsgálata jelenleg még számos problémát vet fel: egyrészt hazai viszonylatban nincs olyan mérőrendszer, amely képes lenne az anyagok biodegradációjának huzamosabb idejű, akár több hónapig is tartó nyomon követésére, annak ellenére, hogy a gyakorlati tapasztalatok ennek igényét mutatják; másrészt nemzetközi viszonylatban megoszlanak a vélemények arról, hogy ezen – többnyire vízben nem oldódó – anyagok lebomlásának tanulmányozására mennyiben alkalmasak a vegyi anyagok biodegradálhatóságának vizsgálatából átvett, folyadék közegű tesztek.

1.2. CÉLKITŰZÉSEK

- A vonatkozó nemzetközi szakirodalom kritikai értékelését követően célul tűztem ki egy olyan szilárd közegű mérőrendszer összeállítását, amely igazodik a szabványokban ajánlott – CO₂-termelés ill. O₂-fogyás mérésén alapuló –, az anyagok biológiai bonthatóságának számszerű megítéléséhez.
- A mérőrendszer kialakítása után, hiteles anyagminta hiányában a mérőrendszert alkalmassá kívántam tenni a nemzetközi körelemzésekben általánosan alkalmazott és elfogadott, por alakú minták mérésére, valamint a hazai (és nemzetközi) igényeknek megfelelő film formájú, valódi minták teljes (végső) biodegradálhatóságának vizsgálatára.
- Arra való tekintettel, hogy a gyakorlatban nem kizárólagosan film minták, hanem egyéb, a levegőztetett rendszerben – mennyiségükből vagy összetételükből adódóan – nem vizsgálható anyagok lebonthatóságának vizsgálatára is folyamatosan mutatkozik igény, célul tűztem ki azoknak az egyszerű, nem szabványos módszereknek az összegyűjtését és kritikai értékelését, amelyek szerepet kaphatnak valamely anyag biodegradálhatóságának megítélésében.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A CSOMAGOLÁSI HULLADÉK KEZELÉSÉNEK JELENE ÉS JÖVŐJE

2.1.1. Európai Unió helyzetkép

A nemzeti hulladékgazdálkodási rendszereknek 2001 júliusáig kellett elérniük, hogy a csomagolási hulladék minimum 50%-a, de legfeljebb 65%-a újrahasznosuljon (anyagként minimum 15%), ill. azt, hogy összességében legalább 10%-kal csökkenjen. Ezen irányszámok betartása valamennyi tagország számára kötelező, kivéve Portugáliát, Görögországot és Írországot, valamint az újonnan csatlakozó országokat, ahol a 2001-es célokat 2005-re kell teljesíteni, azzal a kitételrel, hogy 2001-ig a csomagolási hulladék legalább 25%-át kell újra feldolgozni [STRATTON 1998, Csomagolás 2003, Európai 2003].

Az európai jogrend bevezette és egyre szélesebb körben alkalmazza az ún. „kiterjesztett termékfelelősség” fogalmát, amelynek lényege, hogy a gyártó ill. a csomagolt termék kibocsátója felelősséggel tartozik nem csupán a becsomagolt áru, hanem a csomagolás életútjának megtervezéséért, végső soron az ebből keletkező hulladék begyűjtéséért és hasznosításáért is. Az európai országok túlnyomó többségében a termékek kibocsátói létrehozták azokat a nem profitorientált szervezeteket (pl. Packaging Recovery Organisation Europe / PRO EUROPE/), amelyek az egyéni teljesítési kötelezettséget díjfizetés ellenében (licencdíj) átvállalják és erről a fogyasztót a „Zöld Pont” védjegy használata révén tájékoztatják [BAKA 1996, VISZKEI 2002, Zöld 2003].

2.1.2. A magyar jogi szabályozás áttekintése

Az EU-hoz való csatlakozás igénye, és így a környezetért felelős gondolkodásmód átvétele igen komoly feladat elé állítja hazánkat, tekintettel arra, hogy a környezetvédelmi szabályozások és gyakorlati megvalósításuk területén igen jelentős lemaradással kell szembenéznünk. Magyarország már 1991-ben, az ún. brüsszeli megállapodás keretében megkezdte a felzárkózását ezen a környezetvédelmi területen. A megállapodás külön fejezetben írja elő, hogy „a felek kiterjesztik és erősítik együttműködésüket a környezet romlása elleni harc terén, amelyet elsődlegesnek ítélnek. Az együttműködésben központi helyet foglal el a hulladékok csökkentése, újrahasznosítása és biztonságos megsemmisítése”. A szóban forgó megállapodás nagymértékben járult hozzá az 1995. évi LVI. sz. („A környezetvédelmi termékdíjról, továbbá egyes termékek környezetvédelmi termékdíjáról szóló”) törvény megalkotásához, amely – többek között - környezetvédelmi termékdíjat vezetett be a csomagolóanyagokra is.

A termékdíj mértékének kidolgozása során kiindulópontnak az számított, hogy a csomagolóeszközök által okozott környezeti terhelés elhárításának, megelőzésének mekkora

költségei vannak (ld. 1. táblázat 1995. évi adatsor). A termékdíjas rendszer azonban számos hibával bír: (I) közvetve támogatja a csomagolóanyagok égetését; (II) gyakorlatilag „adó”-ként jelenik meg, amelyet a gyártók és a forgalmazók az árba beépítve hárítanak át a lakosságra, és olyan általános finanszírozási alapként kezelik, amely nem feltétlenül környezetvédelmi problémák megoldását támogatja; (III) nem egyértelmű kategóriákat tartalmaz, így bizonyos társított csomagolóanyagokat (pl. Tetra Pak dobozok anyaga) jogilag papírrá nyilvánítottak és így jóval olcsóbb termékdíj-kötelezettséget értek el; (IV) a hazai termékdíj-rendszernek megfelelő szabályozás nincs az Európai Unióban [KERTÉSZ 1998, VISZKEI 2002, Termékdíj 2003].

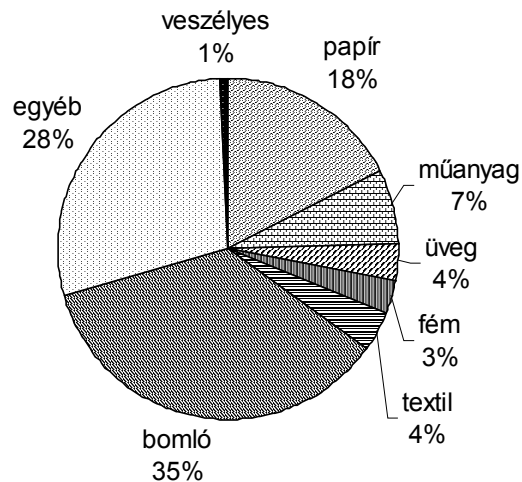
A környezetvédelmi tárgyú jogharmonizáció keretében született meg a 2001. január 1-én hatályba lépett XLIII. Hulladékgazdálkodási törvény 94/2002. (II.5.) kormányrendelete, amely a csomagolásról, a csomagolási hulladék kezeléséről szóló részletes szabályokat tartalmazza. Ez a kormányrendelet lehetővé teszi olyan koordináló szervezetek létrehozását, amelyek hatékonyan ötvözik a piaci szempontokat és a környezetvédelmi célkitűzések teljesítését, magukra vállalva az ún. kollektív teljesítés felelősségét. Az új rendszer alapja az EU-ban már 1996 óta működő licencdíjas „Zöld Pont” rendszer, amelynek működtetője hazánkban az Öko-Pannon Kht. [BESE 2000, BAKA 1996, 1998; Hazai 2003, Licence 2003]. A „Zöld Pont” rendszerhez csatlakozók „kollektíven teljesítenek”, ugyanis azáltal, hogy befizetik a koordinátornak a rendszer fenntartásához szükséges licencdíjat, a koordinátor magára vállalja a teljesítés kötelezettségét: a koordinátor szerződik azokkal a cégekkel, akik begyűjtik ill. újrahasznosítják a hulladékot. Természetesen nem kötelező a rendszerhez való csatlakozás, de ennek hiánya a vállalati szintű teljesítés megszervezését vonja maga után [Európai 2003, Hazai 2003]. A licencdíjas és a korábbi termékdíjas rendszer hazánkban – Európában egyedülálló módon – 2004 januárjától egyszerre lesz érvényben, a kibocsátott csomagolóanyagok tömegének 80-20%-os arányában megosztott fizetési kötelezettséggel (ld. 1. táblázat 2003-2005. évi adatsorok). A hibrid eljárás előnyei ill. bevezetésének oka nem teljesen ismert [BAKA 2003]: a korábbi elképzelések szerint a licencdíjas rendszernek kellett volna felváltania a termékdíjas szabályozást.

1. táblázat: A különböző csomagolóanyagok termékdíjtételeinek alakulása a Termékdíj törvény szerint Ft kg⁻¹-ban [BAKA 2003].

<i>A csomagolás anyaga</i>	<i>1995</i>	<i>2003</i>	<i>2004</i>	<i>2005</i>
Műanyag	10	25,5	29	30,4
Társított	8	30,4	35	36,8
Alumínium	5	11,1	13	13,7
Fém (kivéve alumínium)	4	8,6	10	10,5
Papír, fa, természetes alapú textil	3	11,1	13	13,7
Üveg	2	4,1	5	5,3
Egyéb	5	30,4	35	36,8

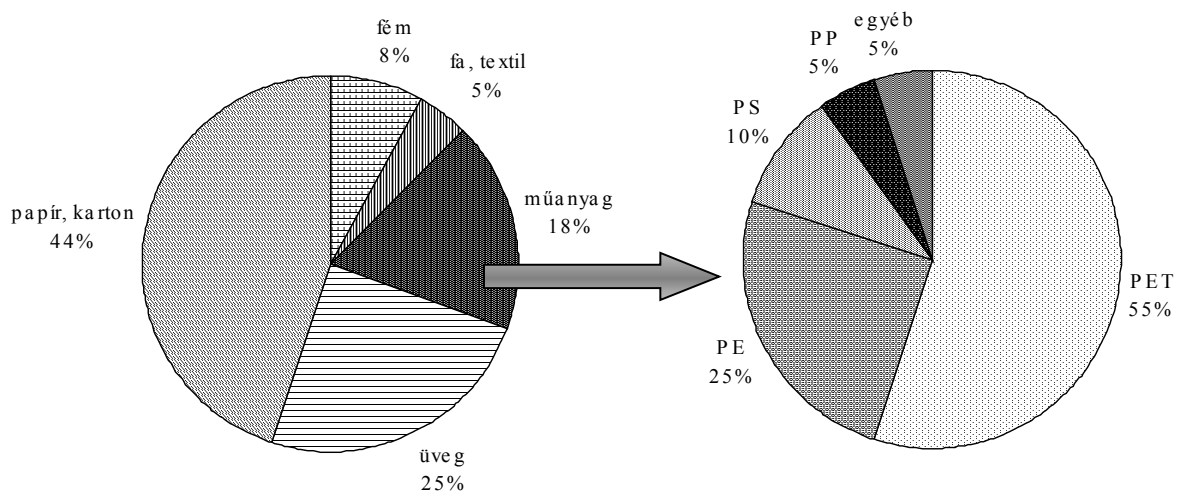
2.1.3. A csomagolóanyagokból eredő hulladékok mennyisége és minősége hazai viszonylatban – a hulladékkezelés itthoni gyakorlata

Magyarországon évente kb. 120 millió tonna hulladék keletkezik; ebből kb. 4,5 millió tonna (22,5 millió m³) települési szilárd hulladék, melynek az összetételét az 1. ábra mutatja [BECZNER et al. 1997, ISTVÁN et GARAMVÖLGYI 2003].



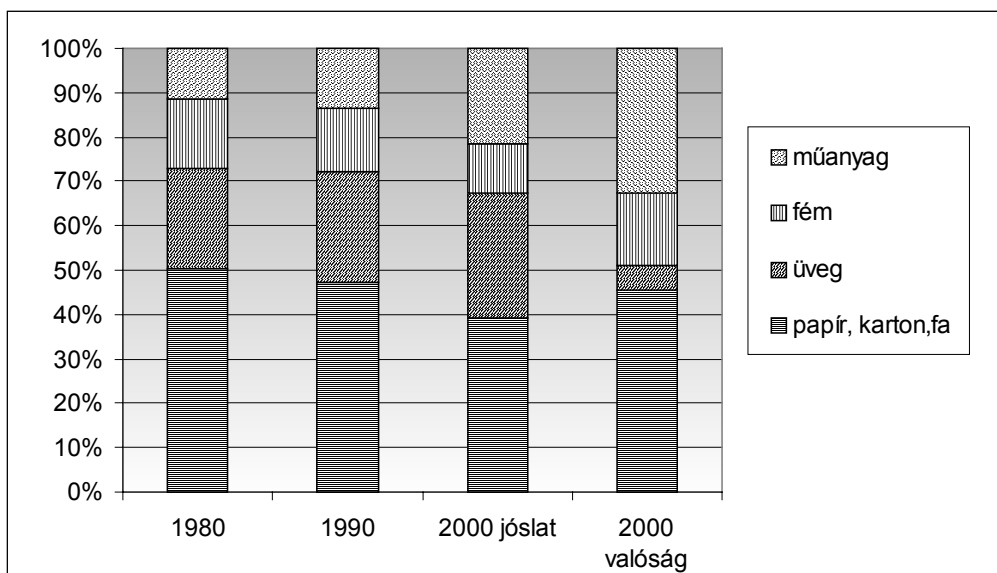
1. ábra: Települési szilárd hulladék százalékos összetétele (tömeg %) [ISTVÁN et GARAMVÖLGYI 2003].

A kommunális szilárd hulladék mintegy 35-40%-a csomagolási hulladék; ezen belül a műanyag csomagolószerek aránya kb. 18%. A kommunális hulladékba kerülő csomagolóanyagok és azon belül a műanyagok összetételét a 2. ábra ismerteti.



2. ábra: A csomagolási hulladék összetétele a kommunális hulladékban (tömeg %) [ISTVÁN et GARAMVÖLGYI 2003].

A 80-as, 90-es évek adataira alapozva a szakértők megpróbálták megjósolni, hogyan fog alakulni a hazai csomagolószerszám felhasználás 2000-ben [BECZNER et al. 1997]. Ennek az elképzelésnek az eredményeit mutatja be a 3. ábra, a később kialakult valós adatok tükrében. A szakértők a papír, karton, fa arányának további kb. 10%-os csökkenését jósolták, az üveg szerepének kis mértékű és a műanyagok jelentősebb növekedése mellett. A valós adatok ennél sokkal nagyobb változást mutattak: a környezetbarát (papír, fa, karton) csomagolóanyagok mennyisége egy kissé csökkent, kb. olyan mértékben, mint ahogy a fém mennyisége növekedett (1-2%), az üveg növekvő mértékűnek jósolt felhasználása ezzel szemben majdnem 20%-al esett vissza, egyértelműen a műanyag csomagolóanyagok javára. Tekintettel arra, hogy a műanyagok előállítása és felhasználása világviszonylatban is évente kb. 4-5%-kal nő, a továbbiakban hazánkban is ez a növekedés látszik reálisnak, hiszen a multinacionális cégek révén lassan felzárkózunk a fejlett csomagolóiparral rendelkező országokhoz.



3. ábra: A csomagolószerszám felhasználás százalékos megoszlása 1980-ban, 1990-ben, jósolt helyzete 2000-re [BECZNER et al. 1997], és a valódi, 2000-ben kialakult értékek.

A növekvő műanyag-felhasználással azonban együtt jár a növekvő hulladékmennyiség is, mivel térfogatuk (főleg az üregek testeké és fóliáké) viszonylag nagy; így ennek csökkentése ill. általában a műanyagok újrahasznosítása elkerülhetetlen feladatnak számít. A műanyag hulladékok homogenitásuk, tisztaságuk és anyaguk alapján más-más módon kezelendők és más-más termék gyártására alkalmasak. Sajnos jelenleg a szelektív gyűjtés még teljes mértékben nem tekinthető megoldottnak, és a háztartási szemétben lévő műanyagok nagyobbik része a lerakókba kerül – mindez pillanatnyilag kétségtelenül a legolcsóbb, de a legrosszabb megoldás. Bár 1998-ban a magyarországi kommunális hulladék újrahasznosított mennyisége még nem érte el az 1%-

ot sem [UNIÓS 1998], napjainkra szerencsére elértük a 27-28%-ot, amely a csomagolóanyagok területén meghaladta a 15%-ot is [Jogszályi 2003].

2.1.4. Csomagolásfejlesztés, újrahasznosítás és környezetvédelem

A csomagolástervezés szempontjai közül napjainkra a környezetvédelmi kérdések a legfontosabbak közé emelkedtek. A rendszerszemléletű gondolkodásmód a csomagolóanyag előállításától a csomagolóeszköz megsemmisítéséig kíséri figyelemmel a folyamatot, az újrahasznosítás lehetőségeit is figyelembe véve; ezek a tanulmányok az ún. „életút elemzések” megnevezéssel terjedtek el [JOLLIET et al. 1994, KÚNOS 1998, BECZNER et PERÉDI 1998, KERÉKES 1996]. Az újrahasznosítás megkönnyítését szolgálja az egyik EU Bizottság által előkészített direktíva is, amely változtatva a csomagolóanyagok eddig alkalmazott jelölésén, a következő adatokat minden esetben kötelező jelleggel tüntetné fel: (I) a csomagolóanyag élettartamára vonatkozó ismérveket; (II) a csomagolóanyagban esetleg előforduló veszélyes összetevők (pl. toxikus fémek) mennyiségét, részletesen megszabva az ólom, a higany és a króm koncentrációjának felső határát; (III) a csomagolóanyag újrahasznosításának lehetőségeit, beleértve esetenként a komposztálásra vonatkozó javaslatot is [Csomagolás 2003].

A csomagolószerek újrahasznosítása feltételezi a hulladék összegyűjtését, anyagonkénti elkülönítését és hasznos anyaggá való feldolgozását. A gondot elsődlegesen a műanyagok újrahasznosítása jelenti, tekintettel arra, hogy jelenleg csak kevés olyan technológia ismert, amely során a vegyes műanyag hulladék együttesen kerül feldolgozásra, ugyanis még a hasonló szerkezetű műanyagok (PE és PP) keverékéből sem nyerhető használható minőségű termék. Érdemes megemlíteni egy olyan (magyar) szabadalmat, amely nem igényli a műanyaghulladék szétválogatását: a Tiszai Vegyi Kombinátban dolgozták ki azt az anyagot (Syntumen[®]), amely útépítésnél adalékként az aszfalthoz keverve az alap- és kopóréteg szilárdságát sokszorosára növeli, csökkentve a felfagyás és a nyomványosodás veszélyét [WOLFNER 2000a, Syntumen 2003].

Ma már nyilvánvaló, hogy a műanyagok felhasználásának visszaszorítása nem lehet életképes megoldás, hiszen mellettük szól előállításuk kis költsége és a kis anyagfelhasználás. A műanyagok ugyanis az egyéb, hagyományos anyagokhoz képest kisebb sűrűségűek, könnyebben feldolgozhatóak, az előállításukhoz szükséges összes energiaigény lényegesen kisebb, mint az acélé, rézé, alumíniumé vagy az üvegé; technológiájuk vízigénye sem jelentős, meg sem közelíti a papír- és a kartongyártás vonatkozó értékeit. Sokféleségük következtében gyakorlatilag minden alkalmazási területre kiválasztható az adott célra legmegfelelőbb műanyag és a kapcsolódó feldolgozás-technológia. Mindezekből egyértelműen kitűnik, hogy az újrafeldolgozásnak kell hosszú távon ennél a hulladékkategóriánál is az első számú hasznosítási megoldássá válni,

mindamelllett, hogy napjainkban már számos olyan felhasználási terület jöhet szóba (ld. 2.3.3. alfejezet 3. Melléklet), ahol a természetes alapú, biodegradálható / komposztálható csomagolóanyagok felvehetik a versenyt a szintetikus alapú műanyagokkal.

2.1.5. „Új” hasznosítási lehetőség: a szerves visszaforgatás

A komposztálhatóság ismertetése a gyakorlati alkalmazások során gyakran eltérő megfogalmazásokban ölt testet, így célszerű ezt a fogalmat röviden tisztázni. A hivatalos európai szabályozás szerint, amennyiben egy csomagolóanyagot (I) aerob komposztálás során akarnak hasznosítani és (II) nem természetes eredetű (tehát pl. nem fából vagy gyapjúból készült) ill. természetes eredetű, de kémiai kezeléssel alapanyagát módosították, úgy komposztálhatóságának megítéléséhez 4 lépésből álló minősítésen kell átesnie [PAGGA 1998, 1999; STARNECKER et MENNER 1996]:

- [I] Az anyag kémiai összetételének vizsgálata (példaként a vonatkozó DIN szabvány által részletesen előírt vizsgálandó jellemzőket és határértékeket a 2. Melléklet tartalmazza).
- [II] A biológiai lebonthatóság vizsgálata laboratóriumi tesztekkel („biodegradációs tesztek”, részletesen a 2.4.2. és 2.4.3. alfejezetek tárgyalják). Egy korábbi elképzelés szerint ezek a vizsgálatok a kereskedelmi forgalomba kerülő végtermékben megtalálható polimer(ek) ill. kémiai összetevők elkülönített tesztelését jelentették volna [ITÄVAARA et al. 1995a], végül azonban a csomagolóanyag egészének vizsgálata került elfogadásra.
- [III] Az anyag szétesési folyamatának vizsgálata félüzemi / üzemi komposztálóknak (ún. „dezintegrációs tesztek”).
- [IV] A kész komposzt minőségének meghatározása (ún. „ökotoxicitás tesztek”).

Amennyiben egy anyagot ezzel a vizsgálati stratégiával komposztálhatónak fogadnak el, akkor ugyanezen anyag kisebb tömeg / felület aránnyal, vagy kisebb falvastagsággal szintén komposztálhatónak minősül [PAGGA 1997a].

Az utoljára említett két vizsgálati szakasz már nem képezi értekezésem tárgyát, így csupán rövid bemutatásukra szorítkozom abból a célból, hogy teljessé váljon a komposztálhatóság tulajdonságának megítélése:

Dezintegrációs tesztek: Amennyiben egy csomagolóanyagot kémiai összetétele és a laboratóriumi tesztek eredményei alapján biodegradálhatónak ítélnék, úgy a további lebomlási vizsgálatokat az anyagnak abban a – csomagolószer – formájában hajtják végre, amelyben kereskedelmi forgalomba ill. ezt követően visszagyűjtésre és így a komposztálóba fog kerülni. A dezintegrációs vizsgálatokat ipari léptékű, de legalább félüzemi körülmények között, legalább 12 hétig kell végezni, olyan bemeneti összetétel mellett, amelyben az idegenanyag (jelen esetben a csomagolóanyag) mennyisége nem több, mint 1% (tömeg %). A vizsgálat ideje alatt az

anyagának nem szükséges teljesen lebomlania, ugyanis feltételezhető, hogy a komposzt felhasználási helyén a bomlási folyamat tovább folytatódhat; így a pozitív megítéléshez elegendő, ha a vizsgálat végén a bevitt anyagmennyiség legfeljebb 10%-a marad fenn egy 2 mm lyukátmérőjű rostán. Ezekkel a tesztekkel leginkább arról bizonyosodhatunk meg, hogy a vizsgálati anyagnak nincs semmilyen kedvezőtlen hatása a komposztálás folyamatára [PAGGA et al. 2001a, YABANNAVAR et BARTHA 1993]. Mindez abból az általános előírásból fakad, amelyet valamennyi szabvány egyértelműen kinyilvánít (az ipari üzemekben lejátszódó komposztálási folyamatot polimer adagolásával tilos negatívan befolyásolni); így a folyamat ellenőrzése megfelel egy átlagos komposztálási folyamat hőmérsékletméréssel történő nyomon követésének.

Ökotoxicitás tesztek: A dezintegrációs tesztek végén kapott komposztot a továbbiakban még analitikai és biológiai minőségi kontrollnak is alá kell vetni, tekintettel arra, hogy a keletkezett komposzt minősége nem lehet rosszabb, mint egy olyan komposzté, amelybe nem kevertek „idegen anyagot” [PAGGA et al. 2001a]. Ennek megfelelően sem a kiindulási polimer maradéka, sem pedig az esetleg jelen lévő stabil degradációs végtermék nem lehet ökológiai szempontból ártalmas [SCOTT 2000]. Jelenleg nem létezik sem európai, sem nemzetközi szabvány a komposzt minősítésére és hazai viszonylatban is csak a gilisztahumuszra vonatkozó határértékek tekinthetők mérvadónak [ALEXA et DÉR 1998], mindaddig, amíg a jelenleg kidolgozás alatt lévő szabályozás elfogadásra nem kerül. A komposzt esetén alkalmazott ökotoxicitás teszteket (pl. DIN 38412-11) a vegyi anyagok esetén is felhasznált reprezentatív szervezeteken (pl. algákon, csíranövényeken) végzik el, hogy kimutathassák az anyag által okozott akut vagy krónikus hatásokat [PAGGA 1999, ITÄVAARA et VIKMAN 1996].

2.2. A TERMÉSZET ÉS AZ EMBER ÚJRAHASZNOSÍTÓ TEVÉKENYSÉGE

2.2.1. A biodegradáció előfordulása

A biodegradáció a természet újrahasznosító folyamata; meghatározó résztvevői a mikroorganizmusok – különösen a baktériumok és gombák –, amelyek évmilliók során alakították ki a természetben előforduló polimerek jelentős részének hasznosítását lehetővé tevő anyagsereútjaikat. Bár a természetes polimerek között is akadnak olyanok (pl. lignin, kitin), amelyek csak viszonylag lassú folyamatok révén kapcsolódnak be ebbe a visszaforgatási folyamatba, azonban az ember tevékenysége révén a környezetbe juttatott anyagok között jóval több, a természet számára teljes mértékben idegen komponenst lelhetünk fel (pl. szintetikus alapú műanyagok). A biodegradációs folyamatok állandó helyszínei igen tág körben fordulnak elő a természetes környezetben; elég, ha a vizes környezetek sokféleségét említjük: a felületi vizek, mint az öblök, folyók, patakok, természetes és mesterséges tavak valamennyien kiváló

körülményeket teremtenek ahhoz, hogy a mikroorganizmusok kolonizálódjanak, többek közt a víz-üledék határon, a kövek felületén, vagy a vizek növényzetén. Ezeken a helyeken a legfontosabb degradációs folyamat az oxigént igénylő mikrobák által folytatott aerob biodegradáció. Természetes vizes kompartment a tengeri környezet és az anaerob üledék is, amelyek mikrobaközössége teljesen eltér az előbb említettektől. A harmadik igen fontos, nagy degradációs aktivitással bíró, nem vizes környezeti összetevő a talaj, különösen annak humuszban gazdag, művelt (porhanyós) formái [PAGGA 1999].

Bár a komposztálásra utaló első történelmi emlékek kb. 4000 évesek [ALEXA et DÉR 1998], csupán az 1900-as évek kezdete óta „másolja” a természetes degradációs folyamatokat a mérnöki tevékenység, hogy ipari léptékben is kezelhesse a folyékony ill. szilárd hulladékot. Az aerob aktivált iszappal töltött szennyvízkezelő üzemek medencéi, valamint az anaerob iszap stabilizálását szolgáló emésztő tornyok ilyen célzott szereppel bírnak a szennyvíztisztításban; hasonlóan jellegzetes példaként említhető az aerob komposztálók üzemeltetése, amelyekben nyersedék és biológiai eredetű hulladék kerül feldolgozásra. Ezekben a technikai egységekben ugyanazok a degradációs folyamatok zajlanak le, mint a környezetben, csak optimális feltételek között, és ennek megfelelően rövidebb idő alatt. A természetben lejátszódó degradációs folyamatok pontos megismerése tehát nélkülözhetetlen, hiszen csak így fejleszthetőek az ember által vezetett degradációs eljárások ill. csak ilyen módon kerülhető el a kártétel a környezetben [PAGGA 1997b].

2.2.2. A biodegradáció mechanizmusa

SAND [1997] és FLEMMING [1998] szerint az anyagok biodegradációját a felülethez tapadó mikrobák okozzák, ennek megfelelően a biodegradáció folyamata a biofilm képződésének folyamatával indul és a következő lépéseken keresztül vezethet el az anyag széttöredezéséhez: (I) a mikrobák a felülethez kötődve annak eredeti tulajdonságait megváltoztatják és elősegítik reakcióját a közvetítő közeggel; (II) vízfelvétel révén az anyag duzzadásnak indul, és fokozódik az adalékanyagok ill. monomerek kioldódása; (III) a keletkező hajszáltrepedések jelentősen megnövelik az anyag hozzáférhető felületét és a penészfonalak által okozott erős nyomás az anyag széttöredezéséhez vezet; ezt a folyamatot gyakran a polimerek elszíneződése kíséri, melyet mikrobiológiai eredetű, lipofil színyanyagok jelenléte vált ki (pl. a pirosas színért sok esetben a *Serratia marcescens* tehető felelőssé) [IKADA 1999; GU 2003]. Egy anyag tulajdonságainak leromlása, szétesése azonban nem kizárólagosan a mikrobák tevékenysége által valósulhat meg, ezért a biodegradáció és degradáció közötti különbségtétel mindenképp helyénvaló. A *degradáció* az anyag kémiai szerkezetének irreverzibilis megváltozása [PAGGA et al. 1996, PAGGA 1998], így a *biodegradáció*, a mikroorganizmusok tevékenysége révén történő lebomlás

csak egy formája a degradációnak, hiszen – például polimerek esetén – 4 további (többnyire együttesen előforduló) degradációs folyamatot különböztetünk meg: (a) *fotodegradációt* a természetes napfény hatására; (b) *kémiai oxidációt*, jelen lévő oxidáló vegyületek hatására; (c) *hődegradációt* hőhatásra; ill. (d) mechanikai hatások miatt fellépő (*mechanikai*) *degradációt*. A biofilmekkel foglalkozó tanulmányok arra is rámutattak, hogy az anyagok biodegradációjának többféle szintje is megvalósulhat, amelyek megkülönböztetésére környezetvédelmi szempontból is igen nagy szükség van. Így kerültek definiálásra a biodegradáció ún. „*elsődleges*” valamint a „*teljes (végső)*” formái is. Az előző a molekulaszervezetben bekövetkező olyan változást (pl. láncszakadást, vagy a valódi lebomlás szempontjából érdektelen mellékreakciót) jelent, amely révén megváltoznak az anyag fiziko-kémiai jellemzői. Az elsődleges biodegradálhatóság vizsgálatát korábban mindaddig számos kritika érte, amíg a teszt keretében meghatározott mechanikai tulajdonságok megváltozásán keresztül voltak le következtetéseket egy anyag biológiai lebonthatóságát illetően. Napjainkra az elsődleges biodegradációt vizsgáló tesztek (pl. ISO 846) csak az anyagok öregedését vizsgálják, ill. jelentős hangsúlyt kapnak a kiindulási alapanyag toxikusságának megítélésében [DE HENAU 1993, CALMON-DECRIAUD et al. 1998].

A „teljes (végső) biodegradáció” kifejezést általában fenntartják az anyagok enzimes folyamatokon keresztül történő lebomlásának jellemzésére, amely a sejtek számára többnyire közvetlenül is felhasználható szerves vegyületek keletkezését jelenti, melynek révén végső soron szén-dioxid és víz keletkezik. Figyelembe véve a szén sorsát, az anyagok biodegradációját a következő egyszerűsített formában írhatjuk le [DE HENAU 1993, CHANDRA et RUSTGI 1998]:

aerob folyamatban: $C_{\text{kiindulási anyag}} + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O + C_{\text{maradék}} + C_{\text{biomassza}} + \text{sók}$

anaerob folyamatban: $C_{\text{kiindulási anyag}} \rightarrow CO_2 + CH_4 + H_2O + C_{\text{maradék}} + C_{\text{biomassza}} + \text{sók}$

Tekintettel arra, hogy a kiindulási anyagok általában túl nagyok a membrántranszport folyamatai számára, a sejtek enzimeket választanak ki, és ezekkel bontják le a komponenseket. Ebben a formában a sejtekbe bejutva a különböző vegyületek CO_2 -ra és vízre (aerob út) ill. metánra (anaerob út) bomlanak le, valamint hozzájárulnak a biomassza felépítéséhez. Az anyagszere-folyamatok hőtermeléssel is együtt járnak, amely – ha mindez optimális a mikroorganizmusok növekedése és az enzimaktivitás szempontjából – gyorsítja a metabolikus folyamatokat, és ezzel együtt a kémiai degradáció mértéke is fokozódik [ITÄVAARA et al. 1995a]. Ugyanakkor sok esetben ez a mineralizáció nem teljes, mivel néhány végtermék ellenállhat a degradációnak, s ezek az anyagok tartósan fennmaradva ún. reziduumként szerepelnek a biodegradáció folyamatában.

A természetben lezajló biológiai lebomlás folyamatára számos tényezőnek van hatása; így a mikroorganizmusok megléte (és az extracelluláris enzimek mennyisége) mellett a környezeti paraméterek értékei (hőmérséklet, pH, fény, tápanyagok, O₂, vízaktivitás) és a lebontandó anyag tulajdonságai is számításba vehetők [ITÄVAARA et VIKMAN 1996]. Általános megközelítésként a következő tényeket érdemes megemlíteni:

- a könnyen hidrolizálható észterkötések enzimés hidrolízise a kötések kémiai hidrolízisénel gyakran gyorsabban vezethet a nagymolekulák feldarabolódásához [KIM et KIM 1998];
- míg az anyagok vízoldhatósága megkönnyíti a transzportfolyamatokat, utat engedve a sejten belül lejátszódó bontásnak, a vízben mutatott oldhatatlanság erőteljesen gátolja a biodegradációt [TAKÁCS 1997, SHANANAN et AURIAC 1998];
- a négyértékű szénatomok, -C-C- kötések, elágazó láncok általában ellenállók a mikrobiológiai bontási kísérletekkel szemben [BETTON 1994, PAVLATH et ROBERTSON 1999];
- a halogének jelenléte általában lassítja vagy gátolhatja a biodegradációt;
- a poliaromás vegyületek biológiai hozzáférhetősége elhanyagolhatóan kicsi, szemben az alifás láncokkal [STRUIJS et VAN DEN BERG 1995]. WITT et al. [2001] szerint az alifás aromás kopolimerek lebonthatósága sem jelent nehézséget a mikrobiológiai közösségek számára, mivel komposztból több olyan termofil *Actinomyces* fajt izoláltak, amelyek képesek lebontani ezt az anyagot – bár azt tapasztalták, hogy a degradáció mértéke csökken az aromás részarány növelésével;
- a jelenlegi szakmai álláspont szerint a nem semleges anyagok sokkal fogékonyabbak a biodegradációs folyamatokra, mint amelyek teljesen mentesek a hidrofil / hidrofób jellegtől [JENDROSSEK et al. 1996, CHANDRA et RUSTGI 1998].

2.3. TERMÉSZETES ÉS SZINTETIKUS ALAPÚ MŰANYAG CSOMAGOLÓANYAGOK FEJLESZTÉSE

2.3.1. Előzmények

A műanyag csomagolóanyagok a többi csomagolóanyaghoz (papír, fém, üveg, fa, textil) képest a „legfiatalabbnak” számítanak. A XIX. század ipari növekedése során ismerték fel, hogy a természetben rendelkezésre álló, addig kimeríthetetlen mennyiségűnek gondolt anyagok fogyóban vannak. Két ágon indult meg a kutatás az új anyagok után: (I) természetben előforduló, nagy molekulájú anyagokat (fehérjék, szénhidrátok) különböző vegyi anyagokkal reagáltatták és így jutottak azokhoz az anyagokhoz, amelyeket „természetes alapú műanyagok”-ként szoktunk említeni; (II) kőolajból / földgázból krakkolással előállított kismolekulájú anyagok összekapcsolásával (polimerképzés) hoztak létre olyan, a természetben fel nem lelhető anyagokat,

amelyek „szintetikus alapú műanyagok”-ként váltak ismertté. Ily módon mindkét csoportban igen sokféle anyagot hoztak létre, melyek közül az évek folyamán sorra kiválasztódtak a csomagolóanyagokkal kapcsolatos elképzeléseknek leginkább megfelelők. Ennek a folyamatnak esett áldozatul a természetes alapú csomagolószerek azon kisszámú képviselője, amelyek nem tudták felvenni a versenyt a változatos formában előállítható, kis tömegű, tetszőlegesen változtatható tulajdonságú, de mindenek előtt olcsó szintetikus alapú műanyagokkal. Ekkor a természetes polimerek nagy hátrányának könyvelték el – különösen, ha hosszabb idejű alkalmazásra szánták – a szétesésre, öregedésre való természetes hajlamukat [RATAJSKA et BORYNIEC 1998]. Így tűnt el többek közt a tejkazeinből formaldehiddel előállított, *Galalit* nevű anyag, amelyből ballonok zárására alkalmas dugókat készítettek, és hasonló sors vár a cellulózalapú *viszkózfóliára* (celofán márkanéven vált ismertté) is, hiszen a biorientált PP fóliák sokkal jobb tulajdonságokkal rendelkeznek, mind aroma-, mind vízgőzzárás vagy éppen a szakítószilárdság tekintetében [KEREKES 1996].

A szintetikus alapú műanyag csomagolóanyagok fejlődéstörténete azonban nem töretlen, mivel számos negatív esemény is árnyalja megítélésüket. Az 1970-es években az USA-ban kimutatták, hogy PVC fóliák égetéssel történő megsemmisítése során vinil-klorid monomer is keletkezik, amely gázállapotban rákkeltő [KEREKES 1996]. Ennek hatására korlátozták a PVC fóliák felhasználását, és új stabilizátorok alkalmazásával ill. a mechanikus megmunkálással együtt zajló intenzív levegőztetéssel a monomer mennyiségét a fóliában 1 mg kg^{-1} alá csökkentették. A PVC-ben alkalmazott stabilizátorok és lágyítók egészségkárosító hatásának vizsgálata az élelmiszeripari csomagolóanyagként való felhasználás révén folyamatosan a mai napig is a figyelem középpontjában van, hol a mikrohullámú melegítés és az általa kiváltott migráció, hol a kíméletes tartósítási eljárásoknak a csomagolóanyagokra gyakorolt hatása [OZEN et FLOROS 2001], hol pedig az égetésük során levegőbe kerülő dioxinok képződése miatt [KEREKES 1996].

A szintetikus alapú műanyag csomagolóanyagok egy újabb vonatkozásban a 80-as évek során kerültek véglegesen a figyelem középpontjába. Ekkor ütköztek ki ugyanis azok a környezetvédelmi problémák, amelyek a környezeti hatásokkal szemben rendkívül ellenálló, de többnyire csak rövid idejű használatra szánt anyagok utóélete (= felelőtlen szemetelés) miatt igen látványosan jelentek meg a környezetben, különösen az iparilag fejlett országokban. A közhangulat a műanyaggyártók ellen fordult; e cégek válaszul, a (csomagoló)iparban betöltött meghatározó szerepük megőrzése céljából kétirányú fejlesztésbe fogtak: (I) egyrészt vékonyabb falú csomagolóeszközöket állítottak elő, amelyek még kielégítették a csomagolással szemben támasztott igényeket [JANSEN et SCHELVOVE 1997]; (II) másrészt új összetételű csomagolóanyagok fejlesztését indították meg, amelyekben természetes alapú összetevők is

helyet kaptak. Előállt tehát az a furcsa helyzet, hogy az iparág, amely évtizedeken keresztül azon munkálkodott, hogy a környezeti hatásoknak tartósan ellenálló anyagokat állítson elő, olyan anyagokat is kénytelen volt fejleszteni, amelyek a korábbi célokkal ellentétben fogékonyak a mikrobák lebontó tevékenységére [CADMUS 1977, THAYER 1990, KOELSCH et LABUZA 1991, FLEMMING 1998].

2.3.2. A biodegradálható csomagolóanyagok első nemzedéke

A meglehetősen „erőltetett” fejlesztésnek lett az eredménye az ún. „kompozitok” megjelenése, amelyek elenyésző mennyiségben (5-10%) tartalmaztak a mikrobák számára könnyen hasznosítható (általában burgonya- vagy kukorica-)keményítő komponenseket, többnyire szemcseként szétoszlatva a nem biodegradálható polimer – leginkább PE – mátrixban. Mostani ismereteink birtokában ítélve meg ezt a fejlesztési folyamatot, azt kell mondanunk, hogy többet ártottak vele, mint használtak, hiszen az anyag szétesése után a maradék már nem olyan „feltűnő” ugyan, de rejtett jelenlétével hosszú távon még nagyobb kárt okozott [HANKERMEYER et TJEERDEMA 1999].

A kompozitokhoz képest a „blendek” (keverékek) már zselatinizált keményítőt tartalmaztak 20-50%-ban, de a másik főkomponensként többnyire még mindig a PE-t használták. Ebben az időszakban számtalan látványos és rendkívül meggyőző, az anyag szétesését illusztráló kísérletet mutattak be (ld. korai tesztek, 2.4.1. alfejezet) az anyag biológiai úton való bonthatóságának igazolására. Tudományos háttérként azt feltételezték, hogy a blendekben a természetes anyagok degradációja vezet a szintetikus anyag széteséséhez úgy, hogy először a felületen található természetes komponenseket támadják meg a mikrobák, amely az anyag összetartásának csökkenéséhez vezet, megnövelve a hozzáférhető felület nagyságát. Ezt követően, ahogyan az anyag egyre „nyitottabbá” válik, a víz által közvetített mikrobák egyre mélyebbre juthatnak az anyagba, amely a mikrobák növekedése által okozott „stressz” és az extracelluláris enzimek hatása révén szétesésen ill. lebomláson megy keresztül abból adódóan, hogy a keményítő rész elfogyása után a mikrobák „ráfanyalodnak” a PE hányadra is [RATAJSKA et BORYNIEC 1998]. Ezen folyamat valószínűségét már annak idején is sokan kétségbe vonták; érvelésük szerint még az sem tekinthető biztosnak, hogy a mikrobák hozzáférnek a keményítő részhez, hiszen a PE gyakran mintegy kapszulába zárja a keményítőt, kialakítva egy, a hidrolitikus enzimek számára át nem járható gátat [ARÉVALO-NIÑO et al. 1996].

Az a kettős célkitűzés, miszerint meg kell tartani a műanyagok kémiai szerkezetéből adódó ellenálló-képességét és emellett fogékonnyá kell tenni őket a mikrobák lebontó tevékenységére, jellegzetes „fából vaskarika” megközelítésnek bizonyult, és olyan ideális anyagok

kialakíthatóságát feltételezte, amelyek „a használat után egyszerűen megsemmisítik magukat” [RATAJSKA et BORYNIEC 1998]. Kimutatták ugyanis, hogy legalább 31% keményítő jelenléte szükséges a keverékek széteséséhez, de csakhamar azt is be kellett látni, hogy a megnövelt keményítőtartalom jelentősen rontja az anyag fizikai tulajdonságait [KIM et POMETTO 1994, DE KESEL et al. 1997, JUN 2000].

A műanyaggyártók kampányának köszönhetően azonban mégis sikerült elhitetni a fogyasztókkal, hogy ez a paradoxon feloldható: az USA-ban egyszerre minden keményítőt tartalmazó műanyagra rákerült a „környezetbarát” ill. „lebomló” felirat, amely jelentősen fokozta a vásárlók felelőtlen szemetelő mentalitását. A korábbinál is nagyobb mennyiségű, szétdobált hulladékot látva a környezetvédők utcai felvonulásokkal tiltakoztak az akkori „biodegradálható” csomagolóanyagok használata ellen, amely végül a műanyaggyártók visszakozásához vezetett. Ezt követően azok a fejlesztések kerültek előtérbe, amelyek a műanyagok vastagságának csökkentését tűzték ki célul (pl. metallocén katalizátorok használata révén); a gyártó cégek a mai napig ezen keresztül vélik megtalálni a környezetszennyezés problémájának megoldását, hiszen állításuk szerint a vékonyabb falú csomagolószerek használata kevésbé terheli a környezetet csomagolási hulladékkal [THAYER 1990, KOELSCH et LABUZA 1991].

Az addig büszkén saját terméküknek vallott biodegradálható polimerekről, és a belőlük előállítható csomagolóanyagokról a 90-es évek közepén változott meg igazán a műanyaggyártók véleménye. Ekkor ugyanis „új alapokon” (természetes polimerekből kiindulva) fejlesztve sorra jelentek meg azok a tanulmányok, amelyekkel ezen anyagok csomagolóanyagként való hasznosíthatóságáról értekeztek, nagy jövőt jósolva nekik: „A biodegradálható csomagolóanyagok, amelyek teljesen megújuló polimerekből készülnek, hozzájárulhatnak a környezetszennyezés problémájának megoldásához, és új piacot teremthetnek a mezőgazdasági termékek számára. Egy új horizont nyílhat meg az emberek előtt.” [CUQ et al. 1997, NEW 1997]. Ilyen és ehhez hasonló hangzatos elképzelések méltán hatottak sokkolóan a piacaikat féltő műanyaggyártókra és vezettek el olyan kiélezett párbeszédhez, mint amelyet 1996-ban a német műanyaggyártók folytattak a biodegradálható polimerek előállítóival. A biodegradálható polimereket előállítók azon érvére, miszerint „...a megújuló nyersanyagok szén-dioxid mérlege 0. Zárt láncban végeznek körforgást, nem fokozzák az üvegházhatást...” a műanyaggyártók a következő választ adták: „...az üvegházhatást elismerjük, de más szempontból a biodegradálható műanyagok számos környezeti problémát okoznak, hiszen a nyersanyagok feldolgozása alapanyagokká rendszerint a hagyományos műanyagok előállításánál bonyolultabb eljárást igényel, elkerülhetetlen a fokozottabb vízterhelés, pl. a keményítő előállításánál. A kisméretű üzemek még sokáig csekély kapacitással fognak dolgozni és nagy az élőmunka igényük, így a biológiailag lebomló anyagok még sokáig drágábbak lesznek, mint a műanyagok. Emellett a

gyűjtésnek és a komposztálásnak is megvannak a nemkívánatos mellékhatásai.” A kétkedők a nem megfelelő funkciós tulajdonságokra (O_2 és vízgőz áteresztés, aromazárás), a hővel történő feldolgozhatóság nehézségeire hívták fel a figyelmet, és nem felejtették el sohasem hangsúlyozni a vékonyabb falú műanyag csomagolóanyagok „környezetbarát” jellegét [NENTWIG 1996, 1997].

2.3.3. A valódi biodegradálható csomagolóanyagok fejlesztése

Napjainkban a világon mindenütt cégek tucatjai foglalkoznak biodegradálható csomagolóanyagok fejlesztésével. Ezekről ill. a kereskedelmi forgalomban elérhető változataikról, felhasználási területükről a 3. Melléklet táblázata nyújt áttekintést.

A biodegradálható csomagolóanyagokat legegyszerűbben az őket felépítő polimerek alapján lehet csoportokba rendezni [THAYER 1990, KROCHTA et MULDER-JOHNSTON 1997, BECZNER et al. 1997, Magyar 2000]:

Keményítő, cellulóz és származékaik:

- módosított természetes polimerek
- keményítő / műanyag keverékek
- keményítő / PVA ill. PCL kopolimer

Alifás poliészterek:

- poli-(L)-tejsav (PLA)
- poli(kaprolakton) (PCL)
- poli(hidroxi-butirát) (PHB)
- poli(butilén-szukcinát)

Kopoliészterek:

- tereftálsav / adipinsav / butándiol - észterek
- 3-hidroxi-vajsav – 3-hidroxi-valeriánsav kopolimerek
- poliészter-amidok
- poliészter-uretánok

Általánosságban elmondható, hogy minél nagyobb a biodegradálható polimerek részaránya az adott filmben, annál gyengébbek a belőlük előállított csomagolóanyagok funkcionális tulajdonságai [KELLER et al. 2000]. A poliszacharid- és fehérjetartalmú filmek általános mechanikai és optikai tulajdonságai általában megfelelőek, de igen érzékenyek a nedvességre, és rossz a vízgőzáteresztő-képességük. Ezzel szemben a poliésztertartalmú anyagok vízgőzzáró-képessége kielégítő, nedvességre nem érzékenyek, bár viszonylag törékenyek és opálosak [BECZNER et PERÉDI 1998].

Jelenleg a keményítőalapú biológiailag lebomló csomagolóanyagok a legelterjedtebbek, bár hidrofíll jellegükből adódóan többnyire PVA, PCL keverékként kerülnek forgalomba [ARÉVALO-NIÑO et al. 1996, LÖRCKS 1998, BASTIOLI et al. 1994, BASTIOLI 1998; JUN 2000]. Léteznek olyan kereskedelmi forgalomban elérhető polimerek is – pl. a poli(hidroxi-alkanoát) alapúak – amelyek tulajdonságaik révén képesek lennének akár a PE helyettesítésére is [DOI et al. 1990], de ennek megvalósításához olyan speciális szelektív hulladékgyűjtő rendszer működtetésére lenne szükség, amely nemcsak arról gondoskodik, hogy ezek az anyagok külön kerüljenek gyűjtésre, hanem arról is, hogy belátható időn belül a komposztálóba jussanak. Ennek a rendszernek a hiánya ill. működtetésének problémái miatt bukott meg 1990-ben a Wella AG (Darmstadt, Németország) cég által forgalomba hozott, biológiailag lebomló „BIOPOL[®]”-ból előállított csomagolóeszköz [HANKERMEYER et TJEERDEMA 1999, PETERSEN et al. 1999], és jutott ugyanerre a sorsra 8 évvel később a Danone által „öko-pohár”-ként forgalomba hozott politejsav alapú csomagolóeszköz is [NENTWIG 1998, NEUMANN 1998, SCHROETER 1998, WOLFNER 2000b].

2.3.4. A szintetikus alapú műanyagok „biodegradációja”

Számtalan olyan cikk lát még mostanában is napvilágot [többek közt JAKUBOWICZ 2003], amelyek a szintetikus alapú műanyagok biodegradálhatóságát tárgyalják és olyan nem szabványos módszerek révén vonnak le következtetéseket, amelyeken a szabványos módszerek már évekkel korábban túléptek. Konkrét példaként érdemes felhozni ORHAN és BÜYÜKGÜNGÖR [2000] kísérletét, amelyben úgy javítják a vizsgálati közegként használt talaj biodegradációs aktivitását, hogy az ASTM 5247 szabványban javasolt, tiszta tenyészetként alkalmazott *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 34541) (ligninbontó, fehérrothadást okozó) gombát kevernek hozzá; ezzel a módszerrel a 12% mennyiségben keményítőt tartalmazó PE-t tömegcsökkenése alapján biodegradálhatónak nyilvánították.

Természetesen napjainkra már egyes műanyagokról sikerült hitelt érdemlően bizonyítani, hogy előkezelésekkel ill. optimális körülmények között a baktériumok számára hozzáférhető lehetnek. Így pl. a nem vízzoldható PET-et, amelyben az élő szervezetben is előforduló észterkötéseket találhatunk, szulfonálással vízzoldhatóvá s így biodegradálhatóvá lehet tenni [TAKÁCS 1997]. A PVC, PE és PP mikrobákkal történő lebontására azonban nincs remény, mivel a bennük található kovalens kötések annyira stabilak, hogy élő szervezetek számára teljes mértékben hozzáférhetetlenek [RÁCZ 1998].

2.4. A BIOLÓGIAI LEBONTHATÓSÁG VIZSGÁLATI MÓDSZEREI

2.4.1. A biológiai lebomlást vizsgáló, ún. „korai” tesztek és definíciók

2.4.1.1. A szabványosítás és a fogalmak kialakításának folyamata

Bár a műanyaggyártók biológiailag lebomló polimerek fejlesztésével kapcsolatos szándéka mindenképp pozitívnak tekinthető, a lebomló csomagolóanyagok fejlesztéséhez hiányoztak azok a támpontok (definíciók, szabványos vizsgálati módszerek), amelyek elejét vehették volna a korai kompozitok ill. blendek téves megítélésének. Az ASTM, majd az ISO a 80-as évek végén láttak elsőként munkához, és ezt követően sorra születtek meg a többi nemzeti és nemzetközi szabványügyi szervezetek definíciói is, amelyeket a szabványos tesztek elfogadása után részben átdolgoztak (4. Melléklet táblázata). Ha összevetjük az egyes szabványügyi szervezetek korai és jelenleg érvényes megfogalmazásait, akkor azt az általános következtetést vonhatjuk le, hogy a mikroorganizmusok tevékenységének – akár csak egyetlen bontási lépésben történő – megnyilvánulását mindegyik kiemelten hangsúlyozza már a korai definíciókban is, azonban csak egyetlen testület, a CEN tartotta fontosnak a bomlási folyamat végtermékeinek pontosítását. A szabványos biodegradációs tesztek későbbi kidolgozása maga után vonta a definíciók változását, és a jelenleg érvényes definíciók – túllépve korábbi hiányosságaikon – különböző biodegradációs szinteket különböztetnek és határoznak meg.

2.4.1.2. Korai tesztek

Az ASTM – amely élen járt a „biodegradálható” műanyagokkal kapcsolatos kérdéskör tisztázásában – munkáját már a kezdetektől fogva igen jelentős nemzetközi figyelem kísérte mind a definíciók, mind pedig a tesztek kidolgozása területén. Az anyagok biológiailag lebomló jellegét az első megközelítésben – feltehetően a szerves vegyipar „nyomására” – olyan biokémiai szétesésként értelmezték, amely méretkizárásos kromatográfiával kimutatható kisebb alkotók megjelenésével jár együtt. Azonban ebben a megközelítésben a PVC is biodegradálhatónak minősíthető, hiszen lágyítói – természetes anyagok lévén – degradálhatóak [YABANNAVAR et BARTHA 1993]. Ezen esetek kivédésére születtek olyan javaslatok, hogy a biodegradálható polimertől függetlenül kerüljön megjelölésre a „környezet számára elfogadható” polimer is, ahol ez utóbbinak a nem lebomló részei sem idegenek a környezet számára [SWIFT 1992]; végül többszöri módosítást követően a 4. Melléklet táblázatában feltüntetett definíciót fogadták el 1993-ban.

Időközben számos olyan vizsgálati eredmény látott napvilágot, amelyek ugyan rendkívül látványosak voltak, de a tudományban meglehetősen szokatlan, „laikus” módon vélték kimutatni egy anyag lebonthatóságát. Jellegzetes példaként szolgáljon a már korábban említett Wella cég

BIOPOL[®]-ból készített samponos flakonjaival az 1990-es évek elején a Lugano-tóban (Svájc) végrehajtott, igen látványos lebomlási kísérlete. A tó teljes mélységében 10 méterenként, kifejezetten erre a célra gyártott kis tengeralattjárókkal az egyébként könnyen elsüllyedő flakonokat rögzített helyen tartották, és adott időközönként megvizsgálták *tömegcsökkenésüket*. A kísérletet végző csoport arra a következtetésre jutott, hogy ez az anyag képes lebomlani a tó körülményei (pl. 4°C átlagos hőmérséklet) között, mivel a vizsgálat végére (254 nap után) átlagosan 10% tömegcsökkenést tapasztaltak – mindebből (kissé merésznek tekinthető extrapolációval) úgy számították, hogy ha ezen tendencia folytatódik, akkor kb. 10 év alatt az anyag teljesen eltűnik [BRANDL et PÜCHNER 1992]. DOI et al. [1990] pusztán a *felületi erózió kimutatása* után vontak le következtetéseket különböző P(HB-HV) kopolimer lebonthatóságát illetően, miután a vizsgálati anyagok felületét *Alcaligenes faecalis* T1 extracelluláris P(3HB) depolimerázával, pufferelt közegben (pH=7,4; T=37°C) kezelték és SEM segítségével tanulmányozták. Arra is találhatunk ebből az időszakból példát, amikor pusztán a *mikrobák felületi megtapadását* is elegendőnek vélték a biodegradáció tulajdonságának megállapítására egy-egy újonnan fejlesztett polimer esetén [WAGNER et al. 1996], ill. arra, amikor hosszabb-rövidebb idejű földbeágyazás vagy tengervízben való áztatás után az *anyagok nyújthatóságában, szakítószilárdságában jelentkező változásokat* azonosították biodegradációval [YABANNAVAR et BARTHA 1993]. A PVC biológiai bonthatóságát pedig úgy próbálták bizonyítani, hogy nyomon követték a klórvesztés mértékét és az anyag viszkozitásának megváltozását [YABANNAVAR et BARTHA 1994]; ezekről a tesztekéről azonban hamar kiderült, hogy inkább az anyagok öregedésének megfigyelésére alkalmasak.

Másfajta, inkább biotechnológiai szemléletet tükröznek azok a vizsgálatok, amelyek keményítőalapú anyagok biológiai bonthatóságát enzimes kezelések révén tanulmányozták, *Bacillus licheniformis* α -amiláz és *Aspergillus niger* glükóamiláz felhasználásával, 37°C ill. 80°C hőmérsékleten [DOI et al. 1990, VIKMAN et al. 1995]. A degradációt az *oldott szénhidrát mennyiségének* és a *minták tömegcsökkenésének* mérésével követték nyomon. Ennek a módszernek az előnyét abban látták, hogy az enzimek révén a lebomlás reprodukálhatóvá tehető és az időtartam is lerövidíthető; másrészt lehetőség nyílt arra, hogy az enzimek működési mechanizmusát az adott tesztanyagon szelektíven tanulmányozzák. COMA et al. [1995] viszont arra mutattak rá, hogy a speciális, tisztított enzimekre építő tesztekben a vizsgálati anyagnak mindig kisebb fokú bomlása figyelhető meg, mint azokban az esetekben, amelyek során enzimkeverékeket alkalmaznak. Az enzimek és enzimkeverékek használatán túl ugyanebben az időszakban jelentek meg azok a közlemények is, amelyek mikrobák tiszta tenyészetével, valamilyen szintetikus (sókkal kiegészített) közegben végrehajtott tesztekbe mutattak be: SIEGER et al. [1995] karboxi-metil-cellulóz, mint lehetséges biodegradálható filmalapanyag degradációját

vizsgálta *Agrobacterium CM-1* jelenlétében. A tiszta tenyészetek használatának előnyei megegyeztek az enzimes vizsgálatokéval, miszerint egyszerű velük dolgozni és reprodukálható eredményeket szolgáltatnak; másrészt ezekkel a tesztekkel tanulmányozhatóvá válik az adott mikroba adaptálódási viselkedése és az extracelluláris enzimek termelési mechanizmusa.

Ugyanakkor ezen vizsgálatok sajnálatos a eredménye lett az, hogy olyan anyagokra került fel a *biodegradálható csomagolóanyag* felirat és olyan anyagokat jelöltek környezetbarátnak, amelyek korszerű ill. megfelelő tesztek megléte esetén aligha bizonyultak volna annak (2. táblázat).

2. táblázat: Az Egyesült Államokban 1989-ben forgalomban lévő „biodegradálható” filmek [KRUPP et JEWELL 1992 nyomán].

<i>Márkanév</i>	<i>Leírás</i>
Amko	6% keményítőt tartalmazó PE; opálos, fehér, fényes, sima
Polar	6% keményítőt tartalmazó PE; természetes színű, kissé szemcsés szerkezetű
D-Grad	6% keményítőt tartalmazó PE; természetes színű, kissé szemcsés szerkezetű
Naturegrad Plus (NG+)	10-12% keményítőt tartalmazó PE; természetes színű, kissé szemcsés szerkezetű, gabonaillatú
Bio-Guard	10-12% keményítőt tartalmazó PE; rozsdaszínű, kissé szemcsés szerkezetű, enyhén gabonaillatú
USDA-20, -40	PE, etilén-akrilsav, karbamid (5%) és 20 ill. 40% zselatinizált keményítő
keményítő / PMA	48% keményítőt tartalmazó poli(metil-akrilát) kopolimer
P(HB-HV)	poli(hidroxibutirát) / poli(hidroxivalerát) kopolimer
PVA	vízoldható poli(vinil-alkohol)

Egyfajta ellensúlyozásként ebben az időszakban számos olyan cikk jelent meg, amely felhívta a figyelmet a helytelen vizsgálati módszerekre és követelte az új szemléletmód kialakítását, elszakadva a műanyagok öregedését tanulmányozó alapoktól [KRUPP et JEWELL 1992, YABANNAVAR et BARTHA 1993]. Ezek a közlemények a lebomlási folyamat eddiginél összetettebb megközelítése mellett foglaltak állást és hevesen tiltakoztak az ellen, hogy egy anyagot csupán azért tekintsenek biodegradálhatónak, mert (I) tömegcsökkenést mutat valamely alig definiálható közegben (pl. tengervízben, ill. földbe ágyazva), vagy (II) mikrobák növekedését tapasztalják a felületén vagy (III) az anyag fizikai leromlása észlelhető az anyag beágyazását követően. A polimer fizikai tulajdonságainak (tömeg, szakító- és húzószilárdság, nyúlás, villamos vezetőképesség) változása ugyanis még nem bizonyítja a polimer biológiai bomlását, hiszen a benne lévő adalékok bomlása is eredményezheti ezeket a jelenségeket. A felület elektronmikroszkóppal, vagy a kristályosság pásztázó kalorimetriás vizsgálata (DSC) alapján észlelt változások sem feltétlenül a polimer bomlásából származnak [AUGUSTA et al. 1992].

A biodegradáció folyamatának részletes tanulmányozása nem csak arra világított rá, hogy a korai tesztek alkalmatlanok egy anyag lebonthatóságának megítélésére, hanem arra is, hogy nem elegendő pusztán a degradációt és a biodegradációt, vagyis az anyag lebonthatóságát ill. biológiai úton való lebonthatóságát megkülönböztetni; szét kell választani egymástól a teljes (végső)

biológiai lebonthatóság és elsődleges lebonthatóság (az anyag öregedésének) vizsgálatától az ún. *inherens* biológiai lebonthatóság vizsgálatát is. Ismerünk ugyanis olyan anyagokat, amelyek – bár kémiai összetételük nem indokolja – a szabványos laboratóriumi tesztekkel nem bizonyulnak lebomlónak, ám amennyiben pl. a teszt időtartamát jelentősen megnövelnénk, akkor a kapott eredmények mégis a lebomlást igazolnák. Ennek megfelelően egy anyag inherens biodegradálhatóságát olyan vizsgálatokkal lehet megállapítani, amelyek lehetővé teszik a vegyület mikroorganizmusoknak történő, megnövelt időtartamú kitettséget, s ezáltal sokkal kedvezőbb „biomassza / hozzáférhető szervesanyag-tartalom” arány elérését – mindezt olyan körülmények között, amely kedvez a biodegradációnak. Az inherens biodegradálhatóság vizsgálata tehát olyan anyagok esetén lehet indokolt, amelyek a teljes biodegradációt vizsgáló tesztekben elhúzódó lebomlással jellemezhetőek és összetételük alapján feltételezhető biológiai bonthatóságuk. Ennek vizsgálatára irányul az OECD 302B „Módosított Zahn-Wellens teszt”, melyet bár eredetileg kémiai anyagok vizsgálatára fejlesztettek ki, napjainkban már a BDP-k mérésére történő átalakítása zajlik [CALMON-DECRIAUD et al. 1998, NORR et al. 2001]. Az ilyen, hosszú időtartamú tesztekkel igazolható, hogy az anyag lassabban ugyan, de képes lebomlani és nem eredményez ellenálló maradék végterméket a környezetben.

2.4.1.3. A korai tesztek jelenlegi alkalmazásai

(a) A korai vizsgálati módszerek egyrészt főleg az anyagok öregedését vizsgáló teszteként élnek tovább [MERGAERT et al. 2000] és azokat szabványosították, amelyek tiszta mikroba kultúrákat ill. enzimeket használnak. Valamennyi szabványügyi testület kidolgozott egy vagy több olyan módszert, amely az anyag bizonyos mikroorganizmusokkal szembeni ellenálló képességét teszteli (ASTM G21-70, G22-76, DIN 53739, ISO 846). Az általános eljárás szerint a 25 mm × 25 mm-es mintát ásványi sókkal kiegészített, minimál agart tartalmazó Petri-csésze felületére helyezik és bepermetezik a szabványokban ismertetett egysejtű gombák vagy baktériumok keverékével (pl. *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Penicillium funiculosum* CMI114933, *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 8060, ATCC 13388 stb.). A csészéket állandó hőmérsékleten 21-28 napig inkubálják, majd a tesztanyagot a következő vizsgálatnak vetik alá:

- *vizuális vizsgálat*: ez a minőségi mérés az anyagok felületén megjelenő telepek mennyiségét vagy a kiválasztott hidrolizáló enzimek által létrehozott feltisztulási zónákat határozza meg;
- *a súlycsökkenés mérése* a degradálhatóság számszerűsíthető értékét adja;
- *a mechanikai tulajdonságok mérése* abban az esetben kerül sor, ha a mintadarabokat szabványosított (pl. súlyzó) alakra szabták.

Bár ezek a tesztek becslést adnak a műanyagok mikrobiológiai degradációval szemben mutatott ellenállásáról, azonban a megfigyelt változások (pl. a feltisztulási zónák megjelenése)

nem feltétlenül az anyag teljes mértékű bomlását mutatják, hanem utalhatnak csupán a polimer kötéseinek bontására.

(b) További alkalmazási példaként lehet megemlíteni a biodegradálható polimereket fejlesztő gyártók szükségszerűen alkalmazott egyszerű tesztjeit, amellyekkel egy bizonyos kémiai felépítés degradálhatóságáról kapnak információt, még mielőtt a termék biodegradálhatóságát szabvány tesztekkel vizsgálnák. A kiválasztott enzimekkel (lipázokkal, észterázokkal) vagy mikroorganizmusok tiszta tenyészetével beoltott, a folyadék közegű tesztekben alkalmazott (de annál egyszerűbb összetételű) közegben többnyire a mechanikai tulajdonságok megváltozását követhető nyomon, és az anyag öregedéséről vonható le következtetés [CALMON-DECRIAUD et al. 1998].

(c) A korai tesztek a biodegradációs tesztek kiegészítő méréseiként is tovább élnek, természetesen már sokkal korszerűbb formában. A *molekulatömeget* fényszóródással vagy határviszkozitás mérésével határozzák meg, de ez csak akkor valósítható meg, ha a maradék polimer tökéletesen feloldható szerves oldószerben [AUGUSTA et al. 1992]. A *molekulatömegeloszlást* méretkizárásos kromatográfiával határozzák meg; bár a mérést zavarhatják a közegben lévő egyéb (pl. fehérje) vegyületek, viszont a cellulóz és a poliészterek bomlási végtermékei könnyen kimutathatóak [CARVALHO et al. 2003]. A *kémiai változások elemzésére* az infravörös spektroszkópia különböző módszerei (FTIR, ATR-IR) és az NMR spektroszkópia alkalmas [GORDON et al. 2002]. A *bomlástermékek* összességének jellemzésére meghatározható az oldatban lévő szerves vegyületek széntartalma (TOC). A polimerre jellemző bomlástermékeket hagyományos FID [SATO et al. 2001] vagy csatolt tömegspektroszkópiái (MS) detektálással ellátott pirolízis-GC módszerekkel [KOPINKE et al. 1996a,b; TSUGE et al. 1997], HPLC mérésekkel [YAKABE et al. 1992, TOSIN et al. 1998] és spektroszkópiás eljárásokkal (IR, UV) lehet szétválasztani és azonosítani [AUGUSTA et al. 1992].

2.4.1.4. A szabványos tesztek létrehozása

A szabványos tesztek kidolgozásának alapjául – tekintettel az idő sürgetésére és a közvélemény nyomására – a vegyi anyagok (növényvédő-, mosó- és tisztítószer) szerves komponenseinek lebomlását vizsgáló, a fogyott O₂ ill. a termelt CO₂ mennyiségét mérő, folyadék közegű szabványosított tesztek [ISO 15462, PAGGA 1997b] tekintették és csaknem változatlan formában ültették át a természetes alapú polimer filmek lebomlásának vizsgálatára. Az ISO 15462-ben összefoglalt, vegyi anyagok lebomlását tanulmányozó, szabványos vizsgálati módszerek közül azok kerültek polimer anyagokra is alkalmazásra, amelyek nem az oldott szerves széntartalom (= DOC) csökkenését követik nyomon a bomlási folyamat során, tekintettel a vizsgálati anyag többnyire vízben oldhatatlan jellegére [PAGGA 1997b]. A módszerekben

végrehajtott, új alkalmazáshoz kapcsolódó változtatások kezdetben csupán arra irányultak, hogy feltételezve az említett oldhatatlansági jellemzőket, az ebből adódó kis mikroba aktivitást megnöveljék: a teszt időtartamát 28-ról 45 napra hosszabbították meg és bevezették a nagyobb mennyiségű vagy más típusú (eredetű) inokulum használatát, amely nagyobb pufferkapacitású közeget ill. nagyobb mintamennyiséget vont maga után. A vegyi anyagok vizsgálatából átvett tesztek mellett kerültek kidolgozásra azok a már szabványos eljárások is, melyek kifejezetten a biodegradálható polimerek és csomagolóanyagok lebonthatóságának vizsgálatát tűzték ki célul, így a folyadék közegű tesztek mellett – napjainkig ugyan még igen kis számban, de – megjelentek a szabványos szilárd közegű laboratóriumi tesztek [CALMON-DECRIAUD et al. 1998, PAGGA et al. 1995, 2001a]. Érdeemes megemlíteni, hogy a magyarországi vizsgálatok alapjául szolgáló, a témához kapcsolódó DIN szabvány egyike a legfiatalabbaknak, hiszen csak 1998-ban fogadták el.

Tekintettel arra, hogy az ASTM úttörő szerepet játszott a definíciók megalkotásában és a szabványos tesztek kidolgozásában is, vizsgálati módszereik alapul szolgáltak valamennyi nemzeti és nemzetközi szabványosítási törekvés számára, s így az újonnan létrehozott eljárások és definíciók is meglehetősen egyformának adódnak. Európában általános gyakorlat, hogy az ISO szabványok először, mint európai szabványok jelennek meg, majd azokban az országokban, amelyek tagjai a CEN szervezetnek, nemzeti szabványként kerülnek elfogadásra. Az OECD ajánlásait – különösen a vegyi anyagok területén – a nemzeti előírások részeként általában szabályozó cézzal használják; számos OECD ajánlást az ISO is átvesz szabványok formájában.

2.4.2. Folyadék közegű szabványos tesztek

Ezen eljárások 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. A korai alkalmazásoknál a vegyi anyagok lebomlási vizsgálatánál megszokott, szennyvíztisztítóból származó, aktivált iszappal történt a közeg beoltása, később viszont – abból a megfontolásból, hogy a BDP-eket végső soron komposztálásra fejlesztették ki – komposztból vagy talajból (esetleg ezek keverékéből) származó oldatot alkalmaztak. A teszt időtartama legalább 45 napot tesz ki, de a szobahőmérsékletű inkubálás akár 6 hónapon keresztül is folyhat. A tesztek a sejtlégzés során elfogyasztott O₂ utánpótlás megléte alapján lehetnek *dinamikusak* vagy ennek hiányában *statikusak*; az utóbbiakat manapság inkább csak alternatívaként említik abban az esetben, ha nem áll rendelkezésre korszerűbb méréstechnika. A szabványos folyadék közegű vizsgálatokat összefoglaló táblázat az 5. Mellékletben található.

2.4.2.1. Statikus tesztek

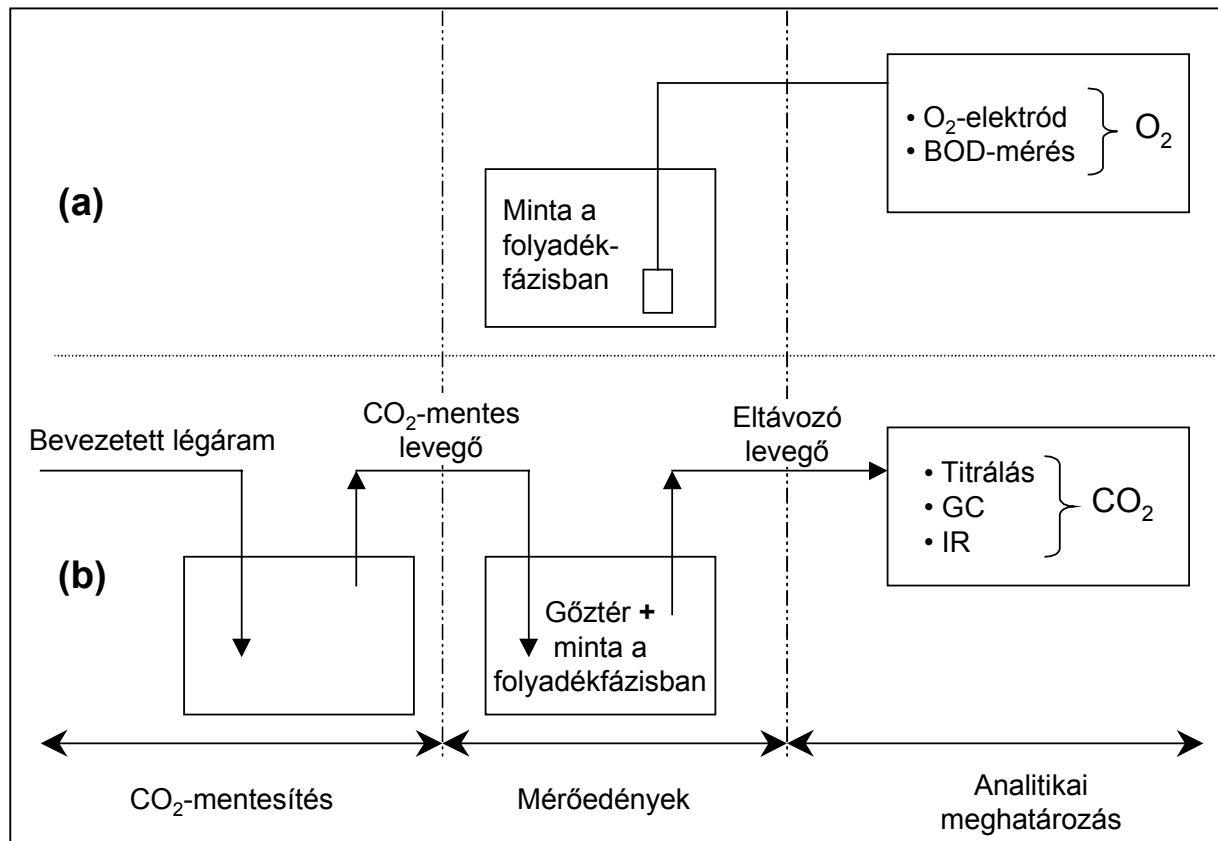
A fogyott O₂-t mérő statikus tesztek első és egyben legegyszerűbb változata az „Egyfázisú zárt üveg” teszt (OECD 301 D; ISO 10707), amelynek szerepét később teljesen átvette a „Kétfázisú zárt üveg” teszt (ISO 10708); a két módszer közötti egyetlen lényeges eltérés az, hogy a teljes feltöltés (ISO 10707) helyett csak annyi vizsgálati közeget helyeznek a mintaedénybe, hogy felette legalább $\frac{1}{3}$ -nyi légtér maradjon. Ezt a légteret a vizsgálat kezdetén tiszta oxigénnel levegőztetik át úgy, hogy az induló O₂ koncentráció 8-10 mg l⁻¹ legyen. A mikrobák anyagcseréjét a folyadék fázisban oldott O₂ mennyiségének csökkenése alapján többnyire beépített O₂-elektróddal követik nyomon. A sejtekben történő CO₂ dúsulás elkerülésére és a gáz megkötésének céljából az edényzet gőztérébe (lapka vagy oldat formájában) általában KOH-ot helyeznek el [VAN DER ZEE et al. 1994]. Bár az „egyfázisú” (légtérrel nem rendelkező) teszthez képest a „kétfázisú” eljárásban jelentősen csökkent a rendelkezésre álló O₂ mennyiségének korlátozó szerepe, ennek ellenére a gyakorlati tapasztalatok azt igazolják, hogy ez a teszt – a dinamikus rendszerekhez viszonyítva – csak kisebb mennyiségű tesztanyag, rövidebb idejű vizsgálatára lehet alkalmas [DE HENAU 1993, CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. VAN DER ZEE et al. [1994] mikrokristályos cellulóz (~50 µm) lebonthatóságára kapott eredményeiket hasonlították össze „egyfázisú” és „kétfázisú” tesztekben; a kétfázisú tesztben elért, kb. 20%-kal nagyobb O₂ fogyás alapján azt a következtetést vonták le, hogy ebben a mérési összeállításban a mikrobák jobban képesek hasznosítani a cellulózt. Egy másik, ugyancsak a „kétfázisú” statikus rendszerben a tesztanyag lebomlását nyomon követő mérési lehetőség a bezárt levegő nyomáscsökkenésének mérése az ISO 9408 (= OECD 301 F) teszt keretében, amelyben olyan beépített manométerrel felszerelt mintaedényeket használnak, ahol a gőztérben a lúgot tartalmazó CO₂ „csapda” mellett nyomásérzékelő detektor is található [VAN DER ZEE et al. 1994].

A termelt CO₂-ot mérő statikus tesztek alapját az 1970-ben kidolgozott és az alkotóról elnevezett Sturm-teszt [STURM 1973] képezi, amelyet valamennyi CO₂-mérés elvére kidolgozott teszt alapjaként említene és „Módosított Sturm-teszt” megnevezés alatt (ISO 9439 = OECD 301B) a vízben rosszul oldódó anyagok biológiai bomlásának hosszabb idejű vizsgálatára javasoltak. Ez a teszt volt később kiindulópontja a már kifejezetten biológiailag lebomló polimerekre kidolgozott szabvány teszteknek is (ASTM 5209, ISO 14852, DIN 54900) [BATTERSBY 1997, SCHOLZ et al. 1997]. Az eredeti eljárásban a vizsgálati közeg feletti légtérben elhelyezett CO₂-csapda Ba(OH)₂ oldatának hetenkénti frissítése és manuális titrálása zajlik, amely a tesztedény gyakori kinyitása miatt csökkenti a mérés megbízhatóságát. Ennek ill. valamennyi CO₂-képződést nyomon követő módszer további hibájaként azt lehet megemlíteni, hogy a képződött CO₂-nak nem a teljes mennyisége abszorbeálódik a lúgcsapdában, hanem egy

része a légtérben szabadon ill. karbonátok formájában a folyadék közegben marad. A probléma megoldására kidolgozott módszereket a 2.7.5. alpontban ismertetem.

2.4.2.2. Dinamikus tesztek

A dinamikus (levegőztetett) rendszerekben a folyamatos levegőztetés célja az, hogy az anyagok lebomlása a mikrobák számára teremtett ideális feltételek között felgyorsuljon és így a nehezebben lebomló anyagok degradációja laboratóriumi körülmények között is mérhető legyen. A dinamikus rendszerek kétféle felépítési lehetőségét a 4. ábra mutatja be.



4. ábra: A dinamikus rendszerek általános felépítésének vázlata [CALMON-DECRIAUD et al. 1998 alapján]. (a)=fogyott O_2 mérése, (b)=felszabadult CO_2 mérése.

Az O_2 fogyasztást mérő dinamikus tesztekben (a 4. ábra (a) része) (ISO 14851, DIN 54900, ASTM 5209) a vizsgálati anyagot tartalmazó, kevertetett folyadék közeg feletti gőztérben a statikus tesztekben is említett, fejlődő CO_2 megkötését szolgáló lúgcsapda (KOH, NaOH) kerül elhelyezésre. A fogyott oxigén mennyiségét az állandó nyomás fenntartásához szükséges O_2 -igény mérésén keresztül, BOD mérőrendszerek alkalmazásával lehet nyomon követni. Egy ilyen korszerű mérési összeállítás részletes ismertetésére a 3.3.2. alfejezetben kerül sor).

Bár a felszabadult CO_2 mennyiségét mérő dinamikus mérőrendszerek (a 4. ábra (b) része) kialakításához alapként a Sturm-teszt szolgált, ahhoz képest igen jelentős változtatásokon mentek keresztül: a CO_2 -csapdák kikerültek a tesztgedények gőztéréből, és önálló, könnyen hozzáférhető

részét képezik a levegőztetett rendszernek. Az így kialakított mérőrendszer tehát három egységre tagolható: 1., levegőztető rész; 2., a folyadék közeget és mintát tartalmazó mintaedények; 3., CO₂-csapdák, mint közvetett mérőegységek. A CO₂-mentes levegőt előállító egységben a levegő CO₂-tartalmának megkötésére úgy kerül sor, hogy a bemeneti légáramnak több, sorba kötött, lúgot tartalmazó edényen, végül pedig egy Ba(OH)₂-ot tartalmazó csapdán kell áthaladnia, ahol BaCO₃ csapadék képződése jelzi a nem megfelelő CO₂-mentesítést. Az elnyeléshez szükséges rendszert legtöbbször az ASTM 5209 ajánlásai alapján állítják össze: 4 db, 1 liter térfogatú üvegedénybe egyenként 700 ml, 10 mol l⁻¹ koncentrációjú NaOH-oldatot öntenek, majd az edényeket sorba kötik még két db üres (légnyomás-puffer szerepet betöltő) edény felhasználásával, a következő sorrendben: 4 db NaOH oldatot tartalmazó + 1 db üres + 1 db, 700 ml 0,0125 mol l⁻¹ koncentrációjú Ba(OH)₂ oldatot tartalmazó (NaOH-oldatok telítődését jelző) edény + 1 db üres [CALMON et al. 2000].

Érdemes megjegyezni, hogy ezen csapdák szükségességét többen is vitatják [DEGLI-INNOCENTI et al. 1998, SOLARO et al. 1998]. STROTMANN et al. [1995] összehasonlítási célból mind CO₂-mentesített, mind pedig kezeletlen levegőárammal elvégezték ugyanazon vizsgálati minta biodegradációs vizsgálatát, és eredményeik nem fedtek fel szignifikáns különbséget a két módszer között. Mindezek ellenére valamennyi szabvány javasolja a mentesítést, mi több, ellenőriztet a valóban CO₂ nélküli bemeneti levegő összetételét, Ba(OH)₂ oldatot tartalmazó edénnyel.

A dinamikus rendszer legtöbbet kritizált eleme azonban a mérőedényt követő CO₂-csapda. Az itt elnyelődött CO₂ mérésére két eljárás terjedt el: (1) *közvetett* (= a fejlődő CO₂-ot lúgcsapdákban kötik meg, majd sósavval titrálják) meghatározásról általánosságban elmondható, hogy a manuális meghatározása időigényes és emiatt drága eljárás, szélesebb körben való elterjedéséhez és könnyebb alkalmazhatóságához egyedüli útként a mérés automatizálása vezet; (2) a gőztérből távozó gázok *közvetlen* elemzése és mérése GC-vel, vagy IR-rel. CALMON et al. [2000] összehasonlították a két – közvetett és közvetlen – méréstechnikát és az eredmények között nem tapasztaltak számottevő különbséget.

A bemutatott mérőrendszerek valódi, gyakorlati alkalmazásai során a kutatók több olyan paraméter fontosságára figyeltek fel, melyek döntő mértékben befolyásolhatják a mérések minőségét. Többek közt STROTMANN et al. [1995] egy közvetett meghatározásra építő, dinamikus mérőrendszer vizsgálata során figyeltek fel arra, hogy a közeg pufferkapacitását növelni kell, mivel a folyadék és a gáz fázis közötti CO₂ megoszlás pH-függő folyamat, így egy esetleg alulpufferelt, lúgos tartományba csúszó közegben a CO₂ megkötése karbonátok kialakulásához vezethet, jelentősen lecsökkentve a csapdába jutó CO₂-mennyiségét.

2.4.2.3. Kísérleti körülmények

2.4.2.3.1. Mintaedények mérete

A mintaedények mérete a korábban vegyi anyagokra alkalmazott statikus tesztek 20 ml-es térfogatáról BDP-k esetén 200-300 ml-re növekedett, amely maga után vonta a folyadék közeg térfogatának és a vizsgálati minta mennyiségének növekedését is. Még nagyobb léptékű térfogat-növekedés azonban csak levegőztetett rendszerek esetén következhetett be, tekintettel az aerob körülmények biztosításának szükségességére. Így a térfogat a CO₂-termelést mérő dinamikus elvre építő szabványok esetén 4000 ml-ig is megnövekedhetett (ASTM 5209); BOD-mérő készülékek használatánál ez az érték az 500-1000 ml tartományban maradt.

2.4.2.3.2. A vizsgálati anyag mennyisége, formája

Míg a statikus tesztekben az O₂ limitáló szerepéből adódóan általában 2-10 mg l⁻¹ tömegű mintamennyiség az elfogadott, addig a dinamikus tesztek esetén gyakorlatilag nincs ilyen általánosan alkalmazott szűk intervallum. A rendszerbe juttatott minta koncentrációja akár 100-200 mg l⁻¹ is lehet, bár a nem szabványos tesztekben ennél jóval nagyobb mennyiségek alkalmazására is találhatunk példákat [VAN DER ZEE et al. 1994, 1998]. A BDP-k vizsgálata por alakban történik, tehát a minták (olykor kriogén) őrlése minden esetben részét képezi a mintaelőkészítésnek. Ezen folyamat célja a minta fajlagos felületének megnövelése, amely a mikrobiológiai hozzáférhetőséget biztosítja, de legalábbis javíthatja; mindez vízben oldhatatlan anyagok esetén különösen fontosnak tekinthető. A vizsgálati minta mennyiségének növelése részben annak a problémának a megoldása lehet, miszerint a BDP-k lebomlása során a minták széntartalmához viszonyítva, folyadék közegben túlzottan kis CO₂-felszabadulást tapasztaltak, amely különösen az indirekt (CO₂-csapdás, titráláshoz kötődő) meghatározásnál jelentősen rontotta a mérés pontosságát [CALMON-DECRIAUD et al. 1998].

2.4.2.3.3. Az inokulum eredete, előkészítése, adaptációs folyamata

Míg statikus tesztek esetén az inokulum mennyisége kb. 10⁴-10⁸ sejt ml⁻¹ közötti sejtkoncentrációval jellemezhető, addig a dinamikus tesztekénél legalább 10⁶ sejt ml⁻¹ körüli kezdeti értékkel kell a közeget beoltanunk. Úgy tűnik, hogy az inokulum mennyisége egyfajta kompromisszum eredménye: egyrészt a szárazanyagra nézve kis mennyiségű inokulum nem zavarja a respirációra alapozott mérést, mivel a mikrobiológiai eredetű szén aránya a vizsgált mintában lévő szén mennyiségéhez képest nagyon kicsi; másrészt a nagy mennyiségű inokulum gyorsítja a degradáció lefutását és a mérést ismételtetőbbé teszi [CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. A tesztközegbe bevitt mikroorganizmusok eredete és az inokulum készítése szempontjából a szakirodalmi javaslatok igen változatosak: a mikroorganizmusok származhatnak a városi

szennyvízkezelő üzem aktivált iszapjából vagy elfolyó vizéből (pl. ASTM 5209, OECD 301B, ISO 10708), felszíni vizek iszapjából (OECD 301C), komposztból (DIN 54900), vagy lehet ezek keveréke is (ISO 14851, ISO 14852). Az OECD 301 C szabvány ajánlása szerint az inokulumot rövid levegőztetés után kell a vizsgálati közeghez adni, mellőzve annak minden további, a nagyobb részecskék eltávolítását célzó és a többi szabvány által is javasolt előkezelését (pl. dekantálás, szűrés). A többi teszt azonban egyértelműen szükségesnek találja az előkezelést és az eluátum készítését követően, általában 1-2 hétig tartó, 4°C-on történő tárolást vagy tápanyag nélküli intenzív levegőztetést ír elő a mikrobiológiai szénraktárak kiürítésére.

PAGGA et al. [2001a] szerint aktivált iszapos tesztekkel sokkal jobb eredményeket lehet elérni, tekintettel arra, hogy itt a sejteket nem éri akkora környezeti sokk, hiszen folyadék közegből folyadék közegbe kerülnek át. Részben ehhez a megfigyeléshez, az adaptáció kérdéséhez kapcsolódik a korábban az inherens teszteknel említett Zahn-Wellens teszt (ld. 2.4.1.2. alfejezet) módosítása, amely kifejezetten a mikrobák adaptálását írja elő [NORR et al. 2001]. Az ebben a tesztben felhasznált inokulumot olyan aktivált iszapból nyerik, amely korábban már találkozott a vizsgálati anyaggal, így mikrobiológiai közössége alkalmazkodott hozzá, és mindezt feltehetően – bár ezt a kérdést még nem vizsgálták – az anyag degradációjában részt vevő mikroorganizmusok száma is tükrözi [VAN DER ZEE et al. 1998]. Ennek az előzetes adaptációs folyamatnak a hatékonysága ugyan pontosan nem jelezhető előre, azonban növelheti a folyadék tesztekben kapott biodegradáció mértékét – bár ez a fajta adaptálás a biodegradáció folyamatát meglehetősen eltávolítja a valódi viszonyoktól. Ugyanakkor kétségtelen, hogy hosszabb távon ezek a szelekciós elvek (tehát a jól adaptálódó fajok kiválasztódása, és a genotípusok, valamint az adaptív enzimek indukciója) érvényesülhetnek [BETTON 1994, CHIELLINI et al. 1999].

Az előbbieket során ismertetett kutatások és kísérletek megpróbálják megkerülni azt a problémát, miszerint az egyik legfontosabb tényezőt, a folyadék közegű tesztekben alkalmazott inokulum minőségét (amely a gyakorlatban a mikrobiológiai közösség összetételét, az eredetet és az adaptációt vagy akklimatizációt követő állapotot) nem lehet szabványosítani. A tiszta tenyésztéssel végzett biodegradációs tesztek akkor tekinthetők célravezetőnek, ha kifejezetten valamely anyagcsere-útvonal tisztázása a cél. A lehetséges degradációs útvonalak nagy száma viszont akkor fejeződik ki jobban, ha kevert populációt használunk, ekkor azonban romlik a kísérlet ismételhetősége. Mivel az inokulumot többnyire csak az eredete definiálja, vagy éppen az, hogy alkalmaztak-e valamilyen előadaptálást vagy sem, nem ritka az az eset, hogy ugyanazon anyag ugyanazzal a vizsgálati módszerrel más és más lebomlási viselkedést mutat. Az eltérő lefolyás és a kis megbízhatóságú eredmények leginkább szembetűnő, korai jele a különböző minőségű inokulumok alkalmazásánál megfigyelhető, rendkívül eltérő hosszúságú lag-periódus

[STRUIJS et STOLTENKAMP 1990, PAGGA 1997b]. E jelenség háttérében általában az áll, hogy az éppen felhasznált inokulum nem rendelkezik az anyag lebontásához elegendő számú speciális mikrobával, így a populáció szelektálódási folyamatai a hosszabb lag-periódusban és az elhúzódó biodegradációs folyamatban mutatkoznak meg.

2.4.2.3.4. Egyéb változók szerepe (hőmérséklet, pH, levegőztetés, kevertetés intenzitása)

A szabványos tesztekben ajánlott hőmérséklet $20-25\pm 1^{\circ}\text{C}$ között ingadozik, bár egyes kutatócsoportok az ennél nagyobb értékek mellett foglalnak állást: COMA et al. [1995], DERRADJI et al. [1996] és GATTIN et al. [2002] a komposztáló tesztekben ajánlott hőprofil szerint (ld. 2.4.3.2.3. alfejezet) ill. kontans 58°C -on végezték el vizsgálataikat – amelyek realitása a folyadék közegű tesztek esetén több mint megkérdőjelezhető, bár ez a kapott eredményeken nem tükröződik. Ehhez kapcsolódik AGARWAL et al. [1998] kísérlete, melyben azt vizsgálták, hogy folyadék közegű tesztben van-e szerepe a hőmérséklet emelésének; tapasztalataik szerint az 50°C körüli érték lehetne megfelelő, míg a 60°C már túl nagy és egyértelműen visszaveti a biodegradációt. KARJOMAA et al. [1998] a folyadék közegű tesztet 25°C ill. 58°C hőmérsékleten vitték végig; kísérleteik során arra a következtetésre jutottak, hogy bizonyos anyagok biodegradációjának kedvez, míg más típusúaknak kifejezetten hátrányos a nagyobb hőmérséklet. Az 58°C hőfoktartományban meghatározott degradációs értékek a vizsgált anyagoktól függően 70% (nagyobb hőmérsékleten jobban bomló) és 50% (inkább kisebb hőfokon degradálódó) között ingadoztak.

A folyadék közeg kémhatását különösen a hosszabb (akár 6 hónap) időtartamig működő, dinamikus rendszerek esetén kísérik kiemelt figyelemmel, tekintettel arra, hogy ezekben a tesztekben a pH $7,0-7,4\pm 0,2$ közötti értéken tartása az általában nagy inokulumkoncentráció, nagy mintamennyiség és ebből adódóan a nagyobb CO_2 -felszabadulás miatt nagyobb pufferkapacitást igényel, mint a statikus rendszereknél [STRUIJS et STOLTENKAMP 1990, ITÄVAARA et VIKMAN 1996]. Amennyiben a közeg nem megfelelően pufferelt, akkor a kémhatás a folyamat végére jelentősen lecsökkenhet (pH=7,2-ről 4,5-re 35 nap alatt). A kémhatásnak fontos szerepe van a szerves szén megoszlásában: savas tartományban a gázfázisban nagyobb a mennyisége; így a semleges körüli kémhatásra pufferelt közeg a folyadékfázis DIC tartalmának növekedésének kedvez, míg a levegőztetés (a CO_2 eltávolítása révén) csökkenti a DIC értékét a folyadék közegben [ITÄVAARA et VIKMAN 1995b].

A levegőztetés intenzitását a dinamikus tesztekben viszonylag tág intervallumban adják meg ($50-100\text{ ml min}^{-1}$), hasonlóan a kevertetés intenzitásához, amely $150-300\text{ min}^{-1}$ között változhat.

2.4.2.4. A statikus és a dinamikus folyadék közegű tesztek összehasonlítása

A statikus tesztek előnyére írható, hogy igen egyszerűen kivitelezhetőek, mivel nem igényelnek bonyolult felszerelést; hátrányuk lehet viszont a korlátozott aerob kapacitásból adódóan a közegbe juttatható kisebb mennyiségű vizsgálati anyag ill. inokulum. A nem levegőztetett mérésnél az O_2 mennyiségének limitáló hatása jól látható: amennyiben nincs elegendő O_2 a rendszerben, úgy nem figyelhető meg olyan nagy degradációs fok, mint ugyanolyan anyagmennyiség mellett egy jól levegőztetett mérőrendszerben. ITÄVAARA és VIKMAN [1995b] szerint még az is kijelenthető, hogy amennyiben elegendő O_2 áll rendelkezésre, akkor a minta mennyiségének nincs is jelentősége. Ennek a gondolatmenetnek a továbbvitele az a kijelentés is, hogy a minta mennyisége azért nem jelentős bemeneti változó a vizsgálatok során, mivel a degradációs fok anyagi paraméternek tekinthető [KEURSTEN et GROENEVELT 1996]. Mindez természetesen csak bizonyos korlátok közt fogadható el, hiszen a mintának egyrészt kellően nagy koncentrációban kell rendelkezésre állnia az alkalmazni kívánt analitikai meghatározáshoz, másrészt a választott mennyiség még nem lehet gátló a teszt-mikroorganizmusok számára a vizsgálat körülményei között.

A levegőztetett rendszerek talán legfőbb előnye, hogy teljesen kiküszöbölhető az O_2 limitáló hatása, így felgyorsul a légzési folyamat, lerövidítve a lebomlási tesztek időtartamát. A dinamikus rendszerek további előnye, hogy segítségükkel kinetikai tanulmányok is elvégezhetőek ill. lehetőség nyílik a mérés automatizálására [CALMON-DECRIAUD et al. 1998].

Az oxigén fogyasztást nyomon követő tesztek esetén mind a statikus, mind pedig a dinamikus rendszerekben egyrészt a nitrifikáció okozhat számottevő problémát azzal, hogy a nitrifikáló baktériumok tevékenységéből adódó $NH_4^+ \Rightarrow NO_3^-$ átalakulás kiemelkedő oxigénigénye meghamisíthatja a mérési eredményeket, másrészt a lebomlással párhuzamosan futó egyéb reakciók (abiotikus / kémiai / oxidáció) is fogyaszthatnak oxigént [CLESCERI et al. 1989, GOTVAJN et ZAGORC-KONČAN 1999a,b]. Ebből adódóan az O_2 felvétel meghatározásán alapuló tesztek gyakran éri az a kritika, hogy kevésbé alkalmasak a biodegradálhatóság megállapítására; amennyiben például a minta nitrogéntartalma az átlagosnál nagyobb mértékű, párhuzamosan elvégzett nitrit- és nitrátanalízis végrehajtására lehet szükség [STRUIJS et STOLTENKAMP 1990, STRUIJS et VAN DEN BERG 1995]. Ebből következik, hogy a dinamikus tesztekben végrehajtott CO_2 -mérés minőségileg értékesebb, hibákkal-háttérzajjal kevésbé terhelt információt szolgáltat az anyag lebomlásának folyamatáról az O_2 fogyasztás méréséhez képest.

2.4.3. Szilárd közegű szabványos tesztek

2.4.3.1. Általános bemutatás

A szilárd közegű szabványos tesztek viszonylag egyszerűen áttekinthetőek, ugyanis valamennyi egyetlen tesztre, a DE BAERE et al. [1994] által kidolgozott vizsgálatra épül. Ennek a tesztnek csaknem változtatás nélküli átvétele az ISO 14855, az ASTM 5338 és a legutóbbi DIN 54900 szabványok, az ún. „aerob komposztáló tesztek” [TOSIN et al. 1996, PAGGA 1998] (ld. 6. Melléklet táblázata). Az eredeti eljárást úgy tervezték, hogy modellezze „szimulálja” a jellegzetesen aerob komposztálási viszonyokat; ennek ellenére mégsem tekinthető „szimulációs tesztnek”, hiszen sem a tesztedények mérete, sem a vizsgált minta mennyisége, sem pedig az intenzív levegőztetés miatt nem felelhet meg annak. Egy további – talán a legjelentősebb, az alapeljárást és a ráépült szabványos vizsgálatokat egyaránt érintő – kritika szerint mindezen vizsgálatok érett (IV-V. érettségi fokú) komposzttal dolgoznak, míg a gyakorlati tapasztalatok szerint a biológiai hulladékból frissen kialakult (II-III. érettségi fokú) komposzt jóval nagyobb degradációs képességgel bír, mint a tesztekben használt komposzt – nem is beszélve azokról a nem szabványos tesztekéről, amelyek a komposzt helyett annak alapanyagait használják vizsgálati közegként (ld. 2.5.2. alfejezet).

A szilárd közegű szabványos tesztek valódi feladata és gyakorlati célja tehát nem a komposztálás laborléptékű modellezése, hanem a vizsgálandó anyag teljes biológiai lebomlásának bemutatása és ezen folyamat megkülönböztetése az abiotikus széteséstől. Valamennyi szabványos rendszer felépítése megegyezik a folyadék közegű tesztekénél már korábban ismertetett dinamikus mérőrendszer felépítésével, azzal a két eltéréssel, hogy (I) a tesztedényekben szilárd vizsgálati közeg (komposzt) és a vizsgálati anyag keveréke foglal helyet, így állandó levegőztetés mellett a mikroorganizmusok számára a lehető legmegfelelőbb feltételek jöhetnek létre, másrészt (II) a lebomlás folyamatát szinte kizárólag a felszabaduló CO₂ mennyisége alapján követik nyomon [PAGGA et al. 1995, PAGGA 1999, CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. A vizsgálatok kiegészülhetnek a teszt végén (általában 45 napot követően) a tesztanyag tömegveszteségének meghatározásával, valamint a minta szétesésének leírásával is [PAGGA et al. 1996, ITÄVAARA et VIKMAN 1996].

2.4.3.2. Kísérleti körülmények

2.4.3.2.1. A vizsgálati közeg

Valamennyi szabványos teszt aerob komposztálóból származó 2-4 hónapos (IV-V. érettségi fokú), háztartási hulladék eredetű komposzttal dolgozik, amelyből a felhasználása előtt gondosan eltávolítják az el nem bomlott részeket és az idegen anyagokat (üveg, kő, fém). Az ASTM ill. ISO szabványok a vizsgálati közegként használt komposztra pH 7,0-8,2 közötti, míg a DIN

szabvány 7,0-9,0 közötti értéket írnak elő, továbbá ideálisan 50-55% közötti nedvességtartalmat és a szárazanyagra vonatkoztatva legalább 30% és legfeljebb 70% izzítási veszteséget. Ezen körülmények megléte különösen fontos a mikrobák anyagcseréje és szaporodása szempontjából; pl. a kiugró (65%-nál nagyobb) nedvességtartalom anaerob viszonyok kialakulásához vezethet, így az ideális értéket nemcsak a teszt kezdetén, de a vizsgálat alatt folyamatosan felügyelni kell [GARCÍA-VALCÁRCEL et TADEO 1999]. Az időben elhúzódó teszteknel szükség lehet a csökkenő nedvességtartalom visszaállítására, amelyet a bemeneti levegő desztillált vizet tartalmazó edényen való átvezetésével, vagy a mintaedények vízvesztésének a tömegcsökkenés vizsgálata alapján végrehajtott pótlásával oldanak meg [PAGGA et al. 1995, 1996]. A nitrogén / szén (N/C) arányt valamennyi szabvány meglehetősen tág intervallumban (1:10 - 1:40 közötti értéken) írja elő, szükség esetén NH_4Cl adagolását javasolva a vizsgálati közeghez [GRIMA et al. 2002a]. Mindezzel összecseng TOSIN et al. [1996] közleménye is, melyben a kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy az anyagok biodegradációja szempontjából a komposzt pH-ja és a porozitása sokkal nagyobb jelentőséggel bír az N/C arányhoz képest. A vizsgálati közeg eredetével kapcsolatban VIKMAN et al. [1995] ill. GARCÍA-VALCÁRCEL és TADEO [1999] véleménye szerint a kereskedelmi forgalomban kapható komposztok hasonlóan jól alkalmazhatóak, mint bármely más (üzemi eredetű) komposzt, tekintettel arra, hogy többnyire azokat is zöld részekből állítják elő.

A szakirodalomban fellelhetőek olyan közlemények is, melyek komposzt helyett talajt használnak szilárd vizsgálati közegként. Legtöbbször mezei vagy erdei talaj szerepel a leírásokban; mindezek homogén, a levegő számára jól átjárható szerkezetűek, azonban az adott évszaknak megfelelően változó tulajdonságokkal bírnak. Ezt kiküszöbölendő, sok esetben a keveréktalajok alkalmazása mellett álltak ki a kutatók [YABANNAVAR et BARTHA 1993, KEURSTEN et GROENEVELT 1996]. Bár jó minőségű talaj használata esetén a kísérletek megbízhatósága számos esetben kielégítőnek bizonyult és az 5%-nál kisebb szervesanyag-tartalom miatt a közeg háttér CO_2 -termelése kedvezően kis mértékű, a szilárd közegű tesztekben a talaj valószínűleg nem váltja majd fel a komposztot, mivel az utóbbi közegben sokkal gyorsabban játszódnak le a lebomlási folyamatok [GRIMA et al. 2002a].

A korábban említett (2.4.2.3.3. alfejezet), hidegtárolási módszer egyértelműen behatással bír a közeg mikrobiológiai jellemzőire [LEE et al. 2000]. Amennyiben nem azonnal kerül a talaj egy tesztben felhasználásra, akkor célszerű eltárolni (4-5°C-on), de az ezt követő felhasználás előtt szükséges egy rövid, szobahőmérsékletű, stabilizációs periódus beiktatása is. Lehetőség szerint frissen gyűjtött (2-3 napos) talajjal érdemes dolgozni; ha akár hosszú, akár rövidebb ideig mégis tárolni szeretnénk, 40-50% WHC (víztartó képesség) biztosításával, azt 4°C hőmérsékleten kell

megtenni. Amennyiben hosszabb ideig tartjuk a talajt ezen a hőfokon, akkor felhasználás előtt mindenképp szükség lehet 3-4 hetes előinkubációra.

2.4.3.2.2. Mintaedények mérete, a vizsgálati minta mennyisége, formája

A mintaedény térfogatára a vonatkozó szabványok általában 2-5 litert javasolnak, bár a DIN szabvány ennél kisebb térfogatokat is megenged. A gyakorlatban általában a nagyobb mintaedények használata terjedt el, amelynek háttérében a minél nagyobb mennyiségű vizsgálati anyag bekeverésére irányuló törekvés áll. Mindez azért lényeges, mivel több vizsgálati közegbe arányaiban jóval több vizsgálati anyagot lehet bekeverni, s így növelhető a minta lebomlása során felszabaduló CO₂ / komposzt által termelt CO₂ (egyfajta jel / háttérzaj) arány, javítva a mérések kimutatási határát. Amennyiben a vizsgálati közeg komposzt, úgy célszerű a 6-10 : 1 vizsgálati közeg : minta arányt tartani, míg komposzt helyett talajkeveréket használva az ennél kisebb mintamennyiség is megfelelő lehet [YABANNAVAR et BARTHA 1993, SHARABI et BARTHA 1993, KEURSTEN et GROENEVELT 1996, GRIMA et al. 2002a]. A minta valamennyi szabványos teszt esetén por alakban kerül vizsgálatra, egyedül a az utoljára elfogadott DIN szabvány tesz említést film formájú minta használatáról.

2.4.3.2.3. Hőmérséklet

A szabványos tesztek közötti egyedüli lényeges eltérés a vizsgálati hőmérsékletben mutatkozik: az ISO és DIN szabványok az eredeti DE BAERE eljárásnak [1994] megfelelően állandó, mégpedig a valós komposztálás során általában tapasztalható legnagyobb hőmérsékleten ($58\pm 2^{\circ}\text{C}$), míg az ASTM ill. DIN szabványok olyan hőmérsékleti lépcsőprofil szerint folytatják le a vizsgálatot, amelynek alapja az ideális komposztálás során kialakuló hőmérséklet-változás: 1. nap $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, 2-4. nap $58\pm 2^{\circ}\text{C}$, 5-28. napig $50\pm 2^{\circ}\text{C}$, majd ezt követően a teszt végéig $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ [ITÄVAARA et al. 1995a]. Bár számos vizsgálat is irányult arra, hogy el lehessen dönteni, vajon a konstans érték vagy a hőmérsékleti lépcső bír inkább létjogosultsággal a BDP-k vizsgálatában, azonban a kutatók vagy nem találtak különbséget a kapott lebomlás mértékében, vagy pedig a vizsgálati anyag minőségétől tették függővé az alkalmazandó hőmérsékleti értéket [PAGGA et al. 1995, CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. PAGGA [1997a] vizsgálatai arra az eredményre vezettek, hogy a kis olvadási hőmérséklettel rendelkező alifás poliészterek, pl. a polikaprolakton (olvadáspont: 60°C) bizonyítottan biodegradálható jellege ellenére sem bomlott le nagy hőmérsékleten, viszont a hőmérsékleti lépcső alkalmazása esetén biodegradálhatónak mutatkozott. Azok az alifás poliészterek, amelyek viszont nagyobb olvadási hőmérséklettel rendelkeznek (politejsav), könnyebben bomlanak le állandó hőmérsékleten és sokkal nehezebben a hőmérsékleti lépcsőre építő tesztekben.

Noha a magyarázat még várat magára, gyakorlati megfontolásokból inkább az állandó hőmérséklet alkalmazása terjedt el [PAGGA 1997a], egyben azt is feltételezve, hogy általában az állandó nagyobb hőmérséklet erőteljesebb bomlást is eredményez, mivel a körülmények a kezdetektől fogva „kedvezőbbek”. Ugyanakkor számos közlemény kérdőjelezi meg a megnövelt hőmérséklet létjogosultságát érett komposzt esetén [többek közt YUE et al. 1996], arra hivatkozva, hogy az üzemi komposztálás során a hőmérsékleti lépcső és a nagy hőmérséklet *magától jön létre*, míg a tesztek során mindez nem több, mint mesterségesen fenntartott körülmény, amelyet nem feltétlenül indokolt érett komposzt esetén is alkalmazni, tekintettel arra, hogy ez a közeg már főleg mezofil mikrobákat tartalmaz. Talajkeverékek esetén viszont feltétlenül a kisebb, 25-27°C közötti hőmérséklet lehet a megfelelő, bár az utóbbi időben a 10-25°C közötti tartomány használata kezd előtérbe kerülni [GRIMA et al. 2002a].

2.4.3.2.4. Levegőztetés

Tekintettel arra, hogy a teszt során a folyamatnak végig aerob körülmények között kell maradnia, a levegőztetés intenzitására igen nagy hangsúly helyeződik; ennek ellenére a levegő áramlási sebességét kizárólag a DIN szabvány pontosítja 50-100 ml min⁻¹ közötti értéken. A rendszerek beállításánál és optimalálásánál figyelembe kell venni, hogy a túlzott levegőztetés kiszáritja és lehűti a közeget, míg a túlzottan kis intenzitás lelassíthatja a bomlási folyamatot. Talajkeverék esetén kisebb az ajánlott térfogatáram, de pontos érték nem kerül megnevezésre. Inert anyagok hozzáadásával a levegőztetés hatékonysága megnövelhető ill. az időszakos átkeverés is hatékony lehet [GRIMA et al. 2002a]. A levegőztetés – a folyadék közegű tesztekben – minden esetben CO₂-mentes levegővel történik, melynek előállítása teljesen megegyezik a 2.4.2.2. alfejezetben elmondottakkal. A távozó levegő CO₂-tartalmának mérése közvetlen és közvetett módszerekkel egyaránt végrehajtható, bár a vonatkozó körelemzések szervezői gyakorlati okokból a közvetlen meghatározás mellett foglalnak állást [PAGGA et al. 1995, GRIMA et al. 2002a].

2.5. NEM SZABVÁNYOS, SZILÁRD KÖZEGŰ LABORATÓRIUMI TESZTEK

A nem szabványos, szilárd közegben végrehajtott tesztek általában annyiban jelentenek előrelépést a szabványos módszerekhez képest, hogy a laboratóriumi komposztálás folyamatát léptéknöveléssel ill. a közeg összetételének változtatásával igyekeznek közelíteni a valós folyamatokhoz, és kísérletet tesznek a maradék polimerek teljes kinyerésére, valamint ennek megfelelően szénmérleg elkészítésére.

2.5.1. Szilárd közegű „screening” (felmérő) tesztek

A lebomlás folyamatának nyomon követésére a BDP-ket előállító cégek alkalmaznak olyan egyszerű teszteket, amelyek a szabványoktól eltérően, vizuális meghatározáson alapuló módszerrel kísérik figyelemmel az anyag lebomlását [CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. A vizsgálandó anyagot film formában kerethez rögzítik és komposztba helyezik, majd adott időközönként (többnyire csak szabad szemmel) megvizsgálják méretének-külsejének állapotát. Ennek a viszonylag egyszerű módszernek talán az nyújt létjogosultságot, hogy azon kevés számú vizsgálati eljárások közé tartozik, amelyek a mintát a valóban komposztálásra kerülő formában (tehát nem finomra őrölt porként) tesztelik.

2.5.2. Kísérlet a szabályozott összetételű vizsgálati közeg létrehozásához

A hagyományos komposztnak az eredeti összetevők arányának függvényében meglehetősen változó az összetétele; gyakran nehéz állandó minőséget és így a biodegradációs mérések reprodukálhatóságát biztosítani. Erre a problémára keresett megoldást az az eljárás, amely az ismeretlen eredetű komposztösszetevők arányának csökkentésével és visszavezethető alkotók adagolásával hoz létre egy viszonylag állandó összetételű, mesterségesen kialakított „komposztot”. YUE et al. [1996] PHB és P(HB-HV) degradációjának tanulmányozására a következőképpen állította össze az összesen 160 g tömegű vizsgálati közegét: felaprított juhar / tölgyfa levél, aprított újságpapír és leporelló, szárított marhatrágya, karbamid, fűrészpor, hús- és élelmiszerhulladék (borsó, répa, fehér kenyérbél, zsírszegény tej) valamint komposzt oltóanyag – mindezt 0,1 gramm pontossággal összemérve. Elvileg tehát a többnyire ismeretlen eredetű komposzthoz képest reprodukálhatóbb közeggel állunk szemben, bár nyilvánvalóan kérdésként merülhet fel a homogenitás mértéke és annak biztosítása. A közegben lezajló bomlási tevékenységgel együtt járó hőtermelés érvényesülése helyett a kutatók a kísérletnek teret adó bioreaktort 55°C fok hőmérsékletű inkubációs kamrában helyezték el. TOSIN et al. [1996] ugyancsak mesterséges komposzttal (40% fűrészpor, 30% nyúltakarmány / szárított lucerna, cukornád melasz, búzakorpa, szőlőmag-, napraforgó-, szójabab- és kukoricaglutén-őrlemény/, 10% érett komposzt, 10% kukoricakeményítő, 5% szacharóz, 4% kukoricaolaj, 1% karbamid) végeztek kísérleteket: a minta beágyazását 300 × 195 × 95 mm méretű, levegőcserét biztosító furatokkal ellátott, fedeles PP edényben hajtották végre, melynek tömegét a mérés kezdetén meghatározták, és naponta pótolták a vízvesztéséget. Az edényt és tartalmát 50°C fokon termosztálták; a folyamatot 45 napig kísérték nyomon, hetente végrehajtott CFU meghatározással és napi rendszerességgel elvégzett közegátkeveréssel. A vizsgálati anyagok tömegcsökkenésére vonatkozó kiértékelés nem tárt fel lényeges különbséget a mesterséges ill. az érett komposzt

között; bár a vizsgálat ideje alatt a felhasznált mesterséges közegben sem a baktérium, sem pedig a gomba csíraszám nem ért el olyan nagy értéket, mint amellyel a komposzt rendelkezett.

2.5.3. Léptéknövelt laboratóriumi tesztek

Tekintettel arra, hogy a szabványos tesztek kis térfogatú edényeikből kifolyólag csak kis mennyiségű anyag vizsgálatára alkalmasak, valamint a vizsgálati hőmérséklet kialakítása mesterségesen történik meg, valójában alkalmatlanok a hétköznapi komposztálási folyamat modellezésére. Olyan tesztek kidolgozására van szükség, amelyek nagyobb térfogattal dolgoznak, nagyobb mennyiségű mintát vizsgálnak és a hőmérsékletet is „maguk” (természetes bomlási folyamatokból származó hőenergia révén) alakítják ki.

A finn VTT - Technical Research Centre of Finland - intézet az előbbi feltételeknek megfelelő, ún. „VTT-CO₂-komposzt teszt” eljárást dolgozott ki 1996-ban [ITÄVAARA et VIKMAN 1996]. Vizsgálataik során 300-600 liter térfogatú, biológiai (zöldség- és gyümölcs-) hulladékkal töltött, levegőztetett edényekkel dolgoztak, amelybe a tesztelendő anyagokat keretre rögzítve helyezték be. A jobb levegőzés érdekében a hulladékot 2:1 arányban fakéreggel keverték. Az összeállított rendszert nem termosztálták, így benne természetes módon emelkedett meg a hőmérséklet, amely egyúttal a bomlási folyamatok nyomon követésére is szolgált, a komposztálás aktivitását jelző egyéb paraméterek (O₂ fogyás, CO₂ felszabadulás) folytonos mérése mellett. Természetesen adott időszakonként más működési paraméterek (pH, gőztér nedvességtartalma, C:N arány, a hulladék tömegvesztesége, a közeg NH₄⁺-, NO₂⁻ és NO₃⁻-tartalma) figyelésére és a minta változó fizikai / kémiai tulajdonságainak (tömegcsökkenés, nyújthatóság, molekulatömeg-megoszlás) dokumentálására is sor került [ITÄVAARA et al. 1995a].

Az eddigiek alapján kétségtelenül ez a teszt áll legközelebb a valós komposztálás folyamatához; ugyanakkor a hulladék igen heterogén minőségű lehet, s így a teszt ismételhetősége több mint kérdéses; másrészt a gyakorlatban a komposztálás időigénye több hónapra is rúghat, amelynek laboratóriumi rekonstruálása nehezen megoldható feladat. GHORPADE et al. [2001] ez utóbbi hátrányos tulajdonságot úgy szüntették meg, hogy vizsgálati közegként előkomposztált hulladékot használtak fel, így lényegesen rövidebb, gyakorlatilag 4 hetes időtartamra tudták szorítani a vizsgálat időtartamát. Ezzel a megoldással lehetővé tették, hogy a CO₂-komposzt teszt előnyös tulajdonságai tovább éljenek egy módosított eljárás keretében.

2.5.4. Szervetlen közegek a biológiai lebomlás vizsgálatának szolgálatában

Az eddig ismertetett nem szabványos szilárd közegű módszerek mindegyike a fennálló szabványok valamely hiányosságát próbálta pótolni. Létezik azonban egy fontos bomlási mutató, a szénmérleg (ld. 2.7.5. alfejezet), melynek meghatározása kivitelezhetetlen a komposzt vagy talaj használatára építő eljárásokban – az ok magától értetődő, hiszen ezekből a közegekből a legnagyobb gondossággal sem lehet épen és szennyezésmentesen visszanyerni a vizsgált anyagok bomlási maradékait és a komposzt nagy szervesanyag-tartalmából fakadó nagy háttér CO₂-termelés pontatlanná teheti a számításokat.

TOSIN et al. [1998] és DEGLI-INNOCENTI et al. [1998] elegáns megoldást kínáltak fel a probléma megoldására. Fejlesztésük célja egy olyan szilárd fázisú teszt kidolgozása volt, amely során a maradék anyag és a kis molekulájú összetevők vizsgálata nem ütközik akadályokba. Kísérleti rendszereikben a kutatók a jelenleg alkalmazott, szerves szilárd közegek helyett komposzteredetű inokulummal aktivált inert hordozókat használtak fel. Az általuk választott, ígéretes anyag a vermikulit agyagásvány $((\text{MgFeAl})_3(\text{AlSi})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \times 4 \text{ H}_2\text{O})$ volt, amelyet „hópihe” formában a következő tulajdonságok jellemeznek:

- a komposzteredetű mikrobák könnyen szaporodnak el a felületén az aktiválási periódus alatt;
- víztartó képessége kiemelkedő (300%), amely jobb, mint a komposztoké (110%-230%) és a talajoké (28-45%);
- szerves és szervetlen oldószerekkel egyaránt könnyen extrahálható, így a maradék polimer és a köztes termékek könnyen kinyerhető a közegből, akár centrifugálással is;
- nincs háttér CO₂ termelése, mivel nem tartalmaz szerves anyagot.

A vizsgálatok során a minta lebomlása közben fejlődő CO₂ mennyiségében a kutatók nem tapasztaltak szignifikáns eltérést a párhuzamos, komposztot alkalmazó mérésekhez viszonyítva. Ugyanakkor a vermikulit hátrányaként említhető, hogy negatívan töltött felületű ionos közeg, így könnyen ionos kölcsönhatásba léphet a vizsgálati anyaggal. Erre az esetre a vermikulitos eljárást kifejlesztő kutatócsoportok a semleges hordozóként számításba jövő perlit használatát javasolják [BELLIA et al. 1999, 2000].

A szervetlen inert közeg bevezetésétől a szakterület kutatói azt remélik, hogy a szénmérleg – a folyadék közegű tesztekkel analóg módon – elkészíthetővé válik, és a biodegradáció folyamata ne függjön a talaj vagy komposzt változó összetételétől és jellemzőitől (nedvesség- és szervesanyag-tartalom, C/N arány) [GRIMA et al. 2002b]. Az eljárásnak köszönhetően várhatóan a szilárd közegű tesztek elfoglalják majd valódi helyüket a mérési módszerek között, és a folyadék közegű tesztek már csak mint „screening” eljárás kerülnek alkalmazásra [PAGGA et al. 1995, ITÄVAARA et VIKMAN 1996].

2.6. A TALAJOK BIOLÓGIAI AKTIVITÁSÁNAK MÉRÉSI MÓDSZEREI

A biológiai lebomláshoz kapcsolódó, szilárd közegű vizsgálatok és a talajok biológiai aktivitásának mérési eljárásai között analóg kapcsolat hozható létre a közös pontok, így az azonos (vagy nagymértékben hasonló) vizsgálati közeg és a felszabaduló CO₂ mennyiségének meghatározási módja által. Ebből kifolyólag a biológiai aktivitás méréséről összegyűjtött ismeretek, melyek a biológiai lebomlás tanulmányozásának korszakát több évtizeddel előzték meg, hasznos módszerfejlesztési alapot kínálnak fel.

A talajlégzés a talajban élő szervezetek együttesének összesített légzése, amelynek mérésével a klasszikus értelmezés szerint a talaj egész mikrobiológiai közösségének (mikrobiota) biokémiai aktivitásszintjét határozhatjuk meg. Elvileg a folyamatot a légzés mindkét irányában, tehát az O₂ fogyasztán és a CO₂ termelődésén keresztül nyomon követhetjük, feltételezve, hogy az előbbi csak az aerob légzésre utal. Létezik azonban nitrát-, vas-, szulfát stb. „légzés” (= abiotikus O₂ elnyelő folyamatok) is, melyek a talajok biokémiai reakciói során lényegesek lehetnek. A talajok O₂ felvételének mérésével tehát a tényleges összesített biológiai aktivitást semmi esetre sem határozhatjuk meg. Ezzel ellentétben a CO₂ felszabadulás a lebomló folyamatok szélesebb skáláját tükrözi, tekintettel arra, hogy a szerves anyagokból végbemenő bármiféle biológiai energianyerés eredményez, ill. eredményezhet CO₂ termelést – így ennek a paraméternek a mérése értékesebb információt szolgáltat [SZABÓ 1998].

A talajok biológiai aktivitásának kimutatását szolgáló módszereket két csoportra osztják: egy részükkel a talaj *aktuális* biológiai aktivitása, míg a másikkal a *potenciális* aktivitás határozható meg. Az aktuális talajbiológiai aktivitás meghatározása szabadföldi körülmények között történik, míg a potenciális aktivitást rendszerint laboratóriumban állapítják meg, ahol szabályozhatóak a környezeti feltételek (hőmérséklet, nedvességtartalom, levegőzés stb.). A talaj CO₂-termelése során megkülönböztetünk *alaplégzést* és *indukált* respirációt. Az előbbi a talaj természetes CO₂-kibocsátását jelenti, az utóbbi pedig a szervesanyag-bevitel eredményeként jelentkező CO₂-termelést. Ennek megfelelően a BDP-k vizsgálata megfelel az indukált respiráció mérésére kidolgozott módszerek alkalmazásának. Amennyiben az indukált CO₂ mennyiségét elosztjuk az alaplégzés értékével, megkapjuk az ún. *respirációs hányadost* [SZEGI 1979].

Bár a talajok biológiai aktivitásának mérése napjainkban többnyire dinamikus módszerrel (levegőztetve) történik, a legkorábbi vizsgálatok statikus, zárt rendszerűek voltak. A folyamatos levegőáramoltatás a talajbiológiai folyamatokat felgyorsítja, ezért a dinamikus módszerrel meghatározott CO₂-mennyiség jelentősen több, mint a természetes rendszerek CO₂-termelése. Maga a mérési összeállítás az idők során alig változott, csak a detektálás módja korszerűsödött: CORNFIELD az általa 1961-ben ismertetett módszerben [1961] még BaO₂-ban nyelte el a termelődő CO₂-ot, de olyan kialakítású rendszerben, amely a jelenleg igen elterjedtnek számító

„OXI TOP” (WTW Measurement Systems, Inc.; Myers, Florida, USA) mérőedények kialakításában is fellelhető [PAGGA et WURM 2001b], bár a CO₂ abszorbens szerepét az egyszerűbben kezelhető és jóval költségtakarékosabb NaOH tölti be. A dinamikus rendszerek egyik jellegzetes összeállítását SZEGI [1979] ismerteti, amelynek az általam alkalmazott, módosított formáját részletesen a 4.2.1. alfejezetben mutatom be.

Az első, a talajok O₂-fogyasztásának mérésére alapozott, automatizált mérőrendszert SCHEU [1992] dolgozta ki, lehetővé téve a kis mennyiségű talajmintákon zárt rendszerben, csaknem állandó légköri nyomásnál és gázösszetételnél végzett méréseket. Ezt a készüléket „automatizált elektrolitikus mikrorespirométer”-nek nevezték el; a „mikro” jelző arra utalt, hogy a berendezés csak nagyon kis mennyiségű talajminta befogadására volt alkalmas, tekintettel arra, hogy a mintatartója mindössze 25 mm × 30 mm méretű.

2.7. BIODEGRADÁCIÓS TESZTEK KIÉRTÉKELÉSE

2.7.1. Degradációs görbe, degradációs fok

Az anyagok biológiai lebomlását általában az O₂ fogyáson vagy a CO₂ termelésen keresztül követik nyomon és ezeket a mérési adatokat viszonyítják az O₂ vagy CO₂ azon maximális elméleti mennyiségéhez (ThOD, ThCO₂), amelyet a mikroorganizmusok felhasználnának ill. termelnének a vizsgált minta teljes lebontása esetén. Az anyag lebomlásához szükséges elméleti O₂ mennyisége (mg O₂ mg anyag⁻¹) az anyag összegképlete ismeretében, nitrifikáció nélküli esetben a következő módon számolható (DIN 54900 alapján):

$$\text{ThOD} = 16 [2c + 0,5(h - cl - 3n) + 3s + 2,5p + 0,5na - o] \text{ Mt}^{-1}$$

ahol az elemek dőlt kisbetűs vegyjelei (szén, hidrogén, klór, nitrogén, kén, foszfor, nátrium, oxigén) az adott elem számát jelentik a vizsgálati anyag összegképletében, Mt pedig az anyag átlagos relatív moláris tömegét mutatja (mg mol⁻¹).

Az anyag teljes lebomlása során felszabadult CO₂ mennyisége (mg) az anyag széntartalma ismeretében a következő módon számolható (DIN 54900 alapján):

$$\text{ThCO}_2 = m \times (C / 100) \times 44 / 12$$

ahol „m” a vizsgálati minta szárazanyagban megadott tömege, mg; „C” a vizsgálati minta szárazanyagra vonatkoztatott széntartalma, %; 4 2: a szén-dioxid molekulatömegének (44 g mol⁻¹) és a szén atomtömegének (12 g mol⁻¹) aránya.

A degradációs eredményeket a mért és az elméleti CO₂-érték hányadosaként, százalékos formában az idő függvényében ábrázolják és így kapják az ún. *degradációs görbét*. Az átlagos degradációs görbe – az általános mikrobiológiai szaporodási görbékkel analóg módon – általában tartalmaz egy *lag-periódust*, amelyben az inokulum adaptációja zajlik a tesztanyag összetevőihez; ezt követi a *degradációs szakasz*, amelyben a mikrobák tápanyagként hasznosítják a vizsgálati

anyagot és növekednek; végül egy *plató szakasz* zárja a képet, amelyben a degradáció befejeződik. Az egyes szakaszok hossza a vizsgált anyag összetételétől, a környezeti paraméterektől és a közeg tulajdonságaitól függ [STROTMANN et al. 1995].

A minta által az adott testben elért *degradációs fokot* ($D_t\%$) a degradációs görbe plató szakaszában határozzuk meg. Amennyiben ez nem lehetséges, mert például a teljes vizsgálati időtartam alatt növekedés figyelhető meg, akkor a teszt utolsó napján kapott értéknek fogadjuk el. Abban az esetben, ha a vizsgálat ideje alatt a görbe nem telítődött, az általános tapasztalatok szerint lehetőség nyílik a lefutás paramétereinek statisztikai úton történő becslésére [SRINIVASAN et VIRARAGHAVAN 2000], a következő telítési függvény képlet segítségével:

$$y = a(1 - e^{-b(x-c)})$$

ahol $y = \%$ a vizsgálati anyag ThCO_2 értékére vonatkoztatva; $a =$ degradációs görbe állandósuló értéke, $D_t\%$; $b =$ meredekség, d^{-1} ; $c =$ lag periódus hossza napokban, d ; $x =$ napok száma, d . Bár ez a fajta függvényelemzés alkalmas arra, hogy eldönthessük, érdemes-e folytatni a vizsgálatot vagy sem, természetesen nem helyettesítheti a valódi mérés elvégzését [WEYTIJENS et al. 1994].

2.7.2. Érvényességi kritériumok

Valamennyi szabvány a következő kritériumokat fogalmazza meg a mérés érvényességére (validálására) vonatkozóan:

- A mérés során alkalmazott, ún. pozitív (=bizonyítottan biodegradálható) referenciaanyagnak 45 nap alatt 70%-nál nagyobb degradációs fokot kell elérnie.
- A pozitív referenciaanyag degradációs fokának szórása nem lehet nagyobb, mint az átlag 20%-a.
- A párhuzamos vak mérőhelyekben lévő komposztnak a vizsgálat első 10 napja alatt izzított szárazanyagra vonatkoztatva $50\text{--}150 \text{ mg g}^{-1}$ közötti CO_2 -termelést kell elérnie. Nem teljesen érthető okokból kifolyólag ezen érték a vonatkozó közlemények egy részéből hiányzik ill. konkrét mértékéről megoszlanak a vélemények: többek közt PAGGA et al. [1995] a 10 nap alatt képződő, elégséges CO_2 -mennyiséget $10\text{--}53 \text{ mg g}^{-1}$ komposzt intervallumba helyezi.

A biodegradációs tesztek pozitív referenciaanyagokra meghatározott határértékeinek kritikai vizsgálatánál figyelembe kell venni, hogy általában a laboratóriumi körülmények rosszabbak ill. igen távol is állhatnak a valódi környezeti körülményektől, másrészt a vizsgálati eljárásokban a valódi környezethez képest nagyobb a tesztelendő anyag koncentrációja, kisebb az inokulum koncentráció és a tesztek ideje általában rövidebb annál az időnél, mint amely a mikroorganizmusok számára a természetben rendelkezésre áll az adott tesztvegyület bontásához. Mindezen tények együttesen magyarázzák azokat az eredményeket, amelyek arról tanúskodnak,

hogy még a nemzetközi körelemzésekben alkalmazott pozitív referenciaanyagok esetén sem sikerült elérni 100% degradációs fokot [PAGGA 1999].

2.7.3. Általános mérési összeállítás és a referenciaanyagok szerepe

A biodegradálhatóság megállapítása nem történhet csupán a mintákon végrehajtott mérésekkel: párhuzamosan több, egymástól független mérőegységet kell használni abból a célból, hogy felügyeljük (I) a mikroorganizmusok életképességét, (II) a háttér CO₂-termelést és (III) a polimerben esetleg jelen lévő gátló anyagok hatását. A 3. táblázat a szabványok által javasolt mérőegységeket mutatja be; mindezek ugyan nem egyeznek meg teljes mértékben a különböző szabványok leírásában, abban azonban mindegyik közös nevezőre jut, hogy a vizsgálati minta elemzésének teret adó „minta” egységen kívül pozitív kontrollra, és vakra a mérés validálása érdekében mindenképpen szükség van.

3. táblázat: A vonatkozó szabványokban javasolt mérőegységek. (*) Az inokulum a komposztot ill. a beoltott folyadék közeget is jelentheti.

<i>Mérőegység megnevezése</i>	<i>Mérőegység tartalmának összetétele</i>	<i>Mérőegység szerepe (ellenőrzi és / vagy igazolja a következő paramétereket)</i>
„minta”	inokulum* + minta	biotikus és abiotikus degradáció által okozott CO ₂ felszabadulás mérése
„vak”	inokulum	kizárólag a mikroorganizmusok által okozott CO ₂ felszabadulás + endogén légzés mérése
„pozitív”	inokulum + pozitív referenciaanyag (pl. mikrokristályos cellulóz)	az inokulum aktivitása, a mikroorganizmusok életképessége, a mérés validálása
„negatív”	inokulum + negatív referenciaanyag (pl. PE)	a mérés validálása
„steril”	minta + sterilizáló anyag (pl. HgCl ₂)	abiotikus degradációból származó CO ₂ mérése

A „negatív” mérőegység ún. negatív referenciaanyagot, tehát bizonyítottan nem biodegradálható anyagot tartalmaz; érdemes megjegyezni, hogy még napjaink szakirodalmában is a PE néhol biodegradálható műanyagként bukkan fel [JAKUBOWICZ 2003], ám ezen közlemények állításai több, mint megkérdőjelezhetők.

A „pozitív” mérőegység összeállítása során elvileg törekedni kellene arra, hogy a vizsgálandó anyaggal hasonló szerkezetű és formájú pozitív referenciaanyagot válasszunk. Cellulózalapú biodegradálható polimer esetén kézenfekvően adódik a mikrokristályos cellulóz használata, azonban keményítőalapú vizsgálati anyagok esetén a választás már nem ilyen egyértelmű: a por kiserelésű keményítő, a keményítőbontó enzimek és mikrobák széleskörű elterjedtségéből és az anyag vízzoldhatóságából adódóan napok alatt, teljes mértékben lebomlik,

míg a keményítóbázisú filmek esetén néhány nap olykor még a lag periódus befejeződéséhez sem elegendő. A megfelelő, adott vizsgálati anyaghoz illeszkedő referenciaanyagra többek közt azért lenne szükség, mert ennek lebomlása alapján végezzük a teszt validálását: a mérés akkor tekinthető érvényesnek, ha a pozitív referenciaanyag a vizsgálat során legalább 70%-ban lebomlott. A csomagolási célzattal fejlesztett biodegradálható anyagok azonban általában film formában állnak rendelkezésre, így meghatározott részecskeméretig történő aprításuk a gyakorlatban általában nem kivitelezhető. Ebből kifolyólag az lenne célszerű, ha szabványosított méretű és vastagságú filmcsíkok biodegradálhatóságát vizsgálnák, hiszen a minta alakja nyilvánvalóan befolyásolja a lebomlási folyamatot: ugyanazon minta biodegradációs megítélése eltérő eredményt mutathat attól függően, hogy por vagy film formában került-e vizsgálatra [CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. MUSMECI et al. [1994] pozitív referenciaanyag céljaira kellően meghatározott összetételű papírt (lignin, cellulóz, hemicellulóz mennyisége ismert) javasoltak, lévén nincs kereskedelmi forgalomban olyan referenciaanyag, amellyel a vízben oldhatatlan anyagokat össze lehetne hasonlítani. Felvetésük nem talált követőre, és a mai napig nincs validálási célra alkalmas anyag forgalomban.

2.7.4. A mérési eredmények értékelése

A vonatkozó szabványok szerint a homogén (tisztán egy polimert vagy annak monomerjeit tartalmazó) vizsgálati anyag akkor tekinthető biodegradálhatónak, amennyiben degradációs foka ($D_t\%$) a pozitív referenciaanyagra kapott érték legalább 60%-át eléri. Abban az esetben viszont, amikor a vizsgálati anyag különböző polimerek keveréke, akkor a határérték a referencia anyagra kapott degradációs foknak 90%-a [PAGGA 1998]. Homopolimerek esetén 60%-os határértéket a tesztkörülmények kedvezőtlenebb voltából adódóan kielégítőnek lehet tekinteni, mivel a valóságos komposztálási körülmények egyértelműen jobbak a laboratóriumi vagy félüzemi léptékhez képest; másrészt a tapasztalatok szerint azok az anyagok, amelyek elérik ezt a szintet a laboratóriumi vizsgálat folyamán, a környezetben teljes lebomlásra képesek [PAGGA 1997a].

2.7.5. Szénmérleg készítése folyadék közegben

A folyadék közegű tesztek óriási előnye, hogy bennük egyszerűen nyomon követhető a vizsgálati anyag sorsa, melyet legrészletesebben a következő egyenlet formájában tekinthetünk át [ITÄVAARA et VIKMAN 1995b]:

$$C_{\text{minta}} + C_{\text{(kezdeti) biomassa}} \rightarrow C_{\text{CO}_2 \text{ gáz}} + C_{\text{közegben oldott CO}_2} + C_{\text{reziduum}} + C_{\text{(végső) biomassa}}$$

A képletben szereplő tagok mindegyikére elvileg kidolgozott mérési eljárások állnak rendelkezésre. A vizsgálati minta széntartalma („ C_{minta} ”) még a közegbe keverés előtt elemanalizátor segítségével 0,01% pontossággal állapítható meg, s ugyanígy a „ $C_{\text{(kezdeti) biomassa}}$ ”

(mint TOC) is meghatározható, pl. az összekeverés előtti közeg egy aliquot (pontosan ismert térfogatú vagy tömegű) részének liofilezése vagy szárítása után. A távozó CO₂ („C₀ közegben oldott CO₂”) közvetett vagy közvetlen módon mérhető (ld. 2.4.2.2. alfejezet). Közvetett eljárás során a vizsgálati közeg – kémhatásától függően – beoldhatja a gőztér CO₂-tartalmát („C₀ közegben oldott CO₂”, DIC), amely ellen megfelelő pufferkapacitás választásával lehet védekezni ill. a közegben elnyelt CO₂-ot fel lehet szabadítani. Ez utóbbi módszerre két eljárást dolgoztak ki: (a) *savanyítást*, mely során a vizsgálati közeget pH=3 kémhatására állítják a folyamat végén cc. foszforsavat adagolnak, majd az oldatot egy órán át ráztatják, és újra meghatározzák a csapda CO₂-tartalmát; (b) *CO₂ konverzióját karbonáttá*; 1 ml térfogatú, 7 mol l⁻¹ koncentrációjú NaOH-ot fecskendeznek a folyadék közegbe, egyórás ráztatás után mintát vesznek és meghatározzák a közeg IC tartalmát [WEY TJENS et al. 1994].

A maradék polimer széntartalma („C_{reziduum}”) elvileg megállapítható úgy, hogy a vizsgálat végén mechanikai módszerrel (pl. centrifugálással, szűréssel) elválasztjuk a közegtől és elemanalizátorral széntartalmat határozzunk meg. Ez az egyszerűnek tűnő lépés azonban a gyakorlatban számos ok miatt kivitelezhetetlen. A reziduum felületén ugyanis a lebontási tevékenységből adódóan mikrobák telepednek meg, így a szénmérésnél nem csak a maradék polimernek, hanem a sejtek (tehát a biomassza) egy részének szénttartalmát is megkapjuk. Ráadásul az eredetileg oldhatatlan vizsgálati minta bomlási köztes- és végtermékei nem feltétlenül oldhatatlanok, így a mechanikai elválasztás sikere több mint kétséges. Másrészt a mikrobák anyagcseretermékei, valamint a polimer komponensek a közegben fellelhető humuszanyagokhoz is kötődnek, amely révén az anyagok egy része a lebomlás számára hozzáférhetetlenné válik.

Mindezekből kifolyólag „kerülő” út alkalmazására van szükség. A közegben oldott CO₂ kihajtását és meghatározását (DIC) követően a „C_{(kezdeti) biomassza}” méréséhez hasonlóan meg lehet állapítani a közeg teljes széntartalmát (DOC = TOC ebben az esetben), amely magába foglalja a „C_{reziduum}”-ot + a „C_{(végső) biomassza}”-t. Ezután a csak az utóbbi taghoz tartozó, mikrobiológiai szervezetekhez köthető (=biomassza) széntartalmat a közeg fehérjetartalmának mérésén keresztül állapíthatjuk meg, közvetett módon [ITÄVAARA et VIKMAN 1995b]:

$$C_{(végső) biomassza} \text{ (mg)} = \text{fehérje (mg)} \cdot (0,41 / 0,21)$$

A két konstans érték onnan származik, hogy általános tapasztalatok szerint a biomassza 21% fehérjét és 41% szenet szokott tartalmazni. A DOC és a „C_{(végső) biomassza}” különbsége „C_{reziduum}”-mal egyezik meg.

Ez a mérés sajnos hibákkal terhelt: a különböző mikrobák egyrészt eltérő mennyiségű fehérjét tartalmazhatnak, másrészt azonos mikrobafajon belül a sejtek fehérjetartalma sejtciklusuk függvényében változik (az exponenciális szakaszban a szárazanyag-tartalomnak akár 40-60%-a is

lehet), mindez pedig kihat a meghatározás pontosságára. Természetesen vannak egyéb, közvetett lehetőségek is a biomassza mennyiségének meghatározására, többek közt ATP, foszfolipid, teljes DNS ill. dehidrogenáz-aktivitás meghatározásán keresztül [ITÄVAARA et VIKMAN 1995b].

A biomassza széntartalmának ismerete a szénmérleg elkészítésének gyakran vitatott kérdése: a kutatók egy része jelentőségét hangsúlyozza [URSTADT et al. 1995], de akad olyan álláspont is, miszerint hosszabb idejű vizsgálat esetén a sejtek nagyobb hányada már többnyire lizáló szakaszban található és mindez feleslegessé teszi a széntartalom vizsgálatát [PAGGA et al. 2001a]. A kérdéssel foglalkozó ITÄVAARA és VIKMAN [1995b] arra a következtetésre jutottak, hogy a biomassza széntartalmával nem érdemes kiemelten foglalkozni, mivel méréseik szerint ez utóbbi csupán csak kb. 3%-a a vizsgálati minta széntartalmának. Másrészt feltehetően a biomassza széntartalmának pontatlan megállapításából ered az általában 100%-nál kisebb szénmérleg is: a közlemények leggyakrabban 89-94% közötti értékekre utalnak, miután összegezték a közeg DIC / DOC adatait a biomassza szén- és a gőztér CO₂-tartalmával. A nem teljes mérleg mögött a mintavételezés során bekövetkező veszteség is állhat, melyet automatikus méréssel lehet kiküszöbölni.

2.8. A FOLYADÉK ILL. SZILÁRD KÖZEGŰ TESZTEK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Bár a laboratóriumi biodegradációs tesztek nem abból a célból használjuk fel, hogy modellezzük a valódi komposztálási körülményeket, az utóbbi időben elfogadott szilárd közegű – és ennek megfelelően a valódi komposztálási körülményeihez közelebb álló – tesztek mégis sok szempontból alkalmasabbak a biodegradálható polimerek és csomagolóanyagok vizsgálatára, mint a folyadék közegűek. Ez utóbbi eljárások nagy száma ugyan azt mutatja, hogy ezen tesztek alkalmasak lehetnek vízben nem, vagy alig oldódó anyagok, így a BDP-k teljes biodegradációjának laboratóriumi tesztelésére, azonban az őket érő számos kritika mégis arra enged következtetni, hogy ezek a 90-es évek elején elhamarkodottan kerültek elfogadásra.

Természetesen mindkét csoportba tartozó eljárások alkalmazása során számos érv és ellenérv fogalmazódott meg velük kapcsolatban. A folyadék közegű tesztről a következő pozitív állásfoglalásokat említi a szakirodalom:

- könnyen összeállítható, egyszerűbb mérőrendszerre épít, mint a szilárd közegű tesztek [ITÄVAARA et VIKMAN 1996];
- könnyen biztosítható a vizsgálati közeg reprodukálhatósága, mivel egyszerűen elkészíthető, mesterséges közeget alkalmaz [CALMON-DECRIAUD et al. 1998];
- a közeg háttér CO₂-termelése gyakorlatilag elhanyagolható és nem zavarja a mérést;
- a vizsgálat végén a maradék polimerek és a biomassza egyszerű kinyerésére is lehetőség van, ebből adódóan elkészíthető a vizsgálati anyag bomlását leíró szénmérleg.

Egyes kutatók szerint a közegben kapott bomlási folyamat igen távol áll a természetes körülmények között megvalósulótól, így a folyadék közegben felállított szénmérlegnek nem szabad túlzott jelentőséget tulajdonítani [TOSIN et al. 1998].

Negatívumként a következőket említhetjük:

- a folyadék közegben alkalmazott inokulum eredetének sokfélesége a legfőbb oka annak, hogy ugyanazon anyag biodegradációs foka eltérő lehet a különböző párhuzamos mérések / laboratóriumok között, kis megbízhatóságú eredményekre vezetve [PAGGA et al. 1995];
- a folyadék közegű tesztek mesterséges közege nem kedvez az egysejtű gombáknak, a penészeknek és az *Actinomyces* fajoknak, tehát azoknak a mikrobáknak, amelyeknek elsődleges szerepe lenne az adott anyag biológiai lebomlásában [VAN DER ZEE et al. 1994]. Általános tapasztalat, hogy kb. 2 hétig nő a vizsgálati közegben a biomassza mennyisége, majd ezt követően hanyatlásnak indul és a 4. héten már az indulási értékre esik vissza [PAGGA et al. 1995];
- a folyadék közeg nem segíti elő a mikroorganizmusok felülethez kötődését, s így a biofilm réteg kialakulását [ITÄVAARA et VIKMAN 1996];
- a folyadék közegű tesztekben nem bomlanak le olyan mértéken az anyagok, mint ahogyan összetételük alapján becsülhető lenne; mindennek leggyakoribb okaként a tesztek során alkalmazott túlzottan kis hőmérsékletét említik [PAGGA et al. 2001a].

Az anyagok teljes biodegradációját szilárd közegben (komposztban, talajban) vizsgáló módszereknek sem célja, hogy modellezzék az anyag komposztálásának folyamatát, hiszen a szabványos tesztek érett komposzttal és nem a komposzt alapanyagaival (zöld növényi hulladék) dolgoznak. Mégis, egyedül ezekben az eljárásokban lehetséges a mikrobák számára olyan feltételeket teremteni, melyek közelítenek azokhoz a (nem feltétlenül ideális) körülményekhez, mint amelyek a vizsgálati anyag biológiai lebomlása során a valódi, nem laboratóriumi környezetben várhatóak [PAGGA et al. 1995].

Természetesen a szilárd közegű tesztek is több kritika érheti:

- a komposztban a nagy hőmérsékletnek köszönhetően a bomlási folyamatokban nem csupán a biodegradációnak, hanem az anyag kémiai hidrolízisének is rendkívül fontos szerep juthat. Ezt a – gyakran savas – hidrolízist egyrészt azok az összetevők katalizálják, amelyek a komposztban eredetileg is jelen vannak, másrészt azok, amelyek a vizsgálati anyagok lebomlása során válnak szabaddá [GRIMA et al. 2002a];
- a komposzt meglehetősen heterogén, összetett közeg, így a vizsgálati anyag maradékainak, és a degradáció alatt keletkező köztes termékeknek kinyerése nehezen kivitelezhető feladat; ebből következik, hogy a szénmérleg elkészítése nem tekinthető rutinszerű eljárásnak.

A felsorakoztatott ellenérvek dacára jelen pillanatban a szilárd közegű tesztek állnak a fejlesztési törekvések középpontjában. Ennek hátterében nem csupán az áll, hogy számukat illetően igen elmaradtak a folyadék közegű tesztekhez képest, hanem elsődlegesen az a tény, hogy a BDP-k biológiai lebomlásának vizsgálata során bebizonyosodott: ezekben a tesztekben az anyagok nagyobb degradációs fokot érnek el, és a tesztek időtartama is megfelel a laboratóriumi eljárásoktól elvárható értéknek, köszönhetően a megnövelt hőmérsékletnek és a valódi körülményekhez közelített vizsgálati paramétereknek. A szilárd inert hordozó (pl. vermikulit) bevezetése pedig lehetőséget teremthet a bomlási folyamat során képződött köztes termékek vizsgálatára és a szénmérleg készítésére is, kiküszöbölve a korábbi eljárások legnagyobb hátrányát.

Mindenesetre ezek a törekvések is jelzik, hogy még mindig bőven akad fejlesztésre szoruló (rész)terület a biodegradációs tesztekben. PAGGA et al. [1995, 2001a] két ISO szabványban rögzített biodegradációs teszt (ISO 14852, ISO 14855), Avicelre (mikrokristályos cellulóz) és fehérítetlen papírra kapott nemzetközi körelemzési eredményei meglehetősen nagy szórással terhelt degradációs fokokat mutatnak, mindkét teszt esetén (ld. 7. Melléklet).

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. VIZSGÁLATI ANYAGOK

3.1.1. A minták bemutatása

Kísérleteim során a következő típusú és összetételű anyagokkal folytattam biológiai lebomthatósággal kapcsolatos vizsgálatokat:

- Avicel® PH-101 mikrokristályos (50 µm szemcseméretű) cellulóz (Fluka; Buchs, Svájc); ez a por kiszerelésű készítmény valamennyi mérésnél pozitív referenciaanyagként került felhasználásra.
- Fehérítetlen, felületkezelt vagy felületkezelés nélküli papírok:
 1. „Dunasack N (DN)” alappapír;
 2. „Dunasack N (DN)” alappapír egyik oldalán PE bevonattal;
 3. „Dunasack N (DN)” alappapír egyik oldalán politejsav - polikaprolakton kopolimer bevonattal.

Ezek a papírminták a Nyíregyházi DUNAPACK Papírgyár termékei, melyeket az Oktatási Minisztérium (OM) által kiírt „Környezetbarát társított csomagolóanyagok előállítása” c. nyertes pályázat keretében állított elő. Ugyanezen témán dolgozott a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszéke, a Papíripari Kutatóintézet Kft. (Budapest) és a KÉKI, 2000 és 2002 között.

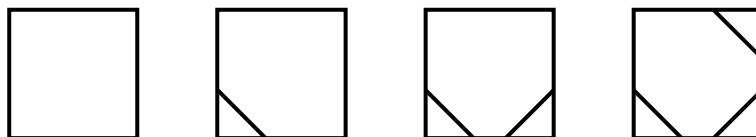
- Keményítő- (k) vagy alifás poliészter (af) alapú fóliák:

NF 803 (k), NF 01U (k), BF 103/51 (k), M-Bi SG 130 (k), M-Bi IP 816 (k), FARDIS-alifás poliészter (af), FARDIS-biodegradálható (k).

Ezek a fóliaminták a BIOPACK 2001 Csomagolóanyag-gyártó és Kereskedelmi Kft.-től (Bócs) származó, általuk a NOVAMONT (Olaszország) cégtől importált termékek, melyeket a „Biológiailag lebomló merevfalú csomagolóanyagok előállítására alkalmas berendezés és technológiai fejlesztése” c. nyertes OM pályázat keretében szereztek be. A KÉKI alvállalkozóként vett ebben a pályázatban részt 2001 és 2002 között. A felsorolt mintákat a BIOPACK 2001 Kft. bocsátotta rendelkezésünkre és mi az általuk alkalmazott jelöléseket vettük át. A minták eredetéről azt a tájékoztatást kaptuk, hogy valamennyi kereskedelmi forgalomban kapható, keményítő- vagy alifás poliészter alapú, biológiai úton lebomló fólia, de pontos összetételükről nem állnak adatok a rendelkezésünkre, tekintettel arra, hogy ezek az anyagok szabadalmaztatott termékek.

3.1.2. A minták előkészítése az egyes vizsgálatokhoz

A papír- és fóliamintákat – törekedve a szabályosan vágott élek kialakítására – gézollóval az adott vizsgálathoz leginkább megfelelő méretre szabtuk. A CO₂-ot mérő vizsgálatokhoz 5 mm × 5 mm-es, míg az ún. beágyazásos vizsgálatokhoz 20 mm × 20 mm méretű négyzeteket alakítottunk ki. Tekintettel arra, hogy ezen vizsgálatok több (3-4) párhuzamossal, de egy anyag esetén egy edényben zajlottak, így szükségessé vált a minták megkülönböztetése, amelyet a sarkok levágásával oldottunk meg az 5. ábrán bemutatott elv alapján.



5. ábra: A fólia- és papírminták beágyazást követő megkülönböztetését biztosító jelölések.

3.1.3. Az anyag-elővizsgálati módszerek általános bemutatása

- Szárazanyag-tartalom meghatározás: az analitikai mérleg pontossággal meghatározott ($\pm 0,1$ mg) tömegű vizsgálati anyagot 105°C-on 24 órán keresztül szárítottam, majd exsikkátorban szobahőmérsékletűre hűtöttem és visszamértem. A tömegcsökkenés mértékét az eredeti tömeghez viszonyítva százalékos formában adtam meg. Valamennyi minta vizsgálata 3 párhuzamossal történt.
- Széntartalom meghatározás: valamennyi minta esetén a vizsgálatokat az ELTE MTA Peptidkémiai Tanszéki Kutatócsoportja (Budapest) végezte, „Flash EA 1112NCS” típusú elemanalizátorral (ThermoQuest; Thermo Electron Corporation; Waltham, MA, USA), mintánként 3 párhuzamos elemzéssel. Ezekre a mérésekre azért volt szükség, hogy meg lehessen határozni a vizsgált anyag teljes lebomlása során felszabaduló, elméletileg termelhető maximális szén-dioxid-mennyiségét a következő egyenletnek megfelelően:

$$\text{ThCO}_2 = m \times (C / 100) \times 44 / 12; \text{ ahol}$$

ThCO₂ = az elméletileg termelhető maximális szén-dioxid-mennyiség, mg;

m = a vizsgálati minta szárazanyagban megadott tömege, mg;

C = a vizsgálati minta szárazanyagra vonatkoztatott széntartalma, %;

44 / 12: a szén-dioxid molekulatömegének (44 g mol⁻¹) és a szén atomtömegének (12 g mol⁻¹) aránya.

3.2. VIZSGÁLATI KÖZEGEK

3.2.1. Vizsgálati közegek eredete és előkészítése

Az intenzíven levegőztetett mérőrendszerrel és a beágyazásos vizsgálatoknál IV. érettségi fokú (6 hónapos), zöld növényi eredetű – budapesti parkokban összegyűjtött növényi hulladékból

előállított – komposztot használtunk, amelyet a FŐKERT (Budapest XVII. ker., Keresztúri út) bocsátott rendelkezésünkre. A cég prizmakomposztálós technológiát alkalmaz, melynek során a komposztrakás pH-ját és a prizma maghőmérsékletét rendszeres méréssel követik nyomon, mely értékek a komposztálási folyamat végén, pH 6,5-7; ill. 35-37°C. A komposztot a beszállítást követően 5 mm lyukméretű rosta segítségével méret szerint szétválasztottuk azzal a céllal, hogy a vizsgálatainkhoz megfelelő, egyenletesen kis szemcseméretű, homogén közeghez jussunk, másrészt így lehetővé vált az inert komponensek (üveg, fém, el nem bomlott alkotók) eltávolítása is.

A Németországban végrehajtott, „BSB digi CO₂” respirométer alkalmazására építő kísérleteimnél kereskedelmi forgalomban kapható, „kiváló” minősítésű német virágföldet használtam („Blomenborg”, Floragard Vertriebs GmbH für Gartenbau, Oldenburg, Németország), amelyet a csomagolásán szereplő tájékoztató szerint a következő paraméterek jellemeztek: szárazanyag-tartalom: 30%; a szárazanyagra vonatkoztatott izzítási veszteség: 25%; pH 6,0. A virágföldet felhasználás előtt 5 mm lyukméretű drótszítán rostáltam át.

Mindkét szilárd közeg alkalmazásánál a különböző edényekbe, laboreszközökbe bemért mennyiség minden esetben a „nedves” tömegre vonatkozik.

3.2.2. A vizsgálati közegek minősítése

3.2.2.1. A szárazanyag-tartalom meghatározása

A vizsgálathoz felhasznált főzőpoharakat 24 órára 105°C-os termosztátba helyeztük, majd exsikkátorban szobahőmérsékletűre hűtöttük és táramérleggen meghatároztuk a tömegüket. Ezekbe helyeztünk a vizsgálandó komposztból / virágföldből – táramérleg pontossággal – 10-10 g mennyiséget, amelyet 24 órás, 105°C-on végrehajtott termosztálás követett. A folyamat végén exsikkátorban visszahűtöttük a mintákat és visszamértük a tömegüket, melynek csökkenését az eredeti érték százalékában fejeztük ki [PAGGA et al. 1995, DIN 38414-2].

3.2.2.2. Az izzítási veszteség meghatározása

A vizsgálathoz felhasznált porcelán tégelyeket 20 percre 550°C-os izzítókemencébe helyeztük, majd exsikkátorban szobahőmérsékletűre hűtöttük és analitikai pontossággal meghatároztuk a tömegüket. Ezekbe helyeztünk a vizsgálandó komposztból / virágföldből kb. 2 g mennyiséget és analitikai pontossággal meghatároztuk a közös tömegeket, majd egy óra időtartamra az 550°C-os izzítókemencébe helyeztük a tégelyeket. A folyamat végén exsikkátorban történő visszahűtés és tömegvisszamérés következett; végül a tömegcsökkenést a szárazanyag-tartalomhoz viszonyítva, százalékban adtuk meg. Definíció szerint ugyanis az illékony szárazanyag-tartalom (izzítási veszteség) azt a szárazanyag-tartalmat jelenti, amelyet úgy

kapunk, hogy az ismert mennyiségű vizsgálati anyagnak vagy komposztnak az izzítása (550°C) után kapott tömegét kivonjuk a minta vagy komposzt szárazanyag-tartalmából, és ezt viszonyítjuk a teljes szárazanyaghoz. Az izzítási veszteség az anyag szervesanyag-tartalmának mennyiségére utal [PAGGA et al. 1995, DIN 38414-3].

3.2.2.3. A közeg kémhatásának meghatározása DIN 54900 alapján

10 g átrostált komposzthoz / virágföldhöz 50 ml desztillált vizet adunk, jól elkeverjük, majd dekantálva szűrjük és a felülúszó pH-ját határozzuk meg.

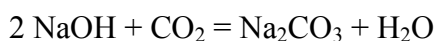
3.3. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK ÉS A MÉRŐRENDSZEREK BEMUTATÁSA

3.3.1. Intenzív levegőztetésű, szilárd közegű mérőrendszer

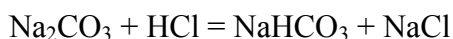
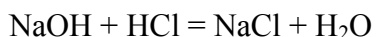
A mérőrendszer részletes ismertetésére az „Eredmények” fejezet 4.2.1. részében kerül sor tekintettel arra, hogy az irodalmi szakaszban ismertetett szilárd közegű rendszerekhez képest számos változtatást hordoz, valamint a talaj biológiai aktivitását mérő rendszerektől eltérő alkalmazási területen, és új formában került felhasználásra.

3.3.1.1. A CO₂ titrálással történő meghatározása

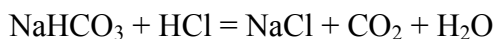
Az inkubátorlombikokban képződött CO₂ mennyiségének mérése a CO₂-csapdába töltött NaOH oldat rendszeres (hetente kétszeri) 1 mol l⁻¹ sósavval (Reanal) történő titrálásával került meghatározásra, kezdetben kézi titrálással, majd egy automata titrátor (TIM 900 Titration Manager; Radiometer, Koppenhága, Dánia) beszerzését követően gépi titrálóberendezés segítségével. A CO₂-csapdáknak a következő reakció játszódik le:



Mindkét titrálási eljárás során két lépcsőben határoztam meg a maradék nátrium-hidroxidot. Az első lépcsőben fenolftalein indikátort alkalmaztam; ekkor a szabad OH-ionokat közömbösítjük, az oldatban lévő karbonát pedig bikarbonáttá alakul át (a reakció pH=8,3 körüli értéken megy végbe teljesen):



Majd ezt követően metilnarancs indikátor jelenlétében tovább titráljuk az oldatot. Az ekvivalenciapontban (pH=3,4) a bikarbonátból felszabadul az abszorbeált CO₂:



A sósav fogyási értékek különbségeiből a termelt CO₂ mennyisége a következő egyenlet alapján számítható:

$$\frac{(V_{NaOH} * c_{NaOH} * f_{NaOH}) - (V_{HCl} * f_{HCl} * c_{HCl})}{2} = n_{CO_2}$$

ahol

V_{NaOH} : bemért NaOH térfogata (20 ml), l

c_{NaOH} : bemért NaOH oldat koncentrációja (0,5 mol l⁻¹), mol l⁻¹

f_{NaOH} : bemért NaOH oldat faktora

V_{HCl} : a fenolftalein ill. metilnarancs indikátorok jelenlétében kapott sósav fogyási értékek különbsége 20 ml-re vonatkoztatva, l

c_{HCl} : HCl oldat koncentrációja (1,0 mol l⁻¹), mol l⁻¹

f_{HCl} : HCl oldat faktora

n_{CO_2} : a CO₂ anyagmennyisége, mol

A kézi titrálás a következőképpen zajlott le: 10,0 ml titrálandó oldatot (2 párhuzamost alkalmazva) titrálólombikba pipettáztam, majd az átsapási szín könnyebb megfigyelhetősége céljából még 30 ml desztillált vizet adtam a lombikhoz. 1-2 csepp fenolftalein indikátort csepegtettem hozzá, majd 1 mol l⁻¹ HCl oldattal titráltam a fenolftalein indikátor halványpiros színéig, amely az indikátor átsapási tartományának végét mutatta. A fogyási értéket feljegyeztem, majd az oldathoz 1-2 csepp metilnarancs indikátort csepegtettem, és folytattam a titrálást a második végpontig, melyet az oldat rózsaszínűvé válása jelzett.

A gépi titrálás menete az automatizált végrehajtásból adódóan tért el a kézi módszertől. A korábban bemutatott reakciók végpontjainak pH értékeit (pH=8,37 ill. pH=3,48) betápláltam az automata titrálóberendezés „végpont titrálás” üzemmódjának megfelelően és olyan titrálási módot választottam, amely kevés holtidőt alkalmazva, az oldatok gyors titrálását teszi lehetővé. A készülék előzetesen tisztára mosott és desztillált vízzel kiöblített, azonosító jellel ellátott mintavevő edényeibe 10,0-10,0 ml titrálandó oldatot pipettáztam két párhuzamost alkalmazva, és az automata mintaváltóba helyeztem őket. A készülék az ismert faktorú és koncentrációjú sósav adagolásával a mintaoldatokat az előre megadott inflexiós pontokig titrálta és a géphez csatlakoztatott nyomtató segítségével dokumentálta a két lépésben fogyott sósav mennyiségét.

A mérés során alkalmazott sósav (Reanal) és NaOH oldatok (Reanal) faktorozását ERDEY [1966] leírása alapján végeztem el.

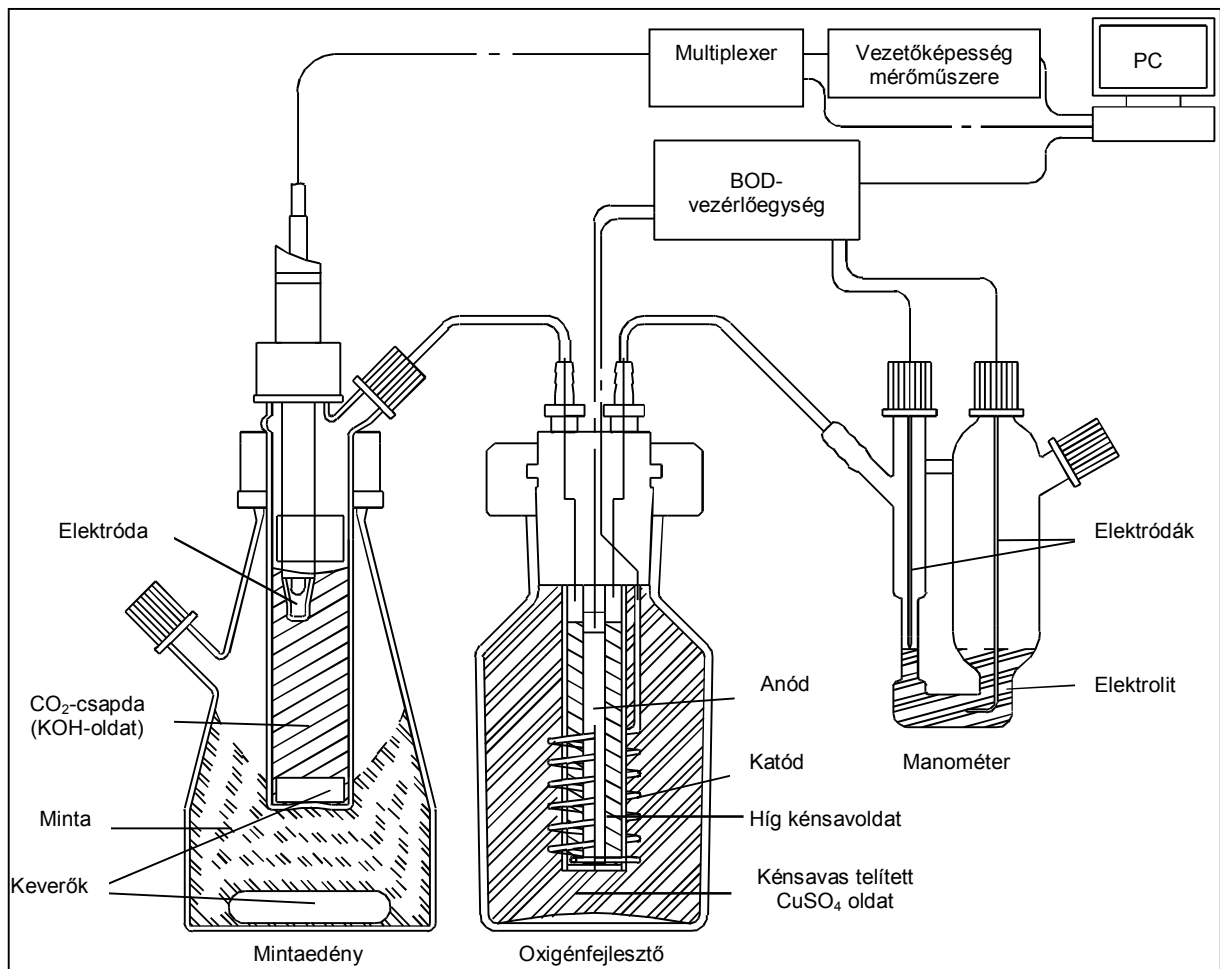
3.3.2. BSB digi CO₂

3.3.2.1. A készülék felépítése

A „BSB digi” (SELUTECH GmbH, Mössingen-Öschingen, Németország) megnevezésű készülék gyári alapkialakítását tekintve a BOD – tehát O₂-fogyás – mérésére alkalmas, 18 mérőhelyes respirométer, amelyet a gyártó cég által forgalmazott kiegészítőkkel át lehet alakítani folyamatos CO₂ mérésre is; ebben az esetben a kiegészítőkkal ellátott berendezés hivatalos jelölése „BSB digi CO₂”. A rendszer működésének megértését szolgáló, az egyik mérőhely kiemelésével készült sematikus vázlatot a 6. ábra mutatja be.

A „BSB digi CO₂” mérőhelyei a következő részekből állnak:

- mintaedény: 500 ml térfogatú üvegedény, amelybe a BOD vizsgálat tárgyát képező folyadékot (pl. szennyvizet) helyezik el, mágneses keverővel biztosítva az ülepedésmentes homogenizálást. Záróeleméhez egy másik üvegedény, az ún. CO₂-csapda csatlakozik; amely 50 ml térfogatú KOH oldat befogadására alkalmas, és légtere furatokon keresztül közvetlen kapcsolatban áll a minta fölötti légtérrel. A mágneses keverővel kevertetett KOH oldatba kétpólusú, „CDC 641 T” jelű beépített hőmérsékletérzékelővel ellátott, vezetőképesség-mérő elektród (Radiometer, Koppenhága, Dánia) merül, amelynek mérési tartománya 60 és 400 mS cm⁻¹ között helyezkedik el. Az elektródán mért vezetőképesség-értékek 2 óránként a multiplexeren ill. a konduktométeren (CDM 210 Conductivity Meter, Meter Lab, Radiometer) keresztül az adatgyűjtő számítógépre továbbítódnak.
- oxigénedény (= oxigénfejlesztő): 500 ml térfogatú, CuSO₄ oldatot tartalmazó üvegedény; melynek záróeleméhez egy olyan speciális üvegmembránt rögzítettek, amelyet réztekercs fog körül (a katód szerepét tölti be az elektrolízis folyamatában). Az üvegmembrán 22 ml, 5 m/m %-os H₂SO₄ oldatot tartalmaz, melybe a Pt-anód merül.
- precíziós manométer: kb. 1,5 ml, 0,5 m/m %-os H₂SO₄ oldatot tartalmazó üvegedény, két rozsdamentes acélból készült elektródával.



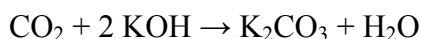
6. ábra: A „BSB digi CO₂” BOD mérőrendszer folyamatábrája (műszerkönyv alapján)

3.3.2.2. A készülék működési elve

A mérőrendszer működési elve a következő: a légmentesen zárt mérőrendszerben, a mintaedényben folyó aerob anyagcsere-folyamatokból („légzésből”) adódóan az O₂ fogyása, a CO₂ felszabadulása, majd ez utóbbinak a KOH-oldatban történő abszorpciója révén lecsökken a nyomás, amely a csatlakozásokon keresztül a manométer kapillárisában az elektrolit folyadékoszlopának emelkedését váltja ki. Ha az elektrolit eléri az érzékelő elektródát, galvanikus kapcsolat jön létre, és áram indul meg az elektrolitoldaton keresztül a manométer két elektródjában. Ez a mérhető áramingadozás jelként szolgál a BOD vezérlőegység számára, amely az oxigénedényt üzembe helyezve, a rézhurok-katód mentén rézkiválást, míg a Pt-anódon O₂ felszabadulást indít el. Az elektrolízis folyamata során az O₂ felszabadulás megnöveli a mintaedény belső nyomását, így a csatlakozásokon keresztül helyreáll a manométerben az elektrolit szintje, megszüntetve a galvanikus kapcsolatot az érzékelő elektróda és az elektrolit között. Az áram megszűnése a BOD vezérlőegységen áttevődve megszakítja az elektrolízis folyamatát. Az elektrolit szintjét helyreállító O₂ mennyiség egyenesen arányos az elektrolízis idejével, tehát az oxigénedény működésének idejével is, amelyet a termosztát tetején elhelyezett,

mérőhelyenként kialakított számlálósor mutat. Ezek a regisztráló számítógépben is tárolt értékek szolgálnak a „BSB digi” készülékkel végrehajtott BOD vizsgálatok mérési eredményeiként.

A „BSB digi CO₂”-ként összeállított mérőrendszer – a bemutatott mérési folyamaton túl – a felszabadult O₂ mennyiségével egyidejűleg rögzíti a mintaedény felső részében elhelyezett CO₂-csapda KOH oldatának CO₂-abszorpciójából fakadó vezetőképesség-csökkenését is. Magában a csapdában a következő reakció zajlik:



Az abszorbeált CO₂ mennyisége tehát egyenesen arányos a képződött K₂CO₃ mennyiségével, és ennek megfelelően az oldat vezetőképesség-csökkenésének mértékével is, amelyből korábban felvett kalibrációs görbék segítségével meghatározható a felszabadult CO₂ mennyisége.

Fontos kiemelni, hogy a rendszer csak akkor mér valós, a mintaedényben lezajló folyamatokhoz kötött értékeket, ha tömítettsége, külső levegőtől való elzártsága tökéletes. Ebből kifolyólag a műszerkönyv előírásainak megfelelően, adott időközönként a rendszer zártságát ellenőrizni szükséges.

3.3.2.3. A „BSB digi CO₂” működtetéséhez gyári kézikönyvben előírt oldatok

Mintaedény: 1,0 mol l⁻¹ KOH oldat (Merck)

Oxigénedény:

- kénsavval telített CuSO₄ oldat; ennek készítéséhez 1200 g CuSO₄ × 5 H₂O (Merck) sót mértem be 4000 ml kétszer desztillált vízhez, és erőteljes kevertetéssel feloldottam. Ezt követően 200 ml cc. kénsavat adagoltam az oldathoz, és homogenizálás után még 1000 ml kétszer desztillált víz hozzáadásával alakítottam ki a kívánt rézsulfát-koncentrációt.
- 5 m/m % H₂SO₄ oldat

Manométer: 0,5 m/m % H₂SO₄ oldat

Kalibrálás folyamata: 1,0 mol l⁻¹ HCl oldat (Merck); 1,0 mol l⁻¹ Na₂CO₃ oldat (Merck)

3.3.3. Kiegészítő vizsgálatok

3.3.3.1. A közeg összes élő csíraszámának meghatározása

10 g komposzthoz 90 ml „hígító folyadékot” adtunk, majd Stomacher-készülékkel (Lab-Blender 400, Anglia) 1 percig homogenizáltuk. Ezt követően 8 lépcsős hígítási sort készítettünk és lemezt öntöttünk: a baktériumszámot TGY táptalajon (30°C-on inkubálva) négy nap elteltével, a penész, ill. élesztő számot maláta agaron (szobahőmérsékleten inkubálva) négy-öt nap elteltével határoztuk meg. Az eredményt a talaj 1 g-jára vonatkoztatva adtuk meg.

A meghatározás során a következő összetételű közegeket használtuk fel:

- Pepton víz („hígító folyadék”): pepton 1,0 g (Oxoid; Basingstoke, Hampshire, Anglia); NaCl 9,0 g (Merck; Darmstadt, Németország); 1000 ml desztillált vízben oldva, majd autoklávban sterilizve 121°C-on 20 percig.
- TGY (tripton-glükóz-élesztő) táptalaj (pH=7,0): tripton 5,0 g (Merck); élesztőkivonat 2,5 g (Oxoid); D-glükóz 1 g (Merck); agar-agar 15,0 g (Merck); 1000 ml desztillált vízben oldva, majd autoklávban sterilizve 121°C-on 20 percig.
- Maláta táptalaj (pH=5,4 ± 0,2): malátakivonat 20,0 g (Merck); agar-agar 10,0 g; 1000 ml desztillált vízben feloldva, majd 115°C -on 10 percig kuktában sterilizve.

3.3.3.2. A közeg keményítőbontó mikrobaszámának meghatározása

Keményítő táptalajon, szélesztéssel történt a meghatározás kb. 4 napos, 37°C hőmérsékleten végrehajtott inkubálás után. A keményítőbontást Lugol-oldattal mutattuk ki, amely a táptalaj felületére csepegtetve, keményítőbontó mikroba esetén nem festi kékre az adott telep udvarát.

A meghatározás során a következő összetételű közegeket használtuk fel:

- Keményítő (Hutchinson-Clayton) táptalaj [SZEGI 1979 nyomán]:

K ₂ HPO ₄	1,0 g	(Reanal, Budapest)
CaCl ₂	0,1 g	(Reanal)
MgSO ₄ × 7 H ₂ O	0,3 g	(Reanal)
NaCl	0,1 g	(Reanal)
FeCl ₃ × 6 H ₂ O	0,01 g	(Reanal)
NaNO ₃	2,5 g	(Reanal)
Keményítő	0,2 g	(Reanal)
Agar-agar	15,0 g	

1000 ml desztillált vízben feloldva, majd 121°C -on 15 percig autoklávban sterilizve.

- Lugol-oldat: I₂ 1,0 g (Reanal); KI 2,0 g (Reanal); 5-10 ml desztillált vízben feloldva, majd 300 ml-re kiegészítve.

Mind a közeg összes élő csíraszámának, mind pedig keményítőbontó mikrobaszámának meghatározásánál analitikai tisztaságú vagy az elérhető legjobb minőségű vegyszereket és táptalaj-összetevőket használtuk fel.

3.4. STATISZTIKAI MÓDSZEREK

A kísérletek kiértékelése során részben a Microsoft Excel 97 táblázatkezelő program (Microsoft Corporation; Redmond, WA, USA) és a Minitab (Minitab Inc., State College, PA, USA) statisztikai függvényeit (varianciaanalízis, 2-mintás t-próba nem azonos szórásnégyzeteknél / Welch-próba/), részben pedig az „SPSS 10.0 for Windows” statisztikai programcsomag (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) bizonyos alkalmazásait (nemlineáris regresszióanalízis) használtam fel. Minden esetben 95%-os megbízhatósági szintet vettem figyelembe.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A MINTÁKAT JELLEMZŐ ELŐVIZSGÁLATI EREDMÉNYEK

A ThCO_2 kiszámításához szükséges szénttartalom értékeket egyszer határoztam meg 3 párhuzamos mérés végrehajtásával, míg a szárazanyag-tartalmat (sza.%) a 3 év alatt több alkalommal is megmértem; ez utóbbiak összesítéséből számoltam ki az átlagos sza.% értéket ill. szórást és ehhez rendeltem egy átlagos ThCO_2 értéket, mely adatokat a 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat: A vizsgált mintáknak az elővizsgálatuk során megállapított, jellemző tulajdonságai.

Vizsgált anyag jelölése	Pontos megnevezés	Vastagság, μm	Összetétel	Szárazanyag-tartalom, % $\pm$ SD	C-tartalom, % $\pm$ SD	ThCO_2 , mmol (1 g mintára vonatkoztatva)
Avicel	Avicel® PH-101	---	Mikrokristályos cellulóz	95,60 $\pm$ 0,64	42,50 $\pm$ 0,02	33,85
P	DN (70 g m ⁻²)	0,1 mm	Cellulóz (papír)	98,91 $\pm$ 1,14	41,70 $\pm$ 0,41	34,37
P+pts	DN + politejsav - polikaprolakton kopolimer (70g m ⁻² + 20 g m ⁻²)	0,1 mm	Cellulóz (papír) + politejsav-polikaprolakton kopolimer	94,99 $\pm$ 0,16	49,03 $\pm$ 0,57	38,81
P+PE	DN + PE (70g m ⁻² + 20 g m ⁻²)	0,1 mm	Cellulóz (papír) és polietilén	99,84 $\pm$ 0,07	43,72 $\pm$ 0,38	36,37
NF 803	NF 803	20 μm	Keményítőalapú	94,27 $\pm$ 0,81	56,39 $\pm$ 0,25	44,3
NF 01U	NF 01U	20 μm	Keményítőalapú	92,49 $\pm$ 0,90	55,87 $\pm$ 0,09	43,06
BF	BF 103/51	30-35 μm	30-50% burgonyakeményítő, ftálsav, adipinsav, alifás poliszterek	95,29 $\pm$ 0,31	55,16 $\pm$ 0,16	43,80
M-Bi SG	Mater-Bi SG 130	20 μm	Keményítőalapú	97,44 $\pm$ 0,08	67,29 $\pm$ 0,60	54,63
M-Bi IP	Mater-Bi IP 816	30 μm	Keményítőalapú	96,43 $\pm$ 0,55	54,85 $\pm$ 0,64	44,08
F-ali	FARDIS alifás poliszter	50 μm	Alifás poliszter	98,35 $\pm$ 0,43	58,96 $\pm$ 0,10	48,32
F-bio.	FARDIS biodegradálható	40 μm	Keményítőalapú	96,48 $\pm$ 0,11	55,42 $\pm$ 0,08	44,55

Az egyes kísérleteknél közvetlenül a mérés előtt meghatározott sza. %-ot és az abból számított ThCO_2 értéket használtam fel. Ezek az értékek csupán a minták általános jellemzésére szolgálnak és a később sorra kerülő vizsgálatok kiértékeléséhez szükségesek. Mint látjuk, számottevő különbség mutatkozik a cellulózalapú és keményítőalapú, valamint az azonos alapú minták szénttartalmát ill. ebből adódóan a ThCO_2 értékeket illetően. A gyakorlati tapasztalatok viszont azt mutatják, hogy pusztán ez alapján valamely anyag biológiai bonthatóságára nem lehet következtetni, mert mint ahogyan az később bemutatásra kerül (ld. 4.2.3. alfejezet), nem a legnagyobb szénttartalommal jellemzett keményítőalapú fólia bizonyul biológiailag lebomlóknak.

4.2. SAJÁT FEJLESZTÉSŰ, INTENZÍV LEVEGŐZTETÉSŰ MÉRŐRENDSZER SZILÁRD KÖZEGŰ VIZSGÁLATOKHOZ

A rendszer fejlesztésének alapjául azok az ismeretek szolgáltak, amelyeket egyrészt a talaj biológiai aktivitásának mérési módszerei (ld. részletesen az irodalom) kínáltak, valamint azok a szilárd közegű, szabványos biodegradációs tesztek, amelyeket előzetes körelemzéseik ill. gyakorlati alkalmazásuk során született szakirodalmi közlemények javasoltak. Az általam megépített, intenzíven levegőztetett mérőrendszer gyakorlati háttéréül elsődlegesen SZEGI 1973-ban kidolgozott rendszere szolgált [1979], de tekintettel arra, hogy a 30 éve kialakított mérési összeállítás bizonyos jellemzői időközben elavultak, azon számos korszerűsítést kellett elvégezni. Ennek a folyamatnak a keretében cseréltem le az eredeti összeállításban szereplő mintaedények kavicságyát üveggyöngyökre, ill. a CO_2 csapdaként funkcionáló 100 ml-es Erlenmeyer lombikokat kifejezetten erre a célra gyártatott gázmosókra. További, gyakorlati okokra visszavezethető fejlesztési lépésként oldható műanyag csatlakozók („olivák”) és elosztók révén könnyen szerelhetővé és tetszőlegesen bővíthetővé alakítottam a mérőrendszert, amelynek működési paramétereit ezt követően egyrészt a biodegradációs tesztekben ismert referenciaanyaggal (mikrokristályos cellulóz), másrészt film formájú, kereskedelmi forgalomban beszerezhető, biodegradálható fóliákkal optimaltam.

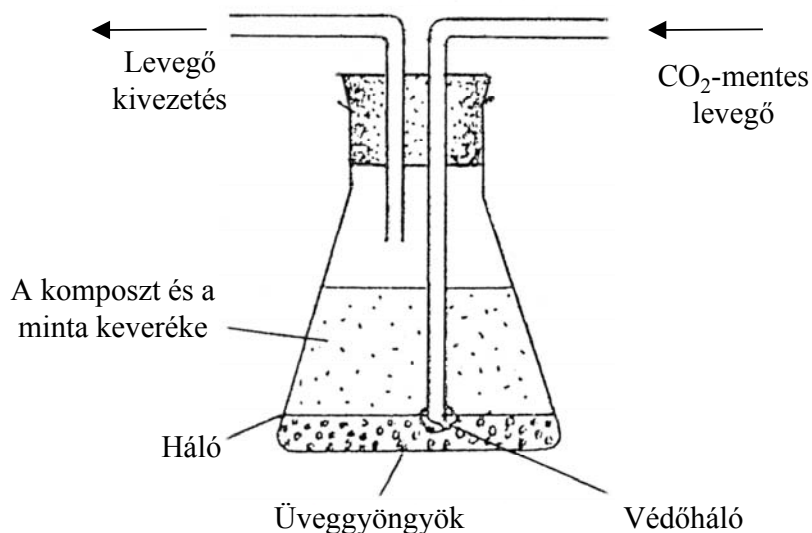
A már optimalt mérőrendszerrel végeztem el a Papíripari Kutatóintézet Kft. (Budapest) számára azokat a méréseket, amely annak a fejlesztőmunkának képezte a részét, amely a papír PE-nel történő felületkezelésének kiváltására irányult, új, környezetbarát összetételű (politejsav-polikaprolakton) kopolimer használata révén.

4.2.1. A mérőrendszer felépítése

250 ml térfogatú, csiszolattal ellátott Erlenmeyer lombikokban („inkubátorlombik”) először 4 mm átmérőjű üveggyöngyökből álló, kb. 2 cm vastag réteget alakítottam ki, lecserélve a rendszer eredeti leírásában szereplő [SZEGLI 1979], 10 m/m %-os sósavval karbonátmentesített kavicságyat. A réteg fölé műanyag szúnyoghálóból kivágott két korongot helyeztem, majd erre került a komposzt és a vizsgálati minta keveréke (ld. 7. ábra). A korongok behelyezésére abból a célból volt szükség, hogy a talajszemcsék ne tömjék el a gyöngyréteg hézagait, amely lehetetlenné tette volna az egyenletes levegőztetést. A lombikba bemérhető komposzt legnagyobb mennyiségét 80 g értéken állapítottam meg, követve a közvetlen levegőztetésű rendszerek azon előírását, miszerint a mintaedényeket maximum $\frac{2}{3}$ részig szabad megtölteni a szilárd közeggel, mivel legkevesebb $\frac{1}{3}$ -nyi térfogat szükséges az edények elégséges mértékben történő átlegegőztetéséhez [PAGGA et al. 1995]. A lombikot lezáró gumidugó két furatába a 7. ábrának megfelelően két darab, 5 mm átmérőjű hajlított üvegcsövet helyeztem el. A hosszabb cső – melynek méretét pontosan akkorára vágattam, hogy az üveggyöngy rétegig leérjen – alsó végére a talajba helyezés előtt szúnyoghálót erősítettem, hogy a komposzt ne, vagy csak kis szemcsékkel tömhesse el. Az esetlegesen előforduló duguláskor az inkubátorlombikok átjárhatóságát – azok szétszedése nélkül – közvetlenül az eltömődött csőszakaszra csatlakoztatott membránszivattyúval tettük szabaddá, mind a mérés összeállítása, mind pedig a mérés folyamata során. Az inkubátorlombikokhoz ezt követően 5 mm belső átmérőjű szilikontömlők segítségével csatlakoztattam a kifejezetten erre a célra gyártott, 40 ml térfogatú, sorosan kapcsolt gázmosó edényeket („CO₂ csapdák”), amelyek egyenként 20 ml, 0,5 mol l⁻¹ NaOH oldatot tartalmaztak. A kísérlet kezdeti szakaszában az abszorpciós felület növelése és a gázbuborékok útjának meghosszabbítása céljából a lombikokhoz elsőként csatolt gázmosókat 4 mm átmérőjű üveggyöngyökkel töltöttem meg, hogy a változatlan térfogatú folyadékoszlop magassága kétszeresére nőjön, megvizsgálva ezen eljárás szerepét a CO₂ elnyelés hatékonyságának növelésében.

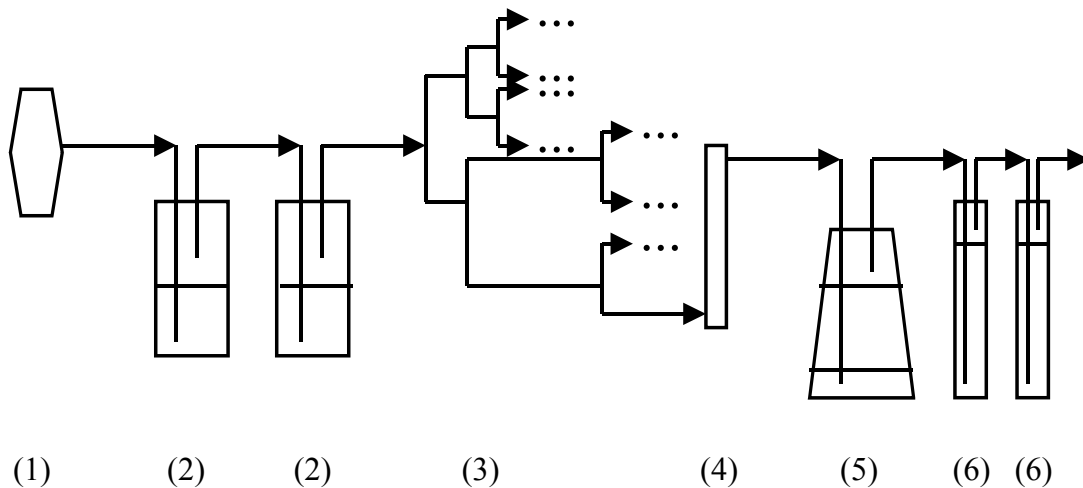
A levegőztetést kis teljesítményű, akvárium membránszivattyúval oldottam meg. A készülék a helyiség levegőjét 2 db, sorba kötött, 500 ml térfogatú gázmosó edényen juttatta keresztül, amelyek egyenként 200 ml, 2 mol l⁻¹ NaOH oldatot tartalmaztak. A gyakorlati tapasztalatok alapján ezen edények elé és mögé egy-egy üres, 250 ml térfogatú gázmosó edényt is kötöttem a rendszer biztonságos működtetése érdekében, megelőzve az esetleges nyomásingadozás által kiváltott rendszerleállást és NaOH-oldat átömlést. A bemeneti levegő ezt követően csökkentett szén-dioxid tartalommal jutott a szilikontömlőkből és oldható műanyag csatlakozók segítségével kialakított elosztórendszeren keresztül az inkubátorlombikokhoz. A bevezetett levegő tökéletes CO₂-mentesítésére ill. a csökkentés hatékonyságának ellenőrzésére azért nem fektettünk súlyt,

mert az utóbbi időben megjelent publikációk némelyike (ld. 2.4.2.2. alfejezet) elveti ennek szükségességét ill. az eredeti amerikai szabvány (ld. ASTM 5338, 6. Melléklet) sem hangsúlyozza ennek fontosságát. A rendszer minden egyes ágában egyedileg tervezett és gyártott rotaméterekkel mértem a levegő térfogatáramát, Hoffmann-szorítók segítségével állítva be a megfelelő értékeket (8. ábra).



7. ábra: Az inkubátorlombik felépítése.

A mérőrendszer általában 8-14-18 mérőhellyel üzemelt. Kettő-három minden mérési összeállításban „vak”-ként szerepelt, tehát csak komposztot tartalmazott; ezen mérőhelyek a csatlakozó csapdákkal együtt a vizsgálati közeg háttér-CO₂ kibocsátásának mérésén túl az esetleg nem teljes mértékben szén-dioxid mentesített, bemeneti levegőárammal rendszerbe jutó CO₂ arányosan rájuk eső részét is elnyelték, így beállításuk révén a közeg és az áramoltatott levegő által okozott együttes CO₂-mennyiség ismertté vált a későbbi számítási korrekciókhoz. A fóliák biodegradációjának vizsgálata során valamennyi alkalommal pozitív referenciaanyagként Avicel mikrokristályos cellulóz is mérésre került, további két-három mérőhelyet foglalva el. A mérőrendszert az előzetes optimálási és tapasztalatszerzési mérések során szobahőmérsékleten, ill. 37°C-on, míg a valódi minták vizsgálatánál csak 37°C hőmérsékletre állított termosztátban állítottam össze. Az egyes méréseknél alkalmazott komposzt minőségi paraméterei (pH, izzítási veszteség, nedvesség-tartalom) megfeleltek a szabványokban javasolt értékeknek (ld. szakirodalom, 2.4.3.2.1. alfejezet), de alkalmanként szükségessé vált a komposzt nedvességtartalmának csapvíz hozzáadásával történő korrigálása.



8. ábra: A levegőztetett mérőrendszer összeállítási vázlata. A jelölések magyarázata a következő:
(1) membránszivattyú; (2) CO₂-mentesítő gázmosó edények ill. üres edények; (3) elosztórendszer;
(4) rotaméter; (5) inkubátorlombik; (6) fejlődött CO₂-ot elnyelő gázmosó edények (CO₂-csapdák).

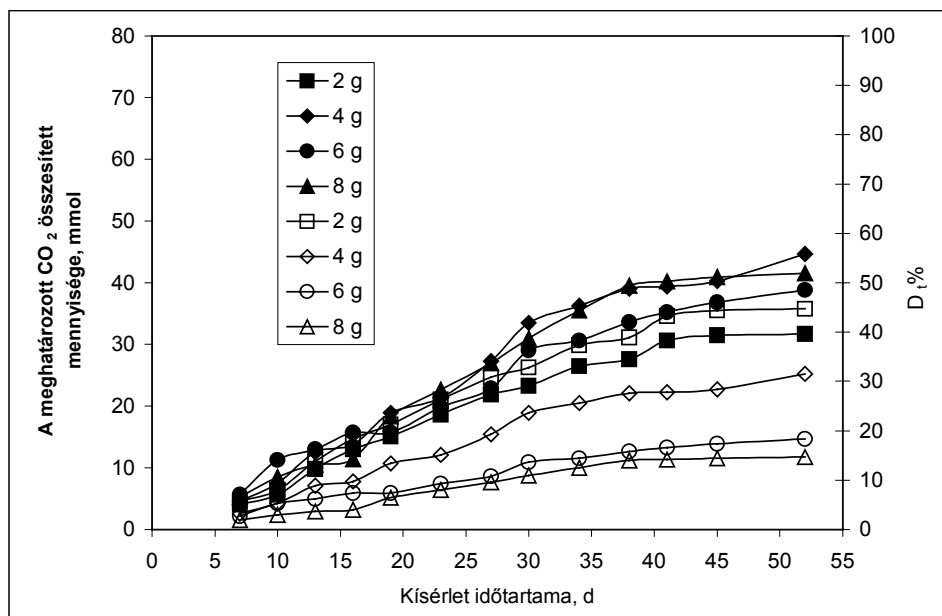
4.2.2. A mérőrendszer működési paramétereinek optimalítása pozitív referenciaanyaggal

A pozitív referenciaanyaggal történő optimalításnak az volt a célja, hogy megállapítsam azt a minta / komposzt arányt ill. azt a működési hőmérsékletet és levegőztetési intenzitást, amellyel elérhető a biodegradációs tesztekben pozitív referenciaanyagként alkalmazott Avicel mikrokristályos cellulóz degradációs fokának legalább a kritikus, 70%-ban rögzített határértéke (ld. szakirodalom 2.7.4. alfejezet). Az újonnan fejlesztett vagy új alkalmazáshoz módosított mérőrendszerek esetén az ilyen referenciaanyagokkal történő mérések révén nem csak az érhető el, hogy a mérőrendszer működési paramétereit a leginkább megfelelő módon kerüljenek beállításra, hanem az is, hogy a referenciaanyagra kapott eredmények révén a rendszer pontosságát és megbízhatóságát is megítélhessük. Mindemellett a referenciaanyag használata lehetőséget kínál a más mérőrendszerekben kapott eredmények összehasonlítására is. A mérőrendszerem pozitív referenciaanyaggal történő optimalítására ennek megfelelően nagy hangsúlyt fektettem: több lépésben, esetenként 3-4 párhuzamos mérőhelyet alkalmazva, a méréseket többször ismételve jutottam a következő pontokban ismertetésre kerülő eredményekhez.

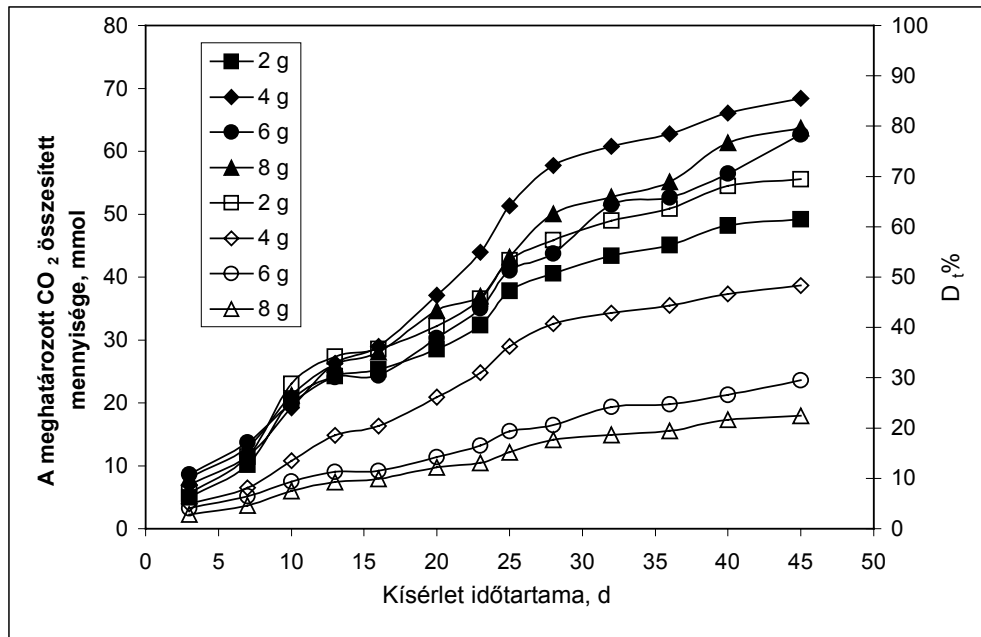
4.2.2.1. A megfelelő komposzt / pozitív referenciaanyag arány kiválasztása, valamint a mérőrendszer optimális működési hőmérsékletének a meghatározása

A pozitív referenciaanyagra elérhető legnagyobb szén-dioxid termelést ill. ennek megfelelően a legnagyobb degradációs fokot két hőmérsékleten vizsgáltam: szobahőmérsékleten ill. a komposztrakás maghőmérsékletének megfelelő 37°C-on. A komposzt bevihető mennyiségét (80 g értéken maximálva) rögzített paraméterként kezeltem, így a 250 ml térfogatú inkubátorlombikok $\frac{1}{3}$ része üresen maradt, amely biztosította a komposzt egyenletes átlegezőtetését. A komposzthoz kevert Avicel mennyiségeinek kiválasztásánál a szilárd közegű teszteknel megismert ajánlásokat (ld. 2.4.3.2.2. alfejezet) tekintettem iránymutatónak: 2-4-6-8 g mikrokristályos cellulózt kevertem 80 g komposzthoz. A levegőztetés térfogatáramát mindkét hőmérsékleten 50 ml min⁻¹ nagyságúnak választottam, amely első megközelítésben egy tetszőlegesen felvett, jól beállítható értéknek került kiválasztásra a DIN 54900 szabvány által javasolt 50-100 ml min⁻¹ intervallum alapján.

A 9. és 10. ábrák mutatják be az optimálási céllal végrehajtott kísérletek eredményeit. Mindkét hőmérséklet esetében a kitöltött szimbólumok jelölik a termelt CO₂ mennyiségét (mmol mértékegységben) a különböző vizsgálati anyag mennyiségek mellett, 50 ml min⁻¹ levegőztetési intenzitást alkalmazva, míg a kitöltetlen szimbólumok a számított degradációs fokokat jelzik, %-ban kifejezve.



9. ábra: A mérőrendszer optimálása I. A vizsgálati anyag / komposzt arány vizsgálata szobahőmérsékleten (20°C).
(A kitöltött szimbólumok a termelt CO₂-ot (mmol), a kitöltetlen szimbólumok a D%-ot jelölik.)



10. ábra: A mérőrendszer optimalálása II. A vizsgálati anyag / komposzt arány vizsgálata
37°C hőmérsékleten.

(A kitöltött szimbólumok a termelt CO₂-ot (mmol), a kitöltetlen szimbólumok Dt%-ot jelölik.)

A szobahőmérsékleten 52 napig nyomon követett degradációra kapott eredmények alapján világosan látható, hogy a komposzthoz kevert minta mennyiségével együtt nő ugyan a termelt CO₂ mennyisége, de ez a változás nem lineáris, hasonlóképpen, mint ahogyan azt DERRADJI et al. [1996] ill. ITÄVAARA és VIKMAN [1996] is tapasztalták. A CO₂ képződésben valódi növekedés csak a 2 g-ról 4 g-ra történő emelés esetén volt megfigyelhető, míg a további emelések nem növelték (a grafikon alapján inkább csökkentették) a termelt CO₂ mennyiségét. A CO₂ görbék statisztikai alapon, nemlineáris regresszióval végzett összehasonlítása során nem tapasztaltam szignifikáns különbséget a 4, 6, 8 g minta esetében felvett függvények között és a 2 g minta jelenlétében kapott CO₂ görbe adatai is csak a 30. nap után tértek el szignifikánsan a többi görbétől.

Sokkal árnyaltabb és egyértelműbb képet kapunk a minta mennyiségének szerepéről, amennyiben a szénttartalom ill. ThCO₂ ismeretében számított degradációs görbéket hasonlítjuk össze (ld. kitöltetlen szimbólumok): 2 g Avicel jelenlétében 44,7±2,9% körüli értéken állandósuló degradációs görbe mutatja a legnagyobb degradációs fokot, ettől a többi jelentősen elmaradva állandósult: 4 g minta esetén 31,5±1,8%-nál ill. 6 és 8 g Avicel bekeverésénél 18,3±3,1% ill. 14,6±2,1% értékeken. A statisztikai alapon elvégzett függvény-összehasonlítás alapján nem találtam szignifikáns különbséget a 6 ill. 8 g minta vizsgálatánál rögzített degradációs görbék között.

A 10. ábra görbéi a 37°C-on végrehajtott, 45 napos mérés eredményeit rögzítik, amelyek mind a termelt szén-dioxid mennyiségében, mind pedig a degradációs fokában nagyobb adatokat mutatnak, mint a szobahőmérsékleten kapott értékek. A bekevert mikrokristályos cellulóz mennyiségének növelésével – hasonlóan a szobahőmérsékletű méréssorozathoz megismert eredményekhez – nő a termelt szén-dioxid mennyisége, de ez a növekedés sem lineáris, így a degradációs foka csökken a minta mennyiségének növekedésével: 2 g mintánál a $D_t\% = 69,47 \pm 4,7\%$, míg 4 g esetén már csak $48,30 \pm 3,0\%$, 6 ill. 8 g bekeverésénél pedig $29,48 \pm 2,6$ ill. $22,46 \pm 4,5$ %-nak adódott. Sem a szén-dioxid görbéknél, sem pedig a degradációs görbéknél nem találtam szignifikáns különbséget a 6 ill. 8 g mintamennyiségek mellett felvett görbék statisztikai összehasonlítása során.

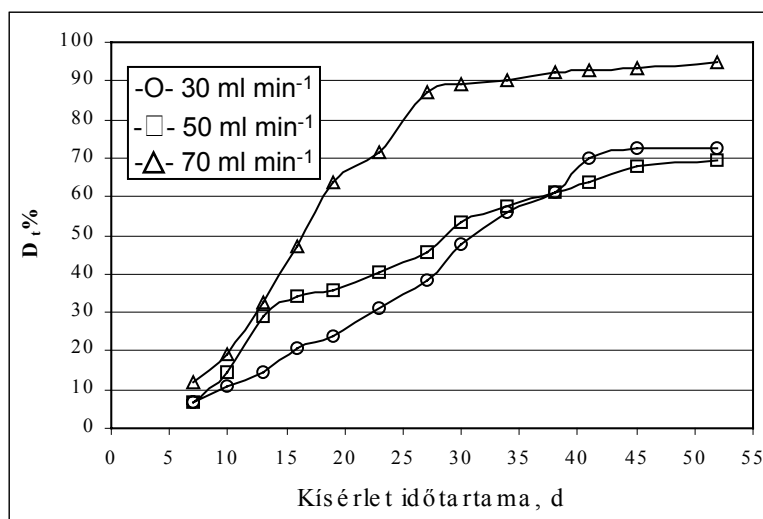
A két ábra adatai alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a hőmérséklet emelése révén kb. 1,5-1,6-szeresére növekedett a degradációs foka ugyanazon mintamennyiség mellett, de kizárólag 2 g referenciaanyag 37°C történő lebontása során szabadult fel annyi szén-dioxid, hogy az ebből számított degradációs fok elérje a kritikusnak tekintett 70% -os határértéket és ennek megfelelően érvényesítse („validálja”) a mérést. Feltehetően egy további (nem túl drasztikus) hőmérsékletlépcső beiktatása tovább növelhette volna a referenciaanyagra kapott degradációs fok nagyságát, de ennek a vizsgálatától számos ok miatt célszerűnek tűnt eltekinteni:

- 37°C-on is sikerült elérni a degradációs mérés érvényességéhez szükséges, mikrokristályos cellulóz pozitív referenciaanyagra megállapított 70%-os határértéket;
- az inkubátoredényekben felhasznált komposzt mennyisége sokkal kisebb ebben a mérési összeállításban, mint a szabványos rendszerekben (ld. 2.4.3.2.2. alfejezet), ennek megfelelően az esetlegesen nagyobb hőmérséklet a komposzt gyors kiszáradásához vezetett volna, mint ahogyan az a nagyobb rendszerekben is állandó problémát okoz [PAGGA et al. 1995];
- nem hagyhattam figyelmen kívül, hogy az érett, mikrobiológiai szempontból megállapodott komposzt elsősorban mezofil mikrobákat tartalmaz, és az a konstans hőmérséklet ($58 \pm 2^\circ\text{C}$) ill. hasonlóan nagy értékeket tartalmazó hőmérsékleti lépcső (ld. 2.4.3.2.3. alfejezet), amelyet a szabványos módszerek ajánlanak – de a túlzott értékei miatt az elfogadásakor [ITÄVAARA et al. 1995a] ill. napjainkban újra [KIM et al. 2000, HOFFMANN et al. 2003] kritizálnak –, számomra sem tűnt elfogadhatónak.

4.2.2.2. A levegőztetés intenzitásának megválasztása

A pozitív referenciaanyag mennyiség, ill. a hőmérséklet megfelelő megválasztása után vizsgáltam meg, hogy a levegőztetés intenzitása mennyiben befolyásolja az anyag lebomlása során felszabaduló CO_2 mennyiségét, ennek megfelelően elegendő-e az általam épített mérőrendszer esetén is egy intervallummal megadni a levegőztetés intenzitását vagy szükséges egy konkrét értéket megállapítani. A levegő áramlási sebességét $30\text{-}50\text{-}70\text{-}90\text{ ml min}^{-1}$ értékekre állítva végeztem el a méréseket, 37°C -on, 80 g komposzt / 2 g mikrokristályos cellulóz mennyiséget alkalmazva. Erőteljesebb levegőztetés beiktatására nem volt mód, mivel 90 ml min^{-1} -nél nagyobb térfogatáram esetén drasztikus mértékben kellett volna lecsökkenteni a CO_2 - csapdáknak felhasznált NaOH oldatok térfogatát az igen jelentős buborékképződés miatt fellépő veszteségekből adódóan; 30 ml min^{-1} -nél kisebb áramlást pedig a rendszer indítási ellenállásából kifolyólag nem lehetett tartósan beállítani.

A mikrokristályos cellulózzal, 37°C -on, 2 g minta / 80 g komposzt arány mellett $30\text{-}50\text{-}70\text{ ml min}^{-1}$ levegőztetési intenzitás mellett kapott degradációs görbéket a 11. ábra mutatja.



11. ábra: A mérőrendszer optimalálása III. A levegőztetés intenzitásának vizsgálata 37°C hőmérsékleten.

Míg a 30 ill. 50 ml min^{-1} levegőztetéshez tartozó degradációs fokok között a statisztikai értékelés nem mutatott szignifikáns különbséget, addig a 70 ml min^{-1} térfogatárammal történő levegőztetés jelentős növekedést eredményezett, ugyanis 35 nap után az Avicel degradációja meghaladta a 90% -os degradációs fokot. A 90 ml min^{-1} levegőáram mellett felvett adatok azért nem kerültek feltüntetésre, mert néhány nap után – a rendszer bizonyos fokú tehetetlensége miatt – már ennél a térfogatáramnál is a CO_2 csapdáknak olyan intenzív buborékképződés volt megfigyelhető, amely gyakran a csapda NaOH tartalmának a nyitott végen való túlfolyásához és ennek megfelelően nyomon követhetetlen veszteség kialakulásához vezetett. A 70 ml min^{-1}

értéknél ugyan ez a jelenség nem volt megfigyelhető, azonban az így levegőztetett inkubátorlombikok teszt végén történő megnyitásakor azt tapasztaltam, hogy a komposzt szinte teljesen kiszáradt. Mérlegelve a tényt, hogy a mérőrendszer elsősorban film formájú – időben elhúzódó degradációval jellemezhető – anyagok lebomlásának vizsgálatára kerül felhasználásra, a mérőhelyek kíméletesebb levegőztetése tűnt megfelelő választásnak, mert az így levegőztetett inkubátorlombikoknál 6-8%-nyi mértékű tömegcsökkenése volt a komposztnál megfigyelhető. Tekintettel arra, hogy a 30 ill. 50 ml min⁻¹ térfogatáram is még kellően hatékornak bizonyult, hiszen a degradációs foka elérte a 70%-ot, a további vizsgálatok során nem léptem túl az 50 ml min⁻¹ levegőztetést. Ez a kompromisszum természetesen együtt jár a mérés időtartamának növekedésével is, hiszen a görbe alapján az is látszik, hogy az intenzívebb levegőztetés lerövidíti az anyag lebomlásának időigényét, hiszen 70 ml min⁻¹ esetén a degradációs görbe telítődése már 28 nap után megindult, míg a 30 - 50 ml min⁻¹ beállítása esetén az Avicel degradációs görbéjénél csak 45 nap után alakult ki a telítési jelleg.

Elméletileg a levegőztetés mértékét le lehetett volna csökkenteni egészen a 30 ml min⁻¹ térfogatáramig, mivel a 30 és 50 ml min⁻¹ esetében rögzített degradációs görbék statisztikai értékelésének eredménye nem mutatott szignifikáns különbséget. Ez a megközelítés nem állt volna teljesen távol a gyakorlatban tapasztalható viszonyoktól, hiszen a valós komposztálás többnyire nem intenzíven levegőztetett rendszerekben történik, viszont ennek a kis levegőáramnak a folyamatos fenntartásával számtalan esetben támadt problémánk, amely többnyire a levegőztetés leállításában nyilvánult meg. Az esetlegesen anaerob állapot felé való tolodás vizsgálatára ill. ennek megfelelően a metán mérésére viszont nem voltunk felkészülve, így végül gyakorlati megfontolásokból a jól beállítható 50 ml min⁻¹ levegő térfogatáram mellett döntöttem.

4.2.2.3. A CO₂ csapdák működésének optimalálása

A mérőrendszer Avicellel történő optimalálása során megvizsgáltam, hogy mennyire hatékonyan nyeli el a két sorosan kötött CO₂ csapda a felszabadult CO₂-ot, és ennek megfelelően szükséges-e a csapdák számának, vagy az elnyelés hatékonyságának (pl. valamilyen felületnövelő hordozóval történő) növelése. A gázmosók CO₂ elnyelésének hatékonyságát a második gázmosó mögé kötött 20 ml, 0,012 mol l⁻¹ Ba(OH)₂ oldatot tartalmazó harmadik gázmosó alkalmazásával vizsgáltam. A Ba(OH)₂ oldat zavarosodását (BaCO₃ képződését) azonban csak 90 ml min⁻¹ levegőztetés esetén tapasztaltam. A gázmosók NaOH oldatának titrálása azt mutatta, hogy az 50 ml min⁻¹ értéken levegőztetett mérőrendszer esetén a felszabadult CO₂ mennyiségének 87±9,0%-a, míg 70 ml min⁻¹ esetén 64,7±7,1%-a már az első csapdában elnyelődik, és szinte veszteség nélkül megkötődik a második CO₂ csapdában. A kapott

eredmények tehát nem indokolták a 3. gázmosó használatát, és végül nem tették szükségessé a felületnövelő hordozó használatát sem.

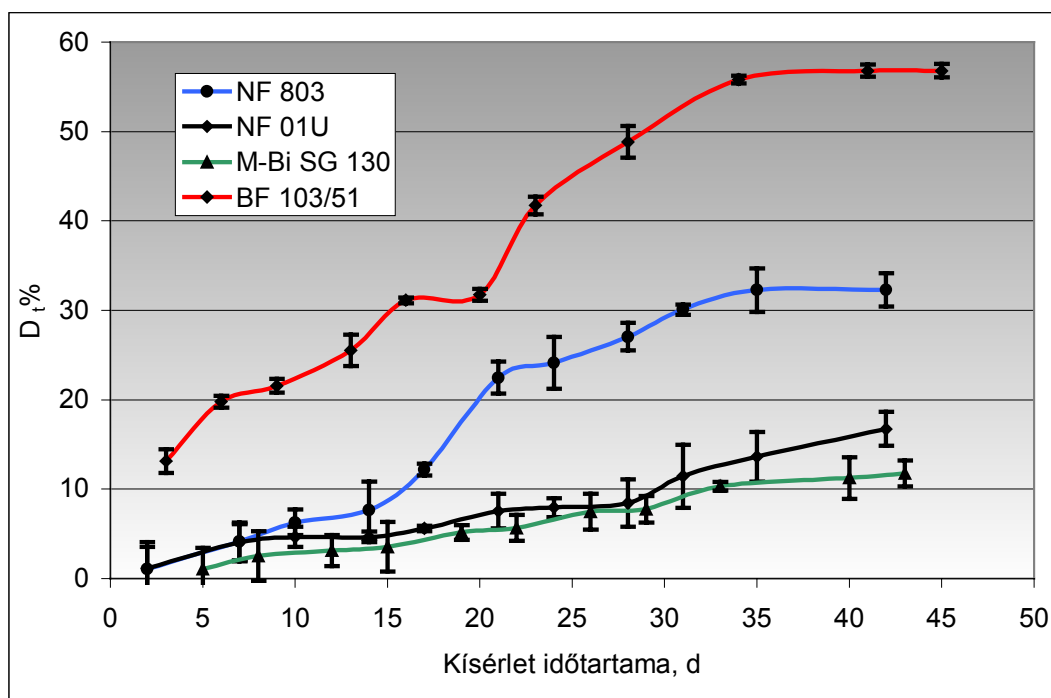
4.2.3. Film formájú referenciaanyag keresése és alkalmazása

A por alakú referenciaanyaggal kapott eredmények ugyan alkalmasak arra, hogy degradációjuk fokán keresztül a vizsgálati közeg (komposzt) biológiai aktivitása megítélésre kerüljön, de a szakirodalom és a területen jelentősnek elismert kutatócsoportok véleménye szerint arra semmiképpen nem lehet megfelelő, hogy etalonként szerepeljen egy film formájú anyag biodegradációjának minősítése tekintetében. A jelenlegi gyakorlat szerint ugyanis (ld. 2.7.4. alfejezet) a vizsgált anyagra kapott biodegradációs fokot a referenciaanyag azonos körülmények között megállapított értékéhez viszonyítják, amelynek min. 60%-át kell elérnie a pozitív, azaz „biodegradálható” minősítés érdekében. Korábban ez azért nem vetődhetett fel problémaként, mert többnyire a gyártók végezték a saját anyagaik biodegradációjának vizsgálatát, így a granulátumok porrá őrlése, igazodva a referenciaanyag állagához, nem okozott nehézséget és csak elvétve találhatunk olyan adatokat, amelyek fóliák vagy egyéb, nem por alakú anyagok jelentősebb előkezelés nélkül meghatározott biodegradációs jellemzőit teszik közzé. Az utóbbi időben azonban azok a laboratóriumi tesztek kerültek előtérbe, amelyek hangsúlyt helyeznek a természetben lejátszódó folyamatok modellezésére és ennek megfelelően mellőzik a vizsgálati anyagok jelentősebb előkezelését, így az őrlést, viszont elfogadják annak durvább aprítását [CALMON-DECRIAUD et al. 1998]. Tekintettel arra, hogy jelenleg nincs kereskedelmi forgalomban kapható, film formájú referenciaanyag, a továbbra is etalonként alkalmazott por alakú referenciaanyagot több, jogos bírálat éri: (I) az alakja ill. szemcsemérete révén jobban hozzáférhető a mikrobiológiai folyamatok számára, és így gyorsabban bomlik le, mint az időben elhúzódó degradációval jellemezhető film minták; (II) az összetétele többnyire nem felel meg a vizsgálatba vont fólia összetételének: a biodegradálható fóliák döntő többsége keményítőalapú, míg gyakorlatilag az egyetlen referenciaanyag, amelyet a biodegradálható polimerek vizsgálatára alkalmaznak cellulózból készül.

A hazai gyakorlatban – kevés példától eltekintve – keményítőalapú filmek, fóliák biodegradációjának vizsgálatára mutatkozik igény. A „Biopack 2001” Kft. -vel együttműködve BDP-ok piacán meghatározó szerepet játszó Novamont cég (Olaszország) „Mater-Bi” családjának fóliamintáit vizsgáltuk azzal a céllal, hogy kiválasszuk a leginkább lebomló, a Kft. jövőbeli elképzeléseihez leginkább igazodó termékeket. A megbízás idején már rendelkezésünkre állt a pozitív referencia anyaggal optimált saját mérőrendszerünk, így az egyszerű beágyazásos vizsgálatok elvégzése mellett, ezekkel a mintákkal, mint valós vizsgálati anyagokkal végezhattük el az első méréseinket. A kétéves együttműködés alatt számos keményítőalapú, a gyártója által

biodegradálhatónak minősített fólia vizsgálatára nyílt lehetőségem, de ezek közül ebben a fejezetben csak annak négy anyagnak (NF 803, NF 01U, M-Bi SG 130, BF 103/51) az eredményeit mutatom be, amelyek a korábban elvégzett beágyazásos „screening” vizsgálatokban jól szerepeltek (az eredményeket a 4.4. alfejezet tartalmazza), így a levegőztetett rendszerben is mérhető CO₂ felszabadulást remélhattunk. Az anyagok 2 g minta / 80 g komposzt arányban kerültek vizsgálatra, 37°C-on, 50 ml min⁻¹ levegőztetés mellett. A fejlődött CO₂ mennyiségének meghatározása és ennek megfelelően a CO₂-csapdák NaOH tartalmának frissítése 3-4 naponta történt.

A vizsgált anyagok degradáció görbéit a 12. ábra foglalja össze, amelyen jól kivehető, hogy a 42-45 napos vizsgálat keretében a legnagyobb degradációs fokot a BF 103/51 minta érte el, kiemelkedően előzve meg a többi keményítőalapú fóliát.



12. ábra: A levegőztetett mérőrendszer por alakú referenciaanyagra optimált működési körülményei között vizsgált, keményítőalapú fóliák degradációs fokának alakulása. A hibajelölő sávok ± 1 szórást mutatnak.

A vizsgálat ideje alatt valamennyi minta degradációs görbéje felvette a telítési jelleget, kivéve az NF 01U mintát, ahol a lebomlás elhúzódó jellegű, így felveti az anyag további vizsgálatának szükségességét az inherens biodegradálhatóságot vizsgáló tesztek keretében (ld. 2.4.1.2. alfejezet). A BF 103/51 mintánál rögzített $56,82 \pm 0,76\%$ degradációs fok önmagában nem tűnik túl nagyknak, de összevetve ugyanebben a mérőrendszerben az Avicelre általában kapott 70% körüli értékkel, a szabványos tesztekre elfogadott azon érvényességi kritérium alapján – amely homopolimer vizsgálati minta esetén a pozitív referenciaanyagra kapott degradációs fok 60%-át írja elő kritikus értéknek (ami jelen esetben 42%) - ez az anyag biodegradálhatónak

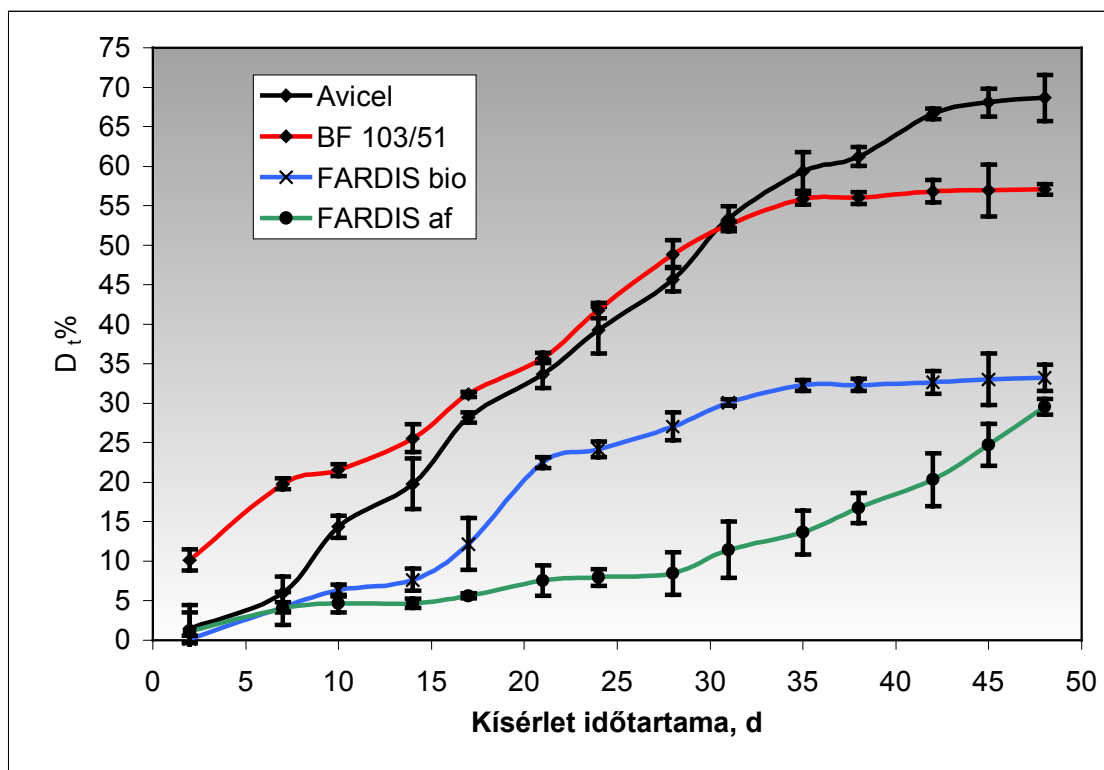
minősül. A vizsgálatba vont többi mintára kapott degradációs fokok viszont messze elmaradtak a kritikus értéktől, és ennek megfelelően a beágyazásos vizsgálat alapján remélt eredményektől, amely arra enged következtetni, hogy ezek az anyagok vagy nem biodegradálhatóak, vagy csak olyan rendszerekben minősíthető lebonthatóságuk, amelyeket az inherens biodegradálhatóságot vizsgáló szabványok használnak.

Az ismertetett kísérletből az is leszűrhető, hogy az egyik minta, a BF 103/51 használatára mint film formájú laboratóriumi referenciaanyagra (LRM) is célszerű építeni. Hiteles anyagminta hiányában ezt a vizsgálandó mintához hasonló összetételű és formájú, vélhetően homogén szerkezetű, stabil anyagot a következő módon érdemes felhasználni: amennyiben a por formájú pozitív referenciaanyaggal validáltuk a mérőrendszert, és az általa elért $D_t\%$ 60%-át meghaladó mértékben bomlik le az LRM, akkor az eleget tesz a szabványok által javasolt határértéknek (=biodegradálható). Ebben az esetben az elemzésre szánt, ismeretlen eredetű, de azonos összetételű és formájú (keményítőalapú + film formájú) minták biodegradálhatóságának megállapítását már nem a pozitív referenciaanyag $D_t\%$ értékéhez javasolt viszonyítani, hanem az összes fizikai és kémiai tulajdonságában jóval közelebb álló LRM-hez. Ez azt jelenti, hogy az LRM által elért $D_t\%$ értéket jogosan tekinthetjük viszonyítási alapnak, és ezen érték általunk kijelölt %-át tekintjük inentől kezdve a film formájú minták biodegradációs küszöbértékének. Ezt az értéket pontosan – jelenlegi ismereteim alapján – még nem lehet megjósolni. Ha következetesen tekintem a minták és a referenciaanyagok viselkedését, akkor minden alap biztosított arra nézve, hogy az ismeretlen eredetű, de film formájú és az LRM-mel (közel) egyező összetételű minta legalább 80-90%-os lebomlást kell, hogy elérjen, hiszen semmi sem indokolná azt a „könnyítést”, amely az Avicel (=nagy felületű por) és a hozzá hasonlított más (pl. film formájú) minta esetén rögzített 60%-os küszöbértéket eredményezte a szabványok ajánlásaiban.

Az elmondottak gyakorlati alkalmazását a következő kísérlet leírásával mutatom be. Két, gyártójuk által biodegradálható fóliaként forgalmazott, „F-bio” és „F-ali” jelű mintát az Avicel pozitív referenciaanyag és az említett LRM (BF 103/51) párhuzamos vizsgálatával tanulmányoztam. A kísérlet eredményeit a 13. ábrán bemutatott degradációs görbék tükrözik. Az Avicelre vonatkozó mérési eredmény validálta a mérést, mivel az anyag $68,66 \pm 2,92\%$ degradációs fokot ért el a vizsgálat 45 napja alatt ($\approx 70\%$). Bár a film formájú LRM bomlási foka kb. 10%-kal kisebbnek ($57,07 \pm 0,66\%$) adódott, ez az érték jóval meghaladja az Avicel degradációs fokának 60%-át ($57\% > \approx 70\% * 0,6 = 42\%$) így az LRM a szabványok értelmében biodegradálhatónak tekinthető. Inentől kezdve – szigorúan véve, hogy milyen mintát, milyen referenciaanyaghoz javasolt hasonlítani – a szintén keményítőalapú vizsgálati minták bomlási értékeit már nem az Avicelhez, hanem a film formájú LRM ebben a közegben elért degradációs fokához kell viszonyítanunk. Így az „F-bio” minta degradációs foka ($33,22 \pm 1,66\%$) az LRM

Dt%-hoz viszonyítva $\approx 58\%$ -nak adódik, szemben a pozitív referenciaanyaghoz való viszonyításnál adódó $\approx 48\%$ -kal. Itt merül fel a kérdés, hogy az LRM-hez viszonyítva elért 58% -os lebomlás elegendőnek tekinthető-e a biodegradáció megítéléséhez. Véleményem szerint, több okból is kifolyólag, nem: egyrészt ennél az összevetésnél már kiküszöböltem mind az eltérő forma, mind pedig a különböző összetételből fakadó eltéréseket, így az 58% -ot nem tekintem kielégítőnek. Másrészt, mint ahogy a 4.4.1.1. alfejezetben később bemutatásra kerül, a párhuzamosan elvégzett, nem szabványos vizsgálatok az F-bio jellegzetes kioldódási viselkedését tükrözik, tehát a minta nem mutatja a biodegradálható anyagokra jellemző, folytonos tömegcsökkenést.

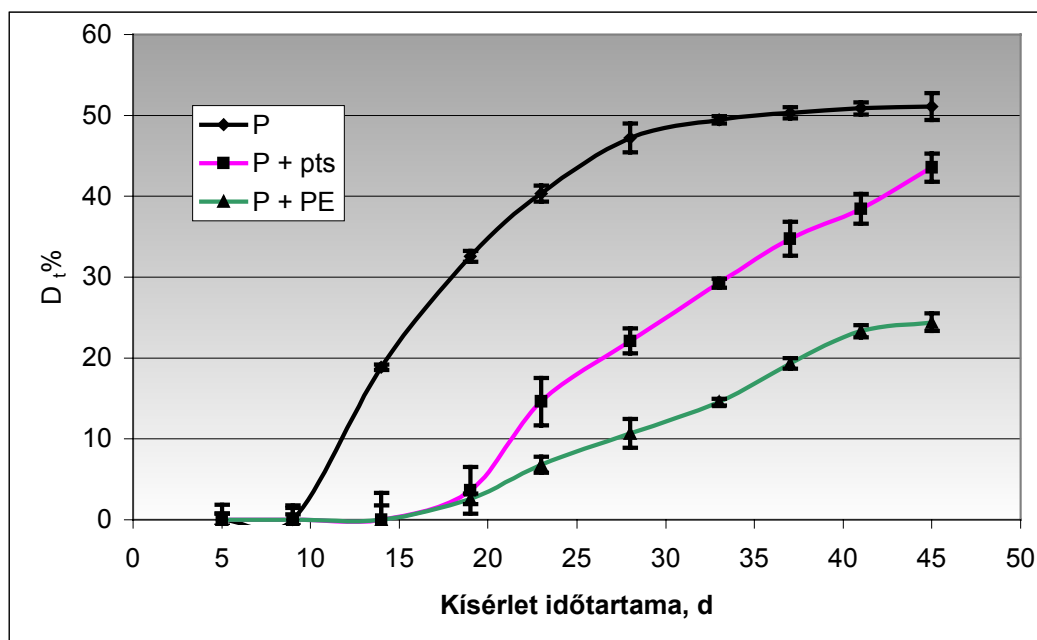
A másik FARDIS minta (alifás poliészter) degradációs görbéje viszont nem vett fel telítési jelleget, sőt a meredekségéből ítélve a teszt meghosszabbítása esetén nagyobb bomlási értéket is elérhettünk volna, mint a teszt végén kapott $29,55 \pm 1,03\%$. Az olyan minták esetén, ahol a degradációs görbe időben elhúzódó jelleget mutat, az ún. inherens biodegradálhatóság vizsgálata indokolt, de ennek mérése – elsősorban a mintaedények nagy térfogatigénye, valamint a vizsgálat időben elhúzódó jellege miatt – nincs lehetőségünk. Az ilyen viselkedésű, tehát időben elhúzódó lebomlással jellemezhető anyagok esetén csak a beágyazásos vizsgálataink eredményeire támaszkodhatunk (ld. a 4.4. alfejezetben).



13. ábra: Ismeretlen összetételű, biológiailag lebontható fóliák és párhuzamosan elemzett referenciaanyagok degradációs fokának alakulása. A hibajelölő sávok ± 1 szórást mutatnak.

4.2.4. Bevonatos papírok biodegradációjának vizsgálata

A 3.1.1. alpontban ismertetett, „Környezetbarát társított csomagolóanyagok előállítása” c. OM pályázat keretében a Nyíregyházi DUNAPACK Papírgyár több alap- és felületkezelt papírjának biodegradációs tulajdonságait követtük nyomon. A felületkezelés célja az volt, hogy olyan víztaszító és környezetbarát összetételű anyagot vigyenek fel a papír felületére, amely képes kiváltani a nem biodegradálható PE réteg alkalmazását. Erre dolgozta ki a Debreceni Egyetem Alkalmazott Kémiai Tanszéke azt a bevonatot, amelynek biodegradálhatósága az alappapírral együtt került vizsgálatra. Tekintettel arra, hogy ebbe a munkába a mérőrendszerem fejlesztése közben kapcsolódtunk be, ez a feladat lehetőséget kínált arra, hogy megvizsgáljam: mennyire érzékeny a rendszer, észrevehető-e a felületkezelés hatása valamely anyag degradációs görbéjében. A vizsgálatot több alappapíron és több bevonattal végeztem el, miután bebizonyosodott, hogy a mérőrendszer érzékeli a felületkezelés szerepét az anyag lebomlásában; itt azonban csak azokat a mintákat – és mérési eredményeiket – mutatom be, amelyek egyrészt mind a biodegradálhatóság, mind pedig a fiziko-kémiai és technofunkcionális tulajdonságok területén is megfelelő szintű minősítést értek el, másrészt amelyeket a „BSB digi” rendszerrel is sikerült megvizsgálnom (ld. 4.3.4.2. alfejezet). A bemutatott eredmények így a Dunasack N alappapír és annak egyik oldalán PE-nel (20 g m^{-2}) vagy politejsav-polikaprolakton kopolimerrel (20 g m^{-2}) felületkezelt formáira vonatkoznak. A mérést mikrokristályos cellulóz referenciaanyag együttes vizsgálatával, 3 párhuzamossal 45 napon át végeztem.



14. ábra: Alap- és felületkezelt papírminták degradációs fokának alakulása. A hibajelölő sávok ± 1 szórást mutatnak.

Az eredményeket a pozitív referenciaanyagra kapott degradációs görbe feltüntetése nélkül a 14. ábra mutatja. Az alappapír biodegradációját egy klasszikus lefutású degradációs görbe jellemezi, amely $51,11 \pm 1,64\%$ degradációs fokon állandósul. A PE bevonat jelenléte jól láthatóan visszavetette az alappapír lebomlását, hiszen a telítés után kialakult végső degradációs foka nem érte el még a 25%-os értéket sem. A kopolimerrel kialakított bevonat ugyan megnyújtotta a lag szakasz hosszát, azonban a teszt végére kialakult, de nem állandósult degradációs görbe lefutása arra enged következtetni, hogy a bevonat jelenléte nem rontotta (sőt, feltételezhetően javította) az anyag mikrobiológiai hasznosíthatóságát az alappapírhoz viszonyítva.

4.2.5. A saját fejlesztésű mérőrendszer eredményeinek összefoglalása

Az irodalmi részben ismertetett megbízható CO₂ méréstechnikákhoz képest az általam a talajok biológiai aktivitásának mérési módszeréből átalakított-továbbfejlesztett rendszer nem tűnik túl modernnek. Ha azonban annak az információnak az ismeretében vizsgáljuk meg e méréstechnika jelentőségét, hogy jelen pillanatban, hazánkban nem áll rendelkezésre olyan méréstechnika, amely alkalmas lehetne valamely anyag biodegradációs folyamatának több héten keresztül történő folyamatos nyomon követésére, akkor szerepe nagymértékben felértékelődik. A közvetett CO₂ mérés, tehát az elnyeletést követő titrálás természetesen számos hibalehetőséggel bír, amelyekkel számolnunk kell: pl. az összes felszabadult szén-dioxidot nem lehet csapdába ejteni, hiszen a CO₂ csapdák hetente több alkalommal történő titrálása együtt jár a mérőrendszer leállításával és a CO₂ csapdák NaOH oldatának cseréjével, azaz a rendszer zártságának a megbontásával. Ennek ellenére a pozitív referenciaanyagra kapott 70% körüli degradációs fok arról ad bizonyosságot, hogy ez a meglehetősen sok kézi munkát igénylő méréstechnika megfelelően végrehajtott optimálás után alkalmas lehet valamely anyag biodegradálhatóságának megítélésére, sőt a papír minták vizsgálata során a különböző bevonatokkal ellátott alappírra kapott eltérő biodegradációs fokokon keresztül a megítélhettem a mérőrendszer érzékenységét is. Természetesen nem hagyhatom figyelmen kívül, hogy a kor szakmai elvárásainak ezen a területen is az automatizált méréstechnika felel meg leginkább, de anyagi eszközök hiányában ill. abból a tényből kifolyóan, hogy ezen a területen egyelőre csak elszórtan jelentkezik igény az ilyen jellegű mérések elvégzésére, az általam ismertetett, viszonylag egyszerű és kis költséggel összeállítható, robosztus (=környezeti hatásokra nem érzékeny, könnyen telepíthető, mozgatható és átépíthető) mérőrendszer létjogosultsága jelen helyzetben megkérdőjelezhetetlen.

Fontos kiemelnem, hogy a mások által kidolgozott degradációs mérőrendszerek ilyen mértékben átfogó optimálására (minta / közeg tömegarány, levegőztetési intenzitás, hőmérséklet) nem találtam adatokat, általában elfogadásra kerülnek azok a határértékek, amelyeket a szabványok ajánlanak. Ugyanakkor az általam elvégzett optimálás alapján joggal juthatunk arra a

következtetésre, hogy valamennyi mérőrendszer esetén célszerű lenne megkeresni legalább az előbb említett három működtetési paraméter ideális értékeit, amelyek mellett egy igazoltan jól biodegradálható anyag biodegradációs foka a legnagyobbnak adódik. Saját tapasztalataim szerint a vizsgálati közeghez kevert mintamennyiség igen fontos szerepet játszik a lebomlás során mért szén-dioxid mennyiségének alakulásában, mivel ez utóbbi nem egyenesen arányos a minta tömegével, s így a nagyobb mintamennyiség alkalmazása – bár abszolút értékben több CO₂-felszabaduláshoz vezethet, egyúttal – ronthatja a degradációs fokát. Ezt a leromlást a hőmérséklet emelésével részben kompenzálni lehet, de közel sem olyan mértékben, hogy csupán ennek a paraméternek a változtatásával ki lehessen váltani a megfelelő tömegarány megállapítását célzó kísérletsorozatot. Lett légyen szó új, átalakított vagy változatlan formában működő mérőrendszerről, valamennyi esetben célszerű ezt a folyamatot végrehajtani, hiszen – mint ahogy a bemutatott eredmények tükrözik – ugyanazon minta esetén is teljesen eltérő eredményre juthatunk az anyag lebonthatóságát illetően attól függően, hogy milyen hőmérsékleten és legfőképpen milyen mennyiségben vizsgáljuk.

Összefoglalva a saját mérőrendszer optimalása során elért eredményeket, a következő paramétersereg alkalmazása esetén a mérőrendszert validáló mikrokristályos cellulóz referenciaanyag degradációs foka eléri a kritikus, 70%-os határt: (I) az inkubátoredényekbe helyezett 80 g komposzthoz 2 g mennyiségben keverjük be a referenciaanyagot, (II) a mérést 37°C-on termosztálva és (III) 30-50 ml min⁻¹ levegőáram mellett végezzük.

A por alakú pozitív referenciaanyag használata mellett kísérletet tettem egy, a keményítőalapú fóliák biodegradálhatóságának megítélésékor alkalmazható film formájú (laboratóriumi) referenciaanyag megtalálására is, azon kereskedelmi forgalomban kapható termékek között keresve, melyeket gyártójuk már korábban biodegradálhatónak minősített. Egy film formájú referenciaanyag ugyanis megkönnyítené azon új (nem szabványos) vizsgálati módszerekkel kapott mérési eredmények kiértékelését, amelyek arra irányulnak, hogy az adott anyagot abban a formában tanulmányozzák, amelyben az majd a környezetbe kerül. Kísérleteim alapján a BF 103/51 jelű fóliaminta megfelelő választásnak bizonyulhat. Természetesen a jelenlegi gyakorlat nem nélkülözheti a könnyen hozzáférhető, por kiszerelésű referenciaanyagokat sem, hiszen egy új vagy módosított rendszert viszonylag egyszerűen lehet vele minősíteni és bármelyik más rendszerrel könnyen összehasonlítható eredményt szolgáltat.

Az ebben a fejezetben ismertetett, intenzív levegőztetésű mérőrendszerrel kapcsolatos eredmények összefoglalását két szakirodalmi közlemény [SZÁRAZ et BECZNER 2003a, SZÁRAZ et al. 2003c] mutatja be.

4.3. A „BSB DIGI CO₂” RESPIROMÉTER ÁTALAKÍTÁSA A BIOLÓGIAI LEBONTHATÓSÁG MÉRÉSÉHEZ

A „BSB digi CO₂” olyan módosított BOD mérőrendszer, amely egyidejűleg képes a fogyasztott O₂ és a termelt CO₂ mennyiségének meghatározására. Az irodalomban fellelhető adatok ill. a készülék gyártójától kapott információk alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy ezt a készüléket ill. egyetlen más gyártmányú BOD mérőt sem alkalmaztak még korábban szilárd közegű biodegradációs tesztekben – annak ellenére, hogy ezt a készülék kialakítása elvileg nem zárja ki. Ezen átalakítást végeztem el a zittai (Németország) „International Graduate School” környezetmérnököket képző főiskola és egyetem Környezeti Műveletek Tanszékén lévő mérőrendszerrel. Ezt követően a módosított rendszert optimáltam a körelemzésekből ismert referenciaanyaggal (Avicel, mikrokristályos cellulóz), majd vizsgálatot hajtottam végre azokon a biodegradálhatónak fejlesztett keményítőalapú fóliákon (többek között a hazai vizsgálatokhoz laboratóriumi referenciaanyagnak szánt mintán) és felületkezelt papírmintákon, amelyeket a saját, levegőztetett rendszerben már korábban elemeztem.

4.3.1. A gyári készülék átalakításának folyamata – felmerülő alkalmazási igények és gyakorlati megvalósítás

Tekintettel arra, hogy a BOD mérőrendszert az általános gyakorlattól eltérő alkalmazási területen szerettem volna felhasználni, számos ponton kellett átépítést ill. módosítást végrehajtanom:

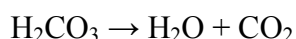
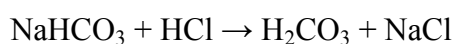
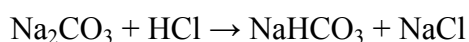
- A vizsgálati közeg gyökeres átalakítása (vízminták helyett talaj) maga után vonta, hogy jóval nagyobb CO₂ értékek mérése lett szükséges. A gyári készülék CO₂-csapdáinak méretét (50 ml) nem lehetett megváltoztatni, így azonos térfogat esetén a csapdában lévő lúgoldat töménységének növelése jelentett megoldást. A műszerkönyvi leírásban szereplő KOH koncentráció (1 mol l⁻¹) növelésének a vezetőképesség-mérő elektródák felső méréshatára (400 mS cm⁻¹) szabott gátat, így kezdetben a méréshatárt legteljesebb mértékben kihasználó, 4 mol l⁻¹ koncentrációjú lúgoldattal töltöttem fel a csapdákat.
- A lehető legnagyobb lúgkoncentráció rögzítésével párhuzamosan figyelembe kellett venni a vizsgálati anyagok elméleti CO₂ értékeit is (4. táblázat). A feltüntetett ThCO₂ adatok alapján szinte valamennyi minta esetén fennállt annak a lehetősége, hogy amennyiben 2 g-nál nagyobb mennyiségben kerülnek a mérőedénybe, majd a vizsgálat időtartama alatt a talajban teljesen lebomlanak, és a folyamat során felszabadult CO₂ mennyiségéhez még a talaj saját (háttér) CO₂ termelése is hozzáadódik, akkor a mérés során a CO₂ csapdák frissítésére lesz szükség. Ez utóbbi nyilvánvalóan zavarja a mérés menetét, és nehezebbé teheti az eredmények kiértékelését. Annak

érdekében tehát, hogy még egy hosszabb mérés során sem közelítsük meg az 50 ml KOH oldatot tartalmazó CO₂ csapdák telítési határértékét (4 mol l⁻¹ KOH oldatnál ez az érték 100 mmol CO₂), igyekeztünk olyan talajt választani, amelynek a háttér szén-dioxid termelése nem terheli le túlzottan a CO₂ csapdák abszorpciós kapacitását. A német fél tapasztalataira támaszkodva egy jó minőségű német virágföld mellett döntöttünk, amelynek tulajdonságai (ld. 3.2.1. pont) kielégítették a nemzetközi biodegradációs szabványokban a szilárd vizsgálati közeg szervesanyag-tartalmára, kémhatására, valamint nedvességtartalmára megfogalmazott előírásokat (2.4.3.2.1. alfejezet).

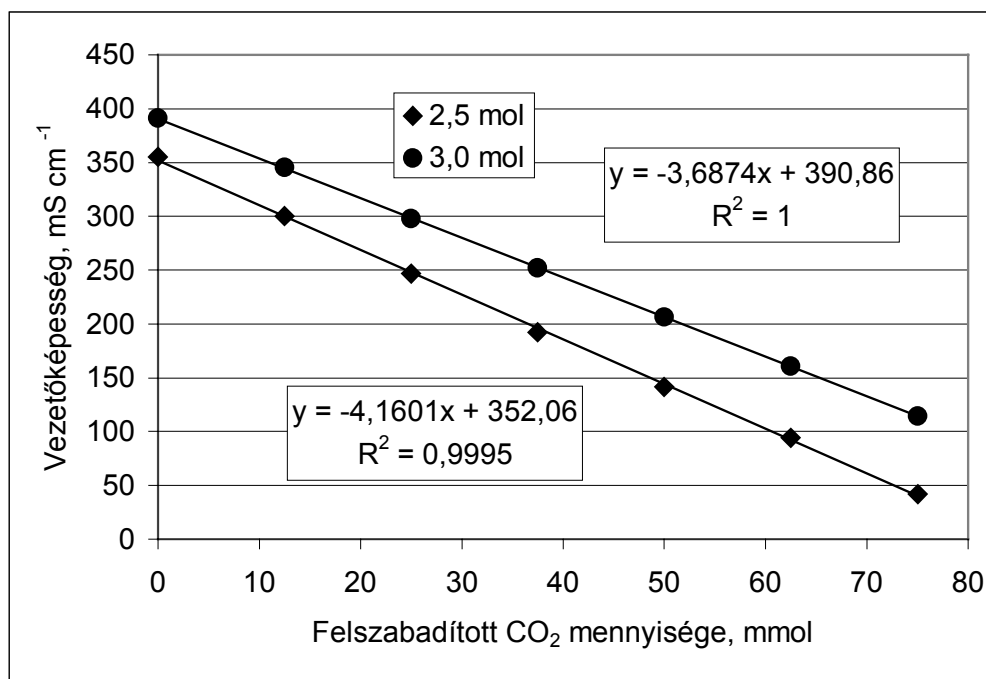
- A felső méréshatár közelében, 4 mol l⁻¹ KOH oldattal dolgozva az előzetes mérések nem bizonyultak reprodukálhatónak, gyakran adódtak nyilvánvalóan téves vezetőképesség értékek, így a gyártóval folytatott tapasztalatcserét követően a lúgoldat koncentrációjának csökkentése vált szükségessé: először 3,5 mol l⁻¹ KOH, majd végül 20°C-on 3 mol l⁻¹, ill. a megemelt hőmérsékletű mérésnél, 35°C hőmérsékleten 2,5 mol l⁻¹ KOH oldatok használata mellett kellett döntenünk. Az elnyelhető maximális CO₂ mennyisége ennek megfelelően 75 ill. 62,5 mmol CO₂-ra csökkent. A nagyobb hőmérsékleten kisebb KOH oldat koncentráció alkalmazása abból a gyakorlati megfigyelésből adódott, hogy bár hőmérséklet-kompenzált elektródákkal dolgoztunk, ennek ellenére az emelt (35°C) hőmérsékleten használt 3 mol l⁻¹ KOH oldat gyakran hibás mérési eredményekkel szolgált, míg ezt a jelenséget 2,5 mol l⁻¹ oldat esetén nem tapasztaltuk.

4.3.2. A rendszer kalibrálása az új alkalmazásnak megfelelően

A rendszer kalibrálása a 4.3.1. alpontban ismertetett átalakítások után a következő módon történt: két mintaedénybe 100,0 ml 5,0 mol l⁻¹ HCl oldatot töltöttem, majd az edény szeptumán keresztül 5,0 ml 2,5 mol l⁻¹ Na₂CO₃ oldatot fecskendeztem be. Az alább ismertetett reakciókban felszabadult CO₂-ot (12,5 mmol CO₂) 20°C-on 50 ml, 3,0 mol l⁻¹ KOH oldatban ill. 35°C-on 50 ml, 2,5 mol l⁻¹ KOH-oldatban nyelettem el. A mintaedényekben a következő reakciók zajlottak le:



Két injektálás között eltelt idő átlagosan 45 percrek adódott, tekintettel arra, hogy minden injektálást követően megvártam az új, lecsökkent vezetőképesség érték állandósulását. A teljes kalibrálási folyamat 6 egymást követő injektálásból állt össze, melyek alatt a HCl ill. KOH oldatokat mágneses keverővel intenzíven kevertettem. Az egyidejűleg 2 mérőhelyen végzett kalibrálás eredményeiből kialakított analitikai mérőgörbét a 6 injektálásból adódó 7 mérőpontra illesztettem.



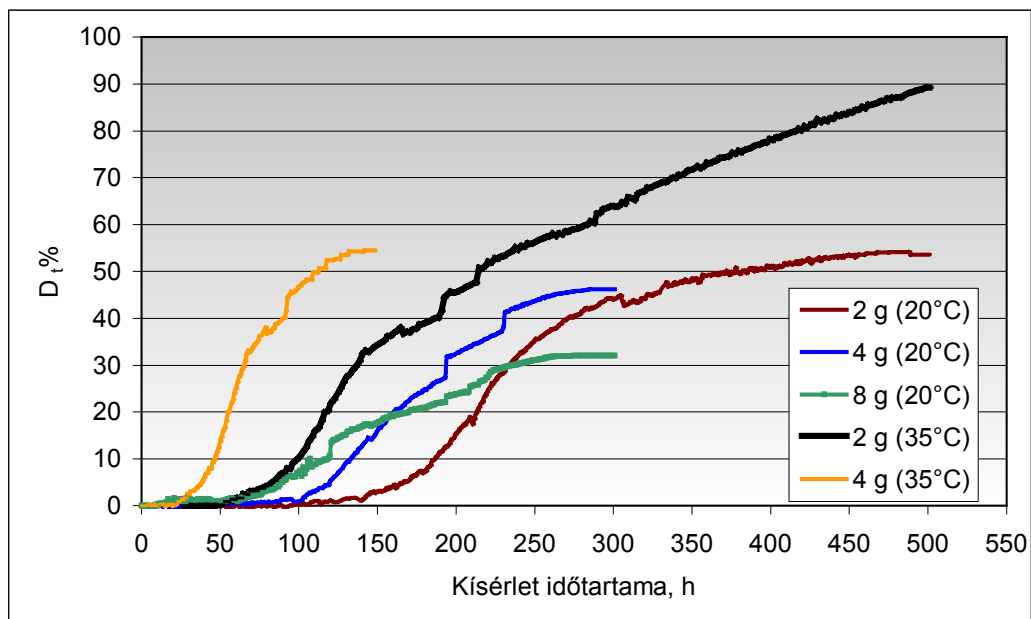
15. ábra: Respirométer kalibrálása 3,0 mol l⁻¹ KOH oldattal 20°C-on és 2,5 mol l⁻¹ KOH oldattal 35°C-on. Mindkét analitikai mérőgörbe 2 párhuzamos mérés átlagértékeit hordozza.

Az ismert mennyiségű Na₂CO₃-ból sósavval felszabadított CO₂ mennyisége és a CO₂ csapdába töltött KOH oldatokban bekövetkezett vezetőképesség-csökkenés közötti lineáris összefüggés szorosságát és az analitikai mérőgörbék egyenleteit a 15. ábra mutatja. Az egyenletek alapján elmondható, hogy 20°C-on 3,0 mol l⁻¹ KOH használata esetén 1 mmol CO₂ elnyelése 3,68 mS cm⁻¹, míg 35°C-on 2,5 mol l⁻¹ KOH esetén 1 mmol CO₂ elnyelése 4,16 mS cm⁻¹ vezetőképesség-csökkenést eredményez; mindezek alapján a 2,5 mol l⁻¹ koncentráció alkalmazásánál a mérőrendszer érzékenyebb és szorosabb a kapcsolat áll fenn a független és a függő változó között – bár így a CO₂ abszorpciós kapacitás kisebb. A regressziós együttható mindkét KOH koncentráció esetén gyakorlatilag 1-gyel egyenlő, amely a gyakorlati munkatartománynak a vezetőképesség elektródok teljes mérési tartományára történő, mérési bizonytalansággal valószínűleg alig terhelt kiterjesztését teszi lehetővé.

4.3.3. Az átalakított „BSB digi CO₂” mérőrendszer optimalálása por kiszerelésű referenciaanyag (mikrokristályos cellulóz) segítségével

A mérőrendszer működési paramétereinek beállításánál két bemeneti változóban adódott optimalálási lehetőségünk: a hőmérséklet ill. a mintaedénybe keverhető vizsgálati minta mennyiség tekintetében. A mintaedények meghatározott mérete miatt a saját, intenzíven levegőztetett rendszerrel lefolytatott kísérletek eredményét figyelembe véve, a megfelelő térfogatú légtér biztosítása érdekében 80 g virágföld-mennyiség mellett döntöttünk. A két, vizsgálat alá vont hőmérséklet (20°C, 35°C), valamint a minta / virágföld arányok igazodtak azokhoz a hőmérsékletekhez és arányokhoz, amelyeket korábban a saját rendszer esetén is tanulmányoztam. Ennek megfelelően az Avicel mikrokristályos cellulóz pozitív referenciaanyaggal végzett méréseinket 20°C-on 2 g, 4 g, 8 g Avicel 80 g talaj ill. 35°C-on, 2 g, 4 g Avicel / 80 g talaj összeállításban végeztük.

A respirométer referenciaanyaggal (Avicel) történő optimalálása a degradációs görbék telítődéséig, de legfeljebb 21 napig zajlott. A 20°C ill. 35°C-on végrehajtott mérések eredményeit a 16. ábra mutatja, míg a görbék legfontosabb paramétereit az 5. táblázatban foglaltam össze.



16. ábra: 2, 4 és 8 g Avicel (mikrokristályos cellulóz) degradációs foka 20°C ill. 35°C-on virágföldben vizsgálva.

Az adatok kétóránkénti rögzítése lehetőséget biztosít a degradációs kinetika tanulmányozására: a jól hasznosítható vizsgálati anyag mennyiségének növelése lerövidíti a lag periódus hosszát, a hőmérséklet emelése pedig megnöveli a vizsgálati anyag degradációs fokát ($D_t \%$). Azon túl, hogy a rendszer érzékenyen reagált a hőmérséklet emelésére és a referencia anyag / virágföld tömegarányára, egy további jelenséget is megfigyelhettünk: bár az Avicel

mennyiségének növelése csökkentette a lag szakasz hosszát és így lebomlási folyamatai korábban kerültek a felfutó szakaszba, mégis a degradációs fokának visszaesését tapasztalhattuk. Ennek oka az, hogy a vizsgált minta tömegének növelésével nem nőtt arányosan a lebomlás során felszabadult szén-dioxid mennyisége, amely arra utal, hogy a közegbe keverhető mennyiségnek van egy optimális – a fizikailag bekeverhető mennyiséggel nem egyező – értéke [DERRADJI et al. 1996]. Ezek az eredmények teljes mértékben egyeznek az intenzíven levegőztetett rendszerrel tapasztaltakkal. Az 5. táblázat adatai ugyanis arra utalnak, hogy 2 g vizsgálati anyag esetén a hőmérséklet 15°C fokkal való növelése 36%-os növekedést váltott ki a degradációs fokában, míg 4 g mintánál ugyanezen hőmérsékletemelés csak 8%-ot eredményezett. 20°C-on a minta tömegének 2 g-ról 4 g-ra történő növelése a $D_t\%$ értékét kb. 7 %-al csökkentette, addig 35°C-on ez a tömegnövelés már kb. 35%-os degradációs fok csökkenést eredményezett. A hőmérséklet emelése tehát igen hatékony eszköznek bizonyult az Avicel biodegradációjának fokozásában, ez a hatás azonban csak akkor juthatott érvényre, ha az optimális minta / talaj tömegarány beállítása mellett, azzal párhuzamosan alkalmaztuk.

5. táblázat: Avicel degradációs görbéinek legfontosabb paramétereit. (*) = nem állandósult görbe.

Avicel mennyisége, g	Hőmérséklet, °C	Lag fázis hossza, h $\pm$ SD	Degradációs fok, $D_t\% \pm$ SD
2	20	142 $\pm$ 7	53,2 $\pm$ 7,2
4		102 $\pm$ 9	46,6 $\pm$ 4,2
8		52 $\pm$ 3,5	32,7 $\pm$ 3,7
2	35	54 $\pm$ 7	89,3 $\pm$ 3,2 *
4		20 $\pm$ 6	54,3 $\pm$ 8,7

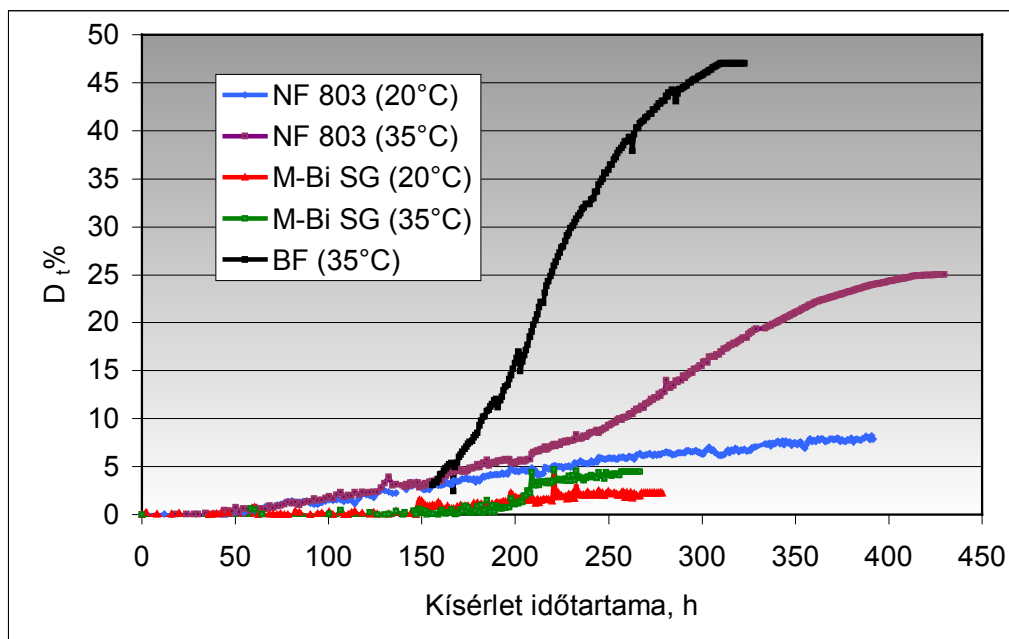
Az Avicel degradációs görbéi alapján tehát azt lehet kijelenteni, hogy a mérőrendszer szilárd közegű biodegradációs teszt céljára akkor alkalmazható, amennyiben a vizsgálati hőmérsékletet megnöveljük, tekintettel arra, hogy kizárólag 35°C hőmérsékleten ill. 2 g vizsgálati anyag bekeverése esetén haladta meg a degradációs foka az általánosan elfogadott, 70% körüli degradációs határértéket. Tekintettel arra, hogy egyrészt közegként nem komposztot, hanem virágföldet (tehát érett, megállapodott közeget) alkalmaztunk, másrészt pedig a 35°C fokon elért 89,3 $\pm$ 3,2%-os (de nem végleges) eredmény teljes mértékben kielégíti az elvárásokat, a még ennél is nagyobb hőmérséklet kipróbálása nem tekinthető célszerűnek, sem a rendszer tartós üzemeltetése, sem pedig a virágföld minősége szempontjából.

4.3.4. Valódi minták mérése az átalakított mérőrendszer segítségével

A méréseket általában 3 párhuzamossal, kétszer ismételve végeztük a degradációs görbe állandósulásáig, vagy legfeljebb 21 napig. A mérés közben lehetőség kínálkozott a mérőedényekben folyó lebomlás szabad szemmel történő megfigyelésére, a minta színének, a légtér valamint a talaj nedvességtartalmának nyomon követésére. A mérés kezdetén és végén meghatároztuk a talaj nedvességtartalmát és kémhatását.

4.3.4.1. Keményítőalapú fóliák biodegradációjának vizsgálata

A fóliaminták esetén 20°C ill. 35°C-on egyaránt a 2 g minta / 80 g virágföld arányt alkalmaztuk. Ez az arány abból fakad, hogy 80 g talaj vagy hasonló szilárd közeg legfeljebb 2 g szeletelt minta befogadására képes anélkül, hogy a minta jelentős hányada egymáshoz vagy az edényzet falához ragadna [PAGGA et al. 2001a]. Ez a korábban a saját rendszerünkönél szerzett tapasztalat kiindulópontként szolgált a fóliaminták vizsgálatánál, és ennek megfelelően hajtottam végre az 5 mm × 5 mm méretűre vágott minták vizsgálati közegbe történő, egyenletes bekeverését. A rendelkezésre álló hely és idő hiányában kizárólag azok a minták kerültek vizsgálatra, amelyek az intenzíven levegőztetett rendszerben vagy a beágyazásos vizsgálatok során mutatott tömegcsökkenés tekintetében kiemelkedően jó lebomlási jelleggel bírtak. Ennek megfelelően az NF 803, az M-Bi SG 130, valamint a korábbi fejezetben már részletezett okok miatt film formájú laboratóriumi referenciaanyagnak szánt BF 103/51 minták elemzése történt meg.



17. ábra: Keményítőalapú fóliaminták degradációs foka 20°C ill. 35°C-on, virágföldben vizsgálva.

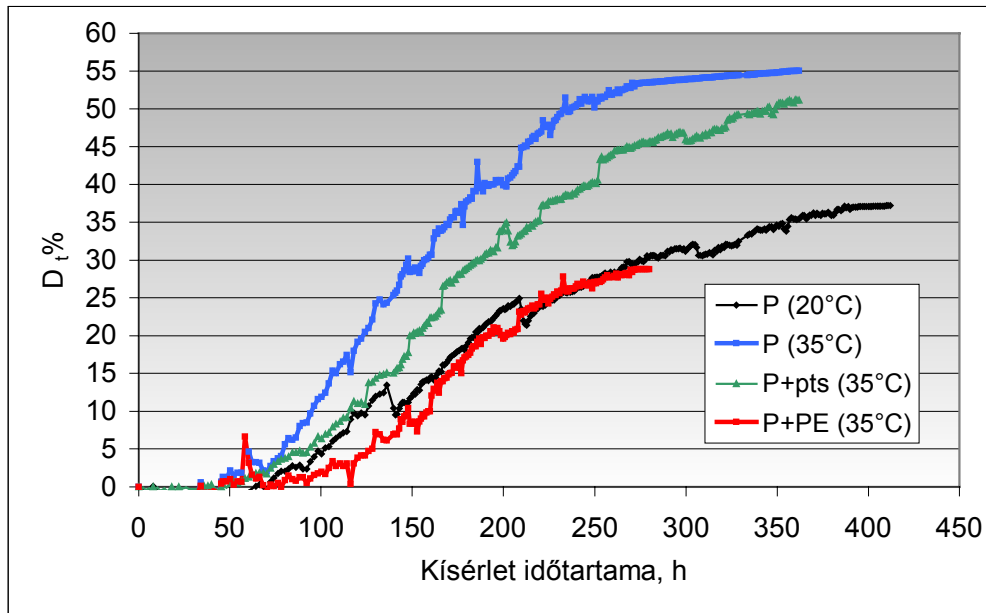
A fóliák degradációs görbéit 20°C ill. 35°C fokon a 17. ábra mutatja, a görbék fontosabb paramétereit pedig a 6. táblázatban foglaltam össze. Az eredmények azt jelzik, hogy a hőmérséklet növelése nem emeli meg a degradációs fokát olyan mértékben, mint ahogyan az Avicel esetén (36%) tapasztaltuk: az NF 803 jelölésű, keményítőalapú fóliánál csak kb. 17% a növekedés mértéke, míg az M-Bi SG jelölésű minta esetén ez mindössze 2%. Az elért degradációs fokok kb. 8%-kal maradtak el az intezíven levegőztetett rendszerben mért értékektől; még a film formájú referenciaanyagként kezelt fólia esetén is tapasztalható volt ez a visszaesés, bár az elért $47,03 \pm 3,7\%$ degradációs fokkal messze kiemelkedett a többi fólia közül.

6. táblázat: A keményítőalapú fóliák degradációs görbéinek legfontosabb paramétereit.

Minta jele	Hőmérséklet, °C	Lag fázis hossza, h $\pm$ SD	Degradációs fok, $D_t\% \pm$ SD
NF 803	20	$86 \pm 5,5$	$8,1 \pm 2,3$
	35	$80 \pm 6,5$	$24,92 \pm 4,1$
M-Bi SG	20	---	$2,27 \pm$
	35	---	$4,44 \pm$
BF	35	155 ± 4	$47,03 \pm 3,7$

4.3.4.2. Felületkezelt ill. kezeletlen papírok biodegradációjának vizsgálata

A DN fehérítetlen alappapírral (P), a P + PE valamint a P + pts (politejsav-polikaprolakton) bevonatos papírokkal 35°C hőmérsékleten az előző, fóliákkal végrehajtott kísérlethez hasonlóan 2 g minta / 80 g virágföld összeállításban végeztem el a degradációs méréseket. Bár a hőmérséklet szerepének megállapítását a papírminták degradációs folyamataiban csak a kezeletlen papírok esetén volt módomban megvizsgálni, mégis fontos következtetéseket tudtam levonni belőlük a bevonatos papírok mérési összeállításának megtervezéséhez. Mint ahogy a 18. ábrán látható, a megfelelő teszhőmérséklet kiválasztása elsődleges fontosságú: még egy olyan vizsgálati anyag esetén is kaphatunk nem kielégítő eredményt, mint a szinte megkérdőjelezhetetlen biodegradálhatósággal jellemezhető papír, amely közel 20%-kal kisebb degradációs fokot ér el 20°C fokon hőmérsékleten a 35°C-hoz képest.



18. ábra: Papírminták degradációs foka 20°C ill. 35°C-on, virágföldben vizsgálva.

A kopolimer bevonattal ellátott minta és az alappapír degradációs görbéinek statisztikai alapon elvégzett összehasonlítása nem tárt fel szignifikáns különbséget a két minta bomlási folyamatait illetően, ugyanakkor a PE bevonat számottevően és szignifikáns mértékben visszavetette a minta biodegradációját, még ugyanazon megnövelt (35°C) hőmérséklet esetében is.

4.3.4.3. A respirométerrel végrehajtott mérések közben tett megfigyelések összegzése

A szilárd közegű tesztek ugyan nem teszik lehetővé a bomlási folyamatok köztes- és melléktermékeinek kinyerését és elkülönített vizsgálatát, azonban a mérések folyamán ill. lezárásánál végig nyomon lehetett követni néhány mellékesnek tűnő, ám a gyakorlati megvalósítást tekintve fontos paraméter változását. Ezek közül az egyik legfontosabb „vizuális” megfigyelésnek ill. felügyeletnek az edényfalak párasodása számít, amely a teljes vizsgálati időszak alatt tapasztalható volt, és a virágföld végig kielégítő nedvességtartalmára utalt. Ezt az állítást támasztja alá az is, hogy a mintaedények szétszedésénél nem találtam csatornaképződésre utaló nyomokat a vizsgálati közegben. További fontos megfigyelésnek tekintem azoknak a papírmintáknak a penészedését, amelyek nem PE bevonatot hordoztak. Mindez egyrészt arra utal, hogy bár az *Actinomyces ssp.* fonalas baktériumok számítanak a talán legfontosabb, biodegradációs folyamatokban szerepet játszó mikrobáknak, aerob környezet esetén a penészek tevékenysége is igen jelentős; másrészt az inert PE már egyoldalas bevonás esetén is láthatóan kevésbé hozzáférhetővé teszi a vele rétegzett minta mikrobiológiai úton lebontható alkotóit, még a viszonylag széles adaptációs képességgel bíró penészek számára is. A fóliák penészedést nem,

csupán látványos pirosas-sárgás elszíneződést mutattak. A minták épségét tekintve legjobban a mérés végére darabokra aprózódó, de még kivehető BF 103/51 állaga szolgált a bomlási folyamatok bizonyítékaként.

A mérések végén meghatároztuk az edények tömegcsökkenését, amely átlagosan 6%-nak adódott és a vizsgálati közegben kialakuló kémhatást is, amelyet a vak mérőhelyeken pH=5,85-nak mértünk, vagyis a kezdeti értékhez képest kis mértékű savanyodás volt tapasztalható.

4.3.5. A „BSB digi CO₂” respirométerrel kapott eredmények összefoglalása

A nemzetközi és nemzeti szabványokat tanulmányozva találhatunk olyan vizsgálati módszereket, amelyek BOD mérő készüléket alkalmaznak valamely anyag biodegradálhatóságának megállapítására. A rendszer automatizáltsága és pontosan kidolgozott mérési elve lehetőséget biztosít valamely anyag degradációs kinetikájának pontos megismerésére. A készülékek adottságai elvileg nem zárják ki, hogy a mérőedényeiben szilárd közegben (komposztban, talajban) is vizsgálhassuk egy anyag biodegradációját, így szélesítve ezen készülék alkalmazhatóságát a biodegradálhatóság / komposztálhatóság eldöntésében. Ezt a lehetőséget ragadtam meg és váltottam valóra akkor, amikor kihasználva a Selutec cég által gyártott „BSB digi CO₂” fantázianevű berendezés járulékos üzemeltetési módját, közvetlen CO₂ mérésre alapozva a szakirodalom szerint elsőként társítottam szilárd közegű biodegradációs vizsgálatot BOD mérő készülékkel.

A célnak megfelelően átalakított mérőrendszert kalibráltam, megállapítottam általános működési jellemzőit, gyakorlati mérési tartományát, és optimálást hajtottam végre. Első feladataim egyike a szilárd vizsgálati közegnek alkalmas anyag keresése bizonyult. A szilárd közegű biodegradációs tesztek általában komposztban ill. talajban vizsgálják az anyagok lebomlását. Az említett közegek helyett általam alkalmazott, kereskedelmi forgalomban kapható virágföld azért felelt meg jobban a mérési összeállítással kapcsolatos kívánalmaknak, mert egyrészt az évszaktól függetlenül bármikor beszerezhető, másrészt előzetes vizsgálataink azt mutatták, hogy a párhuzamos mérések közötti eltérés sokkal kisebb (= a mérések megbízhatósága jobb), mint komposzt használata esetén.

Következő lépésként, az optimálás részeként a minta (por formájú referenciaanyag) / vizsgálati közeg tömegarányt és a vizsgálati hőmérsékletet kellett beállítanom. A véglegesített mérési eljárás során a 500 ml-es mintaedényekbe töltött 80 g virágföld, összevetve az általában használt 2-3 literes edényekkel első megközelítésben kis térfogatnak és kis talajmennyiségnek tűnik, azonban a referenciaanyag vizsgálatára kapott eredmény ($D_t\% = 89\%$) mégis azt támasztja alá, hogy megfelelően választott minta / vizsgálati közeg tömegarány esetén a nagyobb edényzetekben is megfigyelhető, körelemzésekből ismert degradációs folyamatok követhetőek

nyomon. Az Avicellel folytatott mérések arról is tanúskodnak, hogy virágföld használata esetén mindenképpen érdemes hőmérsékletnövelést végrehajtani, hiszen ez egyrészt szignifikánsan növeli a degradációs fokot, másrészt lerövidíti a lag periódus hosszát. Ugyanakkor semmiképpen nem célszerű olyan extrém kiugró értéket választani, mint a komposztos tesztek esetén ajánlott, a gyakorlattól némileg elrugaszkodott 58°C-os érték, hiszen 35°C is már elegendően nagy, bizonyult ahhoz, hogy 89%-os degradációs fokot érjünk el 2 g Avicel / 80 g virágföld arány alkalmazása esetén.

Az optimált mérőrendszert valódi fólia- és papírminták vizsgálatára használtam fel az első mérési körben. Először keményítőalapú fóliákat kevertem a vizsgálati közegbe, melyek elemzése a vizsgálati hőmérséklet beállításán túl felhívta a figyelmet arra, hogy a mintával nem azonos formájú referenciaanyag mennyire eltérő megítélést ad a rendszer optimált működési paramétereinek közvetlen alkalmazhatóságáról. A továbbiakban a kartonpapír minták (P; P + PE; P + pts) vizsgálata nem csupán azért volt fontos, mert jól szemléltette egy megkérdőjelezhetetlenül komposztálható anyag lebomlási folyamatát ebben a mérőrendszerben, hanem azért is, mert rámutatott a vizsgálati minta formájának-kiszerezésének jelentőségére: bár felszeletelt formában is biodegradálhatónak mutatkozott, a degradációs foka messze elmaradt a por alakú referenciaanyag degradációs fokától.

A rendszer előnyös tulajdonságaként tudtam elkönyvelni azokat a jelenségeket, hogy (I) ennél a viszonylag kis tömegű (virágföld) közegnél nem alakult ki csatornaképződés (amely a túllegegőztetett szilárd közegek hátrányos sajátosságaként ismert), (II) visszanedvesítésre nem volt szükség, tekintettel arra, hogy a leghosszabb mérés ideje alatt sem volt $6,0 \pm 0,7\%$ -nál nagyobb a tömegcsökkenés mértéke, és (III) a minták egyenletes penészedése a végig megfelelő nedvesség- és oxigénellátottságra utalt.

A BOD mérőrendszer szilárd közegű biodegradációs vizsgálatok céljaira történő átalakítását és a végrehajtott mérések összefoglalását szakirodalmi közleményben [SZÁRAZ et al. 2003b] jelentettem meg.

4.4. BEÁGYAZÁSOS VIZSGÁLATOK KOMPOSZTBAN

A legkorábbi és egyben a legkézenfekvőbb biodegradációs vizsgálatok egyike az anyag komposztban / talajban nyomon követett tömeg- ill. szervesanyag-tartalom csökkenése volt. Bár nem került szabványosításra – hiszen bebizonyosodott, hogy a kapott eredmények nem tükrözik a vizsgálati anyag biológiai úton történő lebomlását –, ennek ellenére mégis megmaradt, különösen a BDP-ket előállító cégek használatában az ún. „screening” tesztek között.

A szabványokhoz igazodó, intenzíven levegőztetett CO₂ mérőrendszer összeállítása és optimálása előtt – más eszközök hiányában – én is „rákényszerültem” ezeknek a módszereknek

az alkalmazására és egészen a levegőztetett rendszer használatba állításáig valamennyi vizsgálati anyag lebonthatóságát az így kapott eredmények alapján próbáltam megítélni.

Ugyanakkor léteznek olyan vizsgálati anyagok, amelyeknek összetétele eleve kizárja, hogy lebonthatóságuk tanulmányozása levegőztetett rendszerben folyjék. Többek közt ilyenek azok a KÉKI-ben jelenleg is fejlesztés alatt álló, merevfalú csomagolóanyagok, amelyek különböző magörleményekből kerülnek előállításra, felületükön speciális, víztaszító bevonattal. Összetételükből adódóan gyorsan penészednek: a fonalak 2-3 nap alatt a teljes vizsgálati közeget átszövik, lehetetlenné téve a komposzt átlevegőztetését a mérőrendszer inkubátoredényeiben. Ezen minták komposztba temetése, majd rendszeres időközönként felületük változásának tanulmányozása szabad szemmel ill. felületi mikroszkóppal, gyakorlatilag az egyedüli lehetőség lebomlásuk nyomon követésére, tekintettel arra, hogy ezekben az esetekben elsődlegesen a bevonat biodegradálhatósága képezi a vizsgálat tárgyát.

A vizsgálati anyag lebomlásáért felelős – keményítőalapú minta esetén a keményítóbontó – mikrobák számának a vizsgálati közegben adott időközönként végzett mérése másik, alternatív kiegészítő módszernek kínálkozik a tesztanyag lebonthatóságának minősítésére. Azon ismeretek birtokában, miszerint (I) a talajmikrobák jelentős hányada nem tenyészthető ki laboratóriumi körülmények között [SZEKI 1979], (II) egy anyag lebomlásában szerepet játszó mikrobák csoportja nem szűkíthető le csupán speciális fajok tevékenységére, valamint (III) a szabványos módszerek nem fektetnek hangsúlyt a mikrobiológiai tevékenység szaporodással kapcsolatos vizsgálataira, egyenlőre ezekre az eljárásokra kevésbé fektettem hangsúlyt, és csak a laboratóriumi referenciaanyag esetén követtem nyomon a baktérium-, penész- és élesztőszámot, valamint a keményítóbontó mikrobák számának alakulását az anyag lebomlása során.

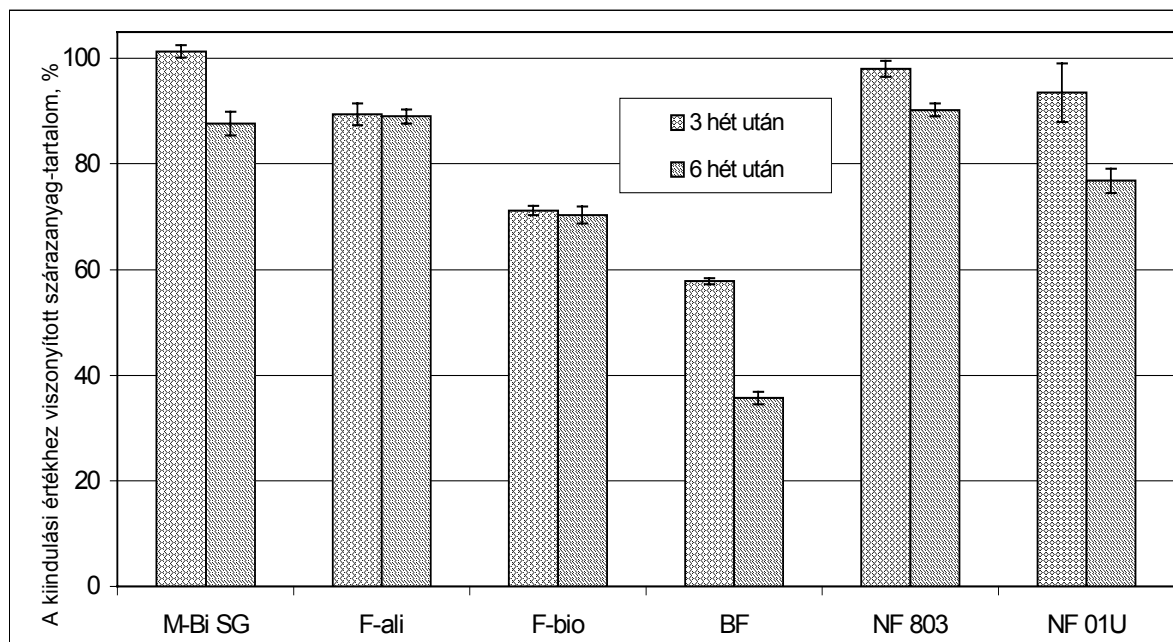
4.4.1. Gyakorlati kivitelezés I.

A komposztot a 3.2.1. alpontban ismertetett módon készítettem elő, majd fóliák esetén mintánként 4-4 db, analitikai pontossággal ($\pm 0,1$ mg) meghatározott tömegű, 20 mm $\times$ 20 mm méretű vizsgálati anyagot (megkülönböztetésük módját ld. 3.1.2. alfejezet) ill. a fent említett, speciális bevonattal rendelkező, merevfalú csomagolóanyagok egy-egy kisebb darabját rétegezve ágyaztam be 1-1 db 100 ml-es, kb. 80 g komposztot tartalmazó főzőpohárba. Ezt követően lemértem a pohár teljes tömegét, hogy a kezdeti dokumentált érték alapján a nedvességet naponta, csapvízzel pótolhassam. A főzőpoharakat alufóliával fedtem le, hogy megóvjam a komposztot gyors kiszáradástól, de az aerob anyagcseréhez szükséges levegőcsere érdekében nyílásokat alakítottam ki rajta. Ezt követően a főzőpoharakat 37°C hőmérsékletű termosztátba helyeztem. A könnyen penészedő minták esetén kétnaponta történt a felületek vizsgálata (szabad szemmel ill. mikroszkóppal) és a tapasztalt mikrobiológiai tevékenység függvényében

minősítettem a mintákat. Fóliák esetén a 3. ill. 6. héten a minták alapos desztillált vizes leöblítése után zajlott a szárazanyag-tartalom meghatározása (ld. 3.1.3. alpont), majd ezeket az értékeket a kiindulási adatokkal vettem össze; statisztikailag (kétmintás t-próbával) elemezve az egyes időpontokban a maradék szárazanyag-tartalomra kapott értékeket. A vizsgálat végén minden esetben lehetőség nyílt a minták felületének tanulmányozására, így a mikrobiológiai tevékenység közvetlen megfigyelésére is, amelyet egyrészt szabad szemmel ill. fénymikroszkóppal, vagy pedig felületi mikroszkóppal végeztem el.

4.4.1.1. Szárazanyag-tartalom csökkenése komposztban

A 19. ábra – a teljesség igénye nélkül – azon (főleg keményítőtartalmú) fóliák komposztban lezajló szárazanyag-tartalom csökkenését foglalja össze, melyek biodegradálhatóságának vizsgálata az intenzíven levegőztetett rendszer fejlesztése előtt zajlott le, de – valamivel később – a levegőztetett mérőrendszer optimalizálását követően az ott kapott degradációs görbék alapján újra kiértékelésre kerültek. Leginkább egyértelműnek a BF minta eredményei adódnak, hiszen a vizsgálat 6 hete alatt szárazanyag-tartalma 64%-kal csökkent. Tekintettel arra, hogy ennek a mintának a vizsgálatára a többi mérési eljárás esetében is nagy hangsúlyt fektettem, egy kiegészítő jellegű, meghosszabbított méréssorozatot is végrehajtottam, amelynek keretében igazolni tudtam, hogy ez a minta 8 hét alatt gyakorlatilag teljes mértékben lebomlik. Mivel a 6. héttől a minta eredeti formájában már nem nyerhető ki a vizsgálati közegből (könnyen szakadozik, szétmállik), így további adat a tömegcsökkenés pontos lefutásáról nem áll rendelkezésre. A statisztikai értékelés (Welch-próba; 7. táblázat) is ennél a mintánál tárta fel a legbiztosabb szignifikáns különbséget valamennyi összehasonlítás során, mind a kezdeti és 3. ill. 6. heti adatok, mind pedig a 3. és 6. heti adatok között. Annak ismeretében, hogy ez a keményítőalapú minta biodegradálhatónak mutatkozott mind az intenzíven levegőztetett, mind pedig a „BSB digi CO₂” respirométerben, adta az ötlete ahhoz, hogy egy ilyen anyagra kapott tömegcsökkenési tendenciát viszonyítási alapnak tekintsek egy másik anyag biodegradálhatóságának megítéléséhez. A BF minta 3. ill. 6. héten visszamért szárazanyag-tartalma alapján arra a következtetésre jutottam, hogy az időben egyenletesnek mutakozó tömegcsökkenés vezethet el valamely anyag széteséséhez. A másik, ugyancsak számottevő tömegcsökkenést a „F-bio” jelzésű mintánál tapasztaltam (30%). Ennél a fóliánál azonban a vizsgálat második felében nem következett be további szignifikáns csökkenés; mindez leginkább arra enged következtetni, hogy itt a keményítőkomponensek ill. egyéb gyorsan kioldható alkotók „elvesztése” már a vizsgálat első felében lezajlott, hasonlóan a „F-ali” minta viselkedéséhez. Jelentős tömegcsökkenést továbbá még az NF 01U esetén rögzítettem (23%), bár itt az első 3 hét



19. ábra: Fóliaminták szárazanyag-tartalom értékeinek változása 3 és 6 hét időtartamú, komposztban történő beágyazást követően. A hibajelölő sávok ± 1 szórást mutatnak.

után a tömegcsökkenés nem bizonyult szignifikánsnak, tekintettel az adatok nagy szórására. Ennek a mintának a tömegcsökkenése a vizsgálat második felében volt megfigyelhető, amely egybeesett azzal az idővel, amikor a degradációs görbével (feltehetően „inherensen biodegradálható” anyagnak megfelelő lefutással), amelyet az intenzíven levegőztetett rendszerben mutatott. A többi minta esetén a mért szárazanyag-tartalom változások értéke 10% körül alakult, amely megfelelt annak az eredménynek, amelyet a CO₂ mérőrendszerekben is mutattak, miszerint ezek a vizsgálati anyagok nem biodegradálhatóak.

7. táblázat: Néhány kiválasztott fóliaminta szárazanyag-tartalom változásának statisztikai kiértékelése. A mintákhoz tartozó vizsgálati hetek oszlopainak és sorainak metszetében a kiválasztott időpontokban megállapított szárazanyag-tartalom (%) adatokkal elvégzett Welch-próbák által megadott valószínűségi értékek találhatók, %-os kifejezésben. Az 5%-nál kisebb értékek szignifikáns különbséget jeleznek. A „0. hét” a kiindulási, beágyazás előtti adatokra utal.

Fóliaminták												
M-Bi SG 130			NF 803		NF 01U		F-ali		F-bio		BF	
Mérés időpontja	3. hét	6. hét	3. hét	6. hét	3. hét	6. hét	3. hét	6. hét	3. hét	6. hét	3. hét	6. hét
0. hét	19	<5	52	<5	11	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
3. hét	–	<5	–	6,9	–	<5	–	67,7	–	91,0	–	<5

4.4.1.2. A szabad szemmel ill. mikroszkóppal végzett megfigyelések értékelése

Valamennyi, vizsgálatba vont keményítőalapú mintánál megfigyelhető volt a minta foltokban jelentkező, sárgás-rózsaszínes elszíneződése, amely 3 hét után még csak apró foltokként jelentkezett, majd egyre intenzívebbé vált és nagyobb területre is kiterjedt. A szabad szemmel is észlelhető folytonossági hiányok a MB SG 130, valamint a BF minta esetén tűntek fel 3 hét után, majd a 6. hétre mindkét minta csipkeszerűen lyukacsossá vált. Az NF 803 mintáknál szabad szemmel – az elszíneződéstől eltekintve – nem észleltem elváltozásokat.

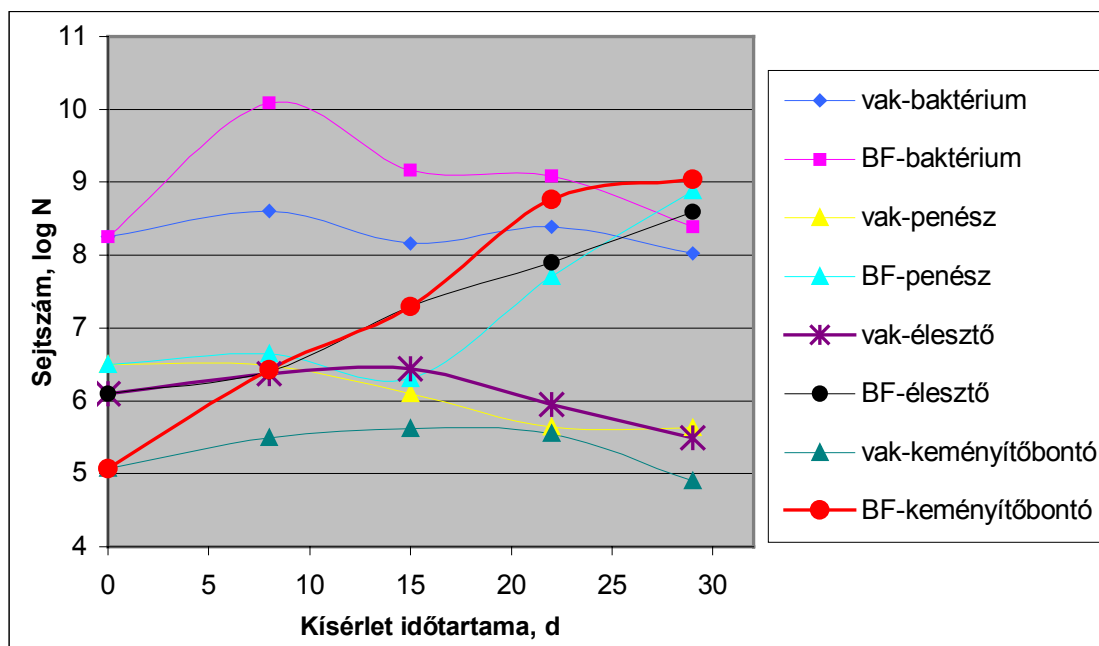
A 8. Melléklet fénymikroszkópos felvételein a 6 hétig komposztba ágyazott minták láthatóak 400-szoros nagyítás mellett. A MB mintáról készült képeken jól kivehető a minta hifafonalakkal átszőtt jellege és az anyag szétesését demonstráló apró lyukak megléte. A másik két mintáról készült fénymikroszkópos felvételek jóval kisebb mértékű mikrobiológiai tevékenységet mutatnak 6 hét elteltével. A BF mintáról készített felvételek az anyag teljes szétesését mutatják.

4.4.2. Gyakorlati kivitelezés II. – Keményítóbontó mikrobák számának nyomon követése

A vizsgálat kivitelezése a következő módon történt: a 3.2.1. alpontban ismertetett módon előkészített komposztból 16×80 g-ot mértem ki 100 ml-es főzőpoharakba; 8 db-ot a 4.4.1. alfejezetben ismertetett módon, befedve, 37°C -on inkubáltam (= vak mérések). A további nyolc kimért komposztához $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ -es méretű vizsgálati anyagot (BF minta) kevertem 2 g mennyiségben, ügyelve annak egyenletes eloszlására a vizsgálati közegben, majd a termosztátba helyeztem őket. Hetente két vaknak ill. két mintát tartalmazó edény komposztjának határoztam meg a baktérium-, penész-, élesztő-, valamint a keményítóbontó mikrobaszámát az anyag lebomlása során, a 3.3.3. alpontban ismertetett módon, majd a párhuzamosokra kapott adatokat átlagoltam.

A 20. ábra mutatja be a vak mérőhelyből (mintát nem tartalmazó komposztból) származó mérési eredményekhez viszonyított sejtszám értékeket. A vakként alkalmazott komposzt esetén a baktériumok száma alig változik a vizsgálat 28 napja alatt. Az élesztők száma kisebb mértékben, a penészs szám egy nagyságrendet meghaladó mértékben csökken. A vizsgálati anyag jelenlétében a baktériumok száma – figyelembe véve a vaknál is tapasztalt változást – másfél nagyságrenddel nőtt meg, azonban a vizsgálat második hetére már csökkenni kezdett és ez a teszt ideje alatt végig megfigyelhető volt. A legszembetűnőbb változást a minta jelenlétében a penészs szám változása mutatta, amely a második héttől gyors növekedésen ment keresztül és a teszt végére több mint három nagyságrenddel volt nagyobb, mint a vak esetén kapott érték. A minta jelenlétében felvett élesztőszám hasonlóan alakult, de itt a növekedés a vizsgálat négy hete alatt végig egyenletesnek bizonyult és a vaknál tapasztalt visszaesés miatt három nagyságrendnyi eltéréshez vezetett a vakhoz viszonyítva. A Hutschinson-Clayton táptalajon meghatározott keményítóbontó mikrobák

összetétele a baktériumok, élesztők és penészek számának alakulását egyaránt jól tükrözte, mivel a vizsgálat kezdetén elsősorban baktériumokat, majd inkább élesztőket és penészeket lehetett a szélesztett lemezekben azonosítani.



20. ábra: A BF minta beágyazása során a közegként szolgáló komposzt baktérium-, élesztő-, penészszerkezetének, valamint a keményítőtöbontó mikrobaszámának alakulása.

4.4.3. A beágyazásos vizsgálatok eredményeinek összefoglalása

Az általam alkalmazott egyszerű vizsgálatok sok esetben nem csak elő – vagy kiegészítő vizsgálatként szerepelnek a levegőztetett rendszerekkel kapott eredmények értékelése mellett, hanem sok esetben – a minta jellegéből adódóan, más lehetőség nem lévén – alkalmazásuk révén kell véleményt nyilvánítanom valamely anyag lebonthatóságáról. Tekintettel arra, hogy mindez általában egyszerre több olyan minta vizsgálatában öltött testet, amelyek esetén a véleménynyilvánítás az összehasonlítás elvén működött és elegendő volt a gyorsabban széteső, a felületen nagyobb mikrobiológiai aktivitást mutató minták kiválasztása, valójában eddig nem volt szükség az abszolút biodegradálhatóság jellemzésére.

Fóliaminták ill. egyéb, a levegőztetett rendszerben mérhető anyagok esetén az itt bemutatott módszerek valóban csupán kiegészítő vizsgálatokként kerülnek elvégzésre és az általuk szolgáltatott eredmény gyakran háttérbe szorul. Ugyanakkor a szabványos rendszerekben nem vizsgálható anyagok lebomlására nézve több hasznos információt is hordozhatnak magukban, amennyiben pl. nem vonunk le elhamarkodott következtetést a vizsgálati anyag felületén tapasztalható mikrobiális tevékenység láttán, vagy éppen reálisan tudjuk megítélni valamely minta tömegcsökkenését.

4.5. AZ ELVÉGZETT MÓDSZERFEJLESZTÉS GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA ÉS A TOVÁBBFEJLESZTÉS LEHETŐSÉGEI

Az általam összeállított mérőrendszer már eddig is sikeresen kapcsolódott be egyrészt a hazai piacokra behozni kívánt, biodegradálhatónak feltüntetett csomagolóanyagok biológiai bonthatóságának megítélésébe, valamint azokba a KÉKI-ben folyó fejlesztésekbe, amelyek különleges víztaszító bevonattal ellátott, keményítőalapú merevfalú csomagolóanyagok kialakítására irányultak. A mérőrendszer kellően robusztusnak bizonyult, mivel nem mutatott érzékenységet az összeállítási körülményekre, s így gyorsan munkába állítható, bárhol telepíthető eszközként szolgálhat biodegradációs mérésekre, a felmerülő igényekhez illeszkedő kiosztással. A mérés pontosságát és megbízhatóságát legnagyobb mértékben úgy sikerült növelni, hogy a kézi titrálási folyamatot automatikus titrálással váltottam ki; mindemellett – pl. az üvegedények zárását és a légáramot vezető üvegcsövek tartását szolgáló gumidugók erre a feladatra készített feltételre való cseréjével – tovább lehetne javítani a rendszer zártságát, csökkentve az esetleges CO₂-vesztéseget ill. növelve a jel/zaj arányt. Ez utóbbi érték javítására szolgálhat a szerves szilárd közeg (komposzt, virágföld) inert hordozóra (pl. vermikulit) való cseréje, amely egyúttal lehetővé tenné a szilárd közegű rendszerek legnagyobb hátrányaként említett, szénmérleg megállapítására alkalmatlan voltok kiváltását is. Megoldásra vár a vizsgálati közegbe nehezen bekeverhető minták (pl. ragasztók) biodegradációjának vizsgálata; ebben az esetben a hagyományos szilárd közegben az előzetesen inert hordozóra (pl. teflonszalagra) felvitt minta a könnyen kezelhető fóliamintákhoz hasonló módon lenne vizsgálható.

A gyakorlatban akkor válhat valóban értékké a kifejlesztett mérőrendszer, ha az ezen vizsgált, és a kapott eredmények alapján biodegradálhatónak minősített csomagolóanyagokból előállított csomagolószerkezetek szétesésének vizsgálata a léptéknövelt „dezintegrációs” tesztekben is megvalósul – hiszen a végső cél nem az adott anyag biodegradálhatóságának, hanem komposztálhatóságának megállapítása.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A talajok biológiai aktivitásának mérésére használt módszer átalakításával és fejlesztésével létrehoztam egy könnyen bővíthető, a szabványok ajánlásainak megfelelő, szilárd közegben alkalmazható vizsgálati módszert. A kialakított mérési összeállítást nemzetközi körelemzésekben használt referenciaanyag segítségével optimaltam: igazoltam az összeállítás alkalmazhatóságát, elérve a 70%-os validálási küszöbértéket. Mindezen túl, valódi minták (keményítőalapú fóliák, ill. felületkezelt papírminták) mérésével igazoltam, hogy az összeállított mérőrendszer alkalmas gyakorlati feladatok megoldására.
2. A szakirodalomban elsőként hajtottam végre laboratóriumi léptékű, szilárd közegű biodegradációs méréseket egy olyan, nagy megbízhatóságú, pontos méréseket lehetővé tevő BOD-mérőrendszerrel, amelyet korábban kizárólag folyadék közegű vizsgálatokra alkalmaztak. Az összeállított rendszert referenciaanyaggal kalibráltam az új alkalmazásnak megfelelően, majd valódi minták mérésével igazoltam annak gyakorlati alkalmazhatóságát.
3. Szabványos módszerekkel nem vizsgálható, valódi minták biológiai lebonthatóságának megítélésére összeállítottam egy egymástól független vizsgálatokból álló méréssorozatot. Ezeknek a méréseknek az alkalmazhatóságát olyan valós mintákon keresztül igazoltam, amelyek lebonthatóságának vizsgálata szabványos módszerekkel is megtörtént. Igazoltam, hogy a kiegészítő vizsgálatok együttes alkalmazása vélhetően a szabványos módszerek nélkül is hiteles képet adhat olyan anyagok biológiai lebonthatóságáról, amelyeket szabványos módszerekkel nem vizsgálhatunk.
4. Széleskörű vizsgálatok eredményei alapján, javaslatot tettem arra, hogy a BF 103/51 (Novamont[®], Olaszország) jelölésű, keményítőalapú biodegradálható fóliát laboratóriumi referenciaanyagként lehessen felhasználni keményítőalapú, film formájú valós minták biodegradációjának vizsgálatában.

ÖSSZEFOGLALÁS

A biodegradálható / komposztálható polimereknek (BDP) és a belőlük készített csomagolóanyagoknak az utóbbi évtizedekben megfigyelhető erőteljes fejlesztése – okulva az ún. korai tesztek olykor meglepő eredményeiből – maga után vonta olyan szabványos tesztek kidolgozását, amelyek az anyagok teljes („ready”) lebonthatóságát (= átalakulásukat széndioxiddá, vízzé és ásványi anyagokká új biomassza képződése közben) a lebomlás során fogyott O_2 vagy a termelt CO_2 mennyisége alapján vizsgálják. A külföldi, nemzeti (ASTM, DIN) és nemzetközi (ISO, CEN), a csomagolóanyagok biodegradálhatóságát vizsgáló szabványok azonban kevés kivételtől eltekintve a vegyi anyagok folyadék (inokulált szintetikus) közegű tesztjeit fogadták el alapnak, nem számolva a BDP-k vízben való oldhatatlanságával. Az utóbbi időben azonban számos olyan közlemény látott napvilágot, amely a szilárd közegben (komposztban, talajban) folytatott biodegradációs tesztek előnyei mellett foglal állást. Ennek a szemléletnek az átvétele készített arra, hogy a biodegradálhatónak fejlesztett anyagok biológiai bonthatóságának vizsgálatára irányuló hazai igényeket egy olyan mérőrendszer összeállításával elégítsem ki, amely megfelel a jelenleg elfogadott, szilárd közegű szabványos méréstechnikának és a felszabadult / elméletileg felszabadítható CO_2 mennyiség hányadosaként kapott degradációs fok alapján ítéli meg valamely anyag bonthatóságát. A mérőrendszert, amelyet a szabványok ajánlásai ill. a talaj biológiai aktivitását vizsgáló rendszerek alapján állítottam össze, a nemzetközi körelemzésekből ismert mikrokristályos cellulózzal optimáltam. A valós mintákkal végzett további mérések eredményei egyértelműen alátámasztották, hogy a kialakított rendszerrel reprodukálható, megbízható eredményt lehet szolgáltatni a vizsgált minta biodegradálhatóságát illetően.

A biológiai oxigénigény mérésére alkalmas mérőrendszereket elterjedten használják vegyi anyagok és biodegradálható polimerek lebomlásának vizsgálatára, de kizárólag vizes közegben, annak ellenére, hogy elvileg semmi nem zárja ki, hogy szilárd közegben folyó vizsgálatokra is felhasználhatóak legyenek. Ezt a lehetőséget ragadtam meg akkor, amikor egy olyan precíz mérőrendszert, mint a „BSB digi CO_2 ” BOD-mérőkészülék, amelynek kiegészítő felszereltsége a CO_2 mérésének lehetősége, átalakítottam az új felhasználásnak megfelelően, majd optimáltam és valódi mintákkal is igazoltam a mérőrendszer újszerű alkalmazhatóságának előnyeit.

Munkám során elsősorban biodegradálhatónak fejlesztett keményítőalapú csomagolóanyagok lebomlását tanulmányoztam. Céлом az volt, hogy az egyes mintacsoportokon belül kiválasszam azt az anyagot, amely a legkevésbé áll ellen a mikrobiológiai behatásnak. Mindehhez a szabványokban ajánlott eljárások mellett – kiegészítő vizsgálatokként – olyan beágyazásos módszereket alkalmaztam, amelyek a minták szárazanyag-tartalmának csökkenését és a felületükön ill. a vizsgálati közegben lezajló mikrobiológiai tevékenységet követték nyomon.

A szabványos és nem szabványos vizsgálatok együttes eredményei alapján javaslatot tettem az egyik, keményítő alapú, film formájú vizsgálati minta laboratóriumi referenciaanyagként történő használatára.

SUMMARY

The rapid development of packaging materials made of biodegradable / compostable polymers (BDPs) during the last decades and the relative failure of the so called early type tests generated the study and standardisation of test methods intended for the assessment of ready biodegradability of these new materials. However, after evaluating the national (ASTM, DIN) and international (ISO, CEN) standards concerning the biodegradability of packaging materials it is apparent that these standards are quite similar and they are based on methods meant for the biodegradability testing of chemicals in aquatic media, without taking into consideration the water-insolubility of BDPs. Considerable attempts have been made to improve the applicability of aquatic tests for water-insoluble materials by applying higher buffer capacity, higher amounts of inoculum and / or test material, higher temperature and longer test periods. Nevertheless, all relevant studies conclude that the efficiency of these tests is far from that one provided by the solid tests because aquatic tests are not able to give a true description of the degradation during composting as they cannot provide optimal conditions for *Actinomyces*, known to be very active in biodegradation. Therefore, the appearance of studies published on the crucial importance of tests carried out in solid (compost) media is not considered to be an unexpected phenomenon. Adopting this approach, a measurement set-up based on the determination of evolved CO₂ has been elaborated to assess the biodegradability of samples developed partly in national research institutes. This measurement set-up has been built according to international standards and the directives of the methods for the determination of biological activity of soils. It has been optimised through microcrystalline cellulose, a positive reference material widely accepted in interlaboratory studies, and characterised through the analysis of real samples to prove its capability to provide reliable and reproducible results on the assessment of biodegradability.

BOD (Biological Oxygen Demand) measurement systems are widely used for the assessment of biodegradation of chemicals and biodegradable polymers, but exclusively in aquatic media. One of the main goals of my study was to modify a BOD measurement system capable of detecting CO₂ resulting from the degradation of a test material to make it suitable to monitor degradation in solid media. During the study several parameters (i.e. testing temperature, the ratio of test material / testing medium) were optimised and the possibility of using the system to differentiate among biodegradable materials was explored.

Another main goal of my thesis was to look into different types of starch-based packaging materials to select some of them considered the less resistant to microbial degradation. To achieve this goal standardised and non-standardised (optional) methods were applied in order to determine the decrease in total dry solids content, along with the observation of microbial activity detected on the sample surface and within the test media as well.

After evaluating the results arising from the study of starch-based samples, one of them has been suggested playing part in possible future measurements as a laboratory reference material (LRM).

1. MELLÉKLET (IRODALOMJEGYZÉK)

- AGARWAL M., KOELLING K. W., CHALMERS J. J. (1998): Characterization of the degradation of polylactic acid polymer in a solid substrate environment. *Biotechnology Progress*, 14, 517–526. p.
- ALEXA L., DÉR S. (1998): A komposztálás elméleti és gyakorlati alapjai. Budapest: Bio-Szaktanácsadó Bt. 136. p.
- ARÉVALO-NIÑO K., SANDOVAL C. F., GALAN L. J., IMAM S. H., GORDON S. H., GREENE R. V. (1996): Starch-based extruded plastic films and evaluation of their biodegradable properties. *Biodegradation*, 7, 231–237. p.
- ASTM (1992): Annual book of ASTM standards. Vol. 08-02.
- ASTM 5209 (1993): Standard Test Method for Determining the Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in the presence of Municipal Sewage Sludge.
- ASTM 5210 (1992): Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge.
- ASTM 5247 (1992): Standard Test Method for Determining the Aerobic Biodegradability of Degradable Plastics By Specific Microorganisms.
- ASTM 5338 (1992): The Standard Test Method for Determining Aerobic Degradation of Plastics Material under controlled Composting Conditions.
- AUGUSTA J., MÜLLER R.-J., WIDDECKE H. (1992): Biologisch abbaubare Kunststoffe: Testverfahren und Beurteilungskriterien. *Chemie Ingenieur Technik*, 64 (5) 410–415. p.
- BAKA É. (1996): EU-kompatibilitás a hulladékgazdálkodásban. *Öko & Eco – Tetra Pak Környezetvédelmi Hírlevél*, 2 (1) 1–4. p.
- BAKA É. (1998): Hogyan tovább...? *Öko & Eco – Tetra Pak Környezetvédelmi Hírlevél*, 4 (2) 1. p.
- BAKA É. (2003): Új szabályozás a termékdíj fizetésében. *Öko & Eco – Tetra Pak Környezetvédelmi Hírlevél*, 9 (1) 1–4. p.
- BAKOS P., CZUKOR B., FEHÉR J., PÁL J. (2001): A csomagolás új alternatívái: a biológiailag lebomló csomagolóanyagok. [341–350. p.] In: Tanulmánykötet. XV. Országos Környezetvédelmi Konferencia. Siófok, 2001.09.11-13.
- BASTIOLI C., BELLOTTI V., RALLIS A. (1994): Microstructure and melt flow behavior of a starch-based polymer. *Rheologica Acta*, 33, 307–316. p.
- BASTIOLI C. (1998): Properties and applications of Mater-Bi starch-based materials. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 263–272. p.
- BATTERSBY N. S. (1997): The ISO headspace CO₂ biodegradation test. *Chemosphere*, 34 (8) 1813–1822. p.
- BECZNER J., LAJOS J., VÁSÁRHELYINÉ P. K., KARDOS GY., HAIDEKKER B., KERTÉSZ B. (1997): A biológiai úton lebomló csomagolóanyagok előállítási és felhasználási lehetőségének vizsgálata itthon és külföldön. (Budapest: MTA). (Magyarország az ezredfordulón. MTA stratégiai kutatások: Zöld belépő – EU csatlakozásunk környezeti szempontú vizsgálata. Témavezető: Biacs Péter. Sorozatszerkesztő: Kerekes Sándor és Kiss Károly. 57. p.)
- BECZNER J., PERÉDI K. V. (1998): Biodegradálható csomagolóanyagok. *Anyagmozgatás-Csomagolás*, 43, 2–4. p.
- BELLIA G., TOSIN M., FLORIDI G., DEGLI-INNOCENTI F. (1999): Activated vermiculite, a solid bed for testing biodegradability under composting conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 66, 65–79. p.
- BELLIA G., TOSIN M., DEGLI-INNOCENTI F. (2000): The test method of composting in vermiculite is unaffected by the priming effect. *Polymer Degradation and Stability*, 69, 113–120. p.
- BESE E. (2000): Hulladékgazdálkodási törvény – új leckék. *Környezetvédelem*, 8 (4) 7–9. p.
- BETTON C. I. (1994): Oils and hydrocarbons. 257–263. p. In: CALOW P. (Szerk.): *Handbook of Ecotoxicology*. Vol. 2. London: Blackwell Scientific Publications, UK. 416 p.

- BRANDL H., PÜCHNER P. (1992): Biodegradation of plastic bottles made from 'Biopol' in an aquatic ecosystem under *in situ* conditions. *Biodegradation*, 2, 237–243. p.
- CADMUS E. L. (1977): Microbiological deterioration of cable coatings. *Wire Journal*, s.v. (5) 94–97. p.
- CALMON A., DUSSERRE-BRESSON L., BELLON-MAUREL V., FEUILLOLEY P., SILVESTRE F. (2000): An automated test for measuring polymer biodegradation. *Chemosphere*, 41, 645–651. p.
- CALMON-DECRIAUD A., BELLON-MAUREL V., SILVESTRE F. (1998): Standard methods for testing the aerobic biodegradation of polymeric materials. Review and perspectives. *Advances in Polymer Science*, 135, 207–226. p.
- CARVALHO A. J. F., ZAMBON M. D., CURVELO A. A. S., GANDINI A. (2003): Size exclusion chromatography characterization of thermoplastic starch composites 1. Influence of plasticizer and fibre content. *Polymer Degradation and Stability*, 79, 133–138. p.
- CHANDRA R., RUSTGI R. (1998): Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23, 1273–1335. p.
- CHIELLINI E., CORTI A., SOLARO R. (1999): Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based blown films under different environmental conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 64, 305–312. p.
- CLESCERI L. S., GREENBERG A. E., TRUSSEL R. R. (Szerk.) (1989): Standard methods for the examination of water and wastewater. Tizenhetedik kiadás. Washington: American Public Health Association, USA. 5-1.–5-38. p.
- COMA V., COUTURIER Y., PASCAT B., BUREAU G., CUQ J. L., GUILBERT S. (1995): Estimation of the biofragmentability of packaging materials by an enzymatic method. *Enzyme and Microbial Technology*, 17, 524–529. p.
- CORNFIELD A. N. (1961): A simple technique for determining mineralization of carbon during incubation of soils treated with organic materials. *Plant and Soil*, 14, 90–92. p.
- CUQ B., GONTARD N., GUILBERT S. (1997): Les matériaux d'emballages à base de polymères naturels. *Industrie Alimentaire et Agricole*, 114, 110–116. p.
- Csomagolás és Környezetvédelem. (2003): <http://www.omgk.hu/EU9601/csk.html>.
- DE BAERE L., DE WILDE B., TILLINGER R. (1994): Standard test methods for polymer biodegradation in solid waste treatment systems. 323–330. p. In: DOI Y., FUKUDA K. (Szerk.): *Studies in polymer science – biodegradable plastics and polymers*. Amszterdam, Hollandia: Elsevier, 646. p.
- DEGLI-INNOCENTI F., TOSIN M., BASTIOLI C. (1998): Evaluation of the biodegradation of starch and cellulose under controlled composting conditions. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 6 (4) 197–202. p.
- DE HENAU H. (1993): Biodegradation. 355–377. p. In: CALOW P. (Szerk.): *Handbook of Ecotoxicology*. Vol. 1. London: Blackwell Scientific Publications, UK. 478 p.
- DE KESEL C., VANDER WAUVEN C., DAVID C. (1997): Biodegradation of polycaprolactone and its blends with poly(vinylalcohol) by microorganisms from a compost of house-hold refuse. *Polymer Degradation and Stability*, 55, 107–113. p.
- DERRADJI H., BUREAU G., COUTURIER Y. (1996): Biodegradability of packaging materials: quantitative evaluation by an automated respirometric method applied to their insoluble constituents as starch. *Packaging Technology and Science*, 9, 345–360. p.
- DIN 38412-11 (1982): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Kleinkrebse (Daphnien-Kurzzeittest).
- DIN 38414-2 (1984): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Schlamm und Sedimente (Gruppe S) - Bestimmung des Wassergehaltes und des Trockenrückstandes bzw. der Trockensubstanz.
- DIN 38414-3; (1985): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Schlamm und Sedimente (Gruppe S) - Bestimmung des Glührückstandes und des Glühverlustes der Trockenmasse eines Schlammes.

- DIN 53739 (1984): Testing of Plastics; Influence of Fungi and Bacteria; Visual Evaluation; Change in Mass or Physical Properties.
- DIN 54900 (1998): Prüfung der Kokpostierbarkeit von Kunststoffen – 1, 2, 3.
- DOI Y., KANESAWA Y., KUNIOKA M., SAITO T. (1990): Biodegradation of microbial copolyesters: poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate). *Macromolecules*, 23, 26–31. p.
- ERDEY L. (1966): Bevezetés a kémiai analízisbe. II. Tértfogatos analízis. Budapest: Tankönyvkiadó. 309. p.
- Európai Körkép. (2003): <http://www.okopannon.hu/page.php?lang=hu&id=europaikorkep&mm=11&ms=2&ml=1>
- FLEMMING H.-C. (1998): Relevance of biofilms for the biodeterioration of surfaces of polymeric materials. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 309–315. p.
- GARCÍA-VALCÁRCEL A. I., TADEO J. L. (1999): Influence of soil moisture on sorption and degradation of hexazinone and simazine in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3895–3900. p.
- GATTIN R., COPINET A., BERTRAND C., COUTURIER Y. (2002): Comparative biodegradation study of starch- and polylactic acid-based materials. *Journal of Polymers and the Environment*, 9 (1) 11–17. p.
- GHORPADE V. M., GENNADIOS A., HANNA M. A. (2001): Laboratory composting of extruded poly(lactic acid) sheets. *Bioresource Technology*, 76, 57–61. p.
- GORDON S. H., IMAM S. H., JAMES C. (2002): A method for measuring degradation of individual components in multicomponent biodegradable plastics by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Polymers and the Environment*, 8 (3) 125–134. p.
- GOTVAJN A. Ž., ZAGORC-KONČAN J. (1999a): Biodegradation studies as an important way to estimate the environmental fate of chemicals. *Water Science and Technology*, 39 (10/11) 375–382. p.
- GOTVAJN A. Ž., ZAGORC-KONČAN J. (1999b): Laboratory simulation of biodegradation of chemicals in surface waters: closed bottle and respirometric tests. *Chemosphere*, 38 (6) 1339–1346. p.
- GRIMA S., BELLON-MAUREL V., FEUILLOLEY P., SILVESTRE F. (2002a): 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. p.
- GRIMA S., BELLON-MAUREL V., SILVESTRE F., FEUILLOLEY P. (2002b): A new test method for determining biodegradation of plastic material under controlled aerobic conditions in a soil-simulation solid environment. *Journal of Polymers and the Environment*, 9 (1) 39–48. p.
- GU J.-D. (2003): Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52, 69–91. p.
- HALES S. G., PHILPOTTS C. J., GILLARD C. (1996): A respirometer with improved sensitivity for ready biodegradation testing. *Chemosphere*, 33 (7) 1247–1259. p.
- HANKERMAYER C. R., TJEERDEMA R. S. (1999): Polyhydroxybutyrate: plastic made and degraded by microorganisms. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 159, 1–24. p.
- Hazai Szabályozás. (2003): <http://www.okopannon.hu/page.php?lang=hu&id=hazahszabalyozas&mm=11&ms=3&ml=1>
- HOFFMANN J., ŘEZNÍČKOVÁ I., KOZÁKOVÁ J., RŮŽIČKA J., ALEXY P., BAKOŠ D., PRECNEROVÁ L. (2003): Assessing biodegradability of plastics based on poly(vinyl alcohol) and protein wastes. *Polymer Degradation and Stability*, 79, 511–519. p.
- IKADA E. (1999): Electron microscope observation of biodegradation of polymers. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 7 (4) 197–201. p.
- ISO 846 (1997): Plastics. Evaluation of the Action of Microorganisms.
- ISO 9408 (1999): Water quality – Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium by determination of oxygen demand in a closed respirometer.

- ISO 9439 (1999): Water quality – Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium – carbon dioxide evaluation test.
- ISO 10707 (1994): Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability of organic compounds - Method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test).
- ISO 10708 (1997): Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - Determination of biochemical oxygen demand in a two-phase closed bottle test.
- ISO 14593 (1996): Water quality – Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in an aqueous medium – Method by analysis of released inorganic carbon in sealed vessels.
- ISO 14851 (1998): Plastics. Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium. Method by determining the oxygen demand in a closed respirometer.
- ISO 14852 (1998): Plastics. Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials in an aqueous medium. Method by analysis of released carbon dioxide.
- ISO 14853 (1998): Plastics. Evaluation of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in an aqueous medium. Method by measurement of the biogas production.
- ISO 14855 (1998): Plastics. Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastics under controlled composting conditions. Method by analysis of released carbon dioxide materials in an aqueous medium. Method by measurement of the biogas production.
- ISO 15462 (1997): Water quality – Selection of tests for biodegradability.
- István Z., Garamvölgyi E. (2003): A szelektív hulladékgyűjtés helyzete Magyarországon. http://www.bayati.hu/frames/index_esemenyek.html
- ITÄVAARA M., VENELAMPI O., KARJOMAA S. (1995a): Testing methods for determining the compostability of packaging materials. [1–7. p.] In: Proceedings of “Biological Waste Management: a “Wasted Chance”. Bochum, Németország, 1995.04.04.-06.
- ITÄVAARA M., VIKMAN M. (1995b): A simple screening test for studying the biodegradability of insoluble polymers. *Chemosphere*, 31 (11/12) 4359–4373. p.
- ITÄVAARA M., VIKMAN M. (1996): An overview of methods for biodegradability testing of biopolymers and packaging materials. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 4 (1) 29–36. p.
- JAKUBOWICZ I. (2003): Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE). *Polymer Degradation and Stability*, 80 (1) 39–43. p.
- JANSEN R., SCHELVOVE G. (1997): Trend zu grösserer Umweltfreundlichkeit ist bei Packmitteln feststellbar. *Maschinenmarkt*, 103 (21) 24–26. p.
- JENDROSSEK D., SCHIRMER A., SCHLEGEL H. G. (1996): Biodegradation of polyhydroxyalkanoic acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 46, 451–463. p.
- Jogszabályi Kötelezettség Felett Teljesített az Öko-Pannon. (2003): 2003.07.17. <http://www.okopannon.hu>.
- JOLLIET O., COTTING K., DREXLER C., FARAGO S. (1994): Life-cycle analysis of biodegradable packing materials compared with polystyrene chips: the case of popcorn. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 49, 253–266. p.
- JUN C. L. (2000): Reactive blending of biodegradable polymers: PLA and starch. *Journal of Polymers and the Environment*, 8 (1) 33–37. p.
- KARJOMAA S., SUORTTI T., LEMPIÄINEN R., SELIN J.-F., ITÄVAARA M. (1998): Microbial degradation of poly-(L-lactic acid) oligomers. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 333–336. p.
- KELLER A., BRUGGMANN D., NEFF A., MÜLLER B., WINTERMANTEL E. (2000): Degradation kinetics of biodegradable fiber composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 8 (2) 91–96. p.
- KEREKES T. (1996): Bevezetés a csomagolástechnikába I-II. Budapest: Papír-Press Egyesülés. 565. p.
- KERTÉSZ B. (1998): A termékdíj lényege és kritikája. *Magyar Nemzet*, 61 (92) 14. p.

- KEURSTEN G. T. G., GROENEVELT P. H. (1996): Biodegradation of rubber particles in soil. *Biodegradation*, 7, 329–333. p.
- KIM M., POMETTO III A. L. (1994): Food packaging potential of some novel degradable starch-polyethylene plastics. *Journal of Food Protection*, 57 (11) 1007–1012. p.
- KIM M.-N., LEE A.-R., YOON Y.-S., CHIN I.-J. (2000): Biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate), Sky-Green® and Mater-Bi® by fungi isolated from soils. *European Polymer Journal*, 36, 1677–1685. p.
- KIM Y. D., KIM S. C. (1998): Effect of chemical structure on the biodegradation of polyurethanes under composting conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 62, 343–352. p.
- KOELSCH C. M., LABUZA T. P. (1991): Packaging, waste disposal, and food safety II: incineration or degradation of plastics, and a possible integrated approach. *Cereal Foods World*, 36 (3) 284–298. p.
- KOPINKE F.-D., REMMLER M., MACKENZIE K. (1996a): Thermal decomposition of biodegradable polymers–I: poly(β -hydroxybutiric acid). *Polymer Degradation and Stability*, 52, 25–38. p.
- KOPINKE F.-D., REMMLER M., MACKENZIE K., MÖDER M., WACHSEN O. (1996b): Thermal decomposition of biodegradable polymers–II. poly(lactic acid). *Polymer Degradation and Stability*, 53, 329–342. p.
- KROCHTA J. M., MULDER-JOHNSTON C. D. (1997): Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*, 51 (2) 61–74. p.
- KRUPP L. R., JEWELL W. J. (1992): Biodegradability of modified plastic films in controlled biological environments. *Environmental Science and Technology*, 26, 193–198. p.
- KÚNOS I. (1998): Új anyagok a csomagolástechnikában. *Anyagmozgatás és Csomagolás*, 43, 13–14. p.
- LEE J. S., DANIELS B. L., EBERIEL D. T., FARRELL R. E. (2000): Polymer mineralization in soils: effects of cold storage on microbial populations and biodegradation potential. *Journal of Polymers and the Environment*, 8 (2) 81–89. p.
- LENT L. E., VANASUPA L. S., TONG P. S. (1998): Whey protein edible film structures determined by atomic force microscope. *Journal of Food Science*, 63 (5) 824–827. p.
- Licence Díj Rendszer. (2003): <http://www.okopannon.hu/page.php?lang=hu&id=hazahszabalyozas&mm=11&ms=3&ml=1&linkMore=licencedijrendszer>
- LÖRCKS J. (1998): Properties and applications of compostable starch-based plastic material. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 245–249. p.
- Magyar Tudományos Akadémia (2000): Biológiai úton lebomló anyagok és eszközök magyarországi bevezetésének előkészítése. Témafelelős: Dr. Biacs Péter. Programvezető: Prof. Dr. Sinoros-Szabó Botond. MTA-Budapest. 86. p.
- MERGAERT J., RUFFIEUX K., BOURBAN C., STORMS V., WAGEMANS W., WINTERMANTEL E., SWINGS J. (2000): *In vitro* biodegradation of polyester-based plastic materials by selected bacterial cultures. *Journal of Polymers and the Environment*, 8 (1) 17–27. p.
- MUSMECI L., GUCCI P. M. B., VOLTERRA L. (1994): Paper as reference material in “Sturm Test” applied to insoluble substances. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 9, 83–86. p.
- NENTWIG J. (1996): Vor übertriebenen Erwartungen wird gewarnt. *Packreport*, 29 (9) 12–18. p.
- NENTWIG J. (1997): Perspektiven für ein Nischenprodukt. Biologisch abbaubare Werkstoffe müssen für die massenhafte Anwendung noch viele Hürden nehmen. *Packreport*, 30 (6) 12–16. p.
- NENTWIG J. (1998): Vorreiter im Milchregal. *Packreport*, 31 (1/2) 16–20. p.
- NEUMANN B. (1998): Joghurtbecher der neuen Generation?, *Neue Verpackung*, 51 (4) 46–48. p.
- NEW AGRICULTURAL PACKS LAUNCHED. (1997): *Packaging Review*, s.v. (8) 19–21. p.
- NORR C., MEINECKE S., BRACKEMANN H. (2001): Modification of the Zahn-Wellens test: determination of the biodegradability of poorly soluble, adsorbing and volatile substances by measurement of oxygen consumption and carbon dioxide production. *Chemosphere*, 44, 553–559. p.

- OECD (1992): Guidelines for testing of chemicals. Párizs, Franciaország.
- ORHAN Y., BÜYÜKGÜNGÖR H. (2000): Enhancement of biodegradability of disposable polyethylene in controlled biological soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45, 49–55. p.
- OZEN B. F., FLOROS J. D. (2001): Effects of emerging food processing techniques on the packaging materials. *Trends in Food Science & Technology*, 12, 60–67. p.
- PAGGA U., BEIMBORN D. B., BOELEN J., DE WILDE B. (1995): Determination of the aerobic biodegradability of polymeric material in a laboratory controlled composting test. *Chemosphere*, 31 (11/12) 4475–4487. p.
- PAGGA U., BEIMBORN D. B., YAMAMOTO M. (1996): Biodegradability and compostability of polymers—test methods and criteria for evaluation. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 4 (3) 173–178. p.
- PAGGA U. (1997a): Compostability and biodegradability of plastic materials: a new quality of materials properties. *MRS Bulletin*, 22 (11) 5–7. p.
- PAGGA U. (1997b): Testing biodegradability with standardized methods. *Chemosphere*, 35 (12) 2953–2972. p.
- PAGGA U. (1998): Biodegradability and compostability of polymeric materials in the context of the European packaging regulation. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 371–376. p.
- PAGGA U. (1999): Compostable packaging materials – test methods and limit values for biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51, 125–133. p.
- PAGGA U., SCHÄFER A., MÜLLER R.-J., PANTKE M. (2001a): Determination of the aerobic biodegradability of polymeric material in aquatic batch tests. *Chemosphere*, 42, 319–331. p.
- PAGGA U., WURM B. (2001b): Biologisch abbaubar? *LaborPraxis*, 11, 62–64. p.
- PAVLATH A. E., ROBERTSON G. H. (1999): Biodegradable polymers vs. recycling: what are the possibilities. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 29 (3) 231–241. p.
- PETERSEN K., NIELSEN P. V., BERTELSEN G., LAWTHORP M., OLSEN M. B., NILSSON N. H., MORTENSEN G. (1999): Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 52–68. p.
- PUECHNER P., MUELLER W.-R., BARDTKE D. (1995): Assessing the biodegradation potential of polymers in screening- and long-term test studies. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 3 (3) 133–143. p.
- PUKÁNSZKY B. (2000): Biológiailag lebontható csomagolóanyagok (BDP). Az MTA Kémiai Tudományok Osztályának 2000. február 15-i ülésén elhangzott előadás vázlata.
- Rácz I. (1998): PET degradáció szulfonálás révén. http://www.bayati.hu/frames/index_rendezyenyek.html.
- RATAJSKA M., BORYNIEC S. (1998): Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers. *Reactive & Functional Polymers*, 38, 35–49. p.
- SAND W. (1997): Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates—a general mechanistic overview. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 40 (2-4) 183–190. p.
- SATO H., FURUHASHI M., YANG D., OHTANI H., TSUGE S., OKADA M., TSUNODA K., AOI K. (2001): A novel evaluation method for biodegradability of poly(butylene succinate-co-butylene adipate) by pyrolysis-gas chromatography. *Polymer Degradation and Stability*, 73, 327–334. p.
- SAWADA H. (1998): ISO standard activities in standardization of biodegradability of plastics—development of test methods and definitions. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 365–370. p.
- SCHEU S. (1992): Automated measurement of the respiratory response of soil microcompartments - active microbial biomass in earthworm feces. *Soil Biology & Biochemistry*, 24 (11) 1113–1118. p.
- SCHOLZ N., DIFENBACH R., RADEMACHER I., LINNEMANN D. (1997): Biodegradation of DEHP, DBP, and DINP: poorly water soluble and widely used phthalate plasticizers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity*, 58, 527–534. p.

- SCHROETER J. (1998): Creating the framework for a widespread use of biodegradable polymers (standardization, labelling, legislation, biowaste management). *Polymer Degradation and Stability*, 59, 377–381. p.
- SCOTT G. (2000): 'Green' polymers. *Polymer Degradation and Stability*, 68, 1–7. p.
- SHANANAN M. E. R., AURIAC Y. (1998): Water absorption and leaching effects in cellulose diacetate. *Polymer*, 39 (5) 1155–1164. p.
- SHARABI N. E.-D., BARTHA R. (1993): Testing of some assumptions about biodegradability in soil as measured by carbon dioxide evolution. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (4) 1201–1205. p.
- SIEGER C. H. N., KROON A. G. M., BATELAAN J. G., VAN GINKEL C. G. (1995): Biodegradation of carboxymethyl celluloses by *Agrobacterium* CM-1. *Carbohydrate Polymers*, 27, 137–143. p.
- SOLARO R., CORTI A., CHIELLINI E. (1998): A new respirometric test simulating soil burial conditions for the evaluation of polymer degradation. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 6 (4) 203–208. p.
- SRINIVASAN P. T., VIRARAGHAVAN T. (2000): An analysis of the 'Modified Sturm Test' data. *Chemosphere*, 40, 99–102. p.
- STARNECKER A., MENNER M. (1996): Assessment of biodegradability of plastics under simulated composting conditions in a laboratory test system. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 37 (1-2) 85–92. p.
- STRATTON s.n. (1998): Packaging materials get the "green" light. *Food Engineering*, s.v. (10) 43–48. p.
- STROTMANN U. J., SCHWARZ H., PAGGA U. (1995): The combined CO₂/DOC test – a new method to determine the biodegradability of organic compounds. *Chemosphere*, 30 (3) 525–538. p.
- STRUIJS J., STOLTENKAMP J. (1990): Headspace determination of evolved carbon dioxide in a biodegradability screening test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 19, 204–211. p.
- STRUIJS J., VAN DEN BERG R. (1995): Standardized biodegradability tests: extrapolation to aerobic environments. *Water Research*, 29 (1) 255–262. p.
- STURM R. N. (1973): Biodegradability of nonionic surfactants: screening test for predicting rate and ultimate biodegradation. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 50, 159–167. p.
- SWIFT G. (1992): Biodegradability of polymers in the environment: complexities and significance of definitions and measurements. *FEMS Microbiology Reviews*, 103, 339–346. p.
- Syntumen. (2003): <http://www.syntumen.hu/ref.htm>.
- SZABÓ I. M. (1998): A környezet-mikrobiológia vizsgáló módszerei I. [Budapest: Akadémiai Kiadó.] (A bioszféra mikrobiológiája IV.) 932. p.
- SZÁRAZ L., BECZNER J. (2003a): Optimization processes of a CO₂ measurement set-up for assessing biodegradability of polymers. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52, 93–95. p.
- SZÁRAZ L., BECZNER J., KAYSER G. (2003b): Investigation of the biodegradability of water-insoluble materials in a solid test based on the adaptation of a biological oxygen demand measuring system. *Polymer Degradation and Stability*, 81, 477–482. p.
- SZÁRAZ L., KÁNAI I., BECZNER J. (2003c): A complex way of assessing biodegradability of polymer films – a practical approach. *Acta Alimentaria*, 32 (3) 295–309. p.
- SZEGI J. (1979): Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 311. p.
- TAKÁCS Z. (1997): Eszi, nem eszi? PET lebontása mikroorganizmusokkal. *Plastic Inform*, 6 (9) 6–7. p.
- Termékdíj Rendszer. (2003): <http://www.okopannon.hu/page.php?lang=hu&id=hazahszabalyozas&mm=11&ms=3&ml=1&linkMore=termekdijrendszer>
- THAYER A. M. (1990): Degradable plastics generate controversy in solid waste issues. *Chemical & Engineering News*, 68, 7–14. p.

- TOSIN M., DEGLI-INNOCENTI F., BASTIOLI C. (1996): Effect of the composting substrate on biodegradation of solid materials under controlled composting conditions. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 4 (1) 55–63. p.
- TOSIN M., DEGLI-INNOCENTI F., BASTIOLI C. (1998): Detection of a toxic product released by a polyurethane containing film using a composting test method based on a mineral bed. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 6 (2) 79–90. p.
- TSUGE S., OHTANI H. (1997): Structural characterization of polymeric materials by pyrolysis-GC/MS. *Polymer Degradation and Stability*, 58, 109–130. p.
- UNIÓS IRÁNYELVEK. (1998): *Magyar Nemzet*, 61 (92) 14. p.
- URSTADT S., AUGUSTA J., MÜLLER R.-J., DECKWER W.-D. (1995): Calculation of carbon balances for evaluation of the biodegradability of polymers. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 3 (3) 121–131. p.
- VAN DER ZEE M., SIJTSMA L., TAN G. B., TOURNOIS H., DE WIT D. (1994): Assessment of biodegradation of water insoluble polymeric materials in aerobic and anaerobic aquatic environments. *Chemosphere*, 28 (10) 1757–1771. p.
- VAN DER ZEE M., STOUTJESDIJK J. H., FEIL H., FEIJEN J. (1998): Relevance of aquatic biodegradation tests for predicting degradation of polymeric materials during biological solid waste treatment. *Chemosphere*, 36 (3) 461–473. p.
- VIKMAN M., ITÄVAARA M., POUTANEN K. (1995): Measurement of the biodegradation of starch-based materials by enzymatic methods and composting. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 3 (1) 23–29. p.
- VISZKEI GY. (2002): A csomagolási hulladékkezelés jövője Magyarországon. *Anyagmozgatás-Csomagolás*, 47, 44–45. p.
- WAGNER P. A., LITTLE B. J., HART K. R., RAY R. I. (1996): Biodegradation of composite materials. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38 (2) 125–132. p.
- WEY TJENS D., VAN GINNEKEN I., PAINTER H. A. (1994): The recovery of carbon dioxide in the Sturm test for ready biodegradability. *Chemosphere*, 28 (4) 801–812. p.
- 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, 289–299. p.
- WOLFNER A. (2000a): Globális probléma magyar megoldása. *Környezetvédelem*, 8 (4) 35. p.
- WOLFNER A. (2000b): Csomagolóanyagból komposzt. *Környezetvédelem*, 8 (4) 38. p.
- YABANNAVAR A., BARTHA R. (1993): Biodegradability of some food packaging materials in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 25 (11) 1469–1475. p.
- YABANNAVAR A. V., BARTHA R. (1994): Methods for assessment of biodegradability of plastic films in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (10) 3608–3614. p.
- YAKABE Y., MORI E., HARA T., NOHARA K. (1992): Biodegradability of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in activated sludge. *Chemosphere*, 25 (6) 835–841. p.
- YUE C. L., GROSS R. A., MCCARTHY S. P. (1996): Composting studies of poly (β -hydroxybutyrate-co- β -hydroxyvalerate). *Polymer Degradation and Stability*, 51, 205–210. p.
- Zöld Pont és Pro Europe. (2003): <http://www.okopannon.hu/page.php?lang=hu&id=zoldpontesproeurope&mm=3&ms=2&ml=1>

2. MELLÉKLET (HATÁRÉRTÉKEK)

M2. táblázat: A DIN 54900 szabvány által a komposztálható műanyagokra meghatározott toxikus fémtartalom-határértékek.

<i>Toxikus fém</i>	<i>Határérték, mg toxikus fém kg⁻¹ szá.</i>
Pb	30
Cd	0,3
Cr	30
Cu	23
Ni	15
Zn	100
Hg	0,3

3. MELLÉKLET (BIODEGRADÁLHATÓ CSOMAGOLÓANYAGOK)

M3. táblázat: Biodegradálható csomagolóanyagok – piaci termékek [LENT et al. 1998, PUKÁNSZKI 2000, Magyar 2000, BECZNER et al. 1997, BAKOS et al. 2001 alapján].

Gyártó	Márkanév	Típus	Felhasználás
Novamont	Mater-Bi	Extrúziós keményítő	csomagolás, zsákok
WL, Fluntera	Fluntera-Plast	Extrúziós keményítő	csomagolás
Novon	Novon	Extrúziós keményítő	csomagolás, higiénia
Biopack	Biopac	Extrúziós keményítő	élelmiszer, vakcina
St. Lawrence	?	PE / keményítő	csomagolás, zsákok
Sunstartke	Aeromyl-Chips	Keményítőhab	csomagolóhab (térkitöltő anyag)
Eastman	?	Cellulóz-acetát	csomagolás
ICI/Monsanto	Biopol	P(HB-HV) kopolimer	műanyag, csomagolás
Boehringer	?	PLA / PLGA	orvosi felhasználás
Cargill	Eco-PLA	PLA	műanyag, csomagolás
Showa Highpolimer	Bionolle	Poliészter	műanyag, csomagolás
Union Carbide	Tone Polymers	PCL	csomagolás
Deutsche G.	Gelita	fehérje	gyógyszerbevonat
Kuraray	?	PVA	csomagolás, zsák
Bayer	BAK	poliészter-amid	?
Biotec	Bioplast, Bioflex, Biopur	keményítő	Fröccsöntött csomagolóanyag, fóliák, térkitöltő anyagok

4. MELLÉKLET (DEFINÍCIÓK)

M4. táblázat: Egyes szabványügyi testületek által a biodegradálható műanyagokra javasolt definíciók [YABANNAVAR et al. 1993 és CALMON-DECRIAUD et al. 1998 nyomán].

Szabványügyi testület, szabvány- és évszám		Biodegradálható műanyagok meghatározása
KORAI DEFINÍCIÓK	ISO 472 Plastic- Vocabulary, Amendment 3. (1993)	<u>Biodegradálható műanyagok</u>: egy degradálható műanyag, amelyben a degradációs folyamatok kisebb molekulásúlyú fragmenteket eredményeznek, a természetben előforduló mikroorganizmusok, baktériumok, gombák tevékenysége által. <u>Degradálható műanyagok</u>: egy olyan műanyag, amelyet arra terveztek, hogy speciális környezeti körülmények között a kémiai szerkezetében jelentős változáson menjen keresztül, és ennek során elveszítse néhány olyan speciális tulajdonságát, amelyet szabványos tesztekkel mérhetünk.
	ASTM 883 Standard Terminology Relating to Plastic (1993)	Egy olyan degradálható műanyag, amelynek degradációja a természetben előforduló mikroorganizmusok (baktériumok, gombák, algák) behatásának következménye.
	DIN 103.2 (1993)	Egy olyan műanyag nevezhető biodegradálhatónak, amelynek minden szerves összetevője teljes biodegradációs folyamaton megy keresztül. A környezeti paramétereket és a biodegradáció arányát szabványosított teszt módszerekkel kell meghatározni.
	CEN (1993)	Egy olyan degradálható anyag, amelynek a degradációja mikroorganizmusok hatásának következménye és a folyamat végén az anyag vízzé, CO ₂ -dá és / vagy metánná valamint új sejtbiomasszává alakul.
	Japán Biodegradálható Műanyagok Társasága (1994)	Olyan polimer anyagok, amelyek kisebb molekulatömegű anyagokká alakulnak úgy, hogy a degradációs folyamat legalább egy lépése a természetben előforduló organizmusok jelenlétében lezajló anyagcsere folyamatokon keresztül megy végbe.
JELENLEG ÉRVÉNYES DEFINÍCIÓK	ISO 472-43. (1998)	Egy olyan műanyag, amelyet arra terveztek, hogy specifikus környezeti viszonyok között kémiai felépítésében jelentős változás álljon be, ezáltal néhány olyan jellemzőben következzen be veszteség, amely az adott műanyagnak megfelelő, másrészt megfelel annak az alkalmazott időtartamnak, amely meghatározza az osztályozás módját. A kémiai szerkezetben kialakuló változás a természetben előforduló mikroorganizmusok tevékenységének következménye.
	DIN 54900 (1998)	Egy műanyag akkor biodegradálható, ha minden egyes szerves alkotóeleme teljes mértékben biológiailag lebomlik.

5. MELLÉKLET (FOLYADÉK KÖZEGŰ TESZTEK)

M5. táblázat: Szabványügyi szervezetek által polimerek biológiai lebomlásának vizsgálatára javasolt, folyadék közegű tesztek.

Szabványügyi szervezet	Szabvány száma	Címe / tartalma, megjegyzések	Meghatározott paraméterek	Irodalom
ASTM	5209	Műanyagok aerob biodegradációjának meghatározása városi szennyvízből származó inokulum jelenlétében	O ₂ , CO ₂	[ITÄVAARA et al. 1995b, 1996, VIKMAN et al. 2002]
	301 B	Módosított Sturm-teszt (= ISO 9439).	CO ₂	[WEY TJENS et al. 1994, STROTSMANN et al. 1995, BATTERSBY 1997]
OECD	301 C	Módosított MITI-teszt (I.) amely a 301F-ből (= ISO 9408) keletkezett és speciális, előzetesen adaptált inokulummal dolgozik; ebből a tesztből dolgozták ki az ISO 14851 tesztet.	O ₂	[YAKABE et al. 1992]
	301 D	Zárt üveg teszt (=ISO 10707); tovább dolgozták ISO 10708-ként.	O ₂	[HALES et al. 1996]
	301 F	Manometrikus respirométer alkalmazása (= ISO 9408).	O ₂	[VAN DER ZEE et al. 1994, STROTSMANN et al. 1995, HALES et al. 1996]
	10708	Kétfázisú zárt üveg teszt.	O ₂	[VAN DER ZEE et al. 1994, CALMON-DECRIAUD et al. 1998, PAGGA et al. 1995, 1996]
ISO	10707	Egyfázisú zárt üveg teszt (=ISO 301D).	O ₂	[DE HENAU 1993, PAGGA 1997b]
	9408	Manometrikus respirométer alkalmazása (=OECD 301 F).	O ₂	[VAN DER ZEE et al. 1998, PAGGA et al. 2001a]
	9439	Statikus CO ₂ -fejlődés teszt (= OECD 301B)	CO ₂	[STROTSMANN et al. 1995]
	14593	CO ₂ gőztér teszt, ezt módosították polimerekre.	CO ₂	[ITÄVAARA et al. 1995b, VIKMAN 1995b, BATTERSBY 1997]
	14851	Műanyagok végső aerob biodegradációjának meghatározása folyadék közegben, respirométerrel.	O ₂	[PUCHNER et al. 1995, PAGGA et al. 2001a]
	14852	Műanyagok végső aerob biodegradációjának meghatározása folyadék közegben, respirométerrel	CO ₂	[URSTADT et al. 1995, ITÄVAARA et al. 1995, VIKMAN 1996, PAGGA et al. 2001a]
	54900	A műanyagok teljes mértékű biológiai lebomlásának vizsgálata laboratóriumi körülmények között folyadék közegben, respirométerrel	O ₂ , CO ₂	[PAGGA et al. 2001a]

6. MELLÉKLET (SZILÁRD KÖZEGŰ TESZTEK)

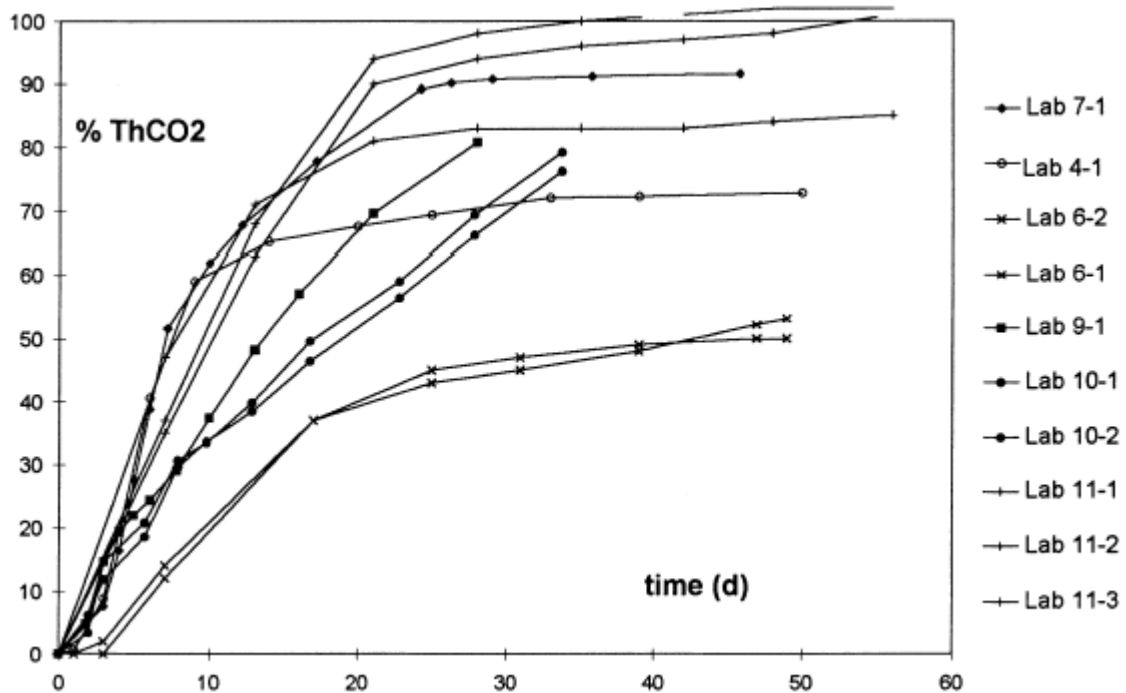
M6. táblázat: Szabványügyi szervezetek által polimerek biológiai lebomlásának vizsgálatára javasolt, szilárd közegű tesztek.

Szabványügyi szervezet	Szabvány száma	Címe / tartalma, megjegyzések	Meghatározott paraméterek	Irodalom
ASTM	5338	Műanyagok aerob biodegradációjának meghatározása kontrollált komposztálási körülmények között.	CO ₂	[ITÁVAARA et al. 1995a, DEGLI-INNOCENTI et al. 1998]
ISO	14855	Műanyagok végső aerob biodegradációjának és szétesésének meghatározása kontrollált komposztálási körülmények között	CO ₂	[PAGGA et al. 1995, TOSIN et al. 1996, SAWADA 1998, DEGLI-INNOCENTI et al. 1998]
DIN	54900	A műanyagok teljes mértékű biológiai lebomlásának vizsgálata laboratóriumi kontrollált komposztálási körülmények között, respirométerrel.	O ₂ , CO ₂	[PAGGA et al. 1996, PAGGA 1999, WITT et al. 2001]

7. MELLÉKLET (KÖRELEMZÉSEK)

M7. táblázat: Szilárd közegű biodegradációs teszttel (=ISO 14855) végzett nemzetközi körelemzés eredményei [PAGGA et al. 1995 nyomán].

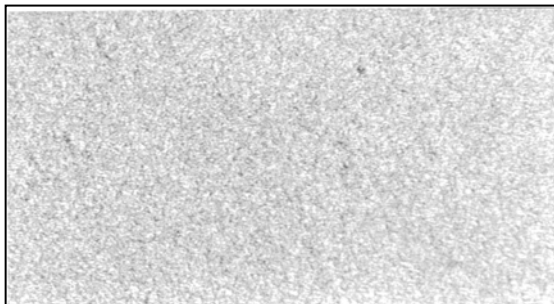
Körelemzés tárgya	Vizsgálati minta	Avicel	Avicel	Papír	Papír	Vak
	Vizsgált paraméter	Biodegradáció foka, %	Plató szakasz elérése, d	Biodegradáció foka, %	Plató szakasz elérése, d	Komposzt által termelt CO ₂ , mg g ⁻¹
Rész vevő laboratóriumok / alkalmazott eljárás hőmérsékleti jellemzői: (C) = konstans, (L) = hőmérsékleti lépcső	ATO-DLO (C)	90, 77, 86, 85, 80	70, 39, >89	65, 82, 76, 70	39, >69	74, (280)
	BASF (C)	95, 89, 88	18	82, 72, 78	25	110
	Bayer (L)	85	30	---	---	---
	Novamont (L)	100, 95, 98	30	91, 85, 89	35	60
	OWS (Ghent; L)	82, 85, 78	30	71, 61, 73	30	79
	OWS (Dayton; L)	76, 82, 75	27	80, 81, 80	27	---
	Stockhausen (?)	70, 72, 76	30	75, 68, 76	30	80
	Essen University (L)	(56, 55)	30	(50, 34)	28	56
	VTT (C) (L)	--- ---	--- ---	95, 91, 94 88, 88, 87	30 30	67 64
Összesítés	Mérések száma	21	10	25	10	8
	Átlag	84,0	39,3	79,9	34,3	73,7
	Szórás	8,5	22,2	9,2	12,8	17,0



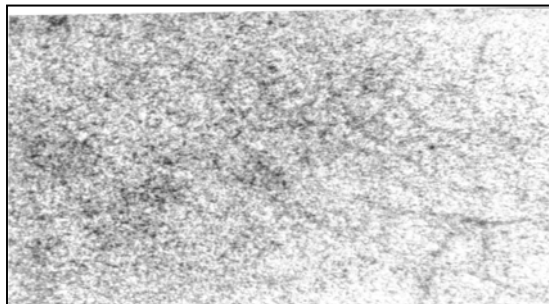
M7. ábra: Folyékony közegű biodegradációs teszttel (ISO 14852) végzett nemzetközi körelemzés eredményei [PAGGA et al. 2001a nyomán]. „time” jelentése: idő. A vizsgálati anyag: Avicel, mikrokristályos cellulóz.

8. MELLÉKLET (BEÁGYAZÁSOS VIZSGÁLATOK)

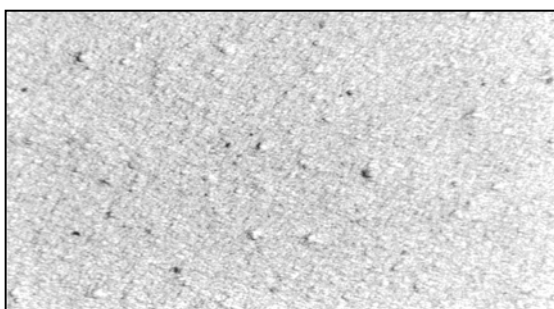
Komposztban végrehajtott, 6 hetes beágyazásos kísérletek során megfigyelt változások. A bal oszlop a beágyazás előtti, míg a jobb a kísérlet végén rögzített felvételeket mutatja.



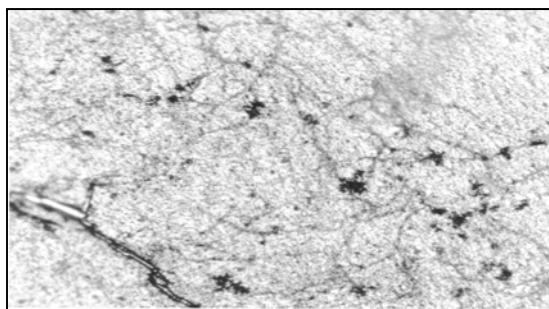
NF 01U (0. hét)



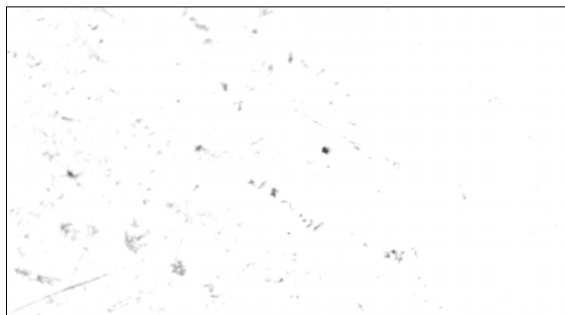
NF 01U (6. hét)



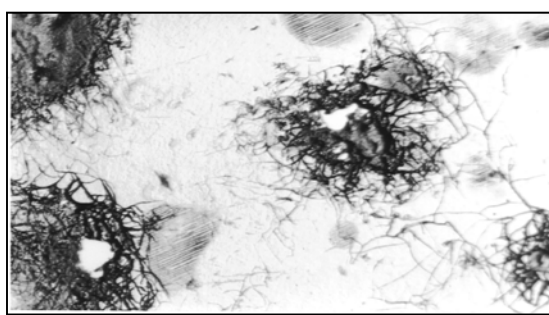
NF 803 (0. hét)



NF 803 (6. hét)



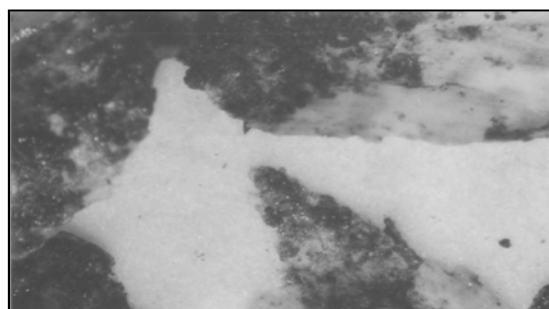
M-Bi SG 130 (0. hét)



M-Bi SG 130 (6. hét)



BF 130/51 (0. hét)



BF 130/51 (6. hét)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

- Elsőként férjemnek, Dr. Dernovics Mihálynak szeretném megköszönni szakmai tanácsait és rendkívüli türelmét, amellyel végigkísérte az eltelt négy, nehézségeket sem nélkülöző évet.
- Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Beczner Juditnak, akitől rengeteg szakmai és emberi segítséget kaptam, valamint a KÉKI - Mikrobiológiai Osztály összes dolgozójának, akik első pillanattól kezdve lelkesen támogatták munkámat.
- Szeretném megköszönni a KÉKI számos kutatójának segítségét: Vásárhelyiné Dr. Perédi Katalinnak, Bakos Piroskának és Fehér Józsefnek, akik „elláttak munkával”, hiszen valamennyi vizsgálati anyag általuk jutott el hozzám is. Hasonlóképpen köszönettel tartozom Dr. Czukor Bálintnak, kinek szakmai kritikája sokat segített valamennyi cikkem színvonalas megírásában.
- Szeretném megköszönni Kánai Irén Hajnalka diplomázó hallgató nagy szorgalommal és precizitással végzett munkáját, amellyel segítségemre volt, az olykor unalmas titrálós meghatározásokban is.
- Köszönöm Dr. Fodor Péternek és Dr. Tóth Árpádnak (SZIE-ÉK, Alkalmazott Kémia Tanszék), hogy lehetővé tették „kihelyezett” méréseim végrehajtását és szakmai tanácsokkal segítették munkámat.
- A széntartalom meghatározások elvégzéséért Dr. Medzidraczky Kálmánnét (ELTE Peptidkémiai Tanszéki Kutatócsoport) illeti köszönet, aki akkor sietett segítségemre, amikor már minden reményem elveszett arra, hogy ezek az eredményeim megszülessenek.
- PhD dolgozatom elő- és főbírálataért Monspartné Dr. Sényi Juditnak, Dr. Dobolyi Csabának és Dr. Nyeste Lászlónak szeretnék köszönetet mondani.

Azért, hogy három, szakmailag rendkívül tartalmas hónapot tölthettem Zittauban (Németország), köszönettel tartozom:

- a Széchenyi István Ösztöndíj Alapítványnak;
- és fogadótanáromnak, Dr. Gernot Kaysernek, aki nem mindennapi segítőkészséggel és lendülettel vitte előre közös munkánkat, valamint a fogadóintézménynek (Department of Environmental Process Engineering, International Graduate School Zittau), amely mindehhez az anyagi háttérrel is biztosította.