

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 246404 B1

(12)

Opis patentowy

- (21) Numer zgłoszenia: **443706**
(22) Data zgłoszenia: **2023.02.07**
(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2024.08.12 BUP 33/2024**
(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2025.01.20 WUP 03/2025**

- (51) MKP:
C12P 39/00 (2006.01)
C12Q 1/25 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/07 (2006.01)
C12R 1/125 (2006.01)
B09C 1/10 (2006.01)
B09B 101/75 (2022.01)
C02F 3/34 (2023.01)

- (73) Uprawniony z patentu:
**GREEN TREE GROUP SPÓŁKA
Z OGRANICZONĄ ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ,
Tomaszów Mazowiecki, PL**
- (72) Twórca(-y) wynalazku:
**KATARZYNA JANCZAK, Piecowo, PL
KRZYSZTOF BAJER, Toruń, PL
ALICJA MAZURYK, Toruń, PL
DARIA LISEWSKA, Toruń, PL
SEBASTIAN KOSSAKOWSKI,
Swolszewice Duże, PL
ADAM UPTAS, Janów, PL**
- (74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Piotr Rytlewski, Osielsko, PL

- (54) Tytuł:
**Sposób otrzymywania płynnego środka i sposób biodegradacji termoplastycznych
materiałów polimerowych w kompoście**

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania płynnego środka i sposób biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście. Sposoby te przeznaczone są zwłaszcza do biodegradacji materiałów polilaktydowych, np. w postaci folii.

Z polskiego opisu patentowego PL234499B1 znane są kompozycja zawierająca wyizolowane szczepy saprofitycznych bakterii glebowych oraz biopreparat zawierający taką kompozycję. Wykorzystywane są one do zwalczania patogenów roślin w glebie, użyźniania gleby i przywracania naturalnej równowagi biologicznej mikroflory oraz biostymulacji rozwoju i wzrostu roślin w sposobach i zastosowaniach je wykorzystujących.

Z kolei z opisu patentowego EP1894995B1 znany jest preparat biologiczny do zastosowań medycznych i weterynaryjnych o różnej etiologii żywej masy drobnoustrojów szczepów *Bacillus subtilis* i *Bacillus licheniformis* oraz środek ochronny, charakteryzujący się tym, że zawiera szczepy *Bacillus subtilis*.

Natomiast z polskiego opisu patentowego PL222382B1 oraz PL222397B1 znane są sposoby otrzymywania preparatu enzymów wspomagających bioremediację środowisk zanieczyszczonych ciężką frakcją ropy naftowej oraz sposób bioremediacji zanieczyszczonej gleby. Do tego celu wykorzystano grzyba nitkowatego *Aspergillus niger* lub szczepy bakterii *Bacillus mycoides* oraz *Sarcina* sp.

Na podstawie analizy stanu techniki stwierdzono, że dotychczas nie opracowano skutecznego sposobu otrzymywania płynnego środka i sposobu szybkiej biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście.

Głównym celem wynalazku było opracowanie sposobu otrzymywania płynnego środka i sposobu biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście, które znacząco skrócą czas biodegradacji materiałów polimerowych, zwłaszcza polilaktydowych, przy jednoczesnym spełnieniu wymagań ustawowych dla tego rodzaju środków i procesów kompostowania.

Istotą wynalazku jest sposób otrzymywania płynnego środka do biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście, w którym do wody wprowadza się składniki odżywcze, enzymy oraz szczepy bakterii. Sposób ten charakteryzuje się tym, że do wody, na co najmniej jej 300 części wagowych, wprowadza się:

- od 0,5 do 2 części wagowych azotan sodu,
- od 5 do 30 części wagowych glukozy, fruktozy lub sacharozy,
- od 0,5 do 3 części wagowych węglanu wapnia,
- od 0,15 do 0,45 części wagowych mocznika,
- od 0,0001 do 0,0012 części wagowych proteiny K,
- od 0,0001 do 0,0012 części wagowych proteazy,
- od 0,0001 do 0,0012 części wagowych lipazy,
- od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Bacillus subtilis* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu,
- od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Bacillus stearothermophilus* w ilości co najmniej $4,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu.

Korzystne jest, gdy do wody, na jej 500 części wagowych, wprowadza się dodatkowo:

- od 0,2 do 1,5 części wagowych diwodorofosforanu potasu,
- od 0,2 do 1,5 części wagowych fosforanu dipotasu,
- od 0,2 do 1,5 części wagowych chlorku potasu,
- od 0,2 do 1,5 części wagowych siarczanu magnezu siedmiowodnego,
- od 0,005 do 0,02 części wagowych siarczanu żelaza siedmiowodnego,
- od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Arthrobacter globiformis* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu,
- od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Pediococcus damnosus* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu,
- od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Pseudomonas putida* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu.

Dobrze jest, gdy enzymy przed wprowadzeniem do wody poddaje się sterylizacji, a po wprowadzeniu do wody związków nieorganicznych, związków sacharydowych oraz kredy (węglanu wapnia) roztwór ten poddaje się sterylizacji a następnie wprowadza do niego wysterylizowane enzymy i roztwory fizjologiczne zawierające szczepy bakterii.

Istotą wynalazku jest również sposób biodegradacji termoplastycznych biodegradowalnych materiałów polimerowych w kompoście, w którym w odpadach organicznych umieszcza się termoplastyczne, biodegradowalne materiały polimerowe, a następnie kompostuje się je w czasie co najmniej 3 dni w zakresie temperatury od 20 do 75°C i wilgotności kompostu od 30 do 80%.

Sposób ten charakteryzuje się tym, że do kompostu dodaje się płynny środek biodegradacji otrzymywany wyżej opisanym sposobem według wynalazku. Korzystne jest, gdy płynny środek biodegradacji rozcieńcza się przed użyciem w proporcji 1 : 2, a następnie dodaje do kompostu w ilości co najmniej 5 ml/m³. Dobrze jest również, gdy podczas kompostowania zawartość kompostu jest napowietrzana, poprzez mechaniczne jego mieszanie lub wprowadzenie do niego przewodów ze sprężonym powietrzem. Gdy w odpadach organicznych kompostu umieszcza się materiały polilaktydowe, to kompostowanie trwa optymalnie co najmniej 12 tygodni.

Korzystnymi skutkami wynalazku jest uzyskanie kompostu zawierającego folię PLA, który po 12 tygodniach wykazuje wzrost o ponad 3000% ogólnej ilości mikroorganizmów (OLD) oraz potencjału redoks o 17% w porównaniu z kompostem początkowym (do którego nie wprowadzono środka opracowanego sposobem według wynalazku). W sposobie kompostowania folii PLA uzyskuje się ponad 97% ubytek jej masy oraz wzrost indeksu karbonylowego o około 20%.

Przykłady realizacji

Sposób otrzymywania płynnego środka biodegradacji polegał, w jednym z przykładów realizacji, na wprowadzeniu do 300 g wody destylowanej składników, których rodzaj i możliwe zakresy ilościowe zestawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Skład jakościowy i ilościowy płynnego środka biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście – pierwszy przykład realizacji (na 300 g wody)

I. Czynniki aktywne: roztwory fizjologiczne z bakteriami		
L.p.	Nazwa	Ilość (zakres)
1.	<i>Bacillus subtilis</i> (KKP 361) i/lub (PCM 2021)	od 0,05 do 0,15 g roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk/mg
2.	<i>Bacillus stearothermophilus</i> (PCM 2104)	od 0,05 do 0,15 g/ml roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $4,0 \times 10^6$ jtk/mg
II. Czynniki aktywne: enzymy		
1.	Proteinaza K z <i>Tritirachium album</i> (600 - 800 Unit/mg)	0,1 - 1,2 mg
2.	Proteaza z <i>Bacillus licheniformis</i> (7-15 Unit/mg)	0,1 - 1,2 mg
3.	Lipaza z <i>Candida rugosa</i> (≥ 700 Unit/mg)	0,1 - 1,2 mg
III. Składniki odżywcze		
1.	Azotan sodu (NaNO ₃)	0,5 - 2 g
2.	Glukoza	5 - 30 g
3.	Węglan wapnia (kreda)	0,5 g - 3 g
4.	Mocznik	0,15 - 0,45 g

Natomiast w innym przykładzie realizacji do 500 g wody destylowanej dodano składniki, których rodzaj i zakresy ilościowe zestawiono w tabeli 2.

Tab. 2. Skład jakościowy i ilościowy płynnego środka biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście – drugi przykład realizacji (na 500 g wody)

I. Czynniki aktywne: roztwory fizjologiczne z bakteriami		
L.p.	Nazwa	Ilość (zakres)
1.	Roztwór fizjologiczny z bakteriami <i>Bacillus subtilis</i> (KKP 361) i/lub (PCM 2021)	od 0,05 do 0,15 g roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk/mg
2.	Roztwór fizjologiczny z bakteriami <i>Bacillus stearothermophilus</i> (PCM 2104)	od 0,05 do 0,15 g/ml roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $4,0 \times 10^6$ jtk/mg
3.	Roztwór fizjologiczny z bakteriami <i>Arthrobacter globiformis</i> (PCM 2134)	od 0,05 do 0,15 g roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk/mg
4.	Roztwór fizjologiczny z bakteriami <i>Pediococcus damnosus</i> (KKP 321)	od 0,05 do 0,15 g roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk/mg
5.	Roztwór fizjologiczny z bakteriami <i>Pseudomonas putida</i> (KKP 1142)	od 0,05 do 0,15 g roztworu zawierającego bakterie w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk/mg
II. Czynniki aktywne: enzymy		
1.	Proteinaza K z <i>Tritirachium album</i> (600 - 800 Unit/mg)	0,1 - 1,2 mg
2.	Proteaza z <i>Bacillus licheniformis</i> (7-15 Unit/mg)	0,1 - 1,2 mg
3.	Lipaza z <i>Candida rugosa</i> (≥ 700 Unit/mg)	0,1 - 1,2 mg
III. Składniki odżywcze		
1.	Azotan sodu (NaNO_3)	0,5 - 2 g
2.	Glukoza	5 - 30 g
3.	Węglan wapnia (kreda)	0,5 g - 3 g
4.	Mocznik	0,15 - 0,45 g
5.	Diwodorofosforan potasu (KH_2PO_4)	0,2 - 1,5 g
6.	Fosforan dipotasu (K_2HPO_4)	0,2 - 1,5 g
7.	Chlorek potasu (KCl)	0,2 - 1,5 g
8.	Siarczan Magnezu Siedmiowodny ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,2 - 1,5 g
9.	Siarczan żelaza siedmiowodny ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,005 - 0,02 g

Wiadome jest, że udział wody może być dowolnie zwiększany, co zmieni charakter płynnego środka z koncentratu na jego bardziej rozcieńczoną postać, jednak tak samo możliwą do wykorzystania w kompostowaniu termoplastycznych materiałów polimerowych. Z tego względu określenie górnej granicy udziału wody jest bezzasadne z punktu widzenia zakresu ochrony. Niemniej, w pracach badawczych ustalono, że aby środek płynny miał charakter koncentratu korzystnie jest aby zawierał do 900 g wody.

Niezależnie od składu ilościowego i jakościowego środka do biodegradacji procedura jego otrzymywania jest następująca:

- W pierwszym etapie wszystkie suche składniki odżywcze odważane są z dokładnością do 0,001 g i dodawana jest woda destylowana. Następnie medium to (woda ze składnikami odżywczymi) sterylizowane jest w autoklawie w temperaturze 135°C.

- W kolejnym etapie odmierzoną ilość enzymów sterylizuje się termicznie w czasie od około 30 do 60 min, w temp. do 80°C. W innej opcji przykładu realizacji enzymy te sterylizuje się promieniowaniem UV o długości fali co najmniej 254 nm w czasie około 20 minut (zalecany czasu na promienienia od 15 do 30 minut).
- Następnie enzymy po sterylizacji dodawane są do medium (wody wraz ze składnikami odżywczymi).
- W międzyczasie szczepy bakteryjne hodzi się w bulionie tryptonowo-sojowym (TSB – Tryptone Soya Broth) w czasie około 48 godzin. Każdy szczep hodowany jest oddzielnie. Przygotowuje się roztwory fizjologiczne (wodny roztwór izotoniczny zawierający chlorek sodu o stężeniu około 0,8%) dla każdego szczepu oddzielnie po 100 ml. Następnie do każdego z roztworów fizjologicznych wprowadza się właściwy szczep bakterii, uzyskując zawiesiny, oddzielnie dla każdego ze szczepu bakterii.
- Następnie roztwory z bakteriami dodano do medium ze składnikami odżywczymi i enzymami.

Całość mieszaniny umieszcza się w wysterylizowanych pojemnikach, o zamknięciu, którego otwarcie uniemożliwia ponowne zamknięcie i wykorzystanie płynnego środka.

W jednym z przykładów realizacji sposób biodegradacji termoplastycznych biodegradowalnych materiałów polimerowych w kompoście polega na umieszczeniu w odpadach organicznych termoplastycznych, biodegradowalnych materiałów polimerów. Następnie kompost polewa się równomiernie wstrząśniętym płynnym środkiem zawierającym wodę i składniki zestawione w tab. 1 lub 2. Kompostowanie zachodzi w zakresie temperatury od 20 do 75°C i wilgotności kompostu od 38 do 80%. Korzystnie przed użyciem płynnego środka biodegradacji rozcieńcza się go w proporcji 1 : 2 z wodą kranową, a następnie dodaje do kompostu w ilości co najmniej 5 ml/m³. Podczas kompostowania zawartość kompostu jest napowietrzana, w jednym z przykładów realizacji poprzez mechaniczne mieszanie kompostu, w innym przykładzie realizacji poprzez przewody doprowadzające sprężone powietrze. W przypadku materiałów ze skrobi termoplastycznej jej pełna degradacja zachodzi już po około 3 dniach. Natomiast, gdy w odpadach organicznych kompostu umieszcza się materiały polilaktydowe (w postaci folii), to kompostowanie powinno trwać co najmniej 12 tygodni.

Po 12 tygodniach inkubacji, w uśrednionych warunkach 21,3 ± 1,62°C i wilgotności 38 ± 6,5%, wyjęto próbki folii PLA i potwierdzono skuteczność działania płynnego środka (biopreparatu) za pomocą pomiaru: ubytku masy, indeksu karbonylowego próbek oraz ogólnej liczebności mikroorganizmów, oznaczenia pH i potencjału redoks kompostu. Po okresie inkubacji (kompostowania) ubytek masy folii PLA wyniósł 97,54%, a wzrost indeksu karbonylowego 20%, kompost wykazywał 3025% wzrost ogólnej ilości mikroorganizmów (OLD) w porównaniu z kompostem początkowym, jego pH obniżyło się o 1,27% (z wartości 6,7), a potencjał redoks wzrósł o 17,96%.

Należy podkreślić, że płynny środek i sposób biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście spełniają wymagania ustawy z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu (Dz. U. z 2007 r. nr 147 Poz. 1033).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania płynnego środka biodegradacji termoplastycznych materiałów polimerowych w kompoście, w którym do wody wprowadza się składniki odżywcze, enzymy oraz szczepy bakterii **znamienny tym**, że do wody na co najmniej jej 300 części wagowych wprowadza się:
 - od 0,5 do 2 części wagowych azotanu sodu,
 - od 5 do 30 części wagowych glukozy, fruktozy lub sacharozy,
 - od 0,5 do 3 części wagowych węglanu wapnia,
 - od 0,15 do 0,45 części wagowych mocznika,
 - od 0,0001 do 0,0012 części wagowych proteinazy K,
 - od 0,0001 do 0,0012 części wagowych proteazy,
 - od 0,0001 do 0,0012 części wagowych lipazy,
 - od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Bacillus subtilis* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu,
 - od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego wyizolowany szczep bakterii *Bacillus stearothermophilus* w ilości co najmniej $4,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu.

2. Sposób otrzymywania płynnego środka biodegradacji według zastrz. 1, **znamienny tym**, że do wody na jej 500 części wagowych wprowadza się dodatkowo:
 - od 0,2 do 1,5 części wagowych diwodorofosforanu potasu,
 - od 0,2 do 1,5 części wagowych fosforanu dipotasu,
 - od 0,2 do 1,5 części wagowych chlorku potasu,
 - od 0,2 do 1,5 części wagowych siarczanu magnezu siedmiowodnego,
 - od 0,005 do 0,02 części wagowych siarczanu żelaza siedmiowodnego.
3. Sposób otrzymywania płynnego środka biodegradacji według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że do wody na jej 500 części wagowych wprowadza się dodatkowo:
 - od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego
 - wyizolowany szczep bakterii *Arthrobacter globiformis* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu,
 - od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego
 - wyizolowany szczep bakterii *Pediococcus damnosus* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu,
 - od 0,05 do 0,15 części wagowych roztworu fizjologicznego zawierającego
 - wyizolowany szczep bakterii *Pseudomonas putida* w ilości co najmniej $6,0 \times 10^6$ jtk na 1 mg tego roztworu.
4. Sposób otrzymywania płynnego środka biodegradacji według zastrz. 1, 2 albo 3, **znamienny tym**, że enzymy przed wprowadzeniem do wody poddaje się sterylizacji.
5. Sposób otrzymywania płynnego środka biodegradacji według zastrz. 4, **znamienny tym**, że po wprowadzeniu do wody związków nieorganicznych, związków sacharydowych oraz kredy roztwór ten poddaje się sterylizacji a następnie wprowadza do niego enzymy i roztwory fizjologiczne zawierające szczepy bakterii.
6. Sposób biodegradacji termoplastycznych biodegradowalnych materiałów polimerowych w kompoście, w którym w odpadach organicznych umieszcza się termoplastyczne, biodegradowalne materiały polimerowe, a następnie kompostuje się je w czasie co najmniej 3 dni w zakresie temperatury od 20 do 75°C i wilgotności kompostu od 30 do 80%, **znamienny tym**, że do kompostu dodaje się płynny środek biodegradacji otrzymywany sposobem według któregośkolwiek z zastrz. od 1 do 5.
7. Sposób otrzymywania środka według zastrz. 6, **znamienny tym**, że płynny środek biodegradacji rozcieńcza się przed użyciem w proporcji 1 : 2, a następnie dodaje do kompostu w ilości co najmniej 5 ml/m³.
8. Sposób otrzymywania środka według zastrz. 6 albo 7, **znamienny tym**, że podczas kompostowania zawartość kompostu jest napowietrzana.
9. Sposób otrzymywania środka według zastrz. 6, 7 albo 8, **znamienny tym**, że w odpadach organicznych kompostu umieszcza się materiały polilaktydowe, a kompostowanie trwa co najmniej 12 tygodni.