View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk

brought to you by CORE

You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Enzymy uczestniczące w biodegradacji polimerów

Author: Bożena Nowak, Jolanta Pająk, Tomasz Płociniczak, Sylwia Łabużek

Citation style: Nowak Bożena, Pająk Jolanta, Płociniczak Tomasz, Łabużek Sylwia. (2008). Enzymy uczestniczące w biodegradacji polimerów. "Biotechnologia" (Nr 1 (2008), s. 45-52).

Uznanie autorstwa - Użycie niekomercyjne - Bez utworów zależnych Polska - Licencja ta zezwala na rozpowszechnianie, przedstawianie i wykonywanie utworu jedynie w celach niekomercyjnych oraz pod warunkiem zachowania go w oryginalnej postaci (nie tworzenia utworów zależnych).

UNIWERSYTET ŚLĄSKI W KATOWICACH

Biblioteka Uniwersytetu Śląskiego

Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

Enzymy uczestniczące w biodegradacji polimerów

Bożena Nowak, Jolanta Pająk, Tomasz Płociniczak, Sylwia Łabużek
Katedra Biochemii, Uniwersytet Śląski, Katowice

Enzymes involved in polymer biodegradation

Summary

Most widely used plastics are considered to be resistant to environmental factors. Degradation of most popular packaging polymer is slow and may take hundreds of years. To enhance their environmental degradation, a number of different approaches, among them copolymerisation or compounding with additives susceptible to environmental factors such as polyesters are used. Enzymes involved in decomposition of polyesters are mainly hydrolases i.e. esterases, lipases, cutinases. The research team in the Department of Biochemistry is working on polyethylene and poly(ethylene terephtalate) films modified with synthetic aliphatic polyester Bionolle® and mechanisms of their biodegradation using fungal extracellular hydrolytic enzymes.

Key words:
polymer, biodegradation, microorganisms, enzymes.

1. Wstęp

Jednym z poważniejszych zagrożeń dla środowiska naturalnego jest ogromna i stale rosnąca ilość odpadów przemysłowych i komunalnych, odznaczających się małą podatnością na działanie czynników atmosferycznych i rozkład biologiczny. Do materiałów niezwykle trwałych w warunkach naturalnych należy zaliczyć przede wszystkim polimery syntetyczne. Obecnie produkuje się i stosuje około 5000 różnych polimerów, takich jak polietylen (PE), polipropylen (PP) oraz polistyren (PS), polichlorek winylu (PCV), poli(tereftalan etylenu) (PET) i poliuretany (PU). Stanowią one podstawowy składnik wielu wyrobów przemysłowych, artykułów gospodarstwa domowego, odzieży oraz opakowań.

Adres do korespondencji
Bożena Nowak,
Katedra Biochemii,
Uniwersytet Śląski,
ul. Jagiellońska 28,
40-032 Katowice.

biotechnologia
1 (80) 45–52 2008

Tworzywa opakowaniowe bardzo szybko stają się odpadami podobnie jak duże ilości wytwarzanych produktów jednorazowego użytku. W województwie śląskim w 2005 r. zebrano 1 306 601,80 Mg odpadów komunalnych, wśród których 12,1% stanowiły tworzywa sztuczne. Podstawową metodą unieszkodliwiania odpadów komunalnych jest składowanie. Obecnie na Śląsku czynne są 43 składowiska zajmujące powierzchnię 300 ha (1).

Polimery syntetyczne ulegają w środowisku degradacji pod wpływem czynników abiotycznych takich jak promieniowanie słoneczne, zanieczyszczenia atmosferyczne, energia cieplna, obecność wody, jak również pod wpływem czynników biologicznych obejmujących działalność makro- i mikroorganizmów (2). Biologiczny rozkład polimerów przebiega głównie z udziałem mikroorganizmów, takich jak bakterie lub grzyby, które mają tę przewagę nad czynnikami abiotycznymi, że posiadają fizjologiczne oraz genetyczne mechanizmy adaptacyjne umożliwiające rozkład zupełnie nowych, czasami jedynie teoretycznie odpornych na ich działanie kompozycji polimerowych. Wśród polimerów syntetycznych najbardziej podatne na rozkład mikrobiologiczny są alifatyczne poliestry. Obecność polimeru skłania lub zwiększa drobnoustrojową syntezę enzymów, które wydzielone do środowiska i zaadsorbowane na powierzchni tworzywa, rozrywają jego wiązania polimerowe (3). Przyjmuje się, że poliestry ulegają degradacji enzymatycznej głównie na drodze hydrolizy z udziałem proteaz, esteraz, lipaz i kutynaz (4). Ze względu na mechanizm działania enzymy te zalicza się do hydrolaz serynowych, zawierających aktywne centrum w postaci triady katalitycznej (Ser-His-Asp).

W artykule tym prezentujemy ogólne informacje na temat prowadzonych w Zespole badań nad biodegradacją polimerów.

2. Biodegradacja kompozycji polietylen/Bionolle® oraz poli(tereftalan etylenu)/ Bionolle® z udziałem drobnoustrojów

Jedną z metod pozwalających na ograniczenie ilości zalegających w środowisku odpadów opakowaniowych jest produkcja tworzyw ulegających całkowitej biodegradacji (5). Należą tu opakowania z surowców naturalnych, produkowane m.in. ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej, bądź w pełni syntetyczne alifatyczne i aromatyczne poliestry, polietery czy poliuretany (6). Niestety koszt ich wytworzenia niejednokrotnie przewyższa koszt produkcji tradycyjnych opakowań z poliolefin o łańcuchu czysto węglowym. Kompromisem, pomiędzy wysoką ceną jednych a słabą podatnością na degradację innych polimerów, może być modyfikacja polietylenu (PE), polipropylenu (PP), polistyrenu (PS) lub poli(chlorku winylu) (PVC) substancjami pochodzenia naturalnego lub syntetycznego w celu przyspieszenia ich biodegradacji (7,8).

Jesteśmy jedynym Zespołem, w którym rozpoczęto pracę nad biodegradacją polietylenu zmodyfikowanego od 10 do 60% zawartością syntetycznego poliestru Bio-

nolle®. Alifatyczny poliester Bionolle® powstaje w wyniku reakcji polimeryzacji dioli z kwasami dikarboksylowymi. Na rynku dostępne są różne rodzaje polimeru różniące się merami, którymi mogą być: kwas adypinowy, kwas bursztynowy, glikol butylenowy, a także glikol etylenowy. Rodzaj merów wchodzących w skład łańcucha wpływa na właściwości polimeru (9). Projekt badawczy zmierzał do uzyskania opakowaniowych folii polietylenowych modyfikowanych, które będą rozkładane przez powszechnie występujące w środowisku mikroorganizmy szybciej niż polietylen.

W prowadzonych przez nas wcześniej badaniach polowych wykazano, że modyfikowane folie polietylenowe ulegają rozkładowi w glebie (10). Wyizolowano 65 szczepów mikroorganizmów bytujących na powierzchniach kompozytów polimerowych. Wśród nich dominowały bakterie rodzajów *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Cellulomonas*, *Rhodococcus*, *Chryseobacterium*, *Pantoea*, *Sporosarcina* i *Nocardia* oraz grzyby mikroskopowe rodzajów *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cunninghamella*, *Gliocladium*, *Humicola*, *Mucor*, *Penicillium*, *Talaromyces* i *Trichoderma*.

Aby sprawdzić, który z wyizolowanych mikroorganizmów wykaże największą aktywność degradacyjną wobec badanych polimerów prowadzono 84-dniowe próby biodegradacji tworzyw w warunkach laboratoryjnych na podłożach syntetycznych. Równocześnie wykonywano te same eksperymenty z udziałem modelowych grzybów mikroskopowych (PN 85/C-89080 i PN-EN ISO 846:2002) oraz muzealnych szczepów bakterii. Badania te zostały szerzej przedstawione w naszych pracach (11-14).

Makroskopowo określano wzrost grzybów na powierzchniach folii, oznaczano ubytek masy polimerów i obserwowano fakturę folii w skaningowym mikroskopie elektronowym.

Stwierdziliśmy, że grzyby mikroskopowe degradowały tworzywa w większym stopniu niż bakterie. Wśród, wyizolowanych z powierzchni tworzyw, grzybów mikroskopowych największymi zdolnościami degradacyjnymi charakteryzowały się szczepy *Cunninghamella elegans*, *Gliocladium solani*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium simplicissimum* oraz *Talaromyces flavus*, w wyniku działania których zanotowano powyżej 40% ubytki masy folii o 60% zawartości poliestru Bionolle®, a wśród bakterii *Micrococcus lylae* rozkładający 1% folii. Mikroorganizmy te rozkładały modyfikowane tworzywa w większym stopniu niż mikroorganizmy modelowe, wśród których podobne ubytki masy powodował jedynie *Penicillium funiculosum*.

Charakter fizykochemicznych zmian polimerów określonych na podstawie ciężaru cząsteczkowego, właściwości termicznych, stopnia krystaliczności i struktury chemicznej tworzyw wskazywał jednoznacznie na rozkład folii z udziałem enzymów hydrolitycznych.

Pozytywne efekty tego projektu zachęciły nas do podjęcia problemu modyfikacji innego, z powszechnie stosowanych, jak również uważanego za niebiodegradowalne, tworzywa jakim jest aromatyczny poliester poli(tereftalan etylenu).

Choć we wstępnych badaniach laboratoryjnych z udziałem grzybów mikroskopowych wykazano wzrost mikroorganizmów na powierzchniach badanych tworzyw

skutkujący fizykochemicznymi zmianami polimerów, jednak obserwowany ubytek masy folii nie przekroczył 1% nawet w folii zawierającej 50% Bionolle®.

3. Enzymatyczna degradacja poliestrów

Powszechnie uważa się, że zdolność mikroorganizmów do degradacji syntetycznych poliestrów wynika z ich podobieństwa chemicznego do naturalnego polihydroksymaślanu (PHB) stanowiącego materiał zapasowy wielu szczepów bakterii (15,16). Naturalne poliestry β-hydroksykwasów, takich jak polihydroksymaślan rozkładane są z udziałem esteraz, zwanych depolimerazami PHB.

Zdolność syntetyzowania PHB depolimerazy wykazują m.in. szczepy *Pseudomonas lemoignei, Comamonas testosteroni, Comamonas* sp., *Alcaligenes faecalis, Pseudomonas stuzteri, Streptomyces* sp., *Pseudomonas pickettii*, *Penicillium funiculosum* i *Aspergillus fumigatus*. Depolimeraza PHB posiada aktywność egzo- i endodepolimerazową. Obie formy enzymu działają synergistycznie. Enzymatycznej degradacji podlegają głównie regiony amorficzne tego polimeru (17-19).

Ito i wsp. (20) stwierdzili, że w degradacji innych niż PHB polihydroksykwasów alkanowych (PHA) mogą brać udział również lipazy. Większość lipaz szczepów *Corynebacterium aquaticum* i *Pseudomonas fluorescens* jest zdolna do rozkładu poliestrów hydroksykwasów alkanowych zawierających ω-hydroksyalkany, takie jak kwas poli γ-hydroksymasłowy P(4HB) oraz kwas poli ε-hydroksyheptanowy P(6HH).

Natomiast w degradację syntetycznych poliestrów zaangażowane mogą być zarówno esterazy, w tym depolimerazy PHB oraz lipazy lub/i kutynazy (17,21,22).

Poli(ε-kaprolakton) PCL to polimer syntetyczny powstały w wyniku polimeryzacji z otwarciem pierścienia cyklicznego laktonu. Scherer i wsp. (16) wykazali, że PCL pomimo obecności w łańcuchu wiązań estrowych, nie ulega degradacji w wyniku działania esteraz krótkołańcuchowych hydroksykwasów, takich jak depolimeraza PHB, co związane jest ze zbyt dużą ilością jednostek metylenowych występujących pomiędzy wiązaniami estrowymi. Murphy i wsp. (23) stwierdzili, że w pewnych warunkach PCL degradowany jest pod wpływem kutynaz *Fusarium solani* i *Fusarium moniliforme* w wyniku czego powstają krótkie oligomery, strukturalnie podobne do naturalnych induktorów kutynaz. Stopień degradacji PCL jest ściśle zależny od krystaliczności, struktury polimeru, a także jego ciężaru cząsteczkowego. Cook i wsp. (24) w trakcie prowadzonego procesu degradacji z udziałem lipaz wykazali preferencyjny atak enzymów na regiony amorficzne w stosunku do regionów krystalicznych tego polimeru.

Degradacja blendy poli(ε-kaprolaktonu) z polikwasem mlekowym (PCL/PLLA) z udziałem kutynaz wymaga określonej minimalnej zawartości jednostek PCL, wraz z zawartością których stopień degradacji kopolimeru rośnie (25). Lipaza *Rhizopus arrhizus* działa selektywnie na jednostki PCL, powodując ich usuwanie w postaci rozpuszczalnych oligomerów. Enzym ten nie wykazuje aktywności hydrolitycznej wo-

bec jednostek PLLA, co więcej ich obecność hamuje aktywność enzymatyczną uniemożliwiając całkowity rozkład PCL w tworzywie (26). Inną zależność obserwuje się podczas rozkładu blendy proteinazą K degradującą PLLA, która szybciej usuwa PLLA w obecności PCL.

Pseudomonas sp., *Erwinia* sp. oraz *Bacillus* sp. w obecności zarówno blendy PCL/PHB jak i samego PHB lub PCL wydzielają enzymy o aktywności esterazowej, stąd też śladowy ubytek masy samego PCL oraz znaczny PHB powodowany jest rozkładem fazy amorficznej każdego z polimerów. Degradacja blendy PCL/PHB przebiega w krótszym czasie niż PCL i dłuższym niż rozkład PHB (27).

Poli(tereftalan etylenu) PET, którego podstawowymi składnikami są kwas tereftalowy i glikol etylenowy należy do klasy poliestrów aromatycznych. Czas degradacji PET w środowisku oszacowano na 16 do 48 lat (28). W celu uwrażliwienia tworzywa na degradację biologiczną stosuje się kopolimeryzację PET m.in. z polimerami zawierającymi wiązania estrowe (29).

Kopoliester PET/PCL ulega hydrolizie w obecności lipazy wydzielanej przez *Rhizopus delemar* z wytworzeniem dimetylotereftalanu i kwasu ε-hydroksykapronowego. W innych pracach nad rozkładem kopolimeru użyto lipazy *Pseudomonas* sp. Stwierdzono, że choć lipaza zdolna jest do degradacji 93% poli(ε-kaprolaktonu) w ciągu 3 dni, kopolimer, w którym oprócz jednostek poli(ε-kaprolaktonu) występuje 50% lub więcej PET, nie ulega biodegradacji. Większe ilości sztywnego łańcucha PET obniżają znacznie elastyczność łańcucha PCL, co uniemożliwia jego hydrolizę (28,30).

W doświadczeniach nad degradacją kopolimerów PET z poli(glikolem etylenowym) o ciężarze cząsteczkowym od 400 do 20 000 g/mol stosowano lipazy szczepów *Candida cylindracea*, *Fusarium heterosporum* i *Rhizopus arrhizus* oraz esterazy *Pseudomonas* sp. i *Comamonas acidovorans*. Stwierdzono, że kopolimer był degradowany do poli(glikolu etylenowego) oraz jednostek tereftalowych. Największą aktywność degradacyjną otrzymanego kopolimeru wykazywała esteraza *Comamonas acidovorans*. Jedynie lipaza *Fusarium heterosporum* nie posiadała aktywności hydrolitycznej (28,31).

Tokiwa i Suzuki (32) stwierdzili, że w degradacji PBS złożonego z glikolu butylenowego i kwasu bursztynowego uczestniczą lipazy syntetyzowane przez *Penicillium* sp., które poprzez degradację wewnętrznych wiązań estrowych polimeru prowadzą do obniżania jego ciężaru cząsteczkowego. Montaudo i Rizzarelli (33) prowadzili enzymatyczną degradację kopoliestrów bursztynianu i adypinianu butylenu (PBSA) i kopoliestrów bursztynianu butylenu (PBSU) z udziałem lipazy szczepu *Rizophus arrhizus*. Stwierdzili, że szybkość enzymatycznej degradacji malała wraz ze wzrostem stopnia krystaliczności. Podobne wyniki uzyskali Uchida i wsp. (34) stosując lipazę szczepu *Acidovorax delafieldii*. Scherer (35) stwierdził, że depolimeraza PHB *Aspergillus fumigatus* hydrolizuje poliestry zawierające kwas adypinowy w łańcuchu polimerowym. Dla porównania poli(bursztynian etylenu) (PES) i poli(bursztynian butylenu) (PBS) nie były degradowane. W innych badaniach wykazano także, że PBSA

ulega degradacji pod wpływem lipazy AK (36). Maeda i wsp. (37) stwierdzili, że *Aspergillus oryzae* w obecności PBSA wydzielał kutynazę. Enzym ten, w miejscu wiążącym kwasy karboksylowe akceptował liniowe kwasy karboksylowe, zawierające dwa do siedmiu atomów węgla w alkanowym, hydrofobowym łańcuchu głównym, a w miejscu wiązania alkoholu, alkohole zawierające więcej niż trzy atomy węgla. Przyczyną większej aktywności kutynazy, wobec PBSA w porównaniu z PBSU, była mniejsza krystaliczność i większa giętkość łańcuchów polimerowych łatwiej dopasowujących się do miejsc aktywnych enzymu (38).

W przeprowadzonych przez nas badaniach nad udziałem enzymów hydrolitycznych w rozkładzie napełniacza folii polietylenowych, którym był poliester Bionolle® złożony z butanodiolu zestryfikowanego kwasami bursztynowym i adypinowym stosowaliśmy grzyby mikroskopowe, które powodowały największe ubytki masy folii poliestrowej. Były to *Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *Gliocladium solani*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium simplicissimum* oraz *Talaromyces flavus*. Badania te zostały omówione w (14,39).

Sprawdzaliśmy, czy badane grzyby mikroskopowe wydzielają również enzymy zdolne do degradacji dwóch innych poliestrów – naturalnego polihydroksymaślanu (PHB) oraz syntetycznego poli(ε-kaprolaktonu) (PCL) oraz czy obecność innego niż poliestry źródła węgla wpłynie na aktywność wydzielanych przez nie enzymów.

Wykazaliśmy, że wszystkie stosowane szczepy grzybów mikroskopowych wydzielały zewnątrzkomórkowe specyficzne depolimerazy zarówno w obecności Bionolle®, jak i PHB lub PCL. Największą aktywność enzymów obserwowano w ósmym lub dwunastym dniu inkubacji. Największą aktywność depolimerazy PHB wobec PHB zanotowano dla *Penicillium funiculosum* i *Talaromyces flavus*. Z wyjątkiem frakcji enzymatycznej uzyskanej z *Gliocladium solani*, żadna z depolimeraz PHB nie wykazywała znaczącej aktywności lipazowej. Natomiast spośród czternastu enzymów o aktywności lipazowej, najmniejszą specyficznością substratową charakteryzowały się depolimerazy Bionolle®, które – oprócz kopolimeru adypinianu i bursztynianu butylenu – degradowały także PHB i PCL. Depolimerazy PHB wykazywały aktywność jedynie wobec PHB i Bionolle®, a depolimerazy PCL wobec PCL i Bionolle®. Depolimerazy PCL *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium simplicissimum* i *Talaromyces flavus* charakteryzowały się większą aktywnością wobec Bionolle® niż wobec PCL. Natomiast depolimerazy PCL *Gliocladium solani* oraz *Penicillium chrysogenum* wykazywały większą specyficzność substratową.

Obecność w podłożu łatwiej przyswajalnego dla mikroorganizmów substratu hamowała aktywność depolimeraz. Najsilniejszą inhibicję obserwowano w podłożu z sacharozą.

W naszych badaniach dowiedziono, że spośród wyizolowanych z gleby mikroorganizmów, grzyby mikroskopowe *Gliocladium solani* charakteryzowały się wyjątkową zdolnością do degradacji Bionolle®, podjęto zatem próbę sprawdzenia, które z szeroko cytowanych enzymów, kutynazy, lipazy czy raczej inne bardziej specyficzne

wobec poliestru Bionolle® depolimerazy w największym stopniu zaangażowane są w jego rozkład.

Wszystkie badane przez nas enzymy wykazywały zdolność do biodegradacji poliestru Bionolle®. Największy 71,92% ubytek masy tworzywa, a także maksymalne uszkodzenia struktury polimeru obserwowano w wyniku działania depolimerazy Bionolle®. Mniejszy, 38,27% ubytek masy poliestru powodowała kutynaza, a najniższy 0,41% stwierdzono w próbkach poddanych działaniu lipazy triacyloglicerolowej.

Depolimeraza Bionolle® atakowała końcowe mery łańcucha polimerowego, lipaza – wiązania wewnątrzcząsteczkowe, a kutynaza wykazywała aktywność zarówno endo- jak i egzodepolimerazową.

Regiony amorficzne poliestru Bionolle® preferencyjnie atakowała depolimeraza Bionolle®, uporządkowane regiony krystaliczne – kutynaza, podczas gdy lipaza degradowała zarówno regiony amorficzne jak i krystaliczne tworzywa. Wszystkie badane enzymy wykazały preferencyjne działanie na jednostki adypinianowe, skutkujące wzrostem merów bursztynianowych w polimerze.

4. Podsumowanie

W Polsce tworzywa biodegradowalne są dostępne, lecz ich zastosowanie jest nikłe. Przyczyną tego są wysokie koszty produkcji jak i wysoka cena na rynku. Alternatywą może być wytwarzanie tworzyw zmodyfikowanych, złożonych z szeroko stosowanych tanich polimerów stabilnych oraz droższych naturalnych bądź syntetycznych polimerów biodegradowalnych.

Bionolle® należący do syntetycznych alifatycznych poliestrów ulega szybkiej biodegradacji w środowisku przez powszechnie występujące tam mikroorganizmy. Enzymami zaangażowanymi w jego rozkład są różne hydrolazy, w tym depolimerazy PHB, depolimerazy PCL, lipazy triacyloglicerolowe, kutynazy, a także indukowane wobec tego poliestru depolimerazy Bionolle®. Cechą depolimeraz Bionolle® jest ich szerokie spektrum działania obejmujące zarówno estry krótko- jak i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz estry α-, β- i ω-polihydroksykwasów.

Modyfikacja polietylenu poliestrem Bionolle® znacząco przyspiesza mikrobiologiczną degradację tworzyw. Biodegradacja modyfikowanych folii jest wynikiem rozkładu zarówno poliestru jak i polietylenu. Wdrożenie technologii wytwarzania kompozytów polietylen-poliester Bionolle® pozwoli ograniczyć ilość odpadów długotrwale zalegających wysypiska śmieci.

Jednak nad kompozycją poli(tereftalan etylenu)-poliester Bionolle® niezbędne są dalsze badania.

Literatura

1. Łabużek S., Pająk J., Nowak B., (2007), Ochrona Środowiska a Aglomeracje Wielkoprzemysłowe, 5, 4-10.
2. Kaczmarek H., (1997), Polimery, 42, 521-530.
3. Nowak B., Pająk J., Łabużek S., (2003), Problemy Ekologii, 7, 110-114.
4. Tokiwa Y., Iwamoto A., Koyama M., Katanka N., Nishida H., (1993), in: Yamamoto R., *Ecomaterials*, Elsev. Sci. B.V., Japan.
5. Trznadel M., (1995), Polimery, 40, 485-492.
6. Shimao M., (2001), Curr. Op. Biotechnol., 12, 242-247.
7. Nakamura E. M., Almeida G. S. G., Duran N., Mei L. H. I., (2005), J. Mat. Proc. Technol., 162-163, 236-241.
8. Ratajska M., Boryniec S., (1999), Polym. Adv. Technol., 10, 625-633.
9. Fujimaki T., (1998), Polym. Degrad. Stab., 59, 209-214.
10. Łabużek S., Pająk J., Nowak B., (2003), Biotechnologia, 4, 214-227.
11. Łabużek S., Nowak B., Pająk J., (2004), Pol. J. Environ. Stud., 13, 59-68.
12. Łabużek S., Pająk J., Nowak B., (2005), Polimery, 50, 675-681.
13. Łabużek S., Nowak B., Pająk J., (2006), Polimery, 51, 27-32.
14. Nowak B., (2006), *Biologiczna aktywność mikroorganizmów glebowych zaangażowanych w rozkład folii poliuretanowych modyfikowanych syntetycznym poliestrem Bionolle*, praca doktorska, Katowice.
15. Jaeger K. E., Steinbüchel A., Jendrossek D., (1995), Appl. Environ. Microbiol., 61, 3113-3118.
16. Scherer T. M., Fuller R. C., Lenz R. W., Goodwin S., (1999), J. Environ. Polym. Degrad., 7, 117-125.
17. Jendrossek D., (1998), Polym. Degrad. Stab., 59, 317-325.
18. Sudesh K., Abe H., Doi Y., (2000), Prog. Polym. Sci., 25, 1503-1555.
19. Tomasi G., Scandola M., (1996), Macromolecules, 29, 507-513.
20. Ito M., Saito Y., Matsunobu T., Hiruta O., Takebe H., (1998), Polym. Degrad. Stab., 61, 319-328.
21. Carvalho C. M. L., Aires-Barros M. R., Cabral J. M. S., (1998), Electr. J. Biotechnol., 1, 1-14.
22. Çolak A., Şişik D., Saglam N., Güner S., Çanakçi S., Beldüz A. O., (2005), Bioresour. Technol., 96, 625-631.
23. Murphy C. A., Cameron J. A., Huang S. J., Vinopal R. T., (1998), Appl. Microb. Biotechnol., 50, 629-296.
24. Cook W. J., Cameron J. A., Bell J. P., Huang S. J., (1981), J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed., 19, 159-165.
25. Lostocco M. R., Murphy C. A., Cameron J. A., Huang S. J., (1998), Polym. Degrad. Stab., 59, 303-307.
26. Tsuji H., Ishizaka T., (2001), Int. J. Biol. Macromol., 29, 83-89.
27. La Cara F., Immirzi B., Ionata B., Mazzella A., Portofin S., Orsell G., Prisco P. P., (2003), Polym. Degrad. Stab., 79, 34-42.
28. Müller R. – J., Kleeberg I., Deckwer W. – D., (2001), J. Biotechnol., 86, 87-95.
29. Botelho G., Queirós A., Gijsman P., (2000), Polym. Degrad. Stab., 67, 13-20.
30. Jun H. S., Kim B. O., Kim Y. C., Chang H. N., Woo S. I., (1994), J. Environ. Polym. Degrad., 2, 9-18.
31. Kawai F., (1996), J. Environ. Polym. Degrad., 4, 21-30.
32. Tokiwa Y., Suzuki T., (1977), Agric. Biol. Chem., 41, 265-274.
33. Montaudo G., Rizzarelli P., (2000), Polym. Degrad. Stab., 70, 305-314.
34. Uchida H., Nakajima-Kambe T., Shigeno-Akutsu Y., Nomura N., Tokiwa Y., Nakahara T., (2000), FEMS Microbiol. Lett., 189, 25-29.
35. Scherer T. M., Fuller R. C., Lenz R. W., Goodwin S., (1999), Polym. Degrad. Stab., 64, 267-275.
36. Khan M. A., Idriss K. M., Yoshii F., Makuuchi K., (1999), Polym. Degrad. Stab., 63, 261-264.
37. Maeda H., Yamagata Y., Abe K., Hasegawa F., Machida M., Ishioka R., Gomi K., Nakajima T., (2005), Appl. Microbiol. Biotechnol., 67, 778-788.
38. Zhao J. –H., Wang Q. –X., Zeng J., Yang G., Shi F. –H., Yan Q., (2005), Polym. Degrad. Stab., 90, 173-179.
39. Łabużek S., Nowak B., Pająk J., Rymarz G., (2007), (w druku).