

Sledování aerobního rozkladu polymerních směsí na bázi PCL/PHB a na bázi PLA

Bc. Jaroslav Filip

Diplomová práce
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jaroslav FILIP**

Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**

Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Téma práce: **Sledování aerobního rozkladu polymerních směsí na bázi PCL/PHB a na bázi PLA**

Zásady pro vypracování:

1. V literární rešerši se zaměřte jednak na popis fyzikálně chemických faktorů ovlivňujících biologickou rozložitelnost látek v prostředí kompostu a jednak na nové práce (od roku 2006), týkající se biologické rozložitelnosti polymerních materiálů na bázi PCL/PHB a na bázi PLA, rovněž v prostředí kompostu.
2. Provedte testy biorozložitelnosti polymerních materiálů obsahujících PCL, PHB, triacetin a glycerol i testy rozkladu jednotlivých složek, dále testy rozkladu polymerních materiálů na bázi PLA, to vše v prostředí kompostu. Zaměřte se na analýzu plyných složek plynovou chromatografií (GC stanovení CO₂ a O₂ v plynné fázi).
3. Výsledky zpracujte podle zvyklostí písemnou formou (viz instrukce UTB pro zpracování DP) s využitím MS Word a Excel a programu Statistica.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Literární databáze dostupné online na síti UTB, stávající monografická a časopisecká literatura na ÚIOŽP a další podle doporučení vedoucího diplomové práce.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Martina Kopčilová

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

9. února 2009

Termín odevzdání diplomové práce:

15. května 2009

Ve Zlíně dne 10. února 2009



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.
ředitel ústavu



ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo sledování termofilní aerobní biodegradace polymerních směsí na bázi kyseliny poly- β -hydroxy máselné (PHB) a poly- ϵ -kaprolaktonu (PCL) a na bázi kyseliny poly-L-mléčné (PLA). Degradace probíhala v prostředí řízeného kompostování dle požadavků normy ČSN EN14 855 a byla vyhodnocována jako podíl teoretické a změřené kumulativní produkce CO₂. Analytická koncovka byla plynová chromatografie. Odstranění vzorku s vyšším obsahem PCL probíhalo hůře (34,80 % za 45 dnů) než vzorku s nižším obsahem PCL (78,33 % za 45 dnů). U polymerních směsí na bázi PLA byl výrazný vliv molární hmotnosti, kdy dva vzorky s $M_w < 13000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ byly kompletně rozloženy za 49, resp. 51 dnů a dva byly odstraněny z 93,37, resp. 69,14 % za 63 dnů. Vzorky s vyšší M_w byly za 63 dnů rozloženy ze 72,31, resp. 31,22 %.

Klíčová slova:

biorozložitelnost, kyselina poly- β -hydroxy máselná, poly- ϵ -kaprolakton, kyselina poly-L-mléčná

ABSTRACT

The aim of master thesis was to determine the rate of aerobic thermophilous biodegradation of polymeric blends consisted of poly(hydroxybutyrate) (PHB) and poly(ϵ -caprolacton) (PCL) and based on poly(L-lactic) acid (PLA). The degradation was tested under the conditions of controlled composting according to the norm ISO 14 855 and was evaluated as the theoretical and measured CO₂ production ratio. Gas chromatography was used for measuring of CO₂ amount. The PCL content was found to decelerate the degradation rate (34,80 and 78,33 % loss of blends containing 26, respectively 13 % PCL; both in 45 days). The biodegradation rate of PLA-based polymeric blends was influenced by their molecular weights. Two blends with $M_w < 13000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ were completely degraded in 49, resp. 51 days and two showed degradation rate 93,37, resp. 69,14 % in 63 days. Blends of higher M_w showed degradation rate 72,31, resp. 31,22 % in 63 days.

Keywords:

biodegradation, poly(hydroxybutyrate), poly(ϵ -caprolacton), poly(L-lactic) acid

Chtěl bych poděkovat vedoucí Ing. Martině Kopčilové za cenné rady a připomínky, které mi pomohly k vypracování mé diplomové práce.

Celému kolektivu Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí bych chtěl poděkovat za vytvoření výborných pracovních podmínek.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně, 15.05.2009

.....

Filip Jaroslav

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 PLASTY VS. ODPADY Z PLASTŮ	10
2 BIODEGRADACE BDP V KOMPOSTU	12
2.1 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYMERŮ.....	12
2.2 KOMPOSTOVATELNÉ PLASTY	12
2.3 FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ PODMÍNKY V KOMPOSTU A JEJICH VLIV NA ROZKLAD POLYMERŮ.....	13
2.3.1 Vlhkost	13
2.3.2 Poměr C/N, nutriční podmínky	14
2.3.3 Vliv pH.....	14
2.3.4 Teplota.....	15
2.3.5 Zrnitost a homogenita substrátu	15
2.3.6 Kyslíkové poměry	16
2.4 MATEMATICKÝ POPIS ROZKLADU BIOMASY (A BDP) V KOMPOSTU	16
2.4.1 Odvození teploty, vlhkosti a obsahu kyslíku.....	17
2.4.2 Matematický popis mineralizace organické hmoty	18
2.4.3 Korekce rychlostních konstant	19
3 VLASTNOSTI VYBRANÝCH BDP	21
3.1 POLYHYDROXYALKANOÁTY (PHAS).....	21
3.2 KYSELINA POLYMLÉČNÁ (PLA)	21
3.3 POLY-E-KAPROLAKTON (PCL)	23
3.4 OSTATNÍ KOMPOSTOVATELNÉ PLASTY	24
3.4.1 Polybutylenjantaran (PBS)	24
3.4.2 Další kopolymery	25
4 TESTY KOMPOSTOVATELNOSTI	26
5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	27
II PRAKTICKÁ ČÁST	28
6 CHARAKTERISTIKA POUŽITÝCH MATERIÁLŮ A INSTRUMENTACE	29
6.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A ZAŘÍZENÍ	29
6.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	29
6.2.1 Minerální médium	29
6.3 CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH MATERIÁLŮ.....	30
6.3.1 Referenční materiál	30
6.3.2 Základní komponenty a polymerní směsi série 1 a 2	30
6.3.3 Polymerní směsi série 3.....	31

6.4	BIOLOGICKÝ MATERIÁL	32
6.4.1	Dozrávání kompostu	33
6.4.2	Fyzikálně chemická charakteristika kompostu.....	34
6.4.3	Mikrobiologická charakteristika kompostu.....	36
6.5	INERTNÍ MATERIÁL	37
7	LAHVOVÉ TESTY.....	39
7.1	TESTOVACÍ LAHVE	39
7.2	PRŮBĚH TESTU	40
7.2.1	Charakteristika reakčních směsí.....	40
7.2.2	Provzdušňování a doplňování vody	41
7.2.3	Závěrečné analýzy	42
7.3	GC ANALÝZA	42
7.3.1	Instrumentace	42
7.3.2	Kalibrace a vyhodnocování	43
7.4	ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT.....	43
7.4.1	Hodnocení podle produkce CO ₂	44
7.4.2	Hodnocení podle spotřeby O ₂	44
7.5	POPISY TESTŮ JEDNOTLIVÝCH SÉRIÍ.....	45
8	VÝSLEDKY A DISKUSE	49
8.1	STANOVENÍ EKOTOXICKY VZORKŮ PLA2 A PLA4.....	49
8.2	CHARAKTERISTIKA POUŽITÝCH KOMPOSTŮ	50
8.2.1	Stanovení celkového dusíku.....	51
8.2.2	Stanovení veškerého fosforu	52
8.3	VYHODNOCENÍ TESTU SÉRIE 1	53
8.3.1	Hodnocení podle produkce CO ₂	54
8.3.2	Hodnocení podle spotřeby O ₂	59
8.4	VYHODNOCENÍ TESTU SÉRIE 2	63
8.4.1	Hodnocení podle produkce CO ₂	63
8.4.2	Hodnocení podle spotřeby O ₂	65
8.5	VYHODNOCENÍ TESTU SÉRIE 3	66
8.5.1	Hodnocení podle produkce CO ₂	67
8.5.2	Hodnocení podle spotřeby O ₂	73
	ZÁVĚR	79
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	81
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	85
	SEZNAM OBRÁZKŮ	87
	SEZNAM TABULEK.....	89

ÚVOD

Jedním z environmentálních problémů současné průmyslově vyspělé civilizace je produkce plastových odpadů, z velké části tvořených obaly z PE, PET, PS a PP. Ty jsou za normálních podmínek v prostředí prakticky nerozložitelné a inertní, což je žádaná vlastnost pro obaly, ne však pro následně vzniklé odpady, pokud nejsou vytříděny z komunálního odpadu a dostanou se na skládku. V rámci naplnění trendu trvale udržitelného rozvoje jsou proto vyvíjeny polymery, které snadněji podléhají hydrolýze a/nebo mikrobiální degradaci (biodegradabilní polymery, BDP). Podmínkou jejich technického substitučního potenciálu jsou vhodné mechanické a fyzikální vlastnosti, tedy jejich dobrá zpracovatelnost, bariérové vlastnosti atd. Výrobky z takových materiálů mají oproti konvenčním plastům konečnou dobu životnosti, což výrazně snižuje jejich dopad na životní prostředí.

Typickým, ne však jediným způsobem likvidace výrobků a odpadů z BDP je kompostování, tedy mikrobiální rozklad charakterizovaný uvolňováním CO_2 a spotřebou kyslíku. Měření koncentrace těchto látek v uzavřeném reaktoru se směsí kompostu a vzorku BDP jsme schopni určit, do jaké míry plast v tomto prostředí degraduje, resp. je-li kompostování vhodná metoda k jeho likvidaci.

Cílem této diplomové práce je prozkoumat kompostovatelnost polymerních směsí kyseliny poly- β -hydroxy máselné (PHB) a poly- ϵ -kaprolaktonu (PCL) a materiálů na bázi kyseliny polymléčné (PLA). Směsi na bázi PHB a PCL měly různý obsah uvedených polymerů a jako plnivo obsahovaly triacetin (TAC). Metodika, validace a optimalizace použitých testů kompostovatelnosti byla předmětem dřívějších diplomových prací, přičemž byly brány na zřetel požadavky normy ČSN EN 14 855. Analytickou koncovkou byla plynová chromatografie.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PLASTY VS. ODPADY Z PLASTŮ

Jednou z výrazných charakteristik technologického rozvoje v minulém století je vývoj a výroba syntetických polymerů a strmý nárůst aplikací těchto materiálů ve většině oblastí průmyslové výroby. Celkový objem jejich výroby přitom neustále roste (v roce 2006 celosvětová produkce 245 miliónů tun [1]) a tento trend by měl pokračovat až do období kolem roku 2020, kdy se odhaduje, že rychlost nárůstu spotřeby a výroby plastů začne zpomalovat [2].

Hlavní roli v oblíbě syntetických (tedy vyráběných z produktů zpracování ropy) polymerů a z nich vyráběných plastů hraje především jejich cena a fyzikálně-mechanické vlastnosti, které lze prakticky „ušít na míru“ pro velké množství různých výrobních aplikací. Tyto ekonomické benefity (např. i jejich doprava je levnější, neboť mají mnohem menší hustotu než „klasické“ materiály) v současné době převažují nad faktem, že většina výrobků z nejčastěji používaných plastů (PE, PP, PS, PET, PVC) skončí na skládkách a při své rezistenci vůči fyzikálním, chemickým a biologickým degradačním procesům tam zůstane mnohem déle, než po dobu, na jakou je skládka projektována [3]. Výhodnější metodou likvidace odpadů z plastů je energetické využití, zde však dochází k nevratnému snižování surovinné základny a navíc při každém spalování vznikají skleníkové plyny. Nejvýhodnější jak z ekonomického, tak environmentálního hlediska je recyklace a znovupoužití těchto materiálů, tato metoda má však svá specifická omezení daná chováním spotřebitelů – tedy nízkou mírou třídění odpadů.

Jedním z odvětví, kde se syntetické polymery používají ve velké míře je obalová technika. Odhaduje se, že na tyto výrobky se používá cca 30% světové produkce plastů [4].

Plastové obaly jsou charakteristické velmi krátkou životností, zároveň je zde však relativně vysoká míra recyklace (nejlepší státy EU recyklují cca 40% plastových obalů [5]). I přes to je však dosavadní trend produkce (a především růstu objemu skládkovaných odpadů tohoto druhu) v podstatě proti zásadám trvale udržitelného rozvoje. Proto je snaha vyřešit tento problém vývojem tzv. biodegradabilních polymerů (BDP), tedy materiálů, které by po použití degradovaly přirozenými mechanismy, čímž by se zamezilo jejich hromadění v životním prostředí [6].

Mezi první biologicky rozložitelné plasty lze počítat výrobky na bázi škrobu, který ale nemá sám o sobě příliš dobré mechanické vlastnosti. V současné době jsou vyvinuty BDP,

které jsou po stránce užitných a zpracovatelských vlastností plně schopny nahradit většinu syntetických polyolefinů i PS, PET či PVC. Kromě již zmíněné schopnosti rozkladu za normálních podmínek spočívá jejich přínos k obecné strategii trvale udržitelného rozvoje i ve faktu, že některé jsou vyráběny z bakteriálních polymerů, tedy z obnovitelných surovin.

2 BIODEGRADACE BDP V KOMPOSTU

2.1 Degradace a biodegradace polymerů

Obecně je degradace chápána jako změna vlastností polymeru způsobená fyzikálními, chemickými nebo biologickými reakcemi, díky kterým se rozpadnou vazby v polymerním řetězci. Nejčastěji polymery podléhají termální degradaci, kdy je rozpad vazeb iniciován zvýšenou teplotou, tedy růstem vnitřní energie makromolekul a fotodegradaci, kdy energie krátkovlnného záření iniciuje tvorbu radikálů [4]. V případě biodegradabilních plastů se často uplatňuje kromě již uvedených i enzymaticky katalyzované štěpení, což je umožněno heteroatomy jiných prvků (O, N...) v řetězci. Pouze v případě, kdy jsou produkty degradace (oligomery, popř. monomery) dále zužitkovány mikroorganismy jako zdroj uhlíku a/nebo energie, hovoříme o biodegradaci [7].

Podmínkou biodegradace polymeru je tedy především rozpad jejich řetězce na netoxický, ve vodě rozpustný substrát vhodný pro v prostředí přítomné mikroorganismy.

2.2 Kompostovatelné plasty

Biodegradace může probíhat za různých podmínek v prostředí aerobním či anaerobním, v pevné či kapalně fázi v závislosti na fyzikálních a chemických vlastnostech polymerů [8]. Ty, které v určitém časovém rozmezí podlehnou biodegradaci v prostředí kompostu do míry dané mezinárodními či národními normami, jsou pak označovány jako kompostovatelné, přičemž může jít o polymery jak rostlinného či bakteriálního původu, tak o polymery na bázi petrochemických produktů.

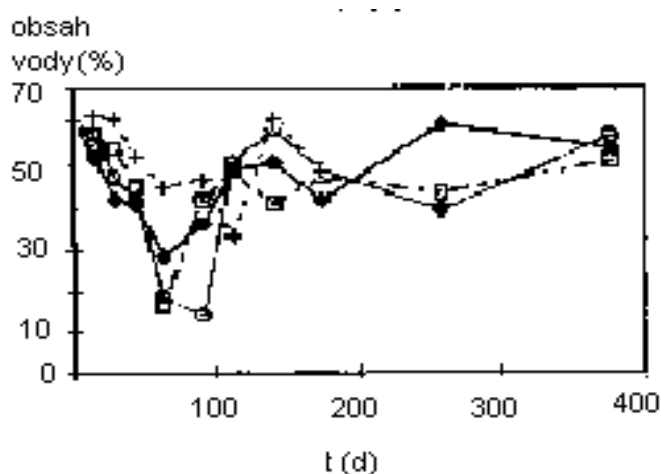
Kompostování může být definováno jako aerobní přírodní proces, při kterém se vlivem mikroorganismů (především bakterií, hub a kvasinek) rozkládá organický materiál na nízkomolekulární produkty – CO₂, H₂O a minerální soli – a na humus, tedy relativně stabilní složku obohacující půdu [8, 9, 10]. Využitelné produkty kompostování činí tento proces z hlediska likvidace odpadů výhodnější než fyzická/chemická recyklace, spalování nebo skládkování. V případě kompostování BDP na bázi ropných produktů navíc dochází k žádanému navrácení živin do ekosystému.

2.3 Fyzikální a chemické podmínky v kompostu a jejich vliv na rozklad polymerů

Míra kompostovatelnosti plastu je nejen otázkou jeho chemických a fyzikálních vlastností, ale i druhu a počtu degradačních mikroorganismů, přeneseně tedy fyzikálních, chemických a nutričních podmínek, které panují v kompostu [8, 11]. Jejich optimalizace lze dosáhnout především úpravou vlhkosti, poměru celkových obsahů uhlíku a dusíku (C/N poměr), pH, teploty, zrnitosti a homogenity substrátu a provzdušňováním [12].

2.3.1 Vlhkost

V závislosti na obsahu organických látek v původním substrátu se uvádí optimální míra vlhkosti v čerstvém kompostu 50 – 70%. S časem pak dochází ke změně struktury, čímž se mírně snižují nároky na obsah vody [12].



Obr. 1: Obsah vody během kompostování [13]

Obsah vody se během celého procesu kompostování mění, jak je patrné z Obr. 1, kde je vyobrazena časová závislost obsahu vody v různých částech zakládky (východní strana, západní strana, střed a neprovzdušňovaná část). Jakkoliv se jedná o výsledek měření konkrétní studie [13], graf je ilustrativní i pro obecné případy.

- *Vliv vlhkosti na rozklad polymerů*

Kromě toho, že vlhkost je nepostradatelná pro růst mikroorganismů, jejichž extracelulární enzymy se podílejí na destrukci polymerních řetězců, je dostatečný obsah vody nezbytný i pro abiotickou hydrolýzu. Podstatnější vliv obsahu vody v prostředí na rychlost degradace lze pozorovat pouze u těch polymerů, pro které je hydrolýza hlavním degradačním mecha-

nismem, jako např. u PLA. Kromě toho umožňuje voda, která difunduje do makromolekul, snadnější přístup degradačních extracelulárních enzymů, což zvýší celkovou rychlost rozkladu plastu – dochází k virtuálnímu zvýšení aktivního povrchu polymeru [8].

2.3.2 Poměr C/N, nutriční podmínky

Obsah nutrientů v kompostu nemá přímý vliv na degradaci kompostovatelných plastů, ovlivňuje pouze vývoj mikrobiálních společenstev. Poměr C/N je jedním z nejvýznamnějších aspektů nutriční rovnováhy, přičemž pro vyzrálý kompost se udává optimální hodnota C:N = 30:1. Při vyšším poměru dojde k předčasnému vyčerpání veškerého dostupného dusíku, který je nepostradatelný mimo jiné pro reprodukci mikroorganismů. Postupně tedy dojde k významné redukci degradační aktivity přítomného mikrobiálního společenstva. Navíc při použití takového kompostu jako hnojiva začnou mikroorganismy ve zvýšené míře využívat půdní dusík, který bude chybět na výživu rostlin. Při přebytku dusíku začnou bakterie produkovat amoniak, jehož zvýšené množství může způsobit fytotoxicitu kompostu [11].

Kromě uhlíku a dusíku jsou z nutričního hlediska nepostradatelné ještě fosfor, síra, draslík a vápník, které v laboratorních podmínkách dodáváme v tzv. minerálním mediu (viz dále). Rovněž jsou nezbytné stopové prvky (kobalt, hořčík, železo, měď atd.), které jsou většinou obsaženy v organickém materiálu a není nutné je dodávat zvlášť.

2.3.3 Vliv pH

Většina mikroorganismů má růstové optimum v neutrální, popřípadě slabě alkalické oblasti pH a v kyselém prostředí jejich počet a aktivita klesá. Během kompostovacího procesu dochází ovšem k produkci metabolitů, které snižují pH (např. kyseliny octová nebo kyselina mléčná jako důsledek degradace PLA [8]), což může vést k poklesu míry mikrobiálního oživení v kompostu a tím ke zpomalení či úplnému zastavení požadovaného degradačního procesu [14]. Za vhodných podmínek dochází ovšem k synergickým procesům typu „cross feeding“ [11] a kyselé metabolity jsou odbourávány. Proto je nutné zabezpečit během kompostování především správné kyslíkové poměry a nutriční podmínky. Konečné pH zralého kompostu se v závislosti na složení původního materiálu pohybuje v rozmezí 6 - 8,5.

Kromě vlivu na růst degradačních mikroorganismů může kyselé nebo zásadité prostředí působit i jako katalyzátor abiotické hydrolýzy polymerů [8].

2.3.4 Teplota

Teplota je snadno měřitelná veličina, která vypovídá o správném stavu mikrobiálních společenstev v kompostu, resp. o jejich metabolické aktivitě. Degradační procesy v čerstvém kompostu začínají za účasti mezofilních mikroorganismů, při teplotě 20 – 30°C. Díky jejich metabolismu se teplota poměrně rychle zvyšuje a mezofilové jsou postupně nahrazováni termofilními mikroorganismy. Pro tuto termofilní (tzv. rozkladnou) fázi procesu jsou typické teploty 45 – 65 °C, přičemž vyšší teploty už nejsou příliš optimální – dochází k úhynu mikroorganismů. Termofilní fáze trvá cca 3 – 4 týdny a je následována fází přeměnnou – mezofilní, teploty cca 20 – 30°C. Ta trvá další 2 – 4 týdny, resp. do doby ukončení biologické aktivity kompostu. Teplota pak klesá na teplotu prostředí [15, 16].

Při fyzikální degradaci polymerních řetězců hraje teplota velmi důležitou roli, neboť zvýšením vnitřní energie se sníží krystalinita polymeru. Tím se zrychlí (popř. vůbec umožní) hydrolýza a následná biodegradace. Rovněž se zintenzivní difuze vody do makromolekul polymeru s důsledky popsány v kapitole 2.3.1. Pro některé plasty s nízkou teplotou skelného přechodu (PLA [17], PCL...) dochází k těmto jevům již při teplotách dosahovaných během termofilní fáze, což je činí dobře kompostovatelnými.

Vlivem vyšší teploty během rozkladné fáze dochází navíc k hygienizaci kompostu – jsou zahubeny případné patogenní mikroorganismy a většina semen plevelu ztratí klíčivost [15].

2.3.5 Zrnitost a homogenita substrátu

Velikost a zastoupení jednotlivých frakcí v čerstvém kompostu ovlivňuje rychlost a efektivitu rozkladných procesů dvěma způsoby:

- 1) Velikost a množství pórů a kanálků v hmotě zakládky. Tyto volné prostory jsou nezbytné pro distribuci kyslíku, tedy pro růst a aktivitu mikroorganismů.
- 2) Velikost aktivního povrchu, tedy rychlost biologické degradace substrátu. Z tohoto hlediska by bylo nejvýhodnější použít na výrobu kompostu co nejjemnější substrát, což by ovšem vedlo k problémům s efektivní aerací zakládky [18].

Jako optimální velikost částic pro zakládání kompostu se udává 1,5 – 7,5 cm [18]. Pro zajištění homogenity substrátu je ideální zakládku během celého procesu překopávat [19]. Pro kompostovací testy v laboratorních podmínkách je vhodnější jemnější materiál, neboť se pracuje s mnohem menšími objemy, které jsou lépe provzdušňovatelné.

Velikost a tvar částic BDP v kompostu je jeden z činitelů ovlivňujících míru a rychlost jejich biodegradability. Platí přitom, že rychleji se rozkládající plasty (PCL, PBSA) jsou v kompostu většinou už během termofilní fáze dezintegrovány na malé částice s velkým celkovým aktivním povrchem, původní tvar a velikost exponovaného vzorku ztrácí význam. U plastů, které si i po termofilní fázi zachovávají svůj původní tvar (PLA, PBS) je naopak tento vliv prakticky stejný po celou dobu kompostování [10].

2.3.6 Kyslíkové poměry

Pro růst degradačních mikroorganismů je nutné zabezpečit kromě dostatku živin a vlhkosti i nezbytné množství kyslíku. Je-li koncentrace O₂ vyšší než 6%, převažujícím procesem probíhajícím v kompostu je žádoucí enzymatická biologická oxidace. Ta probíhá podle sumární rovnice



Při snížené koncentraci kyslíku se metabolismus mikroorganismů adaptuje na mikroaerobní, popř. anaerobní prostředí, čímž dojde ke změně mechanismu enzymatické hydrolýzy i následné utilizace mono/oligomerů. Některé BDP jsou proto dobře biodegradovatelné pouze za aerobních podmínek, např. PCL a PLA [8].

Vhodné kyslíkové poměry lze při kompostování zabezpečovat různými způsoby, např. nucenou aerací či překopáváním. Rovněž je důležité udržovat vlhkost pod hranicí cca 60%, neboť potom přebytečná voda nadměrně vytěšňuje vzduch z pórů a volných prostor [12, 16].

2.4 Matematický popis rozkladu biomasy (a BDP) v kompostu

Výše uvedené základní podmínky kompostování jsou poměrně snadno měřitelné, jejich hodnoty jsou tedy použitelné jako relevantní veličiny pro matematický popis procesu, resp. pro tvorbu modelů, díky nimž lze pro daný kompostovaný materiál predikovat nutnou dobu

kompostování, míru degradace, optimální vlhkost a jiné veličiny, které by bylo jinak nutné zjišťovat experimentálně.

2.4.1 Odvození teploty, vlhkosti a obsahu kyslíku

Obecně je většina modelů kompostu založena na bilanci hmoty a energie, přičemž pro tepelné poměry hmoty kompostu byl odvozen obecný vztah [20]

$$\frac{d(m \cdot c \cdot T)}{dt} = G \cdot H_i - G \cdot H_o - U \cdot A \cdot (T - T_a) + \frac{d(BVS)}{dt} \cdot H_c \quad /1.1/$$

kde m je hmotnost kompostovaného materiálu (kg), c je měrné teplo ($\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$), T teplota kompostu ($^\circ\text{C}$), t čas (s), G hmotnostní tok vzduchu ($\text{kg} \cdot \text{s}^{-1}$), H entalpie vstupujícího (i) a vystupujícího (o) vzduchu ($\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$), U celkový koeficient přestupu tepla ($\text{kW} \cdot \text{m}^{-2} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$), A celkový povrch reaktoru (m^2), T_a teplota okolí ($^\circ\text{C}$), BVS – hmotnost biodegradabilních těkavých pevných látek (kg), H_c spalné teplo kompostového substrátu ($\text{kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$).

Pro exaktní vyřešení rovnice /1.1/ by bylo nutné znát nejen podmínky přenosu tepla prouděním, sáláním a vedením, ale i bilanci energie související s biologickou aktivitou a dále vliv a míru vlhkosti a degradace BVS. Aplikují se proto určitá zjednodušení – především se počítá s nucenou aerací, tedy indiferentním tokem vzduchu, dále lze předpokládat že $m \cdot c$ je celou dobu pokusu konstantní, stejně jako vlhkost vzduchu a substrátu. Rovněž je nezbytné brát v potaz existenci či neexistenci rovnováhy mezi kapalnou, plynnou a pevnou fází.

Obdobně byly odvozeny i obecné rovnice pro obsah vody a kyslíku:

$$\frac{dM_b}{dt} = \frac{G_a \cdot [H_s \cdot (T_a) - H_s \cdot (T)] - y_{H_2O/BVS} \cdot \frac{d(BVS)}{dt}}{\rho_{db} \cdot V_r} \quad /2.1/$$

$$\frac{dX_{O_2}}{dt} = \frac{G_a \cdot (X_{O_2,a} - X_{O_2,exit}) - y_{O_2/BVS} \cdot \frac{d(BVS)}{dt}}{V_r \cdot \epsilon \cdot \rho_a \cdot (T)} \quad /3.1/$$

kde M_b je vlhkost substrátu ($\text{kg H}_2\text{O} / \text{kg sušiny}$), t je čas (d), G_a hmotnostní tok suchého vzduchu ($\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$), H_s nasycený obsah vodních par ($\text{kg H}_2\text{O} / \text{kg suchého vzduchu}$), T teplota kompostu ($^\circ\text{C}$), T_a teplota okolí ($^\circ\text{C}$), y metabolická produkce vody ($_{H_2O/BVS}$; $\text{kg H}_2\text{O} / \text{kg degradovaných BVS}$), popř. metabolická produkce kyslíku ($_{O_2/BVS}$; $\text{kg O}_2 / \text{kg degradovaných BVS}$), BVS – hmotnost biodegradabilních těkavých pevných látek (kg), X_{O_2} koncent-

race kyslíku ($\text{kg O}_2 / \text{kg}$ suchého vzduchu; a – vstupujícího, $exit$ – vystupujícího), V_r objem reaktoru (l), ρ_{db} celková hustota suchého substrátu (kg.m^{-3}), ρ_a hustota suchého vzduchu (kg.l^{-1}), ε porosita substrátu (bezrozměrná veličina).

Řešení rovnic /2.1/ a /3.1/ je podobně jako /1.1/ zjednodušeno předpoklady, že objem substrátu a deskriptivní veličiny jsou během celého procesu konstantní [20].

2.4.2 Matematický popis mineralizace organické hmoty

Při odvozování matematických modelů procesu kompostování byl kladen důraz především na popis transformace organické hmoty a na kinetiku rozkladu biomasy a následné tvorby humusu. Význam těchto modelů spočívá především v možnosti posouzení vhodnosti daného materiálu ke kompostování [21], resp. v determinaci obsahu a stability humusových látek v konečném produktu kompostování daného materiálu. Pokud by se například použil jako hnojivo kompost, který obsahuje velké množství snadno dostupných živin (tedy rozpustného organického uhlíku), stimulovalo by to proliferaci půdních mikroorganismů. Díky jejich zvýšenému metabolismu by pak docházelo ke ztrátě živin ve formě CO_2 [22].

Většina studií zabývajících se touto problematikou vychází z předpokladu, že časově limitující krok celé transformace biomasy je hydrolyza pevných látek. Podle její rychlosti je možné pevné rozložitelné látky v biomase rozdělit na složku obsahující snadno hydrolyzovatelné pevné látky, složku obsahující středně hydrolyzovatelné pevné látky a pomalu hydrolyzovatelnou složku. Hydrolyza všech tří složek probíhá různou rychlostí, což může být vyjádřeno jako kinetické rovnice prvního řádu:

$$\frac{dC_{s_r}}{dt} = -k_{hr} \cdot C_{s_r} \quad /4.1/$$

$$\frac{dC_{s_m}}{dt} = -k_{hm} \cdot C_{s_m} \quad /5.1/$$

$$\frac{dC_{s_s}}{dt} = -k_{hs} \cdot C_{s_s} \quad /6.1/$$

kde $C_{s_r, m, s}$ jsou koncentrace snadno, středně a pomalu hydrolyzovatelné složky ($\text{g C} / \text{kg}$ sušiny původního materiálu), $k_{hr, m, s}$ jsou rychlostní konstanty hydrolyzy jednotlivých složek (d^{-1}).

Po hydrolyze přechází uhlík do vodného prostředí (C_{aq}), kde buď přímo mineralizuje na CO_2 nebo je zužitkován mikroorganismy za vzniku biomasy a CO_2 . Tvorba CO_2 probíhá vyšší rychlostí než hydrolyza a může být rovněž vyjádřena kinetickou rovnicí prvního řádu:

$$\frac{dC_{CO_2}}{dt} = Y_{CO_2} \cdot k_{aq} \cdot C_{aq} \quad /7.1/$$

kde C_{CO_2} je množství uhlíku ve formě uvolněného CO_2 (g $CO_2 - C$ / g mineralizovatelného C), C_{aq} koncentrace uhlíku rozpuštěného ve vodné fázi (g C / kg sušiny), k_{aq} rychlostní konstanta uvolňování CO_2 z vodné fáze.

Pro kompostování za optimálních podmínek bude platit $k_{hs} = 0$ a naopak k_{aq} bude mít prakticky nekonečně vysokou hodnotu, neboť neovlivňuje celkovou rychlost degradace [21].

Některé modely kinetiky rozkladu organické hmoty v kompostu založené na podobných předpokladech kalkulovaly koncentraci středně rychle hydrolyzujícího uhlíku z rovnice nultého řádu při zanedbání pomalu hydrolyzující složky [22]. Takto získaná data pak vypovídají především o výživové hodnotě kompostu, resp. o obsahu organických látek snadno dostupných pro mikroorganismy jako zdroj C a energie. Kromě produkce CO_2 vyjadřují jiné modely stupeň degradace pomocí spotřeby kyslíku nebo explicitně úbytkem pevných biodegradabilních těkavých látek (BVSs). Další modely rozkladu organického substrátu vycházejí ze sledování růstu biomasy a/nebo úbytku substrátu, přičemž jejich výsledkem jsou především kinetiky Monodovského typu. Tyto berou v potaz limitující vliv substrátu [20].

2.4.3 Korekce rychlostních konstant

Za jiných než optimálních podmínek obecně klesá rychlost enzymových přeměn substrátu. To se snaží reflektovat některé modely tím, že rychlostní konstantu (nebo konstanty) definují jako matematické funkce veličin, které nejvíce ovlivňují enzymovou degradaci. Jedná se především o korekci na teplotu, obsah kyslíku a vlhkost.

Vliv teploty na rychlost rozkladu je determinován jednak Arrheniovým vztahem, který předpokládá nekonečné zvyšování rychlosti jakékoliv chemické reakce s rostoucí teplotou, a dále teplotní stabilitou enzymu, která toto zvyšování reakční rychlosti limituje [23]. Závislost rychlostní konstanty na teplotě pak může mít pro referenční a optimální teplotu 20, resp. 60°C tvar

$$k_d = k_{d20} \left[1,066^{(T-20)} - 1,21^{(T-60)} \right] \quad /8.1/$$

kde k_{d20} je rychlostní konstanta při 20°C, T aktuální teplota substrátu (°C).

Závislost obsahu kyslíku na rychlosti degradace je nejčastěji popisována pomocí Monodovských kinetik nebo exponenciálních funkcí, přičemž prvně jmenované vystihují poměrně přesně vliv koncentrace kyslíku v celém teplotním rozsahu, zatímco jiné funkce byly přesné především při okrajových teplotních podmínkách [20]. Korekční funkce na bázi kinetiky dle Monoda může být např.

$$k_{O_2} = \frac{O_2}{K_{O_2} + O_2} \quad /9.1/$$

kde O_2 je koncentrace kyslíku (kg O₂ / m³ vzduchu), K_{O_2} míra nasycení vodné fáze kyslíkem (kg O₂ / m³).

Pro popis vlivu vlhkosti byly odvozeny především empirické vztahy [20], např.

$$k_{H_2O} = \frac{1}{e^{[-17,684 \cdot (1-Sm) + 7,0622]} + 1} \quad /10.1/$$

kde Sm je pevný podíl substrátu (bezrozměrná veličina).

Obsah vody velmi úzce souvisí s objemem volných prostor v hmotě kompostovaného substrátu. Matematické vyjádření vlivu obou veličin je velmi podobné, prakticky se liší jenom velikostí konstant.

Konstanta rychlosti rozkladu korigovaná o všechny uvedené vlivy (k) bude potom

$$k = k_T \cdot k_{O_2} \cdot k_{H_2O} \cdot k_{FAS} \quad /11.1/$$

kde k_{FAS} je rychlostní konstanta korigovaná na vliv volného prostoru v mase kompostu.

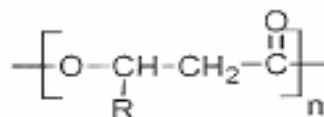
3 VLASTNOSTI VYBRANÝCH BDP

Tato diplomová práce se zabývá sledováním rozkladu polymerů a polymerních směsí na bázi kyseliny poly- β -hydroxy máselné (PHB), polykaprolaktonu (PCL) a polymléčné kyseliny (PLA), jejichž vlastnosti a biodegradabilita jsou předmětem této kapitoly. Další BDP a přírodní složky jsou uvedeny v předchozích diplomových pracích [9, 25, 26].

3.1 Polyhydroxyalkanoáty (PHAs)

PHAs jsou alifatické polyestery, které slouží bakteriím jako intracelulární zásobní látky. Jejich stopová množství se vyskytují i v živočišných a rostlinných buňkách, průmyslově se ovšem vyrábí fermentací v bioreaktorech, popř. pěstováním řepky olejné geneticky modifikované tak, aby vytvářela zásoby PHAs v semenech [3, 8].

Obecný vzorec monomerní jednotky polyhydroxyalkanoátů je na Obr. 2



Obr. 2: Monomerní jednotka PHAs

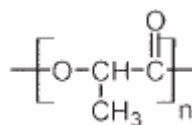
Z hlediska výroby a užitných vlastností jsou nejdůležitějšími zástupci PHAs polyhydroxybutyrát (PHB; R = -CH₃), případně polyhydroxyvalerát (PHV; R = -CH₂CH₃) [8]. Ačkoliv se samotný PHB svými zpracovatelskými a užitnými vlastnostmi blíží polypropylenu, v obalové technice a jiných běžných aplikacích se častěji využívá jeho kopolymeru s PHV (PHBV). Plasty na bázi takového kopolymeru jsou k dostání pod obchodními názvy např. Biopol či Biomer a od častěji používaného PE jej odlišuje prakticky jenom jeho vyšší výrobní cena.

PHAs jsou obecně velmi dobře biodegradabilní (a kompostovatelné) díky esterové vazbě, která snadno podléhá hydrolýze. Tím se usnadňuje zkracování řetězců přístup mikrobiálních extracelulárních enzymů.

3.2 Kyselina polymléčná (PLA)

Monomer – kyselina mléčná – je snadno dostupný produkt fermentace prakticky jakékoliv zelené hmoty. Její polykondenzací pak vzniká biodegradabilní plast s teplotou skelného

přechodu cca 55°C a teplotou tání kolem 170°C [27]. Strukturální vzorec monomerní jednotky PLA je na Obr. 3.



Obr. 3: Monomerní jednotka PLA

Komerčně se PLA vyrábí většinou jako kopolymer dvou isomerních monomerů – kyseliny L-mléčné s minoritním podílem (optimálně 4%) kyseliny D-mléčné. Tím je dosaženo zvýšení tepelné odolnosti (teplota tání cca 230 °C) a dalších mechanických vlastností nezbytných pro praktické aplikace např. v obalové technice [28, 29].

Kyselina poly-L-mléčná (PLLA) podléhá za vyšších teplot (kolem 60°C) chemické hydrolyze, při které se uplatňuje autokatalýza vzniklými produkty. Kromě teploty urychluje tuto reakci i zvýšená vlhkost prostředí a malá tloušťka materiálu [17]. Esterové vazby PLA jsou štěpeny i extracelulárními enzymy některých bakterií. Jde především o termofilní druhy, které se vyskytují v kompostu, za běžných teplot probíhá biologický rozklad jen z malé části. Dokazuje to studie [17], kde jsou prezentovány výsledky aerobní biodegradace PLLA ve vodném prostředí – při teplotách 25 a 37°C se za 210 dní uvolnilo jen 10% teoretického množství CO₂, zatímco při 60 °C 90% za 120 dní. V této práci byl zkoumán i rozklad PLLA v kompostu, přičemž vzorek ve formě folie vykazoval téměř kompletní mineralizaci (99%) během 60 dnů. Vzorky o velikosti 0,5 cm x 10 cm² se rozložily z 74% [17].

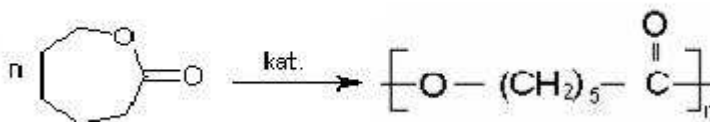
Na rozdíl od jiných prací, Kale (2007) sledoval kompostovatelnost obalu již uvedeného na trh, konkrétně 500 ml lahví na balenou vodu. Testy probíhaly jak za laboratorních (sledování produkce CO₂), tak reálných podmínek (sledování molekulární hmotnosti materiálu). V prvním případě bylo dosaženo mineralizace 84 % za 58 dnů (test dle ASTM D 5338) resp. 70% za 52 dnů (test dle ISO 14855 – 2). Na lahvích v kompostové zakládce byl rozklad pozorován i vizuálně, dále bylo zjištěno prudké snížení molární hmotnosti plastu, ze kterého byly vyrobeny. Křivka tohoto poklesu měla exponenciální charakter a její minimum časově korespondovalo s počátkem růstu produkce CO₂. To poukazuje na fakt, že mikroorganismy přítomné v kompostu zužitkovávají až produkty hydrolyzy polymeru [30].

Byla rovněž zkoumána míra degradace PLA folie vláknitými plísněmi při teplotě 30°C (Szumigaj et al. 2007). Z pěti zkoumaných druhů pouze *Aspergillus ustus* a *Penicillium*

verrucosum vykazovaly aktivitu při rozkladu PLA – v kultivačním médiu byla prokázána aktivita enzymů ze skupiny esteráz, dále tyto druhy po 10 dnech kultivace vykazovaly nárůst biomasy o 15% větší, než v kontrolním médiu s glukózou [31].

3.3 Poly-ε-kaprolakton (PCL)

Stejně jako PLA patří do skupiny alifatických polyesterů, které jsou hydrolyzovatelné díky heteroatomu kyslíku v uhlíkatém řetězci makromolekuly [8, 31]. Na rozdíl od výše uvedených polymerů PCL není přírodní sloučeninou. Vyrábí se katalytickou polymerizací s otevřením kruhu, přičemž monomer – ε-kaprolakton – se získává z produktů zpracování ropy. Schéma polymerace je na Obr. 4.



Obr. 4: Schéma polymerace PCL

PCL je semikrystalický polymer s teplotou tání kolem 60°C. V mořské vodě, aktivovaném kalu, půdě a kompostu je zcela biodegradabilní [9, 32]; díky pěti – CH₂ – skupinám v základním řetězci se však ze všech alifatických polyesterů rozkládá za mezofilních podmínek nejpomaleji [33]. Při jeho využití jako náhrady konvenčních nekompostovatelných plastů je PCL znevýhodňován právě nízkou teplotou tání, proto se spíše využívá ve směsích s jinými polymery (např. se škrobem – plast s obchodním názvem Mater-Bi nebo s PLA) [29].

PCL podléhá jak chemické hydrolyze, tak enzymatickému štěpení, přičemž jako u PLA závisí míra a rychlost degradace na stupni krystalinity, molární hmotnosti polymeru, tloušťce filmu, teplotě a vlhkosti. V kompostu mineralizuje rychleji než PLLA díky rychlejší vnitřní i povrchové hydrolyze. Při enzymově katalyzované degradaci jsou nejdříve rozštěpeny esterové vazby v amorfních částech polymeru. Jejich odbouráváním by mělo docházet ke zvyšování krystalického podílu, což potvrzuje studie Khatiwaly [32], kde byl zkoumán rozklad PCL folie v kultivačním médiu v přítomnosti bakteriálního druhu *Alcaligenes faecalis*. Kultivace probíhala při 30 °C a měřením úbytku hmotnosti byl po 68 dnech

zjištěn úplný rozklad filmu. Zároveň byl pozorován růst krystalinity ze 46,88 % na 54,25 % po 45 dnech [32].

Funabashi [34] se zabýval kompostovatelností různých frakcí PCL prášku navrženého jako referenční materiál. Při kompostování za laboratorních podmínek (testy dle ISO 148553 – 1 a ISO 148553 – 2) došlo po 47 dnech k mineralizaci 90, resp. 80 % sledovaného materiálu, přičemž velikost frakce neovlivnila rychlost rozkladu, tak jako tomu bylo u testů na enzymatickou degradaci [34]. To ukazuje na již zmíněný vliv teploty při počáteční fyzikálně chemické hydrolyze jako na nutnou podmínku kompletní biodegradace PCL.

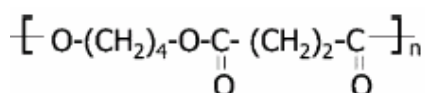
Za účelem objasnění bakteriálního působení zkoumal Nakasaki [35] rozklad PCL v kompostu sterilovaném γ -zářením a následně inokulovaným 1) komerčně dostupnou směsnou bakteriální kulturou, 2) kulturou *Streptomyces thermonitrificans*, 3) kulturou *Bacillus licheniformis*, 4) směsí dvou posledně jmenovaných kultur. Bylo zjištěno, že v případě 2) docházelo sice k rozkladu PCL, ale zároveň s tím i ke zvyšování acidity substrátu a hromadění produktů degradace. V případě 4) byl stupeň mineralizace vyšší, neboť *B. licheniformis* utilizací vzniklého ϵ -kaprolaktonu a zvyšováním pH udržoval optimální podmínky pro metabolickou aktivitu *S. thermonitrificans* [35].

3.4 Ostatní kompostovatelné plasty

Tyto plasty nejsou předmětem zkoumání diplomové práce, jsou uvedeny pouze pro informativní doplnění kapitoly 3.3.

3.4.1 Polybutylenjantaran (PBS)

Patří mezi alifatické polyestery, vyrábí se polykondenzací kyseliny jantarové s 1,4-butandiolem; chemická struktura je znázorněna na Obr. 5.



Obr. 5: Monomerní jednotka PBS

Relativně vysoká teplota tání (115°C) a mechanické a fyzikální vlastnosti velmi podobné polypropylenu činí z PBS slibnou alternativu ke konvenčním plastům. Jako ostatní alifatické polyestery je PBS dobře kompostovatelný, přičemž míra a rychlost rozkladu v kompostu je ovlivněna formou polymeru, resp. aktivním povrchem zkoumaného vzorku [36].

Z ekonomického hlediska jsou spíše než samotný PBS výhodné jeho kopolymery, např. se škrobem či kyselinou adipovou (PBSA) [37].

3.4.2 Další kopolymery

Za biodegradabilní jsou považovány i některé synteticky vyráběné aromatické polyestery, především na bázi polyethyltereftalátu (PET). Jedná se především o polybutylen adipát/tereftalát (PBAT) a polymethylen adipát/tereftalát (PMAT).

Velmi slibnou skupinou biodegradabilních a zároveň kompostovatelných plastů jsou alifaticko-aromatické kopolyestery (AAC). Na trhu jsou k dostání např. jako Ecoflex nebo Eastar Bio [37].

Uspokojivé mechanické a zpracovatelské vlastnosti vykazují i některé alifatické kopolyestery, např. polyhydroxybutyrát-co-polyhydroxyhexanoát (PHBH). Jejich výhodou je mimo jiné i to, že jsou vyráběny fermentací, tedy z obnovitelných zdrojů.

4 TESTY KOMPOSTOVATELNOSTI

Spolu s vývojem nových biodegradabilních plastů musela být vyvinuta i metodika, jak exaktně definovat do jaké míry a za jakých podmínek je daný plast biologicky rozložitelný. Standardizačními organizacemi (ASTM a ISO) byla proto vyvinuta celá řada testů biodegradability pro různá prostředí, přičemž hlavní skupiny testů jsou stanovení biodegradability ve vodním prostředí a v půdě a za aerobních a anaerobních podmínek.

Předmětem zkoumání jsou buď jenom plasty nebo obecně obalové materiály, míra biodegradace je standardně zjišťována nepřímou, buď produkcí CO₂ nebo spotřebou kyslíku [8].

Jednou ze skupin testů biodegradability jsou testy aerobní biodegradace v kompostu. Jejich metodika se liší např. teplotou, při které je stanovení prováděno (ASTM testy probíhají při specifikovaném teplotním profilu, testy podle ISO za konstantní teploty) nebo použitým inertním materiálem. Tyto testy byly podrobněji popsány v předchozích diplomových pracích, zabývajících se touto tematikou [9, 25, 26].

- *Kritéria pro kompostovatelné obalové materiály*

Aby mohl být obal označován jako kompostovatelný musí podle evropských norem (EN 13432) splňovat čtyři základní podmínky:

- a) Charakteristiku (obsah těžkých kovů a nebezpečných látek)
- b) Míru biodegradability (ISO 14855)
- c) Míru dezintegrace materiálu (po prosetí na 2 mm sítu nesmí zůstat víc než 10% původní sušiny – ISO 16929)
- d) Kvalita výsledného kompostu z hlediska ekotoxicity (OECD guideline 208)

Kompostovací testy v rozsahu prováděném v rámci této diplomové práce jsou tedy jenom jednou ze složek celkového hodnocení kompostovatelnosti materiálů [8, 37].

5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Termofilní aerobní biodegradace substrátu v podmínkách řízeného kompostování byla na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí náplní tří předchozích diplomových prací. Jejich výsledkem jsou modifikované lahvové testy, kterými lze na základě plynově chromatografického měření substrátové produkce oxidu uhličitého sledovat průběh odstraňování biologicky rozložitelného materiálu z reakční nádoby. Testy reflektují požadavky normy ČSN EN 14 855.

Navržení metodiky testů včetně ověření možnosti použití plynové chromatografie jako analytické koncovky bylo náplní diplomové práce Kotasové [25]; Moravcová [9] provedla verifikaci správnosti metody a aplikovala ji na konkrétní materiály. Kozel se ve své diplomové práci [26] zabýval další optimalizací a validací metody sledováním degradace pouze referenčních materiálů.

Cílem mé diplomové práce bylo pomocí lahvových testů sledovat termofilní aerobní biodegradaci konkrétních materiálů – polymerních směsí na bázi kyseliny poly- β -hydroxy máselné a poly- ϵ -kaprolaktonu a na bázi kyseliny poly-L-mléčné a ověřit vliv složení a předúpravy těchto směsí na jejich biologickou rozložitelnost. Biodegradace byla hodnocena na základě produkce CO₂, jako doplňkové kritérium bylo zvoleno vyhodnocení na základě spotřeby kyslíku v reakčních lahvích. Analýza obou složek byla prováděna pomocí plynové chromatografie.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CHARAKTERISTIKA POUŽITÝCH MATERIÁLŮ A INSTRUMENTACE

6.1 Použité přístroje a zařízení

Plynový chromatograf Agilent 7890 A, USA

(Kolony s náplní Porapak Q (80/100 MESH) a molekulové síto 5A (60/80 MESH))

Dávkovací stříkačka Hamilton, plynotěsná, 100 μ l, USA

Tedlarový vak, 0,6 l

Analyzátor uhlíku Shimadzu TOC 5000 A, Rakousko

Oscilační kulový mlýn MM 301, Retsch, BRD

Síťovací stroj AS 200 Control, Retsch, BRD

Laboratorní pH metr inoLab pH/ION 735 p, WTW, BRD

Vakuová sušárna Memmert UFP 800, Memmert, BRD

Lázeň vodní WBU 45, Memmert, BRD

Další přístroje a sklo jsou běžným laboratorním vybavením.

6.2 Použité chemikálie

Byly použity chemikálie čistoty p. a. : NaOH, Ba(OH)₂, H₂SO₄, 1% HCl, HgSO₄, Ag₂SO₄, K₂Cr₂O₇, (NH₄)₂Fe(SO₄)₂.6H₂O, feroin, NaCl, Na₄O₇P₂ .10 H₂O, Tween 80, Tryptone Yeast Agar, Actinomyceete Isolation Agar, glycerol, trypton, bengálská červeň.

Výrobce Penta, a. s. a Lachema, a. s.

6.2.1 Minerální médium

Jako zdroj živin pro mikroorganismy a na doplnění vody do reakční směsi bylo použito kompletní minerální médium.

Příprava: do 800 ml destilované vody nadávkuje se 20 ml fosforečnanového pufru (1 l obsahuje 8,5g KH₂PO₄; 21,75g K₂HPO₄ a 44,7g Na₂HPO₄.12 H₂O), dále po 1 ml přípravných roztoků (NH₄)₂SO₄ (10 g.l⁻¹), CaCl₂ (27,5 g.l⁻¹), FeCl₃ .6 H₂O (0,25 g.l⁻¹),

MgSO₄ · 7H₂O (22,5 g.l⁻¹) a roztoku stopových prvků (1 l obsahuje 0,75 g H₃BO₃; 0,05 g (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4 H₂O; 0,18 g CoSO₄ · 7 H₂O; 0,5 g MnSO₄ · 4 H₂O; 0,05 g CuSO₄ · 5 H₂O; 0,1 g ZnSO₄ · 7 H₂O a 3 g FeSO₄ · 7 H₂O). Doplníme do 1 l destilovanou vodou.

6.3 Charakteristika testovaných materiálů

6.3.1 Referenční materiál

Mikrokryсталická celulóza: stanovené CHSK_{Cr} = 1172 mg.g⁻¹; TC = 44,76 %, výrobce Penta, a. s., ČR.

6.3.2 Základní komponenty a polymerní směsi série 1 a 2

Poly-ε-kaprolakton (PCL): stanovené CHSK_{Cr} = 1517 mg.g⁻¹; TC = 58,245 %, výrobce Solvay Caprolactones, UK

Kyselina poly-β-hydroxy máselná (PHB): stanovené CHSK_{Cr} = 1775 mg.g⁻¹, stanovené TC = 54,17 %, uváděná molekulová hmotnost 327 000 g.mol⁻¹, výrobce Biomer a. g., BRD.

Triacetin (TAC): glycerid kyseliny octové, stanovené CHSK_{Cr} = 1500 mg.g⁻¹; TC = 58,91 %, hustota: 1,155 g.cm⁻³, teplota varu: 140°C.

Testované zorky měly pracovní název BK/77/210 a BK/77/211. Jednalo se o polymerní směsi PHB a PCL s přídatkem triacetinu jako změkčovadla. Obě směsi se lišily svým složením, které je uvedeno v Tab. I. Zde jsou rovněž uvedeny naměřené hodnoty CHSK_{Cr} a TC.

Tab. I: Složení a některé vlastnosti testovaných polymerních směsí

Označení vzorku	PCL [%]	PHB [%]	TAC [%]	TC [%]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]
BK/77/210	47	26	26	60,27	1794
BK/77/211	74	13	13	64,15	1911

Oba vzorky byly připraveny na Katedře plastov a kaučuku Fakulty chemické a potravinářské technologie Slovenskej technickej univerzity v Bratislavě. Příprava vzorků na dvoušnekovém vytlačovacím stroji LABtech provedena při teplotním profilu 100-120-130-140-140-140-140-140-120-110°C (násypka-hlava) a rychlosti otáček 150 min⁻¹.

Procentuální zastoupení jednotlivých složek v polymerní směsi BK/77/210 bylo navrženo tak, aby při maximálním možném obsahu PHB zůstaly zachovány mechanické vlastnosti na úrovni umožňující praktické využití polymerní směsi.

Při výrobě směsného polymeru BK//77/211 bylo procentuální zastoupení složek optimalizováno na maximální pevnost v tahu.

Předúprava

Pro co nejvyšší míru biodegradace je důležitá maximální velikost povrchu substrátu. Mikrokryalická celulóza a PHB byly ve formě prášku, nebyly tedy před vlastními testy nijak upravovány. Vzorky PCL, BK/77/210 a BK/77/211 byly dodány ve formě pásků, které byly nastříhány na menší kousky a následně kryogenně pomlety kulovým mlýnem Retsch. Před mletím byly vzorky i mlecí cely chlazeny kapalným dusíkem. Doba chlazení byla 5 minut a doba mletí 1 minuta při frekvenci 28 s^{-1} .

Následně byly vzorky rozděleny podle velikosti frakcí pomocí síťovacího stroje AS 200 Control se sítí o velikosti ok 2, 1,4, 1 a 0,5 mm. K testování biodegradability byla použita pouze frakce o velikosti 1 – 2 mm, která u všech takto upravovaných vzorků měla největší podíl celkové hmotnosti.

6.3.3 Polymerní směsi serie 3

Vzorky kyseliny poly – L – mléčné byly vyrobeny Centrem polymerních materiálů (CPM) Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Při výrobě materiálů s pracovním označením PLA1 – PLA5 byl monomer (L-kyselina mléčná p.a., výrobce Lach-ner, s.r.o., ČR) nejprve podroben dehydrataci (4 hodiny, 160°C , 150 mbar, mícháno konstantní rychlostí 200 ot/min). Poté byl přidán katalyzátor (kyselina metansulfonová, výrobce Sigma-Aldrich) a směs byla destilována za sníženého tlaku (150 mbar) pro dobu 18 h při rozdílných teplotách, které jsou uvedeny v Tab. II spolu s vybranými charakteristikami materiálů.

Vzorek s pracovním označením PLA 6: komerčně dostupný plast (kopolymer PLA) s názvem Bio-Flex 467F (výrobce FkUR, Německo). Jedná se o směs biopolymerů, anorganických plniv a biologicky recyklovatelných aditiv. Bod tání $145 - 205^\circ\text{C}$, teplota rozkladu $>280^\circ\text{C}$ a hustota $1,26 \text{ g.cm}^{-3}$. Vzorek byl kryogenně pomlet na granule. Vybrané vlastnosti naměřené v CPM viz Tab. II.

Tab. II: Charakteristika testovaných materiálů série 3

Vzorek	Teplota při destilaci [°C]	η [cm ³ .g ⁻¹]	M _w [g.mol ⁻¹]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]	TC [%]
PLA1	130	0,10	4690	1188	48,10
PLA2	145	0,13	7670	1195	48,77
PLA3	160	0,10	9120	1354	48,71
PLA4	175	0,21	17900	1313	50,47
PLA5	190	0,11	12840	1243	49,59
PLA6 (Bioflex)	---	0,10	81700	1666	57,58

Stanovení ekotoxicity

U vzorků PLA2 a PLA4 bylo ověřováno, zda jejich abiotickou degradací při laboratorní teplotě nevznikají produkty s inhibičními účinky. Ty by bylo nutné brát v potaz při případných konkrétních aplikacích materiálů na bázi testovaných polymerních směsí.

Míra ekotoxicity byla zjišťována na kultuře luminiscenčních bakterií *Vibrio fischeri*. U známého množství vhodně naředěné suspenze bakterií byla změřena luminiscence. Následně bylo přidáno definované množství testovaného roztoku a přesně za 15 minut opět změřena luminiscence. Rozdíl zjištěných hodnot byl způsoben úhynem bakterií v suspenzi, resp. toxicitou přidaného roztoku. Stejným způsobem byl měřen blank, kdy se k suspenzi přidal 2% roztok NaCl.

Před stanovením bylo známé množství vzorku PLA2 a PLA4 rozpuštěno v 10 ml acetonu. Toto rozpouštědlo bylo zvoleno na základě pracovního postupu výroby testovaných vzorků. Roztok byl převeden do děličky a vytřepán v 15 ml vody. Po cca 2 hodinách byla vodná fáze odebrána, naředěna a dále testována výše uvedeným způsobem. Jako slepý pokus byla testována vodná fáze z děličky, ve které byl místo rozpuštěného vzorku vytřepán čistý aceton.

6.4 Biologický materiál

Na testy ve všech sériích byl použit běžně dostupný kompostový substrát firmy Agro CS. Jedná se o směs zkompostovaných materiálů rostlinného původu s přídavkem dolomitické-

ho vápence. Vlastnosti nedozravaného kompostu uvedené výrobcem na obalu a změřené experimentálně jsou shrnuty v Tab. III.

Tab. III: Charakteristika nedozravaného kompostu

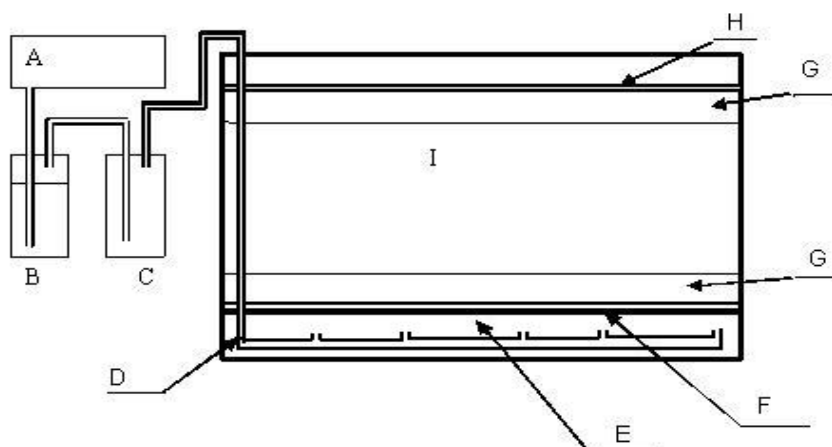
pH	6,0 - 8,5*; 6,64
Celkový fosfor [% P na suš.]	0,0031
Celkový dusík [% N na suš.]	min. 0,6*; 1,86
Spalitelné látky [% na suš.]	45*
Celkový dusík [% N na suš.]	min. 0,6*
Nerozložitelné příměsi [%]	max. 2%*

Pozn.: * hodnoty uvedené výrobcem

Kompost byl po zakoupení skladován ve tmě při konstantní teplotě 5°C.

6.4.1 Dozrávání kompostu

Před vlastními testy byl kompost zbaven větších frakcí (přesetím přes síto s velikostí ok 0,8 cm) a po dobu 4-8 týdnů se nechal dozrávat při stálé teplotě 58°C za diskontinuálního provzdušňování. Během této doby byl pravidelně promícháván. Dozrávání probíhalo v lysimetru (Obr. 6) umístěném ve vodní lázni.



Obr. 6: Schéma lysimetru na dozrávání kompostu

A – vzduchovací motorek; B – promývací láhev; C – pojistná láhev; D – rozvod vzduchu; E – vzduchová mezera; F – ocelový rošt; G – perlit (v plátěných pytlících); H – PE folie; I – kompost.

Po dozrání kompostu byla zjištěna fyzikálně chemická a mikrobiologická charakteristika kompostu, jejíž výsledky jsou uvedeny v Tab. IV. Metody jednotlivých stanovení jsou obsahem následujících kapitol. Pro lahvévé testy v první sérii byl použit kompost **1**, pro dru-

hou sérii kompost **2** a pro třetí sérii kompost **3**, přičemž charakteristiky uvedené v kap. 5.4.2 a 5.4.3 byly zjišťovány pro každý kompost zvlášť. Výjimkou bylo stanovení celkového dusíku a celkového fosforu, které se zjišťovalo pouze v nedozravaném kompostu.

6.4.2 Fyzikálně chemická charakteristika kompostu

Před vlastním nasazováním lahvového testu byla stanovena aktuální vlhkost (resp. sušina) kompostu a dle normy upravena na hodnotu 55%. Dále bylo stanoveno množství spalitelného podílu v kompostu, celkové množství uhlíku TC, celkový obsah dusíku a celkový obsah fosforu.

- Stanovení sušiny – na předem vysušenou a zváženou Petriho misku byly naváženy 3 g kompostu, který byl sušen 5 hodin při 105 °C. Po této době miska i s kompostem byla nechána v exsikátoru zchladnout na laboratorní teplotu a následně zvážena. Z rozdílů hmotností byla stanovena aktuální vlhkost. Byly prováděny vždy 3 paralelní stanovení.
- Stanovení spalitelného podílu – do předem vyžíhaného a zváženého keramického kelímku bylo naváženo 0,6 g kompostu, který byl žhán 2 hodiny při 550°C v muflové peci. Po zchladnutí v exsikátoru byl nespálený podíl i s kelímkem zvážen a z úbytku hmotností vypočten spalitelný podíl, který byl dále přepočten na zjištěnou aktuální sušinu. Byly provedeny vždy 3 paralelní stanovení.
- Stanovení TC – bylo provedeno na analyzátoru uhlíku Shimadzu 5000 A, Solid sample module. Organický i anorganický uhlík obsažený ve vzorku byl ve spalovací trubici s katalyzátorem (oxid kobaltnato-kobaltitý) při teplotě cca 670°C přeměněn na CO₂, jehož množství bylo analyzováno NDIR (Non-dispersive Infra Red) detektorem. Jako nosný plyn byl použit O₂.
- Stanovení celkového dusíku – vzorek kompostu byl zmineralizován Kjeldahlovou metodou, kdy se organický dusík za zvýšené teploty v prostředí katalytického roztoku (2 g HgO, 205 ml konc. H₂SO₄ a 134 g K₂SO₄ v 1 l) převedl na amonné ionty. Ty byly v mineralizátu, který byl kvantitativně převeden do 100 ml odměrné baňky a dále neředěn, stanoveny coulometrickou titrací s biamperometrickou indikací. Vzorek s obsahem amonných iontů byl vpraven do roztoku, ve kterém docházelo k elektrochemické generaci iontů bromnanu. Při jejich redukci amonnými ionty na

bromidy se změnila velikost proudu protékajícího mezi dvěma polarizovatelnými elektrodami s konstantním napětím. Takto byl detekován čas, po který reagovaly amonné ionty s bromnanem, resp. doba, po kterou docházelo k polarizaci indikační katody. Množství dusíku v mineralizátu vzorku kompostu bylo vypočteno z rovnice regresní přímky, jejíž jednotlivé body byly zjištěny výše popsanou coulometrickou titrací standardních roztoků síranu amonného. Celkový obsah dusíku v kompostu byl pak vypočítán dle vztahu /1.2/.

$$N\% = \frac{c_{reg} \cdot 1000}{m_{vz} \cdot suš} \quad /1.2/$$

$N\%$ – obsah dusíku v sušině kompostu [%]

c_{reg} – koncentrace vypočtená z rovnice regresní přímky [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

m_{vz} – navážka kompostu [g]

$suš.$ – aktuální sušina kompostu [%]

- Stanovení celkového fosforu – vzorek kompostu byl podroben oxidační mineralizaci v 10 ml 3,75 M H_2SO_4 s 1,5 g peroxidisíranu draselného, čímž se přítomný fosfor převedl na orthofosforečnan. Mineralizát byl po ochlazení zneutralizován a převeden do odměrné baňky o definovaném objemu. K alikvotnímu podílu vhodně zředěného mineralizátu bylo dále přidáno 1,5 ml roztoku molybdenanu amonného a 0,5 ml 10 % kyseliny askorbové, která zredukovala vzniklou molybdátosfosforečnou kyselinu na fosfomolybdenovou modř. Její množství v roztoku bylo stanoveno spektrofotometricky při vlnové délce 700 nm. Koncentrace fosforečnanu ve vlastním mineralizátu byla zjištěna pomocí regresní rovnice kalibrační přímky, jejíž jednotlivé body byly získány spektrofotometrickým stanovením standardních roztoků dihydrogenfosforečnanu draselného. Zjištěné množství fosforečnanu v mineralizátu bylo následně přepočítáno na procentuální obsah fosforu v sušině kompostu pomocí vztahu /2.2/:

$$P\% = \frac{c_{PO_4^{3-}} \cdot f \cdot 10 \cdot M_P}{m_{vz} \cdot suš \cdot M_{PO_4^{3-}}} \quad /2.2/$$

$P\%$ – obsah fosforu v sušině kompostu [%]

$c_{PO_4^{3-}}$ – koncentrace fosforečnanu zjištěná regresní analýzou [mg.l^{-1}]

f – koncentrační faktor (míra zředění hydrolyzátu před spektrofotometrickým stanovením) [-]

m_{vz} – navážka hydrolyzovaného vzorku [g]

$su\check{s}$. – aktuální sušina kompostu [%]

M – molární hmotnost (P – fosforu, PO_4^{-3} – fosforečnanu) [g.mol^{-1}]

6.4.3 Mikrobiologická charakteristika kompostu

Po cca 8 týdnech dozrávání byl u obou kompostů proveden mikrobiologický rozbor. Sledoval se celkový obsah termofilních bakterií, mezofilních bakterií, termofilních aktinomycet a vláknitých plísní.

Příprava kompostového výluhu

Rozpuštěním 0,15 g Tweenu 80, 0,4 g difosforečnanu sodného a 0,5 g NaCl ve 100 ml destilované vody a následnou sterilizací v autoklávu (15 min, 120 °C) byl připraven suspenzační roztok. K němu bylo po zchládnutí na laboratorní teplotu přidáno definované množství kompostu (10 g) o známé sušině a 15 minut protřepáváno. Po této době byla směs nechána cca 3 minuty v klidu – kompost sedimentoval a vzniklý supernatant byl dávkován do sterilních zkumavek se sterilním fyziologickým roztokem tak, aby vznikla desetinná řada ředění $10^{-1} - 10^{-5}$.

Stanovení celkového počtu mezofilních a termofilních bakterií

Kultivace byla prováděna na Trypton Yeast (TYA) agaru, který byl připraven podle návodu výrobce. Na jednotlivé Petriho misky s živnou půdou bylo naočkováno 0,1 ml ze zkumavek s ředěním $10^{-3} - 10^{-5}$, což je ekvivalentní k dávkování 1 ml supernatantu o ředěních 10^{-4} , 10^{-5} a 10^{-6} . Každé ředění bylo očkováno na čtyři Petriho misky, přičemž vždy dvě byly nechány ke kultivaci při 58°C (termofilní bakterie) a dvě při 25°C (mezofilní bakterie). Délka kultivace byla 3 dny.

Stanovení celkového počtu aktinomycet

Kultivace byla prováděna na Actinomycete isolation agaru, který byl připraven dle návodu výrobce. Na jednotlivé Petriho misky bylo očkováno 0,1 ml supernatantu o ředění 10^{-2} , 10^{-3}

a 10^{-4} , vždy dvakrát vedle sebe. Kultivace probíhala při 58°C po dobu 7 dní. Po této době byly zjišťovány počty kolonií termofilních aktinomycet pomocí světelné mikroskopie.

Stanovení celkového počtu vláknitých plísni

Kultivace probíhala na půdním agaru s bengálskou červení a chloramfenikolem. Živná půda byla připravena suspendací 3 g již připraveného základu ve 100 ml roztoku tryptonu ($c = 0,1 \text{ g.l}^{-1}$). Po suspendaci bylo přidáno 0,7 ml roztoku bengálské červeně a provedena sterilizace.

Na jednotlivé Petriho misky byl očkovan 1 ml neředěného supernatantu, dále 0,1 ml neředěného supernatantu a 0,1 ml ředění 10^{-1} , vždy dvakrát vedle sebe. Kultivace probíhala při 25°C , 7 dní.

6.5 Inertní materiál

Ve všech prováděných lahvových testech byl použit inertní materiál s obchodním názvem Agroperlit (dále perlit), výrobce Agro CS, a. s. Jedná se o ztuhlou expandovanou taveninu, která usnadňuje aeraci zlepšováním strukturních vlastností kompostu a zadržuje vlhkost, tedy i živiny a mikroorganismy. Výrobce udávané vlastnosti perlitu shrnuje Tab. IV.

Tab. IV: Vlastnosti perlitu (údaje uváděné výrobcem)

pH	6,0 – 7,5
Vlhkost [%]	max. 2
Obsah částic pod 0,3 mm [%]	max. 15,0
Obsah částic pod 1,0 mm [%]	max. 25,0
Obsah částic 1,0 až 4,0 mm [%]	max. 75,0
Sypná hmotnost [kg.m^{-3}]	200

Před použitím byl perlit zbaven prachových a hrubých částic a případných nečistot promýváním v destilované vodě. Poté byl vysušen při 105°C .

Sorpce CO_2 na perlit

Kvůli možnosti vlivu na přesnost měření uvolňovaného CO_2 byla zjišťována míra jeho sorpce na perlit předupravený výše uvedeným způsobem. Do tří lahví o objemu 1140 ml bylo naváženo 20 g perlitu a na několik sekund byl zaveden přívod čistého CO_2 . Poté byly láhve plynotěsně uzavřeny uzávěrem obsahujícím otvor se septem, kterým se v určitých časových intervalech odebíraly vzorky plynné fáze k GC analýze obsahu CO_2 . Jeho množ-

ství zůstalo i po 168 hodinách konstantní; proto lze tvrdit, že sorpce CO₂ na perlit neprobíhá v takové míře, aby významně ovlivnila množství CO₂ uvolňovaného při vlastní mineralizaci.

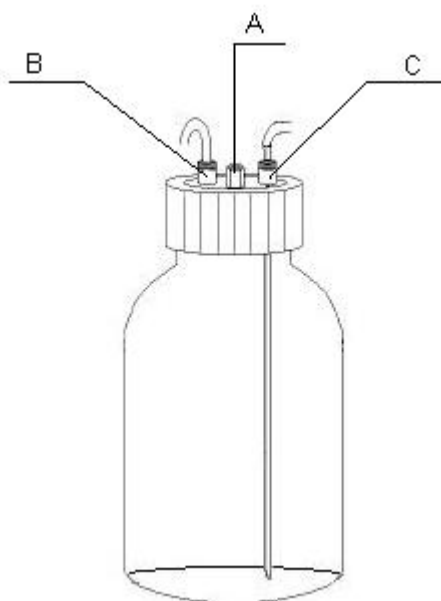
7 LAHVOVÉ TESTY

7.1 Testovací lahve

U jednotlivých vzorků byla zkoumána míra biodegradace za podmínek řízeného kompostování. K tomu slouží tzv. lahvové testy, které byly vyvinuty v rámci předchozích diplomových prací [9, 25, 26] na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí. Metodika těchto testů reflektuje požadavky normy ČSN EN 14 855.

Experiment probíhal ve skleněných lahvích o objemu 1140 ml, plynotěsně uzavřených, s uzávěry osazenými otvory umožňující odběr plynné fáze k analýze, provzdušňování a zvlhčování. Schéma testovací lahve viz Obr. 7; otvory B a C byly spojeny silikonovou hadičkou.

Všechny lahve byly před vlastními pokusy sterilizovány vypláchnutím 1 % HCl.



Obr. 7: Schéma testovací lahve

A – otvor se septem pro odběr plynné fáze

B – otvor na doplňování vlhkosti

C – otvor na provzdušňování

7.2 Průběh testu

Do každé reakční lahve bylo naváženo 20 g perlitu a 10 g sušiny kompostu. Dále bylo přidáno 1,7 g testovaného materiálu (poměr hmotnost vzorku:hmotnost sušiny kompostu byl 1:6). Vzniklá směs byla obohacena minerálním médiem. Jeho množství bylo zvoleno tak, aby výsledná sušina celé směsi byla cca 55 % a bylo shodné pro všechny láhve dané serie. Směs se zhomogenizovala intenzivním protřepáním, poté byly lahve uzavřeny a ponechány ve tmě, ve skříňovém termostatu při konstantní teplotě 58°C. Za těchto podmínek probíhala biodegradace zkoumaných materiálů, při které se uvolňoval CO₂ a spotřebovával O₂. Obsah těchto plynů v plynné fázi reakčního prostředí byl v průběhu testu zjišťován plynovou chromatografií. Na základě dat z GC byl aproximován průběh biodegradace.

V každé sérii byla kromě materiálů uvedených v kapitole 5.3 sledována i biodegradace mikrokrystalické celulózy jako referenčního materiálu a dále byla sledována produkce CO₂ a spotřeba O₂ u slepého pokusu. Ten byl připraven výše uvedeným způsobem, směs ovšem neobsahovala testovaný materiál.

Navíc byly pro každou sérii připraveny dvě láhve se stejnou směsí perlitu, kompostu a biomédia jako u ostatních pokusů. Jedna sloužila k určení objemu plynné fáze reakčního prostředí (V_g) a druhá ke stanovení charakteristik reakční směsi.

7.2.1 Charakteristika reakčních směsí

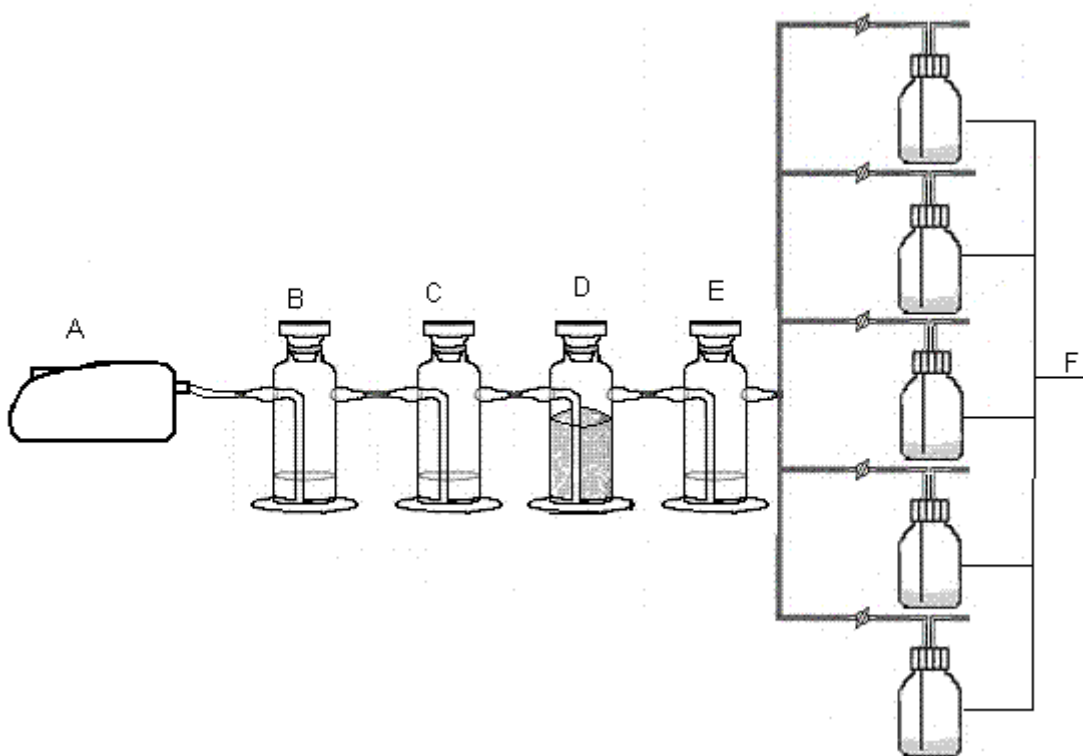
- Stanovení sušiny – dle postupu uvedeného v kapitole 5.4.1.
- Stanovení spalitelného podílu – dle postupu uvedeného v kapitole 5.4.1.
- Stanovení pH – 1 díl (20 ml) směsi a 5 dílů (100 ml) destilované vody se nechal 6 hodin protřepávat, po této době bylo ve výluhu ihned stanoveno pH.
- Stanovení TOC – výluh připravený výše uvedeným způsobem byl přefiltrován a vhodně naředěn. V takto upraveném výluhu byl zjišťován obsah organického uhlíku pomocí analyzátoru Shimadzu TOC 5000 A jako rozdíl mezi zjištěnou koncentrací veškerého uhlíku a veškerého anorganického uhlíku (IC). Při stanovení IC byl vzorek nastříknut v proudu kyslíku do nádoby s kyselinou fosforečnou. Tím došlo k převedení všech forem anorganického uhlíku na CO₂, který byl vystripován nosným plynem (O₂) a jeho množství stanoveno NDIR detektorem.

- Stanovení objemu plynné fáze V_g – do lahve se směsí perlitu, kompostu a biomédia bylo postupně přidáváno určité množství vody tak, aby se láhev zcela zaplnila. Součet objemů jednotlivých přídavek byl pak ekvivalentní celkovému objemu plynné fáze.

7.2.2 Provzdušňování a doplňování vody

Po každém měření byly reakční láhve provzdušňovány vzduchem zbaveným CO_2 . Tím došlo jednak k obnově aerobních podmínek a zároveň byl odstraněn vyprodukovaný CO_2 . Jednotlivými měřeními bylo tedy zjišťováno pouze množství CO_2 a O_2 , které se vyprodukovalo, resp. spotřebovalo, za časový úsek mezi dvěma měřeními.

Provzdušňování zajišťovala aerační soustava, jejíž schéma je uvedeno na Obr. 8.



Obr. 8: Schéma provzdušňovacího zařízení

A – vzduchové čerpadlo

B – promývací láhev s 5 M NaOH (300 ml)

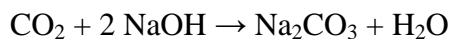
C – promývací láhev s 0,05 M $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (300 ml)

D – láhev se směsí perlitu a fenolftaleinu

E – promývací láhev s destilovanou vodou

F – reakční láhve

Vlastní odstranění CO₂ ze vzduchu probíhalo jeho reakcí s NaOH (láhev B) podle rovnice



Promývací láhev C s Ba(OH)₂ byla pouze jako pojistná, pro případ, že by zreagoval veškerý louh v láhvi B. Láhev D byla indikační – v případě vyčerpání obou sorpčních roztoků by CO₂ reagoval s fenolftaleinem za vzniku pozorovatelného zabarvení. Promývací láhev s destilovanou vodou sloužila k zvlhčování vzduchu.

Doba provzdušňování byla vždy volena tak, aby vždy došlo k odstranění veškerého CO₂, což bylo ověřováno GC analýzou. Po každém provzdušnění byly láhve protřepávány, aby se obnovila homogenita směsi.

Během experimentu docházelo (vzhledem k provzdušňování) k vysoušení reakční směsi. Proto byly jednotlivé láhve na začátku experimentu zváženy a v průběhu pokusu sledován úbytek jejich hmotností, který koresponduje s úbytkem vlhkosti. Vždy po dvou týdnech bylo do lahví doplněno takové množství destilované vody, aby se vyrovnal hmotnostní úbytek, čímž byla zajištěna relativně stálá vlhkost. Tento postup byl ověřen v diplomové práci [26].

7.2.3 Závěrečné analýzy

Na konci testu byly stanoveny vybrané fyzikální a chemické charakteristiky reakčních směsí v jednotlivých lahvích. Jednalo se o stanovení sušiny směsi, stanovení pH a množství anorganického uhlíku (IC) výluhu směsi. Tyto charakteristiky byly zjišťovány postupy uvedenými v kapitole 6.2.1.

7.3 GC analýza

7.3.1 Instrumentace

Stanovení obsahu CO₂ a O₂ bylo prováděno vždy 2x týdně. Z reakčních lahví byl přes septum odebrán vzorek plynné fáze plynotěsnou dávkovací stříkačkou Hamilton. Objem vzorku byl 100 μl a byl analyzován na plynovém chromatografu Agilent 7890 A se dvěma skleněnými náplňovými kolonami o délce 1,829 m. Na první, s náplní Porapak Q (velikost čás-

tic 60/80 MESH) byl separován CH_4 a CO_2 . O_2 a N_2 byly separovány na sériově zapojené druhé koloně – náplň molekulové síto 5A (velikost částic 60/80 MESH). Po nadávkování vzorku byl tento unášen nosným plynem nejprve na kolonu s Porapakem a v čase 1,4 min. byl pomocí ventilů ovládaných stlačeným vzduchem přesměrován na kolonu s molekulovým sítem.

Jako nosný plyn bylo použito helium čistoty 4.6 (výrobce Linde Gas, a. s., ČR). Jeho průtok byl udržován na hodnotě $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Jednotlivé složky plynné fáze byly detekovány teplotně vodivostním detektorem (TCD), jenž byl vyhříván na teplotu $250 \text{ }^\circ\text{C}$.

7.3.2 Kalibrace a vyhodnocování

Před každým měřením byla pro CH_4 , CO_2 , O_2 a N_2 provedena kalibrace. Do chromatografu bylo dávkováno $100 \mu\text{l}$ kalibračního plynu (výrobce Linde Gas, a.s., ČR) o obsahu cca 0,8 obj. % CO_2 a cca 4 obj. % CH_4 (přesné hodnoty byly uvedeny v certifikátu referenčního materiálu dodávaného s každou tlakovou lahví). Pro krátkodobé uchování kalibračního plynu byl použit tedlarový vak o objemu 0,6 l.

Pro kalibraci O_2 a N_2 bylo analyzováno $100 \mu\text{l}$ vzduchu (20,95 objem. % O_2 a 78 objem. % N_2). Pro jednotlivé sloučeniny tak byla získána velikost odezvy TCD (plocha píku) na známé množství, kalibrace byla tedy jednobodová a kalibrační křivka lineární, procházející počátkem.

Všechna data z GC byla vyhodnocována programem Agilent ChemStation.

7.4 Zpracování naměřených hodnot

Biodegradace zkoumaných materiálů byla vyhodnocována podle množství vyprodukovaného CO_2 jako podíl reálné kumulativní a teoretické produkce. Ta byla zjišťována na základě procentuálního obsahu uhlíku TC v pevném vzorku testovaného materiálu.

Souběžně s obsahem CO_2 byl měřen i obsah kyslíku v plynné fázi reakčního prostředí, resp. rozdíl mezi počátečním stavem (ten je dán hodnotami V_g a 20,78% O_2 ve vzduchu) a aktuální hodnotou. Úbytek – za předpokladu, že rozdíl ve spotřebě O_2 pokusu se vzorkem a slepého pokusu (substrátová spotřeba) je spotřebován na biochemickou oxidaci – lze interpretovat jako míru biodegradace daného zkoumaného materiálu. Hodnocení biodegradace pomocí spotřeby O_2 bylo při lahvových testech používáno pouze jako doplňkové.

7.4.1 Hodnocení podle produkce CO₂

Teoretické množství CO₂ z testovaného materiálu v reakční láhvi: $ThCO_2$ [mmol]

$$ThCO_2 = \frac{m_{substr.} \cdot TC}{M_c \cdot 100} \cdot 1000 \quad /3.2/$$

$m_{substr.}$ – navážka testovaného materiálu v reakční láhvi [g]

TC – celkový obsah uhlíku v testovaném materiálu [%]

M_c – molární hmotnost uhlíku [g.mol⁻¹]

Denní produkce CO₂ v reakční láhvi: $n_{CO_2-denní}$ [mmol]

$$n_{CO_2-denní} = \frac{V_g \cdot Amt \cdot 10^{-3}}{V_d \cdot V_m} \quad /4.2/$$

V_g – objem plynné fáze v láhvi [ml]

Amt – množství CO₂ zjištěné GC analýzou [μl]

V_d – dávkovaný objem plynu z láhve na GC analýzu [ml]

V_m – normální molární objem; $V_m = 22,414 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Substrátová produkce CO₂: $n_{CO_2-substr}$ [mmol]

$$n_{CO_2-substr.} = n_{kumul.} - (n_{kumul.})_{sl.p.} \quad /5.2/$$

$n_{kumul.}$ – kumulativní produkce CO₂ [mmol]

$(n_{kumul.})_{sl.p.}$ – průměrná hodnota kumulativní produkce slepého pokusu [mmol]

Procentuální odstranění testovaného vzorku: D_{CO_2} [%]

$$D_{CO_2} = \frac{n_{CO_2-substr.}}{ThCO_2} \cdot 100 \quad /6.2/$$

7.4.2 Hodnocení podle spotřeby O₂

Teoretické množství O₂ spotřebované na oxidaci testovaného materiálu v reakční láhvi: ThO_2 [mmol]

$$ThO_2 = \frac{m_{substr.} \cdot CHSK_{Cr}}{M_{O_2}} \cdot 1000 \quad /7.2/$$

$m_{substr.}$ – navážka testovaného materiálu v reakční láhvi [g]

CHSK_{Cr} – chemická spotřeba kyslíku testovaného materiálu [mg.g⁻¹]

M_{O_2} – molární hmotnost kyslíku [g.mol⁻¹]

Množství nespotřebovaného O₂ v láhvi zjištěné GC analýzou: $n_{O_2-zůst.}$ [mmol]

$$n_{O_2-zůst.} = \frac{V_g \cdot Amt}{V_d \cdot V_m \cdot 1000} \quad /8.2/$$

V_g - objem plynné fáze v láhvi [ml]

Amt – množství O₂ v dávkovaném vzorku zjištěné GC analýzou [μl]

V_d – dávkovaný objem plynu z láhve na GC analýzu [ml]

V_m – normální molární objem; $V_m = 22,414 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

Kumulativní spotřeba O₂: $n_{O_2-kumul}$ [mmol]

$$n_{O_2-kumul, i} = \frac{V_g \cdot 0,2095}{V_m} - n_{O_2-zůst.} + n_{O_2-kumul, i-1} \quad /9.2/$$

$n_{O_2-kumul, i}$ – kumulativní spotřeba O₂ při měření i [mmol]

$n_{O_2-kumul, i-1}$ – kumulativní spotřeba O₂ při předcházejícím měření ($i - 1$) [mmol]

Substrátová spotřeba O₂: $n_{O_2-substr}$ [mmol]

$$n_{O_2-substr.} = n_{kumul, i} - (n_{kumul, i})_{sl.p.} \quad /10.2/$$

$(n_{kumul, i})_{sl.p.}$ – průměrná hodnota kumulativní spotřeby slepého pokusu [mmol]

Procentuální spotřeba kyslíku: D_{O_2} [%]

$$D_{O_2} = \frac{n_{O_2-substr}}{Th_{O_2}} \cdot 100 \quad /11.2/$$

7.5 Popisy testů jednotlivých sérií

Série 1

V této sérii byla testována biodegradabilita polymerních směsí s různým obsahem PCL, PHB a TAC – vzorky BK/77/210 a BK/77/211 a biodegradabilita jednotlivých komponent těchto směsí. Jako referenční materiál byla použita mikrokrystalická celulóza. Slepý pokus, referenční materiál i jednotlivé vzorky byly testovány vždy 4x vedle sebe.

Do jednotlivých lahví bylo dávkováno 20 g perlitu, 23,5 g kompostu **1** o sušině 47,65 %, 25 ml biomédia a 1,7 g vzorku. Přesná navážka a obsazení jednotlivých pozic série 1 je uvedeno v Tab. V.

Tab. V: Obsazení pozic série 1

č.	Vzorek	m_{vzorek}	m_{kompost}	m_{perlit}
		[g]	[g]	[g]
1	slepý pokus	---	23,5	20
2	slepý pokus	---	23,5	20
3	slepý pokus	---	23,5	20
4	slepý pokus	---	23,5	20
5	celulosa Penta	1,71071	23,5	20
6	celulosa Penta	1,70948	23,5	20
7	celulosa Penta	1,70894	23,5	20
8	celulosa Penta	1,70645	23,5	20
9	PCL	1,71215	23,5	20
10	PCL	1,70853	23,5	20
11	PCL	1,71516	23,5	20
12	PCL	1,71463	23,5	20
13	PHB	1,70354	23,5	20
14	PHB	1,71247	23,5	20
15	PHB	1,71776	23,5	20
16	PHB	1,71448	23,5	20
17	TAC	1,71154	23,5	20
18	TAC	1,70538	23,5	20
19	TAC	1,71756	23,5	20
20	TAC	1,71518	23,5	20
21	BK/77/210	1,70028	23,5	20
22	BK/77/210	1,70239	23,5	20
23	BK/77/210	1,70090	23,5	20
24	BK/77/210	1,70642	23,5	20
25	BK/77/211	1,70418	23,5	20
26	BK/77/211	1,70548	23,5	20
27	BK/77/211	1,70356	23,5	20
28	BK/77/211	1,70075	23,5	20

Série 2

Cílem testů této série bylo ověřit vliv předúpravy vzorků na jejich biodegradaci. Konkrétně zda zchlazení při kryogenním mletí změní jeho krystalinitu či jiné morfologické vlastnosti natolik, aby to významně ovlivnilo průběh biodegradace. Testován byl pouze vzorek BK/77/210 pomletý za snížené teploty způsobem uvedeným v kapitole 5.3.3. a tentýž vzorek nastříhaný za laboratorní teploty na frakce odpovídající velikosti.

Referenčním materiálem byla mikrokrystalická celulóza. Slepý pokus, srovnávací materiál i oba vzorky byly testovány vždy 3x vedle sebe.

Do jednotlivých lahví bylo dávkováno 20 g perlitu, 24,45 g kompostu **2** o sušině 47,02 %, 27 ml biomédia a 1,7 g vzorku. Přesná navážka a obsazení jednotlivých pozic série 2 je uvedeno v Tab. VI.

Tab. VI: Obsazení pozic série 2

č	Vzorek	m_{vzorek}	m_{kompost}	m_{perlit}
		[g]	[g]	[g]
1	slepý pokus	---	24,609	20,357
2	slepý pokus	---	24,483	20,35
3	slepý pokus	---	24,511	20,112
4	celulosa Penta	1,70093	24,493	20,118
5	celulosa Penta	1,70571	24,911	20,195
6	celulosa Penta	1,71416	24,541	20,441
7	BK/77/210m	1,73811	24,415	20,349
8	BK/77/210m	1,71704	24,421	20,362
9	BK/77/210m	1,71179	24,428	20,005
10	BK/77/210s	1,71399	24,513	20,244
11	BK/77/210s	1,70138	24,507	20,125
12	BK/77/210s	1,71517	24,509	20,872

Pozn.: BK/77/210m – vzorek upravený kryogenním mletím; BK/77/210s – vzorek nastříhaný za laboratorní teploty

Série 3

V této sérii byla sledována biodegradace materiálů na bázi PLA.

Referenčním materiálem byla mikrokrytalická celulóza. Slepý pokus, srovnávací materiál i oba vzorky byly testovány vždy 3x vedle sebe.

Do jednotlivých lahví bylo dávkováno 20 g perlitu, 20,8 g kompostu **3** o sušině 55,17 %, 30 ml biomédia a 1,7 g vzorku. Přesná navážka a obsazení jednotlivých pozic série 2 je uvedeno v Tab. VII.

Tab. VII: Obsazení pozic série 3

č.	Vzorek	m_{vzorek}	m_{kompost}	m_{perlit}
		[g]	[g]	[g]
1	slepý pokus	---	20,819	20,819
2	slepý pokus	---	20,953	20,953
3	slepý pokus	---	20,932	20,932
4	celulosa Penta	1,66229	20,847	20,847
5	celulosa Penta	1,66537	20,791	20,791
6	celulosa Penta	1,66167	20,856	20,856
7	PLA 1	1,65646	20,848	20,848
8	PLA 1	1,65738	20,795	20,795
9	PLA 1	1,65042	20,836	20,836
10	PLA 2	1,65062	20,879	20,879
11	PLA 2	1,65419	20,899	20,899
12	PLA 2	1,65298	20,864	20,874
13	PLA 3	1,65469	20,815	20,815
14	PLA 3	1,65237	20,842	20,842
15	PLA 3	1,6524	20,819	20,819
16	PLA 4	1,65357	20,834	20,834
17	PLA 4	1,65355	20,813	20,813
18	PLA 4	1,67153	20,873	20,873
19	PLA 5	1,65286	20,853	20,853
20	PLA 5	1,65349	20,814	20,814
21	PLA 5	1,65510	20,866	20,867
22	PLA 6	1,65113	20,816	20,816
23	PLA 6	1,65145	20,820	20,820
24	PLA 6	1,65712	20,828	20,828

8 VÝSLEDKY A DISKUSE

8.1 Stanovení ekotoxicky vzorků PLA2 a PLA4

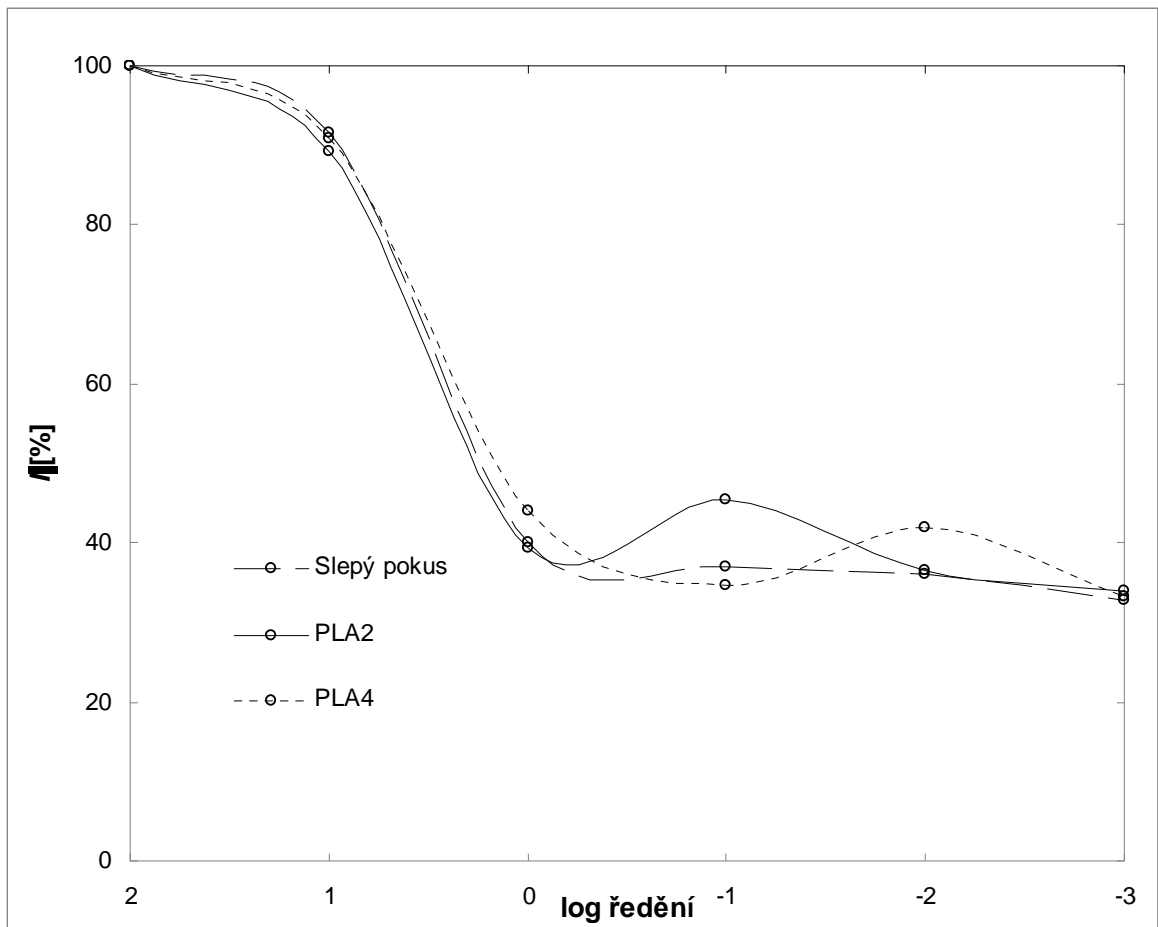
Ze získaných vodných fází vzorků PLA2 a PLA4 a slepého pokusu byly připraveny desetinné řady ředění, testovaly se tedy neředěné roztoky, dále roztoky o koncentraci 10 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 % a 0,001 %. Ředění bylo prováděno přidávkou 2 % roztoku NaCl. Změřené hodnoty luminiscence suspenze (L_0) byly pomocí blanku korigovány o vliv ředění a přirozeného poklesu luminiscence v čase na hodnotu $L_{15, corr}$. Míra inhibice I byla vypočítána podle vztahu /12.2/

$$I = \frac{(L_{15,corr} - L_{15}) \cdot 100}{L_{15,corr}} \quad /12.2/$$

Naměřené hodnoty luminiscencí a vypočítaná míra inhibice jsou uvedeny v Tab. VIII.

Tab. VIII: Míra inhibice řady ředění vodných fází

Ředění [%]	log ředění [-]	L_0 [-]	L_{15} [-]	$L_{15, corr}$ [-]	I [%]
Slepý pokus					
100	2	418476	163	163	99,97
10	1	394696	43758	43758	91,49
1	0	403574	315034	315034	40,05
0,1	-1	262720	215638	215638	36,97
0,01	-2	282151	234567	234567	36,16
0,001	-3	274963	240542	240542	32,82
PLA2					
100	2	449970	205	205	99,97
10	1	457398	64559	64559	89,16
1	0	432228	341392	341392	39,35
0,1	-1	273633	194843	194843	45,32
0,01	-2	247047	204108	204108	36,55
0,001	-3	243475	209224	209224	34,01
PLA4					
100	2	415532	273	273	99,95
10	1	383645	45531	45531	90,89
1	0	405279	295618	295618	43,99
0,1	-1	295592	251414	251414	34,68
0,01	-2	322608	244058	244058	41,90
0,001	-3	310935	270585	270585	33,17



Obr. 9: Míra inhibice řady ředění vodných fází

Z Obr. 9 je patrné, že míra inhibice vodných fází PLA2 a PLA4 je téměř stejná, jako u slepého pokusu, což poukazuje na špatné oddělení obou fází v děličkách. Pro další ověření by tedy bylo vhodné použít jiné rozpouštědlo, popř. upravit metodiku tak, aby došlo k oddělení obou fází. Z časových důvodů toto ověřování nemohlo být provedeno.

8.2 Charakteristika použitých kompostů

V Tab. IX jsou shrnuty změřené vybrané fyzikální a chemické charakteristiky kompostů použitých pro jednotlivé série.

Tab. IX: Změřené charakteristiky použitých kompostů

Parametr	Kompost č.		
	1	2	3
Doba zrání [měs.]	2	1	1,5
Aktuální sušina [%]	47,68	47,02	55,17
Spalitelný podíl [% na suš.]	41,00	50,70	57,00
TC [%]	23,95	16,4	19,14
Mikrobiologický rozbor			
CPB termofilní [CFU/g suš.]	$1,01 \cdot 10^8$	$1,37 \cdot 10^7$	$2,01 \cdot 10^7$
CPB mezofilní [CFU/g suš.]	$1,03 \cdot 10^7$	$4,21 \cdot 10^6$	$2,07 \cdot 10^7$
Aktinomycety [CFU/g suš.]	$1,17 \cdot 10^7$	0	$7,45 \cdot 10^5$
Plísně [CFU/g suš.]	0	0	0

8.2.1 Stanovení celkového dusíku

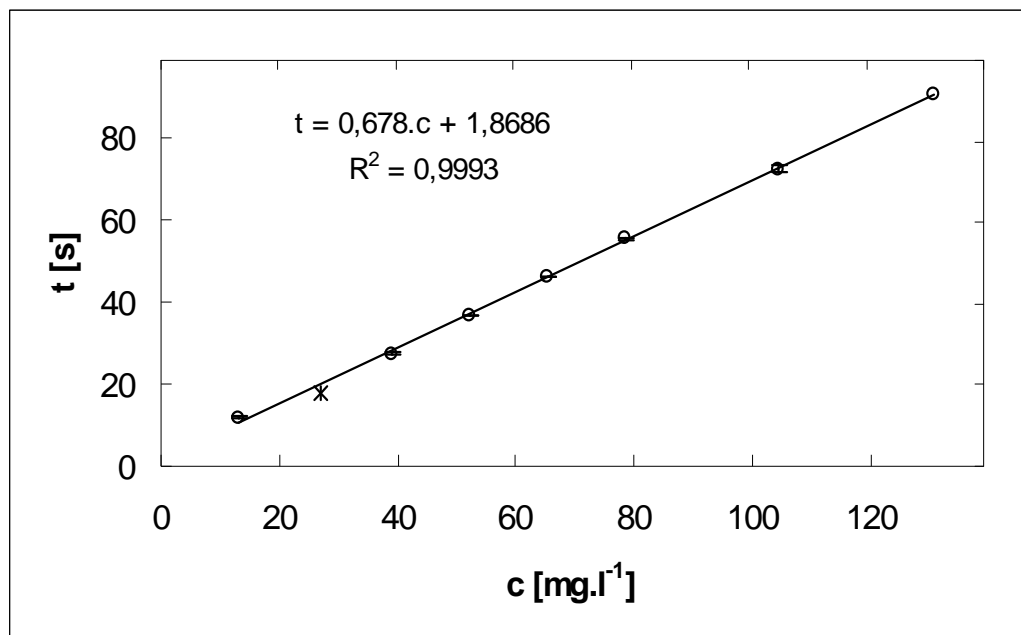
Tab. X: Kalibrační tabulka stanovení dusíku

c_{st} [mg.l ⁻¹]	t_1 [s]	t_2 [s]	t_3 [s]	Φt [s]
13,06	11,3	12,4	11,7	11,80±0,56
26,12	16,8	16,7	-	16,75±0,07
39,18	27,5	27,7	26,9	27,37±0,42
52,25	37,4	36,3	36,4	36,70±0,61
65,31	46,0	46,2	46,1	46,10±0,10
78,37	55,3	55,5	55,7	55,50±0,20
104,49	72,9	71,9	72,7	72,50±0,53
130,61	89,0	92,5	90,8	90,77±1,75
Mineralizát	31,6	33,8	33,5	32,97±1,19

c_{st} – koncentrace NH₄-N v kalibračním standardu [mg.l⁻¹]

t_i – bod ekvivalence pro jednotlivá stanovení [s]

Φt – bod ekvivalence – aritmetický průměr tří stanovení [s]



Obr. 10: Kalibrační přímka pro stanovení celkového dusíku

Pozn.: Hodnota x vyloučena jako odlehlá

Pro zředěný mineralizát kompostu byla zjištěna hodnota bodu ekvivalence $\Phi t = 32,97$ s. To dle lineární regrese (viz Obr. 10) odpovídá koncentraci $\text{NH}_4\text{-N}$ $c_{\text{reg.}} = 45,8674 \text{ mg.l}^{-1}$. Dosažením navážky kompostu $m = 0,666 \text{ g}$ a jeho aktuální sušiny $\text{suš.} = 37,11 \%$ do rovnice /1.2/ byl zjištěn obsah celkového dusíku v kompostu $\%N = 1,86\%$.

8.2.2 Stanovení veškerého fosforu

Tab. XI: Absorbance standardních roztoků a mineralizátu kompostu

c [mg.l ⁻¹]	τ [-]	A_{korig} [-]
0,0	0,990	0,000
0,1	0,950	0,018
0,5	0,830	0,077
1,0	0,720	0,138
1,5	0,611	0,210
2,0	0,520	0,280
2,5	0,448	0,344
3,0	0,395	0,399
3,5	0,340	0,464
4,0	0,316	0,496
Mineralizát	0,875	0,054

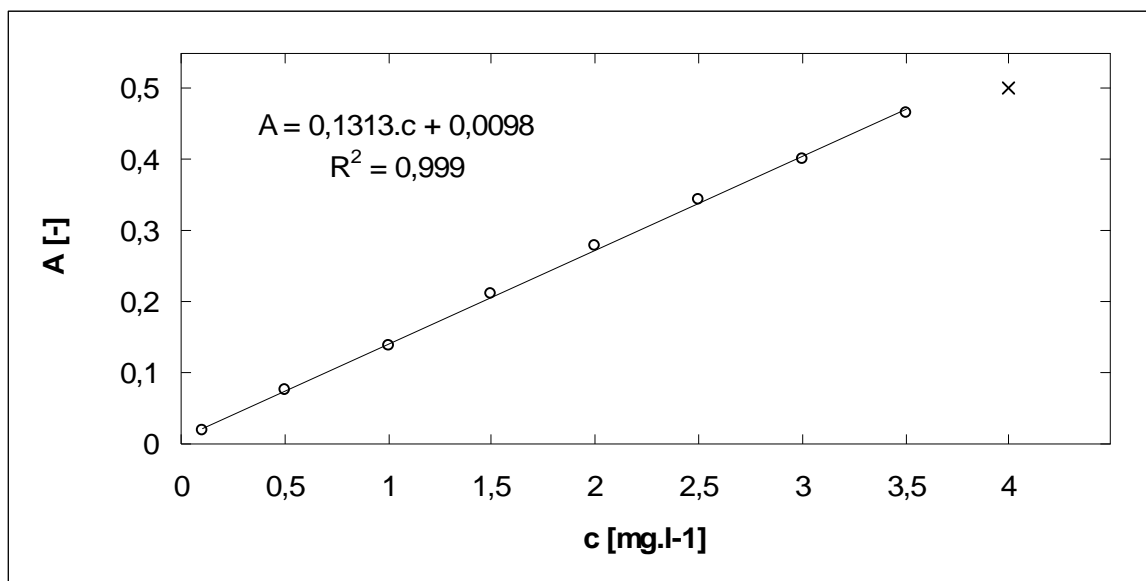
c – koncentrace PO_4^{3-}

[mg.l⁻¹]

τ – změřená hodnota transmittance

[-]

A_{korig} – vypočtená hodnota absorbance korigovaná o slepý pokus [-]



Obr. 11: Kalibrační přímka stanovení celkového fosforu

Pozn.: x vyloučená jako odlehlá hodnota

V mineralizátu kompostu byla zjištěna hodnota absorbance $A_{\text{korig.}} = 0,054$. To dle lineární regrese (viz Obr. 11) odpovídá koncentraci fosforečnanu $c_{\text{PO}_4^{3-}} = 0,3338 \text{ mg.l}^{-1}$. Dosazením navážky mineralizovaného kompostu $m = 0,8001 \text{ g}$ a jeho aktuální sušiny $\text{suš.} = 47,02 \%$ při koncentračním faktoru $f = 0,106456$ do rovnice /3.2/ byl zjištěn obsah celkového fosforu v kompostu $\% \text{ P} = 3,08 \cdot 10^{-3} \%$.

8.3 Vyhodnocení testu série 1

Před vlastním začátkem pokusu byly zjišťovány charakteristiky reakčních směsí. Počáteční obsah anorganického uhlíku ve výluhu $\text{IC} = 4,892 \text{ mg.l}^{-1}$; objem plynné fáze $V_g = 1054 \text{ ml}$. Dále byly po ukončení pokusu provedeny závěrečné analýzy – hodnota pH, sušina a IC. Jejich výsledky + počáteční hodnoty pH a sušiny reakční směsi jsou uvedeny v tab. XII. Z této je zřejmé, že pH a vlhkost reakčního prostředí byly udržovány v rozmezí hodnot, které udává norma ČSN EN 14 855. Výjimkou byly láhve s triacetinem (č. 17 – 20), kde došlo během pokusu ke snížení pH na cca 4,7.

Tab. XII: pH, TC a sušina reakční směsi série I

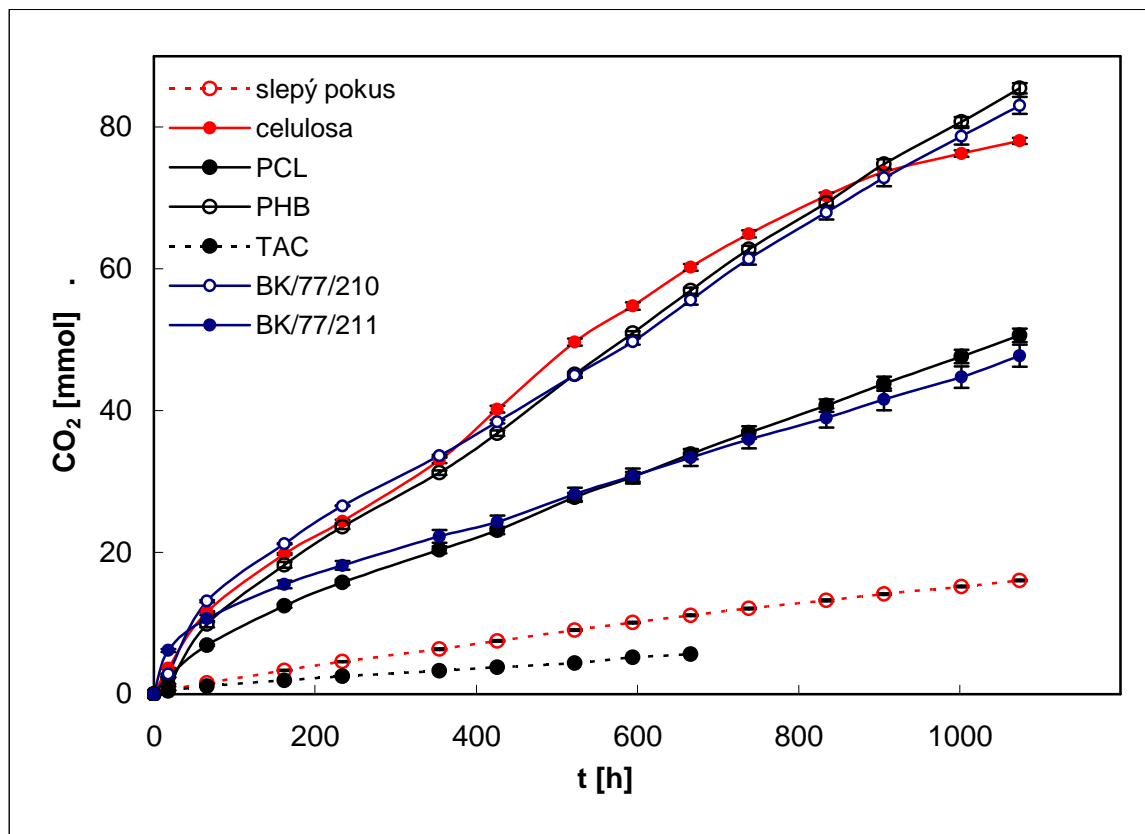
č.	Vzorek	pH _{start}	pH _{kon.}	sušina _{start}	sušina _{kon.}	IC _{start}	IC _{kon.}
		[-]	[-]	[%]	[%]	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹]
1	slepý pokus	7,196	7,24	48,76	52,0	4,892	0,605
2	slepý pokus		7,26		52,9		0,647
3	slepý pokus		7,20		51,4		0,665
4	slepý pokus		7,22		51,4		0,701
5	celulosa Penta	7,196	7,43	48,76	52,7	4,892	0,664
6	celulosa Penta		7,4		51,2		0,611
7	celulosa Penta		7,43		52,5		0,639
8	celulosa Penta		7,46		50,9		0,689
9	PCL	7,196	7,49	48,76	51,7	4,892	0,664
10	PCL		7,46		51,5		0,638
11	PCL		7,41		53,4		0,705
12	PCL		7,45		54,5		0,707
13	PHB	7,196	7,43	48,76	51,1	4,892	0,754
14	PHB		7,53		50,9		0,650
15	PHB		7,54		51,9		0,745
16	PHB		7,55		53,5		0,664
17	TAC	7,196	4,66	48,76	53,7	4,892	0,592
18	TAC		4,56		52,3		1,564
19	TAC		4,62		53,4		0,679
20	TAC		4,70		50,5		0,639
21	BK/77/210	7,196	7,43	48,76	53,7	4,892	0,643
22	BK/77/210		7,45		53,9		0,722
23*	BK/77/210		---		---		---
24	BK/77/210		7,46		53,0		0,717
25	BK/77/211	7,196	7,46	48,76	45,7	4,892	0,658
26	BK/77/211		7,50		53,8		0,607
27	BK/77/211		7,45		56,6		0,713
28	BK/77/211		7,50		54,8		0,659

*láhev č. 23 se během pokusu rozbila

8.3.1 Hodnocení podle produkce CO₂

Produkce oxidu uhličitého byla u jednotlivých lahví měřena po dobu 45 dnů (1074 hodin), kromě lahví 17 – 21, u kterých byl experiment po 27 dnech (666 hodin) ukončen.

Na Obr. 12 je znázorněn průběh kumulativní produkce CO₂ pro jednotlivé testované materiály, vždy jako průměr ze čtyř paralelních pokusů.

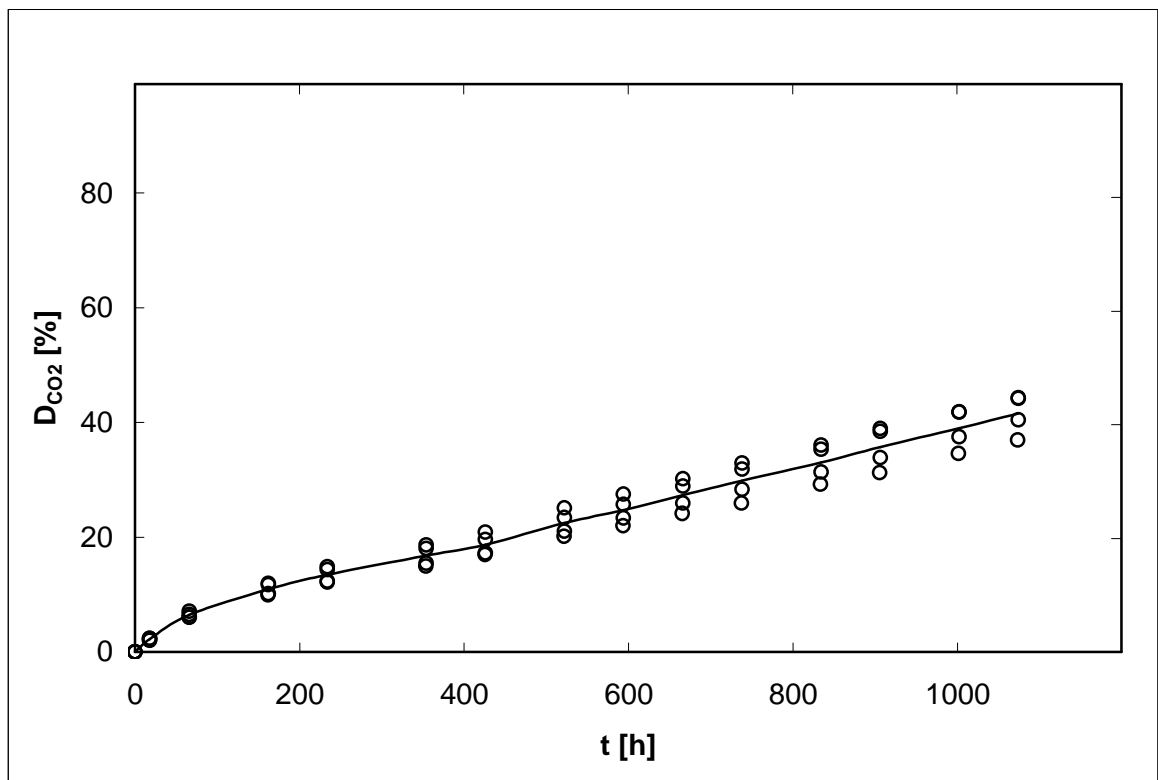


Obr. 12: Kumulativní produkce CO₂ série 1

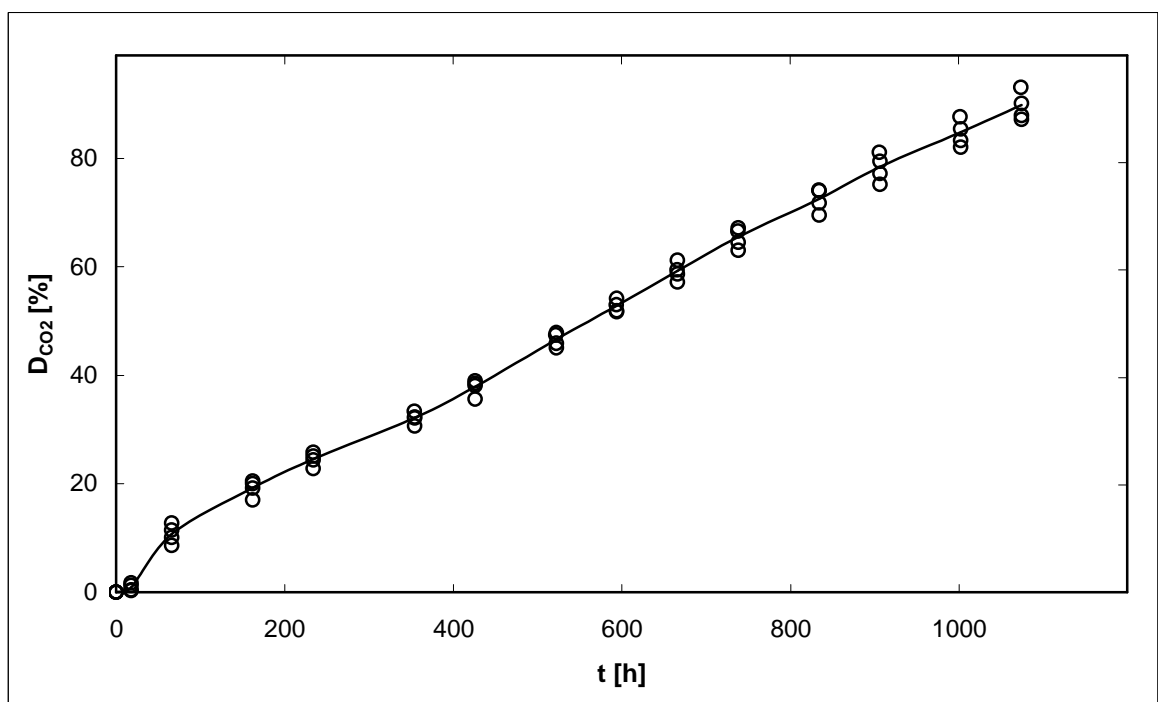
Z Obr. 5 je patrné, že produkce CO₂ u triacetinu byla nižší, než u slepého pokusu. To poukazuje na inhibici biodegradace. Vzhledem ke zjištěnému výraznému poklesu pH je pravděpodobné, že v reakční směsi působí toxicky kyselé produkty tepelného rozkladu triacetinu (kyselina octová + diacetin, monoacetin a glycerol)

Z kumulativní a teoretické produkce bylo podle vztahu /6.2/ odvozeno procentuální odstranění jednotlivých substrátů D_{CO_2} . Jejich průběhy pro čisté PHB, PCL a pro vzorky BK/77/210 a BK/77/211 jsou uvedeny na Obr. 13 – 16, vždy jako aritmetický průměr hodnot D_{CO_2} ze čtyř paralelních pokusů. Pro triacetin jsou tyto hodnoty < 0 , proto nebyl průběh jeho biodegradace graficky zpracován.

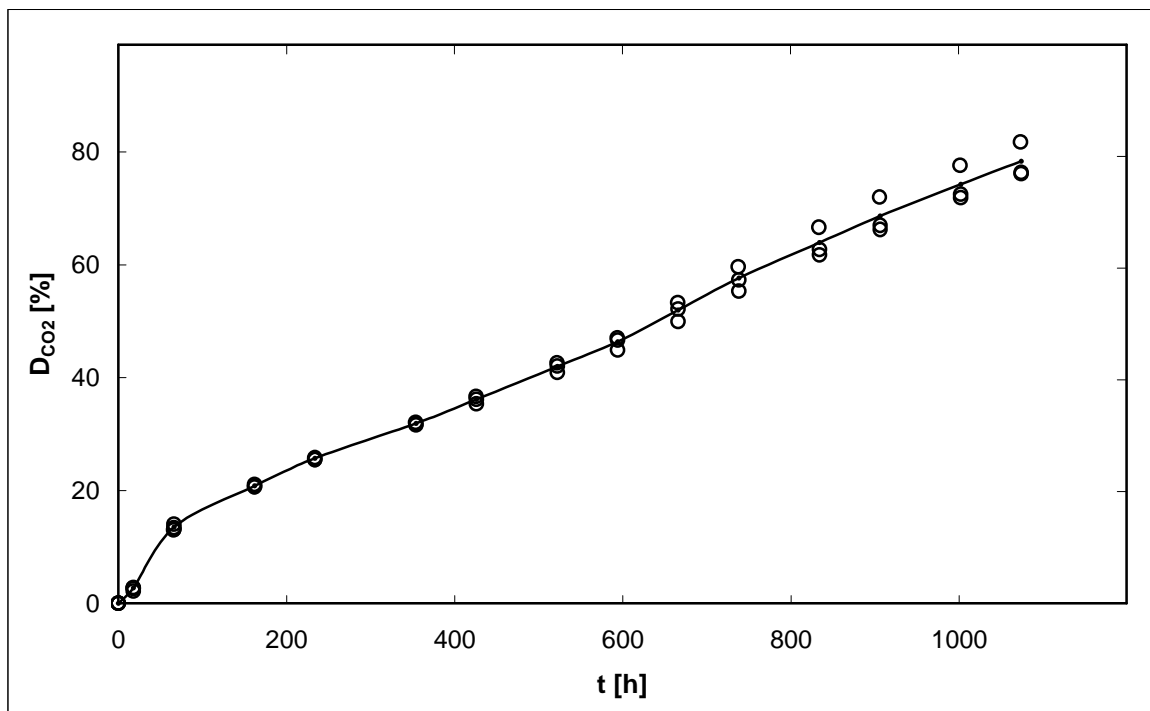
Jednotlivé zkoumané materiály dále charakterizuje hodnota $D_{CO_2,d}$, tedy celková míra biodegradace na konci pokusu. Tato je uvedena v Tab. XIII, opět pro všechny testované materiály kromě triacetinu.



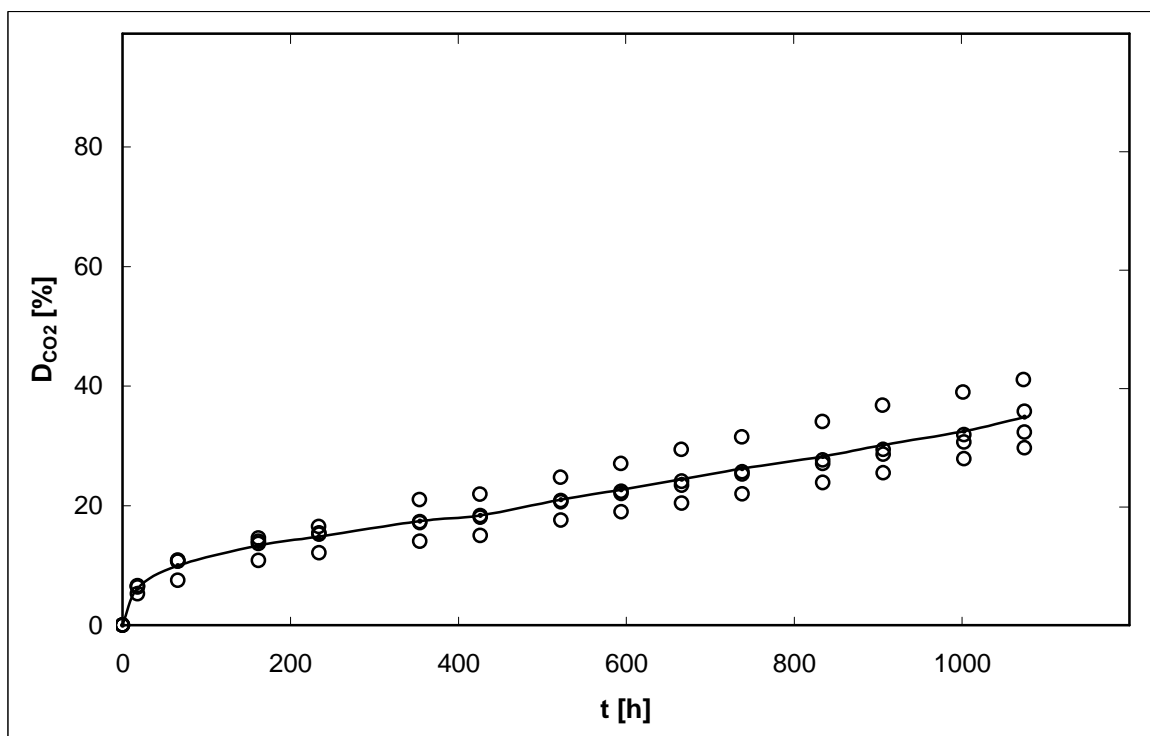
Obr. 13: Průběh D_{CO_2} pro PCL



Obr. 14: Průběh D_{CO_2} pro PHB



Obr. 15: Průběh D_{CO_2} pro BK/77/210



Obr. 16: Průběh D_{CO_2} pro BK/77/211

Tab. XIII: $D_{CO_2,d}$ testovaných materiálů

č.	Vzorek	$D_{CO_2,d}$ [%]	$\bar{D}_{CO_2,d}$ [%]
9	PCL	44,203	$41,57 \pm 3,37$
10	PCL	40,454	
11	PCL	37,292	
12	PCL	44,331	
13	PHB	94,008	$89,83 \pm 3,06$
14	PHB	90,169	
15	PHB	87,919	
16	PHB	87,211	
21	BK/77/210	76,349	$78,33 \pm 3,64$
22	BK/77/210	82,536	
23	BK/77/210	---	
24	BK/77/210	76,111	
25	BK/77/211	41,478	$34,80 \pm 5,11$
26	BK/77/211	35,79	
27	BK/77/211	29,659	
28	BK/77/211	32,273	

Biologický rozklad jednotlivých komponent testovaných směsí (Obr. 13 a 14) probíhal v korespondenci s fakty uváděnými v kapitole 3, tzn. rychleji a do větší míry u PHB než u PCL. Tomu odpovídaly i dosažené hodnoty $D_{CO_2,d}$ – pro PHB za 45 dní 89,8%, zatímco u PCL za tutéž dobu pouze 41,6 %.

To se odrazilo i na biodegradaci polymerních směsí, kdy vzorek BK/77/210 s vyšším obsahem PHB (26 hm. %) byl dle průběhu D_{CO_2} na obr. 8 degradován a následně utilizován mikroorganismy efektivněji, než vzorek BK/77/211. Tato polymerní směs s obsahem PHB 13 hmot. % svým časovým průběhem D_{CO_2} (Obr. 16) prakticky kopírovala průběh odstranění PCL. Na počátku křivky je však u BK/77/211 strmější nárůst, který je pravděpodobně způsobem přednostním rozkladem PHB ve směsi. Díky této disproporcii v rychlosti degradace jednotlivých složek se lze domnívat, že výpočet rychlostní konstanty pro celou směs by neměl příliš velkou výpovědní hodnotu.

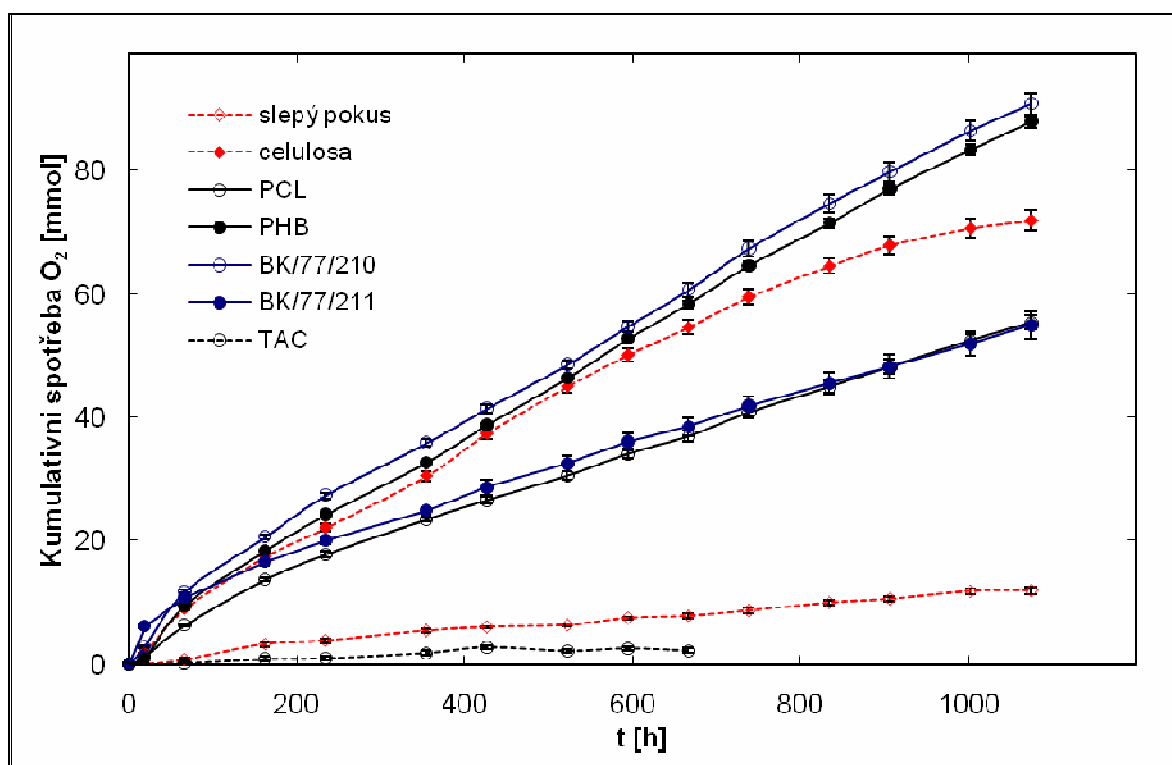
Z Tab. XIII je patrné, že o korelaci mezi biodegradabilitou čistých polymerních složek a jejich obsahem ve směsích vypovídají i hodnoty $D_{CO_2,d}$, kdy vzorek BK/77/210 dosáhl za 45 dní hodnoty 78,30 % a vzorek BK/77/211 za tutéž dobu pouze 34,8 %.

Dále je zřejmé, že i když směsi obsahovaly triacetin, nedošlo ke snížení pH ani k jinému projevu inhibice. S největší pravděpodobností je to díky jeho několikanásobně nižší koncentraci v porovnání s experimenty s čistým TAC.

8.3.2 Hodnocení podle spotřeby O_2

Z naměřených hodnot obsahu kyslíku v plynné fázi (resp. jeho úbytku) byla podle rovnic /8.2/ - /11.2/ vyjádřena míra biodegradace substrátu jako doplňkový parametr k biodegradaci zjišťované pomocí produkce CO_2 . Obsah O_2 rovněž sloužil ke kontrole udržování aerobních podmínek.

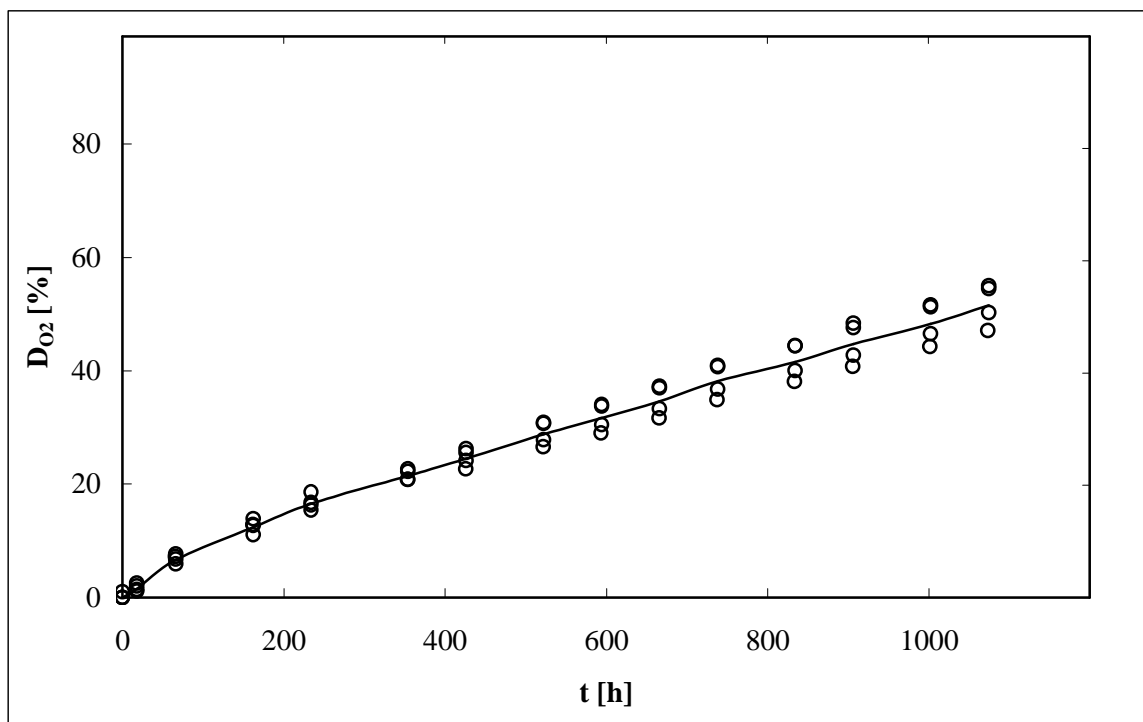
Na Obr. 17 je znázorněn průběh kumulativní spotřeby kyslíku pro slepý pokus, referenční materiál a testované materiály série 1. Hodnoty jsou aritmetickým průměrem ze čtyř souběžných stanovení.



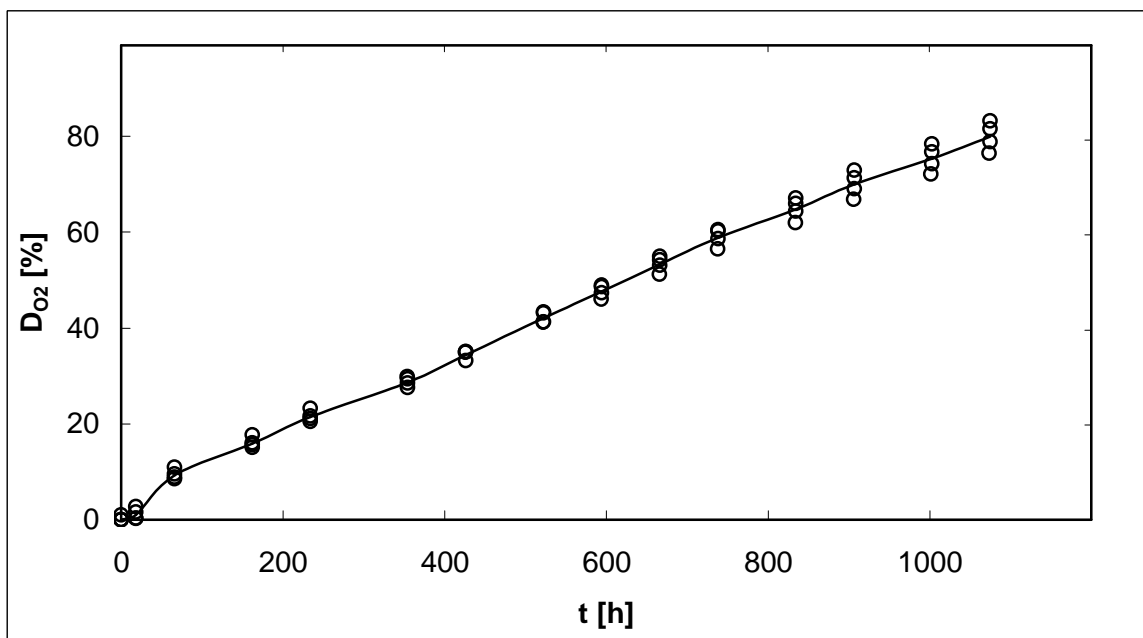
Obr. 17: Kumulativní spotřeba O_2 pro vzorky série 1

Stejně jako v případě kumulativní produkce CO_2 byly hodnoty spotřeby O_2 pro TAC nižší, než pro hodnoty slepého pokusu. Celková míra jeho procentuálního odstranění byla tedy opět < 0 , proto ani v této části není graficky zpracován průběh jeho biodegradace. Pro ostatní testované materiály série 1 je procentuální odstranění zjišťované pomocí spotřeby

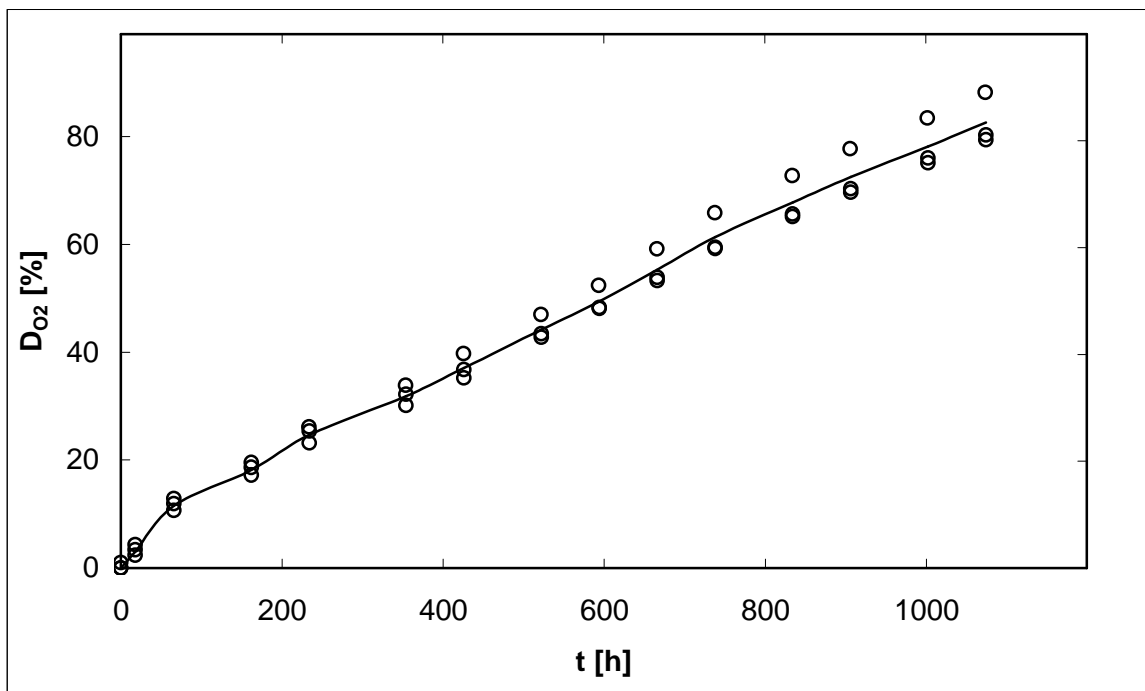
kyslíku (D_{O_2}) uvedeno na Obr. 18 – 21. Hodnoty procentuálního odstranění substrátů na konci experimentu ($D_{O_2,d}$) pak shrnuje Tab. XIV.



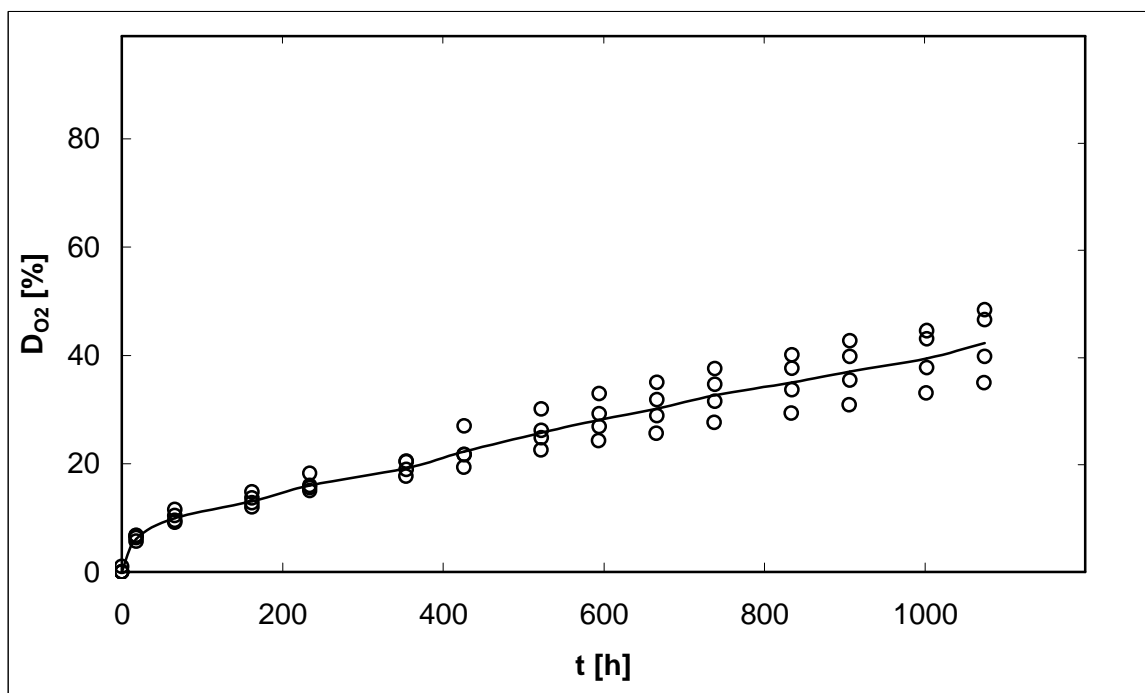
Obr. 18: Průběh D_{O_2} pro PCL



Obr. 19: Průběh D_{O_2} pro PHB



Obr. 20: Průběh D_{O_2} pro BK/77/210



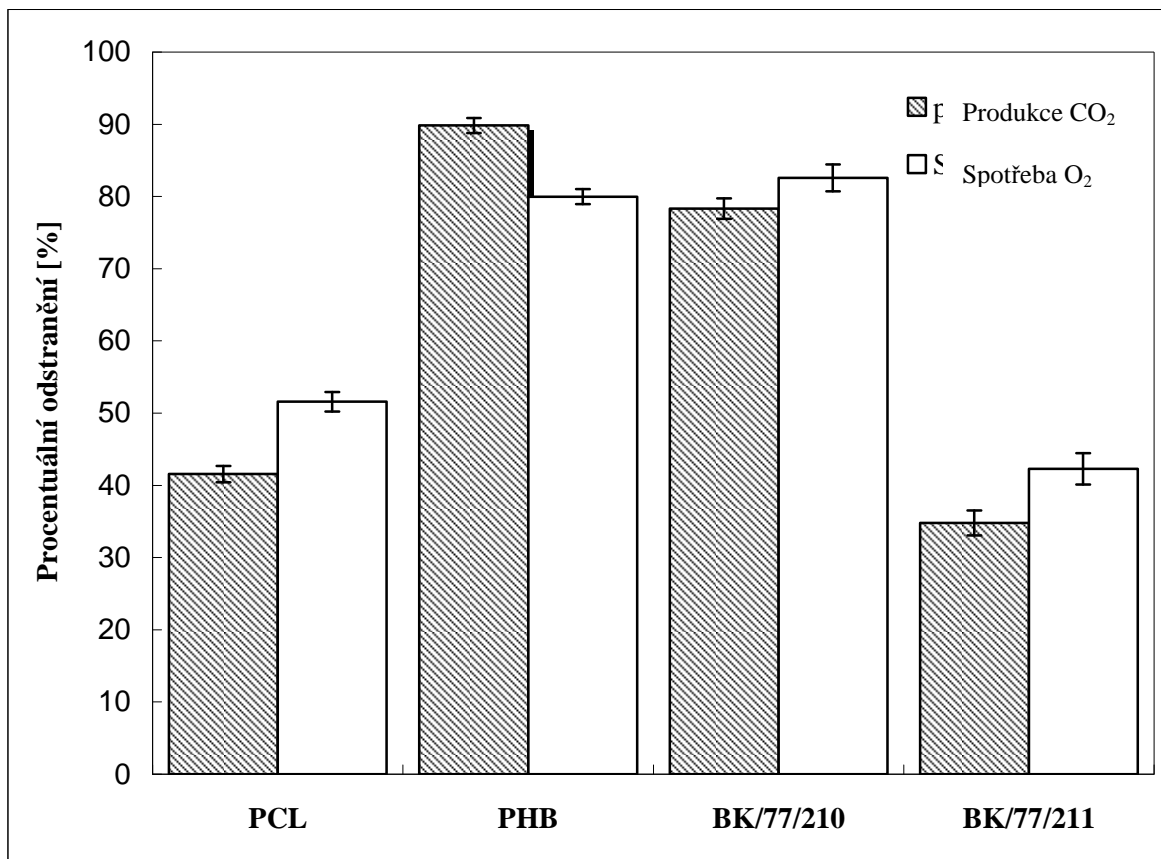
Obr. 21: Průběh D_{O_2} pro BK/77/211

Tab. XIV: $D_{O_2,d}$ substrátů série 1

č.	Vzorek	$D_{O_2,d}$ [%]	$\bar{D}_{O_2,d}$ [%]
9	PCL	56,52	$53,49 \pm 4,11$
10	PCL	52,09	
11	PCL	48,30	
12	PCL	57,04	
13	PHB	83,21	$79,98 \pm 3,07$
14	PHB	81,57	
15	PHB	78,9	
16	PHB	76,23	
21	BK/77/210	79,36	$82,58 \pm 4,80$
22	BK/77/210	88,1	
23	BK/77/210	---	
24	BK/77/210	80,29	
25	BK/77/211	46,57	$42,29 \pm 6,45$
26	BK/77/211	48,39	
27	BK/77/211	34,34	
28	BK/77/211	39,84	

Z grafů na Obr. 18 – 21 je patrné, že průběh biodegradace stanovené jedním a druhým způsobem se pro dané testované substráty téměř neliší. Malé rozdíly jsou i v maximálním procentuálním odstranění (viz Tab. XIV), opět lze tedy konstatovat, že PHB lépe podléhá biologickému rozkladu (80 % po 45 dnech) než PCL (53 % po 45 dnech) a že vzorek BK/77/210 s vyšším podílem PHB se v prostředí kompostu rozkládá lépe, než vzorek BK/77/211 (83 resp. 42 % za 45 dnů).

Srovnání hodnot dosažené míry biodegradace zjištěné pomocí obou metod je na Obr. 22. Tyto se od sebe lišily v průměru o 13 %, přičemž kromě pokusu s PHB byla vždy vyšší míra degradace zjištěná pomocí spotřeby O_2 než pomocí produkce CO_2 .



Obr. 22: Procentuální odstranění podle produkce CO₂ a úbytku O₂

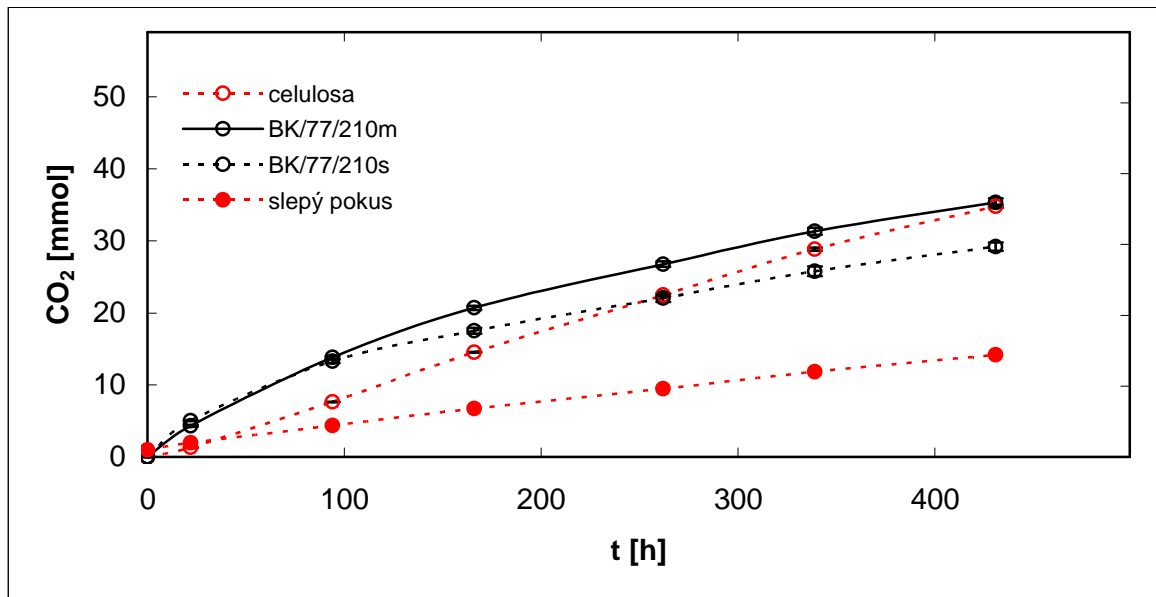
8.4 Vyhodnocení testu série 2

V době uzavření diplomové práce nebyl ještě tento pokus ukončen. K dispozici jsou proto pouze hodnoty kumulativní produkce CO₂ a kumulativní spotřeby O₂ do doby $t = 431$ h. Z tohoto důvodu zde nejsou uváděny výsledky koncových analýz reakčních směsí ani hodnoty DCO_{2,d} a DO_{2,d}.

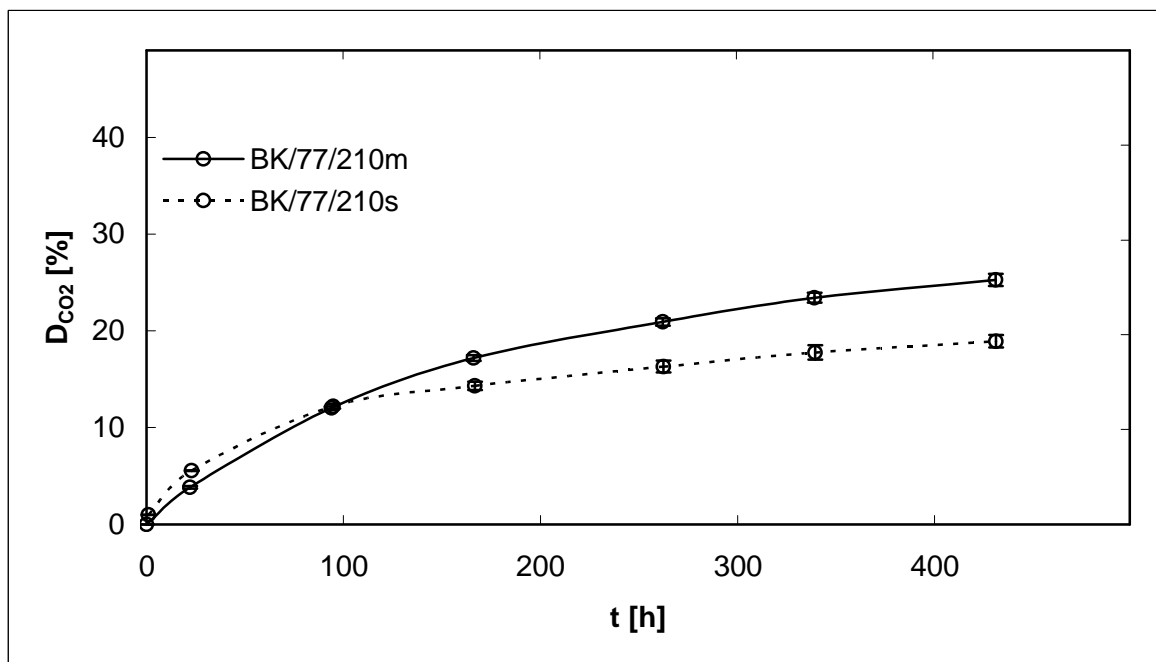
Před vlastním pokusem byly zjišťovány charakteristiky reakčních směsí – obsah anorganického uhlíku ve výluhu $IC = 4,216 \text{ mg.l}^{-1}$; objem plynné fáze $V_g = 1048 \text{ ml}$. Počáteční pH výluhu bylo 7,479 a sušina reakční směsi 51,40 %.

8.4.1 Hodnocení podle produkce CO₂

Vyhodnocování průběhu biologického rozkladu probíhalo analogicky jako v předchozích sériích. Na Obr. 23 je znázorněna kumulativní produkce CO₂ pro testované vzorky, referenční materiál a slepý pokus jako aritmetický průměr výsledků ze tří paralelních pokusů. Stejnou metodou byl zpracován i průběh procentuálního odstranění substrátu pro vzorky BK/77/210s a BK/77/210m (Obr. 24).



Obr. 23: Kumulativní produkce CO₂ vzorků série 2

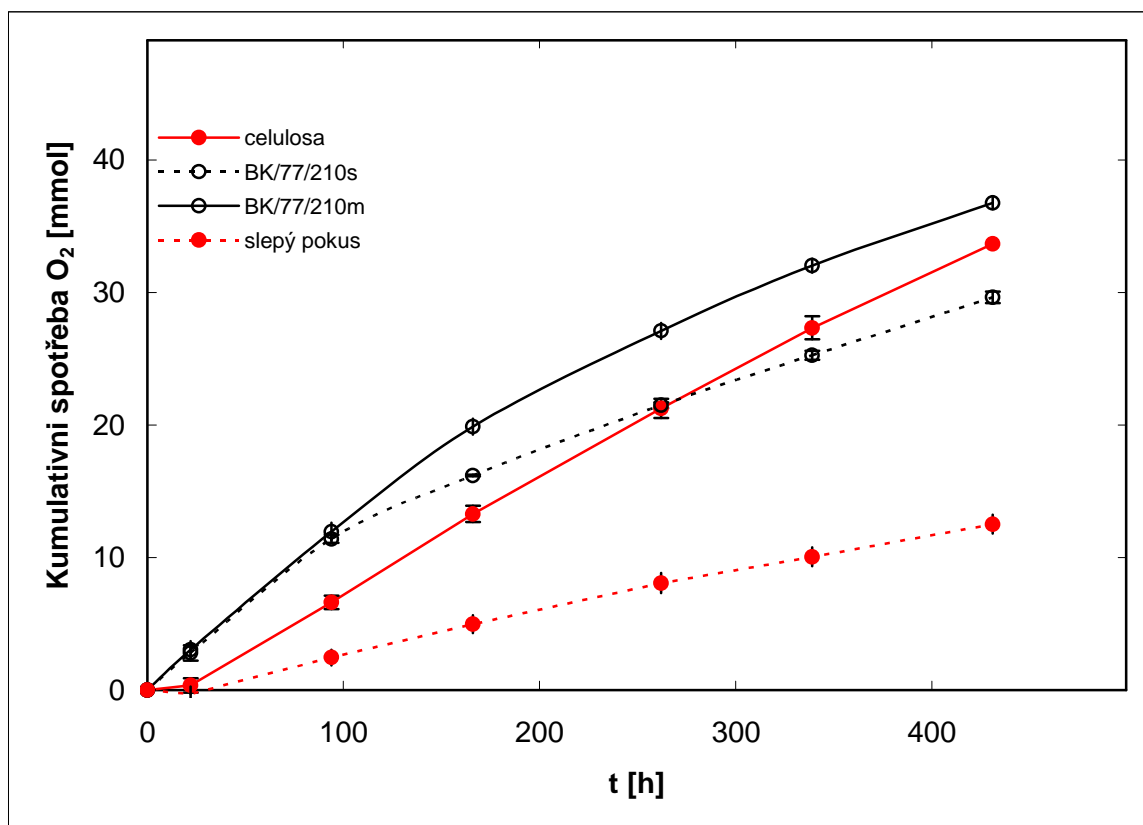


Obr. 24: Procentuální odstranění vzorků BK/77/210m a BK/77/210s

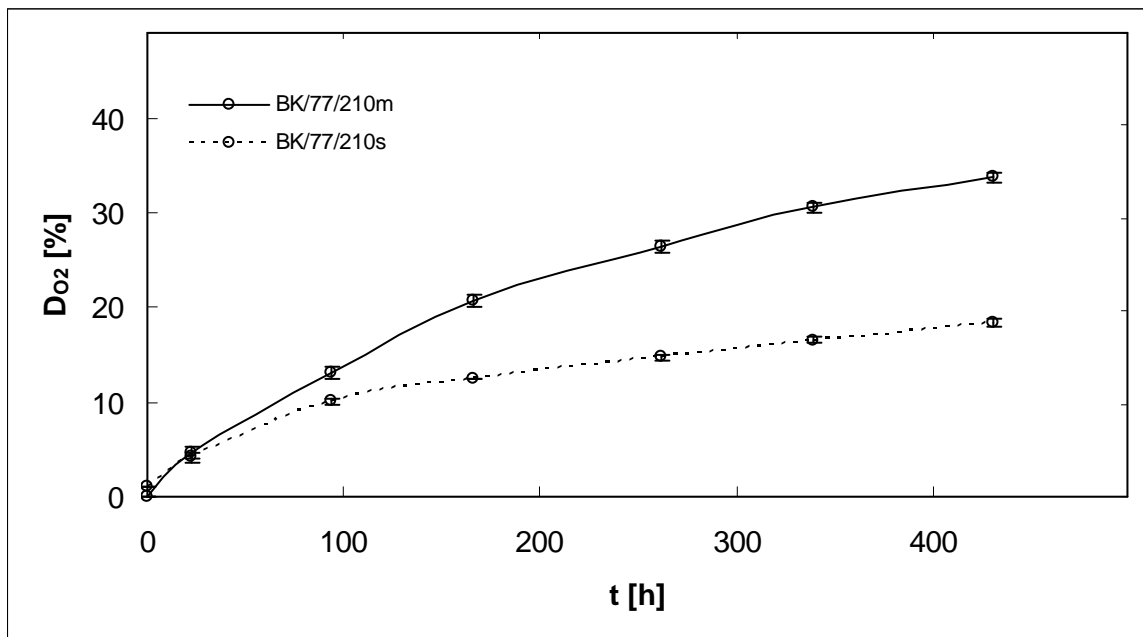
Z Obr. 23 a 24 je zřejmé, že po 18 dnech (431 hodin) se polymerní směs upravovaná při laboratorní teplotě rozložila méně (míra odstranění 18,31%) než stejná směs kryogenně pomletá (míra odstranění 25,57 %). Rozdíl pro dosažené D_{CO_2} byl 27,54 %. Celkové vyhodnocení testu a případná kvalifikace morfologických rozdílů polymerních směsí s různou předúpravou a jejich vliv na míru biodegradace nejsou z časových důvodů zahrnuti v diplomové práci.

8.4.2 Hodnocení podle spotřeby O₂

Pro vyjádření kumulativní spotřeby kyslíku pro jednotlivé vzorky, referenční materiál a slepý pokus (Obr. 25) byl použit aritmetický průměr tří souběžných stanovení. Takto byly zpracovány i hodnoty odstranění substrátu D_{O₂} (Obr. 26).



Obr. 25: Kumulativní spotřeba kyslíku vzorků série 2



Obr. 26: Procentuální odstranění vzorků BK/77/210m a BK/77/210s

Průběh biodegradace podle spotřeby kyslíku korespondoval s vyhodnocením podle produkce oxidu uhličitého. Vzorek BK/77/210m dosáhl po 18 dnech procentuálního odstranění 33,74 %, vzorek BK/77/210s za tutéž dobu 17,85 %. Rozdíl v dosažených $DO_{2,d}$ byl 47,10 %.

8.5 Vyhodnocení testu série 3

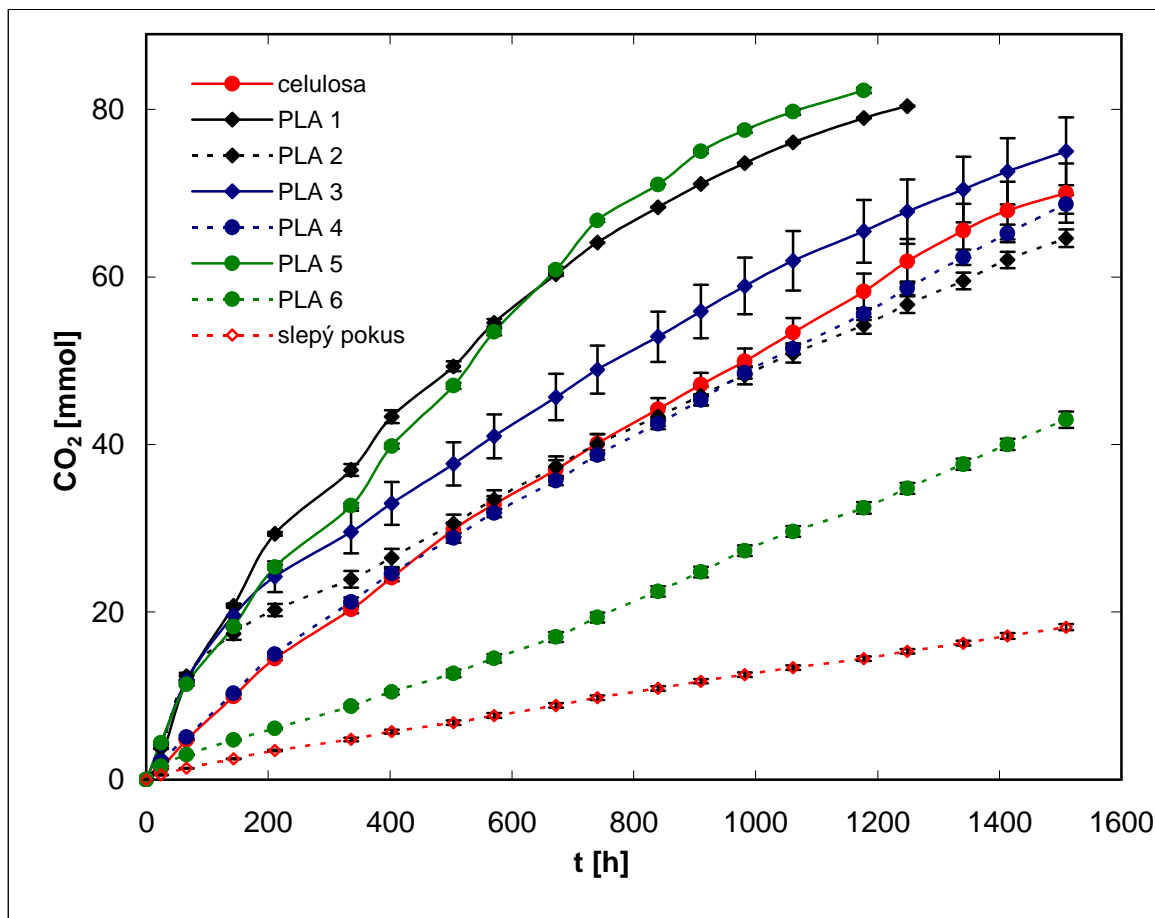
Před vlastním pokusem a po jeho skončení byly stejně jako v sériích 1 a 2 zjišťovány vybrané fyzikální a chemické charakteristiky reakčních směsí. Obsah celkového anorganického uhlíku ve výluhu $IC = 2,821 \text{ mg.l}^{-1}$; objem plynné fáze $V_g = 1050 \text{ ml}$. Počáteční a koncové hodnoty pH výluhu a sušiny směsi a koncové hodnoty IC ve výluhu jsou uvedeny v Tab. XV. Obsah vody i pH byly během pokusu v mezích, stanovených normou ČSN EN 14 855.

Tab. XV: pH, TC a sušina reakční směsi série 3

No.	látka	pH _{start}	pH _{kon.}	sušina _{start}	sušina _{kon.}	IC _{start}	IC _{kon.}
		[-]	[-]	[%]	[%]	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹]
1	slepý pokus	7,302	7,09	48,76	45,7	2,821	2,842
2	slepý pokus		7,15		45,0		2,870
3	slepý pokus		7,15		45,6		2,652
4	celulosa Penta	7,302	7,37	48,76	45,8	2,821	4,386
5	celulosa Penta		7,31		44,6		7,992
6	celulosa Penta		7,24		43,1		3,870
7	PLA 1	7,302	7,40	48,76	47,8	2,821	4,038
8	PLA 1		7,33		47,5		4,016
9	PLA 1		7,58		46,1		5,044
10	PLA 2	7,302	7,20	48,76	45,3	2,821	4,446
11	PLA 2		7,10		44,6		3,746
12	PLA 2		7,21		48,0		4,332
13	PLA 3	7,302	7,04	48,76	46,7	2,821	3,430
14	PLA 3		7,13		45,4		3,550
15	PLA 3		7,20		46,8		3,364
16	PLA 4	7,302	7,27	48,76	49,9	2,821	4,300
17	PLA 4		7,26		52,5		5,136
18	PLA 4		7,53		53,0		6,844
19	PLA 5	7,302	7,69	48,76	51,9	2,821	7,941
20	PLA 5		7,58		50,1		6,924
21	PLA 5		7,61		48,4		8,487
22	PLA 6	7,302	7,41	48,76	52,5	2,821	5,004
23	PLA 6		7,35		56,3		6,812
24	PLA 6		7,34		55,3		5,676

8.5.1 Hodnocení podle produkce CO₂

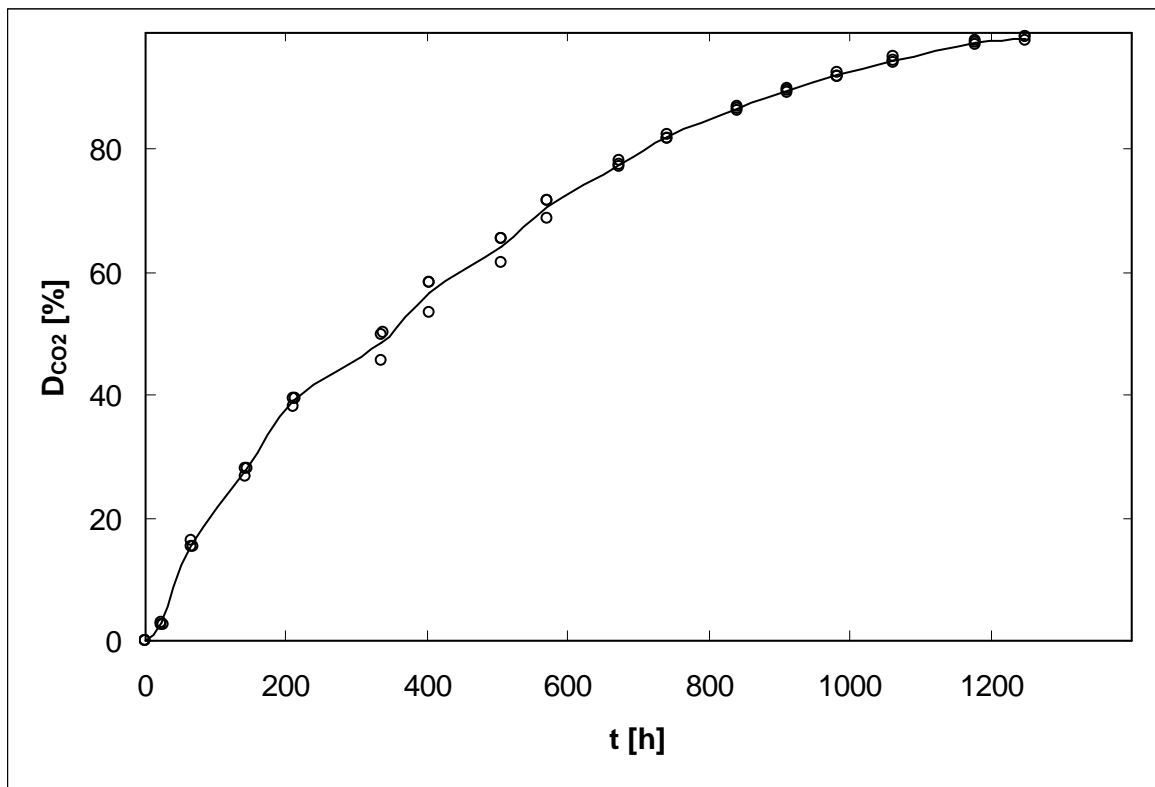
Test probíhal po dobu 63 dnů (1509 hodin), pro láhve č. 19 – 21 (PLA5) byl ale ukončen po 49 dnech (1177 hodin) a pro láhve č. 7 – 9 (PLA1) po 52 dnech (1249 hodin). Na Obr. 27 je zobrazen průběh kumulativní produkce CO₂ pro jednotlivé testované materiály včetně slepého vzorku a referenčního materiálu – vždy jako aritmetický průměr tří souběžných pokusů. U PLA 3 (Obr. 30) byly zprůměrovány pouze hodnoty z pozic č. 13 a 14, u pozice č. 15 došlo pravděpodobně k úniku vyprodukovaného CO₂ netěsností v uzávěru testovací lahve.



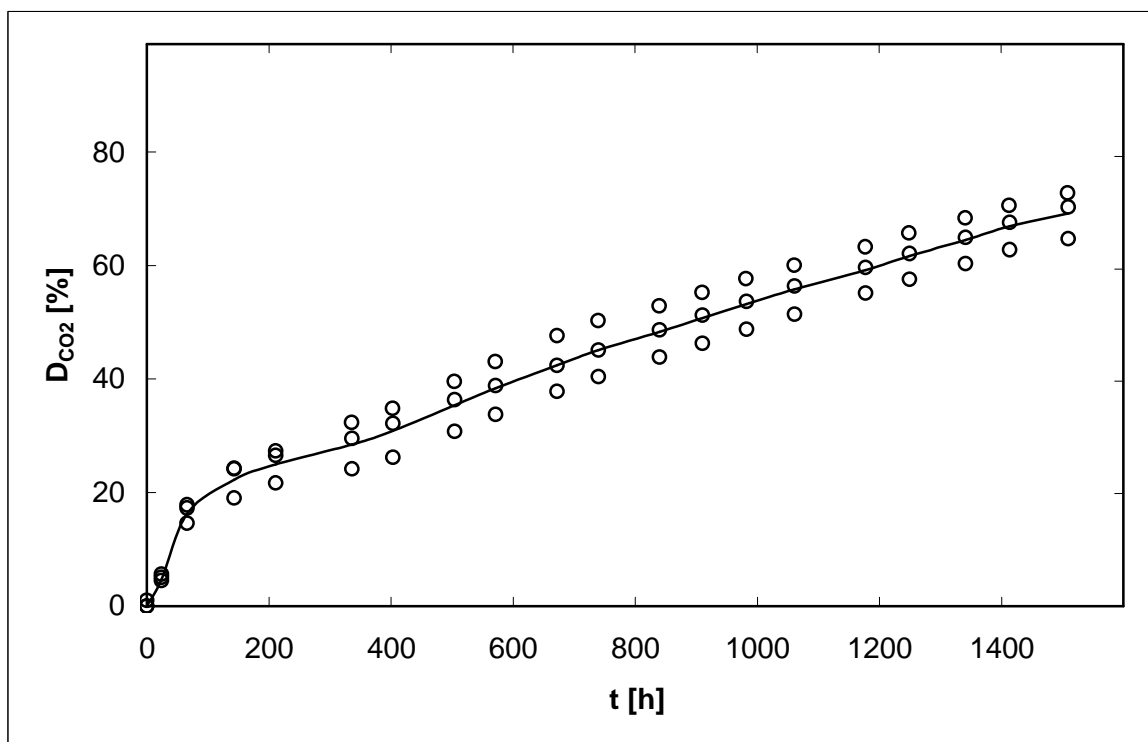
Obr. 27: Kumulativní produkce CO₂ vzorků série 3

Z hodnot kumulativní produkce bylo vyjádřeno procentuální odstranění substrátu – hodnoty D_{CO_2} . Jejich průběh pro jednotlivé vzorky je na obr. 28 – 33. Opět se jedná o aritmetický průměr hodnot tří souběžných pokusů.

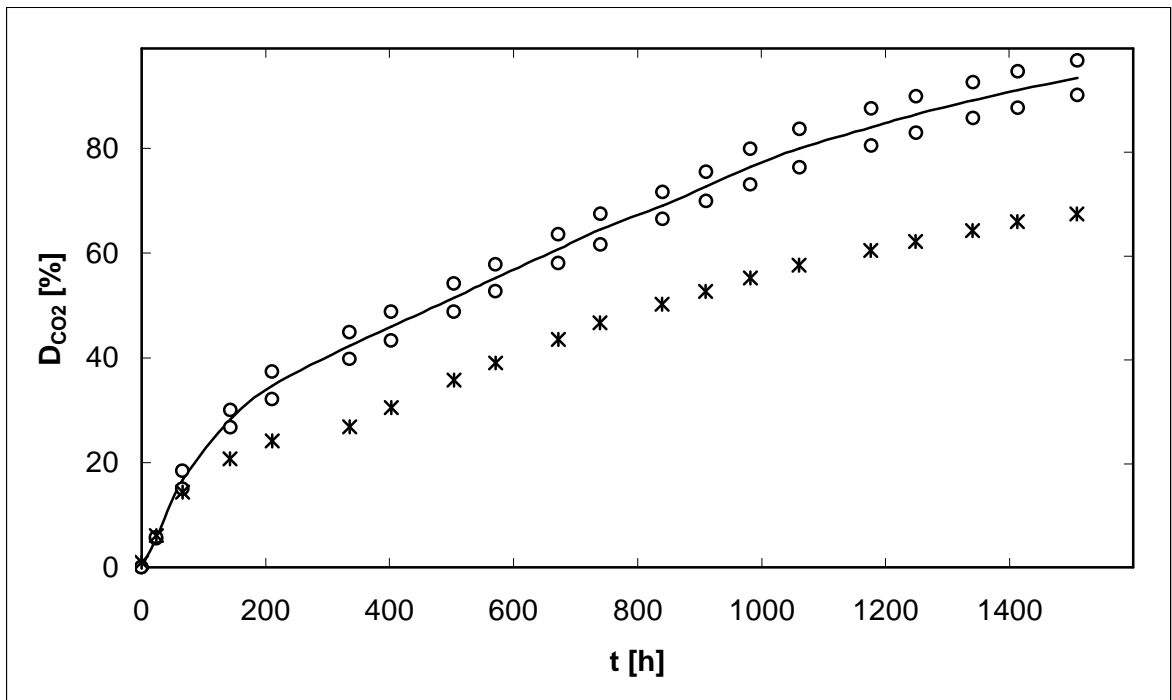
Celková míra biodegradace zkoumaných vzorků na bázi PLA byla vyjádřena hodnotou $D_{CO_2,d}$. Tyto hodnoty jsou shrnuty v Tab. XVI.



Obr. 28: Průběh D_{CO_2} pro PLA 1

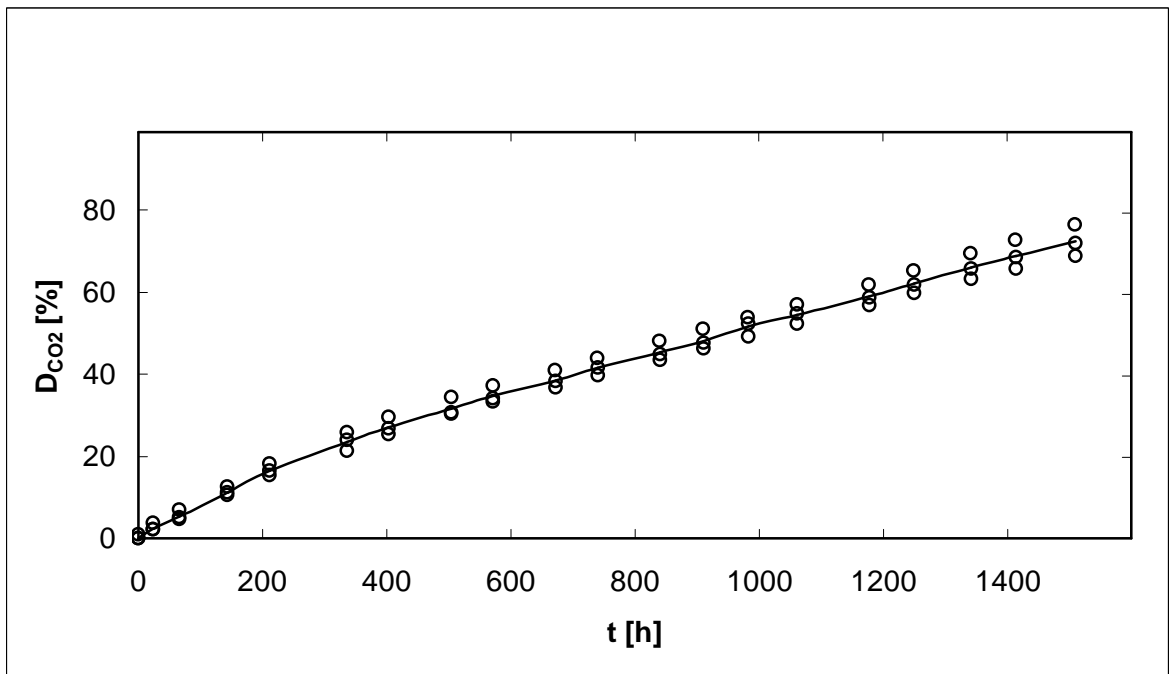


Obr. 29: Průběh D_{CO_2} pro PLA 2

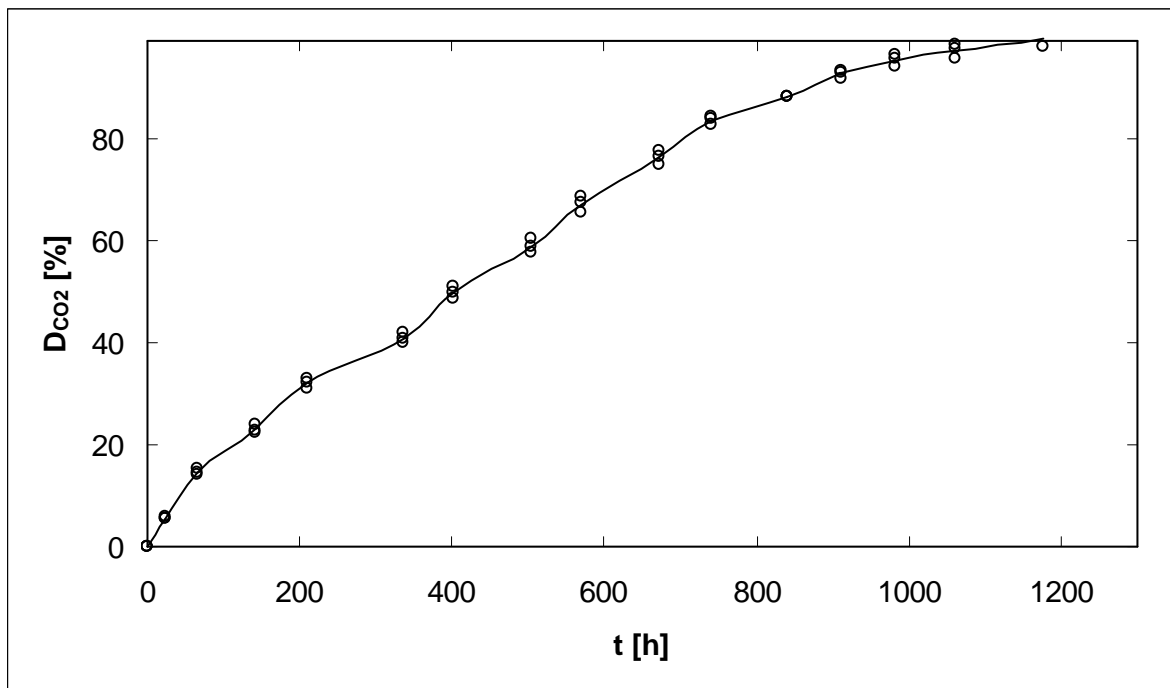


Obr. 30: Průběh D_{CO_2} pro PLA 3

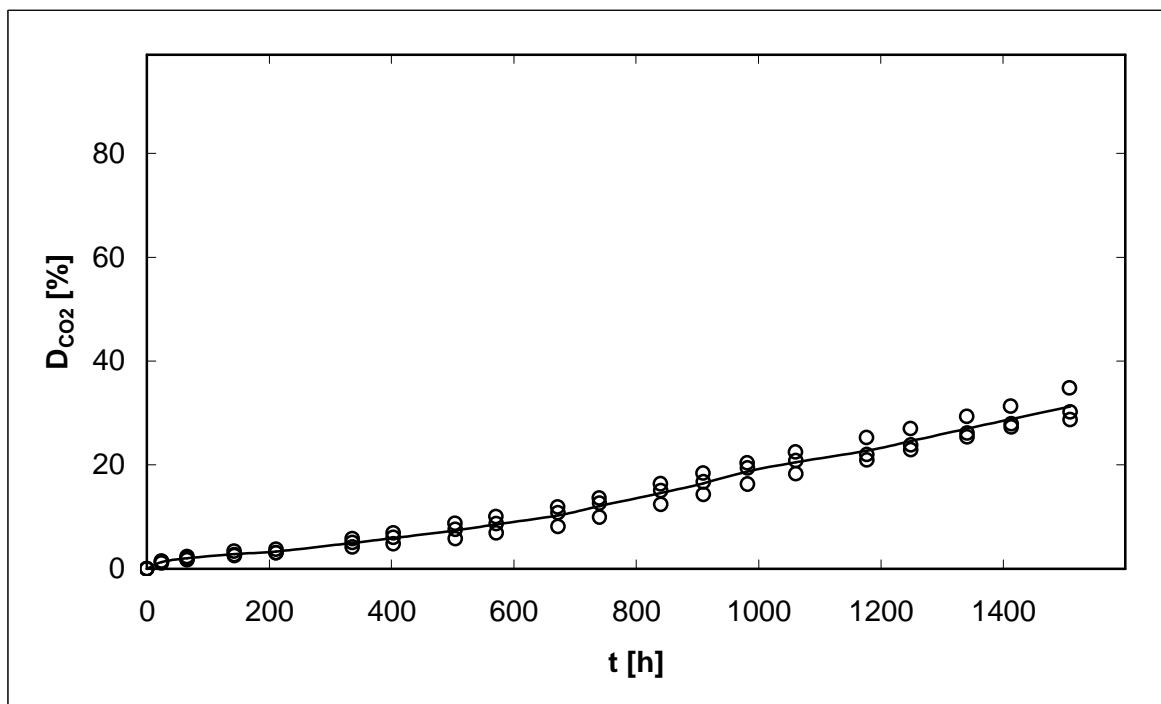
Pozn.: x – vyloučené hodnoty



Obr. 31: Průběh D_{CO_2} pro PLA 4



Obr. 32: Průběh D_{CO_2} pro PLA 5



Obr. 33: Průběh D_{CO_2} pro PLA 6

Tab. XVI: $D_{CO_2,d}$ vzorků série 3

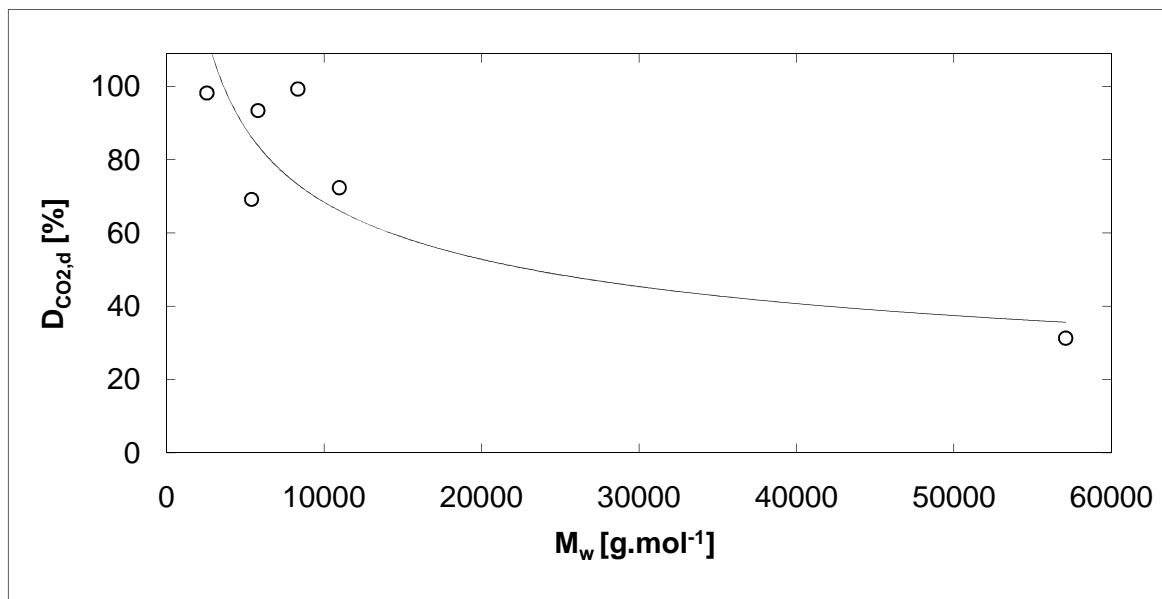
č.	Vzorek	$D_{CO_2,d}$ [%]	$\bar{D}_{CO_2,d}$ [%]
7	PLA 1	97,77	98,17 ± 0,36
8	PLA 1	98,28	
9	PLA 1	98,47	
10	PLA 2	72,49	69,14 ± 4,03
11	PLA 2	64,67	
12	PLA 2	70,25	
13	PLA 3	90,07	93,37 ± 4,67
14	PLA 3	96,68	
15	PLA 3	67,14*	
16	PLA 4	71,92	72,31 ± 3,73
17	PLA 4	68,80	
18	PLA 4	76,22	
19	PLA 5	100,23	99,27 ± 0,97
20	PLA 5	97,93	
21	PLA 5	99,64	
22	PLA 6	34,81	31,22 ± 3,20
23	PLA 6	30,18	
24	PLA 6	28,67	

* odlehlá hodnota

Kyselina polymléčná je známa jako biodegradabilní i kompostovatelný materiál, což se potvrdilo i v testech série 3. Produkce CO_2 byla u všech vzorků vyšší, než u slepého pokusu. Vzorky PLA1 a PLA5 vykazovaly téměř kompletní mineralizaci (98 % za 53 dnů, resp. 99 % za 49 dnů).

Z grafického průběhu biodegradace na Obr. 28 – 33 je patrný rozdíl mezi vzorky ve formě prášku (PLA1 – PLA5), které mají vesměs strmý nárůst křivky kumulativní produkce CO_2 a procentuálního odstranění, a vzorkem ve formě granulí (PLA6). Zde začala významnější produkce oxidu uhličitého až přibližně po 500 hodinách. Po tuto dobu probíhala převážně vnější hydrolyza substrátu, při které hraje zásadní roli velikost jeho povrchu.

K nízké míře biodegradace PLA6 přispívá kromě pomalé počáteční hydrolyzy dané formou vzorku i jeho vysoká (ve srovnání s ostatními vzorky série) molární hmotnost. Význam tohoto faktoru ilustruje závislost zjištěného limitního procentuálního odstranění jednotlivých substrátů na jejich molární hmotnosti M_w (Obr. 34)



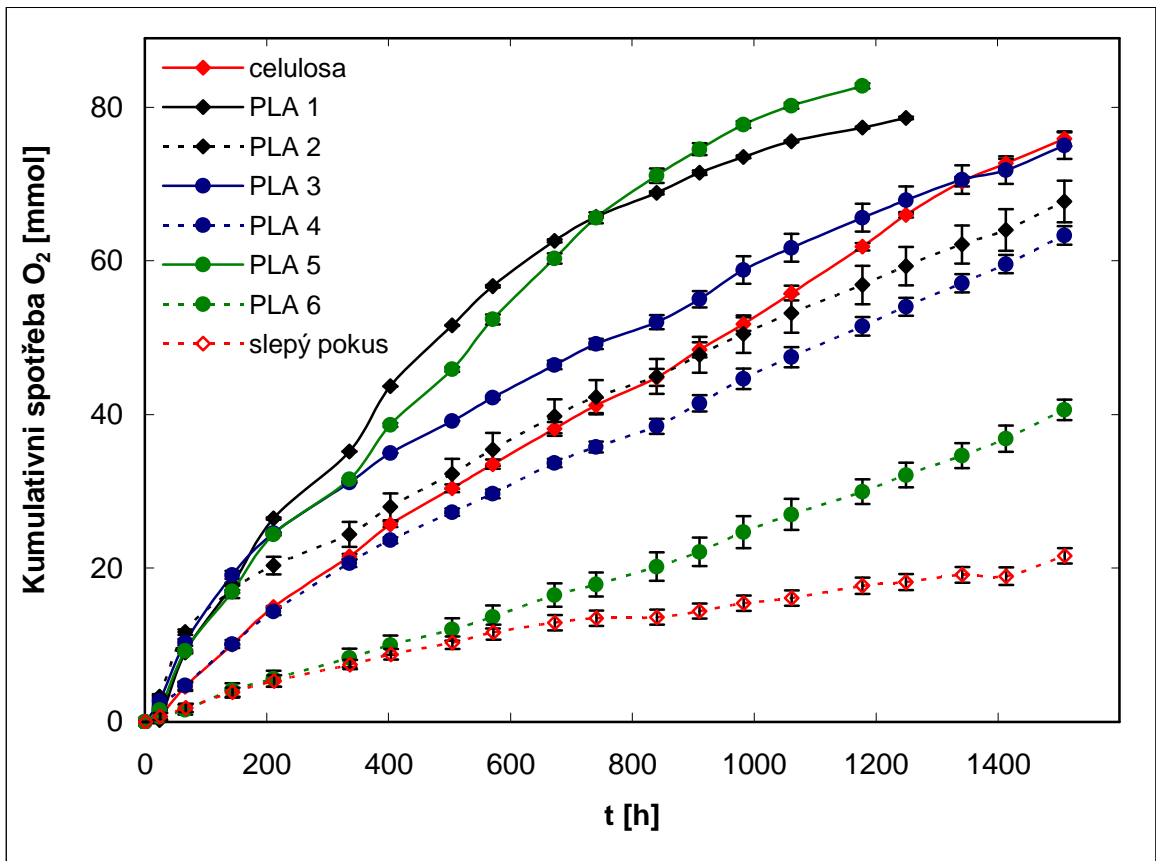
Obr. 34: Závislost procentuálního odstranění substrátu na jeho molekulové hmotnosti

Z tohoto hlediska se zjištěná hodnota dosažené biodegradace vzorku PLA2 (69 % za 63 dnů) jeví jako poněkud excesivní. Naopak podle očekávání se z vzorků PLA1 – PLA5 (při vyloučení PLA2) nejhůře rozkládal PLA4 (72 % za 63 dnů). Průběh jeho procentuálního odstranění měl oproti ostatním vzorkům téměř lineární charakter, jeho počáteční hydrolyza tedy probíhala postupně a relativně pomalu.

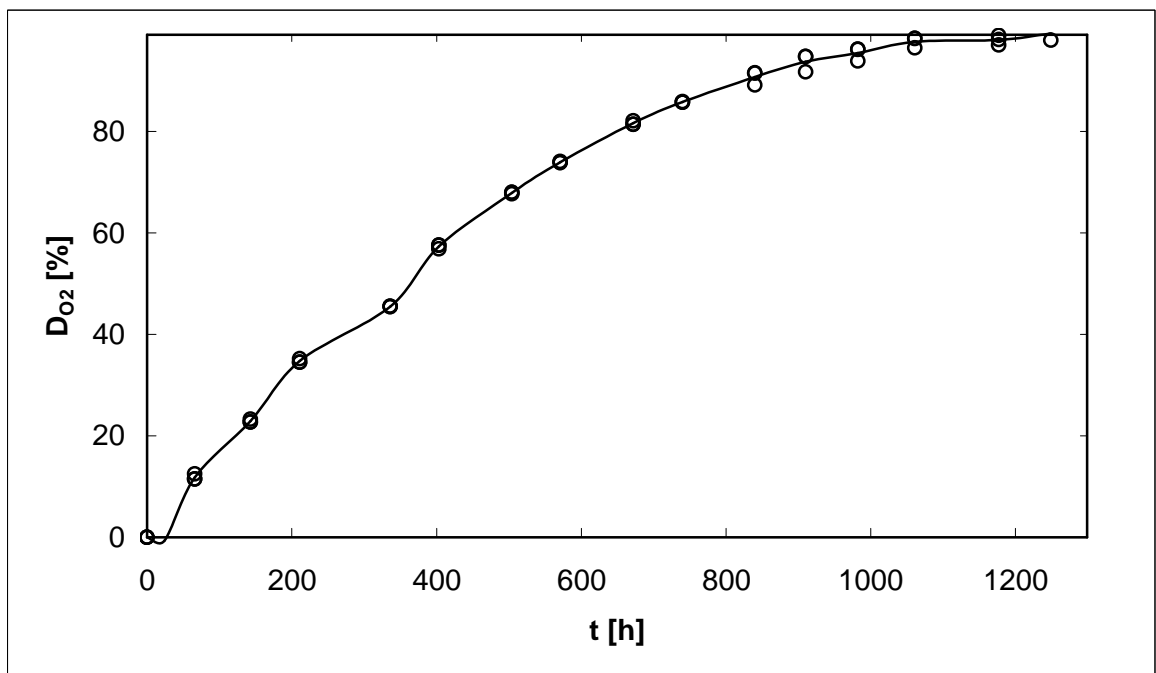
8.5.2 Hodnocení podle spotřeby O_2

Biologické odstranění testovaného substrátu bylo stanoveno i na základě spotřeby kyslíku v reakčních lahvích. Na Obr. 35 je znázorněna kumulativní spotřeba O_2 pro testované vzorky série 3 včetně slepého pokusu a referenčního materiálu, vždy jako aritmetický průměr tří paralelních stanovení. Pro PLA3 byly opět brány v potaz pouze hodnoty z pozic 13 a 14. Z kumulativní spotřeby byl následně odvozen procentuální úbytek substrátu a stejně jako v předešlé sérii byly tyto hodnoty zpracovány graficky – viz Obr. 36 – 41.

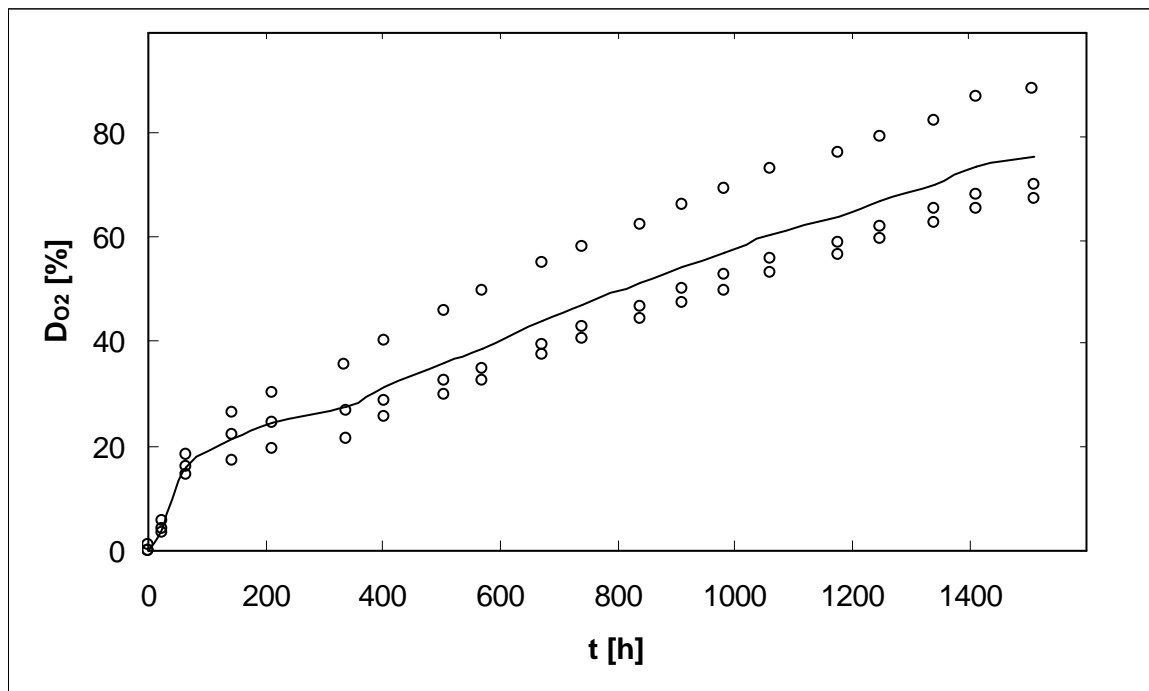
V tab. XVII je dále shrnuto hodnocení vzorků z hlediska maximální dosažené míry odstranění $D_{O_2,d}$.



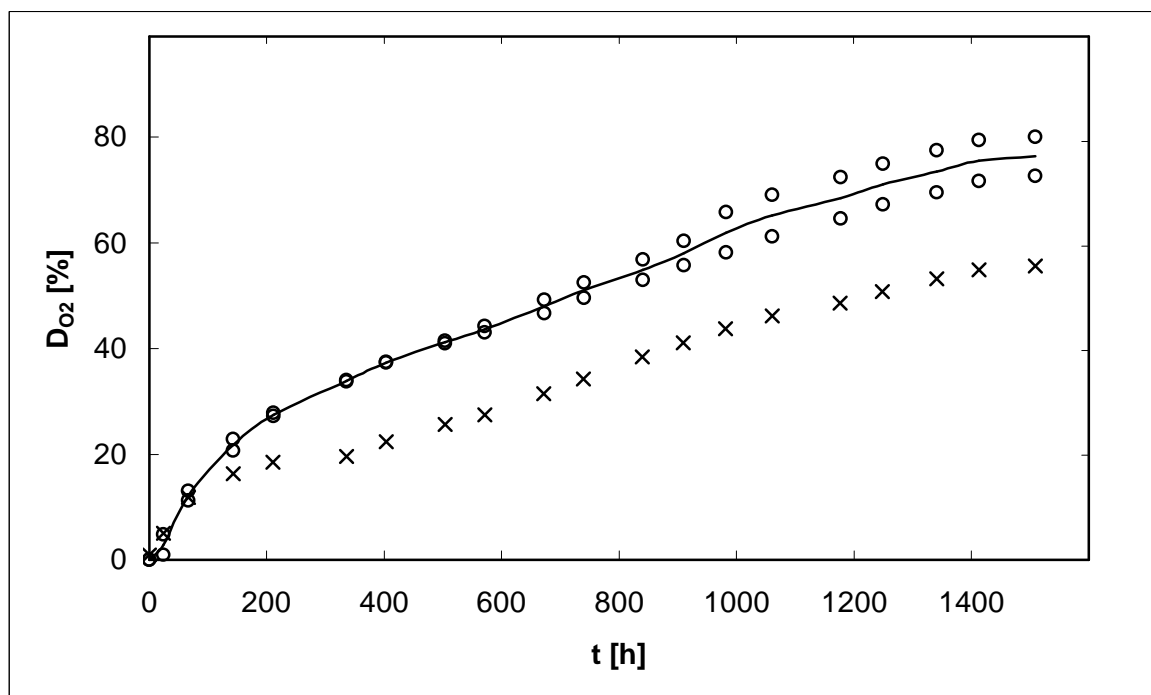
Obr. 35: Kumulativní spotřeba kyslíku vzorků série 3



Obr. 36: Průběh D_{O₂} pro PLA 1

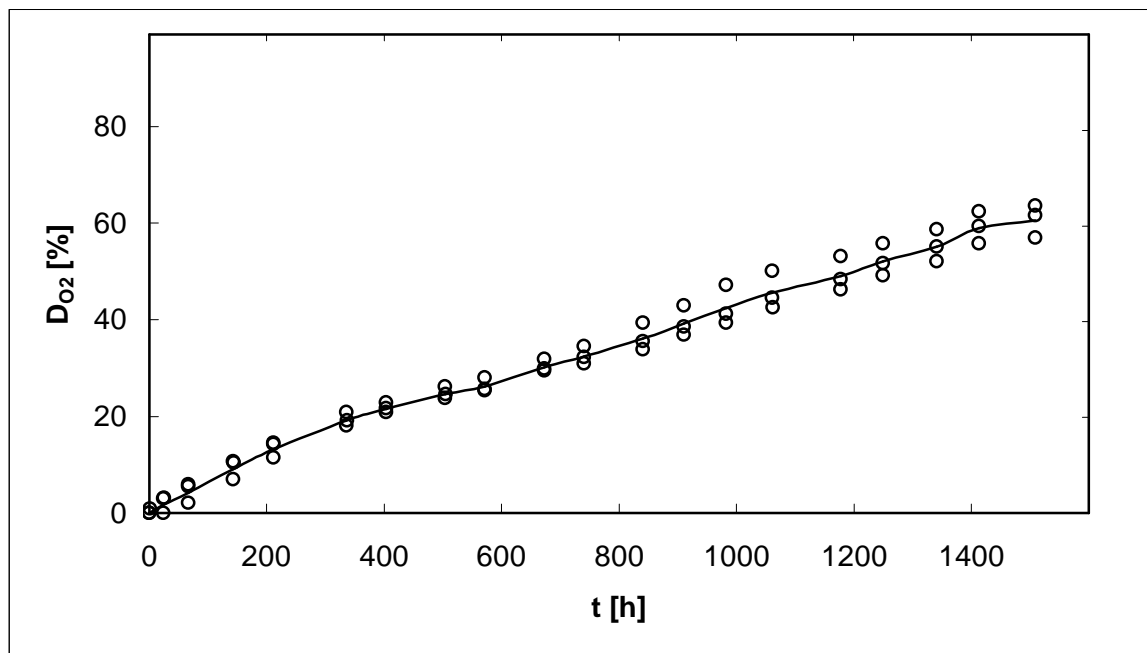


Obr. 37: Průběh D_{O_2} pro PLA 2

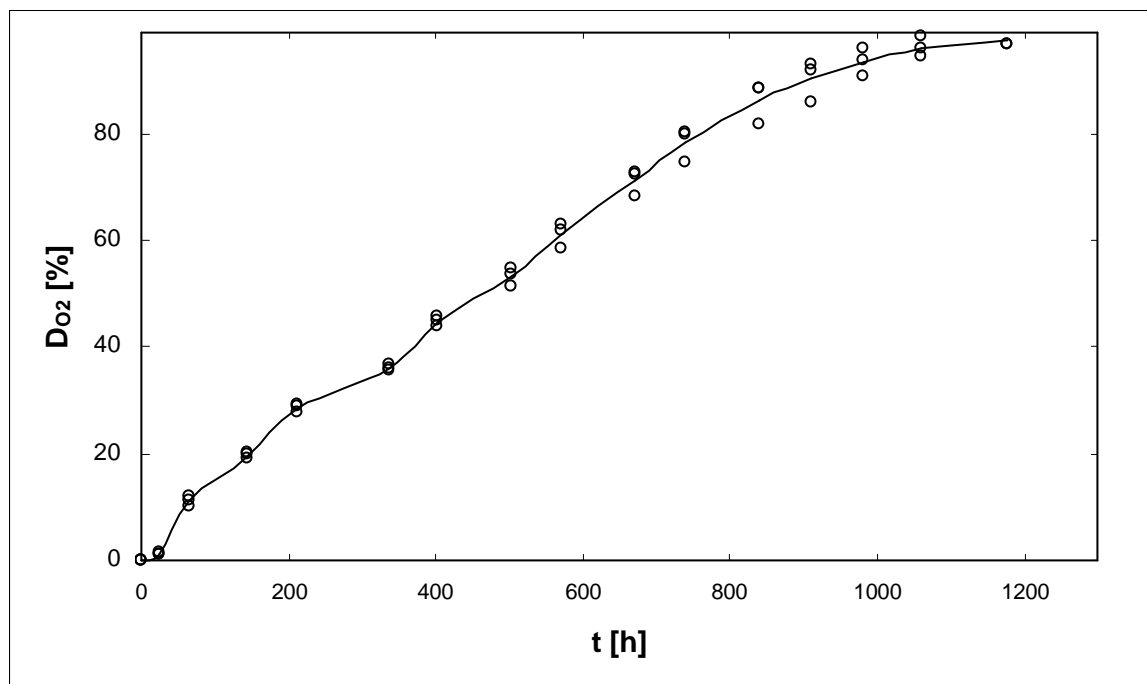


Obr. 38: Průběh D_{O_2} pro PLA 3

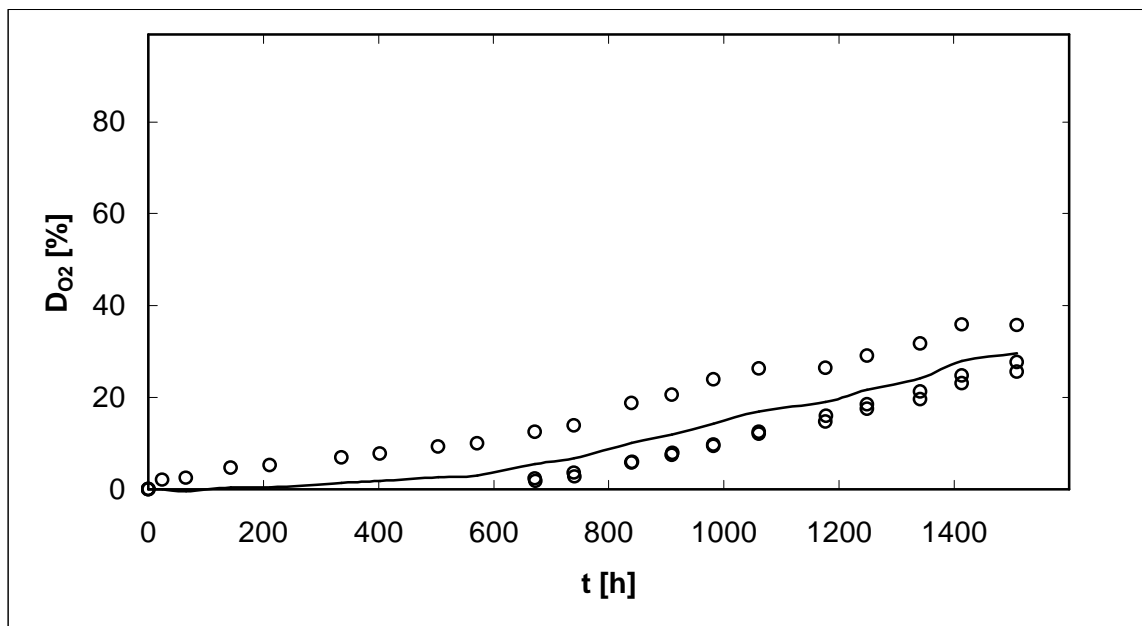
Pozn.: x – vyloučené hodnoty



Obr. 39: Průběh D_{O_2} pro PLA 4



Obr. 40: Průběh D_{O_2} pro PLA 5

Obr. 41: Průběh D_{O_2} pro PLA 6Tab. XVII: $D_{O_2,d}$ vzorků série 3

č.	Vzorek	$D_{O_2,d}$ [%]	$\bar{\sigma} D_{O_2,d}$ [%]
7	PLA 1	100,31	$99,25 \pm 1,20$
8	PLA 1	99,48	
9	PLA 1	97,95	
10	PLA 2	88,32	$75,18 \pm 11,45$
11	PLA 2	67,32	
12	PLA 2	69,90	
13	PLA 3	72,64	$76,37 \pm 3,72$
14	PLA 3	80,08	
15	PLA 3	55,17*	
16	PLA 4	63,63	$60,59 \pm 3,60$
17	PLA 4	56,61	
18	PLA 4	61,54	
19	PLA 5	96,57	$97,66 \pm 1,79$
20	PLA 5	96,69	
21	PLA 5	99,72	
22	PLA 6	25,54	$29,61 \pm 5,35$
23	PLA 6	35,67	
24	PLA 6	27,64	

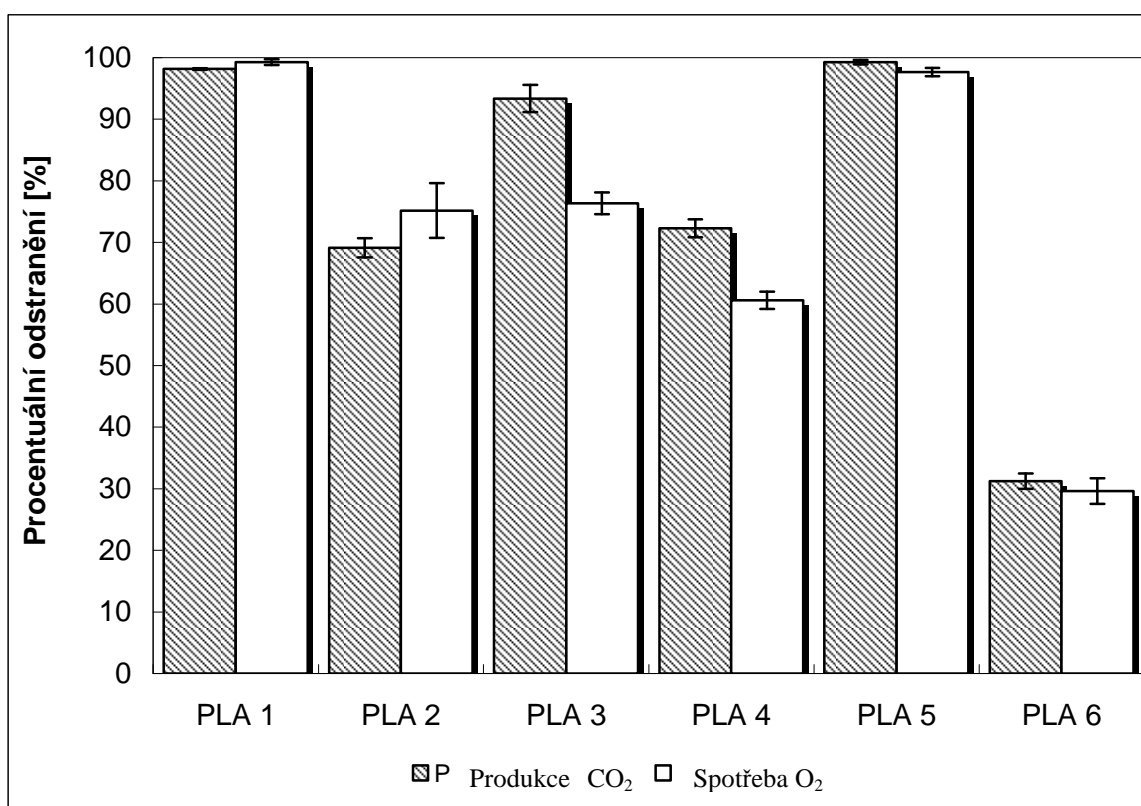
*odlehlá hodnota

Výsledky hodnocení biodegradace pomocí produkce CO_2 a spotřeby O_2 se stejně jako v sériích 1 a 2 příliš nelišily. Vzorky PLA1 – PLA3 a PLA5 (s nízkou molární hmotností) opět vykazovaly rychlý počáteční rozklad, přičemž u PLA2 byl tento růst přibližně za 100 hodin zastaven, křivka byla nadále méně strmá a jevila spíše lineární růst. U vzorků PLA4 a PLA6 probíhala iniciální hydrolýza pomalu a průběh jejich procentuálního odstranění byl

téměř lineární. U posledně jmenovaného došlo k substrátové spotřebě O_2 , tedy k vlastní biodegradaci, opět až po cca 500 hodinách.

Vzorky PLA1 a PLA5 vykazovaly totální degradaci (99% za 52 dnů, resp. 98% za 49 dnů). Nejnižší míru biodegradace jevil opět vzorek PLA6 – 30% za 63 dnů.

Srovnání dosažené míry degradace dle produkce CO_2 a dle spotřeby O_2 pro jednotlivé vzorky série 3 je uvedeno na Obr. 42. Stanovení pro jednotlivé vzorky se lišila průměrně o 8 %, přičemž kromě vzorků PLA1 a PLA2 bylo vždy vyšší procentuální odstranění zjištěné pomocí produkce CO_2 .



Obr. 42: Procentuální odstranění podle produkce CO_2 a úbytku O_2

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo zhodnocení konkrétních polymerních směsí z hlediska termofilní aerobní biodegradace v prostředí řízeného kompostování a ověření vlivu složení a předúpravy těchto směsí na jejich biodegradabilitu. Na vzorky byly aplikovány lahvé testy vyvinuté na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí při akceptování požadavků normy ČSN EN 14 855.

Míra biodegradace byla zjišťována jako poměr kumulativní substrátové produkce CO_2 v jednotlivých reaktorech a teoretické produkce, určené na základě změřeného celkového obsahu uhlíku v jednotlivých vzorcích. Jako doplňující parametr bylo zvoleno hodnocení odstranění substrátu podle spotřeby kyslíku – poměr změřené kumulativní substrátové spotřeby a teoretické spotřeby odvozené od změřeného parametru CHSK_{Cr} . Množství CO_2 i O_2 bylo stanovováno plynovou chromatografií.

Všechny testy probíhaly ve tmě při konstantní teplotě 58°C . Na začátku a na konci testů byly zjišťovány vybrané charakteristiky reakčních směsí jako kontrola podmínek stanovených normou ČSN EN 14 855.

V první sérii byly testovány polymerní směsi s různým obsahem PHB, PCL a triacetinu (TAC) a jednotlivé komponenty těchto směsí. Vzorky byly kryogenně pomlety. Experiment probíhal po dobu 45 dnů s těmito výsledky:

- PHB se za 45 dnů rozložilo z 89,8 %, zatímco PCL za tutéž dobu pouze z 53,5 %. V literatuře je PCL uváděn jako snadno kompostovatelný polymer, čemuž naměřené hodnoty příliš neodpovídají. S fakty uváděnými v literatuře koresponduje zjištěná lepší rozložitelnost PHB než PCL.
- Triacetin se nerozkládal vůbec, resp. pravděpodobně proběhla jeho tepelná degradace na diacetin, monoacetin, glycerol a kyselinu octovou. Tyto produkty výrazně snížily pH reakčního prostředí (z počátečních 7,2 na průměrných 4,7), což působilo toxicky na mikrobiální oživení kompostu.
- Vzorek BK/77/210 s vyšším obsahem PHB se za 45 rozložil ze 78,33%, vzorek BK/77/211 s vyšší pevností se za tutéž dobu rozložil ze 34,8 %. Obsah triacetinu ve vzorcích neměl tedy vliv na jejich rozložitelnost. Dále lze vyvodit závěr, že obsah hůře rozložitelného PCL má negativní vliv na celkovou míru biodegradability.

V sérii 2 byl testován vzorek BK/77/210, na který byly aplikovány dva různé způsoby předúpravy – kryogenní mletí a frakcionace za laboratorní teploty. Cílem tohoto testu bylo ověřit vliv nízkých teplot dosahovaných při kryogenním mletí na morfologii, přeneseně rozložitelnost. V době uzavření diplomové práce experiment stále ještě probíhal, proto zde byly hodnoceny pouze výsledky zjištěné po 18 dnech inkubace. Rozdíl mezi mírou degradace stejného vzorku s různou předúpravou byl 27,54 %, přičemž lépe se rozkládal vzorek kryogenně pomletý. Úplné vyhodnocení pokusu této série zde ovšem nemůže být zahrnuto.

V sérii 3 byly testovány polymerní směsi na bázi PLA. Při výrobě vzorků PLA1 - PLA5 byly použity pracovní postupy lišící se pouze teplotou při polymeraci. Vzorek PLA6 byl komerčně dostupný plast na bázi PLA. Test probíhal 63 dnů s těmito výsledky:

- Vzorky PLA1 a PLA5 podlehly kompletnímu rozkladu (98 % za 53 dnů, resp. 99 % za 49 dnů),
- Vzorek PLA 4, který měl vyšší molární hmotnost se rozložil za 63 dnů ze 72,3 %. Negativní vliv vyšší molární hmotnosti na biodegradabilitu potvrzuje i křivka odstranění PLA4, která měla spíše lineární průběh, bez rychlé počáteční degradace, jakou bylo možné pozorovat u ostatních vzorků s nižší molární hmotností.
- Degradace vzorku PLA3 (93,4 % za 63 dnů) probíhala podle očekávání, resp. v korespondenci se zjištěnou korelací mezi molární hmotností a mírou procentuálního odstranění substrátu. Naopak vzorek PLA2 (degradace 69,14 % za 63 dnů) tuto korelaci nepotvrdil.
- Vzorek PLA6 se od ostatních v sérii lišil jednak formou (granule, ostatní vzorky byly ve formě prášku) a taky mnohem vyšší molekulovou hmotností. Podle očekávání došlo k vyšší substrátové produkci CO₂ až po delší lagové fázi (cca 500 hodin). Dále probíhala degradace pozvolna, obdobně jako u vzorku PLA4 (vysoká M_w).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Raab, M.: Soužití s polymery: úvod k tiskové konferenci, 2008, AV ČR.
- [2] Wolf, O.(editor): Techno-economic Feasibility of Large-scale production of Bio-based polymer in Europe, 2005, Technical report EUR 22103 EN, ISBN: 92-79-01230-4
- [3] Ducháček, V., Prokopová, I., Dobiáš, J.: Biodegradovatelné polymery v obalové technice, *Packaging*, 2004, 06, s. 11 – 13
- [4] Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., Ahmed, S.: Biological degradation of plastics: A comprehensive review, *Biotechnology Advances*, 2008, 26, p. 246 – 265
- [5] Eurostat, Environmental data centre on waste: Packaging waste, data 2006 (rev. 2008), [online, cit. 20. 1. 2009], dostupný z http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page?_pageid=3155,70491033,3155_70521316&_dad=portal&_schema=PORTAL#end
- [6] Making Packaging greener – Biodegradable plastics, 2002, Australian Academy of Science [online, cit. 20. 1. 2009], dostupný z <http://www.science.org.au/nova/061/061key.htm>
- [7] Mohee, R., Unmar, G. D., Mudhoo, A., Khadoo, P.: Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions, *Waste Management*, 2008, 28, p. 1624 – 1629
- [8] Kale, G., Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S. E., Singh, S. P.: Compostability of Bioplastic Packaging Materials: An Overview, *Macromolecular Bioscience*, 2007, 7, p. 255 – 277
- [9] Moravcová, M.: Rozložitelnost směsných polymerů v prostředí kompostu, 2007, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
- [10] Yang, H. S., Yoon, J. S., Kim, M. N.: Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimen, *Polymer Degradation and Stability*, 2005, 87, p. 131 – 135
- [11] Golueke, C. G.: Bacteriology of Composting, *BioCycle*, 1992, 33, p. 55 – 57

- [12] Váňa, J.: Výroba a využití kompostů v zemědělství, 1994, ISBN 80-7105-075-x, [online, cit. 20. 1. 2009], dostupné z <http://www.stary.biom.cz/publikace/kompost/index.html>
- [13] Itavaara, M., Vikman, M.: Windrow composting of biodegradable packaging materials, *Compost Science & Utilization*, 1997, 5, issue 2
- [14] Takehana, T., Inoue, S., Takei, R., Ito, H., Matsui, H., Honma, M.: Purification and Properties of Extracellular Carboxyl Proteases of Acid-tolerant Bacteria, Isolated from Compost, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1999, 63, p. 1927 – 1933
- [15] Štykar, J.: Možnosti zpracování bioodpadu, využití technologie kompostování, *Waste*, 2004, 09, [online, cit. 20. 1. 2009], dostupný z <http://www.waste.cz/pdf/09-04/BioodpadWaste04.doc>
- [16] Lešinský, D.: Environmentálne degradovateľné plasty odpadovom hospodárstve, 2003, Dizertačná práca, Technická univerzita vo Zvolene
- [17] Itävaara, M., Karjomaa, S., Selin, J. F.: Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions, *Chemosphere*, 2002, 46, p. 879 – 885
- [18] Tacon, A. G. J.: Feeding Methods – Fertilisation and Supplementary Diet Feeding, GCP/RLA/075/ITA, [online, cit. 20. 1. 2009], dostupný z <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab467e/AB467E00.htm#TOC>
- [19] Slejška, A.: Využití zemědělských odpadů biologickými metodami, *Biom*, 1997, [online, cit. 20. 1. 2009], dostupný z http://www.stary.biom.cz/clen/as/komp_cile.html
- [20] Mason, I. G.: Mathematical modelling of the composting process: A review, *Waste Management*, 2006, 26, p. 3 – 21
- [21] Komilis, D. P.: A kinetic analysis of solid waste composting at optimal conditions, *Waste Management*, 2006, 26, p. 82 – 91
- [22] Bernal, M. P., Sánchez-Monedero, M. A., Paredes, C., Roig, A.: Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1998, 69, p. 175 – 189

- [23] Dohányos, M., Šmejkalová, P.: Biotechnologie v ochraně životního prostředí, Vysoká škola chemicko technologická v Praze, 2006, Praha
- [24] Petric, I., Selimbašić, V.: Development and validation of mathematical model for aerobic composting process, Chemical Engineering Journal, 2008, 139, p. 304 – 317
- [25] Kotasová, I.: Biodegradace směsných polymerů v termofilních podmínkách, 2006, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
- [26] Kozel, R.: Optimalizace metodiky pro sledování biodegradace polymerů v prostředí kompostu, 2008, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
- [27] Batioli, C.: Global Status of the Production of Biobased Packaging Materials, Starch/Stärke, 2001, 53, p. 531 – 355
- [28] Quynh, T. M., Mitomo, H., Nagasawa, N., Wada, Y., Yoshii, F., Tamada, M.: Properties of crosslinked polylactides (PLLA & PDLA) by radiation and its biodegradability, European Polymer Journal, 2007, 43, 1779 – 1785
- [29] Ray, S. S., Bousmina, M.: Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world, Progress in Materials Science, 2005, 50, p. 962 – 1079
- [30] Kale, G., Auras, R., Singh, S. P., Narayan, R.: Biodegradability of polylactide bottles in real and simulated composting conditions, Polymer Testing, 2007, 26, p. 1049 – 1061
- [31] Szmigaj, J., Zakowska, Z., Klimek, L., Rosicka-Kaczmarek, J., Bartowiak, A.: Assessment of Polylactid Foil Degradation as a Result of Filamentous Fungi Activity, Polish Journal of Environmental Studies, 2008, 17/3, p. 335 – 341
- [32] Khatiwala, V. K., Shekhar, N., Aggarwal, S., Mandal, U. K.: Biodegradation of Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) Film by *Alcaligenes faecalis*, Journal of Polymer and the Environment, 2008, 16, p. 61 – 67
- [33] Bajgai, M. P., Kim, K. W., Parajuli, D. C., Yoo, Y. C., Kim, W. D., Khil, M. S., Kim, H. Y.: In vitro hydrolytic degradation of poly(3-caprolactone) grafted dextran fibers and films, Polymer Degradation and Stability, 2008, 93, p. 2172 – 2179

- [34] Funabashi, M., Ninomiya, F., Kunioka, M.: Biodegradation of Polycaprolactone powders Proposed as Reference Test Materials for International Standard of Biodegradation Evaluation Method, *Journal of Polymers and the Environment*, 2007, 15/1, p. 7 – 17
- [35] Nakasaki, K., Matsuura, H., Tanaka, H., Sakai, T.: Synergy of two thermophiles enables decomposition of poly- ϵ -caprolactone under composting conditions, *FEMS Microbiol Ecol*, 2006, 58, p. 373 – 383
- [36] Zhao, J. H., Wang, X. Q., Zeng, J., Yang, G., Shi, F. H., Yan Q.: Biodegradation of Poly(Butylene Succinate) in Compost, *Journal of Applied Polymer Science*, 2005, 97, p. 2273 - 2278
- [37] Biodegradable Plastics - Developments and Environmental Impacts, Environmental Quality Publication of Australian Government, 2002, [online, cit. 20. 1. 2009], dostupný z <http://www.environment.gov.au/settlements/publications/waste/degradables/biodegradable/chapter6.html>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAC	Alifaticko-aromatické kopolyestery.
ASTM	Americká společnost pro testování materiálů.
BDP	Biodgradabilní plasty.
CFU	Jednotka tvořící kolonii.
D_{CO_2}	Procentuální odstranění substrátu podle produkce CO_2 .
$D_{CO_2,d}$	Maximální dosažené procentuální odstranění substrátu podle produkce CO_2 .
D_{O_2}	Procentuální odstranění substrátu podle spotřeby O_2 .
$D_{O_2,d}$	Maximální dosažené procentuální odstranění substrátu podle spotřeby O_2 .
GC	Plynová chromatografie.
$CHSK_{Cr}$	Chemická spotřeba kyslíku.
IC	Anorganický uhlík.
ISO	International Standard Organisation.
M_w	Molární hmotnost.
NDIR	Nedisperzní infračervený detektor.
PBAT	Polybuthylen adipát/tereftalát.
PBS	Polybuthylen jantaran.
PBSA	Polybuthylen jantaran/adipát.
PCL	Poly- ϵ -kaprolakton.
PE	Polyetylen.
PET	Polyetylentereftalát.
PHAs	Polyhydroxyalkanoáty.
PHB	Kyselin poly- β -hydroxy máselná.
PHBH	Poly-3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyalkanoáty.
PHBV	Poly-3-hydroxybutyrát-co-poly-3-

	hydroxyvalerát.
PHV	Polyhydroxyvalerát.
PLLA	Kyselina poly-L-mléčná.
PP	Polypropylen.
PS	Polystyren.
PLA	Kyselina polymléčná.
PMAT	Polymethylen adipát/tereftalát.
PVC	Polyvinylchlorid.
TAC	Triacetin.
TC	Celkový uhlík.
TCD	Teplotně vodivostní detektor.
ThCO ₂	Teoretická produkce CO ₂ .
ThO ₂	Teoretická produkce O ₂ .
TOC	Celkový organický uhlík.
V _g	Objem plynné fáze.
η	Limitní viskozitní číslo.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Obsah vody během kompostování [13]	13
Obr. 2: Monomerní jednotka PHAs	21
Obr. 3: Monomerní jednotka PLA	22
Obr. 4: Schéma polymerace PCL	23
Obr. 5: Monomerní jednotka PBS	24
Obr. 6: Schéma lysimetru na dozrávání kompostu	33
Obr. 7: Schéma testovací lahve	39
Obr. 8: Schéma provzdušňovacího zařízení	41
Obr. 9: Míra inhibice řady ředění vodných fází	50
Obr. 10: Kalibrační přímka stanovení celkového dusíku	52
Obr. 11: Kalibrační přímka stanovení celkového fosforu	53
Obr. 12: Kumulativní produkce CO ₂ série 1	55
Obr. 13: Průběh D _{CO2} pro PCL	56
Obr. 14: Průběh D _{CO2} pro PHB	56
Obr. 15: Průběh D _{CO2} pro BK/77/210	57
Obr. 16: Průběh D _{CO2} pro BK/77/211	57
Obr. 17: Kumulativní spotřeba O ₂ pro vzorky série 1	59
Obr. 18: Průběh D _{O2} pro PCL	60
Obr. 19: Průběh D _{O2} pro PHB	60
Obr. 20: Průběh D _{O2} pro BK/77/210	61
Obr. 21: Průběh D _{O2} pro BK/77/211	61
Obr. 22: Procentuální odstranění podle produkce CO ₂ a úbytku O ₂	63
Obr. 23: Kumulativní produkce CO ₂ vzorků série 2	64
Obr. 24: Procentuální odstranění vzorků BK/77/210m a BK/77/210s	64
Obr. 25: Kumulativní spotřeba kyslíku vzorků série 2	65
Obr. 26: Procentuální odstranění vzorků BK/77/210m a BK/77/210s	66
Obr. 27: Kumulativní produkce CO ₂ vzorků série 3	68
Obr. 28: Průběh D _{CO2} pro PLA 1	69
Obr. 29: Průběh D _{CO2} pro PLA 2	69
Obr. 30: Průběh D _{CO2} pro PLA 3	70
Obr. 31: Průběh D _{CO2} pro PLA 4	70

Obr. 32: Průběh D_{CO_2} pro PLA 5	71
Obr. 33: Průběh D_{CO_2} pro PLA 6	71
Obr. 34: Závislost procentuálního odstranění substrátu na jeho molekulové hmotnosti	73
Obr. 35: Kumulativní spotřeba kyslíku vzorků série 3	74
Obr. 36: Průběh D_{O_2} pro PLA 1	74
Obr. 37: Průběh D_{O_2} pro PLA 2	75
Obr. 38: Průběh D_{O_2} pro PLA 3	75
Obr. 39: Průběh D_{O_2} pro PLA 4	76
Obr. 40: Průběh D_{O_2} pro PLA 5	76
Obr. 41: Průběh D_{O_2} pro PLA 6	77
Obr. 42: Procentuální odstranění podle produkce CO_2 a úbytku O_2	78

SEZNAM TABULEK

Tab. I: Složení a některé vlastnosti testovaných polymerních směsí.....	30
Tab. II: Charakteristika testovaných materiálů série 3.....	32
Tab. III: Charakteristika nedozravaného kompostu.....	33
Tab. IV: Vlastnosti perlitu (údaje uváděné výrobcem).....	37
Tab. V: Obsazení pozic série 1.....	46
Tab. VI: Obsazení pozic série 2.....	47
Tab. VII: Obsazení pozic série 3.....	48
Tab. VIII: Míra inhibice řady ředění vodných fází.....	49
Tab. IX: Změřené charakteristiky použitých kompostů.....	51
Tab. X: Kalibrační tabulka stanovení dusíku.....	51
Tab. XI: Absorbance standardních roztoků a mineralizátu kompostu.....	52
Tab. XII: pH, TC a sušina reakční směsi série 1.....	54
Tab. XIII: $D_{CO_2,d}$ testovaných materiálů.....	58
Tab. XIV: $D_{O_2,d}$ substrátů série 1.....	62
Tab. XV: pH, TC a sušina reakční směsi série 3.....	65
Tab. XVI: $D_{CO_2,d}$ vzorků série 3.....	66
Tab. XVII: $D_{CO_2,d}$ vzorků série 3.....	76

EVIDENČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

Sigla (místo uložení diplomové práce)	Ústřední knihovna UTB
Název diplomové práce	Sledování aerobního rozkladu polymerních směsí na bázi PCL/PHB a na bázi PLA
Autor diplomové práce	Bc. Jaroslav Filip
Vedoucí diplomové práce	Ing. Martina Kopčilová
Vysoká škola	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Adresa vysoké školy	náměstí T. G. Masaryka 275 762 72 Zlín Česká republika
Fakulta (adresa, pokud je jiná než adresa VŠ)	Technologická
Katedra (adresa, pokud je jiná než adresa VŠ)	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
Rok obhájení DP	2009
Počet stran	90
Počet svazků	1
Vybavení (obrázky, tabulky...)	42 obrázků, 17 tabulek
Klíčová slova	Biorozložitelnost, kyselina poly- β -hydroxy máselná, poly- ϵ -kaprolakton, kyselina poly-L-mléčná

