

Bakteriální degradace polyethylenu s prooxidanty

Bc. Andrea Červenková

Diplomová práce
2007



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

akademický rok: 2006/2007

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Andrea ČERVENKOVÁ**
Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Téma práce: **Bakteriální degradace polyethylenu s prooxidanty**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma s využitím dostupných databází (Web of Science, PubMed, Cerrent Content) a dalších dostupných materiálů. 2. Experimentální práci zaměřte na sledování abiotické oxidace vzorků PE s prooxidanty pomocí FTIR spekter sledováním vybraných mechanických vlastností. 3. Biodegradaci vzorků podrobených abiotické oxidaci sledujte v půdních podmínkách a podmínkách kompostu měřením produkovaného oxidu uhličitého pomocí plynové chromatografie. 4. Veškerá naměřená data zpracujte přehledně písemnou formou, výsledky s výhodou znázorněte pomocí tabulek a grafů s využitím počítače a dostupného programového vybavení.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Vedoucí diplomové práce:

Mgr. Marek Koutný, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

5. února 2007

Termín odevzdání diplomové práce:

25. května 2007

Ve Zlíně dne 1. února 2007


prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan




doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo sledovat průběh abiotické thermo-oxidace a biodegradace polyethylenu s prooxidanty v prostředí vyzrálého kompostu a půdy.

První sadu vzorků tvořily LDPE a HDPE fólie s prooxidantem na bázi železa a kobaltu, které byly již dříve podrobeny abiotické oxidaci. Biodegradace byla sledována pomocí stanovení plyných produktů procesu pomocí plynové chromatografie. U těchto vzorků byl zaznamenán pouze nízký stupeň biodegradace, kdy u LDPE bylo dosaženo cca 1,5 % mineralizace a cca 3,3 % u HDPE po 189 denní inkubaci v případě půdních podmínek a asi 3,6 % mineralizace u LDPE a 3,5 % u HDPE po 356 dnech v případě kompostovacích podmínek.

Druhou sadu vzorků tvořily LDPE a HDPE fólie s prooxidantem na bázi manganu. Vzorky byly podrobeny abiotické termooxidaci, přičemž se ukázalo, že pouze LDPE fólie se oxiduje očekávaným způsobem. Půdní a kompostovací testy biodegradability byly prováděny pouze s LDPE fólií, která byla termooxidována při 70°C po dobu 40 a 80 dní do různého stupně zoxidování. Po 55 denní inkubaci v prostředí půdy bylo dosaženo 2,7 % mineralizace u LDPE(40) a 3,1 % u LDPE(80). V případě kompostovacích podmínek bylo za 69 dní dosaženo 6,3 % mineralizace u LDPE(40) a 7,1 % u LDPE(80), což jsou zajímavé výsledky.

Klíčová slova : polyethylen, prooxidanty, biodegradace.

ABSTRACT

The main goal of the diploma thesis was to monitor processes of abiotic thermo-oxidation and biodegradation of polyethylene with prooxidants in mature compost and soil environments.

The first set of samples consisted of LDPE and HDPE films with iron and cobalt based prooxidants previously subjected to abiotic oxidation. Biodegradation was followed by gas chromatography determination of gaseous products. The samples showed limited biodegradation only, more

specifically about 1,5 % mineralization for LDPE and about 3,3 % for HDPE after 189 days in the case of soil environment and about 3,6 % mineralization for LDPE and about 3,5 % for HDPE after 356 days in compost environment.

The second set of samples included LDPE and HDPE films with manganese based prooxidants. The samples were thermo-oxidized first and it was found that only LDPE film underwent oxidation as previously expected. Consequently, soil and compost tests were carried out with the LDPE film, which was during 40 and 80 days thermo-oxidized at 70°C into various degree of oxidation. In the soil conditions was values of mineralization about 2,7 % for LDPE(40) and 3,1 % for LDPE(80) after 55 days in the soil test and about 6,3 % for LDPE(40) and 7,1 % for LDPE(80) after 69 days in the compost test. Such results could be considered as interesting.

Keywords : polyethylene, prooxidants, biodegradation.

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce doc. Mgr. M. Koutnému, PhD. za odborné vedení a cenné rady při zpracování diplomové práce. Dále děkuji celému kolektivu ÚIOŽP za vytvoření výborných pracovních podmínek.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYMERŮ	11
1.1 DEGRADACE	11
1.2 BIODEGRADACE	11
1.3 FAKTORY PROSTŘEDÍ OVLIVŇUJÍCÍ BIODEGRADACI	13
2 POLYETHYLEN	14
2.1 VLASTNOSTI POLYETHYLENU	14
2.2 SPOTŘEBA POLYETHYLENU	15
2.3 POLYETHYLEN JAKO ODPAD	15
2.4 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYETHYLENU	17
2.5 MODIFIKACE POLYETHYLENU PRODEGRADANTY	18
3 DEGRADACE POLYETHYLENU S PROOXIDANTY	20
3.1 ABIOTICKÁ OXIDACE PE S PROOXIDANTY	20
3.2 BIODEGRADACE PE S PROOXIDANTY	23
4 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY POLYMERŮ	25
4.1 TESTOVÁNÍ BIODEGRADACE V PŮDNÍM PROSTŘEDÍ	25
4.2 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU	26
4.3 TESTOVÁNÍ OXO-BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ	27
5 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	28
II PRAKTICKÁ ČÁST	29
6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, TESTOVANÉ VZORKY A SUBSTRÁTY	30
6.1.1 Použité chemikálie a roztoky	30
6.1.2 Charakteristika testovaných vzorků	32
6.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	33
6.3 PRAKTICKÉ PROVEDENÍ ABIOTICKÉ OXIDACE	34
6.4 METODY PRO HODNOCENÍ ABIOTICKÉ OXIDACE	34
6.4.1 Spektroskopie v IČ oblasti	34
6.4.2 Mechanická pevnost	35
6.4.3 Identifikace produktů abiotické oxidace pomocí GC-MS	35
6.5 PRAKTICKÉ PROVEDENÍ AEROBNÍ BIODEGRADACE	38
6.5.1 Testovací lahve	38
6.5.2 Pro vzdušňovací aparatura	38
6.5.3 Příprava biodegradačního testu, doprovodné analýzy a postupy	39

6.5.4	Aerobní biodegradace v půdním prostředí.....	40
6.5.5	Aerobní biodegradace v prostředí vyzrálého kompostu	41
6.5.6	Abiotická kontrola.....	42
6.5.7	Monitoring v průběhu biodegradačních testů	42
6.6	HODNOCENÍ AEROBNÍ BIODEGRADACE POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE	43
6.6.1	Analýza pomocí plynové chromatografie, sestavení kalibrační závislosti.....	43
6.6.2	Zpracování naměřených hodnot	45
6.7	MIKROSKOPIE VZORKŮ PODROBENÝCH BIODEGRADACI V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU.....	47
6.8	INTENZITA METABOLISMU BUNĚK	48
6.8.1	Princip měření ATP	48
6.8.2	Praktické provedení	48
7	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	51
7.1	ABIOTICKÁ OXIDACE.....	51
7.1.1	Spektroskopie v IČ oblasti	51
7.1.2	Mechanická pevnost.....	54
7.1.3	Identifikace produktů abiotické oxidace pomocí GC-MS.....	59
7.2	AEROBNÍ BIODEGRADACE	60
7.2.1	Biodegradace v půdním prostředí.....	60
7.2.2	Biodegradace v prostředí kompostu.....	65
7.2.3	Mikroskopie PE vzorků podrobených biodegradaci v prostředí kompostu	70
7.3	INTENZITA METABOLISMU BUNĚK	71
	ZÁVĚR.....	74
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	76
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	80
	SEZNAM OBRÁZKŮ	81
	SEZNAM TABULEK.....	83

ÚVOD

V dnešní době je celý svět doslova zaplaven odpady z plastů. Tato skutečnost se stává závažným problémem, neboť syntetické plasty zůstávají v přírodě nedotčeny desítky a možná stovky let. Je to dáno jejich resistencí vůči degradaci v prostředí v době, kdy se plastový výrobek stane odpadem.

Produkty z plastů jsou hojně využívány díky jejich výborným mechanickým a fyzikálním vlastnostem a zejména nízkou cenou na trhu. To dokazuje fakt, že je ročně na celém světě vyprodukováno několik desítek milionů tun plastových výrobků. Tato skutečnost však s sebou přináší velkou zátěž v odpadovém hospodářství, neboť převážná část plastových výrobků je určena pouze na jedno použití jako obalový materiál. A tak se většina plastových výrobků s krátkým cyklem ve spotřebitelské sféře ocitá na skládkách odpadů. Jejich kumulace na skládkách je nežádoucí, neboť zaujímají velké objemy v kontrastu s jejich hmotností. Dalším problémem spojeným s kumulací plastových odpadů na skládkách je již zmíněná jejich vysoká odolnost vůči degradaci v prostředí. Pokud by tento scénář, to je tedy vysoká produkce plastových výrobků na jedno použití spojená s jejich odolností v prostředí, pokračoval i nadále byli bychom svědky „pohřbívání“ naší planety pod vrstvou plastového odpadu.

V posledních letech je snaha o nalezení kompromisu mezi užitnými vlastnostmi a degradabilitou plastů. Pro podporu degradability se plasty nejrozličnějšími způsoby modifikují, např. přidáním prooxidantů či biodegradabilních plniv. Biodegradace takto upravených plastů je i přesto poměrně zdlouhavá a není zcela objasněna, a proto je v této oblasti zapotřebí ještě spousta výzkumů. Tyto úpravy s sebou přináší i obavy veřejnosti, týkající se zejména obav z jejich předčasné degradace během cyklu ve spotřebitelské sféře. Další otázkou je zda cena těchto plastů nebude natolik vysoká, aby mohly být společností akceptovány a tedy i využívány.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYMERŮ

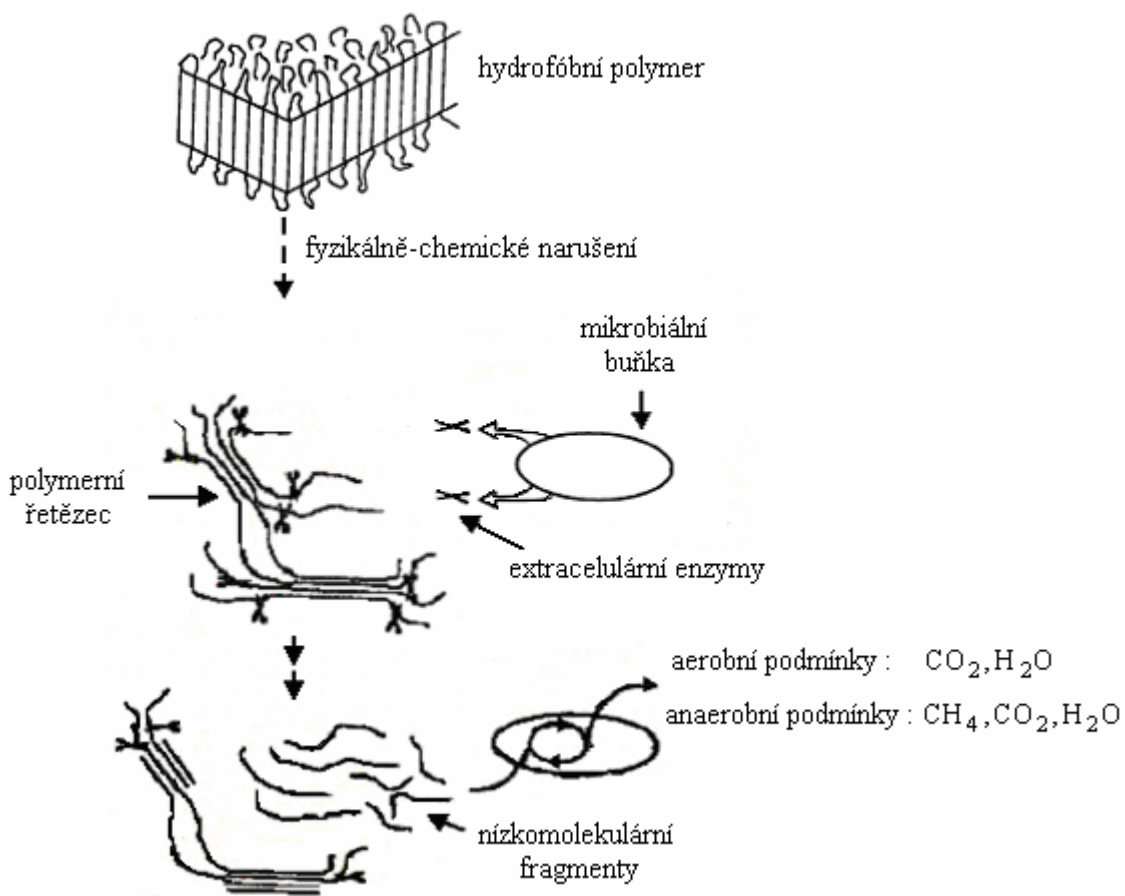
1.1 Degradace

Degradace je proces, při kterém dochází k chemickým a/nebo fyzikálním změnám polymeru. Tyto změny mohou být vyvolány vlivy chemickými, fyzikálními, biologickými a nebo jejich kombinacemi [1].

1.2 Biodegradace

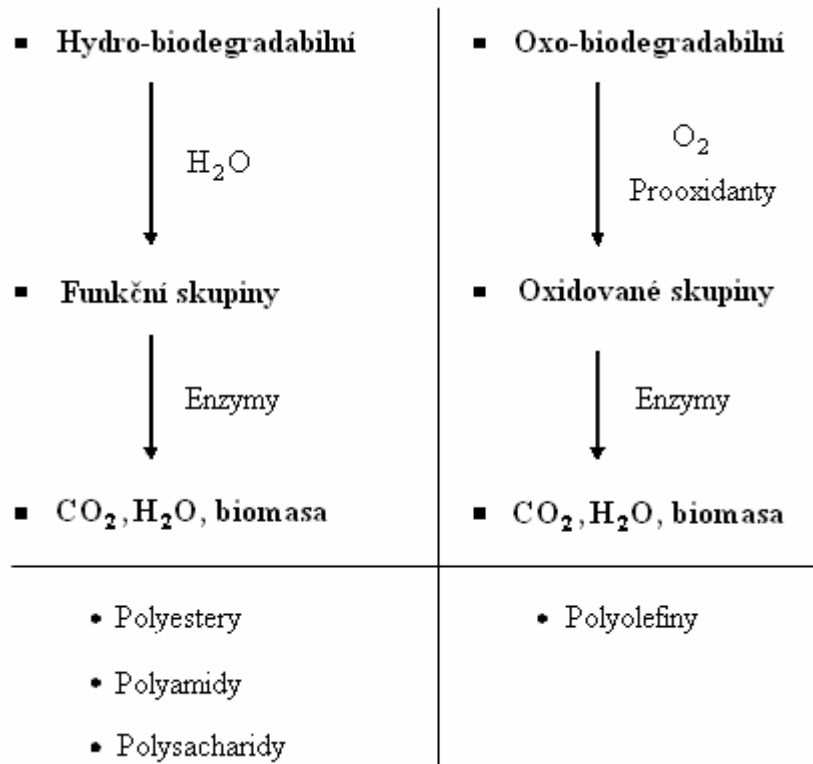
Biodegradace je speciální typ degradace, při níž dochází k rozkladu organických látek působením mikroorganismů a jejich enzymů. Proces biodegradace může probíhat za podmínek aerobních nebo anaerobních [2]. Tyto podmínky hrají roli při tvorbě konečných produktů mineralizace organického substrátu, kdy při aerobní biodegradaci probíhající za přítomnosti kyslíku je polymer rozkládán na oxid uhličitý, vodu a minerální soli [3], zatímco výsledným produktem mineralizace organického substrátu za podmínek anaerobních, tedy bez přítomnosti kyslíku, jsou methan, oxid uhličitý, voda a minerální soli [5].

Princip biodegradace polymerů je zobrazen na obrázku (Obr. 1.). Pokud je polymer hydrofobního charakteru předchází vlastní biodegradaci narušení polymerní struktury vlivem fyzikálně-chemických faktorů. Biodegradace je poté zahájena extracelulárními enzymy produkovanými mikroorganismy do vnějšího prostředí. Účinkem těchto enzymů na polymerní řetězec dojde k jeho rozštěpení na menší fragmenty, které jsou již snáze transportovány do buněk mikroorganismů. V mikrobiálních buňkách jsou pak tyto fragmenty úplně mineralizovány [3].



Obr. 1. Princip biodegradace polymerů [3].

Na obrázku (Obr. 2.) je znázorněn rozdílný mechanismus degradace hydro-biodegradabilních a oxo-biodegradabilních polymerů, kdy polymery s řetězcem obsahující vazby uhlík-kyslík nebo uhlík-dusík mají vyšší schopnost podléhat hydrolýze než polymery obsahující vazby uhlík-uhlík [3]. Mezi hydro-biodegradabilní polymery, které velmi snadno podléhají hydrolýze, patří například celulóza, škrob nebo polyestery. Oxo-biodegradabilní polymery obsahující pouze vazby uhlík-uhlík jsou rozkládány mechanismem oxidačním, který je vyvolán prodegradantními aditivami, více v kapitole 2.4 a 3.1. Mezi oxo-biodegradabilní polymery můžeme zařadit například lignin nebo polyolefiny [4].



Obr. 2. Příklady rozdílného mechanismu degradace hydro-biodegradabilních a oxo-biodegradabilních polymerů [7].

1.3 Faktory prostředí ovlivňující biodegradaci

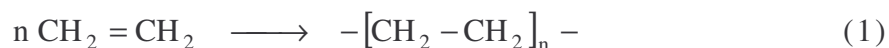
Biodegradace je proces, který je závislý na podmínkách prostředí, neboť některé mikroorganismy podílející se na biodegradaci vyžadují pro svou činnost specifické podmínky.

Rychlost biodegradace je ovlivněna zejména přítomností živin, vlhkostí, teplotou, intenzitou světla, pH a koncentrací kyslíku v prostředí [3]. Dostatečný přísun živin je nezbytný pro růst mikroorganismů, při jejich nedostatku v prostředí může dojít k poklesu mikrobiální aktivity. Dalším limitujícím faktorem prostředí je již zmíněná vlhkost, neboť ve velmi suchých podmínkách může dojít k dehydrataci mikroorganismů a tím tedy i ke snížení mikrobiální aktivity a rychlosti degradace polymeru [8]. Vliv teploty, intenzity světla, pH a koncentrace kyslíku na rychlost biodegradace je rozličný v závislosti na prostředí, ve kterém biodegradace probíhá.

2 POLYETHYLEN

2.1 Vlastnosti polyethylenu

Polyethylen je polymerní látka nepolárního charakteru. Vzniká polymerací ethylenu, co by vstupujícího monomeru. Chemismus reakce, při níž dochází ke vzniku polyethylenu probíhá podle rovnice (1) [12].



V závislosti na podmínkách a charakteru polymerace vznikají rozdílné produkty lišící se mechanickými a fyzikálními vlastnostmi, kdy např. vysokohustotní polyethylen má vyšší mechanickou odolnost, vyšší odolnost vůči rozpouštědlům a vroucí vodě než polyethylen nízkohustotní [10]. Při výrobním procesu se k polyethylenu také přidávají tzv. antioxidanty, které zvyšují jeho odolnost vůči degradaci (oxidaci) vlivem prostředí [11].

Nízkohustotní polyethylen, dále jen LDPE, vzniká polymerací radikálovou a je používán jako obalová a zemědělská fólie, trubky, lahve, atd.. Vysokohustotní polyethylen, dále jen HDPE, vzniká polymerací iontovou a jeho výrobky našly uplatnění jako fólie, mikrotenové sáčky, nádoby, trubky, atd. [10]. Podrobnější charakteristiky LDPE a HDPE jsou uvedeny v tabulce (Tab. I.).

Tab. I. Charakteristiky LDPE a HDPE [10].

Typ PE	Polymerace	Hustota [g.cm ⁻³]	Krystalinita [%]	M _w [g.mol ⁻¹]	T _n [°C]
LDPE	radikálová	0,915- 0,925	50-70	30.000- 300.000	105-115
HDPE	iontová	0,954- 0,970	65-95	100.000- 200.000.	125-136

kde :

M_w molekulová hmotnost [g.mol⁻¹]

T_n teplota tání [°C]

2.2 Spotřeba polyethylenu

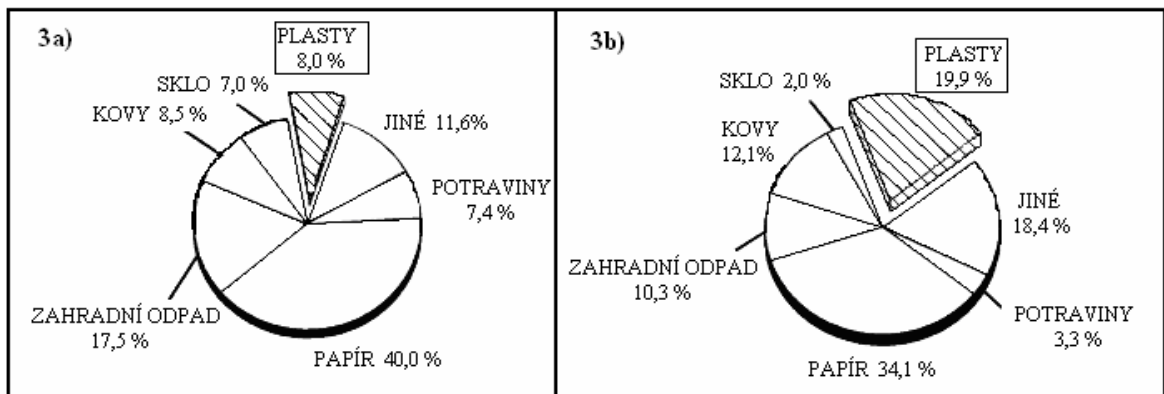
Výrobky z polyethylenu jsou spotřebiteli velmi žádané nejen kvůli jeho výborným mechanickým a fyzikálním vlastnostem, ale také hlavně díky jeho nízké ceně na trhu [6]. V tabulce (Tab. II.) je uvedena celosvětová spotřeba polyethylenu za rok 2000 (t/rok).

Tab. II. Celková Spotřeba PE na světě za rok 2000 [12].

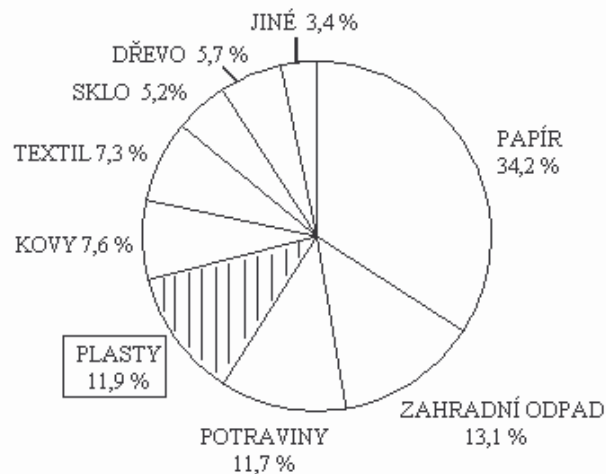
Typ PE	Spotřeba [t/rok]
LDPE	17 000 000
HDPE	23 000 000
LLDPE	14 000 000
Celkem PE	54 000 000
Celkem polymerů	154 000 000

2.3 Polyethylen jako odpad

Polyethylenové výrobky jsou na světových trzích velmi rozšířeny, což představuje nemalý problém v odpadovém hospodářství, neboť většina těchto výrobků je určena na jedno použití jako obalový materiál. Vývoj produkce plastových odpadů je zobrazen na obrázcích (Obr. 3a, Obr. 4.), kdy bylo např. v USA v roce 1988 vyprodukováno celkem 163 milionů tun pevného komunálního odpadu z něhož 8 % (w/w) tvořil odpad plastový [3], v roce 2005 byl zaznamenán již 11,9 % (w/w) podíl plastového odpadu z celkové produkce 245 milionů tun pevného komunálního odpadu [13]. Je tedy pozorován rostoucí trend v produkci plastového odpadu, který není z hlediska stálosti polymeru v prostředí žádoucí.



Obr. 3. Procentuelní zastoupení složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 1988, 3a) hmotnostní procenta, 3b) objemová procenta [3].



Obr. 4. Procentuelní hmotnostní podíl složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 2005 [13].

Jednou z výhodných vlastností plastových výrobků pro spotřebitele je jejich nízká specifická hmotnost, která však představuje další problém v odpadovém hospodářství. Jak je znázorněno na obrázku (Obr. 3.) plastový odpad zaujímající pouze 8 % (w/w) podíl z celkového komunálního odpadu zaujímá až cca 20 % (v/v) [3]. A proto je ukládání plastového odpadu na skládky odpadů do budoucna nepřijatelné, neboť díky jejich širokému využívání jsou jimi skládky doslova zaplaveny.

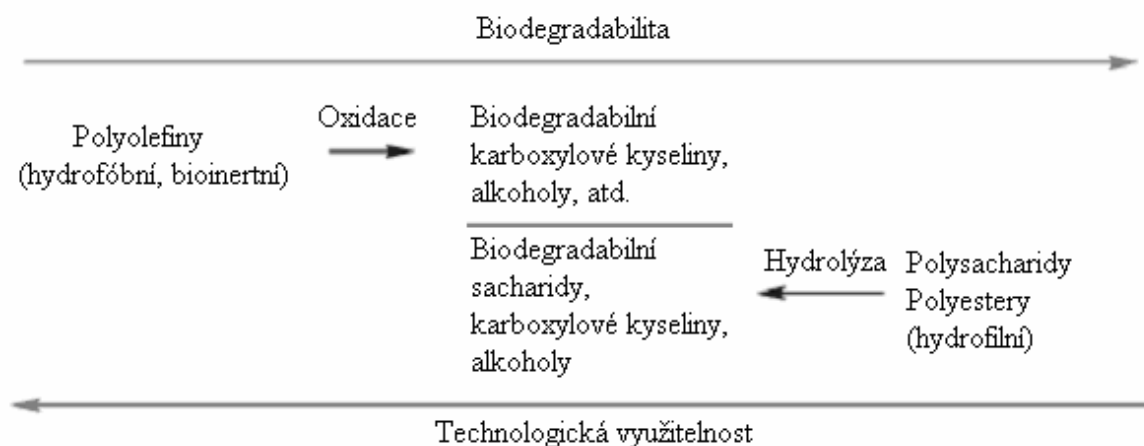
Masivní využívání polyethylenu jako obalového materiálu na jedno použití vede k jeho kumulaci na skládkách odpadů, kde setrvává několik desítek až stovek let prakticky nedotčen. Toto znepokojení s sebou přináší otázku: Jak nejefektivněji odstranit polyethylenový odpad z prostředí? Mezi jednu z možností jak redukovat PE odpad je mechanická recyklace [14], což s sebou přináší další problém týkající se znečištění tohoto odpadu nejrůznějšími kontaminanty a tím tedy i následné zvýšení ekonomických nákladů na recyklaci [12]. Další možností jak s PE odpadem nakládat je buď spalování a nebo biodegradace [14]. Biodegradace se zdá být do budoucna jako velmi jednoduché a žádané řešení problematiky redukce PE odpadu.

2.4 Degradace a biodegradace polyethylenu

V 30.letech 20.století byl plastový průmysl koncentrován na dosažení co nejvyšší stability polymeru, neboť samotný polyethylen byl velmi nestálý a podléhal vlivům prostředí. Tato problematika byla vyřešena přidavkem anti-oxidantů a stabilizátorů při výrobním procesu polyethylenu [12].

Již koncem 80.let 20.století dosáhlo využívání syntetických, inertních a bio-resistentních polymerů takové míry, že se stal prioritním problémem v odpadovém hospodářství [12]. Proto je snaha o nalezení kompromisu mezi výbornými užitnými vlastnostmi polyethylenu a jeho biodegradabilitou v prostředí.

Na obrázku (Obr. 5.) je znázorněn rozdíl mezi těžce biodegradovatelnými a naopak široce využívanými polyolefiny a lehce biodegradovatelnými a naopak méně technologicky využívanými polyestery.



Obr. 5. Rozdílné vztahy mezi technologicky využitelnými polyolefiny a naopak snadno biodegradovatelnými polyestery a polysacharidy [6].

Polyethylen je považován za inertní vůči degradaci a biodegradaci ze čtyř důvodů : má vysokou molekulovou hmotnost, je hydrofobní, neobsahuje funkční skupiny napadnutelné enzymovým vybavením mikroorganismů [15], obsahuje antioxidanty a stabilizátory, které zabraňují oxidaci PE vlivem účinků vnějšího prostředí [16-18]. Vysoká molekulová hmotnost a hydrofobní charakter molekul polyethylenu znemožňuje jejich přestup do vodného prostředí a tím tedy i do mikrobiální buňky [18]. V některých publikacích je uvedeno, že molekuly obecně nemohou podléhat biodegradaci, pokud je jejich molekulová hmotnost vyšší než 500 g.mol^{-1} [4], a proto by měla být před vlastní biodegradací polymeru provedena taková úprava, která by vedla k redukci jeho molekulové hmotnosti.

Tato omezení spojená s degradací a biodegradací polyethylenu mohou být eliminována přidávkem prodegradantních aditiv jako jsou např. prooxidanty, v jejichž přítomnosti se polyethylen stane oxo-biodegradabilní [18], více v kapitole 2.5 a 3.1.

2.5 Modifikace polyethylenu prodegradanty

Pro-degradantní aditiva urychlují degradaci polyethylenu a proto jsou velmi žádoucí při eliminaci plastového odpadu z prostředí biodegradační cestou [19]. V současnosti existuje několik komerčně vyráběných

degradabilních polyethylenů vznikajících buď Guillet, Scott-Gilead nebo Griffin mechanismem [6], jejich přehled je uveden v tabulce (Tab. III.).

Tab. III. Přehled komerčních degradabilních PE [6].

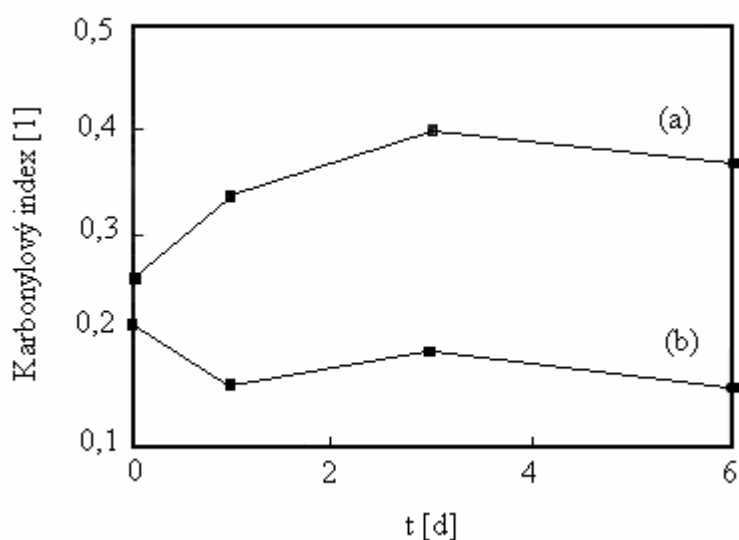
Modifikace PE	Komerční název modifikovaného PE
Včlenění karbonylových skupin kopolymerací	
Kopolymeru ethylenu a oxidu uhelnatého	E-CO
Kopolymeru ethylenu a vinylketonu	Ecolyte (J. E. Guillet)
Oxo-biodegradabilní polymery	
Přechodné kovy (pro-oxidanty)	Plastor (G. Scott-D. Gilead) TDPA (firma EPI)
PE-škrob	
Směs se škrobem (následně s prooxidanty)	Coloroll St. Lawrence Starch (G. J. L. Griffin)

Modifikace PE Guillet mechanismem je založena na kopolymeraci ethylenu s monomery obsahujícími karbonylovou skupinu [20,21]. Včleněním karbonylové skupiny do polymerního řetězce se PE stane citlivý vůči působení UV záření [22].

Prooxidanty jsou komplexy přechodných kovů zvyšující citlivost polymerního řetězce vůči termo-oxidaci a nebo foto-oxidaci, více v kap. 3.1 [20].

Polyethylen modifikovaný přidavkem škrobu je náchylný vůči účinku mikroorganismů, kdy je škrob mikroorganismy využit jako zdroj uhlíku, přičemž dojde ke zvýšení porozity polyethyleny a poměru povrch/objem, jehož výsledkem je ztráta integrity materiálu a možnost potenciální biodegradace polymeru [2]. Degradace a následná biodegradace může být zintenzivněna použitím prooxidantů společně se škrobem [19].

fotooxidaci polymeru, avšak funguje i jako stabilizátor polyolefinu vůči termooxidaci při jeho výrobě [19]. Naopak je tomu u dithiokarbamátu niklu, který působí jako stabilizátor a tudíž k oxidaci PE v jeho přítomnosti nedochází. V publikaci [20] byl studován vliv prooxidantu dithiokarbamátu železa a směsi dithiokarbamátu niklu a železa na abiotickou oxidaci LDPE. U LDPE s dithiokarbamátem železa byla pozorována jeho velmi rychlá oxidace, zatímco u LDPE se směsí dithiokarbamátů se projevila stabilizační účinek dithiokarbamátu niklu, viz obrázek (Obr. 7.). Teprve až po 800h byl pozorován exponenciální růst karbonylového indexu v přítomnosti Ni-komplexů. Karbonylový index vyjadřuje míru oxidace polymeru a je vyjádřen jako podíl absorbance karbonylového píku při 1713 cm^{-1} a $-\text{CH}_2-$ píku při 1465 cm^{-1} [17], více v kapitole 3.3.



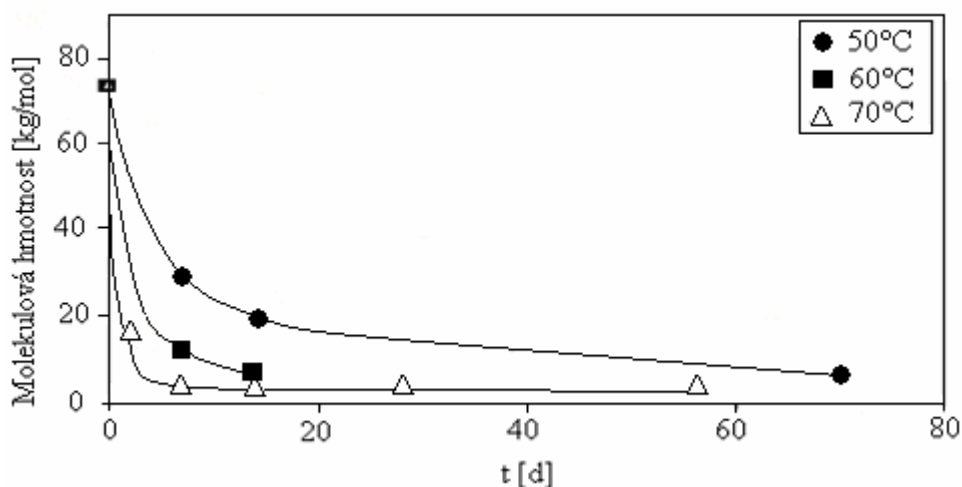
Obr. 7. Vliv typu prooxidantu na karbonylový index během termooxidace při 95°C , (a) LDPE obsahující dithiokarbamát železa, (b) LDPE obsahující dithiokarbamáty niklu a železa [20].

Dalšími prooxidanty mohou být acetyl-acetonáty přechodných kovů, které též podporují fotooxidaci polymeru, a karboxyláty přechodných kovů podporující termooxidaci polymeru [20].

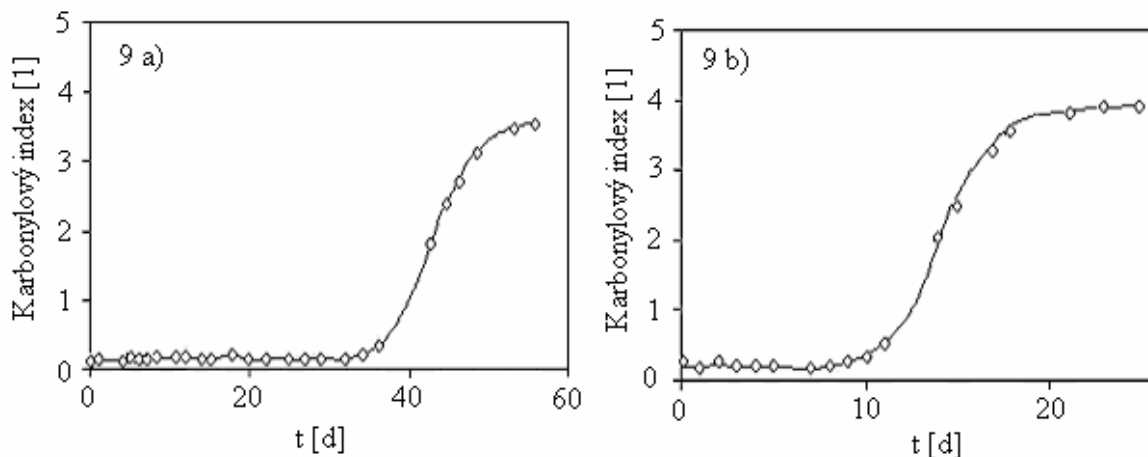
Abiotickou oxidací polyethylenu s prooxidanty dochází ke vzniku polárních skupin v polymerním řetězci, v jejichž přítomnosti ztrácí

polymer hydrofobní charakter [20]. Produkty abiotické oxidace pak tedy mohou přestupovat do vodného prostředí a tím i do buněk mikroorganismů [2,16]. Abiotickou oxidací dále dochází k redukci molekulové hmotnosti [3], ztrátám mechanických vlastností [6,25] a k zvětšení aktivního povrchu polymeru [3].

Rychlost abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty je ovlivněna faktory prostředí jako jsou teplota a intenzita světla [2,20]. Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace byl zkoumán v publikaci [16] a [14]. V první studii byl abiotické oxidaci podroben PE obsahující prooxidant stearát manganu a v druhé PE obsahující prooxidant TDPA (Totally Degradable Plastic Additives) od firmy EPI (Environmental Products) [26]. Ve studii [16] byla termooxidace provedena při třech různých teplotách, které se běžně vyskytují v prostředí kompostu, a to při 50°C, 60°C a 70°C. Bylo pozorováno, že při 70°C došlo k poklesu molekulové hmotnosti M_w pod 5000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ již za 2 týdny, zatímco při 50°C byl tento pokles zaznamenán až po 70 dnech, viz obrázek (Obr. 8.). V publikaci [14] byl pozorován obdobný vliv teploty na rychlost abiotické oxidace, kdy byla termooxidace provedena při 55°C a 70°C. Rychlost abiotické oxidace byla vyšší s vyšší teplotou, viz obrázek (Obr. 9 a, b). Po 25-denní oxidaci při 70°C byl pozorován nárůst karbonylového indexu CI z 0,22 na 4,57 a pokles molekulové hmotnosti z 147,7 $\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ na 4,5 $\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$.



Obr. 8. Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE obsahujícího prooxidant stearát manganu [16].



Obr. 9. Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE s prooxidantem TDPA, 9a) termooxidace při 55°C, 9b) termooxidace při 70°C [14].

Vliv koncentrace kyslíku na abiotickou oxidaci je zanedbatelný. Ve studii [16] byl tento vliv studován a v rozmezí koncentrace kyslíku mezi 5-10 % nebyl pozorován žádný významný vliv na rychlost abiotické oxidace. Avšak jako velmi důležitým parametrem ovlivňujícím rychlost abiotické oxidace se ukázalo být množství použitého prooxidantu v polymeru [16,18]. Bylo pozorováno, že PE obsahující dvakrát vyšší množství prooxidantu byl rychleji degradován, neboť byl zaznamenán pokles molekulové hmotnosti M_w na $10 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ již za 11 dní, zatímco u PE s nižším obsahem prooxidantu došlo k tomuto poklesu až za 18 dní [16].

Rychlost a stupeň abiotické oxidace polyethylenu je dále také ovlivněn strukturou polyethylenu. Například větvení u LDPE je slabým místem v řetězci, ve kterém může velmi snadno docházet k oxidaci, a tudíž může být LDPE rychleji oxidován než HDPE či LLDPE [14].

3.2 Biodegradace PE s prooxidanty

Biodegradace polyethylenu může nastat až po jeho zoxidování, kdy abiotickou oxidací dojde k redukci jeho molekulové hmotnosti a ke snížení hydrofobního charakteru v důsledku vzniku polárních skupin [20]. Oxidované produkty abiotické oxidace jsou pak již snáze rozpoznatelné enzymovým vybavením mikroorganismů a může tedy dojít k jeho další degradaci. Biodegradací pak dochází k mineralizaci oxidovaných produktů

na oxid uhličitý, vodu a minerální soli za aerobních podmínek [27].

Biodegradace oxidovaného polyethylenu byla zkoumána již v několika publikacích, kdy se většinou jednalo o simulované biodegradační testy v prostředí kompostu nebo půdy.

V publikaci [16] byl podroben oxidovaný PE obsahující prooxidant stearát manganu biodegradaci v půdním prostředí, které bylo složeno z 90% rašeliny a 10% vyžralého kompostu, inkubace byla provedena při konstantní teplotě 60°C. Za 180 dní bylo dosaženo 60% mineralizace PE.

Obdobných výsledků bylo dosaženo i v publikaci [15], kdy byl testován oxidovaný LDPE s prooxidantem TDPA. V půdním prostředí bylo dosaženo 50-60 % mineralizace za 18 měsíců a v prostředí vyžralého kompostu bylo dosaženo 27,8 % mineralizace za 426 dnů inkubace [15].

4 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY POLYMERŮ

Testy pro určení biodegradability polymerů v různých prostředí jsou již v dnešní době normovány. Na tvorbě norem se v této oblasti podílí řada institucí [28] :

- American Society for Testing and Materials (ASTM),
- International Standards Organisation (ISO),
- European Standardization Committee (CEN),
- Institute for Standards Research (ISR),
- Organic Reclamation and Composting Association (ORCA).

Testování rychlosti biodegradace polymerů je velmi rozdílné v závislosti na různých prostředích. Biodegradační testy mohou být prováděny jak v přirozeném tak v simulovaném prostředí. Testy probíhající v simulovaném prostředí mohou probíhat zcela odlišně jako v prostředí přirozeném, neboť v simulovaném prostředí se nepočítá s přírodními výkyvy teplot, vlhkosti či intenzitou záření. Rozdíly v rychlosti biodegradace polymeru nejsou ovlivňovány jen prostředím, ale také rozdílnou tloušťkou a stupněm zoxidování testovaných polymerů. Důležité je i zhodnocení produktů biodegradace polymeru, které by neměly kontaminovat prostředí a nebo být toxické pro živé organismy [29].

Testování biodegradability polymerů může být realizováno v prostředí kompostu či půdy, anaerobním prostředí, sladké, mořské nebo odpadní vodě [28].

4.1 Testování biodegradace v půdním prostředí

Podle ASTM jsou definovány dvě standardní metody pro testování biodegradace polymerů v půdním prostředí a to Soil Contact Test a Soil Burial Test [15, 28, 30]. Jedná se o statické testy, při kterých je využito půdy co by vhodného prostředí pro biodegradaci. Půdní substrát je zdrojem mezofilních a psychofilních bakterií, které degradují polymer až na oxid uhličitý. Testy jsou realizovány za pokojové teploty ve tmě [15].

Rychle biodegradabilní materiál může být podle této normy odstraněn za 30 až 60 dní. Pokud tento test poskytuje negativní výsledky pak by měly být potvrzeny testem v prostředí kompostu za termofilních podmínek, viz kapitola 4.2 [30].

4.2 Testování biodegradability v prostředí kompostu

Kompostování je řízený aerobní proces biologického rozkladu biodegradabilního materiálu na oxid uhličitý, vodu, minerály a humus. Jedná se o přirozený proces vedoucí ke stabilizaci směsi rozložitelného organického materiálu [30].

ASTM D5338 je norma pro testování biodegradability polymerů v prostředí kompostu. Tato metoda je založena na sledování biodegradace polymerních materiálů za podmínek řízeného kompostování. Polymer je smíchán s vyvrálým kompostem a inkubován v teplotním cyklu 35-58-50-35°C ve tmě. V průběhu testu je monitorována produkce oxidu uhličitého a je zaznamenávána úměrně k slepým kontrolám (obsahující pouze vyvrálý kompost). Procento biodegradace je pak určeno dle rovnic uvedených v kapitole 6.6.2. Za pozitivní výsledky se podle této normy označují ty, při nichž bylo dosaženo 60 % mineralizace polymeru za 6 měsíců [28].

Další normou v oblasti testování biodegradability v prostředí kompostu je ISO 14855, která je realizována obdobným způsobem jako norma ASTM D5338 avšak s tím rozdílem, že inkubace je zde prováděna při konstantní teplotě 58°C [28].

Rychlost biodegradace v prostředí kompostu je ovlivněna zejména přítomností živin, vlhkostí a koncentrací kyslíku [8]. Při nedostatku živin dojde k snížení rychlosti biodegradace, neboť živiny jsou důležité pro růst a množení mikroorganismů přítomných v prostředí kompostu. Důležitým faktorem prostředí je i vlhkost, neboť příliš mnoho vlhkosti vytváří anaerobní podmínky a naopak sucho vede k dehydrataci mikroorganismů. Vzhledem k tomu, že je kompostování aerobní proces je dostatečný přísun kyslíku nezbytný.

4.3 Testování oxo-biodegradabilních polymerů

ASTM D6954 je nová technická norma týkající abiotické oxidace materiálu a jeho následné biodegradace v biotickém prostředí. Jako první z norem na biodegradabilitu polymerů zdůrazňuje význam abiotické oxidace. Na rozdíl od normy ASTM D5338, kde jsou za pozitivní výsledky uznávány pouze ty, které dosáhly 60% mineralizace materiálu za 6 měsíců, je norma ASTM D6954 v tomto mírnější. Zde musí též polymery dosáhnout 60% mineralizace, avšak za dobu neomezenou [31].

5 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce je studium abiotické oxidace a biodegradace oxidovaného polyethylenu s prooxidanty. Abiotická oxidace byla sledována pomocí FTIR spekter a měřením mechanické pevnosti oxidovaného PE s prooxidanty. Biodegradace oxidovaného PE s prooxidanty byla realizována v prostředí půdy a vyzrálého kompostu. Míra biodegradace PE s prooxidanty byla sledována analýzou oxidu uhličitého pomocí plynové chromatografie.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Použité chemikálie, testované vzorky a substráty

6.1.1 Použité chemikálie a roztoky

Při laboratorních pokusech byly použity chemikálie čistoty p.a. od firmy Penta, Lachema, Fluka a PARK : difosforečnan sodný dekahydrát, formaldehyd, glutaraldehyd, hexan, roztok chloridu rtuťnatého, chlorid sodný, kyselina chlorovodíková, methanol, uhličitan draselný, minerální olej.

Filtrační papír od firmy Papírna Pernštejn s.r.o.

Souprava činidel pro stanovení ATP od firmy BioThema AB.

Nosný plyn He o čistotě 4.6 od firmy Linde Technoplyn a.s.

Směsný syntetický plyn od firmy Linde Gas a.s. :

(1) obsahující CH_4 (4,04 obj.%), CO_2 (0,818 obj.%) a N_2 (95,142 obj.%)

(2) obsahující CH_4 (4,07 obj.%), CO_2 (0,815 obj.%) a N_2 (95,115 obj.%).

Minerální médium

Zásobní roztoky pro přípravu minerálního média byly připraveny rozpuštěním níže uvedených složek v 1 l destilované vody.

A.	9,078 g	KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
B.	23,9028 g	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát
C.	10 g	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran hořečnatý heptahydrát
D.	3 g	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	síran železnatoamonný hexahydrát
E.	1 g	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	chlorid vápenatý dihydrát
F.	50 g	NaCl	chlorid vápenatý

G.	30 g	NH_4Cl	chlorid amonný
H.	roztok stopových prvků		
	0,043 g	$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	síran manganatý tetrahydrát
	0,057 g	H_3BO_3	kyselina boritá
	0,043 g	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran zinečnatý heptahydrát
	0,037 g	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	molybdenan amonný tetrahydrát
	0,025 g	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	dusičnan kobaltnatý hexahydrát
	0,040 g	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	síran měďnatý pentahydrát

Roztok minerálního média byl připraven z výše uvedených zásobních roztoků. Pro přípravu 100 ml minerálního média byly dávkovány následující objemy zásobních roztoků : 4 ml A; 16 ml B; 0,2 ml C; po 1 ml roztoku D, E, F, G a 0,1 ml roztoku stopových prvků H. Vzniklý roztok byl doplněn destilovanou vodou na celkový objem 100 ml a vše bylo důkladně promícháno. Jako kontrola správnosti přípravy bylo provedeno měření pH, jehož hodnota byla 7,3.

Suspendační roztok

Suspendační roztok se využívá k převedení půdních bakterií do roztoku.

Pro přípravu 100 ml suspendačního roztoku bylo dávkováno :

A. 0,4 g $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ difosforečnan sodný dekahydrát

B. 0,15 g TWEEN 80

Výše uvedené složky A a B byly naváženy do láhve, poté bylo přidáno 100 ml minerálního média a 2-3 skleněné kuličky. Nakonec byl vzniklý roztok důkladně promíchán a vysterilizován v autoklávu po dobu 20 minut při 120°C.

Fyziologický roztok (8,5 g.l⁻¹)

Pro přípravu 50 ml fyziologického roztoku o koncentraci 8,5 g.l⁻¹ bylo do 50 ml odměrné baňky diferenčně naváženo 0,43 g NaCl s přesností ± 0,01 g a přidáno cca 25 ml destilované vody. Po rozpuštění NaCl byl roztok doplněn destilovanou vodou po rysku a důkladně promíchán.

Fixační roztok

Fixační roztok sloužil k zafixování bakterií a plísní na povrchu vzorků PE fólií, které byly odebrány z biodegradačního testu v prostředí kompostu.

Pro přípravu 50 ml fixačního roztoku bylo dávkováno :

- A. 5,5 ml 36 - 38 % roztok HCOH formaldehyd
- B. 1 ml 50 % roztok C₅H₈O₂ glutaraldehyd

Složky A a B byly dávkovány v takových objemech, aby výsledný fixační roztok obsahoval 4 % formaldehydu a 1 % glutaraldehydu. Roztok byl tedy připraven nadávkováním složek A a B do 50 ml odměrné baňky a doplněním fyziologickým roztokem (8,5 g.l⁻¹) po rysku. Vzniklý roztok byl nakonec důkladně promíchán.

6.1.2 Charakteristika testovaných vzorků**LDPE¹**

LDPE transparentní fólie o tloušťce 60 μm obsahující prooxidant na bázi železa a kobaltu [32]. Vzorek byl již v minulosti podroben abiotické oxidaci, viz publikace [32], která byla provedena po dobu 3 letních měsíců (červen - srpen) tak, že byl vzorek vystaven působení slunečního záření a povětrnostním vlivům v klimatických podmínkách jižní Francie.

HDPE¹

HDPE transparentní fólie o tloušťce 20 μm obsahující stejný typ prooxidantu jako vzorek LDPE¹ [32]. Vzorek HDPE¹ byl též v minulosti

vystaven abiotické oxidaci stejným způsobem jako vzorek LDPE¹.

LDPE²

LDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55 μm , obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec).

LDPE²(40)

Vzorek LDPE² abioticky oxidovaný při 70°C po dobu 40 dní.

LDPE²(80)

Vzorek LDPE² abioticky oxidovaný při 70°C po dobu 80 dní.

HDPE²

HDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 17 μm obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 5 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec).

LDPE³

LDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55 μm bez přídavku prooxidantu a plniva.

HDPE³

HDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 17 μm bez přídavku prooxidantu a plniva.

6.2 Použité přístroje a vybavení

Analyzátor uhlíku 5000 A, Shimadzu Corp., Japonsko.

Plynový chromatograf CHROM 5, Laboratorní přístroje Praha.

Integrátor Hewlett&Packard HP 3396A.

Plynotěsné injekční stříkačky Hamilton o objemech 250 μl a 1 ml.

Tedlarův vak o objemu 0,6 l.

Plynový chromatograf s hmotnostním detektorem Shimadzu GC-MS QP2010, Japonsko.

Tensometer 2000, Alpha Technologies.

FTIR spektrometr Mattson 3000, UNICAM, Velká Británie.

Centrifuga MR23i, Jouan, Francie.

Luminometer 20-20ⁿ, BioThema AB, Švédsko.

Mikrodávkače (1-5 ml, 100-1000 μ l, 20-200 μ l), Biohit, Finsko.

Mikroskop CX 41 s fotoaparátem, Olympus.

Běžné laboratorní sklo a vybavení.

6.3 Praktické provedení abiotické oxidace

Abiotické oxidaci byly podrobeny vzorky LDPE², HDPE², LDPE³ a HDPE³, charakteristiky vzorků jsou uvedeny v kapitole 6.1.2. Před zahájením testu byly vzorky nastříhány na kousky o velikosti 10 x 2 cm a umístěny do hliníkové krabičky s víkem. Oxidace takto připravených vzorků PE fólií byla provedena v sušárně při teplotách 60, 70 a 80°C. V předem stanovených časových intervalech byly ze sušárny odebírány vždy 4 vzorky PE fólie vedle sebe a byly uskladněny v chladicí místnosti při 5°C. Vzorky byly poté podrobeny spektroskopii v IČ oblasti a zkouškám mechanické pevnosti.

6.4 Metody pro hodnocení abiotické oxidace

6.4.1 Spektroskopie v IČ oblasti

Spektroskopii v IČ oblasti byly podrobeny termooxidované vzorky PE fólií LDPE², HDPE², LDPE³ a HDPE³. IČ spektra byla měřena pomocí přístroje Mattson 3000. U každého vzorku bylo spektrum proměřeno v oblasti od 400-4000 cm^{-1} vždy 2x vedle sebe. Při vlnočtu 1713 cm^{-1} byl detekován karbonylový pík a při vlnočtu 1465 cm^{-1} -CH₂- pík [17], podílem

jejich absorbancí dle rovnice (2) byl vypočten karbonylový index, který je mírou oxidace testovaných polymerů [17]. Z vypočtených hodnot byla sestavena závislost karbonylového indexu na čase, po který byly vzorky vystaveny termooxidaci při 60, 70 a 80°C.

$$CI = \frac{A_{1713}}{A_{1465}} \quad (2)$$

kde :

CI karbonylový index [1]

A_{1713} absorbance při 1713 cm^{-1} [1]

A_{1465} absorbance při 1465 cm^{-1} [1]

6.4.2 Mechanická pevnost

Vzorky LDPE², HDPE², LDPE³ a HDPE³ byly po termooxidaci dále podrobeny tahovým zkouškám na přístroji Tensometer 2000 s nastavenou rychlostí posunu 100 $\text{mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Z naměřených hodnot byla vynesena závislost parametru prodloužení při přetrhnutí na čase, po který byly vzorky PE fólií vystaveny termooxidaci při 60, 70 a 80°C.

Přístroj nebyl dostatečně citlivý u vzorků, které byly v pokročilém stupni zoxidování. Tyto vzorky byly příliš křehké a tudíž neměřitelné, proto byl v tomto případě výsledek měřeného parametru prodloužení při přetrhnutí považován za nulový.

6.4.3 Identifikace produktů abiotické oxidace pomocí GC-MS

Se vzorky LDPE¹ a HDPE¹ bylo provedeno stanovení extrahovatelných produktů abiotické oxidace pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem. Vzorky PE byly nejprve podrobeny extrakci rozpouštědlem, viz postup extrakce, a poté byla provedena analýza extrahovatelných sloučenin pomocí přístroje Shimadzu GC-MS QP2010. Analýza byla provedena na koloně Supelco SLB – 5ms, o rozměrech 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , podmínky, za kterých bylo stanovení provedeno jsou uvedeny v tabulce (Tab. IV.).

Tab. IV. Parametry měření na Shimadzu GC-MS QP2010.

Parametr		Nastavení parametru
Injektor	Teplota	250°C
	Regulace průtoku	Lineární průtoková rychlost
	Průtok kolonou	0,93 ml.min ⁻¹
	Průtoková rychlost	35 cm.s ⁻¹
	Split poměr	50
Kolona	Teplotní program	50°C/5min; 15°C/min, 250°C/12min
Detektor	Interface teplota	250°C
	Teplota iontového zdroje	200°C
	ionizace	70 eV

Chromatogramy byly vyhodnoceny srovnáním hmotnostních spekter detekovaných sloučenin s databází spekter. Identifikace sloučenin tímto způsobem byla vždy s nějakým pravděpodobnostním procentem, a proto tyto výsledky nebyly brány za stoprocentní. Vyhodnocovány byly pouze ty píky, které byly subjektivně zhodnoceny za dostatečně významné.

Postup extrakce

Před vlastní extrakcí byly vzorky LDPE¹ a HDPE¹ „propasírovány“ přes síto o průměru otvorů 2 mm.

Se vzorky LDPE¹ a HDPE¹ byly provedeny vždy dvě extrakce :

- Extrakce v metanolu.

Tento způsob extrakce byl volen tak, aby došlo k převedení karboxylových kyselin, které jsou jedním z předpokládaných produktů abiotické oxidace, na příslušné methylestery. Vzniklé methylestery jsou pak na rozdíl od karboxylových kyselin pomocí GC-MS analyzovatelné.

Extrakt byl prakticky připraven diferenčním navážením 50 mg vzorku s přesností $\pm 0,0001$ g na analytických vahách do skleněné

vialky o objemu 20 ml, do které byly poté nadávkovány 2 ml metanolu a vše bylo nakonec okyseleno 1 kapkou 0,01M methanolické kyseliny chlorovodíkové. Vialka byla uzavřena zátkou opatřenou teflonovým septem a byla 24 h třepána na třepačce při 25°C a poté dalších 24h při 55°C. Obsah vialky byl po 48 h třepání chemicky vysušen přidavkem 50 mg uhličitanu draselného a přefiltrován přes skelnou vatu do skleněné vialky o objemu 1,5 ml. Vzhledem k tomu, že uhličitan draselný je v metanolu rozpustný stal se extrakt zásaditým. Na základě tohoto zjištění byl 1 ml zásaditého extraktu převeden do vialky o objemu 4 ml a zředěn přidavkem 1 ml destilované vody. Dále byl přidán 1 ml hexanu, který byl dávkován za účelem převedení methylovaných produktů abiotické oxidace do hexanové vrstvy, a vše bylo ponecháno 24 h třepat na třepačce při 25°C. Po 24 h třepání byla oddělena hexanová vrstva, která byla dále chemicky vysušena přidavkem síranu sodného bezvodého a přefiltrována přes skelnou vatu do skleněné vialky o objemu 1,5 ml. Vialka byla uzavřena zátkou s teflonovým septem a podrobena stanovení extrahovatelných produktů abiotické oxidace pomocí GC-MS.

▪ Extrakce v minerálním médiu a hexanu.

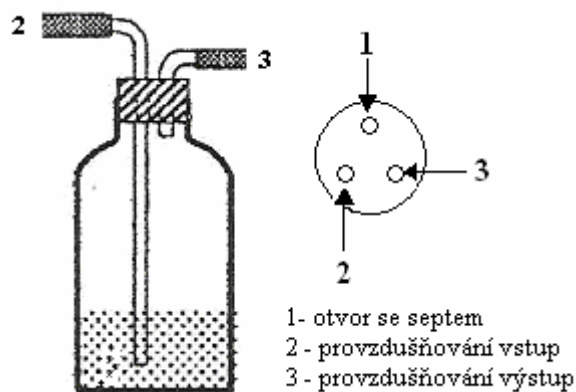
Na analytických vahách bylo naváženo 50 mg vzorku s přesností $\pm 0,0001$ g, který byl poté diferenčně převeden do skleněné vialky o objemu 20 ml. Ke vzorku byly nadávkovány 2 ml minerálního média a vialka uzavřená zátkou s teflonovým septem byla 24h třepána na třepačce třepat při 25°C. Po 24 h třepání byl obsah vialky obohacen o přídavek 2 ml hexanu a okyselen 1 kapkou koncentrované kyseliny chlorovodíkové za účelem převedení případných vyextrahovaných karboxylových kyselin na své protonované formy, které pak mohou přejít do hexanové fáze. Uzavřená vialka byla opět 24 h třepána při 25°C. Poté byla hexanová vrstva oddělena a převedena do čisté vialky o objemu 20ml, kde byla dále obohacena o přídavek 0,2 ml metanolu a 1 kapky 0,01M methanolické kyseliny chlorovodíkové pro esterifikaci případných karboxylových kyselin. Vialka byla opět uzavřena zátkou s

teflonovým septem a 24 h byla třepána na třepačce při 55°C. Obsah vialky byl poté chemicky vysušen přidávkem 50 mg uhličitanu draselného a následně přefiltrován přes skelnou vatu do skleněné vialky o objemu 1,5 ml. Vialka byla opět uzavřena zátkou s teflonovým septem a podrobena stanovení extrahovatelných produktů abiotické oxidace pomocí GC-MS.

6.5 Praktické provedení aerobní biodegradace

6.5.1 Testovací lahve

Pro testování biodegradace polymerů v prostředí půdy a vyzrálého kompostu byly použity 500 ml lahve o celkovém objemu 620 ml. Lahve byly opatřeny 3-ventilovým uzávěrem, viz obrázek (Obr. 10.). Jeden otvor byl vybaven patronou se septem, který sloužil k odběru vzorku plynné fáze z testovací lahve pro stanovení obsahu CO₂ a O₂ pomocí plynové chromatografie. Další dva otvory sloužily k provzdušňování obsahu lahve, které bylo nezbytné pro dodržení optimální koncentrace kyslíku v lahvi.



Obr. 10. Schéma testovací lahve.

6.5.2 Provzdušňovací aparatura

Vzhledem k tomu, že biodegradční testy měly být prováděny za aerobních podmínek, bylo nezbytné provzdušňování testovacích lahví. Pro provzdušňování bylo zvoleno sériové zapojení lahví pomocí silikonových hadiček. Vzduch byl do lahví vháněn pomocí čerpadla přes 5M-NaOH, který zajistil vycytání vzdušného oxidu uhličitého. Dále byl vzduch

zbavený vzdušného CO₂ veden přes promývačku s destilovanou vodou, která vstupující vzduch zvlhčovala a tím tedy nedocházelo k vysoušení testované směsi. Takto vyčištěný a zvlhčený vzduch byl veden přes jehlu na dno lahve, viz obrázek (Obr. 10.), a výstupem pokračoval do lahve další. Efekt provzdušňování byl zintenzívněn ručním protřepáváním obsahu lahví. Doba provzdušňování byla stanovena na základě experimentálního stanovení obsahu CO₂ v plynné fázi pomocí plynové chromatografie.

6.5.3 Příprava biodegradačního testu, doprovodné analýzy a postupy

Použité substráty pro biodegradační prostředí

Půdní substrát

Pro testování biodegradace v půdním prostředí byla použita lesní půda ze smíšeného lesa z oblasti Zlínského kraje. Odběr zeminy byl proveden z hloubky cca 5 cm po odstranění svrchní vrstvy (listí) z povrchu.

Substrát vyvrálého kompostu

Pro testování biodegradace v prostředí vyvrálého kompostu byl použit komerčně vyráběný kompost od firmy AGRO CS. Vyvrálý kompost byl získán po cca 5 týdenní inkubaci v podmínkách 58°C, 50 % vlhkosti a za stálého provzdušňování.

Stanovení sušiny půdy/vyvrálého kompostu

Před zahájením testu bylo provedeno stanovení sušiny půdy a vyvrálého kompostu. Do předem zvážených petriho misek bylo naváženo 10 g půdy nebo vyvrálého kompostu s přesností $\pm 0,0001$ g. Stanovení bylo provedeno 3x vedle sebe vysušením 10 g substrátu do konstantní hmotnosti při 105°C. Po zchladnutí v exsikátoru na pokojovou teplotu byly misky zváženy na analytických vahách s přesností $\pm 0,0001$ g. Sušina půdního a kompostového substrátu byla vyjádřena v procentech.

Inertní materiál k ředění substrátu

K ředění substrátů byl použit perlit s obchodním názvem Agroperlit od firmy AGRO CS. Jedná se o chemicky inertní materiál, který zajišťuje kyprost a pórovitost substrátu, zadržuje vodu a v ní rozpuštěné živiny. Před vlastním použitím byl perlit 3x promyt v destilované vodě a poté vysušen při 150°C.

Půdní i kompostový substrát byl naředěn perlitem v poměru 1:4, tj. 2,5 g sušiny půdy na 10 g perlitu.

Stanovení celkového uhlíku (TC) na analyzátoru uhlíku

Stanovení byly podrobeny vzorky LDPE¹, HDPE¹, LDPE² a referenční látky (1), (2) (celulosa, minerální olej). Výsledky jsou uvedeny v tabulce (Tab. V.).

Principem stanovení celkového uhlíku (TC) je oxidace uhlíku obsaženého ve vzorku ve spalovací trubici s platinovým katalyzátorem při 670°C v proudu kyslíku. Vzniklý CO₂ je unášen do NDIR detektoru (Non-Disperse Infrared Detector). Signál je vyhodnocen jako plocha píku, která je přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku [33].

Tab. V. Obsah uhlíku ve vzorcích.

Vzorek	TC [%]
LDPE ¹	70,67
HDPE ¹	61,10
LDPE ²	67,77
Referenční látka (1) (celulosa)	35,61
Referenční látka (2) (minerální olej)	92,17

6.5.4 Aerobní biodegradace v půdním prostředí

Aerobní biodegradaci v půdním prostředí byly podrobeny vzorky LDPE¹, HDPE¹, LDPE²(40) a LDPE²(80). Celkem byly provedeny 2 biodegradační testy. V testu č. 1 byly zkoušeny vzorky LDPE¹ a HDPE¹ a v testu č. 2 vzorky LDPE²(40) a LDPE²(80). Vzorky PE fólií byly testovány vždy 3 x vedle sebe, slepé pokusy 4 x vedle sebe a referenční

látku (1), (2) pouze 1 x.

Pro testy v půdním prostředí byl použit půdní substrát naředěný perlitem, viz kapitola 6.5.3. Vzorky PE fólií byly před zahájením pokusu „propasírovány“ přes síto o průměru otvorů 2 mm. Testy se vzorky byly provedeny nadávkováním 1,5 g vzorku PE, který byl diferenčně navážen s přesností $\pm 0,0001$ g, k ředěnému půdnímu substrátu do testovací lahve. Koncentrace vzorku v láhvi poté činila 0,6 g PE / g sušiny. Slepé pokusy byly realizovány pouze s ředěným půdním substrátem.

Jako referenční látka byl použit filtrační papír (referenční látka (1)) a minerální olej (referenční látka (2)), které byly do testovací láhve dávkovány v množství 0,30 g (0,12 g/g) s přesností $\pm 0,01$ g. V půdním testu č. 1 byla použita jako pozitivní kontrola referenční látka (1) i (2), zatímco v půdním testu č. 2 byla testována pouze referenční látka (1).

Takto připravené směsi naředěné půdy a vzorku nebo referenční látky byly nakonec zvlhčeny 10 ml minerálního média. Inkubace byla provedena při 25°C ve tmě.

6.5.5 Aerobní biodegradace v prostředí vyvrátého kompostu

Aerobní biodegradaci v prostředí vyvrátého kompostu byly podrobeny vzorky LDPE¹, HDPE¹, LDPE²(40) a LDPE²(80). Celkem byly provedeny 2 biodegradační testy, kdy v kompostovacím testu č. 1 byly zkoušeny vzorky LDPE¹ a HDPE¹ a v testu č. 2 vzorky LDPE²(40) a LDPE²(80). PE vzorky byly vždy testovány 3 x vedle sebe, slepé pokusy 4 x vedle sebe, referenční látka (1) byla v testu č. 1 testována 2 x vedle sebe a v testu č. 2 pouze 1x.

Pro testy v prostředí kompostu byl použit vyvrátý kompost naředěný perlitem, viz kapitola 6.5.3. Vzorky byly před zahájením testu „propasírovány“ stejným způsobem jako v kapitole 6.5.4. a byly vždy testovány v koncentraci 0,6 g PE / g sušiny. V kompostovacím testu č. 1 byla referenční látka (1) dávkována v koncentraci 0,6 g / g sušiny a v testu č. 2 byla testována v koncentraci 0,12 g / g sušiny. Slepé pokusy byly realizovány pouze s ředěným vyvrátým kompostem.

Obsahy všech lahví byly nakonec zvlhčeny 10 ml minerálního média o složení viz kapitola 6.1.1. Inkubace byla provedena při $58 \pm 2^\circ\text{C}$ ve tmě.

6.5.6 Abiotická kontrola

Abiotická kontrola sloužila pro vyloučení součinnosti abiotických pochodů na degradaci vzorků, tj. na produkci CO_2 ze vzorků LDPE¹ a HDPE¹. Celkem byly nasazeny 4 abiotické kontroly, kdy byl 2x vedle sebe testován vzorek LDPE¹ a 2x vedle sebe vzorek HDPE¹. U tohoto testu byly do lahví diferenčně naváženy pouze vzorky polyethylenu, kdy dávkované množství vzorků opět činilo 1,5 g. Ke vzorkům byly přidány vždy 2 ml minerálního média, které jsme obohatili 40 μl HgCl_2 o koncentraci 10 g.l^{-1} . Přídavkem HgCl_2 jsme zajistili abiotické prostředí v testovací lahvi. Inkubace byla provedena při $58 \pm 2^\circ\text{C}$ ve tmě.

6.5.7 Monitoring v průběhu biodegradačních testů

V průběhu biodegradačních testů byla sledována produkce CO_2 a spotřeba O_2 pomocí plynové chromatografie. Produkce CO_2 sloužila jako kritérium pro určení stupně biodegradace daného vzorku, zatímco analýza spotřeby O_2 sloužila jako doprovodné stanovení pro sledování zachování aerobních podmínek během průběhu testu a pro určení časového intervalu provzdušňování obsahu lahve.

V průběhu biodegradačních testů byla vizuálně sledována vlhkost směsi v testovací lahvi. Při výrazném nedostatku vlhkosti byla směs zvlhčena přídavkem destilované vody.

6.6 Hodnocení aerobní biodegradace pomocí plynové chromatografie

6.6.1 Analýza pomocí plynové chromatografie, sestavení kalibrační závislosti

Pro stanovení obsahu CO_2 a O_2 v plynné fázi byl použit plynový chromatograf Chrom 5. Analýza byla provedena pomocí dvou skleněných náplňových kolon o délce 3,6 m s vnitřním průměrem 3 mm. Oxid uhličitý byl analyzován na koloně naplněné Porapakem R a obsah O_2 na koloně obsahující Molekulové síto 13X. Stanovení bylo realizováno za podmínek uvedených v tabulce (Tab. VI.). K detekci složek byl využit tepelně-vodivostní detektor (katharometr) a vyhodnocení bylo provedeno pomocí integrátoru HP 3396A.

Tab. VI. Parametry měření na Chrom 5.

Parametry		Analýza CO_2	Analýza O_2
Teploty [$^{\circ}\text{C}$]	Termostat	50	30
	Sample	100	20
	Detektor	100	100
Katharometr	Žhavení vlákna [mA]	120	100
	Citlivost	6	5
Nosný plyn	Průtok [$\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$]	30	
	Typ	He	

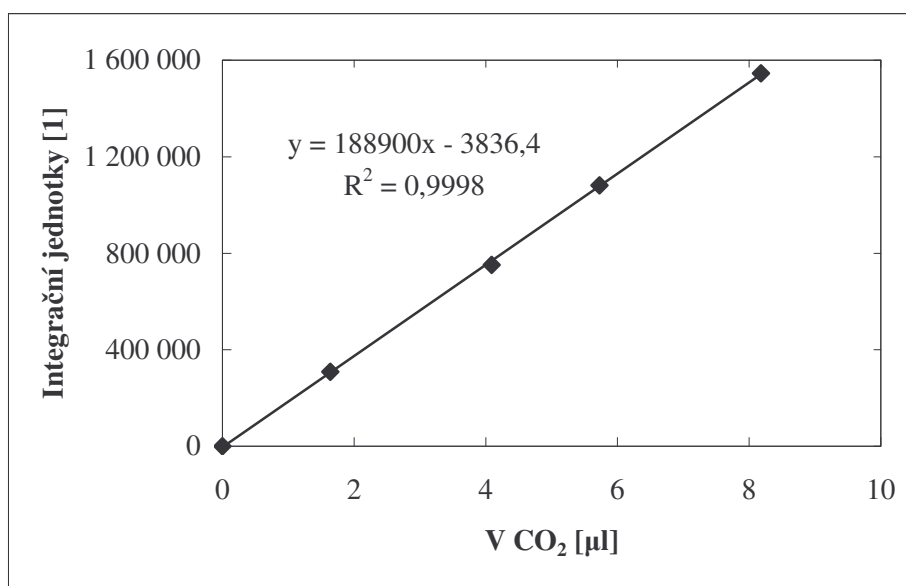
Kalibrace pro stanovení obsahu CO_2

Obsah CO_2 v plynné fázi lahve byl určen pomocí kalibrační křivky. Kalibrace byla provedena analýzou 0,2; 0,5; 0,7 a 1 ml směšného syntetického plynu Linde Technoplyn, viz kapitola 6.1.1, na plynovém chromatografu. Kalibrační křivka č. 1 pro syntetický plyn (1), viz obrázek (Obr. 11.), byla sestavena vynesáním závislosti plochy píku na objemu CO_2 obsaženém v dávkovaném objemu směšného plynu. Při dalších měřeních byl vždy ověřován 1 kalibrační bod.

Během testu byla provedena výměna syntetického plynu (1), tudíž byla provedena i nová kalibrace stejným způsobem jako kalibrace předchozí. Rovnice kalibrační přímky č. 2 a hodnota spolehlivosti pro syntetický plyn (2) pak byla $y = 205548x - 9898,9$, $R^2 = 0,9997$.

Vzhledem k tomu, že měření biodegradačních testů bylo realizováno dlouhodobě, došlo i k výměně nosného plynu. Na základě této skutečnosti bylo provedeno opětovné proměření kalibrační závislosti pro směsný syntetický plyn (2), kdy pak rovnice kalibrační přímky č. 3 byla $y = 187453x + 4260,8$ a hodnota spolehlivosti $R^2 = 0,9999$.

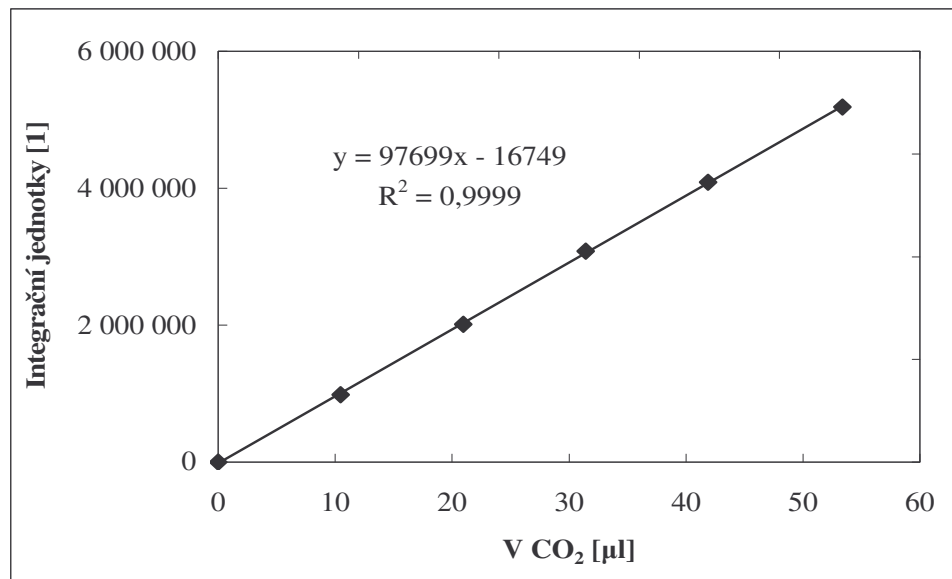
Měření produkce CO_2 v průběhu testů bylo realizováno v experimentálně stanovených časových intervalech.



Obr. 11. Kalibrační křivka č. 1 pro stanovení CO_2 - syntetický směsný plyn (1).

Kalibrace pro stanovení obsahu O_2

Kalibrační křivka pro stanovení O_2 byla sestavena z obsahu kyslíku ve vzduchu. Kalibrace byla provedena analýzou 50; 100; 150; 200 a 250 μl vzduchu na plynovém chromatografu. Kalibrační přímka, viz obrázek (Obr. 12.), byla sestavena vynesáním závislosti plochy píku na objemu O_2 obsaženém v dávkovaném objemu vzduchu. Při dalších měřeních byl vždy ověřován 1 kalibrační bod, na který byla vždy přepočítávána aktuální koncentrace O_2 v testovací lahvi. Na základě měření koncentrace O_2 v testovaných lahvích v průběhu testů byly stanoveny časové intervaly provzdušňování obsahu lahve.



Obr. 12. Kalibrační křivka pro stanovení obsahu O₂.

6.6.2 Zpracování naměřených hodnot

A. Teoretická maximální produkce CO₂ ze zkoušeného materiálu [34].

$$\text{ThCO}_2 = \frac{m_{\text{subst.}} * \frac{\text{TOC}}{100}}{M_c} \quad (3)$$

kde :

ThCO₂ teoretická maximální produkce CO₂ ze zkoušeného materiálu [mmol]

n_{subst.} navážka zkoušeného materiálu pro test [mg]

TOC celkový organický uhlík obsažený ve zkoušeném materiálu [%]

M_c atomární hmotnost uhlíku [g.mol⁻¹]

B. Denní produkce CO₂ [34].

$$n_{(d)\text{CO}_2} = \frac{V_1 * V_k * 10^{-3}}{V_D * 22,414} \quad (4)$$

kde :

$n_{(d)CO_2}$	množství vyprodukovaného CO_2	[mmol]
V_1	plynný objem lahve	[ml]
V_k	objem CO_2 vypočtený z kalibrační křivky	[μ l]
V_D	dávkovaný objem plynné fáze do plynového chromatografu	[ml]

C. Kumulativní produkce CO_2 [34].

Kumulativní produkce \equiv denní produkce, pokud není systém provzdušňován.

Pokud je provzdušňováno, pak je kumulativní produkce CO_2 :

$$n_{(k)CO_2}(2) = n_{(k)CO_2}(1) + n_{(d)CO_2}(2) \quad (5)$$

kde :

$n_{(k)CO_2}(2)$	kumulativní produkce CO_2 z aktuálního měření	[mmol]
$n_{(k)CO_2}(1)$	kumulativní produkce CO_2 (denní produkce) systému z předchozího měření	[mmol]
$n_{(d)CO_2}(2)$	denní produkce CO_2 z měření aktuálního	[mmol]

D. Substrátová produkce CO_2 [34].

Je kumulativní produkce CO_2 ze systémů se vzorky snižena o produkci CO_2 ze slepých pokusů, tj. o produkci CO_2 z čistého kompostu.

E. Procentuelní odstranění zkoušeného materiálu z hlediska produkce CO_2 [34].

$$D_{CO_2} = \frac{n_{subst.}}{ThCO_2} * 100 \quad (6)$$

kde :

D_{CO_2}	procento odstranění substrátu	[%]
$n_{subst.}$	substrátová produkce CO_2	[mmol]
$ThCO_2$	teoretická maximální produkce CO_2 ze zkoušeného materiálu	[mmol]

F. Vztah pro výpočet procentuelního obsahu O_2 v láhvi [34].

$$\%O_2 = \frac{V_1 * V_k * 10^{-3}}{V_D} * 100 \quad (7)$$

kde :

$\%O_2$	aktuální procento O_2 obsaženého v láhvi	[%]
V_1	plynný objem lahve	[ml]
V_k	objem O_2 vypočtený z kalibrační křivky	[μ l]
V_D	dávkový objem plynné fáze do plynového chromatografu	[ml]

6.7 Mikroskopie vzorků podrobených biodegradaci v prostředí kompostu

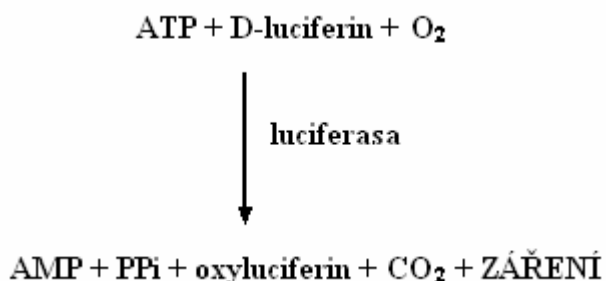
Mikroskopické pozorování bylo provedeno se vzorky LDPE¹, HDPE¹, LDPE²(40) a LDPE²(80), které byly podrobeny biodegradační testům v prostředí vyzrálého kompostu. Po ukončení biodegradačního testu č. 1 v prostředí kompostu bylo z testovacích lahví odebráno několik submilimetrových kousků vzorků LDPE¹ a HDPE¹. Vzorky LDPE²(40) a LDPE²(80) byly odebrány v průběhu biodegradačního kompostovacího testu č. 2 v době, kdy byly testovací lahve se vzorky provzdušňovány. Vzorky byly vloženy do ependorfeč, k nimž byl poté nadávkován 1 ml fixačního roztoku (složení viz kap. 6.1.1), poté byly vzorky inkubovány přes noc při 4°C. Před mikroskopickým pozorováním byly zafixované

vzorky od roztoku odděleny, převedeny do čistých ependorfech a vybarveny karbolfuchsinem. Po 1 minutě vybarvování byl karbolfuchsin několikrát vymyt přídatkem pitné vody. Takto připravené vzorky byly mikroskopicky pozorovány světelným mikroskopem pomocí imerzního objektivu při celkovém zvětšení 1000x. Mikroskopie vzorků byla dokumentována pomocí fotoaparátu umístěném na tubusu mikroskopu.

6.8 Intenzita metabolismu buněk

6.8.1 Princip měření ATP

ATP vznikající v buňkách je ukazatelem intenzity jejich energetického metabolismu. Princip stanovení ATP je zobrazen na obrázku (Obr. 13.). ATP reaguje s D-luciferinem za přítomnosti kyslíku a enzymu luciferasy za vzniku adenosinmonofosfátu, difosfátu, oxyluciferinu, oxidu uhličitého a záření. Vzniklé záření je přímo úměrné koncentraci ATP a je měřeno pomocí luminometru [35].



Obr. 13. Princip stanovení ATP [35].

6.8.2 Praktické provedení

- Příprava kompostového inokula

Navážka 5 g vyzrálého kompostu s přesností $\pm 0,1$ g byla převedena do 50 ml sterilního suspenzačního roztoku o složení viz kap. 6.1.1. Se suspenzačním roztokem obsahující navážku kompostu byl proveden výtřep po dobu 1 h na třepačce. Poté byl roztok ponechán cca 5 min odsedimentovat a následně byl do ependorfky sterilně odebrán 1 ml tohoto roztoku. Pomocí centrifugy bylo provedeno odstředění buněk za podmínek

5°C, 15 000g, po dobu 10 min. Po odstředění byl supernatant slit a k odstředěným buňkám byl asepticky přidán 1 ml sterilního minerálního média. Po důkladném promíchání byla získána suspenze buněk z vyvrátého kompostu.

Výše uvedeným postupem jsme získali čistou suspenzi buněk bez přítomnosti rozpuštěných látek pocházejících z kompostu. Pokud bychom tyto látky neeliminovali mohlo by dojít k ovlivnění výsledku měření ATP.

Získanou suspenzí buněk bylo zaočkováno buď minerální médium a nebo přímo výluh ze vzorků. Očkování bylo provedeno nadávkováním 100 µl suspenze buněk do 10 ml minerálního média a nebo do 10 ml extraktu získaného ze vzorků.

▪ Příprava pokusu

Testu byly podrobeny vzorky LDPE¹, HDPE¹ a jejich extrakty v minerálním médiu.

Na analytických vahách bylo do sterilních vialek o celkovém objemu 4 ml naváženo 1,50 mg vzorku s přesností $\pm 0,00001g$. Do vialek se vzorky bylo pak dávkováno 0,2 ml zaočkovaného minerálního média, koncentrace vzorku ve vialkách pak tedy byla 7,5 mg/ml. Vialky byly nakonec uzavřeny sterilními vršky s teflonovým septem.

Extrakty ze vzorků LDPE¹ a HDPE¹ byly připraveny třepáním 75 mg vzorku v 10 ml sterilního minerálního média po dobu 24 h. Poté byl výluh přefiltrován přes filtr o velikosti pórů 0,2 µm a získaný filtrát byl zaočkován způsobem popsaným výše. Zaočkovaný výluh vzorků PE fólií byl rozpipetován vždy po 0,2ml do sterilních vialek o objemu 4 ml. Vialky byly uzavřeny sterilními vršky s teflonovým septem.

Inkubace byla provedena při $58 \pm 2^\circ C$ ve tmě. V průběhu testu byly v předem stanovených časových intervalech odebírány vialky se vzorky a jejich extrakty vždy 2x vedle sebe. Bezprostředně po odběru vialek z inkubačního prostředí, byla provedena extrakce ATP z buněk přídatkem 200 µl Extraktantu B/S ze soupravy činidel pro stanovení ATP od firmy

BioThema. Takto upravené vzorky byly uchovány při -18°C . Měření ATP bylo provedeno pomocí přístroje luminometr 20/20ⁿ způsobem popsáným níže.

▪ Vlastní měření

Stanovení ATP bylo provedeno komerčně vyráběnou soupravou činidel od firmy BioThema. Toto stanovení bylo provedeno metodou standardního přídávku, kdy byla měřena intenzita záření před a po přídávku známého množství ATP.

Před vlastním měřením byly již dříve odebrané vzorky, které byly obohaceny o přídavek Extraktantu B/S a uloženy při -18°C , vyndány a ponechány při laboratorní teplotě rozmraznout.

Vlastní měření bylo prováděno asepticky sterilní pinzetou a v gumových rukavicích, aby nedošlo ke kontaminaci vzorku adenosintrifosfátem běžně se vyskytujícím v prostředí. Stanovení ATP bylo realizováno nadávkováním 10 μl vzorku do ependorfky, která byla poté umístěna do měřicího prostoru luminometru. Ke vzorku bylo dále přidáno 40 μl ATP činidla HS, obsahující luciferin a enzym luciferasu, a vzniklé záření detekované přístrojem bylo zaznamenáno jako I_{smp} . Poté bylo ke vzorku nadávkováno 10 μl ATP standardu o koncentraci $10^{-7} \text{ mol.l}^{-1}$ ATP a vzniklé záření bylo zaznamenáno jako $I_{\text{smp+std}}$. Množství ATP (pmol.ml^{-1}) ve vzorku bylo vypočteno dle rovnice (8) [35].

$$\text{ATP} = \frac{I_{\text{smp}}}{I_{\text{smp+std}} - I_{\text{smp}}} \quad (8)$$

kde :

I_{smp} intenzita záření před přídávkem standardu

$I_{\text{smp+std}}$ intenzita záření po přídávku standardu

Z vypočtených hodnot byla vynesena grafická závislost koncentrace ATP na čase, po který byly vzorky inkubovány.

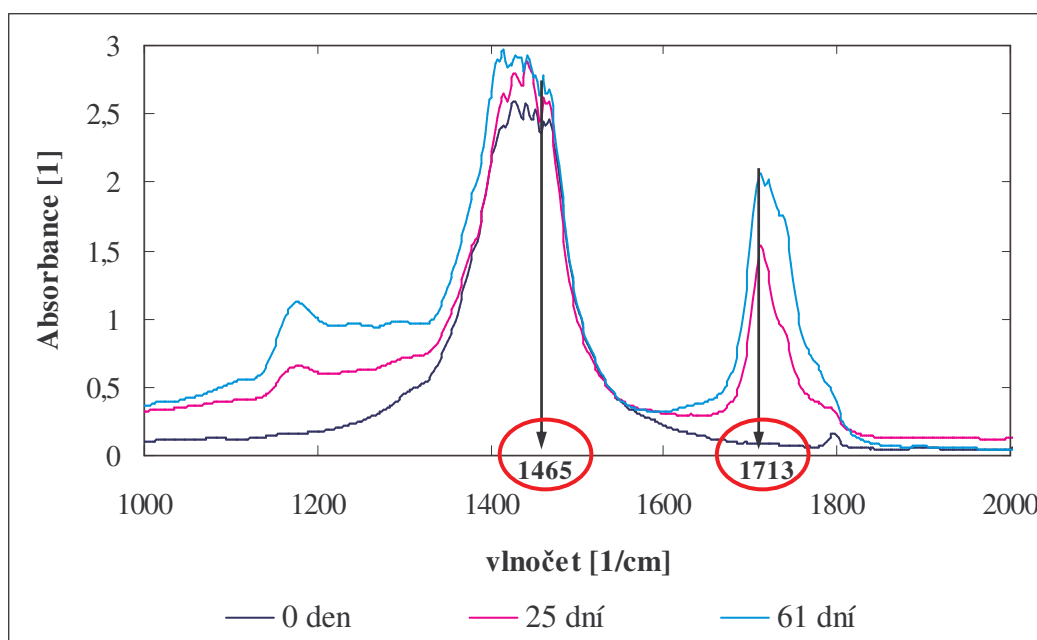
7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Abiotická oxidace

7.1.1 Spektroskopie v IČ oblasti

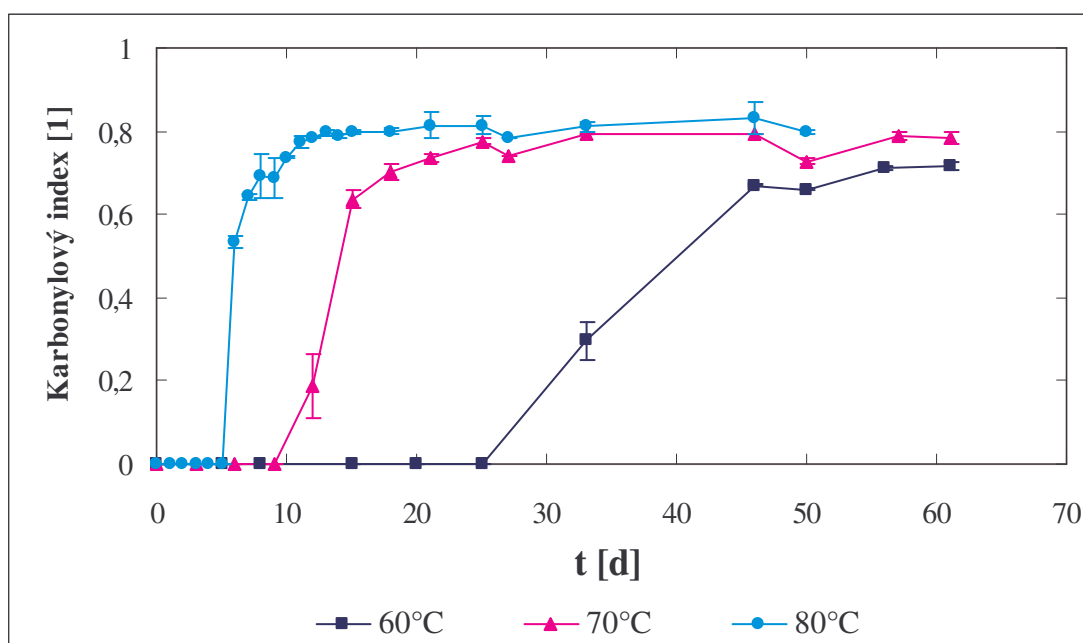
Termooxidované vzorky LDPE², HDPE², LDPE³ a HDPE³ byly podrobeny spektroskopii v IČ oblasti, kde byla měřena absorbance karbonylového píku a -CH₂- píku, viz kap. 6.4.1.

Karbonylový pík a jeho růst, viz obrázek (Obr. 14.), byl zaznamenán pouze u vzorku PE fólie s prooxidanty LDPE². Bylo pozorováno, že původní vzorek (0. den) byl bez přítomnosti karbonylových skupin, což se projevilo detekcí nulového karbonylového píku měřeném při vlnočtu 1713 cm⁻¹. V průběhu termooxidace docházelo k postupnému nárůstu karbonylového píku s časem, po který byl vzorek dané teplotě vystaven. Po určitém čase, v tomto případě za 61 dní, došlo k stagnaci růstu karbonylového píku a na základě této skutečnosti byla termooxidace vzorku ukončena. Po 61 dnech termooxidace nabývala maximální hodnota absorbance karbonylového píku hodnoty 2,1.



Obr. 14. FTIR spektra - LDPE² (oxidovaný při 70°C).

Z naměřených hodnot absorbancí karbonylového a $-CH_2-$ píku byl určen karbonylový index podle rovnice (2) v kap. 6.4.1. Na obrázku (Obr. 15.) je zobrazena grafická závislost karbonylového indexu (CI) na čase, po který byl vzorek LDPE² vystaven termooxidaci při různých teplotách. Nejvyšší hodnoty CI (0,83) bylo dosaženo při termooxidaci provedené při 80°C, při 70°C byla hodnota CI po 25 dnech ustálena na 0,79 a při 60°C dosáhl CI nejnižší hodnoty a to pouze 0,71. Dále bylo pozorováno, že teplota použitá při termooxidaci má také vliv na rychlost oxidace, kdy při 80°C došlo k oxidaci vzorku již za 6 dní, při 70°C byl vzorek oxidován za 12 dní a při 60°C došlo k jeho oxidaci až po 33 dnech.



Obr. 15. Abiotická oxidace – LDPE² (oxidovaný při různých teplotách); vynesené body jsou průměrem ze 2 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

Oxidace testovaného materiálu probíhala vždy do určitého stupně a dále se již s časem nezvyšovala. Míra zoxidování vzorku PE fólie byla ovlivněna teplotou termooxidace, kdy bylo pozorováno, že se zvyšující se teplotou termooxidace se také zvyšuje stupeň zoxidování, viz obrázek (Obr. 15.). Po shrnutí těchto výsledků dospějeme tedy k závěru, že se zvyšující se teplotou termooxidace roste rychlost a míra oxidace vzorku.

Dále bylo pozorováno, že po zahájení experimentu k oxidaci vzorku nedocházelo, což mohlo být zřejmě způsobeno přítomností antioxidantů, které jsou k polyethylenu přidávány při jeho výrobě. Po určitém čase, který se lišil v závislosti na teplotě použité při termooxidaci, byl pozorován prudký nárůst karbonylového indexu CI, který je mírou zoxidování testovaného vzorku. Rychlý nástup oxidace je zřejmě spojen s vyčerpáním antioxidační kapacity již zmíněných antioxidantů. Tento průběh je žádoucí, neboť záměrem výrobců bylo vyprodukovat materiál, který by byl po určité době, tj. po dobu, kdy by se pohyboval ve spotřebitelské sféře, stálý a po uplynutí této doby, tj. v době, kdy by se stal odpadem, by byl rychle a snadno zoxidován.

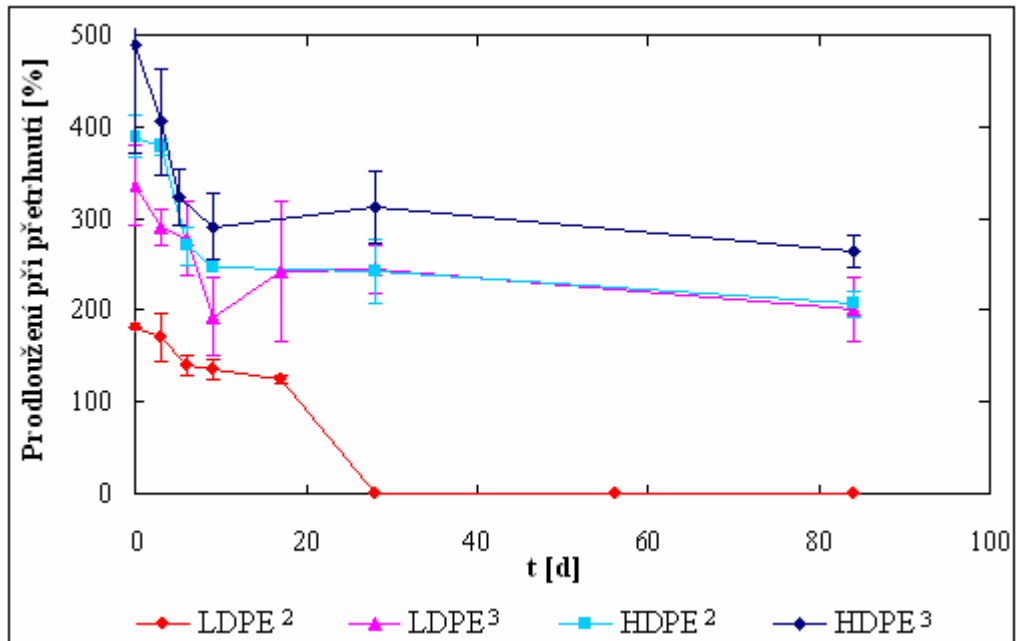
Přítomnost karbonylových skupin byla tedy detekována pouze u vzorku LDPE². U vzorků bez přídavku prooxidantů, tj. LDPE³ a HDPE³, nebyla v průběhu jejich vystavení působení různým teplotám pozorována žádná změna jejich spekter, což nebylo nijak překvapující. Je zajímavé, že negativní výsledky byly pozorovány i u vzorku HDPE², který i přestože prooxidanty obsahoval, rovněž oxidován nebyl. Vzorky s prooxidanty, tj. LDPE² a HDPE², se lišily v obsahu plniva podporující zahájení degradace, které bylo výrobcí dávkováno úměrně k tloušťce polymeru. Vzorek LDPE² o tloušťce 50-55 μm obsahoval 15 % plniva a HDPE² o cca 3 x nižší tloušťce (17 μm) obsahoval i 3 x méně plniva (5 %). Na základě této skutečnosti by se dalo usuzovat, že vzorky budou oxidovány obdobnou rychlostí. Skutečnost se však poněkud liší, což mohlo být zřejmě způsobeno jejich rozdílnými strukturami. Snadná a rychlá oxidace LDPE s prooxidanty mohla být podpořena jeho rozvětvenou strukturou, zatímco nerozvětvená struktura HDPE mohla být limitujícím faktorem oxidace. Dalším negativním faktorem ovlivňujícím oxidaci HDPE s prooxidanty mohla být jeho vysoká krystalinita ve srovnání s LDPE.

7.1.2 Mechanická pevnost

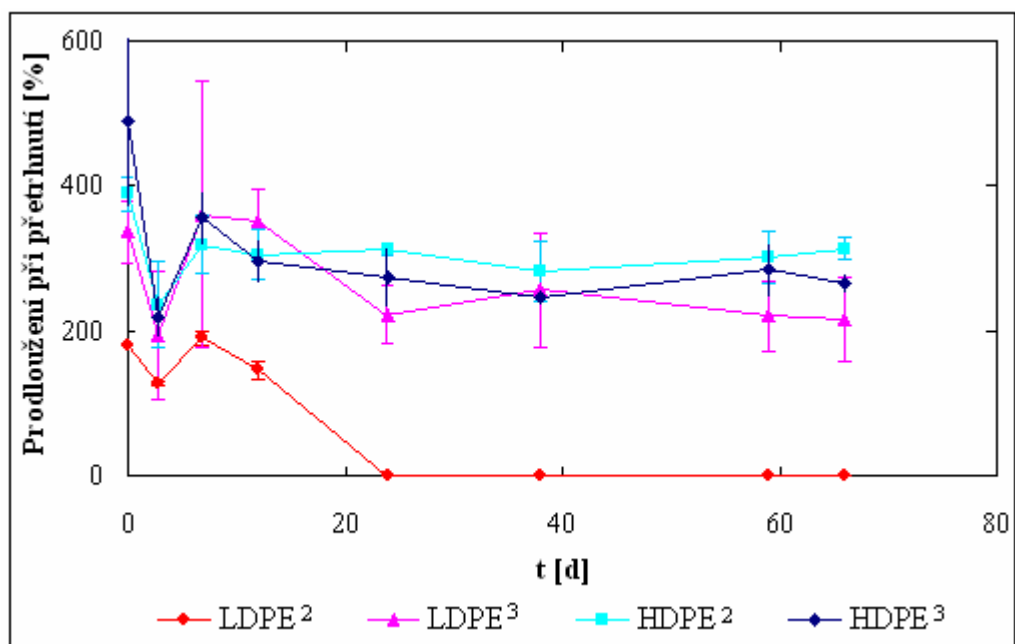
Vzorky LDPE², HDPE², LDPE³ a HDPE³ byly po termooxidaci při různých teplotách podrobeny tahovým zkouškám. Vzhledem k tomu, že některé termooxidované vzorky byly v pokročilejší fázi termooxidace velmi křehké, nebylo u těchto vzorků prodloužení při přetržení přístrojem detekováno, a proto byly tyto hodnoty považovány za nulové.

Na obrázcích (Obr. 16. – 18.) je zobrazena závislost prodloužení při přetrhnutí na čase, po který byly vzorky vystaveny termooxidaci při různých teplotách. Pro přehlednost obrázků (Obr. 16. a 17.) nebyly některé vybrané naměřené hodnoty graficky vynášeny, v příloze (P I a P II) jsou veškerá naměřená data uvedena.

Tahové zkoušky se vzorky, které byly podrobeny termooxidaci při 60°C a 70°C, viz obrázky (Obr. 16., 17.), měly obdobný průběh. U vzorků LDPE³ a HDPE³ bez prooxidantů byla pozorována ztráta pevnosti v tahu na přibližně ½ z původní hodnoty. Neočekávaný průběh, s výjimkou vzorku oxidovaného při 80°C, byl pozorován u HDPE², tj. vzorku s prooxidanty, neboť termooxidovaný HDPE² při 60°C a 70°C vykazoval stejné průběhy jako vzorky bez prooxidantů. Naopak tomu bylo u LDPE², tedy vzorku s prooxidanty, kde nastala velmi rychlá ztráta pevnosti v tahu již za několik dní od počátku termooxidace, kdy bylo nulových hodnot dosaženo za 28 dní při termooxidaci realizované při 60°C (Obr. 16.) a za 24 dní při 70°C (Obr. 17.).

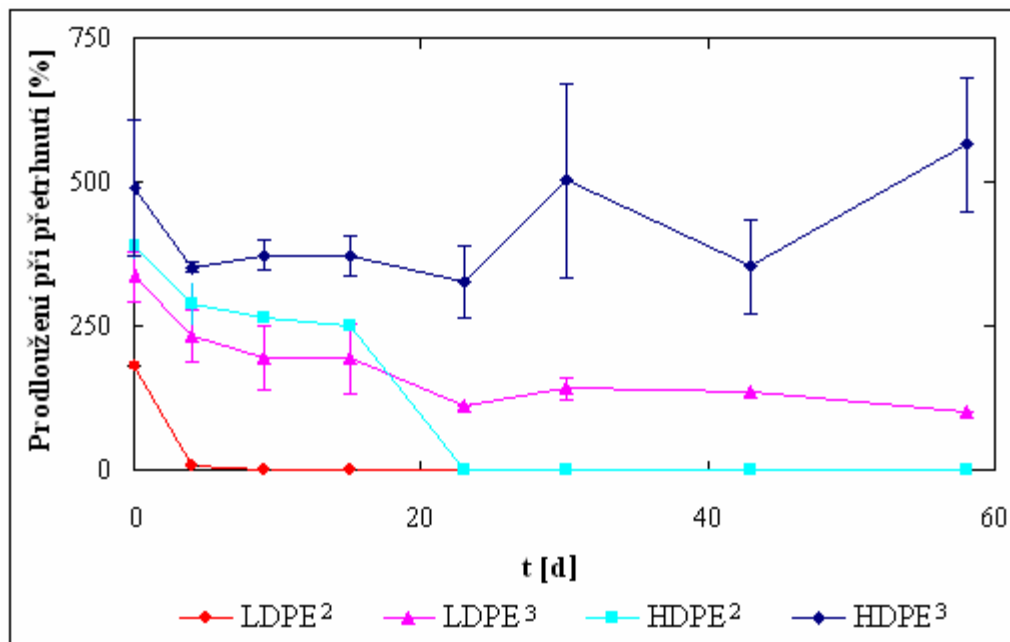


Obr. 16. Pevnost v tahu – vzorky PE fólií termooxidované při 60°C; vynesené body jsou průměrem většinou ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.



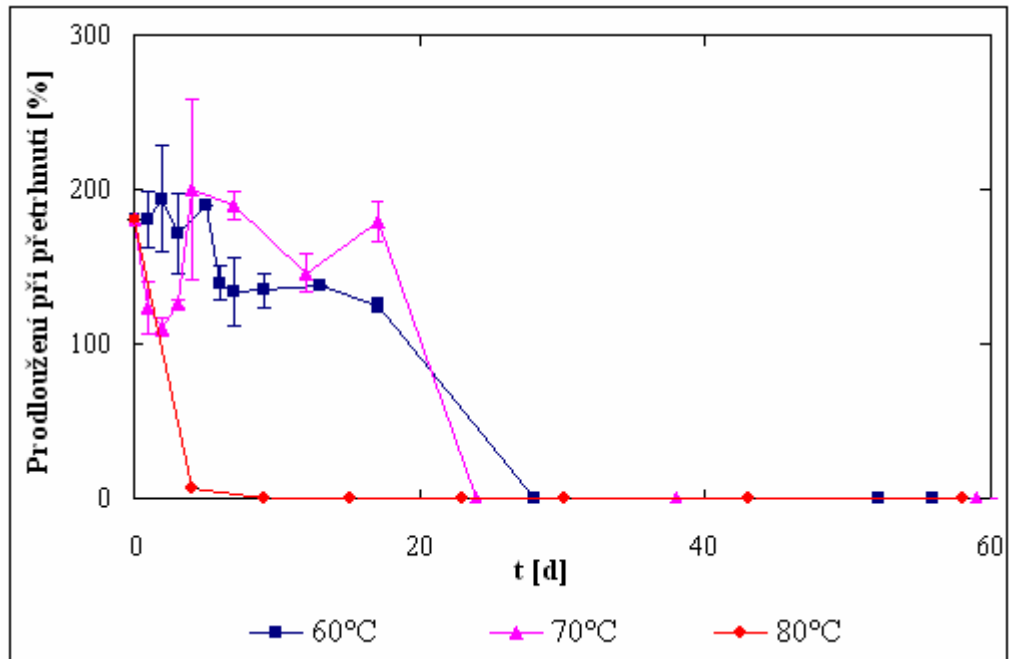
Obr. 17. Pevnost v tahu – vzorky PE fólií termooxidované při 70°C; vynesené body jsou průměrem většinou ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

Nejvýraznější a nejrychlejší ztráty mechanické pevnosti byly pozorovány u vzorků termooxidovaných při 80°C, viz obrázek (Obr. 18.). Vzorky LDPE² a HDPE² s prooxidanty dosáhly nulových hodnot měřeného parametru prodloužení při přetržení již za pár dní od zahájení termooxidace, u LDPE² za 9 dní a u HDPE² za 23 dní.



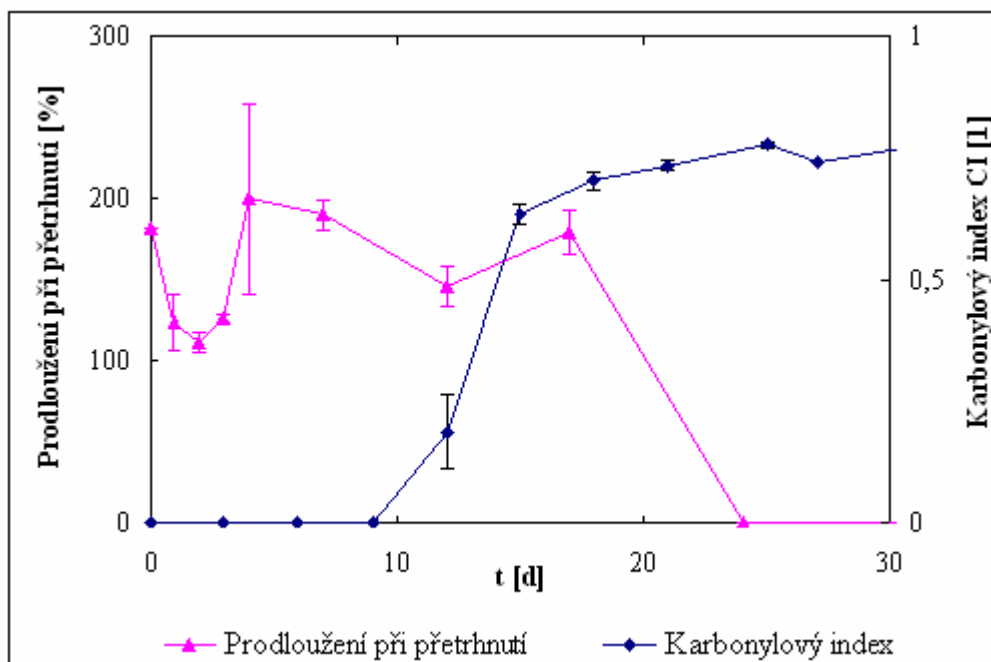
Obr. 18. Pevnost v tahu – vzorky PE fólií termooxidované při 80°C; vynesené body jsou průměrem většinou ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

Na obrázku (Obr. 19.) je zobrazen vliv teploty použité při termooxidaci vzorku LDPE² na rychlost ztráty jeho mechanické pevnosti. Zde se nejvýrazněji na ztrátě pevnosti v tahu podílela termooxidace provedená při 80°C, kde byl pozorován pokles na nulovou hodnotu již za 9 dní, při 70°C došlo k tomuto poklesu až za 24 dní a při 60°C za 28 dní od zahájení termooxidace.



Obr. 19. Vliv teploty termooxidace na rychlost ztráty mechanické pevnosti vzorku LDPE²; vynesené body jsou průměrem většinou ze 2 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

U termooxidovaného LDPE² byla pozorována souvislost mezi ztrátou mechanické pevnosti a rostoucím karbonylovým indexem. Z obrázku (Obr. 20.) je zřejmé, že růst karbonylového indexu byl doprovázen ztrátou mechanické pevnosti. Tato souvislost byla u oxidovaného vzorku LDPE² pozorována i pro ostatní teploty, které byly použity při jeho termooxidaci.



Obr. 20. Vztah mezi CI a pevností v tahu u termooxidovaného LDPE² při 70°C; vynesené body jsou průměrem většinou ze 2 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

Na závěr tedy můžeme shrnout, že mechanická pevnost PE fólií zůstává po určitou dobu termooxidace zachována a nebo jen mírně klesá. U vzorků bez prooxidantů nebylo dosaženo nulových hodnot pevnosti v tahu, což mohlo být způsobeno účinkem antioxidantů vůči jejich termooxidaci. Neočekávaný průběh byl pozorován u PE fólie s prooxidanty HDPE², s výjimkou vzorku oxidovaného při 80°C, neboť termooxidovaný HDPE² při 60°C a 70°C vykazoval stejné průběhy jako vzorky bez prooxidantů. Toto chování mohlo být způsobeno tím, že se výrobcí nepodařilo nalézt správný poměr mezi antioxidanty a prooxidanty při jeho výrobě. PE fólie s prooxidanty LDPE² byla snadno a rychle oxidována při všech teplotách. Bylo pozorováno, že se zvyšující se teplotou termooxidace dochází k rychlejšímu ztrátám mechanické pevnosti u vzorku LDPE². Zde byl taktéž pozorován patrný vliv antioxidantů, které po určitou dobu termooxidace působily proti oxidaci vzorku, ale po vyčerpání jejich antioxidantní kapacity pak došlo jak k rychlému růstu karbonylového indexu, tak i ke ztrátám mechanické pevnosti.

7.1.3 Identifikace produktů abiotické oxidace pomocí GC-MS

Extrakt vzorků LDPE¹ a HDPE¹ byly připraveny, analyzovány a vyhodnocovány způsobem popsáním v kap. 6.4.3.

Výsledky tohoto experimentu nejsou uspokojivé, neboť původním záměrem bylo vyextrahovat a identifikovat případné karboxylové kyseliny, které by měly být jedním z produktů abiotické oxidace. Vzhledem k tomu, že tyto a nebo případně jiné produkty abiotické oxidace nalezeny nebyly, nepokládáme za důležité zde chromatogramy uvádět. Chromatogramy jsou k nahlédnutí na CD, které je k této práci přiloženo. Identifikovány byly pouze některé signály, které byly na chromatogramu výraznější a které by případně mohli být produktem oxidace PE, viz tabulka (Tab. VII.).

Tab. VII. Přehled identifikovaných sloučenin pomocí GC-MS.

Rozpouštědlo	Retenční čas	Vzorek	Pravděpodobnost [%]	Identifikovaná sloučenina
Methanol	9,099	LDPE ¹	98	2,2,4,6,6-pentamethyl heptan
			97	2,2-dimethyl dekan
		HDPE ¹	98	2,2,4,6,6-pentamethyl heptan
			97	2,2-dimethyl dekan
Minerální médium + hexan	17,017	LDPE ¹	97	1-oktadecen
			96	9-eikosen; 1-heptadecen
		HDPE ¹	96	1-oktadecen
			95	9-eikosen; 1-heptadecen; 9-oktadecen; 1-dokosen
			94	1-nonadecen; 1-pentadecen

Negativní výsledek tohoto experimentu mohl být dán tím, že testované vzorky byly již delší dobu uchovávány a mohlo tak dojít k případným ztrátám některých produktů abiotické oxidace. To je ovšem pouze velmi

nejasná domněnka plynoucí ze skutečnosti, že dříve bylo prokázáno, že při abiotické oxidaci mohou vznikat i těkavé látky. Velmi pravděpodobným vysvětlením je, že mohl být špatně zvolen postup extrakce, kterým měly být produkty abiotické oxidace získány. Při dalších experimentech na GC-MS jinými skupinami se také ukázalo, že čistota použitého hexanu nebyla pro použitou aplikaci dostatečná.

7.2 Aerobní biodegradace

Biodegradační testy sloužily k otestování odbourávání oxidovaných vzorků PE fólií s prooxidanty v prostředí vyžralého kompostu nebo půdy.

Biodegradační testy byly vyhodnocovány na základě měření produkce CO₂ pomocí plynové chromatografie, viz kap. 6.6.1. Procentuelní odstranění substrátu D_{CO₂} bylo určeno dle rovnic v kap. 6.6.2.

Realizace všech testů je popsána v kap. 6.5.4 – 6.5.6.

7.2.1 Biodegradace v půdním prostředí

Půdní test č. 1

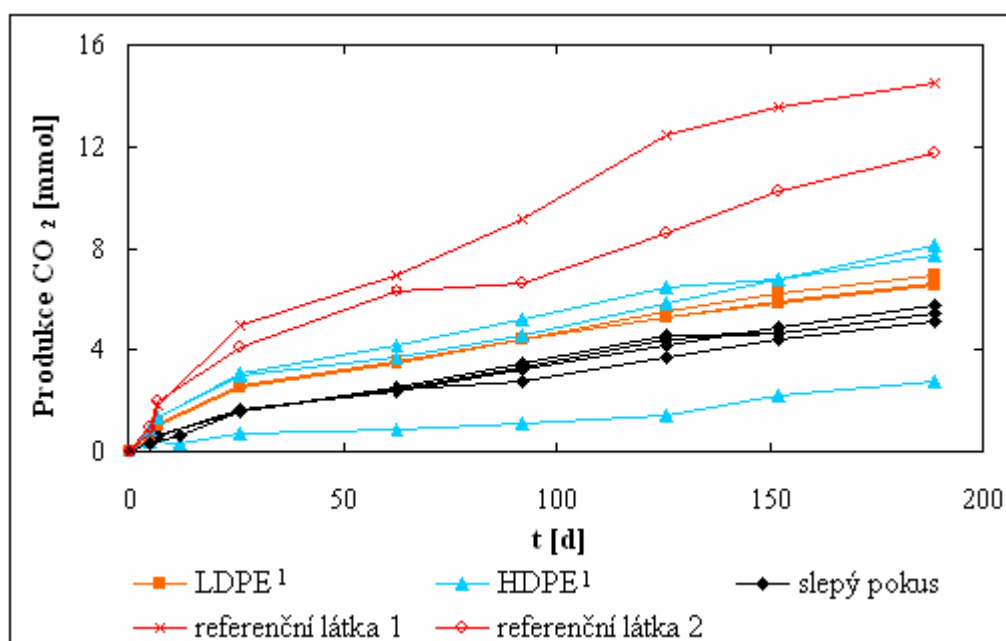
Biodegradace vzorků PE fólií LDPE¹ a HDPE¹ byla realizována 189 dní. V současné době nebyl test ukončen, neboť biodegradace PE fólií s prooxidanty je proces zdlouhavý a proto se dá očekávat jeho další odbourávání.

Grafické zpracování výsledků půdního testu č. 1 je znázorněno na obrázcích (Obr. 21 – 23). Z obrázku (Obr. 21.) je patrné, že u jedné ze tří testovacích láhví obsahující vzorek HDPE¹ byla produkce CO₂ zřetelně menší než slepé pokusy, což bylo zřejmě způsobeno netěsností testovací lahve. Z tohoto důvodu byly výsledky produkce CO₂ z netěsné lahve vyřazeny.

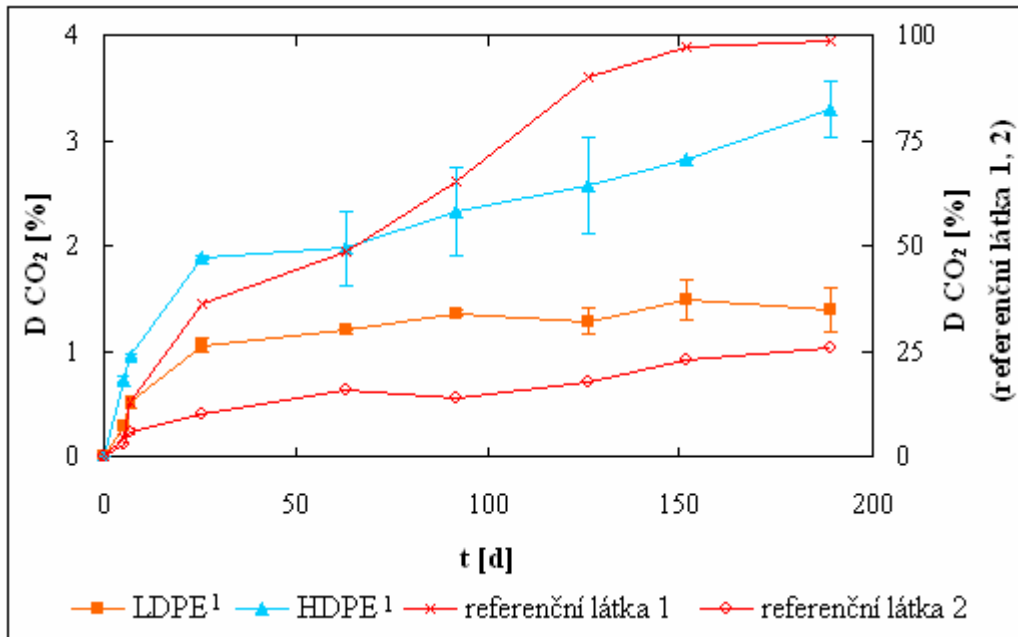
Na obrázku (Obr. 23.) jsou znázorněny kyslíkové poměry v testovacích lahvích během inkubační doby. Aby bylo v testovacích lahvích zachováno aerobní prostředí po celou dobu inkubace, bylo prováděno jejich

provzdušňování způsobem popsaným v kap. 6.5.2.

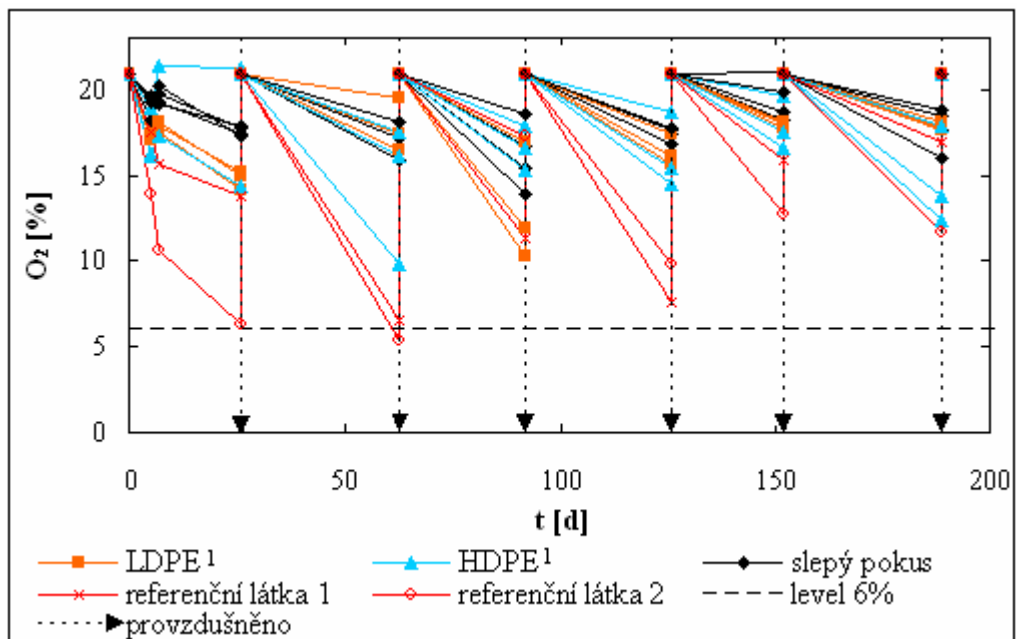
Na obrázku (Obr. 22.) je zobrazen průběh odbourávání testovaných vzorků. Na levé ose y je zobrazena stupnice D_{CO_2} pro vzorky PE fólií LDPE¹ a HDPE¹, na pravé ose y je stupnice D_{CO_2} pro referenční látky (1) a (2). Z průběhu je patrná velmi rychlá mineralizace referenčních látek (1) a (2) oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 189 denní inkubaci dosaženo 98,4 % D_{CO_2} u referenční látky (1) a 25,7 % mineralizace u referenční látky (2). U vzorků PE fólií byl na počátku inkubace pozorován skokový nárůst D_{CO_2} na 1,1 % u LDPE¹ a 1,9 % HDPE¹ za 26 dní. Avšak po těchto 26 dnech byla produkce CO_2 u LDPE¹ a HDPE¹ pouze nepatrná. Za 189 dní inkubace bylo dosaženo $1,5 \pm 0,2$ % mineralizace LDPE¹ a $3,3 \pm 0,2$ % D_{CO_2} u vzorku HDPE¹. Biodegradace těchto vzorků je velmi pomalá a není zřejmě v souladu s představami výrobce. Pokud mělo být původním záměrem vyrobit takový materiál, který by byl v prostředí poměrně rychle degradován, pak se v tomto případě zřejmě nepovedlo. Doba biodegradace takového materiálu se na základě našich pokusů nedá odhadnout.



Obr. 21. Kumulativní produkce CO_2 – půdní test č. 1.



Obr. 22. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO₂ – půdní test č. 1; vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.



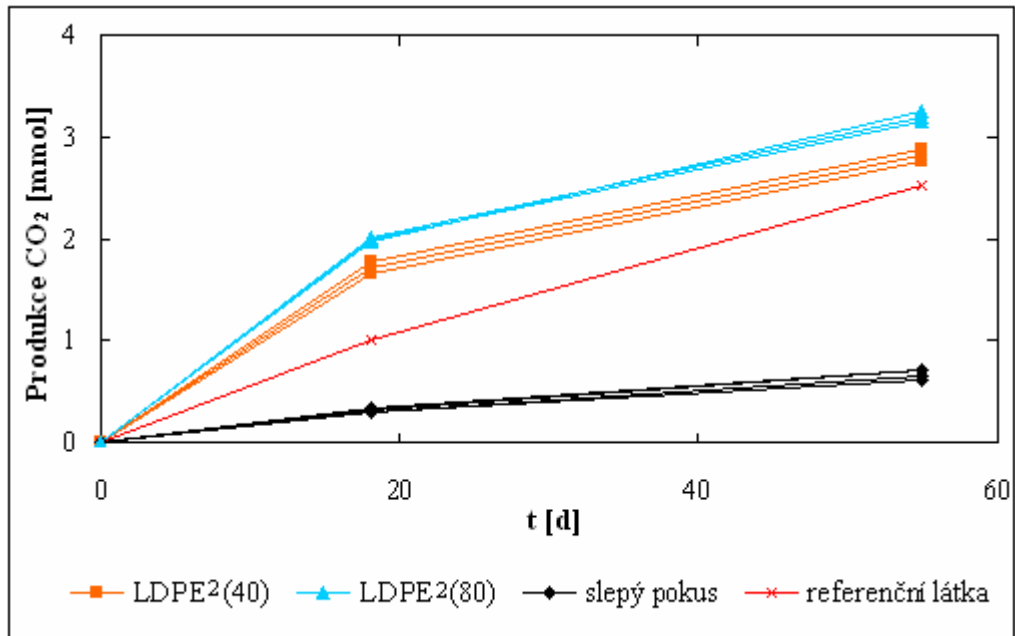
Obr. 23. Aktuální koncentrace O₂ – půdní test č. 1.

Půdní test č. 2

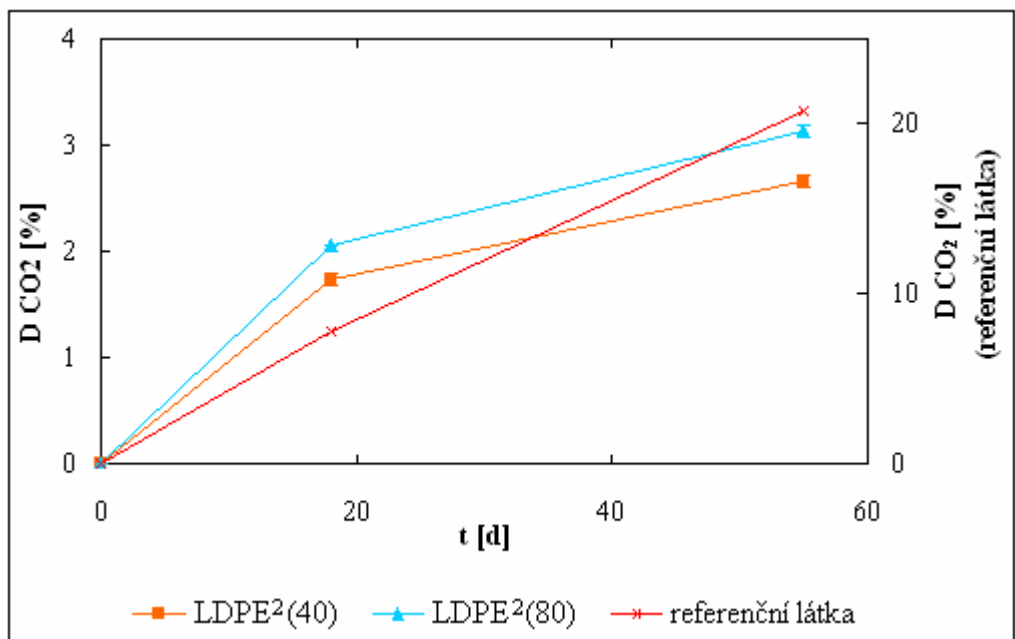
V tomto testu byly biodegradaci v prostředí půdy podrobeny vzorky LDPE²(40) a LDPE²(80), jedná se o vzorky stejného charakteru lišící se pouze stupněm zoxidování, viz kap. 6.1.2.

Test nebyl v současné době ještě ukončen, neboť je realizován poměrně krátkou dobu vzhledem k špatné potenciální biorozložitelnosti testovaných vzorků. Poslední GC měření produkce CO₂ a spotřeby O₂ u tohoto biodegradačního testu byla provedena po 55 dnech inkubace. Grafické znázornění dosavadních výsledků půdního testu č. 2 jsou uvedeny na obrázcích (Obr. 24 – 26).

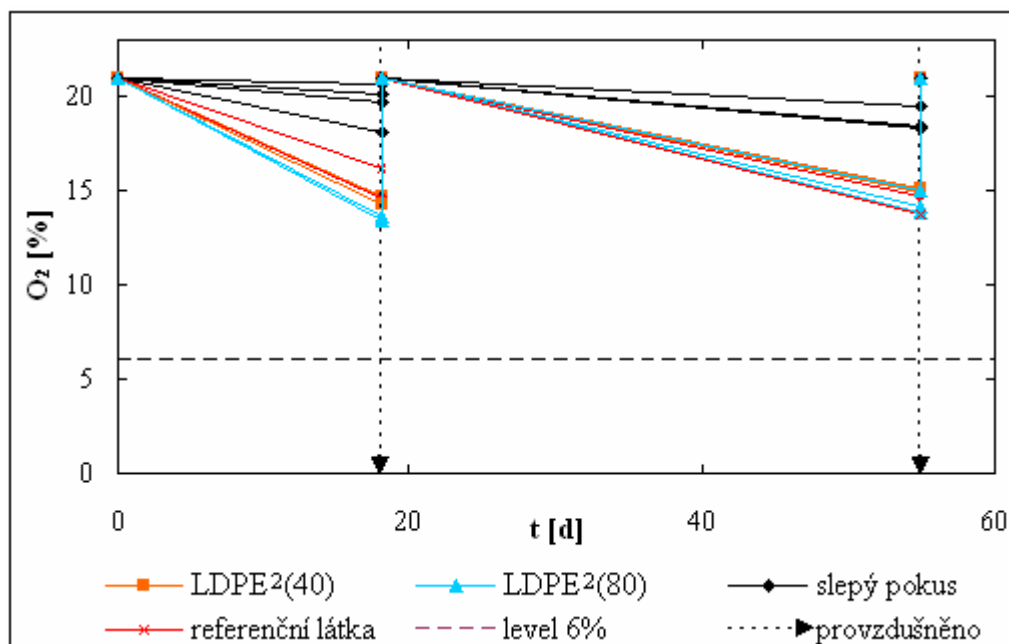
Z obrázku (Obr. 24.) je patrná výrazně vyšší kumulativní produkce CO₂ u testovacích lahví se vzorky ve srovnání se slepými pokusy, což je důkazem mineralizace testovaných vzorků. Na obrázku (Obr. 25.) je zobrazen průběh odbourávání vzorků (osa y vlevo) a referenční látky (1) (osa y vpravo). Průběh odbourávání vzorků PE fólií LDPE²(40) a LDPE²(80) je oproti vzorkům podrobeným biodegradaci v půdním testu č. 1 nesrovnatelně rychlejší, neboť již za 55 dní inkubace bylo dosaženo 2,7 ± 0,05 % odstranění LDPE²(40) a 3,1 ± 0,06 % D_{CO₂} u vzorku LDPE²(80). Vzhledem k tomu, že tyto testované vzorky obsahují 15 % vápence jako plniva, není zcela jasné zda produkce CO₂ striktně pochází z organicky vázaného uhlíku. Pokud bude produkce CO₂ i nadále pokračovat stejnou či obdobnou rychlostí a až hodnota D_{CO₂} přesáhne cca 20 %, teprve pak bude jisté, že produkce CO₂ pochází z organického uhlíku testovaných PE vzorků. Jestli bude degradace těchto oxidovaných vzorků PE s prooxidanty, dodaných firmou Granitol a.s., dále pokračovat, mohl by se tento materiál v budoucnu stát velmi žádaným v oblasti výroby plastových produktů, zejména tedy obalových materiálů na jedno použití.



Obr. 24. Kumulativní produkce CO₂ – půdní test č.2.



Obr. 25. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO₂ – půdní test č. 2; vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.



Obr. 26. Aktuální koncentrace O₂ – půdní test č. 2.

7.2.2 Biodegradace v prostředí kompostu

Kompostovací test č. 1

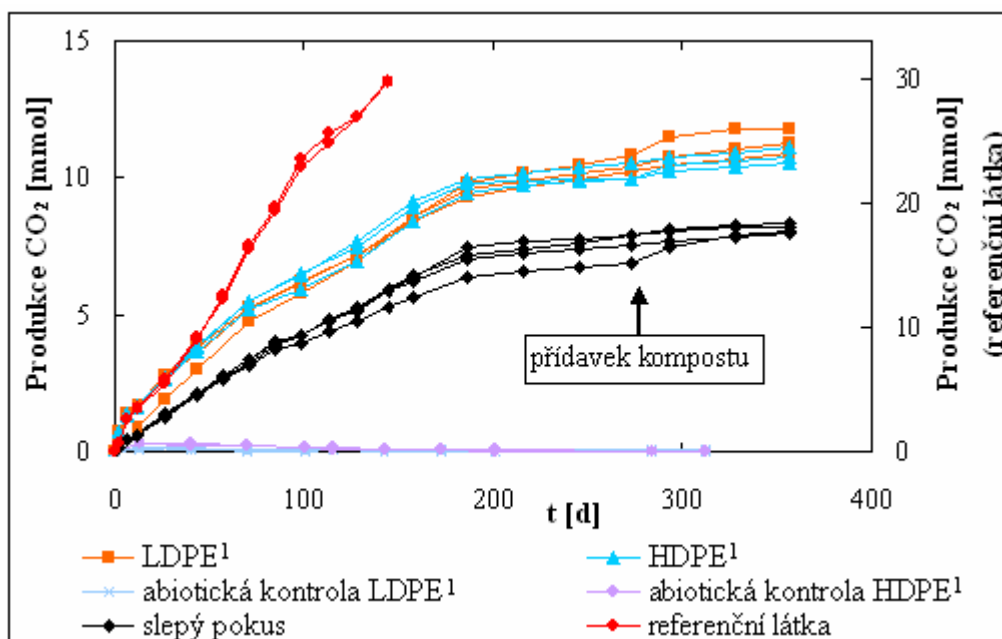
Biodegradacnímu testu č. 1 v prostředí kompostu byly podrobeny vzorky LDPE¹ a HDPE¹.

Grafické znázornění výsledků je uvedeno na obrázcích (Obr. 27. – 30.). Stejně vzorky PE fólií byly testovány i v půdním testu č.1, kde byl pozorován obdobný průběh jako v tomto kompostovacím testu. Na počátku byl stejně jako v půdním testu č. 1 i zde pozorován skokový nárůst D_{CO₂} u testovaných vzorků PE fólií, který se po určité inkubační době ustálil na obdobné hodnotě. V průběhu testu došlo k výraznému poklesu produkce CO₂ jak u slepých pokusů tak i u samotných testů se vzorky viz obrázek (Obr. 27.). Na základě této skutečnosti bylo biodegradacní prostředí po 272 dnech inkubace revitalizováno přidavkem 0,5 g sušiny vyzrálého kompostu, což činilo 1/5 z původního dávkovaného množství kompostu. Účelem tohoto přidavku byla reinokulace prostředí čerstvými mikroorganismy. U tohoto biodegradacního testu bylo po 356 dnech inkubace dosaženo 3,6 ± 0,4 % odstranění vzorku LDPE¹ a 3,5 ± 0,3 % D_{CO₂} u vzorku HDPE¹. Vzhledem k tomu, že maximální dosažené hodnoty

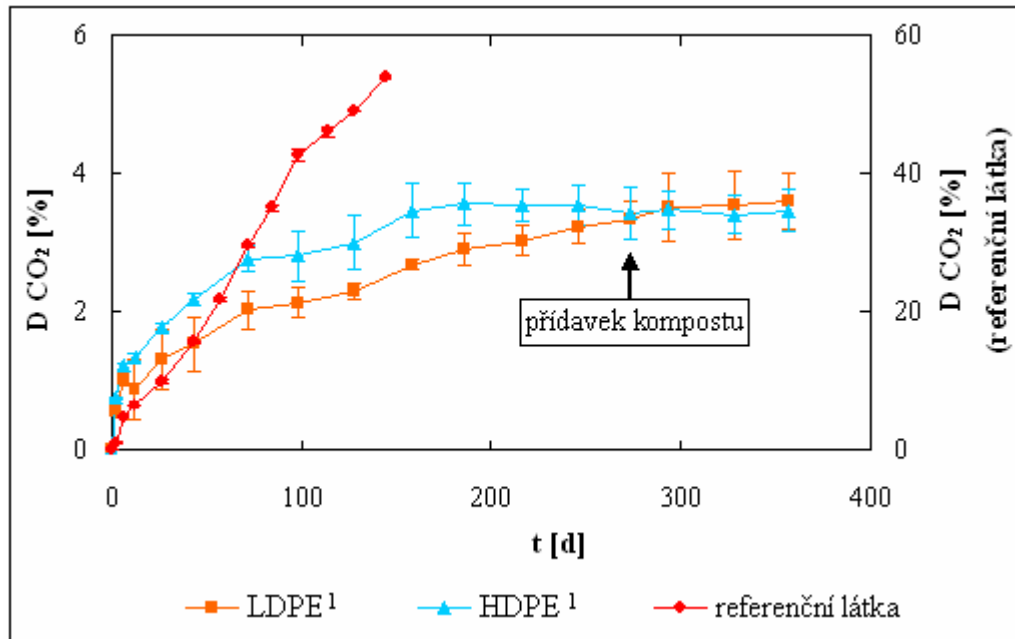
D_{CO_2} u obou vzorků byly již po delší dobu inkubace konstantní (cca 100 dní u LDPE¹ a cca 200 dní u HDPE¹), viz obrázek (Obr. 28.), byl na základě této skutečnosti test po 356 denní inkubaci ukončen.

U abiotických kontrol testovaných vzorků nebyl prokázán podíl abiotických pochodů na degradaci (produkci CO_2), viz obrázek (Obr. 27.). Odstranění substrátů z biodegradačního prostředí je tedy výsledkem působení mikroorganismů.

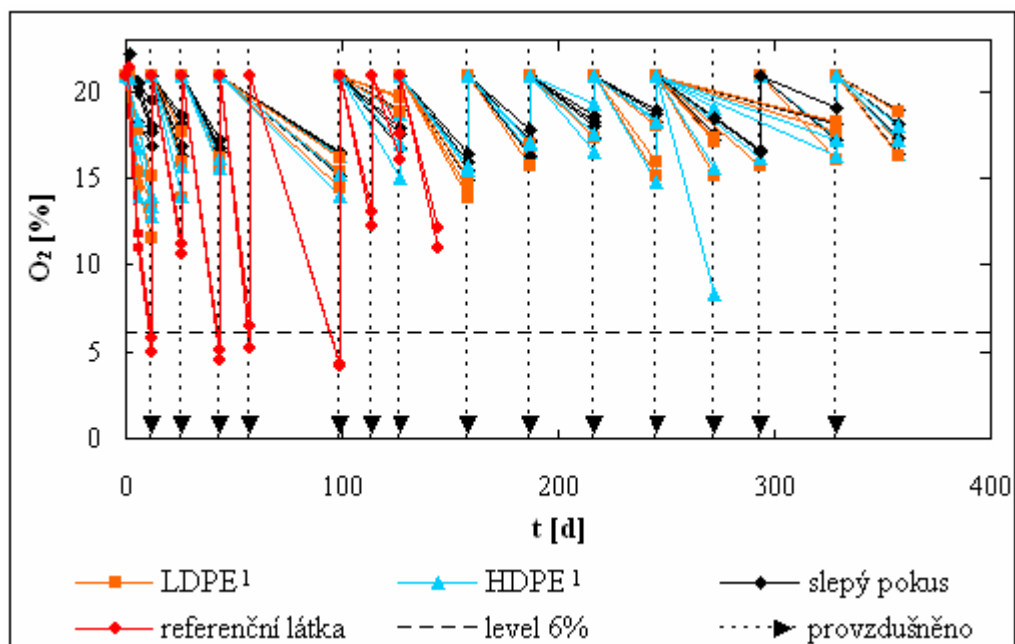
Výsledky procentuelního odstranění testovaných vzorků PE fólií s prooxidanty dosáhly v prostředí kompostu o něco vyšších hodnot než-li v prostředí půdním. Avšak i tyto hodnoty jsou poněkud nízké vzhledem k jejich potenciálnímu budoucímu uplatnění co by biodegradabilního polymeru.



Obr. 27. Kumulativní produkce CO_2 – kompostovací test č.1.



Obr. 28. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO_2 – kompostovací test č. 1; vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.



Obr. 29. Aktuální koncentrace O_2 – kompostovací test č. 1.

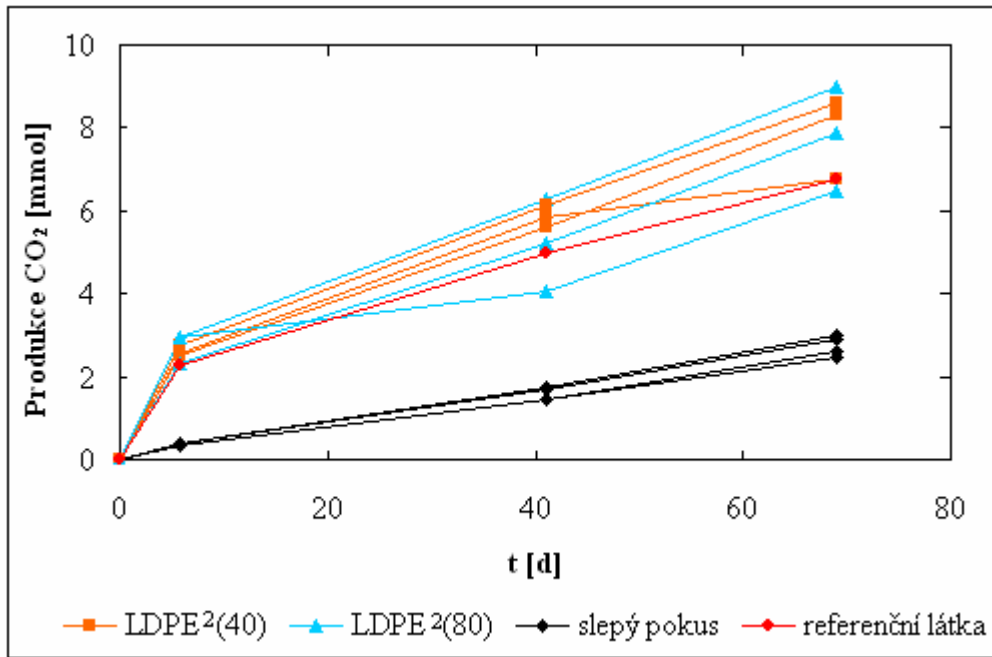
Kompostovací test č. 2

Kompostovacímu testu č. 2 byly podrobeny vzorky PE fólií LDPE²(40) a LDPE²(80). Test byl realizován poměrně krátkou dobu (69 dní) a proto nebyl v současné době ještě ukončen. Poslední měření produkce CO_2 a

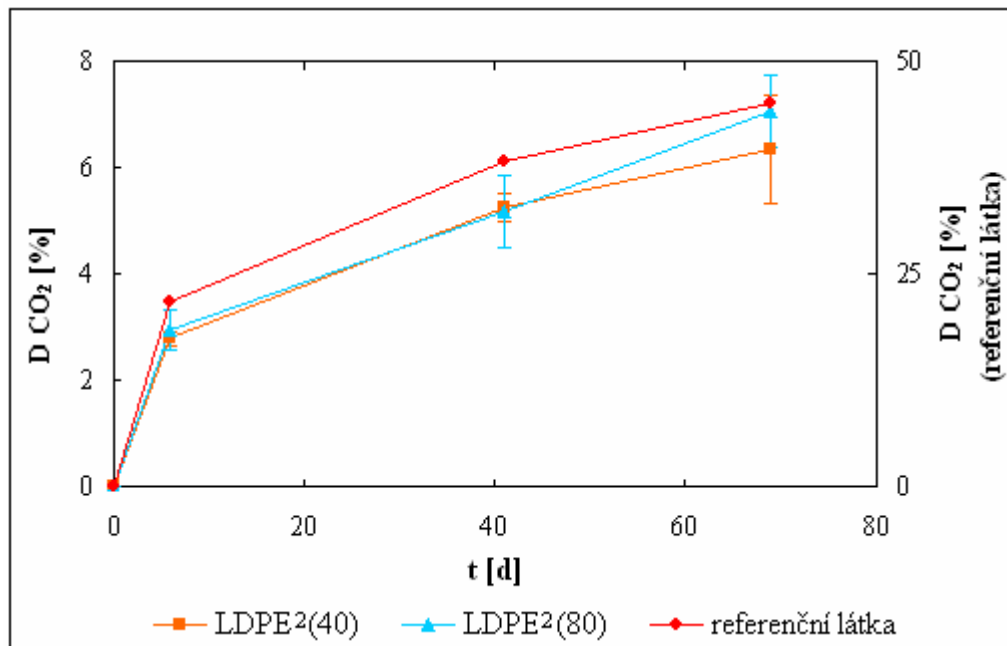
spotřeby O_2 byla tedy provedena po 69 dnech inkubace. Grafické znázornění dosavadních výsledků je uvedeno na obrázcích (Obr. 30 – 32).

U tohoto testu byla překročena 6 % hranice koncentrace kyslíku v láhvi, která zaručuje aerobní podmínky v testovaném prostředí, viz obrázek (Obr. 32.). K tomuto překročení došlo na základě předpokladu, že průběh spotřeby kyslíku bude stejného či obdobného charakteru jako v případě kompostovacího testu č. 1, kdy byl experimentálně zvolen časový interval provzdušňování na cca 1 x za 30 dnů. Vzorky podrobené tomuto testu jsou mnohem rychleji odbourávány než-li vzorky PE fólií v kompostovacím testu č. 1, a proto také došlo k zvýšené spotřebě kyslíku než v testu č. 1. Na základě této skutečnosti byl pro další měření zvolen kratší interval provzdušňování testovacích lahví.

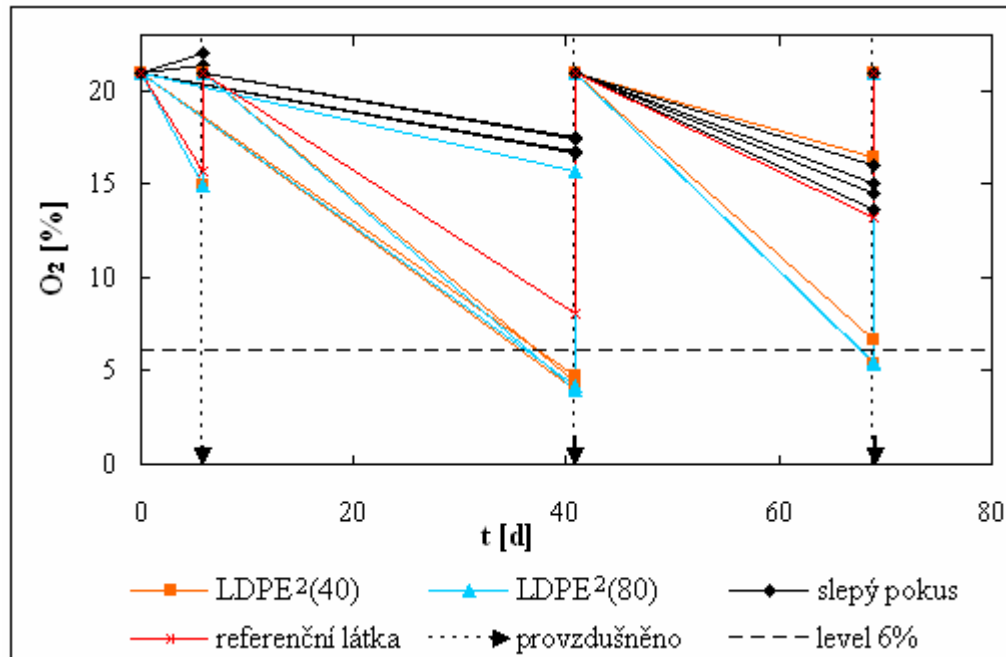
Stejně vzorky PE fólií byly testovány i v půdním testu č. 2. Jak je vidět na obrázku (Obr. 30.) i zde je patrná vyšší kumulativní produkce CO_2 u testovacích lahví se vzorky, v prostředí kompostu je však produkce CO_2 dvojnásobně vyšší než v prostředí půdním. Kompostovací podmínky mají tedy pozitivní vliv na biodegradaci testovaných vzorků. Na obr. (Obr. 31.) je zobrazen průběh odbourávání PE vzorků (levá osa y) a referenční látky (1) (osa y vpravo). Za pouhých 69 dní inkubace bylo dosaženo $6,3 \pm 1,0$ % odstranění LDPE²(40) a $7,1 \pm 0,7$ % D_{CO_2} u LDPE²(80). Degradace těchto vzorků se zdá být velmi nadějná ve srovnání se vzorky LDPE¹ a HDPE¹, které byly testovány v kompostovacím testu č.1. I zde však není zcela jasné, zda není produkce CO_2 ovlivněna přítomností vápence (15 %) jakožto plniva v PE vzorcích. Pokud bude další průběh odbourávání těchto vzorků stejné či obdobné intenzity a přesáhne 20 % D_{CO_2} , můžeme poté s jistotou konstatovat, že je mineralizován organicky vázaný uhlík z testovaných vzorků PE fólií. Z tohoto důvodu nebyl doposud tento test ukončen a ve sledování produkce CO_2 se bude i nadále pokračovat.



Obr. 30. Kumulativní produkce CO₂ – kompostovací test č. 2.



Obr. 31. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO₂ – kompostovací test č. 2; vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

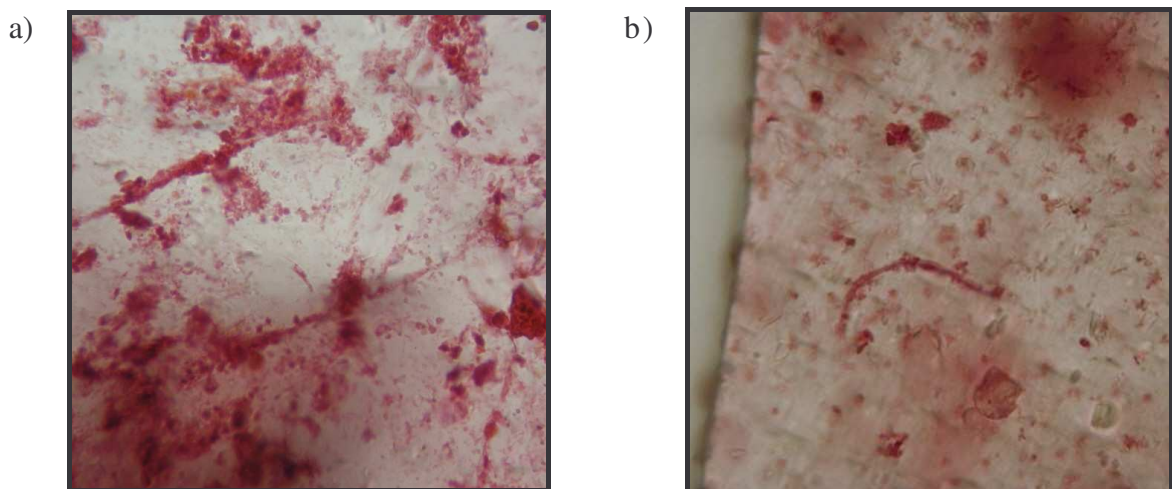


Obr. 32. Aktuální koncentrace O_2 – kompostovací test č. 2.

7.2.3 Mikroskopie PE vzorků podrobených biodegradaci v prostředí kompostu

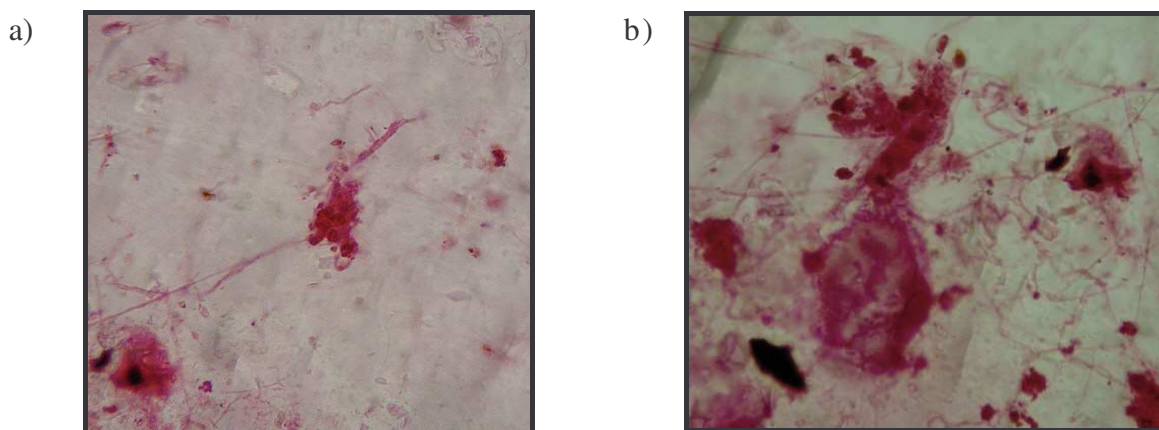
Mikroskopické pozorování bylo provedeno po zafixování a vybarvení PE vzorků způsobem uvedeným v kap. 6.7.

Vzorky LDPE¹ a HDPE¹ podrobené biodegradačnímu testu v prostředí kompostu č.1, byly po ukončení pokusu mikroskopovány. Mikroskopické pozorování je zobrazeno na obrázku (Obr. 33.), kdy byla u obou vzorků pozorována přítomnost vláken plísni na jejich povrchu.

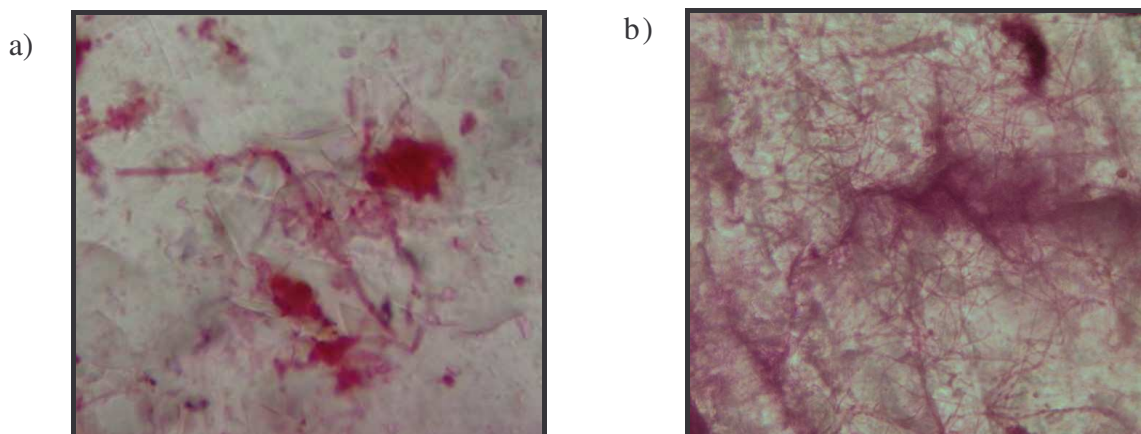


Obr. 33. PE fólie po vystavení biodegradačnímu prostředí (1000 x zvětšené). a) LDPE¹, b) HDPE¹.

Vzorky LDPE²(40) a LDPE²(80), podrobené biodegradačnímu testu v prostředí kompostu č.2, byly taktéž podrobeny mikroskopování světelným mikroskopem. Výsledky mikroskopického pozorování jsou zobrazeny na obrázcích (Obr. 34. a 35.). U těchto vzorků bylo pozorováno výrazně větší a rozmanitější oživení jejich povrchů, neboť se zde kromě plísní (Obr. 34. a), Obr. 35. a)) nalézaly i vláknité bakterie pravděpodobně patřící do skupiny aktinomycét (Obr. 34. b), Obr. 35 b)).



Obr. 34. LDPE²(40) po vystavení biodegradačnímu prostředí (1000 x zvětšené).



Obr. 35. LDPE²(80) po vystavení biodegradačnímu prostředí (1000 x zvětšené).

7.3 Intenzita metabolismu buněk

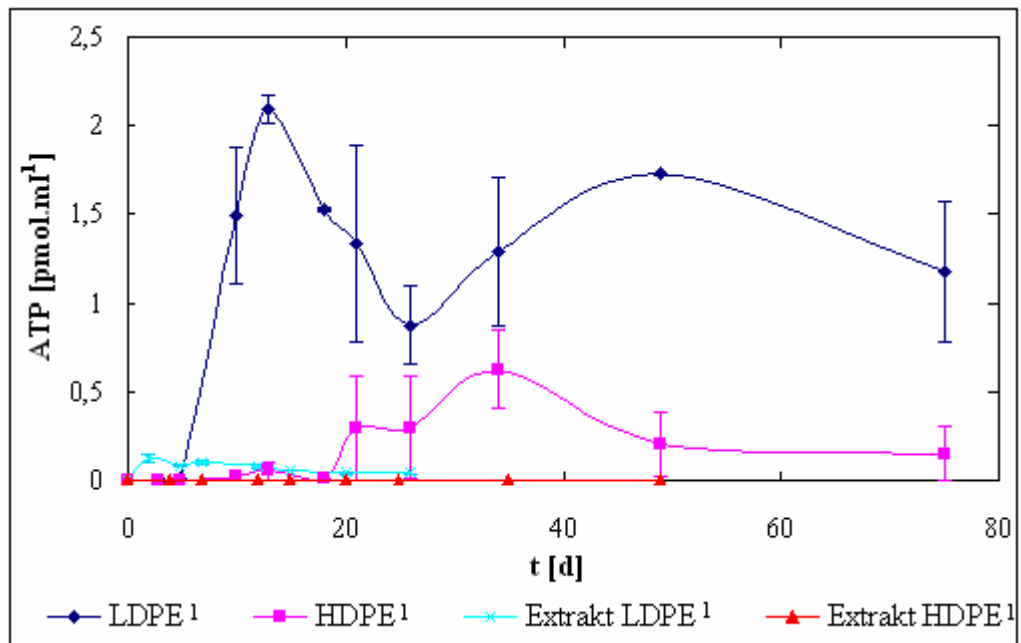
Výsledky měření koncentrace ATP jsou znázorněny na obrázku (Obr. 36.). Tento průběh se však poněkud liší od původního očekávání.

Bylo předpokládáno, že v souladu s publikovanými výsledky [32] bude metabolická aktivita a tím i obsah ATP nejprve rychle růst v souvislosti s využíváním dobře odbouratelných produktů abiotické oxidace a poté dojde ke stabilizaci koncentrace ATP na určité hladině.

U extraktů LDPE¹ a HDPE¹ bylo tedy předpokládáno velmi rychlé využití nízkomolekulárních produktů abiotické oxidace, které měly být ze vzorků vyextrahovány postupem uvedeným v kap. 6.8.2. Koncentrace ATP se měla podle původních předpokladů na počátku inkubace výrazně zvýšit, což by bylo důkazem o využití nízkomolekulárních produktů abiotické oxidace mikroorganismy jako zdroje uhlíku. U extraktů ze vzorků LDPE¹ a HDPE¹ avšak k růstu koncentrace ATP nedošlo, což mohlo být způsobeno tím, že bakterie přítomné v kompostu možná nejsou schopny růstu v suspenzi bez pevného podkladu. Jedná se však o vysvětlení zřejmě nedostatečné.

Pokusy provedené s pevnými vzorky LDPE¹ a HDPE¹ vykazovaly mírný vzrůst koncentrace ATP během inkubace. Nárůst ATP byl zřejmě způsoben využitím vzorků mikroorganismy jako zdroje uhlíku, avšak i tento průběh není podle původních předpokladů, kdy byl očekáván mnohem výraznější růst koncentrace ATP.

Výsledek experimentu je obtížně interpretovatelný zvláště pak absence růstu bakterií v extraktu ze vzorků, neboť je nám známo, že extrakt obsahuje bakteriemi využitelné látky. Je možné, že celý postup experimentu byl nesprávně volen a nebo mohlo dojít při jeho realizaci k chybě. Podobný pokus o sledování obsahu ATP při biodegradaci za kompostovacích podmínek nebyl v literatuře nalezen, takže nebylo možno si vzít příklad z nějakého již dříve popsáního experimentu.



Obr. 36. Intenzita energetického metabolismu buněk, vynesené body jsou průměrem ze 2 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo sledovat průběh abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty, který byl vyhodnocován pomocí FTIR spekter a tahovými zkouškami. V další části práce byla sledována biorozložitelnost oxidovaného polyethylenu s prooxidanty v prostředí vyzrálého kompostu a půdy. Biodegradace byla hodnocena na základě měření produkce CO₂ pomocí plynové chromatografie.

Výsledky abiotické oxidace PE s prooxidanty na bázi manganu byly poněkud neočekávané, neboť růst karbonylového indexu, který je mírou oxidace, byl pozorován pouze u LDPE², zatímco HDPE² zůstal vůči oxidaci inertní. Průběh růstu karbonylového indexu u LDPE² byl při všech teplotách stejného charakteru. Na počátku experimentu LDPE² oxidaci nepodléhal, což bylo zřejmě způsobeno přítomností antioxidantů, které jsou v polymeru běžně přítomny, a po vyčerpání jejich antioxidační kapacity došlo k prudkému nárůstu karbonylového indexu. LDPE byl oproti HDPE velmi snadno a rychle oxidován, což mohlo být způsobeno jeho rozvětvenou strukturou a nižší krystalinitou. Mechanická pevnost termooxidovaných PE s prooxidanty byla u LDPE² a HDPE² taktéž rozmanitého charakteru. U LDPE² byly po jeho termooxidaci při všech 3 teplotách pozorovány velmi rychlé ztráty mechanické pevnosti, zatímco u HDPE² byl pokles na nulovou hodnotu pozorován pouze u vzorku, který byl termooxidován při 80°C. I zde byl pozorován obdobný vliv antioxidantů, kdy byla mechanická pevnost na počátku termooxidace zachována a po určité době, kdy byla antioxidační kapacita polymeru již vyčerpána, došlo k rychlým ztrátám mechanické pevnosti. Stálost polymeru vůči abiotickému působení po určitou dobu, zejména tedy po dobu co by se vyskytoval ve spotřebitelské sféře, je výrobcí žádoucí stejně jako jejich rychlá degradace v době kdy se stanou odpadem. A proto je snaha o nalezení kompromisu mezi stálostí a degradovatelností polymeru v prostředí. Zdá se, LDPE² s prooxidanty od firmy Granitol a.s., by mohl být jedním z polymerních materiálů, který by těmto požadavkům mohl vyhovovat, neboť se jedná o materiál, který velmi snadno a rychle termooxidaci podléhá. Tyto vzorky

byly dále podrobeny biodegradaci v prostředí půdy a vyzrálého kompostu, jejichž výsledky jsou velmi překvapující a zajímavé.

Výsledky biodegradace realizované s první sadou oxidovaných PE vzorků s prooxidanty železa a kobaltu byly negativního charakteru, neboť u tohoto materiálu bylo dosaženo velmi nízkého procenta degradace, kdy bylo po 189 denní inkubaci v prostředí půdy dosaženo 1,5 % mineralizace u LDPE a přibližně 3,3 % u HDPE, a v případě kompostovacích podmínek bylo za 356 dní dosaženo asi 3,6 % mineralizace u LDPE a cca 3,5 % odbourání u HDPE.

Mnohem překvapivějších a zajímavějších výsledků bylo dosaženo při biodegradaci vzorků PE s prooxidanty na bázi manganu od firmy Granitol a.s., které byly termooxidovány po dobu 40 a 80 dní do různého oxidačního stupně. V půdním prostředí bylo dosaženo $2,7 \pm 0,05$ % mineralizace LDPE²(40) a $3,1 \pm 0,06$ % odstranění LDPE²(80) za pouhých 55 dní. V kompostovacích podmínkách bylo dosažené procento mineralizace ještě o něco vyšší než-li v prostředí půdním, kdy byl po 69 denní inkubaci vzorek LDPE²(40) zmineralizován z $6,3 \pm 1,0$ % a LDPE²(80) byl odbourán z $7,1 \pm 0,7$ %. Vzhledem k tomu, že tyto experimenty podávají pozitivní výsledky, nebyly v současné době ukončeny a v jejich dalším sledování se bude nadále pokračovat. Dosažené procento mineralizace PE vzorků, tedy produkce CO₂, však může být ovlivněno rozkladem vápence, který je v PE vzorcích přítomen jakožto plnivo, které by mělo podle výrobce podpořit degradaci PE s prooxidanty. Vzhledem k tomu, že testované vzorky obsahují až 15 % vápence, musíme počkat až mineralizace dosáhne více než 20 %, poté si můžeme být jisti, že je mineralizován i organicky vázaný uhlík. Pokud tedy bude intenzita produkce CO₂ i nadále stejného či obdobného charakteru, mohl by být tento materiál velmi perspektivním řešením problematiky hromadících se obalových materiálů na jedno použití na skládkách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Honzík R. : Plasty se zkrácenou životností a způsoby jejich degradace [on-line]. [cit. 2006-11-19]. Dostupný z [www: <http://biom.cz/index.Shtml?x=194542>](http://biom.cz/index.Shtml?x=194542).
- [2] Khabbaz F., Albertsson A. Ch., Karlsson S. : Chemical and morfological changes of environmentally degradable polyethylene films exposed to thermo-oxidation, *Polymer Degradation and Stability* (1999), pg. 127-138.
- [3] Palmisano A. C., Pettigrew Ch. A. : Biodegradability of Plastics – Consistent methods for testing claims of biodegradability need to be developed, *Bioscience*, Oct 1992; Vol. 42, No. 9; pg. 680-685.
- [4] Bonhomme S., Cuer A., Delort A-M., Lemaire J., Sancelme M., Scott G. : Environmental biodegradation of polyethylene, *Polymer Degradation and Stability* 81 (2003), pg. 441-452.
- [5] Slejška A. : Testování biodegradability (1997) [on-line]. [cit. 2006-05-12]. Dostupný z [www: <http://stary.biom.cz/clen/as/biodegr_test.html#baca>](http://stary.biom.cz/clen/as/biodegr_test.html#baca).
- [6] Scott G., Wales D. M. : Programmed-Life Plastics from Polyolefins: A new look at Sustainability, *Biomacromolecules*, 2001, Vol. 2, No. 3, pg. 615-622.
- [7] Chiellini E. : Environmentally Degradable Plastics and Promotion of Related Projects [on-line]. [cit. 2006-05-12]. Dostupný z [www: <http://www.ics.trieste.it/Documents/Downloads/df3680.ppt>](http://www.ics.trieste.it/Documents/Downloads/df3680.ppt).
- [8] Davis G., Bulson H., Harrison D. : The Performance of Degradable Polymer Bags, *Macromol.Symp.* (2003), Vol. 197, pg. 265-276.
- [9] Rybníkář F. : Makromolekulární chemie II., Vysoké učení technické v Brně, 1987.
- [10] Stoklasa K. : Makromolekulární chemie II. (přednáška) Zlín : UTB ve Zlíně, 5.10.2003.
- [11] Manchester packing company : D-grad[®] degradable polyethylene [on-line]. [cit. 2006-05-12]. Dostupný z [www: <http://www.manchesterpkg.com/degradable_info2001.htm>](http://www.manchesterpkg.com/degradable_info2001.htm).

- [12] Ghosh R. N. : The printed Polyethylene Package-Degradable in Soil [on-line]. [cit. 2006-11-06]. Dostupný z www: <<http://www.inkmakeronline.com/IMnl /2004/January/page2.html>>.
- [13] U.S. Environmental Protection Agency : Municipal solid waste [on-line]. [cit. 2007-03-10]. Dostupný z www: <<http://www.epa.gov/garbage/facts.htm>>.
- [14] Chiellini E., Corti A., D'Antone S. : Oxo-biodegradable carbon backbone polymers – Oxidative degradation of polyethylene under accelerated test conditions, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), pg. 2739-2747.
- [15] Chiellini E., Corti A., Shift G. : Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes, *Polymer Degradation and Stability* 81 (2003), pg. 341-351.
- [16] Jakubowicz I. : Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE), *Polymer Degradation and Stability* 80 (2003), str. 39-43.
- [17] Jakubowicz I. : Evaluation of rate of abiotic degradation of biodegradable polyethylene in various environments, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), str. 1556-1562.
- [18] Zheng Y., Yanful E. K., Bassi A. S. : A review of Plastic Waste Biodegradation, *Critical Reviews in Biotechnology*, Oct-Dec 2005, Vol. 25, str. 243-250.
- [19] Khabbaz F., Albertsson A.-Ch., Karlsson S. : Trapping of volatile low molecular weight photoproducts in inert and enhanced degradable LDPE, *Polymer Degradation and Stability* 61 (1998), pg. 329-342.
- [20] Albertsson A.-Ch., Karlsson S. : Environment-adaptable polymers, *Polymer Degradation and Stability* 41 (1993), str. 345-349.
- [21] Albertsson A.-Ch., Barenstedt C., Karlsson S., Lindberg T. : Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene, *Polymer* (1995), Vol. 36, No. 16, pp. 3075-3083.
- [22] Erlandsson B., Karlsson S., Albertsson A.-Ch.: The mode of action

- of corn starch and a prooxidant system in LDPE : Muence of thermooxidation and UV-irradiation on the molecular weight changes, *Polymer Degradation and Stability* 55 (1997), pg. 213-245.
- [23] Wiles D. M., Scott G. : Polyolefins with controlled environmental degradability, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), pg. 1581-1592.
- [24] Burman L., Albertsson A.-N. : Chromatographic fingerprinting – a tool for clasification and for predicting the degradation state of degradable polyethylene, *Polymer Degradation an Stability* 89 (2005), pg. 50-63.
- [25] Karlsson S., Albertsson A.-Ch. : Biodegradable Polymers and Environmental Interaction, *Polymer Engineering and Science* (1995), Vol. 38, No. 8, pg. 1251-1253.
- [26] Slejška A. : Oxo-rozložitelný plast d2w [on-line]. [cit. 2006-11-29]. Dostupný z www: <<http://www.biom.cz/index.shtml?x=189715-72k>>.
- [27] Albertsson A.-CH., Karlsson S. : Aspects of Biodeterioration of Inert and Degradable Polymers, *International Biodeterioration and Biodegradation* 31 (1993), pg. 161-170.
- [28] Nolan ITU : Biodegradable Plastics – Developments and Environmental Impacts [on-line]. [cit. 2006-11-13]. Dostupný z www: <<http://www.deh.gov.au/settlements/publications/waste/degradables/biodegradable/limitations.html>>.
- [29] Scott J. : Biodegradable Polymers [on-line]. [cit. 2006-11-13]. Dostupný z www: <http://www.desion.edu/chem/DCS/journal/_scottv1n1.html>.
- [30] ASTM : Standard Guide for Assessing the Compostability of Environmentally Degradable Plastics1 [on-line]. [cit. 2006-11-13]. Dostupný z www: <<http://www.mindfully.org/Plastic/Biodegrade/Compostability-Degradable-Plastics1mar02.html>>.
- [31] Koutný M. : Biodegradace polyethylenu s prooxidanty, *Plasty a kaučuk* (2007), č.3-4, s. 68-71.

-
- [32] Koutný M., Sancelme M., Dabin C. et al. : Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), pg. 1495-1503.
- [33] Instruction manual Total organic carbon analyser model TOC – 5000A, Shimadzu Corporation, Japan, 1996.
- [34] ISO 14855: Determination of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastic materials under controlled composting conditions-Method by analysis of evolved carbon dioxide,1999.
- [35] Luminescent assays: ATP Biomass Kit HS, Instruction for use, BioThema AB.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ASTM	American Society for Testing and Materials
ATP	Adenosin trifosfát
CEN	European Standardization Committee
CI	Karbonylový index
D_{CO_2}	Stupeň biodegradace
FTIR	Infračervená spektroskopie pomocí Fourierovy transformace
GC	Plynově chromatografická analýza
GC-MS	Plynová chromatografie – hmotnostní spektroskopie
HDPE	Vysokohustotní polyethylen
IČ	Infračervená
IR	Infračervená
ISO	International Standards Organisation
ISR	Institute for Standards Research
LDPE	Nízkohustotní polyethylen
LLDPE	Lineární nízkohustotní polyehylen
M_w	Molekulová hmotnost
NDIR	Nedisperzní infračervený detektor
$n_{subst.}$	Substrátová produkce CO_2
ORCA	Organic Reclamation and Composting Association
PE	Polyethylen
T_n	Teplota tání
$ThCO_2$	Teoretická maximální produkce CO_2
TC	Celkový uhlík
UV	Ultrafialový

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.	Princip biodegradace polymerů [3].....	12
Obr. 2.	Příklady rozdílného mechanismu degradace hydro-biodegradabilních a oxo-biodegradabilních polymerů [7].....	13
Obr. 3.	Procentuelní zastoupení složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 1988, 3a) hmotnostní procenta, 3b) objemová procenta [3].....	16
Obr. 4.	Procentuelní hmotnostní podíl složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 2005 [13].....	16
Obr. 5.	Rozdílné vztahy mezi technologicky využitelnými polyolefiny a naopak snadno biodegradovatelnými polyestery a polysacharidy [6].....	18
Obr. 6.	Mechanismus abiotické oxidace polyethylenu [23].....	20
Obr. 7.	Vliv druhu prooxidantu na hodnotu karbonylového indexu CI během termooxidace při 95°C, (a) LDPE obsahující dithiokarbamát železa, (b) LDPE obsahující dithiokarbamát niklu a železa [20].....	21
Obr. 8.	Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE obsahujícího prooxidant stearát manganu [16].	22
Obr. 9.	Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE s prooxidantem TDPA, 9a) termooxidace při 55°C, 9b) termooxidace při 70°C [14].....	23
Obr. 10.	Schéma testovací lahve.....	38
Obr. 11.	Kalibrační křivka pro stanovení CO ₂ -syntetický směsný plyn(1).....	44
Obr. 12.	Kalibrační přímka pro stanovení obsahu O ₂	45
Obr. 13.	Princip stanovení ATP [35].....	48
Obr. 14.	FTIR spektra – LDPE ² (oxidovaný při 70°C).....	51
Obr. 15.	Abiotická oxidace – LDPE ² (oxidovaný při různých teplotách).....	52
Obr. 16.	Pevnost v tahu – vzorky PE fólií termooxidované při 60°C..	55
Obr. 17.	Pevnost v tahu – vzorky PE fólií termooxidované při 70°C...	55

Obr. 18. Pevnost v tahu – vzorky PE fólií termooxidované při 80°C...	56
Obr. 19. Vliv teploty termooxidace na rychlost ztráty mechanické pevnosti vzorku LDPE ²	57
Obr. 20. Vztah mezi CI a pevností v tahu u termooxidovaného LDPE ² při 70°C.....	58
Obr. 21. Kumulativní produkce CO ₂ – půdní test č. 1.....	61
Obr. 22. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO ₂ – půdní test č. 1.....	62
Obr. 23. Aktuální koncentrace O ₂ – půdní test č. 1.....	62
Obr. 24. Kumulativní produkce CO ₂ – půdní test č.2.....	64
Obr. 25. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO ₂ – půdní test č. 2.....	64
Obr. 26. Aktuální koncentrace O ₂ – půdní test č. 2.....	65
Obr. 27. Kumulativní produkce CO ₂ – kompostovací test č.1.....	66
Obr. 28. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO ₂ – kompostovací test č. 1.....	67
Obr. 29. Aktuální koncentrace O ₂ – kompostovací test č. 1.....	67
Obr. 30. Kumulativní produkce CO ₂ – kompostovací test č. 2.....	69
Obr. 31. Procentuelní odstranění substrátu z hlediska produkce CO ₂ – kompostovací test č. 2.....	69
Obr. 32. Aktuální koncentrace O ₂ – kompostovací test č. 2.....	70
Obr. 33. PE fólie po vystavení biodegradačnímu prostředí (1000 x zvětšené). a) LDPE ¹ , b) HDPE ¹	70
Obr. 34. LDPE ² (40) po vystavení biodegradačnímu prostředí (1000 x zvětšené).....	71
Obr. 35. LDPE ² (80) po vystavení biodegradačnímu prostředí (1000 x zvětšené).....	71
Obr. 36. Intenzita energetického metabolismu buněk.....	73

SEZNAM TABULEK

Tab. I.	Vlastnosti LDPE a HDPE [10].....	14
Tab. II.	Spotřeba polyethylenu na světě za rok 2000 [12].....	15
Tab. III.	Přehled komerčních degradabilních PE [6].....	19
Tab. IV.	Parametry měření na Shimadzu GC-MS QP2010.....	36
Tab. V.	Obsah uhlíku ve vzorcích.....	40
Tab. VI.	Parametry měření na Chrom 5.....	43
Tab. VII.	Přehled identifikovaných sloučenin pomocí GC-MS.....	59

PŘÍLOHA P I : Naměřené hodnoty parametru prodloužení při přetrhnutí u vzorků termooxidovaných při 60°C.

Vzorek	t [d]	Prodloužení při přetrhnutí [%]					± σ
		1	2	3	4	\bar{x}	
LDPE ³	0	312,30	275,70	380,40	375,40	335,95	43,94
	1	376,30	304,10	281,20	240,90	300,63	49,20
	2	469,20	320,30	418,60	366,40	393,63	55,80
	3	292,50	307,40	258,70	306,10	291,18	19,64
	4	317,90	418,00	370,10	291,50	349,38	48,68
	5	202,50	242,90	307,50	274,80	256,93	38,85
	6	246,80	325,50	308,49	230,30	277,77	40,11
	7	278,00	223,70	271,00	252,20	256,23	21,02
	9	230,00	140,80	239,30	159,70	192,45	42,85
	13	222,50	300,20	225,10	287,50	258,83	35,32
	17	257,80	186,30	166,10	360,20	242,60	75,97
	28	200,80	250,80	272,50	254,40	244,63	26,61
84	176,70	176,70	250,80	x	201,40	34,93	
LDPE ²	0	181,00	x	x	x	181,00	0
	1	205,90	170,20	165,39	x	180,50	18,07
	2	251,30	229,50	204,50	159,77	194,07	34,03
	3	207,10	146,50	159,80	x	171,13	26,01
	5	190,00	x	x	x	190,00	0
	6	138,20	126,50	154,00	x	139,57	11,27
	7	155,20	111,20	x	x	133,20	22,00
	9	122,50	131,80	149,40	x	134,57	11,15
	13	138,10	x	x	x	138,10	0
	17	120,20	129,50	x	x	124,85	4,65
	28	x	x	x	x	x	0
	52	x	x	x	x	x	0
	56	x	x	x	x	x	0
	69	x	x	x	x	x	0
	77	x	x	x	x	x	0
84	x	x	x	x	x	0	

Vzorek	t [d]	Prodloužení při přetrhnutí [%]					\bar{x}	$\pm \sigma$
		1	2	3	4			
HDPE ³	0	386,50	426,90	653,40	x	488,93	117,46	
	1	335,60	410,70	432,20	x	392,83	41,41	
	2	441,30	443,10	508,90	x	464,43	31,45	
	3	459,70	466,00	352,50	342,50	405,18	57,83	
	4	389,40	335,30	295,10	450,00	367,45	58,23	
	5	366,40	303,00	299,20	x	322,87	30,82	
	6	556,10	314,50	288,80	326,80	371,55	107,43	
	7	291,20	304,10	x	x	297,65	6,45	
	9	304,60	325,90	241,60	x	290,70	35,79	
	13	250,50	285,00	275,10	x	270,20	14,50	
	17	309,40	271,40	254,80	257,00	273,15	21,88	
	28	325,40	367,90	262,20	291,50	311,75	39,38	
	84	271,00	243,10	288,30	250,90	263,33	17,65	
HDPE ²	0	386,70	415,20	402,80	353,20	389,48	23,25	
	1	417,80	372,10	309,80	315,70	353,85	44,21	
	2	415,30	272,30	332,20	246,80	316,65	64,85	
	3	366,00	386,10	382,90	x	378,33	8,82	
	4	375,60	425,80	347,20	414,20	390,70	31,24	
	5	279,70	222,80	x	x	251,25	28,45	
	6	285,90	251,30	247,70	294,80	269,93	20,71	
	9	247,20	x	x	x	247,20	0	
	13	204,70	x	x	x	204,70	0	
	17	222,20	x	x	x	222,20	0	
	28	274,30	258,20	192,70	x	241,73	35,29	
	84	208,50	189,00	221,50	x	206,33	13,36	

x - nedetekováno

kde :

\bar{x} průměrná hodnota (n = 2, 3, 4)

$\pm \sigma$ směrodatná odchylka (n = 2, 3, 4)

PŘÍLOHA P II : Naměřené hodnoty parametru prodloužení při přetrhnutí u vzorků termooxidovaných při 70°C.

Vzorek	t [d]	Prodloužení při přetrhnutí [%]					± σ
		1	2	3	4	\bar{x}	
LDPE ²	0	181,00	x	x	x	181,00	0
	1	101,60	143,80	124,80	x	123,40	17,26
	2	104,80	117,10	x	x	110,95	6,15
	3	123,10	129,00	x	x	126,05	2,95
	4	174,90	143,40	280,70	x	199,67	58,72
	7	179,90	199,30	x	x	189,60	9,70
	12	160,29	148,00	129,40	x	145,90	12,70
	17	192,70	165,70	x	x	179,20	13,50
	24	x	x	x	x	x	0
	38	x	x	x	x	x	0
	59	x	x	x	x	x	0
	66	x	x	x	x	x	0
LDPE ³	0	312,30	275,70	380,40	375,40	335,95	43,94
	1	247,50	95,70	120,70	x	154,63	66,46
	2	174,30	153,50	99,89	178,00	151,42	31,19
	3	75,90	212,30	291,40	x	193,20	89,01
	4	425,70	131,00	426,90	x	327,87	139,21
	7	152,61	601,00	328,40	x	360,67	184,47
	12	396,40	304,50	x	x	350,45	45,95
	17	166,17	362,60	175,50	x	234,76	90,48
	24	278,70	195,10	193,40	x	222,40	39,82
	38	301,10	144,90	322,40	x	256,13	79,13
	59	211,20	251,10	272,00	145,10	219,85	48,37
	66	295,30	232,40	134,00	201,60	215,83	58,07
HDPE ³	0	386,50	426,90	653,40	x	488,93	117,46
	1	251,10	293,80	244,30	x	263,07	21,91
	2	285,20	255,40	273,50	183,50	249,40	39,50
	3	231,60	240,00	168,80	234,90	218,83	29,04
	4	518,10	368,00	543,60	450,70	470,10	68,02
	7	313,60	406,70	345,70	x	355,33	38,61
	12	334,20	262,00	292,40	x	296,20	29,60
	17	344,70	326,70	276,70	x	316,03	28,77
	24	231,30	315,60	x	x	273,45	42,15
	38	244,90	247,30	x	x	246,10	1,20
	59	293,40	269,40	235,00	336,70	283,63	37,01
	66	283,20	265,00	247,80	x	265,33	14,45

Vzorek	t [d]	Prodloužení při přetrhnutí [%]					± σ
		1	2	3	4	\bar{x}	
HDPE ²	0	386,70	415,20	402,80	353,20	389,48	23,25
	1	236,10	270,00	276,80	x	260,97	17,80
	2	302,80	251,90	241,80	x	265,50	26,70
	3	175,60	294,90	x	x	235,25	59,65
	4	268,10	500,10	270,80	x	346,33	108,74
	7	343,40	350,30	261,60	x	318,43	40,29
	12	298,60	265,50	351,00	x	305,03	35,20
	17	265,30	350,40	279,10	x	298,27	37,29
	24	302,40	314,60	320,70	x	312,57	7,61
	38	339,30	240,80	264,50	x	281,53	41,98
	59	248,90	330,10	324,70	x	301,23	37,07
	66	322,90	324,80	290,90	x	312,87	15,55

x – nedetekováno

kde :

\bar{x} průměrná hodnota (n = 2, 3, 4)

± σ směrodatná odchylka (n = 2, 3, 4)

EVIDENČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

<i>Místo uložení práce :</i> Ústřední knihovna UTB ve Zlíně
<i>Autor práce :</i> Bc. Andrea Červenková
<i>Název práce :</i> Bakteriální degradace polyethylenu s prooxidanty Biodegradation of polyethylene with prooxidants
<i>Vedoucí práce :</i> Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
<i>Vysoká škola (název a adresa) :</i> Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Mostní 5139, 760 01 Zlín Fakulta technologická, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
<i>Rok obhájení práce :</i> 2007
<i>Počet stran, obrázků, tabulek :</i> 83, 36, 7.
<i>Předmětová hesla :</i> Polyethylen, prooxidanty, biodegradace. Polyethylene, prooxidants, biodegradation.
<i>Souhrn</i> <p>Cílem diplomové práce bylo sledovat průběh abiotické thermo-oxidace a biodegradace polyethylenu s prooxidanty v prostředí vyzrálého kompostu a půdy.</p> <p>První sadu vzorků tvořily LDPE a HDPE fólie s prooxidantem na bázi železa a kobaltu, které byly již dříve podrobeny abiotické oxidaci. Biodegradace byla sledována pomocí stanovení plyných produktů procesu pomocí plynové chromatografie. U těchto vzorků byl zaznamenán pouze nízký stupeň biodegradace, kdy u LDPE bylo dosaženo cca 1,5 % mineralizace a cca 3,3 % u HDPE po 189 denní inkubaci v případě půdních podmínek a asi 3,6 % mineralizace u LDPE a 3,5 % u HDPE po 356 dnech v případě kompostovacích podmínek.</p> <p>Druhou sadu vzorků tvořily LDPE a HDPE fólie s prooxidantem na bázi manganu. Vzorky byly podrobeny abiotické termooxidaci, přičemž se ukázalo, že pouze LDPE fólie se oxiduje očekávaným způsobem. Půdní a kompostovací testy biodegradability byly prováděny pouze s LDPE fólií, která byla termooxidována při 70°C po dobu 40 a 80 dní do různého stupně zoxidování. Po 55 denní inkubaci v prostředí půdy bylo dosaženo 2,7 % mineralizace u LDPE(40) a 3,1 % u LDPE(80). V případě kompostovacích podmínek bylo za 69 dní dosaženo 6,3 % mineralizace u LDPE(40) a 7,1 % u LDPE(80), což jsou zajímavé výsledky.</p>
<i>Abstract</i> <p>The main goal of the diploma thesis was to monitor processes of abiotic thermo-oxidation and biodegradation of polyethylene with prooxidants in mature compost and soil environments.</p>

The first set of samples consisted of LDPE and HDPE films with iron and cobalt based prooxidants previously subjected to abiotic oxidation. Biodegradation was followed by gas chromatography determination of gaseous products. The samples showed limited biodegradation only, more specifically about 1,5 % mineralization for LDPE and about 3,3 % for HDPE after 189 days in the case of soil environment and about 3,6 % mineralization for LDPE and about 3,5 % for HDPE after 356 days in compost environment.

The second set of samples included LDPE and HDPE films with manganese based prooxidants. The samples were thermo-oxidized first and it was found that only LDPE film underwent oxidation as previously expected. Consequently, soil and compost tests were carried out with the LDPE film, which was during 40 and 80 days thermo-oxidized at 70°C into various degree of oxidation. In the soil conditions was values of mineralization about 2,7 % for LDPE(40) and 3,1 % for LDPE(80) after 55 days in the soil test and about 6,3 % for LDPE(40) and 7,1 % for LDPE(80) after 69 days in the compost test. Such results could be considered as interesting.