

Biodegradace polyvinylpyrrolidonu ve vodném anaerobním prostředí

Bc. Lenka Vrlová

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Lenka VRLOVÁ

Osobní číslo: T10343

Studijní program: N 2808 Chemie a technologie materiálů

Studijní obor: Inženýrství ochrany životního prostředí

Téma práce: Biodegradace polyvinylpyrrolidonu ve vodném anaerobním prostředí

Zásady pro vypracování:

Vypracujte literární studii týkající se biologické rozložitelnosti syntetického polyvinylpyrrolidonu (PVP) ve vodném anaerobním prostředí.

. Provedte testy anaerobní biologické rozložitelnosti PVP, 1- methyl-2-pyrrolidonu, -octyl-2-pyrrolidonu a kombinace těchto látek metodou měření plyných produktů anaerobního rozkladu, tj. sledování produkce methanu a oxidu uhličitého plynovou chromatografií.

. Veškeré získané výsledky a zkušenosti přehledně zpracujte v diplomové práci a kriticky hodnotěte, popř. navrhněte další řešení uvedené problematiky.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Vědecké práce zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SpringerLink, InterScience, Medline nebo SciFinder Scholar, případně práce dostupné z dalších zdrojů vědecké literatury.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce:

13. února 2012

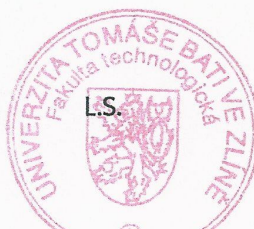
Termín odevzdání diplomové práce:

4. května 2012

Ve Zlíně dne 13. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Bc. Lenka Vrlová

Obor: Inženýrství ochrany ŽP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 2.4. 2012


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací;

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá biologickým rozkladem polyvinylpyrrolidonu K15 a jeho strukturních analogů 1-metyl-2-pyrrolidonu, 1-oktyl-2-pyrrolidonu v anaerobním vodném prostředí. Pro zajištění anaerobních podmínek byl použit anaerobní kal z čistírny odpadních vod. Stupeň anaerobní degradace byl sledován na základě množství methanu a oxidu uhličitého ve vyprodukovaném bioplynu stanoveného metodou plynové chromatografie množství oxidu uhličitého v kapalně fázi. Polyvinylpyrrolidon se v anaerobním vodném prostředí rozložil ze 14 %. 1-metyl-2-pyrrolidon po dlouhé lagové fázi 55 – 60 dnů vykazoval rozložitelnost vyšší jak 62 %. 1-oktyl-2-pyrrolidon byl pro dané inokulum toxický. Přídavek 1-metyl-2-pyrrolidonu k polyvinylpyrrolidonu neměl vliv na předpokládaný vyšší stupeň rozkladu PVP v prostředí anaerobního kalu.

Klíčová slova: polyvinylpyrrolidon, PVP, 1-metyl-2-pyrrolidon, 1-oktyl-2-pyrrolidon, anaerobní biodegradace

ABSTRACT

This thesis deals with the biodegradation polyvinylpyrrolidone K15 and its structural analogues of 1-methyl-2-pyrrolidone, 1-octyl-2-pyrrolidone in an anaerobic aqueous environment. To ensure anaerobic conditions was used anaerobic sludge from sewage treatment plants. The degree of anaerobic degradation was observed based on the amount of carbon dioxide and methane in the biogas produced by gas chromatography determined the amount of carbon dioxide in the liquid phase. Polyvinylpyrrolidone in an anaerobic aqueous environment, spread of 14%. 1-methyl-2-pyrrolidone lagové after a long stage of 55 to 60 days showed a higher degradability than 62%. 1-octyl-2-pyrrolidone was toxic to the inoculum. Addition of 1-methyl-2-pyrrolidone to polyvinylpyrrolidone had no effect on the expected higher degree of decomposition of PVP in an anaerobic sludge.

Keywords: polyvinylpyrrolidone, PVP, 1-methyl-2-pyrrolidone, 1-octyl-2-pyrrolidone, anaerobic degradation

Děkuji mé vedoucí diplomové práce paní Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D za odborné vedení, cenné rady, zájem a čas, který mi věnovala.

Dále bych ráda poděkovala všem pracovníkům Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za spolupráci, ochotu a vytvoření výborných podmínek nejen při vypracování mé diplomové práce, ale po celou dobu mého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	2
I TEORETICKÁ ČÁST	3
1 DEGRADACE POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ	4
1.1 BIODEGRADACE SYNTETICKÝCH POLYMERŮ	4
1.1.1 Anaerobní rozklad.....	5
1.1.1.1 Podmínky rozkladu látek v anaerobním prostředí.....	8
1.1.2 Možnosti zlepšení biodegradace těžko rozložitelných syntetických polymerů.....	9
1.1.2.1 Pokročilé oxidační procesy – advanced oxidation processes (AOPs)....	9
2 POLYVINYLPYRROLIDON (PVP)	12
2.1 VÝROBA PVP	12
2.2 TOXICITA PVP	13
2.3 POUŽITÍ PVP.....	13
2.4 IDENTIFIKACE PVP.....	14
2.5 OSUD PVP V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ.....	15
2.6 DEGRADACE PVP	15
2.6.1 Chemická a fotochemická degradace	15
2.7 TESTOVÁNÍ BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI PVP	16
3 1-METHYL-2-PYRROLIDON (NMP)	18
3.1 TOXICITA 1-METHYL-2-PYRROLIDONU	18
3.2 POUŽITÍ 1-METHYL-2-PYRROLIDONU	18
3.3 OSUD 1-METHYL-2-PYRROLIDONU V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ.....	19
3.4 IDENTIFIKACE 1-METHYL-2-PYRROLIDONU	19
4 1-OKTYL-2-PYRROLIDON	20
4.1 TOXICITA 1-OKTYL-2-PYRROLIDONU	20
4.2 POUŽITÍ 1-OKTYL-2-PYRROLIDONU	20
5 CÍLE PRÁCE	22
6 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE	23
6.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	23
6.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	23
6.2.1 Příprava minerálního média	24
6.2.2 Testované vzorky.....	25
6.2.3 Anaerobní kal.....	26
6.2.4 Stanovení pH a ORP	26
6.2.5 Stanovení sušiny	26
6.2.6 Stanovení rozpuštěného uhlíku.....	27

6.2.7	Stanovení plyných produktů biodegradace (metanu a oxidu uhličitého).....	27
6.2.8	Lahvové testy.....	28
6.3	METODY VYHODNOCENÍ.....	28
7	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	31
7.1	TESTOVÁNÍ ANAEROBNÍHO ROZKLADU POLYVINYLPIRROLIDONU, 1-METYL-2-PYRROLIDONU, 1-OKTYL-2-PYRROLIDONU A JEJICH KOMBINACÍ (KONCENTRACE SUBSTRÁTU 1 000 MG.L ⁻¹)	31
7.2	TESTOVÁNÍ ANAEROBNÍHO ROZKLADU POLYVINYLPIRROLIDONU, 1-METYL-2-PYRROLIDONU, 1-OKTYL-2-PYRROLIDONU A JEJICH KOMBINACÍ (KONCENTRACE TOC V SUBSTRÁTU 200 MG.L ⁻¹)	36
7.3	INHIBIČNÍ TEST.....	44
7.4	TESTOVÁNÍ ANAEROBNÍHO ROZKLADU POLYVINYLPIRROLIDONU, 1-METYL-2-PYRROLIDONU, 1-OKTYL-2-PYRROLIDONU A JEJICH KOMBINACÍ (KONCENTRACE TOC V SUBSTRÁTU 100 MG.L ⁻¹)	47
7.4.1	Vliv přísadků strukturních analogů polyvinylpyrrolidonu na jeho rozklad.....	52
8	ZÁVĚR	53
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	55
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	59
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	60
	SEZNAM TABULEK	61

ÚVOD

Výrobky obsahující různé formy polymerů nás obklopují ve většině výrobků každodenní potřeby. Mezi nejznámější typy plastů patří polyethylen, polypropylen, polyvinylchlorid, polystyren, polyuretan nebo se může jednat o syntetické polymery ve vodě rozpustné jako polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidon a mnoho dalších. Vysoká produkce polymerních materiálů vede k hromadění velkého množství odpadů, které znamenají environmentální a ekonomickou zátěž. Jedná se o látky, které se vyznačují velkou variabilitou různých vlastností jako jsou například tepelná odolnost, tvrdost, pružnost. To způsobuje problémy při jejich odstraňování. Jedna z možností likvidace polymerů může být jejich spalování, to ale není ideální způsob zneškodňování odpadu, jelikož dochází ke vzniku škodlivých produktů. Z tohoto důvodu probíhá řada výzkumů zabývajících se hledáním takových způsobů degradace, které dokážou plasty rozkládat bez vzniku škodlivých produktů.

Jednou z možností degradace na kterou se zaměřuje tato práce je možnost biodegradace polyvinylpyrrolidonu pomocí anaerobního rozkladu. Jedná se o polymer, který se vyskytuje v prostředcích každodenní potřeby jako jsou zubní pasty, kosmetické výrobky nebo farmaceutické výrobky.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 DEGRADACE POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ

Plasty se staly nepostradatelnou součástí našeho života. Během vývoje byly plasty stále zlepšovány, získávaly větší stabilitu a životnost. Jsou to látky vykazující širokou škálu vlastností, které jsou různé podle druhu použitého aditiva. Proto jsou dnes považovány jako materiály odolné vůči většině vlivů životního prostředí. Negativem používání těchto materiálů je jejich následná likvidace. Z toho důvodu je velká pozornost věnována degradaci polymerů. Jde o veškeré fyzikální nebo chemické změny v polymeru v důsledku působení environmentálních faktorů jako je teplo, světlo, vlhkost nebo biologická aktivita. Tyto procesy tak vyvolávají materiálové změny vlastností polymerů. Rozklad polymerů je ovlivněn několika podmínkami jako je pH, teplota, typ chemické vazby, absorpce vody. Degradace polymerů může probíhat jako fotodegradace, termodegradace a nebo biodegradace. [6]

Jednou z dalších možností snížení produkce nerozložitelných plastů je jejich nahrazení plasty se zkrácenou životností. Jde o materiály, které se díky aditivům nebo složení rychleji rozkládají. Jsou definovány jako polymery syntetického nebo přírodního původu jejichž organické součásti se rozkládají některým z procesů (fyzikálním, biologickým, chemickým). Během šesti měsíců by se mělo rozložit 60% veškerých organických součástí. Důležitým cílem vývoje těchto výrobků jsou smysluplné oblasti jejich využití, kde je doba jejich odbourávání využita pro ekonomické nebo ekologické výhody. Jsou využívány v zemědělství (jednorázové kořenáče, mulčovací fólie) nebo jako obalové materiály (kompostovatelné odpadové sáčky). [1, 2]

1.1 Biodegradace syntetických polymerů

Problém s odstraňováním není jen u polymerů v pevném stavu. V řadě průmyslových odvětvích jsou dnes ve velké míře produkovány a používány také ve vodě rozpustné polymery. Zde jsou problémem zbytkové koncentrace těchto znečišťujících látek v odpadních vodách. Jde většinou o látky biologicky těžko rozložitelné, které mohou být v odpadní vodě adsorbovány na suspendované částice. Tímto způsobem znečištěná odpadní voda se může dostávat do životního prostředí a kontaminovat tak další vodní zdroje. Vzhledem k nízkým koncentracím těchto polutantů není technicky ani ekonomicky možné získat tyto polymery zpět. Proto je nutné najít jinou metodu jejich odstraňování.

Jednou z možností odstranění těchto látek je provedení adsorpce a následné skládkování nebo spalování, což může vést k další kontaminaci prostředí. Proto se v současné době i pro tento typ ve vodě rozpustných polymerů provádí řada výzkumů na odstranění kontaminace pomocí mikroorganismů, které jsou schopny je za určitých podmínek rozkládat.

Vodou rozpustné polymery se vyskytují v prostředcích denní potřeby jako jsou čisticí prostředky, zubní pasty, šampóny, pleťové vody, textil a potraviny. [3]

Jedná se o degradaci způsobenou biologickou aktivitou. Podstatou biodegradace je přítomnost několika druhů různých mikroorganismů a dodržení specifických podmínek nutných pro daný druh organismu. Průběh biodegradace závisí na několika různých podmínkách, jako jsou polymerní vlastnosti, druh mikroorganismů a charakter předčištění. Degradace polymerů je závislá na jeho toxicitě, molekulové hmotnosti, typu funkčních skupin a substituentů přítomných v jeho struktuře, na přítomnosti změkčovadel a jiných přísad. Polymer je během degradace nejdříve převeden na monomery a ty jsou pak mineralizovány. Zvýšená molekulová hmotnost způsobuje snížení rozpustnosti a rozložitelnosti mikroorganismů. Snadná degradace a mineralizace probíhá u monomeru, dimeru, oligomeru. Konečnými produkty těchto rozkladných procesů jsou při aerobních podmínkách CO_2 a H_2O a při anaerobních podmínkách CO_2 , CH_4 , H_2O . Při biodegradaci v anaerobních podmínkách dochází ke snížení pH vlivem organických kyselin produkovaných mikroorganismy. U aerobního birozkladu většinou pH vzrůstá. Testování biodegradability se provádí metodami, které stanovují koncové produkty mikrobiálního metabolismu. Dalšími možnými ukazateli pro stanovení biologického rozkladu jsou změny hmotnosti, stanovení CHSK nebo BSK nebo analýza výstupního bioplynu. [2, 4]

1.1.1 Anaerobní rozklad

Jednou z metod biodegradace je anaerobní rozklad. Základem anaerobních procesů je soubor na sebe navazujících procesů, při kterých kultura mikroorganismů postupně rozkládá biologicky rozložitelnou hmotu bez přístupu vzduchu. Tento rozklad způsobuje několik skupin anaerobních mikroorganismů, kdy se produkt jedné skupiny stává substrátem pro druhou skupinu. Anaerobní procesy probíhají jako anaerobní respirace kdy mikroorganismy využívají pro získání růstové energie jiné akceptory elektronů (NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , S, N_2). Respirace je proces probíhající uvnitř buňky. Anaerobní respirace je typ dýchání v němž jsou

sacharidy částečně oxidovány za vzniku energie bez přístupu kyslíku. Vzniklými produkty jsou kyselina mléčná nebo etanol a CO_2 .

Nebo jako anaerobní fermentace, když mikroorganismy využívají pro získání energie změnu energie energetické úrovně dostupných elektronů substrátu při přenosu na některý z meziproduktů buněčného metabolismu nebo na ionty H^+ . [5]

Anaerobní fermentace probíhá ve 4 fázích:

- 1) Hydrolyza – v tomto kroku dochází mimo buňky k hydrolytickému štěpení makromolekulárních látek za pomoci extracelulárních enzymů na jednodušší sloučeniny (mastné kyseliny a alkoholy). Během procesu se uvolňuje vodík a oxid uhličitý.
- 2) Acidogeneze – probíhá podobně jako hydrolyza za vzniku mastných kyselin a alkoholu. Rovněž za uvolňování vodíku a oxidu uhličitého.
- 3) Acetogeneze – zde se vzniklé kyseliny a alkoholy vzniklé v předešlých krocích dále rozkládají za produkce kyseliny octové.
- 4) Methanogeneze – tohoto závěrečného kroku se účastní methanogenní bakterie (striktně anaerobní), citlivé na změny teplot, pH, oxidačního potenciálu a další inhibiční vlivy. Z kyseliny octové, H_2 a CO_2 vzniká methan.

Hlavním produktem anaerobní fermentace je bioplyn. Bioplyn je bezbarvý plyn, který se skládá z methanu, oxidu uhličitého a malých množství N_2 , H_2S , NH_3 , H_2O , H_2 a dalších nižších uhlovodíků. Jako vedlejší produkt vzniká stabilizovaný anaerobní materiál, který je hojně využíván jako hnojivo. [1]

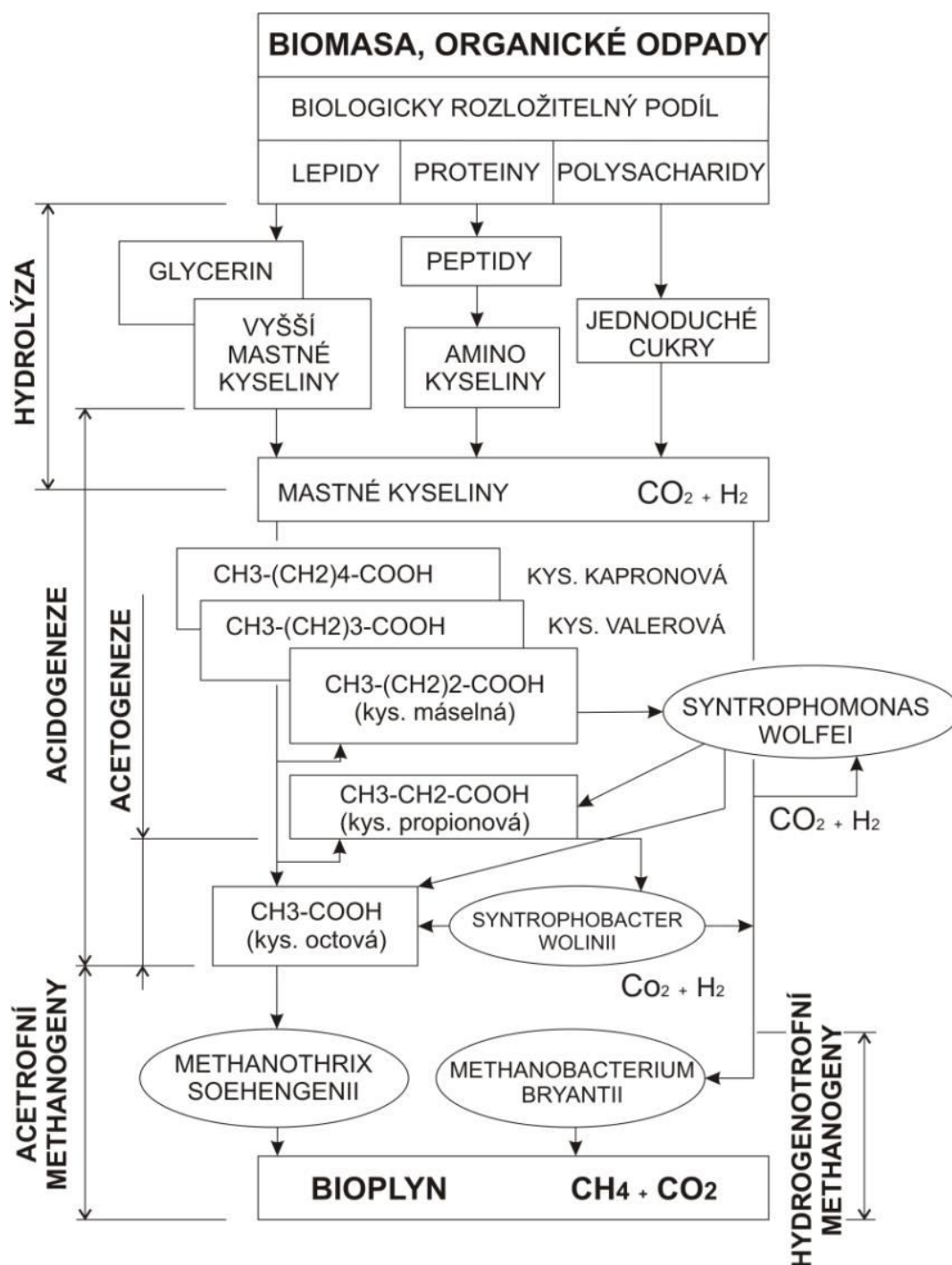
Anaerobní proces je závislý na mnoha faktorech, které mohou ovlivnit prostředí mikroorganismů:

Teplota – ovlivňuje rychlost anaerobního procesu. Se zvyšující se rychlostí vzrůstá rychlost probíhajících procesů. Tvorba metanu probíhá v teplotním rozpětí od 5 - 95°C. Při stabilizaci kalu se pracuje při teplotách 35 - 40°C jedná se o mezofilní oblast nebo při teplotách 50 - 60°C (termofilní oblast). Pro stabilitu procesu je nutné udržovat konstantní teplotu po celou dobu reakce.

Vliv pH – faktor důležitý pro růst metanogenních mikroorganismů. Hodnotu je nutné udržovat v neutrální oblasti mezi 6,5 - 7,5. Pokud dojde ke snížení hodnoty pH pod hodnotu 6 nebo zvýšení nad 8 je činnost mikroorganismů inhibována.

Přítomnost nutrientů – je nutný přesný poměr N a P k organickým látkám. Kromě dusíku a fosforu je žádoucí také přítomnost dalších mikronutrientů jako jsou Na, K, Ca, Fe, S, Mg, Se, W.

Přítomnost toxických nebo inhibujících látek – jedná se o látky, které nepříznivě ovlivňují biologický proces. [1]



Obr. 1: Schéma anaerobního rozkladu za tvorby bioplynu (1)

1.1.1.1 Podmínky rozkladu látek v anaerobním prostředí

Technické provedení anaerobních testů je mnohem náročnější jelikož anaerobní podmínky vyžadují práci v uzavřeném prostoru, se známým objemem plynového prostoru a s nutností odstranit kyslík z plynné fáze. Pro provedení testů jsou používány uzavřené lahve do níž je dávkována anaerobní biomasa a definované médium zajišťující specifické podmínky testu. Testovací nádobka má možnost odběru vzorku plynu pro analýzu pomocí injekční stříkačky a je kontinuálně míchána před každým měřením. Hodnocení průběhu testu se provádí měřením produkce metanu a oxidu uhličitého v určitých časových intervalech. Základem pro vyhodnocení testů je provedení referenčního (slepého pokusu), kde je měřena produkce plynu pouze z inokula. U anaerobních testů je nutno dodržovat zvýšenou teplotu nejčastěji okolo 35°C pro přesné odečítání objemů vyprodukovaných plynů. Mezi nevýhody provádění tohoto typu testu patří dlouhá doba provádění testu z důvodu nízkých rychlostí růstu anaerobních mikroorganismů.

Pro stanovení anaerobní rozložitelnosti je nutno testovanou látku definovat. Definice může vycházet z obsahu organického uhlíku v testované látce, z jeho průměrného oxidačního čísla nebo ze specifické CHSK. Rozložitelnost se poté vyjadřuje jako množství C_{org} přeměněného na bioplyn z celkového množství C_{org} nebo CHSK přeměněného na metan z celkového množství CHSK. Podmínky testu jsou vždy voleny pro limitní anaerobní rozklad, což znamená, že proběhly všechny fáze anaerobního rozkladu. Látka byla spotřebována anaerobními mikroorganismy a vznikl CH_4 , CO_2 , minerální soli a nová biomasa. Stanovení anaerobní rozložitelnosti můžeme také provádět za pomoci speciálních analytických metod sledováním primární rozložitelnosti. Jedná se o úroveň rozkladu, kdy testovaná látka prochází pouze strukturálními změnami jako výsledek mikrobiální činnosti a není ještě úplně mineralizována. Důležitá je také definice inokula, které obsahuje co nejširší škálu aktivních mikroorganismů. Zdrojem mohou být kaly nebo anaerobní reaktory se suspenzí biomasou vyrostlou na rozpustném organickém znečištění. Inokulum by mělo mít co nejnižší vlastní produkci plynu (endogenní produkce) a co nejnižší obsah anorganického uhlíku. Pro kontrolu inokula se nasazuje stejný test s referenční látkou u které je známa hodnota anaerobní rozložitelnosti. Touto látkou bývá benzoan sodný, fenol atd. měla by být dosažena rozložitelnost větší než 60%. [1]

1.1.2 Možnosti zlepšení biodegradace těžko rozložitelných syntetických polymerů

K usnadnění biologického rozkladu těžko rozložitelných organických látek lze využít řady procesů, které mohou tento rozklad usnadnit. Jedná se například o hydrolyzu (tlakovou, kyselou, zásaditou). [1] Další z možností zlepšení biodegradace těžko rozložitelných syntetických polymerů může být také chemická oxidace – advanced oxidation processes (AOPs).

1.1.2.1 Pokročilé oxidační procesy – advanced oxidation processes (AOPs)

Jde o pokročilé oxidační procesy používané pro odstranění špatně rozložitelných organických sloučenin především z průmyslových a městských odpadních vod. Cílem technologie je omezit koncentrace toxických organických sloučenin, které inhibují biologické čištění odpadních vod. Jedná se zejména o sloučeniny jako jsou pesticidy, tenzidy, barviva, léčiva a chemikálie narušující endokrinní činnost. Hlavním mechanismem funkce AOPs je tvorba vysoce reaktivních volných radikálů. Jedná se o hydroxylové radikály ($\text{HO}\bullet$), které jsou účinné při likvidaci organických látek, díky vysoké míře oxidačních reakcí oproti klasickým oxydantům jako jsou H_2O_2 nebo KMnO_4 . Většina metod používá kombinaci silných oxidačních činidel (H_2O_2 , O_3) s katalyzátorem (např. ionty přechodných kovů) a ozářením (ultrafialové, viditelné).

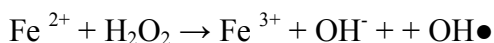
Jednou z možností použití AOPs je reakce oxidu titaničitého s UV zářením. V tomto procesu TiO_2 pohlcuje UV záření a vytváří hydroxylové radikály. Organické sloučeniny tak mohou podstoupit oxidační degradaci. Tento proces je často používán k čištění odpadních vod. Výhodou je snadná dostupnost TiO_2 , jeho nízká cena, schopnost oxidovat široké spektrum organických látek na neškodné sloučeniny jako CO_2 a H_2O . Faktory které mohou ovlivnit reakci TiO_2 s UV zářením jsou organické zatížení, množství katalyzátoru, intenzita UV záření, doba reakce, teplota, pH roztoku.

Dalším typem AOPs procesu je reakce peroxidu vodíku s UV zářením. Reakce probíhá v reaktoru vybaveném UV světlem s vlnovou délkou 200 až 280nm. Do reaktoru je za stálého míchání přidáván H_2O_2 , který vytváří hydroxylový radikál. Jde o reakci používanou zejména k odstranění barviv z odpadních vod. Vyskytují se zde stejné faktory ovlivňující reakce jako u předchozí metody.

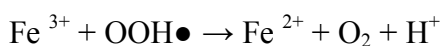
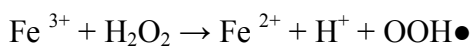
Mezi pokročilé oxidační procesy se řadí také Fentonová reakce. [8]

Jde o pokročilý oxidační proces pro odstraňování látek obtížně biologicky rozložitelných nebo toxických (pesticidy, barviva, léčiva...). Jde o oxidaci organických látek na sloučeniny jednodušší nebo na vodu a oxid uhličitý. Principem je generování hydroxylových radikálů $\text{OH}\bullet$, které jsou vlastním oxidačním činidlem.

Fentonová reakce objevena koncem 19. století je založena na reakci peroxidu vodíku s dvojmocným železem v kyselém prostředí (Fentonovo činidlo)



Vzniklé ionty Fe^{3+} dále reagují s H_2O_2 a hydroperoxidovým radikálem, čímž dochází k regeneraci Fe^{2+}



Fentonová reakce je univerzální a nenáročná metoda, kde není limitující koncentrace polutantů. Sloučeniny oxidovatelné hydroxylovými radikály jsou aldehydy, ketony, organické kyseliny, alkoholy, ethery, aromáty, aminy nebo azosloučeniny.

Faktory ovlivňující průběh a účinnost Fentonovy reakce:

Použitá forma železa – u homogenní reakce je železo ve formě $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, v případě heterogenní reakce je železo dávkováno v pevné formě oxidů nebo imobilizované na nosiči

pH – optimální pH je v rozmezí 2 - 4, protože s rostoucím pH klesá reakční rychlost a účinnost degradace

poměr $\text{Fe} : \text{H}_2\text{O}_2$ – ovlivňuje rychlost produkce a zachytávání hydroxylových radikálů

teplota – zvýšení teploty urychluje nárůst reakční rychlosti a vede k vyšší účinnosti procesu

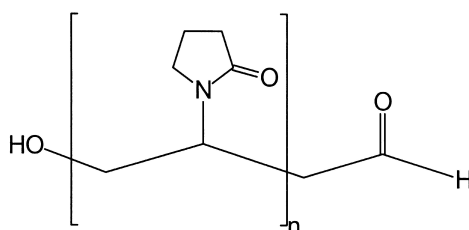
koncentrace anorganických anionů – v přítomnosti určitých aniontů (SO_4^{2-} , Cl^- , HPO_4^{2-} , HCO_3^-) může klesat rychlost rozkladu Fentonova činidla. [3, 7]

Využití těchto procesů vyžaduje vysoké provozní náklady kvůli používání drahých chemikálií a zvýšenou spotřebu energie. Také zde mohou vznikat neznámé meziprodukty, které mohou být v některých případech toxickejší než původní látky. AOPs by mohly být zařazený jako proces předčištění před následnými procesy biologického čištění, mohlo by se tak dosáhnout nižších nákladů a dostatečného odstranění organických sloučenin. [8]

V práci bylo využito předúpravy PVP Fentonovou reakcí před biologickým rozkladem. Jednotlivé metody předúpravy polyvinylpyrrolidonu jsou podrobněji uvedeny v diplomové práci Bc. Marušincové.

2 POLYVINYLPYRROLIDON (PVP)

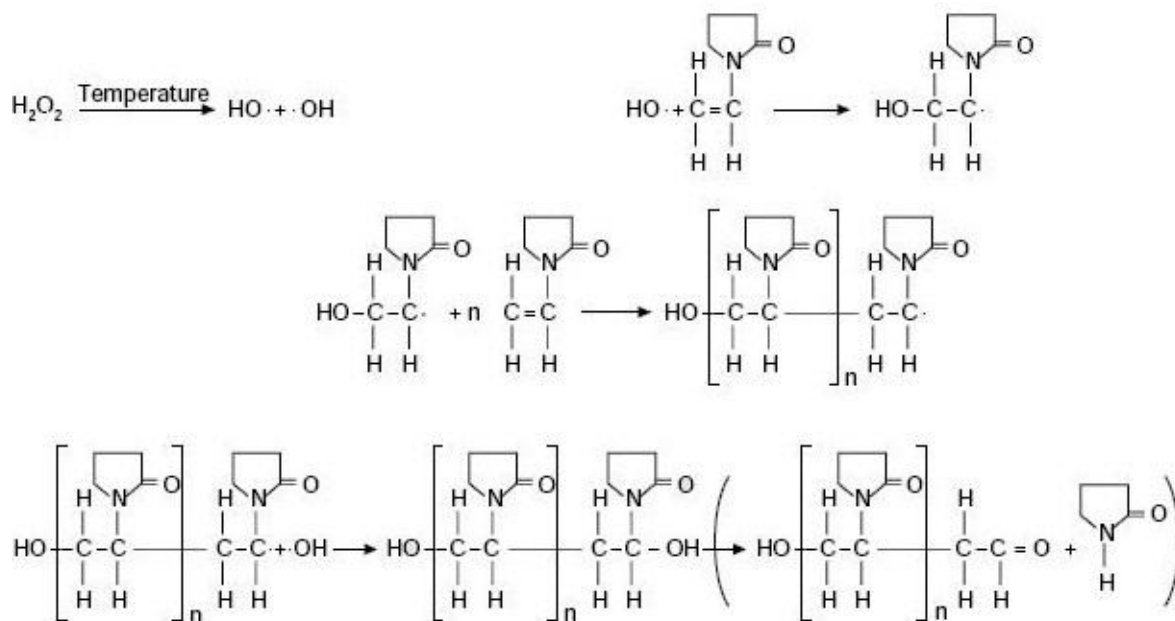
PVP je lineární ve vodě rozpustný polymer, z chemického hlediska jde o polymerní laktam s vnitřní amidovou vazbou, bílé barvy. Jde o látku bez zápachu s bodem tání 180°C, bodem varu 90°C a jeho pH může dosahovat hodnot 3 -7. [9] Má univerzální rozpustnost od velmi hydrofilních rozpouštědel jako je voda až k hydrofobním kapalinám jako butanol. Vyrábí se z monomeru 1- vinyl-2-pyrrolidonu. Molekulová hmotnost polymeru se pohybuje od 10 000 – 70 000. Druhy polymeru se rozdělují podle K- hodnoty, což je komerční označení, které charakterizuje jeho průměrnou molární hmotnost. Viskozita vodných roztoků polyvinylpyrrolidonu je závislá na jeho průměrné molekulové hmotnosti. [11] Afinita k hydrofilním a hydrofobním povrchům je užitečná v hydrofilizaci široké škály látek. Dalším zvláštním rysem PVP je jeho schopnost tvořit komplexy s velkým počtem látek. Vytvořené komplexy jsou téměř vždy ve vodě rozpustné a jsou stabilní pouze v kyselém prostředí. Této vlastnosti se využívá ve farmaceutickém průmyslu pro zvýšení rozpustnosti léků v tekuté formě, kde jsou také využity jeho zahušťovací vlastnosti. Speciální využití komplexů spočívá ve stabilizaci bílkovin a enzymů v diagnostice. [10]



Obr. 2: Chemická struktura PVP

2.1 Výroba PVP

Jednou z možností výroby ve vodě rozpustného polyvinylpyrrolidonu je polymerace vinylpyrrolidonu ve vodě s použitím peroxidu vodíku jako iniciátoru. Schéma polymerace je uvedeno na obrázku níže. [12]



Obr. 3 Mechanismus radikálové polymerace *N*-vinylpyrrolidonu ve vodném prostředí

2.2 Toxicita PVP

Toxikologické účinky polyvinylpyrrolidonu byly zkoumány na zvířatech. Byly provedeny testy pro důkazy karcinogenity u zvířat, zde ale existují pouze omezené důkazy o karcinogenitě PVP u pokusných zvířat. Z toho důvodu není polyvinylpyrrolidon charakterizován jako látka karcinogenní pro člověka. Může způsobovat nadýmání a zácpu. Při podávání nitrožilně jsou částice pohlcovány buňkami retikuloendoteliárního systému a polyvinylpyrrolidon může být ukládán v játrech, slezině, plicích nebo kostní dřeni. Vylučování PVP z těla je úměrné velikosti jeho molekul, z těla může být vylučováno pouze PVP s nízkou molekulovou hmotností.

Výsledky celkových studií u hlodavců, psů a primátů ukázaly, že PVP je látka s velmi nízkou akutní toxicitou. [13] Proto je dnes hojně používána ve farmaceutickém průmyslu.

2.3 Použití PVP

Rozpustný polyvinylpyrrolidon byl poprvé použit během druhé světové války jako náhrada krevní plasmy. Ačkoliv jeho vlastnosti jsou pro tento účel vyhovující dnes se již pro tyto

účely nepoužívá, jelikož organismus jej není schopen metabolizovat. Tento problém se nevyskytuje při perorálním použití, proto má široké uplatnění ve farmaceutickém průmyslu jako jeden z nejvýznamnějších desinfekčních prostředků PVP-jód. Nerozpustný polyvinylpyrrolidon má velký význam jako látka proti průjmu v některých částech světa. [12] Z biologického hlediska jsou zajímavé jeho strukturní rysy podobné bílkovinám, velmi nízké toxicity a proto má velký potenciál pro použití v lékařství jako zdravotnické prostředky určené pro implantaci do lidského těla. PVP je zajímavý také pro technické aplikace. Jeho lepicí vlastnosti jsou využívány v aerosolových lacích na vlasy a lepidlech. Jako ochranný koloid je používán při výrobě léků, čistících prostředků, kosmetických prostředků a jako inhibitor přenosu barviv v pracích prostředcích. Nachází se také v kosmetických přípravcích jako pojivo a stabilizátor emulzí. [14]

Dobré fyzikální vlastnosti hydrogelu PVP jsou používány při náhradách poškozeného sklivce v oku. Využívá se jeho dobré transparentnosti, soudržnosti a viskoelastického chování. Hydratované gely vykazují dobré optické vlastnosti jako index lomu a propustnost viditelného záření. [15]

Další možností využití pro polyvinylpyrrolidone je jeho používání jako nosiče pro pevné disperze v lécích. Vykazuje nízkou toxicitu, vysokou rozpustnost ve vodě a fyziologickou toleranci. [3]

2.4 Identifikace PVP

Identifikace PVP se provádí kvalitativní analýzou. Nejdůležitějším způsobem identifikace je zjištění infračerveného spektra. Toto spektrum je stejné pro všechny typy PVP. Nevýhodou této metody je, že stejné spektrum poskytuje i ve vodě nerozpustný polyvinylpyrrolidon, ale ten lze snadno určit z rozpustnosti. Pro stanovení molární hmotnosti se používá rozptyl světla, sedimentace a gelová permeační chromatografie.

Pro nízké koncentrace PVP je používána metoda MAL-DI-TOF-MS (Matrix Assisted Laser desorption ionization time-of-flight mass spektrometry), která umožňuje detekci rozpustných i nerozpustných makromolekul s vysokou přesností během krátké doby. [16]

Obsah PVP lze také identifikovat jednoduchými neselektivními metodami jako je přídavek chemických sloučenin. Tímto způsobem dojde ke zbarvení a vznikne sraženina např. s jodidem draselným nebo kyselinou chlorovodíkovou. [10]

Ve vodě rozpustný PVP lze stanovit fotometricky pomocí komplexu PVP s jódem. Komplex je měřen při vlnové délce 470 nm a obsah PVP se stanovuje z kalibrační křivky specifické pro každý druh PVP. [10]

2.5 Osud PVP v životním prostředí

Jelikož jde o polymer ve vodě rozpustný jde o látku potenciálně znečišťující životní prostředí. Proto je nutné určit její osud v přirozených povětrnostních podmínkách. Po použití PVP v závislosti na oblasti, ve které byl využíván může být zlikvidován jako zředěný vodný roztok nebo je převeden adsorpcí na kalové částice do pevné fáze a zlikvidován klasickými metodami zneškodňování tuhých odpadů. Studie v publikaci Trimpin a spol. šetřila biologickou rozložitelnost a adsorpční chování PVP z odpadní vody na kal, ale otázka o jeho osudu nebyla zatím zodpovězena. [16]

2.6 Degradace PVP

Jelikož polyvinylpyrrolidon je látka, která nás dnes obklopuje téměř v každém výrobku denní spotřeby je nutné věnovat velkou pozornost možnostem jeho odstranění. Bez předešlé úpravy k jeho degradaci téměř nedochází. Proto se mnoho vědců zaměřilo na studium různých možností pro degradaci PVP.

2.6.1 Chemická a fotochemická degradace

Hassoouna a spol. [14] se zabývali fotooxidací PVP a navrhli mechanismus fotooxidace tohoto ve vodě rozpustného polymeru. Mechanismus lze popsat, jako sled reakcí kdy dochází k ataku na atom uhlíku v poloze na atomu dusíku. Výsledky testů ukazují, že degrační mechanismy PVP v pevném stavu a PVP ve vodném roztoku jsou výrazně odlišné. Hlavní rozdíl je mezi vytvořenými fotoproducty (poměr nenasycených produktů a cyklických imidů).

Degradace polyvinylpyrrolidonu rozpuštěného ve vodě je proveditelná pomocí photo-Fentonovy reakce. Touto problematikou se zabývá také publikace od J.A.Giroto a spol. Popisují, že je technicky možné degradovat polymery rozpuštěné ve vodě pomocí foto-Fentonových procesů. Celkové mineralizace organických látek bylo dosaženo v závislosti na množství Fe^{II+} a H_2O_2 během dvou až tří hodin. Celý pokus je sledován pomocí úbytku organického uhlíku. [3]

Další z možností degradace PVP v odpadních vodách je jeho oxidace pomocí UV/ H_2O_2 . Touto oxidací lze dosáhnout úplné biologické rozložitelnosti mnoha průmyslových odpadních vod. V práci Loraina [17] bylo prokázáno, že oxidací UV/ H_2O_2 lze odstranit PVP a zvýšit tak biologickou rozložitelnost odpadních vod. Studie prokázala, že oxidací odpadní vody pomocí UV/ H_2O_2 lze odstranit PVP během 30 minut. Odhady nákladů ukazují, že oxidace pomocí UV/ H_2O_2 je ekonomicky nenáročná možnost nakládání s odpadními vodami.

2.7 Testování biologické rozložitelnosti PVP

Prováděním testů na zjištění biologické rozložitelnosti PVP se fakulta technologická zabývá již několik let. Cílem provádění těchto testů je zjistit optimální podmínky pro rozklad polyvinylpyrrolidonu.

Testy biologické rozložitelnosti ukázaly, že PVP je biologicky nerozložitelné. V diplomové práci Bc.Márie Vaškové byly prováděny testy na biologickou rozložitelnost PVP v aerobním prostředí půdy a kalu z ČOV zpracovávající odpadní vodu z výroby penicilinu. K výraznější degradaci došlo až při kombinaci kalu s mycéliem jako pomocnou degradační kulturou kdy bylo PVP rozloženo z 25,15%. [26]

Diplomová práce Bc. Marušincové se zaměřovala na biologickou rozložitelnost ve vodném aerobním a vodném anaerobním prostředí. Pro zlepšení biodegradace bylo PVP předupraveno Fentonovou reakcí. V anaerobním prostředí proběhla biodegradace takto upravených vzorků okolo 45%.v aerobních podmínkách došlo k rozložení předupravených vzorků PVP z poloviny. [24]

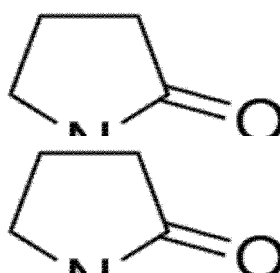
Biodegradace PVP byla také testována i u vzorků předupravených bazickou hydrolýzou. U hydrolyzátů byla opět testována biologická rozložitelnost v aerobních podmínkách. Ani zde

nebyla prokázána výrazná rozložitelnost, pouze okolo 7-10%. Popis této metody je uveden v diplomové práci Bc.Lenky Červenákové. [25]

Tato práce navazuje na předchozí výzkum a pokusí se využít předešlých poznatků pro zjištění optimálních podmínek pro rozklad polyvinylpyrrolidonu v anaerobním prostředí.

3 1-METHYL-2-PYRROLIDON (NMP)

Jde o hygroskopickou, čirou, bezbarvou kapalinu, která působením tepla žloutne. Látka dobře mísitelná s vodou a většinou organických rozpouštědel. Bod tání -24°C , bod varu 202°C s pH 7,5- 8. , má charakteristický zápach a nízkou viskozitu. Při jeho tepelném rozkladu může docházet ke vzniku toxických zplodin jako oxidů dusíku (NO_x) nebo oxidů uhlíku (CO, CO_2). Při zahřátí nad bod vzplanutí může tvořit se vzduchem výbušnou směs. [18] Získává se jako extrakt z aromatických uhlovodíků v ropném průmyslu. [19]



Obr. 4: Chemická struktura 1-Methyl-2-pyrrolidonu

3.1 Toxicita 1-Methyl-2-pyrrolidonu

NMP vykazuje mírné dráždivé účinky. Může způsobovat podráždění očí, dýchacích cest a kůže. Při jeho požití může dojít k podráždění zažívacího traktu, doprovázeného příznaky jako nevolnost, zvracení a průjem. Může poškodit plod v těle matky. Látka není považována za karcinogenní. [18]

3.2 Použití 1-Methyl-2-pyrrolidonu

Látka se používá jako extrakční rozpouštědlo při zpracování mazacích olejů. 1-methyl-2-pyrrolidon je nevhodný pro kosmetické využití. [18] Další uplatnění nachází v textilním nebo farmaceutickém průmyslu a při procesech čištění plynu. [19] NMP je organické rozpouštědlo pro přírodní vosky, pryskyřice a syntetické polymery (polystyren, polyester, polyvinylchlorid). Protože je chemicky stabilní využívá se pro zvýšení povrchových úprav nátěrů, v petrochemickém průmyslu nebo pro výrobu elektronických zařízení. Využit je i

v agrochemikáliích jako jsou insekticidy, fungicidy, herbicidy nebo přípravky na ošetření osiva. [20]

3.3 Osud 1-Methyl-2-pyrrolidonu v životním prostředí

Při zkoumání chování látky v životním prostředí se prokázalo, že při uvolnění NMP do půdy se část této látky odpaří. Při kontaminaci vody nelze očekávat odpaření látky, ale dojde k její bioakumulaci. Pokud je látkou znečištěno ovzduší dochází ke snadné degradaci pomocí fotochemicky produkovaných hydroxylových radikálů. [20] Výsledky testů prokázaly, že N-methyl-2-pyrrolidon je snadno biologicky rozložitelný. Po dvoutýdenním pokusu bylo dosaženo rozložitelnosti 95 %. Z toho vyplývá, že látka je biologicky odbouratelná za běžných podmínek v odpadních vodách, ale vzniká zde již dále nerozložitelný metabolit ve formě karbonylových sloučenin. [19] NMP lze také odstranit z odpadních vod s pomocí polyuretanových membrán o nichž je více uvedeno ve studii Ujjal K.Ghosh a spol. [21]

3.4 Identifikace 1-Methyl-2-pyrrolidonu

Pokud jsou vzorky odebírány z ovzduší provádí se jejich odběr adsorpcí na pevný nosič a následnou desorpcí organickým rozpouštědlem. Kapalnou látku lze poté stanovit plynovou chromatografií s plamenoionizačním detektorem (FID), při teplotě detektoru 200°C. Dále je možno N-methyl-2-pyrrolidon stanovit infračervenou spektroskopií stejně jako PVP. [19]

4 1-OKTYL-2-PYRROLIDON

Jinými názvy pojmenován jako N-oktyl-2-pyrrolidon nebo octyl-2-pyrrolidone. Jde o kapalnou látku s teplotou varu 307°C, molekulovou hmotností 197,32 g/mol a hustotou 0,92 g/m³. Jedná se o bezbarvou až nažloutlou kapalinu se slabým zápachem. 1-oktyl-2-pyrrolidone je rozpustný v organických rozpouštědlech. Vykazuje povrchové aktivní vlastnosti. Při hoření může docházet k tvorbě toxických výparů jako CO, NO_x, HCl a HCN. [22, 23]



Obr. 5: Chemická struktura 1-oktyl-2-pyrrolidonu

4.1 Toxicita 1-oktyl-2-pyrrolidonu

Akutní orální toxicita byla studována na krysách. Vzorek látky jim byl podáván ve stupňovaných koncentracích testovaného materiálu během 18 - 24 hodin. Toxikologické a farmaceutické účinky byly sledovány ve 14 denní periodě. Na konci tohoto pokusu došlo k jejich utracení a následné pitvě. Toxikologické účinky u nich prokázaly poškození ledvin, jater a plic. [23] Je považován za žravý pro pokožku, může způsobit dermatitidu a hluboké popálení. Shledán jako extrémně dráždivý pro oči. Oční podráždění se projevuje neprůhledností rohovky po 7 dnech. Testovaná 2% suspenze látky nezpůsobuje žádné podráždění očí. Nebyla prokázána genotoxicita ani karcinogenita. Nejsou prokázány žádné chronické účinky. [22]

4.2 Použití 1-oktyl-2-pyrrolidonu

Použití na insekticidy, speciální inkousty, nátěrové hmoty a pro zpracování ropy. Ve farmaceutickém průmyslu je využíván při syntéze materiálů obsahující alkaloidy a jako stabilizátor

ve vodných směsích, nebo jako komplexotvorná látka. Jeho vlastnosti se využívají i v zemědělském průmyslu. Jde také o látku přidávanou do produktů na ochranu rostlin. Pro své povrchově aktivní vlastnosti je zkoumán pro kosmetické využití jako přídatek do šampónů a v průmyslových aplikacích nachází své využití jako čistič. [22, 23]

Jedná se o látku toxickou pro vodní organismy. Může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí. V závislosti na podmínkách a koncentraci látky může způsobovat poruchy biologického procesu u aktivovaného kalu. [22]

5 CÍLE PRÁCE

Cílem této práce je sledování biodegradace polyvinylpyrrolidonu, jeho strukturních analogů 1-methyl-2-pyrrolidonu a 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jejich kombinací v anaerobním prostředí.

I když z literární rešerže vyplývá, že PVP je polymer biologicky těžko rozložitelný z experimentálních poznatků se ukázalo, že při zvolení vhodných podmínek lze PVP alespoň z části rozkládat.

Na ústavu inženýrství ochrany životního prostředí byl testován biorozklad PVP v aerobním prostředí půdy a kalu z ČOV zpracovávající odpadní vodu z výroby penicilinu. Testován byl také biologický rozklad PVP ve vodném prostředí za anaerobních podmínek a anaerobní rozklad PVP po předúpravě Fentonovou reakcí. Žádný z provedených testů neprokázal výraznější rozložitelnost. Cílem této práce je navázat na výsledky z předchozích experimentů a pokusit se navrhnout ideální podmínky pro rozklad polyvinylpyrrolidonu, 1-methyl-2-pyrrolidonu a 1-oktyl-2-pyrrolidonu v anaerobním prostředí.

6 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE

6.1 Použité přístroje

Analytické váhy Sartorius, Německo

Váhy Scaltec SPB41

Ultrazvuková lázeň

Centrifuga Rotana 460 R (Hettich Zentrifugen, SRN)

Automatická pipeta

pH metr InfoLab pH/ION 735 (WTW Series)

Plynový chromatograf GC Agilent 7890A, program Chem Station

Vodní lázeň GLF 1092

Analyzátor celkového organického uhlíku TOC-5000A, Shimadzu Corp., Rakousko

Injekční stříkačka Hamilton 100 μ l, Hamilton Bonaduz, Schweiz

Tedlarův vak (objem 0,6 l)

6.2 Použité chemikálie

$C_7H_5O_2Na$	benzoan sodný
$(NH_4)_2SO_4$	síran amonný
$CaCl_2$	chlorid vápenatý
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	hexahydrát chloridu železitého
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	heptahydrát síranu hořečnatého
KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
K_2HPO_4	hydrogenfosforečnan draselný
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného
H_3BO_3	kyselina boritá

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu železnatého
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu zinečnatého
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	tetrahydrát síranu manganatého
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	pentahydrát síranu měďnatého
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu kobaltnatého
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	tetrahydrát molybdenanu amonného

6.2.1 Příprava minerálního média

Minerální medium bylo připraveno dle předpisů ústavu životního prostředí, které vycházejí z norem ASTM D 5210-91 a ISO 11734 pro hodnocení úplné anaerobní biorozložitelnosti organických látek v kalu za anaerobních podmínek.

Pro přípravu 1 litru biomédia bylo použito:

50 ml $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ($c = 10$ g/l)

1 ml CaCl_2 (7,5 g/l)

1 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,25 g/l)

1 ml $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (22,5 g/l)

40 ml fosfátového pufru

(8,5 g/l KH_2PO_4 , 21,75 g/l K_2HPO_4 , 44,7 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)

1 ml roztoku stopových prvků

(0,75 g/l H_3BO_3 , 3 g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g/l $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,1813 g/l $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g/l $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

Vše bylo doplněno odkysličenou destilovanou vodou, pH bylo upraveno na hodnotu 7,2 a poté probubláno dusíkem.

6.2.2 Testované vzorky

PVP K15

polyvinylpyrrolidon ($M_r \sim 10000$),

výrobce Sigma Aldrich

bílý prášek, rozpustný ve vodě, pH 5 – 8, bod tání 165°C

C₉H₉NO

1-metyl-2-pyrrolidon

výrobce Sigma Aldrich

hygroskopická, bezbarvá kapalina, pH 7,7 – 8, teplota tuhnutí

-24°C, teplota varu 202°C, molekulová hmotnost 99,13 g/mol,

snadno biologicky rozložitelný z 90%

C₁₂H₂₃NO

1-oktyl-2-pyrrolidon

výrobce Sigma Aldrich

molekulová hmotnost 197,32 g/mol, bezbarvá kapalina, bod varu

172°C, toxický pro vodní organismy

C₇H₅NaO₂

benzoan sodný

výrobce Sigma Aldrich

molekulová hmotnost 144,11 g/mol, krystalická látka, bílé barvy,

hygroskopická, pH 7 – 8,5, není nebezpečný pro člověka a životní prostředí.

Na testy anaerobní biodegradace byl použit polymer PVP 15 o molární hmotnosti

10 000 g.mol⁻¹, který obsahuje 60,43 % celkového uhlíku. Vzorek PVP byl připraven navážením vypočteného množství do destilované vody a mícháním rozpuštěn. Pro ověření správné činnosti anaerobního kalu byla použita snadno rozložitelná látka benzoan sodný (standard).

Na testování rozložitelnosti byly dále použity strukturní analogy k PVP a to látky 1-metyl-2-pyrrolidon s celkovým obsahem uhlíku 60,52% a 1-oktyl-2-pyrrolidon s 73,09% obsahu uhlíku. Byly připraveny roztoky těchto látek jejich rozpuštěním v destilované vodě. Roztok 1-oktyl-2-pyrrolidonu byl vložen na 15 minut do ultrazvuku kvůli jeho špatné rozpustnosti. Všechny vzorky byly pro srovnání nasazeny třikrát vedle sebe.

6.2.3 Anaerobní kal

Pro testování biodegradability zvolených látek za anaerobních podmínek byl použitý anaerobní vyhnílý kal z čistírny odpadních vod ve Zlíně Malenovicích. Dovezený kal byl zbaven tuhých nečistot a poté 20 minut probubláván dusíkem. Bylo u něj změřeno ORP a stanovena sušina. Takto připravený anaerobní kal byl 3 - 7 dnů ponechán v termostatu při teplotě 37°C. Před vlastním pokusem byl kal odstředěn při 3500 ot.min⁻¹ po dobu 10 minut. Odstředěný kal byl naředěn minerálním médiem na požadovanou koncentraci sušiny a bylo u něj upraveno pH na hodnotu 7,2.

6.2.4 Stanovení pH a ORP

U každého vzorku bylo změřeno na začátku a na konci pH. Pro měření byl použit pH metr Ino Lab pH 735 fy WTW, před měřením byla provedena jeho kalibrace na pufrů o pH 4 a 7. Redox potenciál byl změřen u anaerobního kalu před jeho centrifugací. U jednotlivých vzorků pak bylo ORP měřeno na začátku a vždy po ukončení experimentu.

6.2.5 Stanovení sušiny

Stanovení sušiny aktivovaného kalu bylo provedeno na předem promytých, vysušených a zvážených filtrech s červenou páskou. Vakuovou filtrací bylo přefiltrováno dané množství kalu. Filtrační papírky s kalem byly po dobu 2-3 hodin sušeny v sušárně při teplotě 105°C do konstantní hmotnosti. Vysušené vzorky byly zváženy a jejich koncentrace byla vyjádřena v g/l.

6.2.6 Stanovení rozpuštěného uhlíku

Stanovení uhlíku TOC bylo provedeno v analyzátoru uhlíku Shimadzu 5000A.

Principem stanovení je nastříknutí vzorku pomocí integrovaného dávkovače do vysokoteplotního reaktoru. V reaktoru při teplotě 680 °C na platinovém katalyzátoru je veškerý organický a anorganický uhlík oxidován na oxid uhličitý. Katalyzátor zajišťuje úplnou oxidaci. Proud kyslíku pak nese oxid uhličitý do IR detektoru. V IR detektoru dochází k adsorpci záření příslušné vlnové délky a vzniklý signál je registrován jako peak. Výška peaku je přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku.

Nástřík pro analýzu IC se provede do nízkoteplotního kapalinového reaktoru. V prostředí kyseliny fosforečné je veškerý anorganický uhlík převeden na oxid uhličitý a dále veden do IR detektoru.

Celkový organický uhlík je počítán diferenční metodou z rozdílu výsledků měření při nízké teplotě od měření při vysoké teplotě. $TOC = TC - IC$

6.2.7 Stanovení plynných produktů biodegradace (metanu a oxidu uhličitého)

Analýza plynných produktů biodegradace byla provedena pomocí plynového chromatografu GC Agilent 7890 a stanovena programem ChemStation.

Nosným plynem bylo He o čistotě 4.6., průtok nosného plynu kolonou byl 53 ml . min⁻¹.

Stanovení probíhalo na koloně Porapak Q (o velikosti částic 80/100 MESH) o délce 1 828 mm. Do injektoru bylo přímo nastříkováno 100 µl vzorku plynné fáze, injektor byl vyhřát na teplotu 200 °C, průtok He přes septum byl 3 ml.min⁻¹. Termostat byl vyhřátý na teplotu 50 °C po dobu 1,8 minuty, následovalo jeho vyhřívání, které probíhalo rychlostí 120 °C za minutu na teplotu 180 °C a trvalo 0,5 minuty. Celková doba stanovení byla 3,38 minuty. Pro detekci vzorků byl zvolen teplotně vodivostní detektor (TCD) vyhřátý na teplotu 250 °C o rychlosti průtoku 30 ml.min⁻¹. Ke stanovení množství plynu byla použita jednobodová kalibrace sestavená s použitím plynných standardů. Byl použit kalibrační plyn Linde Gas a.s. Praha o složení 4,04 % CH₄ a 0,799 % CO₂. Kalibrační plyn pro analýzu byl napouštěn do Tedlarova vaku o objemu 0,6 l odkud bylo pomocí injekční stříkačky Hamilton odebráno 100 µl pro analýzu.

Z testovací láhve, která obsahovala 100 ml kapalně fáze a 200 ml plynné fáze bylo odebráno 100 μ l plynného vzorku nacházejícího se nad kapalnou fází pomocí mikrodávkače Hamilton. Přes septum byl vzorek nastříknut do chromatografu a dále unášen přes kolonu.

Z výše uvedených podmínek byl retenční čas pro metan 0,799 min a pro oxid uhličitý 1,42 minut. Hodnoty odezvy detektoru na uvedený standard se pohybovaly v rozmezí 345 – 370 μ V.s u metanu a 105 – 115 μ V.s u oxidu uhličitého. Koncentrace metanu a oxidu uhličitého byly vypočteny dle vzorců uvedených v kapitole 6.3., a to vždy na aktuální hodnotu standardu.

6.2.8 Lahvové testy

Před samotnou přípravou vzorků byly zkompletovány skleněné plynotěsné láhve objemu 300 ml s víčky osazenými otvory umožňujícími přes septum odběr plynných vzorků pro analýzu a profukování. Každá láhev byla předem probulána dusíkem, pro zajištění anaerobních podmínek.

6.3 Metody vyhodnocení

Z každé testovací láhve je odebíráno 100 μ l plynné fáze pro vyhodnocení stupně biodegradace. Množství vyprodukovaného bioplynu, kde se samostatně stanovuje oxid uhličitý a metan se stanovuje pomocí plynové chromatografie. Získaná data jsou pak přepočítávána dle níže uvedených vzorců.

Množství vyprodukovaného uhlíku ve formě oxidu uhličitého

$$m_{CO_2} = \frac{M_C * p * V_g}{R * T * 1000} * w(CO_2) * \frac{V_{st} * S_{vz}}{S_{st} * V_{vz}} * 1000$$

m_{CO_2} množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO_2

M_C relativní atomová hmotnost uhlíku ($g \cdot mol^{-1}$)

p tlak v den měření (kPa)

V_g	plynný objem lahve (ml)
$w(CO_2)$	množství oxidu uhličitého obsažené v kalibračním plynu (%)
V_{st}	dávkový objem plynné fáze standardu (μ l)
S_{vz}	signál detektoru pro vzorek (μ V. s)
R	molární plynová konstanta ($J.K^{-1}.mol^{-1}$)
T	teplota v den měření (K)
S_{st}	signál detektoru pro standard (μ V. s)
V_{vz}	dávkový objem plynné fáze vzorku (μ l)

Množství vyprodukovaného uhlíku ve formě metanu

$$m_{CH_4} = \frac{M_C * p * V_g}{R * T * 1000} * w(CH_4) * \frac{V_{st} * S_{vz}}{S_{st} * V_{vz}} * 1000$$

m_{CH_4}	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CH_4
M_C	relativní atomová hmotnost uhlíku ($g.mol^{-1}$)
p	tlak v den měření (kPa)
V_g	plynný objem lahve (ml)
$w(CH_4)$	množství oxidu uhličitého obsažené v kalibračním plynu (%)
V_{st}	dávkový objem plynné fáze standardu (μ l)
S_{vz}	signál detektoru pro vzorek (μ V. s)
R	molární plynová konstanta ($J.K^{-1}.mol^{-1}$)
T	teplota v den měření (K)
S_{st}	signál detektoru pro standard (μ V. s)
V_{vz}	dávkový objem plynné fáze vzorku (μ l)

D_g procento mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂ a CH₄ v plynné fázi (%)

$$D_g = \frac{m_{C_{CO_2}} + m_{C_{CH_4}}}{T_c}$$

$m_{C_{CO_2}}$ substrátová produkce uhlíku ve formě CO₂ (mg)

$m_{C_{CH_4}}$ substrátová produkce uhlíku ve formě CH₄ (mg)

T_c obsah celkového uhlíku v testovaném materiálu (%)

D_T procento odstranění substrátu z produkce CO₂ a CH₄ (započítání množství uhlíku v kapalné fázi)

$$D_T = D_g + \frac{m_{C_{IC}}}{T_c} * 100$$

D_T totální procento odstranění substrátu podle produkce CO₂ a CH₄ a množství CO₂ rozpuštěného v kapalné fázi

D_g procento mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂ a CH₄ (%)

$m_{C_{IC}}$ množství uhlíku ve formě IC rozpuštěného v kapalné fázi (mg)

T_c teoretické množství C ve zkoušeném vzorku v testovací lahvi (mg)

7 VÝSLEDKY A DISKUSE

7.1 Testování anaerobního rozkladu polyvinylpyrrolidonu, 1-metyl-2-pyrrolidonu, 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jejich kombinací (koncentrace substrátu 1 000 mg.l⁻¹)

Experimenty byly prováděny metodou lahvových testů. Cílem této práce bylo zjištění anaerobní rozložitelnosti určitých látek pomocí anaerobního kalu z ČOV ve Zlíně Malenovicích, kde se čistí městská odpadní voda. Hodnocení biodegradace bylo prováděno stanovením množství metanu a oxidu uhličitého ve vyprodukovaném bioplynu pomocí plynové chromatografie.

Vzorky PVP, 1-Me-2P, 1-O-2P a kombinací 1-Me-2P + PVP a 1-O-2P + PVP byly připravovány následovně:

Zkompletované testovací láhve o obsahu 300 ml byly předem probublány dusíkem pro odstranění vzduchu. Do každé láhve bylo přímo naváženo 100 mg vzorku a bylo přidáno 100 ml anaerobního kalu s biomédiem o sušině 0,93 g.l⁻¹. Stejným způsobem byl připraven slepý pokus. Do láhve byl nadávkován anaerobní kal bez substrátu. Vše bylo nasazeno třikrát vedle sebe. Testovací láhve byly probublány 10 minut dusíkem s cílem odstranit kyslík. Testovací láhve se vzorky byly uloženy do vodní lázně při teplotě 37°C za stálého míchání (24 min⁻¹). Před začátkem testu byl u slepého pokusu změřen obsah uhlíku, pH a redoxpotenciál. Po ukončení testu byl obsah uhlíku změřen u všech vzorků, všude bylo znovu stanoveno pH a ORP. Experiment trval 106 dnů. Rozklad testovaných vzorků byl hodnocen dle množství vyprodukovaného CH₄ a CO₂. Ze získaných hodnot bylo vypočítáno procentuální odstranění substrátu (D_g %). Po zahrnutí množství anorganického uhlíku bylo stanoveno celkové procentuální odstranění substrátu (D_t %).

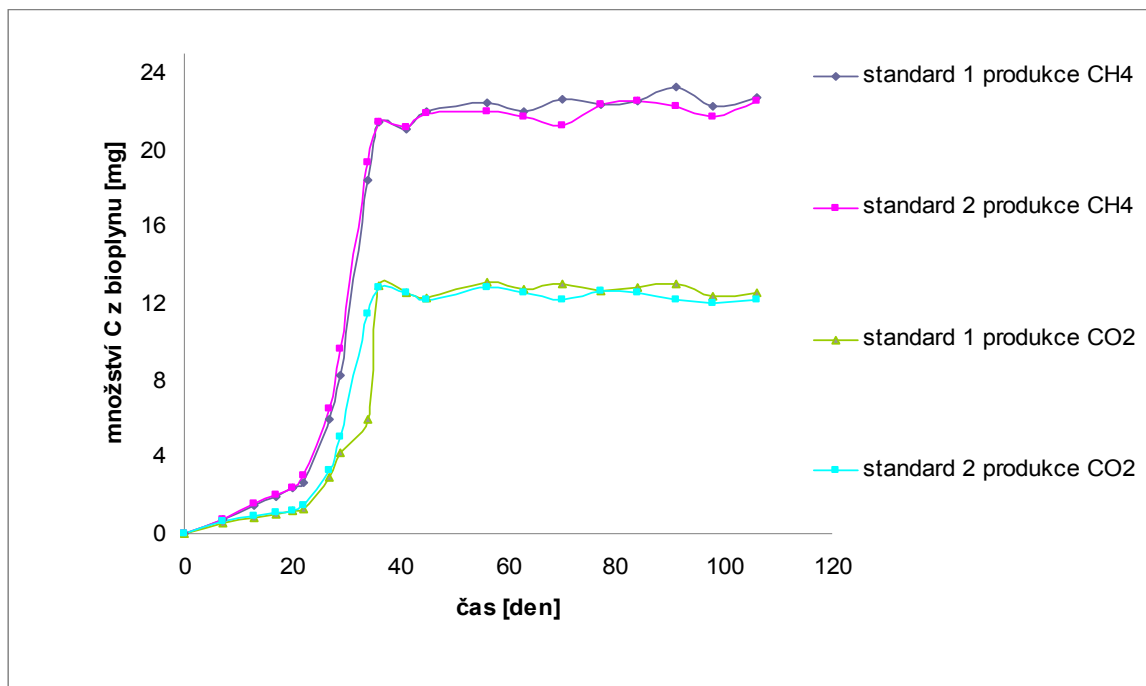
Tabulka 1 Vstupní hodnoty naměřené u slepého pokusu

<i>Vzorek</i>	<i>Sušina (g)</i>	<i>ORP (mV)</i>	<i>pH</i>	<i>TC (mg/l)</i>	<i>IC (mg/l)</i>	<i>TOC (mg/l)</i>
<i>slepý pokus 1</i>		- 276,8	7,786	29,26	4,784	24,47

<i>slepý pokus 2</i>	0,974	- 243,9	7, 792	34,28	4,837	29,44
----------------------	-------	---------	--------	-------	-------	-------

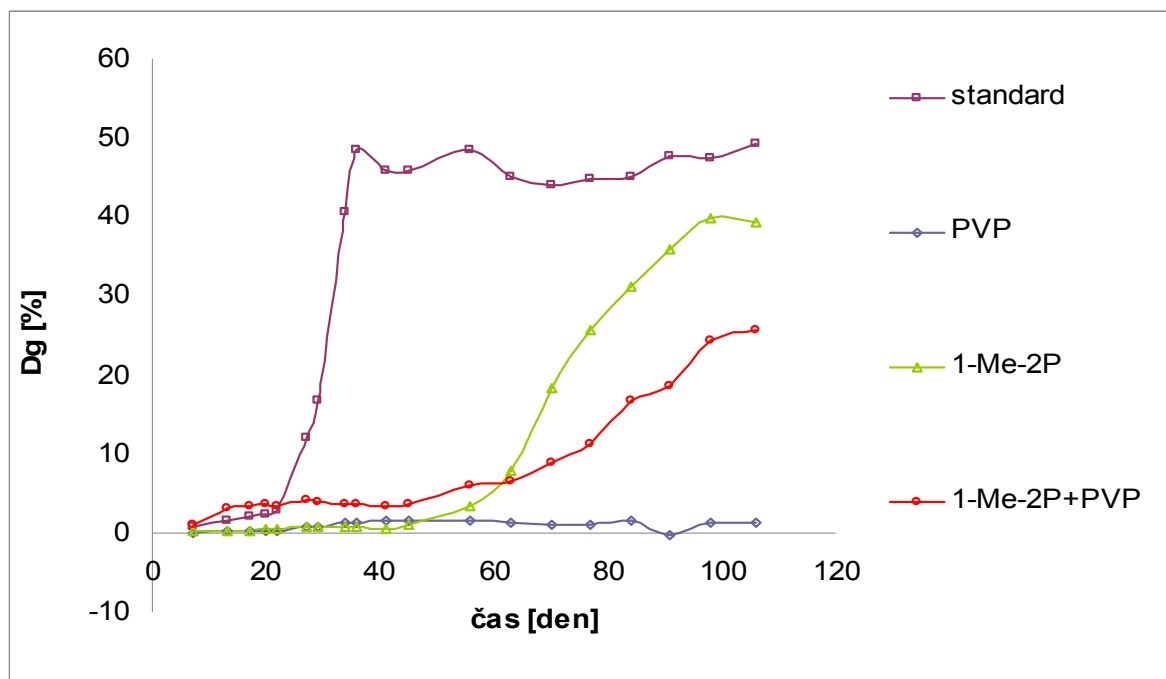
Tabulka 2 Hmotnost vzorků a obsah uhlíku v lahvích na vstupu a výstupní hodnoty ORP, pH a IC na konci pokusu po 106 dnech

<i>Vzorek</i>	<i>Navážka m_{skut.} (mg)</i>	<i>TC ve vzorku (%)</i>	<i>TC_{teor.} (mg)</i>	<i>ORP (mV)</i>	<i>pH</i>	<i>IC (mg/l)</i>
<i>benzoan sodný 1</i>	104	58,28	60,61	- 115,2	6,96	141,6
<i>benzoan sodný 2</i>	104	58,28	60,61	-106,9	6,98	134,8
<i>slepý pokus 1</i>	-	-	-	-83,3	7,26	43,82
<i>slepý pokus 2</i>	-	-	-	- 156,8	7,25	37,34
<i>PVP 1</i>	105	60,43	63,45	- 132,3	7,23	45,53
<i>PVP 2</i>	105	60,43	63,45	- 85,2	7,25	33,37
<i>1-Me-2P 1</i>	113	60,52	68,38	-142,8	7,13	163,4
<i>1-Me-2P 2</i>	117	60,52	70,81	- 121,9	7,12	128,7
<i>1-Me-2P + PVP 1</i>	246	60,475	148,75	-155,8	7,14	196,7
<i>1-Me-2P + PVP 3</i>	218	60,475	131,82	- 151,6	7,11	168,5



Obr. 6 Graf produkce CH_4 a CO_2 u benzoanu sodného (standard)

Průběh biodegradace benzoanu sodného, který byl zvolen jako kontrolní látka (standard) je vidět na obrázku 6. Z grafu je zřejmé, že bioplyn obsahoval metan a oxid uhličitý v poměru 64% CH_4 a 36% CO_2 , což značí dosažení optimálních podmínek pro anaerobní rozklad a dobrou funkci anaerobního kalu. Po 106 dnech bylo v plynné fázi nalezeno 54 % a 53 % teoretického množství uhlíku z navážky benzoanu sodného. Po započtení anorganického uhlíku vázaného v kapalně fázi byl vyhodnocen rozklad benzoanu sodného za uvedených anaerobních podmínek z 71% a 69%.



Obr. 7 Průběh degradace jednotlivých testovaných vzorků (navážka 100 mg vyhodnoceno z produkce bioplynu)

Na obrázku 7 je znázorněn průběh biorozkladu jednotlivých vzorků, který je vyhodnocen z produkce bioplynu v plynné fázi. Výsledné hodnoty jsou průměrnou hodnotou ze tří vedle sebe probíhajících pokusů. Polyvinylpyrrolidon se projevil jako látka, ze které se za uvedených anaerobních podmínek uvolnilo pouze 2,7 % uhlíku. Tato hodnota rozkladu je odvozena pouze ze dvou pokusů, jelikož třetí vzorek během testu pravděpodobně neměl anaerobní podmínky. Tato skutečnost se projevila při měření plynné fáze, kdy nebyl dodržen poměr metanu a oxidu uhličitého, který má být za anaerobních podmínek v poměru cca 60 % CH_4 : 40 % CO_2 . Nesprávná funkce uvedeného vzorku byla zřejmá již od pohledu a to hnědým zabarvením roztoku v testovací láhvi. Nejlepší rozložitelnost se prokázala u 1-metyl-2-pyrrolidonu a to z 39 % i přesto, že podléhal asi 41 denní lagové fázi, což je doba za kterou se mikroorganismy přizpůsobily na daný substrát. Po této době již vykazoval nejvyšší rozložitelnost. V kombinaci 1-metyl-2-pyrrolidon s PVP (při navážce 100 mg 1-metyl-2-pyrrolidonu a 100 mg polyvinylpyrrolidonu) se, lagová fáze neprojevila. Naopak jak je vidět z tab. 2 probíhal rozklad PVP z 8 %. Nízké hodnoty rozkladu mohly být způsobeny i navažováním látek přímo do lahve což mohlo způsobit špatnou rozpustnost látek ve směsi anaerobního kalu s biomediem. Tento fakt byl poté potvrzen u přípravy následujících testů.

Kde byla nejprve potvrzena špatná rozpustnost 1-oktyl-2-pyrrolidonu a v poslední testu byla zjištěna neúplná rozpustnost polyvinylpyrrolidonu. Tato skutečnost mohla ovlivnit rozklad těchto látek.

Tabulka 3 Procentuální rozklad jednotlivých vzorků se započteným anorganickým uhlíkem z kapalně fáze

<i>Vzorek</i>	<i>Dg procento rozkladu z produkce bioplynu (%)</i>	<i>Dt celkové procento rozkladu se započteným IC (%)</i>
<i>standard 1</i>	54,028	71,31
<i>standard 2</i>	53,16	69,31
<i>PVP 1</i>	2,735	4,025
<i>1-Me-2P 1</i>	48,047	66,47
<i>1-Me-2P 2</i>	37,508	50,41
<i>1-Me-2P + PVP 1</i>	27,597	38,31
<i>1-Me-2P + PVP 3</i>	27,906	37,86

Tabulka 3 uvádí celkový rozklad jednotlivých vzorků, vyhodnocený jako součet vyprodukovaného uhlíku v bioplynu plus množství uhlíku nalezeného po ukončení pokusu (po 98 dnech) ve formě anorganického uhlíku v kapalně fázi. Celkový rozklad polyvinylpyrrolidonu po započtení anorganického uhlíku z kapalně fáze byl stanoven na 4,025 %. Kombinace PVP s 1-metyl-2-pyrrolidone vykazuje po 98 dnech rozklad z 38 %, ovšem při započtení pouze 4 % rozkladu PVP a 66 % rozkladu 1-Me-2P při hmotnostním poměru 1:1 je teoretický rozklad 35 %. Stanovená hodnota 38 % spíše poukazuje na vyšší rozklad PVP (10 %), což se blíží hodnotě rozkladu PVP s přídavkem 1-Me-2P po 27 dnech. V tabulce ani grafu nejsou uváděny hodnoty biorozkladu 1-oktyl-2-pyrrolidonu, protože se u něj projevíly toxické účinky vůči použitému inokulu. Produkce metanu a oxidu uhličitého v těchto pokusech byla téměř na stejných hodnotách, které se v průběhu času téměř neměnily.

7.2 Testování anaerobního rozkladu polyvinylpyrrolidonu, 1-metyl-2-pyrrolidonu, 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jejich kombinací (koncentrace TOC v substrátu 200 mg.l⁻¹)

Vzorky pro druhou sérii testů byly dávkovány ve formě vodného roztoku tak, aby v každé testovací láhvi bylo obsaženo teoreticky 20 mg organického uhlíku. Pro tento test byl použit vyhnílý anaerobní kal o sušině 2,4 g.l⁻¹.

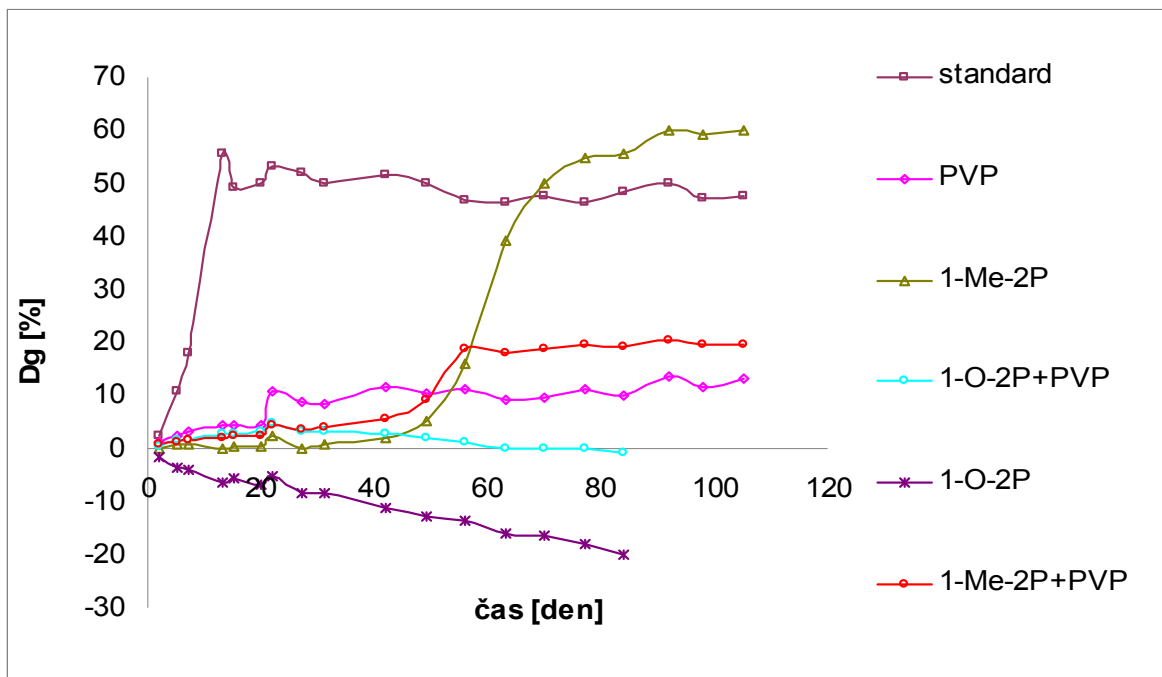
Do odměrné baňky bylo naváženo 330,96 mg polyvinylpyrrolidonu a vše bylo doplněno do 50 ml destilovanou vodou. Do tří testovacích lahví, které byly předem probulány dusíkem bylo automatickou pipetou pipetováno 5000 µl PVP. 1-metyl-2-pyrrolidonu bylo do 50 ml odměrné baňky naváženo 330,4 mg a doplněno destilovanou vodou. Do dalších tří testovacích lahví bylo pipetováno 5000 µl 1-Me-2P. Stejný postup byl i u látky 1-oktyl-2-pyrrolidonu kde bylo naváženo 273,6 mg. U této látky se projevila špatná rozpustnost ve vodě, proto byla odměrná baňka ještě 15 minut ponechána v ultrazvuku pro zajištění lepší rozpustnosti. Po napipetování jednotlivých látek bylo do každé testovací láhve přidáno 95 ml anaerobního kalu s biomediem (připraveného dle 6.2.1), který byl 20 minut probulán dusíkem k odstranění kyslíku. Kombinace 1-Me-2P+PVP byla připravena napipetováním 5000 µl 1-Me-2P a 5000 µl PVP. Stejný postup byl zvolen pro přípravu 1-O-2P + PVP. Kombinace byly doplněny 90 ml anaerobního kalu s biomediem. Připravené kombinace látek s PVP obsahovaly na vstupu 40 mg uhlíku. Takto připravené vzorky byly opět 10 minut probublávány dusíkem. Poté byly vloženy do vodní lázně s konstantní teplotou 37°C a stálým mícháním.

Naměřené hodnoty oxidačně redukčního potenciálu na konci pokusu u jednotlivých vzorků uvedené v tabulce 4 potvrdily anaerobní podmínky u všech vzorků.

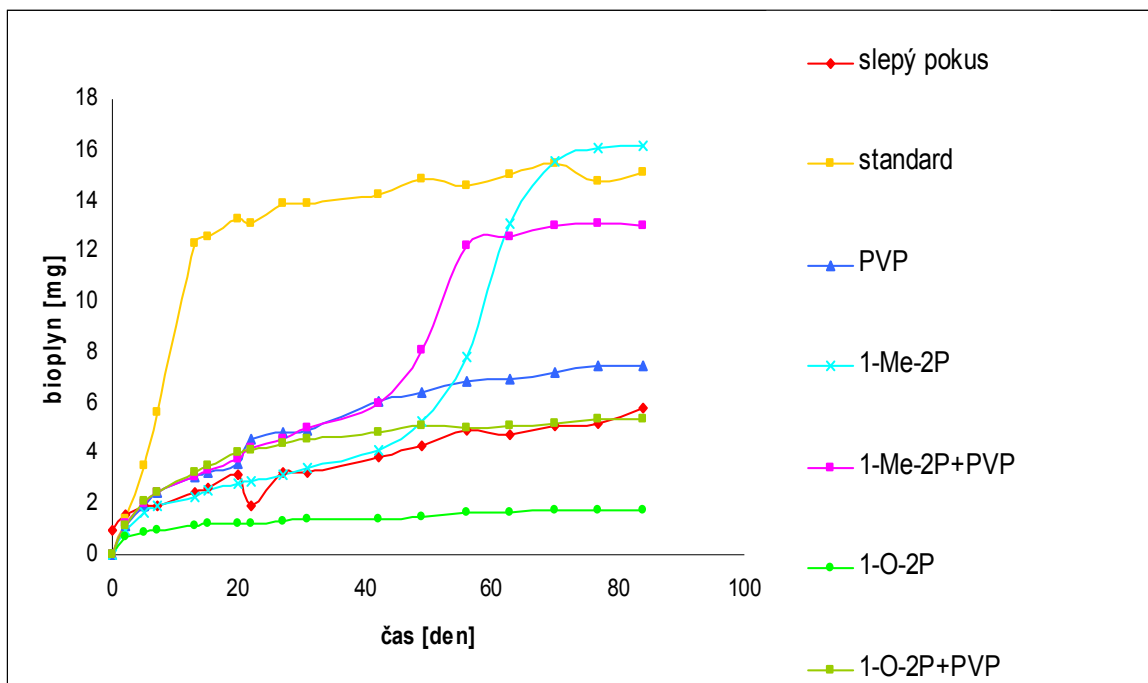
Tabulka 4 Hodnoty ORP, pH a koncentrace anorganického uhlíku pro vzorky s obsahem 20 mg uhlíku na konci pokusu

<i>Vzorek</i>	<i>ORP (mV)</i>	<i>pH</i>	<i>IC (mg/l)</i>
<i>standard 2</i>	- 144,3	7,266	91,7
<i>slepý pokus 1</i>	- 186,9	7,364	57
<i>slepý pokus 2</i>	- 179,8	7,417	62,49
<i>PVP 1</i>	- 155,9	7,36	72,62
<i>PVP 2</i>	- 153,2	7,347	51,86
<i>1-O-2P 1</i>	58,8	7,45	18,53
<i>1-O-2P 2</i>	- 132,9	7,44	19,94
<i>1-O-2P 3</i>	- 74,2	7,46	17,1
<i>1-O-2P + PVP 1</i>	- 101,8	7,32	26,92
<i>1-O-2P + PVP 2</i>	- 32,9	7,07	37,3
<i>1-O-2P + PVP 3</i>	- 122,4	7,39	32,84

Obrázek 8 znázorňuje odlišnou schopnost biodegradace jednotlivých testovaných látek. Vzorky 1-oktyl-2-pyrrolidonu vykazovaly toxické účinky vůči anaerobnímu kalu za podmínek pokusu a během 84 dnů se u nich neprojevila schopnost biodegradace. Kombinace 1-oktyl-2-pyrrolidonu s polyvinylpyrrolidonem dosáhla nejvyšší hodnoty odstranění uhlíku 22 den kdy byl rozklad na 4,7 %. Ani po 84 dnech nedošlo u těchto látek k rozkladu, proto byly po této době vzorky 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jeho kombinace s polyvinylpyrrolidonem ukončeny. Celkový rozklad standardu (benzoan sodný) byl po 105 dnech a po započtení celkového rozpuštěného anorganického uhlíku v kapalně fázi 77,5 %.



Obr. 8 Průběh degradace jednotlivých testovaných vzorků (koncentrace organického uhlíku 20 mg, vyhodnoceno z produkce bioplynu)



Obr. 9 Produkce bioplynu jednotlivých vzorků v čase

Dále je pro názornost uveden obrázek 9, který znázorňuje průběh produkce bioplynu (koncentrace uhlíku v bioplynu) u jednotlivých látek v závislosti na čase. Na obrázku je vidět, že produkce bioplynu u 1-O-2P je hodně pod produkcí bioplynu u slepého pokusu, což způsobuje v grafu číslo 8 záporné hodnoty mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂ a CH₄ v plynné fázi. Stejný problém se vyskytuje i u vzorků kombinace 1-O-2P + PVP. Hodnoty biorozkladu 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jeho kombinace s polyvinylpyrrolidonem opět nejsou uvedeny tabelárně, jelikož i u nižší navážky docházelo k toxickým účinkům tohoto substrátu na použité inokulum. Tento fakt je dobře zřetelný na grafu 8.

Při tomto pokusu, kdy byl polyvinylpyrrolidon dávkován do testovací lahve ve vodném roztoku v koncentraci 20 mg uhlíku, byla prokázána vyšší rozložitelnost polyvinylpyrrolidonu než u přímé navážky 100 mg vzorků (60 mg uhlíku), kdy bylo dosaženo pouze 4% rozkladu. Hodnoty odstranění PVP vyhodnocené dle úbytku organického uhlíku jsou uvedeny v tabulce 5. Průběh degradace polyvinylpyrrolidonu během 105 dnů je graficky znázorněn na obr. 10.

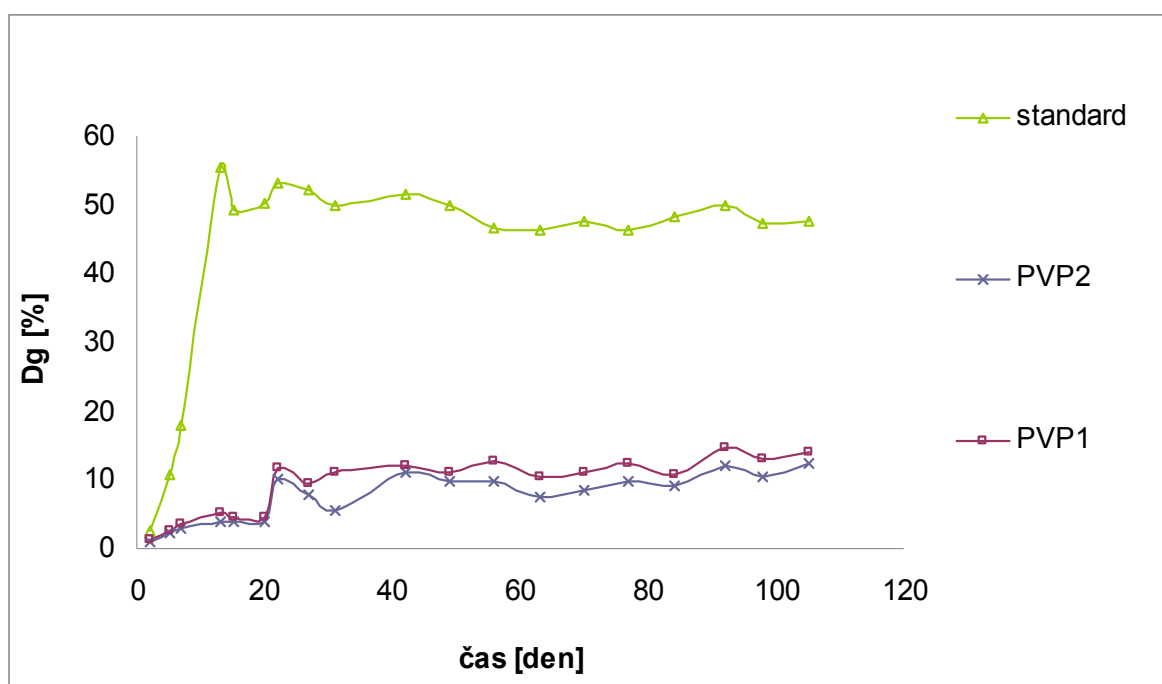
Tabulka 5 Procentuální rozklad látek D_g dle produkce bioplynu a se započteným anorganickým uhlíkem z kapalné fáze

<i>Vzorek</i>	<i>D_g procento rozkladu z produkce bioplynu (%)</i>	<i>D_t celkové procento rozkladu se započteným IC (%)</i>
<i>PVP 1</i>	14,04	14,11
<i>PVP 2</i>	12,32	12,3
<i>standard *</i>	47,64	-
<i>1-Me-2P 1*</i>	62,53	-
<i>1-Me-2P 2*</i>	59,93	-
<i>1-Me-2P 3*</i>	60,11	-
<i>1-Me-2P + PVP *</i>	19,64	-

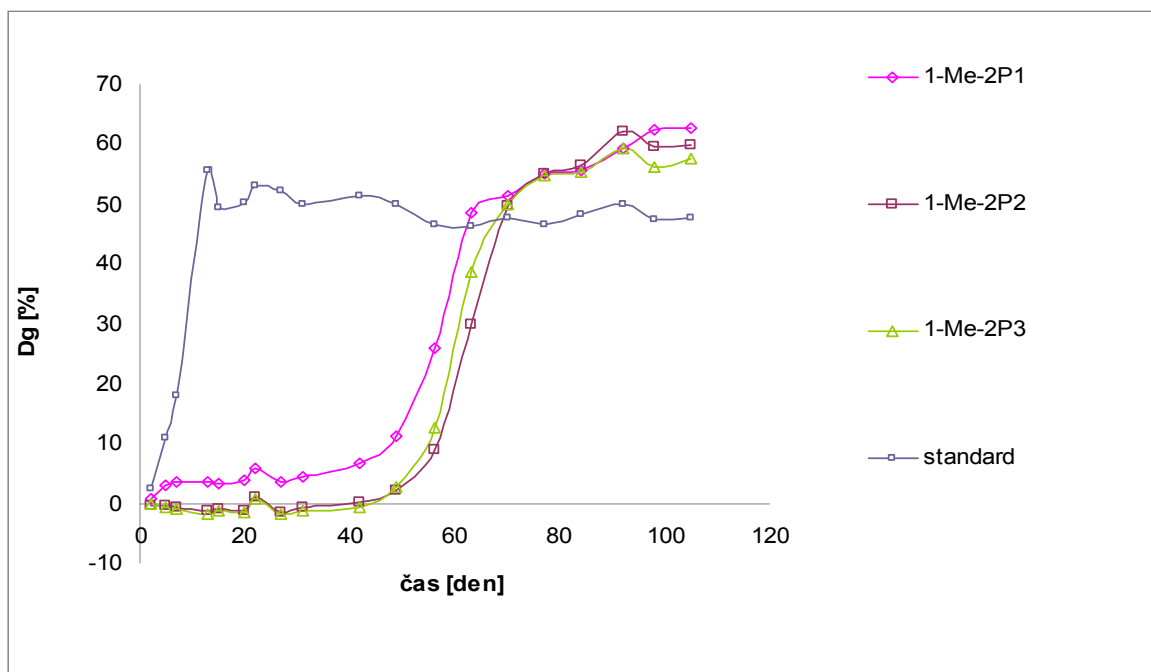
* u vzorků nebylo měřeno celkové procento rozkladu se započteným anorganickým uhlíkem D_t, jelikož test dále pokračoval s přidavkem 20 mg uhlíku

V tabulce jsou uvedeny hodnoty biodegradace polyvinylpyrrolidonu po 105 dnech. Jsou zde hodnoty ze dvou vedle sebe nasazených vzorků. Celkové procento rozkladu po započtení anorganického uhlíku z kapalné fáze je 14,11% a 12,3%. Z obr. 10 je patrné, že celkové biodegradace PVP je dosaženo už za 21 dnů.

Dále jsou v tabulce 5 uvedeny hodnoty procenta mineralizace uhlíku z hlediska produkce bioplynu, které byly dosaženy před přidáním přídatku dalších 20 mg uhlíku.



Obr. 10 Průběh odstranění polyvinylpyrrolidonu (vyhodnocení dle produkce bioplynu)

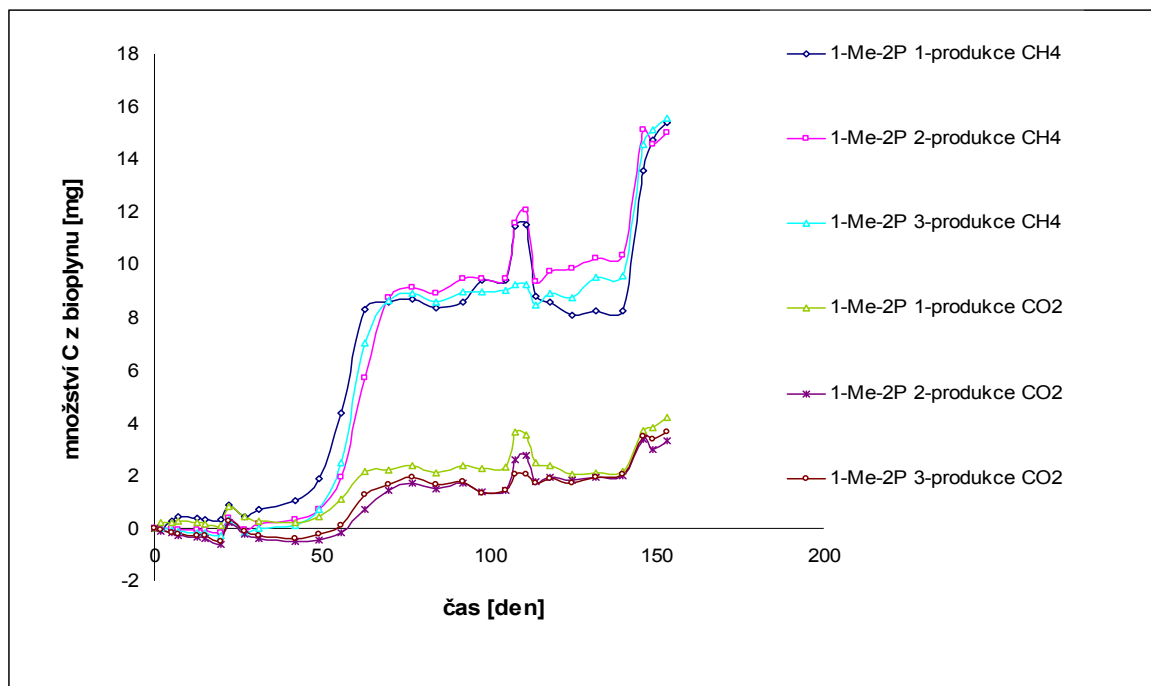


Obr. 11 Průběh biodegradace u vzorků 1-metyl-2-pyrrolidonu

Vysoké hodnoty biodegradace vykazovaly vzorky 1-metyl-2-pyrrolidonu, u kterých byl zajímavý průběh vyobrazený v grafu 11. Látka nejdříve podléhala 42 denní lagové fázi po které následoval prudký nárůst produkce oxidu uhličitého a metanu. Tento nárůst trval 50 dnů a po této době opět došlo k ustálení produkce bioplynu.

V tabulce 5 jsou uvedeny hodnoty procenta mineralizace uhlíku z hlediska produkce bioplynu, které byly dosaženy před přidáním přídatku dalších 20 mg uhlíku.

Po 70 dnech hodnoty degradace u této látky značně převýšily naměřené hodnoty degradace u standardu, proto byl po 105 dnech ke vzorkům přistříknut přídatek 1-metyl-2-pyrrolidonu. Do testovacích lahví se vzorky 1-Me-2P 1, 1-Me-2P 2, 1-Me-2P 3 a 1-Me-2P+PVP bylo pomocí injekční stříkačky Hamilton přistříknuto 330 μ l 10% roztoku 1-metyl-2-pyrrolidonu. Množství přídatku bylo zvoleno tak, aby se obsah uhlíku v každé testované lahvi zvýšil o dalších 20 mg. I přesto, že u anaerobních testů se jedná o netypický postup bylo tak provedeno s domněnkou, že anaerobní kal bude na danou látku již neadaptovaný a mohl by tak vykazovat ještě vyšší biodegradaci.



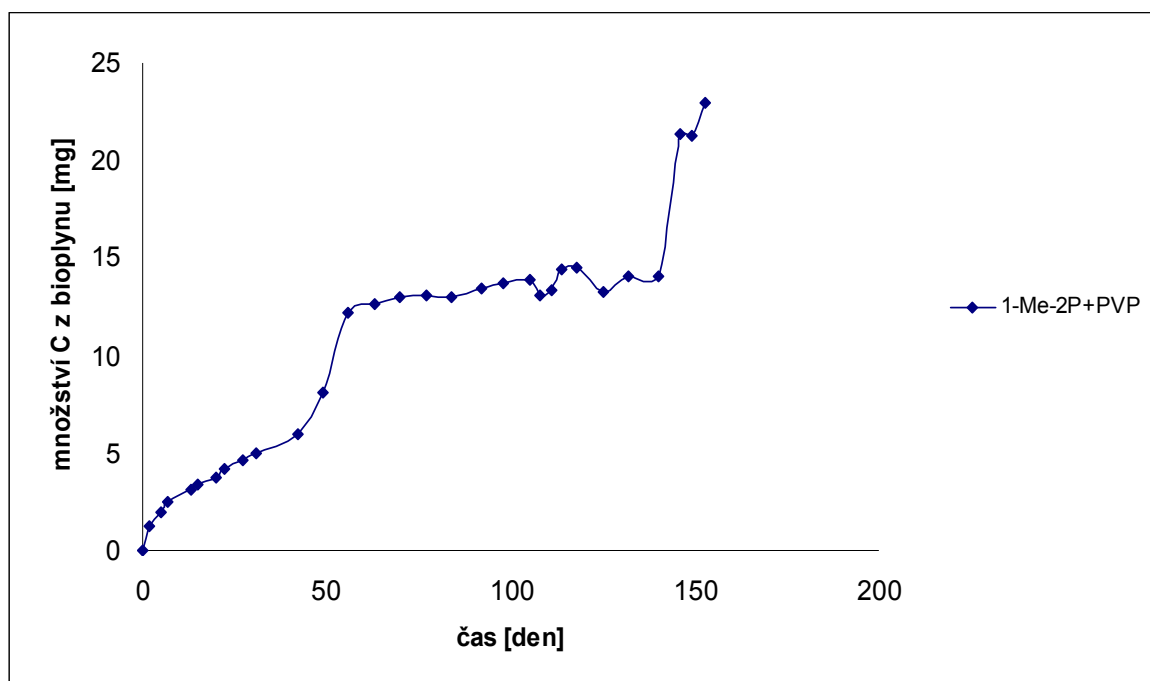
Obr. 12 Průběh produkce metanu a oxidu uhličitého u vzorků 1-metyl-2-pyrrolidonu s přidavkem 20 mg uhlíku

Na obrázku 12 je 108 den vidět prudký nárůst množství uhlíku z produkce bioplynu. Tato hodnota byla naměřena hned druhý den po přidání dalších 20 mg uhlíku do každé testovací lahve. Tento nárůst trval pouze 6 dnů po kterých opět došlo k poklesu bioplynu. K dalšímu nárůstu bioplynu poté došlo až po dalších 40 dnech, což odpovídá lagové fázi 1-Me-2P. Po přidání přídatku tak celý proces adaptace kalu probíhal znovu. Z toho lze usoudit, že přídatvek měl být přidán dříve, čímž se mohla eliminovat následující lagová fáze 1-Me-2P. Test byl ukončen po 153 dnech.

Po ukončení pokusu bylo u všech vzorků změřeno ORP pro kontrolu, zda bylo během průběhu testu dodrženo anaerobní prostředí. Dále bylo měřeno pH a anorganický uhlík. Všechny naměřené data jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6 Hodnoty ORP, pH a IC u látek s přidavkem 20 mg C na konci pokusu (153 dnů)

<i>Vzorek</i>	<i>ORP</i>	<i>pH</i>	<i>IC (mg/l)</i>	<i>TC (mg/l)</i>	<i>TOC (mg/l)</i>
<i>slepý pokus 3</i>	- 196,2	7,50	63,34	96,77	33,43
<i>1-Me-2P 1</i>	- 123,3	7,36	137,1	165,9	28,8
<i>1-Me-2P 2</i>	- 142,7	7,43	138,1	171,8	33,7
<i>1-Me-2P 3</i>	- 154,8	7,42	151,8	178,9	27,1
<i>1-Me-2P+PVP 1</i>	- 125,1	7,40	114,8	210,2	95,4



Obr. 13 Produkce bioplynu u 1-Me-2P s PVP s přidavkem 20 mg uhlíku

Kombinace látky 1-metyl-2-pyrrolidon s polyvinylpyrrolidonem měla po přidavku 20 mg uhlíku podobný průběh jako samotný 1-metyl-2-pyrrolidon. Tato kombinace, ale nepodléhá lagové fázi jako 1-Me-2P samotný. K výraznějšímu nárůstu produkce bioplynu došlo až 35 den po přidání roztoku 1-metyl-2pyrrolidonu obsahujícího 20 mg uhlíku. Po započtení anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi byla látka rozložena z 28,22 %.

7.3 Inhibiční test

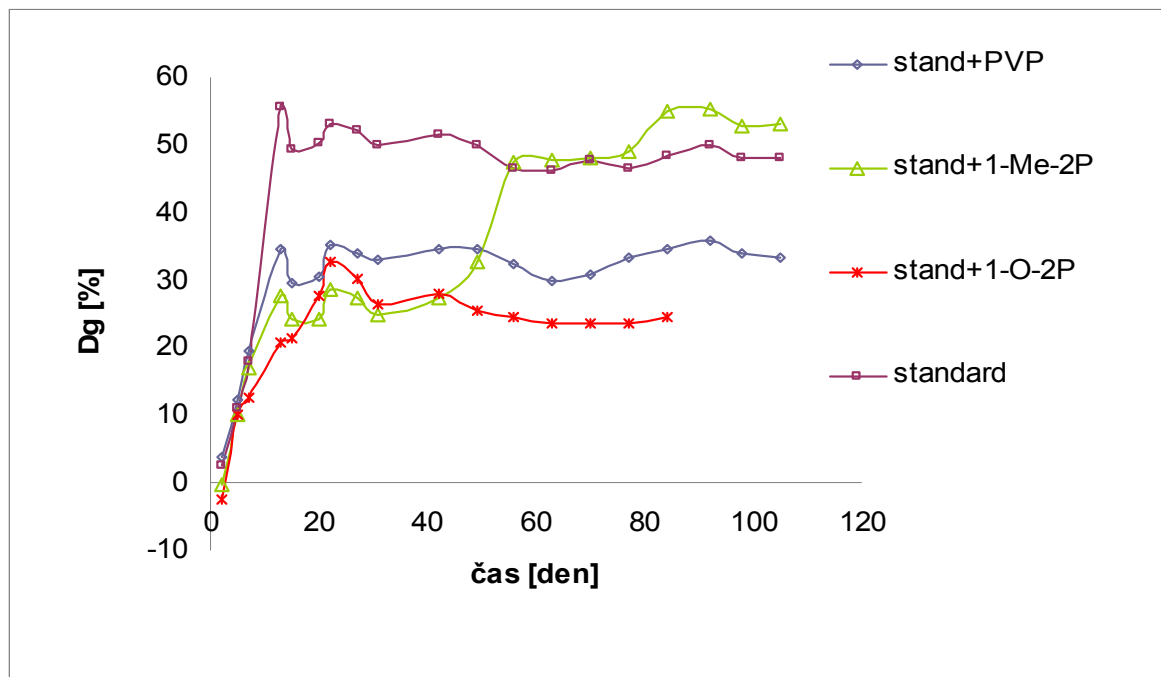
Vzhledem k naměřeným hodnotám z předešlého experimentu byl souběžně s testem o koncentraci 20 mg uhlíku v testovací lahvi nasazen test na zjištění inhibiční aktivity jednotlivých látek. Všechny testované látky byly připraveny ve formě roztoku, tak aby v každé testovací lahvi bylo obsaženo 20 mg uhlíku (10 mg TOC standard a 10 mg TOC z jednotlivých vzorků). Do jednotlivých lahví s anaerobním kalem bylo pipetováno předem vypočtené množství standardu (benzoanu sodného) a dané množství jednotlivých vzorků.

Jednotlivé vzorky byly připraveny napipetováním 2 500 μ l standardu a 2 500 μ l jednotlivých testovaných látek (PVP, 1-Me-2P, 1-O-2P). Poté byla každá láhev doplněna 95 ml biomédia s kalem. Anaerobní kal s biomediem i testovací lahve byly během přípravy neustále probublávány dusíkem. Na konci experimentu bylo u všech vzorků změřeno pH, oxidačně redukční potenciál a IC. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7 Hodnoty ORP, pH a anorganického uhlíku v kapalné fázi na konci pokusu po 105 dnech

<i>Vzorek</i>	<i>ORP(mV)</i>	<i>pH</i>	<i>IC (mg/l)</i>
<i>standard</i>	- 144,3	7,266	91,7
<i>slepý pokus 1</i>	- 186,9	7,364	57
<i>slepý pokus 2</i>	- 179,8	7,417	62,49
<i>standard+PVP1</i>	- 107,9	7,259	70,29
<i>standard+PVP2</i>	- 128,7	7,308	72,6
<i>standard+1-Me-2P</i>	- 136,7	7,271	90,82
<i>standard+1-O-2P 1</i>	- 106,4	7,35	53,01
<i>standard+1-O-2P 2</i>	- 49,4	7,15	40,19

Po ukončení a vyhodnocení inhibičního testu jehož průběh je zobrazen v obrázku 14 je zřejmé, že testované vzorky nemají na anaerobní kal v přítomnosti benzoanu sodného inhibiční účinky.



Obr. 14 Průběh biodegradace jednotlivých vzorků u inhibičního testu

Tabulka 8 Procentuální rozklad inhibičních vzorků se započteným anorganickým uhlíkem z kapalně fáze

<i>Vzorek</i>	<i>Dg procento rozkladu z produkce bioplynu (%)</i>	<i>Dt celkové procento rozkladu se započteným IC (%)</i>
<i>benzoan sodný</i>	49,97	65,95
<i>standard + PVP 1</i>	36,38	40,28
<i>standard + PVP 2</i>	35,31	40,36
<i>standard + 1-Me-2P</i>	55,35	69,52
<i>standard + 1-O-2P 1</i>	21,1	21,1
<i>standard + 1-O-2P 2</i>	28,09	28,09

Uvedená tabulka procentuálního rozkladu jednotlivých vzorků potvrzuje už zjištěnou skutečnost, že 1-oktyl-2-pyrrolidon nepodléhá v přítomnosti anaerobního kalu rozkladu na metan a oxid uhličitý. Na rozdíl od ostatních testů, kde byl 1-oktyl-2-pyrrolidon jako jediný substrát, v tomto případě nedocházelo k zastavení nebo snížení produkce bioplynu oproti slepému pokusu. Hodnoty produkce bioplynu ze směsi benzoanu sodného a 1-oktyl-2-pyrrolidonu odpovídají množství dávkovaného benzoanu sodného, kterého je ve směsi 10 mg a tím pádem by se teoreticky měla produkce D_g směsi vztaženo k D_g standardu (49,97%) pohybovat kolem 25 % (průměr ze dvou měření u vzorků standard + 1-O-2P 1 je 24,6 %). Testování vzorků 1-oktyl-2-pyrrolidonu bylo ukončeno po 84 dnech, jelikož tato látka již nevykazovala žádné výraznější změny produkce bioplynu.

Průběh rozkladu kombinace benzoanu sodného a 1-metyl-2-pyrrolidonu odpovídá tomu, že během 7 dnů se rozložil pouze benzoan sodný a až po dlouhé lagové fázi, která se jako u všech ostatních pokusů pohybuje kolem 50 dní dochází k prudkému nárůstu produkce bioplynu, která odpovídá rozkladu 1-metyl-2-pyrrolidonu. Je zde potvrzena dobrá rozložitelnost 1-metyl-2-pyrrolidonu, která byla v kombinaci s benzoanem sodným v anaerobním prostředí vyšší než samotný standard a to ze 70 %.

Na průběhu rozkladu kombinace polyvinylpyrrolidonu s benzoanem sodným je znatelné, že PVP se pozvolna rozkládá bez výrazné lagové fáze a to jen částečně, konečná hodnota uvedené směsi byla 41 % (samotný benzoan sodný 66 %).

7.4 Testování anaerobního rozkladu polyvinylpyrrolidonu, 1-metyl-2-pyrrolidonu, 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jejich kombinací (koncentrace TOC v substrátu 100 mg.l⁻¹)

V předchozím experimentu s navázkou byla prokázána biodegradace u polyvinylpyrrolidonu a 1-metyl-2-pyrrolidonu. Pro potvrzení a možnost zvýšení biodegradace těchto látek byl nasazen experiment s navázkou 10 mg uhlíku ve 100 ml kapalné fáze a také pro zjištění vlivu koncentrace 1-oktyl-2-pyrrolidonu na jeho toxické účinky vůči anaerobnímu kalu.

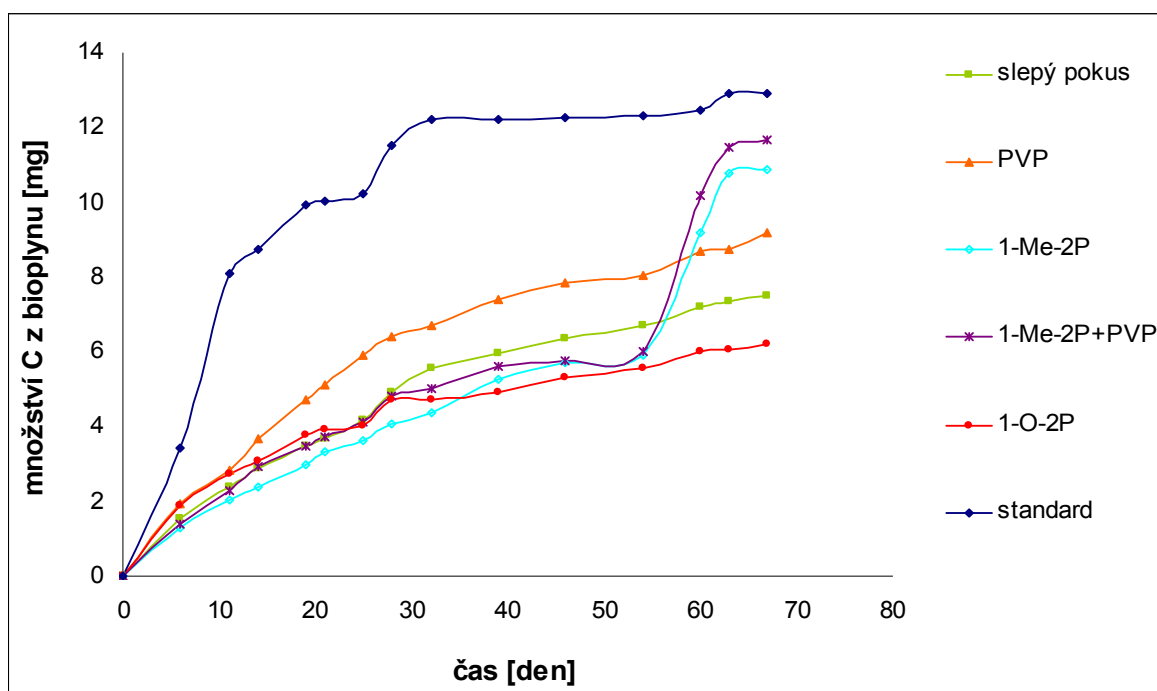
Pro jednotlivé látky byla vypočítána navážka, tak aby ve 120 ml kapalné fáze bylo obsaženo 12 mg uhlíku. U tohoto testu byly odebírány vzorky pro stanovení pH, ORP a anorganického uhlíku na začátku i po ukončení testu. Do 50 ml odměrné baňky bylo naváženo 205,8 mg benzoanu sodného doplněno destilovanou vodou, do testovací láhve bylo pipetováno 5 000 µl. Polyvinylpyrrolidonu bylo naváženo 198 mg po bližším vizuálním prozkoumání bylo zjištěno, že jeho rozpustnost ve vodě není optimální. Z toho důvodu byl stejně jako 1-oktyl-2-pyrrolidon, kterého bylo naváženo 164,2 mg vložen na 20 minut do ultrazvuku. Jednotlivých látek bylo taktéž pipetováno 5 000 µl. Každá láhev byla doplněna 115 ml kalu s biomediem. Kombinace 1-metyl-2-pyrrolidonu s polyvinylpyrrolidonom obsahovala 20 mg uhlíku, proto byla připravena napipetováním 5000 µl 1-Me-2P a 5000 µl PVP a doplněna 110 ml kalu. Vše bylo neustále probubláváno dusíkem s cílem minimalizovat množství kyslíku v jednotlivých vzorcích.

Z každé takto připravené testovací lahve bylo odebráno 20 ml pro stanovení ORP, pH a IC na začátku experimentu. Vzorky pro stanovení IC byly třikrát přefiltrovány pro odstranění všech nečistot. Kombinace vzorku 1-metyl-2-pyrrolidonu s polyvinylpyrrolidonom byla ředěna 1:1 U anaerobního kalu byla stanovena sušina 3,1 g.l⁻¹.

Tabulka 9 Hodnoty pH, IC a ORP jednotlivých vzorků (TOC 10 mg) na začátku pokusu

<i>Vzorek</i>	<i>ORP (mV)</i>	<i>pH</i>	<i>IC (mg/l)</i>	<i>TC (mg/l)</i>	<i>TOC (mg/l)</i>
<i>benzoan sodný 1</i>	- 50,8	7,93	17,66	145,7	128
<i>benzoan sodný 2</i>	- 58,9	7,89	17,67	154,4	136,7
<i>slepý pokus 1</i>	- 123,4	7,94	15,06	39,62	24,56
<i>slepý pokus 2</i>	- 128,5	7,90	17,18	40,4	27,2
<i>slepý pokus 3</i>	-111,8	7,92	15,07	38,4	23,3
<i>PVP 1</i>	- 24,9	7,98	17,18	131,4	114,2
<i>PVP 2</i>	- 40,4	7,99	15,07	128,4	133,3
<i>PVP 3</i>	- 38,9	8,0	13,82	201,7	187,8
<i>1-Me-2P 1</i>	- 207,5	8,05	11,33	137,7	126,3
<i>1-Me-2P 2</i>	- 102,3	8,04	16,47	145,1	128,6
<i>1-Me-2P 3</i>	- 58,1	8,01	12,48	146,9	134,4
<i>1-Me-2P + PVP 1</i>	- 28,9	8,02	13,59	208,2	194,6
<i>1-Me-2P + PVP 2</i>	- 16,4	8,0	15,008	213,4	198,38
<i>1-Me-2P + PVP 3</i>	- 19,8	8,01	13,96	213,4	199,42
<i>1-O-2P 1</i>	- 139,8	7,97	17,07	104,3	87,23
<i>1-O-2P 2</i>	- 163,3	7,85	16,45	104,9	88,45

U biomedie bylo na začátku pokusu upraveno pH na hodnotu 7,2. Jak vidíme z uvedené tabulky po přidání anaerobního kalu a jednotlivých vzorků došlo ke zvýšení pH do zásadité oblasti. Z počátku se zdálo, že test v zásadité oblasti bude probíhat lépe než předešlé testy. Během testování došlo k velkému nárůstu slepého pokusu, což bylo způsobeno jeho vyšší sušinou 3,1 g.l⁻¹. Toto potvrdilo, že navážka látek s koncentrací uhlíku 10 mg je pro testování anaerobní degradace za daných podmínek příliš malá. Jednotlivé průběhy produkce bioplynu jsou zobrazeny na Obr. 15, kde je zřejmé, že i zde byl 1-O-2P pod slepým pokusem. U takto nízké navážky pod slepým pokusem probíhala produkce bioplynu u vzorků 1-Me-2P a kombinace 1-Me-2P + PVP.



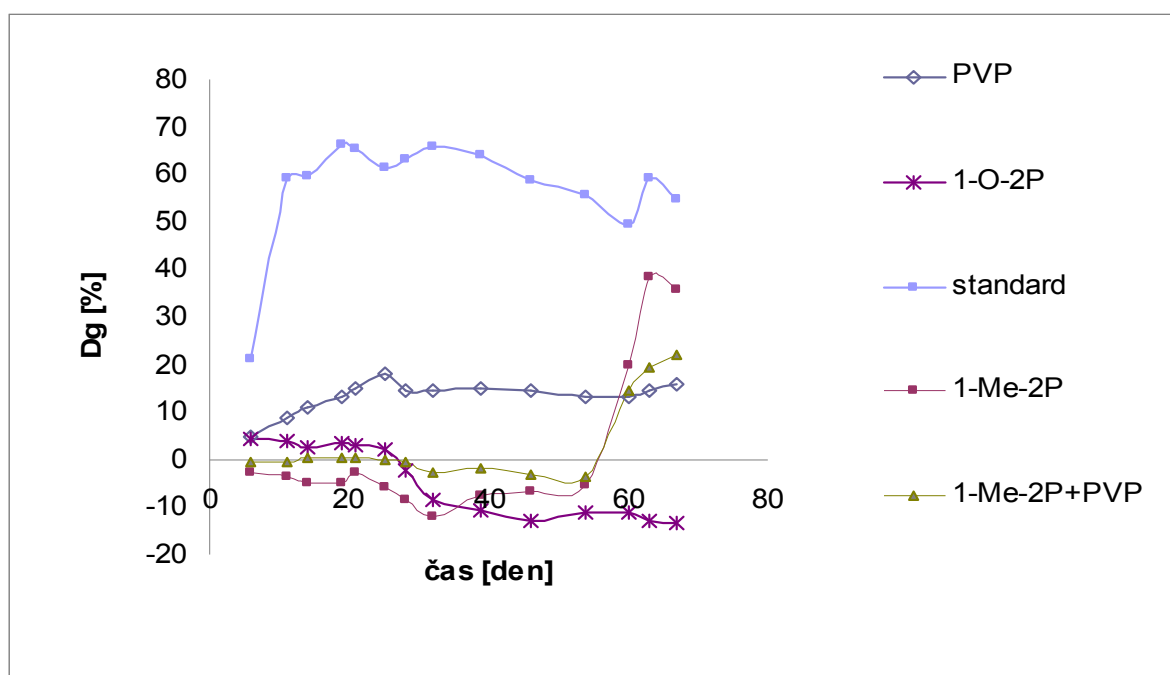
Obr. 15 Průběh produkce bioplynu u jednotlivých vzorků

Tabulka 10 Hodnoty pH, ORP a IC jednotlivých vzorků (TOC 10 mg) na konci pokusu

<i>Vzorek</i>	<i>ORP</i>	<i>pH</i>	<i>IC (mg/l)</i>	<i>TC (mg/l)</i>	<i>TOC (mg/l)</i>
<i>benzoan sodný</i>	- 48,6	7,47	79,16	112,2	33,04
<i>slepý pokus 1</i>	- 103,7	7,63	60,74	103,4	42,66
<i>slepý pokus 2</i>	- 96,9	7,58	68,86	113,1	44,24
<i>slepý pokus 3</i>	- 102,8	7,59	76,5	126,7	50,20
<i>PVP 1</i>	- 88,4	7,55	61,21	157,3	96,09
<i>PVP 2</i>	- 94,7	7,59	63,73	166,3	102,5
<i>PVP 3</i>	- 93,1	7,38	63,75	157,5	93,75
<i>1-Me-2P 1</i>	- 158,2	7,59	75,92	116,7	40,78
<i>1-Me-2P 2</i>	- 124,6	6,92	68,15	89,37	21,22
<i>1-Me-2P 3</i>	- 143,1	7,56	79,86	117,8	37,94
<i>1-Me-2P + PVP 1</i>	- 107,4	7,54	78,69	182,2	103,5
<i>1-Me-2P + PVP 2</i>	- 111,9	7,58	78,19	188	109,8
<i>1-O-2P 1</i>	- 156,3	7,52	57,11	156,9	99,79
<i>1-O-2P 2</i>	- 149,3	7,56	56,45	166,8	110,3

Naměřené hodnoty ORP na konci pokusu potvrdily anaerobní podmínky po celou dobu testování. Tyto podmínky nebyly dodrženy u vzorků benzoanu sodného a 1-Me-2-P+PVP 3 což bylo zjevné již při jejich vizuální kontrole. Z tohoto důvodu tyto dva vzorky již nebyly dále měřeny. Hodnoty pH uvedené v tabulce 10 poukazují na pokles pH během testu ve všech testovacích lahvích. Při srovnáním anorganického uhlíku měřeného na začátku pokusu

a poté na konci pokusu je zřejmé, že u každé látky došlo k nárůstu rozpuštěného anorganického uhlíku.



Obr. 16 Průběh degradace jednotlivých testovaných vzorků (koncentrace organického uhlíku 10 mg, vyhodnoceno z produkce bioplynu)

Zvolená nižší navážka (koncentrace TOC 100 mg.l^{-1}) způsobila rychlý průběh degradace u standardu (benzoanu sodného) a polyvinylpyrrolidonu jak je vidět na obr. 16. Tato degradace trvala 25 dnů od nasazení testu a po této době už u těchto látek nedocházelo k žádnému výraznějšímu rozkladu. Ve srovnání s předchozím pokusem při navážce 100 mg vzorku (koncentrace TOC 600 mg.l^{-1}), kde se benzoan sodný začal výrazněji rozkládat až 27 den a polyvinylpyrrolidon až po 29 dnech. Při této navážce byl polyvinylpyrrolidon rozložen z 10 % již po 14 dnech trvání pokusu, jeho rozložitelnost ze 14 % proběhla do 21 dnů od začátku pokusu. Polyvinylpyrrolidon se po započtení anorganického uhlíku z kapalně fáze rozložil z 19, 16 a 18 %. I u takto nízké navážky působil 1-oktyl-2-pyrrolidon toxicky vůči anaerobnímu kalu. Nízká navážka způsobila dlouhou dobu adaptace mikroorganismů na látku 1-metyl-2-pyrrolidon, která se začala rozkládat až po 60 dnech testování. Po 67 dnech byl test z časových důvodů ukončen. 1-metyl-2-pyrrolidon byl rozložen z 49, 38 a 60%. Procenta rozkladu u jednotlivých látek jsou uvedeny v tabulce 11.

Tabulka 11 Procentuální rozklad jednotlivých vzorků s obsahem 10 mg uhlíku v testovací láhvi se započteným anorganickým uhlíkem z kapalně fáze

<i>Vzorek</i>	<i>Dg procento rozkladu z produkce bioplynu (%)</i>	<i>Dt celkové procento rozkladu se započteným IC (%)</i>
<i>benzoan sodný</i>	54,6	54,79
<i>PVP 1</i>	19,06	19,53
<i>PVP 2</i>	13,79	16,78
<i>PVP 3</i>	15,04	18,05
<i>1-Me-2P 1</i>	35,18	49,73
<i>1-Me-2P 2</i>	30,74	38,15
<i>1-Me-2P 3</i>	41,21	60,33
<i>1-Me-2P + PVP 1</i>	28,03	46,25
<i>1-Me-2P + PVP 2</i>	15,77	33,49

V tabulce 11 opět nejsou uvedeny hodnoty biorozkladu 1-oktyl-2-pyrrolidonu, protože i u této nižší navážky tato látka působila na daný anaerobní kal toxicky.

7.4.1 Vliv přísadků strukturních analogů polyvinylpyrrolidonu na jeho rozklad

Testování polyvinylpyrrolidonu a jeho strukturních analogů bylo provedeno třikrát s různými navážkami uhlíku v testovacích láhvích. U polyvinylpyrrolidonu se prokázalo, že jeho rozklad v anaerobním vodném prostředí není závislý na koncentraci substrátu a dosahuje 15 – 19 %. 1-metyl-2-pyrrolidon vykazoval dobrou rozložitelnost ve všech koncentracích po překonání lagové fáze. Toxické účinky se projevovali pouze u 1-oktyl-2-pyrrolidonu a jeho kombinací ve všech koncentracích.

8 ZÁVĚR

V této diplomové práci byla zkoumána biodegradace polyvinylpyrrolidonu ve vodném anaerobním prostředí. Polyvinylpyrrolidon se často používá ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu. Jedná se o látku potenciálně znečišťující životní prostředí. Nevykazuje toxické účinky, ale jeho osud v životním prostředí zatím nebyl zodpovězen.

Pro testování jeho anaerobního rozkladu byl použit polyvinylpyrrolidon K15 o molekulové hmotnosti 10 000 mg.l⁻¹. Současně byla biodegradace testována u 1-metyl-2-pyrrolidonu a 1-oktyl-2-pyrrolidonu, což jsou strukturální analogy k PVP.

Jako inokulum byl použit anaerobní kal z čistírny odpadních vod ve Zlíně-Malenovicích zpracovávající městskou odpadní vodu. Testování probíhalo v mezofilních podmínkách při teplotě 37 °C. Anaerobní rozklad jednotlivých vzorků byl prováděn v plynotěsných lahvích opatřených septem o celkovém objemu 300 ml (objem plynné fáze 200 ml, objem kapalné fáze 100 ml). Stupeň rozkladu testovaných látek byl vyhodnocen z produkce metanu a oxidu uhličitého v bioplynu a oxidu uhličitého v kapalné fázi. Ke stanovení množství bioplynu byla použita metoda stanovení koncentrace metanu a oxidu uhličitého pomocí plynové chromatografie. Testy anaerobní rozložitelnosti probíhaly při koncentracích 600 mg.l⁻¹, 200 mg.l⁻¹ a 100 mg.l⁻¹ organického uhlíku v jednotlivých substrátech. Vzorky o koncentraci 600 mg.l⁻¹ byly připraveny přímým navažováním polyvinylpyrrolidonu do testovací láhve. Vzorky o koncentraci 200 mg.l⁻¹ a 100 mg.l⁻¹ byly připraveny ve formě roztoku, z něhož bylo do testovacích lahví pipetováno předem vypočtené množství.

Z naměřených hodnot ze tří testovaných koncentrací PVP vyplývá, že PVP je biologicky rozložitelný v anaerobním vodném prostředí pouze do určité míry, která je závislá na jeho rozpustnosti.

1-metyl-2-pyrrolidon ve všech třech použitých koncentracích vykazoval po dlouhé lagové fázi rozložitelnost vyšší jak 70 %. Lagová fáze v jednotlivých pokusech činila 45 – 50 dnů. Po této době následoval prudký nárůst koncentrace metanu v bioplynu. I když látka samotná vykazovala vysoké hodnoty biodegradace v kombinaci s polyvinylpyrrolididem se neprojevil její vliv na vyšší rozklad PVP.

1-oktyl-2-pyrrolidon, který je používán ve farmaceutickém, kosmetickém průmyslu a zemědělství působí toxicky na anaerobní kal i v nízkých koncentracích. Při všech shora uvede-

ných koncentracích 1-oktyl-2-pyrrolidonu byla produkce bioplynu po přidání substrátu oproti slepému pokusu snížena, v případě koncentrace 600 mg.l^{-1} anaerobní kal okamžitě přestal produkovat bioplyn.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] STRAKA F.; a kol.: *Biophyn*. 1.vyd. Říčany: GAS s.r.o., 2003, ISBN 80-7328-029-9
- [2] SHAH, A., HASAN, F., HAMEED, A., AHMED, S., Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, vol. 26, no. 3, 2007: pp. 246-265, ISSN 0734-9750, doi:10.1016/S0734975008000141
URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975008000141>
- [3] GIROTO, J. A., TEIXEIRA, A., C. S., C., NASCIMENTO, C., A., O., GUARDANI, R.,
Photo-Fenton removal of water-soluble polymers. *Chemical Engineering and Processing*, vol. 47, no. 12, 2008: pp. 2361–2369, ISSN 0255 – 2701,
doi:10.1016/S02552270108000330
URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S02552270108000330>
- [4] SLEJŠKA, A.: Testování biodegradability. [Online]. 1997, [cit. 2012-01-12].
URL <http://stary.biom.cz/clean/as/biodegrtest.html>
- [5] KUPEC, J.: *Zpracování odpadních vod a kalů*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická ES, 2.vyd, Zlín 2002
- [6] PODEŠVA, J., KOVÁŘOVÁ, J., Možnosti přípravy makromolekulárních antidegradantů pro polymery, *Chemické listy*, č.104, 2010: s.1034-1039
URL http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_11-1034-1039.pdf
- [7] Fentonova reakce, [Online]. 2012, [cit. 2012-01-12].
URL http://www.vscht.cz/tvp/download/Laborator_oboru_Fentonova_reakce.pdf
- [8] STASINAKIS, A., S., Use of selected advanced oxidation processes (AOPs) for wastewater treatment- a mini review, *Global Nest journal*, vol. 10, no. 3, 2008: pp.376-385
URL http://www.gnest.org/journal/Vol10_No3/376-385_598_Stasinakis_10-3.pdf
- [9] Toxnet, [Online]. [cit. 2012-01-14]
URL <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/f?./temp/~IhnVd6:1:cpp>

- [10] BUHLER, V. *Polyvinylpyrrolidone excipients for Pharmaceutical* [online]. Germany: Springer, 2005, pp. 189-205 [cit. 2012-01-14]. ISBN 3-540-23412-8.
- [11] TERASA M., MARGARIT, M., V., SALCEDO, G., E., Characterization and solubility study of solid dispersions of flunarizine and polyvinylpyrrolidone, *Il Farmaco*, vol. 57, no. 9: pp.723-727
URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12385522>
- [12] BUHLER, V. *Kolidon: polyvinylpyrrolidon for the pharmaceutical industry* [online]. Ludwigshafen: BASF, 1998 [cit. 2012-04-14].
URL <http://www.ut.ee/ARFA/tehnol/kollidon.pdf>
- [13] Material safety data sheet, [Online]. [cit. 2012-01-14].
URL <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs>
- [14] HASSOUNA, F., THERIS, S., MAILHOT, G.; aj.: , Photooxidation of poly(N-vinylpyrrolidone) (PVP) in the solid state and in aqueous solution, *Polym. Degradation. Stability*, vol. 94, no. 12, 2009: pp. 2257-2266, ISSN 0141-3910, doi:10.1016/j.polymdegradstab.2009.08.007
URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141391009002808>
- [15] HONG, Y., CHRILA, V., T., VIAJAYASEKARAN, S., DALTON, P., D., TAHIJA, S., G., Crosslinked poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone) as a vitreous substitute. *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 30, 1996: pp. 441- 448, doi:0021-9304/96/040441-08
URL [http://www. http://med-x.sjtu.edu.cn/daltonlab/Literature/Hong.pdf](http://www.med-x.sjtu.edu.cn/daltonlab/Literature/Hong.pdf)
- [16] TRIMPIN, S.; EICHHORN, P.; RADER, H.; aj.: Recalcitrance of poly(vinylpyrrolidone): evidence through matrix-assisted laser desorption–ionization time-of-flight mass spektrometry. *Journal of Chromatography A*, vol. 938, no.1-2, 2001: pp. 67–77, ISSN 0021-9673, doi:10.1016/S0021-9673(01)01153-0, 10th

Symposium on Handling of Environmental and Biological symplex in Chromatography.

URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967301011530>

[17] LORAINE, G.A. Oxidation of Polyvinylpyrrolidone and an Ethoxylate Surfactant in Phase-Inversion Wastewater. *Water Environment Research, ProQuest Agriculture Journals*, vol. 80, no. 4, pp. 373 – 378

[18] N-methyl-2-pyrrolidone, [online]. [cit. 2012-01-16]

URL <http://www.chemicalland21.com/industrialchem/solalc/N-METHYL-2-PYRROLIDONE.htm>

[19] SHUI, T.C., TJU, L., N., The biodegradation of N-methyl-2-pyrrolidone in water by sewage bacteria, *Technical note*, vol. 17, 1983, pp. 117-118, ISSN 1020-6167

[20] Material safety data sheet, [online]. [cit. 2012-01-16].

URL http://talasonline.com/photos/msds/MSDS_NMP.pdf

[21] GHOSHA U.K., PRADHAN, N., C., ADHIKARI, B., Pervaporative recovery of N-methyl-2-pyrrolidone from dilute aqueous solution by using polyurethaneurea membranes, *Journal of Membrane Science*, no. 285, 2006, pp. 249-257, doi:S0376738806005801

URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738806005801>

[22] Material safety data sheet, [online]. [cit. 2012-01-20]

URL http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA/Catalog/ChemicalsNAFTA/doc4/BASF/PRD/30036600/.pdf?title=&asset_type=msds/pdf&language=EN&validArea=US&urn=urn:documentum:ProductBase_EU:09007af8800937b1.pdf

[23] ANSELL, J., M., FOWLER, J., A., The acute oral toxicity and primary ocular and dermal irritation of selected N-alkyl-2-pyrrolidones, *Fd Chem. Toxic*, vol. 5, no. 26, 1988, pp. 475-479

URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3391472>

[24] MARUŠINCOVÁ, H., *Studie možnosti biologického odstraňování polyvinylpyrro*

- lidonu*, diplomová práce, Zlín, 2009, Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická
- [25] ČERVENÁKOVÁ, L., *Předúprava polyvinylpyrrolidonu před biologickým rozkladem*, diplomová práce, Zlín, 2010, Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická
- [26] VAŠKOVÁ, M., *Možnosti odstraňování polyvinylpyrrolidonu biologickou cestou*, diplomová práce, Zlín, 2011, Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AOPs	pokročilé oxidační procesy
CHSK	chemická spotřeba kyslíku
IC	anorganický uhlík
ORP	oxidačně redukční potenciál
PVP	polyvinylpyrrolidon
TC	celkový uhlík
TOC	celkový organický uhlík
1-Me-2P	1-metyl-2-pyrrolidon
1-O-2-P	1-oktyl-2-pyrrolidon

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1: Schéma anaerobního rozkladu za tvorby bioplynu (1)</i>	7
<i>Obr. 2: Chemická struktura PVP</i>	12
<i>Obr. 3 Mechanismus radikálové polymerace N-vinylpyrrolidonu ve vodném prostředí</i>	13
<i>Obr. 4: Chemická struktura 1-Methyl-2-pyrrolidonu</i>	18
<i>Obr. 5: Chemická struktura 1-oktyl-2-pyrrolidonu</i>	20
<i>Obr. 6 Graf produkce CH₄ a CO₂ u benzoanu sodného (standard)</i>	33
<i>Obr. 7 Průběh degradace jednotlivých testovaných vzorků (navážka 100 mg vyhodnoceno z produkce bioplynu)</i>	34
<i>Obr. 8 Průběh degradace jednotlivých testovaných vzorků (koncentrace organického uhlíku 20 mg, vyhodnoceno z produkce bioplynu)</i>	38
<i>Obr. 9 Produkce bioplynu jednotlivých vzorků v čase</i>	38
<i>Obr. 10 Průběh odstranění polyvinylpyrrolidonu (vyhodnocení dle produkce bioplynu)</i>	40
<i>Obr. 11 Průběh biodegradace u vzorků 1-metyl-2-pyrrolidonu</i>	41
<i>Obr. 12 Průběh produkce metanu a oxidu uhličitého u vzorků 1-metyl-2-pyrrolidonu s přidavkem 20 mg uhlíku</i>	42
<i>Obr. 13 Produkce bioplynu u 1-Me-2P s PVP s přidavkem 20 mg uhlíku</i>	43
<i>Obr. 14 Průběh biodegradace jednotlivých vzorků u inhibičního testu</i>	45
<i>Obr. 15 Průběh produkce bioplynu u jednotlivých vzorků</i>	49
<i>Obr. 16 Průběh degradace jednotlivých testovaných vzorků (koncentrace organického uhlíku 10 mg, vyhodnoceno z produkce bioplynu)</i>	51

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Vstupní hodnoty naměřené u slepého pokusu.....	31
Tabulka 2 Hmotnost vzorků a obsah uhlíku v lahvích na vstupu a výstupní hodnoty ORP, pH a IC na konci pokusu po 106 dnech	32
Tabulka 3 Procentuální rozklad jednotlivých vzorků se započteným anorganickým uhlíkem z kapalné fáze	35
Tabulka 4 Hodnoty ORP, pH a koncentrace anorganického uhlíku pro vzorky s obsahem 20 mg uhlíku na konci pokusu.....	37
Tabulka 5 Procentuální rozklad látek Dg dle produkce bioplynu a se započteným anorganickým uhlíkem z kapalné fáze	39
Tabulka 6 Hodnoty ORP, pH a IC u látek s přidavkem 20 mg C na konci pokusu (153 dnů).....	43
Tabulka 7 Hodnoty ORP, pH a anorganického uhlíku v kapalné fázi na konci	44
Tabulka 8 Procentuální rozklad inhibičních vzorků se započteným anorganickým uhlíkem z kapalné fáze	45
Tabulka 9 Hodnoty pH, IC a ORP jednotlivých vzorků (TOC 10 mg) na začátku pokusu	48
Tabulka 10 Hodnoty pH, ORP a IC jednotlivých vzorků (TOC 10 mg) na konci pokusu	50
Tabulka 11 Procentuální rozklad jednotlivých vzorků s obsahem 10 mg uhlíku v testovací láhvi se započteným anorganickým uhlíkem z kapalné fáze	52

EVIDENČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

Sigla (místo uložení diplomové práce)	Ústřední knihovna UTB ve Zlíně
Název diplomové práce	Biodegradace polyvinylpyrrolidonu ve vodném anaerobním prostředí
Autor diplomové práce	Bc. Lenka Vrlová
Vedoucí diplomové práce	Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D
Vysoká škola	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Adresa vysoké školy	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01
Fakulta	Fakulta technologická, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72, Zlín
Katedra	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
Rok obhájení DP	2012
Počet stran	61
Počet svazků	3
Vybavení (obrázky, tabulky...)	16 obrázků, 11 tabulek
Klíčová slova	Polyvinylpyrrolidon, PVP, 1-metyl-2-pyrrolidon, 1-oktyl-2-pyrrolidon, anaerobní biodegradace

