

Hydrolytická degradace poly(3hydroxybutyrátu) s modifikátory

Bc. Jana Flámová

Diplomová práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Jana Flámová
Osobní číslo: T17598
Studijní program: N2808 Chemie a technologie materiálů
Studijní obor: Inženýrství ochrany životního prostředí
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: Hydrolytická degradace směsí poly(hydroxy butyrátu) s modifikátory

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární studii hydrolyzy a biodegradace poly(hydroxy butyrátu) (PHB) a jeho směsí s modifikátory.
2. Experimentálně proveďte abiotickou hydrolyzu vybraných materiálů PHB s modifikátory.
3. K posouzení strukturních změn polyesterů použijte DSC, popřípadě dalších metod.
4. Nastudované informace kriticky vyhodnotte a zpracujte v diplomové práci.

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

Seznam doporučené literatury:

1. R. Muthuraj, M. Misra, A.K. Mohanty, Hydrolytic degradation of biodegradable polyesters under simulated environmental conditions, *J Appl Polym Sci* 132 (27) (2015).
2. A. Bonartsev et al., Hydrolytic Degradation of Poly(3-hydroxybutyrate), Polylactide and their Derivatives: Kinetics, Crystallinity, and Surface Morphology, *Molecular Crystals and Liquid Crystals* 556(1):288-300 (2012).
3. A.Larranagaa,E.Lizundi, A review on the thermomechanical properties and biodegradation behaviour of polyesters, *European Polymer Journal*, 121 (2019).
4. Polyak, P., Szemerszki, D.,Voros, G., Pukanszky, B., Mechanism and kinetics of the hydrolytic degradation of amorphous poly(3-hydroxybutyrate), *Polymer Degradation and Stability*, 140 (2017), 1-8.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **3. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 3. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou 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);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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.

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá testováním abiotické hydrolýzy fólií poly(hydroxybutyrátu) a fólií vyrobených z PHB a různých modifikátorů (kyselina benzoová, fenylmetansulfonyl fluorid, 2,5-dimethyl-2,5-di-(tert-butylperoxy) hexan, malein anhydrid) ve vodném pufovaném prostředí (pH 7,2) při kompostovací teplotě 58 °C.

Účinnost abiotické hydrolýzy byla vyhodnocena na základě celkového organického uhlíku rozpuštěného v kapalné fázi po hydrolýze, z hlediska hmotnostních úbytků vzorků fólií po hydrolýze a pomocí ATR – FTIR spektroskopie. Na základě provedených analýz bylo zjištěno, že přírodní poly(hydroxybutyrát) bez modifikátorů abiotické hydrolýze nepodléhá. Stejně tak i modifikovaná verze PHB s fenylmetansulfonyl fluoridem. Fólie PHB s ostatními modifikátory ke konci experimentu dosahovaly stupně hydrolýzy kolem 4 %, a je možné je do jisté míry hydrolyticky degradovat.

Klíčová slova: biodegradace, poly(3hydroxybutyrát) (PHB), polyhydroxyalkonáty (PHA), abiotická hydrolýza, ATR – FTIR spektroskopie, modifikace.

ABSTRACT

The diploma thesis is occupied with testing abiotic hydrolysis of poly (hydroxybutyrate) films and films made of PHB and various modifiers (benzoic acid, phenylmethanesulfonylfluoride, 2,5-dimethyl-2,5-di- (tert-butylperoxy) hexane, maleic anhydride) in aqueous buffered medium (pH 7.2) at a composting temperature of 58 ° C.

The efficiency of abiotic hydrolysis was evaluated based on total organic carbon dissolved in the liquid phase after hydrolysis, in terms of weight loss of film samples after hydrolysis and by ATR - FTIR spectroscopy. Based on the performed analyses, it was found that natural poly (hydroxybutyrate) without modifiers is not affected by abiotic hydrolysis. As well as a modified version of PHB with phenylmethanesulfonylfluoride. PHB films with other modifiers reached a degree of hydrolysis of about 4 % at the end of the experiment and can be hydrolytically degraded to some extent.

Keywords: biodegradation, poly(3hydroxybutyrate) (PHB), polyhydroxyalkonates (PHA), abiotic hydrolysis, ATR – FTIR spectroscopy, modification.

Tímto bych chtěla poděkovat především Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D. za odborné vedení práce, trvalý zájem, cenné rady, připomínky a čas, který mi věnovala při konzultacích a vypracování diplomové práce, bez nichž by nemohla tato práce vzniknout. Dále bych ráda poděkovala Ing. Dagmar Šašinkové za poskytnutí materiálu použitého k experimentu, rady a pomoc při měření spektroskopem a doc. Ing. Markétě Julinové, Ph.D. za stanovení rozpuštěného uhlíku analyzátozem TOC. V neposlední řadě bych ráda poděkovala svému partnerovi za podporu a trpělivost, kterou mi věnoval při mém studiu a své mamince za péči o mého syna během času, který jsem trávila studiem.

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

Ve Zlíně dne 12.5.2020

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 PROBLEMATIKA BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ.....	11
1.1 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYMERŮ	12
1.1.1 ABIOTICKÁ DEGRADACE.....	12
1.1.2 BIODEGRADACE	14
1.1.3 HYDROLÝZA POLYMERŮ	16
1.2 KLASIFIKACE BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ.....	20
2 CHARAKTERISTIKA POLYHYDROXYALKONÁTŮ A POLYHYDROXYBUTYRÁTU.....	24
2.1 POLYHYDROXYALKONÁTY	24
2.1.1 KLASIFIKACE PHA.....	25
2.1.2 SYNTÉZA PHA	26
2.2 POLY(3-HYDROXYBUTYRÁT) (PHB).....	28
2.2.1 FYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI PHB.....	29
2.2.2 VÝROBA PHB	32
2.2.3 HYDROLÝZA PHB	32
2.2.4 BIODEGRADACE PHB.....	33
2.2.5 KOPOLYMERY PHB.....	34
2.2.6 MODIFIKACE FYZIKÁLNÍCH A CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ PHB	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	43
3 MATERIÁL A METODIKA.....	44
3.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	44
3.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	44
3.2.1 PŘÍPRAVA FOSFOREČNANOVÉHO PUFRU	44
3.2.2 PŘÍPRAVA TESTOVANÝCH MATERIÁLŮ	44
3.3 DEGRADAČNÍ TEST – ABIOTICKÁ HYDROLÝZA.....	47
3.3.1 PŘÍPRAVA DEGRADAČNÍCH TESTŮ	47
3.3.2 STANOVENÍ ÚBYTKU HMOTNOSTI.....	47
3.3.3 STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO UHLÍKU.....	47
3.3.4 ANALÝZA ATR-FTIR VZORKŮ PO ABIOTICKÉ HYDROLÝZE	48
3.3.5 ANALÝZA DSC (DIFERENCIÁLNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE) VZORKŮ PO ABIOTICKÉ HYDROLÝZE.....	49
3.4 METODY VYHODNOCENÍ PROCESU ABIOTICKÉ HYDROLÝZY	50

3.4.1	VÝPOČET STUPNĚ HYDROLÝZY VZORKŮ PHB (ANALÝZA TOC ROZPUŠTĚNÉHO V KAPALNÉ FÁZI PO HYDROLÝZE)	50
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
4.1	TEST HYDROLYTICKÉ DEGRADACE PHB S MODIFIKÁTORY	51
4.1.1	STANOVENÍ ÚBYTKŮ HMOTNOSTI PHB S MODIFIKÁTORY	51
4.1.2	STUPEŇ HYDROLÝZY PHB S MODIFIKÁTORY VYPOČÍTANÝ NA ZÁKLADĚ CELKOVÉHO ORGANICKÉHO UHLÍKU ROZPUŠTĚNÉHO V KAPALNÉ FÁZI	54
4.1.3	VIZUÁLNÍ HODNOCENÍ VZORKŮ PHB S MODIFIKÁTORY PO HYDROLÝZE	57
4.1.4	ANALÝZA ATR-FTIR VZORKŮ PHB S MODIFIKÁTORY PO HYDROLÝZE.....	58
	ZÁVĚR	65
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	67
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	75
	SEZNAM OBRÁZKŮ	77
	SEZNAM TABULEK.....	78

ÚVOD

Kamkoliv se dnes podíváme, najdeme plasty. Od poloviny 20. století se tyto synteticky vyrobené organické materiály začaly ve velkém používat ve všech odvětvích a aspektech našeho života. Z hlediska nejpoužívanějšího materiálu této doby bychom poslední desítky let mohli nazývat dobou polymerní.

Článek Pavla Morhmana na internetových stránkách *prumyslovaekologie.cz* zmiňuje, že největší podíly dosud vyrobených a zpracovaných plastů mají: polyethylen (36 %), polypropylen (21 %), polyvinylchlorid (12 %), následují polyethyltereftalát, polyuretany a polystyreny (každý mírně nad 10 %). U polymerních vláken dominují polyesterly se 70 %. Více než polovina z uvedené spotřeby polymerů, celkem 3,9 miliard tun, byla realizována v posledních 13 letech. (Průmyslová ekologie.cz, © 2020)

Plasty jsou stále jedním z nejpoužívanějších materiálů v celém světě. Obrovská spotřeba syntetických polymerů staví celý svět před palčivý problém, a tím je nakládání s přibývajícím odpadem a znečištění životního prostředí zbytky plastových výrobků a mikro plasty uvolňující se z nich, zejména v mořském prostředí. I přes varování vědců před zvětšujícím se problémem jednorázových plastů a časté ekologické aktivity mnoha skupin, lidstvo nadále kupuje výrobky v jednorázových polymerních obalech a jejich spotřeba se rok co rok zvyšuje.

Evropská asociace recyklování a využití plastů ve své zprávě z roku 2014 uvádí, že 39,5 % plastového odpadu bylo recyklováno, zatímco 38,6 % plastového odpadu bylo použito v energetice (v EU). Ve stejném roce bylo také zjištěno, že 22 % plastového odpadu od evropských spotřebitelů skončí na skládkách. Opakem Evropské unie je jedna čtvrtina světové produkce plastů, tj. 17,34 milionů tun za rok, vyprodukovaných jako nekontrolovaný plastový odpad v asijských zemích. (Muthuraj *et al*, 2017)

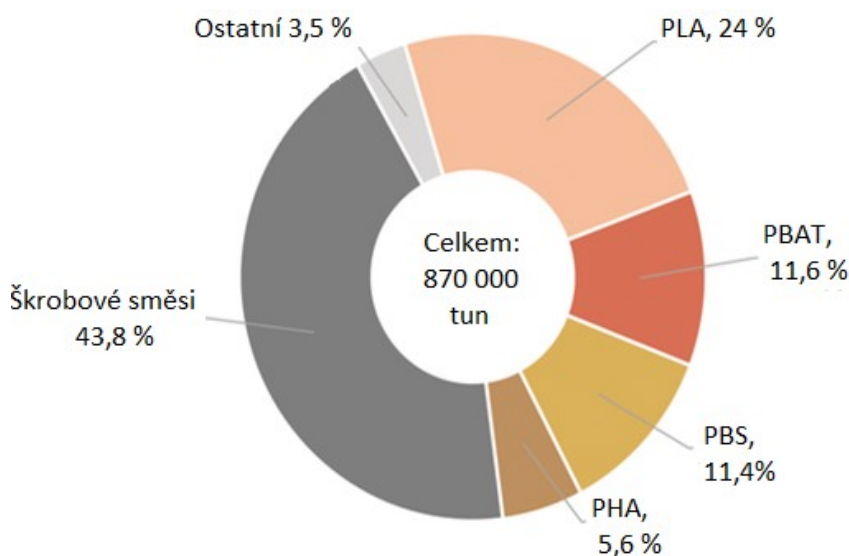
Nabízí se více cest řešení problémů s odpady z polymerních materiálů, od omezení produkce obalů, recyklace, energetické využití, po vývoj, výrobu a použití biodegradabilních polymerů. Jedním z těchto polymerů je polyhydroxybutyrát (PHB), kterým se zabývá tato práce. Cílem této práce je zjistit, zda PHB s přidavkem různých aditiv podléhá degradaci v abiotickém vodním prostředí, a pokud ano, jak velkého rozsahu tato degradace je.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 PROBLEMATIKA BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ

Polymery jsou chemické látky, které ve svých velkých molekulách označovaných jako makromolekuly, obsahují atomy uhlíku, vodíku, kyslíku, často dusíku nebo chloru a jiných prvků. Pro zpracování polymerů je charakteristický kapalný stav, který přechází ve stav tuhý u většiny výrobků z polymerů. Polymery se dělí na elastomery, termoplasty a reaktoplasty. (Kroisová, 2009) Pevné, ve vodě nerozpustné polymerní materiály, mají jednotlivé molekuly těsně uspořádané a k jejich mechanickým vlastnostem významně přispívá propletení jednotlivých, mimořádně dlouhých, molekul. Proto jsou polymerní materiály často velmi stabilní a jejich biodegradace je obtížná. Enzymy mikroorganismů tak působí pouze na povrchu materiálu a jen na omezeném počtu přístupných vazeb. (Koutný, 2014)

Pro zlepšení biologického rozkladu plastů, které jsou vůči biologickému prostředí značně rezistentní, je možným řešením využití biodegradabilních polymerů. Na rozdíl od většiny průmyslových polymerů se biodegradabilní polymery v životním prostředí mineralizují na vodu, oxid uhličitý a biomasu. (Haider *et al*, 2019) Norma ASTM D64 000 říká, že kompostovatelné plasty by měly degradovat za tvorby vody, CO₂, biomasy a anorganických sloučenin konzistentní rychlostí bez zanechání viditelně rozlišitelných nebo toxických zbytků. (Muthuraj *et al*, 2017)



Obrázek 1 Celosvětová výroba biologicky rozložitelných plastů v roce 2017 (upraveno dle Haider *et al*, 2019)

Některé rozložitelné plasty, zejména kompostovatelná kyselina polymléčná (PLA), se dnes vyrábějí ve velkém měřítku. Ceny těchto plastů za posledních 20 let klesly z $\approx 1\,000$ USD/kg na několik USD/kg a nyní jsou na cenové hladině podobné úrovni polystyrenu. (Haider *et al.*, 2019)

Z 335 milionů tun plastů vyrobených v současné době představují bioplasty pouze jedno procento. Ovšem díky sofistikovanějším materiálům, aplikacím a výrobkům se rozrůstá poptávka a trh se dynamicky zvětšuje. (European bioplastics, ©2019)

1.1 Degradace a biodegradace polymerů

1.1.1 Abiotická degradace

Polymery přirozeně degradují. Tak jako všechny organické látky jsou omezeně odolné vůči působení různých vnějších vlivů a dochází ke štěpení jejich řetězců a změnám jejich vlastností. (Veselý, 1992) Koutný (2014) udává, že podle charakteru polymerní molekuly se v případě polymerů s uhlíkovým páteřním řetězcem jedná o reakce oxidační, které většinou mají radikálový charakter a mohou být iniciovány UV zářením, či teplem a významně ovlivněny přítomností stop nečistot, případně defektů v polymerním řetězci.

Degradovaný polymer je nejprve převeden na své monomery, poté jsou tyto monomery mineralizovány. Protože je většina polymerů příliš velká, aby prošla buněčnými membránami, musí být nejprve depolymerizovány na menší monomery, než mohou být absorbovány a biodegradovány v mikrobiálních buňkách. Většinou je rozpad polymeru výsledkem různých fyzikálních a biologických sil. (Shah *et al.*, 2008)

U degradovaného polymeru se mění vlastnosti, např. klesá viskozita roztoků a teplota měknutí, zmenšuje se pevnost. Degradace polymeru může probíhat do různého stupně, popř. až k monomeru, z něhož polymer vznikl. Potom mluvíme o depolymeraci. Při depolymeraci se polymery rozpadají reakcí zvrtnou k té, kterou vznikly, tzn. při polykondenzaci je to hydrolýza, při radikálové polymeraci je to radikálová depolymerace, která je naopak k polymeraci endotermní, a proto je uskutečnitelná pouze za vysokých teplot. (Stoy, 1973)

Existuje několik druhů degradace, a to degradace termická, kdy zvyšováním teploty se štěpí ty vazby, které nejsou odolné vůči ostrým oscilacím termického pohybu. U fotochemické degradace dochází k fotoexcitaci strukturních jednotek a štěpení řetězců, např. slunečním zářením dochází ke štěpení vazeb. Pokud na polymer působí chemické látky, např. kyslík nebo organická rozpouštědla, mluvíme o chemické degradaci. (Zaspalová

et al, 2012) Dalším způsobem chemické degradace je hydrolyza. Aby se polymer rozdělil pomocí vody, musí obsahovat hydrolyzovatelné kovalentní vazby jako estery, ethery, anhydridy, amidy, karbamidy (močovina), ester amidy (urethan) atd. (Lucas *et al*, 2008) Je obecně známo, že polymery s esterovými vazbami mohou být za přírodních podmínek degradovány hydrolyzou, protože se štěpí jejich esterové vazby hydrolytickými procesy. (Eubeler *et al*, 2009)

Dalším typem degradace je mechanická a hydrodynamická, kdy dochází k rozštěpení makromolekulárních řetězců na menší částice mechanicky, trháním řetězce, např. rozbití sklenice. Také ultrazvukové vlny mohou způsobit rozkmitání a porušení makromolekulárního řetězce, podobně jako u zahřívání. (Zaspalová *et al*, 2012)

Důležitým faktorem ovlivňujícím rychlost degradace je voda a vlhkost, protože voda je nezbytnou podmínkou pro růst a reprodukci mikroorganismů. Když vlhkost roste, zvyšuje se také mikrobiální aktivita a polymery rychleji degradují. Z toho vyplývá, že bude rychlost degradace vyšší ve vlhku než v suchých podmínkách. (Thakur *et al*, 2018)

Polymerní materiály, které jsou vystavené běžným venkovním podmínkám, jako je vliv počasí, stárnutí materiálu a zahrabání do půdy, mohou procházet více či méně důležitými změnami. Vystavení polymerů těmto podmínkám, mění jejich schopnost být biodegradabilní. Ve většině případů abiotické parametry přispívají k oslabení polymerní struktury. Někdy jsou tyto abiotické parametry užitečné buď jako synergický faktor, nebo právě pro zahájení procesu biodegradace. Je tedy nutné sledovat zapojení abiotických podmínek do procesu biodegradace pro lepší odhad trvanlivosti polymerních materiálů. (Lucas *et al*, 2008)

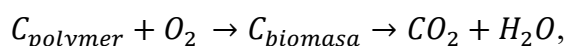
Podstatnými faktory degradace jsou také aerobní a anaerobní prostředí. (Thakur *et al*, 2018) Abiotická degradace je snadno stanovitelná, ačkoliv experimenty většinou trvají dlouhou dobu (např. hydrolyza a fotodegradace lze snadno zjistit pomocí úbytku hmotnosti). Další fyzikální parametry (např. prodloužení, lomové zatížení, absorpce vlhkosti a změna průměru) poskytují standardní zkušební metody ve výzkumu polymerů, proto jsou snadno použitelné. (Eubeler *et al*, 2009) K hodnocení biologické rozložitelnosti polymerního materiálu lze použít řadu technik, např. infračervenou spektroskopii Fourierovy transformace (FTIR), diferenciální skenovací kolorimetrii (DSC), nukleární magneticko-rezonanční spektroskopii (NMR), rentgenovou fotoelektronovou spektroskopii (XPS) a rentgenovou difrakci (XRD). (Shah *et al*, 2008) Dále skenovací elektronová mikroskopie (SEM) může ukázat změny morfologie povrchu před a po ukončení testu biodegradace.

(Eubeler *et al*, 2010) Pro měření možného posunu v distribuci molekulové hmotnosti se používá analýza pomocí gelové permeační chromatografie (GPC). Pro detekci metabolitů degradace polymerů s nízkou molekulovou hmotností lze použít plynovou chromatografii s použitím detekce ionizací plamenem (GC-FID) nebo GC s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). (Eubeler *et al*, 2009)

1.1.2 Biodegradace

Pod pojmem biodegradovatelné polymery jsou definovány všechny polymery, ve kterých k degradaci dochází působením mikroorganismů, jako jsou bakterie, houby a řasy a produktem degradace jsou: oxid uhličitý, případně methan, voda a zbytková biomasa. (Kroisová, 2009) Pro mikroorganismy je degradace polymerů způsob získávání energie. Polymer slouží jako živný substrát, díky němuž jsou oxidací získávány elektrony, které se dále přenáší na vhodný akceptor za ukládání využitelné energie. (Koutný, 2014)

Biodegradaci reakci lze popsat touto rovnicí:



kde uhlík polymeru ($C_{polymer}$) je přeměněn biodegradací na uhlík biomasy ($C_{biomasa}$) a biomasa je poté mineralizací převedena na CO_2 jinou kinetikou. (Chinaglia *et al*, 2017)

Biodegradace bývá ovlivněna teplotou, přítomností kyslíku, živin, vlhkostí, pH, světlem, ale také procesy jako abiotická oxidace, fotooxidace či mechanické narušování materiálu.

Biodegradace probíhá v několika krocích:

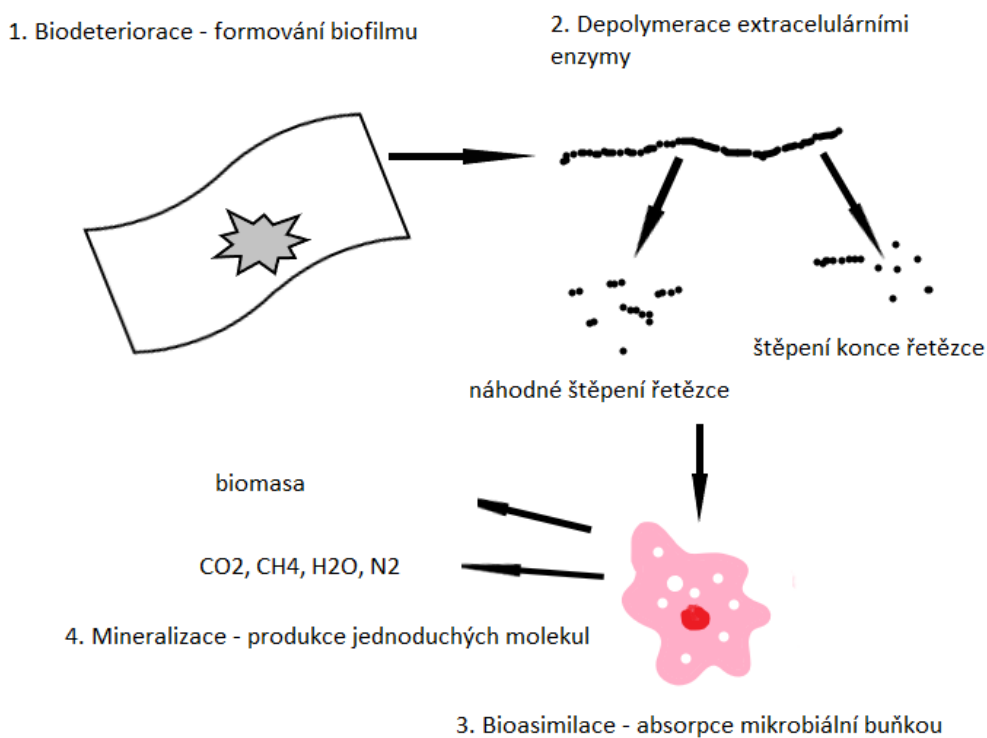
- biodeteriorace
- depolymerizace
- asimilace
- mineralizace

V prvním kroku mikroorganismy vytváří biofilm na povrchu polymeru, jako ukazuje obrázek 2, a ten je fragmentován na menší částice. Mikroorganismy vylučují extracelulární enzymy, které katalyzují depolymeraci. Polymer se rozpadá na oligomery, dimery nebo monomery. V kroku asimilace mikroorganismy přijímají takto produkované malé molekuly do svých buněk a následně produkují primární a sekundární metabolity. Nakonec jsou tyto metabolity mineralizovány a výsledně vytvořené produkty jako CO_2 , CH_4 , H_2O a N_2 jsou uvolňovány do životního prostředí. (Haider *et al*, 2019)

Song *et al* (2009) ve svém článku uvádí, že výsledné fragmenty biodegradace musí mikroorganismy zcela spotřebovat, jinak existují potenciální důsledky pro životní prostředí a zdraví.

K získání chemické energie mikroorganismy používají uhlíkové substráty. Tato energie řídí jejich životní proces aerobní oxidací glukózy a dalších snadno použitelných uhlíkových substrátů. (Song *et al*, 2009)

Také chemické a fyzikální vlastnosti plastů ovlivňují mechanismus biodegradace. V biodegradacích procesech hrají důležitou roli i vlastnosti povrchu (plocha povrchu, hydrofilní a hydrofobní vlastnosti), struktury prvního řádu (chemická struktura, distribuce molekulové hmotnosti a molekulové hmotnosti) a fyzikální struktury polymerů (teplota skelného přechodu, teplota tání, modul pružnosti, krystalinita a krystalová struktura). (Tokiwa *et al*, 2009)



Obrázek 2 Schématické zobrazení biodegradace (upraveno dle Haider *et al*, 2019)

Ve většině případů biodegradace je prvním krokem enzymaticky katalyzovaná hydrolyza esterových, amidových nebo urethanových vazeb. Tato primární depolymerace je proces

eroze povrchu. Vede alespoň k meziproductům rozpustným ve vodě, které lze asimilovat pomocí mikroorganismů a dále metabolizovat. (Eubeler *et al*, 2009) Polymery mohou biodegradovat i neenzymatickou cestou, a to štěpením řetězců polymerů chemickou hydrolýzou. (Al Hosni *et al*, 2019)

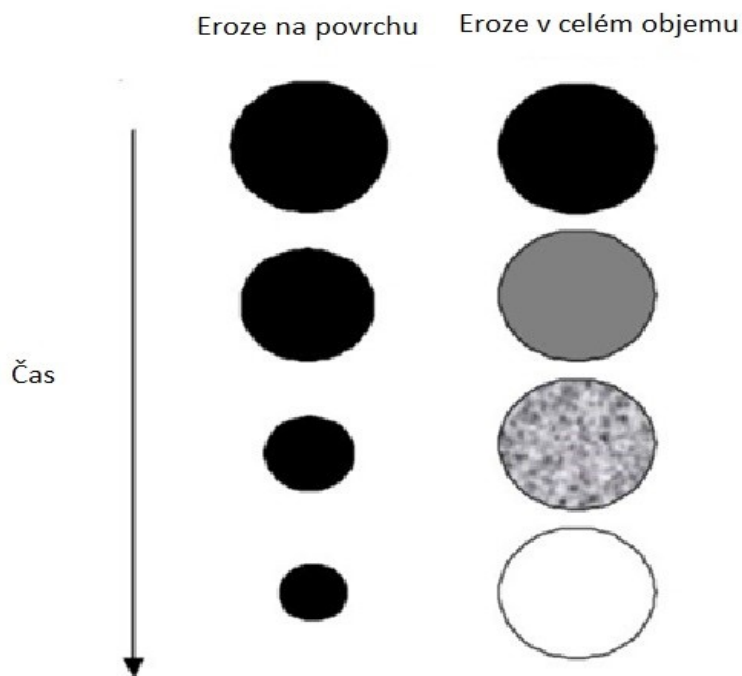
1.1.3 Hydrolýza polymerů

1.1.3.1 Chemická hydrolýza

Hydrolýza je jednou z nejdůležitějších chemických destrukcí, která je vratnou reakcí polykondenzace, ale může probíhat také u polymerů připravených jinými způsoby. (Zámorský, 1978) Hydrolýza nastává štěpením vazeb funkčních skupin reakcí s vodou. Dochází k ní hlavně u polymerů, které pohlcují hodně vlhkosti a u těch, které mají v polymerním řetězci hydrofilní skupiny. Polymery, které se snadno rozpadají v přítomnosti vody, zahrnují polyanhydridy, alifatické polyestery jako kyselina polymléčná (PLA) a některé polyaminokyseliny, jako je kyselina polyglutamová. K hydrolýze semikrystalických polymerů, jako jsou estery, amidy a anhydridy, dochází obvykle ve dvou stupních. V první fázi dochází k degradaci pronikáním vody do amorfních částí s následnou hydrolýzou. Druhá fáze začíná pronikáním vlhkosti do krystalické oblasti. (Polymerdatabase, © 2015) V případě polyesterů nastávají degradační reakce po absorpci vody a následném štěpení esterové vazby. Citlivost esterové vazby, která podléhá štěpné reakci, podléhá hlavně hodnotě náboje reakčních atomů uhlíku. Pokud mají funkční skupiny hodnoty náboje vyšší než 0,3, vykazují náchylnost k hydrolýze. (Larranaga *et* Lizundia, 2019)

Pouze malý počet syntetických polymerů je rozpustný ve vodě. Tyto polymery nejsou příliš hydrofilní, ale obsahují funkční skupiny, které umožňují tvorbu vodíkových můstků. Příčinou nerozpustnosti syntetických polymerů je jejich krystalinita. Dobře uspořádané molekulární krystalické oblasti (krystalické domény) v polymeru zabraňují difúzi kyslíku a vody, a tím znemožňují chemickou degradaci. Proto snadněji dochází k hydrolytickým a oxidativním degradacím materiálu v rámci neorganizovaných molekulárních oblastí, v tzv. amorfních doménách. K získání kopolymeru s požadovanými hydrofilními vlastnostmi, vyžaduje konstrukce materiálu výběr specifických monomerů. (Lucas *et al*, 2008)

Hydrolýza probíhá buď na povrchu, nebo v celém objemu materiálu (obrázek 3). Eroze v celém objemu popisuje degradaci, ke které dochází rovnoměrně v celé šířce polymerního předmětu, a k povrchové erozi dochází snížením tloušťky povrchu. (Haider *et al*, 2019)



Obrázek *Eroze polymeru na povrchu nebo v celém objemu*
(upraveno dle Haider *et al*, 2019)

Hydrolýza citlivých chemických vazeb, která vede k odštěpení řetězce a snížení molekulové hmotnosti, je spojena se ztrátou mechanických vlastností polymerů. Pokud tento proces probíhá na vzduchu nebo ve vodě při neutrálním pH, je rychlost hydrolýzy nízká. K dosažení rychlé degradace mechanických vlastností, která je nezbytná pro první stupeň degradace biologicky rozložitelných polymerů, je nutná katalýza kyselinou, zásadou nebo enzymem. Například hydrolýza esterů může být katalyzována kyselinou nebo zásadou, avšak poly(orthoestery) jsou odolné vůči zásaditému pH, ale mnohem rychleji hydrolyzují v přítomnosti kyselin. (Laycock *et al*, 2017)

Hydrolytickou stabilitu polymeru ovlivňuje několik faktorů. Nejdůležitějšími faktory jsou pH, teplota, hydrofobita, morfologie, stupeň krystalinity a porozita. Většina těchto faktorů ovlivňuje difúzi vody, a tím i míru eroze. PH je jedním z nejdůležitějších faktorů, protože

kyselost nebo zásaditost působí jako katalyzátor, a to znamená, že výrazně urychlují proces degradace. (Polymerdatabase, © 2015)

Kyselinou katalyzovaná hydrolýza se děje prostřednictvím vodíkových protonů H^+ , zatímco kolaterální transesterifikace může nastat pomocí ataku H^+ na karboxylové nebo hydroxylové skupiny produktů degradace. Ve srovnání s hydrolýzou katalyzovanou zásadou je rychlost hydrolýzy nižší. Na druhé straně, zásadou katalyzovaná hydrolýza je iniciována vodíkovou abstrakcí z $COOH$ atakem OH^- iontů. To má za následek vyšší rychlost hydrolýzy ve srovnání s nekatalyzovanou a kyselinou katalyzovanou hydrolýzou. (Kučera *et al*, 2019)

Rychlost hydrolytické degradace se může lišit (od hodin do let) v závislosti na typu funkční skupiny, struktuře páteřních řetězců, morfologii a pH. (Polymerdatabase, © 2015) Rychlost hydrolytické degradace je také závislá na mnoha dalších faktorech, včetně délky polymerního řetězce, krystalinity, distribuci molekulové hmotnosti, bobtnavosti, velikosti, tvaru a geometrii polymerní matrice, povrchové úpravě, porozitě, velikosti a distribuci pórů, geometrii pórů, na celkových rozměrech materiálu, podmínkách jeho zpracování a difúzi vody do polymerní matrice. (Laycock *et al*, 2017)

Také studie Polyáka *et al* (2017) potvrzuje závislost celkové rychlosti degradace na pH a ukazuje, že se zvyšujícími se hodnotami pH roste i rychlost hydrolýzy.

Jsou i další vnější faktory, které ovlivňují rychlost hydrolýzy, například zvýšení teploty podporuje rychlost hydrolýzy a mění se hodnota pH. (Haider *et al*, 2019) Rychlost hydrolytické reakce a biodegradace polymeru se rychle zvyšuje, pokud teplota překročí teplotu skelného přechodu T_g polymeru. (Thakur *et al*, 2018) Zdůrazňuje se účinek katalýzy acidobazické reakce na degradaci: rychlost hydrolýzy se může skutečně zvýšit i desetkrát při změně hodnoty pH o jednu jednotku. V případě neutrální hodnoty pH může být stanovení rychlosti hydrolýzy složité. Extrémní hodnoty pH se často používají v prokázání biologické rozložitelnosti určitých polymerů, přestože se přirozeně takové hodnoty pH nevyskytují. (Haider *et al*, 2019)

Časovou závislost hydrolytické degradace lze sledovat různými metodami. Jednou z nejjednodušších a nejčastěji používaných je gravimetrická analýza, stanovení úbytku hmotnosti jako funkce času. (Polyák *et al*, 2017)

Po hydrolytickém štěpení, ke kterému jsou syntetické heterocyklické polymery náchylné, může následovat mikrobiální asimilace (např. polyestery). (Eubeler *et al*, 2009)

1.1.3.2 Enzymatická hydrolýza

Hydrolytické reakce katalyzují i určité enzymy, známé jako hydrolázy. (Polymerdatabase, ©2015) Tyto enzymy hrají v přírodním prostředí důležitou roli při katalyzování hydrolýzy. Pracují hlavně při mírných teplotách a neutrální hodnotě pH. (Haider *et al*, 2019) Enzymatická hydrolýza polymerních materiálů je heterogenní proces, který je ovlivňován fyzikálně chemickými vlastnostmi plastu (síťování, chemické složení, plocha povrchu, pórovitost, krystalinita aj.) a také vlastnostmi enzymu (aktivita, rozpustnost, stabilita, 3D konformace atd.). Mezi důležité vnější faktory patří pH, vlhkost, teplota, kyslík a dostupnost živin. (Polymerdatabase, ©2015) Vzhledem k relativně vysokým molekulovým hmotnostem polymerů, nejsou enzymy schopné proniknout do polymerní matrice, takže k enzymatické hydrolýze dochází typicky povrchovou erozí. (Haider *et al*, 2019) Pokud však dojde ke snížení molární hmotnosti, znamená to, že dochází k erozi v celém objemu polymeru. Aby se snížila molekulová hmotnost polymerů, tak mikroorganismy nejprve uvolňují extracelulární enzymy. (Thakur *et al*, 2018)

Enzymatická degradace plastů hydrolýzou je dvoustupňový proces: nejprve se enzym váže na polymerní substrát a následně katalyzuje hydrolytické štěpení. Polymery se rozkládají na oligomery, dimery a monomery s nízkou molekulovou hmotností, a nakonec mineralizují na CO₂ a H₂O. (Tokiwa, 2009)

Haider *et al* (2019) uvádí, že specifické vazby mohou být degradovány určitými enzymy, jako například proteáza degraduje α – esterové vazby, polyhydroxybutyrát (PHB) depolymeráza β – esterové vazby a lipázy degradují γ - ω vazby. Kyselina polymléčná (PLA) je degradována oběma enzymy, lipázou i proteázou. Dále Haider *et al* (2019) shrnuje v tabulce 1 podmínky enzymatické degradace nejčastěji biologicky rozložitelných polymerů, včetně typu enzymu a jeho původu a rozsahu degradace.

Mezi zvláště citlivé syntetické polymery na hydrolýzu katalyzovanou enzymem, kyselinou nebo bází, patří alifatické polyanhydridy a polyestery s krátkými středními bloky, jako je kyselina polymléčná (PLA), kyselina polyglykolová (PGA), polykaprolakton (PCL) a polyhydroxybutyrát (PHB). (Polymerdatabase, ©2015)

Například PHB může být degradován působením enzymu PHB depolymerázy řadou bakteriálních druhů. K degradaci PHB může dojít za 5 – 6 týdnů v mikrobiologicky aktivních prostředích (kompost). (Al Hosni *et al*, 2019) U PHB tedy jde o poměrně rychlý proces, jehož rychlost vyplývá z několika faktorů. Kromě degradačního prostředí je

významná i krystalinita polymeru, protože PHB depolymeráza přednostně hydrolyzuje řetězce v amorfni fázi a až poté dochází k degradaci krystalické fáze. (Miková *et* Chodák, 2006)

Tabulka 1 *Biodegradace vybraných polymerů (upraveno dle Haider et al (2019))*

Polymer	Mikroorganismus	Enzym	Degradace
PLA	<i>Actinomadura sp.</i> T16-1 (actinomycety) z půdy	proteáza	tvorba degradačních produktů rozpustných ve vodě; detekce založená na snížení zákalu
	<i>Bacillus smithii</i> kmen PL21 (bakterie), z kompostu	esteráza/proteáza	změna molekulové hmotnosti (podle SEC)
	<i>Alcaligenes sp.</i> (bakterie), z půdy	lipáza	Kyselina mléčná detekována pomocí HPLC
	<i>Tritirachium album</i> ATCC 22563 (houby) z půdy	proteáza	ztráta hmotnosti filmu (ztráta 76%), produkce kyseliny mléčné (analyzováno enzymatickou bio analýzou)
PHB	<i>A. faecalis</i> (bakterie), z mořské vody	PHB depolymeráza	ztráta hmotnosti (68% ztráta)
	<i>Ralstonia pickettii</i> T1, kultivované	PHB depolymeráza	změna krystalované struktury (detekováno AFM)
PCL	<i>Penicillium oxalicum</i> (houby), z půdy	PCL depolymeráza	ztráta hmotnosti, kompletní po 10 dnech
PBS	<i>Burkholderia cepacia</i> PBSA-1 a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PBSA-2 (bakterie), z aktivované kalové půdy a kultivované půdy	lipáza	detekce CO ₂ (78% mineralizace po 40 dnech)
škrobová směs	<i>Aspergillus sp.</i> (houby), z půdy	amyláza	ztráta hmotnosti (37% po 90 dnech)

1.2 Klasifikace biodegradabilních polymerů

V začátcích biologicky rozložitelných polymerů se používání omezovalo na alifatické polyestery, kde nejpoužívanějšími biodegradabilními polyestery byly polyglykolid, PLA, PCL, nebo PHA. Přestože alifatické polyestery vykazují dobré degradační vlastnosti, jejich fyzikálně – mechanické vlastnosti (tj. mechanická pevnost, propustnost plynů, UV transparentnost, tepelný odpor) zůstávají poměrně slabé ve srovnání s polymery na bázi fosilních paliv. (Larranaga *et* Lizundia, 2019)

Podle Muthuraje *et al* (2017) lze biodegradabilní polymery (BP) klasifikovat podle jejich monomerů. Na trhu v současné době existuje mnoho biologicky rozložitelných polymerů, které mohou být klasifikovány podle toho, na jaké bázi jsou vyrobeny. Dělí se na 4 hlavní skupiny:

1) Biodegradabilní polymery na bázi obnovitelných/biologických zdrojů

Polymery jsou vyráběny ze 100% obnovitelných monomerů založených na obnovitelných zdrojích. Patří sem například kyselina polymléčná (PLA), polyhydroxyalkonáty (PHA), škrob a proteiny.

2) Biodegradabilní polymery na bázi ropy/fosilních paliv

Polymery, které jsou vyráběny z fosilních paliv. Mají mnoho výhod, které mohou být použity i pro různé průmyslové aplikace, neomezeně se používají pro balení. Zahrnují například polybutylensukcinát (PBS), polybutylen-ko-adipát (PBSA), polykaprolakton (PCL) a polybutylenadipáttereftalát (PBAT).

3) Biodegradabilní polymery založené na kombinaci obnovitelných a fosilních zdrojů

K výrobě těchto BP se používá alespoň jeden monomer na bázi obnovitelných zdrojů. Příkladem je polypropylenkarbonát (PPC), alifatický polyester, který se vyrábí kopolymerací z CO₂ a propylenkarbonátu.

Někteří autoři, například Kroisová (2009), rozdělují BP na biopolymery a polymery minerálního původu, které se dále dělí na:

1) alifatické polyestery – polyhydroxyalkonáty (PHA), polyhydroxybutyrát (PHB), polyhydroxyvalerát (PHV), polyhydroxyhexanoát (PHH), polybutylensukcinát (PBS), polybutylensukcinát adipát(PBSA), polykaprolakton (PCL), kyselina polymléčná (PLA) a kyselina polyglykolová (PGA),

2) aromatické polyestery – polybutylensukcinát tereftalát (PBST), polybutylenadipát tereftalát(PBAT), polytetramethylenadipát tereftalát(PTMAT), které jsou odvozeny z polyethylentereftalátu (PET) a polybutylentereftalátu (PBT)

3) polyvinylalkohol (PVA)

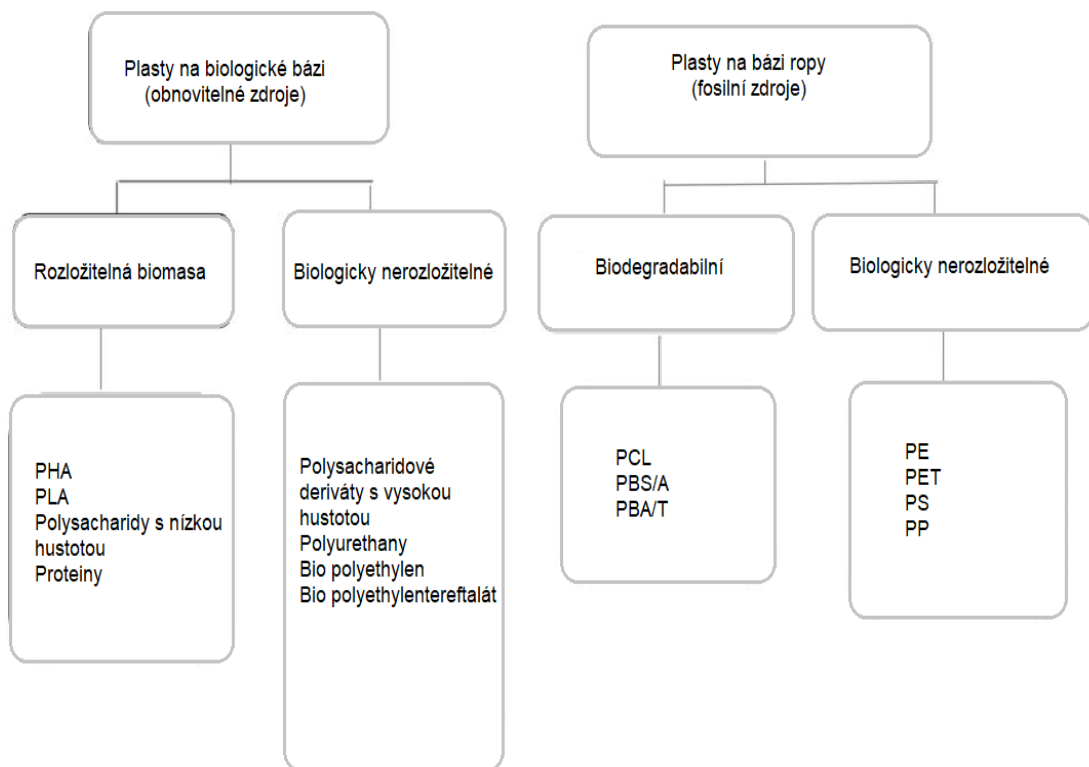
4) modifikované polyolefiny (jejich degradace je možná pouze za použití zvláštních aditiv citlivých ke zvýšeným teplotám a slunečnímu záření).

Komplikovanější rozdělení polyesterů usměrňuje tabulka 2.

Tabulka 2 Biodegradabilní polyestery (upraveno dle Kroisová, 2009)

Skupina		Typ	Deriváty	Původ	Výroba
polyestery	alifatické	PHA	PHB	přírodní	přírodní
			PHV	přírodní	přírodní
			PHH	přírodní	přírodní
		PGA		přírodní/minerální	synteticky
		PLA		přírodní/minerální	synteticky
		PBS	PBSA	minerální	synteticky
		PCL		minerální	synteticky
	aromatické	PBT	PBAT	minerální	synteticky
			PBST	minerální	synteticky
			PTMAT	minerální	synteticky

Raza *et al* (2018) klasifikuje plasty dle následujícího schématu (obrázek 4), kde jsou ve všech čtyřech třídách obvykle preferovány biodegradovatelné plasty na biologickém základu, protože jsou považovány za ekologicky šetrnější plasty. Přičemž polyhydroxyalkonáty (PHA) jsou považovány za ekologičtější než jiné plasty na biologickém základu, protože jsou produkovány mikroorganismy a mohou být jimi snadno degradovány.

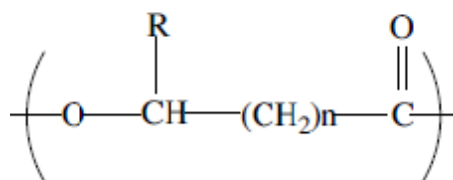


Obrázek 3 Klasifikace plastů (upraveno dle Raza et al, 2018)

2 CHARAKTERISTIKA POLYHYDROXYALKONÁTŮ A POLYHYDROXYBUTYRÁTU

2.1 Polyhydroxyalkonáty

Polyhydroxyalkonáty (PHA) jsou biosyntetické polymery, které mají podobné vlastnosti jako konvenční plasty, ale oproti nim jsou zcela biologicky rozložitelné na CO₂ a H₂O. Byly poprvé objeveny, izolovány a charakterizovány francouzským mikrobiologem Mauricem Lemoignem v roce 1926. (Eubeler *et al*, 2010)



Obrázek 4 Chemická struktura polyhydroxyalkonátů
(upraveno dle Anjum *et al*, 2016)

PHA patří do kmene lineárních polyesterů složených z hydroxyalkonátových jednotek, uspořádaných v základní struktuře, které jsou získány bakteriální fermentací. Jednotky se shromažďují v polymery, které jsou kapalné, nerozpustné ve vodě, jsou mobilní a amorfní, přičemž mají tvar granulí obklopených jedinou vrstvou fosfolipidů a obsahují enzymy polymerázy a depolymerázy. Tyto biopolymery se vyskytují v cytoplazmě široké škály gram–pozitivních i gram–negativních mikroorganismů jako granulované inkluze, pokud jsou tyto mikroorganismy vystaveny podmínkám nutričního deficitu prvků, jako je dusík, fosfor, hořčík a síra. Anebo v přítomnosti přebytečného uhlíku. Intracelulární granule fungují jako sklad energie pro buňku, která je může přeměnit na uhlíkový materiál, když je vyčerpán externí zdroj uhlíku. (Rivera-Briso *et al*, 2018) Granule jsou intracelulárně produkovány enzymy PHA syntázy (PhaC) prostřednictvím polymerace hydroxyacyl-CoA monomerů. (Larranaga *et Lizundia*, 2019) Pro bakterie je to strategie vyvinutá za účelem zvýšení šance jejich přežití v měnícím se prostředí. (Rivera-Briso *et al*, 2018)

Dle Raza *et al* (2018) doposud zkoumané polyhydroxyalkonáty jsou hlavně lineární polyestery obsahující monomery 3-hydroxy mastných kyselin. Esterová vazba se vytvoří reakcí mezi karboxylovou skupinou jednoho monomeru a hydroxylovou skupinou jiné

monomerní jednotky. Většina PHA má tedy konfiguraci *Rectus* (R) jako nejběžnější zástupce PHA, polyhydroxybutyrát (PHB), který bývá přítomen převážně v konfiguraci R. Vzácně lze syntetizovat také konfiguraci *Sinister* (S) syntetizací kopolymeru s některými stereoizomery. Ovšem přírodní PHA jsou díky jejich fermentační syntéze přísně izotaktické a mají výlučně (R) konfiguraci v chirálním stereocentru v hlavním řetězci. (Winnacker, 2019)

V PHA je hydroxyl nahrazený atomem uhlíku v R konfiguraci s výjimkou několika případů, kdy chiralita chybí. V obecné struktuře PHAR představuje alkylovou skupinu, která se může lišit od methylové (C1) až tridecylové (C13). V alkylovém postranním řetězci jsou velké rozdíly, mohou zde být aromatické, halogenované, epoxidované nebo jiné rozvětvené monomery. Tyto změny velikosti a složení substituentů postranního řetězce odpovídají za chemickou modifikaci PHA a za jejich širokou diverzifikaci v aplikacích. (Raza *et al*, 2018)

Bylo definováno více než 90 různých hydroxyalkonátových monomerů jako složek biopolymerních PHA. Velká část výzkumu biodegradace je věnována experimentům degradace PHA a jejich derivátů. Od objevu PHA se zkoumají fyzikální parametry polymerů PHA, molekulární struktury, chemické struktury a složení, tepelné vlastnosti, krystalinita a morfologie a mechanické vlastnosti a různé techniky pro jejich detekci a analýzu. (Eubeler *et al*, 2010) Polyhydroxyalkonáty mají 150 různých typů monomerů, které umožňují vyladit jejich fyzikální vlastnosti z krystalicky křehkého až měkkého materiálu v závislosti na délce postranního alifatického řetězce na chirálním uhlíku. (Salomez *et al*, 2019)

2.1.1 Klasifikace PHA

Polyhydroxyalkonáty lze klasifikovat podle délky jejich postranního řetězce, tzn. v závislosti na počtu atomů uhlíku v jejich struktuře. (Larranaga *et Lizundia*, 2019) Raza *et al* (2018) seskupuje PHA do tří samostatných tříd podle délky jejich řetězce. V první třídě jsou polymery s krátkou délkou řetězce (scl) s maximálně pěti atomy uhlíku (C3 – C5). Tyto polymery se získávají z několika bakterií, například *Cupriavidus necator* a *Alcaligenes latus* a jsou křehké a krystalické. (Raza *et al*, 2018) P3HB, P4HB a poly(3-hydroxyvalerát) (P3HV) jsou typické příklady scl – PHA. (Larranaga *et Lizundia*, 2019)

Tabulka 3 Strukturální vzorce monomerů PHA s krátkým řetězcem (upraveno dle Urtuvia et al, 2014)

R	n	PHA _{scl}
H	1	3-hydroxypropionát (3HP)
CH ₃	1	3-hydroxybutyrát (3HB)
CH ₂ CH ₃	1	3-hydroxyvalerát (3HV)
H	2	4-hydroxybutyrát (4HB)
H	3	5-hydroxyvalerát (5HV)

Druhá třída obsahuje polymery se střední délkou řetězce (mcl), které obsahují 6–14 atomů uhlíku v řetězci. Získávají se z bakterií, jako jsou *Pseudomonas putida* a *Pseudomonas mendocina*. Jsou to polyestery hydroxylových kyselin (HA), které vytvářejí především bakterie *Pseudomonas* během nerovnoměrných růstových podmínek. Ve srovnání se scl PHA mají zlepšené mechanické vlastnosti, jako je menší křehkost, krystalinita, nízká teplota skelného přechodu a vysoká teplota tání. Díky tomu se jedná o flexibilnější materiály. (Raza et al, 2018) Příklady zahrnují poly (3-hydroxyhexanoát) (P3HHx), poly (3-hydroxyoktanoát) (P3HO) a poly (3-hydroxydodekanoát) (P3HDD) a další. Obvykle jsou však výsledné mcl – PHA nekontrolovanou náhodnou směsí opakujících se monomerů s rozdílnou délkou postranního řetězce. (Larranaga et Lizundia, 2019) Třetí třída zahrnuje PHA s dlouhým řetězcem, které mají více jak 14 uhlíků v řetězci, a jsou produkovány bakteriemi *Shewanella oneidensis* a *Aureispira marina*. (Raza et al, 2018)

2.1.2 Syntéza PHA

Makromolekuly PHA jsou produkovány různými druhy mikroorganismů. (Rivera-Briso et al, 2018) Přibližně 30% půdních bakterií může syntetizovat nějaký druh PHA a několik prokaryotických organismů by mohlo hromadit až 80% své sušiny ve formě PHA. V závislosti na mikroorganismu, zdroji uhlíku a kultivačních podmínkách, jsou syntetizovány různé PHA homopolymery, kopolymery a jejich kombinace. (Urtuvia et al, 2014)

Více než 300 různých mikroorganismů dokáže produkovat PHA, i když jen málo z nich (*Cupriavidus necator*, *Alcaligenes latus*, *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas oleovorans*, *Paracoccus denitrificans*, *Protomonas extorquens*, *E. coli*) se dá využít pro produkci dostatečného množství PHA ve velkém měřítku. (Larranaga *et al.*, 2019) Široce studována pro svou schopnost produkovat významné množství PHB z jednoduchých uhlíkových substrátů, jako je glukóza, kyselina mléčná a kyselina octová, byla bakterie *Cupriavidus necator*. Pro produkci byl použit i olivový, kukuřičný a palmový olej. (Akaraonye *et al.*, 2010)

Syntéza PHA zahrnuje tři geny a tři enzymy. Například *Pseudomonas oleovorans* a *Pseudomonas fragiim* mohou vytvářet mcl PHA prostřednictvím beta-oxidace alkanových kyselin poskytováním hydroxyalkanoylu – CoA jako substrátu. Polyestery obsahující 2-hydroxypropionát (2-HP), 3-hydroxypropionát (3-HP), 4-hydroxybutyrát (4-HB), 3-hydroxyvalerát (3-HV) a mcl 3-hydroxyalkanoát (3-HA), mohou být všechny syntetizovány bakterií *Escherichia coli* pomocí asimilace exogenní nebo endogenní dráhy a / nebo genů. (Raza *et al.*, 2018)

Některé gram–negativní bakterie mohou společně s PHA produkovat i vysoké hladiny endotoxinů, které mohou způsobovat zánětlivé, pyrogenní a jiné reakce, což omezuje použití PHA jako bio materiálu, pokud není tato sloučenina odstraněna během čištění. Například PHB s nízkou hladinou endotoxinů je získáván extrakcí chloroformem, anebo z rekombinantní *E. coli* jednoduchým natrávením NaOH. (Rivera-Briso *et al.*, 2018)

Obecný proces produkce PHA bakteriální fermentací zahrnuje fermentaci, izolaci a čištění z fermentačního bujónu. Velká fermentační nádoba je naplněná minerálním médiem a naočkována očkovací kulturou, která obsahuje bakterie. Výchozí surovinou může být celulóza, rostlinný olej, organický odpad, komunální pevný odpad a mastné kyseliny, v závislosti na konkrétním požadovaném PHA. Do nádoby je přiváděn zdroj uhlíku, dokud není spotřebován a dokud není dokončen růst buněk a akumulace PHA. Obecně je zapotřebí minimálně 48 hodin pro fermentaci. Následně jsou buňky koncentrovány, sušeny a extrahovány rozpouštědly, jako je aceton nebo chloroform, s následnou izolací a čištěním PHA. Buněčné zbytky se odstraní z rozpouštědla obsahujícího rozpuštěné PHA procesem separace, oddělením pevná látky od kapaliny. Poté se PHA vysráží přidáním alkoholu (např. methanol) a získá se procesem srážení. (Babu *et al.*, 2013)

Polyhydroxyalkonáty jsou vyráběny bakteriemi z široké škály substrátů. Jsou používány substráty z řad obnovitelných zdrojů, jako například sacharóza, škrob, celulóza, triglyceridy,

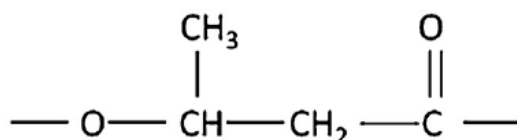
hemicelulóza a pšenice. Dále se používají vedlejší produkty (melasa, syrovátka, glycerol, kukuřičný výluh, rýžové otruby), organické kyseliny (kyselina propionová, kyselina 4-hydroxybutylová), fosilní zdroje (metan, minerální olej, lignit, černé uhlí) a odpady (odpadní vody, drcené zbytky z výroby palmového oleje a odpadní vody z aktivovaného kalu. V průmyslové výrobě se používají substráty jako je glukóza a sacharóza. (Urtuvia *et al*, 2014)

Avšak náklady na bakteriální produkci PHA nejsou ekonomicky výhodné ve srovnání s plasty na bázi ropy. Proto je velký zájem o produkci PHA v eukaryotických buňkách, konkrétně v plodinách. Syntéza v hmyzích a kvasinkových buňkách zkoumá možnosti zavedení těchto syntetických drah do rostlin. (Raza *et al*, 2018)

2.2 Poly(3-hydroxybutyrát) (PHB)

V rámci polyhydroxyalkonátů je poly(3-hydroxybutyrát) (P3HB, zkráceně PHB) nejstudovanějším polymerem a je také nejznámějším biologicky rozložitelným a biokompatibilním polymerem. (Raza *et al*, 2018)

Složením jde o bakteriální polyester β -hydroxybutanové kyseliny a také o stereoregulární homopolymer s optickou aktivitou a s krátkým řetězcem hydroxybutyrátu se čtyřmi atomy uhlíku v páteři. Ve své původní podobě je PHB tuhý a křehký materiál s pružným modulem. Také je nejvíce akumulovaným polyesterem mikroorganismy, který má nízkou molární hmotnost a vysokou krystalinitu. (Vu *et al*, 2019) Bakterie ho produkují jako lineární, krystalické a amorfni formy. Používá se v zemědělství, domácnosti a ve zdravotnictví pro širokou škálu aplikací. (Raza *et al*, 2018)



Obrázek 5 Chemická struktura PHB
(upraveno dle Urtuvia *et al*, 2014)

Polyhydroxybutyrát objevil v roce 1926 Maurice Lemoigne v bakterii *Bacillus megaterium*, která vykazovala intracelulární granule. (Urtuvia *et al*, 2014) V době svého objevu PHB v bakteriích byl Lemoigne ředitelem Fermentační laboratoře Pasteurova institutu v Lille ve

Francii. Začal se zajímat o PHB při snaze zjištění příčiny okyselení vodných suspenzí bakterií *Bacillus megaterium* v anaerobních podmínkách. V roce 1923 Lemoigne uvedl, že kyselinou produkovanou bakterií by kyselina 3-hydroxybutylová. V roce 1927 popsal izolaci pevného materiálu získaného z buňky, který charakterizoval jako polymer kyseliny 3-hydroxybutyrové. K tomuto závěru dospěl pečlivou hydrolyzou pevné látky na řadě ve vodě rozpustných oligomerů kyseliny 3-hydroxybutyrové, které charakterizoval molekulovou rychlostí a teplotou tání. (Lenz *et Marchessault*, 2004)

Na počátku 70. let se kvůli ropné krizi začalo s hledáním nových materiálů, které by nahradily plasty na bázi ropy. Až padesát let po objevu PHB, byla jeho výroba prováděna v komerčním měřítku. (Urtuvia *et al*, 2014) Poly (3-hydroxybutyrát) je aktuálně považován za vhodnou alternativu pro celulózu, která je používána jako referenční materiál ve standardech biodegradace pro půdní a vodní prostředí (EN 17033 a ISO DIS 14852). (Salomez *et al*, 2019)

Podle posuzování životního cyklu (LCA) se energetické požadavky na výrobu PHB jeví jako nižší než na konvenční polyethylen a polypropylen s vysokou hustotou. Ovšem přes nesporná pozitiva produkce PHB, jako je ochrana ozonové vrstvy a snižování úrovně toxicity, abiotického vyčerpání a globálního oteplování, vykazuje PHB vyšší vliv na acidifikaci a eutrofizaci než polyethylen. (Urtuvia *et al*, 2014)

2.2.1 Fyzikální vlastnosti PHB

Poly (3-hydroxybutyrát) je vysoce krystalický termoplastický polymer s teplotou skelného přechodu T_g při 4°C a teplotou tání blízko 180°C. (Larranaga *et Lizundia*, 2019) Vysoká teplota tání PHB, blízká teplotě rozkladu, však může vést k tepelné degradaci. (Winnacker, 2019) Je tuhý, ale zároveň křehký s elastickým modulem pružnosti (Youngův modul) 3,5 GPa, pevností v tahu 40 Mpa a prodloužením při přetržení 5 %. (Larranaga *et Lizundia*, 2019) Tyto mechanické vlastnosti (Youngův model a pevnost v tahu) jsou podobné vlastnostem polypropylenu (PP). Ovšem prodloužení při přetržení je výrazně nižší než u PP, jak ukazuje Tabulka 4. (Khanna *et Srivastava*, 2005) Hustota krystalického a amorfního PHB je 1,26 a 1,18 g/cm³. Molekulová hmotnost PHB závisí na jeho zdroji, růstových situacích a extrakčních metodách. Tudiž se jeho molekulová hmotnost pohybuje od 50 000 do milionu Da. (Raza *et al*, 2018)

Tabulka 4 Porovnání fyzikálních vlastností vybraných polymerů (upraveno dle Khanna et Srivastava (2005), Larranaga et Lizundia (2019))

Polymer	Youngův modul [Gpa]	Pevnost v tahu [MPa]	Prodloužení při přetržení [%]	Teplota tání [°C]	Teplota skelného přechodu [°C]
PHB	3,5	40	5	180	4
PLA	3,5	60	<10	170-200	55-65
PCL	0,34	20	300-1000	60	-60
PGA	6,5	60	<10	220-225	35-40
PP	1,7	34,5	400	170	45
PET	2,2	56	7300	262	3400
PS	3,1	50	/	110	21
LDPE	0,2	10	620	130	-30

Pokud je PHB produkován z bakterií „divokého typu“ je molekulová hmotnost obvykle v rozmezí 10 000 – 3 000 000 Da s polydisperzitou kolem dvou. (Khanna et Srivastava, 2005) Organicky vytvořený PHB je semikrystalický, izotaktický stereosystémový polymer se 100% konfigurací R, která umožňuje zvýšenou rozložitelnost. (Raza et al, 2018) Taktika homopolymerů ovlivňuje jejich vlastnosti: ataktický PHB je olej, izotaktický PHB má vysokou teplotu tání. Nižší bod tání lze získat snížením izotakticity na 70–80%. Byl syntetizován i syndiotaktický PHB a vykazoval zajímavé vlastnosti: například Youngův modul silně závisí na syndiotakticitě a při zvyšování jeho stupně přechodu tavení lineárně roste (183°C pro 94% syndiotakticitu). (Winnacker, 2019) Materiálové vlastnosti a funkce jsou shrnuty v tabulce 5.

Tabulka 5 Vlastnosti a funkce poly (3-hydroxybutyrátu), P (3HB) (upraveno dle Akaraonye et al, 2010)

1.	Silný a poddajný termoplast (formovatelný, zpracovatelný na filmy a vlákna)
2.	Pevnost v tahu (blízká polypropylenu)
3.	Velmi malé prodloužení při přetržení (6 %)
4.	Biodegradabilní (aerobně – CO ₂ a H ₂ O, anaerobně – CH ₄ a H ₂ O)
5.	Vyrobitelný z přirozeně udržitelných a biologicky obnovitelných surovin
6.	Netoxický pro savčí buňky (biokompatibilní s různými buněčnými liniemi včetně osteoblastů, epiteliálních buněk a chondrocytů)
7.	Nerozpustný ve vodě
8.	Vysoce krystalický
9.	Bod tání 180 °C
10.	Enantiomerní a opticky aktivní
11.	Stereochemicky pravidelný ve svých opakujících se jednotkách
12.	Vysoký stupeň polymerace
13.	Užitečné piezoelektrické vlastnosti použitelné při osteoindukci

Při skladování PHB při pokojové teplotě se jen obtížně zpracovává vzhledem k jeho sekundární krystalizaci (tužší a stává se křehkým). Avšak pokud jde o molekulovou hmotnost, teplotu tání, krystalinitu a pevnost v tahu, je PHB velmi podobný konvenčnímu plasty z izotaktického polypropylenu (PP). Dokonce se zdá, že má lepší bariérové vlastnosti pro kyslík, vodní páru, tuk a zápach než PP a polyethyltereftalát (PET). (Vu et al, 2019) Khanna et Srivastava (2005) ve své studii uvádějí, že křehnutí materiálů PHB během skladování nastává po jejich počáteční krystalizaci z taveniny. Tato krystalizace vede k přeskupení lamelárních krystalů vytvořených během počátečního krystalizačního procesu, který pevně svazuje amorfni řetězce mezi krystaly. Tomuto procesu lze zabránit ztuhnutím PHB pomocí jednoduchého žihání po počáteční krystalizaci. Mechanické vlastnosti těchto homopolyesterů lze jemně vyladit kopolymerizací. (Larranaga et Lizundia, 2019)

Polyák *et al* (2017) ve své studii poukazuje na to, že je prokázáno, PHB a jeho kopolymery jsou obecně méně vhodné pro aplikace, u nichž jsou důležité mechanické vlastnosti polymeru než například PLA. K překonání problému špatných mechanických vlastností a často se vyskytujících obtíží při zpracování, se PHB často modifikuje kopolymerizací, obvykle za vzniku kopolymerů PHB-HV. I přes tyto mechanické nedostatky nabízí fermentace 3-hydroxybutyrátových polymerů značný průmyslový potenciál, zejména pro jejich použití v oblasti řízeného uvolňování léčiv.

2.2.2 Výroba PHB

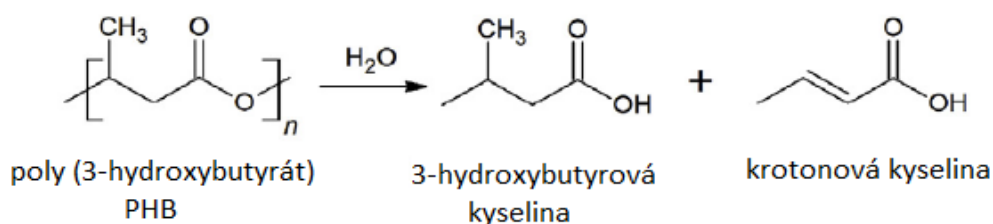
Poly(3-hydroxybutyrát) se vyrábí hlavně využitím mikroorganismů z obnovitelných surovin. Produkce PHB z bakteriálních buněk je náročná, protože jsou pevně spojené s biomasou. Proces výroby tedy vyžaduje uvolnění z buněk, a to dříve, než se izolují a purifikují, což je krok, který výrobu činí odlišnou od mnoha jiných biotechnologických procesů, kde se produkují produkty mimo buňky sekrecí do média nebo syntézou *in vitro* v bezbuněčném enzymovém reaktoru. (Winnacker, 2019)

Vzhledem k vysokému bodu tání je PHB náchylný k tepelné degradaci během zpracování taveniny esterovou pyrolýzou alifatických sekundárních esterů. Tyto nedostatky byly částečně odstraněny zjištěním, že pokud je bakterie *Alcaligenes eutrophus* pěstována na směsi glukózy a kyseliny propionové, vytvořený uložený polyester je náhodný kopolyester jednotek HB a HV, který má nižší bod tání. (Lenz *et Marchessault*, 2004)

2.2.3 Hydrolýza PHB

Hydrolýza je důležitou vlastností biologicky rozložitelných polyesterů. Hlavně při použití polyesterů jako biologicky vstřebatelných materiálů. Abiotická degradace a hydrolýza PHB se tedy uplatňuje v lékařských aplikacích, čištění a zpracování materiálu a chemické derivaci pro výrobu aktivních monomerů a izotaktických oligomerů. (Yu *et al*, 2005)

V důsledku hydrolýzy se materiálové vlastnosti PHB rychle mění v závislosti na dalších podmínkách, jako je obsah vlhkosti, pH, teplota, katalýza atd. (Kučera *et al*, 2019) Obecný princip hydrolýzy byl popsán v kapitolách výše.



Obrázek 6 Základní schéma hydrolyzy PHB (upraveno dle Kučera et al, 2019)

Yu *et al* (2005) ve své práci uvádějí, že abiotická hydrolyza PHB za mírných podmínek je relativně pomalý proces, ovšem rychlost může být ovlivněna pH, teplotou nebo krystalinitou polymeru. Polyhydroxybutyrát hydrolyzuje v kyselých i alkalických podmínkách, přičemž reakce postupuje náhodným štěpením esterových vazeb, tvorbou nerozpustných a rozpustných oligomerů a končí finálními produkty degradace nebo monomerními kyselinami. Hlavním monomerním produktem alkalické hydrolyzy PHB je 2-buteinová kyselina a kyselina krotonová. Krotonát se tvoří dehydratací kyseliny 3-hydroxybutyrové v alkalickém roztoku.

Produktem hydrolyzy PHB je kyselina R-3-hydroxybutylová, zatímco extracelulární degradace PHBV poskytuje jak 3-hydroxybutyrát, tak 3-hydroxyvalerát. (Shah et al, 2008)

2.2.4 Biodegradace PHB

U PHB dochází k výrazné degradaci za aerobních podmínek a degraduje na oxid uhličitý a vodu. Obecně dochází k degradaci hlavně tehdy, pokud jsou v prostředí přítomné zdroje a podmínky pro růst příslušných mikroorganismů. Tyto faktory jsou obvykle přítomny v půdě a kompostu, ale ne při běžném využití a aplikacích polymeru, takže degradovatelnost neztěžuje každodenní aplikace. Za anaerobních podmínek se degradací produkuje oxid uhličitý a metan. Meziprodukty nejsou škodlivé. (Winnacker, 2019)

Stejně jako u jiných polyesterů, k degradaci PHB může docházet prostřednictvím několika mechanismů (hydrolyza, chemický rozklad, tepelný rozklad, enzymatická hydrolyza). Převládající mechanismus závisí na okolních nebo experimentálních podmínkách. (Yu *et al*, 2005)

Mikroorganismy produkující a ukládající PHB ho mohou po odstranění nutričního omezení degradovat a metabolizovat. Avšak schopnost uchovávat tyto biopolymery nutně nezaručuje schopnost degradace v prostředí. Bakterie musely vyvinout extracelulární hydrolázy, které

jsou schopné přeměnit polymery na odpovídající monomery hydroxylových kyselin, protože jednotlivé polymery jsou příliš velké na to, aby mohly být transportovány přímo přes bakteriální buněčnou stěnu. Monomery jsou dostatečně malé, aby mohly pasivně difundovat buněčnou stěnou, kde jsou metabolizovány beta-oxidačním cyklem a cyklem kyseliny trikarboxylové za aerobních podmínek. Během degradace PHA nevznikají žádné toxické meziprodukty nebo vedlejší produkty. Ve skutečnosti se 3-hydroxybutyrát vyskytuje u všech vyšších zvířat jako krevní plazma. (Shah et al, 2008)

Hlavním enzymem pro degradaci PHB a oligomerů odvozených od PHB je depolymeráza. Studie extracelulární PHB depolymerázy *Alcaligenes faecalis* naznačily, že se jedná o hydrolázu vnitřního typu. Dalšími významnými organismy, u nichž byla identifikována PHB depolymeráza jsou *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas lemoigne* a jiné. (Reddy et al, 2003)

Pevný PHB polymer je ve vodě nerozpustný substrát, zatímco PHB depolymerázy jsou ve vodě rozpustné. Enzymatická degradace je tedy heterogenní reakcí zahrnující dva kroky: adsorpci enzymu na povrch PHB a hydrolýzu polymerních řetězců aktivním místem enzymu. Hydrolýza probíhá povrchovou reakcí mezi adsorbovanými enzymy a volnými adsorpčními body na povrchu. Kopolymery, které obsahují 4HB monomerní jednotky se degradovaly rychleji než PHB nebo P (3HB-ko-3HV) kopolymery. (Khanna et Srivastava, 2005)

Benn et Zitomer (2018) ve své práci zmiňují, že PHB za 10 dní a za mesofilních podmínek biodegraduje z více než 90 %, zatímco kyselina polymléčná PLA biodegraduje pouze ze 7 % a to za 90 dní, i přesto je považována za průmyslově kompostovatelnou za aerobních termofilních podmínek. Všechny PHA jsou kompostovatelné v širokém rozmezí teplot, a to při maximu kolem 60°C s hladinou vlhkosti 55%. Studie ukazují, že PHA degraduje z 85% za sedm týdnů. Reddy a kolektiv ve své práci odkazují na studii, která se zaměřovala na degradaci ve vodním prostředí. Tato studie ukazuje, že PHA degradují i ve vodním prostředí během 254 dní, a to při teplotách nepřesahujících 6 °C. (Reddy et al, 2003)

2.2.5 Kopolymery PHB

Kopolymerace je jednou ze strategií používaných ke zlepšení biologické rozložitelnosti a vyladění funkčních vlastností. (Salomez et al, 2019) Pro zlepšení vlastností PHB se do polymerního řetězce zabudovávají různé sekundární monomery za účelem vzniku kopolymerů. (Rivera-Briso et al, 2018) Kompozice kopolymeru tedy znamená cizí

ko-monomer vstupující do struktury polymeru. V důsledku včlenění dalších HA jednotek do formy PHA a vzniku kopolymerů se mohou zlepšovat další vlastnosti jako je krystalinita, bod tání, tuhost a houževnatost. (Khanna *et al*, 2005, Thakur *et al*, 2018) Kopolymery obsahující 3HB jako složku spolu s dalšími HA jednotkami o délce řetězce v rozmezí 3–14 atomů uhlíku bývají vyrobeny různými bakteriemi na rozličných uhlíkových substrátech. (Khanna *et al*, 2005) Takto lze kombinovat více než 150 různých monomerů pro vývoj materiálů s drasticky se měnícími vlastnostmi: kopolymery 3-hydroxybutyrátu, 4-hydroxyvalerátu, hydroxypropionátu, 3-hydroxyhexanoátu (PHBHHx) a poly(3-hydroxyoktanoátu) (PHO), které mohou být produkovány různými organismy. (Rivera-Briso *et al*, 2018, Chen *et al*, 2003) Kopolymery PHB se mohou tvořit společným doplňováním substrátů a mohou vést k tvorbě polymerů obsahujících monomery 3-hydroxyvalerátu (3HV) nebo 4-hydroxybutyrátu (4HB). Začlenění 3HV do PHB vede k poly(3-hydroxybutyrátu-ko-3hydroxyvalerátu), který je méně tuhý a křehčí než poly(3-hydroxybutyrátu). (Reddy *et al*, 2003)

2.2.5.1 Poly (3-hydroxybutyrát-ko-3-hydroxyvalerát)

PHB a PHBV jsou zcela biologicky rozložitelné a lze je extrudovat, lisovat a spřádat v běžných zařízeních pro zpracování plastů. Avšak tepelné zpracování je náročné z důvodu jejich relativně nízkých teplot rozkladu v blízkosti teplot tání, výrazné křehkosti a velmi malé deformovatelnosti a náchylnosti k rychlé tepelné degradaci. Pomalá rychlost krystalizace PHB také vede k lepkavým produktům (např. vláknům, filmům atd.). Jeho kopolymer s valerátem (PHBV) má celkově lepší vlastnosti, zejména pokud jde o zlepšenou houževnatost s přijatelnou ztrátou pevnosti a modulu. (Mekonnen *et al*, 2013)

Poly(3-hydroxybutyrát-ko-3-hydroxyvalerát) (PHBV) je tedy jedním z nejslibnějších bioplastů, hlavně pro medicínské aplikace, kvůli jeho nulové toxicitě, vysoké biologické kompatibilitě s mnoha různými typy buněk a možnosti být vyráběn ve velkém měřítku. (Rivera-Briso *et al*, 2018) Zvyšující se obsah hydroxyvalerátu v PHBV snižuje jeho teplotu tání, elastický modul a pevnost v tahu s vyšším prodloužením při přetržení až na 970 % a zlepšenou biologickou rozložitelností. (Salomez *et al*, 2019) Polymer PBHV s vysokým obsahem HV prokázal lepší tažnost a houževnatost ve srovnání s PHB. Avšak Youngův modul, propustnost vody, krystalinita a teplota tání se u PHBV s vysokým obsahem HV, ve srovnání s čistým PHB, zhoršila. (Muthuraj *et al*, 2017) 3-hydroxybutyrát-ko-3-hydroxyvalerát má zajímavé bariérové vlastnosti proti kyslíku a vodní páře ve srovnání

s jinými biologicky odbouratelnými polymery, což z něj činí kvalitní materiál pro aplikace při balení potravin. (Salomez *et al*, 2019)

Biodegradace PHBV byla rozsáhle studována v kompostovacích podmínkách. Většina studií se obecně zaměřuje na změny úbytku hmoty bez paralelního monitorování CO₂ uvolňovaného materiálem během degradace. (Salomez *et al*, 2019)

První komerční závod pro PHBV byl postaven v USA. V současné době je největším výrobcem kopolymerů PHB a PHB Tianan Biologic Material Co. v Číně. Jejich PHBV obsahuje asi 5% valerátu, což značně zlepšuje flexibilitu polymeru. (Babu *et al*, 2013)

2.2.6 Modifikace fyzikálních a chemických vlastností PHB

Polyhydroxybutyrát, stejně jako všechny PHA, je citlivý na podmínky zpracování, zejména na teplotu a stříh. Například PHB s nízkou molekulovou hmotností ($<1 \times 10^3$) je charakterizován časnou tepelnou degradací, blízkou jeho teplotě tání (nad 180°C). Kromě toho je PHB rozpustný jen ve velmi málo rozpouštědlech (např. chloroform, dichlormetan a dimethylformamid) a tvorba kompozitních struktur je proto náročná. Také tepelné tváření je obtížné, protože nad 150°C se většina polymerů rozkládá na toxickou kyselinu krotonovou.

Použití PHB jako obalového materiálu, pro tkáňové inženýrství a další specifické aplikace je omezeno fyzikálními a mechanickými vlastnostmi PHB. Proto je potřeba jeho fyzikální a mechanické vlastnosti diverzifikovat a zlepšit. Hlavním omezením použití PHB, kromě relativně vysokých výrobních nákladů, je nedostatek biologické aktivity. (Dariš *et Knez*, 2019) Ve snaze překonat veškeré nevýhody PHB bylo testováno několik postupů vedoucích ke zlepšení jeho vlastností, ať už kopolymerace, přidání polymerních modifikátorů nebo modifikátorů s nízkou molekulovou hmotností, plastifikátorů, nukleačních činidel a různých mikro a nanovláken. (Panaitescu *et al*, 2016)

Tím se stal vývoj biologicky rozložitelných materiálů na bázi PHB velmi zajímavou alternativou, protože s přidáním plastifikátorů lze PHB zpracovávat stejně jako syntetický termoplastický polymer. Z technických a ekonomických důvodů jsou polymerní přísady velkou a stále významnější součástí polymerního průmyslu. (Seoane *et al*, 2017)

2.2.6.1 Plastifikátory

Plastifikátory tvoří jednu třetinu globálního trhu s aditivy. Plastifikátory neboli změkčovadla jsou již dlouho známá pro svou schopnost zvyšování flexibility syntetických plastů, jako je

polyvinylchlorid (PVC) a epoxidové pryskyřice. (Mekonnen *et al*, 2013) Jsou nezbytná k překonání křehkosti polymerního filmu, protože snížení mezimolekulárních sil změkčuje tuhost struktury filmu a zvyšuje pohyblivost polymerních řetězců. (Seoane *et al*, 2017) Obecně jsou plastifikátory malé, relativně netěkavé organické molekuly, které jsou přidávány k polymerům ke snížení křehkosti, zvýšení flexibility a zlepšení houževnatosti, snížení krystalinity, snížení skelného přechodu a teploty tání a můžou ovlivnit vlastnosti, jako je hustota, odolnost proti lomu, optickou průhlednost, elektrickou vodivost a rezistenci k biologické degradaci. Plastifikátor snižuje tuhost trojrozměrné struktury tím, že snižuje relativní počet kontaktů polymer-polymer, což následně umožňuje deformaci bez prasknutí materiálu. (Mekonnen *et al*, 2013, Seoane *et al*, 2017) Choi *et al* (2004) ve své práci píše, že účinnost plastifikátoru závisí na jeho chemické struktuře, molekulové hmotnosti a koncentraci. Změkčení polymeru vyžaduje, aby plastifikátor interagoval s polymerními řetězci, které se rovnoměrně distribuuje v polymeru, čímž se vytvoří další volný objem. Kompatibilita nebo rozpustnost změkčovadla s polymerem má proto zásadní význam pro účinnou plastifikaci. Obecně platí, že účinnost a kompatibilita změkčovadla obvykle vyžaduje podobnost parametrů rozpustnosti, zejména polaritu a vodíkovou vazbu mezi polymerem a změkčovadlem.

Použití změkčovadel jako modifikátoru plastů je omezeno požadovanou bezpečností, výhodností pro životní prostředí, chemickými a fyzikálními vlastnostmi. Existuje zde riziko vyluhování nebezpečných látek (např. ftaláty) z určitých plastifikátorů, během skladování nebo aplikování, na které musí být brán zřetel. Je tedy žádoucí, aby změkčovadla měla nízkou pohyblivost v matrici PHB, aby se zabránilo migraci tohoto aditiva na povrch, protože by to mohlo vést ke kontaminaci materiálů. (Mekonnen *et al*, 2013, Seoane *et al*, 2017) Avšak použití plastifikátorů šetrných k životnímu prostředí je nejjednodušší a nejlevnější způsob modulace fyzikálních a mechanických vlastností biopolymerů pro specifické aplikace. (Panaitescu *et al*, 2016)

Pro změkčení PHBV se používá sójový olej, epoxidovaný sójový olej, epoxidovaný lněný olej, dibutylftalát, polyesterový plastifikátor (Lapol 108) a triethyl citrát. Pro zlepšení deformačních charakteristik PHB byly studovány jako plastifikační přísady nízkomolekulární, biologicky rozložitelné a netoxické sloučeniny, jako jsou dibutylsebakát (DBS), dioktyl sebakát (DOS), polyethylenglykol (PEG), Lapro1503 (L503), Lapro15003 (L5003) a nepolární polymerní polyisobutylene (PIB) s koncentrací až 50 % hmotnostních. (Mekonnen *et al*, 2013) Ke zvýšení flexibility a zpracovatelnosti se zavedlo použití

plastifikátorů z dostupných levných materiálů a materiálů přírodního původu, jako je oxypropylovaný glycerin (laprol), triacetin, glycerol, glycerotriacetát a acetyl tributylecitrát. Další studie autora Yoshie *et al.* se zabývala rozložitelností směsí na bázi PHB s přírodními aditivami (dodekanol, kyselina laurová, tributyrin a trilaurin). Tato aditiva (až 9 % hmotn.) jsou mísitelná s PHB a mohla by zpomalit jejich enzymatickou degradaci. (Seoane *et al.*, 2017)

2.2.6.2 Modifikátory

Často se zlepšením vlastností PHB zabývá inženýrství kostní tkáně, kde jsou navrhovány různé fyzikálně-chemické modifikace. Nejčastěji používanými modifikátory jsou hydroxyapatit, biologické sklo a chitosan v kombinaci s fosforečnanem vápenatým. Studie Dariš a Kneze (2019) ukazuje, že všechny tři modifikátory zlepšily mechanické vlastnosti testovaných skeletů ve srovnání s čistým PHB. Kromě toho použití hydroxyapatitu, biologického skla, acetátu celulózy nebo přírodních aniontových polysacharidů jako modifikátorů PHB snížilo rychlost degradace testovaných skeletů. (Dariš *et Knez*, 2019)

2.2.6.3 Směsi

Polymerní směs je definována jako kombinace dvou nebo více polymerů fyzikálním mísením, přičemž mezi nimi může i nemusí docházet k chemické interakci. Hlavním účelem míchání polymerní taveniny je: zlepšení adheze mezi mísenými složkami, snížení napětí mezi součástmi a vytvoření omezené velikosti inkluzní fáze. Těmto problémům lze účinně čelit buď reaktivní kompatibilizací, nebo reaktivními kompatibilizačními technikami. Polymerní směsi jsou do velké míry závislé na morfologii, mísitelnosti a kompatibilitě, které rozhodují o jejich vlastnostech. (Muthuraj *et al.*, 2017) Míchání směsí nebo modifikace již vyrobeného PHB zpracováním taveniny za účelem přizpůsobení jeho vlastností a zpracovatelnosti je rychlejší a levnější přístupem, než například začlenění hydroxyvalerátu nebo jiných monomerů do bakteriálního fermentačního procesu. (Panaiteescu *et al.*, 2016)

Problémem u většiny polymerů je chemická nekompatibilita, která neumožňuje snadné mísení a vznik kvalitní směsi. (El-Hadi *et al.*, 2002) Mísení materiálů na bázi PHB nebo PHBV s polymery, jako je PBS, PE, PP, PCL, PLA a poly (ethylen sukcinát) atd., bylo v mnoha studiích intenzivně zkoumáno a snažilo se o zlepšování mechanických a tepelných vlastností. Většina studií však upozorňovala na špatnou mezifázovou adhezi a separaci fází PHB (V) a dalších polymerních směsí. Tento nedostatek může být zlepšen použitím

kompatibilizačního činidla, funkcionalizací, prodloužením řetězce, řízeným chemickým zesíťováním a optimalizací procesních podmínek. (Mekonnen *et al*, 2013) Je prokázáno, že PHB je mísitelný s poly(ethylenoxidem), poly(vinylidenfluoridem), poly(vinylacetátem), poly(epichlorhydrinem) a poly(cyklohexylmethakrylátem). O poly(methylmethakrylátu) (PMMA) je známo, že je nekompatibilní s PHB při pokojové teplotě a je kompatibilní v roztaveném stavu. PHB je částečně mísitelný s ethylen-propylenovou pryží, ethylen-vinylacetátovým kopolymerem, poly(vinyl) kopolymerem ethylenu a vinylacetátu, poly(vinylfenol), poly(vinylalkohol), poly(L lactid), syntetický poly(3-hydroxybutyrát) PHB, PHBV a PCL. (El-Hadi *et al*, 2002, Chen *et al*, 2003)

Biologicky rozložitelné polymery často obsahují reaktivní funkční skupiny (tj. anhydridy, epoxidy, izokyanáty atd.), a proto je lze použít jako kompatibilizátory. Reaktivní funkční skupiny kompatibilizátorů jsou během míchaní v tavenině schopné reagovat s dalšími funkčními skupinami (hydroxyem, karboxylem atd.) směsných složek za vzniku *in situ* roubovaných a/nebo blokových kopolymerů. Velký počet biologicky rozložitelných polymerů snadno reaguje s anhydridem, epoxidem, oxazolinem a izokyanáty, protože obsahují funkční skupiny hydroxylové a karboxylové. (Muthuraj *et al*, 2017)

2.2.6.4 Modifikace roubováním

Polymerace roubováním je způsob modifikace chemických a fyzikálních vlastností polymerů pro specifické aplikace. Roubování je metoda, která se používá k získání požadované vlastnosti umístěním kovalentní vazby mezi monomery a další polymerní řetězce. Na obrázku 7 je zobrazen obecný mechanismus roubování. Základní kopolymer se skládá ze dvou různých polymerních jednotek, u roubovaných kopolymerů je jeden nebo více postranních řetězců připojeno k hlavnímu řetězci jako jeho bloky. Roubování je výhodná metoda k syntéze kopolymeru s novými vlastnostmi a minimální ztrátou původních vlastností. (Raza *et al*, 2017) Typickými metodami polymerace roubováním jsou radikální reakce různých monomerů iniciované chemickými iniciátory, plazmou a elektromagnetickým nebo gama zářením. (Chen *et al*, 2003)

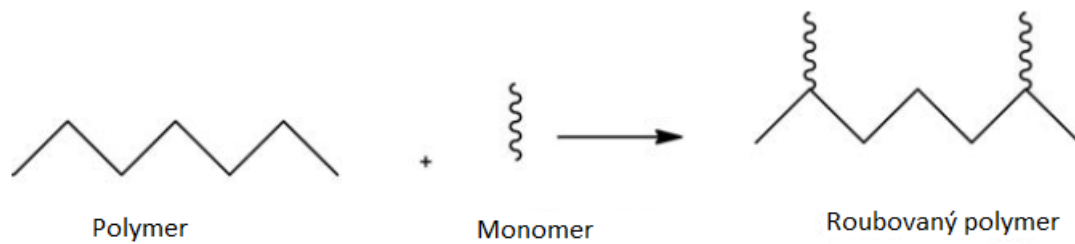
Studie štěpu vzniklého zářením methylmethakrylátu (MMA), 2-hydroxyethylmethakrylátu (HEMA), kyseliny akrylové a styrenu na PHB a jeho kopolymer ukazovaly, že tepelná stabilita nebo biologická rozložitelnost byly podporovány. Další studie Lee a kol., zabývající se povrchovou roubovanou kopolymerací PHB, testovala

roubování akrylamidu na PHBV film. Tyto roubovací postupy modifikují hlavně povrchové vlastnosti. (Chen *et al*, 2003)

Další úspěšnou technikou je roubování anhydridu kyseliny maleinové, který se roubuje na řetězce PHB, protože má dobrou reaktivitu a kontrolovatelnost při radikálové polymeraci. (Chen *et al*, 2003) Modifikují se tak hydrofobní vlastnosti PHB. Zaroubováním malein anhydridu do matrice PHB se zvýší bariérové vlastnosti proti kyslíku a vodní páře. (Rivera-Briso *et al*, 2018) Biodegradovatelné polymery roubované malein anhydridem (MA) se úspěšně připravují reakcemi s volnými radikály pro použití jako kompatibilizátoru. Během míchání v tavenině mohou roubované MA skupiny reagovat s hydroxylovými skupinami směsných složek a vytvářet chemické vazby. (Muthuraj *et al*, 2017)

Maleinovaný poly(3-hydroxybutyrát) se vytváří radikálových mechanismem s iniciací dibenzoylperoxidem. Čím vyšší obsah maleinanhydridu v kopolyměru, tím více klesá jeho molekulová hmotnost a krystalinita v porovnání s čistým PHB. Snižuje se také rychlost růstu sférolitů, které způsobují trhliny a tepelný rozklad PHB. Avšak teplota skleného přechodu zůstává stejná jako u PHB. (Chen *et al*, 2003) Chen a jeho kolektiv (2003) ve svém experimentu s maleinovaným PHB zhodnocují, že hodnota úbytku hmotnosti čistého PHB je po degradaci asi 8,5% (během 50 hodin), kdežto u maleinovaného PHB je tato hodnota mnohem vyšší. Naznačují tedy, že s vyšším množstvím MA se zvyšuje i úbytek hmotnosti a biologická rozložitelnost PHB. Důvodem rychlejší biodegradace je zvyšující se hydrofilita, která je připisována právě roubování MA.

Hong *et al* (2008) zjišťoval, jaký vliv na krystalizaci a tepelnou degradaci má různá technika roubování malein anhydridu na PHB. Z jejich experimentu vyplývá, že rychlost krystalizace, krystalinita a tepelná stabilita jsou metodou roubování významně ovlivněny kvůli snížení molekulové hmotnosti PHB a různým množstvím MA navázaného během roubovací reakce. Malé množství roubovaného MA by mohlo výrazně zlepšit tepelnou stabilitu a krystalizaci PHB. Výsledky experimentu ukazují, že PHB roubovaný MA má mnohem vyšší krystalinitu a větší krystaly s větší lamelární tloušťkou než nemodifikovaný PHB, i přes jeho relativně nízkou molekulární hmotnost.



Obrázek 7 Základní mechanismus roubování (upraveno dle Raza et al, 2017)

Existuje více metod, jak fyzikálních, tak chemických, které mohou ovlivnit vlastnosti PHB. Na rozdíl od výše uvedených metod, při kterých se primárně klade důraz na jejich biodegradovatelnost, existují i směsi s nebiodegradovatelnou složkou, které jsou zajímavé z ekonomického hlediska, ve kterých se PHB kvalifikuje jako materiál z obnovitelných zdrojů, který dodává směsi některé specifické vlastnosti, např. zlepšené bariérové schopnosti. (Miková *et* Chodák, 2006)

3 CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo sepsání literární rešerše zabývající se obecnou biodegradací polymerů, charakterizací polyhydroxyalkonátů a polyhydroxybutyrátu včetně modifikace jeho fyzikálních a chemických vlastností. Další část práce se zabývala provedením abiotické hydrolýzy fólií polyhydroxybutyrátu s modifikátory.

Dílčí cíle:

- sepsání literární rešerše;
- provedení abiotické hydrolýzy fólií PHB ve fosfátovém pufru o pH 7,2 při 58°C;
- vyhodnocení hmotnostních úbytků fólií denní expozici;
- vyhodnocení stupně hydrolýzy u jednotlivých PHB fólií vycházející z analýzy TOC;
- vyhodnocení změn chemické struktury pomocí spekter měřených ATR-FTIR analýzou u jednotlivých fólií PHB.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Použité přístroje a pomůcky

Analytická váha KERN ABJ 220 - 4NM/ABS – N (Německo)

Analyzátor celkového organického uhlíku TOC – L Shimadzu (Japonsko)

Analyzátor uhlíku Shimadzu SSM – 5000A (Japonsko)

PH metr InoLab pH 720 WTW (Německo)

Sušárna UM 100 (Německo)

Vakuová sušárna Memmert UFP 800 (Německo)

Spektrometr Nicolet iS10 (USA)

Dále bylo používáno běžné laboratorní sklo a další laboratorní pomůcky.

4.2 Použité chemikálie

4.2.1 Příprava fosforečnanového pufru

Na přípravu pufru bylo použito:

- bezvodý dihydrogenfosforečnan draselný (KH_2PO_4) 20,415 g
- azid sodný (NaN_3) 3 g
- 0,1M hydroxid sodný (NaOH)

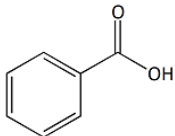
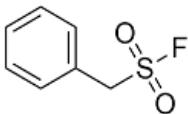
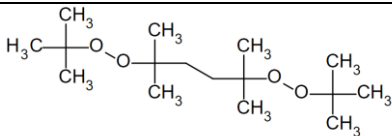
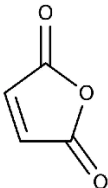
Pro přípravu 1500 ml fosforečnanového pufru, který byl použit při hydrolýze polyhydroxybutyrátu, bylo v malém množství destilované vody rozpuštěno 20,415g KH_2PO_4 a poté doplněno destilovanou vodou na celkový objem 1500 ml odměrné baňky. Pufir byl následně zneutralizován pomocí NaOH na $\text{pH} = 7,19$. Po zneutralizování byl do pufru nadávkovány 3g azidu sodného k potlačení růstu mikroorganismů.

4.2.2 Příprava testovaných materiálů

Pro práci byl použit PHBV jako práškový homopolymer kyseliny 3-hydroxybutyrátové z fermentace D-glukózy pomocí *Cupriavidus necator* od firmy TIANAN BIOLOGIC MATERIALS COMPANY LTD., China. Nerozpustný ve vodě, rozpustný v chloroformu a methylen chloridu.

Všechny vzorky byly připraveny Ing. Šašinkovou tavením na Ústavu polymerů. Tavení probíhalo na mikroextruderu Haake při 185°C za přítomnosti N₂ a při otáčkách 50 rpm. Použitými modifikátory byly:

Tabulka 6 Přehled použitých modifikátorů

Modifikátor	Zkratka	Sumární vzorec	Molární hmotnost g.mol ⁻¹	Hustota g/cm ³	Teplota tání °C
kyselina benzoová	B		122,12	1,32	122,4
fenylmetansulfonyl fluorid	PMSF		174,19	0,79	90-95
2,5-Dimethyl-2,5-di-(tert-butylperoxy) hexan	DDTH		290,44	0,87	8
malein anhydrid	MA		98,06	1,48	52,8

- Kyselina benzoová

Je nejjednodušší aromatickou jednosytnou kyselinou. Za normálních podmínek jde o bezbarvou až bílou krystalickou látku. Je vázána jako ester kyseliny benzoové v mnoha rostlinných a živočišných druzích. Jde o fungistatickou sloučeninu, která se využívá jako inhibitor plísní, kvasinek a některých bakterií a jako konzervační prostředek v potravinářství, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. V polymerním průmyslu a výzkumu se používá jako plnivo a modifikační přísada do plastů. (PubChem, 2020)

- Fenylnmetansulfonyl fluorid

Jedná se o inhibitor serinové proteázy, který reaguje se serinovými zbytky a inhibuje trypsin a chymotrypsin, trombin. Využívá se pro přípravu buněčných lyzátů. Velmi rychle degraduje ve vodním prostředí a roztocích. (James, 1978)

- 2,5-Dimethyl-2,5-di- (tert -butylperoxy) hexan

Tato čistě žlutá kapalina se používá pod zkratkou DDTH k ošetření polymerů, elastomerů, silikonových kaučuků a fluoroelastomerů jako plnivo nebo plastifikátor. (PubChem, 2020)

- Maleinanhydrid

Jedná se o bezbarvou krystalickou látku s ostrým zápachem. Používá se pro výrobu nenasycených polyesterů a k jejich modifikaci. Může být konjugována se sloučeninami za účelem zlepšení fyzikálně – chemických vlastností, včetně stability, rozpustnosti a rychlosti rozpouštění. (PubChem, 2020)

Tímto způsobem bylo připraveno 5 fólií:

- PHB fólie

Mléčně zakalená fólie vyrobená z práškového PHBV (max. 5 % valerátu) o tloušťce 100 μm . Obsah uhlíku v materiálu, stanovený elementární analýzou, činil 55,8 %.

- PHB fólie s příměsí kyseliny benzoové (PHB/B)

Mléčně zakalená fólie PHB s příměsí 5 % kyseliny benzoové o tloušťce 100 μm . Obsah uhlíku, stanovený elementární analýzou, činil 56,5 %.

- PHB s příměsí PMSF (PHB/PMSF)

Mléčně zakalená fólie s příměsí 1 % fenylnmetansulfonyl fluoridu o tloušťce 100 μm . Obsah uhlíku, stanovený elementární analýzou, činil 55,7 %.

- PHB s příměsí DDTH a malein anhydridu (PHB/DDTH/MA)

Mléčně zakalená fólie vyrobená z PHB s příměsí 2,5 % 2,5-dimethyl-2,5di-(tert -butylperoxy) hexanu a 2,5 % kyseliny maleinové o tloušťce 100 μm . Obsah uhlíku, stanovený elementární analýzou, činil 55,7 %.

- PHB s příměsí malein anhydridu (PHB/MA)

Mléčně zakalená křehká fólie PHB s příměsí 5 % maleinanhydridu o tloušťce 100 μm . Obsah uhlíku, stanovený elementární analýzou, činil 55,1 %.

4.3 Degradční test – Abiotická hydrolýza

4.3.1 Příprava degradačních testů

Abiotická hydrolýza použitých materiálů probíhala ve fosfátovém pufru, při teplotě 58°C, což je teplota, při které se provádějí kompostovací testy. Pro test byly použity skleněné lahve opatřené uzávěrem o objemu 250 ml. Pro každý typ materiálu ve formě folií bylo připraveno 5 lahví. Do každé lahve bylo na analytických váhách naváženo přibližně 50 mg folií. Přesné navážky materiálů PHB s přísadami i bez nich byly zaznamenány a na konci experimentu sloužily k výpočtu úbytku hmotnosti. Poté byl do všech lahví napipetován fosforečnanový pufr o objemu 50 ml. Po uzavření víčkem, pečlivém popsání jednotlivých testů, byly lahve přemístěny do vakuové sušárny s teplotou 58 ± 2 °C. Ve stanovených časových intervalech byly folie vyjmuty z láhví, vysušeny do konstantní hmotnosti a zváženy.

4.3.2 Stanovení úbytku hmotnosti

Fólie byly po uplynutí určené doby (5, 13, 30, 54 dní) pro dané lahve, vyjmuty z lahví na Petriho misky a vysušeny v sušárně na 40 ± 2 °C. Po vysušení do konstantní hmotnosti byly zváženy na analytických vahách ($d=0,0001$ g). Z rozdílu hmotnosti fólie před a po proběhnutí abiotické hydrolýzy byl následně vypočítán jeho úbytek hmotnosti a jeho procentuální hmotnostní úbytek (vztah pro výpočet uveden v kapitole 3.4.2).

4.3.3 Stanovení rozpuštěného uhlíku

Současně s odběrem vzorku folie byl do plastových zkumavek odebrán cca 10 ml filtrátu roztoku fosforečnanového pufru od každého druhu folie pro stanovení rozpuštěného uhlíku. Po odebrání filtrátů do vzorkovnic se tyto filtráty vložily do mrazáku, kde došlo k jejich zamrazení, a tím k jejich uchování. Před samotnou analýzou TOC byly vzorky filtrátů vyjmuty z mrazáku, rozmrazeny a po promíchání následně nadávkovány do vialek určených pro analýzu TOC. Analýza TOC nám umožňuje identifikaci a kvantifikaci celkového organického uhlíku, který vzniká při hydrolýze vzorků. V podstatě dochází ke štěpení řetězců makromolekul polyesterů, kdy následně vznikají produkty o nižší molekulové

hmotnosti (oligomery, popř. monomery), které přechází do kapalně fáze, ve které se následně rozpouští.

Stanovení bylo prováděno analyzátozem uhlíku TOC – L Shimadzu. Principem tohoto přístroje je katalytická oxidace při 680 °C. Kapalný vzorek je spálen při teplotě 680 °C v prostředí bohatém na kyslík uvnitř spalovacích trubek TC přístroje naplněných platinovým katalyzátorem. Oxid uhličitý generovaný oxidací je detekován pomocí infračerveného analyzátoru plynů (NDIR). V detektoru je absorbováno záření příslušné vlnové délky a zaregistrováno v PC programu jako pík. Plocha píku je přímo úměrná celkové koncentraci uhlíku TC ve vzorku.

Ke stanovení anorganického uhlíku IC byl použit přístroj Shimadzu 5000A. Tentýž vzorek pufru byl nastříknut do kyseliny fosforečné v proudu kyslíku. Tím došlo k vytěsnění CO₂, který byl vyhodnocen stejně jako TC.

Celkový organický uhlík (TOC) byl zjištěn z rozdílu mezi TC a IC. Pokud by byla koncentrace IC výrazně vyšší než koncentrace TOC, lze pro stanovení organického uhlíku využít analýzy tzv. netěkavého organického uhlíku NPOC. Vzorek se před nástřikem okyselí kyselinou chlorovodíkovou a probublá kyslíkem, tímto dojde k vytlačení anorganického uhlíku a současně i těkavého organického uhlíku.

4.3.4 Analýza ATR-FTIR vzorků po abiotické hydrolýze

Plánovaná analýza ATR-FTIR (zeslabený úplný odraz) byla provedena 28. 4. 2020 na spektroskopu Nicolet iS10 pomocí programu OMNIC.

Princip této analýzy spočívá v zeslabení celkové odrazivosti paprsků infračerveného záření s Fourierovou transformací, které prochází přes měřený vzorek. Před samotným měřením byly vzorky vysušeny v sušárně. Analýza probíhala tak, že byl pevný vzorek uložen pod diamantový nástavec do proudu infračervených paprsků. Poté byl tento nástavec přitlačen ke vzorku. Následně byla spuštěna analýza ATR-FTIR oproti pozadí, kterým byl vzduch. Měření polyesterů se provádělo v rozsahu vlnočtu od 500 cm⁻¹ do 4000 cm⁻¹. Výsledkem této analýzy bylo vzniklé infračervené spektrum, v němž byla zobrazena závislost absorbance daných funkčních skupin vzorku na jejich vlnočtu. Každému takto vzniklému pásu odpovídá jistý rozsah vlnočtu, který je pro tento pás charakteristický. V závislosti na změnách absorbancí daných funkčních skupin (jejich pokles či nárůst) je možné posoudit vzniklé změny v chemických strukturách vzorku, ke kterým dochází během abiotické hydrolýzy.

4.3.5 Analýza DSC (diferenciální skenovací kalorimetrie) vzorků po abiotické hydrolýze

Plánovaná analýza DSC nebyla provedena z důvodu uzavření vysokých škol z nařízení vlády v době pandemie.

Diferenciální skenovací kalorimetrie se používá ke sledování teplotního chování vzorků při jejich postupném ochlazení a zahřívání. Během analýzy vzorků dochází v závislosti na stupni jejich degradace ke změnám krystalinity, změnám teploty tání, teploty krystalizace a teploty skelného přechodu. Výsledná křivka analýzy DSC ukazuje závislost tepelného toku polymeru na době trvání analýzy DSC.

Analýza se provádí tak, že navážený vzorek po degradaci je vložen na aluminiovou pánvičku a následně zahřát pomocí topného tělesa na teplotu o 5 °C vyšší, než je teplota tání. Následně je vzorek umístěn do exsikátoru, aby se ochladil na laboratorní teplotu. Po ochlazení je tento vzorek vložen do přístroje na analýzu DSC. Měření probíhá oproti referenční pánvičce, která je prázdná a předem zvážená. Samotná analýza probíhá tak, že nejprve dojde k zahřátí vzorku z teploty 25 °C na teplotu 180 °C, a to rychlostí ohřevu 20 °C min⁻¹. Následně dojde k postupnému zchlazení vzorku z teploty 180 °C na teplotu -10 °C, také rychlostí 20 °C min⁻¹. Délka procesu zahřívání vzorku je nastavena v závislosti na hodnotě teploty tání vzorku, tj. u PHB 180 °C.

4.4 Metody vyhodnocení procesu abiotické hydrolýzy

4.4.1 Výpočet stupně hydrolýzy vzorků PHB (analýza TOC rozpuštěného v kapalně fázi po hydrolýze)

Výpočet stupně hydrolýzy vzorků PHB.

$$H = \frac{C_{TOC} \times V_l}{m \times w_c} \times 100$$

H ... hydrolytický stupeň [%]

C_{TOC} ... koncentrace celkového organického uhlíku obsaženého v kapalně fázi po hydrolýze [mg. l⁻¹]

m ... hmotnost vzorku PHB použitého při hydrolýze [mg]

w_c = obsah uhlíku v testované PHB fólii [%]

V_l = celkový objem kapalně fáze v inkubační lahvi (tj. 50 ml)

4.4.2 Výpočet stupně hydrolýzy vzorků PHB dle úbytku hmotnosti materiálů

Výpočet stupně hydrolýzy PHB.

$$H = \frac{m_0 - m_t}{m_t} \times 100$$

H ... hydrolytický stupeň [%]

m_0 ... hmotnost vzorku PHB před abiotickou hydrolýzou [mg]

m_t ... hmotnost vzorku PHB po abiotické hydrolýze [mg]

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Test hydrolytické degradace PHB s modifikátory

V rámci diplomové práce byly stanoveny vlastnosti vzorků fólií PHB s modifikátory v průběhu abiotické hydrolyzy pomocí stanovené úbytků hmotnosti, vizuálním hodnocením, hodnot TOC a ATR-FTIR. Experiment probíhal od začátku února 2020 do konce dubna 2020.

5.1.1 Stanovení úbytků hmotnosti PHB s modifikátory

Při přípravě fólií PHB byla vyvinuta snaha o materiál, který bude takzvaně programovatelně biodegradabilní. Synteticky připravený PHB se velmi rychle rozkládá, v řádu 10 dní, a proto takový biodegradabilní polymer není využitelný pro praktické, například zemědělské, aplikace.

Níže uvedené tabulky 7, 8, 9, 10 a 11 znázorňují procentuálně úbytky hmotnosti fólií PHB s různými modifikátory v čase. Hydrolyza materiálů probíhala v abiotickém prostředí, kterým byl fosforečnanový pufr o hodnotě pH 7,2 a při kompostovací teplotě 58 °C. Z hodnot uvedených v tabulkách lze vyčíst, že fólie z PHB degraduje v abiotickém prostředí během 71 dní v mírném prostředí pH 7,2 velmi málo. Z toho vyplývá, že k biodegradaci PHB je zapotřebí přítomnost mikroorganismů.

Tabulka 7 Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB během abiotické hydrolyzy v čase

Čas	m_0 [mg]	m_t [mg]	hmotnostní úbytek [mg]	hmotnostní úbytek [%]
5 dní	63,1	63,1	0	0,00
13 dní	53,1	53	0,1	0,19
30 dní	61,4	61	0,4	0,66
55 dní	63,2	63,2	0	0,00
71 dní	59,5	59,4	0,1	0,17

m_0 ... hmotnost folie v čase na začátku pokusu

m_t ... hmotnost folie v čase t

Tabulka 7 ukazuje hmotnostní ztráty čistého PHB bez modifikátoru během 71 dní. Úbytek hmotnosti nepřesahuje 1 % a lze tedy říct, že čisté PHB je pravděpodobně k degradaci v abiotickém prostředí netečné. K definitivnímu závěru by bylo zapotřebí dokázat, že se nemění molekulová hmotnost PHB.

Hodnoty v tabulce 8 ukazují, že kyselina benzoová i přes to, že jsou procentuální úbytky vyšší, než u čistého PHB nemá na degradaci materiálu žádný vliv. U přidavku kyseliny benzoové 5 % hmotnostních se předpokládalo zpomalení degradace mikroorganismy, protože působí jako inhibitor plísní a kvasinek. Toto není relevantní v abiotickém prostředí. Hmotnostní ztráta se přibližuje hmotnostnímu přidavku kyseliny benzoové do PHB. Dle naměřených výsledků lze usuzovat, že se kyselina benzoová z materiálu vymývá, a to poměrně rychle. Neovlivní abiotický rozklad PHB, ale v biotickém prostředí může svým vlivem na mikroorganismy ovlivnit, např. oddálit proces biodegradace PHB.

Tabulka 8 Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB/B

Čas	m_0 [mg]	m_t [mg]	hmotnostní úbytek [mg]	hmotnostní úbytek [%]
5 dní	54,9	53,2	1,7	3,20
13 dní	54,3	53	1,3	2,45
30 dní	67,3	64,5	2,8	4,34
55 dní	57,3	55	2,3	4,18
71 dní	66,1	64	2,1	3,28

Hmotnostní ztráty v tabulce 9 PHB s PMSF (1%) v podstatě odpovídají hmotnostnímu přidavku PMSF. U PMSF se předpokládalo, že jeho schopnost rozkládat se ve vodě bude sloužit ke zpomalení rychlosti degradace PHB. Tím, že se PMSF uvolní z PHB dojde inhibici esteráz, které uvolňují mikroorganismy k rozkladu polymerů.

Tabulka 9 Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB/PMSF

Čas	m_0 [mg]	m_t [mg]	hmotnostní úbytek [mg]	hmotnostní úbytek [%]
5 dní	68,1	67,4	0,7	1,04
13 dní	50,8	50,4	0,4	0,79
30 dní	58,7	58,3	0,4	0,69
55 dní	55	53,8	1,2	2,23
71 dní	56,5	55,4	1,1	1,99

V tabulce 10 jsou uvedeny hmotnostní úbytky PHB s 2,5 % DDTH a 2,5 % malein anhydridu. DDTH a MA mají schopnost jako tzv. chain extenders, prodlužovat řetězce, a tedy se předpokládalo, že toto způsobí pomalejší degradaci PHB. DDTH obsahuje peroxy skupinu, která jako iniciátor radikálových reakcí napomáhá zlepšení zesíťování polymeru. Hmotnostní úbytky nedosahují 5 %, což by odpovídalo uvedenému předpokladu. Dalo by se tedy předpokládat, že tato kombinace modifikátorů ke zpomalení degradace funguje, ovšem toho tvrzení by bylo třeba doložit i rezistencí vůči degradaci mikroorganismy.

Tabulka 10 Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB s DDTH a malein anhydridem

Čas	m_0 [mg]	m_t [mg]	hmotnostní úbytek [mg]	hmotnostní úbytek [%]
5 dní	66,7	65,3	1,4	2,14
13 dní	59,9	59,5	0,4	0,67
30 dní	68,3	67,9	0,4	0,59
55 dní	56,3	55,7	0,6	1,08
71 dní	55	53,8	1,2	2,23

Největší hmotnostní úbytky byly stanoveny u PHB s 5 % malein anhydridu. Jak již bylo popsáno výše v kapitole Modifikace roubováním, větší úbytky hmotnosti dokládá i studie Chen a jeho kolektivu (2003). Tyto úbytky hmotnosti jsou způsobeny pravděpodobně tím, že se po naroubování MA do řetězce PHB, stává PHB více hydrofilním.

Tabulka 11 Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB s malein anhydridem

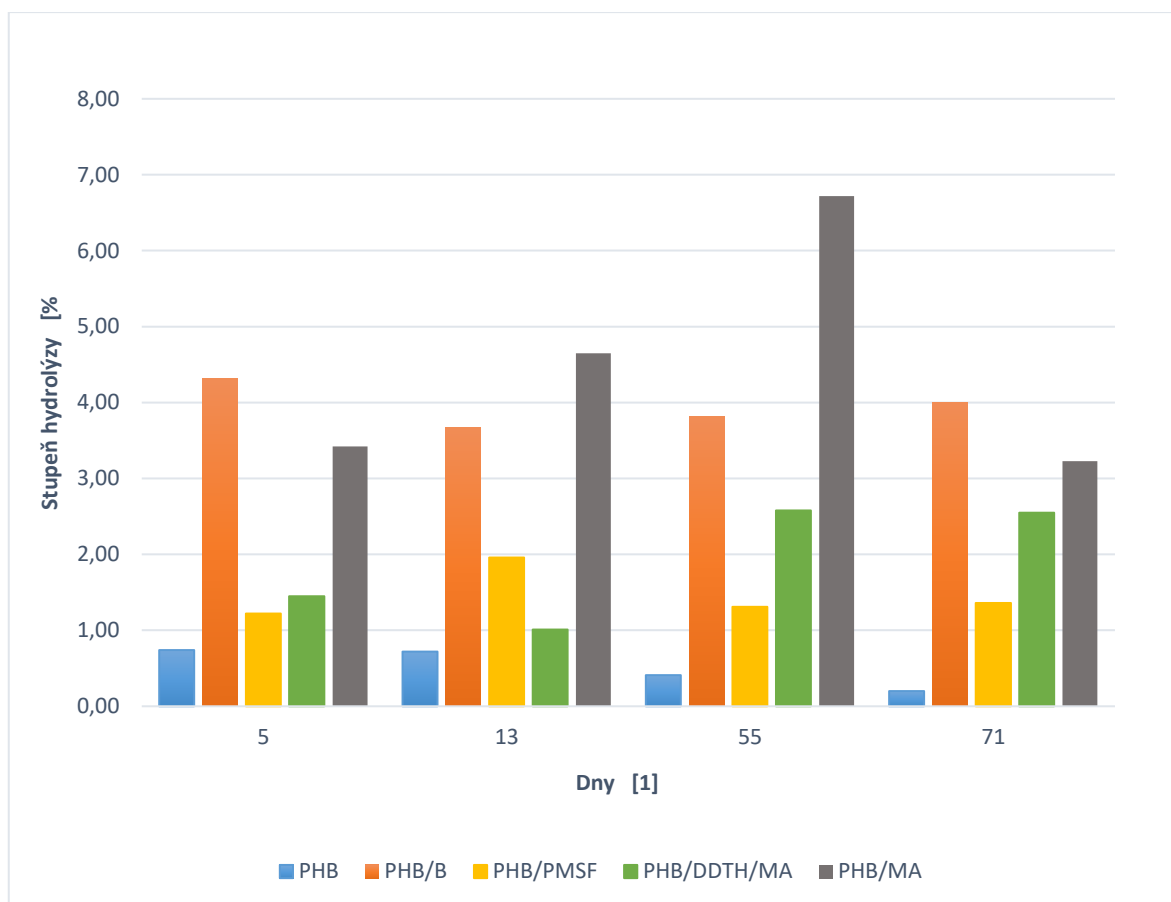
Čas	m_0 [mg]	m_t [mg]	hmotnostní úbytek [mg]	hmotnostní úbytek [%]
5 dní	49,4	47,1	2,3	4,88
13 dní	56,2	53,4	2,8	5,24
30 dní	60,3	57,1	3,2	5,60
55 dní	61,6	58,9	2,7	4,58
71 dní	62,4	61,1	1,3	2,13

Z výsledků lze vyčíst, že čistý PHB, PHB s PMSF a PHB s DDTH a MA je hydrolyzou téměř nedotčený, zatímco u verze modifikované kyselinou benzoovou a MA byly zaznamenány úbytky hmotnosti kolem 5 %. U PHB s malein anhydridem se také lze domnívat, že úbytky hmotnosti jsou vyšší, protože je možné, že nedošlo k řádnému zesíťování polymeru z důvodu chybějícího iniciátoru. Porovnáním hmotnostních ztrát lze vyslovit závěr, že přítomnost mikroorganismů hraje důležitou roli při celkovém procesu degradace, kdy nedochází pouze k hydrolyze.

5.1.2 Stupeň hydrolyzy PHB s modifikátory vypočítaný na základě celkového organického uhlíku rozpuštěného v kapalné fázi

Stupeň hydrolyzy byl vypočítán ze zjištěných hodnot hmotnostních koncentrací celkového organického uhlíku (TOC), který byl obsažen ve vodných fázích po hydrolyze a ze známé navážky vzorku, která byla pro hydrolyzu použita.

Na obrázku 7 (totéž ukazuje tabulka 12) lze pozorovat nízký úbytek materiálu u čistého PHB a PHB s 1 % PMSF. S rostoucí dobou expozice lehce narůstal hydrolytický stupeň pouze u PHB s 5 % malein anhydridu, kde dosahuje téměř 7 % a u PHB s kyselinou benzoovou, kde se pohybuje kolem 4%. Tato čísla jsou ovšem, co se týče degradace, zanedbatelná, pravděpodobně mohou odpovídat hmotnostnímu přídatku modifikátoru a poukazují pouze na to, že PHB, ať už s modifikátory nebo bez, abioticky nehydrolyzuje nebo velmi pomalu.



Obrázek 8 *Stupeň hydrolýzy jednotlivých vzorků PHB s modifikátory v závislosti na době trvání hydrolýzy*

Z tabulky 12 lze vyčíst, že po 30 dnech hydrolýzy u PHB a u PHB/MA po 71 dnech mohlo dojít k chybě měření. Z jednotlivých úbytků hmotnosti a stupňů hydrolýzy ovšem není možné určit, jestli vzorky fólií hydrolyzují nebo jestli se pouze nevymývají modifikátory. K tomuto by bylo zapotřebí provést více analýz (např. UV/VIS, DSC, GPC), což nebylo možné z důvodu uzavření vysokých škol dle nařízení vlády v době pandemie COVID 19.

Hydrolytická degradace PHB (a P (3HB-co-3HV) a P (3HB-co-4HB)) byla studována již v roce 1989 Yoshiharu Doi a jeho kolektivem při teplotě 37 °C (pH 7,4). Autoři popisují ztrátu molekulové hmotnosti o 50 % po 1 roce v pufrovaném roztoku a tuto pomalou degradaci ve srovnání s jinými polyestery připisují vysoké krystaličnosti polyhydroxyalkonátů.

Oproti tomu syntetické polyestery v porovnání se přírodními hydrolyzují abiotickou cestou poměrně rychle. Ukazuje to například diplomová práce kolegy Černohouse, který

hydrolyzoval PBS, PBSA a PBAT a během 131 dní expozice vzorků zaznamenal stupeň hydrolyzy až ze 75 %. Ve svém článku Larranaga a Lizundia (2019) popisují například PLA, která podléhá mnohem rychlejší degradaci ve vodném roztoku při 58°C než při fyziologické teplotě. Kyselinu poly(mléčnou) lze i velmi rychle hydrolyzovat na kyselinu L-mléčnou při 180 °C po dobu 30 minut. Dále například polyglykolid (PGA) degraduje štěpení esterových vazeb v celém objemu s ~ 90% ztrátou hmotnosti za 50 dní. Kinetika rozkladu PGA se navíc urychluje při působení pH > 10.

Tabulka 12 Porovnání stupňů hydrolyzy PHB s modifikátory během 71 dní

	Stupeň hydrolyzy [%]				
	5 dní	13 dní	30 dní	55 dní	71 dní
PHB	0,74	0,72	3,49	0,41	0,20
PHB/B	4,32	3,67	3,57	3,81	4,00
PHB/PMSF	1,22	1,96	2,96	1,31	1,36
PHB/DDTH/MA	1,45	1,01	2,76	2,58	2,55
PHB/MA	3,42	4,65	5,96	6,72	3,23

Během procesu hydrolyzy při štěpení polymerních řetězců polyesterů vznikají produkty degradace, které mohou být zjištěny v TOC ve vodné fázi. Tato práce se touto analytickou metodou nezabývala. Podle práce Yu a jeho kolektivu (2005) i přes to, že není mechanismus hydrolyzy PHB zcela objasněný, tak hlavními monomerními produkty alkalické hydrolyzy PHB jsou kyselina 2-butenová a krotonová kyselina. Důležitým pro vznik těchto produktů degradace je alkalický roztok (pH 12,5), v němž dehydratací kyseliny 3-hydroxybutyrové vzniká kyselina krotonová. V kyselém roztoku se neobjevila ani 3HB ani kyselina krotonová. Dále ve své studii Yu a kolektiv (2005) zmiňuje, že ačkoliv je degradace polymeru často kvantifikována hmotnostním úbytkem anebo změnami molekulové hmotnosti, tak aby bylo možné lépe porozumět hydrolytické degradaci PHB, včetně kinetiky a mechanismu hydrolyzy, je potřeba zkoumat vznik produktů degradace.

Larranaga *et* Lizundia (2019) uvedli několik studií, které dokládají, že hydrolytická degradace PHB v abiotickém prostředí probíhá pomaleji, protože se zvyšuje molekulová rychlost degradujícího polymeru v důsledku snížené molekulární mobility způsobené

dlouhými řetězci. Úbytek hmotnosti a snížení molekulové hmotnosti urychluje přítomnost zbytkových monomerů.

Dalším aspektem pomalé hydrolytické degradace, kterou tito autoři uvádějí, může být poréznost materiálu. Ačkoliv se to může zdát kontraintuitivní, vysoce porézní materiály bývají odolnější vůči hydrolytické degradaci. Je to důsledek toho, že kyselé vedlejší produkty vznikající při degradaci materiálu, mohou být uvolňovány do vnějšího média pomocí pórů. V opačném případě, u neporézních vzorků dochází k nežádoucím dutým strukturám, kde se zachytávají kyselé vedlejší produkty a urychlují rychlost degradace.

Poréznost fólií použitých v tomto experimentu by bylo možné zjistit rastrovacím elektronovým mikroskopem SEM. SEM může být využito jako doplňková metoda při biologických testech a díky ní můžeme studovat morfologické změny povrchu polymerů. Bohužel vzhledem k situaci a nedostatku času nebyla tato metoda využita.

5.1.3 Vizualní hodnocení vzorků PHB s modifikátory po hydrolyze

K vizuálnímu hodnocení připravených fólií došlo po vysušení vzorku na konstantní hmotnost. Porovnával se vzorek po 5 dnech expozice a po 71 dnech expozice.

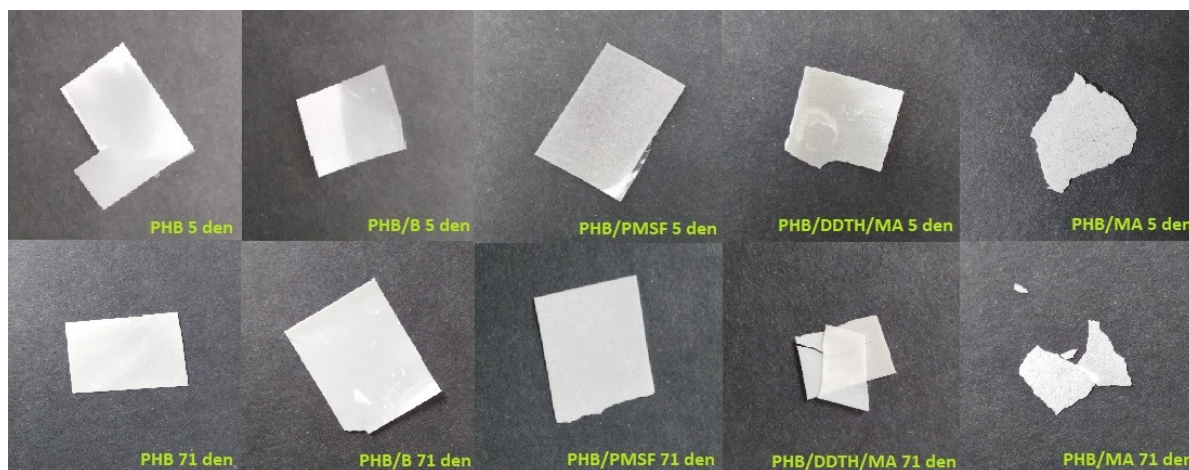
Na obrázku 8 se nachází snímky vzorků fólií PHB pořízené za účelem vizuálního zhodnocení postupu hydrolyzy. Zde bych ráda podotkla, že při použití jiného fotoaparátu, popř. skenovací elektronové mikroskopie (SEM) by snímky více vypovídaly o stavu vzorků po hydrolyze. Z vizuálního posouzení jednotlivých vzorků lze usoudit, že nedošlo k žádné viditelné změně ani křehnutí u vzorku PHB, čemuž odpovídají i hmotnostní úbytky vzorku. Lze se tedy říci, že PHB není v abiotickému prostředí při pH 7,2, teplotě 58 °C za 71 dní viditelně degradovatelné.

Na obrázku 8 je zřejmé, že nejvíce degradoval vzorek fólie PHB s 5 % malein anhydridu. Již po 5 dnech hydrolyzy došlo k jeho křehnutí a rozpadání se na malé části. S postupem hydrolyzy bylo možné pozorovat postupné řidnutí fólie a další rozpad.

Dalším vzorkem, u něhož byla pouhým okem znatelná degradace hydrolyzou po 71 dnech, byl vzorek PHB s 5 % kyseliny benzoové, který se stával velmi křehkým, a docházelo u něj k lámání.

K lámání nebo drobení taktéž docházelo u vzorku PHB s 2,5 % DDTH a 2,5 % malein anhydridu již po 13 dnech expozice. Předpokládalo se, že DDTH by mohl sloužit v matrici PHB jako tzv. chain extendor a prodloužením řetězce PHB zpomalit jeho degradaci. Toto

ovšem nezabraňuje jeho křehnutí. Autoři Larranaga a Lizundia píší, že zvyšování flexibility řetězce polymeru, právě zvyšováním počtu alifatických skupin hlavního řetězce nebo alifatických postranních řetězců, vede ke snížení teploty skelného přechodu. (Larranaga *et* Lizundia, 2019) Právě to může mít za následek zvýšenou křehkost fólie s DDTH. U vzorku fólie PHB s 1 % PMSF byla zaznamenána pouze změna zbarvení do růžova (na fotografii nelze rozeznat).



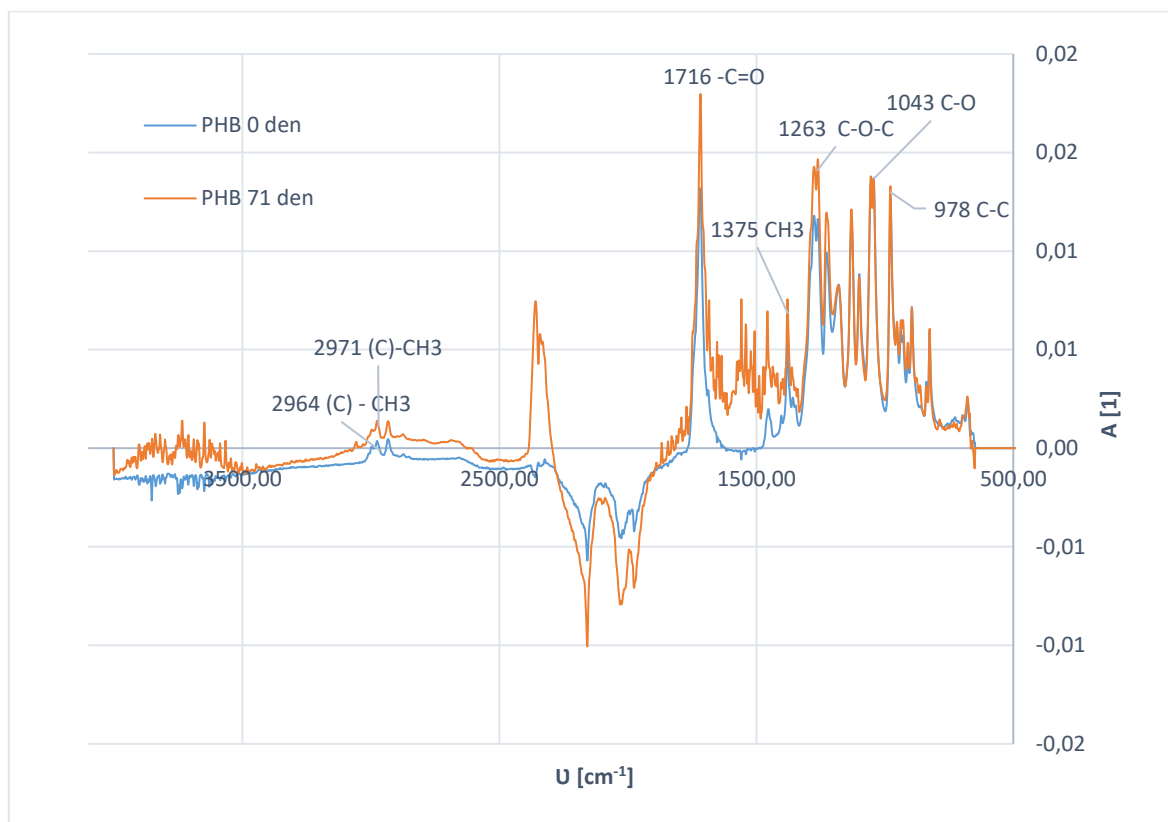
Obrázek 9 Vizuální srovnání vzorků fólií PHB po 5 a 71 dnech abiotické hydrolyzy

5.1.4 Analýza ATR-FTIR vzorků PHB s modifikátory po hydrolyze

Analýza ATR-FTIR byla provedena v rozsahu vlnočtu 4000 – 500 cm^{-1} . Pro zjištění změn absorbancí u vzorků fólií PHB s modifikátory byly použity vzorky fólií, ze kterých experiment vycházel, a tedy nezasažené hydrolyzou, označené jako nultý den (srovnávací vzorek) a 71. den, tedy před počátkem experimentu a konec experimentu.

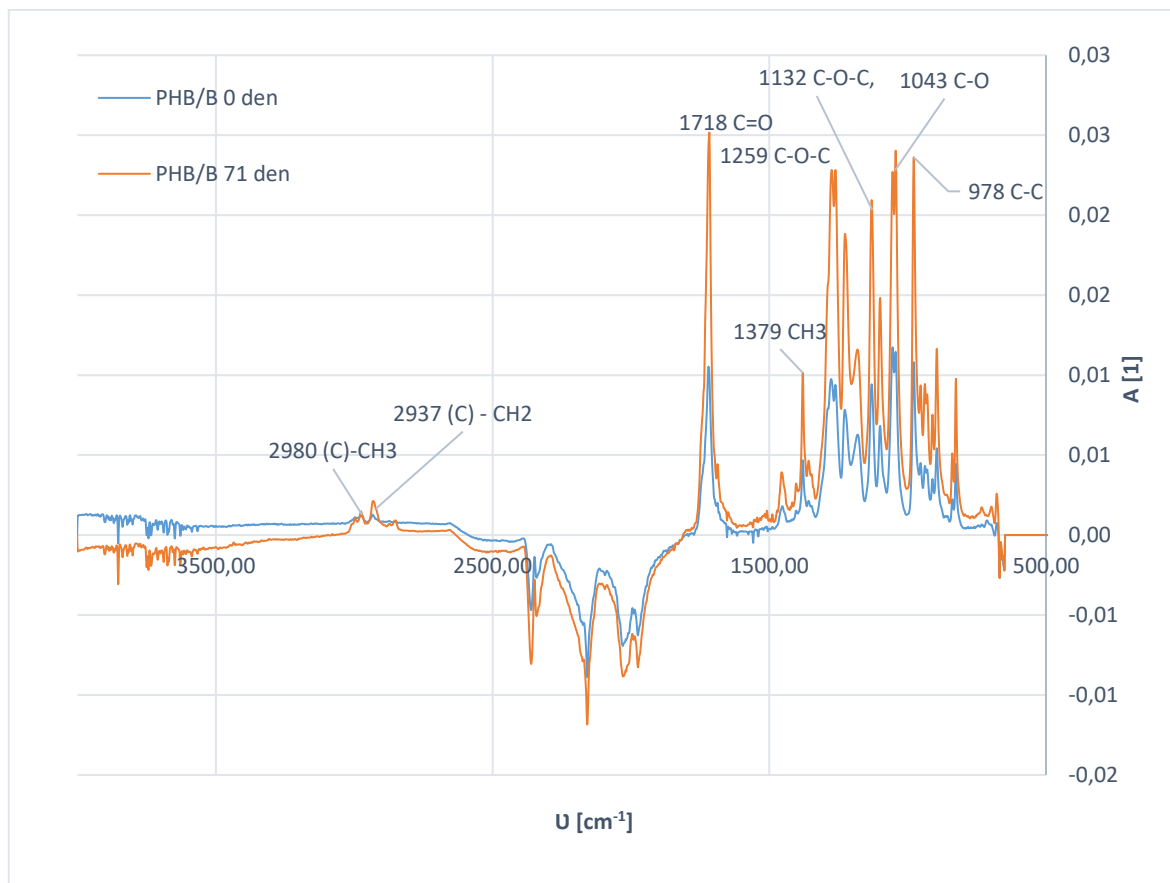
Obrázek 10 znázorňuje závislost absorbance na vlnočtu pro srovnávací vzorek čistého PHB nultý den a pro vzorek PHB po 71 dnech expozice. Dále jsou v tomto obrázku znázorněny jednotlivé funkční skupiny, kterým odpovídá daný pík o dané hodnotě vlnočtu. Slabé píky na 2964 cm^{-1} , 2971 cm^{-1} a vyšší pík na 1375 cm^{-1} označují přítomnost alkylové skupiny $-\text{CH}_3$ a $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}$. Prominentní píky na 1716 cm^{-1} a 1263 cm^{-1} označuje karbonylovou skupinu $\text{C}=\text{O}$ a asymetrickou $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ protažovanou vibraci charakteristickou pro esterovou vazbu v PHB molekule. Absorpční pásy kolem 1130 až 827 cm^{-1} naznačují $\text{C}-\text{O}$ a $\text{C}-\text{C}$ protažené vibrace. Slabý pás v rozmezí 3900 až 3565 cm^{-1} je připisován koncovým hydroxylovým skupinám. Tato interpretace jednotlivých pásů odpovídá nastudované literatuře (Pi *et al* (2016), Jirage *et al* (2016), Unsal *et al* (2015).

Ze zobrazených píků lze usuzovat, že nedocházelo k výraznějším změnám absorpce v závislosti na době expozice hydrolytické degradace.



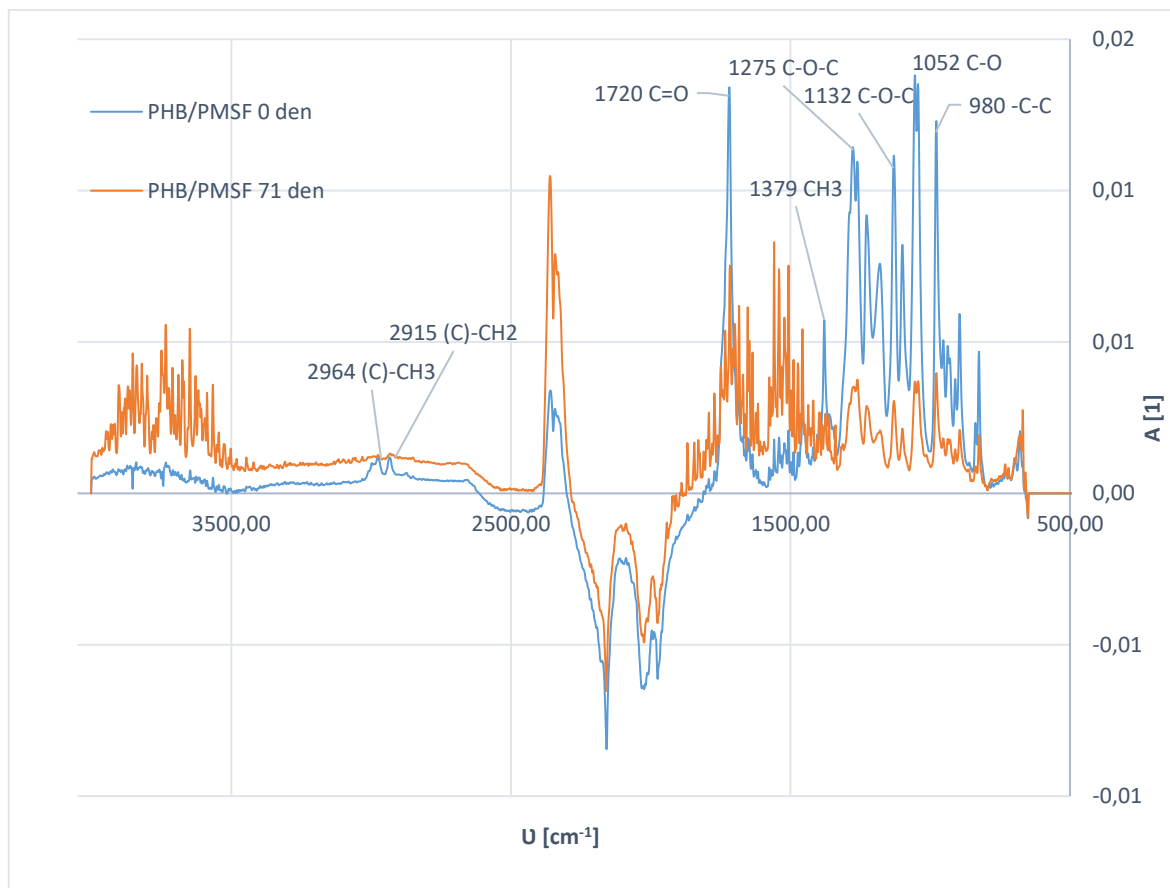
Obrázek 10 ATR – FTIR spektrum vzorku PHB před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C

Na obrázku 11 lze vidět spektra PHB s kyselinou benzoovou před expozicí a po 71 dnech expozice. Rozsah píků se příliš neliší od předchozí testované fólie PHB bez modifikátoru. Absorpční pásy získané při 1379, 2980 a 2937 cm^{-1} označují skupiny $-\text{CH}_3$ a $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}$. Taktéž píky 1718 cm^{-1} a 1259 cm^{-1} se neliší od předchozího a korespondují s esterovou karbonylovou skupinou $\text{C}=\text{O}$ a protahovaným vibracím $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ krystalických částí PHB. Také pík ve 1132 naznačuje nasycené estery a absorpční pás kolem 1043 až 978 nám ukazuje na protažení vazby $\text{C}-\text{O}$ a $\text{C}-\text{C}$ esterové skupiny. Rozmezí píků kolem absorpce 0 je takřka stejné jako u čistého PHB, můžeme se tedy domnívat, že přídavek modifikátoru i změny hmotnosti vzorku jsou tak nízké, že se na absorbancích nemohou projevit.



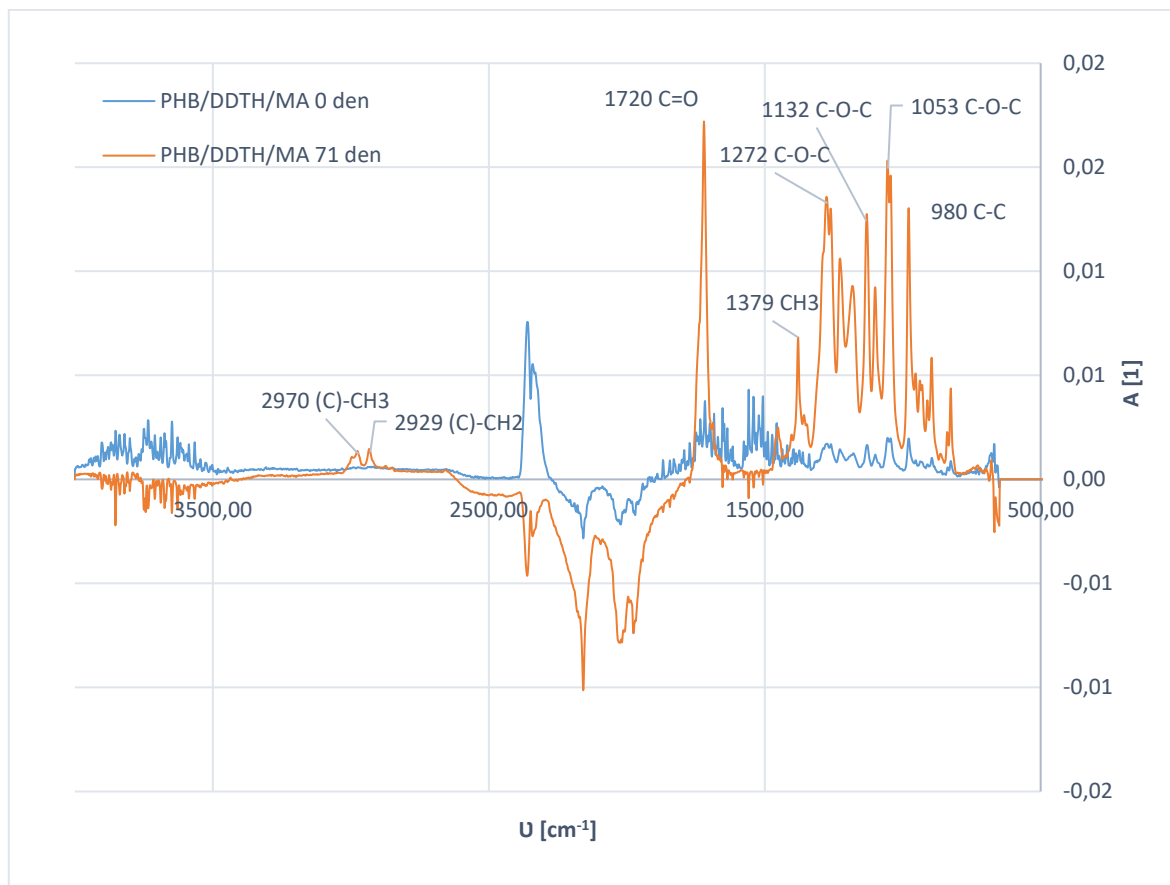
Obrázek 11 ATR -FTIR spektrum vzorku PHB s 5 % kyseliny benzoové před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C

Obrázek 12 zobrazuje závislost absorbance na vlnótu PHB s modifikátorem PMSF před expozicí a po 71 dnech expozice. I tyto závislosti absorbance na vlnótu odpovídají předchozím vzorkům fólií. Přídavek modifikátoru v tomto případě byl pouze 1%, z čehož usuzuji, že se toto množství nemohlo na rozložení píků projevit. Přes opakované měření vzorku se objevoval na výsledném zobrazení šum. Po 71 dnech se píky při 2964 cm^{-1} a 2915 cm^{-1} stávají málo znatelnými. Slabý pás v rozmezí 3900 až 3565 cm^{-1} zřejmě zobrazuje koncové hydroxylové skupiny. Fólie PHB s PMSF vykazovala pouze zanedbatelné procento úbytku materiálu, což odpovídá tomu, co vidíme i na tomto grafu.



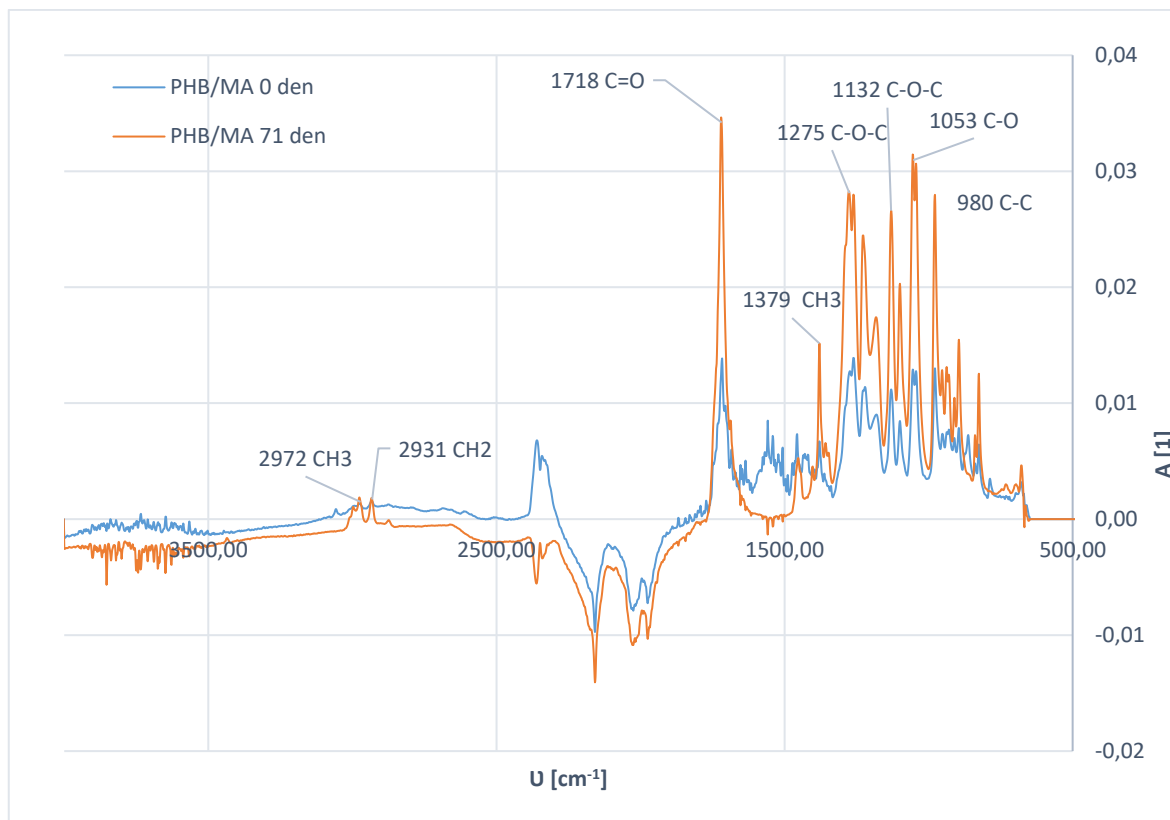
Obrázek 12 ATR – FTIR spektrum vzorku PHB s 1 % PMSF před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C

Obrázek 13 je výsledkem měření závislosti absorpce na vlnočtu PHB s přidavkem DDTH o 2,5 % a malein anhydridu o 2,5%. Absorpční pásy při 2970, 1379 a 2929 cm^{-1} opět označují základní funkční skupiny PHB, a to $-\text{CH}_3$ a $-\text{CH}_2$. Píky 1720 cm^{-1} a 1272 cm^{-1} opět korespondují s karbonylovou skupinou $\text{C}=\text{O}$ a $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ krystalických částí PHB. Také pík ve 1132 naznačuje nasycené estery a absorpční pás kolem 1043 až 978 cm^{-1} ukazuje na protažení vazby $\text{C}-\text{O}$ a $\text{C}-\text{C}$ esterové skupiny. Avšak změna se nachází v absorbancích fólie před hydrolyzou, píky jsou velmi nízké a je zde vidět značný šum. Nabízí se otázka, zda měření proběhlo správně, i když bylo opakovaně prováděno.



Obrázek 13 ATR – FTIR spektrum vzorku PHB s 2,5 % DDTH a 2,5 % malein anhydridu před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C

Poslední obrázek 14 ukazuje ATR-FTIR spektrum fólie PHB s 5 % malein anhydridu. Toto měření závislosti absorpance na vlnótu PHB s MA se taktěž od předchozího příliš neliší. Pík kolem 2300 cm^{-1} pravděpodobně ukazuje na CO_2 , jak v tomto grafu, tak i předchozích.



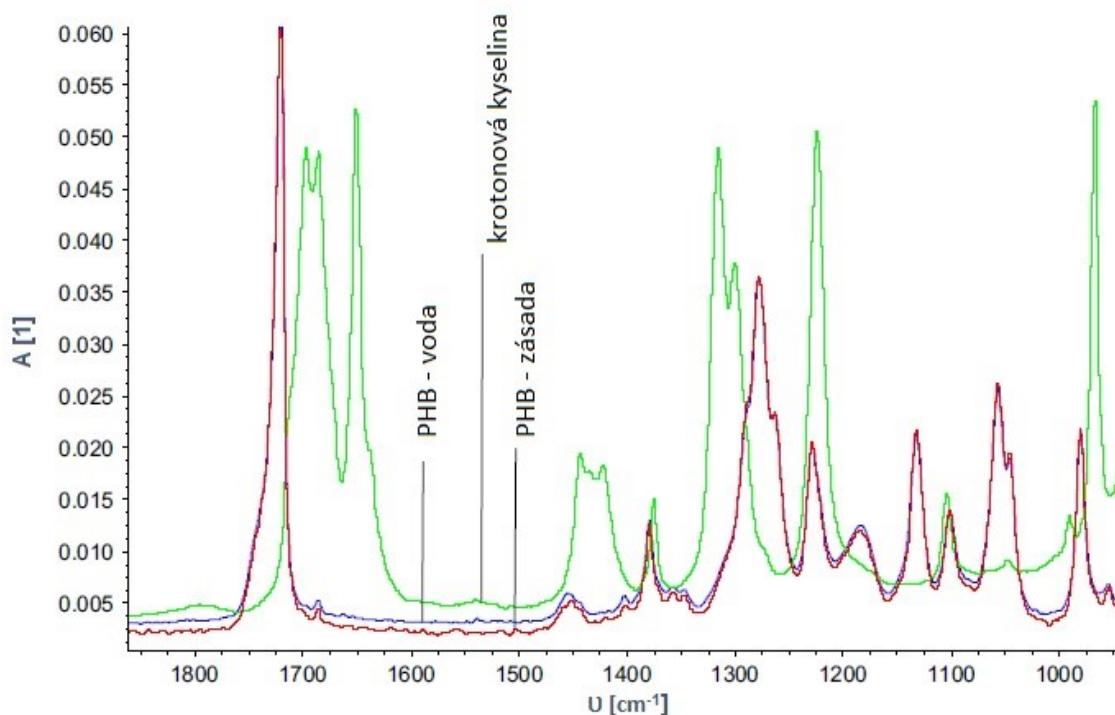
Obrázek 14 ATR – FTIR spektrum vzorku PHB s 5 % malein anhydridu před expozicí a po 71 dnech expozice při 58 °C

Při porovnání spekter ATR- FTIR s výše zmíněnou literaturou (Pi *et al* (2016), Jirage *et al* (2016), Unsal *et al* (2015)) lze usoudit, že množství modifikátoru ve všech případech je opravdu zanedbatelné, aby se projevilo na změnách pevnosti chemických vazeb a molekulové struktury vzorku po abiotické hydrolyze. Změny bychom pravděpodobně mohli zaznamenat po provedení gelové permeační chromatografie nebo diferenciální skenovací kalorimetrie, které nemohly být provedeny z objektivních důvodů. Ovšem je možné, že ani při těchto analýzách by se žádná změna neprojevila, protože PHB při abiotické hydrolyze téměř nedegraduje.

Pokud se zaměříme na funkční skupinu C=O, je zřejmé, že k poklesu absorbance došlo jen minimálně, což potvrzuje předpoklad, že vzorky PHB jsou rezistentní vůči abiotické hydrolytické degradaci.

Pro zajímavost přikládám srovnání s FTIR spektrem krotonové kyseliny a filmů z PHB podrobených hydrolyze ve vodě a zásaditém roztoku (2 N OH⁻) při 70°C po dobu 2 hodin, které je popisováno Jian Yu *et al* (2005) v jejich článku. Autoři udávají, že až 40 % hmotnosti filmu bylo rozloženo na 3HB a kyselinu krotonovou. Oproti tomu filmy, které

byly hydrolyzovány ve vodě, nevykazovaly žádné hydrolytické produkty (3HB a krotonovou kyselinu). Obrázek 15 nám ukazuje, že povrchy filmů nevykazují žádné rozdíly v infračervené oblasti, ale ukazují stejnou charakteristickou absorpci při protažení esterové vazby C=O při 1720 cm^{-1} a při protažení C-O esterové vazby při 1278 cm^{-1} . Pro srovnání C=O krotonové kyseliny je konjugováno s C=C ($\text{CH}_3\text{-CH=CH-COOH}$) a rezonanční účinek snižuje frekvenci absorpce karbonylu při 1654 cm^{-1} . (Yu *et al*, 2005)



Obrázek 15 FTIR spektrum kyseliny krotonové a PHB filmů ve vodě a v zásaditém roztoku (upraveno dle Yu *et al*, 2005)

Tato práce by mohla být prospěšná pro další experimenty a studie PHB a modifikátory. Potvrzení, že PHB abioticky nehydrolyzuje po více než 2 měsících, může být cennou informací pro další výzkum těchto materiálů probíhající na katedře. Podle mého názoru by bylo hodnotnější celý experiment zopakovat v delším časovém období (min. 1 rok) pro signifikantnější výsledky. Ovšem je zřejmé, že v abiotickém prostředí přírodní PHB degraduje velmi omezeně.

ZÁVĚR

Polyhydroxybutyrát je biodegradabilním materiálem, který má své přednosti i nedostatky při jeho zpracování. Jednou z jeho negativních vlastností je schopnost krystalizace, kdy se stává velmi křehkým a další je jeho poměrně rychlá biodegradabilita, která omezuje jeho použití pro praktické aplikace. Existují možnosti, které mohou tyto vlastnosti ovlivnit. Patří mezi ně i chemická modifikace polymerního řetězce přidávkem různých modifikátorů. Cílem této diplomové práce bylo vytvoření literární rešerše na téma polyhydroxybutyrátu a jeho vlastností a dále provedením abiotické hydrolýzy fólií PHB s modifikátory ve vodném pufovaném prostředí.

Poly(hydroxybutyrát) s přidávkem 5 % kyseliny benzoové nebo 1 % fenylmetansulfonyl fluoridu nebo 2,5 % 2,5-dimethyl-2,5-di-(tert -butylperoxy) hexanu a 2,5 % malein anhydridu anebo dále 5 % malein anhydridu ve formě fólií o tloušťce 100 μm byly podrobeny hydrolýze v prostředí fosfátového pufru o pH 7,2 při teplotě 58°C, která měla simulovat teplotu v průmyslovém kompostu, po dobu 71 dní. Stupeň hydrolýzy fólií byl vyhodnocen na základě analýzy rozpouštěného organického uhlíku uvolněného do vodného pufru. Současně byl zjišťován hmotnostní úbytek a vizuální změny fólií. Další provedenou analýzou byla ATR-FTIR za účelem posouzení změn funkčních skupin v polymeru. Další plánovanou analýzou byla DSC, za účelem posouzení teplotního chování vzorků při jejich postupném ochlazení a zahřívání. Tato analýza bohužel nemohla být provedena z důvodu uzavření fakulty z vládního nařízení v době pandemie COVID 19.

Po 71 dnech expozice čistého PHB bez přidavku modifikátoru bylo nedosaženo ani 1% hydrolytického stupně. U vzorku PHB s kyselinou benzoovou bylo dosaženo hydrolytického stupně okolo 4 %. Vzorek PHB s PMSF dosahoval nejvyššího stupně hydrolýzy po 30 dnech. Fólie PHB s DDTH/MA nedosáhla ani 3% hydrolytického stupně po 71 dnech. Vzorek PHB s malein anhydridem hydrolyzoval ze všech testovaných PHB fólií nejlépe. Již po 55 dnech expozice dosahoval stupeň hydrolýzy téměř 7 %. V některých případech nekorespondují stupně hydrolýzy stanovené dle nárůstu TOC v kapalně fázi s hmotnostními úbytky daných vzorků, což pravděpodobně způsobila chyba měření nebo nepřesnost přístroje.

Po analýze ATR – FTIR můžeme potvrdit, že nedochází k významným změnám v chemických strukturách daných vzorků. Dle poklesu či nárůstu absorbancí funkčních skupin jsme neodhalili žádnou změnu, která by mohla mít vliv na odbourání daných vzorků.

Tyto výsledky ukazují, že degradace probíhá pouze na povrchu filmu a chemické struktury se významně nemění. PHB i s modifikátory je díky své chemické struktuře vůči abiotické hydrolýze do jisté míry rezistentní.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AKARAONYE, Everest, Tajalli KESHAVARZ a Ipsita ROY. Production of polyhydroxyalkanoates: the future green materials of choice. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2010, **85**(6), 732-743. DOI: 10.1002/jctb.2392. ISSN 02682575. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jctb.2392>

AL HOSNI, Asma S., Jon K. PITTMAN a Geoffrey D. ROBSON. Microbial degradation of four biodegradable polymers in soil and compost demonstrating polycaprolactone as an ideal compostable plastic. *Waste Management*. 2019, **97**, 105-114. DOI: 10.1016/j.wasman.2019.07.042. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X19305124>

ANJUM, Anbreen, Mohammad ZUBER, Khalid Mahmood ZIA, Aqdas NOREEN, Muhammad Naveed ANJUM a Shazia TABASUM. Microbial production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and its copolymers: A review of recent advancements. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, **89**, 161-174. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.069. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016303774>

BABU, Ramesh P, Kevin O'CONNOR a Ramakrishna SEERAM. Current progress on bio-based polymers and their future trends. *Progress in Biomaterials*. 2013, **2**(1). DOI: 10.1186/2194-0517-2-8. ISSN 2194-0517. Dostupné z: <http://www.progressbiomaterials.com/content/2/1/8>

BENN, Nicholas a Daniel ZITOMER. Pretreatment and Anaerobic Co-digestion of Selected PHB and PLA Bioplastics. *Frontiers in Environmental Science*. 2018, **5**. DOI: 10.3389/fenvs.2017.00093. ISSN 2296-665X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fenvs.2017.00093/full>

DARIŠ, Barbara a Željko KNEZ. Poly(3-hydroxybutyrate): Promising biomaterial for bone tissue engineering. *Acta Pharmaceutica*. 2020, **70**(1), 1-15. DOI: 10.2478/acph-2020-0007. ISSN 1846-9558. Dostupné z: <https://content.sciendo.com/view/journals/acph/70/1/article-pl.xml>

DOI, Yoshiharu, Youko KANESAWA, Yasushi KAWAGUCHI a Masao KUNIOKA. Hydrolytic degradation of microbial poly(hydroxyalkanoates). *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications*. **10**(5), 227-230. DOI:

10.1002/marc.1989.030100506. ISSN 01732803. Dostupné z:
<http://doi.wiley.com/10.1002/marc.1989.030100506>

EL-HADI, Ahmed M., Rainer SCHNABEL, Ekkehard STRAUBE, Gert MÜLLER a Sven HENNING. Correlation between degree of crystallinity, morphology, glass temperature, mechanical properties and biodegradation of poly (3-hydroxyalkanoate) PHAs and their blends. *Polymer Testing*. 2002, **21**(6), 665-674. DOI: 10.1016/S0142-9418(01)00142-8. ISSN 01429418. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142941801001428>

EUBELER, Jan P., Marco BERNHARD a Thomas P. KNEPPER. Environmental biodegradation of synthetic polymers II. Biodegradation of different polymer groups. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2010, **29**(1), 84-100. DOI: 10.1016/j.trac.2009.09.005. ISSN 01659936. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993609002052>

EUBELER, Jan P., Sabine ZOK, Marco BERNHARD a Thomas P. KNEPPER. Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2009, **28**(9), 1057-1072. DOI: 10.1016/j.trac.2009.06.007. ISSN 01659936. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016599360900137X>

EUROPEAN BIOPLASTICS, © 2019. Biodegradable plastics. *European-bioplastics.org*. [online]. [cit. 2019-12-09]. Dostupné z:
<https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/materials/biodegradable/>

HAIDER, Tobias P., Carolin VÖLKER, Johanna KRAMM, Katharina LANDFESTER a Frederik R. WURM. *Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society*. *Angewandte Chemie International Edition*. 2019, **58**(1) DOI: 10.1002/anie.201805766. ISSN 14337851. Dostupné z:
<http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201805766>

CHEN, Cheng, Shuwen PENG, Bin FEI, Yugang ZHUANG, Lisong DONG, Zhiliu FENG, Shan CHEN a Hongmei XIA. Synthesis and characterization of maleated poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of Applied Polymer Science*. 2003, **88**(3), 659-668. DOI: 10.1002/app.11771. ISSN 0021-8995. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.11771>

CHINAGLIA, Selene, Maurizio TOSIN a Francesco DEGLI-INNOCENTI. Biodegradation rate of biodegradable plastics at molecular level. *Polymer Degradation and Stability*.

2018, **147**, 237-244. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2017.12.011. ISSN 01413910. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141391017303816>

CHOI, Jae Shin a Won Ho PARK. Effect of biodegradable plasticizers on thermal and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Testing*. 2004, **23**(4), 455-460. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2003.09.005. ISSN 01429418. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014294180300120X>

JAMES, Gordon T. Inactivation of the protease inhibitor phenylmethylsulfonyl fluoride in buffers. *Analytical Biochemistry*. 1978, **86**(2), 574-579. DOI: 10.1016/0003-2697(78)90784-4. ISSN 00032697. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003269778907844>

JIRAGE, Akshay, Khyyam SHAIKH, Kate VAISHALI a Santosh PAYGHAN. Potential screening of butyrate type of polymer obtained from *Alcaligenes latus*. *International Journal of Green Pharmacy*. 2016, **10**(4), 268-277. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/316987865> Potential screening of butyrate type of polymer obtained from *Alcaligenes latus*

KHANNA, Shilpi a Ashok K. SRIVASTAVA. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochemistry*. 2005, **40**(2), 607-619. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.01.053. ISSN 13595113. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032959204000949>

KOUTNÝ, Marek. *Biodegradace polymerů a polymerních materiálů: Biodegradation of polymers and polymeric materials: teze přednášky k profesorskému jmenovacímu řízení v oboru Chemie a technologie životního prostředí*. Brno: VUTIUM, 2014. ISBN 978-80-214-5085-1.

KROISOVÁ, Dora. *Biodegradovatelné polymery – úvod do problematiky*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009. ISBN 978-80-7372-468-9.

KUČERA, František, Josef PETRUŠ a Josef JANČÁŘ. The structure-hydrolysis relationship of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Testing* [online]. 2019, **80** [cit. 2020-05-09]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2019.106095. ISSN 01429418. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142941819309237>

LARRAÑAGA, Aitor a Erlantz LIZUNDIA. A review on the thermomechanical properties and biodegradation behaviour of polyesters. *European Polymer Journal*. 2019, **121**. DOI:

10.1016/j.eurpolymj.2019.109296. ISSN 00143057. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305719311978>

LAYCOCK, Bronwyn, Melissa NIKOLIĆ, John M. COLWELL, Emilie GAUTHIER, Peter HALLEY, Steven BOTTLE a Graeme GEORGE. Lifetime prediction of biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*. 2017, **71**, 144-189. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2017.02.004. ISSN 00796700. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670017300540>

LENZ, Robert W. a Robert H. MARCHESSAULT. Bacterial Polyesters: Biosynthesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. *Biomacromolecules*. 2005, **6**(1), 1-8. DOI: 10.1021/bm049700c. ISSN 1525-7797. Dostupné z:
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm049700c>

LUCAS, Nathalie, Christophe BIENAIME, Christian BELLOY, Michèle QUENEUDEC, Françoise SILVESTRE a José-Edmundo NAVA-SAUCEDO. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. *Chemosphere*. 2008, **73**(4), 429-442. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.064. ISSN 00456535. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653508008333>

MEKONNEN, Tizazu, Paolo MUSSONE, Hamdy KHALIL a David BRESSLER. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *Journal of Materials Chemistry A*. 2013, **1**(43). DOI: 10.1039/c3ta12555f. ISSN 2050-7488. Dostupné z:
<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ta12555f>

MIKOVÁ, Gizela a Ivan CHODÁK. VLASTNOSTI A MODIFIKÁCIA POLY (3-HYDROXYBUTYRÁTU). *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2006. ISSN 0009-2770. Dostupné z: http://www.chemickelisty.cz/docs/full/2006_12_1075-1083.pdf

MOHRMANN, Pavel. Ach ty statistiky: Produkce a odpady z plastů. In: *Průmyslová ekologie.cz* [online]. 5.6.2018. Dostupné z:
<https://www.prumyslovaekologie.cz/transfer.asp?aspxerrorpath=/Dokument/104079/ach-ty-statistiky-produkce-a-odpady-z-plastu.aspx>

MUTHURAJ, Rajendran, Manjusri MISRA a Amar Kumar MOHANTY. Biodegradable compatibilized polymer blends for packaging applications: A literature review. *Journal of Applied Polymer Science*. 2017, **135**(24) DOI: 10.1002/app.45726. ISSN 0021-8995

PANAITESCU, Denis Mihaela, Cristian Andi NICOLAE, Adriana Nicoleta FRONE, Ioana CHIULAN, Paul Octavian STANESCU, Constantin DRAGHICI, Michaela IORGA a Mona MIHAILESCU. Plasticized poly(3-hydroxybutyrate) with improved melt processing and balanced properties. *Journal of Applied Polymer Science*. 2017, **134**(19). DOI: 10.1002/app.44810. ISSN 00218995. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.44810>

PI, Fuwei, Jiping WANG, Nattaporn SUTTIWIJITPUKDEE, Xing CHEN a Jianming ZHANG. Dependence of poly(3-hydroxybutyrate) crystal modifications on film thickness as revealed by reflection-absorption infrared spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*. 2016, **86**, 35-39. DOI: 10.1016/j.vibspec.2016.05.009. ISSN 09242031. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924203116300959>

POLYÁK, Péter, Dóra SZEMERSZKI, György VÖRÖS a Béla PUKÁNSZKY. Mechanism and kinetics of the hydrolytic degradation of amorphous poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Degradation and Stability*. 2017, 140, 1-8. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2017.03.021. ISSN 01413910. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141391017300824>, s. 1

POLYMERDATABASE, © 2015. Hydrolysis of condensation polymers. *Polymerdatabase.com*. [online]. [cit. 2019-12-01]. Dostupné z: <https://polymerdatabase.com/polymer%20chemistry/Hydrolysis.html>

PUBCHEM, © 2020. 2,5-Dimethyl-2,5-di-(tert-butylperoxy) hexane *Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov*. [online]. [cit. 2020-04-26]. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_5-Dimethyl-2_5-di-tert-butylperoxy_hexane

PUBCHEM, © 2020. Benzoic acid. *Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov*. [online]. [cit. 2020-04-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzoic-acid>

PUBCHEM, © 2020. Maleic anhydride. *Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov*. [online]. [cit. 2020-04-26]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7923>

RAZA, Zulfiqar Ali, Shahina RIAZ a Ibrahim M. BANAT. Polyhydroxyalkanoates: Properties and chemical modification approaches for their functionalization. *Biotechnology Progress*. 2018, **34**(1), 29-41. DOI: 10.1002/btpr.2565. ISSN 87567938. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/btpr.2565>

REDDY, C.S.K, R GHAI, RASHMI a V.C KALIA. Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology*. 2003, **87**(2), 137-146. DOI: 10.1016/S0960-8524(02)00212-2. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852402002122>

RIVERA-BRISO, Ariagna, Ángel SERRANO-AROCA. Poly (3 – Hydroxybutyrate-co-3-Hydroxyvalerate): Enhancement Strategies for Advanced Applications. *Polymers*. 2018, **10**(7). DOI: 10.3390/polym10070732. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/10/7/732>

SALOMEZ, Mélanie, Matthieu GEORGE, Pascale FABRE, François TOUCHALEAUME, Guy CESAR, Anaïs LAJARRIGE a Emmanuelle GASTALDI. A comparative study of degradation mechanisms of PHBV and PBSA under laboratory-scale composting conditions. *Polymer Degradation and Stability*. 2019, **167**, 102-113. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2019.06.025. ISSN 01413910. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141391019302289>

SEOANE, Irene Teresita, Liliana Beatriz MANFREDI a Viviana Paola CYRAS. Effect of two different plasticizers on the properties of poly(3-hydroxybutyrate) binary and ternary blends. *Journal of Applied Polymer Science*. 2018, **135**(12). DOI: 10.1002/app.46016. ISSN 00218995. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.46016>

SHAH, Aamer Ali, Fariha HASAN, Abdul HAMEED a Safia AHMED. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*. 2008, **26**(3), 246-265. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.12.005. ISSN 07349750. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975008000141>

SONG, J. H., R. J. MURPHY, R. NARAYAN a G. B. H. DAVIES. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009, **364**(1526), 2127-2139. DOI: 10.1098/rstb.2008.0289. ISSN 0962-8436. Dostupné z: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2008.0289>

STOY, Artur. *Úvod do makromolekulární chemie*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1973. Řada chemické literatury.

THAKUR, Sourbh, Jyoti CHAUDHARY, Bhawna SHARMA, Ankit VERMA, Sigitas TAMULEVICIUS a Vijay Kumar THAKUR. Sustainability of bioplastics: Opportunities and challenges. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2018, **13**, 68-75.

DOI: 10.1016/j.cogsc.2018.04.013. ISSN 24522236. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452223618300233>

TOKIWA, Yutaka, Buenaventurada CALABIA, Charles UGWU a Seiichi AIBA. Biodegradability of Plastics. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009, **10**(9), 3722-3742. DOI: 10.3390/ijms10093722. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/10/9/3722>

UNSAL, Yunus Emre, Mustafa SOYLAK, Mustafa TUZEN a Baki HAZER. Determination of Lead, Copper, and Iron in Cosmetics, Water, Soil, and Food Using Polyhydroxybutyrate-B-polydimethyl Siloxane Preconcentration and Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Letters*. 2015, **48**(7), 1163-1179. DOI: 10.1080/00032719.2014.971365. ISSN 0003-2719. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032719.2014.971365>

URTUVIA, Viviana, Pamela VILLEGAS, Myriam GONZÁLEZ a Michael SEEGER. Bacterial production of the biodegradable plastics polyhydroxyalkanoates. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, **70**, 208-213. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.06.001. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813014003845>

VESELÝ, Karel, 1992. *Polymery: struktura, syntézy, vlastnosti, zpracování*. Brno: ČSPCH. ISBN 80-02-00951-7.

VU, Danh H., Dan ÅKESSON, Mohammad J. TAHERZADEH a Jorge A. FERREIRA. Recycling strategies for polyhydroxyalkanoate-based waste materials: An overview. *Bioresource Technology*. 2020, **298**. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122393. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419316232>

WINNACKER, Malte. Polyhydroxyalkanoates: Recent Advances in Their Synthesis and Applications. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2019, **121**(11) [cit. 2020-03-24]. DOI: 10.1002/ejlt.201900101. ISSN 1438-7697. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejlt.201900101>

YU, Jian, David PLACKETT a Lilian X.L. CHEN. Kinetics and mechanism of the monomeric products from abiotic hydrolysis of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] under acidic and alkaline conditions. *Polymer Degradation and Stability*. 2005, **89**(2), 289-299. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.026. ISSN 01413910. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141391005000558>

ZÁMORSKÝ, Zdeněk, 1978. *Nauka o polymerech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně.

ZASPALOVÁ, Jana. *Polymery kolem nás: vzdělávací modul chemie: výukový a metodický text: Přírodní vědy a matematika na středních školách v Praze: aktivně, aktuálně a s aplikacemi – projekt OPPA*. Praha: P3K, 2012. ISBN 978-80-87186-76-3.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Da	Dalton, jednotka molekulové hmotnosti
DBS	dibutylsebakát
DOS	dioktylsebakát
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GPa	giga pascal, jednotka tlaku
HA	hydroxylová kyselina
HB	hydroxybutyrátu
HEMA	2-hydroxyethylmethaakrylátu
HV	hydroxyvalerát
L5003	Lapro 15003
L503	Lapro 1503
LCA	Life cycle assessment = posuzování životního cyklu
MA	malein anhydrid
mcl	medium chain lenght
MMA	methylmethaakrylát
P3HDD	poly(3-hydroxydodekanoát)
P3HO	poly(3-hydroxyoktanoát)
PBAT	butylenadipát tereftalát
PBS	polybutylensukcinát
PBSA	polybutyleadipát
PBST	polybutylensukcinát tereftalát
PBT	polybutylentereftalát
PCC	polypropylenkarbonát
PCL	polykaprolakton
PE	polyethylen

PEG	polyethylenglykol
PET	polyethylentereftalát
PGA	kyselina poly(glykolová)
PHA	polyhydroxyalkonáty
PHB	polyhydroxybutyrát
PHH	polyhydroxyhexanoát
PHV	polyhydroxyvalerát
PIB	polyisobutylen
PLA	kyselina poly(mléčná)
PP	polypropylen
PTMAT	polytetramythylenadipát tereftalát
PVA	polyvinylalkohol
PVC	polyvinylchlorid
scl	short chain lenght
T _g	teplota skelného přechodu
UV	ultrafialový

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 <i>Celosvětová výroba biologicky rozložitelných plastů v roce 2017</i>	11
Obrázek 2 <i>Schématické zobrazení biodegradace</i>	15
Obrázek 3 <i>Klasifikace plastů</i>	23
Obrázek 4 <i>Chemická struktura polyhydroxyalkonátů</i>	24
Obrázek 5 <i>Chemická struktura PHB</i>	28
Obrázek 6 <i>Základní schéma hydrolýzy PHB</i>	33
Obrázek 7 <i>Základní mechanismus roubování</i>	41
Obrázek 8 <i>Stupeň hydrolýzy jednotlivých vzorků PHB s modifikátory v závislosti na době trvání hydrolýzy</i>	55
Obrázek 9 <i>Vizuální srovnání vzorků fólií PHB po 5 a 71 dnech abiotické hydrolýzy</i>	58
Obrázek 10 <i>ATR – FTIR spektrum vzorku PHB před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C</i>	59
Obrázek 11 <i>ATR -FTIR spektrum vzorku PHB s 5 % kyseliny benzoové před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C</i>	60
Obrázek 12 <i>ATR – FTIR spektrum vzorku PHB s 1 % PMSF před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C</i>	61
Obrázek 13 <i>ATR – FTIR spektrum vzorku PHB s 2,5 % DDTH a 2,5 % malein anhydridu před expozicí a po 71 dnech expozice při teplotě 58 °C</i>	62
Obrázek 14 <i>ATR – FTIR spektrum vzorku PHB s 5 % malein anhydridu před expozicí a po 71 dnech expozice při 58 °C</i>	63
Obrázek 15 <i>FTIR spektrum kyseliny krotonové a PHB filmů ve vodě a v zásaditém roztoku</i>	64

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 <i>Biodegradace vybraných polymerů</i>	20
Tabulka 2 <i>Biodegradabilní polyestery</i>	22
Tabulka 3 <i>Strukturální vzorce monomerů PHA s krátkým řetězcem</i>	26
Tabulka 4 <i>Porovnání fyzikálních vlastností vybraných polymerů</i>	30
Tabulka 5 <i>Vlastnosti a funkce poly (3-hydroxybutyrátu), P (3HB)</i>	31
Tabulka 6 <i>Přehled použitých modifikátorů</i>	45
Tabulka 7 <i>Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB během abiotické hydrolýzy v čase</i>	51
Tabulka 8 <i>Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB/B</i>	52
Tabulka 9 <i>Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB/PMSF</i>	53
Tabulka 10 <i>Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB s DDTH a malein anhydridem</i>	53
Tabulka 11 <i>Stanovení úbytku hmotnosti fólie PHB s malein anhydridem</i>	54
Tabulka 12 <i>Porovnání stupňů hydrolýzy PHB s modifikátory během 71 dní</i>	56

