

# Testování biodegradace směsí poly- $\epsilon$ -kaprolaktonu se škroby v anaerobním vodném prostředí

Bc. Ivana Požárová

---

Diplomová práce  
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

akademický rok: 2008/2009

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ivana POŽÁROVÁ**

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

Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Téma práce: **Testování biodegradace směsí poly( $\epsilon$ )caprolactonu se škroby v anaerobním vodném prostředí**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární rešerši týkající se biologické rozložitelnosti syntetického polyesteru poly( $\epsilon$ )-caprolactonu (PCL) a jeho směsí s přírodními biopolymery v anaerobním vodném prostředí.
2. Proveďte testy biologické rozložitelnosti vzorků směsí na bázi poly( $\epsilon$ )-caprolactonu (PCL) v anaerobním vodném prostředí sledováním produkce methanu a oxidu uhličitého plynovou chromatografií a úbytkem hmotnosti vzorků, popř. proveďte tahové zkoušky po ukončení testu.
3. Získané výsledky přehledně zpracujte a diplomovou práci odevzdejte v písemné i elektronické formě v požadovaném termínu.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

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

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.**

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

**9. února 2009**

Termín odevzdání diplomové práce:

**15. května 2009**

Ve Zlíně dne 10. února 2009



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



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



## ABSTRAKT

V této práci byla testována biologická rozložitelnost vzorků tří druhů směsí ve vodném anaerobním prostředí. Jednalo se o směsi PCL s nativními škroby (Meritena 100, Waxy, Gel instant, Amarant), dále o směsi PCL s těmito škroby v plastifikované formě (jako plastifikační činidlo byl použit glycerol) a poslední byla směs PCL, PHB a triacetinu. Byla porovnávána biorozložitelnost vzorků ve formě tělísek a prášku. Anaerobní degradace byla sledována na základě množství methanu a oxidu uhličitého v produkovaném bioplynu metodou plynové chromatografie. Byl sledován také úbytek hmotnosti vzorků a změna jejich mechanických vlastností po rozkladu.

Testované směsi se škroby obsahovaly cca 30 hmot% biodegradabilních složek (škroby, plastifikované škroby), směsi PCL s PHB a triacetinem obsahovaly 13 – 26,5% těchto přísad. U všech vzorků bylo prokázáno, že dosažený stupeň odstranění substrátu odpovídal procentuálnímu obsahu snadno rozložitelných složek směsi. Nejmenší anaerobní rozložitelnost vykazoval samotný PCL a to pouhá 2% za cca 1200 hodin. Degradace vzorků směsí s nativními škroby proběhla od 5 – 10%. Lepší degradaci vykazovaly vzorky s plastifikovanými škroby a to kolem 30% (s výjimkou vzorku se škrobem Meritena 100 – ten pouze cca 13%). Směsi PCL s PHB a triacetinem se rozkládaly v závislosti na obsahu lehce rozložitelných přísad. Směsi s 26,5% PHB a triacetinu byly rozloženy z 21% za 1200 hodin, kdežto u směsí s polovičním obsahem těchto složek proběhl rozklad jen z 8%. Předpoklad, že vzorky ve formě prášku se budou degradovat lépe než vzorky ve formě tělísek, se nepotvrdil.

**Klíčová slova:** Poly- $\epsilon$ -kaprolakton, poly- $\beta$ -hydroxybutyrát, škrob, glycerol, biodegradace, anaerobní rozklad

## ABSTRACT

In this work was tested the biological dissolubility of the samples of three kind of the blends in water anaerobic environment. There was negotiated about the blends of PCL with native starches (Meritena 100, Waxy, Gel instant, Amaranth), next about the blends of PCL with this starches in a plastic form (as plasticizer was applied glycerol) and last was the blend of PCL, PHB and triacetine. A biodissolubility of the samples in the form of the corpuscles and a powder was compared. The anaerobic degradation was observed on the base

of quantity of methane and carbon dioxide in produced biomass by method of gas chromatography. There were observed also a decrease of the weight of the samples and change of their mechanical properties after decomposition.

Tested blends with the starches contained about 30 weight% biodegradable components (starches, plasticated starches), the blends of PCL with PHB and triacetin contained 13 – 26% of these ingredients. In every sample was demonstrated, that adjusted level of removing of the substrate corresponded to percentage content of easily degradable components of the blend. The lowest anaerobic dissolubility demonstrated alone PCL, only 2% during about 1200 hours. Degradation of the samples of the blends with native starches was from 5 – 10%. Better degradation showed the samples with plasticated starches, it was about 30% (with the exception of the sample with the starch Meritena 100 – this only about 13%). The blends PCL with PHB and triacetin was decomposing in dependence on the content of easily degradable ingredients. The blends with 26,5% PHB and triacetin was decomposed from 21% during 1200 hours, whereas the blends with half content of these components were decomposed only from 8%. Presumption, that the samples in the form of the powder will be degraded better than the samples in the form of the corpuscles wasn't confirmed.

**Keywords:** Poly- $\epsilon$ -caprolacton, poly- $\beta$ -hydroxybutyrát, starch, glycerol, biodegradation, anaerobic degradation

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí mé diplomové práce paní Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D. a také Ing. Jitce Hubáčkové za cenné rady, připomínky, konzultace a odborné vedení při realizaci mé diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat pracovníkům Ústavu ochrany životního prostředí za projevenou ochotu a pomoc při práci na této diplomové práci, zejména laborantkám paní Dagmar Libosvárové a paní Danuši Smejkalové za rady a pomoc při práci v laboratoři.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být nakládáno podle uvážení vedoucího diplomové práce a vedoucího ústavu. V případě publikace budu uvedena jako spoluautor.

Ve Zlíně, dne 15. 5. 2009

.....

Ivana Požárová

## OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>9</b>
<b>1 BIODEGRADACE</b> .....	<b>10</b>
1.1    FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ BIOLOGICKOU ROZLOŽITELNOST SUBSTRÁTU .....	10
1.2    ANAEROBNÍ DEGRADACE .....	11
1.2.1    Stadia anaerobního rozkladu .....	11
1.2.2    Faktory ovlivňující anaerobní proces .....	12
1.2.3    Mikroorganismy uplatňující se při anaerobním rozkladu .....	12
<b>2 BIODEGRADABILNÍ PLASTY</b> .....	<b>14</b>
2.1    POLY-B-HYDROXYBUTYRÁT (PHB).....	14
2.2    POLY-E-KAPROLAKTON (PCL) .....	15
2.3    POUŽÍVANÉ PŘÍSAKY .....	15
2.3.1    Škrob .....	15
2.3.2    Modifikované škroby .....	17
2.3.3    Směs PCL/škrob .....	17
2.4    BIODEGRADABILITA PCL, PHB A JEJICH SMĚSÍ .....	18
<b>II CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>24</b>
<b>III PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>26</b>
<b>3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁLY</b> .....	<b>27</b>
3.1    CHEMIKÁLIE .....	27
3.2    MINERÁLNÍ MÉDIUM.....	27
3.3    BIOLOGICKÝ MATERIÁL .....	28
3.4    TESTOVANÉ MATERIÁLY .....	28
3.4.1    Test 1 .....	28
3.4.2    Test 2 .....	30
3.5    POUŽITÉ PŘÍSTROJE .....	31
3.6    METODY STANOVENÍ.....	31
3.6.1    Stanovení sušiny.....	31
3.6.2    Stanovení celkového uhlíku .....	31
3.6.3    Stanovení anaerobního rozkladu .....	32
3.6.4    Hodnocení anaerobní degradace podle úbytku váhy testovaných tělísek.....	32
3.6.5    Hodnocení anaerobní degradace dle produkce CH <sub>4</sub> a CO <sub>2</sub> .....	32
3.6.6    Zpracování naměřených hodnot .....	33
<b>4 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>36</b>
4.1    TEST 1 .....	36
4.1.1    Hodnoty vstupních a výstupních veličin .....	38
4.1.2    Příprava vzorků .....	40
4.1.3    Vyhodnocení testu 1 .....	41

4.1.3.1	Zhodnocení biodegradace dle produkce bioplynu .....	42
4.1.3.2	Zhodnocení biodegradace dle úbytku hmotnosti vzorků .....	53
4.1.3.3	Zhodnocení změny mechanických vlastností vzorků po biodegradaci v anaerobním prostředí .....	56
4.1.3.4	Optická mikroskopie kalu .....	58
4.2	TEST 2 .....	60
4.2.1	Hodnoty vstupních a výstupních veličin .....	61
4.2.2	Vyhodnocení testu 2 .....	62
<b>ZÁVĚR .....</b>		<b>69</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>		<b>71</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>		<b>74</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>76</b>
<b>SEZNAM TABULEK .....</b>		<b>78</b>



## ÚVOD

Plasty jsou dnes široce využívány, nachází uplatnění nejčastěji jako obalový materiál, spotřební zboží apod. Výhody dané jejich vlastnostmi jsou však v mnoha případech zastíněny problémem při odstraňování odpadů z nich vznikajících. Jako odpad jsou syntetické plasty odolné povětrnostním vlivům i biologickým procesům. Proto je v současné době, při vývoji nových materiálů, důležité zohlednit jejich vliv na životní prostředí a to po celý životní cyklus výrobku. Od nových materiálů se obecně očekávají lepší vlastnosti a přijatelná cena. Stále více se také přihlíží na ekologickou nezávadnost, kvalitu materiálu a minimalizaci jeho negativního vlivu na životní prostředí v celém jeho životním cyklu, tzn. do výroby přes použití až po fázi, kdy se výrobek stane odpadem.

Jedním z řešení mohou být biodegradovatelné plasty (BDP). Jejich největší výhodou je to, že po splnění své funkce mohou být relativně bez problémů zlikvidovány biologickým rozkladem. Množství biodegradabilních plastů, které byly v minulých letech úspěšně vyvinuty, musí splňovat specifické požadavky pro použití v zemědělství a obalovém průmyslu. Nejrozsáhleji prostudované jsou plasty s uznávanou biodegradabilitou, poly(hydroxyalkanoáty) PHA, což jsou polymery přirozeně produkované bakteriemi. Nicméně je také důležité znát vlastnosti biodegradabilních alifatických syntetických polyesterů jako je poly( $\epsilon$ )kaprolakton (PCL) a polylaktid (PLA), aby mohly být rozšířeny jejich praktické aplikace. Díky limitovaným materiálovým vlastnostem alifatických polyesterů jsou vyvíjeny nové biodegradabilní alifaticko-aromatické kopolyestery a v poslední době zaváděny na trh pod obchodními názvy Ecoflex nebo Eastar Bio [5].

Nejvíce prozkoumány jsou biodegradabilních procesy v aerobním prostředí jako např. v povrchové vodě, půdě a kompostu. Oproti tomu, jen málo víme o anaerobní degradaci plastů, ačkoliv anaerobní digesce bioodpadů je z energetického hlediska velmi výhodná, protože se získává energeticky bohatý bioplyn. Hodně publikovaných studií zabývajících se anaerobní degradací plastů se zaměřuje na směsné nebo nespecifikované mikrobiální společenstva, která se nacházejí v anaerobním kalu nebo sedimentech. Tyto studie zhodnocují anaerobní biodegradaci polyhydroxyalkanoátů, PCL a PLA nebo škrobové a celulózoové estery [5].

Jelikož množství plastových výrobků je vyrobeno z polyesterů a odpady z nich se často ukládají na skládky, kde jsou vystaveny anaerobním podmínkám, je tato diplomová práce zaměřena na jejich anaerobní rozklad působením mikroorganismů anaerobního kalu.

# **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 BIODEGRADACE

Biodegradace je proces, při kterém jsou organické materiály napadány enzymy produkovanými živými organismy. Těmito organismy mohou být nejrůznější druhy bakterií, plísní a dalších mikroorganismů, které se uplatňují při biologickém rozkladu. Organické látky mohou být v biotickém prostředí rozkládány aerobně, v přítomnosti kyslíku, nebo anaerobně, bez kyslíku. Degradace přirozeně se vyskytujících organických látek probíhá samovolně pomocí mikroorganismů přítomných ve vodě, půdě, příp. čistírenském kalu. S vývojem nových organických materiálů se však řada těchto látek dostává do prostředí, kde je jejich rozklad podstatně pomalejší než v případě látek přirozených. Proto je důležité, aby se vývoj soustředil na materiály, jejichž biologická rozložitelnost je co nejrychlejší a probíhá do co nejvyššího stupně.

Rozlišujeme čtyři stupně rozkladu organického materiálu [1]:

- *Primární rozklad* – minimální rozklad spojený jen se změnou struktury sloučeniny
- *Částečný rozklad* – rozklad na jednodušší, biochemicky stabilní sloučeniny
- *Přijatelný rozklad* – rozkladem dochází k odstranění případných škodlivých vlastností organické látky (odstranění toxicity, pěnivosti apod.)
- *Úplný rozklad* – přeměna organických sloučenin na oxid uhličitý, vodu, amoniak, sírany a fosforečnany při aerobních pochodech, resp. methan, oxid uhličitý, vodík, amoniak, sulfid a fosforečnany při pochodech anaerobních.

## 1.1 Faktory ovlivňující biologickou rozložitelnost substrátu

Průběh biologického odbourávání organických látek a jeho rychlost ovlivňuje řada faktorů. Mezi nejvýznamnější patří koncentrace a chemická struktura rozkládané látky. Konkrétně se jedná o vliv délky řetězce (kratší řetězce jsou obecně lépe degradovatelné), přítomnosti vícenásobných vazeb a aromátů (polyaromatické sloučeniny jsou hůře rozložitelné než sloučeniny alifatické a monoaromatické), druh a počet substituentů (např. se zvyšující se halogenací molekul klesá biodegradabilita) a stereoisomerie. Dalšími důležitými faktory jsou druhové zastoupení a počet mikroorganismů (resp. koncentrace inokula) a adaptace mikroorganismů. Významný je také charakter prostředí: koncentrace kyslíku v aerobních podmínkách, pH prostředí a koncentrace biogenních prvků (je důležité dodržovat optimální poměr C : N : P = 100 : 10 : 1) [2].

## 1.2 Anaerobní degradace

Anaerobní rozklad látek probíhá díky působení směsné kultury mikroorganismů, které napadají biologicky rozložitelnou organickou hmotu bez přístupu kyslíku. Vznikající konečné produkty rozkladu jsou nová biomasa, bioplyn (oxid uhličitý, methan, vodík, dusík, sulfan) a nerozložitelný zbytek, který je již hygienicky nezávadný (tzv. stabilizovaná biomasa). Anaerobní pochody probíhají v říčních a mořských sedimentech, půdě, anaerobním kalu a dalších místech, kde není přítomen kyslík.

Anaerobní rozklad je tvořen souborem dílčích procesů, na kterých se podílejí specifické skupiny mikroorganismů.

### 1.2.1 Stadia anaerobního rozkladu

- I. **Hydrolyza** – makromolekulární látky jsou pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů rozkládány na menší celky, příp. až na monomery. Vznikající produkty (jednoduché cukry, aminokyseliny, mastné kyseliny) jsou již schopné transportu do buňky, kde podléhají dalšímu rozkladu.
- II. **Acidogeneze** – produkty hydrolyzy jsou rozkládány na jednodušší organické látky (kyseliny a alkoholy), vznikají také konečné redukované produkty – vodík, oxid uhličitý a amoniak.
- III. **Acetogeneze** – probíhá oxidace  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2$  na kyselinu octovou, která je důležitým substrátem pro tvorbu bioplynu v procesu methanogeneze. Jiné acetogenní mikroorganismy přeměňují kyseliny propionovou a máselnou na octovou. Konečnými produkty acetogeneze jsou vodík, kyselina octová a oxid uhličitý.
- IV. **Methanogeneze** – je konečným stupněm anaerobního rozkladu, kde dochází k methanovému kvašení. Methanogenní mikroorganismy produkují methan redukcí oxidu uhličitého, methanolu, kyseliny mravenčí a octové. V této fázi se mohou uplatňovat také desulfurikační a denitrifikační bakterie, které jako konečné akceptory elektronů využívají sírany a dusičnany. Avšak při jejich vyšších koncentracích může dojít až k inhibici methanogeneze [2].

### 1.2.2 Faktory ovlivňující anaerobní proces

Anaerobní rozklad je velmi citlivý vůči vnějším podmínkám, z nichž nevýznamnější jsou [2]:

- **Teplota** – anaerobní degradace může, s jistými problémy, probíhat při různých teplotách:
  - a. *Kryofilní* – při teplotách pod 6 °C; degradace se probíhá velmi pomalu nebo se úplně zastavuje
  - b. *Psychofilní* – probíhá v rozmezí teplot 7 – 27 °C; anaerobní vyhnívání probíhá bez dodávky tepla v přijatelném čase 2 – 3 měsíců
  - c. *Mezofilní* – při teplotách 27 – 40 °C; rozklad proběhne při zahřátí za 20 – 30 dnů
  - d. *Termofilní* – rozklad proběhne za intenzivního ohřevu (45 – 60 °C) během několika dnů (obvykle do dvou týdnů)

- **Hodnota pH**

Optimální pH prostředí pro anaerobní degradaci je neutrální, v rozmezí pH = 6,5 – 7,5. Nad a pod tímto intervalem je degradace silně inhibována.

- **Anorganické živiny**

Důležitá je přítomnost nutrientů (dusík, fosfor) a dalších biogenních prvků, nejčastěji ve formách:  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$ .

- **Inhibitory a toxické látky**

Přítomné striktně anaerobní bakterie jsou v aerobním prostředí silně inhibovány, kyslík působí až toxicky. Z dalších sloučenin působí toxicky těžké kovy, někt. soli síry, kyanidy, fenoly, pesticidy, rozpouštědla atd.

### 1.2.3 Mikroorganismy uplatňující se při anaerobním rozkladu

- **Hydrolytické a fermentační bakterie** – jedná se o mikroorganismy provádějící rozklad polymerního materiálu (celulóza, sacharidy, atd.) na menší molekuly (monomery) a následně fermentaci, při které se tvoří nižší mastné kyseliny (octová, máselná, propionová), ethanol aj. a jako vedlejší produkty  $\text{H}_2$  a  $\text{CO}_2$ . Typickými zástupci jsou např. rody *Bacillus* a *Clostridium* [3].

- **Acetogenní bakterie** – produkují převážně kyselinu octovou a to dvěma procesy:
  - 1) Kvasné bakterie tvoří kyselinu octovou rozkladem mastných kyselin (propionová, máselná), možný je též rozklad aromatických sloučenin.
  - 2) Homoacetogenní bakterie tvoří kyselinu octovou odnímáním vodíku a oxidu uhličitého z přítomného substrátu [3].

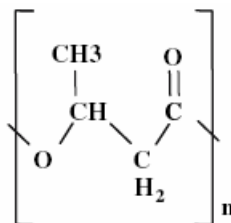
Zástupcem acetogenních bakterií je rod *Acetobacterium* [4].

- **Methanogenní mikroorganismy (Archaea)** – pomalu rostoucí, striktně anaerobní mikroorganismy mohou tvořit methan dvěma způsoby:
  - 1) Hydrogenotrofní druhy produkují methan z vodíku a oxidu uhličitého.
  - 2) Acetotrofní druhy produkují methan rozkladem kyseliny octové [3]

Zástupcem methanogenních mikroorganismů je např. rod *Methanosarcina* [4].

## 2 BIODEGRADABILNÍ PLASTY

### 2.1 Poly- $\beta$ -hydroxybutyrát (PHB)



Obr. 1: Poly- $\beta$ -hydroxybutyrát [10]

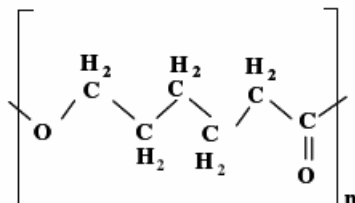
Polyhydroxybutyrát (viz obr. 1) je biodegradabilní termoplastický polyester produkovaný mikroorganismy jako např. *Alcaligenes eutrophus* nebo *Bacillus megaterium*. Je primárním produktem asimilace uhlíku a mikroorganismy jej využívají jak zásobu energie pro metabolismus, když už nejsou k dispozici ostatní zdroje energie. Polyhydroxybutyrát je netoxický, ve vodě nerozpustný polymer, relativně odolný vůči hydrolýze. Odolává UV záření, ale jen málo kyselinám a zásadám. Je rozpustný v chloroformu a ostatních chlorovaných uhlovodících. Je to biokompatibilní polymer a proto jej lze využívat v medicíně. Teplota tání PHB je 175 °C a teplota skelného přechodu 15 °C [6].

Mikrobiální biosyntéza PHB začíná kondenzací dvou molekul acetyl-koenzymu A, která dává acetoacetyl-koenzym A. Ten je následně redukován na hydroxybutyryl-koenzym A, který je použit jako monomer pro polymeraci PHB [6]. Průmyslově se PHB vyrábí fermentačním procesem v bioreaktorech.

Problémem rozšíření aplikací PHB je jeho fyzikální stárnutí a rychlá termická degradace v blízkosti jeho teploty tání, a také vysoká cena. Fyzikálně-chemické a mechanické vlastnosti PHB lze zlepšit jeho modifikací. Jednou z možností je chemická modifikace začleněním  $\epsilon$ -kaprolaktonových jednotek do struktury řetězců PHB [7]. V jiné práci [8] byla prováděna fyzikální modifikace PHB spočívající v přípravě směsí PHB s biologicky odbouratelným polymerem, poly(L-mléčnou kyselinou) (PLLA). Směsi PHB s nízkomolekulární PLLA vykazovaly jednu teplotu skelného přechodu, která závisela na složení směsi, tzn. že oba polymery jsou kompatibilní. V případě vysokomolekulární PLLA nelze jednoznačně říci, že směsi jsou kompatibilní.

PHB nachází díky své biokompatibilitě uplatnění v medicíně (implantáty, chirurgické nitě atd.) a farmacii. Uplatňuje se také jako obalový materiál, v textilním průmyslu atd.

## 2.2 Poly-ε-kaprolakton (PCL)



Obr. 2: Poly-ε-kaprolakton [10]

Poly-ε-kaprolakton (viz obr. 2) je biodegradabilní polyester s nízkou teplotou tání (okolo 60 °C) a teplotou skelného přechodu přibližně -60 °C. Je částečně krystalický se stupněm krystalinity okolo 50 % [9]. Jeho nízká teplotní stabilita je pravděpodobně největší nevýhodou, která jej vyřazuje z mnoha případných aplikací. PCL je rezistentní vůči vodě, olejům, rozpouštědlům i chloru. Vyrábí se chemickou syntézou z ropných olejů a to polymerací otevírající ε-kaprolaktonový kruh za použití katalyzátoru.

PCL je plně biodegradabilní v aerobním prostředí, v anaerobním prostředí je jeho degradace velmi pomalá a ovlivněna teplotou (při vyšší teplotě probíhá rychleji). Dle studie [10] je PCL degradován lipázami a esterázami. Mikrobiální degradace vysokomolekulárního PCL byla studována použitím druhu *Penicillium sp.* Téměř kompletní degradace PCL byla pozorována po 12 dnech a byla detekována nashromážděná kyselina ε-hydroxykapronová jako degradační produkt.

Používá se při výrobě lepidel, pryskyřic, termoplastických polyuretanů a syntetických kůží. Může sloužit také pro výrobu ortopedických dlah a vložek [20].

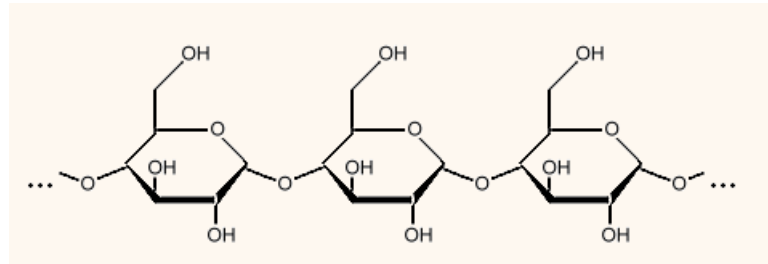
## 2.3 Používané přísady

### 2.3.1 Škrob

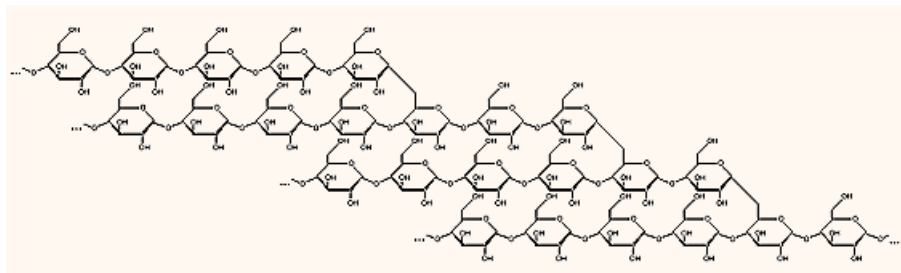
Škrob je nejdůležitějším produktem metabolismu rostlin. Je to makromolekulární látka, tvořená ze dvou rozdílných polysacharidů, amylozy (cca 20%) a amylopektinu (cca 80%), které jsou složené z několika tisíc molekul glukózy. Amylóza (viz obr.3) je lineární poly-



mer, který je tvořen několika sty glukózových molekul. Amylopektin (viz obr.4) tvoří rozvětvený polymer, sestávající z několika tisíc molekul glukózy. Kromě glukózy obsahuje škrob ještě menší množství lipidů a proteinů, esterově vázanou kyselinu fosforečnou a asi 25% - 30% vody [13]. Škrob je rozkládán pomocí  $\alpha$ -amylasy (enzym štěpící molekuly škrobu na dextriny a maltózu) a  $\beta$ -amylasy (enzym, který štěpí molekuly škrobu za vzniku glukózy).



**Obr.3: Strukturní vzorec amylozy [13]**



**Obr. 4: Strukturní vzorec amylopektinu [13]**

Škrob se jako zásobní polysacharid vyskytuje u většiny rostlin (hlavně v semenech), ale jen z malé části plodin ho lze prakticky získat. Hlavní plodiny poskytující škrob jsou kukuřice, brambory a pšenice.

Škrob nachází uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích a je využíván jako příměs do biologicky odbouratelných plastů. Přírodní kukuřičný škrob bývá na trh uváděn pod názvem Meritena 100. Dále se využívá škrob získávaný ze zrn různých druhů rostliny Amaranth. V porovnání s kukuřičným škrobem má jemnější zrno, větší absorpční kapacitu a nižší rozpustnost [14].

### 2.3.2 Modifikované škroby

Modifikované škroby jsou výrobky ze škrobu, jejichž vlastnosti jsou biochemickým, chemickým nebo fyzikálním vlivem přizpůsobeny určitému účelu. Podmínkou je, že tyto výrobky musejí mít zachovány alespoň jednu původní charakteristickou vlastnost škrobu. Úkolem modifikace škrobu je některou původní vlastnost zvýraznit (viskozita, schopnost vázat vodu, melírující schopnost, tvorba filmu, iontovýměnná schopnost), jinou potlačit nebo vytvořit vlastnost novou [13].

- 1) Hydrolyzované (odbourané) škroby – získávají se mírnou hydrolyzou škrobu. Mají zvýšenou rozpustnost a sníženou viskozitu mazu. Používají se na přípravu homogenních past.
- 2) Substituované škroby – používají se v textilním průmyslu, farmacii, potravinářství. Získávají se náhradou vodíku v hydroxylové skupině alkylem nebo acetylem. Mají výbornou sorpční a flokulační schopnost.
- 3) Oxidované škroby – používají se v textilním a papírenském průmyslu
- 4) Nesítěné škroby – připravují se reakcí škrobu s vícefunkčními činidly. Uplatňují se v potravinářství a farmaceutickém průmyslu.
- 5) Termicky modifikované škroby – vznikají narušením vodíkových můstků mezi škrobovými molekulami. Nacházejí uplatnění v potravinářském, textilním a papírenském průmyslu [13].
- 6) Geneticky modifikované škroby – získávají se z geneticky modifikovaných odrůd kukuřice, rýže apod. Patří sem např. škrob Waxy – vysoce viskózní škrob s nízkou gelovací schopností. Obsahuje převážně jen molekuly amylopektinu [15].

### 2.3.3 Směs PCL/škrob

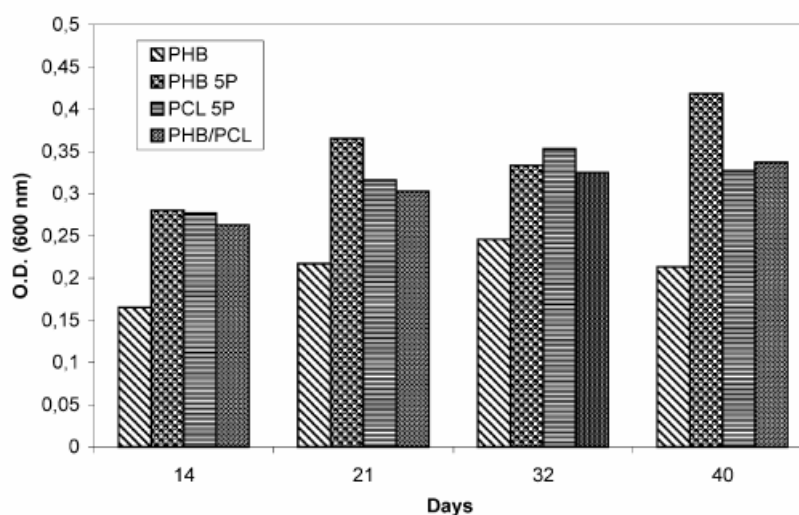
Použití škrobu ve směsích snižuje cenu konečného produktu a zlepšuje biodegradabilitu termoplastických polymerů. Škrob a jeho deriváty mohou být smíchány s různými syntetickými plasty (PE, PVA, PVC, atd.) stejně dobře jako s biodegradabilními plasty (PHBV, PCL). Studie [11] ukazuje, že směsi PCL/škrob jsou snadno aerobně biodegradovatelné. Přídavkem škrobu lehce narůstá úbytek hmotnosti vzorku v průběhu biodegradace. Tento

nárůst biodegradace odráží redukcí krystalinity ve směsích PCL, která je způsobena přítomností škrobu. Zařazením škrobu přísadkou větví amylopektinu do polymerního řetězce ve směsích způsobí redukcí krystalických oblastí, které jsou hůře biodegradovatelné [13].

## 2.4 Biodegradabilita PCL, PHB a jejich směsí

V práci [12] byla zkoumána biodegradabilita směsi PCL/ PHB 70/30 M v porovnání s homopolymery, za použití mikrobiálních společenstev izolovaných ze znečištěných území v minerálním médiu. Tyto společenstva se skládají z několika druhů *Pseudomonas*, *Erwinia* a *Bacillus*. Tyto bakteriální druhy byly již dříve popsány jako schopné degradovat různé typy plastů.

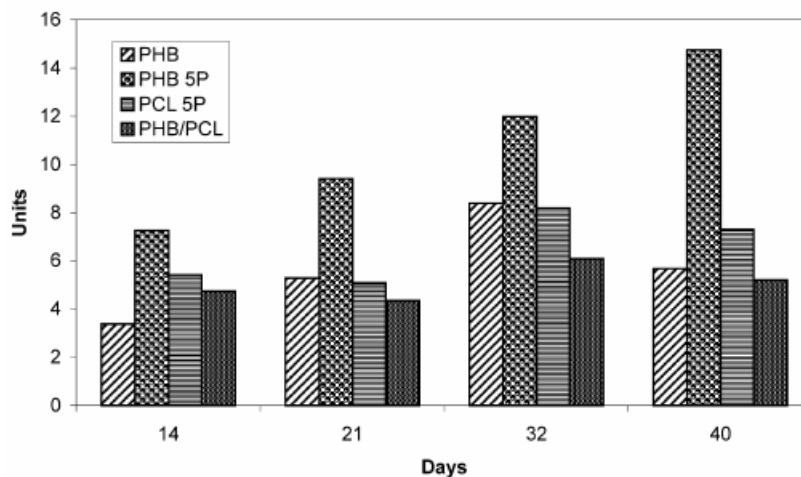
Obr. 5 ukazuje růst bakterií v přítomnosti PHB, PHB 5P (PHB s 5 hm% dicumylperoxidu), PCL 5P (PCL s 5 hm% dicumylperoxidu) a směsi PHB/PCL (70/30, bez přísadky dicumylperoxidu). Počáteční hodnota optické hustoty (OD) při 600 nm byla okolo 0,5. Po počáteční fázi adaptace na nové podmínky se růst zvyšoval až do dosažení rovnováhy, která je demonstrována schopností mikroorganismů metabolizovat substráty. Jako nejlepší substrát pro růst MO se ukazuje PHB, který po 40 dnech fermentace ukazoval podobnou optickou hustotu jako byla počáteční hodnota.



Obr. 3: Růst bakterií sledovaný po 14, 21, 32 a 40 dnech

V této práci byla také prováděna analýza esteráz z kultury supernatantu z použitého mikrobiálního společenstva v přítomnosti různých polymerů. Na obr. 6 je znázorněna aktivita

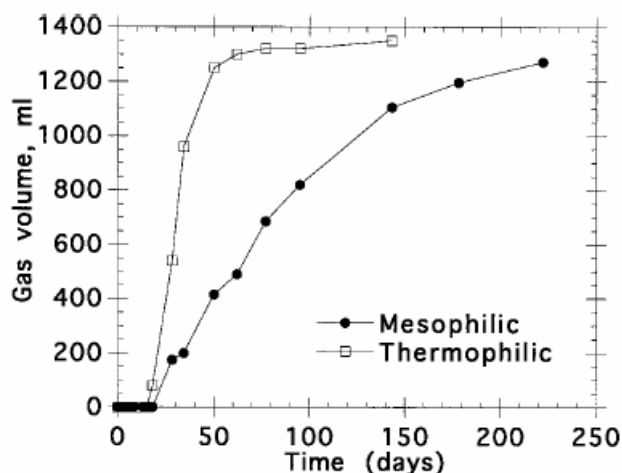
esteráz v přítomnosti substrátů PHB, PHB 5P, PCL 5P a směsi PHB/PCL, měřená po 14, 21, 32 a 40 dnech.



**Obr. 4: Aktivita esteráz měřená po 14, 21, 32 a 40 dnech**

Ověření reálné degradační rychlosti bylo v této práci [12] hodnoceno podle jejich úbytku hmotnosti po 20 a 40 dnech. Úbytek hmotnosti s časem narůstal a nejvyšších hodnot úbytku dosáhly materiály na bázi PHB. Nízké hodnoty úbytku hmotnosti pro vzorky PCL 5P je v souladu s hodnotou nízké aktivity esteráz. Z výsledků této studie je patrné, že PHB a PHB 5P jsou více biodegradabilní než PCL.

V práci [16] byl zkoumán efekt přidavku nízkomolekulárních procesních aditiv (aditiva byla přimíchávána v procesu vytlačování; použity byly Erucamid, SiO<sub>2</sub>, Erucamid+CaCO<sub>3</sub>) k PCL ve formě filmů. Aditiva mění povrchové vlastnosti filmů migrací a zdrsněním a postupně mění mikroprostředí pro degradující mikroorganismy. Filmy PCL s přidávanými aditivy a recyklovaný PCL (bez aditiv) byly vystaveny působení kompostu, anaerobnímu kalu z ČOV, čisté houbové kultuře a chemické hydrolyze (při pH 7 a 10,5) při dvou teplotách (37°C a 50°C). Degradace v rozličných prostředích byla sledována pomocí redukce numerického ( $M_n$ ) a hmotnostního ( $M_w$ ) průměru molekulové hmotnosti. V biotickém prostředí byla pozorována rychlejší redukce  $M_n$  než  $M_w$  pro většinu testovaných vzorků. Pro kompostovaný čistý PCL byl pozorován pokles  $M_n$  o 75-80%, zatímco v anaerobním kalu při 55°C byl obdobný vzorek kompletně degradován po 50 dnech. Degradace prováděná v anaerobním odpadním kalu při dvou teplotách (37°C a 50°C) byla sledována měřením produkce bioplynu (CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub>). Z obr. 7 je patrné, že při termofilním podmínkách probíhá degradace recyklovaného PCL rychleji než při mezofilních.



Obr. 7: Tvorba bioplynu z recykl. PCL v mezofilním a termofilním odpadním kalu

[16]

Biodegradace PCL byla způsobena činností mikroorganismů *Pullularia pullulans*, které degradují vzorky s nízkou molekulovou hmotností rychleji než vzorky s vyšší molekulovou hmotností. Směsi PCL s kukuřičným škrobem jsou degradovány pomocí lipáz produkovaných druhem *Rhizopus arrhizus* a  $\alpha$ -amyláz z *Bacillus subtilis*. Obsah kukuřičného škrobu neovlivňuje degradaci zapříčiněnou lipázami, ale má pozitivní vliv na degradaci pomocí amyláz.

Z provedené studie vyplývá, že degradace v biotickém prostředí (kompost, aerobní houby, anaerobní odpadní kal) byly celkově rychlejší než v abiotickém prostředí (chemická hydrolyza). Vyšší degradační rychlost byla pozorována v komplexnějších prostředích (kompost a anaerobní kal z ČOV) díky spolupůsobení mezi vyšší teplotou a větší rozmanitostí mikroorganismů. Recyklované filmy a filmy s procesními aditivami vykazují pomalejší degradační rychlost ve srovnání s čistým PCL.

Práce Abou-Zeid a spol. z roku 2004 [5] se zabývala anaerobní rozložitelností přírodních a syntetických polyesterů - PCL, PHB, PHBV, poly(trimetylen adipát) (SP3/6), poly(tetrametylen adipát) (SP4/6) a alifaticko-aromatické kopolyestery z 1,4-butandiolu, kyseliny tereftalové a adipové (BTA-kopolymery), použitím mikrobiálních společenstev. Individuální kmeny byly izolované z anaerobního kalu, tepelně ošetřených anaerobních bioodpadů a anaerobního říčního sedimentu. Jednalo se převážně o nové druhy rodu *Clostridium* a *Propionispora*. Jejich degradační enzymy jsou specializované na depolymeraci přírodního PHA (polyhydroxyalkanoátu), syntetického PCL a ostatních alifatických polyesterů.

rů (jako SP3/6). Průběh degradace byl sledován stanovením úbytku hmotnosti a produkce bioplynu. Měření úbytku hmotnosti jen indikuje, zda mikroorganismy principiálně mohou napadat substrát, ale stanovení bioplynu, který je vytvářen v průběhu degradace, již přímo odráží metabolickou přeměnu substrátu v mikrobiální buňce. Bylo zjištěno, že přírodní homopolyester PHB anaerobně degraduje rychleji než kopolyester PHBV. Degradací rychlost PCL při anaerobních podmínkách je podstatně nižší než u PHB a PHBV. Ostatní syntetické polyestery (SP3/6, SP4/6, BTA-kopolymery) jeví jen velmi nízkou anaerobní mikrobiální citlivost. Kopolyester s vysokým obsahem kyselina tereftalové (BTA 40:60) odolává anaerobnímu rozkladu dokonce i pod termofilními podmínkami a ve směsích se škrobem. Anaerobní degradabilita se snižuje v řadě PHB>PHBV>PCL. Pro syntetické polyestery degradované v laboratorním anaerobním kalu byla pozorována jen pomalá produkce bioplynu (< 5,5%). V kalu z ČOV byla produkce bioplynu okolo 11% po 42 dnech pro polymery SP4/6 a BTA 40:60.

V další práci Abou-Zeida a spol. z roku 2000 [17] byla studována biodegradace přírodních polyesterů PHB, PHBV a syntetického PCL ve dvou anaerobních kalcích a byly izolovány anaerobní druhy degradující jednotlivé polyestery. Tyto izolované druhy byly charakterizovány a použity pro degradační pokus pod kontrolovanými laboratorními podmínkami. Inkubace PHB a PHBV filmů ve dvou anaerobních kalcích vykazovala významnou degradaci v rozsahu 6 – 10 týdnů. Degradace byla monitorována pomocí úbytku hmotnosti a produkce bioplynu. Všechny tři polyestery byly vystaveny methanovému kalu. Po 10 týdnech při 37°C bylo rozloženo 23% hmotnosti PHB, 22,5% PHBV a 7,6% PCL. Stanovený úbytek váhy ukazuje, že přírodní materiály PHB, stejně jako PHBV a v menší míře syntetický PCL, byly rozkládány pod striktně anaerobními podmínkami. Měření produkce bioplynu bylo zjištěno, že homopolyester PHB byl totálně degradován po 9 dnech, zatímco PHBV produkovalo jen 29 % teoretického množství bioplynu po 42 dnech a PCL 16 %. Srovnání vývoje bioplynu s úbytkem hmotnosti u PHBV a PCL ukazuje, že rozpad materiálů je rychlejší než produkce bioplynu z depolymerace produktů. U PHB je tomu právě naopak.

Ve studii autorů Federle a spol. [18] byla sledována anaerobní biologická rozložitelnost syntetických, radioaktivně značených polymerů PHBO (kopolymer 3-hydroxybutyrátu a 3-hydroxyoktanoátu) a PCL. Oba polymery byly degradovány v práškové formě. Inkubace byla prováděna v anaerobním vyhníle kalu, sedimentech (sladkovodním i mořském) a laboratorním odpadním reaktoru. Biodegradace byla stanovována měřením produkce CO<sub>2</sub> a

CH<sub>4</sub>, které vznikají mineralizací polymerů. Kopolymer PHBO byl rozsáhle mineralizován ve vyhnílem kalu, sedimentech i v odpadním reaktoru a to po dobu méně než 30 dní. Tyto výsledky tak ukazují, že PHBO je prakticky biodegradabilní hlavně v anaerobním prostředí, kde se může jako odpadní materiál často vyskytovat. Oproti tomu PCL nebyl ve vyhnílem kalu významně mineralizován ani po 122 dnech. V odpadním reaktoru byla mineralizace pomalá a předcházela jí dlouhá lagová fáze, což ukazuje, že mineralizace PCL je limitována rychlostí hydrolyzy. Mineralizace PCL v tomto prostředí po 200 dnech dosáhla méně než 4%.

Abou-Zeid a spol. [19] zkoumali biodegradaci PCL filmů v kalu z laboratorního anaerobního reaktoru nasyceném odpadní vodou z cukrového průmyslu. Průběh biodegradace byl sledován dle úbytku hmotnosti a produkce bioplynu. Po 10 týdnech byl úbytek hmotnosti roven 7,6% a v druhém experimentu PCL vykazoval 30%-ní úbytek hmotnosti a 17% produkce bioplynu. Autorům se také podařilo izolovat dva bakteriální druhy příbuzné s *Clostridium acetobutylicum*, což je bakterie schopná degradovat PCL. Jeden z produktů izolace degradoval PCL maximální rychlostí 0,14 mg/týden v přítomnosti 40-60 mg PCL, reprezentativní rychlost byla však jen 0,2 – 0,3% za týden.

Diplomová práce [20] se zabývala testováním biorozložitelnosti modifikovaného PCL s degradovatelnými příměsemi v anaerobním kalu. Celkové odstranění substrátu těchto vzorků bylo ovlivněno procentuálním zastoupením dobře rozložitelných látek (škrob Meritena 100, glycerol, stearin) ve vzorku. Nejvyššího odstranění substrátu, 29 %, bylo dosaženo pro vzorek s nejvyšším zastoupením těchto složek ve směsi. Naopak, u vzorků s nejmenším obsahem těchto látek došlo k odstranění substrátu jen z 23%. Tyto hodnoty odpovídají rozkladu po cca 500 hodinách. Dále byla sledována biorozložitelnost směsí PHB/PCL s různým zastoupením t-BPB (t-butylperbenzoát), TAC (triallylcyanurát) a triacetinu. Rozklad směsí PHB/PCL (ve formě prášku) proběhl v průměru ze 40% za 900 hodin. Práce také sledovala anaerobní rozklad vzorku složeného z PCL, PHB, M 100 (škrob Meritena 100), glycerolu a triacetinu ve formě nerozpustné folie. Rozklad této směsi proběhl jen z 10%.

V práci [22] byla sledována biodegradace čtyř druhů polymerů: kyselina polyakrylová (PLA), PCL, směs PCL/ škrob (plastifikovaný škrob Mater-Bi<sup>®</sup> = MB) a kopolymer poly(butadien adipát-co-tereftalát) (Eastar Bio<sup>®</sup> = EB). Vzorky byly vystaveny působení aerobních i anaerobních podmínek. Degradace v anaerobních podmínkách byla sledována

z hlediska úbytku hmotnosti vzorků. Tento úbytek se projevil pouze u vzorku MB, u ostatních vzorků nebyl pozorován. Za anaerobních podmínek proběhla biodegradace pouze u vzorku PCL/škrob a to přibližně z 25%. Vzorek čistého PCL byl testován ve dvou formách a to filmu a prášku. Srovnáním biodegradace obou forem nebyl mezi nimi zjištěn výrazný rozdíl. Za aerobních podmínek proběhla biodegradace PCL z 35%, kdežto za anaerobních podmínek nebyl jeho rozklad prokázán. Jako nejlépe biologicky rozložitelný materiál se v tomto testu ukázal vzorek MB, jehož rozklad za aerobních podmínek proběhl ze 45% a za anaerobních podmínek z 25%.

Rosa a kol. [23] studovali rozklad směsí PCL se třemi různými druhy kukuřičného škrobu ( $A_1$  – Amidex,  $A_2$  – Amidex 4001,  $A_3$  – Penetrose 80). Rozklad byl sledován na základě úbytku hmotnosti vzorků po ukončení biodegradace. Pro čistý PCL byl prokázán hmotnostní úbytek jen 1,5%. U směsi s obsahem 50% škrobů ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ) nebyla prokázána výraznější degradace. Po 144 hodinách proběhl biologický rozklad směsi  $A_1$ /PCL 50/50 jen z 8% dle hmotnostního úbytku. Největšího rozkladu bylo dosaženo pro směsi s obsahem škrobů 75%. U těchto vzorků proběhla biodegradace po 48 hodinách ze 75-90%. Příklad škrobu tak pozitivně ovlivňuje enzymatickou degradaci, jelikož částečně snižuje krystalinitu PCL. Tato redukce krystalinity pozitivně ovlivňuje enzymatickou degradaci zapříčiněnou proteinásou K.

Dle práce autorů Müller W.-R. a kol. [24] je anaerobní rozklad PCL výrazně ovlivněn teplotou. Anaerobní degradace PHB a PCL byla prováděna za mezofilních nebo termofilních podmínek. Dle provedeného testu je PHB dobře rozložitelný za obou teplot a to při 30°C a 50°C, kdežto PCL vykazuje anaerobní degradabilitu jen při 50°C a to po dlouhé lagové fázi.



## **II. CÍLE PRÁCE**

Cílem diplomové práce je studium anaerobního biologického rozkladu poly- $\epsilon$ -kaprolaktonu (PCL) a jeho směsí se škroby (M100, Waxy, Gel instant, Amarant) a glycerolem, příp. směsí PCL s poly- $\beta$ -hydroxybutyrátem (PHB) a triacetinem (TAC). Experiment je prováděn ve vodném prostředí anaerobního kalu z ČOV Malenovice.

Průběh biologického rozkladu je sledován měřením produkce methanu a oxidu uhličitého plynovou chromatografií, úbytkem hmotnosti sledovaných vzorků a provedením tahových zkoušek vzorků na konci pokusu.

Dále ve své práci zhodnotím vliv obsahu lehce degradovatelných příměsí (různé druhy škrobu, PHB, TAC, atd.) na biologickou rozložitelnost vzorků.

Získaná data budou zpracována písemně, tabelárně a graficky.

### **III. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁLY

#### 3.1 Chemikálie

Při laboratorních testech byly použity chemikálie čistoty p.a. od firmy Lachema a.s., Česká republika, Penta a Fluka

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	- síran amonný
$\text{CaCl}_2$	- chlorid vápenatý
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	- hexahydrát chloridu železitého
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	- heptahydrát síranu hořečnatého
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	- dihydrogenfosforečnan draselný
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	- hydrogenfosforečnan draselný
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	- dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného
$\text{H}_3\text{BO}_3$	- kyselina trihydrogenboritá
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	- heptahydrát síranu železnatého
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	- heptahydrát síranu zinečnatého
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	- tetrahydrát síranu manganatého
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	- pentahydrát síranu měďnatého
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	- heptahydrát síranu kobaltnatého
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	- tetrahydrát molybdenanu amonného

#### 3.2 Minerální médium

Minerální médium bylo připraveno dle předpisů ÚIOŽP, které vycházejí z norem ASTM D 5210-91 a ISO 11734 pro hodnocení úplné anaerobní biorozložitelnosti organických látek v kalu z anaerobní stabilizace. Množství následujících roztoků bylo použito do 1 litru minerálního média doplněného destilovanou vodou na objem 1 litr.

- 50 ml  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ( $c = 10$  g/l)
- 1 ml  $\text{CaCl}_2$  (7,5 g/l)
- 1 ml  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,25 g/l)
- 1 ml  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (22,5 g/l)
- 40 ml fosfátového pufru (8,5 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 21,75 g/l  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 44,7 g/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )
- 1 ml roztoku stopových prvků (0,75 g/l  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 3 g/l  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  
1 g/l  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,5 g/l  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,05 g/l  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1813 g/l  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,05 g/l  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )

Před použitím bylo minerální médium cca 20 minut probubláváno dusíkem.

### 3.3 Biologický materiál

Jako biologický materiál byl použit anaerobní vyhnílý kal z anaerobní stabilizace přebytečného aktivovaného kalu z čistírny odpadních vod v Malenovicích. Kal byl uchováván v termostatu při teplotě  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Před použitím byl nejprve zbaven hrubých nečistot pomocí hrubého síta, následně probublán cca 20 minut dusíkem a byla stanovena jeho sušina a ztráta žiháním. Poté byl kal odstředěn při 3000 G a teplotě  $15^\circ\text{C}$  po dobu 10 minut. Odstředěný kal byl promyt odkysličenou pitnou vodou a znovu odstředěn. Takto odstředěný kal byl zředěn odkysličeným minerálním médiem tak, aby konečná sušina kalu činila cca 3 g/l.

### 3.4 Testované materiály

#### 3.4.1 Test 1

V prvním testu byly testovány směsné vzorky na bázi PCL, škrobu (Meritena 100, Waxy, Gel Instant, Amarant) a glycerolu, resp. na bázi PCL a PHB. Příprava testovaných vzorků byla předmětem disertační práce Ing. Petera Bugaje na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě, Fakultě chemické a potravinářské technologie.

Vzorky byly testovány ve formě tělísek o rozměru: 50 x 9 (4) x 1 mm

Tab. I: Složení testovaných vzorků

Označení	PCL	škrob	PHB	TAC	GL+H <sub>2</sub> O	PCL	M100	Waxy	Gel instant	Amarant	GL	H <sub>2</sub> O	PHB	TAC
směsí	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]
BK/3/3x	70	30				210,00	90,00							
BK/3/10	70	30				210,00		90,00						
BK/4/15	70	30				210,00			90,00					
BK/32/117x	70	30				210,00				90,00				
BK/29/109	61,3	26,3			12,4	210,00	90,00				38,57	3,86		
BK/29/110	61,3	26,3			12,4	210,00		90,00			38,57	3,86		
BK/29/111	61,3	26,3			12,4	210,00			90,00		38,57	3,86		
BKJ/34/118	61,3	26,3			12,4	210,00				90,00	38,57	3,86		
BK/77/210	47		26,5	26,5		141,18							79,41	79,41
BK/77/211	74		13	13		221,74							39,13	39,13

### *Poly-ε-kaprolakton (PCL)*

Obchodní název CAPA 6800, biodegradovatelný, alifatický, syntetický polyester, je nehořlavý a ve vodě nerozpustný, obsah uhlíku 64,34%, bod tání 58-60°C, teplota rozkladu 200°C, výrobce Solvay Caprolactones, UK

### *Kukuřičný škrob Meritena 100*

Přírodní kukuřičný škrob, obsah uhlíku 38,38%, obsah vlhkosti 13%, velikost částic 5-20 μm, specifický povrch 1,79 m<sup>2</sup>/g, tvar: typická škrobová zrna, pH = 6,7; výrobce Amylum Slovakia, SR.

### *Kukuřičný škrob Waxy 04201*

Vysoce viskózní kukuřičný škrob s vysokým obsahem amylopektinu, má nízkou gelovací schopnost, obsah vlhkosti 13%, velikost částic 5-20 μm, tvar: typická škrobová zrna, specifický povrch 1,49 m<sup>2</sup>/g, pH = 4,7; výrobce Cerestar.

### *Kukuřičný škrob Gel Instant 12410*

Předželatinovaný kukuřičný waxy škrob, obsah vlhkosti 6%, velikost a tvar částic: do 150 μm ve formě amorfní nepravidelné struktury, specifický povrch 1,37 m<sup>2</sup>/g, pH = 6; výrobce Cerestar.

### *Amarantový škrob*

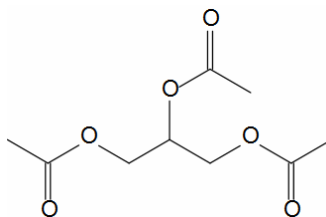
Škrob získaný z rostliny Amaranth, má větší absorpční kapacitu a nižší rozpustnost než kuřičný škrob, obsah uhlíku 40,78%, velikost částic 0,9 – 1,3  $\mu\text{m}$ , tvar: typická škrobová zrna, specifický povrch 5,07  $\text{m}^2/\text{g}$ ; výrobce LIKO Bratislava.

### *Poly- $\beta$ -hydroxybutyrát (PHB)*

Mikrobiální polyester, dobře aerobně i anaerobně biodegradovatelný, nehořlavý,  $M_w \sim 327000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , obsah uhlíku 54,17%, bod tání 168 – 172°C; výrobce Biomer, Německo

### *Triacetin (TAC)*

Triester glycerinu a kyseliny octové, používá se jako změkčovač vzorků, hustota 1,155  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , teplota varu 140°C.



**Obr.8: Triacetin**

### *Glycerol (GL)*

Obsah glycerolu min. 99,5%, používá se ve směsi s vodou jako plastifikační činidlo pro škroby, molární hmotnost 92,10  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , hustota při 20°C 1,231  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ .

#### **3.4.2 Test 2**

Ve druhém testu byly testovány vzorky s označením BK/4/15, BK/29/110, BK/29/111, BK/34/118 na bázi PCL, PHB, škrobů (Waxy, Gel instant) a glycerolu a vzorek BK/77/210 na bázi PCL a PHB o stejném složení jako v prvním testu. Vzorky byly testovány ve formě prášku o velikosti částic 0,5 – 1 mm. Byl testován také samostatný amarantový škrob (velikost částic 0,9 – 1,3  $\mu\text{m}$ ).

### 3.5 Použité přístroje

Analytické váhy SATORIUS, Německo

Laboratorní pH metr ionoLab Ph735 fy WTW, Německo

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

Chlazená centrifuga Rotanta 460R (použitý swing-out rotor)

Laboratorní sušárna UM200 Memmert, Německo

Laboratorní pec LH09MT LAC, Německo

Elektromagnetická míchačka STIRRER OP-913/3, Maďarsko

Třepací vodní lázeň GFL 1092 (kontinuálně míchaná  $127 \text{ min}^{-1}$ , temperovaná na  $35^\circ\text{C}$ ) pro umístění lahví s testovanými vzorky

Dvoukanálový plynový chromatograf Agilent 7890A (kolona Porapak Q, tepelně-vodivostní detektor TCD, nosný plyn He čistoty 4.6)

Plynotěsná injekční stříkačka HAMILTON, objem 100  $\mu\text{l}$ , Nevada

Tedlarův vak, objem 600 ml

Běžné laboratorní sklo a vybavení

### 3.6 Metody stanovení

#### 3.6.1 Stanovení sušiny

Na stanovení sušiny bylo odebíráno 10 ml (případně 5 ml pro zkrácení doby filtrace) suspenze anaerobního kalu. Toto množství bylo následně vakuově zfiltrováno přes filtrační papír (s červenou páskou). Filtrační papír s přefiltrovanou suspenzí AK byl sušen při teplotě  $105^\circ\text{C}$  do konstantní hmotnosti (cca 2h) a následně zvážen na analytických vahách. Koncentrace sušiny kalu je vyjádřena v g/l.

#### 3.6.2 Stanovení celkového uhlíku

Celkový uhlík (TC) byl stanoven na analyzátoru uhlíku fy Shimadzu, model 5000A. Stanovení TC pro kapalně vzorky probíhá ve spalovací trubici s platinovým katalyzátorem při teplotě  $670^\circ\text{C}$ . Zde dochází k oxidaci veškerého uhlíku obsaženého ve vzorku v proudu



kyslíku. Vznikající  $\text{CO}_2$  je veden do infračerveného detektoru, kde je signál vzniklý absorpcí záření příslušné vlnové délky zapisován ve formě píku. Jeho výška je úměrná koncentraci TC ve vzorku. Stanovení anorganického uhlíku (IC) se provádí v nádobce s kyselinou fosforečnou, do které je vzorek nastříknut v proudu kyslíku. Zde dochází k vytěsnění  $\text{CO}_2$ , který je veden na infračervený detektor. Vyhodnocení probíhá stejně jako u stanovení TC. Celkový organický uhlík (TOC) se vypočte z rozdílu hodnot TC a IC.

### 3.6.3 Stanovení anaerobního rozkladu

Použitý anaerobní kal byl upraven dle kap. 3.3. Jeho pH bylo upraveno na cca 7 použitím koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Do testovacích lahví byl nadávkován vzorek, při prvním testu ve formě tělísek, která byla předem zvážena. Při druhém testu byl vzorek dávkován tak, aby obsah uhlíku v každé láhvi byl 20 mg. Poté bylo přidáno 100 ml přípravného kalu s minerálním médiem. Vedle testovaných vzorků bylo provedeno také slepé stanovení bez přítomnosti vzorku. Naplněné lahve byly cca 10 minut probublány dusíkem a následně uzavřeny a vloženy do vodní lázně vytemperované na  $35^\circ\text{C}$  s kontinuálním mícháním. K analýze na plynovém chromatografu bylo odebíráno 0,1 ml plynné fáze a to dvakrát až třikrát týdně.

Po skončení testu byly vzorky vyjmuty z láhve a provedeno stanovení pH, sušiny a po odstředění obsahu TOC (rozpuštěného celkového organického uhlíku) a IC.

### 3.6.4 Hodnocení anaerobní degradace podle úbytku váhy testovaných tělísek

Anaerobní biorozložitelnost byla sledována mimo jiné určením váhového úbytku vzorků ve formě tělísek (test 1). Tělíska byla před vložením do testovacích lahvíček zvážena na analytických vahách. Po ukončení pokusu byla tělíska vyjmuta, očištěna od kalu, osušena a následně vložena do exsikátoru. Po několika dnech byla tělíska opět zvážena na analytických vahách. Z rozdílu hmotností byl vypočten úbytek váhy tělísek, který byl způsoben biologickým rozkladem za anaerobních podmínek.

### 3.6.5 Hodnocení anaerobní degradace dle produkce $\text{CH}_4$ a $\text{CO}_2$

Anaerobní biodegradace byla také sledována dle produkce methanu a oxidu uhličitého. Pro stanovení množství  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$  v odebíraném objemu bioplynu byla použita koncovka ply-

nové chromatografie (Agilent GC 7890A). K analýze bylo odebíráno 100 µl plynné fáze z prostoru nad kapalinou v testovací lahvi plynotěsnou stříkačkou Hamilton.

Sestrojení jednobodové kalibrace pro stanovení CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub>:

Pro sestavení jednobodové kalibrace pro stanovení CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub> byl použit kalibrační plyn (složení: 4,04 obj.% CH<sub>4</sub>, 0,799 obj.% CO<sub>2</sub>, 95,161 obj. % N<sub>2</sub>; výrobce Linde Gas a.s., Laboratoř speciálních plynů, Praha 9). Plynotěsnou stříkačkou bylo odebíráno 100 µl kalibračního plynu, který byl analyzován plynovou chromatografií s parametry uvedenými v Tab. II. Látky byly rozdělčovány na náplňové koloně Porapak Q o délce 1,829 m a detekovány na tepelně vodivostním detektoru (TCD). Jako nosný plyn bylo použito He čistoty 4.6.

**Tab. II:** Parametry stanovení na plynovém chromatografu Agilent GC 7890A:

parametr	Teplota (°C)	Průtok He (ml/min)
TCD	250	30
Injektor	200	53
Kolona (Porapak Q)	220	50
Termostat	35	

### 3.6.6 Zpracování naměřených hodnot

1) **Teoretické množství uhlíku pro nerozpustné vzorky - Th<sub>c</sub> [mol]**

$$Th_c = \frac{m_s \cdot TC_{vz}}{M_C} \quad /1/$$

Kde: m<sub>s</sub> – navážka substrátu, [g]

TC<sub>vz</sub> – množství celkového uhlíku v sušině zkoumaného vzorku, [g/g]

M<sub>C</sub> – atomová hmotnost uhlíku, [g/mol]

2) **Celkový organický uhlík rozpuštěný v kapalné fázi – TOC, [mg/l]**

$$TOC = TC - IC \quad /2/$$

Kde: TC – celkový uhlík stanovený na analyzátoru uhlíku (fa Shimadzu), [mg/l]

IC – anorganický uhlík stanovený na analyzátoru uhlíku (fa Shimadzu), [mg/l]

3) **Produkce CH<sub>4</sub> stanovená plynovou chromatografií** – n<sub>CH<sub>4</sub></sub>, [mmol]

$$n_{CH_4} = \frac{V_g \cdot V_{reg} \cdot 10^{-3}}{V_D \cdot 22,414} \quad /3/$$

Kde: V<sub>g</sub> – objem plynné fáze v láhvi, [ml]

V<sub>reg</sub> – objem CH<sub>4</sub> odečtený z rovnice kalibrační přímky, [μl]

V<sub>D</sub> – objem plynu z láhve dávkovaný k analýze, [ml]

4) **Produkce CO<sub>2</sub> stanovená plynovou chromatografií** – n<sub>CO<sub>2</sub></sub>, [mmol]

$$n_{CO_2} = \frac{V_g \cdot V_{reg} \cdot 10^{-3}}{V_D \cdot 22,414} \quad /4/$$

Kde: V<sub>g</sub> – objem plynné fáze v láhvi, [ml]

V<sub>reg</sub> – objem CO<sub>2</sub> odečtený z rovnice kalibrační přímky, [μl]

V<sub>D</sub> – objem plynu z láhve dávkovaný k analýze, [ml]

5) **Procento odstranění substrátu dle produkce CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub>** – D<sub>g</sub>, [%]

$$D_g = \frac{[(CO_2)_l - (CO_2)_s] + [(CH_4)_l - (CH_4)_s]}{Th_C} \cdot 100 \quad /5/$$

Kde: (CO<sub>2</sub>)<sub>l</sub> – množství CO<sub>2</sub> uvolněného v láhvi, [mmol]

(CO<sub>2</sub>)<sub>s</sub> – průměrné množství CO<sub>2</sub> uvolněného v láhvi při sl. pokusech, [mmol]

(CH<sub>4</sub>)<sub>l</sub> – množství CH<sub>4</sub> uvolněného v láhvi, [mmol]

(CH<sub>4</sub>)<sub>s</sub> – průměrné množství CH<sub>4</sub> uvolněného v láhvi při sl. pokusech, [mmol]

Th<sub>C</sub> – teoretické množství C ve zkoušeném vzorku v testovací láhvi, [mmol]

6) **Množství CO<sub>2</sub> rozpuštěného v kapalně fázi (ve 100 ml)** – n(CO<sub>2</sub>)<sub>l</sub>, [mmol]

$$n(CO_2)_l = \frac{(m_{IC})_l - (m_{IC})_s}{M_C \cdot 10^3} \quad /6/$$

Kde: (m<sub>IC</sub>)<sub>l</sub> – množství IC v testovací láhvi se vzorkem na konci testu, přepočteno na 100 ml kapalně fáze, stanoveno na analyzátoru uhlík (fa Shimandzu), [mg]

$(m_{IC})_s$  – množství IC v testovací láhvi slepého pokusu na konci testu, přepočítáno na 100 ml kapalně fáze, stanoveno na analyzátoru uhlíku, [mg]

$M_C$  – atomová hmotnost uhlíku, [g/mol]

7) **Procento odstranění substrátu dle produkce  $CH_4$  a  $CO_2$  a množství  $CO_2$  rozpuštěného v kapalně fázi -  $D_T$  (Total degradation), [%]**

$$D_T = (D_g + \frac{n(CO_2)_l}{Th_C}) \cdot 100 \quad /7/$$

Kde:  $D_g$  – procento odstranění substrátu dle produkce bioplynu ( $CH_4 + CO_2$ )

$n(CO_2)_l$  - množství  $CO_2$  rozpuštěného v kapalně fázi (ve 100 ml), [mmol]

$Th_C$  – teoretické množství C ve zkoušeném vzorku v testovací láhvi, [mmol]

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V diplomové práci byly testovány směsné vzorky na bázi PCL, škrobu a glycerolu, resp. na bázi PCL, PHB a triacetinu. Tyto vzorky byly připraveny na Slovenské technické univerzitě, Fakultě chemické a potravinářské technologie. V jednotlivých testech byl porovnán vliv různých druhů škrobu a tvaru vzorku na odstranění substrátu.

Při testech byly vždy vedle vzorků provedeny také slepé pokusy a degradace octanu sodného (NaAc) jako standardu, pro zjištění aktivity použitého anaerobního kalu. Na začátku pokusu byla vždy stanovena sušina kalu, TOC rozpuštěného v kapalně fázi a změřeno pH.

Výsledky anaerobního rozkladu byly zpracovány tabelárně i graficky.

### 4.1 Test 1

V tomto testu byly testovány směsné vzorky o složení uvedeném v kap. 3.4.1 Tab. I. Cílem tohoto testu bylo sledovat anaerobní biologický rozklad těchto směsí PCL ve formě tělísek a porovnat anaerobní biodegradabilitu z hlediska obsahu snadno rozložitelných příměsí. Jednotlivé vzorky se lišily obsahem různého typu škrobu (byly použity: kukuřičný škrob Meritena 100, geneticky modifikovaný kukuřičný škrob Waxy, předželatinovaný kukuřičný škrob Gel instant a amarantový škrob) a přítomností plastifikačního činidla (glycerolu). Použité škroby se vzájemně liší svým původem a granulometrií. Mimo to škrob Gel instant byl již výrobcem předupraven do amorfní formy a tím byla porušena jeho původní forma škrobového zrna [21]. Dále testované vzorky na bázi PCL, PHB a triacetinu se lišily obsahem těchto biodegradabilních příměsí.

Pro posouzení správné funkce anaerobního kalu byl proveden také rozklad snadno degradovatelného octanu sodného jako standardní látky.

Jako biologický materiál (inokulum) byl použit vyhnílý anaerobní kal z anaerobní stabilizace přebytečného aktivovaného kalu z čistírny odpadních vod v Malenovicích. Kal byl uchováván v termostatu při teplotě  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Před použitím byl dále upravován dle postupu uvedeném v kap. 3.3..

Rozklad testovaných vzorků byl hodnocen dle produkce množství  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$ . Ze získaných hodnot bylo vypočteno procentuální odstranění substrátu ( $D_g\%$ ). Po zahrnutí množ-

ství anorganického uhlíku bylo stanoveno celkové procentuální odstranění substrátu ( $D_T\%$ ).

Do testovacích lahví bylo dávkováno:

- Substrát: směsný vzorek PCL se škroby, příp. glycerolem, resp. směs PCL, PHB a triacetinu, příp. standard
- 100 ml suspenze anaerobního kalu v minerálním médiu.
- vzorky byly dávkovány přímo do testovacích lahví ve formě tělísek definované hmotnosti, hmotnost vzorků se pohybovala od 0,31545 g do 0,53479 g.

Charakteristiky vzorků na počátku a konci testu jsou uvedeny v Tab. II a III. Počáteční sušina suspenze kalu v minerálním médiu byla 2,72 g/l a pH inokula bylo 7,13.

Výpočty byly provedeny dle vzorců uvedených v kapitole 3.6.6.

## 4.1.1 Hodnoty vstupních a výstupních veličin

Tab. II: Hmotnost vzorků a obsah uhlíku v lahvích na vstupu

Čís.	látka	$m_{\text{skut.}} \text{ (mg)}$	$\text{TC}_{\text{ve vzorku}} \text{ (\%)}$	$\text{TC}_{\text{teor}} \text{ (mg)}$	$\text{Th}_C \text{ (mmol)}$
1	slepý pokus	---	---	---	0,13
2	slepý pokus	---	---	---	0,13
3	slepý pokus	---	---	---	0,13
4	NaAc	68,31		19,99	1,67
5	NaAc	68,09	29,26	19,92	1,66
6	NaAc	67,70		19,81	1,65
7	PCL	394,49	63,48	250,42	20,87
8	PCL	398,36		252,88	21,07
9	PCL	399,95		253,89	21,16
10	BK/3/3x	332,57	57,67	191,79	15,98
11	BK/3/3x	329,33		189,92	15,83
12	BK/3/3x	335,80		193,66	16,14
13	BK/3/10	369,01	59,63	220,04	18,34
14	BK/3/10	369,04		220,06	18,34
15	BK/3/10	366,66		218,64	18,22
16	BK/4/15	368,88	57,87	213,47	17,79
17	BK/4/15	364,08		210,69	17,56
18	BK/4/15	353,58		204,62	17,05
19	BK/32/117x	358,84	58,80	211,00	17,58
20	BK/32/117x	348,72		205,05	17,09
21	BK/32/117x	362,29		213,03	17,75
22	BK/29/109	451,52	57,45	259,40	21,62
23	BK/29/109	453,47		260,52	21,71
24	BK/29/109	454,01		260,83	21,74
25	BK/29/110	446,41	55,78	249,01	20,75
26	BK/29/110	447,47		249,60	20,80
27	BK/29/110	446,14		248,86	20,74
28	BK/29/111	534,79	53,28	284,94	23,74
29	BK/29/111	533,58		284,29	23,69
30	BK/29/111	530,21		282,50	23,54
31	BKJ/34/118	480,17	56,48	271,20	22,60
32	BKJ/34/118	478,54		270,28	22,52
33	BKJ/34/118	481,46		271,93	22,66
34	BK/77/210	328,07	60,27	197,73	16,48
35	BK/77/210	330,52		199,20	16,60
36	BK/77/210	336,00		202,51	16,88
37	BK/77/211	318,97	62,15	198,24	16,52
38	BK/77/211	315,75		196,24	16,35
39	BK/77/211	320,28		199,05	16,59

Kde:  $TC_{\text{teor}}$  – množství uhlíku ve vzorku přepočítáno na skutečnou navážku (mg)

**Tab. III:** Hodnoty sušiny, pH a obsahu uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení sl. p.)

Čís.	látka	sušina <sub>kon.</sub> (g/l)	pH <sub>kon.</sub> (-)	TC (mg/l)	IC (mg/l)	TOC (mg/l)
1	slepý pokus	2,75	7,34	77,30	53,55	23,75
2	slepý pokus		7,25	95,00	53,60	41,40
3	slepý pokus		7,20	71,40	49,54	21,86
4	NaAc	2,83	7,40	137,45	113,90	23,55
5	NaAc		7,42	137,25	111,20	26,05
6	NaAc		7,32	133,25	109,85	23,40
7	PCL	2,84	7,18	96,35	56,05	40,30
8	PCL		7,16	79,60	56,45	23,15
9	PCL		7,18	85,45	61,25	24,20
10	BK/3/3x	2,86	7,24	88,65	59,20	29,45
11	BK/3/3x		7,23	78,00	56,70	21,30
12	BK/3/3x		7,06	84,10	63,00	21,10
13*	BK/3/10	2,92	6,68	60,00	41,86	18,14
14	BK/3/10		7,00	86,15	63,60	22,55
15*	BK/3/10		6,69	69,90	55,80	14,10
16	BK/4/15	3,19	7,11	88,65	69,20	19,45
17	BK/4/15		7,00	87,10	61,30	25,80
18	BK/4/15		6,95	103,20	78,20	25,00
19	BK/32/117x	3,23	7,18	86,20	64,00	22,20
20	BK/32/117x		6,96	89,90	65,65	24,25
21	BK/32/117x		6,99	88,75	68,30	20,45
22	BK/29/109	2,66	6,98	86,80	67,75	19,05
23	BK/29/109		6,96	83,60	63,85	19,75
24	BK/29/109		7,00	85,60	67,80	17,80
25	BK/29/110	2,88	6,81	96,05	80,00	16,05
26	BK/29/110		6,72	102,65	77,70	24,95
27	BK/29/110		6,79	91,00	78,25	12,75
28	BK/29/111	2,78	6,81	90,15	75,45	14,70
29	BK/29/111		6,68	91,45	74,35	17,10
30	BK/29/111		6,75	98,50	83,50	15,00
31	BKJ/34/118	2,82	6,86	96,80	79,80	17,00
32	BKJ/34/118		6,75	95,95	75,00	20,95
33*	BKJ/34/118		6,66	90,55	76,15	14,40
34	BK/77/210	2,73	6,96	90,00	70,00	20,00
35**	BK/77/210		---	---	---	---
36*	BK/77/210		6,71	108,90	91,60	17,30
37	BK/77/211	2,83	6,97	85,85	61,95	23,90
38	BK/77/211		7,06	79,80	59,75	20,05
39	BK/77/211		6,95	90,75	70,35	20,40



Kde:  $D_g(\%)$  – procentuální odstranění substrátu dle produkce methanu a oxidu uhličitého (bioplynu)

$D_T(\%)$  – celkové procentuální odstranění substrátu dle produkce methanu a oxidu uhličitého se započítáním množství anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi (Total degradation).

*Pozn:* \* Láhve č. 15, 17, 33 a 36 vykazovaly dle složení odebírané plynné fáze potlačení anaerobních pochodů, tzn. že po cca 4 dnech přestal být produkován methan a produkoval se pouze oxid uhličitý.

\*\* Láhev 35 se vzorkem BK/77/210 byla při ukončování pokusu rozbita a tudíž nemohly být provedeny koncové analýzy.

Při porovnání sušiny suspenze kalu na začátku (2,72 g/l) a na konci pokusu je vidět, že u všech testovaných vzorků se její hodnota zvýšila. Hodnota pH inokula na počátku pokusu činila 7,13. Zvýšení této hodnoty v rozmezí 7,16 - 7,42 bylo pozorováno pouze u slepého pokusu, standardu NaAc, PCL a vzorku BK/3/3x (složení 70% PCL, 30% škrob M100). U ostatních vzorků bylo pozorováno snížení této hodnoty a to v rozmezí 6,96 – 7,11. U vzorků, kde byl produkován jen oxid uhličitý, se pH snížilo v intervalu 6,66 až 6,71.

#### 4.1.2 Příprava vzorků

Příprava vzorků byla předmětem disertační práce Ing. Bugaje na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě, Ústavu chemické a potravinářské technologie ve spolupráci s Ústavem polymerních materiálů.

Směsné vzorky obsahující nativní formy škrobů (BK/3/3x, BK/3/10, BK/4/15 a BK/32/117x) byly připraveny přimícháním škrobu k PCL v dvojzávitovém extrudéru za tepla, bez předchozí úpravy či přidání aditiv. Zkoumáním morfologie směsí bylo zjištěno, že všechny škroby se v průběhu zpracování neroztavily a ponechaly si stejnou formu, tvar a rozměry jako před zpracováním [21].

Směsné vzorky obsahující plastifikované formy škrobů (BK/29/109, BK/29/110, BK/29/111 a BKJ/34/118) byly připraveny smícháním předsměsi ve fluidní rychloběžné míchačce při laboratorní teplotě. Tyto byly pak přímo dávkovány do extrudéru, kde byly smíchány s granulátem PCL. K plastifikaci škrobu došlo při jeho míchání s PCL v extrudéru. Jako plastifikační činidlo pro škroby byla použita směs glycerolu a vody. Studium morfologie vzorků bylo zjištěno, že díky plastifikaci škrobu, která proběhla při míchání s PCL, se výrazně zlepšila homogenita směsi a struktura se stala jemnější [21].

Směsi PHB a PCL (BK/77/210, BK/77/211) byly připraveny na dvojzávitovém vytlačovacím stroji. Jako změkčovadlo byl použit triacetin TAC– triester glycerolu a kyseliny octové. Byl připraven granulát, ze kterého byly vylisovány pásy a z nich vyseknuty tělíška. Složení směsi BK/77/210 o obsahu 26,5% PHB a 26,5% triacetinu bylo optimalizováno z hlediska maximálního obsahu PHB. Směs BK/77/211 s obsahem 13% PHB a 13% triacetinu byla optimalizována tak, aby vykazovala co nejlepší mechanické vlastnosti.

#### 4.1.3 Vyhodnocení testu 1

V tomto testu bylo cílem sledovat anaerobní biologickou rozložitelnost směsných vzorků a porovnat vliv jejich snadno rozložitelných příměsí na průběh biodegradace.

Jako biologický materiál byl použit vyhnílý kal z ČOV Malenovice, který byl přivezen 12.1. 2009 a použit 19.1.2009. Přesná sušina připraveného inokula byla stanovena dle kap. 3.6.1. v den nasazení testu a činila 2,722 g/l. pH připraveného inokula bylo 7,13.

V testu 1, který byl nasazen 20.1.2009 a ukončen 19.3.2009, byly testovány vzorky na bázi PCL, škrobu (kukuřičný škrob Meritena 100, geneticky modifikovaný kukuřičný škrob Waxy, předželatinovaný kukuřičný škrob Gel instant a amarantový škrob), příp. glycerolu a vzorky obsahující PCL a PHB s triacetinem. Jako kontrola aktivity připravené suspenze kalu byl použit octan sodný. Všechny vzorky byly testovány po dobu cca 1400 hodin.

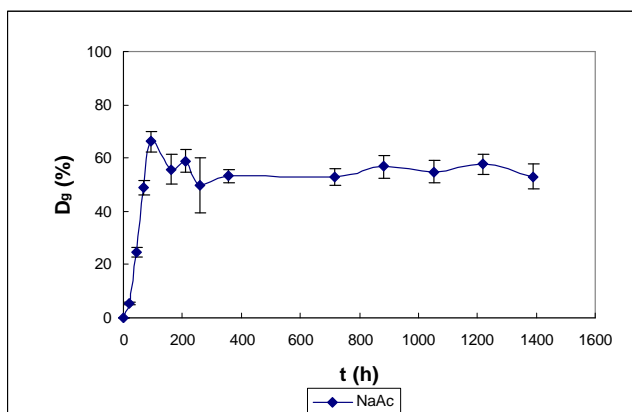
Vzorky byly dávkovány ve formě tělíšek o rozměrech 50 x 9 (4) x 1 mm.

#### 4.1.3.1 Zhodnocení biodegradace dle produkce bioplynu

Průběh biodegradace byl sledován měřením obsahu  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$  v produkovaném bioplynu. Jako koncovka byla použita plynová chromatografie. Bylo odebíráno 100  $\mu\text{l}$  plynné fáze plynotěsnou stříkačkou f. Hamilton a to ze začátku pokusu 3x týdně, v pozdějším stádiu již stačilo měření 1x týdně.

Všechny vzorky byly testovány 3x vedle sebe, získané hodnoty rozkladu byly zprůměrovány a byla zhotovena grafická závislost procentuálního odstranění substrátu na čase degradace.

#### Octan sodný – NaAc



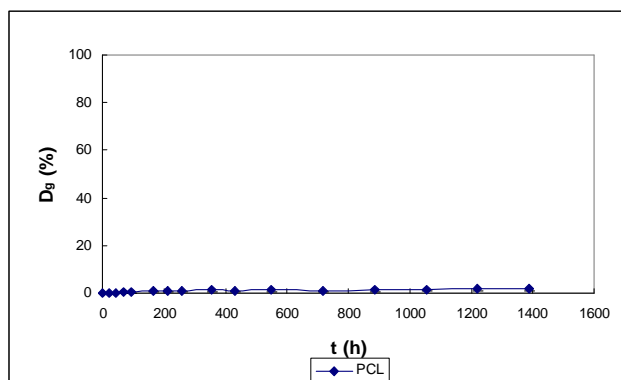
**Obr.9:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro standard NaAc v závislosti na čase

Použitím octanu sodného byla potvrzena aktivita připravené suspenze kalu. Průběh biodegradace standardu NaAc je patrný ze závislosti na obr. 9, substrát byl z hlediska produkce bioplynu rozložen z cca 66% (bez započtení anorganického uhlíku obsaženého v kapalné fázi). Po započtení anorganického uhlíku v kapalné fázi činilo procento odstranění substrátu 96%. Rozklad započal po cca 20 hodinách lagové fáze a nejvyššího rozkladu bylo dosaženo po cca 100 hodinách procesu. Po této době se rozklad již dále nezvýšil.

### Poly-ε-kaprolakton – PCL

Poly-ε-kaprolakton byl testován jako čistá složka směsných vzorků. Z obr. 10 je patrný časový průběh degradace. Rozklad PCL při zvolených anaerobních podmínkách téměř neprobíhal. Test biodegradace PCL při teplotě 35°C byl ukončen po 1400 hodinách (cca 58 dní) a bylo dosaženo maximálně 2%-ního odstranění substrátu (bez započtení anorganického uhlíku obsaženého v kapalné fázi). Při započtení anorganického uhlíku v kapalné fázi se procento rozkladu téměř nezvýšilo.

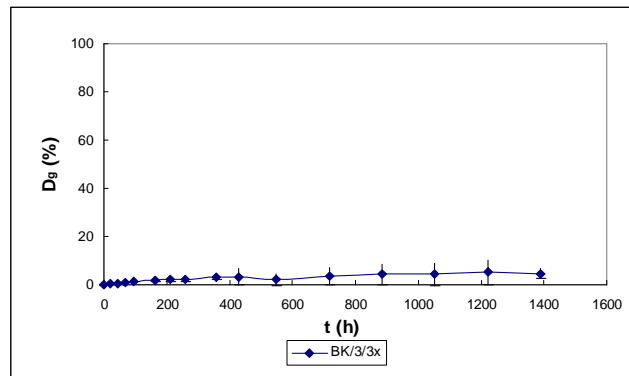
Z provedeného pokusu je patrné, že čistý polyester PCL se při zvolených podmínkách anaerobní degradace téměř nerozkládá.



**Obr.10:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro čistý PCL v závislosti na čase

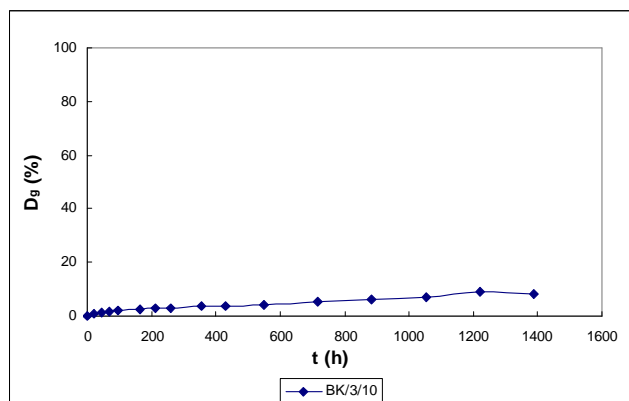
### BK/3/3x

Rozklad vzorku BK/3/3x o složení 70 % PCL a 30% škrobu Meritena 100 je znázorněn na obr. 11. Rozklad probíhal mírným tempem od začátku a nebyla pozorována téměř žádná lagová fáze. Test degradace byl ukončen po cca 1400 hodinách a do té doby bylo odstraněno jen cca 5% substrátu (bez započtení anorganického uhlíku v kapalné fázi), což je velmi nízká hodnota, která nedosahuje ani obsahu lehce rozložitelného škrobu (Meritena 100) ve směsi. Při započtení anorganického uhlíku v kapalné fázi se hodnota biodegradace nepatrně povýšila v průměru na 5,5%.



**Obr.11:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/3/3x v závislosti na čase

### BK/3/10



**Obr.12:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/3/10 v závislosti na čase

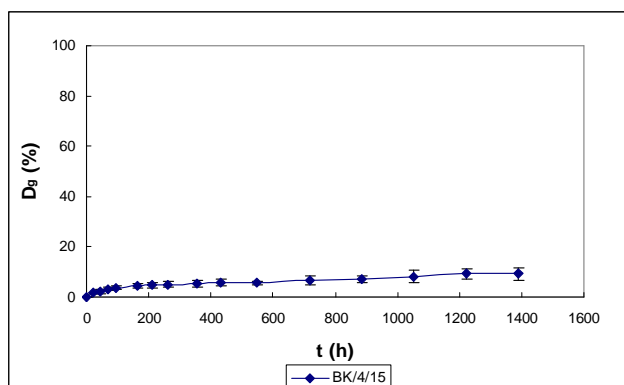
(hodnota získána jen z 1 měření, jelikož v ostatních dvou lahvích probíhal proces aerobně)

Graf závislosti odstranění substrátu dle produkce bioplynu na čase pro vzorek BK/3/10 o složení 70% PCL a 30% GM kukuřičného škrobu Waxy je znázorněn na obr. 12. Na počátku rozkladu se opět projevila asi 20-ti hodinová lagová fáze. Nejvyššího rozkladu přitom bylo dosaženo po cca 1200 hodinách. Maximální dosažené procento odstranění substrátu dle produkce bioplynu činilo 7,7 %, po započítání anorganického uhlíku obsaženého v kapalně fázi se procento biologicky rozloženého substrátu jen nepatrně zvýšilo na cca 8,2 %. Ani zde tedy procento rozkladu vzorku nedosahuje hodnoty obsahu snadno rozložitel-

ného škrobu Waxy. Tato skutečnost může být zapříčiněna nehomogenitou připravené směsi, tzn. že částice škrobu byly obaleny částicemi PCL a tak byly hůře dostupné pro mikroorganismy.

### **BK/4/15**

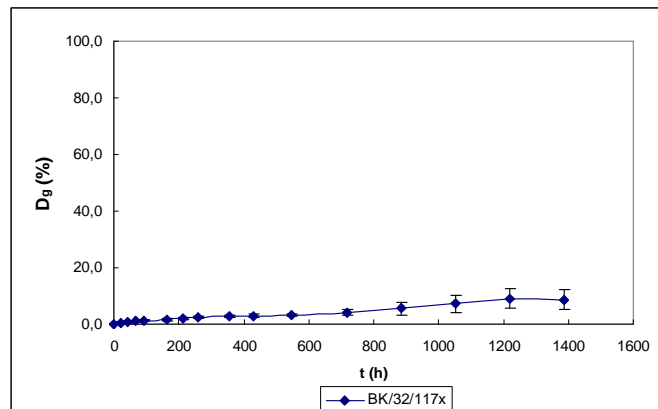
Vzorek BK/4/15 o složení 70% PCL a 30% předželatinovaného kukuřičného škrobu Gel Instant vykazoval maximální odstranění substrátu dle produkce bioplynu  $D_g$  přes 9%. Na obr. 13 je znázorněn časový průběh degradace tohoto vzorku získaný měřením obsahu  $CH_4$  a  $CO_2$  ve vyprodukovaném bioplynu. Po dosažení maximální hodnoty po cca 1200 hodinách se degradace již dále nezvyšovala. Po započítání obsahu anorganického uhlíku obsaženého v kapalně fázi se procento odstranění substrátu  $D_T$  zvýšilo na 10,5%.



**Obr.13:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/4/15 v závislosti na čase

### **BK/32/117x**

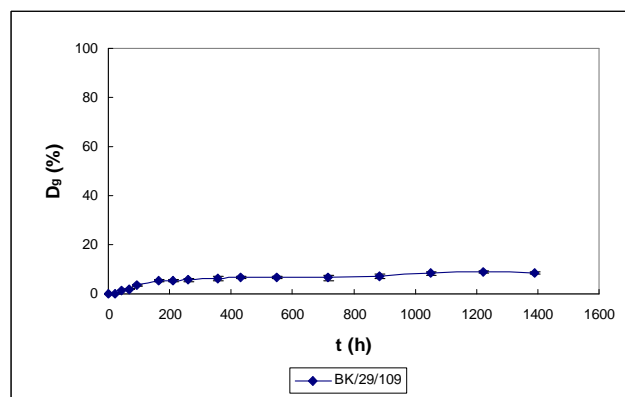
Obr. 14 znázorňuje časový průběh degradace dle produkce bioplynu pro vzorek BK/32/117x o složení 70% PCL a 30% amarantového škrobu. Rozklad této směsi započal po cca 30 hodinách lagové fáze, nejvyššího procenta odstranění substrátu bylo dosaženo po cca 1200 hodinách a to 9%  $D_g$ . Po vyhodnocení IC obsaženého v kapalně fázi a započtení této hodnoty se procento rozkladu zvýšilo na 10,1%.



**Obr.14:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/32/117x v závislosti na čase

Ani u jednoho vzorku neproběhl rozklad z tolika procent, aby se vyrovnal alespoň obsahu lehce rozložitelného škrobu (Meritena 100, Waxy, Gel Instant, Amarant). Tato skutečnost je patrně způsobena nehomogenitou připravených směsí, zrna škrobu si při zpracování zachovala svůj tvar. Částice škrobu mohly být obaleny molekulami PCL a tím byly hůře dostupné pro mikroorganismy.

### **BK/29/109**



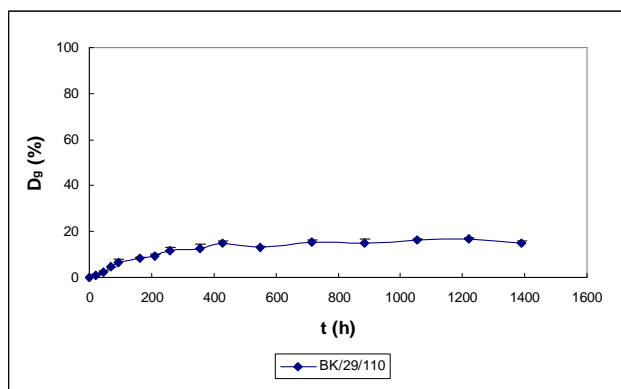
**Obr.15:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/109 v závislosti na čase

Časový průběh degradace vzorku BK/29/109 o složení 61,3% PCL, 26,3% Meritena 100, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O je znázorněn na obr. 15. Glycerol v tomto vzorku slouží jako

plastifikační činidlo pro škroby, zajišťuje lepší zpracovatelnost výsledné směsi a zlepšuje její biorozložitelnost. Rozklad tohoto vzorku započal po 30 hodinách lagové fáze. Měření obsahu  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$  ve vyprodukovaném bioplynu bylo zjištěno, že bylo odstraněno cca 9% substrátu. Tato hodnota byla získána po cca 1200 hodinách a dále se již nezvyšovala. Po započtení anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi byla získána hodnota celkového anaerobního rozkladu přes 12%.

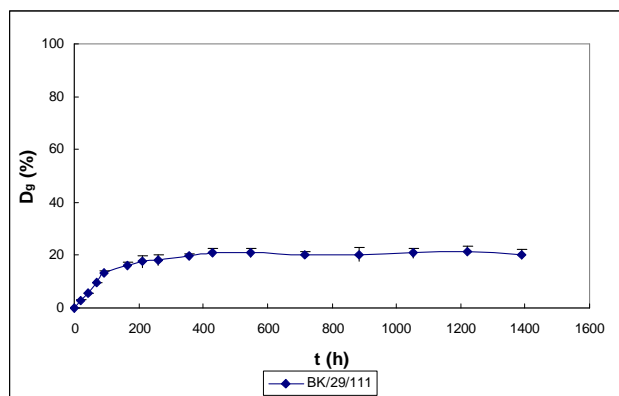
### **BK/29/110**

Obr. 16 znázorňuje průběh degradace vzorku BK/29/110 o složení 61,3% PCL, 26,3% kuřičného škrobu Waxy, 11,3% glycerolu a 1,1%  $\text{H}_2\text{O}$ . Rozklad započal po skončení lagové fáze cca po 20 hodinách a nejvyššího procenta rozkladu bylo dosaženo po zhruba 1200 hodinách. Procento odstranění substrátu dosahovalo vyšších hodnot, téměř 17%  $D_g$ , což je podle mého názoru zapříčiněno přítomností glycerolu, který ve směsi se škrobem Waxy představuje dobře rozložitelnou složku směsi. Po započtení anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi dosahuje hodnota celkového rozkladu substrátu více než 31%, což představuje zastoupení dobře rozložitelných složek. Dá se tudíž předpokládat, že byly degradovány pouze lehce rozložitelné složky jako Waxy a glycerol.



**Obr.16:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/110  
v závislosti na čase



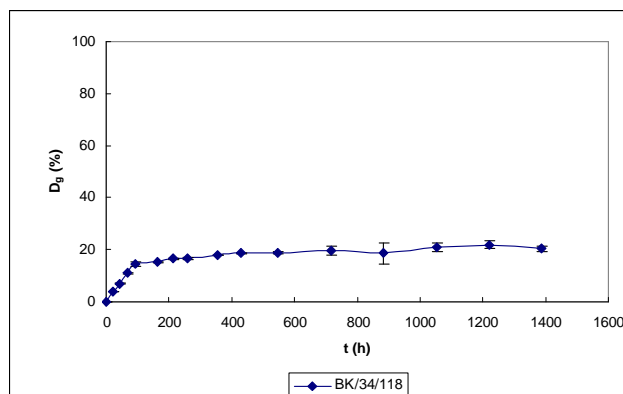
**BK/29/111**

**Obr.17:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/111 v závislosti na čase

Vzorek BK/29/111 o složení 61,3% PCL, 26,3% kukuřičného škrobu Gel Instant, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O byl degradován s průběhem znázorněným na obr. 17. K zásadnímu rozkladu substrátu došlo do cca 200 hodin a pokus byl ukončen po téměř 1400 hodinách. Degradace z hlediska produkce bioplynu proběhla z 21,5% po cca 1200 hodinách a dál se již nezvyšovala. Po započtení IC rozpuštěného v kapalně fázi činil celkový rozklad substrátu téměř 30%, což opět téměř odpovídá zastoupení škrobu a glycerolu ve směsi.

**BKJ/34/118**

U vzorku s označením BKJ/34/118 se složením 61,3% PCL, 26,3% amarantového škrobu, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O proběhl anaerobní rozklad dle závislosti na obr. 18. U tohoto vzorku nebyla pozorována žádná lagová fáze a nejvyššího procenta rozkladu bylo dosaženo po cca 1200 hodinách, a to téměř 22% (bez započtení IC v kapalně fázi). Při započtení anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi byla získána hodnota celkového rozkladu substrátu 30,3% D<sub>T</sub>. Zvýšení procenta rozkladu oproti ostatním vzorkům obsahujícím plastifikovaný škrob lze pravděpodobně připsat typu škrobu použitého ve směsi. Amarant má menší zrna než ostatní tři škroby, což může mít vliv na jeho celkovou biodegradabilitu.

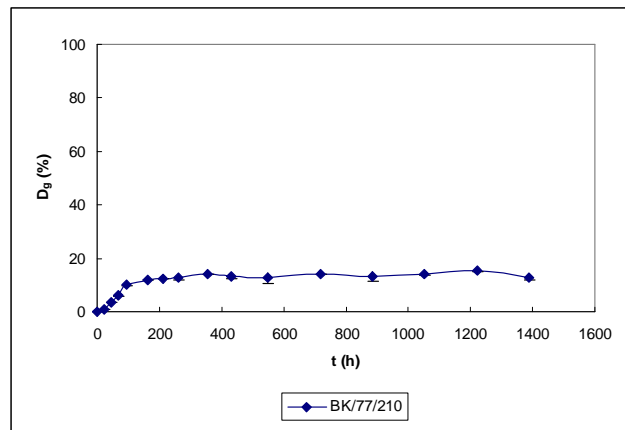


**Obr.18:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BKJ/34/118 v závislosti na čase

Z provedeného sledování anaerobního rozkladu je vidět, že obsah glycerolu ve vzorku vesměs pozitivně ovlivňuje celkovou biologickou rozložitelnost směsi. Směsi s plastifikovanými škroby jsou více homogenní a mají jemnější strukturu, což také jistě pozitivně ovlivňuje biodegradabilitu výsledné směsi. Pouze u jediného vzorku se tato teorie nepotvrdila. Jedná se o vzorek s označením BK/29/109 o složení 61,3% PCL, 26,3% Meritena 100, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O. V tomto případě byl stupeň rozkladu substrátu shodný se vzorky bez obsahu glycerolu, což bylo pravděpodobně zapříčiněno typem použitého škrobu (Meritena 100). Vzorky s tímto škrobem se dle získaných výsledků rozkládají hůře.

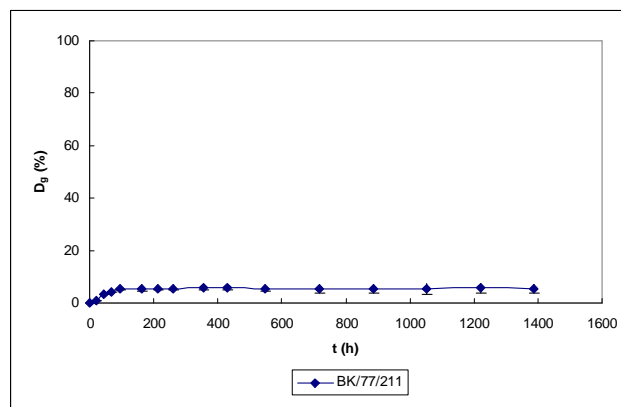
### **BK/77/210**

Vzorek s označením BK/77/210 o složení 47% PCL, 26,5% PHB a 26,5% triacetinu byl rozkládán v anaerobním vodním prostředí s průběhem, který je patrný z Obr. 19. Rozklad začal probíhat po 20 hodinách lagové fáze. Testování bylo ukončeno po cca 1400 hodinách a nejvyššího stupně rozkladu bylo dosaženo po cca 1200 hodinách a to 15,3% D<sub>g</sub> bez započtení IC v kapalně fázi. Při započtení této hodnoty činil celkový rozklad substrátu 21,2% D<sub>T</sub>. Tento vzorek obsahoval v porovnání se vzorkem BK/77/211 dvakrát větší množství snadno rozložitelných složek (PHB, TAC).



**Obr.19:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/77/210 v závislosti na čase

### BK/77/211



**Obr.20:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/77/211 v závislosti na čase

Biodegradace vzorku BK/77/211 se složením 74% PCL, 13% PHB a 13% TAC je znázorněna na obr. 20. Biologický rozklad započal po 20 hodinách lagové fáze a nejvyššího stupně rozkladu bylo za stanovených podmínek dosaženo po 1200 hodinách a to 5,7% D<sub>g</sub>. Po vyhodnocení a započtení obsahu anorganického uhlíku se stupeň rozkladu D<sub>T</sub> mírně povýšil na 8%. Tento vzorek obsahoval v porovnání se vzorkem BK/77/210 poloviční množství snadno rozložitelných složek (PHB, TAC) a tomu také odpovídá dosažený stupeň rozkladu, který byl o hodně nižší.

**Tab. IV:** Stupeň biodegradace testovaných vzorků dle produkce bioplynu  $D_g$  a celkový rozklad  $D_T$  v anaerobním prostředí

vzorek	hm.% PCL	typ a hm% škrobu	hm% glycerolu	hm% H <sub>2</sub> O	hm% PHB	hm% TAC	$D_g \pm SD$ (%)	$D_T$ (%)
PCL	100	-	-	-	-	-	1,8±0,9	2,0
BK3/3x	70	<i>Meritena 100</i> 30%	-	-	-	-	5,2±2,2	5,6
BK/3/10	70	<i>Waxy</i> 30%	-	-	-	-	9,0±0,0	10,7
BK/4/15	70	<i>Gel instant</i> 30%	-	-	-	-	9,3±2,1	10,4
BK/32/117x	70	<i>Amarant</i> 30%	-	-	-	-	9,0±3,5	10,1
BK/29/109	61,3	<i>Meritena 100</i> 26,3%	11,3	1,1	-	-	9,0±0,5	12,6
BK/29/110	61,3	<i>Waxy</i> 26,3%	11,3	1,1	-	-	22,5±0,4	31,2
BK/29/111	61,3	<i>Gel instant</i> 26,3%	11,3	1,1	-	-	21,5±1,7	29,8
BKJ/34/118	61,3	<i>Amarant</i> 26,3%	11,3	1,1	-	-	21,9±1,5	30,3
BK/77/210	47	-	-	-	26,5	26,5	15,3±0,2	21,2
BK/77/211	74	-	-	-	13	13	5,7±1,9	8,0

Z provedených studií a získaných výsledků se můžeme domnívat, že biologický rozklad PCL nebyl přítomností škrobů, plastifikovaných škrobů příp. PHB zlepšen. Zjištěný rozklad pravděpodobně odpovídá pouze degradaci snadno rozložitelných příměsí (škrob, glycerol, PHB). Nízké hodnoty biologické degradace jsou pravděpodobně způsobeny také formou testovaných vzorků (tělíska) a jejich nerozpustností v daném prostředí.

**Tab. V:** Srovnání teoreticky vypočteného biorozkladu vzorků  $D_{T \text{ teor.}}$  a skutečně stanoveného  $D_T$  (za předpokladu minimální degradace PCL)

vzorek	příměs	Obsah příměsi (%)	$D_T$ při- měsi (%)	Teor. %-ní max. rozklad	$D_{T \text{ teor.}}$ (%)	$D_T$ (%)
BK/3/3x	<i>Meritena 100</i> <sup>1</sup>	30	70	21	21	5,6
BK/3/10	<i>Waxy</i> <sup>2</sup>	30	77	23,1	23,1	10,7
BK/4/15	<i>Gel instant</i> <sup>4</sup>	30	75	22,5	22,5	10,4
BK/32/117x	<i>Amarant</i> <sup>3</sup>	30	81	24,3	24,3	10,1
BK/29/109	<i>Meritena 100</i> <sup>1</sup>	26,3	70	18,4	26,7	12,6
	<i>Glycerol</i> <sup>2</sup>	11,3	73	8,2		
BK/29/110	<i>Waxy</i> <sup>2</sup>	26,3	77	20,3	28,5	31,2
	<i>Glycerol</i> <sup>2</sup>	11,3	73	8,2		
BK/29/111	<i>Gel instant</i> <sup>4</sup>	26,3	75	22,5	30,7	29,8
	<i>Glycerol</i> <sup>2</sup>	11,3	73	8,2		
BKJ/34/118	<i>Amarant</i> <sup>3</sup>	26,3	81	21,303	29,6	30,3
	<i>Glycerol</i> <sup>2</sup>	11,3	73	8,2		
BK/77/210	<i>PHB</i> <sup>1</sup>	26,5	90	23,85	42,93	21,2
	<i>Triacetin</i> <sup>1</sup>	26,5	72	19,08		
BK/77/211	<i>PHB</i> <sup>1</sup>	13	90	11,7	21,06	8
	<i>Triacetin</i> <sup>1</sup>	13	72	9,36		

Pozn.: <sup>1</sup> Anaerobní degradace čistého škrobu Meritena 100, PHB a triacetinu byla testována v diplomové práci [20]

<sup>2</sup> Anaerobní degradace geneticky modifikovaného škrobu Waxy a glycerolu byla testována v diplomové práci [25]

<sup>3</sup> Anaerobní rozklad amarantového škrobu byl zkoumán v testu 2

<sup>4</sup> Anaerobní rozklad škrobu Gel instant bohužel nebyl testován, hodnota 75% je předpokládána dle obecně vysokého rozkladu, kterého je u škrobů dosahováno.

Z hlediska množství dobře rozložitelných složek ve směsi by měl v případě vzorku BK/3/3x proběhnout rozklad z cca 21% (jak je patrné z výpočtů uvedených v Tab. V), ovšem skutečný rozklad této směsi byl pouze 5,6%  $D_T$ . U ostatních vzorků obsahujících neplastifikovaný škrob (BK/3/10, BK/4/15, BK/32/117x) by se měl teor. maximální rozklad pohybovat kolem 23-24%. Skutečný rozklad těchto vzorků proběhl však jen z cca 10%  $D_T$ . U vzorku obsahujícího plastifikovaný škrob M100 BK/29/109 byl předpokládán

rozklad stanoven na cca 28,5%, ovšem skutečnost byla pouze 12,6%  $D_T$  rozkladu. Pouze u tří vzorků s obsahem plastifikovaného škrobu (BK/29/110, BK/29/111, BKJ/34/118) bylo dosaženo předpokládaného stupně rozkladu, jak je patrné z Tab. V. U vzorku obsahujícího téměř polovinu PHB a TAC bylo dosaženo jen polovičního rozkladu než byl celkový teor. rozklad příměsí. U vzorku kde byl celkový obsah příměsí cca 26% bylo dosaženo pouze 8%-ního rozkladu  $D_T$ , oproti teor. maximálnímu rozkladu příměsí, který byl 21%.

Výrazně nižší hodnoty dosaženého anaerobního rozkladu u většiny vzorků mohou být způsobeny dávkováním vzorku ve formě tělísek a jejich nerozpustností. Můžeme se domnívat, že degradace vzorků probíhala pouze na povrchu tělísek.

#### **4.1.3.2 Zhodnocení biodegradace dle úbytku hmotnosti vzorků**

Testované vzorky ve formě tělísek byly před vložením do testovacích lahví s inokulem zváženy na analytických vahách. Po ukončení pokusu byla tělíska vytažena, očištěna od kalu a osušena filtračním papírem. Následně byla vložena do exsikátoru a několikrát zvážena. Vážení bylo ukončeno po 12 dnech, kdy již nedocházelo k hmotnostnímu úbytku vzorků. Zjištěné váhové úbytky a vypočtené procento rozkladu vzorků je uvedeno v Tab. VI.

Z hodnot uvedených v Tab. VI je vidět, že pro čistý polyester PCL se hodnoty získané měřením produkce bioplynu a úbytkem hmotnosti liší jen nepatrně. Úbytkem hmotnosti bylo zjištěn rozklad 2,08%, což koresponduje s celkovým rozkladem substrátu dle produkce bioplynu.

Hmotnostní úbytek vzorku BK/3/3x (70 % PCL a 30% škrobu Meritena 100) činil 6,54%, kdežto hodnota získaná z měření obsahu  $CH_4$  a  $CO_2$  v produkovaném bioplynu byla jen 5,58%  $D_T$  (se započtením IC v kapalně fázi).

Pro vzorek BK/3/10 (70% PCL a 30% kukuřičného škrobu Waxy) byl zjištěn rozklad dle úbytku hmotnosti 9,82%. Tato hodnota je nižší než hodnota získaná koncovkou plynové chromatografie se započtením anorganického uhlíku rozpuštěném v kapalně fázi  $D_T$ , která byla 10,66%.

Procento odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/4/15 (70% PCL a 30% předželatinovaného kukuřičného škrobu Gel Instant) činilo 10,45%. Stanovením úbytku hmotnosti bylo zjištěno, že bylo odstraněno 13,95% hmotnosti vzorku.

Vzorek BK/32/117x obsahující 70% PCL a 30% amarantového škrobu byl rozložen z 10,13% (hodnota získaná měření obsahu  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$  v produkovaném bioplynu se započtením IC v kapalně fázi). Vyhodnocením váhového úbytku bylo zjištěno, že anaerobní degradací bylo odstraněno 11,92% hmotnosti vzorku.

Procento rozkladu vzorku BK/29/109 (61,3% PCL, 26,3% Meritena 100, 11,3% glycerolu a 1,1%  $\text{H}_2\text{O}$ ) získané z hmotnostního úbytku činilo 13,78%, což je navýšení cca o 1%, oproti procentuálnímu rozkladu substrátu  $D_T$ , získané měřením produkce bioplynu, který činil 12,61%.

Vzorek BK/29/110 (61,3% PCL, 26,3% kukuřičného škrobu Waxy, 11,3% glycerolu a 1,1%  $\text{H}_2\text{O}$ ) byl rozložen z 31,15% (hodnota  $D_T$  získaná měřením produkce bioplynu se započtením IC v kapalně fázi). Dle stanovení úbytku hmotnosti byla zjištěna hodnota 30,65% odstranění hmotnosti substrátu.

30,39% odstranění hmotnosti substrátu bylo zjištěno pro vzorek BK/29/111 (61,3% PCL, 26,3% kukuřičného škrobu Gel Instant, 11,3% glycerolu a 1,1%  $\text{H}_2\text{O}$ ). V porovnání s hodnotou, získanou měřením produkce bioplynu  $D_T$ , která činila 29,82%, není pozorován významný rozdíl.

U vzorku BKJ/34/118 (61,3% PCL, 26,3% amarantového škrobu, 11,3% glycerolu a 1,1%  $\text{H}_2\text{O}$ ) byl stanoven 30,64%-ní úbytek hmotnosti, což je téměř shodné s hodnotou odstranění substrátu dle produkce bioplynu  $D_T$  (se započtením IC v kapalně fázi), která byla 30,31%. U tohoto vzorku tedy bylo dosaženo téměř stejných hodnot oběma metodami vyhodnocení biodegradace.

Vzorek BK/77/210 (47% PCL, 26% PHB a 26% triacetinu) byl z hlediska produkce bioplynu rozložen z 21,21%  $D_T$ , kdežto metodou stanovení úbytku hmotnosti bylo zjištěno, že došlo k odstranění 25,04% hmotnosti vzorku.

Stejněho rozdílu v získaných hodnotách bylo dosaženo u vzorku BK/77/211, který obsahoval poloviční množství snadno rozložitelných příměsí PHB a TAC (74% PCL, 13% PHB a 13% TAC). Hmotnostní úbytek činil 13,87%, kdežto hodnota  $D_T$  (procentuální odstranění substrátu po započítání IC v kapalně fázi), získaná měřením obsahu  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$  v produkovaném bioplynu činila pouhých 8%.

Celkově lze říci, že hodnoty rozkladu získané oběma metodami jsou překvapivě velmi podobné.

Tab. VI: Zjištěné váhové úbytky a stupeň rozkladu vzorků (%)

vzorek č.		$m_{\text{poč}}$ (g)	$m_{12}$ (g)	$\Delta m_{12}$ (g)	průměr $\Delta m_{12}$ (g)	% odstranění	průměrné % odstranění	$D_T$ (%)
7	<b>PCL</b>	0,39449	0,38627	0,00822	0,00827	2,08	<b>2,08</b>	<b>2,0</b>
8		0,39836	0,3901	0,00826		2,07		
9		0,39995	0,39162	0,00833		2,08		
10	<b>BK/3/3x</b>	0,33257	0,31849	0,01408	0,02180	4,23	<b>6,54</b>	<b>5,6</b>
11		0,32933	0,31206	0,01727		5,24		
12		0,3358	0,30175	0,03405		10,14		
13	<b>BK/3/10</b>	0,36901	0,33756	0,03145	0,03618	8,52	<b>9,82</b>	<b>10,7</b>
14		0,36904	0,32458	0,04446		12,05		
15		0,36666	0,33404	0,03262		8,90		
16	<b>BK/4/15</b>	0,36888	0,32696	0,04192	0,05035	11,36	<b>13,95</b>	<b>10,4</b>
17		0,36408	0,31824	0,04584		12,59		
18		0,35358	0,2903	0,06328		17,90		
19	<b>BK/32/117x</b>	0,35884	0,32911	0,02973	0,04245	8,29	<b>11,92</b>	<b>10,1</b>
20		0,34872	0,29802	0,0507		14,54		
21		0,36229	0,31537	0,04692		12,95		
22	<b>BK/29/109</b>	0,45152	0,38901	0,06251	0,06243	13,84	<b>13,78</b>	<b>12,6</b>
23		0,45347	0,39117	0,0623		13,74		
24		0,45401	0,39154	0,06247		13,76		
25	<b>BK/29/110</b>	0,44641	0,30946	0,13695	0,13692	30,68	<b>30,65</b>	<b>31,2</b>
26		0,44747	0,31171	0,13576		30,34		
27		0,44614	0,30809	0,13805		30,94		
28	<b>BK/29/111</b>	0,53479	0,38101	0,15378	0,16190	28,76	<b>30,39</b>	<b>29,8</b>
29		0,53358	0,36651	0,16707		31,31		
30		0,53021	0,36537	0,16484		31,09		
31	<b>BK/34/118</b>	0,48017	0,33172	0,14845	0,14711	30,92	<b>30,64</b>	<b>30,3</b>
32		0,47854	0,33172	0,14682		30,68		
33		0,48146	0,3354	0,14606		30,34		
34	<b>BK/77/210</b>	0,32807	0,24659	0,08148	0,08301	24,84	<b>25,04</b>	<b>21,2</b>
35		0,33052	0,24744	0,08308		25,14		
36		0,336	0,25152	0,08448		25,14		
37	<b>BK/77/211</b>	0,31897	0,27389	0,04508	0,04417	14,13	<b>13,87</b>	<b>8,0</b>
38		0,31575	0,27276	0,04299		13,62		
39		0,32028	0,27584	0,04444		13,88		

Kde:  $m_{\text{poč}}$  – hmotnost vzorku na začátku pokusu (g)

$m_{12}$  – hmotnost vzorku 12 den po vložení do exsikátoru po ukončení testu biodegradace (g)



#### 4.1.3.3 Zhodnocení změny mechanických vlastností vzorků po biodegradaci v anaerobním prostředí

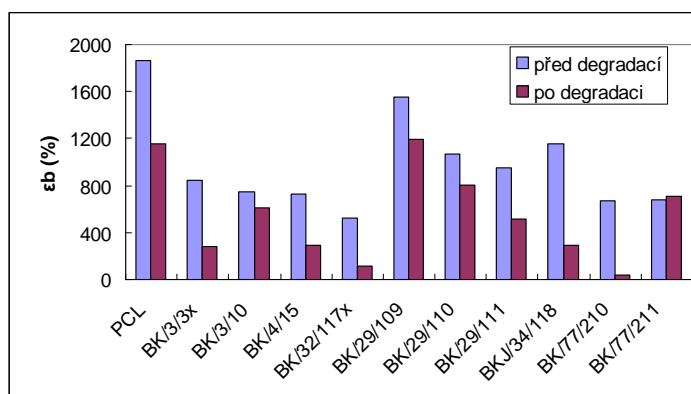
Testované vzorky byly před biodegradací podrobeny mechanickým zkouškám. Tyto zkoušky byly provedeny na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě. Zkoušení bylo prováděno na trhacím zařízení TIRATEST 270 25. Na testování byly připraveny lopatky tvaru odpovídajícím normě. Z tahové křivky byla pak vyhodnocena maximální pevnost v tahu při přetržení a poměrné prodloužení při přetržení. Tyto zkoušky byly provedeny před a po biologické degradaci vzorků. Hodnoty získané měřením jsou sepsány v Tab. VII.

**Tab. VII:** Hodnoty max. pevnosti v tahu a poměrného prodloužení při přetržení pro testované vzorky před a po biodegradaci.

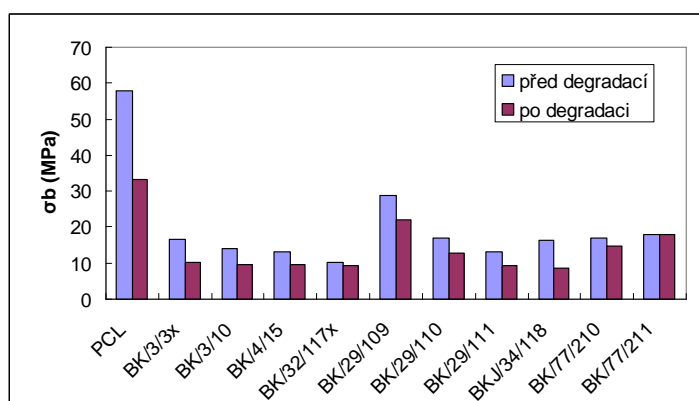
vzorek	Mechanické vlastnosti vzorků před degradací		Mechanické vlastnosti vzorků po degradaci	
	$\epsilon_b$ (%)	$\sigma_b$ (MPa)	$\epsilon_b$ (%)	$\sigma_b$ (MPa)
<b>PCL</b>	1864,1	58,0	1150,5	33,3
<b>BK/3/3x</b>	841,0	16,5	282,3	10,2
<b>BK/3/10</b>	746,6	14,1	614,8	9,6
<b>BK/4/15</b>	725,9	13,0	295,9	9,7
<b>BK/32/117x</b>	528,6	10,4	114,0	9,2
<b>BK/29/109</b>	1551,4	28,8	1190,4	22,0
<b>BK/29/110</b>	1069,5	16,8	803,6	12,7
<b>BK/29/111</b>	953,5	13,0	510,3	9,2
<b>BKJ/34/118</b>	1155,6	16,3	287,6	8,6
<b>BK/77/210</b>	666,0	16,9	40,7	14,9
<b>BK/77/211</b>	678,7	17,8	707,0	17,8

Kde:  $\epsilon_b$  – max. pevnost v tahu při přetržení (%)

$\sigma_b$  – poměrné prodloužení při přetržení (MPa)



**Obr. 21:** Porovnání hodnot **max. pevnosti v tahu při přetržení** u vzorků před a po provedeném anaerobním rozkladu



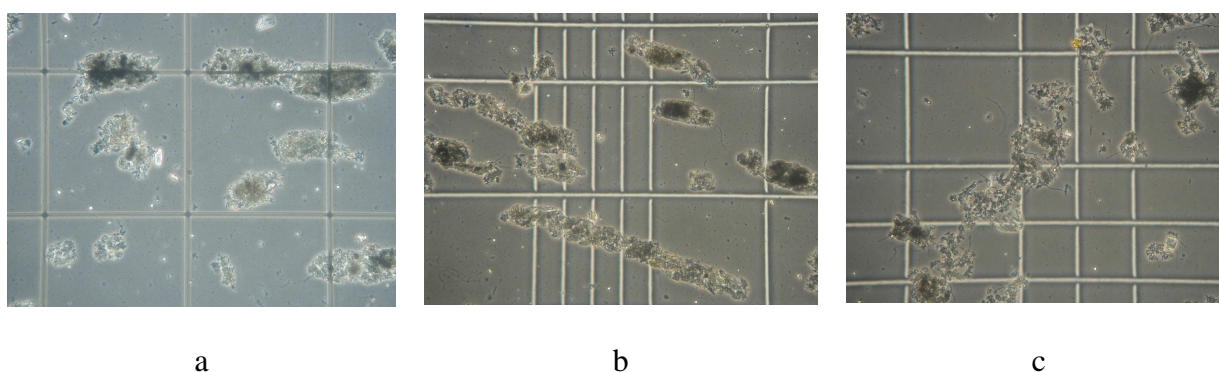
**Obr. 22:** Porovnání hodnot **poměrného prodloužení při přetržení** u vzorků před a po provedeném anaerobním rozkladu

Ze sloupcových grafů na obr. 21 a 22 je patrné, že vyjma vzorku BK/77/211 (se složením 74% PCL, 13% PHB a 13% TAC), došlo u všech zkoumaných materiálů po biodegradaci ke zhoršení mechanických vlastností. Nejnížší hodnoty max. pevnosti v tahu 40,7% bylo dosaženo u vzorku BK/77/210 s obsahem 26% PHB a 26% TAC, u které proběhl rozklad zjištěný měřením produkce bioplynu z 21,21%. K největšímu snížení hodnoty max. pevnosti v tahu došlo u vzorku s označením BKJ/34/118 s obsahem cca 26% amarantového škrobu. Zde se hodnoty snížila z původních 1155,6% na 287,6%. Tento výsledek koreponduje i s hodnotou získanou měřením  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$  v produkovaném bioplynu. I zde bylo dosaženo nejvyššího procenta odstranění substrátu ze všech vzorků a to 30,31%. Naproti tomu, u vzorku K/77/211 se složením 74% PCL, 13% PHB a 13% TAC, nedošlo ke změně mechanických vlastností, což by mohlo mít souvislost s nízkým dosaženým celkovým stupněm rozkladu  $D_T$ , které bylo jen 8%.

Testováním poměrného prodloužení při přetržení bylo dosaženo téměř stejných výsledků. U vzorku s obsahem amarantového škrobu BKJ/34/118 byla jeho hodnota snížena téměř o polovinu, zatímco vzorek BK/77/211 nevykazoval téměř žádnou změnu této veličiny.

#### 4.1.3.4 Optická mikroskopie kalu

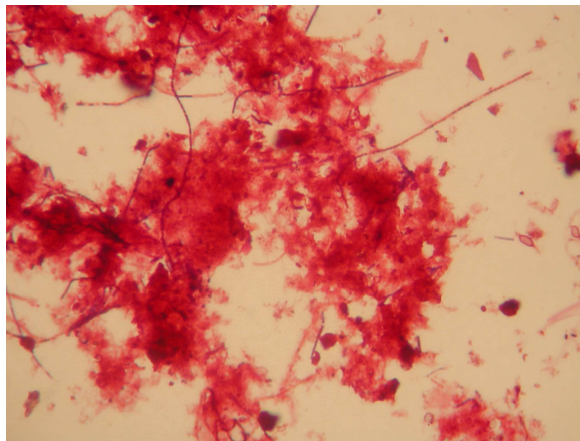
Optická mikroskopie anaerobního kalu byla provedena pro slepý pokus a kal, ve kterém byl rozkládán standard octan sodný a vzorek BK/29/110 (61,3% PCL, 26,3% kukuřičného škrobu Waxy, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O). Na obr. 21 jsou vidět pořízené snímky.



**Obr. 23:** Mikroskopie anaerobního kalu pomocí fázového kontrastu (zvětšení 1000x); a – slepý pokus; b – standard; c – vzorek BK/29/110

Z pořízených snímků je patrné, že vločky anaerobního kalu mají v různých prostředích rozdílnou strukturu. V případě slepého pokus (Obr. 21a) jsou vločky pevné, hutné, kompaktní, bez otevřené struktury. Podobné vlastnosti vykazují i vločky kalu v přítomnosti standardu octanu sodného (Obr. 21b). Rozdíl ve struktuře vloček je nejvíce patrný v porovnání s vločkami kalu z rozkladu vzorku BK/29/110 (Obr. 21c). Zde mají vločky otevřenou strukturu. To je pravděpodobně způsobeno tím, že na rozkladu vzorku BK/29/110 se podílí odlišné skupiny mikroorganismů (než v případě octanu sodného), které vykazují malé, nebo žádné flokulační schopnosti. Na rozkladu octanu sodného se s nejvyšší pravděpodobností podílí pouze methanogenní mikroorganismy, které jej využívají jako substrát pro produkci methanu. Hydrolytické bakterie využívají octan spíše jen jako zdroj energie pro svůj růst. U vzorku BK/29/110 se však na rozkladu podílí celé spektrum bakterií (hydrolytické, fermentační a acetogenní bakterie a methanogenní mikroorganismy), což jistě ovlivňuje prostředí v testovací láhvi a tím také tvar a strukturu vloček.

Bylo provedeno také Gramovo barvení fixovaného preparátu všech vzorků kalu. Pro doplnění zde uvádím také snímek získaný mikroskopií těchto preparátů, konkrétně se jedná o snímek z mikroskopie kalu z rozkladu vzorku BK/29/110, který je na obr. 22.



**Obr. 24:** Optická mikroskopie fixovaného preparátu po Gramově barvení kalu z rozkladu vzorku BK/29/110 (zvětšení 1000x)

Pomocí Gramova barvení bylo zjištěno, že téměř veškerá biomasa je tvořena gramnegativními mikroorganismy, s jen občasným výskytem grampozitivních tyček. Grampozitivní vlákna, která jsou vidět na obr. 22 mezi biomasou jsou patrně pozůstatky z aktivace. Mohlo by se jednat o rozpadající se vláknité mikroorganismy typu *Microthrix parvicella*.

## 4.2 Test 2

V druhém testu byly testovány vybrané vzorky ve formě prášku o velikosti částic 0,5 – 1 mm. Byly to vzorky s označením BK/4/15, BK/29/110, BK/29/111, BK/34/118 na bázi PCL, PHB, škrobů (Waxy, Gel instant) a glycerolu a vzorek BK/77/210 na bázi PCL a PHB o stejném složení jako v prvním testu. Byl testován také samostatný amarantový škrob (velikost částic 0,9 – 1,3  $\mu\text{m}$ ).

Tento pokus probíhal od 24.3. do 23.4.2009, tedy cca 4 týdny. Slepý pokus byl prováděn 2krát vedle sebe, všechny vzorky a amarantový škrob byly testovány 3krát vedle sebe.

Jako biologický materiál byl použit anaerobní vyhnílý kal z čistírny městských odpadních vod v Malenovicích. Po přivezení byl uložen v termostatu při teplotě  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Byla stanovena jeho sušina, která činila 37,39 g/l. Těsně před nasazením testu byl kal odstředěn při 3000G po dobu 10 minut, promyt odkysličenou pitnou vodou, odstředěn při stejných podmínkách a následně zředěn odkysličeným minerálním médiem na sušinu 2-3 g/l.

Rozklad testovaných vzorků byl hodnocen dle denní produkce množství  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$ . Ze získaných hodnot bylo vypočteno procentuální odstranění substrátu ( $D_g\%$ ). Po zahrnutí množství anorganického uhlíku bylo stanoveno celkové procentuální odstranění substrátu ( $D_T\%$ ).

Do testovacích lahví bylo dávkováno:

- Substrát: amarantový škrob, testované vzorky na bázi PCL, škrobů, glycerolu a vzorek na bázi PCL, PHB a TAC.
- 100 ml suspenze aktivovaného kalu v minerálním médiu.
- Množství vzorku bylo vypočteno a dávkováno tak, aby v každé lahvi na počátku byl obsah uhlíku 20 mg.

Charakteristiky vzorků na počátku a konci testu jsou uvedeny v Tab. VIII a IX. Počáteční sušina suspenze kalu v minerálním médiu byla 2,45 g/l a pH inokula bylo 7,04.

Výpočty byly provedeny dle vzorců uvedených v kapitole 3.6.6.

## 4.2.1 Hodnoty vstupních a výstupních veličin

Tab. VIII: Navážky vzorků a obsah uhlíku v lahvích na vstupu

Čís.	látko	$m_{\text{skut.}} \text{ (mg)}$	$\text{TC}_{\text{ve vzorku}} \text{ (\%)}$	$\text{TC}_{\text{teor}} \text{ (mg)}$	$\text{Th}_C \text{ (mmol)}$
1	slepý pokus	---	---	---	0,046
2	slepý pokus	---	---	---	0,046
3	Amarant	48,88	40,78	19,93	1,66
4	Amarant	49,24		20,08	1,67
5	Amarant	48,72		19,87	1,66
6	BK/4/15	34,53	57,87	19,98	1,67
7	BK/4/15	34,72		20,09	1,67
8	BK/4/15	34,60		20,02	1,67
9	BK/29/110	35,39	55,78	19,74	1,65
10	BK/29/110	35,99		20,08	1,67
11	BK/29/110	35,33		19,71	1,64
12	BK/29/111	37,14	53,28	19,79	1,65
13	BK/29/111	37,57		20,02	1,67
14	BK/29/111	37,27		19,86	1,65
15	BK/34/118	35,57	56,48	20,09	1,67
16	BK/34/118	35,40		19,99	1,67
17	BK/34/118	35,01		19,77	1,65
18	BK/77/210	33,96	60,27	20,47	1,71
19	BK/77/210	33,59		20,24	1,69
20	BK/77/210	32,96		19,86	1,66

Kde:  $\text{TC}_{\text{teor}}$  – množství uhlíku ve vzorku přepočítáno na skutečnou navážku (mg)

**Tab. IX:** Hodnoty sušiny, pH a obsahu uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení sl. p.)

Čís.	látka	sušina <sub>kon.</sub> (g/l)	pH <sub>kon.</sub> (-)	TC (mg/l)	IC (mg/l)	TOC (mg/l)
1	slepý pokus	2,78	7,10	56,40	31,86	24,54
2	slepý pokus		7,06	56,46	37,72	18,74
3	Amarant	2,99	6,91	82,60	64,40	18,20
4	Amarant		6,87	79,84	61,02	18,82
5	Amarant		6,88	82,24	65,50	16,74
6	BK/4/15	3,27	7,09	62,92	43,64	19,28
7	BK/4/15		7,09	65,82	46,68	19,14
8	BK/4/15		7,06	62,58	46,28	16,30
9	BK/29/110	2,66	7,09	53,72	38,26	15,46
10	BK/29/110		7,05	57,58	40,28	17,30
11	BK/29/110		7,04	60,78	42,92	17,86
12	BK/29/111	2,41	7,09	59,00	39,84	19,16
13	BK/29/111		7,06	56,06	36,92	19,14
14*	BK/29/111		4,89	15,23	0,00	15,23
15	BK/34/118	2,56	7,11	55,92	38,34	17,58
16	BK/34/118		7,07	54,62	38,10	16,52
17	BK/34/118		7,07	55,88	39,60	16,28
18	BK/77/210	2,87	7,13	54,16	37,30	16,86
19	BK/77/210		7,06	54,20	36,92	17,28
20	BK/77/210		7,07	54,92	38,78	16,14

Pozn.: \* Láhev č. 14 se vzorkem BK/29/111 vykazovala dle složení odebírané plyn-  
né fáze potlačení anaerobních pochodů, methan nebyl od začátku téměř produko-  
ván. Tomu odpovídá i zjištěné pH a hodnoty TOC, TC a IC na konci pokusu. Proto  
nejdou tyto výsledky do výpočtů zahrnuté.

#### 4.2.2 Vyhodnocení testu 2

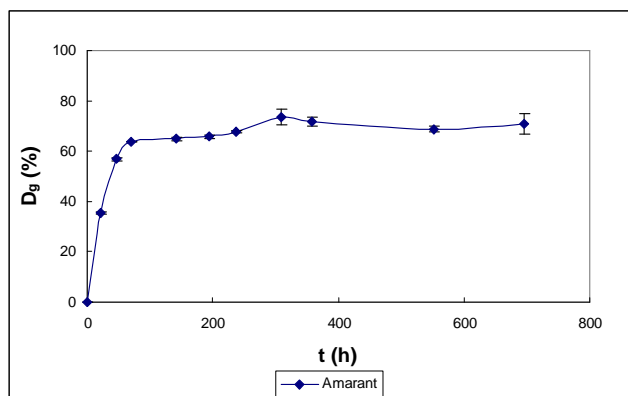
Cílem bylo porovnat anaerobní degradaci vzorků ve formě prášku a tělísek, jejichž biode-  
gradace byla prováděna v testu 1. Vzorky byly testovány po dobu 700 hodin (4 týdny).

Test byl hodnocen jen z hlediska množství CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub> ve vyprodukovaném bioplynu D<sub>g</sub>% a  
započtení IC rozpuštěného v kapalně fázi D<sub>T</sub>%.

Amarantový škrob byl dávkován ve formě jemného prášku o velikosti částic 0,9 – 1,3 μm.  
Směsné vzorky byly dávkovány ve formě prášku o velikosti částic 0,5 – 1 mm. Prášek byl

připraven stříháním. Následně byla provedena síťová analýza a byla vybrána frakce s nejvyšším zastoupením. U všech vzorků to byla velikost částic 0,5 – 1 mm, která byla použita pro testování anaerobní biorozložitelnosti.

### Amarant



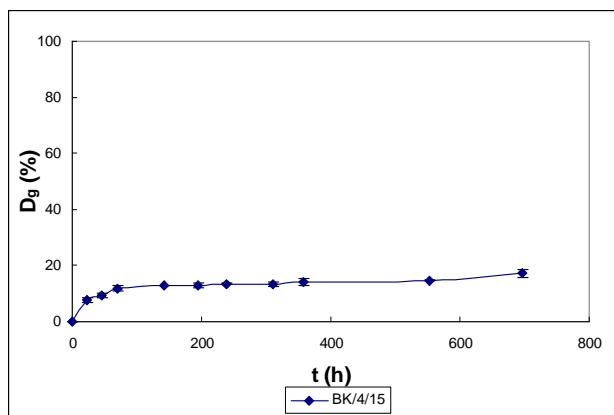
**Obr.25:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro amarant v závislosti na čase

U vzorku amarantu nebyla pozorována lagová fáze, rozklad započal hned od začátku pokusu. Průběh anaerobní degradace amarantu je znázorněn na obr. 23. Nejvyššího rozkladu bylo dosaženo po cca 300 hodinách, kdy bylo odstraněno 73,5%  $D_g$  bez započtení IC rozpuštěného v kapalně fázi. Od této doby se již stupeň rozkladu nepovyšil. Při započtení anorganického uhlíku v kapalně fázi se tato hodnota zvýšila na 80,8%  $D_T$ .

### BK/4/15

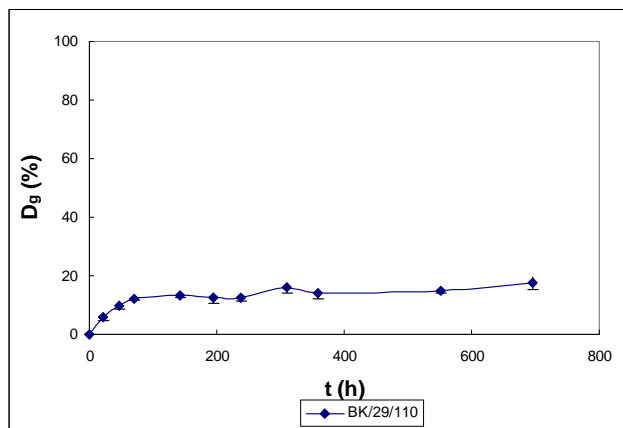
Vzorek BK/4/15 o složení 70% PCL a 30% předželatinovaného kukuřičného škrobu Gel Instant byl degradován s průběhem, který je patrný ze závislosti na obr. 24. Z grafu je vidět, že degradace vzorku probíhala od začátku a neprojevila se žádná lagová fáze. Testovaný vzorek vykazoval maximální procento odstranění substrátu dle produkce bioplynu 17,2%  $D_g$  (bez IC) po 700 hodinách. Po započtení množství anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi činil max. rozklad substrátu 19,9%.





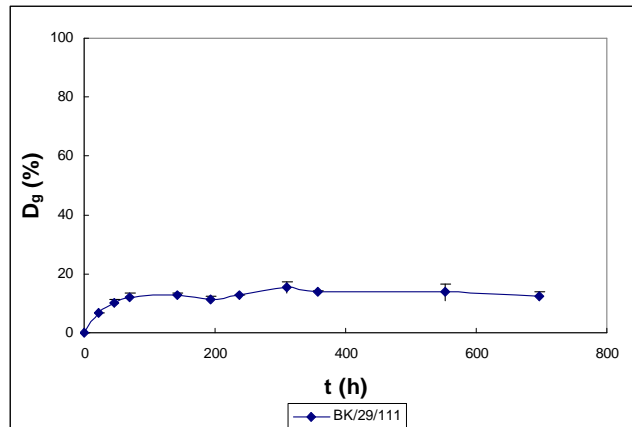
**Obr.26:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/4/15 v závislosti na čase

### **BK/29/110**



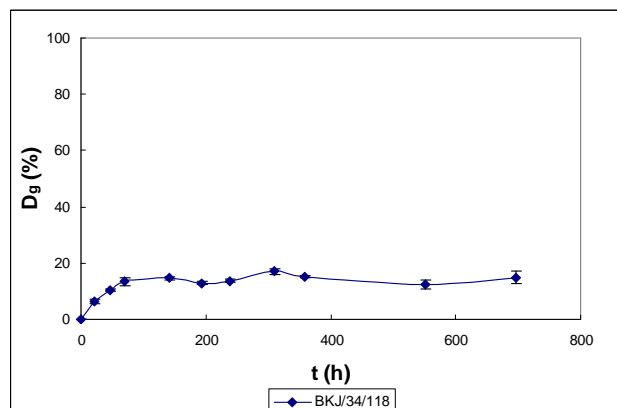
**Obr.27:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/110 v závislosti na čase

U vzorku BK/29/110 se složením 61,3% PCL, 26,3% kukuřičného škrobu Waxy, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O byla získána hodnota D<sub>g</sub> odstranění substrátu dle obsahu CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub> 17,5%. Po započtení anorganického uhlíku obsaženého v kapalně fázi se hodnota povýšila na 19%. Tento rozklad se blíží teoretickému rozkladu škrobu Waxy obsaženému ve směsi. Anaerobní degradace probíhala po dobu 700 hodin s hodnotami patrnými z grafu na obr. 25.

**BK/29/111**

**Obr.28:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/110 v závislosti na čase

U vzorku BK/29/111 obsahujícím 61,3% PCL, 26,3% kukuřičného škrobu Gel Instant, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O probíhala anaerobní degradace při 35°C dle grafické závislosti na obr. 26. Nejvyššího rozkladu bylo dosaženo po 300 hodinách a to 15,5% D<sub>g</sub> (bez započtení IC). Od této doby se rozklad již nezvýšil. Po započtení IC v kapalně fázi se max. rozklad substrátu povýšil jen málo na 16,4% D<sub>T</sub>.

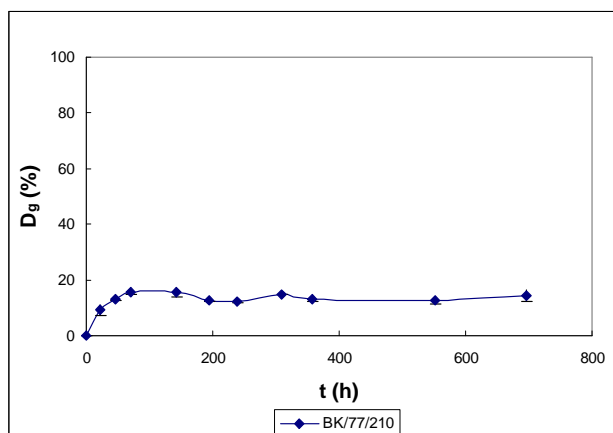
**BKJ/34/118**

**Obr.29:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BKJ/34/118 v závislosti na čase

Vzorek BKJ/34/118 se složením 61,3% PCL, 26,3% amarantového škrobu, 11,3% glycerolu a 1,1% H<sub>2</sub>O byl anaerobně degradován s průběhem, který je patrný z grafu na obr.27. Maximálního rozkladu substrátu dle množství CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub> v produkovaném bioplynu bylo dosaženo po 300 hodinách a to 17% D<sub>g</sub>. Po započtení anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi došlo ke zvýšení maximálního procenta biologického odstranění substrátu na téměř 18% D<sub>T</sub>.

### **BK/77/210**

Na obr. 28 je znázorněn průběh anaerobní biodegradace vzorku BK/77/210 o složení 47% PCL, 26,5% PHB a 26,5% triacetinu v závislosti na čase. Biologický rozklad při 35°C byl ukončen po cca 700 hodinách. Maximální procento rozkladu dle produkce bioplynu činilo 15,5% D<sub>g</sub> a to po 140 hodinách degradace. Od této doby se stupeň rozkladu již nepovyšil. Po započtení anorganického uhlíku obsaženého v kapalně fázi se procento odstranění substrátu nepatrně zvýšilo na 16,2%.



**Obr.30:** Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/77/210 v závislosti na čase

**Tab. X:** Stupeň biodegradace testovaných vzorků dle produkce bioplynu  $D_g$  a celkový rozklad  $D_T$  v anaerobním prostředí

vzorek	hm.% PCL	typ a hm% škrobu	hm% glycerolu	hm% H <sub>2</sub> O	hm% PHB	hm% TAC	$D_g \pm SD$ (%)	$D_T$ (%)
Amarant	-	Amarant 100%	-	-	-	-	73,5±3,2	80,8
BK/4/15	70	Gel instant 30%	-	-	-	-	17,2±1,5	19,9
BK/29/110	61,3	Waxy 26,3%	11,3	1,1	-	-	17,5±2,1	19,0
BK/29/111	61,3	Gel instant 26,3%	11,3	1,1	-	-	15,5±1,8	16,4
BKJ/34/118	61,3	Amarant 26,3%	11,3	1,1	-	-	17±0,9	17,9
BK/77/210	47	-	-	-	26	26	15,5±1,4	16,2

Po provedení druhého testu a srovnání získaných hodnot rozkladu (viz Tab. X) s hodnotami získanými v prvním testu (viz Tab. IV) jsou patrné rozdíly. Předpoklad byl, že vzorky ve formě prášku se budou rozkládat lépe a rychleji než vzorky ve formě tělísek. Tato teorie se však potvrdila jen v případě vzorku B/4/15, obsahující 30% škrobu Gel instant. Zde se rozklad povýšil o cca 10% v případě testování práškové formy vzorky. U ostatních vzorků ve formě prášku bylo procento odstranění substrátu se započtením anorganického uhlíku  $D_T$  nižší o cca 5-13%.

**Tab. XI:** Srovnání teoreticky vypočteného biorozkladu vzorků  $D_{T \text{ teor.}}$  a skutečně stanoveného  $D_T$  (za předpokladu minimální degradace PCL)

zorek	příměs	Obsah příměsi (%)	$D_T$ příměsi (%)	Teor.%-ní max. rozklad	$D_{T \text{ teor.}}$ (%)	$D_T$ (%)
BK/4/15	Gel instant	30	75	22,5	22,5	19,9
BK/29/110	Waxy <sup>1</sup>	26,3	77	20,3	28,5	19
	Glycerol <sup>1</sup>	11,3	73	8,2		
BK/29/111	Gel instant	26,3	75	22,5	22,5	16,4
	Glycerol <sup>1</sup>	11,3	73	8,2		
BKJ/34/118	Amarant	26,3	81	21,3	29,6	17,9
	Glycerol <sup>1</sup>	11,3	73	8,2		
BK/77/210	PHB <sup>2</sup>	26,5	90	23,9	42,9	16,2
	triacetin <sup>2</sup>	26,5	72	19,1		

- Pozn.: <sup>1</sup> Anaerobní degradace škrobu Waxy a glycerolu byla testována s DP [25]
- <sup>2</sup> Anaerobní degradace PHB a triacetinu byla testována v DP [20]
- <sup>3</sup> Anaerobní rozklad škrobu Gel instant bohužel nebyl testován, hodnota 75% je předpokládána dle obecně vysokého rozkladu, kterého je u škrobů dosahováno.

Vyhodnocení provedeného rozkladu dle procentuálního obsahu snadno rozložitelných příměsí je uvedeno v Tab. XI. Pouze u vzorku BK/4/15 s 30%-ním obsahem škrobu Gel instant se skutečný rozklad (cca 20%  $D_T$ ) blížil k teor. rozkladu škrobu ve směsi, který byl stanoven na 22,5%.

## ZÁVĚR

V diplomové práci byla zkoumána anaerobní degradace směsných vzorků PCL se škroby (nativní, plastifikované) a směsí PCL s PHB a triacetinem. Jednalo se o materiály ve vodě nerozpustné. Byla prováděna také degradace čistého PCL a amarantového škrobu. Degradace vzorků byla prováděna v prostředí anaerobního kalu při teplotě 35°C. Vzorky byly dávkovány ve formě tělísek definované hmotnosti. Průběh biodegradace byl monitorován měřením množství CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub> ve vyprodukovaném bioplynu a hmotnostním úbytkem vzorků.

Škroby jsou používány ve směsích pro zlepšení jejich biodegradability, protože jako přírodní materiály jsou lehce biologicky rozložitelné. To dokazují i námi získané výsledky degradace amarantového škrobu, který byl rozložen z 81% za cca 300 hodin.

Degradace syntetického polyesteru poly-ε-kaprolaktonu probíhala cca 1400 hodin (asi 8 týdnů). Za tuto dobu došlo k odstranění pouhých 2% substrátu. Nízkou degradaci čistého PCL potvrzují i studie [10]. Z výsledků tedy vyplývá, že PCL podléhá rozkladu v anaerobním vodním prostředí při nižších teplotách jen nepatrně.

Při testování polymerních směsí PCL s nativní formou škrobů byly zjištěny následující hodnoty rozkladu. Vzorek s obsahem 30% kukuřičného škrobu Meritena 100 (BK/3/3x) byl rozložen pouze z 5% za 1200 hodin. U ostatních vzorků BK/3/10 (30% geneticky modifikovaného kukuřičného škrobu WAXY), BK/4/19 (30% předželatinovaného kukuřičného škrobu Gel instant) a BK/32/117x (30% amarantového škrobu) bylo odstraněno v průměru 10% substrátu za dobu 1200 hodin. Z těchto výsledků vyplývá, že vzorky obsahující škrob M 100 jsou hůře rozložitelné než ostatní typy směsí.

Testováním vzorků PCL s plastifikovanými škroby, kde jako plastifikační činidlo byl použit glycerol, byly získány tyto výsledky: vzorek BK/29/109 (cca 26% M 100 a 11% GL) byl za 1200 hodin rozložen jen z cca 12%, což nepředstavuje ani polovinu stupně rozkladu dosaženého u ostatních vzorků. U vzorků BK/29/110 (cca 26% Waxy a 11% GL), BK/29/111 (cca 26% Gel instant a 11% GL) a BKJ/34/118 (cca 26% amarantového škrobu a 11% GL) bylo průměrně odstraněno 30% substrátu za 1200 hodin, což téměř odpovídá teoretickému rozkladu vypočtenému pro dané směsi.

Směsi PCL s obsahem PHB a TAC vykazovaly značný rozdíl v dosaženém stupni degradace, který byl zapříčiněn procentuálním zastoupením těchto snadno rozložitelných složek.

Vzorek s označením BK/77/210 (26,5% PHB a 26,5% TAC) byl rozložen z 21% za 1200 hodin, kdežto u vzorku BK/77/211 (13% PHB a 13% TAC) bylo odstraněno pouhých 8% substrátu za stejnou dobu.

Celkové hodnocení rozložitelnosti vzorků při uvážení obsahu snadno rozložitelných příměsí je znázorněno v Tab. V. Při hodnocení biodegradace vzorků z hlediska úbytku jejich hmotnosti bylo dosaženo překvapivě přibližně stejných výsledků. Zjištěné váhové úbytky jsou sepsány v Tab. VI. Z grafů na obr. 21 a 22 jsou patrné změny mechanických vlastností vzorků způsobené proběhnutou biodegradací.

Provedenou mikroskopií kalu v prvním testu bylo zjištěno, že vločky kalu v přítomnosti vzorku mají otevřenou, jakoby potrhanou strukturu, v porovnání s vločkami kalu ze slepého pokusu a rozkladu standardu NaAc. Je to způsobeno tím, že na degradaci vzorků se podílí jiná skupina mikroorganismů, která mají nízké, nebo žádné flokulační schopnosti. Liší se také spektrum mikroorganismů, které rozkládají octan sodný a zkoumané vzorky, jelikož octan využívají ihned methanogenní archaea k produkci  $\text{CH}_4$ , kdežto polymerní vzorky jsou postupně napadány všemi mikroorganismy, které se podílí na anaerobním rozkladu.

Cílem práce bylo také porovnat, jaký vliv na degradaci bude mít forma dávkování vzorku. V první sérii byly vzorky dávkovány ve formě tělísek a ve druhé sérii byly rozkládány ve formě prášku o velikosti částic 0,5–1 mm. Bylo očekáváno, že rozklad vzorků ve formě prášku proběhne rychleji a do vyššího stupně. Toto však bylo potvrzeno pouze u vzorku BK/4/15 s nativním škrobem Gel instant, kde ve formě prášku proběhl dvojnásobný rozklad v porovnání s testováním tělísek. U ostatních práškových vzorků bylo dosaženo zhruba polovičního procenta rozkladu ve srovnání s testem degradace tělísek.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] HOFFMANN J., ŘEZNÍČKOVÁ I., RŮŽIČKA J.: Technologická cvičení z Ochrany prostředí II, str. 6, FT Zlín, 2000, ISBN 80-214-1709-9
- [2] KUPEC J.: Zpracování odpadních vod a čistírenských kalů, str.95-97, FT Zlín 2002, ISBN 80-7318-058-8
- [3] J. S. KNAPP, K.C.A. BROMLEY-CHALLONER: Recalcitrant organic compounds, The Handbook of Water and Wastewater Microbiology, London 2003, Elsevier, ISBN: 0-12-470100-0, s. 670-678
- [4] KAŠTÁNEK F., Bioinženýrství, str. 221, Academia, 2001, ISBN 80-200-0768-7
- [5] ABOU-ZEID D.-M., MÜLLER R.-J., DECKWER W.-D., Biodegradation of Aliphatic Homopolyesters and Aliphatic-Aromatic Copolyester by Anaerobic Microorganisms, Biomacromolecules, Vol. 5, No. 5, 2004, s. 1687-1697
- [6] Steinbüchel, Alexander (2002). Biopolymers, 10 Volumes with Index. Wiley-VCH. ISBN 3-527-30290-5.
- [7] KUTÁČOVÁ M.: Modifikace poly(3-hydroxybutyrátu)  $\epsilon$ -kaprolaktonem, VŠCHT v Praze, Fakulta chemické technologie, 2006 [online] [cit. 2009-01-03] dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/document.php?docId=1571>
- [8] MALINOVÁ L.: Kompatibilita směsí poly(3-hydroxybutyrát)-poly(L-mléčná kyselina), VŠCHT v Praze, Fakulta chemické technologie, 2006 [online] [cit. 2009-01-03] dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/document.php?docId=1571>
- [9] GASSNER F., OWENT A.J.: Physical properties of poly( $\beta$ -hydroxybutyrate)-poly( $\epsilon$ -caprolactone) blends, Polymer, Vol. 35, No. 10, 1994, s. 2233 – 2236
- [10] TOKIWA Y., CALABIA P.: Biodegradability and biodegradation of polyesters, J Polym Environ 15, 2007, s. 259-267
- [11] ROSA et al: Effect of thermal aging on the biodegradation of PCL, PHBV and their blends with starch in soil compost, Journal of applied polymer science, Vol. 89, 2003, s. 3539 – 3546
- [12] LA CARA F. et al: Biodegradation of poly- $\epsilon$ -caprolactone/poly- $\beta$ -hydroxybutyrate blend, Polymer degradation and stability 79, 2003, s. 37 – 43



- [13]BLAŽKOVÁ A.: Modifikované škroby a jejich využití v potravinářském průmyslu, Bakalářské práce, UTB Zlín, 2007
- [14]CALZETTA RESIO A.N., TOLABA M.P., SUAREZ C.: Some physical and thermal characteristics of amaranth starch, Food science and technology international, Vol. 6, No. 5, 2000, s. 371-378
- [15]HIXON R.M., SPRAQUE G.F.: Waxy starch of maize and other cereals, Industrial and engineering chemistry, Vol. 34, No. 8, 1942, s. 959-962
- [16]ALBERTSSON et al., Effect of processing additives on (bio)degradability of film-blown poly( $\epsilon$ -caprolactone), Journal of applied polymer science, Vol. 70, 1998, s. 61 – 74
- [17]ABOU-ZEID D.-M. a spol., Degradation of natural and synthetic polyesters under anaerobic conditions, Journal of biotechnology 86, 2000, s. 113 – 126
- [18]FEDERLE T.W., BARLAZ M.A., PETTIGREW C.A., KERR K.M.,KEMPER J.J., NUCK B.A., SCHECHTMAN L.A.: Anaerobic biodegradation of aliphatic polyesters: Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyoctanoate) and poly( $\epsilon$ -caprolactone), Biomacromolecules, Vol. 3, No. 4, 2002, s. 813-822
- [19]ABOU-ZEID D.-M., MÜLLER R.-J., DECKWER W.-D.J., Biotechnol., s.86 - 113, 2001
- [20]MICHNÁČOVÁ Ž.: Biodegradace vybraných polyesterů a jejich směsí v anaerobním prostředí, Diplomová práce, UTB Zlín, 2008
- [21]BUGAJ P., Biodegradovatelné polymerní obalové materiály na bázi polykaprolaktonu, Disertační práce, Slovenská technická univerzita, Bratislava, 2007
- [22]MASSARDIER-NAGEOTTE, PESTRE C., CRUARD-PRADET T., BAYARD R.: Aerobic and anaerobic biodegradability of polymer films and physico-chemical characterization, Polymer degradation stability 91, s.620-627, 2006
- [23]ROSA D.S., LOPES D.R., CALIL M.R.: Thermal properties and enzymatic degradation of blends of poly( $\epsilon$ -caprolactone) with starches, Polymer testing 24, s. 756-761, 2005

- [24]MÜLLER W.-R., FROMMENT I., JOGR R.: Standardized methods for anaerobic biodegradability testing, Environmental Science and Bio/Technology 3, s. 141-158, 2004
- [25]HUBÁČKOVÁ J.: Stanovení anaerobního rozkladu směsných polymerů na bázi PVAL, Diplomová práce, UTB Zlín, 2007

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

BDP	biodegradovatelné plasty
PCL	Poly- $\epsilon$ -kaprolakton
PHB	poly- $\beta$ -hydroxybutyrát
PLA	polylaktid
PLLA	kyselina poly(L-mléčná)
PE	polyetylen
PVA	polyvinylalkohol
PVC	polvinylchlorid
PHBV	kopolymer 3-hydroxybutyrát a 3-hydroxyvalerát
PHBO	kopolymer 3-hydroxybutyrát a 3-hydroxyoktanoát
TAC	triacetin – triester kyseliny octové a glycerolu
NaAc	octan sodný
ČOV	čistírna odpadních vod
WAXY	geneticky modifikovaný kukuřičný škrob
GEL INSTANT	předželatinovaný kukuřičný škrob
M100	kukuřičný škrob Meritena 100
GL	glycerol
ASTM D	American Society of Testing and Materials Standards, ASTM international: chemical
ISO	International Organization for Standardization
TC	Koncentrace celkového uhlíku (TOC+IC)
IC	Koncentrace anorganického uhlíku
TOC	Koncentrace celkového organického uhlíku
D <sub>g</sub>	Procentuální odstranění substrátu dle produkce bioplynu

---

$D_T$	Celkové odstranění substrátu (se započtení anorganického uhlíku rozpuštěného v kapalně fázi)
$SD$	Směrodatná odchylka

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1: Poly- $\beta$ -hydroxybutyrát .....	14
Obr. 2: Poly- $\epsilon$ -kaprolakton .....	15
Obr.3: Strukturní vzorec amylozy.....	16
Obr. 4: Strukturní vzorec amylopektinu .....	16
Obr. 3: Růst bakterií sledovaný po 14, 21, 32 a 40 dnech .....	18
Obr. 4: Aktivita esteráz měřená po 14, 21, 32 a 40 dnech.....	19
Obr. 7: Tvorba bioplynu z recykl. PCL v mezofilním a termofilním odpadním kalu .....	20
Obr.8: Triacetin.....	30
Obr.9: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro standard NaAc v závislosti na čase .....	42
Obr.10: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro čistý PCL v závislosti na čase .....	43
Obr.11: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/3/3x v závislosti na čase .....	44
Obr.12: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/3/10 v závislosti na čase .....	44
Obr.13: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/4/15 v závislosti na čase .....	45
Obr.14: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/32/117x v závislosti na čase .....	46
Obr.15: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/109 v závislosti na čase .....	46
Obr.16: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/110 v závislosti na čase .....	47
Obr.17: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/111 v závislosti na čase .....	48
Obr.18: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BKJ/34/118 v závislosti na čase .....	49
Obr.19: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/77/210 v závislosti na čase .....	50

Obr.20: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/77/211 v závislosti na čase .....	50
Obr. 21: Porovnání hodnot max. pevnosti v tahu při přetržení u vzorků před a po provedeném anaerobním rozkladu .....	57
Obr. 22: Porovnání hodnot poměrného prodloužení při přetržení u vzorků před a po provedeném anaerobním rozkladu .....	57
Obr. 23: Mikroskopie anaerobního kalu pomocí fázového kontrastu (zvětšení 1000x); a – slepý pokus; b – standard; c – vzorek BK/29/110 .....	58
Obr. 24: Optická mikroskopie fixovaného preparátu po Gramově barvení kalu z rozkladu vzorku BK/29/110 (zvětšení 1000x).....	59
Obr.25: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro amarant v závislosti na čase .....	63
Obr.26: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/4/15 v závislosti na čase .....	64
Obr.27: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/110 v závislosti na čase .....	64
Obr.28: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/29/110 v závislosti na čase .....	65
Obr.29: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BKJ/34/118 v závislosti na čase .....	65
Obr.30: Průběh odstranění substrátu dle produkce bioplynu pro vzorek BK/77/210 v závislosti na čase .....	66

**SEZNAM TABULEK**

<b>Tab. I:</b> Složení testovaných vzorků.....	29
<b>Tab. II:</b> Hmotnost vzorků a obsah uhlíku v lahvích na vstupu.....	38
<b>Tab. III:</b> Hodnoty sušiny, pH a obsahu uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení sl. p.).....	39
<b>Tab. IV:</b> Stupeň biodegradace testovaných vzorků dle produkce bioplynu $D_g$ a celkový rozklad $D_T$ v anaerobním prostředí.....	51
<b>Tab. V:</b> Srovnání teoreticky vypočteného biorozkladu vzorků $D_{T \text{ teor.}}$ a skutečně stanoveného $D_T$ (za předpokladu minimální degradace PCL).....	52
<b>Tab. VI:</b> Zjištěné váhové úbytky a stupeň rozkladu vzorků (%).....	55
<b>Tab. VII:</b> Hodnoty max. pevnosti v tahu a poměrného prodloužení při přetržení ..... pro testované vzorky před a po biodegradaci.....	56 56
<b>Tab. VIII:</b> Navážky vzorků a obsah uhlíku v lahvích na vstupu.....	61
<b>Tab. IX:</b> Hodnoty sušiny, pH a obsahu uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení sl. p.).....	62
<b>Tab. X:</b> Stupeň biodegradace testovaných vzorků dle produkce bioplynu $D_g$ a celkový rozklad $D_T$ v anaerobním prostředí.....	67
<b>Tab. XI:</b> Srovnání teoreticky vypočteného biorozkladu vzorků $D_{T \text{ teor.}}$ a skutečně stanoveného $D_T$ (za předpokladu minimální degradace PCL).....	67