



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

Ing. Martina KOPČILOVÁ

STUDIUM CHOVÁNÍ POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ V MIKROBIÁLNÍM PROSTŘEDÍ

Study of behavior of polymeric materials in microbial environment

Dizertační práce

Program: P2808 Chemie a technologie materiálů
Obor: 2808V006 Technologie makromolekulárních látek
Školitel: prof. Ing. Jan Kupec, CSc.

Zlín, 2011

„Teprve tehdy, až zemře poslední strom, tehdy, až bude poslední řeka otrávena a chycena poslední ryba, teprve pak si uvědomíme, že nemůžeme jíst peníze“

Indiáni kmene Krí

Na tomto místě bych chtěla věnovat vzpomínku na mého školitele Doc. Ing. Jaromíra Hoffmanna CSc., který udal směr této práci.

Dále bych ráda poděkovala mému druhému školiteli Prof. Ing. Janu Kupcovi CSc. za odborné vedení a čas, který mi věnoval. Mé zvláštní poděkování patří Doc. RNDr. Janu Růžičkovi Ph.D. za cenné rady, trvalý zájem a především podporu, díky které jsem studium dokázala dotáhnout do konce.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala svým rodičům, sestře Báře, mému příteli a všem blízkým přátelům za vytvoření vhodných podmínek nutných ke zdárnému dokončení studia.

ABSTRAKT

Dizertační práce byla zejména zaměřena na praktickou realizaci metody hodnocení biodegradability polymerních materiálů v prostředí kompostu. Použití uzavřených reakčních lahví s využitím plynově chromatografické analýzy pro stanovení plynných složek biologického rozkladu se ukázalo jako velmi efektivní a dovolilo rozšířit počet testovacích pozic. V první fázi byla spolehlivost metody ověřena sledováním biodegradace mikrokystalické celulosy. V dalším kroku byla tato metodika aplikována pro sledování biodegradace reálných polymerních materiálů vyrobených na bázi poly(vinyl)alkoholu, kyseliny poly- β -hydroxy máselné, poly- ϵ -kaprolaktonu a kyseliny polymléčné. Směsné polymery byly vyrobeny za podmínek simulujících průmyslovou výrobu na dvojzavitovém extrudéru LABtech. Na základě srovnání mechanických vlastností jednotlivých vzorků a jejich biodegradability v kompostu, lze vyhodnotit jako nejnadějnější polymerní směs pro praktické využití materiál s označením PCL/M/P13. Tento směsný polymer o složení 39 % PCL, 31 % škrobu M100, 13 % PVAL a 17 % glycerolu vykazoval jak dobré mechanické vlastnosti srovnatelné s běžnými typy plastů tak vysokou rozložitelnost v kompostu, která činila dle hodnoty D_{CO_2} 74,66 %. Vzhledem k novým možnostem využití extracelulárních polysacharidů jako plnivo polymerních směsí byla v práci věnována bližší pozornost také testování biodegradability vzorků obsahující PVAL a gellan nebo xanthan v kompostu, v půdě a v aktivaci. Dle očekávání byly všechny směsné polymery na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu kompletně mineralizovány v aktivaci. Biodegradovatelnost vzorků v kompostu a půdě byla ovlivněna nízkou rozložitelností PVAL a zároveň rozdílnou rozložitelností gellanu a xanthanu. Výhodnější typ přírodního polymeru použitého do blendů se ukázal být xanthan, protože vzorky obsahující tento polysacharid vykazovaly lepší mechanické vlastnosti a vyšší stupeň mineralizace.

Klíčová slova

Kompost, biodegradace, lahvové testy, plynová chromatografie, poly(vinyl)alkohol, kyselina poly- β -hydroxy máselná, poly- ϵ -kaprolakton

ABSTRACT

The PhD Thesis was mainly focused on the practical implementation of methods for the evaluation of polymeric materials biodegradability in compost. The employment of gas tight flasks using gas chromatographic analysis to determine the gaseous constituents of biodegradation has proved to be very effective. This has allowed the extension of the number of test positions. In the first phase, the reliability of the method was verified by monitoring the biodegradation of microcrystalline cellulose. Thereafter, this methodology was applied to monitor the biodegradation of real polymeric materials based on poly (vinyl)alcohol, poly (3-hydroxybutyric acid), poly (ϵ -caprolactone) and polylactic acid. Mixed polymers were produced under conditions simulating the industrial production of the twin-screw LABtech extruder. Based on a comparison of mechanical properties of individual samples and their biodegradability in compost, the material with the designation PCL/M/P13 was evaluated to be the most promising polymer compound for practical usage. The mixed polymer composition of 39 % PCL, 31 % starch M100, 13 % PVAL and 17 % glycerol evinced good mechanical properties which were comparable to conventional types of plastics and high biodegradability in compost. The results showed this was by a D_{CO_2} value of 74.66 %. Considering the new possibilities of using extracellular polysaccharides as fillers in polymer blends, closer attention has been given to test the biodegradability of samples containing PVAL and gellan, or xanthan, in compost and soil and activation process. As expected, all blended polymers based on PVAL and gellan, or xanthan, were completely mineralized in the activation processes. Biodegradability of the samples in compost and soil was affected by a low degradability of PVAL, as well as by a different degradability of xanthan and gellan. Xanthan proved to be a more favourable natural polymer type used in blends because the samples containing this polysaccharide showed better mechanical properties and higher grade of mineralization.

Keywords

Compost, biodegradation, flask test, gas chromatography, poly(vinyl)alcohol, poly (3-hydroxybutyric acid), poly(ϵ -caprolactone)

OBSAH

1	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	14
1.1	BIODEGRADACE POLYMERŮ V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU.....	15
1.1.1	Faktory ovlivňující rychlost biodegradace	15
1.2	KOMPOSTOVÁNÍ.....	20
1.2.1	Historie kompostování v České republice.....	20
1.2.2	Technologie kompostování	20
1.2.3	Požadavky na jakost kompostu	25
1.2.4	Kompostovací testy v laboratorních podmínkách	25
1.3	BIODEGRADACE VYBRANÝCH POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ.....	29
1.3.1	Poly(vinyl)alkohol.....	29
1.3.2	Poly -ε-kaprolakton	30
1.3.3	Poly-β-hydroxyalkanoáty	30
1.3.4	Kyselina polymléčná	31
1.4	VALIDACE	33
1.4.1	Validační parametry	33
1.4.2	Regulační diagram.....	34
2	CÍLE PRÁCE	35
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
3.1	Materiály	36
3.1.1	Základní látky.....	36
3.1.2	Směsné polymery	37
3.2	Hodnocení biodegradability látek v kompostu.....	40
3.2.1	Biologický materiál	40
3.2.2	Dozrívání (adaptace) kompostu.....	41
3.2.3	Inertní materiál	42
3.2.4	Minerální medium	43
3.2.5	Reakční láhve	43
3.2.6	Průběh testů biodegradability.....	44
3.2.7	Aerace.....	44
3.2.8	Zpracování naměřených hodnot	45
3.3	Hodnocení biodegradability látek v půdě.....	48
3.3.1	Biologický materiál	48
3.3.2	Inertní materiál	48
3.3.3	Reakční lahve	48

3.3.4	Sledování biologické rozložitelnosti	49
3.3.5	Zpracování naměřených hodnot	49
3.4	Hodnocení biodegradability látek v aktivaci	49
3.4.1	Biologický materiál	49
3.4.2	Minerální medium	49
3.4.3	Hodnocení biologické rozložitelnosti.....	50
3.4.4	Zpracování naměřených hodnot	50
3.5	Stanovení celkového organického uhlíku	50
3.6	Stanovení celkového dusíku	50
3.7	Stanovení celkového fosforu	50
3.8	Mikrobiologická charakteristika kompostu.....	51
3.8.1	Stanovení celkového počtu mezofilních a termofilních bakterií.....	51
3.8.2	Stanovení celkového počtu termofilních aktinomycet.....	51
3.8.3	Stanovení celkového počtu vláknitých plísní.....	52
3.9	Přístrojové vybavení a analýzy	52
3.9.1	Přístrojové vybavení.....	52
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	53
4.1	Dozrávání (adaptace) kompostu	53
4.2	Aerace.....	54
4.3	Statistické parametry	54
4.3.1	Ověření referenční látky	54
4.3.2	Opakovatelnost	56
4.3.3	Robustnost.....	57
4.3.4	Regulační diagram.....	59
4.4	Testování biodegradability látek v kompostu	61
4.4.1	Biodegradabilita základních látek	61
4.4.2	Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PCL a PHB.....	67
4.4.3	Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PCL, škrobu a PVAL	70
4.4.4	Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a škrobu	73
4.4.5	Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu nebo gellanu	74
4.5	Testování biodegradability látek v půdě	78
4.5.1	Biodegradabilita základních látek	78
4.5.2	Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu	79
4.6	Testování biodegradability látek v aktivaci	81
4.6.1	Biodegradabilita základních složek.....	81
4.6.2	Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu	83

4.6.3	Celkové hodnocení biodegradability polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu.....	85
4.6.4	Priming effect.....	87
5	PŘÍNOS PRO VĚDU A PRAXI	88
6	ZÁVĚR.....	89
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	91
8	SEZNAM AKTIVIT A PUBLIKACÍ.....	97
9	CURRICULUM VITAE	99

Seznam tabulek

Tabulka 1: Požadavky na jakost kompostu dle ČSN 465735 ^[36- 37]	25
Tabulka 2: Přehled testovaných základních materiálů a jejich charakteristik	36
Tabulka 3: Přehled vzorků kyseliny poly – L – mléčné a jejich charakteristiky	37
Tabulka 4: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PHB a PCL	38
Tabulka 5: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PCL, škrobu a PVAL.....	39
Tabulka 6: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu.....	39
Tabulka 7: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PVAL a škrobu M100 nebo waxy	40
Tabulka 8.: Charakteristika kompostu	41
Tabulka 9: Charakteristika vyzrálých kompostů.....	42
Tabulka 10: Charakteristika perlitu (údaje uváděné výrobcem)	42
Tabulka 11: Hodnoty sušiny jednotlivých půd	48
Tabulka 12: Charakteristika připravené směsi půdních substrátů.....	48
Tabulka 13: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace látek a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	55
Tabulka 14: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace mikrocelulosity a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	56
Tabulka 15: Vyhodnocení opakovatelnosti metodiky.....	56
Tabulka 16: Podmínky testů, hodnoty D_{CO_2} mikrocelulosity a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	58
Tabulka 17: Charakteristiky regulačního diagramu	59
Tabulka 18: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace základní látek a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	63
Tabulka 19: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace vzorků PLA a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	65
Tabulka 20: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	69
Tabulka 21: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	72
Tabulka 22: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů.....	74

Tabulka 23: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušín kompostu na začátku a konci testů.....	77
Tabulka 24: Hodnoty D_{CO_2} základních látek a hodnoty pH a sušín půdy na začátku a konci testů	79
Tabulka 25: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušín půdy na začátku a konci testů.....	81
Tabulka 26: Hodnoty D_{CO_2} základních látek a hodnoty pH a sušín aktivovaného kalu na začátku a konci testů.....	82
Tabulka 27: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušín aktivovaného kalu na začátku a konci testů.....	84
Tabulka 28: Složení polymerních směsí a srovnání hodnot D_{CO_2} v různých prostředích.....	85

Seznam ilustrací

Obr. 1: Průběh teplot při optimálním kompostovacím procesu ^[25]	22
Obr. 2: Biodegradční test pomocí mikrobiálně-oxidačně-degradčního analyzátoru MODA ^[37]	27
Obr. 3: Monomerní jednotka PVAL	29
Obr. 4: Schéma polymerace PCL	30
Obr. 5: Monomerní jednotka PHB	31
Obr. 6: Monomerní jednotka PLA	31
Obr. 7: Schéma lysimetru na dozrávání kompostu	41
Obr. 8: Schéma testovací lahve	43
Obr. 9: Aerační soustava – paralelní zapojení.....	45
Obr. 10: Průběh biologické rozložitelnosti mikrokrystalické celulosy Penta a Fluka hodnocený podle D_{CO_2}	55
Obr. 11: Závislost RSD na době experimentu.....	57
Obr. 12: Průběh biologické rozložitelnosti MC Penta hodnocený podle D_{CO_2} za daných podmínek.....	58
Obr. 13: Regulační diagram	60
Obr. 14: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}	62
Obr. 15: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}	62
Obr. 16: Průběh biologické rozložitelnosti základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}	65
Obr. 17: Závislost procentuálního odstranění substrátu na jeho molekulové hmotnosti	66
Obr. 18: Porovnání pevnosti v tahu pro základní látky a polymerní směsi	67
Obr. 19: Porovnání poměrného prodloužení při přetržení pro základní látky a polymerní směsi	68
Obr. 20: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PCL a PHB hodnocený podle D_{CO_2}	69
Obr. 21: Porovnání pevnosti v tahu pro základní látky a polymerní směsi ^[70]	70
Obr. 22: Porovnání poměrného prodloužení při přetržení pro základní látky a polymerní směsi ^[70]	71
Obr. 23: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PCL, škrobu a PVAL hodnocený podle D_{CO_2}	72
Obr. 24: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PVAL a škrobů hodnocený podle D_{CO_2}	73
Obr. 25: Porovnání pevnosti v tahu pro základní látky a polymerní směsi	75

Obr. 26: Porovnání poměrného prodloužení při přetržení pro základní látky a polymerní směsi	75
Obr. 27: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu hodnocený podle D_{CO_2}	76
Obr. 28: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu hodnocený podle D_{CO_2}	77
Obr. 29: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}	78
Obr. 30: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu hodnocený podle D_{CO_2}	80
Obr. 31: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu hodnocený podle D_{CO_2}	80
Obr. 32: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}	82
Obr. 33: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu hodnocený podle D_{CO_2}	83
Obr. 34: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu hodnocený podle D_{CO_2}	84
Obr. 35: Srovnání biodegradability	85

Seznam zkratk a symbolů

Zkratka	Název
PLA	Kyselina polymléčná
PLLA	Kyselina poly-L-mléčná
PCL	Poly- ϵ -kaprolakton
PHAs	Poly- β -hydroxyalkanoáty
PHB	Kyselina poly-3-hydroxymáselná
PVAL	Poly (vinyl)alkohol
PVALc	Poly (vinyl)acetát
MC	Mikrokrystalická celulosa
PE	Polyethylen
Gellan	Gellan gum
Xanthan	Xanthan gum
TAC	Glycerid kyseliny octové
M100	Škrob Meritena 100
waxy	Škrob waxy
GLY	glycerol
TPS	Termoplastický polysacharid
CHSK _{Cr}	Chemická spotřeba kyslíku
TOC	Celkový organický uhlík
TC	Celkový uhlík
Mw	Molekulová hmotnost
η	hustota
Tg	Teplota skelného přechodu
δ_b	Pevnost v tahu
ϵ_b	Poměrné prodloužení při přetržení
CPB	Celkový počet bakterií
CFU	Jednotka tvořící kolonie (bakterií)
D _{CO2}	Procentuální odstranění testovaného vzorku
Th _{CO2}	Teoretické množství CO2
Vg	Objem plynné fáze
s _d	Směrodatná odchylka
RSD	Relativní směrodatná odchylka

GC	Plynová chromatografie
MODA	Mikrobiálně oxidační degradační analyzátor
ASTM	Americká společnost pro testování materiálů
ISO	Mezinárodní organizace pro standardizaci
EU	Evropská Unie
ÚIOŽP	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí na FT UTB
CPM	Centrum polymerních materiálů
STU	Slovenská technická univerzita

1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V minulém století vývoj polymerních materiálů zcela ovlivnil technický rozvoj lidské společnosti. Svými vlastnostmi, snadnou zpracovatelností a především cenou v mnohém předčí a postupně nahrazují klasické materiály, jako jsou kovy, sklo, dřevo i papír atd. V některých případech oblasti obalové techniky už zaujaly monopolní postavení. V široké škále průmyslových aplikací přinesly nesporné výhody v možnostech nových konstrukčních řešení výrobků. Nicméně vyčerpávání fosilních zdrojů a odolnost většiny polymerních materiálů proti vnějšímu prostředí korespondující s rostoucím množstvím plastových odpadů představuje značný problém.

Biodegradabilní polymery představují významnou alternativu vhodnou pro výrobu obalových materiálů (sáčky na zeleninu, láhve na vodu atd.), jednorázových výrobků (nádobí, sáčky na bioodpad) nebo některých lékařských pomůcek, jako jsou např. chirurgické rukavice. Celosvětový technický potenciál využití biodegradabilních plastů se odhaduje na 10 % dnešního trhu s plasty ^[1]. Využití biodegradabilních plastů může tak významně přispět ke snížení plastových odpadů vznikajících převážně z těchto jednorázových produktů.

Dominantní metodou odstranění obalového odpadu je v současné době skládkování, následováno recyklací, spalováním a kompostováním. Vzhledem k tomu, že skládkování zabírá cenný prostor a významně se podílí na produkci skleníkových plynů a kontaminantů, jsou doporučovány metody obnovy (recyklace, kompostování) jako způsob redukce nevhodného odstraňování obalového odpadu. Většina obvykle používaných materiálů může být efektivně obnovena recyklací; nicméně jestliže jsou obalové materiály znečištěny potravinami či jinými biologickými substancemi, může být fyzická recyklace těchto materiálů nepraktická. Proto lze považovat kompostování za slibný způsob zpracování nejen obalových odpadů.

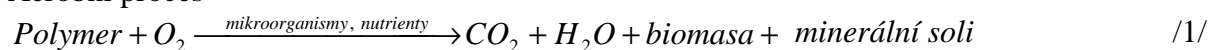
Nejsilnějšími argumenty pro vývoj a výrobu nových biodegradovatelných plastů je možnost jejich získání z obnovitelných zdrojů a schopnost biodegradace v biologických prostředích jako je půda či kompost. Třebaže recyklace může být energeticky výhodnější, nemusí být praktická vzhledem k nadměrným požadavkům na třídění a čištění. Z těchto důvodů se kompostování jeví jako vhodnější způsob odstranění těchto biorozložitelných polymerů.

1.1 BIODEGRADACE POLYMERŮ V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU

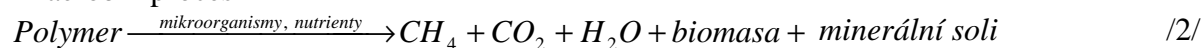
Degradace polymeru probíhá prostřednictvím interakčních mechanismů (fotolyticky, oxidačně, termálně, mechanicky, biologicky) nebo jejich kombinací, kdy dochází k nevratným změnám v chemické struktuře makromolekulární látky a tím i jejích charakteristických vlastností ^[2].

Biodegradabilní polymery splňují požadované vlastnosti pro dané aplikace a současně mají schopnost podléhat mikrobiálním činitelům. V průběhu primární fáze biodegradace se charakteristicky mění vlastnosti polymeru. V následující fázi (mineralizace) dochází ke kompletní degradaci substrátu na konečné produkty lišící se v závislosti na aerobních či anaerobních podmínkách ^[2-3].

Aerobní proces ^[2]



Anaerobní proces ^[2]



Na biodegradaci polymerů se podílí řada mikroorganismů, nejpočetněji jsou zastoupeny aktinomycety, vláknité plísně, prvoci, mikroskopické řasy atd. Výskyt mikroorganismů je ovlivňován charakterem půd (kompostů), přítomností organických látek i přístupem kyslíku.

1.1.1 Faktory ovlivňující rychlost biodegradace

Rychlost, průběh a stupeň biodegradace není ovlivňována jen vlastnostmi a strukturou a konformací makromolekul, ale i podmínkami prostředí ^[4-5].

Vlhkost

Vlhkost může ovlivňovat biodegradaci několika způsoby. Dostatečná vlhkost prostředí je nezbytná pro růst mikroorganismů a současně nepostradatelná pro biotickou hydrolyzu. Dále je obsah vody významný u polymerů, u kterých jsou hydrolytické reakce hlavním degradačním mechanismem. Mimo to, voda difundující do makromolekul umožňuje snadnější přístup extracelulárních enzymů a zvyšuje se tak celková rychlost degradace ^[5]. Kal – Lai a kol.^[6] potvrdili prudké zvýšení rychlosti degradace filmů kyseliny polymléčné (PLA) s rostoucí relativní vlhkostí prostředí. PLA filmy byly v reakčních komorách při 55 °C

exponovány 10, 50 a 100 % relativní vlhkosti prostředí a následně byl pozorován úbytek jejich molekulární hmotnosti.

Obecně se optimální vlhkost kompostu pohybuje v rozmezí 50 – 60 %. Při zvýšené vlhkosti nad tuto úroveň, voda zaplňuje póry, je zamezena difuze kyslíku a zpomaluje se rychlost aerobní degradace ^[5].

pH

Mikroorganismy, zejména bakterie, mají své růstové optimum nejčastěji v neutrální až slabě alkalické oblasti. Během degradace mohou však vznikat metabolity snižující hodnotu pH, což způsobuje pokles mikrobiální aktivity a tím zpomalení nebo až zastavení rozkladného procesu ^[7], např. při degradaci PLA vzniká kyselina octová nebo kyselina mléčná. Za příznivých podmínek však dochází k synergickým procesům a kyselé metabolity jsou odbourávány ^[8]. Na druhé straně, kyselé či alkalické prostředí může působit i jako katalyzátor hydrolýzy polymerů ^[5]. Autoři Auras R. a kol. a Henton D. E. a kol., potvrdili, že rychlost hydrolýzy PLA ve formě kapslí byla nejpomalejší při pH 5 a postupně se zvyšovala v kyselějších a také zásaditějších prostředích ^[9–10].

Teplota

Teplota je významná a snadno měřitelná veličina určující mikrobiální aktivitu. Každý mikroorganismus má své životní funkce v určitém teplotním rozsahu, podle kterého se dělí na následující skupiny: psychofilní, mezofilní, termofilní a hypertermofilní. Psychofilní bakterie rostou nejlépe při teplotách pohybujících se okolo 20 °C. Pro mezofilní bakterie se růstové optimum nachází v rozmezí teplot 20 – 40 °C. Termofilní bakterie, především termofilní aktinomycety a některé sporující bakterie, vyžadují teplotní rozsah 40 – 80 °C, optimum se pohybuje okolo 55 – 60 °C. Žijí v horkých pramenech, kompostu, chlévské mrvě apod. Bakterie hypertermofilní jsou extrémně náročná skupina s optimem nad 80 °C, často rostoucí kolem bodu varu vody.

Teplota dále hraje důležitou roli při fyzikální degradaci polymeru, kdy se zvýšením vnitřní energie sníží krystalinita polymeru, zrychlí se hydrolytické reakce a s tím související biodegradace ^[5]. Při kompostování u polymerů s nízkou teplotou skelného přechodu (PLA, PCL atd.) dochází k těmto jevům během termofilní fáze ^[11–13]. V práci ^[11] Itävaara a kol. sledovali vliv teploty na rychlost degradace kyseliny poly-L-mléčné (PLLA), kdy experimenty aerobní biodegradace byly prováděny v teplotním rozmezí 25 - 60 °C. Během

210 dní byla mineralizace PLLA při teplotách 25 a 37 °C pouze 10 %. Při teplotách blízkých se teplotě skelného přechodu (55 °C) rychlost mineralizace PLLA prudce vzrostla. Největší produkce CO₂ byla pozorována při teplotě prostředí 60 °C, kdy bylo během 120 dnů dosaženo 90 % mineralizace vzorku.

Substrátová specifita

Rychlost biodegradace syntetických látek je ovlivňována i substrátovou specificitou enzymů. Každý enzym jako specifický katalyzátor musí nejprve rozpoznat některé obecné strukturní rysy na substrátu. Enzymy s úzkou substrátovou specificitou dokážou jako substrát rozpoznat jen velmi omezený okruh sloučenin (i třeba jen jedinou látku); naopak enzymy se širokou substrátovou specificitou jsou schopné rozeznat a přeměňovat více či dokonce mnoho sloučenin. Takové typy enzymů mohou mít při rozkladu syntetických látek značný význam, zejména pokud se struktury těchto látek podobají některým látkám přírodním. Bylo prokázáno, že substrátovou specificitu určuje vždy jen bílkovinná část molekuly enzymu. ^[14]

Enzymová indukce

Mikroorganismy obsahují konstitutivní a inducibilní enzymy pro degradaci různých látek pro primární i sekundární metabolismus ^[15]. Množství konstitutivních enzymů je v bakteriálních buňkách prakticky konstantní, bez ohledu na metabolický stav mikroorganismu. Naopak inducibilní enzymy se v buňkách vyskytují ve velmi nízkých koncentracích a teprve v přítomnosti specifických látek, zvaných induktory, jsou bakterie schopné jejich tvorbu mnohonásobně zvýšit. Protože syntetické polymerní látky jako induktory obvykle nepůsobí, je jejich degradace možná pouze prostřednictvím konstitutivních enzymů či nepatrných koncentrací enzymů inducibilních. Nepříznivou roli zde hraje i vysokomolekulární charakter polymerů, neboť induktory bakteriálních inducibilních enzymů působí uvnitř buněk, svou vazbou na specifická místa DNA. Mikrobiální schopnost degradovat polymerní látky je tak většinou závislá na intenzitě produkce specifických extracelulárních enzymů pro daný substrát. Z tohoto důvodu jsou proto nejnadějnější skupinou biodegradabilních plastů poly-β-hydroxyalkanoáty (PHA's), např. kyselina poly-β-hydroxy máselná (PHB), které jsou přirozenými zásobními polyestery četných bakteriálních buněk a řada bakterií je tedy pro jejich rozklad vybavena PHB depolymerasami, včetně extracelulárních ^[16–17].

Struktura polymeru a ohebnost řetězce

Při biodegradaci polymerů hraje důležitou roli jejich struktura. Termoplastické polyolefiny obsahující pouze dlouhé uhlíkové řetězce jsou rezistentní proti degradaci mikroorganismy. Začlenění heteroskupiny jako je kyslík do polymerního řetězce způsobí nestabilitu polymeru při termální degradaci a biodegradaci ^[18].

Konformační flexibilita polymerního řetězce indikuje, kolik energie je potřeba k rotaci molekul kolem vazeb a do jaké míry lze jednotlivé atomy přiblížit či oddálit od sebe. Jestliže je polymerní řetězec ohebný, vyskytne se více míst dostupných vodě a k hydrolytickým reakcím a polymer snadněji interaguje s aktivním centrem enzymů; v obou případech se zvýší rychlost biodegradace. Ohebnost řetězce ovlivňují dva faktory: velké postranní skupiny a určité typy spojení v hlavním řetězci polymeru (dvojně vazby) ^[5]. Kyselina poly- γ -glutamová se rozkládá rychleji než kyselina polymléčná, částečně proto, že řetězec PLA obsahuje methylovou postranní skupinu, která redukuje přístupnost vody k hlavnímu řetězci a tím i rychlost degradace ^[5, 19].

Krystalinita polymeru

Amorfní oblasti polymerů jsou oproti krystalickým oblastem náchylnější jak k hydrolyze, tak k biodegradaci ^[5]. U polymerů jako kyselina poly- β -hydroxy máselná nastává biodegradace povrchovou erozí v důsledku enzymatické hydrolyzy. Hlavní faktory určující rychlost biodegradace byly zjištěny stupeň krystalinity a přístupnost polymerního řetězce mikroorganismům ^[20]. S rozdílnými stupni krystalinity u kyseliny polymléčné koresponduje i rozdílná rychlost biodegradace, jako výsledek různých obsahů D-laktidu a L-laktidu, kdy L-laktid podléhá degradaci snáze ^[21-23].

Molekulární hmotnost

Obecně jsou polymery odolné proti mikrobiálním atakům díky jejich vysoké molekulární hmotnosti. Mikroorganismy mohou degradovat pouze nízkomolekulární části polymerů, které přechází do mikrobiálních buněk a jsou následně převedeny na buněčné metabolity. Nicméně v extracelulárním prostředí nefungují tyto procesy dobře, protože molekuly polymerů jsou příliš velké na to, aby byly pojmuty buňkou. U přírodních polymerů, jako škrob a celulóza, mohou mikroorganismy napadnout molekulu přímo, protože produkují enzymy, které štěpí nebo depolymerizují hlavní řetězec a k následnému snížení molekulové hmotnosti dochází mimo mikrobiální buňky. U ostatních polymerů je nutné nejprve snížit

molekulární hmotnost hydrolysou nebo fotodegradací poté může nastat mikrobiální atak. Horní hranice molekulární hmotnosti, při které mohou mikroorganismy metabolizovat polymery, se liší dle typu makromolekulární látky, např. PLA 10 000 – 20 000 Da, PHB 13 000 Da ^[5].

Molekulární hmotnost ovlivňuje rychlost biodegradace dvěma způsoby. Se zvyšující se molekulární hmotností se zvyšuje i T_g (teplota skelného přechodu) polymeru, což působí skelnatost a snižuje ohebnost. Kromě toho má polymer s vyšší molekulární hmotností delší řetězec, což znamená i více vazeb, které je třeba rozštěpit. Polymer s vyšší molekulární hmotností následně degraduje pomaleji než tentýž polymer s nižší molekulární hmotností.

Velikost a tvar částic

Velikost a tvar částic je jeden z činitelů ovlivňující stupeň a rychlost jejich biodegradace ^[5]. Yang H. a kol. ^[24] testovali závislost biodegradability polymerních látek na formě vzorků (prášek, fólie) v prostředí kompostu. Bylo zjištěno, že rychleji rozkládající se plasty (poly-ε-kaprolakton, polybuthylen jantaran/adipát) jsou v kompostu většinou už během termofilní fáze dezintegrovány na malé částice s velkým celkovým aktivním povrchem a původní forma a velikost exponovaného vzorku ztrácí význam. Polymery (kyselina polymléčná, polybuthylen jantaran), které si zachovávají původní tvar i po termofilní fázi je naopak vliv formy vzorků na rychlosti biodegradace prakticky stejný po celou dobu kompostování.

1.2 KOMPOSTOVÁNÍ

Kompost významně přispívá k udržení zdravé půdy a k výživě rostlin a kompostování je nejstarším a nejpřirozenějším prostředkem zpracování biodegradabilních odpadů, který je plně kompatibilní s přírodními procesy ^[25 - 27]. Kompostování v poslední době hraje stále významnější úlohu. Podle směrnice rady EU 1999/31/EC o skládkování je uloženo členskými zeměmi snížit množství komunálních biologicky rozložitelných odpadů tak, aby podíl této složky činil v roce 2010 max. 75 %, v r. 2013 50 % a v r. 2020 35 % z celkového množství komunálních biodegradovatelných odpadů uložených do skládek v roce 1995 ^[28].

1.2.1 Historie kompostování v České republice

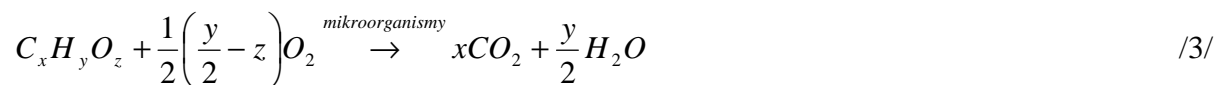
Kompostování v České republice má v Evropě tradiční postavení, první kompostárna s řízenou technologií byla uvedena do provozu již roku 1912. Od té doby trval rozvoj až do roku 1987, kdy bylo na území České republiky vyrobeno téměř 2,5 mil. t kompostu s významným zastoupením komunálních a průmyslových bioodpadů a čistírenských kalů v surovinové skladbě kompostů. Po roce 1989, kdy kompostování odpadů ztratilo státní dotační podporu, byla výroba kompostů minimalizována na 200 - 400 tis. t. r⁻¹. Vyráběné komposty byly využívány především při rekultivacích a při zakládání a údržbě zeleně. K dočasnému zvýšení zájmu zemědělců o vyrobené komposty došlo v r. 2000, kdy jim byla poskytnuta podpora ze státního rozpočtu na hnojení zemědělské půdy registrovanými komposty. Ukončením této podpory byla v roce 2001 řada kompostárenských kapacit opět zastavena. ^[26]

V minulosti bylo kompostování považováno za důležité z hlediska udržení úrodnosti zemědělské půdy s cílem dosažení soběstačnosti státu ve výrobě potravin. V podmínkách restrukturalizace zemědělství a současné agrární politiky není zájem zemědělského resortu o podporu kompostování. Zůstává však významným nástrojem v odpadovém hospodářství. ^[26]

1.2.2 Technologie kompostování

Kompostování je především biooxidativní proces, při kterém za střídavých, převážně aerobních podmínek dochází k přeměnám organických látek na oxid uhličitý, vodu, minerální soli a sekundární humusové látky ^[29]. Důležitá je průběžná či pravidelná aerace, která trvale v celém objemu kompostovaného materiálu zajistí dostatek kyslíku. Mikroorganismům je přístupný i kyslík rozpuštěný ve vodě, přičemž jeho rozpustnost je snížena zvýšenou teplotou kompostu ^[26 - 27].

Během aerobního rozkladu probíhá biochemická oxidace části organické hmoty kompostovaného materiálu dle rovnice /3/ [26]:



Při absenci kyslíku se proces mění v anaerobní digesci, při které vzniká biomasa, stabilizovaná organická hmota a bioplyn obsahující vedle majoritního podílu CO₂, CH₄ i zlomky procent dusíku, sulfanu, amoniaku a stopové množství vodíku. Anaerobní degradace optimálně probíhá v rozmezí teplot 35 – 45 °C a uplatňují se zde čtyři hlavní skupiny mikroorganismů: hydrolytické, acetogenní, homoacetogenní a metanogenní. [5, 26, 27]. Z důvodů přítomnosti rozdílných mikroorganismů nacházející se v aerobním a anaerobním prostředí se liší kvalita vzniklého kompostu [5].

Fáze aerobního kompostování

V přírodních podmínkách probíhá kompostování většinou jako kontinuální proces, bez oddělených fází. Při vsádkovém uspořádání lze proces rozdělit do tří fází [25 - 27]:

Mineralizace

Fáze mineralizace trvá 3 až 4 týdny (Obr. 1) a vyznačuje se rychlým růstem teploty, která uvnitř kompostované hmoty dosahuje přes 60 °C [25]. Mikroorganismy postupně rozkládají složitější organické sloučeniny na jednodušší organické látky, minerální látky a oxid uhličitý. Současně probíhají i chemické degradační reakce. Nejprve se rozkládají snadno rozložitelné organické sloučeniny (cukry, škroby, bílkoviny), později pak také celulósa a případně dřevní hmoty. Během přeměny dochází k velké spotřebě kyslíku a vývinu oxidu uhličitého, rovněž vzniká voda a další látky. Za přítomnosti dusíkatých sloučenin ve směsi může vznikat amoniak.

Na začátku mineralizace se rozvíjejí psychrofilní i mezofilní mikroorganismy (vrcholná aktivita se pohybuje v rozmezí teplot 20 – 30 °C) a rozkládají snadno rozložitelnou organickou hmotu. Při zvýšení teploty na 45 °C se rozvíjejí termofilní mikroorganismy. Především se uplatňují tyčinkové bakterie a mikromycety, které rozkládají celulosu. V kompostovacím procesu při tvorbě humusu se důležitá úloha připisuje i termofilním houbám. [25 – 26]

Objem směsi klesá v důsledku hutnění materiálu, odpařování vody a především v důsledku bilančního poklesu celkové hmotnosti vyplývajícího z produkce CO₂ a dalších

plynů. Celková ztráta hmotnosti může dosáhnout až 30 %. Vzhled kompostu se příliš nemění a pach zůstává stejný jako na počátku. Nejdůležitější je, že při této fázi dochází k hygienizaci kompostu, kdy zvýšená teplota způsobuje úhyn některých patogenních organismů a likviduje klíčivost semen ^[30].

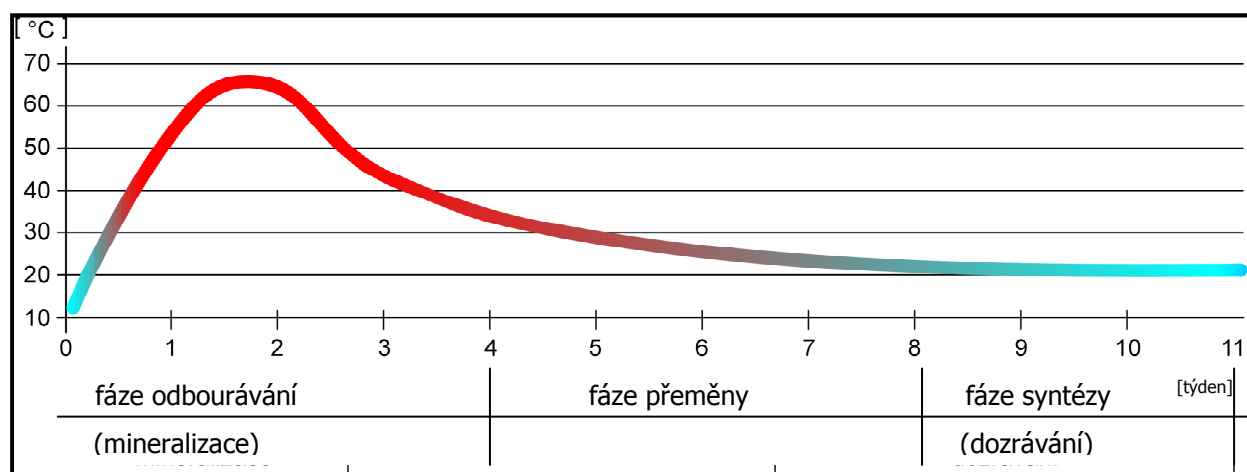
Přeměna

Fáze přeměny trvá od čtvrtého až do osmého týdne. Teplota začíná pozvolna klesat až na 25 °C. Dochází ke střídání období rozvoje a útlumu mikrobiální činnosti. Při rozkladu hůře rozložitelných složek se uplatňují aktinomycey. Organické látky jsou postupně přeměňovány na humusové složky, které se váží na jílovité částice a přechází na stabilní formy odolné proti mikrobiálnímu rozkladu. V této fázi se může objevit i nenáročný hmyz. ^[30–31]

Původní vzhled, struktura a pach hmoty se ztrácí. Kompost dostává hnědou barvu, jednotlivé částice se rozpadají. Během přeměny se odbourá cca dalších 10 % hm. směsi ^[30].

Syntéza

Teplota klesá na hodnotu okolí. Dochází k vytvoření vazeb mezi anorganickými a organickými látkami a k tvorbě kvalitního a stabilního humusu. V této fázi není pozorován téměř žádný úbytek hmotnosti. Kompost je prakticky vyzrálý, objevují se kokovité bakterie jako představitelé autochtonní mikroflóry, hmyz, roztoči, žížaly a další organismy. ^[30–31]



Obr. 1: Průběh teplot při optimálním kompostovacím procesu ^[25]

Podmínky kompostování

Průběh kompostování je podmíněn celou řadou faktorů od velikosti částic substrátu, přes skladbu kompostu, teplotu, pH, vlhkost až po aktivitu a druhy mikroorganismů ^[27].

Před kompostováním je materiál upravován drcením a tříděním kvůli odstranění maximálního množství cizorodých látek, které by mohly nepříznivě ovlivňovat průběh kompostování a zhoršovaly by kvalitu kompostu. Velikost částic substrátu určuje velikost povrchu přístupnou pro mikroorganismy a společně s vlhkostí má vliv na množství vzduchu v kompostu, a tím na zásobu kyslíku ^[3]. Doporučená vlhkost se pohybuje v rozmezí 50 – 60 %, zvýšená vlhkost je nežádoucí, protože voda zaplňuje póry, vytlačuje kyslík a zpomaluje aerobní proces. V důsledku metabolické aktivity vzniká teplo. Teplota by se měla pohybovat v optimu pro termofilní mikroorganismy, což je 45 – 65 °C. Skladba kompostu, zejména poměr uhlík:dusík je důležitý pro rozvoj mikroorganismů, kdy jsou organické sloučeniny využívány jako zdroj uhlíku a energie a dusíkaté sloučeniny pro stavbu buněčných struktur ^[5]. Optimální hodnota poměru by se měla pohybovat mezi 30 – 35:1 ^[2, 5, 27]. Při hodnotách C:N nižších než 15:1 probíhá rozklad rychle, ale dusík se uvolňuje ve formě amoniaku, při hodnotách vyšších (50:1) je rozklad pomalý a prodlužuje se tak zrání kompostu ^[25, 27]. pH substrátu na začátku kompostovacího procesu klesá v důsledku hromadění organických kyselin, po jejich rozkladu pH stoupá nad 8, pak se opět postupně snižuje k 7.

Monitorování průběhu kompostování

Pro zajištění správného kompostovacího procesu je nezbytná jeho pravidelná a systematická kontrola prováděná sledováním základních veličin.

Monitorovanými veličinami kompostovacího procesu jsou:

- Teplota
- Vlhkost
- Obsah kyslíku
- Fytotoxicita
- Plynné emise

Teplota je základním a snadno měřitelným ukazatelem stavu kompostu. Správný průběh teploty je důkazem o vhodném složení zakládky a výběru technologie. Pokud teplota po založení kompostu nestoupá nebo po předchozím vzestupu prudce klesá, signalizuje to na nepříznivé podmínky pro život mikroorganismů, které jsou nejčastěji zapříčiněny

nedostatkem kyslíku z důvodů nevhodné vlhkosti nebo struktury substrátu. Každá z těchto příčin ovlivňuje aktivitu mikroorganismů, která může být zpomalena nebo až zastavena [32].

Dalším významným parametrem kompostovacího procesu je vlhkost. Při vysoké vlhkosti dochází k nežádoucím hnilobným procesům. Pro zakládání kompostu je vhodnější volit nižší vlhkost vstupních surovin, kterou lze jednoduše upravit vodou [32].

Mimo teplotu a vlhkost je důležitým kritériem i obsah kyslíku v kompostu. Při jeho nedostatku klesá mikrobiální aktivita, část mikroorganismů umírá a část přechází do anabiózy nebo do anaerobních metabolických drah. Kompostovací proces se zpomaluje nebo až zastavuje, dochází ke tvorbě nežádoucích látek a uvolňování methanu a amoniaku [33 - 34].

Test fytotoxicity [34 - 35] je biologickou metodou vyhodnocování intenzity rozkladu organických látek a zralosti kompostu. Hodnotí se index klíčivosti citlivé rostliny (řeřicha setá) ve výluhu vzorku. Velikost fytotoxicity koresponduje přímo s obsahem toxických meziproductů vznikajících při aerobním rozkladu organických látek. Tento test umožňuje kvalitativní hodnocení intenzity rozkladu, kdy nepřítomnost fytotoxinů indikuje zralý kompost.

V průběhu zrání kompostu unikají do ovzduší plynné emise (CO_2 , CH_4 , N_2O , NO , NH_3 , CO , H_2S). Obsah plynných emisí se mění podle jednotlivých surovin použitých do zakládky kompostu a podle stadia kompostovacího procesu. [32, 34]

1.2.3 Požadavky na jakost kompostu

Podle ČSN 465735 ^[36 - 37] (Tab. 1) musí být průmyslový kompost hnědá, šedočerná až černá homogenní hmota, drobtovité až hrudkovité struktury bez nerozpojitelných částic. Nesmí vykazovat pachy svědčící o přítomnosti nežádoucích látek.

Tabulka 1: Požadavky na jakost kompostu dle ČSN 465735 ^[36-37]

Znak jakosti	Hodnota
Vlhkost [%]	40 – 65
Spalitelné látky ve vysušeném vzorku [%]	min. 25
Celkový dusík jako N přepočtený na vysušený vzorek [%]	min. 0,60
Poměr C:N	max. 30:1
Hodnota pH	6,0 – 8,5
Nerозložitelné příměsi [%]	max. 2,0
Homogenita celku [%]	± 30

1.2.4 Kompostovací testy v laboratorních podmínkách

Stanovení aerobní biodegradability a rozkladů plastů za řízených podmínek kompostování [dle ISO 14 855] ^[38]

Metoda je navržena za účelem simulace intenzivního aerobního kompostovacího procesu a stanovuje biodegradabilitu testovaného materiálu měřením množství produkovaného CO₂. Testovaný materiál je smíchán s inokulem (stabilizovaný a vyzrálý kompost) a převeden do vhodné testovací nádoby, kde je intenzivně kompostován za přítomnosti kyslíku, optimální teploty 58 °C ± 2 °C a vlhkosti 50 % při době nepřesahující 60 dní. Produkovaný CO₂ ve zkušebních nádobách a nádobách se slepým pokusem je monitorován kontinuálně nebo v pravidelných intervalech. Procento biodegradace je dáno poměrem CO₂ produkovaného z testovaného materiálu k maximálnímu teoretickému množství CO₂, které by bylo možné vyprodukovat z tohoto materiálu a vypočítá se z analyticky stanoveného organického uhlíku. Výsledná hodnota však nezahrnuje množství uhlíku, které přešlo do biomasy, a které nebylo metabolizováno na CO₂. Z tohoto důvodu lze místo kompostu použít inertní vermiculit. Použití vermiculitu bylo blíže popsáno v kapitole 1.2.4, část Kompostování ve vermiculitu.

Testovací prostředí

Experiment probíhá v uzavřených testovacích lahvích o minimálním objemu 2 l, ve tmě a při optimální teplotě $58\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Testovaný materiál

Testovaný vzorek by měl být charakterizován z hlediska zastoupení celkového organického uhlíku. Tento parametr je nutný pro výpočet hodnoty ThCO_2 . Dávkování testovaného materiálu by mělo být takové, aby byl zachován poměr 1:6 (vzorek:inokulum). Nejvhodnější forma testovaného vzorku je prášek, lze použít i granulát, film, drobné kousky či fragmenty. Velikost kousků vzorku by neměla přesáhnout 2 x 2 cm.

Funkčnost aparatury a aktivitu mikroorganismů v kompostu je možné ověřit současným testováním referenční látky. Jako referenční látku pro pozitivní kontrolu je možné použít celulosu pro chromatografii v tenké vrstvě a o velikosti částic menší než 20 μm .

Kompost

Jako inokulum se použije kompost z řádně vedené aerobní kompostárny. Kompost by měl být homogenní bez obsahu větších kusů inertních materiálů. Požadovaná zrnitost částic kompostu se pohybuje v rozmezí 0,5 – 1 cm. Optimální vlhkost kompostového inokula se pohybuje okolo 50 %.

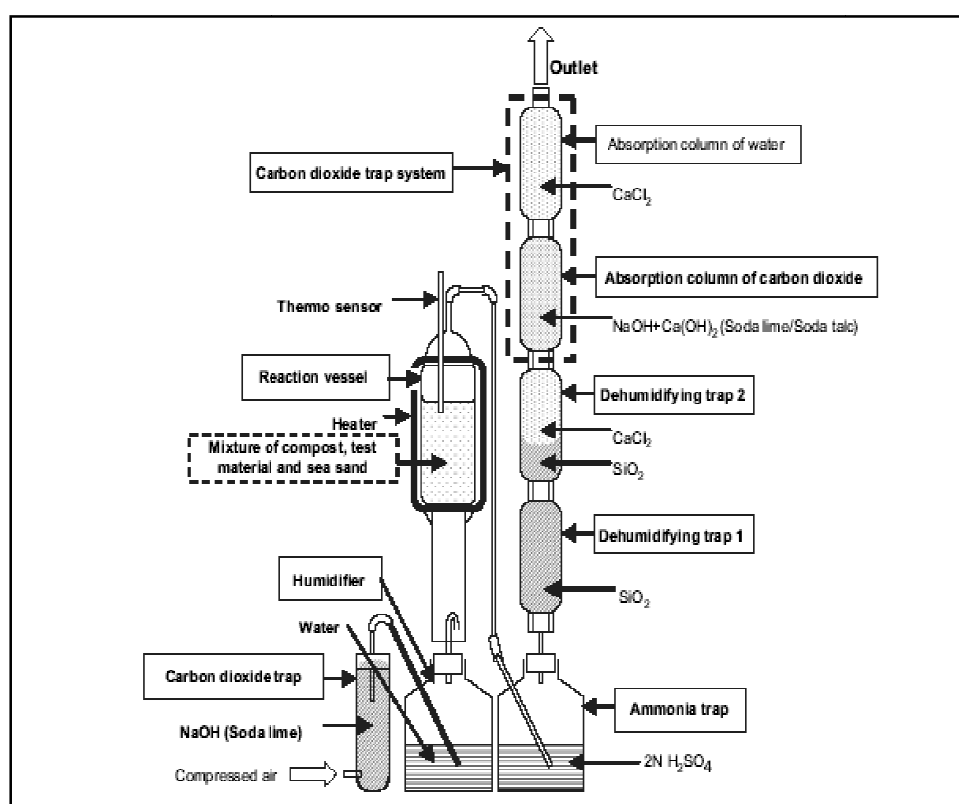
Doporučený způsob analýzy CO_2 jako hodnotícího ukazatele biodegradace

Množství produkovaného CO_2 může být stanoveno po jeho úplné absorpci v zásaditém roztoku s následným acidimetrickým titračním stanovením nebo pomocí kontinuálního infračerveného analyzátoru nebo plynového chromatografu, u kterých je zapotřebí přesné dávkování a měření průtoku plynu.

Biodegradační test pomocí mikrobiálně-oxidačně-degradačního analyzátoru MODA [dle ISO 14 855-2] ^[39 - 40]

Test je prováděn pomocí mikrobiálně-oxidačně-degradačního analyzátoru MODA a stanovuje konečný rozklad plastových materiálů za kontrolovaných kompostovacích

podmínek s mořským pískem. K testovanému materiálu je přidáno inokulum ve formě vyztřalého kompostu a mořský písek, který je používán jako inertní materiál pro naředění kompostu, udržuje vlhkost a zvyšuje homogenitu směsi. Experiment se provádí při teplotě 58 °C a 70 °C za aerace vzduchem prostým CO₂ při průtoku 10 – 30 ml.min⁻¹ po dobu 45 – 90 dní. Vyprodukované plyny procházející nádobou obsahují H₂SO₄ za účelem zachycení NH₃, dále následují absorbéry obsahující SiO₂ a SiO₂ + CaCl₂ k zachycení vlhkosti a pak už následuje systém dvou absorbérů – první obsahuje NaOH + Ca(OH)₂ a zachycuje CO₂ a druhý obsahuje CaCl₂ absorbující vodu. Množství produkovaného CO₂ je měřeno gravimetricky.



Obr. 2: Biodegradční test pomocí mikrobiálně-oxidačně-degradčního analyzátoru MODA^[37]

Standardní kompostovací test [dle ASTM D 5338] ^[41]

Metoda je založena na měření produkce CO₂. Inokulum (vyztřalý kompost) a testovaný vzorek plastu (ve formě proužků, granulí nebo prášku) v poměru 6:1 v přepočtu na sušinu jsou kvantitativně převedeny do 2 – 5 l lahví a temperovány dle teplotního profilu (1. den 35 °C, 2. -5. den 58 °C, 6. – 28. den 50 °C a 29. – 48. den 23 °C). Produkovaný CO₂ je zachytáván Ba(OH)₂ a jeho množství je stanovováno titrací, nebo je měřen pomocí plynového chromatografu.

Kompostování ve vermiculitu

Vermiculit ^[42] je křemičitan hlinito-železito-hořečnatý, který byl vysokou teplotou expandován na několiknásobek svého objemu. Vermiculit je sterilní a po zaočkování termofilními bakteriemi jej lze použít jako inokulum k hodnocení biodegradability polymerních materiálů. Nespornou výhodou je, že po skončení testu z něj lze snadno extrahovat látky pro další chemickou analýzu např. polymerní rezidua a porozumět pak mechanismu samotné degradace.

Bellia G. a kol. ^[42 - 43] publikovali několik prací, které se zabývaly biodegradací glukosy a mikrokrystalické celulosy ve vermiculitu a kompostu.

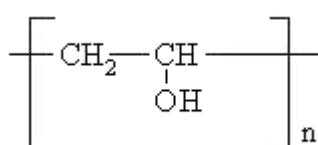
Zjistili, že rychlost biologické degradace mikrokrystalické celulosy byla ve vermiculitu vyšší než v kompostu. Nicméně po 68 dnech inkubace byly hodnoty mineralizace mikrokrystalické celulosy prakticky stejné v obou prostředích.

Během biodegradace glukosy se projevil rozdíl v produkci CO₂ mezi prostředím vermiculitu a kompostu, kdy testy prováděné v kompostu vykazovaly o 20 % vyšší hodnoty. Jako příčinu tohoto jevu uvádí, že vermiculit neobsahoval žádný organický uhlík, zatímco dobře vyzrálý kompost byl bohatý na pomalu degradující se substance. Nicméně v korespondenci s předchozí studií lze konstatovat, že obsah organického uhlíku a jiných degradujících látek v kompostu není jediný faktor, který ovlivňuje zvýšenou produkci CO₂.

1.3 BIODEGRADACE VYBRANÝCH POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ

1.3.1 Poly(vinyl)alkohol

PVAL je hydrofilní syntetický polymer, přičemž jeho rozpustnost závisí na stupni hydrolyzy a polymeračním stupni ^[44]. Připravuje se hydrolyzou nebo alkoholýzou acetátových skupin polyvinylacetátu (PVAlc) na hydroxylové skupiny. Zpravidla hydrolyza polyvinylacetátu neprobíhá na 100 %, proto vznikají kopolymery PVAL/PVAlc. Tyto materiály se vyznačují širokou škálou fyzikálně-mechanických vlastností a také různým sklonem k biodegradaci ^[45]. Monomer PVAL je znázorněn na Obr. 3.

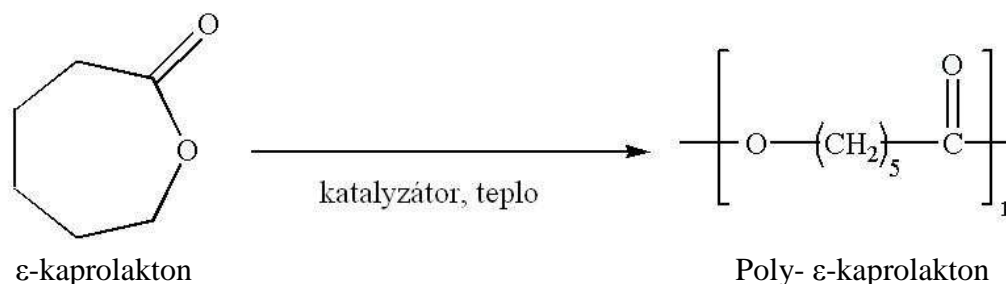


Obr. 3: Monomerní jednotka PVAL

Problematika biorozložitelnosti PVAL v různých typech prostředí je rozsáhle obsažena v řadě studií ^[46 - 48]. Nejvýznamněji se věnoval mineralizaci PVAL a směsných polymerů na bázi PVAL Chiellini E. a kol. V jeho práci ^[46] byla popsána omezená schopnost biodegradace PVAL v půdě a kompostu. Byly provedeny kompostovací testy dle normy ASTM D 5338 – 92 ^[41], kdy po 48 dnech byla u PVAL se stupněm hydrolyzy 88 % zaznamenána mineralizace pouze 7 %. Také byly realizovány půdní „pohřbívací“ testy, přičemž během 74 dní byly folie PVAL o hmotnosti 250 – 500 mg rozloženy jen z 8 – 9 %. Ve studii ^[48] Chiellini a kol. realizovali experimenty v různých typech půd reprezentující rozdílné půdní složení a klimatické podmínky. Po uplynutí 70 dní se mineralizace PVAL dle hodnoty D_{CO_2} pohybovala kolem 10 %. Současně bylo zjištěno, že použitá koncentrace ani forma PVAL nemají vliv na míru biodegradace. Při posouzení vlivu stupně hydrolyzy PVAL (88 % a 98 %) bylo zjištěno, že vzorky s nižším stupněm hydrolyzy lépe podléhaly biologickému rozkladu. Nízká mineralizace PVAL v kompostu a v půdách byla vysvětlována omezeným výskytem PVAL degradujících mikroorganismů. Dalším významným faktorem byla podle Chielliniho téměř ireverzibilní adsorpce PVAL na půdní částice ^[49].

1.3.2 Poly- ϵ -kaprolakton

PCL je hydrofobní semikrystalický polyester, jehož stupeň krystalinity se pohybuje kolem 50 %. Má poměrně nízkou teplotu tání (60 °C). Připravuje se katalytickou polymerizací s otevřením kruhu ϵ -kaprolaktonu, který se získává z produktů zpracování ropy (Obr. 4).



Obr. 4: Schéma polymerace PCL

PCL je zcela biodegradabilní v různých biotických prostředích, včetně kompostu, půdy, aktivovaného kalu, říční, jezerní a mořské vody a různých sedimentů ^[13]. Vzhledem k obsaženým pěti – CH₂ – skupinám v základním řetězci se v mezofilních podmínkách rozkládá nejpomaleji ze všech alifatických makromolekulárních látek ^[50].

PCL degraduje hydrolyzou esterové vazby i působením enzymů – lipáz ^[51], přičemž rychlost a míra degradace závisí na stupni krystalinity, molární hmotnosti, teplotě a vlhkosti. Pokud probíhá enzymaticky katalyzovaný rozklad přednostně v amorfních částech polymeru, dochází ke zvyšování krystalického podílu ^[13].

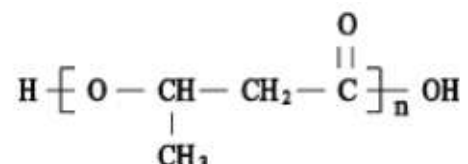
Studie Funabashiho ^[12] se zabývala degradací různých frakcí PCL prášku v kompostu. Při kompostovacím procesu dle norem ISO 14855-1 ^[38] a ISO 14855-2 ^[39] došlo po 47 dnech k mineralizaci 90 resp. 80 % testovaného materiálu. Z výsledků experimentu vyplývá, že velikost frakce neovlivnila rychlost rozkladu, tak jak tomu bylo u testů na enzymatickou degradaci. To potvrzuje již výše zmíněný vliv teploty při počáteční fyzikálně chemické hydrolyze esterové vazby jako nutná podmínka biodegradace PCL.

1.3.3 Poly- β -hydroxyalkanoáty

PHAs patří do skupiny alifatických polyesterů sloužící mnohým bakteriím jako intracelulární zásobní látky. Většina typů polyhydroxyalkanoátů popsaných v literatuře pochází z mikrobiálních zdrojů, nicméně jsou známy i postupy syntetické výroby ^[52].

Průmyslově se vyrábí fermentací v bioreaktorech nebo také pěstováním řepky olejné geneticky modifikované tak, aby se vytvářely zásoby PHAs v semenech [5, 53]. PHAs jsou velmi dobře biologicky rozložitelné polymery, díky esterové vazbě, která snadno podléhá hydrolýze a tím usnadňuje zkracování řetězců a přístup mikrobiálních extracelulárních enzymů.

Nejběžnějším a nejvíce používaným typem těchto polymerů je kyselina poly-β-hydroxymáselná (Obr. 5).

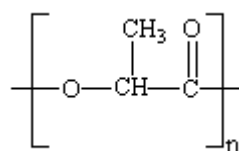


Obr. 5: Monomerní jednotka PHB

PHB vykazuje dobrou biodegradabilitu v různých sférách životního prostředí. Kompletní mineralizace byla prokázána ve vodním prostředí a v prostředí půdy a kompostu [54, 55]. PHB má i dobré mechanické vlastnosti srovnatelné s polypropylenem. Nevýhodou PHB při zpracování je jeho rychlá degradace při zahřátí na teplotu tání, přičemž prudce klesá jeho molekulová hmotnost a tím i viskozita taveniny; stává se tak prakticky nezpracovatelným.

1.3.4 Kyselina polymléčná

PLA je semikrystalický, termoplastický polyester. Připravuje se kondenzační polymerací monomeru – kyseliny mléčné, jež je lehce dostupný produkt fermentace zelené hmoty. Teplota skleného přechodu je 55 °C a teplota tání 170 °C [56].



Obr. 6: Monomerní jednotka PLA

Komerčně vyráběný PLA je většinou kopolymer kyseliny L-mléčné a kyseliny D-mléčné v optimálním podílu 4 %. Takto je dosaženo zvýšené tepelné odolnosti (teplota tání cca 230 °C) a dalších mechanických vlastností nezbytných pro praktické aplikace např. v obalovém průmyslu [57–58].

Ve vodném prostředí probíhá degradace PLA prostřednictvím hydrolýzy esterových vazeb, kdy se uplatňuje autokatalýza vzniklými koncovými karboxylovými skupinami ^[55].

1.4 VALIDACE

Validace je potvrzení zkoumáním a opatření objektivního důkazu o tom, že jsou splněny určité požadavky pro uvažované použití^[59].

Validací se získá důkaz vysokého stupně jistoty, že metoda bude trvale poskytovat výsledek odpovídající předem určené specifikaci. Validaci metody je nutné provést v případě potřeby potvrzení vhodnosti výkonnostních parametrů pro řešení určitého analytického problému. Příkladem je nová metoda, zavedená metoda revidovaná kvůli úpravám nebo rozšířením a nebo když jsou indikovány u zavedené metody změny časem^[60–62].

1.4.1 Validační parametry

Nejdůležitější validační parametry jsou správnost, přesnost, mez detekce, mez stanovitelnosti, robustnost, pracovní rozsah, citlivost, selektivita/specifičnost, nejistota výtěžku a výtěžnost^[60–62].

Přesnost

Hodnota uvádějící přesnost metody udává míru těsnosti shody mezi vzájemně nezávislými výsledky zkoušek získanými za předem specifikovaných podmínek a běžně je uváděna jako odhad směrodatné odchylky.

Opakovatelnost

Opakovatelnost metody je typ přesnosti hodnotící míru shody mezi navzájem nezávislými výsledky experimentů získanými stejnou metodou, na identických zkoušených látkách, v téže laboratoři, provedené jedním laborantem a za použití stejných měřících přístrojů. Opakovatelnost vyjadřuje vlastnost metody nikoli výsledku a je obvykle uváděna ve formě směrodatné odchylky nebo relativní směrodatné odchylky.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost je dalším typem přesnosti, kdy stejný experiment provádí jiný pracovník v jiné laboratoři.

Robustnost

Robustnost vyjadřuje míru vlivu malých změn jednotlivých parametrů na výsledek stanovení. Při testu robustnosti se určuje matematicko-statistickým postupem, jak je analytický signál závislý na malých změnách parametrů charakterizujících analytickou metodu.

Testem robustnosti se zjistí tzv. kontrasty jednotlivých parametrů, kdy se testuje hypotéza předpokládající nulovou hodnotu jednotlivých kontrastů. Za předpokladu potvrzení hypotézy lze konstatovat robustnost metody pro daný parametr.

1.4.2 Regulační diagram

Regulační diagram ^[60 – 62] je nástroj kontroly metodiky, kdy se získávají informace o chování procesu v čase. Pomocí regulačního diagramu lze také včas odhalit významné odchylky procesu od předem stanovené úrovně, najít a odůvodnit příčinu a případně provést opravný úkon. K posouzení slouží tři základní přímkové meze: střední, horní a dolní regulační mez, které vymezují oblast působení a jsou základním rozhodovacím kritériem pro zásah do metodiky.

2 CÍLE PRÁCE

Hodnocení biologické rozložitelnosti polymerních materiálů bude zřejmě nezbytné jak pro finální výrobky uváděné na trh, tak pro účely výzkumu při vývoji nových biodegradabilních materiálů.

K posouzení biodegradability lze využít anaerobní a aerobní testy ve vodném prostředí, aerobní testy v prostředí půdy, kompostu a na inertních materiálech (např. vermiculitu).

Normované metody zaměřující se na biodegradace v kompostu nabízí jednoduché postupy ke sledování průběhu a hodnocení biologické rozložitelnosti. Z praktického hlediska jsou však tyto postupy prostorově náročné vzhledem ke komplikovaným testovacím aparaturám, mají omezený počet měřících pozic, umožňují sledovat pouze jeden parametr biodegradace, jsou málo operativní a zdlouhavé při udržování správného chodu aparatur.

Experimenty v uzavřených reakčních lahvích s využitím plynové chromatografie pro stanovení plynných složek biologického rozkladu nabízí efektivní způsob vyřešení většiny výše uvedených nedostatků. Na základě těchto poznatků a s ohledem na současný vývoj nových biodegradabilních plastů byly definovány cíle práce:

- Navázat na dřívější práce a na základě předchozích zkušeností vyvinout a zavést metodiku k průběžnému a celkovému hodnocení biologické rozložitelnosti nových polymerních materiálů v prostředí kompostu, reflektující normu^[38] a využívající plynovou chromatografii pro analýzu plynné fáze.
- Ověřit navrhnutou metodu pomocí látek o známé biorozložitelnosti.
- Aplikovat metodiku pro sledování biologické rozložitelnosti nových biodegradabilních polymerních směsí (blendů) vyrobených na bázi poly(vinyl)alkoholu, kyseliny poly- β -hydroxy máselné a poly- ϵ -kaprolaktonu a kyseliny polymléčné.
- Provést testy biologické degradace na nových směsných polymerech na bázi PVAL a extracelulárních polysacharidů v různých mikrobiálních prostředích.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiály

V této kapitole je uveden souhrnný přehled testovaných základních látek a směsných polymerů. Prezentované charakteristiky byly deklarovány výrobcem nebo experimentálně stanoveny v laboratoři.

3.1.1 Základní látky

Kompletní přehled základních látek včetně jejich charakteristik je uveden v Tab. 2.

Tabulka 2: Přehled testovaných základních materiálů a jejich charakteristik

Označení	Vzorek	TOC [%]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]	Výrobce
MC Penta	Mikrokrystalická celulóza	42,42	1172	Penta, ČR
MC Fluka	Mikrokrystalická celulóza	42,42	1070	Fluka Chemie, ČR
PVAL	Poly(vinyl)alkohol, Mowiol 5-88	52,99	1403	Kuraray, Německo
PHB	Kyselina poly-3-hydroxymáselná	55,41	1775	Biomer a.g. Německo
PCL	Poly -ε-kaprolakton, CAPA 6800	62,98	1516	Solvay Caprolactones, UK
PE	Polyethylen	75,00	-	Solvay
Gellan	Gellan gum	34,83	1355	Fluka a.s., Německo
Xanthan	Xanthan gum	35,17	920	Fluka Chemie, ČR
TAC	Glycerid kyseliny octové, Triacetin	58,91	1500	Setuza, ČR
M100	Meritena 100	40,07	979	Amylum Slovakia., SR
waxy	Škrob – Waxy	37,32	1121	Cerestar, Benelux

Další vzorky, kyseliny poly – L – mléčné byly vyrobeny Centrem polymerních materiálů (CPM) Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

Vzorky s označením PLA1 – PLA5 byly připraveny z kyseliny – L – mléčné (výrobce Lachner), kdy v první fázi proběhla dehydratace monomeru za stálého míchání 200 ot.min⁻¹,

při teplotě 160 °C a tlaku 150 mbar po dobu 4 hodin. Následně byl přidán katalyzátor, kyselina metansulfonová (výrobce Sigma – Aldrich) v množství představujícím 0,5 obj. % vzhledem k monomeru. Směs byla destilována za sníženého tlaku (150 mbar) po dobu 18 h při teplotách 130, 145, 160, 175 a 190 °C. Po uplynutí potřebné doby reakce byl produkt ve formě nažloutlé taveniny rozpuštěn v acetonu (Penta, ČR) a vysrážen ve směsi metanol (Penta, ČR): destilovaná voda v poměru 1:1, přefiltrován a vysušen při 45 °C po dobu 48 hodin.

Vzorek s pracovním označením PLA 6 je komerčně dostupný plast (na bázi kyseliny poly – L – mléčné) s názvem Bio-Flex 467F (výrobce FKUR, Německo). Je charakterizován jako biologicky rozložitelný materiál, bod tání 145 – 205 °C, teplota rozkladu >280 °C, hustota 1,26 g.cm⁻³.

Charakteristiky jednotlivých vzorků PLA jsou uvedeny v Tab. 3.

Tabulka 3: Přehled vzorků kyseliny poly – L – mléčné a jejich charakteristiky

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

3.1.2 Směsné polymery

Veškeré nové polymerní směsi byly připraveny na katedře Plastov a kaučuku, Ústav polymerních materiálů, Fakulty chemické a potravinářské technologie, Slovenské technické univerzity v Bratislavě. Příprava vzorků byla prováděna na dvoušnekovém vytlačovacím stroji (od firmy LABtech) s parametry L:D = 40, D = 16 mm. Do násypek se dávkovaly základní suroviny a po výstupu ze zařízení se polymerní směs chladila vzduchem nebo vodou a následně granulovala.

Polymerní směsi na bázi PCL a PHB

Polymerní směsi PHB a PCL s přísávkem triacetinu jako změkčovadla byly připraveny při teplotním profilu 100- 120- 130- 140- 140- 140- 140- 140- 120- 110 °C (nášypka-hlava) a rychlosti otáček 150 min⁻¹.

Procentuální zastoupení jednotlivých složek v polymerní směsi PCL/PHB26 bylo navrženo tak, aby při maximálním možném obsahu PHB zůstaly zachovány mechanické vlastnosti na úrovni umožňující praktické využití polymerní směsi.

Při výrobě směšného polymeru PCL/PHB13 bylo procentuální zastoupení složek optimalizováno na maximální mechanické vlastnosti ^[63]. Složení a základní charakteristiky polymerních směsí jsou tabelárně zpracovány v Tab. 4.

Tabulka 4: Složení a základní charakteristiky směšných polymerů na bázi PHB a PCL

Vzorek	PCL [%]	PHB [%]	TAC [%]	TOC [%]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]
PCL/PHB26	47	26	26	59,32	1732
PCL/PHB13	74	13	13	61,47	1844

Polymerní směsi na bázi PCL, škrobu a PVAL

Směs BK byla v jenom kroku homogenizovaná na dvojjávitovém extrudéru při teplotním profilu 110– 120– 130– 140– 150– 150– 150– 140– 120– 110 °C (nášypka – hlava) a při otáčkách 110 ot.min⁻¹.

Do směsi na bázi PCL a škrobu byl přidán PVAL z důvodu variabilnější zpracovatelnosti. Takto upravenou směs lze i vyfukovat což je nejčastější způsob zpracování plastů.

Všechny složky se nejprve důkladně smíchaly a následně zpracovaly při teplotním profilu 120- 130- 140- 150- 160- 170- 180- 190- 160- 150 °C (nášypka – hlava) a rychlosti otáček 300 ot.min⁻¹. Složení a základní charakteristiky jsou uvedeny v Tab. 5.

Tabulka 5: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PCL, škrobu a PVAL

Vzorek	PVAL [%]	PCL [%]	M100 [%]	GLY [%]	Stearin III [%]	TOC [%]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]
PCL/M	-	45	35,52	19,12	0,36	50,32	1404
PCL/M/P13	13,26	39,03	30,81	16,59	0,31	50,67	1649
PCL/M/P23	23,42	34,46	27,20	14,64	0,28	50,94	1586

Polymerní směsi na bázi PVAL a xanthanu nebo gellanu

Nové polymerní směsi obsahující PVAL, extracelulární polysacharidy a glycerol, připravené ve spolupráci s Ústavem polymerních materiálů STU v Bratislavě, byly zpracovány při teplotním profilu 120-130-140-150-160-170-190-160-150 °C (násypka-hlava) a rychlosti otáček 300 ot.min⁻¹. Složení a základní charakteristika polymerních směsí jsou uvedeny v Tab. 6.

Tabulka 6: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu

Vzorek	Typ polysacharidu	TPS [%]	PVAL [%]	GLY [%]	TOC [%]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]
PVAL/G10	gellan	10,5	74,8	14,7	49,04	1435
PVAL/G21		21	61,6	17,4	46,76	1524
PVAL/G42		42	32,8	25,2	41,86	1183
PVAL/X10	xanthan	10,5	74,8	14,7	49,07	1408
PVAL/X21		21	61,6	17,4	46,83	1512
PVAL/X42		42	32,8	25,2	42,00	1043

TPS – termoplastický polysacharid

Polymerní směsi na bázi PVAL a škrobu

Nejprve byl připraven měkčený PVAL smícháním s glycerinem a zpracováním při teplotním profilu 100- 140- 150- 160- 170- 180- 160- 140- 140- 140 °C a rychlosti otáček 200 ot.min⁻¹. Poté byl připraven plastifikovaný škrob smícháním s glycerinem a zpracováním při teplotním profilu 160- 170- 180- 180- 190- 190- 190- 190- 180- 180 °C a rychlosti otáček 220 ot.min⁻¹. Nakonec byly granuláty PVAL/GLY a škrob/GLY zamíchány v požadovaném koncentračním poměru a zpracovány při teplotním profilu 150- 160- 170- 170- 180- 180- 180-

175- 175- 175 °C a rychlosti otáček 220 ot.min⁻¹. Složení a základní charakteristiky polymerních směsí byly tabelárně zpracovány v Tab. 7.

Tabulka 7: Složení a základní charakteristiky směsných polymerů na bázi PVAL a škrobu M100 nebo waxy

Vzorek	Typ škrobu	škrob [%]	PVAL [%]	GLY [%]	TOC [%]	CHSK _{Cr} [mg.g ⁻¹]
PVAL/M21	M100	21	61,6	17,4	47,86	1504
PVAL/M42		42	35,2	22,8	44,39	1428
PVAL/W21	waxy	21	61,6	17,4	47,28	1516
PVAL/W42		42	35,2	22,8	43,24	1305

3.2 Hodnocení biodegradability látek v kompostu

Metodika k průběžnému a celkovému hodnocení biologické rozložitelnosti polymerních materiálů byla vyvinuta na základě předchozích prací, zkušeností a norem. Zejména pak testy kompostovatelnosti reflektují normu ISO 14885 – *Determination of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastic materials under controlled composting conditions – Method by analysis of evolved carbon dioxide* [38].

3.2.1 Biologický materiál

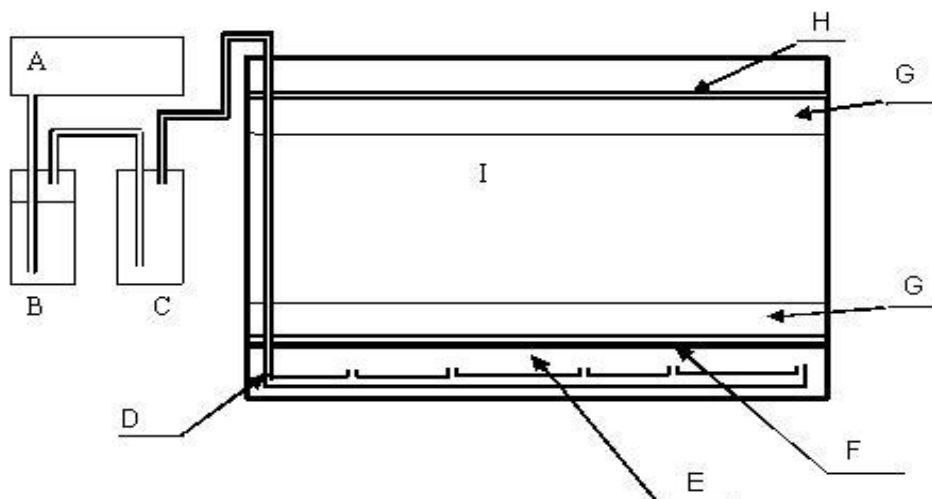
Pro hodnocení biodegradability v kompostu byl jako inokulum použit komerčně vyráběný kompost od firmy AGRO CS, s vysokým podílem organických látek, vyrobený zkompostováním surovin rostlinného původu s přidavkem dolomitického vápence. Průběžně byl pořizován nový kompost, protože po roce ztrácel svoje vlastnosti, především se rapidně snižoval počet mikroorganismů. U kompostů byly stanoveny následující základní charakteristiky (Tab. 8), číslo u naměřených hodnot značí vždy novou dávku.

Tabulka 8.: Charakteristika kompostu

Charakteristika	Hodnoty výrobce	1. Hodnoty naměřené	2. Hodnoty naměřené	3. Hodnoty naměřené
pH	6,0 – 8,5	6,5	6,9	6,64
Spalitelný podíl [%]	45	46,5	53,5	50,89
Celkový dusík [%]	0,6	0,78	2,2	1,86
Celkový fosfor [%]	0,4	0,51	0,65	0,31
Celkový uhlík [%]	23,95	9,23	10,49	12,38
Nerozložitelné příměši	max. 2	-	-	-

3.2.2 Dozrávání (adaptace) kompostu

Pro vlastní experimenty byly z kompostu odstraněny větší frakce přeseťmím přes síto o velikosti ok 7 mm a po dobu 4 – 10 týdnů dozrával v lysimetrech (Obr. 7) při konstantní teplotě 58 °C, diskontinuální aeraci a za pravidelného promíchávání.



Obr. 7: Schéma lysimetru na dozrávání kompostu

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

Po dozrání kompostu byla zjištěna fyzikálně chemická a mikrobiologická charakteristika kompostu, číslo v závorce značí dávku kompostu (Tab. 9).

Tabulka 9: Charakteristika vyzrálých kompostů

Charakteristika	Kompost A(1)	Kompost B(1)	Kompost C(2)	Kompost D(2)	Kompost E(3)	Kompost F(3)	Kompost G(3)
Doba vyzrávání [týden]	10	10	8	8	6	8	6
Celkový uhlík [%]	7,76	8,22	10,14	11,07	10,56	11,42	9,81
pH [-]	6,63	7,00	6,99	7,41	7,29	7,21	7,08
Sušina [%]	51,09	69,50	53,00	54,33	55,19	47,68	56,43
Spalitelný podíl [%]	49,24	55,25	58,10	56,71	57,00	41,00	51,79
CPB mezofilní [CFU.g ⁻¹ suš.]	-	-	1,88.10 ⁶	1,56.10 ⁶	2,07.10 ⁷	1,03.10 ⁷	1,93.10 ⁷
CPB termofilní [CFU.g ⁻¹ suš.]	-	-	1,48.10 ⁷	1,87.10 ⁷	2,01.10 ⁷	1,01.10 ⁸	1,98.10 ⁷
Aktinomycety [CFU.g ⁻¹ suš.]	-	-	4,79.10 ⁵	6,19.10 ⁵	7,45.10 ⁵	1,17.10 ⁷	5,68.10 ⁵

CPB – celkový počet bakterií

CFU - jednotka tvořící kolonie (bakterií)

3.2.3 Inertní materiál

Jako inertní materiál, pro zlepšení strukturních vlastností kompostu, zvýšení homogenity a udržení vlhkosti směsi, byl použit materiál s obchodním názvem AGROPERLIT (dále jen perlit, firma AGRO CS, a.s.), expandovaná vulkanická hornina. Výrobce udávané vlastnosti perlitu shrnuje Tab. 10.

Tabulka 10: Charakteristika perlitu (údaje uváděné výrobcem)

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

Před použitím byl perlit zbaven nečistot a hrubých částic opakovaným promytím v destilované vodě a následným vysušením při 105 °C.

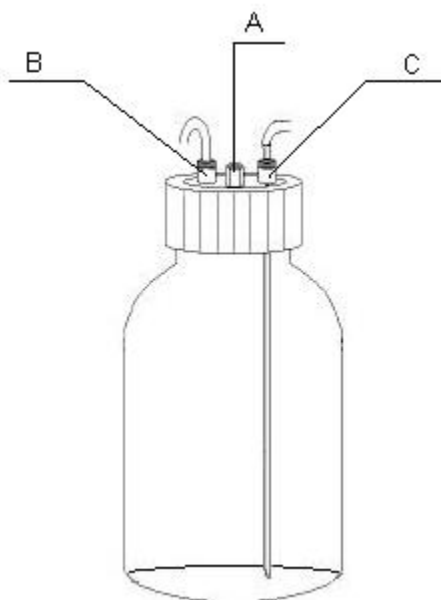
3.2.4 Minerální médium

U kompostovacích testů bylo, jako zdroj živin pro mikroorganismy a pro nastavení požadované vlhkosti v reakční směsi, použito kompletní minerální médium.

Příprava: do 800 ml destilované vody bylo nadávkováno 20 ml fosforečnanového pufru (1 l obsahuje 8,5 g KH_2PO_4 ; 21,75 g K_2HPO_4 a 44,7 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$), dále po 1 ml připravených roztoků (NH_4)₂SO₄ (10 g.l⁻¹), CaCl₂ (27,5 g.l⁻¹), FeCl₃ · 6 H₂O (0,25 g.l⁻¹), MgSO₄ · 7H₂O (22,5 g.l⁻¹) a roztoku stopových prvků (1 l obsahuje 0,75 g H₃BO₃; 0,05 g (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4 H₂O; 0,18 g CoSO₄ · 7 H₂O; 0,5 g MnSO₄ · 4 H₂O; 0,05 g CuSO₄ · 5 H₂O; 0,1 g ZnSO₄ · 7 H₂O a 3 g FeSO₄ · 7 H₂O). Doplněno do 1 l destilovanou vodou.

3.2.5 Reakční láhve

Experimenty probíhaly v reakčních lahvích o objemu 1,14 l, které byly před použitím z důvodu mikrobiálního znečištění vypláchnuty 1 % HCl. Láhve byly plynotěsně uzavřeny uzávěrem opatřeným třemi otvory umožňujícími odběr plynné fáze, areaci a průběžné zvlhčování. Schéma testovací lahve je uvedeno na Obr. 8; otvory B a C byly spojeny silikonovou hadičkou.



Obr. 8: Schéma testovací lahve

A – otvor se septem pro odběr plynné fáze

B – otvor na doplňování vlhkosti

C – otvor na provzdušňování

3.2.6 Průběh testů biodegradability

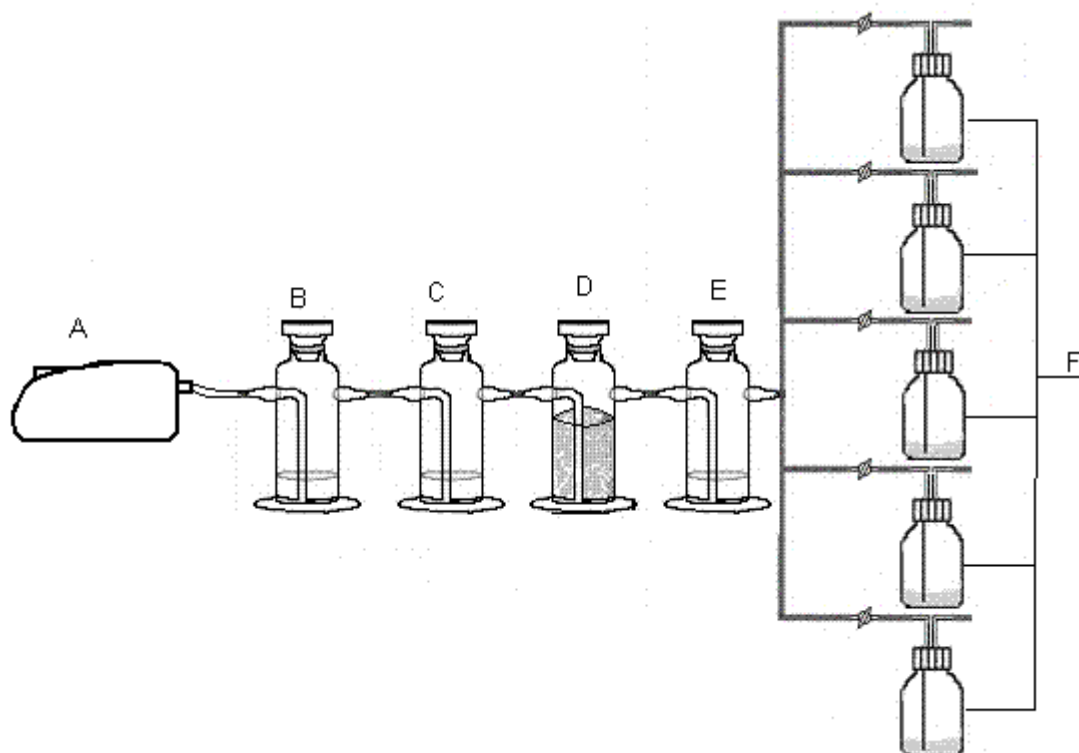
Do každé reakční lahve bylo dávkováno 10 g sušiny kompostu, 20 g perlitu a 20 – 25 ml minerálního media, přičemž jeho množství bylo voleno tak, aby výsledná sušina směsi byla 55 %. Dále bylo přidáno 1,7 g testovaného materiálu. V případě ve vodě rozpustných vzorků bylo využíváno jako rozpouštědlo minerální medium. Hmotnost testovaných vzorků byla volena tak, aby byl zachován poměr 1:6 (substrát : inokulum) [38, 64]. Směs byla zhomogenizována intenzivním protřepáním. Následně byly reakční lahve plynotěsně uzavřeny a inkubovány ve skříňovém termostatu bez přístupu světla a při konstantní teplotě 58 °C. Paralelně byly připraveny testovací lahve se slepým pokusem a lahve s referenční látkou. Lahve se nechaly vytemperovat na požadovanou teplotu a poté se provedlo vyrovnání tlaku pomocí otevření a znovu nasazení silikonové hadičky.

Za výše uvedených podmínek probíhala biodegradace testovaných materiálů, při které docházelo k produkci CO₂ a spotřebě O₂. Odběr plynné fáze a následná četnost stanovení obsahu CO₂ a O₂ pomocí plynové chromatografie byla volena tak, aby koncentrace kyslíku neklesla pod 6 obj.% (2x týdně). Na základě dat z GC byl aproximován průběh degradace. Provozdušňování bylo provedeno po každé analýze, vzduch pro aeraci lahví byl zbaven CO₂ promýváním v roztoku NaOH. Vlhkost v reakčních lahvích byla kontrolována gravimetricky (vážením celých lahví) a udržována na hodnotě 55 %.

Na začátku a konci testů bylo stanoveno pH a sušina. Pro každou sérii byly připraveny také dvě lahve se stejnou směsí perlitu, kompostu a biomédia jako u ostatních pokusů. Jedna sloužila k určení objemu plynné fáze reakčního prostředí (V_g) a druhá ke stanovení pH a sušiny reakční směsi.

3.2.7 Aerace

Po každé analýze byla provedena aerace reakčních lahví vzduchem prostým CO₂. Takto došlo k obnovení aerobních podmínek a zároveň odstranění vyprodukovaného CO₂. Aparatura je znázorněna na Obr. 9. Reakcí s NaOH probíhalo (láhev B, Obr. 9) vlastní odstranění CO₂. Následující pojistná láhev obsahující Ba(OH)₂ (láhev C, Obr. 9) byla zařazena pro případnou indikaci zreagování veškerého NaOH (vznikem sraženiny BaCO₃). V případě vyčerpání obou absorpčních roztoků by CO₂ reagoval s fenolftaleinem za vzniku pozorovatelného zbarvení (láhev D, Obr. 9). Poslední promývací láhev s destilovanou vodou sloužila k zvlhčování vzduchu (Láhev E, Obr. 9).



Obr. 9: Aerační soustava – paralelní zapojení.

A – vzduchové čerpadlo

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

C – promývací láhev s 0,05 M Ba(OH)₂ (300 ml)

D – láhev se směsí perlitu a fenolftaleinu

E – promývací láhev s destilovanou vodou

F – reakční láhve

Doba areace byla volena tak, aby vždy došlo k odstranění veškerého CO₂, což bylo ověřeno GC analýzou. Po každém provzdušnění z důvodu obnovení homogenity směsi byly láhve protřepávány.

Během experimentu docházelo (vzhledem k aeraci) k vysoušení reakční směsi. Proto byly jednotlivé láhve na začátku experimentu zváženy a v průběhu pokusu byl sledován úbytek jejich hmotností, který korespondoval s úbytkem vlhkosti. Vždy po dvou týdnech bylo do lahví doplněno takové množství destilované vody, aby se vyrovnal hmotnostní úbytek, čímž byla zajištěna relativně stálá vlhkost. Tento postup byl ověřen v diplomové práci [65].

3.2.8 Zpracování naměřených hodnot

Biodegradace zkoumaných materiálů byla vyhodnocována podle množství vyprodukovaného CO₂, jako podíl reálné kumulativní a teoretické produkce. Ta byla zjišťována na základě procentuálního obsahu organického uhlíku TOC v pevném vzorku testovaného materiálu.

Souběžně s obsahem CO₂ byl měřen i obsah kyslíku v plynné fázi reakčního prostředí, resp. rozdíl mezi počátečním stavem (ten je dán hodnotami V_g a 20,78 % O₂ ve vzduchu) a aktuální hodnotou. Úbytek – za předpokladu, že rozdíl ve spotřebě O₂ pokusu se vzorkem a slepého pokusu (substrátová spotřeba) byl spotřebován na biochemickou oxidaci – lze interpretovat jako míru biodegradace daného zkoumaného materiálu. Hodnocení biodegradace pomocí spotřeby O₂ bylo při lahvových testech používáno pouze jako doplňkové.

Hodnocení podle produkce CO₂

Teoretické množství CO₂ z testovaného materiálu v reakční láhvi: ThCO₂ [mmol]

$$ThCO_2 = \frac{m_{\text{substr.}} \cdot TOC}{M_c \cdot 100} \cdot 1000 \quad /4/$$

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

TOC – celkový obsah organického uhlíku v testovaném materiálu [%]

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

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

$$n_{CO_2\text{-denní}} = \frac{V_g \cdot Amt \cdot 10^{-3}}{V_d \cdot V_m} \quad /5/$$

V_g – objem plynné fáze v láhvi [ml]

Amt – množství CO₂ zjištěné GC analýzou [μl]

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

V_m – normální molární objem; *V_m* = 22,414 dm³.mol⁻¹

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

$$n_{CO_2\text{-substr.}} = n_{\text{kumul.}} - (n_{\text{kumul.}})_{\text{sl.p.}} \quad /6/$$

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

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

Procentuální odstranění testovaného vzorku: D_{CO2} [%]

$$D_{CO_2} = \frac{n_{CO_2\text{-substr.}}}{ThCO_2} \cdot 100 \quad /7/$$

Hodnocení podle spotřeby O₂**Teoretické množství O₂ spotřebované na oxidaci testovaného materiálu v reakční láhvi:****Th_{O₂} [mmol]**

$$Th_{O_2} = \frac{m_{substr.} \cdot CHSK_{Cr}}{M_{O_2}} \cdot 1000 \quad /8/$$

m_{substr} – navážka testovaného materiálu v reakční láhvi [g]*CHSK_{Cr}* – chemická spotřeba kyslíku testovaného materiálu [mg.g⁻¹]*M_{O₂}* – molární hmotnost kyslíku [g.mol⁻¹]**Množství nespotřebovaného O₂ v láhvi zjištěné GC analýzou: n_{O₂-zůst.} [mmol]**

$$n_{O_2-zůst.} = \frac{V_g \cdot Amt}{V_d \cdot V_m \cdot 1000} \quad /9/$$

V_g - objem plynné fáze v láhvi [ml]*Amt* – množství O₂ v dávkovaném vzorku zjištěné GC analýzou []*V_d* – dávkovaný objem plynu z láhve na GC analýzu [ml]*V_m* – normální molární objem; *V_m* = 22,414 dm³.mol⁻¹**Kumulativní spotřeba O₂: n_{O₂-kumul} [mmol]**

$$n_{O_2-kumul\ i} = \frac{V_g \cdot 0,2095}{V_m} - n_{O_2-zůst.} + n_{O_2-kumul.\ i-1} \quad /10/$$

n_{O₂-kumul, i} – kumulativní spotřeba O₂ při měření *i* [mmol]*n_{O₂-kumul, i-1}* – kumulativní spotřeba O₂ při předcházejícím měření (*i* – 1) [mmol]**Substrátová spotřeba O₂: n_{O₂-substr} [mmol]**

$$n_{O_2-substr.} = n_{kumul.\ i} - (n_{kumul.\ i})_{sl.p.} \quad /11/$$

(n_{kumul, i})_{sl.p.} – průměrná hodnota kumulativní spotřeby slepého pokusu [mmol]**Procentuální spotřeba kyslíku: D_{O₂} [%]**

$$D_{O_2} = \frac{n_{O_2-substr.}}{Th_{O_2}} \cdot 100 \quad /12/$$

3.3 Hodnocení biodegradability látek v půdě

Testy biologické rozložitelnosti v půdě byly prováděny dle metody vycházející z normy ISO 17556^[66].

3.3.1 Biologický materiál

Jako inokulum byla použita půdní směs skládající se ze tří půd, komerčně vyráběná zahradní a hrobová půda od firmy AGRO CS a přírodní půda z oblasti obce Holešov.

Před samotnou přípravou půdní směsi byly všechny typy půd uchovávány při konstantní teplotě 5 °C. Jednotlivé substráty byly zbaveny větších frakcí a pro dosažení požadované zrnitosti přesety přes síto o velikosti ok 7 mm. Poté byla stanovena sušina, uvedená v Tab. 11.

Tabulka 11: Hodnoty sušiny jednotlivých půd

Půda	A	B
Přírodní	94,1 %	82,86 %
Hrobová	47,6 %	46,40 %
Zahradní	41,3 %	40,69 %

Do reakčních láhví byla půda navažována v poměru zahradní : hrobová : přírodní 2:1:1 (vztaženo na sušinu). U připravené půdní směsi byly stanoveny následující charakteristiky (Tab. 12).

Tabulka 12: Charakteristika připravené směsi půdních substrátů

Charakteristika	Půdní směs A	Půdní směs B
Celkový uhlík [%]	32,9	6,69
pH [-]	6,160	7,330
Sušina [%]	50,4	47,04
Spalitelný podíl [%]	69,52	50,70

3.3.2 Inertní materiál

Jako inertní materiál byl použit perlit uvedený v kapitole 3.2.3.

3.3.3 Reakční lahve

Popis reakčních lahví je uveden v kapitole 3.2.5.

3.3.4 Sledování biologické rozložitelnosti

Do reakčních lahví bylo nadávkováno vždy 30 g sušiny půdní směsi + 30 g perlitu (1:1), poté byly přidány roztoky síranu amonného a hydrogenfosforečnanu sodného tak, aby byl zajištěn poměr C:N:P cca 100:10:1. Vlhkost byla upravena na 50 % přidávkem 20 ml destilované vody, ve které byly rozpuštěny vzorky o hmotnosti 0,6 g. Paralelně byly připraveny testovací lahve se slepým pokusem. Reakční lahve byly plynotěsně uzavřeny a inkubovány při 25°C bez přístupu světla. Odběr plynné fáze a následná četnost stanovení obsahu CO₂ a O₂ pomocí plynové chromatografie byla volena tak, aby koncentrace kyslíku neklesla pod 6 obj.%. Pro vzdušňování bylo provedeno v závislosti na koncentraci kyslíku v reakční lahvi. Vzduch pro aeraci lahví byl zbaven CO₂ promýváním v roztoku NaOH. Vlhkost v reakčních lahvích byla kontrolována gravimetricky (vážením celých lahví) a udržována na hodnotě 50 %. Na začátku a konci testů bylo stanoveno pH a sušina.

3.3.5 Zpracování naměřených hodnot

Vyhodnocení naměřených dat bylo provedeno dle kapitoly 3.2.8.

3.4 Hodnocení biodegradability látek v aktivaci

3.4.1 Biologický materiál

Inokulum bylo připraveno z aktivovaného kalu z městské čistírny odpadních vod, který byl zbaven hrubých nečistot filtrací přes síto a třikrát dekantován pitnou vodou. Potřebný objem takto upraveného kalu byl před vlastním testem odstředován při 3000 ot.min⁻¹, supernatant byl odlit a biomasa byla resuspendována v minerálním médiu.

3.4.2 Minerální medium

Minerální medium bylo připraveno následujícím postupem: do 1 l lahve bylo dáno 800 ml provzdušňované destilované vody dále po 1 ml zásobních roztoků: CaCl₂ (27,5 g.l⁻¹), FeCl₃ · 6H₂O (0,25 g.l⁻¹), MgSO₄ · 7H₂O (22,5 g.l⁻¹), a roztoky stopových prvků: (0,75 g.l⁻¹ H₃BO₃, 0,05 g.l⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O, 0,18 g.l⁻¹ CoSO₄ · 7H₂O, 0,5 g.l⁻¹ CuSO₄ · 5H₂O, 0,1 g.l⁻¹ ZnSO₄ · 7H₂O, 3 g.l⁻¹ FeSO₄ · 7H₂O). Dále bylo přidáno 20 ml fosfátového pufru (8,2 g.l⁻¹ KH₂PO₄, 21,75 g.l⁻¹ K₂HPO₄ · 12H₂O, 44,7 g.l⁻¹ Na₂HPO₄ · 12H₂O) a 5 ml (NH₄)₂SO₄ (10 g.l⁻¹) roztoku. Vše bylo zamícháno a doplněno do 1 l provzdušňovanou destilovanou vodou.

3.4.3 Hodnocení biologické rozložitelnosti

Bylo použito respirometrického stanovení dle normy ASTM D 5209-92 ^[67], a to s využitím mikrorespirometru Micro-Oxymax (Columbus Instruments co. USA). Koncentrace vzorků byla 0,20 g.l⁻¹, koncentrace inokula ve formě aktivovaného kalu byla 0,50 g.l⁻¹ ^[67]. Reaktory byly během experimentu umístěny ve vodních lázních, které byly temperovány na teplotu 25±1 °C. V průběhu testu byla periodicky (ve zvolených časových intervalech) analyzována produkce CO₂ a spotřeba O₂ pomocí automatických analyzátorů přístroje Micro-Oxymax.

3.4.4 Zpracování naměřených hodnot

Základním kritériem biodegradability vzorků byl poměr skutečně vyprodukovaného CO₂, vznikajícího při mikrobiálním rozkladu, k teoretickému množství daného organického uhlíku přítomného ve vzorku. Tento poměr byl vyjádřen hodnotou D_{CO₂} (%) podle vztahu /13/:

$$D_{CO_2} = \frac{(nCO_{2_{sample}} - nCO_{2_{blank}})}{ThCO_2} \times 100 \quad /13/$$

3.5 Stanovení celkového organického uhlíku

Stanovení celkového organického uhlíku bylo prováděno na analyzátoru uhlíku Shimadzu 5000 A, Solid sample module. Organický uhlík obsažený ve vzorku byl ve spalovací trubici s katalyzátorem (oxid kobaltnato-kobaltitý) při teplotě cca 670°C přeměněn na CO₂, jehož množství bylo analyzováno NDIR (Non-dispersive Infra Red) detektorem. Jako nosný plyn byl použit O₂.

3.6 Stanovení celkového dusíku

Stanovení celkového dusíku bylo provedeno dle Kjeldahlovy metody ^[68].

3.7 Stanovení celkového fosforu

Stanovení celkového fosforu bylo provedeno dle ^[69].

3.8 Mikrobiologická charakteristika kompostu

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

Příprava výluhu kompostu

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

3.8.1 Stanovení celkového počtu mezofilních a termofilních bakterií

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

3.8.2 Stanovení celkového počtu termofilních aktinomycet

Kultivace byla prováděna na Actinomycete isolation agaru (výrobce HIMEDIA), který byl připraven dle návodu výrobce. Na jednotlivé Petriho misky bylo očkováno 0,1 ml supernatantu o ředění 10^{-2} , 10^{-3} a 10^{-4} , vždy dvakrát vedle sebe. Kultivace probíhala při 58 °C po dobu 7 dní. Po této době byly zjišťovány počty kolonií termofilních aktinomycet pomocí světelné mikroskopie (zvětšení 100x).

3.8.3 Stanovení celkového počtu vláknitých plísní

Kultivace probíhala na půdním agaru s bengálskou červení a chloramfenikolem. Nejprve byl připraven základ o složení 1,0 g glukosa, 0,1 g NaNO₃, 0,1 g KH₂PO₄, 0,006 g chloramfenikol, 1,8 g agar. Živná půda byla připravena suspendací 3 g základu ve 100 ml půdního extraktu ($c = 0,1 \text{ g.l}^{-1}$). Po suspendaci bylo přidáno 0,7 ml roztoku bengálské červeně a provedena sterilizace.

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

3.9 Přístrojové vybavení a analýzy

3.9.1 Přístrojové vybavení

Plynový chromatograf Agilent 7890 A, USA

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

Plynotěsný dávkovač Hamilton, 100 µl, USA

Tedlarový vak, 0,6 l

Analyzátor uhlíku Shimadzu TOC 5000 A, Rakousko

Oscilační kulový mlýn MM 301, Retsch, BRD

Sít'ovací stroj AS 200 Control, Retsch, BRD

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

Vakuová sušárna Memmert UFP 800, Memmert, BRD

Lázeň vodní WBU 45, Memmert, BRD

Další přístroje a sklo jsou běžným laboratorním vybavením.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Metody pro hodnocení biodegradability polymerních materiálů v kompostu v laboratorních podmínkách jsou podle současných platných českých a mezinárodních norem značně pracné, zdlouhavé, díky komplikovaným aparaturám náročné na prostor, a mají omezený počet testovacích pozic.

Nutným předpokladem pro zvýšení efektivnosti práce bylo použití vhodného laboratorního vybavení umožňující v průběhu testu odběry plynné fáze pro následnou analýzu na plynovém chromatografu. Schéma použité aparatury (dále uváděna jako reakční lahve) je uvedeno v kapitole 3.2.5. Experimentální podmínky plynově chromatografického stanovení CO₂ a O₂ byly voleny dle standardních postupů.

Výhody sledování biologického rozkladu na základě plynově chromatografické analýzy plynné fáze spočívají v jednoduchosti aparatury - plynotěsně uzavřené reakční láhve o objemu 1,1 l, potenciální kapacitě (počet reakčních lahví je prakticky neomezen) a menší spotřebě použitého materiálu. Pro srovnání: norma ISO 14855-1^[38] doporučuje minimální objem u kompostovacích nádob 2 l a pro sledování biodegradace je doporučena přímá analýza CO₂ pomocí kontinuálního infračerveného analyzátoru nebo plynového chromatografu nebo stanovení CO₂ po jeho úplné absorpci v zásaditém roztoku jako rozpuštěného anorganického uhlíku.

4.1 Dozrávání (*adaptace*) kompostu

Při prvotních experimentech probíhalo dozrávání kompostu v provzdušňovacích lahvích s porézní fritou, umístěných ve výhřevné vaně, kdy byl vzduch vháněn pomocí provzdušňovacího motorku přímo do láhve. Kompost byl pravidelně promícháván protřepáním lahve. Při tomto způsobu dozrávání však docházelo k rychlému vysušování kompostu, fritu se zanášela částicemi kompostu a samotná manipulace byla nepraktická. Z těchto důvodů byl zcela změněn způsob dozrávání.

Dozrávání kompostu probíhalo v lysimetrech (Obr. 7), ve kterých byl u dna instalován rozvod vzduchu, na něm byl nerezový rošt a perlit v bavlněném sáčku pak kompost a opět vrstva perlitu pro udržení vlhkosti. Součástí systému byla i promývací a pojistná láhev. Celý systém byl umístěn do vodní lázně. Kompost byl pravidelně promícháván.

4.2 Aerace

Způsob provzdušňování byl také upraven. Při prvotním experimentu byly na lahve zajišťující odstranění CO₂ napojeny reakční lahve sériově. Samotná aerace byla však časově náročná, docházelo k nerovnoměrnému vysoušení reakčních směsí a vznikl i předpoklad, že společně s vodou migrují i látky a dochází tak k změně reakční směsi.

Z těchto důvodů byla aerační soustava upravena paralelním zapojením reakčních lahví (Obr. 9).

4.3 Statistické parametry

K ověření metodiky kompostování byly použity i některé statistické parametry - opakovatelnost, ověření standardní látky, robustnost a regulační diagram. Nutno podotknout, že statistické parametry nelze zcela jednoznačně aplikovat vzhledem k heterogenitě kompostu a celkové proměnlivosti reakční směsi v časovém horizontu.

Všechny experimenty byly připraveny a prováděny dle kapitoly 3.2.

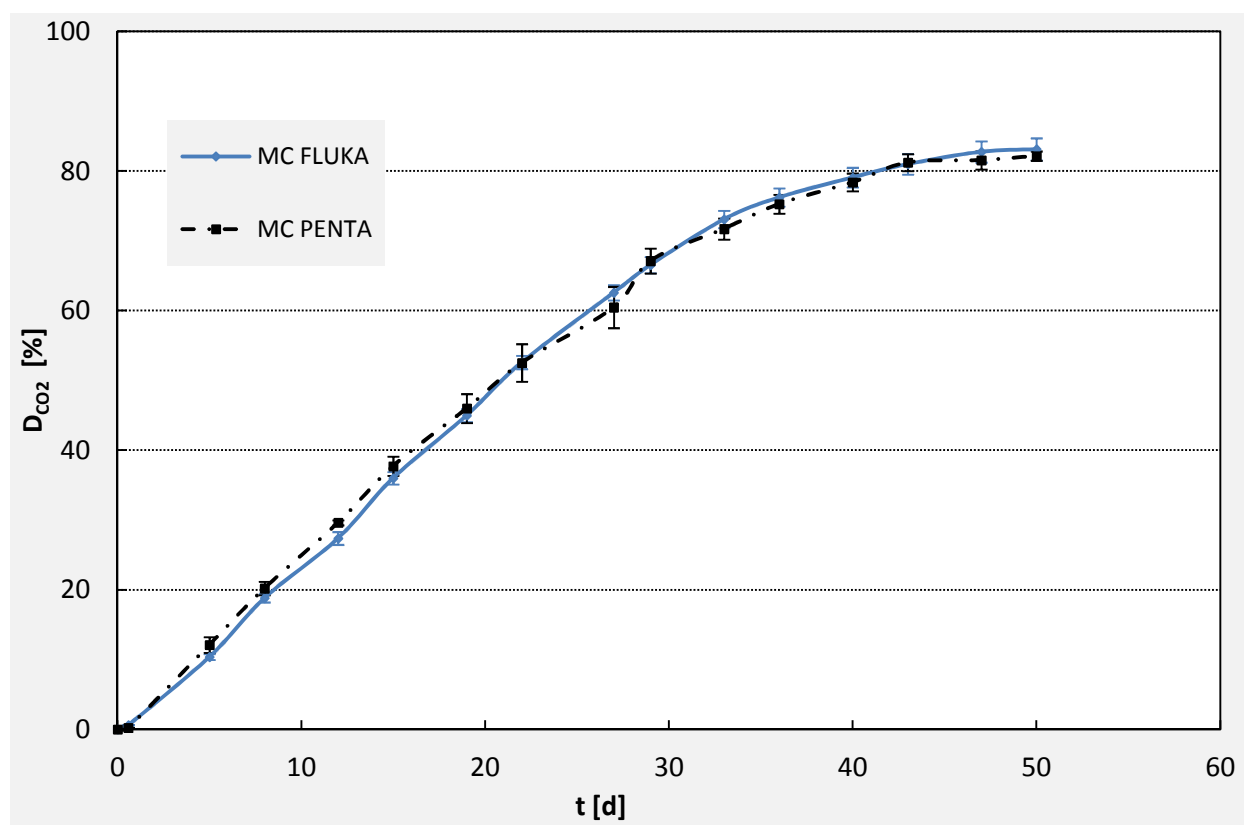
4.3.1 Ověření referenční látky

V analytické praxi se ověřuje běžně používaná standardní látka pomocí identické látky, ale od jiného výrobce. Referenční látkou pro testy v prostředí kompostu byla zvolena mikrokrytalická celulóza, která je doporučována i normou ISO 14 855^[38]. Nejčastěji používaná mikrokrytalická celulóza byla od výrobce Penta, pro její ověření byl zvolen identický materiál od výrobce Fluka (Fluka Chemie).

Na experiment byl použit kompost C (2), počáteční sušina reakční směsi byla 60,90 %, počáteční hodnota pH 6,97 a objem plynné fáze (V_g) byl 0,990 l. Průběh biologického rozkladu byl sledován po dobu 50 dní pomocí plynové chromatografie. Hodnoty D_{CO_2} i základní charakteristiky byly zpracovány tabelárně v Tab. 13 a graficky Obr. 10.

Tabulka 13: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace látek a hodnoty pH a sušín kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	D_{CO_2} [%]	sušina_start [%]	sušina_end [%]	pH_start [-]	pH_end [-]
MC Penta	$82,14 \pm 1,711$	60,90	56,83	6,97	7,03
MC Fluka	$83,58 \pm 0,684$	60,90	54,17	6,97	7,34



Obr. 10: Průběh biologické rozložitelnosti mikrokrystalické celulosy Penta a Fluka hodnocený podle D_{CO_2}

Při porovnání průběhů biologického rozkladu (Obr. 10) a průměrných hodnot degradace substrátu D_{CO_2} (Tab. 13) lze pozorovat stejné průběhy obou křivek i srovnatelné hodnoty D_{CO_2} . Na základě těchto údajů lze konstatovat funkčnost referenční látky.

4.3.2 Opakovatelnost

Nejčastěji používaný statistický parametr pro ověření nové metody je opakovatelnost. Principem je min. 10x vedle sebe nezávislým postupem připravit a provést experiment, přičemž k hodnocení opakovatelnosti slouží hodnota relativní směrodatné odchylky (RSD).

Dle kapitoly 3.2 byly nezávislým postupem připraveny reakční láhve se slepým pokusem a s MC Fluka. Na experiment byl použit kompost C (2), počáteční sušina reakční směsi byla 60,90 %, počáteční hodnota pH 6,970 a objem plynné fáze (V_g) byl 0,990 l. Průběh biologického rozkladu byl sledován po dobu 50 dní pomocí plynové chromatografie. Průměrná hodnota D_{CO_2} i základní charakteristiky jsou uvedeny v Tab. 14.

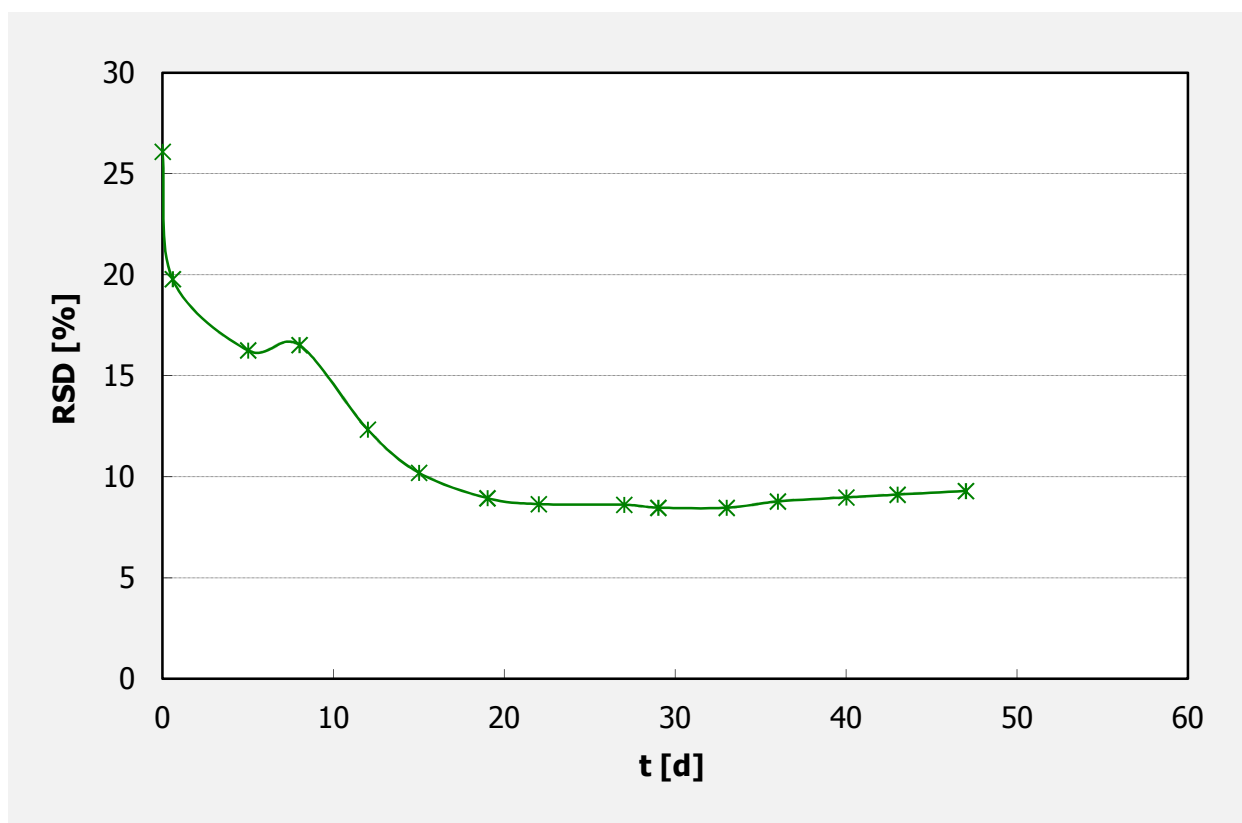
Tabulka 14: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace mikrocelulosity a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
MC Fluka	92,60±8,600	60, 90	54,17	6,970	7,340

Dále byly tabelárně (Tab. 15) zpracovány průměrné hodnoty degradace substrátu D_{CO_2} , směrodatné odchylky (s) a RSD, jejíž vývoj v průběhu experimentu byl znázorněn i graficky (Obr. 11).

Tabulka 15: Vyhodnocení opakovatelnosti metodiky

t [dny]	D_{CO_2} [%]	s [-]	RSD [%]
0	0	0	0
1	0,69	0,180	26,08
5	11,43	2,260	19,78
8	20,71	3,365	16,25
12	30,12	4,975	16,52
15	39,61	4,887	12,34
19	49,49	5,044	10,19
22	57,86	5,171	8,94
27	68,83	5,950	8,64
29	73,21	6,302	8,61
33	80,39	6,803	8,46
36	83,84	7,094	8,46
40	86,99	7,632	8,77
43	89,09	7,994	8,97
47	91,03	8,293	9,11
50	92,55	8,603	9,30



Obr. 11: Závislost RSD na době experimentu

Na Obr. 11 lze pozorovat hodnotu relativní směrodatné odchylky v průběhu experimentu trvajícím 50 dní ustálenou na hodnotě 9 %. I přes vyšší hodnotu RSD, lze konstatovat, vzhledem k heterogenitě matrice, dosažení upokojivé přesnosti metodiky hodnocení biodegradability v prostředí kompostu.

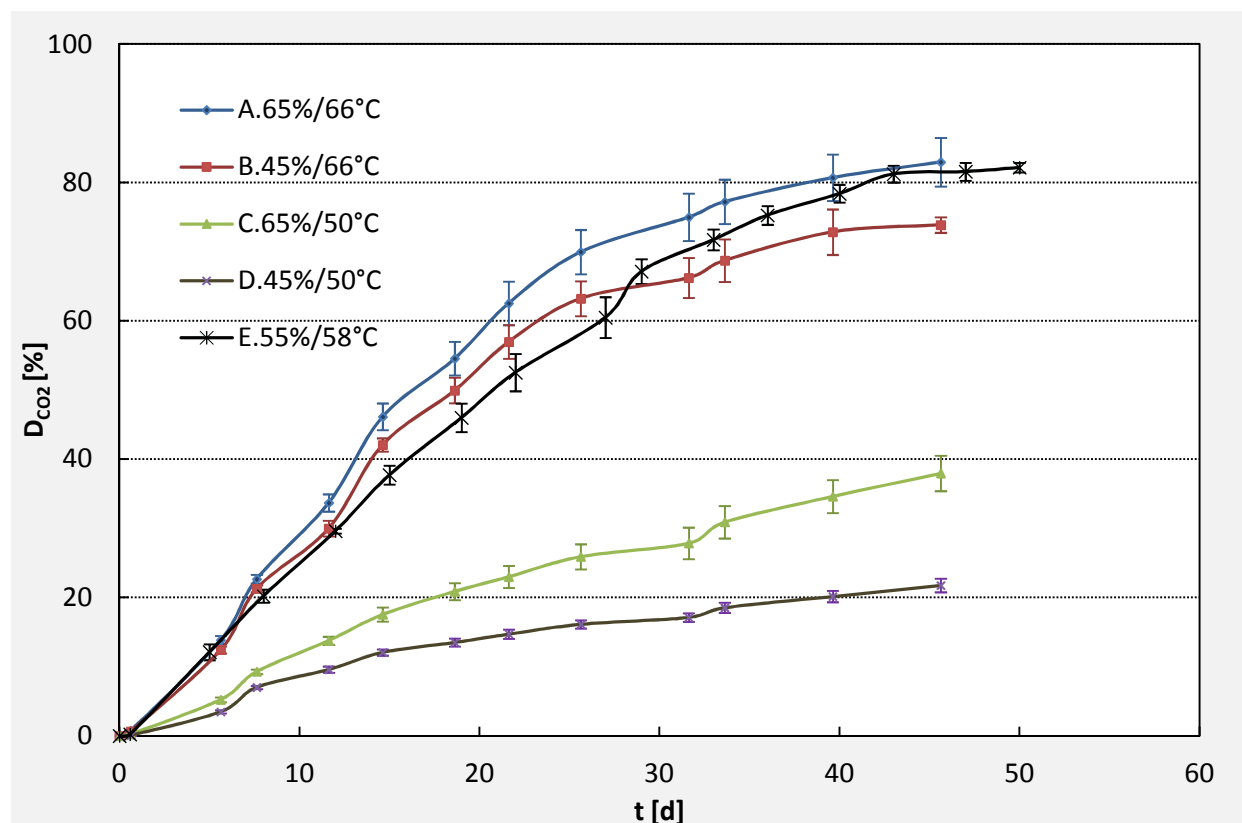
4.3.3 Robustnost

Účinnost metody je vyjádřena schopností udržet si výkonnost i za snížených podmínek. V průběhu vývoje metody byly vytipovány kritické parametry, které pokud nejsou dodrženy, mají nepříznivý vliv na průběh degradace. Vzhledem k omezeným možnostem laboratoře byly z identifikovaných podmínek ovlivňující biodegradaci vybrány pouze dvě: teplota prostředí a vlhkost reakční směsi. U každého parametru byla zvolena tolerance, u teploty 8 °C a u vlhkosti 10 %. Test odhalí tzv. kontrasty jednotlivých parametrů a zjistí jejich robustnost pro metodu. Na experiment byl použit kompost D (2), nastavené hodnoty jednotlivých podmínek včetně základních parametrů reakčních směsí jsou uvedeny v Tab. 16. Jako

modelová látka byla zvolena MC Penta, jejíž průběhy biologické rozložitelnosti za upravených podmínek byly zpracovány graficky (Obr. 12).

Tabulka 16: Podmínky testů, hodnoty D_{CO_2} mikrocelulosity a hodnoty pH a sušín kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	T [°C]	Vlhkost [%]	D_{CO_2} [%]	sušina_start [%]	sušina_end [%]	pH_start [-]	pH_end [-]	Vg [l]
A 65%/66°C	66	65	82,92±3,514	65,90	63,28	6,958	6,591	1,010
B 50%/66°C	66	45	73,85±1,126	42,31	44,91	7,012	6,555	0,980
C 65%/50°C	50	65	37,95±2,562	62,75	66,12	7,234	6,841	1,015
D 50%/50°C	50	45	21,75±0,977	45,78	47,49	7,333	7,025	0,975
E 55%/58°C	58	55	82,14±0,684	57,50	56,89	6,840	7,006	1,012



Obr. 12: Průběh biologické rozložitelnosti MC Penta hodnocený podle D_{CO_2} za daných podmínek

Z Obr. 12 je patrný význam teploty ovlivňující rychlost, průběh a celkovou hodnotu mineralizace. Pokles teploty prostředí o 8 °C výrazně zpomalí rychlost degradace a to tak, že lze materiál mylně hodnotit jako špatně rozložitelný. Po zvýšení teploty prostředí na 66 °C sice vzroste rychlost biodegradačního procesu, ale změna není tak markantní jako u snížené teploty. Pomocí změny teploty prostředí byl demonstrován i vliv mikroorganismů, kdy bylo potvrzeno teplotní optimum pro termofilní organismy (především termofilní aktinomycety) 55 - 60 °C.

Z Obr. 12 lze pozorovat i vliv vlhkosti reakční směsi, který je však zřetelně menší než vliv teploty. Snížená vlhkost se projeví cca 10 % rozdílem k hodnotám naměřených za standardních podmínek, naopak u hodnot při vyšší vlhkosti taková odchylka není.

4.3.4 Regulační diagram

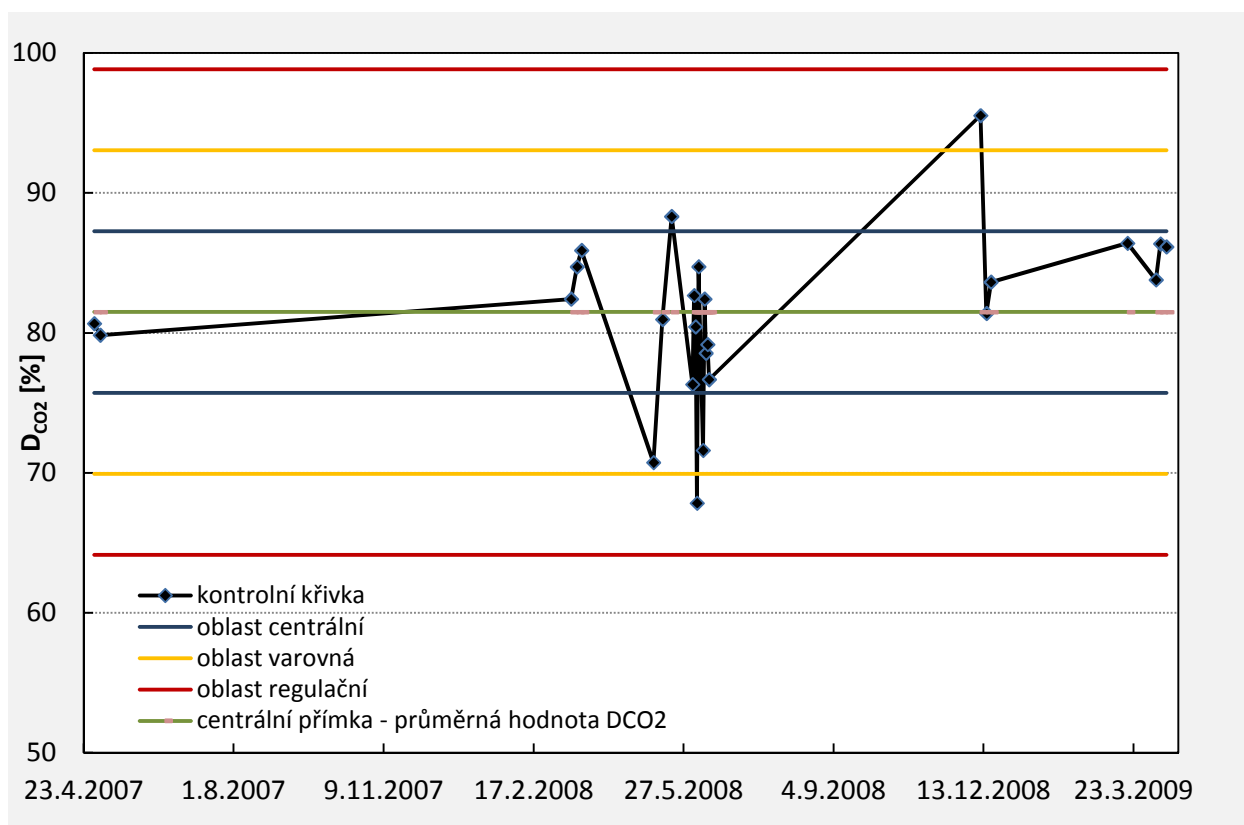
Regulační diagram slouží jako prostředek ke sledování stability metody v průběhu času. Je to ve své podstatě průběžný diagram, do kterého jsou vloženy kontrolní prvky, které jsou statisticky definovány. Pro sledování stability metody hodnocení biodegradability polymerních materiálů byla navržena referenční látka (mikrokrystalická celulóza) a hodnota D_{CO_2} odečtená po cca 55 dnech mineralizace. Tato hodnota byla zaznamenávána do regulačního diagramu po dobu tří let, viz Obr. 13. Jednotlivé oblasti regulačního diagramu byly vypočítány z násobků relativní odchylky (s_d), výsledné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 17.

Tabulka 17: Charakteristiky regulačního diagramu

Datum	D_{CO_2} [%]	Datum	D_{CO_2} [%]
20.04.2007	50,76	06.06.2008	84,73
25.04.2007	55,29	09.06.2008	71,61
30.04.2007	80,67	10.06.2008	82,42
04.05.2007	79,84	11.06.2008	78,55
13.03.2008	82,42	12.06.2008	79,17
17.03.2008	84,72	13.06.2008	76,67
20.03.2008	85,89	11.12.2008	95,54
07.05.2008	70,74	15.12.2008	81,39
13.05.2008	80,97	18.12.2008	83,63
19.05.2008	88,32	19.03.2009	86,41
02.06.2008	76,32	07.04.2009	83,79
03.06.2008	82,67	10.04.2009	86,37
04.06.2008	80,44	14.04.2009	86,15
05.06.2008	67,84		

Tabulka 17: Charakteristiky regulačního diagramu - pokračování

D_{CO2}průměr [%]	81,49
s_d [1]	5,781
RSD [%]	7,094
centrální oblast	87,27
1.S _d ± D _{CO2} průměr [%]	75,71
varovná oblast	93,05
2.S _d ± D _{CO2} průměr [%]	69,93
regulační oblast	98,83
3.S _d ± D _{CO2} průměr [%]	64,15



Obr. 13: Regulační diagram

Hlavním cílem regulačního diagramu bylo udržet měřicí systém ve stavu statistické kontroly. Mineralizaci mikrokrytalické celulosy ovlivnila zejména mikrobiální skladba kompostu, což se promítlo do průběhu kontrolní křivky, která vykazovala, vzhledem k průměrné hodnotě D_{CO_2} po cca 55 dnech mineralizace 81,49 %, rozptyl 5,78. Nicméně všechny hodnoty se pohybovaly uvnitř regulační oblasti, proto lze konstatovat, že je metoda stabilní.

4.4 Testování biodegradability látek v kompostu

Likvidace a zamezování vzniku plastového odpadu představuje celosvětový problém. Jednou z možností snižování jeho množství je vývoj a výroba nových typů či směsí degradabilních polymerů, které za různých podmínek vnějšího prostředí podléhají působení mikroorganismů, světla, kyslíku, teploty či jiných faktorů. Biodegradabilní plasty jsou nejvýznamnější skupinou takových polymerů a jejich rozklad bakteriemi, houbami nebo jinými organismy je předmětem intenzivního zkoumání.

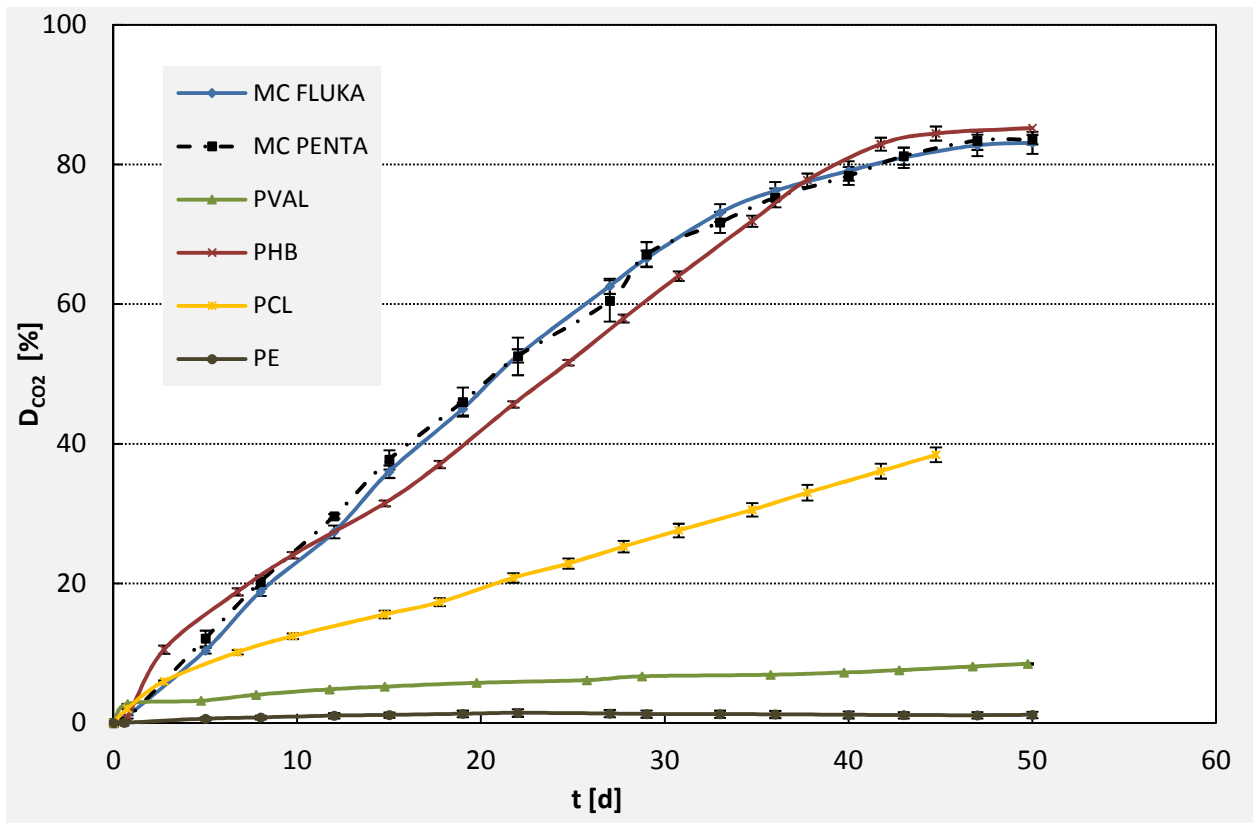
Naše pracoviště se spolupodílelo na vývoji nových směsí biodegradabilních polymerů. Vyvinutá metodika „kompostovatelnosti“ plastů reflektující normu ISO 14855-1^[38] byla nejprve aplikována pro sledování biologické rozložitelnosti základních látek a následně nových polymerních směsí.

4.4.1 Biodegradabilita základních látek

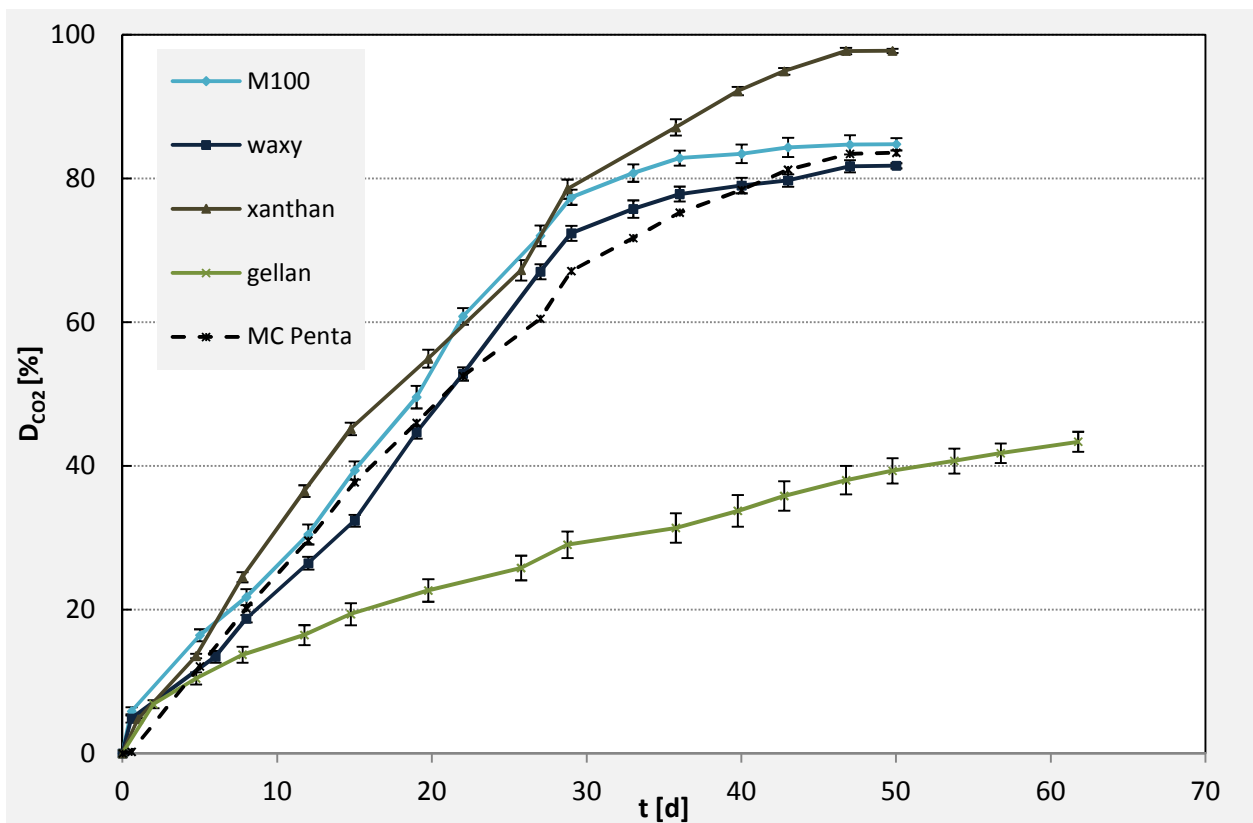
V prvním kroku byly otestovány základní látky směsných polymerů. Vzhledem k tomu, že u některých z nich byla známa jejich biologická rozložitelnost, posloužily tyto experimenty i k ověření metodiky sledování biodegradace materiálů v kompostu využívající plynovou chromatografii k analýze aktuálního množství respirační produkce CO₂ a spotřeby O₂.

Základní látky byly nejběžněji používané přírodní i syntetické polymery. Konkrétně se jednalo o poly(vinyl)alkohol (PVAL), kyselinu poly-β-hydroxy máselnou (PHB), poly-ε-kaprolakton (PCL) a kyselinu polymléčnou (PLA), gellan, xanthan, škrob Meritena (M100) a škrob waxy. U všech experimentů byla jako pozitivní kontrola volena mikrokrystalická celulóza od firmy Penta (MC Penta). Byla provedena i negativní kontrola, kdy byl použit polyethylen (PE). Průběh a stupeň biologického rozkladu byl hodnocen na základě množství produkovaného CO₂. Současně s CO₂ byla monitorována i aktuální koncentrace kyslíku, jejíž znalost byla nezbytná pro nastavení četnosti jednotlivých analýz a aerace reakční směsi.

Vzhledem k tomu, že testování základních látek neprobíhalo současně, jsou v tabulce (Tab. 18) uvedeny kromě hodnot D_{CO2} i experimentální podmínky a typ použitého kompostu. Naměřené průběhy biologického rozkladu vzorků jsou uvedeny na Obr. 14 a 15.



Obr. 14: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}



Obr. 15: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}

Tabulka 18: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace základní látek a hodnoty pH a sušín kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]	Vg [l]	Kompost
MC Penta	83,12±1,582	48,76	51,83	7,196	7,430	0,99	F (3)
MC Fluka	83,58±0,684	60,90	54,17	6,970	7,340	0,99	C (2)
PE	1,17±0,466	60,90	54,50	6,970	6,873	0,99	C (2)
PVAL	8,48±0,103	47,65	55,98	7,332	7,340	1,078	G (3)
PCL	38,44±1,051	48,76	52,78	7,196	7,452	1,054	F (3)
PHB	84,45±1,009	48,76	51,85	7,196	7,512	1,054	F (3)
M100	84,77±0,859	50,15	53,12	7,235	7,023	1,100	B (1)
waxy	81,77±0,917	50,15	51,66	7,235	7,712	1,100	B (1)
gelan	43,37±1,388	47,65	46,68	7,332	7,410	1,078	G (3)
xanthan	97,76±0,292	47,65	50,45	7,332	8,146	1,078	G (3)
TAC	-6,52	48,76	52,48	7,196	4,635	1,054	F (3)

Během 50 dnů byla mikrokrytalická celuloza od výrobců Penta a Fluka zcela mineralizována a jak již bylo uvedeno dříve, průběhy i hodnoty D_{CO_2} byly srovnatelné. Polyethylen použitý coby negativní kontrola se v kompostu nerozkládal.

Biologická rozložitelnost PHB, typického představitele biodegradabilních polymerů, korespondovala s literaturou^[54 - 55]. Během 50 dní dosáhla biodegradabilita dle hodnoty D_{CO_2} v kompostu 84,45 % (Obr. 14).

Další zástupce ze skupiny biodegradabilních polymerů byl synteticky vyráběný PCL. V průběhu 45 dnů byla zaznamenána míra degradace vyjádřená hodnotou D_{CO_2} pouze 38,44 %. Nejednalo se o nahodilý výsledek, protože testy byly prováděny 4x paralelně. Nicméně křivka znázorňující průběh biodegradace (Obr. 14) nepřechází do plató fáze, ale má lineární charakter, z čehož vychází předpoklad pokračujícího rozkladu. Většina literatury prezentuje PCL jako biodegradabilní plast, jež je dobře rozložitelný v různých typech environmentu a to včetně kompostu. Například Funabashi^[12], který se zabýval

kompostovatelností různých frakcí PCL ve formě prášku i granulátu, uvádí, že za laboratorních podmínek specifikovaných dle norem ISO 14855-1^[38] a ISO 14855-2^[39] došlo po 47 dnech k mineralizaci 90, resp. 80 % sledovaného materiálu.

Biologická rozložitelnost PVAL během 50 dní byla dle hodnoty D_{CO_2} v kompostu pouze 8,2 % (Obr. 14). Lze usuzovat, že nízká rozložitelnost PVAL je způsobena nepřítomností vhodných mikroorganismů nebo díky nepříznivým podmínkám prostředí. První byla doložena výsledky nerozložitelnosti PVAL v půdách a kompostech^[46], druhá možnost byla prokázána např. studií Chielliniho a kol.^[49], kteří prokázali adsorpci PVAL na jílovité částice, jež znamenala téměř úplné zamezení biodegradace díky obsazení atakovatelných OH- skupin^[49].

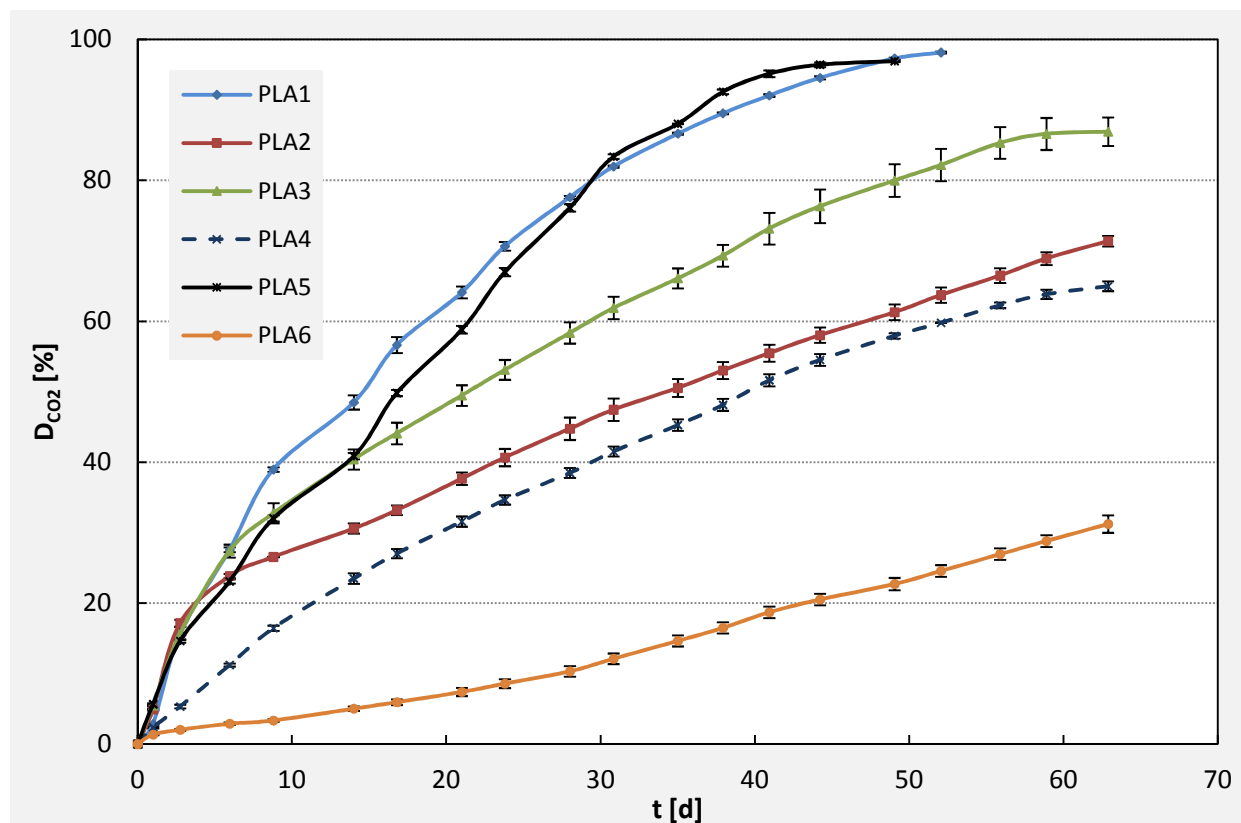
Škrob waxy se v kompostu rozložil o něco málo hůře než běžně používaný škrob M100, rozdíl však činil pouze cca 3 %. Z průběhů biodegradace (Obr. 15) a hodnot D_{CO_2} (Tab. 18) lze tedy považovat obě látky za dobře rozložitelné.

I přes skutečnost, že xanthan i gellan jsou přírodní polysacharidy, lze pozorovat rozdíly jejich biologického rozkladu (Obr. 15). Během 50 dní byla míra mineralizace vyjádřená hodnotou D_{CO_2} u xanthanu proti gellanu dvojnásobná, a to 98 % a 41 %. Rozdíly v hodnotách D_{CO_2} lze přisoudit jednak rozdílné chemické struktuře jednotlivých extracelulárních polysacharidů, ale také pravděpodobně většímu zastoupení mikroorganismů degradujících xanthan v kompostu.

Jednou z testovaných látek byl i triacetin (TAC), používaný jako změkčovadlo při výrobě směsí na bázi PCL a PHB. V průběhu testu kompostování byla zjištěna nižší produkce CO_2 než u slepého pokusu. Lze předpokládat, že TAC byl rychle hydrolyzován na diacetin, monoacetin, glycerin a kyselinu octovou, která zvýšila extrémně kyselost. Tento předpoklad potvrdilo pH, které během experimentu kleslo z hodnoty 7,2 na 4,6.

Byly testovány také vzorky kyseliny polymléčné vyrobené Centrem polymerních materiálů Fakulty technologické Univerzity T. Bati ve Zlíně.

Na reakční směs byl použit kompost B, objem plynné fáze (Vg) činil 1,05 l. Fyzikální charakteristiky reakční směsi, hodnoty D_{CO_2} pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v Tab. 19 a průběh biologické degradace je znázorněn na Obr. 16.



Obr. 16: Průběh biologické rozložitelnosti základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}

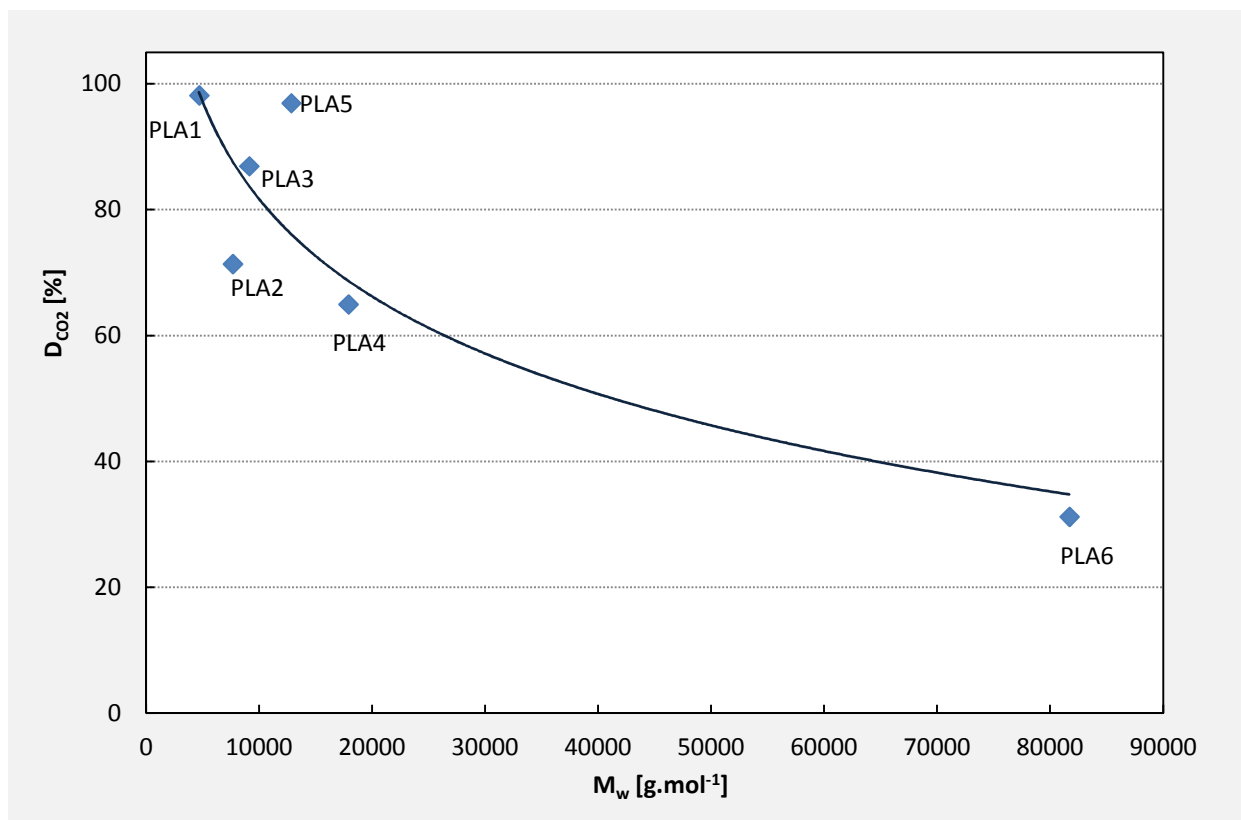
Tabulka 19: Hodnoty D_{CO_2} biodegradace vzorků PLA a hodnoty pH a sušín kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
PLA1	98,17±0,139	48,76	47,13	7,302	7,437
PLA2	71,37±0,754	48,76	45,87	7,302	7,170
PLA3	86,92±2,011	48,76	46,30	7,302	7,123
PLA4	72,31±1,451	48,76	51,80	7,302	7,353
PLA5	96,93±0,115	48,76	50,13	7,302	7,627
PLA6	31,22±1,245	48,76	54,70	7,302	7,367

Kyselina polymléčná je známa jako biodegradabilní i kompostovatelný materiál, což potvrdil provedený experiment. Mineralizace vzorků byla sledována po dobu 65 dní. Na Obr. 16 lze pozorovat rozdíly na průbězích biologické degradace u jednotlivých vzorků PLA1 – PLA6. Téměř všechny křivky vykazují strmý nárůst, až na křivku vzorku PLA6, u které nepatrné urychlení v produkci CO_2 nastalo až po 20 dnech. Vzorek PLA6 je komerčně vyráběný polymer, definovaný jako dobře rozložitelný materiál, ale při tomto experimentu byl

mineralizován za 65 dní dle hodnoty D_{CO_2} pouze z 31,22 %. Vzhledem k formě vzorku PLA6 (granulát), lze však předpokládat, že v průběhu prvních 20 dní probíhala hydrolyza substrátu, při které hrála zásadní roli velikost jeho povrchu. K nízké míře biodegradace přispěla i vysoká molární hmotnost, při porovnání s ostatními vzorky tohoto experimentu.

Význam tohoto faktoru je nastíněn na Obr. 17 na závislosti stanoveného procentuálního odstranění substrátů na jejich molární hmotnosti.



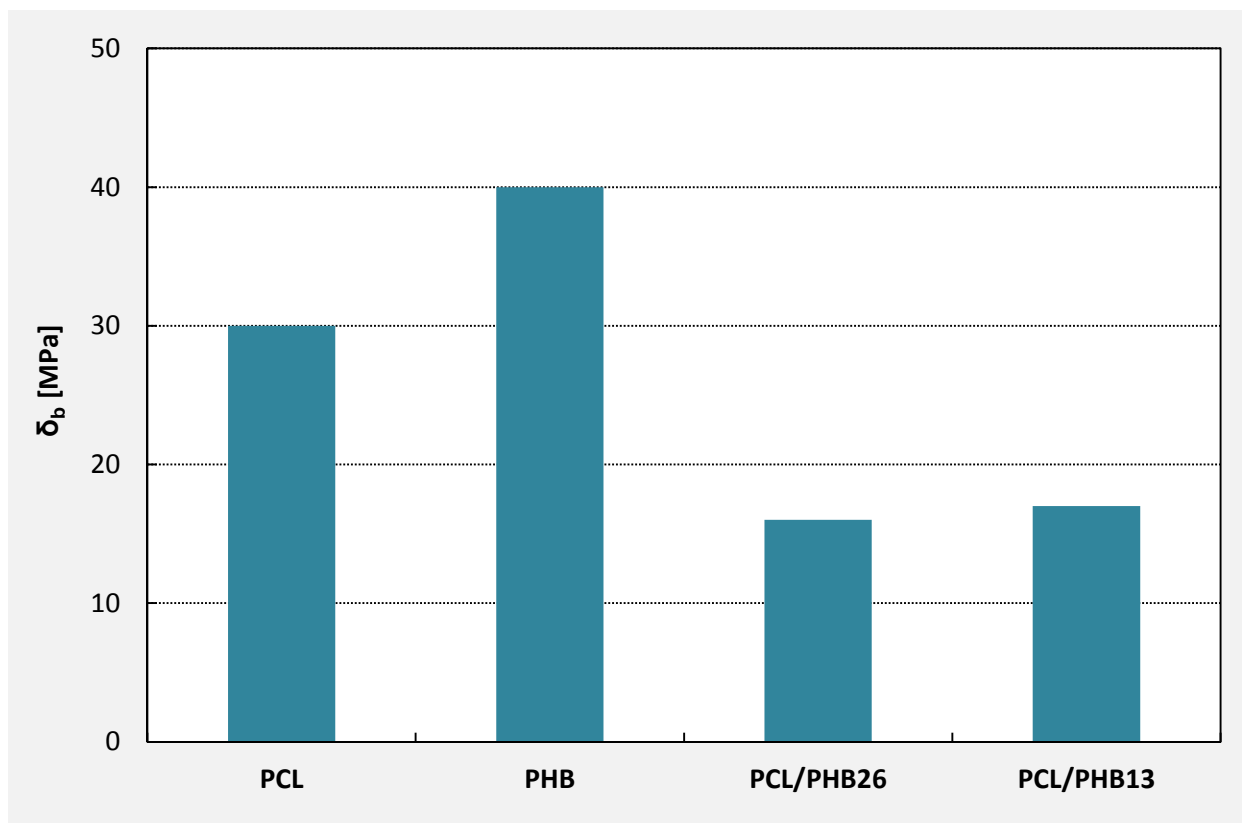
Obr. 17: Závislost procentuálního odstranění substrátu na jeho molekulové hmotnosti

Z pohledu tohoto aspektu probíhala mineralizace vzorků částečně dle očekávání, nejrychleji se rozkládal vzorek PLA1 a nejpomaleji PLA4. Z Obr. 17 lze odvodit, že mineralizace PLA v kompostu nezávisí jen na molekulové hmotnosti, ale na více faktorech.

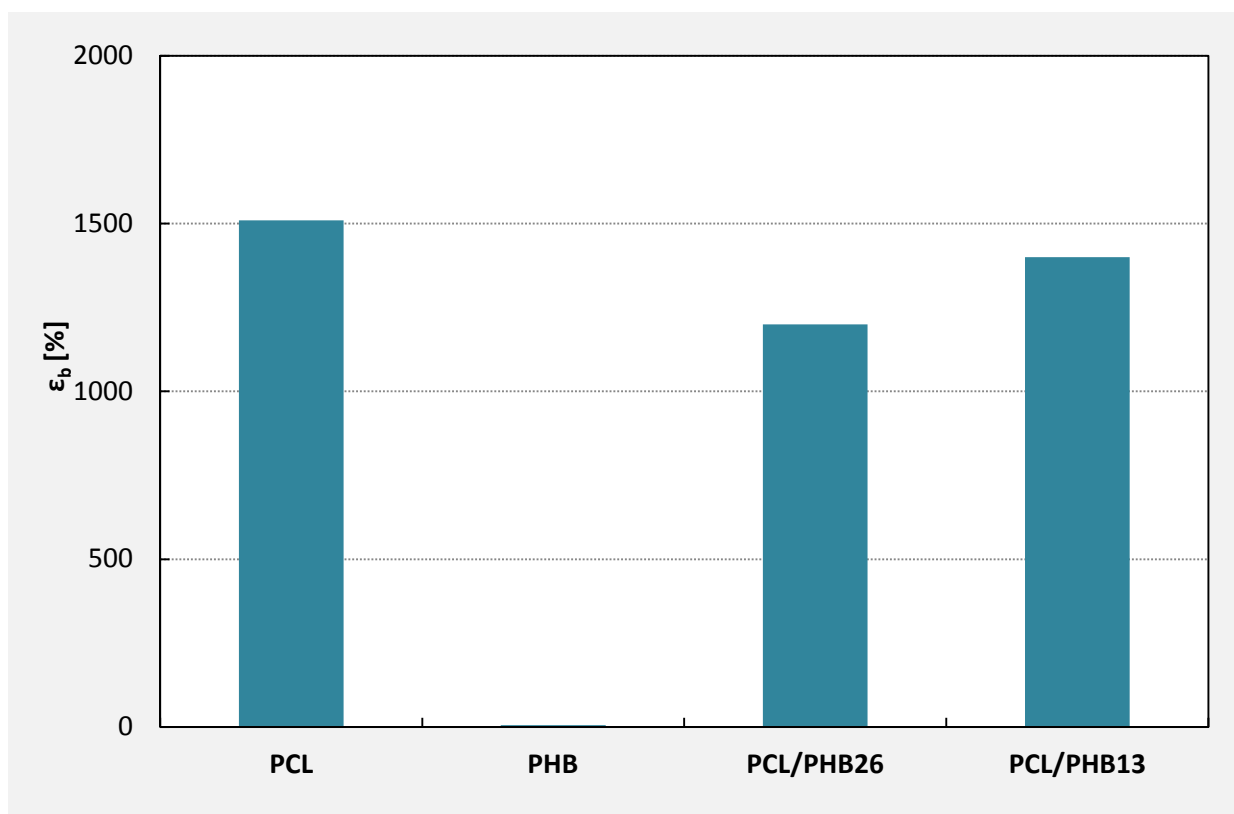
4.4.2 Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PCL a PHB

Byly testovány směsné polymery obsahující PCL a PHB, které nabízí řešení problémů při termoplastickém zpracování čistých komponent. U nových polymerních směsí byly nejprve zkoumány mechanické vlastnosti a následně byla sledována jejich biologická rozložitelnost v kompostu.

Výsledky měření základních mechanických charakteristik je uvedeno na Obr. 18 a 19. I přes vysoký obsah PHB (26 %) ve vzorku PCL/PHB26 vykazuje pevnost v tahu 15 MPa a hodnotu elongace při přetržení nad 1200 %, což je více než běžně používané materiály v obalovém průmyslu^[63]. Směsný polymer PCL/PHB13, jež byl optimalizován na maximální mechanické vlastnosti, vykazoval vysoké hodnoty $\bar{\sigma}_b$ a ϵ_b (17 MPa a 1400 %)^[63].

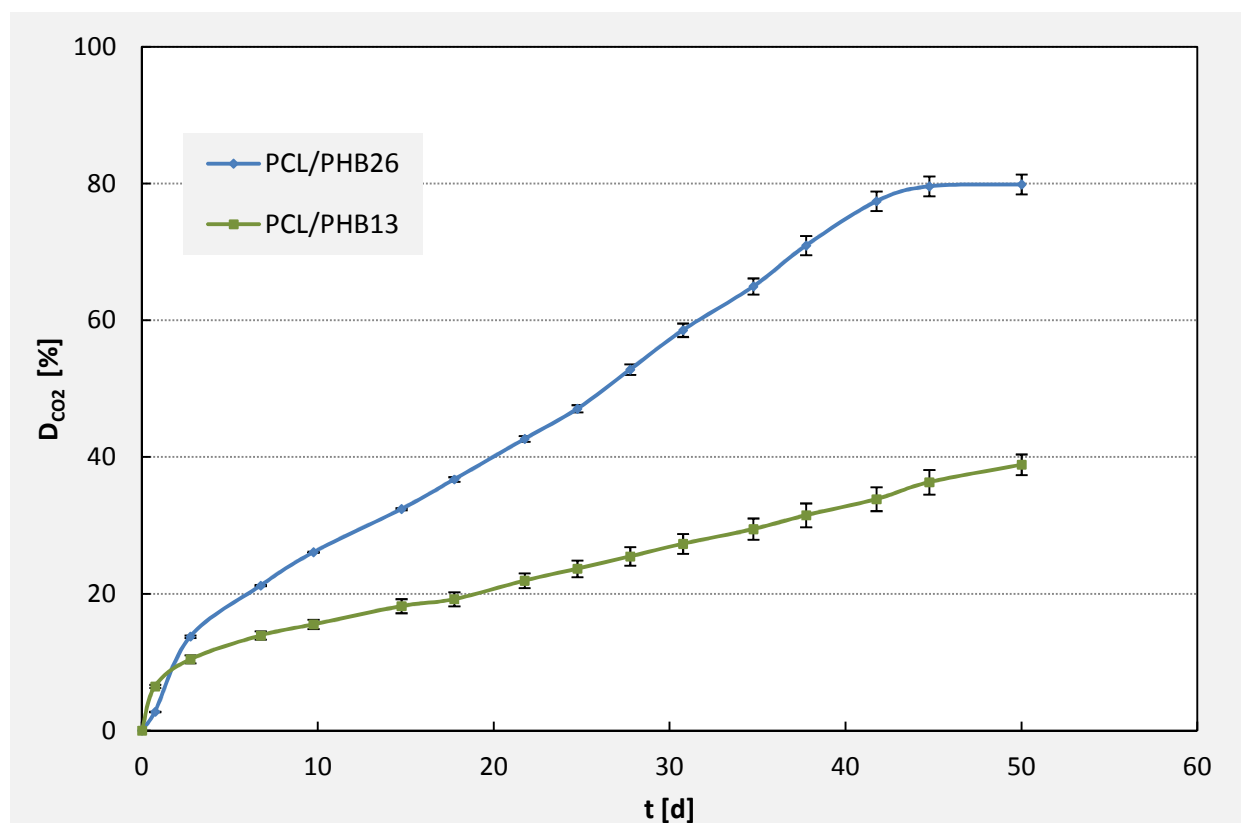


Obr. 18: Srovnání pevnosti v tahu pro základní látky a polymerní směsi



Obr. 19: Srovnání poměrného prodloužení při přetržení pro základní látky a polymerní směsi

Na experiment testování biodegradace směsných polymerů byl použit kompost C, počáteční sušina reakční směsi byla 48,76 %, počáteční hodnota pH 7,2 a objem plynné fáze (V_g) byl 1,054 l. Průběh biologického rozkladu byl sledován po dobu 45 dní pomocí plynové chromatografie. Hodnoty D_{CO_2} i základní charakteristiky jsou uvedeny v Tab. 20.



Obr. 20: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PCL a PHB hodnocený podle D_{CO_2}

Tabulka 20: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušin kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	PCL [%]	PHB [%]	TAC [%]	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
PCL/PHB26	47	26	26	79,88±1,444	48,76	53,53	7,196	7,445
PCL/PHB13	74	13	13	36,58±1,511	48,76	55,07	7,196	7,478

Směsný polymer se zvýšeným obsahem PHB PCL/PHB26 vykazoval mineralizaci vyjádřenou hodnotou D_{CO_2} z 79,88 %, přičemž lze na křivce (Obr. 20) pozorovat, že TAC obsažený ve vzorku neovlivnil průběh degradace substrátu. Mineralizace materiálu optimalizovaného na maximální pevnost v tahu PCL/PHB13 byla pouze 38,24 %. Dle naměřené hodnoty pH na konci experimentu lze usuzovat, že TAC opět neměl výrazný vliv na celkovou rozložitelnost makromolekulární látky. Pomalejší rychlost degradace byla zřejmě způsobena vysokým obsahem PCL. Nicméně křivka (Obr. 20) znázorňující průběh

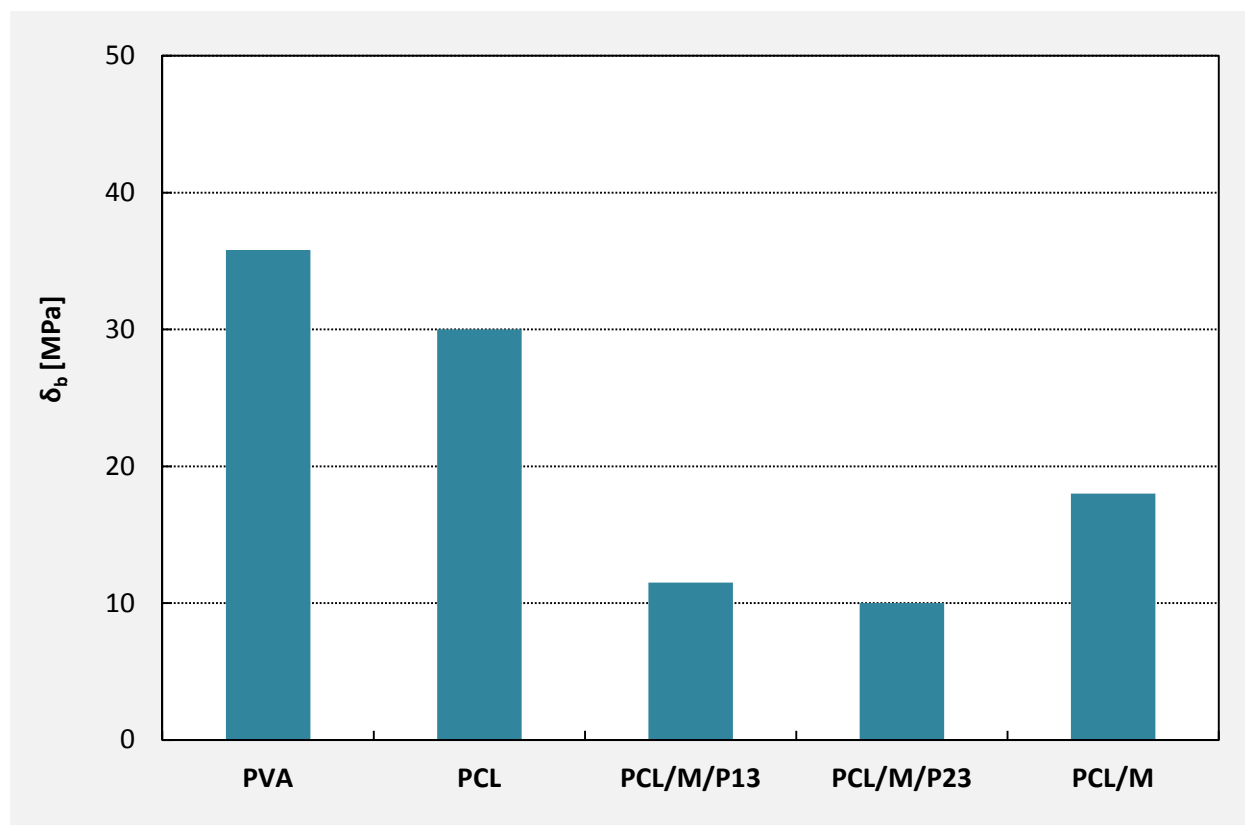
biologického rozkladu nepřechází do plató fáze, z čehož lze predikovat další rozklad materiálu.

4.4.3 Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PCL, škrobu a PVAL

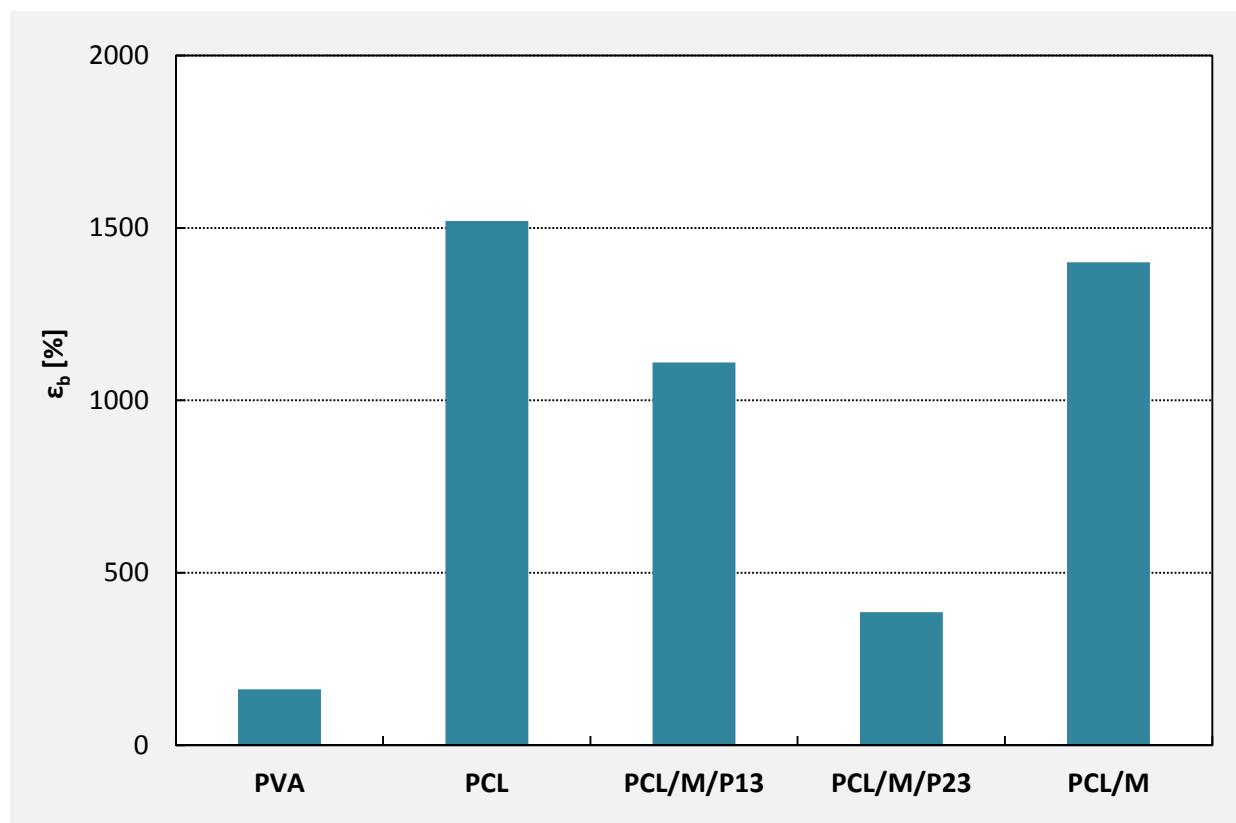
Polymerní směsi na bázi škrobu a PCL představují plně degradovatelný materiál, který je ekonomicky výhodný a zároveň má dobré mechanické vlastnosti. Nicméně jeho vlastní výroba je problematická vzhledem k nízké teplotě tání PCL.

Směsné polymery obsahující PCL, škrob a PVAL byly nejprve hodnoceny po stránce mechanických vlastností a následně dle jejich biodegradability v kompostu.

Na Obr. 21 a 22 lze vidět naměřené hodnoty mechanických vlastností, které jsou srovnatelné s běžnými typy polymerů. Vzorek PCL/M obsahující PCL, škrob M100 a změkčovadla vykazoval pevnost v tahu 18 MPa a poměrné prodloužení při přetržení se pohybovalo na 1400 %, což je opět vysoko nad běžně používanými polymery v obalovém průmyslu. Hodnota pevnosti v tahu u polymerních materiálů obsahující navíc PVAL byla také srovnatelná s běžně používanými polymery např. LDPE. Při porovnání poměrného prodloužení při přetržení lze pozorovat vliv přidaného PVAL, kdy vzorek obsahující cca 13 % PVAL měl ϵ_b 1110 % a u vzorku s cca 23 % PVAL bylo ϵ_b 386 %^[70].

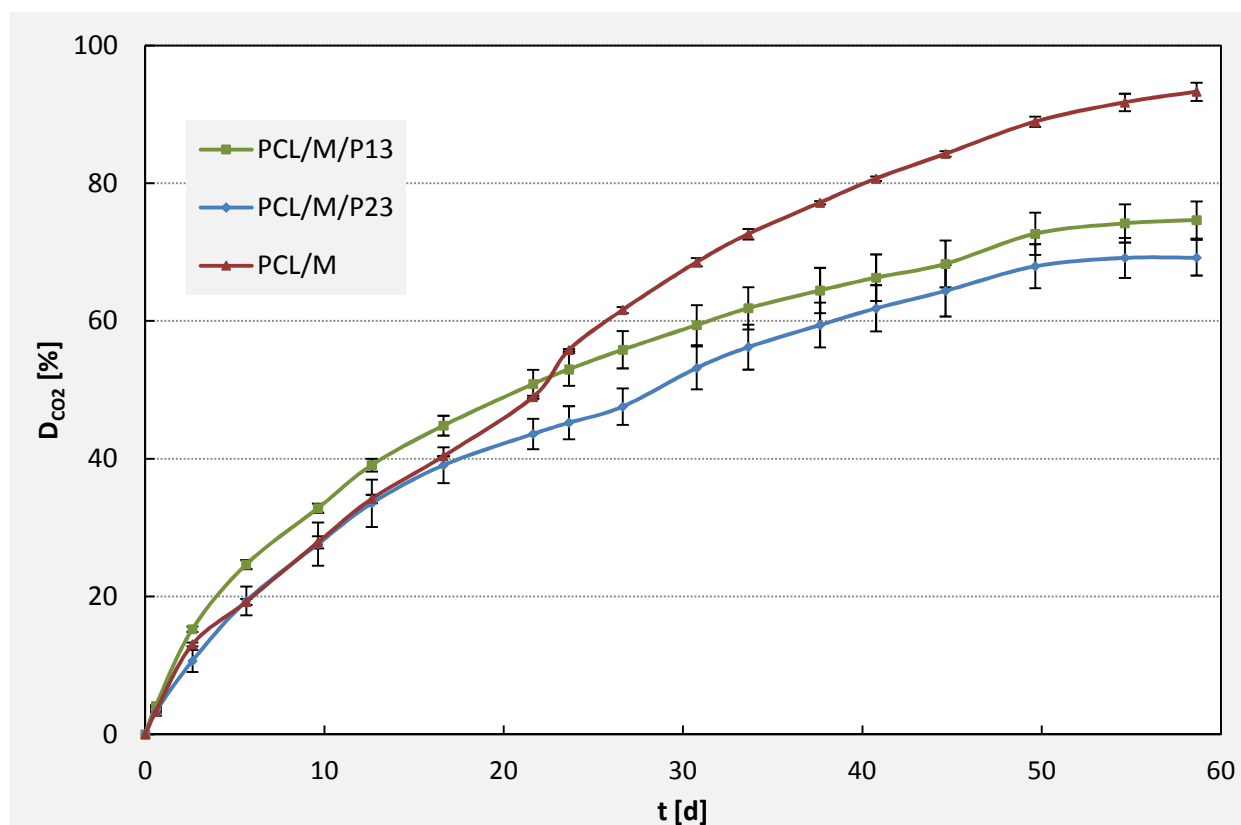


Obr. 21: Srovnání pevnosti v tahu pro základní látky a polymerní směsi^[70]



Obr. 22: Srovnání poměrného prodloužení při přetržení pro základní látky a polymerní směsi [70]

Bylo provedeno hodnocení biologické rozložitelnosti směsných polymerů, obsahující PCL, škrob a PVAL, v kompostu. Reakční směs obsahovala kompost D, na počátku experimentu byla sušina směsi 51 % a hodnota pH 6,63. Objem plynné fáze (V_g) činil 1,055 l. Produkce CO_2 a úbytek O_2 byly stanovovány GC analýzou. Hodnoty D_{CO_2} a základní charakteristiky jsou zpracovány tabelárně Tab. 21. Průběh biodegradace je znázorněn na Obr. 23.



Obr. 23: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PCL, škrobu a PVAL hodnocený podle D_{CO_2}

Tabulka 21: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušiny kompostu na začátku a konci testů

Vzorek	PVAL [%]	PCL [%]	M100 [%]	GLY [%]	Stearin III [%]	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
PCL/M	-	45	35,52	19,12	0,36	96,17±0,823	51,0	50,41	6,63	7,48
PCL/M/P13	13,26	39,03	30,81	16,59	0,31	74,66±2,597	51,0	50,53	6,63	7,28
PCL/M/P23	23,42	34,46	27,20	14,64	0,28	69,20±1,240	51,0	47,80	6,63	7,27

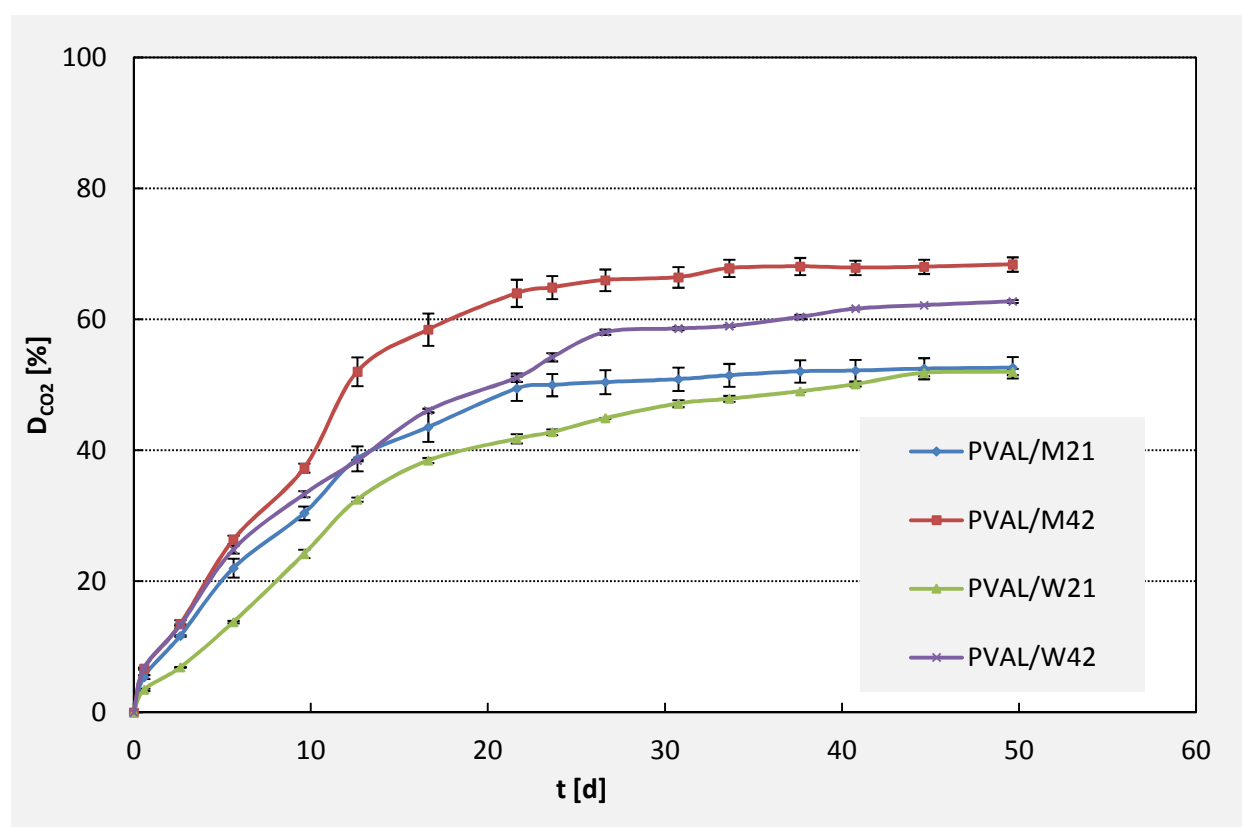
Na Obr. 23 je patrný vliv zastoupení PVAL ve směsných polymerech. Vzorek PCL/M obsahující pouze PCL, škrob M100 a změkčovadla vykazoval kompletní mineralizaci, zatímco míra biologické rozložitelnosti u blendů obsahující navíc i PVAL byla cca o 20 % nižší. Přesto lze vzorky PCL/M/P13 a PCL/M/P23 hodnotit jako dobře degradovatelné v prostředí kompostu, protože v průběhu 60 dní jejich biodegradabilita dosáhla více jak 50 % (74,66 % a 69,20 %). Všechny tři typy testovaných vzorků lze doporučit na průmyslové využití, protože vykazovaly jak dobré mechanické vlastnosti, tak vysokou rozložitelnost.

4.4.4 Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a škrobu

Škrob je zcela biologicky rozložitelný a obnovitelný polymer, není však ideálním plnivem, vzhledem k fyzikálně chemickým a zpracovatelským vlastnostem. Naproti tomu škrob waxy obsahuje nízké procento lineárních řetězců (obsah amylosy je pod 1%) což má významný vliv na technologické zpracování směsí na bázi PVAL a škrobu. Tento škrob je termicky stabilnější a lépe plastifikovatelný a dochází tak ke snadnějšímu zpracování do směsí.

Účelem tohoto experimentu bylo sledovat průběh biologického rozkladu v kompostu a rovněž posouzení vlivu typu a procentuálního zastoupení škrobu ve směsi na biodegradabilitu výsledných polymerních směsí.

Reakční směs obsahovala kompost E, na počátku experimentu byla sušina směsí 51,74 % a hodnota pH 7,00. Objem plynné fáze (V_g) činil 1,10 l. Hodnoty D_{CO_2} a základní charakteristiky jsou zpracovány v Tab. 22. Průběh biodegradace je znázorněn na Obr. 24.



Obr. 24: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PVAL a škrobů
hodnocený podle D_{CO_2}

Tabulka 22: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušiny kompostu na začátku a konci testů

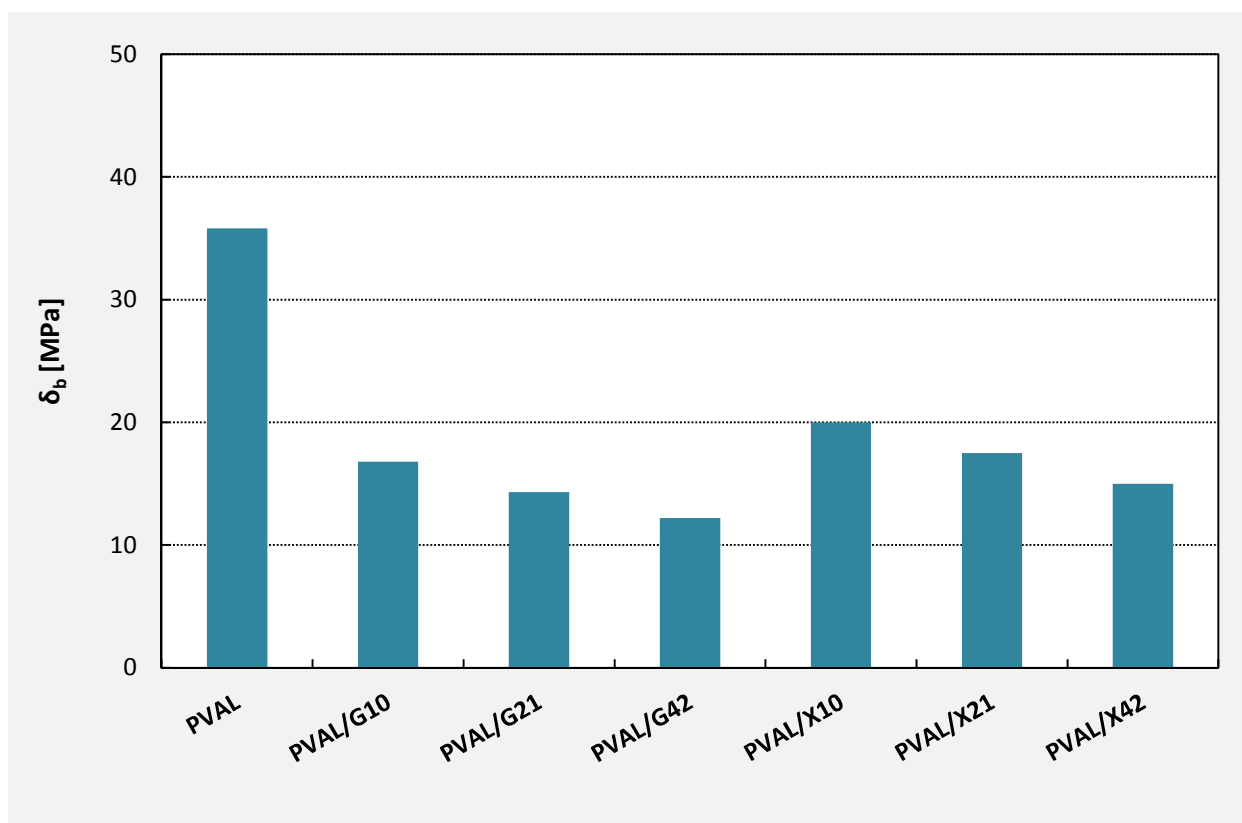
vzorek	Typ škrobu	škrob [%]	PVAL [%]	GLY [%]	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
PVAL/M21	M100	21	61,6	17,4	52,64 \pm 1,632	51,74	54,23	7,0	7,125
PVAL/M42		42	35,2	22,8	68,40 \pm 1,099	51,74	51,08	7,0	7,100
PVAL/W21	waxy	21	61,6	17,4	51,99 \pm 0,470	51,74	52,66	7,0	6,975
PVAL/W42		42	35,2	22,8	62,76 \pm 0,211	51,74	55,71	7,0	7,100

Všechny směsné polymery na bázi PVAL a škrobů lze hodnotit jako dobře rozložitelné, protože jejich mineralizace v kompostu vyjádřená hodnotou D_{CO_2} byla vyšší než 50 % (Tab. 22). Nicméně biodegradace vzorků byla opět negativně ovlivněna množstvím obsaženého PVAL. Z průběhů biologické rozložitelnosti polymerních směsí (Obr. 24) lze usuzovat, že během prvních 25 dní byl mineralizován v blendech obsažený glycerol a škroby. Samotný typ škrobu neměl významný vliv na biodegradaci vzorků.

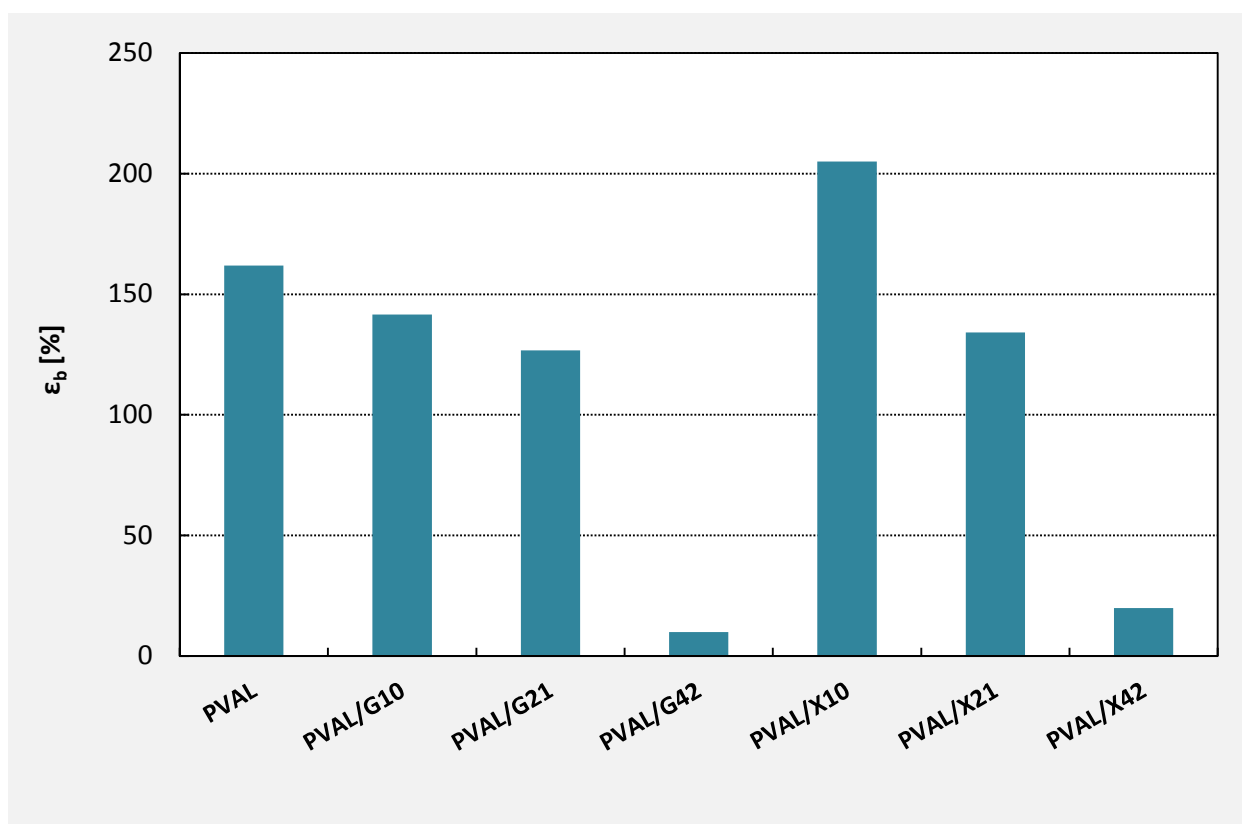
4.4.5 Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu nebo gellanu

Bakteriální polysacharidy coby součást biodegradabilních plastů nebyly doposud příliš studovány díky jejich vyšší ceně, nabízejí však proti rostlinným polysacharidům jiné možnosti využití vzhledem k odlišné struktuře a vlastnostem. Jsou značně strukturně i aplikačně rozmanité a některé z nich jsou již komerčně vyráběny ve větších objemech. Xanthan a gellan jsou průmyslově aplikovány nejvíce, a to v potravinářství, farmacii, kosmetice a v případě xanthanu také v některých technických odvětvích.

Výsledky měření základních mechanických vlastností vyrobených plastů jsou uvedeny na Obr. 25 a 26. Jak bylo očekáváno, proti čistému PVAL ukázaly všechny vzorky blendů nižší hodnoty pevnosti v tahu; míra tohoto snížení korespondovala se stoupajícím zastoupením polysacharidů. Vzorky s xanthanem dosahovaly přibližně poloviční hodnoty pevnosti jako samotný PVAL. Co se týká hodnoty elongace při přetržení, blendy obsahující 10.5 či 21 % polysacharidů prokázaly vlastnosti relativně blízké čistému PVAL a jen vzorky obsahující 42% polysacharidů se ukázaly být značně křehké. Srovnání mechanických vlastností jednotlivých blendů ukázalo poněkud výhodnější použití xanthanu, neboť odpovídající vzorky s gellanem dosahovaly vždy o něco horších výsledků.

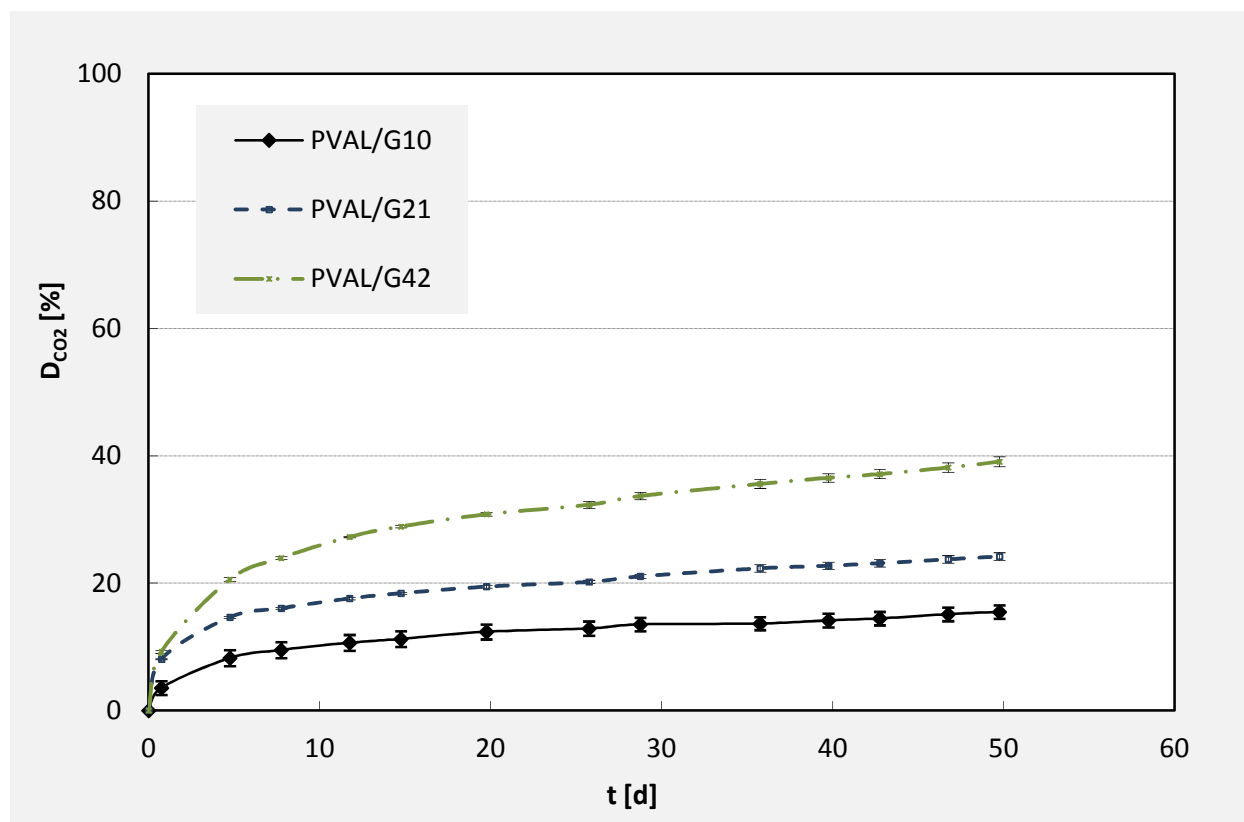


Obr. 25: Srovnání pevnosti v tahu pro základní látky a polymerní směsi

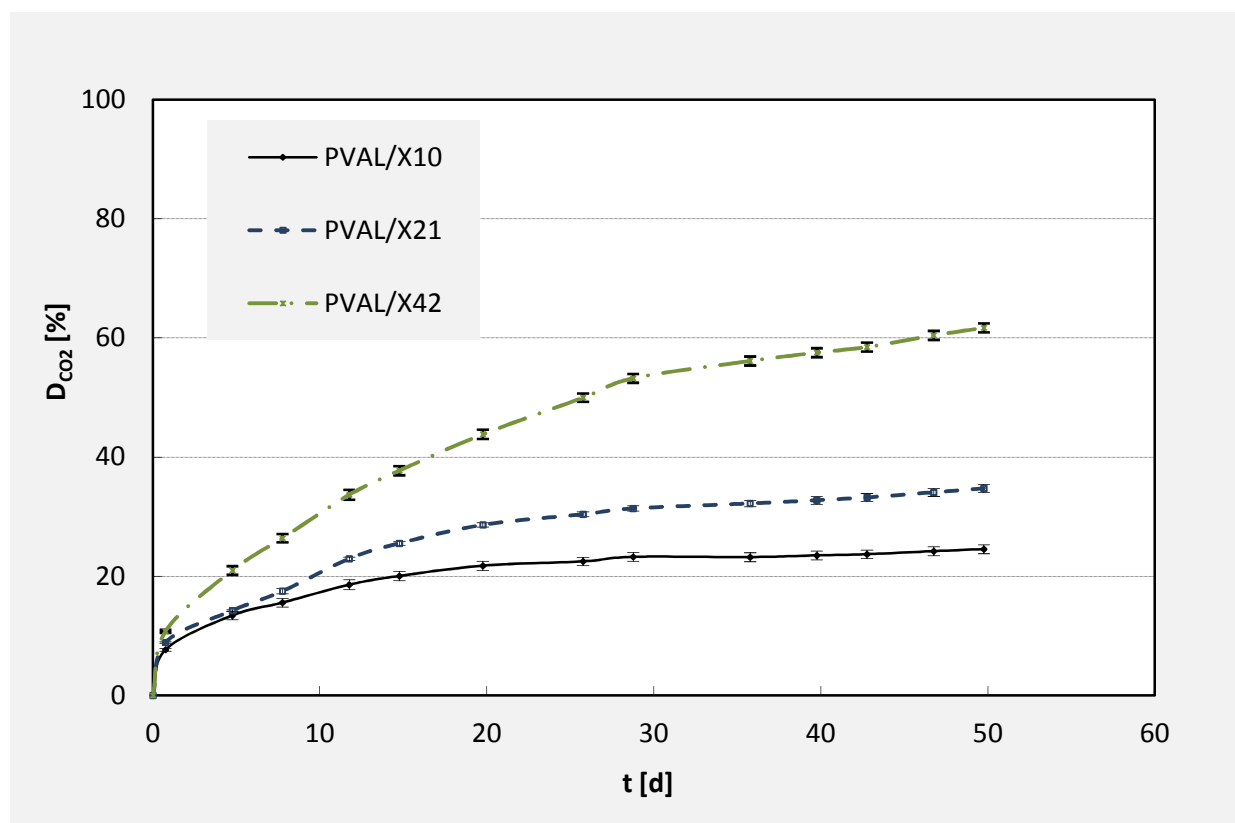


Obr. 26: Srovnání poměrného prodloužení při přetržení pro základní látky a polymerní směsi

U polymerních směsí obsahující PVAL a extracelulární polysacharidy byla testována jejich biologická rozložitelnost v kompostu. Reakční směs obsahovala kompost G, na počátku experimentu byla sušina směsi 47,65 % a hodnota pH 7,332. Objem plynné fáze (Vg) činil 1,078 l. Produkce CO₂ a úbytek O₂ byl sledován GC analýzou. Průběh biodegradace je znázorněn na Obr. 27 a 28. Hodnoty D_{CO₂} a základní charakteristiky jsou zpracovány v Tab. 23.



Obr. 27: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu hodnocený podle D_{CO_2}



Obr. 28: Průběh biologické rozložitelnosti polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu hodnocený podle D_{CO_2}

Tabulka 23: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušiny kompostu na začátku a konci testů

vzorek	Typ polysach.	TPS [%]	PVAL [%]	GLY [%]	D_{CO_2} [%]	sušina_start [%]	sušina_end [%]	pH_start [-]	pH_end [-]
PVAL/G10	gellan	10,5	74,8	14,7	15,48±0,103	47,65	53,70	7,332	7,300
PVAL/G21		21	61,6	17,4	24,21±1,049	47,65	53,74	7,332	7,273
PVAL/G42		42	32,8	25,2	39,08±0,595	47,65	53,16	7,332	7,140
PVAL/X10	xanthan	10,5	74,8	14,7	24,54±0,749	47,65	53,61	7,332	7,193
PVAL/X21		21	61,6	17,4	34,75±0,678	47,65	49,05	7,332	7,263
PVAL/X42		42	32,8	25,2	61,69±0,154	47,65	52,85	7,332	7,287

Průběhy biologické rozložitelnosti a hodnoty D_{CO_2} byly ovlivněny dvěma faktory, špatnou biodegradabilitou PVAL a rozdílnou biodegradabilitou gellanu a xanthanu. Z tohoto hlediska se nejlépe rozkládal vzorek PVAL/X42 obsahující 42 % xanthanu a to dle D_{CO_2} z 61,69 %. Vzhledem ke splnění podmínky biodegradability vyšší než 50 % lze tento vzorek jako jediný hodnotit jako dobře biologicky rozložitelný.

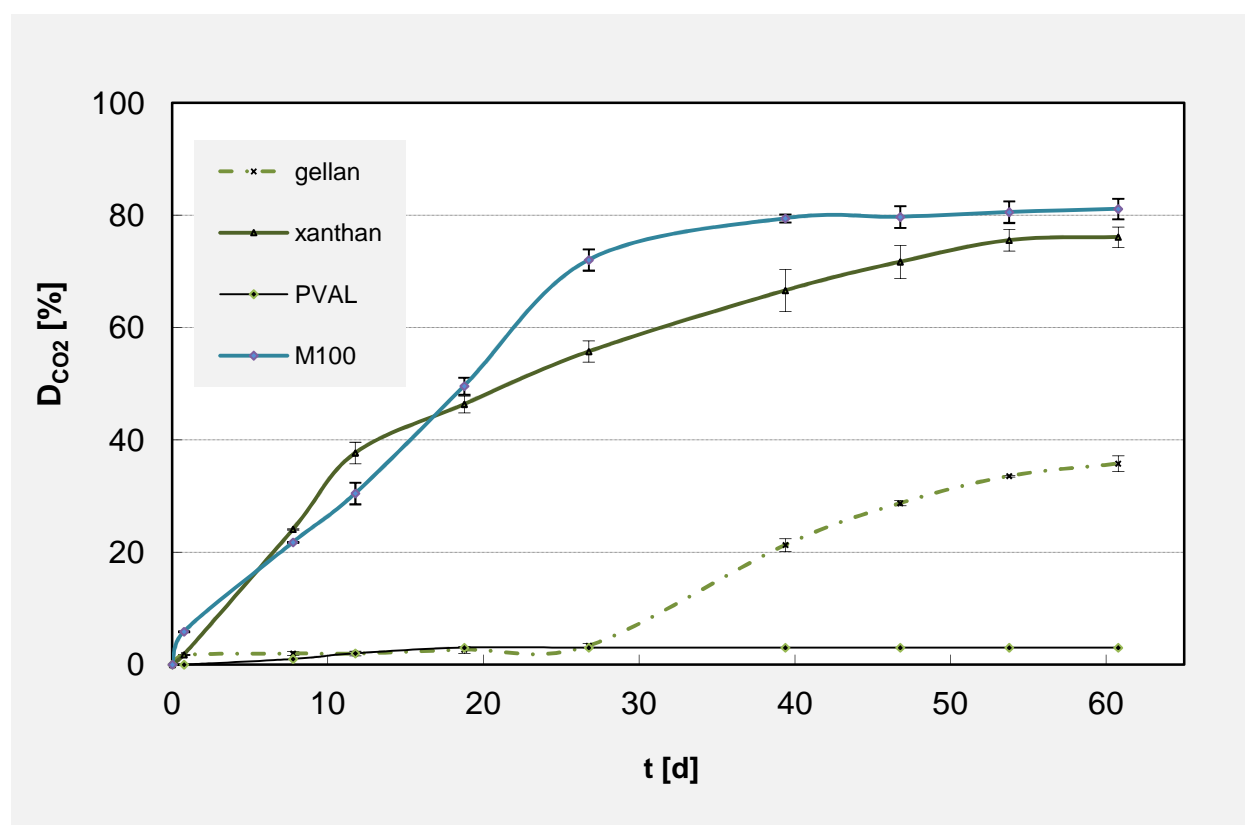
4.5 Testování biodegradability látek v půdě

Pro komplexní vyhodnocení biodegradability nových polymerních materiálů na bázi PVAL a extracelulárních polysacharidů byly rozšířeny experimenty na sledování biologického rozkladu těchto substrátů v půdě. Experimentální podmínky vycházely z metody uvedené v kapitole 3.3.

4.5.1 Biodegradabilita základních látek

Byly testovány čisté složky, obsažené ve směsných polymerech série PVAL/X a PVAL/G, tedy PVAL, xanthan a gellan, jako referenční látka byl použit škrob Meritena 100 (M100).

Reakční směs obsahovala půdní směs B; na počátku experimentu byla sušina směsi 47,65 % a hodnota pH 7,33. Objem plynné fáze (V_g) činil 0,979 l. Produkce CO_2 a úbytek O_2 byl sledován pomocí plynové chromatografie. Průběh biodegradace je znázorněn na Obr. 29. Hodnoty D_{CO_2} a základní charakteristiky jsou zpracovány v tabulce Tab. 24.



Obr. 29: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}

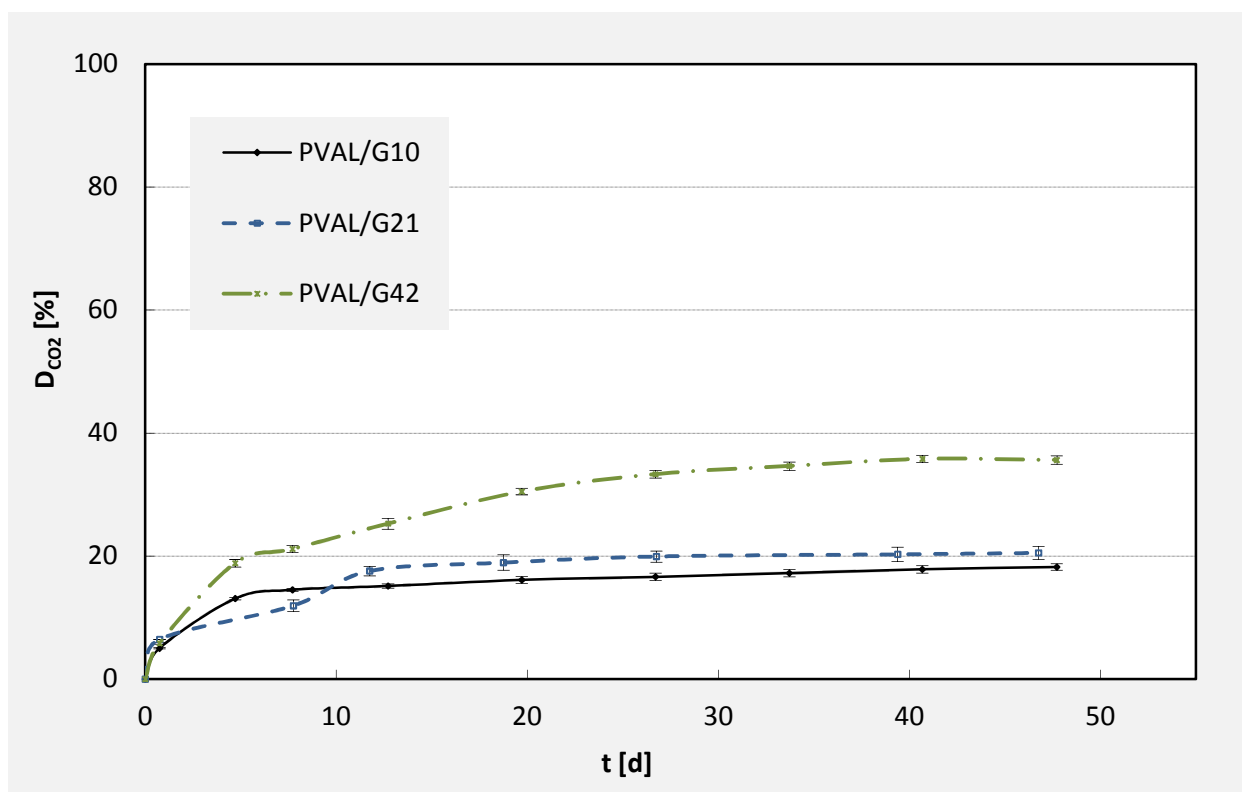
Tabulka 24: Hodnoty D_{CO_2} základních látek a hodnoty pH a sušín půdy na začátku a konci testů

vzorek	D_{CO_2} [%]	sušina_start [%]	sušina_end [%]	pH_start [-]	pH_end [-]
M100	81,12 \pm 1,829	49,25	51,21	6,99	6,871
PVAL	-	44,82	52,02	7,33	6,344
xanthan	78,08 \pm 1,126	44,82	50,63	7,33	6,759
gellan	35,78 \pm 1,905	44,82	50,62	7,33	6,818

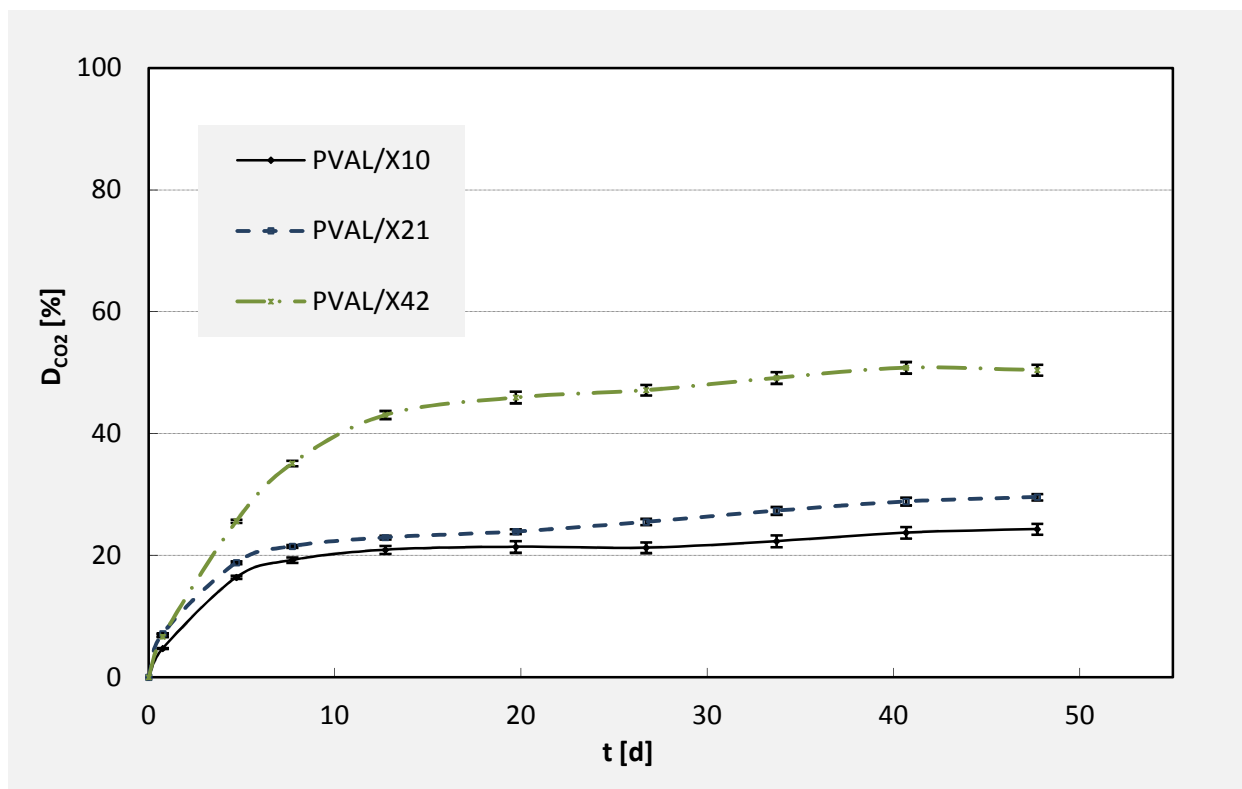
Nejrychleji proběhla mineralizace škrobu M100, kdy během 25 dní dosáhla hodnota D_{CO_2} 81,12 %. Vysokou mineralizaci vykazoval i xanthan, i když při porovnání s průběhem biologické rozložitelnosti škrobu M100 lze zaznamenat nižší rychlost degradace. Rozdíl v mineralizaci mezi oběma extracelulárními polysacharidy je totožný s výsledky experimentů v kompostu. Po 60 dnech mineralizace dosáhla hodnota D_{CO_2} 78,08 % u xanthanu a 35,78 % u gellanu. Při porovnání průběhů znázorňující biodegradaci gellanu v půdě a kompostu byl zaznamenán rozdíl v podobě aklimatizační periody, kdy u průběhu biologické degradace gellanu v půdě byla zaznamenána její délka 28 dní. Během této doby došlo k velmi pomalému namnožení a růstu gellan-degradujících mikroorganismů.

4.5.2 Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu

Účelem experimentu bylo zmapovat biodegradabilitu nových směsných polymerů na bázi PVAL a extracelulárních polysacharidů v půdě. Průběh biologického rozkladu vzorků je znázorněn na Obr. 30 a 31. Vzhledem k tomu, že experiment proběhl ve dvou sériích, je v Tab. 25 uvedeno kromě složení jednotlivých vzorků, hodnot D_{CO_2} , základních parametrů i Vg a použitá půdní směs.



Obr. 30: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu
hodnocený podle D_{CO_2}



Obr. 31: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu
hodnocený podle D_{CO_2}

Tabulka 25: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušiny půdy na začátku a konci testů

Vzorek	Typ polysach.	TPS [%]	PVAL [%]	GLY [%]	D_{CO_2} [%]	sušina_start [%]	sušina_end [%]	pH_start [-]	pH_end [-]	Vg	Půdní směs
PVAL/G10	gellan	10,5	74,8	14,7	18,23±0,50	50,00	51,23	6,16	5,96	1,01	A
PVAL/G21		21	61,6	17,4	22,20±0,73	44,80	50,00	7,33	6,90	0,98	B
PVAL/G42		42	32,8	25,2	35,62±0,68	50,00	48,28	6,16	7,12	1,01	A
PVAL/X10	xanthan	10,5	74,8	14,7	24,31±0,89	50,00	49,12	6,16	5,99	1,01	A
PVAL/X21		21	61,6	17,4	29,57±0,54	44,80	50,83	7,33	6,61	0,98	B
PVAL/X42		42	32,8	25,2	50,43±0,25	50,00	48,74	6,16	6,60	1,01	A

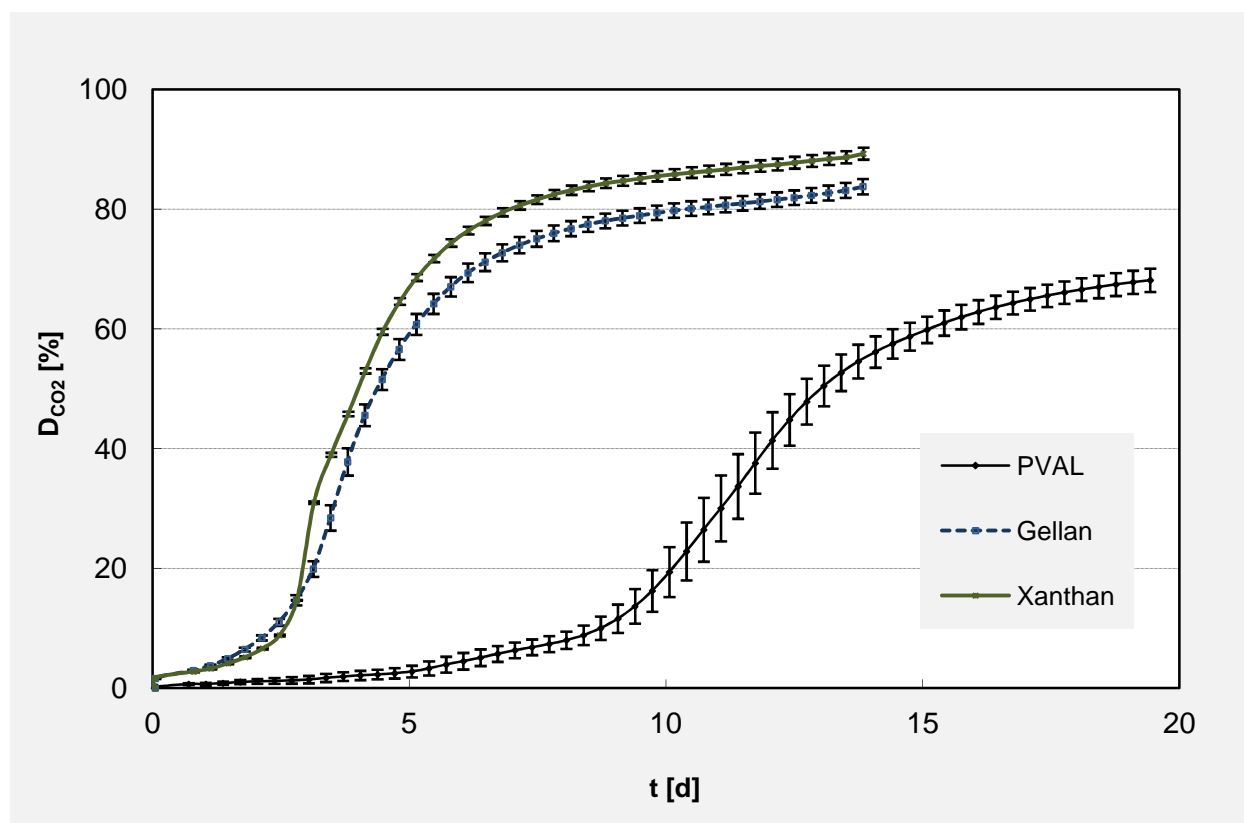
Celkovou mineralizaci směsných polymerů ovlivnil obsah PVAL, který je v půdě nerozložitelný, a také se projevil vliv obsahu a typu extracelulárního polysacharidu. Polymerní směsi obsahující xanthan byly lépe rozložitelné než polymerní směsi obsahující gellan. Nicméně, až na vzorek PVAL/X42 obsahující 42 % xanthanu, který byl mineralizován z 50,43 %, lze hodnotit polymerní směsi z řady PVAL/G a PVAL/X jako špatně rozložitelné. Při porovnání průběhů biodegradace a hodnot D_{CO_2} z experimentu prováděného v kompostu a v půdě, lze konstatovat, že nové polymery na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu jsou lépe rozložitelné v prostředí kompostu.

4.6 Testování biodegradability látek v aktivaci

Vzhledem k špatným výsledkům biologické degradace nových polymerních směsí obsahující PVAL a gellan / xanthan v kompostu a v půdě byla zaměřena pozornost na jejich biodegradaci v aktivovaném kalu. Experiment byl realizován na automatickém analyzátoru Micro-Oxymax, dle metody uvedené v kapitole 3.4.

4.6.1 Biodegradabilita základních složek

Jako v předchozích kapitolách byla nejprve zkoumána biodegradabilita základních komponent. Průběh biologické degradace čistých složek je znázorněn na Obr. 32.



Obr. 32: Průběh biologického rozkladu základních materiálů hodnocený podle D_{CO_2}

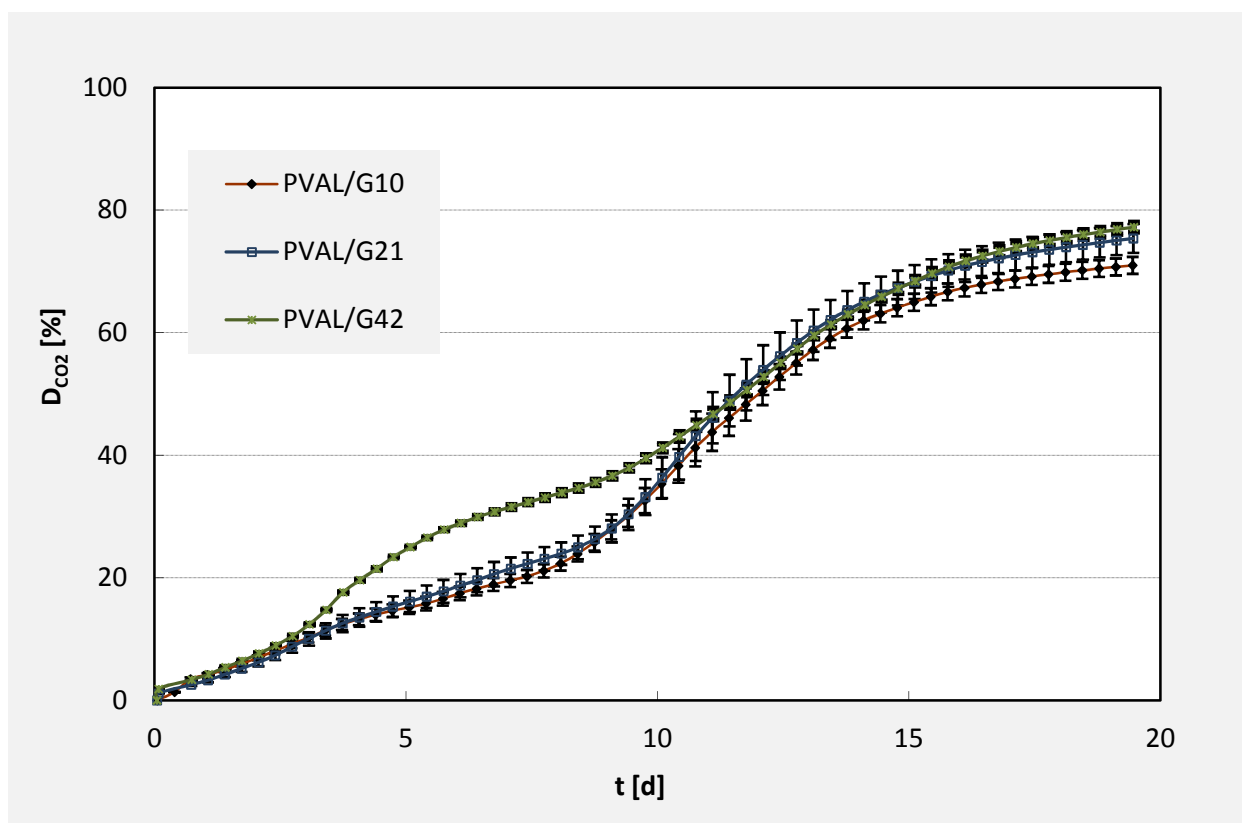
Tabulka 26: Hodnoty D_{CO_2} základních látek a hodnoty pH a sušín aktivovaného kalu na začátku a konci testů

Vzorek	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
PVAL	68,13±1,59	0,498	0,415	6,72	6,21
xanthan	91,39±1,32	0,498	0,430	6,72	6,40
gellan	87,44±0,96	0,498	0,403	6,72	6,46

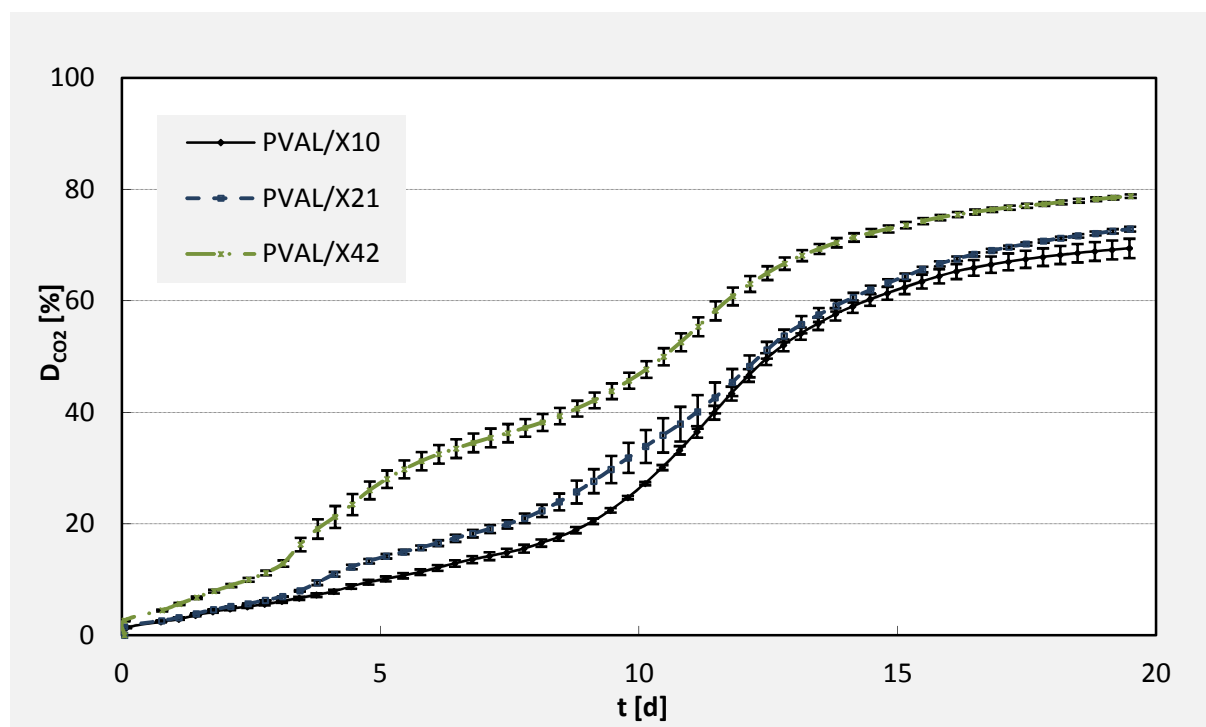
V aerobním mezofilním kalu byla zaznamenána u gellanu i xathanu, po uplynutí krátké aklimatizační periody, kompletní mineralizace. PVAL měl za přítomnosti aktivovaného kalu v souladu s již publikovanými pracemi ^[48] lagovou fází cca 8 dnů a během 18 dní bylo dosaženo 68,13 % mineralizace.

4.6.2 Biodegradabilita polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu

V návaznosti na předchozí experimenty byla sledována biologická rozložitelnost směsných polymerů na bázi PVAL a xanthanu / gellanu v aerobním mezofilním kalu. Experiment byl realizován na automatickém analyzátoru Micro-Oxymax, dle metody uvedené v kapitole 3.4. Průběh biologického rozkladu směsných polymerů je znázorněn na Obr. 33 a Obr. 34. Složení polymerních směsí, výsledné hodnoty D_{CO_2} a základní charakteristiky jsou uvedeny v Tab. 27.



Obr. 33: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu hodnocený podle D_{CO_2}



Obr. 34: Průběh biologického rozkladu polymerních směsí na bázi PVAL a xanthanu
hodnocený podle D_{CO_2}

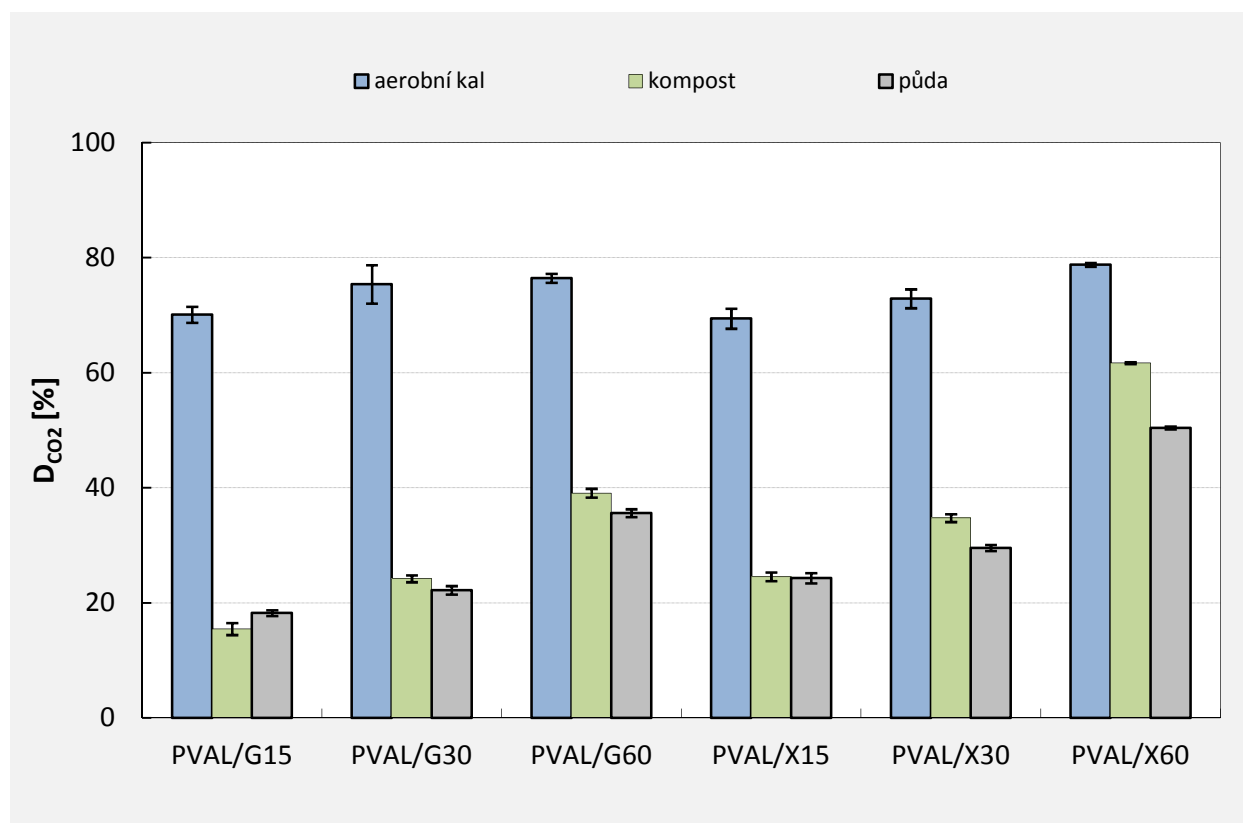
Tabulka 27: Složení a hodnoty D_{CO_2} směsných polymerů a hodnoty pH a sušiny aktivovaného kalu na začátku a konci testů

Vzorek	Typ polysach.	TPS [%]	PVAL [%]	GLY [%]	D_{CO_2} [%]	sušina _{start} [%]	sušina _{end} [%]	pH _{start} [-]	pH _{end} [-]
PVAL/G10	gellan	10,5	74,8	14,7	71,00 ±1,390	0,498	0,408	6,72	6,346
PVAL/G21		21	61,6	17,4	75,38 ±3,333	0,498	0,400	6,72	6,360
PVAL/G42		42	32,8	25,2	76,45 ±0,792	0,498	0,415	6,72	6,383
PVAL/X10	xanthan	10,5	74,8	14,7	69,43 ±1,739	0,498	0,430	6,72	6,351
PVAL/X21		21	61,6	17,4	72,89 ±1,641	0,498	0,411	6,72	6,369
PVAL/X42		42	32,8	25,2	78,80 ±0,323	0,498	0,469	6,72	6,393

V aktivaci byly všechny polymerní směsi na bázi PVAL a xanthanu nebo gellanu podle očekávání kompletně mineralizovány, výsledné hodnoty D_{CO_2} jsou uvedeny v Tab. 27. Na Obr. 33 a Obr. 34 lze u průběhů biologického rozkladu jednotlivých směsných polymerů pozorovat jistou stupňovitost, která je pravděpodobně způsobena postupným rozkladem jednotlivých složek. Nejprve proběhla mineralizace glycerolu, která byla následována postupným rozkladem dalších složek.

4.6.3 Celkové hodnocení biodegradability polymerních směsí na bázi PVAL a gellanu nebo xanthanu

Směsné polymery obsahující PVAL, gellan nebo xanthan byly posouzeny z hlediska jejich biologického rozkladu v jednotlivých biotických prostředích. Srovnání mineralizace vzorků v aktivaci, kompostu a půdě je znázorněna na Obr. 35 a v Tab. 28.



Obr. 35: Srovnání biodegradability

Tabulka 28: Složení polymerních směsí a srovnání hodnot D_{CO_2} v různých prostředích

Vzorek	Typ polysach.	TPS [%]	PVAL [%]	GLY [%]	Aerobní kal D_{CO_2} [%]	Kompost D_{CO_2} [%]	Půda D_{CO_2} [%]
PVAL/G10	gellan	10,5	74,8	14,7	71,00±1,390	15,48±0,103	18,23±0,50
PVAL/G21		21	61,6	17,4	75,38±3,333	24,21±1,049	22,20±0,73
PVAL/G42		42	32,8	25,2	76,45±0,792	39,08±0,595	35,62±0,68
PVAL/X10	xanthan	10,5	74,8	14,7	69,43±1,739	24,54±0,749	24,31±0,89
PVAL/X21		21	61,6	17,4	72,89±1,641	34,75±0,678	29,57±0,54
PVAL/X42		42	32,8	25,2	78,80±0,323	61,69±0,154	50,43±0,25

Dle očekávání byly všechny směsné polymery kompletně mineralizovány v aktivovaném kalu. Biodegradovatelnost vzorků v kompostu a půdě byla ovlivněna nízkou rozložitelností PVAL, nicméně všechny křivky (Obr. 27, 28, 30, 31) ukazují, že stupeň mineralizace odpovídá množství přírodních složek obsažených v polymerních směsích. Z těchto důvodů se nejlépe rozkládaly vzorky s obsahem 42 % polysacharidů a zejména pak vzorek obsahující xanthan, který byl mineralizován z 60 % v kompostu a z 50 % v půdě. Nižší míru mineralizace vykazovaly vzorky obsahující 21 % polysacharidů, kde se hodnoty D_{CO_2} pohybovaly v rozmezí od 22 % do 25 % u vzorku PVAL/G21 a 28 % až 35 % u vzorku PVAL/X21, dle typu environmentu. Pro polymerní směsi obsahující 10,5 % polysacharidů byly zaznamenány hodnoty D_{CO_2} v rozmezí od 15 % do 19 % u vzorku PVAL/G10 a 24 % u vzorku PVAL/X10 dle typu prostředí.

4.6.4 Priming effect

Za předpokladu, že během mineralizace látek v kompostu přechází část uhlíku do biomasy a část je transformována na CO₂, bylo pozorováno při hodnocení biodegradability vzorků xanthanu, PHB, PLA1, PLA2 a BK/64/176 mírné nadhodnocení výsledků. Tento jev pravděpodobně způsobil tzv. „priming effect“, kdy vzorek přítomný v kompostu mohl ovlivnit aktivitu mikroorganismů a zvýšit respiraci kompostu více než jen degradací vzorku.

Na priming effect bylo zaměřeno několik rozšířených studií, jejichž výsledky se však lišily v závislosti na experimentálních podmínkách, zejména pak pokud byly sledovány transformace uhlíku nebo dusíku. Bylo zjištěno, že priming effect vznikal buď okamžitě nebo velmi brzy po přidání specifických látek do půdy nebo kompostu a velikost tohoto jevu rostla s množstvím přidávaných organických látek ^[71]. Zkreslení výsledků nadprodukcí CO₂ lze předejít dvěma způsoby, nahrazením kompostu (bohatého na organický uhlík) sterilním vermiculitem, zaočkovaným termofilními mikroorganismy, nebo označením zkoumané látky izotopem ¹⁴C a měřením uvolněného ¹⁴CO₂. Kompostováním ve vermiculitu se zabýval Bellia a kol., viz kapitola 1.2.4. Studie ukazují, že priming effect neovlivňuje jen pomalu degradující látky, obsažené v kompostu, ale i druh polymeru, který je degradován.

Přesnější metoda hodnocení biodegradability polymerních materiálů je pomocí sledování izotopu ¹⁴C hmotnostním spektrometrem, který využil ve své studii ^[72] Kunioka a kol. Mineralizace PCL byla stanovována dle ISO 14855-2 ^[39] gravimetricky mikrobiálně-oxidačně-degradačním analyzátozem MODA a také hmotnostním spektrometrem. Během 58 dní byla mineralizace PCL dle gravimetrického měření 101,4 % a dle hmotnostní spektrometrie 79,9 %. Hodnota 80 % odpovídá teoretickému množství CO₂, které by se mělo uvolnit v průběhu rozkladu PCL. Nicméně tato metoda je nákladná, vyžaduje používání složitých zařízení a lze ji využít jen u polymerních materiálů vyrobených z ropy, které se vyznačují pomalou biodegradací.

5 PŘÍNOS PRO VĚDU A PRAXI

Hodnocení biologické rozložitelnosti nových polymerních materiálů v různých typech biotických prostředí je předmětem zájmu mnoha vědeckých týmů. Této problematice je i na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí věnována dlouholetá pozornost.

Byla provedena mírná modifikace stávající normované metody ^[38] stanovení úplné aerobní biodegradability za řízených podmínek kompostování. Experimenty, prováděné v uzavřených reakčních lahvích s využitím plynové chromatografie při stanovení plynných složek mikrobiálního rozkladu efektivně vyřešily většinu nedostatků normovaných postupů. Především pracnost, omezený počet testovacích pozic, prostorovou náročnost vzhledem ke komplikovaným aparaturám, malou operativnost a zdoluhavost při udržování správného chodu aparatur. Ověřená modifikovaná metoda je navíc relativně dostupná pro řadu jiných laboratoří, jak výzkumných tak firemních.

Naše pracoviště se společně s katedrou Plastov a kaučuku, Fakulty chemické a potravinářské technologie, Slovenské technické univerzity v Bratislavě, podílelo na vývoji nových biodegradabilních směsných polymerů na bázi PCL/PBH, PCL/škrob/PVAL, PVAL/gellan, PVAL/xanthan a PVAL/škrob M100 a PVAL/škrob waxy. V rámci práce byly tyto polymerní směsi posouzeny z hlediska jejich mechanických vlastností a zejména biologického rozkladu v kompostu. Vzhledem k tomu, že bakteriální polysacharidy jako plnivo biodegradabilních polymerů nebyly doposud příliš zkoumány, ale nabízejí nové možnosti využití, byla biodegradabilita vzorků obsahující PVAL a gellan nebo xanthan testována ve všech aerobních prostředích (kompost, půda, aktivovaný kal).

Výše uvedené polymerní směsi lze v praxi dle jejich složení využít v obalové technice, jako mulčovací folie, obaly na hnojiva, kompostovatelné pytle na bioodpad, folie na balení potravin atd. Dále by bylo možné tyto materiály použít na výrobu produktů pro rychlé občerstvení a catering. Výsledky proto mohou přispět ke zvýšení zájmu výrobců plastových materiálů i určitých skupin uživatelů.

6 ZÁVĚR

Cílem dizertační práce bylo modifikovat a zavést metodiku k průběžnému a celkovému hodnocení termofilní biodegradace polymerních směsí v řízených podmínkách kompostování, která by reflektovala normu 14855-1^[38] a využívala plynovou chromatografii pro analýzu plynné fáze. Dále byla pozornost zaměřena na praktickou realizaci metodiky při hodnocení mineralizace nových polymerních směsí bázi PCL/PBH, PCL/škrob/PVAL, PVAL/gellan, PVAL/xanthan, PVAL/škrob M100 a PVAL/škrob waxy v kompostu.

Práce byla také rozšířena o hodnocení biologické rozložitelnosti směsných polymerů obsahující PVAL a polysacharidy gellan nebo xanthan v půdě a aktivovaném kalu.

Z výsledků lze odvodit následující závěry a poznatky:

- 1) Pro testování biodegradace látek v kompostu bylo použito laboratorní vybavení označované jako reakční lahve, které umožnilo během experimentů průběžné odběry plynné fáze k analýze na plynovém chromatografu. Výhody reakčních lahví ve srovnání s kontinuálně provzdušňovanými reaktory (standardní postupy) spočívají v podstatně jednodušším experimentálním uspořádání, větší variabilitě, možnosti většího počtu testovacích pozic, malé spotřebě testovaných materiálů a menší pracnosti. Použitá plynová chromatografie poskytuje přesnou analýzu plynných složek a zároveň je běžně dostupná.
- 2) Mineralizace PHB, PVAL, škrobů M100 a waxy korespondovala s literaturou. U PCL byla zaznamenána nižší míra mineralizace, než je uváděna ve většině publikací, nicméně křivka znázorňující průběh biodegradace měla lineární charakter, což naznačilo pokračující mineralizaci látky.
- 3) U biologického rozkladu bakteriálních polysacharidů gellanu a xanthanu v kompostu byly zaznamenány významné rozdíly, kdy míra mineralizace vyjádřená hodnotou D_{CO_2} byla během 50 dní u xanthanu oproti gellanu dvojnásobná a to 98 % a 41 %. Rozdíly v hodnotách D_{CO_2} lze přisoudit jednak k rozdílné chemické struktuře jednotlivých extracelulárních polysacharidů, ale také pravděpodobně většímu zastoupení mikroorganismů degradujících xanthan v kompostu.
- 4) Vzorky PLA1, PLA2, PLA3, PLA4 a PLA5 lze označit jako dobře biodegradovatelné materiály. Komerčně vyráběný vzorek PLA 6 byl mineralizován pouze z 31 %, což bylo způsobeno jeho formou (granulát) a vysokou molární hmotností. Nicméně stejně

jako u PCL měla křivka biologického rozkladu lineární charakter, z čehož lze predikovat pokračující mineralizaci.

- 5) Na základě výsledků mechanických vlastností a biodegradability směsných polymerů na bázi PVAL a xanthanu nebo gellanu lze konstatovat, že výhodnějším typem přírodního polymeru použitého do blendů je xanthan, protože polymerní směsi s tímto polysacharidem dosahovaly příznivějších vlastností než vzorky se stejným podílem gellanu. Směsné polymery s vysokým podílem těchto polysacharidů (42 %) sice prokázaly vysokou míru biodegradability, avšak na úkor jejich mechanických vlastností; proto se plasty na bázi PVAL se zastoupením xanthanu okolo 20 % jeví jako možná alternativa pro takové aplikace, kde není vyžadována maximální pevnost v tahu. Tyto plastické materiály tak mohou přispět ke snížení vstupu PVAL do prostředí, kde je jeho biodegradace velmi omezená.
- 6) Polymerní směsi na bázi PCL/PHB, PCL/škrob(M100) a PCL/škrob(M100)/PVAL vykazovaly velmi dobré mechanické vlastnosti, srovnatelné s nejrozšířenějšími typy polymerů používanými v obalovém průmyslu. Kromě vzorku PCL/PHB13, jehož složení bylo optimalizováno na maximální pevnost v tahu a byl mineralizován z 36,58 %, lze všechny tyto typy blendů klasifikovat jako dobře rozložitelné v kompostu.
- 7) Na základě srovnání mechanických vlastností jednotlivých vzorků a jejich biodegradability v kompostu, lze vyhodnotit jako nejnadějnější polymerní směs pro praktické využití materiál s označením PCL/M/P13. Tento směsný polymer o složení 39 % PCL, 31 % škrobu M100, 13 % PVAL a 17 % glycerolu vykazoval jak dobré mechanické vlastnosti srovnatelné s běžnými typy plastů tak vysokou rozložitelnost v kompostu, která činila dle hodnoty D_{CO_2} 74,66 %.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SLAVÍKOVÁ H. Biodegradabilní plasty a jejich využití, *Odpadové Fórum* 2008, p. 3150 – 3156, ISBN 978-80-02-02011-0
- [2] GRIMA S., BELLON-MAUREL V., FEUILLOLEY P., SILVESTRE F. Aerobic Biodegradation of polymers in solid-state conditions: A review of environmental and physicochemical parameter settings in laboratory simulations, *Journal of polymers and the environment* 2000, vol. 8, no.4, p. 183 - 195
- [3] MRZÁN A., HEMJINDA S., MIERTUS S., CORTI A., CHIELLINI E. Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics, *Polymer Degradation and Stability* 2006, vol. 91, p. 2819 – 2833
- [4] NARAYAN R., VERT M., FEIYEN J., ALBERTSSON A., SCOTT G., CHIELLINI E. Biodegradable plastics and polymers, *Redwood Press, Melksham, Wiltshire, UK*, 1994, p. 261-273
- [5] KALE G., KIJCHAVENGKUL T., AURAS R., RUBINO M., SELKE S. E., SINGH S. P. Compostability of bioplastic packaging materials: An overview, *Macromolecular Biosciens* 2007, vol. 7, p. 255 – 277
- [6] KAI-LAI G. H., POMETTO A. L., III, HINTZ P. N. Effects of temperature and relative humidity on polylactide acid plastic degradation, *J. Environ. Polym. Degrad.* 1999, vol. 7(2), p. 83 – 92
- [7] TAKEHANA T., INOUE S., TAKEI R., ITO H., MATSUI H., HONMA M. Purification and properties of extracellular carboxyl proteases of acid-tolerant bacteria, isolated from compost, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1999, vol. 63, p. 1927 – 1933
- [8] GOLUEKE C. G. Bacteriology of composting, *BioCycle* 1992, vol. 33, p. 55 – 57
- [9] AURAS R., HARTE B., SELKE S. An overview of polylactides as packaging materials, *Macromol. Biosci.* 2004, vol. 4, p. 835 – 864
- [10] HENTON D. E., GRUBER P., LUNT J., RANDALL J. Polylactid acid technology, *Natural Fibers, Biopolymers, and Biocomposites* 2005, p. 527 – 577
- [11] ITÄVAARA M., KARJOMAA S., SELIN J. F. Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions, *Chemosphere* 2002, vol. 46, p. 879 – 885
- [12] FUNABASHI M., NINOMIYA F., KINIOKA M. Biodegradation of polycaprolactone powders proposed as reference test materials for international standard of biodegradation evaluation method, *Journal of Polymers and the Environment* 2007, vol. 15/1, p. 7 – 17

- [13] KHATIWALA V. K., SHEKHAR N., AGGARWAL S., MANDAL U. K. Biodegradation of poly(ϵ -caprolactone) film by *Alcaligenes faecalis*, *Journal of Polymer and the Environment* 2008, vol. 16, p. 61 – 67
- [14] VODRÁŽKA Z. Biochemie, 2. vydání, Praha, Adademia, 1996, p. 135 – 136 s.
- [15] KŘEN V. Mikrobiální a enzymové biotransformace [cit. 20.6.2009], dostupné na www.biomed.cas.cz
- [16] MASAYUKI S. Biodegradation of plastic, *Current Opinion in Biotechnology* 2001, vol. 12, p. 242 – 247
- [17] KASUYA K., TAKAGI K., ISHIWATARI S., YOSHIDA Y., DOI Y. Biodegradabilities of various aliphatic polyesters in natural waters, *Polymer Degradation and Stability* 1998, vol. 59, p. 327 – 332
- [18] SINGH B., SHARMA N. Mechanic implications of plastic degradation, *Polymer Degradation and Stability* 2008, vol. 93, p. 561 – 584
- [19] STEVENS E. S. What makes green plastics green, *Biocycle* 2003, vol. 24, p. 27
- [20] AMASS W., AMASS A., TIGHE B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies, *Polymer International* 1998, vol. 47, p. 89 – 144
- [21] TOKIWA Y., CALABIA B. P. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide), *Microbiol Biotechnology* 2006, vol. 72, p. 244 – 251
- [22] AURAS R., HARTE B., SELKE S. An overview of polylactides as packaging materials, *Macromoleculars Biosciens* 2004, vol. 4, p. 835 – 864
- [23] ZHANG X., WYSS U. P., PICHORA D., GOOSEN M. F. A. An investigation of poly (lactic acid) degradation, *J. Bioactive. Compat. Polymer* 1994, vol. 9, p. 381
- [24] YANG H. S., YOON J. S., KIM M. N. Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimen, *Polymer Degradation and Stability* 2005, vol. 87, p. 131 – 135
- [25] KALINA M., Kompostování a péče o půdu, ISBN 80-247-0907-4
- [26] RICHTER M., Technologie zneškodňování odpadů, Technologie ochrany životního prostředí, Ústí nad Labem, 2008, ISBN 978-80-7414-042-6
- [27] HAUNG R. T., The Practical Handbook of Compost Engineering, Lewis Publishers, 1993, ISBN 0-87371-373-7
- [28] Směrnice Rady 1999/31/ES o skládkách odpadů

- [29] GARCIA C., HERNANDEZ T., COSTA F. Changes in carbon fractions during composting and maturation of organic wastes, *Environment Management* 1991, vol. 15, p. 433 – 439
- [30] RAVIV M. Production of high-quality composts for horticultural purposes: A mini-review, *Horttechnology* 2005, vol. 15, p. 52 - 57
- [31] RICHARD L. T. Municipal solid waste composting: Physical and biological processing, *Biomass and Bioenergy* 1992, vol. 3, p. 163 – 180
- [32] FINSTEIN M. S., MILLER F. C., STROM P. F. Monitoring and evaluating composting proces performance, *Water pollution control federation* 1986, vol. 58, p. 272 – 278
- [33] SMARS S. Influence of different temperature and aeration regulation strategies on respiration in composting of organic household waste, *Acta Universitatis agriculturae Sueciae*, 2002, ISBN 91-576-6158-8
- [34] ADANI F., HABART J. Biologická stabilita, dynamický respirační index a jeho uplatnění v odpadovém hospodářství, *Biom.cz* 2003 [cit. 25.6.2009], dostupné na [www: http://biom.cz](http://biom.cz)
- [35] HIMANEN M., HÄNNINEN K. Composting of bio-waste, aerobic and anaerobic sludges – Effect of feedstock on the proces and quality of compost, *Bioresource Technology* 2011, vol. 105, p. 2842 - 2852
- [36] ČSN 465735 (1991) Průmyslové komposty
- [37] ČSN 465735 - Z1 (1996) Průmyslové komposty – Změna 1
- [38] ČSN EN ISO 14855 - 1 (2008) Stanovení úplné aerobní biodegradability a rozkladu plastů za řízených podmínek kompostování – Metoda stanovení uvolněného oxidu uhličitého. *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions - Method by analysis of evolved carbon dioxide - Part 1: General method (ISO 14855-1:2005)*
- [39] ČSN EN ISO 14855-2 (2010) Stanovení úplné aerobní biodegradability za řízených podmínek kompostování - Metoda stanovení uvolněného oxidu uhličitého - Část 2: Gravimetrické stanovení uvolněného oxidu uhličitého v laboratorním měřítku. *Determination of the ultimate aerobic biodegradability of plastic materials under controlled composting conditions - Method by analysis of evolved carbon dioxide – Part 2: Gravimetric measurement of carbon dioxide evolved in a laboratory-scale test (ISO 14855-2:2007)*
- [40] KUNIOKA M., NINOMIYA F., FUNABASHI M. Biodegradation of poly(lactic acid) powders proposed as the reference test materials for the international standard of

- biodegradation evaluation methods, *Polymer Degradation and Stability* 2006, vol. 91, p. 1919 – 1928
- [41] ASTM D 5338 – 98 (2003) Standard test method for determining aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions
- [42] BELLIA G., TOSIN M., FLORIDI G., DEGLI INNOCENTI F. Activated vermiculite, solid bed for testing biodegradability under composting condition, *Polymer degradation and stability* 1999, vol. 66, p. 65 - 79
- [43] BELLIA G., TOSIN M., FLORIDI G., DEGLI INNOCENTI F. The test method of composting in vermiculite is unaffected by the priming effect, *Polymer degradation and stability* 2000, vol. 69, p. 113-120
- [44] JAYASEKARA R., HARDING I., BOWATER I., LONERGAN G. Biodegradability of selected range of polymers and polymers blends and standard methods for assessment of biodegradation, *J.Polym. Environ.* 2005, vol. 13, p. 231 – 251
- [45] YAHYA G. O., ALI S. K. A., HAMAD Z. Surface and interfacial activities of hydrophobically modified poly(vinyl alcohol), *Polymer* 1996, vol. 37, p. 1183
- [46] CHIELLINI E., CORTI A., POLITI B., SOLARO R. Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based blown films under different environmental conditions, *Polymer Degradation and Stability* 1998, vol. 64, p. 305-312
- [47] ISHIGAKI T, KAWAGOSHI Y, IKE M, FUJITA M. Biodegradation of a polyvinyl alcohol-starch blend plastic film, *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 1999, vol. 15, p. 321-327
- [48] CHIELLINI E., CORTI A., D'ANTONE S., SOLARO R. Biodegradation of poly (vinylalcohol) based materials, *Prog. Polym. Sci.* 2003, vol 28, p. 963 – 1014
- [49] CHIELLINI E., CORTI A., POLITI B., SOLARO R. Adsorption/Desorption of polyvinyl alcohol on solid substrates and relevant biodegradation, *Journal of Polymers and the Environment* 2000, vol. 8, p. 67-79
- [50] BAJGAJ M. P., KIM K. W., PARAJULI D. C., YOO Y. C., KIM W. D., KHIL M. S., KIM H. Y. In vitro hydrolytic degradation of poly(3-caprolactone) grafted dextran fibers and films, *Polymer Degradation and Stability* 2008, vol. 93, p. 2172 – 2179
- [51] POTTS J. E., CLENDINNING R. A., ACKART W. B., NIEGISCHE W. D., *Polymer Science and Technology* 1973, vol. 3, p. 61
- [52] HONGO Y., HAGIWARA T. Ring-opening copolymerization of (R) – β - butyrolactone with macrolide: a new series of poly(hydroxyalkanoate)s, *Macromolecules* 1999, vol. 32, p. 3537 - 3539

- [53] DUCHÁČEK V., PROKOPOVÁ I., DOBIÁŠ J. Biodegradovatelné polymery v obalové technice, *Packaging* 2004, vol. 6, p. 11 – 13
- [54] ROSA D. S., FILHO R. P., CHUI Q. S. H., CALIL M. R., GUEDES C. G. F. The biodegradation of poly- β -(hydroxybutyrate), poly- β -(hydroxybutyrate-co- β -valerate) and poly (ϵ -caprolactone) in compost derived from municipal solid waste. *Eur. Polym. J.* 2003, vol. 39, p. 233 - 237
- [55] ROSA D. S., CALIL M. R., GUEDES C.D.F., RODRIGUES T.C. Biodegradability of thermally agend PHB, PHB-V, and PCL in soil compostage, *J. Polym. Environ.* 2004, vol. 12, p. 239 - 245
- [56] BATIOLI C. Global status of the production of biobased packaging materials, *Starch/Stärke* 2001, vol. 53, p. 531 – 355
- [57] QUYNH T. M., MITOMO H., NAGASAWA N., WADA Y., YOSHII F., TAMADA M. Properties of crosslinked polylactides (PLLA & PDLA) by radiation and its biodegradability, *European Polymer Journal* 2007, vol. 43, p. 1779 – 1785
- [58] RAY S. S., BOUSMINA M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world, *Progress in Materials Science* 2005, vol. 50, p. 962 – 1079
- [59] ČSN ISO 8402 (1995) Management jakosti a zabezpečování jakosti. Slovník
- [60] SUCHÁNEK M., PLZÁK Z., ŠUBRT P., KORUNA I. Kvalimetrie 7. Validace analytických metod, Praha, EURACHEM-ČR, 1999, ISBN 80-901868-4-X
- [61] PLZÁK Z., KORUNA I. Kvalimetrie 9. Vhodnost analytických metod pro daný účel, Praha, EURACHEM-ČR, 1999, ISBN 80-901868-7-4
- [62] WOOD R. How to validate analytical methods, *Trends in Analytical Chemistry* 1999, vol. 18, p. 624 – 632
- [63] BUGAJ P. Biodegradovatelné polymérne obalové materiály na báze polykaprolaktónu, Dizertačná práca 2007
- [64] KOTASOVÁ I. Biodegradace směsných polymerů v termofilních podmínkách, Diplomová práce 2006
- [65] KOZEL R. Optimalizace metodiky pro sledování biodegradace polymerů v prostředí kompostu, Diplomová práce 2008
- [66] ČSN EN ISO 17556 (2005) Plasty - Stanovení úplné aerobní biodegradability v půdě měřením spotřeby kyslíku v respirometru nebo měřením množství uvolněného oxidu uhličitého. *Plastics - Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by*

- measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved (ISO 17556:2003)*
- [67] ASTM D 5209-92 (2004) Standard test method for determining the aerobic biodegradation of plastic materials in the presence of municipal sewage sludge.
- [68] ČSN EN 2563 (1995) Jakost vod. Stanovení dusíku podle Kjeldahla. Odměrná metoda po mineralizaci se selenem (ISO 5663: 1984)
- [69] HORÁKOVÁ M., LISCHKE P., GRŮNWALD A. Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL, Praha, 1986
- [70] VAŠKOVÁ I., ALEXY P., BUGAJ P., NAHÁLKOVÁ A., FERANC J., MLYNSKY T. Biodegradable polymer packaging materials based on polycaprolactone, starch and polyhydroxybutyrate, *Acta Chimica Slovaca* 2008, vol. 1, p. 301 - 308
- [71] KUZYAKOV Y., FRIEDEL J.K., STAHR K. Review of mechanisms and quantification of priming effects, *Soil Biology & Biochemistry* 2000, vol. 32, p. 1485 – 1498
- [72] KUNIOKA M., NINOMYJA F., FUNABASHI M. Novel evaluation method of biodegradabilities for oil-based polycaprolactone by naturally occurring radiocarbon-14 concentration using accelerator mass spectrometry based on ISO-14855-2 in controlled kompost, *Polymer degradation and Stability* 2007, vol., 92, p. 1279-1288

8 SEZNAM AKTIVIT A PUBLIKACÍ

Práce publikované v nadnárodních vědeckých časopisech ve světovém jazyce

1. **Kopčilová M.**, Hubáčková J., Růžička J., Dvořáčková M., Tomalová M., Alexy P., Bugaj P., Filip J.: Biodegradability and mechanical properties of innovative poly(vinyl alcohol)-based blend plastics, *Journal of Polymers and the Environment*, odesláno únor 2011, IF = 1,504
2. Julinová M., Dvořáčková M., Kupec J., Hubáčková J., **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Alexy P., Nahálková A., Vašková I.: Influence of technological process on biodegradation of PVA/WAXY starch in an aerobic and anaerobic environment, *Journal of Polymers and the Environment*, Vol.16, No.4, 2008, p. 241-249, IF = 1,504

Práce publikované ve vědeckých a odborných časopisech v jiném než světovém jazyce

3. **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Julinová M.: Lahvové testy kompostovatelnosti plastů, *Waste forum*, 1,2009, p. 3 - 10, ISSN 1212-7779

Příspěvky na významných mezinárodních a národních konferencích

4. **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Dvořáčková M., Filip J., Alexy P., Bugaj P.: Evaluation of biodegradability of plastic containing PCL/PHB in compost environment, *36th International Conference of SSCHE*, Tatranské Matliare, Slovensko, 2009, p. 256/1-5, ISBN 978-80-227-3072-3
5. **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Dvořáčková M., Julinová M., Alexy P.: Hodnocení biodegradability polymerních směsí na bázi poly(vinyl)alkoholu a extracelulárních polysacharidů v prostředí kompostu, *4.ročník česko-slovenského symposia Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství-Odpadové fórum 2009*, Milovy, Česká republika, 2009,p. 3202 – 3207, ISBN 978-80-02-02107-0
6. **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Tomalová M., Alexy P., Julinová M. and Nahalková A.: Biodegradability of mixed plastics containing PVAL/Gellan and PVAL/Xanthan, *10th International Chemical and Biological Engineering Conference*, Braga Portugalsko, 2008, p. 569, ISBN 978-972-97810-4-9
7. **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Julinová M.: Testy kompostovatelnosti plastů, *3.ročník česko-slovenského symposia Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství-*

- Odpadové fórum 2008*, Milovy, Česká republika, 2008, p. 3158 – 3166, ISBN 978-80-02-02011-0
8. Houser J., Fürstová B., **Kopčilová M.**: Příspěvek ke spektrofotometrickému stanovení bromičnanů, *Seminář Hydrochémia 2008*, Bratislava, Slovensko, 2008, p. 61-70. ISBN 978-80-89062-55-3.
 9. **Kopčilová M.**, Julinová M., Alexy P., Hoffmann J., Zahálková A.: Biodegradation of starch-based packing material in aqueous aerobic environment, *34th International Conference of SSCHE*, Tatranské Matliare, Slovensko, 2007, p. 247/1-9, ISBN 978-80-227-2640-5
 10. Hoffmann J., Kotasová I., Dřímál P., Julinová M., **Kopčilová M.**: Biodegradation of plastics in composts – laborator evaluation, *34th International Conference of SSCHE*, Tatranské Matliare, Slovensko, 2007, p. 258/1-9, ISBN 978-80-227-2640-5
 11. Julinová M., **Kopčilová M.**, Hoffmann J., Zmeškal M., Kašpárková B.: Influence of the extracellular polysaccharide on biodegradation of poly(vinyl alcohol), *34th International Conference of SSCHE*, Tatranské Matliare, Slovensko, 2007, p. 246/1-9, ISBN 978-80-227-2640-5
 12. **Kopčilová M.**, Julinová M., Hoffmann J., Alexy P.: Biologická rozložitelnost polymerních směsí PVAL/Gellan, *54. konference chemického a procesního inženýrství CHISA*, Srní – Šumava, Česká republika, 2007, p- 39, ISBN 80-86059-47-2
 13. **Kopčilová M.**, Moravcová M., Hoffmann J., Julinová M.: Laboratorní hodnocení kompostovatelnosti polymerních odpadů: III. mezinárodní konference Biologicky Rozložitelné Odpady, Hrotovice, Česká republika, 2007

Vedení a konzultace diplomových prací

Bc. Filip J.: *Sledování aerobního rozkladu polymerních směsí na bázi PCL/PHB a na bázi PLA*, FT UTB Zlín, 2009

Bc. Kozel R.: *Optimalizace metodiky pro sledování biodegradace polymerů v prostředí kompostu*, FT UTB Zlín, 2008

Bc. Moravcová M.: *Rozložitelnost směsných polymerů v prostředí kompostu*, FT UTB Zlín, 2007

9 CURRICULUM VITAE

OSOBNÍ INFORMACE

Jméno **KOPČILOVÁ MARTINA, ING.**
Adresa **Hankeho 840, 769 01 Holešov, Česká Republika**
Telefon **+420 776 076 468**
E-mail **kopcilova.m@seznam.cz**
Národnost **česká**
Datum narození a místo **02. 02.1982, Přílepy**

VZDĚLÁNÍ

2006 - doposud Univerzita T. Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
Ústav Inženýrství a ochrany životního prostředí
Doktorský studijní program Chemie a technologie materiálů
Obor Technologie makromolekulárních látek.
Doktorská práce: „Studium chování polymerních materiálů v mikrobiálním prostředí“

2004 - 2006 Univerzita T. Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
Ústav Inženýrství a ochrany životního prostředí
Magisterský studijní program Chemie a technologie materiálů
Obor Inženýrství ochrany životního prostředí
Diplomová práce „Ověření a zavedení analytického postupu stanovení bromičnanů spektrofotometrickou metodou“
Dosažený titul: Inženýr – Ing.

2001 - 2004 Univerzita T. Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
Ústav Inženýrství a ochrany životního prostředí
Bakalářský studijní program Chemie a technologie materiálů
Obor Inženýrství ochrany životního prostředí
Bakalářské práce „Znečištění vod v České republice“
Dosažený titul: Bakalář – Bc

1997 - 2001 Střední průmyslová škola Otrokovice
Obor Ochrana životního prostředí
Maturitní práce „Zjištění a vyhodnocení parametrů u pitné upravované vody z vodovodu Holešov a u neupravované vody ze studny v Prusinovicích“

VZDĚLÁNÍ

Srpen 2009	Högskolan I Halmstad, Box 823, SE-301 18 Halmstad, Sverige – Švédsko Kurz Solar Heating Technology Získaná zkouška: Course certificate
Srpen 2008	Högskolan I Halmstad, Box 823, SE-301 18 Halmstad, Sverige – Švédsko Kurz Efficient Energy Use Získaná zkouška: Course certificate
Srpen 2007	Högskolan I Halmstad, Box 823, SE-301 18 Halmstad, Sverige – Švédsko Kurz Bioenergy Získaná zkouška: Course certificate

**PRACOVNÍ
ZKUŠENOSTI**

1. 9. 2009 – doposud	RAPOS, spol. s r.o., Nerudova 325, 769 01 Holešov Odvětví: Stavebnictví Dosažená pozice: Technik systému managementu, technik BOZP, PO, ekolog
1.10.2007 – 30.9.2008 1. 6.2009 – 30. 9.2009	Univerzita T. Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín Odvětví: Věda a výzkum Dosažená pozice: Odborný pracovník pro řešení Výzkumného záměru
1.10.2006 – 30.9.2009	Univerzita T. Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín Odvětví: Věda a výzkum Dosažená pozice: Vedoucí a konzultant diplomových prací

**OSOBNÍ
SCHOPNOSTI
A DOVEDNOSTI**

Mateřský jazyk	Český
Ostatní jazyky	Anglický slovem i písmem
Sociální a organizační schopnosti a dovednosti	Komunikativní schopnosti a týmová spolupráce. Schopnosti koordinace a vedení.
Technické schopnosti a dovednosti	Výpočetní technika: MS Aplikace (WIN XP/VISTA/WIN 7), MS Office (Word, Excel, PowerPoint), Photoshop, Internet Explorer, Mozilla Firefox, Statistica cz, Adobe acrobat, PDF Creator, Total Commander Respirometr MicroOxymax, Plynový chromatograf Agilent 7898 ^a
Ostatní schopnosti a dovednosti	Flexibilita, spolehlivost, zodpovědnost, zájem o další vzdělání, ochota cestovat, technické myšlení, samostatnost, organizace a koordinace pracovních činností, schopnost rychle se učit
Řidičské průkazy	A1, B