

# Návrh směsí biodegradabilních obalových materiálů na bázi PVA

Bc. Miroslav Zmeškal

---

Diplomová práce  
2006



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

akademický rok: 2005/2006

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Miroslav ZMEŠKAL**

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

Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Téma práce: **Návrh směsí biodegradabilních obalových materiálů na bázi PVA**

Zásady pro vypracování:

1. Doplňte stávající literární rešerši o nové poznatky na zadané téma. Zaměřte se především na dosavadní kompozitní materiály na bázi PVA a přírodních polymerů a to z hlediska nejen jejich biologické rozložitelnosti, ale i mechanicko-technologických vlastností.
2. Na základě Vámi sestavené literární studie navrhnete z hlediska biologické rozložitelnosti optimální směs pro přípravu biodegradabilních kompozitů na bázi PVA a extracelulárních polysacharidů.
3. Stanovené výsledky vyhodnoťte a proveďte vzájemné srovnání jednotlivých vzorků.
4. Naměřená a vypočtená data zpracujte a dosažené výsledky kriticky zhodnoťte.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

**Dle pokynů vedoucího diplomové práce.**

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Markéta Julinová, Ph.D.**

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí


Datum zadání diplomové práce:

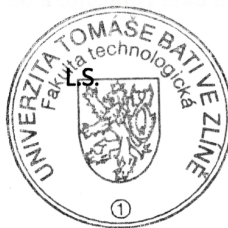
**20. února 2006**

Termín odevzdání diplomové práce:

**26. května 2006**

Ve Zlíně dne 20. února 2006

  
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
děkan



  
doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.  
ředitel ústavu

## **ABSTRAKT**

Práce je zaměřena na hodnocení biodegradability polyvinylalkoholu a jeho směsí s modifikačními přísadami typu extracelulárních polysacharidů v aerobním vodném prostředí a za účasti aktivovaných kalů z čistírny odpadních vod, adaptovaných na obě hlavní složky směsí. Účinnost modifikace je hodnocena podle produkce CO<sub>2</sub> a eliminace polyvinylalkoholu ve směsi porovnáním specifických rychlostí rozkladu substrátu. Součástí hodnocení jsou problémy reprodukovatelnosti experimentů vzhledem ke složitosti práce s živými organismy.

Klíčová slova:

Polyvinylalkohol; xanthan; gellan; biodegradace; aktivované kaly; směsi polymerů; modifikace PVA; bílkovinný hydrolyzát; škrob.

## **ABSTRACT**

The work aims at assessing biodegradability of polyvinylalcohol and its mixtures with modification additives of the extracellular polysaccharide type in an aerobic aqueous environment and with participation of activated sludges from waste water treatment plant adapted to both main mixture components. The modification efficiency is assessed according to CO<sub>2</sub> production and elimination of polyvinyl alcohol from the mixture by comparing specific decomposition rates of the substrate. A part of the assessment are problems with experiment reproducibility related to complexity of work with living organisms.

Keywords:

polyvinylalcohol; xanthane; gellan; biodegradation; activated sludges; polymer mixture; PVA modification; collagen hydrolysate; starch

Děkuji touto cestou vedoucí diplomové práce Ing. Markétě Julinové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky věnované mé práci. Dále bych rád poděkoval celému ÚIOŽP za podporu a lidský přístup po celou dobu mého studia.

„Člověk je součástí přírody a nikdy nepřestane podléhat jejím zákonům.“

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>8</b>
<b>1 POLYVINYLALKOHOL</b> .....	<b>9</b>
<b>2 BIODEGRADACE PVA V AEROBNÍM VODNÉM PROSTŘEDÍ</b> .....	<b>12</b>
2.1 AKTIVOVANÉ KALY Z ODPADNÍCH VOD .....	13
2.2 METODY STUDIA BIODEGRADATIVNÍCH PROCESŮ PVA .....	15
<b>3 MODIFIKACE POLYVINYLALKOHOLU</b> .....	<b>16</b>
3.1 BÍLKOVINNÝ HYDROLYZÁT .....	19
3.2 ŠKROB .....	20
<b>4 EXTRACELULÁRNÍ POLYSACHARIDY</b> .....	<b>23</b>
4.1 XANTHAN .....	23
4.2 GELLAN .....	25
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>28</b>
<b>5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE</b> .....	<b>29</b>
<b>6 EXPERIMENTÁLNÍ DATA</b> .....	<b>30</b>
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁLY .....	30
6.1.1 Chemikálie .....	30
6.1.2 Roztok biomédia .....	31
6.1.3 Biologický materiál – inokulum.....	31
6.2 CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH SMĚSNÝCH ROZTOKŮ .....	32
6.2.1 Rozpis plánovaného experimentu .....	33
6.3 METODY SLEDOVÁNÍ BIOLOGICKÉHO ROZKLADU .....	35
6.3.1 Hodnocení biodegradability podle produkce CO <sub>2</sub> .....	35
6.3.2 Hodnocení biodegradability z hlediska sledování úbytku PVA.....	37
6.3.3 Měřicí aparatura pro sledování biodegradace.....	38
6.4 DALŠÍ ANALÝZY A POSTUPY, PŘÍSTROJE .....	40
<b>7 VÝSLEDKY A KOMENTÁŘE</b> .....	<b>42</b>
7.1 VSTUPNÍ A VÝSTUPNÍ PARAMETRY HODNOCENÍ.....	42
7.2 HODNOCENÍ BIODEGRADACE ČISTÝCH SLOŽEK SMĚSÍ.....	43
7.2.1 Polyvinylalkohol .....	43
7.2.2 Extracelulární polysacharidy .....	45
7.2.3 Hodnocení biodegradace vodných směsí PVA (plánovaný experiment) .....	52
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>65</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>66</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>70</b>

## ÚVOD

Polyvinylalkohol je odbornou veřejností vnímán jako technický materiál nejčastěji ve formě obalovin s důležitými užitnými vlastnostmi pro mnohá speciální použití. Je ze všech vinylových polymerů nejlépe rozpustný ve vodě a nejsnáze biodegradovatelný, což jej činí průmyslově využitelným materiálem např. ve vodohospodářství, zemědělství (jako obalů hnojiv), případně biomedicině (obaly kosmetických přípravků, sběrné pytle nemocničního prádla) apod. Relativně vysoká odolnost PVA vůči biodegradaci ve vodném i půdním prostředí představuje zajímavý technicko-environmentální problém zejména textilního a papírenského průmyslu, produkujících značné množství odpadních vod, tímto polymerem znečištěných. Ten spočívá v tom, že rozpustné odpady je třeba zachytit a znehodnotit dříve, než samy deponují do vodního ekosystému a zapojí se do životních funkcí vodních organismů případně až do potravinového řetězce.

Hydrofilní povaha biodegradovatelných obalových materiálů PVA sice usnadňuje jejich likvidaci působením mikroorganismů, na druhé straně však značně omezuje rozsah jejich aplikací v praxi, především jako potravinářských obalů. Naprosto zřejmá je oblast jejich využití jako obalů pro zboží okamžité nebo krátkodobé spotřeby, jako jsou výrobky na jedno použití, i tak se však problémy likvidace jejich odpadů neobejdou bez chemického zásahu do polymeru - jeho modifikace. V tomto ohledu je dnes využíván značný počet biologicky aktivních materiálů (biopolymerů), jejichž chemická struktura zakládá předpoklad iniciace možného oxidačního nebo hydrolytického štěpení makromolekul degradovaného polymeru, jako počáteční fáze jeho totálního mikrobiálního rozkladu. Ve většině případů jsou však náklady na výrobu takových modifikovaných polymerních obalů několikanásobně vyšší, než např. obalů z polyolefinů, což limituje možnosti jejich praktických aplikací.

Přestože biodegradovatelné obalové folie na bázi PVA nemohou nikdy cenami konkurovat zavedeným obalům nebiotických polymerů typu polyolefinů, jejich významnější nasazení v citlivě volených aplikačních oblastech by mohlo být především nezanedbatelným příspěvkem k ochraně životního prostředí.

# **I. TEORETICKÁ ČÁST**



# 1 POLYVINYLALKOHOL

PVA se vyrábí radikálovou polymerací vinylacetátu nejčastěji v metanolu a následující hydrolyzou polymerního produktu. Monomerní vinylalkohol  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{OH}$  není za normálních podmínek schopný existence a při svém vzniku se mění okamžitě na acetaldehyd  $\text{CH}_3-\text{CHO}$ . Samotná polymerace vinylacetátu probíhá buď v alkalickém nebo v kyselém prostředí bezvodého alkoholu, např. metanolu. Nastavením reakčních podmínek lze regulovat vlastnosti polymeru v širokém rozsahu; rozdílným dávkováním metanolu např. stupeň polymerace (mol. hmotnost), koncentrací katalyzátoru (NaOH) stupeň acetylace. Uvedené parametry pak primárně rozhodují o chování polymeru při dalším zpracování i o užitečných vlastnostech budoucích výrobků [1].

Nejčastěji používaný průmyslový způsob výroby PVA spočívá v hydrolyze polyvinylacetátu, rozpuštěného v metanolu za katalytického účinku metanolátu sodného. Reakční produkt, nerozpustný v metanolu, postupně z roztoku vypadá za vzniku polymerní suspenze v závislosti na době reakce. Po dosažení požadovaného stupně hydrolyzy se polymerace přeruší úpravou pH až do mírně kyselé reakce, pevná část suspenze se oddělí a čistí se od zbytků reakční směsi. Stupeň vyčištění pak určuje kvalitu výsledného produktu, zejména jeho degradační charakteristiky [2].

Při zpracování plastikářskými technologiemi se PVA chová podobně jako PVC. Bez předchozí chemické úpravy začíná při přechodu do taveniny degradovat již před teplotou měknutí ( $140-150^\circ\text{C}$ ), přičemž se uvolňuje voda a vznikají dvojné vazby, aktivující další rozklad polymeru. Výsledkem této řetězové reakce je systém konjugovaných dvojných vazeb v degradovaném polymeru, provázený jeho zbarvením do žlutohněda. V další fázi pak dochází k síťování polymeru a tím k enormnímu nárůstu viskozity taveniny a ztrátě schopnosti zpracování.

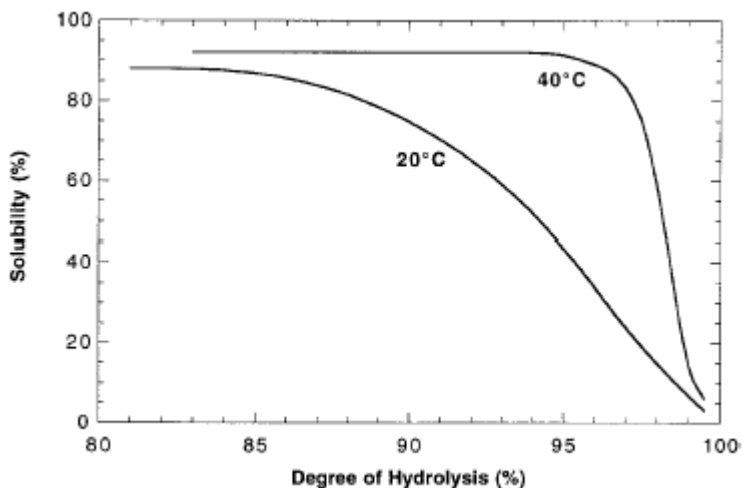
Fyzikální vlastnosti PVA jako je pevnost, vodorozpustnost, plynopropustnost a teplotní odolnost jsou odvozeny od krystalinity polymeru, která je primárně závislá na stupni polymerace a acetylace, resp. hydrolyzy výchozího polyvinylacetátu. Aktuální množství krystalického podílu je navíc předurčeno spoluúčastí vody nebo změkčovadla při polymerační reakci a také druhem katalyzátoru (kyselá nebo alkalická katalýza). Při dosaženém stupni hydrolyzy 98-99% se obsah krystalického podílu v polymeru pohybuje v rozmezí 30-40% podle výše teploty při polymeraci, při snížení tohoto stupně o 10% klesá až na 12-18%. Vysoký stupeň krystalinity je předpokladem dobrých fyzikálně-

mechanických vlastností polymeru a výrobků, na druhé straně však také příčinou zhoršení jeho zpracovatelnosti z taveniny vzhledem k vysoké teplotě tání krystalitů.

Vzhledem k zaměření této diplomové práce, jejíž cílem je navrhnout směsné fólie na bázi PVA, hraje důležitou roli rozpustnost daného polymeru, a prostředí ve kterém budou směsi degradovány.

Významnou vlastností PVA je jeho rozpustnost ve vodě, při čemž platí, že produkty s nižší mol. hmotností se rozpouští lépe, než produkty s mol. hmotností vyšší, které se rozpouštějí jen v horké vodě. Na rozpustnost PVA ve vodě má dále rozhodující vliv množství zbytkových acetátových skupin; při jejich obsahu do 5% je polymer ve studené vodě nerozpustný. Optimální rozpustnosti dosahuje PVA při obsahu 12% zbytkových acetátových skupin, nad 50% se polymer stává nerozpustným [2].

Obr. 1 vyjadřuje vztah mezi rozpustností a stupněm hydrolyzy (deacetylace) vzorku PVA o molekulové hmotnosti  $M_r=77\ 000$  pro teploty 20 a 40°C. Zbytkové hydrofóbní acetátové skupiny zeslabují intra- a intermolekulární vodíkové vazby sousedních hydroxylových skupin tak, že k úplné rozpustnosti musí být teplota zvýšena až na 70°C [3].



**Obr. 1.:** Rozpustnost PVA jako funkce stupně hydrolyzy PVA při 20 a 40°C

Na strukturu polymeru je rovněž vázána odolnost PVA vůči mikrobiologickému odbourání – stupeň jeho polymerace a hydrolyzy, distribuci hydroxylových skupin, příp. stereoregularitu. Snadněji se vždy rozkládá polymer s nižší molekulovou hmotností a nižším obsahem isotaktického podílu, jelikož enzymatické systémy účinněji napadají uspořá-

dané sekvence a nižší polymerní frakce. Významný vliv na biodegradaci PVA je dále připisován degradačnímu prostředí (vodní, půdní), povaze mikrobiální kultury, teplotě prostředí, přítomnosti kyslíku apod. Protože podstatná část polymeru nachází uplatnění ve formě **ochranných koloidů** při výrobě polymerních emulzí, při úpravách pigmentů a vláken, ve výrobě máčeného zboží, detergentů, čistících prostředků, lepidel a odlévaných filmů, dostávají se po ukončení své životnosti ve formě suspenzí pomocí kanalizačních řádů až na čistírny odpadních vod. Rovněž tak je tomu i v **kosmetickém** odvětví, kde je PVA používán např. při výrobě vlasových přípravků, kosmetických zábalů, prostředků pro ochranu pleti a desodorantů a to jako obalový materiál nebo přímo součást preparátu. Nezastupitelnou pozici zde tudíž zaujímají **aktivované kaly** z čistíren odpadních vod, jejichž aplikace vede až k 90%-nímu odstranění organického uhlíku během zhruba 40 dnů při teplotě 18-20°C. Na rozpustnosti polyvinylalkoholu ve vodě jsou založeny **zemědělské a agrotechnické aplikace** výrobků, jako jsou mulčovací fólie, silážní obaly, obaly palet, hnojiv a mořidel, tedy všude tam, kde je žádoucí, aby se obal rozpustil působením deštěů současně s obsahem. Tím odpadá problém s dávkováním substrátu a dodatečným znehodnocováním obalového odpadu. Stejného principu využívají i vodorozpustné fólie ze samotného PVA, používané ve formě obalových materiálů chemikálií, mýdel, pesticidů apod. V půdním prostředí probíhá rozklad podstatně pomaleji než pomocí aktivovaných kalů – do 10% za 74 dnů [1, 4].

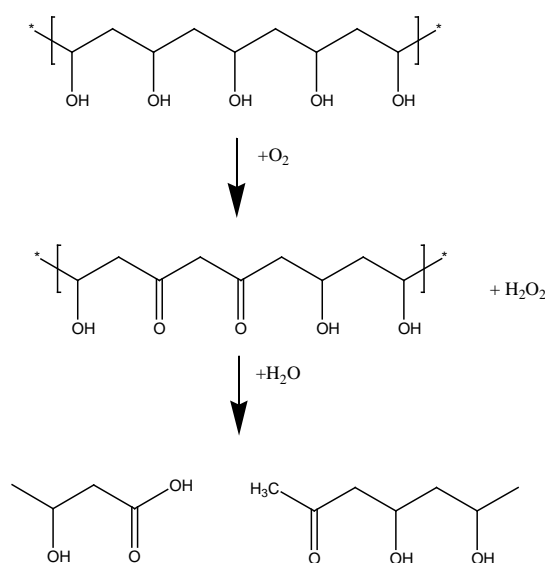
Speciální zájem v oblasti potencionálního **biomedicíálního** využití PVA je odvozen z krystalické struktury vhodných typů polymeru, která může být regulována speciální technikou, jako jsou např. opakující se cykly tání a tuhnutí polymeru. Hydrogely PVA, získané touto technikou, jsou dlouhodobě teplotně velmi stabilní (20-25 let) a mají početné další vyjímečné vlastnosti, na rozdíl od gelů, připravených např. chemickým síťováním polymeru. Jsou především netoxické a nekarcinogenní, vyznačují se vysokým stupněm botnání ve vodě a ve fyziologických roztocích, jsou výrazně kaučukovitě elastické, a mají vysokou mechanickou pevnost. Buď samotné, nebo v kombinacích s glycerinem mohou být výhodně využity v početných biomedicíálních aplikacích, jako jsou implantáty měkkých tkání, kloubních chrupavek, kůže a pankreasu, při výrobě kontaktních čoček, umělého srdce atd [3].

## 2 BIODEGRADACE PVA V AEROBNÍM VODNÉM PROSTŘEDÍ

Biodegradací v širším slova smyslu rozumíme řízený rozklad polymeru v přijatelném časovém intervalu, odpovídajícím potřebám znehodnocení (depolymerace) materiálu. Její rychlost je podstatně závislá především na struktuře polymeru (existenci heteroatomů v hlavním řetězci, příp. větvení), na molekulové hmotnosti a stupni krystalinity polymeru. Rozklad polymeru je způsoben v první řadě činností mikroorganismů, iniciujících primární rozkladné procesy – oxidaci příp. hydrolyzu. Vedle toho se v systému uplatňují pravidelně i tzv. abiotické degradační reakce, při nichž je exponovaný substrát za účasti kyslíku, vody a slunečního záření hluboce fragmentován, při čemž pozbývá své charakteristické vlastnosti [5].

Polyvinylalkohol je jediným polyolefinem, který není schopný odolávat řízené destrukci specifickými mikroorganismy v aerobním prostředí. Je tedy současně považován za vhodný polymerní model pro studium reakcí daného typu.

Mechanismus řízené biologické degradace PVA za účasti různých druhů bakterií *Pseudomonas* zahrnuje oxidaci polymeru enzymatickým systémem oxidáz za současného vývoje peroxidu vodíku. Výsledkem enzymatických procesů je tvorba karbonylových skupin podél uhlíkového řetězce. Aktivované  $\beta$ -diketonové, příp.  $\alpha$ -ketonové skupiny jsou pak postupně dále hydrolyzovány za štěpení hlavního uhlíkového řetězce (**Obr.2.**).



**Obr. 2.:** Schéma biodegradace PVA v aerobním vodním prostředí [4]

Detailní popis mechanismů štěpných biodegradativních procesů PVA je uveden v novějších souhrnných publikacích [7, 8] a prezentován v diplomové práci UTB [9]. Podobným způsobem jsou precisovány a zpřístupněny i údaje o enzymatických aspektech daných mechanismů, shrnutých v absolventském zpracování tématu v r. 2004 [10].

Vliv teploty na mikrobiální degradaci PVA je pro experimentální praxi rozhodující, přičemž kritickým zlomem je oblast teplot mezi 10-12°C. Vychází se při tom ze skutečnosti, že v tomto rozmezí teplot je úbytek mikroorganismů vymýváním vyšší než jejich růst a jejich koncentrace přestává tedy být pro kvantitativní degradaci PVA dostatečná.

Mikrobiální degradace PVA je popsána v celé řadě odborných publikací a v této souvislosti je uváděna řada variací a způsobů uspořádání experimentů [11, 12] a to nejen za použití aktivovaných kalů jako zdrojů mikrobiálních kultur. Podle výsledků těchto studií lze definovat obecně aerobně degradovatelný systém pro PVA

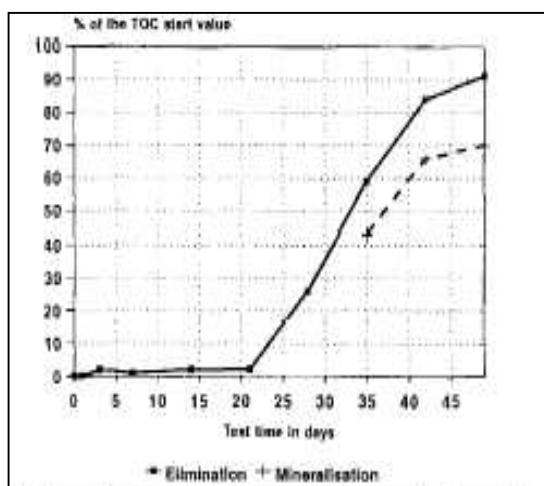
- trvalým přebytkem kyslíku,
- přítomností adaptované mikrobiální populace,
- přítomností vody v systému,
- teplotou nad 15°C

## 2.1 Aktivované kaly z odpadních vod

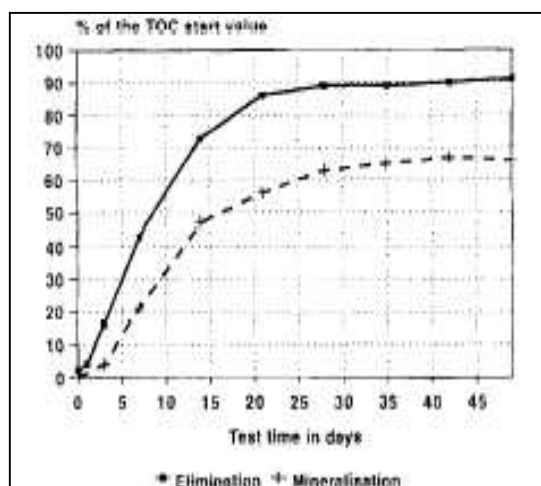
Tato biomasa o velikosti částic  $10^{-5}$  až  $10^{-6}$  cm obsahuje převážně směsnou kulturu mikroorganismů, v níž převažují bakterie a prvoci ve formě agregátů. Z hlediska chemického složení tvoří základní složky aktivovaného kalu **biopolymery**, zejména typu bílkovin, polysacharidů a polyesterů - kys. poly-(3-hydroxymáslé). V aerobním vodním prostředí hrají zejména polysacharidy důležitou vedlejší roli pro svou vysokou afinitu k vodě a tvorbu vodíkových můstků, jako podmínky chování vloček kalu při sedimentaci.

Dlouhodobá účast mikrobiální kultury aktivovaných kalů v procesu aerobní degradace PVA ve vodním prostředí je provázena úbytkem substrátu až totálním rozpadem molekul PVA na oxid uhličitý a vodu (mineralizací), přičemž hlavní roli hrají nejčastěji bakterie rodu *Pseudomonas*, *Bacillus* a *Alcaligenes* [10]. Studia tohoto tématu jsou obsahem několika desítek prací, a to převážně ve smyslu technického využití v rámci čištění průmyslových pracích vod [11].

Bakteriální účinnost aktivace je demonstrována na **Obr. 3**. Vzhledem k podrobnému popisu dané problematiky v předchozích diplomových pracích složí tento obrázek jen jako ukázka průběhu biodegradace. Při rozkladu v neadaptovaném mikrobiálním prostředí dochází před nastartováním degradačních procesů ve tvaru exponenciální funkce k cca dvacetidenní lagové prodlevě. Po adaptaci probíhá rozklad již bez lagu, při čemž oba systémy končí na zhruba stejných hodnotách úbytku substrátu i stupně mineralizace s časovým posunem, odpovídajícím této lagové fázi.



s neadaptovaným kalem



s adaptovaným kalem

**Obr. 3.:** Úbytek substrátu (křivka 1) a stupeň mineralizace (křivka 2) PVA podle Zahn-Wellensova testu [13].

## 2.2 Metody studia biodegradativních procesů PVA [5]

Biodegradaci polyvinylalkoholu v aerobním vodném prostředí lze obecně vyjádřit schématem:



Odtud vyplývají možnosti sledování a hodnocení průběhu depolymeračních procesů:

- z úbytku substrátu (TOC)
- z biologické spotřeby kyslíku (BSK)
- z množství konečného produktu rozkladu (CO<sub>2</sub>)
- z přírůstku počtu nebo hmotnosti mikroorganismů

Dosavadní způsoby hodnocení biodegradativních procesů nejsou jednotné, a mají daleko do jednoduchosti a jednoznačnosti. Existuje řada norem (ISO, ASTM, OECD, ECN, JIS, aj.) a každá z nich uvádí vlastní definici termínu „biodegradabilní polymer“, předepisuje vhodný poměr koncentrace substrátu a inokula, složení minerálního média a také parametry, jež je třeba v průběhu testu sledovat. Mimo uvedené normy byly vyvinuty i různé modifikace postupů se shodnými hodnotícími parametry, ale odlišnými kultivačními podmínkami. V rámci daného zadání práce jde především o:

### **Respirometrického stanovení dle normy ASTM D 5209-92**

Princip metody je zjišťování produkce CO<sub>2</sub> mikrobiální kulturou, která se podílí na rozkladu testované látky. Vzniklý CO<sub>2</sub> je zachytáván v roztoku NaOH a jeho množství poté stanoveno titračně.

### **Modifikace statické zkoušky dle ČSN EN ISO 9888**

Původně Zahn-Wellensova zkouška spočívá ve sledování úbytku PVA z kultivačního prostředí, způsobeného aerobními mikroorganismy (analýzou PVA ve filtrátu). Pokusem je sledována úplná destrukce polymeru. Aerobní podmínky jsou udržovány nepřetržitým provzdušňováním směsi např. ve dvoulitrových dělicích nálevkách.

### 3 MODIFIKACE POLYVINYLALKOHOLU

Jak již bylo uvedeno, na rozdíl od nerozvětvených typů polyolefinů, jako jsou polyetylén nebo polypropylén, je PVA relativně snadno biodegradovatelný, pro mnohé aplikace je však rychlost jeho rozkladu ještě nedostatečná. Zvýšení biodegradability polymeru je možno dosáhnout přidávkem bioaktivních látek buď během přípravy, nebo při zpracování polymerní směsi. Limitujícím faktorem je při tom zachování potřebných fyzikálně–chemických a mechanických vlastností polymerních směsí, jejich zpracovatelnosti a užitných vlastností budoucích výrobků.

Pokud je možno pro tyto účely využít levné přírodní suroviny z recentních zdrojů nebo dokonce odpadní materiály, je volba modifikační složky přijatelná i ekonomicky. To se týká zejména nejčastěji aplikovaných modifikátorů, jako je škrob, třtinový cukr, odpadní želatina příp. bílkovinný hydrolyzát.

Vedle těchto ekonomicky nejzajímavějších přídatných polymerů jsou jako modifikační složky pro zvýšení biodegradability PVA nejčastěji přidávány kyselina poly(3-hydroxymásečná), celulóza a derivaty chitinu. Zejména biodegradabilní směsi PVA a uváděny kyseliny poly(3-hydroxymásečné) jsou z environmentálního hlediska považovány za účinné kombinace. Schopnost biologického odbourávání v podmínkách aerobního vodního prostředí těchto směsí je při tom podstatně závislá na rozpustnosti aplikovaného typu PVA, jako funkci jeho mol. hmotnosti a takticity a stupně hydrolyzy.

Výše uvedeným látkám, jako modifikačním složkám PVA, byla věnována značná pozornost v předcházejících diplomových pracích. Z tohoto důvodu se dále věnuji látkám, které v minulosti nebyly zájmem pozornosti z hlediska modifikátorů PVA.

Kombinací PVA a vhodné karbonové kyseliny je možno připravit bioaktivní kopolymery s tzv. sekvestračním účinkem, tj. schopností tvořit koordinační sloučeniny (komplexy) s kationty kovů a zabránit tak vzniku jejich těžce rozpustných sloučenin. Významnou oblastí použití těchto polymerů jsou prací prostředky (detergenty) příp. zušlechťovací lázně v textilním průmyslu [4].

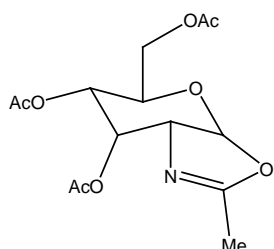
Modifikacemi studovaného typu v nichž PVA sehrává úlohu potenciální bioaktivní modifikační komponenty, jsou jeho směsi s poly-6-kaprolaktamem [14]. Vzorčky pro toto studium s obsahem PVA do 20% byly připraveny vytlačováním a vstřikováním a testovány z hlediska fyzikálně-mechanických vlastností: - pevnosti v tahu, vrubové houževnatosti,



hustoty, tvrdosti, absorpce vody a tepelných vlastností. Výsledky prokázaly u směsí zvýšenou biodegradabilitu, absorpci vody a hustotu a naopak zhoršení hodnot mechanické pevnosti a vrubové houževnatosti, tvrdosti, termodeformační odolnosti a teploty tání.

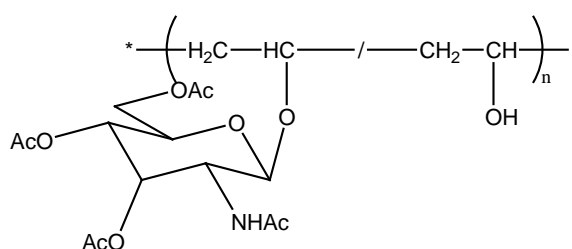
Zvláštní kapitolu tvoří biomedicinální a farmaceutické modifikace hydrofilních gelů PVA, využívající netoxické, nekarcinogenní a bioadhesivní vlastnosti základního polymeru a jeho směsí. Pro tyto účely je výhodou jednoduchá chemická struktura PVA i jeho schopnost dalších chemických reakcí. Početná skupina prací z této oblasti se zabývá zejména kombinacemi PVA s Chitosanem, hydrolyzátem chitinu (**poly-N-acetyl-D-glukosaminu**, 2-acetamido-2-desoxy-1,4-β-D-glukanu), jedním ze tří nejčastěji se vyskytujících přírodních polysacharidů [15, 16].

Účast monomerního N-acetyl-D-glukosaminu jako kopolymerační složky poly(vinylalkoholu) je popsána v práci japonských autorů [17]. Příprava cukrem substituovaného PVA přímou kopolymerací je velmi obtížná, jelikož struktura polymeru je pro akceptaci glykosylových segmentů velmi labilní. Nový způsob chemické modifikace představuje glykosidační reakce hydroxylové skupiny PVA v kyselém prostředí s triacetylovaným oxazolinem cukru



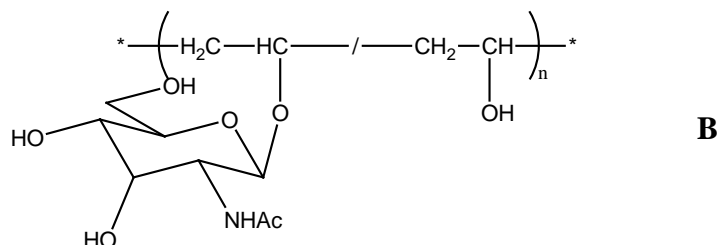
2-metyl-2(3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-dideoxy-α-D-glukopyrano)-[2,1-α]-2-oxazolin

za vzniku chemicky substituovaného, triacetylovaného N-acetyl-D-glukosaminokopolymeru (A),



**A**

který je dále hydrolýzou zbaven dvou acetylových zbytků za vzniku polymerního (A-acetyl-D-glukosamino)- vinyl alkoholu (B)



Kopolymer typu A získává glykosidací nad 20% rozpustnost v nízkovroucích rozpouštědlech, jako je metanol, chloroform a tetrahydrofuran, na rozdíl od typu B, který zůstává za normální teploty rozpustný jen ve vodě a dimetylsulfoxidu. Teploty tání a přechodu II. řádu obou produktů se snižují se stupněm acetylace a jeho zřetelně významným vlivem na krystalizaci původního PVA a to daleko výrazněji, než je tomu v případě rozpustností modifikovaných produktů.

Příroda sama nabízí velké spektrum biopolymerů, využitelných v technické praxi jako modifikačních činidel PVA. Z biopolymerů, izolovaných přímo z obnovitelných zdrojů, jsou to především bílkoviny (kolagen), polysacharidy (škrob) a polyestery (kys. poly-3-hydroxymásečná), tak jako jsou zastoupeny v biomase aktivovaného kalu.

Tři nejčastěji se vyskytující přírodní polysacharidy (celulóza, škrob a glykogen) jsou odvozeny od elementární stavební jednotky glukózy a lze je podle potřeby poměrně snadno upravovat z hlediska jejich rozpustnosti ve vodě. Všechny jejich podoby mají své specifické vlastnosti, závislé na kombinaci základních stavebních jednotek, složení směsí, struktuře, mezimolekulárních vazbách a iontové struktuře. Jejich biochemické vlastnosti jsou pak odvozeny od chování vůči oxidačnímu a enzymatickému napadení.

Další část je věnována bílkovinnému hydrolyzátu, jelikož bude sloužit jako modifikační složka v experimentální části.

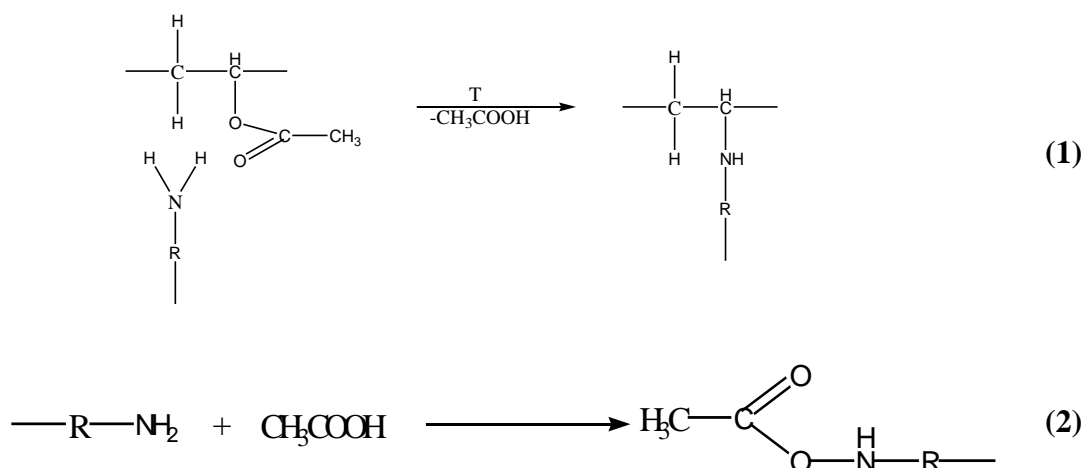
### 3.1 Bílkovinný hydrolyzát

Samotný kolagen je pro zvyšování biodegradability polymerních směsí neúčinný. Vodorozpustné syntetické polymery, jako je PVA, mohou být však v kombinacích s kolagenem a kyselinou polyakrylovou transformovány na zajímavý směsný materiál s vynikajícími mechanickými vlastnostmi. Nacházejí použití jako membrány pro dialýzu, přípravky pro zušlechťování textilií, úpravu usní, pro přepravu biologicky aktivních látek a materiálů aj. Podobné kombinace s kolagenem a želatinou poskytují opticky čisté filmy s dobrými mechanickými vlastnostmi [18].

Převážně pozitivní vliv na biochemické odbourání směsí PVA má naopak aplikace hydrolyzátu kolagenu, jak je uvedena v řadě odborných studií [19, 20], kombinace škrobu a hydrolyzátu kolagenu [9], škrobu, hydrolyzátu kolagenu a ligninu [10], příp. hydrolyzátu kolagenu, plastifikovaného škrobu a kaprolaktamu, jako ve vodě nerozpustné složky. Produkty jsou charakterizovány zvýšenou biodegradabilitou a odpovídajícím účinkem při likvidaci jejich odpadů např. při kompostování nebo ve vodním ekosystému.

V souvislosti s biodegradabilními aplikacemi PVA byly v posledních letech studovány bílkovinné hydrolyzáty, připravené enzymatickými pochody z chromočiněných usňových odpadů. Folie směsí PVA a těchto biopolymerů vykazovaly dobrou tepelnou stabilitu při zpracování směsí vyfukováním i dobré mechanické vlastnosti, srovnatelné s fóliemi samotného PVA. Za anaerobních podmínek poskytly i nadějně výsledky z hlediska biologické degradace v půdě [19].

Směsi PVA, modifikované hydrolyzátem kolagenu, představují novou skupinu biodegradabilních materiálů, využitelných v technické praxi. Při přípravě polymerních směsí za zvýšené teploty 130°C dochází k chemickým interakcím mezi PVA a bílkovinným hydrolyzátem, zprostředkovaným amidickými skupinami hydrolyzátu, které lze popsat rovnicemi (1) a (2) na následujícím schématu:



**Obr. 4.:** Schéma chemických interakcí PVA a bílkovinného hydrolyzátu [21].

Zbytkové acetátové skupiny PVA jsou substituovány primární aminoskupinou bílkovinného hydrolyzátu a vznikající kyselina octová se váže na následující volnou aminoskupinu.

Přídavek hydrolyzátu při přípravě PVA směsí zvyšuje rozpustnost připravených fólií, způsobuje jejich zákal v důsledku nerozpustných podílů v rozsahu od 0,5 do 3,5% a v poměrně širokém rozsahu ovlivňuje výsledné vlastnosti fólie, při čemž ale nezhoršuje její mechanické vlastnosti [22].

### 3.2 Škrob

Rychlost biologického rozkladu škrobu, je dána velikostí jeho částic, teplotou zpracování, vlhkostí, obsahem pro-oxidantů, fotoakceleratorů příp. iniciátorů volných radikálů. Z tohoto hlediska je nemodifikovaný škrob jen druhořadým plnivem, avšak vzhledem k jeho dlouholeté tradici používání stále environmentálně i ekonomicky zajímavým materiálem pro kombinaci s PVA např. v zemědělských a obalových foliích. Při aplikaci samotných aktivovaných kalů se směsi odbourávají jen velmi pomalu, s úbytkem 75 % hmotnosti až za 300 dnů expozice. Fólie se při tom nerozpadá, pouze se zmenšuje její tloušťka, materiál křehne a láme se. Fólie z PVA modifikovaného škroben v poměru 40 : 60 vykazuje při aerobní biodegradaci za účasti aktivovaného kalu úbytek zhruba 50 % hmotnosti substrátu za 30 dnů;

s využitím bakterií *Bacillus subtilis* (půdní kultury) dochází k tomuto snížení již za pouhých 5 dnů [23].

Přírodní škrob může být zpracován plastikací jako termoplast a v této formě použit jako modifikační složka pro zvýšení biodegradability PVA-směsí. Pro tyto účely je surový škrob kombinován s 20-50 % směsí glycerinu a vody za intenzivního hnětení při teplotách 150-180°C. V podmínkách vysokého smykového namáhání a teploty se polymer štěpí, amorfizuje a změkčuje v homogenní nekrytalinnou hmotu.

Takto plastifikovaný škrob obsahuje více než 70 % amylosy. Při použití specifických změkčovadel, např. polykaprolaktonu nebo kopolyesterů odvozených od 1,4-butandiolu, lze získat materiály se zlepšenou zpracovatelností a mechanickou pevností, v kombinaci s polymery kyseliny mléčné s vyšší kvalitou filmů a jejich transparentí. Vynikající biodegradabilitu při kompostování - totálního odbourání během osmi týdnů, dosahují kombinace škrobu s alifatickými polyestery [24].

Mírnějším zásahem je termooxydační preventivní úprava škrobu před jeho aplikací, spočívající v exponování materiálu při teplotách 70-130°C ve vzdušné lázni nebo Brabenderově vytlačovacím stroji. Škrob se touto úpravou stává vhodnějším zdrojem organického uhlíku pro mikroorganismy ve stádiu rozpadu polymerní směsi, než je jeho přírodní varianta.

Rovněž UV-záření může být významným faktorem, ovlivňující svým degradačním účinkem nejen fragmentaci makromolekul škrobu, ale i degradovaného polymeru. Zvětšení povrchu a změny morfologie škrobu při synergických účincích zbývajících faktorů ve smyslu růstu karbonylových a vinylových skupin vedou ke zvýšenému stupni mikrobiální destrukce celé směsi.

Kombinace polyvinylakoholu se škrobem byly na trh uvedeny již v sedmdesátých letech minulého století pro povrchovou úpravu papíru. Dodnes jsou předmětem mnoha studií, zaměřených mimo biodegradabilní problematiku. Vhodnějšími modifikačními prostředky v tomto smyslu se ukázaly být kombinace přírodního škrobu s glycerinem, které dokázaly zvýšit rychlost rozkladu směsi až dvojnásobně [10]. Například jsou popsány obalové materiály ze směsi PVA a škrobu, vyrobené vytlačováním s glycerinem, jako změkčovadlem a sledování jejich biodegradabilních schopností v simulovaných podmínkách kompostování [25].

Zajímavým příspěvkem k dané problematice je studium směsí PVA a termoplastického škrobu, příp. některých alifatických biopolyesterů. Tyto biopolymery nevykazují dobrou mechanickou vlastnostmi, což je omezujícím faktorem jejich použitelnosti v technické praxi. Souhrnné informace, zabývající se využitím škrobu ve směsích se syntetickými polymery s přihlédnutím k jejich mikrobiologické degradabilitě se podařilo shromáždit italským autorům. Ve všech těchto směsích byla použita termoplastická (plastifikovaná) varianta biopolymeru [26].

Pro směsi škrobu a kopolymeru etylen/vinylalkohol se udává po zpracování běžnými plastikářskými technologiemi mikrobiální destrukce materiálu mezi 2 až 3 lety. Uspokojivou biodegradativní stabilitu vykazují naproti tomu směsi PVA a škrobu s alifatickými polyestery nebo poly-6-kaprolaktamem při kompostování. Podobné chování je možno zaznamenat u samotných směsích PVA s plastifikovaným škrobem a polyalkylenglykoly [27].

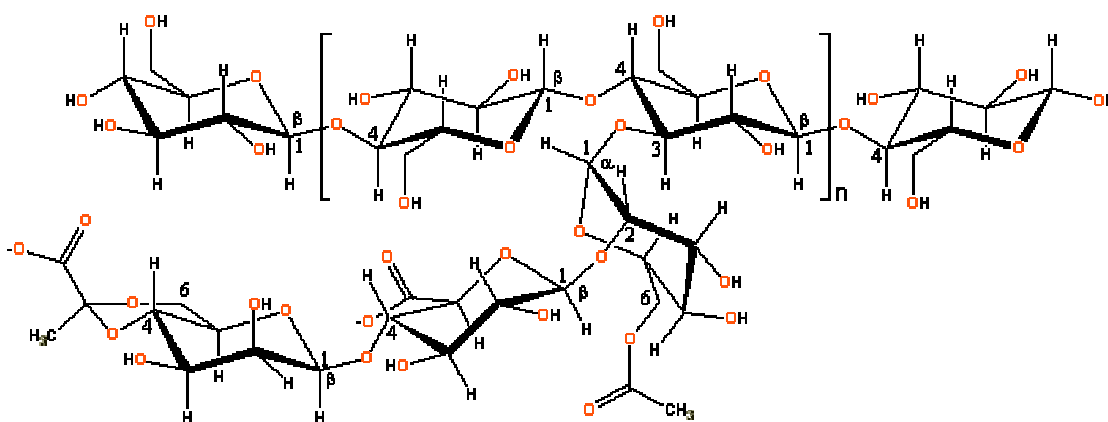
U směsí PVA modifikovaných 15 % přírodního škrobu a 15 % hydrolyzovaného kolagenu se v přítomnosti adaptovaného kalu dosáhlo 90% odbourání již po 130 hodinách [9]. Na směsných fóliích PVA, škrobu, glycerinu, sorbitu a kyseliny citrónové bylo dokázáno, že vodíkové vazby mezi hydroxyly a karboxyly zvyšují v přítomnosti kys. citrónové inter/intra-molekulární interakce mezi škrobem, PVA a aditivu i jejich vlastnosti na vodíkových vazbách závisující [28].

## 4 EXTRACELULÁRNÍ POLYSACHARIDY

Polysacharidy biologického původu se svou strukturou, zejména druhem a četností napojení postranních segmentů, a z toho odpovídajícími vlastnostmi vzájemně značně odlišují. Zvláštní skupinu tzv. exopolysacharidů tvoří extracelulární heteropolymery, jejichž makromolekuly jsou složeny z opakujících se článků tří až osmi monosacharidů  $\alpha$  i  $\beta$ , cis- i trans- konfigurace, zpravidla D-glukosy, D-galaktosy, L-rhamnosy nebo jejich derivátů. Biosyntéza subjednotek probíhá u přírodních polysacharidů v buňce na cytoplasmatické membráně na lipidním nosiči, polymerace pak na vnější straně buněčné membrány. Genetická informace pro tvorbu těchto exopolysacharidů je lokalizována podle druhu produkčního mikroorganismu buď na plazmidové DNA (*Lactococcus sp.*) nebo na chromozonální DNA (*Streptococcus sp.* a *Lactobacillus sp.*) [29]. Z uvedené skupiny polysacharidů mikrobiálního původu jsou nejdůležitější xanthan, gellan a dextran komerčně zajímavé rovněž pullulan a glucan.

### 4.1 Xanthan

Jeho základem je celulosový řetězec s postranními segmenty lineárních trisacharidů, tvořenými manosyl-glukuronyl-manosovými sekvencemi, vázanými na třetím uhlíku alternujících glukosylových zbytků [30]. Vnitřní a koncové manosylové zbytky postranních řetězců jsou převážně acetylovány a pyruvylovány podle podmínek vzniku polymeru [31].



**Obr. 5.:** Xanthan: glukán- $\beta$ -(1->4)-D-glukopyranosy (jako celulosy) s postranními řetězci -(3->1)- $\alpha$ -D-mannopyranosy, -(2->1)- $\beta$ -D-glukuronové kyseliny a -(4->1)- $\beta$ -D-mannopyranosy jako alternujícími zbytky.

Extracelulární heteropolysacharid se průmyslově vyrábí aerobní mokrou fermentací za účasti bakterií *Xanthomonas campestris*, čistí se vysrážením v alkoholu, suší a mele. Používá se v potravinářství pod kódovým označením E 415 nejčastěji ve formě alkalických solí sodíku, draslíku a vápníku, jejichž vodné roztoky vykazují neutrální reakci. Fermentací získaný polymer má relativně dobře reprodukovatelnou strukturu i vlastnosti. Jeho molekuly obsahují zhruba 7000 pentamerů a produkt je méně polydispersní, než mnohé jiné hydrokoloidy. Základní struktura polymeru činí polymer relativně stabilním vůči kyselinám, alkáliím i enzymům.

Rovnovážné konverse mezi původní uspořádanou, dvojitě spirálovou konformací molekul a jejich flexibilními, napřímenými řetězci se dosahuje řádově v několika hodinách při teplotách 40 – 80°C. Slabé vazby sítě činí polymer časem vysoce pseudoplastickým s nízkou viskositou a hodnotami smykových vlastností. Naopak vysoce viskosní vodné roztoky (cca 1%) tvoří stabilní gely s odpovídajícími vysokými hodnotami ve smyku, díky četným vodíkovým vazbám mezi postranními řetězci.

Polymer se významně uplatňuje jako stabilizátor a regulátor viskosity v potravinářském a farmaceutickém průmyslu a to zejména k doladování viskositních vlastností směsí. Jeho hydráty poskytují spolehlivě stálé hodnoty viskozity pro použití jako složky stabilizátorů, emulgátorů, nadouvadel příp. zahušřovadel [32].

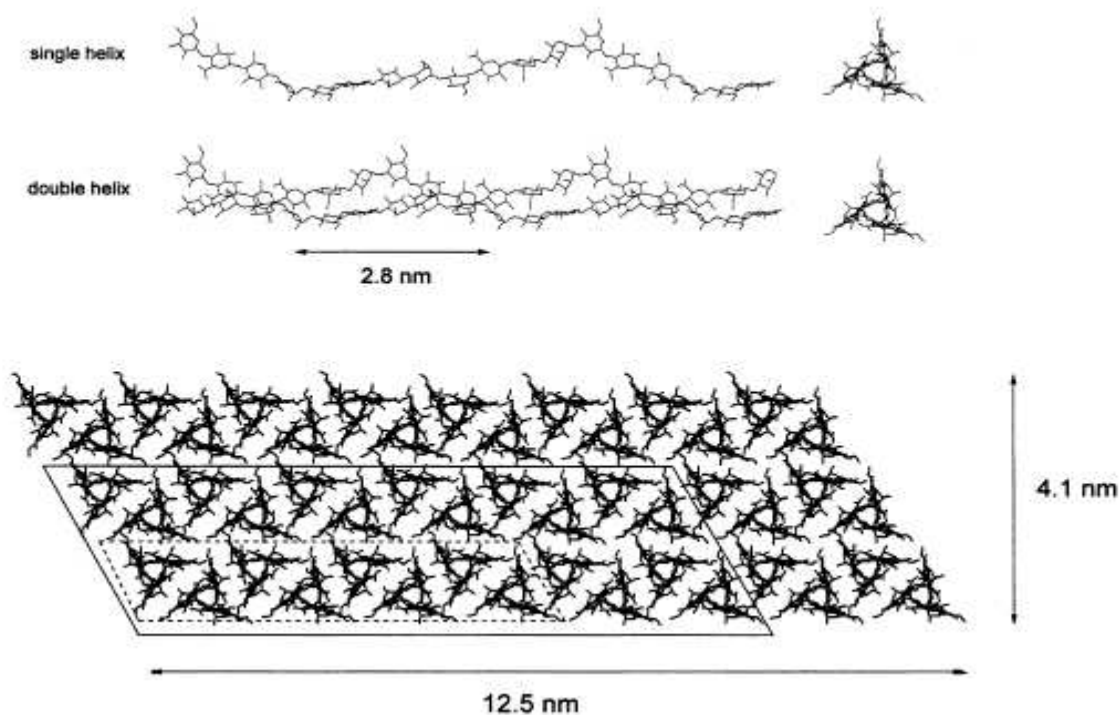
Xanthan však vykazuje zejména mimořádné reologické vlastnosti, jako je pseudoplasticita a vysoká viskozita zředěných roztoků s odolností v širokém rozsahu teplot a pH [33]. Nejzajímavější je jeho rozdílné chování v intervalu používaného smykového namáhání. Při vysokých smykových rychlostech viskozita roztoků xanthanu mimořádně rychle klesá, což usnadňuje např. procesy míchání směsí. Naopak vysoká viskozita roztoků při nízkých smykových rychlostech, nutná pro dobrou stabilitu koloidních suspensí, je dobře využitelná např. v oblasti výroby thixotropních směsí.

Změny viskosity roztoků xanthanu na principu přechodů mezi krystalickou a kapalnou fází a tvorby tzv. mezofáze byly studovány na vysokomolekulárním typu polymeru ( $M_w=1,8 \cdot 10^6$ ) a použitím polarizačního mikroskopu a viskosimetru v přítomnosti solí, bakteriálních kultur a proteinů. Za charakteristické přechody těchto systémů se ukázaly být odpovědné interakce, založené na redukci flexibility řetězců xanthanu a redukci entropie těchto přechodů.





Molekulární struktura gellanu byla studována pomocí strukturální rentgenové analýzy systémů polysacharidu za proměnlivých koncentrací draselných solí [36, 37]. **Obr. 7.** představuje molekulární model gellanu, tvořeného jednoduchými a zdvojenými lineárními řetězci v horizontálním a vertikálním pohledu, spodní část model agregátu (sítě) zdvojených řetězců téže konfigurace. Výsledky studia dokazují, že podobně jako u xanthanu, jsou molekuly gellanu tvořeny zdvojenými, koaxiálními, trojúhelníkovými a tříosými spirálami s acetátovými zbytky na periferii a glycerylovými skupinami, jako stabilizujícím prvkem vnitřní řetězcové asociace. Stabilizující vodíkové vazby vznikají mezi hydroxymetylovými skupinami čtyřvazných glukosylových jednotek na jedné straně a karboxylových skupin na straně druhé. K iontovým vazbám naproti tomu dochází na obou kyslíkových atomech karboxylu a hydroxylové skupině v jednom řetězci, resp. na dvou hydroxylových skupinách v řetězci druhém, spolu se silnou vazbou na molekulu vody.



**Obr. 7.:** Schémata molekulární struktury gellanu.

- A. Tvar jednoduché a zdvojené šroubovice z bočního a vertikálního pohledu.
- B. Schéma agregace zdvojených šroubovic v němž přerušené čáry představují vrstvu zdvojených šroubovic a pevná čára trojrozměrnou fází dvou vrstev, sestávajících z 24 zdvojených šroubovicových molekul polysacharidu.

Komerčně se gellan vyrábí aerobní mokrou fermentací sacharidů čistou kulturou *Pseudomonas elodea* [38]. Před použitím v potravinářském sektoru pod kódovým označe-

ním E 418 se produkt zbavuje acetylových substituentů působením alkálií, při čemž původní, tekutý, elastický a transparentní materiál tvrdne a stává se křehkým. Komerční, hydrolyzovaná forma gellanu, není dále schopná interferovat se spirálovými agregáty za tvorby gelu, jak je tomu např. při účasti mono- a bivalentních iontů, jejich dostatečných koncentrací a velikosti pH [39].

Vlastnosti a použití gellanu jsou primárně odvislé od stupně acetylce a odtud vyplývajícími možnostmi uplatnění iontových vazeb při agregaci molekul polysacharidu. Polymer je nejčastěji používán jako stabilizátor a zahušťovadlo [38], v medicíně a farmaceutickém průmyslu např. při výrobě léků (očních kapek) a jejich obalů [40]. Schopnosti gellanu tvořit nerozpustné gely jej činí v podstatě méně vhodným materiálem pro použití v potravinářském průmyslu s výjimkou takových aplikací, jako jsou např. džemy, potravinářské polevy apod. [41]. Na druhé straně např. oblast výroby biodegradabilních plastů může dobře využít jeho ostatních vyjímečných vlastností [42].

Biodegradativními procesy směsí gellanu se zabývá většina dalších odborných studií téměř výhradně v souvislosti s aplikacemi polysacharidu a jeho směsí v oblasti medicíny, svojí povahou značně vzdálenými od aplikací fólií PVA.

Zajímavé biosyntetické polymerní materiály ve formě hydrogelů lze získat ze směsí gellanu a poly(vinylalkoholu) v souvislosti s jejich aplikacemi v cyklech mrazení – tání. Gellan ve směsi přispívá k přednostnímu růstu krystalitů PVA, což ovlivňuje tvorbu podstatně homogennější a stabilnější krystalické struktury celé směsi.

Studiem směsných filmů elastického polysacharidu, jako je gellan a tuhého olefinického polymeru, jakým je PVA za použití glycerinu jako změkčovadla se zabývá práce [43]. Připravené filmy byly analyzovány diferenciální kalorimetrií, infračervenou spektroskopií a testováním mechanických vlastností bez mikrobiálních aspektů. Jednotlivé isotermy směsi a jejich posuny, teploty tání a změny teplot II. řádu, zejména však posuny poloh IR-spektra v oblast OH-absorpce jsou interpretovány jako důkaz existence molekulárních interakcí mezi oběma polymery a síťování bez jejich izolované účasti ve směsi. Dobré mechanické vlastnosti těchto směsných materiálů naznačují, že ve formě fólií mohou být potenciálně využity např. jako požitelné obaly potravin.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

ÚIOŽP University Tomáše Bati ve Zlíně se dlouhodobě zabývá chováním směsných PVA folií modifikovaných přírodními polymery v biotickém prostředí. Soustřeďuje se při tom na urychlení procesů mikrobiálního odbourání PVA a jeho směsí podle potřeb průmyslových odvětví, využívajících mimořádné hydrofilní povahy polymeru především jako obalového materiálu a obecně výrobků krátkodobé spotřeby a to s ohledem na problémy, související s mikrobiální likvidací jejich odpadů.

V uvedených souvislostech byly v minulých letech na ústavu studovány hydrolyzáty koželužských bílkovinných odpadů, hydrolyzáty kolagenu, kombinace se škrobem, ligninem a glycerinem, s plastifikovaným škrobem a kaprolaktamem. Nadějně výsledky z hlediska biologické degradace PVA ve vodném prostředí poskytly tak zejména jeho směsi s bílkovinnými hydrolyzáty, připravenými enzymatickou hydrolyzou z odpadů chromočiněných úsní, což je zajímavým zjištěním i z hlediska ekonomického.

Předmětem současného zájmu v dané oblasti je speciální skupina extracelulárních polysacharidů, reprezentovaná komerčně vyráběnými typy, používanými v současnosti především v potravinářském průmyslu. Patří mezi ně zejména exopolysacharidy typu xanthanu a gellanu, jejichž strukturu tvoří celulosový řetězec, který je na třetím uhlíku alternujících glukosylových zbytků částečně substituován koncovými acetylovými a pyruvylovými resp. L-glycerylovými aktivními skupinami.

Cílem studia této diplomové práce je rozšířit poznatky o možnostech modifikace směsných systémů PVA pro potřeby biologického znehodnocování a likvidace jejich odpadů, což je dosud stále závažným environmentálním i ekonomickým problémem mineralizace všech vyráběných syntetických polymerů a výrobků po ukončení jejich potřeby, jakmile se stanou nežádoucím odpadem.

## 6 EXPERIMENTÁLNÍ DATA

### 6.1 Použité chemikálie a materiály

#### 6.1.1 Chemikálie

Při laboratorních pokusech byly použity chemikálie firmy Lachema a.s., Česká republika a firmy Penta a.s., Česká republika pokud není uvedeno jinak.

dihydrogenfosforečnan draselný	$\text{KH}_2\text{PO}_4$
fenolftalein	
hydrogenfosforečnan draselný dodekahydrát	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
hydroxid barnatý	$\text{Ba}(\text{OH})_2$
hydroxid sodný	$\text{NaOH}$
hydroxyd draselný	$\text{KOH}$
chlorid barnatý	$\text{BaCl}_2$
chlorid vápenatý	$\text{CaCl}_2$
chlorid železitý hexahydrát	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
jod	$\text{I}_2$
jodid draselný	$\text{KI}$
kyselina boritá	$\text{H}_3\text{BO}_3$
kyseliny chlorovodíková	$\text{HCl}$
methyloranž	
molybdenan amonný tetrahydrát	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
síran amonný	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
síran hořečnatý heptahydrát	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
síran kobaltnatý heptahydrát	$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
síran manganatý tetrahydrát	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
síran měďnatý pentahydrát	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
síran zinečnatý heptahydrát	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
síran železnatý heptahydrát	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
PVA Sloviol 88-08	Novácké závody a.s. SR

### 6.1.2 Roztok biomédia

K přípravě biomédia bylo použito zásobních roztoků, připravených rozpuštěním následujících chemikálií v 1 litru destilované vody:

#### 1) fosfátový pufr

8,2g	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Dihydrogenfosforečnan draselný
21,75g	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Hydrogenfosforečnan draselný dodekahydrát
44,7g	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát

#### 2) 10g

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  Síran amonný

#### 3) 27,5g

$\text{CaCl}_2$  Chlorid vápenatý

#### 4) 0,25g

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  Chlorid železitý hexahydrát

#### 5) 22,5g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  Síran hořečnatý heptahydrát

#### 6) roztok stopových prvků

0,75g	$\text{H}_3\text{BO}_3$	Kyselina boritá
0,05g	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Molybdenan amonný tetrahydrát
0,18g	$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Síran kobaltnatý heptahydrát
0,5g	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Síran manganatý tetrahydrát
0,05g	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Síran měďnatý pentahydrát
0,1g	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Síran zinečnatý heptahydrát
3g	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Síran železnatý heptahydrát

### Příprava biomédia:

Do litrové odměrné baňky bylo vpraveno 800 ml destilované vody, přidáno po 1 ml zásobních roztoků **3**) – **6**), 20 ml roztoku **1**) a 5 ml roztoku **2**). Směs se po důkladném promíchání doplnila destilovanou vodou po rysku.

### 6.1.3 Biologický materiál – inokulum

Inokulum bylo připraveno z aktivovaného kalu z městské čistírny odpadních vod v Malenovicích, zbaveného hrubých nečistot filtrací přes síto a třikrát dekantovaného pitnou vodou. Potřebný objem takto předčištěného kalu byl odstředován při  $3000 \text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  po dobu 10 min. Takovým způsobem byl získán nezaočkovaný kal.

Následně byl k takto předčištěnému aktivovanému kalu přidán substrát (PVA SLOVIOL 88-08), tato směs byla doplněna biomédiem na objem reaktoru (2,5 l) a 6 dní zaočkována v reaktoru za neustálého provzdušňování.

Poté následovalo odebrání potřebného množství adaptovaného kalu a odstředění biomasy při 3000 ot.min<sup>-1</sup> po dobu 10 min. Po odstranění supernatanu a zbytkového PVA byla biomasa suspendována v biomédiu.

## 6.2 Charakteristika testovaných směsných roztoků

### Charakteristika jednotlivých komponent obsažených ve vzorcích

Polyvinylalkohol – Sloviol P 88-08: viskozita 4% vodného roztoku při teplotě 20°C: 8mPa.s; stupeň hydrolyzy 88mol%, obsah acetátových skupin 12 %, prášková forma; obsah uhlíku 47,48 %; sušina 98,26 %; výrobce Novácké závody a.s., SR.

Hydrolyzát kolagenu – Hykol E: příprava enzymatickou hydrolyzou chromočiněných postužin; obsah dusíku 14 %; obsah uhlíku 47,2 %; sušina 97,38 %;  $M_r=1000 \text{ g.mol}^{-1}$ ; prášková forma výrobce Tanex Jaroměř a.s., ČR.

Škrob – Meritena 100: přírodní neupravený kukuřičný škrob; obsah uhlíku 38,38 %; sušina 98,23 %.

Glycerol: 1,2,3-propantriol, odpadní produkt reesterifikace mastných kyselin při výrobě bionafty; obsah uhlíku 39,13 %; výrobce Lachema a.s., ČR.

Xanthan Gum: obsah uhlíku 31,31 %; sušina 94,36 %; výrobce Fluka, ČR .

Xanthan potravinářský: obsah uhlíku 30,76 %; sušina 90,94 %; TIC Gums, USA.

Gellan Gum: obsah uhlíku 30,22 %; sušina 93,80 %; Fluka, ČR .

Gellan LT100: - obsah uhlíku 35,39 %; sušina 96,75 %; CP Kelco, USA.

Gellan F: obsah uhlíku 34,75 %; sušina 96,98 %; CP Kelco, USA.



### 6.2.1 Rozpis plánovaného experimentu

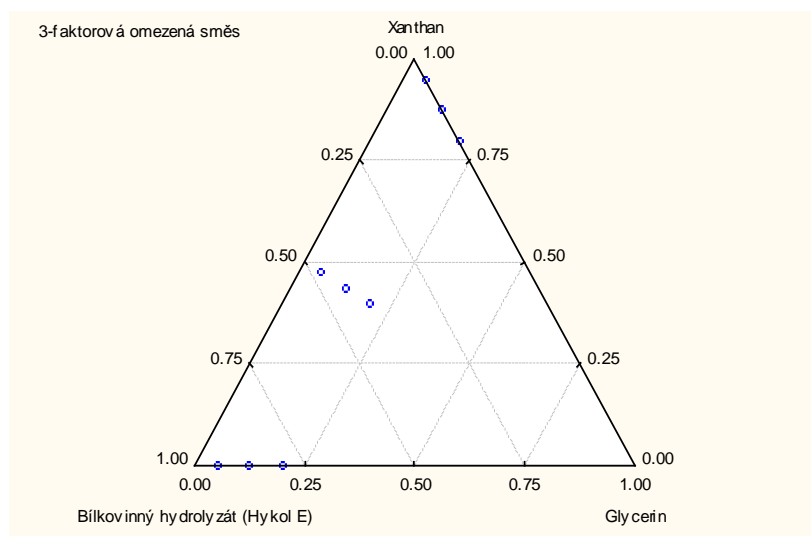
Vliv obsahu hydrolyzátu kolagenu, potravinářského xanthanu a glycerinu na biologickou rozložitelnost PVA byl sledován pomocí metodiky plánovaného experimentu. Plánovaný experiment tvoří určitým způsobem uspořádání jednotlivých pokusů experimentu (v našem případě různé složení směsí) tak, aby umožnili efektivní vyhodnocení experimentu.

#### Příprava a složení modifikovaných směsí PVA

Celková směs obsahovala vždy 70 % PVA jako neměnnou složku a zbylých 30 % představovali modifikátory bílkovinný hydrolyzát, potravinářský xanthan a glycerin, jejichž jednotlivé zastoupení ve směsi se měnilo podle **tab. I**. Poměr mezi jednotlivými modifikátory je následně uveden v **tab. II**, jež byla sestavena na základě plánovaného experimentu 3 faktorové omezené směsi, znázorněné na **obr. 8**.

**Tab. I.:** Procentuelní zastoupení jednotlivých složek ve směsích při celkové koncentraci směsí cca 200mg.l<sup>-1</sup> v reaktoru

Směs	PVA	Hykol	Glycerol	Xanthan potr.
1	70%	28,50%	1,50%	-
2	70%	-	1,50%	28,50%
3	70%	24%	6%	-
4	70%	-	6%	24%
5	70%	-	3,75%	26,25%
6	70%	26,25%	3,75%	-
7	70%	14,25%	1,50%	14,25%
8	70%	12%	6%	12%
9	70%	13,125%	3,75%	13,125%



**Obr. 8.:** Návrh ternárního grafu - 3-faktorové omezené směsi

**Tab.II.:** Procentuelní zastoupení jednotlivých modifikačních složek ve směsích

Vrchol (V) Střed (S)	3-faktorová omezená směs			
	Replik.	Biotinový hydrolyzát	Glycerin	Xanthan
1 V	1	95.00	5.00	0.00
2 V	1	0.00	5.00	95.00
3 V	1	80.00	20.00	0.00
4 V	1	0.00	20.00	80.00
5 S(1)	1	0.00	12.50	87.50
6 S(1)	1	87.50	12.50	0.00
7 S(1)	1	47.50	5.00	47.50
8 S(1)	1	40.00	20.00	40.00
9 S(2)	1	43.75	12.50	43.75
10 V	2	95.00	5.00	0.00
11 V	2	0.00	5.00	95.00
12 V	2	80.00	20.00	0.00
13 V	2	0.00	20.00	80.00
14 S(1)	2	0.00	12.50	87.50
15 S(1)	2	87.50	12.50	0.00
16 S(1)	2	47.50	5.00	47.50
17 S(1)	2	40.00	20.00	40.00
18 S(2)	2	43.75	12.50	43.75
19 V	3	95.00	5.00	0.00
20 V	3	0.00	5.00	95.00
21 V	3	80.00	20.00	0.00
22 V	3	0.00	20.00	80.00
23 S(1)	3	0.00	12.50	87.50
24 S(1)	3	87.50	12.50	0.00
25 S(1)	3	47.50	5.00	47.50
26 S(1)	3	40.00	20.00	40.00
27 S(2)	3	43.75	12.50	43.75

Jednotlivé směsi 1-9 byly měřeny třikrát po sobě, což je patrné ze sloupce **replik**. a to z důvodu reprodukovatelnosti výsledků.

### 6.3 Metody sledování biologického rozkladu

Biodegradace u všech pokusů probíhala ve třílitrových Erlenmayerových baňkách s obsahem kultivačního roztoku 2500 ml. Všechny naplněné reaktory obsahovaly potřebné množství nutričních prvků  $C : N : P = 100 : 10 : 1$  tak, jak jsou zastoupeny v biomédium. U každého pokusu byly na začátku a na konci stanoveny hodnoty pH a sušiny kalové suspenze.

Substrát ve formě prášku (s výjimkou glycerinu) byl navážen a pomocí biomédia kvantitativně převeden do reaktoru. Jeho aktuální koncentrace odpovídala vždy hodnotě  $0,2 \text{ g.l}^{-1}$ . Zdrojem mikroorganismů bylo inokulum, zaočkované na PVA, o sušině  $0,5 \text{ g.l}^{-1}$  (u série 1 až 4), resp.  $0,45 \text{ g.l}^{-1}$  (u série 5 až 10 – plánovaný experiment). Souběžně s jednotlivými vzorky byl vždy realizován i slepý pokus, při němž místo substrátu bylo dávkováno biomédium. Stanovení byla prováděna při laboratorní teplotě  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Biologická degradabilita byla sledována u jednotlivých experimentu dvěmi metodami. První metodou bylo hodnocení podle produkce  $\text{CO}_2$ , druhou hodnocení z hlediska úbytku PVA. Jednotlivé experimenty probíhaly v aparatuře pro sledování biodegradace pomocí výše jmenovaných metod.

#### 6.3.1 Hodnocení biodegradability podle produkce $\text{CO}_2$

K posouzení aerobní biodegradace ve vodném prostředí bylo použito respirometrického stanovení dle normy ASTM D 5209-92 [44] na základě určení množství mikrobiálními pochody vyprodukovaného  $\text{CO}_2$ .

Princip metody spočíval ve stanovení produkce  $\text{CO}_2$  mikrobiální kulturou, která se podílí na rozkladu testované látky. Sledovaný vzorek byl zde jediným zdrojem organického uhlíku a energie. Vzniklý  $\text{CO}_2$  byl jímán v roztoku 1M NaOH a jeho množství poté stanoveno titračně. Základním kritériem biodegradability byl tedy poměr skutečně vyprodukovaného  $\text{CO}_2$  vznikajícího při mikrobiálním rozkladu k teoretickému množství, danému bilancí uhlíku, přítomného ve vzorku.

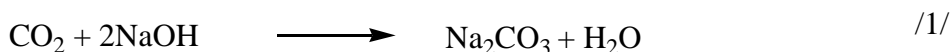
### Postup:

V průběhu biodegradace byly měněny absorbéry s absorpčními roztoky (30ml 1M NaOH) za jednotlivými reaktory a nahrazovány čerstvými v časovém intervalu asi 24h. Množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub>, zachyceného v absorpčním roztoku, bylo stanoveno titrační metodou:

- z absorbérů bylo odebráno 5ml částečně vyčerpaného roztoku cca 1M NaOH, k němuž bylo přidáno 5,5ml 0,5M BaCl<sub>2</sub> pro vysrážení uhličitanu barnatého. Nezareagovaný NaOH byl následně titrován cca 1M HCl na fenolftalein do odbarvení. Množství CO<sub>2</sub> bylo vypočteno z rovnice /5/.

Přesná koncentrace HCl byla stanovena standardizací na roztok cca 1M KHCO<sub>3</sub>, za přítomnosti indikátoru methyloranže, jako indikátoru.

### Reakce:



### Výpočty:

- *teoretické množství CO<sub>2</sub> uvolněného úplnou oxidací organického uhlíku ve vzorku:*

$$Th_{\text{CO}_2} = \frac{m_A \cdot w_{A\%} + m_B \cdot w_{B\%}}{M_r(\text{C}) \cdot 100} \quad /4/$$

kde

Th <sub>CO<sub>2</sub></sub>	teoretické množství CO <sub>2</sub> (mol.l <sup>-1</sup> )
m <sub>A</sub> , m <sub>B</sub>	obsah jednotlivých látek obsažených ve vzorku (g.l <sup>-1</sup> )
w <sub>A</sub> %, w <sub>B</sub> %	procentuelní zastoupení uhlíku v jednotlivých látkách (%)
M <sub>r</sub> (C)	molární hmotnost uhlíku (g.mol <sup>-1</sup> )

- ***množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub>:***

$$n_{CO_2} = \frac{1}{2} \left( V_{NaOH} \cdot c_{NaOH} - \frac{c_{HCl} \cdot V_{HCl} \cdot V_{NaOH}}{V_{NaOHtitr}} \right) \quad /5/$$

kde

$n_{CO_2}$	látkové množství zachyceného CO <sub>2</sub> (mol.l <sup>-1</sup> )
$V_{NaOH}$	objem NaOH v absorbéru (l)
$c_{NaOH}$	koncentrace NaOH v absorbérech (mol.l <sup>-1</sup> )
$c_{HCl}$	koncentrace odměrného roztoku HCl (mol.l <sup>-1</sup> )
$V_{HCl}$	objem odměrného roztoku HCl spotřebovaný při titraci (l)
$V_{NaOH\ titr.}$	objem NaOH odebraný k titraci (l)

- ***procento rozkladu substrátu z hlediska bilance CO<sub>2</sub>:***

$$D_{CO_2} = \frac{(n_{CO_2\ vzorek} - n_{CO_2\ sl. pokus})}{Th_{CO_2} \cdot Vr} \cdot 100 \quad /6/$$

kde

$D_{CO_2}$	procento rozkladu z hlediska CO <sub>2</sub> (%)
$n_{CO_2\ vzorek}$	množství vyprodukovaného CO <sub>2</sub> ze vzorku (mol.l <sup>-1</sup> )
$n_{CO_2\ sl. pokus}$	množství vyprodukovaného CO <sub>2</sub> slepým pokusem (mol.l <sup>-1</sup> )
$Th_{CO_2}$	teoretické množství CO <sub>2</sub> (mol.l <sup>-1</sup> )
$Vr$	objem reakční směsi (l)

### **6.3.2 Hodnocení biodegradability z hlediska sledování úbytku PVA**

Princip zkoušky spočívá ve sledování úbytku PVA z reakční suspenze. PVA s trijodidem v přítomnosti kyseliny borité tvoří komplex modrého zbarvení, jehož intenzita se mění s koncentrací PVA. Těto vlastnosti je možno využít pro spektrofotometrické stanovení PVA v koncentracích 0–20 mg.l<sup>-1</sup>[45].

#### **Postup:**

Odebraný vzorek (3-9 ml) byl do poloviny 50 ml odměrné baňky doplněno destilovanou vodou. Poté bylo přidáno 15 ml kyseliny borité (40 g.l<sup>-1</sup>) a 3ml roztoku jodu (12,7 g.l<sup>-1</sup>) s jodidem draselným (25 g.l<sup>-1</sup>) a vše doplněno vodou po rysku. Po důkladném promí-

chání byl vzniklý roztok podroben spektrofotometrickému stanovení na přístroji Spekol při vlnové délce  $\lambda=658$  nm. Koncentrace přítomného PVA byla vypočtena z rovnice regresní přímky kalibrační závislosti. Kalibrační závislost byla stanovena z kalibračních standardů o koncentracích PVA 0 až 20 mg.l<sup>-1</sup>.

### Výpočty:

- *Výpočet průměrné specifické rychlosti rozkladu  $q_{PVA}$ :*

$$q_{PVA} = \frac{S_0 - S_{90}}{t_{90} \cdot X_0} \quad /7/$$

kde

$q_{PVA}$	průměrná specifická rychlost rozkladu (mg.g <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )
$S_{90}$	zbytková hodnota substrátu v čase $t_{90}$ (mg.l <sup>-1</sup> )
$t_{90}$	čas potřebný pro odstranění 90 % biologicky rozložitelného podílu (h)
$X_0$	počáteční koncentrace sušiny inokula (g.l <sup>-1</sup> )

- *Výpočet zbytkové hodnoty substrátu v čase  $t_{90}$ ,  $S_{90}$ :*

$$S_{90} = S_0 - (S_0 - S_z) \cdot 0,90 \quad /8/$$

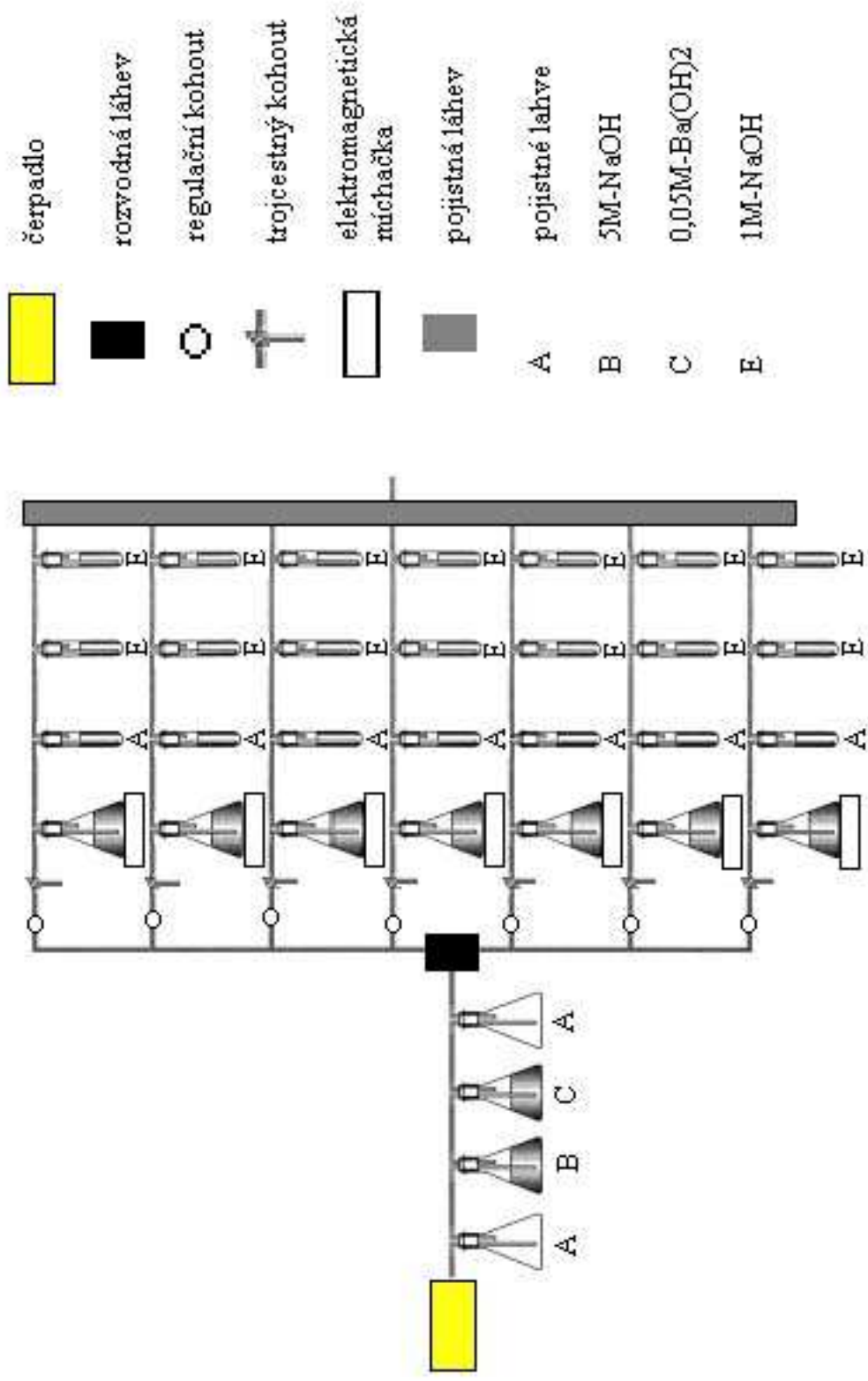
kde

$S_z$	zbytková hodnota substrátu (mg.l <sup>-1</sup> )
-------	--

### 6.3.3 Měřicí aparatura pro sledování biodegradace

Aparatura (**Obr. 9.**) pro biodegradaci ve vodním aerobním prostředí, svou konstrukcí umožnila sledovat jak produkci CO<sub>2</sub>, tak i úbytek substrátu (PVA) z reakční suspenze. Byla složena ze tří částí, počínaje čerpadlem a čistící větví pro všechny reaktory. Byla tvořena čtyřmi promývacími lahvemi, z nichž první a poslední byly pojistné (prázdné). Druhá láhev byla čistící a obsahovala 200ml 5M NaOH. Třetí láhev byla indikační a obsahovala 200ml 0,05M Ba(OH)<sub>2</sub> – pokud se zde začala tvořit bílá sraženina indikovala vyčerpání čistící láhve. Z těchto lahví byl vzduch prostý CO<sub>2</sub> vháněn do pojistné láhve a odtud přes regulační teflonové kohouty rozveden do samotných reaktorů.

Reaktory představovala sada sedmi třilitrových Erlenmayerových baněk, v nichž probíhala biodegradace. Rychlost proudění vzduchu pro každý reaktor byla 50–100 ml.min<sup>-1</sup>.



Obr.9.: Návrh aparatury pro biodegradaci ve vodním prostředí [12]

Třetí, detekční část byla tvořena sadou tří absorbérů pro každý reaktor, zapojených v sérii. První byl pojistný, další dva obsahovaly po 30ml 1M-NaOH. V těchto absorbérech docházelo k absorpci vyprodukovaného CO<sub>2</sub>, následně stanoveného titrační metodou. Konečným prvkem byla pojistná láhev, do které ústil vzduch z jednotlivých absorbérů.

Součástí každého reaktoru byl třícestný kohout, jehož pravoúhlý profil umožňoval přívod vzduchu do reaktoru a změnou polohy odběr vzorků z reaktoru za stálého míchání suspenze. Odebírán byl vždy přesný objem a výsledky byly vztahovány na 1l suspenze.

## **6.4 Další analýzy a postupy, přístroje**

### **Stanovení sušiny aktivovaného kalu**

Stanovení bylo prováděno vakuovou filtrací 10ml suspenze aktivovaného kalu přes předem zvážený filtrační papír (o plošné hmotnosti 85g.m<sup>-2</sup>) a to třikrát vedle sebe, vysušením při teplotě 105°C do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exikátoru zvážením na analytických vahách. Sušina aktivovaného kalu byla vyjádřena rozdílem hmotností v g.l<sup>-1</sup>.

### **Stanovení hodnoty pH**

Po nakalibrování pH metru pomocí dvou tlumivých roztoků s hodnotami pH nižší a vyšší než je pH měřeného vzorku, byla za stálého míchání stanovena hodnota pH daného vzorku.

### **Použité přístroje a zařízení**

Analytické váhy R 180D, Sartorius GmbH, SRN

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

Spektrometr Spekol, Polsko

Elektromagnetické míchačka MM2A

Míchadlo magnetické MR1000

pH metr inoLab pH 730 fy WTW

Vzduchovací motorek SECON BNI 211

Centrifuga METRIMTEX, Maďarsko

Sušárna Memmert model 100, SRN

Běžné laboratorní sklo a vybavení



Všechny hodnoty byly zpracovány tabelárně a graficky pomocí počítačových programů Word a Excel a Statistica CZ.6.

## 7 VÝSLEDKY A KOMENTÁŘE

### 7.1 Vstupní a výstupní parametry hodnocení

Mikrobiální degradace analyzovaných vzorků byla hodnocena:

- produkcí CO<sub>2</sub> podle ASTM 5209-92
- úbytkem substrátu v reakční suspenzi (PVA)
- průměrnou specifickou rychlostí rozkladu

Všechny pokusy byly uskutečněny za srovnatelných podmínek a doplněny standardními analýzami pH, sušiny inokula a hodnot koncentrace organického uhlíku na konci pokusu.

Další část této práce je věnována vyhodnocení a komentářům jednotlivých experimentů, a to v tématické posloupnosti. Vzhledem ke značné kvantitě těchto výsledků je nejprve uvedena legenda k tabulkám pro vstupní a výstupní parametry.

Legenda k tabulkám pro vstupní a výstupní parametry:

TC	koncentrace celkového uhlíku [mg.l <sup>-1</sup> ]
IC	koncentrace anorganického uhlíku [mg.l <sup>-1</sup> ]
TOC	koncentrace veškerého organického uhlíku [mg.l <sup>-1</sup> ]
TOC <sub>poč.</sub>	hodnota TOC na počátku pokusu [mg.l <sup>-1</sup> ]
TOC <sub>kon.</sub>	hodnota TOC na konci pokusu [mg.l <sup>-1</sup> ]
D <sub>TOC</sub>	procentuální úbytek TOC [%]
ΣCO <sub>2</sub>	kumulativní množství CO <sub>2</sub> na konci pokusu [mmol]
Th <sub>CO2</sub>	teoretická produkce CO <sub>2</sub> [mmol]
D <sub>CO2</sub>	procento rozkladu na základě bilance CO <sub>2</sub> [%]
pH <sub>poč.</sub>	hodnota pH na počátku pokusu
pH <sub>kon.</sub>	hodnota pH na konci pokusu
sušina <sub>poč.</sub>	hodnota sušiny na počátku pokusu
sušina <sub>kon.</sub>	hodnota sušiny na konci pokusu
PVA <sub>poč.</sub>	koncentrace PVA na počátku pokusu [mg.l <sup>-1</sup> ]
PVA <sub>kon.</sub>	koncentrace PVA na konci pokusu [mg.l <sup>-1</sup> ]
D <sub>PVA</sub>	procentuální úbytek PVA [%]
q <sub>PVA</sub>	průměrná specifická rychlost rozkladu [mg.g <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> ]

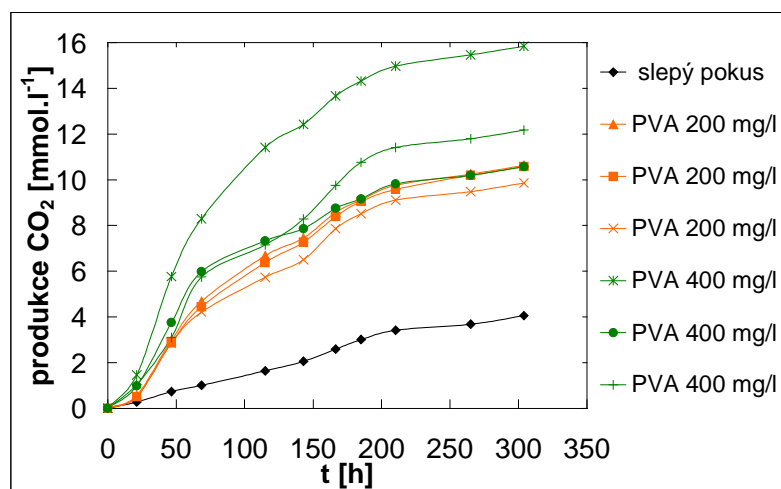
## 7.2 Hodnocení biodegradace čistých složek směsí

### 7.2.1 Polyvinylalkohol

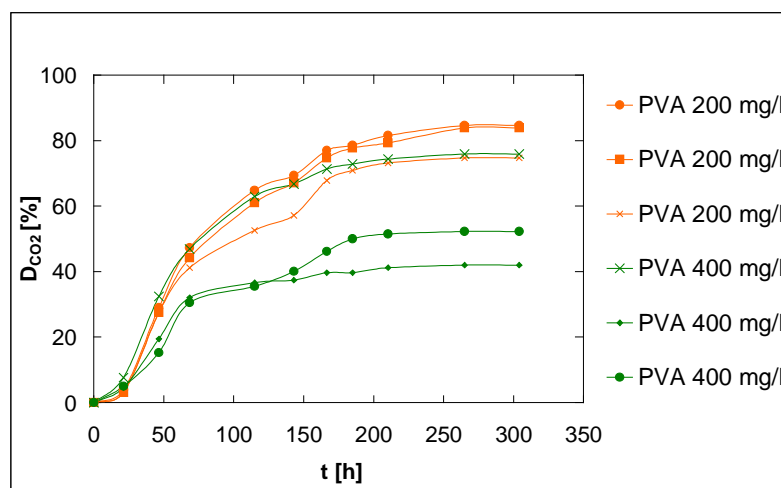
Předmětem studia bylo definování standardu PVA z hlediska jeho mikrobiálního odbourání za daných podmínek experimentu, včetně posouzení reprodukovatelnosti stanovení parametrů degradace. Biodegradabilita byla sledována při dvou různých koncentracích a to vždy třikrát vedle sebe. Koncentrace 400 mg.l<sup>-1</sup> je dána normou stanovení, ale pro srovnání jsme sledovali i danou látku o koncentraci 200 mg.l<sup>-1</sup>, za přítomnosti na PVA zaočkovaného aktivovaného kalu.

**Tab. III.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 1

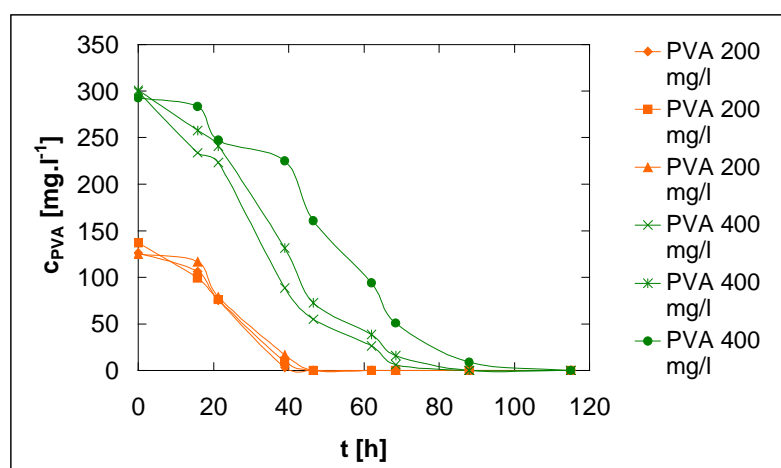
Sledované parametry		Slepý pokus	PVA 200 mg.l <sup>-1</sup>				PVA 400 mg.l <sup>-1</sup>		
Doba testu	[h]	304	304	304	304	304	304	304	
TOC <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	11,16	103,50	102,50	105,50	172,20	176,80	176,10	
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	4,96	7,51	5,61	8,26	9,55	9,49	9,54	
D <sub>TOC</sub>	[%]	-	99,51	100,00	99,33	97,10	100,00	100,00	
□nCO <sub>2</sub>	[mmol]	4,06	10,63	10,57	9,86	15,84	10,57	12,17	
Th <sub>CO<sub>2</sub></sub>	[mmol]	-	7,77	7,77	7,77	15,52	15,52	15,52	
D <sub>CO<sub>2</sub></sub>	[%]	-	84,63	83,87	74,72	75,92	41,96	52,27	
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	126,50	136,89	125,08	299,43	300,85	292,34	
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	
pH <sub>poč.</sub>		7,6	7,5	7,5	7,5	7,35	7,1	7,2	
pH <sub>kon.</sub>		6,8	6,75	6,8	6,8	6,65	6,7	6,7	
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,256	0,248	0,289	0,227	0,235	0,301	0,253	



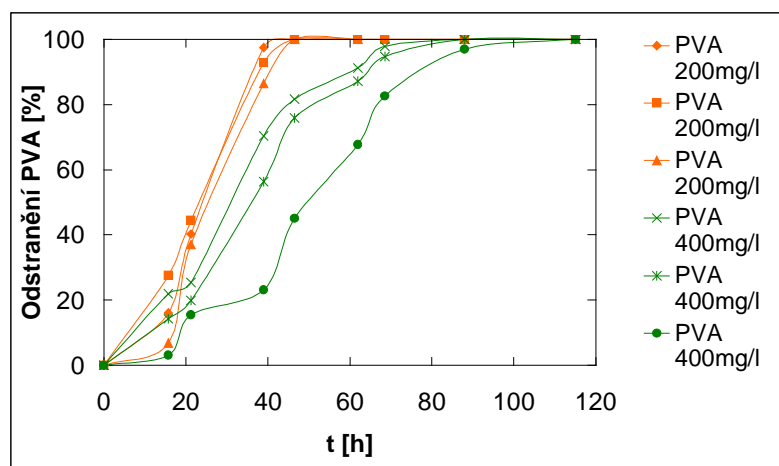
Obr. 10.: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>



Obr. 11.: Procentuální odstranění podle D<sub>CO<sub>2</sub></sub>



Obr. 12.: Úbytek PVA z reakční suspenze



**Obr. 13.:** Procentuální odstranění PVA

Biodegradace samotného polyvinylalkoholu byla hodnocena na dvou úrovních koncentrací roztoků – 0,2 resp. 0,4 g.l<sup>-1</sup>, což se nejnázorněji odráží na vývoji absolutních hodnot úbytku substrátu (**obr. 12**). V procentálním vyjádření není tento logický vývoj již tak zřetelný, jako u produkce oxidu uhličitého, indikujícího úplný biologický rozklad.

V souhrnu je možno konstatovat, že při koncentraci roztoků 0,2 g.l<sup>-1</sup> probíhají biodegradativní procesy PVA za daných podmínek experimentu a hodnocení s podstatně vyšší reprodukovatelností, než v případě dvojnásobné koncentrace. Procentuální úbytek substrátu v závislosti na době expozice má tvar exponenciální funkce bez lagové fáze a dosahuje svého maxima již zhruba po čtyřicetihodinové expozici.

Na základě těchto výsledků bylo použito pro přípravu směsných roztoků celkové koncentrace substrátu 0,2 g.l<sup>-1</sup>.

### 7.2.2 Extracelulární polysacharidy

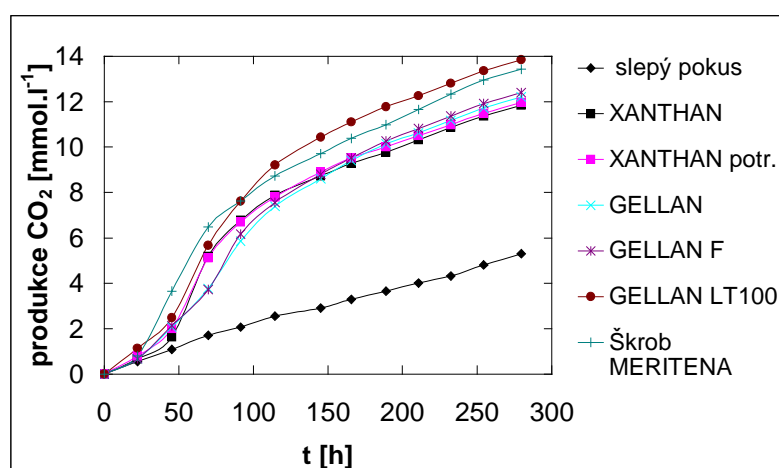
Podle výsledků předchozího experimentu je možno považovat za prokázané, že metoda stanovení produkce CO<sub>2</sub> má v případě PVA dostatečnou vypovídací schopnost o biodegradabilním chování analyzovaných vzorků a je v dobré korelaci se stanovením úbytku substrátu. V případě hodnocení biodegradability extracelulárních polysacharidů xanthanu a gellanu nejsou však v současné době k dispozici vhodné analytické metody definování koncentrace substrátu ve vodných roztocích, jako je tomu u PVA. Hlavním důvodem je špatná rozpustnost extracelulárních polysacharidů ve vodě, která je omezujícím faktorem

při aplikaci metody stanovení TOC. Systém hodnocení byl tak nuceně redukován na registraci vývoje CO<sub>2</sub> v průběhu mikrobiální degradace bez možností uplatnění nezávislé kontrolní metody.

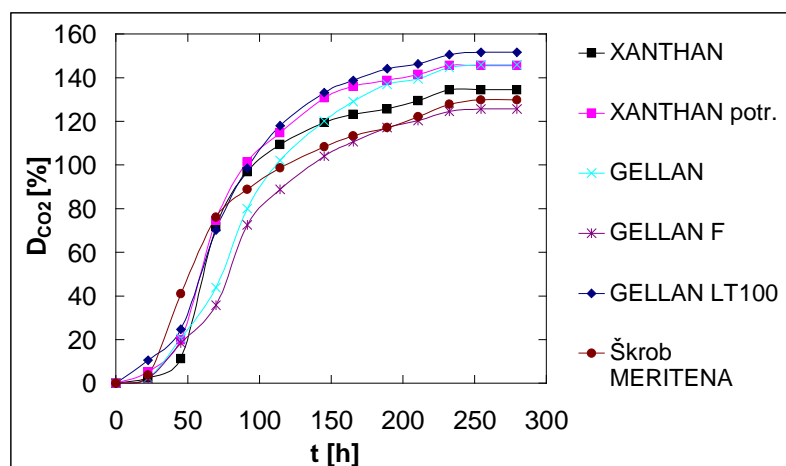
Při sledování biodegradability extracelulárních polysacharidů v sériích 2 a 3 bylo pracováno s nezaočkovaným kalem.

**Tab. IV.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 2

Sledované parametry		slepý pokus	XANTHAN	XANTHAN potr.	GELLAN	GELLAN F	GELLAN LT100	Škrob MERITENA
Doba testu	[h]	279,5	279,5	279,5	279,5	279,5	279,5	279,5
S nCO <sub>2</sub>	[mmol]	5,30	11,85	11,97	12,22	12,40	13,85	13,44
Th <sub>CO2</sub>	[mmol]	-	4,87	4,59	4,74	5,65	5,64	6,27
D <sub>CO2</sub>	[%]	-	134,46	145,42	145,89	125,70	151,65	129,82
pH <sub>poč.</sub>		7,5	7,5	7,5	7,4	7,4	7,4	7,5
pH <sub>kon.</sub>		7,32	7,54	7,54	7,56	7,61	7,3	7,33
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,333	0,504	0,568	0,528	0,45	0,512	0,536



**Obr. 14.:** Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>

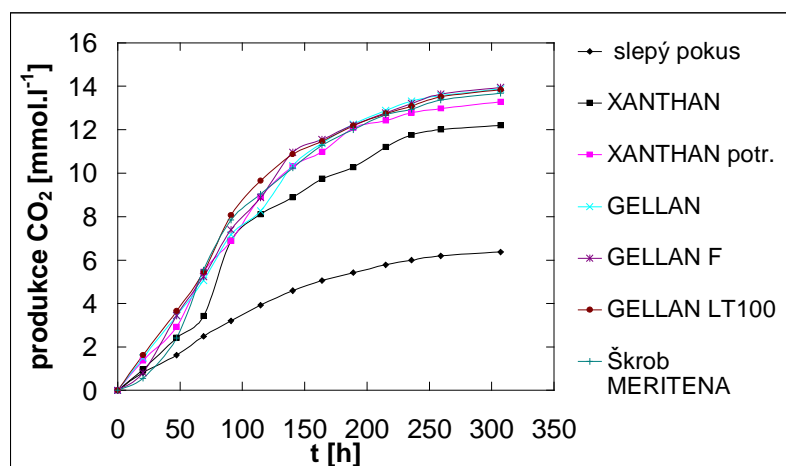


**Obr. 15.:** Procentuální odstranění podle D<sub>CO2</sub>

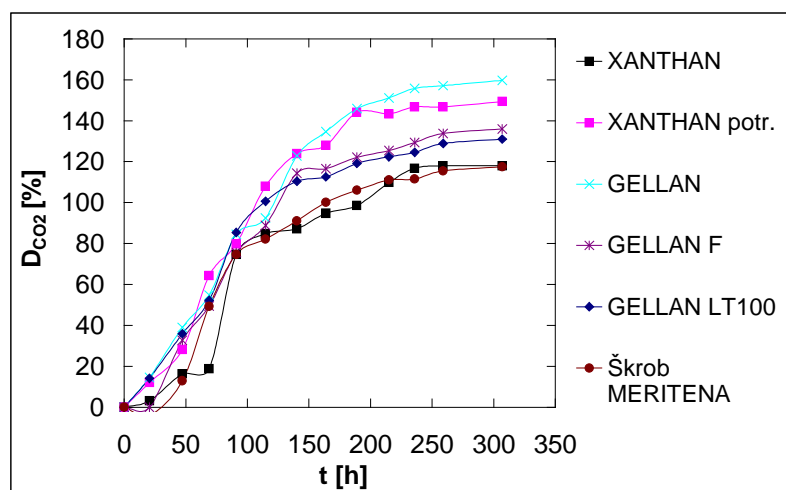
**Série 3 + 4:** V sérii 3 byla sledována biodegradabilita extracelulárních polysacharidů, která sloužila rovněž jako adaptace inokula na tyto látky pro experiment v sérii 4, při němž byla sledována biodegradace čistého PVA inokulem adaptovaným na výše zmíněné látky. Série 3 probíhala se stejnými látkami jako série 2 a tudíž sloužila i jako kontrola reprodukovatelnosti.

**Tab. V.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 3

Sledované parametry		Slepý pokus	XANTHAN	XANTHAN potr.	GELLAN	GELLAN F	GELLAN LT100	Škrob MERITENA
Doba testu	[h]	307	307	307	307	307	307	307
S nCO <sub>2</sub>	[mmol]	6,37	12,20	13,28	13,88	13,95	13,83	13,68
Th <sub>CO2</sub>	[mmol]	-	4,93	4,62	4,70	5,58	5,69	6,22
D <sub>CO2</sub>	[%]	-	118,00	149,44	159,77	135,97	131,06	117,48
pH <sub>poč.</sub>		7,6	7,71	7,78	7,68	7,62	7,6	7,7
pH <sub>kon.</sub>		7,42	7,36	7,52	7,29	7,45	7,38	7,41
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,07	0,179	0,196	0,413	0,455	0,456	0,474



Obr. 16.: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>

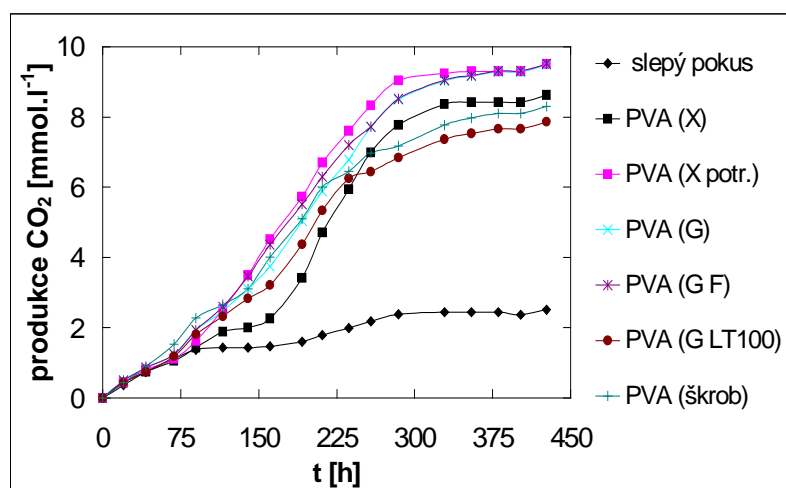


Obr. 17.: Procentuální odstranění podle D<sub>CO2</sub>

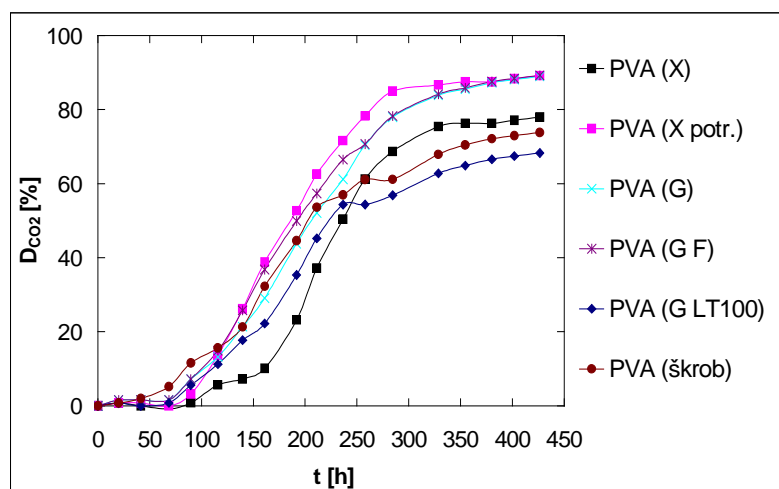


**Tab. VI.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 4

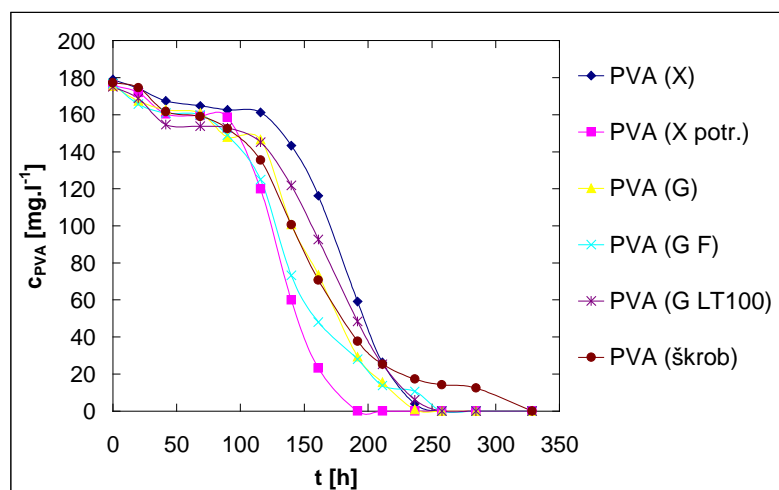
Sledované parametry		slepý pokus	PVA (X)	PVA (X potr.)	PVA (G)	PVA (G F)	PVA (G LT100)	PVA (škrob)
Doba testu	[h]	426,5	426,5	426,5	426,5	426,5	426,5	426,5
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	24,31	15,43	15,66	22,51	14,68	17,72	17,56
∫nCO <sub>2</sub>	[mmol]	2,51	8,62	9,50	9,49	9,51	7,87	8,30
Th <sub>CO2</sub>	[mmol]	-	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85
D <sub>CO2</sub>	[%]	-	77,93	89,14	88,92	89,22	68,26	73,80
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	179,01	175,91	175,47	176,80	175,03	177,24
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,42	7,36	7,52	7,29	7,45	7,38	7,41
pH <sub>kon.</sub>		6,55	6,51	6,57	6,45	6,48	6,37	6,55
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,07	0,179	0,196	0,413	0,455	0,456	0,474
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,109	0,258	0,24	0,25	0,186	0,301	0,28



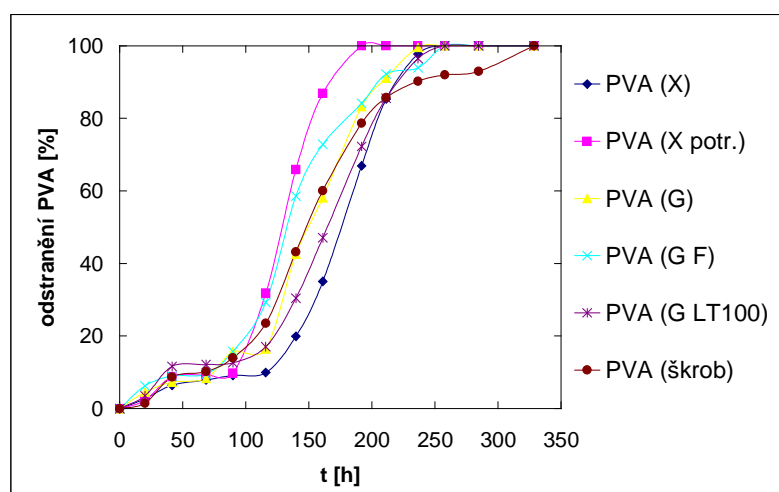
**Obr. 18.:** Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>



**Obr. 19.:** Procentuální odstranění podle  $D_{CO_2}$



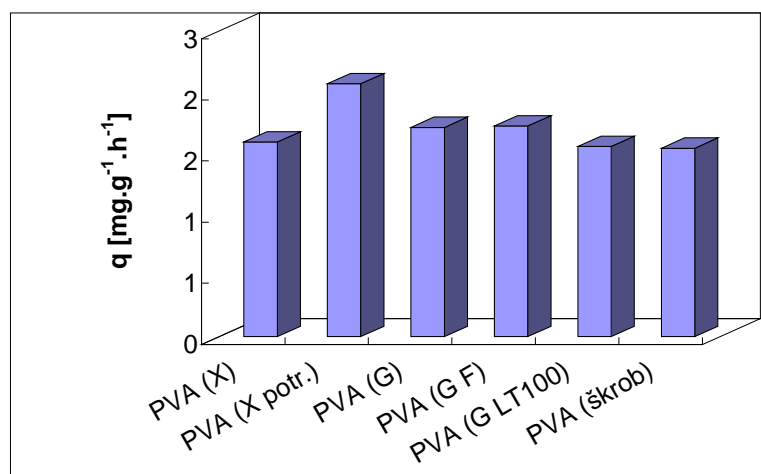
**Obr. 20.:** Úbytek PVA z reakční suspenze



**Obr. 21.:** Procentuální odstranění PVA

Kritickým nedostatkem tohoto experimentu bylo nevysvětlitelné selhání respirometrické metody stanovení produkce CO<sub>2</sub>. Jak je patrné z **obr. 15** a **17**, tak procentuální odstranění podle D<sub>CO2</sub> experimentů série 2 a 3 leží v rozmezí 120-170 %. Důvodem by mohlo být rapidní snížení sušiny inokula slepých pokusů oproti ostatním vzorkům v daných sériích, což je patrné z **tab. III.** a **tab. IV.** Z toho vyplývá snížení produkce CO<sub>2</sub> u slepých pokusů, jejichž hodnoty jsou důležitým parametrem při výpočtu D<sub>CO2</sub>, což by mohlo vysvětlit nereálnou biodegradabilitu z **obr. 15** a **17**.

Otázka stanovení hodnot parametrů biodegradace extracelulárních polysacharidů tak zůstává dosud stále otevřená. Naštěstí údaje v **tab. V.** u substrátu s inokulem, adaptovaným na tytéž typy extracelulárních polysacharidů, vrací výsledky experimentu do oblasti reálných hodnot, i když z hlediska biologické aktivity studovaných typů exopolysacharidů v podstatě negativních. To včetně potravinářského xanthanu, který se jeví z hlediska biodegradativní aktivity jako nejúčinnější (**obr. 22**).



**Obr. 22.:** Průměrné specifické rychlosti rozkladu PVA za přítomnosti inokula adaptovaného na extracelulární polysacharidy

Vzhledem k časové náročnosti experimentů na biologickou degradaci směsí PVA, jsme po sériích 2 a 3 zvolili jako modifikační složku do směsí s PVA z řad extracelulárních polysacharidů potravinářský xanthan, u něhož budeme studovat podrobněji chování při biodegradaci ve směsích s PVA. Důvodem pro výběr této modifikační složky je jednak největší specifická rychlost rozkladu PVA inokulem adaptovaným na danou složku, ale také jeho ekonomická dostupnost oproti ostatním sledovaným látkám typu extracelulárních polysacharidů.

### 7.2.3 Hodnocení biodegradace vodných směsí PVA (plánovaný experiment)

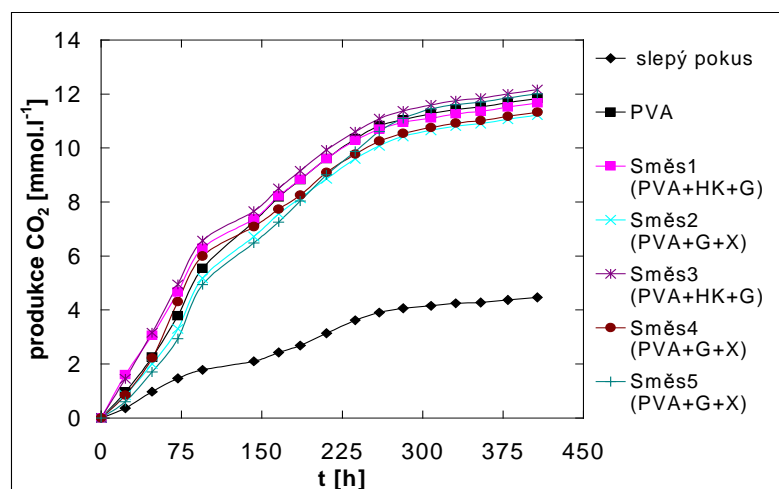
V této části jsem se zabýval sledováním vodných směsí PVA, jejichž popis je uveden v kapitole 6.3.1. Jednalo se o sledování 9 směsí jež obsahovali v různých procentuálních zastoupeních PVA, potravinářský xanthan, bílkovinný hydrolyzát a glycerín. Z důvodů reprodukovatelnosti výsledků byly tyto směsi sledovány třikrát, avšak z nedostatku prostoru v různém časovém rozmezí, a to od poloviny ledna do konce dubna, což značně ovlivnilo homogenitu biologického materiálu. U každé série experimentů probíhalo zároveň sledování slepého pokusu a čistého PVA.

Biologický materiál tudíž značnou měrou ovlivnil výsledky sledování biodegradace a musíme brát v úvahu jeho heterogenitu v širokém časovém úseku a tudíž i zhoršenou reprodukovatelnost daných výsledku.

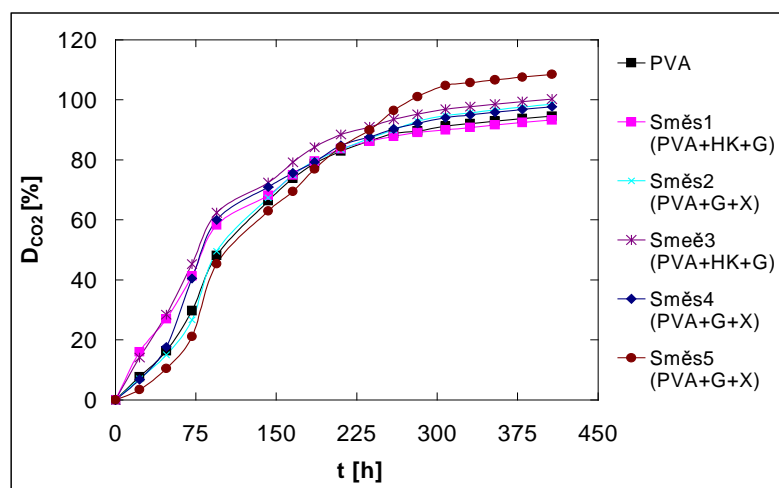
Níže budou následovat vyhodnocení jednotlivých sérií experimentů zakončené diskusí. Pro lepší orientaci v tabulkách i grafech budou v závorkách za číselným označením směsí zkratkovitě uvedeny jejich komponenty.

**Tab. VII.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu u série 5

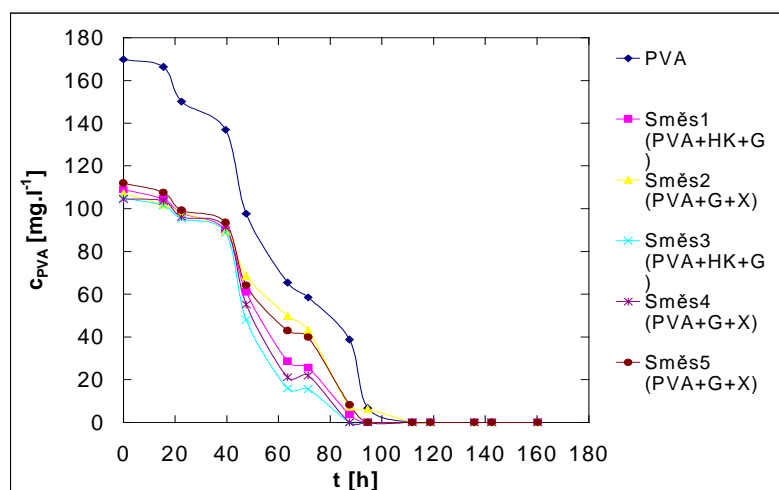
Sledované parametry		slepý pokus	PVA	Směs 1 (PVA+HK +G)	Směs 2 (PVA+G+ X)	Směs 3 (PVA+HK +G)	Směs 4 (PVA+G+ X)	Směs 5 (PVA+G+ X)
Doba testu	[h]	407	407	407	407	407	407	407
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	8,39	9,69	8,48	9,05	9,33	9,80	9,34
□nCO <sub>2</sub>	[mmol]	4,47	11,84	11,68	11,22	12,16	11,33	12,02
Th <sub>CO2</sub>	[mmol]	-	7,80	7,73	6,86	7,68	7,03	6,96
D <sub>CO2</sub>	[%]	-	94,53	93,27	98,51	100,23	97,69	108,48
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	169,86	108,89	107,14	104,94	104,50	111,96
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,52	7,46	7,47	7,48	7,47	7,48	7,46
pH <sub>kon.</sub>		6,85	6,89	6,70	6,93	6,70	6,89	6,85
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,209	0,29	0,238	0,158	0,229	0,282	0,259



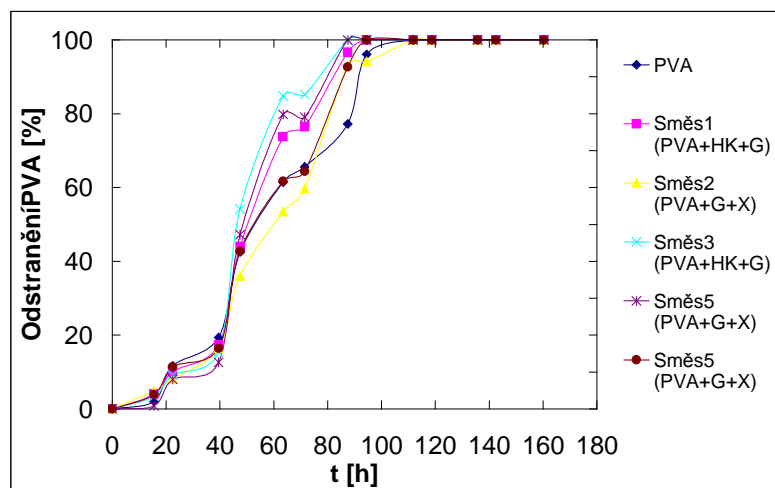
Obr. 23.: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>



Obr. 24.: Procentuální odstranění podle D<sub>CO2</sub>



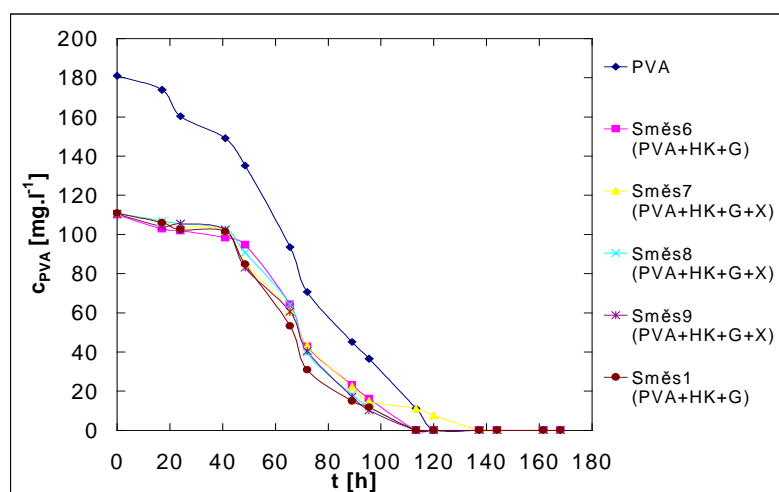
Obr. 25.: Úbytek PVA z reakční suspenze



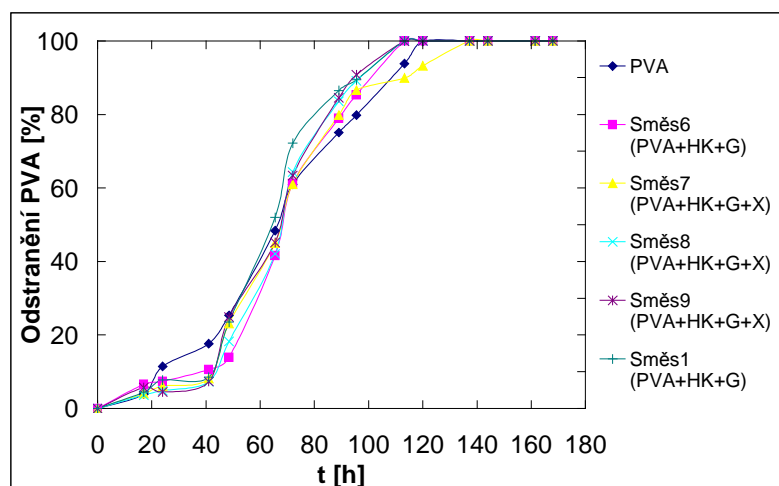
Obr. 26.: Procentuální odstranění PVA

Tab. VI.: Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 6

Sledované parametry		slepý pokus	PVA	Směs 6 (PVA+HK+G)	Směs 7 (PVA+HK+G+X)	Směs 8 (PVA+HK+G+X)	Směs 9 (PVA+HK+G+X)	Směs 1 (PVA+HK+G)
Doba testu	[h]	168	168	168	168	168	168	168
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	7,21	9,41	7,30	8,23	7,18	8,04	8,19
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	0,00	181,10	110,01	110,91	110,91	110,46	110,91
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,54	7,50	7,47	7,48	7,47	7,48	7,49
pH <sub>kon.</sub>		6,54	6,57	6,45	6,54	6,49	6,45	6,38
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,189	0,203	0,228	0,339	0,208	0,278	0,195



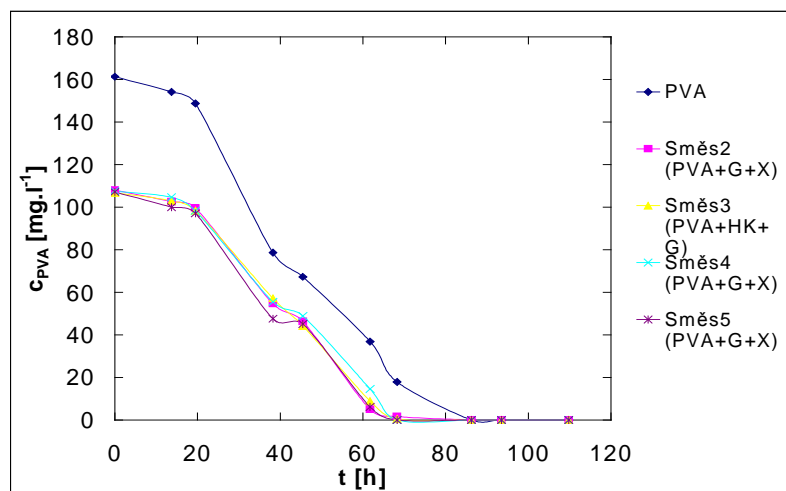
Obr. 27.: Úbytek PVA z reakční suspenze



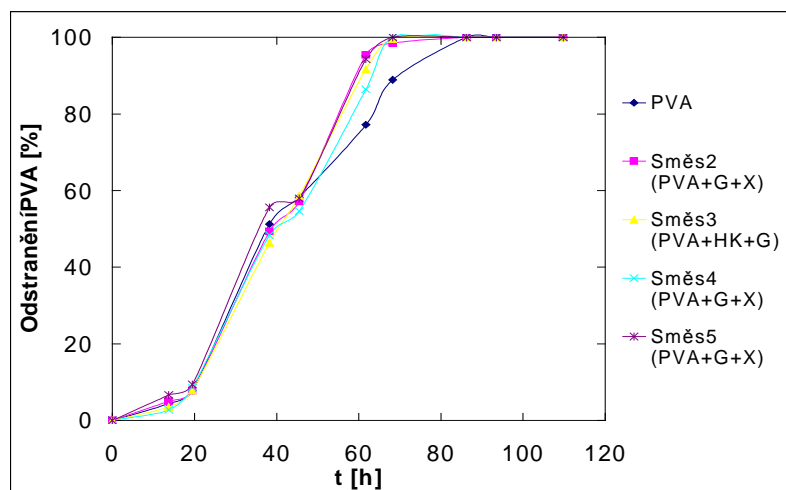
Obr. 28.: Procentuální odstranění PVA

Tab. VIII.: Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 7

Sledované parametry		slepý pokus	PVA	Směs 2 (PVA+G+X)	Směs 3 (PVA+HK+G)	Směs 4 (PVA+G+X)	Směs 5 (PVA+G+X)
Doba testu	[h]	304	304	304	304	304	304
TOC <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	8,65	7,01	9,11	8,10	9,35	10,11
□nCO <sub>2</sub>	[mmol]	10,59	15,44	17,79	15,43	17,95	16,52
Th <sub>CO2</sub>	[mmol]	-	7,47	6,87	7,67	6,95	6,91
D <sub>CO2</sub>	[%]	-	62,44	104,77	63,05	105,94	85,85
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	161,33	108,02	106,76	107,60	107,18
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,48	7,49	7,47	7,50	7,49	7,48
pH <sub>kon.</sub>		6,43	6,35	6,43	6,24	6,63	6,63
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,428	0,302	0,173	0,212	0,152	0,234



**Obr. 29.:** Úbytek PVA z reakční suspenze

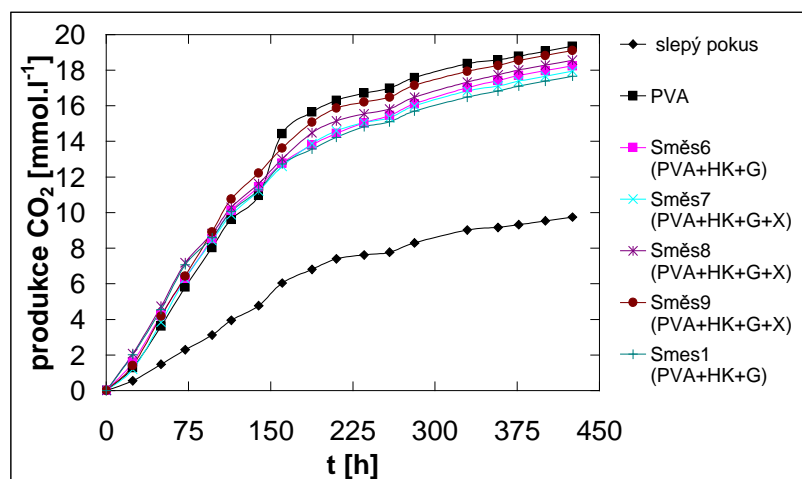


**Obr. 30.:** Procentuální odstranění PVA

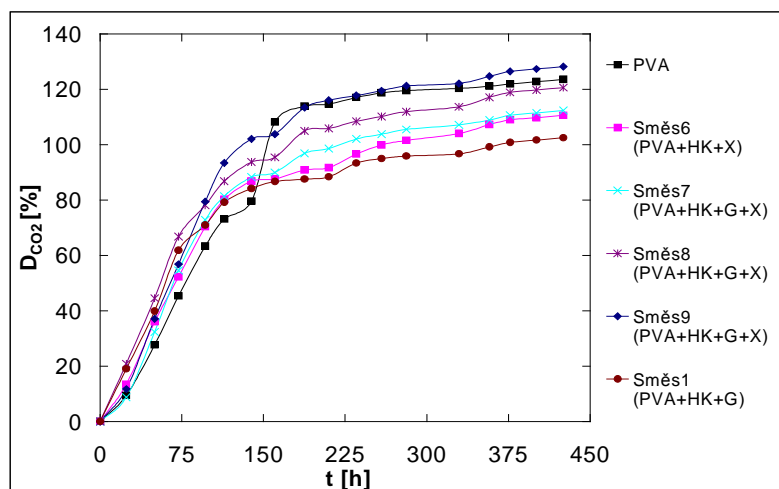


**Tab. IX.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 8

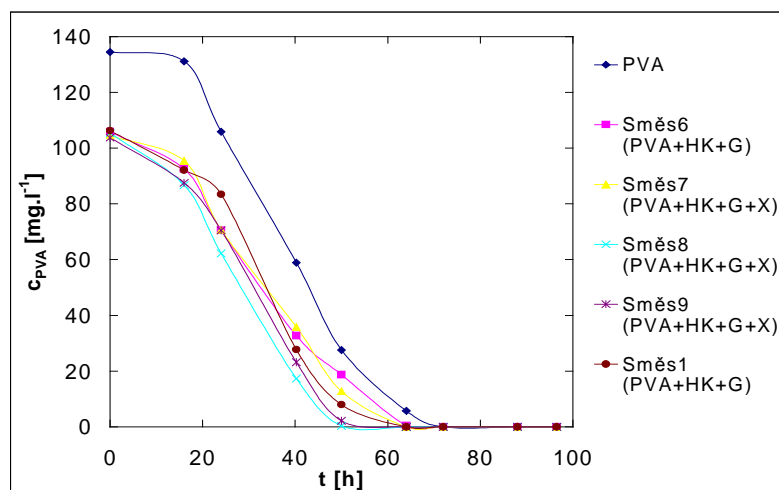
Sledované parametry		slepý pokus	PVA	Směs 6 (PVA+HK +G)	Směs 7 (PVA+HK +G+X)	Směs 8 (PVA+HK +G+X)	Směs 9 (PVA+HK +G+X)	Směs 1 (PVA+HK +G)
Doba testu	[h]	425,5	425,5	425,5	425,5	425,5	425,5	425,5
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	8,46	7,77	10,51	7,56	9,78	9,53	9,48
□nCO <sub>2</sub>	[mmol]	9,75	19,35	18,25	17,94	18,57	19,11	17,66
Th <sub>CO<sub>2</sub></sub>	[mmol]	-	7,77	7,69	7,29	7,31	7,30	7,72
D <sub>CO<sub>2</sub></sub>	[%]	-	123,58	110,59	112,37	120,63	128,24	102,51
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	134,48	105,82	104,58	105,41	103,74	106,24
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,25	7,22	7,16	7,13	7,22	7,23	7,24
pH <sub>kon.</sub>		6,62	6,64	6,48	6,43	6,54	6,52	6,51
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,265	0,315	0,307	0,299	0,300	0,321	0,310



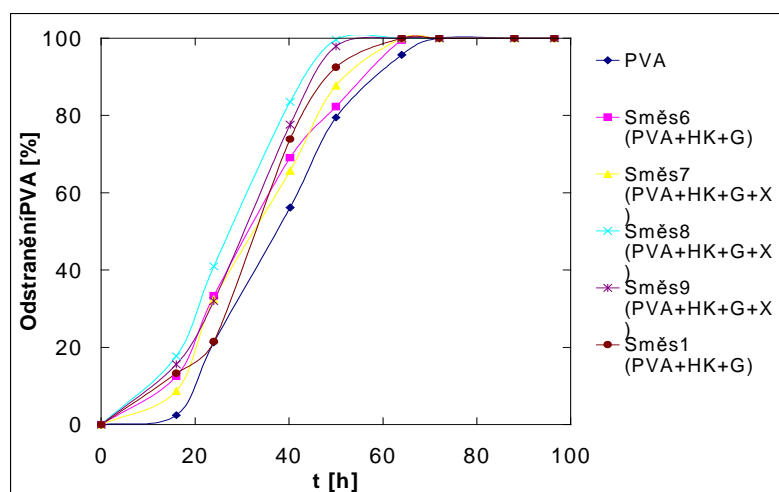
**Obr. 31.:** Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>



Obr. 32.: Procentuální odstranění podle  $D_{CO_2}$



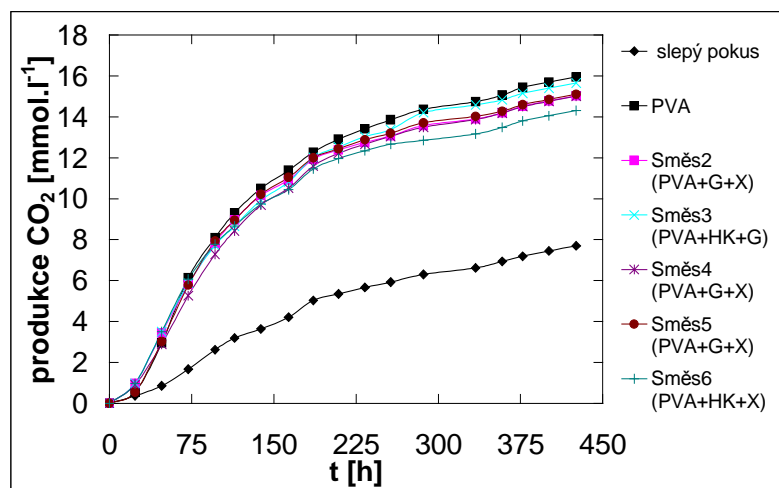
Obr. 33.: Úbytek PVA z reakční suspenze



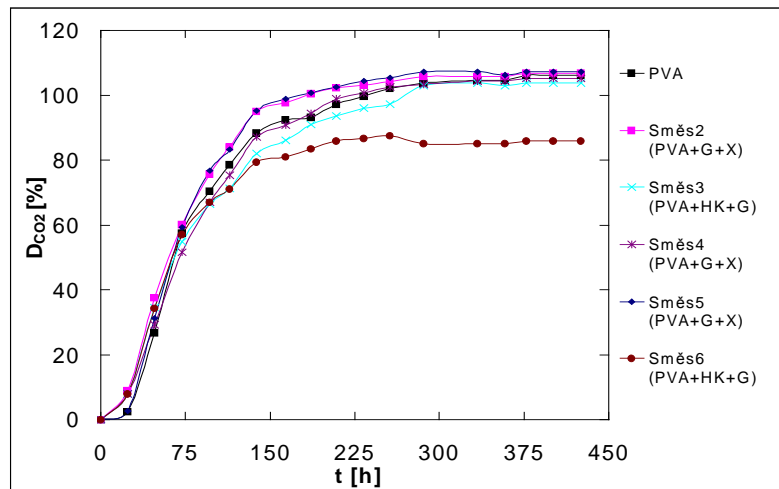
Obr. 34.: Procentuální odstranění PVA

**Tab. X.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 9

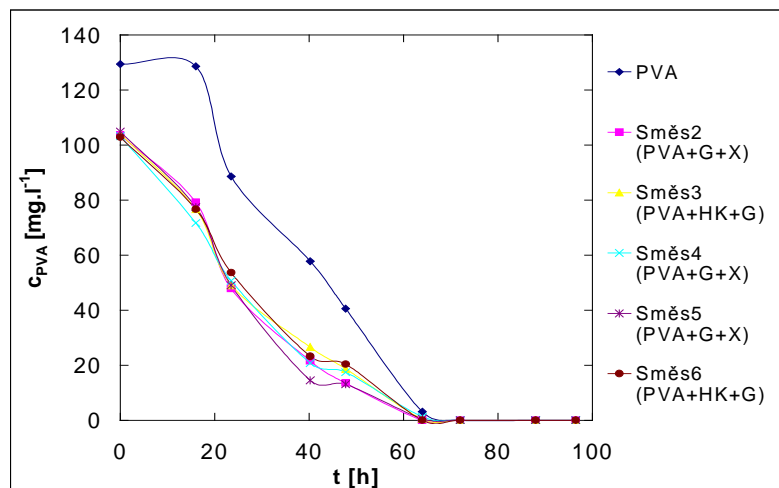
Sledované parametry		slepý pokus	PVA	Směs 2 (PVA+G+X)	Směs 3 (PVA+HK+G)	Směs 4 (PVA+G+X)	Směs 5 (PVA+G+X)	Směs 6 (PVA+HK+G)
Doba testu	[h]	425,75	425,75	425,75	425,75	425,75	425,75	425,75
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	8,88	10,76	10,60	8,89	9,58	7,56	8,06
□nCO <sub>2</sub>	[mmol]	7,70	15,94	15,02	15,65	15,00	15,10	14,30
Th <sub>CO2</sub>	[mmol]	-	7,77	6,87	7,67	6,95	6,90	7,69
D <sub>CO2</sub>	[%]	-	106,12	106,71	103,77	105,20	107,19	85,88
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	0,00	129,41	103,66	104,07	103,24	104,91	102,83
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,44	7,43	7,44	7,44	7,44	7,45	7,45
pH <sub>kon.</sub>		6,64	6,68	6,45	6,42	6,49	6,50	6,50
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,247	0,268	0,326	0,289	0,364	0,327	0,362



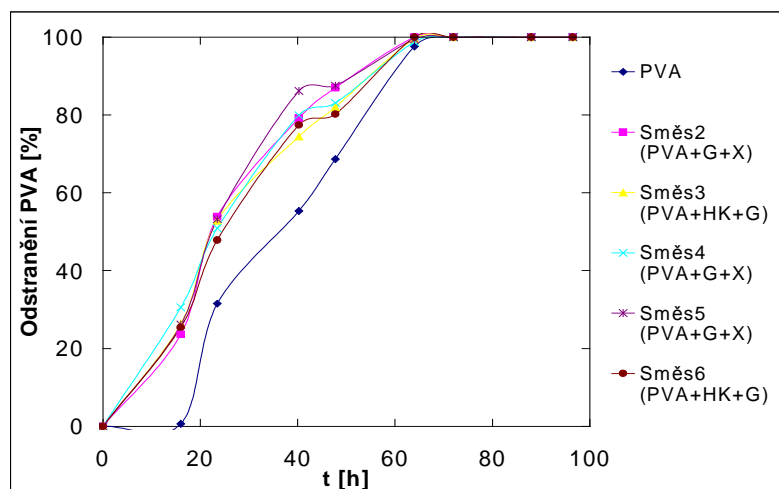
**Obr. 35.:** Kumulativní produkce CO<sub>2</sub>



Obr. 36.: Procentuální odstranění podle  $D_{CO_2}$



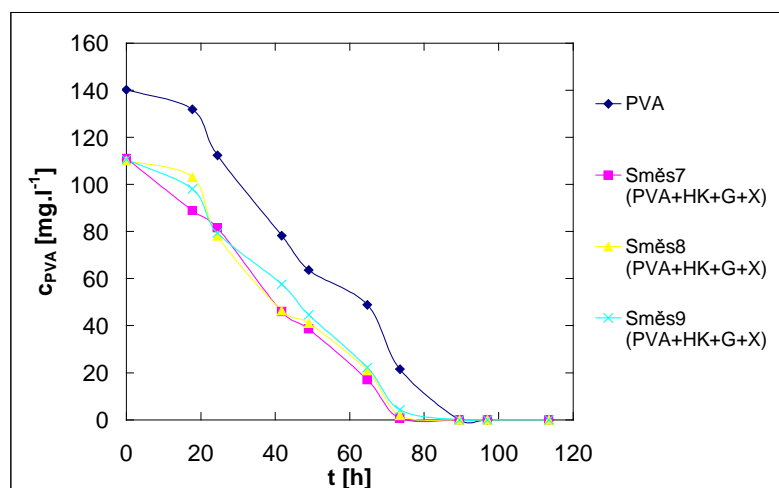
Obr. 37.: Úbytek PVA z reakční suspenze



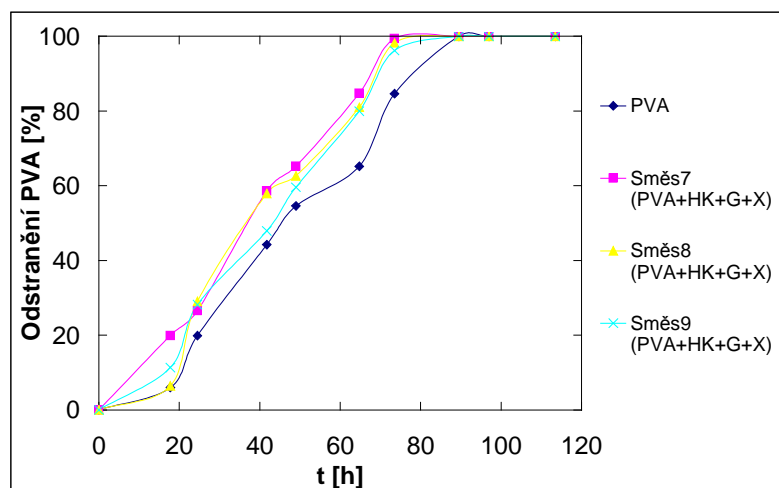
Obr. 38.: Procentuální odstranění PVA

**Tab. XI.:** Hodnoty sledovaných parametrů biologického rozkladu série 10

Sledované parametry		slepý pokus	PVA	Směs 7 (PVA+HK +G+X)	Směs 8 (PVA+HK +G+X)	Směs 9 (PVA+HK +G+X)
Doba testu	[h]	113,5	113,5	113,5	113,5	113,5
TOC <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	13,45	16,61	14,11	21,57	21,84
PVA <sub>poč.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	0,00	140,17	110,97	110,13	110,55
PVA <sub>kon.</sub>	[mg.l <sup>-1</sup> ]	-	0,00	0,00	0,00	0,00
D <sub>PVA</sub>	[%]	-	100,00	100,00	100,00	100,00
pH <sub>poč.</sub>		7,56	7,56	7,52	7,53	7,54
pH <sub>kon.</sub>		6,58	6,61	6,42	6,43	6,44
Sušina <sub>poč.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Sušina <sub>kon.</sub>	[g.l <sup>-1</sup> ]	0,432	0,466	0,436	0,423	0,448

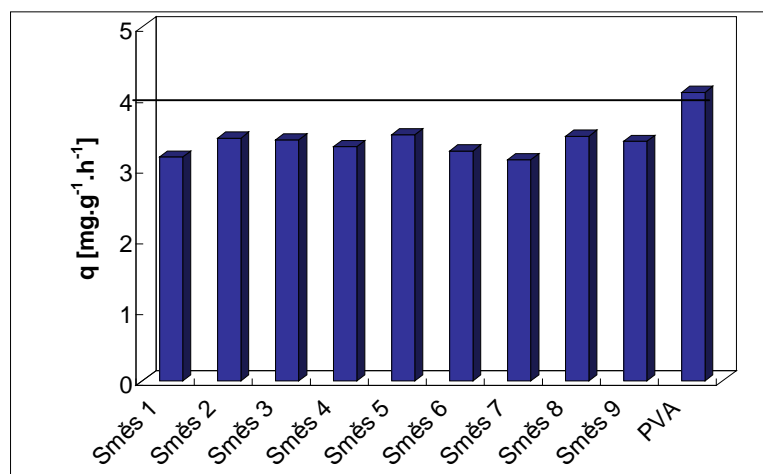


**Obr. 39.:** Úbytek PVA



**Obr. 40.:** Procentuální odstranění PVA

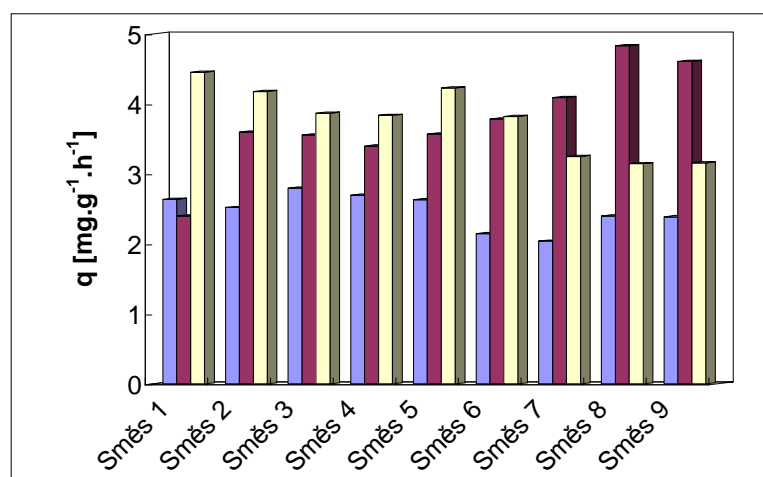
Potravinářský xanthan, jako významná složka studovaných směsí PVA, hydrolyzátu kolagenu, glycerinu a polysacharidu (25 – 30% u směsí 2, 4 a 5; 12 – 15% u směsí 7, 8 a 9) funguje z hlediska biodegradability a v rozsahu tohoto studia zhruba na úrovni Hykolu (směs 1, 3 a 6). Ve všech případech studovaných směsí jsou však parametry mikrobiální destrukce horší, než u samotného poly(vinylalkoholu), jak vyplývá z **obr. 41**.



**Obr. 41.:** Průměrné specifické rychlosti vzorků série 5 – 10

U série pokusů 5 – 9 (**obr. 32**) je možno znovu zaznamenat náznak nelogického vývoje  $\text{CO}_2$ , který není podložen výsledky paralelních analýz eliminace substrátu. To nutně vede k obecným úvahám o reprodukovatelnosti prováděných měření při daném uspořádání a materiálním zabezpečení experimentu, též s ohledem na extrémě dlouhé doby expozice a celkového studia vzhledem ke zdrojům možných pochybení při aplikaci živých organismů.

V této souvislosti nelze přehlédnout podezření např. na rozdílnou povahu inokula, odebíraného z čistírny odpadních vod v různých klimatických a aktuálních provozních podmínkách, změny jeho složení, obsahu organického uhlíku, růstové aktivity mikroorganismů, přítomnost inhibitorů apod. V každém případě je třeba počítat s tím, že rozptyl výsledků takových analýz bude násobně vyšší, než u běžných chemických reakcí oxidačního typu, jak je demonstrováno u studovaných směsí 1 – 9 na **obr. 42**.

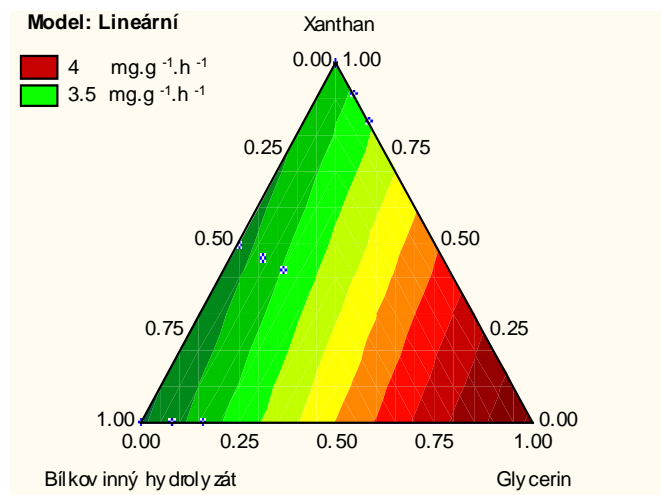


**Obr. 42.:** Průměrné specifické rychlosti u sérií 5 – 10

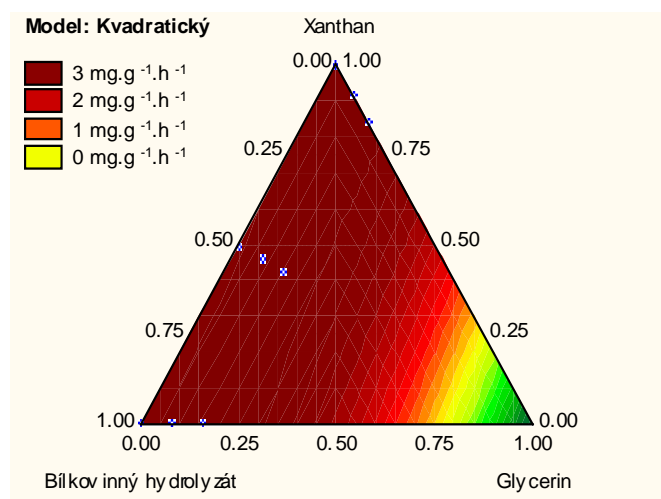
**Tab. XII** (ANOVA) shrnuje testy významnosti pro modely se zvyšující se složitostí (lineární až kubický model). Lineární ( $p=0,867$ ), kvadratický ( $p=0,986$ ) a ani kubický model ( $p=0,769$ ) není statisticky významný, jelikož hodnoty  $p > 0,05$ . Z toho plyne zjištění, že procentuální složení dané směsi modifikátorů nemá vliv na specifickou rychlost rozkladu PVA obsaženého ve výsledném směsném filmu. Tuto skutečnost potvrdili průběhy zorněné ternárními grafy na **obr. 43, 44 a 45**.

**Tab. XII.** (ANOVA)

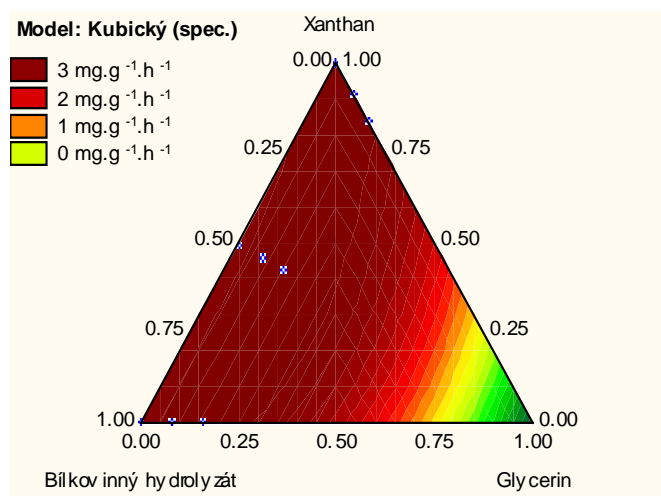
ANOVA; Prom:q PVA (vyhodnocení) 3 faktorový návrh směsi									
Model	SS Efekt	df Efekt	MS Efekt	SS chyba	df chyba	MS chyba	F	p	R-kv.
Lineární	0.19591	2	0.097956	16.33023	24	0.680426	0.143963	0.866662	0.011855
Kvadratic	0.10808	3	0.036028	16.22215	21	0.772483	0.046639	0.986261	0.018395
Kubický (spec.)	0.07176	1	0.071759	16.15039	20	0.807520	0.088864	0.768701	0.022737
Celk. uprav.	16.52615	26	0.635621						



**Obr. 43.:** Lineární ternárními graf



**Obr. 44.:** Kvadratický ternárními graf



**Obr. 45.:** Kbický ternárními graf



## ZÁVĚR

Vedle bílkovinných derivátů kolagenu jsou polysacharidy dalšími důležitými biopolymery, jimž je věnována pozornost v souvislosti s modifikací polyvinylalkoholu, jako biodegradabilního obalového materiálu. Hydrofilní povaha takových směsí preferuje pro studijní i technické účely aerobní vodné prostředí a jemu odpovídající výběr bioaktivní komponenty, od nichž se očekává i nový technický účinek ve smyslu modifikace některé z významných vlastností konečného výrobku.

Extracelulární polysacharidy xanthan a gellan byly na počátku tohoto orientačního hodnocení studovány pouze z hlediska biodegradability a v tomto ohledu se nenaplnilo očekávání jejich výraznějších pozitivních účinků. Nejlépe hodnocený potravinářský xanthan funguje z hlediska biodegradability v podmínkách tohoto studia zhruba na úrovni hydrolyzovaného kolagenu Hykolu E a to mírně pod úrovní samotného PVA.

Uvedený heteropolysacharid je obecně definován jako stabilizátor a regulátor viskozity s mimořádným chováním při změnách smykového namáhání, usnadňujícím např. procesy míchání směsí při vyšších smykových rychlostech. Dá se tedy očekávat šetrnější zpracování jeho směsí s PVA plastikářskými technologiemi, větší homogenita i kvalita vyráběných fólií příp. modifikace jejich dalších užitných vlastností podle potřeb obalového průmyslu.

Poměrně značný rozptyl výsledků hodnocení biodegradability PVA i jeho směsí vede k úvahám o horší reprodukovatelnosti experimentů ve srovnání s běžnými reakcemi, jako upozornění pro budoucí práce v dané oblasti. V této souvislosti se jako příkladu pro řešení nabízí zvýšení homogenity inokula a jeho biologické aktivity a zlepšení hodnotících metod substátů i jeho jednotlivých složek.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Mleziva J.: Polymery - výroba, vlastnosti, použití. Sobotáles, str. 119 - 122, 1993.
- [2] Gregor F., Koudelka L., Vanko M.: Polyvinylacetát. SNTL Praha, 1962.
- [3] Hassan Ch. M., Peppas N.A.: Structure and Applications of Poly(vinylalcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. *Advances in Polymer Science*, 153, str. 37 – 65, 2000.
- [4] Burgert L., Bayerová P., Hrdina R.: Možnosti přípravy biodegradabilních sekvestračních prostředků na polymerní bázi. *CHEMagazín*, č.2, XIV, str. 8, 2004.
- [5] Hoffmann J. a kol.: Biorozložitelnost vodorozpustných plastových fólií na bázi polyvinylalkoholu v aerobním vodním prostředí. Aplikace respirometrického a Zahn-Wellensova testu. *Plasty a kaučuk*, 40, str. 295 – 302, 2003.
- [7] Corti A., Solaro R., Chiellini E.: Biodegradation of poly(vinylalcohol) in selected microbial culture and relevant culture filtrate. *Polymer Degradation and Stability*, 75, str. 447 - 458, 2002.
- [8] Haschke H., Tomka I., Keilbach A.: Systematische Untersuchungen zur biologischen Abbaubarkeit von Verpackungsmaterial. 2. Mitt. Zur biologischen Abbaubarkeit von auf Polyvinylalkohol basierenden Verpackungsfolien. *Monatshefte für Chemie*, 129, str. 365 - 386, 1998.
- [9] Sedlařík V.: Biologická rozložitelnost směsných plastových fólií ve vodním prostředí. Diplomová práce UTB Zlín, 2003.
- [10] Vojtek T.: Biodegradace směsí přírodních a syntetických polymerů v aerobním vodním prostředí. Diplomová práce UTB Zlín, 2004.
- [11] Schonberger H., Baumann A., Keller W.: Study of Microbial Degradation of Polyvinyl Alcohol (PVA in Wastewater Treatment Plants). *American Dyestuff Reporter*. August, str. 9-18, 1997.
- [12] Chiellini E., Corti A., Solaro R.: Biodegradation of poly(vinylalcohol) based blown film under different environmental conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 64, str. 305-312, 1998.

- [13] Zahn R., Wellens H.: A Simple Method for Testing the Biodegradability of Chemical Products and Chemical Compounds Present in Wastewater. *Chemiker Zeitung*, 98, str. 226 – 233, 1974.
- [14] Ramawaj B., Poomalai P.: Development of potentially biodegradable polyamide-6 and polyvinyl alcohol blends. *J. Appl. Pol. Sci.* 98, str. 2339 - 2346, 2005.
- [15] Hassan CH.M., Peppas N.A.: Structure and Applications of Poly{vinyl alcohol} Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. *Advances in Polymer Science*, 153, str. 38 - 62, 2000.
- [16] Cascone M.G., Maltinti S., Barbani N., Laus M.: Effect of chitosan and dextran on the properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels. *Journal of Materials Science - Materials in Medicine.*, 10, str. 431 - 435, 1999.
- [17] Takasu A., Niwa T., Iotu H., Inai Y., Hirabayashi T.: Chemical modification of hydroxyl groups of poly(vinylalcohol) by a glycosidation reaction. *Macromol. Rapid Commun.* 21, str. 764-769, 2000.
- [18] Sarti B., Scandola M.: Viscoelastic and thermal properties of collagen/poly(vinylalcohol) blends. *Biomaterials* 16, str. 785-792, 1995.
- [19] Lesinský D., Fritz J., Braun R.: Biological degradation of PVA/CH blends in terrestrial and aquatic conditions. *Bioresource Technology* 96, str. 197-201, 2005.
- [20] Chromčáková J.: Degradace směsí přírodních a syntetických polymerů v aerobním prostředí. Diplomová práce, UTB Zlín, 2002.
- [21] Bakoš D., Alexy P.: Štúdium interakcí proteinových hydrolyzátů v biodegradabilných polymérech. Závěrečná práce z řešení ZoD 94/2000.
- [22] Alexy M. a kol.: Modified polyvinylalcohol with collagen hydrolysate specified for flow extruded films. International workshop on environmentally degradable plastic. SR, 1999.
- [23] Ishigaki T. a kol.: Biodegradation of polyvinylalcohol-starch blend plastic film. *World Journal of Microbiolog-biotechnology*, 15, str. 321-327, 1999.
- [24] Chandra R., Rustgi R.: Biodegradable Polymers. *Prog. Polym. Sci.*, 23, str. 1273 - 1335, 1998.

- [25] Jayasekara R. a kol.: Biodegradation by Composting of Surface Modified Starch and PVA Blended Films. *Journal of Polymers and the Environment*, 11, str. 49-56, 2003.
- [26] Degli-Innocenti F., Bastioli C.: ICS-UNIDO Expert Group Meeting on Environmentally Degradable Polymers. Trieste, 14-16 april 1998.
- [27] Kupec J., Charvátová K., Křesálková M.: Biopolymery jako plniva v plastech. *Chemické listy*, 97, 155-159, 2003.
- [28] Park H., Chough S., Yun Y., Yoon S.: Properties of Starch/PVA Blend Films Containing Citric Acid as Additive. *Journal of Polymers and the Environment*, 14, str. 375-382, 2005.
- [29] Štětina J., Glacnerová E., Šviráková E., Čurda L.: Význam tvorby exopolysacharidů bakterií mléčného kvašení. XXXIV. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin. Skalský dvůr, 2003.
- [30] Jansson P.E., Kenne L., Lindberg B.: Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydr. Res.* 45, str. 275-282, 1975.
- [31] Sandtford P.A., Laskin A.: Extracellular microbial polysaccharides. *Am. Chem. Soc. symp. Series 45*. Amer. Chem. Society, Washington, D.C.
- [32] Janes A., Pittsley J.E., Senti F.R.: Polysaccharide B-1459 a new hydrocolloid polyelectrolyte produced from glucose by bacterial fermentation. *J. Appl. Polym. Sci.*, 5, str. 519-526, 1961.
- [33] Kennedy J.F., Bradshaw I.J.: Production, properties and applications of xanthan. *Prog. Ind. Microbiol.* 19, str. 319-371, 1984.
- [34] O'Neill M.A., Selvendran R.R., Morris N.J.: Structure of the acidic extracellular gelling polysaccharide produced by *Pseudomonas elodea*. *Carbohydr. Res.*, 124, str. 123-133, 1983.
- [35] Sanderson G.R., Clark R.C.: Gellan gum. *Food Technol.* 37, str. 62-70, 1983.
- [36] Chandrasekaran R., Radha A., Thailambal V.G.: Role of potassium ions, acetyl and L-glyceryl groups in native gellan double helix: an X-ray study. *Carbohydr. Res.*, 224, str. 1-17, 1992.

- [37] Yuguchi Y., Urakawa H., Kajiwara K.: The effect of potassium salt on the structural characteristic of gellan gel. *Food Hydrocolloids*, 16, str. 191-195, 2002.
- [38] Pollock T.J.: Gellan-related polysaccharides and the genus *Sphingomonas*. *J. Grn. Microbiol.* 139, str. 1939-1945, 1993.
- [39] Grasdalen H., Smidsrot O.: Gelation of gellan gum. *Carbohydr. Polym.* 7, 371-393, 1987.
- [40] Shungu D., Valiant M., a kol.: Gelrite as an agar substitute in bacteriological media. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, str. 840-847, 1983.
- [41] Kedzierewicz F., Lombry C., Rios R., Hoffman M., Maincent P.: Effect of the formulation on the in vitro release of propranolol from gellan beads. *Int. J. Pharm.*, 178, str. 129-136, 1999.
- [42] Kasapis S.: Phase separated, glassy and rubbery states of gellan gum in mixtures with food biopolymers and co-solutes. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 30, str. 693-710, 1995.
- [43] Cascone M.G., Barbani N., Maltini S., Lazzeri L.: Gellan/poly(vinylalcohol) hydrogels: Charakterization and evaluation as delivery systems. *Polymer International*, 50, str. 1241-1246, 2001.
- [44] American societz for testing and materials (1993), standard test method for determining aerobic biodegradation of plastic material, ASTM D 5209-92, Annual book of ASTM standards.
- [45] Joshi D.P., Lan-Chun-Fung Y.L., Pritchard G.: Determination of polyvinylalcohol via its coplex with boric acid and iodine, *Analytica Chimica Acta*, 104, 153-160, 1979.

## **SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

PVA Polyvinylalkohol.

PVC Polyvinylchlorid.

UTB Univerzita Tomáše Bati

HK Hydrolyzát kolagenu

G Glycerin

X Xanthan