

BIODEGRADACE SYNTETICKÝCH POLYESTERŮ V ANAEROBNÍM VODNÉM PROSTŘEDÍ

Bc. Lenka Singrová

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lenka Singrová**
Osobní číslo: **T11557**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Biodegradace syntetických polyesterů v anaerobním vodném prostředí**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární studii týkající se biologické rozložitelnosti syntetických polyesterů na bázi 1,4 - butandiolu, kyseliny adipové a kyseliny tereftalové a poly(butylen) sukcinátu (PBS) ve vodném anaerobním prostředí.
2. Proveďte test biorozkladu folií zhotovených z Ecoflexu , směsi Ecoflexu s plnivem a PBS v mezofilních anaerobních podmínkách. Stupeň rozkladu stanovte na základě sledování produkce methanu a oxidu uhličitého plynovou chromatografií.
3. Pokuste se o převedení mezofilního kalu na kal termofilní a v případě úspěchu navrhněte metodiku rozkladu organických látek s využitím anaerobního termofilního kalu.
4. Získané zkušenosti využijte ke zkoušce biologické rozložitelnosti shora uvedených folií v termofilním anaerobním prostředí.
5. Veškeré výsledky a zkušenosti přehledně zpracujte v diplomové práci.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

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

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

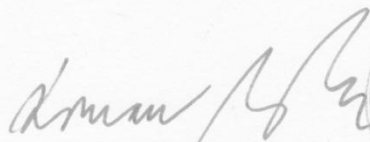
Datum zadání diplomové práce:

8. února 2013

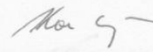
Termín odevzdání diplomové práce:

17. května 2013

Ve Zlíně dne 8. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



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

Příjmení a jméno: Lenka Singrová

Obor: Inženýrství ochrany životního prostředí

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 5.6.2013

.....
Singrová

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

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

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

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

²³ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

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

²⁴ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

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

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

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

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá biodegradací alifatického polyesteru polybutylensukcinátu (PBS), alifaticko – aromatického kopolyesteru Ecoflex[®] a jeho směsi s 30% plniva v anaerobním vodném prostředí. Tyto syntetické biodegradabilní kopolyestery byly testovány ve formě folií, tloušťky 40 µm, 50 µm a 100 µm. Testy byly prováděny v mezofilním prostředí (37°C) po dobu 78 dnů a termofilním anaerobním prostředí (55°C) po dobu 96 dnů. Jako inokulum byl použit vyhnílý anaerobní kal z čistírny odpadních vod Malenovice. Stupeň anaerobní degradace byl sledován na základě množství metanu a oxidu uhličitého ve vyprodukovaném bioplynu stanoveného metodou plynové chromatografie.

V mezofilních podmínkách bylo dosaženo u Ecoflexu[®] 4% rozkladu, u Ecoflexu[®] s plnivem 10% a PBS 5% rozkladu. V termofilních podmínkách byl stupeň rozkladu u Ecoflexu[®] 3%, u Ecoflexu[®] s plnivem 15% a PBS 16%. Degradční proces lépe probíhal v termofilním prostředí.

Součástí této práce je i adaptace mezofilního kalu na termofilní podmínky. Adaptace byla provedena dvěma způsoby, postupným zvyšováním teploty a skokovým zvýšením teploty.

Klíčová slova: alifaticko – aromatický kopolyester, Ecoflex[®], adaptace mezofilního kalu, polybutylensukcinát (Enpol[®]), anaerobní vodné prostředí

ABSTRACT

This thesis deals with biodegradation of polybutylensuccinate (PBS), aliphatic - aromatic copolyester Ecoflex[®] and its mixture with 30% of filler in anaerobic aqueous environment. These synthetic biodegradable copolyesters were tested in form of foils in thickness of 40 µm, 50 µm and 100 µm.

Tests were performed in mesophilic environment (37°C) for 78 days and in thermophilic anaerobic environment (55°C) for 96 days. Digested anaerobic sludge from wastewater treatment plant in Malenovice was used as a inoculum. The degree of anaerobic degradation was monitored on the amount of methane and carbon dioxide produced in biogas determined by gas chromatography.

In mesophilic conditions the Ecoflex[®] reached 4% degradation, the Ecoflex[®] with filler reached 10% and PBS reached 5% degradation. In thermophilic condition the Ecoflex[®] reached 3% degradation, Ecoflex[®] with filler reached 15% and PBS reached 16%. Degradation process ran better in thermophilic environment.

Part of this thesis is also adaptation of mesophilic sludge to thermophilic conditions. Adaptation was performed in two ways, by gradual increase in temperature and by jump increase in temperature.

Keywords: aliphatic - aromatic copolyester, Ecoflex[®], adaptation of mesophilic sludge, polybutylsuccinate (Enpol[®]), anaerobic aqueous environment.

Mé poděkování patří vedoucí diplomové práce Ing. Marii Dvořáčkové Ph.D, za trpělivost, cenné rady a podmětné připomínky k diplomové práci. Dále děkuji své rodině a blízkým za trpělivost a toleranci během mého studia na vysoké škole.

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 BIODEGRADOVATELNÉ POLYMERY	13
1.1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA A ROZDĚLENÍ.....	13
1.2 POLYBUTYLENSUKCINÁT (ENPOL [®]).....	13
1.3 ECOFLEX [®]	15
1.4 ECOFLEX [®] S PLNIVY.....	17
2 ANAEROBNÍ PROCESY VE VODNÉM PROSTŘEDÍ	18
2.1 MECHANISMUS A MIKROBIOLOGIE ANAEROBNÍHO PROCESU.....	18
2.1.1 Hydrolytické a fermentační mikroorganismy.....	19
2.1.2 Acetogenní mikroorganismy produkující vodík.....	19
2.1.3 Homoacetogenní mikroorganismy.....	19
2.1.4 Desulfurikační a denitrifikační mikroorganismy.....	20
2.1.5 Metanogenní mikroorganismy.....	20
2.2 POROVNÁNÍ AEROBNÍCH A ANAEROBNÍCH PROCESŮ.....	20
2.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ANAEROBNÍ PROCESY.....	21
2.3.1 Teplota.....	21
2.3.2 pH.....	22
2.3.3 Přítomnost nutrietů.....	22
2.4 ROZKLAD LÁTEK V ANAEROBNÍM PROSTŘEDÍ.....	22
3 ADAPTACE MEZOFILNÍHO KALU NA TERMOFILNÍ PODMÍNKY	25
3.1 ZPŮSOBY PŘEVEDENÍ KALU DO TERMOFILNÍCH PODMÍNEK.....	26
4 CÍLE PRÁCE	27
II PRAKTICKÁ ČÁST	28
5 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE	29
5.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	29
5.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	29
5.2.1 Příprava minerálního média.....	30
5.2.2 Biologický materiál.....	31
5.2.3 Testované polymerní materiály.....	31
5.2.3.1 Ecoflex [®]	31
5.2.3.2 Ecoflex [®] s plnivou.....	31
5.2.3.3 Polybutylensukcinát (Enpol [®]).....	32
6 METODY STANOVENÍ	33
6.1 STANOVENÍ PH A ORP.....	33
6.2 STANOVENÍ SUŠINY ANAEROBNÍHO KALU.....	33
6.3 TEST BIODEGRADACE ZA ANAEROBNÍCH PODMÍNEK - LÁHVOVÉ TESTY.....	33
6.4 PRINCIP PLYNOVÉ CHROMATOGRFIE.....	34
6.5 STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÉHO UHLÍKU.....	35
7 METODY VYHODNOCENÍ	36
8 ANAEROBNÍ TESTY	39

8.1	ADAPTACE ANAEROBNÍHO MEZOFILNÍHO KALU NA TERMOFILNÍ PODMÍNKY POSTUPNÝM ZVYŠOVÁNÍM TEPLoty	39
8.2	ADAPTACE ANAEROBNÍHO MEZOFILNÍHO KALU NA TERMOFILNÍ PODMÍNKY SKOKOVÝM ZVÝŠENÍM TEPLoty	39
8.3	TESTOVÁNÍ BIODEGRADACE ECOFLEXU [®] , EXOFLEXU [®] S PLNIVY A POLYBUTYLENSUKCINÁTU V ANAEROBNÍM MEZOFILNÍM PROSTŘEDÍ (37°C).....	40
8.4	TESTOVÁNÍ BIODEGRADACE ECOFLEXU [®] , EXOFLEXU [®] S PLNIVY A POLYBUTYLENSUKCINÁTU V ANAEROBNÍM TERMOFILNÍM PROSTŘEDÍ (55°C).....	41
9	VÝSLEDKY A DISKUZE	42
9.1	ADAPTACE ANAEROBNÍHO MEZOFILNÍHO KALU NA TERMOFILNÍ PODMÍNKY POSTUPNÝM ZVYŠOVÁNÍM TEPLoty	42
9.2	ADAPTACE ANAEROBNÍHO MEZOFILNÍHO KALU NA TERMOFILNÍ PODMÍNKY SKOKOVÝM ZVÝŠENÍM TEPLoty	44
9.3	TESTOVÁNÍ BIODEGRADACE ECOFLEXU, EXOFLEXU S PLNIVEM A POLYBUTYLENSUKCINÁTU V ANAEROBNÍM MEZOFILNÍM PROSTŘEDÍ (37°C).....	46
9.4	TESTOVÁNÍ BIODEGRADACE ECOFLEXU, EXOFLEXU S PLNIVEM A POLYBUTYLENSUKCINÁTU V ANAEROBNÍM TERMOFILNÍM PROSTŘEDÍ (55°C)	50
9.4.1	Snímky testovaných folií.....	56
10	ZÁVĚR.....	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	60
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ	64
	SEZNAM TABULEK.....	65

ÚVOD

Rychlý rozvoj průmyslu a značné rozšíření aplikačních oblastí polymerních materiálů v průběhu několika posledních desetiletích, má kromě velkého hospodářského významu i různé negativní dopady. Uplatnění polymerů je dáno především jejich materiálovými vlastnostmi, dostupnými surovinovými zdroji a výrobními postupy. Například v obalovém hospodářství ve značné míře polymery vytlačily dříve používané materiály (kovy, dřevo a papír). V dnešní době se uvádí, že 29% z celkové produkce polymerních materiálů je využito právě k výrobě obalů.

Hospodářsky vyspělé země se dnes snaží nejrůznějšími způsoby zastavit nebo alespoň omezit důsledky dopadu rychlého hospodářského vývoje na životní prostředí. Znečišťování vody a ovzduší, klimatické změny a nárůst civilizačních chorob nás nutí zamýšlet se nad všemi možnostmi, kterými lze tyto problémy řešit.

Studium mechanismů biodegradace polymerních materiálů v přírodním prostředí je jednou z možností, jak se vypořádat se stále rostoucím množstvím polymerních materiálů. Vlastnosti moderních polymerních materiálů by na jedné straně měly splňovat nároky na jejich funkčnost, na druhé straně by měly vyhovovat požadavkům degradace.

Tyto podmínky velmi dobře splňují biodegradovatelné polymery, lišící se od komerčních polymerů chemickým složením, často materiálovými zdroji, ze kterých se vyrábějí, ale především schopností biodegradace.

Výroba a použití biodegradovatelných polymerů jsou nyní v počátcích v porovnání s komerčními polymerními materiály. Jde o materiály, vykazující hodnoty parametrů srovnatelné s běžnými polymery. Mohou být vyráběny i zpracovávány stejnými technologiemi jako komerční polymery a navíc surovinové zdroje využitelné k výrobě řady z nich mohou být hodnoceny jako obnovitelné. Současnou nevýhodou biodegradovatelných polymerů je jejich vysoká cena, ale je možno předpokládat, že se bude snižovat s rostoucími objemy výroby a rozšířením aplikačních oblastí.

V této diplomové práci je prověřena schopnost degradace alifaticko-aromatického kopolyesteru vyráběného firmou BASF pod komerčním názvem Ecoflex®, směsi Ecoflex® s plnivem a polybutylensukcinátu (Enpolu®), který vyrábí firma IRE CHEMICAL, v anaerobním vodném prostředí.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIODEGRADOVATELNÉ POLYMERY

1.1 Základní charakteristika a rozdělení

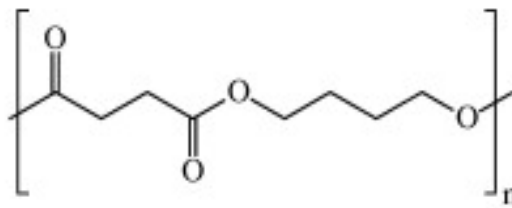
Biodegradovatelné polymery jsou podle definice takové polymery, u kterých dochází k rozkladu působením mikroorganismů.

Mezi biodegradovatelné polymery lze zařadit všechny biopolymery a některé polymery minerálního původu, ke kterým bývá často řazena i skupina modifikovaných syntetických polyolefinů. Polyestery reprezentují velkou skupinu polymerů, které obsahují ve svém základním makromolekulárním řetězci hydrolyzovatelnou esterovou vazbu.

Polymery můžeme rozdělit na aromatické, alifatické popřípadě jejich kombinace. Alifatická konstituční jednotka je náchylná k hydrolýze, tudíž snadno podléhá degradaci. Mezi alifatické polymery se řadí polykaprolakton (PCL), polyetylen-sukcinát/adipát (PBSA), polybutylensukcinát (PBS). Aromatické polyestery obsahují aromatický kruh, který poskytuje polymeru výbornou odolnost k hydrolýze a působení chemických sloučenin. Hydrolýza a tedy i biodegradace je u těchto látek obtížná, ale může se zlepšit přidáním aditiv. Vhodným kompromisem mezi alifatickou, nebo aromatickou jednotkou je jejich kombinace. V takovém případě dojde k zajištění požadovaných vlastností cílového výrobku a alifatická část řetězce umožní degradaci. Mezi alifaticko – aromatické kopolyestery patří Ecoflex, Ecovio. [1]

1.2 Polybutylensukcinát (Enpol[®])

. **Polybutylensukcinát** - Polybutylensukcinát patří do skupiny biodegradovatelných alifatických polyesterů. Obchodní název této folie je Enpol. Uplatnění najde jako mulčovací folie, obalové folie, rybářské sítě, kelímky, láhve, pytle. [1,23]



Obr. 1: Chemická struktura polyesteru Enpol [22]

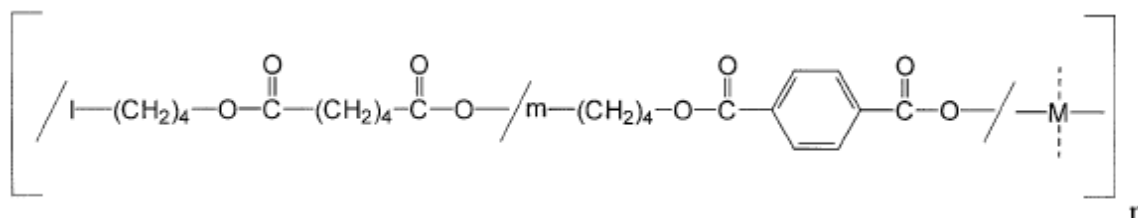
Tab. 1: Fyzikální vlastnosti Enpolu [1, 22]

vlastnost	fyzikální jednotka	Polybutylensukcinát
hustota	g.cm^{-3}	1,23
bod tání T_m	$^{\circ}\text{C}$	90 - 120
teplota sk.přechodu T_g	$^{\circ}\text{C}$	-45 až -10
krystalinita	%	41
tloušťka	μm	100
obsah uhlíku	%	51,4

CHO a spol. testovali biologickou rozložitelnost PBS a PCL (polykaprolakton) při aerobních i anaerobních podmínkách. Enpol byl podroben testu při teplotě 35°C za přístupu vzduchu. Za 80 dní se rozložilo 31% PBS. Také byl testován za anaerobních podmínek, při stejné teplotě. Za 100 dní bylo rozloženo jen 2% PBS. Výsledkem této studie tedy bylo, že PBS je biologicky rozložitelný v aerobních podmínkách a nerozložitelný v anaerobních podmínkách. [12]

1.3 Ecoflex[®]

Ecoflex je aromaticko – alifatický kopolyester, který začala v roce 1998 komerčně vyrábět německá firma BASF. Ecoflex je složen z kyseliny tereftalové, kyseliny adipové a butandiolu .



Obr. 2: Chemická struktura kopolyesteru Ecoflex [2]

Tab. 2: Fyzikální vlastnosti Ecoflexu [21]

Vlastnost	Fyzikální jednotka	Ecoflex
hustota	g.cm ⁻³	1,25 - 1,27
teplota tání T_m	°C	110 - 115
teplota skelného přechodu T_g	°C	-30
tvrdost (podle Shorea)	-	32
průzračnost	%	82
pevnost v tahu	N.mm ⁻²	32/36
mez pevnosti	N.mm ⁻²	32/36
propustnost kyslíku	cm ³ (1/m ² .d.bar)	1600
míra pronikání vodní páry	g (1/m ² .d)	140
tloušťka	μm	50
obsah uhlíku	%	62,54

Uplatnění výrobku z Ecoflexu je poměrně široké, zejména v zemědělství a v potravinářském průmyslu. Folie vyrobená z Ecoflexu se používá jako obalová potravinová folie, mulčovací folie a kompostovatelné pytle. Velké množství faktorů ovlivňuje funkčnost a trvanlivost Ecoflexu, proto musí být před použitím testovány. [3]

Ecoflex je certifikován podle německého standardu DIN V 54900 (1998 a, b, c), pro udělení tohoto certifikátu musel být výrobek podroben testu. Byla posouzena biodegradabilita a schopnost rozkladu v kompostu. Hlavně byl důkladně prozkoumán osud aromatických

částí řetězce a posuzována jeho nezávadnost pro životní prostředí. U Ecoflexu je potvrzena biodegradabilita v kompostu, tedy v termofilních podmínkách. Zde dochází k degradaci bakteriemi, které jsou v kompostu přítomny. Literatura uvádí, že 99.9% polymeru bylo v prostředí kompostu depolymerizováno za 22 dní. [2]

Biodegradaci Ecoflexu za podmínek kompostování se na našem ústavu zabýval a ve své práci publikoval Ing. Petr Stloukal. Vzorky Ecoflexu (folie, granule) byly různou dobu ozařovány, pro simulaci slunečního záření, kterému by mohl být materiál vystaven při použití např. v zemědělství. Následně byly vzorky vloženy do kompostu a v tomto prostředí byly ponechány 100 dní. K největšímu rozkladu (70%) došlo u Ecoflexu ve formě granulí, který byl ozařován 25h. Asi 60% rozkladu bylo dosaženo u Ecoflexu v granulích, který byl ozařován 100h. Ecoflex ve formě folií byl za těchto podmínek hůře rozložitelný, jen mezi 10 – 20% (dle doby ozařování). [15]

Degradaci ecoflexu v kompostu se věnovala také studie vedena NAKAJIMA a kol. Zde byla také potvrzena dobrá rozložitelnost alifaticko – aromatické folie v prostředí kompostu. [19]

ABOU – ZEID a spol. studovali biodegradaci alifatických homopolyesterů a alifaticko – aromatických kopolyesterů. Tyto kopolyestery byly na bázi 1,4 – butandiolu, tereftalové kyseliny a kyseliny adipové. Kopolyester s vysokým obsahem kyseliny tereftalové (BTA 40:60) byl podroben působení anaerobních mikroorganismů po dobu 42 dnů v mezofilním prostředí. V inokulu z laboratorního anaerobního kalu došlo k rozložení 5% BTA, v inokulu z odpadní čistírny bylo odbouráno 10% BTA. Tato studie tedy potvrzuje, že je jsou alifaticko – aromatické kopolyestery v anaerobním kalu špatně rozložitelné, na rozdíl od např. PHB, který se v obou inokulech rozložil ze 100%. Současně v této práci prokázali vliv teploty (55°C) na zlepšení biologického rozkladu u některých syntetických polymerů, konkrétně se výrazně zvýšila biodegradace PCL. [13]

YAGI a spol., již nějaký čas zkoumají vliv termofilních podmínek na testování rozkladu polyesterů, konkrétně PCL. U PCL se vliv teploty projevil, protože má bod tání 61 °C a tudíž při teplotě 55 °C již není polymer krystalický, ale výrazně amorfní a tím snadněji biodegradovatelný. U Ecoflexu, který má bod tání kolem 120 °C, pravděpodobně teplota rychlost rozkladu neovlivní a bude stále těžce biologicky rozložitelný, stejně jako za podmínek mezofilních. [11]

Testování anaerobního biorozkladu Ecoflexu prováděla v roce 2010 na našem ústavu Marcela Gregovská, za podmínek mezofilních a termofilních, prokázala pouze cca 1,7 % rozklad. [16]

1.4 Ecoflex[®] s plnivem

Jedná se o alifaticko – aromaticky kopolyester s příměsí plniv. Složení této folie je 4,35% glycerolu, 19,15% škrobu, 5,7% PLA a 70,8% ecoflexu (butandiol, kyselina tereftalová a kyselina adipová). Vlastnosti ecoflexu se škrobem jsou velmi podobné samotnému ecoflexu. Použití je obdobné jako u ecoflexu, tedy v zemědělství - mulčovací folie. V obalovém průmyslu.

S mulčovací folií, která byla vyrobena z ecoflexu s plnivem, byla provedena studie. Tato studie byla provedena vědci TACHIBANA a kol., a věnovala se vlivu rozkladných procesů folie na růst mandarinkovníků. Na rozdíl od ecoflexu se ecoflex s příměsí škrobu rozložil již za několik měsíců. Na folii během této doby působily pouze klimatické vlivy a mikroorganismy. Na ploše, kde byla použita folie ecoflexu se škrobem byly stromy mandarinkovníku v lepší růstové kondici. [17]

2 ANAEROBNÍ PROCESY VE VODNÉM PROSTŘEDÍ

Mikrobiální rozklad organické hmoty probíhá v přírodě samovolně, především v močálech, na dně rybníků apod., svými konečnými produkty metanem a oxidem uhličitým se podstatnou měrou účastní atmosférického uhlíkového cyklu. Jako mnoha jiných původně přírodních mikrobiálních procesů, i anaerobní rozklad organické hmoty je technologicky využíván jako metoda likvidace organických polutantů. Využívá se zejména při zpracování různých druhů organických kalů, vodních suspenzí a koncentrovaných roztoků. Čerpání poznatků z bioinženýrství, technologie vod a ostatních vědních oborů umožnilo intenzifikaci anaerobních procesů, které se stály reálnou cestou k odstranění organického materiálu.

2.1 Mechanismus a mikrobiologie anaerobního procesu

Testování biodegradability je prováděno metodami, které stanovují koncové produkty mikrobiálního metabolismu. Dalšími ukazateli pro stanovení biologického rozkladu jsou změny hmotnosti, stanovení CHSK, BSK. [21]

Anaerobní rozklad organických látek vyžaduje metabolickou součinnost několika různých mikrobiálních skupin. V rámci čtyř hlavních biochemických reakcí – hydrolýze, acidogeneze, acetogeneze a metanogeneze – je možné rozlišit devět různých metabolických kroků s odpovídajícími skupinami bakterií.

V prvním stadiu rozkladu – *hydrolýze* – jsou rozkládány makromolekulární rozpuštěné i nerozpuštěné organické látky (polysacharidy, lipidy, proteiny) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů. Během hydrolýzy se uvolňuje vodík a oxid uhličitý.

Acidogeneze – probíhá podobně jako hydrolýza za vzniku mastných kyselin a alkoholů. Rovněž se uvolňuje oxid uhličitý a vodík.

V dalším stadiu – *acetogenezi* – se dále rozkládají vzniklé kyseliny a alkoholy za produkce kyseliny octové.

V posledním stadiu – *metanogenezi* – dochází k tvorbě metanu a oxidu uhličitého z dostupných metanogenních substrátů, což jsou některé jednoduhlíkaté látky (metanol, mravenčí kyselina, methylaminy, CO, CO₂, H₂) a octová kyselina. [4, 20]

2.1.1 Hydrolytické a fermentační mikroorganismy

Tato skupina bakterií je odpovědná za první dva kroky anaerobního rozkladu, hydrolýzu a acidogenezi. Mikroorganismy produkují enzymy, které jsou uvolňovány do media a hydrolyzují komplexní organické látky jako celulózu, hemicelulózu, pektin nebo polysacharidy na malé molekuly, schopné transportu uvnitř buňky. Fermentací těchto látek tvoří řadu redukovatelných konečných produktů, jako jsou kyselina máselná, propionová, mléčná a octová, etanol.

Převažující druhy v mikrobiálním sídlení anaerobních reaktorů patří do čeledě *Streptococcaceae* a *Enterobacteriaceae* a do rodů *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*.

Konečné produkty metabolismu těchto bakterií jsou závislé na charakteru počátečního substrátu a na podmínkách prostředí. Při nízkém parciálním tlaku vodíku jsou produkty octová kyselina, H_2 a CO_2 . Při vyšším parciálním tlaku se tvoří organické kyseliny, mléčná kyselina, etanol.

Rychlost produkce metanu je často omezoována rychlostí destrukce biopolymerů a účinností metabolické interakce mezi hydrolytickými bakteriemi a matanogenními bakteriemi.

2.1.2 Acetogenní mikroorganismy produkující vodík

Účast této skupiny bakterií při anaerobním rozkladu je nezbytná. Z toho důvodu, že katabolizuje propionovou kyselinu a ostatní organické kyseliny vyšší než octovou, alkoholy a některé aromatické sloučeniny například benzoovou kyselinu na octovou kyselinu CO_2 a H_2 . Reprezentanti této kategorie jsou například *Syntrophobacter wolii*, *Desulfovibrio*, *Syntrophomonas wolfei*.

Studie prováděné s těmito bakteriemi zdůrazňují důležitou roli vodíku a ukazují těsnou souvislost mezi autogenními bakteriemi produkujícími vodík a bakteriemi, které vodík spotřebovávají a udržují jeho nízkou koncentraci v systému.

2.1.3 Homoacetogenní mikroorganismy

Další trofickou skupinou anaerobního ekosystému jsou homoacetogenní mikroorganismy. Mohou růst na více uhlíkatých substrátech a disponují metabolismem s vysokou termodynamickou účinností, protože netvoří vodík. Naopak některé druhy při růstu na oxidu uhličitým vodík spotřebovávají a podílejí se tak vedle metanogenů na celkovém udržování nízké koncentrace vodíku v systému.

kého parciálního tlaku vodík v ekosystému. V městském anaerobně stabilizovaném kalu mohou být identifikovány tyto druhy bakterií – *Clostridium aceticum* a *Acetobacterium wodii*.

2.1.4 Desulfurikační a denitrifikační mikroorganismy

Tyto dvě skupiny bakterií mají v anaerobním mikrobálním systému velký význam. Obě skupiny jsou schopny růst na víceuhlíkatých substrátech a s využitím síranů nebo dusičnanů jako akceptorů elektronů tvořit octovou kyselinu, vodík, sulfan a amoniak, tvoří tedy metanogenní substrát. Za určitých podmínek však mohou tyto substráty spotřebovávat za použití stejných akceptorů elektronů a být konkurenty metanogenním bakteriím.

V anaerobních reaktorech se nejčastěji vyskytují *organismy rodu Desulfovibrio, Desulfotomaculum a Desulfobulbus*.

2.1.5 Metanogenní mikroorganismy

Tyto bakterie jsou spojeny s poslední fází anaerobního rozkladu organických látek a je odpovědná za produkci žádaného plynného produktu – metanu. Je nejdůležitější skupinou anaerobního systému, má vysoce specifické požadavky na substrát i na životní podmínky. Vzhledem ke svým vlastnostem se často stává rozhodujícím faktorem pro průběh celého procesu.

2.2 Porovnání aerobních a anaerobních procesů

Při anaerobních procesech je konečným akceptorem elektronů molekulární kyslík. Anaerobní procesy využívají při získávání energie pro růst a jiné akceptory elektronů než kyslík. Jsou-li akceptory elektronů anionty NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , volná síra, N_2 a další látky, mluvíme o anaerobní respiraci. Hodnota energetického zisku při anaerobních procesech je přibližně desetkrát nižší než při aerobních procesech. Proto anaerobní procesy produkují významně méně biomasy.

Z bilance energie při aerobních a anaerobních procesech vyplývá:

1. Při anaerobních procesech je přibližně 60% energie spotřebováno na syntézu nové biomasy a 40% se ztrácí ve formě reakčního tepla

2. Při anaerobních procesech je téměř 90% energie obsažené v substrátu zachováno ve vzniklém bioplynu, 5 – 7% je spotřebováno na růst nové biomasy

Z bilance uhlíku vyplývají následující závěry:

1. Při anaerobních procesech je asi 50% uhlíku ze substrátu proměněno na biomasu a 50% na CO₂.
2. Při anaerobních procesech přechází asi 95% uhlíku ze substrátu do bioplynu a 5% do biomasy.

Z technologického hlediska představují anaerobní procesy energeticky málo náročné metody. Odstranění jednotkového množství znečištění anaerobním způsobem je vždy ekonomicky výhodnější než aerobním způsobem. [4]

2.3 Faktory ovlivňující anaerobní procesy

2.3.1 Teplota

Teplota je dominantní faktor silně ovlivňující mikroorganismy. Závislost růstové rychlosti na teplotě je obvykle nesymetrická, nižší teploty dělení pouze zpomalují, ale nebrání mu. Při extrémně nízkých teplotách už se mikroorganismus dělit nemůže, nicméně obvykle přežívá. Naopak vysoké teploty působí na mikroorganismy destruktivně, čehož se prakticky využívá při jejich likvidaci.

Z hlediska teplotní tolerance lze mikroorganismy rozdělit na několik základních skupin:

Psychofilní organismy mají optimální teploty nižší než 20°C a jsou obvykle schopné rozmnožovat se i pod bodem mrazu.

Mezofilní organismy mají optimální teplotu mezi 20-40°C, maximální obvykle nižší než 60°C.

Termofilní organismy mají optimální teplotu vyšší než 40°C a maximální mezi 60 a 80°C.

Extrémně termofilní jsou schopné se rozmnožovat i při teplotách přesahujících bod varu vody (až při 120°C), optimální teplota je cca 90-110°C a minimální obvykle vyšší než 50°C. [7]

2.3.2 pH

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

2.3.3 Přítomnost nutrietů

V substrátu je nutný, pro dobrý průběh biodegradace, přesný poměr dusíku a fosforu k organickým látkám. Kromě dusíku a fosforu je žádoucí také přítomnost dalších mikronutrientů jako jsou Na, K, Ca, Fe, Mg, Se, Ni.

Opačný efekt, tedy zpomalení nebo zastavení rozkladných procesů, způsobuje přítomnost inhibitorů. Inhibitory nepříznivě ovlivňují průběh biologického procesu. [4]

2.4 Rozklad látek v anaerobním prostředí

Rozklad látek v anaerobním prostředí se většinou provádí dle norem, za přesně definovaných podmínek. Japonský vědec Yagi a kolektiv se ve své práci zabývá převedením kalu do termofilních podmínek a testováním rozkladu plastu. Ve své práci uvádí přehled norem i s definovanými podmínkami.

ISO 14853 – stanovení anaerobní biodegradace plastu v anaerobním prostředí, metoda je založena na měření produkce bioplynu. Podmínky testu: anaerobní kal o sušině 0,1 – 0,3%, inkubační teplota $35 \pm 2^\circ\text{C}$, pH 6,8 – 7,2, množství testovaných vzorků 20 – 200mg/l (TOC), testovaný objem kapalné fáze 0,1 – 1l, inokulum – z komunálních odpadních vod nebo laboratorně pěstovaný anaerobní kal.

ISO15985 – stanovení anaerobní biodegradace plastu v anaerobním prostředí, metoda založena na měření produkce bioplynu. Podmínky testu: anaerobní kal o sušině <20%, inkubační teplota $52 \pm 2^\circ\text{C}$, pH 7,5 – 8,5, množství testovaných vzorků 20g, testovaný objem kapalné fáze <750ml, inokulum – z komunálních odpadních vod.

ASTM D5210 – standardní zkušební metoda pro stanovení anaerobního biologického rozkladu plastu v přítomnosti kalu z ČOV. Podmínky testu: anaerobní kal o sušině <0,1%, inkubační teplota $35 \pm 2^\circ\text{C}$, pH -, množství testovaných vzorků – dostatečný obsah uhlíku ve vzorku, testovaný objem kapalné fáze 100ml, inokulum – stabilizovaný anaerobní kal.

ASTM D5526 - standardní zkušební metoda pro stanovení anaerobního biologického rozkladu plastu za skládkových podmínek. Podmínky testu: anaerobní kal o sušině 35, 45, 60%, inkubační teplota $35 \pm 2^\circ\text{C}$, pH -, testovaný objem kapalné fáze $< 800\text{ml}$, inokulum – z komunálního odpadu. [11]

ISO 11734 – hodnocení úplné anaerobní biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace – metoda stanovení produkce bioplynu. Podmínky testu: anaerobní kal o sušině 1 - 3%, inkubační teplota $35 \pm 2^\circ\text{C}$, pH 7, množství testovaných vzorků – 100 mg/l (TOC), testovaný objem kapalné fáze 100ml, inokulum – z anaerobní stabilizace. [14]

Technické provedení anaerobních testů je náročné. Protože anaerobní podmínky vyžadují práci v uzavřeném prostoru, se známým objemem plynového prostoru a s nutností odstranit kyslík z plynné fáze. Při testech se používají uzavřené láhve, do níž je dávkována anaerobní biomasa a definované médium zajišťující specifické podmínky testu. Testovací nádobka je vybavena septem, přes které je možné odebírat plyn pro analýzu. Plyn byl odebírán pomocí injekční stříkačky. Hodnocení průběhu rozkladu bylo prováděno měřením produkce metanu a oxidu uhličitého v daných časových intervalech.

Základem pro vyhodnocení testů je provedení referenčního (slepého) pokusu, kde je měřena produkce plynu pouze z inokula. U anaerobních testů je nutno udržovat stabilní, zvýšenou teplotu kolem 35°C , pro přesné odečítání objemů vyprodukovaných plynů. Tento typ testu vyžaduje dlouhou dobu provádění, z důvodu nízkých rychlostí růstu mikroorganismů, což můžeme označit jako nevýhodu.

Pro stanovení anaerobní rozložitelnosti je nutné testovanou látku definovat. Definice může vycházet z obsahu organického uhlíku v testované látce, z jeho průměrného oxidačního čísla nebo ze specifické CHSK. Rozložitelnost se poté vyjadřuje jako množství C_{org} přeměněného na bioplyn z celkového množství C_{org} nebo CHSK přeměněného na metan z celkového množství CHSK. Podmínky testu jsou vždy voleny pro limitní anaerobní rozklad, což znamená, že proběhly všechny fáze anaerobního rozkladu. Látka byla spotřebována anaerobními mikroorganismy a vznikl CH_4 a CO_2 , minerální látky a nová biomasa. Stanovení anaerobní rozložitelnosti můžeme také provádět za pomoci speciálních analytických metod sledováním primární rozložitelnosti. Jedná se o úroveň rozkladu, kdy testovaná látka prochází pouze strukturálními změnami jako výsledek mikrobiální činnosti a není ještě úplně mineralizována. Důležitá je také definice inokula, které obsahuje co nejširší

škálu mikroorganismů. Zdrojem mohou být kaly nebo anaerobní reaktory se supenzní biomasou vyrostenou na rozpustném organickém znečištění. Inokulum by mělo mít co nejnižší vlastní produkci plynu a co nejmenší množství anorganického uhlíku. Pro kontrolu inokula se nasazuje stejný test s referenční látkou, u které je známa hodnota anaerobní rozložitelnosti. Touto látkou bývá benzoan sodný, fenol atd., u těchto látek by měla být dosažena rozložitelnost větší než 60%. [6]

3 ADAPTACE MEZOFILNÍHO KALU NA TERMOFILNÍ PODMÍNKY

Anaerobní rozklad můžeme rozdělit do těchto stupňů (hydrolýza, acidogeneze, autogeneze, metanogeneze). Pomocí těchto reakcí probíhá anaerobní rozklad za mezofilních i za termofilních podmínek. Hlavním rozdílem mezi mezofilním a termofilním procesem jsou reakční rychlosti v jednotlivých stupních rozkladu.

Obecně reakční rychlost s rostoucí teplotou vzrůstá. Nárůst rychlosti však není stejný u všech reakcí. Každá reakce může mít jinou teplotní závislost. Teplota má významný vliv na reakce vně i uvnitř mikrobiálních buněk. Teplota působí jako akcelerátor rozkladných procesů a často je rozhodujícím faktorem, zda daná reakce proběhne nebo neproběhne. Vnitrobuněčné prostředí potřebuje dostatečnou adaptaci, aby se stalo rezistentní vůči vyšší teplotě. Mnoho mezofilních bakterií zúčastňujících se anaerobního rozkladu má své termofilní homology, ale ne všechny a ne vždy jsou ve směsné biocenóze přítomny. Toto je podstatný fakt, který si musíme uvědomit při přechodu z mezofilního do termofilního procesu.

Stupeň termostability mikroorganismů je dán teplotním rozmezím jejich růstu. Obvykle pro mikroorganismy je běžné rozmezí 20–40 °C, avšak některé bakterie mohou mít mnohem větší teplotní rozmezí – např. hydrogenotrofní methanogen *Methanobacterium thermoautotrophicum* může růst v teplotním rozmezí 22 až 78 °C. Je pochopitelné, že takový mikroorganismus potřebuje příslušnou adaptaci, aby transformoval své enzymy, proteiny, nukleové kyseliny, lipidy a další buněčné konstituenty do termofilní podoby. Množství potřebných změn ukazuje, že přímá adaptace obvyčejných mezofilních mikroorganismů na termofilní není jednoduchá. Někteří autoři, však pokládají takovou adaptaci některých mezofilních mikroorganismů na termofilní za možnou. Tyto tzv. „skryté“ (cryptické) termofily se vyznačují termostabilními enzymy, lipidy, membránovými komponenty a doveďou termostabilizovat také své DNA na vyšší teploty.

Dále mohou být vybaveny fakultativním systémem pro syntézu termostabilních buněčných komponent nebo mají schopnost je proměnit na termostabilní. Přesný mechanismus adaptace mikroorganismů na vyšší teplotu je stále studován a je specifický pro jednotlivé druhy mikroorganismů. Obecně termofilní mikroorganismy mají vyšší obsah nasycených mastných kyselin. Jejich enzymy obsahují více sirných aminokyselin (jako cystein) a tím i více -S-S- vazeb.

Klasifikace mikroorganismů do „teplotních tříd“ (teplotních skupin) je založena na tepelném rozmezí a optimální teplotě růstu. Tyto skupiny se často vzájemně prolínají tak, že mezi jednotlivými teplotními skupinami není ostrého rozhraní. Například teplota 43–45 °C se pokládá za horní limit pro mezofilní proces a dolní limit pro termofilní proces.

Termofilní proces je považován za méně stabilní než proces mezofilní. Za hlavní důvody nestability se pokládá citlivost na náhlé změny teploty, přerušení živení a šokové zatížení, například vysokou koncentrací substrátu. Na druhou stranu je pozitivem termofilních podmínek to, že rozklad biomasy probíhá rychleji, tj. rychlostní konstanta rozkladu biomasy je za termofilních podmínek vyšší než za mezofilních, zvláště výrazné je to u propionových bakterií. [8]

3.1 Způsoby převedení kalu do termofilních podmínek

Jsou možné dva způsoby adaptace kalu na vyšší teplotu. Prvním je zvyšování teploty postupně a to takovou rychlostí, aby nedocházelo k poklesu produkce metanu. Jednotlivé kroky zvyšování teploty by neměly být větší než 2–3 °C. Takovýto způsob zpracování je relativně dlouhý (několik měsíců), ale přináší spolehlivé výsledky. [8]

VAN LIER a spol. se zabývali zkoumáním náchylnosti anaerobního kalu na změnu teploty. Z jejich studie vyplývá, že kritické teploty při převádění kalu z mezofilních (38°C) do termofilních podmínek (55°C) je 45°C a 53°C. Při teplotě 45°C došlo k výraznému poklesu produkce metanu v anaerobním systému. I teplota 53°C se jevila jako kritická, ale pokles produkce nebyl tak výrazný. [9]

Druhým způsobem zpracování, je okamžitý přechod na vyšší teplotu (šokové zpracování). Úspěšnost tohoto zpracování závisí na složení inokula, tj. na přítomnosti termofilních nebo potenciálně termofilních mikroorganismů. Průvodním jevem tohoto způsobu zpracování je značný pokles produkce metanu, spojený s odumíráním mezofilní biomasy. [8]

BOUSKOVA a spol. se také zabývali převedením kalu z mezofilních (37°C) do termofilních podmínek (55°C). Zkoumali a porovnávali, jak se mění vlastnosti kalu při postupném (70 dní) a skokovém zvýšení teploty. Autoři uvádí, že lepší strategií je zvýšit teplotu skokem. Došlo tak k výraznému poklesu produkce metanu, ale systém se během měsíce přizpůsobil a stabilizoval. [10]

4 CÍLE PRÁCE

Cílem této diplomové práce je testování biologické rozložitelnosti Ecoflexu[®] s plnivem, Ecoflexu[®] a polybutylensukcinátu (Enpol[®]) v anaerobním vodném prostředí. Jako inokulum byl použit vyhnílý anaerobní mezofilní kal z čistírny odpadních vod Malenovice.

Z literární rešerše vyplývá, že Ecoflex[®] je ve vodném prostředí těžce rozložitelný. Taktéž i PBS byl klasifikován v těchto podmínkách jako nerozložitelný. Ale nebyla doposud zveřejněna studie zabývající se biodegradací ecoflexu[®] s příměsí plniv ve vodném prostředí. V této práci tedy bude sledována biodegradace Ecoflexu[®] s plnivy, Ecoflexu[®] a PBS (Enpolu[®]).

Další částí práce je adaptace mezofilního kalu na termofilní podmínky. K provedení testu za termofilních podmínek nebyl k dispozici termofilní kal, proto jsme se pokusili převést kal mezofilní z ČOV Malenovice do termofilních podmínek. Ze studií, které byly provedeny v minulosti, jsou známy dva způsoby předení do vyšších teplot – postupné a skokové. V této práci budou otestovány a zhodnoceny obě metodiky adaptace.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE

5.1 Použité přístroje

Plynový chromatograf GC Agilent 7890A, program Chem Station

Injekční stříkačka Hamilton 100 μ l, Hamilton Bonaduz, Schweiz

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

pH metr InfoLab pH/ION 735 (WTW Series)

Třepací vodní lázeň GLF 1092

Automatická pipeta

Centrifuga Rotana 460 R (Hettich Zentrifugen, SRN)

Analytické váhy Sartorius, Německo

Váhy Scaltec SPB41

Biologický termostat BT 120

Biometrické láhve 250ml

5.2 Použité chemikálie

CH_3COONa	octan sodný
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	glukóza
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	síran amonný
CaCl_2	chlorid vápenatý
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	hexahydrát chloridu železitého
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu horečnatého
KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného
H_3BO_3	kyselina boritá
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu železnatého
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu zinečnatého

$\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	tetrahydrát síranu manganatého
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	pentahydrát síranu mědnatého
$\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	pentahydrát síranu kobaltnatého
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	tetrahydrát molybdenanu amonného

5.2.1 Příprava minerálního média

Minerální médium bylo připraveno dle normy ISO EN 11734, Jakost vod – Hodnocení úplné anaerobní biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace – Metoda stanovení produkce bioplynu [14].

Pro přípravu 1 litru biomédia bylo použito:

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

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

1 ml CaCl_2 (7,5 g/l)

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

40 ml fosfátového pufru

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

1 ml roztoku stopových prvků

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

Vše bylo smícháno a doplněno odkysličenou destilovanou vody na objem 1 litru.

5.2.2 Biologický materiál

Pro testování za anaerobních podmínek byl použit částečně vyhnílý kal z anaerobní stabilizace čistírny odpadních vod Zlín, Malenovice. Nejdříve byl kal zbaven hrubých nečistot pomocí síta. Byla stanovena jeho sušina, poté byl anaerobní kal probubláván asi 20 min dusíkem. Pak byl anaerobní kal uchován v termostatu při teplotě 35 ± 2 °C. Před použitím byl odstředěn při 4500 ot/min a teplotě 25 °C po dobu 10 min. Nato byl oddělený kal resuspendován, promyt odkysličenou pitnou vodou a znovu odstředěn. Nakonec takto upravený kal byl ředěn minerálním médiem na potřebné koncentrace, tak aby koncentrace sušiny na kalu byla u všech testů cca 3 – 4 g/l.

5.2.3 Testované polymerní materiály

5.2.3.1 *Ecoflex*[®]

Ecoflex[®] byl dodán ve formě folií vyrobených německou firmou BASF. Tento materiál se skládá z kyseliny tereftalové, kyseliny adipové a butandiolu. Folie, vyrobená vyfukováním, byla transparentní až mléčně zakalená, jednalo se o 30cm široký pás, jehož tloušťka byla 50µm. Pro výpočet stupně biodegradace byl stanoven obsah uhlíku v tomto materiálu na přístroji Solid Sample Shimadzu 5000 A (viz. stanovení pevného uhlíku). Množství uhlíku v tomto materiálu bylo 62,54%.

5.2.3.2 *Ecoflex*[®] s plnivý

Směs *Ecoflexu* se plnivem byla také ve formě folie. Jednalo se o transparentní, nažloutlou folii o velikosti čtverce se stranou 0,5m. Tloušťka materiálu byla 40µm. Složení této folie je 70,8% *ecoflexu* (butandiol, kyselina tereftalová a kyselina adipová) 4,35% glycerolu, 19,15% škrobu, 5,7% PLA. Vlastnosti (jak užité, tak i mechanické) *ecoflexu* se škrobem jsou velmi podobné samotnému *ecoflexu*. Škrob ve folii způsobuje snížení pevnosti materiálu, snížení odolnosti proti vodě a zvyšuje náchylnost k biodegradaci. Glycerol umožňuje lepší zpracovatelnost škrobu, PLA do *Ecoflexu*. Obsah uhlíku v tomto směsném materiálu *Ecoflexu* s plnivý byl 53,67%.

5.2.3.3 *Polybutylensukcinát (Enpol®)*

Polybutylensukcinát vyrábí korejská firma IRE CHEMICAL, pod obchodním názvem Enpol® G4560J. Tato křehká, transparentní folie, byla dodána přichycená na alobalu. Velikost folie byla 20x20cm a její tloušťka 100µm. Enpol byl vyroben lisováním z komerčních PBS granulí. Tyto granule byly vyrobeny polykondenzační reakcí glykolů a dikarboxylových kyselin. Obsah uhlíku ve folii byl 51,4%.

6 METODY STANOVENÍ

6.1 Stanovení pH a ORP

Měření pH i ORP bylo provedeno na Lab pH 735 fy WTW s rozdílnými elektrodami. Redoxní potenciál byl měřen na začátku a na konci pokusu. Optimální hodnota ORP pro anaerobní kal se pohybuje kolem -200 mV, kal s takovou hodnotou je v dobré kondici. pH bylo měřeno, za stálého míchání na elektromagnetické míchačce také na začátku a na konci pokusu u každého vzorku.

6.2 Stanovení sušiny anaerobního kalu

Ke stanovení sušiny použitého anaerobního kalu byly nejdříve přichystány filtry s červenou páskou. Ty musely být promyté, předem zvážené. Vakuovou filtrací bylo přes filtr přefiltrováno dané množství kalu. Filtrační papírky s kalem byly poté sušeny v sušárně při 105°C po dobu cca 3 hodin (do konstantní hmotnosti). V exsikátoru vysušené papírky s kalem byly zváženy a byla spočítána koncentrace sušiny v g/l. Stanovení bylo provedeno 3x vedle sebe.

6.3 Test biodegradace za anaerobních podmínek - láhvvé testy

Před samotným začátkem testu byly zkompletovány skleněné, plynotěsné láhve o objemu cca 300 ml (přesný objem byl změřen). Láhve byly opatřeny víčky s otvory, nimiž bylo možné odebírat přes septum plynnou fázi, popřípadě probublávat dusíkem. Do láhví bylo naváženo 100mg testovaných folií o rozměru 0,5x0,5cm a bylo nadávkováno 100ml inokula, 200ml tedy tvořila plynná fáze. Láhve byly před, i po nadávkování inokula profouknuty dusíkem, pro zajištění anaerobních podmínek. Následně byly vzduchotěsně uzavřeny a vloženy do termostatu, který byl vytemperován na požadovanou teplotu. V pravidelných časových intervalech (týdenních) byla stanovena kvantita metanu a oxidu uhličitého v bioplynu pomocí analýzy na plynovém chromatografu. Do testu byl zahrnut i slepý pokus, pro zjištění aktivity a stability anaerobního kalu bez substrátu a standardní látka octanu sodného, která snadno podléhala degradaci. Všechny pokusy byly provedeny 3-4 krát vedle sebe.

6.4 Princip plynové chromatografie

Analýza plyných produktů biodegradace (CH_4 a CO_2) byla provedena pomocí plynového chromatografu GC Agilent 7890 a vyhodnocena programem ChemStation.

Z testovací láhve byl odebrán, skleněnou stříkačkou Hamilton, plyný vzorek o objemu 100 μl a byl nastříknut přes septum do vyhřátého injektoru ($t = 200^\circ\text{C}$). Jako nosného plynu bylo použito helia o průtoku 53 ml/min. Složky ze vzorku byly sorbovány na začátku kolony ve stacionární fázi (Porapak Q, délka 1828 mm) a pak byly desorbovány čerstvým nosným plynem. Termostat byl vyhřátý na 50°C po dobu 1,8 minuty, následovalo jeho vyhřívání rychlostí $120^\circ\text{C}/\text{min}$ na teplotu 180°C . Celková doba stanovení byla 3,38 minuty. Nosný plyn unášel složky vzorku postupně ke konci kolony. Každá složka ze vzorku postupuje kolonou svou vlastní rychlostí a látky postupně vycházejí z kolony. Teplotně vodivostní detektor (TCD) indikoval okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu při teplotě 250°C .

Ke stanovení množství plynu byla použita jednobodová kalibrace sestavená s použitím plyných standardů. Byl použit kalibrační plyn LindeGas a.s Praha o složení 4,04% CH_4 a 0,799% CO_2 . Kalibrační plyn pro analýzu byl napouštěn do Tedlarova vaku o objemu 0,6l odkud byl pomocí injekční stříkačky Hamilton odebíráno 100 μl pro analýzu.

Retenční čas pro metan byl 0,799 minut a pro oxid uhličitý 1,42 minut. Hodnoty odezvy detektoru na standard se pohybovaly v rozmezí 290 – 380 μV . s pro metan a 95 – 115 μV . s u oxidu uhličitého.

Koncentrace metanu a oxidu uhličitého byly vypočítány dle vzorců uvedených v kapitole 7.

6.5 Stanovení rozpuštěného uhlíku

Stanovení celkového organického rozpuštěného uhlíku bylo provedeno v analyzátoru uhlíku Shimadzu 5000A.

Kapalný vzorek byl při analýze nastříknut pomocí dávkovače do vysokoteplotního reaktoru. Principem stanovení je, že v reaktoru při teplotě 680°C na platinovém katalyzátoru je veškerý organický i anorganický uhlík oxidován na oxid uhličitý. Proud kyslíku pak nese oxid uhličitý do IR reaktoru. V detektoru dochází k absorpci záření příslušné vlnové délky a vzniklý signál je registrován jako peak. Výška peaku je přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku.

Stanovení anorganického uhlíku se provádí v nádobce s kyselinou fosforečnou, do které je vzorek nastříknut v proudu kyslíku a dochází zde k vytěsnění CO₂, který je veden na infračervený detektor a vyhodnocen jako předešlý TC.

Celkový organický uhlík (TOC) se vypočte z rozdílů hodnot TC a IC.

7 METODY VYHODNOCENÍ

Ze skleněných láhví bylo odebíráno 100 μ l plynné fáze pro analýzu na plynovém chromatografu. Samostatně byl stanovován metan a oxid uhličitý. Získaná data poté byly přepočítávány dle níže uvedených vzorců.

Množství vyprodukovaného uhlíku ve formě metanu

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

m_{CH_4}	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CH ₄ [mg]
M_c	relativní atomová hmotnost uhlíku [g.mol ⁻¹]
p	tlak v den měření [kPa]
V_g	plynný objem láhve [ml]
$w(CH_4)$	množství oxidu uhličitého obsažené v kalibračním plynu [%]
V_{st}	dávkový objem plynné fáze standardu [μ l]
S_{vz}	signál detektoru pro vzorek [μ V. s]
R	molární plynová konstanta [J.K ⁻¹ .mol ⁻¹]
T	teplota v den měření [K]
S_{st}	signál detektoru pro standart [μ V.s]
V_{vz}	dávkový objem plynné fáze vzorku [μ l]

Množství vyprodukovaného uhlíku ve formě oxidu uhličitého

$$m_{CO_2} = \frac{M_c * p * V_g}{R * T * 1000} * w(CH_4) * \frac{V_{st} * S_{vz}}{S_{st} * V_{vz}} * 1000$$

m_{CO_2}	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO ₂ [mg]
M_c	relativní atomová hmotnost uhlíku [g.mol ⁻¹]
p	tlak v den měření [kPa]
V_g	plynný objem láhve [ml]
$w(CO_2)$	množství oxidu uhličitého obsažené v kalibračním plynu [%]
V_{st}	dávkový objem plynné fáze standardu [μl]
S_{vz}	signál detektoru pro vzorek [μV . s]
R	molární plynová konstanta [J.K ⁻¹ .mol ⁻¹]
T	teplota v den měření [K]
S_{st}	signál detektoru pro standart [μV.s]
V_{vz}	dávkový objem plynné fáze vzorku [μl]

Dg procento mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂ a CH₄ v plynné fázi [%]

$$Dg = \frac{m_{CO_2} + m_{CH_4}}{T_c} * 100$$

Dg	procento mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO ₂ a CH ₄ v plynné fázi [%]
m_{CO_2}	substrátová produkce uhlíku ve formě CO ₂ [mg]
m_{CH_4}	substrátová produkce uhlíku ve formě CH ₄ [mg]
T_c	obsah celkového uhlíku v testovacím materiálu [mg]

D_T celkové, totální procento odstranění substrátu z produkce CO₂ a CH₄ (se započítaným množstvím uhlíku v kapalné fázi)

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

D_T totální procento odstranění substrátu podle produkce CO₂ a CH₄ a množství CO₂ rozpuštěného kapalné fázi [%]

m_{C_{IC}} množství uhlíku ve formě IC rozpuštěného v kapalné fázi [mg]

T_c teoretické množství C ve zkoušeném vzorku v testovací láhvi [mg]

8 ANAEROBNÍ TESTY

8.1 Adaptace anaerobního mezofilního kalu na termofilní podmínky postupným zvyšováním teploty

Anaerobní mezofilní kal byl dovezen 12. 11. 2012 z ČOV Malenovice. Bylo u něj změřeno pH 8,13, ORP -295mV a stanovena sušina 29,34 g/l. Kal nebyl cezen, ani odstředěn kvůli omezení pobytu kalu v aerobních podmínkách. Nejprve byl kal v pětilitrovém kanystru uložen do termostatu, který byl vyhřát na teplotu 39°C. Po 9 dnech byl kal umístěn do dvou dvoulitrových skleněných nádob, opatřených uzávěrem se septy k odběru bioplynu pro analýzu a otvory pro připojení promývací láhve pro odchod vyprodukovaného bioplynu. A opět bylo vše umístěno do termostatu. Obsah testovacích láhví byl vždy po několika dnech protřepán. Postupně byla zvyšována teplota v termostatu, vždy po několika dnech. Před každým zvýšením teploty byl odebrán bioplyn, který byl podroben analýze na plynovém chromatografu. Pokud kal vykazoval nízké hodnoty metanu ve vznikajícím plynu, byl přidán substrát. Protože bylo předpokládáno, že v kalu není přítomen substrát a kal tedy nemá látku k degradaci, a proto klesá produkce metanu. Zajímavostí u tohoto kalu bylo, že po několika dnech, pokud byl kal ponechán bez protřepání, se na hladině tvořila zhutnělá asi centimetrová vrstva, ve které byly pozorovány bílé vláknité organismy. Teplotní změny popřípadě dávkování substrátu je znázorněno v tabulce 3.

8.2 Adaptace anaerobního mezofilního kalu na termofilní podmínky skokovým zvýšením teploty

Anaerobní mezofilní kal pro pokus převodu do termofilních podmínek skokovým zvýšením teploty byl dovezen 21. 1. 2013. Tentýž den bylo změřeno pH 7,33 i oxidačně redukční potenciál -275,3 mV a sušina kalu 35,36 g/l. Tento kal nebyl cezen ani odstředěn. Ihned poté byl kal přemístěn do dvoulitrové, plynotěsné láhve opatřené septy pro odběr plynné fáze i otvorem k připojení promývací láhve pro odchod bioplynu. Kvůli zajištění anaerobních podmínek byla láhev před nadávkováním kalu profouknuta dusíkem. Také byla umístěna do horké vody, proto aby kal po přelití zbytečně nevychladl. Celkový objem 1600ml anaerobního mezofilního kalu bylo přemístěno do 2l skleněné láhve, do láhve bylo nadáv-

kováno i 200ml biomédia. Ihned poté byla láhev vložena do termostatu, který konstantně vyhříval na 55°C. Obsah láhve byl pouze příležitostně míchán. V pravidelných intervalech byl z láhve odebírán bioplyn k analýze na plynovém chromatografu.

8.3 Testování biodegradace Ecoflexu[®], Exoflexu[®] s plnivý a polybutylensukcinátu v anaerobním mezofilním prostředí (37°C)

Rozklad folií probíhal v biometrických láhvích o objemu 300ml. Plynotěsné, skleněné láhve byly předem zkompletovány a byla zkontrolována jejich těsnost. Folie byly před zahájením testu nastříhány na velikost cca 0,5 x 0,5cm. Láhve byly předem profouknuty dusíkem, kvůli vypuzení veškerého kyslíku z láhví a tedy dosažení anaerobních podmínek. Do láhví bylo dávkováno 100mg testovaných folií – ecoflexu, ecoflexu s plnivem a polybutylensukcinátu. Poté bylo přidáno 100ml inokula. Inokulum bylo smícháno z anaerobního kalu (0,5l) ČOV Malenovice a 2l biomédia. Kal byl předem upravován, scezen a odstředěn. Sušina anaerobního mezofilního kalu byla 2,75g/l, pH 8,13, ORP -190mV. Takto připravené inokulum bylo dávkované do 300ml lahviček. Také byl připraven slepý pokus, kde bylo do láhve dávkováno 100ml inokula, ale substrát již přidán nebyl. Do dalších třech láhví bylo naváženo 70mg octanu a inokulum, tyto láhve sloužily jako srovnávací, tudíž jsme u nich sledovali jakou rychlosti je schopen náš kal rozkládat potencionálně jednoduše rozložitelný substrát.

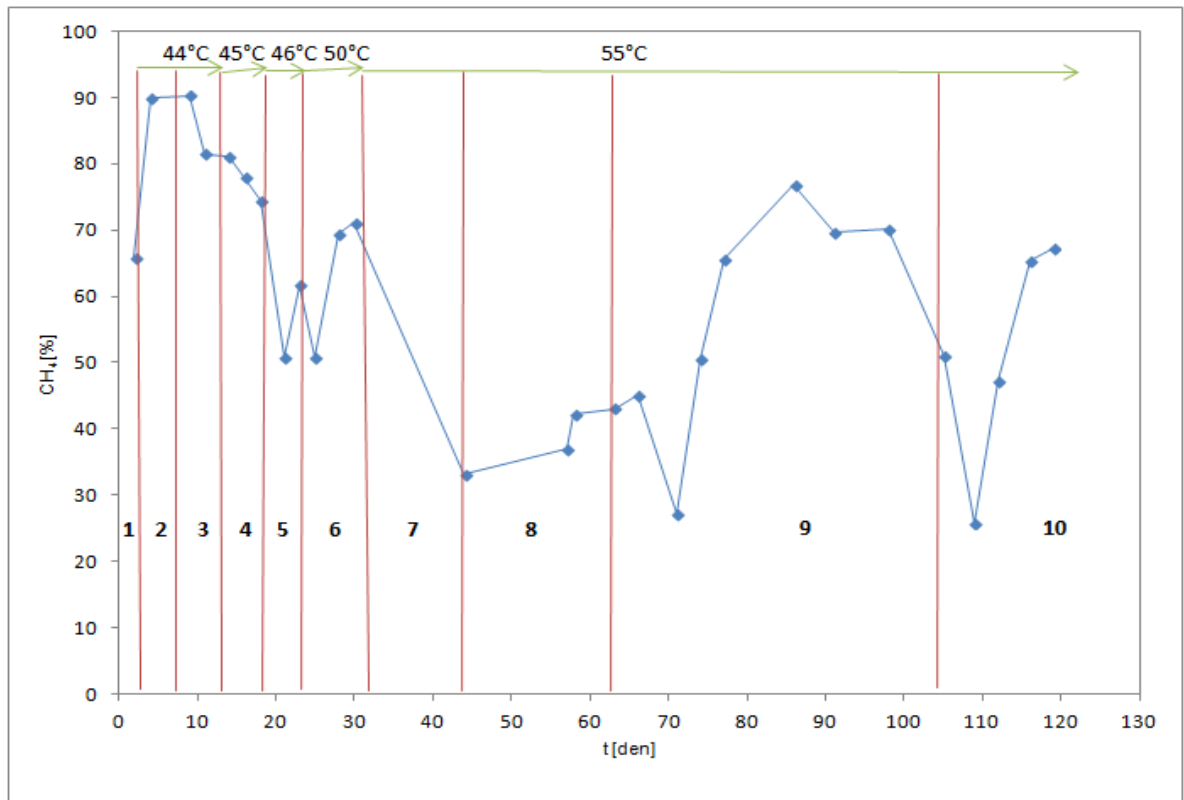
Testovací láhve byly uloženy do biologického termostatu s teplotou 37°C. Experiment trval 78dnů. Průběžně bylo odebíráno 100μl plynné fáze k analýze na plynovém chromatografu. Rozklad testovaných vzorků byl hodnocen dle množství vyprodukovaného metanu a oxidu uhličitého. Ze získaných hodnot bylo vypočítáno procentuální odstranění substrátu (Dg %). Po zahrnutí množství anorganického uhlík z kapalné fáze bylo stanoveno celkové procentuální odstranění uhlíku (Dt %). Po ukončení pokusu byl v jednotlivých láhvích změřen obsah uhlíku a stanoveno pH, ORP a byly vysušeny a zváženy folie, pro porovnání hmotnosti na začátku a na konci pokusu.

8.4 Testování biodegradace Ecoflexu[®], Exoflexu[®] s plnivem a polybutylensukcinátu v anaerobním termofilním prostředí (55°C)

K tomuto pokusu byl použit anaerobní kal, který byl dovezen 12. 11. 2012. PH tohoto kalu bylo 8,13, ORP -295mV a sušina 29,34 g/l. Kal byl kvantitativně přemístěn do skleněných 2l láhví, smíchán s 200ml inokula a vložen do termostatu. Během dvou měsíců byla zvyšována teplota v termostatu, dokud nedosáhla 55°C. Poté byl již termofilní kal použit k tomuto testu. Lahvičky o objemu 300ml byly před nadávkováním profouknuty dusíkem a vytemperovány v horké vodě, proto aby nedošlo k ochlazení termofilního kalu. Poté byly vloženy folie ecoflexu, ecoflexu s plnivem a polybutylensukcinátu a nadávkováno 100ml inokula. Lahvičky byly uzavřeny plynotěsnými víčky se septy a vloženy do biologického termostatu. Po celou dobu testu byla v termostatu udržována teplota 55°C. Vždy po několika dnech byly lahvičky promíchávány. Pokus trval 96 dní. Průběžně bylo analyzováno vždy 100 μ l bioplynu na plynovém chromatografu, který byl vybaven kolonou Porapak Q. Degradace byla zhodnocena na základě množství metanu a oxidu uhličitého v bioplynu. Ze získaných hodnot bylo vypočítáno D_g (procento odstranění substrátu z hlediska produkce CH_4 a CO_2 v plynné fázi) a D_t (procento degradace substrátu z hlediska CH_4 a CO_2 v plynné fázi a množství rozpuštěného uhlíku v kapalně fázi). Po 96 dnech bylo v jednotlivých lahvičkách změřeno pH, oxidačně – redukční potenciál. Folie byly vysušeny a pro zjištění úbytku hmotnosti i zváženy.

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

9.1 Adaptace anaerobního mezofilního kalu na termofilní podmínky postupným zvyšováním teploty



Obr. 3: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu během převodu kalu z mezofilních do termofilních podmínek v závislosti na čase, dávkování substrátu a teplotě

Tab. 3: Znáznorňuje zvyšování teplot, popřípadě dávku substrátu v jednotlivých dnech postupné adaptace

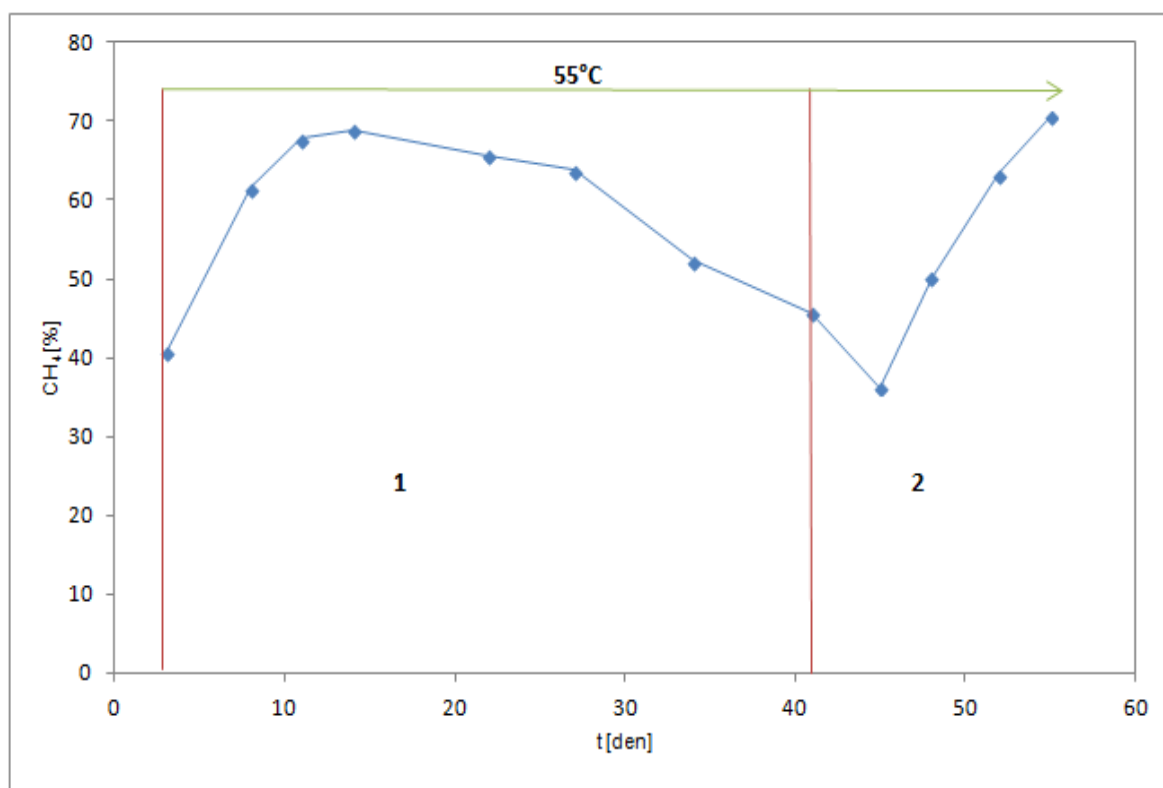
dny	t (°C)	dávka substrátu
2	44	200ml biomédia
9	44	
11	44	2,2g octanu sodného s 12ml vody
14	45	
18	46	2g sacharózy s 12ml vody
24	50	
32	55	
44	55	2g octanu sodného s 15ml vody
62	55	10g sacharózy
105	55	5g glukózy s 20ml vody

Obrázek 3 obsahuje procentuální zastoupení CH₄ v bioplynu. V grafu jsou znázorněny časové úseky, které jsou očíslovány. Teplota popřípadě dávka substrátu je v tabulce 3. Kal byl po přelití z kanystru do skleněné dvoulitrové nádoby umístěn do termostatu s teplotou 41°C. Již po dvou dnech od přelití do nádoby byla zvýšena teplota termostatu o 3°C (44°C). 11 den byl do kalu vložen substrát, jednalo se o roztok octanu sodného v 12ml vody. 14 den byla teplota navýšena o stupeň (na 45°C). 18 den byl přidán substrát, roztok 2g sacharózy a 12ml vody a teplota byla zvýšena na 46°C. 24 den se již teplota kalu blížila termofilním podmínkám (50°C). Poté byl kal ponechán více než týden v klidovém režimu. 32 den již byla teplota v termostatu 55°C. 44 den byl přidán octan sodný v 15ml vody a 64 den 10g sacharózy pro zajištění dostatku organického substrátu. Poté byl kal úmyslně ponechán více než měsíc bez substrátu, kvůli prověření stability termofilního anaerobního kalu.

Z grafu je patrné, že u kalu byla zhoršena aktivita produkce CH₄ po přelití do skleněné láhve. Při manipulaci byl kal vystaven působení kyslíku, i když na velmi krátkou dobu. Další výrazný pokles produkce metanu byl zaznamenán od desátého dne testu. Tento propad byl nejspíše způsoben teplotou, která se již pohybovala nad 40°C. Dle studií které pro-

váděl Van Lier a kol. [9] je kritická teplota při adaptaci 43°C a 53°C. Tyto teploty byly i v našem testu kritické. V úseku 7, tedy 32 den kdy byla teplota zvýšena z 50 na 55°C, nastalo zásadní snížení obsahu metanu v bioplynu. Dalším faktorem, který negativně ovlivňoval aktivitu kalu, bylo dávkování octanu sodného. Octan sodný v mezofilních podmínkách byl substrátem pro kal, ale v termofilních podmínkách nebyl příliš vhodným substrátem (úsek 8). Tato skutečnost byla zjištěna až při degradačním testu folií v termofilním prostředí. Poté bylo do kalu nadávkováno 10g sacharózy a kal po osmi dnech zvýšil produkci metanu a dostal se do dobré kondice. K otestování stability kalu byl kal ponechán více než měsíc bez substrátu, opět došlo k poklesu produkce metanu, ale po dávce substrátu se jeho aktivita zlepšuje a produkce metanu stoupá. Kal byl tedy úspěšně adaptován na termofilní podmínky. Kal i po výrazném poklesu obsahu metanu v bioplynu byl schopen zvýšit produkci CH₄, to poukazuje na určitou stabilitu a kvalitu tohoto anaerobního termofilního kalu.

9.2 Adaptace anaerobního mezofilního kalu na termofilní podmínky skokovým zvýšením teploty



Obr. 4: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu během převodu kalu z mezofilních do termofilních podmínek v závislosti na čase, dávkování substrátu a teplotě

Tab. 4: Znáznorňuje zvyšování teplot popřípadě dávku substrátu v jednotlivých dnech šokové adaptace

úsek	dny	t [°C]	dávka substrátu
1	3	55	10g sacharózy
2	41	55	5g glukózy s 20ml vody

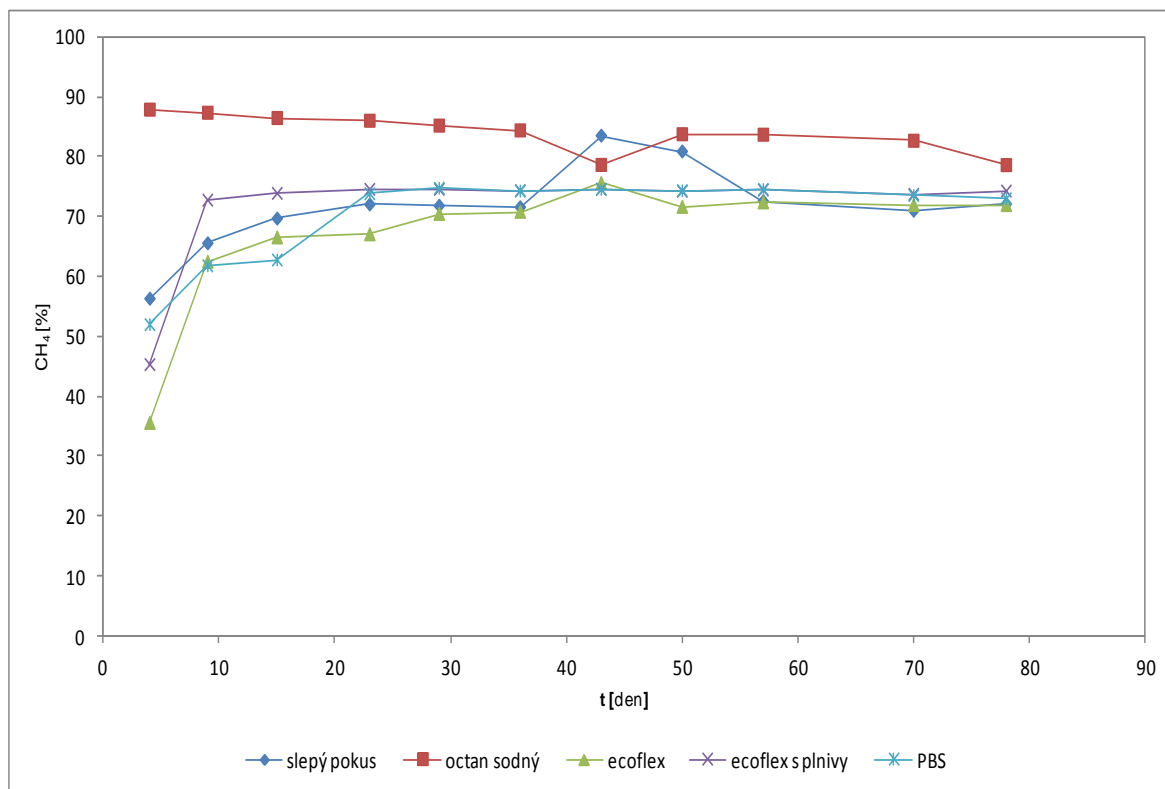
Průběh procentuálního obsahu metanu v bioplynu je patrný na obrázku 4., v závislosti na čase. Kal byl ihned po transportu umístěn do termofilních podmínek. Již třetí den byla nadávkována sacharóza, kvůli zajištění dostatečného množství organického substrátu. Kal vykazoval od začátku dobrou vitalitu. Již jedenáctý den křivka dosáhla prvního maxima, kdy obsah CH₄ v bioplynu byl 68%. Poté zastoupení metanu postupně klesalo. 41 den od zahájení testu byl znovu nadávkován roztok glukózy. Tři dny poté produkce metanu opět narostla a kal byl v dobré kondici. Tento test prokazuje, že anaerobní kal i po okamžitém umístění do termofilních teplot, vykazuje dobrou vitalitu. I přes vyhladovění, byl schopen opět produkovat kvalitní bioplyn.

BOUČKOVÁ a kol. taktéž testovali tuto metodu adaptace šokem a porovnávali ji s metodou postupného navyšování teplot. Jako lepší metodu vyhodnotili adaptaci skokovým zvýšením teploty. [10]

9.3 Testování biodegradace ecoflexu, Exoflexu s plnivem a polybutylen-sukcinátu v anaerobním mezofilním prostředí (37°C)

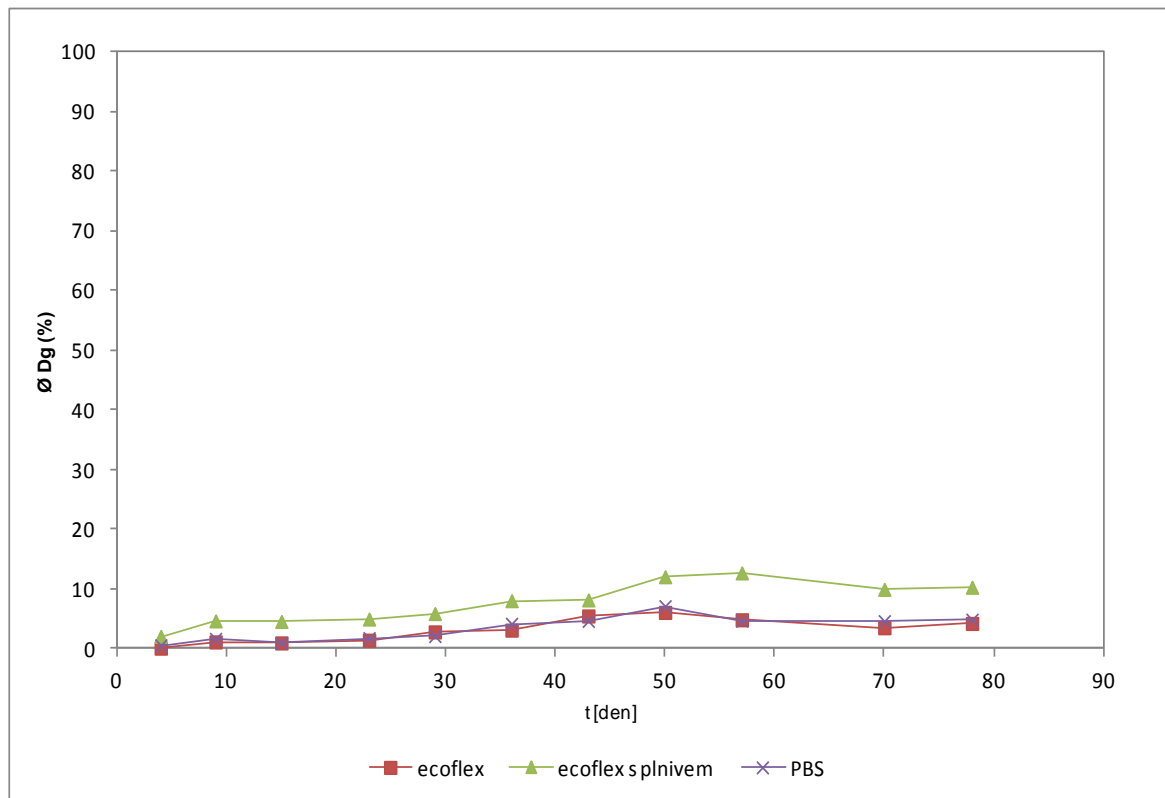
Tab. 5: Počáteční hmotnost testovaných folií, konečný obsah uhlíku (TC), obsah rozpuštěného uhlíku IC, TOC a TC, pH a ORP - mezofilní test

Vzorek	hmotnost folie - začátek m_z [g]	TC ve vzorku [%]	TC ve vzorku [mg/l]	IC ve vzorku [mg/l]	TOC ve vzorku [mg/l]	pH	ORP [mV]
slepý pokus			110,8	97,63	13,17	7,51	-160
octan sodný 1	0,0722	29,27	168,5	166,8	1,7	7,6	-208
octan sodný 2	0,0722	29,27	140,1	139	1,1	7,58	-163
octan sodný 3	0,0721	29,27	178,5	176,9	1,6	7,44	-148
octan sodný 4	0,0707	29,27	202,9	188,1	14,8	7,61	-144
ecoflex 1	0,1066	62,54	101,2	85,39	15,81	7,39	-120
ecoflex 3	0,1034	62,54	91,61	77,47	14,14	7,33	-123
ecoflex+pl 1	0,1055	53,47	111	100,9	10,1	7,2	-116
ecoflex+pl 2	0,1004	53,47	94,09	83,01	11,08	7,21	-124
PBS 3	0,1023	51,40	105,3	90,93	14,37	7,36	-134
PBS 4	0,1025	51,40	109,3	95,89	13,41	7,38	-134



Obr. 5: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu při anaerobním mezofilním testu

Kvalita a schopnost anaerobního mezofilního kalu produkovat metan byla posouzena z obrázku 5. Z něj je patrné, že velmi vysoké i konstantní produkce CH_4 bylo dosaženo v láhvích s octanem sodným. Octan snadno podléhá degradačním procesům, proto se množství metanu v bioplynu pohybovalo mezi 75 – 90%, od začátku až do konce testu. Obsah metanu v bioplynu u ecoflexu do 23 dne vzrůstal. Poté došlo k ustálení procentuálního zastoupení plynů v plynné fázi na 70% CH_4 a 30% CO_2 . I v láhvích s polybutylensukcinátem od 23 dne poměr těchto dvou plynných produktů minimálně kolísá, a to kolem hodnot 70% CH_4 a 30% CO_2 . Ani křivka ecoflexu se škrobem nevykazuje žádné abnormality. Procentuální zastoupení metanu v bioplynu konstantně rostlo do 9 dne, od tohoto dne vykazuje křivka lineární trend. Množství plynných produktů bylo ustáleno na hodnotách 70% metanu a 30% oxidu uhličitého. Z toho plyne, že ve všech láhvích probíhala degradace substrátu, protože obsah CH_4 v bioplynu byl vyšší než CO_2 .



Obr. 6: Průběh degradace testovaných vzorků folií v mezofilních podmínkách

Na obrázku 6 je znázorněn průběh biodegradace jednotlivých vzorků. Rozklad byl vypočítán z množství metanu a oxidu uhličitého v plynné fázi. Ecoflex byl v průběhu testu odbourán z 4% za 78 dní. Skutečnost že ecoflex patří mezi těžce rozložitelné látky v anaerobním vodném prostředí, byla zřejmá již z předešlých studií, například ze studie publikované Ling H. a kol [18]. Ecoflex s plnivem (škrobem, glycerinem a PLA) prozatím nebyl testován v anaerobním mezofilním prostředí kalů. Škrob se za anaerobních podmínek vyhnílého kalu čistírny odpadních vod rozkládá cca z 80 %, PLA je v těchto podmínkách nerozložitelná a glycerol podléhá rozkladu ze 70 %. Ve směsi bylo obsaženo 19,15 % škrobu, 5,7 % PLA a 4,35% glycerolu. Za předpokladu, že by se jednotlivé složky rozložily, pak by mohla proběhnout mineralizace vzorku folie z 19,6 %. V uvedeném testu bylo dosaženo 10% degradace. Souběžně s křivkou ecoflexu byla vykreslena i křivka PBS. Rozložitelnost polybutylensukcinátu byla pouze kolem 5%, proto i PBS klasifikujeme jako biologicky těžce rozložitelný.

Tab. 6: Biodegradace folií v mezofilním anaerobním prostředí, vyhodnocena na základě úbytku hmotnosti vzorku

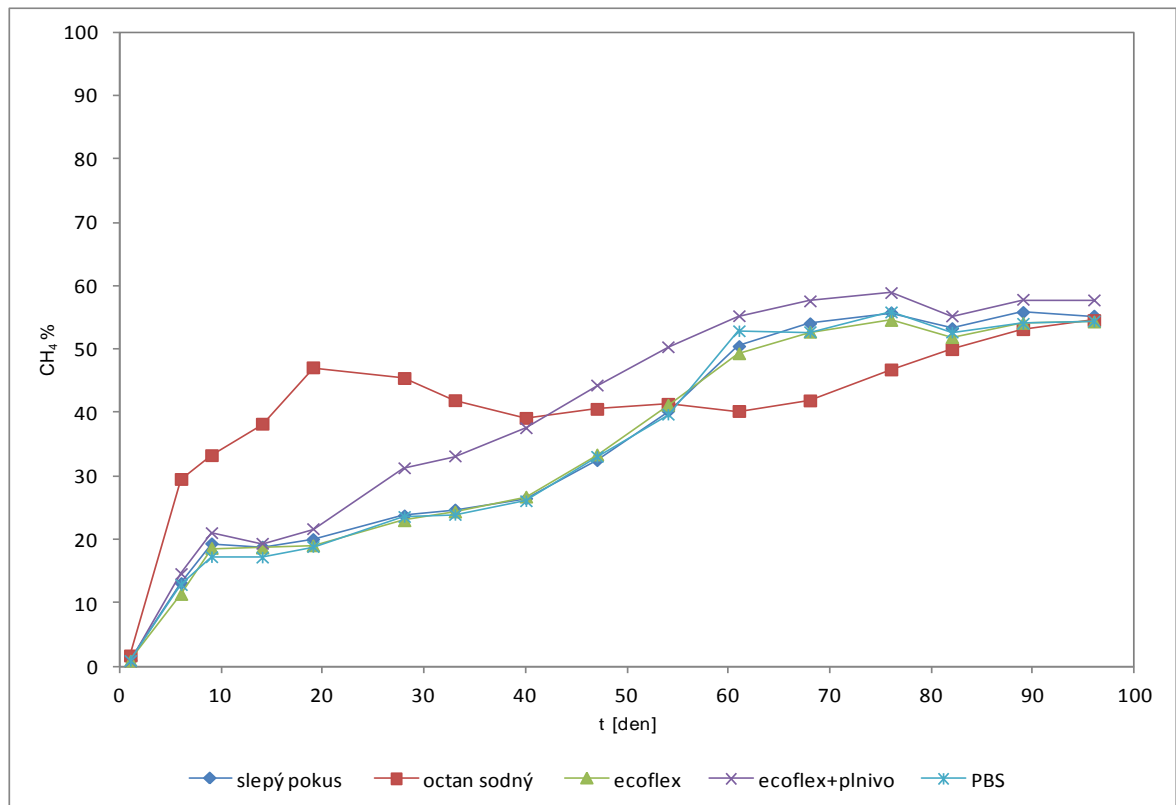
vzorek	$m_{\text{počáteční}} \text{ [g]}$	$m_{\text{konečná}} \text{ [g]}$	úbytek [g]	úbytek [%]	Ø úbytek [%]
ecoflex	0,1066	0,1045	0,0021	1,97	2,82
	0,1034	0,0996	0,0038	3,68	
ecoflex s plnivý	0,1055	0,0909	0,0146	13,84	16,53
	0,1004	0,0811	0,0193	19,22	
PBS	0,1023	0,0958	0,0065	6,35	4,05
	0,1025	0,1007	0,0018	1,76	

Tabulka 6 obsahuje hmotnost testovaných folií při vkládání do láhví, tedy hmotnost počáteční. Na konci pokusu byly folie, odděleny od kalu, promyty destilovanou vodou, vysušeny na vzduchu, uloženy v exsikátoru a zváženy. Rozdíl hmotností znázorňují poslední dva sloupce v tabulce. Pokud by došlo během biodegradace za podmínek pokusu k úplné mineralizaci vzorku až na oxid uhličitý a metan, pak by měl být hmotnostní úbytek roven procentu degradace, která byla vypočítána z hodnot stanovených plynovým chromatografem. U vzorku ecoflexu byla degradace 4%, ale hmotnostní úbytek byl 3%. V případě směsné folie z ecoflexu s plnivý byla degradace vypočtena z produkce bioplynu 10%, přičemž hmotnostní úbytek byl 16,5% (v jednom případě dokonce dosahuje 19,2%). Tato hodnota se již blíží teoretickému předpokladu o biodegradaci směsného materiálu a potvrzuje skutečnost, že přidavek biorozložitelných plniv může přispívat k celkovému rozkladu folie. Rozdíl oproti 10 % dosažených dle produkce bioplynu odpovídá pravděpodobně skutečnosti, že ještě nedošlo k úplné biodegradaci na metan a oxid uhličitý, ale k tvorbě meziproductů. Pokus trval 78 dní, pravděpodobně v delším časovém horizontu by bylo dosaženo vyššího rozkladu. Také je již folie částečně narušena a to by umožňovalo její další biodegradaci v biotickém prostředí. Hmotnost testované folie z polybutylensukcinátu v lahvičce 4 byla evidentně ve srovnání s lahvičkou 3, chybná. Kvantitativní přemístění polybutylensukcinátu z lahvičky na sušící misku, bylo obtížné, protože folie se lámaly a ulpívaly na sítku. Z tohoto důvodu se hodnoty úbytku tolik lišily.

9.4 Testování biodegradace Ecoflexu, exoflexu s plnivem a polybutylen-sukcinátu v anaerobním termofilním prostředí (55°C)

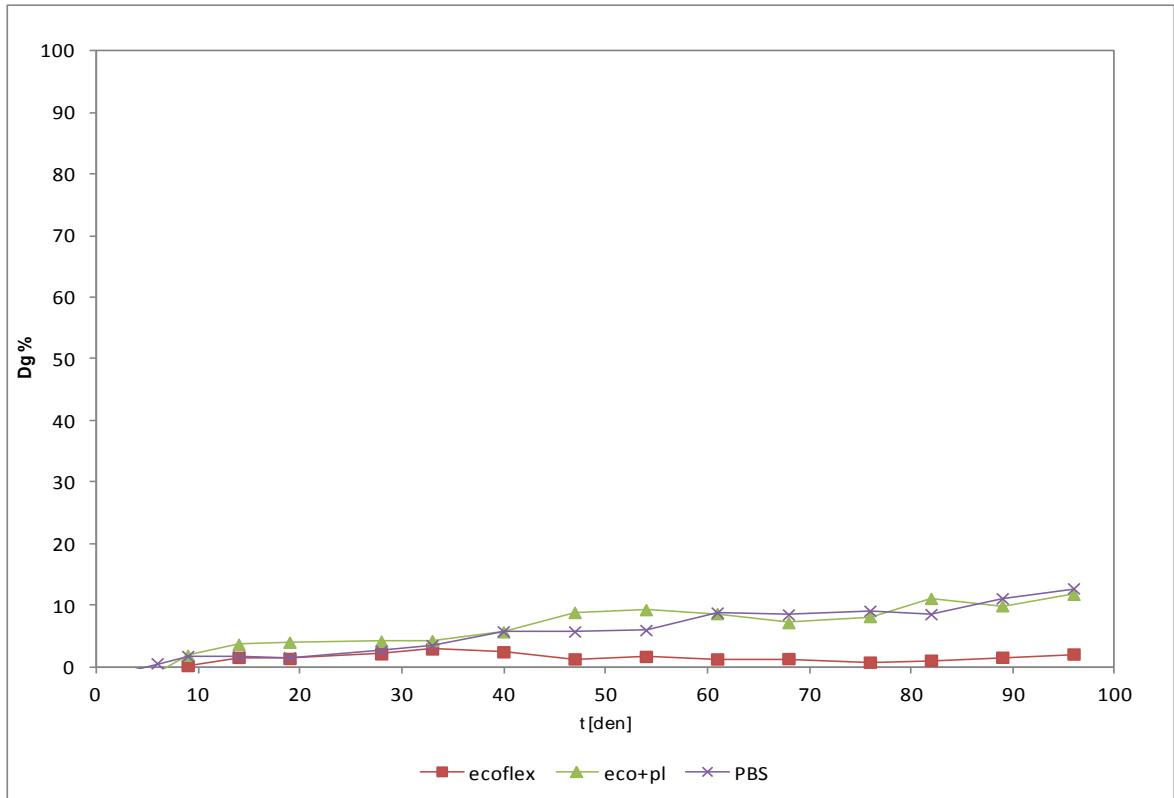
Tab. 7: Počáteční hmotnost testovaných folií, obsah uhlíku (TC) ve vzorku, obsah rozpuštěného uhlíku IC, TOC a TC, pH a ORP na konci pokusu - termofilní test

Vzorek	hmotnost folie - začátek m_z [g]	TC ve vzorku [%]	TC ve vzorku [mg/l]	IC ve vzorku [mg/l]	TOC ve vzorku [mg/l]	pH	ORP [mV]
slepý pokus 1			2160,0	1168,2	991,8	8,44	-355
slepý pokus 2			1663,8	1139,4	506,4	8,44	-342
slepý pokus 3			2197,2	1119,6	896,4	8,37	-336
slepý pokus 4			1824,0	1136,4	687,6	8,46	-350
octan sodný 3	0,0704	29,27	1878,6	1204,8	673,8	8,36	-332
ecoflex 1	0,1005	62,54	2126,4	1138,2	988,2	8,44	-334
ecoflex 2	0,1003	62,54	1906,2	1141,8	764,4	8,4	-328
ecoflex 3	0,1009	62,54	1987,8	1127,4	860,4	8,34	-344
ecoflex 4	0,1025	62,54	1736,4	1155,6	580,8	8,39	-354
ecoflex+pl 1	0,1065	53,47	1783,2	1059,6	723,6	8,46	-197
ecoflex+pl 2	0,1016	53,47	1975,8	1196,4	779,4	8,39	-334
ecoflex+pl 3	0,1022	53,47	1828,8	1140,6	688,2	8,38	-331
ecoflex+pl 4	0,1000	53,47	1744,8	1155,6	589,2	8,36	-342
PBS 1	0,1020	51,40	1686,0	1161,0	525,0	8,49	-333
PBS 2	0,1055	51,40	1916,4	1160,4	756,0	8,33	-337
PBS 3	0,1023	51,40	1709,4	1153,2	552,0	8,32	-329
PBS 4	0,1025	51,40	1714,8	1157,4	557,4	8,34	-334



Obr. 7: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu při anaerobním termofilním testu

Obsah metanu v produkovaném bioplynu je patrný na obr. č. 7. Slepý pokus, tedy testované láhve bez substrátu, byl schopen produkovat kvalitní bioplyn. Na úrovni slepého pokusu se line křivka ecoflexu, ecoflexu s plnivem a PBS. Maximálního procentuálního zastoupení metanu v bioplynu u ecoflexu bylo dosaženo 76 den a to 54%. Maximálních hodnot bylo dosaženo později než při mezofilních teplotách, z toho plyne, že se termofilní kal delší dobu adaptuje na jakékoliv změny. Metan v bioplynu u polybutylensukcinátu dosáhl nejvyšší hodnoty také 76 den od začátku měření, zastoupení CH_4 tento den bylo 55%. Křivka procentuálního obsahu metanu v bioplynu u ecoflexu s příměsí škrobu se pohybovala nad slepým pokusem. Maximum metanu v plynu bylo dosaženo 76 den a to 60%. Křivka octanu sodného dosáhla svého prvního maxima 19 den, tento den byl zastoupení metanu v produkovaném plynu 47%. Poté následoval pokles křivky a její více než měsíční ustálení na 40% CH_4 , 60% CO_2 . Pak opět nastalo zvyšování tvorby metanu, druhé maximum bylo dosaženo 96 den (54% CH_4 , 46% CO_2).



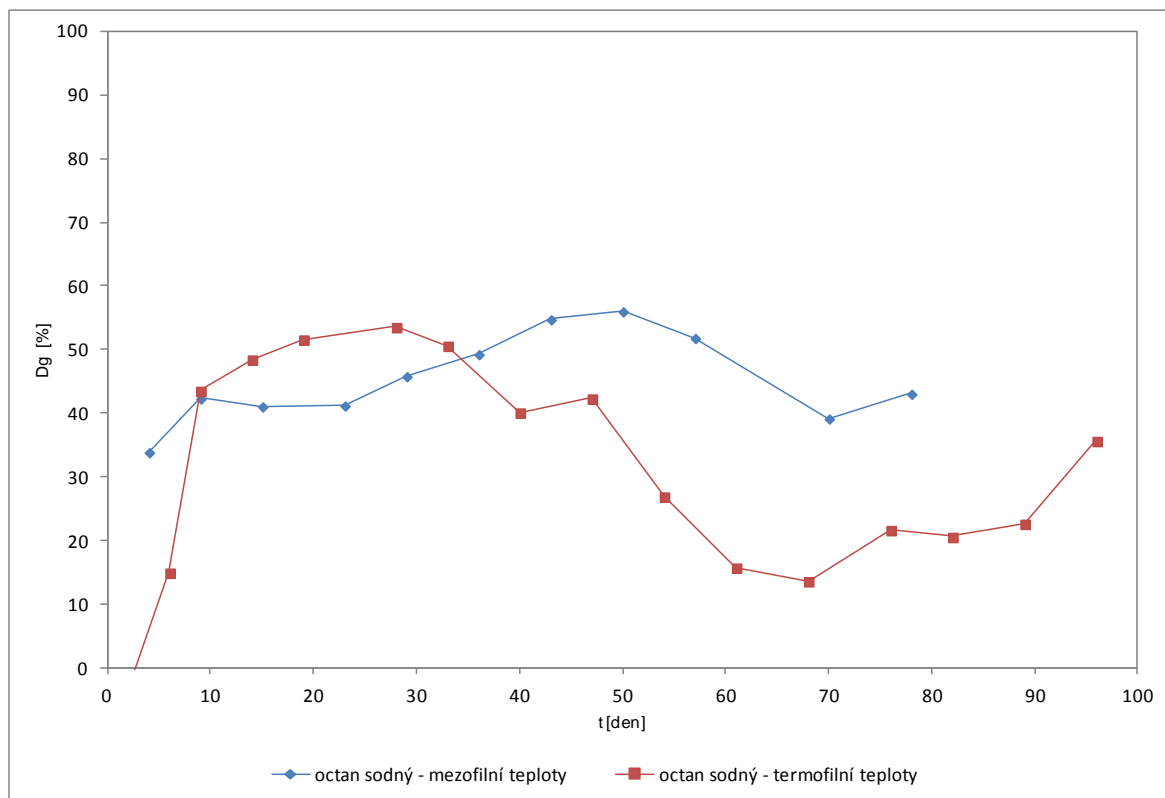
Obr. 8: Průběh degradace testovaných vzorků folií v termofilních podmínkách

Na obrázku 8 znázorněn průběh degradačních křivek u testovaných fólií v termofilním anaerobním prostředí. Ecoflex dosáhl pouze 2% degradace. Termofilní teploty tedy nezlepšily rozložitelnost ecoflexu ve vodném prostředí a byl stále velmi těžce rozložitelný. Křivka ecoflexu s příměsí škrobu dosáhla maximálně na 12% degradace. U polybutylen-sukcinátu byla rozložitelnost lepší než v prostředí mezofilních teplot, byly dokonce vyšší než u ecoflexu se škrobem, dosáhla na 13% D_g . Na konci všech křivek je patrný rostoucí trend, časem by pravděpodobně bylo dosaženo vyšší mineralizace folií.

Tab. 8: Degradace folií v termofilním anaerobním prostředí, vyhodnocena metodou vážení vzorků

vzorek	číslo láhve	$m_{\text{počáteční}}$ [g]	$m_{\text{konečná}}$ [g]	úbytek [g]	úbytek [%]	Ø úbytek [%]
ecoflex	1	0,1005	0,0933	0,0072	7,16	10,80
	2	0,1003	0,0826	0,0177	17,65	
	3	0,1009	0,0927	0,0082	8,13	
	4	0,1025	0,0920	0,0105	10,24	
ecoflex s plnivý	1	0,1065	0,0702	0,0363	34,08	36,14
	2	0,1016	0,0679	0,0337	33,17	
	3	0,1022	0,0656	0,0366	35,81	
	4	0,1000	0,0585	0,0415	41,50	
PBS	1	0,1020	0,0750	0,0270	26,47	30,10
	2	0,1055	0,0639	0,0416	39,43	
	3	0,1023	0,0765	0,0258	25,22	
	4	0,1025	0,0725	0,0300	29,27	

Tabulka 8 obsahuje hodnoty úbytku folií. Folie byly odseparovány od inokula scezením přes síto, poté vysušeny v exsikátoru a zváženy. Rozdíl v hmotnostech vzorku, na začátku a na konci testu (po 96 dnech), byl u ecoflexu byl 11%, ale D_g (degradace vypočítána z obsahu CH_4 a CO_2 v plynné fázi) pouze 2%. Úbytek ecoflexu s plnivý, zjištěn vážením, byl 36% ale D_g 12%. Folie polybutylensukcinátu byla velmi těžce oddělována od kapalné fáze, protože byla velmi lámavá a ulpívala na povrchu síta. Přesto je hodnota v tabulce 8 vyšší než D_g , D_g bylo u tohoto vzorku 13%. Degradace vyhodnocena vážením 30%. Degradace, vypočítána z rozdílu hmotnosti vzorku na začátku a na konci testu, byla ve všech případech vyšší než degradace vypočítána z uhlíku v plynné fázi. Na základě výsledku lze usoudit, že degradace v termofilním prostředí pravděpodobně zcela neproběhla za tvorby konečných produktů CH_4 a CO_2 .



Obr. 9: Degradční křivky octanu sodného v termofilním a mezofilním prostředí

Na tomto obrázku byl porovnán průběh biodegradace octanu sodného v termofilních a mezofilních podmínkách. V mezofilním testu byly nasazeny 4 plynotěsné lahvičky a všechny přetrvaly v dobré kondici do konce testu (78 dnů). Do termofilních teplot byly nasazeny 3 lahvičky a do konce testu (96 dnů) přetrvala pouze jedna lahvička. Proto není octan sodný nejvhodnějším substrátem pro termofilní anaerobní kal, vhodnější se zdá být například mikrocelulóza.

Procento odstranění octanu sodného v mezofilních podmínkách dosáhlo maxima 50 den a to 56%. Poté došlo k propadu křivky, ale ke konci testu můžeme pozorovat opět mírný nárůst mineralizace substrátu. Při termofilních teplotách dosáhla křivka degradace 28 den maxima, 54%. Pak následoval pokles průběhu křivky, minimum bylo zaznamenáno 68den a to pouze 14% metanu, od toho dne byla kvalita bioplynu opět navyšována až do konce testu. Maximální degradace octanu sodného bylo dosaženo dříve, teplota tedy působila jako akcelérátor rozkladných procesů. Procento degradace bylo v obou případech kolem 55%.

Tab. 9: Srovnání výsledného degradačního stupně v termofilní a mezofilním prostředí

vzorek	mezofilní prostředí		termofilní prostředí	
	D _g %	D _T %	D _g %	D _T %
ecoflex	4,15	4,15	2,03	2,64
ecoflex s plnivem	10,22	10,51	11,73	14,97
PBS	4,78	4,78	12,69	15,92

V tabulce 9 byly porovnány hodnoty D_g (procento mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂ a CH₄ v plynné fázi) a D_T (procento totálního odstranění substrátu dle produkce CO₂ a CH₄ a množství CO₂ rozpuštěného v plynné fázi) v prostředí mezofilním a termofilním. Nejprve byly porovnány hodnoty D_g. Ecoflex dosáhl při vyšších teplotách pouze 2% degradace (96 den), v prostředí mezofilním maximálně 4% (78 den). Zvýšením teploty tedy nedošlo k vyššímu stupni rozkladu tohoto materiálu. Škrob, jako přísada v ecoflexu, zajistil vyšší schopnost odbouratelnosti této směsné folie, v mezofilním prostředí 10% a v termofilním prostředí 12%. Polybutylensukcinát v prostředí nižších teplot dosáhl 5% degradace, v prostředí termofilním 13%. PBS tedy podlehl v termofilním prostředí snadněji degradačním procesům, což bylo pravděpodobně způsobeno tím, že PBS má bod tání 90°C. Termofilní teploty byly tedy bližší jeho bodu tání, docházelo k rozvolnění vazeb a materiál byl přístupnější pro mikroorganismy.

Totální procento odstranění substrátu dle plynných produktů a množství rozpuštěného uhlíku v kapalně fázi bylo v mezofilním prostředí u ecoflexu i PBS stejné s D_g, protože nebyl přítomen žádný uhlík v kapalně fázi. Při teplotách termofilních byl vždy přítomen i rozpuštěný anorganický uhlík v kapalině a D_T bylo tedy vyšší. Lze říci termofilní prostředí více svědčí rozkladu organického substrátu, kal byl schopen v těchto podmínkách produkce metanu. Maximální degradace v termofilním kalu bylo dosaženo později, ale procento degradace bylo vyšší.

Srovnáním degradace vypočítané z hmotnostního úbytku a degradace vypočítané na základě množství uhlíku v plynné fázi bylo zjištěno, že v termofilních podmínkách nedocházelo pouze k biodegradaci až na metan a oxid uhličitý, ale také k tvorbě meziproductů biorozkladu. Proto je biodegradace vyhodnocena na základě rozdílu hmotností folií před a po biodegradaci vyšší než D_g (viz. tab. 8 a tab. 6)

9.4.1 Snímky testovaných folií

Obrázky slouží ke srovnání vizuálních změn u testovaných folií (Ecoflexu, Ecoflexu s plnivem a polybutylensukcinátu) před zahájením testu a po ukončení biodegradačního anaerobního termofilního testu (96 dní).



Obr. 10: Folie Ecoflexu na začátku testu a po ukončení testu



Obr. 11: Folie Ecoflexu s plnivem na začátku testu a po ukončení testu



Obr. 12: Folie z polybutylensukcinátu na začátku a po ukončení testu

Vizuální změny nejsou příliš výrazné. U testované folie ecoflexu došlo ke změně barvy z bílé, průhledné na lehce nahnědlou. Na folii ecoflexu s plnivy jsou pozorovatelné po 96 denním testu bílé místa (tečky), jedná se pravděpodobně o lokální degradační místa. Folie vyrobená z polybutylensukcinátu prodělala během testu největší vizuální změny, folie byla neprůhledná, lehce nažloutlá a velmi drolivá.

10 ZÁVĚR

V této diplomové práci byla testována biodegradace Ecoflexu[®], Ecoflexu[®] s příměsí plniv a polybutylensukcinátu (Enpolu[®]) v anaerobním vodném prostředí při teplotách mezofilních a termofilních. Tyto materiály byly k dispozici ve formě folií. Hlavní uplatnění těchto výrobků je v zemědělství (mulčovací folie), potravinovém průmyslu (obalový materiál). Jedná se o materiály, které byly vyvinuty s cílenou vlastností, jejich biologickou rozložitelností v kompostu. Tato vlastnost byla v mnohých dřívějších studiích potvrzena.

V degračních testech byl jako inokulum použit vyhnílý anaerobní mezofilní kal z čistírny odpadních vod v Malenovicích. Anaerobní rozklad byl prováděn v plynotěsných, skleněných láhvích opatřených septy pro odběr bioplynu. Objem láhve byl 300ml (100ml kapalná fáze a 200ml plynná fáze). Přes septum byl v pravidelných intervalech odebírán bioplyn, který byl analyzován. Stupeň degradace byl vyhodnocen z produkce metanu a oxidu uhličitého v plynné fázi. K analýze obsahu metanu a oxidu uhličitého v bioplynu byla použita metoda stanovení koncentrace CH₄ a CO₂ pomocí plynové chromatografie.

Současně byl stupeň biorozkladu hodnocen dle úbytku hmotnosti folií.

První test probíhal v mezofilních podmínkách, při 37°C, po dobu 78dnů. Ecoflex[®] podlehl degračním procesům ze 4%. Snadněji rozložitelným, kvůli příměsí plniv, byl Ecoflex[®] s plnivem, jeho celková degradace byla 10%. Polybutylensukcinát, neboli Enpol[®], dosáhl 5% degradace.

K dalšímu testu již byl zapotřebí termofilní kal, který nebyl k dispozici. Proto se další částí diplomové práce stala adaptace mezofilního kalu na termofilní teploty. Byly provedeny dvě metody, adaptace skokovým zvýšením teploty a postupným zvýšením teploty. Lepší metodou je okamžité umístění kalu do termofilních teplot. Tato metoda byla rychlejší i méně pracná. Kal byl od začátku schopen produkce kvalitního bioplynu a v tomto trendu byl schopen setrvat, pokud měl k dispozici dostatek substrátu.

Termofilní anaerobní kal, který byl adaptován postupným zvýšením teplot během dvou měsíců, byl použit k dalšímu biodegračnímu testu výše uvedených folií. Ten probíhal 96 dnů. Ecoflex[®] dosáhl pouze 3% totální degradace, což je méně než v mezofilním prostředí. Termofilní teploty tedy rozklad ecoflexu neurychlují. Ecoflex[®] s plnivem dosáhl 15% a polybutylensukcinát 16% totální biodegradace.

Na základě výsledků lze konstatovat, že termofilní teplota působí jako akcelerátor rozkladných procesů (s výjimkou Ecoflexu[®]). Maximální degradace bylo dosaženo při termofilních teplotách později (protože termofilní anaerobní kal je velmi citlivý manipulaci), ale stupeň rozkladu byl vyšší.

Srovnání degradace vypočítané z rozdílu hmotností vzorku a degradace vyhodnocené na základě obsahu uhlíku v plynné fázi v termofilních podmínkách bylo zjištěno, že v termofilních podmínkách nedocházelo pouze k biodegradaci až na metan a oxid uhličitý, ale také k tvorbě meziproductů biorozkladu. Proto je biodegradace vyhodnocena na základě rozdílu hmotností folií před a po biodegradaci vyšší než D_g .

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KROISOVÁ, Dora. *Biodegradovatelné polymery - úvod do problematiky*. Vyd. 1. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009, 78 s. ISBN 978-80-7372-468-9
- [2] WITT, U; EINIG, T; YAMAMOTO, M; KLEEGER, I; DECKWER, W D; MÜLLER, R J. *Biodegradation of Aliphatic-aromatic Copolyesters: Evaluation of the Final Biodegradability and Ecotoxicological Impact of Degradation Intermediates*. Chemosphere, 2001, Vol.44 (2), Pp.289-99. ISSN:0045-6535
- [3] Brožura k produktu Ecoflex od firmy BASF, [Online]. [cit. 2012-12-05]
URL
http://www.plasticsportal.net/wa/plasticsEU~en_GB/function/conversions:/publis/h/common/upload/biodegradable_plastics/Ecoflex_Brochure.pdf
- [4] CHUDOBA, Jan, Michal DOHÁNYOS a Jiří WANNER. *Biologické čištění odpadních vod*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1991, 465 s. ISBN 8003006112
- [5] SCHULZ, Heinz a Barbara EDER. *Bioplyn v praxi: teorie - projektování - stavba zařízení - příklady*. 1. české vyd. Ostrava: HEL, 2004, 167 s. ISBN 8086167216
- [6] STRAKA, František a Michal DOHÁNYOS. *Bioplyn: [příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů]*. 2., rozš. a dopl. vyd. Praha [i.e. Říčany u Prahy]: GAS, 2006, 706 s. ISBN 80-7328-090-6
- [7] Fyziologie mikroorganismů, [Online]. [cit. 2013-01-17] URL <http://fzp.ujep.cz/~trogl/6Fyziologie.pdf>
- [8] Vývoj problematiky kalového hospodářství Ústřední čistírny odpadních vod Praha, [Online]. [cit. 2013-01-17] URL <http://www.mzp.cz/ris/ais-ris-info-cpy.nsf/da28f37425da72f7c12569e600723950/8a24e87dadcb04e6c1256c370072c95f?OpenDocument>
- [9] VAN LIER, J.B; HULSBEEK, J; STAMS, A.J.M; LETTINGA, G. *Temperature Susceptibility of Thermophilic Methanogenic Sludge: Implications for Reactor Start-up and Operation*. Bioresource Technology. 1993, vol. 43, no. 3 s. 227-235. ISSN:0960-8524.
- [10] BOUSKOVÁ, A; DOHÁNYOS, M; SCHMIDT, J E; ANGELIDAKI, I. *Strategies for Changing Temperature from Mesophilic to Thermophilic Conditions in*

- Anaerobic CSTR Reactors Treating Sewage Sludge*. Water Research, 2005, Vol.39(8), Pp.1481-8. 2005. ISSN:0043-1354.
- [11] YAGI H, NINOMIYA F, FUNABASHI M, KUNIOKA M. *Anaerobic Biodegradation Tests of Poly(lactic acid) under Mesophilic and Thermophilic Conditions Using a New Evaluation System for Methane Fermentation in Anaerobic Sludge*. International Journal of Molecular Sciences. 2009; 10(9):3824-3835.
- [12] CHO HS, MOON HS, KIM M, NAM K, KIM JY. *Biodegradability and biodegradation rate of poly(caprolactone)-starch blend and poly(butylene succinate) biodegradable polymer under aerobic and anaerobic environment*. Waste Management (New York, N.Y.), 2011, 31(3):475-480
- [13] ABOU-ZEID, DUNJA-MANAL; MÜLLER, ROLF-JOACHIM; DECKWER, WOLF-DIETER. *Biodegradation of Aliphatic Homopolyesters and Aliphatic-aromatic Copolyesters by Anaerobic Microorganisms*. Biomacromolecules, 2004, Vol.5(5), Pp.1687-97. 2004, vol. 5, no. 5 s. 1687-1697. ISSN:1525-7797.
- [14] ISO EN 11734, *Jakost vod – Hodnocení úplné anaerobní biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace – Metoda stanovení produkce bioplynu*, český normalizační institut, 1999.
- [15] STLOUKAL P; VERNEY V.; COMMEREUC S.; RYCHLY J.; MATISOVA-RYCHLA L.; PIS V.; KOUTNY M.. *Assessment of the Interrelation Between Photooxidation and Biodegradation of Selected Polyesters After Artificial Weathering*. Chemosphere, August, 2012, Vol. 88(10), P.1214(6). 2012, vol. 88, no. 101214. ISSN:0045-6535.
- [16] DVOŘÁČKOVÁ M., STLOUKAL P., KOUTNÝ M., GREGOVSKÁ M. *Biodegradability of Aliphatic-Aromatic Copolyester in Aqueous Anaerobic and Aerobic Environment*. Proceedings of the 4 International Conference on Environmental and Geological Science and Engineering, Barcelona, Spain, September 15-17, 2011, pp. 141-1146, ISBN: 978-1-61804-032-9
- [17] TACHIBANA, Y.; MAEDA, T.; ITO, O.; MAEDA, Y.; KUNIOKA, M. *Utilization of a Biodegradable Mulch Sheet Produced from Poly(Lactic Acid)/Ecoflex®/Modified Starch in Mandarin Orange Groves*. Int. J. Mol. Sci. 2009, 10, 3599-3615

- [18] LING H.; GUIXIANG Z.; WEI Z.; WEI CH. *Compostion, thermal properties, and biodegradability of a new biodegradace alipatic/aromatic copolyesters*. Journal of applied polymer science, vol.113, 2009, p.p. 1298 - 1306
- [19] NAKAJIMA – KAMBE H.; ICHIHASHI F.; MATSUZOE R.; KATO S.; SHINTANI N.; *Degradation of aliphatic – aromatic copolyesters by bakteria that can degrade aliphatic polyesters*, Polymer degradation and stability, vol. 94, 2009, 1901 – 1905
- [20] SLEJŠKA A.; Testování biodegradability [Online]. 1997, [cit. 2013 – 03 - 04]
URL <http://stary.biom.cz/clean/as/biodegrtest.html>
- [21] YAMAMOTO M.; WITT U.; SKUPIN G.; BEIMBORN D.; MÜLLER R.; *Biodegradable aliphatic – aromatic polyesters Ecoflex*, Wiley – VCH verlag GmbH, 2005
- [22] SOCCIO M.; LOTTI N.; FINELLI L.; MUNARI A.; *Effect of transesterification reactions on the crystallization behaviour and morphology of poly(butylene/diethylene succinate) block copolymers* , European polymer journal, vol. 45, 2008, 171 – 181
- [23] Informace firmy IRE Chemical k výrobku ENPOL, [Online], [cit. 2013-04-18]
URL <http://irechem.en.ecplaza.net/enpol-g8060-g8060f-g4560-g4560j--199574-1192639.html>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PBS	Polybutylensukcinát
PCL	Polykaprolakton
PBSA	Polyetylensukcinát adipát
BTA	Polymer na bázi butandiolu, kyseliny tereftalové a kyseliny adipové
PHB	Polyhydroxybutyrát
PLA	Kyselina polyléčná
CHSK	Chemická spotřeba kyslíku
BSK	Biologická spotřeba kyslíku
ISO	Jednotná mezinárodní norma
TOC	Celkový organický uhlík
ASTM	American society for testing and materials
ČOV	Čistírna odpadních vod
ORP	Oxidačně – redukční potenciál
TCD	Teplotně vodivostní detektor

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr.1: Chemická struktura polyesteru Enpol [22]</i>	14
<i>Obr.2: Chemická struktura kopolyesteru Ecoflex [2]</i>	15
<i>Obr.3: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu během převodu kalu z mezofilních do termofilních podmínek v závislosti na čase, dávkování substrátu a teplotě</i>	42
<i>Obr.4: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu během převodu kalu z mezofilních do termofilních podmínek v závislosti na čase, dávkování substrátu a teplotě</i>	44
<i>Obr.5: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu při anaerobním mezofilním testu</i>	47
<i>Obr.6: Průběh degradace testovaných vzorků folií v mezofilních podmínkách</i>	48
<i>Obr.7: Procentuální zastoupení metanu v bioplynu při anaerobním termofilním testu</i>	51
<i>Obr.8: Průběh degradace testovaných vzorků folií v termofilních podmínkách</i>	52
<i>Obr.9: Degradční křivky octanu sodného v termofilním a mezofilním prostředí</i>	54
<i>Obr.10: Folie Ecoflexu na začátku testu a po ukončení testu</i>	56
<i>Obr.11: Folie Ecoflexu s plnivý na začátku testu a po ukončení testu</i>	56
<i>Obr.12: Folie z polybutylensukcinátu na začátku a po ukončení testu</i>	56

SEZNAM TABULEK

Tab.1: Fyzikální vlastnosti Enpolu	14
Tab.2: Fyzikální vlastnosti Ecoflexu	15
Tab.3: Znázorňuje zvyšování teplot, popřípadě dávku substrátu v jednotlivých dnech postupně adaptace.....	43
Tab.4: Znázorňuje zvyšování teplot popřípadě dávku substrátu v jednotlivých dnech šokové adaptace.....	45
Tab.5: Počáteční hmotnost testovaných folií, konečný obsah uhlíku (TC), obsah rozpuštěného uhlíku IC, TOC a TC, pH a ORP - mezofilní test.....	46
Tab.6: Biodegradace folií v mezofilním anaerobním prostředí, vyhodnocena na základě úbytku hmotnosti vzorku.....	49
Tab.7: Počáteční hmotnost testovaných folií, obsah uhlíku (TC) ve vzorku, obsah rozpuštěného uhlíku IC, TOC a TC, pH a ORP na konci pokusu - termofilní test	50
Tab.8: Degradace folií v termofilním anaerobním prostředí, vyhodnocena metodou vážení vzorků	53
Tab.9: Srovnání výsledného degradačního stupně v termofilní a mezofilním prostředí	55

