

Zde patří úvodní strana.

Tato strana se ze šablony netiskne.

Úvodní strana je uvedena ve speciálních souborech přístupných na webových stránkách univerzity.

Zde patří oficiální zadání diplomové práce.

Tato strana se ze šablony netiskne. Je to výstup z IS STAG.

ABSTRAKT

Abstrakt česky

Cílem této diplomové práce bylo ověřit použitelnost plynově chromatografické koncovky, resp. titračního stanovení oxidu uhličitého jako srovnatelných kritérií pro hodnocení biologického rozkladu plastů v půdním prostředí a prakticky ji ověřit na vzorcích reálných polymerů (PHB, PCL a jejich směsí). Byla také testována jejich rozložitelnost ve vodním prostředí s půdním výluhem jako inokulem. Bylo zjištěno, že při dodržení všech limitujících faktorů (pH, vlhkost, stripování), je možno plynově chromatografickou koncovku použít jako plnohodnotné kritérium hodnocení rozkladu plastů v půdním prostředí.

Abstrakt ve světovém jazyce

The aim of this diploma work was to verify the usability of gas chromatographic determination and/or acidimetric analysis of carbon dioxide as comparable criteria for assessment of biological degradation of polymers in soil environment and verify the methods by means of degradation of real polymers (PHB, PCL and their blends). Biodegradation of the same samples in water environment was also tested. It was found that under the same conditions (limiting factors as pH, moisture, stripping), the gas chromatographic method could be used as the only one criterium for evaluation of polymer degradation in soil environment..

Na tomto místě bych chtěl poděkovat svému vedoucímu doc. Ing. Jaromíru Hoffmannovi a konzultantovi Ing. Pavlu Dřimalovi za cenné rady a připomínky, které mi pomohly k vypracování této diplomové práce. Dále patří mé poděkování celému kolektivu ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za vytvoření výborných pracovních podmínek, rodině a přátelům za všestrannou pomoc při studiu.

OBSAH

OBSAH.....	5
ÚVOD.....	7
<i>I. TEORETICKÁ ČÁST.....</i>	<i>8</i>
1 Biologická rozložitelnost polymerních materiálů v půdním prostředí.....	9
1.1 Faktory ovlivňující průběh biodegradací v půdním prostředí.....	10
1.2 Biorozložitelné plasty.....	12
1.2.1 Charakteristika použitých materiálů.....	13
1.3 Testování biodegradace látek v půdním a vodním prostředí.....	14
1.4 Standartní postupy sledování biorozložitelnosti plastů v půdním prostředí.....	15
1.5 Praktické vyhodnocení výsledků biodegradace.....	16
<i>II. PRAKTICKÁ ČÁST.....</i>	<i>18</i>
2 Experimentální část.....	19
2.1 Chemikálie roztoky půdní substráty.....	20
2.2 Biologický materiál.....	20
2.3 Charakteristika testovaných vzorků.....	21
2.4 Přístrojové vybavení.....	23
2.5 Měřicí aparatury.....	23
2.6 Pracovní metodiky.....	24
2.6.1 Metodiky posouzení biologického rozkladu.....	24
2.6.1.1 Posouzení biodegradability z hlediska produkce oxidu uhličitého.....	25
2.6.1.2 Posouzení biodegradability z hlediska úbytku organického uhlíku.....	26
2.7 Laboratorní postupy a analýzy.....	27
2.7.1 Stanovení sušiny pevných vzorků.....	27
2.7.2 Stanovení pH.....	27
2.7.3 Stanovení TOC.....	27

2.8 Příprava pokusů.....	27
2.8.1 Biodegradace látek v půdním prostředí.....	27
2.8.2 Biodegradace látek ve vodném prostředí s půdním výluhem jako inokulem.....	28
2.9 Zpracování výsledků.....	32
3 Výsledky a jejich diskuse.....	35
4 Závěr.....	59
Seznam použité literatury.....	61
Seznam symbolů a zkratk	64
Seznam obrázků.....	65
Seznam tabulek.....	66

ÚVOD

Na Institutu ochrany životního prostředí je již delší dobu věnována pozornost biologické rozložitelnosti chemických látek v různých prostředích. Cílem této diplomové práce je pokračovat v ověřování metodiky půdních testů, zejména se zaměřením na rozklad polymerů PHB a PCL v půdním a vodním prostředí a ověření výsledků rozkladu pomocí titrační a chromatografické analýzy CO₂.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIODEGRADACE POLYMERNÍCH LÁTEK V PŮDNÍM PROSTŘEDÍ ZA AEROBNÍCH PODMÍNEK

Při dlouhodobém používání syntetických polymerních materiálů se degradační důsledky působením záření, vzdušného kyslíku, ozónu, vody, kyselin, alkálií a dalších faktorů mohou kombinovat s účinky mikroorganismů, které se realizují prostřednictvím enzymů a mikrobiálních metabolitů. [2]

Toto působení může nabývat na významu, pokud se polymerní výrobky používají v půdě nebo v přírodních vodách. Tehdy je možné se setkat s výzkumnými snahami o modifikaci dosud známých polymerů nebo o syntézu nových polymerů, odolných proti působení mikroorganismů. Z ekologických důvodů je naopak žádoucí, aby syntetické polymery degradovaly rychlostí srovnatelnou s rychlostí degradace přírodních makromolekul. V tomto případě se možnosti degradace existujících syntetických polymerů hledají na základě znalostí fyziologie, biochemie, a genetiky mikroorganismů a mikrobiálních společenstev. Pokud enzymatické vybavení mikroorganismů umožňuje pouze částečnou degradaci syntetických polymerů, její účinek se může projevit až po předchozí fotochemické, hydrolytické nebo jiné degradaci. Při biodegradaci polymerů v půdě se například může projevit určitá následnost i při působení jednotlivých skupin mikroorganismů, při které jedna skupina vyvolává jen část reakcí degradujícího řetězce.

Hodnocení biorozložitelnosti daného polymeru naráží na podstatně větší problémy s reprodukovatelností než je tomu u fotooxidační nebo termooxidační degradaci. Pro daný účel je možné použít měření množství spotřebovaného kyslíku nebo vyprodukovaného oxidu uhličitého, případně se vyhodnocuje rychlost růstu kolonie mikroorganismů na polymerní podložce. Tento mikrobiologický test však nebývá vždy jednoznačný, protože biochemická aktivita mikroorganismů na polymerní podložce často závisí na přítomnosti stopových prvků, vitamínů a jiných limitujících faktorů. Biodegradabilita syntetických látek závisí na molekulové hmotnosti, přičemž rychlost biodegradace u nízkomolekulárních alifatických uhlovodíků je neporovnatelně vyšší než u polyolefinů. Rozvětvené molekuly jsou přitom méně náchylné na atak mikroorganismů než lineární. V uhlovodíkových polymerech jsou biosusceptibilní zejména koncové skupiny, v polymerech s heteroatomy v hlavním řetězci je biochemický atak možný i ve středu řetězce. Nadmolekulární struktura polymerů a kompaktní uspořádání semikrystalických

polymerů vždy výrazně ztěžuje průnik enzymů k biosusceptibilním centrům, a proto syntetické polymery mikrobiologicky degradují jen velmi obtížně. Účinek mikroorganismů je v těchto případech často zeslabený biocidním charakterem přísad do polymerních směsí, které obsahují olovo, měď, arsén, cín a síru nebo naopak zesílený biosusceptibilními přísadami jako jsou některé plastifikátory (například sebakáty a adipáty).

Mikrobiálnímu ataku jsou přitom nejodolnější polytetrafluorethylén, polyvinylchlorid, polypropylén, polyfenylénoxid, polystyrén a polyamidy. Při biodegradaci polymerů v půdním prostředí se v normálních podmínkách jedná v naprosté většině případů o aerobní procesy, neboť v půdě je přístup ke vzduchu zcela přirozeným jevem. [4] Navíc dokází mineralizovat širokou paletu organických látek až na oxid uhličitý a vodu. Těchto procesů je v současné době nejvíce využíváno při tzv. bioremediacích. Jedná se o procesy biologického odstraňování cizorodých látek z kontaminovaných půd, zejména při likvidaci znečištění ropnými uhlovodíky, fenolickými látkami, polyaromatickými uhlovodíky, méně častěji i polychlorovanými bifenyly, pesticidy nebo chlorovanými uhlovodíky. Hlavním problémem biodegradací v půdním prostředí, je adsorpce půdních částic na daný polutant, což znesnadňuje biologickou degradaci daného polutantu. [8] Bylo prokázáno, že adsorpce závisí na určitých funkčních skupinách a jejich počtu. Pro průběh biodegradací v půdě je nutné zajistit několik limitujících faktorů.

1.1 Faktory ovlivňující průběh biodegradací v půdním prostředí

Zabezpečení vhodných fyziologických podmínek pro činnost mikroorganismů – především pH a teploty. Podle normy [3] je maximální mikrobiální aktivita v půdě v rozmezí teplot 25-35 °C a nejvhodnější pH je mezi 6,8 – 7,3. Vliv teploty byl prokázán ve studii [5] při které byla v tlakových reaktorech plněných půdním kompostem sledována biorozložitelnost PCL při teplotách 40, 50 a 60 °C jako nejvhodnější byla určena teplota 50 °C, při které došlo k rozkladu 62 % PCL během osmi dnů. Další ze studií [6] byla prováděná v půdním prostředí při teplotách 25 a 40 °C a pH 7,2, s kopolymerem PCL/S (polykaprolakton/škrob). Prokázala, že rozklad se pohyboval okolo 50 % původního množství bez ohledu na teplotu. Další studie [7] s PCL, PHB a

PHB-V v půdním kompostu při teplotách 24 a 46 °C prokázala, že rozklad polymerů je vyšší při teplotě 46 °C.

Obsah vody-[3] maximální mikrobiální aktivita byla stanovena v rozmezí 40 – 60% hmotnostních dílů vody.

Osvětlení- rozklad je třeba provádět v temné místnosti, aby se zabránilo růstu řas v půdě, které by spotřebovávaly živiny a kyslík půdním bakteriím.

Zabezpečení přívodu kyslíku- [8] které lze provést i uměle provzdušňováním nebo vnesením kyslíku pomocí slabých roztoků peroxidů nebo aplikací prokysličené vody.

Přísun minerálních živin- především dusíku a fosforu, přičemž většina cizorodých látek je charakterizována nepoměrem mezi dusíkem a fosforem vůči uhlíku. Z těchto důvodů je přídavek dusíku a fosforu většinou nezbytný a již sám o sobě stačí k výraznému urychlení biorozkladu. Nejčastěji je aplikovaný poměr mezi uhlíkem, dusíkem a fosforem v poměru [C:N:P-100:10:1]. [8]

Aplikací organických živin- pro podporu růstu mikroorganismů menší množství rozpustných, snadno využitelných živin vede k namnožení mikrobiálních buněk a tím posléze k vyšší rychlosti biodegradace. Je však nutné pečlivě volit typ živin i množství, aby nedošlo ke katabolické represi a k dlouhodobějšímu využívání organických živin cizí látkou. [8] Některé výzkumy naznačují, že pozitivní vliv může mít i aplikace nerozpustných organických, zejména celulosních látek do kontaminovaných půd.

Struktura makromolekulárních látek- obecně snadněji degradují látky s lineární molekulovou strukturou a nižší molekulovou hmotností. Jak prokázala studie [7], nebyla u polymerů PCL, PHB a PHB-V, určena závislost mezi stupněm krystalinity a délkou biodegradace.

Tvar vzorku- studie [9] prováděná s polymery PP, PLLA, PBS, PCL a PBSA v prostředí kompostu vyráběného z krmiva pro psy, konstatovala, že tvar vzorku (byly použity vzorky tvaru trojúhelníku, čtverce a hvězdy) má vliv pouze v začátku biodegradace, zatímco v pozdějších fázích se již vůbec neprojevuje.

1.2 Biorozložitelné plasty

Přírodní: [1]

- bílkoviny (aminokyseliny, kolagen, hykol)
- polysacharidy (škrob, celulóza, xylan, glykogen)
- přírodní polyisopreny (přírodní kaučuk)
- ostatní (lignin, terpeny, vosky)

Syntetické:

- polymery vzniklé polykondenzací (polyestery)

Špatně biologicky rozložitelné plasty:

- chlorované a fluorované uhlovodíky (PVC, PTFE)
- styrenové polymery (PS, SBR)
- akrylátové polymery (PAN)

Biodegradabilní polymery lze obecně definovat jako polymery které snáze podléhají mikrobiálnímu napadení. Jejich biologická rozložitelnost závisí na fyzikálních a chemických podmínkách vlastního procesu degradace, ale i na makromolekulárních strukturních charakteristikách. [2]

- molekulová hmotnost - nižší je vhodnější
- morfologie polymeru - amorfní polymery degradují snáze
- krystalinita – nižší je vhodnější
- stereoregularita – vyšší biologický rozklad byl zaznamenán u stereoregulárních polymerů než u ataktických.
- větvení polymerů – nerozvětvené jsou lépe rozložitelné

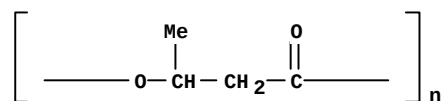
-stupeň hydrolýzy – nižší je vhodnější

1.2.1 Charakteristika použitých materiálů

Testy v rámci této diplomové práce, jsou prováděny v laboratorních podmínkách za předem stanovených a konstantních podmínek [3], s definovaným substrátem (používá se jílová půda, zahradní a hrobový substrát v poměru 1:2:1, přepočteno na sušinu) o předem stanovené sušině, která se musí pohybovat okolo 50 %. Poměr C:N:P je 100:10:1. [8] Testy jsou prováděny v plynotěsně uzavřených skleněných reaktorech (láhvích) a jsou skladovány v temné komoře za teploty 25 °C. Jako testovací látku k ověření funkčnosti aparatury byl použit Hykol.

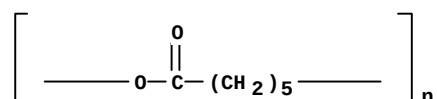
Jako polymerní násady jsou použity tyto:

PHB (poly-hydroxy-butyrate) [10] – je semikrystalický, termoplastický polymer, opticky aktivní a jeho monomer kyselina hydroxy-máselná je přirozenou součástí lidské krve. Je vyráběn synteticky i mikrobiálně. Má poměrně velkou krystalinitu a jeho mechanické vlastnosti nejsou příliš dobré. Je dobře teplotně odolný. Pro jeho špatné mechanické vlastnosti je využíván jeho kopolymer PHB-V. Hlavní využití je na lékařsko-medicínském poli. Jak prokázala studie[12] je velmi dobře biologicky rozložitelný. Při inkubaci PHB mikrobiálními konsorciemi izolovanými z plasty kontaminovaného prostředí, došlo ke kompletní degradaci během 20 dnů. Další studie[13] prokázala také velmi dobrou biodegradabilitu jeho kopolymeru PHB-V v půdním prostředí. V tomto konkrétním případě byl použit syntetický polymer od německé firmy Biomer s $M_w = 327\,000\text{ g/mol}$.



PCL (poly-kaprolakton) [11] – je termoplastický polymer vyráběný z ropy. Má dobrou odolnost vůči polárním rozpouštědlům. Má nízkou viskozitu a je dobře zpracovatelný, také jeho krystalinita je nízká. Je používán v termoplastických polyuretanech, jako adhesivum, syntetická kůže, na výrobu kompostovatelných fólií atd. Jak prokázaly studie [5,6,7,9,12] je velmi dobře biologicky rozložitelný.

Studie [14] prováděná v prostředí čerstvého kompostu míchaného s psím krmivem a ve zralém kompostu. Po 11 dnech byl zjištěn rozklad 84% PCL v kompostu s psím krmivem a 59% ve zralém kompostu. Zde byl použit polymer britského výrobce Solvay s molekulovou hmotností $M_w = 85\,000\text{ g/mol}$.



PVA(polyvinylalkohol) – je to práškovitá hmota krystalického charakteru. Patří mezi ve vodě rozpustné a biologicky dobře rozložitelné polymery (při vhodně zvoleném inokulu). Má termoplastický charakter. Průmyslově se připravuje hydrolýzou alkoholického roztoku polyvinylacetátu v kyselém nebo zásaditém prostředí. Přímá syntéza není možná, protože monomer (vinylalkohol) přechází ve stabilnější formu (acetaldehyd). Na jeho rozpustnost má vliv obsah acetátových skupin, kde běžný obsah skupin je asi 15 % a rozpouští se v teplé i studené vodě. Prvním zjištěným druhem schopným asimilovat PVA byl rod *Pseudomonas* izolovaný z půdních vzorků. Dalšími bakteriálními druhy s podobnými vlastnostmi izolované z kontaminovaného prostředí jsou rody *Alcaligenes* a *Bacillus*. [17]

1.3 Testování biodegradace látek v půdním a vodním prostředí

Testy v půdním prostředí - norma ISO 17556 [18] specifikuje metodu pro určování konečné aerobní biodegradability plastických materiálů v půdním prostředí, která je prováděna v uzavřeném respirometru a je měřen úbytek kyslíku nebo množství vyvinutého oxidu uhličitého.

Tato metoda je použitelná pro následující materiály:

1. Přirozené nebo syntetické polymery, kopolymery nebo směsi.
2. Plasty, které obsahují přísady takové jako plasticidy nebo barviva.
3. Ve vodě rozpustné polymery.
4. Materiály, které pod zkušebními podmínkami nezabrání aktivitě mikrorganismů přítomných v půdě. Inhibice může být změřena používáním inhibiční kontroly nebo další vhodnou metodou (např. ISO 8192).

Testy ve vodním prostředí s půdním výluhem jako inokulem – tyto testy jsou kompromisem a řeší problémy půdních testů, kterými jsou především dlouhá doba rozkladu a jeho menší efektivita. Tyto testy jsou přechodem mezi testy ve vodním a půdním prostředí. Tyto testy sice přesně nekopírují podmínky půdních testů ale dávají nám dostatečné informace o biodegradačním procesu, rychlosti biodegradace, atd. Ve zkratce se dá říct, že tyto testy nedávají přesný pohled na biodegradaci v půdě, ale jsou z mnoha ohledů výhodnější. [19] Práce [16] ve které bylo provedeno několik sérií testů ve vodním prostředí na základě normy ISO 14851 s polymery PCL a celulózu jako kontrolou. Jako inokulum byl použit aktivovaný kal a voda ze dvou znečištěných milánských nádrží a odpadní nádrže farmaceutické firmy. Celulóza degradovala z větší části než PCL ve vodě z městských nádrží. V průmyslové odpadní nádrži byla degradace 100% u PCL a 89% u celulózy. Práce se dále zabývá možností využití i jiných referenčních materiálů krom celulózy. O těchto testech se zmiňuje i práce [20], která upozorňuje na to, že chování polymerů v prostředí kompostu dává sice přímou informaci o jejich biodegradabilitě, ale je limitována pro ve vodě nerozpustné polymery a polymery s vysokou teplotou tání, kvůli vysokému obsahu vlhkosti a teplotě dosažené v kompostu. Pro testování biodegradability PCL zde byla vybrána respirometrická metoda měření kyslíku spotřebovaného mikroorganismy v přítomnosti definovaného substrátu, za teploty 35 °C, v temné komoře. V tomto testu byl použit půdní výluh připravený ze 100 g půdní frakce (29 % vlhkosti, pět týdnů starý, 58 °C) a 100ml destilované vody. Po promíchání byl filtrován a použit jako inokulum. Bylo prokázáno, že míra biodegradace PCL takto připraveným inokulem je výrazně vyšší než biodegradace PCL v samotné půdě.

1.4 Standartní postupy sledování biorozložitelnosti plastů v půdním prostředí

Norma ISO 17556 [31] je standartní testovací metoda pro určení ultimativní aerobní biodegradability plastických materiálů v půdním prostředí, která k určování biodegradability používá dvou metod:

- a) měření kyslíkového úbytku v uzavřeném respirometru
- b) měření množství uvolněného oxidu uhličitého

Tato norma je použitelná pro měření prakticky všech polymerních materiálů, s výjimkou těch které obsahují přísady zabraňující mikrobiální aktivitě.

Norma ISO 14855 [32] je metoda navrhuje simulované aerobní podmínky pro organický komunální odpad. Určuje stanovení aerobní biodegradability plastů za kontrolovaných kompostovacích podmínek, měřením uvolněného oxidu uhličitého. Rozkládaná látka je v uzavřeném reaktoru vystavena vlivu inokula, kyslíku, vlhkosti a teploty, které se v průběhu biodegradace mění a jsou v pravidelných intervalech měřeny. Biodegradabilita je zde stanovována jako poměr uhlíku v testované látce k uvolněnému oxidu uhličitému.

1.5 Praktické vyhodnocení výsledků procesu biodegradace

Metoda váhového úbytku - tato metoda se dá použít u větších vzorků nebo fólií a je použita u prací [6,12].

Elektronová mikroskopie - tato metoda je velmi přesná ale má velké pořizovací náklady a je použita u práce [12].

Gelová permeační chromatografie - velmi přesná metoda použitá u práce [12].

Plynová chromatografie - velmi přesná metoda použitá v pracích [5,14] a popsána normou [4].

Titrační analýza plynných produktů - přístrojově nenáročná a poměrně spolehlivá metoda.

Metoda stanovení drsnosti povrchu - metodu popisuje práce [15] a nabízí eventualitu vyhodnocení biodegradace jako přímo úměrnou drsnosti povrchu. Je použitelná u fólií a vzorků u kterých nedojde k úplné destrukci.

Stanovení pevnosti v tahu - tuto metodu používá práce [15] a je opět použitelná u fólií nebo k tomuto účelu uzpůsobených vzorků.

Stanovení TOC – přesná a nenáročná metoda, podmíněná pouze přístrojovým vybavením. [28]

NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí UTB se ověřováním metodiky půdních a vodních testů zabývá již dlouhodobě. Tato diplomová práce byla zaměřena na sledování biologické rozložitelnosti v půdním prostředí pomocí:

- a) acidimetrického stanovení produkce oxidu uhličitého
- b) plynově chromatografického stanovení produkovaného oxidu uhličitého

Postup byl aplikován při sledování ve vodě nerozpustných polymerů polyhydroxybutyrátu (PHB), poly- ϵ -kaprolakton (PCL) a jejich směsí. V některých testech byly jako modelové substráty použity i hydrolyzát kolagenu (HYKOL) a polyvinylalcohol (PVA). Cílem bylo srovnání výsledků jednotlivých testů v půdním a eventuelně vodním prostředí.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Chemikálie, roztoky, půdní substráty

Chemikálie

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

Chemikálie pro laboratorní analýzy:

hydroxid sodný, kyselina chlorovodíková, chlorid barnatý, chlorid draselný,

0,5 % roztok fenolftaleinu, methylovaný, hydrogenuhličitan draselný, síran amonný, hydrogenfosforečnan sodný, chlorid sodný, nosný plyn He čistoty 4.6, směsný syntetický plyn obsahující CH₄ (4,05 obj.%), CO₂ (0,798 obj.%), N₂ (95,152 obj.%)

Roztok minerálního média

K přípravě minerálního média bylo použito zásobních roztoků, připravených rozpuštěním následujících solí v 1 litru destilované vody dle normy ČSN EN 29408 [23].

A. Fosfátový pufr pH = 7,05

Odměrným válečkem odměřit 17 ml koncentrované H₃PO₄ do 250 ml odměrné baňky, přidat 100 ml destilované vody, promíchat, poté doplnit po rysku destilovanou vodou a opět důkladně promíchat. Do čisté kádinky odebrat cca. 150 ml připravené kyseliny fosforečné, dát míchadlo a nechat míchat. Ponořit elektrodu pH metru a přidávat po malých dávkách 3M-NaOH tak, až bude pH tohoto roztoku 7,05. Mírně zahřátý roztok nechat cca. 90 minut stát, přikrytý alobalem a nechat míchat. Po této době znovu změřit pH a doladit na požadovanou hodnotu.

B. 10,0g (NH₄)₂SO₄ síran amonný

C. 27,5g CaCl₂ chlorid vápenatý

D. 0,25g FeCl₃ * 6 H₂O chlorid železitý hexahydrát

E. 22,5g MgSO₄ * 7 H₂O síran hořečnatý heptahydrát

F. Roztok stopových prvků

0,75g H_3BO_3 kyselina boritá

0,05g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ molybdenyn 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 minerálního média

Do 800 ml destilované vody bylo nadávkováno po 1 ml roztoků C,D,E,F. Dále bylo přidáno 100 ml roztoku A a 5 ml roztoku B. Vzniklý roztok byl doplněn do 1 l destilovanou vodou.

2.2 Biologický materiál

Inokulum – zdrojem mikroorganismů byl extrakt z půdy (podrobný popis přípravy půdního výluhu je uveden v kapitole 2.7), připravený výluhem z půdy a nebo půda samotná. Před použitím v testu byl výluh minimálně 24 hodin provzdušňován v děličce. Poté bylo změřeno pH a zjištěn obsah organického uhlíku (TOC).

Příprava půdního extraktu - 60 g půdy (vlhkost 50 %) bylo smícháno se 300 ml vytřepávacího roztoku. Na 100 ml vytřepávacího roztoku bylo použito 0,5 g chloridu sodného a 0,4 g difosforečnanu sodného a 100 ml minerálního média. Ke směsi bylo přidáno malé množství skleněných kuliček a třepáno na třepáčce asi 120 minut. Poté byla suspenze přefiltrována přes filtrační papír.

Typy použitých půdních substrátů

V této diplomové práci byly použity dva typy komerčně dodávaných substrátů (hrobový substrát a zahradní substrát) a půda odebraná v katastru obce Němčice u Holešova (jedná se o černozem ze zemědělsky využívaného pole).

Tabulka I charakteristika půdních substrátů a půdy

Vlastnosti	Zahradní substrát*	Hrobový substrát*	Půda
pH	5,0-7,0	5,0-6,5	6,5-6,8**
Spalitelné látky	50%	70%	---
Sušina**	30,1 hm. %	50,6 hm. %	86,2 hm. %
N	150-400 mg/l	100-300 mg/l	---
P ₂ O ₅	80-250 mg/l	100-300 mg/l	---
K ₂ O	250-600 mg/l	100-300 mg/l	---

*hodnoty udávané výrobcem

** hodnoty experimentálně naměřené

Pro přípravu půdního extraktu byla připravena směs těchto tří půd v poměru:

hrobní substrát : zahradní substrát : půda = 1 : 2 : 1

2.3 Charakteristika testovaných vzorků

Hydrolyzát kolagenu – obchodní označení Hykol E, příprava enzymatickou hydrolýzou chromočiněných postružin. Obsah uhlíku 47,00 %. Prášková forma, molekulová hmotnost 1000 g/mol. Výrobce Tanex Jaroměř a. s. , ČR

Polyhydroxybutyrát (PHB) – syntetická výroba. Obsah uhlíku 54,17 %. Prášková forma, molekulová hmotnost 327 000 g/mol. Výrobce Biomer a. g. , BRD

Polykaprolakton (PCL) – příprava krakováním ropy. Obsah uhlíku 56,70 %. Prášková forma, molekulová hmotnost 85 000 g/mol. Výrobce Solvay , UK

Polyvinylalkohol (PVA) – obchodní označení SLOVIOL P88-08, viskozita 4 % vodného roztoku při teplotě 20 °C : 8 mPa*s, stupeň hydrolyzy 88 mol %, obsah acetátových skupin 12 %. Prášková forma. Výrobce Novácké chemické závody a. s. , SR

Složení testovaných vzorků

Vzorky 1-5 byly připraveny na katedře plastů a kaučuku STU v Bratislavě a mají následující složení.

Tabulka II složení a číslování jednotlivých vzorků

číslo vzorku	vzorek	obsah TC [%]	přísady
1.*	PHB	54,17	---
2.*	PCL	56,70	---
3.*	PHB/PCL**	52,43	---
4.*	PHB/PCL**	51,91	1 % t-butylperbenzoát
5.*	PHB/PCL**	50,71	1 % t-butylperbenzoát 0,25% trialkylcyanurát 15% triacetin
6.	Hykol	47,00	---
7.	PVA	---	---

* vzorky byly kryogenicky mlety v proudu dusíku

** poměr PHB/PCL je 60/40

Všechny vzorky byly použity v práškové formě

Postup kryogeního mletí – fólie nastříhané na čtverečky o velikosti 5x5 mm, zalito označeným přebytkem tekutého dusíku a v této formě dávkovány do násypky mlýnu (princip mlýnku na maso), kde byly nasekány a pomocí filtru odsáty a separovány v práškové formě.

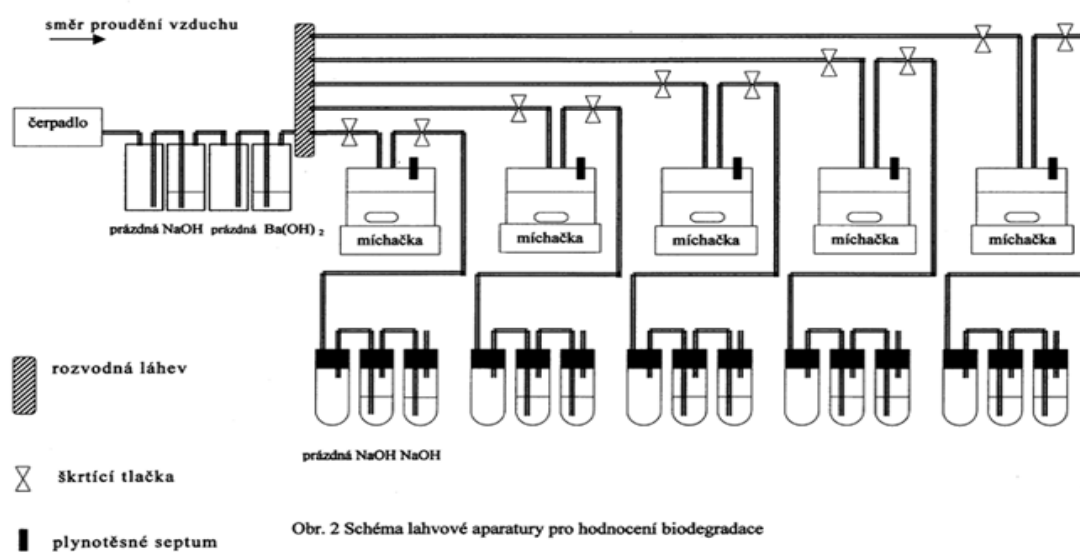
2.4 Přístrojové vybavení

1. Analytické váhy R 180D, Sartorius GmbH, BRD
2. Analyzátor celkového uhlíku TOC-5000 A, Shimadzu Corporation, Austrálie
3. Elektromagnetická míchačka MR 1000, Heidolph, BRD
4. Plynotěsná injekční stříkačka 2,5;1.5;0.25 ml, Hamilton, USA
5. Sušárna, Chirana, ČR
6. Vzduchovací motorek MPI, Chemoprojekt Praha-Satalice, ČR
7. Plynový chromatograf Chrom 5, Laboratorní přístroje Praha, ČR
8. pH metr OP 208, Radelskis, Maďarsko
9. Tedlarův vak o objemu 0,6 l
10. Integrátor HP 3396A, Hewlett&Packard, USA

2.5 Měřicí aparatury

Aparatura určená pro titrační analýzu, byla složena ze dvou částí: 1. čistící část – byla tvořena promývacími baňkami, z nichž dvě byly prázdné a sloužily jako pojistné a dvě byly čistící a obsahovaly 250 ml 5M-KOH k odstraňování vzdušného oxidu uhličitého. 2. absorpční část ve které byl absorbován a následně detekován uvolněný oxid uhličitý, byla tvořena sadou tří absorbérů. V prostřední řadě zkumavek byl zachytáván vyprodukovaný oxid uhličitý z vlastních bioreaktorů (láhví) do 30 ml 1M-NaOH. Biodegradace vzorků probíhala v láhvích o objemu 1000 ml, které byly připojeny pomocí silikonových hadiček na čistící a absorpční části aparatury. To umožňovalo diskontinuální provzdušňování láhví, přičemž v režimu klidu byla plynotěsnost láhví zajišťována tlačkami upevněnými na silikonových hadičkách. Uzávěr těchto láhví byl také vybaven plynotěsným septem, díky kterému bylo možno odebírat plynné vzorky k jejich další analýze. Vzduch do aparatury byl nasáván pomocí tlakovacího motorku a průtok byl pomocí tláček nastavena na cca. 200 ml/min. u všech láhví. Pro efektivnější uvolnění oxidu uhličitého byly reaktory při provzdušňování obráceny dnem vzhůru.

Aparatury pro biodegradaci ve vodním prostředí s půdním výluhem jako inokulem, byly obdobné pouze při provzdušňování nebyly obráceny dnem vzhůru. Láhve s půdou byly během provzdušňování protřepávány ve zhruba 15 min. intervalech. Při vodních testech byla kapalná fáze promíchávána během provzdušňování míchána míchadlem.



Obr. 1 schéma láhvé aparatury pro průběh hodnocení biodegradace

2.6 Pracovní metodiky

2.6.1 Metody posouzení biologického rozkladu

2.6.1.1 Posouzení biodegradability z hlediska produkce oxidu uhličitého

Princip metody spočíval ve zjišťování produkce oxidu uhličitého mikrobiální kulturou, která se podílí na rozkladu testované látky (slepé pokusy, které detekují produkci oxidu uhličitého samotnou mikrobiální kulturou) a oxidu uhličitého vznikajícího jako produkt biodegradace dávkovaných polymerů. Sledovaný vzorek byl jediným zdrojem organického uhlíku a energie

v kultivačním prostředí. Základním kritériem biodegradability byl poměr nalezeného množství oxidu uhličitého vznikajícího při mikrobiálním rozkladu k teoretickému množství, které by se mohlo uvolnit úplnou oxidací testovaného substrátu.

Vzniklý oxid uhličitý byl detekován dvěma metodami: V testech 1, 2, 3 a 4 (viz. dále) byly nasazeny vždy dvě série simultánních pokusů, které byly stanovovány buď chromatograficky (testy 1 a 3) nebo titračně (testy 2 a 4) v testu 6 byl nejprve odebrán plynný vzorek na chromatografickou analýzu a poté byl oxid uhličitý vyfoukáván a zachytáván do 1-M NaOH a titračně stanoven. Poté byla znovu provedena chromatografická analýza za účelem zjištění množství oxidu uhličitého, které nebylo vyfoukáno (viz. dále).

Analýza oxidu uhličitého plynovou chromatografií

Stanovení obsahu oxidu uhličitého bylo prováděno na skleněné náplňové koloně dlouhé 3,6 m vnitřního průměru 3 mm. Kolona byla naplněna materiálem Porapak (QS 80-100 mesh). K detekci byl použit tepelně vodivostní detektor (TCD), který byl nastaven dle manuálů výrobce [24]. K vyhodnocení signálů byl použit integrátor HP 3396A. Jako nosný plyn bylo použito Helium čistoty 4.6. Stanovení oxidu uhličitého bylo prováděno metodou množství oxidu uhličitého absorbovaného v roztoku louhu dle rovnice /1/ uvedené v kapitole 2.9.

Tabulka III souhrn podmínek stanovení CO₂ na přístroji Chrom 5

kolona	náplňová – Porapak QS 80/100 mesh	
teploty	nástřik	100 °C
	TCD	100 °C
	teplota v termostatu	50 °C
nosný plyn	He čistoty 4.6 průtoky: měrná i referentní cela TCD 30 ml/min.	
nastavení TCD	žhavicí proud	120 mA
	výstupní citlivost	4

Postup práce - měření produkce oxidu uhličitého v testovaných vzorcích probíhalo ve zhruba týdenních intervalech (pokud byla produkce oxidu uhličitého vyšší, zejména u testů s hykolem,

byly intervaly zkráceny na dva až tři dny), kdy byl z bioreaktorů odebrán přes septum plynotěsnou stříkačkou plyný vzorek jehož množství záviselo na předpokládané produkci oxidu uhličitého a pohybovalo se mezi 0,05 – 1,0 ml. Vzorek byl analyzován na plynovém chromatografu za podmínek uvedených v tabulce III.. Vyhodnocení bylo provedeno metodou kalibrační přímky dle rovnice /1/ uvedené v kapitole 2.9. Citlivost metody byla 0,005 mmol oxidu uhličitého.

Analýza oxidu uhličitého titrační metodou

V průběhu biodegradace byly reaktory, zhruba v týdenních cyklech, profoukávány proudem vzduchu zbaveného oxidu uhličitého. Absorbéry s absorbčními roztoky (30 ml 1M-NaOH) byly poté analyzovány. V částečně vyčerpaných absorpčních roztocích NaOH bylo stanovováno množství vyprodukovaného oxidu uhličitého titrační metodou a to tak, že z absorbéru bylo odebráno 5 ml roztoku NaOH, ke kterému bylo přidáno 5,5 ml 0,5M-BaCl₂ za účelem vysrážení uhličitanu barnatého. Nezareagovaný NaOH byl titrován 1M-HCl na indikátor fenolftalein do odbarvení. Přesná koncentrace HCl byla stanovena standardizací 1M-KHCO₃ na indikátor methylovaný. Množství oxidu uhličitého bylo vypočteno dle rovnice /4/ uvedené v kapitole 2.9.

2.6.1.2 Posouzení biodegradability z hlediska úbytku organického uhlíku

Zahn-Wellensův test [28]

Jedná se o statickou zkoušku dle ČSN EN 29888, 1999 (Zahn-Wellensův test). Tuto analýzu, lze provádět pouze vzorků rozpustných ve vodě (což znamená, že tuto analýzu lze použít jen u testů ve vodním prostředí s půdním výluhem jako inokulem).

Test spočívá ve sledování úbytku organického uhlíku z kultivačního prostředí (vodné fáze) v uzavřeném reaktoru, způsobeném aerobními mikroorganismy. Organická látka je jediným zdrojem uhlíku a energie ve vodném prostředí. Vzorky byly odebrány a filtrovány přes promytý filtrační papír. Ve filtrátu byla stanovena koncentrace organického uhlíku, na analyzátoru uhlíku Shimadzu TOC 5000A [23].

2.7 Laboratorní postupy a analýzy

2.7.1 Stanovení sušiny pevných vzorků

Pevný vzorek (půda, půdní substrát) byl vysušen na petriho misce při 105 °C do konstantní hmotnosti a po zchládnutí v exikátoru byl zvážen na analytických vahách. Obsah sušiny byl stanoven z rozdílu hmotností před a po vysušení a hodnota sušiny byla vyjádřena v procentech [26].

2.7.2 Stanovení pH

Ve vodných vzorcích – po nakalibrování pH metru, s užitím dvou tlumivých roztoků s hodnotou pH nižší a vyšší než je pH měřeného vzorku, byla za stálého míchání stanovena hodnota pH daného vzorku [27].

V půdních vzorcích – vychází z normy ČSN ISO 10390 [27]. 20 g půdy bylo v Erlenmayerově baňce suspendováno v 50 ml destilované vody a poté byla suspenze umístěna na třepačku třepána po dobu 6 hodin. Následně bylo u suspenze změřeno pH.

2.7.3 Stanovení TOC

Množství celkového organického uhlíku, byl stanovován na přístroji Shimadzu TOC 5000A [23] a to vždy na začátku a konci testu prováděno ve vodném prostředí. Tato koncovka byla použita jako kontrola pro plynově chromatografické a titrační stanovení.

2.8 Příprava pokusů

2.8.1 Biodegradace látek v půdním prostředí

V testech v půdním prostředí byla sledována biodegradace látek stanovováním produkce oxidu uhličitého v oddělených a nebo souběžných testech a to jak titrační tak plynově chromatografickou metodou. Byla použita aparatura (viz obrázek 1) a byl testován hykol jako modelová látka pro ověření funkčnosti aparatury. Pro tyto testy byly použity reaktory o objemu

500 nebo 1000 ml. Půdní prostředí bylo tvořeno definovaným množstvím půdy o sušině cca. 50 %. Poměr substrátů a půdy byl následující: hrobový substrát : zahradní substrát : půda, 1 : 2 : 1. Dále byly do všech reaktorů byly dávkovány biogenní prvky a to tak aby byl zachován doporučený poměr [8] C : N : P = 100 : 10 : 1. Jako zdroj dusíku byl použit síran amonný a jako zdroj fosforu byl použit dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného. Oba biogenní prvky byly dávkovány jako roztoky, rozpuštěny v malém množství destilované vody. Po dokonalém promíchání nutričních komponent s půdním prostředím a vzorkem, byly směsi umístěna do biotermostatu, při teplotě 25 °C a v temnu.

2.8.2 Biodegradace látek ve vodném prostředí s půdním výluhem jako inokulem

V tomto testu byla sledována produkce oxidu uhličitého a úbytek substrátu z reakčního prostředí. Produkce oxidu uhličitého byla sledována plynově chromatograficky a titračně. Úbytek substrátu byl sledován metodou TOC na začátku a konci testu. Biodegradace probíhala v láhvích o objemu 1000 ml a v každé z nich bylo 100 ml kultivačního roztoku. Plynná fáze měla objem 1040 ml. V testu byly použity vzorky PHB, PCL, PVA a hykol jako referenční látka (tento polymer je velmi dobře rozložitelný a slouží k testování mikrobiologické aktivity půdního výluhu). Polymery byly testovány dvakrát vedle sebe a hykol jako referenční látka třikrát vedle sebe, slepý pokus byl prováděn také třikrát vedle sebe. Rozpuštěné polymery byly dávkovány předem rozpuštěné v roztoku destilované vody a toak aby výsledná koncentrace byla cca 300 mg/l. K inokulaci bylo použito inokulum (půdní extrakt) připravené podle popisu výše uvedeného v kapitole 2.2. Účelem testu bylo porovnání biodegradace reálných průmyslově vyrobených polymerů ve vodném prostředí a ověření použitelnosti chromatografické koncovky jako jediného kritéria biorozkladu. Inokolum bylo dávkováno v množství odpovídající množství $KTJ \cdot 10^5$ buněk v 1 ml roztoku.

TEST 1 a 2

V těchto testech byly použity reaktory o objemu 1000 ml. Půdní prostředí bylo tvořeno 126,2 g půdy o sušině 55,5 %. Poměr substrátů a půdy byl následující: hrobový substrát : zahradní substrát : půda, 35,0 g : 72,0 g : 19,2 g.

Tabulka IV nasazení testů 1 a 2

Test 1				Test 2			
pozice	vzorek	obsah TC	substrát	pozice	vzorek	obsah TC	substrát
		[%]	[g]			[%]	[g]
1	sl. pokus	---	---	6	sl. pokus	---	---
2	hykol	47,00	0,25	7	hykol	47,00	0,25
3	hykol	47,00	0,25	8	hykol	47,00	0,25
4	hykol	47,00	0,50	9	hykol	47,00	0,50
5	hykol	47,00	0,50	10	hykol	47,00	0,50

TEST 3 a 4

Test 3, jehož analýza byla prováděna titračně, byl nasazen v láhvích o objemu 1000 ml. Půdní prostředí bylo tvořeno 107,1 g půdy o sušině 56,5 %. Poměr substrátů a půdy byl následující: hrobový substrát : zahradní substrát : půda, 30,0 g : 61,0 g : 16,1 g. Test 4 jehož analýza byla prováděna plynově chromatograficky, byl nasazen v láhvích o objemu 500 ml. Půdní prostředí bylo tvořeno 53,6 g půdy o sušině 56,5 %. Poměr substrátů a půdy byl následující: hrobový substrát : zahradní substrát : půda, 15,0 g : 30,5 g : 8,1 g.

Tabulka V nasazení testů 3 a 4

Test 3				Test 4			
pozice	vzorek	obsah TC	substrát	pozice	vzorek	obsah TC	substrát
		[%]	[g]			[%]	[g]
1	sl. pokus	---	---	1	sl. pokus	---	---
2	sl. pokus	---	---	2	sl. pokus	---	---
3	PHB	54,17	0,0995	3	PHB	54,17	0,0600
4	PHB	54,17	0,1025	4	PHB	54,17	0,0612
5	PCL	56,70	0,0999	5	PCL	56,70	0,0611
6	PCL	56,70	0,1009	6	PCL	56,70	0,0601
7	PHB/PCL vz. 3	52,43	0,1001	7	PHB/PCL vz. 3	52,43	0,0621

Test 3				Test 4			
pozice	vzorek	obsah TC	substrát	pozice	vzorek	obsah TC	substrát
		[%]	[g]			[%]	[g]
8	PHB/PCL vz. 3	52,43	0,1008	8	PHB/PCL vz. 3	52,43	0,0612
9	PHB/PCL vz. 4	51,91	0,0999	9	PHB/PCL vz. 4	51,91	0,0605
10	PHB/PCL vz. 4	51,91	0,1008	10	PHB/PCL vz. 4	51,91	0,0613
11	PHB/PCL vz. 5	50,71	0,1004	11	PHB/PCL vz. 5	50,71	0,0616
12	PHB/PCL vz. 5	50,71	0,0999	12	PHB/PCL vz. 5	50,71	0,0600

TEST 6

Test 6 byl nasazen v láhvích o objemu 1000 ml. Půdní prostředí bylo tvořeno 119,7 g půdy o sušíně 50,1 %. Poměr substrátů a půdy byl následující: hrobový substrát : zahradní substrát : půda, 33,5 g : 68,3 g : 17,9 g. K půdě byl pro udržení pH dávkován práškový uhličitán vápenatý a to v množství 20 g na každou láhev.

Tabulka VI nasazení testu 6

pozice	vzorek	obsah TC	substrát	pozice	vzorek	obsah TC	substrát
		[%]	[g]			[%]	[g]
1	sl. pokus	---	---	6	hykol	47,00	0,1869
2	sl. pokus	---	---	7	PHB	54,17	0,1816
3	sl. pokus	---	---	8	PHB	54,17	0,1811
4	hykol	47,00	0,1817	9	PCL	56,70	0,1808
5	hykol	47,00	0,1817	10	PCL	56,70	0,1825

TEST 5

Vzorky byly v tomto testu dávkovány ve formě prášku (ve vodě nerozpustné) anebo ve formě zásobního roztoku (ve vodě rozpustné). Vodné prostředí tvořilo 100 ml kultivačního roztoku. Plynná atmosféra měla objem 1040 ml.

Tabulka VI nasazení testu 5

pozice	vzorek	substrát	biomedium	inokulum
		[mg], [ml]	[ml]	[ml]
1	sl. pokus	---	90	10
2	sl. pokus	---	90	10
3	vzorek 1	31,3	90	10
4	vzorek 1	30,4	90	10
5	vzorek 2	30,2	90	10
6	vzorek 2	29,9	90	10
7	hykol *	15	75	10
8	hykol *	15	75	10
9	vzorek 7*	15	75	10
10	vzorek 7 *	15	75	10

* zásobní roztoky hykolu a PVA 2,0 g/l

2.9 Zpracování výsledků

1. Přepočet množství oxidu uhličitého z kalibrační křivky, na množství vyprodukovaného oxidu uhličitého v mmol v plynné fázi:

$$n_{CO_2} = \frac{440 * X_{CO_2} * 10^{-3}}{V_m * 22,414} \quad /1/$$

n_{CO_2} – množství vyprodukovaného CO_2 [mmol]

X_{CO_2} – objem čistého CO_2 vypočítaného z kalibrační přímky [μ l]

V_m – objem dávkované směsi do kolony [ml]

2. Teoretické množství oxidu uhličitého stanovené z hodnot TOC na počátku pokusu:

$$Th_{CO_2} = \frac{(TOC_{VZ1} - TOC_{SP}) * V_S}{Mh_C} \quad /2/$$

Th_{CO_2} - teoretické množství CO_2 [mol]

TOC_{VZ1} - obsah org. uhlíku ve vzorku na počátku pokusu [g/l]

TOC_{SP} - obsah org. uhlíku ve slepém pokusu na počátku pokusu [g/l]

Mh_C - molární hmotnost uhlíku [g/mol]

V_S - objem vodné suspenze [l]

3. Výpočet teoretické produkce oxidu uhličitého pro nerozpustné vzorky:

$$Th_{CO_2} = \frac{m_C}{Mh_C} \quad /3/$$

Th_{CO_2} - teoretické množství CO_2 [mol]

m_C - hmotnost uhlíku ve vzorku [g]

Mh_C - molární hmotnost uhlíku [g/mol]

4. Množství oxidu uhličitého absorbovaného roztoku louhu:

$$n_{CO_2} = \frac{1}{2} * V_{1NaOH} * \left(c_{NaOH} - \frac{c_{HCl} * V_{HCl}}{V_{2NaOH}} \right) \quad / 4 /$$

n_{CO₂} - látkové množství zachyceného oxidu uhličitého [mol]

V_{1NaOH} - objem hydroxidu sodného v absorbéru [ml]

c_{NaOH} - koncentrace hydroxidu sodného v absorbéru [mol/l]

c_{HCl} - koncentrace odměrného roztoku kys. chlorovodíkové [mol/l]

V_{HCl} - spotřeba odměrného roztoku kys. chlorovodíkové [ml]

V_{2NaOH} - objem hydroxidu sodného odebíraného k titraci [ml]

5. Procento rozkladu z hlediska bilance oxidu uhličitého

$$D_{CO_2} = \frac{(n_{CO_2VZ.} - n_{CO_2SP})}{Th_{CO_2}} * 100 \quad / 5 /$$

D_{CO₂} - procento rozkladu z hlediska oxidu uhličitého [%]

n_{CO₂ vz} - množství oxidu uhličitého ve vzorku [mg/l]

n_{CO₂ sp} - množství oxidu uhličitého ve slepém pokusu [mg/l]

Th_{CO₂} - teoretická produkce oxidu uhličitého [mol]

6. Procentuální úbytek rozpuštěného organického uhlíku (stanoven z naměřených hodnot TOC na začátku a na konci pokusu)

$$D_{TOC} = \left(1 - \frac{TOC_{VZ_2} - TOC_{SP_2}}{TOC_{VZ_1} - TOC_{SP_1}} \right) * 100 \quad / 6 /$$

D_{TOC} - procentuální úbytek TOC [%]

$\text{TOC}_{\text{vz.1}}$ - TOC vzorku na začátku testu [mg/l]

$\text{TOC}_{\text{vz.2}}$ - TOC vzorku na konci testu [mg/l]

TOC_{sp1} - TOC slepého pokusu na začátku testu [mg/l]

TOC_{sp2} - TOC slepého pokusu na konci testu [mg/l]

7. Acidobazická rovnováha oxidu uhličitého v plynné a kapalně fázi [31]

$$n_{\text{CO}_2(\text{l}+\text{g})} = (V_g + V_l * K'_{\text{lg}}) * c_{\text{CO}_2(\text{g})} = (V_g + V_l (K_{\text{lg}} * (1 + 10^{-\text{pK}'_1} * 10^{\text{pH}}))) * c_{\text{CO}_2(\text{g})} \quad / 7 /$$

$n_{\text{CO}_2(\text{l}+\text{g})}$ – rozdělovací koeficient oxidu uhličitého mezi plynnou a kapalnou fází při pH 4

V_g – objem plynné fáze

V_l – objem kapalně fáze

K'_{lg} – efektivní formální rozdělovací koeficient mezi plynnou a kapalnou fází v reálném systému pH 7

$c_{\text{CO}_2(\text{g})}$ – koncentrace oxidu uhličitého v plynné fázi zjištěné z GC analýzy

pK'_1 – disociační konstanta kys. uhličité do prvního stupně s ohledem na iontovou sílu reálného prostředí

3 VÝSLEDKY A JEJICH DISKUZE

Tato práce navázala na práce předchozí [21,22], s hlavním záměrem: sledování biologického rozkladu polymerních materiálů v půdním prostředí pomocí dvou alternativních postupů analýzy produkovaného oxidu uhličitého „titračního“ a plynově chromatografického a konfrontace výsledků. Důvodem bylo také mimo jiné snížení početnosti testů a zvýšení „kapacity“ ; počet občasně analyzovaných testovacích láhví a tedy prováděných testů by nebyl tak omezujícím faktorem jako u normovaných postupů. Testy byly prováděny u polymerních materiálů, jejichž biorozložitelnost je v zásadě známa; byly použity spíše jako modelové vzorky. Výsledková část obsahuje pouze vybrané části tabulek a vybrané grafy, které jsou také upravovány. Kompletní data jsou k dispozici v elektronické podobě v knihovně ITŽP.

TESTY 1 a 2

Proteinový hydrolyzát „Hykol“ , byl použit jako dobře rozložitelný substrát ve vodním prostředí [21,22], podobný průběh lze předpokládat i při rozkladu v půdním prostředí. Souběžně byly provedeny dvě série testů (kap. 2.8.1), jedna byla sledována titračně (jímání oxidu uhličitého v roztoku hydroxidu sodného), druhá analýzou plynově chromatografickou. Na počátku a konci testu bylo sledováno pH půdního substrátu (v suspenzi po 6-hodinovém třepání s destilovanou vodou – kap. 2.7) a stanovena sušina půdních substrátů (tab. VI a VII). Hodnoty pH poklesly v průběhu cca. 500 hodinových testů o 0,5-0,9 pH, tedy došlo k relativně významnému okyselení. Nutnost udržet konstatní hodnotu pH je zmiňována prakticky ve všech pracích zabývajících se tématikou půdních testů [5,6,7] i v normě ISO [30]. Zřetelnější pokles byl pozorován u série 2 (analýza plynovou chromatografií). Sušiny půdy se zásadněji neměnily (52-57 %, tab. VI a VII).

Tabulka VII test 1 hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu

pozice	vzorek	pH na zač. testu	pH na konci testu	sušina na zač. testu	sušina na konci testu
		[-]	[-]	[%]	[%]
1	sl. pokus	6,57	6,03	55,5	54,2
2	hykol	6,51	5,84	55,5	55,2
3	hykol	---	---	---	---
4	hykol	6,67	6,07	55,5	52,3
5	hykol	---	---	---	---

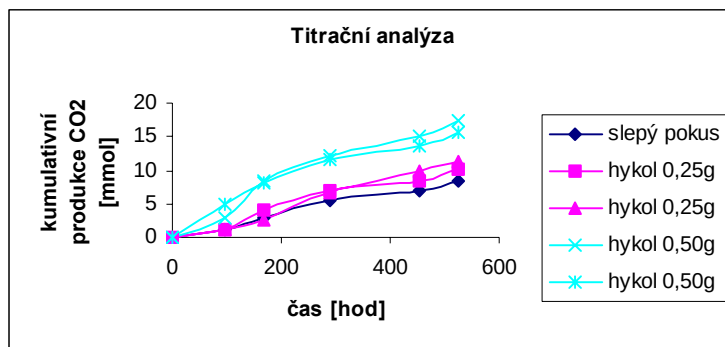
Tabulka VIII test 2 hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu

pozice	vzorek	pH na zač. testu	pH na konci testu	sušina na zač. testu	sušina na konci testu
		[-]	[-]	[%]	[%]
1	sl. pokus	6,61	5,76	55,5	52,6
2	hykol	6,59	5,63	55,5	52,5
3	hykol	---	---	---	---
4	hykol	6,41	5,50	55,5	57,8
5	hykol	---	---	---	---

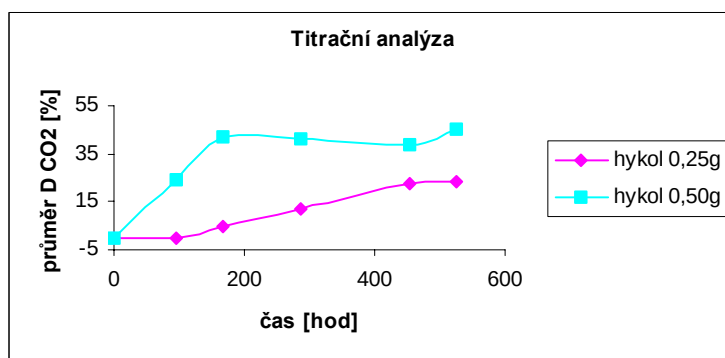
Tabulka IX, test 1 a 2

titrační analýza				GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
sl. pok.	0,00	0,000	---	0,00	0,000	---	---	---	---	---
	96,00	1,168	---	120,00	1,629	---	---	---	---	---
	168,00	2,884	---	192,00	3,338	---	---	---	---	---
	288,00	5,638	---	264,00	4,155	---	---	---	---	---
	454,00	7,037	---	336,00	4,648	---	---	---	---	---
	526,00	8,493	---	480,00	5,393	---	---	---	---	---
hykol 0,25	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	96,00	1,168	0,000	120,00	2,939	1,310	0,0	13,4	0,0	15,6

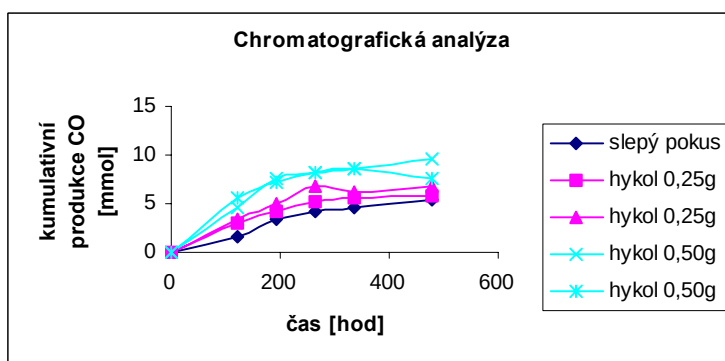
	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO2	CO2	t	CO2	CO2	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
	168,00	3,980	1,096	192,00	4,142	0,804	11,0	8,2	4,5	12,4
	288,00	7,022	1,384	264,00	5,114	0,959	13,9	9,8	12,0	18,3
	454,00	8,536	1,499	336,00	5,662	1,015	15,0	10,4	22,3	13,3
	526,00	10,281	1,787	480,00	5,871	0,477	17,9	4,9	23,1	9,6
hykol 0,25	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	96,00	1,168	0,000	120,00	3,367	1,737	17,8	0,0	---	---
	168,00	2,682	-0,202	192,00	4,953	1,615	16,5	-2,0	---	---
	288,00	6,647	1,009	264,00	6,765	2,609	26,7	10,1	---	---
	454,00	9,978	2,941	336,00	6,229	1,581	16,2	29,5	---	---
	526,00	11,319	2,825	480,00	6,796	1,403	14,4	28,3	---	---
hykol 0,50	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	96,00	2,898	1,730	120,00	4,639	3,009	8,9	15,4	23,9	17,7
	168,00	8,391	5,507	192,00	7,582	4,244	28,2	21,7	41,7	20,8
	288,00	12,298	6,660	264,00	8,261	4,106	34,1	21,0	41,5	20,7
	454,00	15,052	8,015	336,00	8,505	3,857	41,0	19,7	39,0	19,8
	526,00	17,373	8,880	480,00	9,670	4,277	45,4	21,9	45,0	16,5
hykol 0,50	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	96,00	5,060	3,892	120,00	5,524	3,895	39,0	19,9	---	---
	168,00	8,189	5,507	192,00	7,218	3,879	55,2	19,9	---	---
	288,00	11,519	4,872	264,00	8,144	3,989	48,9	20,4	---	---
	454,00	13,668	3,690	336,00	8,525	3,877	37,0	19,8	---	---
	526,00	15,759	4,440	480,00	7,561	2,168	44,5	11,1	---	---



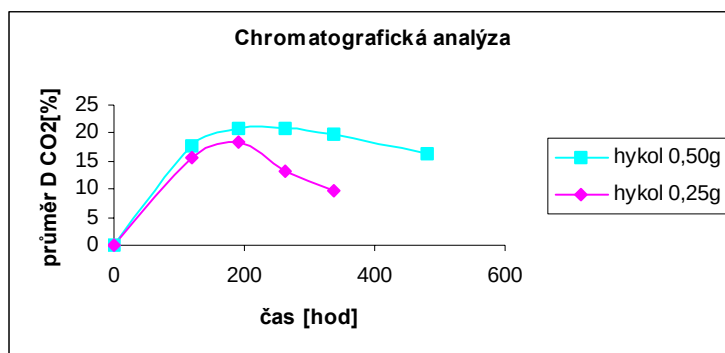
Obr. 2 test 1



Obr. 3 test 1



Obr. 4 test 2



Obr. 5 test 2

Druhou příčinou zdánlivě nižší produkce oxidu uhličitého a nižšího stupně rozkladu u testu 2, by mohlo být uplatnění nitrifikačních procesů tedy rozvoj nitrifikačních bakterií, využívajících oxid uhličitý. Doba pokusu (20 dní), by to umožňovala. Potřebné amonné ionty jsou původně přítomny a také dodány s dusíkatým substrátem, relativně velká změna pH během testu této představě rovněž neodporuje. Zásadní rozdíl v podmínkách obou souběžných sérií 1 a 2, spočíval totiž v tom, že v sérii 1 byla „půdní“ atmosféra víceméně obměněna při stripování oxidu uhličitého, zatímco při sérii 2 se produkovaný oxid uhličitý „akumuloval“ a ani po odběru vstříků pro plynovou chromatografii nebyla atmosféra obměňována.

TESTY 3 a 4

Navázaly na testy předchozí, provedeny zcela analogicky dvě souběžné série s „titrační“ a plynově chromatografickou koncovkou stanovení oxidu uhličitého ale s reálnými vzorky polyhybroxybutyrát (PHB), poly-ε-kaprolakton (PCL), jejich směs bez přísad (PHB + PCL) a jejich směsi s přísadami (vzorky 4,5 tab. II). Opět byly měřeny hodnoty pH a sušiny na začátku a na konci testů (tab. IX a X). Výrazně však byla prodloužena doba testů – na 77 dní (v testech 1 a 2 cca. 21 dní). Změny pH v průběhu testů byly překvapivě malé, asi 0,1-0,3 pH, bez závislosti na analytické koncovce a tedy obměňování (při acidimetrii) či neobměňování (stripování provedeno jednou zhruba v polovině testu při (GC) plynné fázi. Naopak sušina půdních vzorků vzrostla až o 10 %, což je poněkud nevysvětlitelné, zejména u testu 4, kde nebylo prováděno pravidelné

stripování (pouze jednou v průběhu testu). Ač nerado je nutno připustit experimentální chybu. Vysušování při stripování je možno vysvětlovat podstatně delší dobou testu. Podstatně rozdílné byly výsledky obou alternativ sledování uvolněného oxidu uhličitého v průběhu biologického rozkladu.

Tabulka X. test 3, hodnoty veličin stanovených na začátku a konci pokusu

pozice	vzorek	pH na zač. testu	pH na konci testu	sušina na zač. testu	sušina na konci testu
		[-]	[-]	[%]	[%]
1	sl. pokus	6,47	6,25	56,5	62,5
2	sl. pokus	---	6,45	56,5	68,6
3	PHB	6,51	6,32	56,5	62,3
4	PHB	---	6,41	56,5	67,7
5	PCL	6,53	6,42	56,5	68,4
6	PCL	---	6,44	56,5	68,0
7	PHB+PCL 3	6,52	6,60	56,5	67,0
8	PHB+PCL3	---	6,28	56,5	65,8
9	PHB+PCL4	6,57	6,32	56,5	69,6
10	PHB+PCL4	---	6,43	56,5	62,3
11	PHB+PCL5	6,51	6,20	56,5	62,4
12	PHB+PCL5	---	6,34	56,5	63,1

Tabulka XI test 4, hodnoty veličin stanovených na začátku a konci pokusu

pozice	vzorek	pH na zač. testu	pH na konci testu	sušina na zač. testu	sušina na konci testu
		[-]	[-]	[%]	[%]
1	sl. pokus	6,47	6,89	56,5	58,6
2	sl. pokus	---	6,74	56,5	65,2
3	PHB	6,51	6,47	56,5	67,9
4	PHB	---	6,58	56,5	60,3
5	PCL	6,53	6,52	56,5	63,5
6	PCL	---	6,67	56,5	57,9
7	PHB+PCL 3	6,52	6,67	56,5	65,0
8	PHB+PCL3	---	6,64	56,5	68,5
9	PHB+PCL4	6,57	6,61	56,5	63,2
10	PHB+PCL4	---	6,52	56,5	60,8
11	PHB+PCL5	6,51	6,67	56,5	61,5
12	PHB+PCL5	---	6,80	56,5	61,2

Tabulka XII Test 3 a 4

	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
sl. pok.	0,00	0,000	---	0,00	0,000	---	---	---	---	---
	6,00	1,718	---	6,00	0,726	---	---	---	---	---
	13,00	2,282	---	12,00	0,374	---	---	---	---	---
	21,00	4,108	---	20,00	0,396	---	---	---	---	---
	28,00	5,011	---	26,00	0,442	---	---	---	---	---
	35,00	6,160	---	32,00	0,430	---	---	---	---	---
	42,00	7,222	---	39,00	0,538	---	---	---	---	---
	49,00	8,428	---	45,00	0,753	---	---	---	---	---
	56,00	9,662	---	52,00	1,116	---	---	---	---	---
	63,00	11,020	---	58,00	0,758	---	---	---	---	---
	70,00	12,327	---	65,00	0,721	---	---	---	---	---
	77,00	13,533	---	72,00	0,608	---	---	---	---	---
PHB	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,00	1,386	-0,332	6,00	1,386	-0,332	-7,4	25,7	-8,9	25,9
	13,00	1,922	-0,360	12,00	1,922	-0,360	-8,0	56,3	-9,6	53,3
	21,00	3,827	-0,281	20,00	3,827	-0,281	-6,3	86,9	-12,1	83,0
	28,00	7,188	2,177	26,00	7,188	2,177	48,5	73,1	41,7	57,0
	35,00	9,900	3,741	32,00	9,900	3,741	83,3	63,0	74,9	48,4
	42,00	13,334	6,112	39,00	13,334	6,112	136,1	52,5	129,9	40,5
	49,00	15,685	7,258	45,00	15,685	7,258	161,6	66,9	153,3	57,5
	56,00	18,167	8,505	52,00	18,167	8,505	189,4	46,2	182,0	42,0
	63,00	20,159	9,139	58,00	20,159	9,139	203,5	67,7	201,7	63,9
	70,00	20,980	9,961	65,00	20,980	9,961	221,8	68,2	210,9	64,1

	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
	77,00	22,785	10,458	72,00	22,785	10,458	232,8	57,4	229,7	28,7
PHB	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	6,00	1,240	-0,477	6,00	1,447	0,721	-10,3	26,1	---	---
	13,00	1,762	-0,521	12,00	1,763	1,389	-11,3	50,3	---	---
	21,00	3,277	-0,831	20,00	2,582	2,186	-18,0	79,1	---	---
	28,00	6,624	1,613	26,00	1,571	1,129	34,9	40,9	---	---
	35,00	9,236	3,076	32,00	1,364	0,934	66,5	33,8	---	---
	42,00	12,943	5,721	39,00	1,328	0,790	123,6	28,6	---	---
	49,00	15,136	6,708	45,00	2,082	1,329	145,0	48,1	---	---
	56,00	17,747	8,085	52,00	2,159	1,043	174,7	37,8	---	---
	63,00	17,531	7,869	58,00	2,418	1,660	170,1	60,1	---	---
	70,00	20,272	9,253	65,00	2,377	1,656	200,0	59,9	---	---
	77,00	22,812	10,485	72,00	1,457	0,849	226,6	30,7	---	---
PCL	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,00	1,386	-0,332	6,00	1,729	1,002	-7,0	34,7	-4,0	46,7
	13,00	1,951	-0,332	12,00	2,422	2,048	-7,0	70,9	-4,1	85,2
	21,00	4,577	0,468	20,00	3,119	2,724	9,9	94,3	12,3	106,5
	28,00	7,563	2,551	26,00	2,356	1,915	54,1	66,3	56,9	80,4
	35,00	9,627	3,467	32,00	2,427	1,997	73,4	69,2	77,7	86,2
	42,00	12,324	5,103	39,00	2,326	1,787	108,1	61,9	117,4	70,1
	49,00	14,547	6,119	45,00	3,107	2,353	129,6	81,5	132,1	91,7
	56,00	14,965	6,537	52,00	3,520	2,404	138,5	83,3	136,6	89,1
	63,00	17,446	7,784	58,00	3,836	3,077	164,9	106,6	164,5	110,0
	70,00	20,188	9,168	65,00	3,399	2,678	194,2	92,8	187,4	100,9
	77,00	22,540	10,213	72,00	4,057	3,449	216,4	119,5	204,1	121,3

	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
PCL	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	6,00	1,674	-0,043	6,00	2,394	1,668	-0,9	58,7	---	---
	13,00	2,225	-0,058	12,00	3,195	2,821	-1,2	99,4	---	---
	21,00	4,807	0,699	20,00	3,762	3,367	14,7	118,6	---	---
	28,00	7,866	2,854	26,00	3,123	2,681	59,8	94,4	---	---
	35,00	10,073	3,914	32,00	3,364	2,934	82,0	103,3	---	---
	42,00	13,261	6,040	39,00	2,763	2,224	126,6	78,3	---	---
	49,00	12,440	5,218	45,00	3,647	2,893	109,4	101,9	---	---
	56,00	14,849	6,422	52,00	3,813	2,696	134,6	95,0	---	---
	63,00	17,490	7,827	58,00	3,981	3,223	164,1	113,5	---	---
	70,00	19,630	8,610	65,00	3,818	3,098	180,5	109,1	---	---
	77,00	21,479	9,152	72,00	4,103	3,495	191,9	123,1	---	---
PCL+PHB 3	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,00	1,545	-0,173	6,00	0,559	-0,167	-4,0	-6,2	-4,0	-10,7
	13,00	1,907	-0,375	12,00	0,326	-0,048	-8,6	-1,8	-8,6	-3,8
	21,00	4,216	0,108	20,00	0,280	-0,116	2,5	-4,3	2,5	-6,0
	28,00	6,684	1,672	26,00	0,237	-0,205	38,3	-7,5	38,3	-8,7
	35,00	8,675	2,515	32,00	0,219	-0,211	57,6	-7,8	57,6	-8,9
	42,00	9,223	3,063	39,00	0,234	-0,305	70,1	-11,2	70,1	-13,0
	49,00	11,560	4,339	45,00	0,354	-0,400	99,3	-14,7	99,3	-15,9
	56,00	13,754	5,326	52,00	0,377	-0,739	121,9	-27,3	121,9	-28,5
	63,00	16,077	6,415	58,00	0,402	-0,357	146,8	-13,2	146,8	-14,4
	70,00	18,436	7,416	65,00	0,389	-0,331	169,7	-12,2	169,7	-13,3
	77,00	20,649	8,323	72,00	0,411	-0,197	190,5	-7,3	190,5	-3,6
PCL+PHB 3	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---

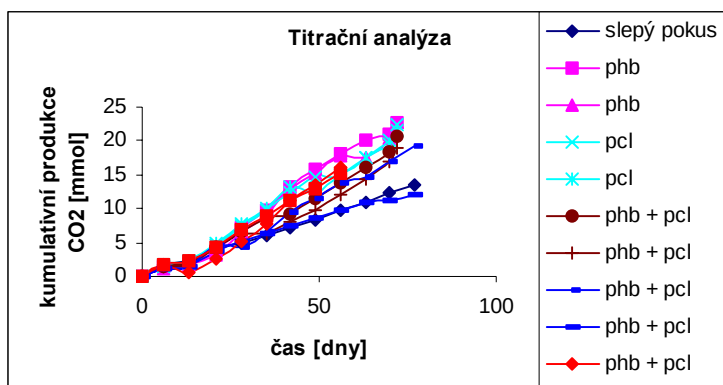
	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO2	CO2	t	CO2	CO2	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
	6,00	1,487	-0,231	6,00	0,320	-0,406	-5,2	-15,2	---	---
	13,00	1,792	-0,490	12,00	0,217	-0,157	-11,1	-5,9	---	---
	21,00	4,173	0,065	20,00	0,189	-0,206	1,5	-7,7	---	---
	28,00	6,424	1,413	26,00	0,177	-0,265	32,1	-9,9	---	---
	35,00	6,294	1,283	32,00	0,164	-0,266	29,2	-10,0	---	---
	42,00	8,070	1,910	39,00	0,147	-0,391	43,4	-14,7	---	---
	49,00	9,845	2,624	45,00	0,296	-0,458	59,6	-17,1	---	---
	56,00	12,211	3,784	52,00	0,324	-0,792	86,0	-29,7	---	---
	63,00	14,491	4,829	58,00	0,342	-0,416	109,8	-15,6	---	---
	70,00	16,894	5,874	65,00	0,336	-0,385	133,5	-14,4	---	---
	77,00	19,049	6,722	72,00	0,375	-0,233	152,8	-8,7	---	---
PCL+PHB 4	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,00	1,242	-0,476	6,00	0,525	-0,201	-11,0	-7,7	-11,0	-2,2
	13,00	1,576	-0,706	12,00	0,344	-0,030	-16,4	-1,2	-16,8	2,8
	21,00	4,634	0,526	20,00	0,304	-0,091	12,2	-3,5	17,4	-0,6
	28,00	4,259	0,151	26,00	0,322	-0,119	3,5	-4,6	13,1	-1,9
	35,00	6,640	1,629	32,00	0,297	-0,133	37,7	-5,1	33,7	-3,5
	42,00	9,482	3,323	39,00	0,279	-0,259	76,9	-9,9	54,1	-8,0
	49,00	11,431	4,209	45,00	0,367	-0,386	97,4	-14,7	64,6	-13,8
	56,00	13,840	5,413	52,00	0,430	-0,687	125,3	-26,2	79,4	-26,3
	63,00	14,780	5,117	58,00	0,451	-0,308	118,5	-11,8	72,3	-12,0
	70,00	17,080	6,061	65,00	0,446	-0,274	140,3	-10,5	71,3	-10,7
	77,00	19,294	6,967	72,00	0,492	-0,116	161,3	-4,4	77,8	-2,2
PCL+PHB 4	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	6,00	1,242	-0,476	6,00	0,811	0,085	-10,9	3,2	---	---

	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO2	CO2	t	CO2	CO2	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
	13,00	1,533	-0,750	12,00	0,551	0,177	-17,2	6,7	---	---
	21,00	3,666	1,384	20,00	0,457	0,061	31,7	2,3	---	---
	28,00	5,096	0,987	26,00	0,460	0,018	22,6	0,7	---	---
	35,00	6,309	1,297	32,00	0,377	-0,053	29,8	-2,0	---	---
	42,00	7,522	1,362	39,00	0,377	-0,162	31,2	-6,1	---	---
	49,00	8,605	1,384	45,00	0,414	-0,340	31,7	-12,9	---	---
	56,00	9,891	1,463	52,00	0,419	-0,697	33,6	-26,4	---	---
	63,00	10,801	1,139	58,00	0,436	-0,322	26,1	-12,2	---	---
	70,00	11,119	0,099	65,00	0,432	-0,289	2,3	-10,9	---	---
	77,00	12,078	-0,248	72,00	0,461	-0,147	-5,7	-5,6	---	---
PCL+PHB 5	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,00	1,674	-0,043	6,00	2,669	1,943	-1,0	74,7	-0,9	65,6
	13,00	0,565	-1,153	12,00	3,349	2,975	-27,2	114,4	-13,9	85,8
	21,00	2,700	0,418	20,00	3,676	3,281	9,9	126,2	3,7	76,5
	28,00	5,312	1,204	26,00	3,757	3,315	28,4	127,5	17,4	79,3
	35,00	7,851	2,840	32,00	2,728	2,298	67,0	88,4	54,8	54,5
	42,00	11,212	5,052	39,00	2,249	1,710	119,2	65,8	90,6	40,8
	49,00	13,362	6,141	45,00	2,467	1,714	144,8	65,9	120,4	44,0
	56,00	15,959	7,532	52,00	2,649	1,532	177,6	58,9	143,6	40,0
	63,00	---	---	58,00	2,726	1,967	---	75,7	---	59,3
	70,00	---	---	65,00	2,692	1,972	---	75,8	---	60,6
	77,00	---	---	72,00	2,575	1,967	---	75,7	---	65,0
PCL+PHB 5	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	6,00	1,689	-0,029	6,00	2,162	1,436	-0,7	56,5	---	---
	13,00	2,181	-0,101	12,00	1,825	1,450	-2,4	57,1	---	---

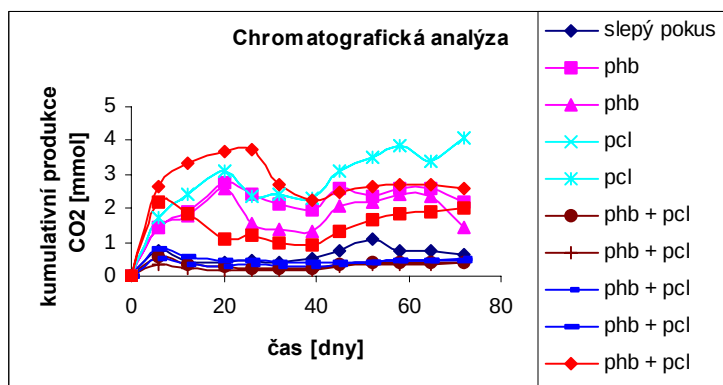
	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
	21,00	4,375	0,267	20,00	1,078	0,682	6,3	26,8	---	---
	28,00	6,813	1,802	26,00	1,229	0,788	42,7	31,0	---	---
	35,00	8,776	2,616	32,00	0,954	0,524	62,0	20,6	---	---
	42,00	11,272	4,051	39,00	0,938	0,400	96,0	15,7	---	---
	49,00	13,048	4,620	45,00	1,314	0,561	109,5	22,1	---	---
	56,00	15,313	5,651	52,00	1,651	0,535	133,9	21,1	---	---
	63,00	---	---	58,00	1,850	1,092	---	43,0	---	---
	70,00	---	---	65,00	1,875	1,155	---	45,5	---	---
	77,00	---	---	72,00	1,989	1,381	---	54,4	---	---

Maximální produkce oxidu uhličitého byla u testu 4 kolem 4 mmol, tedy cca. 90 cm³! Oxidu uhličitého (1 mol oxidu uhličitého = 22,14 cm³) což představuje cca. 15 % objemu plynné fáze!! Složení plynné fáze bylo tedy výrazně odlišné ve srovnání se sérií 3, ve které byla plynná atmosféra opět pravidelně obměňována. Původní předpoklad, že složení plynné fáze se v průběhu biologického rozkladu neprojeví se ukázal jako nedomyšlený. Pro možnost srovnání výsledků testů a tedy jejich určitou zastupitelnost bude nutné striktně dodržet srovnatelné podmínky mimo jiné i složení plynné fáze, tzn. i po GC analýze musí být vzorky stripovány.

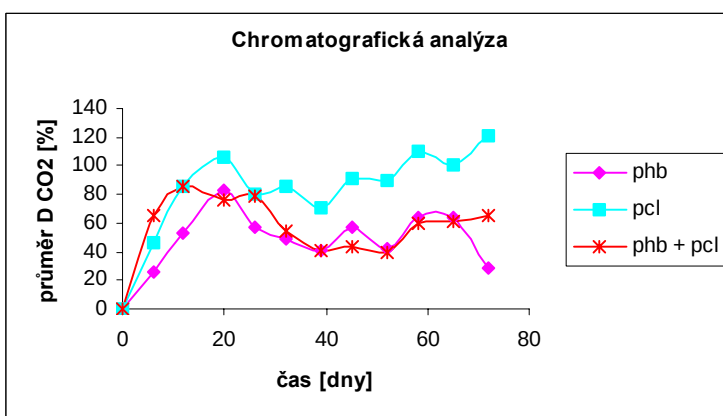
Nárůst produkce oxidu uhličitého v sérii 3 svědčil o vysokém „pozadí“, vysoké produkci oxidu uhličitého samotným půdním substrátem (podmínky slepého pokusu a tedy testu tudíž nemohou být zcela identické, minimálně se liší přítomností uhlíkatého vzorku v případě testu) a „kompenzací“ endogéní respirace odečtením slepého pokusu je zatížena velkou kladnou chybou.



Obr. 6 test 3



Obr. 7 test 4



Obr. 8 test 4

TEST 6

V tomto testu byly zohledněny poznatky z testů 1-4: tzn. prováděny obě varianty analýzy oxidu uhličitého, po GC analýze bylo ale také provzdušňováno stejně jako při stripování oxidu uhličitého při titračním stanovení. Počáteční podmínky testů ilustruje tabulka XII, stejně i použité modelové vzorky. Číselné výsledky testu jsou uvedeny v tabulce XIII graficky na obr. 9-12. Je zřejmé, že výsledky jsou poměrně dobře srovnatelné bez ohledu na způsob analýzy oxidu uhličitého: titračně (obr. 10) či chromatograficky (obr. 12). Vysoké hodnoty slepých pokusů opět naznačují, že pro testy bude nutno používat „méně aktivní“ půdní substrát, tzn. v praxi „ředit“ inertním materiálem a i v tomto případě výsledky uvádět v relaci s průběhem biorozkladu referentních modelových vzorků (velmi špatně a velmi dobře rozložitelného), jak ostatně vyžadují některé standardní postupy.

Tabulka XIII test 4, hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu

pozice	vzorek	pH na zač. testu	pH na konci testu *	sušina na zač. testu	sušina na konci testu *
		[-]	[-]	[%]	[%]
1	sl. pokus	7,31	---	50,1	---
2	sl. pokus	---	---	50,1	---
3	sl. pokus	---	---	50,1	---
4	hykol	7,28	---	50,1	---
5	hykol	---	---	50,1	---
6	hykol	---	---	50,1	---
7	vzorek 1	7,35	---	50,1	---
8	vzorek 1	---	---	50,1	---
9	vzorek 2	7,32	---	50,1	---
10	vzorek 2	---	---	50,1	---

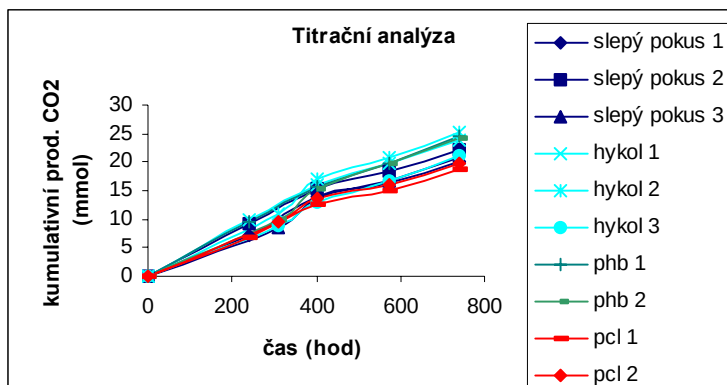
* test v době uzávěrky této diplomové práce ještě nebyl ukončen

Tabulka XIV Test 6

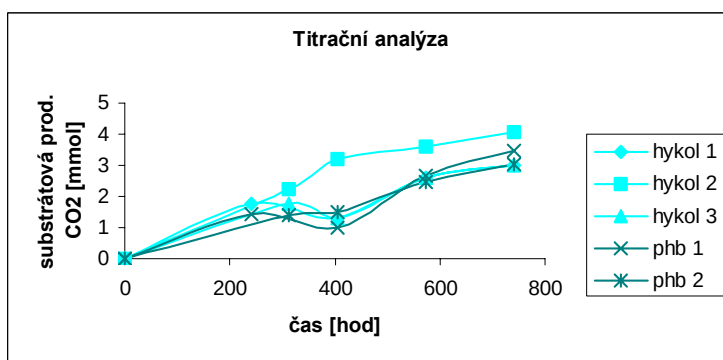
	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO2	CO2	t	CO2	CO2	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
sl. pok.	0,00	0,000	---	0,00	0,000	---	---	---	---	---
	240,00	7,051	---	168,00	8,412	---	---	---	---	---
	404,00	13,958	---	240,00	8,676	---	---	---	---	---
	572,00	16,434	---	312,00	11,005	---	---	---	---	---
	740,00	20,076	---	404,00	14,181	---	---	---	---	---
	---	---	---	572,00	17,943	---	---	---	---	---
	---	---	---	740,00	21,266	---	---	---	---	---
sl. pok.	0,00	0,000	---	0,00	0,000	---	---	---	---	---
	240,00	8,637	---	168,00	8,447	---	---	---	---	---
	404,00	13,800	---	240,00	8,752	---	---	---	---	---
	572,00	16,830	---	312,00	11,193	---	---	---	---	---
	740,00	20,822	---	404,00	14,082	---	---	---	---	---
	---	---	---	572,00	17,719	---	---	---	---	---
	---	---	---	740,00	21,033	---	---	---	---	---
sl. pok.	0,00	0,000	---	0,00	0,000	---	---	---	---	---
	312,00	9,084	---	168,00	8,372	---	---	---	---	---
	404,00	15,328	---	240,00	8,875	---	---	---	---	---
	572,00	18,299	---	312,00	10,231	---	---	---	---	---
	740,00	22,116	---	404,00	14,239	---	---	---	---	---
	---	---	---	572,00	18,028	---	---	---	---	---
	---	---	---	740,00	21,482	---	---	---	---	---
hykol	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	0,0
	240,00	9,833	1,766	168,00	8,413	0,003	24,8	0,0	---	3,5
	404,00	15,948	1,305	240,00	7,994	-0,774	18,3	-10,9	---	4,4

	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO2	CO2	t	CO2	CO2	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
	572,00	19,779	2,592	312,00	10,598	-0,212	36,4	-3,0	---	-4,9
	740,00	24,005	3,000	404,00	14,212	0,044	42,2	0,6	---	11,0
	---	---	---	572,00	18,186	0,290	---	4,1	---	14,6
	---	---	---	740,00	21,806	0,545	---	7,7	---	18,5
hykol	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	312,00	10,886	2,249	168,00	8,900	0,490	31,6	6,9	---	---
	404,00	17,000	3,200	240,00	10,171	1,403	45,0	19,7	---	---
	572,00	20,802	3,615	312,00	10,326	-0,484	50,8	-6,8	---	---
	740,00	25,086	4,081	404,00	15,692	1,524	57,4	21,4	---	---
	---	---	---	572,00	19,683	1,786	---	25,1	---	---
	---	---	---	740,00	23,354	2,094	---	29,4	---	---
hykol	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	240,00	8,925	0,288	168,00	7,278	-1,132	3,9	-15,5	---	---
	404,00	13,065	-0,735	240,00	8,505	-0,263	-10,0	-3,6	---	---
	572,00	16,736	-0,452	312,00	7,962	-2,847	-6,2	-38,9	---	---
	740,00	20,990	-0,014	404,00	12,339	-1,829	-0,2	-25,0	---	---
	---	---	---	572,00	16,233	-1,663	---	-22,7	---	---
	---	---	---	740,00	19,510	-1,751	---	-23,9	---	---
PHB	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	0,0
	240,00	9,487	1,420	168,00	8,512	0,102	17,3	1,2	---	-4,1
	404,00	15,645	1,002	240,00	8,733	-0,035	12,2	-0,4	---	1,3
	572,00	19,870	2,683	312,00	11,515	0,706	32,7	8,6	---	0,7
	740,00	24,460	3,455	404,00	15,012	0,844	42,1	10,3	---	9,8
	---	---	---	572,00	19,614	1,717	---	20,9	---	20,2
	---	---	---	740,00	23,901	2,640	---	32,2	---	29,0

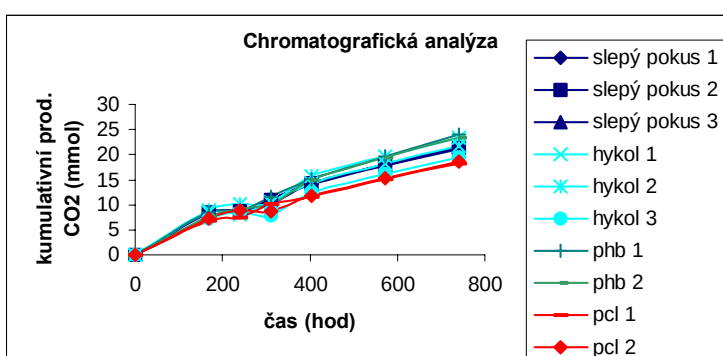
	titrační analýza			GC analýza			TA	GC		
		kumul.	substrate		daily	substrate			průměr	
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)	(%)
									TA	GC
PHB	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	312,00	10,050	1,413	168,00	7,634	-0,776	17,3	-9,5	---	---
	404,00	15,313	1,514	240,00	9,013	0,245	18,5	3,0	---	---
	572,00	19,641	2,453	312,00	10,223	-0,587	30,0	-7,2	---	---
	740,00	24,041	3,036	404,00	14,933	0,765	37,1	9,4	---	---
	---	---	---	572,00	19,482	1,586	---	19,4	---	---
	---	---	---	740,00	23,373	2,112	---	25,8	---	---
PCL	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	0,0
	240,00	6,691	-1,377	168,00	7,338	-1,072	-31,6	-18,0	---	-15,2
	404,00	12,632	-2,011	240,00	8,871	0,103	-46,1	-15,5	---	-7,1
	572,00	15,064	-2,123	312,00	8,719	-2,090	-48,7	-9,0	---	-16,6
	740,00	18,677	-2,328	404,00	11,874	-2,294	-53,4	-31,3	---	-29,0
	---	---	---	572,00	15,406	-2,490	---	-33,8	---	-31,4
	---	---	---	740,00	18,677	-2,583	---	-34,6	---	-32,3
PCL	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	---	---
	312,00	9,487	0,850	168,00	6,875	-1,535	9,9	-12,4	---	---
	404,00	13,656	-0,144	240,00	7,445	-1,323	-1,7	1,2	---	---
	572,00	16,175	-1,013	312,00	10,039	-0,771	-11,7	-24,3	---	---
	740,00	19,773	-1,231	404,00	11,493	-2,674	-14,3	-26,6	---	---
	---	---	---	572,00	15,008	-2,889	---	-28,9	---	---
	---	---	---	740,00	18,310	-2,951	---	-30,0	---	---



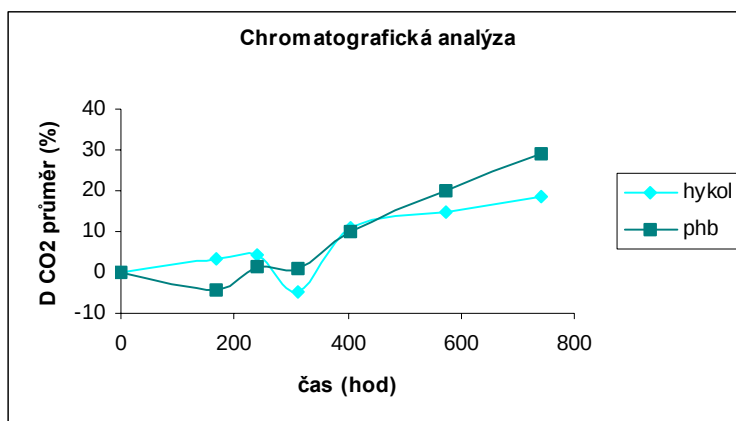
Obr. 9 test 6



Obr. 10 test 6



Obr. 11 test 6



Obr. 12 test 6

TEST 5

Byl proveden jako „propojovací“ tedy mezi dřívějšími výsledky [21,22] a touto prací. Jako inokulum byl použit půdní výluh (kap. 2.2), analýza oxidu uhličitého byla prováděna GC analýzou (průběžně) a na začátku na konci byly stanoveny hodnoty TOC „vodorozpustných substrátů“ (hykol a PVA) – tab. XIV. Množství produkovaného oxidu uhličitého bylo vypočteno z rovnice /7/, tedy při zohlednění fázové i acidobazické rovnováhy. Z výsledků stanovení TOC je zřejmé, že za daných podmínek se hykol rozložil prakticky úplně ($D_{CO_2} = 100,5 \%$), zatímco PVA se nerozkládal prakticky vůbec ($D_{CO_2} = 11,3 \%$). Tyto hodnoty byly v zásadě v souladu s hodnocením rozkladu podle produkce oxidu uhličitého (tab. XV, obr. 13 a 14). PHB se očekávaně rozkládal pomaleji nežli hykol ($D_{CO_2} = 44,2 \%$).

Tabulka XV hodnoty TOC měřené na začátku a konci pokusu

pozice	vzorek	TOC na zač. testu	TOC na konci testu
---	---	[mg/l]	[mg/l]
1	slepý pokus	31,40	42,31
2	slepý pokus	30,69	41,55
3	hykol	174,50	41,56
4	hykol	177,70	41,69
5	PVA	199,50	210,10

pozice	vzorek	TOC na zač. testu	TOC na konci testu
---	---	[mg/l]	[mg/l]
6	PVA	200,90	210,90
7	dest. voda	2,279	2,870
8	dest. voda	2,503	2,256
9	dest. voda	2,623	2,105

* TOC půdního výluhu bylo 302,6 mg/l

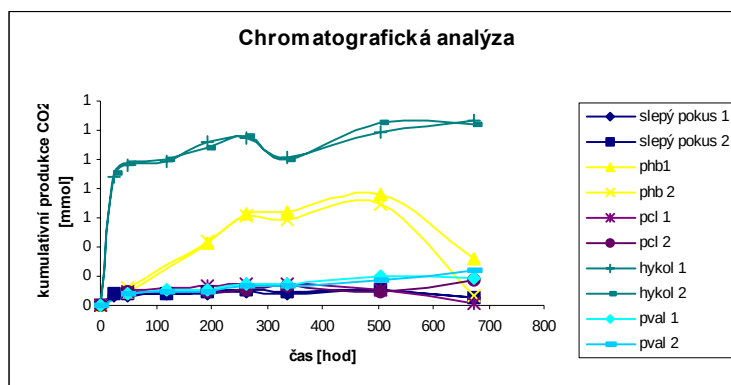
Hodnoty naměřené na konci testu u slepého pokusu a PVA, jsou vyšší, to lze brát jako chybu měření.

Tabulka XVI výsledky testu 5

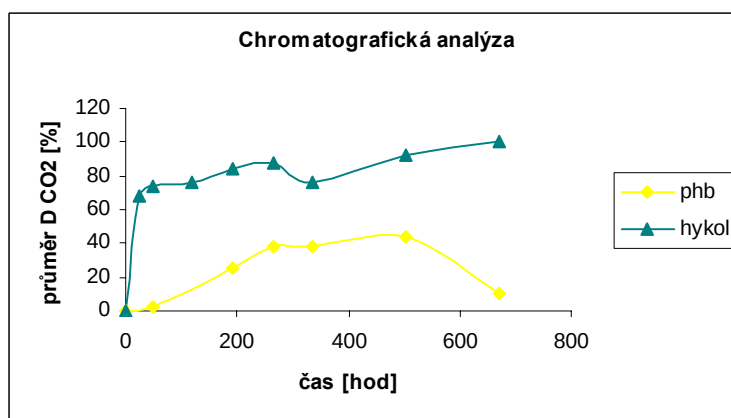
	GC analýza			GC analýza			GC	GC	GC
		kumul.	substrate		kumul.	substrate			průměr
Channel	t	CO ₂	CO ₂	t	CO ₂	CO ₂	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)
sl. pok.	0,00	0,000	---	0,00	0,000	---	---	---	---
	24,00	0,069	---	24,00	0,075	---	---	---	---
	48,00	0,072	---	48,00	0,079	---	---	---	---
	120,00	0,078	---	120,00	0,086	---	---	---	---
	192,00	0,082	---	192,00	0,091	---	---	---	---
	264,00	0,093	---	264,00	0,105	---	---	---	---
	336,00	0,086	---	336,00	0,094	---	---	---	---
	504,00	0,110	---	504,00	0,108	---	---	---	---
	672,00	0,053	---	672,00	0,053	---	---	---	---
PHB	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0
	48,00	0,093	0,021	48,00	0,113	0,042	1,5	3,0	2,3
	192,00	0,423	0,340	192,00	0,444	0,362	24,1	26,4	25,2
	264,00	0,630	0,537	264,00	0,609	0,516	38,0	37,6	37,8

	GC analýza			GC analýza			GC	GC	GC
		kumul.	substrate		kumul.	substrate			průměr
Channel	t	CO2	CO2	t	CO2	CO2	D CO ₂	D CO ₂	D CO ₂
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)
	336,00	0,642	0,556	336,00	0,588	0,502	39,3	36,6	37,9
	504,00	0,755	0,645	504,00	0,696	0,587	45,7	42,8	44,2
	672,00	0,327	0,274	672,00	0,060	0,007	19,4	0,5	9,9
PCL	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0
	48,00	0,091	0,019	48,00	0,087	0,016	1,3	1,1	1,2
	192,00	0,139	0,057	192,00	0,100	0,017	4,0	1,2	2,6
	264,00	0,145	0,052	264,00	0,111	0,018	3,7	1,3	2,5
	336,00	0,153	0,066	336,00	0,127	0,040	4,6	2,9	3,7
	504,00	0,106	-0,003	504,00	0,100	-0,010	-0,2	-0,7	-0,5
	672,00	0,018	-0,035	672,00	0,167	0,114	-2,4	8,1	2,8
hykol	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0
	24,00	0,884	0,809	24,00	0,906	0,831	67,5	69,4	68,4
	48,00	0,959	0,879	48,00	0,977	0,898	73,4	75,0	74,2
	120,00	0,987	0,901	120,00	1,004	0,918	75,2	76,7	75,9
	192,00	1,114	1,023	192,00	1,080	0,989	85,4	82,5	83,9
	264,00	1,145	1,040	264,00	1,157	1,052	86,8	87,8	87,3
	336,00	1,007	0,913	336,00	1,005	0,911	76,2	76,0	76,1
	504,00	1,180	1,072	504,00	1,257	1,149	89,5	95,9	92,7
	672,00	1,268	1,215	672,00	1,245	1,192	101,5	99,5	100,5
PVA	0,00	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,0	0,0	0,0
	48,00	0,083	0,004	48,00	0,081	0,002	0,3	0,1	0,2
	120,00	0,101	0,015	120,00	0,091	0,005	1,1	0,3	0,7
	192,00	0,105	0,014	192,00	0,096	0,004	1,0	0,3	0,6
	264,00	0,141	0,036	264,00	0,135	0,030	2,5	2,1	2,3

Channel	GC analýza			GC analýza			GC	GC	GC
	t	kumul.	substrate	t	kumul.	substrate	D CO ₂	D CO ₂	průměr
	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(hod.)	(mmol.)	(mmol.)	(%)	(%)	(%)
	336,00	0,143	0,048	336,00	0,135	0,040	3,4	2,9	3,2
	504,00	0,196	0,088	504,00	0,171	0,063	6,2	4,5	5,4
	672,00	0,187	0,134	672,00	0,236	0,183	9,6	13,0	11,3



Obr. 13 test 5



Obr. 14 test 5

Pokles, který je patrný zejména u PHB po 504 hodinách, byl zapříčiněn viditelným nárůstem řas v testovacích láhvích.

4 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala hodnocením biologické rozložitelnosti modelových vzorků polymerů (polyhydroxybutyrát PHB, poly- ϵ -kaprolakton PCL, jejich směsí, dále „referentního“ hykolu a polyvinylalkoholu PVA) v půdním prostředí při běžné laboratorní teplotě. Pro „kontinuitu“ s dřívějšími procesy byla provedena i jedna série vodních testů ve vodním prostředí s půdním výluhem jako inokulem. „Půdní“ testy byly realizovány ve dvou alternativách, se stejnými počátečními podmínkami testů (půdní substrát, vlhkost, pH, dávkování vzorků) ale lišících se analýzou produkovaného oxidu uhličitého.

- a) občasné stripování (cca. 1-2x týdně, 2-3 hodiny) produkovaného oxidu uhličitého vzduchem (prostým oxidu uhličitého), jímání oxidu uhličitého do roztoku hydroxidu a acidimetrické stanovení. Tzn. v zásadě standardní postup s jedním rozdílem spočívajícím v provzdušňování, nikoliv nepřetržitě (standardní postup).
- b) Plynově chromatografická analýza oxidu uhličitého v plyné atmosféře reaktoru. Odebíráno 0,1-1 ml plynu, občasné jako ad a), analyzovaného na plynovém chromatografu na Porapaku Q s teplotně vodivostním detektorem, vzhodnocovaného metodou přímé kalibrace. Na experimentálních sériích 2 a 4 nebyl na rozdíl od postupu a), plyný obsah reaktorů obměňován (stripováním), v sérii 6 byl po GC analýze oxidu uhličitého naopak důsledně provzdušňován stejně jako postupu a). Z výsledků lze vyvodit následující závěry:
 - pokud jsou dodrženy stejné podmínky testů biorozložitelnosti, včetně složení plyné atmosféry (tj. pravidelné provzdušňování) poskytují obě alternativy srovnatelné výsledky (série 6).
 - neprovzdušňování obsahu reaktoru po GC analýze vede k postupné kumulaci oxidu uhličitého v reaktorech a zřejmě i kyslíkovému deficitu. Podmínky i výsledky testů se liší (série 1-4).
 - kumulace oxidu uhličitého v reaktorech v přítomnosti dusíkatého substrátu, vytváří příznivé podmínky pro rozvoj nitrifikačních bakterií, využívajících oxid

uhličitý. Výsledky produkce oxidu uhličitého pak mohou být zatíženy negativní chybou (série 1-4).

- testy musí být důsledně prováděny v temnu, růst řas výsledky znehodnocuje: poznání nikterak překvapující.
- testy ve vodním prostředí, respektující fázovou a acidobazickou rovnováhu oxidu uhličitého, poskytují věrohodné výsledky (série 5).

Při zohlednění získaných poznatků umožňují obě alternativy dosažení srovnatelných výsledků. Výhodou je nižší pracnost a možnost souběžného provádění více testů např. za variabilních teplotních podmínek.

Poznatky jsou současně inspirací pro další práci v této oblasti.

Seznam použité literatury:

- [1] Rybníkář F.: Makromolekulární chemie, 2000, strany 70-77
- [2] Lazár M., Bleha T., Rychlý J.: Chemické reakce polymérů, Alfa n.p., 1987
- [3] ISO 11266, Soil quality – Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions, 1994
- [4] ISO 6974-3, Natural gas-Determination of composition with defined uncertainty by gas chromatography-Determination of hydrogen, helium, oxygen, nitrogen, carbon dioxide and hydrocarbons up to C8 using two packed columns, 2000
- [5] Ohtaki A., Akakura N., Nakasaki K.: Effects of temperature and inoculum on the degradability of poly-ε-caprolactone during composting, Polymer Degradation and Stability, Volume 62, Issue 2, 1998, pages 279-284
- [6] di Franco C.R., Cyras V.P., Busalmen J.P., Ruseckaite R.A.: Degradation of polycaprolactone/starch blends and composites with sisal fibre, Polymer Degradation and Stability, Volume 86, Issue 1, 2004, pages 95-103
- [7] Lotto A.T., Calil M.R., Guedes C.G.F., Rosa D.S.: The effect of temperature on the biodegradation test, Materials Science and Engineering: C, Volume 24, Issue 5, 2004, Pages 659-662
- [8] Růžicka J.: Mikrobiologie pro technologii životního prostředí, 1999, strany 114-116
- [9] Hea-Sun Y., Jin-San Y., Mal-Nam K.: Dependence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimens, Polymer Degradation and Stability, Volume 87, Issue 1, 2005, Pages 131-135
- [10] PHB, Scifinder database, Registry, Substance identifier Task, 01.03.2005
- [11] PCL, Scifinder database, Registry, Substance identifier Task, 01.03.2005
- [12] La Cara F., Immirzi B., Ionata E., Mazzela A., Portofino S., Orsello G., De Prisco P.P.: Biodegradation of Poly-ε-caprolactone/poly-β-hydroxybutyrate blend, Polymer Degradation and Stability, Volume 79, Issue 1, 2002, pages 37-43

- [13] Yakabe Y., Nohara K., Hara T.: Factors affecting the biodegradability of biodegradable polyester in soil, *Chemosphere*, Volume 25, Issue 12, 1992, Pages 1879-1888
- [14] Ohtaki A., Sato N., Nakasaki K.: Biodegradation of poly-caprolactone under controlled composting conditions, *Polymer Degradation and Stability*, Volume 61, Issue 3, 1998, Pages 499-505
- [15] Rosa D.S., Lotto N.T., Lopes D.R., Guedes C.G.F.: The use of roughness for evaluating the biodegradation of poly-hydroxybutyrate and poly-hydroxybutyrate-co-valerate, *Polymer Testing*, Volume 23, Issue 1, 2004, Pages 3-8
- [16] Mezzanotte V., Bertania R., Degli F.: Influence of inocula on the results of biodegradation test, *Polymer Degradation and Stability*, Volume 87, Issue 1, 2005, pages 51-56
- [17] Chiellini E., Corti A., Solaro R.: Biodegradation of poly(vinylalcohol) based blown films under different environmental conditions, *Polymer degradation and stability*, Volume 75, Issue 3, 2002, Pages 447-458
- [18] ISO 11721-2, Plastics-Determination of the resistance of cellulose-containing textiles to micro-organism-Soil burial-test, 2003
- [19] ISO 14855, Determination of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastic materials under controlled composting conditions-Method by analysis of evolved carbon dioxide, 1999
- [20] Lefebvre F., David C., Vander C., Wauven C.: Biodegradation of polycaprolactone by microorganism from an industrial compost of household refuse, *Polymer degradation and stability*, 1994, Pages 347-353
- [21] Sedlář J.: Analýza plynných produktů při biodegradaci plastů, Diplomová práce, UTB Zlín, 2003
- [22] Dvořáková M.: Sledování biologických rozkladných procesů směsných polymerů v půdním prostředí, Diplomová práce, UTB Zlín, 2004
- [23] ČSN EN 29408, Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: metoda stanovení spotřeby kyslíku v respirometru

- [24] Hlava termostatu s katarometrem (TCD) – Chrom 5, průvodce technické dokumentace, Laboratorní přístroje Praha
- [25] Instruction manual Total organic carbon analyser, model TOC – 5000A, Shimadzu corporation Japan, 1996
- [26] Sedláček M. a kol.: Metody rozborů kalů a pevných odpadů, Státní zemědělské nakladatelství, Praha 1978
- [27] Manuál pH metr OP 208, Radelskis
- [28] ČSN EN 29408, Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí (statická zkouška)
- [29] ČSN ISO 10390, Stanovení pH půdy
- [30] ISO 17556, Plastics – Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by measuring the oxygen demand a respirometr or the amount of carbon dioxide evolved, 2003
- [31] Dřímál P., Hoffmann J., Hrnčířík J.: 3 rd Meeting on Chemistry and Life, Faculty of Chemistry BUT, Assessing aerobic biodegradability in aqueous environment by analysing composition of equilibrium gaseous phase, September 2005

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PHB	polyhydroxybutyrát.
PHB-V	kopolymer polyhydroxybutyrát-valerát
PCL	polykaprolakton
PP	polypropylen
PBS	kopolymer polybutadien- styren
PBSA	kopolymer polybutadien- styren-akrylonitril
PVC	polyvinilchlorid
PTFE	polytetrafluorethylén
PS	polystyrén
SBR	butadien-styrenový kaučuk
PAN	polyakrylonitril
PVA	polyvinilalkohol
TOC	celkový organický uhlík
HYKOL	hydrolyzát kolagenu
STU	Státní Technická Univerzita
TCD	teplotně vodivostní detektor
ISO	International standart organization
ČSN	Česká státní norma
TA	titrační analýza
GC	plynově chromatografická analýza
ITŽP	Institut technologie životního prostředí

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 schéma láhvé aparatury pro průběh hodnocení biodegradace.....	24
Obr. 2 test 1.....	38
Obr. 3 test 1.....	38
Obr. 4 test 2.....	38
Obr. 5 test 2.....	39
Obr. 6 test 3.....	47
Obr. 7 test 4.....	47
Obr. 8 test 4.....	47
Obr. 9 test 6.....	52
Obr. 10 test 6.....	52
Obr. 11 test 6.....	52
Obr. 12 test 6.....	53
Obr. 13 test 5.....	56
Obr. 14 test 5.....	57

SEZNAM TABULEK

Tabulka I charakteristika půdních substrátů a půdy.....	21
Tabulka II složení a číslování jednotlivých vzorků.....	22
Tabulka III souhrn podmínek stanovení CO ₂ na přístroji Chrom 5.....	25
Tabulka IV nasazení testů 1 a 2.....	29
Tabulka V nasazení testů 3 a 4.....	29
Tabulka VI nasazení testu 6.....	30
Tabulka VI nasazení testu 5.....	31
Tabulka VII test 1 hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu.....	36
Tabulka VIII test 2 hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu.....	36
Tabulka IX, test 1 a 2.....	36
Tabulka X. test 3, hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu.....	40
Tabulka XI test 4, hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu.....	40
Tabulka XII Test 3 a 4.....	41
Tabulka XIII test 4, hodnoty veličin stanovovaných na začátku a konci pokusu.....	48
Tabulka XIV Test 6.....	49
Tabulka XV hodnoty TOC měřené na začátku a konci pokusu.....	53
Tabulka XVI výsledky testu 5.....	54