

Využití mikro a submikro porézních struktur z biodegradabilních materiálů pro adsorpci fenolických látek

Bc. Daniela Koudelníčková

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Daniela Koudelníčková**
Osobní číslo: **T14459**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Využití mikro a submikro porézních struktur z biodegradabilních materiálů pro adsorpci fenolických látek**

Zásady pro vypracování:

1. Připravit vzorky mikro a submikro porézních částic z biodegradovatelného polyesteru PBAT.
 2. Popsat jejich charakteristické vlastnosti jako je velikost a distribuce částic, struktura, morfologie, popřípadě velikost měrného povrchu.
 3. Změřit adsorpční izotermy pro vybranou modelovou fenolickou látku z vodného prostředí na povrch částic.
 4. Provést experiment mikrobiálního rozkladu částic v prostředí kompostu a přitom sledovat rozklad polymeru a fenolické látky.
 5. Provést literární rešerši a zpracovat výsledky experimentů do formy DP.
-

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. CHANDRA, R. et al. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 1998, vol. 23, p. 1273-1335.
2. PAN, B. et al. Adsorption of phenolic compounds from aqueous solution onto a macroporous polymer and its aminated derivative: isotherm analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 2005, vol. 121, p. 233-241.
3. VYSLOUŽIL, J., DVOŘÁČKOVÁ, K., KEJDUŠOVÁ, M. Příprava léčivých mikročásteček metodou odpařování rozpouštědla. *Chemické listy*, 2013, vol. 107, p. 16-23. ISSN: 0009-2770.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Petr Stloukal, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce:

2. února 2016

Termín odevzdání diplomové práce:

16. května 2016

Ve Zlině dne 2. února 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



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

Příjmení a jméno: KOUDELNÍČKOVÁ DANIELA

Obor: IOŽP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské 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/bakalářská 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;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou 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 užit 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/bakalářské 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/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji 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 9.5.2016

Koudelníčková Daniela

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.

²⁾ 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, užije-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 vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá nežádoucími fenolickými látkami v životním prostředí, převážně bisfenolem A. Jednou z možných metod odstranění těchto látek z vodného prostředí je adsorpce. V této byly vytvořeny adsorbenty o velikosti mikro a submikro struktur porézní i neporézní povahy pro adsorpci fenolických látek. Dále je zde zkoumán vliv a povaha nadouvadla (hexan a NH_4HCO_3) při přípravě částic, které vytváří právě porézní struktury. Bylo zjištěno, že s přítomností porézní struktury a zmenšující se velikostí částic dochází k zvyšování specifického povrchu částic. Částice s NH_4HCO_3 jakožto nadouvadlem mají vyšší specifický povrch, vyšší adsorpční schopnost než částice s hexanem a proto byly použity na biodegradační pokus v prostředí kompostu.

V provedeném biodegradačním pokusu byla experimentálně zpracována celková mineralizace vzorků probíhající během několika týdnů biodegradace. Následně bylo provedeno stanovení úbytku množství BPA po biodegradaci a zjištění účinnosti mineralizace BPA adsorbovaného na připravených strukturách. Získané výsledky byly zpracovány a interpretovány v rámci této diplomové práce.

Klíčová slova: Bisfenol A, porézní a neporézní mikro a submikro struktury, adsorpce, biodegradace

ABSTRACT

The aim of this thesis concern with undesirable phenolic substances in the environment, mainly bisphenol A. One of the possible solution to remove the bisphenol A in water is adsorption. In this work has been created various adsorbent size of micro and submicro structures of porous and non-porous nature of the adsorption of phenolics. Furthermore, there is examined the effect and nature of the blowing agent, when preparing the particles, which creates very porous structure. It was found that the presence of the porous structure and the decreasing size of the particles leads to increasing the specific surface of the particles. Particles with NH_4HCO_3 as the blowing agent, have a bigger specific surface area and adsorption capacity than the particles with hexane and were therefore used for biodegradation experiment environment compost.

In performed biodegradation experiments was experimentally prepared total mineralization samples extending over several weeks biodegradation. Afterwards, determination of the loss amount of BPA after biodegradation and efficiency of a mineralization BPA adsorbed on prepared structures was measured. The results were processed and interpreted in the context of this thesis.

Keywords:

Bisphenol A, porous and non-porous micro and submicro structures, adsorption, biodegradation

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce panu Ing. Petru Stloukalovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a vstřícnost.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Tomášovi Šopíkovi za pomoc v experimentální části a svým blízkým za podporu po dobu mého studia.

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

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 BISFENOL A A JINÉ FENOLICKÉ LÁTKY ZNĚČIŠŤUJÍCÍ ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ	13
1.1 VLASTNOSTI, PŘÍRODNÍ A ANTROPOGENNÍ ZDROJE.....	13
1.2 FENOLICKÉ LÁTKY V ORGANISMU A ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ.....	17
1.2.1 Biotransformace a biodegradace.....	17
1.2.2 Metody stanovení obsahu fenolických látek.....	24
1.2.3 Legislativa pojednávající o fenolických látkách.....	27
2 SCHOPNOST ADSORPCE PORÉZNÍMI STRUKTURAMI	30
2.1 ADSORPCE.....	30
2.2 ADSORBENTY A PROVÁDĚNÉ STUDIE.....	32
2.3 KINETIKA ADSORPCE.....	35
3 MIKRO A SUBMIKRO PORÉZNÍ STRUKTURY NA BÁZI BIODEGRADABILNÍCH MATERIÁLŮ	37
3.1 CHARAKTERIZACE A VYUŽITÍ.....	37
3.2 METODY PŘÍPRAVY PORÉZNÍCH A NEPORÉZNÍCH STRUKTUR.....	38
3.2.1 Metoda odpaření rozpouštědla.....	38
3.3 VHODNÉ BIODEGRADABILNÍ POLYMERNÍ MATERIÁLY.....	42
3.3.1 PBAT a jeho biodegradabilita.....	42
II PRAKTICKÁ ČÁST	45
4 MATERIÁLY A METODY	46
4.1 MATERIÁLY A PŘÍSTROJE.....	46
4.1.1 Chemické látky.....	46
4.1.2 Použité přístroje a zařízení.....	46
4.1.3 Software použití pro prezentaci a zpracování dat.....	47
4.2 METODY PŘÍPRAVY A CHARAKTERIZACE ČÁSTIC.....	47
4.2.1 Příprava 0,5 % roztoku PVA.....	47
4.2.2 Příprava částic.....	48
4.3 CHARAKTERIZACE ČÁSTIC.....	49
4.3.1 Velikost částic a polydisperzní index.....	49
4.3.2 Morfologie částic.....	49
4.3.3 Specifický povrch částic.....	50
4.3.4 FTIR.....	50
4.3.5 Adsorpční izoterma.....	50
4.3.6 Freundlichova izoterma.....	51
4.3.7 Schopnost biodegradace částic s adsorbovaným i neadsorbovaným BPA.....	51
4.3.7.1 Příprava biometrických lahví před samotným pokusem.....	51
4.3.7.2 Příprava minerálního média.....	51
4.3.7.3 Zavedení pokusu v biometrických lahvích.....	53
4.3.7.4 Průběžné provzdušňování lahví.....	54
4.3.7.5 Hodnocení množství vyvinutého CO ₂ a úbytku O ₂ v lahvích pomocí plynové chromatografie.....	55

4.3.7.6	Průběh měření biodegradace.....	56
4.3.7.7	Zpracování naměřených dat.....	56
4.3.7.8	Stanovení zbytkové koncentrace Bisfenolu A po biodegradaci	58
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	60
5.1	CHARAKTERIZACE ČÁSTIC.....	60
5.1.1	Velikost částic a polydisperzní index.....	60
5.1.2	Morfologie částic	62
5.1.3	Adsorpční izoterma	64
5.2	FTIR	66
5.3	BIODEGRADAČNÍ POKUS.....	68
5.3.1	Stanovení zbytkové koncentrace Bisfenolu A po biodegradaci.....	69
ZÁVĚR		74
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		75
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		82
SEZNAM OBRÁZKŮ		85
SEZNAM TABULEK.....		86

ÚVOD

Alkylfenoly (APs) A bisfenol A (BPA) jsou používány po více než 40 let jakožto detergenty, emulgátory, smáčedla a dispergační činidla. Jejich zvýšená koncentrace ve vodách, způsobená antropogenní činností, od počátku jejich používání vzrostla. Tyto fenolické látky se do vod dostávají při uvolnění z výrobků a následná migrace životním prostředím způsobuje jejich nežádoucí účinky na organismy. U těchto látek, patřících do skupiny endokrinních disruptorů (EDCs), jsou pak známy estrogení účinky nejen na vodní organismy, u nichž EDCs interferují se syntézou, sekrecí a transportem přirozených hormonů. Jejich toxicita se projevuje již ve velmi malých koncentracích. BPA, hojně využívaný jako aditivum v polymerním průmyslu, má schopnost vázat se na DNA strukturu organismu a vytvářet tak kovalentní vazby. Jeho produkty jsou mnohdy více toxické než látka samotná [1,2].

Odstranění fenolických látek ze životního prostředí, převážně vod na čistírnách odpadních vod, je velmi často řešena metodou adsorpce na vhodný adsorbent. Tento adsorbent by neměl významně zatěžovat životní prostředí a současně by měl mít vysokou afinitu vůči těmto látkám. Jako vhodný adsorbent pro bisfenol A se jeví poly (butylen adipát co-tereftalát) neboli PBAT (Ecoflex). Tento syntetický polymer lze tedy využít pro přípravu adsorpčního materiálu. Nejvýznamnější metodou pro přípravu právě takového adsorbentu s porézní strukturou, jež zvyšuje specifický povrch adsorbentu, se jeví metoda odpaření rozpouštědla. Tímto způsobem lze tedy bisfenol A odstranit z vodného prostředí a následně jej naadsorbovaného na tyto částice biodegradovat. V této diplomové práci byl jako vhodné prostředí pro biodegradaci zvolen kompost a to z důvodu, že kompost obsahuje poměrně velké množství mikroorganismů rozkládající škodlivé látky pro životní prostředí, včetně bisfenolu A.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BISFENOL A A JINÉ FENOLICKÉ LÁTKY ZNĚČIŠŤUJÍCÍ ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

Endokrinní disruptory neboli látky s estrogením účinkem lze v současnosti označit jako všudypřítomné polutanty s vysokou toxicitou již ve velmi malých koncentracích. Z tohoto důvodu jsou monitorovány. Tyto látky mají vliv na zdraví a reprodukci zvířat i člověka a jsou syntetickými kontraceptivy a modulátory.

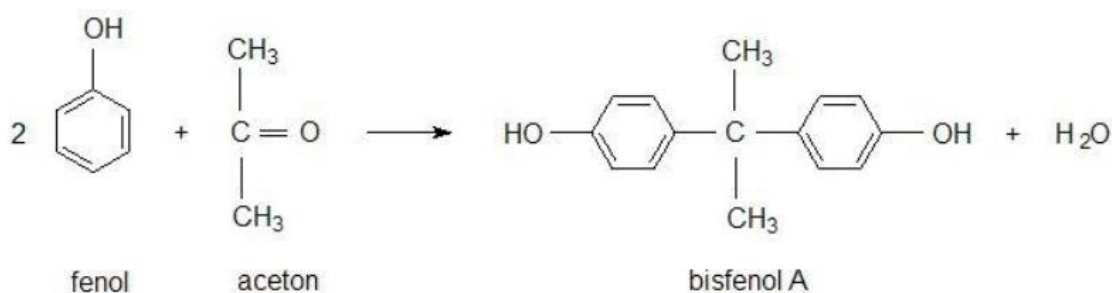
Velmi významnou třídou EDCs jsou alkylfenol polyethoxyláty (APEOs), využívány především jako surový materiál či aditivum v průmyslové činnosti. Jejich aplikace sahá i do zemědělství a chovu dobytka. Alkylfenol polyethoxyláty jsou pak hlášeny v povrchových vodách, odpadních vodách, kalu, sedimentu i organismech [1].

Alkylfenoly jsou látky používané již přes 40 let jako detergenty, emulgátory, dispergační činidla aj. [2]. Nonylfenol (NP) a oktylfenol (OP) jsou prekurzory neionogenních surfaktantů používaných v detergencích. Produkty vznikající degradací těchto látek se vykazují vyšší toxicitou než samotné výchozí látky. Jsou snadno akumulovány v organismech díky jejich vysoké lipofilitě. [1]

Další z těchto EDCs fenolického typu, jež se významně podílí na znečištění životního prostředí fenolickými látkami, je Bisfenol A. Této látce je v této práci věnována výrazná pozornost, proto bude v dalších kapitolách podrobněji popsán.

1.1 Vlastnosti, přírodní a antropogenní zdroje

Bisfenol A je organická sloučenina objevena a připravena chemikem Alexandrem Pavlovičem Dianinem roku 1891 poměrně snadnou laboratorní syntézou. Tato syntéza je založena na reakci fenolu s acetonem za přítomnosti silné kyseliny (chlorovodíková, fosforečná, sírová) jak je uvedeno na Obr. č. 1. [3].



Obr. č. 1: Syntéza BPA reakcí fenolu a acetonu [3].

Pro následné použití bisfenolu A za dalšími účely (polykarbonáty) je nutné jej predestilovat na čistotu vyšší než 99,8 %.

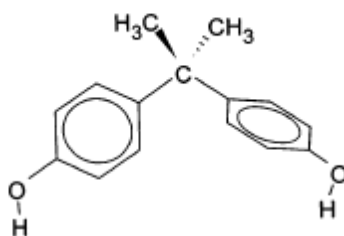
Světová produkce BPA se v roce 2003 pohybovala kolem tří milionů tun za rok a dle předpokladů se každoročně jeho výroba zvedne o 7 % z této původní hodnoty [3].

Vlastnosti BPA

Bisfenol A je slabě hyroskopická látka, v pevném stavu připomíná bílo-hnědé vločky, můžeme jej nalézt i jako prášek či granule. Další podrobnější vlastnosti jsou uvedeny v Tab. č. 1 s uvedeným sumárním vzorcem, strukturní vzorec BPA pak můžeme vidět na Obr. č. 2. [4].

Tab. č. 1: Některé vybrané vlastnosti BPA [4].

Sumární vzorec	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Molekulová hmotnost	228 g·mol ⁻¹
Bod tání	220 °C
Bod varu	154 – 155 °C
Hustota	1,2 g·cm ⁻³
Rozpustnost	120 – 300 mg·l ⁻¹



Obr. č. 2: Strukturní vzorec 2,2- bis(4-hydroxyfenyl) propan (Bisfenol A) [5].

Pro představu rozpustnosti BPA v různých rozpouštědlech je zde uvedena Tab. č. 2, kde můžeme vidět, že nejvyšší rozpustnost BPA je v rozpouštědlech alkoholového charakteru (metanol, etanol), naopak ve vodě se rozpouští poměrně obtížně za běžných přírodních podmínek (teplota okolo 20 ° C) [4].

Tab. č. 2: Rozpustnost BPA v některých rozpouštědlech [4].

Rozpouštědlo	Rozpustnost [g/100g rozpouštědla]*
Aceton	85
Epichlorhydrin	38
Etanol	150
n-Heptan	< 0,01
Metanol	210
Metylen chlorid	0,2
Voda	< 0,1

*Při 25 ° C

Pokud navážeme na chemicko-fyzikální vlastnosti bisfenolu A, můžeme si dále uvést jeho použití nejen v průmyslové činnosti a následnou příčinu výskytu v životním prostředí touto antropogenní činností.

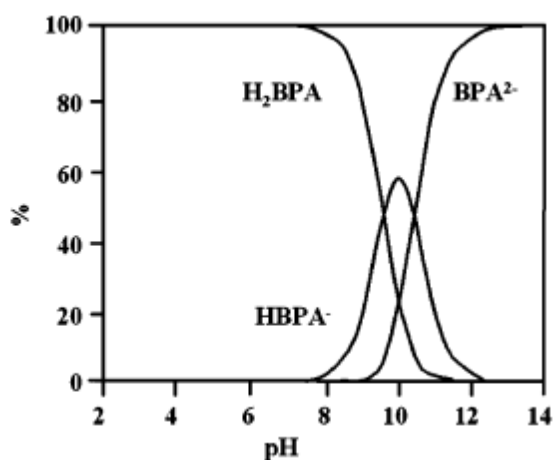
Použití BPA a jeho následný výskyt v životním prostředí

Bisfenol A a příbuzné sloučeniny tvoří velkou skupinu molekul. V plastikářském průmyslu slouží jako přísada do epoxidových pryskyřic a polykarbonátů, tento polymerní materiál je pak široce využíván při výrobě laků, vložek, lepidel a potrubí. V menším měřítku jsou tyto materiály součástí dentálních materiálů a ústních protéz či tkáňových materiálů [6].

Tato látka je převážně součástí plastů z důvodu zlepšených vlastností samotného plastu. Polymer má výrazně lepší mechanické vlastnosti a je teplotně i chemicky odolnější (vůči kyselinám) [3].

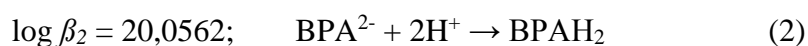
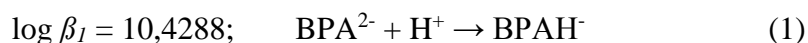
Současně je také bisfenol A obsažen v obalech, sloužících pro balené potraviny. Často se vyskytuje v nátěrových hmotách (novolak) pokrývajících plechovky, konzervy. Při neúplné polymeraci či poškození laku může docházet k uvolnění této látky či jejích analogů a následné migraci do potravin či nápojů. Mimo jiné může být však kontaminována i voda z potrubního systému uvolněním těchto látek z potrubí [6].

Při kontaminaci životního prostředí BPA jsou zasaženy všechny složky životního prostředí. Vznikající kyselá či zásaditá forma BPA je pak dána hodnotou pH prostředí (Obr. č. 3).



Obr. č. 3: Procentuální výskyt jednotlivých forem bisfenolu A při různém pH prostředí [5].

Tento distribuční diagram jednotlivých forem BPA nám znázorňuje dvě deprotonace BPA, přičemž první deprotonace má počátek při pH přibližně 8,0 a druhá pak při pH okolo 9,0. V rovnicích č. 1 a 2 jsou dále znázorněny hodnoty pro první a druhou konstantu protonace ($\log \beta_1 = \log K_1$, $\log \beta_2 = \log K_1 + \log K_2$) [5].



1.2 Fenolické látky v organismu a životním prostředí

Bisfenol A je látkou používanou v mnoha průmyslových odvětvích, zvláště i v zemědělství. Antropogenně se tedy dostává do životního prostředí, vstupuje do potravních řetězců a způsobuje velké množství poruch u zvířat, ale i člověka.

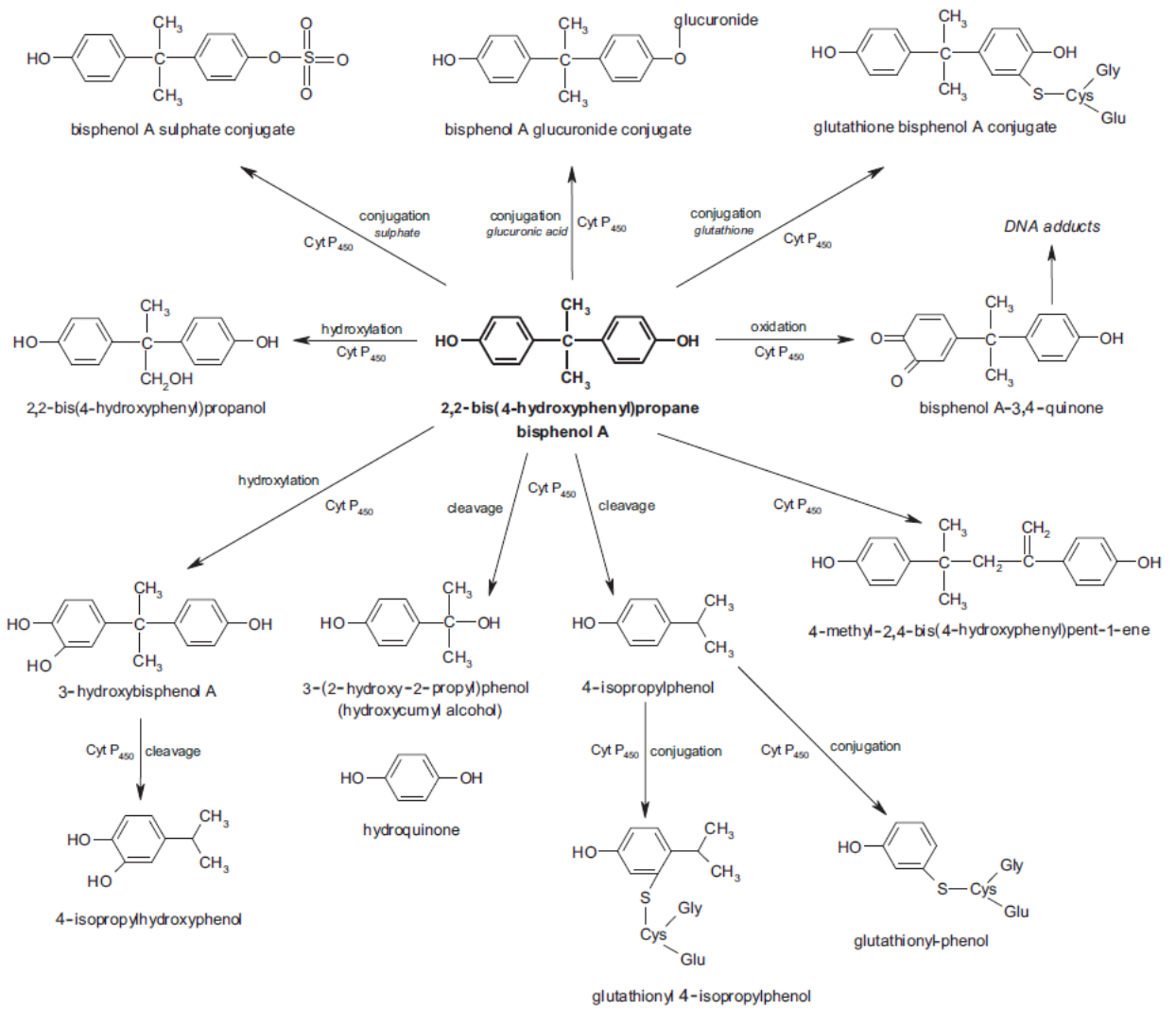
Bisfenol A je hlášen jako estrogen s agonistickými vlastnostmi. Tato látka může změnit či narušit reprodukční fyziologii u mnoha živočichů [6].

1.2.1 Biotransformace a biodegradace

Účinky v jednotlivých složkách životního prostředí jsou podrobněji popsány v následujících kapitolách.

Savci

U obratlovců dochází k transformaci BPA pomocí hydroxylačných reakcí (Obr. č. 4). Tyto reakce jsou katalyzovány mikrozomálními enzymy monooxygenázami za přítomnosti cytochromu P450. Nejčastějším metabolitem transformace BPA je 3- hydroxybisfenol A (3-OH-BPA), který vzniká přímou hydroxylací BPA kruhu. Dalšími metabolity jsou např. 4-isopropylhydroxyfenol a BPA dimery. Velmi nebezpečnou formou metabolitu BPA pro organismy je BPA-chinon, který má schopnost narušovat DNA strukturu, kde je schopen vytvářet kovalentní hranice. Tato forma je navíc nebezpečná i generováním reaktivních kyslíkových radikálů, jelikož v organismu podléhá taktéž redoxním reakcím. Většina ostatních metabolitů BPA v přítomnosti cytochromu P450 má vyšší estrogení aktivitu než samotný polutant [7].



Obr. č. 4: Biotransformační cesta Bisfenolu A u savců [7].

Bakterie, řasy a houby

Biodegradace BPA je možná velkým množstvím mikroorganismů vyskytujících se ve všech možných matricích. V Tab. č. 3 jsou uvedeny některé mikrobiální druhy, jejich izolace i podmínky provedené biodegradace. Nejčastějšími produkty biodegradace BPA pomocí mikroorganismů jsou p-hydrochinon, 4 – hydroxyaceton, 4- hydroxybenzoová kyselina, p-hydroxybenzaldehyd aj. [8, 9].

Tab. č. 3: Možné způsoby degradace BPA pomocí izolovaných mikroorganismů

Druh mikroorganismu	Vlastnosti	Izolace	Poznámky	Teplota [° C]	Reference
Cupriavidus basilensis	G ⁻ aerobní	Reaktor s pevným pískovým ložem	BPA jako jediný zdroj C a energie	30	8
Sphingomonas BP-7	G ⁻ Striktně aerobní	Mořská voda	Pseudomonas sp. podporují jejich degradaci BPA	25	10
Bacillus GZP	G ⁺ Aerobní, anaerobní	Sediment zátok	Při anaerobní biodegradaci využívají jako akceptor elektronů Fe ³⁺	37	11
Achromobacter xylosoxidans	G ⁻ aerobní	Výluh z kompostu z TKO		25-30	9
Pseudomonas paucimobilis FJ4	G ⁻ aerobní	Aktivovaný kal		20	12
Streptomyces sp.	G ⁺ aerobní	Říční voda			9

Ve výše uvedené Tab. č. 3 je možné vidět, že výskyt mikroorganismů rozkládající BPA je zastoupen ve všech složkách životního prostředí znečištěným BPA. V této práci bude probíhat biodegradace BPA v kompostu pomocí přítomných mikroorganismů, proto bude nyní značná pozornost věnována studii v této matrici.

K získání *Achromobacter xylosoxidans* řetězce B-16 ve studii autorů Chang Zhang a kol. z roku 2006 využili výluh z kompostu tuhého komunálního odpadu (TKO). Tato skupina autorů si nejprve opatřila čerstvý odpad o přibližném složení: 41 % odpadu z domácností (35 % zbytku nepozředených potravin, 25 % odpadu zeleniny, listů a oplodí, 15 % ostatního odpadu ze zahrad, 15 % bagasy (= rozmělněná stébla cukrové třtiny), 7,5 % drůbežích výkalů a 2,5 % vaječných skořápek), 11,5 % odpadu z papírů, 8,5 % škváry, 4,5 % textilního odpadu, 15,5 % odpadu z plastů ve vlhkém stavu. Přesná charakterizace výluhu z TKO je uvedena v Tab. č. 4. Obsah vlhkosti v připravené směsi kompostu byl upraven přidáním vody do reaktorů s kompostovanou směsí a než byl výluh získán, voda byla do reaktoru průběžně injekčně přidávána po dobu čtyř týdnů.

Samotná biodegradace BPA probíhala přidáním vzniklé buněčné suspenze k 100 ml BPA ve 250 ml lahvích. Kultivace probíhala třepáním za temna při pH 7, které bylo upravováno dle výchozí hodnoty pH pomocí 0,1 M HCl či 0,1 M NaOH. Bylo připraveno i médium bez inokula jako kontrolní test. Efekt použitého množství dávkovaného inokula byl velmi výrazný z pohledu biodegradace BPA. Byly připraveny lahve s rozdílným dávkováním množstvím inokula (0 – 0,8) ml. Se stoupající hodnotou objemu inokula stoupala i schopnost biodegradace mikroorganismy. Z počáteční koncentrace BPA, která činila $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, bylo dosaženo téměř 50% biodegradace (výsledná koncentrace BPA, pro dávkované inokulum 0,8 ml, po 5 dnech při teplotě 30°C , stálého míchání a pH rovno sedmi, se vyskytovala okolo $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) [9].

Tab. Č. 4: Charakterizace výluhu z TKO [9].

COD	Biomasa	TSS	NH₄-N	TN	pH
[mg.l⁻¹]	[cfu. ml⁻¹]	[mg.l⁻¹]	[mg.l⁻¹]	[mg.l⁻¹]	[1]
458,8 ± 23,3*	1,562 ± 0,002. 10 ⁹	50,5 ± 1,2	39,8 ± 3,4	46,4 ± 2,8	6,92 ± 0,24

* (av ± SD) (n = 3)

Autoři Zhao J. a kol. se snažili v roce 2007 odstranit bisfenol A na čistírnách odpadních vod aktivovaným kalem v biologické části čistírny. Samotný kal byl před biodegradací aklimatizován BPA a pak promyt vodou a provzdušněn do po dobu 12 hodin, aby se zbytek nerozloženého BPA odstranil. Po těchto procesech bylo zbylé množství BPA stanoveno pod detekční limit (méně než $120 \mu\text{g BPA} \cdot \text{kg}^{-1}$ kalu). Kal byl dále rozdělen do několika 200 ml baněk obsahující $300 \text{ mg BPA} \cdot \text{l}^{-1}$ o pH rovno sedmi. [12]

Pro rozšířený přehled jsou další možné biodegradační mikroorganismy stručně uvedeny v Tab. č. 5, čerpané ze studie autorů Matsumura I. A kol. v roce 2009.

V této studii hodnoty vyjadřují procentuální množství ztráty BPA v průběhu testování po dobu 48 hodin, při teplotě 30°C . Počáteční koncentrace BPA byla $300 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Tyto Erlenmayerovy baňky obsahovali kromě BPA i L médium (10 g Trypton, 5g Bacto Yeast a NaCl o koncentraci $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) a BSM médium (solné médium). Směs byla upravena na pH 7,3 pomocí NaOH. Analýza BPA pak byla provedena pomocí HPLC. [13]

Tabulka č. 5: Některé další bakteriální kmeny se schopností biodegradace BPA izolovány z půdních vzorků [13].

Bakteriální druh	Odebraný vzorek	Degradace BPA %
Pseudomonas sp. SU1	Půda	51,7
Pseudomonas sp. SU4	Olejovitá zemina	49,7
Klebsiella sp. SU5	Půda z parků	57,0
Klebsiella sp. NE2	Půda	51,0
Klebsiella sp. SU3	Odpadní voda	26,3
Enterobacter sp. HI9	Půda z továren	60,7
Pseudomonas sp. NAR11	Rýžové pole	56,7
Pseudomonas sp. FU12	Půda z chemické továrny	57,7
Bacillus sp. NO15	Půda	59,7
Bacillus sp. YA27	Půda z farmářských polí	32,7
Enterobacter sp. HA18	Půda	68,3
Sphingomonas sp. SO11	Půda	38,3
Sphingomonas sp. SO1a	Půda z chemické továrny	34,0
Bordetella sp. OS 17	Půda	41,0

Mimo mikroorganismy se nám pro biodegradaci BPA nabízí i některé druhy hub. Příkladem může být studie po vedením Liao Chien-Sen a kol. z roku 2011.

Ganoderma lucidum (Leskokorka lesklá) je bílá houba vyskytující se i v českých dubových lesech. Tato houba má schopnost degradace dřeva, je fytopatogenním a parazitickým druhem houby. Mimo BPA má schopnost degradace i pro nonylfenol (NP), nonylfenolpolyethoxylát (NPnEOs) a významný polutant bis (2-ethylhexyl) ftalát (DEHP). Její schopnost degradace BPA je do koncentrací BPA 2 mg. l⁻¹ [14]. V Tab. č. 6 jsou pak uvedeny některé další houby se schopností biodegradace.

Tabulka č. 6: Některé další houby se schopností biodegradace BPA [7].

Druh houby	Odebraný vzorek	Schopnost degradace
T. villosa, P. ostreatus	Půda/les	Efektivní
I. Lacteus, T. versicolor	Půda/ les	Efektivní
Aspergillus sp.	Koželužské odpadní vody	Efektivní
T. versicolor, S. hirsutum, P. ostreatus	Voda/ odpadní voda	Mírně efektivní
G. stipitatum, L. swartzii	Les	Vysoce efektivní

Řasy jsou autotrofní organismy využívající oxid uhličitý pro svůj růst, taktéž jim ale umožňuje transformaci některých cizorodých látek jako je i BPA. Řasa *Chlorella fusca* dokáže odbourávat BPA v rozmezí koncentrací 10-80 μM a to až na neestrogenní deriváty. *Chlorella vulgaris* biotransformuje BPA (20 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ řasy) na meziproduct 4-(1hydroxy-2-methyl-prop-1-enyl)fenol u kterého je estrogení aktivita postrádána [7].

Rostliny

Rostliny mají schopnost adsorpce BPA z vody, který pak metabolizují glykosidy. *Nicotiana Tabacum* je jednoletá kulturní rostlina, jež dokáže BPA metabolizovat na dva hlavní metabolity: mono-o- β -gentiobiosid a trisacharid mono-o- β -glukopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[β -D-glukopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]- β -D-glukopyranosid. Tyto metabolity opět vykazují estrogení aktivitu. Schopnost biotransformace se liší podle druhů rostlin a jejich částí. BPA je nejčastěji kumulováno v kořenech rostlin a stoncích, naopak v listech nikoli [7].

Mimo mikroorganismy a houby lze BPA odstraňovat i pomocí zelených rostlin. Tato studie je uváděna autory S. Saiyood a kol., kteří uvádějí, že tropické zelené rostliny *Dracaena sanderiana* a *Dracaena fragrans* (původ Kamerun) dokáží odstranit BPA do jeho koncentrací 80 μM , při vyšších koncentracích se rostliny chrání vylučováním extracelulárním rostlinným slizem. S těmito rostlinami koexistují mikroorganismy *Bacillus cereus* BPW4 a *Enterobacter* BPW5 (nalezneme je na kořenech rostlin). Autoři uvádějí, že je možné tímto způsobem ošetřit skládky nebezpečného odpadu s výskytem BPA a kontaminované odpadní vody. [15]

1.2.2 Metody stanovení obsahu fenolických látek

Metod stanovení bisfenolu A je uváděno literaturami poměrně velké množství, avšak hojně používanými jsou pouze plynová a kapalinová chromatografie. Z tohoto důvodu se v mé práci budu podrobněji zabývat právě těmito metodami.

Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí GC/MS

Vzhledem k vysokým hodnotám polaritě fenolických látek je před samotnou analýzou vzorku nutno tyto vzorky derivatizovat. V nepřeberném množství literatur lze nalézt různé metody derivatizace, přičemž nejčastěji uváděnými jsou methylace, acetylace a silylace. Silylace je metodou nejhojněji využívanou právě kvůli své rychlé derivatizaci. Nevýhoda této metody se projeví při nadměrném přidavku derivatizačního činidla bis (trimethylsilyl)trifluoracetamidu (BSTFA) a případném obsahu vlhkosti.

Pro adsorpci alkyl fenolů (AP) a bisfenolu A použil Chanbasha Basheer a kol. v roce 2005 jako funkční polymer hydroxylovaný polymetakrylát, jež tvořil tenkou vrstvu na matrici na porézní polysulfonové membráně zhotovené z dutého vlákna. Vzorky byly odebrány z mořské vody. Vzhledem k výrazné polaritě jak BPA, tak i AP byla pro tuto metodu nutná derivatizace vzorků před jejich vlastní analýzou. Pro přesnější výsledky, avšak pomalejší derivatizaci, byl využit BSTFA (rozsah 5 – 100 μl) v roztoku acetonu (1 ml), vše bylo smícháno v injekční lahvičce o objemu 3 ml. Byla provedena head space analýza při 60 ° C po dobu 20 minut. Pro analýzu byl použit přístroj GC/MS Shimadzu (Tokio, Japan) QP 2010. Koncentrace AP a BPA ležely v rozmezí 0,01 – 15 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ [2].

Kolektiv autorů s vedením Krishna Kumar Selvaraj v roce 2013 analyzovali vzorky povrchové vody ze tří lokalit jižní Indie na obsah oktylfenolu (OP), nonylfenolu (NP) a bisfenolu A. Pro derivatizace bylo použito derivatizační činidlo N–methyl–N–(trimethylsilyl)trifluoracetamid (MSTFA) o objemu 50 μl přidané k 1 ml pracovního standardu/ vzorku a směs byla inkubována při teplotě 70 ° C po dobu 30 minut. Pro analýzu byl opět použit přístroj GC/MS Shimadzu (Tokio, Japan) QP 2010. Obsah BPA se vyskytoval v rozmezí 6,6 – 136 ng/ l, 2,8 – 6 ng/ l a 9,8 – 36 ng/ l [1].

Ve čtrnácti řekách Portugalska byla provedena studie vědeckými pracovníky Sónia Rocha a kol. v roce 2012 na výskyt endokrinních disruptorů (EDCs) zahrnující BPA, estron (E1), 17 β – estradiol (E2) a 17 α – ethinylestradiol (EE2). Přírodní estrogeny (E1 a E2) se zde nacházely z výkalů hospodářských zvířat i člověka. Syntetickým steroidem byl pak EE2, který je hojně používán v antikoncepčních přípravcích a léčivech sloužících pro hormonál-

ní terapii, odtud se dostávají do vod převážně močí, BPA je používán, jak bylo zmíněno dříve, v průmyslu polymerů. Pro derivatizaci bylo pipetováno 75 μl extraktu v ethylacetátu a smícháno se 150 μl MSTFA. Uzavřené vialky byly poté zahřívány na teplotu 85 ° C po dobu 100 minut. Po ochlazení byly stanoveny koncentrace EDCs analyzátozem GC/MS za doprovodu ionizační techniky nárazem elektronů. Nejvíce znečištěné lokality BPA měly hodnoty koncentrace okolo 39 ng.l^{-1} [16].

Kapalinová chromatografie LC

Vysoce účinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí, využívající elektrosprej s negativní ionizací byla použita pro stanovení tetrabrombisfenolu A (TBBPA), tetrachlorbisfenolu A (TCBPA), BPA a jiných halogenovaných analogů ve studii prováděné autory Shaogang Chu a kol. v sedimentech a kalových vzorcích. Vzorky byly extrahovány s methyl ter-buthyl eter (MTBE), cílové sloučeniny rozděleny pomocí vodného roztoku hydroxidu sodného, odsoleny, okyseleny a byla provedena extrakce v pevné fázi (SPE). Následovalo pak již samotné stanovení těchto polutantů pomocí LC. Koncentrace BPA se pohybovaly v okolí 0,15 ng. g^{-1} sušiny [17].

Zajímavým použitím této metody je studie autorů Junko Sajiki z roku 1999, pojednávající o stanovení BPA v tělních tekutinách, jež byly moč a sérum. HPLC zde byla spojena s elektrochemickým detektorem (ED) a s hmotnostním detektorem využívající k ionizaci elektrosprej (ESI). Séra byly získány metodou extrakce na pevné fázi, abychom dále získali pouze BPA, byla použita extrakce do hydroxidu sodného. Limity detekce pro BPA byly pro HPLC/ED 0,2 ng. ml^{-1} a pro LC/MS/ESI 0,1 ng. ml^{-1} , lze tedy říci, že byla velmi dobrá korelace pro data zde ležící. BPA koncentrace v lidském séru byly přibližně 0–1,6 ng.ml^{-1} , u testovaných zvířat byly mnohonásobně vyšší (prováděno u vzorků z ovčí plazmy) a to až 40 krát. V myších výkalech bylo pak zjištěno vyšších koncentrací BPA (2-20 ng. ml^{-1}) [18].

Endokrinní disruptory byly stanoveny taktéž metodou LC/MS s ionizací za atmosférického tlaku (APCI) autory Sara Rodriguez-Mozaz a kol. v roce 2004. Před samotným stanovením však byla použita extrakce do pevné fáze (SPE) Stanoveny byly estrogény (estradiol, estrol, estriol aj.), pesticidy (atrazin, simazin, diuron aj.) a bisfenol A v přírodních vodách. Metodou APCI byla zvolena pozitivní ionizace pro pesticidy, negativní ionizace elektrosprejem pak pro estrogény a BPA. Celková analýza probíhala pro zjištění účinnosti jednot-

livých postupů při ošetření této přírodní vody po každé z fází čištění (písková filtrace, ozonizace, filtrace s pomocí aktivního uhlí a post-chlorace). Výsledkem této studie bylo, že po použití filtrace aktivním uhlím došlo k téměř veškerému odstranění znečišťujících látek a jejich hodnoty koncentrací klesly pod $0,02\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [19].

Ostatní metody pro stanovení fenolických látek

Ostatní metody jsou uvedeny pro představu v Tab. č. 7 a porovnány z hlediska jejich lineárního rozsahu a detekčního limitu s výše uvedenými.

Tab. č. 7: Porovnání metod využívaných k analýze BPA Stanov. Ost. voltametrie

Instrumentální metoda	Lineární rozsah [μM]	Detekční limit [μM]	Návratnost [%]	reference
HPLC-UV	2,19 – 219,29	0,17	97 – 102	20
LC-ESI-MS	0,0004 – 0,4	0,00008	80,5 – 119,8	21
GC-MS	0,0004 – 0,2193	0,00004	84,6 – 98,8	22
Fluorescenční senzor	79 – 16600	70	95,3 – 97,5	23
Chemiluminiscenční Flow-injektor	0,8 – 12	0,31	97,8 – 110,9	24
Mezoporézní křemen založen na elektroche- mickém senzoru	0,22 – 8,8	0,038	91,3 – 107,2	25
Thionin/ Uhlíková elek- troda (CPE)	0,15 - 45	0,15	-	26
Voltametrická metoda/ skelná uhlíková elektro- da (GCE)	0,01 - 10000	0,005	98,4 – 102,8	27

1.2.3 Legislativa pojednávající o fenolických látkách

Hygienické parametry fenolických látek, převážně BPA v životním prostředí

Nařízení vlády 23/2011 Sb. O ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech:

V této vyhlášce je vždy uvedena norma environmentální kvality vyjádřená jako celoroční průměrná hodnota (NEK – RP). Speciálním případem NEK – RP je rozšířená norma vztahující se pouze na sediment. Pro závažné fenolické látky nařízení vlády dále uvádí normu environmentální kvality o nejvyšší přípustné hodnotě této látky v uvedených vodách (NEK – NPH), tato norma je nepřekročitelná. Hodnoty norem pro přípustné znečištění vod fenolickými látkami uvedenými v tomto nařízení jsou uvedeny v Tab. č. 8. [28].

Tab. č. 8: Některé hodnoty přípustného znečištění fenolickými látkami uváděné v nařízení vlády 23/2011 Sb. [28].

Fenolická látka	Zkratka	NEK-RP	NEK-RP	NEK-NPH
		[$\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]	Sediment [$\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$]	[$\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]
Nonylfenol	NP	0,3	180	2
Oktylfenol	OP	0,1	34	-
Pentachlorfenol	PCP	0,4	119	1
Fenol	-	3	-	-
Bisfenol A	BPA	0,035	-	35

Další parametry pro BPA v souvislosti s výrobky přicházející do styku s lidmi

Směrnice Evropského parlamentu a rady 2009/48 ES O bezpečnosti hraček:

V této směrnici jsou stanoveny obecné požadavky pro látky klasifikované jako karcinogenní, mutagenní či toxické pro reprodukci (CMR). Vyjmenované látky nesmí být používány v nebezpečných koncentracích ve výrobcích sloužících za účelem hraček, v jejich součástech s výjimkou hraček, které neslouží dětem a nemají k nim přístup. Pro zvýšenou ochranu dětí byly stanoveny zvláštní limitní hodnoty pro tyto látky, převážně u hraček, u kterých je možnost vkládání dětmi do úst.

Bisfenol A je součástí velkého množství spotřebitelských výrobků. V polykarbonátových plastech, z nichž jsou zhotoveny hračky dětí, se dostává k dětem. Z tohoto důvodu byla zavedena Evropská norma, která uvádí migrační limit pro BPA, a to ve výši 0,1 mg.l⁻¹ (v souladu s metodami stanovenými v normách EN 71-10:2005 a EN 71-11:2005). Tento limit není však dlouhodobě pevným. Pokud se v budoucnosti vyskytnou nové relevantní vědecké informace, migrační limit bude přezkoumán a popřípadě upraven [29].

Směrnice komise 2011/8/EU O omezení používání BPA v plastových kojeneckých lahvích:

Na trh by měly být uváděny jiné lahve, které BPA neobsahují (sklo a jiné plastové lahve). Nejvyšší expozici BPA jsou vystaveni kojenci ve věku 3 až 6 měsíců. Tato směrnice určuje tolerovaný denní příjem (TDI) ve výši 0,05 mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti za den [30].

Vyhláška 38/2001 Sb. O hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy:

V této vyhlášce nalezneme velké množství povolených monomerů a jiných výchozích látek pro výskyt v potravinách. Nejčastějšími parametry jsou pak zde nejvyšší přípustná dávka množství zbytkové látky v materiálu nebo výrobku (QMA) a specifický migrační limit v potravině nebo v potravinovém simulantu pokud není uvedeno jinak (SML). Pro účely vyhlášky je tato hodnota stanovena ověřenou analytickou metodou. Specifickou zkratkou BPA v potravinách je SML (T), která vyjadřuje specifický migrační limit v potravině nebo v potravinovém simulantu vyjádřený jako celkový obsah uvedené látky nebo skupiny látek. V oddílu A této vyhlášky nalezneme SML (T) pro BPA rovno 0,6 mg. kg⁻¹ [31].

Ve světě dochází stále k vyššímu opatření BPA v souvislosti obalových materiálů přicházejících do styku s potravinami.

V roce 2013 byla ve Francii zakázána přítomnost BPA v obalech potravin pro děti do 3 let. V následujícím roce byla tato legislativní opatření vztažena na všechny obaly používané na uchování potravin.

V USA byl výskyt BPA zakázán nejen v kojeneckých lahvích, ale i v ostatních výrobcích pro děti. Na ostatních výrobcích obsahující vyšší koncentrace BPA musí být uváděno varování.

Zákaz výskytu BPA v obalech potravin, které přichází do styku s dětmi do 3 let, platí i ve Švédsku [32].

2 SCHOPNOST ADSORPCE PORÉZNÍMI STRUKTURAMI

V životním prostředí, převážně vodách, se běžně můžeme setkat s organickými látkami fenolického typu. Abychom značně snížili riziko kontaminace životního prostředí těmito látkami, musí být zvoleny vhodné postupy na čistírnách odpadních vod pro vytvoření jejich bezpečných koncentrací ve vodách (průmyslové vody) vypouštěných do recipientu [33]. Konvenční metody, využívané pro odstranění organických látek čistírnami, mohou být rozděleny do tří skupin: fyzikální, chemické, biologické. Jednou z možných fyzikálních metod odstranění polutantů z odpadních vod, vykazující vysokou účinnost, je adsorpce [34].

2.1 Adsorpce

Působením mezipovrchových sil lze zachytit danou látku na fázovém rozhraní (mezifázi) ve vyšší koncentraci, než je koncentrace uvnitř fáze. Nejčastějšími případy adsorpce jsou takové, které mají své mezifázi tuhá látka – plyn či tuhá látka – kapalina.

Pro relativní vyjádření naadsorbovaného množství může být použita rovnice č. 3:

$$\Theta = \frac{N_{obs}}{N} \quad (3)$$

Kde: N_{obs} je počet již obsazených adsorpčních míst, N je počet dostupných adsorpčních míst [35].

V našem případě lze adsorpci definovat jako odstranění některých rozpuštěných látek (adsorbátů) z vody pomocí tuhých látek (adsorbentů). Pokud přidáme adsorbent k roztoku adsorbátu, dochází k hromadění molekul adsorbátu na povrchu adsorbentu ve velmi tenkých povrchových vrstvách, a to v důsledku působení přitažlivých sil mezi systémem adsorbent – adsorbát.

Pro kvalitativní vyjádření adsorpce je využíván pojem látkové či hmotnostní množství adsorbátu. Bohužel je však obtížné zjistit objem povrchové vrstvy na povrchu adsorbentu a množství v ní obsaženého adsorbátu, proto je tedy definována tzv. zdánlivá specifická adsorpce určité složky v případě směsi látek charakterizovanou rovnicí č. 4.

$$a = \frac{V_{\odot}}{m_{ads.}} \cdot (c_0 - c_r) \quad (4)$$

Kde: V_{\odot} je objem roztoku nepřímo úměrný množství přidaného adsorbentu $m_{ads.}$. Vlivem tohoto procesu bude docházet ke snížení koncentrace adsorbátu rozpuštěného v roztoku, z koncentrace c_0 (počáteční koncentrace) až na koncentraci c_r (rovnovážná koncentrace) a ke zvýšení koncentrace adsorbátu naadsorbovaného na daném adsorbentu. [35]

Adsorpci lze rozdělit dle povahy jejich adsorpčních sil na fyzikální adsorpci a chemisorpci. Fyzikální adsorpce uplatňuje mezimolekulové van der Waalsovy síly. Molekuly adsorbátu zde nejsou striktně vázány na dané místo a mohou tedy tvořit vícevrstvé struktury. U fyzikální adsorpce lze pak zpětnou desorpci provést za daných podmínek poměrně snadno. Ke sdílení elektronů dochází u chemisorpce. Při chemické interakci dochází k navázání molekul na přesně daná místa na povrchu adsorbentu, v tomto důsledku vznikají pouze jednovrstevnaté systémy (monomolekulární). Při snaze o desorpci dochází k uvolnění již rozdílné chemické látky, než byla látka původní. Chemisorpce je nevratný proces [36].

2.2 Adsorbenty a prováděné studie

Základním parametrem pro vysokou účinnost adsorpce je velikost adsorpčního povrchu adsorbentu. Takovéto adsorbenty se vyznačují porézními strukturami v práškové formě. Jako vhodnými adsorbenty se jeví materiály uvedené v Tab. č. 9. [35].

Tab. č. 9: Přehled sorbentů používaných v čištění odpadních vod [37].

Adsorbent	Polutant	
Aktivní uhlí	Cr ^{IV} , Pb ^{II+} , Cd ^{II+} , barviva, kresol, chlorfenoly	
Zeolity	Pb ^{II+} , Cu ^{II+} , Cd ^{II+} , Cr ^{III} , Fe ^{II+}	
Jíly	Bentonit/organobentonit	Fenol
	Kaolinit	Cu ^{II+} , Cd ^{II+}
	Křemen	Pb ^{II+} , Cd ^{II+} , barviva
Nízkocenné adsorbenty	Piliny	Barviva
	Kal	Barviva
	Popílek	Cd ^{II+}
	Biomasa hub	As ^V
	Pšeničná sláma	barviva
Polymerní materiály	Organická polymerní pryskyřice	U ^{VI} , Cu ^{II+} , Pb ^{II+}
	Vysocezesíťovaný polymer	Fenoly, anilín, benzen

Nízkomolekulární adsorbenty

Aktivní uhlí

Jako jednou z možných technik adsorpce jsou uváděny studie využívající jako adsorbent aktivní uhlí. **2.** Aktivní uhlí, na rozdíl od jiných materiálů (např. jíly), je vyznačováno nepolárním či mírně polárním povrchem a z tohoto důvodu je hojně využíváno pro látky organické. Výchozí surovinou pro aktivní uhlí mohou být ropné produkty, dřevěné odpady, uhlí, kosti aj. Vybraná surovina je nejprve karbonizována a následně aktivována plyny, vodní parou či organickými solemi. Vzniklý materiál je charakterizován jako makro- až mikroporézní struktura. V technologii vody je aktivní uhlí v různých modifikacích (škvára, přebytečný aktivovaný kal) stále uváděno jako nejčastěji používaný adsorbent [35]. Aktivní uhlí jakožto adsorbent Bisfenolu A můžeme najít i ve studii autorů I. Bautista – Toledo a kol. Z roku 2005. Tito autoři uvádí, že adsorpce bisfenolu A na aktivní uhlí značně závisí na chemické povaze povrchu uhlíku a pH roztoku. Vlivem minerálních látek v aktivním uhlí dochází ke snížení jeho adsorpčních schopností [5].

Hlinitokřemičitany

Za účelem odstranění toxických barviv (převážně malachitová zeleň) z vodných roztoků a průmyslových odpadních vod, použili autoři Alireza Badiei a kol. tris(2 – aminoethyl) amin funkcionizovaný na nanoporézním křemenu [38]. Pro odstranění barviv (Orange II, methylenová modř) lze taktéž využít jílové materiály [39].

Krystalické alumina-silikáty, obsahující charakteristickou trojrozměrnou síť, hydrofobní a organofilní zeolity, jsou v poslední době široce využívány na odstranění BPA [40].

Adsorbenty na polymerní bázi

V současnosti však dochází ke zvýšenému zájmu o polymerní adsorbenty (neionogenní) vyráběny polykondenzací, polymerací či kopolymerací organických monomerů, které jsou považovány za alternativu aktivního uhlí. Výhodou těchto sorbentů je jejich regenerační schopnost a dokonalá mechanická intenzita [33].

Polystyren (PS)

Nepolární polystyren (komerčně XAD4 a NDA100) použili pro adsorpci autoři Weiming Zhang a kol. v roce 2004 pro odstranění aromatických sloučenin (naftol a naftylamin). Polystyren upřednostňuje adsorpci aromatických sloučenin při disperzní interakci daného aromatického kruhu sloučeniny a fenylovým kruhem polymerní matrice [41]. Adsorpci fenolických látek z vodných roztoků s pomocí makroporézních polymerních adsorbentů na bázi polystyrenu (komerčně CHA-111, ND-900 a MCH-111) provedli i autoři B. C. Pan a kol. v roce 2004 [42].

Polysacharidy

Speciálním případem přírodního polymerního adsorbentu je materiál založen na polysacharidové bázi. Používané modifikované biopolymery jsou sestaveny z chytinu, chytosanu, cyklodextrinu a škrobu. Výhody použití těchto biopolymerů jsou velmi rozsáhlé: velmi světově rozšířené obnovitelné zdroje, levné, stabilní a hydrofilní (zejména k hydroxylovým skupinám), netoxické, biokompatibilní, biodegradovatelné, vysoce chemicky reaktivní, chirální a převážně s vysokou adsorpční kapacitou [37].

Adsorbentem na přírodní bázi může být cenově dostupný prášek zhotovený z vláken bambusu. Tento prášek vzniká jako odpadní produkt při krájení či broušení bambusových prken. Vzniklý materiál slouží pro odstranění velkého množství organických látek (studie je zaměřena převážně na BPA) a těžkých kovů, ve své nativní formě, z vodního prostředí. Principem adsorpce je využívání negativního povrchového náboje bambusu vzniklého důsledkem úpravy pH. Lze tedy snadno odstranit kovové ionty kationového charakteru [43].

2.3 Kinetika adsorpce

Adsorpční kinetika je složena z několika důležitých parametrů: povahy adsorbentu a adsorbátu, charakteristiky porozity adsorbentu a rozhraní pevná-kapalná fáze. Adsorpční kinetika je složena ze tří kroků. V první fázi dochází k přenosu hmoty adsorbátu z roztoku na povrch adsorbentu. V následném kroku probíhá difuze v rámci pórů adsorbentu. Konečným krokem jsou pak zabrána aktivní místa adsorbentu danou látkou.

Mnoho autorů pro popis kinetiky adsorpce využívá difuzní model s homogenním povrchem (HSDM), kde je předpokládáno, že adsorbent je homogenní látkou s adsorpcí na vnější povrch a následnou difuzí adsorbátu do částic. Někteří autoři však uvádí, že je difuze simultánní po celou dobu adsorpce [44].

Pro modelování izoterm se nejčastěji používají dva modely, Langmuirova a Freundlichova izoterma.

Freundlichova izoterma

Nezákladnější a nejstarším vyjádření kinetiky adsorpce je Freundlichova izoterma (rovnice č. 5)

$$q_e = K_F \cdot C_e^{1/n} \quad (5)$$

V tomto analytickém vyjádření nám C_e znázorňuje koncentraci ($\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) bisfenolu A adsorbovaného v rovnovážném stavu, q_e je pak množství ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) bisfenolu A adsorbovaného v rovnovážném stavu. Hodnota K_F je konstantou pro daný systém v souvislosti s vazebnou energií. Tato konstanta může být definována jako adsorpční či distribuční koeficient a zastupuje obecnou kapacitu adsorpce bisfenolu A adsorbovanou na adsorbent za jednotku rovnovážné koncentrace ($C_e = 1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) [34]. Hodnota n je vztahována k velikosti adsorpční hnací síly a distribuci energie v místě adsorbentu [33].

Směrnice $1/n$ se nachází v rozmezí od nuly po jedna a je mírou intenzity adsorpce.

Langmuirova izoterma

Tato izoterma, uvedena v rovnici č. 6, je používána za předpokladů: vytvoření jen jedné vrstvy molekul, molekuly adsorbované nejsou vzájemně ovlivňovány a pravděpodobnost adsorpce je na všech místech povrchu stejná.

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{(K_L q_m) C_e} + \frac{1}{q_m} \quad (6)$$

V tomto analytické znázornění nám C_e vyjadřuje koncentraci ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) bisfenolu A adsorbovaného v rovnovážném stavu a q_e je pak množství ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) bisfenolu A adsorbovaného v rovnovážném stavu. Hodnota K_L je zde přímým měřítkem intenzity adsorpce ($\text{dm}^3 \cdot \text{mg}^{-1}$). V Langmuirově modelu je důležité ještě uvést konstantu q_m , jež se vztahuje na povrchovou plochu zabranou monovrstvou adsorbátu ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) [34].

3 MIKRO A SUBMIKRO PORÉZNÍ STRUKTURY NA BÁZI BIODEGRADABILNÍCH MATERIÁLŮ

3.1 Charakterizace a využití

Pod pojmem mikročástice rozumíme pevné částice kulovitého tvaru charakteristických rozměrů (jednotky až stovky mikrometrů). Pokud se jejich velikost pohybuje v desetinách mikrometru, jedná se o submikro částice, v případě rozměrů menších jde potom o nanočástice [45].

V současnosti jsou tyto porézní struktury založeny na bázi přírodních i syntetických polymerů různými technikami přípravy. [46] Lze připravit částice o různých velikostech, jejich distribuci, složení, povrchu, morfologii.

Mikro a submikro částice mají velmi rozmanité využití z pohledu jejich vlastností. Vznikají materiály pro řízené uvolňování zapouzdřených cílových látek (léčiv), materiály s antidegradačním účinkem (oxidace, UV, teplo, dehydratace, odolnost kyselinám, zásadám), pro skrytí organoleptických vlastností, pro snadnou manipulaci, či snížení toxicity látek. V posledních letech dochází k vzrůstajícímu využití těchto částic v poli adsorpce. Znečišťující látka je tak odstraněna z životního prostředí sorpcí na tyto kulovité částice. K ekologicky šetrnému odstranění BPA by bylo tedy možné využít i mikro částice z biorozložitelného polymeru [47].

3.2 Metody přípravy porézních a neporézních struktur

Dle mechanismu vzniku mikročastic můžeme jejich metody přípravy rozdělit na fyzikální a chemické. Do chemických metod lze zařadit mezifázovou polymerizaci a polykondenzaci či koacervaci tedy samovolný vznik kapičkovitých útvarů v roztoku makromolekulární látky.

Nejčastější metodou přípravy porézních a neporézních struktur je fyzikální metoda používaná i v mé práci, odpaření rozpouštědla, která bude dále více rozvedena a podrobněji vysvětlena [48].

3.2.1 Metoda odpaření rozpouštědla

V této metodě jsou připraveny roztoky polymerů v těkavých rozpouštědlech. V minulosti byly nejčastěji jakožto rozpouštědla používány dichlormethan a chloroform. Z důvodu lepšího ekotoxikologického profilu je nyní nejčastěji používán ethylacetát. Nejprve dochází k vytvoření emulze či dvojité emulze a následné homogenizaci či ultrazvuku. Dále je použité rozpouštědlo, jež bylo přidáno do emulze odpařeno, čímž se pevná matrice začne formovat. Tato příprava je podrobněji popsána na Obr. č. 5. [48].

Příprava mikročastic je uvedena na Obr. č. 5 ve čtyřech krocích

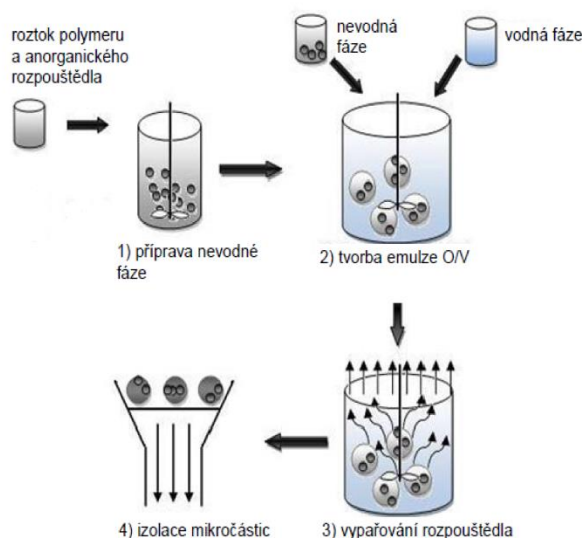
1) Polymer je rozpuštěn v rozpouštědle, za předpokladu, že toto rozpouštědlo je nemísitelné s vodou a vzniká tak nevodná fáze.

Pokud je požadováno vytvořit porézní strukturu, pak je k nevodné fázi přidáno nadouvaadlo, po jehož odpaření dochází k tvorbě porézních struktur. Pro docílení požadovaného stupně emulze je využito vrtulové míchání s volitelnými otáčkami.

2) Tato nevodná fáze je smíchána s fází vodnou s přídavkem emulgačního činidla určeného pro stabilizaci emulze. Následná emulze je vytvořena pomocí vysokorychlostního míchání. K dosažení vyššího stupně dispergace tedy částic menších rozměrů je možné dále použít ultrazvukovou sondu.

3) Odpaření rozpouštědla na rozhraní voda/vzduch.

4) Výsledkem tohoto postupu lze docílit vzniku mikročásteček suspendovaných v kontinuální fázi, které lze pak promýt a vysušit [48].



Obr. č. 5: Schéma metody odpaření rozpouštědla pro přípravu mikročásteček [45].

Základní systém pro přípravu mikročásteček

Systém O/V

V tomto systému dochází ke smísení nemísitelných složek kontinuální vodné fáze (V) s vodou nemísitelného roztoku polymeru (O). Výsledkem je emulze O/V [48]

Autorská studie Hong Y. a kol. v roce 2004 uvádí přípravu mikročásteček pomocí metody odpaření rozpouštědla. Částice byly připraveny rozpuštěním 0,5 g kyseliny polymlečné (PLA) v 9 ml metylenchloridu. Poté bylo k směsi přidáno 1 ml n – hexanu (nadouvadlo, které svým odpařením vytváří porézní strukturu), který slouží právě pro tvorbu porézních struktur. Tento vzniklý roztok olejové povahy byl nalit do 100 ml vody obsahující polyvinylalkohol (PVA). Dále byla směs míchána po dobu jednoho dne, při laboratorní teplotě, pro odpaření veškerého rozpouštědla, čímž bylo dosaženo poréznosti struktur. Po promytí a vysušení směsi byly získány mikrokuličky [49].

Polymerní porézní mikročástečky také připravili autoři Shi X. a kol. v roce 2009. Tyto částice byly vyrobeny modifikovanou emulzní odpařovací technikou. K emulzi 4 ml PLA v organickém rozpouštědle (W₁/O) byl přidán 5% roztok hydrogenuhličitanu amonného,

rozpuštěného ve vodě (W/V), jehož následným rozkladem na plynné produkty dochází ke vzniku a formování porézních struktur. Tato emulze byla poté míchána na homogenizéru ponořena do ledové lázně. Dále bylo přidáno 150 ml 0,1% roztoku PVA (W/V) a postup míchání opakován za výsledku směsi emulze systému $W_1/O/W_2$. Po odpaření rozpouštědla došlo ke tvorbě porézních struktur a promytím neionizovanou vodou byly získány mikročástice, které byly dále charakterizovány [50].

Modifikace základního systému pro přípravu mikročástic

Systém O/O

V této metodě došlo k zachování roztoku polymeru s vodou nemísitelného (O), avšak byla pozměněna kontinuální vodná fáze lipofilní fází (O). Podmínkou však musí být, že emulze vnitřní a vnější fáze jsou zcela vzájemně nemísitelné.

Systém V/O/V

Původní primární emulze (V/O) je smíšena s vnější vodnou fází za vzniku emulze dvojité.

Systém O/V/O

Tento systém je alternativou V/O/V se záměnou vodní fáze za lipofilní [45].

Mimo metodu odpaření rozpouštědla jsou v mnoha studiích uvedeny i jiné metody.

- Dialýza
- Vysolování (Salting out)
- Superkritická fluidní extrakce
- Sprejové sušení (Spray drying)

Sprejové sušení je metoda zahrnující konverzi kapalného roztoku či suspenze v prášku probíhající právě v jednom kroku. Vlastnosti takto vzniklého materiálu (velikost částic, tvar, hustota) mohou být řízeny změnou parametrů sušení, kterými jsou teplota vstupního vzduchu, rychlost vstupu kapalné fáze, viskozita či povrchové napětí nebo jeho koncentrace. Při rychlém sprejovém sušení můžeme získat výsledný amorfnní materiál neboli přesněji mikroionizovaný amorfnní materiál. Materiál je charakterizován vysokým měrným povrchem a zvýšenou rozpustností [51].

Tato významná metoda přípravy částic byla v roce 1998 vědci Straub a kol. patentována se specifikací na mikroporézní částice. V patentní listině lze nalézt nepřeborné množství biodegradovatelných i nebiodegradovatelných používaných polymerních materiálů. Vhodným rozpouštědlem pro tuto metodu jsou pak uváděny ethyl-acetát, aceton, acetonitril, tetrahydrofuran (THF), kyselina octová, chloroform či jejich kombinace [52].

Kolektiv autorů pod vedením Waldron K. v roce 2013 uvedli práci na syntézu monodisperzních mezoporézních částic na bázi oxidu křemičitého o velikosti (50 až 100) μm založenou na sprejovém sušení. Tyto chemicky i tepelně odolné materiály jsou pak vyznačovány vysokou adsorpční schopností [53].

Metodu sprejového sušení pro přípravu částic použili autoři Healy A. M. a kol. v roce 2007. V této práci sprejovým sušením vyrobili neporézní i porézní mikročástice a provedli jejich charakterizaci. Neporézní částice byly připraveny z 2,5% w/v směsi krystalického mikroionizovaného bendroflumethiazidu (BFMT) ve směsi 95 % etanol/ 5 % voda a došlo k vysušení směsi za použití rozprašovací sušárny. Porézní částice byly připraveny obdobně z BFMT připraveného v systému etanol/voda či metanol/voda. Ke směsi byl přidán uhlíkatý amonný v koncentraci ekvivalentní k 15 % celkové hmotnosti pevné látky [54].

3.3 Vhodné biodegradabilní polymerní materiály

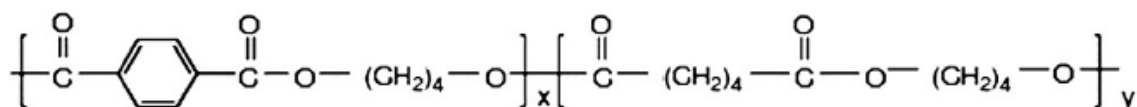
Jako vhodný biodegradovatelný polymerní materiál, jenž by mohl mít díky benzenovému jádru ve své struktuře dostatečnou afinitu k BPA, byl vytipován poly (butylen adipát c-tereftalát) neboli PBAT.

3.3.1 PBAT a jeho biodegradabilita

PBAT je velmi dobrý pružný materiál s výraznými hydrofilními a zpracovatelskými vlastnostmi.

Vlastnosti PBAT

Ecoflex je řazen do skupiny alifatických aromatických kopolyesterů a je sestaven z jednotek kyseliny tereftalové, adipové a 1,4 – butandiolu (viz. Obr. č. 6).



Obr. č. 6: Chemický strukturní vzorec PBAT [55].

Díky jeho vysoké molekulové hmotnosti lze jeho vlastnosti přirovnávat k nízkohustotnímu polyetylenu (další vlastnosti jsou uvedeny v Tab. č. 10).

Tab. č. 10: Některé typické vybrané vlastnosti Ecoflexu [55].

Vlastnost	Testovací metoda	Ecoflex
Hustota	ISO 1183	1,25 – 1,27 g.cm ⁻¹
Index toku taveniny	ISO 1133	3 – 8 ml. 10 min ⁻¹
T _m	DSC	110 – 115 °C
T _g	DSC	-30 °C

Použití PBAT

Díky své biodegradabilitě se PBAT výrazně používá v zemědělském průmyslu. Zde jsou z něj zhotoveny mulčovací fólie, kompostovatelné pytle, převážně kvůli jeho vysoké odolnosti vůči vodě. Tyto obalové materiály tedy zůstávají dlouhodoběji vzhledově stabilní a lze do nich ukládat i organický odpad v kompostárnách. Do těchto pytlů lze tedy i ukládat odpady z domácností organického charakteru.

Mimo jiné lze z tohoto materiálu zhotovit i obalové výrobky pro rychlou konzumaci potravin – rychlá občerstvení.

Tento obalový materiál pak podléhá společné biodegradaci s uchovávaným materiálem.

V současné době je PBAT využíván i jako základní biodegradabilní složka mikro a submikro porézních struktur [55].

Biodegradace PBAT

Obecně jsou definovány jako biodegradabilní polymerní materiály, takové materiály, které za přirozených podmínek podléhají aerobnímu či anaerobnímu rozkladu, jež jsou podrobněji popsány v rovnicích 7 a 8 [56]

Aerobní rozklad:



Anaerobní rozklad:



Jeden z nejvýznamnějších biodegradovatelných polymerů je právě PBAT. Je nepřehledné množství studií na biodegradační schopnost tohoto polymeru i v případě jeho různých směsí například s PLA.

Schopností biodegradace PBAT se zabývá i naše fakulta Technologická. Příkladem je diplomová práce Piš, V. z roku 2011. Připravené vzorky ecoflexu byly podrobeny procesu urychleného stárnutí pomocí různé doby expozice zářením, které mělo schopnost simulovat záření sluneční. U ecoflexu byly pozorovány v průběhu ozařování síťovací reakce. Touto prací bylo zjištěno, že doba expozice zářením nemá vliv na biodegradabilitu. Ná-

sledně byla provedena identifikace termofilních mikroorganismů (*Thermomonospora curvata*) se schopností tento polymer biodegradovat [57].

Rozkladem PBAT v půdě se zabývá i studie autorů Weng Y. -X. a kol v roce 2013. Degradční proces byl sledován v průběhu několika měsíců, kdy byl vzorek PBAT zakopán 40 cm pod povrchem, který byl zvlhčován vodou. Právě každý měsíc byl pak zakopaný vzorek PBAT testován. Po jednom měsíci pokusu vzorek změnil původní zakalenou barvu na bílou, po dvou měsících byla fólie potrhána, po čtyřech měsících byly v půdě nalezeny pouze fragmenty výchozí fólie [22].

V půdě existuje velké množství mikroorganismů se schopností biodegradace PBAT. Izolací těchto mikroorganismů se zabývá i studie autorů Kasuya K.-I. a kol. v roce 2009, která uvádí několik mezofilních mikroorganismů a houby obsahující řetězec NKCM1712 se schopností biodegradace BPA [58].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 MATERIÁLY A METODY

4.1 Materiály a přístroje

4.1.1 Chemické látky

Chemické látky pro přípravu mikro a submikro částic

- Polyvinylalkohol- PVA (Poval® PVA 205, Kuraray, Japonsko)
- Dichlormethan – p. a. stabilizovaný ($M_w = 84,93 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, IPL, Uherský Brod)
- Hydrogenuhličitan amonný – NH_4HCO_3 (Penta, Chrudim)
- PBAT (Ecoflex®, BASF, Germany)
- Destilovaná voda
- Bisfenol A – BPA (Sigma, Aldrich)

Chemické látky pro charakterizaci částic

- Mikrokrystalická celulóza (Penta, Chrudim)
- Ethylacetát (Penta, Chrudim)
- Florisil (Sigma, Aldrich)
- Bezvodý síran sodný – Na_2SO_4 (Penta, Chrudim)
- Kyselina chlorovodíková – HCl 35% (Penta, Chrudim)
- Methanol HPLC grade (Fischer Scientific)
- Acetonitril (CHROMASOLV® Plus, for HPLC, $\geq 99,9 \%$ - Sigma-Aldrich)
- Kyselina mravenčí (CHROMASOLV®, for LC-MS, $\geq 98 \%$ - Sigma-Aldrich)
- Milli-Q voda upravená přístrojem Theaqua MAX™ (Ultra 370 Series)

4.1.2 Použité přístroje a zařízení

Přístroje a zařízení pro přípravu mikro a submikro částic

- Magnetické míchadlo (RH Basic, IKA®, Belgie)
- Vysokorychlostní homogenizátor Ultra-turrax® (T 18 Basic, IKA®, Belgie)
- Ultrazvukový homogenizátor SONOPULS HD 2200 (ULTRAZVUK, Hr. Králové)
- Lyofilizátor ScanVac (Cool Safe, Labo Gene, Dánsko)
- Centrifuga Rotanta 460R (Hettich, Velká Británie)
- Míchací ultrafiltrační cela AMICON (8400, milipóry 5124)

Přístroje a zařízení pro charakterizaci částic

- Analyzátor částic Zetasizer (Nano-ZS, Malvem, Velká Británie)
- Skenovací elektronový mikroskop (SEM, VEGA-II, Tescan)
- Autokláv LaM – MCS (SANOclav, Německo)
- Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (FT-IR spektrometr Nicolet iS5)
- UV/VIS spektrofotometr SPECORD 210 Plus (Analytik Jena AG)
- Plynový chromatograf Agilent 6890 (Agilent Technologies, 7890A, GC systém)
- Volumetrické adsorpční zařízení (Belsorp-mini II, BEL Japan Inc.)
- Vysoceúčinný kapalinový chromatograf (Dionex Ultimate 3000, Německo)
- Hmotnostní spektrometr API 2000 (AB Sciex, USA)
- Analytická kolona s předkolonou ZORBAC RRHD Eclipse Plus C18 (3 x 50 mm, 1,8 µm), Agilent Technologies, USA
- Generátor dusíku NM20Z (Peak Scientific)

4.1.3 Software použití pro prezentaci a zpracování dat

- Analyst[®] Software, AB Sciex, USA
- Dionex[™] Chromeleon[™] 6.8 Chromatography Data Systém from Thermo Fisher Scientific, USA
- Microsoft[®] Office Word 2010, Microsoft Corporation, USA
- Microsoft[®] Office Excel 2010, Microsoft Corporation, USA

4.2 Metody přípravy a charakterizace částic

4.2.1 Příprava 0,5 % roztoku PVA

Roztok polyvinylalkohol (PVA) je vnější vodou fází vzniklého systému.

Do 250 ml odměrné baňky bylo naváženo 1,25 g PVA a přibližně 200 ml destilované vody. Roztok byl za intenzivního míchání (400 - 600 otáček/ minutu) zahříván na teplotu 70 ° C. Po rozpuštění veškerého PVA a ochlazení na laboratorní teplotu byla odměrná baňka doplněna destilovanou vodou po rysku, promíchána a použita pro přípravu porézních i neporézních mikro a submikro částic.

4.2.2 Příprava částic

Porézní mikro a submikro struktury připravené s NH_4HCO_3 jakožto nadouvadlem

Porézní mikročástice byly připraveny metodou odpaření rozpouštědla v systému vody v oleji ve vodě (W/O/W). Byla připravena 5 % vodná suspenze hydrogenuhličitanu amonného (NH_4HCO_3) o objemu 1 ml, k níž byl přidán roztok o složení 5g Ecoflexu v 50 ml dichlormetanu. Směs byla nejprve po dobu 5 minut míchána na homogenizéru (24000 otáček/ minutu pro menší velikost a 6000 otáček/ minutu pro částice o větší velikosti) za současného chlazení v ledové lázni. Dále bylo ke směsi přidáno 50 ml 0,5% roztoku PVA, sloužícího jako stabilizátor emulze, a směs byla opět za stejných podmínek míchána pomocí homogenizéru. Pro vznik částic menší velikosti byla směs podrobena ultrazvuku po dobu 5 minut s amplitudou 100 % a cyklu 0,5. Organické rozpouštědlo bylo následně odpařeno za sníženého tlaku, míchání a laboratorní teploty až do jeho nulových koncentrací. V průběhu odpařování došlo k vytvoření porézní struktury částic v důsledku rozložení NH_4HCO_3 na plynný produkt. Mikročástice byly 3 krát promyty deionizovanou vodou a vysušeny na lyofilizátoru.

Porézní mikro a submikro struktury s aplikací hexan jakožto nadouvadla

Tyto částice byly připraveny na bázi systému olej ve vodě (O/W). Bylo smícháno 125 μl n-hexanu jakožto činidlo sloužící k expanzi částic s 5 ml roztoku, o složení 5g Ecoflexu v 50 ml dichlormetanu, a 50 ml roztoku PVA připraveného v kapitole 4.2.1. Směs byla nejprve po dobu 5 minut míchána na homogenizéru (24000 otáček/ minutu pro menší velikost a 6000 otáček/ minutu pro částice o větší velikosti) za současného chlazení v ledové lázni z důvodu zabránění odpaření rozpouštědla. Částice, u nichž byla požadována menší velikost, byly dále podrobeny ultrazvuku po dobu 5 minut s amplitudou 100 % a cyklu 0,5. Organické rozpouštědlo bylo následně odpařeno za sníženého tlaku, míchání a laboratorní teploty až do jeho nulových koncentrací. V průběhu odpařování dochází k houstnutí struktur v důsledku odpaření nejprve dichlormetanu s nízkým bodem varu (39,6 °C) a následným odpaření hexanu s bodem varu 69 °C, který při svém odpařování překonává již poměrně uzavřenou strukturu vzniklou odpařením dichlormetanu. Odpařováním hexanu dochází k napěnění polymeru vzniku porézní struktury. Mikročástice byly 3 krát promyty deionizovanou vodou z důvodu odstranění přebytku PVA a vysušeny na lyofilizátoru.

Neporézní mikro a submikro částice

Tyto částice byly připraveny stejným postupem jako částice porézní avšak bez přidání rozpouštědla, jehož následným odpařením z roztoku se póry v částicích tvoří. Vzniká tedy systém olej ve vodě (O/W).

4.3 Charakterizace částic

4.3.1 Velikost částic a polydisperzní index

Pro částice větší než 5 μm byla velikost odečtena z obrazů optického mikroskopu pomocí systému ImageJ. U těchto částic byla vypočtena průměrná distribuce částic a velikosti (PSD) a průměr (Z_D).

Částice o velikosti pod 5 μm byly měřeny na zařízení Zetasizer a opět vyjádřeno PSD a Z_D .

V obou těchto případech bylo PSD uvedeno ve formě indexu polydisperzity (P_d) a vyjádřeno jako kvocient standardní odchylky σ a Z_D , jak je uvedeno v rovnici č. 9.

$$PDI = \left(\frac{\sigma}{Z_D} \right)^2 \quad (9)$$

4.3.2 Morfologie částic

Mimo velikost připravených částic byla taktéž pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), sledována i morfologie částic. Před samotným měřením byl vzorek pokryt zlatoplatinovou vrstvou. Elektronové urychlovací napětí bylo 5 kV.

4.3.3 Specifický povrch částic

Před samotným měřením adsorpční izotermy byly částice po dobu 3 hodin evakuovány při teplotě 60 ° C za vakua. Proces adsorpce/desorpce dusíku probíhal při teplotě kapalného dusíku (77 K). Za použití Brunauer-Emmett-Teller (BET) adsorpční izotermy byl určen specifický povrch částic (S_{BET}). Distribuce velikosti pórů byla zjištěna pomocí metody Barret-Joyner-Halenda (BHJ) a objem pórů (V_{total}) byl definován jako objem kapalného dusíku adsorbovaný za tlaku (p/p_0) 0,990.

4.3.4 FTIR

Byla zaznamenána spektra vznikající zeslabeným úplným odrazem infračervené Fourierovy transformace (FTIR-ATR), kde byl celkový odraz světla od povrchu měřen v rozsahu vlnové délky 500-4000 cm^{-1} , výsledném spektrálním rozlišení 2 cm^{-1} . Spektra částic byla zaznamenána u částic před/po adsorpci bisfenolem A.

4.3.5 Adsorpční izoterma

Pro získání adsorpční izotermy byla připravena série roztoků o koncentraci (0; 25; 50; 100; 150; 200; 250; 300) mg.l^{-1} a objemu 25 ml. Ke každému z roztoků bylo přidáno 25 mg připravených mikro a submikro porézních či neporézních částic. Tyto roztoky byly po dobu sedmi dní za laboratorní teploty kontinuálně míchány do ustanovení rovnováhy. Následně byla spektrometricky naměřena, při vlnové délce 276 nm, rovnovážná koncentrace bisfenolu A v roztoku (c_e) pomocí stanovené kalibrační přímky v rozmezí koncentrací (0 – 100) mg.l^{-1} . Na základě tohoto měření bylo vypočteno množství adsorbovaného BPA na částicích (q_e) vycházející z rovnice č. 10.

$$q_e = \frac{V (C_0 - C_e)}{m} \quad (10)$$

, kde C_0 je počáteční koncentrace BPA v roztoku, V je objem daného roztoku a m hmotnost částic v suchém stavu.

4.3.6 Freundlichova izoterma

Vyhodnocení experimentálních dat proběhlo pomocí Freundlichova modelu uvedeného v rovnici č. 5, kapitola 2.3.

4.3.7 Schopnost biodegradace částic s adsorbovaným i neadsorbovaným BPA

4.3.7.1 Příprava biometrických lahví před samotným pokusem

Jako bioreaktor pro provádění pokusy sloužila 500 ml biometrická lahev opatřena uzávěrem obsahující septum pro odběr vznikajících plynných produktů, jež byly dále přesně analyzovány. Uzávěr této lahve dokonale lahev těsnil, aby nedocházelo k úniku vznikajících produktů biodegradace do okolního prostředí či k průchodu složek atmosféry dovnitř lahve. Před započítím pokusu byly uzávěry sterilizovány pod UV zářením v aseptickém prostředí po dobu 30 minut. Každá z použitých lahví byla taktéž podrobena sterilizaci při teplotě 125 °C po dobu 30 minut.

4.3.7.2 Příprava minerálního média

Zásobní roztoky používané pro přípravu minerálního média

- Roztok $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Tento roztok byl připraven navážením 0,1 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila 1 g. l⁻¹.

- Roztok $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Tento roztok byl připraven navážením 0,3 g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila 3 g. l⁻¹.

- Roztok KH_2PO_4

Tento roztok byl připraven navážením 0,9 g KH_2PO_4 do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila 9 g. l⁻¹.

- Roztok $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Tento roztok byl připraven navážením 1,0 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila $10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

- Roztok NaCl

Tento roztok byl připraven navážením 5 g NaCl do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila $50 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

- Roztok $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

Tento roztok byl připraven navážením 2,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila $24 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

- Roztok NH_4Cl

Tento roztok byl připraven navážením 3,0 g NH_4Cl do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou na požadovaný objem. Koncentrace výsledného roztoku činila $30 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Roztok stopových prvků

Přesné množství navážek pro přípravu 1 l roztoku stopových prvků můžeme vidět v Tab. č. 11.

Tab. č. 11: Navážky jednotlivých komponent pro přípravu roztoku stopových prvků

Zásobní roztok	Navážka [g]*
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,040
H_3BO_3	0,057
$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,043
$(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,037
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,043

*Každá navážka byla prvně rozpuštěna v příslušném množství destilované vody.

Minerální médium

Pro přípravu 200 ml minerálního média budeme potřebovat výše připravené zásobní roztoky o pipetovaném množství uvedeném v Tab. č. 12.

Tabulka č. 12: Pipetované množství jednotlivých roztoků pro přípravu 200 ml minerálního média

Zásobní roztok	Pipetované množství [ml]
Roztok $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2
Roztok $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2
Roztok KH_2PO_4	4
Roztok $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2
Roztok NaCl	2
Roztok $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	16
Roztok NH_4Cl	2
Roztok stopových prvků	0,4

4.3.7.3 Zavedení pokusu v biometrických lahvích

Do připravených označených lahví se přidávala směs složená vždy ze čtyř složek (mimo slepý pokus):

- 50 mg předem připravených porézních či neporézních částic (bez adsorbovaného BPA či s adsorbovaným BPA) popřípadě 7,8 mg čistého bisfenolu, což odpovídá ekvivalentnímu množství BPA adsorbovaného na porézních částicích při počáteční koncentraci roztoku $300 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, či 50 mg mikrokrytalické celulózy
- 5 g perlitu
- 5 g kompostu
- 5 ml minerálního média

Jednotlivé navážky testovaných částic (vyjma samotný BPA) byly naváženy na analytických vahách s přesností (50 ± 1) mg, samotný BPA byl navážen s přesností $(7,8 \pm 1)$ mg. Kompost a perlit byly naváženy na vahách s přesností $(5 \pm 0,01)$ g.

Pro větší přesnost a z důvodu občasné nedokonalé biodegradační činnosti byly pro každý jednotlivý vzorek zavedeny čtyři biometrické lahve o složení: slepý pokus, malé částice porézní bez BPA, malé částice neporézní bez BPA, malé částice porézní s adsorbovaným BPA, malé částice neporézní s adsorbovaným BPA. Lahve s obsahem pouze BPA byly zavedeny tři a kontrolní lahve s mikrocelulózou dvě. Všechny řádně označené lahve byly vloženy do termostatu a udržovány při teplotě 58°C .

4.3.7.4 Průběžné provzdušňování lahví

Celková mineralizace organického uhlíku obsaženého v lahvích probíhá pomocí mikroorganismů za přístupu kyslíku (aerobní respirace). V biometrických lahvích tak dochází k tvorbě CO_2 a úbytku kyslíku. Jelikož se jedná o aerobní biodegradaci je nutné láhve po každém měření provzdušnit. Oxid uhličitý je v průběhu provzdušňování ze vzduchu odstraněn pomocí adsorpčních roztoků, do kterých je vháněn vzduch.

- 1. Absorpční roztok obsahující 5M NaOH

V tomto roztoku dochází k odstranění atmosférického CO_2 , dle rovnice č. 11.

- 2. Absorpční roztok obsahující 0,5 M Ba (OH)₂

V případech vyčerpání prvního adsorpčního roztoku máme roztok Ba (OH)₂. Výhodou tohoto kontrolního roztoku je, že při reakci s atmosférickým CO_2 (uvedeno v rovnici č. 12) dochází ke vzniku bílé sraženiny.

- Destilovaná voda

Slouží ke zvlhčení vzduchu, který byl dále přiváděn do biometrické lahve, pomocí zavedené silikonové hadičky.



4.3.7.5 *Hodnocení množství vyvinutého CO₂ a úbytku O₂ v lahvích pomocí plynové chromatografie*

Pro vyhodnocení spotřebovaného kyslíku a vyvinutého CO₂ aerobní respirací byla zvolena metoda plynové chromatografie. Vzorek obsažen v biometrických láhvích sloužil jako jediný přidaný organický zdroj uhlíku. Zařízení pro analýzu vzorku (GC Agilent 7809) obsahovalo termostat se dvěma náplňovými kolonami (délka 1,829 m) zapojenými do série.

První náplňová kolona pro stanovení CO₂: stacionární fází byl Porapak (velikost částic 80/100 MESH)

Druhá náplňová kolona pro stanovení O₂: stacionární fází bylo molekulové síto (velikost částic 60/80 MESH)

Zařízení obsahovalo detektor TCD (teplotně vodivostní detektor). Z externí zásobní láhve bylo přiváděno helium, o průtoku 53 ml.min⁻¹, jakožto nosný plyn. Vyhodnocován byl CO₂ a taktéž kyslík, který však sloužil jen pro kontrolu probíhajících aerobních procesů.

Vyhodnocení chromatogramu a celkově i veškeré nastavení parametrů stanovení probíhalo pomocí programu Clarity metodou přímé kalibrace, v němž byla kalibrační křivka sestavena ze stanovení obsahu CO₂ analýzou syntetického plynu v zásobní láhvi. Teploty jednotlivých komponent při měření jsou pak uvedeny v Tab. č. 13.

Tab. č. 13: Teplota při měření na GC Agilent 7980

Zařízení	Teplota měření [° C]
Injektor	200
Termostat	60
TCD detektor	250

4.3.7.6 Průběh měření biodegradace

Uzavřené láhve se vzorky uchovávané v termostatu při teplotě 58 ° C byly jednou týdně analyzovány. Pomocí plynotěsné injekční stříkačky o objemu 100 µl (Hamilton) byla odebrána přes septum láhve atmosféra uvnitř láhví a následně byla provedena analýza na plynovém chromatografu (Agilent 7890). Před každou analýzou byly lahve nejprve postaveny mimo termostat a samovolně ochlazeny na okolní teplotu. Výsledkem analýzy bylo vyhodnocení obsahu atmosféry v láhvích z pohledu složení O₂ a CO₂.

Jakmile byl vzorek atmosféry uvnitř lahví odebrán a analyzován, láhve byly otevřeny a provzdušněny dle výše uvedeného postupu a podmínek uvedeného v kapitole 4.3.6.4.

4.3.7.7 Zpracování naměřených dat

Denní produkované množství uhlíku ve formě CO₂

$$m_{C(den)} = \frac{M_c \cdot p}{R \cdot T} \cdot \frac{V_g}{1000} \cdot w_{CO_2} \cdot \frac{V_{St}}{S_{St}} \cdot \frac{S_{Vz}}{V_{Vz}} \cdot 1000 \quad (13)$$

Legenda:

$m_{C(den)}$	denní vyprodukované množství uhlíku ve formě CO ₂	[mg]
M_c	atomová hmotnost uhlíku	[g.mol ⁻¹]
p	provzdušňovací tlak	[kPa]
R	univerzální molární plynová konstanta	[J.K ⁻¹ .mol ⁻¹]
T	provzdušňovací termodynamická teplota	[K ⁻¹]
V_g	objem plynu v biometrické láhvi	[ml]
$V_{St, Vz}$	dávkový objem plynné fáze standardu či vzorku do plynového chromatografu	[µl]
$S_{St, Vz}$	výsledný signál udávaný detektorem standardu či vzorku	[µV.s]
w_{CO_2}	množství CO ₂ v používaném kalibračním plynu	[%]

Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂

Za předpokladu provzdušňování lahví lze kumulativní produkci uhlíku ve formě CO₂ vypočítat vztahem:

$$m_{(k)C}(B) = m_{(k)C}(A) + m_{(d)C}(B) \quad (14)$$

Legenda:

$m_{(k)C}(B)$	kumulativní produkce uhlíku současného měření	[mg]
$m_{(k)C}(A)$	kumulativní produkce uhlíku minulého měření	[mg]
$m_{(d)C}(B)$	denní produkce uhlíku současného měření	[mg]

Za předpokladu, že biometrické lahve provzdušněny nebyly, je pak kumulativní produkce rovna produkci denní.

Substrátová produkce uhlíku ve formě CO₂

Substrátovou produkci uhlíku můžeme brát jako produkci kumulativní, avšak sníženou o hodnotu produkce uhlíku ze slepých pokusů.

$$n_{(x)C} = m_{(k)C V_z} - m_{(k)C SI} \quad (15)$$

Legenda:

$n_{(x)C}$	substrátová produkce uhlíku ve formě CO ₂	[mg]
$m_{(k)C V_z}$	kumulativní produkce uhlíku v lahvi obsahující vzorek	[mg]
$m_{(k)C SI}$	kumulativní produkce uhlíku v lahvi bez vzorku	[mg]

Procentuelní mineralizovaný uhlík ve formě CO₂

$$D_c = \frac{n_{(x)C}}{m_c \cdot TC} \quad (16)$$

Legenda:

D_c	Procentuelní mineralizovaný uhlík ve formě CO ₂	[%]
$n_{(x)C}$	substrátová produkce uhlíku ve formě CO ₂	[mg]
m_c	hmotnost vzorku	[mg]
TC	obsah celkového uhlíku ve vzorku	[%]

4.3.7.8 Stanovení zbytkové koncentrace Bisfenolu A po biodegradaci

4.3.7.8.1 Extrakce BPA naadsorbovaného na částicích

Tato extrakční metoda je založena na již dříve prováděné studii s malými obměnami.

Do biometrické láhve bylo po biodegradačním experimentu přidáno 40 ml ethylacetátu a láhev byla nejprve na 15 minut ponořena do ultrazvukové lázně a poté hodinu ponechána v klidu za laboratorní teploty. Poté byl vzorek přefiltrován přes filtrační papír a vzniklý filtrát zbaven od nečistot (perlit, kompost) byl nalit do 50 ml keramické frity obsahující směs o složení: 2 g aktivovaného křemičitanu hořečnatého (Florisil), 0,5 ml 37 % HCl (slouží pro okyselení směsi) a 2 g bezvodého síranu sodného. Takto přečištěný extrakt, za normálního tlaku, byl uchován v uzavíratelné skleněné láhvi a ponechán v lednici do doby stanovení zbytkového bisfenolu A.

Výtěžnost extrakce (Recovery, R_f) je uváděna jako podíl množství analytu přítomného v analyzovaném vzorku zkoušeného materiálu nebo přidaného k němu, který je extrahován a podroben měření.

$$R_f = \frac{c_{abs}}{c_{ref}} \quad (17)$$

V tomto analytickém vyjádření nám c_{abs} vyjadřuje pozorovaný obsah (množství, koncentrace) a c_{ref} skutečnou hodnotu (množství, koncentrace) [59].

4.3.7.8.2 Stanovení zbytkové koncentrace BPA pomocí kapalinové chromatografie

Pro stanovení nedegradovaného bisfenolu A (BPA) byla využita analytická metoda ultra účinné kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickým detektorem (HPLC – MS/MS). Bylo vycházeno z práce autorů Shao a kol., provedené v roce 2004, kteří se zabývali stanovením alkylfenolu a bisfenolu A v nápojích [60].

Před analýzou reálných vzorků bylo nutné optimalizovat nejprve hmotnostní spektrometr. Standardní roztok analytu o koncentraci $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ byl dávkován do hmotnostního spektrometru pomocí přímého nástřiku, průtok byl nastaven na hodnotu $3 \text{ }\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$.

Při samotné měření byla nejprve provedena analýza pomocí jednoduché hmotnostní spektrometrie v pozitivní a negativní ionizaci.

Následná chromatografická separace byla provedena pomocí gradientové eluce s mobilní fází sestávající se z 0,1 % kyseliny mravenčí (A) a acetonitrilu (B). Pro zvýšení intenzity výsledného signálu začínala analýza s 30 % eluentu B, který byl lineárně zvýšen na 80 % během 3 minut a pak dále na 85 % během dalších 30 sekund. Toto složení bylo udržováno po dobu dalších 30 sekund, než byl poměr eluentu B navrácen na 30 % během 2 minut s následnými 2,5 minutami nutnými pro ekvilibraci tlaku v koloně. Z důvodu nižšího retenčního času a lepší symetrie píků byl zvolen průtok mobilní fáze $0,4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ a teplota analytické kolony $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Nástřik vzorku na kolonu byl $10 \text{ } \mu\text{l}$. Za těchto podmínek byl retenční čas BPA $2,76 \text{ min}$.

Po separaci byla provedena tandemová hmotnostně spektrometrická analýza, přičemž parametry byly určeny jako následující: napětí na kapiláře $-4,5 \text{ kV}$, teplota iontového zdroje $400 \text{ }^\circ\text{C}$, deklasterační potenciál $-36,0 \text{ V}$, fokusační potenciál $-330,0 \text{ V}$, vstupní potenciál $-12,0 \text{ V}$ a kolizní energie $-24,0 \text{ V}$. Ostatní parametry byly ponechány defaultně nastavené výrobcem. Kolizně indukovaná disociace na specifické fragmenty analytu ve skenovacím módu MRM (Multiple Reaction Monitoring) byla provedena za využití dusíku jako kolizního plynu. Pro analýzu byly vybrány 2 specifické přechody: $226,853/211,800$ pro kvantifikaci a $226,853/92,800$ pro potvrzení přítomnosti sloučeniny.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Charakterizace částic

5.1.1 Velikost částic a polydisperzní index

Byly vytvořeny porézní i neporézní částice metodou odpaření rozpouštědla postupem uvedeným v kapitole výše. Bylo připraveno šest různých typů částic: velké neporézní částice (VČ_bež), velké porézní částice s použitím hexanu jako nadouvadla (VČ_S_H) a s použitím NH_4HCO_3 jako nadouvadla (VČ_S_A); malé neporézní částice (MČ_bež), malé porézní částice s použitím hexanu jako nadouvadla (MČ_S_H) a s použitím NH_4HCO_3 jako nadouvadla (MČ_S_A). Veškeré parametry přípravy částic a jejich výsledné charakterizované vlastnosti jsou uvedeny v Tab. č. 14.

V této studii bylo záměrem připravit částice, jež se vzájemně lišily především jejich vnitřní strukturou, k čemuž byly použity vyjmenované typy nadouvadla. Mimo použití a typu nadouvadla byly částice odlišeny dále rychlostí míchání a použitím ultrazvuku.

Velikost velkých částic byla několikrát vyšší než velikost částic malých. Velikost malých částic byla přibližně stejná v případě různých typů nadouvadla. Lze tedy říci, že typ nadouvadla na velikost částic značný vliv nemá. Velikost VČ_bež (okolo 10 μm) byla nejnižší v porovnání s částicemi porézními VČ_S_H (okolo 17 μm), VČ_S_A (okolo 22 μm). Tento rozdíl je způsoben napěněním částic díky nadouvadlům.

Specifický povrch částic byl určen pomocí adsorpce/desorpce dusíkem. Částice byly připraveny tak, aby právě každý druh částic podával rozdílné hodnoty specifického povrchu. Z výsledných hodnot uvedených v Tab. č. 14 můžeme vyčíst nižší i vyšší hodnoty BET povrchu a s tím i související vhodnost těchto částic na adsorpci. VČ_S_H i bez něj mají velmi nízký povrch, který nebylo možno zaznamenat stanovením pomocí BET. Tyto hodnoty nejsou v této práci resp. příslušné tabulce ani prezentovány. Ostatní typy částic mají plochu povrchu v řádech metrů čtverečných s celkovým objemem pórů 5 – 7 $\text{mm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$. Pokud částice mezi sebou srovnáme lze pozorovat, že přítomnost nadouvadla má významný vliv na výslednou plochu povrchu částic. MČ_bež mají tedy plochu nejmenší. Poměrně stejných výsledků bylo dosaženo u částic VČ_S_H a MČ_S_A. Nejvyšší plochu povrchu částic o 3,750 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, tedy nejlepší možnost k adsorpci, mají MČ_S_A. Proto se tyto částice dále jevily jako nejvhodnější pro adsorpci BPA a následnou biodegradaci. Dále však bylo pro ověření nutné zjistit přesnou morfologii částic pomocí snímků ze SEM a následně

samotný adsorpční pokus provést (Adsorpce byla provedena z důvodu jednoznačně interpretovaných výsledků u všech částic). Podrobné výsledky jsou pak uvedeny v kapitole 5.1.4.

Specifickým povrchem různých materiálů pro adsorpci fenolických látek se zabývá i řada studií. Autor Wen-Tien Tsai a kol. uvádějí několik minerálů a aktivní uhlí jako možné adsorbenty. Výsledné hodnoty specifického povrchu jsou řádově nižší než u aktivního uhlí ($1060 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) ale srovnatelné například s andezitem ($2,7 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) [34]. Dalším příkladem může být studie autora B. C. Pan a kol. zkoumající mimo jiné i specifické povrchy modifikovaných forem polystyrenu. V této studii jsou uváděny specifické povrchy některých forem polystyrenu i v řádech desítek hodnot příslušné jednotky, např. typu PS ND-900 odpovídá specifický povrch $31,8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ [33]. Z těchto studií lze tedy říci, že připravené struktury mají často nižší hodnoty specifického povrchu než komerční adsorpční materiály, nicméně i tak může být předpokládána dostatečná adsorpční kapacita připravených částic.

Z Tab. č. 14, lze dále vyčíst, že velikost pórů se značně snižuje se zvyšující se adsorpčním povrchem.

Zásadním výsledkem těchto provedených měření je tedy tvrzení, že zcela záleží na přítomnosti nadouvadla při přípravě částic a na typu daného nadouvadla pokud chceme získat částice se záměrem použití na adsorpční procesy.

Tab. č. 14: Podmínky přípravy částic a výsledné charakteristické parametry částic

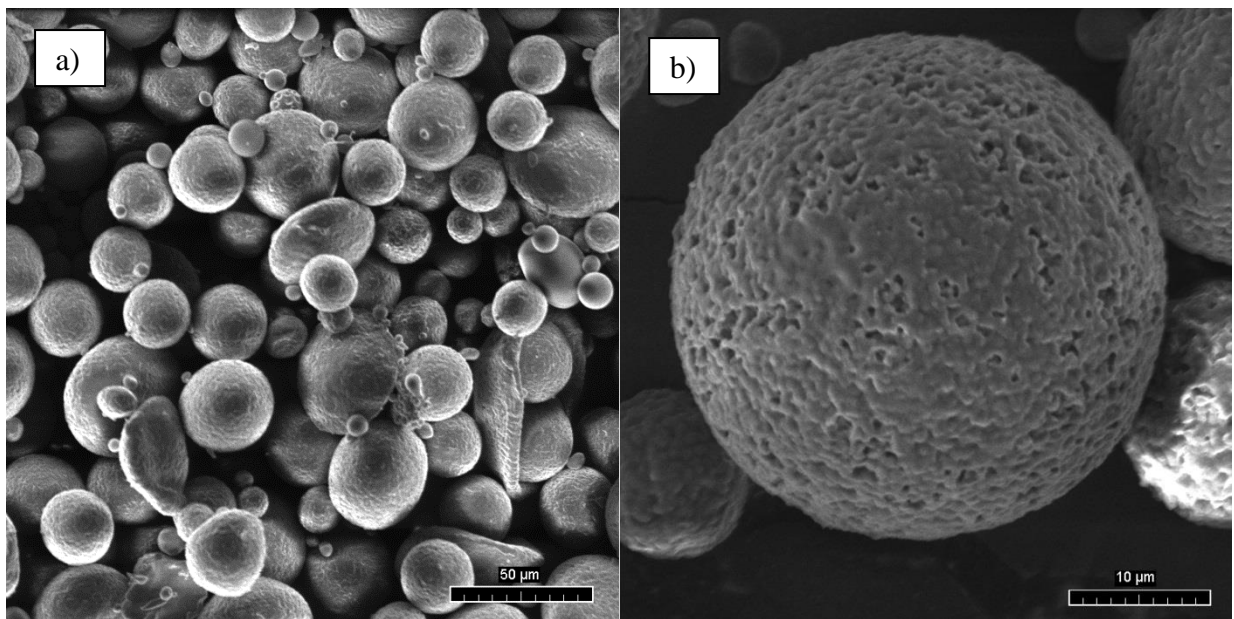
Vzorek	Typ nadouvadla	Rychlost míchání (RPM)	Sonifikace	Velikost částic (nm)	PDI	S_{BET} ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	V_{Total} ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	Velikost pórů (nm)
VČ_bez	-	6000	Ne	10667	0,531	-	-	-
VČ_S_H	Hexan	6000	Ne	17332	0,259	-	-	-
VČ_S_A	NH_4HCO_3	6000	Ne	22625	0,126	2,350	$5,054 \cdot 10^{-3}$	8,60
MČ_bez	-	24000	Ano	415	0,257	1,823	$5,750 \cdot 10^{-3}$	11,2
MČ_S_H	Hexan	24000	Ano	380	0,218	2,388	$5,750 \cdot 10^{-3}$	9,63
MČ_S_A	NH_4HCO_3	24000	Ano	487	0,218	3,750	$7,342 \cdot 10^{-3}$	7,83

5.1.2 Morfologie částic

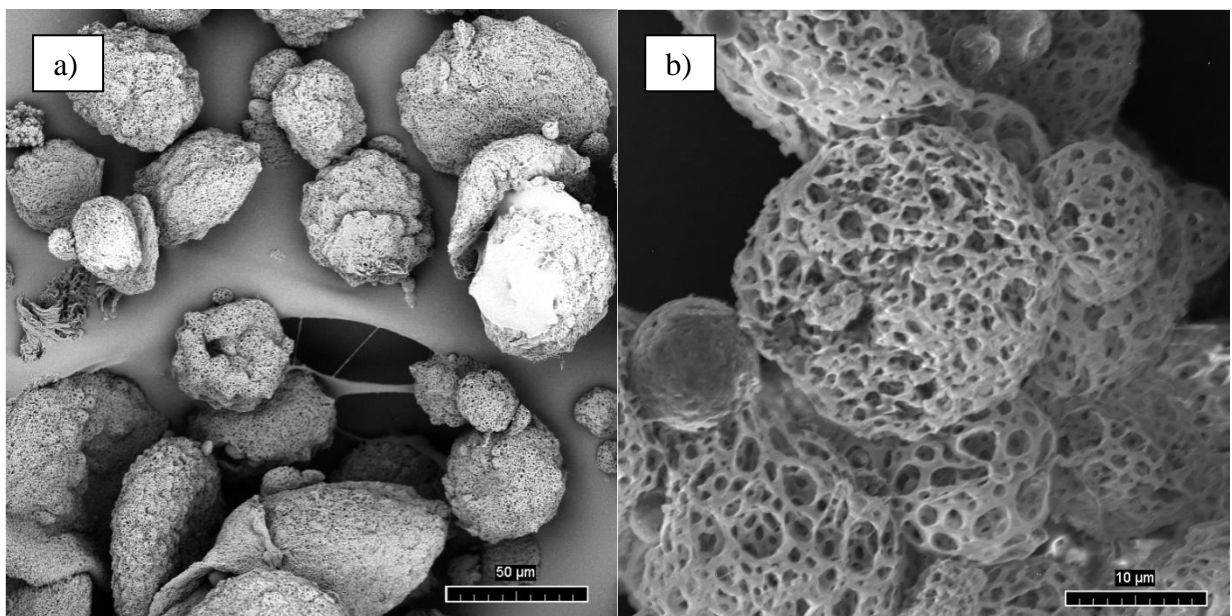
Ke sledování morfologie částic jsme použili VČ porézní, abychom se přesvědčili o jejich porozitě a četnosti výskytu pórů. SEM snímky nám zobrazují VČ_S_H (Obr. č. 7) a VČ_S_A (Obr. č. 8). Současně je zde zobrazen pohled na částice ve dvou různých rozlišeních, 1000x (a) a 5000x (b).

Dále u této metody s hexanem můžeme vidět značné zastoupení částic různé velikosti. Toto může být způsobeno pravděpodobně při míchání na homogenizéru či následné ultrasonifikaci. Tvar částic je však kulovitěho tvaru, tak jak bylo požadováno už při přípravě částic. Částice s použitým NH_4HCO_3 jakožto nadouvadlem jsou v menším množství, větších poměrně nepravidelných útvarů. Tato nepravidelnost je zjevně způsobena i možným splením částic, což by odpovídalo i větší velikosti částic.

Rozlišení 5000x nám poskytuje detailnější pohled na připravené porézní částice. Tímto snímkem lze tedy vysvětlit celkový objem pórů uveden v Tab. č. 14, který je mnohem vyšší u částic s NH_4HCO_3 než u hexanu. U částic s použitým NH_4HCO_3 je struktura velmi porézní, připomínající houbovitou strukturu. Z tohoto SEM pozorování byly tedy VČ_S_A zvoleny jako vhodnější částice pro adsorpci BPA než VČ_S_H.



Obr. č. 7: Skenovací elektronová mikroskopie velkých porézních částic s použitím hexamem jakožto nadouvadlem: a) zvětšení 1000x , b) zvětšení 5000x.

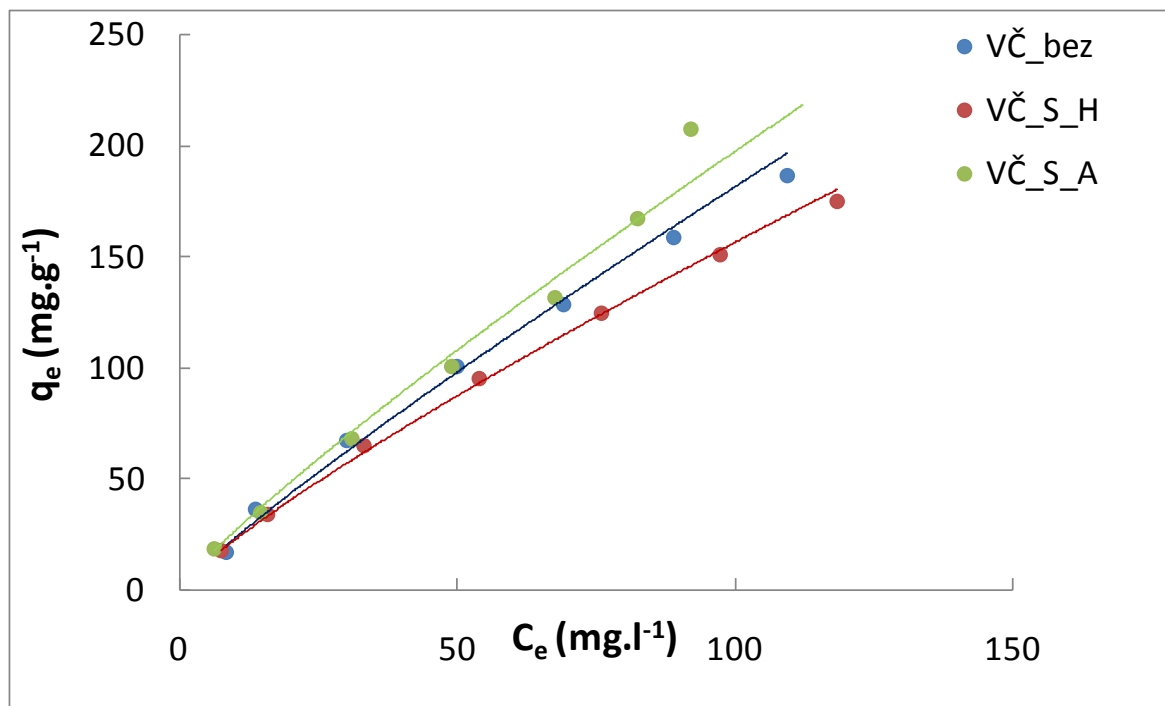


Obr. č. 8: Skenovací elektronová mikroskopie velkých porézních částic s použitým NH_4HCO_3 jakožto nadouvadlem: a) zvětšení 1000x , b) zvětšení 5000x.

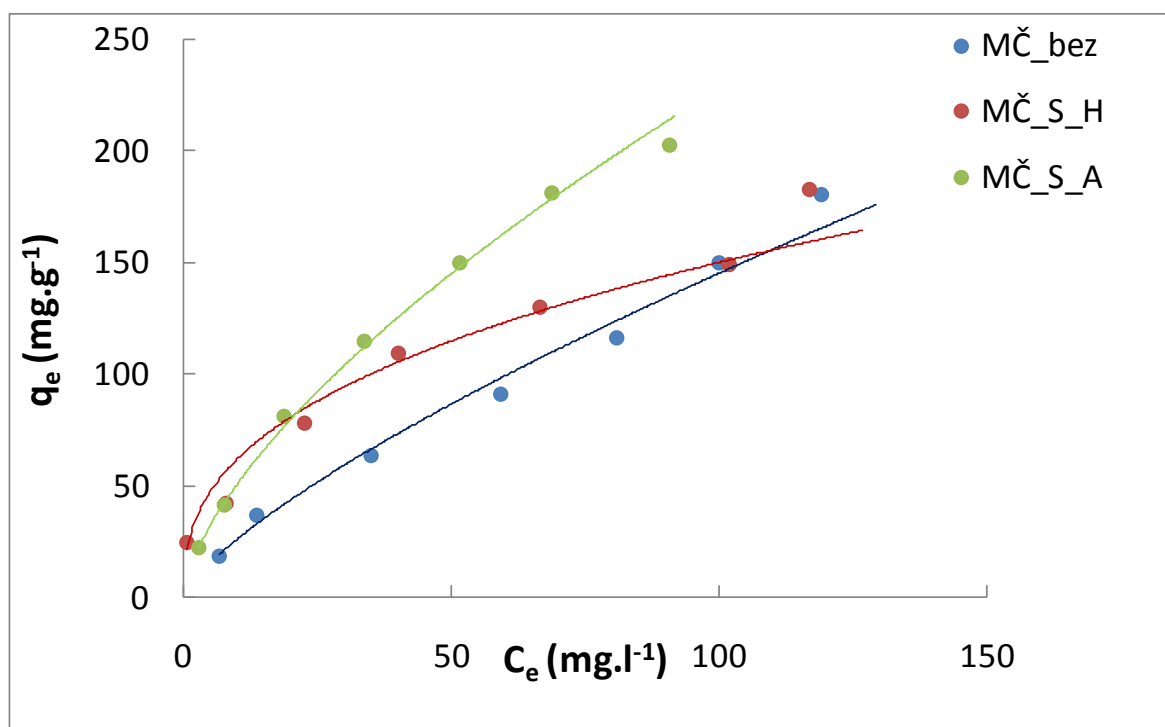
5.1.3 Adsorpční izoterma

Freundlichovy adsorpční izotermy BPA pro veškeré připravené částice jsou graficky znázorněny na Obr. č. 9 – 10. Parametry Freundlichova modelu z rovnice /5/ a koeficient korelace (R^2) jsou určeny z experimentálních dat a dále uvedeny v Tab. č. 15. Z výsledných grafů je patrná shoda použitého modelu s experimentálními daty pro všechny adsorpční experimenty. Adekvátnost použitého modelu je taktéž zřejmá z koeficientů determinace s významnou hladinou spolehlivosti (větší než 0,97). Získané hodnoty nám znázorňují schopnost povrchu připravených částic na bázi PBAT adsorbovat BPA. Tuto skutečnost můžeme určit z adsorpční kapacity (K_F) a velikosti hnací adsorpční síly (n). V Tab. č. 15 lze vidět, že nejvyšší adsorpční kapacitu ve velmi nízkých koncentracích BPA v roztoku mají MČ_S_H. Z Obr. č. 10 je však patrné, že při vyšších koncentracích ($C_e > 20$ mg BPA.l⁻¹) mají nejvyšší adsorpční kapacitu MČ_S_A. Z Freundlichova modelu lze odvodit, že čím vyšší tato hodnota bude, tím lepší bude účinnost sorpce. Z tohoto pohledu, lze říci, že tyto částice budou nejvhodnější pro sorpci, tak jako bylo potvrzeno v předešlých kapitolách (5.1.1. a 5.1.2.). Velmi příznivou adsorpční kapacitu mají taktéž MČ_S_H, jež by mohly být použity na adsorpci BPA z vodných roztoků. Dle předešlých výsledných hodnot experimentálního měření, byly zvoleny částice s NH₄HCO₃ jakožto nadouvadlem pro sorpci BPA z vodných roztoků a následnou biodegradaci v životním prostředí.

Dalším tvrzením z provedeného měření je, že na schopnost adsorpce má vliv i velikost částic. Čím menší částice jsou, tím větší mají schopnost adsorpce. Současně je i velmi důležitá přítomnost nadouvadla při přípravě částic, která značně zvyšuje schopnost sorpce částic.



Obr. č. 9: Adsorpční izoterma pro bisfenol A ve vodném prostředí na velkých částicích (Freundlichův model)



Obr. č. 10: Adsorpční izoterma pro bisfenol A ve vodném prostředí na malých částicích (Freundlichův model)

Tab. č. 15: Parametry Freundlichova modelu pro jednotlivé vzorky a jejich koeficient determinace (R^2)

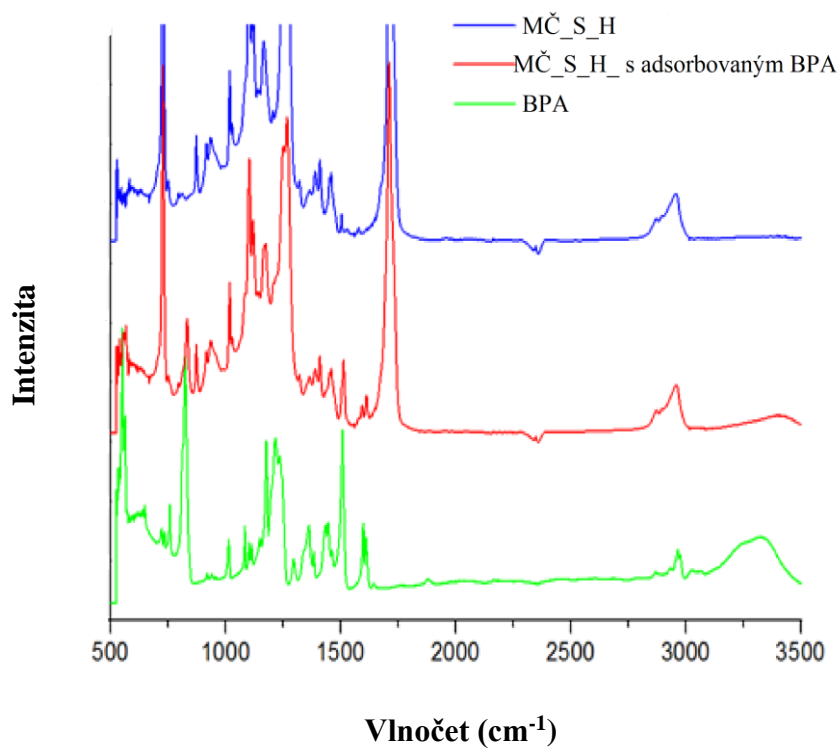
Vzorek	K_F [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot(\text{dm}^3\cdot\text{mg}^{-1})^{1/n}$]	n ($\text{dm}^3\cdot\text{mg}^{-1}$)	R^2
VČ_bež	4,18	0,810	0,998
VČ_S_H	3,82	0,803	0,994
VČ_S_A	2,02	1,010	0,990
MČ_bež	3,15	0,839	0,991
MČ_S_H	18,53	0,468	0,985
MČ_S_A	11,60	0,580	0,974

5.2 FTIR

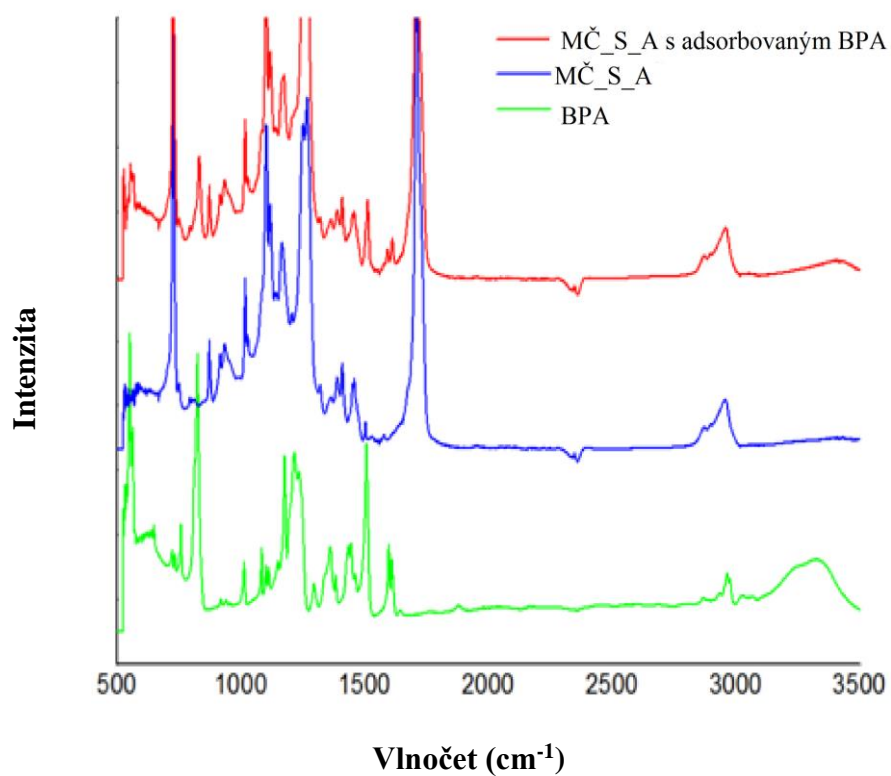
Tato metoda byla zvolena a provedena z důvodu důkazu BPA adsorpce na povrch částic. FTIR – ATR spektra byly provedeny u malých částic s hexanem i NH_4HCO_3 . V obou Obr. č. 11 a 12 jsou zobrazeny tři FTIR spektra: malé částice před a po adsorpčním testu a samotný BPA.

Spektrum čistého PBAT může být charakterizováno píky okolo 3000 cm^{-1} . Tyto píky můžeme označit jako charakteristické pro CH_3 vazbu v alifatických a aromatických částech dané molekuly. Signál zaznamenaný v 1710 cm^{-1} zastupuje $\text{C}=\text{O}$ vazbu v esterových vazbách. Pro asymetrickou – CH - vazbu odpovídá 1366 cm^{-1} , pro $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ pík při 1270 cm^{-1} a poměrně ostrý pík při 720 cm^{-1} můžeme přiřadit skupině methylenu – CH_2 -.

Další spektrum, tentokrát pro BPA je charakterizováno širokým pásem s vrcholem při 3348 cm^{-1} , jež odpovídá vlastnímu vodíku vázané hydroxylové skupiny. Charakteristické vibrace aromatické skupiny $\text{C}-\text{H}$ se objeví tentokrát dvakrát a to při 3065 cm^{-1} a 2871 cm^{-1} , neboli píky při (1612 , 1598 , 1511 , 1178 , a 826) cm^{-1} patří para-substituovaným aromátům. Pík o hodnotě 1363 cm^{-1} souvisí s isopropylovou strukturou BPA. Charakteristické signály 1511 cm^{-1} tak jako 826 cm^{-1} viditelná v pozadí spekter nám potvrzují adsorpci BPA na povrchu částic.



Obr. č. 11: FTIR-ATR spektra BPA, MČ_S_H a částic po adsorpci BPA



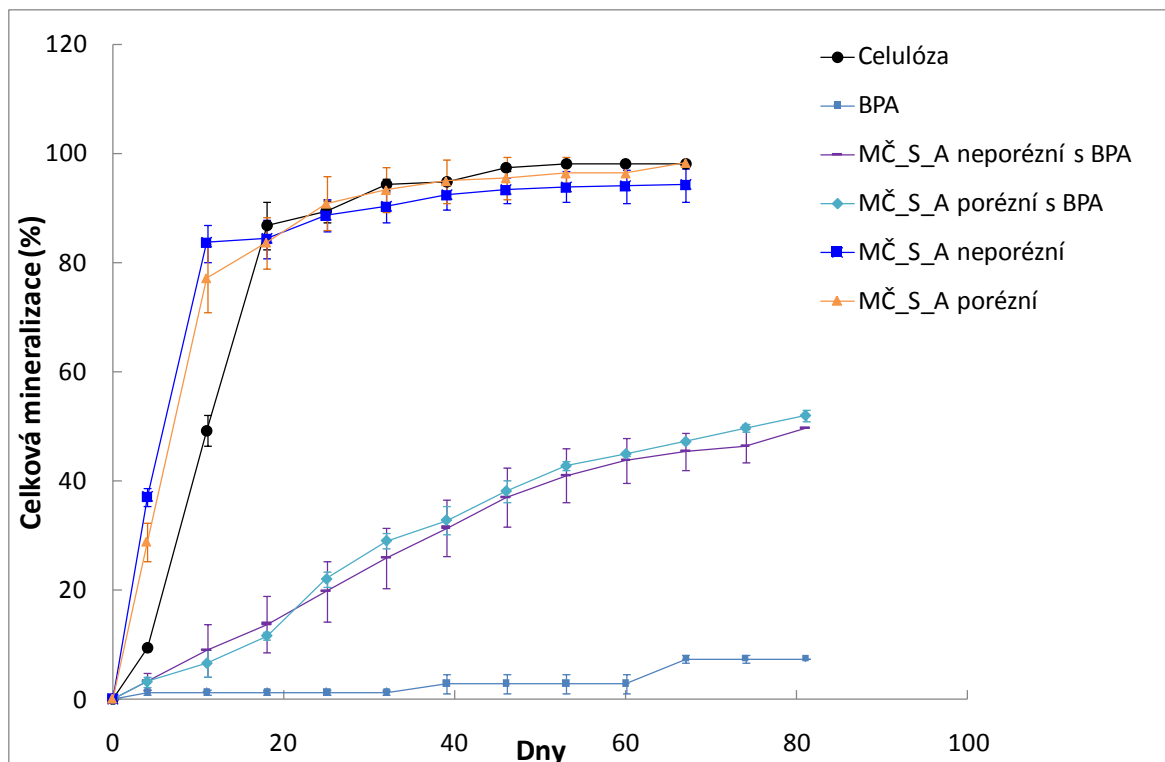
Obr. č. 12: FTIR-ATR spektra BPA, MČ_S_A a částic po adsorpci BPA

5.3 Biodegradační pokus

K adsorpci BPA z vodného prostředí a následné biodegradaci byly na základě předešlých měření vybrány za nejvhodnější MČ_S_A, které byly v biodegradačním pokusu použity. Současně byly využity i částice bez NH_4HCO_3 , tedy částice neporézní, pro srovnání výsledných hodnot.

Z Obr. č. 13, kde je znázorněna celková mineralizace jednotlivých struktur, je možné vidět, jak biodegradace v průběhu několika týdnů probíhala. Nejvýraznější a nejrychlejší biodegradaci můžeme zaznamenat u částic porézních i neporézních bez adsorbovaného BPA. Tyto částice byly mineralizovány z 80 % již po dvou týdnech. Lze tedy říci, jak je již uvedeno v jiných studiích schopnosti biodegradace PBAT, že tento polymer je v aerobním prostředí rychle degradován a to i ve formě mikro a submikro porézních struktur. Dále pak po 35 dnech pokusu dochází k jeho skoro 100% degradaci. Tyto hodnoty lze srovnat s celkovou mineralizací celulózy, která zde spíše sloužila pro kontrolu schopnosti biodegradace používaným kompostem. Tato mineralizace byla proto po 81 dnech ukončena.

Částice s adsorbovaným BPA podléhají mineralizace výrazně pomaleji. Tuto skutečnost zjevně ovlivňuje neadsorbovaným BPA, který se v životním prostředí rozkládá výrazně pomaleji než PBAT. Po 70 dnech kontinuálního pokusu jsou tyto částice s BPA mineralizovány z cca 50 %. Z časových důvodů daných rámcem diplomové práce nebylo možné počkat, až dojde k celkové mineralizaci. Z tohoto měření nelze striktně říci, zda dochází k biodegradaci pouze PBAT či i adsorbovaného BPA. Je pravděpodobné, že mineralizace částic PBAT s BPA bude zpomalena právě bisfenolem sorbovaným na jejich povrchu. Inhibici mineralizace v přítomnosti BPA lze předpokládat z křivky celkové mineralizace pro samotný BPA v ekvivalentním množství k BPA naadsorbovaného na částice. Pro potvrzení biodegradace BPA na adsorbovaných částicích je tudíž vhodné využít analytickou metodu pro určení zbytkového množství BPA v biometrických láhvích po biodegradaci, která nám ukáže, zda dochází k mineralizace nejen PBAT, ale i samotného BPA adsorbovaného na tomto materiálu.



Obr. č. 13: Celková mineralizace připravených struktur v průběhu několika týdnů

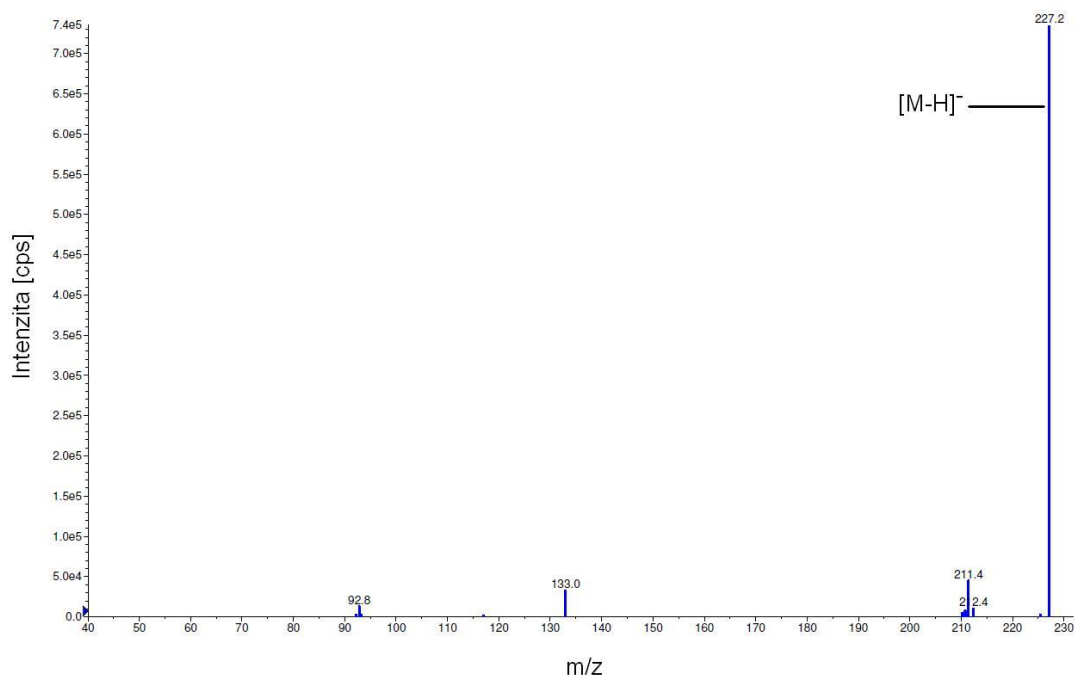
Pozn.: Některá měření byla ukončena dříve (67. den) jelikož již několik týdnů nedocházelo v těchto biometrických láhvích ke změně mineralizace vzorku, pravděpodobně byl již veškerý vzorek zmineralizován.

5.3.1 Stanovení zbytkové koncentrace Bisfenolu A po biodegradaci

Pro extrakci byly odebrány vždy dvě biometrické láhve obsahující BPA od každého typu vzorku (MČ_S_A porézní i neporézní s adsorbovaným BPA a samotný BPA). Přičemž jedna biometrická láhev každého typu vzorku byla odebrána o týden dříve, 67. den (1. odběr), než druhá odebrána 74. den (2. odběr). Láhve určené k odběru 67. den byly zvoleny dle své nejvyšší produkce oxidu uhličitého v průběhu celého měření v porovnání s ostatními biometrickými láhvemi stejného vzorku. Po provedené extrakci byly vzorky skladovány v lednici do doby analýzy na UPLC-MS/MS.

Výsledné naměřené hodnoty analýzy v pozitivní a negativní ionizaci prokázaly, že negativní ionizace poskytovala deprotonovanou molekulu $[M-H]^-$ jako nejvíce intenzivní iont. Proto byl $[M-H]^-$ iont BPA zvolen jako prekurzor pro kolizně indukovanou disociaci. Na Obr. č. 14 je uvedeno čárové profilové hmotnostní spektrum MS^2 BPA (koncentrace

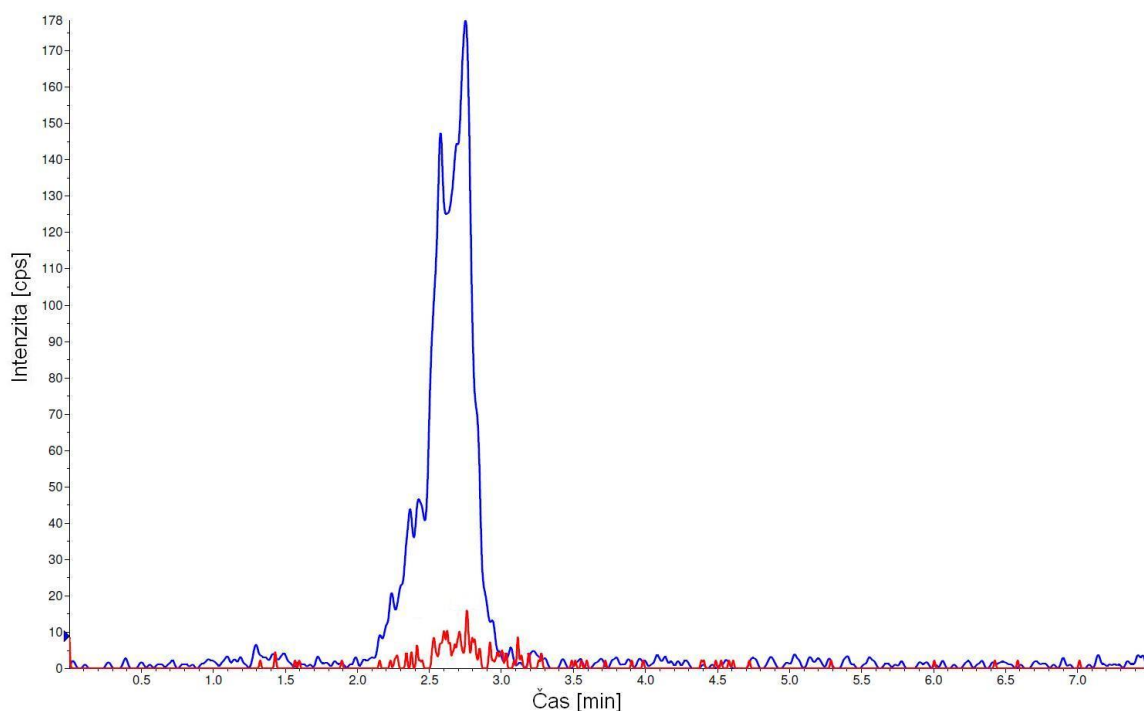
10 mg·l⁻¹) v negativní ionizaci. Ve spektru je patrný základní pík spektra prekurzorového iontu deprotonované molekuly [M-H]⁻ s 227,2 m/z. Také jsou zde patrné produktové ionty s m/z 211,4; 133,0 a 92,8. Veškeré nalezené a identifikované exaktní hmoty se shodují s těmi v provedené rešerši.



Obr. č. 14: Hmotnostní spektrum BPA

Po separaci byla provedena tandemová hmotnostně spektrometrická analýza, přičemž parametry byly určeny jako následující: napětí na kapiláře -4,5kV, teplota iontového zdroje 400 °C, deklasterační potenciál -36,0 V, fokusační potenciál -330,0 V, vstupní potenciál -12,0 V a kolizní energie -24,0 V. Ostatní parametry byly ponechány defaultně nastavené výrobcem. Kolizně indukovaná disociace na specifické fragmenty analytu ve skenovacím módu MRM (Multiple Reaction Monitoring) byla provedena za využití dusíku jako kolizního plynu. Pro analýzu byly vybrány 2 specifické přechody: 226,853/211,800 pro kvantifikaci a 226,853/92,800 pro potvrzení přítomnosti sloučeniny.

Následující provedená tandemová hmotnostně spektrometrická analýza nám poskytla jednotlivé chromatogramy bisfenolu A ($t_R = 2,76$ min). Chromatogram UPLC-MS/MS pro vzorek MČ_S_A s adsorbovaným BPA je zobrazen na Obr. č. 15.



Obr. č. 15: Chromatogram bisfenolu A pro vzorek MČ_S_A s adsorbovaným BPA

Následně byla z rovnice regrese (rovnice 18) provedené kalibrace (0 – 100) mg.l^{-1} vypočtena výsledná koncentrace BPA v jednotlivých vzorcích. A určena výtěžnost extrakce, jež byla určena dle vzorce (viz. rovnice 17) a činila 83,39 %. Modelový vzorek pro výtěžnost byl připraven navážením 7,9 mg BPA ve 40 ml ethylacetátu (hodnota 7,8 mg BPA je vypočtena jako ekvivalentní k množství BPA možného sorpce na připravené částice).

$$y = 110x + 2,78 \quad (18)$$

Výsledné hodnoty koncentrací jednotlivých měřených vzorků obsahujících BPA jsou uvedeny v Tab. č. 16. Nejvyšší koncentrace bisfenolu A přibližně 33 mg.l^{-1} mají po biodegradaci láhve obsahující pouze BPA, naopak láhve, jež obsahovaly BPA adsorbovaný na částicích PBAT, mají zbytkovou koncentraci poměrně nižší (12,9 – 24,8) mg.l^{-1} . Hodnoty koncentrací jednotlivých vzorků jsou uváděny s ohledem na účinnost extrakce, která činila 83,39 %, tudíž byly hodnoty koncentrací zbytkového BPA po biodegradaci v biometrických láhvích ještě o něco vyšší. Z tohoto experimentálního měření lze říci, že biodegradace BPA adsorbovaného na polymerních strukturách probíhá rychleji než biode-

gradace samotného BPA. Při samotné biodegradaci tedy dochází k degradaci nejen PBAT, ale i BPA na něm sorbovaném. Porézní a neporézní struktury pro adsorpci fenolických látek neslouží tedy jenom pro samotný proces adsorpce, ale taktéž výrazněji zrychlují biodegradaci těchto fenolických látek v životním prostředí.

Přibližná koncentrace BPA adsorbovaného na částicích při zavedeném pokusu činila při 100% účinnosti extrakce okolo $197,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Pro přesně zjištěnou účinnost extrakce (83,39 %) pak nabývala hodnot okolo $164,7 \text{ mg.l}^{-1}$. Při srovnání této hodnoty s hodnotami zbytkového BPA v biometrických láhvích po biodegradaci, uvedených v Tab. č. 16, lze říci, že vlivem mikroorganismů docházelo k poměrně vysoké mineralizaci i samotného bisfenolu A až do hodnot $12,9 \text{ mg.l}^{-1}$.

Při srovnání výsledných hodnot koncentrací BPA porézní a neporézní struktury po biodegradaci byly hodnoty zbytkové koncentrace BPA nižší u struktur neporézních, kde dosáhly hodnoty téměř o polovinu nižší než u struktur porézních. Tyto hodnoty mohou být způsobeny pomalejší degradací BPA uvnitř pórů částic.

U láhví odebraných o týden později probíhala biodegradace déle, je zde tedy předpoklad, že hodnoty koncentrace zbytkového BPA budou nižší. Vzorek MČ_S_A s BPA odebraný 67 den má však nižší hodnotu ($21,3 \text{ mg.l}^{-1}$) než vzorek odebraný o týden později MČ_S_A s BPA ($24,8 \text{ mg.l}^{-1}$). Tyto výsledné hodnoty mohou být způsobeny nižšími hodnotami produkce oxidu uhličitého během celého biodegradačního pokusu či slepením použitých částic.

Tab. č. 16: Výsledná koncentrace BPA v jednotlivých biometrických láhvích po biodegradaci

Označení vzorku	Odběr	Biodegradace (dny)	Plocha Peaku A	Koncentrace vypočtená z rovnice lin. regrese C_{lin}^* [mg.l ⁻¹]
MČ_S_A s BPA	1. odběr	67	$2,36 \cdot 10^3$	21,3
	2. odběr	74	$2,74 \cdot 10^3$	24,8
MČ_BEZ s BPA	1. odběr	67	$2,34 \cdot 10^3$	21,1
	2. odběr	74	$1,43 \cdot 10^3$	12,9
21_BPA	1. odběr	67	$3,79 \cdot 10^3$	34,3
	2. odběr	74	$3,61 \cdot 10^3$	32,7

*Tyto výsledné hodnoty koncentrace zbytkového BPA se vztahují na výtěžnost modelového vzorku, který měl hodnotu výtěžnosti 83,39 % vypočtenou dle vzorce (18).

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo vytvořit porézní mikro a submikro částice z biodegradovatelného polymeru PBAT se schopností adsorpce fenolických látek, převážně bisfenolu A. Struktury byly vytvořeny porézní i neporézní s nadouvadlem hexan a NH_4HCO_3 ve dvou různých velikostech (malé a velké částice). Přítomnost nadouvadla na připravené struktury byla velmi důležitá pro vytvoření porézních částic. Samotný typ nadouvadla měl pak vliv na vzniklý specifický povrch částic.

Z provedených experimentálních měření (specifický povrch, morfologie, adsorpční izoterma) byly malé expandované částice s nadouvadlem NH_4HCO_3 (MČ_S_A) vyhodnoceny jako nejvhodnější pro adsorpci fenolických látek z vodného prostředí a následnou biodegradaci. Tyto částice současně malými částicemi bez nadouvadla (MČ_bez) byly mineralizovány, po dobu 81 dní, jak s adsorbovaným BPA, tak bez BPA. Současně probíhala za stejných podmínek i mineralizace samotného BPA. Po dvou týdnech mineralizace byly MČ_S_A i MČ_bez, neobsahující adsorbovaný BPA, z 80 % mineralizovány. Po 40 dnech se mineralizace pozastavila v hodnotách okolo 95 %. Částice s adsorbovaným BPA byly mineralizovány pomaleji. Jelikož samotný BPA biodegradční procesy spíše inhiboval, bylo následně v prostředí kompostu provedeno stanovení úbytku bisfenolu A vlivem biodegradace mikroorganismy. Za vhodnou metodu pro toto stanovení byla na základě studií zvolena kapalinová chromatografie (LC-MS/MS). Výsledkem tohoto stanovení byly koncentrace zbytkového BPA po biodegradaci, které nabývaly hodnot výrazně nižších, než byla původní koncentrace adsorbovaného BPA při zavedeném pokusu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SELVARAJ, Krishna Kumar a kol. Gc–ms determination of bisphenol a and alkylphenolethoxylates in river water from india and their ecotoxicological risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. 2014, **99**, 13 - 20 [cit. 2016-04-23].
- [2] BASHEER, Chanbasha a kol. Determination of alkylphenols and bisphenol-A A comparative investigation of functional polymer-coated membrane microextraction and solid-phase microextraction techniques. *Journal of Chromatography*[online]. 2005, **1087**, 274 - 282 [cit. 2016-04-23].
- [3] PATOČKA, Jiří. Bisfenol A: je opravdu nebezpečný?. *Toxicology* [online]. [cit. 2016-04-23]. Dostupné z:
<http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=355>
- [4] Bisphenol A. *A Safety and Handling Guide* [online]. 1997, 16 [cit. 2016-04-23].
- [5] BAUTISTA - TOLEDO, I. a kol. Bisphenol A Removal from Water by Activated Carbon. Effects of Carbon Characteristics and Solution Chemistry. *Environmental Science Technology* [online]. 2006, **39**, 6246 - 6250 [cit. 2016-04-23].
- [6] CABATON, Nicolas a kol. Biotransformation of bisphenol F by human and rat liver subcellular fractions. *Toxicology in Vitro*[online]. 2008, **22**, 1697 - 1704 [cit. 2016-04-23].
- [7] MICHALOWICZ, Jaromir. Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation. *Envoronmental Toxicology and Pharmacology* [online]. 2014, **37**, 738 - 758 [cit. 2016-04-23].
- [8] FISCHER, Janett a kol. The degradation of bisphenol A by the newly isolated bacterium *Cupriavidus basilensis* JF1 can be enhanced by biostimulation with phenol. *International Biodegradation and Biodegradation* [online]. 2010, **64**, 324 - 330 [cit. 2016-04-23].
- [9] ZHANG, Chang a kol. Aerobic degradation of bisphenol A by *Achromobacter xylosoxidans* strain B-16 isolated from compost leachate of municipal solid waste. *Chemosphere*[online]. 2007, **68**, 181 - 190 [cit. 2016-04-23].

- [10] SAKAI, Kiyofumi a kol. Bidegradation of Bisphenol A and Related Compounds by *Sphingomonas sp.* Strain BP - 7 Isolated from Seawater. *Bioscience Biotechnol. Biochem.* [online]. 2007, **71**(1), 51 - 57 [cit. 2016-04-23].
- [11] LI, Guiying a kol. Biodegradation and detoxification of bisphenol A with one newly-isolated strain *Bacillus sp.* GZB: Kinetics, mechanism and estrogenic transition. *Bioresource Technology* [online]. 2012, **114**, 224 - 230 [cit. 2016-04-23].
- [12] ZHAO, Junming a kol. Sorption and degradation of bisphenol A by aerobic activated sludge. *Journal of hazardous materials*[online]. 2008, **155**, 305 - 311 [cit. 2016-04-23].
- [13] MATSUMURA, Yoshinobu a kol. Isolation and Characterization of Novel Bisphenol - A - Degrading Bacteria from Soils. *Biocontrol Science* [online]. 2009, **14**(4), 161 - 169 [cit. 2016-04-23].
- [14] LIAO, Chien – Sen a kol. Removal of organic toxic chemicals using the spent mushroom compost of *Ganoderma lucidum*. *Journal of Environmental Monitoring* [online]. 2012, **14** [cit. 2016-04-23].
- [15] SAIYOD, S. a kol. Bisphenol A removal by the *Dracaena* plant and the role of plant-associating bacteria. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2010, **178**, 777 - 785 [cit. 2016-04-23].
- [16] ROCHA, Sónia a kol. Occurrence of Bisphenol A, Estrone, 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinylestradiol in Portuguese Rivers. *Bull Environm. Contam. Toxicol.* [online]. 2013, **90**, 73 - 78 [cit. 2016-04-23].
- [17] CHU, Shaogang a kol. Simultaneous determination of tetrabromobisphenol A, tetrachlorobisphenol A, bisphenol A and other halogenated analogues in sediment and sludge by high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*[online]. 2005, **1097**, 25 - 32 [cit. 2016-04-23].
- [18] SAJIKI, Junko a kol. Sensitive method for the determination of bisphenol-A in serum using two systems of high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*[online]. 1999, **736**, 255 - 261 [cit. 2016-04-23].

- [19] RODRIGUEZ - MOZAZ, Sara. Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction–liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2004, **1045**, 85 - 92 [cit. 2016-04-23].
- [20] HADJMOHAMMADI, MR. a kol. Determination of bisphenol A in Iranian packaged milk by solid-phase extraction and HPLC. *Monatsh Chem* [online]. 2010, **141**, 501–506 [cit. 2016-04-23].
- [21] ZHAO, RS. A kol. Highly sensitive determination of tetrabromo bisphenol A and bisphenol A in environmental water samples by solid-phase extraction and liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *J Sep. Sci.* [online]. 2010, **33**, 1652–1657 [cit. 2016-04-23].
- [22] WANG, X. a kol. Rapid determination of bisphenol A in drinking water using dispersive liquid-phase microextraction with in situ derivatization prior to GC-MS. *J Sep. Sci.* [online]. 2009, **32**, 154–159 [cit. 2016-04-23].
- [23] WANG, X. a kol. Selective determination of bisphenol A (BPA) in water by a reversible fluorescence sensor using pyrene/dimethyl β -cyclodextrin complex. *Anal Chem. Acta* [online]. 2006, **556**, 313–318 [cit. 2016-04-23].
- [24] WANG, SH. A kol. Determination of bisphenol A using a flow injection inhibitory chemiluminescence method. *Luminescence* [online]. 2009, **20**, 46–50 [cit. 2016-04-23].
- [25] WANG, F. a kol. Mesoporous silica-based electrochemical sensor for sensitive determination of environmental hormone bisphenol A. *Anal Chim Acta* [online]. 2009, **638**, 23–28 [cit. 2016-04-23].
- [26] PORTACCIO, M. a kol. A thionine-modified carbon paste Voltammetric determination of bisphenol A in food package 385 amperometric biosensor for catechol and bisphenol A determination. *Biosens Bioelectron* [online]. 2010, **25**, 2003–2008 [cit. 2016-04-23].
- [27] LI, Junhua. Voltammetric determination of bisphenol A in food package by a glassy carbon electrode modified with carboxylated multi-walled carbon nanotubes. *Microchim Acta* [online]. 2011, **172**, 379 - 386 [cit. 2016-04-23].

- [28] Směrnice Evropského parlamentu a rady (ES) č. 48/2009 ze dne 18. Června o bezpečnosti hraček. *Eur-lex – Europa* [online].
Dostupné z:
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:170:0001:0037:cs:PDF>
[cit. 2016-04-23].
- [29] Směrnice komise (EU) č. 8/2011 ze dne 28. ledna, kterou se mění směrnice 2002/72/ES, pokud jde o omezení používání bisfenolu A v plastových kojeneckých láhvích. *Eur-lex – Europa* [online].
Dostupné z:
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:026:0011:0014:CS:PDF>
[cit. 2016-04-23].
- [30] Vyhláška č. 38/2001 ze dne 19. ledna. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy. *Zákony pro lidi* [online]. Dostupné z: <http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-38> [cit. 2016-04-23].
- [31] Nařízení vlády č. 23/2011 ze dne 22. Prosince o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech. *Eagri* [online]. Dostupné z:
http://eagri.cz/public/web/file/105217/sb0008_2011_23_2011.pdf
[cit. 2016-04-23].
- [32] *Cenia* [online]. Praha: Česká informační agentura životního prostředí, 2012 [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: www.cenia.cz
- [33] PAN, B. C. Adsorption of phenolic compounds from aqueous solution onto a macroporous polymer and its aminated derivative: isotherm analysis. *Journal of Hazardous Materials*[online]. 2005, **B121**, 233 - 241 [cit. 2016-04-23].

- [34] TSAI, Wen-Tien a kol. Adsorption of bisphenol-A from aqueous solution onto minerals and carbon adsorbents. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2006, **B134**, 169 - 175 [cit. 2016-04-23].
- [35] PONEC, Vladimír, Zlatko KNOR a Slavoj ČERNÝ. *Adsorpce na tuhých látkách*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1968..
- [36] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2005. ISBN 80-7080-579-X.
- [37] CRINI, Grégorio. Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment. *Progress in polymer science* [online]. 2005, **30**, 38 - 70 [cit. 2016-04-23].
- [38] BADIEI, Alireza a kol. Adsorptive Removal of Toxic Dye From Aqueous Solution and Real Industrial Effluent by Tris(2-aminoethyl)amine Functionalized Nanoporous Silica. *Environmental Progress and Sustainable Energy* [online]. 2014, **30**(4), 1242 - 1250 [cit. 2016-04-23].
- [39] GIL, A. a kol. Removal of dyes from wastewaters by adsorption on pillared clays. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2011, **168**, 1032 - 1040 [cit. 2016-04-23].
- [40] CHEN, Xiaoqiang a kol. Factors affecting the adsorptive removal of bisphenol A in landfill leachate by high silica Y-type zeolite. *Environmental Science Pollut. Res.* [online]. 2015, **22**, 2788 - 2799 [cit. 2016-04-23].
- [41] ZHANG, Weiming a kol. Cooperative adsorption behaviours of 1-naphthol and 1-naphthylamine onto nonpolar macroreticular adsorbents. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2006, **66**, 485 - 493 [cit. 2016-04-23].
- [42] JUANG, Ruey-Shin a kol. Estimation of the contribution of immobilized biofilm and suspended biomass to the biodegradation of phenol in membrane contactors. *Biochemical Engineering Journal* [online]. 2009, **43**, 122 - 128 [cit. 2016-04-23].

- [43] HARTONO, Maria H. a kol. Use of Bamboo Powder Waste for Removal of Bisphenol A in Aqueous Solution. *Water Air Soil Pollut.* [online]. 2015, **226** [cit. 2016-04-23].
- [44] CASTILLEJOS, Eva a kol. Phenol adsorption from water solutions over microporous and mesoporous carbon surfaces: a real time kinetic study. *Adsorption* [online]. 2011, **17**, 483 - 488 [cit. 2016-04-23].
- [45] VYSLOUŽIL, Jakub a kol. Příprava léčivých mikročásteček metodou odpařování rozpouštědla. *Chemické listy* [online]. 2013, **107**, 16 - 23 [cit. 2016-04-23].
- [46] COELHO, J. a kol. Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. *EPMA*[online]. 2010, **1**(1), 164 - 209 [cit. 2016-04-23].
- [47] CAMPOS, Elisa a kol. Designing polymeric microparticles for biomedical and industrial applications. *European Polymer Journal* [online]. 2013, **49**, 2005 - 2021 [cit. 2016-04-23].
- [48] RAO, J. Prasad a Kurt E. GECKELER. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science* [online]. 2011, **36**, 887 - 913 [cit. 2016-04-23].
- [49] HONG, Yi a kol. Preparation of porous polylactide microspheres by emulsion-solvent evaporation based on solution induced phase separation. *Polymers for Advanced Technologies*[online]. 2005, **16**, 622 - 627 [cit. 2016-04-23].
- [50] SHI, Xudong a kol. Biodegradable Polymeric Microcarriers with Controllable Porous Structure for Tissue Engineering. *Macromol. Biosci.* [online]. 2009, **9**, 1211 - 1218 [cit. 2016-04-23].
- [51] REN, Yueming a kol. Synthesis and properties of bisphenol A molecular imprinted particle for selective recognition of BPA from water. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 2012, **367**(1), 355 - 361 [cit. 2016-04-23].
- [52] STRAUB, Julie Ann a kol. *Method for making porous microparticles by spray drying*. United States. 5853698. Přihlášeno 29, 1998.
- [53] WALDRON, K. a kol. On spray drying of uniform mesoporous silica microparticles. *Advances in Functional Materials* [online]. 2016, **3**, 646 - 651 [cit. 2016-04-23].

- [54] HEALY, A.M. a kol. Characterisation of excipient-free nanoporous microparticles (NPMPs) of bendroflumethiazide. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2008, **69**, 1182 - 1186 [cit. 2016-04-23].
- [55] Yamamoto, M., et al., *Biodegradable Aliphatic-Aromatic Polyesters: "Ecoflex®"*. Biopolymers Online 2005: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [56] FUKUSHIMA, Kikku. PBAT based nanocomposites for medical and industrial applications. *Materials Science and Engineering* [online]. 2012, **C 32**, 1331 - 1351 [cit. 2016-04-23].
- [57] PIŠ, Vladimír. *Biodegradace nových syntetických materiálů*. Zlín, 2011. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
- [58] KASYUA, Ken – ichi a kol. Characterization of a mesophilic aliphatic–aromatic copolyester-degrading fungus. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2009, **94**, 1190 - 1196 [cit. 2016-04-23].
- [59] CHROMÝ, Vratislav a kol. *Management kvality v analytické a klinické chemii*. první vydání. Brno: Masarykova univerzity, Brno, PřF, Ústav chemie, 2009. 215 s. ISBN 978-80-903732-6-6.
- [60] SHAO, Bing a kol. Determination of alkylphenol and bisphenol A in beverages using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta* [online]. 2005, **530**, 245 - 252 [cit. 2016-05-07].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

APCI	Ionizace za atmosférického tlaku.
APEOs	Alkylfenolpolyethoxyláty.
APs	Alkylfenoly.
BET	Brunauer-Emmett-Teller adsorpční izoterma.
BFMT	Bendroflumethiazid.
BHJ	Barret-Joyner-Halend metoda.
BPA	Bisfenol A.
BSM	Solné médium.
BSTFA	Bis (trimethylsilyl)trifluoracetamid.
CMR	látky karcinogenní, mutagenní či toxické pro reprodukci.
COD = CHSK	Chemical oxygen demand (Chemická spotřeba kyslíku).
CPE	Thionin/ uhlíková elektroda.
DEHP	Bis (2- ethylhexyl) ftalát.
DMF	Dimethylformamid.
DOC	Celkový rozpuštěný uhlík.
DSC	Diferenční kompenzační kalorimetrie
E1	Estron.
E2	17 β – estradiol.
ED	Elektrochemický detektor.
EDCs	Endokrinní disruptory.
EE2	17 α – ethinylestradiol.
ESI	Ionizace elektrosprejem.
FTIR-ATR	Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací.
GC/MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí.
GCE	Skelná uhlíková elektroda.

HDPE	Vysokohustotní polyetylén.
HPLC	Kapalinová chromatografie.
HSDM	Difuzní model s homogenním povrchem.
MC	Methylcelulóza.
MSTFA	N–methyl–N–(trimethylsilyl)trifluoracetamid.
MTBE	Methyleter–buthyleter.
NP	Nonylfenol.
NPnEOs	Nonylfenolpolyethoxylát.
O/ W/ O	Oil/ water/ oil.
O/O	Oil/ oil.
O/V	Oil/ water (nepolární látka/ polární látka).
OP	Oktylfenol.
PBAT	Poly (butylen adipát co-tereftalát).
PDI	Polydisperzní index.
PLA	Kyselina polymléčné.
PSD	Průměrná distribuce částic a velikosti.
PVA	Polyvinylalkohol.
QMA	Nejvyšší přípustná dávka množství zbytkové látky.
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie.
SML	Specifický migrační limit v potravině.
SPE	Extrakce v tuhé fázi.
TBBPA	Tetrabrombisfenolu A.
TCBPA	Tetrachlorbisfenolu A.
TCD	Teplotně vodivostní detektor.
TDI	Tolerovaný denní příjem.
T _g	Teplota skelného přechodu.

THF	Tetrahydrofuran.
TKO	Tuhý komunální odpad.
T _m	Teplota tání.
TN	Total nitrogen (celkový dusík).
TSS	Total suspended solids (Celkové nerozpuštěné látky).
W/ O/ W	Water/ oil/ water.
ZD	Průměr částic.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: Syntéza BPA reakcí fenolu a acetonu.....	13
Obr. č. 2: Strukturální vzorec 2,2- bis(4-hydroxyfenyl)propan (Bisfenol A).....	14
Obr. č. 3: Procentuální výskyt jednotlivých forem bisfenolu A při různém pH prostředí	16
Obr. č. 4: Biotransformační cesta Bisfenolu A u savců.....	18
Obr. č. 5: Schéma metody odpaření rozpouštědla pro přípravu mikročástic.....	39
Obr. č. 6: Chemický strukturální vzorec PBAT.....	42
Obr. č. 7: Skenovací elektronová mikroskopie malých porézních částic s použitým hexanem jakožto rozpouštědlem: a) zvětšení 1000x , b) zvětšení 5000x.....	63
Obr. č. 8: Skenovací elektronová mikroskopie velkých porézních částic s použitým NH_4HCO_3 jakožto rozpouštědlem: a) zvětšení 1000x , b) zvětšení 5000x.....	63
Obr. č. 9: Adsorpční izoterma pro bisfenol A ve vodném prostředí na velkých částicích (Freundlichův model).....	65
Obr. č. 10: Adsorpční izoterma pro bisfenol A ve vodném prostředí na malých částicích (Freundlichův model).....	65
Obr. č. 11: FTIR-ATR spektra BPA, MČ_S_H a částic po adsorpci BPA.....	67
Obr. č. 12: FTIR-ATR spektra BPA, MČ_S_A a částic po adsorpci BPA.....	67
Obr. č. 13: Celková mineralizace připravených struktur v průběhu několika týdnů.....	69
Obr. č. 14: Hmotnostní spektrum BPA.....	70
Obr. č. 15: Chromatogram bisfenolu A pro vzorek MČ_S_A s adsorbovaným BPA.....	71

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. č. 1: Některé vybrané vlastnosti BPA.....</i>	<i>14</i>
<i>Tab. č. 2: Rozpustnost BPA v některých rozpouštědlech.....</i>	<i>15</i>
<i>Tab. č. 3: Možné způsoby degradace BPA mikroorganismů.....</i>	<i>19</i>
<i>Tab. č. 4: Charakterizace výluhu z TKO.....</i>	<i>20</i>
<i>Tab. č. 5: Některé další bakteriální kmeny se schopností biodegradace BPA izolovány z půdních vzorků.....</i>	<i>22</i>
<i>Tab. č. 6: Některé další houby se schopností biodegradace BPA.....</i>	<i>23</i>
<i>Tab. č. 7: Porovnání metod využívaných k analýze BPA.....</i>	<i>26</i>
<i>Tab. č. 8: Některé hodnoty přípustného znečištění fenolickými látkami uváděné v nařízení vlády 23/2011 Sb.....</i>	<i>27</i>
<i>Tab. č. 9: Přehled sorbentů používaných v čištění odpadních vod.....</i>	<i>36</i>
<i>Tab. č. 10: Některé typické vybrané vlastnosti Ecoflexu.....</i>	<i>42</i>
<i>Tab. č. 11: Navážky jednotlivých komponent pro přípravu roztoku stopových prvků.....</i>	<i>52</i>
<i>Tab. č. 12: Pipetované množství jednotlivých roztoků pro přípravu 200 ml minerálního média.....</i>	<i>53</i>
<i>Tab. č. 13: Teplota při měření na GC Agilent 7980.....</i>	<i>53</i>
<i>Tab. č. 14: Podmínky přípravy částic a výsledné charakteristické parametry částic.....</i>	<i>61</i>
<i>Tab. č. 15: Parametry Freundlichova modelu pro jednotlivé vzorky a jejich koeficient determinace (R^2).....</i>	<i>66</i>
<i>Tab. č. 16: Výsledná koncentrace BPA v jednotlivých biometrických láhvích po biodegradaci.....</i>	<i>73</i>

