Stanovení anaerobního rozkladu směsných polymerů na bázi PVAL

Bc. Jitka Hubáčková

Diplomová práce
2007

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí
akademický rok: 2006/2007

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Jitka HUBÁČKOVÁ**
Studijní program:	**N 2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor:	**Inženýrství ochrany životního prostředí**
Téma práce:	**Stanovení anaerobního rozkladu směsných polymerů na bázi PVAL**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární studii chování směsí PVA a škrobů v anerobním prostředí. Doplňte a aktualizujte přehled publikovaných prací anaerobního rozkladu směsných polymerů na bázi polyvinylalkoholu a polysacharidů (Xanthan a Gellan). K tomu využijte vědecké databáze Web of Science, Science Direct a SciFinder. 2. Proveďte testy biologické rozložitelnosti vzorků směsí a folií na bázi PVA a samostatných složek (Mowiol 5-88, škrobu WAXY, glycerolu, polysacharidů Xanthanu a Gellanu) v anaerobním vodním prostředí. Zaměřte se především na analýzu plynných produktů anaerobního rozkladu, tj. sledování produkce methanu a oxidu uhličitého plynovou chromatografii. 3. Veškerá naměřená data vyhodnoťte a zpracujte přehledně písemnou formou, tabelárně i graficky v diplomové práci.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Vědecké databáze Web of Science, Science Direct a SciFinder

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2007**

Termín odevzdání diplomové práce: **25. května 2007**

Ve Zlíně dne 1. února 2007

prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan

L.S.

UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ
Fakulta technologická
①

doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Tato práce se zabývala testováním biorozložitelnosti u vzorků směsí PVAL s polysacharidy (škrobem, xanthanem, gellanem) ve vodném anaerobním prostředí. Anaerobní rozklad byl sledován na základě produkce methanu a oxidu uhličitého metodou plynové chromatografie.

Testované vzorky směsí obsahovaly od 25 – 70 hmot. % biodegradabilních složek (polysacharid + glycerol), u nějž byl rozklad v rozmezí 20 – 70%. Bylo prokázáno, že stupeň anaerobního rozkladu odpovídal procentuálnímu zastoupení biologicky rozložitelných složek ve směsi. Obecně se potvrdilo, že čím vyšší zastoupení biologicky lépe rozložitelných složek ve směsi, tím byla lepší degradace. Nejméně rozložitelný byl PVA Mowiol 5-88, a to cca z 8% za 300 h. Naopak u škrobu WAXY a glycerolu proběhla degradace cca ze 77% za 250 h. Nejvyššího stupně degradace bylo dosaženo u xanthanu a gellanu – kolem 90%.

Klíčová slova: polyvinylalkohol, PVAL, polysacharidy, škrob, glycerol, xanthan, gellan, biodegradace, anaerobní rozklad

ABSTRACT

This work was conducted into biological degradation of PVAL modified, mixed samples with polysaccharides (starch, xanthan, gellan) in aqueous anaerobic environment. Anaerobic degradation was based on determination of production of methan and carbon dioxide method gas chromatography and TOC determination. PVAL mixed samples contained from 25 – 70 weight % biodegradable components (polysaccharides + glycerol), was degradeted from 20 to the 70%. There was demonstrated that the value of percentage anaerobic degradation was proportionate to the representation of biodegradable components in the sample. The pure PVAL (Mowiol 5-88) was degradeted from about 8% in 300 hours. The degradation of WAXY starch and the glycerol was about 77% in 250 hours. The highest degree of anaerobic degradation was reached for the xanthan and gellan – about 90%.

Keywords: poly(vinyl alcohol), PVAL, polysaccharides, starch, glycerol, xanthan, gellan, biodegradation, anaerobic degradation

Úvodem bych chtěla velmi poděkovat vedoucí své diplomové práce Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné připomínky a trvalý zájem, který mi věnovala v průběhu celé diplomové práce.

Děkuji také všem ostatním pracovníkům Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za jejich ochotu a vstřícnost při práci na této diplomové práci, zejména Ing. Markétě Julinové, Ph.D., Ing. Pavlovi Dřímalovi Ph.D. a paní Libosvárové.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být naloženo podle uvážení vedoucí diplomové práce a vedoucího ústavu. V případě publikace budu uvedena jako spoluautor.

Prohlašuji, že jsem na celé diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Ve Zlíně, 23. 05. 2007 .....

jméno diplomanta

OBSAH

ÚVOD **8**

I TEORETICKÁ ČÁST **9**

1 ANAEROBNÍ ROZKLAD **10**

1.1 PRŮBĚH ANAEROBNÍHO ROZKLADU ORGANICKÝCH LÁTEK 10

1.2 MIKROORGANISMY ANAEROBNÍHO ROZKLADU 11

1.3 FAKTORY, KTERÉ OVLIVŇUJÍ ANAEROBNÍ ROZKLAD 12

2 POLYVINYLALKOHOL A JEHO ANAEROBNÍ ROZKLAD **14**

2.1 POLYVINYLALKOHOL 14

2.1.1 Výroba a aplikace PVA 14

2.2 BIOROZLOŽITELNOST PVA 15

2.2.1 Biorozložitelnost PVA za anaerobních podmínek 16

3 MODIFIKACE PVA **19**

3.1 POLYSACHARIDY 19

3.1.1 Škrob 19

3.1.2 Xanthan 21

3.1.3 Gellan 21

3.2 DEGRADACE SYNTETICKÝCH POLYMERŮ VE SMĚSI S VYBRANÝMI POLYSACHARIDY 22

II CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE **26**

III EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST **28**

4 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, BIOLOGICKÝ MATERIÁL, TESTOVANÉ VZORKY **29**

4.1 CHEMIKÁLIE 29

4.2 MINERÁLNÍ MEDIUM 30

4.3 BIOLOGICKÝ MATERIÁL 30

4.4 TESTOVANÉ VZORKY 30

4.4.1 Srovnávací látky 30

4.4.2 Zkoušené látky 31

4.4.3 Dávkování vzorků 33

4.5 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ 34

5 METODY STANOVENÍ **35**

5.1 STANOVENÍ ANAEROBNÍ ROZKLADU 35
5.2 STANOVENÍ SUŠINY 36
5.3 STANOVENÍ ZTRÁTY ŽÍHÁNÍM 36
5.4 STANOVENÍ CELKOVÉHO UHLÍKU 36
5.5 MĚŘENÍ PH 37
5.6 HODNOCENÍ ANAEROBNÍ DEGRADACE Z HLEDISKA PRODUKCE CH_4 A CO_2 37
6 ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT 39
IV VÝSLEDKY A DISKUSE 42
7 SLEDOVÁNÍ DEGRADACE V ANAEROBNÍM VODNÉM PROSTŘEDÍ 43
7.1 TEST Č.1 44
7.2 TEST Č. 2 50
7.3 TEST Č. 3 58
7.4 TEST Č. 4 63
ZÁVĚR 69
SEZNAM POUŽITÉ LITERATUR 71
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK 74
SEZNAM OBRÁZKŮ 75
SEZNAM TABULEK 77

ÚVOD

Celosvětovým problémem moderní doby je z hledisky životního prostředí neustále narůstající množství plastového odpadu. Dnes se spotřební zboží vyrábí převážně z plastického materiálu. Vyznačuje se hlavně vhodnými technologickými a ekonomickými parametry. Negativními vlastnostmi těchto materiálů je kromě vyčerpávání neobnovitelných fosilních zdrojů, jejich hromadění z důvodu dlouhodobého setrvání v prostředí.

V dnešní době většina tohoto plastového odpadu končí na skládce, kde vznikající skleníkové plyny přispívají k jejich celkovému nárůstu v našem prostředí, a navíc hrozí nebezpečí průsaku jedovatých látek do podzemních vod. Podobně jsou na tom spalovny odpadů, podílející se též na vzniku skleníkových plynů, i když dnes je systém vypouštěných emisí kontrolován.

Jak je možné vyřešit situaci s odpady? Je řada způsobů jak zmírnit tyto negativní vlivy na životní prostředí, ale nejjednodušším řešením je prevence, tedy aby nedocházelo k ustavičnému hromadění odpadů. Dále možnost využití těchto surovin k dalšímu zpracování. Nebo!!! Vyrábět materiály využívající takové technologie, ve kterých je už zohledněna minimalizace negativních vlivů na životní prostředí v jeho celém životním cyklu, tedy od výroby, přes použití až po stav, kdy se výrobek stane odpadem. Příkladem mohou být tzv. biodegradabilní plasty, kdy se po uplynutí své životnosti stávají odpadem snadno rozložitelným. Existuje celá řada technologií, jak vyrábět biologicky rozložitelné polymery. Jednou z možností jsou modifikace polymerů např. plnění (plast je smíchán s látkou biologicky rozložitelnou). Mezi nejčastěji využívané biopolymery patří škrob, celulóza, bílkoviny aj. Výhodou biopolymerů je, že jsou to levné a obnovitelné suroviny.

K těmto modifikacím jsou vhodné i synteticky vyrobené plasty, a to např. takové, které mají v hlavním řetězci své struktury určitý heteroatom (O, N) nebo jsou vodorozpustné. Polyvinylalkohol (PVA) je jedním z nejvyužívanějších, jelikož jeho potenciální rozpustnost ve vodě přispívá k samotné degradaci.

Tato diplomová práce je zaměřena na studium degradace PVA, dále i jeho směsí s polysacharidy (škrobem, xanthanem, gellanem) v anaerobním vodném prostředí.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANAEROBNÍ ROZKLAD

Proces anaerobního biologického rozkladu má stále větší uplatnění při zpracování průmyslových, zemědělských i městských odpadů. K výhodám se především řadí ekonomická a energetická nenáročnost, nižší produkce biomasy a nízké požadavky na živiny. Nevýhodou je malá reakční rychlost a citlivost methanogenních mikroorganismů

Anaerobní odbourávání je charakterizováno řadou následných rozkladných stupňů, na kterých se podílí několik základních skupin mikroorganismů. Rozklad organických látek až na konečné produkty (methan, oxid uhličitý, sulfan, amoniak, vodík, vzniklá biomasa, stabilizovaná organická hmota) bez přístupu vzduchu vyžaduje jejich koordinovanou metabolickou spolupráci – produkt jedné skupiny mikroorganismů se stává substrátem skupiny druhé [1].

Při bilancování energie v anaerobních procesech je téměř 90% energie obsažené v substrátu zachováno ve vzniklém bioplynu, 5-7 % je spotřebováno na růst nové biomasy a 3-5 % se ztrácí ve formě reakčního tepla. Uhlík ze substrátu přechází z 95% do bioplynu a 5 % uhlíku do biomasy [1].

Anaerobní biologický rozklad je možno rozdělit do dvou stupňů:

- úplný anaerobní biologický rozklad: stupeň rozkladu, kdy zkoušená látka je využita anaerobními mikroorganismy za vzniku CO_2, CH_4, minerálních látek a nové biomasy.
- primární anaerobní biologický rozklad: stupeň rozkladu, kdy zkoušená látka v důsledku činnosti anaerobních mikroorganismů jakkoliv změnila strukturu, aniž došlo k úplné mineralizaci [2].

1.1 Průběh anaerobního rozkladu organických látek

Celkový průběh lze rozdělit na čtyři skupiny procesů, a to hydrolýzy, acidogeneze, acetogeneze a methanogeneze.

Hydrolýza: Zde dochází k rozkladu makromolekulárních organických látek (polysacharidy, lipidy, bílkoviny) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě pomocí mimobuněčně působících hydrolytických enzymů. Tyto vznikající látky jsou obvykle schopny transportu dovnitř buněk.

Acidogenese: Produkty z prvního stadia jsou pak dále rozkládány na jednodušší organické látky (alkoholy, kyseliny, CO_2, H_2). Při fermentaci těchto látek se vytvářejí skupiny redukovaných produktů. Ty jsou závislé na vlastnostech počátečního substrátu a podmínkách prostředí. Při velmi nízkých koncentracích vodíku jsou produkovány kyselina octová, CO_2, H_2. Naopak při vyšších hodnotách koncentrace vodíku jsou vytvářeny vyšší organické kyseliny než octová, ethanol apod [1].

Acetogeneze: Probíhá přeměna látek vzniklých při acidogenesi na CO_2, H_2, kyselinou octovou, alkoholy a některé aromatické sloučeniny.

Methanogeneze: V tomto závěrečném stadiu se podílejí na rozkladu látek (methanol, kyselina mravenčí, methylaminy, CO_2, H_2, CH_3COOH) methanogenní organismy. Konečnými produkty rozkladu jsou CH_4 a CO_2 [1].

1.2 Mikroorganismy anaerobního rozkladu

Na anaerobním stabilizaci kalu se vedle různých druhů bakterií podílí také biologicky neaktivní organické a anorganické látky [2].

Druhy mikroorganismů podílející se na anaerobní rozkladu můžeme rozdělit do několika skupin:

a. *hydrolytické a fermentační bakterie* odpovědné za hydrolýzu a acidogenezi, tyto mikroorganismy rostou nejrychleji a jsou velmi odolné. Na fermentační fázi se podílí např. fakultativně aerobní bakterie Escherichia coli a anaerobní bakterie rodu Clostridium [3].
b. za acetogenezi jsou odpovědné *acetogenní bakterie* (obecněji syntrofní bakterie), produkující H_2 a jsou na jeho produkci velmi závislé, jelikož je pro ně konečným produktem. Vyšší koncentrace vodíku v prostředí posouvá rovnováhu jejich biochemické reakce opačným směrem a inhibuje jejich růst a metabolismus.
c. *homoacetogenní mikroorganismy* mohou růst na víceuhlíkatých i jednouhlíkatých substrátech, ty netvoří H_2. Naopak některé druhy při růstu na oxidu uhličitém vodík spotřebovávají a podílejí se tak vedle methanogenních bakterií na celkovém udržování nízké koncentrace vodíku v systému. Mezi homoacetogeny můžeme řadit Clostridium thermoaceticum a Butyribacterium methylotrophicum [4].

d. *denitrifikační a desulfatační mikroorganismy* jsou v anaerobním procesu velice důležitou skupinou. Rostou na víceuhlíkatých substrátech a spotřebovávají i anorganické anionty síranové a dusičnanové. Produktem jejich činnosti je pak vedle kyseliny octové a vodíku i sulfan a dusík. Do skupiny bakterií desulfatačních patří rody Desulfovibrio, Desulfotomaculum a Desulfobulbus [4].
e. *methanogenní mikroorganismy* jsou nejdůležitější skupinou anaerobního rozkladu. Mají specifické požadavky na životní podmínky a substrát. Zakončují metabolický řetězec methanizace organických látek převedením konečných uhlíkatých produktů do plynné fázi [1].

1.3 Faktory, které ovlivňují anaerobní rozklad

1) Vliv teploty

Teplota patří mezi nejdůležitější faktory ovlivňující rychlost růstu mikroorganismů. S rostoucí teplotou roste rychlost všech probíhajících reakčních procesů.

U směsných kultur je teplota rozhodujícím ukazatelem, jež má pak vliv na jejich složení. Mikrobiální tvorba methanu probíhá v širokém rozmezí od 4-65°C. Většina anaerobních reaktorů pro stabilizaci kalu a pro čištění odpadních vod pracuje v mezofilní oblasti (30-45°C), část v termofilní oblasti (45-60°C).

2) Vliv pH

Mechanismus účinku pH je velmi složitý a rozdílný pro různé mikroorganismy. Pro procesy biomethanizace jsou zvláště významné rovnováhy CO_2, H_2S, NH_3 a kyseliny octové a propionové. Optimální hodnota pro růst methanogenních organismů se pohybuje kolem neutrální hodnoty 6,50-7,50. Některé acidogeny pracují běžně i při pH = 4 a některé methanogeny tolerují i nárůst pH až k hodnotám 9 [4].

3)Požadavky na substrát

Pro optimální průběh anaerobního rozkladu je nutný vyvážený poměr dusíku a fosforu k organickému uhlíku (C:N:P má být 100:1:0,2). Dále je vhodná i přítomnost stopových prvků [1].

4) Přítomnost toxických a inhibujících látek

Z anorganických sloučenin působí toxicky sulfidy, siřičitany, kyanidy, těžké kovy a jejich soli (Cu, Pb, Cr, Zn), z organických to jsou saponáty, fenoly, pesticidy a rozpouštědla. Oxidanty jsou mnohdy až inhibující pro bakterie anaerobního rozkladu [1].

5) Hydrofilnost polymeru

Tato vlastnost polymeru je dána obsahem hydrofilních skupin, jedná se o smáčivost povrchu materiálu. Biopolymery rozpustné ve vodě jsou lépe rozložitelné a usnadňují přístup mikroorganismů k substrátu [1].

6) Vliv jiných dějů

Dlouhá doba zdržení biomasy zvyšuje odolnost mikroorganismů vůči nepříznivým podmínkám. Aktivitu mikroorganismů lze udržet rovnoměrným mícháním. Tím se zajišťuje potřebný přísun živin.

2 POLYVINYLALKOHOL A JEHO ANAEROBNÍ ROZKLAD

2.1 Polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol (PVA) se strukturním vzorcem $[-CH_2CHOH-]_n$ je ve vodě rozpustný syntetický polymer. Vhodné aplikace pro PVA jsou velkou měrou určené jeho vlastnostmi, které závisí na jeho polymeračním stupni, stupni hydrolýzy, na počtu hydroxylových skupin a krystalinitě (stereoregularitě). PVA je jeden z mála syntetických polymerů, který je biodegradabilní. V přírodě se rozkládá jen z velmi malé části a jeho rozklad je pomalý.

2.1.1 Výroba a aplikace PVA

Celosvětová produkce PVA se pohybuje v hodnotách několik 100kt ročně. S touto produkcí se řadí k nejvíce vyráběným vodorozpustným syntetickým polymerům [5].

PVA se nevyrábí přímou polymerací odpovídajícího monomeru. Připravuje se hydrolýzou polyvinylacetátu, jelikož vinylalkohol není stabilní sloučenina a rychle přechází do enolové formy acetaldehydu. Tato reakce je ovlivněna kinetikou řízení. Polymerace vinylacetátu nastane volným radikálovým mechanismem v přítomnosti alkoholu. Průmyslově je výroba PVA prováděna v reaktoru hydrolýzou polyvinylacetátu. Různé druhy PVA jsou získávány v závislosti na stupni hydrolýzy. Polymerace mohou být uskutečňovány vsádkově nebo kontinuálním procesu; ve velkovýrobě je využíván spíše druhý způsob. V kontinuálním procesu po radikálové polymeraci vinylalcetátu následuje alkalická alkoholýza polyvinylacetátu. Molární hmotnost polyvinylacetátu je pak závislá na době zdržení v reaktoru při polymeraci vinylacetátu, množství dávkovaného vinylacetátu a alkoholu, koncentraci radikálového iniciátoru a na teplotě. Hydrolyzační stupeň polyvinylacetátu je dán dobou zdržení, koncentrací katalyzátoru a teplotou [5][6].

Pro komerční účely je dostupný PVA se stupněm hydrolýzy v rozsahu 70-99%, jehož průmyslové aplikace pak dále závisí na polymeračním stupni, bodu tání a rozpustností polymeru ve vodě.

PVA je široce využíván k přípravě plastových položek, jako přísada při výrobě papíru (klížidlo), jako emulzní stabilizátor, v koželužství, v textilním a barvířském průmyslu, v kosmetice, ve stavebnictví, farmaceutickém průmyslu, elektronice a v zemědělství.

K dalším užitkovým vlastnostem PVA se řadí vynikající filmotvorné, emulgační a lepicí vlastnosti. Tento všestranný polymer má výjimečnou rezistenci vůči naftě, tukům a rozpouštědlům, vysokou pevnost v tahu, flexibilitu a vysokou kyslíkovou zábranu [7].

Vliv polymeračního stupně a stupně hydrolýzy na výsledné aplikace [7]

Z hlediska viskozity se vyrábí PVA s nízkou viskozitou (kolem 5 mPa.s), středně viskosní skupina: 20-30mPa.s, vysoká viskosní skupina: 40-50mPa.s, které odpovídají polymeračnímu stupni asi 500, 1700 a 2000. Z hlediska stupně hydrolýzy, lze PVA klasifikovat jako plně hydrolyzovaný (97,5-99,5% stupeň hydrolýzy) a částečně hydrolyzovaný (87-89% stupeň hydrolýzy). Obecně je plně hydrolyzovaný PVA využíván hlavně pro papírové nátěry, k apretaci textilních osnov při úpravě hydrofilních vláken, jako bavlněné a hedvábné základní nitě, a ve vrstvení filmu v bezpečnostním skle. Částečně hydrolyzovaný PVA je používán hlavně jako ochranný koloid v emulzích, v lepidlech, v textilním průmyslu pro úpravu hedvábných a polyesterových vláken a v tiskových deskách. Pro komerční účely se nejvíce využíván PVA plně a částečně hydrolyzovaný s polymeračním stupněm 1700.

PVA je užíván hlavně ve vodném roztoku. Jeho rozpustnost ve vodě je závislá na jeho polymeračním stupni a stupni hydrolýzy. Přítomnost jen několika málo procent (2-3%) zbytkových acetátových skupin je následkem významné změny v rozpustnosti v rozmezí teplot 40-60°C – plně hydrolyzovaný PVA je jen mírně rozpustný, naopak částečně hydrolyzovaný (87%) je dobře rozpustný.

Rozpustnost ve vodě je ovlivnitelná i teplotou při zpracování. Kdy setrvání materiálu při dané teplotě v samotné výrobě se pak projevuje na výsledné krystalinitě, snižuje se rozpustnost a stálost polymeru ve vodě. Což je pak určující pro konečnou aplikaci, u lepidel a papírových nátěru je žádoucí vyšší odolnost proti vodě, ale vysoce nevhodné je to v textilní osnově, kde polymer musí být odstraněn po sušícím cyklu.

2.2 Biorozložitelnost PVA

PVA a jeho vliv na životní prostředí byl v zásadě zkoumán [5] z hlediska jeho rozsáhlého využití v průmyslu, kdy odpadní vody z těchto výroben obsahovaly velké množství tohoto polymeru.

Chiellini a kol. [5] udává, že vysoké hodnoty biodegradace byly pozorovány ve vodném prostředí. Tato prostředí obsahovala adaptované bakteriální druhy, často v odpadních vodách a splaškových kalech znečištěných PVA. Na druhé straně, mírná až zanedbatelná schopnost mikroorganismů rozkládat PVA byla pozorována v půdách a kompostech. Většina mikroorganismů schopných rozkladu PVA byla identifikována jako aerobní bakterie rodu Pseudomonas, Alcaligenes a Bacillus.

Biodegradabilita PVA je závislá na struktuře a molekulové hmotnosti tohoto polymeru. Některé výzkumy uvedené v literatuře [8] ohledně degradace PVA uvádějí, že tento plast vlastně není schopen rozkladu, ale jednoduše se rozpustí ve vodě.

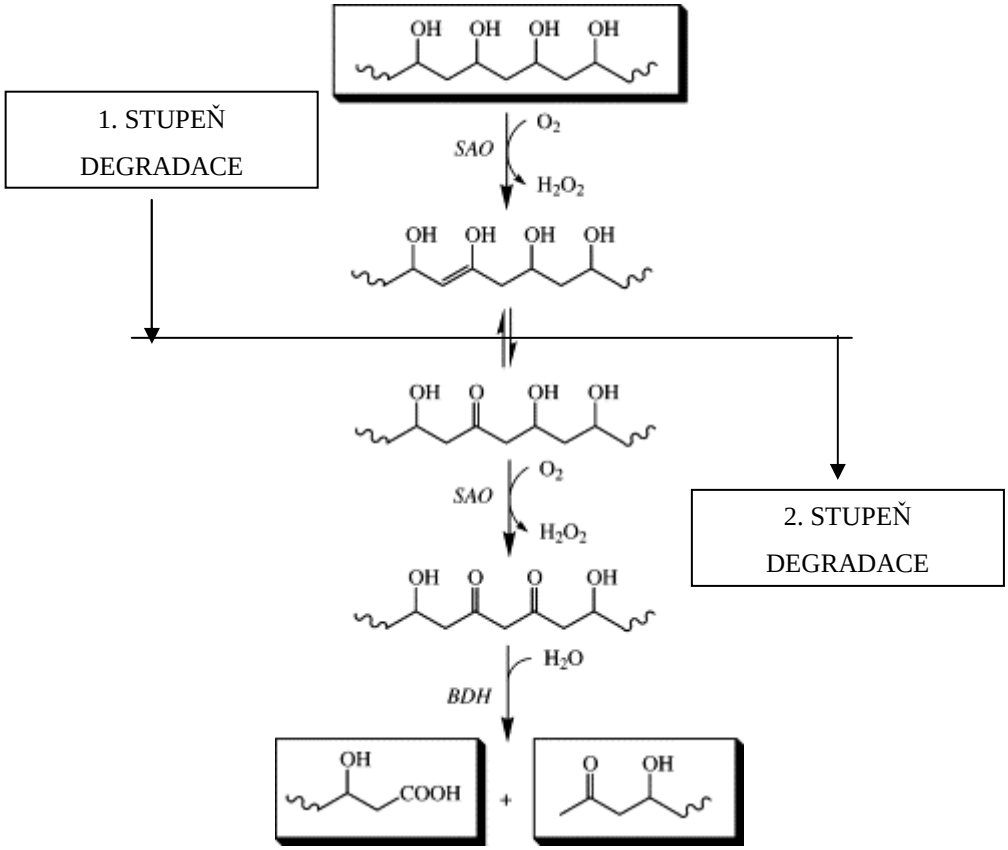
Část mé diplomové práce se zabývá problematikou biorozložitelností PVA v anaerobním prostředí. O tomto tématu se blíže zmíním v nadcházející kapitole.

2.2.1 Biorozložitelnost PVA za anaerobních podmínek

Detailně studoval anaerobní rozklad PVA Matsumura a kol. [9]. Jako inokulum bylo použito anaerobních mikroorganismů, které byly získány z říčních usazenin a z aktivovaného kalu z městské čistírny odpadních vod. V této studii byly zkoumány vzorky PVA se střední molární hmotností (14kD) a PVA s nízkou molární hmotností (2,2kD) za striktně anaerobních podmínek. Během experimentu byly rychlost a rozsah degradace PVA vzorků sledovány měřením vývoje bioplynu (CO_2), stanovením TOC anaerobních kultur a SEC (GPC) vyhodnocením molární hmotnosti polymeru. Zjistili, že rychlost a rozsah produkce CO_2 jsou ovlivněny molekulovou hmotností daného PVA. V přítomnosti anaerobních mikroorganismů z říčních usazenin byla získána vyšší produkce CO_2 u PVA vzorku s nízkou molární hmotností. Stanovením TOC anaerobní kultury bylo zjištěno, že celková degradace nízkomolárního PVA byla až 75 %, zatímco u středněmolárního PVA bylo dosáhnuto nižších hodnot rozkladu (50-60%) a to během stejné inkubační doby. Nižší, ale přece významná degradace u obou vzorků PVA byla zaznamenána u testu za pomocí naočkovaných mikroorganismů z anaerobního kalu. SEC analýza ukázala, že oba vzorky PVA byly účinně rozloženy za anaerobních podmínek. Nicméně to byl také důkaz toho, že nízkomolární vzorek PVA byl degradován rychleji, než ten druhý středněmolární vzorek. Tedy u vzorku PVA se střední molární hmotností zůstaly některé frakce PVA v anaerobním kultivačním prostředí, a to i po prodloužení inkubační doby (125 dnů). Tento jev byl více patrný v přítomnosti mikroorganismů z anaerobního kalu. Na začátku testu

analýzou SEC byla pozorována přítomnost PVA s vyšší molární hmotností a zde nedošlo k významné mineralizaci, jak bylo potvrzeno TOC měřením. Později byl tento výskyt PVA s vyšší molární hmotností doprovázen značným snížením koncentrace tohoto polymeru, avšak nebylo dosaženo kompletního rozkladu ani po 6 měsících inkubace.

Matsumura a kol. [9] navrhli mechanismus anaerobního rozkladu PVA podobný jako u aerobní degradace (Obr.1), oxidace hydroxylů na β-diketony s následným hydrolytickým rozštěpením řetězce. Za aerobních podmínek náhodné rozštěpení PVA řetězců způsobilo rychlé snížení molární hmotnosti, tedy že docházelo k rychlému odbourávání PVA. Během anaerobní degradace docházelo k úbytku PVA s nízkou molární hmotností, ale PVA s vyšší molární hmotností nepodléhal rozkladu. Výsledky by mohly naznačovat, že existuje odlišná degradační cesta za anaerobních podmínek, oproti aerobním. Tato hypotéza by měla být předmětem dalšího zkoumání. Nicméně, bylo prokázáno, že za anaerobních podmínek je degradace PVA ovlivněna molární hmotností.



Obr. 1 Mechanismus biodegradace PVA za aerobních podmínek zprostředkovaná sekundární alkoholoxidazou (SAO) a β-diketon hydrolýzou (BDH) [10]

Anaerobní degradaci PVA vyšetřovali autoři Matsumura a Tahala [11] a to sledováním produkce bioplynu a snížením TOC anaerobními respirometrickými testy a to za použití mikrobiálního inokula z říčních usazenin. Za těchto podmínek byl zkoumám také kopolymer methylenmalonat/vinylalkohol disodný. U PVA bylo dosaženo rozkladu z 60%, poklesem TOC po 4 měsících inkubace, hodnoty byly mírně větší než u malonatového typu kopolymeru. Degradace se u kopolymeru zvyšovala s podílem opakujících se vinylalkoholových jednotek. Překvapivě předešlé testy ukázaly, že hodnota dosaženého rozkladu PVA 60 % je vysoká, naopak dle testů, jež uvádí studie [12] kde hodnoty degradace PVA dosahovaly 0 a 12 % za 77 dnů. Tyto anaerobní testy byly provedeny za použití vyhnilého kalu podle ISO a ASTM standardních postupů.

Autoři Jinlan a Tinglin [13] se zabývala studiemi biologických vlastností anaerobní degradace PVA v anaerobním přepážkovém reaktoru ABR (anaerobic baffled reactor) s použitím aktivovaného kalu. Na účinnosti odstraňování PVA měly přímý účinek mikroorganismy a středně granulovaný kal. Když se použil granulovaný kal obsahující acidogenní bakterie rozkládající PVA, tak účinnost odstraňování PVA dosáhla 70% za 20 dní. Na druhé straně, když se použil granulovaný kal s methanogenními mikroorganismy rozkládající PVA, tak účinnost odstraňování PVA dosáhla 6,3% za 20dní. Na účinnosti odstraňování PVA nemělo téměř vliv pH, i když vysoká alkalita působila v tomto systému nepříznivě. Když se při degradačních testech využila glukosa jako zdroj uhlíku, tak se pozměnily povrchové vlastnosti kalu. Na povrch kalu se absorbovalo PVA, vysoká koncentrace přidané glukosy vedla k nízkému odbourávání PVA. Když se použil škrob jako uhlíkatý zdroj, byla nízká účinnost odbourávání PVA. Zvyšování dusíkatého zdroje bylo příznivé pro rozklad PVA, a to za nízkých koncentracích PVA.

Závěry z těchto literárních rešerší vedou k rozporuplným názorům. Někteří autoři uvádějí pozoruhodně vysoké hodnoty dosažených rozkladů PVA za anaerobních podmínek (nad 60%) oproti literatuře [12], kde jsou testy prováděny dle standardních postupů (ISO a ASTM) s hodnotami rozkladu PVA kolem 10 %. Obecně z těchto uvedených studií plyne, že rozkladu za anaerobních podmínek podléhají spíše PVA s kratším řetězcem (nebo PVA s nízkou molární hmotností) oproti PVA s delšími řetězci. Závisí na mnoha dalších faktorech, např. době rozkladu, prostředí aj.

3 MODIFIKACE PVA

V technických aplikacích je důležité, aby plastové výrobky byly stabilní. Naopak v některých odvětvích (zemědělství, obalová technika, medicína atd.) je žádoucí, aby tyto materiály mohly být biologicky rozloženy. Z hlediska tohoto požadavku je směřována řada modifikací.

Modifikací se rozumí určitý zásah do chemické struktury polymeru např. změna struktury a zavádění funkčních skupin. Touto cestou je možno docílit alespoň minimálního požadavku primárního biologického rozkladu. Další variantou je mísení (plnění) plastu s lehce odbouratelným substrátem – biopolymerem [14].

PVA patří k plastům, které jsou biodegradabilní. Ale je rozložitelný jen z velmi malé části a tento proces probíhá pomalu. Jednou z reálných možností, jak vyrábět biologicky rozložitelné plasty, je právě mísení a modifikace PVA s biopolymery. Pro lepší zpracovatelnost se přidávají aditiva např. glycerol, ethylenglykol, voda, močovina aj. Čímž se zvýší zpracovatelské, i mechanické vlastnosti výsledného výrobku.

Přírodní polymery, které s k tomuto účelu využívají, jsou polysacharidy, bílkoviny aj. Využívané polysacharidy mohou být jak původu rostlinného (celulóza, škrob), tak i mikrobiálního (dextran, gellan, xanthan, kyselina hyaluronová).

3.1 Polysacharidy

3.1.1 Škrob

Je lineární polysacharid rostlinného původu. Hlavní porosty užívané pro jeho produkci jsou obilí, brambory a rýže. Škrob je pak dále s těchto rostlin získáván ve formě granulí. Skládá se z amylosy, ta tvoří asi 20hmot.%, a amylopektinu, tvoří zbytek - cca 80hmot.%. Základní stavební jednotkou obou je α-D-glukopyranóza. Amylosa je rozpustná ve vřelé vodě, naopak amylopektin není rozpustný, je to dáno strukturou - vyšší krystalickou molekulovou hmotností amylosy [15].

Škrob je jedním z nejrozšířenějších biopolymerů, jež se využívá jako degradabilní plnivo v plastech. Jednak je levnou a obnovitelnou surovinou, ale rovněž je úplně biologicky rozložitelný. Další předností je i možnost jeho úpravy před samotnou aplikací do plastu.

Nejčastěji jsou škrobem plněny polyolefiny (LDPE), polyvinylalkohol, polyestery a mnoho dalších. [14].

Modifikovaný škrob [16]

Výrobky z modifikovaného škrobu mají zachovanou alespoň jednu původní charakteristickou vlastnost škrobu, a jejichž vlastnosti jsou biochemickým, chemickým, fyzikálním nebo kombinovaným vlivem přizpůsobeny určitému průmyslovému účelu. Modifikační proces si klade za úkol některou původní vlastnost zvýraznit (viskozita, schopnost vázat vodu, tvorba filmu, želírující a iontovýměnná schopnost), jinou potlačit nebo vytvořit vlastnost novou.

Třídění modifikovaných škrobů:

- *hydrolyzované (odbourané) škroby* se připravují mírnou hydrolýzou škrobu. Mají zvýšenou rozpustnost a sníženou viskozitu mazu a umožňují přípravu homogenních past.
- *oxidované škroby* se používají v textilním průmyslu jako šlichtovací a apretační prostředky, v papírenství k povrchovému klížení papíru.
- *substituované škroby* mají v hydroxylové skupině nahrazen vodík alkylem nebo acetylem. Uplatňují se především v textilním průmyslu, farmacii, potravinářství, mají výbornou sorpční i flokulační schopnost.
- *Nesíťované škroby* vznikají reakcí škrobových makromolekul s vícefunkčními činidly. Používají se zejména v potravinářství a farmaceutickém průmyslu.
- *termicky modifikované škroby* vznikají narušením vodíkových můstků mezi škrobovými molekulami. Mají široké uplatnění v potravinářském průmyslu a dále v průmyslu textilním a papírenském.
- *geneticky modifikované škroby* se získávají z plodin (kukuřice, brambory a ostatní plodiny), u kterých dochází ke genetické úpravě přímo před setbou jejich semen. Za účelem získání více odolných plodin vůči různý vlivům (rezistence k herbicidům, k hmyzím škůdcům, k virům, bakteriálním a houbovým chorobám aj.)

3.1.2 Xanthan

Xanthan gum je mikrobiální polymer připravený komerčně aerobním kvašením z bakterie Xanthomonas campestris. V přírodě produkují bakterie tento sliz ke svému ulpění na listech palmy. Stavebními jednotkami, z kterých se skládá xanthan gum jsou D-glukopyranosa, D-manopyranosa a D-glukuronová kyselina. Xanthan je dobře rozpustný ve vodě a velmi dobře rozložitelný. Viskozita je silně závislá na teplotě. Po ohřevu nejprve klesá, ale při dalším ohřevu opět roste (souvisí to se změnami konformace molekul) [17][18].

Při získávání xanthanu kvašením je asi nejvýznamnější technický problém, že při produkování xanthanu bakteriemi Xanthomonas narůstá viskozita v prostředí. Tímto se zvyšuje energie, která se musí vynakládat na dodávání dostatečného množství kyslíku do systému [18].

Svými mechanickými a fyzikálními vlastnosti patří xanthan k široce využívaným bakteriálním polysacharidům v mnoha průmyslových odvětvích. Používá se při vrtání ropy (při kontrole viskozity), v papírenském průmyslu (jako modifikátor), zemědělství (jako rostlinný růstový stimulátor), v lékařství a kosmetice. V potravinářství slouží jako želírující činidlo pro výrobu sýrů, zmrzliny, pudinků, polévek a dalších pochutin. Ze 60% zahrnují xanthanové výrobky potravinářskou sféru a zbylých 40% připadá na průmyslové aplikace [18].

3.1.3 Gellan

Gellan gum je dalším mikrobiálním polysacharidem produkovaným bakterii Pseudomonas elodoa, který je získáván z pletiv rostlin. Produkce je v podstatě stejná jako u xanthanu-kvašením. Skládá se ze 4 opakujících se sacharidických jednotek: glukosa-kyselina glukuronová-glukosa-rhamnosa. Tento biopolymer je zcela biologicky rozložitelný [18].

Gellan v nativní formě obsahuje O-acetyl a glyceryl substituenty. Acylové skupiny brání krystalizaci na určitých místech řetězce gellanu, tím jsou vytvářeny slabé elastické a termoreversibilní gely. Deacylace způsobuje rozsáhlou mezimolekulovou asociaci, a tím se v přítomnosti různého kladného iontu (např. vápníku) vytvářejí silné křehké gely. Kontrola nad stupněm acylace polymeru poskytuje těmto gelovým strukturám vlastnosti podobné

po jisté stránce agaru, alginátu nebo karagénu. Gellan vytváří termoreversibilní gely, při koncentrace 0,75% jim poskytuje velkou pevnost [19].

Gellan se vyrábí se pod komerčními názvy Kelcogelm nebo Gelrite. V potravinářství se využívá jako želírující, stabilizující a suspenzační prostředek pro široký okruh potravin, samotný nebo v kombinaci s jinými hydrokoloidy. Gely jsou stabilní v širokém rozsahu pH, čehož se právě využívá v potravinářských výrobcích. V mikrobiologii může být Gelrite, jako náhrada za agar, začleněn do média mikrobiologických a buněčných kultur. Vysoká průhlednost gelů dává jisté výhody, za nízkých koncentrací vytvářet gely s požadovanou pevností. Termostabilní gely jsou také výhodné pro termofilní mikrobiální druhy. Dále se gellan využívá v průmyslu jako želírující činidlo v dentálních a osobních kosmetických prostředcích. Nativní gellan ve směsi se škrobem může být užíván jako klížidlo při výrobě papíru [19].

3.2 Degradace syntetických polymerů ve směsi s vybranými polysacharidy

a) Biodegradace směsí PVA se škrobem

Biodegradace plastů ve směsi se škrobem je zahájena útokem enzymů na glykosidické vazby mezi sacharidickými jednotkami, kdy dochází ke snížení délky řetězce a odštěpení sacharidických jednotek (monosacharidy, disacharidy, oligosacharidy), které jsou pak dále snadno využity na biochemické syntézy [8].

Zhao a kol. [20] se zabývali studiemi popisující testování vlastností vzorku směsi PVA se škrobem. Uvedení autoři se konkrétně soustředili na zkoumání mechanických vlastností, odolnosti proti vodě a biorozložitelnosti směsi PVA s methylovaným kukuřičným škrobem. Podle nich jsou hlavním nedostatkem směsi škrob/PVA hydrofilita a nedostačující mechanické vlastnosti. Cílem studie bylo odstranit tyto nevýhody. Provedli methylaci kukuřičného škrobu a výsledná směs byla pak připravena smícháním tohoto škrobu (MCS) s PVA. Takto připravená směs MCS/PVA byla dále testována. Bylo zjištěno, že směs MCS/PVA měla vyšší odolnost proti vodě, a to do určitého podílu substituovaného methylu ve směsi, než původní směs škrob/PVA. Nicméně, při testování směsi MCS/PVA vůči odolnosti proti vodě, nebyl pozorován významný rozdíl, i když se zvyšoval poměr substituovaného methylu ve škrobu z 0,096 na 0,864. Enzymatické, mikrobiologické a půdní pohřbívací

testy biodegradace ukázaly, že biodegradabilní směs MCS/PVA silně závisí na podílu škrobu v matrici směsi. Rychlost degradace škrobu ve směsi škrob/PVA byla ovlivněna, resp.zpomalena samotným mícháním škrobu s PVA. Mechanické vlastnosti, pevnost v tahu i procentuální protažení při přetržení, směsi MCS/PVA se zlepšily s podílem substituovaného methylu ve směsi MCS/PVA.

Obsáhlé informace uvádí přednáška [21] zabývající se využitím škrobu ve směsích s různými polymery. Zde se převážně zabývali problematikou jejich biologického rozkladu v prostředí. Důležitou okolností bylo, že zde využili termoplastický škrob. Pro směsi škrobu s poly(ethylen-*co*-vinyl-alkoholem) se uvádí po zpracování běžnými technologiemi destrukce mikroorganismy v rozmezí 2-3let. Uspokojivých hodnot rozkladu vykazují např. i směsi škrobu s alifatickými polyestery či s poly(ε-kaprolaktonem), tyto materiály jsou dobře kompostovatelné. Totéž lze říci i o směsicích termoplastického škrobu s PVA .

Autoři práce [22] se zabývali anaerobním rozkladem směsí z PVA a biopolymerů (bílkovinný hydrolyzát, škrob, lignin). Jednalo se konkrétně o testování vyfukovaných folií vyrobených z komerčního PVA a uvedených biopolymerů ve vodném anaerobním prostředí s inokulací vyhnilým aktivovaným kalem z městské čistírny odpadních vod. Folie připravené v prvé pokusné řadě měly sloužit pro srovnání biorozkladu při modifikaci směsi nativním nebo plastifikovaným škrobem; v tomto případě nebyl prokázaný vliv plastifikace. Ale bylo zřejmé, že stupeň degradace těchto typů modifikovaných PVA folií se výrazně a prakticky stejně zvyšoval již při obsahu škrobu cca 5% hmot. Folie druhé pokusné řady byly připraveny navíc s modifikací bílkovinného hydrolyzátu a ligninem. Pouze vzorky modifikované ligninem vykazoval poněkud nižší stupeň biorozkladu, ale s ohledem na míru jeho zastoupení ve směsi nebyla tato okolnost podstatná. Úroveň biorozkladu u všech diskutovaných folií se lišila pouze nepatrně - v rámci experimentální chyby.

b) Biodegradace xanthanu a gellanu

Publikované literární rešerše zabývající se konkrétně anaerobním rozkladem xanthanu či gellanu jsem se nedohledala, buď za těchto podmínek nebyly testovány, anebo nebyly publikované žádné práce. Uvedu zde alespoň některé literární publikace týkající se obecně biodegradací těchto mikrobiálních polysacharidů.

Diplomová práce Honsové S. [23] se zabývala sledováním anaerobního rozkladu u PVA, samotných polysacharidů (Gellanu, Xanthanu) a u folií připravených litím z roztoků PVA, Hykolu, Xanthanu, glycerolu. U samotných vzorků polysacharidů došlo k rozkladu z více jak 80% (Gellan-96%, Xanthan-80%). Připravené folie obsahující 70% PVA a s různým hmot.% podílem Hykolu, Xanthanu a glycerolu byly rozložitelné cca z 45%.

Určitý způsob aplikace gellanu gum využili autoři [24] k enkapsulaci aktivovaného kalu, kdy takto získali zapouzdřené živé mikroorganismy. Toho pak využili při biodegradaci benzínu. Technika 2-fázové disperze (vytváření gelu vnitřní emulgací) je navrhována pro enkapsulaci živých mikroorganismů (aktivovaného kalu) gellanem gum. Mimo jiné zde sledovali biodegradační aktivitu. Enkapsulovaný kal vykazoval vysokou biodegradační aktivitu oproti nezapouzdřeným kalovým kulturám. Zjistili i to, že enkapsulovanými i nezapouzdřenými kalovými kulturami bylo odstraněno přes 90% benzínu, a to z počáteční koncentrace 35 a 70 mg/l v uzavřených sérových lahvích během 7 dní. Shledali, že enkapsulace aktivovaného kalu gellanem gum zvýšila biologickou aktivitu mikroorganismů při odstraňování benzínových uhlovodíků. Výsledky ukázaly, možnost využití enkapsulace živých mikroorganismů při biodegradaci benzínu.

Extracelulární polysacharidy (mimo jiné i xanthanu) studovali autoři [25] z hlediska jejich biorozložitelnosti. Zabývali se biodegradací xanthanu (Xanthomonas campestris), clavanu (Clavibacter michiganensis) a extracelulárních polysacharidů (EPSs) produkovaných bakteriemi mléčného kvašení. Získané EPSs byly rozpuštěny v mediu z minerálních solí a naočkovány půdním nebo inokulem s lidských fekálií. Lidské fekálie byly užity pro hodnocení in vitro biodegradace koloniální mikroflórou, půda byla vybrána jako inokulum přirozeného prostředí. EPS-biodegradace byla zjištěna z poklesu koncentrace polysacharidického cukru a pomocí vysoce rozlišovací vylučovací chromatografie (HPSEC). Mimo jiné zjistili, že xanthan, clavan a EPSs produkovány Streptococcus thermophilus SFi 39 a SFi 12 byly snadno degradovány půdním inokulem, což bylo potvrzeno i analýzou HPSEC. Chromatogram ukázal, že EPSs buď zmizely nebo zůstaly nedotčeny. Xanthan byl téměř zmineralizován půdní kulturou, zatímco kulturou získanou z lidských fekálií bylo dosaženo rozkladu z 35%.

Liu a kol.[26] nově izolovali Cellulomonas sp. LX z půdních vzorků, o kterém se domnívali, že by mohl rozkládat extracelulární polysacharid - xanthan. Degradace byla potla-

čena přídavkem glukosy. Aktivita xanthan-degradujících enzymů byla pozorována v supernatantu kultur bakterií, kde byl nalezen nárůst Cellulomonas sp. LX v mediu s xanthanem jako C-zdrojem. Pro rozklad xanthanu byly optimální pH 6 a teplota 40ºC.

Jiný tým vědců [27] identifikovali bakterie Bacillus sp. izolované z kalu odpadních vod a půdy a podrobně rozpracovali extracelulární enzymy, které rozkládaly extracelulární polysacharidy (xanthan gum, polysacharid B-1459) produkované Xanthomonas campestris NRRL B-1459. Produkty degradace byly identifikovány jako D-glukuronová kyselina, D-manosa, pyruvát manosy, 6-O-acetyl D-mannosa a glukan spojený (1→4) vazbou. Tyto produkty korelovali se známou strukturou xanthanu gum. Složitost směsi produktu naznačovala, že xanthasy byla směs sacharidů. Směs sacharidů xanthas byly podobné v tepelné stabilitě, pH, optimální teplotě, stupni substrátové degradace a enzymolýze produktů.

II. CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo otestovat biorozložitelnost u vzorků směsí na bázi PVA s polysacharidy (škrobem, xanthanem, gellanem) ve vodném anaerobním prostředí s různým hmotnostním zastoupením jednotlivých složek. Dále provést tyto testy biologické rozložitelnosti i u samotných složek těchto směsí, tj. u Mowiolu 5-88, škrobu WAXY, glycerolu, xanthanu a gellanu.

Biologický rozklad je hodnocen na základě produkce plynů u anaerobního rozkladu testovaných vzorků, tedy budou analyzovány produkty methan a oxid uhličitý pomocí plynové chromatografie.

Část mé diplomová práce navazuje na předešlou diplomovou práci [23] a mým úkolem bylo doplnit a aktualizovat publikované práce vypracované na téma anaerobní rozklad směsných polymerů na bázi PVA a polysacharidů.

Veškerá neměřená data budou vyhodnocena a zpracována písemně, tabelárně i graficky.

III. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, BIOLOGICKÝ MATERIÁL, TESTOVANÉ VZORKY

4.1 Chemikálie

Při laboratorních testech byly použity chemikálie čistoty p. a. od firmy Lachema a.s., Česká republika, Penta a Fluka.

KH_2PO_4	-	dihydrogenfosforečnan draselný
K_2HPO_2	-	hydrogenfosforečnan draselný
$Na_2HPO_4.12H_2O$	-	dodekahydrát hydrogenfosforečnanu draselného
$(NH_4)_2SO_4$	-	síran amonný
$CaCl_2$	-	chlorid vápenatý
$FeCl_3.6H_2O$	-	hexahydrát chloridu železitého
$MgSO_4.7H_2O$	-	heptahydrát síranu hořečnatého
$FeSO_4.7H_2O$	-	heptahydrát síranu železnatého
$ZnSO_4.7H_2O$	-	heptahydrát síranu zinečnatého
$MnSO_4.4H_2O$	-	tetrahydrát síranu manganatého
$CuSO_4.5H_2O$	-	pentahydrát síranu měďnatého
$CoSO_4.7H_2O$	-	heptahydrát síranu kobaltnatého
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	-	tetrahydrát molybdenanu amonného
CH_3COONa	-	octan sodný
$C_7H_5O_2Na$	-	benzoan sodný
Mowiol 5-88	-	polyvinylalkohol Mowiol 5-88
Škrob WAXY	-	termoplastický škrob WAXY
Xanthan	-	xanthan potravinářský
Gellan gum	-	gellan gum
$C_3H_8O_3$	-	glycerol

4.2 Minerální medium

Minerální medium bylo připraveno podle předpisů ÚIOŽP vycházejícího z norem ASTM D 5210-91 a ISO 11734 pro testování biorozložitelnosti za anaerobních podmínek. Množství následujících roztoků je použito na 1 litr minerálního media (doplněním destilovanou vodou do 1 litru).

- 40ml fosfátového pufru (8,5 g/l KH_2PO_4; 21,75 g/l K_2HPO_4; 44,7 g/l $Na_2HPO_4.12H_2O$); 50ml $(NH_4)_2SO_4$ (10 g/l); 1ml $CaCl_2$ (7,5 g/l); 1ml $FeCl_3.6H_2O$ (0,25 g/l); 1ml $MgSO_4.7H_2O$ (22,5 g/l); 1ml roztok stopových prvků (0,75 g/l H_3BO_3 ; 3 g/l $FeSO_4.7H_2O$; 0,1 g/l $ZnSO_4.7H_2O$; 0,5 g/l $MnSO_4.4H_2O$; 0,05 g/l $CuSO_4.5H_2O$; 0,1813 g/l $CoSO_4.7H_2O$; 0,05 g/l $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$)

Před použitím bylo médium probubláváno cca 20 min dusíkem.

4.3 Biologický materiál

Pro testování za anaerobních podmínek byl používán částečně vyhnilý kal z anaerobní stabilizace čistírny odpadních vod Zlín Malenovice. Nejdříve byl kal zbaven hrubých nečistot pomocí hrubého síta. Byla stanovena jeho sušina a ztráty žíháním, poté byl anaerobní kal probubláván asi 20 min dusíkem. Pak byla anaerobní kal uchován v termostatu při teplotě 35±2 ºC. Před použitím byl odstředěn při 3000 G (5259 ot/min) a teplotě 15 ºC po dobu 10 min. Nato byl oddělený kal resuspendován, promyt odkysličenou pitnou vodou a znovu odstředěn. Nakonec takto odstředěný kal byl ředěn minerálním mediem na potřebné koncentrace, tak aby koncentrace sušina kalu byla u všech testů cca 3 – 4 g/l.

4.4 Testované vzorky

4.4.1 Srovnávací látky

Octan sodný CH_3COONa

Byl použit jako modelová látka pro ověření správné činnosti použitého anaerobního inokula a přístroje, a to u prvních dvou testů.

Benzoan sodný $C_7H_5O_2Na$

Byl odzkoušen též jako modelová látka dle normy ČSN EN ISO 11734 pro hodnocení úplné biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace.

4.4.2 Zkoušené látky

Modifikované PVA směsi se škrobem

Testované vzorky směsí PVA se škrobem byly připraveny na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě, Fakulte chemickej a potravinárskej technológie ve spolupráci s Ústavom polymérných materiálov.

Tab. I Charakteristiky jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí se škrobem

vzorek PVA	hm.% termoplastického škrobu	typ PVA	hm.% GLY na PVA	typ termoplastického škrobu	hm.% GLY na TPS
N/17/15	30	M 5-88	12	M100	30
N/17/17	60	M 5-88	12	M100	30
N/21/23	30	M 5-88	12	Waxy	30
N/21/25	60	M 5-88	12	Waxy	30
N/27/31	60	M 5-88	18	Waxy	30
N/29/35	60	M 5-88	18	Waxy	30

Pozn.: vzorek PVA – označení typu výrobku, PVA - polyvinylalkohol

TPS - termoplastický škrob (WAXY, Meritena 100), GLY - glycerol

M 5-88 - Mowiol 5-88

Tab. II Hmotnostní zastoupení jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí vztaženo na 100 g vzorku

vzorek PVA	hmotnost škrobu (g)	hmotnost GLY na TPS (g)	hmotnost PVA (g)	hmotnost GLY na PVA (g)	typ vzorku
N/17/15	21	9	61,6	8,4	granuláty
N/17/17	42	18	35,2	4,8	granuláty
N/21/23	21	9	61,6	8,4	granuláty
N/21/25	42	18	35,2	4,8	granuláty
N/27/31	42	18	32,8	7,2	granuláty
N/29/35	42	18	32,8	7,2	dry blends

Pozn.: hmotnost uvedenou u zastoupení jednotlivých složek, lze považovat za hmot.%, jelikož hmotnost je brána na 100 g (100 %)

Příprava granulátů:

1. typ granulátu: smíchání PVA + glycerolu → tepelné zpracování → vznik 1. granulátu

2. typ granulátu: smíchání škrobu + glycerolu → tepelné zpracování → vznik 2. granulátu

Oba typy granulátů pak smíchány a podrobeny opět tepelné úpravě → pak výsledný granulát

Příprava dry blends:

Smíchání PVA + škrobu + glycerolu → tepelné zpracovaní → výsledný granulát (dry blends)

Modifikované PVA směsi s xanthanem a gellanem

Testované vzorky směsí PVA s xanthanem a gellanem byly rovněž připraveny na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě, Fakulte chemickej a potravinárskej technológie ve spolupráci s Ústavom polymérných materiálov.

Tab. III Charakteristiky jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí s xanthanem a gellanem

vzorek PVA	typ sacharidu	hm.% termoplastic-kého sacharidu	hmotnost TPsach. (g)	hmotnost PVA/GLY (g)	hm.% GLY na PVA
N/68/107	GELLAN	15	45	255	12
N/68/108		30	90	210	12
N/68/109		60	180	120	18
N/68/110	XANTHAN	15	45	255	12
N/68/111		30	90	210	12
N/68/112		60	180	120	18

Pozn.: TPsach. – termoplastický sacharid

Tab. IV Hmotnostní zastoupení jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí přepočítáno na 100 g vzorku

vzorek PVA	hmotnost sacharidu (g)	hmotnost GLY na TPsach. (g)	hmotnost PVA (g)	hmotnost GLY na PVA (g)
N/68/107	10,5	4,5	74,8	10,2
N/68/108	21	9	61,6	8,4
N/68/109	42	18	32,8	7,2
N/68/110	10,5	4,5	74,8	10,2
N/68/111	21	9	61,6	8,4
N/68/112	42	18	32,8	7,2

Pozn.: hmotnost uvedenou u zastoupení jednotlivých složek, lze považovat za hmot.%, jelikož hmotnost je brána na 100 g (100 %)

Příprava vzorků:

Vzorky byly připraveny na dvouzávitovém extrudri LABtech při teplotním profilu 120/130/140/150/160/170/180/190/160/150ºC a rychlosti otáček 300 min^{-1}. Směsi s xanthanem byly lépe zpracovatelné než vzorky s gellanem, vzorky byly i lépe dávkovatelné. Při 60 hm.% TP sacharidu bylo postřehnutelné zhnědnutí vytlačované struny, tzn. že směsi vykazovali známky degradace.

Polyvinylalkohol

Obchodní název Mowiol 5-88, viskozita 4 % vodného roztoku při teplotě 20 °C: 5-6 mPas, stupeň hydrolýzy 86,7-88,7 %, obsah acetátových skupin 10-11,6 %, prášková forma, výrobce Kuraray Japonsko.

Škrob WAXY

Obchodní název škrob WAXY, kukuřičný škrob geneticky modifikovaný (GMO), obsahuje 97-99 % amylopektinu, rozvětvený, má lepší odolnost proti mechanickému zpracování, prášková forma.

Glycerol

Používá se rovněž název glycerin, molární hmotnost 92,10 g/mol, hustota při 20 ºC min 1,231 g/cm^3, používá se jako změkčovadlo pro výrobu biodegradabilních plastů na bázi PVA, kapalná forma, výrobce Lachema Praha.

4.4.3 Dávkování vzorků

Všechny testované vzorky (srovnávací a zkoušené látky) byly dávkovány tak, aby obsah organického uhlíku v testované láhvi (ve 100 ml kapalné fáze) byl cca 20 mg. Navažované množství bylo vypočítáno z procentuálního obsahu uhlíku čistého vzorku. Přesný obsah uhlíku v testované láhvi byl měřen u každého testu na analyzátoru uhlíku Schimadzu, model TOC-5000A. Před testem jen u slepého pokusu, po ukončení testu v každé testované láhvi.

U prvního testu byly použity tyto vzorky: octan sodný, PVA N/27/31, PVA N/29/35. U druhého testu byly sledovány tyto vzorky: octan sodný, PVA N/17/15, PVA N/17/17,

PVA N/21/23, PVA N/21/25, PVA N/27/31, PVA N/29/35, Mowiol 5-88, Škrob WAXY. U třetího testu byly aplikovány vzorky: PVA N/68/110, PVA N/68/111, PVA N/68/112, Xanthan potravinářský, glycerol. U čtvrtého pokusu byly otestovány vzorky: benzoan sodný PVA N/68/107, PVA N/68/108, PVA N/68/109, Gellan gum, glycerol.

Octan sodný byl u 1. a 2. testu dávkován ve formě prášku, škroby u 2. testu ve formě prášku. U 2. a 3. testu byly Xanthan potravinářský a Gellan gum dávkovány ve formě prášku, glycerol byl navážen na inertní nosič. Všechny modifikované vzorky PVA byly dávkovány u všech pokusů již v hotové formě granulí. Obsah uhlíku byl u vybraných vzorků po každém testu měřen na analyzátoru uhlíku Shimadzu, model TOC – 5000A.

4.5 Přístrojové vybavení

Chromatograf plynový CHROM 5 (kolona náplň PORAPAK QS, detektor katharometr TCD, nosný plyn He), Laboratorní přístroje Praha

Zapisovač Line Recorder TZ 4601, Laboratorní přístroje Praha (chart speed 0,15cm/min)

Integrátor Hewlett Packard, Čína

Plynotěsná injekční stříkačka HAMILTON, objem 1000 μl, Nevada

Tedlarův vak, objem 600 ml

Třepací vodní lázeň GFL 1092 (kontinuálně míchaná 127 min^{-1}, temperovaná na 35 °C) pro umístění testovaných vzorků

Analytické váhy SATORIUS, Německo

Laboratorní pH metr ionoLab pH735 fy WTW, Německo

Míchačka elekromagnetická STIRRER OP-913/3, Maďarsko

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

Chlazená centrifuga MR23i, Jouan, Francie

Laboratorní sušárna UM200 Memmert, Německo

Laboratorní pec LH09MT LAC, Německo

Bublinkový průtokoměr

Běžné laboratorní sklo a vybavení

5 METODY STANOVENÍ

5.1 Stanovení anaerobní rozkladu

Použitý anaerobní kal ke stanovení byl nejdříve odstředěn při 3000 G (5259 ot/min) při teplotě 15 ºC po dobu 10 min. Poté byl oddělený kal resuspendován, promyt odkysličenou pitnou vodou a znovu odstředěn (tím byla snížena koncentrace anorganického uhlíku v kapalné fázi). Nakonec byl ředěn minerálním mediem na obsah sušiny v rozmezí 3-4 g/l a probubláván dusíkem cca 20 min. Do testovacích láhvích byl nadávkován testovaný vzorek a poté byl přidán připravený kal s minerálním mediem. Vedle testovaných vzorků bylo provedeno slepé stanovení. Testované látky byly přidány ve formě již vyrobených granulátů (směsi PVA), v práškové formě (octan sodný, benzoan sodný, škrob, Mowiol), v kapalné formě (glycerol) a to tak, aby v každé láhvi bylo cca 20 mg TOC (ve 100 ml kapalné fáze). Takto naplněné láhve byly cca 10 min probublávány dusíkem, poté rychle uzavřeny a vloženy do vodní lázně se stálou teplotou 35 °C s kontinuálním mícháním. K analýze bylo odebíráno 0,2 ml plynné fáze, a to 2krát až 3krát do týdne.

Plynné produkty vznikající při anaerobním rozkladu testovaných vzorků byly analyzovány na obsah CH_4 a CO_2 pomocí plynového chromatografu CHROM5.

Po skončení testu bylo u každé testovací láhvi provedena sušina, pH a obsah TOC.

Podmínky při stanovení anaerobního rozkladu pomocí GC

Vyprodukované množství plynů CH_4 a CO_2 byla sledována za těchto podmínek:

Plynový chromatograf CHROM 5

- kolona: délka 3,6 m, průměr 3 mm, náplň PORAPAK QS,
- detektor B: TCD, teplota 100 °C, katharometr = 120 mA, coarse = 5, citlivost = 4
- nosný plyn: He o čistotě 4.6, průtok 30 ml /min – výrobce Linde TECHNOPLYN a.s., Praha
- termostat: 50°C
- sample (injektor): 100°C
- posun papíru na lineárním zapisovači: 0,15 cm/min

- podmínky na integrátoru: zero = 5 ; att 2^{Λ} = 5 ; cht sp (posun papíru) = 0,6 ; ar rej = 10 ; thrsh (citlivost) = 6 ; pk wd (šířka píku) = 0,04

- kalibrační plyn tř.1: 4,04 obj.% CH_4, 0,818 obj.% CO_2, 95,142 obj.% N_2 – výrobce Linde Technoplyn a.s., Laboratoř speciálních plynů, Praha 9.

- kalibrační plyn tř.2: 4,07 obj.% CH_4, 0,815 obj.% CO_2, 95,115 obj.% N_2 - výrobce Linde Gas a.s., Laboratoř speciálních plynů, Praha 9.

- chladící plyn: N_2 o čistotě 4.0 – výrobce Linde TECHNOPLYN a.s., Praha

5.2 Stanovení sušiny

10 ml suspenze anaerobního kalu bylo vakuově zfiltrováno přes filtrační papír červené pásky (popř.modré pásky), který byl vysušen při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru zvážen. Koncentrace sušiny anaerobního kalu byla vyjádřena v g/l.

5.3 Stanovení ztráty žíháním

10 ml kalové suspenze bylo nadávkováno do předem zvážených a vyžíhaných kelímků. Nejdříve byly kelímky umístěny do sušárny při teplotě 105 °C a vysušen do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru zvážen. Poté byl suchý zbytek v kelímku vystaven teplotě při 550 °C po dobu 2 hodin a umístěn do exsikátoru. Po dosažení konstantní hmotnosti byl zvážen. Výsledná koncentrace byla vyjádřena v % ztráty žíháním.

5.4 Stanovení celkového uhlíku

Celkový organický uhlík (TOC) testovaných vzorků byl stanoven pomocí analyzátoru uhlíku Shimadzu, model 5000A.

Princip stanovení TC je založen na oxidaci veškerého uhlíku ve vzorku ve spalovací trubici s platinovým katalyzátorem při teplotě 670 °C v proudu kyslíku. Vzniklý oxid uhličitý je veden do infračerveného detektoru. Signál vzniklý absorpcí záření příslušné vlnové délky je zapisován ve formě píku a jeho výška je přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku.

Při stanovení anorganického uhlíku (IC) je vzorek nastříknut v proudu kyslíku do nádobky s kyselinou fosforečnou, kde dochází k vytěsnění oxidu uhličitého. Opět je zde použita jako koncovka IČ detekce.

Celkový organický uhlík (TOC) se vypočte s rozdílu hodnot TC a IC.

5.5 Měření pH

Za použití dvou pH-roztoků s hodnotou pH 4,00 a 7,00 byl nakalibrován pH-metr. Poté bylo změřeno pH jednotlivých vzorků.

5.6 Hodnocení anaerobní degradace z hlediska produkce CH_4 a CO_2

Anaerobní rozložitelnost byla sledována z hlediska produkce CH_4 a CO_2. Pro oba vyprodukované plyny byla použita jako analytická koncovka plynová chromatografie. K analýze vlastních vzorků bylo většinou odebíráno 0,2 ml plynné fáze z testovací láhve, a to každý 2. až 3.den.

Vzhledem k tomu, že část CO_2 byla rozpouštěna ve vodě a poté přeměněna na hydrogenuhličitany a uhličitany, byl anorganický uhlík (IC) změřen v kapalné fázi na konci každého pokusu. Tento IC byl poté započítán i do celkového rozkladu substrátu Dt % [2].

Kalibrace pro stanovení CH_4 a CO_2

Pro sestrojení kalibrační závislosti byl použit kalibrační plyn – výrobce Linde. Plyn byl odebrán z tlakové láhve do Tedlarova vaku. Pomocí plynotěsné stříkačky Hamilton bylo postupně odebíráno 0,2 ; 0,5; 0,7 a 1 ml plynu a pak plynovou chromatografií zanalyzováno za daných podmínek (kap. 5.1). Sestrojením kalibrační závislosti plochy píku na čistém objemu nadávkovaného CH_4 a CO_2 byly získány kalibrační přímky (Obr. 2, 3). V dalších dnech byla pak jen kontrolována odezva detektoru na jeden kalibrační bod při dávkování 1 ml.

Lineární regrese, používaná k výpočtu vyprodukovaného množství CH_4 a CO_2 ve vzorku, poskytla během všech testů následující rovnice popisující závislost plochy píku (I.J.) na čistém objemu nadávkovaného CH_4 a CO_2:

- *TEST 1, 2* (kalibrační plyn tř.1 – složení viz. kap 5.1): 30.6.2006 – 16.11.2006

$$CO_2: y = 184142x - 5374{,}4 ; r = 1$$

CH_4: y = 125345x + 72232 ; r = 0,9998

- *TEST 3:* 6.2.2007 – 22.2.2007 CO_2: y = 210080x - 39237 ; r = 1

  CH_4: y = 150155x - 109058 ; r = 0,9998

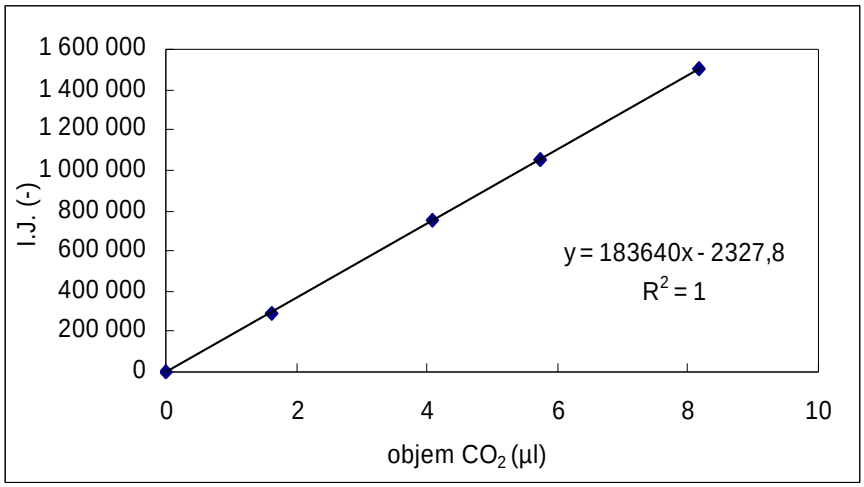
- *TEST 4:* 20.3.2006 – 13.4.2006 CO_2: y = 200044x - 14803 ; r = 0,9998

  CH_4: y = 145130x - 50623 ; r = 0,9998

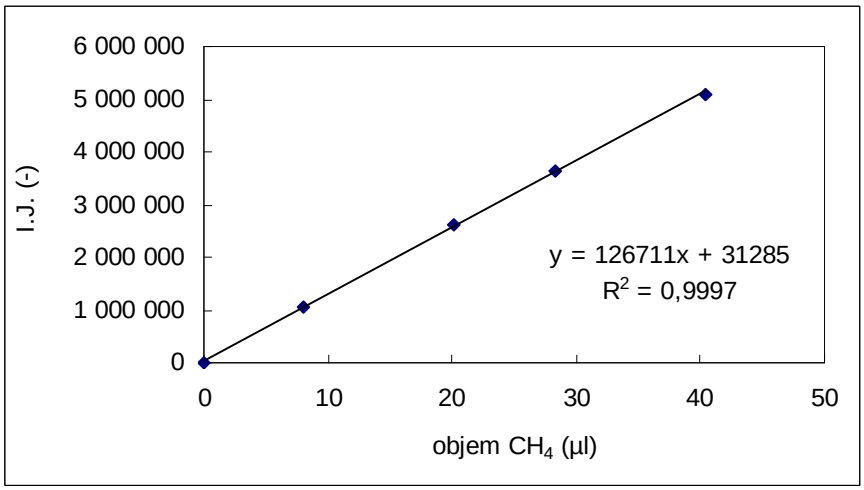
19.4.2007 – 24.4.2007 (kalibrační plyn tř.2 – složení viz. kap 5.1)

CO_2: y = 186765x + 4260,8 ; r = 0,9999

CH_4: y = 132865x + 57241 ; r = 0,9995



Obr. 2 Kalibrační graf pro stanovení CO_2



Obr. 3 Kalibrační graf pro stanovení CH_4

6 ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT

1) Teoretické množství C pro nerozpustné vzorky – $Th_{C,}$ [mol]

$$Th_C = \frac{(m_s \cdot TC_{vz})}{M_C} \qquad /1/$$

kde

m_s…navážka substrátu, [g]

TC_{vz}…množství celkového uhlíku v sušině zkoušeného vzorku, [g/g]

M_C…atomová hmotnost uhlíku, [g/mol]

2) Produkce CO_2 mikrobiální činností stanovená plynovou chromatografií pro pevné vzorky -n_{CO2}, [mmol]

$$n_{CO_2} = \frac{V_g \cdot V_{reg} \cdot 10^{-3}}{V_D \cdot 22{,}414} \qquad /2/$$

kde

V_g…objem plynné fáze v láhvi, [ml]

V_{reg}…objem CO_2 odečtený z kalibrační přímky, [µl]

V_D…dávkovaný objem plynu z láhve k analýze, [ml]

3) Produkce CH_4 mikrobiální činností stanovená plynovou chromatografií pro pevné vzorky – n_{CH4}, [mmol]

$$n_{CH_4} = \frac{V_g \cdot V_{reg} \cdot 10^{-3}}{V_D \cdot 22{,}414} \qquad /3/$$

kde

V_g…objem plynné fáze v láhvi, [ml]

V_{reg}…objem CH_4 odečtený z kalibrační přímky, [µl]

V_D…dávkovaný objem plynu z láhve k analýze, [ml]

4) Procento odstranění substrátu podle produkce CO_2 a CH_4 – D_C, [%]

$$D_C = \frac{(CO_2)_t - (CO_2)_b + (CH_4)_t - (CH_4)_b}{Th_C} \cdot 100 \qquad /4/$$

kde

$(CO_2)_t$…množství CO_2 uvolněného v láhvi, [mmol]

$(CO_2)_b$…průměrné množství CO_2 uvolněného v láhvi při slepých pokusech, [mmol]

$(CH_4)_t$…množství CH_4 uvolněného v láhvi, [mmol]

$(CH_4)_b$…průměrné množství CH_4 uvolněného v láhvi při slepých pokusech, [mmol]

Th_C …teoretické množství C ze zkoušeného vzorku ve zkušební láhvi, [mmol]

5) Množství CO_2 rozpuštěného v kapalné fázi (ve 100ml) – $n(CO_2)_l$, [mmol]

$$n(CO_2)_l = \frac{(m_{IC})_t - (m_{IC})_b}{M_C \cdot 10^3} \qquad /5/$$

kde

$(m_{IC})_t$…množství IC v láhvi vzorku na konci testu, přepočítáno na 100ml kapalné fáze, stanoveno na analyzátoru uhlíku Schimadzu,[mg]

$(m_{IC})_b$…množství IC v láhvi slepého pokusu na konci testu, přepočítáno na 100ml kapalné fáze, stanoveno na analyzátoru uhlíku Schimadzu [mg]

M_C…atomová hmotnost uhlíku, [g/mol]

6) Procento celkového odstranění substrátu podle produkce CO_2 a CH_4, množství CO_2 rozpuštěného v kapalné fázi - D_t, [%]

$$D_t = \frac{(CO_2)_t - (CO_2)_b + (CH_4)_t - (CH_4)_b + n(CO_2)_l}{Th_C} \cdot 100 \qquad /6/$$

kde

$(CO_2)_t$…množství CO_2 uvolněného v láhvi, [mmol]

$(CO_2)_b$…průměr množství CO_2 uvolněného v láhvi při slepých pokusech, [mmol]

$(CH_4)_t$…množství CH_4 uvolněného v láhvi, [mmol]

$(CH_4)_b$…průměrné množství CH_4 uvolněného v láhvi při slepých pokusech, [mmol]

Th_C…teoretické množství C ze zkoušeného vzorku ve zkušební láhvi, [mmol]

$n(CO_2)_l$…množství CO_2 rozpuštěného v kapalné fázi (ve 100ml) ve zkoušeném vzorku, [mmol]

7) Celkový organický uhlík TOC, [mg/l]

$$TOC = TC - IC \qquad /7/$$

kde

TC…celkový uhlík stanoven na analyzátoru uhlíku Shimadzu, [mg/l]

IC…anorganický uhlík stanoven na analyzátoru uhlíku Shimadzu, [mg/l]

8) Rovnice kinetiky 1.řádu

$$D_C\,\% = D_{\max}\left(1 - e^{-k\left(t - t_{lag}\right)}\right) \qquad /8/$$

kde

D_C%…rozklad substrátu v daném čase t, [%]

D_{max}…maximální hodnota rozkladu substrátu, [%]

k…rychlostní konstanta, [h^{-1}]

t_{lag}…lagová fáze rozkladu, [h]

IV. VÝSLEDKY A DISKUSE

7 SLEDOVÁNÍ DEGRADACE V ANAEROBNÍM VODNÉM PROSTŘEDÍ

Cílem bylo testovaní biologické rozložitelnosti modifikovaných směsí PVA. Testované vzorky byly připraveny na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě, Fakulte chemickej a potravinárskej technológie ve spolupráci s Ústavom polymérných materiálov. Jedná se o sadu několika vzorků s různými hmotnostními procenty jednotlivých složek (Tab. I, III).

V této práci byl testován rozklad vyrobených modifikovaných PVA směsi se škrobem, xanthanem, gellanem a glycerolem v anaerobním vodném prostřed. Jedná se o vzorky ve formě granulátů s různým hmotnostním zastoupením PVA, škrobu, xanthanu, gellanu a glycerolu (Tab. I, II, III a IV). Dále byly odzkoušeny na biologický rozklad samotné složky, tj. PVA Mowiol 5-88, škrob WAXY, glycerol, xanthan potravinářský a gellan gum. Pro ověření správné funkce anaerobního inokula byly použity standardy octan sodný a benzoan sodný. Příprava otestování jednotlivých vzorků u všech testů probíhal dle kap. 5.1., v případě nějaké změny, zmíněno u konkrétního testu.

***TEST č. 1**:*

- anaerobní biologický rozklad u 2 typů vzorků směsí PVA, škrobu, glycerolu; octanu sodného
- posuzován vliv rozdílného zpracování vzorků na celkový anaerobní rozklad

TEST č. 2:

- biorozložitelnost 6 vzorků směsí PVA, škrobu, glycerolu a jejich samostatných složek - PVA Mowiolu 5-88, škrobu WAXY; octanu sodného za anaerobních podmínek

TEST č. 3 :

- biorozložitelnost 3 typů vzorků směsí na bázi PVA s xanthanem, glycerolem a jejich samostatných složek - PVA Mowiolu 5-88, xanthanu potravinářského, glycerolu za anaerobních podmínek

TEST č. 4 :

- biorozložitelnost 3 typů vzorků směsí PVA s gellanem, glycerolem a jejich samostatných složek – gellanu gum, glycerolu; benzoanu sodného za anaerobních podmínek

7.1 TEST č.1

Cílem prvního testu bylo odzkoušet biologickou rozložitelnost modifikovaných vzorků PVA směsí se škrobem v anaerobním prostředí, analýzou plynné fáze na plynové chromatografii. Především posoudit vliv technologie zpracování (příprava granulátu a dry blendů) na stupeň rozkladu.

Tento pokus probíhal od 29.6.2006 do 21.9.2006, tedy cca 12 týdnů. Byly testovány 2 vzorky ze všech směsí: 4krát slepý pokus, 4krát vzorek PVA N/29/35, 4krát vzorek PVA N/27/31, 2krát octan sodný. Vzorky a slepý pokus byl testován 4krát, z důvodu reprodukovatelnosti výsledků. Oba vzorky byly stejného složení, tj. obsahovaly cca 42% škrobu WAXY, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA Mowiolu 5-88.

Rozklad testovaných vzorků byl hodnocen z hlediska produkce množství CH_4 a CO_2 (denní CH_4 a CO_2 - mmol), z něhož bylo pak počítáno procentuální odstranění substrátu (D_C%). Poté byl vypočítán celkový procentuální rozklad substrátu D_t%, kde byl zahrnut i anorganický uhlík (IC) z kapalné fáze.

1/ Inokulum:

- vyhnilý kal z anaerobní stabilizace přebytečného aktivovaného kalu z čistírny městských odpadních vod ve Zlíně-Malenovicích
- sušina vyhnilého kalu před začátkem testu zde nebyla stanovena
- přivezený kal byl 4 dny uchováván v temperovaném boxu při teplotě 35±2 °C
- těsně před nasazením byl odstředěn při 3000 G (5259 ot/min) po dobu 10 min, poté byl oddělený kal resuspendován v odkysličené pitné vodě a znovu odstředěn při stejných podmínkách, a to z toho důvodu, že by mohla koncentrace rozpuštěných látek (IC) zvyšovat pak výsledné hodnoty produkce CH_4 a CO_2 u stanovení
- kal byl ředěn minerálním médiem na koncentraci 3-4 g/l, opět probubláván cca 20 min dusíkem

2/ Substrát:

- octan sodný, vzorky PVA směsí se škrobem: dávkováno vypočtené množství přímo do testovacích láhví ve formě prášku, či granulí

3/ Charakteristiky vstupních a výstupních veličin:

Tab. V Navážky a množství uhlíku vzorků v lahvích na vstupu po odečtení slepého pokusu

Čís.	látka	$m_{skut.}$	$TC_{ve\ vzorku}$	TC_{teor}	Th_C	$pH_{poč.}$
		(g)	(%)	(mg)	(mmol)	(-)
1	PVA N/29/35	0,0491	37,17	18,251	1,521	7,23
2	PVA N/29/35	0,0504		18,734	1,561	7,24
3	PVA N/29/35	0,0494		18,362	1,530	7,24
4	PVA N/29/35	0,0514		19,105	1,592	7,26
5	PVA N/27/31	0,0502	39,93	20,045	1,670	7,24
6	PVA N/27/31	0,0503		20,085	1,674	7,24
7	PVA N/27/31	0,0513		20,484	1,707	7,24
8	PVA N/27/31	0,0508		20,284	1,690	7,24
9	octan sodný	0,1366	29,63	40,475	2,811	7,23
10	octan sodný	0,1376		40,771	2,831	7,23
11	slepý pokus	---	---	---	0,435*	7,25
12	slepý pokus	---	---	---	0,365*	7,24
13	slepý pokus	---	---	---	---	7,27
14	slepý pokus	---	---	---	0,493*	7,26

Pozn. TC_{teor} – přepočet TC ze skutečné navážky vzorku

* Th_C – u slepých pokusů TC stanoven na analyzátoru uhlíku Schimadzu

Sušina naředěné suspenze kalu na počátku testu byla 3,0857g/l.

Na vstupu bylo vysoké pH (způsobeno přípravou pH fosfátového pufru – biomédium), roztok byl okyselen HCl, tj.snížena hodnota pH a to na 7,20.

Tab. VI Sušina, pH a množství uhlíku v láhvích na výstupu po odečtení sl. pokusu

Čís.	látka	TC	IC	TOC	D_C*	D_t**	$pH_{kon.}$	$sušina_{kon.}$
		(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(%)	(%)	(-)	(g/l)
1	PVA N/29/35	69,05	22,92	46,14	60	71	7,2	---
2	PVA N/29/35	64,15	21,27	42,89	61	72	7,27	---
3	PVA N/29/35	60,40	18,77	41,64	66	76	7,28	---
4	PVA N/29/35	70,45	20,02	50,44	63	74	7,26	2,73
5	PVA N/27/31	63,95	19,67	44,29	55	65	7,32	---
6	PVA N/27/31	81,20	23,37	57,34	50	62	7,31	2,59
7	PVA N/27/31	64,15	19,67	46,54	55	64	7,32	---
8	PVA N/27/31	48,90	19,82	29,09	56	65	7,35	---
9	octan sodný	93,35	80,02	13,34	39	62	7,78	---
10	octan sodný	84,50	82,57	1,94	40	64	7,72	---
11	slepý pokus	55,90	28,58	27,32	---	---	7,52	---
12	slepý pokus	62,20	35,44	26,76	---	---	7,52	---
13	slepý pokus	58,64	34,12	24,52	---	---	7,56	---
14	slepý pokus	68,66	36,80	31,86	---	---	7,52	---

Pozn.:*D_C% procentuální odstranění substrátu u jednotlivých vzorků (v čase cca 900h), vypočítáno pouze z uhlíku v plynné fázi, není zde tedy zahrnut anorganický uhlík v kapalné fázi, což se projevilo na nižší hodnotě D_C% u octanu sodného.

**D_t% celkový anaerobní rozklad, je započítán anorganický uhlík v kapalné fázi.

TC, IC, TOC – hodnoty ze stanovení na analyzátoru uhlíku Schimadzu, model 5000A; veškeré hodnoty C u vzorků uvedené po odečtení slepého pokusu.

4/ Zpracování výsledků:

V tomto prvním testu bylo cílem sledovat biologickou rozložitelnost daných vzorků PVA směsí se škrobem za anaerobních podmínek. Posoudit vliv technologie zpracování – připrava granulátu a dry blends na stupeň rozkladu.

Veškeré uvedené hodnoty byly získány již po odečtení slepého pokusu.

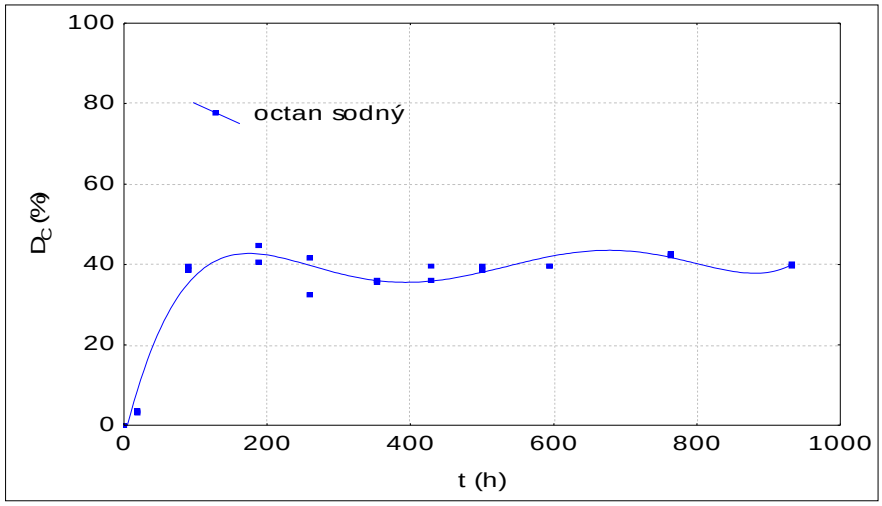
Dále tento test byl použit na odzkoušení metodiky obecně pro rozklad tohoto typu PVA vzorků. Pracovní postupy a zvolené podmínky anaerobního rozkladu vycházely z poznatků získaných z předchozích diplomových prací [23, 28].

Sušina kalu byla 3,0857 g/l, což se ukázalo jako velmi dostačující. V dalších testech se pak pracovalo se sušinou v rozmezí 3-4 g/l.

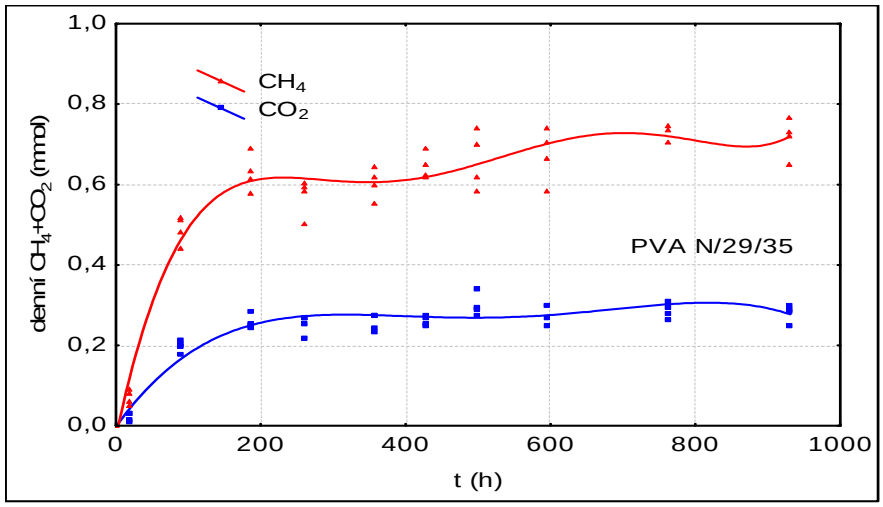
Anaerobní rozklad byl počítán na základě vyprodukovaného množství CH_4 a CO_2 (denní CO_2 a CH_4 - mmol), z něhož pak bylo počítáno procentuální odstranění substrátu D_C% bez zabilancováním anorganického uhlíku z kapalné fáze. Pak výsledné hodnoty celkového rozkladu D_t% po započítání anorganického uhlíku z kapalné fáze se tímto povýšily (Tab. VI).

Již v čase 9 dnů (cca 200h) bylo u vzorků dosaženo podstatného rozkladu. I když test probíhal celkem 12 týdnu (cca 1990h), výsledné hodnoty rozkladů byly brány v čase 5,5 týdne (cca 900h), jelikož za touto hodnotou se rozklad už nijak výrazně neměnil. Z následujících grafů lze vyčíst, že u jednotlivých vzorků byl započat rozklad prakticky ihned po rozběhnutí testu, proto již nebyla zaznamenána lagova fáze (t_{lag}), její hodnota nebyla ani 5 hodin.

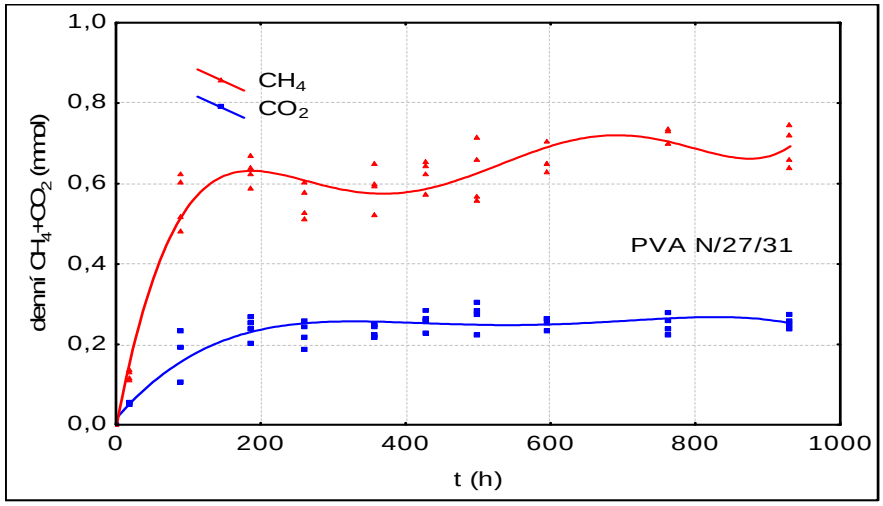
Jednotlivé průběhy anaerobních rozladů byly zpracovány statistickým programem STATISTICA Cz verze 6. Získané hodnoty D_C% v závislosti na čase pro celkový průběh degradace byly prokládány rovnicí kinetikou 1.řádu $D_C\% = D_{C\,max}*(1-e^{-k*(t-tlag)})$.



Obr. 4 Závislost D_C% na čase u standardu octanu sodného



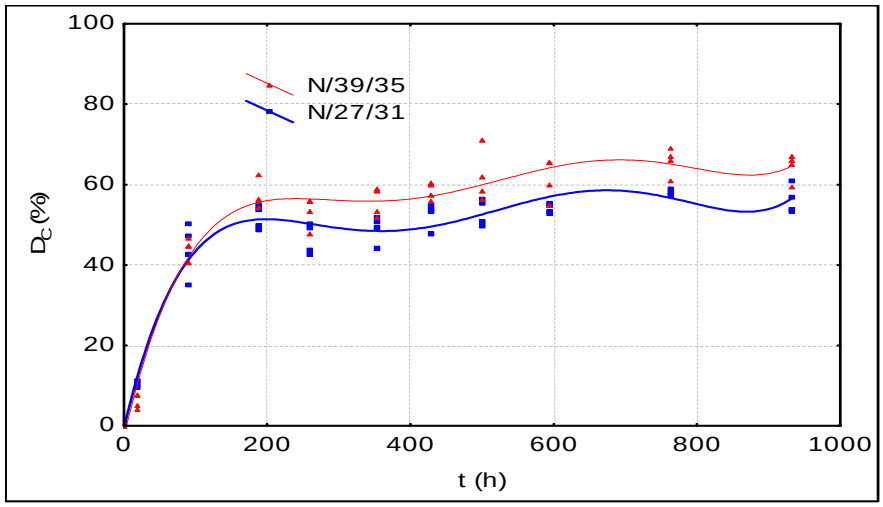
Obr. 5 Závislost denní produkce CO_2 a CH_4 na čase u vzorku PVA N/29/35



Obr. 6 Závislost produkce CH_4 a CO_2 na čase u vzorku PVA N/27/31

Závislost procentuálního odstranění substrátu D_C% na čase použitého standardu znázorňuje Obr. 4. Octan sodný byl rozložen cca ze 40%. Tato hodnota D_C% udává rozklad bez započítání IC z kapalné fáze, překvapivě byla nízká. Pak výsledný rozklad po zabilancování IC z kapalné fáze se povýšil na 63%. Octan sodný sloužil k otestování správné aktivity kalu.

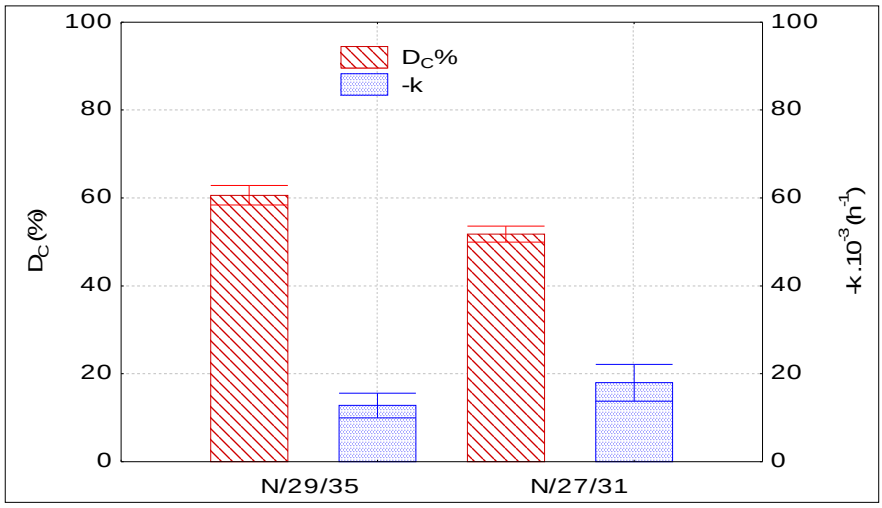
Obr. 5 a 6 znázorňuje závislost denní produkce methanu a oxidu uhličitého na čase u vzorků PVA N/29/35 a N/27/31. Pokud porovnáme při anaerobním rozkladu produkci CH_4 a CO_2 lze říci, že množství vytvořeného methanu je zhruba 2krát větší, než u oxidu uhličitého. Což odpovídá poměru vyprodukovaných plynů při anaerobní degradaci CH_4 : CO_2, tj. 3 : 1. Množství vytvořeného CH_4 se pohybuje kolem 0,6 mmol a CO_2 kolem 0,2 mmnol. Dále z obou obrázků plyne, že množství vznikajícího plynu u obou vzorků stejného složení (42% škrobu, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA Mowiolu 5-88) je téměř srovnatelné.



Obr. 7 Závislost D_C% na čase u vzorků PVA N/29/35 a N/27/31

Při pohledu na Obr. 7, který znázorňuje závislost procentuálního odstranění substrátu D_C% na čase vzorku PVA N/29/35 a N/27/31 (stejné složení - 42% škrobu, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA Mowiolu 5-88), činil rozklad kolem 62% (N/29/35) a 52% (N/27/31). První uvedený vzorek byl připraven smícháním PVA + škrobu + glycerol a jednou tepelnou úpravou, pak vznikl produkt – dry blends. Po započítání IC z kapalné fáze se tímto výsledná hodnota rozkladu D_t% povýšila, a to na 73%. Vzorek PVA N/27/31 byl vyroben nejprve smícháním PVA + glycerolu, a tepelným zpracováním vznikl jeden granulát. Druhý granulát byl připraven namícháním škrobu WAXY a glycerolu, a poté tepelně upraven. Takto

oba připravené granuláty byly opět podrobeny tepelné úpravě, a tím byl získán jeden výsledný produkt – granulát. Pokud vezmeme v úvahu skutečnost, že škrob je přírodní materiál, dobře odbouratelný, a že procento zastoupení glycerolu ve vzorku hraje rovněž při rozkladu nemalou roli, a taky se řadí mezi dobře rozložitelné materiály, pak z těchto poznatků můžeme pozorovat určitou podobnost hodnot D_C% a obsahu přídatných látek a to u obou vzorků (PVA N/29/35 a N/27/31).



Obr. 8 Hodnoty D_C% a rychlostních konstant (- k) pro vzorky PVA N/29/35 a N/27/31(svorky – maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivosti, sloupce – průměr nejvyšších hodnot D_C%)

Na Obr. 8 jsou porovnány rychlostní konstanty (- k) a procentuální odstranění substrátu D_C%, u vzorku PVA N/29/35 a N/27/31. Z porovnání rychlostních konstant (- k: modré sloupcové grafy) vyplývá, že rozklad obou vzorků byl rychlostně podobný, nepatrně rychleji se rozkládal vzorek PVA N/27/31.

Jak už bylo řečeno na začátku diskuse, bylo předmětem tohoto testu i posoudit, která technologie je z hlediska biorozložitelnosti příznivější, zda příprava granulátu či dry blends. Projevil se u obou vzorků rozdíl hodnot anaerobního rozkladu, a to cca o 10%. Vyšší degradace (62%) bylo dosaženo u vzorku, který byl připraven jedním smícháním všech 3 složek (PVA, škrob, glycerol) a následným tepelným zpracováním, kdy vznikl produkt – dry blends. Naopak 52% rozkladu bylo dosaženo u vzorku, který byl vyroben postupným smícháním složek, kdy vznikly dva granuláty a ty pak byly opět za tepla zpracovány na jeden produkt – granulát.

Z těchto výsledků získaných u TESTU 1, můžeme říci, že lépe rozložitelný byl vzorek PVA směsi vyroben jedním smícháním a tepelným zpracováním – dry blends. Na rozdíl od vzorku, který byl na 2krát smíchán a 2krát za tepla zpracován – granulát.

7.2 TEST č. 2

Cílem tohoto testu bylo odzkoušet biorozložitelnost všech 6-ti vzorků směsí PVA se škrobem a glycerolem v anaerobním vodném prostředí, a to opět analýzou plynné fáze (CH_4 a CO_2) na plynovém chromatografu CHROM 5.

Tento test probíhal od 12.10.2006 a do 27.11.2007, cca 45dní. Testované vzorky zkoušeny 2krát: 2krát slepý pokus, 2krát octan sodný, 2krát vzorek PVA N/29/35, 2krát PVA N/27/31, 2krát PVA N/21/23, 2krát PVA N/21/25, 2krát PVA N/17/17, 2krát PVA N/17/15, 2krát PVA Mowiol 5-88, 2krát škrob WAXY.

1/ Inokulum:

- vyhnilý anaerobní kal z městské čistírny odpadních vod ve Zlíně-Malenovicích
- sušina kalu 51,12 g/l, ztráty žíháním 41,015%
- přivezený kal byl 14 dnů uchováván v temperovaném boxu při teplotě 35±2 °C
- těsně před nasazením byl odstředěn při 3000 G po dobu 10 min
- kal byl rovnou ředěn minerálním médiem tak, aby koncentrace sušiny byla 3-4 g/l, tedy stejná jako u prvního testu, opět probubláván cca 20 min dusíkem

2/ Substrát:

- octan sodný, vzorky PVA směsí se škrobem, škrob WAXY, PVA Mowiol 5-88: dávkováno vypočtené množství přímo do testovacích lahví ve formě prášku, či granulí

3/ Charakteristiky vstupních a výstupních veličin:

Sušina naředěného kalu na počátku testu byla 3,43g/l. Stejně jako u prvního testu i zde bylo upravováno pH na vstupu, tj, na 7,20.

Tab. VII Navážky a množství uhlíku v lahvích na vstupu

Čís.	látka	$m_{skut.}$	$TC_{ve\ vzorku}$	TC_{teor}	Th_C
		(g)	(%)	(mg)	(mmol)
1	slepý pokus	---	---	---	0,158*
2	slepý pokus	---	---	---	0,204*
3	octan sodný	0,1123	29,63	33,274	2,772
4	octan sodný	0,1135		33,630	2,803
5	PVA N/29/35	0,0542	37,17	20,146	1,679
6	PVA N/29/35	0,0553		20,570	1,714
7	PVA N/27/31	0,0523	39,93	20,879	1,740
8	PVA N/27/31	0,0525		20,951	1,746
9	PVA N/21/23	0,0465	42,67	19,854	1,655
10	PVA N/21/23	0,0493		21,024	1,752
11	PVA N/21/25	0,0494	42,4	20,963	1,747
12	PVA N/21/25	0,0485		20,564	1,714
13	PVA N/17/17	0,0497	41,36	20,573	1,714
14	PVA N/17/17	0,0491		20,320	1,729
15	PVA N/17/15	0,0455	45,64	20,748	1,776
16	PVA N/17/15	0,0467		21,309	1,706
17	Mowiol 5-88	0,0403	50,8	20,472	1,703
18	Mowiol 5-88	0,0402		20,432	1,645
19	Škrob WAXY	0,0529	37,32	19,735	1,645
20	Škrob WAXY	0,0559		20,847	1,737

Pozn. TC_{teor} – přepočet TC ze skutečné navážky vzorku

* Th_C – u slepých pokusů TC stanoven na analyzátoru uhlíku Schimadzu

Tab. VIII Sušina, pH a množství uhlíku v testovacích láhvích na výstupu

po odečtení sl.pokusu

Čís.	látka	TC	IC	TOC	D_c	D_t	$pH_{kon.}$	$sušina_{kon.}$
		(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(%)	(%)	(-)	(g/l)
1	slepý pokus	47,49	14,62	32,87	---	---	7,34	---
2	slepý pokus	47,04	16,74	30,3	---	---	7,29	---
3	octan sodný	138,04	125,42	12,62	63	98*	7,59	4,57
4	octan sodný	158,24	131,72	26,52	66	99*	7,61	---
5	PVA N/29/35	48,99	26,77	22,22	56	69	7,15	3,95
6	PVA N/29/35	55,84	26,87	28,97	47	60	7,12	---
7	PVA N/27/31	63,44	28,86	34,58	48	61	7,15	3,64
8	PVA N/27/31	47,20	2,92	44,28	48	49	7,13	---
9	PVA N/21/23	76,14	2,25	73,88	28	29	7,22	4,25
10	PVA N/21/23	79,00	2,53	76,46	30	31	7,19	---
11	PVA N/21/25	32,55	5,08	27,48	48	50	7,15	4,03
12	PVA N/21/25	38,56	4,44	34,12	46	47	7,14	---
13	PVA N/17/17	24,46	4,62	31,82	51	53	7,13	4,17
14	PVA N/17/17	26,54	0,87	31,66	---	---	7,34	---
15	PVA N/17/15	65,96	0,93	71,02	26	27	7,16	3,47
16	PVA N/17/15	75,78	0,96	64,82	29	30	7,21	---
17	Mowiol 5-88	143,48	0,51	131,72	5	6	7,33	3,96
18	Mowiol 5-88	136,98	0,30	136,66	6	7	7,31	---
19	Škrob WAXY	55,99	12,10	43,90	70	76	7,07	4,12
20	Škrob WAXY	48,53	10,90	47,36	73	78	7,03	---

Pozn.: D_t%* hodnoty celkového rozkladu u octanu sodného vysoké (i hodnoty IC)

TC, IC, TOC – hodnoty ze stanovení na analyzátoru uhlíku Schimadzu, model 5000A; veškeré hodnoty C u vzorků uvedené po odečtení slepého pokusu.

4/ Zpracování výsledků:

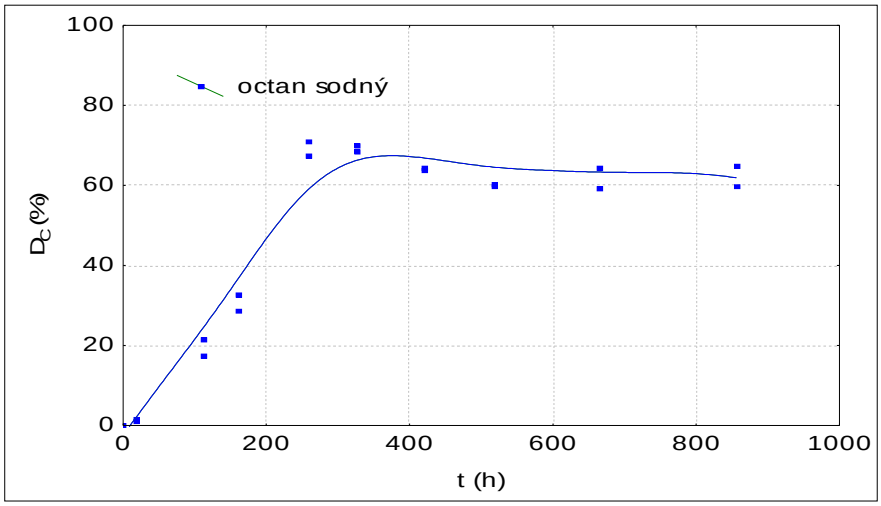
V tomto druhém testu byla sledována biorozložitelnost všech typů modifikovaných vzorků PVA směsí se škrobem a glycerolem v anaerobním vodném prostředí.

Veškeré hodnoty, které zde uvádím, byly brány již po odečtení slepého pokusu.

Nejsou zde uvedeny závislosti denní produkce CH_4 a CO_2 u jednotlivých testovaných vzorků. Hodnoty i průběhy těchto závislostí byly podobné jako u prvního testu.

V Tab.VIII jsou uvedeny jak hodnoty D_C%, tak i celkové procentuální odstranění substrátu se započítáním anorganického uhlíku v kapalné fázi D_t%. Hodnoty D_t% jsou tímto povýšeny. Pozoruhodných výsledků je dosaženo u octanu sodného, kdy hodnota připočtení anorganického uhlíku z kapalné fáze tvoří až cca 40% z celkového D_t.

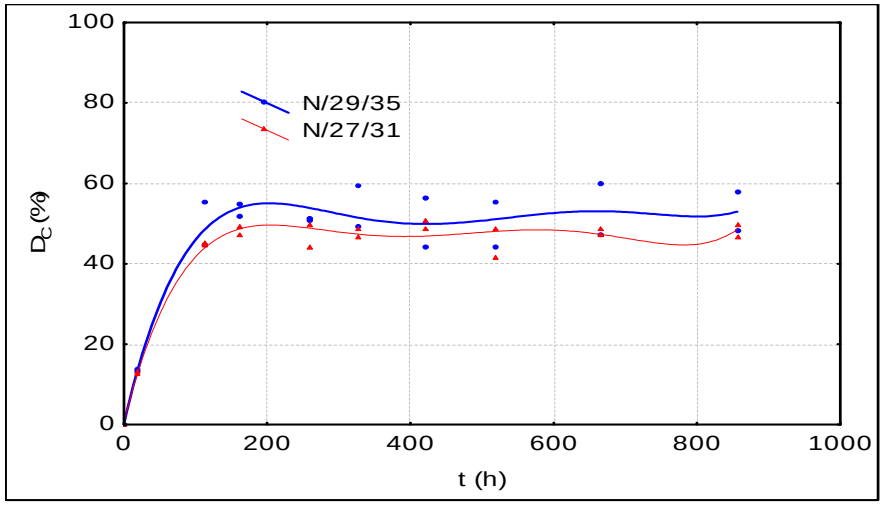
Tak jako u prvního testu, tak i tady byly jednotlivé průběhy anaerobních rozladů zpracovány statistickým programem STATISTICA Cz. Získané hodnoty D_C% pro celkový průběh degradace byly proložené rovnicí kinetikou 1.řádu $D_C\% = D_{C\,max}*(1-e^{-k*(t-tlag)})$.



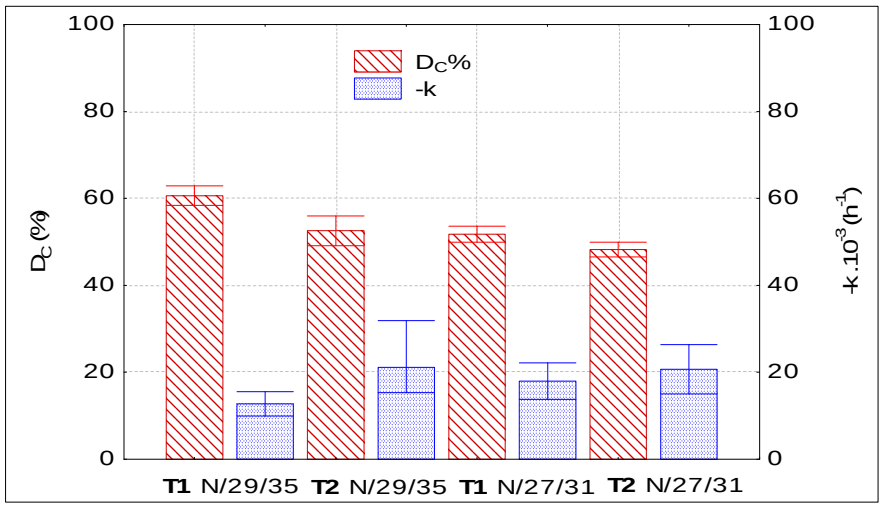
Obr. 9 Závislost D_C% na čase u standardu octanu sodného

Závislost procentuálního odstranění substrátu D_C% na čase použitého standardu znázorňuje Obr. 9, u nějž bylo dosaženo rozkladu ze 67%. Po zabilancování IC z kapalné fáze se

rozklad D_t% povýšil až na 98%. Tyto hodnoty byly odlišné od TESTU 1. Lze předpokládat, že rozdílné hodnoty byly dány aktuálně použitým kalem.



Obr. 10 Závislost D_C% na čase u vzorku PVA N/29/35 a N/27/31



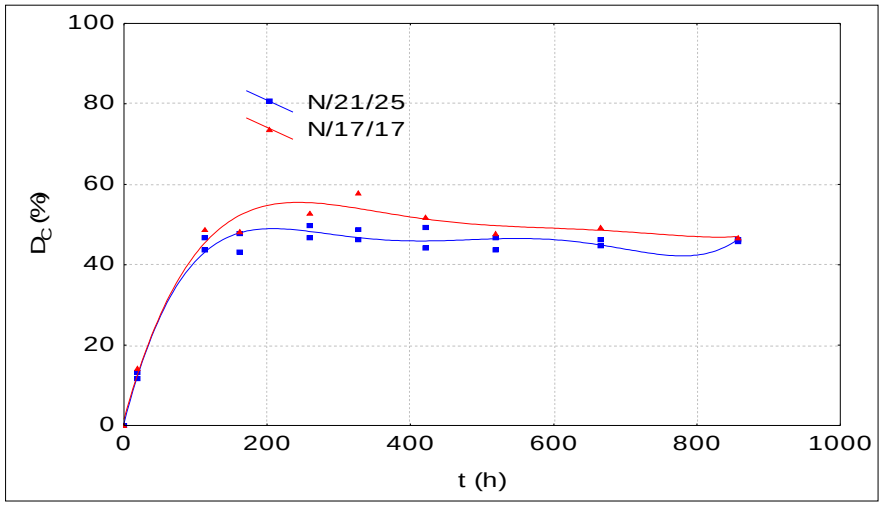
Obr. 11 Porovnání D_C% a rychlostních konstant (-k) u TESTU 1 a 2, vzorky PVA N/29/35 a N/27/31(svorky - maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivostí, sloupce - průměr nejvyšších hodnot D_C%z daného souboru)

Z Obr. 10 plyne, že u vzorků PVA N/29/35 a N/27/31 došlo k anaerobním rozkladu cca z 53% a 48%. Hmotnostní procenta zastoupení složek u vzorků bylo 42% škrobu WAXY, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA Mowiolu 5-88. Jak již bylo zjištěno u prvního testu tak i tady lze pozorovat podobnost hodnoty D_C% se složením daného vzorku (Tabulka I

a II). U prvního testu byla prokázaná odlišnost celkového rozkladu těchto vzorků až o 10%, u druhého testu není rozdíl hodnot rozkladu mezi těmito jinak zpracovanými směsi až tak výrazný. Tedy nelze druhým testem jednoznačně potvrdit, že by odlišný postup zpracování směsí těchto dvou vzorků měl výrazný vliv na výsledný rozklad.

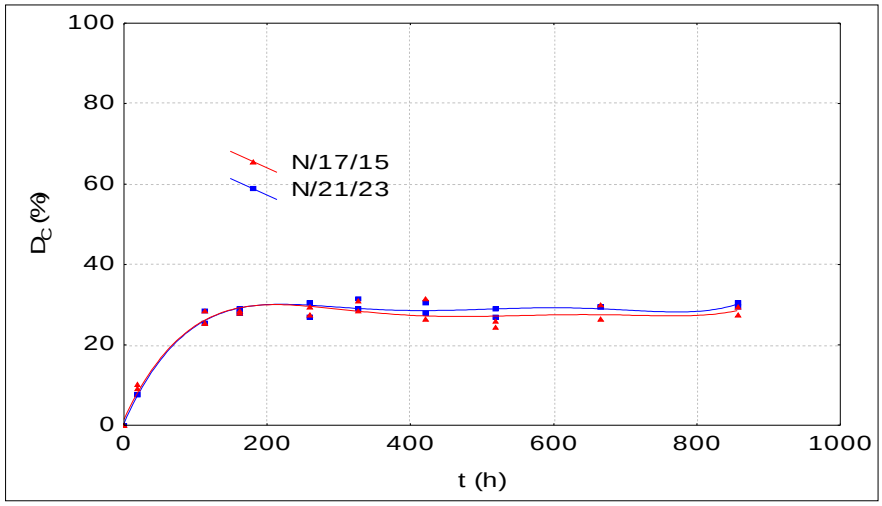
Po započítání IC z kapalné fáze byl celkový rozklad D_t% těchto směsí u PVA N/29/35 cca 66% a u PVA N/27/31 cca 56%.

Obr. 11 ukazuje sloupcové grafy, kde jsou porovnány vzorky PVA N/29/35 a N/27/31, které byly odzkoušeny v TESTU 1 a 2. Jak už bylo popsáno u předešlého obrázku, i zde ze sloupců D_C% nebyl pozorován výrazný rozdíl dosažených rozkladů u TESTU 1 a 2 u těchto dvou vzorku. Sloupce rychlostních konstant (-k) naznačují, že vzorky byly rozkládány téměř stejnou rychlostí.



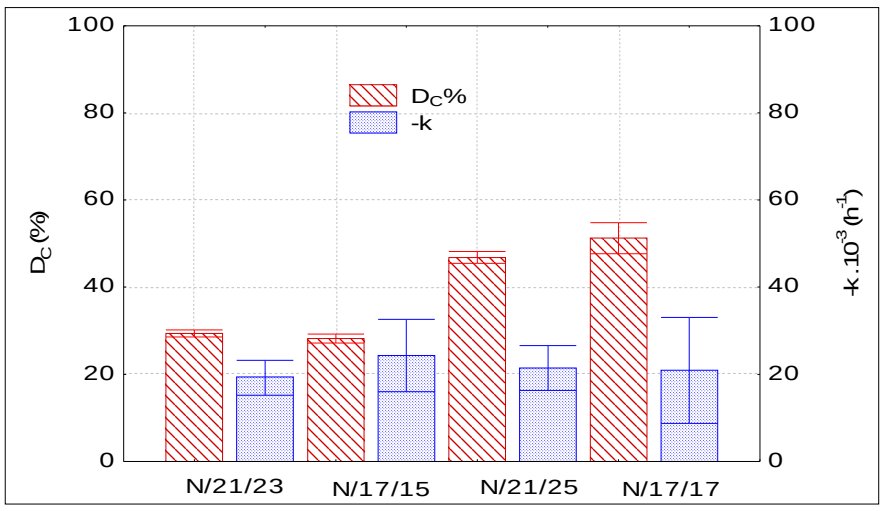
Obr. 12 Závislost D_C% na čase u vzorku PVA N/21/25 a PVA N/17/17

Z Obr. 12 je patrné, že vzorky PVA N/21/25 a PVA N/17/17, byly rozloženy z cca 47%, resp. 51%. Jedna se o vzorky PVA směsí, kde byly stejné hmotnostní % zastoupení všech složek (42% škrobu, 22,8% glycerolu a 35,2% PVA). Rozdíl byl jen v použitém škrobu. Vzorek PVA N/21/25 se škrobem WAXY. V případě druhého vzorku PVA N/17/17, byl tedy použit škrob Meritena 100. Rozdíl hodnot rozkladu nebyl výrazný, tedy nebyl prokázán vliv přírodního a geneticky modifikovaného škrobu. Po započítání IC z kapalné fáze do celkové degradace směsí Dt%, se hodnoty jen nepatrně povýšily - PVA N/21/25 cca 49%, PVA N/17/17 kolem 53%.



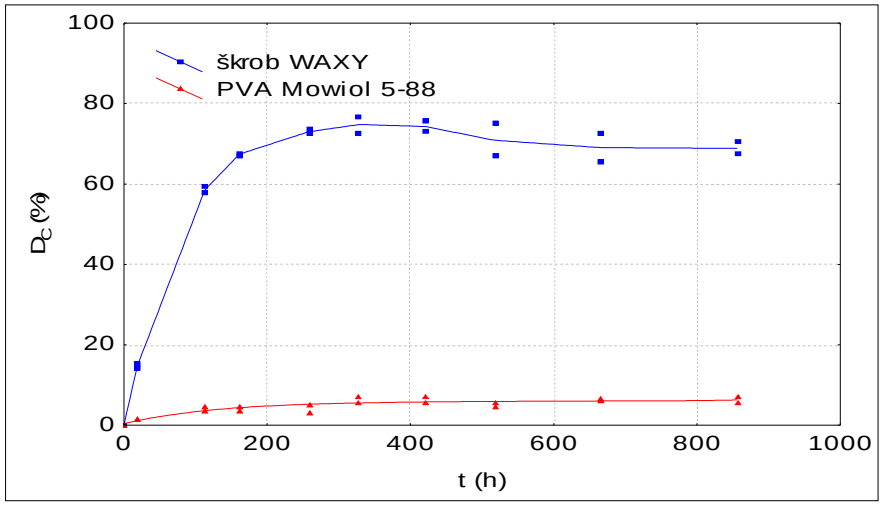
Obr. 13 Závislost D_C% na čase u vzorku PVA N/17/15 a N/21/23

Obr. 13 popisuje závislost procentuálního odstranění substrátu PVA N/17/15 a PVA N/21/23, hodnota rozkladu činila cca 28% a 29%. Tady je stejný případ, tak jako u předchozího obrázku, co se týče použitého škrobu. Hmotnostní % zastoupení škrobu byla 21%, glycerolu 17,4% a 61,6% PVA. U vzorku PVA N/21/23 se jednalo o škrob WAXY, naopak u vzorku PVA N/17/15 to byl škrob Meritena 100. Ani zde nebyl prokázán vliv těchto dvou škrobů na biorozložitelnost. Obsah PVA ze všech testovaných PVA směsí je u vzorků nejvyšší oproti ostatním směsím, a tedy hodnoty degradace byly nejnižší. I zde byly hodnoty IC v kapalné fázi nízké, nijak výrazně se pak celkový rozklad Dt % nepovýšil.

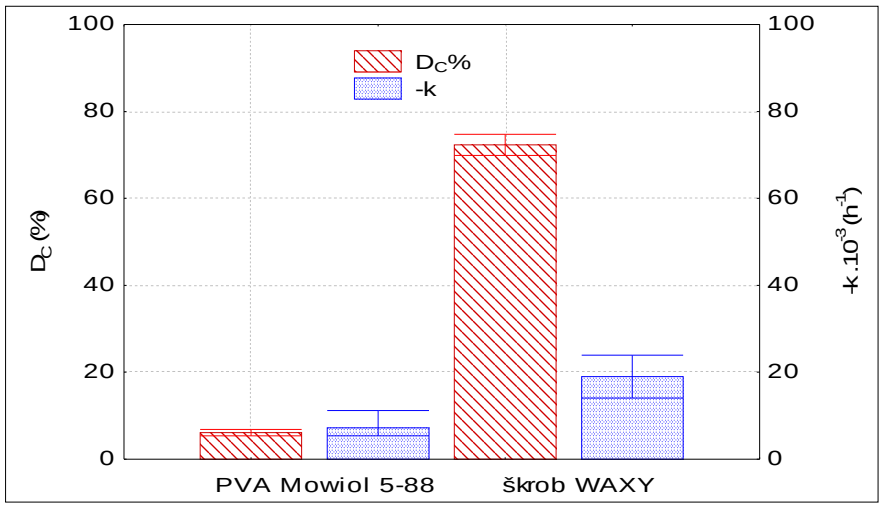


Obr. 14 Porovnání biorozložitelnosti D_C% a rychlostních konstant u vzorků PVA N/21/23, N/17/15, N/21/25 a N/17/17(svorky - maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivostí, sloupce - průměr nejvyšších hodnot D_C% z daného souboru)

Názorně ukazuje sloupcové grafy D_C% a rychlostní konstanty vzorků směsí PVA Obr. 14. I když u vzorků PVA N/21/25 a N/17/17 bylo dosaženo vyššího rozkladu, oproti vzorkům PVA N/21/23 a N/17/15, rychlostní konstanty těchto 4 vzorků se moc od sebe nelišily. Tímto se můžeme domnívat, že složení směsi vzorku, lépe řečeno různé hmotnostní zastoupení složek PVA, glycerolu, škrobu, nemělo výrazný vliv na kinetiku rozkladu; rychlostní konstanty jednotlivých vzorků směsí byly podobné.



Obr. 15 Závislost D_C% na čase PVA Mowiol 5-88 a škrobu WAXY



Obr. 16 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u PVA Mowiolu 5-88 a škrobu WAXY

Obr. 15 znázorňuje anaerobní rozklad PVA Mowiol 5-88 a škrobu WAXY. Je patrné, že škrob WAXY byl již rozložen ze 72% v čase cca 120 h. U PVA Mowiolu 5-88 dosáhly hodnoty rozkladu cca 6%. Škrob můžeme považovat za dobře rozložitelný. U Mowiolu

celkový rozklad Dt % (po započítání IC z kapalné fáze) činil 7%, u škrobu cca 77%. Literatura [17] uvádí testování anaerobní rozklad samotného PVA Sloviolu po dobu 300hod, za tuto dobu bylo procento degradace 3,7%. U našeho vzorku PVA byla hodnota rozkladu cca 7%, při 300hod. I když je ve studii popisován jiný typ PVA, procenta jsou téměř srovnatelná.

Škrob WAXY a PVA Mowiol 5-88, z hlediska porovnání jejich biorozložitelnosti za anaerobních podmínek D_C% a rychlostních konstant znázorňuje Obr. 16 . Podle očekávání u těchto dvou samostatných složek byl viditelný rozdíl v hodnotách D_C%, odlišnost byla i u rychlostních konstant (-k). Potvrzují to studie uvedené v teoretické části diplomové práce, PVA podléhá rozkladu za anaerobních podmínek jen velmi málo.

5/ Souhrnné výsledky z TESTU 1 a 2:

Tab. IX Porovnání testovaných vzorků z hlediska rozkladu D_C% (bez zabilancování anorganického uhlíku z kapalné fáze) a D_t% (po započítáni anorganického uhlíku v kapalné fázi) odzkoušených u TESTU 1, 2

testovaný vzorek	hmot.% škrobu	hmot.% glycerolu	hmot.% PVA Mowiolu 5-88	TEST 1 (v t=900h)		$-k.10^{-3}$ ±SD (h^{-1})	TEST 2 (v t=550h)		$-k.10^{-3}$ ±SD (h^{-1})
				D_C%±SD	**D_t %**		**D_C %±SD**	**D_t %**	
PVA N/17/15 (Meritena 100)	**21**	**17,4**	**61,6**	---	---	---	**28,2±0,5**	**29**	*24,3 ±3,9*
PVA N/17/17 (Meritena 100)	**42**	**22,8**	**35,2**	---	---	---	**51,2±1,5**	**53**	*20,9 ±5,1*
PVA N/21/23 (WAXY)	**21**	**17,4**	**61,6**	---	---	---	**29,4±0,4**	**30**	*19,4 ±1,9*
PVA N/21/25 (WAXY)	**42**	**22,8**	**35,2**	---	---	---	**46,8±0,6**	**49**	*21,4 ±2,4*
PVA N/27/31 (WAXY;granulát)	**42**	**25,2**	**32,8**	**51,8±0,9**	**64**	*17,9 ±2,1*	**48,3±0,8**	**56**	*20,7 ±2,7*
PVA N/29/35 (WAXY;dry blends)	**42**	**25,2**	**32,8**	**60,6±1,1**	**73**	*12,8±1,4*	**52,6±1,6**	**66**	*21,1 ±5,1*
PVA Mowiol 5-88	---	---	**100**	---	---	---	**6,1±0,4**	**7**	*7,3 ±1,9*
škrob WAXY	**100**	---	---	---	---	---	**72,3±1,2**	**77**	*19,0 ±2,3*

7.3 TEST č. 3

Cílem tohoto testu bylo sledování anaerobního rozkladu u směsí vzorků PVA s xanthanem, analýzou plynných produktů CO_2 a CH_4, pomocí plynového chromatografu CHROM 5.

Tento test probíhal od 5.2.2007 do 6.3.2007, tedy cca 4týdny. Byly testovány tyto vzorky, a to buď 3krát nebo 2krát vedle sebe: 3krát slepý pokus, 3krát PVA N/68/110, 3krát PVA N/68/111, 3krát PVA N/68/112, 3krát Xanthan potravinářský, 3krát glycerol a 2krát PVA Mowiol 5-88.

1/ Inokulum:

- vyhnilý kal z anaerobní stabilizace přebytečného aktivovaného kalu z městské čistírny odpadních vod ve Zlíně-Malenovicích
- sušina kalu 23,79 g/l, ztráty žíháním 51,84%
- přivezený kal byl 7 dnů uchováván v temperovaném boxu při teplotě 35±2 °C
- těsně před nasazením byl odstředěn při 3000 G po dobu 10 min
- kal byl ředěn minerálním médiem tak, aby koncentrace sušiny byla 3-4 g/l, opět cca 20 min probubláván dusíkem

2/ Substrát:

- vzorky PVA směsí s xanthanem, Xanthan potravinářský, PVA Mowiol 5-88, glycerol: dávkováno vypočtené množství přímo do testovacích lahví ve formě prášku, roztoku či granulí

3/ Charakteristiky vstupních a výstupních veličin:

Sušina suspenze naředěného kalu na počátku testu činila 3,74g/l. Opět se zde upravovalo pH, a to na hodnotu 7,09.

Tab. X Navážky a množství uhlíku v lahvích na vstupu

Čís.	látka	$m_{skut.}$	$TC_{ve\ vzorku}$	$TC_{teor.}$	Th_C
		(g)	(%)	(mg)	(mmol)
1	slepý pokus	---	---	---	0,321*
2	slepý pokus				0,357*
3	slepý pokus				0,379*
4	PVA N/68/110	0,0548	52,07	28,534	2,378
5	PVA N/68/110	0,0554		28,852	2,404
6	PVA N/68/110	0,0555		28,920	2,410
7	PVA N/68/111	0,0514	49,96	25,684	2,140
8	PVA N/68/111	0,0550		27,463	2,289
9	PVA N/68/111	0,0517		25,809	2,151
10	PVA N/68/112	0,0501	43,02	21,566	1,797
11	PVA N/68/112	0,0524		22,560	1,880
12	PVA N/68/112	0,0527		22,654	1,888
13	PVA M 5-88	0,0426	50,8	21,615	1,801
14	PVA M 5-88	0,0412		20,935	1,745
15	Xanthan pot.	0,0500	30,76	15,383	1,282
16	Xanthan pot.	0,0503		15,485	1,290
17	Xanthan pot.	0,0502		15,442	1,287
18	glycerol	0,0500	39,08	19,540	1,628
19	glycerol	0,0500		19,540	1,628
20	glycerol	0,0520		20,322	1,694

Pozn. TC_{teor} – přepočet TC ze skutečné navážky vzorku

* Th_C – u slepých pokusů TC stanoven na analyzátoru uhlíku Schimadzu

Tab. XI Sušina, pH a množství uhlíku v testovacích láhvích na výstupu po odečtení sl.pokusu

Čís.	látka	TC	IC	TOC	D_c	D_t	$pH_{kon.}$	$sušina_{kon.}$
		(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(%)	(%)	(-)	(g/l)
1	slepý pokus	65,98	50,508	14,92	---	---	7,23	---
2	slepý pokus	74,72	60,968	13,2	---	---	7,24	---
3	slepý pokus	71,5	60,728	10,22	---	---	7,27	---
4	PVA N/68/110	206,87	31,36	176,06	26	37	7,17	---
5	PVA N/68/110	211,87	20,16	192,22	21	28	7,42	---
6	PVA N/68/110	211,27	24,54	187,22	26	35	7,09	3,724
7	PVA N/68/111	186,87	29,50	153,92	28	39	7,07	---
8	PVA N/68/111	192,87	23,88	169,54	29	38	7,43	---
9	PVA N/68/111	201,07	5,54	196,02	28	30	7,09	3,96
10	PVA N/68/112	108,27	38,46	70,36	56	74	7,05	---
11	PVA N/68/112	119,57	28,96	81,16	53	66	7,42	---
12	PVA N/68/112	124,61	39,16	86,00	47	64	7,06	3,91
13	PVA M 5-88	208,87	18,82	190,42	10	17	7,19	---
14	PVA M 5-88	201,07	15,02	194,42	11	18	7,21	3,88
15	Xanthan pot.	52,11	29,50	23,16	77	97	7,01	---
16	Xanthan pot.	121,75	26,92	95,38	80	98	7,01	3,98
17	Xanthan pot.	77,63	48,62	29,56	90	99	6,91	---
18	glycerol	57,27	35,70	22,12	70	88	7,04	---
19	glycerol	91,71	8,40	83,86	60	64	7,04	3,94
20	glycerol	59,61	35,78	24,38	70	88	7,01	---

Pozn.: TC, IC, TOC – hodnoty ze stanovení na analyzátoru uhlíku Schimadzu, model 5000A; veškeré hodnoty C u vzorků uvedené po odečtení slepého pokusu.

4/ Zpracování výsledků:

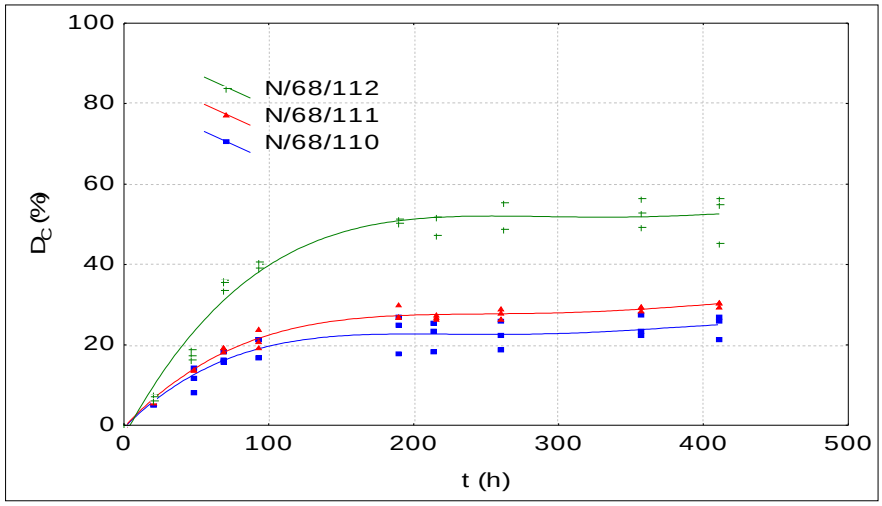
V třetím testu bylo úkolem otestovat biologický rozklad na vzorcích směsí PVA s xanthanem a glycerolem ve vodném anaerobním prostředí.

Veškeré hodnoty a jednotlivé závislosti jsou uvedeny již po odečtení slepého pokusu.

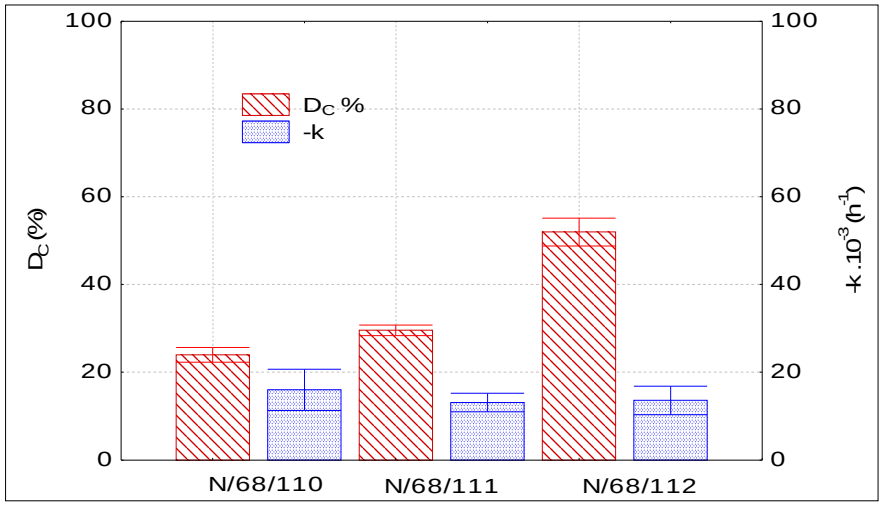
Tak jako u prvních dvou testů i zde byla anaerobní degradace vzorků a samostatných složek hodnocena na základě produkce vznikajícího množství CH_4 a CO_2 (denní CH_4 a CO_2 – mmol). Dále pak z těchto hodnot bylo počítáno procentuální odstranění substrátu D_C%, což udávalo rozklad vzorku bez započítáno IC z kapalné fáze. Nakonec byl vypočítán D_t% vyjadřující celkový rozklad po zabilancování IC z kapalné fáze.

Z Tab. XI si lze povšimnout, že i po odečtení slepého pokusu, jsou hodnoty všech uhlíku na výstupu poněkud vysoké, v některých případech i v rámci stejného vzorku rozdílné. Můžeme se domnívat, že by to mohlo mít souvislost s nedostatečnou délkou testu. Test byl ukončen po 4 týdnech, jelikož produkce obou plynů se už nijak výrazně neměnila. Nebo s charakterem kalu, poněvadž před nasazením nebyl kal promyt pitnou vodou, což mohlo mít za následek právě povýšení hodnot uhlíku při vlastním stanovení.

Jednotlivé průběhy anaerobních rozladů byly zpracovány statisticky programem STATISTICA Cz. Získané hodnoty D_C% pro celkový průběh degradace byly proložené rovnicí kinetikou 1.řádu $D_C\% = D_{C\,max}*(1-e^{-k*(t-tlag)})$.



Obr. 17 Závislost D_C% na čase u vzorků PVA N/68/112, N/68/111 a N68/110

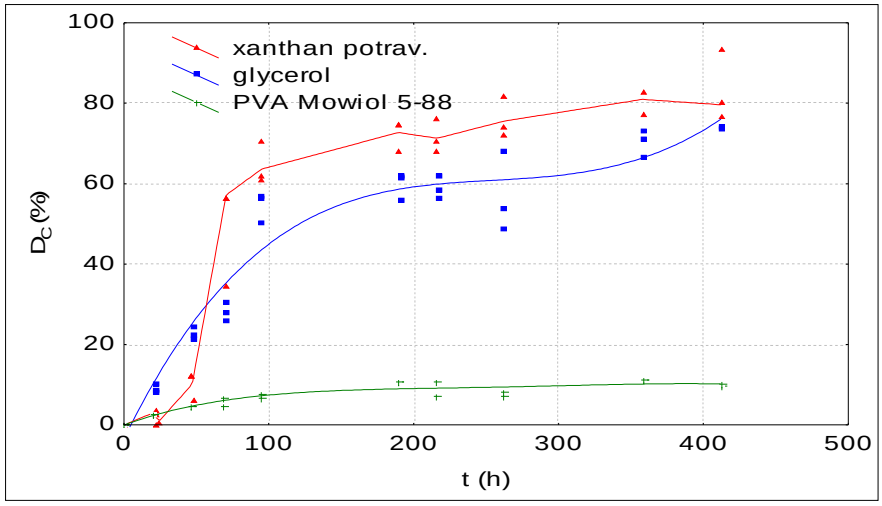


Obr. 18 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u vzorků PVA/xanthan (svorky - maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivostí, sloupce - průměr hodnot D_C% z daného souboru)

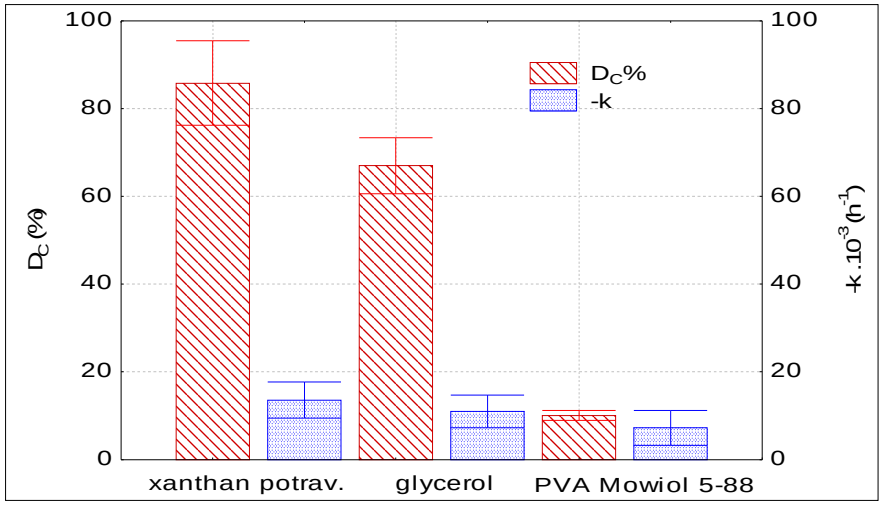
Anaerobní rozklad vzorků směsí PVA/xanthan popisuje Obr. 17. U vzorku PVA N/68/110 (10,5% xanthan, 14,7% glycerol a 74,8% PVA) bylo nejnižší zastoupení složek biologicky lépe rozložitelných (xanthan, glycerol), čemuž odpovídala i hodnota dosaženého rozkladu D_C% tj. 24%. Výsledný rozklad D_t% po započítání anorganického uhlíku z kapalné fáze činil 33%. Rozklad D_C% kolem 29% byl zaznamenán u PVA N/68/111 (21% xanthan, 17,4% glycerol a 61,6% PVA), pak celkový rozklad D_t% činil 34%. Posledním vzorkem v této sérii směsí PVA/xanthan byl PVA N/68/112 (42% xanthanu, 25,2%

glycerolu a 32,8% PVA). Vzorek s nejnižším obsahem PVA byl rozložen nejlépe cca 52% (D_C%). Po zabilancování IC z kapalné fáze se celkový rozklad D_t% povýšil na hodnotu 68%.

Vzorky směsí PVA/xanthan s různým zastoupením PVA, xanthanu a glycerolu ukazuje Obr. 18, kde jsou vzájemně porovnány z hlediska dosažených rozkladů D_C% a rychlostních konstant (-k). Hodnoty D_C% u jednotlivých vzorků byly oddiskutovány výše. I zde si lze povšimnout, že vzorky si byly rychlostně podobné, tak jako to bylo u vzorků PVA/škrob.



Obr. 19 Závislost D_C% na čase u xanthanu potravinářského, glycerolu a PVA Mowiolu 5-88



Obr. 20 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u samostatných složek – Xanthanu, glycerolu , PVA M 5-88

Obr. 19 znázorňuje anaerobní rozklad Xanthanu potravinářského, glycerolu a PVA Mowiolu 5-88. Lze pozorovat, že PVA Mowiol 5-88 byl rozložen u TESTU 3 cca z 10%,

což byla hodnota o poněkud vyšší než u TESTU 2 (D_C = 6%). Pak výsledný rozklad D_t% (po započítáni IC za kapalné fáze) se povýšil na 18%. Naopak tomu bylo u glycerolu, kde D_C% činilo 67%, pak D_t = 80%. Podobněji taktéž i u mikrobiálního polysacharidu xanthanu potravinářského, kde bylo dosaženo rozkladu D_C% ze 82%. Zde se u xanthanu projevila menší lagova fáze t_{lag} kolem 10 h.

Z Obr. 20 je patrné, že xanthan a glycerol byly v anaerobním prostředí mnohem lépe rozloženy, oproti PVA, u kterého se prakticky rozklad výrazně neprojevil. Rychlostní konstanta PVA Mowiolu 5-88 je přibližně o polovinu nižší, tzn. že degradace je u něj pomalejší na rozdíl od látek biologicky lépe rozložitelných.

7.4 TEST č. 4

Cílem tohoto testu bylo otestovat biorozložitelnost směsí vzorků s různým zastoupením složek PVA, gellanu a glycerolu za anaerobních podmínek, analýzou vyprodukovaných plynů CO_2 a CH_4 plynovou chromatografií.

Tento test probíhal od 19.3.2007 do 2.5.2007, tedy cca 6týdnů. Byl odzkoušen benzoan sodný jako standard dle normy [2]. Dále byly otestovány tyto vzorky, a to buď 3krát nebo 2krát vedle sebe: 3krát slepý pokus, 3krát PVA N/68/107, 3krát PVA N/68/108, 3krát PVA N/68/109, 3krát Gellan gum, 3krát benzoan sodný a 2krát glycerol.

1/ Inokulum:

- anaerobní vyhnilý kal z městské čistírny odpadních vod ve Zlíně-Malenovicích, sušina kalu 33,69 g/l, redox potenciál -0,250 mV
- přivezený kal byl 6 dnů uchováván v termostatu při teplotě 35±2 °C
- těsně před nasazením byl odstředěn při 3000 G (5259 ot/min) po dobu 10 min, poté byl oddělený kal resuspendován v odkysličené pitné vodě a znovu odstředěn za stejných podmínek
- kal byl ředěn minerálním médiem tak, aby koncentrace sušiny kolem 4 g/l, opět probubláván cca 20 min dusíkem

2/ Substrát:

- vzorky PVA směsí s xanthanem, Xanthan potravinářský, PVA Mowiol 5-88, glycerol:

dávkováno vypočtené množství přímo do testovacích lahví ve formě prášku, roztoku či granulí

3/ Charakteristiky vstupních a výstupních veličin:

Na vstupu byla sušina anaerobního kalu 4,79 g/l. Na začátku testu bylo upraveno pH na hodnotu 7,02 , a to z důvodu vyššího pH minerálního media.

Tab. XII Navážky, obsah uhlíku v testovacích lahví na vstupu

Čís.	látka	$m_{skut.}$	$TC_{ve\ vzorku}$	$TC_{teor.}$	Th_C
		(g)	(%)	(mg)	(mmol)
1	slepý pokus	---	---	---	0,137*
2	slepý pokus				0,134*
3	slepý pokus				0,143*
4	PVA N/68/107	0,0439	46,51	20,423	1,702
5	PVA N/68/107	0,0446		20,720	1,727
6	PVA N/68/107	0,0450		20,934	1,745
7	PVA N/68/108	0,0443	46,85	20,740	1,728
8	PVA N/68/108	0,0453		21,228	1,769
9	PVA N/68/108	0,0441		20,651	1,721
10	PVA N/68/109	0,0501	40,13	20,085	1,674
11	PVA N/68/109	0,0522		20,960	1,747
12	PVA N/68/109	0,0503		20,193	1,683
13	benzoan sodný	0,0347	58,29	20,209	1,684
14	benzoan sodný	0,0346		20,174	1,681
15	benzoan sodný	0,0346		20,139	1,678
16	gellan gum	0,0664	30,22	17,591	1,466
17	gellan gum	0,0674		20,368	1,697
18	gellan gum	0,0672		20,296	1,691
19	glycerol	0,0530	39,08	20,693	1,724
20	glycerol	0,0513		20,064	1,672

Pozn. TC_{teor} – přepočet TC ze skutečné navážky vzorku

* Th_C – u slepých pokusů TC stanoven na analyzátoru uhlíku Schimadzu

Tab. XIII Množství uhlíku v lahvích, hodnoty D_C%, D_t%, sušina a pH na výstupu po odečtení slepého pokusu

Čís.	látka	TC	IC	TOC	D_c	D_t	$pH_{kon.}$	$sušina_{kon.}$
		(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(%)	(%)	(-)	(g/l)
1	slepý pokus	82,51	65,30	16,99	---	---	7,07	---
2	slepý pokus	80,83	63,08	17,53			7,08	
3	slepý pokus	82,79	64,30	18,27			7,01	
4	PVA N/68/107	117,46	17,76	99,92	23	31	6,93	---
5	PVA N/68/107	110,18	10,44	99,96	21	26	7,22	4,81
6	PVA N/68/107	121,56	15,74	106,04	22	29	6,97	---
7	PVA N/68/108	105,20	17,54	87,88	23	31	6,95	---
8	PVA N/68/108	106,70	7,76	99,16	24	28	7,13	4,69
9	PVA N/68/108	99,66	15,38	84,60	22	30	6,97	---
10	PVA N/68/109	51,48	17,14	34,56	46	55	6,91	---
11	PVA N/68/109	54,76	17,82	37,16	48	56	7,07	4,80
12	PVA N/68/109	61,90	26,38	35,74	51	64	6,96	---
13	benzoan sodný	42,94	27,30	15,86	69	83	6,99	---
14	benzoan sodný	49,54	37,36	12,40	63	81	7,08	4,74
15	benzoan sodný	33,12	22,66	10,68	66	77	6,95	---
16	gellan gum	40,12	27,86	12,48	84	88	6,81	---
17	gellan gum	30,94	19,78	11,38	78	87	6,96	4,76
18	gellan gum	35,78	24,88	11,12	71	84	6,86	---
19	glycerol	22,58	11,22	11,58	65	71	6,99	4,73
20	glycerol	26,26	16,56	9,92	70	74	6,92	---

Pozn.: TC, IC, TOC – hodnoty ze stanovení na analyzátoru uhlíku Schimadzu, model 5000A; veškeré hodnoty C u vzorků uvedené po odečtení slepého pokusu.

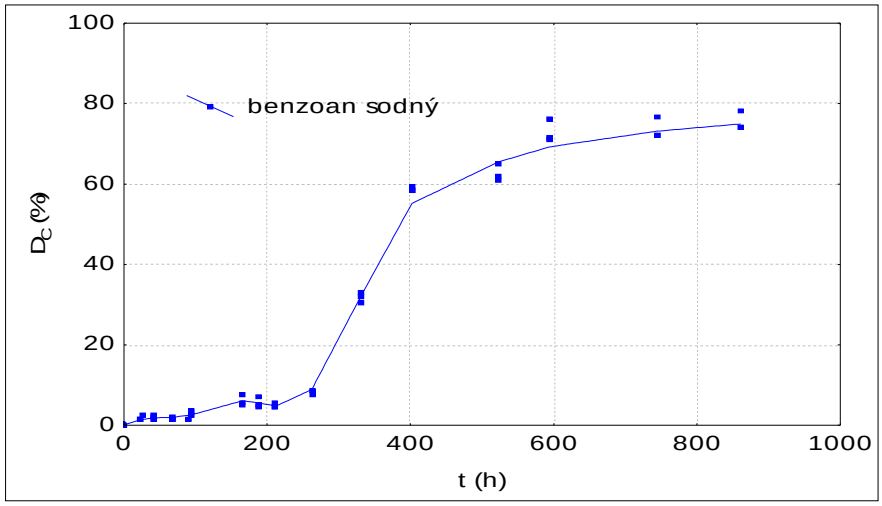
4/ Zpracování výsledků:

Posledním čtvrtý test byl proveden za účelem odzkoušení biorozložitelnosti u vzorků směsí PVA s gellanem a glycerolem za anaerobních podmínek.

Stejně jako u předchozích testech byla anaerobní degradace jednotlivých vzorků stanovena na základě vyprodukovaného množství CO_2 a CH_4. Byl počítán D_C% (bez zabilancování IC v roztoku), poté celkový rozklad Dt% (po započítání IC z kapalné fáze).

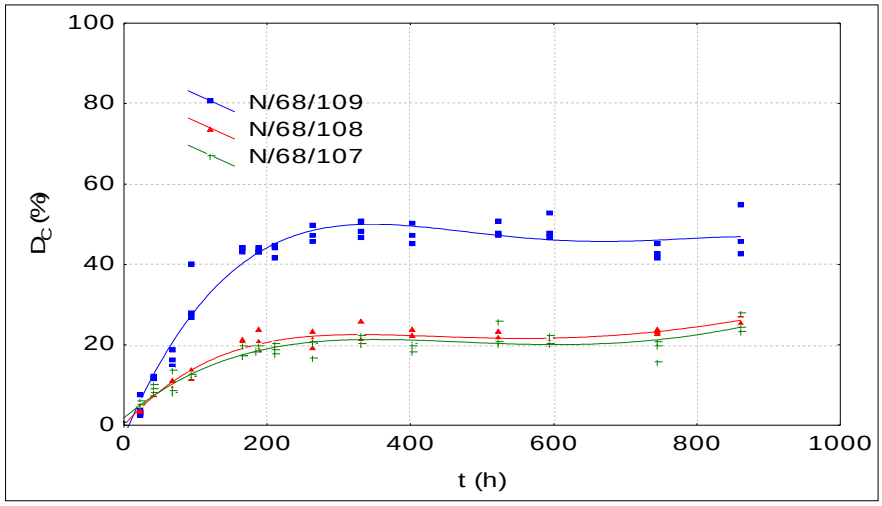
Veškeré hodnoty a jednotlivé závislosti jsou zde uvedeny již po odečtení slepého pokusu.

Závislosti anaerobního rozkladu (D_C%) na čase i sloupcové grafy byly zpracovány statistickým programem STATISTICA Cz 6. Hodnoty D_C% na čase byly proloženy rovnicí kinetiky 1.řádu $D_C\% = D_{C\,max}*(1-e^{-k*(t-tlag)})$.



Obr. 21 Závislost D_C% na čase u standardu benzoanu sodného

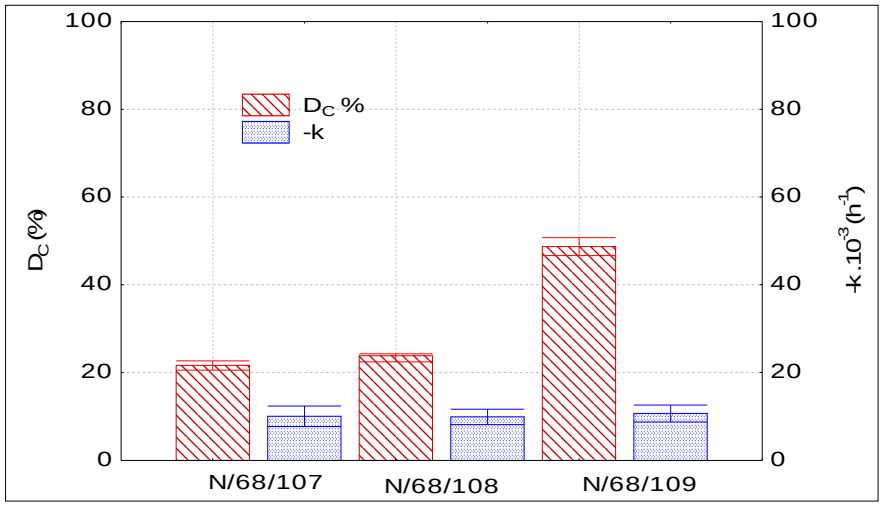
Benzoan sodný v TESTU 4 byl odzkoušen jako standard, jež byl uveden v normě [2] jako srovnávací látka. Sloužil jako ukazatel správné činnosti inokula. Byla zaznamenána delší doba na zadaptování kalu za těchto podmínek, lagova fáze tlag tedy činila cca 220h (Obr. 21). Můžeme se domnívat, že by to mohlo mít souvislost se strukturou benzoanu sodného. Principielně je anaerobní rozklad benzoanu znám, ale provádí ho velmi malé množství mikroorganismů, jejichž výskyt v anaerobních kalech prakticky není znám [28][29]. Hodnota rozkladu bez započítání IC roztoku činila 66%, pak D_t = 80%.



Obr. 22 Závislost D_C% na čase u vzorků PVA N/68/109, 108, 107

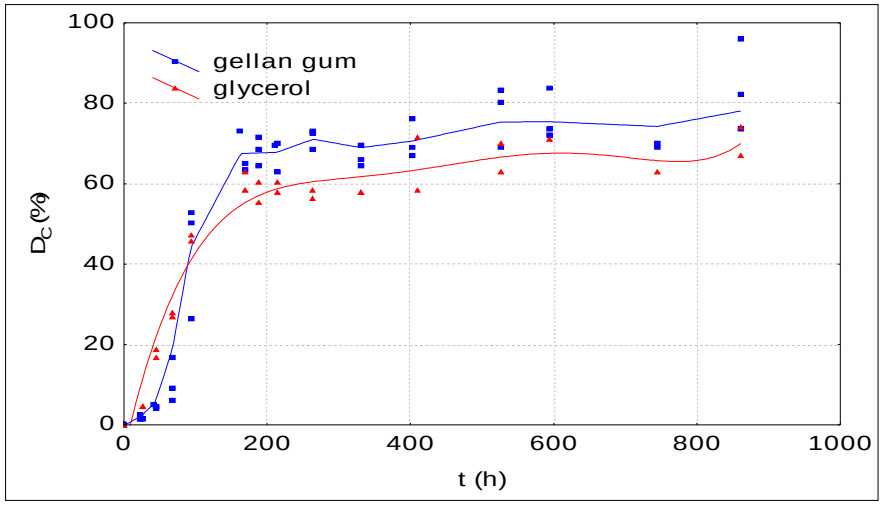
Obr. 22 ukazuje průběhy procentuálního odstranění substrátu D_C% v čase u jednotlivých vzorků směsí PVA/gellan. Nejvyššího rozkladu bylo dosaženo u vzorku N/68/109 (42% xanthanu, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA) cca z 49%, pak výsledná degradace cca D_t = 58%. U zbývajících dvou vzorků PVA N/68/108 (21% xanthanu, 17,4% glycerolu a

61,6% PVA) a N/68/107 (10,5% xanthanu, 14,7% glycerolu a 74,8% PVA) byly zaznamenány takměř shodné hodnoty rozkladu D_C%, tedy cca 23% a 22% (pak D_t = 29 a 30%).



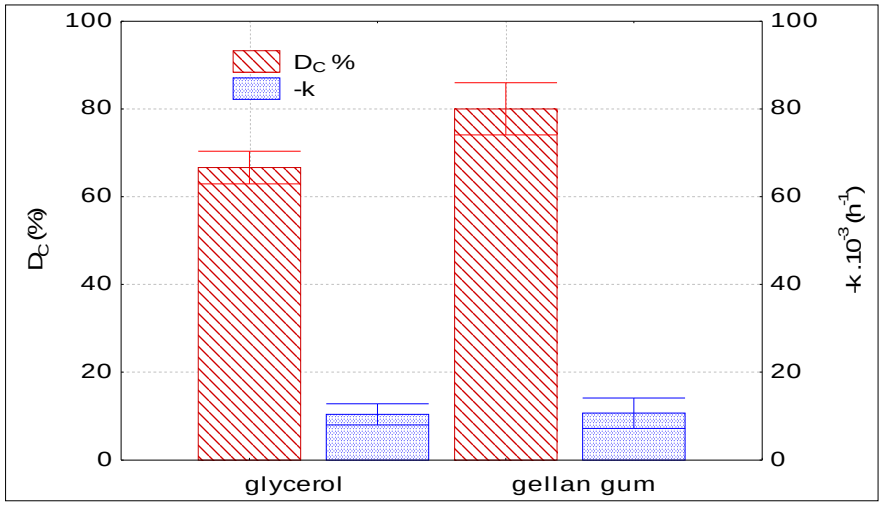
Obr. 23 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u vzorků N/68/107, 108 a 109

Na Obr. 23 jsou hodnoty D_C% vzorků a jejich rychlostní konstanty (-k) porovnány pomocí grafů rozpětí. Můžeme vidět, že podle našeho očekávání byl nejlépe rozložen vzorek N/68/109 s nejvyšším podílem biodegradabilních látek (gellan a glycerol). Tak jako u směsí vzorků PVA/škrob či PVA/xanthan, i zde jsou rychlostní konstanty směsí PVA/gellan téměř shodné.



Obr. 24 Závislost D_C% na čase u gellanu gum a glycerolu

Z Obr. 24, že u samostatného gellanu gum a glycerolu tvořící směs testovaných vzorků činil rozklad 80 a 67%. Při vlastním stanovení byla u gellanu gum zaznamenána t_{lag} kolem 20 h, o něco větší, než u samotného xanthanu v předchozím testu.



Obr. 25 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u glycerolu a gellanu gum

Hodnoty anaerobního rozkladu D_C% a rychlostní konstanty u glycerolu a gellanu gum ukazuje Obr. 25. Lze si povšimnout, že obě tyto látky byly v anaerobním vodném prostředí dobře rozloženy (nad 60%). Podobnost rychlostních konstant se projevila i v tomto případě.

Tab. XIV Porovnání testovaných vzorků z hlediska rozkladu D_C% (bez zabilancování anorganického uhlíku z kapalné fáze) a D_t% (po započítáni anorganického uhlíku v kapalné fázi) odzkoušených u TESTU 3 a 4

testovaný vzorek	hmot.% gellanu, xanthanu	hmot.% glycerolu	hmot.% PVA Mowiolu 5-88	TEST 3 (t=400h)		-k.10^{-3} ±SD (h^{-1})	TEST 4 (t=800h)		-k.10^{-3} ±SD (h^{-1})
				D_C%±SD	**D_t %**		**D_C%±SD**	**D_t %**	
PVA N/68/107 (gellan)	**10,5**	**14,7**	**74,8**	---	---	---	**21,6±0,5**	**29**	*10,0±1,2*
PVA N/68/108 (gellan)	**21**	**17,4**	**61,6**	---	---	---	**23,4±0,5**	**30**	*9,9±0,9*
PVA N/68/109 (gellan)	**42**	**25,2**	**32,8**	---	---	---	**48,7±1,0**	**58**	*1,7±0,9*
PVA N/68/110 (xanthan)	**10,5**	**14,7**	**74,8**	**24,9±0,8**	**33**	*16,0±2,3*	---	---	---
PVA N/68/111 (xanthan)	**21**	**17,4**	**61,6**	**29,6±0,6**	**36**	*13,1±1,0*	---	---	---
PVA N/68/112 (xanthan)	**42**	**25,2**	**32,8**	**51,9±1,6**	**68**	*13,6±1,6*	---	---	---
gellan gum	**100**	---	---	---	---	---	**80,0±2,9**	**86**	
xanthan potravinářský	**100**	---	---	**81,7±2,7**	**98**	*13,6±1,9*	---	---	---
glycerol	---	**100**	---	**67,0±3,1**	**80**	*10,9±1,8*	**66,7±1,8**	**73**	*10,4±1,2*
PVA Mowiol 5-88	---	---	**100**	**10,0±0,5**	**18**	*9,8±1,7*	---	---	---

ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala sledováním anaerobního rozkladu u směsí vzorků PVAL s polysacharidy (škrobem, xanthanem a gellanem) a glycerolem. Současně byly testovány i samostatné složky těchto směsí, tedy PVA Mowiol 5-88, škrob WAXY, glycerol, xanthan potravinářský a gellan gum. Anaerobní degradace těchto vzorků byla sledována na základě analýzy vyprodukovaného CH_4 a CO_2 - D_C% (udává hodnotu rozkladu jen z bilance C v plynné fázi), pomocí plynové chromatografie. Totální degradace D_t% byla vyhodnocena až po ukončení testu a následném započítání rozkladem vyprodukovaného CO_2, který zůstal v kapalné fázi. Časové průběhy degradací (proloženy rovnicí kinetiky 1.řádu) a jejich rychlostní konstanty byly stanoveny z hodnot D_C%.

Octan sodný sloužil u testech jako ukazatel správné aktivity anaerobního inokula. Z výsledků získaných u jednotlivých testů jsou zřejmé rozdílné hodnoty rozkladů. I podle časových průběhů rozkladů je možno usuzovat, že je to dáno použitím aktuálního anaerobního kalu. Jako další standard byl zde odzkoušen benzoan sodný dle normy [2]. Na začátku testu byla zaznamenána delší doba na zadaptování kalu (t_{lag} = 220 h), tento substrát byl rozložen z cca 66% až za 600 h (D_t = 80%).

Škrob a glycerol patří k nejvíce využívaným plnivům a plastifikátorům při výrobě biodegradabilních plastů. V našem případě u glycerolu a geneticky modifikovaného škrobu WAXY byl zjištěn rozklad D_C kolem 72% (D_t = 77%) za 250 h. Za další potenciální modifikátory lze považovat bakteriální polysacharidy (xanthan, gellan). Jejich biologický rozklad za anaerobních podmínek činil u xanthanu 82%, a po započítání IC z kapalné fáze D_t = 98%. Nepatrně nižších hodnot D_C kolem 80% bylo dosaženo u gellanu, pak D_t = 86%. Na začátku byla u obou látek zaznamenána lagova fáze, u xanthanu kolem 10 h, u gellanu delší (cca t_{lag} = 20 h).

U samotného PVA Mowiolu 5-88 nebyly dle očekávání získány významné hodnoty rozkladu. Tento substrát byl zdegradován z cca 7% během 300 h. Potvrzují to studie uvedené v literatuře [12], PVA podléhá rozkladu za anaerobních podmínek jen velmi málo.

Ze získaných výsledků ve všech testech bylo zjištěno, že nejlépe byly rozloženy vzorky směsí PVA/polysacharid s nejvyšším hmotnostním podílem složek biologicky rozložitelných (polysacharid + glycerol). V případě směsí PVA/škrob to byly vzorky obsahující 42% škrobu WAXY, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA Mowiolu 5-88 (PVA N/29/35 a N/27/31),

u nichž rozklad D_C% činil cca 57 a 50% (pak D_t = 60 a 70%). Mimo jiné byl u těchto vzorků posuzována vliv rozdílného zpracování směsí na biodegradaci, byl stanoven cca 10% rozdíl hodnot jejich rozkladů D_C% (resp. D_t%). Dále byl u daných směsí (N/17/17 a N/21/25, N/17/15 a N/21/23) posuzován vliv nativního a geneticky modifikovaného škrobu. Bylo zjištěno, že odlišnost použitého škrobu se na hodnotách rozkladu D_C% (resp. D_t%) nijak výrazně neprojevila. Co se týče směsí vzorků PVA/xanthan, gellan, byla situace obdobná. Nejvyššího rozkladu bylo dosaženo u vzorků PVA N/68/109 a N/68/112 (42% gellanu - xanthanu, 25,2% glycerolu a 32,8% PVA),tedy D_C = 49 a 52%, poté D_t – 58 a 68%.

Naopak k nízkému stupni degradace došlo u směsí vzorků s nejvyšším procentuálním obsahem PVA, resp. s nejnižším obsahem dobře odbouratelných substrátů (polysacharid + glycerol). Jednalo se tedy o vzorky se složením 21% polysacharidu, 17,4% glycerolu a 61,6% PVA Mowiolu 5-88 , u nichž se anaerobní rozklad D_C% pohyboval cca do hodnoty 30%, D_t% pak nepatrně nad 30%.

Konečným poznatkem z testů bylo, že biorozložitelnost v případě testovaných směsí vzorků PVA/polysacharid odpovídala procentu zastoupení látek anaerobně lépe odbouratelným (polysacharidy, glycerol). Souhrnné výsledky pro porovnání ukazují Tab. IX a XIV.

Z časových průběhů rozkladů lze usuzovat, že u směsí vzorků PVA s xanthanem a gellanem probíhal rozklad těchto substrátů pomaleji, oproti vzorkům PVA/škrob. Blíže je to specifikováno u Tab. IX a XIV, kde jsou přímo uvedeny rychlostní konstanty (k) dle jednotlivých substrátů, vzorky PVA/škrob mají cca 2x vyšší rychlost, oproti směsím PVA s xanthanem, gellanem. Z těchto poznatků si lze vyvodit, že důvodem pomalejší degradace u vzorku PVA s xanthanem (resp. gellanem), či lagové fáze na počátku testu u čistého xanthanu a gellanu je skutečnost, že v přírodě existuje daleko více enzymů rozkládajících škrob, než xanthan (gellan) degradujících enzymů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATUR

[1] Dohányos M. a kolektiv: Anaerobní čistírenské technologie. NOEL s.r.o., Brno 2000, str.3, 11-16, 52-53.

[2] ČSN EN ISO 11734: Jakost vod – hodnocení úplné biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace - Metoda stanovení produkce bioplynu, ČNI Praha 1999.

[3] Lellák J., Kubíček F.: Hydrobiologie, UK Praha 1992, str.183-185.

[4] Straka F. a kolektiv: BIOPLYN - příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů, GAS s.r.o., Říčany 2003, str. 20-23, 27, 31.

[5] Chiellini E., Corti A., D'Antone S., Solaro R.: Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based materials, Progress in Polymer Science, Volume 28, Issue 6, 2003, pp. 963-1014.

[6] Hay J.M., Lyon D., Vinyl alcohol: a stable gas phase species. Nature 216 (1967), pp. 790-791.

[7] Nexant ChemSystems Reports, Polyvinyl Alcohol [online]. [2006-12-15]. Dostupné z WWW: <http://nexant.ecnext.com/>.

[8] Biodegradable Plastics – Developments and Environmental Impacts [online].[cit.2006-12-20]. Dostupný z WWW: http://www.deh.gov.au/settlements/publications/waste/degradables/biodegradable/chapter2.html>.

[9] Matsumura S., Kurita H., Shimokobe H.: Anaerobic biodegradability of polyvinyl alkohol. Biotechnol Lett 15, 1993, pp. 749–754.

[10] Sakai K., Hamada N., Watanabe Y.: Sudies on the poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme. Part VI. Degradation mechanism of poly(vinyl alcohol) by successive reactions of secondary alcohol oxidase and β-diketone hydrolase from *Pseudomonas sp.*, Agric Biol Chem 50, 1986, pp. 989–996.

[11] Matsumura S., Tahala T.: Novel malonate-type copolymers containing vinyl alcohol blocks as biodegradable segments and their builder performance in detergent formulations, J Environ Polym Degrad 2,1994, pp. 89–97.

[12] Gartiser S., Wallrabenstein M., Stiene G.: Assessment of several test methods for the determination of the anaerobic biodegradability of polymers, J Environ Polym Degrad 6, 1998, pp. 159–173.

[13] Jinlan X., Tinglin H., Zhiying W.: Pilot study on characteristics of anaerobi biodegradation of PVA, Huanjing Wuran Zhili Jishu Yu Shebei (10), 2004, pp.30-34.

[14] Kupec J., Charvátová K., Křesálková M.: Biopolymery jako plniva v plastech, Chem. Listy 97, 2003, pp. 155-159.

[15] Chandra R., Rustgi R.: Biodegradable polymers, Progress in Polymer Science, Volume 23, Issue 7, 1998, pp.1273-1335.

[16] Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská, Modifikovaný škrob [online]. [cit. 2006-11-29]. Dostupný z WWW: <http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/databaze/Skrob.htm-tady>.

[17] Velíšek J.: Chemie potravin 1, OSSIS-V.Šedivý, Tábor, 1999.

[18] U.S. Congress, Office of Technology Assessment: Biopolymers: Making Materiale Nature's Way-Background Paper, OTA-BP-E-102 (Washington, DC: U.S. Government Prutiny Office, 1993), pp. 30-31, 35-37.

[19] Sutherland I.W.: Novel and established applications of microbial polysaccharides, TIBTECH January 16 , 1998.

[20] Zhao GH., Liu Y., Fang CL., Zhang M., Zhou CQ., Chen ZD: Water resistance, mechanical properties and biodegradability of methyllated-cornstarch/poly(vinyl alcohol) blend film, Polymer Degradation and Stability 91 (4): 703-711, Apr 2006.

[21] Degli-Innocenti F., Bastioli C.: ICS-UNIDO Expert Group Meeting on Environmentally Degradable Polymers, Trieste, 14-16 April 1998, Selected Papers, p.35.

[22] Pšeja J., Charvátová H., Hruzík P., Hrnčiřík J., Kupec J.: Anaerobic biodegradation blends based on polyvinyl alkohol, Journal of Polymers and The Environment 14 (2): 185-190 APR 2006.

[23] Honsová S.: Anaerobní rozklad PVA s vybranými polysacharidy, Diplomová práce, UTB Zlín, 2006.

[24] Moslemy P., Guiot S.R., Neufeld R. J.: Actived sludge gellan gum microbeads for gasoline biodegradation, Bioprocess and Biosystems Engineering 26 (4), 2004, pp. 197-204.

[25] Ruijssenaars H.J., Stingele F., Hartmans S.: Biodegradability of Food-Associated Extracellular Polysaccharides, Current Mikrobiology 40, 2000, pp.194-199.

[26] Liu H., Huang Ch., Dong W., Du Y., Bai X., Li X.: Biodegradtion of xanthan by newly isolated Cellulomonas sp. LX, releasing elicitor-active xantho-oligosaccharides-incuded phytoalexin synthesis in soybean cotyledons, Process Biochemistry 40 (12), 2005.

[27] Cadmus M.C., Jackson L.K., Burton K.A., Plattner R.D., Slodki M.E.: Biodegradation of xanthan gum by Bacillus sp., Applied and Environmental Mikrobiology 44 (1), 1982, pp. 5-11.

[28] Knapp J.S., Bromley-Challoner K.C.A.: Kap.34 – Recalcitrant organic compounds in Water and Wastewater Microbiology , Edited by Duncan Mara and Nigel Horan, Elsevier, 2003.

[29] University of Minnesota, Biocatalysis / Biodegradation Database [online]. [cit.2007-05-15]. Dostupný z WWW: <http://umbbd.msi.umn.edu>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PVA	Polyvinylalkohol	
SEC (GPC)	Gelová permeační chromatografie	
ASTM D	American Society fot Testing and Materials Standards, ASTM internacional: Chemical	
ISO	International Organization for Standardization	
TOC	Koncentrace celkového organického uhlíku	(mg/l)
IC	Koncentrace anorganického uhlíku	(mg/l)
TC	Koncentrace celkového uhlíku (TOC + IC)	(mg/l)
ABR	Anaerobic baffled reactor, anaerobní přepážkový reaktor	
LDPE	Nízkohustotní polyethylen	
MCS/PVA	Směs methylovaného kukuřičného škrobu s PVA	
EPSs	Extracelulární polysacharidy	
ČSN EN ISO	České technické normy (převzaté z verze evropské a mezinárodní normy)	
GLY	Glycerol	
M 5-88	Polyvinylalkohol Mowiol 5-88	
M100	Škrob Meritena 100	
WAXY	Škrob WAXY	
D_C (D_C%)	Procentuální odstranění substrátu (bez započítání anorganického uhlíku z kapalné fázi)	(%)
D_t (D_t%)	Celkový rozklad substrátu (po zabilancovaní anorganického uhlíku z kapalné fáze)	(%)
t_{lag}	Lagova fáze	(h)
-k	Rychlostní konstanta	(h^{-1})
SD	Směrodatná odchylka	

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Mechanismus biodegradace PVA za aerobních podmínek zprostředkovaná sekundární alkoholoxidazou (SAO) a β-diketon hydrolýzou (BDH) [10] 17
Obr. 2 Kalibrační graf pro stanovení CO_2 38
Obr. 3 Kalibrační graf pro stanovení CH_4 38
Obr. 4 Závislost D_C% na čase u standardu octanu sodného 47
Obr. 5 Závislost denní produkce CO_2 a CH_4 na čase u vzorku PVA N/29/35 47
Obr. 6 Závislost produkce CH_4 a CO_2 na čase u vzorku PVA N/27/31 47
Obr. 7 Závislost D_C% na čase u vzorků PVA N/29/35 a N/27/31 48
Obr. 8 Hodnoty D_C% a rychlostních konstant (- k) pro vzorky PVA N/29/35 a N/27/31(svorky – maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivosti, sloupce – průměr nejvyšších hodnot D_C%) 49
Obr. 9 Závislost D_C% na čase u standardu octanu sodného 52
Obr. 10 Závislost D_C% na čase u vzorku PVA N/29/35 a N/27/31 53
Obr. 11 Porovnání D_C% a rychlostních konstant (-k) u TESTU 1 a 2, vzorky PVA N/29/35 a N/27/31(svorky - maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivostí, sloupce - průměr nejvyšších hodnot D_C%z daného souboru) 53
Obr. 12 Závislost D_C% na čase u vzorku PVA N/21/25 a 54
Obr. 13 Závislost D_C% na čase u vzorku PVA N/17/15 a N/21/23 55
Obr. 14 Porovnání biorozložitelnosti D_C% a rychlostních konstant u vzorků PVA N/21/23, N/17/15, N/21/25 a N/17/17(svorky - maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivostí, sloupce - průměr nejvyšších hodnot D_C% z daného souboru) 55
Obr. 15 Závislost D_C% na čase PVA Mowiol 5-88 a škrobu WAXY 56
Obr. 16 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u PVA Mowiolu 5-88 a škrobu WAXY 56
Obr. 17 Závislost D_C% na čase u vzorků PVA N/68/112, N/68/111 a N68/110 61
Obr. 18 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u vzorků PVA/xanthan (svorky - maximální a minimální hodnoty intervalu spolehlivostí, sloupce - průměr hodnot D_C% z daného souboru) 61
Obr. 19 Závislost D_C% na čase u xanthanu potravinářského, glycerolu a PVA Mowiolu 5-88 62

Obr. 20 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u samostatných složek – Xanthanu, glycerolu , PVA M 5-88 62

Obr. 21 Závislost D_C% na čase u standardu benzoanu sodného 66

Obr. 22 Závislost D_C% na čase u vzorků PVA N/68/109, 108, 107 66

Obr. 23 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u vzorků N/68/107, 108 a 109 67

Obr. 24 Závislost D_C% na čase u gellanu gum a glycerolu 67

Obr. 25 Porovnání biorozložitelností D_C% a rychlostních konstant u glycerolu a gellanu gum 68

SEZNAM TABULEK

Tab. I Charakteristiky jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí se škrobem 31

Tab. II Hmotnostní zastoupení jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí vztaženo na 100 g vzorku 31

Tab. III Charakteristiky jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí s xanthanem a gellanem 32

Tab. IV Hmotnostní zastoupení jednotlivých složek u modifikovaných PVA směsí přepočítáno na 100 g vzorku 32

Tab. V Navážky a množství uhlíku vzorků v lahvích na vstupu po odečtení slepého pokusu 45

Tab. VI Sušina, pH a množství uhlíku v láhvích na výstupu po odečtení sl. pokusu 45

Tab. VII Navážky a množství uhlíku v lahvích na vstupu 51

Tab. VIII Sušina, pH a množství uhlíku v testovacích láhvích na výstupu po odečtení sl.pokusu 51

Tab. IX Porovnání testovaných vzorků z hlediska rozkladu D_C% (bez zabilancování anorganického uhlíku z kapalné fáze) a D_t% (po započítáni anorganického uhlíku v kapalné fázi) odzkoušených u TESTU 1, 2 57

Tab. X Navážky a množství uhlíku v lahvích na vstupu 59

Tab. XI Sušina, pH a množství uhlíku v testovacích láhvích na výstupu po odečtení sl.pokusu 59

Tab. XII Navážky, obsah uhlíku v testovacích lahví na vstupu 64

Tab. XIII Množství uhlíku v lahvích, hodnoty D_C%, D_t%, sušina a pH na výstupu po odečtení slepého pokusu 65

Tab. XIV Porovnání testovaných vzorků z hlediska rozkladu D_C% (bez zabilancování anorganického uhlíku z kapalné fáze) a D_t% (po započítáni anorganického uhlíku v kapalné fázi) odzkoušených u TESTU 3 a 4 68

EVIDENČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

Místo uložení práce: **Ústřední knihovna UTB ve Zlíně**

Autor práce: **Bc. Jitka HUBÁČKOVÁ**

Název práce

česky: Stanovení anaerobního rozkladu směsných polymerů na bázi PVAL

anglicky: Determination of anaerobic degradation mixed polymers on base PVAL

Vedoucí práce: **Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.**

Vysoká škola (název a adresa):

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Mostní 5139, 760 01 Zlín

Fakulta technologická, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Rok obhájení práce: **2007**

Počet stran, obrázků, tabulek: **stran 75, obrázků 25, tabulek XIV**

Předmětová hesla:
česky: polyvinylalkohol, PVAL, polysacharidy, škrob, glycerol, xanthan, gellan, biodegradace, anaerobní rozklad

anglicky: poly(vinyl alcohol), PVAL, polysaccharides, starch, glycerol, xanthan, gellan, biodegradation, anaerobic degradation

Souhrn

česky: Tato práce se zabývala testováním biorozložitelnosti u vzorků směsí PVAL s polysacharidy (škrobem, xanthanem, gellanem) ve vodném anaerobním prostředí. Anaerobní rozklad byl sledován na základě produkce methanu a oxidu uhličitého metodou plynové chromatografie. Testované vzorky směsí obsahovaly od 25 – 70 hmot. % biodegradabilních složek (polysacharid + glycerol), u nějž byl rozklad v rozmezí 20 – 70%. Bylo prokázáno, že stupeň anaerobního rozkladu odpovídal procentuálnímu zastoupení biologicky rozložitelných složek ve směsi. Nejméně rozložitelný byl PVA Mowiol 5-88, a to cca z 8% za 300 h. Naopak u škrobu WAXY a glycerolu proběhla degradace cca ze 77% za 250 h. Nejvyššího stupně degradace bylo dosaženo u xanthanu a gellanu – kolem 90%.

anglicky: This work was conducted into biological degradation of PVAL modified, mixed samples with polysaccharides (starch, xanthan, gellan) in aqueous anaerobic environment. Anaerobic degradation was based on determination of production of methan and carbon dioxide method gas chromatography and TOC determination. PVAL mixed samples contained from 25 – 70 weight % biodegradable components (polysaccharides + glycerol), was degradeted from 20 to the 70%. There was demonstrated that the value of percentage anaerobic degradation was proportionate to the representation of biodegradable components in the sample. The pure PVAL (Mowiol 5-88) was degradeted from about 8% in 300 hours. The degradation of WAXY starch and the glycerol was about 77% in 250 hours. The highest degree of anaerobic degradation was reached for the xanthan and gellan – about 90%.