

# Optimalizace metodiky pro sledování biodegradace polymerů v prostředí kompostu

Bc. Roman Kozel

---

Diplomová práce  
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí  
akademický rok: 2007/2008

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Roman KOZEL**  
Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Téma práce: **Optimalizace metodiky pro sledování biodegradace polymerů v prostředí kompostu**

Zásady pro vypracování:

1. V literární rešerši se zaměřte na dvě oblasti: – validaci / verifikaci laboratorních testovacích postupů obecně se zřetelem na testy biorozložitelnosti – nové práce (od roku 2006–8) týkající se biologické rozložitelnosti polymerních materiálů doporučených jako referentní substráty při hodnocení biodegradace (celulóza, škroby, poly( $\epsilon$ -caprolakton)-PCL, kys. polyhydroxymáselná – PHB apod).
2. S využitím dosavadních experimentálních výsledků pracoviště (diplomové práce, publikované práce) navrhnete obsahové i časové schéma optimalizace popř. validace/verifikace laboratorních testů "kompostování" polymerních materiálů definovaných vlastností (modelových substrátů). Vytipujte možné zdroje chybných výsledků a tyto dokladujte nebo experimentálně ověřte a ve finálním testu eliminujte (před započítáním testů). Navrhnete vhodné modelové látky.
3. Provedte validaci/verifikaci "kompostovacích testů" podle schématu navrženého shora (ad2), metodikou sledování biodegradace na základě produkce oxidu uhličitého a spotřeby kyslíku v plynné fázi (aplikace plynové chromatografie). Provedte minimálně dvě série dlouhodobých testů.
4. Výsledky zpracujte podle zvyklostí písemnou formou (viz instrukce UTB pro zpracování DP) s využitím MS Word a Excel a programu Statistica.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

**stávající monografická a časopisecká literatura na ÚTŽPCH,  
literární databáze dostupné online na síti UTB,  
další podle doporučení vedoucího diplomové práce**

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.**  
Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

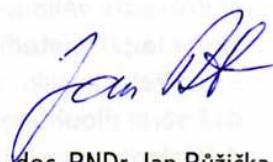
Datum zadání diplomové práce: **19. února 2008**

Termín odevzdání diplomové práce: **16. května 2008**

Ve Zlíně dne 19. února 2008



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.  
*pověřený ředitel ústavu*

## ABSTRAKT

Cílem diplomové práce byla validace a verifikace metodiky, pomocí které se sleduje biorozložitelnost polymerů v prostředí kompostu. Metodika respektuje normu ISO 14855 a rozložitelnost polymerů byla sledována pomocí plynové chromatografie na základě produkce CO<sub>2</sub>. Rozkládán byl pouze referenční vzorek a to mikrokrystalická celulóza. Jako validační parametry byly zvoleny opakovatelnost, která se ukázala jako příznivá a robustnost, kdy bylo zjištěno, že při nižší teplotě rozkladu dochází k mnohem pomalejšímu rozkladu, naopak vlhkost směsi a vyšší teplota nemá výrazný vliv.

Klíčová slova:

kompost, biorozložitelnost, mikrokrystalická celulóza, validace, opakovatelnost, robustnost

## ABSTRACT

Aim of this diploma work was validation and verification of method of studying of biodegradation of polymers in compost. This methods respects the international standard ISO 14855 and the biodegradation was observed by gas chromatography, when production of CO<sub>2</sub> was measured. Only reference sample (microcrystalline cellulose) was biodegraded. From validation parameters repeatability and robustness were chosen. Repeatability was favourable and by testing of robustness of method it was discovered that lower temperature was result in very slow biodegradation, whereas humidity of mixture and higher temperature didn't have great effect.

Keywords:

compost, biodegradation, microcrystalline cellulose, validation, repeatability, robustness

Poděkování, motto

Chtěl bych poděkovat svému vedoucímu Doc. Ing. Jaromíru Hoffmannovi, Csc. za cenné rady a připomínky, které mi pomohly k vypracování této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat konzultantce Ing. Martině Kopčilové za výraznou pomoc a trpělivost, laborantkám pí. Smejkalové a Libosvárové a celému kolektivu ústavu životního prostředí.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uveden(a) jako spoluautor(ka).

Ve Zlíně

.....

Podpis diplomanta

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
<b>1 BIODEGRADACE POLYMERŮ</b> .....	<b>11</b>
1.1 DĚLENÍ BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ .....	11
1.2 REFERENTNÍ SUBSTRÁTY PŘI TESTOVÁNÍ BIOROZLOŽITELNOSTI POLYMERŮ .....	12
1.2.1 Polykaprolakton (PCL) [4].....	12
1.2.2 Mikrokrytalická celulóza .....	12
1.2.3 Polyhydroxybutyrát PHB .....	13
1.3 ZÁVISLOST RYCHLOSTI ROZKLADU POLYMERU NA VELIKOSTI JEHO ČÁSTIC .....	13
<b>2 KOMPOSTOVÁNÍ</b> .....	<b>14</b>
2.1 KINETIKA KOMPOSTOVÁNÍ .....	14
2.2 VYZRÁLOST KOMPOSTU .....	15
<b>3 MĚŘENÍ BIODEGRADABILITY POLYMERŮ V KOMPOSTU</b> .....	<b>18</b>
3.1 KOMPOSTOVACÍ TESTY A NORMY .....	18
3.1.1 Norma ISO 14855-2 .....	18
3.1.2 Návrh testu kompostovatelnosti podle diplomové práce [1].....	19
3.2 PŘÍKLADY KOMPOSTOVACÍCH TESTŮ MĚŘENÍ BIODEGRADABILITY POLYMERŮ .....	19
3.2.1 Vliv množství substrátu a rychlosti provzdušňování na biodegradaci.....	19
3.2.2 Kompostování ve vermiculitu [3] .....	20
3.2.3 Hodnocení biodegradability polykaprolaktonu pomocí izotopu <sup>14</sup> C hmotnostním spektrometrem.....	21
3.2.4 Biodegradace polykaprolaktonu v čerstvém odpadu [19] a vliv teploty na jeho biodegradaci [20].....	22
3.2.5 Studium biodegradability kopolymeru polykaprolaktonu/styrenakrylonitrilu (PCL/SAN) .....	23
3.2.6 Vliv glukózy na biodegradaci polymerů .....	23
3.2.7 Studium biodegradability polyhydroxybutyrátu (PHB) a poly-β- (hydroxybutyrátu-co-β-valerátu) (PHB-V) [21] .....	24
3.2.8 Biodegradace fólií na bázi polyvinylalkoholu (PVA) [22].....	24
3.2.9 Biodegradace vytlačovaných fólií poly(laktické kyseliny) (PLA) [23] .....	25
3.2.10 Sledování biodegradability poly(laktické kyseliny) (PLA) ve formě prášku za účelem jeho použití jako referenčního materiálu [24].....	25
<b>4 VALIDACE, VERIFIKACE, REGULAČNÍ DIAGRAM</b> .....	<b>27</b>
4.1 VALIDACE .....	27
4.1.1 Druhy validací .....	28
4.1.2 Validací parametry .....	29
4.2 VERIFIKACE .....	31
4.3 REGULAČNÍ DIAGRAM .....	32
<b>5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE</b> .....	<b>33</b>

<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>35</b>
6.1	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A POMŮCKY .....	35
6.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	35
6.2.1	Kompletní minerální médium .....	35
6.2.2	Testované vzorky .....	36
6.3	POUŽITÝ BIOLOGICKÝ MATERIÁL .....	37
6.3.1	Příprava kompostu .....	37
6.3.2	Stanovení fyzikálních charakteristik kompostu .....	38
6.3.3	Stanovení chemických a mikrobiologických charakteristik kompostu.....	40
6.4	POUŽITÝ INERTNÍ MATERIÁL – PERLIT .....	42
6.4.1	Předúprava perlitu .....	42
6.5	POPIS TESTU .....	43
6.5.1	Testovací láhve.....	43
6.5.2	Nasazení testu.....	43
6.5.3	Průběh testu.....	44
6.5.4	Stanovení charakteristik směsi.....	45
6.6	MOŽNÉ ZDROJE CHYB V KOMPOSTOVACÍCH TESTECH .....	45
6.6.1	Vyzrávání kompostu .....	45
6.6.2	Nasazení pokusu.....	46
6.6.3	Průběh pokusu .....	46
6.7	ANALÝZA CO <sub>2</sub> A O <sub>2</sub> NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU .....	47
6.8	ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT [1] .....	48
6.8.1	Hodnocení z hlediska produkce CO <sub>2</sub> .....	48
6.8.2	Hodnocení z hlediska spotřeby O <sub>2</sub> .....	49
6.8.3	Statistické parametry .....	50
6.9	POPISY SÉRIÍ Č. 1 A 2 .....	51
6.9.1	Série č.1 .....	51
6.9.2	Série č.2.....	52
6.10	REGULAČNÍ DIAGRAM .....	54
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>56</b>
7.1	DOZRÁVÁNÍ KOMPOSTU .....	56
7.2	ÚPRAVA VLHKOSTI SMĚSI V REAKČNÍ LÁHVI.....	57
7.3	ENDOGENNÍ DÝCHÁNÍ KOMPOSTOVACÍ SMĚSI .....	58
7.4	SÉRIE Č.1 .....	59
7.4.1	Sledování a úpravy vlhkosti směsi v láhvi.....	60
7.4.2	Porovnání vypočtené a naměřené hodnoty vlhkosti směsi na konci pokusu .....	61
7.4.3	Opakovatelnost jednoho nástřiku.....	62
7.4.4	Opakovatelnost metodiky (postupu) .....	63
7.4.5	Hluché stanovení .....	64

7.4.6	Vliv stáří kompostu - porovnání rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka v kompostech A a B .....	65
7.4.7	Negativní kontrola – polyethylen.....	68
7.5	SÉRIE Č.2.....	69
7.5.1	Ověření referenčního vzorku pomocí jiného referenčního vzorku .....	70
7.5.2	Robustnost metody.....	73
<b>ZÁVĚR.....</b>		<b>77</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>		<b>79</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>		<b>83</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>85</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>		<b>86</b>



## ÚVOD

Na ústavu byla již dlouhou dobu věnována pozornost biorozložitelnosti polymerních látek ve vodném a půdním prostředí. Zatím méně byla zkoumána biorozložitelnost polymerů v prostředí kompostu, na toto téma byly zatím provedeny dvě diplomové práce. Tato diplomová práce navazuje na tyto dvě diplomové práce, hlavně na práci Martiny Moravcové [1], která aplikovala metodiku kompostovacích testů a zkoumala rozložitelnost různých směsných polymerů. Cílem mé práce bylo validace této metodiky a stanovení některých statistických parametrů, jako je opakovatelnost, robustnost a porovnání jednoho referenčního vzorku pomocí jiného referenčního vzorku.

Kompostování je přirozený biologický proces, ve kterém se látky rozkládají na cennou surovinu – humus a biorozložitelnost polymerů v kompostu má velkou výhodu v tom, že tyto polymery neznečišťují životní prostředí a při rozkladu se stávají součástí humusu, dochází tedy ke zneškodnění i stabilizaci odpadů.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 BIODEGRADACE POLYMERŮ

Biodegradace je speciálním případem degradace, kdy dochází k rozkladu polymerů vlivem biologických činitelů, obvykle vlivem mikroorganismů, může to však být i vlivem hlodavců nebo hmyzu. Nejčastěji se na biodegradaci polymerů podílejí plísně, podmínkou jejich růstu je vysoká vzdušná vlhkost, roli však hrají i další faktory jako kombinace materiálů, stupeň stáří plastů, mikroklima a podobně. Metabolity produkované plísněmi a bakteriemi způsobují degradaci samotného polymeru, též některé enzymy mohou štěpit polyamidovou nebo esterovou vazbu. Při mikrobiální degradaci dochází k těmto pochodům: [2]

- dehydrogenace polymerů a adice vody, vznik alkoholů, které jsou oxidovány na mastné kyseliny
- adice volného kyslíku za vzniku hydroxyperoxidu, který se rozpadá a produkty reagují za vzniku alkoholů a dalších sloučenin, které jsou odbourávány až na kyselinu octovou nebo propionovou
- celulóza a některé termoplasty jsou převáděny do trikarboxylového cyklu za vzniku kyseliny jantarové, fumarové, jablečné atd.
- redukce dvojné vazby, mohou ji vyvolat některé aktinomycety a některé bakterie mohou vyvolat štěpení amidové i esterové vazby

### *Obecné schéma biodegradace polymeru v kompostu:*

Polymer + O<sub>2</sub> + biomasa + živiny (N, P, atd) = CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + nízkomolekulární látky + polymerní residua [3].

Biodegradabilita se měří nejčastěji spotřebou kyslíku v respirometru nebo měřením uvolněného CO<sub>2</sub> nebo měřením úbytku celkového organického uhlíku. Možnost je i vázkové stanovení, kdy se zjišťuje úbytek hmotnosti polymeru, tato metoda se však může využít jen při biodegradaci polymerů ve formě fólií, ve formě prášku to není možné.

### 1.1 Dělení biodegradabilních polymerů

Biodegradabilní polymery se dělí na kompletně biodegradabilní polymery a částečně biodegradabilní. Kompletně biodegradabilní polymery mají omezené využití kvůli vysoké ceně a špatným mechanickým vlastnostem. Částečně biodegradabilní polymery jsou směsné polymery složené z kompletně biodegradabilního polymeru a nebiodegradabilního syn-

tetického polymeru. Ačkoli nejsou úplně biodegradabilní, dojde při rozkladu alespoň ke snížení objemu. Mají lepší vlastnosti než kompletně biodegradabilní polymery díky použití syntetických komponentů. Mezi nejznámější biodegradabilní polymery patří polykaprolakton, mikrokrystalická celulóza, poly(laktic acid), poly(butylen jantaran) a další [4].

## 1.2 Referentní substráty při testování biorozložitelnosti polymerů

### 1.2.1 Polykaprolakton (PCL) [4]

Polykaprolakton je biodegradabilní polymer typu alifatického polyesteru, vyrábí se z ropy. Má nízký bod tání (cca 60°C), používá se jako přísada k termoplastickým polyuretanům, jako pryskyřice a adhezivum a jako ztužující materiál při výrobě bot. V kompostu by měl rozložen za 15 dnů. Je to jeden z nejznámějších biorozložitelných polymerů a je ceněn pro dobrou kompatibilitu se syntetickými polymery, což umožňuje vytvoření částečně biodegradabilních polymerních směsí [4]. Při stálé teplotě 58°C při jeho rozkladu však vznikají kyseliny, které snižují pH směsi až na 5,00 a tím vedou k inhibici kompostu a zpomalení rozkladu, proto se doporučuje používat test ASTM D 5338, kdy 1. den, je teplota 35°C, čtyři dny 58°C, 28 dnů 50°C a 35°C po dobu 45 dnů [5].

### 1.2.2 Mikrokrystalická celulóza

Mikrokrystalická celulóza je částečně rafinovaná a depolymerizovaná forma celulózy, její obchodní jméno je Avicel. Získává se zpracováním dužniny rostlin s anorganickou kyselinou. Kyselina narušuje méně uspořádané a amorfní části polymerního řetězce celulózy a zůstávají krystalické části řetězce. Reakční směs je pak promývána vodou za účelem odstranění degradovaných vedlejších produktů, pak se směs vysuší. Je to bílá látka bez chuti, bez zápachu, ve vodě tvoří trojrozměrnou matici tvořenou milióny nerozpustných krystalů, které tvoří stabilní tixotropický gel [6], je nerozpustná v organických rozpouštědlech, ve zředěných kyselinách a zásadách. Využívá se v lékařství jako masťový základ, jako pojivo při výrobě tablet [7]. V potravinářství se používá jako náhražka tuku. Pro snadnou biologickou rozložitelnost je používána jako referentní materiál při kompostovacích testech biodegradability polymerů.

### 1.2.3 Polyhydroxybutyrát PHB

Biorozložitelný polymer, patří mezi polyhydroxyalkonáty, svými mechanickými vlastnostmi se podobá polypropylenu, objeven byl v roce 1926. Nevýhoda je, že se poblíž svého bodu tání rozkládá a proto jej lze jen obtížně tavit a zpracovávat. To lze však značně zlepšit přidáním jiného monomeru do jeho struktury, např. 3-hydroxyvalerátu [8]. Další nevýhoda je tzv. fyzikální stárnutí a změna mechanických vlastností s časem. Vyrábí se bakteriálně ve fermentoru např. z řepky olejné nebo ze sóji. Výroba a následná extrakce a čištění jsou dosti drahé a proto je tento polymer ve srovnání s polypropylenem nebo polyetylenem 5-10 krát dražší, proto je jeho uplatnění na trhu zatím sporadické [9].

## 1.3 Závislost rychlosti rozkladu polymeru na velikosti jeho částic

Obecně platí, že čím menší velikost částic polymeru, tím rychleji probíhá rozklad. Experimentálně to bylo ověřeno u polykaprolaktonu (PCL), poly(L-laktid acidu) (PLLA), poly(butylen jantaranu) (PBS) a poly(butylen- jantaran-co-adipanu) (PBSA). Vzorky byly dávkovány jednak ve formě fólií o rozměrech 20x20x0,055 mm, respektive 10x10x0,050 mm a ve formě prášku. Jako negativní kontrola byl použit polypropylen a bylo zjištěno, že jeho fólie nijak neovlivňovaly aktivitu mikroorganismů.

PCL a PBSA ve formě fólií byly v první fázi procesu rozkládány pomaleji než ve formě prášku, nicméně později se produkce CO<sub>2</sub> v obou případech vyrovnala a celková míra biodegradace tedy nezávisela na tvaru. U PLLA a PBS ve formě fólií byla biodegradace pomalejší a i celková míra biodegradability byla nižší než u vzorku ve formě prášku. Nebyly však vykázány žádné rozdíly v biodegradaci mezi fóliemi o různých velikostech [10].

## 2 KOMPOSTOVÁNÍ

Kompostování je biologický proces, při kterém dochází k odbourávání biologických látek a jejich převedení na stabilní humusové složky. Konečnými produkty kompostování jsou voda, CO<sub>2</sub>, minerální soli a humus. Dochází k hydrolýze bílkovin, sacharidů, tuků a objem látek sníží cca o 30 %. Proces probíhá tak, že půdní bakterie napadají organické látky a vlivem jejich činnosti dojde ke zvýšení teploty na 50°C. Při této teplotě se množí termofilní bakterie, které zvýší teplotu až na 70°C, která napomáhá rozkladu organických látek a také při ní vznikají houby, které pokračují v rozkladu organických látek. Důležitou roli hrají také enzymy, hlavně celulóza, xylanáza a proteáza, jejichž nejvyšší aktivita byla pozorována mezi 30 a 60 dny kompostování [11].

### 2.1 Kinetika kompostování

Čas potřebný k vyzrálosti kompostu je klíčový parametr. Byla zkoumána kinetika kompostování, u prvních matematických modelů kinetiky se vycházelo z toho, že rozhodujícím krokem rychlosti kompostování je hydrolýza pevných látek. V práci [12] byl rozdělen uhlík obsažený v pevných látkách do tří skupin podle rychlosti hydrolýzy – okamžitě hydrolyzující, mírně hydrolyzující a pomalu hydrolyzující, hydrolýzu pak lze vyjádřit rovnicí:

$$\frac{dC_s}{dt} = -k_h \cdot C_s \quad /1/$$

kde  $C_s$  – uhlík v pevné látce,  $k_h$  je rychlostní konstanta. Pro každý druh uhlíku (okamžitě hydrolyzující, mírně hydrolyzující a pomalu hydrolyzující) platí samostatná rovnice.

Během hydrolýzy je produkován uhlík rozpustný ve vodě, ze kterého se pak vytváří CO<sub>2</sub>, což lze vyjádřit rovnicí:

$$\frac{dC_{CO_2}}{dt} = Y_{CO_2} \cdot k_{aq} \cdot C_{aq} \quad /2/$$

kde  $Y_{CO_2}$  je podíl uhlíku rozpustného ve vodě, který je převeden na CO<sub>2</sub>,  $k_{aq}$  je rychlostní konstanta a  $C_{aq}$  je uhlík rozpustný ve vodě vyprodukovaný hydrolýzou.

## 2.2 Vyzrállost kompostu

Pro studium rozložitelnosti polymerů v kompostu je nutné, aby byl kompost dobře vyzrálý. Ke zjištění vyzrállosti se používá následujících ukazatelů – pokles teploty, obsah organického uhlíku, chemické složení, biologické testy a rychlost spotřeby kyslíku.

### *Pokles teploty*

Pokles teploty kompostu dokazuje, že kompost je již zralý. Pokles teploty však nesmí být způsoben nedostatkem kyslíku, nízkou vlhkostí nebo nedostatečnou izolací. Sledování teploty je založeno na tom, že míra tepelné produkce je přímo úměrná míře organické oxidace, která klesá po tom, když nejvíce rozložitelné látky jsou rozloženy [13].

### *Obsah organických látek*

Obsah organických látek v kompostu závisí na obsahu organických látek v čerstvém substrátu. Měřením obsahu organických látek lze dobře zjistit vyzrállost kompostu, nelze však porovnávat komposty z odlišných materiálů. Řada chemických testů je založena přímo nebo nepřímo na měření obsahu organických látek, např. stanovení obsahu organického uhlíku - v práci [11] bylo měřeno množství celkového organického uhlíku u kompostů z různých materiálů. Po 90 dnech kompostování se toto množství pohybovalo od 28 do 40 %. Dalšími možnostmi stanovení vyzrállosti kompostu jsou obsah spalitelných látek, chemické spotřeby kyslíku nebo poměru C:N, který by měl být kolem 30.

Lossin zjistil, že u čerstvého materiálu je CHSK kolem 900 mg/g, u kompostu vyzrávajícího po dobu 24 týdnů se CHSK pohybovalo kolem 300 mg/g. U téhož kompostu byl zjištěn obsah spalitelných látek, který se po 24 týdnech vyzrávání pohyboval mezi 30 a 40 % [13].

### *Chemické složení kompostu*

Z chemického složení kompostu je také možné určit jeho vyzrállost. Amoniak je obvykle přítomen na začátku procesu, když je rozkládán organický dusík. Koncentrace amoniaku pak klesá z důvodu jeho těkavosti a také oxidace na nitrátovou formu. Tedy přítomnost nitrátů a absence amoniaku indikují stabilní kompost.

Lossin navrhl stanovovat vyzrállost kompostu na základě obsahu škrobu. Vychází z předpokladu, že čerstvý substrát obsahuje škrob, který je snadno rozkládán, vyzrálý kompost by tedy vůbec neměl obsahovat škrob. K měření se používá důkazové reakce.

De Vleeschauwer studoval fytoxicitu kompostu. Z kompostu extrahoval kyselinu octovou, která vzniká v prvních fázích procesu, společně s dalšími organickými kyselinami a to tak, že tyto kyseliny byly vyextrahovány do 50 ml vody přidané k 10 g kompostu. Fyto-toxický efekt začal působit, když koncentrace kyseliny octové v extraktu z kompostu dosáhla 300 ppm a při koncentraci nad 2000 ppm žádné semeno řeřichy již nevyklíčilo. V prvních dnech kompostování tato koncentrace dosahovala až 26000 ppm. Až po 120 dnech vyžívání se tento fyto-toxický efekt neprojevoval. Z toho vyplývá, že kompost by měl vyžívát nejméně 4 měsíce.

Jedna z možností k měření vyžívání kompostu je obsah uhlíku rozpuštěného ve vodě. Při této metodě je kompost vysušen, přesit přes síto a protřepáván s vodou. Suspenze je poté přefiltrována a celkový obsah uhlíku ve vodném extraktu se zjistí titračně. Toto množství se vztahuje k celkovému organickému uhlíku a u vyžívajícího kompostu by tento obsah neměl překročit 1 %, záleží však na druhu materiálu [13].

### ***Biologické testy***

Snad nejpřesnější metodou k určení vyžívání kompostu je sledování jeho vlivu na vzrůst rostlin. Metoda vyžaduje určitý čas, k posuzování se obvykle používají semena řeřichy díky jejich rychlé reakci. Zucconi navrhl 24-hodinový test, ve kterém se zjišťuje klíčivost semen a zakořenění ve vodném extraktu z kompostu. Extrakt je získán z kompostu o vlhkosti kolem 60 % tlakovou filtrací. Sleduje se počet semen, která vyklíčí a počet kořínků o délce alespoň 5 mm, oproti slepému pokusu, což je destilovaná voda a násobek těchto dvou hodnot v procentech je definován jako index vyklíčení [14]. Zucconi použil tento test u kompostování čistírenských kalů. První tři až čtyři týdny kompostování index vyklíčení nepřesáhl 50 %, tedy směs vykazovala fyto-toxicitu, většina fyto-toxicity byla odstraněna po 60 dnech. Při intenzivním provzdušňování však již po dvou týdnech index vyklíčení přesáhl 50 %. Z toho je zřejmé, že fyto-toxicita mizí s rozkladem látek a rychlost jejího odstranění závisí na aerobních podmínkách [13].

### ***Rychlost spotřeby kyslíku***

Rychlost spotřeby kyslíku je nepřímo úměrná míře rozkladu organických látek. Chrometzka [13] naměřil, že rychlost spotřeby kyslíku u vyžívajícího kompostu je 30 x nižší než u čerstvého substrátu. Usui použil elektrolytický respirometr a u vyžívajícího kompostu naměřil rychlost spotřeby kyslíku od 40 do 127 mg O<sub>2</sub>/kg ds-h. Wilson a Dalmat použili obje-



mový respirometr a měřili rychlost spotřeby kyslíku u materiálu jak provzdušňovaného, tak neprovzdušňovaného. Za stejnou dobu byla míra stabilizace u provzdušňovaného kompostu 6 až 8 x vyšší. Aby se dosáhlo respirační rychlosti 20 mg/O<sub>2</sub> kg ds-h, bylo potřeba 30 dní vyzrávání u provzdušňovaného kompostu a 200 dnů u neprovzdušňovaného kompostu. A respirační rychlost 20 mg/O<sub>2</sub> kg ds-h indikuje vyzrálý kompost [13].

### ***Produkce CO<sub>2</sub> a humusových složek***

V práci [11] byla zkoumána produkce CO<sub>2</sub>-C v kompostu z různých materiálů, které byly vyzrávány 90 dnů. Za 7 dnů měření bylo vyprodukováno podle druhu materiálu od 10 do 22 mg CO<sub>2</sub>-C na 100 g celkového organického uhlíku. V týchž kompostech byl měřen obsah humusových složek, který se pohyboval od 25 do 62 mg.kg<sup>-1</sup> kompostu. Podle normy ISO 14855-2 by měl vyzrálý kompost při slepém pokusu produkovat od 50 do 150 mg CO<sub>2</sub> na gram celkového organického uhlíku při prvních deseti dnech měření.

Není možné použít jen jeden z těchto parametrů k určení vyzrálости kompostu, vždy je nutno kombinovat více parametrů.

### 3 MĚŘENÍ BIODEGRADABILITY POLYMERŮ V KOMPOSTU

V posledních 20 letech bylo navrženo několik možností sledování biodegradability polymerů. Testy jsou jednotné v tom, že měření degradace je nepřímé a je vyjádřeno spotřebou kyslíku nebo množstvím vyprodukovaného  $\text{CO}_2$ .

#### 3.1 Kompostovací testy a normy

Norma ISO 14855 a kompostovací testy ASTM D 5338 a CEN Draft popsány již v předchozích diplomových pracích [1, 32], zde pro doplnění uvedena jen norma ISO 14855-2.

##### 3.1.1 Norma ISO 14855-2

Biodegradační test je prováděn pomocí mikrobiálně-oxidačně-degradačního analyzátoru MODA a v druhé části této metody je popsáno gravimetrické stanovení uvolněného  $\text{CO}_2$ . K testovanému materiálu je kromě inokula z vyzrálého kompostu přidán inertní materiál, mořský písek, který funguje jako nosič mikroorganismů, pomáhá udržovat vlhkost, zlepšuje aerobní prostředí uvnitř kompostu a zvyšuje homogenitu směsi. Test se ukončuje, když křivka biodegradace dosáhne ploché fáze, standardní doba je 45 dnů, ale test by měl trvat až 6 měsíců.

Do reakční nádoby se dávkuje 10 g testovaného vzorku, 144 g kompostu (60 g sušiny) a 320 g mořského písku.. Takhle se připraví dvě nádoby, další dvě nádoby slouží jako slepý pokus, neobsahují testovaný materiál a další dvou nádob se místo vzorku dávkuje referentní materiál, což je mikrokrytalická celulóza o částechkách menších než 20  $\mu\text{m}$ . Pokus se provádí při 58°C a 70°C a optimální provzdušňovací průtok je od 10 do 30 ml/min, provzdušňovací vzduch neobsahuje  $\text{CO}_2$ . Vyprodukované plyny z reakční láhve jdou do nádoby s  $\text{H}_2\text{SO}_4$  za účelem zachycení  $\text{NH}_3$ , následují dva absorbéry na zachycení vlhkosti – první absorbér obsahuje  $\text{SiO}_2$ , druhý  $\text{SiO}_2 + \text{CaCl}_2$ , pak už následuje systém na zachycení  $\text{CO}_2$  složený též ze dvou absorbérů – první obsahuje  $\text{NaOH} + \text{Ca}(\text{OH})_2$ , kde se zachycuje  $\text{CO}_2$  a v druhém je  $\text{CaCl}_2$ , absorbuje se zde voda. Množství uvolněného  $\text{CO}_2$  se stanoví z přírůstku hmotnosti absorbéru.

Test je považován za platný, když stupeň biodegradace je po 45 dnech pokusu větší než 70 % a když rozdíl ve stupni biodegradace referentního materiálu je nižší než 20 % [15].

### 3.1.2 Návrh testu kompostovatelnosti podle diplomové práce [1]

Jednalo se o aplikaci normy ISO 14855. Rozklad byl prováděn v plynotěsných uzavřených lahvích o objemu cca 1140 ml. Uzávěr lahví byl tvořen třemi otvory, jeden otvor byl vybaven septem a sloužil pro odběr plynné složky pro následnou chromatografickou analýzu, další dva otvory byly používány při provzdušňování láhví, případně k přidávání destilované vody pro zvýšení vlhkosti směsi. Tyto dva otvory byly vzájemně spojeny silikonovými hadičkami k zajištění plynotěsnosti.

Do testovací láhve bylo dávkováno 20 g promytého perlitu, 10 g sušiny kompostu a 1,7 g vzorku (u vodorozpustných polymerů ve formě roztoku, u nerozpustných polymerů ve formě prášku), dávkování je zvoleno tak, aby byl zachován poměr vzorek : sušina kompostu 1 : 6. Ještě bylo přidáno 30 ml minerálního média, aby byly dodány biogenní prvky, tím je také zvýšena vlhkost směsi na 55 - 60 %. Inkubace probíhala ve vodní lázni nebo v sušárně o stálé teplotě 58°C.

Biorozložitelnost byla sledována pomocí produkce CO<sub>2</sub>, jehož koncentrace se měřila na plynovém chromatografu a také pomocí spotřeby kyslíku. Měření bylo prováděno 2x týdně a po každém měření byly láhve provzdušněny vzduchem neobsahujícím CO<sub>2</sub> za účelem odstranění zbytkové koncentrace CO<sub>2</sub> a obnovení aerobního prostředí.

## 3.2 Příklady kompostovacích testů měření biodegradability polymerů

### 3.2.1 Vliv množství substrátu a rychlosti provzdušňování na biodegradaci

Leonóra Szaraz a Judit Beczner [16] provedli testování biodegradability mikrokrystalické celulózy v kompostu. Použili kompost z místní kompostárny v Budapešti, před pokusem jej přesili přes síto 5 mm a upravili jeho vlhkost na 55 %. Test byl prováděn v 250 ml Erlenmayerově baňce, na jejím dně byla umístěna 20 mm vysoká vrstva ze skleněných kuliček a na této vrstvě ještě plastovou přepážkou. Dvě skleněné trubice byly vloženy do provrtané zátky sloužící k uzavření baňky. Konec delší trubice byl pokryt plastovou membránou, aby se zabránilo ucpávání zrny kompostu. K inkubační baňce byly připojeny dvě trubice o objemu 40 ml obsahující po 20 ml 0,5M NaOH. Provzdušňování bylo provedeno vzduchem neobsahujícím CO<sub>2</sub>. Baňky byly zapojeny paralelně a umístěny do inkubátoru o 37°C. Množství uvolněného CO<sub>2</sub> bylo zjišťováno titrací HCl o koncentraci 1 mol.l<sup>-1</sup>,

z množství HCl potřebné k titraci bylo vypočítáno množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub> a stupeň biodegradace.

Do 80 g kompostu bylo přimícháno 2-4-6-8 g celulózy a průtok vzduchu při provzdušňování byl nastaven na 30-50-70-90 ml.min<sup>-1</sup> aby se vyjádřil efekt těchto dvou parametrů na množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub>. Nejprve byl zkoumán rozklad jednotlivých množství celulózy při průtoku provzdušňovacího vzduchu 50 ml.min<sup>-1</sup>. V případě 2 g celulózy byl stupeň biodegradace značně rychlý a po 52 dnech dosáhl již 57 %, zatímco u 8 g celulózy to nebylo ani 5 %. U množství 6 a 4 g celulózy to bylo 20, respektive 8 %. Pokus byl ukončen, když se křivka biodegradace dostala do ploché fáze a nevykazovala již žádný vzrůst. Nebyla prokázán předpoklad, že čím větší množství materiálu, tím rychlejší rozklad, což vede k tomu, že rozmíchání neznámého materiálu v neoptimálním množství může vést k nesprávnému posouzení biodegradace.

Druhý pokus byl v tom, že do kompostu bylo umístěny 2 g celulózy a průtok provzdušňování nastaven na 30-50-70-90 ml.min<sup>-1</sup>. Provzdušňování 90 ml.min<sup>-1</sup> způsobilo nevratné vysušení kompostu, které zastavilo všechny procesy. Nejvyšší stupeň biodegradace byl naměřen při 70 ml.min<sup>-1</sup>, kdy stupeň biodegradace dosáhl 90 % po 30 dnech, výrazně vyšší, než u průtoku 50 a 30 ml.min<sup>-1</sup>, kdy po 50 dnech bylo dosaženo stupně rozkladu 73, respektive 57 %.

Z pokusu vyplývá, že největšího stupně rozkladu bylo dosaženo při zamíchání 2 g celulózy do 80 g při průtoku provzdušňovacího vzduchu 70 ml.min<sup>-1</sup>. Větší množství přimíchaného materiálu nevedlo k nárůstu množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub>, jak by se očekávalo [16].

### 3.2.2 Kompostování ve vermiculitu [3]

Při měření biodegradability v kompostu je často vyprodukováno více CO<sub>2</sub> než by se očekávalo, tedy biodegradace přesáhne 100 %, i po odečtení slepého pokusu. Je to dáno tím, že přimíchání vzorku může ovlivnit aktivitu mikroorganismů a zvýšit respiraci, kdy i po skončení pokusu je množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub> vyšší než u původního kompostu. Může se tomu zabránit tím, že se zkoumaný materiál označí izotopem <sup>14</sup>C a měří se uvolněný <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, je tedy jasně rozlišeno jaké množství CO<sub>2</sub> se uvolňuje z materiálu a jaké z kompostu. Tato metoda je však dosti drahá a tak se nabízí kompostování ve vermiculitu. Vermiculite je křemičitan hlinito-železito-hořečnatý, který byl velmi vysokou teplotou

expandován (rozeprnut) na několiknásobek svého objemu. K expanzi dochází díky rozpínání krystalické vody ve struktuře horniny. Horninou je zde slída, která kdysi vznikla vulkanickou činností při kontaktu horké vody se žhavou hmotou. Proto krystaly slídy obsahují molekuly vody. Vermiculite je sterilní, prostý bakterií, spor a semen a může dobře sloužit jako nosič bakterií. Po aktivaci termofilními mikroorganismy se může použít k měření biodegradability polymerů. Bylo zjištěno, že produkuje méně CO<sub>2</sub> než kompost z toho důvodu, že v něm není obsažen žádný organický uhlík náchylný k degradaci, zatímco i vyžrálý kompost obsahuje řadu látek, které se pomalu rozkládají [3].

V práci [17] se zabývali kompostováním ve vermiculitu, jako substrát byla použita glukóza. Bylo sledováno množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub> a zbytek glukózy v reaktoru byl sledován po extrakci metodou HPLC. Biodegradace glukózy ve vyžrálém kompostu dosáhla 121 % po 18 dnech, to indikuje, že zároveň s glukózou došlo k rozkladu jiných látek, zatímco ve vermiculitu to bylo 103 % po 20 dnech, zde je přesah přes 100 % statisticky nevýznamný. V práci [3] se zabývali biodegradací mikrokystalické celulózy. Degradace měla zhruba stejný průběh, projevil se rozdíl v produkci CO<sub>2</sub> mezi vermiculitem a kompostem a biodegradace skončila v obou případech po 68 dnech. Tedy používání metody založené na aktivovaném vermiculitu je velmi slibné a dovoluje lépe sledovat biodegradaci látek než při měření v kompostu. Jeho výhoda je také v tom, že po skončení testu z něj můžeme snadno extrahovat látky pro další chemickou analýzu, např. polymerní rezidua, díky nimž je možno porozumět mechanismu rozkladu polymeru. Naopak extrakce z kompostu je velmi zdlouhavá a získaný extrakt není vhodný k další analýze.

### 3.2.3 Hodnocení biodegradability polykaprolaktonu pomocí izotopu <sup>14</sup>C hmotnostním spektrometrem

Práce [18] se zabývala měřením biodegradability polykaprolaktonu. Rozklad byl stanovován podle normy ISO 14855-2 gravimetricky mikrobiálně-oxidačně-degradačním analyzátozem MODA a také pomocí hmotnostního spektrometru. Směs v reakční nádobě byla připravena podle normy, tedy 10 g vzorku, 144 g kompostu a 320 g mořského písku. Přídavný absorbér s Ba(OH)<sub>2</sub> byl použit pouze při stanovení rozkladu polykaprolaktonu pomocí hmotnostního spektrometru. Biodegradace probíhala při 58°C, provzdušňovací průtok byl 10 ml.min<sup>-1</sup> a rozklad probíhal 56 dní.

Pro stanovení hmotnostní spektrometrií byl uvolněný CO<sub>2</sub> jímán jako BaCO<sub>3</sub> v 0,08N Ba(OH)<sub>2</sub>, vzniklá sraženina byla vysušena při pokojové teplotě a zvážena a pak byl snížením tlaku získán opět CO<sub>2</sub>, který byl pomocí železného prášku redukován na grafit a ten pak převeden na izotopy, jejichž množství již bylo měřeno hmotnostním spektrometrem.

Podle gravimetrického stanovení dosáhl rozklad 101,4 %, je tedy zřejmé, že přídavek vzorku ovlivnil aktivitu kompostu. Bylo však vyzkoumáno, že skutečná rozložitelnost polykaprolaktanu je jen 80 %, toto množství může být zkonsumováno v trikarboxylovém cyklu. Tedy jen 80 % teoretického množství CO<sub>2</sub> se mělo uvolnit. Při měření hmotnostní spektroskopii bylo zjištěno, že právě jen 79,9 % z celkového teoretického množství se uvolnilo.

Rozšíření této metody zatím brání vysoká cena a nutnost používání složitých zařízení a může být použita jen pro polymery vyrobené z ropy s pomalou biodegradací. Naopak metoda podle normy ISO 14855-2 je používána především díky jednoduchosti.

### **3.2.4 Biodegradace polykaprolaktonu v čerstvém odpadu [19] a vliv teploty na jeho biodegradaci [20]**

Byl zkoumán rozklad PCL, místo do kompostu byl přimíchán do čerstvého odpadu, a to do psího krmiva v různých hmotnostních poměrech. Psí krmivo bylo rozdrceno, byla do něj přimíchána dřevěná moučka a inokulum a PCL byl dávkován ve formě prášku v 0- 8,3- 17 a 33 hmotnostních procentech směsi. Pro srovnání byl proveden také rozklad ve vyzrálém kompostu. Do kompostu byl přimíchán PCL v poměru 6:1 podle testu ASTM D 5338. Byl použit kompostovací reaktor o šířce 30 cm a výšce 40 cm, vyprodukované plyny byly vedeny přes láhev s H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> za účelem zachycení NH<sub>3</sub> a přes láhev se silikagelem z důvodu odstranění vlhkosti. Množství CO<sub>2</sub> bylo měřeno infračerveným analyzátozem.

U pokusu, kde bylo rozkládáno samotné krmivo, dosáhla biodegradace 81 % po 192 hodinách, u ostatních vzorků platilo, že čím více bylo obsaženo PCL, tím vyšší míra biodegradace.

Bylo zjištěno, že přimíchané množství PCL neovlivňuje biodegradabilitu samotného psího krmiva. Pro srovnání, biodegradace PCL v psím krmivu dosáhla po 11 dnech 84 %, ale v kompostu jen 59 %, (samozřejmě bylo přimícháno stejné množství PCL), v kompostu však začala probíhat biodegradace okamžitě, naopak u psího krmiva až po 80 hodinách procesu, což bylo pozorováno u všech pokusů s psím krmivem [19].

V jiné práci [20] byl zkoumán vliv teploty na biodegradaci PCL, byla použita úplně stejná aparatura a rozklad probíhal taktéž v psím krmivu. A největšího rozkladu bylo dosaženo při 50°C, a to 62 %, při 40 a 60°C to bylo 35, respektive 16 %. Pro srovnání byl rozkládán také další biopolymer, PPL (polypropiolakton), u kterého biodegradace při 40 a 50°C dosáhla shodně 40 %, u 60°C to bylo jen 8 %.

### **3.2.5 Studium biodegradability kopolymeru polykaprolaktonu/styrenakrylonitrilu (PCL/SAN)**

V práci [4] byla zkoumána biodegradace polymerní směsi PCL/SAN v kompostu. Vzor-ky ve formě filmu obsahovaly různá množství PCL v poměru k SAN a to 100, 75, 50 a 25 % a biodegradabilita byla měřena úbytkem hmotnosti. Kompostování bylo provedeno ve směsi, která se skládala z vyzrálého kompostu a čerstvého odpadu (listí, papír, hrachové lusky) v poměru 1:4. Vlhkost byla udržována na 60 %, pH 7 a provzdušňování bylo nastaveno na 100 ml.min<sup>-1</sup>. Pro srovnání byly vzorky vloženy také do směsi, která byla intoxikována vodným roztokem KCN. Samotný PCL byl po třech měsících rozložen úplně, naopak u vzorku s 25 % obsahem PCL byl zaznamenán jen zanedbatelný úbytek hmotnosti. Zajímavostí je zhruba o 10 % vyšší biodegradace u vzorku s obsahem 50 % PCL než u vzorku se 75 % PCL. Důvod může v tom, že vzorek s 50 % je semikrystalický a semikrystalické polymery jsou náchylnější k biodegradaci.

### **3.2.6 Vliv glukózy na biodegradaci polymerů**

V práci [5] byl zkoumán vliv glukózy na biodegradabilitu polymerů. Použity byly polykaprolakton (PCL), poly(hydroxybutyrát-co-valerát) (PHB-V), polyvinylalkohol (PVA) a Materbi ZFO3U. Vzor-ky byly rozemlety na prášek a test byl proveden podle standardního kompostovacího testu ASTM D5338-92. Provzdušňování bylo nastaveno na 40 ml/min. Směs tvořila 200 g kompostu (hmotnost i s vlhkostí) a testovaného materiálu bylo 5 % (navážka na sušinu kompostu). Produkovaný CO<sub>2</sub> byl absorbován 0,4N KOH a 2N BaCl<sub>2</sub>, množství bylo vyjádřeno titrací 0,2N HCl. Polymery byly rozkládány jak bez přídavku glukózy, tak s glukózou a pro kontrolu byla provedena i biodegradace samotné glukózy v kompostu. Co se týče biodegradace samotné glukózy, tak při přídavku glukózy v množství 0,1 % kompostu je zřejmé, že tento přídavek velice zvýšil aktivitu mikroorganismů, protože biodegradace dosáhla 1400 % po 28 dnech, se zvyšujícím se množstvím glukózy byla tato zvýšená aktivita potlačována, při přídavku glukózy v poměru 0,5 % do-

sáhla biodegradace 380 %, při přidavku v poměru 10 % ku kompostu dosáhla biodegradace zhruba 100 % za 28 dní.

Biodegradace polymerů se přidavkem 5% glukózy v poměru ku hmotnosti směsi nevyšila, přídavek glukózy tedy nemá žádný vliv. Nejrychleji se v obou případech rozkládal PHBV, nejpomaleji PVA.

### **3.2.7 Studium biodegradability polyhydroxybutyrátu (PHB) a poly-β-(hydroxybutyrátu-co-β-valerátu) (PHB-V) [21]**

Aparatura k těmto testům se skládala ze tří reaktorů, v prvním reaktoru byl obsažen  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  za účelem odstranění  $\text{CO}_2$  ze vzduchu, který jde z čerpadla, do druhého reaktoru bylo nadávkováno podle testu ASTM D-5338 600 g kompostu, 100 g polymeru a směs byla upravena na požadovanou vlhkost a reaktor byl umístěn na ohřívači, vyprodukovaný  $\text{CO}_2$  byl zachytáván ve třetím reaktoru s  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . Množství vyprodukovaného  $\text{CO}_2$  bylo měřeno každých 24 hodin po dobu 54 dnů. Rychleji byl degradován PHB, největší rychlost degradace byla zaznamenána mezi 27. a 40. dnem měření, kdy bylo produkováno 2,7 g  $\text{CO}_2$  za den. Naopak u PHB-V neproběhla biodegradace vůbec. Křivka biodegradace PHB vykazala tři odlišné fáze – počáteční fáze pomalé degradace (0-26. den), rychlá fáze degradace (27.-40. den) a fáze, kdy produkce  $\text{CO}_2$  byla opět nízká (41.-54. den). Produkce  $\text{CO}_2$  byla zaznamenána až 13. den měření, což je pravděpodobně díky počáteční obtížnosti štěpení polymerních řetězců. Dochází však ke štěpení esterových vazeb hydrolýzou, které má za následek snížení molekulové hmotnosti, nedochází však ještě ztrátě hmotnosti, následně pak dochází ke štěpení makromolekulárních řetězců na menší částice, které jsou již přístupné mikroorganismům.

PHB-V nebyl vůbec degradován, zřejmě proto, že vznik kyselých částic při hydrolýze neumožnil působení mikroorganismů a molekula PHB-V je více rozvětvená.

### **3.2.8 Biodegradace fólií na bázi polyvinylalkoholu (PVA) [22]**

Měření bylo provedeno na základě testu ASTM D 5338-92, vyprodukovaný  $\text{CO}_2$  byl zachytáván v  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ . Jako pozitivní kontrola aktivity kompostu byl použit filtrační papír, jako negativní kontrola HDPE (vysokohustotní polyetylen). Biodegradace filmů nepřesáhla 7 % a tato hodnota se již blíží množství  $\text{CO}_2$  vyprodukovanému při negativní kontrole. Zajímavostí je, že v termofilní fázi kompostování byla produkce  $\text{CO}_2$  v láhvi se vzorkem



nižší než v láhvi bez vzorku. Pravděpodobně jsou při těchto teplotách z polymerů uvolňovány škodliviny negativně ovlivňující mikrobiální biomasu.

### **3.2.9 Biodegradace vytlačovaných fólií poly(laktid acidu) (PLA) [23]**

Fólie z PLA byly rozřezány do proužků o rozměrech 25x75 mm a smíchány s kompostem v nádobě o průměru 125 mm, množství PLA ve směsi bylo 10 a 30 %. Do kompostovacích nádob proudil zvlhčený vzduch o průtoku 25 ml/min. Produkovaný CO<sub>2</sub> byl měřen plynovou chromatografií dvakrát týdně. Jednou za týden byl kompost promíchán a byla měřena jeho vlhkost. Měření probíhalo 30 dnů a v obou případech bylo zjištěno, že biodegradace probíhala stejnou rychlostí, z každého reaktoru bylo vyprodukováno cca 100 l CO<sub>2</sub>, nezáleželo tedy na množství vzorku.

### **3.2.10 Sledování biodegradability poly(laktid acidu) (PLA) ve formě prášku za účelem jeho použití jako referenčního materiálu [24]**

Dosud se jako referenční materiál používá mikrokrytalická celulóza, její používání je však problematické, protože je rozkládána jinými enzymy, než hlavní druhy biopolymerů. Například alifatické polyestery jsou rozkládány hydrolýzami nebo lipázami, zatímco celulóza celulózami. Proto se jako referenční materiál navrhuje používat PLA, což je biopolymer na bázi alifatického polyesteru, proto je vhodný jako referenční materiál pro testování biodegradability jiných polymerů typů alifatického polyesteru. Některé komposty mají nízkou aktivitu pro rozklad polyesterů, proto je možné je inokulovat lipázami pro rychlejší rozklad.

V této práci [24] byla zkoumána biodegradace PLA podle metod ISO 14855-1, ISO 14855-2. Pro srovnání byla též rozkládána mikrokrytalická celulóza, byla zkoumána závislost rychlosti rozkladu na velikosti částic polymeru, polymer byl rozkládán při 58°C i při 70°C.

Vzorek polymeru byl rozdrcen při nízké teplotě, průměrná velikost částic byla 214,2 μm. Při postupu podle metody ISO 14855-1 bylo 16,5 g polymeru smícháno s 210 g kompostu, produkovaný CO<sub>2</sub> byl zachytáván v roztoku hydroxidu a množství bylo stanoveno titrací, např. 10 g PLA produkuje 18,3 g CO<sub>2</sub>, což je teoretické množství při 100 % biodegradaci. Jednou za týden byla směs promíchána a byla zkontrolována její vlhkost.

Rozklad PLA byl rychlejší než rozklad celulózy, za 45 dnů se rozložil z 90 %, zatímco celulóza jen z 80%. Další měření probíhaly podle metody ISO 14855-2 pomocí mikrobiálně-oxidačně-degradačního analyzátoru (MODA), zde byla biodegradace měřena gravimetricky vážením absorbéru pro CO<sub>2</sub> a pro vodu. Zpočátku byla rychleji rozkládána celulóza, ale po 18 dnech se rychlosti rozkladu obou látek vyrovnaly. Hodnoty celkového rozkladu se nelišily od hodnot dosažených při metodě ISO 14855-1.

Byla také stanovena opakovatelnost metody, kdy rozklad PLA byl stanovován 4x v různých časech nezávisle na sobě. Opakovatelnost se ukázala jako přijatelná, rychlosti rozkladu se od sebe lišily zanedbatelně.

Při 70°C byl PLA rozložen již za 20 dnů, rozklad však dosáhl pouze 80 %. Při zkoumání vlivu velikosti částic na rychlost a míru degradace, tak rozklad probíhal při 58°C a z PLA prášku byly vytvořeny frakce o těchto velikostech částic: 0 – 125 μm, 0 – 250 μm, 125 – 250 μm, 250 – 500 μm. Nejrychleji degradace probíhala u nejmenších částic, kdy rozklad dokonce přesáhl 100 %. U ostatních frakcí se rychlost rozkladu s velikostí částic snižovala minimálně a celková míra degradace dosáhla cca 70 – 80 % během 90 dnů.

## 4 VALIDACE, VERIFIKACE, REGULAČNÍ DIAGRAM

### 4.1 Validace

Validace je pojem, který se váže k analytickému systému, je to proces, při němž se určuje vhodnost použití dané metody pro získání relevantních dat. Posuzuje se, zda jsou parametry metody srovnatelné s požadavky s požadavky na analytická data a poskytuje potřebná data o intervalech spolehlivosti. Účelem validace je zjistit, zda daný měřicí postup nebo metoda jsou schopny splnit požadavky na ně kladené. Norma ČSN ISO 8402 definuje validaci jako „konfirmasi zkoušením a opatření objektivního důkazu o tom, že jsou splněny určité požadavky pro uvažované použití“. Postup při validaci se skládá minimálně ze tří prvků:

- popis problému, kdy je otázka, zda je problém, který chceme řešit, správně formulován a zda jsou požadavky na zkušební metodu popsitelné
- validace analytické metody (postupu) – zkoumá se, jaké jsou klíčové parametry metody zkušební metody a jestli jsou tyto požadavky v souladu s požadavky na její použití
- validace problému – zjišťuje se, zda parametry metody získané měřením a zkoušením jsou dostatečné pro řešení daného úkolu

Validací se také rozumí získání důkazu, který poskytuje vysoký stupeň jistoty, že určitá metoda bude trvale poskytovat výsledek odpovídající předem určené specifikaci. Validace podporuje rozhodnutí, že metoda je vhodná pro daný účel, je definována též jako proces stanovení analytických požadavků a potvrzení, že metoda má výkonnostní parametry srovnatelné s požadavky, které její použití vyžaduje. Metodu je třeba validovat, když je potřeba potvrdit, že její výkonnostní parametry jsou vhodné pro řešení určitého analytického. Příkladem je:

- nová metoda vyvinutá pro určitý problém
- zavedená metoda revidovaná kvůli úpravám nebo rozšířená na nový problém
- když je indikováno, že zavedená metoda vykazuje změny s časem

Všeobecně se dá říct, že validace se provádí tehdy, když došlo ke změně v metodě, o níž lze předpokládat, že ovlivnila stávající parametry metody.

Validovat lze chemický měřicí proces, vzorkovací proces, výpočetní proces.

Metody, které jsou součástí norem ISO nebo EN, jsou všeobecně považovány za validované, je ovšem nutné, aby obsahovaly nejdůležitější provozní charakteristiky, především pracovní rozsah, informaci o opakovatelnosti nebo reprodukovatelnosti a informaci o odhadu nejistoty výsledku spolu s metodou použitou k tomuto odhadu.

Po ukončení validace je vždy zpracován protokol, do kterého se zaznamenají všechna měření, výpočty i pomocné výpočty. Výsledky a závěry jsou zřetelně definované. Do validačního protokolu se uvádí datum jednotlivých zkoušek, jméno zodpovědného pracovníka a jména dalších pracovníků, kteří se podíleli na validačním programu [25].

#### 4.1.1 Druhy validací

##### *Interní (vnitřní validace)*

Validace metody v rámci jedné laboratoře se nazývá interní (vnitřní) validace a podle účelu může tato být validace průzkumová, plná atd.

##### *Průzkumová validace*

Cílem průzkumové validace je na omezeném počtu vzorků stanovit, zda zvolená analytická metoda je vhodnou metodou pro plnou validaci. Zaměřuje se na vyhodnocení validačních parametrů jako je selektivita a robustnost, a na stanovení opakovatelnosti na omezeném počtu vzorků.

##### *Plná validace*

Plná validace následuje po prokázání vhodnosti průzkumové validace jejím cílem je dokázat vhodnost metody k zamýšlenému použití vyhodnocením všech požadovaných validačních parametrů.

##### *Validace při převodu metody*

Při zavedení validované metody v jiné laboratoři se používá tzv. validace při převodu metody a obvykle zahrnuje stanovení správnosti laboratoře a opakovatelnosti. K ověření platnosti dříve plně zvalidované metody se používá kontrola způsobilosti metody a zahrnuje pouze kontrolu kalibrační přímky (linearita a citlivost).

### ***Retrospektivní validace***

Existují-li již dříve naměřená data, která byla naměřena za stejných podmínek, může se použít tzv. retrospektivní validace, která umožní vyhodnotit jeden z nejdůležitějších validačních parametrů - opakovatelnosti.

### ***Externí (vnější) validace***

Tato validace zahrnuje interní validaci společně s validací metody srovnáním výsledků metody z více laboratoří (mezilaboratorní porovnávací zkoušky) a zahrnuje výpočet reprodukovatelnosti metody [25].

## **4.1.2 Validační parametry**

Nejvýznamnější validační parametry jsou správnost, přesnost, mez detekce, mez stanovitelnosti, robustnost, pracovní rozsah, linearita, citlivost, selektivita/specifičnost, nejistota výsledku a výtěžnost

### ***Správnost***

Míra těsnosti získané hodnoty a skutečné hodnoty, skutečnou hodnotu nelze experimentálně naměřit.

### ***Přesnost***

Přesnost je údaj o míře těsnosti shody mezi vzájemně nezávislými výsledky zkoušek a je obvykle uváděna jako odhad směrodatné odchylky. Jedná se tedy o statisticky významnou rozdílnost mezi získanou a skutečnou hodnotou. Obecně je závislá na koncentraci analytu.

### ***Opakovatelnost***

Opakovatelnost je typ přesnosti, vztahuje se k měřením provedeným za opakovatelných podmínek, tedy stejná metoda, stejný materiál, stejný pracovník, stejný přístroj, stejná laboratoř, krátký časový interval. Opakovatelnost je vlastnost metody, nikoli výsledku. Podmínky opakovatelnosti jsou ty, při nichž se nezávislé výsledky zkoušek získají toutéž metodou, na identických zkoušených jednotkách, v téže laboratoři, týmž operátorem, za použití téhož vybavení, během krátkého časového rozmezí [26].

### ***Reprodukovatelnost***

Dalším typem přesnosti je reprodukovatelnost vztahující se k měřením provedeným za podmínek reprodukovatelnosti, tedy stejná metoda, jiný pracovník, jiná laboratoř, jiné zařízení, dlouhý časový interval.

### ***Mez detekce***

Nejnižší množství analytu ve vzorku, které je možno stanovit, je obvykle stanovována ze směrodatné odchylky výsledků měření slepých pokusů. Odpovídá koncentraci, pro kterou je analytický signál významně odlišný od šumu.

### ***Mez stanovitelnosti***

Nenižší koncentrace analyt, jež může být stanovena s přijatelnou mírou správnosti a přesnosti. Může to být nejnižší bod kalibrační křivky, avšak měření v nejnižší oblasti bývá zatíženo velkou relativní chybou.

### ***Robustnost***

Robustnost metody patří mezi základní validační parametry, znamená zkoumání důsledků malých změn, které jsou vnášeny záměrně do metody, tedy míra kapacity zůstat netečná vůči malým, ale záměrným změnám parametrů metody a poskytuje indikaci o spolehlivosti metody během používání. Malé odchylky jsou nevyhnutelné tam, kde různé laboratoře používají stejnou metodu a tyto odchylky mohou nebo nemusí mít vliv na výsledky metody. Obvykle je třeba brát v úvahu velké množství faktorů, ale protože většina má zanedbatelný vliv, sleduje se několik faktorů současně. Kritické parametry měření a jejich tolerance musí být známy pro každý analytický postup, příkladem těchto kritických parametrů jsou teplota, tlak, vlhkost, chemické faktory, jako koncentrace činidel, pH, napětí a frekvence elektrických přístrojů. Nejsou to parametry, které přímo ovlivňují závisle proměnnou veličinu, ale další mnohdy těžko odhadnutelné vlivy. Robustnost má být zjišťována laboratoří, která metodu zavádí, dříve než metodu budou používat ostatní laboratoře. Udává spolehlivost metody při jejím běžném používání [27].

Při testu robustnosti se určuje matematicko-statistickým postupem, jak je analytický signál závislý na malých změnách parametrů charakterizujících analytickou metodu. Testem robustnosti se zjistí tzv. kontrasty jednotlivých parametrů. Test robustnosti spočívá v testu hypotézy, ve které se předpokládá, že jednotlivé kontrasty jsou nulové. Pokud se tato hypotéza potvrdí, je možno říct, že metoda je robustní pro daný parametr.

### *Pracovní rozsah*

Pomocí pracovního rozsahu se určuje koncentrační rozsah, v němž lze dosáhnout přijatelné správnosti a přesnosti.

### *Linearita*

Linearita je zjišťována analýzou vzorku s koncentracemi analytu, které pokrývají deklarovaný rozsah metody. Je výhodné, když je metoda lineární v celém rozsah, není to však absolutní požadavek.

### *Citlivost*

Citlivost je takový rozdíl v koncentraci analytu, který odpovídá nejmenšímu zjistitelnému rozdílu, jenž může být zjištěn vhodnou odezvou signálu metody.

### *Selektivita/specifičnost*

Udává rozsah, do kterého může být jednotlivý analyt nebo skupina analytů stanoveny v komplexní směsi, aniž by došlo k interferenci s ostatními složkami ve směsi. Selektivní metoda je tedy taková metoda, která za určitých podmínek umožňuje přesné a správné stanovení obsahu složky ve vymezené směsi jiných složek.

### *Nejistota*

Výsledek měření představuje jen odhad správné hodnoty. Nejistota měření je definována jako parametr související s výsledkem měření, které charakterizuje rozptýlení hodnot, které by bylo možné přiřadit měřené veličině.

### *Výtěžnost*

Výtěžnost vyjadřuje schopnost metody/postupu postihnout měřeným signálem veškerý analyt přítomný ve vzorku. Je mírou účinnosti dané metody [26-30].

## **4.2 Verifikace**

Verifikací se rozumí, zda měřící postup je plně funkční v laboratoři a je schopen plnit požadavky na něj kladené, zkoumá se zda jsou při měřící metodě dosažena správná data. Verifikací se ověřuje již validovaná metoda.

Verifikaci (stejně jako validaci) provádí výrobce diagnostik, profesní organizace analytiků a laboratoře [28].

### 4.3 Regulační diagram

Regulační diagram je nástroj kontroly metodiky. Jejich význam spočívá hlavně v tom, že při správné volbě a interpretaci regulačního diagramu se získají informace o chování procesu (vyšetřovací postup, stanovení určitého parametru). Regulační diagram má obecně sloužit jako diagnostický nástroj k posouzení, zda se sledovaný proces chová tak, jak je očekáváno. Na základě analýzy regulačního diagramu je možné včas odhalit významné odchylky procesu od předem stanovené úrovně, najít a vysvětlit příčinu a případně přistoupit k nějakému zásahu (opravný úkon).

Regulační diagram je grafický prostředek zobrazení vývoje variability procesu v čase. Rozhodnutí o tom, či je nebo není proces „pod kontrolou“ umožňují v RD 3 základní čáry: střední přímka, horní a dolní regulační mez, které vymezují pásmo (oblast) působení pouze náhodných příčin variability a jsou základním rozhodovacím kritériem, zda učinit regulační zásah do procesu či nikoliv [31].



## 5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí byly provedeny již dvě diplomové práce na téma rozložitelnosti polymerů v kompostu. Iva Kotasová ve své diplomové práci [32] navrhla celou metodiku láhvových testů. Rozložitelnost polymerů v kompostu sledovala pomocí titrační analýzy, jak je ve světě běžné, což je zřejmé z literární rešerše a rozložitelnost zkoumala také pomocí plynové chromatografie. U těchto dvou metod bylo dosaženo srovnatelných výsledků a proto bylo doporučeno dále používat jako koncovku plynově chromatografickou analýzu, z důvodu menší pracnosti.

Martina Moravcová ve své diplomové práci [1] tuto metodiku aplikovala a zkoumala rozložitelnost konkrétních polymerních směsí a vliv jejich složení, cílem práce byla i verifikace navrženého postupu.

Cílem mé práce byla validace této metodiky, jako prvky validace byly zvoleny opakovatelnost, reprodukovatelnost a robustnost metodiky, jako rozložitelný polymer byl používán jen referenční vzorek a to mikrokrystalická celulóza.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6.1 Přístrojové vybavení a pomůcky

Plynový chromatograf Agilent 7890A

Plynotěsná injekční stříkačka Hamilton o objemu 1 ml

Tedlarův vak o objemu 0,6 l

Analyzátor celkového uhlíku Shimadzu TOC-5000A

Další přístroje a sklo jsou běžným laboratorním vybavením.

### 6.2 Použité chemikálie

Hydroxid sodný, hydroxid barnatý, fenolftalein, kyselina chlorovodíková, chlorid draselný, kyselina sírová, dichroman draselný, síran diamonno-železnatý, síran stříbrný, síran rtuťnatý, peroxidisíran draselný, síran draselný, molybdenan, kyselina askorbová, oxid rtuťnatý, acetanilid, síran amonný, bromid draselný, hydrogenuhličitan sodný, uhličitan draselný, bromičnan draselný, sterilní suspenzační roztok (Tween 80, difosforečnan sodný, NaCl, destilovaná voda), fyziologický roztok (NaCl, destilovaná voda), Trypton Yeast Agar, Actinomycete Isolation Agar

Použité chemikálie byly čistoty p.a., od firem Penta a Lachema.

#### 6.2.1 Kompletní minerální médium

Jako zdroj živin pro mikroorganismy bylo použito kompletní minerální médium. Jeho složení [32]:

A. 10,0g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - síran amonný

B. 27,5g  $\text{CaCl}_2$  - chlorid vápenatý

C. 0,25g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - chlorid železitý hexahydrát

D. 22,5g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - síran hořečnatý heptahydrát

E. Roztok stopových prvků:

0,75g  $H_3BO_3$  - kyselina boritá;

0,05g  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  - molybdenyn amonný tetrahydrát;

0,18g  $CoSO_4 \cdot 7H_2O$  - síran kobaltnatý heptahdrát;

0,5g  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  - síran manganatý tetrahydrát;

0,05g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  - síran měďnatý pentahdrát;

0,1 g  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  - síran zinečnatý heptehdrát;

3g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  - síran železnatý heptahdrát

F. fosforečnanový tlumivý roztok (8,5g  $KH_2PO_4$  - dihydrogenfosforečnan draselný; 21,75g  $K_2HPO_4$  - hydrogenfosforečnan draselný; 44,7g  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$  - hydrogenfosforečnan sodný).

Do 800 ml destilované vody se nadávkuje F: 20ml fosforečnanového tlumivého roztoku, po 1 ml zásobních roztoků A, B, C, D a E a doplní do 1 litru destilovanou vodou.

### 6.2.2 Testované vzorky

#### *Mikrokrystalická celulóza firmy Fluka*

Stanovený TOC = 38,56 %,  $CHSK_{Cr} = 1070 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , výrobce Sigma – Aldrich, Švýcarsko

#### *Mikrokrystalická celulóza firmy Penta*

Stanovený TOC = 44,76 %,  $CHSK_{Cr} = 1172 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , výrobce Penta, výrobní divize Chrudim

#### *Polyethylen*

Stanovený TOC = 75,16 %, Výrobce Boeralis, Rakousko

### 6.3 Použitý biologický materiál

Pro pokusy byl použit kompost od firmy Agro CS. Výrobce udává, že se jedná o směs zkompostovaných surovin rostlinného původu s přidavkem dolomitického vápence. V tabulce I. jsou zapsány fyzikální a chemické charakteristiky uváděné výrobcem.

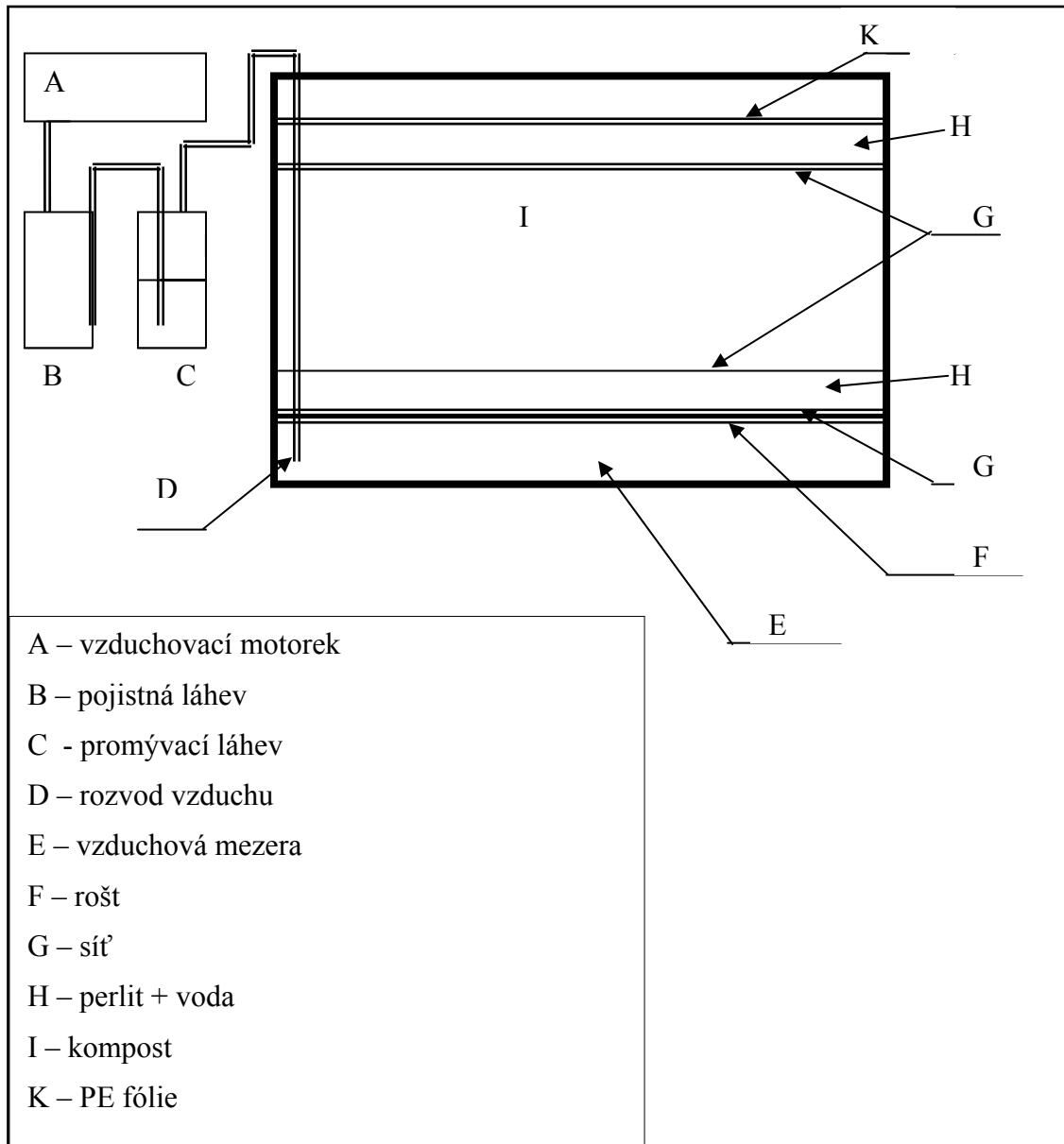
Byly použity dva druhy kompostů od téže firmy, jeden kompost byl starý cca 4 roky, dále označován jako kompost A, druhý byl zakoupen 3 měsíce před začátkem pokusů, označován jako kompost B.

**Tabulka I: Chemické a fyzikální vlastnosti kompostu (údaje výrobce)**

vlastnost	hodnota
pH	6,0 – 8,5
spalitelné látky	min. 45 % sušina
celkový dusík	min. 0,6 % sušina
nerozložitelné příměsi	max. 2 %

#### 6.3.1 Příprava kompostu

Před použitím kompostu k pokusům byl kompost přesit přes síto o velikosti ok cca 0,8 cm a byl dozráván v lysimetru (viz obr.1) za trvalého provzdušňování, lysimetr byl umístěn ve vodní lázni o teplotě 58°C po dobu 2 – 3 měsíců. Jednalo se o nový způsob dozrávání, proto byla denně stanovována vlhkost kompostu, pH, obsah spalitelných látek a obsah celkového uhlíku. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce II, vyhodnocení tohoto způsobu dozrávání je uvedeno v kapitole 7.1.



Obr.1: Lysimetr

### 6.3.2 Stanovení fyzikálních charakteristik kompostu

#### *Stanovení vlhkosti kompostu*

Cca 5 g kompostu bylo nadávkováno na vysušenou Petriho misku a vysušeno v sušárně při teplotě 105°C po dobu 5 hodin. Poté byl vzorek přemístěn ze sušárny do exsikátoru, kde byl ochlazen na laboratorní teplotu. Poté byl zvážen na analytických vahách a z úbytku hmotnosti byla stanovena vlhkost, vyjádřena v procentech. Stanovení vlhkosti je prováděno vždy 3x vedle sebe.

### ***Stanovení pH kompostu***

Cca 10 g kompostu bylo naváženo do Erlenmayerovy baňky a tyčinkou rozmícháno s 25 ml 0,2 M KCl. Směs byla ponechána po dobu 24 hodin, pak byla zfiltrována a byla okamžitě stanovena hodnota pH filtrátu. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce II.

### ***Stanovení celkového uhlíku***

Celkový uhlík byl stanoven na analyzátoru firmy SHIMADZU. Stanovení celkového uhlíku je založeno na přeměně uhlíku v nadávkovaném vzorku ve spalovací trubici, která je naplněna oxidačním katalyzátorem na CO<sub>2</sub>. Trubicí také proudí O<sub>2</sub> jako nosný plyn, který unáší vzniklý CO<sub>2</sub> do NDIR detektoru (Non – Dispersed Infrared Detector). Signál je vyhodnocen jako plocha píku přímo úměrná koncentraci celkového uhlíku ve vzorku [33]. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce II.

### ***Stanovení spalitelných látek***

U vzorku kompostu byla nejdříve stanovena vlhkost, pak bylo možné zjistit obsah spalitelných látek, čímž se zjistí obsah organických látek. Na vyžíhaný keramický kelímek bylo nadávkováno cca 0,65 g kompostu a žiháno po dobu 2 hodin při teplotě 550°C. Po vyhladnutí na laboratorní teplotu byly kelímky zváženy. Obsah spalitelných látek byl vypočten odečtením zbytku (popelu) zkoušeného materiálu po spálení od celkové sušiny téhož vzorku a vyjádřen v procentech. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce II.

**Tabulka II: Stanovené fyzikálních vlastností kompostu**

	<b>pH</b>	<b>Spalitelný podíl (% sušiny)</b>	<b>Celkový uhlík (%)</b>
<b>kompost A</b>	6,2 – 6,5	32 – 47	16 – 20
<b>kompost B</b>	6,7 – 6,9	51 – 56	24 – 27

### 6.3.3 Stanovení chemických a mikrobiologických charakteristik kompostu

#### *Stanovení CHSK<sub>Cr</sub>*

U kompostu A bylo stanoveno CHSK<sub>Cr</sub> a to jak přímo u vzorku odebraného z pytle, tak i u vzorku po 20 dnech dozrávání. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulkách III a IV [34].

#### *Stanovení celkového fosforu*

Celkový fosfor byl stanoven u nedozrálého kompostu A, a u kompostu B jak u nedozrálého, tak dozrávaného po 55 dnech. Do tří mineralizačních baněk o objemu 250 ml bylo dáno 1 g vzorku kompostu, 10 ml 3,75 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1,5 g peroxidisíranu draselného. Baňka byla zakrytá nálevkou s krátkým stonkem a směs byla mineralizována přes 1 hodinu v topném hnízdě, dokud silně zahuštěná směs nebyla čirá. Po ochlazení bylo přidáno 10 ml vody, 10 ml 5 M NaOH, 2 kapky roztoku fenolftaleinu a neutralizováno do slabě růžového zbarvení 2 M NaOH. Poté byla přidána kapka H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na odbarvení roztoku. Roztok byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Do 25 ml odměrných baněk bylo pipetováno 5 ml vzorku, přidáno 1,5 ml roztoku molybdenanu, promícháno a přidáno 0,5 ml roztoku kyseliny askorbové. Po doplnění vodou po rysku byl roztok ponechán 10 minut stát a poté byla měřena absorbance na spektrometru při vlnové délce 700 nm v 1 cm kyvetách. Získané hodnoty byly stanoveny metodou kalibrační křivky [35, 36]. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulkách III a IV.

#### *Stanovení celkového dusíku*

Celkový obsah dusíku v kompostu byl stanoven Kjeldahlovou metodou, při které se organický dusík převede na amonný ion, jež se dále stanovuje. Reakce se provádí za zvýšené teploty.

Do mineralizačních Kjeldahlových baněk bylo naváženo cca 0,75 g kompostu (stanovení provedeno 3x vedle sebe, bylo přidáno 50 ml katalytického roztoku (obsahuje 2 g HgO, 134 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 200 ml koncentrované H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na 1 l) a směs byla mineralizována po dobu 3 hodin na písčité lázni v topném hnízdě. Po zchlazení byl obsah Kjeldahlizační baňky rozpuštěn v malém množství vody, přefiltrován do 100 ml odměrné baňky a doplněn po rysku. Minerální látky byly analyzovány metodou coulometrické titrace s biamperometrickou indikací [37].



***Mikrobiologický rozbor kompostu***

Mikrobiologický rozbor kompostu byl proveden jak v kompostu před dozríváním, tak v kompostu po 2 – 3 měsících dozrívání.

Cca 5 g kompostu bylo naváženo do 50 ml sterilního suspenzačního roztoku s 10-15 skleněnými kuličkami a 15 minut protřepáváno. Poté byl kompost nechán cca 3 minuty odsedimentovat a supernatant byl dávkován do zkumavek s fyziologickými roztoky – do první zkumavky se 4,5 bylo dávkováno 0,5 ml supernatantu, tím bylo získáno ředění  $10^{-2}$ , z této zkumavky bylo po promíchání dávkováno 0,5 ml do další zkumavky se 4,5 ml fyziologického roztoku, tak bylo získáno ředění  $10^{-3}$  a stejným způsobem byla získána ředění  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$ . Kultivace probíhala na Trepton Yeast (TYA) agaru, na petriho misku bylo nádvkováno 0,1 ml roztoku ze zkumavky s ředěním  $10^{-3}$ , tím bylo získáno ředění  $10^{-4}$ , analogicky byla získána na petriho miskách ředění  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$ . Kultivace probíhala při 37°C pro mezofilní bakterie a při 58°C pro termofilní bakterie, vyhodnocení bylo provedeno po 7 dnech kultivace.

Pro stanovení aktinomycet byl použit Actinomycete isolation agar. Příprava jednotlivých ředění probíhala stejně jako u bakterií, jen ředění byla zvolena o řád nižší. Inkubace probíhala 7 dnů při teplotě 58°C [38]. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulkách III a IV.

**Tabulka III: Chemické a mikrobiologické charakteristiky kompostu A**

	nevyzrálý	vyzrálý
<b>CHSK<sub>Cr</sub> (mg/g)</b>	314,02	351,03 *
<b>obsah fosforu (mg/g sušiny)</b>	8,3	-
<b>Obsah dusíku (mg/g sušiny)</b>	-	-
<b>Obsah mezofilních bakterií (CFU/g sušiny) **</b>	$1,034 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^5$
<b>Obsah termofilních bakterií (CFU/g sušiny) **</b>	$1,55 \cdot 10^5$	$7,21 \cdot 10^5$
<b>Obsah aktinomycet (CFU/g sušiny) **</b>	$2,59 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^5$

\* - CHSK stanoveno po 19 dnech dozrívání

\*\* mikrobiologický rozbor proveden po cca 100 dnech vyzrívání

Tabulka IV: Chemické a mikrobiologické charakteristiky kompostu B

	nevyzrálý	vyzrálý
obsah fosforu (mg/g sušiny)	7,8	8,7*
Obsah dusíku (mg/g sušiny)	2,2	
Obsah mezofilních bakterií (CFU/g sušiny) **	$1,89 \cdot 10^6$	$1,88 \cdot 10^6$
Obsah termofilních bakterií (CFU/g sušiny) **	$6,55 \cdot 10^6$	$1,48 \cdot 10^6$
Obsah aktinomycet (CFU/g sušiny) **	$3,08 \cdot 10^4$	$4,79 \cdot 10^5$

\* stanovení fosforu provedeno po 2 měsících vyzrávání

\*\* - mikrobiologický rozbor proveden po 70 dnech vyzrávání

#### 6.4 Použitý inertní materiál – perlit

Jako inertní materiál byl použit materiál s obchodním názvem Agroperlit (v této práci používán název perlit). Výrobce uvádí, že Perlit je expandovaná vulkanická hornina, která kypří, vylehčuje a provzdušňuje půdu nebo zahradnický substrát. Zadržuje v ní vodu a rozpustné živiny. Chemické a fyzikální vlastnosti uvedené na obalu jsou zapsány v tabulce V.

Tabulka V: Chemické a fyzikální vlastnosti perlitu (údaje výrobce)

vlastnost	hodnota
pH	6,0 – 7,5
vlhkost [%]	max. 2
obsah částic pod 0,3 mm [%]	max. 15,0
obsah částic pod 1,0 mm [%]	max. 25,0
obsah částic 1,0 až 4,0 mm [%]	max. 75,0
sypná hmotnost [ $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ]	200

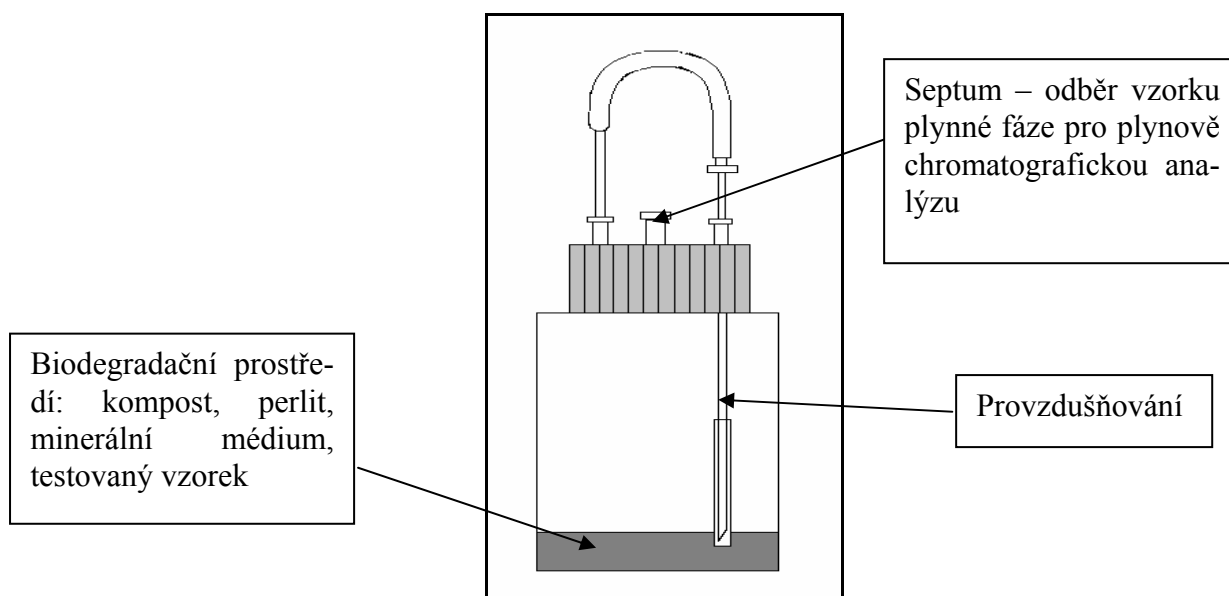
##### 6.4.1 Předúprava perlitu

Cca 1,5 l perlitu bylo 3x promyto destilovanou vodou, dokud nebyl perlit zbaven prachových a hrubých částic. Poté byl sušen v sušárně při teplotě 105°C po dobu 2 hodin.

## 6.5 Popis testu

### 6.5.1 Testovací láhve

Test byl prováděn v plynotěsných láhvích o objemu cca 1140 ml, které byly před použitím řádně umyty, byly propláchnuty 1% HCl za účelem odstranění mikrobiálního znečištění, poté byly ještě propláchnuty destilovanou vodou a vysušeny v sušárně. Na uzávěru láhve byly tři otvory, jeden z nich byl vybaven septem a sloužil k odebírání plynné fáze uvnitř láhve pro následnou chromatografickou analýzu, další dva otvory sloužily pro provzdušňování, případně pro doplňování destilované vody pro dodržování požadované vlhkosti směsi. Tyto dva otvory byly vzájemně spojeny silikonovými hadičkami, aby byla zajištěna plynotěsnost láhvi.



Obr.2: Schéma testovací láhve [39]

### 6.5.2 Nasazení testu

K určení biorozložitelnosti v prostředí kompostu byla použita metodika navržená v diplomové práci [1]. Do testovací láhve bylo nadávkováno 20 g perlitu (příprava a vlastnosti perlitu viz kapitola 6.4), 10 g sušiny kompostu (příprava a vlastnosti kompostu viz kapitola 6.4), 20 ml minerálního média a směs byla důkladně promíchána. Dále bylo přidáno 1,7 g vzorku ve formě prášku, toto množství bylo naváženo na lodičku a kvantitativně spláchnuto dalšími 10 ml minerálního média, tedy celkové množství minerálního média je 30 ml, pokud není uvedeno jinak a směs v láhvi byla opět důkladně promíchána. Mine-

rální médium bylo přidáváno za účelem zvýšení vlhkosti směsi a také k dodání potřebných živin. Pak byla láhev plynotěsně uzavřena a umístěna do sušárny nebo do vodní lázně o konstantní teplotě.

Navíc byly připraveny dvě testovací láhve obsahující stejnou směs za účelem stanovení vlhkosti směsi a pH roztoku směsi na začátku pokusu a druhá láhev byla použita pro stanovení plynné fáze  $V_g$  v testovací láhvi.

### 6.5.3 Průběh testu

Analýza plynné fáze láhve byla prováděna 2x týdně. Analytická koncovka byla plynová chromatografie, pomocí které se sledovala produkce  $CO_2$ , ze stanovených hodnot byla počítána denní a kumulativní produkce  $CO_2$  a procento odstranění substrátu  $DCO_2$  (viz kapitola ). Byla sledována i koncentrace  $O_2$ , která sloužila ke kontrole aerobních podmínek v láhvi a z naměřené koncentrace byla počítána denní a kumulativní spotřeba  $O_2$  a procentuální spotřeba kyslíku  $DO_2$ , což je doplňkový parametr pro sledování biologické rozložitelnosti, v této práci však nebylo provedeno vyhodnocení na základě  $DO_2$ . Vždy po analýze byly láhve provzdušněny vzduchem neobsahujícím  $CO_2$ . Vzduch byl zajišťován vzduchovacím motorkem, který poskytoval 10 ml vzduchu za minutu, vzduch procházel celkem přes 4 promývačky, aby byl odstraněn  $CO_2$ . První promývačka byla jen pojistná, v další bylo 200 ml 5M NaOH právě za účelem odstranění  $CO_2$ , v další promývačce bylo obsaženo 200 ml 0,05M  $Ba(OH)_2$ , která sloužila k indikaci vyčerpaného NaOH – při vyčerpání NaOH zde vzniká sraženina  $BaCO_3$ . V následné promývačce byl obsažen perlit navlhčený fenolftaleinem, který opět indikoval přítomnost vyčerpaného NaOH. A v poslední promývačce byla obsažena destilovaná voda, která byla po každém provzdušňování měněna.

Láhve byly vždy před provzdušněním a po provzdušňování váženy, protože při provzdušňování dochází k úbytku obsahu vody ve směsi. Při znalosti počáteční vlhkosti směsi bylo možné vážením láhví sledovat její úbytek a na základě toho doplňovat destilovanou vodu pro udržování požadované vlhkosti 55 – 60 %. Destilovaná voda byla přidávána stříkačkou otvorem pro provzdušňování a i po přidání vody byla láhev zvážena. Na konci testu byla stanovena vlhkost a pH směsi v každé láhvi.

#### 6.5.4 Stanovení charakteristik směsi

##### *Stanovení vlhkosti směsi*

Vlhkost směsi byla stanovována stejně jako u kompostu – viz kapitola 6.3.2.

##### *Stanovení pH směsi*

Do Erlenmayerových baněk bylo nadávkováno 20 ml směsi a 100 ml destilované vody (v poměru 1:5). Pak byly baňky umístěny na třepací stroj a protřepávány po dobu 5 hodin. Po uplynutí této doby byla okamžitě stanovena hodnota pH extraktu.

##### *Stanovení plynné objemové fáze $V_g$ v láhvi*

Do láhve se směsí byla nalita voda až po uzávěr a pak byla voda přelita přes sítko do velké kádinky a pomocí odměrného válce byl zjištěn objem vody, který odpovídal objemu plynné fáze v láhvi.

### 6.6 Možné zdroje chyb v kompostovacích testech

Než byly nasazeny jednotlivé testy, tak byly diskutovány zdroje možných chyb.

#### 6.6.1 Vyžívání kompostu

##### *Teplota*

Při okamžitém nasazení kompostu do vodní lázně o 58°C mohou mikroorganismy utrpět šok. Řešením bylo postupné zvyšování teploty. Počáteční teplota byla 25°C, v dalších dnech byla postupně zvyšována na 30, 35, 40, 50 a 58°C.

##### *Promíchávání kompostu*

Kompost je nutné promíchávat, aby se zvýšila intenzita provzdušňování, také docházelo k vysychání kompostu na okrajích lysimetrů. Řešením bylo opět promíchávání.

##### *Doba vyžívání*

Kompost by měl být dobře vyžrálý, proto je třeba stanovovat alespoň některé indikátory vyžrálости kompostu ( produkce CO<sub>2</sub>, TOC, spalitelný podíl, CHSK, atd). Doba vyžívání by měla být alespoň 2 měsíce.

### 6.6.2 Nasazení pokusu

#### *Dávkování*

Zde mohou nastat chyby hlavně v přípravě a dávkování biomédia, dávkování perlitu, kompostu a vzorku polymeru. Chyby se dají vyloučit pipetováním biomédia, navažováním ostatních látek na 4 desetinná místa, dostatečným rozmícháním směsi, aby nebyly zůstatky na stěnách.

#### *Vzorek polymeru*

Částičky vzorku by měly být co nejmenší, aby se rozložily co nejrychleji, protože čím více částiček, tím mají větší plochu a jsou přístupnější mikroorganismům. Toho se docílí mletím vzorku.

### 6.6.3 Průběh pokusu

#### *Snižování vlhkosti směsi*

Během testu dochází k vysychání směsi vlivem provzdušňování a vlivem perlitu, což je možné poznat i vizuálně. Proto byl proveden pokus s perlitem v souvislosti s obsahem vody ve směsi (viz kapitola 7.2), kde bylo stanoveno, že optimální vlhkosti směsi bylo dosaženo při dávkování 30 ml (pokud má kompost vlhkost kolem 50 %). Reakční láhve byly proto v průběhu pokusu pravidelně váženy před provzdušněním a po provzdušnění a na základě úbytku hmotnosti je směs zvlhčována vypočítaným objemem vody, aby byla po celou dobu pokusu udržována optimální vlhkost směsi.

#### *Uložení reakčních láhví*

Láhve by měly být položeny naležato, aby mezi rozhraním fází směs a vzduch byla co největší plocha z důvodu přestupu vzduchu. V našich pokusech to však nebylo technicky možné.

#### *Protřepávání láhví*

Během pokusu by měly být láhve protřepávány, aby byly částičky směsi co nejrovnoměrněji rozmístěny a dostával se k nim snadněji vzduch. Částičky směsi však mohou zůstat na stěnách. V případě velkých zůstatků na stěnách bylo nutné je seškrábat.

### *Doba provzdušňování láhvi*

Láhve se musí provzdušňovat tak dlouho, aby došlo k odstranění veškerého CO<sub>2</sub>. Doba provzdušňování byla vyzkoumána, doporučuje se však provzdušňovat déle, případně i změřit, zda je koncentrace CO<sub>2</sub> opravdu nulová.

## **6.7 Analýza CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub> na plynovém chromatografu**

Stanovení množství CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub> bylo prováděno na dvou skleněných náplňových kolonách o délce 1,829 m. Kolony byly zapojeny sériově. Analýza byla zahájena na molekulové síti 5A (velikost částic 60/80 MESH), v čase 0,67 minut došlo k přepnutí ventilu na Porapak Q (velikost částic 80/100 MESH), kde byl stanoven CO<sub>2</sub>. V čase 1,4 minuty došlo k přepnutí ventilu na molekulové síti, kde byl stanoven O<sub>2</sub>. K přepínání ventilů mezi kolonami sloužil vzduch. K detekci byl používán tepelně vodivostní detektor (TCD) o teplotě 250°C, vyhodnocení bylo prováděno metodou přímé kalibrace pomocí standardních směsí programem GC ChemStation. Jako nosný plyn bylo použito helium (He) čistoty 4.6., jehož průtok byl nastaven na 3 ml.min<sup>-1</sup>.

### *Kalibrace pro stanovení CO<sub>2</sub>*

Pro stanovení CO<sub>2</sub> byla provedena jednobodová kalibrace. Jako standard byl použit směsný technický plyn od dodavatele Linde Technoplyn, který obsahoval 0,815 objemových % CO<sub>2</sub> a 4,07 objemových % CH<sub>4</sub> a zbytek objemových % plynu je tvořen N<sub>2</sub> [40]. Z tlakové láhve byl plyn odebírán do Tedlarova vaku a na začátku měření byl tento plyn analyzován tak, že do plynotěsné stříkačky Hamilton bylo odebráno 0,1 ml a byla zjištěna plocha píku, tady plocha, která odpovídá množství 0,815 μl CO<sub>2</sub>, podle toho pak byla počítána koncentrace CO<sub>2</sub> u jednotlivých vzorků. V průběhu měření byla kontrolována odezva detektoru uprostřed a na konci měření.

### *Kalibrace pro stanovení O<sub>2</sub>*

Pro stanovení kyslíku byla použita též jednobodová kalibrace na obsah kyslíku ze vzduchu. Pomocí plynotěsné stříkačky Hamilton bylo odebráno 0,1 ml vzduchu a analyzováno, bylo tedy zjištěno, jaká plocha píku odpovídá 20,95 objemovým % O<sub>2</sub>, toto množství je obsaženo ve vzduchu.

## 6.8 Zpracování naměřených hodnot [1]

### 6.8.1 Hodnocení z hlediska produkce CO<sub>2</sub>

- *Teoretická produkce CO<sub>2</sub>: ThCO<sub>2</sub> [mmol]*

$$\text{ThCO}_2 = \frac{m_{\text{substr.}} * \frac{\text{TOC}}{100}}{M_c} * 1000 \quad /3/$$

$m_{\text{substr.}}$  ..... navážka substrátu obsahující organický uhlík [g]

TOC ..... veškerý organický uhlík ve vzorku substrátu [%]

$M_c$  ..... atomová hmotnost uhlíku [g.mol<sup>-1</sup>]

- *Denní produkce CO<sub>2</sub>: n<sub>CO<sub>2</sub>-denní</sub>* [mmol]

$$n_{\text{CO}_2\text{-denní}} = \frac{V_g * \text{Amt} * 10^{-3}}{V_d * V_m} \quad /4/$$

$V_g$  ..... objem plynné fáze v láhvi [ml]

Amt ..... množství CO<sub>2</sub> [μl]

$V_d$  ..... dávkovaný objem plynu z láhve na chromatografickou analýzu [ml]

$V_m$  ..... normální molární objem;  $V_m = 22,414 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

- *Substrátová produkce CO<sub>2</sub>: n<sub>CO<sub>2</sub>-substr</sub>* [mmol]

$$n_{\text{CO}_2\text{-substr.}} = n_{\text{kumul.}} - (n_{\text{kumul.}})_{\text{sl.p.}} \quad /5/$$

$n_{\text{kumul.}}$  ..... kumulativní produkce CO<sub>2</sub> [mmol]

$(n_{\text{kumul.}})_{\text{sl.p.}}$  ..... průměrná hodnota (ze 4 stanovení) kumulativní produkce slepého pokusu [mmol]

- *Procentuální odstranění CO<sub>2</sub>: DCO<sub>2</sub> [%]*

$$\text{DCO}_2 = \frac{n_{\text{CO}_2\text{-substr.}}}{\text{ThCO}_2} * 100 \quad /6/$$

$\text{CO}_2\text{-substr.}$  ..... substrátová produkce CO<sub>2</sub> [mmol]

- *Popis průběhu degradace - Rovnice kinetiky 1.řádu*

$$\text{DCO}_2 = a * (1 - \exp(-b * (t - c))) \quad /7/$$



- $DCO_2$  ..... procentuální odstranění substrátu [%]  
 $a$  ..... maximální  $DCO_2$  [%]  
 $b$  ..... rychlostní konstanta [ $h^{-1}$ ]  
 $c$  ..... lagová fáze  
 $t$  ..... čas [h]

### 6.8.2 Hodnocení z hlediska spotřeby $O_2$

- *Teoretická spotřeba  $O_2$ :  $Th_{O_2}$  [mmol]*

$$Th_{O_2} = \frac{m_{\text{substr}} * CHSK_{Cr}}{M_{O_2}} * 1000 \quad /8/$$

- $m_{\text{substr}}$  ..... navážka substrátu obsahující organický uhlík [g]  
 $CHSK_{Cr}$  ..... chemická spotřeba kyslíku testovaného vzorku [ $mg \cdot g^{-1}$ ]  
 $M_{O_2}$  ..... molekulová hmotnost kyslíku [ $g \cdot mol^{-1}$ ]

- *denní spotřeba kyslíku:  $n_{O_2\text{-denní}}$  [mmol]*

$$n_{O_2\text{-denní}} = \frac{V_g * Amt}{V_d * V_m * 1000} \quad /9/$$

- $V_g$  ..... objem plynné fáze v láhvi [ml]  
 $Amt$  ..... množství  $O_2$  [ $\mu l$ ]  
 $V_d$  ..... dávkovaný objem plynu z láhve na chromatografickou analýzu [ml]  
 $V_m$  ..... normální molární objem;  $V_m = 22,414 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

- *kumulativní spotřeba kyslíku  $O_2$ :  $n_{O_2\text{-kumul}}$  [mmol]* /10/

$$n_{O_2\text{-kumul}} = n_{O_2\text{-g}} - n_{O_2\text{-denní}}$$

- $n_{O_2\text{-g}}$  ..... množství kyslíku v plynné fázi test. láhve před započítáním pokusu [mmol]  
 $n_{O_2\text{-denní}}$  - denní spotřeba kyslíku

- *Substrátová spotřeba  $O_2$ :  $n_{O_2\text{-substr}}$  [mmol]*

$$n_{O_2\text{-substr}} = n_{\text{kumul.}} - (n_{\text{kumul.}})_{\text{sl.p.}} \quad /11/$$

- $n_{\text{kumul.}}$  ..... kumulativní spotřeba  $O_2$  [mmol]

$(n_{\text{kumul.}})_{\text{sl.p.}}$  ..... průměrná hodnota kumulativní spotřeby slepého pokusu [mmol]

- *procentuální spotřeba kyslíku:  $DO_2$  [%]*

$$DO_2 = \frac{n_{O_2 - \text{substr}}}{Th_{O_2}} * 100 \quad /12/$$

$n_{O_2 - \text{substr}}$  ..... substrátová spotřeba kyslíku [mmol]

$Th_{O_2}$  ..... teoretická spotřeba kyslíku vypočtená z rovnice 6

- *Popis průběhu degradace - Rovnice kinetiky 1.řádu*

$$DO_2 = a * (1 - \exp(-b * (t - c))) \quad /13/$$

$DO_2$  ..... procentuální odstranění substrátu [%]

$a$  ..... maximální  $DO_2$  [%]

$b$  ..... rychlostní konstanta [ $h^{-1}$ ]

$c$  ..... lagová fáze

$t$  ..... čas [h]

### 6.8.3 Statistické parametry

- *Výběrová směrodatná odchylka [41]*

$$s = \sqrt{\left(\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n x_i^2 - n \bar{X}^2\right)} \quad /14/$$

$n$  ..... počet měření

$x$  ..... součet naměřených hodnot

$\bar{X}$  ..... aritmetický průměr

- *Relativní směrodatná odchylka:  $RSD$  [%] [25]*

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} * 100 \quad /15/$$

$s$  ..... výběrová směrodatná odchylka

$\bar{X}$  ..... aritmetický průměr

Všechna data byla zpracována programem Microsoft Office Excel a Statistica 6.1 Cz

## 6.9 Popisy sérií č. 1 a 2

### 6.9.1 Série č.1

V této sérii byly použity oba typy kompostů, A i B, a dva druhy mikrocelulóz – od firem Fluka a Penta, jako negativní kontrola, tedy nerozložitelná látka byl použit polyethylen. Za účelem stanovení opakovatelnosti byla do kompostu B mikrocelulóza firmy Fluka nasazena 10x vedle sebe, pro srovnání byla tato mikrocelulóza nasazena do kompostu A, a to 4x vedle sebe. Mikrocelulóza od firmy Penta a polyethylen byly nasazeny 4x vedle sebe do kompostu B. Samozřejmě byly nasazeny také slepé pokusy, u obou kompostů 4x vedle sebe. Rozmístění pozic je uvedeno v tabulce VI. Test probíhal ve skříňovém termostatu při stálé teplotě 58°C.

**Tabulka VI: Pozice pro sérii č.1**

č.	látka	TOC*	navážka	typ	kompost	perlit
		%	[g]	kompostu	[g]	[g]
1	slepý pokus	-	-	B	10	20
2	slepý pokus	-	-	B	10	20
3	slepý pokus	-	-	B	10	20
4	slepý pokus	-	-	B	10	20
5	celulosa Fluka	38,56	1,71560	B	10	20
6	celulosa Fluka	38,56	1,70228	B	10	20
7	celulosa Fluka	38,56	1,70970	B	10	20
8	celulosa Fluka	38,56	1,70127	B	10	20
9	celulosa Fluka	38,56	1,71011	B	10	20
10	celulosa Fluka	38,56	1,71317	B	10	20
11	celulosa Fluka	38,56	1,71952	B	10	20
12	celulosa Fluka	38,56	1,71742	B	10	20
13	celulosa Fluka	38,56	1,71608	B	10	20
14	celulosa Fluka	38,56	1,70910	B	10	20

č.	látka	TOC*	navážka	typ	kompost	perlit
		%	[g]	kompostu	[g]	[g]
15	celulosa Penta	44,76	1,73390	B	10	20
16	celulosa Penta	44,76	1,73149	B	10	20
17	celulosa Penta	44,76	1,73633	B	10	20
18	celulosa Penta	44,76	1,73006	B	10	20
19	PE	75,16	1,71112	B	10	20
20	PE	75,16	1,73967	B	10	20
21	PE	75,16	1,71134	B	10	20
22	PE	75,16	1,72077	B	10	20
23	slepý pokus	-	-	A	10	20
24	slepý pokus	-	-	A	10	20
25	slepý pokus	-	-	A	10	20
26	slepý pokus	-	-	A	10	20
27	celulosa Fluka	38,56	1,70031	A	10	20
28	celulosa Fluka	38,56	1,71229	A	10	20
29	celulosa Fluka	38,56	1,71797	A	10	20
30	celulosa Fluka	38,56	1,71676	A	10	20

\*TOC = celkový organický uhlík stanovený v testované látce

Objem plynné fáze Vg v testovací láhvi činil 990 ml. Obou typů kompostů bylo dávkováno cca 26 g, vlhkost kompostu A byla 46,7, vlhkost kompostu B byla 56,8 %. Do všech láhví bylo přidáno stejné množství minerálního média, a to 30 ml.

### 6.9.2 Série č.2

Cílem těchto testů bylo odzkoušet robustnost metody, kdy byly jako citlivé parametry zvoleny teplota prostředí a vlhkost směsi, jak je uvedeno v tabulce VII. A dalším cílem této série bylo porovnání referenčního vzorku pomocí jiného referenčního vzorku – běžně je jako referenční materiál používána mikrocelulóza firmy Fluka, v této sérii byla použita i mikrocelulóza firmy Penta pro porovnání.

Okolní prostředí o teplotě 58°C bylo zajištěno skříňovým termostatem, při této teplotě byly nasazeny 4 slepé pokusy, 4x vedle sebe mikrocelulóza od firmy Fluka a 4x vedle sebe mikrocelulóza firmy Penta. Vlhkost směsi byla stejná jako v sérii č.1.

Při teplotě 50°C byly láhve uloženy ve vodní lázni, zde byla použita mikrocelulóza firmy Fluka a vlhkost směsi byla 50 % (3x vedle sebe slepý pokus a 3x vedle sebe mikrocelulóza) a 65 % (opět 3x vedle sebe slepý pokus a 3x vedle sebe mikrocelulóza). Stejně tomu bylo při teplotě prostředí 66°C, láhve byly též uloženy ve vodní lázni a použita byla také mikrocelulóza Fluka.

Vlhkost byla upravená minerálním médiem, u pokusů při 58°C to bylo 30 ml, stejně jako u série č.1. Při požadavku na vlhkost 50 % bylo přidáno 20 ml minerálního média, při požadavku na vlhkost 65 % bylo dávkováno 35 ml minerálního média.

**Tabulka VII: Pozice pro sérii č.2**

č.	látka	TOC*	navážka	vlhkost směsi [%]	teplota	kompost	perlit
		%	[g]		[°C]	[g]	[g]
1	slepý pokus	-	-	58	58	10	20
2	slepý pokus	-	-	58	58	10	20
3	slepý pokus	-	-	58	58	10	20
4	slepý pokus	-	-	58	58	10	20
5	celulosa Fluka	38,56	1,70977	58	58	10	20
6	celulosa Fluka	38,56	1,70079	58	58	10	20
7	celulosa Fluka	38,56	1,70683	58	58	10	20
8	celulosa Fluka	38,56	1,70730	58	58	10	20
9	celulosa Penta	44,76	1,70788	58	58	10	20
10	celulosa Penta	44,76	1,70044	58	58	10	20
11	celulosa Penta	44,76	1,70772	58	58	10	20
12	celulosa Penta	44,76	1,70109	58	58	10	20
13	slepý pokus	-	-	65	66	10	20
14	slepý pokus	-	-	65	66	10	20
15	slepý pokus	-	-	65	66	10	20
16	celulosa Fluka	38,56	1,70546	65	66	10	20
17	celulosa Fluka	38,56	1,70661	65	66	10	20
18	celulosa Fluka	38,56	1,70117	65	66	10	20
19	slepý pokus	-	-	50	66	10	20

č.	látka	TOC*	navážka	vlhkost směsi [%]	teplota	kompost	perlit
		%	[g]		[°C]	[g]	[g]
20	slepý pokus	-	-	50	66	10	20
21	slepý pokus	-	-	50	66	10	20
22	celulosa Fluka	38,56	1,70768	50	66	10	20
23	celulosa Fluka	38,56	1,70345	50	66	10	20
24	celulosa Fluka	38,56	1,70575	50	66	10	20
25	slepý pokus	-	-	65	50	10	20
26	slepý pokus	-	-	65	50	10	20
27	slepý pokus	-	-	65	50	10	20
28	celulosa Fluka	38,56	1,70521	65	50	10	20
29	celulosa Fluka	38,56	1,70243	65	50	10	20
30	celulosa Fluka	38,56	1,70648	65	50	10	20
31	slepý pokus	-	-	50	50	10	20
32	slepý pokus	-	-	50	50	10	20
33	slepý pokus	-	-	50	50	10	20
34	celulosa Fluka	38,56	1,70608	50	50	10	20
35	celulosa Fluka	38,56	1,70398	50	50	10	20
36	celulosa Fluka	38,56	1,70631	50	50	10	20

\*TOC = celkový organický uhlík stanovený v testované látce

Objem plynné fáze  $V_g$  v testovací láhvi činil 980 ml. Na rozdíl od série č. 1 byl použit jen jeden kompost a to kompost B. Kompostu bylo dávkováno cca 30 g, vlhkost kompostu byla 63,8 %.

## 6.10 Regulační diagram

Nasazení regulačního diagramu bylo prováděno tak, že v jeden den byly nasazeny vedle sebe dvě testovací láhve – jedna se slepým pokusem, druhá se vzorkem, a takto bylo celkem připraveno 20 láhví, vždy vedle sebe slepý pokus a vzorek. Do láhví bylo vždy nadávkováno 20 g perlitu, 20 – 25 g kompostu (podle aktuální vlhkosti kompostu), 30 ml

minerálního média a cca 1,7 g vzorku mikrocelulózy firmy Penta (láhev se slepým pokusem samozřejmě obsahovala jen kompost, perlit a minerální médium). Cílem regulačního diagramu bylo zjistit, zda byl daný postup stabilní v závislosti na čase [31].

Pokusy budou postupně ukončovány podle toho, jak byly nasazeny, tedy tak, aby všechny pokusy (slepý + vzorek) trvaly stejnou dobu. V době uzavírání této diplomové práce všechny pokusy stále probíhají a proto zde nejsou uvedeny žádné výsledky.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

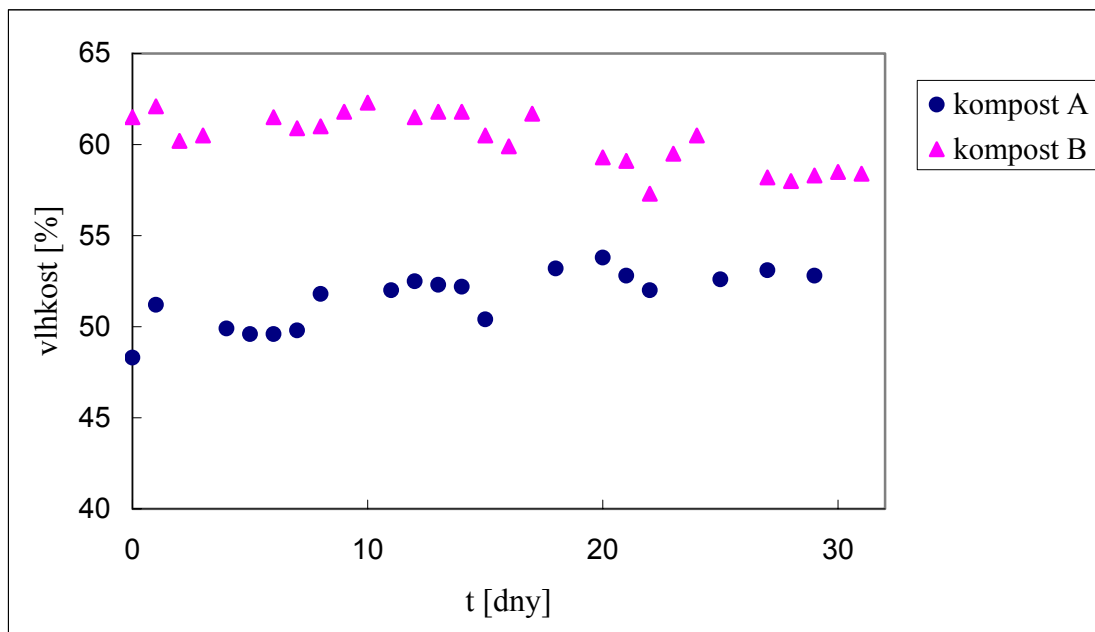
### 7.1 Dozrávání kompostu

Jak už bylo uvedeno v kapitole 6.3.1, byl v této práci vyzkoušen nový způsob dozrávání kompostu v lysimetru (viz obr. 1, str. 38). Dříve byl kompost dozráván v provzdušňovacích láhvích, v těchto láhvích však téměř nebylo možné kompost promíchávat, měly malý objem – láhev měla objem cca 1 l, zatímco lysimetr má objem kolem 6 l a kompost v láhvích musel být často vlhčen, jinak by docházelo k značnému vysychání. A při stanovení základních charakteristik kompostu musel být odebírán vzorek kompostu z každé láhve a samostatně zpracován, což zvyšovalo pracnost (obvykle byl dozráván ve čtyřech láhvích).

Kompost byl dozráván při stálé teplotě 58°C, v prvních dnech však byla teplota postupně zvyšována, aby mikroorganismy neutrpěly tepelný šok. Proto první den dozrávání kompostu byla teplota nastavena na 25°C, v dalších dnech byla postupně zvyšována na 30, 40, 50 a 58°C.

Dozrávání probíhalo ve vodní lázni, po ukončení série č. 1 byly lysimetry přemístěny do skříňového termostatu. V průběhu dozrávání byly pravidelně sledovány vlhkost, pH kompostu, obsah celkového uhlíku a obsah spalitelných látek v kompostu. Vlhkost se ze začátku výrazně neměnila, jak je vidět na obr. 3. U kompostu A cca po 40 dnech došlo k mírnému poklesu vlhkosti, bylo to však způsobeno tím, že kompostu bylo v lysimetru už malé množství a menší vrstva je náchylnější k vysušování. Při umístění lysimetrů ve skříňovém termostatu docházelo k většímu vysušování a kompost bylo nutné alespoň jednou týdně vlhčit, proto, pokud to bude možné, tak dávat přednost umístění lysimetru ve vodní lázni před skříňovým termostatem.





Obr.3: Závislost vlhkosti kompostů A a B na době vyžívání (umístění ve vodní lázni)

Co se týče obsahu celkového uhlíku, spalitelných látek a pH, tak hodnoty těchto veličin se výrazně neměnily a pohybovaly se v rámci chyby (viz tabulka II, str.39). Zakoupený kompost byl tedy již vyzrálý a místo dozrávání se spíše jednalo o přivykání na vyšší teplotu. Bylo též zjištěno, že je lepší použít nově koupený kompost, který je dozríván po dobu 2 až 3 měsíce, čtyři roky starý kompost (kompost A) byl již málo aktivní, jak bylo zjištěno u mikrobiologického rozboru (viz kapitola 6.3.3, str. 41) a u zkoumání rozkladu mikrocelulózy v sérii č.1 (viz kapitola 7.4.6, str. 65).

## 7.2 Úprava vlhkosti směsi v reakční láhvi

Během testu dochází k vysušování směsi (perlit + kompost + substrát) vlivem perlitu a provzdušňování. Vliv perlitu je možno eliminovat jeho předúpravou. V tomto pokusu bylo zkoumáno, jaký má vliv navlhčený i nenavlhčený perlit na vlhkost směsi. Pokus proběhl opět v plynotěsné testovací láhvi, do láhve bylo dávkováno 10 g sušiny kompostu a 20 g perlitu. Během 14 dní byla sledována vlhkost směsi a to 2x týdně a vždy den před stanovením vlhkosti byla směs provzdušňována.

Tabulka VIII: Popis pokusu úpravy vlhkosti v reakční láhvi

číslo pokusu	$m_{\text{kompost-sušina}}$ (g)	$m_{\text{perlit}}$ [g]	$V_{\text{biomedium}}$ [ml]	zvlhčení perlitu*
1	10	20	30	ne
2	10	20	20	ne
3	10	20	20	1:0,5
4	10	20	20	1:0,75
5	10	20	20	1:1
6	10	20	20	1:2

\* Perlit byl zvlhčen tak, že 24 hodin před nasazením pokusu byl perlit smíchán s příslušným množstvím destilované vody a to:

pokus číslo 3: 20 g perlitu + 10 ml destilované vody

pokus číslo 4: 20 g perlitu + 15 ml destilované vody

pokus číslo 5: 20 g perlitu + 20 ml destilované vody

pokus číslo 6: 20 g perlitu + 40 ml destilované vody

Všechny pokusy byly provedeny 3x vedle sebe.

Bylo zjištěno, že k největšímu poklesu vlhkosti u pokusu číslo 2 (z 52,3 % na 48,5 %). Mírnější pokles vlhkosti byl u pokusu číslo 1 a 3, kde počáteční vlhkost byla shodná, i její pokles měl téměř stejný průběh. U dalších pokusů se zvlhčeným perlitem už nedocházelo k poklesu vlhkosti, vlhkost však byla nad 60 %, což neodpovídalo normě. Proto nebyl perlit upravován a bylo dávkováno 30 ml biomédia.

### 7.3 Endogenní dýchání kompostovací směsi

Pro zjištění, zda byl kompost dostatečně vyzrálý, byla u obou kompostů zkoumána po dobu 1334 hodin produkce  $\text{CO}_2$ , tedy endogenní dýchání. Pokus proběhl v plynotěsných testovacích láhvích stejně jako ostatní pokusy. Do láhve bylo nadávkováno 10 g sušiny kompostu, 20 g perlitu a 30 ml biomédia, pokus probíhal při 58°C a 2x týdně byla na plynovém chromatografu měřena produkce  $\text{CO}_2$ , po analýze byly láhve provzdušněny. V normě ISO 14855-2 [15] je uvedeno, že vyzrálý kompost by měl produkovat 50 – 150

mg CO<sub>2</sub> na 1 g TOC během prvních 10 dnů měření. V našem případě bylo dosaženo hodnot 115, respektive 84 mg CO<sub>2</sub>, kompost byl tedy vyzrálý.

#### 7.4 Série č.1

Testy byly ukončeny po 1200 hodinách, tedy 50 dnech. V tabulce jsou uvedeny počáteční a konečné hodnoty pH a vlhkosti. Z tabulky IX je zřejmé, že u láhví se vzorky došlo ke zvýšení pH, v některých případech se pH blíží až hodnotě 8. Tato změna je vzhledem k délce biologických testů akceptovatelná a nevyžaduje v průběhu korekce. Naopak u slepého pokusu a u láhví s nerozložitelnou látkou (PE) nedošlo k významné změně pH. Zajímavé je, že u kompostu A (č. 23 – 30) nedošlo k významné změně pH ani u láhví se vzorkem. Vlhkost byla průběžně kontrolována pomocí vážení láhví a v případě poklesu vlhkosti byla doplněna destilovaná voda. U láhve č. 15 došlo v průběhu pokusu k rozbití.

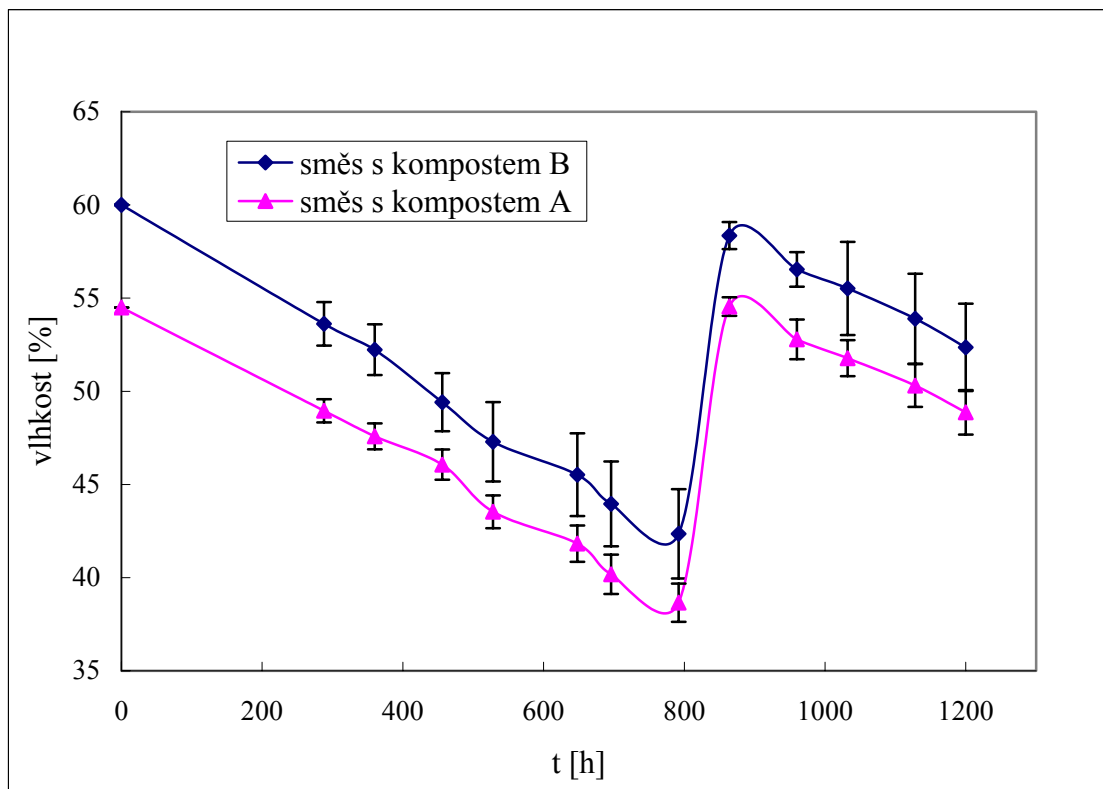
**Tabulka IX: Hodnoty pH a vlhkosti pro sérii č.1**

č.	látka	začátek testu		konec testu	
		pH [-]	vlhkost [%]	pH [-]	vlhkost [%]
1	slepý pokus	6,97	60,9	6,93	52,0
2	slepý pokus			6,87	52,5
3	slepý pokus			6,85	53,7
4	slepý pokus			6,84	51,9
5	celulosa Fluka			7,33	53,6
6	celulosa Fluka			7,17	54,7
7	celulosa Fluka			7,39	55,1
8	celulosa Fluka			7,21	54,7
9	celulosa Fluka			7,40	55,0
10	celulosa Fluka			7,92	53,7
11	celulosa Fluka			7,39	55,1
12	celulosa Fluka			7,24	52,1
13	celulosa Fluka			7,23	53,9
14	celulosa Fluka			7,12	53,8
15	celulosa Penta			-	-

č.	látka	začátek testu		konec testu	
		pH [-]	vlhkost [%]	pH [-]	vlhkost [%]
16	celulosa Penta	6,97	60,9	7,86	50,0
17	celulosa Penta			7,84	61,0
18	celulosa Penta			7,08	50,6
19	PE			6,95	52,9
20	PE			6,83	50,3
21	PE			6,87	54,7
22	PE			6,84	53,6
23	slepý pokus			6,96	54,5
24	slepý pokus	6,98	48,7		
25	slepý pokus	7,02	49,9		
26	slepý pokus	6,86	51,0		
27	celulosa Fluka	6,98	47,0		
28	celulosa Fluka	7,09	50,6		
29	celulosa Fluka	6,95	51,6		
30	celulosa Fluka	6,9	48,0		

#### 7.4.1 Sledování a úpravy vlhkosti směsi v láhvi

Na obr. 4 je vyznačen pokles vlhkosti směsi v testovací láhvi na době pokusu. Jedná se o průměr hodnot vlhkosti ze všech testovacích láhví obsahujících kompost B (čísla lahví 1 – 22) a kompostu A (čísla 22 – 30). Jedná se o hodnoty vlhkostí vypočítané pomocí vážení láhví. Optimální vlhkost směsi je 55 – 60 % a z obr. 4 vyplývá, že vlhkost u směsi s kompostem B vlhkost klesla na 55 % cca po 200 hodinách pokusu, tedy po tom, co byla směs provzdušňována 3x. To znamená, že voda by měla být doplňována po této době. Obr. 4 dále ukazuje, že vlhkost směsi ve všech láhvích byla po 864 hodinách testu upravena na 60 % u směsi s kompostem B a na 54,5 % u směsi s kompostem A. Pak vlhkost opět klesala.



Obr. 4: Závislost vlhkosti směsi v testovací láhvi na době pokusu

#### 7.4.2 Porovnání vypočtené a naměřené hodnoty vlhkosti směsi na konci pokusu

Během celého testu byla vlhkost v láhvích počítána na základě vážení láhví, na konci testu byla vlhkost směsi stanovena. V tabulce X je vidět, že vypočtené a skutečné hodnoty vlhkosti směsi v jednotlivých láhvích se od sebe liší minimálně, na základě toho je možné označit metodu vážení láhví za správnou.

**Tabulka X: Porovnání vypočtené a naměřené vlhkosti směsi na konci pokusu**

číslo láhve	vlhkost [%]		číslo láhve	vlhkost [%]	
	vypočtená	naměřená		vypočtená	naměřená
1	52,2	52,0	16	51,3	50,0
2	53,0	52,5	17	61,6	61,0
3	52,5	53,7	18	51,6	50,6
4	51,8	51,9	19	53,8	52,9
5	53,6	53,6	20	54,2	50,3

číslo láhve	vlhkost [%]		číslo láhve	vlhkost [%]	
	vypočtená	naměřená		číslo láhve	vypočtená
6	54,4	54,7	21	57,9	54,7
7	50,9	55,1	22	54,1	53,6
8	53,6	54,7	23	48,2	47,7
9	52,8	55,0	24	47,5	48,7
10	53,1	53,7	25	47,6	49,9
11	52,8	55,1	26	50,6	51,0
12	52,0	52,1	27	49,4	47,0
13	55,0	53,9	28	50,7	50,6
14	55,0	53,8	29	48,9	51,6
15	-	-	30	48,1	48,0

### 7.4.3 Opakovatelnost jednoho nástřiku

Jednalo se o krok validace, kdy se v rámci možnosti délky jedné analýzy změřil 10x za sebou jeden vzorek. K analýze bylo vždy odebráno 0,1 ml plynné fáze z láhve v krátkém časové úseku, prakticky po 6 minutách byl odebrán vzorek k analýze 10x za sebou, jak ze slepého stanovení, tak z láhve se vzorkem. Opakovatelnost jednoho nástřiku u slepého pokusu byla zkoumána u láhve č.1, když pokus trval 192 hodin, u láhve se vzorkem bylo zvoleno č.8 po době 288 hodin. Z naměřených hodnot byl spočítán průměr, výběrová směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka, jsou uvedeny v tabulce XI.

**Tabulka XI: Opakovatelnost jednoho nástřiku**

	číslo nástřiku	slepý pokus	mikrocelulóza Fluka
		[obj. % CO <sub>2</sub> ]	[obj. % CO <sub>2</sub> ]
	1	1,5725	16,4524
	2	1,6677	13,7485
	3	1,5677	16,2492
	4	1,4515	14,5857
	5	1,4551	14,694
	6	1,2704	16,1049
	7	1,4268	15,1564

	číslo nástřiku	slepý pokus	mikrocelulóza Fluka
		[obj. % CO <sub>2</sub> ]	[obj. % CO <sub>2</sub> ]
	8	1,5555	15,1495
	9	1,6141	15,5516
	10	1,3708	15,2812
<b>průměr</b>		<b>1,4952</b>	<b>15,2973</b>
<b>směr.odchylka</b>		<b>0,1215</b>	<b>0,8346</b>
<b>RSD (%)</b>		<b>8,13</b>	<b>5,46</b>

Hodnota RSD byla v obou případech příznivá, proto můžeme označit opakovatelnost jednoho nástřiku za dobrou.

#### 7.4.4 Opakovatelnost metodiky (postupu)

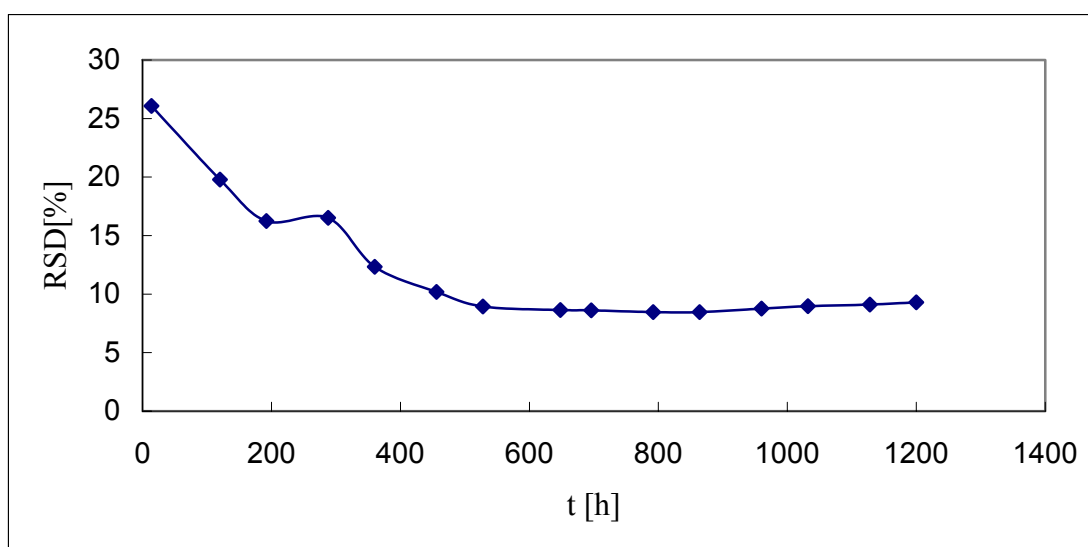
Za tímto účelem byla mikrocelulóza od firmy Fluka nasazena 10x vedle sebe, pro každou láhev bylo přichystáno samostatné minerální médium (láhve č. 5 – 14, viz tabulka VI, str.51). V tabulce XII jsou uvedeny průměrné hodnoty procentuálního odstranění substrátu z hlediska CO<sub>2</sub>, výběrové směrodatné odchylky a relativní směrodatné odchylky ze všech deseti hodnot v závislosti na době pokusu.

**Tabulka XII: Opakovatelnost měření rozložitelnosti mikrocelulózy**

čas	DCO <sub>2</sub>	s	RSD
[hod]	[%]	[-]	[%]
14	0,69	0,18	<b>26,08</b>
120	11,43	2,26	<b>19,78</b>
192	20,71	3,37	<b>16,25</b>
288	30,12	4,98	<b>16,52</b>
360	39,61	4,89	<b>12,34</b>
456	49,49	5,04	<b>10,19</b>
528	57,86	5,17	<b>8,94</b>
648	68,83	5,95	<b>8,64</b>
696	73,21	6,30	<b>8,61</b>
792	80,39	6,80	<b>8,46</b>

čas	DCO <sub>2</sub>	s	RSD
[hod]	[%]	[-]	[%]
864	83,84	7,09	<b>8,46</b>
960	86,99	7,63	<b>8,77</b>
1032	89,09	7,99	<b>8,97</b>
1128	91,03	8,29	<b>9,11</b>
1200	92,55	8,60	<b>9,30</b>

Hodnoty RSD byly ze začátku dosti vysoké, je to dáno tím, že na začátku byly substrátové produkce CO<sub>2</sub>, z kterých se DCO<sub>2</sub> počítá, velmi malé a relativně se od sebe lišily. Postupem času se tyto produkce zvyšovaly a relativně se od sebe lišily méně, takže hodnota RSD postupně klesala a ustálila se na hodnotě kolem 9 %, což byla hodnota příznivá. Z grafu na obr. 5 je vidět, že k ustálení této hodnoty došlo, když pokus trval cca 500 hodin.



Obr.5: Závislost RSD na době pokusu

#### 7.4.5 Hluché stanovení

V průběhu série č.1 bylo provedeno hluché stanovení. Cílem tohoto pokusu bylo ověřit, zda je perlit skutečně inertní materiál a neprodukuje CO<sub>2</sub> a byla také provedena opakovatelnost jednoho nástřiku, bylo postupováno stejně jako u stanovení opakovatelnosti slepého stanovení a tohoto stanovení stejně jako u kapitoly 7.4.3.

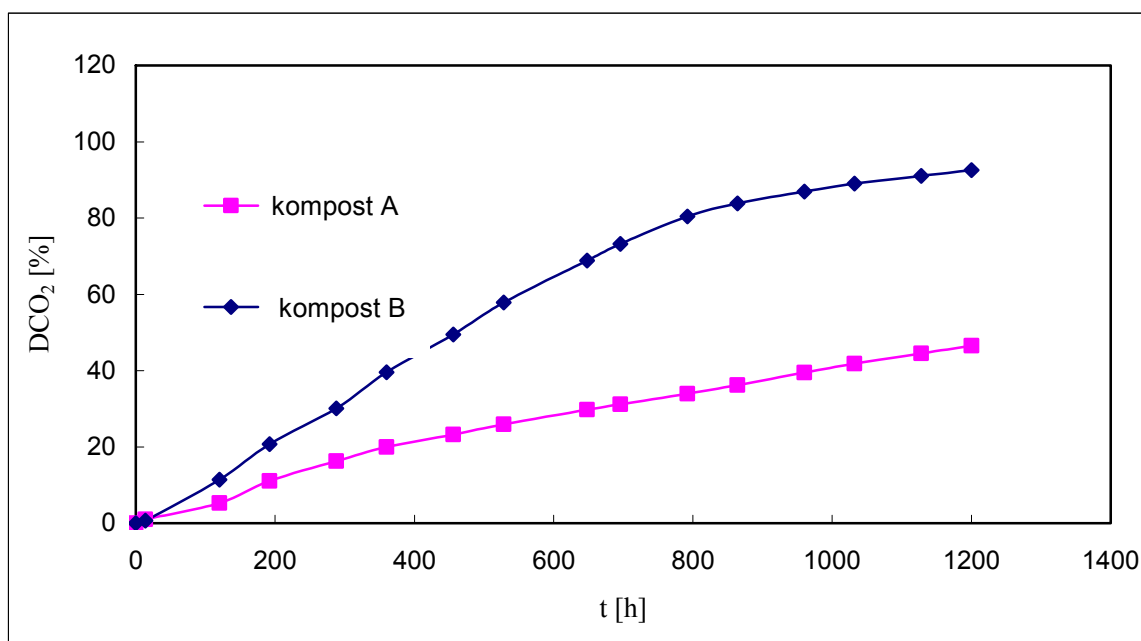


Do testovací láhve bylo nadávkováno pouze 20 g perlitu a 30 ml minerálního média a láhev byla uložena do sušárny o teplotě 58°C, kde byla ponechána do dalšího dne, kdy byl 10x po sobě z láhve odebrán vzorek k analýze. Bylo zjištěno, že perlit je skutečně inertní materiál, v některých nástřicích sice byla zaznamenána malá koncentrace CO<sub>2</sub>, je to však velmi nízká hodnota, která odpovídá koncentraci CO<sub>2</sub> ve vzduchu.

Hodnoty průměru, směrodatné odchylky a RSD nebyly spočítány, neboť některé naměřené hodnoty koncentrací byly těsně nad mezí stanovitelnosti, jiné hodnoty už pod touto mezí.

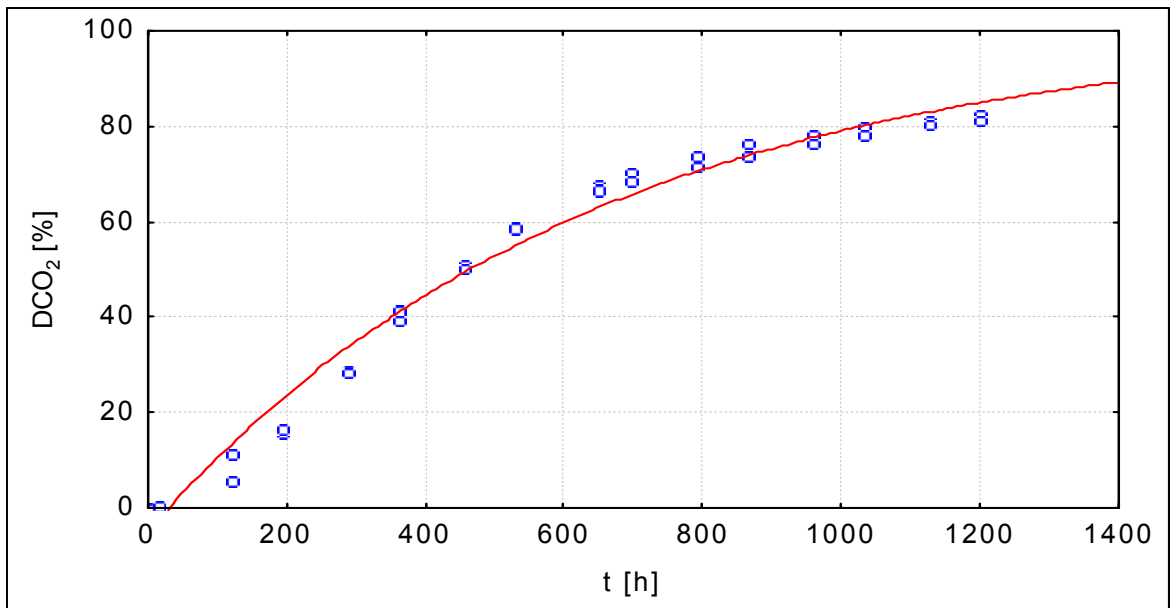
#### 7.4.6 Vliv stáří kompostu - porovnání rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka v kompostech A a B

Mikrocelulóza firmy Fluka byla pro porovnání nasazena do dvou typů kompostů (kompost B – láhve č.5 – 14 a kompost A – láhve č. 27 – 30). Průběh rozkladu je vidět na obr. 6, ze kterého je zřejmé, že rozklad v kompostu A byl mnohem pomalejší, jak je vidět i na obr.7 - 10. V kompostu B došlo k rozkladu z 92,6 %, v kompostu A jen z 46,5 %. Je to dáno tím, že v kompostu A bylo mnohem méně termofilních, mezofilních bakterií i termofilních aktinomycet, jak potvrdil mikrobiologický rozbor (viz kapitola 6.3.3, str. 41). Na základě těchto stanovení bylo rozhodnuto, že se tento kompost již dále nebude používat.

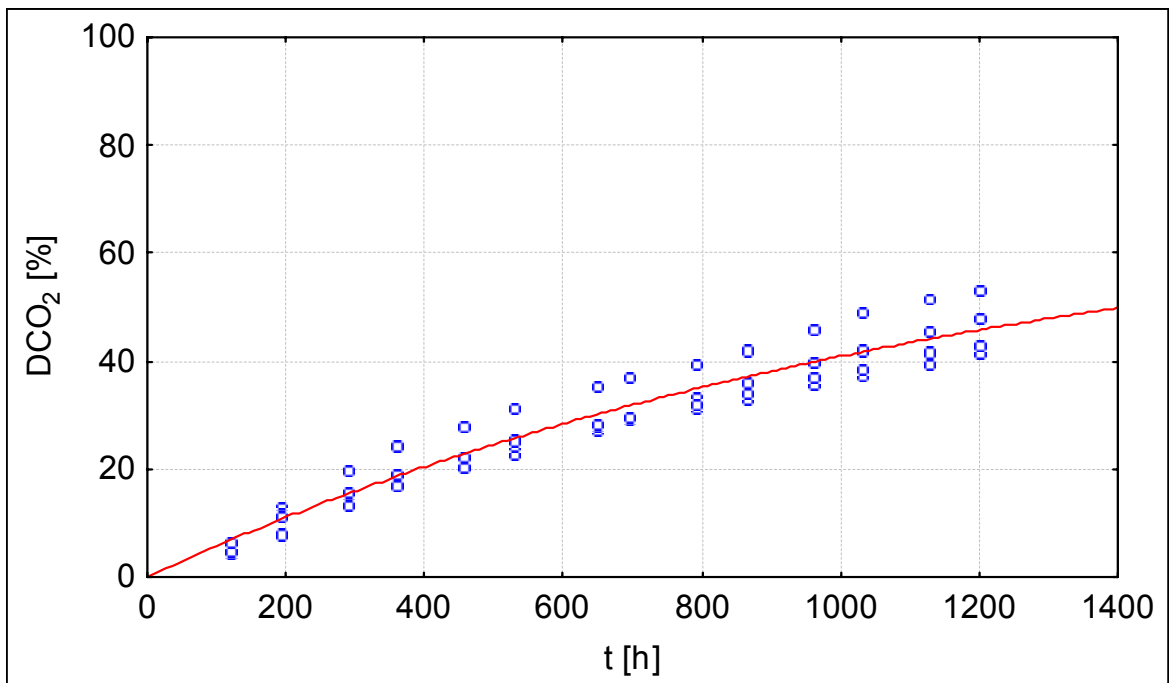


Obr.6: Porovnání rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka v kompostech A a B

Průběhy  $\text{DCO}_2$  byly zpracovány programem Statistica.6.1 Cz s využitím kinetické rovnice /7/ metodou Nelineárního odhadu. Grafické znázornění je zřejmé z obr. 7 a 8.

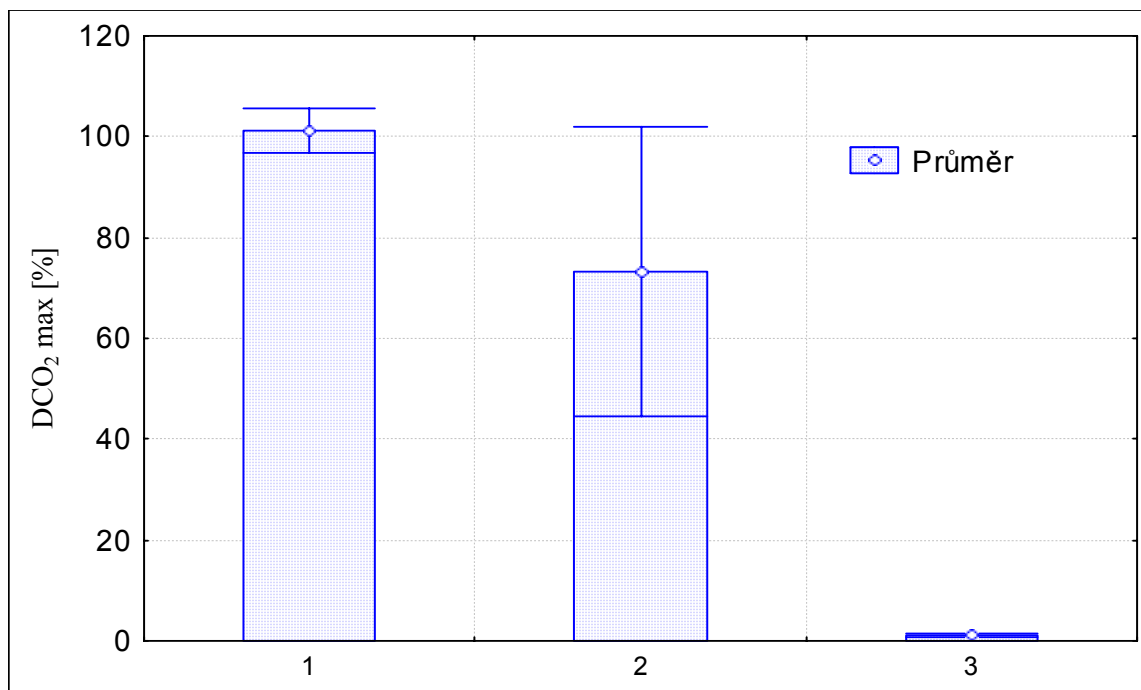


Obr. 7: Procentuální odstranění substrátu ( $\text{DCO}_2$ ) pro mikrocelulózu firmy Fluka v kompostu B



Obr. 8: Procentuální odstranění substrátu ( $\text{DCO}_2$ ) pro mikrocelulózu firmy Fluka v kompostu A

Pomocí programu Statistica 6.1 Cz byly také vypočteny parametry  $DCO_2\max$  a hodnoty rychlostních konstant  $k$  [ $10^{-3}h^{-1}$ ]. Pro porovnání jsou znázorněny sloupcovými grafy s vyznačeným rozpětím experimentálních hodnot. Tyto grafy jsou na obr. 9 a 10.



Obr.9: Srovnání vzorků podle maximální  $DCO_2$

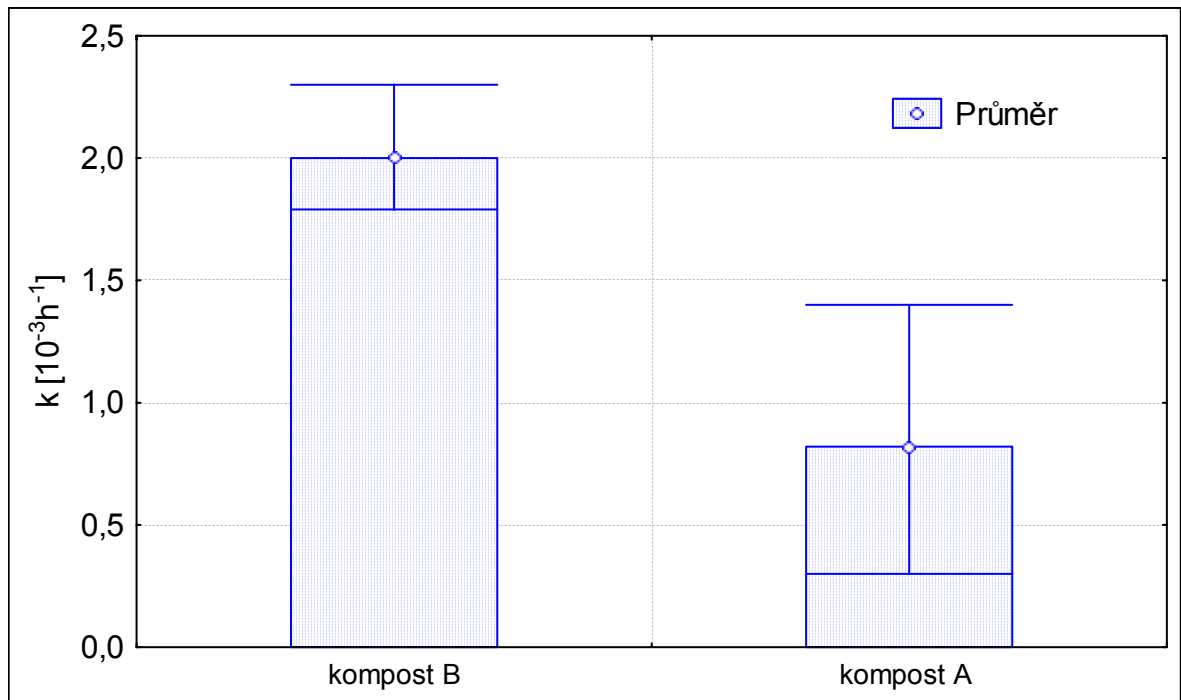
Vysvětlivky: 1 – mikrocelulóza firmy Fluka v kompostu B

2 – mikrocelulóza firmy Fluka v kompostu A

3 – PE v kompostu B

Z obr.9 je jasně vidět rozdíly v maximální  $DCO_2$ . U mikrocelulózy v kompostu A je mnohem větší rozpětí experimentálních hodnot, je to dáno tím, že k dispozici byly jen 4 hodnoty, zatímco u mikrocelulózy v kompostu B bylo těchto hodnot. U polyethylenu je zřejmé, že se jedná o nerozložitelnou látku,

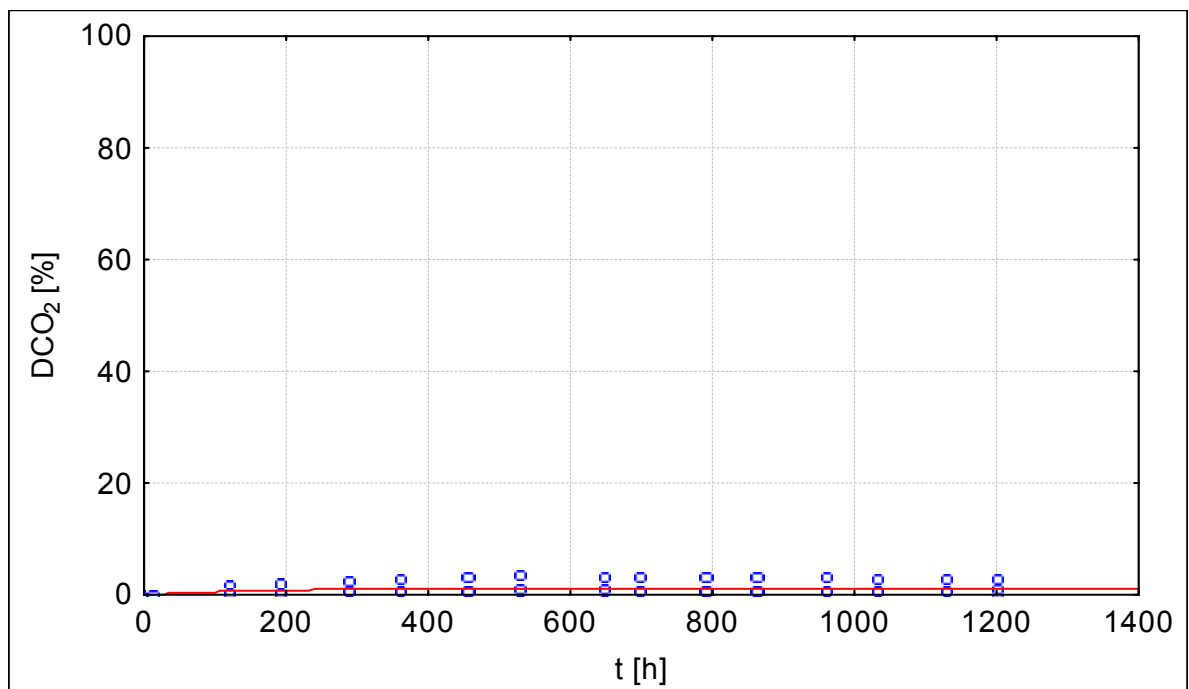
Na obr. 10 je znázorněno srovnání rychlostní konstanty u mikrocelulózy v kompostu A a v kompostu B. Na obrázku je opět vidět rozdíl mezi komposty A a B.



Obr.10: Srovnání vzorků podle rychlosti rozkladu

#### 7.4.7 Negativní kontrola – polyethylen

Z obr.11 je zřejmé, že polyethylen je nerozložitelná látka, kumulativní produkce  $\text{CO}_2$  byly srovnatelné s produkcí  $\text{CO}_2$  u slepého pokusu.

Obr.11: Procentuální odstranění substrátu (DCO<sub>2</sub>) pro polyethylen

V sérii č.1 byla zkoumána i rozložitelnost mikrocelulózy firmy Penta. Během testů však došlo k rozbití láhve a u jedné láhve se naměřené hodnoty značně lišily od ostatních. K dispozici tak zůstaly jen dva výsledky, které byly pro statistické zpracování nedostačující a proto nejsou uvedeny v žádném grafu. Tato mikrocelulóza byla znovu nasazena v sérii č.2.

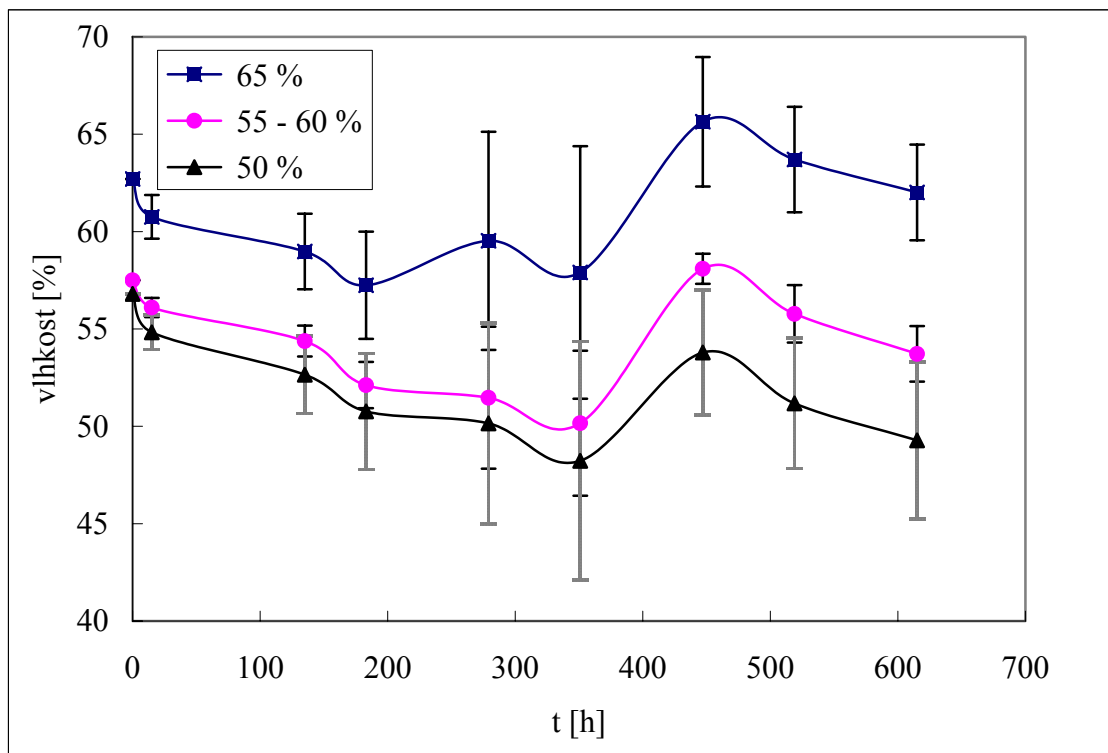
## 7.5 Série č.2

V době uzavření této diplomové práce nebyla tato série ještě ukončena, pro tuto diplomovou práci jsou zpracovány výsledky do 615 hodin rozkladu. Proto zde nejsou uvedeny konečné hodnoty pH a vlhkosti směsi. Rozmístění pozic v této sérii je uvedeno v kapitole 6.9.2, tabulka VII. Jako jeden z parametrů robustnosti zde byla zvolena vlhkost směsi, kterou však není možné přesně nastavit, a tak jsou v tabulce uvedeny hodnoty požadované a stanovené hodnoty vlhkosti na začátku pokusu a také je uvedena počáteční hodnota pH.

**Tabulka XIII: Počáteční hodnoty pH a vlhkosti směsi pro sérii č.2**

číslo láhve	požadovaná vlhkost [%]	stanovená vlhkost [%]	pH [-]
1 – 12	55 – 60	57,5	6,86
13 – 18	65	62,7	6,82
19 – 24	50	56,5	6,87
25 – 30	65	62,7	6,82
31 – 36	50	56,5	6,87

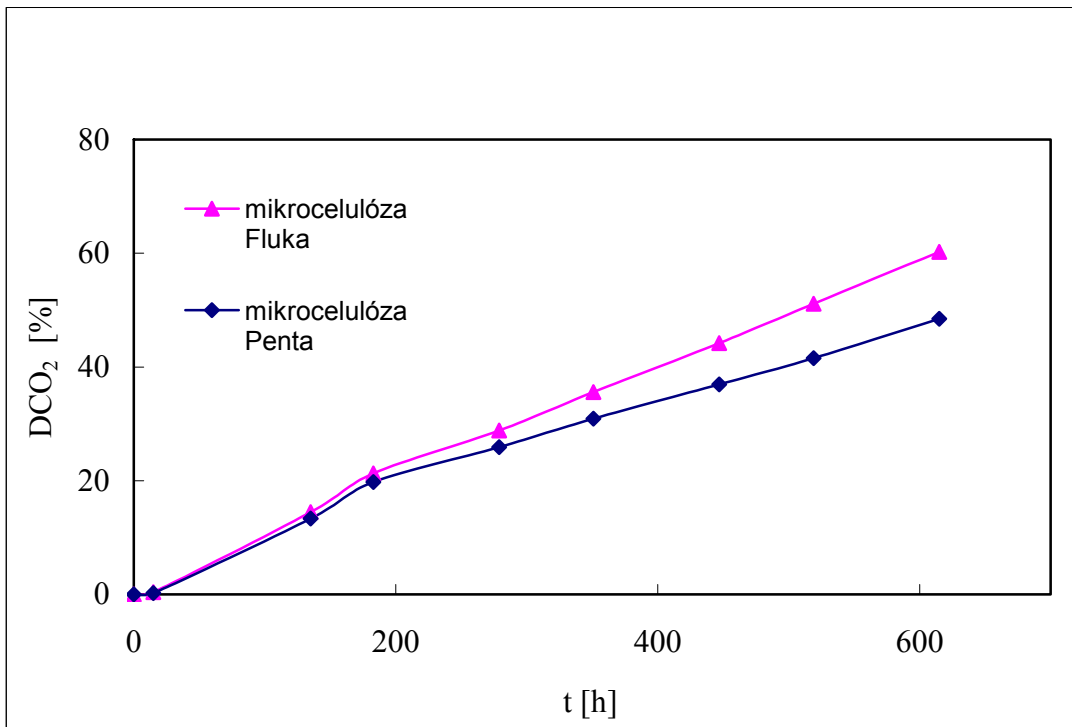
Z tabulky XIII je zřejmé, že se vlhkost nepodařilo přesně nastavit. Vlhkost v láhvích však byla opět sledována metodou vážení láhví jako u série č. 1 a postupně byla upravena co nejblíže k požadované hodnotě - viz obr. 12. Na obr. 12 jsou znázorněny průběhy vlhkostí směsi v závislosti na době pokusu, jedná se o průměrné hodnoty ze všech láhví, ve kterých byla požadována stejná vlhkost – tedy vlhkost 65 % byla požadována u láhví č. 13 -18 a 25 – 30, vlhkost 55 – 60 % u láhví č. 1 – 12 a vlhkost 50 % u láhví č. 19 – 24 a 31 – 36.



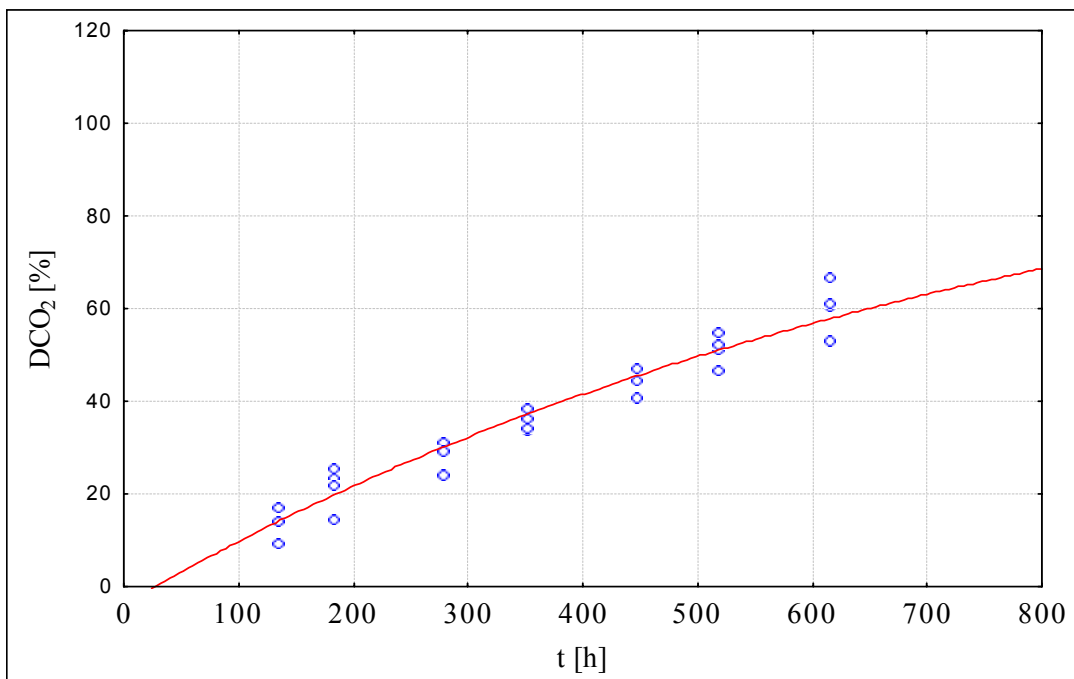
Obr.12: Průběh vlhkosti směsi v reakčních láhvích během testu

### 7.5.1 Ověření referenčního vzorku pomocí jiného referenčního vzorku

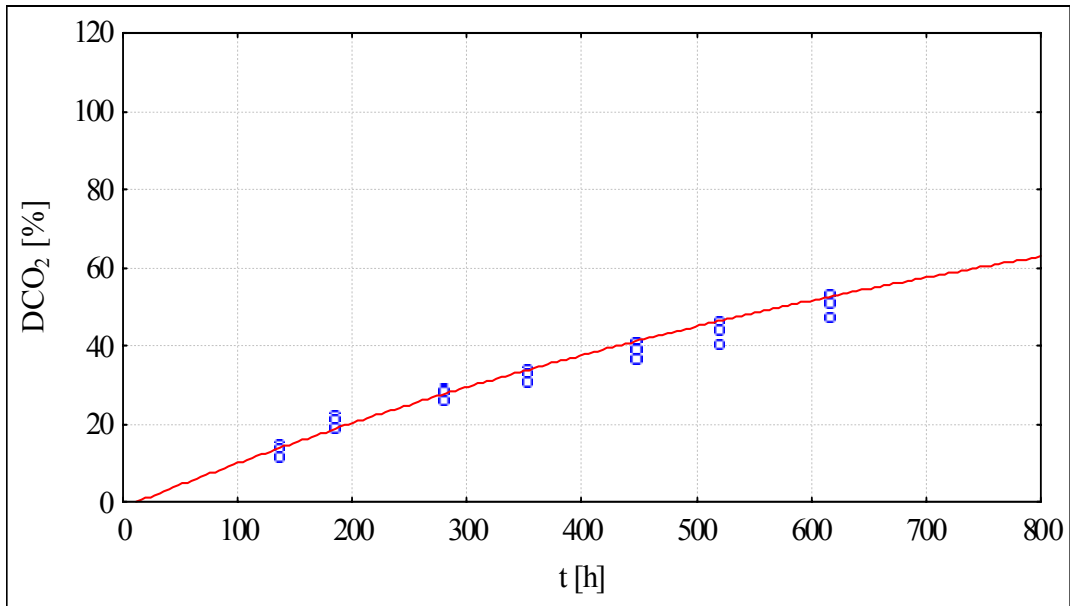
Jedním z cílů těchto sérií bylo ověření referenčního vzorku pomocí jiného referenčního vzorku. Běžně je používán jako referenční vzorek mikrocelulóza od firmy Fluka, v této sérii byla pro porovnání nasazena mikrocelulóza firmy Penta. Na obr.13 je vidět průběh rozkladu těchto dvou druhů mikrocelulóz. Je zřejmé, že zhruba po 180 hodinách se mikrocelulóza firmy Penta rozkládala pomaleji než mikrocelulóza od firmy Fluka. Tento pokus probíhá dál a zatím není zřejmé, jak se rozklad bude vyvíjet dál. Na základě těchto dat byly průběhy  $\text{DCO}_2$  vyhodnoceny programem Statistica 6.1 Cz s využitím kinetické rovnice /7/ metodou Nelineárního odhadu. Grafické znázornění je zřejmé z obr.14 a 15. Pomocí programu Statistica byly také vypočteny parametry  $\text{DCO}_2\text{max}$  a hodnoty rychlostních konstant  $k$  [ $10^{-3}\text{h}^{-1}$ ]. Pro porovnání jsou znázorněny sloupcovými grafy s vyznačeným rozpětím experimentálních hodnot. Tyto grafy jsou na obr.16 a 17.



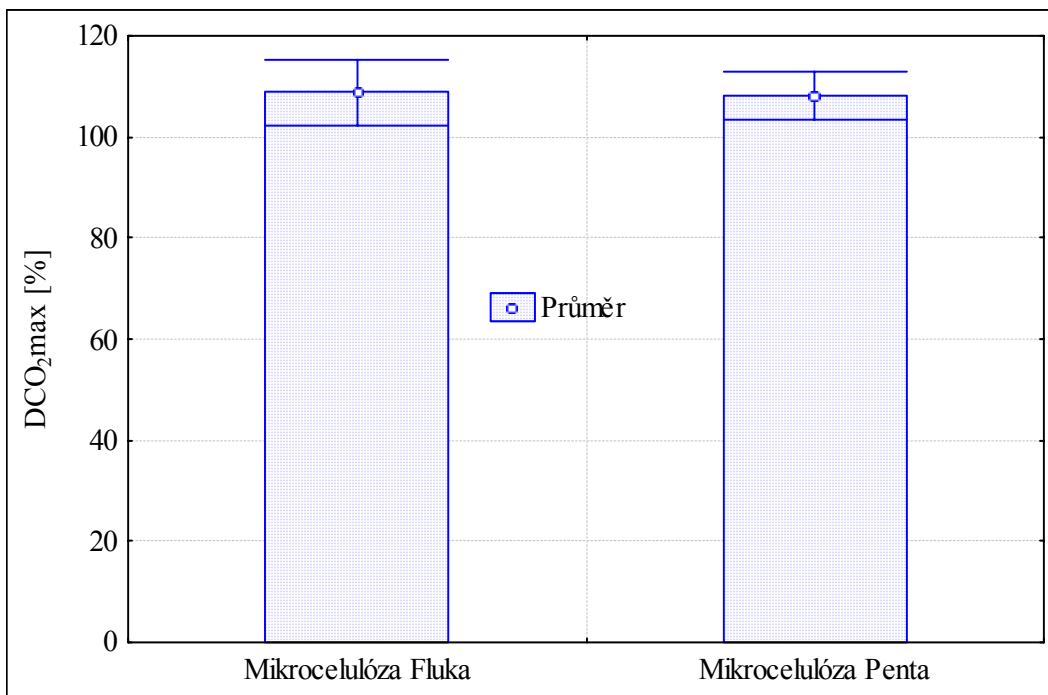
Obr.13: Porovnání rozkladu mikrocelulóz od firem Fluka a Penta



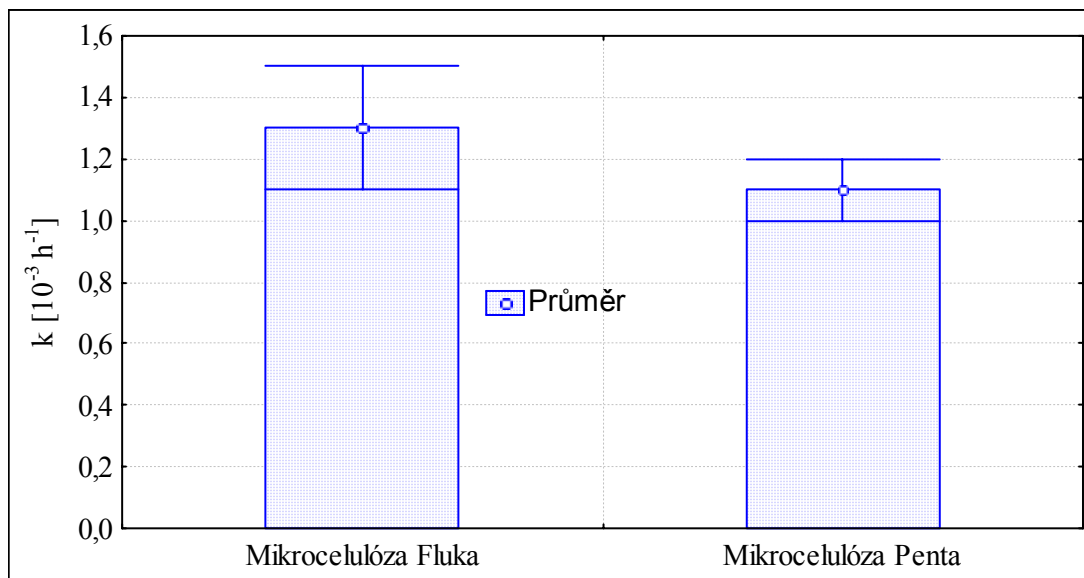
Obr.14: Procentuální odstranění substrátu pro mikrocelulózu firmy Fluka



Obr.15: Procentuální odstranění substrátu pro mikrocelulózu firmy Penta

Obr.16: Porovnání dvou referenčních vzorků – mikrocelulóz od firem Fluka a Penta na základě maximální DCO<sub>2</sub>.





Obr.17: Porovnání dvou referenčních vzorků – mikrocelulóz od firem Fluka a Penta na základě rychlosti rozkladu.

Obr. 15 ukazuje, že maximální  $\text{DCO}_2$  u těchto vzorků jsou srovnatelné, z ostatních obr. je však zřejmé, že mikrocelulóza firmy Penta se rozkládá pomaleji. Ke zjištění, proč tomu tak je, by napomohly informace o tom, jak tyto firmy mikrocelulózy vyrábějí, tyto informace však v době uzavírání této diplomové práce nebyly známy.

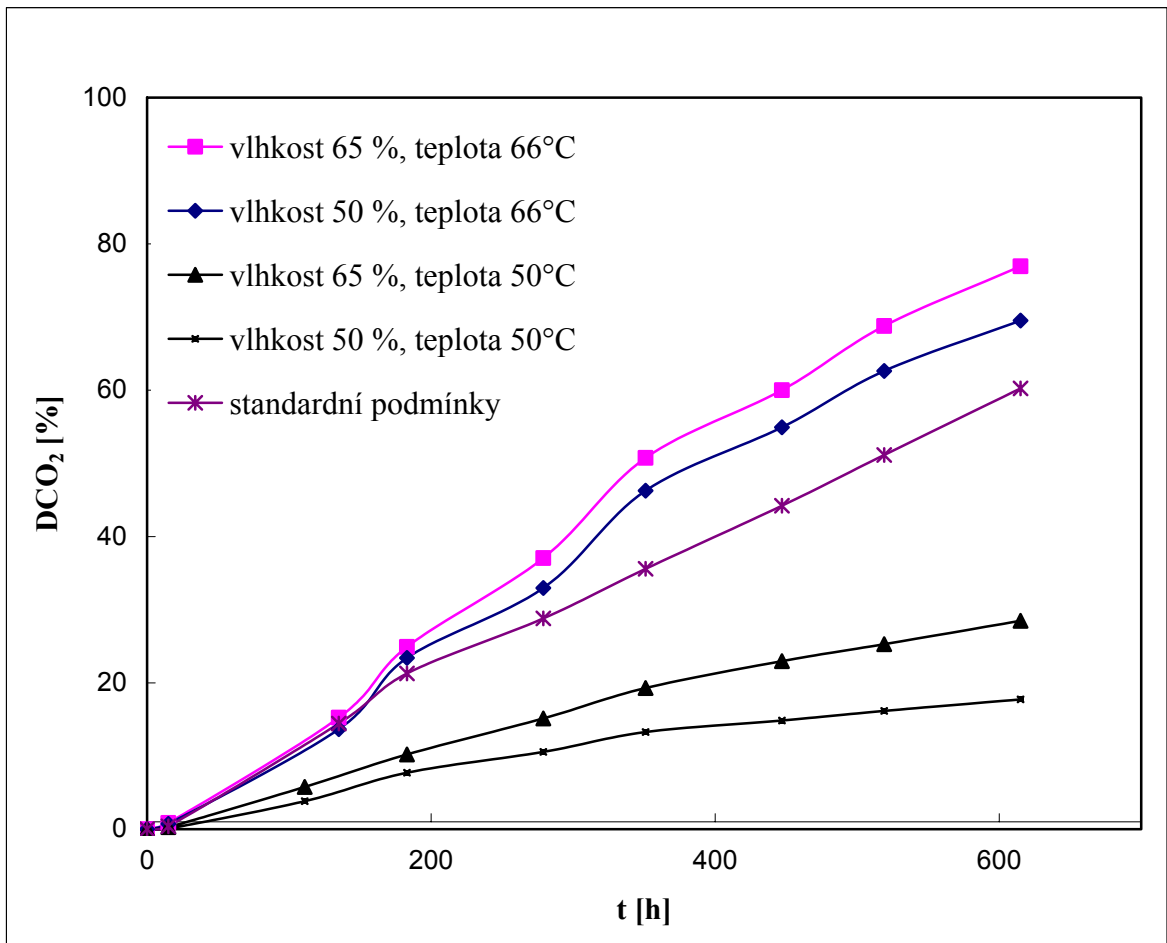
### 7.5.2 Robustnost metody

V této sérii byla zkoumána robustnost metody, tedy odolnost vůči změnám. Jako základní parametry robustnosti byly zvoleny teplota a vlhkost směsi. Na obr. 18 jsou vidět průběhy rozkladů mikrocelulózy firmy Fluka za různých podmínek. Je vidět, že na rozklad má větší vliv teplota než vlhkost, i u vlhkosti platí, že čím vyšší, tím rychlejší rozklad. Dosud získaná data byla opět vyhodnocena programem Statistika 6.1 Cz, sloupcovými grafy s vyznačeným rozpětím experimentálních hodnot. Tyto grafy jsou na obr. 19 a 20. Hodnoty maximální  $\text{DCO}_2$  se od sebe příliš nelišily, tedy teplota ani vlhkost neměly na konečný rozklad výrazný vliv, jak ukazuje obr.19. Naopak v rychlostech rozkladu byly vidět značné rozdíly, jak je vidět na obr.20, což naznačovaly i poslední naměřené hodnoty po 615 hodinách rozkladu. Na rozklad měla velký vliv teplota, vlhkost mnohem méně. V tabulce XIV jsou uvedeny poslední naměřené hodnoty rozkladu po 615 hodinách testů. K nejvyššímu stupni rozkladu došlo při teplotě  $66^\circ\text{C}$  a vlhkosti 65 %, kdy se mikrocelulóza po 615 hodi-

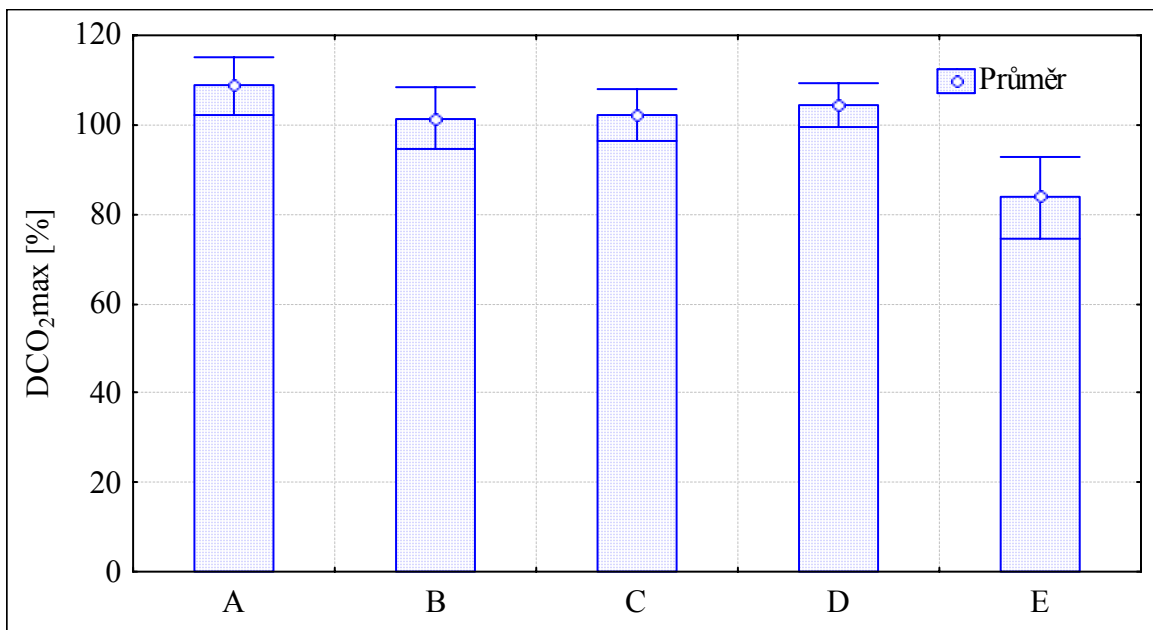
nách testu rozložila z 77 %, při standardních podmínkách (vlhkost 55 - 60 %, teplota 58°C) to bylo z 60,3 % za stejnou dobu. Naopak při teplotě 50°C a vlhkosti 50 % došlo k rozkladu jen ze 17,7 %. Z těchto výsledků vyplynulo, že vyšší teplota u této metodiky nevadila, naopak teplota 50°C byla nevhodná, hlavně při vlhkosti 50 %, kdy byl rozklad značně pomalý a křivka se dostala téměř do ploché fáze. Co se týče vlhkosti, tak zde byly při stejných teplotách rozdíly cca o 10 %.

**Tabulka XIV : Rozklad mikrocelulózy firmy Fluka za uvedených podmínek  
po 615 hodinách pokusu**

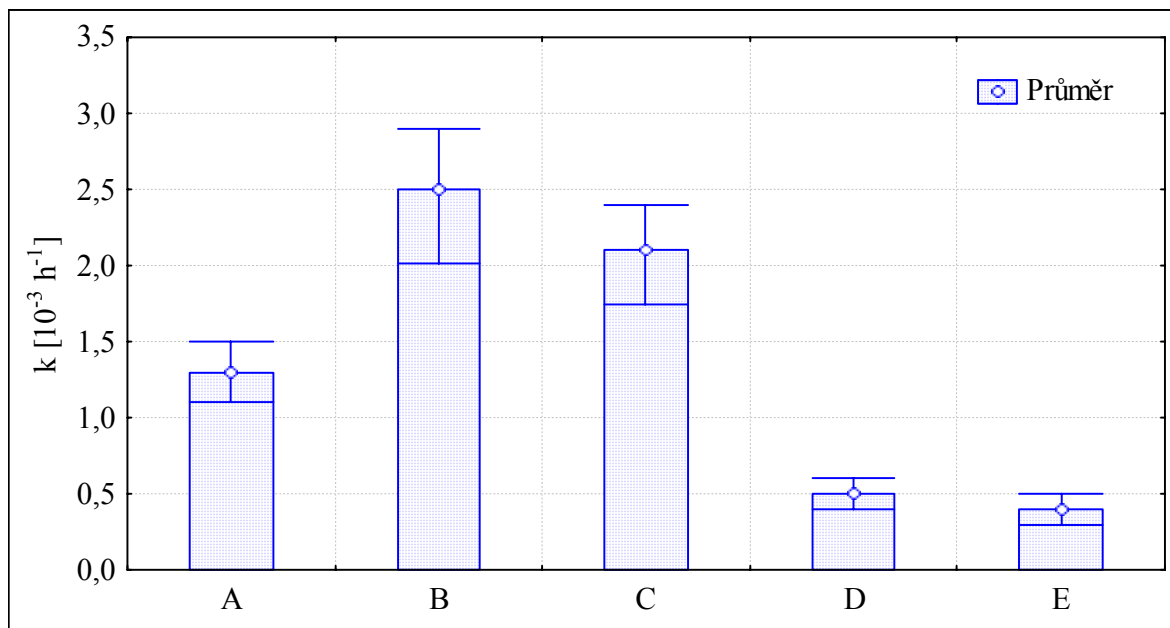
vlhkost [%]	teplota [°C]	DCO <sub>2</sub> [%]
55 – 60	58	60,3
65	66	77,0
50	66	69,5
65	50	28,5
50	50	17,7



Obr. 18: Rozklad mikrocelulózy firmy Fluka za různých podmínek



Obr. 19: Porovnání rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka podle maximální DCO<sub>2</sub>



Obr. 20: Porovnání rychlosti rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka za různých podmínek

Vysvětlivky: A – teplota 58°C, vlhkost směsi 55 – 60 %

B – teplota 66°C, vlhkost směsi 65 %

C – teplota 66°C, vlhkost směsi 50 %

D – teplota 50°C, vlhkost směsi 65 %

E – teplota 50°C, vlhkost směsi 50 %

Pokusy dále probíhají, uvedené závěry nejsou konečné a mohou doznat změn.

## ZÁVĚR

Cílem diplomové práce byla validace a verifikace postupu, pomocí kterého se sleduje biorozložitelnost polymerů v prostředí kompostu. Jako referenční vzorek byla použita mikrokryсталická celulóza a zkoumaly se validační parametry jako opakovatelnost, robustnost, ověření referenčního vzorku pomocí jiného referenčního vzorku a regulační diagram.

Proces biorozložitelnosti byl hodnocen pomocí plynové chromatografie, z naměřených hodnot byla počítána denní a kumulativní produkce CO<sub>2</sub>, resp. z této hodnoty bylo spočítáno procentuální odstranění substrátu DCO<sub>2</sub>. Stanovení spotřeby kyslíku sloužilo pro kontrolování aerobních podmínek v láhvích, může sloužit i jako doplňkový parametr pro určení biologické rozložitelnosti, v této práci však nebylo provedeno vyhodnocení na základě spotřeby kyslíku.

Byl vyzkoušen nový způsob dozrávání kompostu. Místo v láhvích byl dozráván v tzv. lysimetrech a tento způsob se osvědčil a bude používán dál, neboť oproti láhvím se v lysimetrech mnohem lépe udržuje vlhkost, kompost nevysychá a je možné jej promíchávat, což bylo v láhvích velmi obtížné a láhve měly také příliš malý objem.

V sérii č.1 byly použity dva druhy kompostů – kompost A starý cca 3 roky a kompost B, zakoupený tři měsíce před zahájením prací. Než započaly samotné pokusy, tak bylo zkoumáno endogenní dýchání kompostů (slepý pokus), na základě kterého bylo zjištěno, že komposty byly dostatečně vyztřelé a bylo je možno je použít k pokusům. Byl také proveden pokus s perlitem v souvislosti s úpravou obsahu vody na začátku testů. Optimální dávkování minerálního média je 30 ml na testovací láhev, tím byla dosažena požadovaná vlhkost cca 60 % (podle normy) a nedocházelo k velkému vysušování směsi. Série č.1 byla ukončena po 1200 hodinách a z výsledků vyplynuly tyto závěry:

- pH po ukončení pokusu se u slepých vzorků a u vzorků s nerozložitelnou látkou výrazně nezměnilo, změnilo se však u vzorků s mikrocelulózou, kde se v některých případech přiblížilo až k hodnotě 8 z původních 6,97. To platí pro vzorky s kompostem B. U vzorků s kompostem A se pH výrazně nezměnilo v žádném případě.
- Při provzdušňování láhví docházelo podle očekávání k vysušování směsi. Bylo navrženo láhve vždy před provzdušněním a po provzdušnění vážít a na základě úbytku hmotnosti vlhkost směsi upravovat destilovanou vodou. Bylo zjištěno, že za 200 hodin pokusu dojde k poklesu vlhkosti cca o 5 % (z 60 na 55 %), při požadovaném obsahu

vody 55 – 60 % je nutno tedy přidavek vody opakovat po 200 hodinách. Na konci testu byla vlhkost směsi stanovena a porovnána s hodnotou vypočítanou – byly dosaženy srovnatelné výsledky.

- byla zkoumána opakovatelnost jednoho nástřiku vzorku, jak u láhve se slepým pokusem, tak u láhve se vzorkem. V obou případech byla spočítána RSD, která u slepého pokusu dosáhla 8,13 %, u vzorku 5,46 %. Jednalo se o hodnoty příznivé.
- při zkoumání opakovatelnosti metodiky postupu byla nasazena mikrocelulóza firmy Fluka 10 x vedle sebe. Opět byla vypočtena RSD, která se ustálila na hodnotě kolem 9 % přibližně v polovině doby testu, jednalo se opět o příznivou hodnotu. Nízká hodnota RSD ověřuje dobrou opakovatelnost metody.
- při hluchém stanovení bylo zjištěno, že perlit je inertní látka a neprodukuje CO<sub>2</sub>.
- mikrocelulóza firmy Fluka byla nasazena do dvou druhů kompostů. V kompostu A se rozložila jen z 46,5 %, v kompostu B z 92,6 % za stejnou dobu. Kompost A byl tedy mnohem méně aktivní, tento výsledek potvrdil i mikrobiologický rozbor, při kterém bylo nalezeno v kompostu A mnohem méně bakterií a termofilních aktinomycet než u kompostu B.
- jako negativní kontrola byl použit polyethylen, který se nerozkládal.

V sérii č.2 byl použit jen kompost B. Byla zkoumána robustnost metody (vliv teploty, obsahu vody), porovnán průběh rozkladu dvou referenčních vzorků. Dílčí závěry:

- vliv teploty v rozmezí 50 – 66 °C byl výrazný z pohledu rychlosti rozkladu (hodnot kinetických konstant), jak plyne z obr.20, limitní biologická rozložitelnost je ale ovlivněna mnohem méně (obr.19). Poslední naměřené hodnoty (po 615 hodinách) tomuto závěru v zásadě neodporovaly.
- vliv vlhkosti - v rozmezí 50 % až 65 % se aktuální procento rozkladu zvýšilo asi o 10 %.

Je zřejmé, že mikrocelulóza od firmy Penta se rozkládá pomaleji než mikrocelulóza od firmy Fluka.

Pokusná série dosud není ukončená, uvedené závěry nejsou konečné a mohou doznat změn. Souběžně se sérií č. 2 byl nasazen testovací láhve za účelem vytvoření regulačního diagramu. Tento pokus stále probíhá a v této práci jeho výsledky nebyly zahrnuty.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Moravcová, M.: Rozložitelnost směsných polymerů v prostředí kompostu, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2007
- [2] Honzík, R.: Plasty se zkrácenou životností a způsoby jejich degradace 2004. Časopis Biom [online]. [cit.25.1.2008]. Dostupné na [www: http://biom.cz/index.shtml?x=194542](http://biom.cz/index.shtml?x=194542)
- [3] Bellia, G., Tosin, M., Floridi, G., Degli Innocenti, F.: Activated vermiculite, solid bed for testing biodegradability under composting condition, Polymer degradation and stability 66(1999), p. 65-79.
- [4] Choi, E., Park, J.: Study on biodegradability of PCL/SAN blend using composting method, Polymer degradation and stability 52(1996), p. 321-326.
- [5] Jang, J., Shin, P., Yoon, J., Lee, I., Lee, H., Kim, M: Glucose effect on the biodegradation of plastics by compost from food garbage, Polymer degradation and Stability, 76 (2002), p. 155-159
- [6] FMC biopolymer: FMC microcrystalline cellulose/celulose gel. [online]. [cit.25.1.2008]. Dostupné na [www: http://www.fmcbiopolymer.com/PopularProducts/FMCMicrocrystallineCellulose/Introduction/tabid/805/Default.aspx](http://www.fmcbiopolymer.com/PopularProducts/FMCMicrocrystallineCellulose/Introduction/tabid/805/Default.aspx)
- [7] World intellectual properte organization: WO/1993/012768) microcrystalline cellulose spheronization composition. [online]. [cit.25.1.2008]. Dostupné na [www: http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?IA=US1992009983&DISPLAY=DESC](http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?IA=US1992009983&DISPLAY=DESC)
- [8] Biodegradovatelné polymery v obalové technice [online]. [cit. 2.2.2008]. Dostupné na [www: http://www.packaging-cz.cz/pdf/2004\\_06/Packaging\\_06\\_04-6.pdf](http://www.packaging-cz.cz/pdf/2004_06/Packaging_06_04-6.pdf)
- [9] Obruča, S.: Polyhydroxyalkonáty – přirozeně odbouratelné plasty, 13.7.2007. [online]. [cit. 2.2.2008]. Dostupné na [www: http://www.inovace.cz/trendy/polyhydroxyalkanoaty---prirozene-odbouratelne-plasty/](http://www.inovace.cz/trendy/polyhydroxyalkanoaty---prirozene-odbouratelne-plasty/)
- [10] Yang, H., Yoon, J., Kim, M.: Depence of biodegradability of plastics in compost on the shape of specimen, Polymer degradation and stability 87 (2005), p. 131-135

- [11] Goral, S., Dhull, S.K., Kapoor, K.K.: Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assesment of compost maturity, *Biosource Technology* 96 (2005), p. 1584-1591
- [12] Komilis, D.: A kinetic analysis of solid waste composting at optimal conditions, *Waste Managment* 26 (2006), p. 82-91.
- [13] Haug, R.: *The practical handbook of compost engineering*, 1. title, 1993, CRC press LLC, ISBN 0-87371-373-7, 717 s.
- [14] Tang, J., Maie, N., Tada, Y., Katayama, A.: Characterization of the maturing process of cattle manure compost, *Process Biochemistry* 41 (2006), p. 380-389
- [15] International standard ISO/FDIS 14855-2: Determination of ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastic materials under controlled composting condition – Metod by analysis evolved carbon dioxide, Part 2: Gravimetric measurement of carbon dioxide evolved in laboratory-scale test. [online]. [cit.25.1.2008]. Dostupné na www: [http://www.aipma.net/isotc/ISO\\_FDIS\\_14855-2\\_\(E\).pdf](http://www.aipma.net/isotc/ISO_FDIS_14855-2_(E).pdf)
- [16] Száraz, L., Beczner, J.: Optimization processes of a CO<sub>2</sub> measurement set-up for assesing biodegrability of polymers, *International Biodeterioration and Biodegradation* 52 (2003), p. 93-95
- [17] Bellia, G., Tosin, M., Floridi, G., Degli Innocenti, F.: The test method of composting in vermiculite is unaffected by the priming effect. *Polymer degradation and stability* 69(2000), p. 113-120.
- [18] Kunioka, M., Ninomyia, F., Funabashi, M.: Novel evaluation method of biodegradabilities for oil-based polycaprolactone by naturally occurring radiocarbon-14 concentration using accelerator mass spectrometry based on ISO-14855-2 in controlled compost. *Polymer degradation and Stability* 92(2007), p. 1279-1288.
- [19] Ohtaki, A., Sato, N., Nakasaki, K.: Biodegradation of poly( $\epsilon$ -caprolaktone) under controlled composting condition, *Polymer degradation and Stability* 61(1998), p. 499-505



- [20] Ohtaki, A., Sato, N., Nakasaki, K.: Effects of temperature and inoculum on the biodegradability of poly- $\epsilon$ -caprolactone during composting, *Polymer degradation and Stability* 62(1998), p. 279-284
- [21] Rosa, D.S., Filho, R.P., Chui, G.S.H., Calil, M.R., Quedes, C.G.F.: The biodegradation of poly- $\beta$ -(hydroxybutyrate), poly- $\beta$ -(hydroxybutyrate-co-valerate) and poly( $\epsilon$ -caprolactone) in compost derived from municipal solid waste, *European Polymer Journal*, 39 (2003), p. 233-237.
- [22] Chiellini, E., Corti, A., Solaro, R.: Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based blown films under different environmental condition, *Polymer Degradation and Stability* 64 (1999), p. 305-312
- [23] Ghorpade, M., Gennadios, A., Hanna, M.: Laboratory composting of extruded poly(lactic acid) sheets, *Biosource Technology* 76 (2001) p. 57-61
- [24] Kunioka, M., Ninomyia, F., Funabashi, M.: Biodegradation of poly (lactic acid) powders proposed as the reference test materials for the international standard of biodegradation evaluation methods, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), p. 1919-1928
- [25] Validační program pro statistické zpracování analytických dat [online]. [cit. 3.2.2008]. Dostupný na WWW: <http://sweb.cz/HPLC/Suma/Validace.htm>
- [26] Metrologická terminologie [online]. [cit. 10.5.2008]. Dostupné na www: <http://www.eqa.cz/terminologie/Text/Terminologie.htm>
- [27] Suchánek, M., Plzák, Z., Šubrt, P., Koruna, I.: *Kvalimetrie: Validace analytických metod*, druhé vydání, Praha 1999, ISBN 90-901868-4-X
- [28] Friedecký, B., Šprongl, L., Kratochvíla, J.: *Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích – Doporučení výboru České společnosti klinické biochemie*
- [29] Suchánek, M.: *Kvalimetrie: Vhodnost analytických metod pro daný účel*, Praha 1999, ISBN 80-9901868-7-4
- [30] Badal, M. a kol.: *Kvalimetrie: Jakost v analytické laboratoři, odpovědi manažerům jakosti*, Praha 2000. ISBN 80-901868-8-2

- [31] Trávníčková, D.: Regulační diagram v klinické laboratoři [online]. [cit.8.5.2008]. Dostupný na www: <http://fmmi10.vsb.cz/639/qmag/st08-cz.htm>
- [32] Kotasová, I.: Biodegradace směsných polymerů v termofilních podmínkách, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2006
- [33] Instruction manual Total Carbonic analyser model TOC-5000A, Shimadzu Corporation, Japan 1996
- [34] Stanovení CHSK dichromanovou a Kubelovou metodou, návod pro laboratorní cvičení
- [35] Veleba, S.: Environmentální transformace a ochrana přírodního prostředí jižního Altaje, Diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2006
- [36] Houser, J., Novotný, L.: Laboratorní cvičení ze speciálních metod instrumentální analýzy I, 1. vydání, UTB ve Zlíně, 2002
- [37] Houser, J., Novotný, L.: Laboratorní cvičení ze speciálních metod instrumentální analýzy II, 1. vydání, UTB ve Zlíně, 2002
- [38] Růžička, J.: Mikrobiologická cvičení, 1. vydání, UTB ve Zlíně, 2001
- [39] Kopčilová, M., Hoffmann, J., Julinová, M.: Testy kompostovatelnosti plastů, UTB FT Zlín, Odpadové fórum 2008 – symposium
- [40] Certifikát referenčního materiálu Kalibrační plyn tř. 2
- [41] Kropáč, J.: Základy teorie pravděpodobnosti a matematické statistiky, 1. vydání, UTB ve Zlíně, 2003

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ASTM	Americká společnost pro testování materiálů
CEN	Evropská organizace pro normalizaci
CFU	počet jednotek tvořící kolonie
DCO <sub>2</sub>	procentuální odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub>
DCO <sub>2</sub> max	maximální procentuální odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub>
DO <sub>2</sub>	Procentuální odstranění substrátu dle spotřeby O <sub>2</sub>
HDPE	vysokohustotní polyethylen
HPLC	vysoce účinná kapalinová chromatografie
CHSK	chemická spotřeba kyslíku
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci
MODA	mikrobiálně-oxidačně degradační analyzátor
NDIR	Non – Disperse Infrared Detector
PBS	poly (butylen jantaran)
PBSA	poly(butylen- jantaran-co-adipan)
PCL	polykaprolakton
PE	polyethylen
PHB	polyhydroxybutyrát
PHB-V	poly(hydroxybutyrát-co-valerát)
PLA	poly (laktic acid)
PLLA	poly (L-laktic acid)
PPL	polypropiolacton
PVA	polyvinyalkohol
RSD	relativní směrodatná odchylka
SAN	styren akrylonitril

TCD	tepelně vodivostní detektor
ThCO <sub>2</sub>	teoretická produkce oxidu uhličitého
ThO <sub>2</sub>	teoretická spotřeba kyslíku
TOC	celkový organický uhlík
TYA	Trypton Yeast Agar

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1 Lysimetr.....	38
Obr. 2 Schéma testovací láhve.....	43
Obr. 3: Závislost vlhkosti kompostů A a B na době vyzrání (umístění ve vodní lázni)..	57
Obr. 4: Závislost vlhkosti směsi v testovací láhvi na době pokusu.....	61
Obr. 5: Závislost RSD na době pokusu.....	64
Obr.6: Porovnání rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka v kompostech A a B.....	65
Obr. 7: Procentuální odstranění substrátu (DCO <sub>2</sub> ) pro mikrocelulózu firmy Fluka v kompostu B.....	66
Obr. 8: Procentuální odstranění substrátu (DCO <sub>2</sub> ) pro mikrocelulózu firmy Fluka v kompostu A .....	66
Obr. 9: Srovnání vzorků podle maximální DCO <sub>2</sub> .....	67
Obr. 10: Srovnání vzorků podle rychlosti rozkladu.....	68
Obr. 11: Procentuální odstranění substrátu (DCO <sub>2</sub> ) pro polyethylen.....	68
Obr.12: Průběh vlhkosti směsi v reakčních láhvích během testu.....	70
Obr. 13: Porovnání rozkladu mikrocelulóz od firem Fluka a Penta.....	71
Obr. 14: Procentuální odstranění substrátu pro mikrocelulózu firmy Fluka.....	71
Obr. 15: Procentuální odstranění substrátu pro mikrocelulózu firmy Penta.....	72
Obr. 16: Porovnání dvou referenčních vzorků – mikrocelulóz od firem Fluka a Penta na základě maximální DCO <sub>2</sub> .....	72
Obr. 17: Porovnání dvou referenčních vzorků – mikrocelulóz od firem Fluka a Penta na základě rychlosti rozkladu.....	73
Obr. 18: Rozklad mikrocelulózy firmy Fluka za různých podmínek.....	75
Obr. 19: Porovnání rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka podle maximální DCO <sub>2</sub> .....	75
Obr. 20: Porovnání rychlosti rozkladu mikrocelulózy firmy Fluka za různých podmínek..	76

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka I: Chemické a fyzikální vlastnosti kompostu (údaje výrobce).....	37
Tabulka II: Stanovené fyzikálních vlastnosti kompostu.....	39
Tabulka III: Chemické a mikrobiologické charakteristiky kompostu A.....	41
Tabulka IV: Chemické a mikrobiologické charakteristiky kompostu B.....	42
Tabulka V: Chemické a fyzikální vlastnosti perlitu (údaje výrobce).....	42
Tabulka VI: Pozice pro sérii č.1.....	51
Tabulka VII: Pozice pro sérii č.2.....	53
Tabulka VIII: Popis pokusu úpravy vlhkosti v reakční láhvi .....	58
Tabulka IX: Hodnoty pH a vlhkosti pro sérii č.1.....	59
Tabulka X: Porovnání vypočtené a naměřené vlhkosti směsi na konci pokusu.....	61
Tabulka XI: Opakovatelnost jednoho nástřiku .....	62
Tabulka XII: Opakovatelnost měření rozložitelnosti mikrocelulózy.....	63
Tabulka XIII: Počáteční hodnoty pH a vlhkosti směsi pro sérii č.2 .....	69
Tabulka XIV : Rozklad mikrocelulózy firmy Fluka za uvedených podmínek po 615 hodinách pokusu.....	74

