

Biodegradace polyethylenu s prooxidanty

Bc. Pavel Gerych

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. Pavel GERYCH**
Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Téma práce: **Biodegradace polyethylenu s prooxidanty**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma s využitím dostupných databází (Web of Science, PubMed, Current Content) a dalších dostupných materiálů.
2. Experimentální práci zaměřte na sledování abiotické oxidace vzorků PE s prooxidanty pomocí FTIR spekter případně sledování vybraných mechanických vlastností.
3. Biodegradaci vzorků podrobených abiotické oxidaci sledujte v půdních podmínkách a podmínkách kompostu měřením produkovaného oxidu uhličitého pomocí plynové chromatografie.
4. Veškerá naměřená data zpracujte přehledně písemnou formou, výsledky s výhodou znázorněte pomocí tabulek a grafů s využitím počítače a dostupného programového vybavení.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Vedoucí diplomové práce:

doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

19. února 2008

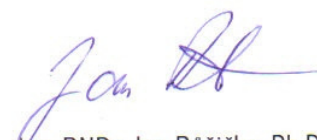
Termín odevzdání diplomové práce:

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 bylo sledovat průběh abiotické oxidace a biodegradace polyethylenu s prooxidanty v prostředí půdy a vyzrálého kompostu. Biodegradace byla sledována stanovením plynných produktů procesu metodou plynové chromatografie. V rámci diplomové práce byly testovány tři typy LDPE fólií s prooxidanty.

První sadu vzorků tvořily LDPE-1 fólie s prooxidanty na bázi manganu a s obsahem 15 % vápence jako plniva. Vzorky byly nejprve podrobeny urychlenému stárnutí pomocí termooxidace při 70°C po dobu 40 a 80 dní. Po 432 denní biodegradaci v půdním prostředí bylo dosaženo 11,11 % mineralizace u vzorku LDPE-1(40) a 13,98 % u LDPE-1(80). V případě kompostovacích podmínek bylo za 432 dní dosaženo 18,23 % mineralizace u LDPE-1(40) a 18,31 % u LDPE-1(80). Vzorky byly po biodegradaci podrobeny optické a elektronové mikroskopii. Mikroskopické techniky prokázaly přítomnost mikroorganismů na povrchu zkoumaných materiálů.

Druhou sadu vzorků tvořily LDPE-2, LDPE-3 fólie o neznámém složení prooxidantů. Vzorky byly nejprve podrobeny urychlenému stárnutí pomocí termooxidace při 70°C po dobu 40 dní. Po 183 denní biodegradaci v půdním prostředí bylo dosaženo 4,34 % mineralizace u vzorku LDPE-2(40) a 5,14 % u LDPE-3(40). V případě kompostovacích podmínek bylo za 92 dní dosaženo 12,28 % mineralizace u LDPE-2(40) a 10,39 % u LDPE-3(40).

Klíčová slova : polyethylen, prooxidanty, abiotická oxidace, biodegradace.

ABSTRACT

The main goal of the diploma thesis was to monitor processes of abiotic oxidation and biodegradation of polyethylene containing prooxidants in soil and mature compost environments. Biodegradation was followed by gas chromatography determination of gaseous products. Three types of LDPE films containing prooxidants were investigated.

The first set of samples consisted of LDPE-1 films with manganese based prooxidants and with 15 % of calcite as filler. The samples were first subjected to accelerated aging by thermooxidation for 40 and 80 days at 70°C. After 432 days of biodegradation the values of mineralization were about 11,11 % for sample LDPE-1(40) and about 13,98 % for LDPE-1(80) in the soil test and about 18,23 % for sample LDPE-1(40) and about 12,31 % for LDPE-1(80) in the compost test. The samples were monitored by optical and electron microscopy after biodegradation. The employed techniques proved the presence of microorganisms on the surface of the materials.

The second set of samples included LDPE-2, LDPE-3 films containing prooxidants with unknown composition. The samples were first subjected to accelerated aging by thermooxidation for 40 days at 70°C. After 183 days of biodegradation the values of mineralization were about 4,34 % for sample LDPE-2(40) and about 5,14 % for LDPE-3(40) in the soil test. After 92 days of biodegradation the values of mineralization were about 12,28 % for LDPE-2(40) and about 10,39 % for LDPE-3(40) in the compost test.

Keywords : polyethylene, prooxidants, abiotic oxidation, biodegradation.

Na tomto místě bych chtěl poděkovat vedoucímu diplomové práce doc. Mgr. Marku Koutnému, PhD. za trpělivost, odborné vedení a cenné rady při zpracování diplomové práce. Dále děkuji celému kolektivu ÚIOŽP za vytvoření výborných pracovních podmínek.

V neposlední řadě bych chtěl poděkovat svým rodičům, přítelkyni a kamarádům za důvěru a podporu při studiu a vypracování diplomové práce.

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

Ve Zlíně, 16.05.2008

.....

podpis

OBSAH

ÚVOD	10
I LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	11
1 POLYMERNÍ MATERIÁLY	12
1.1 POLYMERY.....	12
1.2 PLASTOVÉ ODPADY.....	12
1.3 DEGRADACE POLYMERŮ	15
1.3.1 Biodegradace	15
2 POLYETHYLEN.....	17
2.1 VZNIK, VLASTNOSTI A TYPY POLYETHYLENU	17
2.2 VYUŽITÍ POLYETHYLENU	18
2.3 ODOLNOST POLYETHYLENU VŮČI BIODEGRADACI.....	20
2.4 POLYETHYLEN S PROOXIDANTY	21
2.5 BIODEGRADABILNÍ POLYETHYLEN	21
3 DEGRADACE POLYETHYLENU S PROOXIDANTY	23
3.1 ABIOTICKÁ OXIDACE PĚ S PROOXIDANTY	23
3.1.1 Výsledky abiotické oxidace	24
3.1.2 Faktory ovlivňující výsledky abiotické oxidace	25
3.2 AEROBNÍ BIODEGRADACE PĚ S PROOXIDANTY	27
3.2.1 Biodegradace s vybranými mikrobiálními druhy	28
3.2.2 Biodegradace v komplexním prostředí	28
4 BIODEGRADABILITA POLYMERŮ	29
4.1 ENVIRONMENTÁLNĚ DEGRADABILNÍ POLYMERY A PLASTY	29
4.2 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY POLYMERŮ.....	29
4.2.1 Testování v půdním prostředí.....	30
4.2.2 Testování v prostředí kompostu	31
4.2.3 Testování oxo-biodegradabilních polymerů	31
5 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	33
II MATERIÁLY A METODIKA	34
6 POUŽITÉ MATERIÁLY	35
6.1 CHEMIKÁLIE.....	35
6.2 ROZTOKY	37
6.3 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ.....	39
6.4 TESTOVANÉ VZORKY	40
6.4.1 XRF analýza	41
6.5 SUBSTRÁTY PRO BIODEGRADAČNÍ PROSTŘEDÍ	41
7 METODIKA PROVEDENÝCH ZKOUŠEK A POKUSŮ	42

7.1	CHARAKTERISTIKA VZORKŮ A SUBSTRÁTŮ	42
7.1.1	Stanovení celkového uhlíku	42
7.1.2	Stanovení celkového organicky vázaného dusíku	43
7.1.3	Stanovení veškerého rozpuštěného fosforu	43
7.2	PRAKTICKÉ PROVEDENÍ ABIOTICKÉ OXIDACE	45
7.3	METODY PRO HODNOCENÍ ABIOTICKÉ OXIDACE	45
7.3.1	Spektroskopie v IČ oblasti	45
7.3.2	Mechanická pevnost	46
7.3.3	Gelová permeační chromatografie	46
7.4	PRAKTICKÉ PROVEDENÍ AEROBNÍ BIODEGRADACE	47
7.4.1	Testovací láhve	47
7.4.2	Provzdušňování testovacích lahví	47
7.4.3	Příprava biodegradačního testu	48
7.4.4	Aerobní biodegradace v půdním prostředí	48
7.4.5	Aerobní biodegradace v prostředí vyztřelého kompostu	49
7.5	HODNOCENÍ AEROBNÍ BIODEGRADACE METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE	50
7.5.1	Analýza pomocí plynového chromatografu Chrom 5	50
7.5.2	Analýza pomocí plynového chromatografu Agilent 7890	51
7.5.3	Zpracování naměřených hodnot	52
7.6	MIKROSKOPIE VZORKŮ PODROBENÝCH BIODEGRADACI	54
7.6.1	Optická mikroskopie	54
7.6.2	Pokus o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu PE	55
7.6.3	Skenovací elektronová mikroskopie	56
7.6.4	Optimalizace postupu přípravy vzorku pro SEM	57
III	VÝSLEDKY A DISKUZE	58
8	ABIOTICKÁ OXIDACE	59
8.1	SPEKTROSKOPIE V IČ OBLASTI	59
8.2	MECHANICKÁ PEVNOST	63
8.3	GELOVÁ PERMEAČNÍ CHROMATOGRAFIE	67
9	AEROBNÍ BIODEGRADACE	68
9.1	BIODEGRADAČNÍ TESTY S LDPE-1	68
9.1.1	Biodegradace v půdním prostředí	68
9.1.2	Biodegradace v prostředí vyztřelého kompostu	71
9.1.3	Výpočet obsahu organicky vázaného uhlíku v materiálu LDPE-1 z polyethylenu	74
9.2	BIODEGRADAČNÍ TESTY S LDPE-2, LDPE-3	78
9.2.1	Biodegradace v půdním prostředí	78
9.2.2	Biodegradace v prostředí vyztřelého kompostu	80
9.3	MIKROSKOPIE TESTOVANÝCH VZORKŮ	84
9.3.1	Optická mikroskopie	84
9.3.2	Pokus o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu PE	87
9.3.3	Skenovací elektronová mikroskopie	88

ZÁVĚR	91
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	93
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	97
SEZNAM OBRÁZKŮ	98
SEZNAM TABULEK	101

ÚVOD

Globálním problémem současnosti z hlediska životního prostředí je neustále se zvyšující množství plastového odpadu. Světová produkce a spotřeba polymerních materiálů za rok 2005 byla 230 milionů tun a odhaduje se, že množství vyrobených plastů dosáhne v roce 2010 cca 304 milionů tun [1]. Avšak u významné části není konec životního cyklu výrobků a management vzniklého odpadu uspokojivě vyřešen.

Plastové výrobky jsou v masivním měřítku využívány zejména pro své výborné mechanické a fyzikální vlastnosti a nízkou cenu na trhu. Převážná část z nich je však určena pouze jednorázově na krátkou dobu jako obalový materiál a poté se stávají odpadem. Kumulace plastů na skládkách je nežádoucí, protože zde zůstávají nedotčeny desítky a možná i stovky let. Jak je možné vyřešit problémy s plastovými odpady? Nejjednodušším řešením je samozřejmě prevence, aby nedocházelo k neustálému hromadění odpadů. Další možností je recyklace, která je však často ekonomicky náročná a mnohdy zatížena dalšími vlivy na životní prostředí. Žádaným řešením problematiky redukce plastového odpadu by se do budoucna mohla stát degradace, zejména biodegradace.

Polyethylen (PE) patří k nejmasověji vyráběným a používaným syntetickým polymerům. Produkty z polyethylenu mají nejčastěji funkci obalových materiálů na jedno použití. Nicméně krátká doba využití ostře kontrastuje s jeho pozoruhodnou odolností vůči biodegradaci. Pro podporu biologického rozkladu se PE modifikuje přidávkem tzv. prooxidantů.

Polyethylen aditovaný prooxidanty by se mohl stát součástí řešení problémů spojených s plastovým odpadem. Tento materiál podléhá rychlé abiotické oxidaci a vzniklé produkty by již mohly být snáze napadnutelné enzymovým vybavením mikroorganismů. Biodegradace takto upraveného polyethylenu je přesto velmi zdoluhavá a mechanismus není zcela objasněn, proto je zapotřebí dalších výzkumů. Nicméně se zdá, že se zájem o PE s prooxidanty zvyšuje. V současné době je materiál již komerčně dostupný a postupně uváděn na trh.

I. LITERÁRNÍ REŠERŠE

1 POLYMERNÍ MATERIÁLY

1.1 Polymery

Polymery jsou přírodní nebo syntetické látky, v jejichž velké molekule (makromolekule) se jako článek v řetězu mnohonásobně opakuje základní monomerní jednotka [2].

Polymery se dělí na elastomery a plasty. Elastomer je elastický polymer, který lze za běžných podmínek malou silou deformovat bez porušení. Dominantní skupinou elastomerů jsou kaučuky, z nichž se vyrábí pryže. Plasty jsou polymery za běžných podmínek většinou tvrdé, často i křehké. Při zvýšené teplotě se stávají plastickými a tvarovatelnými. Pokud je změna z plastického do tuhého tvaru opakovaně vratná, mluví se o termoplastech. Pokud jde o změnu nevratnou, mluví se o reaktoplastech [2].

1.2 Plastové odpady

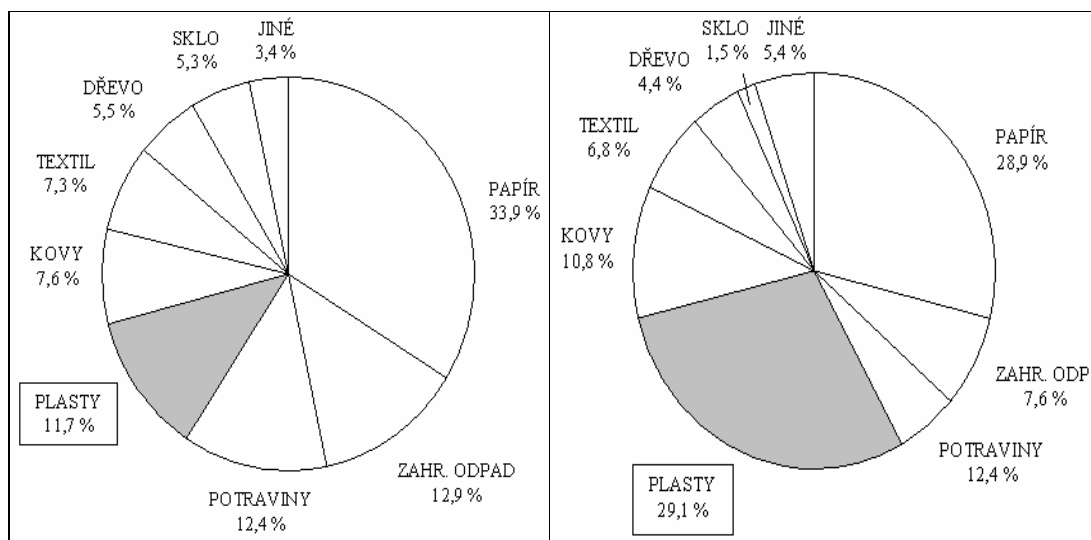
Produkty z plastů jsou hojně využívány pro své výborné mechanické a fyzikální vlastnosti a zejména nízkou cenu na trhu. To dokazuje skutečnost, že je ročně na celém světě vyprodukováno mnoho milionů tun plastových výrobků. Převážná část z nich je určena pouze na jedno použití jako obalový materiál. Většina plastových výrobků s krátkým cyklem ve spotřebitelské sféře se ocitá na skládkách odpadů.

V tabulce (Tab. I.) je uveden vzrůstající trend vyprodukovaných plastových odpadů a jejich procento z celkové produkce odpadů v časovém intervalu let 1960 až 2006 v USA [3].

Tab. I. Množství vyprodukovaných plastových odpadů v letech 1960 až 2006 v USA (v tisících tun a v procentech z celkové produkce odpadů) [3].

	1960	1970	1980	1990	2000	2002	2004	2006
[tisíce tun]	390	2900	6830	17130	25340	27180	29210	29490
[%]	0,4	2,4	4,5	8,3	10,6	11,4	11,7	11,7

Plastové výrobky mají nízkou specifickou hmotnost, což je jedna z mnoha výhodných vlastností ve spotřebitelské sféře. Tato skutečnost však sebou přináší další problém v oblasti odpadového hospodářství. Plastový odpad, který představuje 11,7 %-ní (w/w) podíl z celkového množství pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 2006, zaujímá přes 29 % (v/v). Proto je ukládání plastového odpadu na skládky odpadů do budoucna nežádoucí, neboť díky jejich širokému využívání jsou jimi skládky doslova zaplaveny. Procentuelní hmotnostní a objemový podíl složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 2006 je znázorněn na obrázku (Obr. 1.) [3].



Obr. 1. Hmotnostní a objemové zastoupení složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 2006 [3].

Plastové obalové materiály na jedno použití (zejména polyolefiny) se kumulují na skládkách odpadů, kde setrvávají několik desítek let prakticky nedotčeny. Nabízí se tedy otázka, jak nejefektivněji odstranit plastový odpad z prostředí. Jednou z možností, jak redukovat množství plastů na skládkách, je recyklace, která má několik podob.

První možností je energetický (oxidační) způsob za účelem získání a využití uložené energie spalováním. Spalování významně redukuje objem odpadu, je snadno proveditelné (max. 900°C) a proto celkem běžné. Nevýhodou je ekonomická stránka a zatíženost dalšími vlivy na životní prostředí. Druhým typem recyklace je chemická cesta, kam spadá solvolýza. Jedná se o reakci s rozpouštědlem za přítomnosti kyselých či bazických katalyzátorů. Další možností je redukční pyrolýza, což je souběžné působení tepla, oxidu uhelnatého a vody. Výsledkem jsou pak ušlechtilá paliva [4].

Poslední možností je recyklace mechanická. Jedná se o tepelně tvářecí procesy jako extruze, lisování, vstřikování, atd. Velmi zajímavě se jeví recyklace plastů podle Smile Plastics, což je společnost, která používá výše uvedené plastikářské postupy, zejména lisování odpadních termoplastů do formy desek. Tyto desky jsou používány pro výrobu designového nábytku, jako krycí koupelnové panely, výstavní panely, do obchodních či kancelářských prostor. Z důvodu nutného nákladného třídění vstupních materiálů, jejich praní i cíleného dávkování a skládání jednotlivých komponentů do formy, nejsou tyto produkty levné [4,5].

Recyklace je často ekonomicky nákladná a mnohdy zatížena dalšími vlivy na životní prostředí. V tabulce (Tab. II.) je uveden trend recyklace plastových odpadů v letech 1960 až 2006 v USA. V roce 2006 bylo tedy recyklováno „pouze“ 6,9 % z celkového množství plastových odpadů [3,4].

Tab. II. Množství recyklovaného plastového odpadu v letech 1960 až 2006 v USA (v tisících tun a v procentech z celkové produkce plast. odpadů) [3].

	1960	1970	1980	1990	2000	2002	2004	2006
[tisíce tun]	Neg.	Neg.	20	370	1480	1480	1720	2040
[%]	Neg.	Neg.	0,3	2,2	5,8	5,4	5,9	6,9

Neg. = méně jak 5000 tun nebo 0,05 %

Další možností jak nakládat s plastovým odpadem je degradace, zejména biodegradace. Tato možnost se zdá být do budoucna jako jednoduché a žádané řešení problematiky redukce plastového odpadu [6].

1.3 Degradace polymerů

Degradace je nevratný proces, při kterém dochází k rozkladu materiálu na základě jeho chemických a fyzikálních změn. Degradace může mít několik podob [7,8]:

- Chemodegradace - proces, který využívá k degradaci polymerů chemicky účinných látek.
- Fotodegradace - skupina fyzikálních procesů zahrnujících především působení světelného záření.
- Termická degradace - proces, při kterém je převažujícím faktorem teplota, která má na polymery vliv chemický a fyzikální.
- Biodegradace - proces rozkladu polymerů působením biologických činitelů (mikroorganismů), dále viz. kapitola 1.3.1.
- Biodeteriorace - proces rozkladu polymerů působením biologických činitelů (hlodavci, rostliny).

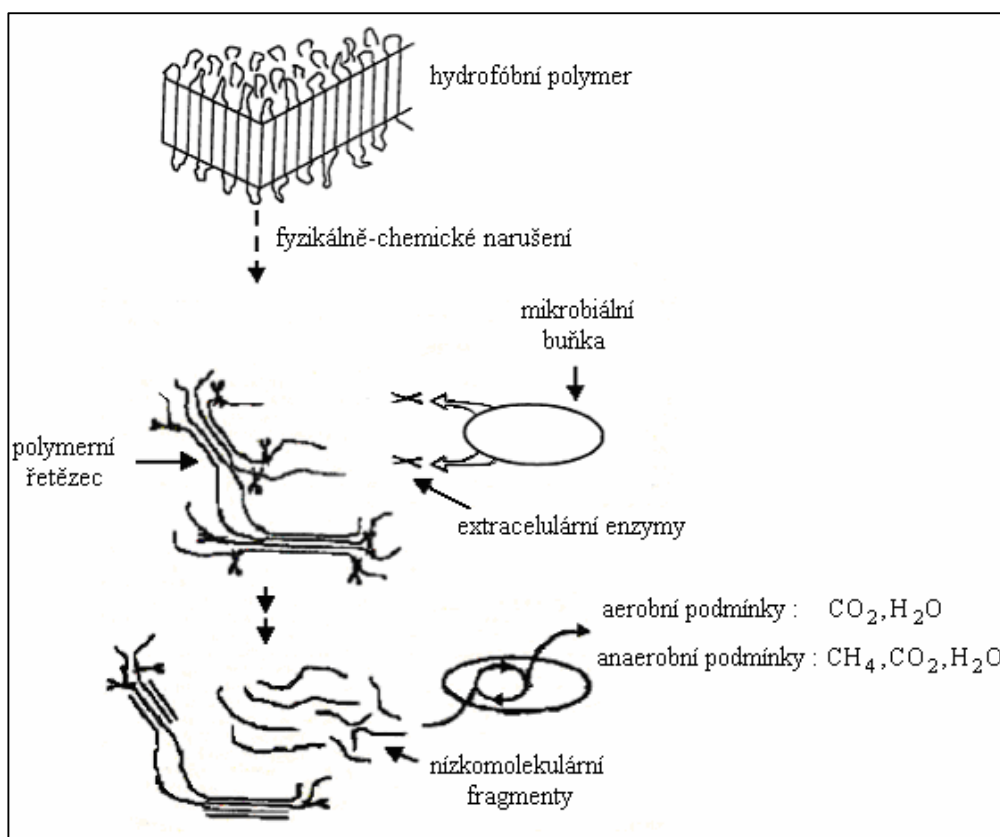
1.3.1 Biodegradace

Biodegradace je speciální případ degradace, kdy dochází k rozkladu materiálu působením mikroorganismů a jejich enzymového vybavení. Proces biodegradace může probíhat za podmínek aerobních či anaerobních, což má vliv na tvorbu konečných produktů mineralizace organického substrátu. Za podmínek aerobních, tedy za přítomnosti kyslíku, dochází k rozkladu polymeru na oxid uhličitý, vodu a minerální soli. Zatímco za podmínek anaerobních, tedy bez přítomnosti kyslíku, jsou výslednými produkty mineralizace methan, oxid uhličitý, voda a minerální soli [7,9].

Mikroorganismy, které se podílejí na procesu biodegradace, vyžadují pro svou činnost specifické podmínky. Proto je biodegradace proces závislý na podmínkách prostředí. Průběh a rychlost biodegradace jsou ovlivněny zejména přítomností živin, vlhkostí, teplotou, intenzitou světla, hodnotou pH a koncentrací kyslíku [9,10].

Při nedostatečném přísunu živin v prostředí může dojít k poklesu mikrobiální aktivity. Velmi suché podmínky mohou vést k dehydrataci mikroorganismů, což má vliv na rychlost biodegradace. Vliv teploty, intenzity světla, pH a koncentrace kyslíku na rychlost biodegradace je rozdílný v závislosti na prostředí, ve kterém biodegradace probíhá [10].

Na obrázku (Obr. 2.) je znázorněn princip biodegradace polymerních materiálů. Vlastnímu procesu předchází narušení struktury hydrofobního polymeru vlivem fyzikálně-chemických faktorů. Biodegradace je zahájena extracelulárními enzymy produkovanými mikroorganismy do vnějšího prostředí. Účinkem enzymů dojde k rozštěpení polymerního řetězce na menší fragmenty, které jsou již snáze transportovány do buněk mikroorganismů, kde dochází k jejich úplné mineralizaci [9].

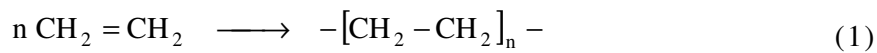


Obr. 2. Cesta kompletní biodegradace polymerních materiálů [9].

2 POLYETHYLEN

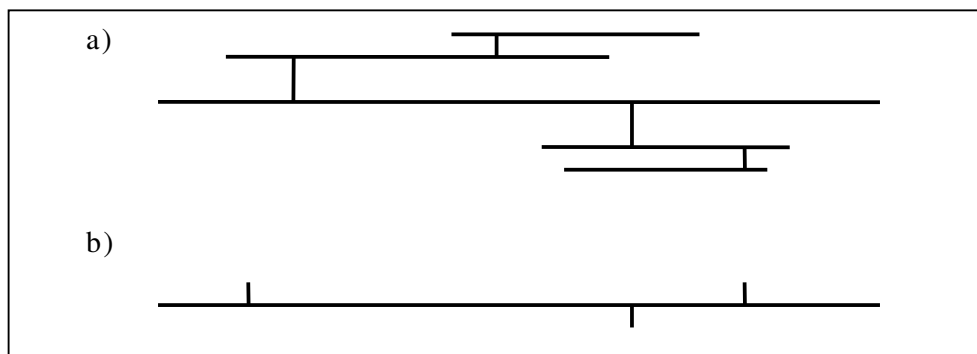
2.1 Vznik, vlastnosti a typy polyethylenu

Polyethylen spadá do skupiny tzv. polyolefinů. Jedná se o kvantitativně největší skupinu syntetických polymerů, což je dáno snadnou dostupností surovin pro výrobu monomerů, dobrou zpracovatelností klasickými technologickými postupy a velmi dobrými výslednými vlastnostmi. Polyethylen vzniká polymerací ethylenu, co by výchozího monomeru. Chemismus reakce probíhá podle následující rovnice (1) [11,12].



V závislosti na fyzikálně-chemických vlastnostech výrobku jsou rozlišovány různé typy polyethylenu. Zásadní rozdíl mezi jednotlivými typy spočívá ve stupni větvení, který ovlivňuje rozsah krystalinity a hustotu [12,13].

Nízkohustotní polyethylen (low density polyethylene, LDPE) vzniká radikálovou polymerací a je vyráběn za vysokého tlaku. Jedná se o měkký, pevný a ohebný typ polyethylenu vzhledem k jeho vysoce rozvětvené struktuře. Vysokohustotní polyethylen (high density polyethylene, HDPE) vzniká iontovou polymerací. HDPE je tvrdý, méně ohebný, má v molekule minimum postranních řetězců. Na obrázku (Obr. 3.) je znázorněna molekulární struktura obou typů polyethylenu [12,13].



Obr. 3. Molekulární struktura polyethylenu, a) LDPE, b) HDPE [13].

V závislosti na podmínkách a charakteru polymerace vznikají rozdílné produkty lišící se mechanickými a fyzikálními vlastnostmi, kdy např. HDPE má vyšší mechanickou odolnost, vyšší odolnost vůči rozpouštědlům a vroucí vodě než LDPE. V tabulce (Tab. III.) je uvedena podrobnější charakteristika LDPE a HDPE [12].

Tab. III. Charakteristické vlastnosti LDPE a HDPE [12].

Typ PE	Hustota [g.cm ⁻³]	Krystalinita [%]	Molekulová hmotnost [g.mol ⁻¹]	Teplota tání [°C]
LDPE	0,915 - 0,925	50-70	30 000 - 300 000	105 - 115
HDPE	0,954 - 0,970	65-95	100 000 - 200 000	125 - 136

2.2 Využití polyethylenu

Mezi výhodné vlastnosti polyethylenu patří snadná zpracovatelnost, výborné elektroizolační vlastnosti, velmi dobrá chemická odolnost, tuhost a vláčnost i při nízkých teplotách, průhlednost tenkých fólií, nízká permeabilita vodních par a zdravotní nezávadnost. Na základě těchto výhodných vlastností a nízké ceně na trhu jsou polyethylenové výrobky velmi žádaným zbožím [11].

LDPE plnil dříve funkci izolačního materiálu, v současnosti se používá zejména jako obalová a zemědělská fólie, trubky, desky, víka či láhve. HDPE má uplatnění jako vstřikovací výrobky denní spotřeby, trubky, desky, velkoobjemové nádoby, kontejnery, potrubí a tenké fólie [11,12,13].

V zemědělství se pro zlepšení úrodnosti půdy používá tzv. *mulčování*, což je pokrývka půdy z různých materiálů. Mulčovací materiály chrání povrch půdy před vysycháním, snižují potřebu zavlažovat, zabraňují růstu plevelů, vzhledem k jejich tepelně izolačním vlastnostem dochází v půdě k menším výkyvům teploty. Od poloviny minulého století jsou tradiční mulčovací materiály (sláma, tráva, listí, kůra, rašelina, jehličí atd.) stále častěji nahrazovány syntetickými materiály (PE a jiné fólie a textilie) [14].

Polymery (zejména PE) jsou v zemědělství hojně používány zejména pro své nízké výrobní náklady, dobré fyzikální a mechanické vlastnosti a nízkou hmotnost [15]. Použití polyethylenových mulčovacích fólií (MF) má za následek zvýšení výnosů, nižší závislost na herbicidech a pesticidech a účinnější zachování vlhkosti. Plastové filmy mohou zlepšit kvalitu produktů zmírněním extrémních výkyvů počasí, optimalizovat růstové podmínky, prodloužit vegetační období a potlačit choroby rostlin [16]. Na obrázku (Obr. 4.) je znázorněna polyethylenová MF na polích na Floridě [17].



Obr. 4. Polyethylenová mulčovací fólie na polích na Floridě [17].

Stinnou stránkou polyethylenu používaného v zemědělství je problém s jeho nakládáním po skončení životnosti. Bohužel, klasický PE film je odolný vůči biodegradaci a nerozloží se [15,16]. Požadavky na odstranění plastové MF z pole po vegetačním období jsou dosti vysoké. Na Taiwanu se cena na odstranění MF z pole před dalším vegetačním období pohybuje okolo 250 dolarů za hektar [18].

Řešením by mohla být výroba biodegradabilního polyethylenu. Mulčovací fólie vyrobené z biodegradabilního materiálu je možno po sklizni jednoduše zaorat společně se zbytky rostlin do země, kde se fólie postupně zcela rozloží [15,16].

2.3 Odolnost polyethylenu vůči biodegradaci

Polyethylen je považován za inertní vůči působení mikroorganismů z několika důvodů [19,20]:

- má vysokou molekulovou hmotnost,
- je hydrofobní,
- neobsahuje funkční skupiny napadnutelné enzymovým vybavením mikroorganismů,
- obsahuje antioxidanty a stabilizátory.

Polyethylen má extrémně vysokou molekulovou hmotnost (typicky ve stovkách tisíců Da), což představuje pro biodegradabilitu zásadní problém. Molekula této velikosti nemůže být pro svou nepolárnost uvolněna do vodného prostředí a nemůže vstoupit do mikrobiální buňky. V pevném stavu jsou molekuly polyethylenu hustě uspořádány ve formě semikrystalických struktur a jsou vysoce hydrofobní, takže pouze povrch s limitovaným množstvím volných konců řetězců je přístupný enzymatickému ataku. Molekula polyethylenu obsahuje pouze nepolární C-C a C-H vazby, které neposkytují centra pro nukleofilní a elektrofilní atak a možnosti jejich chemické reaktivity jsou silně limitovány na radikálové reakce [20].

Samotný polyethylen je velmi nestálý a podléhá vlivům prostředí. Aby se zabránilo oxidačním procesům, které jsou zvláště významné při zpracování polyethylenu, přidávají se k materiálu při výrobním procesu antioxidanty a stabilizátory. Každý polyethylenový film obsahuje určité množství stabilizačních aditiv, jejichž rezidua inhibují oxidaci polyethylenu i v dalších etapách jeho životního cyklu a zvyšují jeho odolnost vůči vlivům prostředí. Situace se změní přidávkem tzv. prooxidantů, které na rozdíl od stabilizátorů katalyzují oxidaci PE. Vyváženou kombinací množství stabilizátorů a prooxidantů lze připravit polyethylenové fólie, které si zachovají v průběhu spotřeby užité vlastnosti a následně, když je antioxidační kapacita vyčerpána, relativně rychle ztratí mechanické vlastnosti a dojde k jejich rozpadu [20].

2.4 Polyethylen s prooxidanty

V 70. letech 20. století bylo řešení problému s PE odpadem založeno na kopolymeraci polyethylenu s monomery obsahujícími karbonylovou skupinu, jejímž včleněním do polymerního řetězce se polyethylen stal citlivý vůči působení UV záření. Karbonylová skupina sloužila tedy jako reaktivní centrum pro fotolytický rozštěp polymerního řetězce [20,21].

V současné době se používají postupy, které nejlépe respektují produkci a technologie zpracování polyethylenu. Podstatou těchto postupů je použití speciálních aditiv, tzv. prooxidantů. V přítomnosti prooxidantů se polyethylen stává oxo-biodegradabilní. Podstatou prooxidantů jsou ionty přechodných kovů, většinou přidávané ve formě organických komplexů (mohou to být např. stearáty Fe^{3+} , Mn^{2+} nebo Co^{2+}). Komplexy přechodných kovů zvyšují citlivost polymerního řetězce vůči termooxidaci a/nebo fotooxidaci. Zatímco komplexy Fe^{3+} hrají roli při fotooxidaci jako zdroj radikálů, komplexy Mn^{2+} a Co^{2+} jsou nezbytné pro oxidaci bez vlivu světla [20,22].

2.5 Biodegradabilní polyethylen

Polyethylen aditovaný prooxidanty je již komerčně dostupný a je postupně uváděn na trh. Tento materiál podléhá rychlé abiotické oxidaci a vzniklý produkt by měl být přirozeně biodegradabilní [20]. V současnosti existuje na světě řada společností, které se zabývají produkcí biodegradabilního polyethylenu.

Světově významné společnosti vyrábějící oxo-biodegradabilní polymery jsou EPI Environmental Technologies a Symphony Environmental Technologies. Technologie je založena na použití aditiv (TDPA^{TM} resp. $\text{d}_2\text{w}^{\text{TM}}$), která jsou v průběhu procesu zpracování přidávána k polyethylenu v množství od 1 do 3 %. Užitečnou vlastností produktů je, že dokud PE obsahuje jakékoliv množství antioxidantů, tak katalytická aditiva nemají žádný vliv. Lze tedy naplánovat a připravit produkty, u nichž se účinky degradačního procesu začnou projevovat až po jejich spotřebě [23,24,25].

Aditiva způsobují rozštěp C-C vazby v molekule polymeru, což má za následek snížení molekulové hmotnosti a nakonec ztráty pevnosti a dalších vlastností. Rozklad může být iniciován prostřednictvím tepla, UV záření či mechanického napětí. Rychlost rozkladu je závislá na přídatku aditiv a dle potřeby je možné vyrábět filmy s rychlostí rozkladu od 2 měsíců do 6 let. Na obrázku (Obr. 5.) je znázorněn rozdíl mezi klasickým polyethylenovým filmem a filmem s aditivou TDPATM, které byly inkubovány na skládce odpadů po dobu 10 měsíců [23,24,25].



Obr. 5. Polyethylenové filmy bez (vlevo) a s (vpravo) TDPATM před (horní) a po (dolní) 10 měsíční inkubaci na skládce odpadů [23].

V České republice se výrobou biodegradabilního polyethylenu začíná zabývat společnost Granitol a.s. V současné době se však jedná pouze o zkušební vzorky PE s prooxidanty na bázi manganu pod názvem Addiflex HE, který je také testován v rámci této diplomové práce. Společnost běžně vyrábí LDPE fólie pod obchodním názvem GRANOTEN (tloušťka od 30 μm), produkty jsou využívány jako obalové a smrštitelné fólie, sáčky a tašky. MIKROTEN je obchodní název výrobků z HDPE (tloušťka od 8 μm), které nacházejí uplatnění zejména jako varné sáčky a izolační lepenky [26].

3 DEGRADACE POLYETHYLENU S PROOXIDANTY

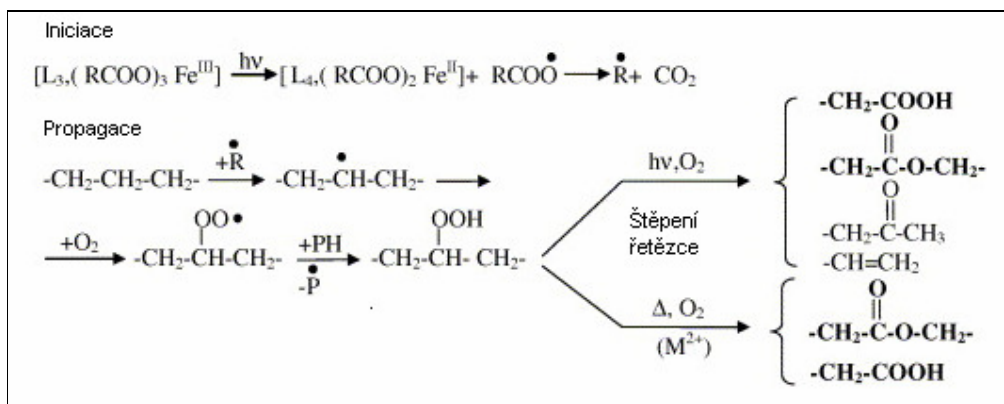
Vlastní biodegradaci polymeru musí předcházet taková úprava, která povede k redukci jeho molekulové hmotnosti. Degradace polyethylenu aditovaného prooxidanty probíhá ve dvou stupních:

- Abiotická oxidace
- Aerobní biodegradace

3.1 Abiotická oxidace PE s prooxidanty

Přítomností prooxidantů v polymerním řetězci se snižuje odolnost polymeru vůči abiotickým vlivům prostředí, kdy tyto aditiva působí jako katalyzátory fotooxidace a/nebo termooxidace polymeru [9].

Prooxidanty jsou aktivovány světlem či teplem v přítomnosti kyslíku z atmosféry a nastává fotooxidace či termooxidace. Postupně dochází k produkci volných radikálů v polymerním řetězci, které dále reagují s molekulárním kyslíkem za vzniku hydroperoxidů [21,27]. Hydroperoxydy jsou primární produkty abiotické oxidace polyethylenu. Tyto primární produkty dále podléhají fotolýze a/nebo termolýze a jejich rozkladem dochází ke vzniku nízkomolekulárních oxidovaných produktů jako jsou karboxylové kyseliny, alkoholy, aldehydy, ketony atd. [21,28]. Schéma abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty znázorňuje obrázek (Obr. 6.).

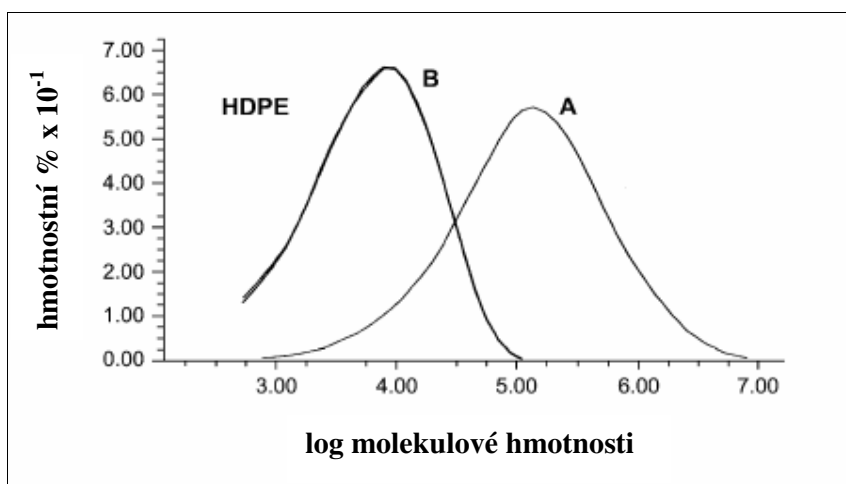


Obr. 6. Mechanismus abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty [20].

3.1.1 Výsledky abiotické oxidace

Abiotickou oxidací polyethylenu s prooxidanty dochází ke vzniku polárních skupin v polymerním řetězci, v jejichž přítomnosti ztrácí polymer hydrofobní charakter. Produkty mohou přestupovat do vodného prostředí a tím i do buněk mikroorganismů [29]. Abiotickou oxidací dále dochází k redukci molekulové hmotnosti, ztrátám mechanických vlastností a zvětšení aktivního povrchu polymeru [9,30]. Produkty vzniklé abiotickou oxidací by pak již mohly být snáze napadnutelné enzymovým vybavením mikroorganismů [20].

Ve studii [31] byla sledována redukce molekulové hmotnosti v průběhu abiotické oxidace. Testovaným materiálem byla HDPE fólie o tloušťce 20 μm . Vzorky byly v průběhu abiotické oxidace nejprve vloženy na dobu 120 hodin do fotooxidující komory SEPAP ($\lambda \geq 300 \text{ nm}$, teplota $60 \pm 1^\circ\text{C}$). Dále následovala expozice v provzdušňované peci při teplotě 60°C po dobu 300 hodin. Snížení molekulové hmotnosti bylo významné, u testované HDPE fólie byla zaznamenána redukce z hodnoty $288 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ na hodnotu $12,8 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$. Obrázek (Obr. 7.) znázorňuje redukci molekulové hmotnosti zkoumané HDPE fólie [31].



Obr. 7. Křivky rozložení molekulové hmotnosti u HDPE fólie. (A) původní materiál, (B) po abiotické oxidaci [31].

Mezi laboratorní abiotickou oxidací a oxidací v přírodních podmínkách by měl být vždy vymezen přesný vztah. Tak např. abiotická oxidace v komoře SEPAP po dobu 100 hodin odpovídá 3 měsícům zvětrávání v evropských venkovních podmínkách v období od března do října. Expozice v provzdušňované peci při teplotě 60°C po dobu 300 hodin odpovídá 2 až 3 rokům termooxidace při pokojové teplotě ve tmě [31].

3.1.2 Faktory ovlivňující výsledky abiotické oxidace

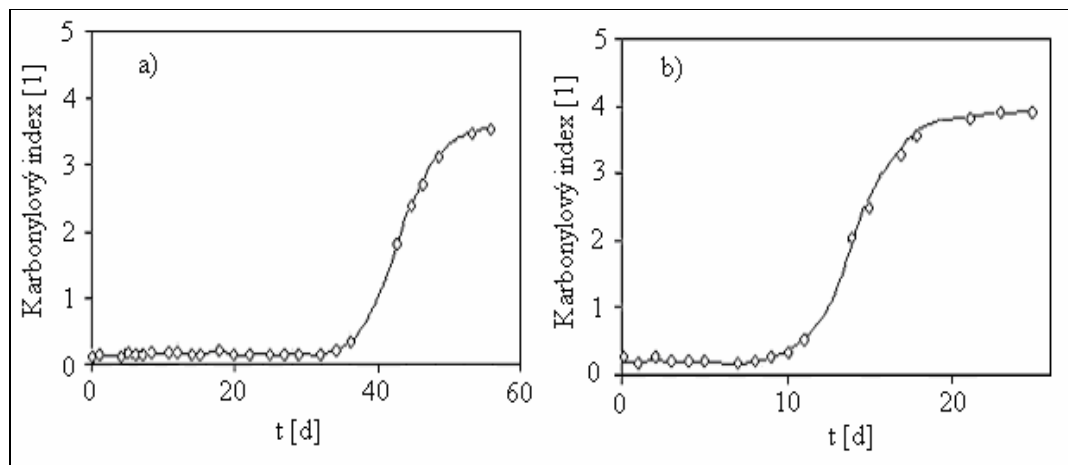
Rychlost abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty je ovlivněna několika faktory prostředí [6,22,32,33]:

- teplota,
- vlhkost,
- intenzita světla,
- množství prooxidantů,
- struktura polyethylenu a další.

Vliv teploty na rychlost abiotické oxidaci byl zkoumán v publikaci [32], kde byl abiotické oxidaci podroben polyethylenový film obsahující prooxidant stearát manganu. Termooxidace byla provedena při třech různých teplotách (50, 60 a 70°C), které se běžně vyskytují v prostředí kompostu. Bylo pozorováno, že při 70°C došlo k poklesu molekulové hmotnosti pod 5 kg.mol⁻¹ za 2 týdny, při 60°C za 8 týdnů a při 50°C za 10 týdnů [32].

Vlivem teploty se také zabývala studie [6], kde byla termooxidaci podrobena PE fólie obsahující prooxidant TDPATM. Termooxidace byla provedena při teplotách 55°C a 70°C. Bylo pozorováno, že po 25 denní oxidaci při 70°C byl pozorován nárůst karbonylového indexu (CI) z 0,22 na 4,57, zatímco při 55°C nebyl po 25 dnech oxidace zaznamenán žádný nárůst CI, viz. obrázek (Obr. 8.). Karbonylový index vyjadřuje míru oxidace polymeru a je vyjádřen jako podíl absorbance karbonylového píku při vlnočetě 1713 cm⁻¹ a -CH₂- píku při vlnočetě 1465 cm⁻¹ [32].

Na základě provedených studií [6,32] bylo prokázáno, že teplota je nejdůležitější faktor ovlivňující rychlost abiotické oxidace materiálu.



Obr. 8. Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE s prooxidanty TDPATM, a) termooxidace při 55°C, b) termooxidace při 70°C [6].

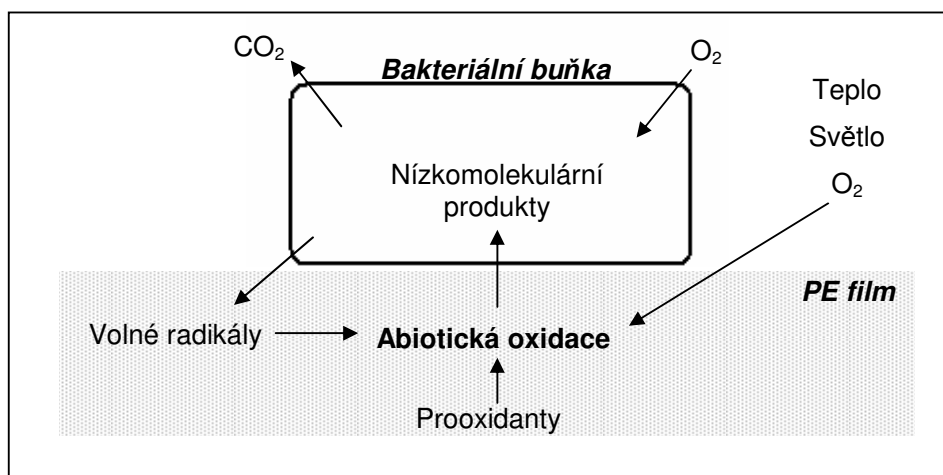
Ve studii [22] byl sledován vliv vlhkosti na rychlost abiotické oxidace. Termooxidace při teplotách 60°C a 70°C byla zkoumána při různých relativních vlhkostech vzduchu: 0 % (suchý vzduch), 60 %, 80 % a 100 % (vlhký vzduch). Za podmínek 60-100 %ní vlhkosti vzduchu se rychlost abiotické oxidace výrazně nelišila. Pozoruhodně nižší ztráty mechanických vlastností byly pozorovány u materiálů, které byly vystaveny suchému vzduchu [22]. Jiná studie [6] vliv vlhkosti popírá z důvodu, že voda se do PE struktury dostává velmi obtížně. Vliv vlhkosti na rychlost abiotické oxidace je tedy obtížně vysvětlitelný.

Velmi důležitým parametrem ovlivňujícím rychlost abiotické oxidace se ukázalo být množství prooxidantů v polyethylenu [22,32]. Polyethylen obsahující dvojnásobné množství prooxidantů byl rychleji degradován, neboť byl zaznamenán pokles molekulové hmotnosti na $10 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ za 11 dní, zatímco u materiálu s nižším obsahem prooxidantů došlo k poklesu na stejnou hodnotu až za 18 dní [32].

3.2 Aerobní biodegradace PE s prooxidanty

Produkty vzniklé abiotickou oxidací jsou již snáze napadnutelné enzymovým vybavením mikroorganismů. Biodegradací pak dochází k mineralizaci oxidovaných produktů až na oxid uhličitý, vodu a minerální soli za aerobních podmínek [34]. Výsledky experimentů [19,32] naznačují, že se mikroorganismy aktivním způsobem podílejí na degradaci a nejsou pouze pasivními spotřebiteli nízkomolekulárních produktů. Ovšem přesný mechanismus biodegradace není znám.

Někteří autoři [35] se domnívají, že významnou roli zde hrají mikroorganismy produkující extracelulární lingolytické enzymy, které jsou schopné oxidovat a rozštěpit strukturu poměrně odolného ligninu. Tyto enzymy jsou produkovány v podmínkách nutričního nedostatku a tudíž mohou být přítomny při degradaci PE. Pro rozrušení struktury ligninu nepůsobí enzymy pouze na substrát, ale zároveň produkují radikály jako jsou superperoxid, peroxidový radikál, hydroxylový radikál a radikály derivované ze sloučenin jejich sekundárního metabolismu. V průběhu biodegradace mohou tyto radikály proniknout do materiálu a urychlit další radikálovou oxidaci za katalýzy přechodných kovů z prooxidantů nebo z prostředí (Obr. 9.). Nicméně lignin je velmi vzdálený polyethylenu jak strukturně, tak co se týče jeho reaktivity [20].



Obr. 9. Možný mechanismus biodegradace PE s prooxidanty [20].

3.2.1 Biodegradace s vybranými mikrobiálními druhy

Řada experimentů se snažila prokázat biodegradaci oxidovaného polyethylenu pomocí definovaných bakteriálních druhů. Jejich výběr se v podstatě řídil třemi hledisky, testovány byly zejména [20]:

- druhy bakterií náležející k rodu streptomyces a vybrané druhy bakterií produkující lingolytické enzymy.
- grampozitivní bakterie rostoucí na vyšších n-alkanech, kterým je polyethylen strukturně podobný.
- kmeny izolované z půdního prostředí kontaminovaného PE odpadem.

Navzdory množství experimentů s různými mikroorganismy je nutno konstatovat, že biodegradace PE nebyla zřetelně prokázána. Bylo však dokázáno, že mikroorganismy mohou růst na povrchu a mohou degradovat nízkomolekulární produkty abiotické oxidace [20]. Příkladem mohou být experimenty s kmeny bakterií *Arthrobacter paraffineus* [36] či *Rhodococcus rhodochrous* [31], kde byla prokázána biodegradace nízkomolekulárních produktů abiotické oxidace během několika dnů.

3.2.2 Biodegradace v komplexním prostředí

Nadějněji vyhlížejí experimenty, kdy se autoři snaží imitovat prostředí blízké přírodnímu (půda, kompost), kde se na procesu podílejí bohatá mikrobiální společenstva [20].

Ve studii [19] byla termooxidovaná LDPE fólie podrobena biodegradaci v prostředí půdy a kompostu. Po zahájení experimentu nebyly pozorovány žádné změny. Po určité době došlo k oživení mikrobiálního společenstva čerstvou lesní půdou a nakypřením a zvlhčením vzorku. V průběhu jednoho roku inkubace dosáhla mineralizace v případě půdních podmínek rozsahu 50-60 % a více než 80 % v kompostu. Další experiment s termooxidovaným PE v podmínkách kompostu byl proveden ve studii [32]. Okamžitě po zahájení experimentu (bez lagové fáze) byla pozorována produkce CO₂, v průběhu 6 měsíců bylo dosaženo mineralizace 60 %.

4 BIODEGRADABILITA POLYMERŮ

4.1 Environmentálně degradabilní polymery a plasty

Vývoj environmentálně degradabilních polymerů a plastů (EDP) byl zahájen počátkem 80. let minulého století. Důvodem bylo masivní a stále se zvyšující využívání plastových výrobků a problémy s vyprodukovanými plastovými odpady. Degradace EDP probíhá různými mechanismy a jejich kombinací (fotolyticky, termálně, mechanicky, hydrolyticky, oxidačně a biologicky) s úplnou degradací uskutečněnou biologickými procesy, označovanými jako mineralizace. Je požadováno, aby degradace jakéhokoliv EDP byla kompletní, aniž by docházelo k hromadění složek s neznámým environmentálním dopadem a rizikem [37].

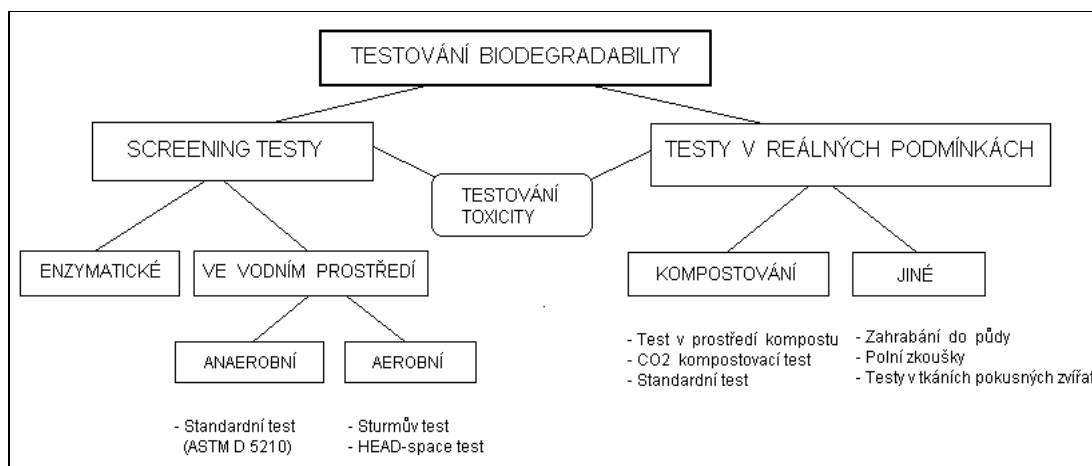
Environmentálně degradabilní polymery a plasty nacházejí uplatnění v mnoha oborech od zemědělství, spotřebních produktů až po medicínu. V současné době se používají zejména na výrobu zemědělských mulčovacích fólií, kuchyňského nádobí a nákupních tašek. Hlavními překážkami dalšího rozšiřování EDP jsou zejména vysoké výrobní náklady a omezená informovanost veřejnosti [37].

4.2 Testování biodegradability polymerů

Hodnocení biodegradability materiálů není snadným úkolem a rozhodnutí, zda materiál je či není biodegradabilní, může být silně zatíženo názorem posuzovatele. Pro hodnocení biodegradability materiálů byla proto stanovena jasná kritéria, která jsou dána technickými normami [20]. Na tvorbě norem se v oblasti biodegradability podílí řada institucí [37]:

- American Society for Testing and Materials (ASTM),
- European Standardization Committee (CEN),
- Institute for Standards Research (ISR),
- International Standards Organisation (ISO),
- Organic Reclamation and Composting Association (ORCA).

Biodegradace je ovlivňována vlivy prostředí jako jsou teplota, světlo, živiny, pH, vlhkost a přítomnost kyslíku [10]. Testování biodegradability polymerů je tedy velmi rozdílné v závislosti na různých prostředích. Biodegradační testy mohou být prováděny v přirozeném i simulovaném prostředí. V simulovaném prostředí se však nepočítá s přírodními výkyvy teplot, vlhkosti či intenzitou záření [38]. Aby bylo vyhověno všem požadavkům na testování biodegradability plastů, byla vyvinuta řada metodik pokrývajících téměř celé spektrum prostředí, ve kterých plasty po jejich upotřebení končí [38]. Následující obrázek (Obr. 10.) znázorňuje některé z těchto metodik.



Obr. 10. Možné způsoby testování biodegradability polymerů [38].

4.2.1 Testování v půdním prostředí

Standardními metodami pro testování biodegradability polymerů v půdním prostředí jsou podle ASTM metody Soil Contact Test a Soil Burial Test. Půdní substrát je zdrojem mezofilních a psychofilních bakterií, které degradují polymer až na oxid uhličitý. Testy jsou prováděny při teplotě 25°C ve tmě. V případě negativních výsledků, musí být tyto testy potvrzeny testováním v prostředí kompostu za termofilních podmínek [19].

4.2.2 Testování v prostředí kompostu

Kompostování je řízený aerobní proces, ve kterém jsou organické látky postupně rozloženy až na CO₂, vodu, minerální soli a humus. Průběh kompostování je určován aktivitou a druhy mikroorganismů [38]. Rychlost biodegradace v prostředí kompostu je ovlivněna zejména přítomností živin, vlhkostí a koncentrací kyslíku [10].

Testováním biodegradability polymerů v prostředí kompostu se zabývají normy ASTM D5338 a ISO 14855. Metody stanovené normami jsou realizovány obdobně, pouze s rozdílem teploty inkubace. Norma ASTM D5338 určuje teplotní profil (35-58-50-35°C), zatímco v případě normy ISO 14855 je inkubace prováděna při konstantní teplotě 58°C [37].

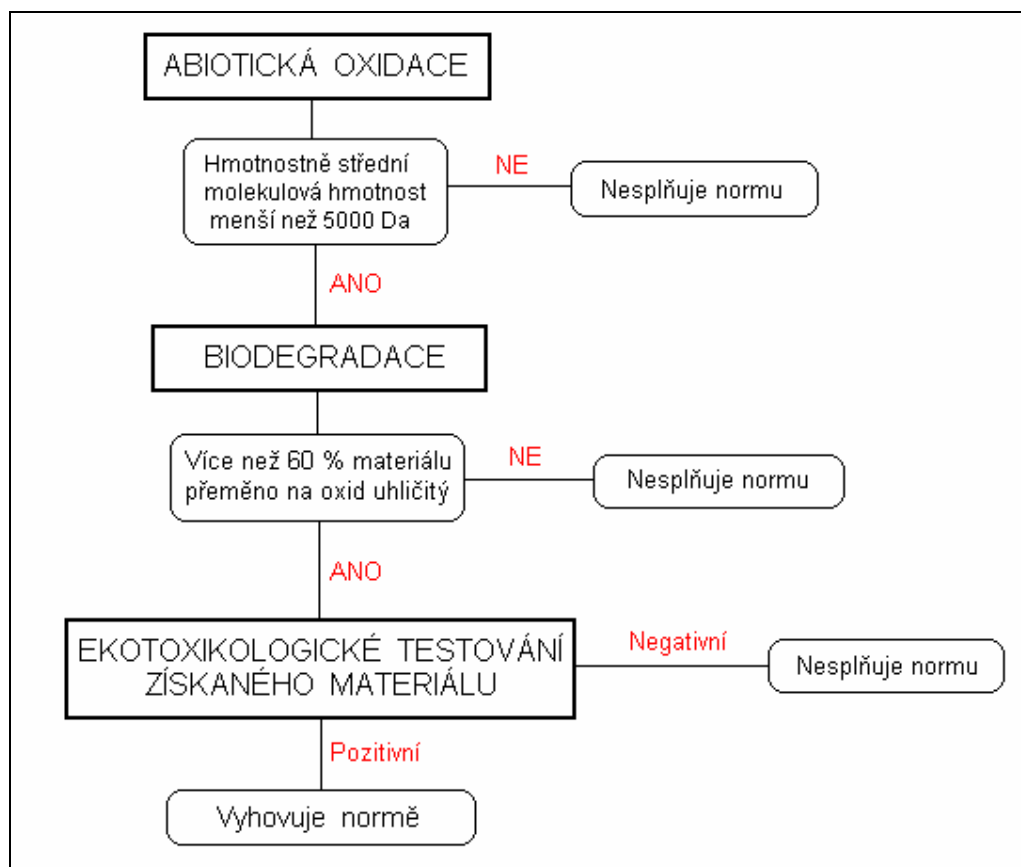
Obě metody jsou založeny na sledování biodegradace polymerních materiálů za podmínek řízeného kompostování. Polymer je smíchán s vyzrálým kompostem a inkubován při uvedených teplotách. V průběhu testu je monitorována produkce CO₂ a zaznamenávána úměrně k slepým kontrolám, které obsahují pouze vyzrálý kompost. Za pozitivní jsou označovány výsledky, při nichž bylo za 6 měsíců dosaženo 60 % mineralizace samotného polymeru a 90 % mineralizace ve směsi [37].

4.2.3 Testování oxo-biodegradabilních polymerů

Podle výše uvedených norem (ASTM D5338, ISO 14855) je biodegradabilní takový materiál, který je za dobu 6 měsíců testování mineralizován, tj. uhlík je v něm přeměněn na oxid uhličitý alespoň ze 60 %. Takovému požadavku zřejmě není polyethylen s prooxidanty schopen vyhovět [20].

V současné době jedinou platnou normou, která bere v úvahu vlastnosti polyethylenu s prooxidanty a jeho extrémně pomalou biodegradaci, je norma ASTM D6954-04. Jedná se o novou technickou normu, která zdůrazňuje nutnost předchozí abiotické oxidace. Za pozitivní jsou považovány výsledky, které dosáhly 60 % mineralizace materiálu, avšak za dobu neomezenou [20,39].

Testované materiály jsou na základě normy ASTM D6954-04 podrobeny třem zkouškám. V první části je testovaný materiál podroben abiotické oxidaci, kdy je vzorek vystaven různým teplotám (20-70°C) v definovaném časovém intervalu. Po ukončení abiotické oxidace by měla být hmotnostně střední molekulová hmotnost nižší než 5000 Da. Materiály splňující tuto podmínku jsou ve druhé části podrobeny biodegradaci v odpovídajícím prostředí (půda, skládka odpadů, kompost). V průběhu biodegradace je zaznamenávána produkce oxidu uhličitého. Před ukončením testu musí být alespoň 60 % organického uhlíku převedeno na CO₂. Závěrečným bodem jsou toxikologické zkoušky, při nichž je hodnocen ekologický dopad produktů biodegradace. Na obrázku (Obr. 11.) je znázorněn průběh testování oxo-biodegradabilních materiálů podle normy ASTM D6954-04 [39].



Obr. 11. Schéma testování oxo-biodegradabilních materiálů podle normy ASTM D6954-04 [39].

5 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo studium abiotické oxidace a biodegradace oxidovaných vzorků polyethylenu s prooxidanty. Průběh abiotické oxidace testovaných materiálů byl sledován spektroskopií v IČ oblasti, měřením mechanické pevnosti a gelovou permeační chromatografií.

Biodegradace testovaných materiálů byla realizována v prostředí půdy a vyvrátého kompostu. Míra biodegradace byla sledována analýzou vyprodukovaného oxidu uhličitého metodou plynové chromatografie. U vzorků podrobených biodegradaci byla provedena optická a elektronová mikroskopie.

Diplomová práce z části navazuje na předchozí práci [40], kdy se pokračovalo ve zde započatých pokusech a zkouškách. Veškerá naměřená data byla vyhodnocena a zpracována písemně, tabelárně i graficky a jsou zaznamenána na cd přiloženém k diplomové práci.

II. MATERIÁLY A METODIKA

6 POUŽITÉ MATERIÁLY

6.1 Chemikálie

$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Ethanol <i>- Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$	Glutaraldehyd <i>- Fluka Chemie, Steinheim, Švýcarsko.</i>
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Chlorid vápenatý dihydrát <i>- Penta, Chrudim, ČR.</i>
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Dusičnan kobaltnatý hexahydrát <i>- Penta, Chrudim, ČR.</i>
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Síran měďnatý pentahydrát <i>- Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Síran železnatoamonný hexahydrát <i>- Lachema a.s., Brno, ČR</i>
H_2SO_4	Kyselina sírová <i>- Merk s.r.o., Praha, ČR</i>
H_3BO_3	Kyselina boritá <i>- Lachema a.s., Brno, ČR</i>
KH_2PO_4	Dihydrogenfosforečnan draselný <i>- Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Peroxodisíran draselný <i>- Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Síran hořečnatý heptahydrát <i>- Penta, Chrudim, ČR</i>

$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	Síran manganatý tetrahydrát - <i>ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR</i>
NH_4Cl	Chlorid amonný - <i>Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	Molybdenan amonný tetrahydrát - <i>Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$Na(CH_3)_2AsO_2$	Kakodylátový pufr - <i>Electron Microscopy Sciences, Hatfield</i>
$NaCl$	Chlorid sodný - <i>Lachema a.s., Brno, ČR</i>
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	Hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát - <i>Lachema a.s., Brno, ČR</i>
OsO_4	Oxid osmičelý - <i>Electron Microscopy Sciences, Hatfield</i>
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	Síran zinečnatý heptahydrát - <i>ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR</i>

Dále byly při laboratorních testech a pokusech použity:

- Filtrační papír (*Papírna Pernštejn s.r.o.*).
- Minerální olej (*Fluka Biochemika, Steinheim, Švýcarsko*).
- Nosný plyn He o čistotě 4.6 (*Linde Technoplyn a.s.*).
- Směsný syntetický plyn (*Linde Gas a.s.*) obsahující :
 CH_4 (4,07 obj.%), CO_2 (0,815 obj.%) a N_2 (95,115 obj.%).
- Mikroskopická barviva - karbolfuchsin, methylenová modř, krystalová violet, Lugolův roztok.

6.2 Roztoky

Stanovení celkového organicky vázaného dusíku

Při stanovení celkového organicky vázaného dusíku v substrátech pro biodegradační prostředí (půda, vyzrálý kompost) byly použity následující roztoky: katalytický roztok, anodový roztok, katodový roztok, zásobní roztok amoniakálního dusíku (1000 mg.l^{-1}) a z něj připravené pracovní roztoky a standardní (kalibrační) roztoky. Složení uvedených roztoků, viz. [41].

Stanovení veškerého rozpuštěného fosforu

Při stanovení veškerého rozpuštěného fosforu v substrátech pro biodegradační prostředí (půda, vyzrálý kompost) byly použity následující roztoky: roztok molybdenanu, roztok kyseliny askorbové, zásobní roztok fosforečnanu (200 mg.l^{-1}) a z něj připravené pracovní roztoky a standardní (kalibrační) roztoky. Složení uvedených roztoků, viz. [42].

Fyziologický roztok

Pro přípravu 50 ml fyziologického roztoku o koncentraci $8,5 \text{ g.l}^{-1}$ bylo do 50 ml odměrné baňky diferenčně naváženo 0,43 g NaCl s přesností $\pm 0,01 \text{ g}$ a přidáno malé množství destilované vody. Po rozpuštění NaCl byl roztok doplněn destilovanou vodou po rysku a důkladně promíchán.

Fixační roztok

Fixační roztok sloužil k zafixování bakterií a plísní na povrchu vzorků PE fólií, které byly odebrány z biodegradačního testu v prostředí půdy a vyzrálého kompostu.

Pro přípravu 50 ml fixačního roztoku bylo dávkováno 4 ml 50 %-ního roztoku glutaraldehydu v takovém objemu, aby výsledný fixační roztok obsahoval 4 % glutaraldehydu. Roztok byl poté doplněn fyziologickým roztokem o koncentraci $8,5 \text{ g.l}^{-1}$ po rysku. Vzniklý roztok byl nakonec důkladně promíchán.

Minerální médium

Minerální médium (MM) slouží ke zvlhčení prostředí a je zdrojem živin pro mikroorganismy. Zásobní roztoky pro přípravu minerálního média byly připraveny rozpuštěním níže uvedených složek v 1 l destilované vody.

A.	9,078 g	KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
B.	23,9028 g	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát
C.	10 g	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran hořečnatý heptahydrát
D.	3 g	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	síran železnatoamonný hexahydrát
E.	1 g	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	chlorid vápenatý dihydrát
F.	50 g	NaCl	chlorid vápenatý
G.	30 g	NH_4Cl	chlorid amonný
H.	roztok stopových prvků		
	0,043 g	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	síran manganatý tetrahydrát
	0,057 g	H_3BO_3	kyselina boritá
	0,043 g	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	síran zinečnatý heptahydrát
	0,037 g	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	molybdenan amonný tetrahydrát
	0,025 g	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	dusičnan kobaltnatý hexahydrát
	0,040 g	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	síran měďnatý pentahydrát

Roztok minerálního média byl připraven z výše uvedených zásobních roztoků. Pro přípravu 100 ml minerálního média byly dávkovány následující objemy zásobních roztoků : 4 ml A; 16 ml B; 0,2 ml C; po 1 ml roztoku D, E, F, G a 0,1 ml roztoku stopových prvků H. Vzniklý roztok byl doplněn destilovanou vodou na celkový objem 100 ml a vše bylo důkladně promícháno. Jako kontrola správnosti přípravy bylo provedeno měření pH, jehož hodnota byla 7,32.

6.3 Přístrojové vybavení

- Analyzátor uhlíku SSM-5000 A, Shimadzu Corp., Japonsko.
- Kjeldahlizační topná hnízda, Sklárny Kavalier n.p. Sázava, závod Votice, ČR.
- Coulometrický titrátor s biamperometrickou indikací.
- Coulometr SL-02, JZD agrokombinát Slušovice, ČR.
- Topné laboratorní hnízdo LTHS 250, Brno Žabovřesky, ČR.
- Spektrofotometr Unicam Helios ε, firma Hromspec spol. s r.o., Brno.
- Rentgenofluorescenční spektrometr ElvaX, Elvatech Ltd., Ukrajina.
- FTIR spektrometr Mattson 3000, UNICAM, Velká Británie.
- Tensometer 2000, Alpha Technologies.
- Gelová permeační chromatografie, GPC Waters 150C ALC/GPC.
- Plynový chromatograf CHROM 5, Laboratorní přístroje Praha.
- Integrátor Hewlett&Packard HP 3396A.
- Plynový chromatograf GC Agilent 7890 s programem ChemStation.
- Plynotěsná injekční stříkačka Hamilton o objemu 1 ml.
- Tedlarův vak o objemu 0,6 l.
- Mikrodávkače (1-5 ml, 100-1000 µl, 20-200 µl), Biohit, Finsko.
- Optický mikroskop CX 41 s fotoaparátem Olympus.
- Elektronový mikroskop Philips XL-30 s rentgenovým spektrometrem.
- Elektronový mikroskop VEGA LMU, Tescan s.r.o., ČR.
- Běžné laboratorní sklo a vybavení.

6.4 Testované vzorky

Vzorek LDPE-1

LDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55 μm , obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec).

LDPE-1(40)

Vzorek LDPE-1 abioticky oxidovaný při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

LDPE-1(80)

Vzorek LDPE-1 abioticky oxidovaný při teplotě 70°C po dobu 80 dní.

Vzorek LDPE-2

LDPE transparentní fólie od společnosti Symphony Environmental Technologies o tloušťce 30-35 μm obsahující prooxidantní aditiva $\text{d}_2\text{w}^{\text{TM}}$ v množství 1 % a bez plniva.

LDPE-2(40)

Vzorek LDPE-2 abioticky oxidovaný při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

Vzorek LDPE-3

LDPE transparentní fólie o tloušťce 10-15 μm o neznámém složení prooxidantů a neobsahující žádná plniva.

LDPE-3(40)

Vzorek LDPE-3 abioticky oxidovaný při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

6.4.1 XRF analýza

Protože prooxidanty jsou nejčastěji organické komplexy přechodných kovů, byly testované vzorky (zejména LDPE-2, LDPE-3) podrobeny rentgenofluorescenční (XRF) analýze, při které byla zjištěna přítomnost v tabulce uvedených kovů (Tab. IV.).

Měření bylo prováděno na XRF spektrometru, jehož součástí je PC s ovládacím softwarem Elva X 2.4, ve kterém byly nastaveny následující podmínky měření: proud rentgenky 20 μ A, napětí rentgenky 45 kV, efektivní čas měření (live-time) 180 s, jiné hodnoty byly předdefinovány.

Tab.IV. Kovy v testovaných vzorcích LDPE.

Vzorek	Kovy přítomné v prooxidantech
LDPE-1	Mn
LDPE-2	Fe, Mn, Zn
LDPE-3	Fe, Mn

6.5 Substráty pro biodegradační prostředí

Půdní substrát

Pro testování biodegradace v půdním prostředí byla použita půda ze smíšeného lesa oblasti Hostýnských vrchů. Odběr zeminy byl proveden z hloubky cca 5 cm po odstranění svrchní vrstvy (listí, jehličí) z povrchu.

Substrát vyvrátého kompostu

Pro testování biodegradace v prostředí vyvrátého kompostu byl použit komerčně vyráběný kompost od firmy AGRO CS. Dozrávání kompostu bylo realizováno v teplotním profilu 25-30-35-40-50-58°C. Vyvrátý kompost byl inkubován při 58°C v tzv. lysimetru za stálého provzdušňování.

7 METODIKA PROVEDENÝCH ZKOUŠEK A POKUSŮ

7.1 Charakteristika vzorků a substrátů

7.1.1 Stanovení celkového uhlíku

Stanovení celkového uhlíku (TC) bylo provedeno u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80), LDPE-2(40) a LDPE-3(40), referenčních látek (celulosa, minerální olej) a substrátů pro biodegradační prostředí (půda, vyzrálý kompost). Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce (Tab. V.).

Stanovení celkového uhlíku v pevných vzorcích bylo provedeno na analyzátoru uhlíku Shimadzu, model SSM-5000 A. Principem stanovení byla oxidace veškerého uhlíku ve vzorku ve spalovací trubici při teplotě 950°C v proudu kyslíku. Vzniklý CO₂ byl veden do NDIR detektoru (Non-Disperse Infrared Detector) a signál vznikající absorpcí příslušné vlnové délky byl registrován jako pík. Plocha píku byla přímo úměrná koncentraci celkového uhlíku ve vzorku.

Tab. V. Obsah celkového uhlíku u testovaných LDPE fólií, referenčních látek a použitých substrátů.

Materiál		TC [%]
Vzorek	LDPE-1(40)	67,77
	LDPE-1(80)	67,99
	LDPE-2(40)	78,57
	LDPE-3(40)	79,32
Referenční látka	celulosa	35,61
	minerální olej	80,30
Substrát	půda	9,71
	vyzrálý kompost	12,15

7.1.2 Stanovení celkového organicky vázaného dusíku

Stanovení celkového organicky vázaného dusíku byly podrobeny substráty pro biodegradační prostředí (půda, vyzrálý kompost). Stanovení lze provádět suchým i mokřým způsobem. Z mokřých způsobů se používá převážně metoda Kjeldahlova, kdy se organická látka mineralizuje v prostředí koncentrované kyseliny sírové a dusík v ní obsažený je převeden na amonný ion. Reakce se provádí za zvýšené teploty, čehož je dosaženo přidávkem síranu draselného a katalytického působení rtuťnatých iontů [41].

Do tří Kjeldahlizačních mineralizačních baněk o objemu 100 ml bylo diferenčně nadávkováno po 1 g substrátu, 50 ml katalytického roztoku a jedna skleněná perla. Kjeldahlizační baňky opatřené nálevkou byly umístěny na písečnou lázeň a byla zapnuta topná hnízda. Během varu docházelo ke zmenšování objemu a následnému ztmavnutí až zčernání mineralizované směsi, která se postupně vyčiřila. Následně se pokračovalo v mineralizaci 15 minut, načež se vypnula písečná lázeň. Po zchladnutí byl obsah baňky rozpustěn v malém množství destilované vody, přefiltrován a převeden do 50 ml odměrné baňky a po ochlazení doplněn po rysku.

Amonné ionty byly následně stanoveny coulometrickou titrací s biamperometrickou indikací. Z hodnot daných standardů byla sestrojena kalibrační přímka. Pracovní postup coulometrické titrace, složení použitých roztoků při Kjeldahlizaci a coulometrické titraci, viz. [41]. Obsah dusíku v substrátech pro biodegradační prostředí je uveden v tabulce (Tab. VI.).

7.1.3 Stanovení veškerého rozpuštěného fosforu

Veškerý rozpuštěný fosfor u substrátů pro biodegradační prostředí (půda, vyzrálý kompost) byl stanoven jako orthofosforečnan po oxidační mineralizaci vzorku s kyselinou sírovou a peroxodisíranem draselným. V prostředí kyseliny sírové dochází k reakci s molybdenanem amonným za vzniku kyseliny molybdátosfosforečné. Reakce je katalyzována antimonyty ionty. Redukcí kyselinou askorbovou přechází žlutý komplex na fosfomolybdenovou modř [42].

Do tří mineralizačních baněk o objemu 250 ml bylo nadávkováno po 1 g substrátu, 10 ml 3,75 M H_2SO_4 a 1,5 g peroxidisíranu draselného. Odměrné baňky byly zakryty nálevkou s krátkým stonkem a směs byla mineralizována cca 2 hodiny v topném hnízdě, dokud silně zahuštěná směs nebyla čirá. Po ochlazení bylo přidáno cca 10 ml H_2O , 10 ml 5 M NaOH, 2 kapky roztoku fenolftaleinu a směs byla neutralizována do slabě růžového zbarvení 2 M NaOH. Poté byla přidána kapka H_2SO_4 na odbarvení roztoku. Roztok byl převeden do 100 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Do 25 ml odměrných baněk bylo pipetováno 20 ml vzorku, přidáno 1,5 ml roztoku molybdenanu, promícháno a přidáno 0,5 ml roztoku kyseliny askorbové (10 %). Stejným způsobem byly připraveny kalibrační roztoky (standarty). Složení použitých roztoků a standardů, viz. [42].

Analytickou koncovkou bylo měření absorbance na spektrometru při vlnové délce 700 nm v 1 cm kyvetách. Získané hodnoty byly zpracovány metodou lineární regrese. Obsah fosforu v substrátech pro biodegradační prostředí je uveden v tabulce (Tab. VI.).

Tab. VI. Obsah dusíku a fosforu v substrátech.

Substrát	Dusík [mg/g sušiny]	Fosfor [mg/g sušiny]
půda	2,162	1,954
vyzrálý kompost	6,228	5,952

7.2 Praktické provedení abiotické oxidace

Abiotické oxidaci byly podrobeny vzorky LDPE-2 a LDPE-3 (charakteristiky vzorků viz. kap. 6.3). Před zahájením oxidace byly vzorky nařezány na pásy o rozměrech 10 x 2,5 cm a umístěny do hliníkových krabiček s víkem. Oxidace takto připravených vzorků byla provedena v sušárně při teplotách 60, 70 a 80°C. V předem stanovených časových intervalech bylo odebíráno vždy 5 vzorků PE fólie vedle sebe a byly uskladněny v chladicí místnosti při 4°C. Vzorky byly následně podrobeny zkouškám hodnotící výsledky abiotické oxidace (spektroskopie v IČ oblasti, zkoušky mechanické pevnosti, gelová permeační chromatografie).

7.3 Metody pro hodnocení abiotické oxidace

7.3.1 Spektroskopie v IČ oblasti

Termooxidované PE fólie (LDPE-2 a LDPE-3) byly podrobeny spektroskopii v IČ oblasti pomocí přístroje Mattson 3000. U každého vzorku bylo spektrum proměřeno v oblasti od 400 do 4000 cm^{-1} vždy 2krát vedle sebe. Při vlnočetě 1465 cm^{-1} byl detekován $-\text{CH}_2-$ pík a při vlnočetě 1713 cm^{-1} karbonylový pík. Podílem absorbance karbonylového a $-\text{CH}_2-$ píku dle rovnice (2) byl vypočten karbonylový index, který je mírou oxidace testovaných polymerů. Z vypočtených hodnot byla sestavena závislost karbonylového indexu na čase, po který byly vzorky vystaveny termooxidaci při 60, 70 a 80°C.

$$\text{CI} = \frac{A_{1713}}{A_{1465}} \quad (2)$$

CI	karbonylový index	[1]
A_{1713}	absorbance při 1713 cm^{-1}	[1]
A_{1465}	absorbance při 1465 cm^{-1}	[1]

7.3.2 Mechanická pevnost

Termooxidované PE fólie (LDPE-2, LDPE-3) byly dále podrobeny tahovým zkouškám na přístroji Tensometer 2000 s nastavenou rychlostí posunu $100 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Pásky testovaných LDPE fólií o rozměrech $10 \times 2,5 \text{ cm}$ byly oběma konci uchyceny do čelistí přístroje, pracovní délka pak byla 5 cm . Stanovení bylo provedeno vždy 4krát vedle sebe. Z naměřených hodnot byla následně vynesena závislost sledovaného parametru (prodloužení při přetrhnutí) na čase, po který byly vzorky vystaveny termooxidaci při teplotách $60, 70$ a 80°C .

Přístroj nebyl dostatečně citlivý u vzorků, které byly v pokročilém stupni zoxidování. Tyto vzorky byly příliš křehké, proto byla hodnota parametru prodloužení při přetrhnutí považována za nulovou.

7.3.3 Gelová permeační chromatografie

Gelová permeační chromatografie byla provedena u původního vzorku LDPE-1 a u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci. Vlastní analýza byla provedena v Polymer Institute Brno.

Kousky testovaného LDPE byly rozpuštěny v definovaném množství 1,3,5-trichlorbenzenu při 160°C . V rozpouštědle byl přítomen fenolický antioxidant (Santonox R) o koncentraci 250 ppm , který sloužil k zabránění oxidace testovaných vzorků kyslíkem. Vlastní gelová chromatografie za vysoké teploty byla provedena na zařízení GPC Waters 150C ALC/GPC. Ke kalibraci metody byla použita sada polystyrenových standardů o známé molekulové hmotnosti.

7.4 Praktické provedení aerobní biodegradace

7.4.1 Testovací láhve

Pro testování aerobní biodegradace v prostředí půdy a vyzrálého kompostu byly použity 500 ml láhve o celkovém objemu plynné fáze 580 ml. Láhve byly opatřeny ventilovým uzávěrem, což je znázorněno na obrázku (Obr. 12.). Otvor byl vybaven patronou se septem a sloužil k odběru vzorku plynné fáze z testovací láhve pro stanovení obsahu CO_2 a O_2 metodou plynové chromatografie.



Obr. 12. Ukázka testovací láhve.

7.4.2 Provzdušňování testovacích lahví

Protože biodegradční testy mají být prováděny za aerobních podmínek, je nezbytné pro dodržení optimální koncentrace kyslíku provzdušňování testovacích lahví.

Provzdušňování bylo realizováno čerpadlovým systémem, na který byla napojena silikonová hadička zasahující do testovací láhve. Efekt byl zvýrazněn ručním protřepáváním testovacích lahví, čímž bylo dosaženo rovnoměrného provzdušnění celého obsahu láhve. Doba provzdušňování byla stanovena na základě experimentálního stanovení obsahu O_2 .

V průběhu pokusu bylo provedeno ověření účinnosti provzdušňování a bylo zjištěno, že je obdobná jako při sériovém zapojení lahví pomocí silikonových hadiček, kde byl vzduch vháněn pomocí čerpadla přes NaOH a přes promývačku s destilovanou vodou.

7.4.3 Příprava biodegradačního testu

Stanovení sušiny substrátu

Před zahájením testu bylo provedeno stanovení sušiny substrátu (půda, vyzrálý kompost). Do předem zvážených Petriho misek bylo naváženo 5 g substrátu s přesností $\pm 0,0001$ g. Stanovení bylo provedeno 3krát vedle sebe vysušením 5 g substrátu do konstantní hmotnosti při 105°C . Po zchladnutí na pokojovou teplotu byly misky zváženy na analytických vahách s přesností $\pm 0,0001$ g. Sušina půdního a kompostového substrátu byla vyjádřena v procentech.

Materiál k ředění substrátu

K ředění substrátů byl použit perlit s obchodním názvem Agroperlit od firmy AGRO CS. Jedná se o chemicky inertní materiál, který zajišťuje kyprost a pórovitost substrátu, zadržuje vodu a v ní rozpuštěné živiny. Před vlastním použitím byl perlit 3krát promyt v destilované vodě a poté vysušen při 150°C .

Půdní i kompostový substrát byl naředěn perlitem v poměru 1:4, tj. 2,5 g sušiny substrátu na 10 g perlitu.

7.4.4 Aerobní biodegradace v půdním prostředí

Biodegradačnímu testování v půdním prostředí byly podrobeny vzorky LDPE-1(40), LDPE-1(80), LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Byly provedeny 2 biodegradační testy, kdy v prvním byly zkoušeny vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80) a ve druhém vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Vzorky PE fólií byly testovány vždy 3krát vedle sebe, slepé pokusy 4krát vedle sebe a referenční látka (celulosa, minerální olej) pouze 1krát.

Pro testy v půdním prostředí byl použit půdní substrát naředěný perlitem (viz. kap. 7.4.3). Vzorke PE fólií byly před zahájením pokusu nadrceny přes síto o průměru otvorů 2 mm. Testy se vzorky byly provedeny nadávkováním 1,5 g PE (0,6 g/g sušiny substrátu), který byl diferenčně navážen s přesností $\pm 0,0001$ g k ředěnému půdnímu substrátu do testovací láhve. Slepé pokusy byly realizovány pouze s ředěným půdním substrátem.

Jako referenční látka byly použity celulosa (filtrační papír) a minerální olej, které byly do testovací láhve dávkovány v množství 0,30 g s přesností $\pm 0,01$ g. V prvním testu byla použita jako pozitivní kontrola celulosa, ve druhém testu byl použit minerální olej.

Takto připravené směsi naředěné půdy a vzorku nebo referenční látky byly nakonec zvlhčeny 10 ml minerálního média (složení viz. kap. 6.1). Inkubace v průběhu biodegradačního testu byla provedena při teplotě 25°C ve tmě.

7.4.5 Aerobní biodegradace v prostředí vyzrálého kompostu

Aerobní biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu byly podrobeny vzorky LDPE-1(40), LDPE-1(80), LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Opět byly provedeny 2 biodegradační testy, kdy v prvním testu byly zkoušeny vzorky LDPE-1(40), LDPE-1(80), ve druhém vzorky LDPE-2(40), LDPE-3(40). Vzorke PE fólií byly testovány vždy 3krát vedle sebe, slepé pokusy 4krát vedle sebe a referenční látka (celulosa, minerální olej) pouze 1krát.

Pokus byl zahájen stejným způsobem jako při biodegradaci v půdním prostředí (viz. kap. 7.4.4) s rozdílem použitého substrátu. Jako referenční látka byly použity celulosa (filtrační papír) a minerální olej, které byly do testovací láhve dávkovány v množství 0,30 g resp. 0,20 g s přesností $\pm 0,01$ g. V prvním testu byla použita jako pozitivní kontrola celulosa (0,30 g), ve druhém testu byl použit minerální olej (0,20 g).

Obsahy všech testovacích lahví byly nakonec zvlhčeny 10 ml minerálního média. Inkubace v průběhu biodegradačního testu byla provedena při teplotě $58 \pm 2^\circ\text{C}$ ve tmě.

7.5 Hodnocení aerobní biodegradace metodou plynové chromatografie

V průběhu biodegradačních testů byla sledována produkce CO_2 a spotřeba O_2 metodou plynové chromatografie (GC). Analýza produkce CO_2 sloužila pro posouzení stupně biodegradace daného vzorku. Analýza spotřeby O_2 sloužila pro sledování zachování aerobních podmínek v průběhu testu a pro určení časového intervalu provzdušňování obsahu láhve.

V průběhu biodegradačních testů byla také vizuálně sledována vlhkost směsi v testovací láhvi. Při výrazném nedostatku vlhkosti byla směs zvlhčena přidávkem destilované vody.

7.5.1 Analýza pomocí plynového chromatografu Chrom 5

Pro stanovení obsahu CO_2 a O_2 v plynné fázi byl na počátku půdního a kompostovacího testu u vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) použit plynový chromatograf Chrom 5.

Analýza byla provedena pomocí dvou skleněných náplňových kolon o délce 3,6 m s vnitřním průměrem 3 mm. Obsah CO_2 byl analyzován na koloně naplněné Porapakem R a množství O_2 na koloně obsahující Molekulové síto 13X. K detekci složek sloužil tepelně vodivostní detektor (TCD) a signál byl vyhodnocován pomocí integrátoru HP 3396A. Jako nosný plyn bylo použito helium (He) čistoty 4.6.

Vyhodnocení bylo prováděno metodou přímé kalibrace pomocí standardních směsí. Kalibrační křivka pro stanovení obsahu CO_2 byla provedena analýzou směšného syntetické plynu Linde Technoplyn (viz. kapitola 6.1.1) a pro stanovení O_2 byla sestavena z obsahu kyslíku ve vzduchu. V obou případech byl při jednotlivých měřeních vždy ověřován 1 kalibrační bod. Stanovení bylo provedeno za podmínek uvedených v tabulce (Tab. VII.).

Tab. VII. Parametry měření na plynovém chromatografu Chrom 5.

Parametry		Analýza CO ₂	Analýza O ₂
Teploty [°C]	Termostat	50	30
	Sample	100	20
	Detektor	100	100
TCD	Žhavení vlákna [mA]	120	100
	Citlivost	6	5
Nosný plyn	Typ	He	
	Průtok [ml.min ⁻¹]	30	

7.5.2 Analýza pomocí plynového chromatografu Agilent 7890

V průběhu půdního a kompostovacího testu u vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) a po zahájení půdního a kompostovacího testu u LDPE-2(40) a LDPE-3(40) bylo stanovení obsahu CO₂ a O₂ prováděno na plynovém chromatografu GC Agilent 7890.

K analýze byly použity dvě skleněné náplňové kolony délky 1,829 m. Naše metoda zahrnovala obě kolony zapojené do série. Na počátku analýzy byly zapojeny obě kolony, v čase 0,9 minut došlo k přepnutí ventilu pouze na Porapak Q (velikost částic 80/100 MESH), kde byl stanoven CO₂. V čase 2,0 minuty došlo k přepnutí ventilu na molekulové síto (velikost částic 60/80 MESH), kde byl stanoven O₂. K přepínání ventilů mezi kolonami sloužil tlakový dusík (N₂) resp. vzduch. K detekci složek byl použit tepelně vodivostní detektor (TCD). Nosným plynem bylo helium (He) čistoty 4.6.

Vyhodnocení se provádělo metodou přímé kalibrace pomocí standardních směsí programem GC ChemStation. Kalibrační křivka pro stanovení obsahu CO₂ byla provedena analýzou směsného syntetického plynu Linde Technoplyn (viz. kapitola 6.1.1) a pro stanovení O₂ byla sestavena z obsahu kyslíku ve vzduchu. Při každém měření byly upraveny retenční časy a plochy píků na aktuální hodnoty. Analýza byla provedena za podmínek uvedených v tabulce (Tab. VIII.).

Tab. VIII. Parametry měření na GC Agilent 7890.

Parametry		Analýza
Teplota [°C]	Injektor	200
	Termostat	60
	Detektor (TCD)	250
Nosný plyn	Typ	He
	Průtok [ml.min ⁻¹]	53
Přepínání ventilů	Čas [min]	0,9
		2,0
	Plyn	N ₂ , vzduch

7.5.3 Zpracování naměřených hodnot

A) Denní produkce uhlíku ve formě CO₂

$$m_{(d)C} = \frac{M_C \cdot p}{R \cdot T} \cdot \frac{V_g}{1000} \cdot w(\text{CO}_2) \cdot \frac{V_{St}}{S_{St}} \cdot \frac{S_{Vz}}{V_{Vz}} \cdot 1000 \quad (3)$$

$m_{(d)C}$	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO ₂	[mg]
M_C	atomární hmotnost uhlíku	[g.mol ⁻¹]
R	molární plynová konstanta	[J.K ⁻¹ .mol ⁻¹]
p	tlak v okamžiku provzdušňování	[kPa]
T	termodynamická teplota v okamžiku provzdušňování	[K]
V_g	plynný objem láhve	[ml]
$w(\text{CO}_2)$	množství CO ₂ v kalibračního plynu	[%]
$V_{St, Vz}$	dávkový objem plynné fáze standardu resp. vzorku do plynového chromatografu	[μl]
$S_{St, Vz}$	signál detektoru u standardu resp. vzorku	[μV.s]

B) Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂

Pokud nedochází k provzdušňování testovacích lahví, je kumulativní produkce rovna produkci denní. Pokud je systém provzdušňován, je kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂ dána vztahem:

$$m_{(k)C}(2) = m_{(k)C}(1) + m_{(d)C}(2) \quad (4)$$

$m_{(k)C}(2)$	kumulativní produkce uhlíku z aktuálního měření	[mg]
$m_{(k)C}(1)$	kumulativní produkce uhlíku z předchozího měření	[mg]
$m_{(d)C}(2)$	denní produkce uhlíku z aktuálního měření	[mg]

C) Substrátová produkce uhlíku ve formě CO₂

Jedná se o kumulativní produkci uhlíku ze systémů se vzorky sníženou o produkci uhlíku ze slepých pokusů, tj. o produkci ze samotných substrátů (půda, vyzrálý kompost).

D) Procentuelní mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂

$$D_C = \frac{n_{(s)C}}{m_c \cdot TC} \quad (5)$$

D_C	procentuelní mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO ₂	[%]
$n_{(s)C}$	substrátová produkce uhlíku ve formě CO ₂	[mg]
m_c	hmotnost testovaného materiálu	[mg]
TC	obsah celkového uhlíku v testovaném materiálu	[%]

E) Procentuelní obsah O_2 v láhvi

$$\%O_2 = \frac{w(O_2) \cdot S_{Vz} \cdot V_{st}}{S_{st} \cdot V_{Vz}} \quad (6)$$

$\%O_2$	aktuální procento O_2 obsaženého v láhvi	[%]
$w(O_2)$	obsah kyslíku ve vzduchu	[%]
$S_{St, Vz}$	signál detektoru u standardu resp. vzorku	[μ V.s]
$V_{St, Vz}$	dávkový objem plynné fáze standardu resp. vzorku do plynového chromatografu	[μ l]

7.6 Mikroskopie vzorků podrobených biodegradaci**7.6.1 Optická mikroskopie**

Optická mikroskopie byla provedena u původního vzorku LDPE-1, u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci a zejména u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80), které byly podrobeny biodegradačním testům v prostředí půdy a vyžralého kompostu. Po ukončení testů bylo z testovacích lahví odebráno několik kousků testovaných vzorků.

Vzorky byly vloženy do mikroskopavek (objem 1,5 ml), k nimž byl přidán 1 ml fixačního roztoku (složení viz. kapitola 6.1), poté byly vzorky inkubovány přes noc při 4°C. Před mikroskopickým pozorováním byly zafixované vzorky od roztoku odděleny a vybarveny karbolfuchsinem resp. methylenovou modří. Po 1 minutě vybarvování bylo barvivo několikrát vymyto přidávkem pitné vody. Vzorky byly pozorovány světelným mikroskopem pomocí imerzního objektivu, což bylo dokumentováno pomocí fotoaparátu umístěném na tubusu mikroskopu.

U vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) podrobených biodegradaci byla zaznamenána přítomnost mikroorganismů. Proto bylo u těchto vzorků

provedeno Gramovo barvení rozlišující grampozitivní a gramnegativní bakterie. Barvení bylo provedeno dvěma způsoby:

- A. Kousky LDPE po biodegradaci byly přeneseny do mikrozkušavek (objem 1,5 ml), k nimž byl přidán 1 ml fixačního roztoku, inkubace byla provedena po dobu 2 hodin při 4°C. Po vymytí fixačního roztoku pitnou vodou bylo do mikrozkušavek nadávkováno 200 µl roztoku krystalové violeti a nechalo se působit 60 vteřin. Poté bylo přidáno 300 µl Lugolova roztoku a opět se nechalo působit 60 vteřin. Obsah mikrozkušavek byl promyt pitnou vodou a následovalo vymývání barviv ethanolem. Část vzorků byla poté přenesena do čisté mikrozkušavky a postup vymývání ethanolem se opakovat ještě 2krát. Obsah mikrozkušavek byl několikrát promyt přídatky pitné vody a vzorky byly dobarveny zředěným karbolfuchsinem po dobu 60 vteřin. Následovalo opět promytí pitnou vodou.
- B. Kousky LDPE po biodegradaci byly přilepeny na průhlednou oboustranně lepící pásku k podložnímu sklíčku. Preparát byl převrstven roztokem krystalové violeti a nechalo se působit 60 vteřin. Poté se barva slila a vzorky byly převrstveny Lugolovým roztokem a nechalo se působit opět 60 vteřin. Preparát byl opláchnut destilovanou vodou a následně odbarvován v šikmé poloze ethanolem. Po dokonalém propláchnutí destilovanou vodou byly vzorky LDPE dobarveny zředěným karbolfuchsinem po dobu 60 vteřin. Nakonec byl preparát důkladně opláchnut destilovanou vodou a vysušen.

7.6.2 Pokus o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu PE

U vzorků LDPE-1(80) po abiotické oxidaci byl proveden pokus, kdy jsme se snažili o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu PE filmu.

V průběhu pokusu jsme se snažili napodobit biodegradační prostředí, kdy do 100 ml testovacích lahví bylo nadávkováno 0,3 g LDPE, 2 g perlitu a 2 ml minerálního média. Poměr dávkovaných složek byl tedy zachován stejný jako v biodegradačních testech (viz. kap. 7.4.3 - 7.4.5). Během práce bylo nutné dodržovat sterilitu k eliminaci potenciálních kontaminací.

Testovací láhve s perlitem a minerální médium byly sterilizovány v autoklávu 45 minut při 120°C. Kousky LDPE-1(80) byly sterilizovány UV zářením po dobu 20 minut. Vzorky LDPE byly před a po sterilizaci podrobeny spektroskopii v IČ oblasti pro zjištění, zda nedošlo UV zářením k dalšímu zoxidování materiálu.

Jako inokulum bylo použito několik kousků LDPE-1(80) podrobených biodegradačním testům v prostředí půdy nebo vyzrálého kompostu. Kousky LDPE byly po biodegradaci zamíchány v 1 ml sterilního minerálního média v mikrozkušavkách a následně převedeny do testovacích lahví. Inkubace byla provedena po dobu 1 měsíce při 25°C ve tmě (inokulem LDPE z půdy) a $58 \pm 2^\circ\text{C}$ ve tmě (inokulem LDPE z vyzrálého kompostu). Vzorky byly po inkubaci pozorovány světelným mikroskopem pomocí imerzního objektivu. Mikroskopie byla dokumentována pomocí fotoaparátu umístěném na tubusu mikroskopu.

7.6.3 Skenovací elektronová mikroskopie

Principem skenovací elektronové mikroskopie (SEM) je, že při dopadu elektronového svazku na vzorek dochází k průniku elektronů do materiálu a k interakci elektronů s atomy přítomnými ve vzorku. Dochází ke vzniku různých signálů, které mohou být využity k charakterizaci vzorku či vzniku obrazu. Při SEM projíždí svazek elektronů zvolenou oblast a tak je získán plastický obraz povrchu vzorku.

Skenovací elektronová mikroskopie byla provedena u původního vzorku LDPE-1, u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci a zejména u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80), které byly podrobeny biodegradačním testům v prostředí půdy a vyzrálého kompostu. Po ukončení testů bylo z testovacích lahví odebráno několik kousků testovaných vzorků.

Vzorky byly přeneseny do mikrozkušavek (objem 1,5 ml), k nimž byl přidán 1 ml roztoku 0,05 M kakodylátového pufru s glutaraldehydem, poté byly vzorky inkubovány přes noc při 4°C. Vzorky byly 3krát promyty 0,05 M kakodylátovým puftrem, následně byl přidán 1 ml 0,01 M kakodylátového pufru s 2 % oxidem osmičelým, vzorky byly inkubovány

30 minut při pokojové teplotě. Následovalo promytí vzorků 0,05 M kakodylátovým pufrům (min. 3krát). U vzorků, u nichž se předpokládala přítomnost mikroorganismů (tj. vzorky, které byly podrobeny biodegradačním testům v prostředí půdy a vyzrálého kompostu) byla provedena dehydratace ethanolem v různých koncentracích (25, 50, 75 a 96 %). Dehydratace byla vždy provedena po dobu 5 minut při pokojové teplotě. Vzorky byly poté přeneseny na terčíky, které se nechaly vysušit. Na závěr byl proveden postfix parami OsO_4 . Před vlastní analýzou na elektronovém mikroskopu byly terčíky se vzorky naprášeny zlatem.

7.6.4 Optimalizace postupu přípravy vzorku pro SEM

U vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) podrobených biodegradaci v prostředí půdy a vyzrálého kompostu byla provedena optimalizace postupu přípravy pro SEM. Kousky LDPE byly po biodegradaci přeneseny do mikrozkušavek (objem 1,5 ml), k nimž byl přidán 1 ml fixačního roztoku, inkubace byla provedena po dobu 2 hodin při 4°C. Vzorky byly poté přeneseny na terčíky, které se nechaly vysušit. Následovaly tři rozdílné úpravy vzorků pro vlastní analýzu:

- A. Vzorky po vysušení již nebyly žádným způsobem upravovány.
- B. Po vysušení byla provedena dehydratace ethanolem v různých koncentracích (50, 70, 90 a 96 %) vždy po dobu 15 minut při pokojové teplotě. Závěrečná dehydratace ethanolem o koncentraci 96 % byla provedena 3krát.
- C. Po vysušení byla provedena fixace vodným roztokem OsO_4 po dobu 60 minut, následovalo promytí vzorků 0,05 M kakodylátovým pufrům (min. 3krát). Poté byla provedena dehydratace ethanolem v různých koncentracích (50, 70, 90 a 96 %) vždy po dobu 15 minut při pokojové teplotě. Závěrečná dehydratace ethanolem o koncentraci 96 % byla provedena 3krát.

Ve všech případech byly terčíky se vzorky před vlastní analýzou naprášeny zlatem.

III. VÝSLEDKY A DISKUZE

8 ABIOTICKÁ OXIDACE

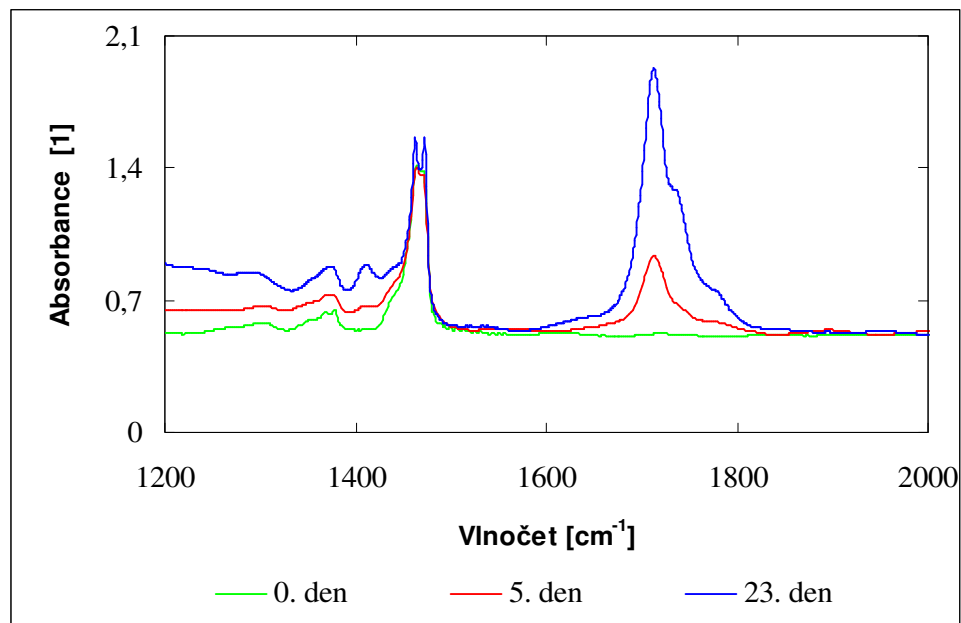
Vzorky LDPE-2, LDPE-3 byly v průběhu termooxidace při různých teplotách vytahovány v předem stanovených časových intervalech ze sušárny a ukládány do chladicí místnosti při 4°C. Následně byly podrobeny metodám hodnotícím výsledky abiotické oxidace (spektroskopie v IČ oblasti, zkoušky mechanické pevnosti).

Abiotická oxidace vzorků LDPE-1 byla provedena již v práci [40], v níž byly vzorky podrobeny také spektroskopii v IČ oblasti a zkouškám mechanické pevnosti. V rámci této diplomové práce byly vzorky LDPE-1 po termooxidaci podrobeny gelové permeační chromatografii.

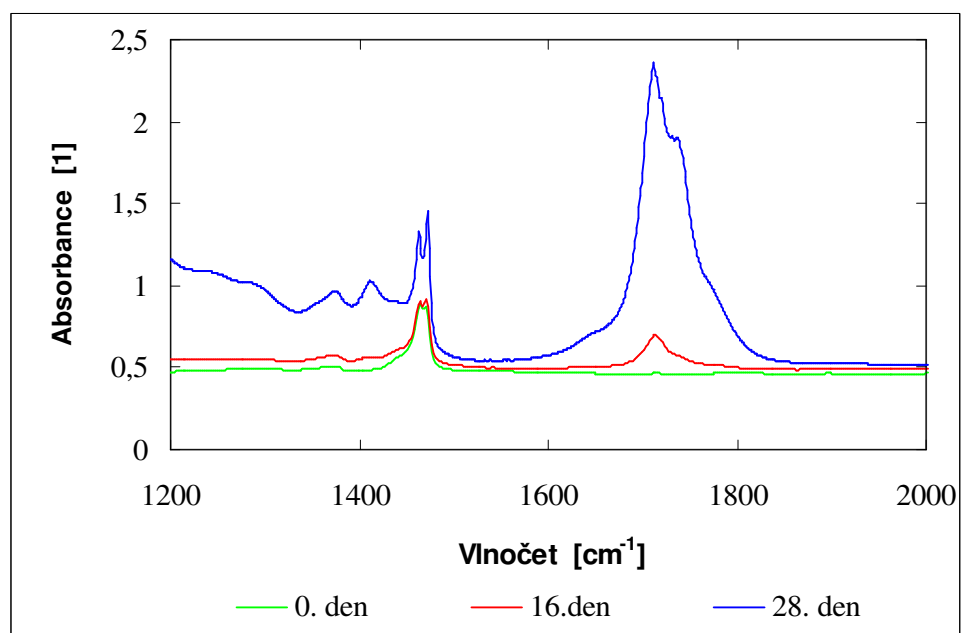
8.1 Spektroskopie v IČ oblasti

Testované vzorky LDPE-2 a LDPE-3 byly po termooxidaci podrobeny spektroskopie v IČ oblasti, kde byla měřena absorbance karbonylového píku při vlnočtu 1713 cm^{-1} a -CH₂- píku při vlnočtu 1465 cm^{-1} .

U obou testovaných vzorků byl zaznamenán nárůst karbonylového píku v průběhu termooxidace. Na obrázcích (Obr. 13., 14.) je zaznamenán růst karbonylového píku s časem, po který byly vzorky LDPE-2, LDPE-3 oxidovány při teplotě 70°C. V obou případech bylo pozorováno, že původní vzorek (0. den) byl bez přítomností karbonylových skupin, což se projevilo detekcí nulového karbonylového píku při vlnočtu 1713 cm^{-1} . U vzorku LDPE-2 byl karbonylový pík poprvé detekován již po 5 dnech experimentu, zatímco u vzorku LDPE-3 byl zaznamenán až po 16 dnech. Detekce karbonylového píku naznačovala počátek oxidace testovaného materiálu. Po určitém čase (u LDPE-2 po 23 dnech, u LDPE-3 po 28 dnech) bylo dosaženo maximální hodnoty absorbance karbonylového píku, která činila 1,9 u vzorku LDPE-2 resp. 2,3 u vzorku LDPE-3.



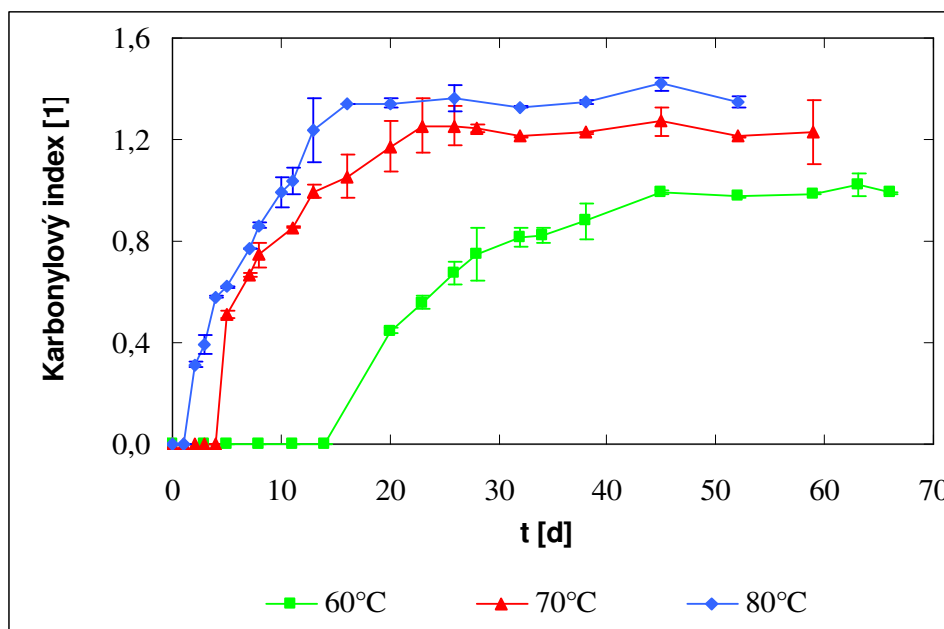
Obr. 13. FTIR spektra u vzorku LDPE-2 oxidovaného při 70°C.



Obr. 14. FTIR spektra u vzorku LDPE-3 oxidovaného při 70°C.

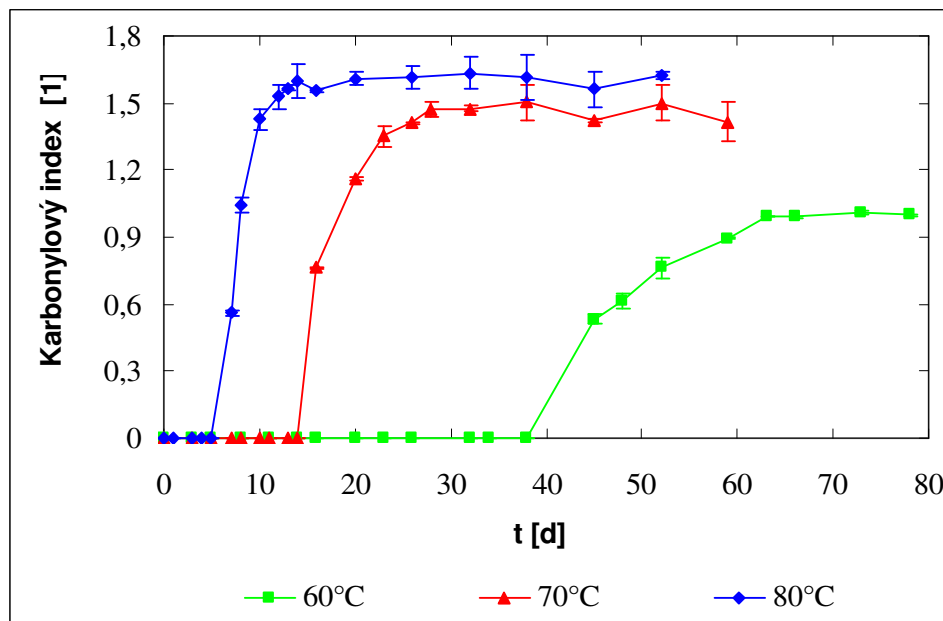
Z naměřených hodnot absorbancí karbonylového a $-CH_2-$ píku u vzorků LDPE-2, LDPE-3 byl určen karbonylový index podle rovnice (2) v kapitole 7.3.1. Na obrázcích (Obr. 15., 16.) je zobrazena závislost karbonylového indexu (CI) na čase, po který byly testované vzorky vystaveny termooxidaci při různých teplotách.

U vzorku LDPE-2 bylo nejvyšší hodnoty karbonylového indexu dosaženo při 80°C , kdy po 16 dnech byla hodnota CI ustálena na 1,34. Při 70°C byla hodnota CI po 23 dnech na 1,25 a při 60°C dosáhl karbonylový index nejvyšší hodnoty 0,99 za 45 dní.



Obr. 15. Abiotická oxidace vzorku LDPE-2 při různých teplotách (vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).

U vzorku LDPE-3 byly zaznamenány vyšší hodnoty karbonylového indexu. Nejvyšší hodnoty karbonylového indexu bylo dosaženo opět při 80°C , kdy po 14 dnech byla hodnota CI ustálena na 1,59. Při 70°C byla hodnota CI po 28 dnech na 1,47 a při 60°C dosáhl karbonylový index nejvyšší hodnoty 1,01 za 63 dní.



Obr. 16. Abiotická oxidace vzorku LDPE-3 při různých teplotách (vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).

Oxidace testovaného materiálu probíhala vždy do určitého stupně a dále se již s časem nezvyšovala. Míra zoxidování testovaných LDPE fólií byla ovlivněna teplotou termooxidace. Bylo pozorováno, že se zvyšující se teplotou roste stupeň zoxidování. Lze tedy tvrdit, že se zvyšující se teplotou termooxidace roste rychlost a míra oxidace materiálu.

Dále bylo pozorováno, že po zahájení experimentu k oxidaci vzorků nedocházelo (probíhala tzv. indukční resp. lagová fáze), což bylo zřejmě způsobeno přítomností stabilizátorů, které jsou v průběhu zpracování přidávány ke každému PE filmu, aby se zabránilo oxidačním procesům. Vzhledem k přítomnosti prooxidantů jsou stabilizátory přidávány ve větším množství tak, aby si materiál zachoval po určitou nastavenou dobu mechanické vlastnosti.

Po určité době, která se lišila v závislosti na teplotě použité při termooxidaci, byl zaznamenán prudký nárůst karbonylového indexu, který je mírou oxidace testovaného materiálu. Rychlý nástup oxidace byl zřejmě

způsoben vyčerpáním antioxidační kapacity stabilizátorů a přítomností prooxidantů, které katalyzují abiotickou oxidaci polyethylenu (viz. kap. 2.4 a 3.1). Vyváženou kombinací množství stabilizátorů a prooxidantů lze tak připravit PE fólie, které si zachovají v průběhu spotřeby užité vlastnosti a následně, když je antioxidační kapacita vyčerpána, budou rychle a snadno zoxidovány. Tímto způsobem lze připravit materiály s tzv. *časově předprogramovanými vlastnostmi*.

Skutečnost, že množství stabilizátorů a prooxidantů ovlivňuje zahájení a rychlost oxidace, byla také pozorována u testovaných vzorků, viz. obrázky (Obr. 15., 16.). V průběhu termooxidace při 70°C začalo u vzorku LDPE-2 docházet k oxidaci po 4. dnu a k úplnému zoxidování došlo ve 23. dnu experimentu, zatímco u vzorku LDPE-3 byla oxidace zahájena až po 14. dnu a ukončena byla již 28. den. Proces oxidace materiálu LDPE-2 tedy trval 19 dní, materiálu LDPE-3 pouze 14 dní.

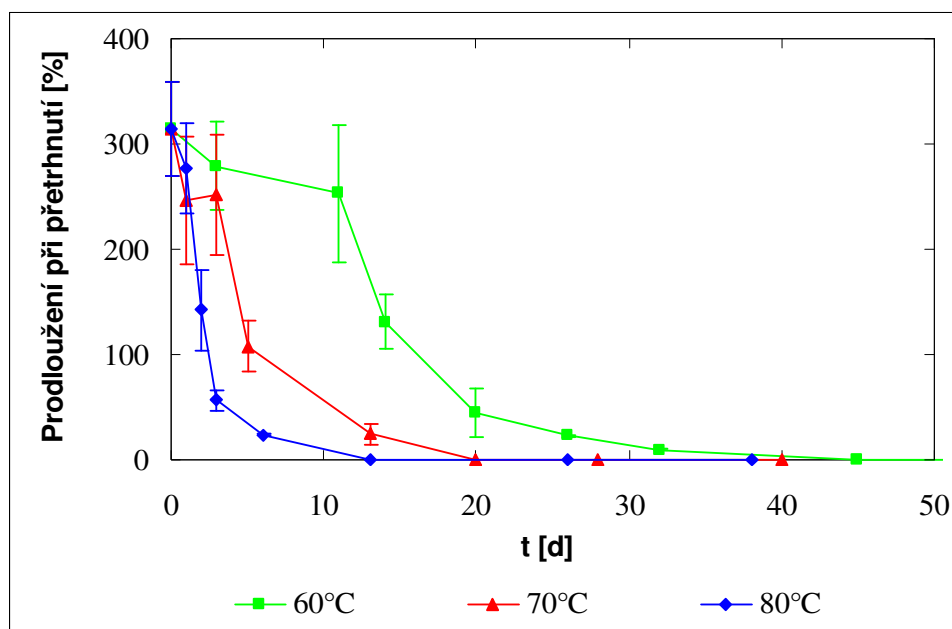
Z uvedeného by mohlo plynout, že materiál LDPE-3 obsahuje větší množství stabilizátorů a déle si udrží užité vlastnosti. Na druhou stranu by mohl obsahovat větší množství prooxidantů a v okamžiku, kdy dojde k vyčerpání antioxidační kapacity je rychleji zoxidován. Bohužel, přesné složení a množství stabilizátorů a prooxidantů u testovaných materiálů LDPE-2, LDPE-3 není známo (je předmětem obchodního tajemství).

8.2 Mechanická pevnost

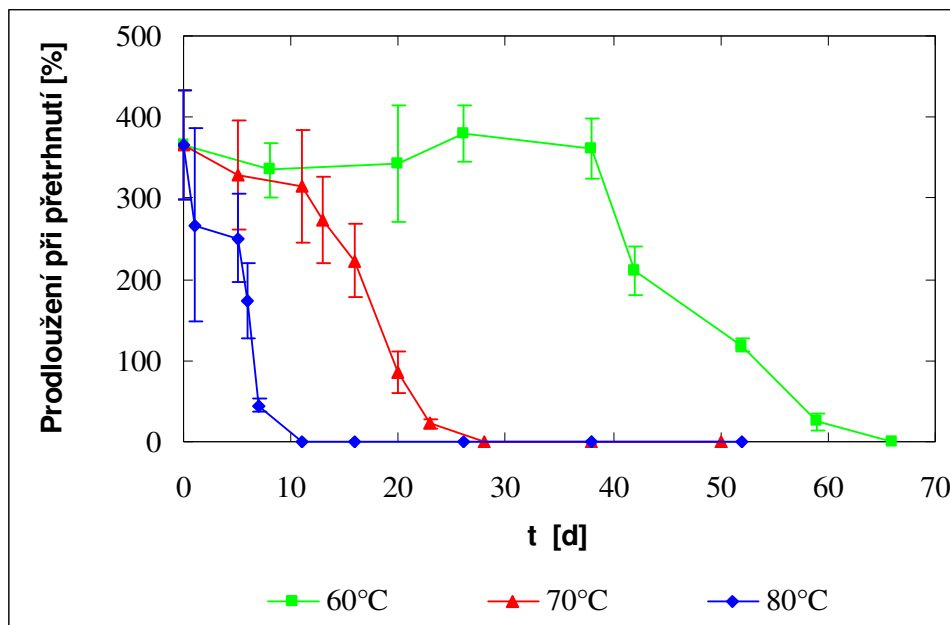
Testované vzorky LDPE-2 a LDPE-3 byly po termooxidaci při různých teplotách podrobeny tahovým zkouškám na přístroji Tensometer 2000. Vzhledem k tomu, že některé vzorky byly v pokročilejší fázi termooxidace velmi křehké a sledovaný parametr (prodloužení při přetržení) nebyl přístrojem detekován, byly tyto hodnoty považovány za nulové.

Na obrázcích (Obr. 17., 18.) je zobrazen vliv teploty termooxidace u testovaných vzorků (LDPE-2, LDPE-3) na rychlost ztráty mechanické pevnosti. Pro zvýšení přehlednosti obrázků nebyly některé vybrané hodnoty (zejména v počátečních dnech po zahájení experimentu) graficky vynášeny.

V obou případech byly pozorovány nejvýraznější a nejrychlejší ztráty mechanické pevnosti u vzorků oxidovaných při 80°C. Nulových hodnot měřeného parametru bylo dosaženo již za pár dní od zahájení termooxidace, u vzorku LDPE-2 za 13 dní, u vzorku LDPE-3 za 11 dní. V průběhu termooxidace při 70°C byla pozorována pomalejší ztráta mechanické pevnosti, kdy bylo nulových hodnot měřeného parametru dosaženo za 20 dní u vzorku LDPE-2 a za 28 dní u vzorku LDPE-3. Výrazně nejpomalejší ztráty mechanické pevnosti byly sledovány u vzorků oxidovaných při 60°C, kdy u LDPE-2 bylo dosaženo nulových hodnot za 45 dní, u LDPE-3 za 66 dní od zahájení experimentu.



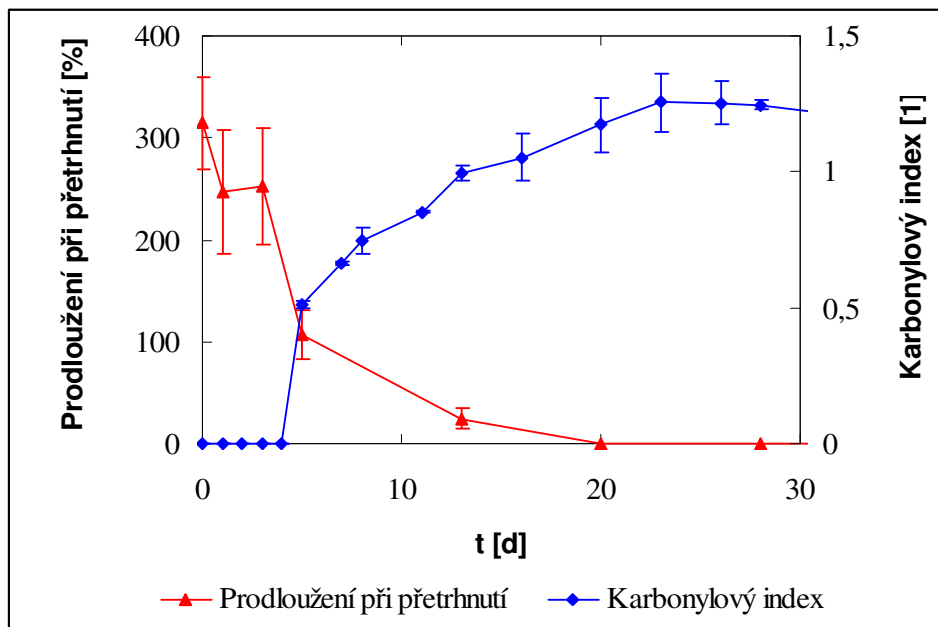
Obr. 17. Vliv teploty termooxidace na rychlost ztráty mechanické pevnosti vzorku LDPE-2 (vynesené body jsou průměrem většinou ze 4 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).



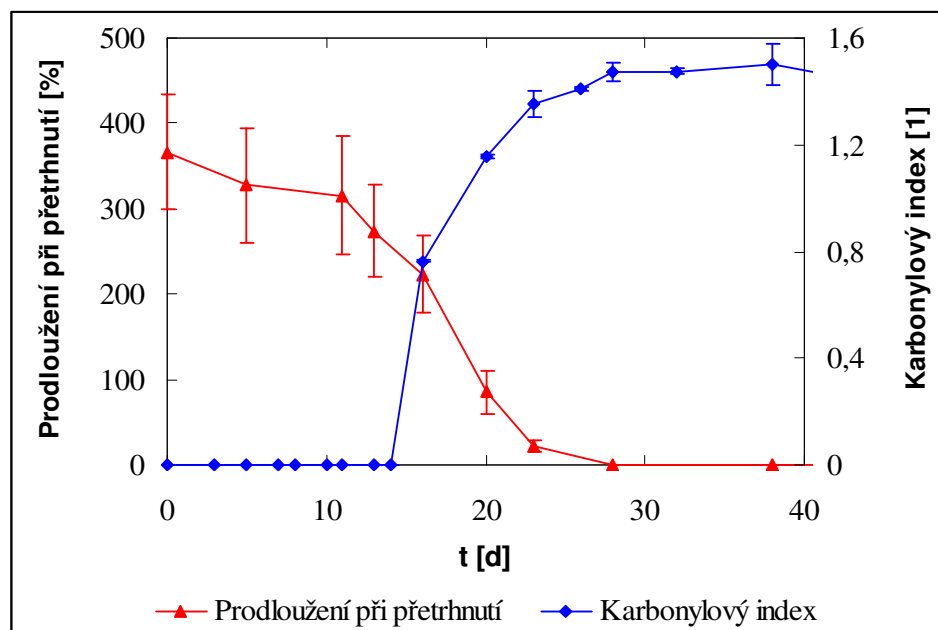
Obr. 18. Vliv teploty termooxidace na rychlost ztráty mechanické pevnosti vzorku LDPE-3 (vynesené body jsou průměrem většinou ze 4 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).

U obou testovaných materiálů byla pozorována souvislost mezi rostoucím karbonylovým indexem a ztrátou mechanické pevnosti. Na obrázcích (Obr. 19., 20.) je znázorněn vztah mezi karbonylovým indexem a pevností v tahu u termooxidovaných vzorků (LDPE-2, LDPE-3) při 70°C. Je patrné, že růst karbonylového indexu je doprovázen ztrátou mechanické pevnosti.

Bylo pozorováno, že mechanická pevnost PE fólií zůstává po určité době zachována, což je zřejmě způsobeno přítomností stabilizátorů, které zpočátku působily proti oxidaci materiálu. Po vyčerpání jejich antioxidační kapacity došlo k rychlému růstu karbonylového indexu a ke ztrátě mechanické pevnosti.



Obr. 19. Vztah mezi CI a pevností v tahu u termooxidovaného LDPE-2 při 70°C (vynesené body jsou průměrem většinou ze 2 a 4 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).



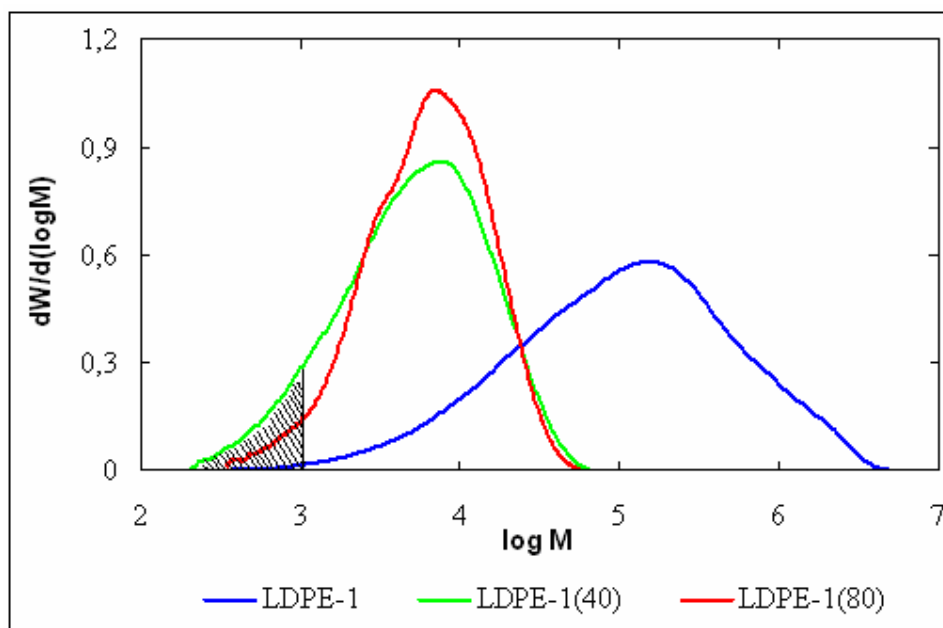
Obr. 20. Vztah mezi CI a pevností v tahu u termooxidovaného LDPE-3 při 70°C (vynesené body jsou průměrem většinou ze 2 a 4 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).

8.3 Gelová permeační chromatografie

Gelová permeační chromatografie byla provedena u původního testovaného materiálu LDPE-1 a dále u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci při 70°C. Křivky rozložení molekulových hmotností testovaných materiálů jsou znázorněny na obrázku (Obr. 21.).

Z obrázku je patrné, že během abiotické oxidace se významně snížila molekulová hmotnost testovaného materiálu LDPE-1. Zároveň bylo sledováno postupné zužování křivky rozložení molekulové hmotnosti.

Ve studii [20] se uvádí, že oxidační produkty s molekulovou hmotností do $1000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (což odpovídá hodnotě 3 na ose x) jsou mikroorganismy degradovány poměrně snadno a rychle. Vyšrafovaná plocha je domnělá snadno biodegradabilní frakce, jejíž spotřeba může vyvolat změnu ve struktuře materiálu, což by mohlo vést ke zrychlení degradačních procesů.



Obr. 21. Křivky rozložení molekulové hmotnosti původního vzorku LDPE-1 a vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci.

9 AEROBNÍ BIODEGRADACE

Testované vzorky byly po abiotické oxidaci podrobeny biodegradačním testům, které sloužily k posouzení odbourávání oxidovaných vzorků PE fólie s prooxidanty v půdním prostředí a prostředí vyžralého kompostu. Testy byly vyhodnocovány na základě měření produkce CO₂ a spotřeby O₂ metodou plynové chromatografie. Produkce CO₂ sloužila pro posouzení stupně biodegradace testovaného vzorku, zatímco spotřeba O₂ sloužila pouze pro kontrolu zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu.

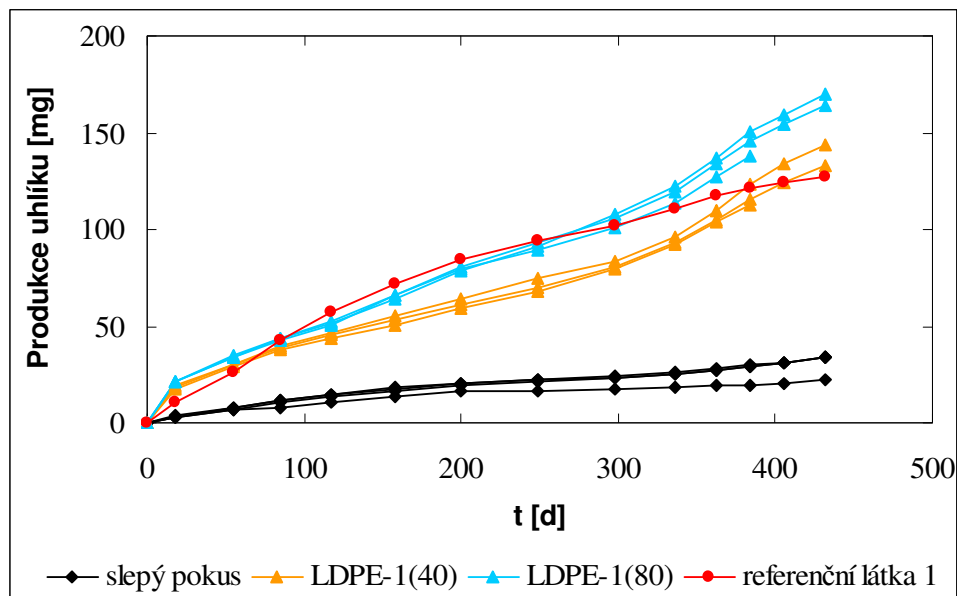
Sledované parametry, viz. obrázky (Obr. 22. - 33.), tedy kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂ ($m_{(k)C}$), procentuelní mineralizace uhlíku z testovaných materiálů z hlediska produkce CO₂ (D_C) a procentuelní obsah O₂ v testovací láhvi ($\%O_2$), byly vypočteny podle rovnic v kap. 7.5.3. Realizace všech provedených testů je popsána v kap. 7.4.

9.1 Biodegradační testy s LDPE-1

9.1.1 Biodegradace v půdním prostředí

Biodegradačním testům v půdním prostředí byly podrobeny vzorky po abiotické oxidaci LDPE-1(40) a LDPE-1(80). Inkubace byla provedena při 25°C ve tmě po dobu 432 dní. V současné době test nebyl ukončen a stále se sleduje průběh biodegradace. Grafické vyhodnocení biodegradace v půdním prostředí u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) je znázorněno na obrázcích (Obr. 22 - 24.).

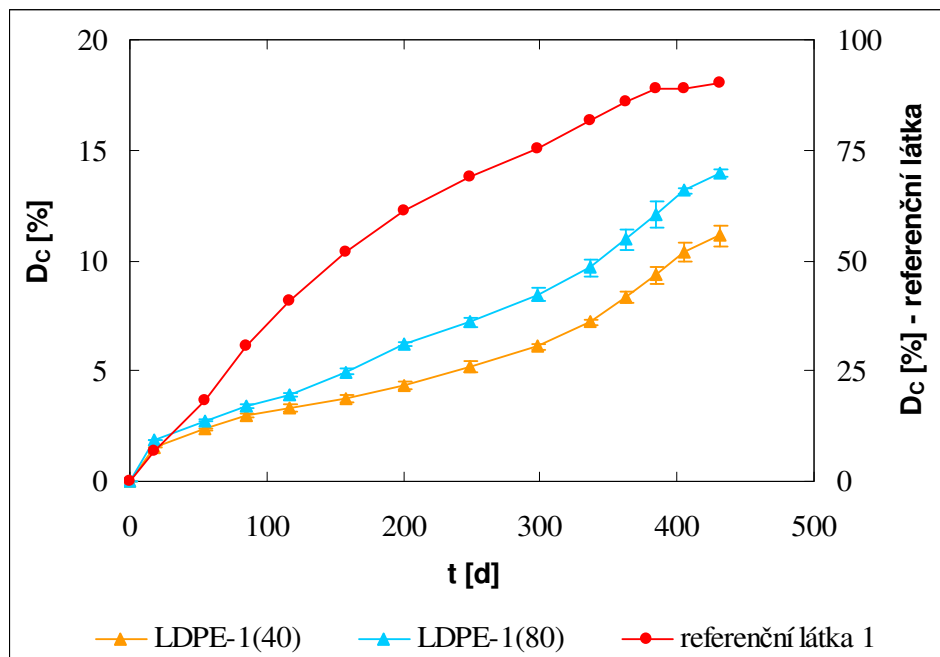
Na obrázku (Obr. 22.) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂ u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenční látky 1 (celulosa). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a referenční látka pouze 1krát. Po 384 dnech experimentu byl u obou vzorků LDPE ukončen pokus v 1 testovací láhvi, ze které pak byly odebírány kousky PE na mikroskopii.



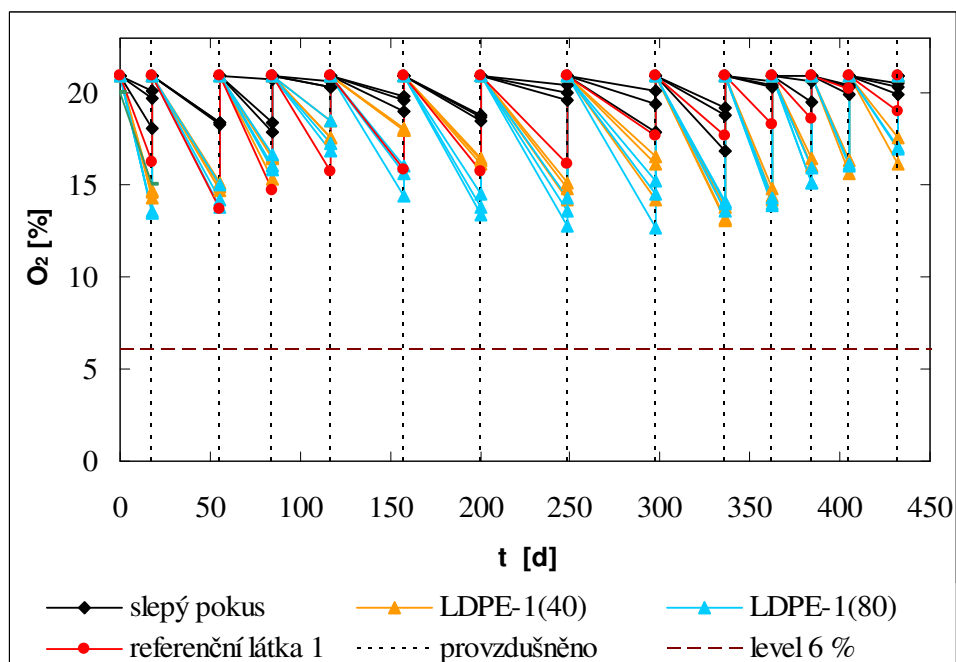
Obr. 22. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO_2 u LDPE-1 (půdní test).

Na obrázku (Obr. 23.) je zobrazen průběh odbourávání testovaných vzorků. Na hlavní ose y je zobrazena stupnice D_c pro testované vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80), na vedlejší ose y je stupnice D_c pro referenční látku 1 (celulosa). Z průběhu je patrná výrazně rychlejší mineralizace u referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy po 432 dnech inkubace bylo dosaženo 90,25 % biodegradace. U testovaných LDPE fólií byla biodegradace zpočátku poměrně pomalá, kdy za 200 dní bylo dosaženo $4,35 \pm 0,20$ % mineralizace u vzorku LDPE-1(40) a $6,22 \pm 0,11$ % mineralizace u vzorku LDPE-1(80). Následně se produkce CO_2 zvýšila a po 432 dnech experimentu bylo celkově dosaženo $11,11 \pm 0,43$ % D_c u vzorku LDPE-1(40) a $13,98 \pm 0,19$ % D_c u LDPE-1(80).

Kyslíkové poměry v testovacích lahvích v průběhu experimentu jsou znázorněny na obrázku (Obr. 24.). Aby bylo v lahvích zachováno aerobní prostředí po celou dobu inkubace, bylo prováděno jejich provzdušňování (viz. kap. 7.4.2). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 % O_2 (level 6 %).



Obr. 23. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce CO_2 - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).

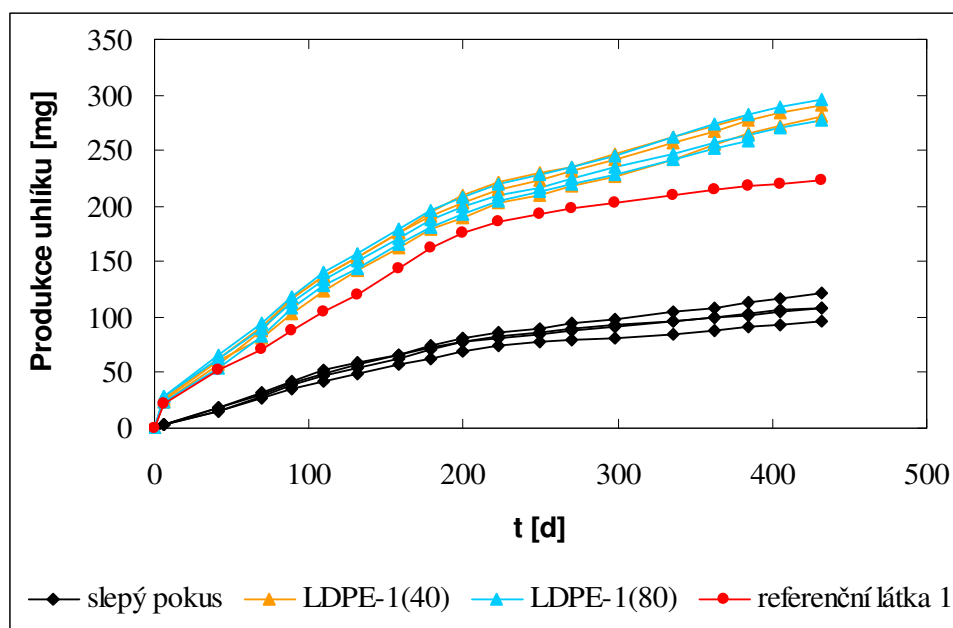


Obr. 24. Aktuální koncentrace O_2 v testovacích lahvách (půdní test u LDPE-1).

9.1.2 Biodegradace v prostředí vyzrálého kompostu

Biodegradačním testům v prostředí vyzrálého kompostu byly podrobeny vzorky po abiotické oxidaci LDPE-1(40) a LDPE-1(80). Inkubace byla provedena při $58 \pm 2^\circ\text{C}$ ve tmě po dobu 432 dní. V současné době test nebyl ukončen a stále se sleduje průběh biodegradace. Grafické vyhodnocení biodegradace v prostředí vyzrálého kompostu u LDPE-1(40), LDPE-1(80) je znázorněno na obrázcích (Obr. 25 - 27.).

Na obrázku (Obr. 25.) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě CO_2 u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenční látky 1 (celulosa). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a referenční látka pouze 1krát. Po 384 dnech experimentu byl u obou vzorků LDPE ukončen pokus v 1 testovací láhvi, ze které pak byly odebrány kousky PE na mikroskopii.



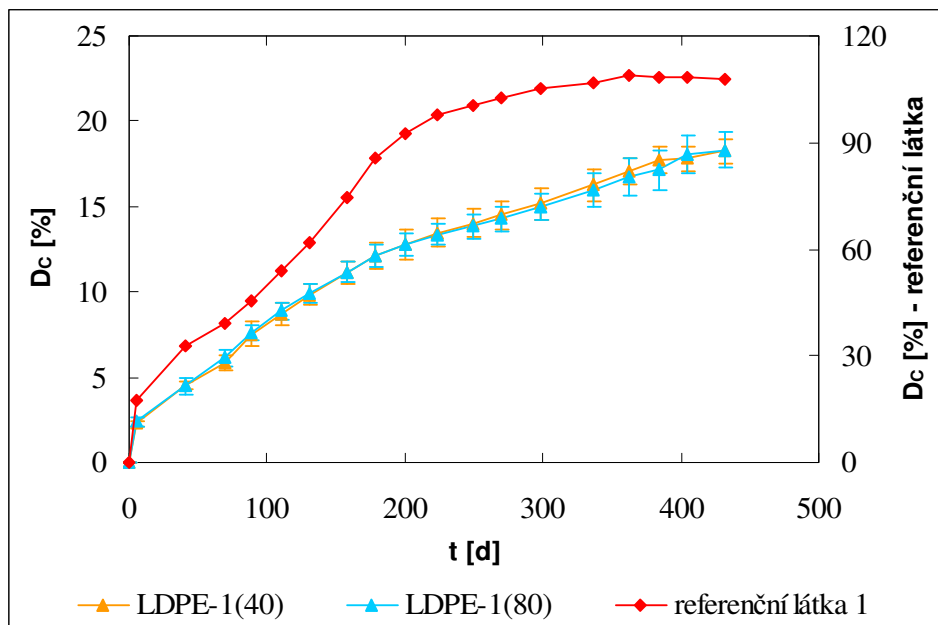
Obr. 25. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO_2 u LDPE-1 (kompostovací test).

Průběh odbourávání testovaných vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) je znázorněn na obrázku (Obr. 26.). Na hlavní ose y je zobrazena stupnice D_C pro testované vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80), na vedlejší ose y je stupnice D_C pro referenční látku 1 (celulosa). Z průběhu je patrná výrazně rychlejší mineralizace u referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy po 432 dnech inkubace bylo dosaženo 108,06 % biodegradace. Pozorovanou vyšší než 100 % mineralizaci referenční látky lze částečně vysvětlit tzv. *priming efektem*, kdy přítomnost snadno degradovatelného substrátu (celulosa) vede ke zintenzivnění mineralizace organického uhlíku v kompostu [43].

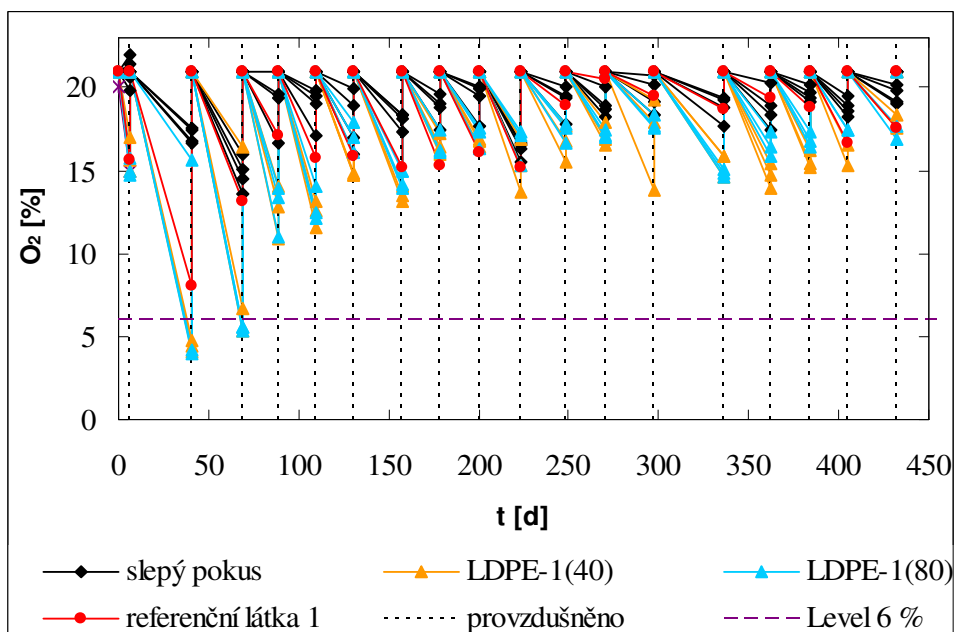
Dalším možným vysvětlením je systematická chyba zanášená při vzorkování za poměrně vysoké teploty $58 \pm 2^\circ\text{C}$ pomocí studené stříkačky. Vodní pára, která v okamžiku vzorkování tvoří při $58 \pm 2^\circ\text{C}$ cca 10 % objemu plynné fáze, ve stříkačce o laboratorní teplotě zkondenzuje a vytvoří podtlak, který přisaje další objem vzorku. Vzniklou chybu je možno korigovat matematicky, my jsme se však rozhodli pozměnit postup odběru vzorku a odebírat až po ochlazení lahví na laboratorní teplotu. Je ovšem zřejmé, že v prvních měsících experimentu mohla tato chyba zvláště výpočet produkce CO_2 referenční látky ovlivnit a nadhodit ji o cca 10 %.

U testovaných LDPE fólií byla biodegradace zpočátku poměrně výrazná, kdy za 200 dní bylo dosaženo $12,81 \pm 0,86$ % mineralizace u vzorku LDPE-1(40) a $12,75 \pm 0,63$ % u vzorku LDPE-1(80). Od toho okamžiku se produkce CO_2 snížila a po 432 dnech experimentu bylo celkově dosaženo $18,23 \pm 0,67$ % D_C u vzorku LDPE-1(40) a $18,31 \pm 1,07$ % D_C u LDPE-1(80).

Na obrázku (Obr. 27.) jsou znázorněny kyslíkové poměry v testovacích lahvích v průběhu experimentu. V počátečních fázích experimentu byl interval provzdušňování cca 1krát za 30 dní a byla překročena 6 % hranice koncentrace kyslíku v láhvi, která zaručuje aerobní podmínky v testovaném prostředí. Na základě této skutečnosti byl pro další měření zvolen kratší interval provzdušňování lahví (cca 1krát za 20 dnů).



Obr. 26. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce CO_2 - kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).



Obr. 27. Aktuální koncentrace O_2 v testovacích lahvách (kompostovací test u LDPE-1).

Na závěr můžeme říct, že z uvedených výsledků je patrný rozdíl mezi testováním vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) v prostředí půdy a vyžralého kompostu. V půdním prostředí byl u obou testovaných vzorků průběh biodegradace do 200. dne poměrně pomalý, od tohoto okamžiku byla sledována vyšší produkce CO₂. V prostředí vyžralého kompostu měl průběh biodegradace prakticky opačný charakter, kdy do 200. dne byla produkce uhlíku ve formě CO₂ poměrně vysoká a následně došlo k jejímu výraznému snížení.

Zajímavé také je, že v půdním prostředí byl zaznamenán rozdíl mezi testovanými vzorky, kdy za 432 dní experimentu bylo u LDPE-1(40) dosaženo 11,11 ± 0,43 % mineralizace a LDPE-1(80) byl zmineralizován z 13,98 ± 0,19 %. Zatímco při vyšší teplotě v prostředí vyžralého kompostu (58 ± 2°C) „dohnal“ vzorek abioticky oxidovaný 40 dní déle oxidovaný vzorek a u obou bylo po 432 dnech dosaženo cca 18 % mineralizace. V současné době nebyly testy ukončeny a stále se sleduje průběh biodegradace.

9.1.3 Výpočet obsahu organicky vázaného uhlíku v materiálu LDPE-1 z polyethylenu

Jak již bylo uvedeno v metodické části diplomové práce (viz. kap. 6.4) testovaný materiál LDPE-1 obsahuje 80 % polyethylenu, 15 % mletého vápence jako plniva a 5 % prooxidantů. Proto dosažené procento mineralizace může být ovlivněno rozkladem vápence a prooxidantů. Z toho důvodu byl proveden teoretický výpočet, kterým jsme se snažili kvantifikovat podíl PE na pozorované produkci uhlíku ve formě CO₂.

a) Výpočet obsahu uhlíku v jednotlivých složkách LDPE-1

Obsah uhlíku v polyethylenu - [CH₂-CH₂]_n

$$C_{PE} = \frac{2 \cdot M_w(C)}{M_w(PE)} \cdot 100 = \frac{2 \cdot 12,011}{28,0536} \cdot 100 = \underline{85,63 \%}$$

$M_w(C)$ molekulová hmotnost uhlíku [g.mol⁻¹]

$M_w(PE)$ molekulová hmotnost základní jednotky PE [g.mol⁻¹]

Obsah uhlíku ve vápenci - CaCO₃

$$C_{CaCO_3} = \frac{M_w(C)}{M_w(CaCO_3)} \cdot 100 = \frac{12,011}{100,0872} \cdot 100 = \underline{12,00 \%}$$

$M_w(C)$ molekulová hmotnost uhlíku [g.mol⁻¹]

$M_w(CaCO_3)$ molekulová hmotnost vápence [g.mol⁻¹]

Obsah uhlíku v prooxidantech

Složení aditiv s prooxidanty není přesně známo, v materiálu je přítomno 5 % tzv. „master mixu“, který obsahuje určitý podíl prooxidantů v PE matrici. Výrobce (Addiflex HE) uvádí, že prooxidanty obsahují 50-97 % polyethylenu.

Rozhodli jsme se, že budeme počítat pro nás s „nejhorší“ variantou, kdy prooxidanty budou obsahovat pouze 50 % PE a 50 % může být např. stearát manganatý. Množství polyethylenu z prooxidantů jsme přičetli k celkovému množství PE v testovaném materiálu, které tedy nakonec bylo 82,5 %. Stearát manganatý je materiál s vysokým podílem uhlíku, kde tento podíl je blízký obsahu uhlíku v PE. Proto byla pro výpočet obsahu uhlíku z prooxidantů použita molekulová hmotnost polyethylenu.

$$C_{Proox.} = \frac{M_w(C)}{M_w(PE)} \cdot 100 = \frac{2 \cdot 12,011}{28,0536} \cdot 100 = \underline{85,63 \%}$$

$M_w(C)$ molekulová hmotnost uhlíku [g.mol⁻¹]

$M_w(PE)$ molekulová hmotnost základní jednotky PE [g.mol⁻¹]

b) Výpočet celkové hmotnosti uhlíku ve vzorku LDPE-1

Za předpokladu, že testovaný vzorek LDPE-1 váží 100 g, pak obsahuje 82,5 g polyethylenu, 15 g vápence a 2,5 g „master mixu“ prooxidantu. Součinem hmotností složek a obsahu uhlíku ve složkách se vypočítá hmotnost uhlíku v jednotlivých složkách vzorku.

$$m_{PE} = 82,5 \cdot 0,8563 = \underline{70,645 \text{ g}}$$

$$m_{CaCO_3} = 15 \cdot 0,1200 = \underline{1,800 \text{ g}}$$

$$m_{Proox.} = 2,5 \cdot 0,8563 = \underline{2,141 \text{ g}}$$

m_{PE} hmotnost uhlíku v polyethyleny [g]

m_{CaCO_3} hmotnost uhlíku ve vápenci [g]

$m_{Proox.}$ hmotnost uhlíku v prooxidantu [g]

Z hmotností uhlíku v jednotlivých složkách se vypočte celková hmotnost uhlíku ve vzorku LDPE-1, ze které se vypočte procentuelní obsah uhlíku z jednotlivých složek materiálu.

$$m_{celk.} = 70,645 + 1,800 + 2,141 = \underline{74,586 \text{ g}}$$

$m_{celk.}$ celková hmotnost uhlíku ve vzorku [g]

c) Výpočet procentuelního obsahu uhlíku z jednotlivých složek LDPE-1

$$\%C_{PE} = \frac{m_{PE}}{m_{celk.}} \cdot 100 = \frac{70,645}{74,586} \cdot 100 = \underline{94,72 \%}$$

$$\%C_{CaCO_3} = \frac{m_{CaCO_3}}{m_{celk.}} \cdot 100 = \frac{1,800}{74,586} \cdot 100 = \underline{2,41 \%}$$

$$\%C_{Proox.} = \frac{m_{Proox.}}{m_{celk.}} \cdot 100 = \frac{2,141}{74,586} \cdot 100 = \underline{2,87 \%}$$

$\%C_{PE}$	obsah uhlíku v materiálu z polyethylenu	[%]
$\%C_{CaCO_3}$	obsah uhlíku v materiálu z vápence	[%]
$\%C_{Proox.}$	obsah uhlíku v materiálu z prooxidantu	[%]

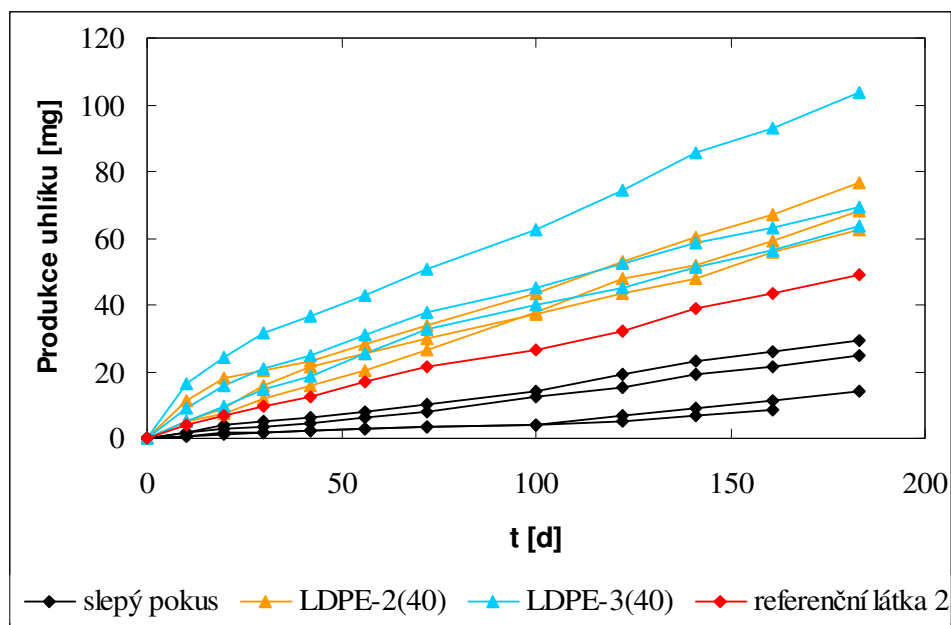
Z uvedených výpočtů vyplývá, že 94,72 % uhlíku v testovaném materiálu LDPE-1 pochází z polyethylenu, 2,41 % z vápence a 2,87 % z „master mixu“ prooxidantu. Ve skutečnosti by mohl být procentuelní obsah uhlíku z polyethylenu ještě o něco vyšší, protože „master mix“ prooxidantu obsahuje 50-97 % polyethylenu a my jsme počítali pro nás s „nejhorší variantou“ (pouze 50 % PE). Na základě provedených výpočtů můžeme téměř s jistotou tvrdit, že v obou testovaných biodegradačních prostředích (půda, vyžrálý kompost) je organicky vázaný uhlík z polyethylenu částečně mineralizován.

9.2 Biodegradační testy s LDPE-2, LDPE-3

9.2.1 Biodegradace v půdním prostředí

Biodegradačním testům v půdním prostředí byly podrobeny vzorky po abiotické oxidaci LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Inkubace byla provedena při 25°C ve tmě po dobu 183 dní. V současné době nebyl test ukončen, neboť biodegradace polyethylenu s prooxidanty je proces zdlouhavý, a proto se dá očekávat další odbourávání. Grafické vyhodnocení biodegradace v půdním prostředí u vzorků LDPE-2(40), LDPE-3(40) je znázorněno na obrázcích (Obr. 28 - 30.).

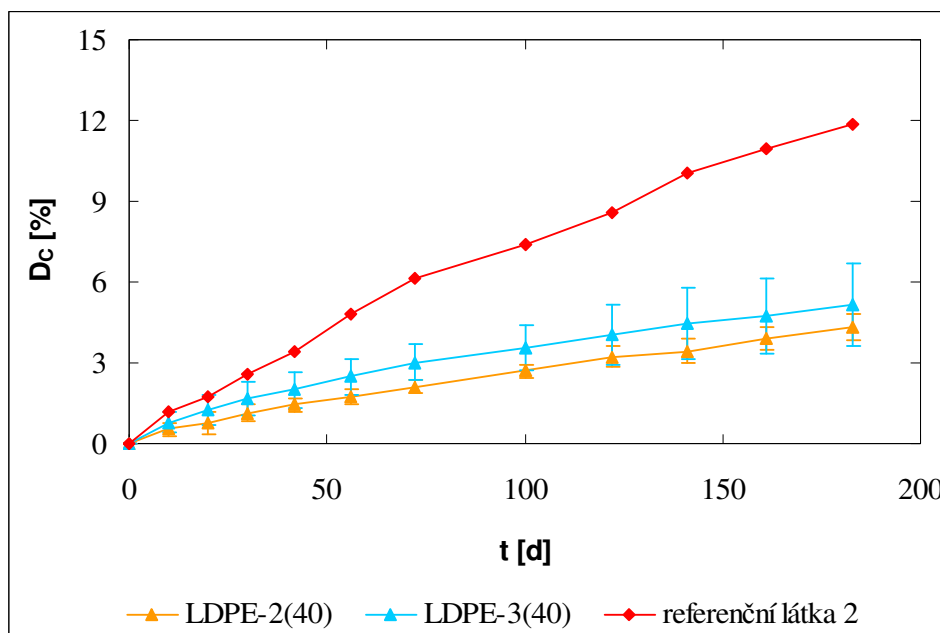
Na obrázku (Obr. 28.) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂ u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenční látky 2 (minerální olej). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a referenční látka pouze 1krát. V průběhu experimentu došlo k poškození 1 testovací láhve u slepých pokusů. Z toho důvodu byly slepé pokusy od 161. dne experimentu testovány pouze 3krát vedle sebe.



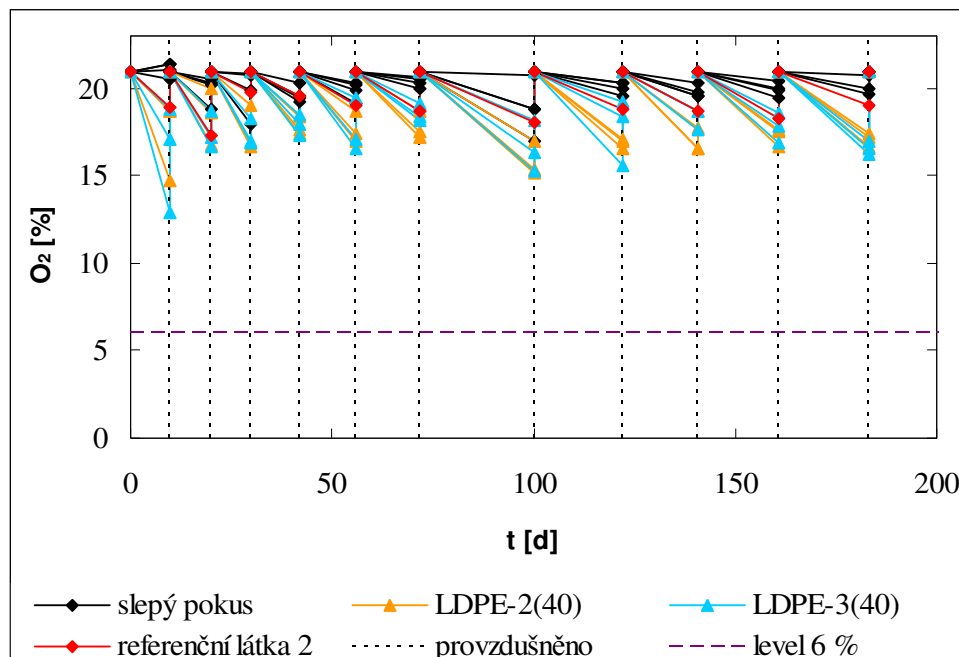
Obr. 28. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂ u LDPE-2,3 (půdní test).

Průběh odbourávání testovaných vzorků LDPE-2(40), LDPE-3(40) je znázorněn na obrázku (Obr. 29.). U referenční látky 2 (minerální olej) byla sledována poměrně pomalá mineralizace, kdy za 183 dní bylo dosaženo pouze 11,86 % D_c . Také u testovaných vzorků byla biodegradace velmi pomalá a po 183 dnech bylo dosaženo $4,34 \pm 0,50$ % mineralizace u vzorku LDPE-2(40) a $5,14 \pm 1,54$ % u LDPE-3(40).

Kyslíkové poměry v testovacích lahvích v průběhu experimentu jsou znázorněny na obrázku (Obr. 30.). Aby bylo v lahvích zachováno aerobní prostředí po celou dobu inkubace, bylo prováděno jejich provzdušňování (viz. kap. 7.4.2). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí (level 6 %) nebyla v případě biodegradace v půdním prostředí překročena.



Obr. 29. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-2,3 z hlediska produkce CO_2 - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).

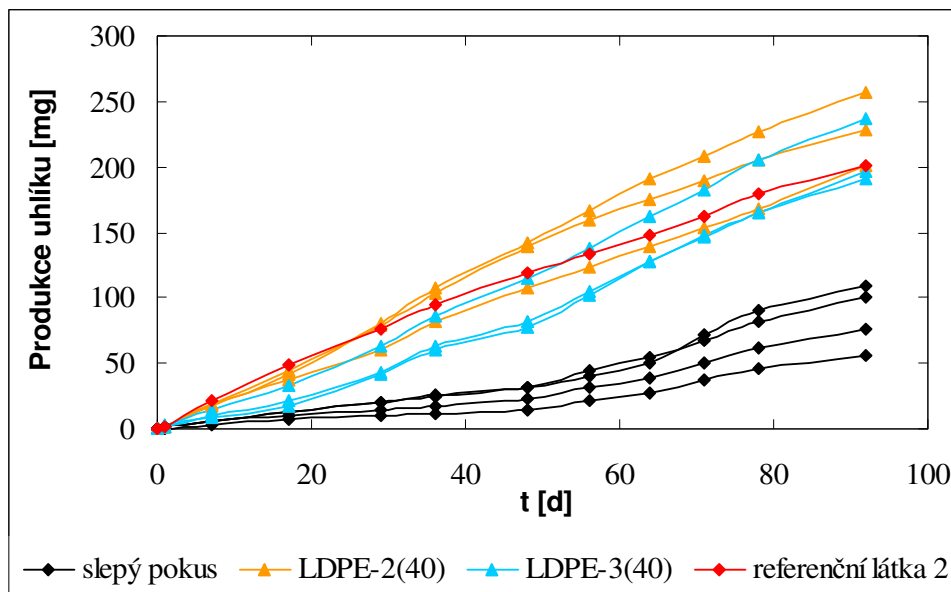


Obr. 30. Aktuální koncentrace O_2 v testovacích lahvách (půdní test u LDPE-2,3).

9.2.2 Biodegradace v prostředí vyzrálého kompostu

Biodegradačním testům v prostředí vyzrálého kompostu byly podrobeny vzorky po abiotické oxidaci LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Inkubace byla provedena při $58 \pm 2^\circ\text{C}$ ve tmě po dobu 92 dní. V současné době nebyl test ukončen, neboť biodegradace polyethylenu s prooxidanty je proces zdoluhavý, a proto se dá očekávat další odbourávání. Grafické vyhodnocení biodegradace v prostředí vyzrálého kompostu u LDPE-2(40), LDPE-3(40) je znázorněno na obrázcích (Obr. 31 - 33.).

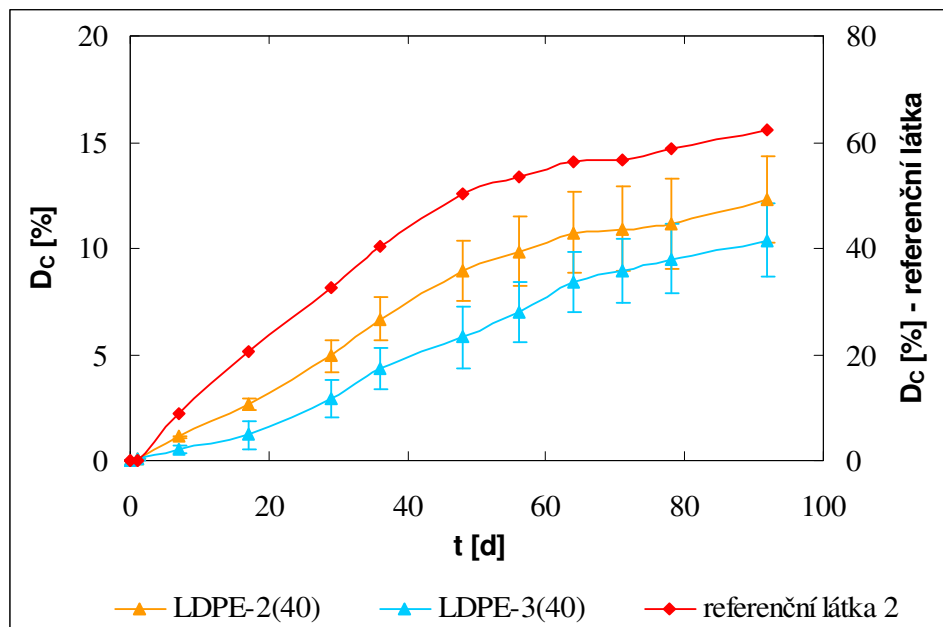
Na obrázku (Obr. 31.) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě CO_2 u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenční látky 2 (minerální olej). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a referenční látka pouze 1krát. Zajímavostí je, že se od 56. dne experimentu poměrně výrazně zvýšila produkce uhlíku u slepých vzorků.



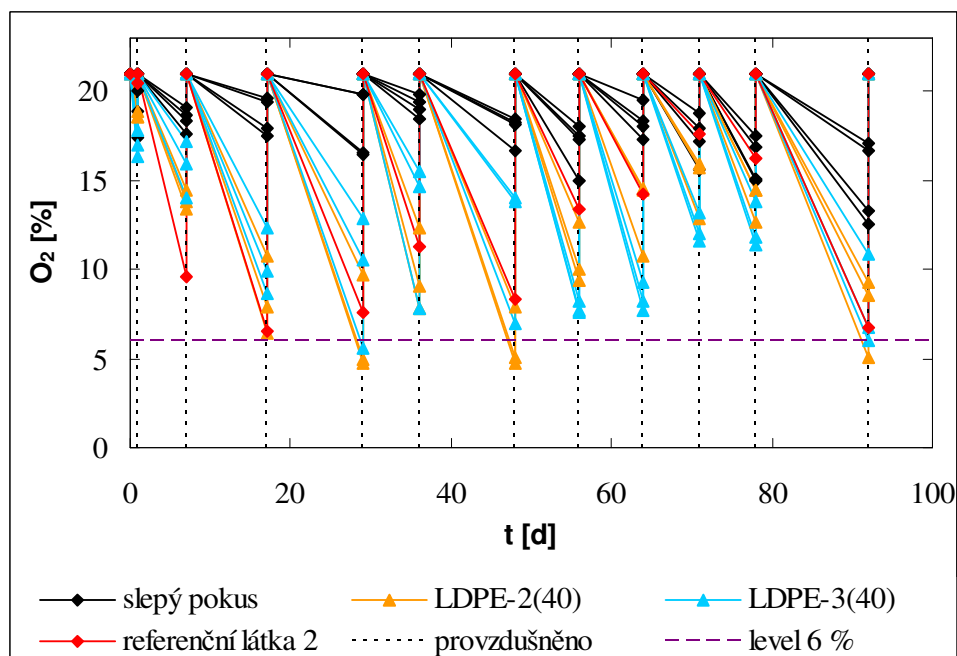
Obr. 31. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO_2 u LDPE-2,3 (kompostovací test).

Průběh odbourávání testovaných vzorků LDPE-2(40), LDPE-3(40) je znázorněn na obrázku (Obr. 32.). Na hlavní ose y je zobrazena stupnice D_c pro testované vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40), na vedlejší ose y je stupnice D_c pro referenční látku 2 (minerální olej). Z průběhu je patrná výrazně rychlejší mineralizace u referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy po 92 dnech inkubace bylo dosaženo 62,18 % biodegradace. Nicméně také u testovaných vzorků se průběh experimentu jeví nadějně, kdy po 92 dnech bylo dosaženo $12,28 \pm 2,03$ % mineralizace u LDPE-2(40) a $10,39 \pm 1,71$ % mineralizace u LDPE-3(40).

Na obrázku (Obr. 33.) jsou znázorněny kyslíkové poměry v testovacích lahvích v průběhu experimentu. V počátečních fázích experimentu byl interval provzdušňování cca 1krát za 14 dní a byla několikrát překročena hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí (level 6 %). Z toho důvodu byl pro následující měření zvolen kratší interval provzdušňování (cca 1krát za týden). Po 78 dnech experimentu byla hodnota O_2 v testovacích lahvích poměrně vysoká, a proto se opět přistoupilo k provzdušňování cca 1krát za 14 dní, ale zase došlo k překročení hranice.



Obr. 32. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-2,3 z hlediska produkce CO_2 - kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).



Obr. 33. Aktuální koncentrace O_2 v testovacích lahvách (kompostovací test u LDPE-2,3).

Na závěr můžeme říct, že z uvedených výsledků je patrný rozdíl mezi testováním vzorků LDPE-2(40), LDPE-3(40) v prostředí půdy a vyzrálého kompostu.

V půdním prostředí byla biodegradace velmi pomalá a za 183 dní experimentu bylo dosaženo $4,34 \pm 0,50 \% D_C$ u vzorku LDPE-2(40) a $5,14 \pm 1,54 \% D_C$ u LDPE-3(40). Z uvedeného by mohlo plynout, že testované vzorky jsou neperspektivní a jejich degradace v prostředí by trvala velmi dlouhou dobu. Nicméně, při biodegradačních testech vzorků LDPE-1 v půdním prostředí (viz. kap. 9.1.1) bylo také dosaženo mineralizace po 200 dnech cca 5 % a následně se produkce CO_2 zvýšila. Proto testy nebyly v současné době ukončeny a nadále se sleduje průběh biodegradace.

Mnohem nadějněji se jeví výsledky získané při biodegradačních testech v prostředí vyzrálého kompostu. Po 92 dnech experimentu bylo dosaženo $12,28 \pm 2,03 \% D_C$ u vzorku LDPE-2(40) a $10,39 \pm 1,71 \% D_C$ u LDPE-3(40). Procento mineralizace je dokonce vyšší ve srovnání s výsledky sledovanými při biodegradačních testech v prostředí vyzrálého kompostu vzorků LDPE-1 (viz. kap. 9.1.2), kde bylo získáno po 90 dnech cca 8 % mineralizace. Navíc vzorky LDPE-2 a LDPE-3 neobsahují žádná plniva, která by mohla ovlivnit procento dosažené mineralizace.

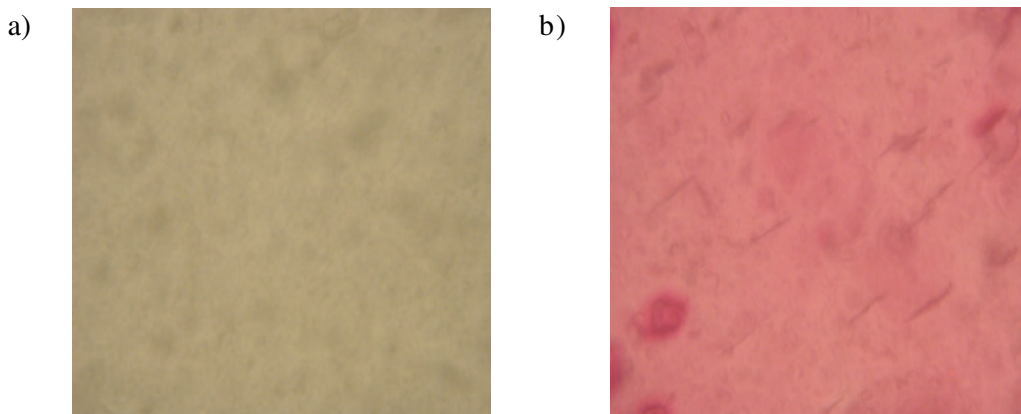
Zajímavostí také je, že při testování v půdním prostředí bylo lepších výsledků dosaženo u vzorku LDPE-3(40) ve srovnání s LDPE-2(40). Při testování v prostředí vyzrálého kompostu bylo naopak dosaženo vyšší procento mineralizace u vzorku LDPE-2(40) ve srovnání s LDPE-3(40). Vysvětlením by mohla být skutečnost, že v půdním prostředí byly získané hodnoty D_C tak nízké, že vyšší mineralizace u vzorku LDPE-3(40) je v rámci chyby měření.

9.3 Mikroskopie testovaných vzorků

9.3.1 Optická mikroskopie

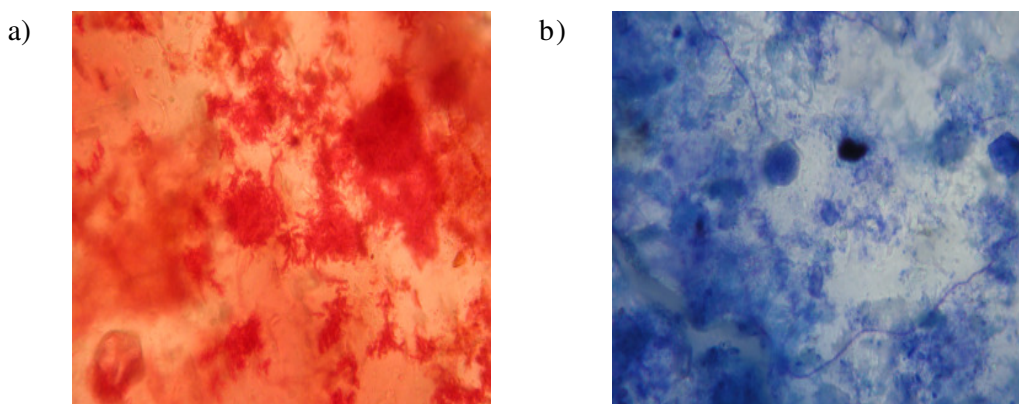
Optická mikroskopie byla provedena u původního vzorku LDPE-1, u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci a zejména u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80), které byly podrobeny biodegradačním testům v prostředí půdy a vyžralého kompostu. Mikroskopické pozorování bylo provedeno po zafixování a vybarvení vzorků LDPE (viz. kap. 7.6.1). Dokumentace byla provedena pomocí fotoaparátu umístěném na tubusu mikroskopu. Fotografie pořízené optickou mikroskopií jsou znázorněny na obrázcích (Obr. 34 - 38.). Snímky z mikroskopie dosahují vyšších kvalit v elektronické podobě, proto jsou na cd přiloženém k diplomové práci.

Dokumentace mikroskopického pozorování původního vzorku LDPE-1 a vzorku LDPE-1(80) po abiotické oxidaci je znázorněna na obrázku (Obr. 34.). Na fotografii původního vzorku LDPE-1 (Obr. 34 a), který nebyl po fixaci nabarven žádným barvivem, je vidět neporušený povrch materiálu. U vzorku LDPE-1(80) po abiotické oxidaci (Obr. 34 b) je již patrné značné poškození povrchu materiálu, což je dokumentováno přítomností prasklin. Pro jejich zvýraznění byly kousky PE po fixaci nabarveny karbolfuchsinem.



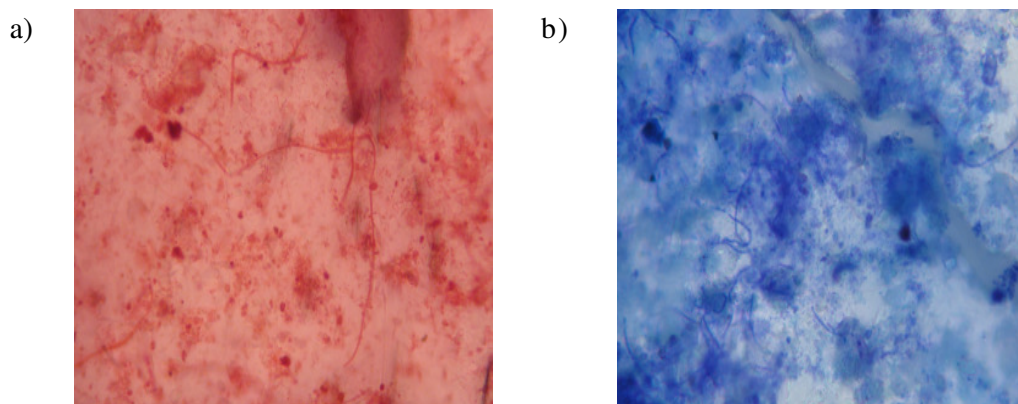
Obr. 34. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 (1000x zvětšené), a) původní LDPE-1, b) LDPE-1(80) po abiotické oxidaci - nabarveno karbolfuchsinem.

Na obrázku (Obr. 35.) je zobrazeno mikroskopické pozorování vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) podrobených biodegradaci v půdním prostředí. Po ukončení biodegradačních testů bylo z testovacích lahví odebráno několik kousků testovaných vzorků. Kousky LDPE-1(40) byly po fixaci nabarveny karbolfuchsinem (Obr. 35 a) a domníváme se, že na fotografii jsou vidět bakteriální shluky. Na fotografii (Obr. 35 b) jsou patrná bakteriální vlákna u vzorku LDPE-1(80), které byly po fixaci nabarveny methylenovou modří.



Obr. 35. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 po biodegradaci v půdním prostředí (1000x zvětšené), a) LDPE-1(40) - nabarveno karbolfuchsinem, b) LDPE-1(80) - nabarveno methylenovou modří.

Při mikroskopickém pozorování vzorků podrobených biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu nebyl mezi testovanými vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80) zaznamenán výrazný rozdíl. Na obrázku (Obr. 36.) je zobrazeno mikroskopické pozorování vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu. V prvním případě (Obr. 36 a) byly kousky LDPE nabarveny karbolfuchsinem, ve druhém případě (Obr. 36 b) methylenovou modří. Na obou fotografiích jsou viditelná bakteriální vlákna. Domníváme se, že by se mohlo jednat o grampozitivní bakterie patřící do skupiny aktinomycét. Z toho důvodu bylo u vzorků po biodegradaci v prostředí půdy a vyzrálého kompostu provedeno Gramovo barvení.

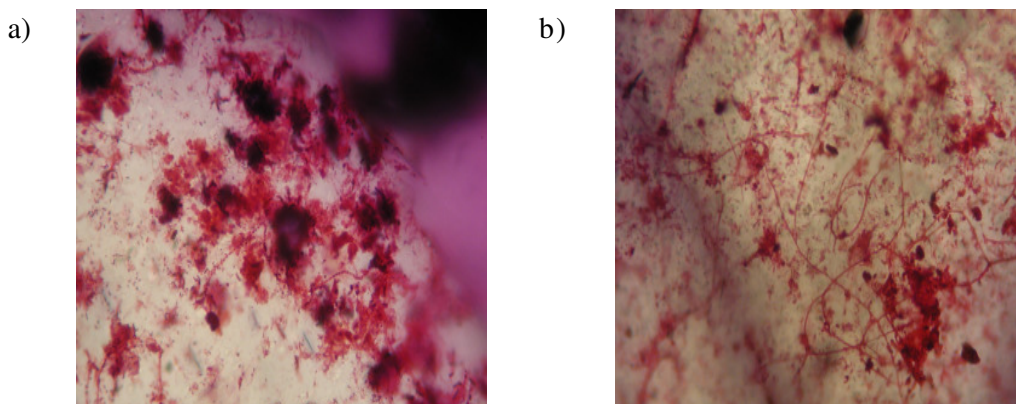


Obr. 36. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyžralého kompostu (1000x zvětšené), a) nabarveno karbolfuchsinem, b) nabarveno methylenovou modří.

Gramovo barvení rozlišuje gramnegativní a grampozitivní bakterie, které si i po působení rozpouštědel (ethanol) zachovají tmavě modré až fialové zbarvení.

V prvním případě bylo barvení provedeno přímo v mikrozkušnicích (viz. kap. 7.6.1) a nebylo dosaženo dobrých výsledků. Po prvním vymytí barviv ethanolem byly na snímcích z optické mikroskopie viditelné jehličky nedostatečně vymytých barviv. Proto byla část vzorků přenesena do nové mikrozkušnice a vymývání ethanolem se opakovalo. Poté však byla bakteriální vlákna rostoucí na povrchu PE nevýrazná a hůře viditelná (zřejmě došlo k nadměrnému vymytí barviv ethanolem).

Z toho důvodu bylo Gramovo barvení provedeno přímo na podložním sklíčku (viz. kap. 7.6.1), k němuž byly kousky LDPE po biodegradaci přilepeny průhlednou oboustranně lepící páskou. Bylo dosaženo lepších výsledků, kdy zejména u vzorků z vyžralého kompostu byly bakteriální vlákna velmi pěkně viditelná. Nicméně naše domněnka, že by se mohlo jednat o grampozitivní bakterie se zřejmě nepotvrdila, protože pozorované mikroorganismy měly povětšinou červené zbarvení. Snímky z Gramova barvení jsou znázorněny na obrázku (Obr. 37.).

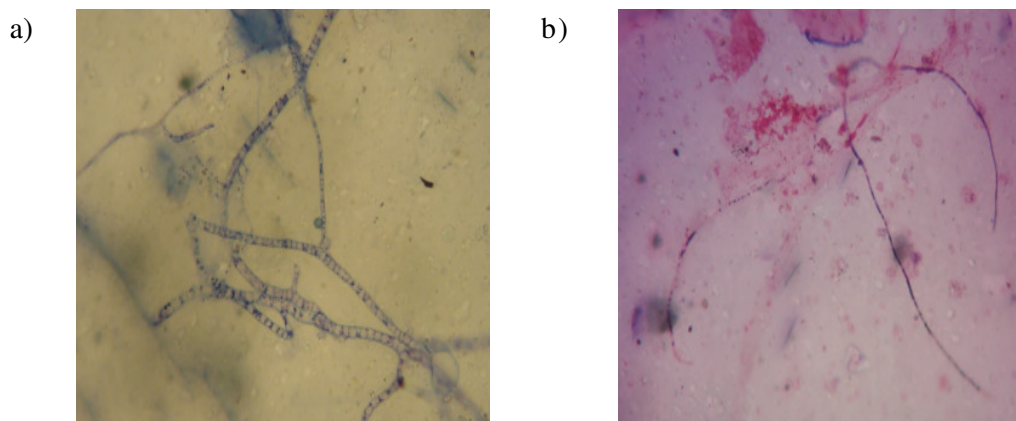


Obr. 37. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 - Gramovo barvení (1000x zvětšené), a) LDPE-1(80) po biodegradaci v půdním prostředí, b) LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu.

9.3.2 Pokus o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu PE

U vzorků LDPE-1(80) po abiotické oxidaci byl proveden experiment, kdy jsme se snažili o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu PE (viz. kap. 7.6.2). V průběhu pokusu jsme se snažili napodobit biodegradační prostředí při 25°C a 58 ± 2°C. Jako inokulum sloužilo několik kousků LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí půdy a vyzrálého kompostu. Kousky LDPE-1(80) po abiotické oxidaci byly před pokusem vysterilizovány UV zářením a spektroskopii v IČ oblasti bylo zjištěno, že sterilizací nedošlo k dalšímu zoxidování materiálu.

Po měsíční inkubaci bylo provedeno mikroskopické pozorování dokumentované pomocí fotoaparátu umístěném na tubusu mikroskopu (Obr. 38.). Testované vzorky byly po fixaci nabarveny karbolfuchsinem, methylenovou modří a bylo u nich provedeno Gramovo barvení. Zejména u vzorků inkubovaných při 25°C (inokulem kousky PE po biodegradaci v půdním prostředí) byla pozorována přítomnost mikroorganismů (Obr. 38.). Na prvním snímku (Obr. 38 a) byly vzorky nabarveny methylenovou modří a domníváme se, že by se mohlo jednat o vlákna plísní. Na druhém snímku (Obr. 38 b) bylo provedeno Gramovo barvení a jsou zde vidět bakteriální vlákna.

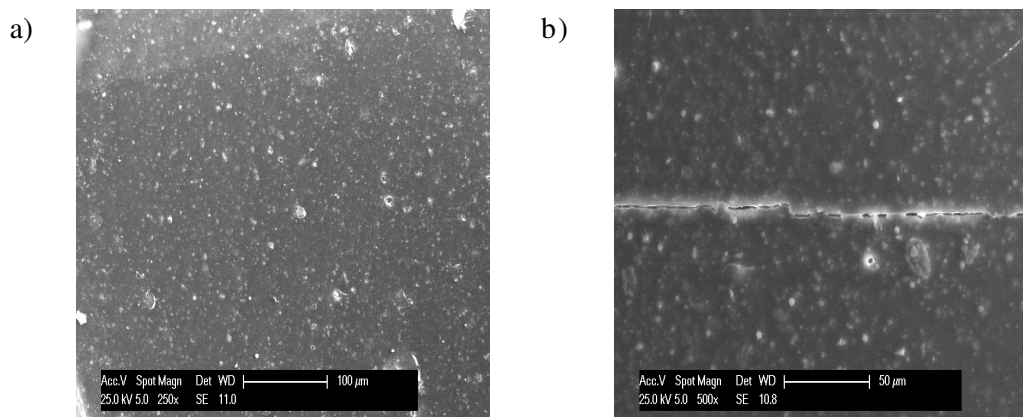


Obr. 38. Pokus o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu LDPE-1(80) po abiotické oxidaci (1000x zvětšené), a) nabarveno methylenovou modří, b) provedeno Gramovo barvení.

9.3.3 Skenovací elektronová mikroskopie

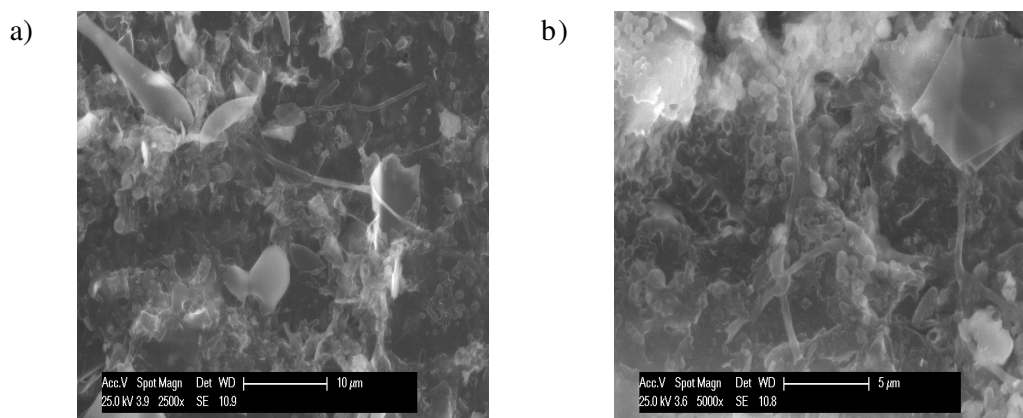
Elektronová mikroskopie byla provedena u původního vzorku LDPE-1, u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80) po abiotické oxidaci a zejména u vzorků LDPE-1(40), LDPE-1(80), které byly podrobeny biodegradačním testům v prostředí půdy a vyžralého kompostu. Fotografie pořízené elektronovou mikroskopií jsou znázorněny na obrázcích (Obr. 39 - 41.).

Fotografie z elektronové mikroskopie původního vzorku LDPE-1 a vzorku LDPE-1(80) po abiotické oxidaci jsou znázorněny na obrázku (Obr. 39.). Vzorky byly připraveny postupem uvedeným v kapitole 7.6.3. U vzorku LDPE-1(80) po abiotické oxidaci (Obr. 39 b) je opět patrné značné poškození povrchu materiálu, kde je vidět výrazná prasklina. Analýza byla provedena na elektronovém mikroskopu Philips XL-30 s rentgenovým spektrometrem.



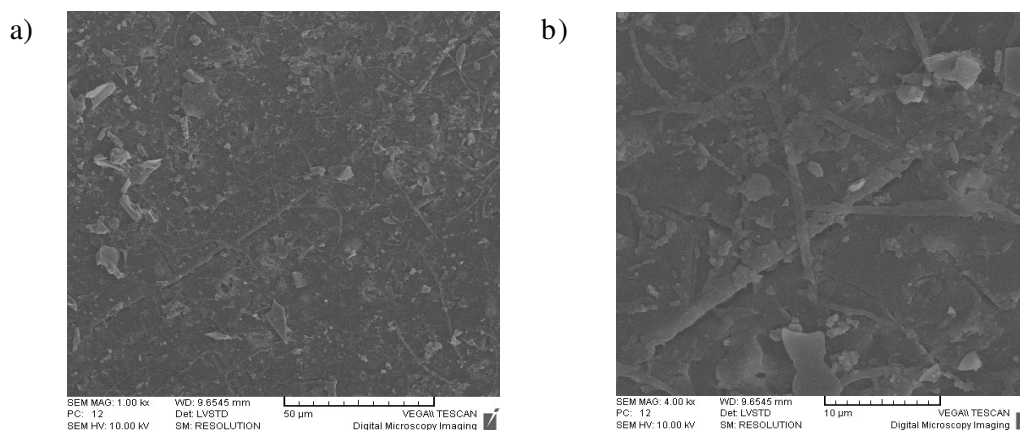
Obr. 39. Elektronová mikroskopie, a) původní LDPE-1 (250x zvětšené), b) LDPE-1(80) po abiotické oxidaci (500x zvětšené).

Na obrázku (Obr. 40.) jsou snímky z elektronové mikroskopie vzorků LDPE-1(40) po biodegradaci v půdním prostředí (Obr. 40 a) a v prostředí vyzrálého kompostu (Obr. 40 b). Vzorky byly opět připraveny postupem uvedeným v kapitole 7.6.3. Analýza byla provedena na elektronovém mikroskopu Philips XL-30. Na obou fotografiích jsou vidět bakteriální vlákna a šupinky materiálu naznačující jeho značné rozrušení. Na snímcích je však spousta dalších těžko identifikovatelných částic, které mohly vzniknout při přípravě vzorků na SEM.



Obr. 40. Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(40) po biodegradaci, a) v půdním prostředí (2500x zvětšené), b) v prostředí vyzrálého kompostu (5000x zvětšené).

Z toho důvodu byla provedena optimalizace přípravy vzorků na SEM, kde byly vzorky připraveny třemi různými způsoby (viz. kap. 7.6.4). Společným znakem bylo naprášení vzorků zlatem před vlastní analýzou. Pouze v prvním případě, kdy vzorky nebyly po vysušení na terčících již nijak upravovány, bylo dosaženo celkem zajímavých výsledků. Na obrázku (Obr. 41.) jsou znázorněny snímky z elektronové mikroskopie vzorků LDPE-1(80) podrobených biodegradaci v prostředí vyžralého kompostu. Na obou fotografiích jsou viditelná bakteriální vlákna při různém zvětšení. Na obrázku (Obr. 41 b) jsou patrné také jednotlivé buňky a jejich řetízky. Analýza byla provedena na elektronovém mikroskopu VEGA LMU od firmy Tescan.



Obr. 41. Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyžralého kompostu, a) 1000x zvětšené, b) 4000x zvětšené.

Když byla u vzorků po vysušení na terčících provedena dehydratace ethanolem (postup B), nebo fixace vodným roztokem OsO_4 a poté dehydratace ethanolem (postup C), nebylo dosaženo dobrých výsledků. Na snímcích z elektronové mikroskopie byly patrné nežádoucí artefakty vzniklé zřejmě při přípravě vzorků.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo sledovat průběh abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty a metody hodnotící její výsledky (spektroskopie v IČ oblasti, zkoušky mechanické pevnosti a gelová permeační chromatografie). V další části práce byl sledován biologický rozklad oxidovaného PE s prooxidanty v prostředí půdy a vyzrálého kompostu. Biodegradace byla hodnocena na základě měření produkce CO₂ metodou plynové chromatografie.

Abiotická oxidace byla provedena u testovaných materiálů LDPE-2, LDPE-3 při různých teplotách (60, 70, 80°C). Průběh růstu karbonylového indexu byl při všech teplotách stejného charakteru. Na počátku experimentu k oxidaci testovaných materiálů nedocházelo, což bylo zřejmě způsobeno přítomností stabilizátorů, které jsou v PE běžně přítomny a po vyčerpání jejich antioxidační kapacity došlo k prudkému nárůstu karbonylového indexu. Bylo pozorováno, že se zvyšující se teplotou termooxidace roste rychlost a míra oxidace materiálu. Vliv stabilizátorů byl pozorován také při zkouškách mechanické pevnosti. Testované materiály si na počátku termooxidace zachovaly své mechanické vlastnosti a po určité době, kdy byla antioxidační kapacita polymeru vyčerpána, došlo k rychlým ztrátám mechanické pevnosti. Cílem výrobců je připravit materiál, který by si zachoval v průběhu spotřeby užité vlastnosti, které by následně rychle ztratil a došlo by k jeho rozpadu. A proto je snaha o nalezení kompromisu mezi stálostí a degradovatelností polyethylenu v prostředí.

Při sledování aerobní biodegradace s testovaným materiálem LDPE-1 bylo dosaženo zajímavých výsledků. Vzorky byly termooxidovány po dobu 40 a 80 dní při teplotě 70°C do různého oxidačního stupně. V půdním prostředí bylo za 432 dní dosaženo $11,11 \pm 0,43$ % mineralizace u vzorku LDPE-1(40) a $13,98 \pm 0,19$ % u LDPE-1(80). V podmínkách vyzrálého kompostu bylo dosažené procento mineralizace ještě vyšší, kdy byl po 432 denní inkubaci vzorek LDPE-1(40) zmineralizován z $18,23 \pm 0,67$ % a LDPE-1(80) byl odbourán z $18,31 \pm 1,07$ %.

Materiál LDPE-1 obsahuje 15 % vápence a 5 % prooxidantů, a proto dosažené procento mineralizace může být ovlivněno rozkladem těchto složek. Z toho důvodu byl proveden výpočet, kterým jsme se snažili kvantifikovat podíl polyethylenu na pozorované produkci uhlíku ve formě CO₂. Zjistili jsme, že téměř 95 % uhlíku v testovaném materiálu LDPE-1 pochází právě z polyethylenu. Na základě dosažených procent biodegradace můžeme s jistotou tvrdit, že organicky vázaný uhlík je v prostředí vyžralého kompostu i půdy částečně mineralizován.

Při biodegradačních testech s druhou sadou vzorků (LDPE-2, LDPE-3) se opět jeví nadějněji výsledky z kompostu. Materiály byly termooxidovány po dobu 40 dní při teplotě 70°C. V půdním prostředí bylo za 183 dní dosaženo $4,34 \pm 0,50$ % mineralizace u LDPE-2(40) a $5,14 \pm 1,54$ % u LDPE-3(40). V podmínkách vyžralého kompostu byl po 92 denní inkubaci vzorek LDPE-2(40) zmineralizován z $12,28 \pm 2,03$ % a LDPE-3(40) byl odbourán z $10,39 \pm 1,71$ %.

Můžeme tedy tvrdit, že zejména v prostředí modelového kompostu byly testované materiály poměrně uspokojivě biodegradovány a v budoucnu by mohly být perspektivním řešením problémů spojených s plastovým odpadem. Je však třeba si uvědomit, že při pokusech byla vyšší teplota potřebná k činnosti termofilních mikroorganismů uměle udržována. Avšak v reálných kompostovacích podmínkách setrvává materiál při podobně vysokých teplotách řádově pouze dny. Další degradace by pak probíhala již za nižších teplot a tedy patrně pomaleji. Účelem našich experimentů však prozatím není modelovat reálné podmínky, ale zkoumat, zda je materiál vůbec potenciálně degradabilní.

Biologický rozklad polyethylenu s prooxidanty je proces velmi zdoluhavý a není zcela objasněn. Mezi dosud nevyřešené otázky bezesporu patří, zda se mikroorganismy přímo či nepřímo účastní na štěpení polymerního řetězce, případně o jaké skupiny mikroorganismů a enzymových systémů se jedná. Proto jsou další výzkumy časového rámce a mechanismu biodegradace nezbytné.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Technický týdeník: *O celosvětovém trhu plastů ve světě příprav na veletrh K 2007*. [on-line]. [cit. 2008-04-28]. Dostupný z [www: http://www.techtydenik.cz/detail.php?action=show&id=2839&mark=](http://www.techtydenik.cz/detail.php?action=show&id=2839&mark=)
- [2] Kratochvíl B., Švorčík V., Vojtěch D.: *Úvod do studia materiálů*, VŠCHT Praha 2005, ISBN 80-7080-569-4.
- [3] *U.S. Environmental Protection Agency*. [on-line]. [cit. 2007-12-21]. Dostupný z [www: <http://www.epa.gov/>](http://www.epa.gov/).
- [4] Kuřitka I., Slobodian P.: *Recyklace polyolefinů*, přednáška k předmětu Recyklace a zneškodňování tuhých odpadů, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 2007.
- [5] Kuřitka I., Slobodian P., Saha N.: *Recyklace a zneškodňování tuhých odpadů*, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 2006, str. 20-21.
- [6] Chiellini E., Corti A., D'Antone S.: *Oxo-biodegradable carbon backbone polymers - Oxidative degradation of polyethylene under accelerated test conditions*, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), pg. 2739-2747
- [7] Honzík R.: *Plasty se zkrácenou životností a způsoby jejich degradace* [on-line]. [cit. 2007-12-21]. Dostupný z [www: <http://biom.cz/index.Shtml?x=194542>](http://biom.cz/index.Shtml?x=194542).
- [8] Chiellini E., Gil H., Braunegg G., Bochert J., Galenholm P., Van Der Zee M.: *Biorelated Polymers: Sustainable Polymer Science and Technology*, Springer 2001, ISBN: 030646652X.
- [9] Palmisano A. C., Pettigrew Ch. A.: *Biodegradability of Plastics – Consistent methods for testing claims of biodegradability need to be developed*, *Bioscience*, Oct 1992; Vol. 42, No. 9; pg. 680-685.
- [10] Davis G., Bulson H., Harrison D.: *The Performance of Degradable Polymer Bags*, *Macromol.Symp.* (2003), Vol. 197, pg. 265-276.
- [11] Mleziva J.: *Polymery - výroba, struktura, vlastnosti a použití*. Praha 1993, SOBOTÁLES, str. 20-36.
- [12] Rybníkář F.: *Makromolekulární chemie II.*, Vysoké učení technické v Brně, fakulta technologická 1987, str. 16-23.

- [13] *Integrovaná prevence a omezování znečištění (IPPC)*. [on-line]. [cit. 2007-11-07]. Dostupný z www: <<http://www.ippc.cz/soubory/polymery2/index.html>>.
- [14] *Mulčování půdy*. [on-line]. [cit. 2008-02-27]. Dostupný z www: <http://www.zahradkari.cz/kalendarium/04_08_mulcovani.htm>.
- [15] Wang. Y.-Z., Yang K.-K., Wang X.-L., Zhou Q., Zheng Ch.-Y., Chen Z.-F.: *Agricultural Application and Environmental Degradation of Photo-Biodegradable Polyethylene Mulching films*, Journal of Polymers and the Environment (2004), pg. 7-10.
- [16] Kyrikou I., Briassoulis D.: *Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A Critical Review*, Journal of Polymers and the Environment (2007), pg. 125-150.
- [17] *North Florida Research and Education Center - Suwannee Valley*, [on-line]. [cit. 2008-02-27]. Dostupný z www: <http://nfrecsv.ifas.ufl.edu/photo_f-veg.htm>.
- [18] Kalus J.: *Oxo-Degradable Polyethylene Films*, UTB ve Zlíně, fakulta technologická, diplomová práce 2007.
- [19] Chiellini E., Corti A., Shift G.: *Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes*, Polymer Degradation and Stability 81 (2003), pg. 341-351.
- [20] Koutny M., Lemaire J., Delort A.-M.: *Biodegradation of polyethylene with prooxidant additives*, Chemosphere 64 (2006), pg. 1243-1252.
- [21] Scott G., Wales D. M.: *Programmed-Life Plastics from Polyolefins: A new look at Sustainability*, Biomacromolecules 2001, Vol. 2, No. 3, pg. 615-622.
- [22] Jakubowicz I.: *Evaluation of rate of abiotic degradation of biodegradable polyethylene in various environments*, Polymer Degradation and Stability 91 (2006), pg. 1556-1562.
- [23] *EPI Environmental Products* [on-line]. [cit. 2007-12-25]. Dostupný z www: <<http://www.epi-global.com>>.
- [24] *Symphony Environmental Technologies* [on-line]. [cit. 2007-12-25]. Dostupný z www: <<http://www.degradable.net>>.

- [25] Slejška A.: *Oxo-rozložitelný plast d2w* [on-line]. [cit. 2007-11-07]. Dostupný z www: <<http://www.biom.cz/index.shtml?x=189715-72k>>.
- [26] *Granitol a.s.* [on-line]. [cit. 2007-12-25]. Dostupný z www: <<http://www.granitol.cz>>.
- [27] Khabbaz F., Albertsson A.-Ch., Karlsson S.: *Chemical and morfological changes of environmentally degradable polyethylene films exposed to thermooxidation*, *Polymer Degradation and Stability* (1999), pg. 127-138.
- [28] Burman L., Albertsson A.-N.: *Chromatographic fingerprinting - a tool for clasification and for predicting the degradation state of degradable polyethylene*, *Polymer Degradation and Stability* 89 (2005), pg. 50-63.
- [29] Albertsson A-Ch., Karlsson S.: *Environment-adaptable polymers*, *Polymer Degradation and Stability* 41 (1993), pg. 345-349.
- [30] Karlsson S., Albertsson A.-Ch.: *Biodegradable polymers and Environmental Interaction*, *Polymer Engineering and Science* (1995), pg. 1251-1253.
- [31] Koutny M., Sancelme M., Dabin C. et al.: *Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives*, *Polymer Degradation and Stability* 91 (2006), pg. 1495-1503.
- [32] Jakubowicz I.: *Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE)*, *Polymer Degradation and Stability* 80 (2003), pg. 39-43.
- [33] Zheng Y., Yanful E. K., Bassi A. S.: *A review of Plastic Waste Biodegradation, Critical Reviews in Biotechnology* (Oct-Dec 2005), pg. 243-250.
- [34] Albetrsson A.-Ch., Karlsson S.: *Aspects of Biodegradation of Inert and Degradable Polymers*, *International Biodeterioration and Biodegradation* 31 (1993), pg. 161-170.
- [35] Pometlo A. L., Lee B. T., Johnson K. E.: *Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by Streptomyces species*, *Appl. Environ. Mikrob.* (1992), pg. 731-733.

- [36] Albertson A.-Ch., Barenstedt C., Karlsson S., Lindberg T.: *Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene*, Polymer 36, pg. 3075-3083.
- [37] Chiellini E., Corti A., Miertus S., Hemjinda S., Mrzán A.: *Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics*, Polymer Degradation and Stability 91 (2006), pg. 2819-2833.
- [38] Slejška A.: *Testování biodegradability* [on-line]. [cit. 2008-01-31]. Dostupný z www: <http://stary.biom.cz/clen/as/biodegr_test.html>.
- [39] ASTM D 6954-04: *Standard Guide for Exposing and Testing Plastics that Degrade in the Environment by a Combination of Oxidation and Biodegradation*¹.
- [40] Červenková A.: *Bakteriální degradace polyethylenu s prooxidanty*, UTB ve Zlíně, fakulta technologická, diplomová práce 2007.
- [41] Houser J., Novotný L.: *Laboratorní cvičení ze speciálních metod instrumentální analýzy II*, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 2002, str. 76-95.
- [42] Houser J.: *Laboratorní cvičení ze speciálních metod instrumentální analýzy I*, VUT v Brně, Fakulta technologická ve Zlíně 2000, str. 17-27.
- [43] Chiellini E., Corti A., D'Antone S., Billingham N. C.: *Microbial biomass yield and turnover in soil biodegradation tests: carbon substrate effects*, J Polym Environ (2007), pg. 169-178.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ASTM	American Society for Testing and Materials
CI	Karbonylový index
d ₂ w TM	Prooxidantní Aditiva (Symphony Environmental Technologies)
Da	Dalton (jednotka molekulové hmotnosti)
<i>D_c</i>	Procentuelní mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO ₂
EDP	Environmentálně degradabilní polymery a plasty
FTIR	Infračervená spektroskopie pomocí Fourierovy transformace
GC	Plynově chromatografická analýza
HDPE	Vysokohustotní polyethylen
IČ	Infračervená
LDPE	Nízkohustotní polyethylen
<i>m_{(k)C}</i>	Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO ₂
MF	Mulčovací fólie
MM	Minerální médium
NDIR	Nedisperzní infračervený detektor
PE	Polyethylen
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
TC	Celkový uhlík
TCD	Tepelně vodivostní detektor
TDPA TM	Prooxidantní Aditiva (EPI Environmental Technologies)
UV	Ultrafialový
XRF	Rentgenofluorescenční analýza

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.	Hmotnostní a objemové zastoupení složek pevného odpadu vyprodukovaného v USA v roce 2006 [3].	13
Obr. 2.	Cesta kompletní biodegradace polymerních materiálů [9].	16
Obr. 3.	Molekulární struktura polyethylenu, a) LDPE, b) HDPE [13].	17
Obr. 4.	Polyethylenová mulčovací fólie na polích na Floridě [17]. ...	19
Obr. 5.	Polyethylenové filmy bez (vlevo) a s (vpravo) TDPA TM před (horní) a po (dolní) 10 měsíční inkubaci na skládce odpadů [23].	22
Obr. 6.	Mechanismus abiotické oxidace PE s prooxidanty [20].	23
Obr. 7.	Křivky rozložení molekulové hmotnosti u HDPE fólie. (A) původní materiál, (B) po abiotické oxidaci [31].	24
Obr. 8.	Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE s prooxidanty TDPA TM , a) termooxidace při 55°C, b) termooxidace při 70°C [6].	26
Obr. 9.	Možný mechanismus biodegradace PE s prooxidanty [20].	27
Obr. 10.	Možné způsoby testování biodegradability polymerů [38].	30
Obr. 11.	Schéma testování oxo-biodegradabilních materiálů podle normy ASTM D 6954-04 [39].	32
Obr. 12.	Ukázka testovací láhve.	47
Obr. 13.	FTIR spektra u vzorku LDPE-2 oxidovaného při 70°C.	60
Obr. 14.	FTIR spektra u vzorku LDPE-3 oxidovaného při 70°C.	60
Obr. 15.	Abiotická oxidace vzorku LDPE-2 při různých teplotách (vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají věrodatné odchylce).	61
Obr. 16.	Abiotická oxidace vzorku LDPE-3 při různých teplotách (vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají věrodatné odchylce).	62
Obr. 17.	Vliv teploty termooxidace na rychlost ztráty mechanické pevnosti vzorku LDPE-2 (vynesené body jsou průměrem většinou ze 4 bodů a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).	64

Obr. 18. Vliv teploty termooxidace na rychlost ztráty mechanické pevnosti vzorku LDPE-3 (vynesené body jsou průměrem většinou ze 4 bodů a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).	65
Obr. 19. Vztah mezi CI a pevností v tahu u termooxidovaného LDPE-2 při 70°C (vynesené body jsou průměrem většinou ze 2 a 4 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce). ..	66
Obr. 20. Vztah mezi CI a pevností v tahu u termooxidovaného LDPE-3 při 70°C (vynesené body jsou průměrem většinou ze 2 a 4 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce). ..	66
Obr. 21. Rozložení molekulové hmotnosti u vzorků LDPE-1.	67
Obr. 22. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO ₂ u LDPE-1 (půdní test).	69
Obr. 23. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce CO ₂ - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).	70
Obr. 24. Aktuální koncentrace O ₂ v testovacích lahvích (půdní test u LDPE-1).	70
Obr. 25. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO ₂ u LDPE-1 (kompostovací test).	71
Obr. 26. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce CO ₂ - kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce). ..	73
Obr. 27. Aktuální koncentrace O ₂ v testovacích lahvích (kompostovací test u LDPE-1).	73
Obr. 28. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO ₂ u LDPE-2,3 (půdní test).	78
Obr. 29. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-2,3 z hlediska produkce CO ₂ - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).	79
Obr. 30. Aktuální koncentrace O ₂ v testovacích lahvích (půdní test u LDPE-2,3).	80

Obr. 31. Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO ₂ u LDPE-2,3 (kompostovací test).	81
Obr. 32. Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-2,3 hlediska produkce CO ₂ - kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají směrodatné odchylce).	82
Obr. 33. Aktuální koncentrace O ₂ v testovacích lahvích (kompostovací test u LDPE-2,3).	82
Obr. 34. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 (1000x zvětšené), a) původní LDPE-1, b) LDPE-1(80) po abiotické oxidaci - nabarveno karbolfuchsinem.	84
Obr. 35. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 po biodegradaci v půdním prostředí (1000x zvětšené), a) LDPE-1(40) - nabarveno karbolfuchsinem, b) LDPE-1(80) - nabarveno methylenovou modří.	85
Obr. 36. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyizr. kompostu (1000x zvětšené), a) nabarveno karbolfuchsinem, b) nabarveno methylenovou modří.	86
Obr. 37. Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 - Gramovo barvení, a) LDPE-1(80) po biodegradaci v půdním prostředí, b) LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu.	87
Obr. 38. Pokus o izolaci mikroorganismů rostoucích na povrchu LDPE-1(80) po abiotické oxidaci (1000x zvětšené), a) nabarveno methylenovou modří, b) provedeno Gramovo barvení.	88
Obr. 39. Elektronová mikroskopie, a) původní LDPE-1 (250x zvětšené), b) LDPE-1(80) po abiotické oxidaci (500x zvětšené).	89
Obr. 40. Elektronová mikroskopie LDPE-1(40) po biodegradaci, a) v půdním prostředí (2500x zvětšené), b) v prostředí vyzrálého kompostu (5000x zvětšené).	89
Obr. 41. Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu, a) 1000x zvětšené, b) 4000x zvětšené.	90

SEZNAM TABULEK

Tab. I.	Množství vyprodukovaných plastových odpadů v letech 1960 až 2006 v USA (v tisících tun a v procentech z celkové produkce odpadů) [3].	12
Tab. II.	Množství recyklovaného plastového odpadu v letech 1960 až 2006 v USA (v tisících tun a v procentech z celkové produkce plast. odpadu) [3].	14
Tab. III.	Charakteristické vlastnosti LDPE a HDPE [12].	18
Tab. IV.	Kovy v testovaných vzorcích LDPE.	41
Tab. V.	Obsah celkového uhlíku u testovaných LDPE fólií, referenčních látek a použitých substrátech.	42
Tab. VI.	Obsah dusíku a fosforu v substrátech.....	44
Tab. VII.	Parametry měření na plynovém chromatografu Chrom 5.	51
Tab. VIII.	Parametry měření na GC Agilent 7890.	52

EVIDENČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

<i>Místo uložení práce :</i> Ústřední knihovna UTB ve Zlíně
<i>Autor práce :</i> Bc. Pavel Gerych
<i>Název práce :</i> Biodegradace polyethylenu s prooxidanty Biodegradation of polyethylene with prooxidants
<i>Vedoucí práce :</i> doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
<i>Vysoká škola (název a adresa) :</i> Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Mostní 5139, 760 01 Zlín Fakulta technologická, nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
<i>Rok obhájení práce :</i> 2008
<i>Počet stran, obrázků, tabulek :</i> 101, 41, 8.
<i>Předmětová hesla :</i> česky: polyethylen, prooxidanty, abiotická oxidace, biodegradace. anglicky: polyethylene, prooxidants, abiotic oxidation, biodegradation.
Souhrn <p>Cílem diplomové práce bylo sledovat průběh abiotické oxidace a biodegradace polyethylenu s prooxidanty v prostředí půdy a vyžralého kompostu. Biodegradace byla sledována stanovením plyných produktů procesu metodou plynové chromatografie. V rámci diplomové práce byly testovány tři typy LDPE fólií s prooxidanty.</p> <p>První sadu vzorků tvořily LDPE-1 fólie s prooxidanty na bázi manganu a s obsahem 15 % vápence jako plniva. Vzorky byly nejprve podrobeny urychlenému stárnutí pomocí termooxidace při 70°C po dobu 40 a 80 dní. Po 432 denní biodegradaci v půdním prostředí bylo dosaženo 11,11 % mineralizace u vzorku LDPE-1(40) a 13,98 % u LDPE-1(80). V případě kompostovacích podmínek bylo za 432 dní dosaženo 18,23 % mineralizace u LDPE-1(40) a 18,31 % u LDPE-1(80). Vzorky byly po biodegradaci podrobeny optické a elektronové mikroskopii. Mikroskopické techniky prokázaly přítomnost mikroorganismů na povrchu zkoumaných materiálů.</p> <p>Druhou sadu vzorků tvořily LDPE-2, LDPE-3 fólie o neznámém složení prooxidantů. Vzorky byly nejprve podrobeny urychlenému stárnutí pomocí termooxidace při 70°C po dobu 40 dní. Po 183 denní biodegradaci v půdním prostředí bylo dosaženo 4,34 % mineralizace u vzorku LDPE-2(40) a 5,14 % u LDPE-3(40). V případě kompostovacích podmínek bylo za 92 dní dosaženo 12,28 % mineralizace u LDPE-2(40) a 10,39 % u LDPE-3(40).</p>
Abstract <p>The main goal of the diploma thesis was to monitor processes of abiotic oxidation and biodegradation of polyethylene containing prooxidants in soil and mature compost</p>

environments. Biodegradation was followed by gas chromatography determination of gaseous products. Three types of LDPE films containing prooxidants were investigated.

The first set of samples consisted of LDPE-1 films with manganese based prooxidants and with 15 % of calcite as filler. The samples were first subjected to accelerated aging by thermooxidation for 40 and 80 days at 70°C. After 432 days of biodegradation the values of mineralization were about 11,11 % for sample LDPE-1(40) and about 13,98 % for LDPE-1(80) in the soil test and about 18,23 % for sample LDPE-1(40) and 12,31 % for LDPE-1(80) in the compost test. The samples were monitored by optical and electron microscopy after biodegradation. The employed techniques proved the presence of microorganisms on the surface of the materials.

The second set of samples included LDPE-2, LDPE-3 films containing prooxidants with unknown composition. The samples were first subjected to accelerated aging by thermooxidation for 40 days at 70°C. After 183 days of biodegradation the values of mineralization were about 4,34 % for LDPE-2(40) and about 5,14 % for LDPE-3(40) in the soil test. After 92 days of biodegradation the values of mineralization were about 12,28 % for LDPE-2(40) and about 10,39 % for LDPE-3(40) in the compost test.