

# **Studium biodegradace polyethylenu s novými kombinacemi prooxidantů**

Bc. Zdeňka Končáková

---

Diplomová práce  
2009

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně**

**Fakulta technologická**

**Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí**

**akademický rok: 2008/2009**

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

**(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)**

**Jméno a příjmení: Bc. Zdeňka KONČÁKOVÁ**

**Studijní program: N 2808 Chemie a technologie materiálů**

**Studijní obor: Inženýrství ochrany životního prostředí**

**Téma práce: Studium biodegradace polyethylenu s novými kombinacemi prooxidantů**

**Zásady pro vypracování:**

- 1. Studovat postup biodegradace u nových vzorků oxidovaného polyethylenu.**
- 2. Dokončit studium kinetiky termooxidace vzorku PE Granitol.**
- 3. Pokusit se zhodnotit vybrané vzorky metodami optické a elektronové mikroskopie.**
- 4. Provést literární rešerši a zpracovat výsledky experimentů do formy DP.**

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

**DP Pavel Gerych, odborné publikace v databázových zdrojích na internetu**

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.**

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

**9. února 2009**

Termín odevzdání diplomové práce:

**15. května 2009**

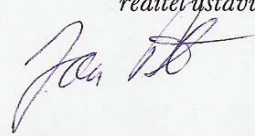
Ve Zlíně dne 10. února 2009



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



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



## **ABSTRAKT**

Diplomová práce je zaměřena na studium abiotické oxidace a biodegradace polyethylenu s prooxidanty. Abiotické oxidaci při 50°C byl vystaven PE s obsahem 5 % prooxidantu na bázi manganu. Během sledování vzorku po dobu 184 dní nebyla FTIR spektroskopií pozorována žádná známka oxidace projevující se přítomností karbonylového píku. Biodegradaci bylo podrobena osm vzorků polyethylenu s prooxidanty. Všechny vzorky byly před biodegradací podrobeny řízené abiotické oxidaci. V prostředí kompostu byla nejvyšší mineralizace pozorována u vzorku s prooxidantem na bázi manganu, železa a zinku, kde po 244 dnech dosáhla 27 %. V půdním prostředí byl nejvíce mineralizován vzorek s prooxidantem na bázi manganu a to ze 16 % za 518 dní. Po biodegradaci byla na povrchu vzorků prokázána optickou i elektronovou mikroskopií přítomnost mikroorganismů.

Klíčová slova: polyethylen, prooxidanty, abiotická oxidace, biodegradace

## **ABSTRACT**

The thesis is focused on abiotic oxidation and biodegradation of polyethylene containing prooxidants. Polyethylene sample containing 5 % of manganese based prooxidant mastermix was subjected to abiotic oxidation at 50°C. During the observation period, 184 days long, FTIR spectroscopy did not reveal any sign of oxidation observed as the presence of carbonyl peak. Eight different samples of polyethylene films containing prooxidants were subjected to biodegradation tests. Before the start of biodegradation tests the samples were subjected to controlled abiotic oxidation. Mineralization in compost environment was the highest for the sample with manganese, iron and zinc based prooxidants, reaching 27 % in 244 days. The highest mineralization in soil environment was 16 % after 518 days for sample with manganese based prooxidant. At the end of biodegradation tests, the presence of microorganisms was proved on the surface of samples by optical and electron microscopy.

Keywords: polyethylene, prooxidants, abiotic oxidation, biodegradation

Úvodem bych chtěla poděkovat svému vedoucímu doc. Mgr. Marku Koutnému, Ph. D. za cenné rady a připomínky, které mi pomohly k vypracování této diplomové práce.

Dále patří mé poděkování celému kolektivu Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za vytvoření výborných pracovních podmínek, jejich ochotu a vstřícnost při mé práci, zejména pak paní Libosvárové.

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

Ve Zlíně, 15.05.2009

.....

Končáková Zdeňka

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>I LITERÁRNÍ REŠERŠE</b> .....	<b>10</b>
<b>1 ODPADY A POLYMERY</b> .....	<b>11</b>
1.1 ODPADY .....	11
1.2 POLYMERNÍ MATERIÁLY .....	11
1.3 DEGRADACE POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ .....	12
1.3.1 Biodegradace .....	13
1.3.2 Ochrana proti degradaci .....	14
1.3.3 Urychlené stárnutí .....	15
<b>2 POLYETHYLEN</b> .....	<b>16</b>
2.1 PŘÍPRAVA .....	16
2.2 VLASTNOSTI .....	16
2.3 ZPRACOVÁNÍ .....	16
2.4 DRUHY POLYETHYLENU A JEJICH VYUŽITÍ .....	17
2.4.1 Nízkohustotní PE (low density polyethylene - LDPE) .....	17
2.4.2 Vysokohustotní PE (high density polyethylene - HDPE) .....	17
2.4.3 Lineární nízkohustotní PE (linear low density polyethylene - LLDPE) .....	18
2.5 DEGRADACE POLYETHYLENU .....	19
<b>3 BIODEGRADACE PE S PROOXIDANTY</b> .....	<b>20</b>
3.1 ABIOTICKÁ OXIDACE .....	20
3.2 AEROBNÍ BIODEGRADACE .....	21
3.3 STUDIE ZABÝVAJÍCÍ SE BIODEGRADACÍ PE S PROOXIDANTY .....	21
<b>4 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE</b> .....	<b>37</b>
<b>II MATERIÁLY A METODIKA</b> .....	<b>38</b>
<b>5 POUŽITÉ MATERIÁLY</b> .....	<b>39</b>
5.1 CHEMIKÁLIE .....	39
5.2 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ .....	39
5.3 ROZTOKY .....	40
5.4 TESTOVANÉ VZORKY .....	41
5.4.1 Vzorky převzaté z DP [12] .....	41
5.4.2 Nové kombinace vzorků .....	42
5.5 SUBSTRÁTY PRO BIODEGRADAČNÍ PROSTŘEDÍ .....	43
<b>6 METODIKA PROVEDENÝCH ZKOUŠEK A POKUSŮ</b> .....	<b>44</b>
6.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ .....	44
6.1.1 Stanovení celkového uhlíku .....	44

6.1.2	XRF analýza .....	44
6.1.3	Shrnutí charakteristik převzatých vzorků .....	45
6.2	MIKROBIOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA SUBSTRÁTŮ .....	45
6.3	PRAKTICKÉ PROVEDENÍ ABIOTICKÉ OXIDACE.....	46
6.3.1	Spektroskopie v IČ oblasti .....	46
6.4	PRAKTICKÉ PROVEDENÍ AEROBNÍ BIODEGRADACE.....	47
6.4.1	Materiály pro přípravu biodegradačního testu .....	47
6.4.2	Testovací lahve .....	48
6.4.3	Provzdušňování lahví .....	48
6.5	HODNOCENÍ AEROBNÍ BIODEGRADACE METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE.....	49
6.5.1	Analýza pomocí plynového chromatografu Agilent 7890.....	49
6.5.2	Zpracování naměřených hodnot .....	51
6.6	MIKROSKOPIE VZORKŮ PODROBENÝCH BIODEGRADACI.....	53
6.6.1	Optická mikroskopie.....	53
6.6.2	Skenovací elektronová mikroskopie .....	53
<b>III</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>55</b>
<b>7</b>	<b>CHARAKTERISTIKA VZORKŮ A SUBSTRÁTŮ .....</b>	<b>56</b>
7.1	STANOVENÍ CELKOVÉHO UHLÍKU VE VZORCÍCH .....	56
7.2	MIKROBIOLOGICKÁ CHARAKTERISTIKA SUBSTRÁTŮ .....	56
<b>8</b>	<b>ABIOTICKÁ OXIDACE .....</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>AEROBNÍ BIODEGRADACE .....</b>	<b>61</b>
9.1	BIODEGRADACE VZORKU LDPE-1 .....	61
9.1.1	Biodegradace v prostředí kompostu.....	62
9.1.2	Biodegradace v prostředí půdy.....	64
9.2	BIODEGRADACE VZORKU LDPE-2 A LDPE-3 .....	66
9.2.1	Biodegradace v prostředí kompostu.....	67
9.2.2	Biodegradace v prostředí půdy.....	71
9.3	ZÁVĚR BIODEGRADACE PŘEVZATÝCH VZORKŮ LDPE-1, LDPE-2 A LDPE-3 .....	75
9.4	BIODEGRADACE VZORKŮ LDPE 555, LLDPE 555, HDPE 9318810 A HDPE 1370 V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU .....	77
9.5	BIODEGRADACE VZORKŮ LDPE 555, LLDPE 555, HDPE 9318810 A HDPE 1370 V PROSTŘEDÍ PŮDY .....	80
9.6	ZÁVĚR BIODEGRADACE NOVÝCH KOMBINACÍ VZORKŮ.....	83
<b>10</b>	<b>MIKROSKOPIE TESTOVANÝCH VZORKŮ .....</b>	<b>85</b>
10.1	OPTICKÁ MIKROSKOPIE .....	85
10.1.1	Optická mikroskopie vzorku LDPE-1 .....	85
10.1.2	Optická mikroskopie vzorku LDPE-2 .....	87
10.1.3	Optická mikroskopie vzorku LDPE-3 .....	88

10.2	SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE .....	89
10.2.1	Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-1 .....	89
10.2.2	Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 .....	91
10.2.3	Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 .....	93
10.2.4	Elektronová mikroskopie dehydratovaných vzorků LDPE- 2 a LDPE-3 po biodegradaci v prostředí půdy .....	95
10.2.5	Elektronová mikroskopie nových vzorků .....	95
10.3	ZÁVĚR MIKROSKOPICKÝCH POZOROVÁNÍ .....	96
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>98</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>101</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>105</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>106</b>
	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>110</b>
	<b>PŘÍLOHA .....</b>	<b>111</b>



## ÚVOD

Podstatnou část komunálního i průmyslového odpadu tvoří polymerní materiály, mezi nimi nejvíce vyráběný a používaný polyethylen (PE), nejčastěji ve formě tenkých filmů. Ve většině případů se jedná o nákupní tašky, obalový materiál, mulčovací filmy. Všechny tyto materiály mohou při následném odstranění skládkováním ohrožovat kvalitu půdy.

V současné době se začínáme více zabývat otázkou odstranění polymerních materiálů z prostředí než tomu bylo v minulosti. Zejména pokud jde o účinky na životní prostředí, volně žijící organismy a také o estetickou stránku. Jsou navrhovány mnohé způsoby využití a odstranění v souladu s hierarchií nakládání s odpady, danou Plánem odpadového hospodářství České republiky. Hierarchie nakládání s odpady udává povinnost nejdříve předcházet vzniku odpadů, poté následuje možnost materiálového využití, energetického využití a poslední možností je skládkování.

Z ekonomického hlediska spotřebitele je žádoucí co nejdelší životnost většiny materiálů, zejména materiálů s technickým použitím. Naopak u některých výrobků, jako jsou např. obalové materiály pro jednorázové použití, je žádoucí pouze omezená životnost, aby nedocházelo k hromadění polymerního odpadu na skládkách. Separace a recyklace je často ekonomicky a energeticky náročná, proto vyvíjíme nové metody degradace, přičemž jedna z nejslibnějších se zatím zdá biodegradace. Většina PE výrobků ale obsahuje stabilizátory, které brání jeho oxidaci při zpracování a následnému rozkladu. Tento krok lze urychlit přidáním aditiv, zvaných prooxidanty, které po vyčerpání stabilizátorů podporují oxidaci polymeru. Kombinací stabilizátorů a prooxidantů můžeme docílit požadovanou životnost výrobku z PE a následně zajistit jeho oxidaci a degradaci. K uskutečnění biodegradace je u PE hlavní překážkou vysoká molekulová hmotnost, proto je nejdříve důležité PE řetězec rozštěpit oxidací. I přes mnohé studie stále není jisté, zda je oxidovaný materiál biodegradabilní, byl však dokázán růst mikroorganismů na povrchu polymeru a také degradace nízkomolekulárních produktů abiotické oxidace pomocí mikroorganismů.

## **I. LITERÁRNÍ REŠERŠE**

# 1 ODPADY A POLYMERY

## 1.1 Odpady

Podle zákona o odpadech je odpad „každá movitá věc, které se osoba zbavuje nebo má úmysl nebo povinnost se jí zbavit a přísluší do některé ze skupin odpadů uvedených v příloze č. 1 k tomuto zákonu“ [1].

Značnou část komunálního i průmyslového odpadu tvoří polymerní materiály. U průmyslových odpadů je zpracování polymerního odpadu vzhledem k jeho homogenitě většinou jednoduché. Takový odpad zpracovává řada firem např. mletím a granulováním a vrací zpět do výrobního procesu. U komunálního odpadu se ale jedná o velmi heterogenní směs. Náklady na třídění, transport a zpracování v tomto případě mnohdy převyšují cenu kvalitního primárního polymeru. Ani možnosti aplikace recyklovaných plastů se nevyrovnají aplikacím čistého polymeru [2].

Vzhledem ke stále rostoucí produkci odpadového materiálu a tím také k rostoucímu množství skládkovaných odpadů se tento odpad dostává do těla skládky. Tak vystává otázka, zda může ovlivnit vlastnosti půdy. Důležité také je, zda je tento odpad schopen se rozložit nebo zůstává v nezměněném stavu po několik generací a stává se „přirozenou“ složkou krajiny.

## 1.2 Polymerní materiály

Polymery mohou být přírodního nebo syntetického původu. Jsou to makromolekulární látky složené z velkého počtu atomů vázaných chemickými vazbami do dlouhých řetězců. Řetězce tvoří pravidelně se opakující části, nazýváme je stavební nebo monomerní jednotky (mery). Počet stavebních jednotek udává polymerační stupeň  $n$ ; dosahuje hodnoty 10 až  $10^6$ . Sloučeniny s nízkým polymeračním stupněm ( $n < 10$ ) nazýváme oligomery, s vyšším polymeračním stupněm ( $n \geq 10$ ) polymery. Polymery biologického původu se nazývají biopolymery nebo biomakromolekulární látky.

Přírodní polymery mohou být původní a modifikované (chemicky upravené).

Syntetické dělíme podle způsobu vzniku, dle struktury a dle chování za zvýšených teplot a při deformaci. Podle způsobu vzniku máme polymery připravené polykonden-

zací, polyadici a polymerací. Podle struktury rozdělujeme polymery na lineární, rozvětvené, zesíťované a prostorově zesíťované.

Podle chování za zvýšených teplot:

- a) Termoplasty – zahříváním se stávají plastickými, snadno se tvarují, lze je opakovaně převést do tuhého či plastického stavu
- b) Reaktoplasty – zahříváním dochází k chemické změně, nedají se tvarovat

Podle chování při deformaci:

- a) Elastomery – měkké, pružné látky, po uvolnění deformačního napětí se rychle vrací do původního tvaru
- b) Plastomery (plasty) – účinkem vnějšího napětí se deformují trvale [3, 4].

Asi 30% plastů se na celém světě používá jako obalové materiály. Každým rokem se toto množství zvyšuje o 12%. Nárůst je způsoben nahrazováním jiných materiálů, jako např. papíru, polymerními obaly díky jejich lepším vlastnostem. Plastové obaly vynikají lepší pevností, lehkostí, odolností vůči vodě a vodou šířeným mikroorganismům. Nejčastěji používané polymery jako obalové materiály jsou polyethylen (PE), polypropylen (PP), polystyren (PS), polyvinylchlorid (PVC), polyuretan (PUR) ad. Plastový odpad je odstraňován pomocí skládkování, spalování, recyklace a stále častěji také degradace [6]. Jedná se především o polyolefiny (nenasycené alifatické uhlovodíky), které tvoří největší skupinu syntetických polymerů. Jejich odstranění z prostředí může probíhat několika způsoby. První cestou je spalování za účelem získání energie, dále mohou být mechanicky recyklovány pro získání nového materiálu, nebo chemicky, solvolýzou s rozpouštědly a katalyzátory, degradovány na nízkomolekulární produkty [5].

### 1.3 Degradace polymerních materiálů

Degradace je nevratný rozkladný proces, při kterém dochází k přeměně sloučenin na méně složité produkty. Rozklad se projevuje změnou materiálových vlastností mechanického, optického nebo elektrického charakteru, popraskáním, trhlinami, erozí, změnami barvy, oddělováním fází, nebo štěpením na vrstvy [6,7]. Probíhá vlivem chemického (chemodegradace), fyzikálního (fotodegradace, termodegradace) nebo biologického (biodegradace) působení na tzv. aktivních skupinách. Degradace může

být provedena také ultrazvukem, kdy vzniká napětí ve střední části řetězce a dochází k trhání nejdelších řetězců.

Při chemodegradaci dochází k rozkladu vlivem chemických účinků látek (pH, redox potenciál). Dochází k ní především u látek, obsahujících funkční skupiny. S přítomností substituentů, funkčních skupin, dvojných vazeb apod., chemická odolnost klesá.

U fotodegradace je počátečním prvkem rozkladu UV nebo VIS sluneční záření. Polymery účinkem záření síťují nebo degradují. Stupeň síťování či rozkladu je dán dávkou záření. V přítomnosti kyslíku mluvíme o fotooxidaci.

Termodegradace probíhá působením tepelné energie, kdy dochází k narušení chemických vazeb. Průběh je charakteristický vznikem těkavých produktů a uhlíkatého zbytku nedefinovatelného složení. Dochází-li k termodegradaci v kyslíkatém prostředí, mluvíme o termooxidaci [8,9].

### 1.3.1 Biodegradace

Podle standardů ASTM (American Society For Testing And Materials) je biodegradace definována jako „proces, schopný rozložit materiály na CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, vodu, anorganické sloučeniny nebo biomasu, ve kterém hlavní mechanismus je enzymatické působení mikroorganismů“. Schopnost biodegradace je také definována jako sklon materiálu rozpadnout se na jeho molekuly přirozeným procesem (často mikrobiálním trávením) [7]. Polymerní materiál může být přímo substrátem pro mikroorganismy nebo je napadán tzv. extracelulárními enzymy, které mikroorganismy vylučují, aby mohly využít jiný substrát. Prvotní narušení struktury polymeru nastává fyzikálně-chemickými a biologickými vlivy. Např. působením světla, tepla, střídání teplot, přítomnost kyslíku, vody, působení enzymů. Poté nastává absorpce oligomerů a monomerů do buněk a biodegradace [6,9].

Pro biodegradaci musí být vytvořeny vhodné podmínky. A to:

- povaha prostředí - teplota, vlhkost, pH,
- struktura polymeru a jeho přísad – přítomnost hydrolyzovatelných skupin, přítomnost heteroatomů, větvení řetězce,
- molekulová hmotnost,

- krystalinita a morfologie [10].

Povaha polymeru a jeho přísad je u biodegradace důležitá pro možnost jeho napadení enzymatickým aparátem mikroorganismů. Mikroorganismy při rozkladu mohou z polymeru získávat především energii, dále uhlík, případně další prvky.

Polymery mohou být napadány plísněmi i bakteriemi, optimální teplota růstu plísní je 25 až 35 °C, optimální vlhkost vzduchu nad 95% a pH 4 až 7. Bakterie lépe rostou v neutrálním, nebo slabě alkalickém pH. Obecně platí, že polymery s vysokou molekulovou hmotností se hůře rozkládají než např. monomery či oligomery [6,9].

Biodegradace může probíhat aerobně, nebo anaerobně. Při aerobní biodegradaci, v přírodě, v kompostu, dochází k rozkladu heterogenní organické hmoty smíšenou mikrobiální populací ve vlhkém, teplém prostředí. Konečnými produkty jsou oxid uhličitý, voda a mikrobiální biomasa. Při anaerobní biodegradaci, např. v sedimentech, skládkách, mikroorganismy rozkládají organickou hmotu do vzniku methanu, oxidu uhličitého, vody a mikrobiální biomasy [6].

### 1.3.2 Ochrana proti degradaci

Negativem používání polymerů je kromě vyčerpávání fosilních zdrojů k jejich výrobě také dlouhá doba jejich rozkladu. Samotné polymery jsou často poměrně citlivé k degradaci působením environmentálních faktorů. Proto se při výrobě provádí ochrana proti stárnutí a degradaci přidávkem stabilizátorů, předčištěním polymeru, odstraněním poruchových a aktivních center nebo změnou molekulární a nadmolekulární struktury. Nejčastější metodou ochrany je přidavek stabilizátorů. Stabilizátory se k polymeru přidávají v různé fázi výroby jako přísady nebo se na něj vážou chemicky, s cílem zabránit oxidaci během zpracování. Používá se množství 0,1 až 5%. Způsob stabilizace se volí podle druhu polymeru a přísad a podle podmínek, kterým bude polymer vystaven.

Naopak lepší degradabilitu můžeme dosáhnout přidávkem aditiv, které umožní rychlejší degradaci polymeru [8,9].

### 1.3.3 Urychlené stárnutí

Urychlené stárnutí je testovací metoda používaná k odhadnutí životnosti polymeru. Tato předpověď je důležitá k určení jeho vhodného využití, aby např. nedošlo ke zhoršení mechanických vlastností, účinnosti nebo bezpečnosti dříve, než bude polymer na konci svého životního cyklu. Jde v podstatě o simulaci přírodních podmínek v krátkém časovém období k předpovědi životnosti v dlouhém období v podmínkách prostředí.

Testování je prováděno podrobením polymeru neobvykle vysoké úrovni teploty, vlhkosti, chemikáliím, kyslíku, tlaku, napětí atd. Např. cykly tepla nebo chladu můžou simulovat důsledky dne a noci [11].

## 2 POLYETHYLEN

Polyethylen (PE) je syntetický polymer. Patří do skupiny polyolefinů, které tvoří největší skupinu syntetických polymerů.

### 2.1 Příprava

Základní surovinou pro výrobu všech druhů PE je monomer ethylen. Je to za normálních podmínek bezbarvý, nasládle páchnoucí plyn, s mírně narkotickými účinky. Získává se z ropy, zemního plynu, uhlí.

PE se připravuje polymerací roztokovým způsobem, kdy násadou je kapalný monomer, iniciátor rozpustný v monomeru a rozpouštědlo (normalheptan) [13].

Mechanismus polymerace: 
$$n CH_2 = CH_2 \longrightarrow -[CH_2 - CH_2]_n - \quad (1)$$

### 2.2 Vlastnosti

PE je tuhá látka, ve formě filmů je elastický, ohebný, téměř průhledný, popř. má mléčný zákal. Má teplotu tání 105 – 136°C, je velmi stálý proti chemickým činidlům, mrazuvzdorný, má sklon k praskání pod napětím. Má malou odolnost proti povětrnosti, zejména proti slunečnímu záření. Čím vyšší počet terciálních uhlíků nebo menší krystalinita, tím vyšší rychlost fotooxidačního odbourávání. Proto oxidační stabilita klesá od HDPE, přes LDPE k PE.

Mezi pozitiva PE patří nízká cena, dobrá zpracovatelnost, zdravotní nezávadnost, výborné elektroizolační vlastnosti, dobrá chemická odolnost, tuhost a vláčnost i při nízkých teplotách, průhlednost fólií.

Mezi negativa patří nízký bod měknutí, sklon o oxidaci, zákal ve větších vrstvách, sklon k praskání pod napětím, voskovitý vzhled, malá odolnost proti poškrábání, nízká pevnost v tahu, hořlavost [3].

### 2.3 Zpracování

PE je možné zpracovávat vstřikováním (hračky, držadla, květináče, lahve), vytlačováním (fólie, trubky, desky), nanášením (na papír, celofán, tkaniny, hliníkové fólie) a vyfukováním (dutá tělesa) [13].



## 2.4 Druhy polyethylenu a jejich využití

Rozlišujeme dva základní druhy polyethylenu, nízkohustotní (LDPE) a vysokohustotní (HDPE).

### 2.4.1 Nízkohustotní PE (low density polyethylene - LDPE)

LDPE má silně rozvětvený řetězec, připravuje se radikálovou polymerací za vysokého tlaku (150 – 300MPa, 200°C). LDPE je čirá hmota s malým mléčným zákallem, je měkký díky rozvětvené struktuře (Obr.1).



Obr. 1: Struktura LDPE [5]

Nejčastěji je využíván ve formě tenkých filmů, které se používají převážně jako obalový materiál. Značná část těchto filmů je využíváno k balení potravin, kdy fólie propouští kyslík a oxid uhličitý, ale málo propouští vodní páru, proto zůstávají potraviny déle čerstvé. Dalším příkladem použití mohou být tzv. lamináty, neboli papír s nánosem PE, používaný např. k balení léčiv, kosmetických přípravků, na obaly „Tetra-Pak“. Fólie se také využívají k izolaci kabelů a vodičů, fotografické materiály.

### 2.4.2 Vysokohustotní PE (high density polyethylene - HDPE)

Řetězec HDPE má lineární strukturu, vyrábí se iontovou polymerací za nízkých až středních tlaků s použitím Ziegler-Nattových katalyzátorů. HDPE je krystalický, mléčně zakalený, pevný vlivem lineární struktury (Obr. 2). Nejčastěji se využívá na výrobu velkých dutých předmětů, trubek a fólií. Fólie se používají převážně jako nákupní tašky. Dále se HDPE používá na výrobu přepravek, ochranných přileb, lahví [13, 22].



Obr. 2: Struktura HDPE [5]

V následující tabulce (Tab. 1) lze vidět vlastnosti jednotlivých typů PE. HDPE má vyšší hustotu, vyšší teplotu tání, proto větší odolnost vůči rozpouštědlům a lepší mechanické vlastnosti.

Tab. 1: Charakteristické vlastnosti LDPE a HDPE [14]

Typ PE	Hustota [g.cm <sup>-3</sup> ]	Krystalinita [%]	Molekulová hmotnost [g.mol <sup>-1</sup> ]	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

PE se také používá na výrobu lahví, tub a uzávěrů např. místo korkových zátek, také na výrobu nádobí, mulčování půdy ad. [13].

### 2.4.3 Lineární nízkohustotní PE (linear low density polyethylene - LLDPE)

Struktura LLDPE je charakteristická krátkými postranními řetězci na lineárním hlavním řetězci. Vzniká polymerací směsi ethylenu s 5 až 10 % butenu, hexenu nebo oktenu za katalýzy Ziegler-Nattovými katalyzátory. Přičemž hustota je dána počtem postranních řetězců. Hustota LLDPE se pohybuje v rozmezí 0,915 g.cm<sup>-3</sup> až 0,935 g.cm<sup>-3</sup>, molekulová hmotnost 30 000 – 300 000 g.mol<sup>-1</sup>.

Oproti LDPE má vyšší pevnost v tažnosti, rázové houževnatosti, vyšší odolnost vůči tvorbě trhlin pod napětím a přetržení. Naopak optické vlastnosti, jako lesk a transparence, jsou u LLDPE horší. Pro svou vyšší pevnost díky lineární struktuře (Obr. 3) se používá pro výrobu předmětů s tenčími stěnami, tedy levnějších [3,5].



Obr. 3: Struktura LLDPE [5]

## 2.5 Degradace polyethylenu

PE je považován za inertní materiál, není ekotoxický. Způsobuje problémy pouze v případě požití PE odpadu zvířaty, nebo může zapříčinit anaerobní podmínky v prostředí díky zapouzdření např. půdy na skládce. Proto hlavním důvodem, proč degradovat PE filmy z odpadu, zůstává estetické a psychologické hledisko [19].

Čistý PE je nestálý a má malou odolnost vůči povětrnostním vlivům, neodolává foto-oxidaci. Vzhledem k přítomnosti pouze vazeb C–C a C–H je molekula PE chemicky málo reaktivní, výborně odolává především působení ozonu a vlhkosti, a také je biologicky těžko odbouratelná. Tyto vlastnosti jsou způsobeny strukturou PE, která se skládá pouze z dlouhých uhlíkových řetězců. Dalšími důvody jsou vysoká molekulová hmotnost několik set tisíc Da, nepřítomnost funkčních skupin, hydrofobicita, obsah antioxidantů a stabilizátorů. Především kvůli svému dlouhému řetězci nemůže molekula PE vstoupit do buňky mikroorganismu, je obtížně přístupná intracelulárním enzymům a tudíž těžko biologicky degradovatelná. K rozkladu by mohlo dojít působením mikroorganismy vylučovaných extracelulárních enzymů, které naruší strukturu molekuly, fragmentují ji a tyto fragmenty již mohou vstoupit do buňky [6,19]. Překážkou pro extracelulární enzymy však je vysoká hydrofobicita materiálu a těsné uspořádání řetězců.

Protože je čistý PE nestálý, stabilizátory (antioxidanty) jsou přítomné v různém množství ve všech produktech PE aby zabránily oxidaci během zpracování. Zbytky stabilizátorů pak zpomalují oxidaci ve výsledném produktu. Nejúčinnějším stabilizátorem PE jsou saze.

Pro účelnou degradaci PE jsou přidávány tzv. prooxidanty, což jsou aditiva přispívající k zahájení a šíření radikálových reakcí. Kombinací antioxidantů a prooxidantů můžeme docílit požadovanou životnost výrobku z PE a následně po vyčerpání antioxidantů zajistit jeho oxidaci a degradaci. Základem prooxidantů jsou ionty přechodných kovů přidávané formou organických komplexů, nejčastěji stearáty  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  nebo  $\text{Co}^{2+}$ .  $\text{Fe}^{3+}$  komplex je zdrojem radikálů pro iniciaci foto-oxidačního procesu,  $\text{Mn}^{2+}$  a  $\text{Co}^{2+}$  katalyzují pokračování oxidace bez působení světla, termo-oxidaci [19]. Přídavkem prooxidantů se PE film fragmentuje, ale stále není jisté, zda díky této úpravě dochází ke konečné biodegradaci [6,19].

### 3 BIODEGRADACE PE S PROOXIDANTY

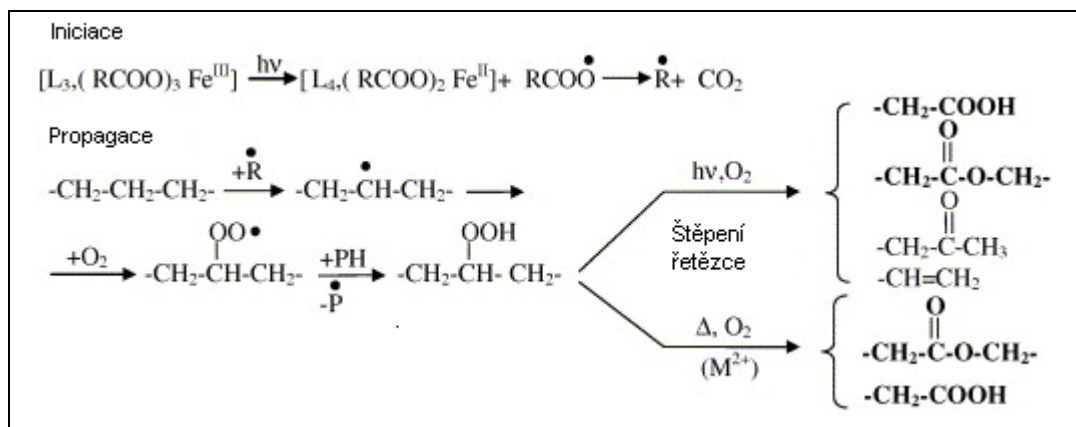
Biodegradace PE probíhá základními dvěma procesy, nejdříve dochází k abiotické oxidaci, poté nastává biotická část procesu – aerobní biodegradace.

#### 3.1 Abiotická oxidace

Počáteční abiotická oxidace je důležitá etapa určující rychlost celého degradačního procesu. V této části je PE oxidován k významné redukci jeho molekulární hmotnosti.

Hlavními faktory, ovlivňující abiotickou oxidaci jsou teplo a světlo. Jsou rozhodující pro redukci molární hmotnosti a produkci nízko-molekulárních sloučenin, které mohou snadněji přistupovat k biodegradaci a být tak asimilovány pomocí mikroorganismů.

Jeden z často používaných přístupů k vyvolání abiotické oxidace v PE je smíchání PE s prooxidanty. Prooxidanty napomáhají růstu mikroorganismů, způsobující vyvolání biodegradability a začlenění polárních funkčních skupin do řetězce, které potom mohou sloužit jako místo mikrobiálního útoku. Do PE řetězce jsou zavedeny hydroxylové (OH), karbonylové (C=O) a karboxylové (COOH) skupiny, což vede k rychlé oxidaci PE. Oxidací takto upraveného PE dochází ke zvýšení hydrofility a vzniku nízko-molekulárních fragmentů, což způsobuje ztrátu mechanických vlastností a fragmentaci filmu. Jsou produkovány volné radikály, které mohou dále reagovat s molekulárním kyslíkem za vzniku hydroperoxidů. Hydroperoxidy mohou dále podléhat termolýze a/nebo fotolýze, jejichž produktem jsou nízko-molekulární produkty jako karboxylové kyseliny, aldehydy, alkoholy, ketony ad. [7,12,23]. Následující schéma (Obr. 4) znázorňuje mechanismus abiotické oxidace PE s prooxidanty.



Obr. 4: Mechanismus abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty [19]

### 3.2 Aerobní biodegradace

Aerobní biodegradace je druhou fází celkové biodegradace, při které dochází k mineralizaci produktů abiotické oxidace, tzn. především karboxylových kyselin, aldehydů, alkoholů, ketonů ad. v přítomnosti kyslíku. Jak již bylo řečeno výše, polymerní materiál může být přímo potravou pro mikroorganismy nebo je napadán tzv. extracelulárními enzymy, které mikroorganismy vylučují, aby mohly využít jiný substrát. Tímto procesem vznikají konečné produkty biodegradace, oxid uhličitý, voda a mikrobiální biomasa [6].

Skutečnost, že je tvořen  $CO_2$ , prokáže, že materiál vstoupil do cyklu přírodního uhlíku a ne, například, že se jen rozpadl na bio-stabilní mikroskopické částice [18].

### 3.3 Studie zabývající se biodegradací PE s prooxidanty

I přes velký počet provedených experimentů, zabývajících se biodegradací PE, stále není jisté, zda mají mikroorganismy hlavní roli při jeho rozkladu. Byl však dokázán růst mikroorganismů na povrchu polymeru a také degradace nízko-molekulárních produktů abiotické oxidace pomocí mikroorganismů [19].

Studie [7] popisuje mechanismy degradace polymerů. Zmiňuje také možné metody k posouzení růstu mikroorganismů, a to metodu „Soil Burial“ („pohřbení v půdě“), metodu „Pure Culture“ („čisté kultury“) a „Compost“ metodu („kompostovací“). Při

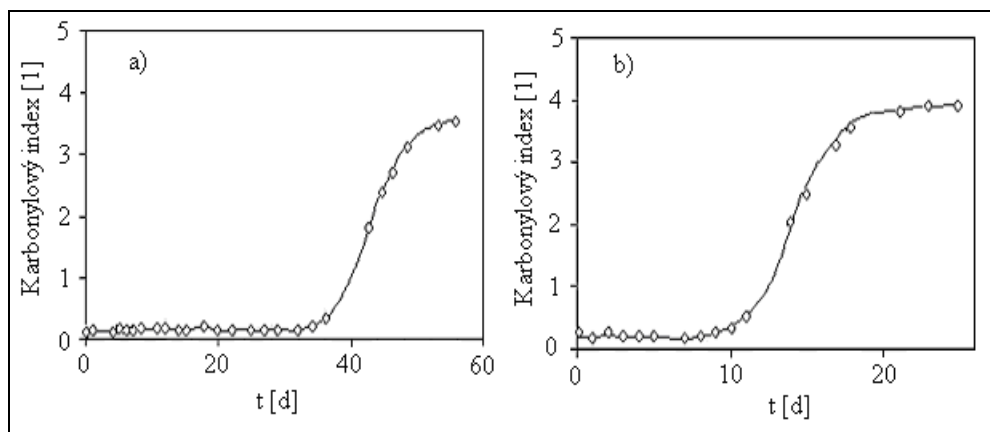
Soil Burial metodě se vzorek o určité hmotnosti a rozměrech uloží do půdy v dané hloubce, v přírodních nebo laboratorních podmínkách. Po určitém čase je vzorek vyjmut z půdy, důkladně omyt destilovanou vodou a sušen při 50°C 24 hodin ve vakuové sušárně.

Při provedení vyhodnocení metodou Pure Culture jsou předem zvážené dezinfikované filmy asepticky přidány do sterilního kultivovaného média a inkubovány třepáním 24h před očkováním. Kultivační médium je očkováno specifickými mikroorganismy a inkubováno třepáním v 125rpm (otáčky/minutu), 4 týdny v optimálních růstových podmínkách pro vybrané mikroorganismy. Vzorek je omyt 70% etanolem, vážen a sušen při 45°C do konstantní hmotnosti. Každý film je pak porovnán s odpovídajícím neočkovaným materiálem. Přítomnost mikroorganismů může být potvrzena mikroskopem.

Při kompostovací metodě je definovaná hmotnost suchého polymeru smíchána s určitým množstvím vyzrálého kompostu a pak očkována při teplotě 58°C s udržovanou vlhkostí 65%. Biodegradace je měřena na základě množství přeměněného uhlíku na plynný CO<sub>2</sub>.

Tato studie také udává, že nejčastěji používané organismy pro degradaci plastů jsou kmeny bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* a hub *Penicillium simplicissimum*. Ve studii [6] autoři uvádějí navíc kmeny bakterií *Brevibacillus borstelensis* a *Rhodococcus rubber*.

Jak již bylo popsáno výše, nejvýznamnější vliv na rychlost abiotické oxidace mají teplo a světlo. Vliv teploty studoval experiment [24], kde byla PE fólie obsahující prooxidant TDPA<sup>TM</sup> vystavena termooxidaci při teplotách 55°C a 70°C. Pozorování bylo vyhodnoceno pomocí hodnoty karbonylového indexu (CI). Karbonylový index vyjadřuje míru oxidace polymeru, je vyjádřen jako podíl absorbance karbonylového píku při vlnočtu 1713 cm<sup>-1</sup> a -CH<sub>2</sub>- píku při vlnočtu 1465 cm<sup>-1</sup>. Po 25 denní oxidaci při 70°C byl pozorován nárůst CI z 0,22 na 4,57, zatímco při 55°C nebyl po 25 dnech oxidace zaznamenán žádný nárůst CI. Při 70°C došlo k nárůstu CI kolem 9. dne, zatímco při 55°C CI vzrostl až kolem 37.dne, jak je patrné z obrázku (Obr. 5) [24,26].



Obr. 5: Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE s prooxidanty TDPA<sup>TM</sup>,  
 a) termooxidace při 55°C, b) termooxidace při 70°C [24]

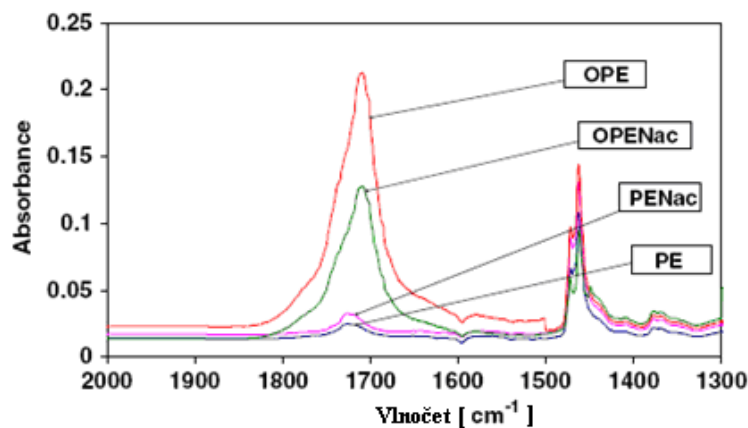
Také autoři publikace [25] studovali vliv teploty na rychlost abiotické oxidace, které byl podroben PE film s obsahem stearátu manganu jako prooxidantu. Termooxidace byla provedena při třech teplotách (50, 60 a 70°C). Při pokusu došlo k poklesu molekulové hmotnosti pod  $5 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$  při 70°C za 2 týdny, při 60°C za 8 týdnů a při 50°C za 10 týdnů [25].

Naopak vliv vlhkosti na rychlost abiotické oxidace byl zkoumán v experimentu [27], kde byla provedena termooxidace při teplotách 60°C a 70°C, při různých relativních vlhkostech vzduchu: 0 % (suchý vzduch), 60 %, 80 % a 100 % (vlhký vzduch). Za podmínek vlhkého vzduchu, při 60-100 %ní vlhkosti se rychlost abiotické oxidace výrazně nelišila. Naproti tomu, u suchého vzduchu s vlhkostí 0% materiál vykazoval nižší ztráty mechanických vlastností [27]. Autoři jiného experimentu [24] popírají vliv vlhkosti na oxidaci tvrzením, že se voda do PE struktury dostává velmi obtížně.

Ve studii [16] byla zkoumána biodegradace tepelně ošetřených a neošetřených vzorků LDPE a HDPE a neošetřené směsi škrob – LDPE pomocí kmenů *Bacillus sphericus* GC IV a *Bacillus cereus* podskupina A. Zkoušky byly prováděny po dobu 1 roku, při pH 7,5 a teplotě 30°C, s polymerem jako jediným zdrojem uhlíku. Pozorování bylo prováděno metodou FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy), která je založena na absorpci infračerveného (IČ) záření při průchodu vzorkem. FTIR spektra nejdříve zaznamenala nárůst karbonyl indexu, pravděpodobně v důsledku oxidace rozpuštěným kyslíkem. Po delší expozici karbonyl index poklesl v důsledku biodegra-

dace. Úbytek hmotnosti tepelně ošetřených LDPE a HDPE vzorků byl kolem 19% a 9%, a neošetřených vzorků kolem 10% a 3,5% v uvedeném pořadí s *B. sphericus* během jednoho roku. Úbytek hmotnosti neošetřených škrob-směsí LDPE byl 25% s *B. cereus*. Pevnost v tahu tepelně ošetřených LDPE a HDPE a neošetřených škrob-směsí LDPE se snížila o 27%, 14,8% a 30,5%, v uvedeném pořadí, s *B. sphericus*.

Autoři [23] zkoumali vliv nanočástic jílu na termální degradaci oxidovaného a neoxidovaného PE. Jíl napomáhá zvýšení různých mechanických vlastností, termální stability, zpomaluje hoření PE a také ovlivňuje růst mikroorganismů v polymeru. Byly zkoumány oxidované (OPE) a neoxidované (PE) vzorky bez obsahu jílu a s jílem (OPENac/PENac). Oxidované vzorky byly vystaveny termo-oxidaci v 70°C po dobu 14 dní. Obsah jílu a prooxidantů byl 2%hm. Experiment dokázal, že degradace je způsobena především přítomností prooxidantů, s malým vlivem jílu. FTIR analýzou byl měřen rozsah oxidace podle absorbance karboxylových skupin ( $1715\text{cm}^{-1}$ ) a ketonů ( $1735\text{cm}^{-1}$ ). Na obrázku (Obr. 6) můžeme vidět závislost absorbance na vlnočtu. Můžeme vidět, že oblast reprezentující karbonyl skupiny ( $1735\text{cm}^{-1}$ ) byla u PE s prooxidanty vyšší, což indikuje vyšší tvorbu nízko-molekulárních karboxylových sloučenin jako výsledek oxidace. Další viditelný pik při  $1465\text{cm}^{-1}$  indikuje přítomnost  $\text{CH}_2$  skupin ve struktuře PE.



Obr. 6: FTIR spektra PE s/bez obsahu jílu po termo-oxidaci pro  $\text{C}=\text{O}$  ( $1735\text{cm}^{-1}$ ) [23]



Studie [20] zkoumala redukci molekulové hmotnosti v průběhu abiotické oxidace. Vzorkem byla HDPE fólie tloušťky 20  $\mu\text{m}$ . Vzorky byly nejdříve fotooxidovány po dobu 120 hodin v SEPAP komoře ( $\lambda \geq 300 \text{ nm}$ , teplota  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ ). SEPAP sestává ze zdroje, rtuťových lamp, a termočlánku pro důkladnou kontrolu teplot, přičemž vzorky rotují v konstantní vzdálenosti od zdroje. Různými experimenty bylo dokázáno, že abiotická oxidace v komoře SEPAP po dobu 100 hodin odpovídá 3 měsícům zvětvávání v evropských venkovních podmínkách v období od března do října. Poté byly vzorky v provzdušňované peci vystaveny teplotě  $60^\circ\text{C}$  po dobu 300 hodin. U vzorku HDPE fólie bylo zjištěno významné snížení molekulové hmotnosti z hodnoty  $288 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$  na  $12,8 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

Ve studii [28] byla vystavena biodegradaci v půdě a kompostu termooxidovaná LDPE fólie. V počátcích nebyl pozorován žádný náznak biodegradace, proto bylo mikrobiální společenstvo oživeno čerstvou lesní půdou a nakypřením a zvlhčením vzorku. Produkce  $\text{CO}_2$  byla pozorována pomocí titrace roztoku KOH, umístěného v pokusné lahvi se vzorkem, který byl každé 3 až 14 dní vyměňován. Po uplynutí jednoho roku inkubace dosáhla mineralizace v případě půdních podmínek 50-60 % a v kompostu více než 80 %.

Termooxidovaný PE v podmínkách kompostu byl pozorován také ve studii [25], kdy byla naopak ihned po zahájení experimentu (bez lagové fáze) pozorována produkce  $\text{CO}_2$  a po šesti měsících experimentu bylo dosaženo 60%ní mineralizace. Množství  $\text{CO}_2$  bylo stanoveno pomocí zachytávání v roztoku NaOH a jeho následnou titrací.

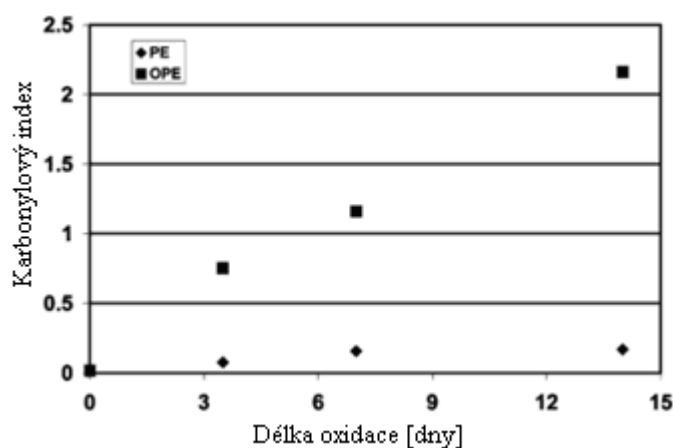
Ve studii [29] autoři uvádějí, že přidavek prooxidantu, v tomto případě 0,1hm.% stearátu kobaltnatého, k LDPE, vede k rychlejší degradaci působením UV záření. FTIR analýzou se ukázalo, že se snížil CI z 1,3 na 0,31 po 21 dnech biotické expozice. Také byl SEM dokázán nárůst bakteriálního společenstva.

Studie [30] zkoumala LDPE a HDPE inkubované mikroorganismy izolovanými ze skládek odpadů v Indii, v porovnání se vzorky bez inkubace. Termogravimetrické výsledky ukázaly, že společenstvem upravené HDPE (považované za víc inertní než LDPE) bylo degradováno ve větším rozsahu (22,41% ztráty hmotnosti), v porovnání s LDPE (21,70%). V případě neinkubovaných vzorků byla hmotnostní ztráta vyšší u LDPE (4,5%) než u HDPE (2,5%).

Autoři [7] uvádí studii Gilmorea, který pozoroval degradaci šesti typů plastů, mezi nimi lineární LDPE s obsahem 12% škrobu, LDPE s obsahem 30% polykaprolaktanu, v aktivovaném kalu po dobu 5 měsíců a nenašel žádný znak biodegradace těchto směsí.

Experiment popsáný ve studii [21] se zabývá degradací LDPE, HDPE a PP v mořské vodě, na dvou různých místech, Číně a Indii po dobu 6 měsíců. Vzorky byly tenké 1,5mm, rozměry 15x10cm. Nejvyšší vytvořený heterogenní biofilm byl na nejvíce hydrofilním PP, poté u HDPE a LDPE. Vinyl index (index dvojných vazeb) je nejnižší u LDPE, pak HDPE a PP, pravděpodobně kvůli štěpení řetězce. Tempo biotické degradace je nejnižší u PP, následuje HDPE a LDPE. Procentuální snížení hmotnosti za 6 měsíců bylo nejvyšší u LDPE (2,5%), poté HDPE (0,75%) a PP (0,5%).

Studie [15] zkoumala degradaci vzorků LDPE s obsahem prooxidantů (oxobiodegradabilní, OPE) ve srovnání s degradací LDPE bez prooxidantů (PE). Vzorek byl ve formě filmu, tloušťky 60 – 80  $\mu\text{m}$ , dodán firmou Qenos, Austrálie, směs LDPE s prooxidantem byla v poměru 98 hm.% LDPE a 2 hm.% blíže neurčeného prooxidantu. Vzorky byly podrobeny abiotické oxidaci po dobu 14 dní, v rozmezí teplot 50 – 70°C a vyhodnocovány pomocí FTIR. Bylo prokázáno, že tempo oxidace vzorku s obsahem prooxidantu (OPE) je podstatně vyšší, než u vzorku bez prooxidantu (PE), což naznačuje, že OPE je více degradován. Tuto závislost CI na délce oxidace můžeme vidět na obrázku (Obr. 7).



Obr. 7: Závislost CI na délce oxidace pro PE s prooxidanty (OPE) a bez obsahu prooxidantů (PE) [15]

Biodegradace byla provedena pomocí kmenu *Pseudomonas aeruginosa*. Autoři uvádí, že pomocí SEM bylo dokázáno, že *P. aeruginosa* lépe vytvářela kolonie na abioticky oxidovaném OPE filmu v porovnání s neoxidovaným OPE filmem. Závěrem bylo uvedeno, že prooxidanty podporují výraznou redukci molekulové hmotnosti u OPE během abiotické oxidace, při které jsou produkovány nízko-molekulární sloučeniny. *P. aeruginosa* je schopna tyto sloučeniny využít a vytvořit biofilm. *P. aeruginosa* je ovšem schopna napadnout pouze koncové řetězce, není schopna narušit celý řetězec polymeru.

Problematikou jiných polyolefinů se zabývá studie [17], ve které byla zkoumána degradace tepelně ošetřených (PP-TT) a neošetřených (PP-UT) polypropylenových filmů. Tepelně ošetřené vzorky byly podrobeny teplotě 80°C po dobu 10 dní. Filmy o tloušťce 0,05 mm byly podrobeny in vitro biodegradaci se smíšenou kulturou půdy po dobu 12 měsíců. V tomto období byl pozorován úbytek hmotnosti 10,7% a 0,4% u PP-TT a PP-UT, v uvedeném pořadí. Pevnost se snížila o 51,8 a 28,3%, krystalinita vzrostla o 28 a 33%, v uvedeném pořadí za stejné časové období. Karbonyl index v PP-TT stoupal až do dovršení 9 měsíců experimentu a jeho pozdější snížení indikovalo abiotický proces následovaný biotickým procesem, přičemž žádné podobné změny nebyly pozorovány s PP-UT. Na konci 12 měsíců byla izolována jediná kultura a identifikována jako *Bacillus flexus*.

Také experiment [34] studoval degradaci polypropylenu. Byl zkoumán dva druhy PP, s obsahem prooxidantu (PPOx) a bez prooxidantu (PP). Vzorek PPOx obsahoval prooxidant v množství 3 %, složený ze stearátu vápníku a oxidu kobaltnatokobaltitého ( $\text{Co}_3\text{O}_4$ ). Vzorky neobsahovaly UV stabilizátory. Foto-oxidace byla provedena kontinuálně při 50°C, vzorky byly odebírány po 120, 288, 384 a 480 hodinách. Poté byla provedena biodegradace v půdě při 25°C po dobu 56 dní. Rozsah fotochemické degradace byl vyhodnocován metodou diferenční skenovací kalorimetrie, FTIR a gelovou permeační chromatografií (GPC, SEC). Výsledky ukázaly, že zvýšení dávky radiace vedlo ke snížení teploty tání a zvýšení krystalinity obou vzorků, přičemž efekt UV radiace byl silnější pro PPOx než pro PP. FTIR spektra ukázaly, že pro oba vzorky PP a PPOx se absorbance karbonylových a hydroperoxidových skupin zvyšují s rostoucím časem UV expozice. Jak se očekávalo, vyšší nárůst těchto absorbcí byl u PPOx. Také SEC křivky ukazují, že molární hmotnost PP a PPOx klesala

s rostoucím časem expozice. Testy biodegradace ukázaly, že pouze vzorek PP fotooxidovaný 480 hodin byl po 56 dnech fragmentován, zatímco u PPOx se rozpadl již vzorek oxidovaný 288 hodin. Vzorky po 56 dnech biodegradace bez předchozí UV expozice neprokázaly žádnou fragmentaci. Z těchto výsledků je patrné, že biodegradabilita syntetických polymerů s obsahem prooxidantů silně závisí na podmínkách prostředí před samotnou degradací.

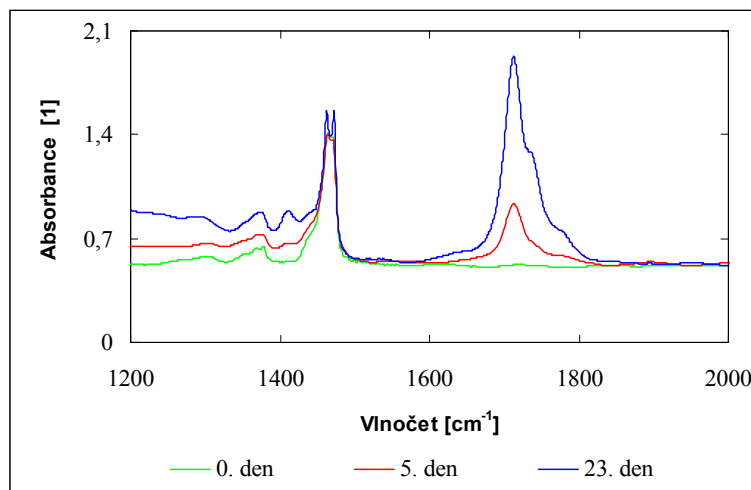
### **Předcházející diplomové práce**

V diplomové práci [12] byla zkoumána biodegradace PE s obsahem prooxidantů. Byly zkoumány tři druhy vzorků LDPE v prostředí půdy (25°C) a kompostu (58°C).

1. **LDPE-1** byla transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55  $\mu\text{m}$ , obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec). Dva typy tohoto vzorku byly abioticky oxidovány při teplotě 70°C po dobu 40 a 80 dní, LDPE-1 (40), LDPE-1 (80).
2. **LDPE-2** byla transparentní fólie od společnosti Symphony Environmental Technologies tloušťky 30-35  $\mu\text{m}$ , obsahující prooxidant  $\text{d}_2\text{w}^{\text{TM}}$  v množství 1 %, bez plniva, abioticky oxidovaná při teplotě 70°C po dobu 40 dní.
3. **LDPE-3** byla transparentní fólie tloušťky 10-15  $\mu\text{m}$  o neznámém složení prooxidantů, bez plniva, abioticky oxidovaná při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

### ***Testy abiotické oxidace***

Hodnocení abiotické oxidace vzorků LDPE-2 a LDPE-3 bylo provedeno metodou FTIR, hodnocením mechanické pevnosti a gelovou permeační chromatografií. Vzorek LDPE-1 byl abiotické oxidaci podroben v předešlé DP [32] pod označením LDPE<sup>2</sup>. Vzorky pro FTIR analýzu byly vystaveny teplotám 60, 70 a 80°C, v časových intervalech z teploty vyjmuty a uskladněny při 4°C. FTIR spektra ukázala nárůst karbonylového píku ( $1713\text{cm}^{-1}$ ) v průběhu termooxidace, přičemž karbonylový pík naznačuje počátek oxidace vzorku. Na obrázku (Obr. 8) lze vidět FTIR spektra u vzorku LDPE-2 oxidovaného při 70°C při nultém, pátém a 23. dni termooxidace.



Obr. 8: FTIR spektra u vzorku LDPE-2 oxidovaného při 70°C pro C=O ( $1735\text{cm}^{-1}$ ) a CH<sub>2</sub> ( $1465\text{cm}^{-1}$ ) [12]

Z absorbancí byly určeny CI, jejichž maximální hodnota byla u LDPE-2 při teplotě 80°C po 16 dnech, při 70°C po 23 dnech a při 60°C po 45 dnech. V případě LDPE-3 byly maximální CI při teplotě 80°C po 14 dnech, při 70°C po 28 dnech a při 60°C po 63 dnech. Počáteční zdržení růstu CI je způsobeno pravděpodobně přítomností stabilizátoru v polymeru. Lze vidět, že s rostoucí teplotou termooxidace roste rychlost a míra oxidace materiálu.

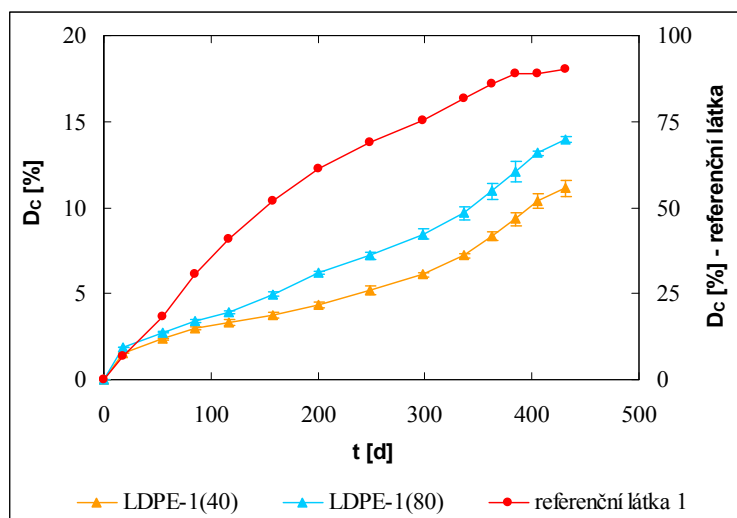
Další metodou použitou ve studii je hodnocení mechanické pevnosti. Vzorky byly po termooxidaci při různých teplotách podrobeny mechanickému namáhání. V pokročilejší fázi termooxidace nebyl měřicí přístroj Tensometer 2000 schopen prodloužení při přetrhnutí indikovat, proto byly tyto hodnoty považovány za nulové. V případě LDPE-2 k nulové hodnotě došlo při teplotě 80°C – 70°C – 60°C za 13 – 20 – 45 dní, u vzorku LDPE-3 za 11 – 28 – 66 dní. I zde je viditelný vliv stabilizátorů na mechanickou pevnost, kdy v počátečním stádiu termooxidace si vzorky zachovávají mechanické vlastnosti.

Gelovou permeační chromatografií, kdy jsou molekuly separovány dle své velikosti v mobilní fázi gelu, bylo stanoveno rozložení molekulových hmotností u testovaných LDPE-1 (40) a LDPE-1 (80) a u původního vzorku LDPE-1. Je zřejmé, že během abiotické oxidace se významně snížila molekulová hmotnost testovaného LDPE-1.

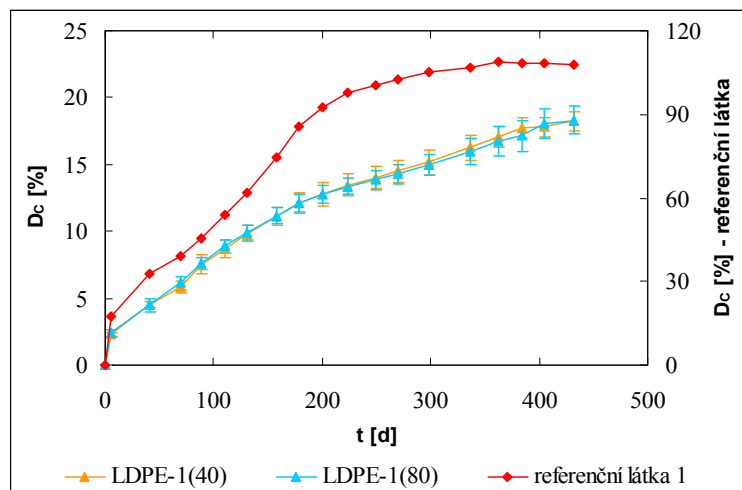
### Testy aerobní biodegradace

K vyhodnocení aerobní biodegradace byla použita plynová chromatografie, měřící produkci  $\text{CO}_2$  a spotřebu  $\text{O}_2$ . Podle procentuální mineralizace uhlíku  $D_C$  byl stanoven průběh odbourávání vzorků. V případě LDPE-1 byly závěry vyneseny po 432 dnech biodegradace, kdy v půdním testu byla u vzorku LDPE-1 (40) mineralizace 11,11 %, u LDPE-1 (80) 13,98 %. V kompostu byla mineralizace LDPE-1 (40) 18,23 % a LDPE-1 (80) 18,31 %.

U vzorků LDPE-2 a LDPE-3 byly závěry v půdním prostředí vyneseny po 183 dnech, kdy mineralizace vzorku LDPE-2 byla 4,34 % a LDPE-3 mineralizace 5,14 %. V kompostu po 92 dnech odpovídá mineralizace LDPE-2 hodnotě 12,28 % a LDPE-3 hodnotě 10,39 %. Obrázky (Obr. 9, 10) ukazují mineralizaci uhlíku  $D_C$  vzorků LDPE-1 a referenční látky (celulosa) při půdním a kompostovacím testu.



Obr. 9: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce  $\text{CO}_2$  - půdní test [12]



Obr. 10: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce  $CO_2$  - kompostovací test [12]

Z výsledků vyplývá, že biodegradční testy jsou úspěšnější v prostředí vyžralého kompostu, kdy biodegradace probíhá u všech testovaných materiálů podstatně rychleji.

Optická mikroskopie byla provedena u vzorků LDPE-1 (40) a LDPE-1 (80), po biodegradaci jsou viditelná bakteriální vlákna, pravděpodobně skupiny aktinomycét a také vlákna plísní. Skenovací elektronovou mikroskopií (SEM) byly u vzorků podrobených biodegradaci viditelné vlákna, praskliny, bakteriální buňky.

Diplomová práce [32] zkoumala biodegradaci následujících vzorků v prostředí půdy a kompostu.

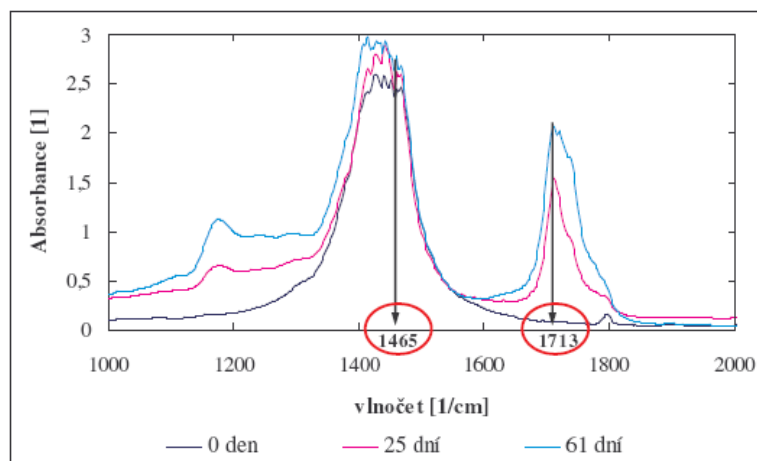
1. **LDPE<sup>1</sup>** - LDPE transparentní fólie o tloušťce 60  $\mu\text{m}$  obsahující prooxidant na bázi železa a kobaltu [20]. Vzorek byl již v minulosti podroben abiotické oxidaci, viz publikace [20], která byla provedena po dobu 3 letních měsíců (červen - srpen) tak, že byl vzorek vystaven působení slunečního záření a povětrnostním vlivům v klimatických podmínkách jižní Francie.
2. **HDPE<sup>1</sup>** - HDPE transparentní fólie o tloušťce 20  $\mu\text{m}$  obsahující stejný typ prooxidantu jako vzorek LDPE<sup>1</sup> [20]. Vzorek HDPE<sup>1</sup> byl též v minulosti vystaven abiotické oxidaci stejným způsobem jako vzorek LDPE<sup>1</sup>.

3. **LDPE<sup>2</sup>** - LDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55  $\mu\text{m}$ , obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec).
  - **LDPE<sup>2</sup> (40)** – vzorek LDPE<sup>2</sup> abioticky oxidován při 70°C po dobu 40 dní.
  - **LDPE<sup>2</sup> (80)** – vzorek LDPE<sup>2</sup> abioticky oxidován při 70°C po dobu 80 dní.
4. **HDPE<sup>2</sup>** - HDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 17  $\mu\text{m}$  obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 5 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec).
5. **LDPE<sup>3</sup>** - LDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55  $\mu\text{m}$  bez přídavku prooxidantu a plniva.
6. **HDPE<sup>3</sup>** - HDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 17  $\mu\text{m}$  bez přídavku prooxidantu a plniva.

### ***Testy abiotické oxidace***

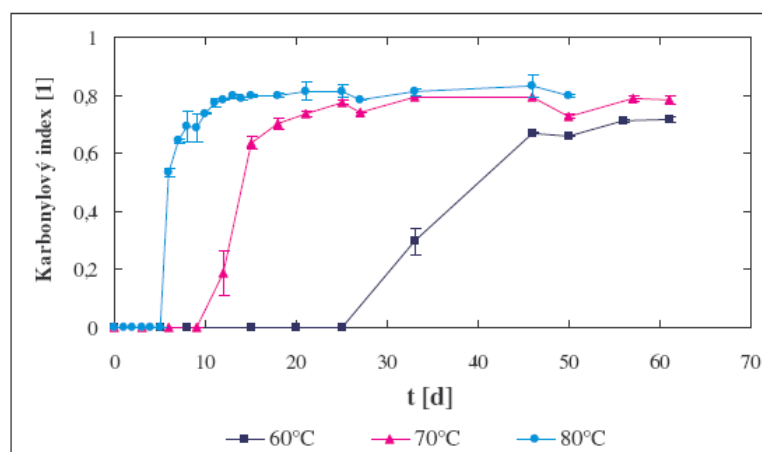
Abiotické oxidaci byly podrobeny vzorky LDPE<sup>2</sup>, HDPE<sup>2</sup>, LDPE<sup>3</sup> a HDPE<sup>3</sup>. Hodnocení bylo provedeno metodou FTIR a hodnocením mechanické pevnosti. Vzorky pro FTIR analýzu byly vystaveny teplotám 60, 70 a 80°C, v časových intervalech z teploty vyjmuty a uskladněny při 4°C. Karbonylový pík (1713 $\text{cm}^{-1}$ ) a jeho růst byl pozorován pouze u vzorku LDPE<sup>2</sup>, kdy nárůst karbonylového píku vzrůstal s časem oxidace, až 61. den jeho nárůst stagnoval. Na obrázku (Obr. 11) lze vidět FTIR spektra u vzorku LDPE<sup>2</sup> oxidovaného při 70°C při nultém, 25. a 61. dni termooxidace.





Obr. 11: FTIR spektra u vzorku LDPE<sup>2</sup> (oxidovaný při 70°C) [32]

Závislost karbonylového indexu, vyjádřeného jako podíl absorbance karbonylového píku při vlnočtu  $1713 \text{ cm}^{-1}$  a  $-\text{CH}_2-$  píku při vlnočtu  $1465 \text{ cm}^{-1}$ , na délce oxidace je znázorněna na obrázku (Obr. 12). Lze vidět, že nejvyšší hodnoty CI (0,83) bylo dosaženo v případě termooxidace při  $80^\circ\text{C}$ , naopak nejnižší při teplotě  $60^\circ\text{C}$  (0,71). Z výsledků také plyne, že teplota má vliv na rychlost oxidace, kdy při  $80^\circ\text{C}$  byl vzorek zoxidován již za 6 dní, při  $70^\circ\text{C}$  za 12 dní a při  $60^\circ\text{C}$  za 33 dní.



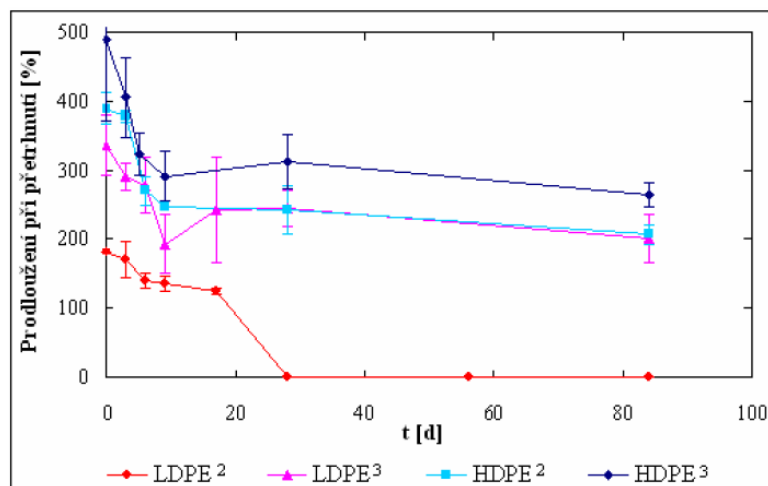
Obr. 12: Abiotická oxidace LDPE<sup>2</sup> (oxidovaný při různých teplotách); vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky [32]

U ostatních vzorků, HDPE<sup>2</sup>, LDPE<sup>3</sup> a HDPE<sup>3</sup> nebyla pozorována žádná známka oxidace. U vzorků LDPE<sup>3</sup> a HDPE<sup>3</sup> tento závěr není překvapující, protože neobsahovaly prooxidanty. Vzorek HDPE<sup>2</sup> obsahoval stejný prooxidant jako LDPE<sup>2</sup>, avšak také nebyla pozorována jeho oxidace, pravděpodobně v důsledku jeho nerozvětvené struktury.

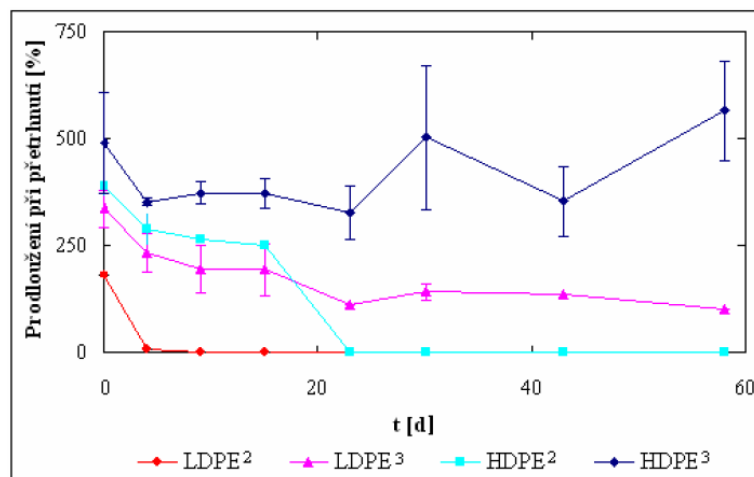
Testování mechanické pevnosti bylo provedeno u všech vzorků LDPE<sup>2</sup>, HDPE<sup>2</sup>, LDPE<sup>3</sup> a HDPE<sup>3</sup>, podrobených termooxidaci. Grafické znázornění tahové zkoušky u vzorků termooxidovaných při 60 a 70°C měly podobný průběh, u vzorků LDPE<sup>3</sup> a HDPE<sup>3</sup> bez prooxidantů byla pozorována ztráta pevnosti v tahu přibližně na ½ z původní hodnoty. HDPE<sup>2</sup> s obsahem prooxidantu vykazoval stejný průběh a u vzorku LDPE<sup>2</sup> došlo k rychlé ztrátě pevnosti v tahu na nulovou hodnotu během 28 dní při 60°C a 24 dní při 70°C.

Při hodnocení vzorků termooxidovaných při 80°C byla patrná rychlá ztráta měřného prodloužení při přetrhnutí na nulovou hodnotu, u LDPE<sup>2</sup> po 9 dnech a u HDPE<sup>2</sup> po 23 dnech.

Na obrázcích (Obr. 13, 14) můžeme porovnat popsané závislosti prodloužení při přetrhnutí na čase, po který byly vzorky termooxidovány při 60 a 80°C.



Obr. 13: Pevnost v tahu – vzorky termooxidované při 60°C, vynesené body jsou průměrem většinou ze tří měření, chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky [32]



Obr. 14: Pevnost v tahu – vzorky termooxidované při 80°C, vynesené body jsou průměrem většinou ze tří měření, chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky [32]

Vliv teploty na rychlost ztráty mechanické pevnosti můžeme vyjádřit u vzorku LDPE<sup>2</sup>, u něhož došlo ke ztrátě pevnosti na nulovou hodnotu za 9 dní při 80°C, za 24 dní při 70°C a za 28 dní při 60°C. U vzorků LDPE<sup>3</sup> a HDPE<sup>3</sup> bez prooxidantů nedošlo ke snížení pevnosti v tahu na nulovou hodnotu, pravděpodobně účinkem obsažených antioxidantů. Rozdíl pevnosti v tahu u vzorku HDPE<sup>2</sup> s prooxidanty při různých teplotách může být způsoben nesprávně zvolenou kombinací antioxidantů a prooxidantů ve vzorku.

### Testy aerobní biodegradace

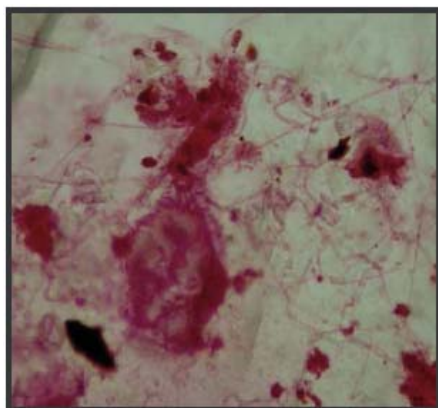
Aerobní biodegradace byla hodnocena pomocí plynové chromatografie, měřením produkce CO<sub>2</sub>.

Biodegradaci v prostředí půdy byly podrobeny vzorky LDPE<sup>1</sup>, HDPE<sup>1</sup>, LDPE<sup>2</sup> (40) a LDPE<sup>2</sup> (80). U vzorků LDPE<sup>1</sup> a HDPE<sup>1</sup> byla stanovena mineralizace po 189 dnech 1,5 a 3,3 %. Rychlejší mineralizace byla u vzorků LDPE<sup>2</sup> (40) a LDPE<sup>2</sup> (80), po 55 dnech 2,7 a 3,1 %, měření jejich degradace pokračovalo v DP [12].

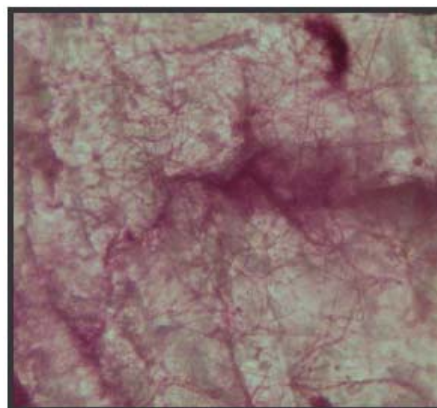
V prostředí kompostu byly biodegradaci vystaveny stejné vzorky LDPE<sup>1</sup>, HDPE<sup>1</sup>, LDPE<sup>2</sup> (40) a LDPE<sup>2</sup> (80). V průběhu testu byl u vzorků LDPE<sup>1</sup>, HDPE<sup>1</sup> zaznamenán výrazný pokles produkce CO<sub>2</sub>, proto bylo biodegradační prostředí po 272 dnech inku-

bace revitalizováno přidavkem 0,5 g sušiny vyzrálého kompostu. U vzorků LDPE<sup>1</sup> a HDPE<sup>1</sup> byla stanovena mineralizace po 356 dnech 3,6 a 3,5 %. Rychlejší mineralizace byla u vzorků LDPE<sup>2</sup> (40) a LDPE<sup>2</sup> (80), po 69 dnech 6,3 a 7,1 %, měření jejich degradace pokračovalo v DP [12].

Vzorky LDPE<sup>1</sup>, HDPE<sup>1</sup>, LDPE<sup>2</sup> (40) a LDPE<sup>2</sup> (80) byly po ukončení kompostovacího testu pozorovány mikroskopicky. U obou vzorků LDPE<sup>1</sup>, HDPE<sup>1</sup> byla pozorována přítomnost vláken plísni na jejich povrchu. Mikroskopie LDPE<sup>2</sup> (40) a LDPE<sup>2</sup> (80) (Obr. 15, 16) prokázala větší a rozmanitější oživení jejich povrchů, byly pozorovány plísně i vláknité bakterie, pravděpodobně z rodu aktinomycét.



*Obr. 15: Mikroskopie LDPE<sup>2</sup> (40), kompostovací test (zvětšení 1000x) [32]*



*Obr. 16: Mikroskopie LDPE<sup>2</sup> (80), kompostovací test (zvětšení 1000x) [32]*

## 4 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce je studium abiotické oxidace a biodegradace nových oxidovaných vzorků polyethylenu s prooxidanty.

Původní oxidované nové vzorky budou podrobeny optické a elektronové mikroskopii pro hodnocení účinnosti oxidace. Biodegradace nových materiálů bude realizována v prostředí půdy a vyzrálého kompostu. Míra biodegradace bude sledována analýzou vyprodukovaného oxidu uhličitého metodou plynové chromatografie.

Diplomová práce také z části navazuje na předchozí práce [12,32], pokračuje se ve zde započatých pokusech a zkouškách. U původních vzorků i u vzorků podrobených biodegradaci bude provedena optická a elektronová mikroskopie. U vzorku LDPE-1 (LDPE<sup>2</sup> - Granitol) bude sledován průběh abiotické oxidace pomocí spektroskopie v IČ oblasti.

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

## **II. MATERIÁLY A METODIKA**

## 5 POUŽITÉ MATERIÁLY

### 5.1 Chemikálie

Všechny použité chemikálie byly dodány firmami Lachema, Fluka, Penta, Chemapol Limited aj. v čistotě p.a.

Dále bylo použito:

- Nosný plyn He o čistotě 4.6 (*Linde Technoplyn a.s.*).
- Směsný syntetický plyn (*Linde Gas a.s.*) obsahující :
  1. CH<sub>4</sub> (4,07 obj.%), CO<sub>2</sub> (0,815 obj.%) a N<sub>2</sub> (95,115 obj.%)
  2. CH<sub>4</sub> (4,04 obj.%), CO<sub>2</sub> (0,799 obj.%) a N<sub>2</sub> (95,161 obj.%)
- Barviva pro mikroskopii - karbolfuchsin, bengálská červeň

### 5.2 Přístrojové vybavení

- Analyzátor uhlíku SSM-5000 A, Shimadzu Corp., Japonsko
- FTIR spektrometr Mattson 3000, UNICAM, Velká Británie
- Plynový chromatograf GC Agilent 7890 s programem ChemStation
- Plynotěsný dávkovač Hamilton o objemu 0,1 ml
- Tedlarův vak o objemu 0,6 l
- Mikrodávkovače (1-5 ml, 100-1000 µl, 20-200 µl), Biohit, Finsko
- Optický mikroskop CX 41 s fotoaparátem Olympus
- Elektronový mikroskop VEGA LMU, Tescan s.r.o., ČR
- Běžné laboratorní sklo a vybavení

### 5.3 Roztoky

#### *Fyziologický roztok*

Příprava 1000 ml fyziologického roztoku o koncentraci  $8,5 \text{ g.l}^{-1}$  vyžadovala navážení 8,60 g NaCl s přesností  $\pm 0,01 \text{ g}$  do 1000 ml odměrné baňky. Po dokonalém promíchání byl roztok sterilizován 20 minut při teplotě  $125 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### *Fixační roztok*

Fixační roztok sloužil k zafixování mikroorganismů na povrchu vzorků PE fólií, odebraných z biodegradačního testu po jeho ukončení.

Pro přípravu 1000 ml fixačního roztoku bylo dávkováno 110 ml 36 – 38%-ního roztoku formaldehydu, 20 ml 50 %-ního roztoku glutaraldehydu a 870 ml fyziologického roztoku o koncentraci  $8,5 \text{ g.l}^{-1}$ . Vzniklý roztok byl nakonec důkladně promíchán a skladován při  $4^\circ\text{C}$ .

#### *Suspendační roztok*

Pro přípravu 1000 ml suspenzačního roztoku bylo třeba rozpustit 1,50 g Tween 80, 4,00 g difosforečnanu sodného, 5,00 g NaCl s přesností  $\pm 0,01 \text{ g}$  v 1000 ml destilované vody. Roztok byl důkladně promíchán a sterilizován v autoklávu po dobu 20 minut při teplotě  $120^\circ\text{C}$ .

#### *Minerální médium*

Základní funkcí minerálního média (MM) je poskytnutí živin pro mikroorganismy a zároveň slouží ke zvlhčení prostředí. Nejdříve byla připravena řada zásobních roztoků (A – H) rozpuštěním níže uvedených složek v 1 l destilované vody.

A.	9,078 g	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	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	$\text{NH}_4\text{Cl}$	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	$\text{H}_3\text{BO}_3$	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

Následně byl z těchto roztoků připraven roztok minerálního média. K přípravě 100 ml MM byly dávkovány následující objemy zásobních roztoků (Tab. 2):

Tab. 2: Objemy zásobních roztoků pro přípravu MM

A (ml)	B (ml)	C (ml)	D (ml)	E (ml)	F (ml)	G (ml)	H (ml)
4	16	0,2	1	1	1	1	0,1

Vzniklý roztok byl nakonec doplněn destilovanou vodou na objem 100 ml a důkladně promíchán.

## 5.4 Testované vzorky

### 5.4.1 Vzorky převzaté z DP [12]

- *Vzorek LDPE-1*

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

**LDPE-1(40)** – vzorek LDPE-1 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

**LDPE-1(80)** – vzorek LDPE-1 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 80 dní.

- ***Vzorek LDPE-2***

LDPE transparentní fólie od společnosti Symphony Environmental Technologies o tloušťce 30-35  $\mu\text{m}$  obsahující prooxidant  $\text{d}_2\text{w}^{\text{TM}}$  v množství 1 %, bez plniva.

***LDPE-2(40)*** – vzorek LDPE-2 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

- ***Vzorek LDPE-3***

LDPE transparentní fólie o tloušťce 10-15  $\mu\text{m}$  o neznámém složení prooxidantů, bez plniva.

***LDPE-3(40)*** – vzorek LDPE-3 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

#### 5.4.2 Nové kombinace vzorků

- ***Vzorek č.1 – LDPE 555***

Transparentní fólie LDPE 555 tloušťky 58 $\mu\text{m}$ , vystavena po 10 hodin v komoře SEPAP 12-24<sup>1)</sup>, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 264 hodin, obsahující železo a mangan ve formě přesně neznámých organických komplexů.

- ***Vzorek č.2 – LLDPE 555***

Transparentní fólie LLDPE 555 tloušťky 45 $\mu\text{m}$ , vystavena po 20 hodin v komoře SEPAP 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 434 hodin, obsahující železo a mangan ve formě přesně neznámých organických komplexů.

- ***Vzorek č.3 – HDPE 9318810***

Transparentní fólie HDPE 9318810 tloušťky 57 $\mu\text{m}$ , vystavena po 40 hodin v komoře SEPAP 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 1224 hodin, obsahující mangan ve formě přesně neznámých organických komplexů.

- ***Vzorek č.4 – HDPE 1370***

Transparentní fólie HDPE 1370 tloušťky 59 $\mu\text{m}$ , vystavena po 40 hodin v komoře SEPAP 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 456 hodin, obsahující kobalt ve formě přesně neznámých organických komplexů.

<sup>1)</sup> SEPAP 12-24 je zařízení pro simulovanou fotooxidaci materiálu. Jedná se o termostatovanou komoru vybavenou čtyřmi rtuťovými výbojkami, jejichž záření je filtrováno tak, aby odpovídalo slunečnímu spektru.

## **5.5 Substráty pro biodegradační prostředí**

### ***Testování v půdě***

Substrátem při testování byla půda ze smíšeného lesa oblasti Vizovických vrchů. Zemina byla odebrána v hloubce cca 5 cm pod povrchem, po odstranění svrchní vrstvy (listí, jehličí).

### ***Testování v kompostu***

Substrátem byl komerčně vyráběný kompost od firmy AGRO CS. Jeho dozrávání bylo realizováno v teplotním profilu 25-30-35-40-50-58°C. Vyzrálý kompost byl inkubován za stálého provzdušňování v tzv. lysimetru při 58°C.

## 6 METODIKA PROVEDENÝCH ZKOUŠEK A POKUSŮ

### 6.1 Charakteristika vzorků

#### 6.1.1 Stanovení celkového uhlíku

Stanovení celkového uhlíku (TC) bylo provedeno pomocí analyzátoru Shimadzu, model SSM-5000 A, na němž je možno stanovit obsah uhlíku v pevných látkách.

Principem stanovení je oxidace veškerého uhlíku ve vzorku při teplotě 950°C v proudu kyslíku ve spalovací trubici. Oxidovaný uhlík ve formě vzniklého CO<sub>2</sub> je veden do NDIR detektoru (Non-Disperse Infrared Detector). Absorpci příslušné vlnové délky je získán signál, zaznamenaný ve formě píku, jehož plocha je přímo úměrná koncentraci celkového uhlíku v příslušném vzorku.

Stanovení bylo provedeno u všech nových kombinací vzorků i u referenční látky (celulosa). TC převzatých vzorků i referenčních látek a substrátů byl převzat z předchozí DP [12]. Obsah TC v převzatých i nových vzorcích je uveden v kap. 7.1 (Tab. 6).

#### 6.1.2 XRF analýza

V DP [12] byla provedena analýza vzorků LDPE-1, LDPE-2 a LDPE-3 pomocí rentgenofluorescenční (XRF) analýzy. Tato analýza byla vybrána vzhledem k tomu, že prooxidanty mají většinou podobu organických komplexů přechodných kovů.

Součástí XRF spektrometru je PC s ovládacím softwarem Elva X 2.4. Pro měření byly přednastaveny následující podmínky: proud rentgenky 20 μA, napětí rentgenky 45 kV, efektivní čas měření (live-time) 180 s, jiné hodnoty byly předdefinovány.

V následující tabulce (Tab.3) lze vidět zjištěné obsahy kovů v jednotlivých vzorcích.

Tab. 3: Kovy přítomné ve vzorcích LDPE [12]

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

### 6.1.3 Shrnutí charakteristik převzatých vzorků

Tabulka (Tab. 4) shrnuje veškeré známé vlastnosti vzorků převzatých z DP [12].

Tab. 4: Charakteristiky převzatých vzorků

Vzorek	Výrobce	Tloušťka <sup>#</sup>	Prooxidant <sup>#</sup>	Kovy přítomné v prooxidantech <sup>*</sup>	Aditiva <sup>#</sup>
LDPE-1	Granitol	50-55 μm	Addiflex HE (5 %)	Mn	CaCO <sub>3</sub> (15%)
LDPE-2	Symphony	30-35 μm	d <sub>2</sub> w <sup>TM</sup> (1%)	Fe, Mn, Zn	--
LDPE-3	neznámý	10-15 μm	neznámý	Fe, Mn	--

Pozn. \* zjištěno pomocí XRF

<sup>#</sup> poskytnuto výrobcem

## 6.2 Mikrobiologická charakteristika substrátů

U obou použitých substrátů, půdy i vyzrálého kompostu, byl proveden mikrobiologický rozbor pro zjištění množství mikrobiálního oživení. Postup provedení obou charakteristik byl u půdy i kompostu shodný.

Buňky mikroorganismů jsou schopny sorpcí se vázat na částice substrátu, z toho důvodu jsou vzorky každého substrátu nejdříve vytřepávány do suspenčních roztoků, které uvolňují buňky z částic půdy nebo kompostu lépe než fyziologický roztok. Také není prakticky možné připravit vhodné prostředí pro všechny druhy mikroorganismů, proto jsou výsledky považovány pouze za částečné vyjádření skutečných poměrů v substrátu.

U půdy i kompostu byl sledován celkový počet bakterií, množství aktinomycet a vláknitých plísní kultivačními metodami. Nejdříve byly připraveny agary vhodné pro růst jednotlivých mikroorganismů:

- Kasein – sojový agar: je univerzální živné médium pro chemoorganotrofní bakterie (stanovení celkového počtu bakterií)
- Glycerol – dusičnanový agar: je neselektivní agar pro organismy schopné využít dusičnany jako zdroj dusíku, tedy řada bakterií, aktinomycety i plísně (stanovení aktinomycet)

- Agar s bengálskou červení a chloramfenikolem: limituje rozrůstání mycelií a inhibuje růst bakterií (stanovení vláknitých plísní)

Příprava agarů byla provedena dle [31] v množství 200 ml. Dále byl dle [31] připraven suspenzační roztok v množství 50 ml a fyziologický roztok v množství 200 ml. Veškeré roztoky a zkumavky pro přípravu ředění byly poté sterilizovány při 115°C po dobu 20 minut. 5g půdy či kompostu bylo vytřepáváno 15 minut v 50 ml suspenzačního roztoku a posléze připraveno vhodné ředění vzniklého supernatantu pro jednotlivé stanovení mikroorganismů (celkový počet bakterií:  $10^{-4} - 10^{-8}$ ; aktinomycety:  $10^{-3} - 10^{-6}$ ; vláknité plísně:  $10^{-1} - 10^{-4}$ ).

Agary byly po zchlazení rozlity do Petriho misek a naočkovány každým ředěním supernatantu vždy dvakrát vedle sebe. Inkubace takto připravených misek probíhala tři dny pro celkový počet bakterií a 7 dní pro stanovení aktinomycet a vláknitých plísní při 25°C. Výsledky obou rozborů viz kap. 7.2 (Tab. 7,8).

### 6.3 Praktické provedení abiotické oxidace

Pro sledování abiotické oxidace byl zvolen vzorek LDPE-1 (Granitol). Vzorek byl nejdříve nařezán na pásy o rozměrech 10 x 2,5 cm, pásy poté umístěny do hliníkových krabiček s víkem a do sušárny, která sloužila jako prostředí pro oxidaci. V sušárně byla udržována konstantní teplota 50°C. V předem stanovených časových intervalech bylo odebíráno vždy 5 vzorků PE fólie a tyto následně uskladněny v chladicí místnosti při 4°C. Vyhodnocení termooxidace bylo provedeno pomocí spektroskopie v IČ oblasti (FTIR).

#### 6.3.1 Spektroskopie v IČ oblasti

Fólie LDPE-1, termooxidovaná při 50°C byla pro vyhodnocení termooxidace podrobena spektroskopii v oblasti IČ záření pomocí přístroje Mattson 3000. Každý vzorek byl proměřen 3x vedle sebe, vždy v rozmezí od 400 do 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Byl sledován převážně  $-\text{CH}_2-$  a  $\text{C}=\text{O}$  pík, přičemž  $-\text{CH}_2-$  pík je detekován při vlnočtu 1465  $\text{cm}^{-1}$  a  $\text{C}=\text{O}$  pík při vlnočtu 1713  $\text{cm}^{-1}$ . Z absorbance obou píků byl vypočten karbonylový index (CI), který je vyjádřen jako podíl absorbance karbonylového a  $-\text{CH}_2-$  píku dle rovnice (2). Karbonylový index charakterizuje míru oxidace

testovaných vzorků. Jako grafické vyhodnocení byla sestavena závislost karbonylového indexu na čase, po který byly vzorky termooxidovány.

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

CI karbonylový index [1]

$A_{1713}$  absorbance při 1713  $\text{cm}^{-1}$  [1]

$A_{1465}$  absorbance při 1465  $\text{cm}^{-1}$  [1]

## 6.4 Praktické provedení aerobní biodegradace

### 6.4.1 Materiály pro přípravu biodegradačního testu

Biodegradační prostředí se skládalo z perlitu, substrátu (půda, kompost), minerálního média a vzorku.

#### *Perlit*

Perlit vyráběný firmou AGRO CS pod obchodním názvem Agroperlit je chemicky inertní materiál, který slouží k zadržení vody a ve vodě rozpuštěných živin, také zajišťuje pórovitost a kyprost substrátu. Perlit byl nejdříve 3krát promyt destilovanou vodou a vysušen při 150°C. Pro vlastní testování byl smíchán se substrátem v poměru 4:1, tzn. 6,67g perlitu k 1,67g sušiny substrátu.

#### *Substrát a stanovení sušiny*

U obou substrátů (charakteristika viz kap. 5.5) byla před zahájením biodegradačního testu stanovena sušina. Do předem zvážených Petriho misek bylo naváženo 5 g substrátu s přesností  $\pm 0,0001$  g vždy 3krát vedle sebe. Substrát byl vysušen do konstantní hmotnosti při 105°C a po zchlazení na pokojovou teplotu byly misky zváženy s přesností  $\pm 0,0001$  g. Sušina půdy i kompostu byla vyjádřena v procentech. Do biodegradačního testu bylo dávkováno 1,67g sušiny substrátu, tzn. 2,668g kompostu o sušině 62,59 % a 1,951g půdy o sušině 85,59 %.

### *Minerální médium*

Minerální médium poskytuje živiny pro mikroorganismy a zároveň slouží ke zvlhčení prostředí. Jeho charakteristika a příprava viz kap. 5.3. Do biodegradačního testu bylo dávkováno vždy 6,67ml MM.

### *Příprava vzorků*

Charakteristika vzorků viz kap. 5.4. Vzorky byly před vnesením do biodegradačního testu zmrazeny tekutým dusíkem, čímž získaly křehkost a následně byly rozdrce-ny na sítu o průměru otvorů 1mm. K testování byl nadávkován vždy 1g vzorku (0,6g/g sušiny substrátu), navážen s přesností  $\pm 0,0001$  g, 3krát vedle sebe. Byl proveden také slepý pokus, pouze s perlitem, substrátem a MM, vždy jedenkrát pro každý vzorek a současně jedenkrát sledována biodegradace referenčních látek (celulosa, hexadekan). Referenční látky slouží k porovnání biodegradace vzhledem k biodegradaci vzorků. Celulosa i hexadekan byly dávkovány v množství 0,20g s přesností  $\pm 0,01$  g.

### *Inkubace*

Inkubace připraveného biodegradačního testu byla ve tmě, v případě půdního substrátu při teplotě 25°C, v případě testování v kompostu při teplotě  $58 \pm 2^\circ\text{C}$ .

## **6.4.2 Testovací lahve**

Testování aerobní biodegradace v prostředí půdy a vyzrálého kompostu bylo provedeno v lahvích o objemu 500 ml, o celkovém objemu plynné fáze 580 ml. Láhve byly opatřeny ventilovým uzávěrem, obsahujícím otvor s patronou a se septem, který sloužil k odběru vzorku plynné fáze. Plynný vzorek byl poté vyhodnocován metodou plynové chromatografie.

## **6.4.3 Provzdušňování lahví**

Z důvodu dodržení aerobních podmínek při testování byl při každém měření plynného vzorku na plynovém chromatografu sledován obsah kyslíku v testovacích lahvích. Dodržení optimální koncentrace kyslíku bylo zajištěno pomocí provzdušňování lahví. Každá láhev byla po proměření obsahu plynné fáze otevřena a napojena na provzdušňovací systém. Ten se skládal z čerpadla, lahve s 5M NaOH, lahve s 0,05M Ba(OH)<sub>2</sub> a lahve s destilovanou vodou. Systém byl propojen pomocí soustavy siliko-



nových hadiček. Do testovací lahve je prostřednictvím tohoto systému vháněn vzduch, který je díky NaOH zbaven plynného CO<sub>2</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub> slouží jako pojistka a indikace v případě vyčerpání roztoku NaOH (sraženina BaCO<sub>3</sub>) a láhev s destilovanou vodou slouží jako pojistka v případě havárie a také pro zvlhčení přiváděného vzduchu. Rovnoměrné provzdušnění každé lahve bylo podpořeno ručním protřepáváním lahve během provzdušňování. Doba provzdušňování byla stanovena na základě experimentálního stanovení obsahu O<sub>2</sub>.

Kontrolním měřením obsahu plynné fáze v provzdušněné lahvi jsme se přesvědčili o účinnosti systému, kdy obsah CO<sub>2</sub> klesl na minimum a obsah O<sub>2</sub> vzrostl na optimální koncentraci.

## **6.5 Hodnocení aerobní biodegradace metodou plynové chromatografie**

Hodnocení stupně biodegradace bylo prováděno metodou plynové chromatografie (GC), což je metoda pro stanovení koncentrací plynů. Chromatografie je separační metoda, při které se oddělují složky vzorku vnášením mezi dvě fáze, stacionární a mobilní. V případě plynové chromatografie se vzorek dávkuje do proudu nosného plynu, který vzorek unáší kolonou. Složky plynu se separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi a nakonec jsou indikovány detektorem.

Při testování byla sledována produkce CO<sub>2</sub> a spotřeba O<sub>2</sub>. Produkce CO<sub>2</sub> charakterizuje stupeň biodegradace vzorku, sledování spotřeby O<sub>2</sub> sloužilo ke kontrole zachování aerobních podmínek v průběhu testování.

Důležitým faktorem byla také vlhkost směsi v testovací lahvi, která byla vizuálně sledována a případně doplněna přídatkem destilované vody.

### **6.5.1 Analýza pomocí plynového chromatografu Agilent 7890**

Pro analýzu plynné fáze v biodegradačních lahvích byl použit plynový chromatograf Agilent 7890. Jsou zde použity dvě náplňové kolony délky 1,829 m, pro naši metodu zapojené do série. Pro oddělení CO<sub>2</sub> je použita náplň Porapak Q s velikostí částic 80/100 MESH, na které jsou zadržovány polární látky, pro oddělení O<sub>2</sub> je použito molekulové síto 5A s velikostí částic 60/80 MESH. K detekci je použit tepelně vodivostní

detektor (TCD), kde nosný plyn proudí přes vlákno žhavené stálým elektrickým proudem a ochlazuje ho na určitou teplotu; přítomnost složky pak změni tepelnou vodivost prostředí kolem žhaveného vlákna, a tím i jeho teplotu a elektrický odpor. Používají se dvě žhavená vlákna, přes jedno proudí čistý nosný plyn, přes druhé plyn z kolony, jejich elektrické odpory se porovnávají a tím je detekována přítomnost složky. Nosným plynem při analýze je helium o čistotě 4.6, k přepínání ventilu slouží tlakový vzduch.

Při analýze jsou na počátku, po napíchnutí plynného vzorku, zapojeny obě kolony, poté dochází v čase 0,7 minut k vyřazení molekulového síta, na koloně s náplní Porapak Q dochází k oddělení  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$ , které se následně dostávají na detektor. Poté se v čase 1,5 minut pomocí ventilu zařazuje molekulové síto, dochází k rozdělení  $\text{O}_2$  a  $\text{N}_2$  a jejich přivedení na detektor.

Pro vyhodnocení analýzy byl použit program GC ChemStation. Standardem byl směsný syntetický plyn Linde Technoplyn (složení viz kap. 5.1) pro kalibraci  $\text{CO}_2$  a vzduch pro kalibraci  $\text{O}_2$ . Podmínky nastavení analýzy jsou uvedeny v tabulce (Tab. 5).

Tab. 5: Parametry nastavení GC Agilent 7890

Parametry		Analýza
Teplota [°C]	Injektor	200
	Termostat	60
	Detektor (TCD)	250
Nosný plyn	Typ	He
	Průtok [ $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ]	53
Přepínání ventilů	Čas [min]	0,7
		1,5
	Plyn	$\text{N}_2$ , vzduch

### 6.5.2 Zpracování naměřených hodnot

#### A) Denní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub>

Při biodegradaci vzorku dochází k uvolňování CO<sub>2</sub>, jehož množství je analyzováno pomocí GC. Denní produkci CO<sub>2</sub> můžeme vyjádřit následující rovnicí:

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

$m_{(d)C}$	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO <sub>2</sub>	[mg]
$M_C$	atomární hmotnost uhlíku	[g.mol <sup>-1</sup> ]
$R$	molární plynová konstanta	[J.K <sup>-1</sup> .mol <sup>-1</sup> ]
$p$	tlak v okamžiku provzdušňování	[kPa]
$T$	termodynamická teplota v okamžiku provzdušňování	[K]
$V_g$	plynný objem láhve	[ml]
$w(\text{CO}_2)$	množství CO <sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub>

Kumulativní produkce dána následujícím vztahem platí v případě provzdušňování lahví. Pokud lahve nejsou provzdušňovány, je kumulativní produkce shodná s produkcí denní.

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

$m_{(k)C}(2)$	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 CO<sub>2</sub>**

Substrátová produkce je vyjádřena jako kumulativní produkce CO<sub>2</sub> v lahvích se vzorky, snížená o produkci CO<sub>2</sub> ze slepých pokusů.

**D) Procentuelní mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO<sub>2</sub>**

Mineralizace vyjadřuje přeměnu vzorku na CO<sub>2</sub>, nejčastěji se vyjadřuje v procentech podle následující rovnice:

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

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

**E) Procentuelní obsah O<sub>2</sub> v láhvi**

Kyslík je důležitý pro kontrolu aerobních podmínek v průběhu testu, nejčastěji se jeho množství v lahvi vyjadřuje v procentech podle rovnice:

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

$\%O_2$	aktuální procento O <sub>2</sub> obsaženého v láhvi	[%]
$w(O_2)$	obsah kyslíku ve vzduchu	[%]
$S_{St, Vz}$	signál detektoru u standardu resp. vzorku	[μV.s]
$V_{St, Vz}$	dávkový objem plynné fáze standardu resp. vzorku do plynového chromatografu	[μl]

## 6.6 Mikroskopie vzorků podrobených biodegradaci

### 6.6.1 Optická mikroskopie

Zkoumání vzorku metodou optické mikroskopie bylo provedeno u vzorků LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Vzorky byly odebrány z lahví po ukončení biodegradačního testu v prostředí půdy i kompostu. Původní i degradované vzorky LDPE-1 byly touto metodou zkoumány již v předchozí diplomové práci [12].

#### *Příprava vzorku*

Několik kousků vzorku bylo odebráno z testovací lahve a vloženo do mikrozku-mavek o objemu 1,5ml, ve kterých byl 1ml fixačního roztoku. Inkubace takto připra-vených vzorků probíhala při 4°C minimálně 2 hodiny. Po inkubaci byly zafixované vzorky z roztoku vyjmuty a nalepeny na oboustrannou lepící pásku, připevněnou na podložním mikroskopickém sklíčku. Vzorek byl obarven karbolfuchsinem v průběhu jedné minuty a poté důkladně omyt destilovanou vodou. Mikroskopie byla prováděna světelným mikroskopem s použitím imerzního objektivu a dokumentována fotoapará-tem na tubusu mikroskopu.

### 6.6.2 Skenovací elektronová mikroskopie

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) vyhodnocuje vzorek na základě roz-ptylu a odrazu elektronů vzorkem a na základě interakcí elektronů s atomy přítomný-mi ve vzorku. Vznikající signály charakterizují zkoumaný vzorek a vzniká plastický obraz povrchu vzorku.

Charakterizace pomocí SEM byla provedena u převzatých vzorků LDPE-2 a LDPE-3, původních materiálů a také u vzorků podrobených abiotické oxidaci po dobu 40 dní a vzorků podrobených aerobní biodegradaci v půdě i kompostu. SEM byla pro-vedena také u nových oxidovaných vzorků LDPE 555, LLDPE 555, HDPE 9318810 a HDPE 1370. Původní i degradované vzorky LDPE-1 byly touto metodou zkoumány již v předchozí práci [12].

### *Příprava vzorku*

Původní neoxidované i 40 dní oxidované vzorky LDPE-2 a LDPE-3, i oxidované nové vzorky nevyžadovaly před zkoumáním pomocí SEM předúpravu, protože na nich nebyly přítomny mikroorganismy, proto byl vzorek vždy jen přenesen na terčík.

U vzorků LDPE-2(40) a LDPE-3(40) podrobených biodegradaci bylo několik kousků vzorku odebráno z testovací lahve a vloženo do mikrozku mávek o objemu 1,5ml, ve kterých byl 1ml fixačního roztoku. Inkubace takto připravených vzorků probíhala při 4°C minimálně 2 hodiny. Po inkubaci byly zafixované vzorky z roztoku vyjmuty a nalepeny na oboustrannou lepící pásku, připevněnou na podložním mikroskopickém sklíčku. Vzorek byl obarven karbolfuchsinem v průběhu 1 minuty a poté důkladně omyt destilovanou vodou. Nejdříve byla na vzorku provedena optická mikroskopie, pro kontrolu přítomnosti mikroorganismů, poté byla oboustranná lepící páska přenesena na terčík pro elektronovou mikroskopii. Terčík byl vysušen a před vlastní analýzou naprášen zlatem.

Vzhledem k tomu, že optická mikroskopie prokázala u vzorků LDPE-2(40) a LDPE-3(40) v prostředí půdy přítomnost vláknitých plísň (viz Obr. 48a, 49a), ale elektronová mikroskopie neposkytla dostatečně reprezentativní výsledek, byla zvolena nová konečná úprava těchto vzorků. Fólie byly zafixovány po dobu 2h při 4°C ve fixačním roztoku, poté přeneseny na terčík, vysušeny a dehydratovány ethanolem o koncentraci 50, 70, 90 a 96%. Dehydratace probíhala po dobu 15 minut při teplotě 4°C, závěrečná dehydratace ethanolem o koncentraci 96% byla provedena 3krát. Dokumentace takto upravených vzorků viz kapitola 9.2.4.

### **III. VÝSLEDKY A DISKUZE**

## 7 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ A SUBSTRÁTŮ

### 7.1 Stanovení celkového uhlíku ve vzorcích

Stanovení uhlíku (viz kap. 6.1.1) bylo provedeno u všech nových kombinací vzorků i u referenční látky (celulosa). TC převzatých vzorků i referenčních látek a substrátů bylo převzato z předchozí DP [12]. Obsah TC v převzatých i nových vzorcích je uveden v následující tabulce (Tab. 6).

Tab. 6: Obsah celkového uhlíku u testovaných materiálů

Materiál			TC [%]
Vzorek	Převzaté vzorky*	LDPE-1(40)	67,77
		LDPE-1(80)	67,99
		LDPE-2(40)	78,57
		LDPE-3(40)	79,32
	Nové vzorky	LDPE 555	79,85
		LLDPE 555	79,38
		HDPE 9318810	82,49
		HDPE 1370	80,05
Referenční látka	Převzaté hodnoty*	celulosa	35,61
		minerální olej	80,30
	Nové	celulosa	42,39
		hexadekan	70,00
Substrát	Převzaté hodnoty*	půda	9,71
		vyzrálý kompost	12,15

Pozn. \* převzato z DP [12]

### 7.2 Mikrobiologická charakteristika substrátů

Mikrobiologická charakteristika byla provedena u obou použitých substrátů, půdy i vyzrálého kompostu. Postup práce viz kap. 6.2.1. Následující tabulky naznačují počty kolonií mikroorganismů v půdě (Tab. 7) a ve vyzrálém kompostu (Tab. 8), přepočtené na sušinu gramu půdy/ kompostu (sušina půdy: 85,59 %, sušina kompostu: 62,59 %).



Tab. 7: Mikrobiologická charakteristika půdy

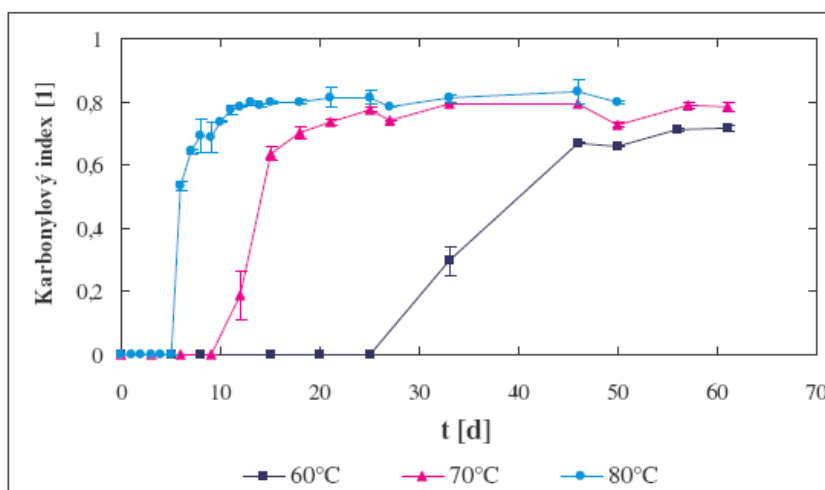
	Celkový počet	Aktinomycéty	Vláknité plísně
Počet kolonií	15 ; 11	10 ; 7	63 ; 70
Průměr	13	8,5	66,5
Ředění	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$
Počet CFU/1g sušiny	$1,5 \cdot 10^7$	$9,9 \cdot 10^5$	$7,7 \cdot 10^5$

Tab. 8: Mikrobiologická charakteristika kompostu

	Celkový počet	Aktinomycéty	Vláknité plísně
Počet kolonií	24 ; 19	5 ; 16	0
Průměr $\phi$	21,5	10,5	
Ředění	$10^{-5}$	$10^{-3}$	
Počet CFU/1g sušiny	$3,4 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^4$	0

## 8 ABIOTICKÁ OXIDACE

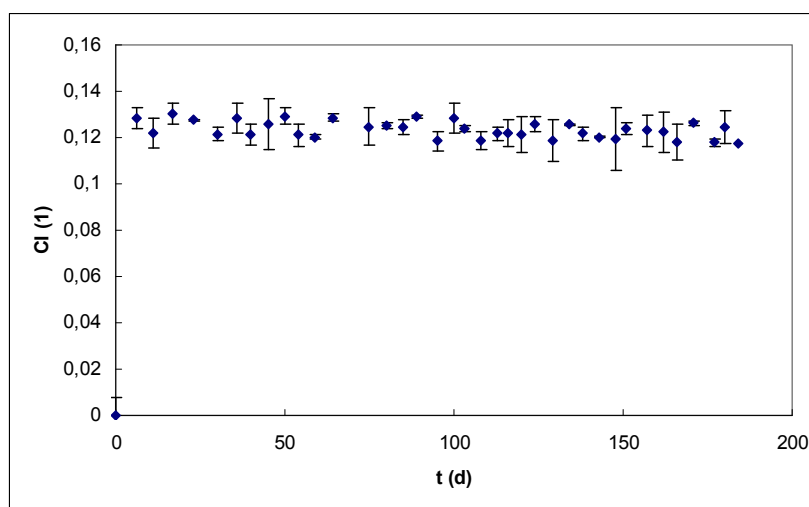
Abiotické oxidaci při 50°C byl podroben vzorek LDPE-1, dodávaný firmou Granitol a.s., o tloušťce 50-55  $\mu\text{m}$ , obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P. Stejný vzorek byl pod označením LDPE<sup>2</sup> podroben oxidaci při teplotách 60, 70 a 80°C již v předchozí diplomové práci [32]. Tuto termooxidaci zobrazuje obrázek (Obr. 17), kde je znázorněna závislost karbonylového indexu, vyjádřeného jako podíl absorbance karbonylového píku při vlnočtu 1713  $\text{cm}^{-1}$  a  $-\text{CH}_2-$  píku při vlnočtu 1465  $\text{cm}^{-1}$ , na délce oxidace. Tutéž závislost při 50°C můžeme vidět na obrázku (Obr. 18).



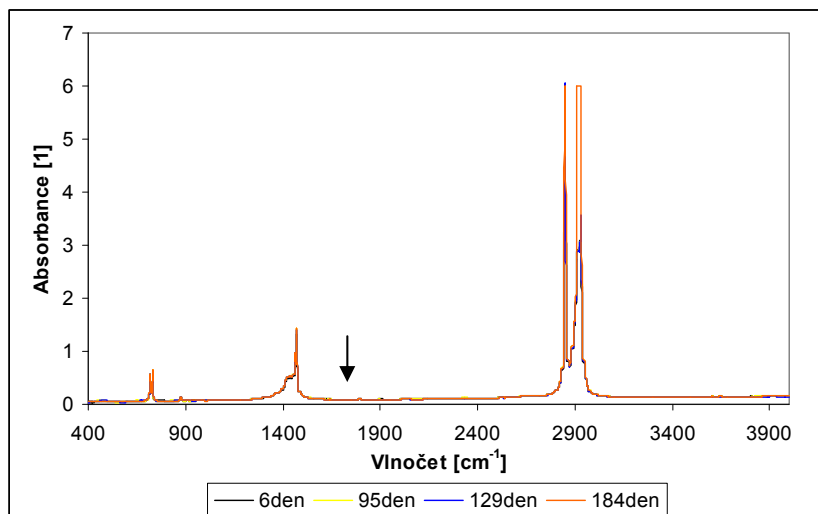
Obr. 17: Abiotická oxidace LDPE<sup>2</sup> (Granitol); vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky

Pro testování byl vzorek nejdříve nařezán na pásy o rozměrech 10 x 2,5 cm, pásy poté umístěny do hliníkových krabiček s víkem a do sušárny, která sloužila jako prostředí pro oxidaci. V sušárně byla udržována konstantní teplota 50°C. V předem stanovených časových intervalech bylo odebíráno vždy 5 vzorků PE fólie a tyto následně uskladněny v chladicí místnosti při 4°C. Stupeň oxidace byl vyhodnocován na základě měření FTIR spekter z velikosti vznikajícího karbonylového píku (Obr. 17). Zajímavým parametrem, který lze na obrázku (Obr. 17) sledovat je délka počáteční „indukční periody“. V této fázi termooxidace dochází pravděpodobně ke spotřebová-

vání antioxidační kapacity v materiálu, na jejímž konci následuje rychlý nárůst oxidace čili karbonylového píku. Z grafu vidíme, že délky indukčních period jsou pro teploty 60, 70 a 80°C asi 25, 9 a 5 dnů. Za předpokladu, že kinetika procesu, který v indukční fázi probíhá je pseudoprvního řádu, byl by Arrheniův graf lineární (závislost rychlostní konstanty  $\ln$  na  $1/T$ ) a mohli bychom ho extrapolovat a zjistit délku indukční periody pro normální teplotu, např. 15°C. Takto zjištěná indukční perioda by potom odpovídala době použitelnosti materiálu. Vedeni těmito úvahami jsme chtěli tuto extrapolaci upřesnit změřením křivky termooxidace při další nižší teplotě tj. 50°C. Podle předchozích výsledků při 60, 70 a 80°C byl pro zvolenou teplotu 50°C očekáván nárůst CI kolem 60. dne, což se ovšem podle naměřených hodnot na obrázku (Obr. 18) ukázalo jako chybný předpoklad. V průběhu inkubace, která trvala celkově 184 dní a v průběhu které bylo odebráno a změřeno 37 vzorků, nebyla tvorba karbonylového píku ( $1713\text{cm}^{-1}$ ) nikdy zaznamenána, jak můžeme vidět na obrázku (Obr. 19). Závěr tedy je, že při této teplotě probíhá termooxidace příliš pomalu na to, aby se ve spektru ve sledovaném období projevila.



Obr. 18: Abiotická oxidace LDPE<sup>2</sup> (Granitol) při 50°C; vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky



Obr. 19: FTIR spektra u vzorku LDPE<sup>2</sup>, šipka označuje místo kde se měl objevit karbonylový pik. Jednotlivá spektra se téměř dokonale překrývají.

Zdá se, že při teplotě 50°C je rychlost termooxidace mnohem menší než se očekávalo. Vzhledem k tomu, že nemáme k dispozici další data je vysvětlení tohoto jevu velmi těžké, nicméně může naznačovat, že účinnost prooxidantů výrazně klesá s teplotou (rychleji než by odpovídalo lineárnímu Arrheniovu grafu). Důsledkem by bylo, že polyethylen s prooxidanty by ve tmě nemohl dosáhnout potřebného stupně oxidace a biodegradace by byla nemožná, nebo ještě pomalejší než předpokládáme.

## 9 AEROBNÍ BIODEGRADACE

Oxidované vzorky PE fólií s obsahem prooxidantů byly podrobeny biodegradčním testům v prostředí půdy a vyzrálého kompostu s cílem posoudit rozklad vzorků. Odbourávání vzorků bylo vyhodnocováno metodou plynové chromatografie.

Dle rovnic v kap. 6.5.2 byly vypočítány sledované parametry, a to kumulativní produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  ( $m_{(k)C}$ ), procentuelní mineralizace uhlíku z testovaných materiálů z hlediska produkce  $\text{CO}_2$  ( $D_C$ ) a procentuelní obsah  $\text{O}_2$  v testovací láhvi ( $\%O_2$ ). Veškeré naměřené a vypočítané hodnoty lze vidět na obrázcích (Obr. 20 - 44), praktické provedení všech testů je popsáno v kap. 6.4.

Vedle procenta mineralizace jednotlivých vzorků na konci sledovaného období jsou vždy v závorce uvedeny hodnoty směrodatné odchylky většinou ze tří paralelních naměřených hodnot.

### *Dokončení biodegradace převzatých vzorků LDPE-1, LDPE-2, LDPE-3*

Sledování vzorků LDPE-1, 2 a 3 bylo převzato po diplomantovi Pavlu Gerychovi [12]. Po skončení jeho diplomové práce v květnu 2008 bylo zřejmé, že by bylo potřebné ve sledování těchto vzorků pokračovat, proto jsem zhruba od června 2008 pokračovala v jejich měření a údržbě až do konce své diplomové práce.

### 9.1 Biodegradace vzorku LDPE-1

**LDPE-1** je LDPE transparentní fólie od firmy Granitol a.s. o tloušťce 50-55  $\mu\text{m}$ , obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P (mikromletý vápenec).

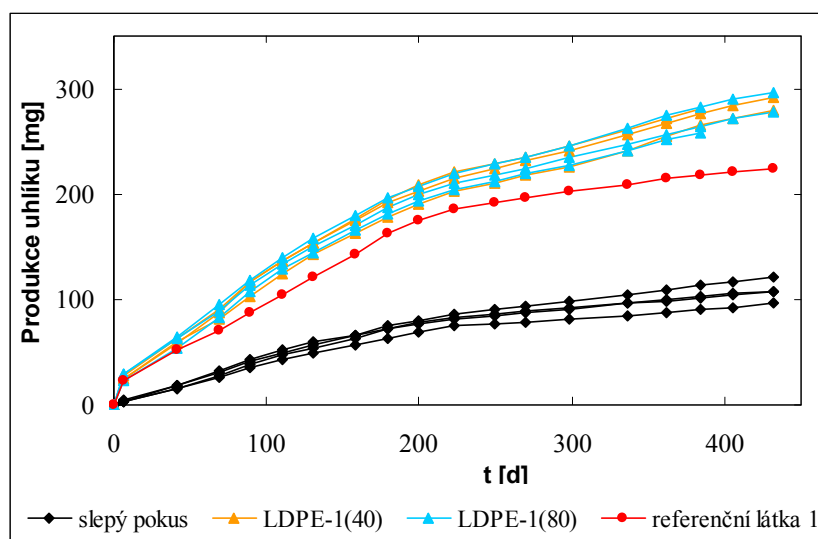
**LDPE-1(40)** - Vzorek LDPE-1 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

**LDPE-1(80)** - Vzorek LDPE-1 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 80 dní.

### 9.1.1 Biodegradace v prostředí kompostu

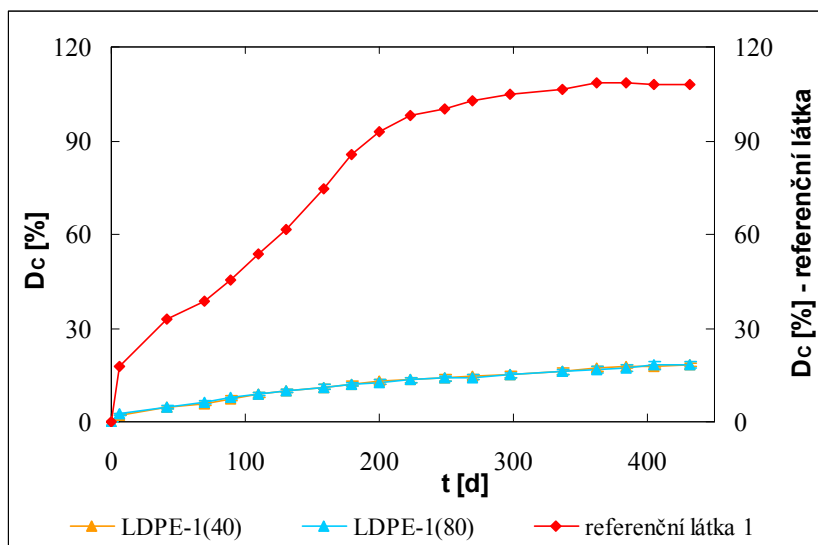
Biodegradacním testům v prostředí vyzrálého kompostu byly podrobeny oxidované vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80). Inkubace testu byla provedena při  $58 \pm 2^\circ\text{C}$  ve tmě po dobu 432 dní. Grafické vyhodnocení biodegradace lze vidět na obrázcích (Obr. 20 - 22).

Obrázek (Obr. 20) zobrazuje kumulativní produkci uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  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 ukončen pokus vždy v jedné lahvi každého vzorku LDPE, ze kterých pak byly odebrány kousky PE na mikroskopické pozorování.



Obr. 20: Kumulativní produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  u LDPE-1(40) a LDPE-1(80) – kompostovací test

Obrázek (Obr. 21) zobrazuje průběh odbourávání vzorků v průběhu testu. Levá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro testované vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80), pravá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro referenční látku.

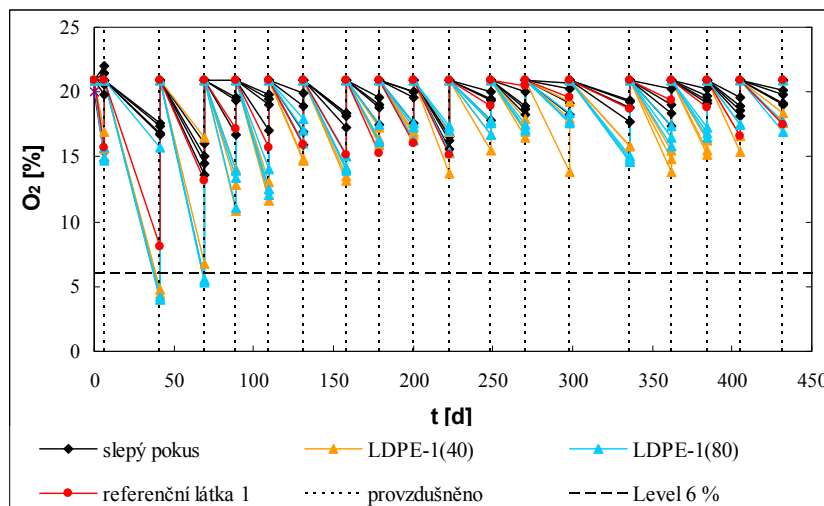


Obr. 21: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) z hlediska produkce  $CO_2$  – kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

Průběh grafu mineralizace potvrzuje předpoklad rychlejší biodegradace referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 432 dnech inkubace dosaženo 108,06 % mineralizace referenční látky. Vyšší než 100 % mineralizaci lze částečně vysvětlit tzv. *priming efektem*, který předpokládá, že přítomnost snadno degradovatelného substrátu (celulosa) způsobuje zintenzivnění mineralizace organického uhlíku z kompostu [33].

Biodegradace vzorků byla zpočátku poměrně výrazná, ale postupně docházelo ke zmírnění produkce  $CO_2$ . Po 432 dnech experimentu bylo celkově v prostředí kompostu dosaženo 18,23 (0,67) %  $D_c$  u vzorku LDPE-1(40) a 18,31 (1,07) %  $D_c$  u LDPE-1(80).

K zajištění zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu byly lahve po každém měření pomocí GC provzdušněny (viz kap. 6.4.3). Množství kyslíku v testovacích lahvích je znázorněno na obrázku (Obr. 22). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 %  $O_2$  (level 6 %).



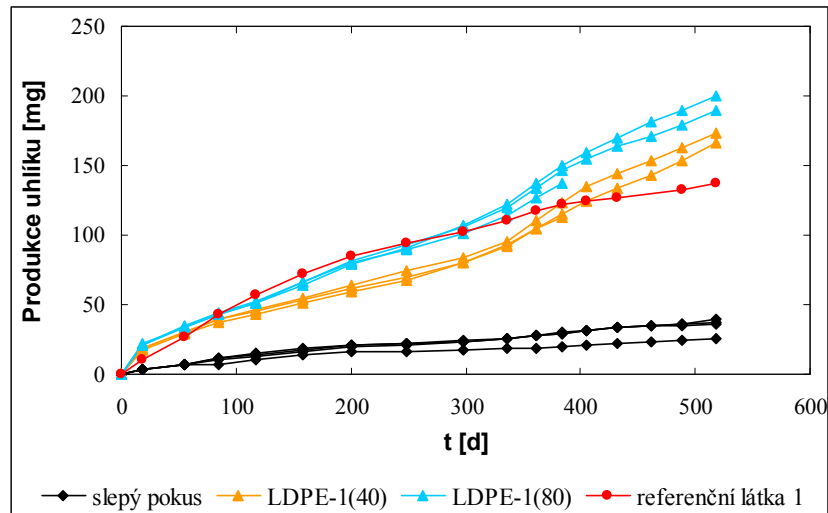
Obr. 22: Aktuální koncentrace  $O_2$  v testovacích lahvách – kompostovací test s LDPE-1(40) a LDPE-1(80)

### 9.1.2 Biodegradace v prostředí půdy

Biodegradacním testům v prostředí půdy byly podrobeny oxidované vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80). Inkubace testu byla provedena při  $25^\circ\text{C}$  ve tmě po dobu 518 dní. Grafické vyhodnocení biodegradace je znázorněno na obrázcích (Obr. 23 - 25).

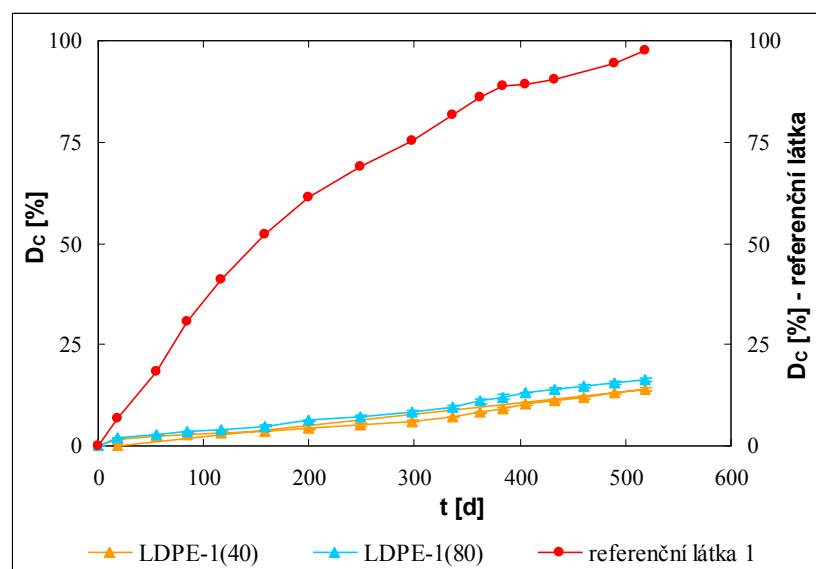
Na obrázku (Obr. 23) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenční látky 1 (celulosa). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a referenční látka pouze 1krát. Po 384 dnech experimentu byl ukončen pokus vždy v jedné lahvi každého vzorku LDPE, ze kterých pak byly odebrány kousky PE na mikroskopické pozorování.





Obr. 23: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-1(40) a LDPE-1(80) – půdní test

Obrázek (Obr. 24) zobrazuje průběh odbourávání vzorků v průběhu testu. Levá osa y zobrazuje stupnici  $D_c$  pro testované vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80), pravá osa y zobrazuje stupnici  $D_c$  pro referenční látku.

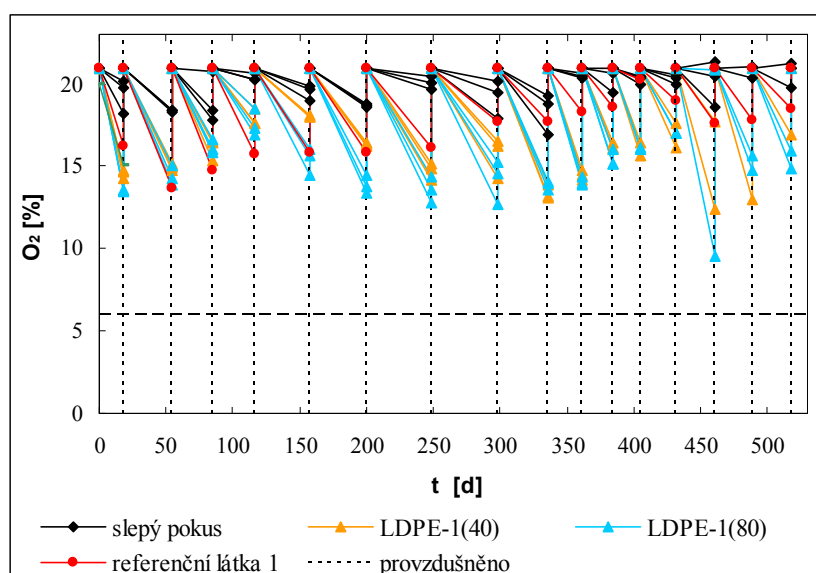


Obr. 24: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) z hlediska produkce CO<sub>2</sub> – půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

Průběh grafu mineralizace potvrzuje předpoklad rychlejší biodegradace referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 518 dnech inkubace dosaženo 97,76 % mineralizace referenční látky.

Biodegradace vzorků byla zpočátku poměrně pomalá, avšak zhruba po 336 dnech se produkce CO<sub>2</sub> mírně zvýšila a po 518 dnech experimentu v prostředí půdy bylo celkově dosaženo 13,94 (0,21) %  $D_C$  u vzorku LDPE-1(40) a 16,46 (0,40) %  $D_C$  u LDPE-1(80).

K zajištění zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu byly lahve po každém měření pomocí GC provzdušněny (viz kap. 6.4.3). Množství kyslíku v testovacích lahvích je znázorněno na obrázku (Obr. 25). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 % O<sub>2</sub> (level 6 %).



Obr. 25: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – půdní test s LDPE-1(40) a LDPE-1(80)

## 9.2 Biodegradace vzorku LDPE-2 a LDPE-3

LDPE-2 je LDPE transparentní fólie od společnosti Symphony Environmental Technologies o tloušťce 30-35 μm obsahující prooxidant d<sub>2</sub>w<sup>TM</sup> v množství 1 %, bez plniva.

**LDPE-2(40)** - Vzorek LDPE-2 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

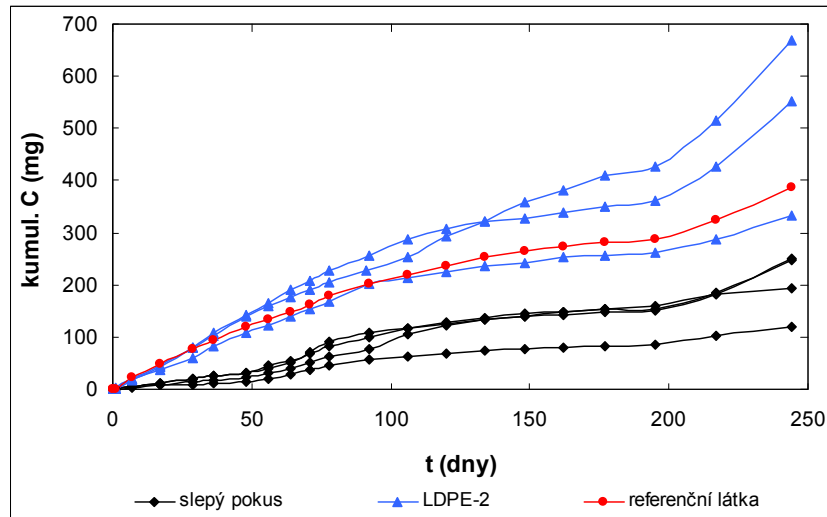
**LDPE-3** je LDPE transparentní fólie o tloušťce 10-15  $\mu\text{m}$  o neznámém složení prooxidantů, bez plniva.

**LDPE-3(40)** - Vzorek LDPE-3 abioticky oxidován při teplotě 70°C po dobu 40 dní.

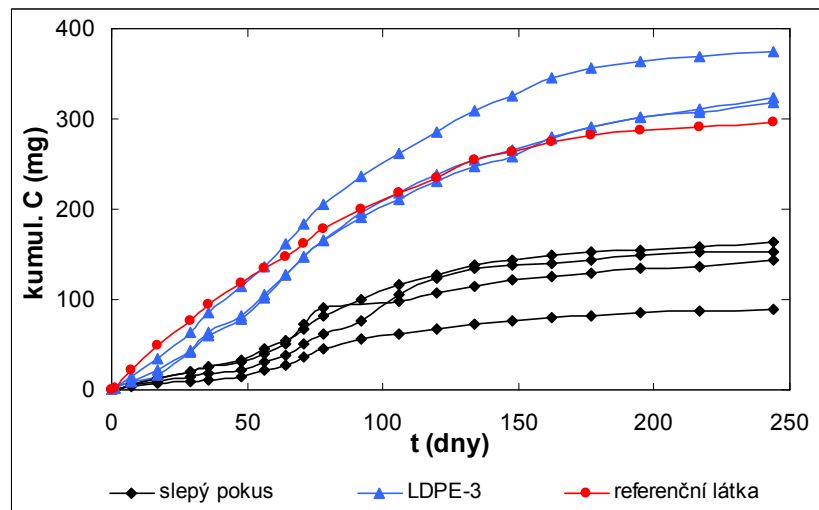
### 9.2.1 Biodegradace v prostředí kompostu

Biodegradacním testům v prostředí vyzrálého kompostu byly podrobeny oxidované vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Inkubace testu byla provedena při  $58 \pm 2^\circ\text{C}$  ve tmě po dobu 244 dní. Grafické vyhodnocení biodegradace můžeme vidět na obrázcích (Obr. 26 - 31).

Na obrázcích (Obr. 26, 27) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  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 pokusů. Můžeme také vidět rozdílnost průběhu produkce uhlíku u obou vzorků. Zatímco kumulativní uhlík u LDPE-2 poměrně lineárně narůstal a k rychlejšímu nárůstu došlo po 195 dnech, u LDPE-3 můžeme vidět rychlý nárůst a po 177 dnech došlo ke zpomalení produkce uhlíku.

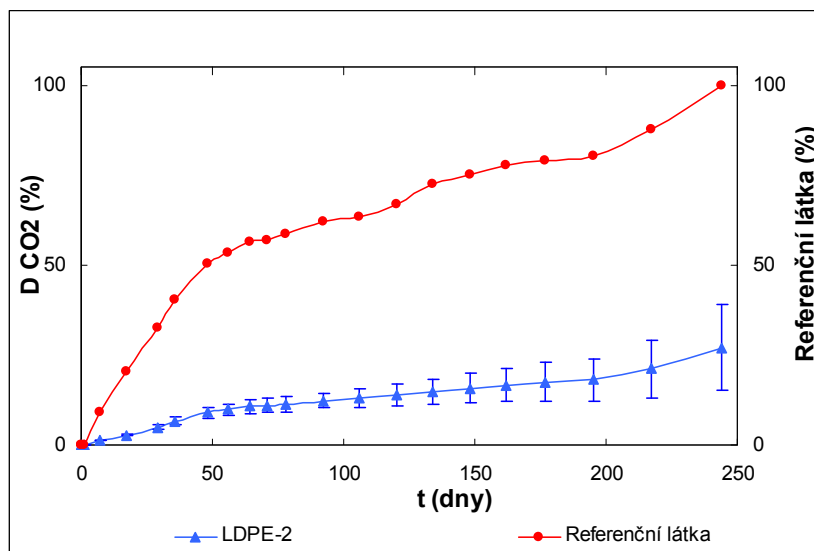


Obr. 26: Kumulativní produkce uhlíku ve formě  $CO_2$  u LDPE-2 (kompostovací test)

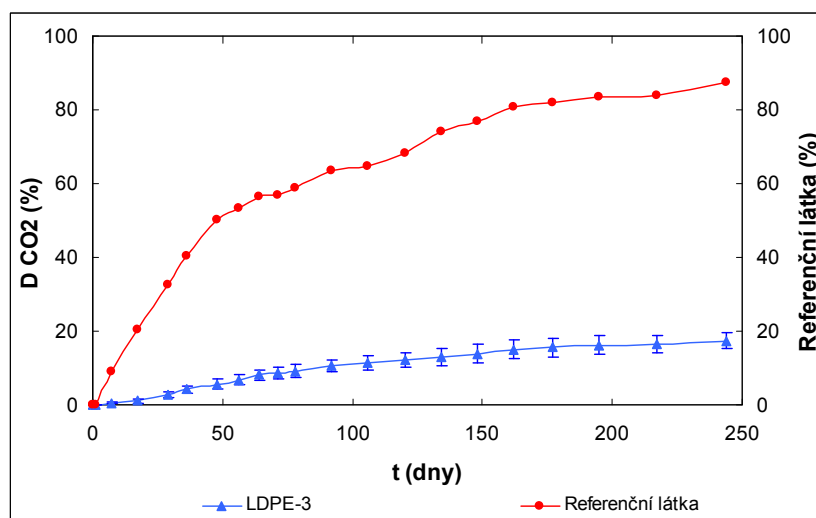


Obr. 27: Kumulativní produkce uhlíku ve formě  $CO_2$  u LDPE-3 (kompostovací test)

Obrázky (Obr. 28, 29) zobrazují průběh odbourávání vzorků v průběhu testu. Levá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro testované vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40), pravá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro referenční látku.



Obr. 28: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-2 z hlediska produkce  $CO_2$  – kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

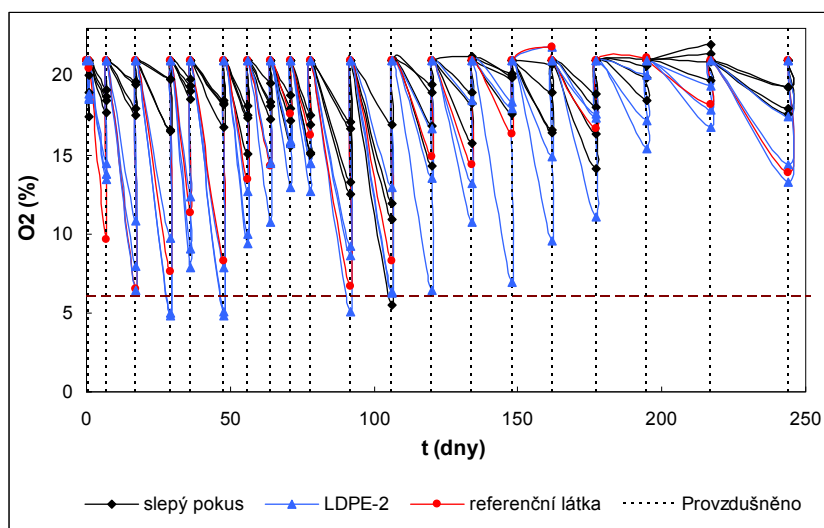


Obr. 29: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-3 z hlediska produkce  $CO_2$  – kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

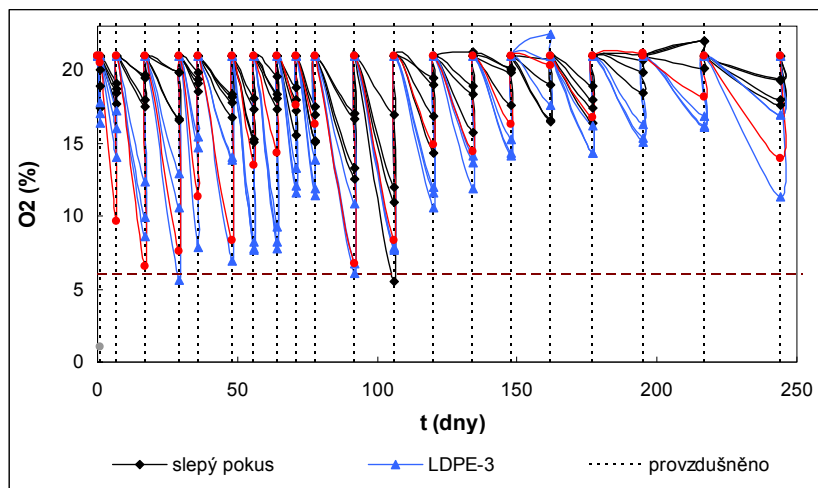
Průběh grafů mineralizace potvrzuje předpoklad rychlejší biodegradace referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 244 dnech inkubace dosaženo 87,29 % (test s LDPE-3) a 99,58 % (test s LDPE-2) mineralizace referenční látky.

Biodegradace vzorků byla zpočátku poměrně výrazná, poté došlo v případě LDPE-2 po cca 48 dnech a v případě LDPE-3 cca po 64 dnech testování ke zmírnění produkce  $\text{CO}_2$ . Avšak u LDPE-2 bylo pozorováno následné další zvýšení mineralizace. Po 244 dnech experimentu v prostředí kompostu bylo celkově dosaženo 26,92 (11,93) %  $D_C$  u vzorku LDPE-2(40) a 17,28 (2,16) %  $D_C$  u LDPE-3(40).

K zajištění zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu byly lahve po každém měření pomocí GC provzdušněny (viz kap. 6.4.3). Množství kyslíku v testovacích lahvích je znázorněno na obrázcích (Obr. 30, 31). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 %  $\text{O}_2$  (level 6 %).



Obr. 30: Aktuální koncentrace  $\text{O}_2$  v testovacích lahvích – kompostovací test u LDPE-2

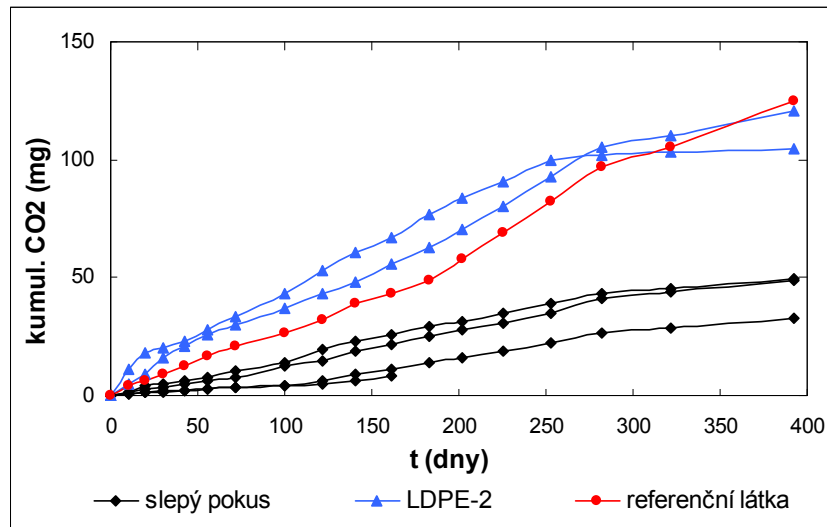


Obr. 31: Aktuální koncentrace  $O_2$  v testovacích lahvách – kompostovací test u LDPE-3

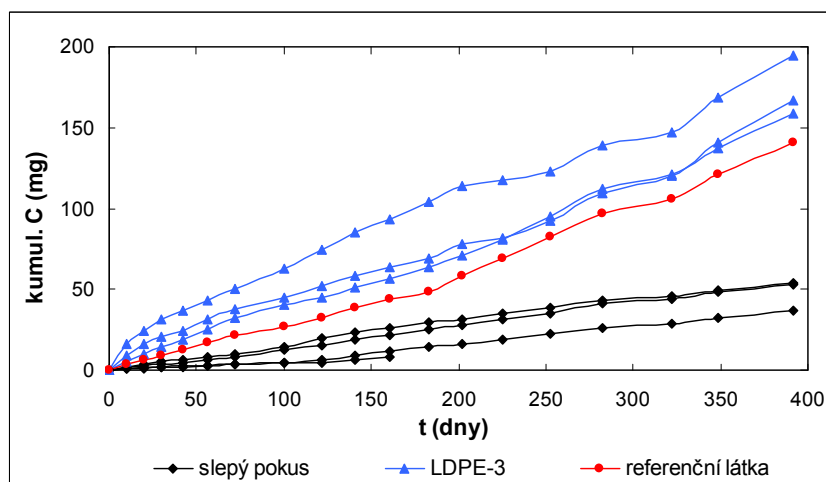
### 9.2.2 Biodegradace v prostředí půdy

Biodegradacním testům v prostředí půdy byly podrobeny oxidované vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40). Inkubace testu byla provedena při  $25^{\circ}\text{C}$  ve tmě po dobu 392 dní. Grafické vyhodnocení biodegradace je znázorněno na obrázcích (Obr. 32 - 37).

Na obrázcích (Obr. 32, 33) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  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. V průběhu experimentu došlo k poškození 1 testovací láhve slepého pokusu, z toho důvodu byly slepé pokusy od 161. dne experimentu testovány pouze 3krát vedle sebe. V případě LDPE-2(40) můžeme vidět, že produkce uhlíku po 253 dnech prudce klesla, zatímco u LDPE-3(40) produkce dále rostla poměrně stejným tempem.



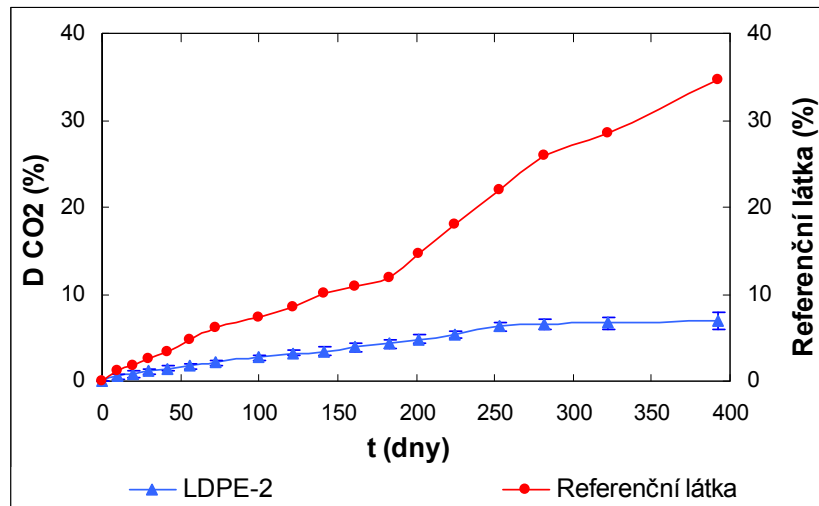
Obr. 32: Kumulativní produkce uhlíku ve formě  $CO_2$  u LDPE-2 (půdní test)



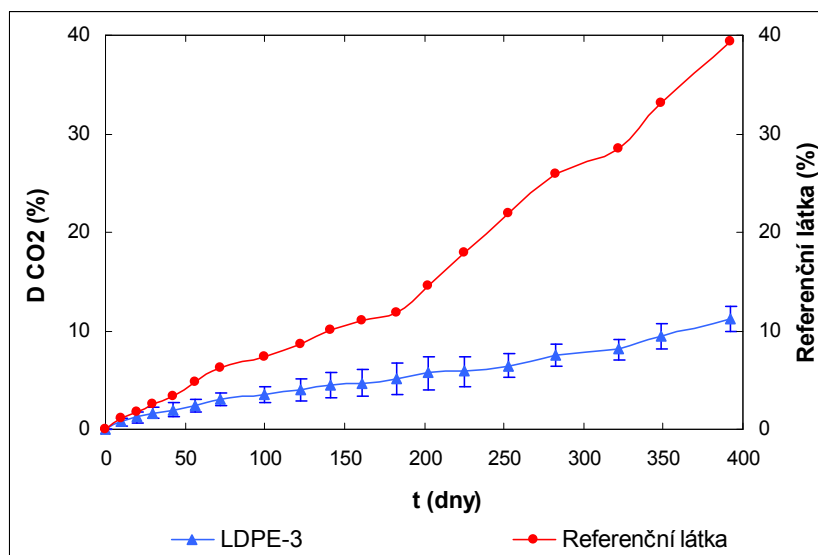
Obr. 33: Kumulativní produkce uhlíku ve formě  $CO_2$  u LDPE-3 (půdní test)

Obrázky (Obr. 34, 35) zobrazují průběh odbourávání vzorků v průběhu testu. Levá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro testované vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40), pravá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro referenční látku.





Obr. 34: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-2 z hlediska produkce  $CO_2$  - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

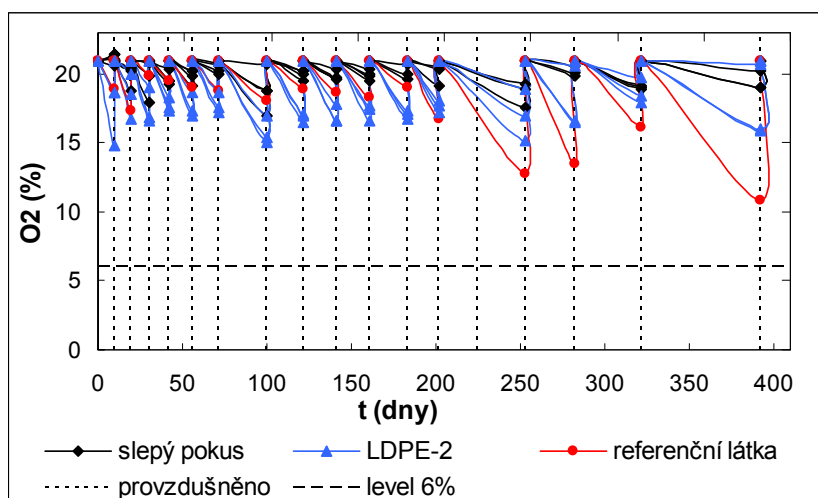


Obr. 35: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-3 z hlediska produkce  $CO_2$  - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

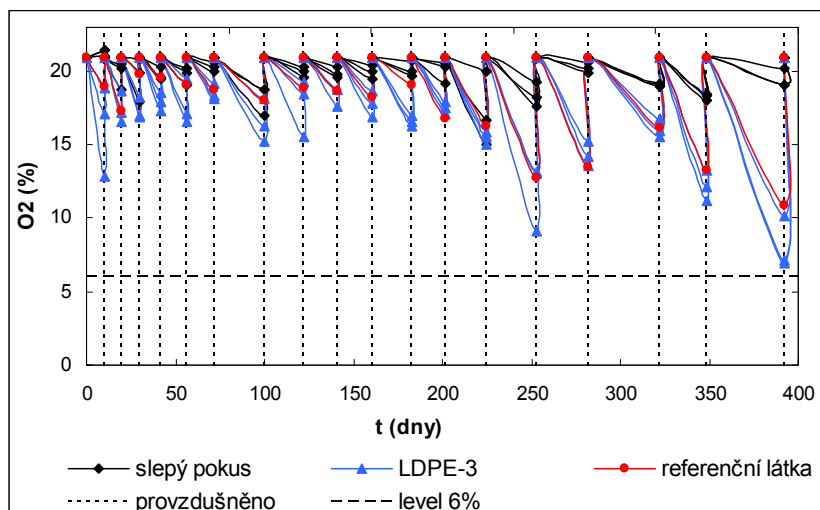
Průběh grafů mineralizace potvrzuje předpoklad rychlejší biodegradace referenční látky oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 392 dnech inkubace dosaženo 34,60 % (test s LDPE-2) a 39,30 % (test s LDPE-3) mineralizace referenční látky.

Biodegradace vzorků byla zpočátku poměrně pomalá, u LDPE-2(40) byl růst mineralizace poměrně lineární, až po 253 dnech došlo k výraznému zpomalení biodegradace. Vzorek LDPE-3(40) vykazoval rychlejší a stále rostoucí biodegradaci. Po 392 dnech testování v prostředí půdy bylo celkově dosaženo 6,93 (1,01) %  $D_C$  u vzorku LDPE-2(40) a 11,23 (1,33) %  $D_C$  u LDPE-3(40).

K zajištění zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu byly lahve po každém měření pomocí GC provzdušněny (viz kap. 6.4.3). Množství kyslíku v testovacích lahvích je znázorněno na obrázcích (Obr. 36, 37). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 %  $O_2$  (level 6 %).



Obr. 36: Aktuální koncentrace  $O_2$  v testovacích lahvích – půdní test u LDPE-2



Obr. 37: Aktuální koncentrace  $O_2$  v testovacích lahvích – půdní test u LDPE-3

### 9.3 Závěr biodegradace převzatých vzorků LDPE-1, LDPE-2 a LDPE-3

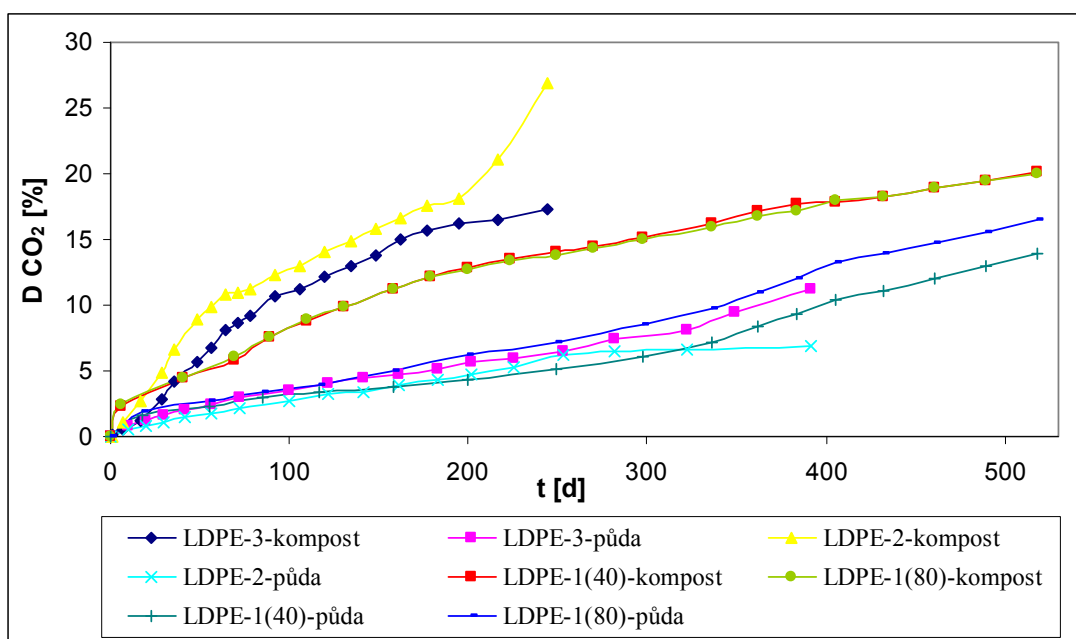
Porovnáním testů v prostředí půdy a kompostu můžeme vidět, že biodegradace všech testovaných vzorků probíhá výrazně rychleji v prostředí kompostu.

Následující tabulka (Tab. 9) uvádí shrnutí biodegradace testovaných vzorků v prostředí půdy i kompostu.

Tab. 9: Shrnutí mineralizace vzorků v závislosti na prostředí a obsaženém prooxidantu

Vzorek	LDPE-1(40)		LDPE-1(80)		LDPE-2		LDPE-3	
Prooxidant	Addiflex HE(5 %)		Addiflex HE(5 %)		$d_2w^{TM}$ (1 %)		neznámý	
Obsah kovů	<i>Mn</i>		<i>Mn</i>		<i>Mn, Fe, Zn</i>		<i>Mn, Fe</i>	
Substrát	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda
Délka inkubace [dny]	432	518	432	518	244	392	244	392
Mineralizace [%]	18	14	18	16	27	7	17	11

Grafické shrnutí mineralizace každého vzorku v půdě i kompostu je zobrazeno na obrázku (Obr. 38). Zajímavostí je, že u vzorku LDPE-1 byl v půdě pozorován rozdíl v biodegradaci mezi jednotlivými vzorky, kdy po 518 dnech byla zaznamenána mineralizace 14 (0,21) % u LDPE-1(40) a mineralizace 16 (0,40) % u LDPE-1(80), zatímco v prostředí kompostu byly oba vzorky po 432 dnech biodegradovány stejně (18 %). Dalším zajímavým závěrem je srovnání biodegradace LDPE-2(40) a LDPE-3(40), kdy v kompostu byl lépe mineralizován LDPE-2, zatímco v půdě vykazoval lepší biodegradaci LDPE-3.



Obr. 38: Biodegradace převzatých vzorků LDPE-1, LDPE-2, LDPE-3 v půdě i kompostu

U vzorku LDPE-1 měl průběh produkce uhlíku opačný charakter, kdy v půdě byla biodegradace do 200. dne poměrně pomalá a následně byl pozorován její nárůst. V prostředí vyzrálého kompostu byl průběh opačný, kdy do 200. dne byla produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  vyšší a následně došlo k jejímu snížení (Obr. 20, 23).

V předchozí DP [12] byl početně zjišťován obsah organicky vázaného uhlíku v LDPE-1 z polyethylenu. Vzorek LDPE-1 měl obsahovat 80% polyethylenu, 15 % mletého vápence a 5 % prooxidantů. Početně bylo zjištěno, že 94,72 % uhlíku v testovaném materiálu LDPE-1 pochází z polyethylenu, 2,41 % z vápence a 2,87 % z prooxidantu. Skutečný obsah uhlíku z PE byl mohl být ještě vyšší, protože výrobce

Addiflex HE uvádí, že prooxidanty obsahují 50-97 % polyethylenu, a v našem případě byla předpokládána hodnota 50 %. Na základě těchto výpočtů můžeme téměř s jistotou tvrdit, že v obou testovaných biodegradačních prostředích (půda, vyzrálý kompost) je organicky vázaný uhlík z polyethylenu částečně mineralizován.

V prostředí kompostu byla u vzorků v počátcích testování překročena limitní hodnota koncentrace kyslíku v lahvi (6 %), což bylo vyřešeno zkrácením intervalu provzdušňování lahví.

Závěrem lze tedy konstatovat, že biodegradace probíhá rychleji v prostředí kompostu než v půdě. Také můžeme z výsledků konstatovat, že ze všech testovaných vzorků byl nejrychleji mineralizován vzorek LDPE-2(40), v porovnání s ostatními vzorky střední tloušťky (30-35  $\mu\text{m}$ ), dodávaný firmou Symphony Environmental Technologies, obsahující prooxidant  $\text{d}_2\text{w}^{\text{TM}}$  v množství 1 %. Tento vzorek také vykazoval nejrychlejší nástup mineralizace. Poněkud podivné jsou ale poslední naměřené hodnoty u tohoto vzorku, které se vymykají celkovému trendu a kde dochází k poměrně výraznému nárůstu mineralizace. Je tedy nutno brát tyto hodnoty s rezervou.

#### **9.4 Biodegradace vzorků LDPE 555, LLDPE 555, HDPE 9318810 a HDPE 1370 v prostředí kompostu**

##### ***Charakteristika vzorků (rekapitulace)***

Vzorek LDPE 555 je transparentní fólie tloušťky 58 $\mu\text{m}$ , vystavena po 10 hodin v SEPAP komoře 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 264 hodin, obsahující železo a mangan ve formě přesně neznámých organických komplexů.

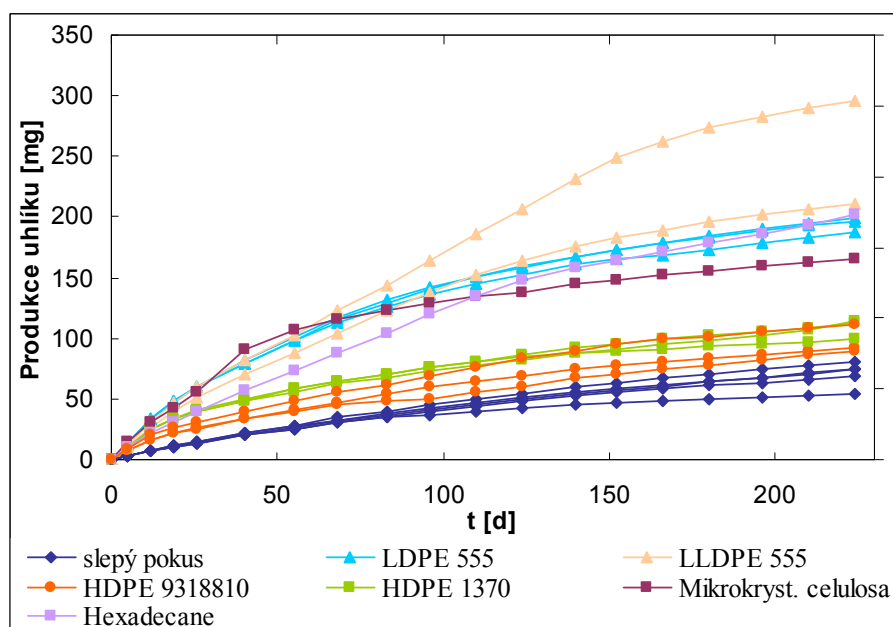
Vzorek LLDPE 555 je transparentní fólie tloušťky 45 $\mu\text{m}$ , vystavena po 20 hodin v SEPAP komoře 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 434 hodin, obsahující železo a mangan ve formě přesně neznámých organických komplexů.

Vzorek HDPE 9318810 je transparentní fólie tloušťky 57 $\mu\text{m}$ , vystavena po 40 hodin v SEPAP komoře 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 1224 hodin, obsahující mangan ve formě přesně neznámých organických komplexů.

Vzorek HDPE 1370 je transparentní fólie tloušťky 59 $\mu$ m, vystavena po 40 hodin v SEPAP komoře 12-24, abioticky oxidována při teplotě 60°C po dobu 456 hodin, obsahující kobalt ve formě přesně neznámých organických komplexů.

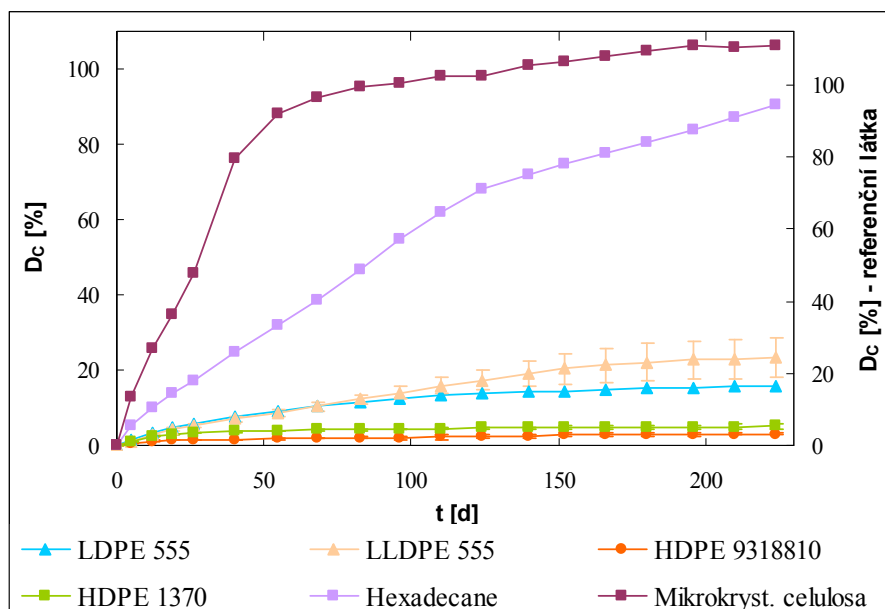
Biodegradčním testům v prostředí vyzrálého kompostu byly podrobeny všechny nové vzorky. Inkubace testu byla provedena při  $58 \pm 2^\circ\text{C}$  ve tmě po dobu 224 dní. Během testu, po uplynutí 140 dní byl z důvodu vyčerpání vyměněn kalibrační plyn Linde Gas (složení obou plynů viz kap. 5.1). Grafické vyhodnocení biodegradace je znázorněno na obrázcích (Obr. 39 - 41). Protože biodegradční testy mají dlouhodobý charakter, nebyly testy dosud ukončeny a jejich sledování bude nadále pokračovat.

Na obrázku (Obr. 39) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě  $\text{CO}_2$  u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenčních látek (celulosa, hexadekan). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a každá referenční látka pouze 1krát. Vzorek LLDPE 555 byl kvůli nedostatečnému množství vzorku testován pouze 2krát vedle sebe.



Obr. 39: Kumulativní produkce uhlíku ze vzorků ve formě  $\text{CO}_2$  (kompostovací test)

Obrázek (Obr. 40) zobrazuje průběh odbourávání vzorků v průběhu testu. Levá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro testované vzorky, pravá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro referenční látku.



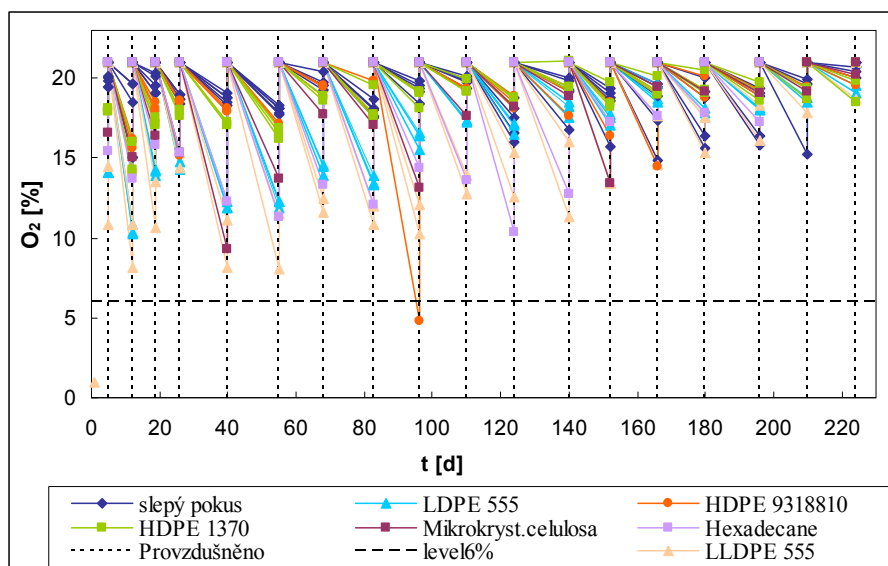
Obr. 40: Mineralizace uhlíku ze vzorků z hlediska produkce  $CO_2$  - kompostovací test (vynesené body jsou průměrem většinou ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

Průběh grafu mineralizace potvrzuje předpoklad rychlejší biodegradace obou referenčních látek oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 224 dnech inkubace dosaženo 111,10 % mineralizace celulosy a 90,61 % mineralizace hexadekanu.

Biodegradace obou vzorků HDPE byla poměrně pomalá, u obou těchto vzorků byl pozorován velmi pomalý růst mineralizace, pohybovala se téměř na konstantní hodnotě. U vzorků LDPE 555 a LLDPE 555 byla biodegradace podstatně rychlejší. Zajímavostí je, že u vzorku LLDPE 555, který byl testován pouze 2krát vedle sebe, došlo k rozdílné biodegradaci u obou testů tohoto vzorku, i přes stejnou navážku a další podmínky pokusu. Tato odlišnost je patrná ze závislosti produkce uhlíku (Obr. 39) a také ze směrodatné odchylky na obrázku mineralizace (Obr. 40). Po 224 dnech experimentu v prostředí kompostu bylo celkově dosaženo 15,78 (0,70) %  $D_C$  u vzorku

LDPE 555, 23,25 (5,38) %  $D_c$  u LLDPE 555, 2,89 (0,24) %  $D_c$  u HDPE 9318810 a 5,06 (0,82) %  $D_c$  u HDPE 1370.

K zajištění zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu byly lahve po každém měření pomocí GC provzdušněny (viz kap. 6.4.3). Množství kyslíku v testovacích lahvích je znázorněno na obrázku (Obr. 41). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 %  $O_2$  (level 6 %).



Obr. 41: Aktuální koncentrace  $O_2$  v testovacích lahvích – kompostovací test

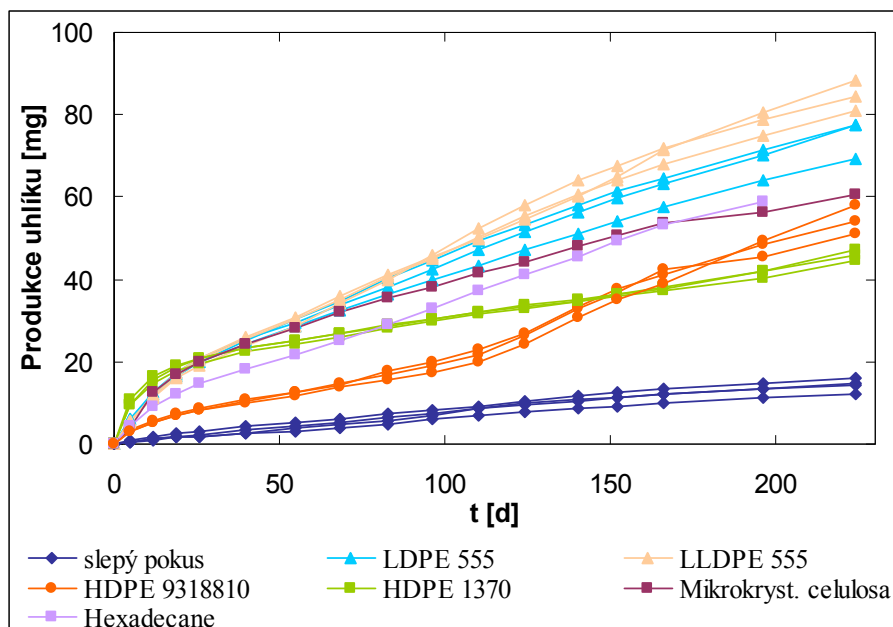
## 9.5 Biodegradace vzorků LDPE 555, LLDPE 555, HDPE 9318810 a HDPE 1370 v prostředí půdy

Biodegradacním testům v prostředí půdy byly podrobeny všechny nové vzorky. Inkubace testu byla provedena při 25°C ve tmě po dobu 224 dní. Během testu, po uplynutí 140 dní byl z důvodu vyčerpání vyměněn kalibrační plyn Linde Gas (složení obou plynů viz kap. 5.1). Grafické vyhodnocení biodegradace je znázorněno na obrázcích (Obr. 42 - 44). Protože biodegradacní testy mají dlouhodobý charakter, nebyly testy dosud ukončeny a jejich sledování bude nadále pokračovat.

Na obrázku (Obr. 42) je zobrazena kumulativní produkce uhlíku ve formě  $CO_2$  u slepých pokusů, testovaných PE fólií a referenčních látek (celulosa, hexadekan). Slepé pokusy byly testovány 4krát vedle sebe, vzorky PE fólií 3krát vedle sebe a každá refe-

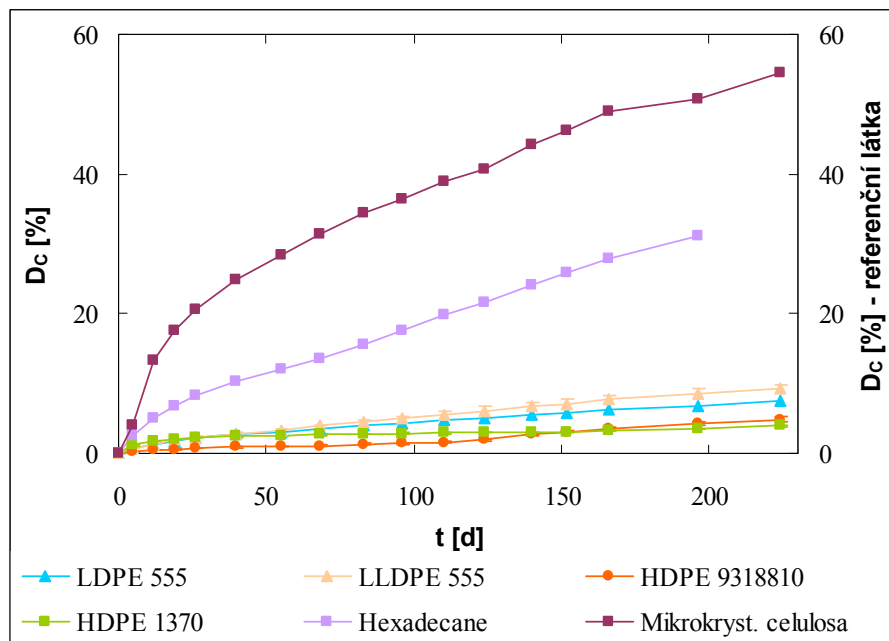


renční látka pouze 1krát. Po 196 dnech testování došlo k poškození lahve s hexadekanem, proto dále tato láhev nebyla měřena. Zajímavostí je, že v případě HDPE 9318810 došlo po 110. dnech testu k výraznému zvýšení produkce uhlíku. Produkce uhlíku u vzorku HDPE 1370 byla zpočátku velmi prudká, poté však 26. dne testu došlo k jejímu výraznému snížení.



Obr. 42: Kumulativní produkce uhlíku ze vzorků ve formě CO<sub>2</sub> (půdní test)

Obrázek (Obr. 43) zobrazuje průběh odbourávání vzorků v průběhu testu. Levá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro testované vzorky, pravá osa y zobrazuje stupnici  $D_C$  pro referenční látku.

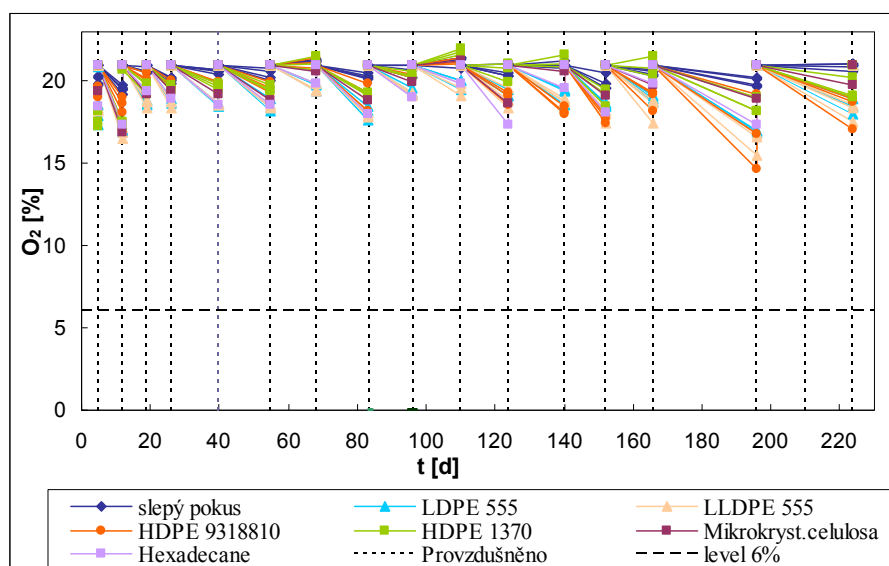


Obr. 43: Mineralizace uhlíku ze vzorků z hlediska produkce  $CO_2$  - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)

Průběh grafu mineralizace potvrzuje předpoklad rychlejší biodegradace obou referenčních látek oproti testovaným vzorkům, kdy bylo po 224 dnech inkubace dosaženo 54,39 % mineralizace celulosy a z důvodu poškození po 196 dnech 31,38 % mineralizace hexadekanu.

Biodegradace vzorku HDPE 9318810 byla zpočátku velmi pomalá, poté došlo cca po 96 dnech k výraznému zvýšení. U vzorku HDPE 1370 měla biodegradace rychlý nástup, avšak poté se ustálila. U vzorků LDPE 555 a LLDPE 555 byla biodegradace opět podstatně rychlejší. Po 224 dnech experimentu v prostředí půdy bylo celkově dosaženo 7,50 (0,55) %  $D_C$  u vzorku LDPE 555, 9,22 (0,66) %  $D_C$  u LLDPE 555, 4,85 (0,35) %  $D_C$  u HDPE 9318810 a 3,91 (0,12) %  $D_C$  u HDPE 1370.

K zajištění zachování aerobních podmínek v průběhu experimentu byly lahve po každém měření pomocí GC provzdušněny (viz kap. 6.4.3). Množství kyslíku v testovacích lahvích je znázorněno na obrázku (Obr. 44). Hranice zaručující aerobní podmínky v testovaném prostředí je 6 %  $O_2$  (level 6 %).



Obr. 44: Aktuální koncentrace  $O_2$  v testovacích lahvích – půdní test

## 9.6 Závěr biodegradace nových kombinací vzorků

Porovnáním testů v prostředí půdy a kompostu můžeme vidět, že biodegradace probíhá u všech testovaných vzorků výrazně rychleji v prostředí kompostu.

Následující tabulka (Tab. 10) uvádí shrnutí biodegradace testovaných vzorků v prostředí půdy i kompostu.

Tab. 10: Shrnutí mineralizace vzorků v závislosti na prostředí a obsaženém prooxidantu

Vzorek	LDPE 555		LLDPE 555		HDPE 9318810		HDPE 1370	
Prooxidant	<i>Mn, Fe</i>		<i>Mn, Fe</i>		<i>Mn</i>		<i>Co</i>	
Substrát	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda
Délka inkubace [dny]	224		224		224		224	
Mineralizace [%]	16	7	23	9	3	5	5	4

Závěrem lze tedy konstatovat, že biodegradace probíhá rychleji v prostředí kompostu než v půdě a také, že ze všech testovaných vzorků byl v prostředí půdy i kompostu nejrychleji mineralizován vzorek LLDPE 555, o nejmenší tloušťce (45 $\mu$ m), obsahující prooxidant ve formě organických komplexů železa a manganu. Je možné, že jeho rychlejší biodegradace je způsobena jeho odlišnou molekulární strukturou (struktura viz kap. 2.4.3) v kombinaci s prooxidanty, a také tím, že ze všech vzorků měl nejmenší tloušťku.

## 10 MIKROSKOPIE TESTOVANÝCH VZORKŮ

Původní vzorky i vzorky podrobené aerobní biodegradaci byly zkoumány metodami optické a elektronové mikroskopie. Snímky z mikroskopie dosahují vyšších kvalit v elektronické podobě, proto jsou k diplomové práci přiloženy ve formě CD.

### 10.1 Optická mikroskopie

Optická mikroskopie byla provedena u vzorků LDPE-2(40) a LDPE-3(40) po ukončení testů aerobní biodegradace v prostředí půdy i kompostu. Původní i degradované vzorky LDPE-1 byly touto metodou zkoumány již v předchozí DP [12].

Mikroskopické pozorování všech vzorků bylo provedeno odebráním několika kousků vzorku z testovacích lahví, zafixováním a vybarvením (viz kap. 6.6.1). Dokumentace byla pořízena pomocí fotoaparátu umístěném na tubusu mikroskopu. Vzorky sledované optickou mikroskopií jsou znázorněny na obrázcích (Obr. 45 - 49).

#### 10.1.1 Optická mikroskopie vzorku LDPE-1

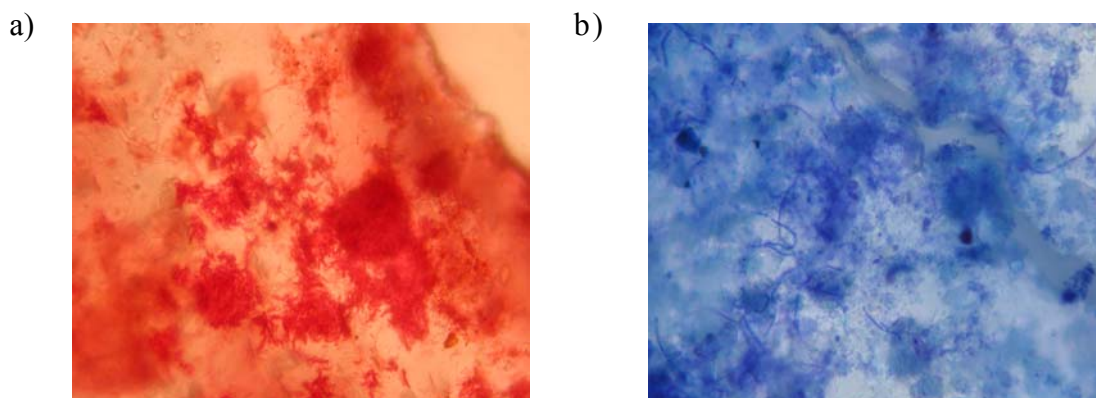
Tento vzorek byl optickou mikroskopií vyhodnocován již v předchozí DP [12], proto byla jeho dokumentace převzata.

Původní vzorek LDPE-1 je zdokumentován na obrázku (Obr. 45). Lze vidět téměř neporušený povrch materiálu, dokazující, že původní materiál nebyl osídlen mikroorganismy.



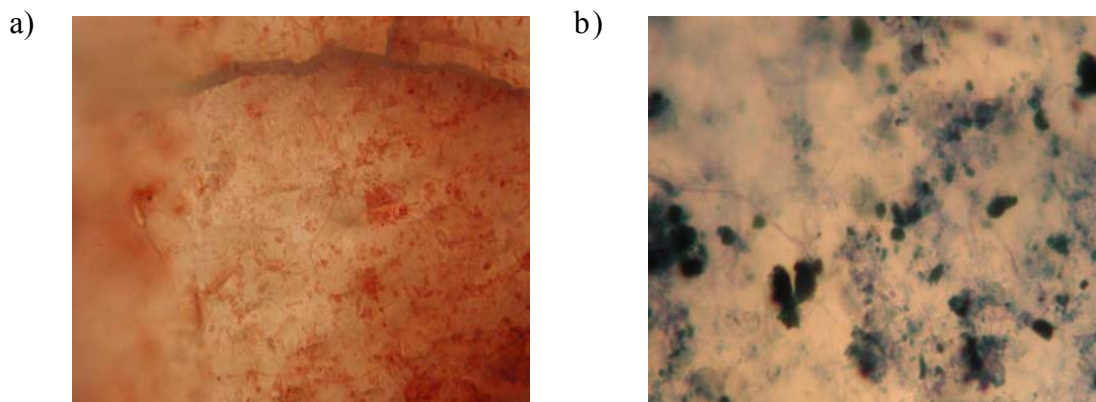
*Obr. 45: Optická mikroskopie původního vzorku LDPE-1 (zvětšení 1000x)*

Vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80), podrobené biodegradaci v prostředí půdy můžeme vidět na obrázku (Obr. 46). Kousky LDPE-1(40) byly pro pozorování nabarveny karbol-fuchsinem (Obr. 46 a) a autor DP se domníval, že na fotografii jsou patrné bakteriální shluky. Na fotografii (Obr. 46 b) můžeme vidět bakteriální vlákna u vzorku LDPE-1(80), který byl nabarven methylenovou modří.



*Obr. 46: Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 podrobených biodegradacním testům v prostředí půdy (zvětšení 1000x), a) LDPE-1(40) - nabarveno karbol-fuchsinem, b) LDPE-1(80) - nabarveno methylenovou modří*

Vzorky LDPE-1(40) a LDPE-1(80), podrobené biodegradaci v prostředí kompostu lze vidět na obrázku (Obr. 47). U vzorku LDPE-1(40), obarveném karbol-fuchsinem (Obr. 47 a) i u vzorku LDPE-1(80) (Obr. 47 b), obarveném methylenovou modří, byly pozorovány bakteriální vlákna, u vzorku LDPE-1(80) jsou patrné i bakteriální shluky.

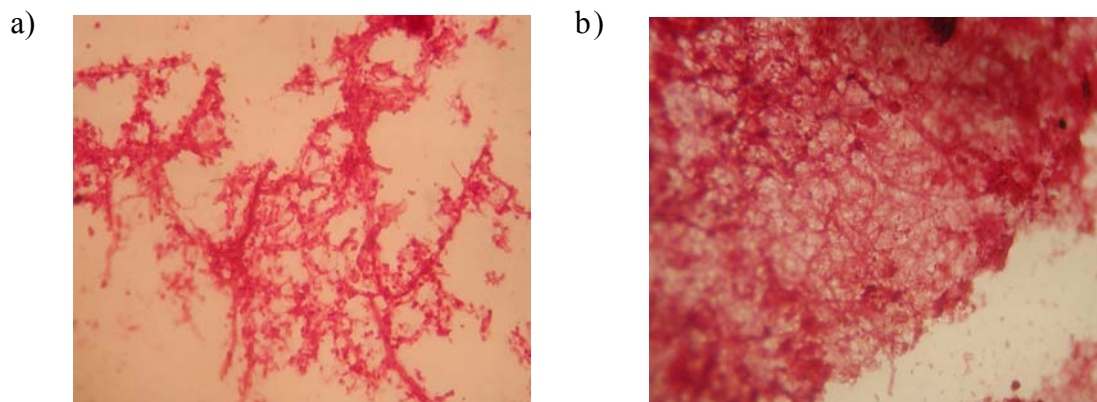


*Obr. 47: Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 podrobených biodegradčním testům v prostředí kompostu (zvětšení 1000x), a) LDPE-1(40) - nabarveno karbolfuchsinem, b) LDPE-1(80) - nabarveno methylenovou modří*

Autor předchozí DP [12] se domníval, že by vlákna mohla být grampozitivními bakteriemi ze skupiny aktinomycét. Bylo proto provedeno také Gramovo barvení, které tuto domněnku neprokázalo, protože grampozitivní bakterie Gramovým barvením získávají tmavě modrou až fialovou barvu a tyto pozorované vlákna byly po barvení červené.

### **10.1.2 Optická mikroskopie vzorku LDPE-2**

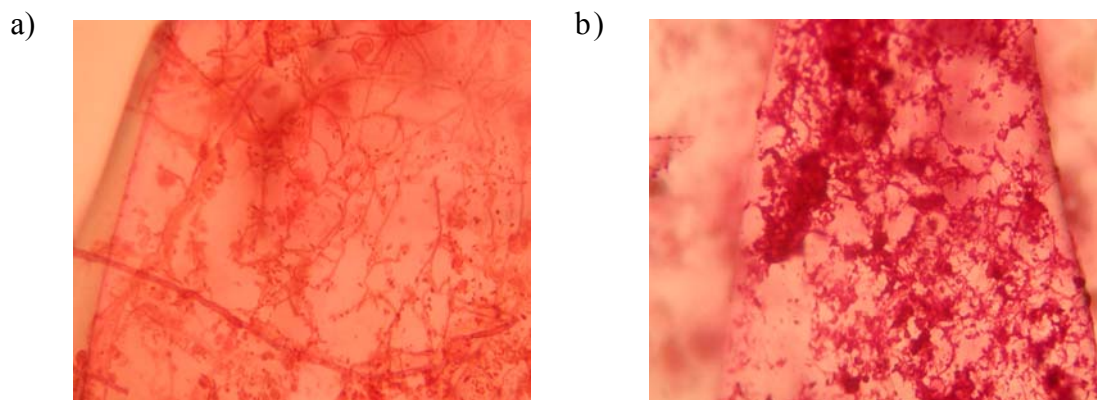
Vzorek LDPE-2(40), podrobený biodegradaci v prostředí půdy i kompostu můžeme vidět na obrázku (Obr. 48). V obou prostředích byla u vzorku pozorována pravděpodobně bakteriální vlákna. V prostředí půdy jsou také dobře viditelná vlákna plísň a jednotlivé bakteriální buňky v blízkosti vláken, může se ale také jednat o spóry plísní.



*Obr. 48: Optická mikroskopie vzorku LDPE-2 podrobeného biodegradačním testům (zvětšení 1000x), a) v prostředí půdy, b) v prostředí kompostu*

### 10.1.3 Optická mikroskopie vzorku LDPE-3

Pozorování vzorku LDPE-3, podrobeného biodegradaci v prostředí půdy i kompostu zachycuje obrázek (Obr. 49). V obou prostředích byla u vzorku zdokumentována bakteriální vlákna, v prostředí půdy byly viditelné také vláknité plísně.



*Obr. 49: Optická mikroskopie vzorku LDPE-3 podrobeného biodegradačním testům (zvětšení 1000x), a) v prostředí půdy, b) v prostředí kompostu*



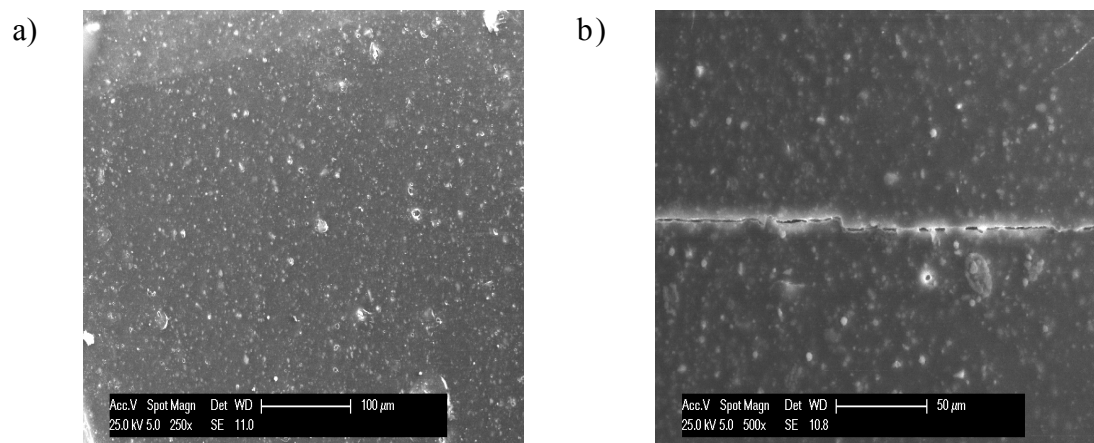
## 10.2 Skenovací elektronová mikroskopie

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) byla provedena u původních i 40 dní oxidovaných vzorků LDPE-2 a LDPE-3, a také u všech oxidovaných nových vzorků. Dále byly touto metodou sledovány vzorky LDPE-2(40) a LDPE-3(40) po ukončení testů aerobní biodegradace v prostředí půdy i kompostu. Původní i degradované vzorky LDPE-1 byly touto metodou zkoumány již v předchozí DP [12]. Dokumentace byla pořízena pomocí elektronového mikroskopu VEGA LMU od firmy Tescan. Sledované vzorky jsou znázorněny na obrázcích (Obr. 50 - 61).

### 10.2.1 Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-1

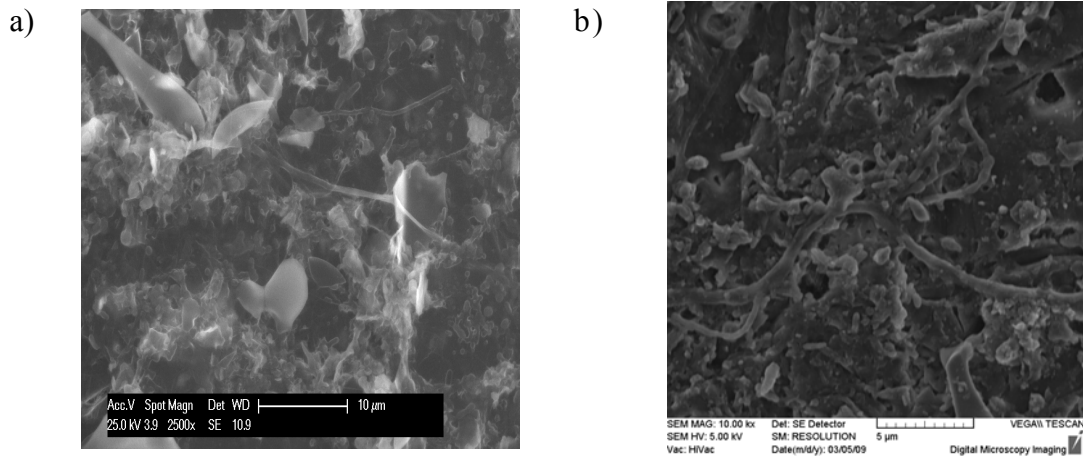
Tento vzorek byl elektronovou mikroskopií vyhodnocován již v předchozí DP [12] pomocí elektronového mikroskopu Philips XL-30 s rentgenovým spektrometrem i pomocí elektronového mikroskopu VEGA LMU od firmy Tescan, proto byla jeho dokumentace zčásti převzata a doplněna snímky LDPE-1(40) po biodegradaci v prostředí kompostu a snímky LDPE-1(80) po biodegradaci v půdě.

Povrch původního neoxidovaného vzorku LDPE-1 a vzorku podrobeného oxidaci je zdokumentován na obrázku (Obr. 50). V případě neoxidovaného vzorku můžeme vidět téměř neporušený povrch materiálu, dokumentace oxidovaného LDPE-1(80) dokazuje přítomnost značného rozrušení materiálu vlivem oxidace.



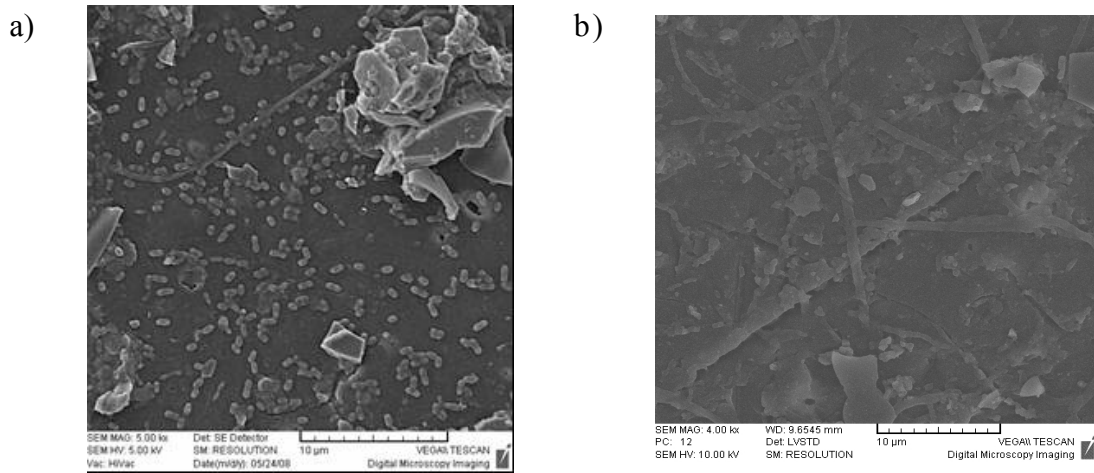
Obr. 50: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-1, a) neoxidovaného (zvětšení 250x), b) oxidovaného 80 dní (zvětšení 500x) [12]

Na obrázku (Obr. 51) lze vidět fotografie vzorku LDPE-1(40), podrobeného biodegradaci v prostředí půdy (Obr. 51 a) i kompostu (Obr. 51 b). Obě fotografie prokazují přítomnost bakteriálních vláken a šupinek materiálu naznačující jeho značné rozrušení oproti původnímu vzorku. Na snímcích je však i spousta dalších neznámých částic, které mohly vzniknout při přípravě vzorků na SEM.



*Obr. 51: Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(40) po biodegradaci, a) v půdním prostředí (zvětšení 2500x [12]), b) v prostředí vyzrálého kompostu (zvětšení 10 000x)*

Fotografie vzorku LDPE-1(80) podrobeného biodegradaci v prostředí půdy i kompostu jsou zachyceny na obrázku (Obr. 52). Snímky prokazují přítomnost bakteriálních vláken, v prostředí půdy můžeme vidět také tyčinky bakterií. Analýza byla provedena na elektronovém mikroskopu VEGA LMU.

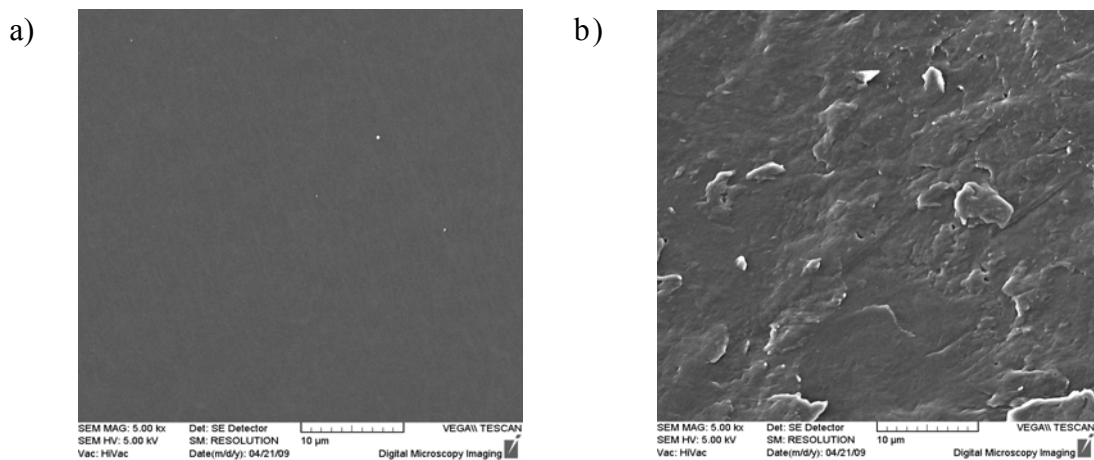


Obr. 52: Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci, a) v prostředí půdy (zvětšení 5000x), b) v prostředí kompostu (zvětšení 4000x [12])

### 10.2.2 Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2

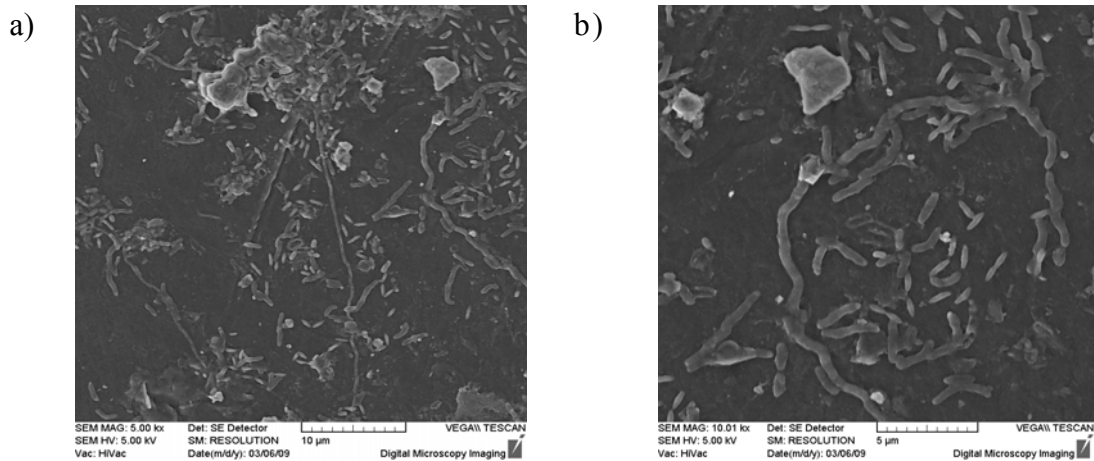
Vzorek LDPE-2 byl vyhodnocován pomocí elektronového mikroskopu VEGA LMU od firmy Tescan, příprava vzorku byla provedena dle kap. 6.6.2.

Vzorek LDPE-2 je zdokumentován na obrázku (Obr. 53). Můžeme porovnat povrch neoxidovaného vzorku (Obr. 53 a) se vzorkem oxidovaným 40 dní při 70°C (Obr. 53 b). U oxidovaného vzorku lze vidět nerovnosti a prasklinky způsobené oxidací, naznačující značnou rozrušenost materiálu a tím také větší přístupnost pro mikroorganismy.



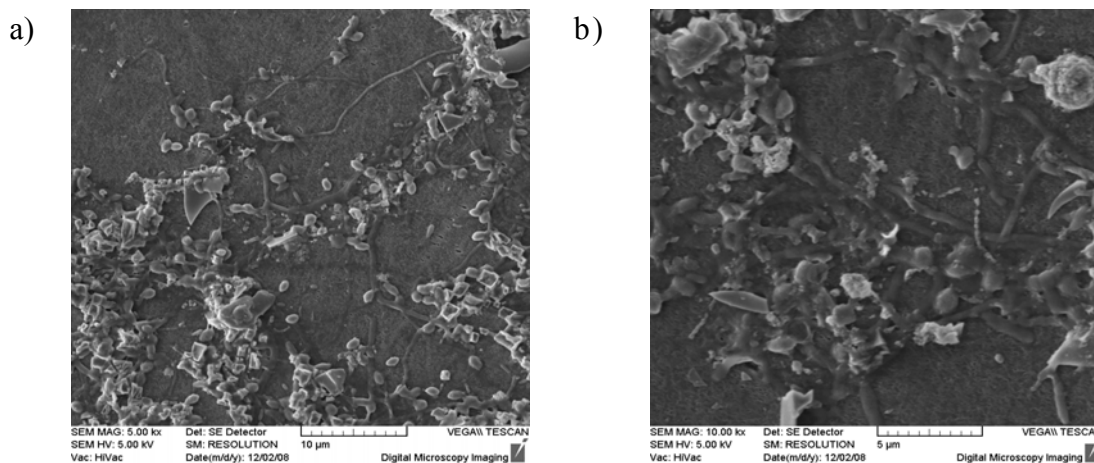
Obr. 53: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 a) neoxidovaného (zvětšení 5000x), b) oxidovaného 40 dní (zvětšení 5000x)

Na obrázku (Obr. 54) lze vidět dokumentaci vzorku LDPE-2(40), podrobeného biodegradaci v prostředí půdy, při různém zvětšení. Na obou fotografiích jsou zachyceny bakteriální vlákna a také tyčinky bakterií, prokazující značné bakteriální oživení vzorku.



*Obr. 54: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 po biodegradaci v půdním prostředí, a) zvětšení 5000x, b) zvětšení 10 000x*

Na obrázku (Obr. 55) můžeme vidět fotografie vzorku LDPE-2(40), podrobeného biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu, při různém zvětšení. Obě fotografie dokumentují přítomnost bakteriálních vláken na povrchu materiálu.

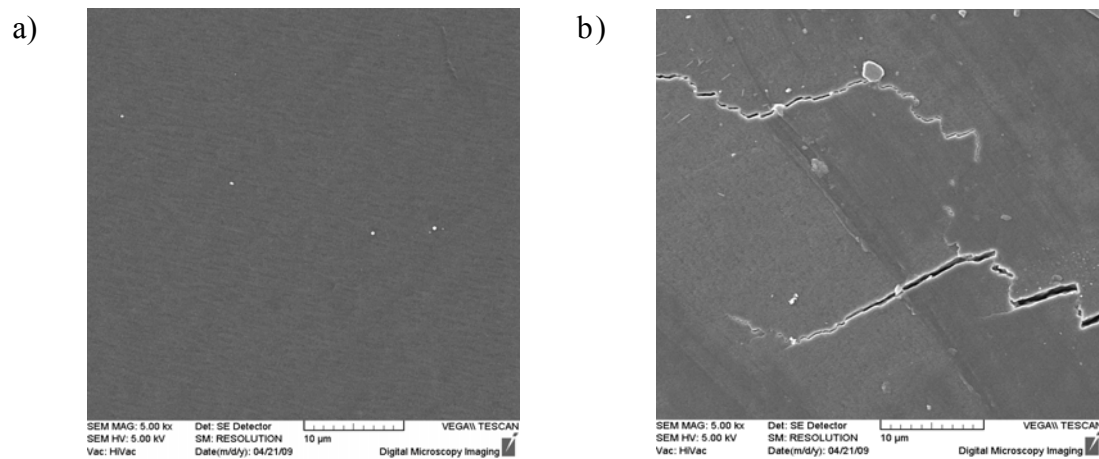


*Obr. 55: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 po biodegradaci v prostředí kompostu, a) zvětšení 5000x, b) zvětšení 10 000x*

### 10.2.3 Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3

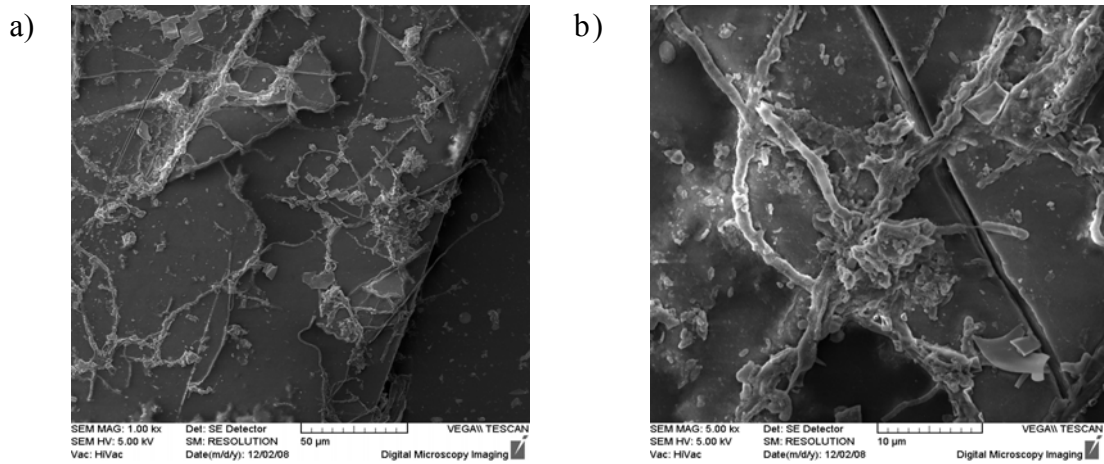
Vzorek LDPE-3 byl vyhodnocován pomocí elektronového mikroskopu VEGA LMU od firmy Tescan, příprava vzorku byla provedena dle kap. 6.6.2.

Fotografie vzorku LDPE-3 je zachycena na obrázku (Obr. 56). Opět můžeme porovnat povrch neoxidovaného vzorku (Obr. 56 a) se vzorkem oxidovaným 40 dní při 70°C (Obr. 56 b).



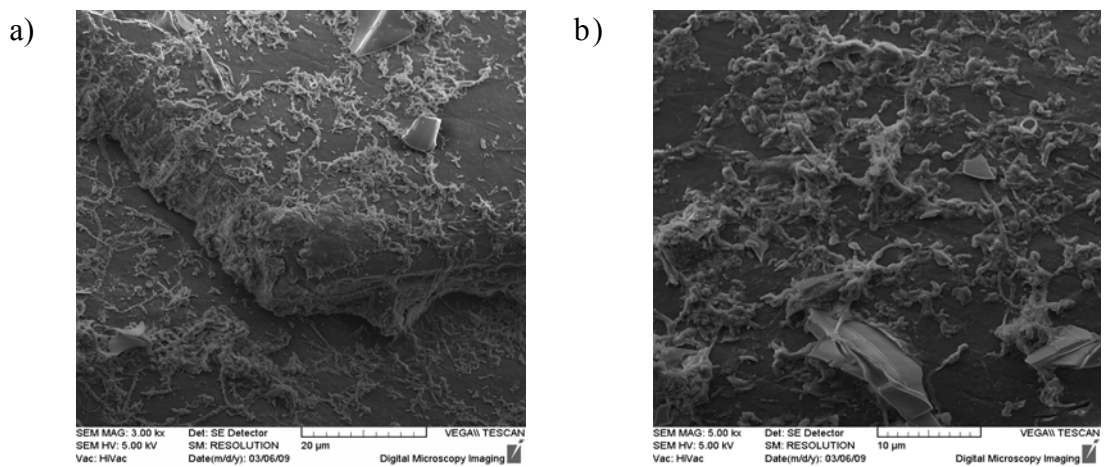
Obr. 56: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 a) neoxidovaného (zvětšení 5000x), b) oxidovaného 40 dní (zvětšení 5000x)

Snímky vzorku LDPE-3, podrobeného biodegradaci v prostředí půdy, při různém zvětšení, můžeme vidět na obrázku (Obr. 57). Na obou fotografiích můžeme opět pozorovat mikrobiální vlákna, prokazující přítomnost mikroorganismů, pravděpodobně plísni, na povrchu vzorku.



*Obr. 57: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 po biodegradaci v půdním prostředí, a) zvětšení 1000x, b) zvětšení 5000x*

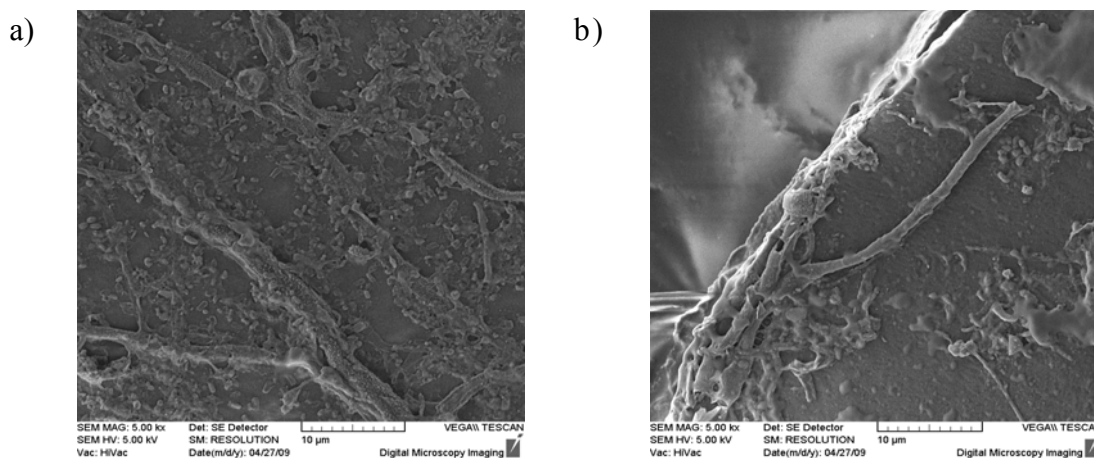
Obrázek (Obr. 58) dokumentuje fotografie vzorku LDPE-3, podrobeného biodegradaci v prostředí vyzrálého kompostu, při různém zvětšení. Snímky prokazují přítomnost bakteriálních vláken na povrchu testovaného vzorku.



*Obr. 58: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 po biodegradaci v prostředí kompostu, a) zvětšení 3000x, b) zvětšení 5000x*

#### 10.2.4 Elektronová mikroskopie dehydratovaných vzorků LDPE-2 a LDPE-3 po biodegradaci v prostředí půdy

Při pozorování vzorků LDPE-2(40) a LDPE-3(40) vyjmutých po ukončení biodegradačního testu v prostředí půdy byla optickou mikroskopií prokázána přítomnost vláken plísni. Pozorování elektronovým mikroskopem ovšem neposkytlo dostatečně jasné výsledky, proto byly vzorky upraveny dehydratací ethanolem (viz kap. 6.6.2). Obrázek (Obr. 59) zachycuje snímky z tohoto pozorování. Můžeme vidět zřetelné vlákna plísni vyskytující se na povrchu každého vzorku.

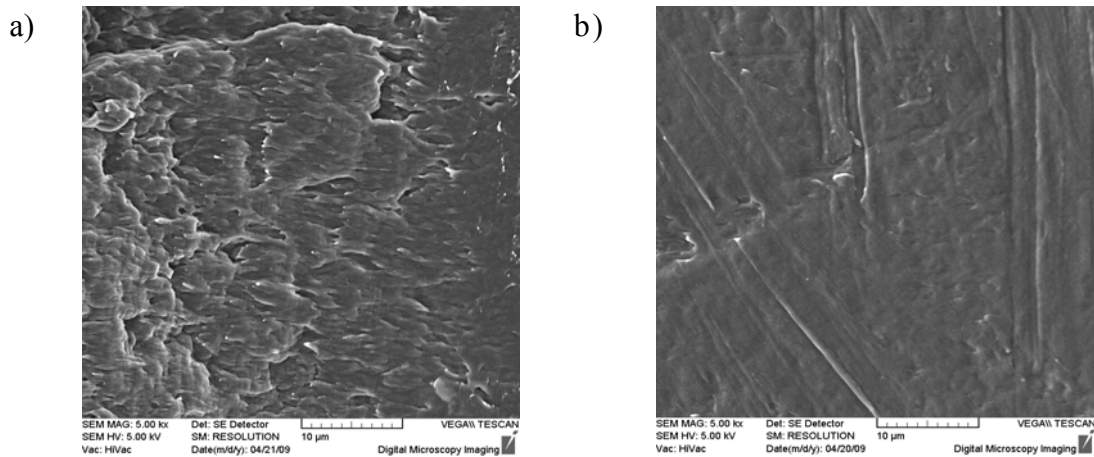


Obr. 59: Elektronová mikroskopie dehydratovaných vzorků a) LDPE-2, půda (zvětšení 5000x), b) LDPE-3, půda (zvětšení 5000x)

#### 10.2.5 Elektronová mikroskopie nových vzorků

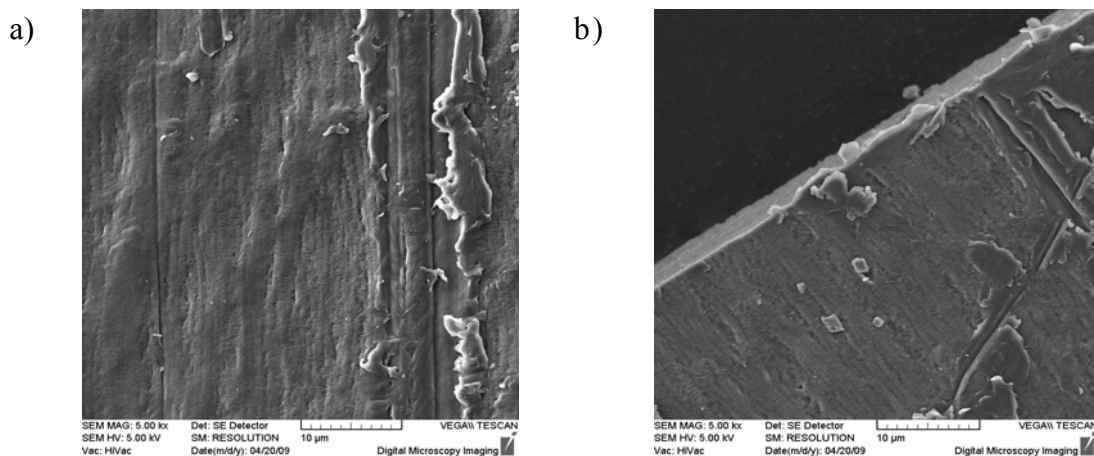
Testy biodegradace nových kombinací vzorků s prooxidanty dosud nebyly ukončeny, z toho důvodu byly elektronovou mikroskopií zkoumány pouze vzorky podrobené abiotické oxidaci při 60°C. Fotografie dokumentující povrch vzorku zachycený elektronovou mikroskopií můžeme vidět na obrázcích (Obr. 60, 61). Oxidace vzorků způsobila na povrchu všech vzorků nerovnosti a praskliny, což dělá materiál lépe přístupným mikroorganismům a lépe biodegradovatelným.

Obrázek (Obr. 60) zachycuje snímky oxidovaných vzorků LDPE 555 (Obr. 60 a) a LLDPE 555 (Obr. 60 b).



Obr. 60: Elektronová mikroskopie oxidovaných vzorků, a) vzorek LDPE 555 (zvětšení 5000x), b) vzorek LLDPE 555 (zvětšení 5000x)

Na obrázku (Obr. 61) lze vidět fotografie oxidovaných HDPE 9318810 (Obr. 61 a) a HDPE 1370 (Obr. 61 b).



Obr. 61: Elektronová mikroskopie oxidovaných vzorků, a) vzorek HDPE 9318810 (zvětšení 5000x), b) vzorek HDPE 1370 (zvětšení 5000x)

### 10.3 Závěr mikroskopických pozorování

Mikroskopické pozorování původních neoxidovaných vzorků potvrdilo neporušenost vzorku a nepřítomnost mikroorganismů na povrchu všech materiálů. Oxidací poté na povrchu vznikají nerovnosti a praskliny, které dělají každý testovaný materiál více přístupným ataku mikroorganismů a následně biodegradabilním.



U všech biodegradovaných vzorků byla optickou i elektronovou mikroskopií prokázána přítomnost mikrobiálního oživení. Tyto výsledky můžeme považovat za důkaz, že mikroorganismy ze substrátu určitou měrou využívají polymer jako zdroj uhlíku nebo energie. Z předložených snímků je patrné, že na povrchu materiálu bylo pozorováno skutečně velké množství rozličných mikroorganismů. Ve vzorcích z kompostu převládaly vláknité mikroorganismy, které by snad na základě jejich vzhledu bylo možno řadit do skupiny termofilních aktinomycét, byly přítomny i mikroorganismy charakteru tyčinek. V případě půdních inkubací byla pozorována vlákna plísňí a rovněž tyčinkovité bakterie. Řada objektů viditelná na snímcích je však obtížně zařaditelná. Část z těchto objektů mohla být na povrch materiálu přenesena přípravou vzorku.

## ZÁVĚR

Cílem DP bylo studium abiotické oxidace a biodegradace nových oxidovaných vzorků polyethylenu s prooxidanty a také dokončení studie biodegradace vzorků převzatých z loňské diplomové práce.

Biodegradace všech materiálů byla realizována v prostředí půdy a vyžralého kompostu. Míra biodegradace byla sledována analýzou vyprodukovaného oxidu uhličitého metodou plynové chromatografie. Ve všech případech byly vzorky lépe degradovány v prostředí kompostu.

Procenta mineralizace jednotlivých vzorků na konci sledovaného období jsou shrnuta dále, v závorce jsou uvedeny hodnoty směrodatné odchylky většinou ze tří paralelních hodnot.

Vzorek LDPE-1(40) (prooxidant Addiflex HE na bázi manganu) byl mineralizován z 18 (0,67) % za 432 dní v kompostu a z 14 (0,21) % za 518 dní v prostředí půdy.

U vzorku LDPE-1(80) (prooxidant Addiflex HE na bázi manganu) by měla být díky delší oxidaci biodegradace vyšší, avšak za 432 dní v kompostu byla stejná jako u vzorku LDPE-1(40), a to 18 (1,07) % a o málo vyšší, 16 (0,40) % za 518 dní v půdě. Pravděpodobně při teplotě inkubace v kompostu dochází i k poměrně intenzivní abiotické termooxidaci vzorku a vzorek (40) tak „dohnal“, co se stupně abiotické oxidace týká, více oxidovaný vzorek (80).

Vzorek LDPE-2(40) (prooxidant  $d_2w^{TM}$  na bázi manganu, železa, zinku) vykazoval nečekaně odlišné hodnoty mineralizace v obou prostředích. V prostředí kompostu byla jeho míra degradace nejvyšší ze série převzatých vzorků, a to 27 (11,93) % po 244 dnech a naopak v prostředí půdy byla jeho mineralizace z této série nejnižší, 7 (1,01) % po 392 dnech.

U LDPE-3(40) (prooxidant na bázi železa a manganu) byla mineralizace 17 (2,16) % za 244 dní v prostředí kompostu a 11 (1,33) % za 392 v půdě.

Vzorek LDPE 555 (prooxidant na bázi železa a manganu) byl degradován za 224 dní z 16 (0,70) % v kompostu a ze 7 (0,55) % v půdě.

Z nových vzorků byl nejlépe mineralizován LLDPE 555 (prooxidant na bázi železa a manganu), po 224 dnech byla mineralizace v prostředí kompostu 23 (5,38) % a v prostředí půdy 9 (0,66) %.

Biodegradace vzorku HDPE 9318810 (prooxidant na bázi manganu) byla za 224 dní v kompostu 3 (0,24) % a v půdě 5 (0,35) %.

Mineralizace HDPE 1370 (prooxidant na bázi kobaltu) byl po 224 dnech 5 (0,82) % v kompostu a 4 (0,12) % v půdě.

Shrnutí mineralizace všech zkoumaných vzorků za testované období můžeme vidět v tabulce (Tab. 11).

Tab. 11: Shrnutí biodegradace všech testovaných vzorků

Vzorek	LDPE-1(40)		LDPE-1(80)		LDPE-2		LDPE-3	
<b>Prooxidant</b>	<i>Mn</i>		<i>Mn</i>		<i>Mn, Fe, Zn</i>		<i>Mn, Fe</i>	
<b>Substrát</b>	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda
<b>Délka inkubace [dny]</b>	432	518	432	518	244	392	244	392
<b>Mineralizace [%]</b>	18	14	18	16	27	7	17	11
Vzorek	LDPE 555		LLDPE 555		HDPE 9318810		HDPE 1370	
<b>Prooxidant</b>	<i>Mn, Fe</i>		<i>Mn, Fe</i>		<i>Mn</i>		<i>Co</i>	
<b>Substrát</b>	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda	Kompost	Půda
<b>Délka inkubace [dny]</b>	224	224	224	224	224	224	224	224
<b>Mineralizace [%]</b>	16	7	23	9	3	5	5	4

Uvedené výsledky se dají shrnout tak, že všechny uvedené vzorky vykazují poměrně obdobné stupně mineralizace. Nadějně jsou výsledky při inkubacích v kompostu, kde se zdá, že mineralizace skutečně určitým tempem postupuje. Je však třeba si uvědomit, že tyto inkubace neodpovídají zcela reálným podmínkám, protože je zde

na rozdíl od reálného kompostování dlouhodobě uměle udržována vysoká teplota ideální pro termofilní mikroorganismy. Při inkubacích v půdním prostředí, které reálněji odrážejí jak přírodní podmínky, tak nejčastější osud polyethylenového odpadu, byla míra dosažené mineralizace poměrně nízká a zřejmě nezaručuje biodegradaci významné části materiálu v průběhu několika málo let, je nutno počítat spíše s desetiletími. To by ovšem nemuselo být nutně na závadu, pokud biodegradace skutečně vytrvale postupuje.

U všech biodegradovaných vzorků byla optickou i elektronovou mikroskopií prokázána přítomnost mikrobiálního oživení. Tyto výsledky můžeme považovat za důkaz, že mikroorganismy ze substrátu určitou měrou využívají polymer jako zdroj uhlíku nebo energie. Z předložených snímků je patrné, že na povrchu materiálu bylo pozorováno skutečně velké množství rozličných mikroorganismů. Ve vzorcích z kompostu převládaly vláknité mikroorganismy, které by snad na základě jejich vzhledu bylo možno řadit do skupiny termofilních aktinomycét, byly přítomny i mikroorganismy charakteru tyčinek. V případě půdních inkubací byla pozorována vlákna plísni a rovněž tyčinkovité bakterie. Řada objektů viditelná na snímcích je obtížně zařaditelná.

Biodegradční studie byly doplněny pokusem studujícím abiotickou oxidaci LDPE fólie od firmy Granitol a.s. při 50°C, o tloušťce 50-55 μm, obsahující prooxidant na bázi manganu Addiflex HE (5 %) a 15 % plniva Omydlen 2021 P a vyhodnocena pomocí spektroskopie v IČ oblasti. Během sledování vzorku oxidovaného při 50°C po dobu 184 dní nebyla spektroskopii pozorována žádná známka oxidace projevující se přítomností karbonylového píku. Tento pokus měl doplnit dřívější studie abiotických oxidací při 60, 70 a 80°C aby bylo možno případně z naměřených dat vyvodit informace o kinetice abiotické oxidace. Získaný výsledek je překvapivý a naznačuje, že účinek prooxidantů klesá s klesající teplotou rychleji než by odpovídalo kinetické rovnici pseudoprvního řádu, která je pro modelování těchto dějů s oblibou používána. Vzhledem k tomu, že se jedná o izolovaný výsledek, nelze z něj dělat významné závěry, nicméně pokud by se tato skutečnost potvrdila, znamenalo by to, že za reálných podmínek probíhá termooxidace mnohem pomaleji než se předpokládá a snížilo by to naději na funkčnost materiálů s prooxidanty v reálných podmínkách.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Úplné znění zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů* [on line]. [cit. 2008–12-6]. Dostupné z WWW:  
[http://www.env.cz/www/platnalegislativa.nsf/d79c09c54250df0dc1256e8900296e32/8FC3E5C15334AB9DC125727B00339581/\\$file/ODPADY.doc](http://www.env.cz/www/platnalegislativa.nsf/d79c09c54250df0dc1256e8900296e32/8FC3E5C15334AB9DC125727B00339581/$file/ODPADY.doc)
- [2] LEŠINSKÝ D.: *Environmentálne degradovateľné plasty*, Disertační práce 2003 [on line]. [cit. 2008–12-8]. Dostupné z WWW:  
[http://aa.ecn.cz/img\\_upload/267d7a1293b5aa53e374ea30d66848d6/Lesinsky\\_disertace\\_rozlozitelne\\_plasty.pdf](http://aa.ecn.cz/img_upload/267d7a1293b5aa53e374ea30d66848d6/Lesinsky_disertace_rozlozitelne_plasty.pdf)
- [3] MLEZIVA J.: *Polymery-struktura, vlastnosti a použití*, Praha 1993, Sobotáles, ISBN 80-901570-4-1, s. 13 – 36
- [4] *Makromolekulární látky (Polymery)*, [on line]. [cit. 2008–12-6]. Dostupné z WWW: <http://www.gvi.cz/files/chemie/mml.pdf>
- [5] KUŘITKA I., SLOBODIAN P.: *Recyklace polyolefinů*, přednáška k předmětu Recyklace a zneškodňování tuhých odpadů, UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 2008
- [6] AAMER ALI SHAH, FARIHA HASAN, ABDUL HAMEED, SAFIA AHMED: *Biological degradation of plastics: A comprehensive review*, *Biology advances* 26 (2008), s. 246 – 265
- [7] SINGH BALJIT, SHARMA NISHA: *Mechanistic implications of plastic degradation*, *Polymer Degradation and Stability* 93 (2008), s. 561 – 584
- [8] HONZÍK R.: *Plasty se zkrácenou životností a způsoby jejich degradace*, [on line]. [cit. 2008–12-8]. Dostupné z WWW:  
<http://biom.cz/index.shtml?x=194542>
- [9] HAGEN V.: *Únava a stárnutí materiálu*, VUT Brno, FT Zlín 1977
- [10] J. S. KNAPP, K.C.A. BROMLEY-CHALLONER: *Recalcitrant organic compounds, The Handbook of Water and Wastewater Microbiology*, London 2003, Elsevier, ISBN: 0-12-470100-0, s. 630 - 640

- [11] HEMMERICH K. J.: *General Aging Theory and Simplified Protocol for Accelerated Aging of Medical Devices*, Medical Plastics and Biomaterials Magazine (1998)
- [12] GERYCH P.: *Biodegradace polyethylenu s prooxidanty*, UTB ve Zlíně, fakulta technologická, diplomová práce 2008
- [13] TOMIS F. a kol.: *Polyethylén*, Praha 1961, SNTL
- [14] RYBNIKÁŘ F.: *Makromolekulární chemie II.*, Vysoké učení technické v Brně, fakulta technologická 1987, s. 16-23
- [15] REDDY M. M., DEIGHTON M., GUPTA RAHUL K., BHATTACHARYA S., PARTHASARATHY R.: *Biodegradation of Oxo-Biodegradable Polyethylene*, Journal of Applied Polymer Science, Vol. 111, 2009, s. 1426–1432
- [16] SUDHAKAR M., DOBLE M., SRIYUTHA MURTHY P., VENKATESAN R.: *Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes*, International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 61, Issue 3, April 2008, s. 203-213
- [17] ARKATKAR A., ARUTCHELVI J., BHADURI S., UPPARA P.V., DOBLE M.: *Degradation of unpretreated and thermally pretreated polypropylene by soil consortia*, International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 63, Issue 1, January 2009, s. 106-111
- [18] MOHEE R., UNMAR G. D., MUDHOO A., KHADDOO P.: *Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions*, Waste Management 28 (2008), s. 1624–1629
- [19] KOUTNÝ M., LEMAIRE J., DELORT A-M.: *Biodegradation of polyethylene films with prooxidant additives*, Chemosphere 64 (2006), s. 1243-1252
- [20] KOUTNÝ M., SANCELME M., DABIN C. et al.: *Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives*, Polymer Degradation and Stability 91 (2006), s. 1495-1503
- [21] SUDHAKAR M., TRISHUL A., DOBLE M., SURESH KUMAR K., SYED JAHAN S., INBAKANDAN D., VIDUTHALAI R. R., UMADEVI V. R., SRIYUTHA MURTHY P., VENKATESAN R.: *Biofouling and biodegra-*

- ation of polyolefins in ocean waters*, Polymer Degradation and Stability 92 (2007), s. 1743–1752
- [22] *Tetra Pak* [on line]. [cit. 2008–12-7]. Dostupné z WWW:  
<http://www.tetrapak.com/Pages/default.aspx>
- [23] REDDY M. M., RAHUL K. GUPTA, RAKESH K. GUPTA, BHATTACHARYA S. N., PARTHASARATHY R.: *Abiotic Oxidation Studies of Oxo-biodegradable Polyethylene*, J Polym Environ (2008) 16, s. 27–34
- [24] 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), s. 2739-2747
- [25] JAKUBOWICZ I.: *Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE)*, Polymer Degradation and Stability 80 (2003), s. 39-43
- [26] KOUTNÝ M., VÁCLAVKOVÁ T., MATISOVÁ-RYCHLÁ L., RYCHLÝ J.: *Characterization of oxidation progress by chemiluminescence – A study of polyethylene with pro-oxidant additives*, Polymer Degradation and Stability 93 (2008), s. 1515–1519
- [27] JAKUBOWICZ I.: *Evaluation of rate of abiotic degradation of biodegradable polyethylene in various environments*, Polymer Degradation and Stability 91 (2006), s. 1556-1562
- [28] CHIELLINI E., CORTI A., SHIFT G.: *Biodegradation of thermally-oxidized, fragmented low-density polyethylenes*, Polymer Degradation and Stability 81 (2003), s. 341-351
- [29] ROY P. K., TITUS S., SUREKHA E., TULSI E., DESHMUKH C., RAJAGOPAL C.: *Degradation of abiotically aged LDPE films containing pro-oxidant by bacterial consortium*, Polymer Degradation and Stability 93 (2008), s. 1917–1922
- [30] ALOK S., SONI R., ZAIDI M., SHOUCHE Y., GOEL R.: *Comparative biodegradation of HDPE and LDPE using an indigenously developed microbial consortium*, Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 18, Issue 3, March 2008, s.477 - 482

- [31] RŮŽIČKA J.: *Mikrobiologická cvičení*, UTB ve Zlíně, fakulta technologická 2001, ISBN 80-7318-017-0, s.32 – 35
- [32] ČERVENKOVÁ A.: *Bakteriální degradace polyethylenu s prooxidanty*, UTB ve Zlíně, fakulta technologická, diplomová práce 2007
- [33] 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), s. 169-178
- [34] FECHINE G. J. M., ROSA D. S., REZENDE M. E., DEMARQUETTE N. R.: *Effect of UV radiation and pro-oxidant on PP biodegradability*, Polymer Engineering and Science, January 2009, s. 123



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ASTM	American Society for Testing and Materials
CI	Karbonylový index
$d_2w^{\text{TM}}$	Prooxidantní Aditiva (Symphony Environmental Technologies)
Da	Dalton (jednotka molekulové hmotnosti)
$D_c$	Procentuelní mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO <sub>2</sub>
FTIR	Infračervená spektroskopie pomocí Fourierovy transformace
GC	Plynově chromatografická analýza
HDPE	Vysokohustotní polyethylen
IČ	Infračervené
LDPE	Nízkohustotní polyethylen
LLDPE	Lineární nízkohustotní polyethylen
MM	Minerální médium
PE	Polyethylen
PP	Polypropylen
PS	Polystyren
PVC	Polyvinylchlorid
PUR	Polyuretan
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
TC	Celkový uhlík
TCD	Tepelně vodivostní detektor
$\text{TDPA}^{\text{TM}}$	Prooxidantní Aditiva (EPI Environmental Technologies)
UV	Ultrafialové
VIS	Viditelné
XRF	Rentgenofluorescenční analýza

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1: Struktura LDPE [5] .....</i>	17
<i>Obr. 2: Struktura HDPE [5] .....</i>	17
<i>Obr. 3: Struktura LLDPE [5] .....</i>	18
<i>Obr. 4: Mechanismus abiotické oxidace polyethylenu s prooxidanty [19] .....</i>	21
<i>Obr. 5: Vliv teploty na rychlost abiotické oxidace PE s prooxidanty TDPA<sup>TM</sup>, .....</i>	23
<i>Obr. 6: FTIR spektra PE s/bez obsahu jílů po termo-oxidaci pro C=O (1735cm<sup>-1</sup>) [23] .....</i>	24
<i>Obr. 7: Závislost CI na délce oxidace pro PE s prooxidanty (OPE) a bez obsahu prooxidantů (PE) [15] .....</i>	26
<i>Obr. 8: FTIR spektra u vzorku LDPE-2 oxidovaného při 70°C pro C=O (1735cm<sup>-1</sup>) a CH<sub>2</sub> (1465cm<sup>-1</sup>) [12] .....</i>	29
<i>Obr. 9: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce CO<sub>2</sub> - půdní test [12] .....</i>	30
<i>Obr. 10: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1 z hlediska produkce CO<sub>2</sub> - kompostovací test [12] .....</i>	31
<i>Obr. 11: FTIR spektra u vzorku LDPE<sup>2</sup> (oxidovaný při 70°C) [32] .....</i>	33
<i>Obr. 12: Abiotická oxidace LDPE<sup>2</sup> (oxidovaný při různých teplotách); vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky [32] .....</i>	33
<i>Obr. 13: Pevnost v tahu – vzorky termooxidované při 60°C, vynesené body jsou průměrem většinou ze tří měření, chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky [32] .....</i>	34
<i>Obr. 14: Pevnost v tahu – vzorky termooxidované při 80°C, vynesené body jsou průměrem většinou ze tří měření, chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky [32] .....</i>	35
<i>Obr. 15: Mikroskopie LDPE<sup>2</sup> (40), kompostovací test (zvětšení 1000x) [32] .....</i>	36
<i>Obr. 16: Mikroskopie LDPE<sup>2</sup> (80), kompostovací test (zvětšení 1000x) [32] .....</i>	36
<i>Obr. 17: Abiotická oxidace LDPE<sup>2</sup> (Granitol); vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky .....</i>	58

<i>Obr. 18: Abiotická oxidace LDPE<sup>2</sup> (Granitol) při 50°C; vynesené body jsou průměrem ze dvou měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky</i> .....	59
<i>Obr. 19: FTIR spektra u vzorku LDPE<sup>2</sup>, šipka označuje místo kde se měl objevit karbonylový pík. Jednotlivá spektra se téměř dokonale překrývají.</i> .....	60
<i>Obr. 20: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-1(40) a LDPE-1(80) – kompostovací test</i> .....	62
<i>Obr. 21: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) z hlediska produkce CO<sub>2</sub> – kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)</i> .....	63
<i>Obr. 22: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – kompostovací test s LDPE-1(40) a LDPE-1(80)</i> .....	64
<i>Obr. 23: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-1(40) a LDPE-1(80) – půdní test</i> .....	65
<i>Obr. 24: Mineralizace uhlíku ze vzorků LDPE-1(40) a LDPE-1(80) z hlediska produkce CO<sub>2</sub> – půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)</i> .....	65
<i>Obr. 25: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – půdní test s LDPE-1(40) a LDPE-1(80)</i> .....	66
<i>Obr. 26: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-2 (kompostovací test)</i> .....	68
<i>Obr. 27: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-3 (kompostovací test)</i> .....	68
<i>Obr. 28: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-2 z hlediska produkce CO<sub>2</sub> – kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)</i> .....	69
<i>Obr. 29: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-3 z hlediska produkce CO<sub>2</sub> – kompostovací test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky)</i> .....	69
<i>Obr. 30: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – kompostovací test u LDPE-2</i> .....	70
<i>Obr. 31: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – kompostovací test u LDPE-3</i> .....	71

<i>Obr. 32: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-2 (půdní test).....</i>	<i>72</i>
<i>Obr. 33: Kumulativní produkce uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> u LDPE-3 (půdní test).....</i>	<i>72</i>
<i>Obr. 34: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-2 z hlediska produkce CO<sub>2</sub> - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky) .....</i>	<i>73</i>
<i>Obr. 35: Mineralizace uhlíku ze vzorku LDPE-3 z hlediska produkce CO<sub>2</sub> - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky) .....</i>	<i>73</i>
<i>Obr. 36: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – půdní test u LDPE-2.....</i>	<i>74</i>
<i>Obr. 37: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – půdní test u LDPE-3.....</i>	<i>75</i>
<i>Obr. 38: Biodegradace převzatých vzorků LDPE-1, LDPE-2, LDPE-3 v půdě i kompostu.....</i>	<i>76</i>
<i>Obr. 39: Kumulativní produkce uhlíku ze vzorků ve formě CO<sub>2</sub> (kompostovací test) .....</i>	<i>78</i>
<i>Obr. 40: Mineralizace uhlíku ze vzorků z hlediska produkce CO<sub>2</sub> - kompostovací test (vynesené body jsou průměrem většinou ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky) .....</i>	<i>79</i>
<i>Obr. 41: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – kompostovací test .....</i>	<i>80</i>
<i>Obr. 42: Kumulativní produkce uhlíku ze vzorků ve formě CO<sub>2</sub> (půdní test).....</i>	<i>81</i>
<i>Obr. 43: Mineralizace uhlíku ze vzorků z hlediska produkce CO<sub>2</sub> - půdní test (vynesené body jsou průměrem ze 3 měření a chybové úsečky odpovídají dvojnásobku směrodatné odchylky).....</i>	<i>82</i>
<i>Obr. 44: Aktuální koncentrace O<sub>2</sub> v testovacích lahvích – půdní test .....</i>	<i>83</i>
<i>Obr. 45: Optická mikroskopie původního vzorku LDPE-1 (zvětšení 1000x) .....</i>	<i>85</i>
<i>Obr. 46: Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 podrobených biodegradačním testům v prostředí půdy (zvětšení 1000x), a) LDPE-1(40) - nabarveno karboľfuchsinem, b) LDPE-1(80) - nabarveno methylenovou modří.....</i>	<i>86</i>
<i>Obr. 47: Optická mikroskopie vzorků LDPE-1 podrobených biodegradačním testům v prostředí kompostu (zvětšení 1000x), a) LDPE-1(40) - nabarveno karboľfuchsinem, b) LDPE-1(80) - nabarveno methylenovou modří.....</i>	<i>87</i>
<i>Obr. 48: Optická mikroskopie vzorku LDPE-2 podrobeného biodegradačním testům (zvětšení 1000x), a) v prostředí půdy, b) v prostředí kompostu.....</i>	<i>88</i>

<i>Obr. 49: Optická mikroskopie vzorku LDPE-3 podrobeného biodegradačním testům (zvětšení 1000x), a) v prostředí půdy, b) v prostředí kompostu.....</i>	<i>88</i>
<i>Obr. 50: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-1, a) neoxidovaného (zvětšení 250x), b) oxidovaného 80 dní (zvětšení 500x) [12].....</i>	<i>89</i>
<i>Obr. 51: Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(40) po biodegradaci, a) v půdním prostředí (zvětšení 2500x [12]), b) v prostředí vyzrálého kompostu (zvětšení 10 000x).....</i>	<i>90</i>
<i>Obr. 52: Elektronová mikroskopie vzorků LDPE-1(80) po biodegradaci, a) v prostředí půdy (zvětšení 5000x), b) v prostředí kompostu (zvětšení 4000x [12]) .....</i>	<i>91</i>
<i>Obr. 53: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 a) neoxidovaného (zvětšení 5000x), b) oxidovaného 40 dní (zvětšení 5000x).....</i>	<i>91</i>
<i>Obr. 54: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 po biodegradaci v půdním prostředí, a) zvětšení 5000x, b) zvětšení 10 000x.....</i>	<i>92</i>
<i>Obr. 55: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-2 po biodegradaci v prostředí kompostu, a) zvětšení 5000x, b) zvětšení 10 000x .....</i>	<i>92</i>
<i>Obr. 56: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 a) neoxidovaného (zvětšení 5000x), b) oxidovaného 40 dní (zvětšení 5000x).....</i>	<i>93</i>
<i>Obr. 57: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 po biodegradaci v půdním prostředí, a) zvětšení 1000x, b) zvětšení 5000x.....</i>	<i>94</i>
<i>Obr. 58: Elektronová mikroskopie vzorku LDPE-3 po biodegradaci v prostředí kompostu, a) zvětšení 3000x, b) zvětšení 5000x .....</i>	<i>94</i>
<i>Obr. 59: Elektronová mikroskopie dehydratovaných vzorků a) LDPE-2, půda (zvětšení 5000x), b) LDPE-3, půda (zvětšení 5000x) .....</i>	<i>95</i>
<i>Obr. 60: Elektronová mikroskopie oxidovaných vzorků, a) vzorek LDPE 555 (zvětšení 5000x), b) vzorek LLDPE 555 (zvětšení 5000x).....</i>	<i>96</i>
<i>Obr. 61: Elektronová mikroskopie oxidovaných vzorků, a) vzorek HDPE 9318810 (zvětšení 5000x), b) vzorek HDPE 1370 (zvětšení 5000x) .....</i>	<i>96</i>

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1: Charakteristické vlastnosti LDPE a HDPE [14]</i> .....	18
<i>Tab. 2: Objemy zásobních roztoků pro přípravu MM</i> .....	41
<i>Tab. 3: Kovy přítomné ve vzorcích LDPE [12]</i> .....	44
<i>Tab. 4: Charakteristiky převzatých vzorků</i> .....	45
<i>Tab. 5: Parametry nastavení GC Agilent 7890</i> .....	50
<i>Tab. 6: Obsah celkového uhlíku u testovaných materiálů</i> .....	56
<i>Tab. 7: Mikrobiologická charakteristika půdy</i> .....	57
<i>Tab. 8: Mikrobiologická charakteristika kompostu</i> .....	57
<i>Tab. 9: Shrnutí mineralizace vzorků v závislosti na prostředí a obsaženém prooxidantu</i> .....	75
<i>Tab. 10: Shrnutí mineralizace vzorků v závislosti na prostředí a obsaženém prooxidantu</i> .....	83
<i>Tab. 11: Shrnutí biodegradace všech testovaných vzorků</i> .....	99

## **PŘÍLOHA**

K diplomové práci jsou ve formátu CD přiloženy fotografie z optické a elektronové mikroskopie, které byly použity v této DP.