

Vliv kompatibilizátoru EGMA na vlastnosti a biodegradaci PLA a PHB

Jan Kočenda

Bakalářská práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Jan Kočenda
Osobní číslo: T21101
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Ochrana životního prostředí
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Vliv kompatibilizátoru EGMA na vlastnosti a biodegradaci PLA a PHB

Zásady pro vypracování

1. Připravte směsi PLA a kompatibilizátoru EGMA – poly(ethylene-glycidyl methacrylatu) a směsi PHB s EGMA .
2. Experimentálně proveďte test biodegradace vybraných směsí v půdě.
3. Proveďte vyhodnocení změn morfologických vlastností materiálů po biodegradaci.
4. Získané výsledky přehledně zpracujte ve formě tabulek a grafů v bakalářské práci

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

Seznam doporučené literatury:

1. H. T. Oyama: Super-tough poly(lactic acid) materials: Reactive blending with ethylene copolymer, *Polymer* 50, (2009) 747-751
2. J.B.Lee et al.: Compatibilizing effects for improving mechanical properties of biodegradable poly (lactic acid) and polycarbonate blends. *Polymer Degradation and Stability* 96 (2011), 553-560
3. R. Muthuraj, M. Misra, A.K. Mohanty, Hydrolytic degradation of biodegradable polyesters under simulated environmental conditions, *J Appl Polym Sci* 132 (27) (2015).

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 6. února 2024

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užit své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Cílem bakalářské práce bylo sledovat vliv kompatibilizátoru EGMA na vlastnosti polymerů PLA a PHB a schopnost biodegradace těchto směsí v půdě. Stupeň biodegradace byl sledován měřením produkce CO₂ v čase. S využitím diferenční skenovací kalorimetrie byly sledovány teploty tání, skelného přechodu a krystalizace před a po biodegradaci. Pomocí Youngova modulu byl sledován vliv EGMA na pružnost směsí. Byly také využity FTIR spektra ke sledování mechanismu biodegradace a reakce mezi biodegradabilními polymery a kompatibilizátorem EGMA. Bylo prokázáno, že PLA v půdě téměř nedegraduje. Naopak PHB se v půdě rozkládá poměrně rychle. Byl také potvrzen předpoklad, že směsi s 10% obsahem EGMA budou biodegradovat pomaleji než čisté materiály.

Klíčová slova: poly(mléčná kyselina); poly(máselná kyselina); ethylenglycidylmethakrylát, biodegradace, Youngův modul

ABSTRACT

The goal of the bachelor thesis was to study the effect of the compatibilizer EGMA on the properties of PLA and PHB polymers and the ability of biodegradation of these mixtures in soil. The degree of biodegradation was monitored by measuring CO₂ production in time. Melting, glass transition and crystallization temperatures before and after biodegradation were monitored using differential scanning calorimetry. The effect of EGMA on the elasticity of the mixtures was monitored using Young's modulus. FTIR spectra were also used to monitor the biodegradation mechanism and the reaction between biodegradable polymers and EGMA compatibilizer. It was shown that PLA hardly degrades in soil. In contrast, PHB degrades relatively fast in soil. The prediction that mixtures with 10 % EGMA content will biodegrade slowly than pure materials has also been confirmed.

Keywords: poly(lactic acid); poly(butyric acid); ethyleneglycidylmethacrylate; biodegradation, Young's modulu

Na úvod mojí práce bych rád poděkoval svojí rodině za jejich podporu a pomoc při mém studiu. Velké poděkování také patří mojí vedoucí Ing. Marii Dvořáčkové Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při práci a psaní této práce. Zároveň děkuji celému ústavu inženýrství ochrany životního prostředí a ústavu inženýrství polymerů za příjemné pracovní prostředí. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat mým kamarádům.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 VYUŽITÉ BIODEGRADABILNÍ POLYMERY	12
1.1 POLY(MLÉČNÁ KYSELINA)	13
1.1.1 Kyselina mléčná	13
1.1.2 Syntéza kyseliny polymléčné	13
1.1.3 Využití	14
1.1.4 Vlastnosti	15
1.1.5 Mechanismus biodegradace	15
1.2 POLY(MÁSELNÁ KYSELINA).....	16
1.2.1 Produkce	16
1.2.2 Využití	17
1.2.3 Vlastnosti	17
1.2.4 Mechanismus biodegradace	18
1.3 KOMPATIBILIZÁTOR EGMA.....	19
1.3.1 Směs PLA + EGMA.....	20
1.3.2 Směs PHB + EGMA	20
1.3.3 Směs PLA + PHB.....	21
2 PRINCIPY VYUŽITÝCH METOD	22
2.1 MĚŘENÍ CELKOVÉHO ORGANICKÉHO UHLÍKU (TOC)	22
2.2 INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE S FOURIEROVOU TRANSFORMACÍ (FTIR).....	22
2.3 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE (MS)	23
2.4 MĚŘENÍ YOUNGOVA MODULU PRUŽNOSTI S VYUŽITÍM STRESS-STRAIN	23
2.5 SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (SEM).....	24
2.6 DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (DSC).....	25
II PRAKTICKÁ ČÁST	26
3 METODIKA	27
3.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A LABORATORNÍ POMŮCKY	27
3.2 POUŽITÉ MATERIÁLY	28
3.3 POUŽITÉ METODY	29
3.3.1 Příprava vzorků	29
3.3.2 Měření celkového organického uhlíku (TOC)	29
3.3.3 Sledování produkce CO ₂ pomocí hmotnostní spektrometrie	29
3.3.4 Burial testy	29
3.3.5 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)	30
3.3.6 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)	30
3.3.7 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC).....	30
3.3.8 Dynamická mechanická analýza (DMA)	30

4	VYUŽITÉ ROVNICE	31
4.1	VÝPOČET OBJEMU ROZTOKU KHCO_3 PŘI KALIBRACI HMOTNOSTNÍHO SPEKTROMETRU	31
4.2	VÝPOČET STUPNĚ BIODEGRADACE	32
4.3	VÝPOČET YOUNGOVA MODULU PRUŽNOSTI POMOCÍ HOOKOVA ZÁKONA ^[42]	33
5	PŘÍPRAVA EXPERIMENTU	34
5.1	CHARAKTERIZACE PŮDY	34
5.1.1	Stanovení obsahu sušiny	34
5.1.2	Měření pH výměnnou reakcí	35
5.1.3	Stanovení organické hmoty žíháním	35
5.1.4	Stanovení uhlíku pomocí elementární analýzy	35
5.2	PŘÍPRAVA SMĚSÍ A FÓLIÍ Z PLA, PHB A EGMA	36
5.2.1	Příprava směsí	36
5.2.2	Lisování fólií z připravených směsí	36
5.3	PŘÍPRAVA INKUBAČNÍCH LAHVÍ	39
5.4	PROPÍRÁNÍ PERLITU	39
5.5	PŘÍPRAVA BIOREAKTORŮ	39
5.6	ODBĚR VZORKŮ URČENÝCH KE SKENOVACÍ ELEKTRONOVOU MIKROSKOPII	40
5.7	ODBĚR VZORKŮ URČENÝCH K DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRII	41
6	PROVEDENÍ EXPERIMENTU	42
6.1	MĚŘENÍ OBSAHU ORGANICKÉHO UHLÍKU VE FÓLIÍCH NA PŘÍSTROI SHIMADZU SSM-5000A	42
6.2	STANOVENÍ STUPNĚ BIODEGRADACE MĚŘENÍM PRODUKCE CO_2 POMOCÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE	44
6.2.1	Kalibrace hmotnostního spektrometru	44
6.2.2	Měření vyprodukovaného CO_2 na hmotnostním spektrometru	44
6.3	BURIAL TESTY	45
6.4	INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE S FOURIEROVOU TRANSFORMACÍ (FTIR)	45
6.5	DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (DSC)	46
6.6	STANOVENÍ YOUNGOVA MODULU	46
7	HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ	47
7.1	URČENÍ STUPNĚ BIODEGRADACE	47
7.2	ANALÝZA POVRCHU POMOCÍ SKENOVACÍ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE	50
7.2.1	Analýza povrchu vzorků před biodegradací	50
7.2.2	Analýza povrchu vzorků po 15 týdnech biodegradace	51
7.2.3	Analýza povrchu vzorků po 29 týdnech biodegradace	53
7.3	KVALITATIVNÍ FTIR ANALÝZA	55
7.4	DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (DSC)	63

7.5	VÝPOČET YOUNGOVA MODULU PRUŽNOSTI POMOCÍ HOOKOVA ZÁKONA	66
ZÁVĚR		68
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		69
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		75
SEZNAM OBRÁZKŮ		76
SEZNAM TABULEK		77

ÚVOD

V roce 2021 bylo v České republice vyprodukováno 0,285 milionu tun plastových odpadů z obalů. V Evropské unii bylo pak ve stejném roce vyprodukováno 1,59 milionu tun plastových odpadů z obalů. Jelikož se jedná o ohromná čísla, která stále rostou, bylo by vhodné najít alternativy k synteticky vyrobeným plastům. Jednou z alternativ by mohly být právě biodegradabilní polymery. Tato bakalářská práce se zabývá konkrétně polymery, které jsou syntetizovány mikrobiálně. Jedná se o poly(máselnou kyselinou) (PHB) a poly(mléčnou kyselinou) (PLA). ^{[1][2][3][4]}

Výhodou těchto materiálů je, jak již název napovídá, jejich schopnost biodegradace. Díky této vlastnosti vzrostla jejich výroba a průmyslové využití. Biodegradace však závisí na prostředí, ve kterém se polymer nachází. Jak již v jiných studiích bylo prokázáno, poly(mléčná kyselina) téměř nedegraduje v mořské vodě. Další výhodou těchto materiálů je možnost jejich využití i v medicíně.

Jednou z nevýhod jsou jejich špatné mechanické vlastnosti, jako například křehkost. Pro zlepšení mechanických vlastností jsou vyvíjeny směsi s jinými materiály. Do směsí jsou přidávány jiné polymery, celulóza, škrob nebo kompatibilizátory, které sice zlepšují mechanické vlastnosti polymerů, ale snižují jejich biodegradabilitu.

Mezi nevýhody biodegradabilních polymerů dříve patřila i jejich cena. Nyní jsou však ceny PLA srovnatelné s cenou běžně používaného polystyrenu.

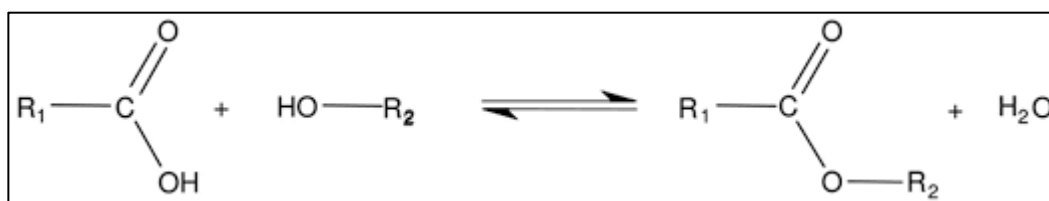
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VYUŽITÉ BIODEGRADABILNÍ POLYMERY

Biodegradabilní polymery jsou materiály, které mohou být rozloženy vlivem životního prostředí, a to buď v půdě, kompostu nebo vodě. V laboratořích lze také provést jejich abiotickou hydrolyzu. Jejich velkou výhodou, oproti běžnějším syntetickým polymerům, je, že jsou vyrobeny z obnovitelných zdrojů. Pro zlepšení mechanických vlastností materiálů jsou připravovány směsi např. se škrobem, PE, PVA, nebo právě kompatibilizátory. Tyto směsi vykazují lepší mechanické vlastnosti. Další nevýhodou biodegradabilních polymerů je jejich vysoká cena. [5]

Je také důležité rozlišovat rozdíl mezi biodegradabilními polymery a bioplasty. Ty patří do skupiny biopolymerů, kam se řadí také vlna, DNA či řada dalších látek přírodního původu. I když jsou bioplasty vyrobeny z přírodních látek, není u nich zaručena schopnost biodegradace. Biodegradabilní polymery jsou materiály, schopné mikrobiálního rozkladu za uvolňování CO_2 a H_2O .

Sledované materiály jsou schopny biodegradace díky jejich struktuře. Jedná se totiž o polyestery, které vznikly polykondenzační reakcí. „Polykondenzace je reakce při níž se mnohokrát opakuje kondenzace dvou- a vícefunkčních monomerů za vzniku polymeru při současném odštěpování vedlejší nízkomolekulární látky (zpravidla H_2O).“ [6] Zkoumané materiály, PLA i PHB, obsahují ve své struktuře karboxylovou skupinu $-\text{COOH}$ i hydroxy skupinu $-\text{OH}$. Reakcí těchto dvou skupin vznikne molekula obsahující esterovou vazbu a jako vedlejší produkt se uvolní molekula vody. Obecná rovnice esterifikace je zobrazena na (Obr. 1).



Obrázek 1 Obecná reakce esterifikace

K destrukci těchto polymerů může být použita hydrolyza. „Hydrolyza polymerů je jako destrukční reakce charakteristická pro polyestery, ale i další skupiny polymerů. Taktéž celulóza a celá řada polykondenzátů podléhají za určitých podmínek hydrolyze.“ [6] Reakcí polyesteru s vodou dojde k rozpadu esterové vazby za vzniku dvou původních molekul.

1.1 Poly(mléčná kyselina)

1.1.1 Kyselina mléčná

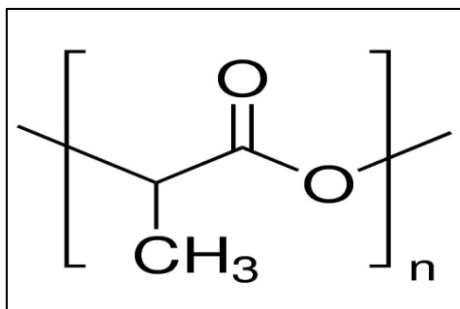
Monomerem pro výrobu **poly(mléčné kyseliny) (PLA)** je kyselina mléčná (LA). Kyselina mléčná se může vyskytovat ve dvou konformacích, a to kys. L-mléčná nebo kys. D-mléčná. Různé konformace mají vliv na mechanismus tvorby polymerních řetězců. Kyselina mléčná může být syntetizována buď chemicky, nebo fermentací. [7]

Chemicky vyrobená kyselina mléčná obsahuje směs L- a D- stereoizomerů v poměru 50:50. Zatímco vhodným výběrem homofermentativní bakterie, produkující pouze jeden izomer, lze vyrobit pouze vybraný, opticky čistý, stereoizomer. Každá bakterie však pro správnou funkci vyžaduje specifické pH a teplotu. Při těchto procesech vzniká také kyselina octová, ethanol, glycerol nebo oxid uhličitý, jako vedlejší produkty. „*Fermentací může vzniknout až 1,8 molu kyseliny mléčné z 1 molu hexosy.*“ [7] Další výhodou bakteriální fermentace jsou nízké náklady na substrát. Zdrojem glukózy pro fermentaci je především kukuřice a brambory. Jako substrát lze také využít např. použitou kávovou sedlinu, papírenský kal, či výhonky vinné révy. Při syntéze PLA jsou využity i metody moderní biotechnologie, u kterých dochází ke genetické modifikaci mikroorganismů produkujících kyselinu mléčnou. Příkladem takto modifikovaného mikroorganismu může být kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*. Tato kvasinka obsahuje enzym laktátdehydrogenáza (LDH) a je odolná i v kyselém prostředí, a to díky genu ESBP6. Kmeny obsahující tento gen zvyšují produkci kyseliny mléčné až o 20 %. Mezi mikroorganismy produkující PLA se řadí i houby. Kvůli nízké produkci však nejsou průmyslově tolik využívány. [7][8]

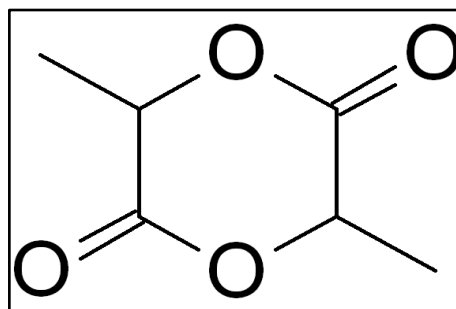
1.1.2 Syntéza kyseliny polymléčné

K syntéze PLA je možno použít dvě různé cesty. **Poly(kyselinu mléčnou)** lze získat polykondenzací, nebo z laktidu ,jehož vzorec je na (Obr. 3), polymerací s otevřením kruhu. Oba typy jsou běžně označovány pod zkratkou PLA. Strukturní vzorec jednoho meru tohoto řetězce je znázorněn na (Obr. 2). [9]

Polykondenzace kyseliny mléčné za vzniku polymerního řetězce probíhá ve vakuu za vysoké teploty. Z důvodu obtížného odstraňování vedlejšího produktu (vody) tímto způsobem vznikají pouze krátké nebo střední řetězce. [9]

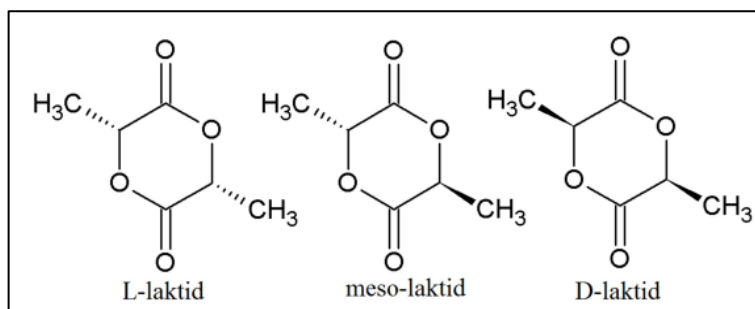


Obrázek 2 Strukturální vzorec meru poly(mléčné kyseliny)



Obrázek 3 Strukturální vzorec laktidu

Pro získání delších řetězců je nutné využít metodu otevření laktidového kruhu. Celý proces začíná kondenzací kyseliny mléčné za vzniku prepolymeru. „V tomto případě jde o nízko molekulární PLA. Dále se prepolymer převede na směs laktidových stereoizomerů za použití cínové katalýzy ke zvýšení rychlosti a selektivity intramolekulárních cyklizačních reakcí.“^[9] Molekula laktidu obsahuje 2 opticky aktivní, též chirální, uhlíky. Díky tomu můžou vznikat 3 stereoizomery: L-laktid; D-laktid a meso-laktid. Stereoizomery laktidu jsou zobrazeny na (Obr. 4). Jakost polymeru lze řídit množstvím L-laktidu, či D-laktidu přidaného k čistému meso-laktidu získaného destilací. Polymerace s otevřením kruhu se provádí v tavenině, není tedy potřeba žádného drahého nebo ekologicky nebezpečného rozpouštědla. Výhodou tohoto procesu je, že nevyužitý laktid lze recyklovat a vrátit jej zpět do výroby.^[9]



Obrázek 4 Stereoizomery laktidu

1.1.3 Využití

V dnešní době je PLA jedním z nejslibnějších materiálů pro komerční nahrazení nerozložitelných materiálů, jako jsou např. polyethyltereftalát (PET) a polystyren (PS).^[7] Díky biokompatibilitě s lidským tělem se kyselina polymléčná využívá v lékařství k výrobě implantátů a chirurgických šicích materiálů. Mezi jeho další využití patří výroba mulčovacích fólií nebo obalových materiálů.^{[8][10]}

1.1.4 Vlastnosti

Vzniklý polymer lze zpracovávat stejně jako ostatní termoplasty, například vytlačováním, vyfukováním nebo vstřikováním. Mezi jeho další výhody patří tepelná stabilita nebo nízký dopad na životní prostředí. PLA je však křehké a má vysokou teplotu krystalizace. Materiál má také nízkou odolnost v nárazu. Těmto vlastnostem se snažíme předcházet. Jedním ze způsobů zlepšení mechanických vlastností je smíchání s kompatibilizátorem, viz. 1.3.1. Krystalinitu pak lze ovlivnit také volbou katalyzátoru, který má vliv na izotakticitu či syndiotakticitu výsledného polymeru. [8][9]

1.1.5 Mechanismus biodegradace

PLA může být biodegradováno několika způsoby. K jeho biodegradaci je potřeba především vlhkost, kyslík a mikroorganismy. Za aerobních podmínek je rozloženo na CO₂ a vodu, mohou však vzniknout i další nízkomolekulární vedlejší produkty. Závisí však i na dalších podmínkách jako je pH či teplota. [13][18]

Jedním ze způsobů, jakým může být PLA biodegradováno je hydrolýza. Během hydrolýzy je polymerní řetězec štěpen na oligomery až monomery. Při tom klesá pH, což má vliv na zvýšení rychlosti reakce. Hydrolytická degradace PLA zahrnuje několik kroků: (1) difúzi molekul vody do amorfní fáze materiálu; (2) štěpení esterových vazeb amorfních řetězců, vedoucí ke snížení molekulové hmotnosti a produkci oligomerů a monomerů a (3) částečná hydrolýza krystalických frakcí. Kinetiku degradace PLA ovlivňují materiálové charakteristiky (tj. krystalinita, poměr D-laktidu ku L-laktidu a molekulová hmotnost) a podmínky prostředí (tj. teplota a pH)

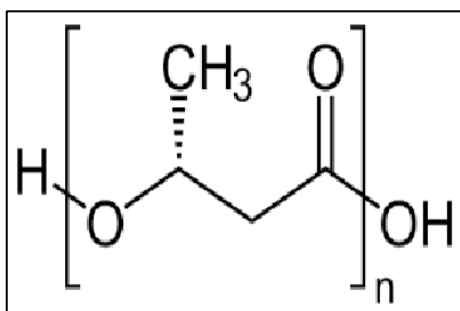
Další možností degradace PLA je rozklad pomocí slunečního záření. „*Fotodegradace polymerů byla definována jako absorpce UV záření polymerním řetězcem, která vede k fotochemickým reakcím.*“ [13]

Pomocí hydrolýzy nebo fotodegradace dojde pouze k rozpadu výrobku na menší částice, které mohou být absolutně degradovány pomocí mikroorganismů nebo enzymatickou reakcí. Mikroorganismy nejdříve ze svých buněk vyloučí depolymerázy, které jsou schopny rozložit PLA na oligomery až monomery. „*Nízkomolekulární produkty již mohou být infiltrovány do buněk mikroorganismů, kde jsou rozloženy na CO₂, H₂O a CH₄ s využitím enzymů.*“ [1] Enzymy degradující PLA, patří především do skupin *lipasy*, *esterasy* a *alkalasy*. Na jejich činnost má vliv pH, teplota, ale i stereochemie polymeru. [11][12]

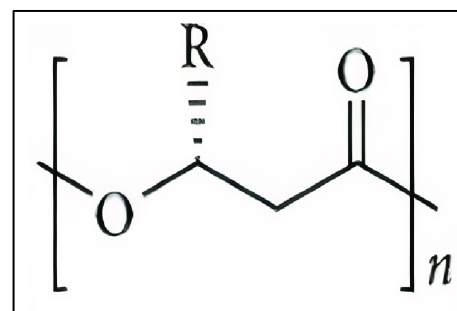
1.2 Poly(máselná kyselina)

1.2.1 Produkce

Monomerem pro výrobu poly- β -hydroxybutyrátu (**PHB**) je derivát kyseliny máselné (kyselina β -hydroxymáselná). Strukturální vzorec meru pro tvorbu PHB je znázorněn na (Obr. 5). PHB patří do skupiny polyhydroxyalkanoátů (**PHA**). „Polyhydroxyalkanoáty jsou schopny tvořit velmi dlouhé řetězce o molární hmotnosti 50 000 až 100 000 g/mol.“^[13] Řada prokaryot syntetizuje PHA, včetně PHB, za účelem uložení energie a uhlíku. Obecný vzorec polyhydroxyalkanoátu je na (Obr. 6). R v tomto vzorci značí skupiny, které mohou být na řetězec navázány. Místo R bývá navázán alkan, v případě poly- β -hydroxybutyrátu je na řetězci navázána methylová skupina (-CH₃). „PHA jsou jediné biodegradabilní polymery kompletně syntetizovány mikroorganismy.“^[14] Bakterie, degradující PHA, se mohou vyskytovat téměř v každém prostředí, např. ve vodě, v půdě, v kompostu i v sedimentu.^{[13][14]}



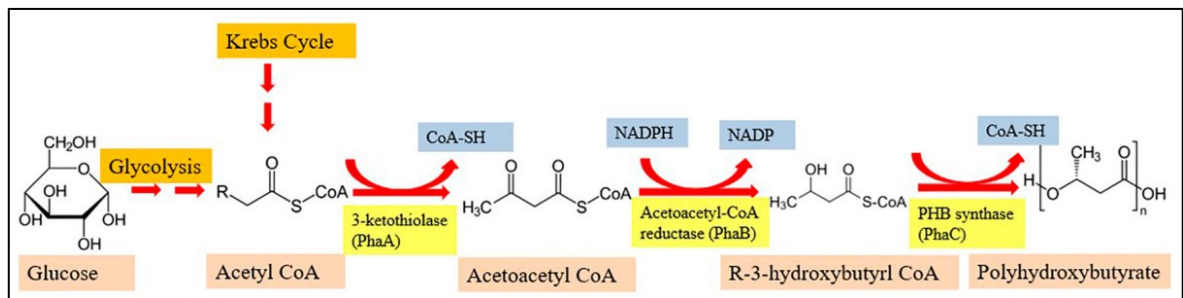
Obrázek 5 Strukturální vzorec meru poly(máselné kyseliny)



Obrázek 6 Strukturální vzorec PHA

Mnoho mikrobů je schopno produkovat PHB pomocí svého metabolismu. Základním substrátem je glukóza. Jako její zdroj může být využit např. hydrolyzát z pšenice nebo jiné rostlinné odpadní látky ze zemědělství. Různorodé jsou také podmínky, za kterých je PHB produkováno. Každý mikroorganismus potřebuje specifickou teplotu, pH i přísun kyslíku. Produkce PHB jsou totiž schopny jak aerobní, tak i anaerobní organismy. Na obrázku 7 je znázorněna metabolická dráha bakterií, při které je konečným produktem PHB.^[15]

V průmyslovém měřítku lze na produkci PHB pohlížet jako na kontinuální či diskontinuální proces. Diskontinuální systémy jsou tvořeny například vsádkovou kultivací, kontinuální pak mohou tvořit míchané tankové reaktory. I přes vysokou produktivitu jsou kontinuální procesy méně časté, především z důvodu náchylnosti k mikrobiální kontaminaci.^[16]



Obrázek 7 Metabolická dráha vzniku PHB (Anjana et al., 2021)

Prvním krokem této metabolické dráhy je získání acetylkoenzymu A (**Acetyl CoA**). K jeho produkci mohou sloužit mastné kyseliny či jiné látky, jejichž metabolismem vzniká právě Acetyl CoA. Ten lze také získat glykolýzou glukózy. Zdrojem glukózy bývá nejčastěji kukuřičný škrob. Anaerobní glykolýzou je získán pyruvát, který je následně dekarboxylován na Acetyl CoA. Poté jsou dvě molekuly Acetyl CoA zkondenzovány za vzniku **Acetoacetyl CoA** a uvolnění Koenzymu A. Vzniklý Acetoacetyl CoA je redukován na **hydroxybutyryl-CoA**, který dále polymeruje za vzniku PHB. Každý z kroků tohoto metabolismu je katalyzován specifickým enzymem. Biologická syntéza PHB probíhá v cytoplazmě řady bakterií. Vzniklý PHB v buňkách slouží jako zásobní látka. ^[15]

1.2.2 Využití

PHB má široké využití v medicíně. Může sloužit k výrobě biodegradabilních šroubů a dlah pro chrupavky a kosti, biodegradabilních membrán pro parodontální léčbu, biodegradabilních chirurgických stehů pro zubní, ortopedickou a kožní chirurgii. ^[14] Může být také využito k výrobě obalů, zejména v potravinářství. ^{[14][16]}

1.2.3 Vlastnosti

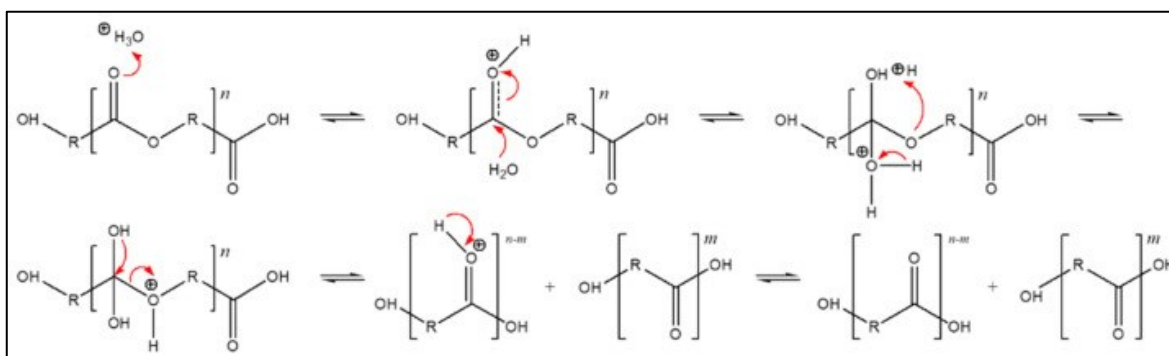
Jedná se o termoplast s krystalickou strukturou. Díky jeho chemické struktuře a obsahu vysokého počtu esterových vazeb vykazuje některé hydrofobní vlastnosti. Jednou z nevýhod tohoto materiálu je jeho křehkost. Má však podobné vlastnosti jako polypropylen (PP) nebo polyethylen (PE). Stejně jako tomu bylo u PLA, i zde se snažíme negativní mechanické vlastnosti vylepšit využitím kompatibilizátoru. Další nevýhodou PHB je jeho nízká výtěžnost při výrobě a vysoké výrobní náklady. Naopak mezi jeho výhody patří jeho tuhost a schopnost biodegradace. ^[16]

1.2.4 Mechanismus biodegradace

Nespornou výhodou PHB je jeho nulová uhlíková stopa. Při biodegradaci PHB vzniká CO_2 a H_2O . Oba dva konečné produkty, společně se slunečním zářením, jsou využity rostlinami při fotosyntéze, při níž vzniká glukóza. Z glukózy je pak v průběhu buněčného metabolismu syntetizována poly(β -hydroxymáselná kyselina), která se rozkládá na oxid uhličitý a vodu. Tento koloběh se neustále opakuje.

Na biodegradabilitu PHB má vliv spousta faktorů. Jednak vlastnosti materiálu, jako je jeho molární hmotnost, struktura nebo morfologie. Krystalinita PHB se pohybuje mezi 60–80 %, přesto jsou k degradaci náchylnější amorfni oblasti. Na mineralizaci mají také významný vliv faktory prostředí jako je teplota, vlhkost nebo pH. [17]

Pomocí měření pH půdy (5.1.2) bylo zjištěno, že půda, ve které testy probíhaly, byla mírně kyselá. V první fázi degradace dojde k protonaci karbonylového kyslíku esterové skupiny. K protonaci dochází vlivem H_3O^+ . Na karbonylovém uhlíku vlivem hydroniového iontu vzniká kladný náboj a stává se tak elektrofilem. Elektrofily jsou napadeny molekulami vody za vzniku tetraedrického produktu, který je schopen se dále rozdělit na karboxylovou skupinu a alkohol. Popsaná reakce je znázorněna na (Obr. 8). [17]



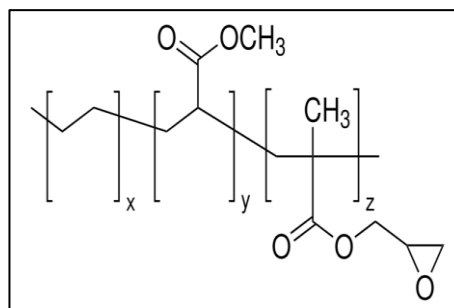
Obrázek 8 Obecná reakce biodegradace PHB v půdě (Kim et al., 2023)

Vzniklé molekuly kyseliny máselné jsou dále degradovány mikroorganismy. Na jejich biodegradaci PHB se podílí mnoho druhů bakterií. Společným znakem těchto bakterií je obsah enzymu *PHB depolymerasa*, který funguje na podobném principu jako *hydrolasy*. Jak již bylo zmíněno, PHB slouží bakteriím jako zásobní látka. Proto musí obsahovat enzym, kterým PHB rozštěpí, aby z něj mohly získat uhlík a energii v případě nedostatku živin. Degradace může probíhat za aerobních i anaerobních podmínek. Během aerobní degradace vzniká CO_2 a H_2O . Při anaerobní degradaci vzniká CH_4 , CO_2 a H_2O .

„Tento proces se nazývá mineralizace a nastává v momentě, kdy je všechn organický uhlík převeden na oxid uhličitý.“ [18] Dlouhé řetězce polymerů jsou štěpeny na kratší oligomery, které jsou dále štěpeny na samotné monomery. Monomer je následně rozložen na konečné produkty. Biodegradace kyseliny máselné jsou schopny bakterie rodu *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* a mnoho dalších. Mezi zástupce hub pak patří například *Penicillium*. [14] Bakterií a hub schopných biodegradace PHB je však mnohem více. Díky jejich velkému množství je i široká škála jejich výskytu. Nejhojněji jsou zastoupeny v půdě. [19] [14]

1.3 Kompatibilizátor EGMA

EGMA je zkratka pro makromolekulární látku se systematickým názvem polyEthylen Glycidyl MethAkrylát, jejíž struktura je znázorněna na obrázku 9. Jedná se o syntetickou látku sloužící jako kompatibilizátor. „Kompatibilizátory zvyšují snášenlivost mezi jinak nemísitelnými složkami směsi. Dojde tak k tvorbě nových chemických vazeb a tím také ke stabilizaci směsi.“ [20] EGMA se zároveň řadí mezi termopolymery



Obrázek 9 Strukturní vzorec EGMA

Teplota tání EGMA s 12 % GMA byla stanovena výrobcem na 103 °C. Bod skelného přechodu nastává při teplotě nižší než -25 °C. EGMA je schopno reagovat s řadou materiálů jako PE, PP, PVC. Epoxidová vazba na konci řetězce může inhibovat hydrolyzu materiálu, což u biodegradabilních polymerů může znamenat snížení rychlosti biodegradace. [21]

1.3.1 Směs PLA + EGMA

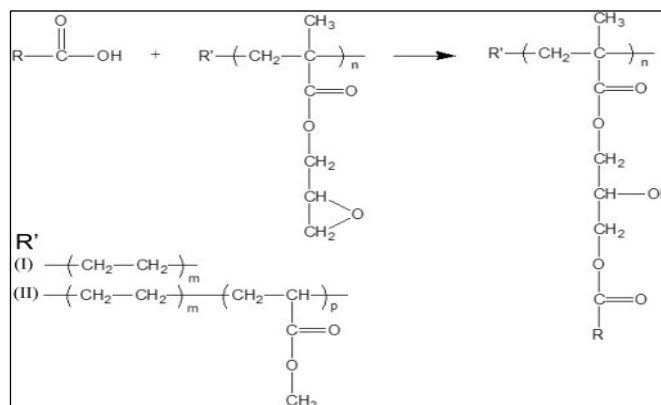
Samotné PLA je velmi křehký materiál, což komplikuje jeho využití. Ke zvýšení jeho houževnatosti se proto provádí kopolymerace s kompatibilizátory typu GMA. Ke zlepšení mechanických vlastností však lze využít i škrob, nanočástice stříbra, či syntetické polymery jako je např. polyethylen (PE). Glycidyl methakrylát (**GMA**) je totiž zakončen epoxidovou vazbou reagující s koncovými funkčními skupinami PLA. „U epoxidových skupin EGMA byla prokázána schopnost reagovat s karboxylovými a/nebo hydroxylovými skupinami PLA.“ [5] [6] [22] [23]

V již provedených studiích bylo prokázáno, že přidáním EGMA do směsi dojde k překonání křehkosti PLA a díky tomu dojde k významnému prodloužení při přetržení (elongation). Záleží však také na distribuci EGMA ve směsi. Dobrá distribuce EGMA ve směsi vede také ke snížení modulu v ohybu nebo tahu. Přídavkem EGMA se rovněž zvýší rázová houževnatost směsi. [24]

1.3.2 Směs PHB + EGMA

Reakce PHB s EGMA má stejný mechanismus, jako reakce PLA s EGMA. Koncové skupiny (-COOH) a (-OH) na řetězci PHB reagují s epoxidem ve struktuře EGMA. Přednostně však reakce probíhá s karboxylovou skupinou (-COOH), zvýšení teploty tuto reakci ještě posune směrem ke tvorbě produktu. Směs PHB s EGMA vykazuje nižší modul pružnosti, pevnost v tahu i teplotu skelného přechodu. Došlo však ke zvýšení rázové pevnosti. U prodloužení při přetržení (elongaci) však nedošlo k žádným změnám. [25]

Na (Obr. 10) je znázorněna reakce karboxylové skupiny (-COOH), obsažené jak ve struktuře PLA, tak PHB, s epoxidovou skupinou ve struktuře EGMA. Při této reakci dojde k otevření epoxidového kruhu a vytvoření etherové vazby (-C-O-C-). (Ke et al., 2017) [25]



Obrázek 10 Chemická reakce koncové (-COOH) skupiny s epoxidem ve struktuře EGMA

1.3.3 Směs PLA + PHB

Kombinace PLA s PHB je již známá a několikrát byla také zkoumána. Samotné PLA je amorfní materiál, za to PHB je vysoce krystalický. Bylo zjištěno, že přítomnost PLA ve směsi zmenšuje velikost sférolitů PHB. „*Sférolit je anizotropní útvar vznikající při krystalizaci z taveniny*“^[6]. Lze je pozorovat ve světelném mikroskopu. Velikost sférolitů se s rostoucí koncentrací PLA zmenšuje.^{[6][26]}

Zhang a jeho tým připravili směsi PLA a PHB v následujících poměrech (100/0; 75/25; 50/50; 25/75; 0/100) a tyto směsi podrobili několika testům. Ze snímků elektronového mikroskopu, kde byly skenovány lomové plochy směsi PLA+PHB, lze vidět, že tyto materiály jsou nemísitelné.^[26]

Pomocí DSC pak bylo zjištěno, že PHB pomáhá rekrytalizaci PLA. Pomocí DSC bylo opět prokázáno, že směsi jsou nemísitelné. U směsi jsou pozorovány tři píky tání. Na jednom píku je znázorněno tání PLA (nejnižší teplota), druhý pík odpovídá tání krystalů PHB a poslední pík, při nejvyšší teplotě, odpovídá rekrytalizovaným krystalům PHB.^[26]

Bylo také zjištěno, že přidavek PLA snižuje křehkost PHB. S rostoucí koncentrací PLA roste i napětí v tahu a prodloužení při přetržení (elongace). Krystaly PHB působí ve směsi jako plnivo a zlepšují tak mechanické vlastnosti PLA.^[26]

Biodegradace směsi PLA+PHB v půdě byla sledována úbytkem hmotnosti při pokojové teplotě. U směsi obsahujících PLA byla zratelná indukční doba. U samotného PHB byl zratelný úbytek hmotnosti již v prvních třech týdnech. U směsi s rostoucím obsahem PLA byl zratelný rozklad pozorovatelný později. I ze snímků SEM provedených po 50 týdnech, lze říct, že obsah PHB ve směsi urychluje biodegradaci. Jelikož PHB má vyšší afinitu k vodě, do směsi s obsahem PHB se dostane více vody, která hydrolyzuje PLA. Bylo také zjištěno, že PLA je degradováno hydrolyticky v celém svém objemu a v závislosti na teplotě. PHB je pak degradováno pomocí mikroorganismů nejprve z povrchu vzorku.^[26]

Z důvodu nemísitelnosti PLA a PHB se využívá mísení s kompatibilizátory, které zlepšují mísitelnost vzorku. Kombinace PLA+PHB již byla kompatibilizována glycerintriacetátem (GTA) a chitinovými nanokrystalami (CNA). Bylo však zjištěno, že GTA působí negativně na tepelné vlastnosti materiálu. CNA ve směsi působí jako nukleační činidlo a vede k tvorbě sférolitů PHB ve fázi PLA. Dalším již zkoumaným způsobem kompatibilizace bylo míchání například s celulóзовými nanovláknami, termoplastickým škrobem, polyethylenglykolem a kukuřičným škrobem, či mísení s nanočásticemi stříbra a mědi.^[26]

2 PRINCIPY VYUŽITÝCH METOD

2.1 Měření celkového organického uhlíku (TOC)

Měření obsahu celkového organického uhlíku (Total Organic Carbon) probíhalo na TOC analyzátoru SSM-5000A od firmy Shimadzu. Tento analyzátor je schopen měřit celkový uhlík (Total Carbon) a anorganický uhlík (Total Inorganic Carbon). TOC lze potom lehce dopočítat s využitím níže uvedené rovnice.^[27]

$$\text{TOC} = \text{TC} - \text{TIC}$$

„Měření celkového uhlíku je metoda, založena na termické oxidaci organického uhlíku na oxid uhličitý. Oxid uhličitý se poté detekuje a jeho obsah se kvantitativně vyhodnotí.“^[28] K termické oxidaci dochází při teplotě 900°C za stálého přívodu čistého kyslíku. K měření kapalných vzorků se pak využívá teploty 680°C a platinového katalyzátoru. Kvantitativní vyhodnocení je provedeno na základě kalibrační přímky, která je již uložena v přístroji.^[28]

TIC nebylo nutno měřit, protože se předpokládá, že vzorek neobsahuje žádné anorganické formy uhlíku např. v podobě uhličitánů. Ke zjištění TOC, bylo TIC zanedbáno. TOC se tedy rovnalo hodnotě TC, která byla změřena přístrojem.

2.2 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

Analýza vzorku infračervenou spektroskopií se provádí pro charakterizaci struktury organických látek. Měřit lze jak kapalné, tak i pevné vzorky. *„FTIR analýza měří rozsah vlnových délek v infračervené oblasti, které jsou absorbovány materiálem.“*^[29] Infračervené záření dosahuje vlnových délek 0,78-1000 nm. To odpovídá vlnočtům od 12800 cm⁻¹ do 10 cm⁻¹. Při absorpci záření dojde ke změně rotačně vibračních energetických stavů molekuly.^{[29][30]}

Měření probíhá na interferometrech. *„Jedná se o přístroje pracující na principu interference spektra, které na rozdíl od disperzních přístrojů měří interferogram modulovaného svazku záření po průchodu vzorkem.“*^[30] Získaný záznam je v počítači převeden s využitím Fourierovy transformace na výsledné FTIR spektrum. Ve spektru se na ose y absorbance, na ose x je pak vlnočet.^{[29][30]}

2.3 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Měření produkce oxidu uhličitého probíhalo pomocí hmotnostní spektrometrie. Hmotnostní spektrometr HPR-40 DSA od firmy Hiden Analytical je schopen analyzovat těkavé organické látky v kapalinách, plyny, páry i ve velmi malých koncentracích. [31]

Hmotnostní spektrometrie je kvalitativní i kvantitativní metoda určená k měření poměru hmotnosti molekuly k jejímu náboji (m/z). Každý spektrometr je složen minimálně ze tří částí a to: iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor. [32]

Iontový zdroj slouží k převedení analytu do plynné fáze a k jeho ionizaci. Molekula je zbavena elektronu za vzniku kationtu. Existuje několik možností ionizace např. elektronová ionizace (EI), ionizace elektrosprejem (ESI) či chemická ionizace (CI). [32]

Další částí spektrometru je hmotnostní analyzátor, který pracuje za vysokého vakua. Vakuum extrahuje neutrální částice, díky čemuž lze analyzovat pouze kladně nabitě částice. Analyzátor slouží k rozdělení iontů dle podílu hmotnosti „ m “ ku náboji „ z “; m/z . Hmotnostní spektrometr HPR-40 DSA využívá kvadrupólový analyzátor, který je složen ze čtyř rovnoběžných válcových elektrod. [32][33]

Detektor poskytuje signál úměrný počtu dopadajících iontů. Detektory dělíme do dvou základních skupin, a to detektory pro přímá měření a násobičové detektory, které jsou v hmotnostní spektrometrii častější. Využívají efekt násobení iontů a tím zvyšují sílu signálu. [32]

2.4 Měření Youngova modulu pružnosti s využitím stress-strain

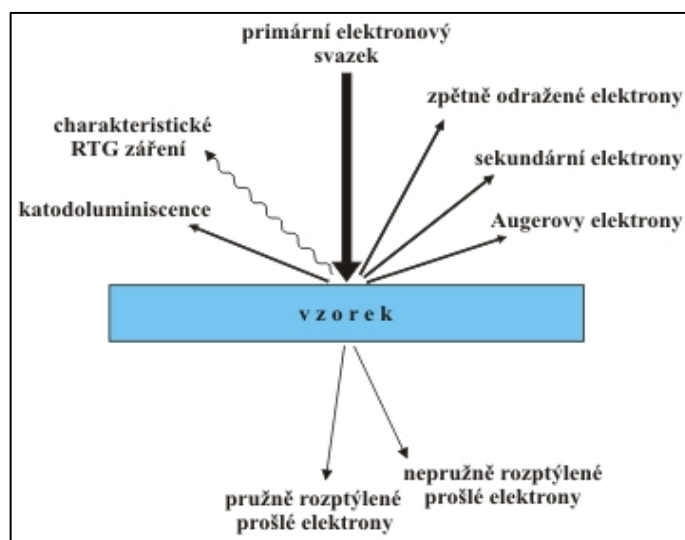
Na přístroji DMA1 STAR System od firmy Mettler Toledo lze měřit více metod, např.: frequency sweep, stress- strain či creep-recovery. V rámci této bakalářské byla zvolena metoda stress- strain.

Základem metody je vytvoření grafu, kde na ose y je stress (*napětí*) a na ose x je pak strain (*deformace*). Ty lze vypočítat pomocí znalosti síly, průřezu a prodloužení. Z počáteční, lineární, části tohoto grafu lze vypočítat Youngův modul pružnosti v tahu s využitím Hookova zákona. Napětí bylo měřeno v tahu, které je vhodné pro měření folií nebo vláken. Vzorek byl upevněn mezi dvě svorky, které se od sebe oddalovaly, čímž došlo k natažení vzorku. [34]

2.5 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

„Elektronový mikroskop na rozdíl od běžných světelných mikroskopů využívá jako zdroj záření elektrony namísto fotonů a elektromagnetických čoček namísto čoček skleněných.“^[35] Skenování probíhá ve vakuu, aby nedocházelo k interakcím mezi atmosférou a vyzářenými elektrony. Jelikož jsou polymery nevodivé, je nutné je před pozorováním pokrýt vrstvou vodivého materiálu (např. kovový prášek).^[35]

„Elektrony jsou vyzařovány z katody např. termoemisí, kdy jsou elektrony emitovány z povrchu katody vlivem vysoké teploty.“^[36] Emitované elektrony, nazývané primární, jsou usměrňovány, aby na vzorek dopadaly v co nejtenčím svazku. Při dopadu elektronu na povrch dochází k vzájemným interakcím. Vzájemné interakce jsou zobrazeny na (Obr. 11). Dochází například k odrazu, pohlcení či průchodu. Při SEM jsou sledovány zpětně odražené a vyražené „sekundární“ elektrony. Kvůli tomu se metoda SEM řadí mezi nepřímé metody.^[36]

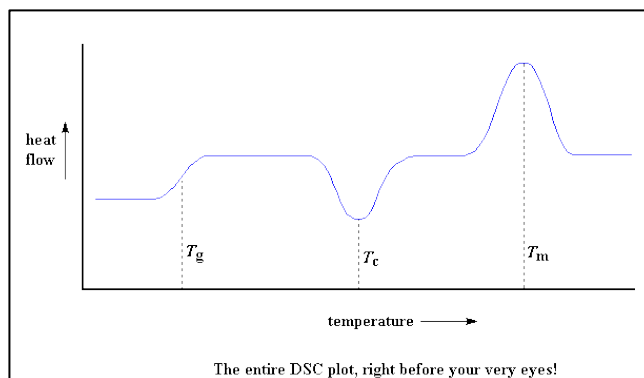


Obrázek 11 Interakce elektronů s povrchem vzorku
(<https://matca.cz/technologie/analyticke-metody/sem/>)

Zpětně odražené elektrony byly odraženy z povrchu vzorku. „Sekundární elektrony jsou původem ze vzorku. Srážkou jim byla primárním elektronem dodána potřebná energie k uvolnění se z elektronového obalu daného atomu.“^[36] Sekundární elektrony nesou informaci o povrchu vzorku. Díky pozorování sekundárních elektronů pod jiným úhlem, než je úhel dopadu, můžeme pozorovat tmavá a světlá místa tvořící trojrozměrný efekt. Výhodou SEM je jeho vysoká rozlišovací schopnost a zároveň je zachována velká hloubka ostrosti.^{[35][36]}

2.6 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Diferenční skenovací kalorimetrie je metoda založená na sledování změny tepelné kapacity s teplotou. Lze ji využít k měření teploty tání, krystalizace nebo skelného přechodu. Teplota tání (T_m) je znázorněna jako kladný pík, naopak teplota krystalizace (T_c) je znázorněna záporným píkem. Teplotu skelného přechodu (T_g) lze pozorovat jako nárůst tepelného toku. Všechny tři případy jsou znázorněny na (Obr. 12). [37][38]



Obrázek 12 Vzorový DSC graf

(<https://pslc.ws/macrog/images/dsc08.gif>)

Při měření dochází buď k exotermickému ději, při kterém dojde k uvolnění tepla, nebo k endotermickému ději, při kterém dojde k pohlcení tepla. Tyto procesy jsou také nazývané transformací 1. druhu a na výsledném diagramu jsou detekovány jako pík. Náhlá změna tepelné kapacity je pak označována za transformaci 2. druhu a ve výsledném grafu ji lze pozorovat jako náhlou změnu základní linie. Tepelná kapacita udává množství tepla potřebné k ohřátí soustavy o 1 °C, resp. o 1K. Pokud tepelná kapacita nezávisí na teplotě, její průběh je konstantní. Zároveň je konstantní i průběh DSC křivky. [37][38]

DSC kalorimetr je vybaven dvěma měrnými nádobami, z nichž jedna slouží jako referenční a druhá jako měrná. Obě nádoby jsou rovnoměrně zahřívány či ochlazovány. „Vzorek o známé hmotnosti se ohřeje nebo ochladí a změny jeho tepelné kapacity jsou sledovány jako změny tepelného toku.“ [38] Tepelný tok do každé z nádob je jiný. Rozsah teplot, ve kterém je vzorek sledován, může být velmi široký. [37][38]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 METODIKA

3.1 Použité přístroje a laboratorní pomůcky

3.1.1 Přístroje

Analyzátor vlhkosti MB25; OHAUS

Hmotnostní spektrometr HPR-40 DSA; Hiden Analytical

TOC analyzátor SSM-5000A; Shimadzu

Diferenční skenovací kalorimetr Mettler Toledo; Thermal Analysis

DMA1 Star System Mettler Toledo; Thermal Analysis

FTIR Spektrometr Nicolet iS10; ThermoFisher

pH metr InoLab pH 720 WTW

Analytické váhy KERN ABJ 220-4NM

3.1.2 Laboratorní pomůcky

Exikátor

Provzdušňovací aparatura

Biometrické lahve 580 ml se šroubovacími uzávěry a uzávěry se septy

Běžně používané laboratorní sklo a pomůcky

3.2 Použité materiály

Poly(mléčná kyselina) ve formě granulí

Ingeo biopolymer 2003D, a NatureWorks LLC

- $T_m = 145-160 \text{ }^\circ\text{C}$ [39]
- Modul pružnosti v tahu = 3,6 GPa [39]
- Pevnost v tahu při přetržení = 53 MPa [39]
- Mez kluzu v tahu = 60 MPa [39]
- Prodloužení v tahu = 6 % [39]

Poly(kyselina máselná) ve formě prášku

TianAn Biopolymer/Tianan Biologic Material Co., China

- $T_m = 170-176 \text{ }^\circ\text{C}$
- $\rho = 1.25 \text{ g/cm}^3$

Ethylen-glycidyl methakrylát ve formě granulí

Sumitomo Chemical Co. Ltd.

- 12 % GMA [40]
- $T_m = 103 \text{ }^\circ\text{C}$ [40]
- $T_g = -26 \text{ }^\circ\text{C}$ [40]
- $\rho = 0,94 \text{ g/cm}^3$ [40]
- Prodloužení v tahu = 700 % [40]
- Pevnost v tahu při přetržení = 19 MPa [40]

3.3 Použité metody

3.3.1 Příprava vzorků

Ze zkoumaných materiálů a jejich směsí, v podobě granulátů, byly vylisovány fólie. Na výrobu fólií byla použita navážka 3,5g granulátu. Fólie byly lisovány na mechanickém lisu při teplotě 200 °C, samotné lisování trvalo dvě minuty. Výsledné folie měly rozměr 16x16 cm a tloušťku okolo 100 μm .

3.3.2 Měření celkového organického uhlíku (TOC)

Do předem zvážených vyžíhaných keramických lodiček bylo naváženo cca 30mg každého ze zkoumaných vzorků. Navážka vzorku byla zapsána do softwaru patřícího k přístroji SSM-5000A od firmy Shimadzu. Měření probíhalo 5 minut při teplotě 900°C. Každý materiál byl měřen ve dvou opakováních. Pokud byl rozdíl mezi opakováními větší než 1 %, bylo provedeno ještě třetí měření.

Zároveň byly pro porovnání výsledků vypočteny ještě teoretické hodnoty obsahu organického uhlíku. Ty byly vypočteny pomocí hmotnostního zlomku.

3.3.3 Sledování produkce CO₂ pomocí hmotnostní spektrometrie

Do skleněných lahví o objemu 0,5l bylo naváženo 15g sušiny půdy, 5 g perlitu a 10ml vody. Fólie byly nastříhány na čtverečky o rozměrech 5x5 mm a do každé z lahví bylo naváženo 50 mg vzorku. Pro každý z materiálů, včetně celulózy, bylo tímto způsobem připraveno 5 bioreaktorů. Bioreaktory byly uzavřeny víčkem se septem. Měření produkce CO₂ na hmotnostním spektrometru probíhalo zpočátku každý týden. Po dvou měsících byla intenzita měření změněna na jednu za dva týdny. Provzdušňování bioreaktorů probíhalo jednou měsíčně.

3.3.4 Burial testy

Zároveň s bioreaktory pro sledování produkce CO₂ byly připraveny i bioreaktory pro tzv. pohřbívací testy. Do skleněných lahví bylo naváženo 15g půdy a 7,5ml převařené vody. Vzorečky byly nastříhány z fólií do tvaru čtverečků o velikosti 1x1 cm. Do inkubačních lahví pak bylo přidáno 100mg vzorku. Pro každý vzorek byla určena jedna inkubační láhev. Lahve byly uzavřeny standardním víčkem bez septa.

3.3.5 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Po 15 a 29 týdnech byl z inkubačních lahví, určených k burial testům, pomocí sterilní pinzety vytažen vždy jeden čtvereček materiálu. Vytažené vzorky byly očištěny ubrouskem od hlíny. Až do analýzy byly uloženy v mrazáku ve vodotěsných sáčcích.

3.3.6 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

Po 36 týdnech biodegradace byly z bioreaktorů sloužících k burial testům pomocí pinzety vytažen od každého materiálu jeden vzorek. Vzorky následně byly očištěny od hlíny pomocí ubrousku a destilované vody. Očištěné vzorky byly řádně vysušeny a vloženy do exikátoru. Měření probíhalo v rozsahu vlnových délek 400–4000 cm^{-1} . Při každém měření bylo pořízeno 64 snímků. Cílem FTIR analýzy spekter směsí a samotných polymerů je kvalitativní analýza, tedy zjištění, jaké vazby se ve vzorku nacházejí.

3.3.7 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Ve 29. týdnu byl, z inkubačních lahví určených pro burial testy, pomocí sterilní pinzety vytažen vzorek každého materiálu. Vytažené vzorky byly opláchnuty destilovanou vodou a vloženy do exikátoru. Následně byly analyzovány na (název přístroje) kalorimetru. Teplotní rozsah byl navržen v intervalu teplot od $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ po $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ s rychlostí zahřívání $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Pro výpočet velikosti píků byly využity teoretické hodnoty entalpie tání (ΔH) pro 100% krystalické materiály.

$$\Delta H_{\text{PLA}} = 93,7\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}\text{ [24]}$$

$$\Delta H_{\text{PHB}} = 146\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}\text{ [17]}$$

3.3.8 Dynamická mechanická analýza (DMA)

U DMA byla zvolena konkrétní metoda stress-sterin. S využitím této konkrétní metody bylo možné vypočítat Youngův modul. Z fólie každého vzorku před biodegradací bylo vystřiženo 5 obdélníčků o rozměrech cca 25x5 mm. Vzorky byly testovány na přístroji DMA1 od firmy Thermal Analysis. Byl zvolen program, při kterém během 5 minut došlo k natažení silou 2 N. Rychlost natahování byla 0,4N/min. Měření probíhalo při 25°C .

4 VYUŽITÉ ROVNICE

4.1 Výpočet objemu roztoku KHCO_3 při kalibraci hmotnostního spektrometru

$$V = \frac{\left(\frac{x}{100} \cdot V_b \cdot p_m\right)}{R \cdot T \cdot c_{\text{KHCO}_3}} \quad (1)$$

kde:

V ... objem roztoku hydrogenuhličitanu draselného [l]

x ... procenta CO_2 [-]

V_b ... objem lahve [0,58 l]

p_m ... atmosférický tlak v laboratoři během přípravy kalibrace [Pa]

R ... molární plynová konstanta [8,314 J.K⁻¹.mol⁻¹]

T ... teplota v laboratoři během přípravy kalibrace [K]

c_{KHCO_3} ... přesná koncentrace roztoku hydrogenuhličitanu draselného [mol. l⁻¹]

$$c_{\text{KHCO}_3} = \frac{m_{\text{KHCO}_3}}{M_{\text{KHCO}_3} \cdot V_r} \quad (2)$$

kde:

m_{KHCO_3} ... navážka hydrogenuhličitanu draselného [g]

M_{KHCO_3} ... molární hmotnost hydrogenuhličitanu draselného [100,115 g.mol⁻¹]

V_r ... objem připravovaného roztoku hydrogenuhličitanu draselného [0,1 l]

4.2 Výpočet stupně biodegradace

$$D = \frac{C_s}{TC \cdot m_c} \quad (3)$$

kde:

D ... stupeň biodegradace testovaného vzorku [%]

TC ... hmotnostní zlomek organického uhlíku změřený dle postupu v 6.1 [-]

m_c ... navážka testovaného materiálu [mg]

$$C_s = C_k - C_b \quad (4)$$

kde:

C_s ... substrátová produkce uhlíku z testovaného vzorku [mg]

C_b ... průměr kumulativních uhlíků z blanků [mg]

C_k ... kumulativní produkce uhlíku

$$C_k = C_d + C_{kp} \quad (5)$$

kde:

C_k ... kumulativní vyprodukovaný uhlík [mg]

C_{kp} ... kumulativní vyprodukovaný uhlík z předchozích měření [mg]

$$C_d = \frac{p_m \cdot (S_{VZ} - q) \cdot V_b}{(100 \cdot k \cdot R \cdot (274,15 + T_m)) \cdot M_c} \quad (6)$$

kde:

C_d ... množství zmineralizovaného uhlíku od posledního měření [mg]

p_m ... atmosférický tlak v laboratoři během měření [kPa]

q ... absolutní člen získaný z lineární regrese kalibrace [-]

V_b ... objem bioreaktoru [580 ml]

k ... směrnice přímky získaná z lineární regrese kalibrace [-]

R ... molární plynová konstanta [8,314 J.K⁻¹.mol⁻¹]

T_m ... teplota v laboratoři během měření [K]

M_c ... molární hmotnost uhlíku [12,011 g.mol⁻¹]

$$S_{VZ} = \frac{p_{CO_2}}{p_{Ar}} \quad (7)$$

kde:

S_{VZ} ... signál z hmotnostního detektoru [-]

p_{CO_2} ... tlak CO_2 v bioreaktoru [mbar]

p_{Ar} ... tlak Ar v bioreaktoru [mbar]

4.3 Výpočet Youngova modulu pružnosti pomocí Hookova zákona ^[41]

$$\sigma_n = \varepsilon \cdot E \quad (8)$$

kde:

σ_n ... normálové napětí [Pa]

ε ... relativní prodloužení [-]

E ... Youngův modul pružnosti [GPa]

$$\sigma_n = \frac{F}{S} \quad (9)$$

kde:

F ... působící síla [N]

S ... obsah příčného průřezu [m^2]

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l} \quad (10)$$

kde:

Δl ... prodloužení [m]

l ... původní délka [m]

5 PŘÍPRAVA EXPERIMENTU

Před samotným zahájením experimentu bylo nutné připravit vše potřebné k jeho provedení. Přípravy na experiment zahrnovaly odběr a zpracování půdy, specifikaci půdy, přípravu vzorků biodegradabilních polymerů a přípravu inkubačních lahví, ve kterých byly vzorky uloženy.

5.1 Charakterizace půdy

Dne 28.6.2023 byly odebrány 4kg hlíny z našeho rodinného pole. Na snímku z katastru nemovitostí je červeně ohraničena parcela 3667/5, ze které byl vzorek odebrán. Pole je v katastru nemovitostí vedeno jako orná půda. Vzorek suché půdy byl odebrán klasickým zahradním rýčem. Půda byla přes noc vysušena na vzduchu.



Obrázek 13 Snímek pole z katastru nemovitostí

Den po odběru byla půda v laboratořích proseta přes drobné síto, aby byla zbavena hrudek a nečistot, jako jsou kameny, větvičky nebo listy. Prosetá hlína byla uložena do označeného kbelíku uzavřeného víkem.

5.1.1 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení sušiny půdy probíhalo na analyzátoru vlhkosti MB25 OHAUS. Na hliníkovou destičku bylo naváženo zhruba 5g půdy. Hliníková destička se vzorkem byla vložena do analyzátoru. Po vysušení půdy byla z displeje přístroje odečtena hodnota vlhkosti a sušiny půdy. Vlhkost tvořila 7,78% hmotnosti půdy, zbylých 92,22 % tvořila sušina.

5.1.2 Měření pH výměnnou reakcí

Jednou z dalších charakteristik půdy je její pH. pH mého vzorku půdy bylo stanoveno pomocí výměnné reakce půdy. „Výměnná reakce půdy je charakterizována změnou pH způsobenou vodíkovými ionty, vytěsněnými z organominerálního sorpčního komplexu roztokem neutrální draselné soli.“^[42] Neutrální soli v tomto případě bylo KCl.

Měření probíhalo ve dvou opakováních. Vzorky byly připraveny v poměru 5:2. Na 50 ml roztoku KCl náleželo 20g sušiny. Do Erlenmayerových baněk bylo naváženo přibližně 21,6873 g půdy, což odpovídá právě 20g sušiny.

Navážená půda v Erlenmayerově baňce byla přelita 50ml předem připraveného roztoku 1M KCl. Roztok se nechal dvě hodiny louhovat. Po vylouhování byl přefiltrován přes skládaný filtr. U získaného filtrátu bylo měřeno pH s využitím skleněné elektrody.

Průměrná hodnota pH půdy vyšla 5,995. Této hodnotě pH odpovídají slabě kyselé půdy, které jsou vhodné pro většinu rostlin.

5.1.3 Stanovení organické hmoty žiháním

Do třech zvážených keramických kelímků bylo naváženo vždy zhruba 5 g vzorku půdy. Žihání probíhalo v peci, po dobu 2 hodin, při teplotě 550 °C. Vyžíhané kelímky s půdou byly vloženy do exikátoru se silikagelem. Po zchladnutí byly opět zváženy na analytických vahách. Z rozdílu hmotnosti půdy před a po žihání byl stanoven podíl organické hmoty v půdě.

Protože při žihání se ze vzorku odpaří veškerá vlhkost a organická hmota v půdě shoří, po žihání v kelímků zůstane sušina bez organického podílu. Průměrný obsah organické hmoty ve vzorku půdy je 5,08 %.

5.1.4 Stanovení uhlíku pomocí elementární analýzy

Vzorek půdy byl odeslán na elementární analýzu. Výsledky, které jsou uvedeny v tabulce 1, bylo nutno zprůměrovat.

Tabulka 1 Výsledky elementární analýzy půdy

Prvek	Měření 1 [%]	Měření 2 [%]	Měření 3 [%]	Měření 4 [%]	Měření 5 [%]	Průměr [%]
C	1,12	1,24	1,47	2,48	1,35	1,53
H	0,43	0,41	0,49	0,61	0,50	0,49
N	0,16	0,18	0,15	0,19	0,15	0,17

5.2 Příprava směsí a fólií z PLA, PHB a EGMA

5.2.1 Příprava směsí

Granuláty polymerů PLA, PHB a EGMA byly nejprve vysušeny v sušárně při teplotě 60 °C po dobu 16 h. Navážené množství polymerů bylo smícháno v přístroji Brabender Plasticorder při teplotě 180 °C, frekvence otáčení 50 otáček / minutu po dobu 10 minut. [43] Směsi byly připraveny dle (Tab. 2). Fólie z čistého PHB mi poskytla Ing. Jana Šerá Ph.D.

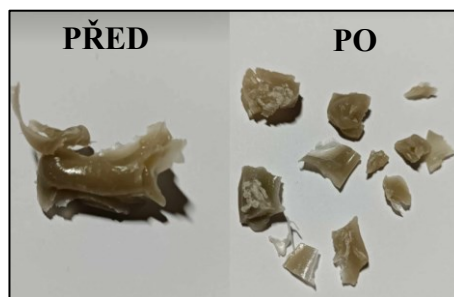
Tabulka 2 Navážky materiálů pro přípravu směsí

Směs	PLA [g]	PHB [g]	EGMA [g]	Poměr [%]
PLA	50	0	0	100
PLA+EGMA	45	0	5	90/10
PHB+EGMA	0	45	5	90/10
PLA+PHB+EGMA	30	15	5	60/30/10

5.2.2 Lisování fólií z připravených směsí

Vzorky PLA, PLA+EGMA, PHB+EGMA a PLA+PHB+EGMA připravené mícháním v komůrce na přístroji Brabender byly ve formě velkých houževnatých kusů. Jejich hmotnost byla okolo 10 g, na přípravu fólií však bylo zapotřebí pouze zhruba 3 g. Bylo tedy nutné z nich připravit menší kousky

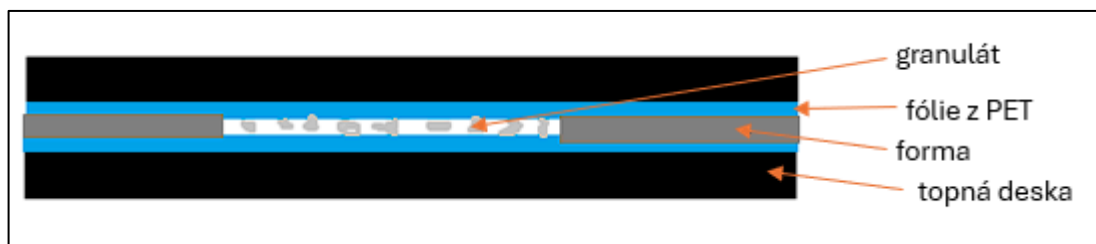
Prvně byly vzorky vloženy na 5 hodin do mrazáku, kde byla teplota -17 °C, aby došlo ke snížení teploty pod teplotu skelného přechodu T_g . Poté jsem se pokusil zmrzlé materiály rozbít kladivem. Jako efektivnější se však ukázalo materiál naštipat s využitím kleští. Příprava menších kousků výsledných směsí mechanickou cestou byla velmi náročná.



Obrázek 14 Fotografie materiálu PLA před drcením (PŘED) a výsledné menší kousky (PO)

Fólie z menších kusů materiálů byly lisovány v mechanickém lisu. Topné desky lisu měly rozměr 20x20 cm. Z fólie polyethyltereftalátu byly vyřezány 2 čtverce o velikosti 20x20 cm. Tyto čtverce z PET byly položeny na topné desky lisu, aby nedošlo k přilepení vzorku na topnou desku. Z PET, který měl tloušťku 100 μm , byla také zhotovena forma, protože požadovaná tloušťka fólií odpovídala právě 100 μm . Okraje formy byly široké 2 cm, vnitřní rozměr formy tedy byl 16x16 cm.

Na spodní topnou desku byl položen čtverec z PET, na něj byla položena forma a do formy byl vložen navážený materiál. Forma byla zakryta druhým čtvercem a přiklopena horní topnou deskou. Takto připravené topné desky se vzorkem (Obr. 15) byly vloženy do lisu. Lisování trvalo 2 minuty při teplotě 200 $^{\circ}\text{C}$. Ihned po dokončení lisování byly topné desky s vylisovanou fólií přesunuty do chladného lisu, kde došlo ke zchlazení a zachování tvaru fólie. Pokud by fólie chladnuly mimo lis, mohlo by dojít k jejich zvlnění, a nedošlo by tak k vytvoření požadovaného tvaru.



Obrázek 15 Schéma formy připravené pro lisování fólií

Na výrobu fólie o rozměrech 16x16 cm a tloušťce 100 μm , bylo nutno vypočítat navážku materiálu. K vypočítané navážce bylo ještě nutno přidat 10 % na případné přetoky.

Všechny vzorky se pohybovaly kolem hmotnosti 3,5 g. Přesná navážka se z důvodu poměrně velkých kusů nedala získat, snažil jsem se jí však co nejvíce přiblížit.

V (Tab. 3) jsou uvedeny tloušťky vyrobených fólií. Tloušťky fólií byly měřeny mikrometrem. Na (Obr 16) je vyfocena mnou vylisovaná fólie ze směsi PLA+EGMA.

Tabulka 3 Tloušťky vylisovaných fólií

Materiál	Tloušťka fólie [μm]
PLA	100
PHB	100
PLA + EGMA	150
PHB + EGMA	110
PLA + PHB + EGMA	200



Obrázek 16 Vylisovaná fólie z PLA+EGMA

Fólie z PHB, které mi dodala Ing. Jana Šerá Ph.D., byly lisovány na mechanickém lisu po dobu jedné minuty při teplotě 200°C. Tloušťka výsledné fólie byla 100 μm .

Fólie z EGMA byla lisována v jiném čase a nezávisle na fóliích z biodegradabilních materiálů a jejich směsí. Tato fólie byla připravena kvůli FTIR a DSC analýzám. EGMA zde sloužilo pro získání referenčních hodnot.

Nejdřív byly vyřezány dvě fólie z PET o velikosti topných desek. Topné desky i forma byly z nerez. Forma pak měla rozměry 4x4cm a tloušťku 0,2cm. Na topnou desku byla položena fólie z PET, na tu pak byla položena forma. Do formy byly vsypány předem zvažené granule EGMA o hmotnosti 1 g. Forma s již přisypaným granulátem byla překryta další fólií z PET a přiklopena druhou deskou. Takto připravená forma byla položena na desku topného stolku o teplotě 130°C. Ze začátku byla forma stlačena ručně, po počátečním roztavení materiálu byly desky secvaknuty sponkami. Zahřívání celkově trvalo 5 minut. Desky společně s formou byly po 5 minutách vloženy do studené vody, kde došlo k náhlému ochlazení a zachování tvaru fólie. Výsledná fólie měla tloušťku 0,2cm.

5.3 Příprava inkubačních lahví

Inkubace probíhala ve skleněných láhvích, též bioreaktorech, o objemu 0,5 l. Láhve byly nejdříve opláchnuty vodou. Po opláchnutí byly na hodinu vloženy do myčky. Umyté lahve byly následně vysterilizovány v autoklávu. Sterilní lahve byly uzavřeny sterilním víčkem a uloženy do inkubační místnosti do doby, než jsem s nimi opět pracoval.

Celkem jsem pracoval se 40 lahvemi. Z toho 4 lahve sloužily na slepý pokus, tzv. blank, 6x5 lahví bylo použito k měření CO₂ u jednotlivých vzorků. Pracoval jsem se šesti vzorky včetně celulózy, na každý vzorek připadlo 5 lahví. Zbylých 6 lahví bylo využito k burial testům.

Lahve určené pro burial testy byly uzavřeny obyčejným víčkem. Lahve určené pro měření CO₂ byly uzavřeny speciálním víčkem se septem. Septum bylo při měření na hmotnostního spektrometru propíchnuto měřicí jehlou.

5.4 Propírání perlitu

Perlit je materiál, který je tvořen z velké části oxidem křemičitým. Má také vysoký obsah chemický vázané vody. Díky tomu je schopný při vysokých teplotách expandovat až na několikanásobek původního objemu. Kvůli své nízké hustotě se využívá především ve stavebnictví. Lze jej však použít i v zahradnictví, kde slouží k provzdušnění půdy, nebo uchování vody v půdě.

Nejprve bylo nutné dodaný perlit promýt ve vodě, aby byl zbaven písku, kamínků a jiných nečistot. Perlit byl 2x promyt pod tekoucí vodou. Třetí, závěrečné, promývání bylo provedeno pod destilovanou vodou. Vlhký perlit byl rozprostřen na plechy a vložen do sušárny, kde byl sušen 2hodiny při teplotě 70 °C.

5.5 Příprava testu biodegradace pro stanovení stupně mineralizace

Do předem vysterilizovaných skleněných lahví, o objemu 0,5 l, bylo naváženo 5 g propraného a suchého perlitu. Dále do lahve bylo naváženo 15 g sušiny, což odpovídalo 16,3 g půdy. Kapátkem bylo přidáno 10 ml vychladnuté převařené demineralizované vody. Voda byla převařena, aby došlo k vypaření chloru, který by mohl zabít půdní mikroorganismy. Voda byla přidána v takovém množství, aby vlhkost v lahvi

dosahovala 50 %. Obsah láhve byl promíchán. Tímto způsobem bylo celkem připraveno 34 lahví (pro každý materiál 5 lahví + 4 lahve na slepý pokus). Test biodegradace byl prováděn v 5 opakováních pro každý materiál. Takhle připravené lahve byly na 2 týdny uloženy do inkubační místnosti, kde byla udržována stálá teplota 25 °C. Po dvou týdnech inkubace bez vzorků byl na hmotnostním spektrometru změřen CO₂. Po prvotním měření byly lahve provzdušněny, aby z nich byl vytěsněn vzniklý oxid uhličitý. Do provzdušněných lahví bylo přidáno zhruba 50mg vzorku fólií. Vzorky byly přidány ve formě čtverečků, z předem připravených fólií, o rozměrech 0,5x0,5 cm. Celulóza byla přidána ve formě prášku. Přesné navážky (Tab. 5) je nutno znát z důvodu jejich použití při výpočtech stupně biodegradace. Provzdušněné lahve s přidaným vzorkem byly opět uzavřeny a uloženy do inkubační místnosti při teplotě 25 °C.

Test probíhal celkem 260 dní. Prvních 42 dní byl vyprodukovaný oxid uhličitý měřen jednou týdně. Po zbytek experimentu se intenzita měření změnila na jednou za dva týdny.

Tabulka 4 Přesné navážky fólií testovaných materiálů vložených do označených bioreaktorů

Materiál	Láhev 1 [mg]	Láhev 2 [mg]	Láhev 3 [mg]	Láhev 4 [mg]	Láhev 5 [mg]
PLA	52,09	49,32	50,51	51,00	51,92
PLA + EGMA	50,36	52,12	50,98	49,70	48,33
PHB	48,59	49,33	50,99	51,90	49,03
PHB + EGMA	50,56	50,47	50,60	52,06	51,76
PLA + PHB + EGMA	49,15	50,16	48,88	50,79	51,35
CELULÓZA	50,51	49,33	51,93	48,56	50,70

5.6 Odběr vzorků určených ke skenovací elektronovou mikroskopii

Odběr prvních vzorků odeslaných na elektronový mikroskop proběhl v patnáctém týdnu, kdy byl z lahví určených na pohřbívací testy odebrán jeden čtvereček od každého materiálu. Vzorky byly odebrány sterilní pinzetou. Pinzeta namočená v ethanolu byla vyžihána v plamenu a následně se nechala schladit na laboratorní teplotu. Vzorky PHB se nepodařilo odebrat, z důvodu jeho křehkosti a rozpadu na menší částice.

Odběr druhých vzorků, odebraných ve dvacátém devátém týdnu, probíhal obdobně jako odběr v patnáctém týdnu. Ve dvacátém devátém týdnu se již nepodařilo odebrat ani fólie ze směsi PHB a EGMA. Při odběru vzorku došlo k jeho rozdrolení. Odebrané vzorky byly před odesláním uloženy do mrazáku.

5.7 Odběr vzorků určených k diferenční skenovací kalorimetrii

Odběr vzorků probíhal také ve dvacátém devátém týdnu. Odebraný vzorek byl opláchnut destilovanou vodou a usušen na vzduchu. Vzorky byly následně vloženy na dvě hodiny do sušárny vytemperované na 50°C. Vysušené vzorky byly uloženy do exikátoru.

6 PROVEDENÍ EXPERIMENTU

6.1 Měření obsahu organického uhlíku ve fóliích na přístroji

SHIMADZU SSM-5000A

Z exikátoru byla s použitím pinzety vyjmuta předem vyžíhaná keramická lodička. Lodička byla po vyjmutí ihned zvážena na analytických vahách s přesností na 5 desetinných míst. Do zvážené lodičky bylo naváženo cca 30mg vzorku biodegradabilního polymeru. Přesná navážka materiálu byla zapsána do počítačového software sloužícímu k vyhodnocení TC. Lodička se vzorkem byla pomocí pinzety vložena do měřicí kolony přístroje. Po přehřátí vzorku, které trvalo 2 minuty, byla měřicí kolona pomocí posuvných páček na přístroji posunuta do pozice MEASURING, čímž došlo k zasunutí kolony do pece. Samotné měření trvalo pět minut. Po pěti minutách byla kolona posuvnou páčkou přesunuta do pozice COOLING, kde došlo ke zchlazení vzorku. Po pokynu v počítačovém softwaru byla dostatečně zchladlá kolona přesunuta do původní pozice SAMPLE CHANGE. Z kolony byla po otevření vyjmuta teplá lodička, opět pomocí pinzety. Do prázdné kolony mohla být vložena nová lodička se vzorkem.

Měření probíhalo ve dvou opakováních. Měření TC ve směsi PLA+PHB+EGMA probíhalo ve třech opakováních, protože rozdíl mezi dvěma měřeními byl větší než 1 %. Při měření této směsi jsem pozoroval na lodičce vyndané z kolony černý povlak, který tam zůstal jako zbytkový materiál z důvodu neúplného spálení vzorku. Výsledky měření společně s navážkami materiálů a teoretických hodnot TOC jsou uvedeny v (Tab. 5). Kalibrační řada, sloužící k vyhodnocení obsahu uhlíku ve vzorku, byla již uložena v přístroji. K jejímu sestavení byla využita standardní celulóza.

Teoretické hodnoty sloužily pouze jako orientační a byly vypočítány ze sumárních vzorců materiálů. Pomocí znalosti sumárního vzorce nebo složení materiálu a molárních hmotností obsažených prvků bylo možno vypočítat procentuální zastoupení uhlíku ve vzorku. Při výpočtech jsem vycházel z předpokladu, že vzorek obsahuje pouze organický uhlík. Výpočty byly provedeny pomocí vztahu 11.

Tabulka 5 Navážky vzorků, teoretický a skutečný obsah uhlíku

Materiál	Složení [-]	Navážka [g]	Změřený TC [%]	Průměr TOC [%]	Teoret. TOC [%]
PLA	100	35,52	48,56	48,48	50,00
		34,38	48,39		
PHB	100	29,68	53,91	54,09	55,20
		31,74	54,27		
PLA + EGMA	90/10	32,22	51,46	51,52	51,65
		33,04	51,58		
PHB + EGMA	90/10	33,60	56,47	56,76	55,78
		31,37	57,08		
PLA + PHB + EGMA	60/30/10	32,28	52,96	53,58	53,17
		32,43	54,19		
		33,60	53,58		

Rovnice pro výpočet teoretického obsahu uhlíku ve vzorku:

$$x = \frac{M_C}{M_M} \cdot 100 \quad (11)$$

kde x ... teoreticky vypočítaný obsah uhlíku ve vzorku

M_C ... molární hmotnost uhlíku v monomeru

M_M ... molární hmotnost monomeru

Vzorový výpočet teoretického obsahu uhlíku pro směs PLA+EGMA v poměru 90/10:

Sumární vzorec PLA: $C_3H_4O_2$

Sumární vzorec EGMA: $C_7H_{10}O_3$

$$x = \frac{(3.12).0,9 + (7.12).0,1}{(3.12 + 4.1 + 2.16).0,9 + (7.12 + 10.1 + 3.16).0,1} \cdot 100 = 51,65\%$$

Dle teoretického výpočtu je obsah uhlíku ve směsi PLA+EGMA 51,65 %.

6.2 Stanovení stupně biodegradace měřením produkce CO₂ pomocí hmotnostní spektrometrie

6.2.1 Kalibrace hmotnostního spektrometru

Při každém měření obsahu vyprodukovaného oxidu uhličitého na hmotnostním spektrometru bylo nutno provést kalibraci přístroje. Při kalibraci přístroje byl měřen CO₂ v koncentracích 0,2 %; 0,45 %; 1 %; 1,5 %; 2 %; 3 % a 8 %. Oxid uhličitý, který je měřen při kalibraci vzniká reakcí hydrogenuhličitanu draselného s kyselinou chlorovodíkovou podle níže uvedené rovnice.



Pro přípravu 100ml roztoku KHCO₃ o koncentraci 1 mol/l bylo potřeba navážit 1,1g KHCO₃. Navážka hydrogenuhličitanu byla navážena s přesností na 4 desetinná místa. Navážený KHCO₃ byl kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 100ml a rozpuštěn v demineralizované vodě. Po rozpuštění hydrogenuhličitanu byla baňka doplněna po rysku a uzavřena zátkou. Dále bylo do každé ze 7 zkumavek na pipetováno 10ml již připraveného roztoku HCl o koncentraci 1 mol/l.

Do předpřipraveného Excelového souboru byla společně s přesnou navázkou KHCO₃ zadána i aktuální teplota a tlak v laboratořích. Excel dle zadaných hodnot vypočítal objemy roztoku KHCO₃, které bylo nutno na pipetovat. Do skleněných lahví o objemu 0,5 l bylo na pipetováno vypočtené množství KHCO₃. Do každé láhve byla následně vložena zkumavka s HCl. Láhev byla uzavřena víčkem se septem a obsah láhve byl promíchán. Lahve se nechaly po celou dobu měření stát, aby reakce proběhla v co největším rozsahu, a tlak CO₂ v kalibračních lahvích byl měřen až na závěr. Změřené hodnoty byly vloženy do softwaru, který vytvořil kalibrační křivku včetně rovnice přímky a koeficientu determinace.

6.2.2 Měření vyprodukovaného CO₂ na hmotnostním spektrometru

Před zapnutím přístroje byl vyměněn filtr a měřící jehla byla drátkem vyčištěna. Filtr byl napojen na kapiláru a sloužil k zachycení kapek vody nebo tuhých nečistot. Měřící jehla byla napojena na filtr. Po zapnutí přístroje se spektrometr nechal hodinu nahřívát. Během této hodiny byly připraveny lahve ke kalibraci (6.2.1.). Nejdříve byl změřen vyprodukovaný CO₂ v bioreaktorech se slepým pokusem, poté v bioreaktorech se vzorky fólií v půdě a na závěr měření byly změřeny koncentrace oxidu uhličitého v kalibračních lahvích. Při měření bylo měřící jehlou propíchnuto septum ve víčku lahve. Jehla byla pomocí drátku

pročišťována po změření každé lahve. Změřené hodnoty tlaku oxidu uhličitého a argonu, uvedené v milibarech [mbar] byly zapsány a následně použity při výpočtu stupně biodegradace.

Prvních sedm týdnů byly láhve provzdušňovány každý týden. Provzdušnění probíhalo vždy až po měření! Víčko lahve bylo odmontováno a do lahve byla vložena skleněná trubička napojená na provzdušňovací aparaturu. Do lahví byl veden vzduch probubláný vodou. Provzdušnění se provádělo z důvodu vytěsnění vzniklého oxidu uhličitého z láhve.

Vlivem častého provzdušňování došlo ke snížení vlhkosti v bioreaktoru. Z toho důvodu po sedmi týdnech od zahájení experimentu byly do každé lahve přidány 2ml studené převařené demineralizované vody a intenzita provzdušňování byla navýšena na 1x za měsíc.

6.3 Burial testy

Pohřbívací testy byly použity k vizuálnímu pozorování biodegradace, ale především k získání vzorků na další testy, jako je například SEM, DSC či FTIR. Do vysterilizovaných lahví, které byly sterilizovány v autoklávu, bylo naváženo 15g sušiny (16,3 g půdy) a kapátkem přidáno 7,5 ml, aby vlhkost v lahvi byla 50 %. Lahve se daly také inkubovat po dobu 2 týdnů při teplotě 25 °C. Po dvou týdnech inkubace bylo do lahví přidáno 100 mg vzorku. Vzorek byl přidán ve formě čtverečků, vystřižených z již připravených fólií zkoumaných materiálů, o velikosti 1x1 cm. Takto připravené láhve byly uloženy do inkubační místnosti a v určitých časových intervalech z nich byly průběžně odebírány jednotlivé čtverečky, na kterých lze pozorovat vliv biodegradace v čase.

6.4 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

Ve 36. týdnu od založení experimentu byla provedena analýza vzorků na infračerveném spektrometru s Fourierovou transformací. Cílem této analýzy bylo zjistit, jaký vliv má kompatibilizátor EGMA na vazby uvnitř vzorku. Dále bylo cílem zjistit, jaký vliv má biodegradace na rozpad vazeb ve vzorku.

Po zapnutí přístroje byl změřen pouze vzduch, jako tzv. background. Pak již následovalo měření jednotlivých vzorků. Vzorek byl vždy před měřením překryt tenkou vrstvou filtračního papíru, aby došlo k nárůstu absorbance. Samotné měření probíhalo v rozsahu vlnových délek 650-4000 cm^{-1} a pro každý vzorek bylo zhotoveno 64 snímků. Nejdříve byly změřeny původní vzorky, u kterých neprobíhala biodegradace. Posléze byly změřeny vzorky po biodegradaci, které byly před měřením očištěny od hlíny a vysušeny v exikátoru.

6.5 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Nejdříve byly z fólií vystřiženy kolečka přibližně o velikosti dna hliníkové pánvičky. Přípravený vzorek byl zvážen na analytických vahách a vložen na dno hliníkové pánvičky. Pánvička byla přiklopena pokličkou a vložena do malého lisu. Dvě části, se vzorkem uvnitř, byly slisovány do jednoho kusu.

Takto připravené pánvičky se vzorkem byly nadávkovány na otočný disk kalorimetru (název přístroje). V počítačovém softwaru *STARe system* byl zvolen měrný program a ke každému vzorku byla zapsána jeho navážka a jeho pozice na disku. Po zapnutí měření si již kalorimetr automaticky vložil připravenou pánvičku do měrné komory. Po ukončení hodinového měřicího cyklu si kalorimetr pánvičku sám vyndal z komory a vložil do ní novou.

Měřicí cyklus trval celkem 63 minut. V první fázi teplota klesala z 25 °C na -90 °C. Při -90 °C probíhala temperace vzorku po dobu dvou minut. Poté byl vzorek ohřát na 200 °C. V poslední čtvrté fázi probíhalo ochlazení vzorku zpět na 25 °C. Rychlost ohřívání/chlazení byla nastavena na 10 °C za minutu.

6.6 Stanovení Youngova modulu

Dynamická mechanická analýza s využitím metody stress-strain byla provedena z důvodu sledování vlivu kompatibilizátoru EGMA na mechanické vlastnosti, konkrétně na pevnost v tahu, směsí. Tento test byl proveden pouze před biodegradací.

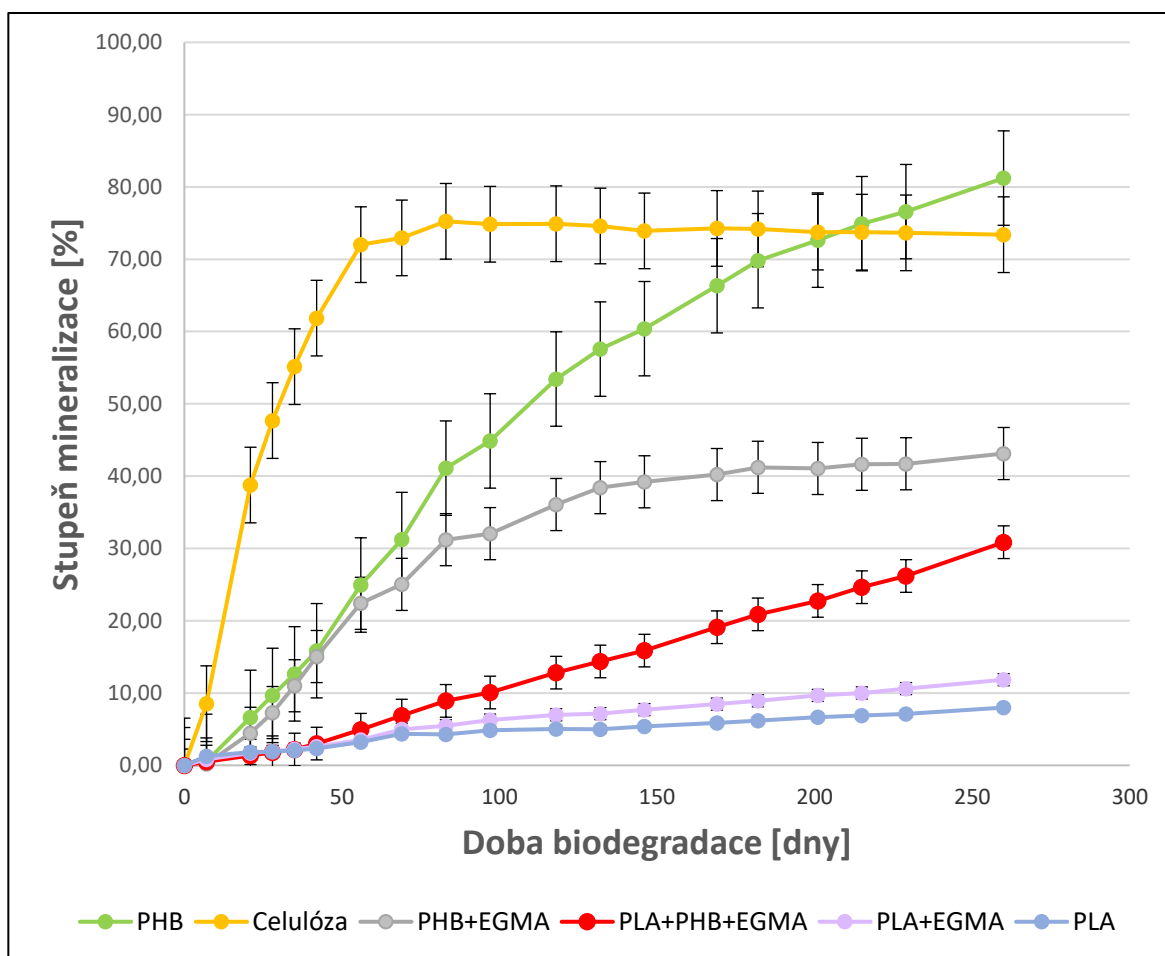
Z již připravených fólií byly vystřiženy obdélníčky o velikosti 25x5 mm. Pro každý vzorek bylo připraveno 5 obdélníčků. Následně byl v počítačovém programu *STARe system* zvolen měřicí program. Program byl nastaven na 5 minut s rychlostí natahování 0,4 N/min.

Přístroj obsahoval dvě svorky, které od sebe byly vzdáleny 10,3cm. Mezi tyto svorky byl vložen obdélníček materiálu a upevněn pomocí šroubků. Po připravení vzorku bylo v počítači zapnuto měření, kdy se vzorek v průběhu 5 minut natáhl maximální silou 2N. Během měření byla zaznamenávána délka, o kterou se vzorek prodloužil. Naměřené prodloužení bylo v řádu μm . Z naměřené délky prodloužení a maximální síly byl následně vypočítán Youngův modul pružnosti. Při výpočtu byla za původní délku považována vzdálenost svorek, tedy 10,3cm.

7 HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

7.1 Určení stupně biodegradace

Pro každý materiál bylo určeno 5 lahví pro měření produkce CO₂. Jelikož je však půda vysoce heterogenní matrice, u několika lahví došlo k pomalejší biodegradaci. Některé lahve byly z experimentu vyloučeny kvůli záporným výsledkům. Závěrečné výsledky byly podrobeny Grubbsovu testu odlehlých hodnot, a odlehlé hodnoty byly rovněž vyloučeny z experimentu. Ze zbylých hodnot byl pomocí rovnice 3 vypočítán stupeň biodegradace.



Obrázek 17 Stupeň mineralizace fólií z biodegradabilních polymerů a práškové celulózy během 260 dnů biodegradace v půdě při teplotě 25 °C

Dle předpokladu se v půdě nejrychleji rozložila celulóza, která byla za 169 dní rozložena ze 74,26 %. Poté produkce CO₂ začala klesat, protože mikroorganismy již neměly dostatek substrátu. Celulóza byla použita jako standard pro sledování, zda v půdě probíhají rozkladné procesy.

O něco více než celulóza se rozložilo PHB, které bylo po 260 dnech rozloženo z 81,23 %. To splnilo očekávání, protože PHB je přirozeným produktem některých mikroorganismů běžně se vyskytujících v půdě, které jsou vybaveny enzymem *PHB depolymerasa*. Jsou tak schopny degradace PHB i při teplotách 25 °C. Přidáním 10 % EGMA se snížil stupeň biodegradace téměř na polovinu. Směs PHB+EGMA za stejnou dobu zdegradovala z 43,13 %.

D. Briassoulis et al., se ve své studii zabýval biodegradací PHB i jiných materiálů. Během této studie probíhaly testy ve třech různých laboratořích, konkrétně Agricultural University of Athens, Normec OWS a Novamont. Mineralizace PHB ve formě fólií o tloušťce 80 µm byla sledována v půdě při teplotě 25°C. Při těchto testech byla fólie PHB po 120 dnech rozložena z 85-100 %. V mém případě byla fólie z PHB rozložena teprve z 53 %. Na stupeň biodegradace může mít vliv typ použité půdy a tloušťka fólie. ^[44]

Obsah PHB kladně ovlivnil mineralizaci směsi PLA+PHB+EGMA, která na konci testu byla zdegradována téměř ze 31 %. Stupeň mineralizace této směsi odpovídá jejímu složení, kdy směs obsahovala 30 % nejrychleji degradujícího PHB. EGMA bylo zastoupeno z 10 %, zbytek směsi tvořilo nejpomaleji degradovatelné PLA.

Stupeň mineralizace směsi PLA+EGMA se v grafu jeví vyšší než u samotného PLA. Pokud by však při výpočtu stupně mineralizace neproběhlo vyřazení odlehlých hodnot pomocí Grubbsova testu, byl by rozdíl mezi PLA a PLA+EGMA v rámci směrodatných odchylek. Z výsledného grafu (Obr. 17) však lze vyčíst, že PLA i směs PLA+EGMA téměř nejsou schopny biodegradace v půdě. Přídavek EGMA do směsi tedy zásadně neovlivní její schopnost biodegradace, oproti čistému PLA.

Za 260 dní nejméně zdegradovalo PLA, pouze z 8 %. Jedním z důvodů může být nízký počet degradačních mikroorganismů. Bylo zjištěno, že mikroorganismy degradující PLA nejsou v přírodě tolik zastoupeny jako mikroorganismy degradující PHB. „*Proto je PLA v přírodním prostředí méně náchylné k mikrobiálnímu napadení než jiné mikrobiální a syntetické alifatické polyestery.*“ ^[45] Y. Tokiwa ve své práci „*Biodegradability and biodegradation of poly(lactide)*“ uvádí, že u PLA rovněž záleží na jeho optické čistotě. Stereoizomer L-laktid je lépe degradovatelný, než D-laktid nebo směs L- a D-laktidu. ^{[45][46]}

Bylo však prokázáno, že PLA je v kompostu (58°C) degradováno rychleji vlivem vyšší teploty, která se blíží teplotě skelného přechodu. Po překročení teploty skelného přechodu se zvyšuje flexibilita polymerních řetězců, což vede ke změnám ve struktuře polymeru. Při vyšších teplotách též dochází k podpoře hydrolýzy. Vlivem hydrolýzy dochází k rozpadu polymerů na menší částice, např. oligomery, které jsou dále mineralizovány mikroorganismy v kompostu na CO₂ a H₂O. Mikrobiální degradace PLA je vyvolána především vyššími teplotami charakteristickými pro kompost. Při těchto teplotách dochází k absorpci molekul vody na řetězec, čímž se zvýší jeho hydrofilita. Vyšší hydrofilita napomáhá uchycení mikroorganismů na povrch. [45][46][47]

Na řecké univerzitě *Agricultural University of Athens* byly provedeny biodegradační testy poly(mléčné kyseliny) za reálných podmínek. Fólie PLA o tloušťce 20, 30, 40, 50, 75 a 400 μm a rozměrech 21×15 cm byly po dobu 7 měsíců zakopány na univerzitním poli. Teplota se 30 cm pod povrchem pohybovala okolo 16-21 °C a průměrná vlhkost byla 40 %. Degradační testy za reálných podmínek potvrdily, že rychlost degradace PLA v půdě je nízká. Během těchto testů bylo také zjištěno, že má na rychlost degradace vliv i měnící se vlhkost. Zároveň rychlosti biodegradace ovlivňují rostliny, které přispívají k mechanické degradaci. I když mechanická degradace nemá přímý vliv na mineralizaci, zvětšuje povrch vzorku, na který mohou působit mikroorganismy. [46]


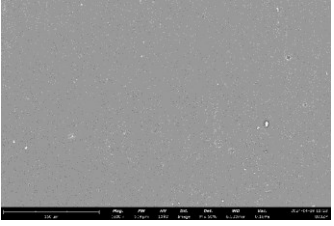
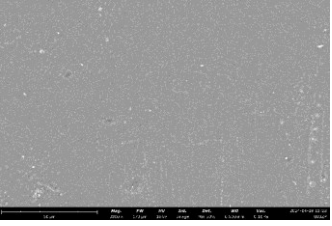
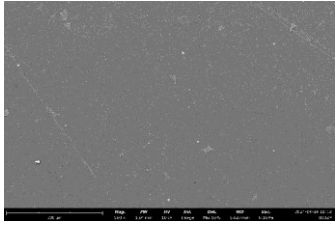
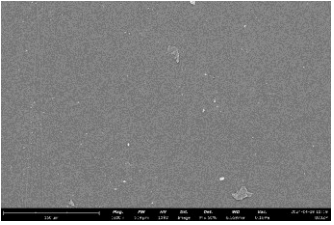
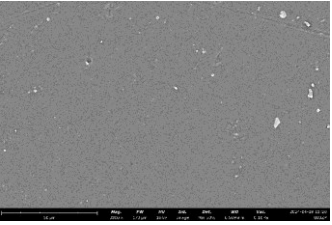
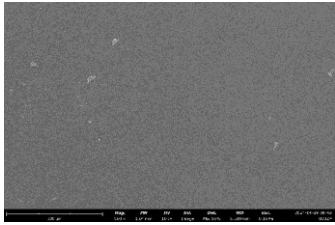
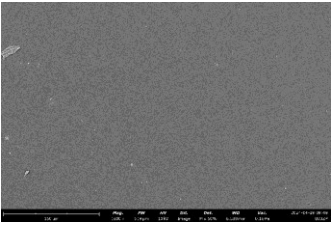
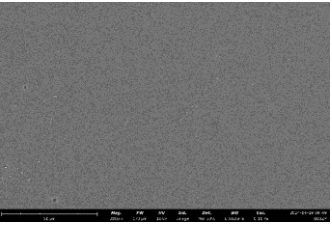
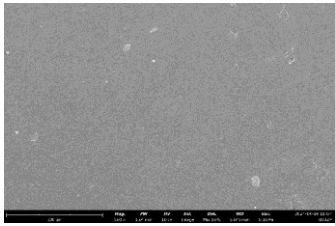
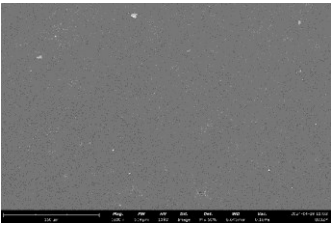
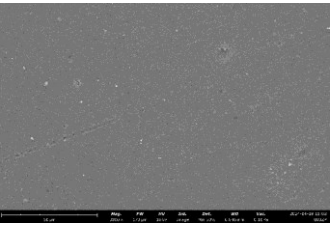
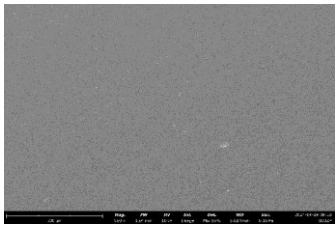
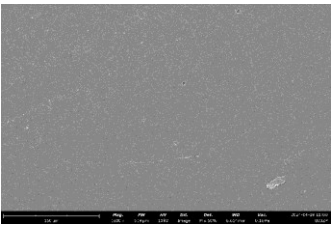
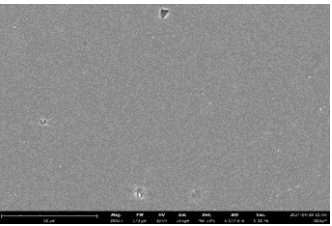
V několika předchozích studiích bylo zjištěno, že při nízkých teplotách, okolo 25°C, je vliv abiotické degradace minimální. V půdě tedy dochází především k mikrobiální degradaci. S.M.Satti et.al. zjistil, že PLA v půdě zdegraduje za 120 dní z 9 %. V této práci došlo u PLA k mineralizaci z 5 % za 120 dní. Jedním z faktorů, způsobující tento rozdíl může být půda nebo tloušťka a způsob výroby fólie z PLA. [47]

Oba materiály, jak u PLA, tak PHB, v některých směrech vykazovaly stejné chování. Rychlost degradace ovlivňuje krystalinita materiálu. Krystalické části jsou odolnější vůči degradaci než amorfni. Rychlost degradace také závisí na vlastnostech materiálu, jako je molární hmotnost. S rostoucí molární hmotností totiž klesá schopnost biodegradace. Teplota tání materiálu má také významný vliv. S rostoucí teplotou tání klesá enzymatická odbouratelnost. [17][45]

7.2 Analýza povrchu pomocí skenovací elektronové mikroskopie

7.2.1 Analýza povrchu vzorků před biodegradací

Tabulka 6 Snímky fólií zkoumaných materiálů z elektronového mikroskopu před biodegradací

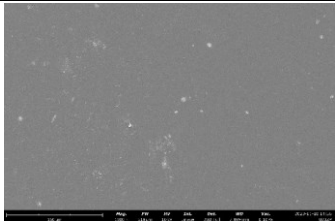
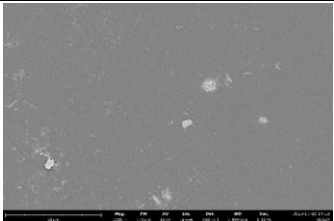

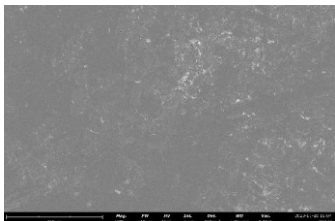
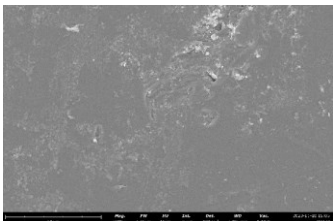

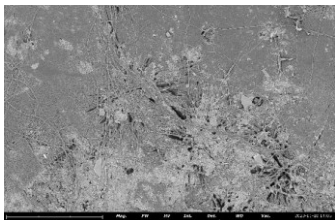
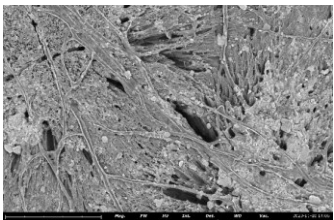

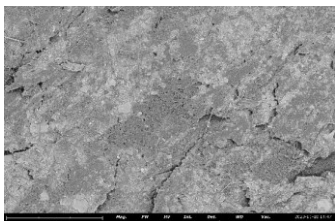
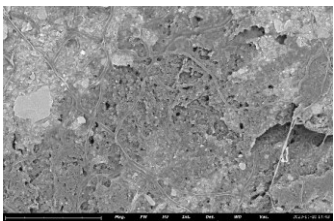
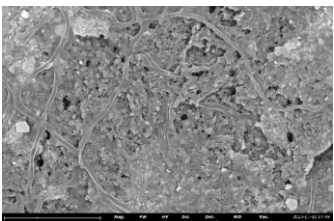
		ZVĚTŠENÍ		
		500X	1000X	3000X
MATERIÁL	PLA			
	PLA+EGMA			
	PHB			
	PHB+EGMA			
	PLA+PHB+EGMA			

Vzorky před biodegradací, které byly odeslány na analýzu povrchu, měly tvar čtverečku o rozměrech 1x1 cm. Snímky byly tvořeny na třech různých místech jednoho vzorku při třech zvětšeních (500x; 1000x; 3000x).

7.2.2 Analýza povrchu vzorků po 15 týdnech biodegradace

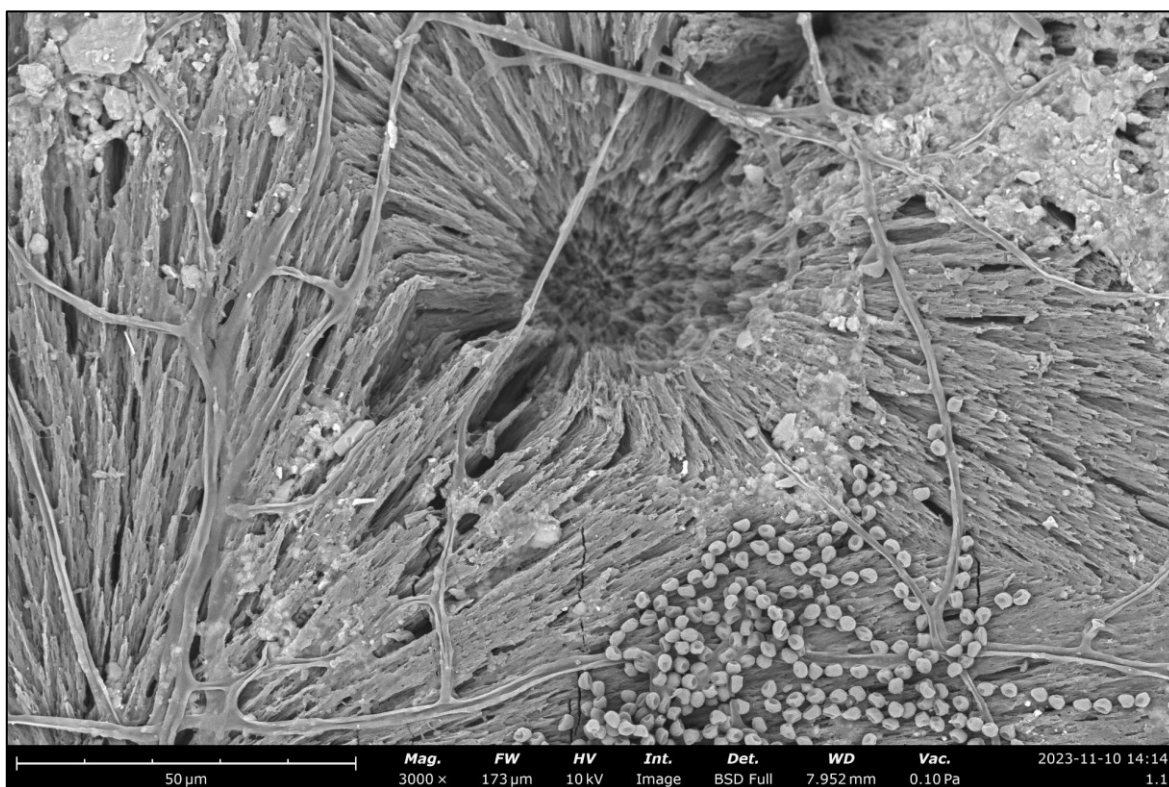
Vzorky odebrané postupem popsáním v části 5.6. byly vloženy do eppendorfek a uloženy do mrazáku. Snímky byly tvořeny na třech různých místech jednoho vzorku při třech zvětšeních (1000x; 3000x; 5000x).

Tabulka 7 Snímky fólií zkoumaných materiálů z elektronového mikroskopu po 15 týdnech biodegradace v půdě

		ZVĚTŠENÍ		
		1000X	3000X	5000X
MATERIÁL	PLA			
	PLA+EGMA			
	PHB+EGMA			
	PLA+PHB+EGMA			

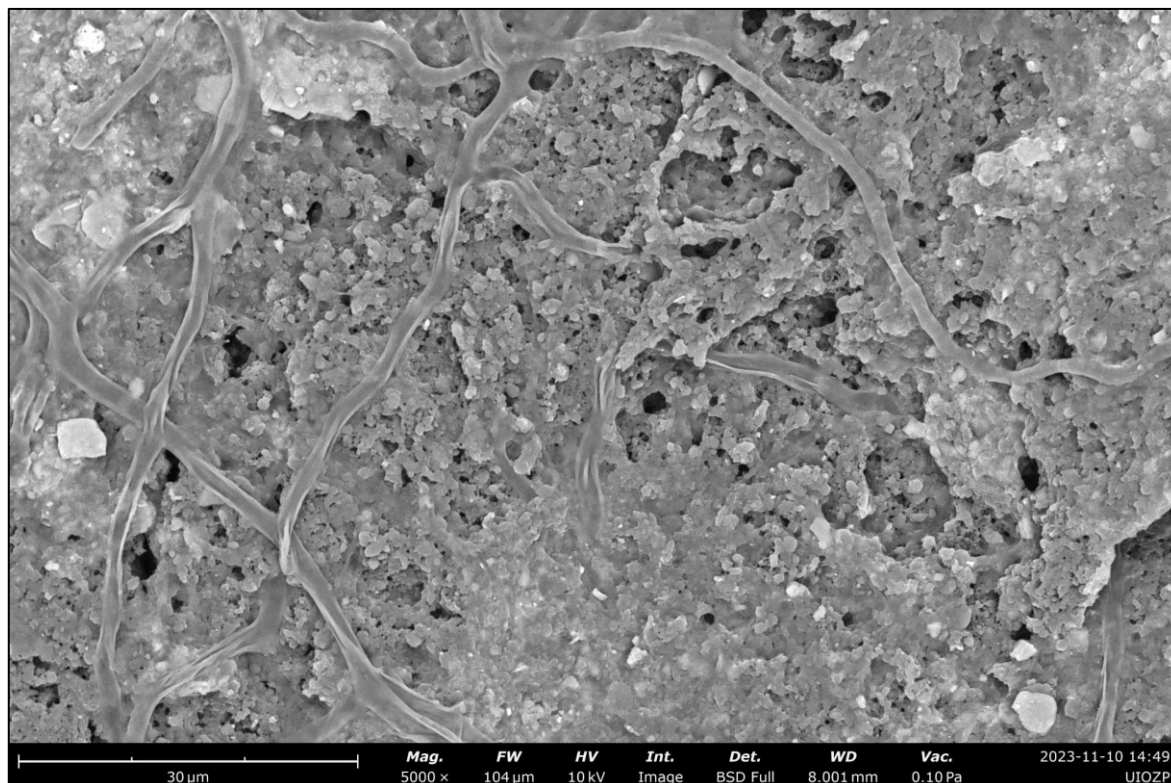
Po patnácti týdnech biodegradace na povrchu PLA nedošlo k žádným výraznějším změnám. Na vzorcích PLA+EGMA je pozorovatelný mikrobiální biofilm tvořený přirozenou půdní mikroflórou. Jednotlivé kolonie jsou izolovány a v jejich okolí se nenachází žádné trhliny.

PHB je nejhustěji osídleno mikroorganismy. Na snímcích jsou viditelné, nejspíše, houbová vlákna a v jejich okolí výrazné trhliny, které na obrázku mají oproti okolí tmavší barvu. Na snímcích lze také pozorovat bakteriální kolonie kulovitého tvaru. K přesnějšímu určení bakterií by bylo nutné opět použít molekulární metody. Na (Obr. 18) je snímek z jiného místa na povrchu, než který je v (Tab. 7). Na tomto obrázku jdou velmi dobře vidět jak houbová vlákna, tak především bakteriální kolonie.



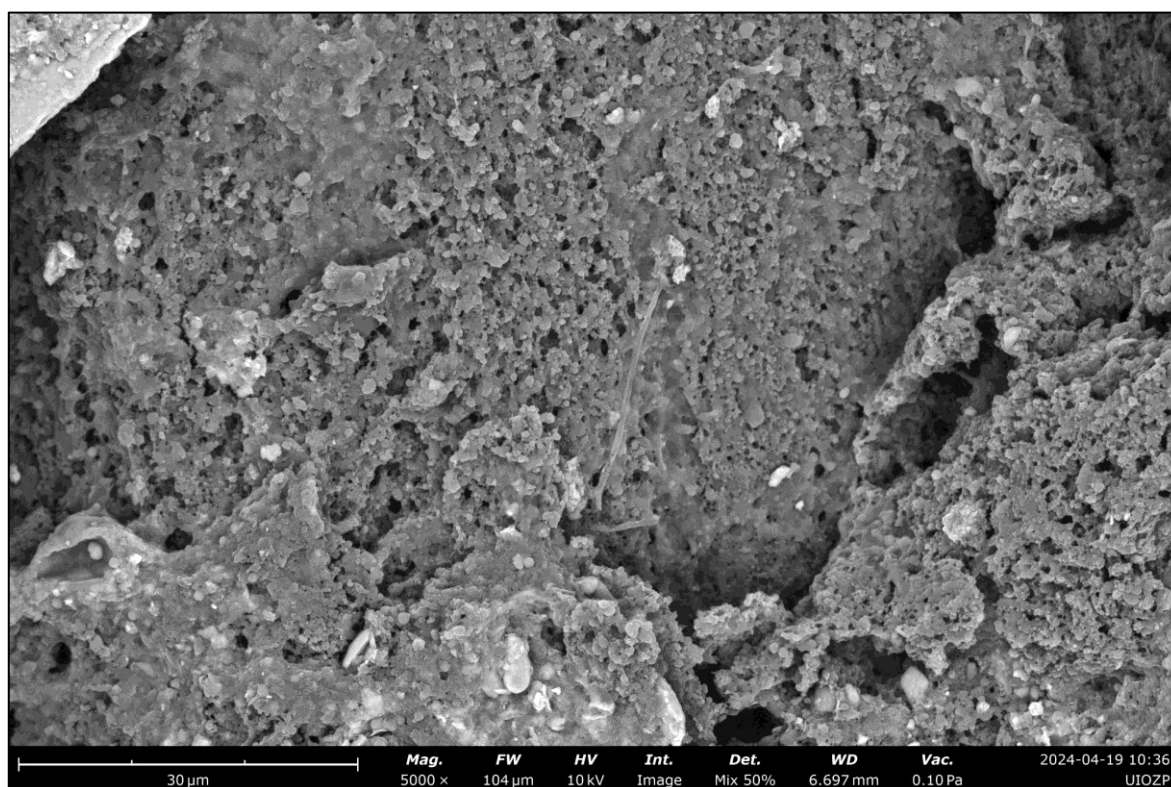
Obrázek 18 Povrch PHB+EGMA při zvětšení 3000x po 15 týdnech biodegradace

Na (Obr. 19) je pak povrch směsi PLA+PHB+EGMA, na kterém je také pozorovatelný mikrobiální biofilm, tvořený především z vláknitých struktur. I když na snímcích nejsou jasně pozorovatelné trhliny, je zjevné, že dochází k biodegradaci.



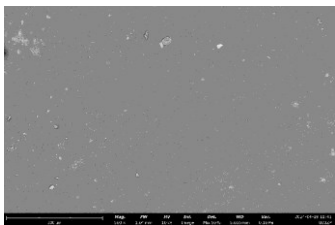
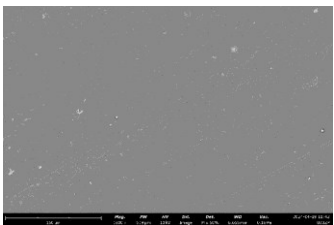
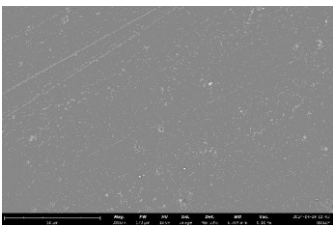
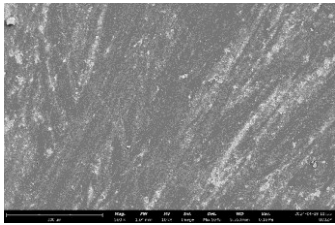
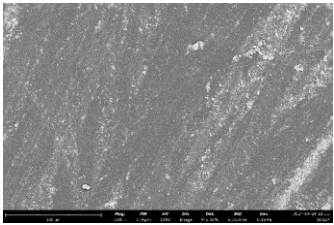
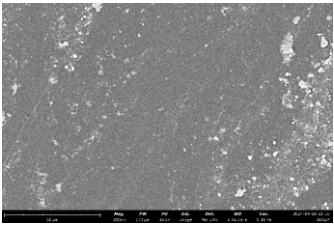
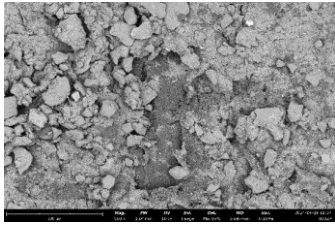
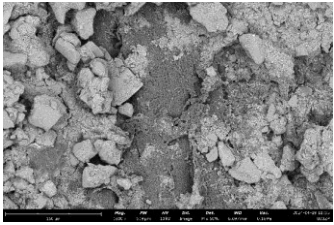
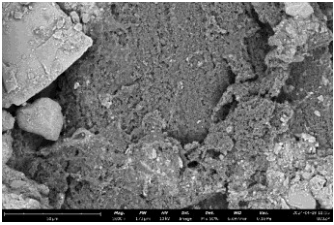
Obrázek 19 Povrch PLA+PHB+EGMA při zvětšení 5000x po 15 týdnech biodegradace

7.2.3 Analýza povrchu vzorků po 29 týdnech biodegradace



Obrázek 20 Povrch PLA+PHB+EGMA při zvětšení 5000x po 29 týdnech biodegradace

Tabulka 8 Snímky fólií zkoumaných materiálů z elektronového mikroskopu po 29 týdnech biodegradace v půdě

		ZVĚTŠENÍ		
		500X	1000X	3000X
MATERIÁL	PLA			
	PLA+EGMA			
	PLA+PHB+EGMA			

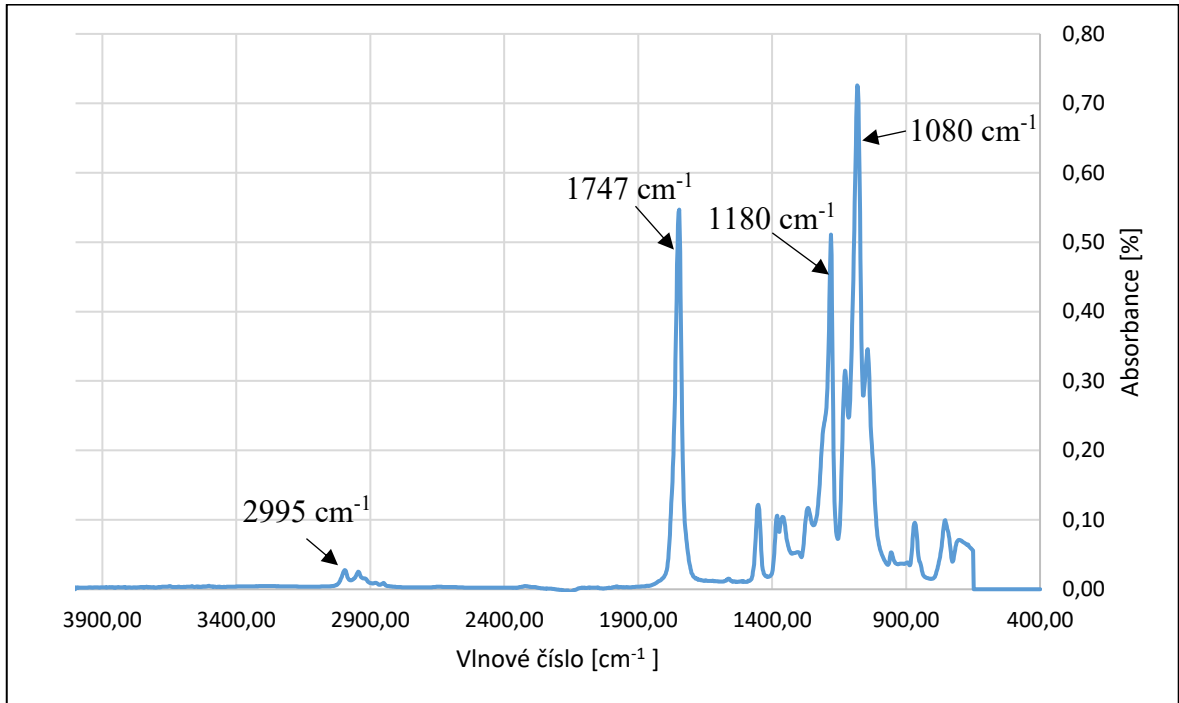
Snímky byly tvořeny na třech různých místech jednoho vzorku při třech zvětšeních.

Fólie z PLA po byla po 29 týdnech v půdě rozložena ze 6,66 % (Tab. 8). Proto také na jejím povrchu nelze pozorovat žádné výrazné změny. Směs PLA+EGMA byla za 29 týdnů zdegradována téměř z 10 %. Stále však nejsou pozorovatelné žádné výraznější změny povrchu. Navíc byl povrch vzorku znečištěn zbytky hlíny, které vytváří bílé obrazce na snímku povrchu této směsi.

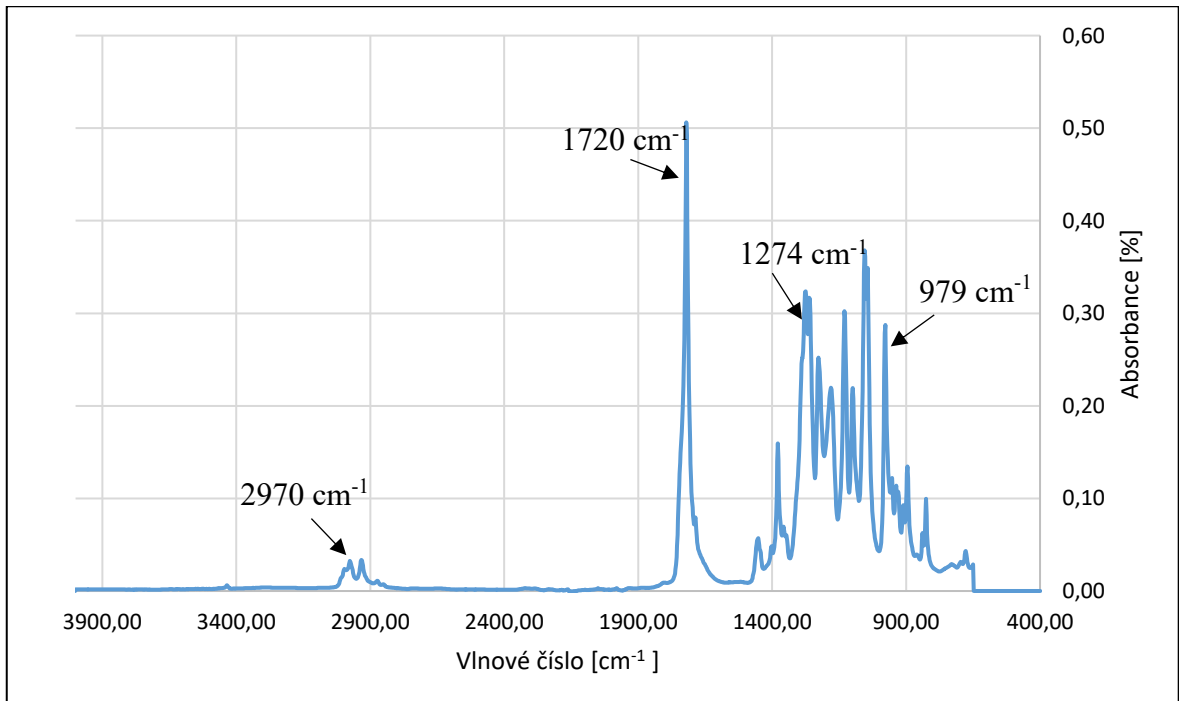
Nicméně u vzorků směsi PLA+PHB+EGMA došlo oproti snímkům z patnáctého týdne k výrazným změnám. V patnáctém týdny mineralizace dosahovala 10 %, již přesto ale byly na vzorku viditelné trhliny a houbová vlákna (Obr. 19). Za sto dní stupeň mineralizace vzrostl na necelých 23 %. Na vzorku lze pozorovat výraznější trhliny (Obr. 20). Na snímku je také viditelné vlákno některé z hub či plísní. Na snímku však nejsou pozorovatelné bakteriální kolonie, jako tomu bylo u směsi PHB+EGMA.

7.3 Kvalitativní FTIR analýza

7.3.1 Popis FTIR spekter čistého PLA a PHB



Obrázek 21 FTIR spektrum fólie z čistého PLA před biodegradací



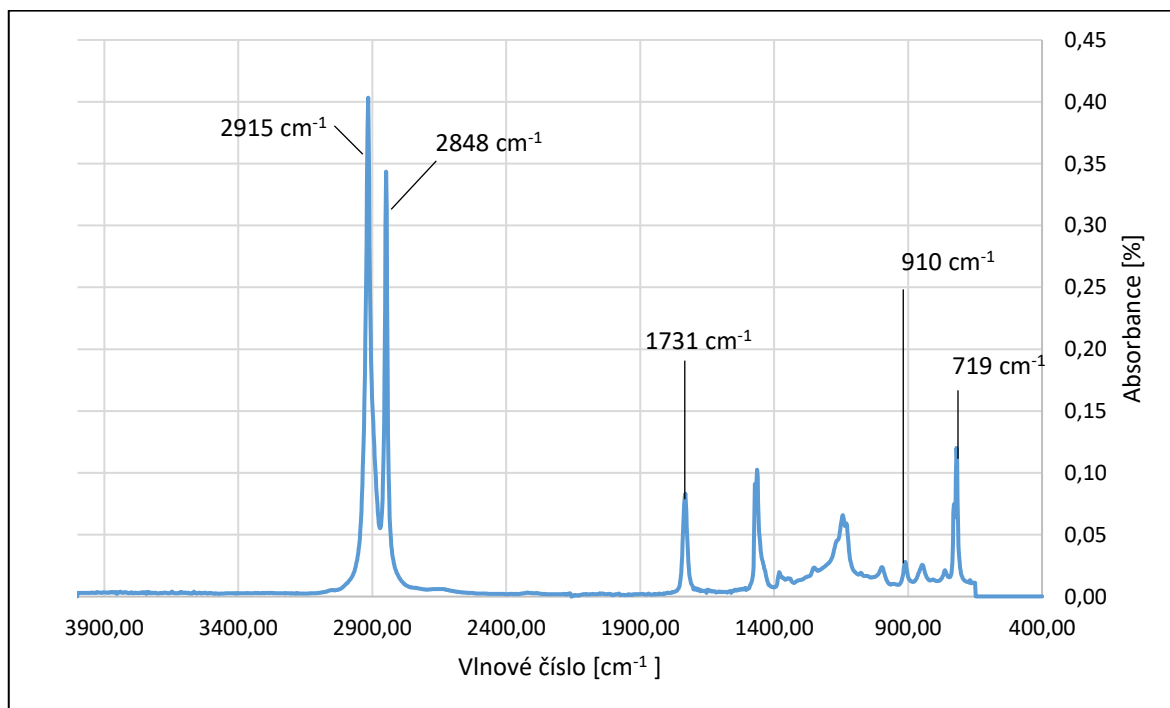
Obrázek 22 FTIR spektrum fólie z čistého PHB před biodegradací

Na spektru PLA (Obr. 21) lze pozorovat silný pík při vlnové délce 1747 cm^{-1} , který odpovídá vibracím amorfni karbonylové skupiny ($-\text{C}=\text{O}$). Ve spektru PLA je také výrazný pík při 1180 cm^{-1} odpovídající esterové skupině ($\text{R}-\text{O}-\text{R}$) a při 1452 cm^{-1} se nachází pík charakteristický pro vazbu mezi uhlíkem a vodíkem. ($\text{C}-\text{H}$). Nejvyšší pík u PLA při 1080 cm^{-1} patří asymetrickým ($-\text{CH}_3$) skupinám. Píky při 2995 cm^{-1} a 2940 cm^{-1} odpovídají ($-\text{CH}_2$) skupinám. [24][48]

U čistého PHB (Obr. 22) lze pík, patřící vibracím krystalické karbonylové skupiny, pozorovat při 1720 cm^{-1} . U PHB se pík pro vazbu ($-\text{CH}$) nachází při 1274 cm^{-1} . I u PHB jsou při 2970 cm^{-1} a 2930 cm^{-1} píky charakteristické pro ($-\text{CH}_3$) a ($-\text{CH}_2$). Píky 1057 cm^{-1} a 979 cm^{-1} ukazují vazbu mezi kyslíkem a uhlíkem ($\text{C}-\text{O}$). [26][49]

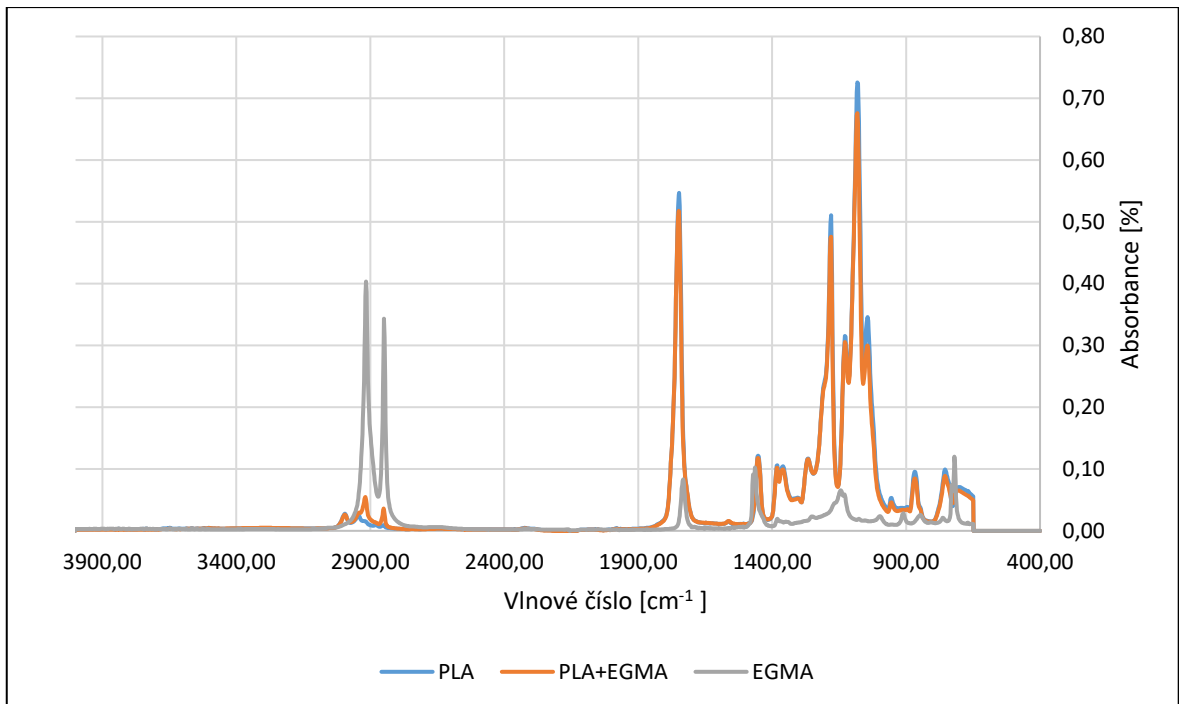
7.3.2 Popis FTIR spektra čistého EGMA

Ve FTIR spektru čistého EGMA (Obr. 23) jsou viditelné píky při 910 cm^{-1} a 719 cm^{-1} , které jsou charakteristické pro epoxidovou vazbu ve struktuře EGMA. Vazbě ($-\text{C}=\text{O}$) odpovídá pík 1731 cm^{-1} . Píky odpovídající ($-\text{CH}_2-$) se nachází při 2915 cm^{-1} a 2848 cm^{-1} . [24][48]

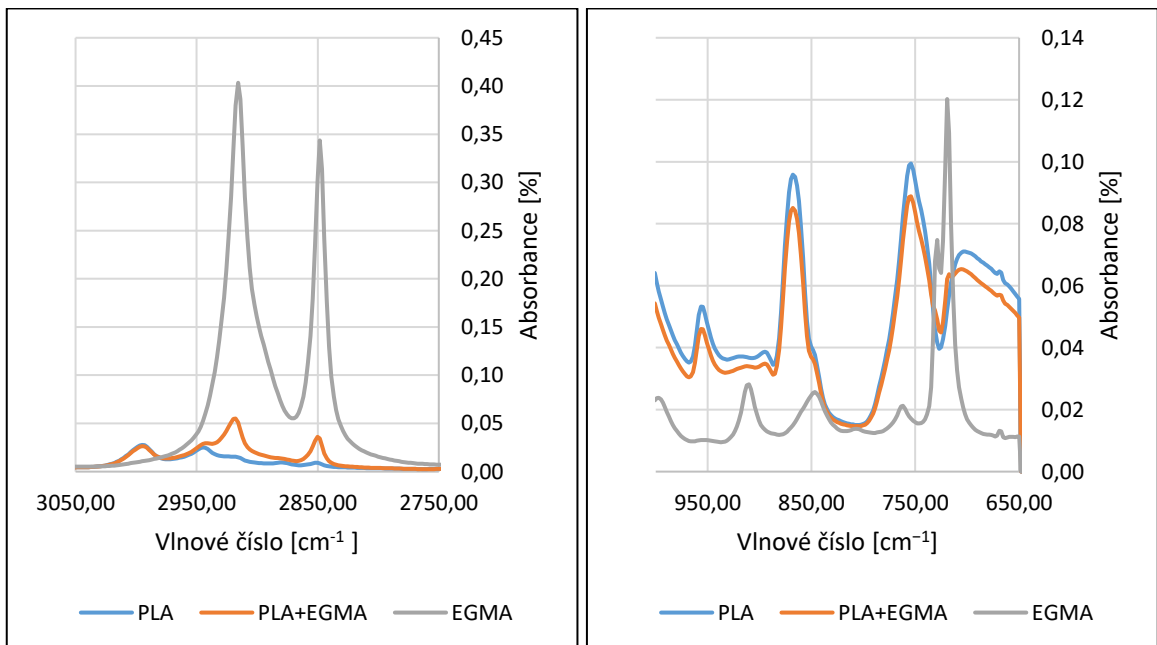


Obrázek 23 FTIR spektrum fólie z čistého EGMA před biodegradací

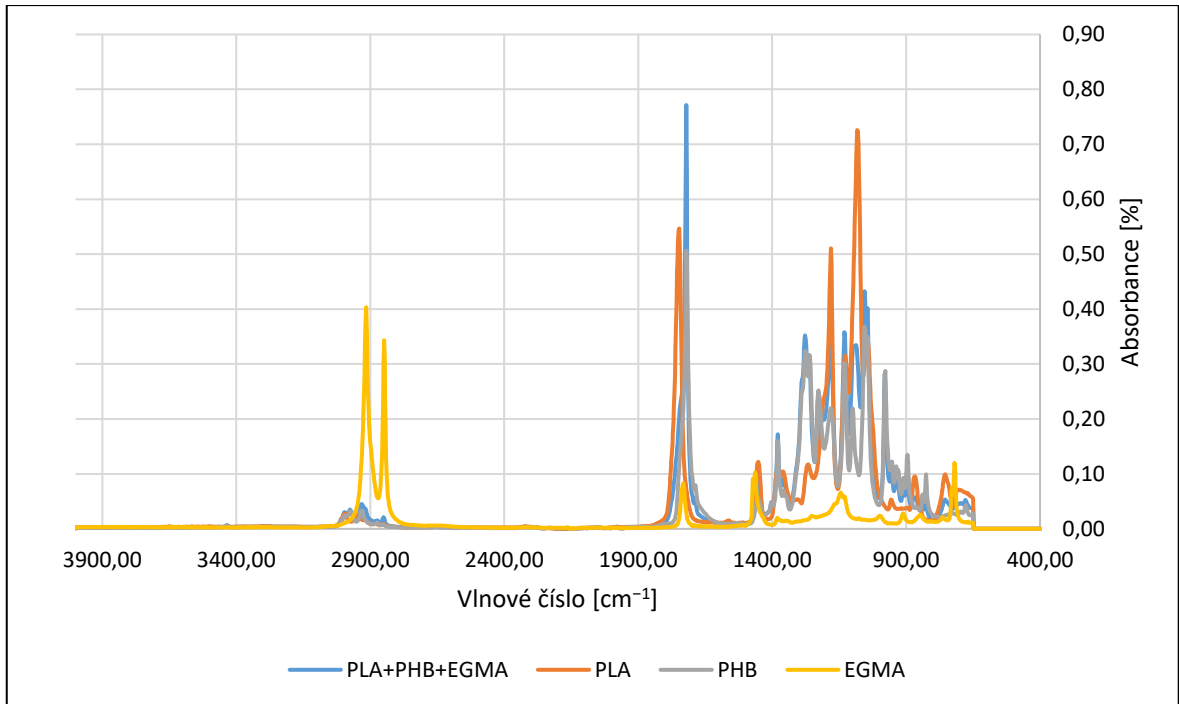
7.3.3 Porovnání FTIR spektra PLA a PLA+EGMA před biodegradací



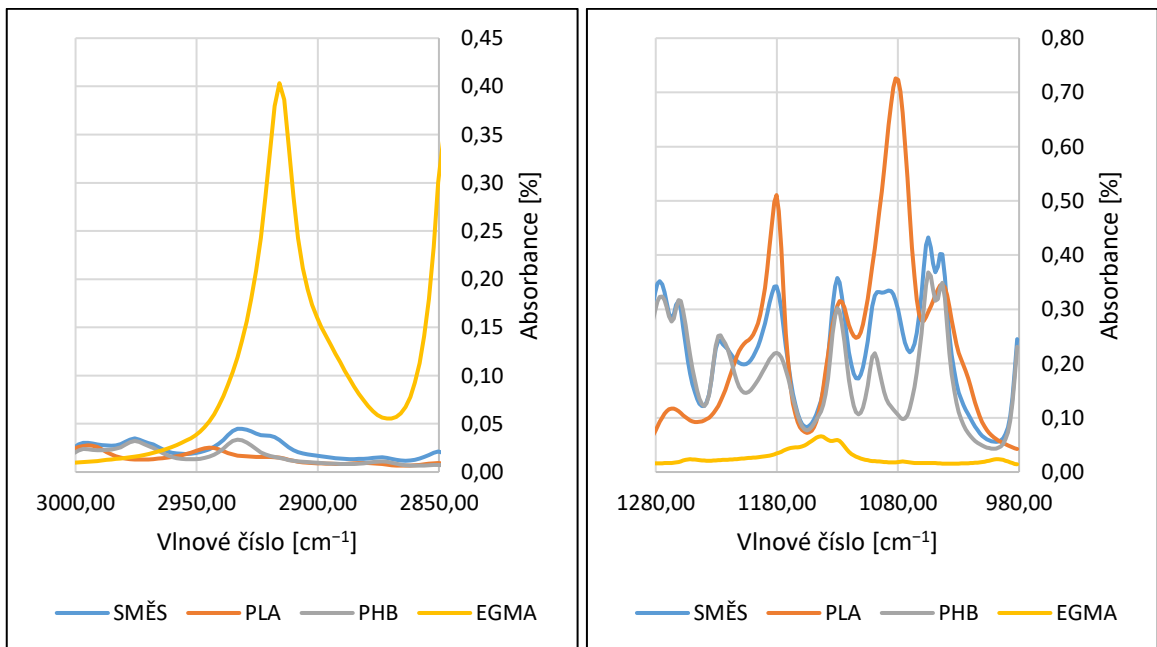
Obrázek 24 FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+EGMA před biodegradací

Obrázek 24(a) Detail na pík 2848 cm^{-1} ve spektru fólie z PLA+EGMA před biodegradacíObrázek 24(b) Detail na pík 719 cm^{-1} ve spektru fólie z PLA+EGMA před biodegradací

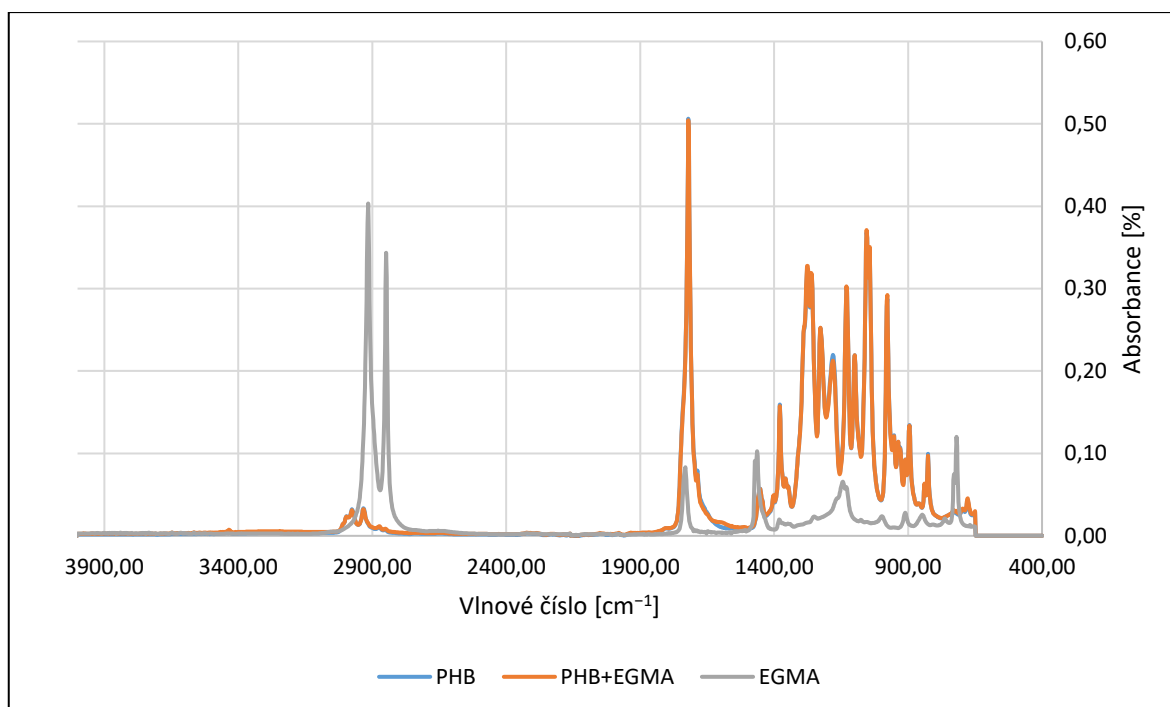
7.3.4 Porovnání FTIR spektra PLA, PHB a PLA+PHB+EGMA před biodegradací



Obrázek 25 FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA před biodegradací

Obrázek 25(a) Detail na pík 2929 cm⁻¹ ve spektru fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA před biodegradacíObrázek 25(b) Detail na pík 1180 cm⁻¹ ve spektru fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA před biodegradací

7.3.5 Porovnání FTIR spektra PHB a PHB+EGMA před biodegradací



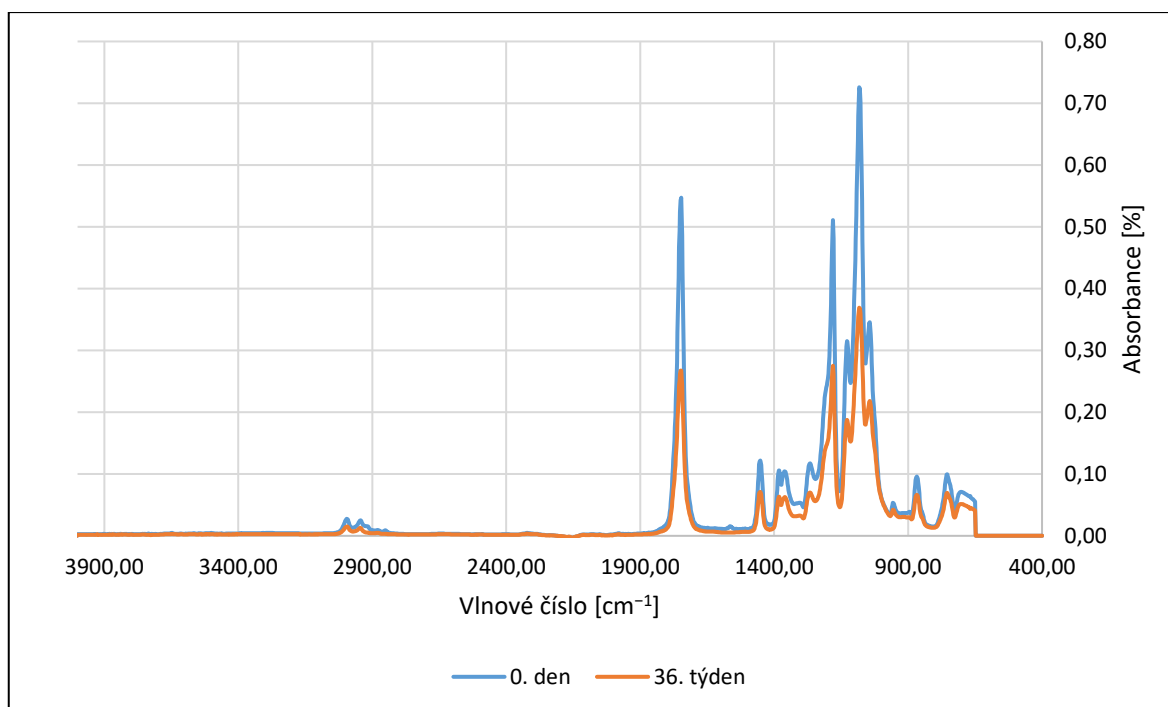
Obrázek 26 FTIR spektrum ze směsi PHB+EGMA před biodegradací

U směsi PHB+EGMA (Obr. 26) došlo ke snížení píku 719 cm^{-1} , charakteristického pro epoxidovou skupinu. Jelikož PHB ve své struktuře již obsahuje ($-\text{CH}_2$) skupiny, narůst těchto píků ve směsi PHB+EGMA nebyl tolik výrazný jako u směsi PLA+EGMA. Všechny změny oproti čistým materiálům jsou pravděpodobně způsobeny jejich kombinací a složením výsledných směsí.

Z FTIR spektra směsi PLA+EGMA (Obr. 24) je zjevné, že u směsi došlo ke zmišení, nebo zmenšení, píku 719 cm^{-1} charakteristického pro epoxidovou skupinu v molekule EGMA (Obr. 24b). Z toho lze usoudit, že při reakci mezi PLA a EGMA dochází k otevření epoxidového kruhu. Oproti čistému PLA jsou ve směsi pozorovatelné dva zvětšené píky při 2917 cm^{-1} a 2848 cm^{-1} , které jsou způsobeny ($-\text{CH}_2$) skupinami v molekule EGMA (Obr. 24a). Z optického hlediska došlo ve směsi PLA+EGMA ke snížení některých charakteristických píků pro PLA. To je však nejspíš způsobeno tím, že směs obsahuje pouze 90 % PLA, intenzita charakteristických píků PLA je proto nižší. ^{[48][50]}

U směsi PLA+PHB+EGMA (Obr. 25) je patrný nárůst píku 1720 cm^{-1} charakteristického jak pro PLA, tak PHB. Oproti čistému PLA však došlo ke snížení píku 1180 cm^{-1} , odpovídajícího esterové vazbě, i píku 1080 cm^{-1} , který odpovídá koncovým ($-\text{CH}_3$) skupinám. Oproti čistým materiálům má směs PLA+PHB+EGMA také nejvyšší píky pro ($-\text{CH}_2$) skupiny, jelikož PHB i EGMA ve své struktuře obsahují tyto skupiny.

7.3.6 Porovnání FTIR spektra PLA před a po biodegradaci



Obrázek 27 FTIR spektrum fólie z PLA po 36 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C

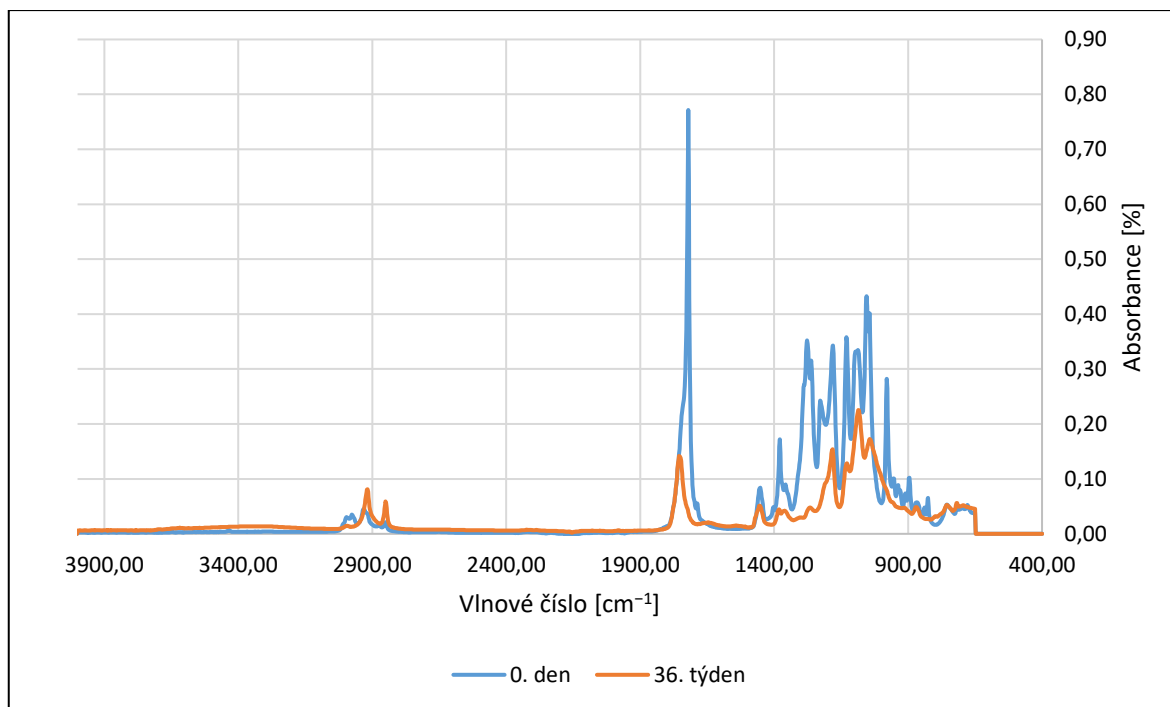
Ze spektra PLA po 36. týdnech biodegradace (Obr. 27) lze zaznamenat snížení veškerých píků, což by mohlo znamenat biodegradaci materiálu a rozpad vazeb v něm. Proto bylo provedeno porovnání plochy pod píkem před biodegradací a po biodegradaci. Pro porovnání byly vybrány 3 nejvýraznější píky 1749 cm^{-1} , 1180 cm^{-1} a 1080 cm^{-1} . Plocha pod píkem byla vypočítána pomocí lichoběžníkové metody.

Tabulka 9 Porovnání plochy pod píkem 1749 cm^{-1} a 1080 cm^{-1} z důvodu stanovení změn ve struktuře PLA po 36 týdnech biodegradace

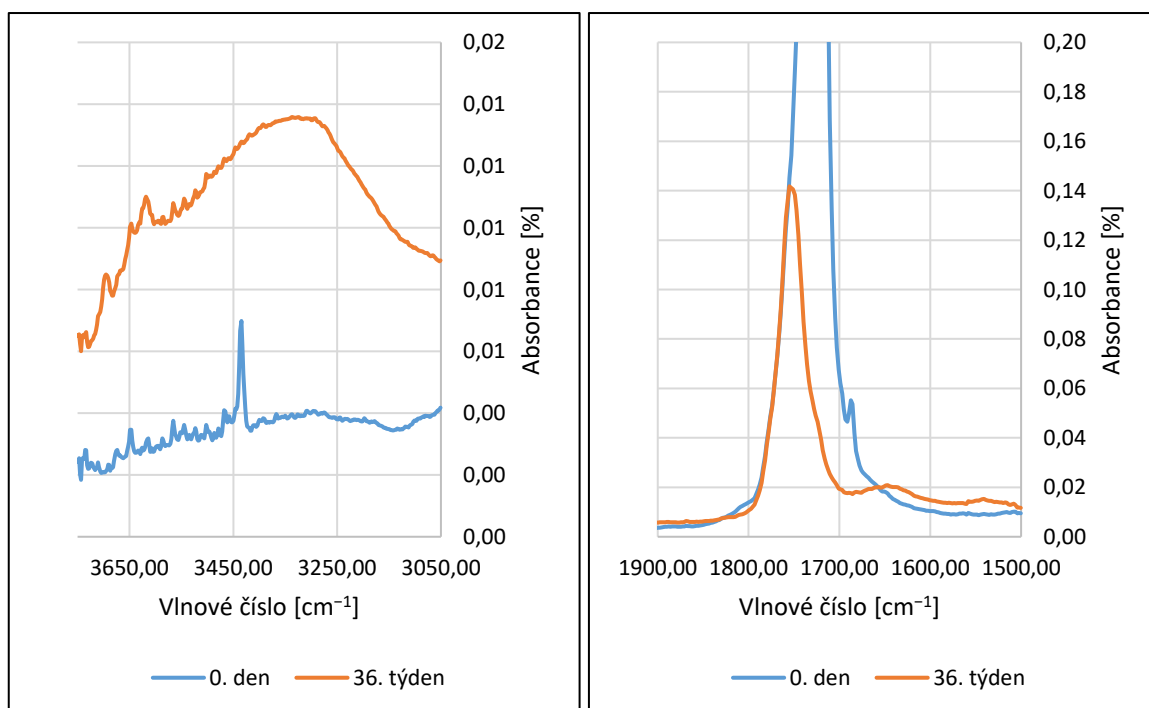
Vlnové číslo píku	PLA – 0. den	PLA – 36. týden
1749 cm^{-1}	18.9120	10.3943
1080 cm^{-1}	48.3025	29.8331
Poměr	2,55	2,87

Při porovnání plochy pod píkem 1180 cm^{-1} a 1080 cm^{-1} nejsou znatelné žádné rozdíly. Nicméně poměr ploch pod píkem 1749 cm^{-1} a 1080 cm^{-1} se liší o 0,32, což by mohlo znamenat morfologické změny ve struktuře PLA. Nicméně po 36 týdnech degradace bylo zmineralizováno z 8 %. Nelze tedy předpokládat výrazné změny, či dokonce zánik píků.

7.3.7 Porovnání FTIR spektra PLA+PHB+EGMA před a po biodegradaci



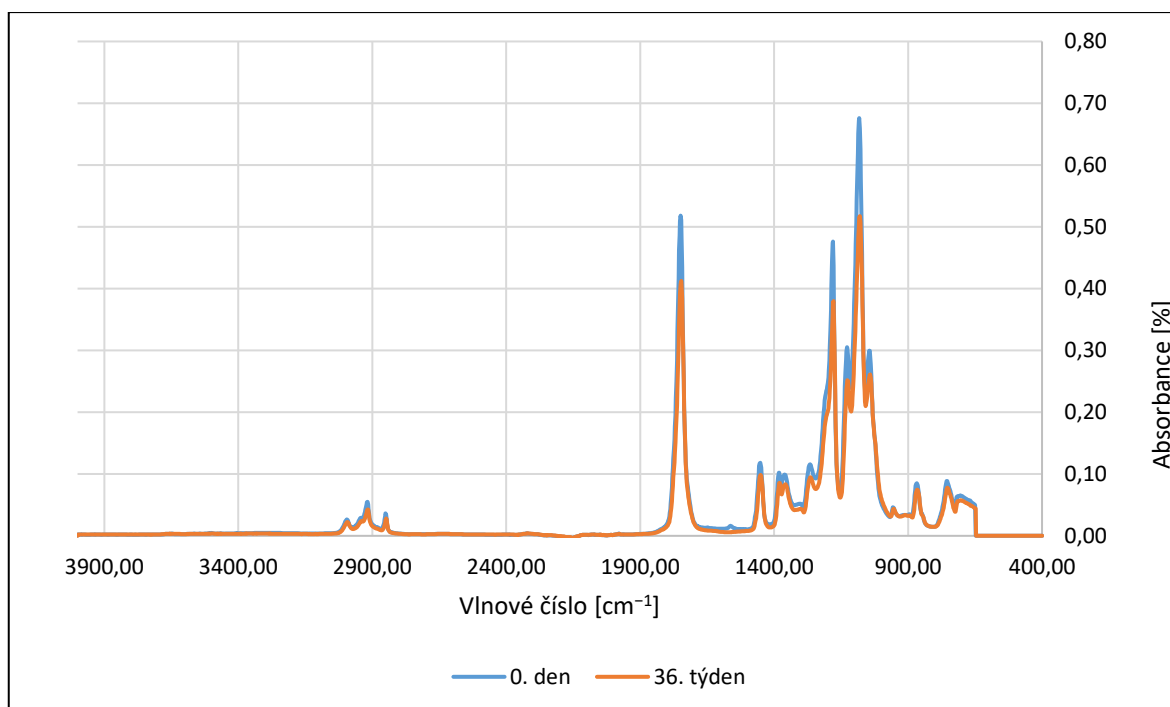
Obrázek 28 FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA po 36 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C



Obrázek 28(a) Detail na pík 3324 cm⁻¹ ve spektru fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA po 36 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C

Obrázek 28(b) Detail na pík 1656 cm⁻¹ ve spektru fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA po 36 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C

7.3.8 Porovnání FTIR spektra PLA+EGMA před a po biodegradaci



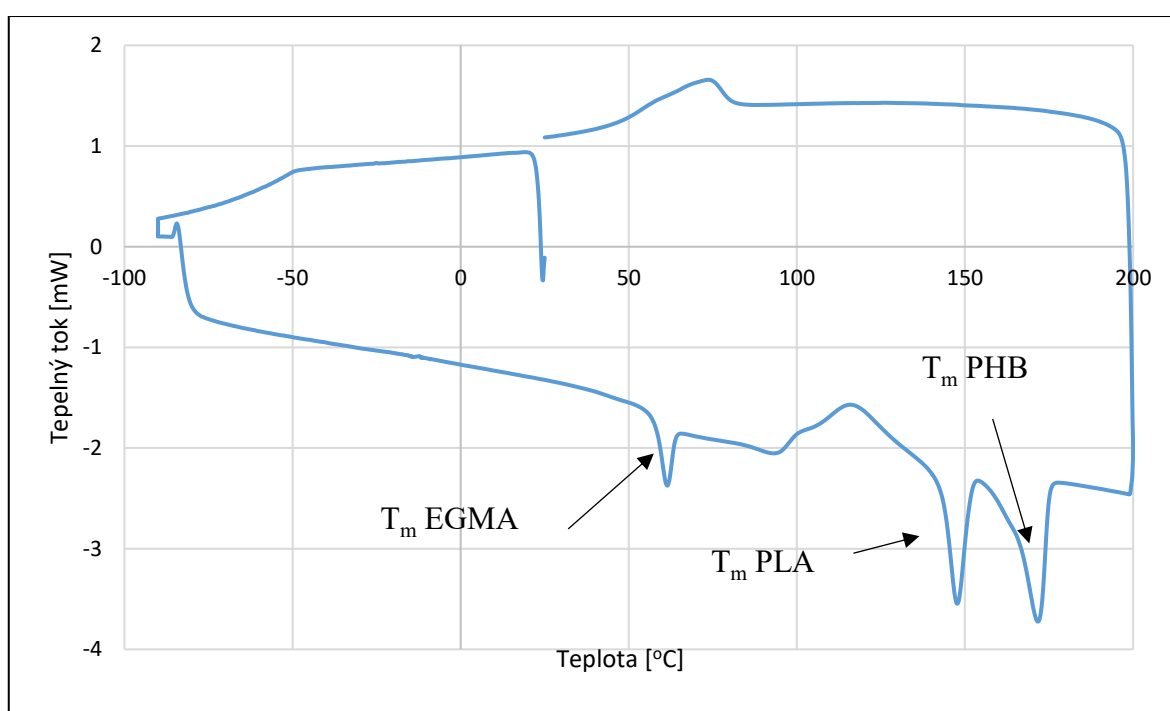
Obrázek 29 FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+EGMA po 36 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C

Ke snížení píků došlo i u směsi PLA+EGMA (Obr. 29). Snížení píků však není tolik výrazné jako u samotného PLA, což by mohlo znamenat, že obsah EGMA ve směsi opravdu zpomaluje její biodegradaci. Rozdíl intenzity píků u těchto materiálů lze potvrdit i porovnáním ploch pod píkem taktéž pomocí lichoběžníkové metody. U čistého PLA, ani u směsi PLA+EGMA, však nedošlo k zániků žádného z píků, ani k vytvoření žádného nového píku.

Na spektru směsi PLA+PHB+EGMA (Obr. 28) je možno, stejně jako u ostatních směsí, pozorovat zmenšení všech významných píků v závislosti na biodegradaci. U této směsi však došlo i k vytvoření nového píku 3324 cm⁻¹. Tento pík patří hydroxylové skupině (-OH). Vznik tohoto píku by tedy mohl znamenat rozštěpení některých vazeb za zpětného vzniku koncových (-OH) skupin. Také došlo k vytvoření dvou píků při 1656 cm⁻¹ a 1558 cm⁻¹.

7.4 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Z každého měrného cyklu byl vytvořen graf, ze kterého byly odečteny teplota tání T_m , teplota krystalizace T_c a teplota skelného přechodu T_g , pro jednotlivé materiály. Diagram získaný měřením na DSC byl pro každý vzorek následně rozdělen do čtyř fází: chlazení, temperace, zahřívání a opětovné chlazení. Měrný cyklus začínal při 25 °C kdy došlo ke zchlazení vzorku na -90 °C a následnému ohřevu na 200 °C. Měrný cyklus končil chlazením vzorku zpět na původní teplotu 25 °C. Na obrázku 30 je pro ukázkou diagram celého měřícího cyklu.



Obrázek 30 Vzorový diagram pro směs PLA+PHB+EGMA před biodegradací

Tabulka 10 Teploty skelného přechodu, krystalizace a tání pro fólie z PLA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při 25°C

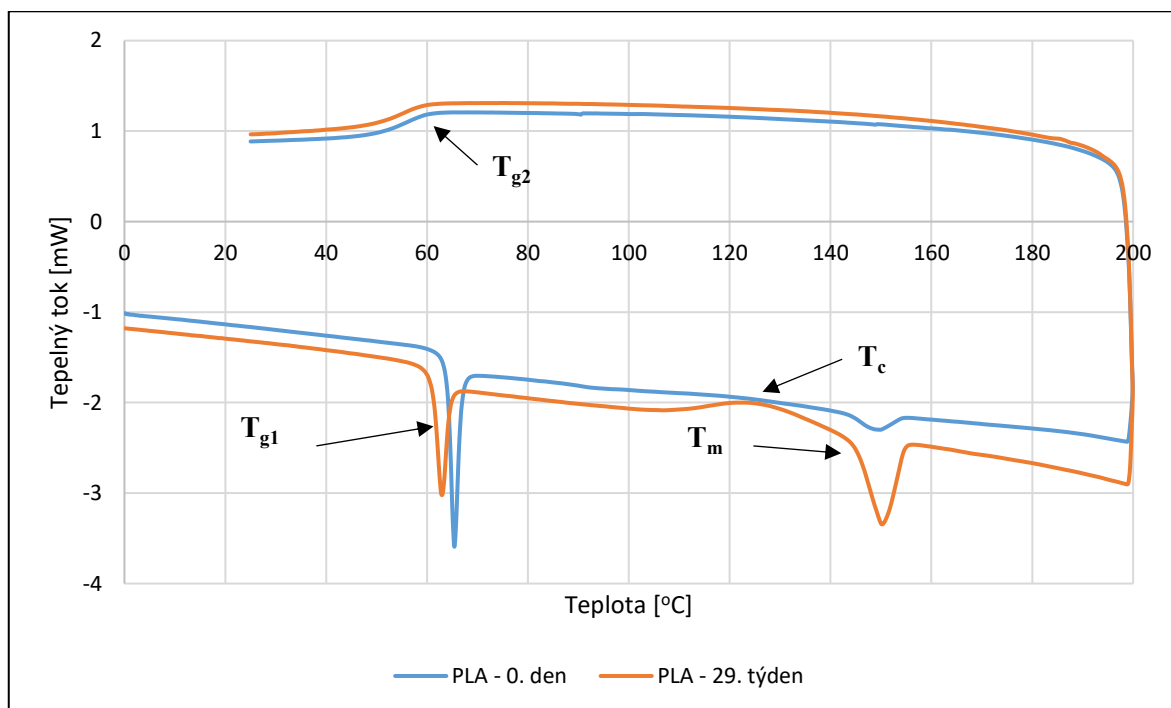
Vzorek	T_{g1} [°C]	T_{g2} [°C]	T_c [°C]	T_m [°C]
PLA 0. den	63,81	60,34	-	148,75
PLA 29. týden	60,88	59,22	124,10	150,21

Z DSC diagramu pro PLA před biodegradací (Obr. 31) nebylo možné odečíst teplotu krystalizace. Na diagramu PLA po biodegradaci (Obr. 31) se během zahřívání objevil pík pro teplotu krystalizace za studena T_c . Z.H.Zhu et.al. ve své práci stanovili pro PLA teplotu studené krystalizace na 128,7 °C. Pík T_c je znázorněn i na (obr. 31) a platí pro něj

„krystalizační pik čistého PLA je malý a široký, což plně dokazuje, že PLA je polymer s obtížnou krystalizací“.^[51]

Při vyhodnocování diagramu pro PLA jsem vycházel z článku „*Thermal Analysis Investigation of a Poly(Lactic Acid) Biodegradable Plastic*“ ve kterém autorům článku též vyšla T_{g2} nižší než T_{g1} . Teplota skelného přechodu T_{g1} se objevila ve fázi zahřívání. Druhá teplota skelného přechodu T_{g2} se objevila ve fázi chlazení.^[52]

Jak je patrné z diagramu (Obr.31) i výsledků v tabulce 10, po biodegradaci došlo ke zvýšení teploty tání. Tato změna však nesouhlasí s tím, co S. Muniyasamy et.al. zjistili ve své práci. Dle jejich výsledků by naopak teplota tání PLA po biodegradaci v půdě měla klesat. Při jejich výzkumu biodegradace PLA, ve formě fólie o tloušťce 10 μ m, v půdě při 25 $^{\circ}$ C došlo po 200 dnech v půdě k poklesu teploty tání o 3 $^{\circ}$ C oproti stavu před biodegradací.^[53]



Obrázek 31 DSC diagram pro PLA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25 $^{\circ}$ C

Intenzity píků na (Obr. 31) jsou různé z důvodu rozdílných navážek materiálů.

Tabulka 11 Teploty skelného přechodu, krystalizace a tání pro fólie ze směsi PLA+EGMA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25 $^{\circ}$ C

Vzorek	T_g [$^{\circ}$ C]	T_c [$^{\circ}$ C]	T_{m1} [$^{\circ}$ C]	T_{c2} [$^{\circ}$ C]	T_{m2} [$^{\circ}$ C]
PLA+EGMA 0.den	60,65	84,56	97,25	-	150,37
PLA+EGMA	59,03	84,55	97,24	123,43	149,03

Teploty skelného přechodu T_g v Tabulce 11 jsou charakteristické pro PLA. I v této směsi došlo po biodegradaci ke snížení teploty skelného přechodu. Teploty krystalizace T_{c1} jsou charakteristické pro EGMA. U T_{c1} nedošlo během biodegradace k žádné změně. T_{c2} u vzorku směsi PLA+EGMA po 29 týdnech biodegradace v půdě je charakteristická pro PLA jako teplota krystalizace za studena. Teplota krystalizace za studena u směsi PLA+EGMA je nižší než u samotného PLA. To potvrzuje i článek „*Rheological behavior, crystallization properties, and foaming performance of chain-extended poly(lactic acid) by functionalized epoxy*“ od Li Ming et.al. Snížení této teploty je důsledkem vyšší krystalizace vzorku, která roste s obsahem EGMA ve směsi. Teplota tání T_{m1} je přiřazena EGMA, teplota tání T_{m2} patří PLA. Oproti čistému PLA, v této směsi nedošlo k navýšení teploty tání PLA, ba naopak k jejímu mírnému snížení, které u PLA lze očekávat.

Tabulka 12 Teploty skelného přechodu a tání pro fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C

Vzorek	T_g [°C]	T_c [°C]	T_{m1} [°C]	T_{m2} [°C]	T_{m3} [°C]
PLA+PHB+EGMA 0.den	56,90	73,21	93,94	147,54	171,53
PLA+PHB+EGMA	56,66	76,87	92,11	146,57	171,40

Teplota skleného přechodu T_g je i zde charakteristická pro PLA. Teplota tání T_{m1} náleží EGMA, T_{m2} patří PLA a pro PHB je charakteristická teplota tání T_{m3} . Z DSC diagramu pro směs PLA+PHB+EGMA se nepodařilo odečíst žádnou teplotu krystalizace. U směsi PLA+PHB+EGMA po 29. týdnech biodegradace nedošlo k nárstu píku pro teplotu krystalizace za studena pro PLA. V diagramu se však během chlazení objevil pík krystalizace při 73,12 °C. Po 29. týdnech biodegradace v půdě došlo k nárstu teploty krystalizace o 3,5 °C.

7.5 Výpočet Youngova modulu pružnosti pomocí Hookova zákona

Tabulka 13 Rozměry testovaných vzorků fólií před biodegradací a jejich Youngův modul pružnosti

Materiál	Tloušťka [mm]	Šířka [mm]	Youngův modul [GPa]	Průměrný Y. modul [GPa]
PLA	0,19	4,19	2,47	2,13±0,05
	0,20	4,78	2,17	
	0,17	4,98	2,15	
	0,19	4,95	2,08	
	0,18	5,04	1,98	
PLA+EGMA	0,18	5,21	1,15	0,99±0,05
	0,16	5,38	0,95	
	0,18	5,29	1,17	
	0,18	5,00	0,82	
	0,18	4,94	1,02	
PHB	0,18	4,76	2,17	1,93±0,01
	0,18	5,48	1,92	
	0,18	5,48	1,93	
	0,18	5,28	1,11	
	0,19	5,56	1,08	
PHB+EGMA	0,08	5,36	2,06	1,33±0,03
	0,11	5,13	1,36	
	0,07	4,84	1,34	
	0,07	5,33	1,30	
	0,11	5,45	0,95	
PLA+PHB+EGMA	0,17	4,95	0,49	0,71±0,04
	0,17	5,32	0,73	
	0,17	5,35	0,85	
	0,18	5,27	0,54	
	0,18	5,21	0,68	

Pro každý vzorek byl vypočítán Youngův modul s využitím rovnice 8. Výsledky byly podrobeny Grubbsovu testu odlehlých hodnot. Odlehlé hodnoty byly ze souboru vyřazeny a ze zbylých výsledků byl vypočítán průměr a směrodatná odchylka.

Mingyang Hao a jeho tým se ve své práci mimo jiné věnoval kompatibilizaci směsi PLA s EGMA a zkoumal vlastnosti této směsi. Jednou ze zkoumaných vlastností byl právě i modul pružnosti v tahu (též „tensile modulus“ či „Youngův modul pevnosti v tahu“). Bylo zjištěno, že s rostoucím přídatkem EGMA klesá Youngův modul. To znamená, že přídatkem EGMA do směsi klesá její tuhost. S přídatkem EGMA ve směsi zároveň klesala

i pevnost v tahu. Ve směsi PLA/EGMA v poměru 90/10, stejném jako v mé bakalářské práci, se pevnost v tahu snížila až o 30 %.^[54]

Výsledky Youngova modulu pro mé fólie (Tab. 14) se shodují s výsledky od Mingyang Hao. I u mých vzorků PLA+EGMA došlo k poklesu Youngova modulu oproti čistému PLA. Zároveň je z tabulky zřejmé, že PHB i zde vykazuje stejné chování jako PLA. U směsi PHB+EGMA rovněž došlo ke snížení Youngova modulu oproti čistému PHB. Vůbec nejnižší modul pružnosti v tahu, ze všech zkoumaných materiálů, má směs PLA+PHB+EGMA.

ZÁVĚR

Měřením produkce oxidu uhličitého během biodegradace biodegradabilních polymerů v půdě se mi podařilo prokázat, že v půdě ze všech zkoumaných materiálů nejrychleji degraduje PHB. Přidáním EGMA do směsi PHB+EGMA dojde ke zpomalení biodegradability směsi na polovinu, oproti čistému PHB. Přídavek PHB ve směsi PLA+PHB+EGMA zvyšuje rychlost její degradace. Nicméně bylo zjištěno, že směs PLA+EGMA se rozkládá rychleji než čisté PLA. Jelikož však došlo k degradaci z pouhých 10 %, bylo by vhodné sledovat tyto vzorky déle.

Pomocí snímků z elektronového mikroskopu se daly sledovat postupné změny na povrchu vzorků. Především však byly pozorovány vláknité struktury a bakterie, které nejspíš způsobují biodegradaci vzorků v půdě. K jejich bližší specifikaci by bylo nutno využít některé molekulárně biologické metody.

S využitím infračervené spektroskopie s Furierovou transformací se podařilo prokázat, že vzorky PLA i PHB reagují s EGMA koncovými skupinami. Při těchto reakcích dochází k otevření epoxidového kruhu ve struktuře EGMA. S využitím FTIR spektra je také pozorovatelný nárůst píků, charakteristických koncových -OH a COOH- skupin, během biodegradace.

Při porovnání svých výsledků Youngova modulu s jinými odbornými články došlo ke shodě. V obou případech bylo prokázáno, že směs PLA+EGMA má oproti čistému PLA nižší Youngův modul. Ke stejnému jevu došlo i u směsi PHB+EGMA, kdy tato směs měla nižší modul pružnosti v tahu než samotné PHB. Vůbec nejnižších hodnot dosahovala směs PLA+PHB+EGMA.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Zpráva o životním prostředí České republiky 2022*, 2023. Dostupné také z: https://www.cenia.cz/wp-content/uploads/2023/12/Zprava_ZP_CR_2022.pdf
- [2] EUROSTAT. EU packaging waste generation with record increase. EUROSTAT. *Eurostat* [online]. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/w/ddn-20231019-1>
- [3] HAIDER, Tobias P. et al., 2019. Plastics of the Future? The Impact of Biodegradable Polymers on the Environment and on Society. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. **58**(1), 50-62 [cit. 2024-05-06]. ISSN 1433-7851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.201805766
- [4] KARAK, N., 2012. *Vegetable oil-based polymers* [online]. Woodhead Publishing Limited [cit. 2024-05-06]. ISBN 978-0-85709-710-1. Dostupné z: doi:10.1533/9780857097149
- [5] OYAMA, Hideko T., 2009. Super-tough poly(lactic acid) materials: Reactive blending with ethylene copolymer. *Polymer* [online]. **50**(3), 747-751 [cit. 2024-05-06]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2008.12.025
- [6] STOKLASA CSC., doc. Ing. Jan, 2005. *MAKROMOLEKULÁRNÍ CHEMIE I. 1*. UTB Fakulta technologická.
- [7] GUPTA, A.P. a Vimal KUMAR, 2007. New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique. *European Polymer Journal* [online]. **43**(10), 4053-4074 [cit. 2024-05-06]. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2007.06.045
- [8] DE ALBUQUERQUE, Tiago Lima et al., 2021. Polylactic acid production from biotechnological routes: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **186**, 933-951 [cit. 2024-05-06]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.07.074
- [9] MURARIU, Marius a Philippe DUBOIS, 2016. PLA composites: From production to properties. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. **107**, 17-46 [cit. 2024-05-06]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2016.04.003
- [10] ZAABA, Nor Fasihah a Mariatti JAAFAR, 2020. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. *Polymer Engineering & Science* [online]. **60**(9), 2061-2075 [cit. 2024-05-06]. ISSN 0032-3888. Dostupné z: doi:10.1002/pen.25511

- [11] SATTI, Sadia Mehmood et al., 2018. Biodegradation of Poly(lactic acid) in Soil Microcosms at Ambient Temperature: Evaluation of Natural Attenuation, Bio-augmentation and Bio-stimulation. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. **26**(9), 3848-3857 [cit. 2024-05-09]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-018-1264-x
- [12] IÑIGUEZ-FRANCO, Fabiola et al., 2017. Effect of nanoparticles on the hydrolytic degradation of PLA-nanocomposites by water-ethanol solutions. *Polymer Degradation and Stability* [online]. **146**, 287-297 [cit. 2024-05-06]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2017.11.004
- [13] KIM, Jihyeon et al., 2023. Biodegradation Studies of Polyhydroxybutyrate and Polyhydroxybutyrate-co-Polyhydroxyvalerate Films in Soil. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **24**(8) [cit. 2024-05-06]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms24087638
- [14] ROOHI, Mohd Rehan ZAHEER a Mohammed KUDDUS, 2018. PHB (poly- β -hydroxybutyrate) and its enzymatic degradation. *Polymers for Advanced Technologies* [online]. **29**(1), 30-40 [cit. 2024-05-06]. ISSN 1042-7147. Dostupné z: doi:10.1002/pat.4126
- [15] ANJANA et al., 2021. Recent approaches for enhanced production of microbial polyhydroxybutyrate: Preparation of biocomposites and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **182**, 1650-1669 [cit. 2024-05-06]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.05.037
- [16] MCADAM, Blaithín et al., 2020. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers* [online]. **12**(12) [cit. 2024-05-06]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122908
- [17] KE, Yu et al., 2016. Reactive blends based on polyhydroxyalkanoates: Preparation and biomedical application. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 1107-1119 [cit. 2024-04-11]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.114
- [18] EUBELER, Jan P., Marco BERNHARD a Thomas P. KNEPPER, 2010. Environmental biodegradation of synthetic polymers II. Biodegradation of different polymer groups. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. **29**(1), 84-100 [cit. 2024-05-06]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2009.09.005

- [19] RAJU, Nirmala Nithya a Mugesh SANKARANARAYANAN, 2024. Enhancing the Production of Polyhydroxybutyrate, a Biodegradable Polymer by an Optimized Process Using a Novel *Klebsiella Pneumonia* Strain. *Topics in Catalysis* [online]. **67**(1-4), 181-191 [cit. 2024-05-06]. ISSN 1022-5528. Dostupné z: doi:10.1007/s11244-023-01877-6
- [20] PETRUŠ, Josef, 2011. *KOMPATIBILIZACE SMĚSÍ TERMOPLASTŮ S PLA*. Brno. Diplomová. Vysoké učení technické.
- [21] *SumitomoChemical* [online], 2023. [cit. 2023-11-12]. Dostupné z: https://www.sumitomo-chem.co.jp/func_polymer/en/product/bondfast/
- [22] ZHANG, Yaqiong et al., 2021. Bio-based polyamide-assisted supertoughening of polylactide through hardening of the EGMA elastomeric domains of much low amount. *Applied Surface Science* [online]. **556** [cit. 2024-05-06]. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2021.149845
- [23] VAYSHBEYN, Leonid Ilyich et al., 2023. Poly(lactic acid)-Based Blends: A Comprehensive Review. *Applied Sciences* [online]. **13**(8) [cit. 2024-05-06]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app13085148
- [24] ZHAO, Liang-liang et al., 2017. Optimizing the balance between stiffness and flexibility by tuning the compatibility of a poly(lactic acid)/ethylene copolymer. *RSC Advances* [online]. **7**(37), 23065-23072 [cit. 2024-04-13]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C6RA28843J
- [25] KE, Yu et al., 2016. Reactive blends based on polyhydroxyalkanoates: Preparation and biomedical application. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 1107-1119 [cit. 2024-04-11]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.114>
- [26] MIN, Zhang a Thomas L. NOREEN, 2011. Blending Polylactic Acid with Polyhydroxybutyrate: The Effect on Thermal, Mechanical, and Biodegradation Properties. *Polymer Technology* [online]. 67-79 [cit. 2024-03-02]. Dostupné z: doi:10.1002
- [27] GOTO, Akari, 2023. *Measurement of Total Carbon in Plastic Particles* [PDF]. Shimadzu.
- [28] *Stanovení obsahu organického uhlíku (TOC) a chlorofylu a* [online], 2009. In: . Olomouc: Univerzita Palackého Olomouc, s. 29 [cit. 2023-10-14]. Dostupné z: http://hydrobiologie.upol.cz/uploads/files/02_metody_stanoveni_obsahu_toc_chlorofylu.pdf

- [29] MATHIAS, Jennifer, 2022. How Does FTIR Analysis Work? *InnovaTECH* [online]. [cit. 2024-05-05]. Dostupné z: <https://www.innovatechlabs.com/newsroom/672/stuff-works-ftir-analysis/>
- [30] *Infračervená spektroskopie* [online]. [cit. 2024-05-05]. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/lms/Zverze/Infrared.htm>
- [31] *HPR-40 DSA* [online], 2021. [cit. 2024-02-15]. Dostupné z: <https://www.hidenanalytical.com/products/gas-analysis/hpr-40-dsa/>
- [32] GARG, Eshita a Muhammad ZUBAIR, 2023. *Mass Spectrometer* [online]. 21.1.2023 [cit. 2024-02-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589702/>
- [33] BEYNON, John Herbert a Louis BROWN, 2024. *Mass spectrometry* [online]. 4.1.2024 [cit. 2024-02-15]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/mass-spectrometry>
- [34] *CHAPTER 10 - DEFORMATION* [online]. [cit. 2024-05-05]. Dostupné z: https://www.usna.edu/NAOE/files/documents/Courses/EN380/Course_Notes/Ch10_Deformation.pdf
- [35] Skenovací elektronový mikroskop (SEM), 2024. *MATCA* [online]. [cit. 2024-01-10]. Dostupné z: <https://matca.cz/technologie/analyticke-metody/sem/>
- [36] LIGAS, Aleš, 2012. *STUDIUM KOVOVÝCH MATERIÁLŮ POMOCÍ NÍZKONAPĚŤOVÉ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE*. VUT Brno. Bakalářská. Vysoké učení technické v Brně.
- [37] ŠMILAUEROVÁ, Jana, 2022. Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). *Katedra fyziky materiálů UK* [online]. Univerzita Karlova, Matematicko-fyzikální fakulta [cit. 2023-08-18]. Dostupné z: <https://www.mff.cuni.cz/cs/kfm/experimentalni-vybaveni/diferencni-skenovaci-kalorimetrie-dsc>
- [38] *Differential Scanning Caloimetry (DSC)*, 2013. Dostupné také z: https://resources.perkinelmer.com/corporate/cmsresources/images/44-74542gde_dscbeginnersguide.pdf
- [39] NatureWorks® Ingeo™ 2003D General Purpose Transparent Extrusion Grade Biopolymer. *MatWeb* [online]. [cit. 2024-05-14]. Dostupné z: <https://www.matweb.com/search/datasheet.aspx?matguid=ec4062c45ad74d5bb10521ad881455c3&ckck=1>

[40] RIFA ADVANCED MATERIALS [online], 2020. SUMITOMO CHEMICALS. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: <http://www.rifaamc.co.kr/en/ethylene/egma.html>

[41] Hookův zákon. *Fyzika 007* [online]. [cit. 2024-05-04]. Dostupné z: <https://www.fyzika007.cz/struktura-avlastnosti-l%C3%A1tek/hook%C5%AFv-z%C3%A1kon>

[42] CÍSLEROVÁ CSC, prof. Ing. Milena, Ing. Michal SNĚHOTA PH.D a Martin ŠANDA PH.D. *Cvičení z Hydropedologie (V) a Pedologie (Z)*. ČVUT. Dostupné také z: https://storm.fsv.cvut.cz/data/files/p%C5%99edm%C4%9Bty/HYP/PEDOHYPE_lab3.pdf

[43] MIKESKA, Marek, 2021. *Abiotická hydrolyza směsí kyseliny polyléčné (PLA) a kompatibilizátoru EGMA*. Fakulta technologická UTB. Bakalářská. Univerzita Tomáše Bati.

[44] BRIASSOULIS, Demetres et al., 2020. A horizontal test method for biodegradation in soil of bio-based and conventional plastics and lubricants. *Journal of Cleaner Production* [online]. **242** [cit. 2024-05-09]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2019.118392

[45] TOKIWA, Yutaka a Buenaventurada P. CALABIA, 2006. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide). *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. **72**(2), 244-251 [cit. 2024-04-14]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-006-0488-1

[46] RUDNIK, E. a D. BRIASSOULIS, 2011. Comparative Biodegradation in Soil Behaviour of two Biodegradable Polymers Based on Renewable Resources. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. **19**(1), 18-39 [cit. 2024-04-14]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-010-0243-7

[47] SATTI, Sadia Mehmood et al., 2018. Biodegradation of Poly(lactic acid) in Soil Microcosms at Ambient Temperature: Evaluation of Natural Attenuation, Bio-augmentation and Bio-stimulation. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. **26**(9), 3848-3857 [cit. 2024-05-09]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-018-1264-x

[48] LI, Ming et al., 2021. Rheological behavior, crystallization properties, and foaming performance of chain-extended poly (lactic acid) by functionalized epoxy. *RSC Advances* [online]. [cit. 2024-03-31]. Dostupné z: doi:10.1039/d1ra06382k

- [49] KANZARIYA, Rekha et al., 2023. Structure analysis and thermal stability of PHB recovered from sugar industry waste. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* [online]. [cit. 2024-03-31]. Dostupné z: doi:10.1080/02648725.2023.2192076
- [50] DJELLALI, Souad et al., 2013. Structural, morphological and mechanical characteristics of polyethylene, poly(lactic acid) and poly(ethylene-co-glycidyl methacrylate) blends. *Iranian Polymer Journal* [online]. [cit. 2024-04-01]. Dostupné z: doi:10.1007/s13726-013-0126-6
- [51] ZHU, Z H et al., 2020. Analysis of crystallization and melting behavior of composites before and after annealing. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* [online]. **733**(1) [cit. 2024-05-14]. ISSN 1757-8981. Dostupné z: doi:10.1088/1757-899X/733/1/012025
- [52] 2007. *Thermal Analysis Investigation of a Poly(Lactic Acid) Biodegradable Plastic*. Dostupné také z: <https://www.tainstruments.com/pdf/literature/TA384%20Thermal%20Analysis%20Investigation%20of%20a%20Polylactic%20Acid%20Biodegradable%20Plastic.pdf>
- [53] MUNIYASAMY, Sudhakar et al., 2016. Mineralization of Poly(lactic acid) (PLA), Poly(3-hydroxybutyrate-co-valerate) (PHBV) and PLA/PHBV Blend in Compost and Soil Environments. *Journal of Renewable Materials* [online]. **4**(2), 133-145 [cit. 2024-05-13]. ISSN 2164-6325. Dostupné z: doi:10.7569/JRM.2016.634104
- [54] HAO, Mingyang, Hongwu WU a Zhihua ZHU, 2017. In situ reactive interfacial compatibilization of polylactide/sisal fiber biocomposites via melt-blending with an epoxy-functionalized terpolymer elastomer. *RSC Advances* [online]. **7**(51), 32399-32412 [cit. 2024-05-05]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C7RA03513F

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MS	hmotnostní spektrometrie
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
TC	celkový uhlík
TOC	celkový organický uhlík
TIC	celkový anorganický uhlík
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
PLA	poly(mléčná kyselina)
PHB	poly(máselná kyselina)
EGMA	ethylen glycidyl methakrylát

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1	Obecná reakce esterifikace.....	12
Obrázek 2	Strukturní vzorec meru poly(mléčné kyseliny).....	14
Obrázek 3	Strukturní vzorec laktidu.....	14
Obrázek 4	Stereoizomery laktidu.....	14
Obrázek 5	Strukturní vzorec meru poly(máselné kyseliny).....	16
Obrázek 6	Strukturní vzorec PHA.....	16
Obrázek 7	Metabolická dráha vzniku PHB (Anjana et al., 2021).....	17
Obrázek 8	Obecná reakce biodegradace PHB v půdě (Kim et al., 2023).....	18
Obrázek 9	Strukturní vzorec EGMA.....	19
Obrázek 10	Chemická reakce koncové (-COOH) skupiny s epoxidem.....	20
Obrázek 11	Interakce elektronů s povrchem vzorku.....	24
Obrázek 12	Vzorový DSC graf.....	25
Obrázek 13	Snímek pole z katastru nemovitostí.....	34
Obrázek 14	Dodaný slepenec z PLA (PŘED) a výsledné menší kousky z něj(PO).....	36
Obrázek 15	Schéma formy připravené pro lisování fólií.....	37
Obrázek 16	Vylisovaná fólie z PLA+EGMA.....	38
Obrázek 17	Stupeň mineralizace fólií z biodegradabilních polymerů a práškové celulózy během 260 dnů biodegradace v půdě při teplotě 25 °C.....	47
Obrázek 18	Povrch PHB+EGMA při zvětšení 3000x po 15 týdnech biodegradace.....	52
Obrázek 19	Povrch PLA+PHB+EGMA při zvětšení 5000x po 15 týdnech biodegradace.....	53
Obrázek 20	Povrch PLA+PHB+EGMA při zvětšení 5000x po 29 týdnech biodegradace.....	53
Obrázek 21	FTIR spektrum fólie z čistého PLA před biodegradací.....	55
Obrázek 22	FTIR spektrum fólie z čistého PHB před biodegradací.....	55
Obrázek 23	FTIR spektrum fólie z čistého EGMA před biodegradací.....	56
Obrázek 24	FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+EGMA před biodegradací.....	57
Obrázek 25	FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA před biodegradací.....	58
Obrázek 26	FTIR spektrum ze směsi PHB+EGMA před biodegradací.....	59
Obrázek 27	FTIR spektrum fólie z PLA po 36 týdnech biodegradace v půdě při.....	60
Obrázek 28	FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA po 36 týdnech biodegradace.....	61
Obrázek 29	FTIR spektrum fólie ze směsi PLA+EGMA po 36 týdnech biodegradace.....	62
Obrázek 30	Vzorový diagram pro směs PLA+PHB+EGMA před biodegradací.....	63
Obrázek 31	DSC diagram pro PLA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C.....	64

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Výsledky elementární analýzy půdy.....	35
Tabulka 2 Navážky materiálů pro přípravu směsí	36
Tabulka 3 Tloušťky vylisovaných fólií.....	38
Tabulka 4 Přesné navážky fólií testovaných materiálů vložených do označených bioreaktorů	40
Tabulka 5 Navážky vzorků, teoretický a skutečný obsah uhlíku	43
Tabulka 6 Snímky fólií zkoumaných materiálů z elektronového mikroskopu před biodegradací.....	50
Tabulka 7 Snímky fólií zkoumaných materiálů z elektronového mikroskopu po 15 týdnech biodegradace v půdě	51
Tabulka 8 Snímky fólií zkoumaných materiálů z elektronového mikroskopu po 15 týdnech biodegradace v půdě	54
Tabulka 9 Porovnání plochy pod píkem 1749 cm^{-1} a 1080 cm^{-1} z důvodu stanovení změn ve struktuře PLA po 36 týdnech biodegradace.....	60
Tabulka 10 Teploty skelného přechodu, krystalizace a tání pro fólie z PLA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při 25°C	63
Tabulka 11 Teploty skelného přechodu, krystalizace a tání pro fólie ze směsi PLA+EGMA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C	64
Tabulka 12 Teploty skelného přechodu a tání pro fólie ze směsi PLA+PHB+EGMA před biodegradací a po 29 týdnech biodegradace v půdě při teplotě 25°C	65
Tabulka 13 Rozměry testovaných vzorků fólií před biodegradací a jejich Youngův modul pružnosti.....	66

