

Biodegradace kompozitních materiálů na bázi PLA a PHB

Milan Veselý

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: Milan Veselý
Osobní číslo: T21095
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Ochrana životního prostředí
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Biodegradace kompozitních materiálů na bázi PLA a PHB

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární studii popisující možnosti zlepšení mechanických vlastností kyseliny polymléčné (PLA) a poly(hydroxy butyrátu) (PHB) s využitím kompatibilizátoru EGMA – poly(ethylene-glycidyl methacrylatu).
2. Experimentálně proveďte test biodegradace směsi PLA, PHB a komerčního kompatibilizátoru EGMA v kompostu.
3. K posouzení strukturních změn materiálů před a po biodegradaci použijte DSC, popřípadě dalších metod.
4. Získané výsledky přehledně zpracujte v požadovaných formách v řádném termínu.

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. X. Zhao, H. Hu, X. Wang, X. Yu, W. Zhou, S. Peng Super tough poly (lactic acid) blends: a comprehensive Review, *RSC Adv*, 10 (2020), pp. 13316-13368
4. Vědecké zdroje zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect a Medline

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

Příloha č. 1 – Prohlášení autora BP

**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 užít 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

Bakalářská práce je zaměřena na ověření biodegradace a změn vlastností fólií jednotlivých biologicky odbouratelných polymerů kyseliny polymléčné (PLA) a polyhydroxybutyrátu (PHB), jejich kompozitních materiálů s příměsí kompatibilizátoru polyethylen-glycidylmethakrylátu (EGMA) v prostředí kompostu. Test biodegradace probíhal v prostředí kompostu při teplotě 58 °C po dobu 119 dnů. Biodegradabilita polymerních materiálů byla sledována měřením produkce oxidu uhličitého prostřednictvím hmotnostní spektrometrie (MS). Následně byly pozorovány povrchové změny polymerních fólií prostřednictvím skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) byly sledovány termické pochody odehrávající se ve studovaných materiálech. Poté byly porovnány strukturní změny související s podílem krystalické fáze v polymerních materiálech před a po biodegradaci zásluhou širokoúhlé rentgenové difrakce (WAXD). Závěrem byl vypočítán modul pružnosti v tahu u dílčích polymerních materiálů prostřednictvím tahové zkoušky.

Klíčová slova: biodegradace, kyselina polymléčná, PLA, polyhydroxybutyrát, PHB, kompatibilizátor, EGMA, SEM, DSC, WAXD

ABSTRACT

The bachelor thesis focuses on verifying the biodegradation and property changes of films made of individual biodegradable polymers, polylactic acid (PLA), and polyhydroxybutyrate (PHB), as well as their composite materials with the addition of the compatibilizer polyethylene-glycidylmethacrylate (EGMA), in a compost environment. Biodegradation testing took place in a compost environment at a temperature of 58 °C for 119 days. The biodegradability of the polymer materials was monitored by measuring carbon dioxide production using mass spectrometry (MS). Subsequently, surface changes of the polymer films were observed via scanning electron microscopy (SEM). Thermal processes occurring in the studied materials were monitored using differential scanning calorimetry (DSC). Structural changes related to the crystalline phase content in the polymer materials before and after biodegradation were then compared using wide-angle X-ray diffraction (WAXD). Finally, the tensile modulus of elasticity of the individual polymer materials was calculated through tensile testing.

Keywords: biodegradation, polylactic acid, PLA, polyhydroxybutyrate, PHB, compatibilizer, EGMA, SEM, DSC, WAXD

Poděkování: Rád bych zde poděkoval své vedoucí bakalářské práce, paní Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D., za cenné rady a odborné vedení. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Zuzaně Vinterové, která mi propůjčila materiály potřebné k vyhodnocení. Velké díky také patří lidem pracujícím a studujícím na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí, kteří mi poskytli drahocenné rady. Nakonec bych rád poděkoval mé přítelkyni a rodině, kteří mi byli oporou při studiu.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
TEORETICKÁ ČÁST	11
1 BIODEGRADABILNÍ POLYMERY	12
1.1 KYSELINA POLYMLÉČNÁ (PLA)	12
1.1.1 Syntéza PLA.....	13
1.1.2 Vlastnosti PLA	13
1.1.3 Využití PLA	15
1.2 POLYHYDROXYBUTYRÁT (PHB)	15
1.2.1 Syntéza PHB	16
1.2.2 Vlastnosti PHB.....	17
1.2.3 Využití PHB	18
2 KOMPATIBILIZÁTORY	19
2.1 ETHYLEN-GLYCIDYLMETHAKRYLÁT (EGMA).....	19
2.2 SMĚS PLA/EGMA.....	20
3 BIODEGRADACE POLYMERŮ.....	21
3.1 ABIOTICKÉ FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ BIODEGRADACI POLYMERŮ.....	23
3.1.1 Teplota.....	23
3.1.2 pH.....	23
3.1.3 Vlhkost	23
3.1.4 Nutrienty	24
3.1.5 Dostupnost kyslíku.....	24
3.2 BIODEGRADACE PLA KOMPOSTOVÁNÍM	24
3.2.1 Enzymatická degradace.....	25
3.2.2 Hydrolytická degradace	25
3.2.3 Mikrobiální degradace	26
3.3 BIODEGRADACE PHB KOMPOSTOVÁNÍM.....	26
3.3.1 Enzymatická degradace.....	27
3.3.2 Mikrobiální degradace	27
4 CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	28
PRAKTICKÁ ČÁST	29
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
5.1 PŘÍSTROJE A POMŮCKY	30
5.2 CHEMIKÁLIE.....	30
5.3 ROZTOKY	31
5.3.1 Minerální médium (MM)	31
5.3.2 Roztoky kalibrační řady	31

5.4	CHARAKTERISTIKA TESTOVANÝCH POLYMERŮ	32
5.4.1	Složení testovaných polymerů	34
5.4.2	Příprava polymerních fólií	35
6	METODY MĚŘENÍ.....	36
6.1	HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE (MS)	36
6.1.1	Příprava kompostu	36
6.1.2	Příprava bioreaktoru	37
6.1.3	Příprava pohřbívacích testů (Burial test).....	37
6.1.4	Dávkování vzorků fólií do bioreaktorů a burial testů	38
6.1.5	Stanovení produkce oxidu uhličitého.....	39
6.1.6	Kalibrační řada	39
6.2	ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH DAT BIODEGRADACE.....	40
6.3	SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE (SEM).....	42
6.4	DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (DSC).....	42
6.5	ŠIROKOUHLÁ RENTGENOVÁ DIFRAKCE (WAXD).....	43
6.6	TAHOVÁ ZKOUŠKA	44
6.7	ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH DAT TAHOVÉ ZKOUŠKY.....	45
7	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	46
7.1	STANOVENÍ BIODEGRADABILITY POLYMERNÍCH VZORKŮ.....	46
7.2	SROVNÁNÍ ABIOTICKÉ HYDROLÝZY V PROSTŘEDÍ PUFRU S BIODEGRADACÍ V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU U KOMPOZITNÍCH MATERIÁLŮ PLA A PHB	48
7.3	SNÍMKY ZE SKENOVACÍ ELEKTRONOVÉ MIKROSKOPIE (SEM).....	49
7.4	ZHODNOCENÍ ZMĚN TERMICKÝCH VLASTNOSTÍ POLYMERŮ POMOCÍ DIFERENČNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (DSC)	52
7.5	VYHODNOCENÍ STRUKTURY POLYMERNÍCH MATERIÁLŮ PROSTŘEDNICTVÍM ŠIROKOUHLÉ RENTGENOVÉ DIFRAKCE (WAXD).....	55
7.6	VÝSLEDKY TAHOVÉ ZKOUŠKY	61
	ZÁVĚR	62
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	64
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	71
	SEZNAM OBRÁZKŮ	72
	SEZNAM TABULEK.....	74

ÚVOD

V dnešní době je neustále skloňováno slovo plast, jakožto velmi užitečný materiál v běžných životech lidí. Jeho užitečné a téměř nenahraditelné vlastnosti jsou pro naše potřeby klíčové, a proto jsou hojně využívány v čím dál větší míře. K nezpochybnitelným vlastnostem patří hlavně jejich široké spektrum rezistence vůči mnoha vlivům, což má bohužel i negativní dopad na všechny složky životního prostředí. V důsledku toho je v posledních letech kladen důraz na polymery, které lze vyrábět z běžně dostupných a zároveň obnovitelných zdrojů. Hlavním důvodem, proč jsou tyto polymery studovány, je jejich relativně rychlá a jednoduchá biologická rozložitelnost v různých přírodních prostředích. Polymery, schopné v přírodě za určitých podmínek snadno degradovat nazýváme biodegradabilními. Biodegradace rovněž tedy biologický rozklad je proces, při kterém dochází k postupné degradaci polymeru, působením biologických činitelů společně s jejich enzymatickým aparátem a abiotických faktorů (vlhkost, teplota) daného prostředí. K nejvíce současně používaným biodegradabilním polymerům můžeme zařadit kyselinu polymléčnou (PLA), polyhydroxybutyrát (PHB) nebo polykaprolakton (PCL). V současnosti jsou biodegradabilní plasty používány v široké škále odvětví jako je lékařství, kde jsou používány například jako rozložitelné implantáty, zemědělství, ze kterých jsou vyráběny mulčovací fólie či potravinářství, jež nahrazují jednorázové obaly vyrobené z fosilních zdrojů.

Bakalářská práce je zaměřena na testování biodegradace a změn dosavadních vlastností fólií jednotlivých biodegradabilních polymerů a jejich kompozitních materiálů s příměsí komerčního kompatibilizátoru EGMA v biotickém prostředí kompostu.

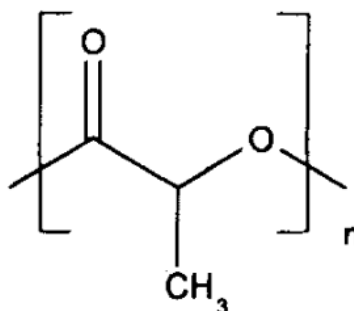
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIODEGRADABILNÍ POLYMERY

Biologicky rozložitelné polymery lze klasifikovat dle jejich výroby na přírodní či syntetické. Přírodní polymery jsou vyráběny z obnovitelných zdrojů neboli biomasy, nejčastěji pak z kukuřice, celulózy či cukrové třtiny. Naproti tomu jsou syntetické polymery vyráběny z fosilních zdrojů, tedy ze zdrojů neobnovitelných. Biodegradabilní polymery jsou schopny dosahovat obdobných mechanických vlastností, jimiž jsou například tvrdost, flexibilita a transparentnost, jako běžně komerčně vyráběné plasty z fosilních zdrojů. Při vhodných podmínkách okolního prostředí a zároveň při působení mikroorganismů se vyznačují schopností být biologicky rozložitelné. Biodegradačním procesem prostřednictvím mikrobiálního rozkladu jsou pak složité makromolekulární látky organického původu postupně rozkládány až na oxid uhličitý, vodu, anorganické látky a nově vzniklou biomasu. [1]

1.1 Kyselina polymléčná (PLA)

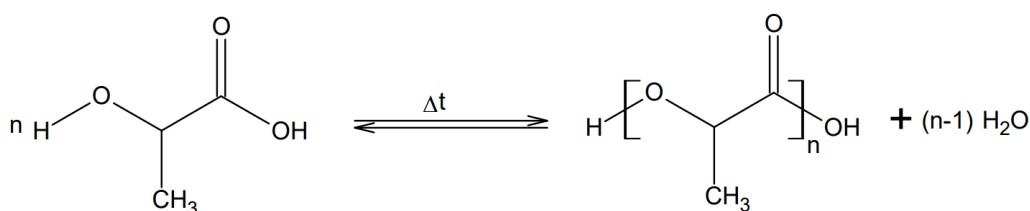
Kyselina polymléčná je jedním ze základních a nejvýznamnějších biodegradabilních polymerů vyráběných z obnovitelných zdrojů, a to převážně za pomoci fermentačních procesů kyseliny mléčné získávané ze zemědělských plodin. Jedná se o alifatický termoplastický polyester (viz **Obrázek č. 1**), který může být syntetizován z monomerů kyseliny mléčné (LA) nebo laktidu, což je cyklický dimer LA. Kyselina mléčná patří mezi opticky aktivní látky a je tedy schopna tvořit optické izomery kyseliny L- a D-mléčné. Rovněž existují tři izomery laktidu L-laktid, D-laktid a D-L-laktid, kdy při polymeraci L- a D-laktidu vznikají semikrystalické polymery poly-L-laktid (PLLA) a poly-D-laktid (PDLA), jejichž chemické vlastnosti se téměř neliší. Polymerací D-L-laktidu vzniká amorfní polymer poly-D-L-laktid (PDLLA). [2]



Obrázek č. 1: Chemická struktura kyseliny polymléčné (PLA) [5]

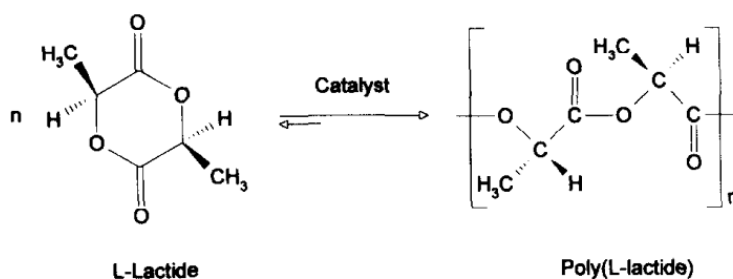
1.1.1 Syntéza PLA

Jedním ze způsobů výroby PLA může být přímá polykondenzace monomerů kyseliny mléčné, která však vede k tvorbě polymeru s nízkou molekulovou hmotností a nízkomolekulárního produktu vody (viz **Obrázek č. 2**). Abychom byli schopni syntetizovat vysokomolekulární PLA, je nutné vodu kontinuálně odstraňovat. Reakci je poté možno provádět bez přítomnosti katalyzátoru, avšak je nezbytné udržovat reakci pod určitou teplotní hranicí.



Obrázek č. 2: Syntéza PLA přímou polymerací LA [3]

Jedním z nejběžnějších komerčních způsobů získávání PLA je syntéza pomocí techniky ROP (*Ring-Opening Polymerization*), respektive polymerace cyklické monomerní jednotky L-laktidu s otevřením kruhu (viz **Obrázek č. 3**). Technika ROP je nezbytně závislá na katalyzátoru, který iniciuje samotnou polymeraci a napomáhá při otevření kruhu. S rostoucím technickým zdokonalováním syntézy PLA prostřednictvím techniky ROP roste i řada používaných katalyzátorů, jimiž jsou například komplexy různých kovů převážně hliníku, zinku, cínu či lanthanoidů. [3, 5]



Obrázek č. 3: Syntéza PLLA polymerací L-laktidu [5]

1.1.2 Vlastnosti PLA

Fyzikálně-mechanické vlastnosti PLA jsou závislé na optické čistotě, respektive na přítomnosti a poměru izomerů přítomných v polymerním řetězci, které se ve struktuře charakteristicky uplatňují. Vlastnosti polymeru se rovněž odvíjí od teploty zpracování a molekulové hmotnosti polymeru.

Jestliže PLA obsahuje více než 93 % L-laktidu ve své struktuře, je považována za semikrystalický materiál se značným strukturním uspořádáním, pokud však obsahuje méně než 93 % L-laktidu, je považována za amorfní materiál. Toto je důvod, proč je poměr L- a D laktidu při rozhodování o povaze polymeru tak důležitý. V závislosti na výše zmíněných proměnných se teplota skelného přechodu (T_g) PLA pohybuje v teplotním rozmezí 50–80 °C a její teplota tání (T_m) v intervalu 130–180 °C. V případě, že se struktura PLA uplatňuje ve zcela čisté formě obsahující buď L-laktid nebo pouze D-laktid, tak tepelné vlastnosti nabývají těchto hodnot $T_g = 60$ °C a $T_m = 180$ °C. Závislost optické čistoty PLA s vyšším obsahem L-laktidu ve struktuře polymeru vykazuje vyšší hodnoty (T_g) než v porovnání se stejným obsahem D-laktidu v materiálu. Naopak s klesajícím obsahem L-laktidu klesá její krystalinita a teplota tání. Teplota skelného přechodu se rovněž zvyšuje s větší molekulovou hmotností polymeru, avšak její krystalinita klesá v důsledku tvorby dlouhých řetězců. PLA ve srovnání s komerčně užívanými plasty má poměrně nízkou teplotu tání, a naopak vysokou teplotu skelného přechodu.

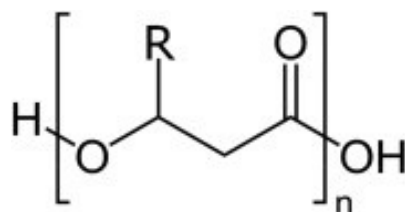
Vykazuje podobné mechanické vlastnosti jako komerčně užívané plasty. Například se jedná o křehký materiál s nízkým prodloužením při přetržení (4–7 %), což odpovídá taktéž vlastnostem polystyrenu (PS). PLA v porovnání s polyethylentereftalátem (PET) vykazuje srovnatelné vlastnosti pevnosti v tahu při přetržení (59 MPa) a modulu pružnosti v tahu (3,8 GPa), jímž převyšují i polyvinylchlorid (PVC) a polypropylen (PP). Mezi další vlastnosti PLA také patří bariérová propustnost, proto je tento polymer hojně využíván v potravinářském průmyslu pro balení potravin. Avšak studie, kterou provedli Lehermeier et al., dospěla k závěru, že propustnost PLA prokazuje vyšší hodnoty propustnosti než u PET, což poukazuje na fakt, že PET má lepší bariérové vlastnosti než semikrystalická PLA. Zlepšením bariérových vlastností PLA se dosahuje prostřednictvím zvýšení stupně krystalinity, která zvyšuje kompaktnost materiálu a tím znesnadňuje průchod molekulám plynu. Důležitým parametrem u obalových materiálů, který je taktéž nutno hodnotit, je propustnost vody. Zásadou methylových skupin ve struktuře polymeru společně s vlivem stérického stínění těchto postranních skupin získává PLA hydrofóbnější charakter, což ji činí mnohem více odolným materiálem vůči abiotické hydrolýze. Při porovnání PLA s biodegradabilními polymery je parametr propustnosti vody více než kvalitní. Nicméně v porovnání například s poly-3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerátem (PHBV) vykazuje horší odolnost vůči vodě. [33, 34]

1.1.3 Využití PLA

PLA se v posledních letech stala jedním z nejrozšířenějších a nejpoužívanějších biodegradabilních polymerů v průmyslu. Nejhojněji se využívá v potravinářském průmyslu, jakožto potravinové obaly, jednorázové přístroje či kelímky. V obalovém průmyslu tak dokázala úspěšně nahradit komerčně využívané plasty jako je polyethylen (PE), PP, PET a PS. Dále je bohatě využívána v biomedicíně, a to konkrétně v tkáňovém inženýrství zásluhou své biodegradability, biokompatibility s lidskými tkáněmi nebo tepelné plasticity. Příkladem pak může být zavedení PLLA skeletu do poškozené lidské tkáně, na kterém jsou schopny buňky přirozeně regenerovat i přes průběžný degradační proces skeletu prostřednictvím hydrolyzy. Uplatnění tudíž nachází i jako různé implantáty či rozložitelné stehy. Za zmínku také stojí zemědělský průmysl, kde se používá na výrobu mulčovací fólie. Využití tohoto polymeru s postupujícím zdokonalováním technologií rapidně vzrůstá. Příkladem může být tvorba směsí PLA s dalšími polyestery (PHB), kompatibilizátory (EGMA) nebo makromolekulárními látkami (škrobem), což vede ke zlepšení mechanických vlastností polymeru než u samotné PLA. [3]

1.2 Polyhydroxybutyrát (PHB)

Polyhydroxybutyrát je dalším velice významným biodegradabilním polymerem, který lze také vyrábět z obnovitelných zdrojů. PHB je jedním z nejrozšířenějších polymerů spadajících do skupiny PHA (polyhydroxyalkanoáty). Pro výrobu PHB jsou nejčastěji využívány suroviny bohaté na uhlík, jako je například glukóza, rostlinné oleje či běžné produkty ze zemědělství, které jsou rovněž přeměňovány prostřednictvím fermentačních procesů. Jedná se o přírodní termoplastický polyester (viz **Obrázek č. 4**), který však lze, ve srovnání s PLA, biosyntetizovat pomocí některých mikroorganismů, jedná se tak o přirozený metabolit živých organismů. Struktura tohoto polymeru je převážně krystalická, díky jeho alifatické struktuře, která však zčásti obsahuje i amorfní fázi. [2, 12]

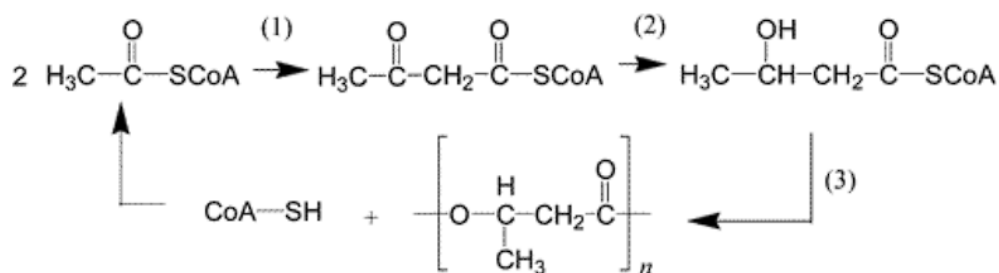


Obrázek č. 4: Chemická struktura polyhydroxybutyrátu (PHB) [2]

1.2.1 Syntéza PHB

Jednou ze tří nejpoužívanějších procesů biosyntézy PHB je ta, která vychází z přeměny acetyl-CoA prostřednictvím tří enzymatických přeměn. PHB je obvykle biosyntetizován jakožto sekundární produkt v metabolické dráze mikroorganismů a to tehdy, kdy jsou buňky vystaveny nepříznivým podmínkám. Biosyntetická cesta PHB je značně regulována enzymem β -ketothiolázou, jejíž aktivita je ovlivňována koncentrací acetyl-CoA a volného koenzymu A v cytoplasmě, kde samotný proces probíhá. Stanier, Wilkinson a jejich spolupracovníci zjistili, že PHB objevující se ve formě granulí v bakteriích slouží jako intracelulární potravní a energetická zásoba. Taktéž zjistili, že je tento polymer produkován buňkou v okamžiku nedostatku nutrientů a zároveň v přebytku uhlíkatého zdroje. Biosyntézou zmíněného polymeru, tak dokáží mikroorganismy předejít nepříznivým podmínkám při nedostatku jakéhokoliv nutrientu. Z důvodu nedostatku nutrientů (obvykle fosforu, dusíku či kyslíku) dochází k iniciaci a současně přesunu acetyl-CoA z citrátového cyklu do biosyntetického cyklu PHB.

Biosyntetický cyklus PHB prochází třemi enzymatickými reakcemi (viz **Obrázek č. 5**). Při první reakci, která je katalyzována β -ketothiolázou (1), dochází k dimerizaci dvou molekul acetyl-CoA na acetoacetyl-CoA. Následně zmíněný meziprodukt je enzymaticky redukován prostřednictvím acetoacetyl-CoA reduktázy (2) na β -hydroxybutyryl-CoA. Výslednou reakcí je polymerace β -hydroxybutyryl-CoA až na požadované PHB za pomoci PHB polymerázy (3) a za současného uvolňování volného koenzymu A, který se navrácí na počátek cyklu jakožto reaktant. [10, 11]



Obrázek č. 5: Biosyntetický cyklus PHB [10]

1.2.2 Vlastnosti PHB

Vlastnosti PHB jsou charakterizovány jeho strukturou, převážně pak methylovou (CH_3) a esterovou (COOR) skupinou, které jsou zodpovědné za termoplasticitu, hydrofobní chování, vysokou krystalinitu a jeho křehkost. K nejčastěji sledovaným vlastnostem PHB patří teplota degradace (T_d), při které materiál začíná degradovat. Teplota skelného přechodu ($T_g = 5\text{--}9\text{ }^\circ\text{C}$) u amorfni fáze, jež vyjadřuje úzké rozmezí teplot, při kterém polymer přechází z tuhé (sklovité) formy do formy měkké (kaučukovité) je důvodem, proč je teplota stanovována. Stejně tak teplota tání ($T_m = 165\text{--}175\text{ }^\circ\text{C}$) u krystalické fáze, jež vyjadřuje teplotu, při které krystalická látka přechází do kapalného skupenství. Zmíněné teploty lze změřit pomocí analytické metody diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). PHB vykazuje vysokou pevnost v tahu [20–40 MPa], modul pružnosti v tahu [3–3,5 GPa] či vysokou teplotu tání, což jsou hodnoty velmi blízké vlastnostem u průmyslově využívaných plastů jako je PP či PET. S tím souvisí i vlastnost prodloužení při přetržení [5–10 %], jež vyjadřuje poměr mezi prodlouženou délkou a počáteční délkou polymeru po přetržení, která je taktéž u polymeru často měřena.

Nevýhodou PHB je, že má úzké možnosti zpracovatelnosti, jelikož má tendenci degradovat při teplotách v oblasti bodu tání. Tento nepříznivý faktor je zapříčiněn vysokým stupněm krystalinity [50–60 %], což je další důležitou vlastností polymeru, která vyjadřuje podíl krystalické fáze ve struktuře polymeru. Mezi aplikovatelné výhody v potravinářském průmyslu jednoznačně patří jeho bariérová propustnost fólií, která je mnohdy kvalitnější v porovnání se synteticky běžně používanými polymery jako je PE a PP, taktéž v porovnání s PET a PVC vykazující podobně dobré bariérové vlastnosti. Pokud bychom porovnávali vlastnosti PHB s vlastnostmi PLA v průmyslové praxi, došli bychom k závěru, že některé mechanické vlastnosti PHB jako je modul pružnosti v tahu (Youngův model) nebo odolnost vůči vlhkosti jsou lepší než u PLA. Naproti tomu je PHB křehčím a tepelně méně stabilním polymerem než PLA. [2, 12, 13]

1.2.3 Využití PHB

PHB patří mezi hojně využívaný materiál v potravinářském průmyslu, a to převážně díky kvalitnějším bariérovým vlastnostem obalů a kapacitám zpracovatelnosti ve srovnání s ostatními biologicky odbouratelnými polymery. Z toho vyplývá, že PHB nejčastěji nachází uplatnění při obalových aplikacích potravin. Obaly zpracované z biokompozitu na bázi PHB by měly být schopny prodloužit trvanlivost potravin, zlepšit jejich kvalitu a zároveň snížit odpad z obalů.

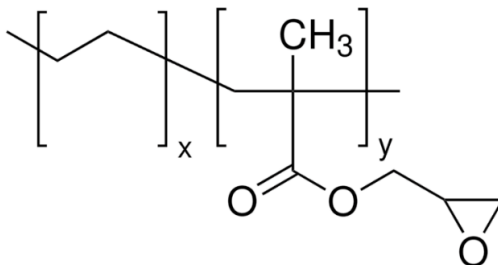
Konkrétním příkladem aplikace PHB jsou obvykle jednorázové obaly a přístroje. Studie poukazují na možné aplikace obalů z PHB na místo použití konvenčního PP, a to konkrétně při balení potravin s vysokým obsahem tuku, jako je například majonéza či smetanový sýr. PHB nachází taktéž rozsáhlé využití v biomedicínských aplikacích, konkrétně pak díky své biokompatibilitě s lidskými tkáněmi. Používány jsou pak jako biologicky odbouratelné kostní implantáty, účinné nosiče léků uvolňované v cílovém místě, lze je taktéž použít na výrobu rozložitelných stehů a stentů či jako vhodný skelet pro růst buněk a tkání v tkáňovém inženýrství. [2, 22, 23]

2 KOMPATIBILIZÁTORY

Jedná se o látky, které svou přítomností napomáhají ke kompatibilizaci neboli vzájemné slučitelnosti dvou nemísitelných polymerů. Jelikož většina polymerů, které jsou schopny vykazovat spolehlivé vlastnosti a v kombinaci s ostatními polymery by mohly mít ještě výhodnější charakteristiky, jsou mezi sebou navzájem nemísitelné. Je však možné tuto nízkou kompatibilitu polymerů zlepšit právě kompatibilizací prostřednictvím specifických kompatibilizačních činidel. Mezi nejpoužívanější kompatibilizátory patří různé kopolymery, polyesterové elastomery, aditiva, blokové kopolymery nebo roubované kopolymery. Důvodem zdokonalení mísitelnosti dvou nemísitelných polymerů je zlepšení jejich fyzikálně-mechanických vlastností, jako je flexibilita, elasticita či pevnost. [35]

2.1 Ethylen-glycidylmethakrylát (EGMA)

Ethylen-glycidylmethakrylát patří mezi komerčně využívané kompatibilizátory (viz **Obrázek č. 6**), respektive se jedná o glycidylesterový polymer, který je používán jako reaktivní aditivum v polymerizačních reakcích a umožňuje schopnost mísení nemísitelných polymerů. Jedná se o vysokomolekulární kopolymer, který však není biologicky rozložitelný, což poukazuje na fakt, že se nejedná o nejlépe zvolenou variantu kompatibilizátoru z hlediska vlivu na životní prostředí. Vzhledem k vysoké reaktivitě methakrylátových a epoxidových skupin ve struktuře EGMA, dochází k polymerizační reakci nebo zesíťování polymerů. Pokud přidáme kompatibilizátor EGMA do polymerů zvýšíme tak jejich stabilitu, pevnost a mechanické vlastnosti. Nejčastěji je využíván pro výrobu příznivějších směsí polymerů, jako jsou termoplasty či elastomery s charakteristickými vlastnostmi. [35]

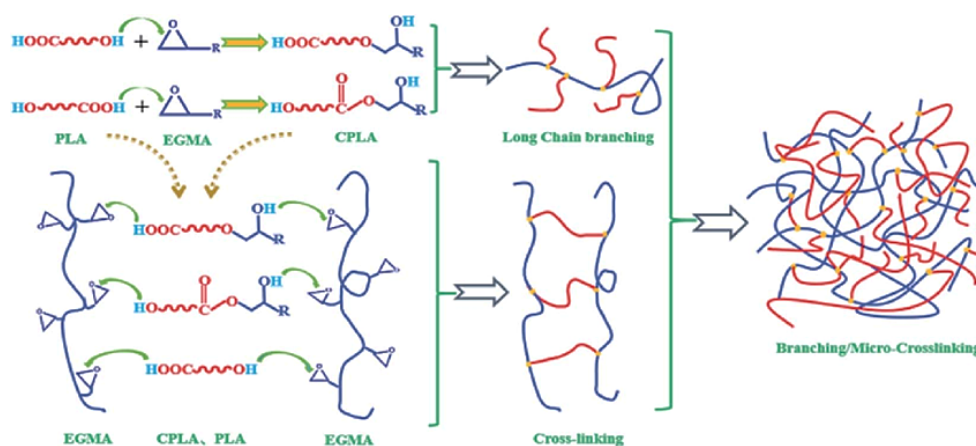


Obrázek č. 6: Chemická struktura kompatibilizátoru EGMA [37]

2.2 Směs PLA/EGMA

Glycidylesterové polymery jsou přimíchávány jakožto efektivní kompatibilizéry do biologicky rozložitelného PLA, aby oddálily její rozklad, zvýšily kompatibilitu vzniklého materiálu a zpevnily mechanické vlastnosti polymeru. Příprava této směsi probíhá míšením těchto dvou polymerů v tavenině, kde dochází k chemickým reakcím na fázovém rozhraní směsi a vznikají tak blokové nebo roubované kopolymery, které formují stabilní fázové struktury a mimo jiné zvyšují i její kompatibilitu. Modifikovat PLA lze také zvýšením její krystalinity prostřednictvím metody temperace, což obecně zlepší pevnost materiálu a jiné mechanické vlastnosti.

Stabilizaci materiálu zajišťuje vysoká reaktivita epoxidových skupin, které jsou schopny reagovat s hydroxylovou, aminovou, karboxylovou nebo anhydridovou skupinou, což poukazuje na potenciální vznik kopolymerů či zesíťovaných polymerů. Reakci PLA s EGMA je možno pozorovat na obrázku (viz **Obrázek č. 7**).



Obrázek č. 7: Reakce PLA s EGMA [36]

Wang a kol. připravili směs PLA/EGMA (80/20) pomocí reaktivního míšení, kterou následně prostřednictvím temperace mnohonásobně zkrystalizovali za vzniku tepelně odolnější PLA. Temperace probíhala při teplotě 80 °C po dobu 8 hodin. Výsledná krystalinita PLA sahala do výše kolem 25 %, tažnost při přetržení byla 120 % a pevnost v tahu vyšla přibližně 40 MPa.

Studie Oyama a kol. zjistila, že smícháním PLA s EGMA (80/20) vede k dramatickým změnám mechanických vlastností PLA. Stejně jako Wang a kol., využili metody temperace. Po 2,5 hodinách temperace při teplotě 90 °C, dospěli k výsledkům, kdy se krystalinita směsi zvýšila na 40 %, tažnost při přetržení dosahovala více než 200 % a pevnost v tahu vyšla 40 MPa. [35]

3 BIODEGRADACE POLYMERŮ

Biodegradace, též biologický rozklad, je proces, při kterém dochází k postupné degradaci polymerních řetězců komplexních organických látek, a to až na nejelementárnější sloučeniny těchto řetězců, převážně působením biologických činitelů a abiotických faktorů daného prostředí. Degradace polymerů je obvykle vyvolaná štěpením polymerních vazeb v polymerním řetězci, a to díky enzymatickému aparátu mikroorganismů, zvláště pak specifických bakterií či hub, mezi které spadají především plísně a kvasinky. Dekompozitoři jsou mikroorganismy, které jsou schopny fragmentace makromolekulárních látek na látky nízkomolekulární, jež mohou být metabolicky využívány nebo dále přeměňovány až na nezávadné produkty, kterými zpravidla bývají H_2O , CO_2 , minerály a nově vzniklá biomasa. Mezi látky, které jsou mikroby schopny dále využívat, jakožto zdroj energie pro svou výstavbu a růst, patří především uhlíkaté produkty. [6]

Biodegradace je komplexní proces skládající se ze čtyř základních stupňů: biodeteriorace, biofragmentace, asimilace a mineralizace.

Biodeteriorace:

Biodeteriorace je souhrnné působení různých mikroorganismů nebo abiotických faktorů (vlhkost, teplota) vedoucích k fragmentaci makromolekulárních látek na látky nízkomolekulární. Jedná se tak o povrchovou degradaci, při které dochází ke změnám mechanických, fyzikálních a chemických vlastností polymeru. Jak přítomnost mikrobů, tak i působící abiotické faktory mohou způsobovat viditelné deformace ve formě prasklin, rýh či děr. Důsledkem tohoto procesu je neúplné odkrytí polymerních řetězců, které jsou však snadněji dostupné biofragmentaci.

Biofragmentace:

Biofragmentace je proces, při kterém jsou prostřednictvím mikroorganismů vylučovány extracelulární enzymy, jež mají katalytický účinek projevující se úbytkem molekulové hmotnosti polymeru. Enzymy způsobují degradaci polymerních řetězců až do samotného vzniku ve vodě rozpustných oligomerů a monomerů.

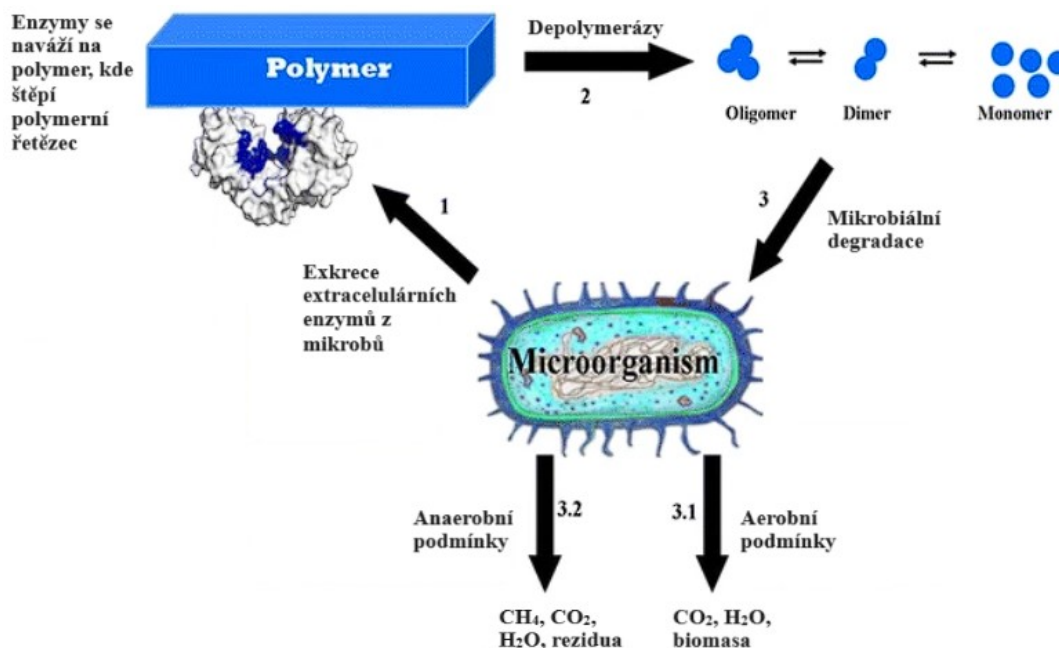
Asimilace:

Následující fází je asimilace, která probíhá v cytoplazmě buněk. Hydrofilní oligomery a monomery přestupují skrze cytoplazmatickou membránu do cytoplazmy, kde jsou metabolizovány za vzniku energie, biomasy a dalších metabolitů. Z toho vyplývá, že mikroby využívají polymery primárně jakožto zdroj uhlíku nebo dusíku, co však budou spotřebovávat se bezprostředně odvíjí od toho, zdali se jedná o aerobní či anaerobní proces. K asimilaci dochází pomocí tří katabolických cest, jimiž jsou aerobní respirace, anaerobní respirace či fermentace, při kterých jsou nízkomolekulární látky absorbovány uvnitř buněk. Zmíněná absorpce je zodpovědná za produkci energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP), jejímž účinkem je možné konstruovat strukturální prvky buňky, což zároveň umožňuje růst a reprodukci mikroorganismů.

Mineralizace:

Finální fází je mineralizace, při které v důsledku metabolických procesů mikrobů dochází k přeměně organického materiálu na minerály ve formě vylučovaných metabolitů a jednoduchých molekul, jež mohou být absorbovány buď prostředím nebo mikroorganismy. Zpravidla se během aerobní biodegradace produkuje CO_2 a H_2O , naopak při anaerobní degradaci vzniká CO_2 , H_2O a CH_4 . [20]

Schéma popisující proces biodegradace polymerů je znázorněno na obrázku (viz **Obrázek č. 8**).



Obrázek č. 8: Schéma biodegradace polymerů [19]

3.1 Abiotické faktory ovlivňující biodegradaci polymerů

Degradační proces je závislý na mnoha fyzikálně-chemických podmínkách, které jsou určovány podle toho, v jakém prostředí se daný materiál nachází, které druhy mikroorganismů se v něm vyskytují či jaké jednotlivé fyzikálně-mechanické vlastnosti je schopen daný polymer vykazovat. [6]

3.1.1 Teplota

Teplota je zásadním faktorem ovlivňujícím jak druhovou rozmanitost mikroorganismů, tak i schopnost polymerů degradovat komplexní makromolekulární látky. Obecně lze říci, že ve většině případů platí, že při zvýšené teplotě (58 °C) probíhají rozkladné procesy snadněji, jelikož teplota ovlivňuje fyzikálně-mechanické vlastnosti polymeru a rovněž i aktivitu mikrobiálních enzymů, což vede k lepší dostupnosti mikrobům. [8, 9]

3.1.2 pH

Biodegradaci polymerů může značně ovlivňovat příliš vysoké nebo příliš nízké pH prostředí, které má za důsledek růst, reprodukci a taktéž druhovou rozmanitost mikroorganismů. Výkyvem tohoto významně senzibilního parametru může docházet, buď ke zrychlení či k absolutnímu zastavení biodegradace organické látky. Existuje spousta mikroorganismů, které jsou schopny reprodukce a růstu v širokém rozsahu pH, oproti tomu existují mikroby, které jsou schopny těchto životních cyklů jen v úzkém rozsahu pH. Optimální rozsah pH pro většinu mikroorganismů se pohybuje v rozmezí středních hodnot pH. [7, 8, 9]

3.1.3 Vlhkost

Dalším významným faktorem při biodegradaci je vlhkost daného prostředí, která má souvislost s růstem a reprodukcí různých mikroorganismů, které jsou účinné při rozkladu polymerů. Voda přítomná v daném prostředí také napomáhá k degradaci polymerů a přítomných nutrientů využívaných mikrobem. Optimální rozsah vlhkosti pro průběh biodegradace se pohybuje v rozmezí mezi 30-90 %. [7, 8, 9]

3.1.4 Nutrienty

Biodegradace je značně ovlivněna přítomností nutrientů, které přímo podporují růst a aktivitu mikroorganismů, což vede k jejich reprodukci a zvýšení jejich metabolické účinnosti při degradaci organických látek. Nutrienty jsou nejčastěji uměle dodávány ve formě dusíkatých, fosforečných nebo draselných látek. [8, 9]

3.1.5 Dostupnost kyslíku

Biologický rozklad může probíhat buď v anaerobních či aerobních podmínkách. Pro anaerobní mikroorganismy je koncentrace kyslíku nežádoucí až toxická, oproti tomu aerobní mikroby jsou na určité koncentrace kyslíku značně závislé. Zvýšením koncentrace kyslíku dochází taktéž ke zvýšení aktivity aerobních mikroorganismů, což je přímo úměrné k účinnosti degradace polymeru. Obecně lze říci, že vzduch obohacuje přírodní prostředí o kyslík, kdy proces obohacování může probíhat prostřednictvím přirozeného či umělého vhánění vzduchu. [8]

3.2 Biodegradace PLA kompostováním

Kompostování PLA patří mezi prokazatelně efektivní možnosti biodegradace. Faktem však je, že k účinnému rozkladu PLA v prostředí kompostu dochází pouze při specificky definovaných podmínkách. K efektivnímu procesu kompostování a navození optimálních podmínek biodegradace je dosahováno při zvýšené teplotě (kolem 60 °C), vysoké vlhkosti (cca 50 %) a za přítomnosti dostatečného množství kyslíku, což podmiňuje i větší reprodukci a aktivitu termofilních mikroorganismů společně s jejich specifickým enzymatickým aparátem. V porovnání s různými prostředími, jako je půda či mořská voda, jsou tyto podmínky v kompostu ideálnější pro efektivní rozklad tohoto polymeru. Biodegradace polymeru závisí taktéž na jejich chemické struktuře a schopnosti esterových vazeb podléhat hydrolytickým reakcím.

Biodegradace PLA probíhá třífázovým mechanismem, počínaje hydrolyzou esterových vazeb v hlavním řetězci, následuje degradace polymeru prostřednictvím extracelulárních enzymů sekretovaných mikroorganismy až po asimilaci vzniklých oligomerních a monomerních jednotek či jejich metabolické využití mikroorganismy. [32]

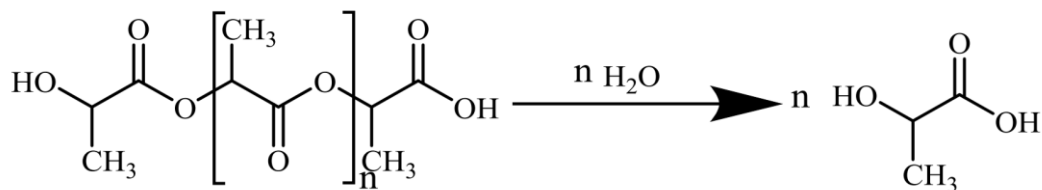
Patřičné fáze biodegradace PLA jsou podrobně, jedna po druhé, objasněny v následujícím sledu odstavců.

3.2.1 Enzymatická degradace

Prvním krokem v procesu biodegradace PLA obvykle bývá enzymatická degradace, která zahrnuje nejprve adsorpci sekretovaného extracelulárního enzymu na povrch PLA. Poté co dojde k narušení povrchu polymeru enzymy, nejčastěji ve formě trhlin nebo zvětšením pórů, započne krok hydrolytické degradace esterových vazeb. Nejdůležitějšími faktory biodegradace PLA jsou přítomnost vhodných mikroorganismů a ideální vnější podmínky prostředí. Maximální aktivita enzymů je ovlivněna jednak podmínkami prostředí, nejčastěji pak teplotou a pH, a taktéž strukturou řetězce či krystalinitou polymeru. Hlavními enzymy hrající důležitou roli při enzymatické degradaci PLA jsou převážně mikrobiálního původu, mezi které patří hned několik enzymů, počínaje esterázami, kulinázami, lipázami a převážně serinovými proteázami. Serinové proteázy, produkované aktinobakteriemi rodu *Amycolatopsis* sp., se osvědčily jako nejdůležitější hydrolytické enzymy při biodegradaci PLA. K výhodám enzymatické degradace patří převážně vysoká specifická aktivita enzymů a nízké reakční podmínky. [15, 18]

3.2.2 Hydrolytická degradace

Následujícím krokem v procesu biodegradace PLA je hydrolýza, při které dochází v okamžiku, kdy je PLA vystavena vlhkosti. Proces hydrolýzy PLA nastává nejprve difúzí molekul vody do amorfních struktur polymeru, které jsou tak dříve hydrolyzovány než krystalické fáze. Působením vody je iniciován hydrolytický rozklad alifatického řetězce, respektive tak dochází ke štěpení esterových vazeb hlavního řetězce, což vede ke snížení molekulové hmotnosti a tvorbě rozpustných oligomerů a monomerů (viz **Obrázek č. 9**). Následně jsou degradovány i vnější vrstvy krystalické struktury polymeru. Dalším krokem bývá obvykle katalytická reakce prostřednictvím mikrobiálních enzymů, která vede k postupné hydrolýze oligomerů až na monomerní jednotky LA. Mikroby metabolicky asimilují monomery kyseliny mléčné, kterou využívají jako zdroj energie a zároveň ji přeměňují postupně až na vodu a oxid uhličitý. [15, 16, 17]



Obrázek č. 9: Schéma hydrolýzy PLA [14]

3.2.3 Mikrobiální degradace

Proces mikrobiální degradace nastává po úspěšné hydrolyze vysokomolekulární PLA. Účelem mikrobiální degradace je přeměna vzniklých nízkomolekulárních oligomerů či monomerů na nezávadné produkty (CO_2 , H_2O) nebo na dále využitelné formy sloučenin. Nejzásadnějším krokem při degradaci PLA je exkrece extracelulárních depolymeráz, které započnou náhodné štěpení intramolekulárních esterových vazeb a dochází tak k tvorbě oligomerů a monomerů s nízkou molekulovou hmotností. Mikroorganismy mohou vzniklé nízkomolekulární látky asimilovat skrze mikrobiální membrány do cytoplazmy, kde jsou dále metabolizovány za vzniku energie, biomasy a metabolitů. Relativně bohatá mikrobiální aktivita přítomná v prostředí (např. bakterie, houby) je pro degradaci PLA velice žádoucím faktorem. Některé studie uvádějí, že přítomnost bakterií rodu *Actinomyces* zvyšuje rychlost biodegradace PLA. Zásadní okolností při biodegradaci PLA je, že ve srovnání s PHB a jinými biologicky odbouratelnými polymery je PLA mnohem více rezistentní vůči mikrobiálnímu napadení. [4, 21]

3.3 Biodegradace PHB kompostováním

Kompostování může probíhat jen za specificky definovaných podmínek, stejně jako tomu bylo u PLA. Kompostování PHB při teplotě vyšší než $50\text{ }^\circ\text{C}$ je však účinnější a rychlejší metodu biodegradace PHB ve srovnání s degradací v prostředí půdy či kompostu při teplotách $25\text{ }^\circ\text{C}$ nebo $37\text{ }^\circ\text{C}$. Nejzásadnějšími faktory, ovlivňující biologickou rozložitelnost PHB, jsou teplota a přítomnost mikroorganismů. Nutné je taktéž zmínit, že PHB je méně náchylné k abiotické hydrolyze než PLA, a proto tento proces prakticky neprobíhá. Důvodem, proč je PHB pomaleji biologicky rozložitelné v prostředí s nižší teplotou je to, že vyšší teplota ovlivňuje aktivitu termofilních mikroorganismů a jejich enzymů, což je důležitým faktorem při degradaci polymeru. [32, 38]

Biodegradace PHB probíhá dvoufázovým mechanismem, kdy je nejdříve zahájena degradace polymeru pomocí enzymů sekretovaných mikroorganismy a následně jsou monomerní a oligomerní jednotky asimilovány nebo metabolicky využity mikroorganismy.

3.3.1 Enzymatická degradace

Nejdříve je proveden krok enzymatické degradace, který zahrnuje adsorpci extracelulárních enzymů, jež jsou sekretovány mikroorganismy na povrch PHB. Enzymy se navážou na polymerní řetězec, který postupně štěpí za vzniku nízkomolekulárních sloučenin. K hlavním enzymům hrající důležitou roli při enzymatické degradaci PHB patří extracelulární PHB-depolymerázy, které jsou schopny hydrolyzovat esterové vazby až na oligomerní či monomerní jednotky. Většinu PHB-depolymeráz produkuje velké množství mikroorganismů patřících k rodům *Alcaligenes*, *Comamonas* a *Pseudomonas*. Dalšími enzymy podporující degradaci polymeru jsou například serinové hydrolázy, lipázy nebo esterázy. PHB je téměř odolné vůči hydrolytické degradaci, a to z důvodu enzymatické degradace, která je až o tři řády účinnější a rychlejší procesem při biodegradaci PHB. Ve srovnání s PLA je PHB mnohem náchylnější na enzymatickou degradaci. [32, 39]

3.3.2 Mikrobiální degradace

Finálním krokem biodegradace je mikrobiální degradace, která má za účel asimilaci nebo přeměnu heterogenních organických sloučenin prostřednictvím různorodých mikrobiálních společenstev na méně škodlivé či dále využitelné formy sloučenin. Nejdůležitějším krokem při biodegradaci PHB je exkrece extracelulárních PHB-depolymeráz, které započnou náhodné štěpení vysokomolekulární sloučeniny, respektive esterových vazeb, a dochází tak k tvorbě oligomerů a monomerů s nízkou molekulovou hmotností. Mikroorganismy jsou schopny tyto nízkomolekulární látky asimilovat prostřednictvím mikrobiálních membrán až do cytoplazmy, kde jsou dále metabolizovány za vzniku energie, nezávadných produktů (CO_2 , H_2O) a nové biomasy. Mezi mikroorganismy hrající důležitou roli při biodegradaci patří mnoho rodů bakterií, jakožto například *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Actinomycetes*, *Mycobacterium* či *Azotobacter*. Taktéž významné jsou houby podílející se na procesu biodegradace, zejména druhy rodů *Sporotrichum*, *Thermomyces*, *Penicillium*, *Paecilomyces* nebo *Cladosporium*. [39]

4 CÍL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce je ověřit biodegradaci specifických biologicky odbouratelných polymerů působením biologických činitelů a abiotických faktorů v prostředí kompostu při teplotě 58 °C. Biodegradace je prováděna u dílčích polymerů PLA a PHB, jejich kompozitních materiálů s příměsí komerčního kompatibilizátoru EGMA, a současně i u směsi těchto dvou polymerů s příměsí kompatibilizátoru EGMA. Dále pak porovnat biotickou degradaci těchto studovaných materiálů s abiotickou degradací, kterou prováděl Bc. Marek Mikeska v letech 2020/2021. Následně jsou sledovány strukturní změny jednotlivých materiálů před a po biodegradaci, a to prostřednictvím skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Poté je proveden test pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC), skrze kterou jsou sledovány termické vlastnosti studovaných materiálů při průchodu určitými teplotami. Prostřednictvím širokoúhlé rentgenové difrakce (WAXD) jsou studovány strukturní změny související s podílem krystalické fáze u polymerů před a po jejich biodegradaci. Na závěr je provedena tahová zkouška dílčích polymerů, skrze kterou je vypočítán modul pružnosti v tahu.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy (KERN ABJ 220-4NM, Německo)
- Laboratorní předvážky (KERN WEW 1500-2M, Německo)
- Elektrická sušárna (UM 100 MEMMERT, Německo)
- Vakuová sušárna (MEMMERT UFP800, Německo)
- Skenovací elektronový mikroskop (VEGA LMU Tescan, Česká republika)
- Diferenční skenovací kalorimetr (DSC1 METTLER Toledo, Austrálie)
- Hmotnostní spektrometr (HIDEN HPR-40 DSA, Anglie)
- Automatizovaný rentgenový difraktometr (XRDynamic 500 Anton Paar, Rakousko)
- Trhací stroj (DMA 1 METTLER Toledo, Německo)
- Pro vzdušňovací nádoby
- Biometrické láhve 580 ml se šroubovacími uzávěry a uzávěry se septy
- Běžně používané laboratorní sklo a pomůcky

5.2 Chemikálie

$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	dihydrát chloridu vápenatého
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	hexahydrát síranu amonno-železnatého
KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu hořečnatého
NaCl	chlorid sodný
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného
NH_4Cl	chlorid amonný
KHCO_3	hydrogenuhličitan vápenatý
HCl	kyselina chlorovodíková
Prášková mikrokrytalická celulóza	

5.3 Roztoky

5.3.1 Minerální médium (MM)

Celkem bylo připraveno 1000 ml minerálního média, které bylo dávkováno, dle níže uvedeného postupu v následujícím úseku „Metody měření“, do jednotlivých biometrických láhví a pohřbívacích testů. Minerální médium slouží jako zdroj nutrientů pro přítomné bakterie a taktéž jako zvlhčovač prostředí.

Složení:

Roztok $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (1 g/l)	10 ml
Roztok $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (3 g/l)	10 ml
Roztok KH_2PO_4 (9,07 g/l)	20 ml
Roztok $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (10 g/l)	10 ml
Roztok NaCl (50 g/l)	10 ml
Roztok $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (23,90 g/l)	80 ml
Roztok NH_4Cl (30 g/l)	10 ml
Roztok stopových prvků	2,4 ml

5.3.2 Roztoky kalibrační řady

Roztoky byly využívány ke zhotovení kalibračních řad. Jakým způsobem se přesněji využívaly je popsáno v úseku „Metody měření“.

Roztok KHCO_3 (11 g/l)	100 ml
Roztok HCl (88,7 ml/l)	80 ml

5.4 Charakteristika testovaných polymerů

Vzorky polymerů a polymerních směsí, ze kterých byly zhotoveny fólie a které podlely biodegradabilnímu testu, jsou podrobněji diskutovány níže.

PLA

Polymer kyseliny polymléčné – Ingeo biopolymer 2003D zpracovaný ve formě granulí, byl poskytnut společností NatureWorks LLC, USA.

Běžně uváděná data mechanických vlastností zmíněného materiálu jsou shrnuta v následující tabulce (viz *Tabulka č. 1*). Uvedené hodnoty však nelze vykládat jako specifikace. [27]

Tabulka č. 1: Mechanické vlastnosti PLA (Ingeo biopolymer 2003D)

Vlastnosti	PLA
Pevnost v tahu při přetržení [MPa]	53
Modul pružnosti v tahu [GPa]	3,5
Prodloužení při přetržení [%]	6

Tepelné vlastnosti charakteristické pro tento polymerní materiál jsou uvedeny v tabulce (viz *Tabulka č. 2*), a které poskytují důležité informace o jeho struktuře a chování při různých teplotách. Jedná se o výchozí teploty, při kterých by se dané vlastnosti měly začít projevovat, pokud se neprojeví je nutné teplotu optimalizovat, uvádí výrobce. [27]

Tabulka č. 2: Tepelné vlastnosti při zpracování PLA (Ingeo biopolymer 2003D)

Vlastnosti	PLA
Teplota skelného přechodu T_g [°C]	–
Teplota tání T_m [°C]	140–155

PHB

Polymer PHB – ENMAT Y1000 zhotovený ve formě granulí, byl propůjčen společností TianAn Biologic Materials Company LTD., China.

Níže v tabulkách (viz *Tabulka č. 3*, *Tabulka č. 4*) jsou souhrnně zaznamenána příslušná data mechanických a tepelných vlastností polymerního materiálu. Zmíněné hodnoty taktéž slouží jako orientační a nelze je vykládat jako specifikace. [28]

Tabulka č. 3: Mechanické vlastnosti PHB (ENMAT Y1000)

Vlastnosti	PHB
Pevnost v tahu při přetržení [MPa]	36–39
Modul pružnosti v tahu [GPa]	1,6–2,1
Prodloužení při přetržení [%]	1–3

Tabulka č. 4: Tepelné vlastnosti při zpracování PHB (ENMAT Y1000)

Vlastnosti	PHB
Teplota skelného přechodu T_g [°C]	–
Teplota tání T_m [°C]	175–180

EGMA

Kopolymer poly(ethylen-co-glycidylmethakrylát) EGMA s 12 hmotnostními procenty glycidylmethakrylátu (GMA BF-E) byl zpracován ve formě granulí a dodán společností Sumitomo Chemical Company LTD., Japan.

Informace ohledně mechanických vlastností tohoto kopolymerního materiálu jsou prezentovány v následující tabulce (viz *Tabulka č. 5*). Uvedené hodnoty jsou typickými průměry a nelze je považovat za prodejní specifikace nebo garantované hodnoty. [29]

Tabulka č. 5: Mechanické vlastnosti EGMA (GMA BF-E)

Vlastnosti	EGMA
Pevnost v tahu při přetržení [MPa]	19
Modul pružnosti v tahu [GPa]	–
Prodloužení při přetržení [%]	700

Následující tabulka (viz **Tabulka č. 6**) obsahuje hodnoty tepelných vlastností dotyčného materiálu, které jsou klíčové pro určení chování materiálu při zahřívání a ochlazování, což je důležité zejména při procesech zpracování a použití materiálu. V tabulce jsou uvedeny výchozí teploty, při kterých by měly být dané vlastnosti patrné. Pokud nejsou, je třeba optimalizovat teplotu, dle doporučení výrobce [29]

Tabulka č. 6: Tepelné vlastnosti při zpracování EGMA (GMA BF-E)

Vlastnosti	EGMA
Teplota skelného přechodu T_g [°C]	-26
Teplota tání T_m [°C]	103

5.4.1 Složení testovaných polymerů

Granuláty polymerů byly nejprve vysušeny v sušárně při teplotě 60 °C po dobu 16 h. Následně se granuláty polymerů smíchaly v tavenině v přístroji Brabender Plasticorder. Podmínky tavení byly pro většinu vzorků stejné 180 °C, 50 otáček za minutu po dobu 10 minut. Z takto připravených materiálů byly vylisovány tenké fólie. Níže uvedená tabulka popisuje seznam testovaných polymerů, tloušťku vylisovaných fólií a procentuální zastoupení polymerů, které byly smíchány do směsí. Jsou zde taktéž uvedeny procentuální hodnoty celkového organického uhlíku (TOC) jednotlivých polymerů, které byly naměřeny na analyzátoru TOC - L Shimadzu.

Tabulka č. 7: Složení polymerů a jejich směsí

Materiál	Tloušťka [μm]	Procentuální zastoupení [%]	Průměr TOC [%]
PLA	100	100	48,48
PLA/EGMA	150	90/10	51,52
PHB	100	100	54,09
PHB/EGMA	110	90/10	56,76
PLA/PHB/EGMA	200	60/30/10	53,58

5.4.2 Příprava polymerních fólií

Polymerní fólie byly lisovány na Univerzitním institutu, Fakulty technologické ve Zlíně, kde je zhotovoval Jan Kočenda, který mi poskytl podrobný postup.

Postup při lisování:

Polymerní fólie byly zhotoveny za pomoci lisování, a to v mechanickém lisu. Na vnitřních protilehlých stranách topných desek lisu byly umístěny dva čtverce z vyřezané fólie polyethyltereftalát (PET) tak, aby při lisování nedocházelo k přilepování námi požadovaných fólií vzorků na topnou desku. Pro požadovanou tloušťku polymerních fólií, bylo nutné zhotovit nejdříve formu pro samotný PET, jehož tloušťka měla vykazovat 100 μm , tloušťka okrajů formy 2 cm a vnitřní rozměry formy měly mít délku 16 \times 16 cm.

Na spodní topnou desku byl tedy nejprve umístěn čtverec z PET, na jehož povrch byla položena zhotovená forma polyethyltereftalátu, do které byl vždy vsypán určitý vzorek. Forma byla seshora zakryta protějším čtvercem a přiklopena horní topnou deskou. Připravené topné desky se vzorkem byly vloženy do lisu, kde po dobu cca 2 minut probíhalo lisování při teplotě 200 $^{\circ}\text{C}$. Po ukončení lisování byly topné desky i se zhotovenou fólií vyjmuty z lisu a ihned poté vloženy do chladícího lisu, kde došlo ke zchlazení a k příslušnému zachování tvaru fólie.

Pro zhotovení polymerních fólií o rozměrech 16 \times 16 cm a tloušťce 100 μm , bylo zapotřebí vypočítat navážku materiálu. Navážka byla vypočítána dle **rovnice č. 1**.

Výpočet navážky:

$$m = \rho \cdot V \quad (1)$$

Kde:

V	objem formy [cm^3]
ρ	hustota materiálu PLA [$\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$]
m	hmotnost navážky [g]

6 METODY MĚŘENÍ

6.1 Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektrometrie je analytická technika používaná k identifikaci a kvantifikaci chemických látek v komplexních směsích, jedná o separaci plyných iontů z kapalného nebo pevného skupenství vzorků. Příslušná technika je využívána v širokém spektru vědních oborů, například v medicínské, potravinářské či environmentální aplikacích.

Princip hmotnostní spektrometrie spočívá v analýze iontů vzorku podle jejich hmotnosti a náboje částic. Zpočátku je vzorek vystaven zahřívání, respektive je ionizován, což způsobuje fragmentaci na dílčí částice, které jsou dále přeměňovány až na ionty. Cílem tohoto kroku je tedy vytvořit ionty vzorku, které se pohybují dle jednotlivých hmotností částic v hmotnostním analyzátoru a vykazují dostatečně vysoký signál, aby jej bylo možno zachytit. Pomocí urychlovače iontů jsou následně ionizované částice urychlovány v elektrickém a magnetickém poli tak, aby získaly dostatečnou kinetickou energii, která je podstatná pro pohyb v hmotnostním analyzátoru. Následujícím krokem je vstup zmíněných urychlených iontů do hmotnostního analyzátoru, ve kterém jsou oddělovány na základě jejich hmotnosti a náboje. Při separaci je nutné, aby ionty procházely skrze magnetické pole, které částici podle jejich náboje buď vychýlí nebo umožní projít bez vychýlení až k samotnému detektoru. Nakonec jsou oddělené ionty detekovány pomocí detektoru na základě jejich hmotnosti a intenzity signálu. Detektor postupně registruje ionty, které prošly analyzátozem a na základě toho generuje signál, který je pak zaznamenán a zpracován prostřednictvím počítačových softwarů umožňující identifikaci a kvantifikaci iontů v analyzovaném vzorku. [30]

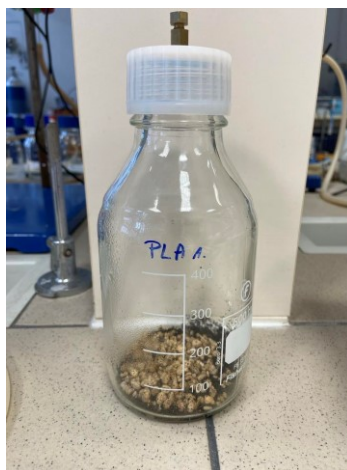
6.1.1 Příprava kompostu

Pro pokus biodegradace byl použit kompost z kompostárny Zlín – Suchý důl. Kompost byl nejprve přesíván přes síto o průměru oka 0,2 mm z důvodu odstranění hrubých částí a nečistot. Tento krok taktéž zajistil kvalitní homogenizaci kompostu. Aktivace kompostu trvala 3 týdny v sušárně při teplotě 58 °C. Kompost byl pravidelně zvlhčován a provzdušňován dle potřeby pomocí čerpadla, které dodávalo zvlhčený vzduch do nádoby s kompostem přes absorbér naplněný destilovanou vodou.

6.1.2 Příprava bioreaktoru

Založení bioreaktoru probíhalo následovně: do jednotlivých biometrických láhví o objemu 580 ml bylo na laboratorních předvážkách naváženo 3,3 g vyzrálého kompostu, jenž byl proset přes síto o průměru oka 0,2 mm. Dále bylo přidáno 1,5 g řádně promytého a vysušeného perlitu. K dosažení 50% vlhkosti bylo nutné napipetovat 3 ml minerálního média a na závěr bylo nezbytné vše opatrně promíchat.

Připravené láhve byly uzavřeny speciálními uzávěry obsahující prostor s vyměnitelnými septy, které je možno propíchnout příslušnou jehlou a provádět tak měření přítomné koncentrace CO₂ vzniklé v láhvi. Takto bylo připraveno 18 láhví, kdy každé 3 po sobě jdoucí láhve obsahovaly stejné dílčí vzorky. Identickým způsobem byly připraveny i 4 láhve pro slepý pokus. Ke zdárnému zakončení je třeba láhve opětovně promíchat a kultivovat v sušárně při konstantní teplotě 58 °C.



Obrázek č. 10: Bioreaktor

6.1.3 Příprava pohřbívacích testů (Burial test)

Obdobně výše uvedeným způsobem bylo do jednotlivých biometrických láhví o objemu 580 ml naváženo na laboratorních předvážkách 10 g vyzrálého kompostu, který byl taktéž proset přes síto o průměru oka 0,2 mm. V případě pohřbívacích testů nebylo přidáno žádné množství perlitu. Pro získání 50% vlhkosti bylo nutné napipetovat 4 ml minerálního média a dostatečně přítomné složky promíchat.

Principem burial testů je umístění polymerních materiálů do prostředí kompostu, které má simulovat reálné podmínky, kterým by mohly být v praxi vystaveny. Materiál se pohřbí do prostředí kompostu, kde se sleduje, jak materiál reaguje na různé podmínky prostředí, jako například výkyvy teplot, vlhkosti, pH nebo působení mikroorganismů na daný materiál.

Výše uvedeným způsobem bylo připraveno 5 láhví, kdy každá měla obsahovat odlišný vzorek s výjimkou celulózy, rovněž byla připravena i 1 láhev pro slepý pokus. Biometrické láhve byly pevně uzavřeny šroubovacím uzávěrem, opatrně promíchány a vloženy do sušárny při konstantní teplotě 58 °C.

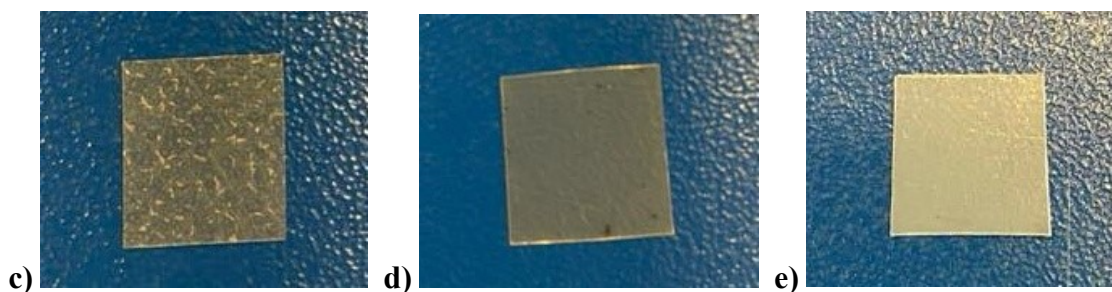
6.1.4 Dávkování vzorků fólií do bioreaktorů a burial testů

Jednotlivé polymerní fólie byly nastříhány na čtverečky o hraně zhruba 0,5×0,5 cm a na analytických vahách naváženy o hmotnosti přibližně 100 mg. Prášková celulóza jakožto standard byla taktéž navážena na analytických vahách o přibližně stejné hmotnosti (100 mg). Láhve určené pro slepé pokusy nebyly fóliemi dávkovány. Přidáním polymerů do příslušných láhví a po dostatečném promíchání vzorků s kompostem, bylo po sedmidenní době kultivace v sušárně možno zahájit měření vyprodukované koncentrace CO₂ v láhvích.

Pohřbívací testy byly dávkovány obdobně jako bioreaktory, každá láhev obsahovala patnáct fólií o hraně zhruba 1×1 cm. Prášková celulóza nebyla dávkována do burial testů, jelikož u ní nelze pozorovat vizuálně strukturní změny. Rovněž láhev určená pro slepý pokus nebyla fóliemi dávkována.



Obrázek č. 11: Dílčí vzorky vložené do burial testů a) PLA b) PLA/EGMA



Obrázek č. 12: Dílčí vzorky vložené do burial testů c) PHB d) PHB/EGMA e) PLA/PHB/EGMA

6.1.5 Stanovení produkce oxidu uhličitého

Před samotným měřením koncentrací CO₂ a Ar na hmotnostním spektrometru je nutné zkontrolovat průchodnost jehly a v případě zanesení filtru jej vyměnit za nový. Rovněž by měly být bioreaktory před měřením vzorků samovolně zchlazeny na laboratorní teplotu, bez vnějšího zásahu. Pro řádné odečtení hodnot CO₂ a Ar z hmotnostního spektrometru je zapotřebí nechat přístroj běžet po dobu alespoň 1 hodiny, až do té chvíle, kdy dojde k ustálení hodnot a následně je možno započít měření jednotlivých vzorků.

Měření probíhalo tak, že jednotlivé láhve s dílčími vzorky byly měřeny postupně vzorek po vzorku, jehla byla v píchuta skrze septum přítomné v uzávěru láhve a díky ní byla změřena příslušná koncentrace CO₂ a srovnávacího plynu Ar. Pokaždé, kdy byly láhve změřeny, byly bioreaktory otevřeny a vloženy do provzdušňovacího zařízení po dobu nejméně 10 minut. Burial testy byly vždy pouze otevřeny pro jejich provzdušnění.

6.1.6 Kalibrační řada

Kalibrační řadu bylo nutné zhotovit pro každé jednotlivé měření na hmotnostním spektrometru v rámci jednoho dne. Ta se skládá z kalibračních roztoků v rozsahu od 0,2 % do 8 %. Přípravu těchto roztoků započneme tak, že na analytických vahách navážíme přibližně 1,1 g standardu KHCO₃, poté navážené množství převedeme kvantitativně do 100 ml odměrné baňky, doplníme destilovanou vodou po rysku a řádně promícháme.

V příslušném excelovém souboru změníme skutečnou navážku KHCO₃ a odečtené hodnoty z teploměru, jakožto teplotu laboratorní místnosti a atmosférický tlak. Podle vypočítaných objemů zásobního roztoku KHCO₃, který nám excel spočítal, můžeme začít pipetovat jednotlivé objemy do biometrických láhví o objemu 580 ml.

Do 7 zkumavek napipetujeme 10 ml 1 M HCl, které opatrně vložíme do biometrických láhví s požadovaně napipetovaným objemem roztoku KHCO₃, láhev důkladně uzavřeme a obsah zkumavky vylijeme do zbytku roztoku, nakonec celý obsah promícháme a necháme reagovat po dobu několika hodin.

Chemismus:



Po pár hodinách jsou dílčí láhve dle vzestupné koncentrace změřeny na hmotnostním spektrometru, kde jsou odečteny přítomné hodnoty koncentrací CO₂ a srovnávací hodnoty Ar. Pomocí excelového souboru je sestrojena lineární regrese v závislosti CO₂/Ar na jednotlivých kalibračních roztocích, která je dále podstatná pro správné stanovení produkce CO₂ v dílčích láhvích. Podstatnými parametry regrese jsou rovnice přímky, v které jsou důležité hodnoty proměnných jako je směrnice přímky (*k*) nebo průsečík s osou *y* (*q*) a taktéž korelační koeficient (*R*²), který měří lineární závislosti mezi námi měřenými veličinami. Vyhodnocení dat je vyhotovováno prostřednictvím excelového souboru, kde jsou naměřené hodnoty z dílčích bioreaktorů zpracovávány, dle níže uvedených vzorců.

6.2 Zpracování naměřených dat biodegradace

V laboratoři Univerzitního institutu, Fakulty technologické ve Zlíně, byla každý týden naměřena data prostřednictvím hmotnostního spektrometru, která byla dále zpracována dle níže uvedených vzorců.

Výpočet denní produkce uhlíku ve formě CO₂:

$$m_{(d)C} = \frac{p \cdot V_g \cdot M_C \cdot (s_{vz} - q)}{R \cdot T \cdot k \cdot 100} \quad (2)$$

Kde:

$m_{(d)C}$	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO ₂ [mg]
p	atmosférický tlak v okamžiku provzdušňování [kPa]
V_g	plynný objem biometrické láhve; $V_g = 580$ [ml]
M_C	atomární hmotnost uhlíku; $M_C = 12,0107$ [g · mol ⁻¹]
s_{vz}	poměr odezvy detektoru pro CO ₂ a Ar [-]
q	absolutní člen získaný z lineární regrese pro kalibraci [-]
R	molární plynová konstanta; $R = 8,314$ [J · mol ⁻¹ · K ⁻¹]
T	termodynamická teplota v okamžiku provzdušňování [K]
k	směrnice přímky získaná z lineární regrese pro kalibraci [-]

Výpočet kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂:

$$m_{(k)C_2} = m_{(k)C_1} + m_{(d)C} \quad (3)$$

Kde:

$m_{(k)C_2}$	kumulativní produkce uhlíku z aktuálního měření [mg]
$m_{(k)C_1}$	kumulativní produkce uhlíku z předchozího měření [mg]
$m_{(d)C}$	denní produkce uhlíku z aktuálního měření [mg]

Výpočet substrátové produkce uhlíku:

$$n_{(s)C} = m_{(k)C_2} - m_{(k)C_B} \quad (4)$$

Kde:

$n_{(s)C}$	substrátová produkce uhlíku ve formě CO ₂ [mg]
$m_{(k)C_2}$	kumulativní produkce uhlíku z láhve se vzorkem [mg]
$m_{(k)C_B}$	průměrná kumulativní produkce uhlíku z láhví blanků [mg]

Výpočet procentuální mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂:

$$D_C = \frac{n_{(s)C} \cdot 100}{m_C \cdot TC \cdot 0,01} \quad (5)$$

Kde:

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

6.3 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Jedná se o mikroskopickou metodu, skrze kterou je možné pozorovat topografii povrchu, chemické složení materiálu či mikroorganismy kolonizující povrch určitého preparátu, a to v rozsahu od 10 do více než 300 000 - násobného zvětšení. Metoda SEM taktéž umožňuje analyzovat vzorky s vysokým rozlišením, a to až do několika nanometrů.

Princip SEM spočívá v použití elektronového paprsku, emitující elektrony s určitou kinetickou energií, který je pomocí elektromagnetických čoček zaostřen přímo na vzorek. S dopadajícím paprskem na povrch vzorku se zmíněná kinetická energie ztrácí ve formě emitujících elektronů vytvořených interakcí elektron – vzorek. Emitované elektrony se skládají převážně ze sekundárních elektronů a zpětně odražených elektronů, které jsou přímo zodpovědné za vytvoření snímku vzorku. Zejména prostřednictvím sekundárních elektronů jsou nejčastěji zobrazovány morfologické a topografické vlastnosti povrchu materiálu, kdežto pomocí zpětně odražených elektronů jsou zobrazovány kompoziční odlišnosti ve více fázových materiálech. Snímky z SEM se vytvářejí shromažďováním emitovaných elektronů na příslušném detektoru. [24]

SEM fotografie byly pořízeny jak u vzorků před biodegradací, tak i u vzorků, které byly podrobeny biodegradabilnímu testu. Sledování probíhalo skrze přístroj VEGA LMU od firmy Tescan, kde bylo použito urychlovací napětí elektronu 10 kV a zvětšení 3000×.

6.4 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

DSC je metoda, skrze kterou je možno sledovat termické pochody odehrávající se ve studovaných materiálech a posuzovat tak jejich schopnosti při zpracování. Tyto termické pochody jsou nejčastěji sledovány v závislosti na teplotě nebo čase během předem definovaného teplotního programu. Jedná se o techniku, která je schopna měřit změnu tepelné energie v případě, kdy dochází v materiálu k fázovým přeměnám, což se projeví jako uvolnění tepla (exotermická reakce) či absorbování tepla (endotermická reakce).

Princip DSC je založen na postupném měření jednotlivých pánviček v přístroji. Kdy v první pánvičce je obsažen sledovaný vzorek a v druhé referenční vzorek, např. inertní materiál nebo i prázdná pánvička, ve kterém by neměly probíhat žádné fázové změny při zvoleném teplotním režimu. Následujícím krokem je konfigurace teplotního programu pro přítomné materiály. Samotný proces měření spočívá buďto v lineárním zahřívání nebo v chlazení pánvičky, a to při určité regulované rychlosti a do předem

nakonfigurovaných maximálních teplot. V průběhu měření dochází k absorbování nebo uvolňování tepla, a to tehdy když daný vzorek prochází fázovým přechodem, což značí, že se teploty v důsledku výměny tepla budou lišit. Kalorimetr se i přesto snaží rozdíl teplot regulovat příslušným ohřevem či chlazením tak, aby v pánvičce udržel identickou teplotu. DSC křivka tepelného toku je vykreslována na základě regulace zmíněných teplot. Při uvolňování nebo absorbování tepla dochází k vykreslování píků na DSC křivce, což lze definovat jako fázovou přeměnu. Píky reprezentují např. teplotu tání (T_m) či teplotu krystalizace (T_c). Náhlý zlom DSC křivky v průběhu zaznamenávání teploty svědčí o prudké změně tepelné kapacity materiálu, což poukazuje zejména na teplotu skelného přechodu (T_g). [25, 26]

Měření probíhalo na přístroji DSC1 od firmy Mettler Toledo a výsledky byly vyhodnoceny pomocí softwaru STARe System. Tepelné vlastnosti byly zkoumány jak u vzorků před biodegradací, tak i po ní. Tepelný program procházel nejdříve chlazením v teplotním rozsahu od 25 °C do -90 °C, následoval ohřev od -90 °C do 200 °C, a nakonec došlo znovu k chlazení z 200 °C na 25 °C, vše při rychlosti ohřevu 10 °C · min⁻¹.

6.5 Širokouhlá rentgenová difrakce (WAXD)

Jedná se o nedestruktivní analytickou metodu rentgenové difrakce, která je využívána pro stanovení stupně krystalinity nebo obecné struktury polymerních materiálů.

Princip rentgenové difrakce je založen na rentgenových paprscích generovaných katodovou trubicí a dopadajících na pevné materiály, které rozptylují elektrony obsažené v atomových jádrech materiálu. Rozptýlené elektrony do několika směrů tvoří vlny, které spolu interferují za vzniku buďto konstruktivní interference, kdy dochází ke skládání vln nebo destruktivní interference, kdy se vlny mezi sebou vyruší. Podmínky konstruktivní interference jsou, aby vlny při střetu vykazovaly stejnou vlnovou délku a splňovali podmínku Braggova zákona [$n\lambda = d \sin(\theta)$]. Intenzita odražených rentgenových paprsků je nakonec prostřednictvím detektoru detekována a zpracována v závislosti na difrakčním úhlu do příslušných grafů. Krystalické materiály mají pravidelně uspořádané struktury v krystalické mřížce a zásluhou těchto struktur umožňují konstruktivní interferenci rentgenového záření. Konstruktivní interference u krystalických látek se projeví v grafu jako jednotlivé píky s vysoce zaznamenanou intenzitou v určitých difrakčních úhlech, kdežto v amorfních materiálech chybí pravidelné uspořádání, což se projeví jako průměrný pík při určité intenzitě a většinou jednom difrakčním úhlu. [40, 41]

Měření probíhalo na přístroji XRDynamic 500 od firmy Anton Paar a výsledky byly vyhodnoceny pomocí softwaru XRDanalysis. Měřeny byly vzorky před biodegradací i po biodegradaci. Následně byly stanoveny parametry měření, jako je rozsah měřených úhlů od 3–40 2θ , při kroku 0,02 a teplotě 25 °C. Měřena byla intenzita odraženého záření od povrchu vzorku v určitých difrakčních úhlech.

6.6 Tahová zkouška

Tahová zkouška je jedna z destruktivních metod, kterou je možno měřit mechanické vlastnosti polymerů, jako například modul pružnosti v tahu, pevnost v tahu při přetržení, pevnost v lomu nebo prodloužení při přetržení. Tahová zkouška tedy slouží k charakterizaci mechanických vlastností specifických materiálů, které lze na základě výsledných hodnot zvolit a použít v určitých aplikacích.

Principem tahové zkoušky je umístění určitého vzorku o specifických rozměrech mezi dvě čelisti trhacího přístroje, který při spuštění působí silou na vzorek. Vzorky jsou podrobeny pozvolnému tahovému napětí o určité síle až do chvíle přetržení vzorku.

Měření bylo provedeno na zařízení DMA 1 od firmy Mettler Toledo a výsledky byly vyhodnoceny prostřednictvím softwaru STARe Systém. Měření bylo provedeno pouze u vzorků, které nebyly podrobeny biodegradabilnímu testu. Tahová zkouška u každého ze vzorků byla vykonána vždy pětkrát. U předem nastříhaných vzorků o rozměrech přibližně 2,5×0,5 cm byly nejdříve změřeny jeho přesné rozměry prostřednictvím digitálního mikrometru, a to délka, tloušťka a šířka. Vzorky byly dále umístěny mezi čelisti přístroje a mohlo tak započít měření. Měření probíhalo přibližně 5 minut v rozsahu síly od 0 N do 2 N.

6.7 Zpracování naměřených dat tahové zkoušky

Měřenými veličinami byly tahové napětí o určité síle (F) a délka při prodloužení (Δl) v čase. Prostřednictvím Hookova zákona byla nejprve vypočítána poměrná deformace (ε) a poté bylo pomocí **rovnice č. 7** vypočítáno napětí při namáhání v tahu (σ). Tyto parametry jsou nezbytné pro výpočet modulu pružnosti v tahu (Youngův model) – E [GPa].

Výpočet poměrné deformace (ε):

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l} \quad (6)$$

Kde:

ε	poměrná deformace [-]
Δl	prodloužení vzorku [m]
l	délka vzorků [m]

Výpočet napětí při namáhání v tahu (σ):

$$\sigma = \frac{F}{S} \quad (7)$$

Kde:

σ	napětí při namáhání v tahu [N/m^2]
F	síla deformující těleso [N]
S	průřez tělesa kolmý na působící sílu [m^2]

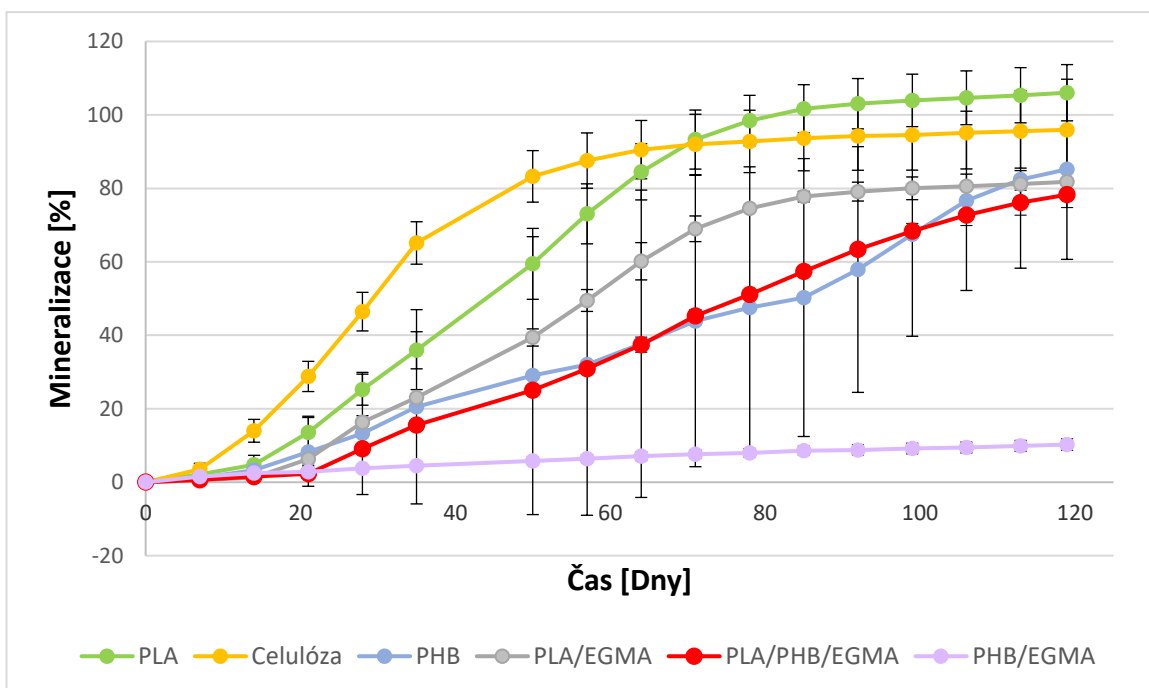
Nakonec byl sestrojen graf závislosti napětí při namáhání v tahu (σ) na poměrné deformaci (ε). V grafu byla zobrazena rovnice grafu a modul pružnosti v tahu (E) byl následně získán ze směrnice grafu.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Stanovení biodegradability polymerních vzorků

Experiment s komerčním kompostem z kompostárny Zlín – Suchý důl započal dne 14. 11. 2023 a poslední data byla získána dne 12. 3. 2024. Biodegradční test u jednotlivých vzorků polymerů PLA a PHB, jejich kompozitních materiálů s příměsí komerčního kompatibilizátoru EGMA a směs těchto dvou polymerů s příměsí kompatibilizátoru EGMA probíhal v prostředí kompostu při teplotě 58 °C po dobu 119 dní.

Z naměřených dat byly následně dle vzorců, které jsou uvedeny v segmentu „Zpracování naměřených data biodegradace“, vypočítány denní produkce uhlíku ve formě CO₂, jež byly přepočítány na kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂. Z přepočítaných dat kumulativní produkce uhlíku ve formě CO₂ byly vypočítány substrátové produkce uhlíku, z kterých byly dále spočteny procentuální mineralizace uhlíku z hlediska produkce CO₂. Parametry měření jako teplota a atmosférický tlak laboratoře byly odečteny z teploměru před každým měřením. Pro každý z dílčích vzorků, který byl distribuován vždy ve třech láhvích, byly učiněny výše zmíněné výpočty. Výsledné procentuální mineralizace uhlíku byly zprůměrovány a z těchto hodnot byla rovněž vypočtena směrodatná odchylka. Následně byl z těchto dat sestrojen graf (viz **Obrázek č. 13**), znázorňující závislost procentuální mineralizace jednotlivých polymerních materiálů na čase, během kterého probíhal biodegradční test.



Obrázek č. 13: Průběh biodegradace dílčích vzorků v kompostu při teplotě 58 °C

Z grafu je patrné, že v prvních 21 dnech nedochází k výrazné biodegradaci dílčích vzorků. V tyto dny totiž probíhá jedna z fází růstové křivky mikroorganismů zvaná lagová fáze, kdy se mikroorganismy snaží adaptovat na nové prostředí. Poté co se mikroorganismy adaptují na konkrétní prostředí, může započít proces postupné biodegradace, která je v grafu po 21. dnu evidentní. Mezi následující fáze patří fáze zrychleného růstu a exponenciální fáze, ve kterých dochází k výraznému růstu a reprodukci mikroorganismů, tyto fáze jsou pro biodegradaci nejvýznamnější. Z grafu lze rovněž vyčíst, že vzorek PLA se biologicky rozložil ze 100 % v prostředí kompostu při teplotě 58 °C již za 85 dní. Experiment i přesto nadále pokračoval v pozorování ostatních polymerních vzorků. Žádný ze zbylých vzorků, v den ukončení experimentu, nedosáhl 100 % biodegradace. V závěru měření vystoupala mineralizace vzorku PHB na 85,19 %, u vzorku PLA/EGMA na 81,78 %, poté následovala směs tří polymerů PLA/PHB/EGMA, která zmineralizovala ze 78,28 % a nejméně rozloženým vzorkem byla směs PHB/EGMA, která dosáhla pouze 10,25 % mineralizace. Jako referenční materiál byla použita prášková mikrokrystalická celulóza.

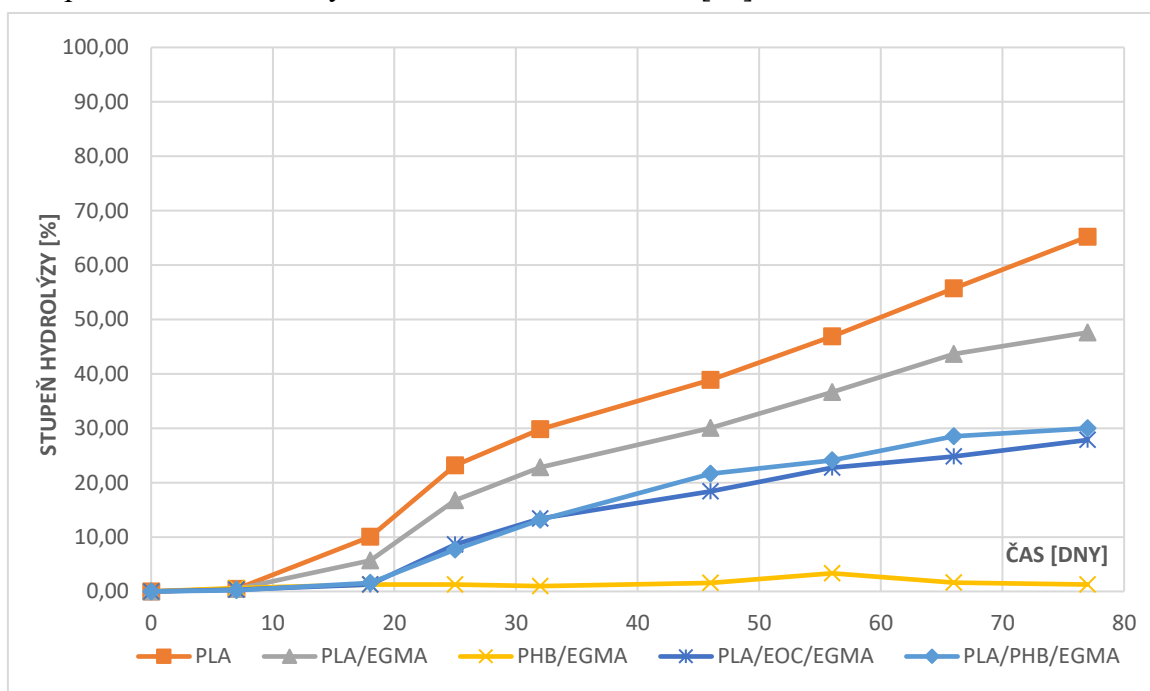
Vzorky, obsahující kompatibilizátor EGMA, vykazovali menší účinnost biodegradace než čisté polymery. Potvrdila se tak skutečnost, že přítomnost kompatibilizátoru EGMA snižuje náchylnost polymerů vůči biologickému rozkladu, jak již bylo avizováno v teoretické části této práce. [35] Překvapivým výsledkem je mineralizace vzorku PHB/EGMA, která je oproti zbylým vzorkům poněkud nízká, což může být způsobeno neadekvátní přítomností druhů mikroorganismů, které jsou schopny PHB/EGMA biodegradovat. Jedním z možných důvodů neefektivní biodegradace PHB je jeho odolnost vůči hydrolytické degradaci, která je až o tři řády menší než enzymatická degradace. Hydrolytická degradace PLA v kompostu je účinnější než u PHB. Biologický rozklad PLA je podporován vysokou teplotou a vlhkostí prostředí. [32]

Studii, prověřující biodegradaci PLA a PHB polymerů ve směsi s kompatibilizátorem EGMA v prostředí kompostu při teplotě 58 °C, je omezené množství pro adekvátní porovnání získaných výsledků. Dosažené výsledky byly proto porovnány s výsledky Bc. Marka Mikesky, který ověřoval abiotickou hydrolyzu směsí PLA a kompatibilizátoru EGMA v prostředí fosfátového pufru. Srovnání výsledků biotické degradace v prostředí kompostu s abiotickou hydrolyzou v prostředí pufru u kompozitních materiálů PLA a PHB jsou konkrétněji diskutována níže v kapitole 7.2.

7.2 Srovnání abiotické hydrolyzy v prostředí pufru s biodegradací v prostředí kompostu u kompozitních materiálů PLA a PHB

V této kapitole jsou představeny výsledky práce, které vyhotovil Bc. Marek Mikeska v roce 2021 ve své bakalářské práci. Práce se zaměřuje na abiotickou hydrolyzu PLA a směsných materiálů PLA a PHB v prostředí pufru při teplotě 58 °C. Vzhledem k zajímavosti a odlišnosti biodegradace v jednotlivých prostředích bylo zhotoveno porovnání abiotické hydrolyzy v pufru s biotickou degradací v kompostu u ekvivalentních vzorků.

Abiotická hydrolyza jednotlivých vzorků probíhala v prostředí fosfátového pufru při teplotě 58 °C po dobu 77 dní. Do biometrických láhví o objemu 250 ml, obsahujících 100 ml pufru o pH 7,2, bylo naváženo přibližně 100 mg dílčích vzorků fólií, které byly důkladně s obsahem promíchány. Láhve byly následně uzavřeny plynotěsným víkem a vloženy do vakuové sušárny s vytemperovanou teplotou na 58 °C. Obsahy láhví museli být za určitou dobu podrobeny míchání z důvodu zajištění homogenity prostředí. Nakonec byly dílčí vzorky vyjmuty z biometrických láhví a vysušeny do konstantní hmotnosti. Stupeň abiotické hydrolyzy byl stanoven na základě celkového rozpuštěného uhlíku v prostředí pufru prostřednictvím analyzátoru TOC – L Shimadzu. [31]



Obrázek č. 14: Stupeň hydrolytické degradace jednotlivých vzorků vyhodnocený na základě nárůstu koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v pufru [31]

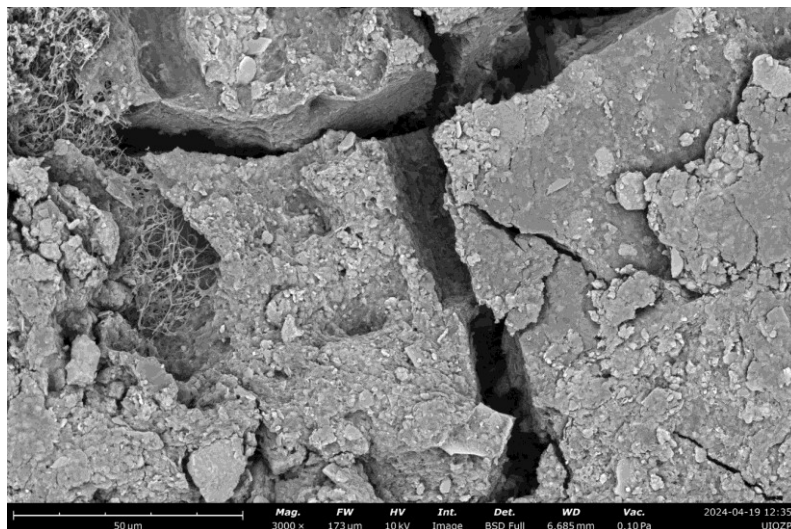
Z grafu (viz **Obrázek č. 14**) je patrné, že nejvíce podlehl hydrolyze vzorek PLA, který za 77 dní vykazoval stupeň hydrolyzy 65,19 %. Zatímco u biotické degradace, za dobu 78 dní, byl již rozložen z 98,46 %. Následoval vzorek PLA/EGMA, který byl rozložen ze 47,60 %, kdežto u biotické degradace zmineralizoval ze 74,56 %. Vzorek PLA/PHB/EGMA vykazoval 29,99 % hydrolytickou degradaci, přičemž u biotické degradace nastala 78,28 % mineralizace. Nejméně degradovaným vzorkem byl PHB/EGMA se stupněm hydrolyzy 1,30 %, u biotické degradace byl tento vzorek taktéž nejméně degradovaný a to z 10,25 %. Obecně lze říci, že hodnoty biodegradace u biotické degradace vycházejí vyšší než u abiotického stupně hydrolyzy, což může být důsledkem toho, že na biotickou degradaci mají větší vliv mikroorganismy, kteří svou exkrecí extracelulárních enzymů dokáží účinněji rozkládat polymerní řetězce, než je tomu u hydrolytického rozkladu. V grafu je dále evidentně viditelná lagová fáze, která je u biotické degradace o 3 dny delší než u abiotické degradace. Polymerní fólie se v následující fázi začínají hydrolyticky štěpit na oligomerní či monomerní jednotky, které jsou již v pufru rozpustné a vykazují tak určitý stupeň hydrolyzy. [31]

7.3 Snímky ze skenovací elektronové mikroskopie (SEM)

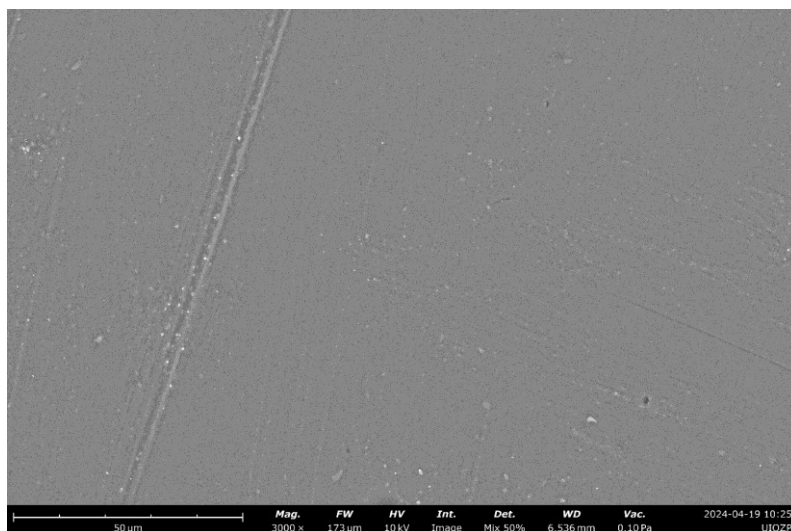
Snímky byly zhotoveny pomocí skenovacího elektronového mikroskopu VEGA LMU Tescan, který slouží především ke studiu topografických změn povrchů. Na níže uvedených snímcích lze pozorovat vybrané povrchy polymerů, které byly podrobeny biodegradabilnímu testu. Snímky zobrazují zvýšenou drsnost povrchů, ostré zlomové hrany a zřetelné trhliny ve struktuře polymerů. Na površích polymerů je taktéž možné vidět mikroorganismy podílející se na biodegradaci, nejčastěji se jedná o různé bakterie a vláknité houby, mezi které spadají především plísňe a kvasinky.

Vzorky PLA a PLA/EGMA prodělaly významné změny povrchů ve srovnání s počátečními strukturami polymerů (viz **Obrázek č. 15 a Obrázek č. 16, Obrázek č. 17 a Obrázek č. 18**). Z obrázků je patrné, že struktura PLA/EGMA je méně porušená než povrch PLA, což ověřuje skutečnost, že kompatibilizátor EGMA snižuje biologickou rozložitelnost (viz **Obrázek č. 15, Obrázek č. 17**). Porovnáním struktury PLA/EGMA s PLA/PHB/EGMA po biodegradaci je zřejmé, že struktura PLA/EGMA je z větší části rozložená, než je tomu u povrchu PLA/PHB/EGMA (viz **Obrázek č. 21**).

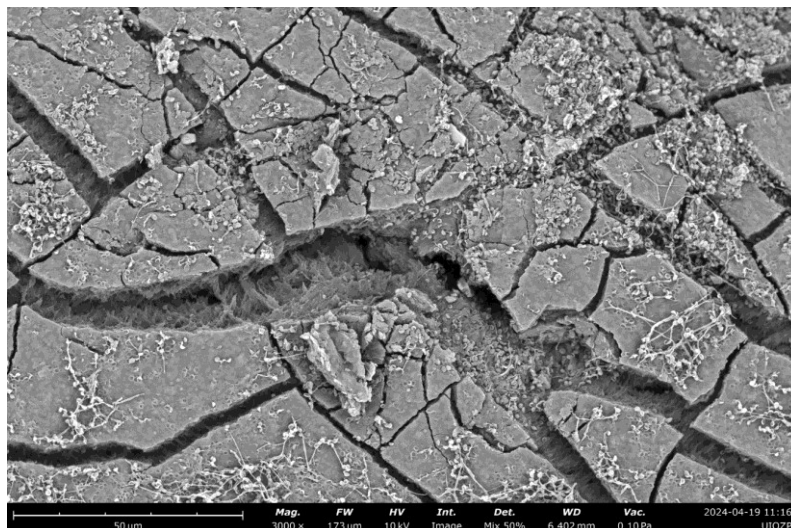
Povrch PHB/EGMA nevykazuje výrazně viditelné změny oproti počáteční struktuře, spíše se tak jedná o mikrotrhliny či počáteční deformace struktury (viz **Obrázek č. 20**, **Obrázek č. 19**).



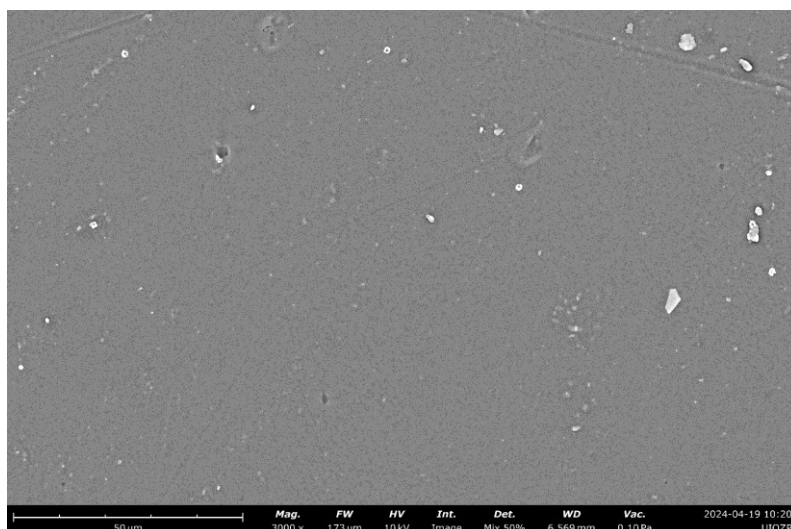
Obrázek č. 15: Snímek povrchu fólie PLA po biodegradaci, zvětšení 3000×



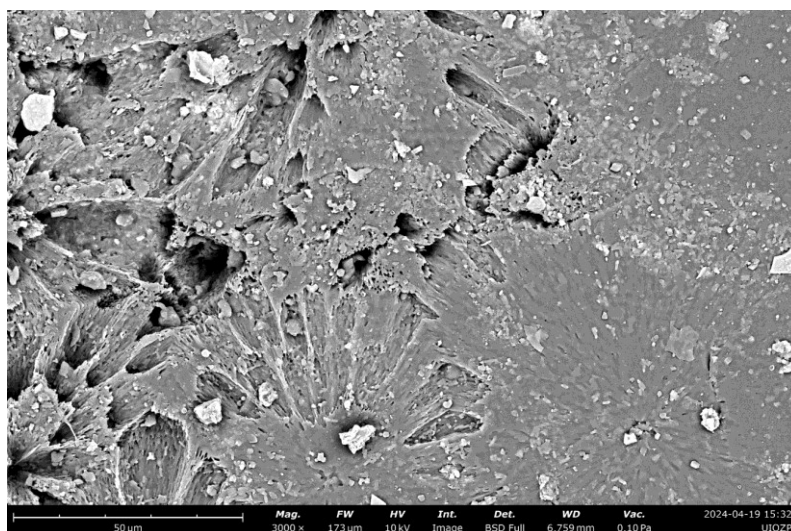
Obrázek č. 16: Snímek povrchu fólie PLA před biodegradací, zvětšení 3000×



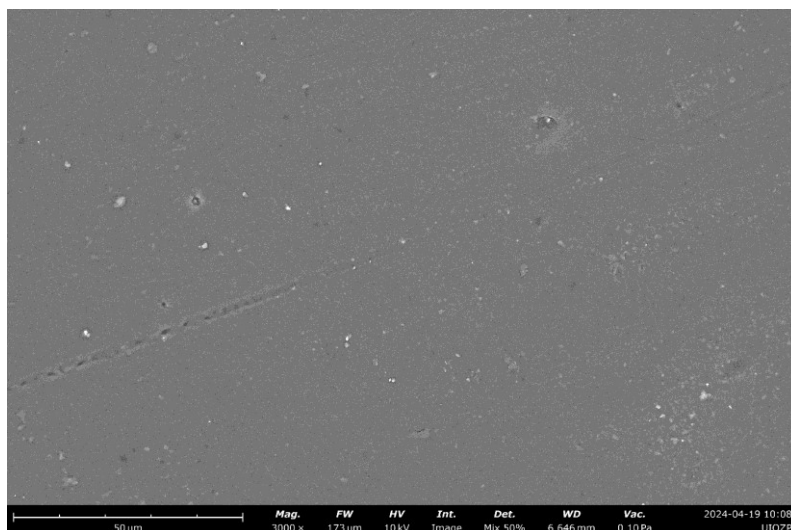
Obrázek č. 17: Snímek povrchu fólie PLA/EGMA po biodegradaci, zvětšení 3000×



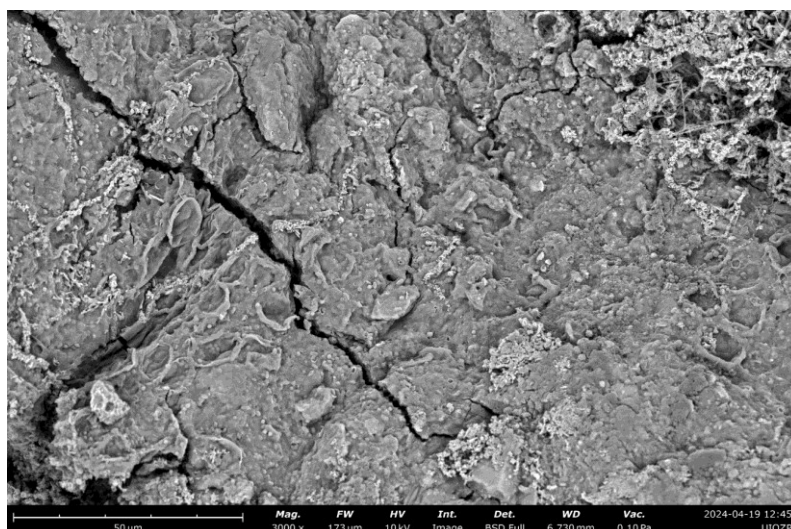
Obrázek č. 18: Snímek povrchu fólie PLA/EGMA před biodegradací, zvětšení 3000×



Obrázek č. 19: Snímek povrchu fólie PHB/EGMA po biodegradaci, zvětšení 3000×



Obrázek č. 20: Snímek povrchu fólie PHB/EGMA před biodegradací, zvětšení 3000×



Obrázek č. 21: Snímek povrchu fólie PLA/PHB/EGMA po biodegradaci, zvětšení 3000×

7.4 Zhodnocení změn termických vlastností polymerů pomocí diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Tepelné vlastnosti dílčích vzorků byly testovány prostřednictvím diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Měření bylo prováděno na přístroji DSC1 METTLER Toledo.

Po zdárné biodegradaci vzorků v prostředí kompostu následovala analýza DSC. Před analýzou bylo nutné odebrat vzorky z burial testů a vhodně je připravit. Proces přípravy spočíval v řádném manuálním dočištění vzorků od zbytků kompostu pomocí destilované vody a pinzety, a dále v důkladném vysušení v sušárně při 50 °C a uschování vzorků proti vlhkosti v exsikátoru. Během manuálního dočišťování často docházelo k okamžitým rozpadům materiálů v důsledku jejich křehkosti, i přes veškerou obezřetnou manipulaci.

Po pečlivé přípravě se jednotlivé vzorky zvážily a vložily do dílčích hliníkových pánviček. Pánvička se přikryla hliníkovým víkem a pomocí ručního lisu byla slisována dohromady s částí obsahující vzorek. Hmotnost všech vzorků se pohybovala okolo $5 \text{ mg} \pm 2 \text{ mg}$. Teplotní rozsah byl zvolen dle vědeckých studií následovně: nejprve došlo k chlazení v teplotním rozsahu od $25 \text{ }^\circ\text{C}$ do $-90 \text{ }^\circ\text{C}$, po dosažení spodní teploty následoval ohřev od $-90 \text{ }^\circ\text{C}$ do $200 \text{ }^\circ\text{C}$, a nakonec došlo znovu k chlazení z $200 \text{ }^\circ\text{C}$ na $25 \text{ }^\circ\text{C}$, vše probíhalo při rychlosti $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. Tímto způsobem byly získány teploty tání (T_m) a teploty skelného přechodu (T_g).

Měření probíhalo u vzorků odebraných v 85. den biodegradace, kdy bylo dosaženo téměř 80 % biodegradace u všech vzorků. Prostřednictvím DSC metody byly získány křivky k jednotlivým polymerním vzorkům, které vykazovaly charakteristické zlomy nebo endotermické píky, skrze které pak byly pomocí softwaru STARe Systém vyhodnoceny teploty skelného přechodu (T_g) a teploty tání (T_m). Níže uvedená tabulka zahrnuje naměřené hodnoty těchto teplot pro jednotlivé polymerní materiály před i po biodegradaci (viz *Tabulka č. 8*).

Tabulka č. 8: Naměřené hodnoty (T_g) a (T_m) polymerních fólií před i po biodegradaci

Materiál	$T_{g(\text{před})}$ [$^\circ\text{C}$]	$T_{g(\text{po})}$ [$^\circ\text{C}$]	$T_{m(\text{před})}$ [$^\circ\text{C}$]	$T_{m(\text{po})}$ [$^\circ\text{C}$]
PLA	62,91	–	148,75	110,02
PLA/EGMA	60,65 / –	–	150,37 / 97,25	– / 101,34
PHB	–	–	172,59	118,70
PHB/EGMA	– / –	–	171,57 / 89,94	– / 90,89
PLA/PHB/EGMA	56,90 / – / –	–	147,54 / 171,53 / 93,94	– / – / 96,57

Z naměřených hodnot je patrné, že vliv biodegradace na teploty skelného přechodu i teploty tání dílčích vzorků je výrazný. Tabulka demonstruje, že se ani u jednoho ze vzorků nepodařilo zaznamenat teplota skelného přechodu po biodegradaci. U vzorků PHB a PHB/EGMA nebyla naměřena teplota skelného přechodu ani před samotnou biodegradací. U kompozitních materiálů, které podstoupily biodegradabilní test, byla zaznamenána pouze teplota tání kompatibilizátoru EGMA, pravděpodobně kvůli charakteru polymeru neschopného podléhat biologickému rozkladu.

Výzkum provádějící Iglesias-Montes a kol. zkoumali změnu teplot skelného přechodu a teplot tání po určitých dnech biodegradace v kompostu, a zjistili požadované hodnoty čistého PLA, PHB a směsi PLA/PHB (60/40) před i po biodegradaci, které jsou zaznamenány v následující tabulce (viz **Tabulka č. 9**). [42] Teploty skelného přechodu a teploty tání u všech vzorků získané před biodegradací korespondují s hodnotami naměřenými ve výzkumu s odchylkou pohybující se okolo ± 5 °C. Hodnoty získané po biodegradaci se značně liší od naměřených hodnot ve výzkumu. Nicméně je nutné zmínit, že jsou porovnávány hodnoty vzorků, které byly podrobeny biologickému rozkladu po dobu 85 dní se vzorky z výzkumu, které byly podrobeny biodegradaci pouze po dobu 28 dní.

Tabulka č. 9: Naměřené hodnoty (T_g) a (T_m) před a po biodegradaci v kompostu

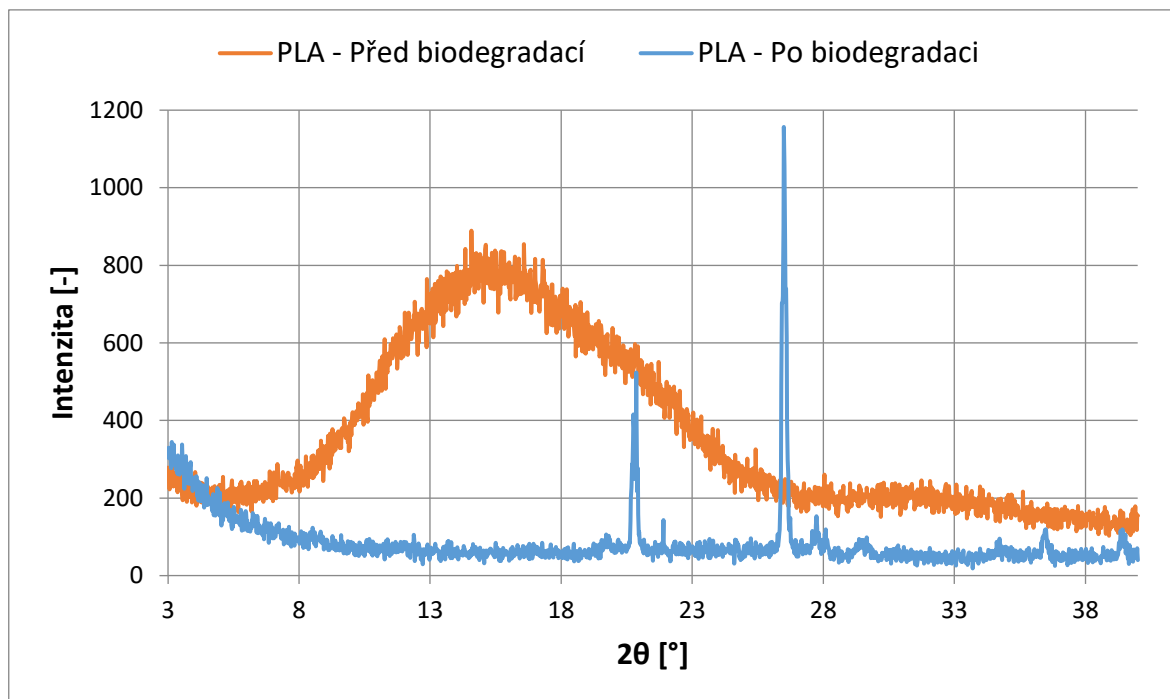
Materiál	Čas [dny]	T_g [°C]	T_m [°C]
PLA	0	61,8	152,1
	7	54,5	154,6
	14	51,8	153,5
	28	–	144,2
PHB	0	–	172,9
	7	–	169,9
	14	–	170,8
	28	–	170,2
PLA/PHB	0	61,5 / –	151,8 / 170,7
	7	61,4 / –	154,9 / 170,3
	14	55,1 / –	155,0 / 170,7
	28	–	144,2 / 168,3

7.5 Vyhodnocení struktury polymerních materiálů prostřednictvím širokoúhlé rentgenové difrakce (WAXD)

Prostřednictvím širokoúhlé rentgenové difrakce (WAXD) byly sledovány strukturní změny polymerních materiálů před i po jejich biodegradaci, která probíhala po dobu 119 dní. Výsledné hodnoty byly vyhodnoceny pomocí přístroje XRDynamic 500, Anton Paar. U jednotlivých polymerních fólií byla naměřena data intenzit odraženého záření od povrchu vzorku při určitých difrakčních úhlech, která byla převedena do difrakčních obrazců. Rozsah měřených úhlů probíhal od 3° do $40^\circ 2\theta$.

Difrakční obrazce PLA a PLA/EGMA před a po jejich biodegradaci, jež jsou zahrnuty v grafech (viz **Obrázek č. 22**, **Obrázek č. 23**), vyznačují intenzity odraženého záření od povrchu PLA či PLA/EGMA při určitých difrakčních úhlech. Difrakční obraz PLA před biodegradací vyznačuje pouze široký difrakční pík intenzit odraženého záření při přibližně $15,5^\circ$, což je charakteristické pro přítomnost amorfni fáze v semikrystalické struktuře PLA. Naopak difrakční obraz PLA po biodegradaci vykazuje charakteristický pík intenzity odraženého záření při $20,86^\circ$ pro PLA, který je charakteristický pro přítomnost krystalické fáze v semikrystalické struktuře PLA.

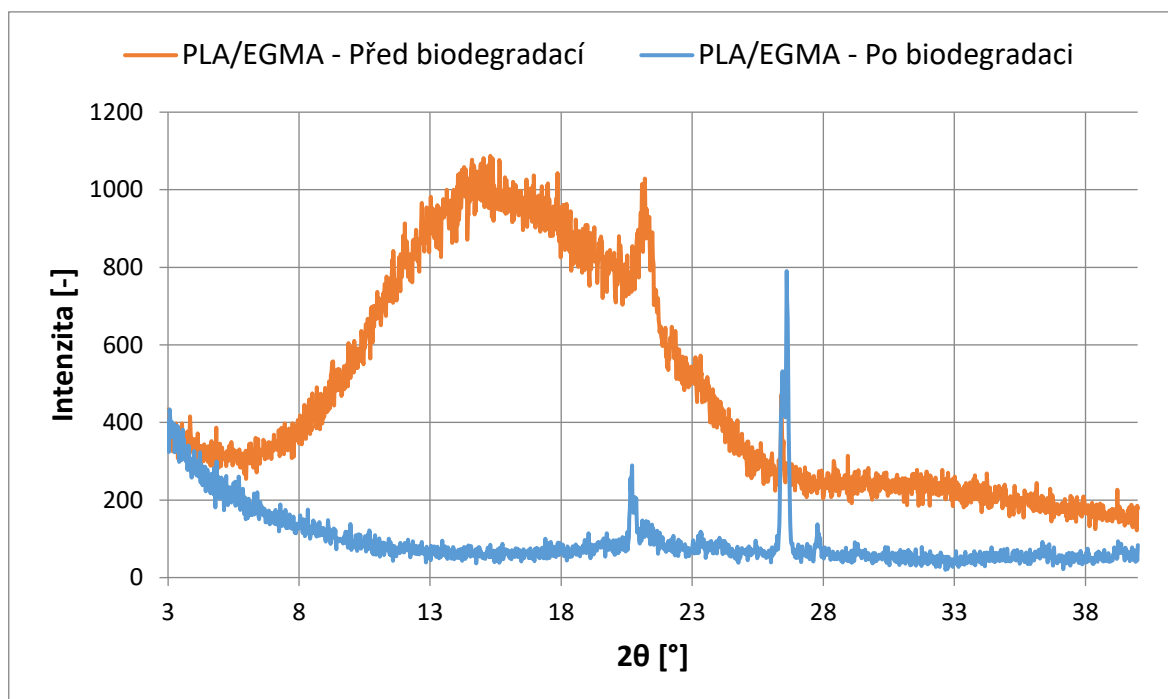
Mikroorganismy nejdříve biologicky rozkládají amorfni fáze polymerních materiálů, jelikož jsou mnohem lépe biologicky dostupné oproti pravidelným strukturám krystalických fází. Grafy umožňují porovnání difrakčních obrazců PLA či PLA/EGMA před a po biodegradaci a taktéž i změnu jejich strukturních fází. Z grafů je tedy patrné, že po biodegradaci PLA nebo PLA/EGMA převažuje spíše krystalická fáze nad amorfni.



Obrázek č. 22: Difrakční obrazce pro PLA před a po biodegradaci

Ve studii Abdelwahab a kol. byla provedena WAXD analýza u čistého vzorku PLA, která vykazovala podobný difrakční obraz s širokým difrakčním píkem odraženého záření při 15° , jako je tomu u PLA před biodegradací (viz **Obrázek č. 22**). Analýza tímto difrakčním obrazem potvrzuje přítomnost amorfni fáze v semikrystalické struktuře PLA. Obdobný difrakční obraz lze pozorovat také ve studii Iglesias-Montes a kol., která je odlišná od níže uvedeně. [44, 43]

Ve výzkumu Iglesias-Montes a kol. byla rovněž realizována WAXD analýza u čistého vzorku PLA, nicméně již ve třech fázích biodegradace. Nejprve byla provedena analýza pro vzorek před samotnou biodegradací, jako tomu bylo ve studii Abdelwahab a kol., jejíž difrakční obraz vykazoval široký difrakční pík odraženého záření mezi 16° – $16,5^\circ$. Zmíněný pík tak ověřuje tvrzení o zastoupení amorfni fáze v semikrystalické struktuře PLA. Poté byla provedena analýza pro vzorek po 7 dnech biodegradace, kde lze pozorovat úbytek amorfni fáze a přítomnost dvou píků intenzit odraženého záření při $16,5^\circ$ a $18,85^\circ$, které potvrzují tvorbu krystalických struktur. Analýza vzorku po 28 dnech biodegradace vyznačovala píky s vyšší intenzitou odraženého záření při stejných difrakčních úhlech, což zapříčinilo ještě větší přírůstek krystalické fáze ve struktuře PLA. [42] Hodnoty z výzkumu demonstrují pík intenzity odraženého záření při $18,85^\circ$, kdežto naměřené hodnoty vykazují tento charakteristický pík intenzity odraženého záření při $20,86^\circ$, tento posun může být opodstatněn dobou trvání biodegradace.



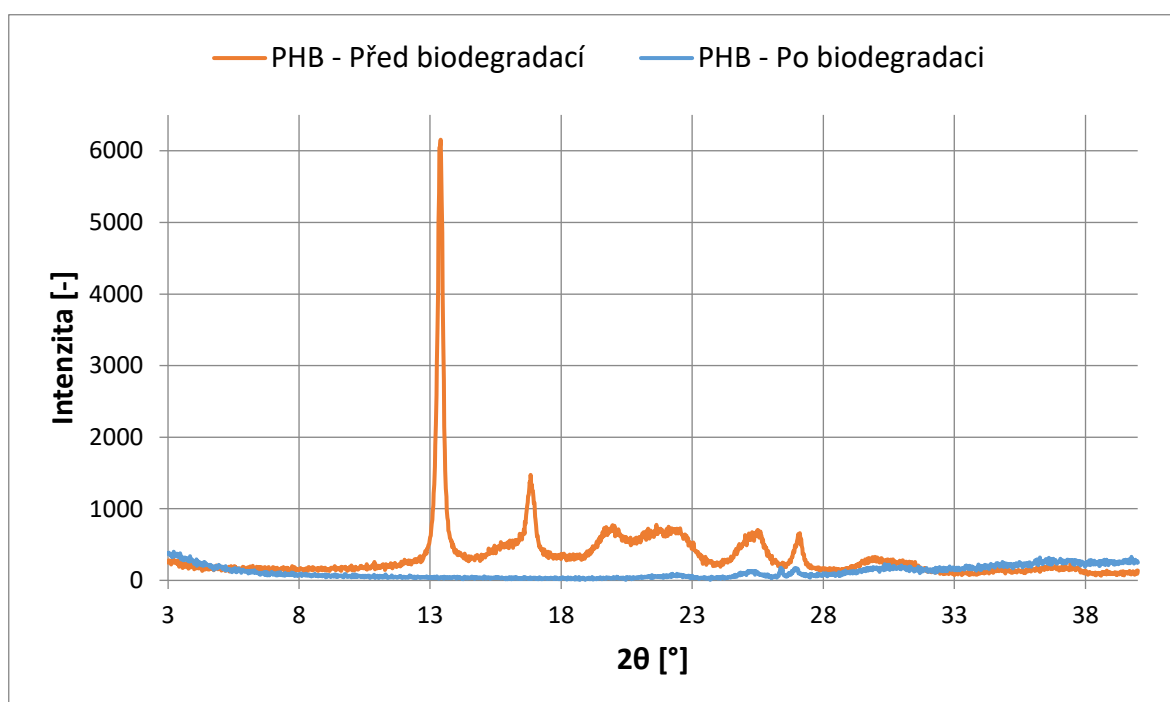
Obrázek č. 23: Difrakční obrazce pro PLA/EGMA před a po biodegradaci

Difrakční obrazce PLA/EGMA vykazují podobný průběh jako obrazce PLA. Nicméně se liší od PLA v difrakčním obrazu PLA/EGMA před biodegradací. Tento obraz vyznačuje charakteristický pík intenzity odraženého záření při $21,2^\circ$, který je typický právě pro kompatibilizační aditivum EGMA. Difrakční obraz PLA/EGMA po biodegradaci vykazuje charakteristický pík intenzity odraženého záření při $20,7^\circ$ pro PLA, jež poukazuje na krystalickou fázi v semikrystalické struktuře PLA.

Cui a kol. prováděli studii, ve které analyzovali prostřednictvím WAXD různé vzorky PLLA. U čistého PLLA se difrakční obraz projevoval podobným způsobem, jako ve výše zmíněných studiích (viz Abdelwahab a kol., Iglesias-Montes a kol.). U vzorku PLLA/EGMA (85/15) byl pozorován zřejmý difrakční pík intenzity odraženého záření při $21,4^\circ$ a taktéž i slabý difrakční pík intenzity odraženého záření při $23,6^\circ$, které jsou charakteristické pro ethylenové krystaly obsažené ve struktuře kompatibilizátoru EGMA. [45] Difrakční píky intenzit odraženého záření, v porovnání difrakčních obrazců PLA/EGMA z výzkumu a z této práce, vykazují velmi podobné hodnoty pro kompatibilizátor EGMA.

Difrakční obrazce PHB a PHB/EGMA před a po jejich biodegradaci, které jsou zahrnuty v grafech (viz **Obrázek č. 24**, **Obrázek č. 25**), vyznačují intenzity odraženého záření od povrchu PHB či PHB/EGMA při určitých difrakčních úhlech. Difrakční obraz PHB před biodegradací vykazuje charakteristické píky intenzit odraženého záření při $13,4^\circ$ a $16,84^\circ$ pro PHB, které jsou typické pro přítomnost krystalické fáze ve vysoce krystalické struktuře. Difrakční obraz PHB po biodegradaci nezobrazuje žádné charakteristické píky, což může poukazovat na převážnou biodegradaci vzorku.

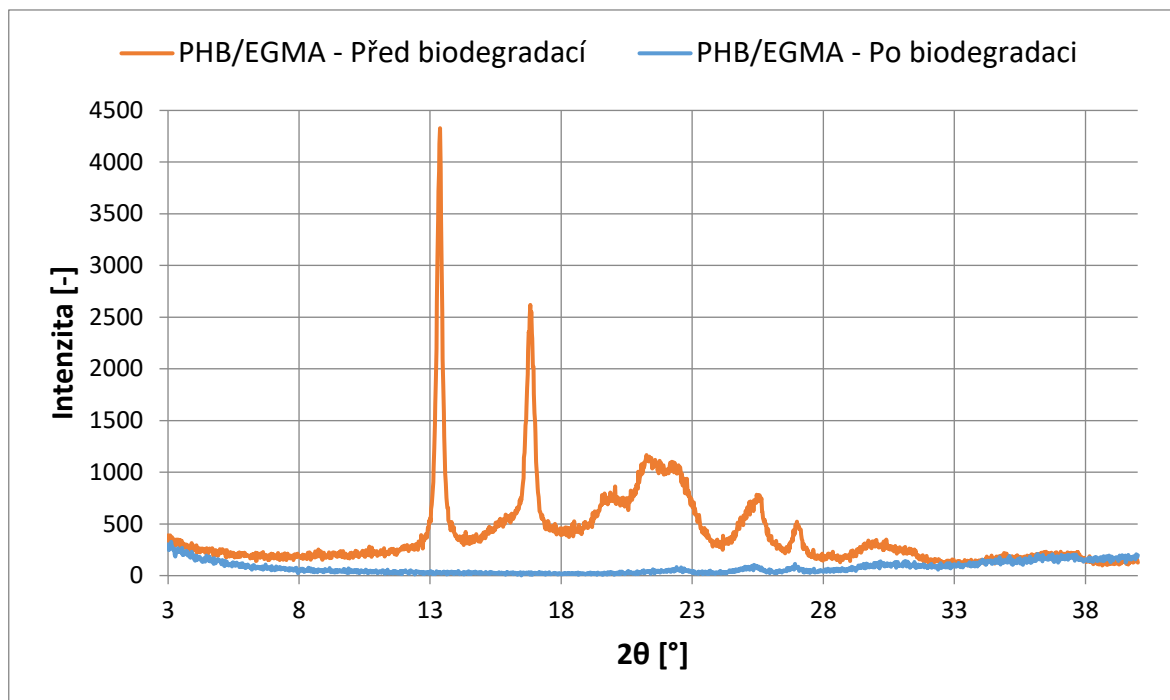
Jak již bylo zmíněno mikroorganismy nejdříve biologicky rozkládají amorfni fáze polymerního materiálu před krystalickými, i přesto že je v polymeru přítomno pouze minimální množství amorfni fáze. Grafy umožňují porovnání difrakčních obrazců PHB či PHB/EGMA před a po biodegradaci a taktéž i změnu jejich strukturních fází. Z difrakčních obrazců PHB a PHB/EGMA po biodegradaci není dostatečně patrné jaká ze strukturních fází polymeru převažuje.



Obrázek č. 24: Difrakční obrazce pro PHB před a po biodegradaci

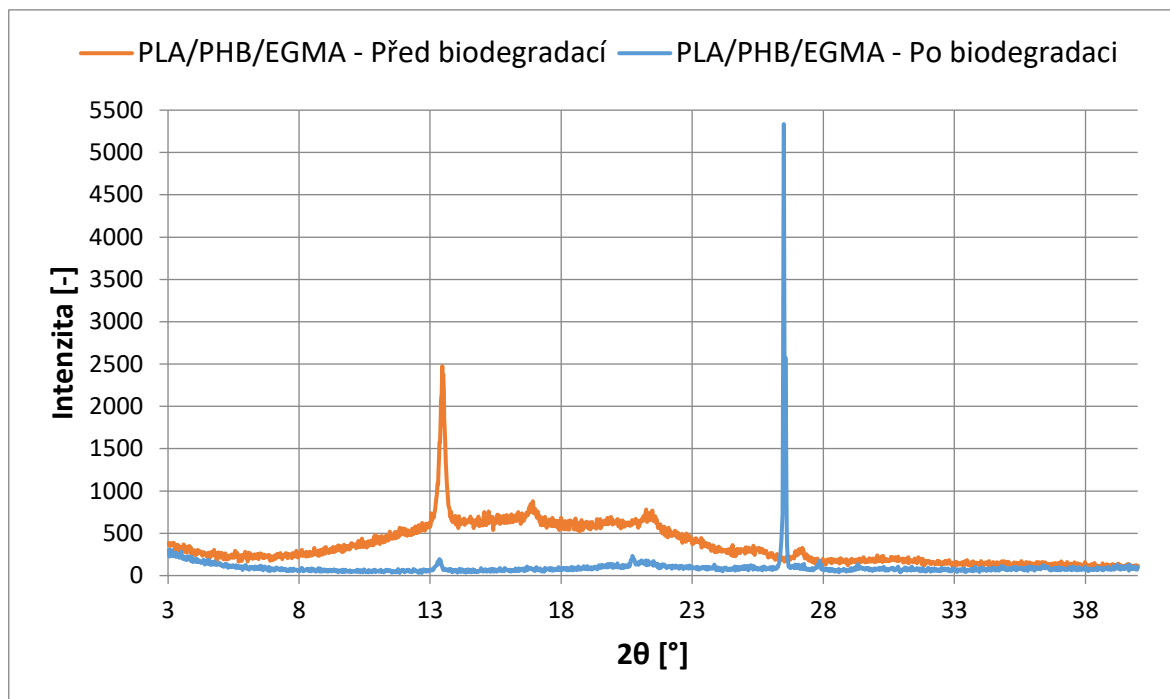
Studie od Abdelwahab a kol. rovněž studovala vzorek čistého PHB před biodegradací. Difrakční obraz vykazoval charakteristické píky intenzit odraženého záření při $13,5^\circ$ a $16,8^\circ$, což je velmi podobný průběh jako je znázorněno u vzorku PHB před biodegradací v grafu výše (viz **Obrázek č. 24**). Zmíněné píky intenzit odraženého záření potvrzují přítomnost krystalické fáze ve struktuře PHB. [44]

Iglesias-Montes a kol. taktéž studovali WAXD analýzu u čistého vzorku PHB, který však procházel třemi fázemi biodegradace. Ovšem vzorky v průběhu biodegradace, která probíhala pouze 28 dnů, nevyjadřovaly zjevné výkyvy ve stupni krystalinity. Difrakční obraz tak demonstroval podobný průběh jako ve studii od Abdelwahab a kol., s difrakčními píky intenzit odraženého záření při 13,45° a 16,85°. [42]



Obrázek č. 25: Difrakční obrazce pro PHB/EGMA před a po biodegradaci

Difrakční obrazce PHB/EGMA vykazují rovněž podobný průběh jako obrazce PHB. Od PHB se však přesto liší v difrakčním obrazu PHB/EGMA před biodegradací. Obraz totiž vyznačuje charakteristický pík intenzity odraženého záření při 21,26°, který je typický pro kompatibilizátor EGMA (viz Cui a kol.). Difrakční obraz PHB/EGMA po biodegradaci nezobrazuje žádné charakteristické píky, což může poukazovat na převážnou biodegradaci.



Obrázek č. 26: Difrakční obrazce pro PLA/PHB/EGMA před a po biodegradaci

Difrakční obrazce PLA/PHB/EGMA před a po jejich biodegradaci, jež jsou obsaženy v grafu (viz **Obrázek č. 26**), vykazují intenzity odraženého záření od povrchu PLA/PHB/EGMA při určitých difrakčních úhlech. Difrakční obraz PLA/PHB/EGMA před biodegradací vykazuje charakteristický pík intenzity odraženého záření při $13,46^\circ$ pro PHB společně s nepatrným píkem při $16,92^\circ$, které jsou charakteristické pro přítomnost krystalické fáze PHB ve směsi (viz Abdelwahab a kol.) Difrakční obraz rovněž vyznačuje široký pík intenzit odraženého záření při přibližně $15,5^\circ$ pro PLA, což je typické pro přítomnost amorfni fáze PLA ve směsi. Nepatrný pík lze taktéž pozorovat při $21,24^\circ$, který je typický pro přítomnost EGMA v PLA/PHB/EGMA (viz Cui a kol.).

7.6 Výsledky tahové zkoušky

Zkoušky tahem proběhly pomocí přístroje DMA 1, Mettler Toledo a byly provedeny pouze u fólií polymerních vzorků, které nebyly podrobeny biodegradabilnímu testu. Prostřednictvím této metody byl měřen modul pružnosti v tahu E [GPa]. Tahová zkouška byla u každého ze vzorků vykonána nejméně pětkrát. Následně byly z těchto naměřených hodnot vypočítány jednotlivé průměry, které představují výsledné moduly pružnosti v tahu uvedené v tabulce (viz **Tabulka č. 10**), a k nim jejich příslušné směrodatné odchylky.

Tabulka č. 10: Naměřené hodnoty modulů pružnosti v tahu u fólií polymerních vzorků

Vzorek	Modul pružnosti v tahu [GPa]
PLA	$2,19 \pm 0,16$
PLA/EGMA	$1,03 \pm 0,14$
PHB	$1,59 \pm 0,42$
PHB/EGMA	$1,46 \pm 0,42$
PLA/PHB/EGMA	$0,67 \pm 0,13$

Z hodnot obsažených v tabulce lze konstatovat, že přítomnost kompatibilizátoru EGMA u dílčích polymerů snižuje jejich modul pružnosti v tahu. Materiály neobsahující příměsi tak vykazují menší deformační chování než jejich kompozitní materiály. Podařilo se prokázat, že PLA má vyšší hodnotu Youngova modulu než PHB. Směs nemísitelných polymerů PLA/PHB s kompatibilizátorem EGMA vykazuje nejmenší Youngův modul.

Iglesias-Montes a kol. stanovovali modul pružnosti v tahu u čistých vzorků PLA a PHB. Youngův modul pružnosti pro vzorek PLA dosáhl hodnoty $E = 2,70 \pm 0,16$ GPa a pro vzorek PHB o něco menší $E = 2,23 \pm 0,13$ GPa. V následující studii Zhao a kol. vyhodnocovali Youngův modul pružnosti u čistého PLA a směsi PLA/EGMA (95/5). Vzorek čistého PLA vykazoval modul pružnosti v tahu $E = 2,00 \pm 0,06$ GPa a u směsi PLA/EGMA $E = 1,86 \pm 0,04$ GPa. Srovnání pro vzorky PHB/EGMA a PLA/PHB/EGMA se nepodařilo dohledat, nejspíše proto že neexistuje dostatečné množství studií pro zmíněné vzorky. [43, 46] Což potvrzuje i tato práce, kdy u vzorku čistého PLA byl naměřen Youngův modul pružnosti $2,19 \pm 0,16$ GPa a u směsi PLA/EGMA (90/10) došlo ke snížení na $1,03 \pm 0,14$ GPa.

ZÁVĚR

V bakalářské práci byla řešena biodegradace kompozitních polymerů na bázi PLA a PHB s využitím komerčního kompatibilizátoru EGMA, a to v prostředí kompostu při teplotě 58 °C. Současně byl studován účinek kompatibilizátoru EGMA na biologickou degradaci jednotlivých polymerů, který byl použit ke zvýšení jejich kompatibilizace a ve směsích činil vždy 10 % zastoupení.

Biodegradační proces probíhal po dobu 119 dní. Postupná mineralizace jednotlivých polymerů byla stanovována prostřednictvím měření produkce oxidu uhličitého na hmotnostním spektrometru. Naměřené hodnoty CO₂ byly následně přepočítány na procentuální mineralizaci dílčích vzorků. Vzorek PLA se biologicky rozložil ze 100 % již za 85 dní. Zbylé vzorky nedosáhly kompletní mineralizace ani za 119 dní biodegradace. U směsi PLA/EGMA vykazovala výsledná mineralizace 81,78 %, následoval vzorek PHB s procentuální mineralizací ve výši 85,19 %, směs PLA/PHB/EGMA se biologicky rozložila ze 78,28 %. Nejhůře rozložitelným vzorkem byla směs PHB/EGMA zmineralizovaná pouze z 10,25 %.

Teplota skelného přechodu a teplota tání jednotlivých polymerů před a po jejich biodegradaci byly stanoveny prostřednictvím diferenční skenovací kalorimetrie. Teplota tání u čistého vzorku PHB po biodegradaci je nižší až o 55 °C v porovnání se vzorkem před biodegradací. Důvodem, takových to výrazných změn v teplotách tání před a po biodegradaci vzorků, může být příliš vysoká míra biodegradace.

Skrze širokoúhlou rentgenovou difrakci byly prostřednictvím vzniklých difrakčních obrazců sledovány strukturální změny jednotlivých polymerních vzorků před a po jejich biodegradaci. Pomocí difrakčních obrazců byla rovněž prokázána přítomnost jednotlivých fází ve strukturách dílčích polymerů před a po biodegradaci. U kompozitních polymerů byla ověřena přítomnost kompatibilizátoru EGMA. Vliv biodegradace na struktury vzorků PLA a PLA/EGMA se projevily prioritní biodegradací amorfnní fáze a tím se zvýšil obsah krystalické fáze. U fólií PHB a PHB/EGMA docházelo spíše k biodegradaci krystalické fáze, jelikož se jedná o vysoce krystalické materiály, nicméně po biodegradaci nevykazovaly žádné charakteristické píky, což nejspíše poukazuje na jejich převážnou mineralizaci.

Modul pružnosti v tahu u dílčích polymerů před jejich biodegradací byl změřen pomocí tahové zkoušky. Přítomnost kompatibilizátoru EGMA v kompozitních materiálech potvrdil snížení Youngova modulu dílčích vzorků.

Závěrem lze konstatovat, že kyselina polymlečná je dobře biologicky rozložitelná v prostředí kompostu, avšak až při zvýšené vlhkosti kolem 50 % a teplotách vyšších než 50 °C. Polyhydroxybutyrát je rovněž biodegradabilní v prostředí kompostu, nicméně vysoká teplota může ovlivnit přítomnost specifických mikroorganismů, které jsou účinnější v biodegradaci PHB. Kompatibilizátor EGMA přítomný v kompozitních materiálech snížil biodegradční rychlost jednotlivých vzorků a rovněž snížil jejich modul pružnosti v tahu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SCHIFFEROVÁ, Zuzana. *BIODEGRADABILNÍ PLASTY*. Online, Bakalářská práce, vedoucí Eva Mollíková. Vysoké učení technické v Brně: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojího inženýrství, 2017. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=150245. [cit. 2023-12-20].
- [2] FREDI, Giulia a DORIGATO, Andrea. Recycling of bioplastic waste: A review. Online. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*. 2021, roč. 4, č. 3, s. 159-177. ISSN 25425048. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aiepr.2021.06.006>. [cit. 2023-12-27].
- [3] *PŘÍMÁ SYNTÉZA VYSOKOMOLEKULÁRNÍCH POLYMERŮ KYSELINY MLÉČNÉ*. Online, Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=123567. [cit. 2024-01-02].
- [4] ZAABA, Nor Fasihah a JAAFAR, Mariatti. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation. Online. *Polymer engineering and science*. 2020, roč. 60, č. 9, s. 2061-2075. ISSN 0032-3888. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pen.25511>. [cit. 2024-02-19].
- [5] BENDIX, Dieter. Chemical synthesis of polylactide and its copolymers for medical applications. Online. *Polymer Degradation and Stability*. 1998, roč. 59, č. 1-3, s. 129-135. ISSN 01413910. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00149-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00149-3). [cit. 2024-02-09].
- [6] KLIEM, Silvia; KREUTZBRUCK, Marc a BONTEN, Christian. Review on the Biological Degradation of Polymers in Various Environments. Online. *Materials*. 2020, roč. 13, č. 20, s. 1-18. ISSN 1996-1944. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma13204586>. [cit. 2024-02-09].
- [7] *Factors affecting biodegradability of plastic*. Online. Ebrary.net. ©2014-2024. Dostupné z: https://ebrary.net/192678/environment/factors_biodegradability_plastic. [cit. 2024-02-09].

- [8] *10 Factors Affecting Biodegradation Explained*. Online. Felsics.com. 2022. Dostupné z: <https://www.felsics.com/biodegradation-factors-that-affect-biodegradation/>. [cit. 2024-02-13].
- [9] *Biologické metody zpracování odpadů*. Online. Hgf.vsb.cz. [2014]. Dostupné z: http://hgf10.vsb.cz/546/bmzo/pages/Faktory_ovlivnujici_biodegradaci.html. [cit. 2024-02-13].
- [10] LENZ, Robert W. a MARCHESSAULT, Robert H. Bacterial Polyesters: Biosynthesis, Biodegradable Plastics and Biotechnology. Online. *Biomacromolecules*. 2005, roč. 6, č. 1, s. 1-8. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/bm049700c>. [cit. 2024-02-21].
- [11] MARTÍNEZ, María de los Ángeles Martínez; URZÚA, Lucía Soto; CARRILLO, Yovani Aguilar; RAMÍREZ, Mirian Becerril a MORALES, Luis Javier Martínez. Polyhydroxybutyrate Metabolism in *Azospirillum brasilense* and Its Applications, a Review. Online. *Polymers*. 2023, roč. 15, č. 14, s. 1-15. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym15143027>. [cit. 2024-02-21].
- [12] MCADAM, Blaithín; BRENNAN FOURNET, Margaret; MCDONALD, Paul a MOJICEVIC, Marija. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. Online. *Polymers*. 2020, roč. 12, č. 12, s. 1-20. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym12122908>. [cit. 2024-02-24].
- [13] TURCO, Rosa; SANTAGATA, Gabriella; CORRADO, Iolanda; PEZZELLA, Cinzia a DI SERIO, Martino. In vivo and Post-synthesis Strategies to Enhance the Properties of PHB-Based Materials: A Review. Online. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021, roč. 2020, č. vol. 8, s. 1-31. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.619266>. [cit. 2024-02-24].
- [14] JIN, Yifan; WAN, Yi; LIU, Zhanqiang; YUAN, H.L.; AGARWAL, R.K. et al. Surface polish of PLA parts in FDM using dichloromethane vapour. Online. *MATEC Web of Conferences*. 2017, roč. 95, s. 2. ISSN 2261-236X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1051/mateconf/20179505001>. [cit. 2024-02-24].
- [15] AHSAN, Wazir Aitizaz; HUSSAIN, Adnan; LIN, Chitsan a NGUYEN, Minh Ky. Biodegradation of Different Types of Bioplastics through Composting—A Recent

- Trend in Green Recycling. Online. *Catalysts*. 2023, roč. 13, č. 2, s. 1-14. ISSN 2073-4344. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/catal13020294>. [cit. 2024-02-24].
- [16] CASTRO-AGUIRRE, E.; IÑIGUEZ-FRANCO, F.; SAMSUDIN, H.; FANG, X. a AURAS, R. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. Online. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, roč. 107, s. 333-366. ISSN 0169409X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.010>. [cit. 2024-02-24].
- [17] SWETHA, T. Angelin; ANANTHI, V.; BORA, Abhispa; SENGOTTUVELAN, Nallathambi; PONNUCHAMY, Kumar et al. A review on biodegradable polylactic acid (PLA) production from fermentative food waste - Its applications and degradation. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023, roč. 234, s. 1-18. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123703>. [cit. 2024-02-24].
- [18] EJIOHUO, Ovinuchi. Optimization of the Degradation Processes for Polylactic Acid using Microbial Enzymes: A Brief Summary. Online. *SustainE*. 2023, roč. 1, č. 2, s. 1-14. ISSN 2831-5820. Dostupné z: <https://doi.org/10.55366/suse.v1i2.1>. [cit. 2024-02-24].
- [19] AHMED, Temoor; SHAHID, Muhammad; AZEEM, Farrukh; RASUL, Ijaz; SHAH, Asad Ali et al. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. Online. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018, roč. 25, č. 8, s. 7287-7298. ISSN 0944-1344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1234-9>. [cit. 2024-02-24].
- [20] SILVA, Rafael Resende Assis; MARQUES, Clara Suprani; ARRUDA, Tarsila Rodrigues; TEIXEIRA, Samiris Cocco a DE OLIVEIRA, Taíla Veloso. Biodegradation of Polymers: Stages, Measurement, Standards and Prospects. Online. *Macromol*. 2023, roč. 3, č. 2, s. 371-399. ISSN 2673-6209. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/macromol3020023>. [cit. 2024-02-24].
- [21] TEIXEIRA, Stefanie; EBLAGON, Katarzyna Morawa; MIRANDA, Filipa; R. PEREIRA, M. Fernando a FIGUEIREDO, José Luis. Towards Controlled Degradation of Poly(lactic) Acid in Technical Applications. Online. *C - Journal of Carbon Research*. 2021, roč. 7, č. 2, s. 1-43. ISSN 2311-5629. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/c7020042>. [cit. 2024-03-09].

- [22] ANJANA; RATURI, Gaurav; SHREE, Shweta; SHARMA, Amita; PANESAR, Parmjit S. et al. Recent approaches for enhanced production of microbial polyhydroxybutyrate: Preparation of biocomposites and applications. Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021, roč. 182, s. 1650-1669. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.037>. [cit. 2024-03-16].
- [23] POPA, Marius Stelian; FRONE, Adriana Nicoleta a PANAITESCU, Denis Mihaela. Polyhydroxybutyrate blends: A solution for biodegradable packaging? Online. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022, roč. 207, s. 263-277. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.02.185>. [cit. 2024-03-16].
- [24] *Scanning Electron Microscopy (SEM): Principle, Instrumentation, Advantages*. Online. Science Info: Online Science Notes and Information. 2024. Dostupné z: <https://scienceinfo.com/scanning-electron-microscopy-sem/>. [cit. 2024-03-30].
- [25] *Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)*. Online. Katedra fyziky materiálů | Matematicko-fyzikální fakulta. ©2024. Dostupné z: <https://www.mff.cuni.cz/cs/kfm/experimentalni-vybaveni/diferencni-skenovaci-kalorimetrie-dsc>. [cit. 2024-04-03].
- [26] *The Working Principle of Differential Scanning Calorimetry (DSC) Testing*. Online. Infinita Lab. ©2024. Dostupné z: <https://infinitalab.com/thermal-testing/the-working-principle-of-differential-scanning-calorimetry-dsc-testing/>. [cit. 2024-04-03].
- [27] *Ingeo™ Biopolymer 2003D Technical Data Sheet*. Online. NatureWorks. 2021. Dostupné z: https://www.natureworksllc.com/~media/files/natureworks/technical-documents/technical-data-sheets/technicaldatasheet_2003d_ffp-fsw_pdf.pdf. [cit. 2024-04-13].
- [28] *ENMAT™ Technical Data Sheet & Processing Guide*. Online. TianAn Biopolymer: Nature's Eco-Friendly Solution. 2022. Dostupné z: http://en.tianan-enmat.com/pdf/TDS_Y1000.pdf. [cit. 2024-04-13].
- [29] *IGETABOND™ | PRODUCT | Sumitomo Chemical Functional Polymers*. Online. Sumitomo Chemical. 2021. Dostupné z: https://www.sumitomo-chem.co.jp/func_polymer/en/product/bondfast/. [cit. 2024-03-25].

- [30] VADAKEDATH, Sabitha; KANDI, Venkataramana; GODISHALA, Vikram; BHARAT KUMAR PINNELLI, Venkata; SAMI ALKAFAS, Samar et al. The Principle, Types, and Applications of Mass Spectrometry: A Comprehensive Review. Online. *Biomedicine and Biotechnology*. 2022, roč. 7, č. 1, s. 6-22. ISSN 2378-5527. Dostupné z: <https://doi.org/10.12691/bb-7-1-2>. [cit. 2024-04-14].
- [31] *Abiotická hydrolýza směsi kyseliny polymléčné (PLA) a kompatibilizátoru EGMA*. Online, Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2021. Dostupné z: https://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/47302/mikeska_2021_dp.pdf?sequence=1&isAllowed=y. [cit. 2024-04-19].
- [32] MOUHOUBI, Rakine; LASSCHUIJT, Merel; RAMON CARRASCO, Salma; GOJZEWSKI, Hubert a WURM, Frederik R. End-of-life biodegradation? how to assess the composting of polyesters in the lab and the field. Online. *Waste Management*. 2022, roč. 154, s. 36-48. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2022.09.025>. [cit. 2024-04-24].
- [33] NASER, Ahmed Z.; DEIAB, I. a DARRAS, Basil M. Poly(lactic acid) (PLA) and polyhydroxyalkanoates (PHAs), green alternatives to petroleum-based plastics: a review. Online. *RSC Advances*. 2021, roč. 11, č. 28, s. 17151-17196. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D1RA02390J>. [cit. 2024-04-24].
- [34] RAMEZANI DANA, Hossein a EBRAHIMI, Farnoosh. Synthesis, properties, and applications of polylactic acid-based polymers. Online. *Journal Metrics: Polymer Engineering & Science*. 2023, roč. 63, č. 1, s. 22-43. ISSN 0032-3888. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pen.26193>. [cit. 2024-04-24].
- [35] ZHAO, Xipo; HU, Huan; WANG, Xin; YU, Xiaolei; ZHOU, Weiyi et al. Super tough poly(lactic acid) blends: a comprehensive review. Online. *RSC Advances*. 2020, roč. 10, č. 22, s. 13316-13368. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D0RA01801E>. [cit. 2024-04-24].
- [36] LI, Ming; LI, Shengnan; LIU, Bujin; JIANG, Tuanhui; ZHANG, Di et al. Rheological behavior, crystallization properties, and foaming performance of chain-extended poly (lactic acid) by functionalized epoxy. Online. *RSC Advances*. 2021, roč. 11, č. 52, s. 32799-32809. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D1RA06382K>. [cit. 2024-04-24].

- [37] *Poly(ethylene-co-glycidyl methacrylate)*. Online. In: Merck. C2024. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/aldrich/430862>. [cit. 2024-04-24].
- [38] AL HOSNI, Asma S.; PITTMAN, Jon K. a ROBSON, Geoffrey D. Microbial degradation of four biodegradable polymers in soil and compost demonstrating polycaprolactone as an ideal compostable plastic. Online. *Waste Management*. 2019, roč. 97, s. 105-114. ISSN 0956053X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.07.042>. [cit. 2024-04-25].
- [39] ROOHI; ZAHEER, Mohd Rehan a KUDDUS, Mohammed. PHB (poly- β -hydroxybutyrate) and its enzymatic degradation. Online. *Polymers for Advanced Technologies*. 2018, roč. 29, č. 1, s. 30-40. ISSN 1042-7147. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pat.4126>. [cit. 2024-04-25].
- [40] ALI, Asif; CHIANG, Yi Wai a SANTOS, Rafael M. X-ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions. Online. *Minerals*. 2022, roč. 12, č. 2, s. 1-25. ISSN 2075-163X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/min12020205>. [cit. 2024-04-29].
- [41] *X-ray Powder Diffraction (XRD)*. Online. Nanotechnology in STEM. 2024. Dostupné z: https://serc.carleton.edu/msu_nanotech/methods/XRD.html. [cit. 2024-04-29].
- [42] IGLESIAS-MONTES, Magdalena L.; SOCCIO, Michelina; LUZI, Francesca; PUGLIA, Debora; GAZZANO, Massimo et al. Evaluation of the Factors Affecting the Disintegration under a Composting Process of Poly(lactic acid)/Poly(3-hydroxybutyrate) (PLA/PHB) Blends. Online. *Polymers*. 2021, roč. 13, č. 18, s. 1-21. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13183171>. [cit. 2024-05-10].
- [43] IGLESIAS-MONTES, Magdalena L.; SOCCIO, Michelina; SIRACUSA, Valentina; GAZZANO, Massimo; LOTTI, Nadia et al. Chitin Nanocomposite Based on Plasticized Poly(lactic acid)/Poly(3-hydroxybutyrate) (PLA/PHB) Blends as Fully Biodegradable Packaging Materials. Online. *Polymers*. 2022, roč. 14, č. 15, s. 1-24. ISSN 2073-4360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14153177>. [cit. 2024-05-10].

- [44] ABDELWAHAB, Mohamed A.; FLYNN, Allison; CHIOU, Bor-Sen; IMAM, Syed; ORTS, William et al. Thermal, mechanical and morphological characterization of plasticized PLA–PHB blends. Online. *Polymer Degradation and Stability*. 2012, roč. 97, č. 9, s. 1822-1828. ISSN 01413910. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.05.036>. [cit. 2024-05-10].
- [45] CUI, Weiwei; WEI, Xinyi; LUO, Jingyun; XU, Bo; ZHOU, Hongfu et al. CO₂-assisted fabrication of PLA foams with exceptional compressive property and heat resistance via introducing well-dispersed stereocomplex crystallites. Online. *Journal of CO₂ Utilization*. 2022, roč. 64, s. 1-12. ISSN 22129820. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2022.102184>. [cit. 2024-05-10].
- [46] ZHAO, Liang-liang; SU, Juan-juan; HAN, Jian; ZHANG, Bin a OU, Lu. Optimizing the balance between stiffness and flexibility by tuning the compatibility of a poly(lactic acid)/ethylene copolymer. Online. *RSC Advances*. 2017, roč. 7, č. 37, s. 23065-23072. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C6RA28843J>. [cit. 2024-05-10].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PLA – kyselina polyméčná

LA – kyselina mléčná

PLLA – poly-L-laktid

PDLA – poly-D-laktid

PDLLA – poly-D-L-laktid

PCL – polykaprolakton

PHB – polyhydroxybutyrát

PHBV – poly-3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerát

PHA – polyhydroxyalkanoáty

EGMA – ethylen-glycidylmethakrylát

MM – minerální médium

ROP – ring-opening polymerization

PS – polystyren

PET – polyethylentereftalát

PVC – polyvinyl chlorid

PP – polypropylen

PE – polyethylen

ATP – adenosintrifosfát

MS – hmotnostní spektrometrie

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

DSC – diferenční skenovací kalorimetrie

WAXD – širokouhlá rentgenová difrakce

DMA – dynamický mechanický analyzátor

TOC – celkový organický uhlík

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Chemická struktura kyseliny polymléčné (PLA)	12
Obrázek č. 2: Syntéza PLA přímou polymerací LA	13
Obrázek č. 3: Syntéza PLLA polymerací L-laktidu	13
Obrázek č. 4: Chemická struktura polyhydroxybutyrátu (PHB)	15
Obrázek č. 5: Biosyntetický cyklus PHB.....	16
Obrázek č. 6: Chemická struktura kompatibilizátoru EGMA	19
Obrázek č. 7: Reakce PLA s EGMA	20
Obrázek č. 8: Schéma biodegradace polymerů.....	22
Obrázek č. 9: Schéma hydrolýzy PLA.....	25
Obrázek č. 10: Bioreaktor	37
Obrázek č. 11: Dílčí vzorky vložené do burial testů a) PLA b) PLA/EGMA	38
Obrázek č. 12: Dílčí vzorky vložené do burial testů c) PHB d) PHB/EGMA e) PLA/PHB/EGMA	38
Obrázek č. 13: Průběh biodegradace dílčích vzorků v kompostu při teplotě 58 °C	46
Obrázek č. 14: Stupeň hydrolytické degradace jednotlivých vzorků vyhodnocený na základě nárůstu koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v pufu	48
Obrázek č. 15: Snímek povrchu fólie PLA po biodegradaci, zvětšení 3000×	50
Obrázek č. 16: Snímek povrchu fólie PLA před biodegradací, zvětšení 3000×	50
Obrázek č. 17: Snímek povrchu fólie PLA/EGMA po biodegradaci, zvětšení 3000×	51
Obrázek č. 18: Snímek povrchu fólie PLA/EGMA před biodegradací, zvětšení 3000×	51
Obrázek č. 19: Snímek povrchu fólie PHB/EGMA po biodegradaci, zvětšení 3000×	51
Obrázek č. 20: Snímek povrchu fólie PHB/EGMA před biodegradací, zvětšení 3000×	52
Obrázek č. 21: Snímek povrchu fólie PLA/PHB/EGMA po biodegradaci, zvětšení 3000×	52
Obrázek č. 22: Difrakční obrazce pro PLA před a po biodegradaci.....	56
Obrázek č. 23: Difrakční obrazce pro PLA/EGMA před a po biodegradaci	57

Obrázek č. 24: Difrakční obrazce pro PHB před a po biodegradaci.....	58
Obrázek č. 25: Difrakční obrazce pro PHB/EGMA před a po biodegradaci.....	59
Obrázek č. 26: Difrakční obrazce pro PLA/PHB/EGMA před a po biodegradaci	60

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Mechanické vlastnosti PLA (Ingeo biopolymer 2003D).....	32
Tabulka č. 2: Tepelné vlastnosti při zpracování PLA (Ingeo biopolymer 2003D).....	32
Tabulka č. 3: Mechanické vlastnosti PHB (ENMAT Y1000).....	33
Tabulka č. 4: Tepelné vlastnosti při zpracování PHB (ENMAT Y1000).....	33
Tabulka č. 5: Mechanické vlastnosti EGMA (GMA BF-E).....	33
Tabulka č. 6: Tepelné vlastnosti při zpracování EGMA (GMA BF-E).....	34
Tabulka č. 7: Složení polymerů a jejich směsí	34
Tabulka č. 8: Naměřené hodnoty (T_g) a (T_m) polymerních fólií před i po biodegradaci.....	53
Tabulka č. 9: Naměřené hodnoty (T_g) a (T_m) před a po biodegradaci v kompostu	54
Tabulka č. 10: Naměřené hodnoty modulů pružnosti v tahu u fólií polymerních vzorků	61