

# **Biodegradace směsných polymerů v termofilních podmínkách**

Bc. Iva Kotasová

---

Diplomová práce  
2006

 **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně**  
Fakulta technologická

---

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

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

Téma práce: **Biodegradace směsných polymerů v termofilních podmínkách**

### Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na možnosti hodnocení biologické rozložitelnosti polymerních materiálů (především PVAL, proteinů, polysacharidů a jejich směsí) v podmínkách kompostování.
2. Navrhněte laboratorní variantu testu "kompostování" polymerů a analytického sledování jeho průběhu (acidimetrie, plynová chromatografie, IR spektroskopie apod.).
3. Aplikujte při "kompostovacích" testech polymerních materiálů (viz shora). Proveďte testy i s různou analytickou koncovkou, pokud bude účelné.
4. Výsledky zpracujte dle zvyklostí písemnou formou (viz instrukce UTB pro zpracování DP) s využitím MS Word a Excel, případně programu Statistica.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Dle pokynů vedoucího diplomové práce

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.**

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

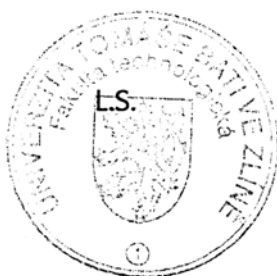
**20. února 2006**

Termín odevzdání diplomové práce:

**26. května 2006**

Ve Zlíně dne 20. února 2006

  
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.  
děkan



  
doc. Ing. Jaromír Hoffmann, CSc.  
ředitel ústavu

## **ABSTRAKT**

Cílem diplomové práce bylo navrhnout vhodnou metodiku laboratorních testů biodegradace polymerních látek v prostředí kompostu. Vyhodnocení biorozložitelnosti bylo provedeno na základě produkce CO<sub>2</sub>, který byl detekován plynově chromatografickou analýzou a analýzou titrační. Při nastavení „optimálních podmínek“ kompostování jsou výsledky obou metod srovnatelné a v budoucnu lze plynově chromatografickou koncovku použít jako jediné kritérium hodnocení biorozkladu polymerů v prostředí kompostu.

Klíčová slova: Biodegradace, kompostování, plynová chromatografie.

## **ABSTRACT**

The aim of this diploma work was to design an acceptable method for laboratory testing of polymers in compost. The evaluation of biodegradability was evaluated by means of CO<sub>2</sub> – production. CO<sub>2</sub> was assessed by gas chromatography and titration method. Records are comparable of both methods at setting „optimum conditions" of composting and it is possible the gas chromatographic method could be used as the only one criterion for evaluation of polymer degradation in compost environment.

Keywords: Biodegradation, composting, gas chromatography.

Tímto bych chtěla poděkovat Doc. Ing. Jaromíru Hoffmannovi, CSc. za odborné vedení a cenné rady, které mi v průběhu vypracování diplomové práce poskytoval. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Pavlu Dřimalovi za výraznou pomoc, spolužákům a v neposlední řadě celému pracovnímu kolektivu za vytvoření velmi dobrých pracovních a studijních podmínek.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>1 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYMERŮ</b> .....	<b>9</b>
1.1 DEGRADACE.....	9
1.2 BIODEGRADACE.....	9
<b>2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRŮBĚH BIODEGRADACE</b> .....	<b>11</b>
<b>3 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY</b> .....	<b>12</b>
3.1 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY VE VODNÍM PROSTŘEDÍ.....	12
3.1.1 Sturmův test.....	12
3.1.2 Zahn-Wellens test.....	13
3.1.3 Head-space test.....	13
3.1.4 Stanovení biologické spotřeby kyslíku (BSK).....	13
3.2 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY V PŮDNÍM PROSTŘEDÍ.....	14
3.2.1 Půdní testy.....	14
3.2.2 „Burial“ testy.....	15
3.3 BIOLOGICKÉ ROZKLADY V PODMÍNKÁCH KOMPOSTOVÁNÍ.....	15
3.3.1 Fáze při procesu kompostování.....	16
3.3.2 Optimalizace kompostování.....	17
3.3.3 Rizika spojená s kompostováním.....	19
3.3.4 Laboratorní kompostovací testy.....	20
3.3.5 Shrnutí dosavadních poznatků.....	21
<b>4 CHARAKTERISTIKY TESTOVANÝCH LÁTEK, PŘÍPADNĚ JEJICH APLIKACE V LABORATORNÍCH PODMÍNKÁCH</b> .....	<b>22</b>
4.1 POLYVINYLALKOHOL.....	22
4.2 POLYSACHARIDY.....	23
4.2.1 Xanthan.....	23
4.2.2 Gellan.....	24
4.2.3 Škrob.....	24
4.3 PROTEINY.....	26
4.4 JINÉ APLIKACE.....	27
<b>5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE</b> .....	<b>28</b>
<b>6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>29</b>
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, BIOLOGICKÝ MATERIÁL, TESTOVANÉ VZORKY.....	29
6.1.1 Použité chemikálie.....	29
6.1.2 Použité substráty.....	30
6.1.3 Použitý inertní materiál.....	31
6.1.4 Biologický materiál.....	32
6.1.5 Charakteristika testovaných vzorků.....	33

6.2	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ .....	34
6.3	TESTOVACÍ APARATURY .....	34
6.3.1	Testovací láhve.....	34
6.3.2	Schéma aparatury pro titrační analýzu.....	35
6.4	ZPŮSOBY HODNOCENÍ AEROBNÍ BIOROZLOŽITELNOSTI LÁTEK .....	36
6.4.1	Hodnocení biodegradace z hlediska produkce CO <sub>2</sub> a úbytku O <sub>2</sub> .....	37
6.4.1.1	Analýza CO <sub>2</sub> a O <sub>2</sub> na plynovém chromatografu CHROM 5.....	37
6.4.1.2	Analýza CO <sub>2</sub> titrační metodou.....	40
6.4.2	Hodnocení biodegradace z hlediska úbytku TOC.....	40
6.5	POPIS PROVEDENÝCH TESTŮ .....	41
6.5.1	Biodegradace ve vodném prostředí s půdním výluhem jako inokulem .....	41
6.5.2	Biodegradace ve vodném prostředí s kompostním extraktem jako inokulem.....	42
6.5.3	Biodegradace v prostředí kompostu.....	43
6.6	ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT .....	46
6.7	OSTATNÍ METODIKY A POSTUPY .....	49
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>51</b>
7.1	SLEDOVÁNÍ BIODEGRADACE VE VODNÉM PROSTŘEDÍ.....	51
7.2	SLEDOVÁNÍ BIODEGRADACE V PROSTŘEDÍ KOMPOSTU .....	59
<b>8</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>69</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>71</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>75</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>76</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>77</b>

## ÚVOD

Na ústavu inženýrství ochrany životního prostředí je již po dlouhou dobu věnována pozornost testování biorozkladu polymerních látek ve vodném a půdním prostředí. Testy v prostředí kompostu nebyly dosud prováděny a proto cílem této diplomové práce je metodicky popsat praktickou realizaci těchto testů.

Výhodou kompostování je nejen vznik nového využitelného produktu – humusu, ale i stabilizace bioodpadu a jeho „recyklace“. Při správném provozování technologií kompostování téměř nezatěžuje životní prostředí, neboť vstupující odpad je v plném rozsahu přetvořen pro další využití.

Pro sledování biodegradace polymerních látek během kompostování byla použita plynově-chromatografická koncovka a titrační analýza.



# 1 DEGRADACE A BIODEGRADACE POLYMERŮ

## 1.1 Degradace

Degradace je nevratná změna chemické struktury polymerů a jeho příslušných vlastností [1].

Polymer může degradaci podléhat pěti interakčními mechanismy [1]:

- Fotodegradací denním světlem
- Oxidací pomocí chemických sloučenin
- Termickou degradací, tzn. zahřátím
- Mechanickou degradací
- Degradací pomocí mikroorganismů, tzn. biodegradace

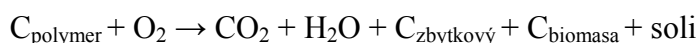
## 1.2 Biodegradace

Definicí biodegradace je uvedeno několik. Biodegradace je schopnost substance podstoupit mikrobiální útok. Biodegradace je eliminace organických látek z ekosystému pomocí metabolické aktivity biocenózy. V optimálním případě konečným produktem biodegradace je biomasa, oxid uhličitý, voda a případně další anorganické sloučeniny (amoniak, sulfát) [2].

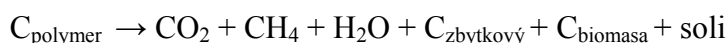
Biodegradace se může v přírodě odehrávat dvěma způsoby: aerobně (za přístupu vzduchu) a anaerobně (za nepřístupu vzduchu). Tyto dvě možnosti biodegradace probíhají jak v půdním tak ve vodním prostředí [1].

Chemický proces může být popsán následujícími rovnicemi [1]:

- Aerobní proces ( kde C značí uhlík)



- Anaerobní proces



Možnosti sledování biologického rozkladu vyplývající z uvedených rovnic:

- Stanovení úbytku rozkládané látky (TOC)

Analýza je založena na detekci oxidu uhličitého vznikajícího spalováním látek na katalyzátoru. Množství celkového organického uhlíku (TOC) je dáno z rozdílu celkového uhlíku (TC) a anorganického uhlíku (IC).

- Stanovení spotřeby kyslíku

Měření se provádí v uzavřeném respirometru pomocí kyslíkové elektrody nebo např. pomocí manometrického přístroje Bial (kap. 3.1.4) [3].

- Stanovení konečných produktů

Stanovení produkce CO<sub>2</sub> jako konečného produktu biodegradace je možné provádět plynovou chromatografií, titrační metodou nebo IR spektroskopií.

Norma, která by popisovala přímo metodu měření biodegradace s plynově chromatografickou koncovkou není, proto byla využita norma ISO 6974-3 pro stanovení přírodních plynů s plynově chromatografickou koncovkou. Metoda využívá dvou chromatografických kolon. Pro stanovení vodíku, hélia, kyslíku a dusíku se používá kolona obsahující molekulární síto s označením 13X s termálně vodivostní detekcí (TCD). Pro stanovení dusíku, oxidu uhličitého a uhlovodíku C1-C8 se používá kolona naplněná Porapakem R s detekcí TCD a plamenově-ionizačním detektorem (FID) v sériovém zapojení. Tyto dvě analýzy jsou provedeny nezávisle a výsledky jsou kombinovány [4]

Titrační metoda je založena na jímání vyprodukovaného CO<sub>2</sub> v absorbérech, které obsahují NaOH. CO<sub>2</sub> se stanovuje titrací odměrným roztokem HCl.

- Sledování nárůstu biomasy

Celková biodegradace nastane pokud již nejsou přítomny žádné zbytkové látky polymeru, tzn. původní polymer je kompletně přeměněn na plynné produkty a příslušné soli [1].

## 2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRŮBĚH BIODEGRADACE

Hlavními podmínkami, bez kterých by biodegradace vůbec nenastala, jsou [1,5,6]:

- Přítomnost mikroorganismů

Základem pro každou biodegradaci je existence mikroorganismů s vhodným metabolickým vybavením k enzymové syntéze určitých polymerních látek. Tím dojde k zahájení nepolymeračního procesu a k mineralizaci monomerů a oligomerů.

Způsobilost mikroorganismů degradovat organické materiály je závislá na intenzitě s jakou produkují pro daný substrát specifické extracelulární enzymy.

- Enviroment

Je několik faktorů, které jsou k biodegradaci nepostradatelné. Biodegradace je ovlivňována zejména těmito vlivy prostředí: teplota, světlo, živiny, pH, vlhkost a přítomnost kyslíku. Biodegradace je většinou zapříčiněna enzymy produkovanými mikroorganismy, ale podporují ji i další procesy, např. abiotická hydrolýza, fotodegradace, mechanické narušení apod. Mikrobiální aktivita mění zároveň strukturu látek kultivačního média. V anaerobních podmínkách dochází většinou ke snížení pH vlivem organických kyselin produkovaných mikroorganismy. Naproti tomu v aerobním prostředí může pH i vzrůst (při kompostování dochází obvykle ke zvýšení pH na 8-9)

- Substrát

Velký význam pro biodegradaci má struktura polymerů. Nejdůležitějšími charakteristikami struktury polymerů je chemické složení, druhy chemických vazeb, stupeň a typ větvení, polymerační stupeň, molekulová váha, krystalita a ostatní morfologické vlastnosti. Tyto vlastnosti polymerního materiálu rozhodují o rychlosti rozkladu, neboť ovlivňují přístupnost daných enzymů k povrchu polymerního materiálu.

### 3 TESTOVÁNÍ BIODEGRADABILITY

Byla vyvinuta řada metodik, aby bylo vyhověno všem požadavkům na testování biorozložitelnosti plastů v podmínkách pokrývajících téměř celé spektrum prostředí ve kterých plasty po jejich upotřebení končí [7].

#### 3.1 Testování biodegradability ve vodním prostředí

Hlavní princip těchto testů spočívá v aerobním rozkladu vzorku ve vodném prostředí pomocí příslušného inokula. Velmi častým zdrojem mikroorganismů bývá aktivovaný kal z městských čistíren odpadních vod. Testovaný materiál se stává jediným zdrojem uhlíku a energie v kultivačním médiu. Mikroorganismy v přítomnosti kyslíku převádějí uhlík na biomasu, oxid uhličitý a anorganický nerozpuštěný uhlík. Biodegradace je všeobecně hodnocena na základě spotřeby  $O_2$  nebo produkci  $CO_2$ . Přesněji řečeno, daná kritéria se vztahují na teoretické množství spotřebovaného kyslíku, případně vyprodukovaného oxidu uhličitého [3].

##### 3.1.1 Sturmův test

Sturmův test je velmi vhodná metoda pro měření biodegradability ve vodě rozpustných i nerozpustných sloučenin ve vodném prostředí. Kontinuální aerace zabezpečuje dostatek kyslíku uvnitř bioreaktoru. Měření v průběhu degradace uvolňovaného  $CO_2$  zprostředkovává okamžitou informaci o biokonverzi uhlíkatého řetězce polymeru na konečné metabolické produkty a to lépe než testy založené na určování spotřeby kyslíku, jelikož kyslík je využíván také při nitrifikaci nebo chemické oxidaci [2,7].

Sturmův test má také několik slabín, např. úniky plynů z velmi komplikovaného systému propojovacích hadiček mohou zavinit chybně nízké hodnoty produkce  $CO_2$ . Oxid uhličitý je zachycován v roztoku hydroxidu barnatého, který je pak titrován jako funkce času [2,7].

Pracnost metody byla hlavní příčinou pro vyvinutí automatického zařízení pro stanovování  $CO_2$ . Testování biodegradability v tomto automatickém přístroji je založeno na měření změn elektrické vodivosti základního roztoku. Vodivost je kalibrována tak, aby výstupní hodnoty znázorňovaly množství uvolňovaného  $CO_2$ . K přístroji může být simultánně připojeno 24 a v případě nutnosti až 80 bioreaktorů. Před

započetím testu je třeba zadat do počítače teoretické množství  $\text{CO}_2$ , které může být ze vzorku vyprodukováno. Počítač pak během testu kreslí kumulativní křivku uvolněného  $\text{CO}_2$  jako procento maximálního teoretického množství [2,7].

### 3.1.2 Zahn-Wellens test

Kritériem biorozkladu pro tento typ testu je stanovení celkového organického uhlíku (TOC). Test lze realizovat pouze ve vodném prostředí s dobře rozpustnými substráty. Organický uhlík je stanovován pomocí analyzátoru organického uhlíku a vyhodnocen jako procento odstranění substrátu pomocí hodnot TOC [2].

### 3.1.3 Head-space test

Když je z důvodu statistického zpracování potřeba testovat najednou velké množství stejných vzorků, pak je vhodné použít některý ze screening testů založených na stanovování  $\text{CO}_2$  v uzavřených baňkách s aerovaným médiem obsahujícím minerální živiny a inokulum mikroorganismů. Head-space test je založen na stanovování oxidu uhličitého v plynné a kapalné fázi [2,7].

### 3.1.4 Stanovení biologické spotřeby kyslíku (BSK)

Nejběžnější metodou stanovení je standardizovaná tzv. zředovací metoda pro stanovení pětidenní BSK ( $\text{BSK}_5$ ). Princip spočívá ve stanovení obsahu rozpuštěného kyslíku v upraveném vzorku vody nultého a pátého dne inkubace. Výhodou této metody je, že nepotřebuje žádné speciální přístrojové vybavení a tudíž není ekonomicky náročná [8].

Další metodou měření BSK je metoda respirometrická (manometrická), která je založena na principech plynoměrné analýzy. Sledovanou veličinou je změna tlaku, resp. objemu plynné fáze, ke které dochází v důsledku přestupu kyslíku do kapalné „respirující fáze“. Tento princip využívají např. přístroje řady BIAL. Biochemický rozklad je urychlen třepáním analyzovaného vzorku. BIAL obsahuje měřicí jednotky (sestavěny ze dvou lahviček – měrné a kompenzační) s minerálním médiem, testovanou látkou a inokulem. Do plastového uzávěru lahvičky je zasunuta vždy epruveta s obsahem KOH, který je ve formě peciček nebo v roztoku. V něm je sorbován přeměnou či endogenní respirací vznikající  $\text{CO}_2$ . Při hodnocení biologické

rozložitelnosti se počítá poměr BSK/TSK (teoretická spotřeba kyslíku), v praxi častěji BSK/CHSK (chemická spotřeba kyslíku) [3,8].

## 3.2 Testování biodegradability v půdním prostředí

### 3.2.1 Půdní testy

Mezinárodní norma, která poskytuje postup výběru metody a její provádění pro stanovování biorozložitelnosti organických látek v půdách za aerobních podmínek je norma „ISO 11266: Půdní kvalita - řízení biorozložitelnosti organických látek v laboratorním testu v půdě za aerobních podmínek“. Norma nepopisuje konkrétní metody testování [9].

Mezinárodní norma „ISO 17556:2003: Plasty - stanovení konečného aerobního biorozkladu v půdě měřením spotřeby kyslíku v respirometru nebo množstvím vyprodukovaného oxidu uhličitého“ specifikuje metodu, která stanovuje konečné produkty aerobní biodegradace u plastických materiálů v půdě. Měří se spotřeba kyslíku v uzavřeném respirometru nebo množství vyprodukovaného CO<sub>2</sub>. Metoda je navržena tak, aby došlo k optimálnímu stupni biodegradace regulováním vlhkosti zkušební půdy. Jestliže je nepřizpůsobená půda používána jako očkovací látka, tak test simuluje biodegradaci procesy, které se odehrávají v přirozeném půdním prostředí; jestliže je půda předem připravená (adaptovaná), může být používána jako metoda pro zjišťování potenciální biorozložitelnosti testovaného materiálu [10].

Tato metoda platí pro následující materiály: Přirozený nebo syntetický polymer, kopolymer nebo jejich směsi. Plastické materiály, které obsahují přísady jako jsou změkčovadla nebo barviva. Vodorozpustný polymer. Materiály, které ve zkušebních nastavených podmínkách nebudou překážet aktivitě mikroorganismů přítomných v půdě [10].

Standardní zkušební metodou srovnatelnou s předešlou normou ISO 17556 [10] je metoda popsána organizací ASTM (American Society for Testing and Materials) „D5988-03 Standardní zkušební metoda určující aerobní biodegradaci v půdě pro plastické materiály nebo zbytkové plastické materiály po kompostování“ [11].

Tato metoda je určena pro sledování biodegradability syntetických plastů (včetně rozkladuschopných přísad) v půdě nebo ve zralém kompostu s nastolením

laboratorních podmínek. Dále je určena pro stejné materiály jako norma ISO 17556.[11]

### 3.2.2 „Burial“ testy

Jsou to testy zaměřené na stanovení biodegradability různých plastů jak v půdě tak v kompostu. Stanovení biodegradace je prováděno gravimetrickou metodou. Princip spočívá v zahrabání vzorku do environmentu. Vzorek je zvážen na začátku a konci testu a z rozdílu hodnot můžeme vypočítat účinnost odstranění polymeru z environmentu. Tyto testy nám tedy ukazují jak daný polymer bude podléhat mikrobiálnímu napadení v přirozeném prostředí. Případně vzorky mohou podstoupit další chemické, mechanické nebo fyzikální testy [12].

### 3.3 Biologické rozklady v podmínkách kompostování

Kompostování je biooxidativní proces, ve kterém jsou organické látky postupně rozloženy až na CO<sub>2</sub>, vodu, minerální soli a humus [6].

Kompostování je způsob využití biodegradabilních odpadů k výrobě organického hnojiva - kompostu, který je nejstarším a nejpřirozenějším prostředkem ke zlepšování půdy, který známe. Přeměnu organické hmoty odpadů na humusové složky při kompostování zabezpečují převážně aerobní mikroorganismy. Na tvorbě humusu se hlavně podílí bakterie, řasy, houby, stonožky, hmyz, jeho larvy a další. Jde o analogické procesy jako při přeměně organické hmoty v přírodním prostředí [13].

Jsou dvě možnosti, jak se může rozkládat organická hmota [13]:

- Hnití (za nepřístupu vzduchu)

Na rozdíl od tlení se vyskytuje hnití tam, kde převládá nedostatek kyslíku. Hnití tedy není při kompostování žádoucí být v podmínkách nastavených pro kompostování může probíhat. Při tomto procesu se činností určitých druhů bakterií tvoří zápachající plyny, například sirovodík a čpavek, a jedovaté sloučeniny. Hnití dále podporuje tvorbu různých původců chorob (slepičí mor, mor prasat, turbekulózu, tetanus, epidemickou žloutenku, dětskou obrnu, ...). Kromě toho se poškozují úrodnost půdy a půda se obohacuje „nevhodnými“ mikroorganismy.

- Tlení (za přístupu vzduchu)

Na tlení se podílejí naopak zcela jiné mikroorganismy a to bakterie, plísně, kvasinky a aktinomycety, které vyžadují kyslík. Živiny nejsou přeměněny v zapáchající plyny, nýbrž jsou nejdříve vázány v mikroorganismech a později jsou k dispozici pro tvorbu humusu. Organické látky jsou pak postupně rozkládány až mineralizovány za vzniku CO<sub>2</sub>. Při tlení jsou zneškodňovány původci chorob – nejen vysokými teplotami, nýbrž také tvorbou řady přírodních antibiotik. Tlení vede ke tvorbě cenných humusových látek.

### 3.3.1 Fáze při procesu kompostování

Kompostování je kontinuální proces a proto nelze přesně vymezit různé úseky tlení. Přesto se tlení rozděluje do tří fází (Obr. 1) [13]:

- A. Fáze rozkladu
- B. Fáze přeměny
- C. Fáze výstavby (syntézy)

ad A) Fáze rozkladu

Tato fáze trvá asi 3 až 4 týdny, teplota stoupá podle výchozího materiálu na 50 až 70°C. Je to činnost bakterií a hub, které rozkládají lehce rozložitelné sloučeniny, jako jsou například cukry, bílkoviny a škrob. Konečným produktem jsou malé „stavební kameny“ - například dusičnany, oxid uhličitý, čpavek, aminokyseliny a polysacharidy. Živiny, které jsou vázány v organické hmotě, se tak uvolňují a zčásti přecházejí až do původní minerální formy. Tento proces proto nazýváme také „mineralizace“.

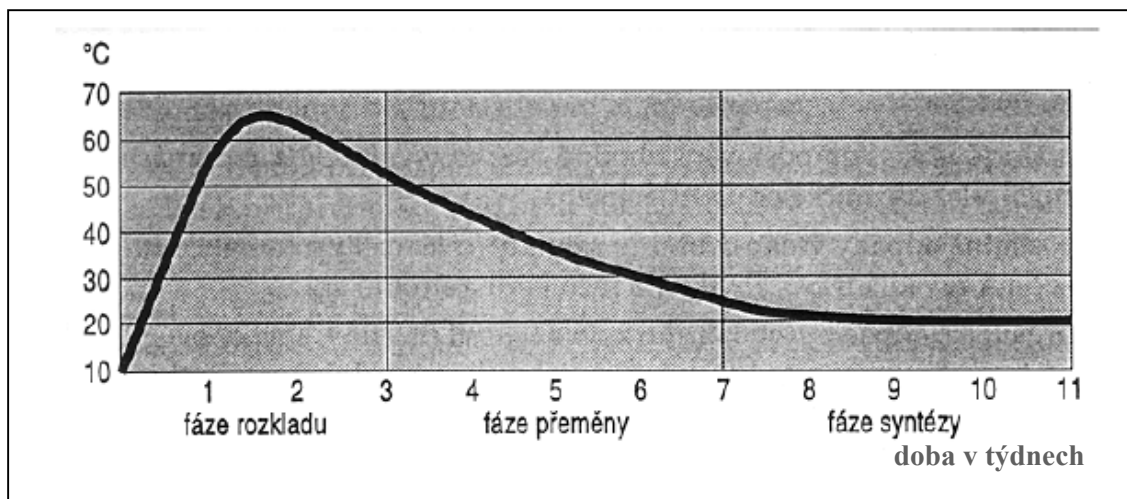


## ad B) Fáze přeměny

Trvá od čtvrtého až do osmého respektive desátého týdne. Teplota začíná opět klesat, mineralizované živiny jsou jako základní kameny zabudovány do „humusového komplexu“. Kompost získává stejnoměrně hnědou barvu, drobtovitou strukturu a má lehkou vůni po lesní zemině. V tomto stádiu má nejlepší výživářský účinek!

## ad C) Fáze syntézy (zralosti)

Když ponecháme kompost ještě déle, získává stále více zemitou strukturu. „Živný humus“ se přeměňuje na „trvalý humus“, hnojařský účinek je slabší (živiny jsou stále pevněji vázány).



**Obr. 1:** Průběh teploty a fáze tlení [13]

### 3.3.2 Optimalizace kompostování

Ve svém základě lze technologie kompostování rozdělit na dvě kategorie. Zatímco kompostování anaerobní se používá v menší míře a výhradně při velkých objemech kompostovaného materiálu (nad 20 000 tun/rok) o poměrně vysoké vlhkosti, aerobní kompostování je podstatně rozšířenější. Jedná se o technologicky jednodušší proces, i když je třeba si uvědomit, že nastolení optimálních podmínek jak při přípravě materiálu, tak i v průběhu procesu, má přímý vliv na délku procesu i kvalitu výsledného produktu [13,14,15,16].

- Skladba surovin

Obvykle se skládá z kuchyňských zbytků, odpadů z potravin, odpadů z výroby pochutin, odpadu ze zeleně, popř. kalů bez obsahu nežádoucích složek, zejm. těžkých kovů. K problému kalů je třeba poznamenat, že škodliviny jako jsou např. těžké kovy se kompostováním ani v nejmenším neodbourávají, naopak vzhledem k tomu, že biologická složka se při procesu částečně odbourává, koncentrace těžkých kovů v celkovém množství produktu tímto narůstá. Další komponenty jsou do zakládky přidávány z důvodu zajištění specifických podmínek pro život mikroorganismů nezbytných pro kompostovací proces.

- Poměr uhlík:dusík

Tento důležitý parametr určuje pravděpodobnou rychlost rozkladu organických zbytků. Optimální hodnota tohoto poměru se pohybuje (20-30):1 u zralého kompostu. Pro čerstvě založený kompost složený z převážné části ze zbytkové biomasy je vhodný poměr C:N= (30-35):1. Při poměru menším než 15:1, bude rozklad rychlý, ale dusík se může unikat jako amoniak, protože množství dusíku převažuje metabolickou potřebu mikroorganismů. Hmoty s poměrem C:N nad 50:1 se rozkládají pomalu, prodlužuje se zrání kompostu. Hlavním zdrojem uhlíku je odpad ze zeleně, dusíku pak např. čistírenské kaly.

Poměr C/N se během správně prováděného kompostování snižuje, což závisí na množství organického uhlíku přeměněného do formy CO<sub>2</sub> a míře denitrifikace.

- Vlhkost a provzdušňování

Protože kompostování je aerobní samozáhřevný biologický rozklad degradovatelného materiálu způsobený aerobní mikroflórou, je nutné pro její rozvoj zabezpečit v kompostové zakládce optimální vlhkost materiálu a s ní související množství kyslíku. Pro komposty je vhodná počáteční vlhkost 50-60%. Dostatečný obsah vody je nezbytný, neboť mikroorganismy působící při procesu čerpají značnou část živin právě z ní. Nepříznivý vliv má však i nadměrná vlhkost, protože v tomto případě voda zaplní póry, vytlačí kyslík a přibrzdí aerobní proces. Vlhčení směsi se na rozdíl od provzdušňování neprovádí kontinuálně, protože voda se spotřebovává podstatně pomaleji než kyslík.

- Teplota

Většina mikroorganismů v organickém materiálu je mezofilních (optimální teplota jejich rozvoje je 20-30°C). Avšak až při vyšších teplotách začíná převažovat skupina termofilních aerobních mikroorganismů, které jsou pro správný průběh kompostování nezbytné. Optimální výše této teploty se pohybuje v rozmezí 45-65°C. Tato teplota zaručuje potlačení klíčivosti semen plevelů, patogenních mikroorganismů apod.

- Hodnota pH

Optimální hodnota pH u čerstvého kompostu se pohybuje v rozmezí 6-8, protože většina mikroorganismů vykazuje nejpříznivější rozvoj a aktivitu právě v tomto rozmezí.

### 3.3.3 Rizika spojená s kompostováním

Při výběru materiálu pro kompostování je pozornost věnována především chemickému složení, zejména obsahu těžkých kovů a dalších cizorodých látek. Tento zájem je oprávněný, protože obsah cizorodých látek nebezpečných pro životní prostředí, kulturní rostliny, živočichy i lidi se často v průběhu kompostovacího procesu nemění a zůstává i v konečném produktu, takže s ním přecházejí do zemědělské půdy a pod.[17].

S ohledem na biologická rizika používání kompostů bylo ve světě i u nás provedeno velké množství studií, které měly za hlavní cíl určit velikost rizika a jeho druhy. V rámci těchto prací byly v kompostech sledovány výskyty jednotlivých typů organismů, které mají určitý vztah ke vzniku ohrožení. Stanovení byla prováděna jak v kompostech, tak ve vzduchu kompostáren, skladovacích prostorech kompostů a pod.

Při studiu obsahu různých organismů ve vzduchu kompostáren byly zjišťovány plísně, aktinomycety, gramnegativní bakterie i kvasinky. U pracovníků v kompostárnách (především zpracovávajících přebytečný aktivovaný kal a organický podíl domovního odpadu) byly zjištěny i zdravotní problémy [18].

Mikroorganismy přicházející do procesu se zpracovávaným odpadem jsou většinou spojeny se zažívacím traktem a většina by jich měla v průběhu kompostování vymizet. Organismy, které se vyvinou v průběhu kompostování a podílejí se na

degradaci organické hmoty, jsou většinou mezofilní a termofilní bakterie a plísně. Mezi nimi se vyskytuje několik podmíněně patogenních druhů. Toxiny těchto organismů ohrožují zdraví pracovníků kompostáren i uživatelů kompostů. Do organismu se dostávají především dýchacími cestami [19].

### 3.3.4 Laboratorní kompostovací testy

ASTM (American Society for Testing and Materials) popsala standardní kompostovací test (ASTM D 5338) [27]. Tato metodika je založena na měření produkce  $\text{CO}_2$  ve vzorku. Dvou až pětilitrové baňky jsou naplněny vyzrálým kompostem a vzorkem plastu (ve formě proužků, granulí, prášku apod.) v poměru 6:1 v přepočtu na sušinu a jsou ohřívány z vnějšku. Metoda ASTM určuje teplotní profil (1. den  $35^\circ\text{C}$ , 2.-5. den  $58^\circ\text{C}$ , 6.-28. den  $50^\circ\text{C}$  a 29.-48. den  $23^\circ\text{C}$ ).  $\text{CO}_2$  se zachytává buď v  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  a následně titruje, nebo se měří pomocí plynové chromatografie. Vedle pozitivní kontroly se pracuje i s negativní kontrolou (čistý PE) a s nulovou kontrolou (pouze kompost) [7].

Dalším způsobem testování biodegradability polymeru v prostředí kompostu je tzv.  $\text{CO}_2$  kompostovací test. Tento test je také založen na stanovení  $\text{CO}_2$  vzniklého při kompostování, ale teplota není udržována uměle, nýbrž je výsledkem přirozené mikrobiální aktivity. V průběhu testu je určována teplota a pH; po jeho ukončení se doporučuje změřit poměr C/N,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ , sušinu, spalitelné látky a humifikaci [7].

Mezinárodní norma zabývající se biodegradací v prostředí kompostu je Norma „ISO 14855: Stanovení aerobní biodegradace a rozklad plastických materiálů pomocí kontrolovaných kompostovacích podmínek – Metoda analýzy vyvíjejícího se oxidu uhličitého“ [20].

Tato mezinárodní norma předepisuje metodu pro stanovení aerobní biodegradace plastů při simulovaných kompostovacích podmínkách měřením množství oxidu uhličitého a stanovením stupně rozkladu plastu na konci testu. Metoda je navržena tak, aby simulovala typické aerobní kompostovací podmínky pro organické frakce pocházející z pevného smíšeného městského odpadu. Kompostování se odehrává v environmentu s řízenou a kontrolovanou teplotou, vlhkostí a provzdušňováním. Zkušební metoda je navržena tak, aby určila procentuální konverzi

uhlíku ve zkoušeném materiálu k vyprodukovanému oxidu uhličitému. Podmínky popsané v této mezinárodní normě nemusí vždy odpovídat optimálním podmínkám pro dosažení maximálního stupně biodegradace [20].

### 3.3.5 Shrnutí dosavadních poznatků

Přehledné shrnutí vhodných podmínek na počátku kompostování, v jeho průběhu až po jeho ukončení, je zpracováno v tab. I.

**Tab. I:** Přehled parametrů metody kompostování

Před započítáním kompostování	Optimální C/N	30-35/1 <sup>20</sup>
	Vhodné pH	6-8 <sup>20</sup>
	Min. obsah P [% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ]	0,2 <sup>20</sup>
V průběhu kompostování	Doba kompostování [měsíce]	min. 2-3 <sup>20</sup>
	Správná vlhkost [%]	70% pórovitosti zaplněno vodou <sup>20</sup>
	Obvyklá teplota [°C]	optimální 50-60; max. 68 <sup>20</sup>
	Potřeba kyslíku [% O <sub>2</sub> v prostředí]	min. 4 <sup>21</sup>
	Max. koncentrace CO <sub>2</sub>	17 <sup>21</sup>
	Max. výška zakládky [m]	4 <sup>20</sup>
Po kompostování	Max. C/N	30/1 <sup>22</sup>
	pH	6,0-8,5 <sup>22</sup>
	Vlhkost [%]	min. 40; max. 65 <sup>22,23</sup>

Pozn. Horní index označuje příslušnou citaci.

## 4 CHARAKTERISTIKY TESTOVANÝCH LÁTEK, PŘÍPADNĚ JEJICH APLIKACE V LABORATORNÍCH PODMÍNKÁCH

### 4.1 Polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol (PVA) je hydrofilní polymer rozpustný ve vodě. Rozpustnost či botnavost ve vodě je závislá na stupni zesíťování, tzn. rozpustnost lze odstranit síťováním. Ve své struktuře vždy obsahuje proměnlivé množství acetátových skupin, které mohou značně ovlivnit jeho vlastnosti. PVA je odolný vůči abiogenním degradačním procesům. V suchém stavu je odolný vůči plísním i bakteriím, ale jeho vodné roztoky podléhají mikrobiální degradaci [24,25].

Připravuje se hydrolyzou polyvinylacetátu, protože monomerní vinylalkohol není stabilní sloučeninou a rychle se mění na acetaldehyd [24].

PVA jako poměrně rozšířený polymer byl modifikován řadou přírodních polymerů jako je odpadní želatina, cukrová třtina, škrob atd. a syntetických látek např. kyselinou poly(3-hydroxybutyrovou). Tyto látky se používají ve směsích s PVA nejen jako plnivo, ale také jako modifikátory zlepšující biologický rozklad v různých inkubačních podmínkách [25].

Práce [26] se zabývala biodegradačními testy PVA v prostředí kompostu. Inkubační podmínky pro simulovaný kompostovací test byly částečně odvozeny z ASTM D 5338 - 92 testu [27]. Degradací testy s PVA probíhaly v 150 ml válcových nádobách naplněných 30 g stabilizovaného kompostu. Ke kompostu byl přidán natrhaný polymerní vzorek. Ve zkušebních vzorcích bylo 71% organického uhlíku a za účelem simulovat termofilní a mezofilní fáze byl aplikován teplotní program. Výsledky získané simulovaným kompostovacím testem, vyjádřenými jako teoretické procento produkce CO<sub>2</sub>, ukazují že biodegradace PVA nepřesáhla 7% ve 48 dnech. Při termofilní fázi simulovaného kompostovacího postupu, byla produkce CO<sub>2</sub> u PVA folie nižší než u slepého pokusu. Toto chování autoři přisuzovali škodlivým účinkům polymerního vzorku na termofilní mikroflóru v kompostu.

V roce 2001 stejný kolektiv jako v předešlém případě uveřejnil výsledky svých testů [28], kde se pokusily o srovnání biodegradace PVA při aerobních podmínkách v různých prostředí jako je prostředí kompostu, půdní prostředí a vodné prostředí.

Rozklad vzorků byl sledován respirometrickou metodou a následně bylo počítáno procento odstranění substrátu. V případě kompostovacích testů byly inkubační podmínky částečně odvozeny z ASTM D 5338-92 [27]. Při inkubaci byl aplikován teplotní program pro napodobení teplotních podmínek při procesu kompostování. Kompost byl použit z městského komunálního odpadu. Jako modelová látka byl použit škrob, který byl při stejných podmínkách rozložen ze 75%. Biodegradace nepřevyšovala 7% ve 48 dnech testu. Při půdních testech byl PVA rozložen jen z 9% v 74 dnech inkubace a při testech ve vodném prostředí, kdy byl jako inokulum použit aktivovaný kal, došlo k rozkladu ze 13% ve 21 dnech. Výsledek ovšem autoři nepovažují za konečný, neboť se domnívají, že 21 dnů je velmi krátká doba a při pokračování ve zkoušce by biodegradace byla mnohem větší.

## 4.2 Polysacharidy

### 4.2.1 Xanthan

Producentem extracelulárního Xanthanu jsou bakterie rodu *Xanthomonas*. Hlavní řetězec xanthanu je tvořen  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ 4) glukosovými jednotkami stejně jako u celulosy. Postranní řetězce (obvykle trisacharidy) jsou tvořeny zbytkem D-glukuronové kyseliny a dvěma zbytky D-maltosy. Struktura se může lišit stupněm substituce v závislosti na produkčním kmenu bakterií. Relativní molekulová hmotnost bývá kolem 15 000 kDa. Xanthanové molekuly tvoří jednoduchou nebo dvojitou šroubovici stabilizovanou postranními řetězci [25].

Xanthan je dobře rozpustný ve vodě. Viskozita silně závisí na teplotě. Při zahřevu nejprve klesá, ale při dalším zahřevu opět roste (souvislost se změnami konformace molekul). Disperze Xanthanu jsou stabilní v kyselém i alkalickém prostředí a při zvýšené teplotě (do 80°C) [25].

Xanthan slouží především jako zahušťovadlo, stabilizátor emulzí, v kombinaci s jinými hydrokoloidy i jako tělotvorná látka. Termostability Xanthanu se běžně využívá při přípravě instančních polévek, omáček a jako pojidla v různých konzervách [25].

Zmínky o pokusech založených na stanovení biodegradace Xanthanu pomocí kompostování jsou pouze v patentové literatuře, která bohužel není zdarma dostupná.

### 4.2.2 Gellan

Gellan (gellanová guma) je název extracelulárního polysacharidu bakterií *Pseudomonas elodea*. Lineární heteropolysacharid gellan (gellanová guma) je složen z opakujících se tetrasacharidových jednotek. Molekulová hmotnost se pohybuje v tisících až desítkách tisíců kDa. Molekuly tvoří levotočivou dvojitou šroubovici [25].

Gellan se rozpouští ve vodě za vzniku vysoce viskózních roztoků již při nízké koncentraci. Je gelotvornou látkou. Želatinace závisí na stupni acetylace. Nativní acetylovaný produkt tvoří měkké, pružné gely, deacetylovaný produkt tvoří gely tvrdé a křehké. Přítomnosti kationů (gellan je kyselý polysacharid tvořící soli) vznikají termoreverzibilní gely. Želatinace závisí na druhu kationtu a na jeho mocenství. Dvojmocné kationy tvoří pevnější a elastičtější gely než jednomocné kationy [25].

Podle struktury tvoří gellan gely za studena, za tepla, termoreverzibilní a termoreverzibilní, což ho řadí mezi široká želatinační činidla používaná v řadě potravinářských i nepotravinářských aplikací (úprava textury, stabilizace pěn a emulzí). Užívá se též v kombinaci s jinými hydrokoloidy, např. s Xanthanem, lokustovou gumou a želatinou [25].

### 4.2.3 Škrob

Škrob je makromolekulární látka se vzorcem  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Je složený z dvou různých polysacharidů: amylozy a amylopektinu, tvořených několika tisíci až desetitisíci molekulami glukózy. Je to bílý prášek bez chutě a vůně, nerozpustný ve studené vodě. Jedná se o konečný produkt fotosyntézy rostlin [25].

Kromě glukosy obsahuje škrob v malém množství lipidy, proteiny a zhruba 10 až 20 % vody. Škrob není alkoholicky zkvasitelný, teprve enzymaticky (v trávicí soustavě živočichů a člověka) se odbourává na zkvasitelné sacharidy. Zahříváním škrobu se tvoří škrobový maz, jeho hydrolyzou vzniká škrobový sirup, škrobový cukr a glukóza. Pražením škrobu se tvoří dextrin. Důkaz škrobu v neznámé látce se provádí roztokem jódu, jehož přítomnost prozrazuje modrofialové zbarvení [25].

Škrob patří mezi fyziologicky a hospodářsky nejdůležitější polysacharidy. Vzniká jako hlavní metabolický produkt v chloroplastech listů zelených rostlin; poté bývá degradován na rozpustné sacharidy, z nichž je v jiných částech rostlin (hlízy, oddenky, plody atd.) syntetizován zásobní škrob, který se ukládá v podobě škrobových



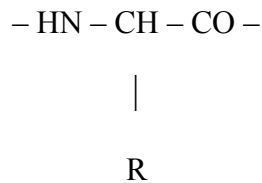
zrn ve zvláštních organelách, amyloplastech. Zvláště bohaté na škrob jsou brambory, banány a obilniny. Podle surovin, ze kterých je vyrobený, rozeznáváme škrob bramborový, kukuřičný, pšeničný, rýžový a jiné. Je významnou surovinou uplatňující se zejména v potravinářském, textilním a papírenském průmyslu, v kvasném průmyslu, ve farmacii, k výrobě lepidel, nátěrů a apretur a pro výrobu škrobových derivátů [25].

Práce [29] se zabývá sledováním biodegradace škrobu v prostředí kompostu podle normy ISO 14855:1997, ASTM D 5338-92 a CEN. Jako referenční látka byla v testech použita mikrokrystalická celulóza. Škrob byl přidáván v různých množstvích (100, 60 a 30g) k 600g sušiny vyztřáleného kompostu. Testy probíhaly při aerobních podmínkách 44 dnů při konstantní teplotě 58°C třikrát vedle sebe. Na začátku testu byl obsah vody v testované směsi nastaven na 50% a v průběhu testu byl reaktor se směsí pravidelně vážen a obsah vody byl upravován. Výsledky testu ukázaly, že škrob byl v případě navážky 100g rozložen z 97,5%, 60g z 63,7% a 30g z 32,5%. Průměrná hodnota rozkladu mikrokrystalické celulózy, která sloužila jako modelová látka, byla ve 47 dnech  $96,8\% \pm 6,7\%$ .

Práce [30] se zabývala stejně jako předchozí, biodegradací škrobu v řízených kompostovacích podmínkách. I zde byl škrob podroben standardním zkušebními metodami ve zralém kompostu. Test probíhal po dobu 24 dnů a pomocí vysoko účinné kapalinové chromatografie byl stanovován produkt rozkladu, tedy CO<sub>2</sub>. Po dobu testu se odstranil veškerý škrob. Z práce je patrné, že škrob jako přírodní polymer velice dobře podléhá biologickému rozkladu.

### 4.3 Proteiny

Jsou to makromolekulární přírodní látky složené z řetězců aminokyselin spojených peptidovou vazbou:



Příčemž substituenty R mohou obsahovat vedle uhlíku a vodíku skupiny kyslíkaté, dusíkaté i sírné. Mechanismus vzniku proteinů v živých organismech je mimořádně složitá polykondenzace.. Molekuly proteinů mohou vytvářet protáhlé, vláknité, ve vodě nerozpustné struktury, skleroproteiny, a kulovité nebo elipsoidní, ve vodě rozpustné sferoproteiny. V protikladu ke skleroproteinům (vlasy, rohovina, chrupavky) lze skoro u všech sferoproteinů (např. enzymy, svalová tkáň) varem nebo působením kyselin a louhů (změnou hodnoty pH) rozrušit jejich terciární a sekundární strukturu (koagulace, denaturace). Přitom se ztrácejí některé biologické vlastnosti proteinů, např. schopnost enzymů štěpit potravu [24].

Pro technické aplikace jsou významné především proteiny: přírodní hedvábí, vlna a kolagenová vlákna [24].

Práce [31] je založena na biodegradaci sojového proteinu, který je izolován ze “zelené” pryskyřice, v kompostovacích podmínkách. Kompostovací proces probíhal deset týdnů a protein byl charakterizován ztrátou na hmotnosti. Dále při průběhu kompostování sledovali změny na povrchu a mikrostrukturu pryskyřice s použitím elektronové mikroskopie. Kompost byl připraven z kuřecího trusu a pilin v poměru 1:1 a poměr C/N byl 50/50. Organická hmota, například piliny byly přidány pro zvýšení procenta C/N tak, aby byly dosaženy optimální podmínky biodegradace. Studie ukázala, že v průběhu 21 dnů pryskyřice ztratila 93,8% své původní hmotnosti.

#### 4.4 Jiné aplikace

Práce [32] se zaměřuje na rozklad lignocelulózy v kompostovacím prostředí a to z toho důvodu, že lignin je hlavní složkou humusu při kompostování papíru. Komplexní organické sloučeniny jako je lignin jsou degradovány převážně termofilními houbami a aktinomycéty. Hlavní podmínkou biodegradace ligninu je zvýšená teplota. Optimální teplota pro termofilní houby je v rozmezí 40-50°C což je také optimální teplota pro rozklad ligninu v kompostu. Práce využívá zkušební metodu vyvinutou Evropskou organizací pro normalizaci (CEN) pro vyhodnocování kompostu s použitím různých obalových materiálů.

## 5 NÁVAZNOST A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Na ústavu inženýrství ochrany životní prostředí je již řadu let věnována pozornost biodegradace polymerních látek ve vodném a půdním prostředí. Testování biorozložitelnosti látek v prostředí kompostu nebylo doposud realizováno, proto cílem této diplomové práce bylo navrhnout a odzkoušet vhodnou metodiku pro uskutečnění takových testů v laboratorních podmínkách. Pracovní postupy a zvolené podmínky kompostování vycházely z poznatků získaných z literární rešerše.

Průběh testů v prostředí kompostu byl sledován pomocí plynově-chromatografické analýzy ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ) a analýzy titrační ( $\text{CO}_2$ ). Jako testované vzorky sloužily modelové polymerní látky Xanthan, karboxymetyl celulóza a mikrokrystalická celulóza.

## 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6.1 Použité chemikálie, biologický materiál, testované vzorky

#### 6.1.1 Použité chemikálie

Při laboratorních pokusech byly použity chemikálie čistoty p. a. od firmy Lachema a. s..

Hydroxid sodný, chlorid barnatý, kyselina chlorovodíková, 0,5% roztok fenoftaleinu, methylovanž, hydrogenuhličitan draselný, síran amonný, hydrogenfosforečnan sodný, chlorid sodný, kyselina sírová, peroxodisíran draselný, nosný plyn He čistoty 4.6, směsný syntetický plyn obsahující CH<sub>4</sub> (4,05 obj.%), CO<sub>2</sub> (0,798 obj.%), N<sub>2</sub> (95,152 obj.%)

#### Příprava minerálního média

K přípravě minerálního média byly použity zásobní roztoky, které byly připraveny rozpuštěním následujících solí v 1 litru destilované vody dle normy ČSN EN 29408 [33] s tím rozdílem, že byl připraven vlastní fosfátový pufr:

- A. 10,0g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - síran amonný
- B. 27,5g CaCl<sub>2</sub> - chlorid vápenatý
- C. 0,25g FeCl<sub>3</sub> · 6 H<sub>2</sub>O - chlorid železitý hexahydrát
- D. 22,5g MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O - síran hořečnatý heptahydrát
- E. Roztok stopových prvků:
  - 0,75g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - kyselina boritá;
  - 0,05g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4 H<sub>2</sub>O - molybdenyn amonný tetrahydrát;
  - 0,18g CoSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O - síran kobaltnatý heptahydrát;
  - 0,5g MnSO<sub>4</sub> · 4 H<sub>2</sub>O - síran manganatý tetrahydrát;
  - 0,05g CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O - síran měďnatý pentahydrát;
  - 0,1 g ZnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O - síran zinečnatý heptehydrát;
  - 3g FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O - síran železnatý heptahydrát

#### F. Vlastní fosfátový pufr

Vlastní fosfátový pufr byl připraven neutralizací cca 1M-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> cca. 3M-NaOH. pH takto připraveného pufru bylo 7,05.

Do 800 ml destilované vody bylo nadávkováno po 1 ml zásobních roztoků B, C, D, E. Dále bylo přidáno 5 ml zásobního roztoku A a 100 ml zásobního roztoku F. Vzniklý roztok byl doplněn do 1 litru destilovanou vodou.

### 6.1.2 Použité substráty

#### Půdní substrát

Jako půdní substrát sloužila směs dvou komerčně vyráběných půdních substrátů (zahradního půdního substrátu a hrobového půdního substrátu) od firmy AGRO CS a surové přírodní půdy. Směs byla připravena v poměru: zahradní, hrobový a přírodní substrát = 2:1:1. Stanovené charakteristiky kompostu jsou uvedeny v tab. II. Pro postupy stanovení viz. kap. 6.7.

**Tab. II:** Charakteristiky stanovené u směsi půd

pH	6,56
Sušina	49,7%
Těkavé pevné látky	59,5%
Celkový dusík	0,5%
Celkový uhlík	32,9%
Celkový fosfor	0,17%

#### Kompostový substrát

Pro kompostovací testy byl použit komerčně vyráběný kompost od firmy AGRO CS. Část tohoto kompostu byla přeseta přes síto o velikosti cca 0,7 cm a dozrávala asi 5 týdnů při 55°C, 50% vlhkosti a za kontinuálního provzdušňování. U kompostu byly stanoveny základní charakteristiky (tab. III). Postupy stanovení v kap. 6.7.

**Tab. III:** Charakteristiky stanovené a udávané výrobcem u vyzrálého kompostu

Skladba*	Rostlinný původ s přidavkem vápence	
Sušina	50,90%	
pH	7,22	6,0-8,5*
Těkavé pevné látky	49,47%	45%*
Celkový dusík	0,51%	0,6%*
Celkový uhlík	33,61%	
Celkový fosfor	0,40%	
Nerozložitelné příměsi*	max. 2%	
Obsah rizikových prvků splňuje zákonem předepsané limity v mg.kg <sup>-1</sup> sušiny*	Cd	2
	Pb	100
	Hg	1
	As	10
	Cr	100
	Cu	100
	Mo	5
	Ni	50
	Zn	300

\* hodnoty udávané výrobcem

### 6.1.3 Použitý inertní materiál

Jako inertní materiál byl použit v kompostovacích testech materiál s obchodním názvem AGROPERLIT (dále jen Perlit). Firma AGRO CS svůj produkt charakterizovala jako expandovanou vulkanickou horninu, jejíž přidáním do volné půdy se zvýší pórovitost půdy a její provzdušnění. U Perlitu bylo změřeno pH dle normy [34]; hodnota pH byla 6,65. Pro chemické a fyzikální vlastnosti Perlitu udávané výrobcem viz tab. IV.

**Tab. IV:** Chemické a fyzikální vlastnosti inertního materiálu Perlitu udávané výrobcem

Vlhkost	Max. 2,0%	
pH	6,0-7,5	
Obsah částic pod 0,3 mm	max. 15%	
Obsah částic pod 1,0 mm	max. 25%	
Obsah částic 1,0 až 4,0 mm	max. 75%	
Sypná hmotnost	200 kg.m <sup>-3</sup>	
Obsah rizikových prvků splňuje zákonem předepsané limity v mg.kg <sup>-1</sup> sušiny	Cd	2
	Pb	100
	Hg	1
	As	10
	Cr	100
	Cu	100
	Mo	5
	Ni	50
	Zn	300

#### 6.1.4 Biologický materiál

##### Pro testy ve vodném prostředí s půdním extraktem

Inokulum 1 – zdrojem mikroorganismů byl extrakt z půdy. Pro přípravu půdního extraktu viz. kap. 6.7. Extrakt byl 24 hodin intenzivně provzdušňován a před vlastním použitím byl stanoven celkový organický uhlík (TOC) a změřeno pH. Pro charakteristiky použitých půdních substrátů jsou uvedeny v kap. 6.1.2.

Inokulum 2 – Zdrojem mikroorganismů byl adaptovaný aktivovaný kal. Adaptované inokulum bylo získáno z týdenní adaptace aktivovaného kalu na uhlíkatý substrát PVA 88-08 [35,36].



### Pro testy ve vodném prostředí s kompostním extraktem

Inokulum 3 – zdrojem mikroorganismů byl extrakt z kompostu. Příprava kompostního extraktu byla analogická jako příprava extraktu půdního s tím rozdílem, že byl použit dobře vyžralý kompost místo směsi půd. Charakteristiky kompostu v kap. 6.1.2. Kompostní extrakt byl stejně jako půdní 24 hodin intenzivně provzdušňován a před vlastním použitím byl stanoven celkový organický uhlík (TOC) a změřeno pH.

### Pro testy v prostředí kompostu

Inokulum 4 – zdrojem mikroorganismů byl vyžralý kompost. Charakteristiky kompostu v kap. 6.1.2.

## **6.1.5 Charakteristika testovaných vzorků**

### Polyvinylalkohol

Obchodní označení SLOVIOL P88-08, viskozita 4% vodného roztoku při teplotě 20°C: 8 mPa.s, stupeň hydrolyzy 88 mol%, obsah acetátových skupin 12%, prášková forma, výrobce Novácké chemické závody, a.s., SR.

### Xanthan

Bílý prášek, rozpustný ve vodě, přírodní, výrobce FLUKA CHEMIE.

### Gellan

Bílý prášek, deacylovaná forma, výrobce FLUKA CHEMIE.

### Karboxymetyl celulóza

Bílý prášek,  $M_w$  ca. 250,00; DS = 0,9, výrobce Aldrich chemical company, Inc..

### Mikrokrystalická celulóza

Obchodní označení AVICEL (R) PH-101, velikost částic approx. 50  $\mu$ m, výrobce SIGMA-ALDRICH.

## 6.2 Přístrojové vybavení

Analyzátor celkového organického uhlíku TOC-5000 A, Shimadzu Corp., Austrálie

Plynový chromatograf CHROM 5, Laboratorní přístroje Praha

Integrator Hewlett&Packard HP 3396A

Plynotěsné injekční stříkačky Hamilton o objemech 250  $\mu$ l a 1 ml

Tedlarův vak o objemu 0,6 l

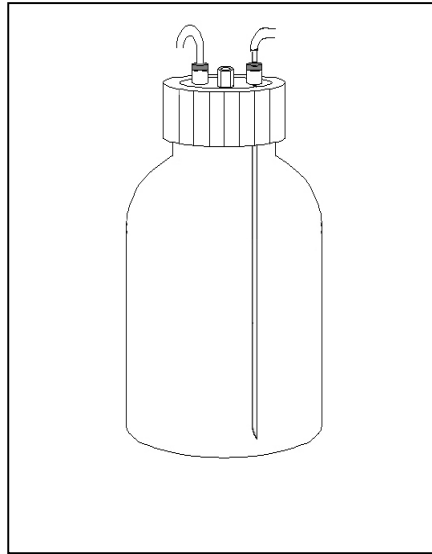
Další použité přístroje a laboratorní sklo jsou běžným laboratorním vybavením.

## 6.3 Testovací aparatury

### 6.3.1 Testovací láhve

Všechny pokusy byly prováděny v jednolitrových lahvích, které byly před použitím nejprve řádně umyty, po té z důvodu mikrobiálního znečištění vypláchnuty 1%-ní HCl a znovu řádně umyty destilovanou vodou. Láhve byly usušeny v sušárně.

Láhev (obr. 2), do které byl nadávkován biologický materiál případně i substrát, byla plynotěsně uzavřena. Víko láhve bylo opatřeno třemi otvory. Otvor uprostřed byl vybaven patronou se septem a sloužil k odběru plynné složky v láhvi pro následnou chromatografickou analýzu. Zbylé dva otvory se silikonovými hadičkami přiškrcenými pomocí tlaček, sloužily k provzdušňování láhve a v případě extraktů k odebírání vzorků z kapalně fáze za pomoci jehly sahající až na dno láhve.

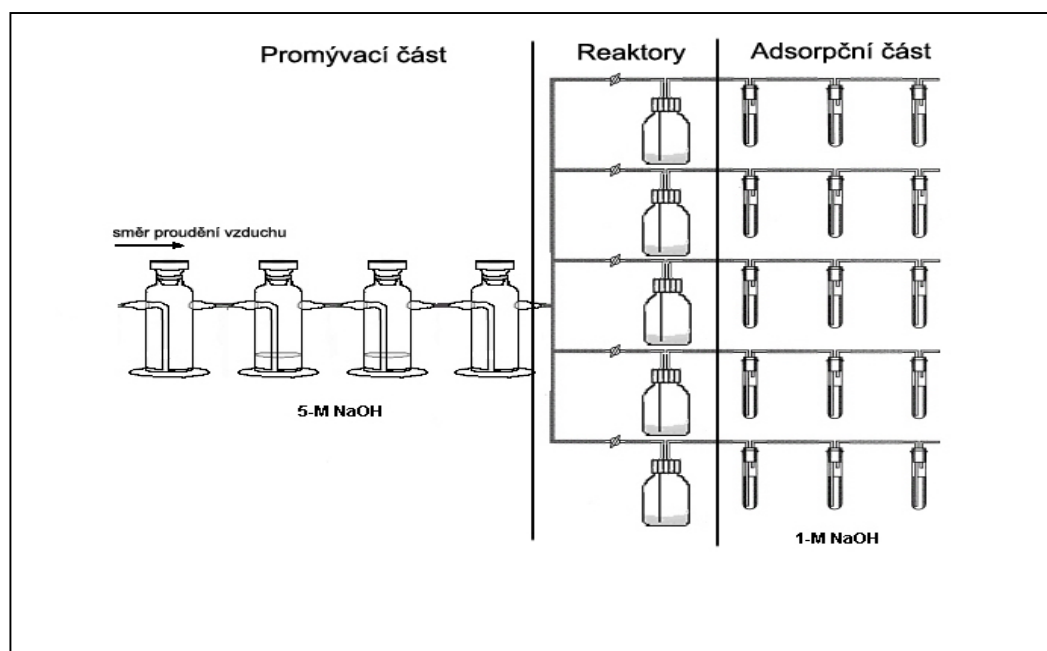


**Obr. 2:** Schéma láhve

### 6.3.2 Schéma aparatury pro titrační analýzu

Aparatura určená pro titrační analýzu a zároveň pro provzdušňování láhví (obr. 3) byla složena z tzv. promývací části, reaktorů a absorpční části. Pomocí čerpadla byl do aparatury vháněn vzduch, který nejprve procházel promývací částí. Promývací část sloužila k záchytu atmosférického  $\text{CO}_2$  v roztoku 5M-NaOH. První a poslední láhve sloužily jako pojistné a prostřední dvě láhve sloužily k samotnému záchytu. Dále se vzduch zbavený atmosférického  $\text{CO}_2$  rozděloval v rozvodové láhvi do pěti větví. Každá větev byla opatřena teflonovým kohoutem pro regulování průtoku vzduchu lahvemi (reaktory). Do láhve proudil vzduch jehlou u dna láhve a vytěsňoval  $\text{CO}_2$  do absorpční části. Absorpční část byla tvořena třemi zkumavkami, prostřední se 30 ml 1M-NaOH, zbylé dvě zkumavky sloužily jako pojistné. Množství vyprodukovaného  $\text{CO}_2$  bylo stanoveno titrační metodou (v kap. 6.4.1.2.).

Pro efektivnější uvolnění oxidu uhličitého byly láhve s pevným biologickým materiálem během provzdušňování asi každých 20min ručně protřepávány. V případě extraktů bylo promíchávání zajištěno po celou dobu provzdušňování pomocí míchadla. Po provzdušnění byly láhve z aparatury odpojeny a silikonové hadičky byly opět přiškrceny pomocí tlaček tak, aby byla zajištěna plynotěsnost lahví.



**Obr. 3:** Schéma aparatury pro titrační analýzu

## 6.4 Způsoby hodnocení aerobní biorozložitelnosti látek

Biodegradace polymerních látek byla hodnocena především podle produkce  $\text{CO}_2$  mikrobiální kulturou, která se podílí na jejich rozkladu. Dalšími možnostmi sledování byl úbytek kyslíku a u testů s vodorozpustnými substráty probíhajících ve vodném prostředí bylo procento degradace určeno i za pomoci stanovení celkového organického uhlíku (TOC), které sloužilo jako doplňující kritérium. Nadávkovaný substrát byl jediným zdrojem uhlíku a energie pro mikroorganismy. Testy probíhaly jednak ve vodném prostředí, jednak v prostředí kompostu.

### A. Testy probíhající ve vodném prostředí

Do testovací láhve bylo nadávkováno minerální médium (kap. 6.1.1), inokulum a příslušný substrát. Láhve s půdním extraktem (inokulum 1, kap. 6.1.4) a adaptovaným aktivovaným kalem (inokulum 2, kap. 6.1.4) jako inokulem, byly kultivovány za stálého míchání v temnu v místnosti temperované na  $25^\circ\text{C}$ . Testovací láhve s kompostním extraktem (inokulum 3, kap. 6.1.4) byly kultivovány za stálého míchání v termostatu při  $58^\circ\text{C}$ . Výsledky u testů, které probíhaly ve vodném prostředí byly korigovány o vliv fázové a acidobazické rovnováhy  $\text{CO}_2$  v systému plyn-kapalina.

## B. Testy v prostředí kompostu

Biologický materiál (inokulum 4, kap. 6.1.4) s příslušným substrátem byl dávkován do testovací láhve a plynotěsně uzavřen. Takto připravené láhve byly kultivovány ve vodní lázni při 58°C. Míchání systému bylo zajištěno denně ručním protřepáním láhve po dobu cca 3 minut.

### **6.4.1 Hodnocení biodegradace z hlediska produkce CO<sub>2</sub> a úbytku O<sub>2</sub>**

Aerobní biodegradaci polymerních látek dochází jednak k produkci oxidu uhličitého a jednak ke spotřebě kyslíku z reakčního prostředí. U všech provedených testů byla sledována biorozložitelnost podle produkce CO<sub>2</sub> mikrobiálním inokulem a sledování úbytku kyslíku bylo prováděno spíše z důvodů orientačních, zda test probíhá za předepsaných aerobních podmínek. Pro stanovení oxidu uhličitého vyprodukovaného v testovacích lahvích a pro stanovení aktuálního procenta kyslíku v lahvích byla použita jako analytická koncovka plynová chromatografie (kap. 6.4.1.1). Jako doplňující kritérium byla u několika prováděných testů použita i normou stanovená titrační metoda [20] (kap. 6.4.1.2).

U probíhajících testů byl analyzován CO<sub>2</sub> nejprve plynovou chromatografií, kde pomocí uzávěru se septem (kap. 6.3.1, obr. 2) umístěného na víku testovací láhve byl odebrán plyný vzorek a následně analyzován. Po analýze na plynové chromatografii byl v případě poklesu procenta kyslíku v láhvi na spodní hranici 8% nebo v případě nadměrné produkce CO<sub>2</sub> v láhvi nad rozsah kalibrace byl vyprodukovaný CO<sub>2</sub> z láhve vyfoukán do absorpčního roztoku a stanoven titračně.

Procento biodegradace je dáno jako poměr skutečně vyprodukovaného množství CO<sub>2</sub> mikrobiální kulturou k maximálnímu teoretickému množství CO<sub>2</sub> (ThCO<sub>2</sub>). Pro výpočty viz. kap. 6.6.

#### **6.4.1.1 Analýza CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub> na plynovém chromatografu CHROM 5**

Stanovení množství CO<sub>2</sub>, resp. O<sub>2</sub> bylo realizováno na dvou skleněných náplňových kolonách dlouhých 3,6m s vnitřním průměrem 3mm. Kolona A sloužící pro stanovení CO<sub>2</sub> byla naplněna Porapakem R a kolona B sloužící pro stanovení O<sub>2</sub> Molekulovým sítem 13X. Obě náplně do kolon byly zakoupeny od firmy Alltech Associates a velikost částic u obou náplní byla 80/100 MESH. K detekci byl použit

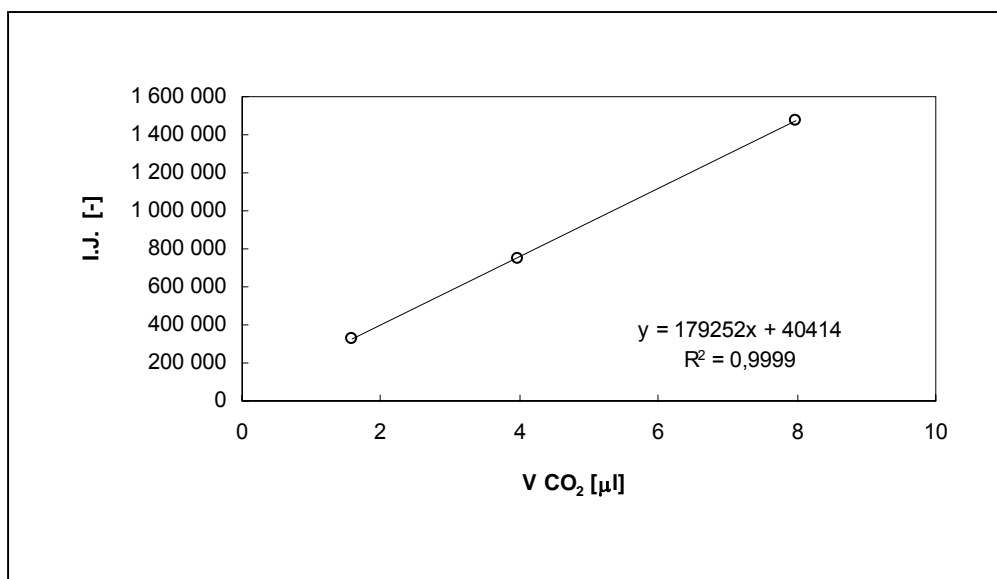
tepelně vodivostní detektor (TCD). Signál byl vyhodnocován pomocí integrátoru HP 3396A.

**Tab. V:** Souhrn podmínek chromatografické analýzy CO<sub>2</sub> a O<sub>2</sub>

<b>Kolona</b>		náplňová s Porapakem R (analýza CO <sub>2</sub> )	náplňová s molekulovým sítím 13X (analýza O <sub>2</sub> )
<b>Teploty</b>	<b>nástřík</b>	100°C	30°C
	<b>teplota termostatu</b>	50°C	20°C
	<b>TCD</b>	100°C	100°C
<b>Nosný plyn</b>		He (čistota 4.6)	
		průtok kolonou a TCD 30 ml·min <sup>-1</sup>	
<b>Nastavení TCD</b>	<b>žhavicí proud</b>	120 mA	100 mA
	<b>výstupní citlivost</b>	4	4

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

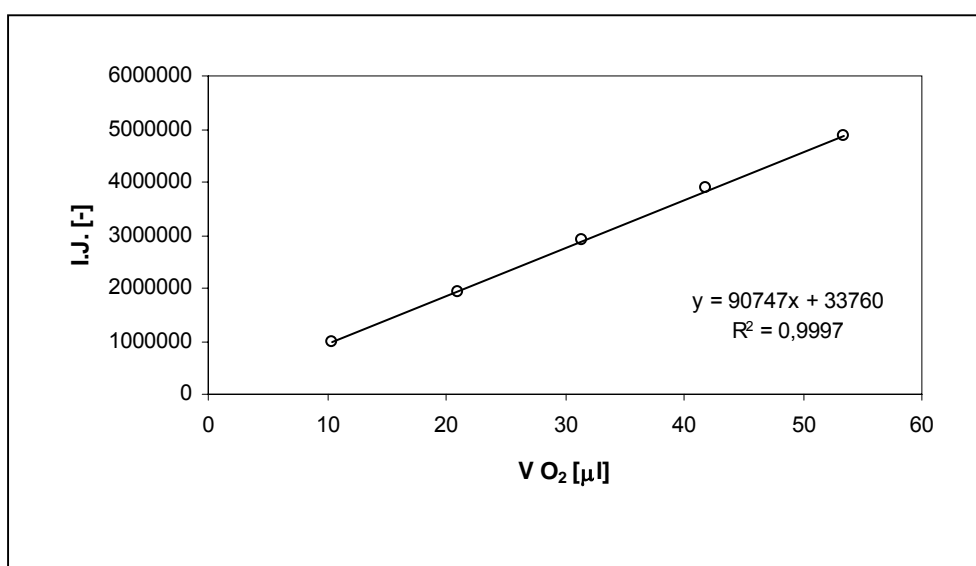
Pro sestavení kalibrační přímky byl použit jako kalibrační standard směsný syntetický plyn od dodavatele LINDE TECHNOPLYN, který obsahoval N<sub>2</sub> (95,152 obj.%), CH<sub>4</sub> (4,05 obj.%) a CO<sub>2</sub> (0,798 obj.%). Plyn byl z tlakové láhve odebírán do Tedlarova vaku. Z vaku bylo pomocí plynotěsné stříkačky Hamilton odebíráno postupně 0,2; 0,5 a 1,0 ml plynu a analyzováno na plynovém chromatografu za podmínek uvedených v tabulce V. Kalibrační přímka byla získána vynesemím závislosti plochy píku na čistém objemu nadávkovaného CO<sub>2</sub> (obr. 4). Při dalších měřeních byla jen kontrolována odezva detektoru vždy na jeden kalibrační bod při dávkování 1 ml.



**Obr. 4:** Kalibrační křivka pro stanovení CO<sub>2</sub>

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

Pro sestavení kalibrační přímky nebyl použit kalibrační standard, ale kalibrace byla provedena na množství kyslíku ve vzduchu. Pomocí plynotěsné stříkačky Hamilton bylo odebíráno postupně 50, 100, 150, 200 a 250 μm vzduchu a analyzováno na plynovém chromatografu za podmínek uvedených v tab.V. Kalibrační křivka byla sestavena z naměřených dat jako závislost plochy píku na čistém objemu nadávkovaného O<sub>2</sub> (obr. 5). V dalších dnech měření byla pak jen kontrolována odezva detektoru na jeden kalibrační bod při dávkování 100 μm.

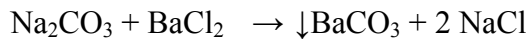
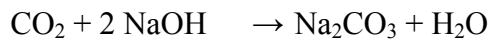


**Obr. 5:** Kalibrační křivka pro stanovení O<sub>2</sub>

#### 6.4.1.2 *Analýza CO<sub>2</sub> titrační metodou*

Z lahve vyfoukaný a následně zachycený CO<sub>2</sub> ve 30 ml 1M-NaOH pomocí promývací aparatury (kap. 6.3.2) byl stanoven titrační metodou tak, že ze zkumavky bylo vždy odpipetováno 5ml 1M-NaOH a k němu přidáno 5,5 ml 0,5M-BaCl<sub>2</sub> pro vytvoření bílé sraženiny BaCO<sub>3</sub>. Zbytkové množství NaOH se stanovuje titrací roztokem 1M-HCl na fenoftalein do odbarvení. Koncentrace odměrného roztoku 1M-HCl byla přesně stanovena na standard KHCO<sub>3</sub>.

Chemismus:



#### 6.4.2 **Hodnocení biodegradace z hlediska úbytku TOC**

Sledování úbytku celkového organického uhlíku z reakčního prostředí je další alternativou posouzení biodegradability dané složky. Princip spočívá v odstraňování organického uhlíku z reakčního prostředí působením přítomných mikroorganismů, kterým uhlík slouží jako zdroj energie a pro tvorbu nové biomasy. Podmínkami pro tyto zkoušky je dobrá rozpustnost substrátu ve vodě, dávkovaný substrát do reakčního prostředí musí být ve formě roztoku, nikoliv přímou navážkou, a testovaný substrát musí sloužit jako jediný zdroj uhlíku pro mikroorganismy. Analýza je prováděna pouze ve vodném prostředí. V prostředí kompostu jsou tyto testy vyloučeny.

Vzorky byly odebírány z kultivačního prostředí, přefiltrovány přes předem horkou destilovanou vodou promytý a následně vysušený filtrační papír; a analyzovány na analyzátoru celkového organického uhlíku TOC-5000A, SHIMADZU Corporation.

Princip stanovení uveden v kap. 6.7.



## 6.5 Popis provedených testů

### 6.5.1 Biodegradace ve vodném prostředí s půdním výluhem jako inokulem

Pokus má vazbu na práce z minulých let [35,36,37] a byl nasazen především z důvodu osvojení si techniky.

#### Pokus č. 1

Biodegradace probíhala v jednolitrových lahvích a objem kapalné fáze v lahvi byl 100ml a plynné fáze 1040ml. Jako inokulum byl ve většině případů použit půdní extrakt (inokulum 1, kap. 6.1.4) a v několika lahvích byl použit jako biologický materiál adaptovaný kal na PVA (inokulum 2, kap. 6.1.4). Dávkování inokula bylo provedeno tak, aby koncentrace mikroorganismů byla cca  $10^5$  KTJ/ml [35,36]. V pokusu byly testovány polymerní látky PVA, Gellan a Xanthan. Substráty Xanthan a PVA byly dávkovány ze zásobních roztoků o koncentraci 1,5 g/l. Gellan byl dávkován z pevné navážky tak, aby výsledná koncentrace v lahvi byla cca 300 mg/l. Výsledný objem ve všech zkušebních lahvích byl 100 ml. V testech byla sledována produkce CO<sub>2</sub> pomocí plynové chromatografie a jako doplňující kritérium bylo stanovováno TOC u rozpustných substrátů.

**Tab. VI:** Rozmístění pozic pro test č.1

pozice	vzorek	substrát	biomédium	inokulum
		[mg], [ml]	[ml]	[ml]
1	slepý pokus	---	90	10
2	slepý pokus	---	90	10
3	slepý pokus*	---	90	10
4	slepý pokus*	---	90	10
5	PVA	20 ml	70	10
6	PVA	20 ml	70	10
7	PVA*	20 ml	77	3
8	PVA*	20 ml	77	3
9	Gellan	30,9 mg	90	10
10	Gellan	31,8 mg	90	10
11	Xanthan	20 ml	70	10
12	Xanthan	20 ml	70	10

\* jako inokulum byl použit adaptovaný kal

Pokus č. 2

Test č.2 byl analogický jako test č.1 s tím rozdílem, že jako zkoušené materiály byly použity směsné fólie na bázi PVA a škrob. Testy č.1 (výsledky uvedeny v této diplomové práci) i test č.2 byly prováděny společně s Martinem Družbíkem; podrobný popis a průběh testu č.2 je v druhé diplomové práci [38].

**6.5.2 Biodegradace ve vodném prostředí s kompostním extraktem jako inokulem**

Pro pokusy s kompostním extraktem jako inokulem byly využity stejné postupy jako pro pokusy s půdním inokulem (pokus č.1,2) s tím rozdílem, že jako zdroj mikroorganismů byl použit vyzrálý kompost a kultivace probíhala v termostatu při 58°C.

Pokus č. 3

U tohoto pokusu byla sledována biodegradace polymerních látek Xanthanu a karboxymetyl celulózy v prostředí kompostního extraktu (inokulum 3, kap. 6.1.4). Jako jediné kritérium biorozložitelnosti byla použita plynově chromatografická analýza pro měření vyprodukovaného CO<sub>2</sub> mikrobiální flórou. Měření kyslíku na koloně s molekulovým sítem bylo prováděno především pro kontrolu dodržení aerobních podmínek testů. Biologická spotřeba kyslíku nebyla v testech použita jako kritérium biorozkladu. Polymerní látky Xanthan a karboxymetyl celulóza byly dávkovány přímou navážkou tak, aby výsledná koncentrace látek v lahvi byla 200 mg/l. Výsledný objem v testovací láhvi byl 100 ml. Rozpis testu je uveden v tab. VII.

**Tab. VII:** Rozmístění pozic pro test č.3

pozice	vzorek	substrát	minerální médium	inokulum
		[mg]	[ml]	[ml]
1	slepý pokus	---	90	10
2	slepý pokus	---	90	10
3	Xanthan	24,0	90	10
4	Xanthan	24,5	90	10
5	karboxymetyl celulóza	23,2	90	10
6	karboxymetyl celulóza	22,4	90	10

### 6.5.3 Biodegradace v prostředí kompostu

Aerobní biodegradační testy, ve kterých byl použit vyzrálý kompost jako zdroj mikroorganismů, nebyly na ústavu inženýrství ochrany životního prostředí zatím realizovány. Hlavním cílem nebylo tedy sledování biodegradace určitých substrátů, ale navrhnout vhodnou metodiku laboratorních testů v prostředí kompostu; proto byly voleny jako substráty modelové látky. Norma [20] doporučuje jako modelové látky použít mikrokrytalickou celulózu a polyhydroxybutyrát (PHB). PHB je ve vodě nerozpustný proto byl volen Xanthan a na místo v tu chvíli nedostupné mikrokrytalické celulózy byla použita karboxymetyl celulóza.

Biodegradace v prostředí kompostu byla hodnocena na základě měření produkce  $\text{CO}_2$  v testovacích lahvích. Hodnotícím kritériem zde bylo množství vyprodukovaného  $\text{CO}_2$ , procentuální vyjádření biodegradace ( $\text{DCO}_2$ ), které bylo zjištěno chromatografickou analýzou (kap. 6.4.1.1) a případně jako doplňující kritérium analýzou titrační (kap. 6.4.1.2). Dále byl chromatograficky sledován úbytek  $\text{O}_2$  v reaktoru. Stanovení úbytku  $\text{O}_2$  v láhvi bylo prováděno s ohledem na zachování aerobních podmínek a nebylo použito jako kritérium biorozkladu.

#### Pokusy č. 4,5

V pokusu č.4 byla sledována endogenní respirace vyzrálého kompostu. Dávkování inokula (inokulum 4, kap. 6.1.4) do lahví bylo provedeno dle normy [20], tj. 200g vyzrálého kompostu o 50% sušiny bylo nadávkováno do láhve o objemu 1000 ml. Plyná fáze v lahvi činila 1020 ml a objem pevné fáze byl cca 200 ml. Test byl nasazen 3x vedle sebe a endogenní respirace byla posuzována pomocí produkce  $\text{CO}_2$ . Produkce  $\text{CO}_2$  a aktuální procento  $\text{O}_2$  v láhvi bylo sledováno plynovou chromatografií.

Endogenní respirace u těchto pokusů byla vysoká, proto bylo množství inokula v lahvích sníženo na polovinu, tj. 100g vyzrálého kompostu o 50% sušiny v láhvi o objemu 1000ml. Plyná fáze v lahvi po této úpravě činila 1080 ml a objem pevné fáze byl cca 100 ml.

V průběhu testu byla vizuálně sledována konzistence kompostu a jeho „sykosti“, při pozorovatelné změně byla stanovena sušina a upravena na výchozích 50%. Reaktory byly cca 3x týdně po chromatografické analýze otevřeny a

provzdušněny. Po provzdušnění byla v této sérii vždy změřena zbytková koncentrace CO<sub>2</sub> v láhvi, která byla následně zahrnuta do výpočtů.

Pokus č.5 navazoval na předchozí test č.4. První láhev byla ponechána bez přídavku substrátu a sloužila jako slepý pokus. Do zbylých dvou lahvích bylo přidáno odlišné množství substrátu Xanthanu – v prvním případě „dle vlastního uvážení“ (1,7g do testovací láhve; v tab. VIII, pozice 2) a v druhém případě v souladu s doporučením normy [39], tj. přímou navázkou v poměru 1 díl zkoušeného materiálu + 6 dílů inokula (počítáno na sušinu) (tab. VIII, pozice 3). Směs byla vždy dobře promíchána.

**Tab. VIII:** Rozmístění pozic pro test č.5

pozice	vzorek	substrát	Celková sušina inokula
		[g]	[g]
1	slepý pokus	---	50
2	Xanthan	1,7071	50
3	Xanthan	8,2960	50

### Pokus č. 6

Tyto testy byly prováděny s vyzrálým kompostem jako inokulem (inokulum 4, kap. 6.1.4) ředěným pomocí inertního materiálu. Důvodem „ředění“ bylo zpomalení procesu „endogenní“ respirace a tím i produkce CO<sub>2</sub>. ISO norma [20] doporučuje „ředění“ pomocí mořského písku. Tato alternativa se neosvědčila, poněvadž po smíchání písku s kompostem upraveným dle normy na vlhkost 70%, vznikla hutná soudržná směs prakticky neprovzdušnitelná. Proto byl jako inertní materiál použit materiál s obchodním názvem AGROPERLIT (dále jen Perlit) (kap. 6.1.3).

Kompost byl „ředěn“ Perlitem v poměru 1:6 (podle normy [39]) a 1:2. Jako substrát byly použity modelové látky Xanthan a karboxymetyl celulóza. Dávkování množství substrátu bylo provedeno v souladu s normou [39], tj. přímou navázkou byl přidán substrát v poměru 1 díl substrátu k 6 dílům celkové sušiny inokula; směs byla dobře promíchána. Směs v infúzní láhvi zaujímala ve všech případech objem cca 200 ml a plynná fáze zaujímala cca 1065ml. Rozpis testů uveden v tab. IX.

**Tab. IX:** Rozmístění pozic pro test č.6

pozice	vzorek	substrát	Celková sušina inokula	Celková sušina inertního materiálu
		[g]	[g]	[g]
1	slepý pokus	---	10	20
2	Xanthan	1,7029	10	20
3	karboxymetyl celulóza	1,7162	10	20
4	slepý pokus	---	3,5	21
5	Xanthan	0,6120	3,5	21
6	karboxymetyl celulóza	0,6199	3,5	21

Pokus č. 7

V tomto pokusu se vycházelo z již dříve zjištěných poznatků a účelem bylo ověření „optimálních“ podmínek. Opět použito kompostní inokulum (inokulum 4, kap. 6.1.4), inertní materiál Perlit, substrát Xanthan. V předešlém testu se nejlépe osvědčilo smíchání biologického materiálu s inertním materiálem v poměru 1:2, proto bylo použito i v tomto pokusu. Testy byly nasazeny vždy 3x vedle sebe. K dobře promíchané směsi biologického materiálu s inertním materiálem Perlitem byl přidán Xanthan přímou navázkou, ve stejném množství jako předešle (pokus č.6), tj. 1 díl substrátu + 6 dílů inokula (vztaženo na sušinu). Směs v jednolitrové láhvi opět zaujímala objem cca 200 ml, objem plynné fáze byl cca 1065ml. Rozdělení pozic je uvedeno v tab. X.

**Tab. X:** Rozmístění pozic pro test č.7

pozice	vzorek	substrát	Celková sušina inokula	Celková sušina inertního materiálu
		[g]	[g]	[g]
1	slepý pokus	---	10	20
2	slepý pokus	---	10	20
3	slepý pokus	---	10	20
4	Xanthan	1,7022	10	20
5	Xanthan	1,7119	10	20
6	Xanthan	1,7038	10	20

## 6.6 Zpracování naměřených hodnot

A. Teoretické množství CO<sub>2</sub> pro rozpustné vzorky - ThCO<sub>2</sub> [mol] [20]

$$ThCO_2 = \frac{(TOC_{VZ} - TOC_{SP})}{M_C} \cdot V_k \quad /1/$$

kde

TOC<sub>VZ</sub> je obsah organického uhlíku ve vzorku na začátku testu [g/l]

TOC<sub>SP</sub> obsah organického uhlíku ve vzorku na konci testu [g/l]

M<sub>C</sub> atomová hmotnost uhlíku [g/mol]

V<sub>k</sub> objem kapalné fáze v lahvi [l]

B. Teoretické množství CO<sub>2</sub> pro nerozpustné vzorky - ThCO<sub>2</sub> [mol] [20]

$$ThCO_2 = \frac{(m_S \cdot C_t)}{M_C} \quad /2/$$

kde

m<sub>S</sub> je navážka substrátu [g]

C<sub>t</sub> relativní množství celkového organického uhlíku v celkové sušině zkoušeného materiálu [g/g]

M<sub>C</sub> atomová hmotnost uhlíku [g/mol]

C. Titrační analýza - množství CO<sub>2</sub> zachycené v roztoku 1M-NaOH - n<sub>CO<sub>2</sub></sub> [mol] [20]

$$n_{CO_2} = \frac{1}{2} * (c_{NaOH} * V_{NaOH} - \frac{c_{HCl} * V_{HCl}}{V_{NaOHtitr}} * V_{NaOH}) \quad /3/$$

kde

c<sub>NaOH</sub> je počáteční koncentrace NaOH v absorbéru [mol/l]

V<sub>NaOH</sub> objem NaOH v absorbéru [l]

V<sub>NaOHtitr</sub> objem NaOH odebíraný z absorbéru k titraci [l]

c<sub>HCl</sub> koncentrace odměrného roztoku HCl [mol/l]

V<sub>HCl</sub> spotřeba HCl při titraci [l]

D. Produkce CO<sub>2</sub> mikrobiální činností stanovená plynovou chromatografií pro pevné vzorky - n<sub>sCO<sub>2</sub></sub> [mmol]

$$n_{CO_2} = \frac{V_g \cdot V_{reg} \cdot 10^{-3}}{V_D \cdot 22,414} \quad /4/$$

kde

V<sub>g</sub> .....objem plynné fáze v lahvi [ml]

V<sub>reg</sub>..... objem CO<sub>2</sub> odečtený z kalibrační přímky [μl]

V<sub>D</sub>..... dávkovaný objem plynu z lahve na chromatografickou analýzu [ml]

- E. Produkce CO<sub>2</sub> mikrobiální činností stanovená plynovou chromatografií pro kapalné vzorky - n<sub>CO<sub>2</sub></sub> [mmol] [40]

$$n_{CO_2} = [V_g + V_l * K_{lg} * (1 + 10^{-pK'_1} * 10^{pH})] * c_{CO_2g} \quad /5/$$

kde

V<sub>g</sub> .....objem plynné fáze v lahvi [ml]

V<sub>l</sub> .....objem kapalné fáze v lahvi [ml]

K'<sub>1</sub>..... disociační konstanta H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> do prvního stupně je rovna 6,35 (tabulková hodnota)

K<sub>lg</sub>..... rozdělovací koeficient CO<sub>2</sub> v kyselém prostředí mezi l-g fází při pH < 4, při 25°C je roven 0,83 (tabulková hodnota), při 58°C je roven 0,451 (tabulková hodnota)

c<sub>CO<sub>2g</sub></sub>..... koncentrace CO<sub>2</sub> v plynu stanovená chromatografickou analýzou

- F. Procento odstranění substrátu podle produkce CO<sub>2</sub> - D<sub>CO<sub>2</sub></sub> [%] [20]

$$D_{CO_2} = \frac{(CO_2)_t - (CO_2)_b}{ThCO_2} \cdot 100 \quad /6/$$

kde

(CO<sub>2</sub>)<sub>t</sub> je kumulované množství oxidu uhličitého uvolněného v lahvi [mol]

(CO<sub>2</sub>)<sub>b</sub> průměrné kumulované množství oxidu uhličitého uvolněného při slepých pokusech [mol]

ThCO<sub>2</sub> teoretické množství CO<sub>2</sub> ze zkoušeného materiálu ve zkušební nádobě [mol]



G. Procento odstranění substrátu podle stanovení TOC -  $D_{TOC}$  [%] [41]

$$D_{TOC} = \left[ 1 - \frac{TOC_{vz.kon.} - TOC_{sl.kon.}}{TOC_{vz.poč.} - TOC_{sl.poč.}} \right] * 100 \quad /7/$$

kde

$TOC_{vz. poč.}$  je  $TOC$  vzorku na začátku testu [ $mg.l^{-1}$ ]

$TOC_{vz. kon.}$   $TOC$  vzorku na konci testu [ $mg.l^{-1}$ ]

$TOC_{slp. poč.}$   $TOC$  slepého pokusu na začátku testu [ $mg.l^{-1}$ ]

$TOC_{slp. kon.}$   $TOC$  slepého pokusu na konci testu [ $mg.l^{-1}$ ]

## 6.7 Ostatní metodiky a postupy

### Celková sušina

Vzorek, u kterého byla stanovována sušina, byl navážen na Petriho misku vždy 3x vedle sebe a vložen do sušárny. Zde byl ponechán tři hodiny při 105°C. Po třech hodinách byl přesunut do exsikátoru, kde se ochladil na laboratorní teplotu a následně byl zvážen na analytických vahách. Z hodnot byla vypočtena sušina vzorku, která byla vyjadřována v procentech [42]

### Těkavé pevné látky

U pevného vzorku byla nejprve stanovena sušina (popsáno výše) a následně bylo známé množství kompostu žíháno v keramickém kelímku při teplotě 550°C po dobu dvou hodin. Obsah těkavých látek byl vypočten odečtením zbytku zkoušeného materiálu po spálení od celkové sušiny téhož vzorku a vyjádřen v procentech. Obsah těkavých pevných látek je indikace množství organické hmoty [39]

### Měření pH kompostu

Měření pH kompostu bylo provedeno dle normy ČSN EN 14046 [39]. Připravila se směs 1 dílu kompostového inokula s 5 díly deionizované vody (w/w). Směs se promíchala třepáním a okamžitě se stanovilo pH.

### Stanovení celkového organického uhlíku (TOC) (kap. 6.4.2)

Princip stanovení celkového uhlíku (TC) je založen na přeměně uhlíku v nadávkovaném vzorku ve spalovací trubici, která je naplněna oxidačním katalyzátorem a zahřátá na 680°C, na CO<sub>2</sub>. Řízenou rychlostí trubicí proudí O<sub>2</sub> jako nosný plyn a unáší vzniklý CO<sub>2</sub> do NDIR detektoru (Non-Disperse Infrared Detector). Signál je vyhodnocen jako plocha píku přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku. [43]

Při stanovení anorganického uhlíku (IC) je vzorek dávkován v proudu nosného plynu na inertní nosič s kyselinou fosforečnou, kde dochází k vytěsnění oxidu uhličitého. Vyhodnocení signálu je shodné jako u stanovení TC. [43]

Celkový organický uhlík (TOC) je vypočten z rozdílu celkového uhlíku a anorganického uhlíku. [43]

#### Stanovení celkového dusíku

Stanovení bylo provedeno metodou dle Kjeldahla [44]. Principem metody je mineralizace organické látky v prostředí koncentrované kyseliny sírové. Dusík v ní obsažený se převede na amonný ion. Amonné ionty byly stanoveny coulometrickou koncovkou. Stanovení bylo provedeno bez redukce dusitanů a dusičnanů.

#### Stanovení celkového fosforu

Pro stanovení celkového fosforu viz. [44].

#### Příprava půdního extraktu

Pro přípravu půdního extraktu byla použita směs zahradního, hrobového a přírodního substrátu v poměru 2:1:1. 60g této směsi o 50% sušiny bylo smícháno s 300ml vytřepávacího roztoku. Vytřepávací roztok byl připraven z 1,5g NaCl, 1,2 g difosforečnanu sodného a 300ml minerálního média. Suspenze byla intenzivně třepána na třepačce po dobu 2 hodin a poté byla přefiltrována přes předem promytý filtrační papír.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1 Sledování biodegradace ve vodném prostředí

Pokusy zaměřené na sledování biorozkladu polymerních materiálů ve vodném prostředí s půdním výluhem jako inokulem navazovaly na předchozí diplomové práce [35,36], kde byla nejprve navržena vhodná metodika laboratorních testů s plynově-chromatografickou analýzou plynných produktů biodegradace ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ) a následně odzkoušena v laboratorních podmínkách. Test č.1 a test č.2 byly prováděny v návaznosti na předchozí testy pro jejich doplnění [35,36] a také pro osvojení si postupu práce.

Pro testování biorozložitelnosti polymerů za pomoci kompostních mikroorganismů (inokulum 3, kap. 6.1.4) (pokus č.3) byly použity stejné postupy a stejné kritéria hodnocení jako pro testy ve vodném prostředí s půdním extraktem (pokusy č. 1,2). Rozdílná byla kultivace – v termostatu při  $58^\circ\text{C}$ .

Biorozložitelnost polymerních substrátů ve vodném prostředí byla hodnocena na základě měření produkce  $\text{CO}_2$ . Množství vyprodukovaného  $\text{CO}_2$  bylo stanovováno chromatografickou analýzou. Z naměřených hodnot byla počítána denní produkce  $\text{CO}_2$ , která byla korigována o vliv fázové a acidobazické rovnováhy – rovnice /5/. Dále bylo počítáno procentuelní odstranění substrátu ( $\text{DCO}_2$ ) – rovnice /6/ - což je skutečně vyprodukované množství  $\text{CO}_2$  k teoreticky vyprodukovanému množství ( $\text{ThCO}_2$ ). Jako doplňující kritérium biorozkladu pro rozpustné substráty bylo stanovení celkového organického uhlíku (TOC) (kap. 6.4.2). Z hodnot TOC stanovených na začátku a na konci testu bylo následně vypočteno procentuelní odstranění substrátu dle TOC ( $\text{D}_{\text{TOC}}$ ) – rovnice /7/. Ke stanovení organického uhlíku byl použit analyzátor celkového organického uhlíku model TOC-5000A, Shimadzu Corporation.

#### Pokus č. 1

Test posuzoval schopnost půdních mikroorganismů rozkládat různé polymerní substráty. Byly použity materiály dobře rozložitelné (Xanthan a Gellan) i substráty obtížně rozložitelné jako je PVA [35].

Při testování biorozložitelnosti polymerních látek ve vodním prostředí byl pro test č.1 jako inokulum použit půdní extrakt (inokulum 1, kap. 6.1.4). Pro rozpis testu viz. kap. 6.5.1.

Testovací láhve byly kultivovány v temperované temné místnosti na 25°C za stálého míchání. Testy byly prováděny duplicitně.

Pomocí plynové chromatografie byla sledována produkce CO<sub>2</sub> a z hodnot počítáno procento rozkladu substrátu. Z obsahu TOC, kdy byl celkový organický uhlík zjištěn na začátku a na konci testu, bylo vypočteno procento rozkladu jednotlivých substrátů (D<sub>TOC</sub>). Výjimkou byly láhve, kde byl jako substrát použit Gellan, který je ve vodě málorozpustný a byl proto přímo navažován.

**Tab. XI:** Naměřené hodnoty použitého inokula a destilované vody - pokus č.1

	pH [1]	TOC [mg.l <sup>-1</sup> ]
Půdní inokulum	6,71	132,53
Destilovaná voda	---	3,65

**Tab. XII:** Hodnoty pH a TOC a výpočet procenta odstranění substrátu pomocí hodnot TOC - pokus č.1

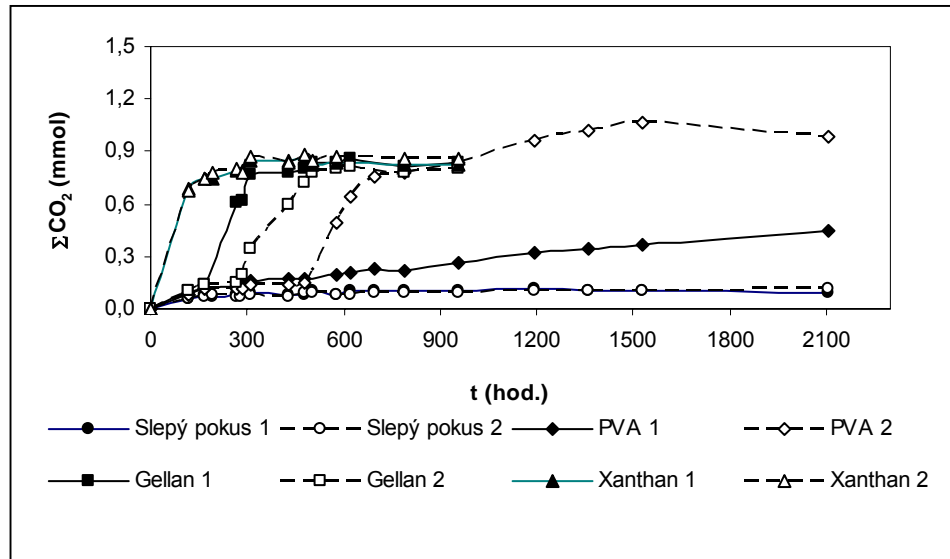
pozice	vzorek	Doba testu [h]	Začátek testu		Konec testu		D <sub>TOC</sub> [%]
			pH [1]	TOC [mg.l <sup>-1</sup> ]	pH [1]	TOC [mg.l <sup>-1</sup> ]	
1	slepý pokus	2 108	7,08	22,98	7,22	44,33	---
2	slepý pokus	2 108		21,34	7,22		---
3	slepý pokus*	2 132	7,13	5,57	7,12	7,65	---
4	slepý pokus*	2 132		6,84	7,15		---
5	PVA	2 108	7,14	182,18	7,11	151,60	32,6
6	PVA	2 108		185,98	7,06	24,97	111,9
7	PVA*	2 132	7,17	169,96	7,07	10,73	98,1
8	PVA*	2 132		170,56	7,07	8,01	99,8
9	Gellan	959	7,15	---	7,08	---	---
10	Gellan	959		---	7,13	---	---
11	Xanthan	959	7,15	207,40	7,09	23,69	111,2
12	Xanthan	959		159,22	7,09	19,95	117,9

Z denní produkce CO<sub>2</sub> (stanovení GC analýzou) byla počítána kumulativní produkce korigovaná s ohledem na fázovou a acidobazickou rovnováhu (obr.6,7) a dále počítáno procento odstranění substrátu (DCO<sub>2</sub>) z reakčního prostředí (obr.8,9). DCO<sub>2</sub> je poměrem skutečně vyprodukovaného množství CO<sub>2</sub> mikrobiální kulturou k maximálnímu teoretickému množství CO<sub>2</sub> (ThCO<sub>2</sub>). Vzorce pro výpočet jsou uvedeny v kapitole 6.6. Pro výpočty DCO<sub>2</sub> byly hodnoty slepých pokusů vždy průměrovány.

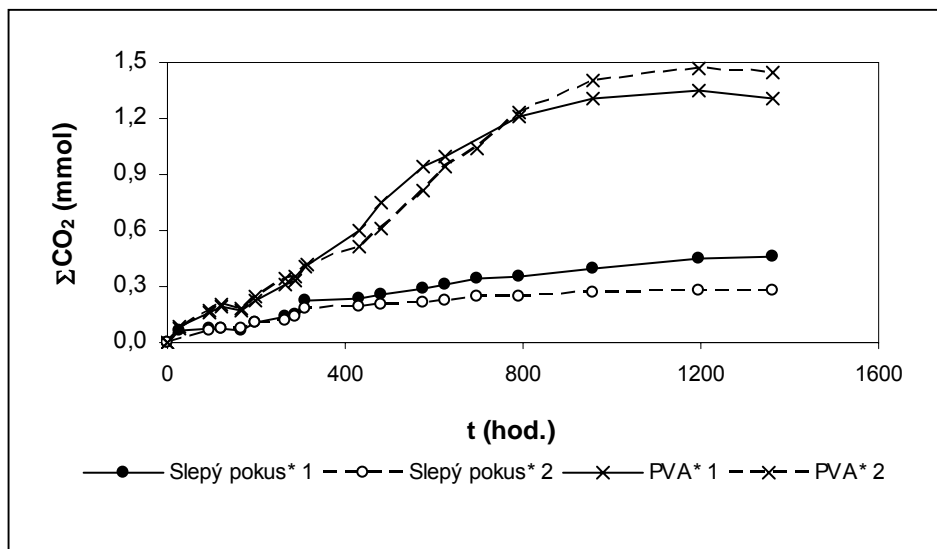
U testů se substrátem Xanthanem bylo po cca 950 hodinách procento odstranění substrátu (DCO<sub>2</sub>) cca 93%, resp. 96%; u testů s Gellanem 82%, resp. 92% (obr. 6,9). Při hodnocení biodegradace pomocí TOC byly výsledky pro Xanthan cca 111% resp. 118% (tab. XII); D<sub>TOC</sub> u testu se substrátem Gellanem nebylo stanoveno, protože Gellan byl přidáván do reaktoru v pevném stavu. Výsledky ukázaly, že Xanthan i Gellan lze podle očekávání považovat za substráty dobře odbouratelné.

Výsledky testů se substrátem PVA a s půdními mikroorganismy vyhodnocených metodou plynové chromatografie se rozcházejí. Po cca 1500 hodinách dosáhlo procento rozkladu (DCO<sub>2</sub>) v prvním případě cca 25% a ve druhém cca 65% (obr. 6,8). Hodnoty procentuelního rozkladu substrátu podle TOC (D<sub>TOC</sub>) byly cca 33% resp. 112% (tab. XII). Výsledky dvou na sobě nezávislých parametrů (D<sub>TOC</sub>, DCO<sub>2</sub>) potvrdily skutečnost, že se nejednalo o chybu plynově-chromatografické analýzy. Oba testy byly zahájeny za srovnatelných podmínek, rozdílný průběh byl zřejmě způsoben heterogenitou inokula. Rychlý průběh rozkladu PVA nebyl běžný [35,36], proto byl obsah láhve podroben mikrobiologickým testům (výsledky budou známy později).

V případě testů s adaptovaným aktivovaným kalem (inokulum 2, kap. 6.1.4) dosahovalo procento odstranění substrátu (DCO<sub>2</sub>) cca 59% resp. 68% (obr. 7,8). Hodnota procenta odstranění substrátu podle TOC (D<sub>TOC</sub>) byla 98% resp. 99% (tab. XII).

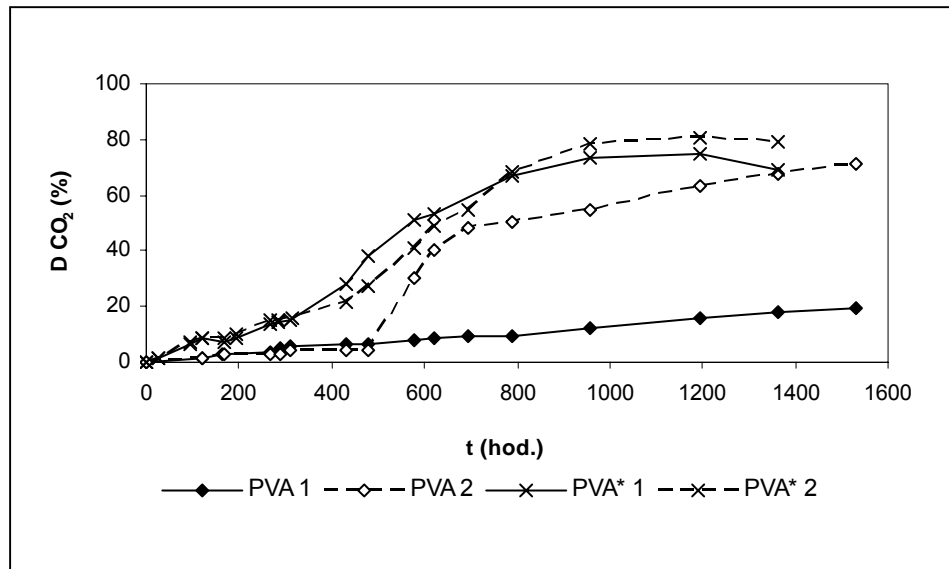


Obr. 6: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.1, část 1

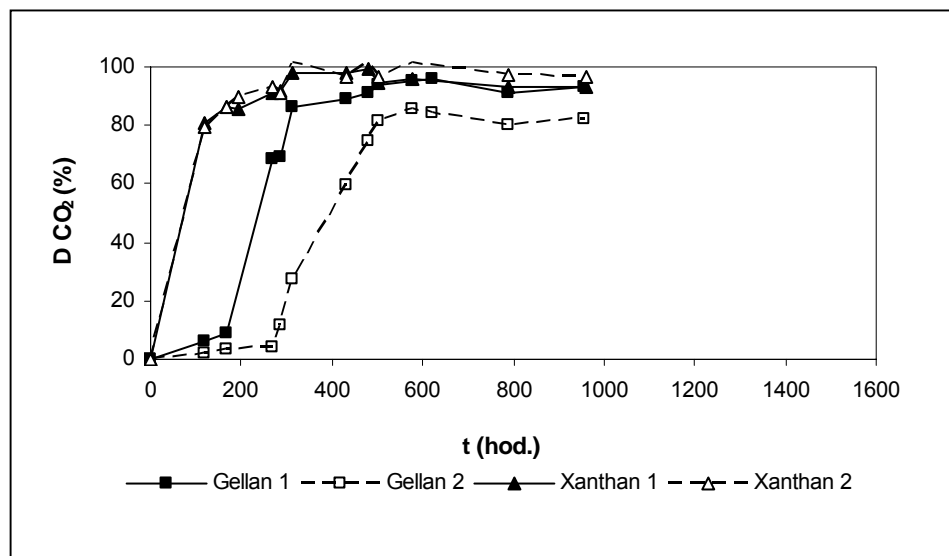


Obr. 7:

Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.1, část 2



**Obr. 8:** Procentuelní odstranění substrátu podle produkce  $\text{CO}_2\text{-DCO}_2$ - pokus č.1, část 1



**Obr. 9:** Procentuelní odstranění substrátu podle produkce  $\text{CO}_2\text{-DCO}_2$ - pokus č.1, část 2

### Pokus č. 3

V tomto testu byla sledována biodegradace modelových polymerních materiálů (uvedeny v kap. 6.5.3) opět ve vodném prostředí, jako zdroj mikroorganismů ale byl použit kompostní extrakt. Jeho příprava je popsána v kap. 6.7). Analogické bylo i posuzování experimentálních dat: Pomocí plynové chromatografie byly sledovány denní produkce  $\text{CO}_2$ , následně počítány kumulativní produkce  $\text{CO}_2$  a procento odstranění substrátu podle produkce  $\text{CO}_2$  ( $\text{DCO}_2$ ). Ve všech výpočtech byly zohledněny fázové a acidobazické podmínky (rovnice 5). Hodnoty pH při nasazení testu a v průběhu testu jsou uvedeny v tab. XIII. Relativně malé změny pH v průběhu celého testu opravňovaly použití vstupních hodnot pH ve výpočtech. Testy byly opět prováděny duplicitně.

U jednoho testu se substrátem Xanthanem, byly výsledky kumulativní produkce  $\text{CO}_2$  (obr. 10) i procentuelního odstranění substrátu ( $\text{DCO}_2$ ) naprosto rozdílné (obr. 11). Xanthan byl rozložen ze 17% resp. 93% za cca 600h. Pna základě výsledků analýzy TOC u obou testů s Xanthanem a slepých pokusů byla potvrzena správnost hodnot stanovených plynově chromatograficky, soudě z hodnot  $\text{DCO}_2$  a  $\text{D}_{\text{TOC}}$  (tab. XIV). Podobný (překvapivý) průběh byl pozorován i u předchozího testu (pokus č.1, rozklad PVA neadaptovaným půdním extraktem).

Karboxymetyl celulóza se prakticky nerozkládala – hodnoty splývaly s pozadím (tj. slepými pokusy).

Atypický průběh byl ověřován opakovanými přidavky substrátů Xanthanu a mikrokrystalické celulózy (použita místo karboxymethyl celulózy). Výsledky v zásadě korespondovaly s předchozími: Xanthan byl rozložen z 34% resp. 93% za cca 700h; mikrokrystalická celulóza se opět prakticky nerozkládala. Celková doba pokusu č. 3 byla cca 1300h.

Průběhy testů jsou zřejmé z obr. 10,11. Svislá čárkovaná čára značí opakované přidání substrátů. Hodnoty pH při nasazení testu a v průběhu testu jsou uvedeny v tab. XIII.

Na základě pouze dvou souběžných a přitom zásadně odlišných průběhů biorozkladu Xanthanu po inokulaci kmpostním extraktem nebylo možné jednoznačně určit příčinu těchto diferencí. Po skončení testu byla podobně jako u pokusu č.1 odebrána suspenze pro následné mikrobiologické rozbory, které by mohly záležitost osvětlit.



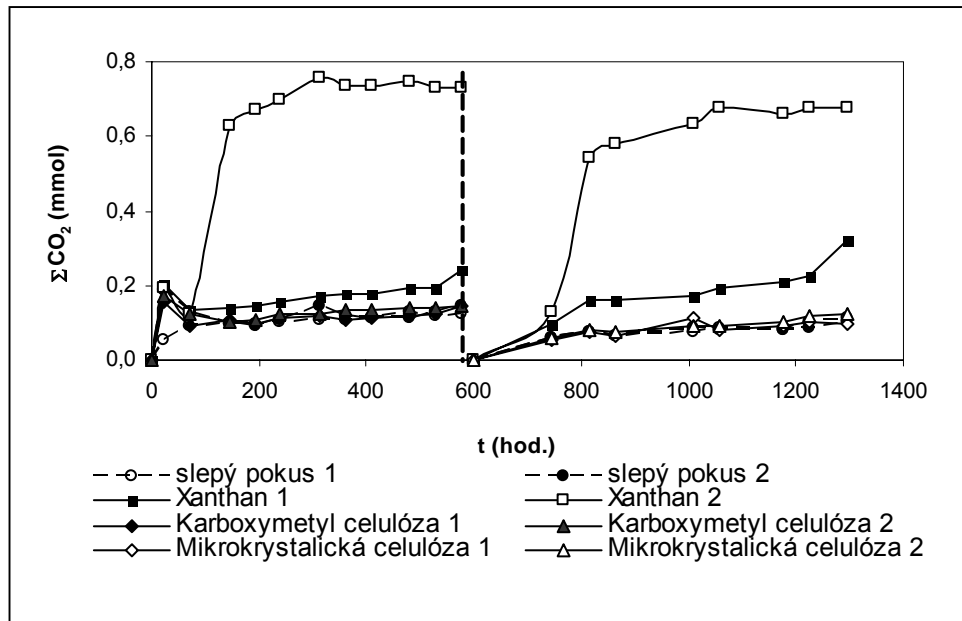
U testu č.3 byla měřena plynově chromatograficky koncentrace kyslíku v láhvi, následně počítáno procento kyslíku v plynné fázi. Procento nekleslo po celou dobu testu pod hranici 17%, čímž byly zachovány aerobní podmínky.

**Tab. XIII:** Hodnoty pH - pokus č.3

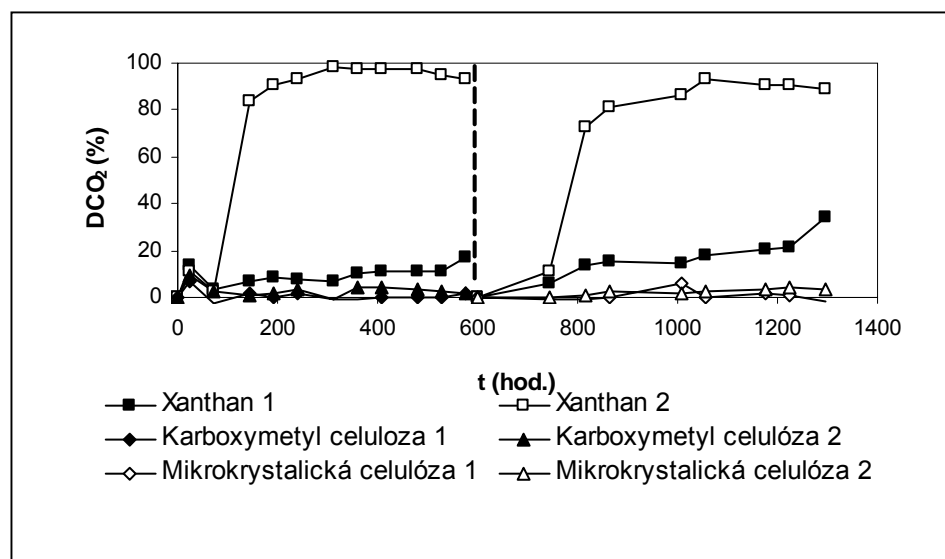
pozice	vzorek	Začátek testu	Před opětovným nadávkováním substrátu
		pH [1]	pH [1]
1	slepý pokus	7,25	7,33
2	slepý pokus		7,33
3	Xanthan	7,25	7,33
4	Xanthan		7,28
5	karboxymetyl celulóza	7,28	7,34
6	karboxymetyl celulóza		7,34

**Tab. XIV:** Hodnoty TOC a  $D_{\text{TOC}}$  zjištěné v průběhu pokusu- pokus č.3

pozice	vzorek	TOC [mg.l <sup>-1</sup> ]	$D_{\text{TOC}}$ [%]
1	slepý pokus	64,44	---
2	slepý pokus	52,05	---
3	Xanthan	119,13	1,4
4	Xanthan	71,82	40,6
5	karboxymetyl celulóza	128,73	0
6	karboxymetyl celulóza	124,8	0



**Obr. 10:** Kumulativní produkce  $\text{CO}_2$  - pokus č.3



**Obr. 11:** Procentuelní odstranění substrátu podle produkce  $\text{CO}_2$ – $\text{DCO}_2$ -pokus č.3

## 7.2 Sledování biodegradace v prostředí kompostu

Další pokusy již byly prováděny v prostředí kompostu. Cílem práce bylo navrhnout vhodné „optimální“ podmínky pro aplikaci kompostování v laboratorních testech.

Aerobní biodegradace v prostředí kompostu byla opět hodnocena na základě stanovení vyvíjejícího se  $\text{CO}_2$  v testovacích lahvích. Pro detekci byla použita plynová chromatografie a nepravidelně jako doplňující kritérium byla využita titrační metoda podle normy ISO 14855 [20]. Pomocí obou metod stanovení produkce  $\text{CO}_2$  byl počítán stupeň rozkladu plastů ( $\text{DCO}_2$ ) – rovnice /6/.

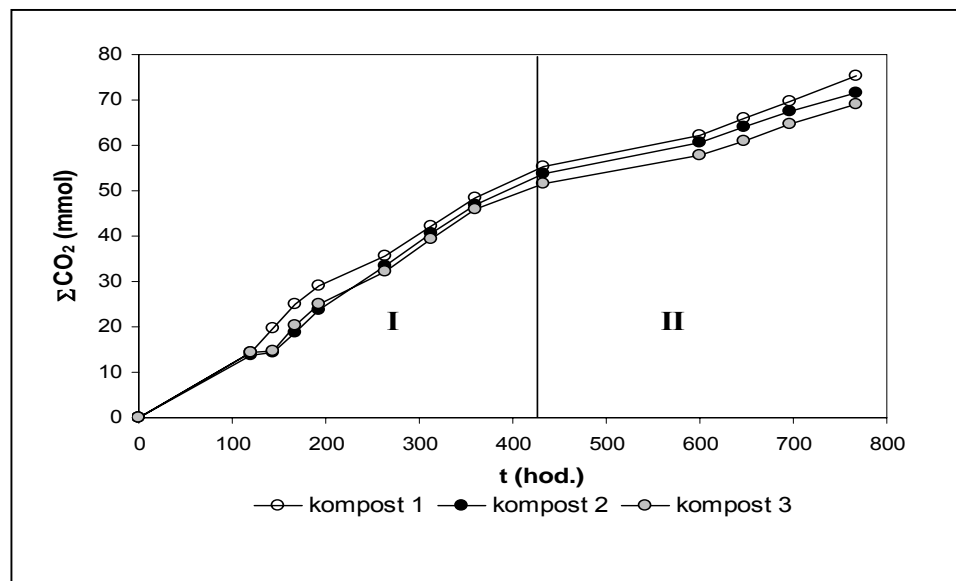
Chromatograficky měřený úbytek  $\text{O}_2$  v láhvi byl stanovován pro kontrolu aerobních podmínek v testovacích lahvích a nebyl použit pro určení stupně biorozkladu.

### Pokusy č. 4,5

Pokusy s vyzrálým kompostem jako inokulem nebyly na pracovišti zatím nikdy prováděny a proto bylo nutné v první řadě vyzkoušet jak se vyzrálý kompost (příprava - kap. 6.1.2) bude chovat v uzavřeném systému. U pokusu č.4 byla sledována „endogenní“ respirace kompostu. Znalost respirace samotného kompostu byla užitečná z hlediska „nasazení“ pokusu (dávkování kompostu) a jeho harmonogramu (zejména frekvence analýz).

Za pomoci plynové chromatografie byla stanovována denní produkce  $\text{CO}_2$  přítomnými mikroorganismy a z toho následně počítána kumulativní produkce  $\text{CO}_2$ , její závislost na čase je vynesena do grafu (obr. 12). Graf je rozdělen na dvě části, v části I je znázorněna kumulativní produkce  $\text{CO}_2$  u kompostu, který byl dávkován v množství 200g kompostu o 50%ní sušině do testovací láhve ( v souladu s normou [20]). Množství kompostu v láhvi bylo poté sníženo na polovinu; v části II je vidět respirace polovičního množství kompostu, tj. 100g o 50%ní sušině v láhvi. Denní produkce  $\text{CO}_2$  v části I odpovídala hodnotě cca 3,52 mmol, v části II potom hodnotě cca 1,75 mmol  $\text{CO}_2$  za 24h – byly tedy v přesné relaci k dávkovanému množství kompostu.

Hodnota pH na začátku pokusu byla  $\text{pH} = 7,22$ .



Obr.

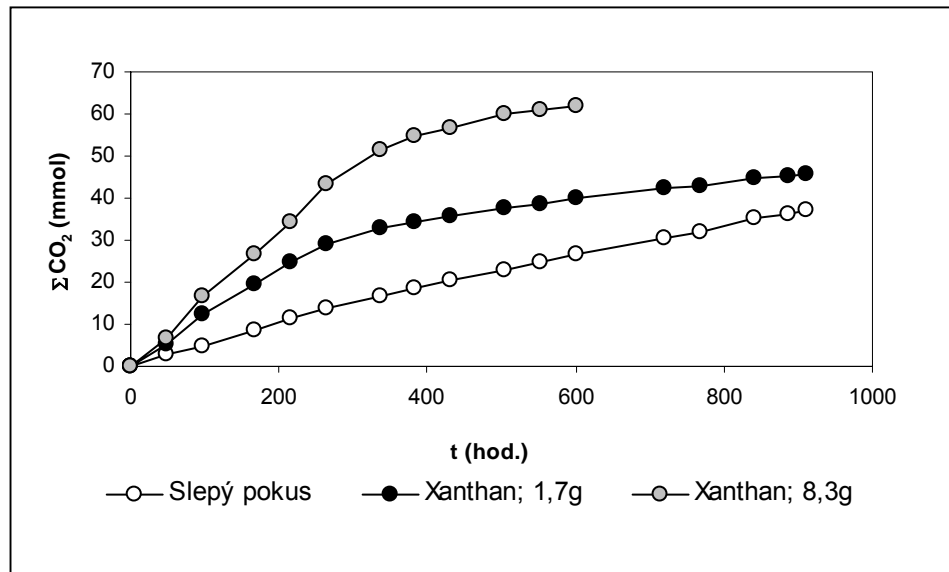
12: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.4

Pokus č.5 navázal na pokus č.4. Do testovaných lahví s kompostem (100g o 50%-ní sušině v láhvi) z pokusu č.4 byl přidán substrát Xanthan v množství 1,7g a 8,3g – rozpis testu v kap. 6.4.3.

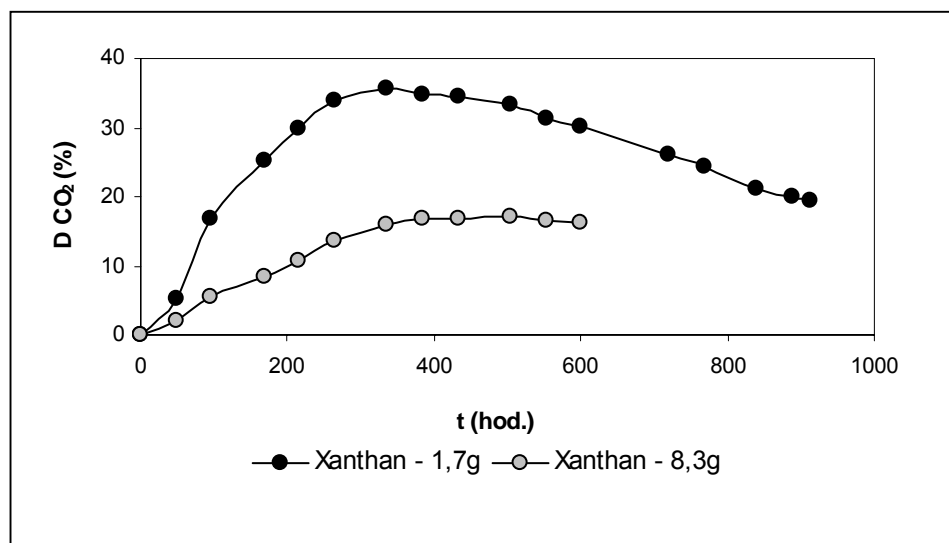
Po přidání 8,3 g Xanthanu ke 100g vyzrálého kompostu o 50% sušině, došlo ke slepení obou složek a k vytvoření jednoho velkého kompaktního celku. Hodnoty z této láhve se nedají považovat za reprodukovatelné, přesto nebyl pokus v láhvi ihned zrušen a byl po nějakou dobu analyzován.

Postup hodnocení byl stejný jako v předešlém pokusu: byla sledována denní produkce CO<sub>2</sub>, z ní počítána kumulativní produkce CO<sub>2</sub> (obr. 13) a procento odstranění substrátu podle produkce CO<sub>2</sub> (obr. 14).

Hodnota DCO<sub>2</sub> v 600 hodině pro Xanthan - dávkovaný v množství 8,3g – se pohybovala kolem cca 16%, při dávce 1,7g byla maximální hodnota procenta biodegradace DCO<sub>2</sub> v cca 550 hodině cca 31%. V dalším průběhu měla křivka rozkladu Xanthanu sestupný trend (obr. 14), který nebyl způsoben nedostatkem kyslíku v testovacích lahvích; kyslíkové poměry jsou ilustrovány na obr. 15. Příčina nebyla dále zkoumána, poněvadž (zatím) šlo o ojedinělý výsledek. Při výměně atmosféry v reakčním prostředí (refresh) vzrostl obsah v testovací láhvi na hodnotu kolem 21% (obsah kyslíku v atmosféře).

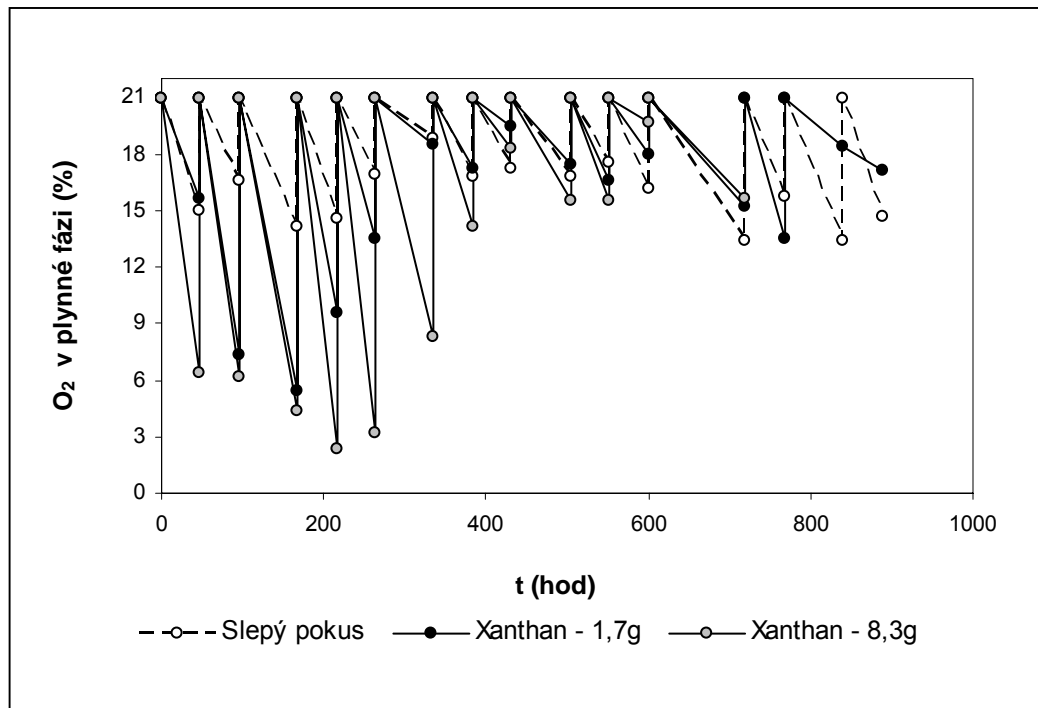


Obr. 13: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.5



Obr. 14: Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO<sub>2</sub> –DCO<sub>2</sub> pokus

č.5



**Obr. 15:** Aktuální obsah  $O_2$  v plynné fázi - pokus č.5

Pokus č. 6

Vzhledem k relativně vysoké hodnotě endogenní respirace samotného kompostu (pokus č.4) a z toho plynoucí nutnosti častého provzdušňování testovacích lahví (cca obden) byla další série testů provedena v prostředí kompostu „ředěného“ inertním materiálem Perlit (charakteristika Perlitu v kap. 6.1.3).

Kompost byl smíchán s Perlitem v poměru 1:2 a 1:6. Rozpis pokusu v kap. 6.5.3.

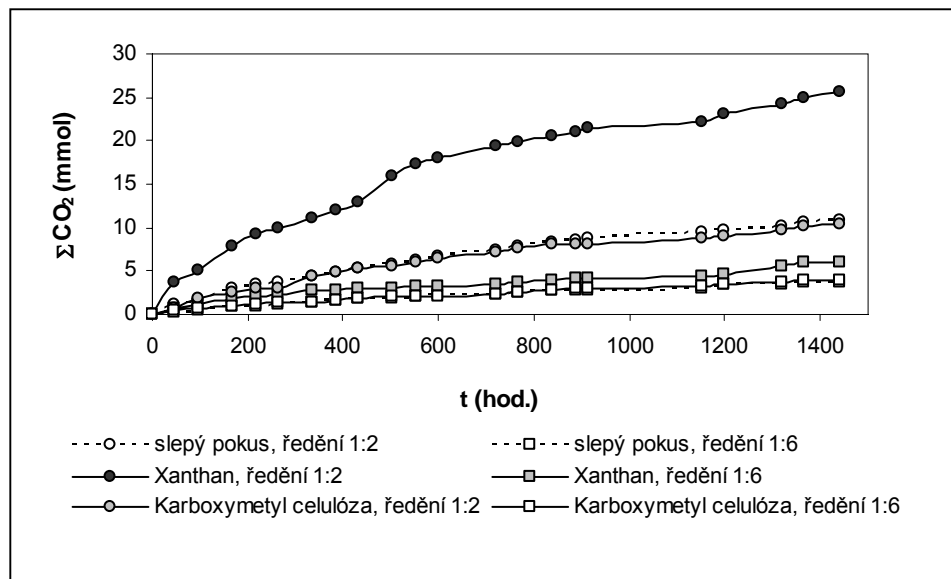
Souběžně byla prováděna plynověchromatografická analýza složení plynné fáze a méně často titrační analýza – pokud obsah kyslíku v plynné fázi klesl pod cca 12% (norma [20] připouští minimální obsah kyslíku dokonce 6%). Následnost analýzy pak byla: GC analýza, vyfoukání + absorpce + titrace CO<sub>2</sub>, případně znovu GC analýza zbytkového množství CO<sub>2</sub> (postup v kap. 6.4.1). Analýza zbytkového CO<sub>2</sub> se ukázala jako zbytečná (prakticky nulové hodnoty) a proto nebyla od cca 600 hodiny testu prováděna.

Výsledky jsou graficky znázorněny na obr. 16,17 – kumulativní produkce CO<sub>2</sub> stanovená plynověchromatograficky, resp. titračně, na obr. 18,19 pak uvedeny analogické závislosti DCO<sub>2</sub>. Z obrázků je zřejmá velmi dobrá srovnatelnost výsledků zjištěných GC a titračně.

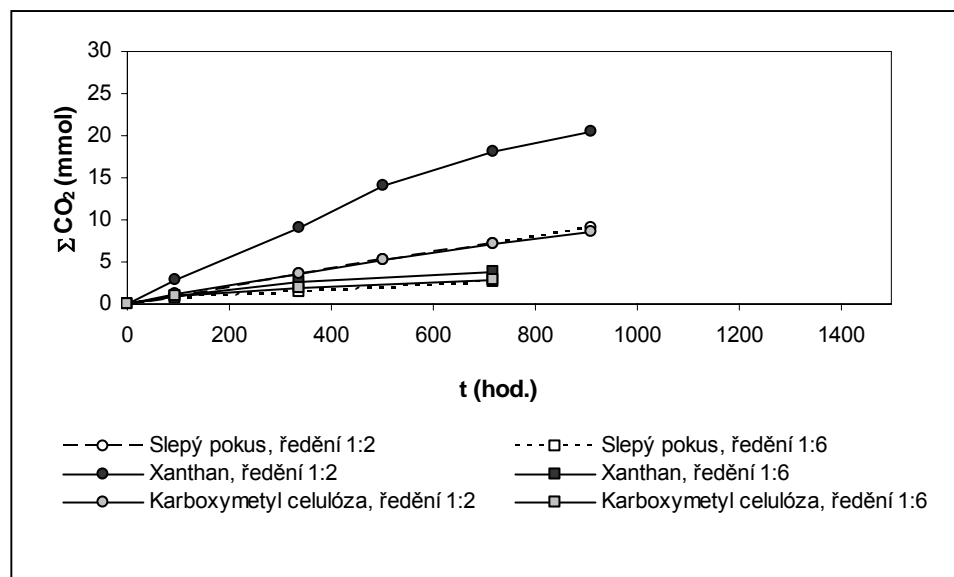
Při „ředění“ kompostu Perlitem v poměru 1:2 bylo procento biodegradace (DCO<sub>2</sub>) pro použitý substrát Xanthan cca 34%; při poměru 1:6 cca 14%, což teoreticky i prakticky odpovídá cca jedné třetině při ředění 1:2.

Při „ředění“ v poměru 1:2 a 1:6 se substrátem karboxymetyl celulózu byla produkce CO<sub>2</sub> srovnatelná nebo nižší než produkce CO<sub>2</sub> u slepého pokusu (stanoveno chromatografickou i titrační analýzou, obr. 16, 17) – nenastal prakticky žádný rozklad substrátu nebo mohl být dokonce mírně toxický pro přítomné mikroorganismy (obr. 18,19). Titrační analýza byla prováděna jen pokud byla nutná výměna atmosféry v reaktorech (množství kyslíku v reaktoru kleslo pod hranici 12%).

Chromatograficky bylo sledováno kromě také množství O<sub>2</sub> v plynné fázi a přepočítáváno na aktuální koncentraci v láhvi v procentech (obr.20). Obr. 20 sloužil při testech jako kontrola dodržení aerobních podmínek. Výměnou čerstvé atmosféry v láhvi (refresh) vzrostlo procentuelní zastoupení kyslíku v láhvi na hodnotu kolem 21% (obsah kyslíku v atmosféře)

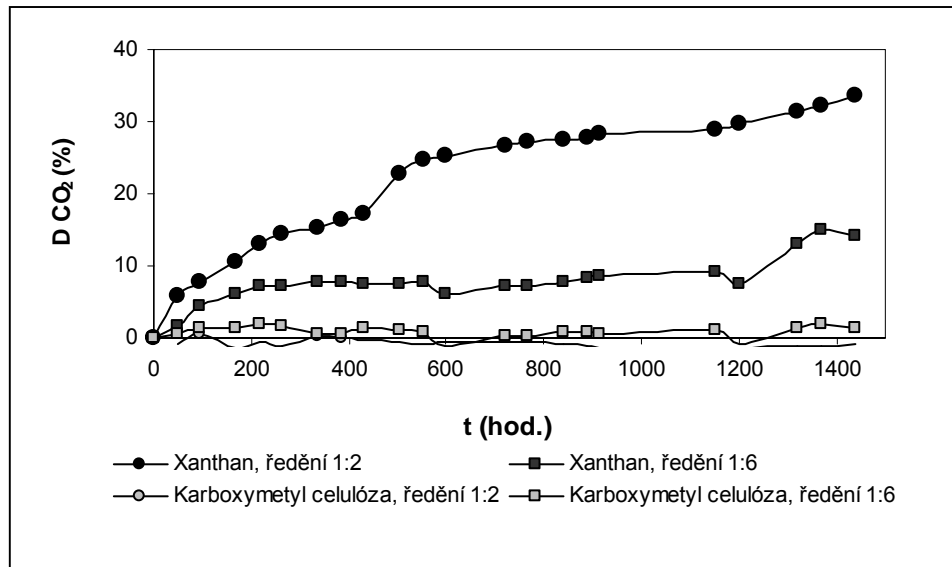


Obr. 16: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.6 – chromatografická analýza

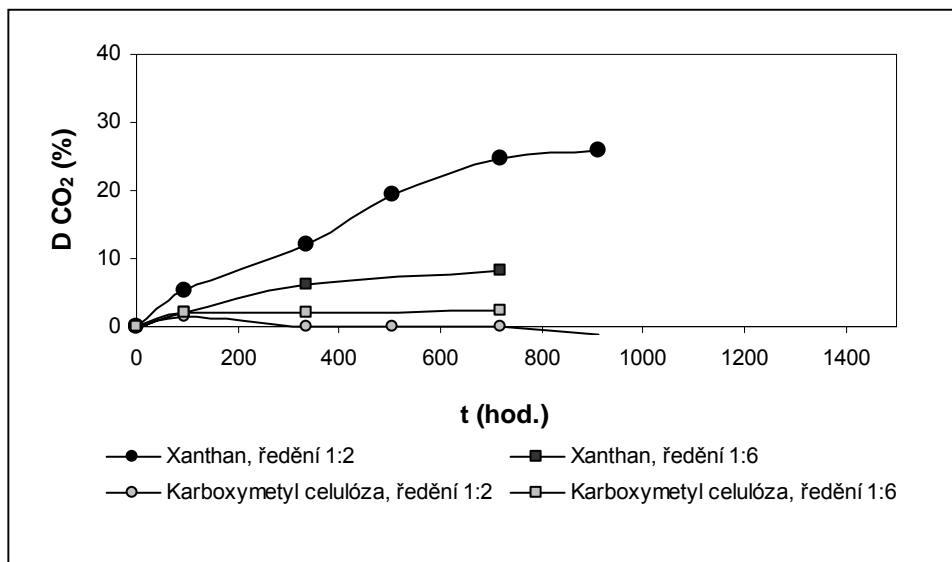


Obr. 17: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.6 – titrační analýza



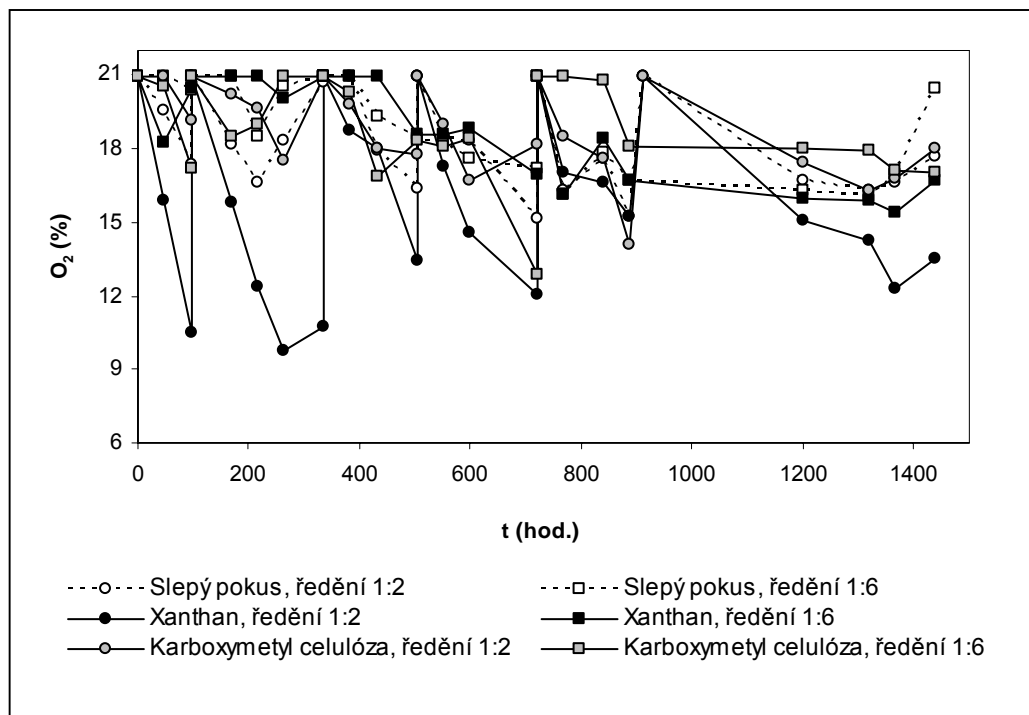


**Obr. 18:** Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.6 - chromatografická analýza



**Obr.**

**19:** Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.6- titrační analýza



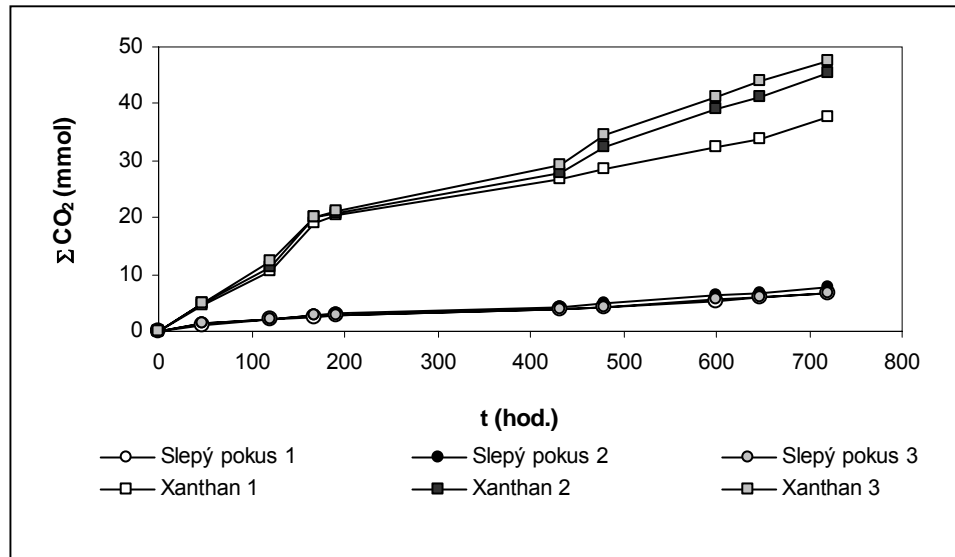
**Obr. 20:** Aktuální procent  $O_2$  v plynné fázi - pokus č.7

### Pokus č. 7

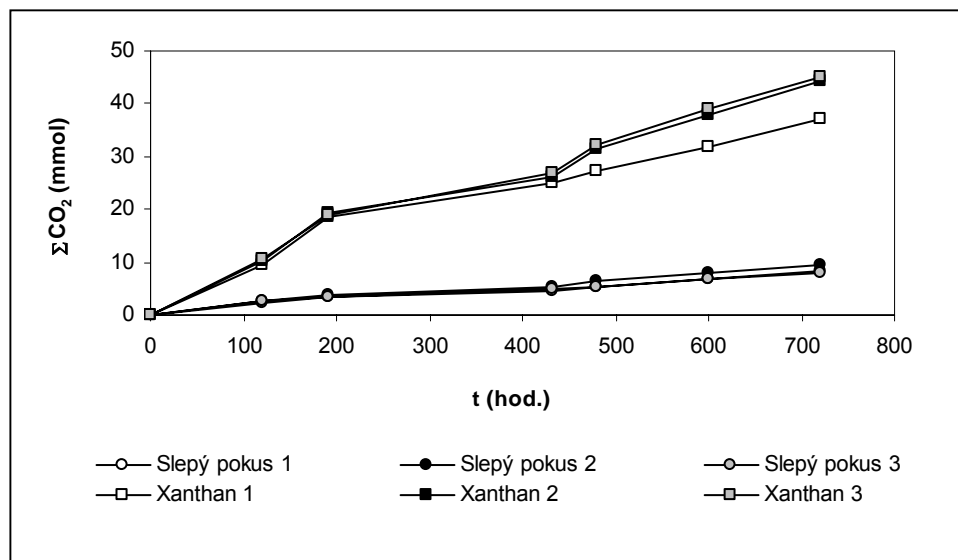
Tento test byl nasazen na základě výsledků předchozích testů. Kompost byl smíchán s Perlitem v poměru 1:2 a jako substrát byl použit Xanthan dávkovaný v množství 1,7g (v souladu s normou [39]). Testy byly nasazeny 3x vedle sebe (3x test, 3x slepý pokus). Podrobný rozpis testu viz. kap. 6.5.3.

Vyprodukovaný  $CO_2$  byl stanovován chromatograficky a titrační analýzou (obr. 21,22). Procento biodegradace  $DCO_2$  dosahovalo po cca 700h hodnot cca 70%, 85% a 91% (obr. 23) – stanoveno GC a cca 64%, 80% a 82% - stanoveno titračně. Z průběhu biodegradčních závislostí i limitních hodnot  $DCO_2$  je zřejmá dobrá „zastupitelnost“ obou variant testů (jejich analytických koncovek).

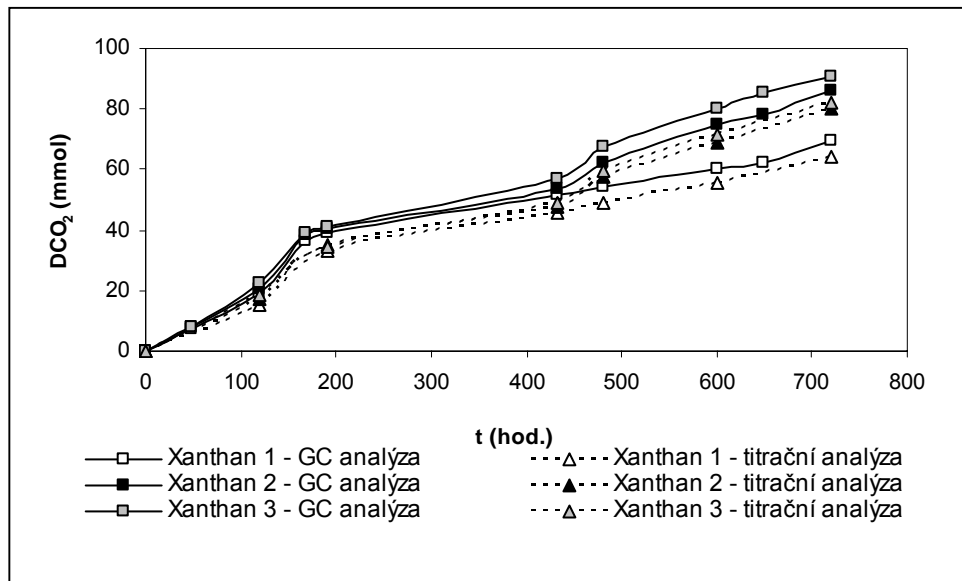
Spotřeba  $O_2$  v reakčním prostředí byla natolik vysoká, že bylo nutno po každé chromatografické analýze vzduch v reaktoru vymýt (refresh). Současně byla provedeno titrační stanovení. Aktuální procento v testovacích lahvích je znázorněno na obr. 24. Z technických důvodů nebyla koncentrace kyslíku v testovacích láhvích mezi 190 a 250 hodinou měřena.



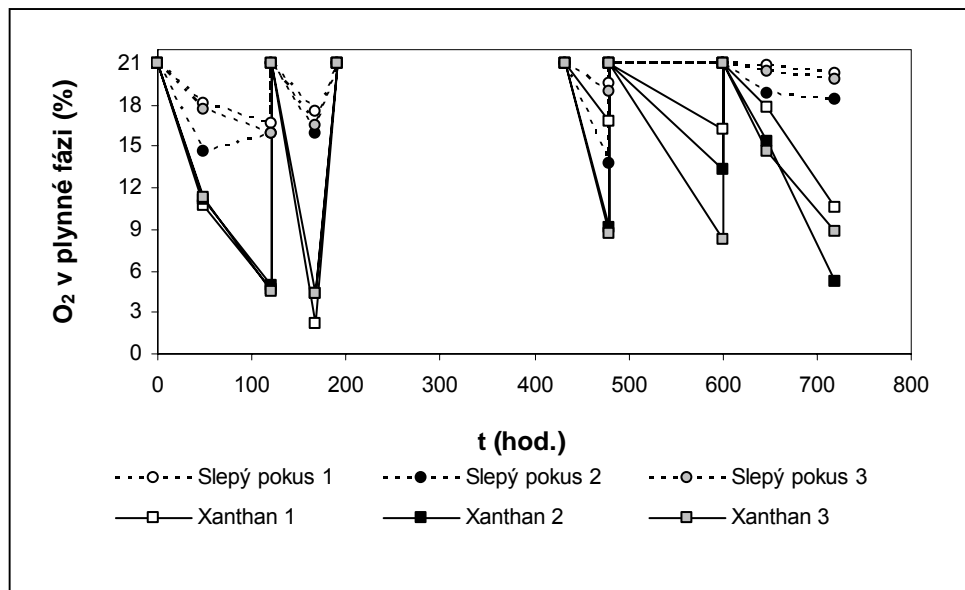
Obr. 21: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.7 - chromatografická analýza



Obr. 22: Kumulativní produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.7 - titrační analýza



Obr. 23: Procento odstranění substrátu podle produkce CO<sub>2</sub> - pokus č.7



Obr. 24: Aktuální obsah O<sub>2</sub> v plynné fázi - pokus č.7

## 8 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo metodicky popsat praktickou realizaci testů sledování biodegradace ve vodném prostředí s kompostním extraktem jako inokulem a v prostředí vyzrálého kompostu.

Aerobní proces biodegradace byl hodnocen základě sledování vyvíjejícího se množství  $\text{CO}_2$  v plynné fázi reakčního prostředí. Množství  $\text{CO}_2$  bylo stanovováno plynovou chromatografií (realizováno na náplňové koloně s PORAPAKEM R, v kap. 6.4.1.1) a normou udávanou titrační analýzou (v kap. 6.4.1.2), z těchto hodnot byla následně počítána procentuelní biodegradace (jako poměr skutečně vyprodukovaného  $\text{CO}_2$  k teoretickému). Při testech s GC i titrační koncovkou bylo dosahováno srovnatelných výsledků - proto lze aplikovat plynově chromatografické stanovení produkce  $\text{CO}_2$  jako jediné kritérium pro hodnocení biorozložitelnosti polymerních látek.

Při testech v prostředí kompostu byla stanovována plynovou chromatografií koncentrace  $\text{O}_2$  v plynné fázi reakčního prostředí (realizováno na náplňové koloně s Molekulovým sítem 13X, v kap. 6.4.1.1). Stanovení bylo prováděno s ohledem na zachování aerobních podmínek, výsledky nebyly používány pro určení průběhu rozkladu.

V návaznosti na předešlé diplomové práce byla provedena série testů ve vodném prostředí s půdním výluhem jako inokulem. Výsledky testů potvrdily již dříve zjištěnou skutečnost, že polysacharidy Xanthan a Gellan patří mezi lehce odbouratelné substráty narozdíl od PVA, který se ve vodném prostředí s půdním extraktem odbourává velmi obtížně.

Na základě dosažených výsledků lze doporučit následující podmínky testů v prostředí kompostu:

- objem reaktoru: 1000ml
- objem pevné fáze cca 200ml, plynné cca 1065ml
- rozsah pokusu: 3x slepý pokus + 3x test
- dávkování: 20g vyzrálého kompostu o 50%-ní sušině + 20g inertního materiálu Perlitu - „ředění“ kompost:inertní materiál Perlit – 1:2
- kultivace v temnu při teplotě 58°C

- použitá analytická koncovka: plynově chromatografická analýza
- doplňkové kritérium: titrační analýza
- intervaly stanovení: 2x týdně
- intervaly aerace: 2x týdně – koncentrace O<sub>2</sub> by neměly klesnout pod 10%
- referentní substrát: Xanthan

Na provedení testů za zvolených „optimálních“ podmínek se předpokládá návaznost v dalších diplomových pracích.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Sophie Grima, Véronique Bellon-Maurel, Pierre Feuilleley, Françoise Silvestre: Aerobic Biodegradation of Polymers in Solid-State Conditions: A Review of Environmental and Physicochemical Parameter Settings in Laboratory Simulations, *Journal of polymers and the environment*, Volume 8, No.4, 2000
- [2] Pitter P., Chudoba J.: Biodegradability of organic substance in aquatic environment, CRC Press Boston, 1990
- [3] Falkon-Decriaud A., Bellon-Maurel V., Silvestre F.: Standards Methods for Testing the Aerobic Biodegradation of Polymeric Materials. Review and Perspectives, *Advances in Polymer Science*, Vol.135, 207-226, 1998
- [4] ISO 6974-3: Natural gas- Determination of composition with defined uncertainty by gas chromatography- Part 3: Determination of hydrogen, helium, oxygen, nitrogen, carbon dioxide and hydrocarbons up to C8 using two packed columns; 2000
- [5] Golueke, C.G.: The art and science of composting, JG Press, Emmaus, PA, pp. 14-39, 1991
- [6] Garcia, C.; Hernandez, T.; Costa, F. (1991): *Environment Manag.* 15, 433-439.; Nakasaki, K.; Yaguchi, H.; Sasaki, Y.; Kubota, H. (1990): *J. Ferment. Bioeng.* 70, 431-433
- [7] Šlejška, A.: Testování biodegradability 1997. *Časopis Biom* [Online]. [cit. 2004-03-12]. Dostupné na WWW: <[http://stary.biom.cz/clen/as/biodegr\\_test.html](http://stary.biom.cz/clen/as/biodegr_test.html)>
- [8] Pitter P., Tuček F., Chudoba J., Žáček L.: *Laboratorní metody v technologii vody*, Praha, 1983
- [9] ISO 11266: Soil quality -- Guidance on laboratory testing for biodegradation of organic chemicals in soil under aerobic conditions, 1994
- [10] ISO 17556: Plastics - Determination of the ultimate aerobic biodegradability in soil by measuring the oxygen demand in a respirometer or the amount of carbon dioxide evolved, 2003

- [11] ASTM International: D5988: Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting, 2003
- [12] ISO 11721-2: Textiles-Determination of the resistance of cellulose-containing textiles to micro-organisms-Soil burial test-Part 2: Identification of long-term resistance of a rot retardant finish, 2003
- [13] Kalina, M.: Kompostování a péče o půdu, Praha 2004
- [14] Vajík, Karel: Praktická abeceda kompostování, Sborník ze symposia "Bioodpad '99"; Časopis Biom [Online]. [cit.2004-03-12]. Dostupné na WWW: <<http://stary.biom.cz/sborniky/bioodp99/10.doc>>
- [15] Šlejška, A.: Využití zemědělských odpadů biologickými metodami, 1997 Časopis Biom [Online]. [cit.2004-03-12]. Dostupné na WWW: <[http://stary.biom.cz/clen/as/komp\\_cile.html](http://stary.biom.cz/clen/as/komp_cile.html)>
- [16] Kára, J.; Pastorek, Z.; Jelínek, A.: Kompostování zbytkové biomasy. *Biom.cz* [online]. 2002-01-31 [cit. 2005-10-12]. Dostupné na WWW: <<http://biom.cz/index.shtml?x=62847>>.
- [17] Henry, C.L., Harrison, R.B.: Fate of trace metal in sewage sludge compost in C.D. Adriano (Ed.), *Biochemistry of Trace Metal*, Lewis, London, p. 195, 1992
- [18] Heida, H., Bartman, F., Zee van der, S.C.: Occupational exposure and indoor air quality monitoring in a composting facility, *Am.Ind.Hyg.Assoc.J.* 56:39, 1995
- [19] Strauch, D.: Microbiological specification of disinfected compost, in *Compost: Production, Quality and Use*, Elsevier Applied Science, Barking, UK, p.210, 1987
- [20] ISO 14855: Determination of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastic materials under controlled composting conditions-Method by analysis of evolved carbon dioxide, 1999
- [21] VÁŇA, J.: Výroba a využití kompostů v zemědělství. Institut výchovy a vzdělávání MZe ČR v Praze 1994, *Agrodat*, s. 40
- [22] VÁŇA, J.: Kompostování odpadů. In: *Odpady, jejich využití a zneškodňování*. VŠCHT, Praha 1996, s. 57-58



- [23] ČSN 46 5735: Průmyslové komposty. Vydavatelství norem, Praha, 1991
- [24] VESELÝ, Karel: Polymery, ČSPCH 1992, s. 120
- [25] Velišek Jan: Chemie potravin 1, vydalo OSSIS – V. Šedivý, Tábor, 1999
- [26] Chiellini E., Corti A., Solaro R.: Biodegradation of poly(vinyl alcohol) based blown films under different environmental conditions, *Polymer Degradation and Stability*, 1999
- [27] ASTM, American Society for Testing and Materials, D5338-92 Test method for determining aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions. *Environmentally degradable plastics*, Philadelphia: ASTM; 1993. p. 51–9.
- [28] Chiellini E., Corti A., D'Antone S., Solaro R.: Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials, *Prog. Polym. Sci.* 28, 2003
- [29] Francesco Degli-Innocenti, Maurizio Tosin, Catia Bastioli: Evaluation of the Biodegradation of Starch and Cellulose Under Controlled Composting Conditions, *Journal of Environmental Polymer Degradation*, Vol. 6, No. 4, 1998
- [30] Gaetano Bellia, Maurizio Tosin, Francesco Degli-Innocenti: The test method of composting in vermiculite is unaffected by the priming effect, *Polymer Degradation and Stability* (2000), pages 113-120
- [31] Preeti Lodha; Anil N. Netravali: Effect of soy protein isolate resin modifications on their biodegradation in a compost medium; *Polymer Degradation and Stability* ; Volume 87, Issue 3 , 2005, Pages 465-477
- [32] Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itävaara M.: Biodegradation of lignin in a compost environment: a review; *Bioresource Technology*; 2000; Pages 169-183
- [33] ČSN EN 29408: Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: metoda stanovení spotřeby O<sub>2</sub> v respirometru (ISO 9408-1991)
- [34] ČSN ISO 10390 – stanovení pH půdy.

- [35] Sedlář J.: Analýza plyných produktů při biodegradaci plastů, Diplomová práce, UTB Zlín, 2003
- [36] Dvořáková M.: Sledování biologických rozkladných procesů směsných polymerů v půdním prostředí, Diplomová práce, UTB Zlín, 2004
- [37] Malaník P.: Biorozložitelnost plastů v půdním prostředí, Diplomová práce, UTB Zlín, 2005
- [38] Družbík M.: Automatizovaný postup sledování biologického rozkladu polymerů (aplikace mikrorespirometru), Diplomová práce, UTB Zlín, 2006
- [39] ČSN EN 14046, Obaly – Hodnocení úplné aerobní biodegradace obalových materiálů při řízených podmínkách kompostování – Metoda analytického stanovení uvolněného oxidu uhličitého, 2003
- [40] Dřímál P., Hrnčířík J., Hoffmann J.: Assessing aerobic biodegradability of plastics in aqueous environment by GC-analyzing composition of equilibrium gaseous phase, Journal of polymers and the environment, Volume 14, No. 3, 2006 (in press)
- [41] ISO 9888: Water quality – Evaluation of ultimate aerobic biodegradability of organic compounds in aqueous medium – Static test (Zahn-Wellens method), 1999
- [42] Sedláček M a kol.: Metody rozborů kalů a pevných odpadů, Státní zemědělské nakladatelství, Praha 1978
- [43] Instruction manual Total organic carbon analyser model TOC – 5000A, Shimadzu Corporation, Japan, 1996
- [44] Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod, Praha 1986

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ASTM	Americká společnost pro testování materiálů	
BSK	biochemická spotřeba kyslíku	
CEN	Evropská organizace pro normalizaci	
ČNS	Česká státní norma	
DCO <sub>2</sub>	procento rozkladu z hlediska vyprodukovaného CO <sub>2</sub>	[%]
D <sub>TOC</sub>	procentuální úbytek TOC	[%]
GC	plynově chromatografická analýza	
CHSK	chemická spotřeba kyslíku	
IC	koncentrace anorganického uhlíku	[mg.l <sup>-1</sup> ]
ISO	International standart organization	
KTJ	kolonie tvořící jednotku	
PVA	polyvinylalkohol	
TC	koncentrace celkového uhlíku	[mg.l <sup>-1</sup> ]
TCD	teplotně vodivostní detektor	
ThCO <sub>2</sub>	teoretické množství CO <sub>2</sub>	[mmol]
TOC	celkový organický uhlík	[mg.l <sup>-1</sup> ]
TSK	teoretická spotřeba kyslíku	

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obr. 1:</b> Průběh teploty a fáze tlení [13] .....	17
<b>Obr. 2:</b> Schéma láhve.....	35
<b>Obr. 3:</b> Schéma aparatury pro titrační analýzu .....	36
<b>Obr. 4:</b> Kalibrační křivka pro stanovení CO <sub>2</sub> .....	39
<b>Obr. 5:</b> Kalibrační křivka pro stanovení O <sub>2</sub> .....	39
<b>Obr. 6:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.1, část 1 .....	54
<b>Obr. 7:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.1, část 2 .....	54
<b>Obr. 8:</b> Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> -DCO <sub>2</sub> - pokus č.1, část 1 .....	55
<b>Obr. 9:</b> Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> -DCO <sub>2</sub> - pokus č.1, část 2.....	55
<b>Obr. 10:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.3 .....	58
<b>Obr. 11:</b> Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> -DCO <sub>2</sub> -pokus č.3 .....	58
<b>Obr. 12:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.4 .....	60
<b>Obr. 13:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.5 .....	61
<b>Obr. 14:</b> Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> -DCO <sub>2</sub> pokus č.5 .....	61
<b>Obr. 15:</b> Aktuální obsah O <sub>2</sub> v plynné fázi - pokus č.5.....	62
<b>Obr. 16:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.6 – chromatografická analýza.....	64
<b>Obr. 17:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.6 – titrační analýza.....	64
<b>Obr. 18:</b> Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.6 - chromatografická analýza.....	65
<b>Obr. 19:</b> Procentuelní odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.6- titrační analýza.....	65
<b>Obr. 20:</b> Aktuální procent O <sub>2</sub> v plynné fázi - pokus č.7 .....	66
<b>Obr. 21:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.7 - chromatografická analýza .....	67
<b>Obr. 22:</b> Kumulativní produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.7 - titrační analýza .....	67
<b>Obr. 23:</b> Procento odstranění substrátu podle produkce CO <sub>2</sub> - pokus č.7 .....	68
<b>Obr. 24:</b> Aktuální obsah O <sub>2</sub> v plynné fázi - pokus č.7.....	68

**SEZNAM TABULEK**

<b>Tab. I:</b> Přehled parametrů metody kompostování.....	21
<b>Tab. II:</b> Charakteristiky stanovené u směsi půd .....	30
<b>Tab. III:</b> Charakteristiky stanovené a udávané výrobcem u vyzrálého kompostu .....	31
<b>Tab. IV:</b> Chemické a fyzikální vlastnosti inertního materiálu Perlitu udávané výrobcem.....	32
<b>Tab. V:</b> Souhrn podmínek chromatografické analýzy CO <sub>2</sub> a O <sub>2</sub> .....	38
<b>Tab. VI:</b> Rozmístění pozic pro test č.1 .....	41
<b>Tab. VII:</b> Rozmístění pozic pro test č.3.....	42
<b>Tab. VIII:</b> Rozmístění pozic pro test č.5 .....	44
<b>Tab. IX:</b> Rozmístění pozic pro test č.6 .....	45
<b>Tab. X:</b> Rozmístění pozic pro test č.7.....	45
<b>Tab. XI:</b> Naměřené hodnoty použitého inokula a destilované vody - pokus č.1.....	52
<b>Tab. XII:</b> Hodnoty pH a TOC a výpočet procenta odstranění substrátu pomocí hodnot TOC - pokus č.1 .....	52
<b>Tab. XIII:</b> Hodnoty pH - pokus č.3 .....	57
<b>Tab. XIV:</b> Hodnoty TOC a D <sub>TOC</sub> zjištěné v průběhu pokusu- pokus č.3 .....	57